



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΙΓΑΙΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΩΚΕΑΝΟΓΡΑΦΙΑΣ & ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ
ΒΙΟΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης
Ολοκληρωμένη Διαχείριση Παράκτιων Περιοχών

Διπλωματική Διατριβή

Σύγκριση μελέτη της ρύθμισης της έκφρασης ανοσολογικών γονιδίων μετά από διέγερση με αντιγόνα από τον ιό Nodavirus και από τα βακτήρια *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* και *Vibrio anguillarum* στο λαβράκι και την τσιπούρα

Υπεύθυνος καθηγητής: Μπακόπουλος Βασίλης

Κανιμάς Παναγιώτης
Μυτιλήνη, Φεβρουάριος 2021

Στους γονείς μου

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν με οποιονδήποτε τρόπο στην επιτυχή ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας. Κατά κύριο λόγο, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στον επιβλέποντα Αναπλ. Καθηγητή Βασίλη Μπακόπουλο, γιατί επέλεξε να με εμπιστευτεί και να μου αναθέσει την εκπόνηση της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας καθώς και για την βοήθειά του και την κατανόησή του καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής της. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για τη συμπαράστασή που μου πρόσφεραν απλόχερα.

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	3
Συντμήσεις	5
Κατάλογος Εικόνων	8
Κατάλογος πινάκων	9
Περίληψη	10
Abstract	14
1. Εισαγωγή.....	17
1.1. Υδατοκαλλιέργειες	17
1.2 Υδατοκαλλιέργειες στην Ευρώπη και στην Ελλάδα.....	19
1.3 Ασθένειες ιχθύων και υδατοκαλλιέργειες	22
1.4 Ασθένειες ιχθύων: η περίπτωση της τσιπούρας και του λαβρακιού	25
1.5 Βακτηριακές ασθένειες	27
1.5.1. <i>L. anguillarum</i>	27
1.5.2. <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i> - Φωτοβακτηρίαση	31
1.6 Ιογενής ασθένεια	36
1.6.1. Ιογενής Εγκεφαλοπάθεια- Αμφιβληστροειδοπάθεια.....	36
1.7 Ανοσολογικό σύστημα τελεοστέων	42
1.8 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανοσοαπόκριση στα ψάρια	52
1.9 Στοχοθεσία.....	57
1.10 Βιβλιογραφική Ανασκόπηση	57
2. Αποτελέσματα- Συζήτηση.....	81
2.1 Στρατηγικές προσαρμογής.....	81
Βιβλιογραφία	85

Συντμήσεις

AMPPs	antimicrobial polypeptides	αντιμικροβιακά πολυπεπίδια
BAB	blood agar base	βάση άγαρ αίματος
BHI	brain heart infusion agar	άγαρ καρδιάς-εγκεφάλου
Caspase	Cysteine aspartic proteases, cystein aspartases	κασπάσες
CLRs	C-type lectin receptors	υποδοχείς λεκτίνης τύπου C
CMC	cell-mediated cytotoxicity	Κυτταροτοξικά κύτταρα
Cox-2	Cyclooxygenase-2	Αναστολέας της κυκλοοξυγενάσης 2
CD4, CD8a	co-receptor	Κυτταροτοξικά T-κύτταρα 4 και 8a
CMC	Cell-mediated cytotoxicity	Κυτταροτοξικά T-κύτταρα
CP	capsid protein	Καψίδιο πρωτεΐνης
Dip	dipping	εμβάπτιση
DNA	Deoxyribonucleic acid	Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
ECP	extracellular products	Εξωκυτταρικά προϊόντα
ELISA	Enzyme- linked immunosorbent assay	Ενζυμική ανοσοπροσοροφητική διαδικασία
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations	Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών
GALT	Got- associated lymphoid tissue	Λεμφοειδής ιστός εντέρου
Hb-LP	Hemoglobin- like protein	Αιμοσφαιρίνη σαν πρωτεΐνη
HFE	Hereditary haemochromatosis	κληρονομική πρωτεΐνη αιμοχρωμάτωσης
HLP_1	Histone- like protein 1	Ιστόνη σαν πρωτεΐνη 1
HLP_2	Histone- like protein 2	Ιστόνη σαν πρωτεΐνη 2
IFN	interferon	ιντερφερόνη
Ig	immunoglobulins	ανοσοσφαιρίνη
IgM	immunoglobulin	ανοσοσφαιρίνη M
IgS	immunoglobulins	ανοσοσφαιρίνη S
IHC	immunohistochemistry	ανοσοϊστοχημεία
IL	interleukin	ιντερλευκίνη
INF α -1	Interferon a-1	Ιντερφερόνη 1 α
INF α -2	Interferon a-2	Ιντερφερόνη 2 α
IP	Intraperitoneal injection	Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση
IRF	interferon regulatory factor	Ρυθμιστικός παράγοντας

		ιντερφερόνης
ISG	interferon-stimulated genes	γονίδια διεγερμένα με ιντερφερόνη
LPS	lipopolysaccharides	λιποπολυσακχαρίτες
MA	marine agar	αγάρ θαλασσινού νερού
MHC	major histocompatibility	μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας
MMC	melanomacrophage centres	μελανομακροφάγα κέντρα
Mx	myxovirus	μυξοϊός
NLR	nucleotide oligomerization domain-like receptors	υποδοχείς τύπου NOD
P40, p35	Polypeptides	Πολυπεπτιδίο 40, 35
PAMPs	pathogen associated molecular patterns	μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με παθογόνα
PCR	Polymerase chain reaction	αντίδραση πολυμεράσης
Phdp	<i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i>	<i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i>
PRRs	pattern- recognition receptors	υποδοχείς αναγνώρισης μοριακών προτύπων
qPCR	quantitative polymerase chain reaction	ποσοτική αντίδραση αλυσίδας πολυμεράσης
RAG 1- 2	recombination-activating gene	γονίδια ενεργοποίησης ανασυνδυασμού
RdRP	RNA- dependent RNA polymerase	RNA- Εξαρτώμενη RNA πολυμεράση
RLRs	RIG-I like receptors	Υποδοχείς RIG-I
RNA	Ribonucleic acid	Ριβονουκλεϊκό οξύ
RT-PCR	Reverse transcription- polymerase chain reaction	αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αντίστροφης μεταγραφής
TCBS	thiosulphate- citrate-bile salt-sucrose agar	θειοθειϊκή κιτρική χολική σακχαρόζη
TCRb	T cell receptor beta	B- κυτταρικός υποδοχέας
TfR1	transferrin receptors 1	υποδοχέας τρανοφερίνης 1
TfR2	transferrin receptors 2	υποδοχέας τρανοφερίνης 2
TGF-β	Transforming growth factor beta	Μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας βήτα
TLR	Toll-like receptors	υποδοχείς τύπου Toll-like
TNF	tumor necrosis factor	παράγοντας νέκρωσης όγκων
TS	Transferrin saturation	Τρανοφερίνη
TSA	trypti- case soy agar	άγαρ σόγιας
VER	Viral Encephalopathy and Retinopathy	ιογενής εγκεφαλοπάθεια και

		αμφιβληστροειδοπάθεια
VNN	Viral Nervous Necrosis	ιογενής νευρική νέκρωση
E.E.	European Union	Ευρωπαϊκή ένωση
H1- H4	Histone	Ιστόνες 1-4
Σ.Ε.Θ.		Σύνδεσμος Ελλήνων Θαλασσοκαλλιεργείων

Κατάλογος Εικόνων

ΕΙΚΟΝΑ 1: ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ/ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (ΓΚΡΙ ΤΕΤΡΑΓΩΝΑ) ΚΑΙ ΜΥΔΙΩΝ (ΚΥΚΛΟΣ) ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ (THEODOROU, PERDIKARIS AND FILIPPOPOULOS, 2015).....	22
ΕΙΚΟΝΑ 2: ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ, ΤΟΥ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΠΟΥ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΟΔΗΓΗΣΕΙ ΣΕ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ (NACA AND FAO, 2001).....	25
ΕΙΚΟΝΑ 3: ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ <i>L. ANGUILLARUM</i> (FRANS ET AL., 2011)	28
ΕΙΚΟΝΑ 4: ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΑΠΟ <i>L. ANGUILLARUM</i> ΣΤΟ ΛΑΥΡΑΚΙ (Α)ΕΡΥΘΡΕΣ ΚΟΙΛΙΔΕΣ ΚΑΙ ΕΞΩΦΘΑΛΜΙΑ (Β)ΔΕΡΜΑΤΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΣΤΗΝ ΟΥΡΑ (HAENEN ET AL., 2014), (C) ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ ΚΑΤΩ ΠΤΕΡΥΓΙΑ (AUSTIN AND AUSTIN, 2007).	30
ΕΙΚΟΝΑ 5: : ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ <i>PHOTOBACTERIUM DAMSELA</i> SUBSP. <i>PISCISIDA</i> ΣΕ ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ (ΜΕΓΕΘΥΝΣΗ 1250X) (ΠΗΓΗ: WWW.WIKIPEDIA.ORG JOANA REVEZ).....	33
ΕΙΚΟΝΑ 6: ΚΛΙΝΙΚΑ ΕΙΚΟΝΑ ΣΕ (Α)ΤΣΙΠΟΥΡΑ ΚΑΙ (Β)ΛΑΒΡΑΚΙ, (C-D) ΣΚΕΛΕΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΟΡΦΩΣΕΙΣ, ΑΔΙΑΦΑΝΕΙΑ ΚΕΡΑΤΟΕΙΔΟΥΣ, ΩΧΡΑ ΒΡΑΧΙΑ, ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΣΤΟ ΚΕΦΑΛΙ ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΠΛΕΥΡΕΣ ΑΥΤΩΝ. ΒΛΑΒΕΣ E-G ΤΣΙΠΟΥΡΑ, F-H ΛΑΒΡΑΚΙ: ΩΧΡΟ ΔΙΕΥΡΥΜΕΝΟ ΗΠΑΡ, ΔΙΟΓΚΩΜΕΝΗ ΧΟΛΗΔΟΧΟΣ ΚΥΣΤΗ, ΔΙΟΓΚΩΜΕΝΗ ΣΠΛΗΝΑ ΚΑΙ ΝΕΦΡΑ (ESSAM ET AL., 2016).	35
ΕΙΚΟΝΑ 7: ΚΥΡΙΑ ΕΞΩΤΕΡΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΣΗΜΑΔΙΑ ΣΤΑ ΕΞΩΤΕΡΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ. ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΕΣ ΣΤΟ ΟΥΡΑΙΟ ΠΤΕΡΥΓΙΟ (HAC), ΑΠΟΛΕΠΙΣΗ ΔΕΡΜΑΤΟΣ (D), ΔΙΑΒΡΩΣΗ ΠΤΕΡΥΓΙΩΝ (EAP), ΕΞΟΦΘΑΛΜΟΣ (E), ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟ ΗΠΑΡ (HH), ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΣΠΛΑΧΝΙΚΟΥ ΛΙΠΟΥΣ (GV), ΝΕΚΡΩΣΗ (V), ΣΠΛΗΝΟΜΕΓΑΛΙΑ (ES), ΠΕΤΕΧΕΙΕΣ (HP) (LABELLA ET AL., 2011).	35
ΕΙΚΟΝΑ 8: ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΩΝ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΤΟΥ ΙΟΥ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΝΕΚΡΩΣΗΣ (NNV) (BANDIN AND SOUTO, 2020).....	37
ΕΙΚΟΝΑ 9: : ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΗΜΑΔΙΑ VER ΜΕ ΑΝΩΜΑΛΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΚΟΛΥΜΒΗΣΗΣ ΚΑΙ ΕΛΛΕΙΨΗ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (PATEL ET AL., 2007).....	41
ΕΙΚΟΝΑ 10: ΕΚΦΥΛΙΣΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΣΤΟ ΛΑΒΡΑΚΙ ΜΕ VER/ VNN (OIE, 2016).....	41
ΕΙΚΟΝΑ 11: ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ ΤΩΝ ΤΕΛΕΟΣΤΕΩΝ (ΠΕΡΑΜΑΝΤΖΗ, 2013).....	45
ΕΙΚΟΝΑ 12: ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΔΙΚΤΥΟΥ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ (ZHU ET AL., 2013).	49

Κατάλογος πινάκων

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ & ΑΞΙΑΣ ΤΩΝ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ, 2014-2016 (ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΡΧΗ, 2017)	20
ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΩΝ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ (ΣΕΘ, 2019).....	21
ΠΙΝΑΚΑΣ 3: ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΟΝΑΔΕΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ (ΠΕΡΙΟΔΟΣ 2015-2017), ΤΑΞΙΝΟΜΗΜΕΝΑ ΑΝΑ ΠΑΘΟΓΟΝΟ, ΤΥΠΟ, ΜΟΝΑΔΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΕΙΔΟΣ. Ο ΑΡΙΘΜΟΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΕΝΘΕΣΗ ΑΝΑΦΕΡΕΤΑΙ ΣΤΗ ΜΟΝΑΔΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ (MUNIESA ET AL., 2020)	26
ΠΙΝΑΚΑΣ 4: ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΙΟΓΕΝΟΥ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΝΕΚΡΩΣΗΣ (VNN) ΤΩΝ ΡΟΝΥΜΦΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΝΕΑΡΩΝ ΙΧΘΥΩΝ (MUNDAY ET AL., 2002).....	40
ΠΙΝΑΚΑΣ 5: ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΤΙΚΟΣ ΠΙΝΑΚΑΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΟΡΙΩΝ	59
ΠΙΝΑΚΑΣ 6: ΡΥΘΜΙΣΕΙΣ ΔΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΑΝΑ ΜΕΛΕΤΗ	61

Περίληψη

Η υδατοκαλλιέργεια είναι ο ταχύτερα αναπτυσσόμενος τομέας τροφίμων στον κόσμο, με περίπου το ένα τρίτο της παγκόσμιας κατανάλωσης ψαριών να προέρχεται από ψάρια υδατοκαλλιεργειών. Η βιομηχανία υδατοκαλλιέργειας στην περιοχή της Μεσογείου έχει αναπτυχθεί εξαιρετικά τα τελευταία σχεδόν σαράντα χρόνια. Η ανάπτυξη της βιομηχανίας διευκολύνθηκε από τη γεωγραφία καθώς και τις ιδανικές συνθήκες ανάπτυξης, τις θερμοκρασίες και τις φυσικοχημικές παραμέτρους και τέλος από την εγγύτητα με βιώσιμες αγορές των προϊόντων. Η σύγχρονη βιομηχανική θαλάσσια υδατοκαλλιέργεια κατέστη δυνατή μόνο αφού ξεπεράστηκαν τεχνικές δυσκολίες στην αναπαραγωγή, την καλλιέργεια νυμφών, τις ζωτροφές και την τεχνολογία κλουβιών. Η ανάγκη για αυξημένη προμήθεια τροφίμων από υδρόβιους οργανισμούς για την κάλυψη των διογκούμενων απαιτήσεων του αυξανόμενου πληθυσμού αναγνωρίζεται καλά στην περιοχή της Μεσογείου.

Η παραγωγή και η παραγωγικότητα της θαλάσσιας υδατοκαλλιέργειας, στην Ελλάδα και την Κύπρο αποτελείται κυρίως από το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) και την τσιπούρα (*Sparus aurata*). Οι κύριες ασθένειες που έχουν καταγραφεί στο λαβράκι και τη τσιπούρα εξαιτίας βακτηριακών μολύνσεων είναι η δονακίωση που προκαλείται από διάφορα είδη *Vibrio*, η φωτοβακτηριδίαση που προκαλείται κυρίως από το *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* και δερματικές παθήσεις προκαλούμενες κυρίως από το *Tenacibaculum maritimum*. Επίσης η κύρια ασθένεια που οφείλεται σε ιό είναι η ιογενής εγκεφαλοπάθεια και αμφιβληστροειδοπάθεια ή ιογενής νευρική νέκρωση.

Η διατριβή πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού διπλώματος ειδίκευσης «Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Παράκτιων Περιοχών» του Τμήματος Ωκεανογραφίας και Θαλάσσιων Βιοεπισημών. Στην διατριβή έχει πραγματοποιηθεί βιβλιογραφική ανασκόπηση σχετικά με την ρύθμιση της έκφρασης των ανοσολογικών γονιδίων μετά από επαφή των ξενιστών με τον ιό *nodavirus* και τα δύο βακτήρια *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* και *L. anguillarum*. Παράλληλα μελετήθηκε ο τρόπος πρόκλησης ασθένειας των παραπάνω παθογόνων στο λαβράκι και τη τσιπούρα καθώς οι μέθοδοι αντιμετώπισης της κλινικής συμπτωματολογίας που έχουν καταγραφεί. Συμπερασματικά έχοντας μελετήσει διάφορες βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με τον τρόπο έκφρασης των γονιδίων και των αντιγόνων θα

μπορούσε να εξαχθεί το επακόλουθο ότι ανάλογα με το είδος και το όργανο που έχει μελετηθεί ο χρόνος έκφρασης μεταβάλλεται.

Όσον αναφορά τις ιντερλευκίνες IL-10, IL-12 p40, p35 και IL-1b έδειξαν αυξητικές εκφραστικές τάσεις μετά από μόλυνση σε λαβράκι με Phdρ στον πρόνεφρο και σπλήνα (Nascimento, Pereira, *et al.*, 2007; Pinto *et al.*, 2007) σε διαφορετικά χρονικά σημεία. Ο τρόπος έκφρασης της κυτοκίνης μετά από μόλυνση σε λαβράκια από Phdρ προκάλεσε σοβαρές βλάβες στον σπλήνα κάτι που όμως δε παρατηρήθηκε στους ιστούς μετά από μόλυνση με *L. anguillarum* όπου δεν προκλήθηκαν αλλοιώσεις. Η μόλυνση με Phdρ σε λαβράκια άλλαξε την έκφραση των γονιδίων caspase-3-8 και 9 τόσο στο πρόνεφρο όσο και στην σπλήνα με αυξομείωση των χαρακτηριστικών ανάλογα με τον χρόνο που εξετάστηκαν σε κάθε έρευνα (Reis *et al.*, 2007; Reis *et al.*, 2010). Ο τρόπος έκφρασης των ιστονών τους επηρεάστηκε μετά από μόλυνση με τα παθογόνα *V. anguillarum* και NNV τόσο στο λαβράκι όσο και στην τσιπούρα. Ωστόσο δεν επηρεάστηκε το ίδιο σε όλα τα όργανα που μελετήθηκαν, σε άλλα παρατηρήθηκε υψηλότερη έκφραση του γονιδίου και σε άλλα καμία αλλαγή μετά τη μόλυνση. Αυξητική έκφραση των ανοσορυθμιστικών μορίων που εμπλέκονται σε έμφυτες και επίκτητες αποκρίσεις: τύπος I IFN, Mx, IL-1, Cox-2; IL-10, TGF-b, TCRb, CD4, CD8a, IgM, μελετήθηκαν στα μολυσμένα λαβράκια με Nodaviridae. Η αύξηση τους παρατηρήθηκε τόσο σε διαφορετικές χρονικές περιόδους όσο και διαφορετική ποσότητα (Scapigliati *et al.*, 2010). Η μεταγραφή γονιδίων που σχετίζονται με τις αποκρίσεις IFN, CMC και Β-λεμφοκυττάρων είχε αυξητική τάση στον αμφιβληστροειδή μετά από μόλυνση NNV σε άτομα λαβρακιών σύμφωνα με την έρευνα των Valero *et al.* (2018).

Τα λαβράκια έδειξαν μεγαλύτερη ευπάθεια από ότι οι τσιπούρες κατά τη λοίμωξη προκαλώντας τη θνησιμότητα των μισών ατόμων που χρησιμοποιήθηκαν για το πείραμα μετά την μόλυνση με VNNV (Chaves-Pozo *et al.*, 2012). Η μεταγραφή Mx ήταν πάντοτε ρυθμισμένη στον εγκέφαλο και των δύο ειδών ψαριών. Ενώ η έκφραση του δεν επηρεάστηκε στον πρόνεφρο της τσιπούρας εν αντιθέση με το λαβράκι όπου αυξήθηκε η έκφραση του τις ημέρες επτά και δέκα πέντε. Η μεταγραφή γονιδίων που σχετίζονται με τις αποκρίσεις IFN, CMC και Β-λεμφοκυττάρων είχε αυξητική τάση στον αμφιβληστροειδή μετά από μόλυνση NNV σε άτομα λαβρακιών σύμφωνα με την έρευνα των Valero *et al.* (2018). Η μελέτη των Moreno *et al.* (2018) έδειξαν ότι τα RGNNV και SJNNV διέγειραν μια ολοκληρωμένη ανοσοαπόκριση, που περιλαμβάνει την επαγωγή των γονιδίων, IFN-I, ISG-12, ISG-15 και MxA, που σχετίζονται με αμφοτερες, έμφυτες και προσαρμοστικές αποκρίσεις στον εγκέφαλο και τον πρόνεφρο στα λαβράκια. Παρατηρήθηκε από τους Poisa-Beiro *et al.* (2008) η πρόωμη ενεργοποίηση του TNFα και του IL-1b στην

τσιπούρα και το λαβράκι στον πρόνεφρο ως γενικευμένη ανταπόκριση κατά της μόλυνσης από ιούς.

Στα νοσούντα λαβράκια που είχαν μολυνθεί με *L. anguillarum* δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές αλλοιώσεις στους ιστούς, ιδιαίτερα στην σπλήνα. (Mosca *et al.*, 2014). Μεταξύ των βακτηριακών παθογόνων, το *L. anguillarum* ρύθμισε σε μεγάλο βαθμό την έκφραση του NKEF-A στη τσιπούρα ενώ η έκθεση σε Phdρ στο οδήγησε σε χαμηλή ρύθμιση του NKEF-A στα HKLs του λαβρακιού (Esteban *et al.*, 2013). Τον διαφορετικό τρόπο απόκρισης τεσσάρων γονιδίων AMPP στο δέρμα, τα βράγχια, την σπλήνα και τον πρόνεφρο εξετάστηκαν σε λαβράκια που μολύνθηκαν με *L. anguillarum*. Η απόκριση των γονιδίων αυτών ήταν διαφορετική κατά τη διάρκεια του πειράματος στα διαφορετικά όργανα που εξετάστηκαν (Meloni *et al.*, 2015).

Τέλος έχουν καταγραφεί τρόποι αντιμετώπισης των παθογόνων στις υδατοκαλλιέργειες που καλλιεργούνται λαβράκια και τσιπούρες.

Λέξεις κλειδιά:

Λαβράκι, τσιπούρα, ιός, nodavirus, βακτήριο, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, *Vibrio anguillarum*, ασθένεια, ανοσολογικά γονίδια

Abstract

Aquaculture is the fastest-growing food sector in the world, with about one-third of world fish consumption coming from aquaculture fish. The aquaculture industry in the Mediterranean region has developed tremendously over the last forty years. The development of the industry was facilitated by the geography as well as the ideal development conditions, the temperatures, and the physicochemical parameters and finally in the proximity with sustainable markets of the products. Modern industrial marine aquaculture became possible only after technical difficulties in breeding, nymph farming, animal feed and cage technology were overcome. The need for an increased supply of aquatic food to meet the growing demands of the growing population is well recognized in the Mediterranean region.

The production and productivity of marine aquaculture in Greece and Cyprus consist mainly of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*). The main diseases recorded in sea bass and sea bream due to bacterial diseases are mainly due to dermatitis caused by various species of *Vibrio* and *pasteurellosis* caused by *Photobacterium damsela* and *Tenacibaculum maritimum*. In addition, the main diseases due to viruses are viral encephalopathy and retinopathy or viral nerve necrosis.

This thesis was carried out in the framework of the postgraduate specialization diploma "Integrated Coastal Zone Management" of the Department of Oceanography and Marine Life Sciences. In the dissertation, a bibliographic study has been carried out on the expression of the immune genes by the *nodavirus* virus and the two bacteria *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* and *L. anguillarum*. Knowing how these pathogens act on the immune system of the fish can, also be used, to treat their symptoms. More specifically, a literature study was conducted on the expression of the above pathogens in sea bass and sea bream, which are bred in aquaculture as well as treatment methods that have been recorded to treat the symptoms.

In conclusion, having studied various literature studies on the expression of genes and antigens, it could be concluded that studies are still being carried out on the way these pathogens act as a mutation of both antigens and acquisition of fish immunity has been observed.

Regarding interleukins IL-10, IL-12 p40, p35 and IL-1b showed increased expression tendencies after seabass infection with Phdp in the forearm and

spleen (Nascimento *et al.*, 2007; Pinto *et al.*, 2007) at different time points. The expression of cytokine after infection with seabass from Phdp caused severe damage to the spleen, which was not observed in the tissues after infection with *L. anguillarum* where no lesions were caused. Phdp infection in seabass changed the expression of caspase-3-8 and 9 genes in both the adrenal gland and spleen by varying the characteristics over time examined in each study (Reis *et al.*, 2007; Reis *et al.*, 2010). The expression of their histones was affected after infection with the pathogens *V. anguillarum* and NNV in both sea bass and sea bream. However, the same was not affected in all the organs studied, in others a higher expression of the gene was observed and in others no changes after infection. Growth expression of immunomodulatory molecules involved in innate and acquired responses: type I IFN, Mx, IL-1, Cox-2; IL-10, TGF- β , TCR β , CD4, CD8a, IgM, were studied in seabass infected with Nodaviridae. Their increase was observed both in different time periods and different quota (Scapigliati *et al.*, 2010). Gene transcription associated with IFN, CMC, and B-lymphocyte responses had an increasing tendency in the retina following NNV infection in seabass individuals, according to research by Valero *et al.* (2018).

Sea bass showed greater vulnerability than sea bream during infection causing the mortality of half of the individuals used for the experiment after VNNV infection (Chaves-Pozo *et al.*, 2012). Mx transcription has always been regulated in the brains of both species of fish. While its expression was not affected in the pre-kidney of sea bream in contrast to the sea bass where its expression increased on days seven and fifteen. Gene transcription associated with IFN, CMC, and B-cell responses had an increasing tendency in the retina after NNV infection in seabass individuals, according to research by Valero *et al.* (2018). The research by Moreno *et al.*, (2018) showed that RGNNV and SJNNV stimulated an integrated immune response, including induction of the IFN-I, ISG-12, ISG-15 and MxA genes, which are associated with both innate and adaptive responses in the brain and adrenal glands. sea bass. Observed by Poisa- Beiro *et al.* (2008) early activation of TNF α and Il-1 β in sea bream and seabass in the prerenal as a generalized response against viral infection.

In diseased seabass infected with *L. anguillarum* no serious tissue lesions were observed, especially in the spleen (Mosca *et al.*, 2014). Among the bacterial pathogens, *L. anguillarum* largely regulated NKEF-A expression in sea bream while exposure to Phdp resulted in low regulation of NKEF-A in seabass HKLs (Esteban *et al.*, 2013). The different responses of four AMPP genes in the skin, gills, spleen and kidney were examined in seabass infected with *L.*

anguillarum. The response of these genes was different during the experiment in the different organs examined (Meloni *et al.*, 2015).

Finally, ways of dealing with pathogens in aquaculture cultivated sea bass and sea bream have been recorded.

Keywords:

Sea bass, sea bream, virus, nodavirus, bacterium, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, *L. anguillarum*, disease, immune genes

1. Εισαγωγή

1.1. Υδατοκαλλιέργειες

Ο FAO ορίζει την υδατοκαλλιέργεια ως «εκτροφή υδρόβιων οργανισμών, μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνονται τα ψάρια, τα μαλάκια, τα καρκινοειδή και τα υδρόβια φυτά, σε φυσικό ή ελεγχόμενο θαλάσσιο περιβάλλον ή σε εσωτερικά νερά». Στις υδατοκαλλιέργειες μπορούν να καλλιεργηθούν τόσο μια μεγάλη ποικιλία φυτών όσο και ζώων σπονδυλωτών ή και ασπόνδυλων. Η εκτροφή των οργανισμών χρησιμοποιεί τεχνικές για την αύξηση της παραγωγής πέραν της φυσικής αύξησης.

Είναι μια διαδικασία η οποία έχει ξεκινήσει εδώ και χιλιετίες. Η εξέλιξη της γινόταν με αργό ρυθμό, καθώς η πρόοδος της εξαρτιόταν από εμπειρίες και παραδοσιακές τεχνικές που ήταν αποτέλεσμα προσωπικού κόπου, λανθασμένων ενεργειών και περιέργειας των καλλιεργητών. Η καλλιέργεια τόσο της γης όσο και των ιχθύων είναι εργασία που μπορεί και επηρεάζει είτε αρνητικά είτε θετικά το κοινωνικό, οικονομικό και πολιτιστικό περιβάλλον μιας περιοχής που ασχολείται με τους τομείς αυτούς.

Ο κυριότερος σκοπός των υδατοκαλλιεργειών είναι η άμεση και σε μεγάλη ποσότητα παροχή αλιευμάτων ώστε να ανταποκριθεί στη ζήτηση των καταναλωτών. Στις υδατοκαλλιέργειες, σύμφωνα με τους Αμπατζόπουλος *et al.* (2015), μπορούν επίσης να παραχθούν οργανισμοί που μπορεί να χρησιμοποιηθούν είτε ως τροφή για τα είδη που εκτρέφονται είτε με στόχο τη χρήση τους σε φαρμακευτικά ή βιοτεχνολογικά προϊόντα. Άξιο να αναφερθεί είναι ότι μεταξύ 2009- 2018, οι μέσες ετήσιες τιμές ζήτησης για ιχθύες και θαλασσινά από τους καταναλωτές ήταν υψηλότερες από αυτές που καταγράφηκαν για το κρέας και τα τρόφιμα (EUMOFA, 2019). Εκτιμάται από τον FAO και την Παγκόσμια Τράπεζα ότι το 65% των αλιευτικών προϊόντων μέχρι το 2030 θα προέρχεται από τις υδατοκαλλιέργειες (FAO, 2004).

Τα παγκόσμια δεδομένα υδατοκαλλιέργειας του FAO παρέχουν ποιοτικές και ποσοτικές πληροφορίες που σχετίζονται με τις ποικιλίες των ειδών που καλλιεργούνται. Η συνολική παγκόσμια ποικιλομορφία παραγωγής που έχει καταγραφεί ανέρχεται στα 622 είδη σε σχεδόν 200 χώρες (FAO, 2020a).

Ραγδαία ανάπτυξη στις υδατοκαλλιέργειες στην Ευρώπη και στη βόρεια Αμερική πραγματοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της περιόδου 1980- 1990 (Αμπατζόπουλος *et al.*, 2015). Σύμφωνα με την τελευταία αναφορά του FAO (2020) αναφέρεται ότι η παγκόσμια παραγωγή ιχθύων εκτιμάται ότι το 2018 έφτασε τους 179 εκατομμύρια τόνους. Αναφορικά σε παγκόσμιο επίπεδο η παραγωγή των ιχθύων που κυριαρχούσαν το 2018 στις υδατοκαλλιέργειες

είναι 54,3 εκατομμύρια τόνοι εκ των οποίων οι 47 εκατομμύρια τόνοι προέρχονται από εσωτερική υδατοκαλλιέργεια και οι 7,3 εκατομμύρια τόνοι από θαλάσσια και παράκτια υδατοκαλλιέργεια. Από το σύνολο της παγκόσμιας παραγωγής ιχθύων το 88% χρησιμοποιήθηκε για ανθρώπινη κατανάλωση ενώ με το υπόλοιπο ποσοστό παράχθηκε ιχθυάλευρο και ιχθυέλαιο, κα.

Οι σημαντικότερες εξελίξεις πραγματοποιήθηκαν από τα τέλη του 20^{ου} αιώνα όπου και η επιστημονική κοινότητα έδωσε μεγαλύτερη προσοχή στις υδατοκαλλιέργειες ωστόσο οι έρευνες των τελευταίων ετών εντάσσουν και τη μελέτη της επίπτωσης της κλιματικής αλλαγής στην θαλάσσια αλιεία. Η αλιεία και οι υδατοκαλλιέργειες αναμένεται να επηρεαστούν σημαντικά από την κλιματική αλλαγή, ως αποτέλεσμα των αλλαγών των αβιοτικών (θερμοκρασία, επίπεδα οξυγόνου, αλατότητα και οξύτητα) και των βιοτικών συνθηκών που επηρεάζουν τα είδη (FAO, 2018). Η ταχεία ανάπτυξη της υδατοκαλλιέργειας χωρίς σωστό σχεδιασμό και διαχείριση έχει προκαλέσει αυξανόμενη ανησυχία για τη βιωσιμότητά της. Οι πιέσεις που δέχεται το περιβάλλον από τον άνθρωπο για την κάλυψη των αναγκών του βρίσκει τις υδατοκαλλιέργειες έτοιμες ώστε να καλύψουν μελλοντικές ανάγκες με μεγάλη να είναι η εξάρτηση αυτών στο περιβάλλον και στις υπηρεσίες οικοσυστήματος όπου υποδηλώνουν εγγενή ευπάθεια στις περιβαλλοντικές επιπτώσεις (Cidad *et al.*, 2018) με έμφαση αυτή της κλιματικής αλλαγής (Reid *et al.*, 2019). Σύμφωνα με μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε από το FAO (2018) κατατάσσει τις αλλαγές που θα οδηγηθούν οι υδατοκαλλιέργειες σε ευνοϊκές, δυσμενείς ή ουδέτερες αλλαγές. Οι αρνητικές επιπτώσεις είναι αυτές που κυριαρχούν στις αναπτυσσόμενες χώρες ως αποτέλεσμα της μειωμένης παραγωγικότητας εξαιτίας των συνθηκών που θα επικρατούν. Σύμφωνα η ερευνητική κοινότητα αναγνωρίζει ότι η προσαρμοστικότητα τόσο των τεχνικών συνθηκών όσο και μη τεχνικών ενεργειών είναι ο μόνος τρόπος για την αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση της κλιματικής αλλαγής στις υδατοκαλλιέργειες.

Η κάθε γεωγραφική περιοχή ποικίλει στα είδη που καλλιεργούνται στις υδατοκαλλιέργειες. Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται σε κάθε γεωγραφική περιοχή επίσης ποικίλουν εξαιτίας των περιβαλλοντικών συνθηκών που επικρατούν, της οικονομικής και τεχνολογικής ανάπτυξης (Αμπατζόπουλος *et al.*, 2015). Επιπροσθέτως η διαφοροποίηση των τεχνικών είναι σημαντική όσον αναφορά το είδος, τη μεταποίηση και τις μορφές προϊόντων που προορίζονται για τρόφιμα ή για μη διατροφικές χρήσεις (FAO, 2020b).

Η κυρίαρχος χώρα στην υδατοκαλλιέργεια εσωτερικών νερών είναι η Κίνα, ενώ η Ελλάδα κατατάσσεται 14^η στην παγκόσμια κατάταξη της θαλάσσιας και

παράκτιας υδατοκαλλιέργειας στην παραγωγή συγκεκριμένων ειδών ιχθύων (FAO, 2020b).

1.2 Υδατοκαλλιέργειες στην Ευρώπη και στην Ελλάδα

Η ευρωπαϊκή υδατοκαλλιέργεια χαρακτηρίζεται από μεγάλη ποικιλομορφία, με κυρίαρχο είδος τον σολομό του Ατλαντικού (*Salmo salar*) αντιπροσωπεύοντας περίπου το ένα τέταρτο της αξίας της συνολικής παραγωγής υδατοκαλλιέργειας. Οι κύριες χώρες παραγωγής του σολομού στην Ε.Ε. των 28 όπου εκτράφηκαν σε κλουβιά στο Βορειοανατολικό Ατλαντικό, είναι στο Ηνωμένο Βασίλειο με 94,8% της συνολικής παραγωγής και στην Ιρλανδία με 5,0% παραγωγή (Eurostat, 2019). Άλλα οικονομικά οφέλη προκύπτουν από την καλλιέργεια του μυδιού όπου καταλαμβάνει το 4% της συνολικής παραγωγής μυδιών της Ε.Ε., με κυρίαρχες χώρες την Ιρλανδία, την Ιταλία και τη Δανία. Ο κυπρίνος αποτελεί το 8% της συνολικής παραγωγής κυπρίνων στην Ε.Ε., με τους κυριότερους παραγωγούς να είναι η Ουγγαρία, η Ρουμανία και η Λιθουανία. Η πέστροφα αποτελεί το 3% της συνολικής παραγωγής πέστροφας στην Ε.Ε., με τους κυριότερους παραγωγούς να είναι η Γαλλία και η Δανία. Τέλος το λαβράκι και η τσιπούρα αποτελεί το 1% της συνολικής παραγωγής της Ε.Ε., με τους κυριότερους παραγωγούς να είναι η Γαλλία, η Ελλάδα και η Ισπανία.

Το 2017 η παραγωγή της τσιπούρας και του λαβρακιού στην Ε.Ε. ήταν συνολικά 174.739,56 τόνοι, εκ των οποίων 95.389 τόνοι τσιπούρας και 79.349 τόνοι λαβρακιού. Η παραγωγή αυτή αντιστοιχεί κατ' εκτίμηση στο 12,9% του όγκου παραγωγής ψαριών υδατοκαλλιέργειας της Ε.Ε. για το έτος 2017.

Η ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών στην Ελλάδα ξεκίνησε στις αρχές τις δεκαετίες του 1980. Αρχική μορφή των υδατοκαλλιεργειών αποτελούσε η εκτατικό τύπου καλλιέργειες σε διάφορες λιμνοθάλασσες όπως στον Αμβρακικό Κόλπο, στο Πόρτο Λάγος, Κεραμωτή. Σήμερα πλέον, η βιομηχανία θαλάσσιας υδατοκαλλιέργειας εκπροσωπείται από 63 εταιρείες με 318 εκμεταλλεύσεις και με συνολική θαλάσσια περιοχή που καταλαμβάνει 7.8 χιλιάδες στρέμματα (ΣΕΘ, 2019). Η ανάπτυξη στη χώρα μας είναι αποτέλεσμα χρηματοδότησης προγραμμάτων από την Ε.Ε. και υποστήριξης από την Αγροτική Τράπεζα Ελλάδος μέσω προσφορών δανείων και ασφαλιστικών καλύψεων για την υποστήριξη αυτής της καινοτόμου δραστηριότητας η οποία ήταν άγνωστη ως επιχείρηση εκείνη την εποχή (Theodorou *et al.*, 2015). Η Ελλάδα αποτελεί έναν από τους μεγαλύτερους παραγωγούς του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) και της τσιπούρας (*Sparus aurata*) στον κόσμο. Επίσης η Ελλάδα αντιπροσωπεύει το 58% της παραγωγής τσιπούρας και λαβρακιού στην Ε.Ε. . Ενώ το 80% των προϊόντων που παράγονται στις υδατοκαλλιέργειες της Ελλάδος εξάγονται σε 32 χώρες. Τα δεδομένα που

έχουν συλλεχθεί από τη Στατιστική Υπηρεσία κατά κύριο λόγο δείχνουν μια αυξητική τάση τόσο στην αξία όσο και στην ποσότητα των εκτρεφόμενων ιχθύων στην επικράτεια (Πίνακας 1).

Τα κύρια είδη που εκτρέφονται είναι η τσιπούρα και το λαβράκι αποτελώντας περίπου το 97% των πωλήσεων, ενώ σε πολύ μικρότερη κλίμακα, περίπου 3%, εκτρέφονται όλα τα υπόλοιπα μεσογειακά είδη όπως, μυτάκι, φαγκρί, λυθρίνι, κρانيός, συναγρίδα κ.α. Η παραγωγή της τσιπούρας αποτέλεσε για το 2018 το 57% της παραγωγής ενώ το λαβράκι το 43%.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ & ΑΞΙΑΣ ΤΩΝ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ, 2014-2016 (ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΡΧΗ, 2017)

Εκτρεφόμενα - Καλλιεργούμενα είδη	2014		2015		2016		Μεταβολή (%) 2015/2014		Μεταβολή (%) 2016/2015	
	Ποσότητα	Αξία	Ποσότητα	Αξία	Ποσότητα	Αξία	Ποσότητα	Αξία	Ποσότητα	Αξία
Γενικό σύνολο	104.481,3	443.342,3	*108.032,1	*477.503,9	123.332,2	525.667,0	*3,4	*7,7	14,2	10,1
Ψάρια	87.761,0	436.072,3	*89.334,9	*469.968,0	99.997,8	516.660,8	*1,8	*7,8	11,9	9,9
Κέφαλοι	263,5	609,7	251,0	628,3	314,7	651,5	-4,7	3,1	25,4	3,7
Λαβράκια	32.141,5	172.921,2	*36.600,1	199.871,4	42.556,6	235.046,3	*13,9	*15,6	16,3	17,6
Μυλοκόπια	461,9	2.737,5	*475,6	*2.663,6	127,6	667,5	*3,0	*-2,7	-73,2	-74,9
Μυτάκια	530,3	2.778,0	*202,0	*1.253,3	144,6	839,1	-61,9	-59,5	-28,4	-25,4
Πέστροφες	1.611,4	5.030,4	1.758,7	*5.521,3	1.644,3	5.077,9	9,1	*9,8	-6,5	-8,0
Τσιπούρες	50.688,2	239.563,3	*47.713,3	*246.551,1	49.265,3	240.519,9	*-5,9	*2,9	3,3	-2,4
Φαγκριά	711,3	4.705,2	*781,6	*4.918,1	3.041,2	16.570,5	*9,9	*4,5	289,1	236,9
Χέλια	284,8	2.580,3	322,1	2.779,5	473,6	4.869,3	13,1	7,7	47,0	75,2
Λοιπά Ψάρια	1.068,1	5.146,7	*1.230,4	*5.909,4	2.430,0	12.418,9	*15,2	*14,8	97,5	110,2

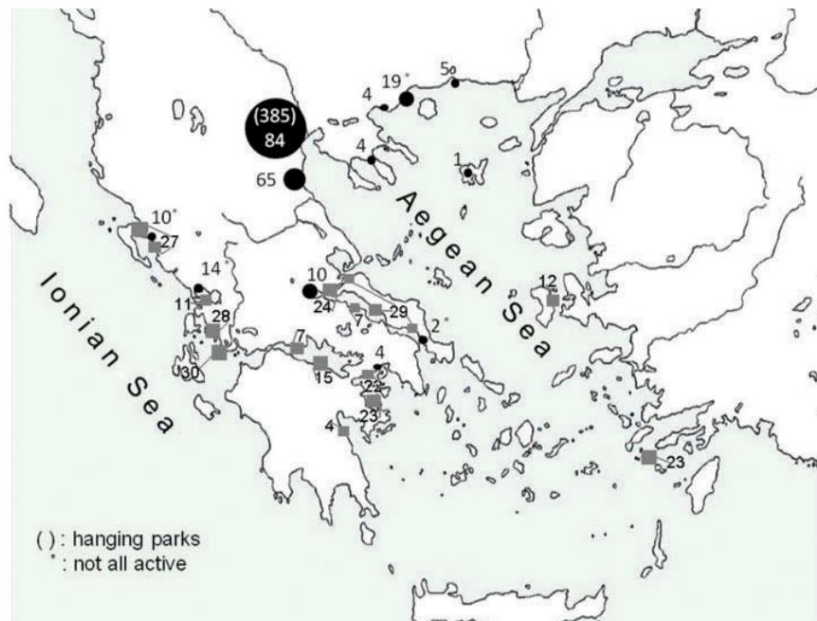
Αξιζει να αναφερθεί ότι σε τρεις Αποκεντρωμένες Διοικήσεις της Πελοποννήσου- Δυτικής Ελλάδας & Ιονίου, της Θεσσαλίας - Στερεάς Ελλάδας και τέλος του Αιγαίου (Πίνακας 2) είναι κατανεμημένο το μεγαλύτερο ποσοστό των μονάδων θαλάσσιας ιχθυοκαλλιέργειας. Η ταχεία ανάπτυξη της καλλιέργειας λαβρακιού και τσιπούρας οφείλεται κυρίως στο ότι βελτιώνεται

συνεχώς η ποιότητα στα εκκολαπτήρια και η εισαγωγή νέων συνεχώς αναπτυσσόμενων τεχνολογιών.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΩΝ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ (ΣΕΘ, 2019)

Αποκεντρωμένη Διοίκηση	Αριθμός Μονάδων	Θαλάσσια έκταση (στρ.)	Εγκεκριμένη Δυναμικότητα
<i>Αιγαίου</i>	56	1.256	15,92%
<i>Αττικής</i>	27	570	7,22%
<i>Ηλείου - Δυτικής Μακεδονίας</i>	41	753	9,54%
<i>Θεσσαλίας- Στερεάς Ελλάδας</i>	74	2.121	26,88%
<i>Κρήτης</i>	2	50	0,63%
<i>Μακεδονίας- Θρακη</i>	6	158	2,00%
<i>Πελοποννήσου- Δυτικής Ελλάδας & Ιονίου</i>	112	2.983	37,80%
<i>Γενικό άθροισμα</i>	316	7.891	100%

Στην έρευνα των Theodorou *et al.* (2015) διέκριναν πέντε κατηγορίες υδατοκαλλιεργειών σύμφωνα με τη συγκέντρωση αυτών (Εικόνα 1): αρχικά διακρίνονται οι περιοχές που είναι ιδιαίτερα ανεπτυγμένες με περιθώρια βελτίωσης στον εκσυγχρονισμό των εγκαταστάσεων και στην καλύτερη περιβαλλοντική διαχείριση. Ακολουθούν οι περιοχές που έχουν σημαντικό περιθώριο ανάπτυξης, έπειτα είναι οι απομακρυσμένες περιοχές που επίσης και αυτές μπορούν να αναπτυχθούν παραπάνω. Διέκριναν επίσης τις περιοχές με ιδιαίτερη περιβαλλοντική ευαισθησία που απαιτούν την προσαρμογή των υφιστάμενων εκμεταλλεύσεων σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά του υδάτινου περιβάλλοντος και τέλος οι περιοχές που είναι απομακρυσμένες, οριακά, ή κοντά σε μεγάλες αστικές ή τουριστικές περιοχές όπου η υδατοκαλλιέργεια δεν επιτρέπεται.



ΕΙΚΟΝΑ 1: ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ/ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (ΓΚΡΙ ΤΕΤΡΑΓΩΝΑ) ΚΑΙ ΜΥΔΙΩΝ (ΚΥΚΛΟΣ) ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ (THEODOROU, PERDIKARIS AND FILIPPOPOULOS, 2015)

1.3 Ασθένειες ιχθύων και υδατοκαλλιέργειες

Οι ασθένειες των ιχθύων είναι από τις σημαντικότερες ανησυχίες στην παραγωγή της υδατοκαλλιέργειας καθώς και της βιωσιμότητά της. Ασθένεια ορίζεται ως η οποιαδήποτε απόκλιση ή διακοπή της κανονικής δομής ή λειτουργίας οποιουδήποτε μέρους, οργάνου ή συστήματος (ή συνδυασμός αυτών) του σώματος που εκδηλώνεται από ένα χαρακτηριστικό σύνολο συμπτωμάτων και σημείων και του οποίου η αιτιολογία, η παθολογία και η πρόγνωση μπορεί να είναι γνωστά ή άγνωστα (NACA and FAO, 2001). Οι ασθένειες και τα παράσιτα παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στη θαλάσσια υδατοκαλλιέργεια, λόγω των καταστροφικών επιπτώσεων στους ιχθύες (Paperna *et al.*, 1977). Παρά την παρουσία αντιβιοτικών ευρέος φάσματος στην αγορά, κάθε χρόνο η παραγωγή της υδατοκαλλιέργειας καταγράφει μεγάλες οικονομικές απώλειες.

Οι ασθένειες των ιχθύων προκαλούνται από ένα ευρύ φάσμα μολυσματικών οργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των ιών (Athanasopoulou *et al.*, 2003; Toubanaki *et al.*, 2015), βακτηρίων (Doukas *et al.*, 1998; Olafsen, 2001; Giannenas *et al.*, 2012) και παρασίτων (Karagouni *et al.*, 2005a; Karagouni *et al.*, 2005b; Rigos and Katharios, 2010). Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η ασθένεια δεν προκαλείται απαραίτητα από έναν μεμονωμένο οργανισμό. Αντ' αυτού, μπορεί να υπάρχουν συνεργιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ δύο ή περισσότερων παθογόνων οργανισμών. Αξίζει να διευκρινιστεί ότι μερικά από τα βακτήρια που κατοικούν στο υδατικό περιβάλλον είναι απαραίτητα

για την ισορροπία της φύσης χωρίς άμεση συνέπεια στην πρόκληση ασθένειας στους ιχθύες.

Πολλές ασθένειες ιχθύων, ιδίως αυτές που προκαλούνται από βακτήρια και ιούς, μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές οικονομικές απώλειες στις υδατοκαλλιέργειες και στο εμπόριο των ιχθύων. Η εμφάνιση των ασθενειών στους ιχθύες είναι συχνότερη στην υδατοκαλλιέργεια από ότι στους ανοιχτούς ωκεανούς ή θάλασσες. Αυτό συμβαίνει εξαιτίας του συνωστισμού των εκτρεφόμενων οργανισμών, επιτρέποντας στα παθογόνα να εξαπλωθούν γρήγορα και εύκολα.

Το νερό μπορεί να διευκολύνει την εξάπλωση παραγόντων που προκαλούν ασθένειες. Οι ασθένειες μεταδίδονται από το ένα άτομο στο άλλο με έναν από τους δύο τρόπους: κάθετη μετάδοση ή οριζόντια μετάδοση. Στην κάθετη μετάδοση, τα παθογόνα μεταδίδονται από έναν ή και τους δύο γονείς στον απόγονο. Η οριζόντια μετάδοση περιλαμβάνει την εξάπλωση του παθογόνου από το ένα άτομο στο άλλο μέσω άμεσης επαφής ή μέσω του νερού.

Σε παγκόσμιο επίπεδο, μια τάση στην υδατοκαλλιέργεια είναι ότι ένα νέο παθογόνο που προκαλεί μια νέα και άγνωστη ασθένεια θα εμφανιστεί και θα εξαπλωθεί γρήγορα, και θα προκαλέσει σημαντικές απώλειες παραγωγής περίπου κάθε τρία έως πέντε χρόνια (FAO, 2020b). Οι παρασιτικές μολύνσεις στους ιχθύες θα προκαλέσει απώλειες τόσο παραγωγικές όσο και οικονομικές μέσω της άμεσης θνησιμότητας των ιχθύων, μείωση της ανάπτυξής τους, ύφεση στην αναπαραγωγή και απώλεια ενέργειας, αύξηση της ευαισθησίας των ιχθύων σε ασθένειες και υψηλό κόστος στις θεραπείες.

Το μέλλον της υδατοκαλλιέργειας θα επηρεαστεί από πολλούς διαφορετικούς παράγοντες. Τα τελευταία χρόνια, οι ερευνητές κατανόησαν τους παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν την εμφάνιση και εξάπλωση της ασθένειας ανάμεσα στα ψάρια σε μια υδατοκαλλιέργεια και οι οποίοι κατηγοριοποιήθηκαν σε τέσσερις κατηγορίες (FAO, 2019):

- I. Εμπόριο και μετακίνηση ιχθύων και προϊόντων τους.
Τα ψάρια, οι γαρίδες και άλλα υδρόβια ζώα και φυτά είναι προϊόντα διατροφής αλλά αποτελούν και αντικείμενο παγκόσμιου εμπορίου (π.χ. αυγά, προνύμφες). Αυτά μπορούν να διανεμηθούν σε διαφορετικές καταστάσεις όπως νωπά, κατεψυγμένα, αποξηραμένα, αλατισμένα και καπνιστά.
- II. Γνώση των παθογόνων και των ξενιστών τους.
Λόγω του μοναδικού υδάτινου μέσου τους, η υγεία των καλλιεργημένων πληθυσμών των υδρόβιων ζώων δεν είναι άμεσα

εμφανής. Ο μεγάλος αριθμός ειδών που εκτρέφονται καθώς και η μεγάλη ποικιλία συστημάτων υδατοκαλλιέργειας κάνει τη γνώση των νέων ασθενειών και το εύρος των ευπαθών ειδών ξενιστών συχνά να υστερεί σε σχέση με την ανάπτυξη της υδατοκαλλιέργειας. Οι βασικές γνώσεις σχετικά με το παθογόνο (π.χ. παθογένεια και οδοί μετάδοσης) και τους ξενιστές του (π.χ. είδη, μολυσμένα στάδια ζωής, ανοσία και γενετική) συχνά να είναι άγνωστα. Εφαρμόζονται ειδικές και όσο το δυνατόν γρηγορότερες διαγνωστικές δοκιμές για την ταυτοποίηση αυτών.

III. Διαχείριση της υγείας των υδρόβιων ζώων.

Η έλλειψη ή ο ανεπαρκής αριθμός και ποιότητα θεσμικών και τεχνικών ικανοτήτων περιορίζει την εφαρμογή αποτελεσματικών μέτρων βιοασφάλειας. Μερικά από τα πιο σημαντικά προβλήματα που αντιμετωπίζονται είναι: (i) τα αδύναμα ρυθμιστικά πλαίσια, η επιβολή και εφαρμογή διεθνών προτύπων και κατευθυντήριων γραμμών για βέλτιστες πρακτικές βιοασφάλειας (ii) ο αδύναμος συντονισμός μεταξύ των πολλαπλών ιδρυμάτων που συμμετέχουν στην παραγωγή υδατοκαλλιέργειας και στη διαχείριση της υγείας των υδρόβιων ζώων (όπως είναι οι αρχές αλιείας, υδατοκαλλιέργειας), (iii) η έλλειψη κατάλληλων και καλά εφαρμοσμένων στρατηγικών βιοασφάλειας σε επίπεδο υδατοκαλλιέργειας και σε εθνικό επίπεδο και (iv) η απουσία ή ανεπαρκής ικανότητα αντιμετώπισης καταστάσεων έκτακτης ανάγκης

IV. Αλλαγές οικοσυστήματος.

Τα υδάτινα οικοσυστήματα είναι δυναμικά, αλλάζουν μέσω της άμεσης ανθρώπινης δραστηριότητας (φράγματα, επέκταση της κοινότητας, ρύπανση, ναυτιλία, τουρισμός, εισαγωγές νέων ειδών, κ.λπ.) και επιδέχονται επιπτώσεις εκτός του ανθρώπου (κλιματική αλλαγή, τυφώνες κ.λπ.). Σε αυτές τις εξελισσόμενες καταστάσεις, η επίτευξη επιτυχούς υδατοκαλλιέργειας είναι πολυπαραγοντική καθώς εξαρτάται από τη φυσιολογία των ιχθύων, την εμφάνιση παθογόνων και την αλλαγή γεωγραφικών περιοχών καθώς οι περιβαλλοντικοί παράγοντες αλλάζουν.

Για να αναπτυχθεί η νόσος σε ένα σύστημα υδατοκαλλιέργειας πρέπει να συνυπάρχουν τρεις παράγοντες. Αρχικά είναι τα εκτρεφόμενα ψάρια όπου θεωρούνται οι ξενιστές, οι οργανισμοί που προκαλούν ασθένειες και τέλος οι περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν (Austin and Austin, 2007; FAO, 2018) (Εικόνα 2). Για να υπάρξει μια κατάσταση ασθένειας, θα πρέπει να υπάρχει ένα βιώσιμο παθογόνο, ένας ευπαθής ξενιστής, μια βιώσιμη οδός

μετάδοσης και περιβαλλοντικές συνθήκες που προκαλούν είτε αυξημένη μολυσματικότητα του παθογόνου είτε μειωμένη αντίσταση του ξενιστή ή συνθήκες για το παθογόνο να αναπαραχθεί σε συντριπτικούς αριθμούς. Μόλις ένα παθογόνο ή ένας παράγοντας ασθένειας εισαχθεί και καθιερωθεί στο φυσικό περιβάλλον, υπάρχει μικρή ή καθόλου πιθανότητα για θεραπεία ή εξάλειψη. Ο κίνδυνος ύπαρξης παθογόνων μικροοργανισμών στους ιχθύες επιφέρει και κινδύνους στη δημόσια υγεία.



ΕΙΚΟΝΑ 2: ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ, ΤΟΥ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΠΟΥ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΟΔΗΓΗΣΕΙ ΣΕ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ (NACA AND FAO, 2001).

Τα κλινικά συμπτώματα (εξωτερικά και εσωτερικά) που προκαλούνται από κάθε παθογόνο εξαρτώνται από το είδος ξενιστή, την ηλικία των ιχθύων και το στάδιο της νόσου. Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι μπορεί και να μην υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των εσωτερικών και εξωτερικών σημείων που να φανερώνουν μια πάθηση. Οι συστηματικές ασθένειες (όπως η φωτοβακτηριδίαση) προκαλούν εσωτερικές αλλοιώσεις στα προσβεβλημένα ψάρια, αλλά συχνά παρουσιάζουν μια υγιή εξωτερική εμφάνιση. Αντίθετα, άλλες ασθένειες, προκαλούν σημαντικές εξωτερικές βλάβες, όπως νέκρωση, εξοφθαλμία όπου και καθιστούν τους ιχθύες μη εμπορεύσιμους.

1.4 Ασθένειες ιχθύων: η περίπτωση της τσιπούρας και του λαβρακιού

Η κλίμακα της αυξημένης ζήτησης και παραγωγής έχει οδηγήσει σε συγκεκριμένα προβλήματα ασθένειας για τα κύρια καλλιεργούμενα είδη. Οι καταστάσεις των βακτηριακών παθήσεων οφείλονται κυρίως στη δονακίωση που προκαλείται από διάφορα είδη *Vibrio* και την φωτοβακτηριδίαση που προκαλείται από το Phdp (Rodgers and Furones, 1998).

Η τσιπούρα και το λαβράκι έχουν διαφορετικά προφίλ ασθενειών και το προφίλ είναι ελαφρώς διαφορετικό μεταξύ γεωγραφικών περιοχών (Muniesa *et al.*, 2020). Στο λαβράκι κυριαρχούν οι βακτηριακές λοιμώξεις (75% των περιπτώσεων) ενώ στη τσιπούρα οι παρασιτώσεις (57% των περιπτώσεων) (Πίνακας 3). Η πιο συχνή βακτηριακή λοίμωξη στο λαβράκι ήταν αυτή από *Vibrio* sp. σε όλα τα στάδια ανάπτυξης του. Η VER ήταν η μόνη ιογενής λοίμωξη που αναφέρθηκε στην παραγωγή λαβρακιού. Όσον αφορά την παραγωγή τσιπούρας, η συχνότερα αναφερόμενη ασθένεια προκλήθηκε από το παράσιτο *Sparicotyle chrysophrii*. Το «χειμερινό σύνδρομο» (winter disease) είναι επίσης μια συχνά αναφερόμενη ασθένεια που επηρεάζει την τσιπούρα κατά την περίοδο Ιανουάριου- Μαΐου. Σε μελέτη των Vendramin *et al.* (2016) με τη συμμετοχή ερευνητών από διάφορες γεωγραφικές περιοχές οι οποίοι ανέφεραν τα σημαντικότερα προβλήματα στις μεσογειακές υδατοκαλλιέργειες. Η σημαντικότερη ασθένεια η οποία αποτελεί και προτεραιότητα στην μελέτη και αντιμετώπιση είναι αυτή που αναφέρεται σε μόλυνση από VER/ VNN με στόχο τη διάκριση των υπαρχόντων τύπων μολύνσεων από Nodavirus σε σχέση με τον γονότυπο και τα είδη του ιού. Ακολούθως αναφορά έγινε και για τις ασθένειες από τα παθογόνα *Vibrio anguillarum* και Phdd όπου επίσης παραμένουν προτεραιότητα των ερευνητών παρά τη διαθεσιμότητα από εμβόλια και θεραπείες με αντιβιοτικά.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΟΝΑΔΕΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ (ΠΕΡΙΟΔΟΣ 2015-2017), ΤΑΞΙΝΟΜΗΜΕΝΑ ΑΝΑ ΠΑΘΟΓΟΝΟ, ΤΥΠΟ, ΜΟΝΑΔΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΕΙΔΟΣ. Ο ΑΡΙΘΜΟΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΕΝΘΕΣΗ ΑΝΑΦΕΡΕΤΑΙ ΣΤΗ ΜΟΝΑΔΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ (MUNIESA ET AL., 2020)

	Sea bass					Sea bream			
	On-growing	Hatchery	Pre-growing	Total sum		On-growing	Hatchery	Pre-growing	Total sum
Bacteria					Bacteria				
Vibrio sp.	68 (11)	15 (4)	12 (1)	95	Vibrio sp.		8 (1)		8
Tenacibaculosi	23 (4)	9 (2)		32	Photobacteriosis	2 (1)	1 (1)		3
Photobacteriosis	24 (2)		1 (1)	25	Tenacibaculosi		3 (1)		3
Aeromona sp.		1 (1)		1	Virus				
Virus					VER- VNN		5 (1)		5
VER- VNN	22 (4)	2 (1)		24	Lymphocystis	3 (1)	1 (1)		4
Parasite					Parasite				
Crustacean	3 (1)				Sparicotyle	70 (7)			70
Sparicotyle		3 (1)		3	Dactylogyrus	3 (1)			3
Amyloodimium	1 (1)			1	Cryptocarium		2 (1)		2
Dactylogyrus	1 (1)			1	Enteromyxum	1(1)			1
Trichodines		1 (1)		1	Other				
Other					Winter Syndrome	16 (3)			16
Not significant pathologies			3 (1)	23	Not significant pathologies		2 (1)	3 (1)	5
Malformations		4 (1)		4	Red Rash	4 (1)			4
Canibalism		2 (1)		2					

Οι λοιμώξεις που προκαλούνται από στελέχη του γένους *Vibrio*, αποτελούν από τους πιο σοβαρούς ανασταλτικούς παράγοντες των θαλάσσιων ιχθυοκαλλιεργειών. Τα στελέχη αυτά είναι *Listonella anguillarum* (μετονομασία από *Vibrio anguillarum*), *Vibrio ordalii*, *V. salmonicida* and *V. vulnificus* βιότυπος 2, *V. alginolyticus* και *V. harveyi*. Η δονακίωση μπορεί να προσβάλλει τους καλλιεργούμενους ιχθύες των αλμυρών και υφάλμυρων περιοχών.

1.5 Βακτηριακές ασθένειες

1.5.1. *L. anguillarum*

Γενικά χαρακτηριστικά

Το βακτήριο αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον Canestrini το 1893, ο οποίος ανέφερε ότι το βακτήριο *Bacterium anguillarum* ήταν υπεύθυνο για μια επιζωοτία¹ στα χέλια, *Anguilla anguilla* (L.). Η επιδημία αυτή χρονολογείται από το 1817. Το 1909 στη Βαλτική Θάλασσα περιγράφεται από τον Bergan ένα νόσημα με την ονομασία “red pest of eels”, όπου μετά από λεπτομερή περιγραφή της παθολογίας και της βακτηριολογίας του νοσήματος το *Bacterium anguillarum* μετονομάστηκε σε *Vibrio anguillarum* (Chart and Munn, 1980; Τελιούσης, 2012; Κοσμά, 2016) .

Αρχικά να αναφερθεί ότι με βάση την ανάλυση ακολουθίας 5S ριβοσωμικού RNA (rRNA), το *V. anguillarum* αναταξινομήθηκε ως *Listonella anguillarum* (MacDonell and Colwell, 1985). Ωστόσο, αναφέρεται γενικά ως *V. anguillarum* λόγω της στενής του σχέσης με άλλα είδη *Vibrio*. Στην παρούσα διπλωματική εργασία θα αναφέρεται ως *L. anguillarum*.

Ο αιτιολογικός παράγοντας της κλασικής δονακίωσης από *L. anguillarum*, διαθέτει μια ευρεία κατανομή προκαλώντας μια τυπική αιμορραγική σηψαιμία σε μια μεγάλη ποικιλία ειδών ιχθύων. Τα ψάρια που επηρεάζονται από αυτήν την πάθηση συνήθως παρουσιάζουν σημάδια στη βάση των πτερυγίων, εξοφθαλμία και αδιαφάνεια του κερατοειδούς.

Αρχικά, ο *L. anguillarum* χωρίστηκε σε δύο ξεχωριστούς βιοτόπους, τον 1 και 2. Ωστόσο, ως αποτέλεσμα των εξελίξεων στην τεχνολογία και μελέτη του DNA, ο βιολογικός τύπος *L. anguillarum* αναταξινομήθηκε ως νέο είδος, *Vibrio ordalii*, προς τιμήν του Erling J. Ordal (Schiewe *et al.*, 1981; Frans *et al.*, 2011).

¹ Επιζωοτία είναι η ευρεία και ταχεία εξάπλωση ενός λοιμώδους νοσήματος και προσβολή των ζώων ενός ή και περισσότερων ειδών σε μια μεγάλη περιοχή. Ένας άλλος ορισμός που προτιμάται πλέον είναι ο όρος επιδημία.

Στο σύνολο των 23 οροτύπων του είδους *L. anguillarum* είναι γνωστό ότι μόνο οι τρεις πρώτοι ορότυποι O1, O2, O3 σχετίζονται με τη θνησιμότητα των εκτρεφόμενων ιχθύων σε όλο τον κόσμο, ενώ μόνο δύο εκ αυτών, οι O1 και O3, είναι αυτοί που εμφανίζονται στις νύμφες του λαβρακιού (Surface *et al.*, 1995; Σπίνος, 2019). Σχετικά με τους υπόλοιπους ορότυπους θεωρούνται περιβαλλοντικά στελέχη (Toranzo *et al.*, 2005). Μια μεγαλύτερη γενετική ετερογένεια αποδείχθηκε στον ορότυπο O2 του *L. anguillarum* με 32 διαφορετικούς ριβότυπους. Θα μπορούσε να εντοπιστεί μια γενετική διαφορά μεταξύ των απομονωμένων οροτύπων O2 της Βόρειας Ευρώπης και της Νότιας Ευρώπης. Οι γενετικές έρευνες έχουν επιδημιολογική αξία για τον προσδιορισμό της πιθανής προέλευσης των μολύνσεων *L. anguillarum*, καθώς και για την εφαρμογή κατάλληλων προγραμμάτων εμβολιασμού σε μια συγκεκριμένη χώρα.

Το *L. anguillarum* ταξινομικά ανήκει στα αλόφιλα δονάκια, είναι αρνητικό κατά Gram βακτηρίδιο και ανήκει στην οικογένεια *Vibrionaceae* (Εικόνα 3). Το βακτήριο αναπτύσσεται ταχέως σε θερμοκρασίες μεταξύ 25 και 30 °C σε πλούσια θρεπτικά υλικά που περιέχουν 1,5-2% χλωριούχο νάτριο (NaCl) (Frans *et al.*, 2011) και τιμές pH 6-9 (Larsen, 1984). Σε μια διαφορετική μελέτη οι Austin and Austin (2007) αναφέρουν όταν εάν θερμοκρασία του νερού υπερβεί τους 15°C μπορεί να παρατηρηθεί κρούσμα δονακίωσης.



ΕΙΚΟΝΑ 3: ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ *L. ANGUILLARUM* (FRANS ET AL., 2011)

Πολλά είδη του γλυκού και του θαλασσινού νερού, ιχθύες, καρκινοειδή και μαλάκια επηρεάζονται από το *L. anguillarum*. Στην έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Frans *et al.* (2011) αναφέρονται πολλά από τα είδη με μεγάλη οικονομική σημασία στη βιομηχανία των υδατοκαλλιεργειών που επηρεάζονται αρνητικά από το παθογόνο αυτό και χάνουν έτσι την εμπορική τους αξία. Θεωρείται ότι είναι το πιο κοινό παθογόνο που προκαλεί θανατηφόρες ασθένειες σε περισσότερα από 50 είδη (Frans *et al.*, 2011; Σπίνος, 2019). Διανέμεται ευρέως σε περιβάλλοντα θάλασσας και εκβολών σε όλο τον

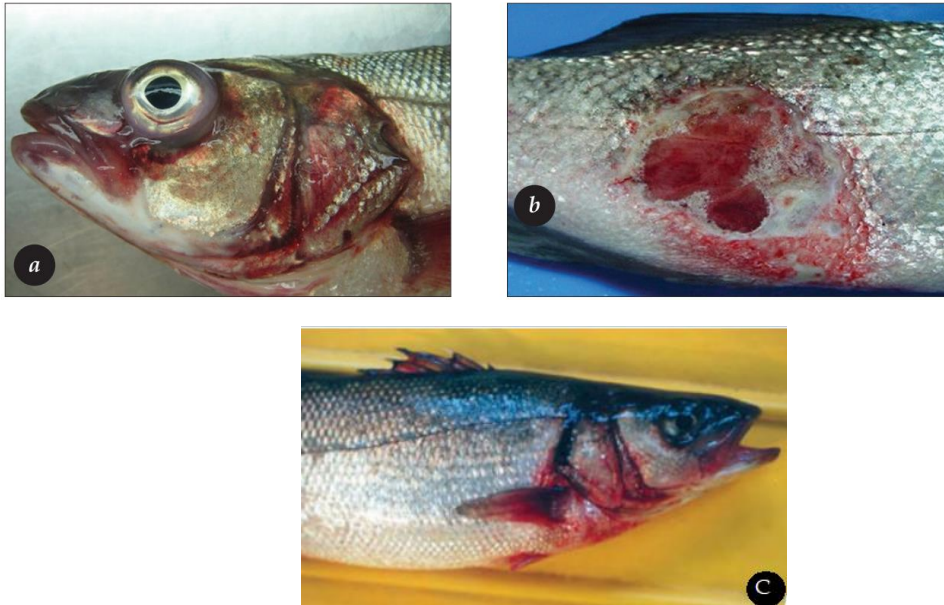
κόσμο (Toranzo *et al.*, 2005; Ma *et al.*, 2017; Gao *et al.*, 2018). Αναφορικά μερικά από τα είδη τα οποία επηρεάζονται κατά κόρον είναι ο σολομός *Salmo salar* (L.), η ιριδιζουσα πέστροφα *Oncorhynchus mykiss*, το καλκάνι *Psetta maxima* (L.), το λαβράκι *Dicentrarchus labrax* και τέλος η τσιπούρα *Sparus aurata* (L.). Ενώ αναφέρεται επίσης ότι τα δίθυρα μαλάκια και τα μαλακόστρακα επηρεάζονται επίσης περιστασιακά από το βακτήριο (Aguirre-Guzmán *et al.*, 2004; Paillard *et al.*; Frans *et al.*, 2011). Αναφορά έχει γίνει ότι η μηνιαία θνησιμότητα ποικίλει από 1% στους μεγάλους ιχθύες (1 κιλό) ως 30% στα μεσαίου μεγέθους (150 γραμμάρια), χωρίς να έχει πραγματοποιηθεί η σωστή θεραπεία. Κρούσματα από δονακίωση επίσης παρατηρήθηκαν και στα εκκολαπτήρια νεαρών ιχθύων (Frans *et al.*, 2011; Haenen *et al.*, 2014).

Η σχετική πυκνότητα του *L. anguillarum* στο φυσικό περιβάλλον φτάνει σε υψηλά επίπεδα το καλοκαίρι, που συμπίπτει με την αύξηση της νόσου στους ιχθύες (Guérin- Faublée *et al.*, 1995)

Συμπτώματα δονακίωσης

Το *L. anguillarum* είναι ο αιτιολογικός παράγοντας μιας εξαιρετικά θανατηφόρου αιμορραγικής σηψαιμίας. Με βάση τα κλινικά συμπτώματα παρατηρείται δερματίτιδα η οποία περιλαμβάνει απώλεια βάρους, λήθαργο, ερυθρές κηλίδες στις κοιλιακές και πλευρικές περιοχές των ιχθύων, πρησμένες και σκουρόχρωμες δερματικές βλάβες (Εικόνα 4). Επίσης έχει παρατηρηθεί μόλυνση των οφθαλμών με αποτέλεσμα στην αρχή την αδιαφάνεια που αργότερα επιδεινώνεται σε έλκος και εξοφθαλμία.

Αναφέρονται δύο οδοί που μπορεί ένας ιχθύς να μολυνθεί. Η πρώτη οδός υποστηρίζει ότι η λοίμωξη ξεκινάει από την μεταβολή της ισορροπίας μεταξύ ξενιστή και βακτηριδίου. Το βακτήριο *L. anguillarum* υπάρχει φυσιολογικά στη μικροχλωρίδα του εντέρου αλλά η εξασθένιση του αμυντικού συστήματος του ξενιστή είναι πρόσφορο έδαφος για την ανάπτυξη της ασθένειας (Τελιούσης, 2012). Η δεύτερη οδός από την οποία μπορεί να μολυνθεί ο ιχθύς είναι με την πρόσληψη του παθογόνου από το στόμα το οποίο μπορεί να προέρχεται από μολυσμένο νερό ή τροφή. Στη συνέχεια, το *L. anguillarum* κινείται διαμέσου του εντερικού επιθηλίου με ενδοκυττάρωση ακολουθούμενο από την απελευθέρωση των βακτηρίων στο πλάσμα. Στη συνέχεια, το παθογόνο εισέρχεται στη ροή του αίματος, με αποτέλεσμα τη σηψαιμία ή τη μόλυνση διαφόρων εσωτερικών οργάνων, όπως το συκώτι, η σπλήνα και τα νεφρά. Εντούτοις έχει αναφερθεί και ότι η μόλυνση μπορεί να επιτευχθεί και μέσω της διείσδυσης του παθογόνου από το δέρμα (Frans *et al.*, 2011; Haenen *et al.*, 2014).



ΕΙΚΟΝΑ 4: ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΑΠΟ *L. ANGUILLARUM* ΣΤΟ ΛΑΥΡΑΚΙ (Α) ΕΡΥΘΡΕΣ ΚΟΙΛΙΔΕΣ ΚΑΙ ΕΞΟΦΘΑΛΜΙΑ (Β) ΔΕΡΜΑΤΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΣΤΗΝ ΟΥΡΑ (HAENEN ET AL., 2014), (C) ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ ΚΑΤΩ ΠΤΕΡΥΓΙΑ (AUSTIN AND AUSTIN, 2007).

Τα βακτηριακά παθογόνα εκτίθενται συχνά σε μια ποικιλία στρες τόσο στο φυσικό τους περιβάλλον όσο και στο σύστημα του ξενιστή τους, τα οποία μπορεί να οδηγήσουν σε προσαρμοστικότητα και αυξημένη μολυσματικότητα και αντίσταση. Σημαντικές συνιστώσες που συντελούν στην εμφάνιση της νόσου είναι το χημικό στρες που προκαλείται από την ποιότητα νερού, τη ρύπανση, το βιολογικό στρες από την ιχθυοπυκνότητα εκτροφής, την παρουσία άλλων μικροοργανισμών και το σωματικό στρες που αφορά κυρίως τη θερμοκρασία του νερού (Τελιούσης, 2012). Επιπλέον, η μελέτη των Crisafi *et al.* (2014) έδειξε ότι το περιβαλλοντικό στρες μπορεί να επηρεάσει την έκφραση των γονιδίων μολυσματικότητας του παθογόνου, την ανοχή του στο στρες και την ικανότητα του να προκαλέσει μόλυνση.

Διάγνωση

Η διάγνωση επιτυγχάνεται με την απομόνωση, την ταυτοποίηση, και τον εντοπισμό του παθογόνου *L. anguillarum*. Αρκετές είναι οι έρευνες που έχουν διεξαχθεί για τον τρόπο που εντοπίζεται το παθογόνο στους ιχθύες. Αναφορικά μερικές από τις έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί για την απομόνωση του παθογόνου αφορούν την δοκιμή ευαισθησίας στον παράγοντα O/129 (Buvoli *et al.*, 1987; Pazos *et al.*, 1993), τον υβριδισμό με το 16S rRNA (Rehnstam *et al.*, 1989), η οποία πραγματοποιήθηκε με PCR (Altinok and Kurt, 2003; Hong *et al.*, 2007), με αναγωγή νιτρικών και παρουσία οξειδάσης, ανίχνευση της πυκνότητάς του παθογόνου στους ιστούς. Βασικό ζήτημα είναι και η κατανόηση του τρόπου με τον οποίο το παθογόνο

μολύνει υγιή ψάρια και η διερεύνηση του βακτηρίου που εισέρχεται μέσω των οδών εισόδου και εξαπλώνεται στους ιστούς και τα όργανα των ψαριών (Bergh *et al.*, 2001). Οι μέθοδοι αντικαθίστανται ή συμπληρώνονται όλο και περισσότερο με νέες τεχνικές.

Για την λήψη των καταλληλότερων μέτρων ελέγχου και ελαχιστοποίηση των οικονομικών απωλειών πρέπει η διάγνωση να πραγματοποιείται ταχεία, με ακρίβεια και αξιοπιστία.

Πρόληψη- Αντιμετώπιση

Τα αντιβιοτικά για πολλά χρόνια, χρησιμοποιούνταν εκτενώς στη θεραπεία βακτηριακών λοιμώξεων. Μια σειρά από μέτρα για την αντιμετώπιση του παθογόνου και την πρόληψη είναι με τη χρήση των αντιμικροβιακών φλουμεκίνη, οι οξυτετρακυκλίνες, οι σουλφοναμίδες και η φλορφενικόλη και η εφαρμογή προβιοτικών, ο εμβολιασμός, η ανοσοδιέγερση και οι αναστολείς ανίχνευσης απαρτίας. Η αναστολή ανίχνευσης απαρτίας σε βακτηριακά παθογόνα έχει προταθεί πρόσφατα ως μια νέα στρατηγική για χρήση στις υδατοκαλλιέργειες (Defoirdt *et al.*, 2005). Πρόκειται για μια διαδικασία που περιλαμβάνει βακτηριακή επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων (cell-to cell). Τα βακτήρια που είναι ικανά να αποικοδομήσουν μόρια ανίχνευσης απαρτίας μπορεί να είναι χρήσιμα ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου στην υδατοκαλλιέργεια (Romero *et al.*, 2012). Επίσης έχει αναφερθεί ότι η θεραπεία της δονακίωσης μπορεί να αντιμετωπιστεί στο αρχικό στάδιο της νόσου με φαρμακευτική αγωγή η οποία συμπεριλαμβάνεται στη τροφή, δεδομένου ότι τα ψάρια εξακολουθούν να έχουν τη δυνατότητα κατάποσης (Borrego *et al.*, 2017).

Σχετικά με την χορήγηση των εμβολίων μπορεί να πραγματοποιηθεί με τρεις τρόπους, με έγχυση, συνήθως ip, με dip και τέλος ενσωματωμένα στη τροφή των ψαριών (Κοσμά, 2016; Σπίνος, 2019). Η εμβάπτιση κυρίως χρησιμοποιείται για την ανοσοποίηση των νεαρών ψαριών (Angelidis, 2006). Το Vibrogen- 2 είναι ένα εμπορικό πολυδύναμο εμβόλιο εμβάπτισης που περιέχει αδρανοποιημένες με φορμαλίνη καλλιέργειες οροτύπων *L. anguillarum* O1 και O2.

1.5.2. *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*- Φωτοβακτηρίαση

Γενικά χαρακτηριστικά

Η φωτοβακτηρίωση των ψαριών είναι μια σηψαιμία που προκαλείται από το Gram αρνητικό, με σχήμα κοντό ραβδοειδές, αλόφιλο βακτήριο *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* (Εικόνα 5).

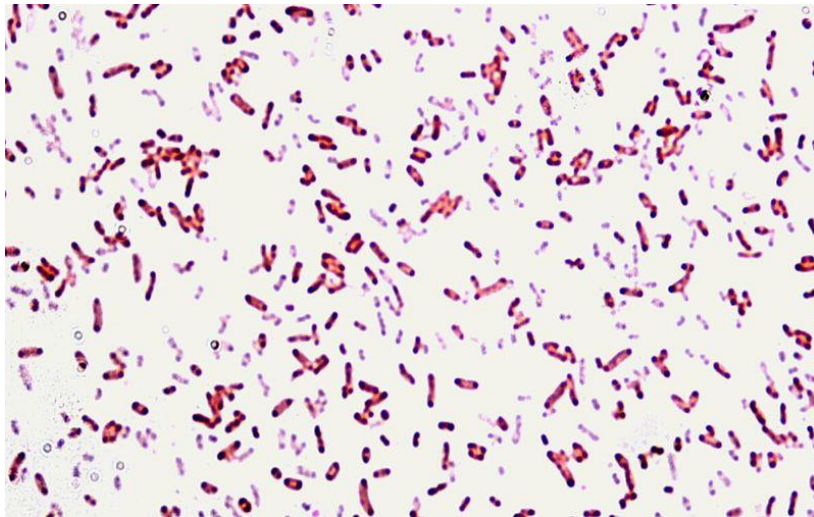
Χρειάζεται μια ιστορική ανάλυση για να γίνει κατανοητή η τρέχουσα ταξινόμηση τοποθέτησή του, καθώς και οι αλλαγές στην ονοματολογία του κατά τις τελευταίες δεκαετίες. Το 1971 απομονώθηκε ένα «unnamed marine *Vibrio*» ως αιτιολογικός παράγοντας μιας ανθρώπινης μολυσματικής περίπτωσης (Morris *et al.*, 1982). Αργότερα, ο ίδιος οργανισμός απομονώθηκε από το δέρμα του *Chromis punctipinnis* και το όνομα *Vibrio damsela* δόθηκε για πρώτη φορά (Love *et al.*, 1981). Περαιτέρω γενετικές και φαινοτυπικές μελέτες από τους Smith *et al.* (1991) έδειξαν ότι τα στελέχη του *V. damsela* είχαν στενή σχέση με είδη του γένους *Photobacterium* και προτάθηκε το όνομα *Photobacterium damsela*. Το 1994 οι Ruimy *et al.* (1994) διενήργησαν διεξοδική μελέτη της οικογένειας Vibrionaceae και των σχετικών οργανισμών μέσω αλληλούχισης του 16S rRNA και υβριδοποίησης DNA-DNA. Έναν χρόνο αργότερα μελετήθηκαν τα δεδομένα υβριδοποίησης του DNA-DNA και η ανάλυση της αλληλουχίας 16S rRNA έδειξαν ότι το *Photobacterium damsela* συσχετίστηκε στενά με ένα παθογόνο ιχθύος που παλαιότερα ονομαζόταν *Pasteurella piscicida*. Ως εκ τούτου, αυτοί οι δύο οργανισμοί ανατέθηκαν στο ίδιο είδος, *Photobacterium damsela*, με κατηγορία υποειδών, *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* and *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* αντίστοιχα (Gauthier *et al.*, 1995). Η τελευταία αλλαγή που πραγματοποιήθηκε στο όνομα του παθογόνου ήταν στο γένος του από τους Trüper και Lanfranco (1997), όπου διορθώθηκε τελικά σε *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*.

Στην Ιαπωνία υπήρξε μια από τις σημαντικότερες ασθένειες η οποία πρόσβαλλε το *S. quinqueradiata* ενώ από το 1990 παρουσιάστηκε στις μεσογειακές χώρες τις Ευρώπης και προκάλεσε οικονομικές απώλειες στα καλλιεργούμενα είδη της τσιπούρας και του λαβρακιού. Σοβαρή θνησιμότητα προκαλείται όταν η θερμοκρασία του νερού υπερβαίνει τους 18–20°C. Κάτω από αυτήν τη θερμοκρασία, τα ψάρια μπορούν να φέρουν το παθογόνο ως υποκλινική λοίμωξη για μεγάλα χρονικά διαστήματα (Magariños *et al.*, 2001; Toranzo, Magariños and Romalde, 2005).

Το Phdpr θεωρείται μία από τις πιο επικίνδυνες βακτηριακές ασθένειες στις υδατοκαλλιέργειες παγκοσμίως λόγω ότι μπορεί να προσβάλλει ένα πολύ μεγάλο εύρος ξενιστών, επίσης εξαιτίας του υψηλού ποσοστού θνησιμότητας και τέλος λόγω της πανταχού παρούσας κατανομής. Το παθογόνο είναι σε θέση να μολύνει μια μεγάλη ποικιλία θαλάσσιων ψαριών, όπως την τσιπούρα *Sparus aurata*, το λαβρακιού *Dicentrarchus labrax*, την γλώσσα *Solea senegalensis* και *Solea solea*, την πέρκας *Morone americana* (Romalde, 2002; Ho *et al.*, 2011). Αυτή η ασθένεια περιεγράφηκε για πρώτη φορά σε άγριους πληθυσμούς λευκής πέρκας *Morone americanus* το 1963, όπου εμφανίστηκε μια μαζική επιζωοτία στη περιοχή Chesapeake των ΗΠΑ.

Το 1990 στην περιοχή Ría de Arosa, στη βορειοδυτική Ισπανία, εμφανίστηκαν κρούσματα φωτοβακτηριδίασης σε καλλιέργεια νεαρών ατόμων τσιπούρας και λαβρακιού (Toranzo *et al.*, 1991). Σύμφωνα με τους Magariños *et al.* (1997) σχεδόν την ίδια περίοδο εμφανίστηκαν εστίες του παθογόνου και στη νοτιοδυτική Ισπανία, τη Γαλλία (Balebona *et al.*, 1992), την Ιταλία, το Ισραήλ, την Ελλάδα (Bakoroulos *et al.*, 1995) και την Πορτογαλία, κυρίως σε πληθυσμούς τσιπούρας και λαβρακιού.

Εστίες φωτοβακτηριδίασης μπορεί να εμφανιστούν σε θερμοκρασιακό εύρος 14-29 °C και σε εύρος τιμών αλατότητας 3-21 ppt, ωστόσο το βέλτιστο εύρος για να εμφανιστεί οξεία νόσος είναι μεταξύ των τιμών θερμοκρασίας 18-25 °C και αλατότητας 5 έως 15 ppt. Ως βακτήριο το Phdρ είναι φυσικό βακτήριο του θαλασσινού νερού και ιζημάτων.



ΕΙΚΟΝΑ 5: : ΟΠΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ PHOTOBACTERIUM DAMSELA SUBSP. PISCICIDA ΣΕ ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ (ΜΕΓΕΘΥΝΣΗ 1250x) (ΠΗΓΗ: WWW.WIKIPEDIA.ORG JOANA REVEZ).

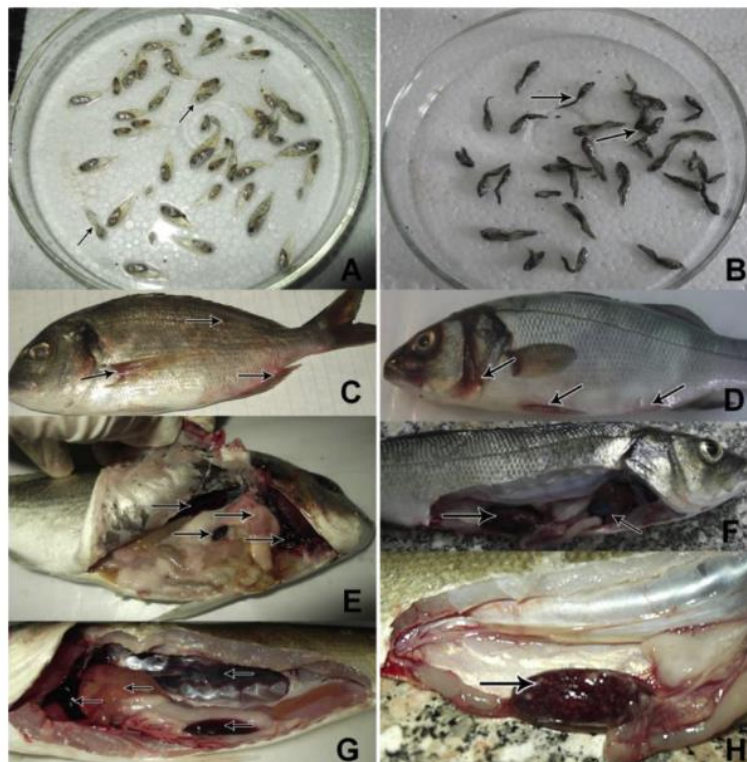
Η ασθένεια έχει καταγραφεί από το τέλος της άνοιξης μέχρι τα μέσα φθινοπώρου όταν οι θερμοκρασίες του νερού κυμαίνονται μεταξύ 18-29°C (Bullock, 1978; Σπίνος, 2019). Ο οργανισμός μεταδίδεται μέσω του νερού και πολύ ευαίσθητα είδη μπορεί να μολυνθούν μέσω αυτής της οδού.

Το αιτιολογικό βακτήριο έχει αναλυθεί εκτενώς τόσο φαινοτυπικά όσο και αντιγονικά χρησιμοποιώντας διάφορες συνθήκες *in vitro* καλλιέργειας και ανοσολογικούς ανιχνευτές (Magarinos *et al.*, 1992; Bakoroulos *et al.*, 1997a; Bakoroulos *et al.*, 1997b). Η παθογένεια του βακτηρίου Phdρ σχετίζεται με το AIP56, μια αποικογενή εξωτοξίνη που ανιχνεύεται μόνο σε μολυσματικά στελέχη, που προκαλεί απόπτωση στα μακροφάγα του λαβρακιού (do Vale *et al.*, 2005).

Κλινική εικόνα και συμπτώματα

Η κλινική εικόνα στα ψάρια με φωτοβακτηρίωση ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό ανάλογα με το είδος που προσβάλλεται. Τα τυπικά συμπτώματα των ιχθύων που έχουν μολυνθεί από *Rhdp* είναι η μειωμένη όρεξη, οξεία σηψαιμία, κολυμπούν αργά κοντά στην επιφάνεια και τελικά βυθίζονται στον πυθμένα πριν από το θάνατο. Επίσης έχει εμφανιστεί και απώλεια ισορροπίας ενώ η διαφορετική ηλικία των ιχθύων που έχουν μολυνθεί και μελετηθεί έχει ως αποτέλεσμα την ποικιλία των ευαισθησιών ως προς την ασθένεια. Τα εξωτερικά σημάδια είναι παρόμοια με αυτά που περιεγράφηκαν προηγουμένως για τα κλινικά συμπτώματα της δονακίωσης σε πολλά είδη ιχθύων (Magarinos *et al.*, 1992; Balebona *et al.*, 1998)

Στην Εικόνα 6 οι Essam *et al.* (2016) κατέγραψαν τα κλινικά συμπτώματα στην τσιπούρα και το λαβράκι τα οποία είχαν προσβληθεί από *Rhdp*. Συγκεκριμένα στην έρευνα τους αναφέρουν ότι παρατήρησαν ότι οι ιχθύες είχαν μειωμένη όρεξη, ήταν ληθαργικοί, χαρακτηρίζονταν από αδιαφάνεια του κερατοειδούς, σκούρες κηλίδες στο δέρμα, αλλοιώσεις στο δέρμα του κεφαλιού και στις δύο πλευρές του σώματος. Εσωτερικά, τα κυρίαρχα σημεία λοίμωξης στη μολυσμένη τσιπούρα και το λαβράκι είναι το διογκωμένο συκώτι, η χοληδόχος κύστη, η διόγκωση της σπλήνας και του νεφρού, η αιμορραγία γύρω από την καρδιά και σε μερικές περιπτώσεις πυώδες υλικό στις κοιλιακές κοιλότητες.



ΕΙΚΟΝΑ 6: ΚΛΙΝΙΚΑ ΕΙΚΟΝΑ ΣΕ (Α)ΤΣΙΠΟΥΡΑ ΚΑΙ (Β)ΛΑΒΡΑΚΙ, (C-D) ΣΚΕΛΕΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΟΡΦΩΣΕΙΣ, ΑΔΙΑΦΑΝΕΙΑ ΚΕΡΑΤΟΕΙΔΟΥΣ, ΩΧΡΑ ΒΡΑΧΙΑ, ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΣΤΟ ΚΕΦΑΛΙ ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΠΛΕΥΡΕΣ ΑΥΤΩΝ. ΒΛΑΒΕΣ Ε-Γ ΤΣΙΠΟΥΡΑ, F-H ΛΑΒΡΑΚΙ: ΩΧΡΟ ΔΙΕΥΡΥΜΕΝΟ ΗΠΑΡ, ΔΙΟΓΚΩΜΕΝΗ ΧΟΛΗΔΟΧΟΣ ΚΥΣΤΗ, ΔΙΟΓΚΩΜΕΝΗ ΣΠΛΗΝΑ ΚΑΙ ΝΕΦΡΑ (ESSAM ET AL., 2016).

Οι Labella *et al.* (2011) παρατήρησαν επιπλέον λιπαρό ήπαρ, κοιλιακό οίδημα από ασκίτη και σπληνομεγαλία (Εικόνα 7).



ΕΙΚΟΝΑ 7: ΚΥΡΙΑ ΕΞΩΤΕΡΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΣΗΜΑΔΙΑ ΣΤΑ ΕΞΩΤΕΡΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ. ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΕΣ ΣΤΟ ΟΥΡΑΙΟ ΠΤΕΡΥΓΙΟ (HAC), ΑΠΟΛΕΠΙΣΗ ΔΕΡΜΑΤΟΣ (D), ΔΙΑΒΡΩΣΗ ΠΤΕΡΥΓΙΩΝ (EAP), ΕΞΟΦΘΑΛΜΟΣ (Ε), ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟ ΗΠΑΡ (ΗΗ), ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΣΠΛΑΧΝΙΚΟΥ ΛΙΠΟΥΣ (GV), ΝΕΚΡΩΣΗ (V), ΣΠΛΗΝΟΜΕΓΑΛΙΑ (ES), ΠΙΤΕΧΕΙΕΣ (HP) (LABELLA ET AL., 2011).

Διάγνωση

Η έγκαιρη διάγνωση και η συνεχής παρακολούθηση του περιβάλλοντος της ιχθυοκαλλιέργειας είναι σημαντικά για τη σωστή διαχείριση και τον αποτελεσματικό έλεγχο όχι μόνο σε κλινικά μολυσμένα ζώα, αλλά και στους γεννήτορες και τον γόνο, κατά την διάρκεια των μεταφορών τους (Magariños *et al.*, 1994).

Η αναγνώριση του Phdρ παραμένει μια σημαντική διαγνωστική πρόκληση καθώς τα δύο υποείδη (*Photobacterium damsela* subsp. *damsela* και *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*), μοιράζονται σημαντικούς επίτοπους και έχουν την ίδια ακολουθία 16S rRNA (Osorio *et al.*, 1999; Labella *et al.*, 2006; Carraro *et al.*, 2017). Η κύρια απομόνωση του Phdρ γίνεται από τα εσωτερικά όργανα ιχθύων που νοσούν όπως νεφροί, ήπαρ και σπλήνας χρησιμοποιώντας υλικά καλλιέργειας όπως TSA, BHI και BAB (5% αίμα προβάτου), TCBS που συμπληρώνονται με 1-2% NaCl ή χρησιμοποιώντας

θαλάσσιο άγαρ (Romalde, 2002; Ruixuan *et al.*, 2013; Abu-Elala, Abd- Elsalam and Marzouk, 2015; Σπίνος, 2019).

Οι Martins *et al.* (2015) ανέπτυξαν PCR σε πραγματικό χρόνο για τον ποσοτικό προσδιορισμό των υποειδών του του *P. damsela* (*piscicida* και *damsela*) σε δείγματα νερού, με δεύτερο βήμα βασισμένο σε PCR-DGGE θραυσμάτων του γονιδίου *toxR*. Στη μελέτη των Carraro *et al.* (2017) ερεύνησαν τον προσδιορισμό με PCR σε πραγματικό χρόνο με ένα βήμα το οποίο θα είναι υψηλής ευαισθησίας για ταυτόχρονη ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των *P. damsela* στην αλληλουχία του γονιδίου *bamB*. Η δοκιμή έγινε σε εργαστηριακά δείγματα καθώς και σε πειραματικά μολυσμένα δείγματα ιστού τσιπούρας.

Πρόληψη- Αντιμετώπιση

Τα αντιβιοτικά ήταν η πρώτη γραμμή άμυνας στην υδατοκαλλιέργεια ψαριών για τον έλεγχο των επιδημιών φωτοβακτηρίωσης, αλλά μετά από λίγα μόνο χρόνια τα παθογόνα απέκτησαν αντίσταση σε διάφορα αντιβιοτικά, όπως καναμυκίνη, σουλφοναμίδη, τετρακυκλίνη, αμπικιλίνη, χλωραμφενικόλη, φλορφενικόλη και ερυθρομυκίνη (Andreoni *et al.*, 2014). Για αυτόν τον λόγο οι έρευνες έχουν στραφεί στην ανάπτυξη αποτελεσματικών εμβολίων για την πρόληψη της φωτοβακτηρίωσης και τη μείωση της χρήσης αντιβιοτικών. Τα εμβόλια βασίζονται σε αδρανοποιημένα προϊόντα που περιέχουν κυτταρικά (βακτήρια αδρανοποιημένα θερμικά ή με φορμόλη) και διαλυτά αντιγόνα (LPS και ριβοσωμικά σκευάσματα) για εμβάπτιση και ένεση. Ένα εμπορικά διαθέσιμο εμβόλιο βακτηρίων εμπλουτισμένο με ECP (Andreoni *et al.*, 2014) παρείχε μικτά αποτελέσματα προστασίας που κυμαίνονται από καλά στην Ισπανία, την Τουρκία και την Ελλάδα έως φτωχά στην Ιταλία (Fukuda *et al.*, 1985; Hanif *et al.*, 2005; Håstein, Gudding *et al.*, 2005).

Έχουν δοκιμαστεί και άλλα εμπορικά διδύναμα εμβόλια (Bakoroulos *et al.*, 2015) με ελαιώδες ανοσοενισχυτικό ή υδατικά που περιέχουν αδρανοποιημένες καλλιέργειες των βακτηρίων *V. anguillarum* (ορότυπος I) και Phdρ που παρείχαν ικανοποιητική προστασία.

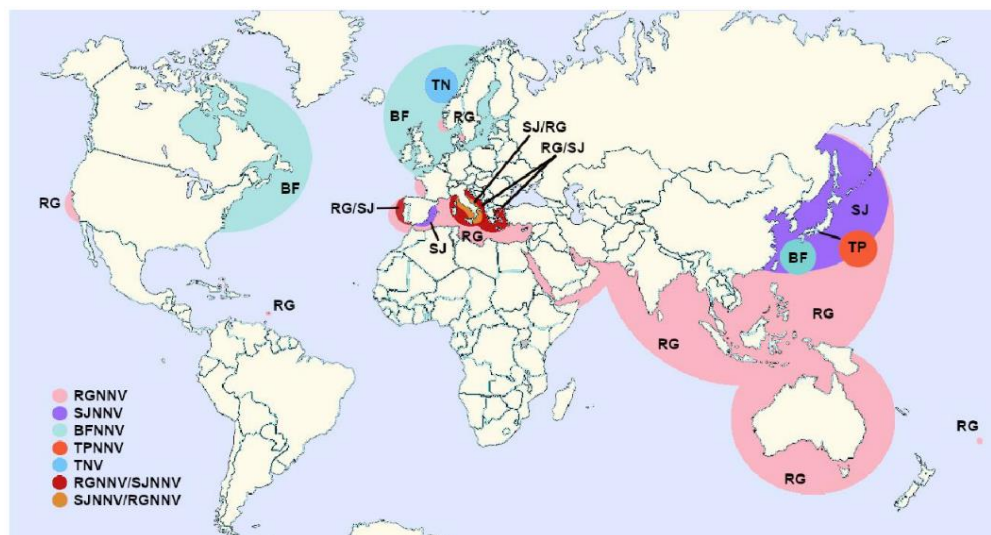
1.6 Ιογενής ασθένεια

1.6.1. Ιογενής Εγκεφαλοπάθεια- Αμφιβληστροειδοπάθεια

Η VER γνωστή και ως VNN, είναι μια σοβαρή νευροπαθολογική ασθένεια που προκαλείται από ιούς RNA που ανήκουν στην οικογένεια Nodaviridae, το γένος Betanodavirus.

Το 1987 έγινε η πρώτη συνοπτική περιγραφή των αλλοιώσεων που προκαλούνται από τη νόσο. Το 1988 έγινε μια λεπτομερής περιγραφή και την ίδια χρονιά αναφέρθηκε η ίδια παθολογική κατάσταση στο ευρωπαϊκό λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) (Glazebrook *et al.*, 1990). Το 1988 επίσης εμφανίστηκαν εστίες σε πρώιμο στάδιο των προνυμφών στα εκκολαπτήρια λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) στη Μαρτινίκα και στη Γαλλική Μεσόγειο (Breuil *et al.*, 1991). Θεωρείται μια σοβαρή ασθένεια, η οποία προσβάλλει περισσότερα από 50 είδη ιχθύων, τόσο άγρια όσο και εκτρεφόμενα, όπως το λαβράκι, τη σφυρίδα, τη τσιπούρα, τα πλευρονηκτόμορφα κ.λπ. (ΟΙΕ, 2016). Η ασθένεια εμφανίζει εποχιακή έξαρση, με τις περισσότερες εστίες κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, λόγω των υψηλότερων θερμοκρασιών του νερού, που ευνοούν την αντιγραφή του ιού.

Ο Betanoda-ίος είναι γυμνός, εικοσαεδρικός ιός 25-30 nm, που αποτελείται από δυο θετικά μονόκλινα θραύσματα RNA, RNA1 και ο RNA2, τα οποία καλύπτονται αλλά δεν είναι πολυαδενυλιωμένα. Οι Betanoda-ιοί έχουν μεγάλη γεωγραφική κατανομή (Εικόνα 8) ενώ παρουσιάζουν διαφορετικούς γενότυπους οι οποίοι σχετίζονται με τη θερμοανθεκτικότητα τους. Βάσει φυλογενετικής ανάλυσης της μεταβλητής περιοχής T4 του RNA1, οι Betanoda-ιοί κατηγοριοποιήθηκαν σε τέσσερις κύριους γενότυπους: SJNNV, TPNNV, BFNNV και RGNNV (Nishizawa *et al.*, 1997; ΟΙΕ, 2016).



ΕΙΚΟΝΑ 8: ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΩΝ ΓΕΝΟΤΥΠΩΝ ΤΟΥ ΙΟΥ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΝΕΚΡΩΣΗΣ (NNV) (BANDIN AND SOUTO, 2020)

Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης των ιών SJNNV είναι 20-25°C, για τους TPNNV 20 °C, για τους BFNNV 15-20 °C, και τέλος για τους RGNNV 25-30 °C (Iwamoto *et al.*, 2000; Σπίνος, 2019). Οι γενότυποι BFNNV και TPNNV

ονομάζονται επίσης «cold water betanodaviruses» (ψυχρόφιλοι), δεδομένης της μειωμένης θερμοκρασίας στην οποία αναπαράγονται, που είναι 15-20 °C. Οι γονότυποι SJNNV και RGNNV είναι επίσης γνωστοί ως «warm water betanodavirus» (θερμόφιλοι) επειδή προτιμούν υψηλότερες θερμοκρασίες για την αναπαραγωγή τους οι οποίες κυμαίνονται μεταξύ 20-30 °C (Hata *et al.*, 2010; Panzarin *et al.*, 2014; Dönmez and Yilmaz, 2018). Απόρροια των παραπάνω είναι και η κατανομή των γενότυπων αυτών στο παγκόσμιο χάρτη. Τέλος, οι συνδυαστικοί γενότυποι SJNNV/ RGNNV έχουν απομονωθεί μόνο από λαβράκια στην Ιταλία (Athanassopoulou *et al.*, 2003). Αντίθετα οι συνδυαστικοί γενότυποι RGNNV/ SJNNV, είναι ευρέως διαδεδομένοι στη Νότια Ευρώπη και έχουν απομονωθεί από εκτρεφόμενα λαβράκια, *S. solea*, τσιπούρα (Oliveira *et al.*, 2009; Panzarin *et al.*, 2012; Bandín and Souto, 2020) και πρόσφατα από το ασπροσάφριδο (*Trachurus mediterraneus*) (Mori *et al.*, 2003).

Οι Betanoda-ιοί είναι πολύ ανθεκτικοί στο υδάτινο περιβάλλον και μπορούν να επιβιώσουν για μεγάλο χρονικό διάστημα στο θαλάσσιο νερό σε χαμηλές θερμοκρασίες. Αντίθετα στους 25 °C ή σε υψηλότερες τιμές, το ποσοστό επιβίωσης των ιών επηρεάζεται σημαντικά. Εντούτοις τα λαβράκια που είχαν προσβληθεί από τον ιό εμφάνισαν ανθεκτικότητα στην αλλαγή του pH όπως αποδεικνύεται από τη σταθερότητα της μολυσματικότητας στο εύρος pH 3-9 κατά τη διάρκεια μιας περιόδου δοκιμής 42 ημερών (Frerichs *et al.*, 2000).

Κλινική εικόνα & συμπτώματα

Τα κλινικά συμπτώματα είναι δερματικές αλλοιώσεις, συμφόρηση της κεφαλής, οφθαλμική αδιαφάνεια, μη φυσιολογική κολύμβηση (στροβιλισμός, απώλεια ελέγχου πλευστότητας), απώλεια όρεξης, σκούρος χρωματισμός του δέρματος (Εικόνα 9). Ορισμένοι νοσούντες ιχθύες μπορεί να παραμείνουν κατά μήκος στο κάτω μέρος κάμπτοντας το σώμα τους με το κεφάλι και την ουρά υψωμένα. Στο λαβράκι έχει αναφερθεί επίσης ότι το σώμα τους έχει βρεθεί σε κάθετη στάση με το κεφάλι ή το ουραίο περύγιο κάτω από την επιφάνεια του νερού.

Οι νοσούντες ιχθύες εμφανίζουν συνήθως ενδοφθάλμια αδιαφάνεια, εγκεφαλοπάθεια και αμφιβληστροειδοπάθεια που οδηγεί σε θάνατο, ειδικά σε προνύμφες και στα νεαρά στάδια ανάπτυξής τους. Η θνησιμότητα εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές παραμέτρους, την ηλικία των ψαριών, το ικό στέλεχος, και την παρουσία άλλων παραγόντων καταπόνησης. Όσο μικρότεροι ηλικιακά είναι οι ιχθύες που προσβάλλονται, τόσο μεγαλύτερη θνησιμότητα παρατηρείται. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η θνησιμότητα στη βιομηχανία υδατοκαλλιέργειας μπορεί να φτάσει έως και το 100%. Ορισμένα

είδη είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα όπως η περίπτωση του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) (Costa and Thompson, 2016).

Οι περισσότεροι ιχθύες επηρεάζονται ως προνύμφες ή νεαρά άτομα στα οποία οι απώλειες τείνουν να είναι πολύ υψηλές (Πίνακας 4).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4: ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΙΟΓΕΝΟΥ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΝΕΚΡΩΣΗΣ (VNN) ΤΩΝ ΡΟΝΥΜΦΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΝΕΑΡΩΝ ΙΧΘΥΩΝ (MUNDAY ET AL., 2002)

Είδος ιχθύων	Πρώιμη εμφάνιση ασθένειας	Συνήθης εμφάνιση ασθένειας	Όψιμη εμφάνιση ασθένειας	Συνήθη ποσοστό θνησιμότητας %	Υψηλό ποσοστό θνησιμότητας %
Barramundi- Asian sea bass, <i>Lates calcrifer</i> (Bloch)	9dph	15-18 dph	= 24 dph	50-100%/ μήνα	100% σε ιχθύες μικρότερα του ενός μήνα
European sea bass <i>Dicentrarchus labrax</i> (L.)	10dph	25-40 dph	>23 μηνών (400-580gr)	10%/μήνα	-
Redspotted grouper, <i>Epinephelus akaara</i> (Temminck & Schlegel)	14dph (7-8 mm tl)	9-10 mm tl	<40 mm tl	80%	εως 100%
Brown spotted grouper <i>E. malabaricus</i> (Bloch & Schneider)	-	20-50 mm tl	-	50-80%	-
Striped jack <i>Pseudocaranx dentex</i> (Bloch & Schneider)	1 dph	1-4 dph	<20 dph (8mm tl)	100%	-
Japanese parrotfish <i>Oplegnathus fasciatus</i> (Temminck & Schlegel)	6-25 mm tl	-	<40 mm tl	-	εως 100%
Halibut, <i>Hippoglossus hippoglossus</i> (L.)		60-70dph	Ενήλικα		
Japanese flounder, <i>Paralichthys olivaceus</i> (Temminck & Schlengel)	35 dph (17-18 mm tl)	25 mm tl	-	100%	-
Turbot, <i>Schophthalmus maximus</i> (L.)	<21 dph	-	Βάρος: 50-100 mg	-	εως 100%

dph: days post hatch

tl: total length



ΕΙΚΟΝΑ 9: : ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΗΜΑΔΙΑ VER ΜΕ ΑΝΩΜΑΛΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΚΟΛΥΜΒΗΣΗΣ ΚΑΙ ΕΛΛΕΙΨΗ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (PATEL ET AL., 2007)

Τα εσωτερικά κλινικά συμπτώματα που παρατηρούνται είναι εκφύλιση του εγκεφάλου (Εικόνα 10), συμφόρηση των μηνίγγων και διάταση της νηκτικής κύστης που προκαλεί προβλήματα στην πλευστότητα.



ΕΙΚΟΝΑ 10: ΕΚΦΥΛΙΣΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΣΤΟ ΛΑΒΡΑΚΙ ΜΕ VER/ VNN (ΟΙΕ, 2016)

Τα πιο συνηθισμένα μικροσκοπικά ευρήματα που εντοπίστηκαν σε διαφορετικά είδη συνίστανται σε κενोटόπια και νέκρωση νευρικών κυττάρων του νωτιαίου μυελού, του εγκεφάλου και/ ή του αμφιβληστροειδούς. Αυτές οι βλάβες είναι πολύ πιο εμφανείς στις προνύμφες και τους νεαρούς ιχθύες.

Διάγνωση

Η διάγνωση μπορεί να πραγματοποιηθεί με την απομόνωση του ιού από καλλιέργεια σε κυτταρικές σειρές SSN-1 ή E-11. Επιπλέον μπορούν να χρησιμοποιηθούν μέθοδοι άμεσης ανίχνευσης αντιγόνου με ELISA, με ανοσοφθορισμό (ανίχνευση των ικών αντιγόνων IFAT), με IHC και τέλος με μεθόδους βασισμένες σε PCR (RT-PCR, Nested PCR ή RealTime PCR).

Σε μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Frerichs *et al.* (1996) κατά την ιστολογική εξέταση υπήρξαν παθολογικές ενδείξεις όπου εμφανίστηκαν στον

εγκέφαλο με νευρωνικά κυτταροπλασματικά κενά, νευροφαγία, μικρογλοία και συμφόρηση των αιμοφόρων αγγείων με κάποια περιαγγειακή αιμορραγία. Τα παραπάνω παρατηρήθηκαν και στο νωτιαίο μυελό.

Η μετάδοση της νόσου μπορεί να συμβεί τόσο οριζόντια (από τον ένα ιχθύ στον άλλο ή μέσω του εξοπλισμού) και κάθετα (από τους γεννήτορες στους απογόνους).

Πρόληψη

Ο πιο λογικός τρόπος ελέγχου αυτής της νόσου είναι η εφαρμογή αποτελεσματικής βιοασφάλειας και ο εμβολιασμός των ιχθύων. Προς στιγμήν υπάρχουν πολύ λίγα εμπορικά εμβόλια για αυτήν την ασθένεια παρόλο που υπάρχουν μελέτες στη βιβλιογραφία που εστιάζουν σε διαφορετικούς τύπους εμβολίων για VER (π.χ. ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη, DNA και αδρανοποιημένα εμβόλια). Πιθανώς αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η ασθένεια σχετίζεται με προνύμφες και νεαρά ψάρια, αλλά και μεγάλες γραφειοκρατικές διαδικασίες, ποικίλη αποτελεσματικότητα κ.α. Η έλλειψη επαρκούς αριθμού αποτελεσματικών εμπορικών εμβολίων κατά της VER υπογραμμίζει την ανάγκη για περαιτέρω γνώση αρχικά του παθογόνου (π.χ. τις οδούς μόλυνσης, πώς μολύνει τον ξενιστή του) στην συνέχεια τον ξενιστή που προσβάλλει και τέλος της ασθένειας .

Πολύ πρόσφατα, ένα αδρανοποιημένο εμβόλιο κατά της VER για το λαβράκι (εταιρεία Pharmaq, Astra) έχει εγκριθεί για χρήση σε επιλεγμένες μεσογειακές χώρες (Pharmaq, 2018).

Η απενεργοποίηση του ιού είναι δυνατή μόνο σε θερμοκρασία υψηλότερη από τους 60 °C για τουλάχιστον 30 λεπτά. Έχει βρεθεί επίσης ότι ο ιός είναι ιδιαίτερα ανθεκτικός στη φορμόλη και στο όξινο pH (μεταξύ 3 και 7). Τόσο το διάλυμα υποχλωριώδους (50 ppm για 10 λεπτά) όσο και το όζον έχουν δείξει θετικά αποτελέσματα στη θανάτωση του ιού (Frerichs *et al.*, 2000; OIE, 2016).

1.7 Ανοσολογικό σύστημα τελεοστέων

Τα ψάρια είναι η μεγαλύτερη κατηγορία σπονδυλωτών και αποτελείται από πάνω από 20.000 είδη (Nelson, 1994). Το ανοσολογικό (ανοσοποιητικό) σύστημα των ιχθύων μοιάζει πολύ με των ανώτερων σπονδυλωτών, αν και υπάρχουν μερικές σημαντικές διαφορές. Κάποιες από αυτές τις διαφορές σχετίζονται με το ότι οι ιχθύες είναι ελεύθεροι οργανισμοί από το προνυμφικό στάδιο της ζωής τους στο υδάτινο περιβάλλον. Απόρροια του παραπάνω είναι ότι οι ιχθύες στα πρώτα στάδια βασίζονται στα συστατικά της έμφυτης ανοσίας τους, ενώ έχουν και μηχανισμούς που τους επιτρέπει να

προστατεύονται από μια μεγάλη ποικιλία μικροοργανισμών. Η έλλειψη επαρκών γνώσεων σχετικά με την ανοσία των ιχθύων μέχρι και σήμερα περιορίζει τη διερεύνηση της εξέλιξης του ανοσοποιητικού συστήματος, την ανάπτυξη εμβολίων και την επιλογή φυλών ανθεκτικών σε ασθένειες.

Τα συστατικά του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος χωρίζονται σε φυσικά (στρώματα βλέννας, που δρουν ως φυσικό και χημικό φράγμα) (Parra et al., 2015), κυτταρικά (φαγοκύτταρα όπως ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα/μακροφάγα) και τέλος χυμικούς παράγοντες (με βάση τις ειδικότητες αναγνώρισης προτύπων ή τις λειτουργίες τελεστών) (Magnadóttir, 2006). Η λυσοζύμη βρίσκεται στα αυγά των ιχθύων, προστατεύοντας το έμβρυο πριν ωριμάσουν συγκεκριμένες άμυνες (Yousif et al., 1991), όπως έναντι των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, τα οποία αποτελούν την πλειονότητα των παθογόνων στους ιχθύες, καθώς και των θετικών κατά Gram βακτηρίων.

Το ανοσοποιητικό σύστημα των ιχθύων είναι διαφορετικό από αυτό των θηλαστικών, καθώς δεν έχουν μυελό των οστών, λεμφαδένες και βλαστικά κέντρα (Press and Evensen, 1999). Το ανοσοποιητικό σύστημα έχει δύο βασικούς βραχίονες: έμφυτο (μη ειδικό) και προσαρμοστικό (ειδικό). Η έμφυτη άμυνα λειτουργεί ως τείχος προστασίας όχι μόνο εναντίον παθογόνων, αλλά και ενάντια σε ξένα σώματα, χημικούς παράγοντες ή ακόμη και περιβαλλοντικές αλλαγές.

Στους ιχθύες, η έμφυτη απόκριση έχει θεωρηθεί απαραίτητο συστατικό για την καταπολέμηση των παθογόνων, λόγω των περιορισμών του προσαρμοστικού ανοσοποιητικού συστήματος, της ποικιλοθερμίας στη φύση, του περιορισμένου των αντισωμάτων τους και του αργού πολλαπλασιασμού, της ωρίμανσης και της μνήμης των λεμφοκυττάρων τους (Whyte, 2007).

Στην πραγματικότητα, πολλά γονίδια που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό και για την έμφυτη και για την προσαρμοστική ανοσία, συμπεριλαμβανομένων αυτών που κωδικοποιούν κυτοκίνες, συμπληρώματα, λεκτίνες, ανοσοσφαιρίνες και ορισμένα μόρια κυτταρικής επιφάνειας, έχουν χαρακτηριστεί από διάφορα είδη ιχθύων, με τους κινέζους επιστήμονες να συμβάλλουν σημαντικά σε αυτές τις εξελίξεις (Zhu et al., 2013).

Τα AMPPs είναι χυμικά συστατικά των σπονδυλωτών και των ασπόνδυλων έμφυτων ανοσοποιητικών συστημάτων. Οι ισχυρές αντιμικροβιακές τους δραστηριότητες ευρέος φάσματος έχουν τραβήξει την προσοχή της επιστημονικής κοινότητας στην πιθανή χρήση τους όχι μόνο ως εναλλακτική λύση στα αντιβιοτικά αλλά και ως λειτουργικοί στόχοι για τα ανοσοδιεγερτικά προκειμένου να ενισχυθεί η ανοσία του ξενιστή. Ειδικότερα, στους θαλάσσιους οργανισμούς, τα AMPPs παίζουν θεμελιώδη ρόλο στην

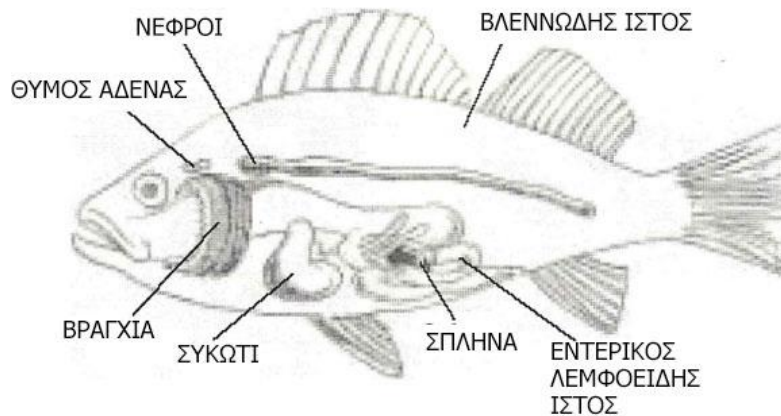
άμυνα του ξενιστή ως συστατικά του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος, που είναι ο κύριος και αποτελεσματικότερος αμυντικός μηχανισμός σε σύγκριση με την προσαρμοστική απόκριση. Σήμερα έχουν ανακαλυφθεί περίπου 150 από τα 2400 AMPP στους ιχθύες (Wang *et al.*, 2015).

Οι ιχθύες εμφανίζουν μια πρωτογενή και δευτερογενή χυμική απόκριση κατά τη χορήγηση αντιγόνου, αν και σε αντίθεση με τα θηλαστικά δεν υπάρχει αλλαγή στην κατηγορία Ig. Επιπλέον η δευτερογενής απόκριση των ιχθύων είναι σχετικά μικρή και δεν υπάρχει IgG (Watts *et al.*, 2001). Η ανατομική οργάνωση των λεμφοειδών ιστών των τελεοστέων περιλαμβάνει τον θύμο αδένα, το νεφρό, την σπλήνα και τον λεμφοειδή ιστό που σχετίζεται με τις βλεννογόγιες επιφάνειες (Εικόνα 11).

Ο θύμος αδένας βρίσκεται κοντά στη βραγχιακή κοιλότητα και διαχωρίζεται από την εξωτερική επιφάνεια μόνο με ένα λεπτό στρώμα επιθηλίου. Παράγει T- λεμφοκύτταρα που εμπλέκονται στη διέγερση της φαγοκυττάρωσης και αντισώματα από B- λεμφοκύτταρα (Rauta *et al.*, 2012). Η δομή που χαρακτηρίζει τον θύμο αδένα είναι μια κάψα που περιβάλλει τον ιστό. Ο θύμος αδένας εξαρτάται από τους ορμονικούς κύκλους και τις εποχιακές διακυμάνσεις, όχι όμως από την ηλικία του ψαριού. Η πρόιμη ανάπτυξη του θύμου έχει μελετηθεί σε πολλά είδη τελεοστέων ιχθύων και ο χρόνος ανάπτυξης διαφέρει μεταξύ των ειδών ανάλογα με τις επιπτώσεις της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη. Η σχέση μεταξύ της συνολικής ανάπτυξης του ιχθύ και τμηματικής ανάπτυξης του (π.χ. κάποιο όργανο) είναι δυναμική, με τη φυσιολογική ηλικία να εκφράζεται σε ημέρες (Bowden *et al.*, 2005).

Τα νεφρά είναι το ισοδύναμο του μυελού των οστών στα σπονδυλωτά και είναι η μεγαλύτερη τοποθεσία αιματοποίησης μέχρι την ενηλικίωση (Zarata *et al.*, 2006) και είναι υπεύθυνο για τη φαγοκύτωση, την επεξεργασία αντιγόνων και το σύστημα ανοσολογικής μνήμης μέσω των μελανομακροφάγων κέντρων (MMC). Μελέτες δείχνουν την παρουσία λεμφοειδών κυττάρων που απελευθερώνουν IgM μεταξύ 12 και 14 ημερών μετά τη εκκόλαψη (d_{pf}) (Castillo *et al.*, 1993) και έχουν δείξει επίσης δύο παραλλαγές IgM από ELISA σε έμβρυα οκτώ ημέρες μετά το τέλος της περιόδου επώασης (Sánchez *et al.*, 1995). Ο κεφαλικός νεφρός ή πρόνεφρος είναι το σημείο των βασικών ανοσοποιητικών λειτουργιών.

Ο σπλήνας αποτελείται από ένα σύστημα σπληνικών ελλειψοειδών, MMC και λεμφοειδή ιστό. Τα ελλειψοειδή είναι τριχοειδή παχιά τοιχώματα, τα οποία εμπλέκονται ενεργά στη φαγοκυττάρωση των αντιγόνων του μακροφάγου.



ΕΙΚΟΝΑ 11: ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ ΤΩΝ ΤΕΛΕΟΣΤΕΩΝ (ΠΕΡΑΜΑΝΤΖΗ, 2013)

Η βλέννα που καλύπτει τους ιχθύες είναι μια ασπίδα στην εισχώρηση των μικροοργανισμών καθώς περιέχει λεκτίνες, πεντραξίνες, λυσοζύμες, πρωτεΐνες συμπληρώματος, αντιβακτηριακά πεπτιδία και IgM, τα οποία έχουν σημαντικό ρόλο στην αναστολή της εισόδου των παθογόνων (Alexander and Ingram, 1992; Boshra, Li and Sunyer, 2006; Saurabh and Sahoo, 2008). Ουσίες με αντιμικροβιακή δράση (hepcidin) έχουν βρεθεί και στα βράγχια (Shike *et al.*, 2002), στη σπλήνα και στους νεφρούς (Bao *et al.*, 2005), αλλά και στο ήπαρ, στην καρδιά και στο στομάχι (Hirono *et al.*, 2005).

Οι μορφές των βασικών και επαγωγίμων συστατικών όπως της λυσοζύμης, C3, α2-μακροσφαιρίνη και C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, τα κύρια προϊόντα MHC, τα γονίδια RAG 1 και RAG 2 μπορεί να ενισχύσουν την ανοσολογική αναγνώριση. Η χαμηλή θερμοκρασία περιβάλλοντος φαίνεται να επηρεάζει όλες τις πτυχές της ανοσοαπόκρισης, ιδιαίτερα την T- εξαρτώμενη ειδική ανοσοαπόκριση λόγω της μη προσαρμόσιμης λιπιδικής σύνθεσης των T-κυτταρικών μεμβρανών. Το γεγονός ότι η επιφάνεια των ιχθύων καλύπτεται από ζωντανά κύτταρα με βλέννα τα κάνει πιο ευπαθή καθώς βρίσκονται σε άμεση επαφή με το νερό με αποτέλεσμα η ανοσοαπόκριση επηρεάζεται σημαντικά από τη θερμοκρασία του νερού.

Η μελέτη του ανοσοποιητικού συστήματος των ιχθύων είναι σημαντικός επιστημονικός κλάδος για την παρακολούθηση της ποιότητας του περιβάλλοντος, ιδιαίτερα των ανοσοτοξικών περιβαλλοντικών ρύπων και τον τρόπο που αυτοί επηρεάζουν την ποιότητα ζωής τους. Οι ιχθύες καταλαμβάνουν μια οικολογική θέση στο υδάτινο περιβάλλον και έτσι οι αλλαγές στις ανοσολογικές παραμέτρους των ιχθύων έχουν τη δυνατότητα να είναι ένας ευαίσθητος δείκτης επιδείνωσης του περιβάλλοντος. Αρκετές είναι οι ασθένειες που μπορούν να επηρεάσουν τους ιχθύες σε όλα τα στάδια του κύκλου ζωής τους και η γνώση του ανοσοποιητικού συστήματος έχει μεγάλη σημασία για τον έλεγχο της υγείας τους.

Η αναγνώριση μικροβιακών παθογόνων μεσολαβούντων από τους υποδοχείς pattern- recognition receptors, PRRs που ανιχνεύουν PAMPs. Αρκετές κατηγορίες PRR, όπως οι υποδοχείς TLR, RIG-I (RLR), NOD (NLR) και υποδοχείς CLR) έχουν χαρακτηριστεί από πολλά είδη.

Τα TLRs ήταν τα πρώτα PRR που χαρακτηρίστηκαν (Akira *et al.*, 2006). Τα τελευταία χρόνια, διαπιστώθηκε ότι ένας αριθμός TLR που χαρακτηρίστηκαν από τελοστάτες είχε διαφορετικά χαρακτηριστικά και μεγαλύτερη ποικιλομορφία σε σύγκριση με αυτά των θηλαστικών. Προς το παρόν, τουλάχιστον 17 TLR έχουν βρεθεί σε τελοστέους, μεταξύ των οποίων TLR14, TLR19, TLR20, TLR21, TLR22 και TLR23 είναι TLRs μη θηλαστικών και το TLR5S είναι μια διαλυτή ισομορφή του TLR5 που φαίνεται να είναι μοναδική στα ψάρια (Palti, 2011). Η ιντερλευκίνη-1/ TLR προσδιορίστηκε στην ιριδιζούσα πέστροφα και στους τετραοδόντιδες (*Tetraodon nigroviridis*) (Wu *et al.*, 2018), 008) η TLR3 στον κοινό κυπρίνο (*Cyprinus carpio*) (Yang and Su, 2010), τα TLR5S, TLR20 και TLR21 στο *Ictalurus punctatus* (Baoprasertkul *et al.*, 2007) και το TLR22 στο *Pseudosciaena crocea* (Xiao *et al.*, 2011). Η IL-1 είναι μια σημαντική κυτοκίνη που μεσολαβεί στην ανοσολογική ρύθμιση τόσο στην έμφυτη όσο και στην προσαρμοστική ανοσία. Υπάρχουν 10 πρωτεΐνες προσδέματος στην οικογένεια γονιδίων IL-1, τα κύρια μέλη των οποίων περιλαμβάνουν IL-1a, IL-1b και IL-18. Το IL-1b γονίδιο 1 εμφανίζεται περισσότερο στο ήπαρ, στο πρόνεφρο, τον σπλήνα, το έντερο και τους μυς, και λιγότερο στο στομάχι, στον εγκέφαλο, στις ωθήκες, στο δέρμα και στον νεφρικό κορμό. Αντιθέτως, το IL-1b γονίδιο 2 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό σε όλους τους δοκιμασμένους ιστούς εκτός από τον εγκέφαλο. Όπως και στα περισσότερα είδη ιχθύων, μόνο ένα γονίδιο IL-1b αναγνωρίστηκε στην τσιπούρα. Αυτό το γονίδιο αποτελείται από 121-bp 50-UTR, 762-bp ORF και 342-bp 30-UTR και κωδικοποιεί πρωτεΐνη IL-1b 253-αμινοξέος (Zhu *et al.*, 2013).

Οι INF α και β είναι κυτοκίνες με μη ειδική αντι-ικκή λειτουργία που βασίζεται στην αναστολή αντιγραφής νουκλεϊκού οξέος εντός μολυσμένων κυττάρων. Η INF παίζει σημαντικό ρόλο στην άμυνα έναντι της ιογενούς λοίμωξης σε κύτταρα ξενιστές σπονδυλωτών, τα οποία εκκρίνουν INF α και β κατά την αναγνώριση του ιικού νουκλεϊκού οξέος (Robertsen, 2006). Οι INFα-1 και INFα-2 κλωνοποιήθηκαν από τον σολομό του Ατλαντικού και χαρακτηρίστηκαν σε σχέση με την αλληλουχία τους, τη δομή των γονιδίων, τους προαγωγείς και την επαγωγή της αντιικής δράσης των γονιδίων ISG (Kileng *et al.*, 2007; Røkenes *et al.*, 2007).

Ο παράγοντας TNF παίζει βασικό ρόλο στη φλεγμονή, την άμυνα του ξενιστή, την αυτοανοσία, την κυτταρική απόπτωση και τη διαφοροποίηση.

Μελέτες σε ιριδίζουσα πέστροφα, καλκάνι, τσιπούρα (*Sparus aurata*), χρυσόψαρο (*Carassius auratus*), κοινό κυπρίνο (*C. carpio*) (Saeij *et al.*, 1999), γατόψαρο, *Siniperca chuatsi* (Xiao *et al.*, 2007), zebrafish (*D. rerio*) (Catio *et al.*, 2005), έδειξαν ότι ο TNF προκαλεί την ενεργοποίηση των μακροφάγων, οδηγώντας σε αυξημένη αναπνευστική δραστηριότητα, φαγοκυττάρωση και παραγωγή νιτρικού οξειδίου.

Τα RIG-I και MDA5 έχουν μελετηθεί καλά και βρέθηκε ότι παίζουν διαφορετικούς ρόλους στην αναγνώριση των ιών RNA. Τα NLR είναι μια πρόσφατα αναγνωρισμένη οικογένεια κυτταροπλασματικών PRR που χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός N-τερματικού πεδίου δέσμευσης τελεστή, ενός κεντρικού τομέα δέσμευσης νουκλεοτιδίων και ενός C-τερματικού πεδίου επανάληψης πλούσιου σε λευκίνη. Τρεις ξεχωριστές υποοικογένειες έχουν αναγνωριστεί στο zebrafish, συγκεκριμένα NLR-A, NLR-B και NLR-C. Παρά την πρόοδο των NLR στους τελεστές, είναι γνωστά λίγα πράγματα σχετικά με τον ακριβή μηχανισμό ενεργοποίησης του NLR.

Τα AMPs είναι ευρέως διαδεδομένα στα φυτά, ασπόνδυλα όπως έντομα αλλά και σε όλα τα σπονδυλωτά. Είναι αρχαία συστατικά του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος τους. Πρόσφατες μελέτες έχουν κλωνοποιήσει ορισμένα σημαντικά γονίδια AMP στους ιχθύες, και έχουν παράσχει περισσότερες αποδείξεις ότι τα AMP ιχθύων είναι σημαντικά συστατικά του μη ειδικού ανοσοποιητικού συστήματος. Οι κύριες ομάδες AMP που μελετήθηκαν στους ιχθύες περιλαμβάνει αμυντικές πρωτεΐνες, πρωτεΐνες μακροφάγων που συνδέονται με τη φυσική αντίσταση (Nramp), NK-λυσίνη και η εψηδίνη. Η εψηδίνη είναι το περισσότερο μελετημένο AMP, το οποίο είναι ένα πλούσιο σε κυστεΐνη πεπτιδίο.

Η λυσοζύμη είναι ένα βακτηριολυτικό ένζυμο που διανέμεται ευρέως σε όλο το σώμα και αποτελεί μέρος των μη ειδικών αμυντικών μηχανισμών στα περισσότερα ζώα. Στα σολομοειδή, η λυσοζύμη έχει ανιχνευτεί στον ορό, στις εκκρίσεις, στα βλεννογόρους και σε ιστούς πλούσιους σε λευκοκύτταρα, αλλά κυρίως στα νεφρά και στο έντερο (Grinde *et al.*, 1988). Οι κύριες πηγές λυσοζύμης είναι τα μονοκύτταρα/ μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα. Η βακτηριοκτόνος δράση αυτού του ενζύμου περιλαμβάνει την υδρόλυση της πεπτιδογλυκάνης των βακτηριακών κυτταρικών τοιχωμάτων με αποτέλεσμα την κυτταρική λύση. Η λυσοζύμη συσχετίστηκε αρχικά με την άμυνα ενάντια στα θετικά κατά Gram βακτήρια, αλλά βρέθηκε επίσης επιρροή και στα Gram-αρνητικά βακτήρια. Επιπλέον, αυτό το ένζυμο είναι γνωστό ότι προκαλεί μια

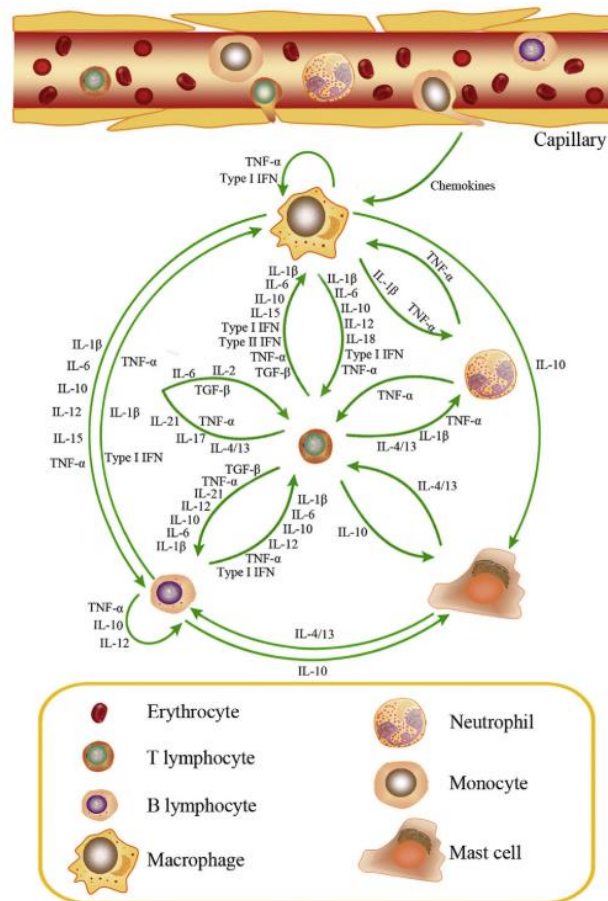
οφωνήνη² του συστήματος συμπληρώματος και των φαγοκυτταρικών κυττάρων (Magnadóttir, 2006).

Οι κυτοκίνες είναι μια οικογένεια πρωτεϊνών χαμηλού μοριακού βάρους που συχνά γλυκοζυλιώνονται και εκκρίνονται από ενεργοποιημένα ανοσοκυτταρικά κύτταρα κατά την επαγωγή από διάφορα αντιγόνα όπως παρασιτικά, βακτηριακά ή ιικά συστατικά (Salazar-Mather and Hokeness, 2006). Στην έμφυτη ανοσία, τα μακροφάγα μπορούν να εκκρίνουν IL-1, IL-6, IL-12, TNF-α και χημειοκίνες όπως IL-8 και MCP-1.

Η τρανσφερίνη είναι μια σφαιρική γλυκοπρωτεΐνη με υψηλή συνάφεια με τον σίδηρο. Είναι η κύρια πρωτεΐνη μεταφοράς ιόντων σιδήρου σε ζώα και φυτά. Χαρακτηριστικό της ο υψηλός βαθμός γενετικού πολυμορφισμού σε όλα τα είδη και βρίσκεται στον ορό και στις εκκρίσεις όλων των σπονδυλωτών. Τα παθολογικά βακτήρια έχουν αναπτύξει ένα σύνολο μηχανισμών για τη λήψη σιδήρου από τον ξενιστή, ακόμη και από την τρανσφερίνη. Οι Ercan *et al.* (2013) διαπίστωσαν ότι η έκφραση τρανσφερίνης αυξήθηκε στον εγκεφαλικό ιστό ενώ στο ήπαρ, η έκφρασή της μειώθηκε κατά τη διάρκεια της μόλυνσης από *L. anguillarum*.

Στην εικόνα 12 γίνεται μια αναπαράσταση του δικτύου κυτοκινών που ρυθμίζει τις φλεγμονώδεις κυτταρικές λειτουργίες στους ιχθύες, συμπεριλαμβανομένου του πολλαπλασιασμού των κυττάρων, της διαφοροποίησης, της επιβίωσης ή της απόπτωσης και πολλών γονιδιακών εκφράσεων. Όλες αυτές οι κυτοκίνες έχουν βρεθεί σε οστά ιχθύων ενώ οι λειτουργίες και ο τρόπος που συμπεριφέρονται βρίσκεται σε πρόοδο από τους ερευνητές.

² φυσικά αντισώματα του ορού του αίματος τα οποία καθιστούν τα μικρόβια που εισδύουν στον οργανισμό ευπαθή στη φαγοκυττάρωση.



ΕΙΚΟΝΑ 12: ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΔΙΚΤΥΟΥ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ (ZHU ET AL., 2013).

Ένας μεγάλος αριθμός IFN έχει εντοπιστεί σε διάφορα είδη σπονδυλωτών. Κατατάσσονται σε τρεις ομάδες με διαφορετικές δομές και λειτουργίες (όπως IFN τύπου I, IFN τύπου II και IFN τύπου III) καθώς αλληλεπιδρούν με διαφορετικούς υποδοχείς κυτταρικής επιφάνειας. Τόσο οι IFN τύπου I όσο και τύπου II υπάρχουν στα ψάρια και παίζουν σημαντικό ρόλο στις ανοσοαποκρίσεις. Εκτός από την αντική δραστηριότητα, έχει ρυθμιστικά αποτελέσματα στην ενεργοποίηση των μακροφάγων και στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων T ή B. Μελέτες δείχνουν ότι τα είδη τελεοστέων διαθέτουν πολλά γονίδια που κωδικοποιούν IFN που προκαλούνται από ιούς (Long *et al.*, 2006; Aggad *et al.*, 2015). Η ταξινόμηση και η ονοματολογία των IFN που προκαλούνται από ιό ψαριών παραμένουν αμφιλεγόμενα. Οι IRF είναι μια οικογένεια παραγόντων μεταγραφής που είναι απαραίτητοι για τη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων IFN και των γονιδίων που διεγείρονται από την IFN δεσμεύοντας σε χαρακτηριστικά στοιχεία. Η φυλογενετική ανάλυση έδειξε ότι τα μέλη της οικογένειας IRF ψαριών μπορούν να χωριστούν σε δύο ομάδες: μία που αποτελείται από IRF-

1 και IRF-2, και ένα άλλο σύμπλεγμα όλων των υπόλοιπων IRFs (Shi *et al.*, 2010).

Οι Igs είναι μια κατηγορία μορίων που είναι βασικοί παράγοντες στην προσαρμοστική ανοσία και παράγονται ειδικά από τα Β λεμφοκύτταρα. Στα θηλαστικά, οι Igs μπορούν να χωριστούν σε πέντε κατηγορίες ανάλογα με τη σταθερή περιοχή: IgM, IgD, IgG, IgA και IgE. Για μεγάλο χρονικό διάστημα, πιστεύεται ότι μόνο ένα από αυτά, το IgM, υπάρχει στα ψάρια. Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες ανέτρεψαν αυτήν την άποψη καθώς πολλά άλλα λειτουργικά Igs όπως IgD, IgZ και IgT έχουν ανακαλυφθεί σε τελεοστέους. Η IgD προσδιορίστηκε από τους Bengtén *et al.* (2015) στο *I.punctatus*.

Η ταχεία επέκταση και ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών ως βιομηχανία έχει εντείνει τη μελέτη της ανοσολογίας των ιχθύων. Η ανάγκη παραγωγής αποτελεσματικών εμβολίων και ανοσοδιεγερτικών κατά ορισμένων βακτηριακών παθήσεων έχει οδηγήσει σε καλύτερη κατανόηση του ανοσοποιητικού συστήματος των ιχθύων και των παραγόντων που επηρεάζουν τη λειτουργία τους.

Στις υδατοκαλλιέργειες η δυναμική ικανότητα απόδοσης ενός ψαριού οριοθετείται τελικά από τον γονότυπό του, αλλά το περιβάλλον περιορίζει περαιτέρω την ικανότητα απόδοσης. Για παράδειγμα, η περιορισμένη πρόσληψη τροφής ή η βέλτιστη περιβαλλοντική θερμοκρασία, αν και δεν είναι αγχωτική για τα ψάρια, δεν επιτρέπουν στα ψάρια να αναπτυχθούν με τον μέγιστο ρυθμό. Επίσης, η υγεία των ιχθύων μπορεί να επιδεινωθεί από τη καταπόνηση λόγω περιορισμού του χώρου (Weyts *et al.*, 1999) και επιπλέον εξαιτίας της ταυτόχρονης περιβαλλοντικής πίεσης. Η χρόνια καταπόνηση, όπως μετριέται από την αυξημένη κυκλοφορούσα κορτιζόλη, είναι γενικά κατασταλτική τόσο για τη μη ειδική όσο και για την ειδική ανοσία. Επομένως, οι συνθήκες καλλιέργειας μπορεί να προδιαθέτουν σε ασθένειες λόγω ευκαιριακών παθογόνων. Ωστόσο, η επίδραση της χαμηλής θερμοκρασίας στην ανοσοαπόκριση εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το είδος, αντικατοπτρίζοντας τις φυσιολογικές απαιτήσεις τους και περιορίζεται στους ποικιλόθερμους ιχθύες.

Οι τύποι της ειδικής ανοσίας είναι η χυμική και η κυτταρομεσολαβητική. Κύριο ρόλο στη χυμική απόκριση έχουν τα Β- λεμφοκύτταρα με τα αντισώματα που εκκρίνουν. Τα αντισώματα έχουν την ικανότητα να αναγνωρίζουν τυχόν αντιγόνα που υπάρχουν στο αίμα, τα αδρανοποιούν και ακολούθως καταστρέφονται. Η κυτταρομεσολαβητική απόκριση πραγματοποιείται από τα Τ- κύτταρα. Τα Β και Τα λεμφοκύτταρα, τα

αντιγονοπαρουσιαστικά και τα εκτελεστικά κύτταρα είναι αυτά που συμμετέχουν στους μηχανισμούς ειδικής ανοσίας.

Σε μια έρευνα των Chaves- Pozo *et al.* (2005) μελετήθηκε ο τρόπος που κινητοποιούνται τα λευκοκύτταρα από το πρόνεφρο προς το σημείο που χορηγήθηκε το *V. anguillarum*. Παράλληλα παρατηρήθηκε στην ίδια έρευνα η αύξηση της διήθησης των εωσινόφιλων φαγοκυττάρων από τη σπλήνα.

Παρά τη μαζική διάδοση της VER στα εκτρεφόμενα λαβράκια, οι γνώσεις σχετικά με τις ανοσολογικές αντιδράσεις αυτού του είδους μελετώνται ακόμα. Οι Buonocore *et al.* (2019) έδειξαν ότι τα αδρανοποιημένα παρασκευάσματα Betanoda-ιού που χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά σε λαβράκια μπορούν να προκαλέσουν τόσο ανοσολογική αναγνώριση όσο και προστασία κατά της VER. Το λαβράκι είναι το μοναδικό θαλάσσιο είδος για το οποίο υπάρχουν ανοσολογικοί δείκτες B- και T- κυττάρων (Scapigliati *et al.*, 1995). Στο λαβράκι, ο GALT περιέχει αυξημένο αριθμό T-κυττάρων. Η παρουσία αυτών αποτελεί βοήθεια στο ανοσοποιητικό σύστημά τους. Επίσης τα λευκοκύτταρα του νεφρού περιεγράφηκαν από τους Meseguer *et al.* (1991) ως στρωματικά κύτταρα.

Οι κύριοι έμφυτοι αμυντικοί μηχανισμοί της αντικής απόκρισης περιλαμβάνουν την παραγωγή πεπτιδίων IFN-I και πρωτεΐνης Mx. Και τα δύο γονίδια που κωδικοποιούν αυτά τα μόρια έχουν κλωνοποιηθεί σε ορισμένα είδη ψαριών (Leong *et al.*, 1998) αλλά και στα λαβράκια (Wu and Chi, 2007; Casani *et al.*, 2009). Στην έρευνα των Sarroroulou *et al.* (2009) περιέγραψαν το προφίλ του γονιδίου του αντιγόνου του ιού που είναι ανοσοποιητικό στο λαβράκι μετά από πειραματική μόλυνση με τον ιό VER. Το κύριο ιικό αντιγόνο που χρησιμοποιείται για την πρόκληση ειδικών αντισωμάτων και την ενεργοποίηση μιας προστατευτικής ανοσοποιητικής μνήμης είναι η πρωτεΐνη καψιδίου, η οποία σε μεγάλο βαθμό φαίνεται να είναι ανοσογόνα στα ψάρια (Cain *et al.*, 1992; Coeurdacier *et al.*, 2003; Scapigliati *et al.*, 2010).

Πραγματοποιήθηκε έρευνα από τους Reyes-López *et al.* (2018) στην αξιολόγηση της διαφοροποίησης των ενδογενών γονιδίων που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό και τη σύνθεση γλυκοκορτικοειδών στις ευρωπαϊκές προνόμφες λαβρακιού που προκλήθηκαν με *V. anguillarum*. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής έδειξαν μείωση τις πρώτες ώρες μετά την πρόκληση που στη συνέχεια φαινόταν σταθεροποιημένη στις 36 h μετά την πρόκληση. Μελέτες για ανοσολογικές λειτουργίες σε συνθήκες στρες υπογράμμισαν έναν σημαντικό ρόλο τεσσάρων AMPPs στο λαβράκι: DIC, η HLP-1, η HLP-2 και η (Hb-LP (Salerno *et al.*, 2007; Terova *et al.*, 2011).

1.8 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανοσοαπόκριση στα ψάρια

Η εκτροφή ενός υδρόβιου οργανισμού ενέχει τον κίνδυνο πρόκλησης καταπόνησης εξαιτίας πολλών και ποικίλων παραγόντων. Η κατάσταση καταπόνησης μπορεί να χωριστεί σε τρία στάδια: αρχικό στάδιο, στάδιο αντοχής και στάδιο εξάντλησης. Όταν ένας ιχθύς εκτίθεται σε έναν παράγοντα καταπόνησης, αποστέλλονται σήματα στο κεντρικό νευρικό σύστημα, ενεργοποιώντας τον άξονα υποθάλαμου- υπόφυσης. Η ενεργοποίηση αυτού του νευρικού άξονα προκαλεί την απελευθέρωση κατεχολαμινών και κορτιζόλης, που εκκρίνεται από κύτταρα χρωμαφίνης και επινεφριδικά κύτταρα, αντίστοιχα, που βρίσκονται στο νεφρό αυτών των υδρόβιων ζώων.

Οι κατεχολαμίνες και η κορτιζόλη επηρεάζουν την απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος στην καταπόνηση. Η έκκριση αυτών των μορίων προετοιμάζει το ζώο να αντιμετωπίσει μια πιθανή πρόκληση αυξάνοντας τον καρδιακό ρυθμό, τη ροή του αίματος, τη διαθεσιμότητα ενέργειας (επίπεδα γλυκόζης) και διεγείροντας την ανοσοαπόκριση.

Εάν ο παράγοντας καταπόνησης παραμένει, ξεκινάει η φάση της αντίστασης, κατά την οποία συμβαίνουν αλλαγές στο μεταβολισμό και την ενζυμική έκκριση που επιτρέπουν τη διατήρηση της κατάστασης. Ωστόσο, εάν το αγχωτικό ερέθισμα συνεχίζει να επηρεάζει για μεγάλο χρονικό διάστημα, ο ιχθύς δεν είναι σε θέση να διατηρήσει αυτό το στάδιο και η ανοσοαπόκριση του μειώνεται, το οποίο είναι γνωστό ως στάδιο εξάντλησης. Σε αυτό το στάδιο, το ζώο δεν είναι σε θέση να συνεχίσει να παράγει υψηλά επίπεδα μορίων που εμπλέκονται σε αμυντικούς μηχανισμούς (λυσοζύμη, σύστημα συμπληρώματος, IgM, λευκοκύτταρα, κ.λπ.).

Η κατάλληλη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος είναι ένας ευαίσθητος δείκτης της υγείας ενός οργανισμού και χρησιμοποιείται συχνά στις υδατοκαλλιέργειες ως παράγοντας για την παρακολούθηση της υγείας των ιχθύων. Το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να διαταραχθεί ως αποτέλεσμα της έκθεσης σε μια σειρά ενδογενών και εξωγενών παραγόντων.

Ποιότητα Νερού

Η παροχή νερού για την υδατοκαλλιέργεια είναι το πιο σημαντικό κριτήριο για την εγκατάσταση μιας υδατοκαλλιέργειας. Ωστόσο, οι δραστηριότητες του ανθρώπου δημιουργούν δυναμικά υδατικά συστήματα ποιότητας νερού που τροφοδοτούν τις εγκαταστάσεις υδατοκαλλιέργειας. Το νερό για την υδατοκαλλιέργεια πρέπει να έχει κατάλληλο διαλυμένο οξυγόνο,

θερμοκρασία, pH και χαμηλά επίπεδα αζωτούχων ενώσεων. Τα δυσμενή επίπεδα αυτών των παραμέτρων απαιτούν επενδύσεις για τη διόρθωση των επιπέδων στο νερό.

Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι ένας κρίσιμος παράγοντας όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω για την ανάπτυξη τόσο ειδικής όσο και μη ειδικής ανοσίας στους ιχθύες. Συγκεκριμένα, οι ιχθύες έχουν θερμοκρασία σώματος που είναι ουσιαστικά η θερμοκρασία του περιβάλλοντος νερού έτσι ολόκληρη η φυσιολογία τους, συμπεριλαμβανομένων των ανοσολογικών λειτουργιών, να επηρεάζεται από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Η ειδική ανοσία, που αποτελείται από ένα σύστημα ανανέωσης των κυττάρων με υψηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού, είναι ιδιαίτερα ευάλωτη σε μεταβολές στους μεταβολικούς ρυθμούς που προκαλούνται από τις κυμαινόμενες θερμοκρασίες. Οι χαμηλές θερμοκρασίες για κάποια είδη δρουν ανοσοκατασταλτικά ωστόσο σε μερικούς ιχθύες μπορεί ακόμη και να προκαλέσουν ανοχή. Τον χειμώνα, η θερμοκρασία του νερού μπορεί να μειωθεί σε επίπεδα στα οποία επηρεάζεται η σύνθεση αντισωμάτων και, συγκεκριμένα, οι γρήγορες πτώσεις θερμοκρασίας μπορεί να είναι ιδιαίτερα καταστροφικές. Σε αυτό το πλαίσιο, οι μη επιτρεπόμενες θερμοκρασίες είναι γνωστό ότι προκαλούν μια επαναλαμβανόμενη κατάσταση, που περιγράφεται ως «winter disease», στην τσιπούρα (*Sparus aurata*). Οι ανοσολογικά επιτρεπτές και μη επιτρεπτές θερμοκρασίες εξαρτώνται από τα είδη των ιχθύων και η μη επιτρεπτή θερμοκρασία έχει καθοριστεί στους 4 °C για τα σολομοειδή, τους 14 °C στον κυπρίνο και στους 22 °C το γατόψαρο (Bly and Clem, 1992). Η διακύμανση στις εποχιακές θερμοκρασίες του νερού που βιώνουν οι ιχθύες μέσα σε ένα έτος μπορεί να είναι αρκετά μεγάλη, κυμαινόμενη σε θερμοκρασία μικρότερη των 5 °C έως 19 °C για είδη κρύου νερού όπως η πέστροφα, και 16 °C έως 39 °C για αυτά που κυρίως ζουν σε ζεστά ύδατα (Sánchez *et al.*, 1993; Jain and Farrell, 2003). Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι χαμηλές θερμοκρασίες δεν είχαν καμία επίδραση στον όγκο των κυττάρων ή στο ποσοστό των λευκοκυττάρων του αίματος, όπως στην ιππόγλωσσα του Ατλαντικού (*Hippoglossus hippoglossus* L.) (8 °C έναντι 12°C-15 °C) (Langston *et al.*, 2002). Σε ενήλικα ψάρια, οι χαμηλές θερμοκρασίες φαίνεται να καταστέλλουν ή να καθυστερούν την παραγωγή βασικών έμφυτων ανοσοποιητικών μορίων στους ιχθύες (Abram *et al.*, 2017).

Οι αυξημένες θερμοκρασίες του νερού οδηγούν σε αυξημένη μεταβολική δραστηριότητα τους υδρόβιους οργανισμούς και αυτό συμβαίνει σε ένα περιβάλλον με ανεπάρκεια οξυγόνου καθώς το ζεστό νερό περιέχει λιγότερο οξυγόνο και προκαλεί μεγάλη πίεση στους οργανισμούς. Στους ιχθύες

προκαλείται γενικευμένη φυσιολογική και ανοσολογική απόκριση κατά του θερμικού στρες.

Οξειδωτικό στρες

Οι αλλαγές στη θερμοκρασία του περιβάλλοντος προκαλούν κατάσταση οξειδωτικού στρες που επηρεάζει το ποσοστό επιβίωσης των ιχθύων. Όταν η παραγωγή και η συσσώρευση των δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) είναι μεγαλύτερη από την ικανότητα του οργανισμού να αντιμετωπίσει αυτά τα αντιδραστικά είδη, οδηγείται σε οξειδωτικό στρες. Αυτό μπορεί να βλάψει τα λιπίδια, τις πρωτεΐνες το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA) (Vinagre *et al.*, 2012) και να προκαλέσει τραυματισμό των κυττάρων. Οξειδωτικό στρες προκαλείται επίσης και σε ποικίλες χρονικές και χωρικές κλίμακες όπως εξαιτίας υπερϊόδους ακτινοβολίας και ανθρωπογενούς μόλυνσης. Οι Vinagre *et al.* (2012) έδειξαν ότι η απόκριση του οξειδωτικού στρες δεν σχετίζεται άμεσα με τη θερμοκρασία, είναι η χαμηλότερη στη βέλτιστη θερμοκρασία και αυξάνεται έξω από τα ανώτερα και κατώτερα θερμοκά όρια του κάθε είδους. Σε μια άλλη εργασία (Madeira *et al.* 2013) παρατηρήθηκε ότι το οξειδωτικό στρες συμβαίνει σε αυξανόμενες θερμοκρασίες και φαίνεται να υπάρχει σχέση μεταξύ θερμικής απόκρισης και οξειδωτικής απόκρισης.

Η καταπόνηση, που προκύπτει από τον συνωστισμό, την εξάντληση του οξυγόνου και την κακή διατροφή, έχει ως αποτέλεσμα οι τιμές του δείκτη ποιότητας ευαισθησίας να είναι κάτω από το φυσιολογικό εύρος. Γενικά, οι χρόνιες περιβαλλοντικές πιέσεις προκαλούν καταστολή της δραστηριότητας του θυρεοειδούς στους τελεοστέους (Pickering, 1993).

Ανθρωπογενή αίτια

Ένας αριθμός ανθρωπογενών δραστηριοτήτων είναι οι πηγές πολλών οργανικών και ανόργανων ρύπων, όπως πλαστικά, φαρμακευτικά προϊόντα, φυτοφάρμακα, διοξίνες και μέταλλα που έχουν ανησυχητικές επιπτώσεις στα χερσαία και υδρόβια οικοσυστήματα (Scott and Sloman, 2004; Bukola *et al.*, 2015; Saaristo *et al.*, 2018; Jacquin *et al.*, 2020). Μερικοί από τους παραπάνω ρύπους είναι γνωστό ότι προκαλούν ανοσοκαταστολή, άλλοι ωστόσο μπορούν, σε ορισμένα επίπεδα έκθεσης, να οδηγήσουν σε ενίσχυση ορισμένων ανοσολογικών μεταβλητών (Jacquin *et al.*, 2020; Sueiro *et al.*, 2020). Επηρεάζεται επίσης ένα ευρύ φάσμα συμπεριφορών όπως η δραστηριότητα, η εξερεύνηση, η αποφυγή, η κοινωνικότητα, η επιθετικότητα, οι σεξουαλικές και διατροφικές συμπεριφορές των ιχθύων.

Η συσσώρευση οικιακών και βιομηχανικών αποβλήτων στις παράκτιες περιοχές καθώς και οι πολυπληθέστεροι οικισμοί τείνουν να κάνουν το

περιβάλλον ακατάλληλο για υδατοκαλλιέργεια, είτε ως μέσω άμεσης τοξικότητας είτε έμμεσα μέσω της εξάντλησης του διαλυμένου οξυγόνου ως αποτέλεσμα της αποσύνθεσης της οργανικής ύλης (GESAMP, 2001). Έχουν δημιουργηθεί και χρησιμοποιούνται δείκτες για την παρακολούθηση ανθρωπογενών επιπτώσεων στην υδρόβια άγρια ζωή (Illing and Rummer, 2017). Οι (Sueiro *et al.*, 2020) εξέτασαν δυο είδη ιχθύων που κατοικούν σε περιοχές που εκτίθενται σε ανθρωπογενείς ρύπους. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι οι ιχθύες επηρεάζονται διαφορετικά στην ανοσολογική τους κατάσταση και την υγεία τους. Τα άτομα που εκτέθηκαν στη ρύπανση εμφάνισαν χαμηλότερη ικανότητα συγκόλλησης βακτηρίων και σχετικά μεγαλύτερη σπλήνα το χειμώνα (δηλαδή, στις πιο κρύες θερμοκρασίες του νερού και στην μη αναπαραγωγική περίοδο) από ότι το καλοκαίρι (δηλαδή, υψηλότερες θερμοκρασίες νερού και αναπαραγωγική περίοδο).

Τα φυτοφάρμακα, τα βαρέα μέταλλα και οι οργανικές ενώσεις που απελευθερώνονται στο περιβάλλον αποτελούν απειλή για τους οργανισμούς υδατοκαλλιέργειας, δεδομένου ότι μπορούν να αλλάξουν βασικές φυσιολογικές λειτουργίες, να καταστρέψουν ανατομικές δομές και μπορούν επίσης να παραμείνουν λανθάνουσες και να μεταδοθούν σε ανθρώπους που καταναλώνουν ψάρια. Οι Echols *et al.* (2001) παρατήρησαν ότι η ρύπανση των υδάτων από βαρέα μέταλλα, υδρογονάνθρακες, ραδιενέργεια και συνθετικές οργανικές χημικές ουσίες συμβαίνει ως αποτέλεσμα ανθρώπινης αμέλειας ή ακατάλληλης χρήσης και διάθεσης αποβλήτων.

Αλατότητα

Η αλατότητα είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την επιβίωση, το μεταβολισμό, ειδικά την οσμορύθμιση (Prananingtyas *et al.*, 2019) και την κατανομή πολλών ειδών ψαριών στα διαφορετικά οικοσυστήματα. Έχει βρεθεί ότι σε συγκεκριμένη αλατότητα τα αυγά και οι προνύμφες από τα λαβράκια επιδρούν διαφορετικά. Οι γρήγορες αλλαγές στην αλατότητα με συνδυασμό άλλων περιβαλλοντικών στρεσογόνων παραγόντων, μπορεί να έχουν επιβλαβείς επιπτώσεις στους ιχθύες και μπορεί να προκαλέσουν αυξημένη ευαισθησία σε ασθένειες.

Έχει πραγματοποιηθεί έρευνα σχετικά με τους καρδιακούς παλμούς από *Clupea harengus* όπου ήταν λιγότερο γρήγορος (86 παλμοί/ λεπτό) με τιμές αλατότητας 4-5‰, σε σύγκριση με 25‰ (90 παλμοί / λεπτό). Οι Holliday και Blaxter (1960) κατέγραψαν μειωμένο ρυθμό καρδιακού παλμού (από 66 σε 42 παλμούς/ λεπτό) σε προνύμφες του *Clupea harengus* που υπέστησαν οσμωτικό θάνατο σε απεσταγμένο νερό. Οι επιδράσεις στον καρδιακό παλμό πιθανώς να προκύπτουν από το συνδυασμό της άμεσης απόκρισης του καρδιακού

μυός σε δυσμενείς καταστάσεις και τις αλλαγές στο ιζώδες του αίματος λόγω των οσμωτικών επιδράσεων.

Οι Choi *et al.* (2013) διετέλεσαν δύο πειράματα, ένα με μείωση και ένα με αύξηση της αλατότητας σε *Oreochromis niloticus* (L.). Το αποτέλεσμα των πειραμάτων δεν έδειξε σημαντικές αλλαγές σε καμία ανάλυση του ανοσοποιητικού συστήματος και των εσωτερικών οργάνων κατά την αλλαγή τη αλατότητας. Σε δυο διαφορετικές έρευνες των (Dykstra *et al.*, (1986) και Blazer *et al.*, (1999) αναφέρθηκαν ελκώδης μυκητιάσεις στο μέτωπο του *Brevoortia tyrannus* καθώς και σε άλλα είδη ιχθύων.

Ενεργός Οξύτητα (pH)

Εκτός από τη θερμοκρασία και το διαλυμένο οξυγόνο, το pH είναι πιθανώς η πιο συχνά μετρούμενη μεταβλητή ποιότητας του νερού στην υδατοκαλλιέργεια. Μία από τις πιο ανησυχητικές πτυχές του pH στα συστήματα υδατοκαλλιέργειας είναι η τάση του να αλλάζει γρήγορα. Η τιμή του pH, ένα μέτρο της οξύτητας ενός υδατικού διαλύματος, είναι ένας από τους πιο ευαίσθητους παράγοντες περιβαλλοντικού στρες για τις υδατοκαλλιέργειες.

Τα είδη υδατοκαλλιέργειας συνήθως πεθαίνουν γρήγορα εάν το pH είναι μικρότερο από 4 ή μεγαλύτερο από 11. Τα περισσότερα είδη μπορούν να ανεχθούν ένα pH μεταξύ 6 ως 9 αρκετά καλά, αλλά συνήθως καταπονούνται από pH έξω από αυτό το εύρος με αποτέλεσμα λιγότερη ανάπτυξη και μεγαλύτερη ευαισθησία σε ασθένειες. Το βέλτιστο pH για τα περισσότερα είδη είναι μεταξύ 7 και 8,5. Ωστόσο, οι σύντομες αποκλίσεις από το βέλτιστο εύρος πιθανώς είναι ασήμαντες.

Κλιματική αλλαγή

Η κλιματική αλλαγή οδηγεί σε πολλές αλλαγές που είναι κρίσιμες τόσο για τους ιχθύες όσο και για τις υδατοκαλλιέργειες. Σε αυτά περιλαμβάνονται η ξηρασία, το αλλοιωμένο μοτίβο βροχόπτωσης, η ένταση των καταιγίδων, οι αλλαγές στη θερμοκρασία της θάλασσας, η άνοδος της στάθμης της θάλασσας και οι αυξημένες θερμοκρασίες εσωτερικών υδάτων (WorldFish, 2007). Αυτές οι επιπτώσεις όπως προτείνεται από το WorldFish (2007) για την αύξηση της θαλάσσιας θερμοκρασίας μπορεί να αυξήσουν την παραγωγή της υδατοκαλλιέργειας, αλλά μπορεί να επισκιασθεί και από αλλαγές στον αριθμό των διαθέσιμων ειδών για καλλιέργεια. Η αυξημένη θερμοκρασία του νερού έχει βρεθεί ότι επηρεάζει τους μυς των ψαριών και τους μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την αποτοξίνωση, όπως προέκυψε από την μελέτη που έγινε στην τσιπούρα *Sparus aurata* (Madeira *et al.*, 2016).

1.9 Στοχοθεσία

Ο στόχος της παρούσας διπλωματικής διατριβής ήταν βιβλιογραφική διερεύνηση της ρύθμισης της έκφρασης ανοσολογικών γονιδίων μετά από επαφή με τρία παθογόνα που επηρεάζουν το εκτρεφόμενο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) και τη τσιπούρα (*Sparus aurata*).

Σκοπός της διπλωματικής ήταν να καταγραφούν οι των δυνατών περισσότερες ερευνητικές αναφορές των μεθοδολογιών που ακολουθούνται για τη μελέτη της έκφρασης ανοσολογικών γονιδίων των παθογόνων αυτών, τον τρόπο διάγνωσης και αντιμετώπισης. Έχει πραγματοποιηθεί αναφορά σχετικά με το ανοσολογικό σύστημα και κατ' επέκταση τα ανοσολογικά γονίδια που διαθέτουν οι τελεόστεοι αυτοί. Η έρευνα και μελέτη των ανοσολογικών γονιδίων των τελεόστεων είναι σημαντική διότι με αυτόν τον τρόπο βελτιώνεται η κατανόηση της ανοσολογίας των ιχθύων και προτείνονται νέοι τρόποι καταπολέμησης των παθογόνων.

1.10 Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

Είναι σημαντικό ότι η προσαρμογή σε πολλαπλά περιβάλλοντα έφερε τους ιχθύες σε επαφή με διαφορετικούς τύπους έκθεσης σε παθογόνα, τα οποία πιθανώς αντιπροσωπεύουν τη σημαντικότερη πίεση επιλογής στο αμυντικό σύστημα.

Υπάρχουν πολλά γονίδια που εμπλέκονται στην ανοσοαπόκριση είτε μέσω άμεσου είτε έμμεσου τρόπου. Η γονιδιακή έκφραση διαφέρει σε φυσιολογικές και μη φυσιολογικές περιπτώσεις. Η ανοσοαπόκριση είναι μια σειρά από ποικίλες διαφορετικές αντιδράσεις και διαδικασίες που στοχεύουν στην εξάλειψη του αναγνωρισμένου ξένου παράγοντα που βλάπτει τον ξενιστή. Η μελέτη της ανοσολογικής απόκρισης είναι ένα σημαντικό εργαλείο για την ανάπτυξη αποτελεσματικών μεθόδων ελέγχου της νόσου στους ιχθύες, καθώς επιτρέπει τη βελτίωση των γνώσεών μας σχετικά με τους προστατευτικούς μηχανισμούς κατά τη διάρκεια της μόλυνσης.

Η κύρια διαφορά μεταξύ έμφυτης και προσαρμοστικής ανοσίας είναι ο τύπος των υποδοχέων που χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση παθογόνων (Medzhitov, 2007). Η έμφυτη ανοσολογική αναγνώριση εξαρτάται από τον αριθμό των υποδοχέων, συμπεριλαμβανομένων των, PRRs με ευρεία εξειδίκευση που έχουν εξελιχθεί για την αναγνώριση του σχετιζόμενου με κάποιο PAMPs.

Η αναγνώριση των γονιδίων που σχετίζονται με την ανοσία στους ιχθύες και τον προσδιορισμό των προτύπων έκφρασής τους λαμβάνουν μεγάλη προσοχή και έρευνα. Αυτό συμβαίνει εξαιτίας της αύξησης της έκφρασης των

ανοσοποιητικών γονιδίων όπου θεωρείται συνήθως ως ένδειξη διέγερσης του ανοσοποιητικού συστήματος ή της αυξημένης ανοσοαπόκρισης.

Η γονιδιακή έκφραση είναι η διαδικασία με την οποία οι πληροφορίες από ένα γονίδιο χρησιμοποιούνται στη σύνθεση ενός λειτουργικού γονιδιακού προϊόντος. Όλα τα στάδια της διαδικασίας γονιδιακής έκφρασης μπορούν να ρυθμιστούν συμπεριλαμβανομένης της μεταγραφής, μετάφρασης και μεταφραστικής τροποποίησης μιας πρωτεΐνης. Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης δίδει έλεγχο σε σχέση με το χρόνο, τη θέση και την ποσότητα ενός δεδομένου γονιδιακού προϊόντος που υπάρχει σε ένα κύτταρο και μπορεί να έχει βαθιά επίδραση στην κυτταρική δομή και λειτουργία. Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης είναι η βάση για κυτταρική διαφοροποίηση, ανάπτυξη, μορφογένεση και την ευελιξία και προσαρμοστικότητα οποιουδήποτε οργανισμού. Λειτουργεί τόσο ως διακόπτης ενεργοποίησης/ απενεργοποίησης για τον έλεγχο της παραγωγής πρωτεϊνών όσο και για τον έλεγχο του όγκου που αυξάνει ή μειώνει την ποσότητα των πρωτεϊνών που παράγονται.

Οι περισσότερες από τις τεχνικές μελέτες της γονιδιακής έκφρασης μπορούν να πραγματοποιηθούν με την ανάλυση των μικροσυστοιχιών και της RT-PCR, οι οποίες λειτουργούν μετρώντας τα επίπεδα mRNA. Ωστόσο, οι ερευνητές μπορούν επίσης να αναλύσουν την γονιδιακή έκφραση μετρώντας άμεσα τα επίπεδα πρωτεΐνης με μια τεχνική του στυπώματος Western (Western Blot).

Τα ψάρια εκφράζουν ένα πολύπλοκο σύνολο συμπεριφορών που μπορεί να διερευνηθεί χρησιμοποιώντας γονιδιακή έκφραση και μικροσυστοιχίες. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η συμπεριφορά που σχετίζεται με την παραλλαγή της έκφρασης των γονιδίων στο κεντρικό νευρικό σύστημα μπορεί να βελτιώσει την κατανόησή για τις διαδικασίες που εμπλέκονται στη ροή των γονιδίων και τη συνδεσιμότητα μεταξύ ομάδων ή πληθυσμών ενός είδους.

Η βιβλιογραφική ανασκόπηση κατέδειξε πληθώρα ρυθμίσεων διαφόρων ανοσολογικών και μη γονιδίων μετά από επαφή λαβρακιού ή τσιπούρας με αντιγόνα των b-nodavirus, Phdp και *Vibrio anguillarum* O1. Η δράση για το κάθε γονίδιο που γίνεται αναφορά στο κείμενο συνοψίζεται στον Πίνακα 5 ενώ στον Πίνακα 6 συνοψίζονται οι ρυθμίσεις αυτών κατά τις έρευνες που πραγματοποιήθηκαν. Η ανάλυση των ρυθμίσεων αναλύονται στο κείμενο που ακολουθεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5: ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΤΙΚΟΣ ΠΙΝΑΚΑΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΟΡΙΩΝ

Ουσία ανοσοποιητικού	Δράση
IL-1β	προ-φλεγμονώδη κυτοκίνη, συμμετέχει στη ρύθμιση τόσο της έμφυτης όσο και της προσαρμοστικής ανοσίας (Buonocore <i>et al.</i> , 2005; Zhu <i>et al.</i> , 2013)
1L-6	σημαντική πλειοτροπική δραστηριότητα στη διαμόρφωση της έμφυτης και προσαρμοστικής ανοσίας (Neves <i>et al.</i> , 2011; Mosca <i>et al.</i> , 2014)
1L-8	ενεργοποίηση της χημειοταξίας των ουδετερόφιλων, αλλά εμπλέκεται επίσης στην επαγωγή άλλων κυτοκινών (Zhang <i>et al.</i> , 2012; Mosca <i>et al.</i> , 2014)
IL-10	πλειοτροπική κυτοκίνη γενικά γνωστή για τη συνάφειά της στην επίλυση της φλεγμονής, αλλά έχει επίσης ανοσοποιητικές ιδιότητες
IL-12 p40	εμπλέκεται σε αντιβακτηριακές αποκρίσεις λαβρακιού, είναι σημαντικό για τη βελτίωση της κατανόησής τόσο των προστατευτικών όσο και των παθογόνων ανοσοαποκρίσεων (Cooper and Khader, 2007)
IL-12 p35	εμπλέκεται σε αντιβακτηριακές αποκρίσεις λαβρακιού (Nascimento, Tom, <i>et al.</i> , 2007)
Κυτοκίνη	θεμελιώδη ρόλο στην έναρξη και ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης
Caspase 3, 8 και 9	πρωτεάσες, με αξιοσημείωτη ειδικότητα για διάσπαση στην καρβοξυλική πλευρά των καταλοίπων ασπαρτικού οξέος. Παίζουν σημαντικό ρόλο σε ορισμένες περιπτώσεις απόπτωσης από εξωγενείς και εγγενείς οδούς. Εναρκτήρια κασπάση είναι η 8 και 9 και τελεστική η 3 (Reis, Vale, <i>et al.</i> , 2007; Sepulcre <i>et al.</i> , 2007; Reis, Costa-ramos and Nuno, 2010)
H2B και H1 ιστόνες	Οι ιστόνες έχουν συσχετιστεί με τη δραστικότητα αντιμικροβιακών πεπτιδίων (AMP) σε σπονδυλωτά. Η ιστόνη H1 των θηλαστικών κινητοποιείται ως μέρος της αντικής ανοσοαπόκρισης. Διάφορες ιστόνες έχουν ανιχνευθεί στο κυτταρόπλασμα διαφόρων κυτταρικών τύπων, δείχνοντας έτσι ένα ευρύ φάσμα αντιμικροβιακών δραστηριοτήτων (Valero, Arizcun, <i>et al.</i> , 2016)
CD83	διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη τύπου 1 η οποία ανήκει στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών (Ig), σημαντικό συστατικό του ανοσοποιητικού συστήματος (Buonocore <i>et al.</i> , 2012)
TGFb1	παίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο του ανοσοποιητικού συστήματος και δείχνει διαφορετικές δραστηριότητες σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων ή κύτταρα σε διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια (Mulero <i>et al.</i> , 2008)
TNFa	είναι μια προφλεγμονώδης κυτοκίνη με σημαντικό ρόλο στην παθογένεση πολλών ασθενειών (Mulero <i>et al.</i> , 2008)
TLR5	Βασικό συστατικό της έμφυτης ανοσίας, εμπλέκεται στην αναγνώριση βακτηριακών μαστιγίων από σχεδόν όλα τα κινητά βακτήρια (Baoprasertkul <i>et al.</i> , 2007)
τύπος I IFN	Έμφυτος αμυντικός μηχανισμός αντικής απόκρισης
Mx	έμφυτος αμυντικός μηχανισμός για αντική απόκριση (Leong <i>et al.</i> , 1998; Wu and Chi, 2007; Poisa-Beiro <i>et al.</i> , 2008)
TGF-b	είναι μια κυτοκίνη που εμπλέκεται στις έμφυτες αποκρίσεις στα

	ψάρια (Scapigliati <i>et al.</i> , 2010)
Cox-2	Ένζυμο υπεύθυνο για την παραγωγή προσταγλανδινών κατά τη διάρκεια της φλεγμονής (Scapigliati <i>et al.</i> , 2010)
TCRb	Δράση??
CD4	Τα κύτταρα ψαριών που εκφράζουν γονίδια που σχετίζονται με CD4 ενεργοποιούνται παρουσία ενός παθογόνου και απελευθερώνουν κυτοκίνες έναντι του παθογόνου. (Secombes, Wangs and Bird, 2011)
CD8a	είναι μια γλυκοπρωτεΐνη κυτταρικής επιφάνειας που βρίσκεται στα περισσότερα κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα που μεσολαβούν σε αποτελεσματικές αλληλεπιδράσεις κυττάρων εντός του ανοσοποιητικού συστήματος. Το μόριο CD8 περιλαμβάνει δύο υπομονάδες, CD8a και CD8b, καθεμία από τις οποίες κωδικοποιείται από ένα ξεχωριστό γονίδιο. (Chistiakov, Hellemans and Volckaert, 2007)
IgM	σημαντικό ρόλο στην αναστολή της εισόδου των παθογόνων, τα B-κύτταρα δημιουργούν τα αντισώματα IgM ως πρώτη γραμμή άμυνας.. Η IgM εξειδικεύεται στην αποτελεσματική ενεργοποίηση κατά τη σύνδεση του αντιγόνου.
NKEF- A	φυσικός παράγοντας ενίσχυσης κυττάρων (Esteban <i>et al.</i> , 2013)
NKEF- B	φυσικός παράγοντας ενίσχυσης κυττάρων (Esteban <i>et al.</i> , 2013)

Διαφορετικά μικροβιακά και ιικά παθογόνα και μόρια μπορούν να διεγείρουν την παραγωγή IL-12 (Romani *et al.*, 1997).

ΠΙΝΑΚΑΣ 6: ΡΥΘΜΙΣΕΙΣ ΔΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΑΝΑ ΜΕΛΕΤΗ

Phdp				
Γονίδια		Γονιδιακή έκφραση	Βιβλιογραφία	Παρατήρηση
Hepsidin	Ήπαρ	Υπερφόρτωση σιδήρου: Υψηλότερη έκφραση	(Rodrigues <i>et al.</i> , 2006)	
β-actin		Υπερφόρτωση σιδήρου: εμφάνιση Αναιμία: εμφάνιση Ελέγχου: εμφάνιση		
IL-12 p40,	Πρόνεφρος	(0) ▲(3) ▼(6) ►(12) ▲(24) ▼	(Nascimento <i>et al.</i> , 2007)	
	σπλήνα	(0) ►(3) ▲(6) ►(12) ▲(24) ▼		
IL-12 p35	Πρόνεφρος	(0) ▲(3) ▼(6) ►(12) ▼(24) ▲		
	σπλήνα	(0) ▲(3) ▼(6) ▲(12) ▲(24) ▼		
IL-1b	Πρόνεφρος	(0) (3) ▲(6) ►(12) ▲(24) ▼		
	σπλήνα	(0) ►(3) ▲(6) ►(12) ▲(24) ▼		
Caspase-9	Πρόνεφρος	(6) ▲(12) ▲(24) ▼	(Reis <i>et al.</i> , 2007)	
IL-1b	Πρόνεφρος	(3) ▲(6) ▲(24) ▼	(Pinto <i>et al.</i> , 2007)	
	σπλήνα	(3) ▲(6) ▲(24) ▼		
IL-10	Πρόνεφρος	(3) ▲(6) ▲(24) ▼		
	σπλήνα	(3) ▲(6) ▲(24) ▼		
Caspase-3	Πρόνεφρος	(0) ▲(3) ▲(6) ▲(12) ▼(24) ▼	(Reis <i>et al.</i> , 2007)	
Hamp	Αναιμία	(4d) ▲(7d) ▼(14d) ▼	(Neves <i>et al.</i> , 2011)	
	Αύξηση	(4d) ▲(7d) ▲(14d) ▼		
	Μόλυνση	(24) ▲(48) ▲(72) ▲(96) ▲		
Il6	Αναιμία	(4d) ▲(7d) ►(14d) ►		
	Αύξηση	(4d) ▲(7d) ▼(14d) ▲		
	Μόλυνση	(24) ▲(48) ▲(72) ▲(96) ▼		

Jak3	Αναιμία	(4d) ▲(7d) ▲(14d) ▼		
	Αύξηση	(4d) ▲(7d) ▼(14d) ▲		
	Μόλυνση	(24) ▲(48) ▼(72) ▼(96) ▼		
Stat3	Αναιμία	(4d) ▲(7d) ▼(14d) ▲		
	Αύξηση	(4d) ▲(7d) ►(14d) ▲		
	Μόλυνση	(24) ▲(48) ▲(72) ▲(96) ▲		
Tmprss6	Αναιμία	(4d) ▲(7d) ▲(14d) ▲		
	Αύξηση	(4d) ▲(7d) ▲(14d) ▼		
	Μόλυνση	(24) ▲(48) ►(72) ►(96) ►		
Hjv	Αναιμία	(4d) ▲(7d) ►(14d) ►		
	Αύξηση	(4d) ▲(7d) ▼(14d) ▲		
	Μόλυνση	(24) ▲(48) ►(72) ►(96) ▼		
Bmp6	Αναιμία	(4d) ▲(7d) ▲(14d) ▼		
	Αύξηση	(4d) ▲(7d) ►(14d) ►		
	Μόλυνση	(24) ▲(48) ▼(72) ▲(96) ▼		
Bmpr2	Αναιμία	(4d) ▲(7d) ►(14d) ▲		
	Αύξηση	(4d) ▲(7d) ▼(14d) ▲		
	Μόλυνση	(24) ▲(48) ▲(72) ▲(96)		
Smad4	Αναιμία	(4d) ▲(7d) ►(14d) ►		
	Αύξηση	(4d) ▲(7d) ▲(14d) ▲		
	Μόλυνση	(24) ▲(48) ▲(72) ▲(96) ▼		
Smad5	Αναιμία	(4d) ▲(7d) ▲(14d) ▼		
	Αύξηση	(4d) ▲(7d) ►(14d) ▼		
	Μόλυνση	(24) ▲(48) ▼(72) ▼(96) ▼		
Tfr1	Αναιμία	(4d) ▲(7d) ▼(14d) ▲		
	Αύξηση	(4d) ▲(7d) ▲(14d)		
	Μόλυνση	(24) ▲(48) ▲(72) ▲(96)		
Tfr2	Αναιμία	(4d) ▲(7d) ▲(14d) ▲		
	Αύξηση	(4d) ▲(7d) ▲(14d) ▲		

	Μόλυνση	(24) ▲(48) ▼(72) ▼(96) ▼		
TNF-α	Πρόνεφρος	(3) ▲(6) ►(24) ▼(3) ►(6) ►(12) ▲(24) ►	(Nascimento <i>et al.</i> , 2007)	UV-killed PP3, <i>Phdp</i>
	Σπλήνα	(3) ▲(6) ►(24) ▼		
IL-1β	Πρόνεφρος	(3) ▲(6) ▼(24) ▼(3) ▲(6) ▲(12) ▲(24) ▲		
	Σπλήνα	(3) ▲(6) ▼(24) ▼		

L. anguillarum				
Γονίδια		Γονιδιακή έκφραση	Βιβλιογραφία	Παρατηρήσεις
DIC	Δέρμα	(1.5h) ▼(3) ▲(8) ▼(24) ▼(72) ▼	(Meloni <i>et al.</i> , 2015)	
	Βράγχια	(1.5h) ▲(3) ▼(8) ▼(24) ▼(72) ▼		
	Σπλήνα:	(1.5h) ▲(3) ▼(8) ▼(24) ▲(72) ▼		
	Πρόνεφρος	(1.5h) ▲(3) ▲(8) ▲(24) ▼(72) ▲		
HLP-1	Δέρμα	(1.5h) ▼(3) ▲(8) ▲(24) ▼(72) ▼		
	Βράγχια	(1.5h) ▲(3) ▲(8) ▲(24) ▲(72) ▲		
	Σπλήνα	(1.5h) ▲(3) ▲(8) ▲(24) ▲(72) ▲		
	Πρόνεφρος	(1.5h) ▲(3) ▲(8) ▲(24) ▲(72) ▲		
HLP-2	Δέρμα	(1.5h) ▼(3) ▲(8) ▼(24) ▼(72) ▼		
	Βράγχια	(1.5h) ▲(3) ▲(8) ►(24) ▲(72) ▲		
	Σπλήνα	(1.5h) ▲(3) ▼(8) ▲(24) ▲(72) ▲		
	Πρόνεφρος	(1.5h) ▲(3) ▼(8) (24) ▼(72) ▼		
Hb-LP	Δέρμα	(1.5h) ▼(3) ▼(8) ▼(24) ▼(72)		
	Βράγχια	(1.5h) ▲(3) ▲(8) ▲(24) ▲(72) ▲		
	Σπλήνα	(1.5h) ▲(3) ▼(8) ▲(24) ▲(72) ▲		
	Πρόνεφρος	(1.5h) ▲(3) ▲(8) ▲(24) ▼(72) ▲		
IL-1b	Δέρμα	(1.5h) ▼(3) ▲(8) ▼(24) ▼(72) ▼		
	Βράγχια	(1.5h) ▼(3) ▼(8) ►(24) ▼(72) ▼		
	Σπλήνα	(1.5h) ▲(3) ▲(8) ▲(24) ▲(72) ▼		
	Πρόνεφρος	(1.5h) ▲(3) ▲(8) ▲(24) ▲(72) ▼		
Hepsidin	Συκώτι	(4) ▲(24) ▲	(Sarrropoulou <i>et al.</i> , 2009)	
	Σπλήνα	(4) ►(24) ▲		
	Πρόνεφρος	(4) ▲(24) ▲		
Ferritin	Συκώτι	(4) ▲(24) ▲		
	Σπλήνα	(4) ►(24) ▲		

Cxcr4	Συκώτι	(4) ▲(24) ▲		
	Σπλήνα	(4) ▼(24) ▲		
	Πρόνεφρος	(4) ▲(24) ▲		
Transferrin	Συκώτι	(4) ▲(24) ▲		
	Σπλήνα	(4) ►(24) ▲		
14kDa	Συκώτι	(4) ▲(24) ►		
	Σπλήνα	(4) ▼(24) ▲		
Aldolase B	Συκώτι	(4) ▲(24) ▼		
	Σπλήνα	(4) ▲(24) ▲		
	Πρόνεφρος	(4) ▲(24) ►		

Nodaviridae				
Γονίδια	Όργανο	Γονιδιακή έκφραση	Βιβλιογραφία	Παρατήρηση
IFN (τύπου I)	πρόνεφρος	(6h)▲(24h)▼(3d) ▼(12d) ▼(6h) ▲(24h) ▲(3d) ▼(10d) ▼	(Scapigliati <i>et al.</i> , 2010)	Πλάγια γραφή τα δεδομένα από μολυσμένα και ενσχυμένα λαβράκια.
Mx		(6h)▲(24h)▼(3d) ▼(12d) ▼(6h) ▲(24h) ▲(3d) ▼(10d) ▼		
TGF-β		(24h) ▲(3d) ▼(10d) ▲(24h) ▲(3d) ▼(10d) ▲		
IL-10		(24h) ▲(3d) ▼(10d) ▲(24h) ▲(3d) ▼(10d) ▲		
Cox-2		(24h) ▲(3d) ▲(12d) ▲(24h) ▲(3d) ▼(10d) ▼		
IL-1β		(24h) ▲(3d) ▲(12d) ▼(24h) ▲(3d) ▲(10d) ▼		
IG		(6h)▲(24h)▼(3d) ▲(12d) ▼(6h) ▲(24h) ▲(3d) ▼(10d) ▲		
TCRβ		(24h) ▲(3d) ▼(12d) ▲(24h) ▲(3d) ▼(10d) ▲		
CD8-α		(24h) ▲(3d) ▼(12d) ▲(24h) ▲(3d) ▼(10d) ▲		
CD4		(24h) ▲(3d) ▼(12d) ▼(24h) ▲(3d) ►(10d) ▼		
IFN (τύπου I)		Βράγχια		
	Σπλήνα	(24h) ▲(48h) ▲(72h) ▼		
ISG-12	Βράγχια	(24h) ▲(48h) ▼(72h) ▼		
	Σπλήνα	(24h) ▲(48h) ▲(72h) ▼		
IL-8	Βράγχια	(24h) ▲(48h) ▼(72h) ►		
	Σπλήνα	(24h) ►(48h) ►(72h) ►		
MxA	Βράγχια	(24h) ▲(48h) ▼(72h) ▲		
	Σπλήνα	(24h) ▲(48h) ▲(72h) ▼		
MHCI	Βράγχια	(24h) ▲(48h) ▼(72h) ▼		
	Σπλήνα	(24h) ▲(48h) ▲(72h) ▼		
IgM	Βράγχια	(24h) ▲(48h) ▼(72h) ▼		
	Σπλήνα	(24h) ▲(48h) ►(72h) ▼		
IgT	Βράγχια	(24h) ▲(48h) ►(72h) ►		
	Σπλήνα	(24h) ▲(48h) ▼(72h) ▼		
IgD	Βράγχια	(24h) ▲(48h) ▼(72h) ▼		
	Σπλήνα	(24h) ►(48h) ▲(72h) ▲		

ifn	Οπίσθιο έντερο	CP-pcDNA3.1 (7d) ▲30(d) ▼90(d) ▼ CP-pNNV (7d) ▲30(d) ▲90(d) ▼	Valero <i>et al.</i> (2016)	Στοματικό εμβόλιο
ifng		CP-pcDNA3.1 (7d) ▲30(d) ▼90(d) ▼ CP-pNNV (7d) ▲30(d) ▲90(d) ▼		
mx		CP-pcDNA3.1 (7d) ▲30(d) ▼90(d) ▼ CP-pNNV (7d) ▲30(d) ▲90(d) ▼		
Mhc1a		CP-pcDNA3.1 (7d) ▲30(d) ▼90(d) ► CP-pNNV (7d) ▲30(d) ▲90(d) ▼		
Mhc2a		CP-pcDNA3.1 (7d) ▲30(d) ►90(d) ▼ CP-pNNV (7d) ▲30(d) ▲90(d) ▼		
igmh		CP-pcDNA3.1 (7d) ▲30(d) ▼90(d) ▲ CP-pNNV (7d) ▲30(d) ▼90(d) ▲		
igth		CP-pcDNA3.1 (7d) ▲30(d) ▼90(d) ▲ CP-pNNV (7d) ▲30(d) ▼90(d) ▲		
Cd8a		CP-pcDNA3.1 (7d) ▲30(d) ▲90(d) ▼ CP-pNNV (7d) ▲30(d) ▲90(d) ▲		
tcrd		CP-pcDNA3.1 (7d) ▲30(d) ▼90(d) ▲ CP-pNNV (7d) ▲30(d) ▲90(d) ▲		
IFN-1		Εγκέφαλος		(3) ▼(12) ▲(24) ▼(72) ▲(3) ▲(12) ▲(24) ▼(72) ▲
ISG-15	(3) ▲(12) ▲(24) ▲(72) ▲(3) ▲(12) ▲(24) ▲(72) ▲			
ISG-12	(3) ▲(12) ▲(24) ▲(72) ▲(3) ▲(12) ▼(24) ▲(72) ▲			
MxA	(3) ▼(12) ▲(24) ▲(72) ▼(3) ▲(12) ▲(24) ▲(72) ▲			
IL-8	(3) ▲(12) ▼(24) ▼(72) ▲(3) ▲(12) ▼(24) ▼(72) ▲			
TNF-α	(3) ▼(12) ▲(24) ▲(72) ▲(3) ▲(12) ▼(24) ▲(72) ▲			
IL-10	(3) ▼(12) ▲(24) ▲(72) ▲(3) ▼(12) ▼(24) ▲(72) ▲			
TGF-β	(3) ▼(12) ▲(24) ▼(72) ▲(3) ▲(12) ▼(24) ▲(72) ▲			
MHCII-β	(3) ▼(12) ▲(24) ▲(72) ▲(3) ▼(12) ▼(24) ▲(72) ▲			
TR-γ	(3) ▲(12) ▼(24) ▼(72) ▲(3) ▲(12) ▼(24) ▲(72) ▲			
IFN-1	(3) ▼(12) ▲(24) ▲(72) ▼(3) ▼(12) ▼(24) ▲(72) ▲			

ISG-15		(3) ▼(12) ▲(24) ▼(72) ►(3) ▲(12) ▲(24) ▲(72) ▲		
ISG-12		(3) ▲(12) ▲(24) ▲(72) ▼(3) ▲(12) ▲(24) ▲(72) ▲		
MxA		(3) ▲(12) ▲(24) ▲(72) ▼(3) ▲(12) ▲(24) ▲(72) ▲		
IL-8		(3) ▲(12) ▲(24) ▲(72) ▲(3) ▲(12) ▼(24) ▲(72) ▲		
TNF-a		(3) ▼(12) ▼(24) ▲(72) ▲(3) ▼(12) ▼(24) ▲(72) ▲		
IL-10		(3) ▼(12) ▲(24) ▲(72) ▼(3) ▲(12) ▼(24) ▲(72) ▲		
TGF- β		(3) ▼(12) ▲(24) ▲(72) ▼(3) ▲(12) ▼(24) ▲(72) ▲		
MHCII-β		(3) ▼(12) ▲(24) ▲(72) ▲(3) ▼(12) ▼(24) ▲(72) ▼		
TR-γ		(3) ▼(12) ▼(24) ▲(72) ▲(3) ▲(12) ▼(24) ▲(72) ▲		
TNFa	Εγκέφαλος	(1d) ▲(3d) ▲(7d) ▼	(Valero <i>et al.</i> , 2016)	
	Πρόνεφρος	(1d) ▲(3d) ▼(7d) ▼		
IL-1b	Εγκέφαλος	(1d) ▲(3d) ▲(7d) ▼		
	Πρόνεφρος	(1d) ▲(3d) ▼(7d) ▲		
Mx	Εγκέφαλος	(1d)►(3d) ▲(7d) ▼		
	Πρόνεφρος	(1d) ▲(3d) ▼(7d) ▼		
H1	Εγκέφαλος	(1d) ▼(7d) ▼(15d) ►		
	Όρχεις	(1d) ▲(7d) ▲(15d) ►		
	Πρόνεφρος	(1d) ▼(7d) ▼(15d) ▼		
H2b	Εγκέφαλος	(1d) ▼(7d) ▼(15d) ▲		
	Όρχεις	(1d) ▲(7d) ▲(15d) ▼		
	Πρόνεφρος	(1d) ▼(7d) ▲(15d) ▲		
Hepsidin	Συκώτι	(4) ►(24) ▲	(Sarropoulou <i>et al.</i> , 2009)	
	Σπλήνα	(4)►(24) ►		
	Πρόνεφρος	(4) ▲(24) ►		
Ferritin	Συκώτι	(4) ▲(24) ▲		
	Σπλήνα	(4) ▲(24) ▲		
Cxcr4	Συκώτι	(4) ▲(24) ▲		
	Σπλήνα	(4) ▲(24) ▲		
	Πρόνεφρος	(4) ▲(24) ▲		

Transferrin	Συκώτι	(4) ▲(24) ▲				
	Σπλήνα	(4) ►(24) ►				
14kDa	Συκώτι	(4) ▲(24) ►				
	Σπλήνα	(4) ▲(24) ▼				
Aldolase B	Συκώτι	(4) ▲(24) ▲				
	Σπλήνα	(4) ▲(24) ▼				
	Πρόνεφρος	(4) ▲(24) ▼				
Mda5	Εγκέφαλος	(1) ▼(7) ▼(15) ▲			(Valero <i>et al.</i> , 2015)	
	Όρχεις	(1) ▲(7) ►(15) ►				
Irf3	Εγκέφαλος	(1) ▼(7) ▲(15) ▲				
	Όρχεις	(1) ▲(7) ▼(15) ▼				
Ifn	Εγκέφαλος	(1) ►(7) ▼(15) ▼				
	Όρχεις	(1) ▲(7) ▼(15) ▼				
mx	Εγκέφαλος	(1) ►(7) ▼(15) ▼				
	Όρχεις	(1) ►(7) ▲(15) ▲				
pkr	Εγκέφαλος	(1) ▲(7) ▼(15) ▲				
	Όρχεις	(1) ▲(7) ▼(15) ▼				
Lgp2	Εγκέφαλος	(1) ▼(7) ▼(15) ▲				
	Όρχεις	(1) ▲(7) ▲(15) ▼				
mavs	Όρχεις	(1) ▼(7) ▼(15) ▼				
	Εγκέφαλος	(1) ▲(7) ▼(15) ▼				
Traf3	Όρχεις	(1) ▼(7) ▼(15) ▲				
	Εγκέφαλος	(1) ▲(7) ▲(15) ▼				
tank	Όρχεις	(1) ▼(7) ▼(15) ▲				
	Εγκέφαλος	(1) ▲(7) ▼(15) ▼				
If7	Όρχεις	(1) ▼(7) ▲(15) ►				
	Εγκέφαλος	(1) ▲(7) ▲(15) ▼				

Τσιπούρα

Nodaviridae						
Γονίδια	Όργανο	Γονιδιακή έκφραση	Βιβλιογραφία	Παρατηρήσεις		
TNFa	Εγκέφαλος	(1d) ▲(3d) ▲(7d) ▼	(Valero <i>et al.</i> , 2016)			
	Πρόνεφρος	(1d) ▲(3d) ▼(7d) ►				
IL-1b	Εγκέφαλος	(1d) ▲(3d) ▲(7d) ▼				
	Πρόνεφρος	(1d) ▲(3d) ▼(7d) ▲				
Mx	Εγκέφαλος	(1d) ▲(3d) ▲(7d) ▼				
	Πρόνεφρος	(1d) ▲(3d) ▼(7d) ▼				
H1	Εγκέφαλος	(1d) ▼(7d) ▼(15d) ▲			(Valero <i>et al.</i> , 2016)	
	Όρχεις	(1d) ▼(7d) ▼(15d) ▼				
	Πρόνεφρος	(1d) ►(7d) ▼(15d) ▲				
H2b	Εγκέφαλος	(1d) ▼(7d) ▼(15d) ▲				
	Όρχεις	(1d) ►(7d) ▼(15d) ▼				
	Πρόνεφρος	(1d) ▲(7d) (15d) ▲				
Mda5	Εγκέφαλος	(1) ▲(7) ▲(15) ▲	(Valero <i>et al.</i> , 2015)			
	Όρχεις	(1) ▲(7) ▼(15) ▼				
Tbk1	Εγκέφαλος	(1) ▼(7) ►(15) ▲				
	Όρχεις	(1) ▲(7) ▼(15) ▲				
Irf3	Εγκέφαλος	(1) ▼(7) ▲(15) ▲				
	Όρχεις	(1) ▲(7) ▼(15) ▼				
ifn	Εγκέφαλος	(1) ►(7) ▲(15) ▼				
	Όρχεις	(1) ▲(7) ▼(15) ▼				
mx	Εγκέφαλος	(1) ▲(7) ▲(15) ▲				
	Όρχεις	(1) ▲(7) ▼(15) ▼				
pkr	Εγκέφαλος	(1) ▲(7) ▲(15) ▲				
	Όρχεις	(1) ►(7) ▼(15) ▲				

Η IL-10 είναι μια πλειοτροπική κυτοκίνη γενικά γνωστή για τη συνάφειά της στην επίλυση της φλεγμονής, αλλά έχει επίσης ανοσοποιητικές ιδιότητες. Οι Pinto *et al.* (2007) στην μελέτη τους περιέγραψαν την απομόνωση και τον χαρακτηρισμό του cDNA και του γονιδίου της IL-10 στο λαβράκι (sbIL-10). Η παρουσία της IL-10 σε ανοσοαποκρίσεις του λαβρακιού αποδείχθηκε διερευνώντας τα προφίλ έκφρασης των IL-1β και IL-10 στον πρόνεφρο και τον σπλήνα μετά από ενδοπεριτοναϊκή ένεση Phdρ που αδρανοποιήθηκε με υπεριώδη ακτινοβολία. Η κορύφωση των δυο εκφράσεων ήταν στις 3 και 6 ώρες αντίστοιχα. Επίσης η έρευνα σχετικά με το προφίλ έκφρασης του sbIL-10 έδειξε ότι η IL-10 εμπλέκεται σε αντιφλεγμονώδεις αποκρίσεις του λαβρακιού και έχει ρόλο στην επίλυσή του.

Τον τρόπο που εκφράζονται τα γονίδια της ιντερλευκίνης, IL-12 p40, p35 και IL-1b, στον πρόνεφρο και τον σπλήνα μετά από έκθεση τους με ενδοπεριτοναϊκή ένεση Phdρ στο λαβράκι μελέτησαν οι Nascimento *et al.*, 2007. Στο σπλήνα, το ερέθισμα προκάλεσε έκφραση των μεταγραφών IL-12 p40, IL-12 p35 και IL-1b με τρόπο που εξαρτάται από το χρόνο. Οι αυξήσεις στην έκφραση των γονιδίων IL-12 p40 και IL-1b ήταν μέγιστη στις 3 ώρες μετά τη διέγερση και μειώθηκε σε σταθερά επίπεδα στις 24 ώρες. Επίσης ανοδική έκφραση παρατηρήθηκε στο IL-12 p35 στις 3 ώρες, αλλά μειώθηκε στα βασικά επίπεδα στις 6 ώρες. Στον πρόνεφρο, τα γονίδια IL-12 p40 και IL-1b έδειξαν την ίδια κινητική έκφραση με τον σπλήνα σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της σπλήνας, το IL-12 p35 δεν ρυθμίστηκε ανοδικά στον πρόνεφρο. Μελέτες έκφρασης έδειξαν ότι το IL-12 εμπλέκεται σε αντιβακτηριακές αποκρίσεις λαβρακιού και ότι το NF-κB εμπλέκεται στην μεταγραφική ενεργοποίηση αυτών των γονιδίων.

Στην έρευνα των Mosca *et al.* (2014) πραγματοποιήθηκαν πειραματικές λοιμώξεις σε λαβράκια με *Listonella anguillarum* ή *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. Τα αποτελέσματα της μελέτης τους έδειξαν ότι οι κυτοκίνες (IL-1, IL-6, IL-8) ήταν υψηλότερη τις πρώτες 24 ώρες μετά τη μόλυνση και η μείωση της επήλθε στις 72 ώρες. Η μόλυνση με Phdρ σε λαβράκια προκάλεσε σοβαρές βλάβες στους ιστούς, ιδιαίτερα στον σπλήνα, ενώ η λοίμωξη με *L. anguillarum* δεν προκάλεσε ούτε εμφανείς αλλοιώσεις ούτε σημεία που αποδίδονται στη συνειπή συστηματική εξάπλωση στο νοσοόντα ιχθύ. Παρόμοια κινητική παρατηρήθηκε και από άλλους συγγραφείς στο νεφρό της τσιπούρας (Montero *et al.*, 2010). Ο ρυθμός ανάπτυξης της επίκτητης ανοσίας εξαρτάται αυστηρά από τον συνδυασμένο αντίκτυπο της έμφυτης ενεργοποίησης της ανοσίας με τον βαθμό βακτηριακής μολυσματικότητας.

Οι caspase-8 και 9 είναι από τις πιο ειδικές πρωτεάσες, με αξιοσημείωτη ειδικότητα για διάσπαση στην καρβοξυλική πλευρά των καταλοίπων

ασπαρτικού οξέος. Παίζουν σημαντικό ρόλο σε ορισμένες περιπτώσεις απόπτωσης από εξωγενείς και εγγενείς οδούς. Για να γίνει η μελέτη των caspase 8 και 9 απομονώνεται υλικό cDNA από το λαβράκι κάθε φορά. Στη μελέτη των Reis *et al.* (2007a) διενεργήθηκε μελέτη μοριακής κλωνοποίησης και χαρακτηρισμού του γονιδίου caspase-9, καθώς και η συμμετοχή του στην αποπτωτική διαδικασία από το Phdρ σε μακροφάγα λαβρακιού. Η caspase-9 του λαβρακιού έδειξε βασική έκφραση σε όλα τα όργανα που αναλύθηκαν, αν και ασθενέστερα στον σπλήνα. Στην πειραματική λοίμωξη από Phdρ προκλήθηκε σηψαιμία και η caspase-9 ακολούθησε την ίδια κινητική με την έκφραση της caspase-3, αυξάνοντας τις πρώτες 12 ώρες μετά τη μόλυνση στο μολυσμένο πρόνεφρο ενώ η μείωσή του στα βασικά επίπεδα επήλθε στις 24 ώρες. Επιπλέον μια ακόμα διαπίστωση της έρευνας είναι ότι δραστηριότητα που μοιάζει με caspase -9 μπορεί να μετρηθεί από 18 έως 48 ώρες μετά τη μόλυνση καθώς και σε ψάρια με τελική ασθένεια. Το Phdρ προκαλεί επιλεκτική αποπτωτική δευτερογενή νέκρωση μακροφάγων και ουδετερόφιλων μέσω της δράσης μιας εξωτοξίνης που ονομάζεται AIP56 (do Vale *et al.*, 2003; do Vale *et al.*, 2005). Λίγα χρόνια αργότερα στην έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Reis *et al.* (2010) προσδιορίστηκε και χαρακτηρίστηκε η αλληλουχία της caspase-8 που απομονώθηκε από το λαβράκι. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι σε σπλήνες ψαριών που υποβλήθηκαν σε αγωγή με υπερκείμενα καλλιέργειας Phdρ, τα επίπεδα έκφρασης της caspase-8 έδειξαν μια μεταβλητότητα αυξομείωσης στον χρόνο μετά τη λοίμωξη, κάτι που ισχύει και για την caspase 3. Αναφορικά η πρώτη αύξηση της τιμής πραγματοποιήθηκε και καταγράφηκε στην πρώτη ώρα μετά τη λοίμωξη, ενώ ακολουθήθηκε μείωση στις τρεις ώρες και μετέπειτα ξανά αύξηση.

Η Caspase-3 είναι μία από τις κύριες κασπάσες που λειτουργούν στην απόπτωση, τη διάσπαση και την αδρανοποίηση ενός αριθμού μορίων και συμβάλλουν σε μεγάλο βαθμό στον αποπτωτικό φαινότυπο. Η πλήρης αλληλουχία της caspase-3 δείχνει μια πολύ στενή ομολογία με την αλληλουχία που αντιστοιχεί σε άλλα σπονδυλωτά. Το γονίδιο caspase-3 υπάρχει στο λαβράκι ως γονίδιο ενός αντιγράφου και είναι οργανωμένο σε έξι εξόνια και πέντε ιντρόνια. Στην μελέτη των Reis *et al.* (2007b) λαβράκια μολύνθηκαν με Phdρ ώστε να μελετηθεί το επίπεδο της έκφρασης της caspase-3 στον πρόνεφρο. Τα αποτελέσματα έδειξαν την αύξηση της έκφρασης της για τις πρώτες δώδεκα ώρες ενώ μετέπειτα μειώθηκε στα βασικά επίπεδα, κάτι που πιθανώς να αντανακλά την εμφάνιση της διάσπασης των μορίων DNA και RNA κατά τη φάση αποδόμησης της απόπτωσης.

Οι ιστόνες (H1 έως H4) είναι οι πρωταρχικές πρωτεΐνες που μεσολαβούν στην αναδίπλωση του DNA σε χρωματίνη. Έχουν επίσης συσχετιστεί με AMP σε

σπονδυλωτά, στην πραγματικότητα, το H1 των θηλαστικών κινητοποιείται ως μέρος της αντικής ανοσοαπόκρισης. Διάφορες ιστόνες έχουν ανιχνευθεί στο κυτταρόπλασμα διαφόρων κυτταρικών τύπων, δείχνοντας έτσι ένα ευρύ φάσμα αντιμικροβιακών δραστηριοτήτων.

Έχουν αναφερθεί μελέτες ότι στα ευρωπαϊκά λαβράκια (*Dicentrarchus labrax*) τα γονίδια που κωδικοποιούν τις H2B και H1 ιστόνες κλωνοποιήθηκαν και τα επίπεδα έκφρασης τους έχουν αναφερθεί ότι έχουν αλλάξει υπό συνθήκες στρες (Terova *et al.*, 2011), επίσης μετά από μόλυνση από *Vibrio anguillarum* (Meloni *et al.*, 2015) και NNV (Valero, Arizcun, *et al.*, 2016). Συγκεκριμένα, στο λαβράκι, απομονώθηκαν μερικές αλληλουχίες cDNA που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες H1 και H2B. Η ανάλυση του μοτίβου έκφρασής τους υπό συνθήκες στρες, οδήγησε σε παρόμοιο μοτίβο έκφρασης σε βράγχια και δέρμα από μια πρωτεΐνη που μοιάζει με αιμοσφαιρίνη (Terova *et al.*, 2011). Στην έρευνα των Valero *et al.* (2016) παρατηρήθηκε ότι η υψηλότερη έκφραση του γονιδίου της ιστόνης H1 βρέθηκε στο ανοσοποιητικούς ιστούς της τσιπούρας και του λαβρακιού. Επιπλέον η έκφραση του γονιδίου H2B στα λαβράκια δεν εντοπίστηκε στον εγκέφαλο, το δέρμα ή τον σπλήνα αλλά εκφράστηκε σε μεγάλο βαθμό στον θύμο αδένα. Ενώ το γονίδιο H2B στη τσιπούρα εκφράστηκε σε μεγάλο βαθμό στο περιφερικό αίμα και στους όρχεις. Τα αποτελέσματα της λοίμωξης *in vivo* με NNV έδειξαν αυξητικές τιμές του H1 στους όρχεις του λαβρακιού ενώ στην τσιπούρα εμφανίστηκαν υψηλές τιμές στον εγκέφαλο. Όσο αφορά το H2B εμφάνισε αυξημένες τιμές στον πρόνεφρο και των δύο ειδών.

Ένα εμβόλιο που χρησιμοποιήθηκε στην έρευνα των Valero *et al.* (2016) δόθηκε από το στόμα σε νεαρά λαβράκια και είχε ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της μεταγραφής των γονιδίων κυτταροτοξικότητας και ιντερφερόνης που προκλείονται από τα κύτταρα του εντέρου. Το στοματικό εμβόλιο CP-pNNV ενεργοποίησε γονίδια που σχετίζονται με την κυτταροτοξικότητα που προκαλείται από κύτταρα (CMC) και την οδό ιντερφερόνης (IFN) στο έντερο ενώ δεν μπόρεσε να καταστρέψει συγκεκριμένα αντισώματα που κυκλοφορούν στον ορό ή να εξουδετερώσουν (ανοσοσφαιρίνη M) ή να ρυθμίσουν εκ νέου την έκφραση του γονιδίου τους στο οπίσθιο έντερο. Ωστόσο, το εμβόλιο ρύθμισε την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την κυτταροτοξικότητα που προκαλείται από κύτταρα (CMC, *terb* και *cd8a*) και την οδό ιντερφερόνης (IFN, *ifn*, *mx* και *ifng*). Η έκφραση των γονιδίων έγινε σε διαφορετικές χρονικές στιγμές μετά τον εμβολιασμό των ιχθύων κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Ένα μόριο τύπου CD83, είναι σημαντικό και ενδιαφέρον συστατικό του ανοσοποιητικού συστήματος. Το CD83 είναι μια διαμεμβρανική

γλυκοπρωτεΐνη τύπου 1 η οποία ανήκει στην υπερικογένεια των ανοσοσφαιρινών (Ig). Το CD83 ταυτοποιήθηκε στα λαβράκια (*Dicentrarchus labrax*) με προσδιορισμό αλληλουχίας EST. Υπάρχει διαφορετική ρύθμιση της έκφρασης CD83 στα λαβράκια μετά από πρόκληση με τον Phdρ σε σύγκριση με το τι συμβαίνει στο καλκάνι όταν προκλήθηκε με *E. tarda* ή *L. anguillarum* (Buonocore *et al.*, 2012). Στην έρευνα τους παρατήρησαν μικρή αλλά σημαντική μείωση της έκφρασης CD83 στις 6, 24 και 72 ώρες μετά τη βακτηριακή μόλυνση, με τη χαμηλότερη κορυφή να παρατηρείται στις 24 ώρες.

Οι Mulero *et al.*, (2008) απέδειξαν ότι οι πρώτοι δείκτες λεμφοκυττάρων, οι *rag1* και *rag2*, ανιχνεύονται με RT-PCR στις 21-27 ημέρες από την εκκόλαψη. Επίσης διαπιστώθηκε ότι η έκθεση των νεαρών προνυμφών του σε Phdρ, είτε με εμφύσηση είτε με από του στόματος χορήγηση, είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση έκφρασης των γονιδίων όπως των *IgHm*, *IL1b*, *TNFa*, *TLR5* και *TGFb1*.

Η πρώτη ολοκληρωμένη ανάλυση των κυτταρικών και μοριακών ανοσολογικών παραμέτρων μετά από μόλυνση νεαρών λαβρακίων με *Nodaviridae* έγινε από τους Scarigliati *et al.* (2010). Η έκφραση των γονιδίων πραγματοποιήθηκε για τα ακόλουθα ανοσορυθμιστικά μόρια που εμπλέκονται σε έμφυτες και επίκτητες αποκρίσεις: τύπος I IFN, *Mx*, *IL-1*, *Cox-2*; *IL-10*, *TGF-b*, *TCRb*, *CD4*, *CD8a*, *IgM*, χρησιμοποιώντας ένα σύστημα ποσοτικών συστοιχιών PCR. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι πραγματοποιήθηκε αύξηση όλων των γονιδίων στον πρόνεφρο και τα βράγχια. Η αύξηση τους παρατηρήθηκε τόσο σε διαφορετικές χρονικές περιόδους όσο και διαφορετική ποσότητα.

Τον τρόπο που εκφράζεται το γονίδιο NKEF- A και B (natural killer enhancing factor) μελέτησαν οι Esteban *et al.* (2013) στο λαβράκι και την τσιπούρα μετά από διέγερση σε VNNV (στέλεχος 411/96, γονότυπος RGNNV) και τα παθογόνα βακτήρια *Vibrio anguillarum* R-82 και *Photobacterium damsela subsp. piscicida*. Τα επίπεδα μεταγραφής των γονιδίων NKEF-A και NKEF-B αναλύθηκαν στα λευκοκύτταρα του πρόνεφρου (HKLs) και στα δύο είδη ιχθύων με διάφορα ανοσοποιητικά ερεθίσματα. Στην τσιπούρα, τα επίπεδα mRNA του NKEF-A μετά από επιμόλυνση με VNNV ρυθμίστηκαν σημαντικά σε μία ημέρα μόλυνσης τόσο στον πρόνεφρο όσο και στον εγκέφαλο, αλλά μειώθηκε η έκφραση του τις ημέρες 15 και 30 στον εγκέφαλο. Από την άλλη πλευρά, η έκφραση του γονιδίου NKEF-B μειώθηκε μετά από 30 ημέρες στο πρόνεφρο και μετά από την πρώτη ημέρα στον εγκέφαλο, ενώ ρυθμίστηκε ξανά μετά από 75 ημέρες στον πρόνεφρο και μετά

από 7 ημέρες στον εγκέφαλο. Αντίθετα, στο λαβράκι, το αντίγραφο NKEF-A ήταν πιο σταθερό από το NKEF-B. Το γονίδιο NKEF-A ρυθμίστηκε πλήρως καθ' όλη τη διάρκεια της δοκιμής στον πρόνεφρο, αλλά στον εγκέφαλο σταθεροποιήθηκε μετά από 15 ημέρες μόλυνσης. Το αντίγραφο NKEF-B αυξήθηκε μόνο σε σημαντικό βαθμό στον πρόνεφρο τις ημέρες 1 και 7. Οι παρατηρήσεις των πειραμάτων συμφωνούν με αυτές άλλων ερευνητών για την αυξημένη έκφραση NKEF μετά από ιογενείς λοιμώξεις (Booy *et al.*, 2005; Utke *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2009; Ordás *et al.*, 2011). Μεταξύ των βακτηριακών παθογόνων, το *Vibrio anguillarum* ρύθμισε σε μεγάλο βαθμό την έκφραση του NKEF-A στη τσιπούρα ενώ η έκθεση σε Phdρ στο οδήγησε σε χαμηλή ρύθμιση του NKEF-A στα HKLs του λαβρακιού.

Η μεταγραφή γονιδίων που σχετίζονται με τις αποκρίσεις IFN, CMC και Β-λεμφοκυττάρων αυξάνεται στον αμφιβληστροειδή μετά από μόλυνση NNV σε άτομα λαβρακίων σύμφωνα με την έρευνα των Valero *et al.* (2018) όπου μελέτησαν την ανοσοαπόκριση του αμφιβληστροειδή. Η ένεση με NNV πραγματοποιήθηκε στο δεξί μάτι των ιχθύων όπου και προκάλεσε μόλυνση, ενώ παρατηρήθηκε και βλάβη των θηκών της μυελίνης. Η αντιγραφή του ιού επηρεάζει τις έμφυτες και προσαρμοστικές αποκρίσεις καθώς η λοίμωξη προκάλεσε τη μεταγραφή των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονται στις αποκρίσεις κυτταροτοξικότητας με ιντερφερόνη (CMN) καθώς και τους δείκτες των Β και Τ κυττάρων. Η μόλυνση εξαπλώνεται μέσω του οπτικού κέντρου, το οποίο παρουσίασε μεταγραφικά επίπεδα ικών *cp* και *rdRp* από την πρώτη ώρα και μετά από ενδοπεριτοναϊκή λοίμωξη. Επίσης παρουσιάστηκε αύξηση των επιπέδων μεταγραφής έως και 72 ώρες μετά τη μόλυνση, αποδεικνύοντας ότι το NNV αναπαράγεται με πολύ ενεργό τρόπο στον αμφιβληστροειδή.

Η λοίμωξη από τον ιό VNNV στα λαβράκια και την τσιπούρα μελετήθηκε από τους Chaves-Pozo *et al.*, (2012). Τα λαβράκια έδειξαν μεγαλύτερη ευπάθεια κατά τη λοίμωξη προκαλώντας τη θνησιμότητα των μισών ατόμων που χρησιμοποιήθηκαν για το πείραμα αυτό. Κάτι αντίστοιχο δεν παρατηρήθηκε στα άτομα της τσιπούρας. Εξετάστηκαν ιστοί από τον εγκέφαλο και πρόνεφρο μολυσμένων ιχθύων λαβρακιού και τσιπούρας, ενώ απομονώθηκε και HKL (head- kidney leucocytes) για την αξιολόγηση των έμφυτων ανοσολογικών παραμέτρων. Για την επιβεβαίωση της ιικής λοίμωξης, αξιολογήθηκε η έκφραση των δυο ιογενών γονιδίων, του CP και της RdRP και τέλος μελετήθηκε και το γονίδιο Mx. Αρχικά και τα δυο γονίδια CP, RdRP εντοπίστηκαν στον εγκέφαλο του λαβρακιού και της τσιπούρας από την πρώτη ημέρα μόλυνσης. Στον εγκέφαλο της τσιπούρας, και τα δύο ιογενή γονίδια έφτασαν τα μέγιστα επίπεδα στις 7 πρώτες ημέρες μετά την ένεση και

στη συνέχεια μειώνονταν συνεχώς στα ίδια δείγματα, υπήρξε μια σημαντική ανοδική ρύθμιση των μεταγραφών των μη ειδικών κυτταροτοξικών υποδοχέων κυττάρων (NCCRP-1). Στον εγκέφαλο του λαβρακιού, τα ιικά γονίδια αυξάνονταν καθ' όλη τη διάρκεια της μόλυνσης φτάνοντας στο μέγιστο την τελευταία ημέρα του πειράματος, δέκατη πέμπτη. Και στις δύο περιπτώσεις, η έκφραση του γονιδίου RdRP ήταν παρόμοια ή χαμηλότερη από την έκφραση του γονιδίου CP όπως έχει ήδη τεκμηριωθεί. Η ανίχνευση ιογενών γονιδίων στον πρόνεφρο ήταν πολύ χαμηλή έως αμελητέα και διατηρήθηκε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος υποδεικνύοντας την απουσία ιικής αντιγραφής σε αυτόν τον ιστό. Έτσι, η μεταγραφή Mx ήταν πάντοτε ρυθμισμένη στον εγκέφαλο και των δύο ειδών ψαριών. Στον εγκέφαλο της τσιπούρας, αυξανόταν με τον χρόνο μόλυνσης να φτάνει σε μια κορυφή μετά από 15 ημέρες και να μειώνεται κατά την ημέρα 30. Στον εγκέφαλο του λαβρακιού κορυφώθηκε την πρώτη ημέρα ενώ μειωνόταν μέχρι το τέλος του πειράματος (15^η ημέρα) για αυτό το είδος καθώς απεβίωσαν όλα τα άτομα που είχαν μολυνθεί. Η έκφραση του γονιδίου Mx δεν επηρεάστηκε στον πρόνεφρο της τσιπούρας εν αντιθέση με το λαβράκι όπου αυξήθηκε η έκφραση του τις ημέρες επτά και δέκα πέντε.

Η μελέτη των Moreno *et al.* (2018) έδειξαν ότι τα RGNNV και SJNNV διέγειραν μια ολοκληρωμένη ανοσοαπόκριση, που περιλαμβάνει την επαγωγή των γονιδίων, IFN-I, ISG-12, ISG-15 και MxA, που σχετίζονται με αμφοτερές, έμφυτες και προσαρμοστικές αποκρίσεις στον εγκέφαλο και τον πρόνεφρο στα λαβράκια. Ο γονότυπος RGNNV προκαλεί πιο έντονη απόκριση του συστήματος IFN-I από ότι το SJNNV και στα δύο όργανα. Στον πρόνεφρο, το RGNNV είναι ένας ισχυρός επαγωγέας της μεταγραφής πολλών ISGs. Ωστόσο, το SJNNV ενεργοποιεί την επαγωγή πιο πρώιμα από ότι το RGNNV. Επιπλέον, η μεταγραφή των ISG-15, ISG-12 και MxA στην ομάδα που μολύνθηκε με SJNNV αυξήθηκε με την πάροδο του χρόνου, με τις μέγιστες τιμές αλλαγής να είναι στις 72 ώρες, ενώ οι μέγιστες τιμές μεταγραφής στους ιχθύες που εμβολιάστηκαν με RGNNV ήταν στις 12 ώρες, για τα γονίδια ISG-15 και MxA και 24 ώρες για το ISG-12 μετά τη μόλυνση. Η ανάλυση των γονιδίων που κωδικοποιούν προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες έδειξε ότι η μεταγραφή της IL-8 αυξήθηκε γρηγορότερα μετά τη μόλυνση με RGNNV και SJNNV, στον εγκέφαλο και στο πρόνεφρο, ενώ τα επίπεδα του TNF-α αυξήθηκαν αργότερα. Στον εγκέφαλο ειδικότερα ο TNF-α, είχε ισχυρότερη έκφραση από ό,τι στον πρόνεφρο. Το RGNNV προκαλεί υψηλότερα επίπεδα μεταγραφής και των δύο προφλεγμονωδών γονιδίων σε σύγκριση με το SJNNV. Στον πρόνεφρο, το SJNNV προκαλεί μεγαλύτερη επαγωγή σε σύγκριση με το RGNNV. Αναφορικά επαγωγή των γονιδίων IL-8 παρατηρήθηκε στις 3 ώρες ενώ για το TNF-α στις 24 ώρες μετά τη μόλυνση.

Και στα δύο όργανα, το γονίδιο IL-10 ρυθμίστηκε προς τα κάτω έως και 12 ώρες μετά την μόλυνση. Τα γονίδια MHCII-β και TR-γ, στον πρόνεφρο ρυθμίστηκαν προς τα κάτω κατά τους πρώτους χρόνους δειγματοληψίας μετά από μόλυνση με RGNNV και SJNNV, ενώ η ανοδική ρύθμιση αυτών των γονιδίων καταγράφηκε αργότερα, στις 24 ή 72 ώρες. Όσον αναφορά στον εγκέφαλο η μεταγραφή του γονιδίου MHCII-β είναι παρόμοια με αυτή του πρόνεφρου με επίσης μέγιστη τιμή έκφρασης να παρατηρείται στις 72 ώρες και για τους δυο τύπος μόλυνσης. Ενώ το TR-γ έχει διαφορετική έκφραση με ισχυρή ανοδική ρύθμιση από τις 3 πρώτες ώρες της μόλυνσης, ειδικά στην ομάδα με RGNNV.

Παρατηρήθηκε από τους Dios *et al.* (2008) η πρόωμη ενεργοποίηση του TNFα και του IL-1b στην τσιπούρα και το λαβράκι στον πρόνεφρο ως γενικευμένη ανταπόκριση κατά της μόλυνσης από ιούς. Στο πείραμα πραγματοποιήθηκε *in vivo* και *in vitro* λοίμωξη με nodavirus ώστε να μελετηθούν οι εκφράσεις των γονιδίων TNFα, IL-1b και Mx στον εγκέφαλο και τον πρόνεφρο. Η *in vitro* επαγωγή αυτών των γονιδίων δοκιμάστηκε μετά τη μόλυνση των πρόνεφρων μακροφάγων και των λευκοκυττάρων του αίματος. Ενώ η *in vivo* επαγωγή δοκιμάστηκε με ενδομυϊκή ένεση και στα δυο είδη των ιχθύων. Η έκφραση των γονιδίων αυξήθηκε 3 ημέρες μετά τη μόλυνση στον εγκέφαλο, όπου οι ανοσολογικές αποκρίσεις φαίνεται να ενεργοποιούνται όταν οι νευροϊοί φτάνουν στο όργανο-στόχο και αρχίζουν την αντιγραφή. Επίσης, το TNFα ήταν υπερβολικά υπερεκφρασμένο στον εγκέφαλο των μολυσμένων ατόμων του λαβρακιού. Η πρωτεΐνη Mx ρυθμίστηκε επίσης ως αντιικός μηχανισμός και στα δύο είδη, αλλά το επίπεδο έκφρασης στον εγκέφαλο ήταν υψηλότερο στην τσιπούρα από ότι στα λαβράκια.

Σε μια άλλη εργασία, μια ολοκληρωμένη μεταγραφική καταγραφή μόλυνσης λαβρακιών μετά από μόλυνση από Nodavirus και *V. anguillarum* καταγράφηκε στο ήπαρ, την σπλήνα και τον πρόνεφρο (Sarroroulou *et al.*, 2009). Οι ιστοί δειγματίστηκαν στις 4 και 24 ώρες μετά τη μόλυνση, η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο προσδιορισμού αλληλουχίας BigDye 3.1. Τα κύρια άνω ρυθμιζόμενα αντιγραφα μετά τη μόλυνση ήταν η τρανοφερίνη και η φερριτίνη. Η γονιδιακή έκφραση αξιολογήθηκε με PCR σε πραγματικό χρόνο (qPCR) στην σπλήνα, στο νεφρό και πρόνεφρο 4 ώρες και 24 ώρες μετά τη μόλυνση.

Η έμφυτη ανοσοαπόκριση έναντι ιών προκαλείται από τον τύπο I IFN στους ιχθύες. Μελέτη της εκφραστικής προόδου σε λαβράκια που έχουν μολυνθεί με ενδομυϊκή ένεση με στέλεχος VNNV 411/96, στον εγκέφαλο και τους όρχεις πραγματοποιήθηκε από τους Valero *et al.* (2015) . Η γονιδιακή έκφραση μελετήθηκε με qPCR στην 1^η, 7^η και 15^η ημέρα μετά τη μόλυνση. Στην

τσιπούρα, η μεταγραφή *mda5* αυξήθηκε στον εγκέφαλο, αλλά δεν επηρεάστηκε στους όρχεις. Ωστόσο, στο λαβράκι, τόσο το *mda5* όσο και το *Igr2* ρυθμίστηκαν ομοίως κατά τη μόλυνση με VNNV και στους δύο ιστούς. Έτσι, στον εγκέφαλο, ρυθμίστηκαν προς τα κάτω στην 1^η και 7^η ημέρα μετά τη μόλυνση για να ρυθμιστεί αργότερα. Αντίθετα, αυτά τα γονίδια ρυθμίστηκαν προς τα πάνω στους όρχεις την 1^η και 7^η ημέρα μετά τη μόλυνση για να ρυθμιστεί και αυτό αργότερα. Στην τσιπούρα η μεταγραφή του *tbk1* δεν τροποποιήθηκε από τη μόλυνση σε οποιονδήποτε ιστό, ενώ η έκφραση του γονιδίου *irf3* άλλαξε κατά την 1^η και 7^η ημέρα στον εγκέφαλο, και μόνο την 1^η ημέρα στους όρχεις. Στα λαβράκια, τα οι εκφράσεις των γονιδίων που μελετήθηκαν, ήταν τα *man5* να ρυθμιστούν προς τα κάτω στον εγκέφαλο εκτός από το *irf3* που εμφάνισε άνοδο κατά την 15^η ημέρα. Αντίθετα, στους όρχεις, όλα τα γονίδια (*man5*, *traf3*, *tank*, *tbk1*, *irf3* και *irf7*) ρυθμίστηκαν σε διαφορετικά χρονικά σημεία, κυρίως την 1^η και 7^η ημέρα. Στην τσιπούρα, η μεταγραφή του γονιδίου *mda5* αυξήθηκε στον εγκέφαλο, αλλά δεν επηρεάστηκε στους όρχεις. Ωστόσο, στο λαβράκι, τόσο το *mda5* όσο και το *Igr2* ρυθμίστηκαν ομοίως κατά τη μόλυνση με VNNV και στους δύο ιστούς. Έτσι, στον εγκέφαλο, ρυθμίστηκαν προς τα κάτω στις 1 και 7 ημέρες μετά τη μόλυνση και ρυθμίστηκε αργότερα. Αντίθετα, αυτά τα γονίδια ρυθμίστηκαν προς τα πάνω στους όρχεις στην 1^η και 7^η ημέρα, και μετά παρέμειναν αμετάβλητα.

Σε μια *in vivo* μελέτη του λαβρακιού με εκχύλιση *V. anguillarum* πραγματοποίησαν οι Meloni *et al.* (2015). Στην έρευνα ασχολήθηκαν με το ρόλο τεσσάρων AMPP, του DIC, των πρωτεϊνών 1 (HLP-1) και 2 (HLP-2) που μοιάζουν με ιστόνη και της πρωτεΐνης που μοιάζει με αιμοσφαιρίνη (Hb-LP) και η κυτοκίνη IL-1b. Η έκφραση των παραπάνω γονιδίων εξετάστηκε στο δέρμα, τα βράχια, τη σπλήνα και τον πρόνεφρο. Η απόκριση τους ήταν διαφορετική στις 72 ώρες γενικά όμως έδειξαν περιορισμένες αιμορραγικές αλλοιώσεις στα περύγια και στην κοιλία πλευρά του σώματος. Επιπλέον, η έντονη διαφορά σε η δυναμική έκφρασης των τεσσάρων AMPP που αναλύθηκαν οδηγεί σε συμπεράσματα ότι κάθε πεπτίδιο έχει ένα δικό του περισσότερο ή λιγότερο έντονο ανοσολογικό λειτουργία. Δεδομένου ότι το πείραμα διήρκησε 72 ώρες συνίσταται και από τους συγγραφείς να πραγματοποιηθεί σε μακροπρόθεσμα πειράματα (εβδομάδες) για να διευκρινιστεί η μοριακή οδός και οι αλληλεπιδράσεις τους με τις φυσιολογικές και ανοσολογικές διεργασίες των ιχθύων.

Οι Salerno *et al.* (2007) πρόσθεσαν ακόμα ένα μέλος στα ενδογενή αντιμικροβιακά πεπτίδια, την δικεντρακίνη cDNA 483-bp, η οποία απομονώθηκε από το λαβράκι *D. labrax*. Η δικεντρακίνη παρατηρήθηκε στην

κυκλοφορία των κοκκιοκυττάρων, μακροφάγων και μονοκύτταρων στον πρόνεφρο και την περιτοναϊκή κοιλότητα αλλά όχι στα λεμφοκύτταρα του λαβρακιού. Ακόμα δεν έχει αποσαφηνισθεί ο τρόπος δράσης του σε βακτηριακές μολύνσεις.

Οι Rodrigues *et al.* (2006) μελέτησαν τη γονιδιακή έκφραση της εψιδίνης σε μολυσμένα με *Phdp* ή διαμορφωμένα σε σίδηρο άτομα λαβρακιού. Η μελέτη επιβεβαίωσε τη βασική συνθήκη ότι η εψιδίνη εκφράζεται κυρίως στο ήπαρ. Η εψιδίνη είναι μια πρωτεΐνη πλούσια σε κυστεΐνη με αντιμικροβιακή δραστηριότητα που έχει σημαντική σχέση με την ομοιόσταση του σιδήρου. Προκειμένου να διαμορφωθεί η κατάσταση του λαβρακιού υποβλήθηκαν 3 διαφορετικές πειραματικές ομάδες θεραπείες που αφορούν το σίδηρο, με υπερφόρτωση, έλλειψη και τα στελέχη ελέγχου. Μέρος των πειραματικών ομάδων εμβολιάστηκαν με το *Phdp*, στέλεχος DI21. Η αλληλουχία κωδικοποίησης του γονιδίου εψιδίνης ταξινομήθηκε στη τάξη των Parciforms, εξαιτίας της υψηλής ομολογίας σε ορισμένα είδη από αυτήν την ομάδα. Η ανάλυση έκφρασης του βασικού ιστού της εψιδίνης που διεξήχθη με RT-PCR έδειξε ότι τα επίπεδα του προϊόντος ενίσχυσης της εψιδίνης ήταν σχετικά υψηλά στο ήπαρ, μεσαία στα βράγχια και σε χαμηλά επίπεδα βρέθηκε στον σπλήνα, στα πρόσθια και οπίσθια νεφρά, και έντερα και τέλος στον εγκέφαλο. Το γονιδιωματικό DNA στο λαβράκι βρέθηκε να έχει μήκος 545 bp με την κωδικοποιημένη περιοχή του γονιδιωματικού DNA να είναι ίση με το cDNA. Αξιωσημείωτο να αναφερθεί είναι ότι μπορεί η γονιδιωματική οργάνωση του λαβρακιού να είναι παρόμοια με αυτήν που έχει αναφερθεί για άλλα σπονδυλωτά, αλλά το μήκος των ιντρονίων και των εξονίων διαφέρουν. Υπήρχαν σημαντικές διαφορές στο σίδηρο ορού (SI) και στον κορεσμό τρανσφερίνης (TS) μεταξύ των ομάδων υπερφόρτωσης σιδήρου και ελέγχου, ενώ δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην ομάδα έλλειψης σιδήρου και ελέγχου. Η έκφραση του γονιδίου της εψιδίνης στον ήπαρ στις 3 ομάδες που τέθηκαν εξαρχής έδειξαν ότι στην ομάδα που υπήρχε υπερφόρτωση σιδήρου η έκφραση του αυξήθηκε σε σύγκριση με αυτή του ελέγχου. Ενώ στην σύγκριση των ομάδων έλλειψη σιδήρου και ελέγχου δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές.

Η εψιδίνη είναι ένα μικρό αντιμικροβιακό πεπτίδιο, έχει πρόσφατα περιγραφεί ως ο βασικός ρυθμιστής του μεταβολισμού του σιδήρου και είναι γνωστό ότι ανταποκρίνεται σε πολλά διαφορετικά ερεθίσματα όπως υπερφόρτωση σιδήρου, αναιμία, υποξία ή φλεγμονή. Κατά τη διάρκεια της φλεγμονής, η έκφραση της εψιδίνης προκαλείται από φλεγμονώδεις κυτοκίνες και προκαλεί μείωση της απελευθέρωσης σιδήρου από μακροφάγα, εντεροκύτταρα και ηπατοκύτταρα (λόγω εσωτερικοποίησης και υποβάθμισης

της φεροπορτίνης), περιορίζοντας έτσι τα επίπεδα του κυκλοφορούντος σιδήρου και τη διαθεσιμότητα για ανάπτυξη των παθογόνων. Το ήπαρ έχει περιγραφεί ως ο κύριος τόπος της σύνθεσης της εψιδίνης, όχι μόνο στα θηλαστικά (Krause *et al.*, 2000; Park *et al.*, 2001; Pigeon *et al.*, 2001) αλλά και στα ψάρια (Shike *et al.*, 2002; Douglas *et al.*, 2003; Solstad *et al.*, 2008), συμπεριλαμβανομένου του λαβρακιού (Rodrigues *et al.*, 2006). Η ρύθμιση της εψιδίνης από τα επίπεδα σιδήρου προκαλείται από δύο οδούς. Η πρώτη περιλαμβάνει την κληρονομική πρωτεΐνη αιμοχρωμάτωσης (HFE) και τους υποδοχείς τρανοφερίνης (TfR1 και TfR2). Το HFE είναι ένα γονίδιο κατηγορίας I συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) που ο ρόλος του αφορά τον μεταβολισμό του σιδήρου ρυθμίζοντας την αλληλεπίδραση της τρανοφερίνης με τον υποδοχέα της. Το TfR1 είναι ο κύριος υποδοχέας του σιδήρου που συνδέεται με τρανοφερίνη (Tf-Fe²⁺) και εμπλέκεται στην πρόσληψη σιδήρου στα περισσότερα κύτταρα. Το TfR2 έχει επίσης συγγένεια με το Tf-Fe²⁺, αλλά η έκφρασή του περιορίζεται κυρίως στο ήπαρ και η απόκρισή του είναι ανεξάρτητη από τα επίπεδα κυτταρικού σιδήρου. Τα λαβράκια χωρίστηκαν σε τρεις πειραματικές ομάδες, του ελέγχου, της έλλειψης σιδήρου και της υπερφόρτωση σιδήρου καθώς και την ομάδα μόλυνσης με Phdp. Ωστόσο τα αποτελέσματά της έρευνα έδειξαν ότι υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ των γονιδίων JAK/ STAT και HJV/ BMP/ SMAD στους ιχθύες, ιδιαίτερα ως απόκριση τόσο στην ομάδα όπου υπήρξε μείωση του σιδήρου όσο και στην ομάδα που υπέστη βακτηριακή λοίμωξη. (Neves *et al.*, 2011).

Τα γονίδια MHC κατηγορίας II, μελέτησαν οι Chen *et al.* (2006) στη τσιπούρα της Ερυθράς Θάλασσας. Τα MHC κωδικοποιούν δύο κατηγορίες δομικά όμοιων, αλλά λειτουργικά διακριτών γλυκοπρωτεϊνών, MHC κατηγορία I και II. Και οι δύο κατηγορίες πρωτεϊνών εμπλέκονται στην ανοσοαπόκριση σε διάφορα επίπεδα. Μετά από πρόκληση μόλυνσης των τσιπουρών με παθογόνα βακτήρια, *V. anguillarum* παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της έκφρασης του MHC κατηγορίας II mRNA από 5 σε 72 ώρες στο ήπαρ, τον σπλήνα, το νεφρό της κεφαλής και το έντερο, ακολουθούμενη από ανάκαμψη στο φυσιολογικό επίπεδο μετά από 96 ώρες. Απόρροια της μελέτης τους είναι ότι το MHC II διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανοσοαπόκριση της τσιπούρας της ερυθράς θάλασσας στη μόλυνση και ότι ο νεφρός, ο σπλήνας, το ήπαρ, το έντερο της κεφαλής, μπορεί να είναι σημαντικές περιοχές για τη λειτουργία MHC II.

2. Αποτελέσματα- Συζήτηση

2.1 Στρατηγικές προσαρμογής

Η υδατοκαλλιέργεια είναι ένας ταχέως αναπτυσσόμενος τομέας παραγωγής τροφίμων και αυξάνεται επίσης ο αριθμός των ατόμων που εμπλέκονται στη βιομηχανία. Η διαχείριση της αλείας στοχεύει στην προστασία και διατήρηση των αλιευτικών πόρων και των οικοσυστημάτων και στην παροχή λογικής για τη βιώσιμη αξιοποίησή τους (FAO, 2020b). Η αειφόρος υδατοκαλλιέργεια κρατά το κλειδί για τον μετριασμό των απειλών που δημιουργεί η υδατοκαλλιέργεια, διασφαλίζοντας παράλληλα ότι αυτός ο σημαντικός τομέας παραγωγής τροφίμων παραμένει πολύ παραγωγικός. Πρέπει να χρησιμοποιηθούν αρκετές προσεγγίσεις για να διασφαλιστεί ότι η υδατοκαλλιέργεια δεν επηρεάζει αρνητικά το περιβάλλον.

Το ανοσοποιητικό σύστημα των ιχθύων έχει δύο τύπους ανοσίας, μη ειδική ανοσία και ειδική ανοσία, παρόμοια με τα ανώτερα σπονδυλωτά, αλλά με ορισμένες χαρακτηριστικές διαφορές, όπως τα ανοσοποιητικά όργανα και τη λειτουργία ορισμένων τελεστών. Κατά τη διάρκεια του παραγωγικού κύκλου, τα ζώα υπόκεινται σε περιβαλλοντικούς και διαχειριστικούς παράγοντες καταπόνησης που μπορούν να επηρεάσουν την παραγωγική τους απόδοση και τη λειτουργία του ανοσοποιητικού τους συστήματος.

Παραπάνω έγινε αναφορά στην πρόληψη των παθογόνων. Κρίνεται απαραίτητο να γίνει μια αναφορά σχετικά με τον τρόπο που μπορεί να πραγματοποιηθεί. Οι ενέργειες που περιλαμβάνονται είναι να υπάρχει μια ποιοτική διατροφή, να πραγματοποιείται έλεγχος θερμοκρασίας, κανιβαλισμού, νεκρών σωμάτων, να αποτρέπονται συνθήκες στρες, να ισχύουν οι κανόνες υγιεινής, η χρήση προβιοτικών και ανοσοενισχυτικών. Τα βακτήρια ανταποκρίνονται σε διαφορετικά περιβάλλοντα και αυτές οι αποκρίσεις επηρεάζουν το κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων (Gatewood, Fenwick and Chengappa, 1994) ή την παραγωγή ECP (Davies *et al.*, 1994; V Bakopoulos, Adams and Richards, 1997).

Ένα σημαντικό μέρος της έρευνας στον τομέα της αλείας και της υδατοκαλλιέργειας επικεντρώνεται στην έκφραση γονιδίων ως μια εξαιρετική μέθοδος για την κατανόηση των φυσιολογικών διεργασιών στους ιχθύες. Η αξιολόγηση των γονιδίων που παίζουν σημαντικούς ρόλους σε διαφορετικές βιολογικές διαδικασίες όπως η εμβρυϊκή ανάπτυξη και η ενήλικη ανάπτυξη, η αποτελεσματικότητα στη χρήση θρεπτικών ουσιών, η αντοχή στις ασθένειες και άλλα χρησιμοποιούνται σε πολλά ερευνητικά προγράμματα. Η γνώση σε αυτόν τον τομέα επέτρεψε την καλύτερη κατανόηση της φυσιολογίας των ιχθύων στην υδατοκαλλιέργεια με στόχο την ταυτόχρονη επίτευξη

οικολογικής σκοπιμότητας και βιωσιμότητας. Ωστόσο δεν έχουν απαντηθεί και ερευνηθεί όλα τα παθογόνα που επηρεάζουν τους ιχθύες.

Η πρόληψη και ο έλεγχος των ασθενειών είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση μιας βιώσιμης υδατοκαλλιέργειας, τόσο οικονομικά όσο και περιβαλλοντικά. Τα προληπτικά μέτρα που βασίζονται στη διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος των ιχθύων είναι ένα αποτελεσματικό μέτρο για την επίτευξη αυτού του στόχου.

Οι τρόποι πρόληψης και θεραπείας των ιχθύων είναι συγκεκριμένοι και συχνά διαφέρουν καθώς διαφορετικά παθογόνα αντιμετωπίζονται με ποικίλους τρόπους. Η πρόληψη απαιτεί γνώση του περιβάλλοντος των ιχθύων, του ίδιου του ξενιστή, της νόσου και των θεραπειών που είναι κοινός αποδεκτές από ερευνητικές μελέτες, χωρίς αυτό να κάνει ότι μια νέα μέθοδος αντιμετώπισης ενός παθογόνου να είναι λιγότερο καλή από της ήδη υπάρχουσες. Η πρόληψη είναι βασικής σημασίας για την εξάλειψη των ασθενειών, εμπορικής και οικονομικής αξίας.

Η χρήση φυσικών ανοσοδιεγερτικών, όπως ανοσοδιεγερτικών θρεπτικών ουσιών, βοηθά στην πρόληψη των αρνητικών επιπτώσεων κατά τη διάρκεια αγχωτικών περιόδων, καθώς διασφαλίζουν την ορθή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος των ιχθύων και, ταυτόχρονα, βελτιώνουν την ανταπόκριση στον εμβολιασμό. Η ευρεία χρήση των αντιβιοτικών προκαλεί μόλυνση τόσο στο περιβάλλον όσο και στους ιχθύες που στο επόμενο στάδιο θα καταναλωθούν από τους ανθρώπου. Η αλόγιστη χρήση των αντιβιοτικών έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη αντοχής στα αντιβιοτικά. Με τον συνδυασμό των κατάλληλων και διαθέσιμων πρωτοκόλλων εμβολιασμού υπάρχει πραγματικό όφελος στην ισορροπία κόστους- αποτελέσματος.

Ένα εμβόλιο λειτουργεί εκπαιδεύοντας το ανοσοποιητικό σύστημα για την καταπολέμηση ενός δεδομένου παθογόνου (δηλαδή βακτήρια ή ιός), έτσι ώστε όταν το ζώο συναντά το παθογόνο, οι ανοσολογικοί αμυντικοί μηχανισμοί να είναι έτοιμοι να καταπολεμήσουν το παθογόνο. Ένα επιτυχημένο εμβόλιο επομένως θα αποτρέψει την εμφάνιση και την εξάπλωση της νόσου, η οποία βελτιώνει τόσο την καλή διαβίωση των ζώων όσο και την οικονομία του εκτροφέα. Η σωστή ηλικία για τον εμβολιασμό και την οδό ανοσοποίησης πρέπει να εκτιμηθεί για διαφορετικά είδη ψαριών όπως η τσιπούρα. Αναφέρεται ότι οι προνύμφες τσιπούρας μπορεί να μην είναι ανοσολογικές ικανότητες νωρίτερα από την ηλικία των 77 ημερών και ο εμβολιασμός σε πολύ νωρίς την ηλικία θα μπορούσε να δημιουργήσει προβλήματα. Εμπορικά συμβατικά εμβόλια, τα οποία έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητά τους υπό εργαστηριακές συνθήκες και σε επιτόπιες δοκιμές, είναι διαθέσιμα για τις

κύριες βακτηριακές ασθένειες που απειλούν την παραγωγή θαλάσσιων ψαριών στη Μεσόγειο. Η χρήση εμβολίων έχει επεκταθεί σε νέες χώρες και νέα είδη ταυτόχρονα με την ανάπτυξη της βιομηχανίας υδατοκαλλιέργειας. Η έρευνες αυτές δίνουν μια επισκόπηση των επιτευγμάτων στην εμβολιολογία των ιχθύων με ιδιαίτερη έμφαση στην ανοσοπροφύλαξη ως πρακτικό εργαλείο για την επιτυχή ανάπτυξη της βιοπαραγωγής υδρόβιων ζώων (Gudding and Van Muiswinkel, 2013). Η πρόληψη ασθενειών με εμβολιασμό πρέπει πάντα να υποστηρίζεται από σωστά μέτρα βιοασφάλειας για να διατηρείται η έκθεση στο παθογόνο όσο το δυνατόν χαμηλότερη.

Πολύ πρόσφατα, ένα αδρανοποιημένο εμβόλιο κατά του VET για λαβράκι έχει εγκριθεί από την εταιρεία Pharmaq για χρήση σε επιλεγμένες μεσογειακές χώρες. Πρέπει να χορηγείται με ενδοπεριτοναϊκή ένεση όταν τα ψάρια έχουν μέγεθος 12 g (Pharmaq, 2018). Μπορεί να υποστηριχθεί, τουλάχιστον για μέρος της διεθνούς βιομηχανίας υδατοκαλλιέργειας, ότι χωρίς αποτελεσματικά εμβόλια, η ιχθυοκαλλιέργεια δεν θα ήταν εφικτή, είτε βιολογικά είτε οικονομικά.

Σε σύγκριση με τα θηλαστικά, η πολυπλοκότητα του ανοσοποιητικού των ιχθύων αντανακλάται από διάφορες πτυχές, όπως η σύνθεση του συστήματος αναγνώρισης PAMP, οι ρυθμιστικοί παράγοντες, τα μόρια ανοσοποιητικού παράγοντα και οι αντίστοιχοι μηχανισμοί τους. Η πολυπλοκότητα του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος των ψαριών είναι επίσης εμφανής στις λεκτίνες, τις ιντερφερόνες, τα AMP και πολλά άλλα μόρια του ανοσοποιητικού παράγοντα. Οι έρευνες σε βάθος σε αυτόν τον τομέα μπορούν να συμβάλουν στη γνώση σχετικά με τους κανόνες και τους μοριακούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στο σχηματισμό δικτύου ανοσοποιητικής σηματοδότησης.

Ωστόσο πραγματοποιείται μια σημαντική προόδους στην μελέτη της ανοσολογίας των ιχθύων. Οι πρόσφατα αναπτυγμένες τεχνολογίες βαθιάς αλληλουχίας υψηλής απόδοσης, όπως το Solexa/ Illumina RNA-seq, μπορεί να αλλάξουν δραματικά τον τρόπο με τον οποίο εντοπίζονται τα γονίδια που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα και στην μελέτη του ανοσοποιητικού των ιχθύων. Στην πραγματικότητα, αυτές οι τεχνολογίες έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σε ανοσογενετικές μελέτες σε διάφορα είδη ιχθύων, όπως το ιαπωνικό λαβράκι (*L. japonicas*) και στο *P. crocea* (Xiang *et al.*, 2010).

Στη διπλωματική πραγματοποιήθηκε βιβλιογραφική μελέτη στον τρόπο λειτουργίας και έκφρασης των γονιδίων στους δυο πιο ενδιαφέροντος εμπορικούς ιχθύες, στην τσιπούρα και το λαβράκι. Η γονιδιακή έκφραση

είναι η διαδικασία με την οποία οι πληροφορίες που κωδικοποιούνται σε ένα γονίδιο χρησιμοποιούνται για να κατευθύνουν τη συγκρότηση ενός πρωτεϊνικού μορίου.

Αυτό που παρατηρήθηκε είναι ότι η έκφραση των γονιδίων μετά από μολύνσεις εκφράζεται διαφορετικά σε κάθε όργανο του σώματος που έχει μελετηθεί, κάτι τέτοιο καθιστά την ολοκλήρωση των μελετών στον τρόπο έκφραση των γονιδίων χρονοβόρα και δύσκολη.

Συμπερασματικά διαφορετικοί παράγοντες μεταγραφής μπορούν να ενεργοποιηθούν σε διαφορετικούς χρόνους κατά τη διάρκεια διαδοχικών γενεών κυττάρων. Στις βιβλιογραφικές αναφορές που μελετήθηκαν οι παράγοντες διαφέρουν, όπως η ηλικία των ιχθύων που μελετάται, ο τρόπος μόλυνσης (ενδοπεριτοναϊκά- από το στόμα- εμβάπτιση). Κάθε ερευνητική ομάδα προσπαθεί να ελέγξει υπό ποιες συνθήκες η έκφραση των γονιδίων μετατρέπεται σε επιβλαβή στον ιχθύα. Η ανάλυση των εκφράσεων για τον προσδιορισμό των αποκρίσεων μεταξύ των ειδών σε συγκεκριμένο παθογόνο θα προσφέρει καλύτερο προσδιορισμό των δεικτών για τις ασθένειες που προκαλούνται.

Βιβλιογραφία

- Abram, Q. H., Dixon, B. and Katzenback, B. A. (2017) 'Impacts of Low Temperature on the Teleost Immune System', *Biology*. doi: 10.3390/biology6040039.
- Abu-Elala, N. M., Abd- Elsalam, R. and Marzouk, M. S. (2015) 'Molecular and Immunohistochemical Diagnosis of Photobacterium damsela Subspecies piscicida During Naturally Occurring Disease in Egypt', *Journal of World Aquaculture Society*, 46(6). doi: 10.1111/jwas.12237.
- Aggad, D. *et al.* (2015) 'The Two Groups of Zebrafish Virus-Induced Interferons Signal via Distinct Receptors with Specific and Shared Chains', *J. Immunol.*, 183, pp. 3924–3931. doi: 10.4049/jimmunol.0901495.
- Aguirre-Guzmán, G., Mejia Ruíz, H. and Ascencio, F. (2004) 'A review of extracellular virulence product of Vibrio species important in diseases of cultivated shrimp', *Aquaculture Research*, pp. 1395–1404. doi: 10.1111/j.1365-2109.2004.01165.x.
- Akira, S., Uematsu, S. and Takeuchi, O. (2006) 'Pathogen Recognition and Innate Immunity', *Cell*, 3, pp. 783–801. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.015.
- Alexander, J. B. and Ingram, G. A. (1992) 'Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish', *Annual Rev. of Fish Diseases*, pp. 249–279.
- Altinok, I. and Kurt, I. (2003) 'Molecular Diagnosis of Fish Diseases : a Review', *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, pp. 131–138.
- Andreoni, F. and Magnani, M. (2014) 'Photobacteriosis: Prevention and Diagnosis', *Journal of Immunology Research*.
- Angelidis, P. (2006) 'Immersion booster vaccination effect on sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles', *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90(1–2), pp. 46–49. doi: 10.1111/j.1439-0396.2005.00572.x.
- Athanassopoulou, F., Billinis, C., Psychas, V. and Karipoglou, K. (2003) 'Viral encephalopathy and retinopathy of *Dicentrarchus labrax* (L.) farmed in fresh water in Greece', *Journal of Diseases*, 26, pp. 361–365.
- Austin, B. and Austin, D. (2007) *Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish. 4th Edition*.
- Bakopoulos, V., Volpati, D., Adams, A., Galeotti, M. and Richards, R. (1997) 'Qualitative differences in the immune response of rabbit, mouse and sea bass, *Dicentrarchus labrax*, L. to *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, the causative agent of fish Pasteurellosis', *Fish & Shellfish Immunology*, 7, pp. 161–174.
- Bakopoulos, V., Nikolaou, I., Kalovyra, N., Amirali, E., Kokkoris, G. and Spinos, E. (2015) 'Prevention of fish photobacteriosis . Comparison of the efficacy of intraperitoneally administered commercial and experimental vaccines', *Mediterranean Marine Science*, (July). doi: 10.12681/mms.1051.
- Bakopoulos, V., Adams, A. and Richards, R. H. (1995) 'Some biochemical properties and antibiotic sensitivities of *Pasteurella piscicida* isolated in Greece and comparison with strains from Japan , France and Italy', *Journal of Fish Diseases*, 18,

pp. 1-7.

- Bakopoulos, Vassilis, Adams, A. and Richards, R. H. (1997) 'Serological relationship of *Photobacterium damsela* subsp . *piscicida* isolates (the causative agent of fish pasteurellosis) determined by Western blot analysis using six monoclonal antibodies', *Diseases of Aquatic Organisms*, 28, pp. 69-72. doi: 10.3354/dao028069.
- Bakopoulos, V, Adams, A. and Richards, R. H. (1997) 'The effect of iron limitation growth conditions on the cell and extracellular components of the fish pathogen *Pasteurella piscicida*', *Journal of Fish Diseases*, 20, pp. 297-305.
- Balebona, M. C., Motifhgo, M. A., Sedano, J., Martinez-Manzanares, E., Vidaurreta, A., Borrego, J. J. and Toranzo, A. E. (1992) 'Isolation of *pasteurella piscicida* from sea bass in Southwestern Sain', *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol*, 12, pp. 1-3.
- Balebona, M. C., Zorrilla, I., Moriñigo, M. A. and Borrego, J. J. (1998) 'Survey of bacterial pathologies affecting farmed gilt-head sea bream (*Sparus aurata* L.) in southwestern Spain from 1990 to 1996', *Aquaculture*, 166, pp. 19-35.
- Bandín, I. and Souto, S. (2020) 'Betanodavirus and VER Disease: A 30-year Research Review', *Pathogens*, 9, pp. 1-46. Available at: www.mdpi.com/journal/pathogens.
- Bao, B., Peatman, E., Li, P., He, C. and Liu, Z. (2005) 'Catfish hepcidin gene is expressed in a wide range of tissues and exhibits tissue-specific upregulation after bacterial infection', *Developmental and Comparative Immunology*, 29, pp. 939-950. doi: 10.1016/j.dci.2005.03.006.
- Baoprasertkul, P., Xu, P., Peatman, E., Kucuktas, H. and Liu, Z. (2007) 'Divergent Toll-like receptors in catfish (*Ictalurus punctatus*): TLR5S, TLR20, TLR21', *Fish & Shellfish Immunology*, 23, pp. 1218-1230. doi: 10.1016/j.fsi.2007.06.002.
- Bengtén, E. *et al.* (2015) 'The IgH Locus of the Channel Catfish, *Ictalurus punctatus* , Contains Multiple Constant Region Gene Sequences: Different Genes Encode Heavy Chains of Membrane and Secreted IgD', *The Journal of Immunology*, 169, pp. 2488-2497. doi: 10.4049/jimmunol.169.5.2488.
- Bergh, Ø., Vikanes, L., Makridis, P., Skjermo, J., Knappskog, D. and Rødseth, O. M. (2001) 'Uptake and processing of a *Vibrio anguillarum* bacterin in *Artemia franciscana* measured by ELISA and immunohistochemistry', *Fish and Shellfish Immunology*, 11, pp. 15-22. doi: 10.1006/fsim.2000.0289.
- Blazer, V. S., Vogelbein, W. K., Densmore, C. L., May, E. B., Lilley, J. H. and Zwerner, D. E. (1999) 'Aphanomyces as a cause of ulcerative skin lesions of menhaden from chesapeake bay tributaries', *Journal of Aquatic Animal Health*, 11(4), pp. 340-349. doi: 10.1577/1548-8667(1999)011<0340:AAACOU>2.0.CO;2.
- Bly, J. E. and Clem, W. (1992) 'Temperature and teleost immune functions', *Fish and Fisheries*, 2, pp. 159-171.
- Booy, A. T., Haddow, J. D., Ohlund, L. B., Hardie, D. B. and Olafson, R. W. (2005) 'Application of Isotope Coded Affinity Tag (ICAT) Analysis for the Identification of Differentially Expressed Proteins Following Infection of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) with Infectious Hematopoietic Necrosis Virus (IHNV) or *Renibacterium salmoninarum* (B', *Journal of proteome research*, 4, pp. 325-334.
- Borrego, J. J., Labella, A. M., Castro, D., Juan, B. and Sarasquete, C. (2017) 'Updated

- of the Pathologies Affecting Cultured Gilthead Seabream , *Sparus aurata*', *SciMed Central*, 4(2).
- Boshra, H., Li, J. and Sunyer, J. O. (2006) 'Recent advances on the complement system of teleost fish', *Fish & Shellfish Immunology*, 20, pp. 239–262. doi: 10.1016/j.fsi.2005.04.004.
- Bowden, T. J., Cook, P. and Rombout, J. H. W. M. (2005) 'Development and function of the thymus in teleosts', *Fish & Shellfish Immunology*, 19, pp. 413–427. doi: 10.1016/j.fsi.2005.02.003.
- Breuil, G., Bonamib, J. R., Pepin, J. F. and Pichot, Y. (1991) 'Viral infection (picorna-like virus) associated with mass mortalities in hatchery-reared sea-bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae and juveniles', *Aquaculture*, 97, pp. 109–116.
- Bukola, D., Zaid, A., Olalekan, E. I. and Falilu, A. (2015) 'Poultry , Fisheries & Wildlife Sciences Consequences of Anthropogenic Activities on Fish and the Aquatic Environment', *Poultry, Fisheries & Wildlife Sciences*, 3(2). doi: 10.4172/2375-446X.1000138.
- Bullock, G. L. (1978) *Pasteurellosis of fish. US department of interior, US Fish & Wildlife Publications*.
- Buonocore, F. *et al.* (2005) 'Biological Activity of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) Recombinant Biological Activity of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) Recombinant Interleukin-1 b', *Marine Biotechnology*, (May 2014). doi: 10.1007/s10126-004-5131-5.
- Buonocore, F., Randelli, E., Tranfa, P. and Scapigliati, G. (2012) 'A CD83-like molecule in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Molecular characterization and modulation by viral and bacterial infection', *Fish & Shellfish Immunology*, 32, pp. 1179–1184. doi: 10.1016/j.fsi.2012.02.027.
- Buonocore, F. *et al.* (2019) 'Vaccination and immune responses of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) against betanodavirus', *Fish and Shellfish Immunology*, 85, pp. 78–84. doi: 10.1016/j.fsi.2017.11.039.
- Buvoli, M., Biamonti, G. and Morandi, C. (1987) 'Hybridization of oUgodeoxynucleotide probes to RNA molecules: specificity and stability of duplexes', *Nucleic Acids Research*, 15(21), pp. 5–6. doi: 10.1093/nar/15.21.9091.
- Cain, K. D., LaPatra, S. E., Shewmaker, B., Jones, J., Byrne, K. M. and Ristow, S. S. (1992) 'Immunogenicity of a recombinant infectious hematopoietic necrosis virus glycoprotein produced in insect cells', *Diseases of Aquatic Organisms*, 36, pp. 67–72.
- Carraro, R. *et al.* (2017) 'Development of a real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* in fish tissues', *Journal of Fish Diseases*, pp. 1–8. doi: 10.1111/jfd.12703.
- Casani, D. *et al.* (2009) 'Molecular characterisation and structural analysis of an interferon homologue in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)', *Molecular Immunology*, 46, pp. 943–952. doi: 10.1016/j.molimm.2008.09.016.
- Castillo, A., Carmen, S., Dominguez, J., Kaattari, S. L. and Villena, A. J. (1993) 'Ontogeny of IgM and IgM-bearing cells in rainbow trout', *Developmental and Comparative Immunology*, 17, pp. 419–424.

- Catio, B. C., Savan, R., Aman, A., Nakao, M., Watanuki, H. and Sakai, M. (2005) 'Discovery of a novel immunoglobulin heavy chain gene chimera from common carp (*Cyprinus carpio* L.)', *Immunogenetics*, 57, pp. 458–463. doi: 10.1007/s00251-005-0015-z.
- Chart, H. and Munn, C. B. (1980) 'Experimental Vibriosis in the Eel (*Anguilla anguilla*)', in *Experimental Vibriosis in the Eel (Anguilla anguilla)*. In: Ahne W. (eds) *Fish Diseases. Proceedings in Life Sciences*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-67854-7_7.
- Chaves- Pozo, E. et al. (2005) 'Early innate immune response and redistribution of inflammatory cells in the bony fish gilthead seabream experimentally infected with *Vibrio anguillarum*', *Cell and Tissue Research*, 320, pp. 61–68. doi: 10.1007/s00441-004-1063-7.
- Chaves-Pozo, E., Guardiola, F. A., Meseguer, J., Esteban, M. A. and Cuesta, A. (2012) 'Nodavirus infection induces a great innate cell-mediated cytotoxic activity in resistant, gilthead seabream, and susceptible, European sea bass, teleost fish', *Fish & Shellfish Immunology*, 33, pp. 1159–1166. doi: 10.1016/j.fsi.2012.09.002.
- Chen, S., Zhang, Y., Xu, M. and Ji, X. (2006) 'Molecular polymorphism and expression analysis of MHC class II B gene from red sea bream (*Chrysophrys major*)', *Developmental and Comparative Immunology*, 30, pp. 407–418. doi: 10.1016/j.dci.2005.06.001.
- Chistiakov, D. A., Hellemans, B. and Volckaert, F. A. M. (2007) 'Review on the immunology of European sea bass *Dicentrarchus labrax*', *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 117, pp. 1–16. doi: 10.1016/j.vetimm.2007.02.005.
- Choi, K., Cope, W. G., Harms, C. A. and Law, J. M. (2013) 'Rapid decreases in salinity, but not increases, lead to immune dysregulation in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.)', *Journal of Fish Diseases*, 36, pp. 389–399. doi: 10.1111/j.1365-2761.2012.01417.x.
- Cidad, M., Peral, I., Ramos, S., Basurco, B., López-Francos, A., Muniesa, A., Cavallo, M., Pérez, J., Aguilera, C., Furones, D., Reverté, C., Sanjuan-Vilaplana, A., Brun, E., Jansen, M.D., Tavornpanich, S., Raux, P., Baraibar, E., Cobo, A., Fernández-Pola, H. (2018) 'Assessment of Mediterranean Aquaculture Sustainability. Deliverable 1.2 of the Horizon 2020 project MedAID (GA number 727315)', *project web site on 21.12.2018: <http://www.medaid-h2020.eu/index.php/deliverables/>*, (1), pp. 1–153.
- Coourdacier, J. L., Laporte, F. and Pepin, J. F. (2003) 'Preliminary approach to find synthetic peptides from nodavirus capsid potentially protective against sea bass viral encephalopathy and retinopathy', *Fish & Shellfish Immunology*, 14, pp. 435–447. doi: 10.1006/fsim.2002.0449.
- Cooper, A. M. and Khader, S. A. (2007) 'IL-12p40: an inherently agonistic cytokine', *Trends in Immunology*, 28(1), pp. 33–38. doi: 10.1016/j.it.2006.11.002.
- Costa, J. Z. and Thompson, K. D. (2016) 'Understanding the interaction between Betanodavirus and its host for the development of prophylactic measures for viral encephalopathy and retinopathy', *Fish & Shellfish Immunology*, 53, pp. 35–49. doi: 10.1016/j.fsi.2016.03.033.
- Crisafi, F., Denaro, R., Genovese, M., Yakimov, M. and Genovese, L. (2014)

- 'Application of relative real-time PCR to detect differential expression of virulence genes in *Vibrio anguillarum* under standard and stressed growth conditions', *Journal of Fish Diseases*, 37, pp. 629–640. doi: 10.1111/jfd.12158.
- Davies, R. L., McCluskey, J., Gibbs, H. A., Coote, J. G., Freer, J. H. and Parton, R. (1994) 'Comparison of outer-membrane proteins of *Pasteurella haemolytica* expressed in vitro and in vivo in cattle', *Microbiology*, (140), pp. 3293–3300.
- Defoirdt, T., Bossier, P., Sorgeloos, P. and Verstraete, W. (2005) 'The impact of mutations in the quorum sensing systems of *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio harveyi* on their virulence towards gnotobiotically cultured *Artemia franciscana*', *Environmental Microbiology*, 7(8), pp. 1239–1247. doi: 10.1111/j.1462-2920.2005.00807.x.
- Dönmez, A. E. and Yılmaz, D. (2018) 'Viral encephalopathy and retinopathy in fishes', *Instituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, OIE*, 35(3), pp. 335–342. doi: 10.12714/egejfas.2018.35.3.14.
- Douglas, S. E., Gallant, J. W., Liebscher, R. S., Dacanay, A. and Tsoi, S. C. M. (2003) 'Identification and expression analysis of hepcidin-like antimicrobial peptides in bony fish', *Developmental and Comparative Immunology*, 27, pp. 589–601. doi: 10.1016/S0145-305X(03)00036-3.
- Doukas, V., Athanassopoulou, F., Karagouni, E. and Dotsika, E. (1998) 'Short communication *Aeromonas hydrophila* infection in cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., and *Puntazzo puntazzo* Cuvier from the Aegean Sea', *Journal of Fish Diseases*, 21, pp. 317–320.
- Dykstra, M. J. *et al.* (1986) 'Characterization of the *Aphanomyces* Species Involved with Ulcerative Mycosis (Um) in Menhaden', *Mycologia*, 78(4), pp. 664–672. doi: 10.1080/00275514.1986.12025303.
- Echols, K. R., Meadows, J. C., Orazio, C. E. and Survey, U. S. G. (2001) 'Pollution of Aquatic Ecosystems II: Hydrocarbons, Synthetic Organics, Radionuclides, Heavy Metals, Acids, and Thermal Pollution', *GESAMP reports and studies*. FAO, Rome.
- Ercan, M. D., Karataş, S., Turgay, E., Kolukirik, M., İnce, O. and İnce, B. (2013) 'Changes in transferrin gene expression in Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) challenged with *Vibrio anguillarum* Changes in transferrin gene expression in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) challenged with *Vibrio anguillarum*', *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, pp. 141–146. doi: 10.3906/vet-1104-26.
- Essam, H. M., Abdellrazeq, G. S., Tayel, S. I., Torkey, H. A. and Fadel, A. H. (2016) 'Pathogenesis of *Photobacterium damsela* subspecies infections in sea bass and sea bream', *Microbial Pathogenesis*, 99, pp. 41–50. doi: 10.1016/j.micpath.2016.08.003.
- Esteban, M. A., Chaves-pozo, E., Arizcun, M., Meseguer, J. and Cuesta, A. (2013) 'Regulation of natural killer enhancing factor (NKEF) genes in teleost fish , gilthead seabream and European sea bass', *Molecular Immunology*, 55(3–4), pp. 275–282. doi: 10.1016/j.molimm.2013.02.009.
- EUMOFA (2019) 'The EU Fish Market'. doi: 10.2771/168390.
- Eurostat (2019) *Agriculture, forestry and fishery statistics*.
- FAO (2004) 'The state of food and agriculture', p. 208.

- FAO (2018) 'Impacts of climate change on fisheries and aquaculture', p. 628.
- FAO (2019) 'The State of the World's Aquatic Genetic Resources for Food and Agriculture.', p. 290.
- FAO (2020a) 'FAN FAO Aquaculture Newsletter', April, p. 60.
- FAO (2020b) 'The state of the world fisheries and aquaculture', p. 206.
- Frans, I., Michiels, C. W., Bossier, P., Willems, K. A., Lievens, B. and Rediers, H. (2011) 'Vibrio anguillarum as a fish pathogen: Virulence factors, diagnosis and prevention', *Journal of Fish Diseases*, 34(9), pp. 643–661. doi: 10.1111/j.1365-2761.2011.01279.x.
- Frerichs, G. N., Tweedie, A., Starkey, W. G. and Richards, R. H. (2000) 'Temperature, pH and electrolyte sensitivity , and heat, UV and disinfectant inactivation of sea bass (*Dicentrarchus labrax*)/ neuropathy nodavirus', *Aquaculture*, 185, pp. 13–24.
- Frerichs, G. N., Rodger, H. D. and Peric, Z. (1996) 'Cell culture isolation of piscine neuropathy nodavirus from juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax*', *Journal of General Virology*, 77, pp. 2067–2071. doi: 10.1099/0022-1317-77-9-2067.
- Fukuda, Y. and Kusuda, R. (1985) 'Vaccination of Yellowtail Yutaka against Pseudotuberculosis', *Fish Pathology*, pp. 421–425.
- Gao, X. *et al.* (2018) 'Survival, Virulent Characteristics , and Transcriptomic Analyses of the Pathogenic *Vibrio anguillarum* Under Starvation Stress Bacterial Strains and Starvation Stress', *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8, pp. 1–12. doi: 10.3389/fcimb.2018.00389.
- Gatewood, D. M., Fenwick, B. W. and Chengappa, M. M. (1994) 'Growth-condition dependent expression of *Pasteurella haemolytica* A1 outer membrane proteins, capsule, and leukotoxin', *Veterinary Microbiology*, 41, pp. 221–233.
- Gauthier, G. *et al.* (1995) 'Small-Subunit rRNA Sequences and Whole DNA Relatedness Concur for the Reassignment of *Pasteurella piscicida* (Snieszko *et al.*) Janssen and Surgalla to the Genus *Photobacterium* as *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* comb. nov. ', *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45(1), pp. 139–144.
- GESAMP (IMO/FAO/UNESCO-IOC/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection) (2001) 'Planning and management for sustainable coastal aquaculture development.', 68, p. 90.
- Giannenas, I. *et al.* (2012) 'Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)', *Aquaculture*, pp. 26–32. doi: 10.1016/j.aquaculture.2012.04.027.
- Glazebrook, J. S., Heasman, M. P. and Beer, S. W. (1990) 'Picorna-like viral particles associated with mass mortalities in larval barramundi , *Lates calcarifer* Bloch', *Journal of Fish Diseases*, 13, pp. 245–249.
- Grinde, B., Lie, O., Poppe, T. and Salte, R. (1988) 'Species and Individual Variation in Lysozyme Activity in Fish of Interest in Aquaculture', *Aquaculture*, 68, pp. 299–304.

- Gudding, R. and Van Muiswinkel, W. B. (2013) 'A history of fish vaccination: Science-based disease prevention in aquaculture.', *Fish and Shellfish Immunology*, 35(6), pp. 1683–1688. doi: 10.1016/j.fsi.2013.09.031.
- Guérin- Faublée, V., Rosso, L., Vigneulle, M. and Flandrois, J. P. (1995) 'The effect of incubation temperature and sodium chloride concentration on the growth kinetics of *Vibrio anguillarum* and *Vibrio anguillarum* related organisms', *The Journal of Applied Bacteriology*, 78, pp. 621–629.
- Haenen, O. L. M. *et al.* (2014) 'Vibriosis in aquaculture. Workshop report', *16th EAFP Conference, Tampere, Finland, 4th September 2013*, 34(4)(September 2013).
- Hanif, A., Bakopoulos, V., Leonardos, I. and Dimitriadis, G. J. (2005) 'The effect of sea bream (*Sparus aurata*) broodstock and larval vaccination on the susceptibility by *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* and on the humoral immune parameters', *Fish & Shellfish Immunology*, 19, pp. 345–361. doi: 10.1016/j.fsi.2004.12.009.
- Håstein, T., Gudding, R. and Evensen, Ø. (2005) 'Bacterial vaccines for fish - An update of the current situation worldwide', *Progress in Fish Vaccinology*, 121, pp. 55–74.
- Hata, N., Okinaka, Y., Iwamoto, T., Kawato, Y., Mori, K.-I. and Nakai, T. (2010) 'Identification of RNA regions that determine temperature sensitivities in betanodaviruses', *Arch Virol*, 155, pp. 1597–606.
- Hirono, I., Hwang, J., Ono, Y., Kurobe, T., Ohira, T. and Nozaki, R. (2005) 'Two different types of hepcidins from the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*', *FEBS Journal*, 272, pp. 5257–5264. doi: 10.1111/j.1742-4658.2005.04922.x.
- Ho, L.-P., Lin, J. H.-Y., Liu, H.-C., Chen, H.-E., Chen, T.-Y. and Yang, H.-L. (2011) 'Identification of antigens for the development of a subunit vaccine against *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida*', *Fish and Shellfish Immunology*, 30, pp. 412–419. doi: 10.1016/j.fsi.2010.11.029.
- Holliday, F. G. T. and Blaxter, J. H. S. (1960) 'The effects of salinity on the developing eggs and larvae of the herring', *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 39, pp. 591–603. doi: 10.1017/S0025315400013564.
- Hong, G.-E., Kim, D.-G., Bae, J.-Y., Ahn, S.-H., Bai, S. C. and Kong, I.-S. (2007) 'Species-specific PCR detection of the fish pathogen, *Vibrio anguillarum*, using the *amiB* gene, which encodes N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase', *Federation of European Microbiological Societies*, pp. 201–206. doi: 10.1111/j.1574-6968.2006.00618.x.
- Huang, R., Gao, L., Wang, Y., Hu, W. and Guo, Q. (2009) 'Structure, organization and expression of common carp (*Cyprinus carpio* L.)', *Fish & Shellfish Immunology*, 26, pp. 220–229. doi: 10.1016/j.fsi.2008.10.013.
- Illing, B. and Rummer, J. L. (2017) 'Physiology can contribute to better understanding, management, and conservation of coral reef fishes', *Conservation Physiology*, 5, pp. 1–11. doi: 10.1093/conphys/cox005.
- Iwamoto, T., Nakai, T., Mori, K., Arimoto, M. and Furusawa, I. (2000) 'Cloning of the fish cell line SSN-1 for piscine nodaviruses', *Diseases of Aquatic Organisms*, 43, pp. 81–89.
- Jacquín, L., Petitjean, Q., Côte, J., Laffaille, P., Jean, S. and Institut, U. M. R. (2020)

- 'Effects of Pollution on Fish Behavior, Personality , and Cognition: Some Research Perspectives', *Frontiers in Ecology and the Environment*, 8, pp. 1–12. doi: 10.3389/fevo.2020.00086.
- Jain, K. E. and Farrell, A. P. (2003) 'Influence of seasonal temperature on the repeat swimming performance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*', *The Journal of Ex*, pp. 3569–3579. doi: 10.1242/jeb.00588.
- Karagouni, E., Athanassopoulou, F., Lytra, A., Komis, C. and Dotsika, E. (2005) 'Antiparasitic and immunomodulatory effect of innovative treatments against *Myxobolus* sp. infection in *Diplodus puntazzo*', *Veterinary Parasitology*, 134, pp. 215–228. doi: 10.1016/j.vetpar.2005.07.020.
- Karagouni, E., Athanassopoulou, F., Tsagozis, P., Ralli, E., Lytra, K. and Dotsika, E. (2005) 'The impact of a successful anti- myxosporean treatment on the phagocyte functions of juvenile and adult *Sparus Aurat L.*', *International Journal of Immunopathology and phatmacology*, 18(I), pp. 121–132.
- Kileng, Ø., Brundtland, M. I. and Robertsen, B. (2007) 'Infectious salmon anemia virus is a powerful inducer of key genes of the type I interferon system of Atlantic salmon, but is not inhibited by interferon', *Fish & Shellfish Immunology*, 23, pp. 378–389. doi: 10.1016/j.fsi.2006.11.011.
- Krause, A., Neitz, S., Schulz, A., Forssmann, W., Schulz-knappe, P. and Adermann, K. (2000) 'LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity 1', *FEBS Journal*, 480, pp. 147–150.
- Labella, A., Vida, M., Alonso, M. C., Infante, C., Cardenas, S. and Torun, C. I. F. P. A. Ó. El (2006) 'Short communication First isolation of *Photobacterium damsela* ssp. *damsela* from cultured redbanded seabream, *Pagrus auriga Valenciennes*, in Spain', *Journal of Fish Diseases*, 29, pp. 175–179.
- Labella, A., Berbel, C., Manchado, M., Castrol, D. and Borrego, J. J. (2011) '*Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, an Emerging Pathogen Affecting New Cultured Marine Fish Species in Southern Spain', *Recent Advnaces in Fish Farms, Faruk Aral and Zafer Dogđu (Ed.)*.
- Langston, A. L., Hoare, R., Stefansson, M., Fitzgerald, R., Wergeland, H. and Mulchahy, M. (2002) 'The effect of temperature on non-specific defence parameters of three strains of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus L.*)', *Fish & Shellfish Immunology*, 12, pp. 61–76. doi: 10.1006/fsim.2001.0354.
- Larsen, J. L. (1984) '*Vibrio anguillavum*: Influence of temperature , pH , NaCl concentration and incubation time on growth', *Journal of Applied Bacteriology*, 57, pp. 237–246.
- Leong, J. C., Trobridge, G. D., Kim, C. H. Y., Johnson, M. and Simon, B. (1998) 'Interferon-inducible Mx proteins in fish', *Immunological Reviews*, 166, pp. 349–364.
- Long, S. *et al.* (2006) 'Identification and expression analysis of cDNAs encoding channel catfish type I interferons', *Fish & Shellfish Immunology*, 21, pp. 42–59. doi: 10.1016/j.fsi.2005.10.008.
- Love, M., Teebkenfisher, D., Hose, J. E., Farmer, J. J., Hickman, F. W. and Fanning, G. R. (1981) '*Vibrio damsela*, a Marine Bacterium, Causes Skin Ulcers on the Damsel fish *Chromis punctipinnis*', *Science*.

- Ma, Y., Wang, Q., Xu, W., Liu, X. and Gao, X. (2017) 'Stationary phase-dependent accumulation of ectoine is an efficient adaptation strategy in *Vibrio anguillarum* against cold stress', *Microbiological Research*, 205(June), pp. 8–18. doi: 10.1016/j.micres.2017.08.005.
- MacDonell, M. T. and Colwell, R. R. (1985) 'Phylogeny of the Vibrionaceae, and Recommendation for Two New Genera, *Listonella* and *Shewanella*', *Systematic and Applied Microbiology*, 6, pp. 171–182. doi: 10.1016/S0723-2020(85)80051-5.
- Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H. N., Vinagre, C. and Diniz, M. S. (2013) 'Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish', *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 166, pp. 237–243. doi: 10.1016/j.cbpa.2013.06.008.
- Madeira, D., Vinagre, C. and Diniz, M. S. (2016) 'Are fish in hot water? Effects of warming on oxidative stress metabolism in the commercial species *Sparus aurata*', *Ecological Indicators*, 63, pp. 324–331. doi: 10.1016/j.ecolind.2015.12.008.
- Magarinos, B., Romalde, J. L., Bandin, I., Fouz, B. and Toranzo, A. E. (1992) 'Phenotypic, Antigenic, and Molecular Characterization of *Pasteurella piscicida* Strains Isolated from Fish', *Applied and Environmental Microbiology*, 58(10), pp. 3316–3322.
- Magariños, B., Romalde, J. L., Barja, J. L. and Toranzo, A. E. (1994) 'Evidence of a Dormant but Infective State of the Fish Pathogen *Pasteurella piscicida* in Seawater and Sediment', *Applied and Environmental Microbiology*, 60(1), pp. 180–186.
- Magariños, B., Couso, N., Noya, M., Merino, P., Toranzo, A. E. and Lamas, J. (2001) 'Effect of temperature on the development of pasteurellosis in carrier gilthead seabream (*Sparus aurata*)', *Aquaculture*, 195, pp. 17–21.
- Magariños, B., Toranzo, A. E. and Romalde, J. L. (1997) 'Phenotypic and pathobiological characteristics of *Pasteurella piscicida*.', *Annual Review of Fish Diseases*, 6(1), pp. 41–64.
- Magnadóttir, B. (2006) 'Innate immunity of fish (overview)', *Fish and Shellfish Immunology*, 20, pp. 137–151. doi: 10.1016/j.fsi.2004.09.006.
- Martins, P., Navarro, R. V. V., Coelho, F. J. R. C. and Gomes, N. C. M. (2015) 'Development of a molecular methodology for fast detection of *Photobacterium damsela* subspecies in water samples', *Aquaculture*, 435, pp. 137–142. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.09.028.
- Medzhitov, R. (2007) 'Recognition of microorganisms and activation of the immune response', *Nature*, 449, pp. 819–826. doi: 10.1038/nature06246.
- Meloni, M., Candusso, S., Galeotti, M. and Volpatti, D. (2015) 'Preliminary study on expression of antimicrobial peptides in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) following in vivo infection with *Vibrio anguillarum*. A time course experiment', *Fish & Shellfish Immunology*, 43, pp. 82–90. doi: 10.1016/j.fsi.2014.12.016.
- Meseguer, J., Esteban, M. A. and B., A. (1991) 'Stromal Cells, Macrophages and Lymphoid Cells in the Head-kidney of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.). An Ultrastructural Study', *Arch Histol Cytol*, 54, pp. 299–309.
- Montero, D., Mathlouthi, F., Tort, L., Afonso, J. M., Torrecillas, S. and Fernández-

- vaquero, A. (2010) 'Replacement of dietary fish oil by vegetable oils affects humoral immunity and expression of pro-inflammatory cytokines genes in gilthead sea bream *Sparus aurata*', *Fish and Shellfish Immunology*, 29, pp. 1073–1081. doi: 10.1016/j.fsi.2010.08.024.
- Moreno, P. *et al.* (2018) 'Immuno-related gene transcription and antibody response in nodavirus (RGNNV and SJNNV)- infected European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)', *Fish & Shellfish Immunology*, 78, pp. 270–278. doi: 10.1016/j.fsi.2018.04.054.
- Mori, K., Mangyoku, T., Iwamoto, T., Arimoto, M., Tanaka, S. and Nakai, T. (2003) 'Serological relationships among genotypic variants of betanodavirus', *Diseases of Aquatic Organisms*, 57, pp. 19–26.
- Morris, J. G. *et al.* (1982) 'Illness caused by *Vibrio damsela* and *Vibrio hollisae*', *Lancet*, pp. 1294–1297.
- Mosca, F. *et al.* (2014) 'Defensive response of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) against *Listonella anguillarum* or *Photobacterium damsela* e subsp . piscicida experimental infection', *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 162, pp. 83–95. doi: 10.1016/j.vetimm.2014.10.002.
- Mulero, I. *et al.* (2008) 'Vaccination of larvae of the bony fish gilthead seabream reveals a lack of correlation between lymphocyte development and adaptive immunocompetence', *Molecular Immunology*, 45(10), pp. 2981–2989. doi: 10.1016/j.molimm.2008.01.017.
- Munday, B. L., Kwang, J. and Moody, N. (2002) 'Review article Betanodavirus infections of teleost fish : a review', *Journal of Fish Diseases*, 25, pp. 127–142.
- Muniesa, A. *et al.* (2020) 'Mapping the knowledge of the main diseases affecting sea bass and sea bream in Mediterranean', *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(3), pp. 1089–1100. doi: 10.1111/tbed.13482.
- NACA and FAO (2001) 'Asia diagnostic guide to aquatic animal diseases', p. 240.
- Nascimento, D. S., Tom, A. M., Zou, J., Secombes, C. J. and Nuno, M. S. (2007) 'Cloning, promoter analysis and expression in response to bacterial exposure of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)', *Molecular Immunology*, 44, pp. 2277–2291. doi: 10.1016/j.molimm.2006.11.006.
- Nascimento, D. S., Pereira, P. J. B., *et al.* (2007) 'Molecular cloning and expression analysis of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) tumor necrosis factor- α (TNF- α)', *Fish & Shellfish Immunology*, 23, pp. 701–710. doi: 10.1016/j.fsi.2007.02.003.
- Nelson, J. S. (1994) *Fishes of the World*. doi: 10.22621/cfn.v120i1.262.
- Neves, J. V., Caldas, C., Wilson, J. M. and Rodrigues, P. N. S. (2011) 'Molecular mechanisms of hepcidin regulation in sea bass (*Dicentrarchus labrax*)', *Fish & Shellfish Immunology*, 31, pp. 1154–1161. doi: 10.1016/j.fsi.2011.10.006.
- Nishizawa, T., Furuhashi, M., Nagai, T., Nakai, T. and Muroga, K. (1997) 'Genomic Classification of Fish Nodaviruses by Molecular Phylogenetic Analysis of the Coat Protein Gene', *Applied and Environmental Microbiology*, 63(4), pp. 1633–1636.
- OIE (2016) 'Viral Encephalopathy and Retinopathy', in *Chapter 2.3.12. Viral encephalopathy and retinopathy. Man. Diagnostic Tests Aquat. Anim.*

- Olafsen, J. A. (2001) 'Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture', *Aquaculture*, pp. 223–247.
- Olveira, J. G., Souto, S., Dopazo, C. P., Thiéry, R., Barja, J. L. and Bandín, I. (2009) 'Comparative analysis of both genomic segments of betanodaviruses isolated from epizootic outbreaks in farmed fish species provides evidence for genetic reassortment', *Journal of General Virology*, 90, pp. 2940–2951. doi: 10.1099/vir.0.013912-0.
- Ordás, M. C., Cuesta, A., Mercado, L., Bols, N. C. and Tafalla, C. (2011) 'Fish & Shellfish Immunology Viral hemorrhagic septicaemia virus (VHSV) up-regulates the cytotoxic activity and the perforin / granzyme pathway in the rainbow trout RTS11 cell line', *Fish and Shellfish Immunology*, 31(2), pp. 252–259. doi: 10.1016/j.fsi.2011.05.010.
- Osorio, C. R., Collins, M. D., Toranzo, A. E., Barja, J. L. and Romalde, J. L. (1999) '16S rRNA Gene Sequence Analysis of Photobacterium damsela and Nested PCR Method for Rapid Detection of the Causative Agent of Fish Pasteurellosis', *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), pp. 2942–2946.
- Paillard, C., Roux, F. Le and Borrego, J. J. (2004) 'Bacterial disease in marine bivalves, a review of recent studies: Trends and evolution', *Aquatic Living Resources*, pp. 477–498. doi: 10.1051/alr.
- Palti, Y. (2011) 'Toll-like receptors in bony fish: From genomics to function', *Developmental and Comparative Immunology*, 35, pp. 1263–1272. doi: 10.1016/j.dci.2011.03.006.
- Panzarin, V. et al. (2012) 'Molecular epidemiology and evolutionary dynamics of betanodavirus in southern Europe', *Infection, Genetics and Evolution*, 12, pp. 63–70. doi: 10.1016/j.meegid.2011.10.007.
- Panzarin, V. et al. (2014) 'In vitro study of the replication capacity of the RGNNV and the SJNNV betanodavirus genotypes and their natural reassortants in response to temperature', *Veterinary Research*, 45(1), pp. 1–11. doi: 10.1186/1297-9716-45-56.
- Paperna, I., Colorni, A., Gordin, H. and Kissil, G. W. (1977) 'Diseases of Sparus aurata in marine culture at Elat', *Aquaculture*, 10, pp. 195–213.
- Park, C. H. et al. (2001) 'Hepcidin, a Urinary Antimicrobial Peptide Synthesized in the Liver*', *The Journal Of Biological Chemistry*, 276(16), pp. 7806–7810. doi: 10.1074/jbc.M008922200.
- Parra, D., Reyes-Lopez, F. E. and Tort, L. (2015) 'Mucosal immunity and B cells in teleosts: Effect of vaccination and stress', *Frontiers in Immunology*, 6, pp. 1–12. doi: 10.3389/fimmu.2015.00354.
- Patel, S., Korsnes, K., Bergh, Ø., Vik-mo, F., Pedersen, J. and Nerland, A. H. (2007) 'Nodavirus in farmed Atlantic cod Gadus morhua in Norway', *Diseases of Aquatic Organisms*, 77, pp. 169–173. doi: 10.3354/dao01842.
- Pazos, F., Santos, Y., Magarinos, B., Bandin, I., Nunez, S. and Toranzo, A. E. (1993) 'Phenotypic Characteristics and Virulence of Vibrio anguillarum-Related Organisms', *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 2969–2976.
- Pharmaq (2018) 'The first commercial vaccine against RGNNV in Europe',

PHARMAQ, pp. 5–8.

- Pickering, A. D. (1993) 'Growth and stress in fish production', *Aquaculture*, 111, pp. 51–63.
- Pigeon, C. *et al.* (2001) 'A New Mouse Liver-specific Gene, Encoding a Protein Homologous to Human Antimicrobial Peptide Hecpudin, Is Overexpressed during Iron Overload *', *The Journal Of Biological Chemistry*, 276(11), pp. 7811–7819. doi: 10.1074/jbc.M008923200.
- Pinto, R. D., Nascimento, D. S., Reis, M. I. R. and Nuno, M. S. (2007) 'Molecular characterization, 3D modelling and expression analysis of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) interleukin-10', *Molecular Immunology*, 44, pp. 2056–2065. doi: 10.1016/j.molimm.2006.09.014.
- Poisa-Beiro, L., Dios, S., Montes, A., Aranguren, R., Figueras, A. and Novoa, B. (2008) 'Nodavirus increases the expression of Mx and inflammatory cytokines in fish brain', *Molecular Immunology*, 45, pp. 218–225. doi: 10.1016/j.molimm.2007.04.016.
- Prananingtyas, D., Prayogo and Rahardja, B. S. (2019) 'Effect of Different Salinity Level within Water Against Growth Rate, Survival Rate (FCR) of Catfish (*Clarias* sp.)', *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 236. doi: 10.1088/1755-1315/236/1/012035.
- Press, C. M. and Evensen, Ø. (1999) 'The morphology of the immune system in teleost fishes.', *The morphology of the immune system in teleost fishes*, 9(4), pp. 309–318.
- Rauta, P. R., Nayak, B. and Das, S. (2012) 'Immune system and immune responses in fish and their role in comparative immunity study: A model for higher organisms', *Immunology Letters*, 148, pp. 23–33. doi: 10.1016/j.imlet.2012.08.003.
- Rehnstam, A.-S., Norqvist, A., Wolf-Watz, H. and Hagstrom, A. (1989) 'Identification of *Vibrio anguillarum* in Fish by Using Partial 16S rRNA Sequences and a Specific 16S rRNA Oligonucleotide Probe', *Applied and Environmental Microbiology*, 55(8), pp. 1907–1910.
- Reid, G. K. *et al.* (2019) 'Climate change and aquaculture: considering adaptation potential', *Aquaculture Environment Interactions*, 11(November), pp. 603–624. doi: 10.3354/aei00333.
- Reis, M. I. R., Vale, A., *et al.* (2007) 'First molecular cloning and characterisation of caspase-9 gene in fish and its involvement in a gram negative septicemia', *Molecular Immunology*, 44, pp. 1754–1764. doi: 10.1016/j.molimm.2006.07.293.
- Reis, M. I. R., Nascimento, D. S., Vale, A., Silva, M. T. and Santos, N. M. S. (2007) 'Molecular cloning and characterisation of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) caspase-3 gene', *Molecular Immunology*, 44, pp. 774–783. doi: 10.1016/j.molimm.2006.04.028.
- Reis, M. I. R., Costa-ramos, C. and Nuno, M. S. (2010) 'Molecular cloning of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) caspase-8 gene and its involvement in *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* triggered apoptosis', *Fish and Shellfish Immunology*, 29, pp. 58–65. doi: 10.1016/j.fsi.2010.02.016.
- Reyes-López, F. E. *et al.* (2018) 'Modulation of innate immune-related genes and

- glucocorticoid synthesis in gnotobiotic full-sibling European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae challenged with *Vibrio anguillarum*', *Frontiers in Immunology*, 9(MAY). doi: 10.3389/fimmu.2018.00914.
- Rigos, G. and Katharios, P. (2010) 'Pathological obstacles of newly-introduced fish species in Mediterranean mariculture: a review', *Rev Fish Biol Fisheries*, 20, pp. 47-70. doi: 10.1007/s11160-009-9120-7.
- Robertsen, B. (2006) 'The interferon system of teleost fish', 20(1050), pp. 172-191. doi: 10.1016/j.fsi.2005.01.010.
- Rodgers, C. J. and Furones, M. D. (1998) 'Disease problems in cultured marine fish in the Mediterranean', *Fish Pathology*, 33(4), pp. 157-164. doi: 10.3147/jsfp.33.157.
- Rodrigues, P. N. S., Vázquez- Dorado, S., Neves, J. and Wilson, J. M. (2006) 'Dual function of fish hepcidin: Response to experimental iron overload and bacterial infection in sea bass (*Dicentrarchus labrax*)', *Developmental and Comparative Immunology*, 30, pp. 1156-1167. doi: 10.1016/j.dci.2006.02.005.
- Røkenes, T. P., Larsen, R. and Robertsen, B. (2007) 'Atlantic salmon ISG15: Expression and conjugation to cellular proteins in response to interferon , double-stranded RNA and virus infections', *Molecular Immunology*, 44, pp. 950-959. doi: 10.1016/j.molimm.2006.03.016.
- Romalde, J. L. (2002) 'Photobacterium damsela subsp. piscicida: an integrated view of a bacterial fish pathogen', *Int Microbiol*, 5, pp. 3-9. doi: 10.1007/s10123-002-0051-6.
- Romani, L., Puccetti, P. and Bistoni, F. (1997) 'Interleukin-12 in Infectious Diseases', *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4), pp. 611-636.
- Romero, J., Feijoó, C. G. and Navarrete, P. (2012) 'Antibiotics in Aquaculture - Use, Abuse and Alternatives', in *Health and Environment in Aquaculture*, pp. 159-198. doi: 10.5772/28157.
- Ruimy, R. *et al.* (1994) 'Phylogenetic Analysis and Assessment of the Genera *Vibrio*, *Photobacterium*, *Aeromonas*, and *Plesiomonas* Deduced from Small-Subunit rRNA Sequences', *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44(3), pp. 416-426.
- Ruixuan, W., Juan, F., Youlu, S., Lingtong, Y. and Jiangyong, W. (2013) 'Studies on the isolation of *Photobacterium damsela* subsp . *piscicida* from diseased golden pompano (*Trachinotus ovatus* Linnaeus) and antibacterial agents sensitivity', *Veterinary Microbiology*, 162, pp. 957-963. doi: 10.1016/j.vetmic.2012.09.020.
- Saaristo, M. *et al.* (2018) 'Direct and indirect effects of chemical contaminants on the behaviour , ecology and evolution of wildlife', *Proc. R. Soc.*
- Saeij, J. P. J., Wiegertjes, G. F. and Stet, R. J. M. (1999) 'Identification and characterization of a fish natural resistance-associated macrophage protein (NRAMP) cDNA', *Immunogenetics*, 50, pp. 60-66.
- Salazar-Mather, T. P. and Hokeness, K. L. (2006) 'Cytokine and Chemokine Networks: Pathways to Antiviral Defense', *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 303, pp. 29-46.
- Salerno, G., Parrinello, N., Roch, P. and Cammarata, M. (2007) 'cDNA sequence and

- tissue expression of an antimicrobial peptide , dicentracin; a new component of the moronecidin family isolated from head kidney leukocytes of sea bass , *Dicentrarchus labrax*', *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 146, pp. 521-529. doi: 10.1016/j.cbpb.2006.12.007.
- Sánchez, C., Babin, M., Tomillo, J., Ubeira, F. M. and Domínguez, J. (1993) 'Quantification of low levels of rainbow trout immunoglobulin by enzyme immunoassay using two monoclonal antibodies', *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 36, pp. 65-74.
- Sánchez, C., Alvarez, A., Castillo, A., Zapatas, A., A., V. and Domínguez, J. (1995) 'Two different subpopulations of Ig-Bearing cells in lymphoid organs of rainbow trout', *Developmental and Comparative Immunology*, 19(1), pp. 79-86.
- Sarropoulou, E. *et al.* (2009) 'Profiling of infection specific mRNA transcripts of the European seabass *Dicentrarchus labrax*', *BMC Genomics*, 10, pp. 1-18. doi: 10.1186/1471-2164-10-157.
- Saurabh, S. and Sahoo, P. K. (2008) 'Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system', *Aquaculture Research*, 39, pp. 223-239. doi: 10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x.
- Scapigliati, G., Mazzini, M., Mastrolia, L., Romano, N. and Abelli, L. (1995) 'Production and characterisation of a monoclonal antibody against the thymocytes of the sea bass *Dicentrarchus labrax* (L .) (Teleostea , Percichthyidae)', *Fish & Shellfish Immunology*, 5, pp. 393-405.
- Scapigliati, G. *et al.* (2010) 'Cellular and molecular immune responses of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) experimentally infected with betanodavirus', *Fish & Shellfish Immunology*, 28, pp. 303-311. doi: 10.1016/j.fsi.2009.11.008.
- Schiewe, M. H., Trust, T. J. and Crosa, J. H. (1981) '*Vibrio ordalii* sp. nov.: A causative agent of vibriosis in fish', *Current Microbiology*, 6(6), pp. 343-348. doi: 10.1007/BF01567009.
- Scott, G. R. and Sloman, K. A. (2004) 'The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity', *Aquatic Toxicology*, 68, pp. 369-392. doi: 10.1016/j.aquatox.2004.03.016.
- Secombes, C. J., Wangs, T. and Bird, S. (2011) 'The interleukins of fish', *Developmental and Comparative Immunology*, 35, pp. 1336-1345. doi: 10.1016/j.dci.2011.05.001.
- Sepulcre, M. P., Sarropoulou, E., Kotoulas, G. and Mulero, V. (2007) '*Vibrio anguillarum* evades the immune response of the bony fish sea bass (*Dicentrarchus labrax* L .) through the inhibition of leukocyte respiratory burst and down-regulation of apoptotic caspases', *Molecular Immunology*, 44, pp. 3751-3757. doi: 10.1016/j.molimm.2007.03.021.
- Shi, Y. *et al.* (2010) 'Comparative Biochemistry and Physiology , Part B Interferon regulatory factor-2 in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*): Gene , inductive expression pattern and subcellular localization ☆ ', *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 155(2), pp. 110-117. doi: 10.1016/j.cbpb.2009.10.008.
- Shike, H. *et al.* (2002) 'Bass hepcidin is a novel antimicrobial peptide induced by

- bacterial challenge', *European Journal of Biochemistry*, 269, pp. 2232–2237. doi: 10.1046/j.1432-1033.2002.02881.x.
- Smith, S. K., Sutton, D. C., Fuerst, J. A. and Reichelt, J. L. (1991) 'Evaluation of the Genus *Listonella* and Reassignment of *Listonella damsela* (Love et al.) MacDonell and Colwell to the Genus *Photobacterium* as *Photobacterium damsela* comb. nov. with an Emended Description', *International Journal of Systematic Bacteriology*, 41(4), pp. 529–534.
- Solstad, T., Larsen, A. N., Seppola, M. and Jørgensen, T. Ø. (2008) 'Identification, cloning and expression analysis of a hepcidin cDNA of the Atlantic cod (*Gadus morhua* L.)', *Fish & Shellfish Immunology*, 25, pp. 298–310. doi: 10.1016/j.fsi.2008.05.013.
- Sueiro, M. C., Awruch, C., Gilardoni, C., Demetrio, M. and Palacios, G. M. (2020) 'Immunity and health of two wild marine fishes naturally exposed to anthropogenic pollution', *Science of the Total Environment*, 726. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138303.
- Surface, C., Santos, Y., Pazos, F., Bandi, I., Toranzo, A. E. and Icrobiol, A. P. P. L. E. N. M. (1995) 'Analysis of Antigens Present in the Extracellular Products and', *Applied and Environmental Microbiology*, 61(7), pp. 2493–2498.
- Terova, G., Cattaneo, A. G., Preziosa, E., Bernardini, G. and Saroglia, M. (2011) 'Impact of acute stress on antimicrobial polypeptides mRNA copy number in several tissues of marine sea bass (*Dicentrarchus labrax*)', *BMC Immunology*.
- Theodorou, J. A., Perdikaris, C. and Filippopoulos, N. G. (2015) 'Evolution Through Innovation in Aquaculture: A Critical Review of the Greek Mariculture Industry', *Journal of Applied Aquaculture*, 27(June), pp. 160–181. doi: 10.1080/10454438.2015.1049473.
- Toranzo, A. E., Casap, J. F., Figueras, A., Magariños, B. and Barja, J. L. (1991) 'Pasteurellosis in cultured gilthead seabream (*Sparus aurata*): first report in Spain', *Aquaculture*, 99, pp. 1–15.
- Toranzo, A. E., Magariños, B. and Romalde, J. L. (2005) 'A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems', *Aquaculture*, 246, pp. 37–61. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.01.002.
- Toubanaki, D. K., Margaroni, M. and Karagouni, E. (2015) 'Nanoparticle-Based Lateral Flow Biosensor for Visual Detection of Fish Nervous Necrosis Virus Amplification Products', *Molecular and Cellular Probes*. doi: 10.1016/j.mcp.2015.03.005.
- Trüper, H. G. and Lanfranco, D. (1997) 'Taxonomic Note: Necessary Correction of Specific Epithets Formed as Substantives (Nouns) " in Apposition "', *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47(3), pp. 908–909.
- Utke, K., Bergmann, S., Lorenzen, N., Kollner, B., Otake, M. and Fischer, U. (2007) 'Cell-mediated cytotoxicity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, infected with viral haemorrhagic septicaemia virus', *Fish & Shellfish Immunology*, 22, pp. 182–196. doi: 10.1016/j.fsi.2006.04.008.
- do Vale, A. et al. (2005) 'AIP56, a novel plasmid-encoded virulence factor of *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* with apoptogenic activity against sea

- bass macrophages and neutrophils', *Molecular Microbiology*, 58(4), pp. 1025–1038. doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04893.x.
- do Vale, A., Marques, F. and Silva, M. (2003) 'Apoptosis of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) neutrophils and macrophages induced by experimental infection with *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*', *Fish & Shellfish Immunology*, 15, pp. 129–144. doi: 10.1016/S1050-4648(02)00144-4.
- Valero, Y. *et al.* (2015) 'Characterization of the interferon pathway in the teleost fish gonad against the vertically transmitted viral nervous necrosis virus', *Journal of General Virology*, 96(8). doi: 10.1099/vir.0.000164.
- Valero, Y., Awad, E., *et al.* (2016) 'An oral chitosan DNA vaccine against nodavirus improves transcription of cell-mediated cytotoxicity and interferon genes in the European sea bass juveniles gut and survival upon infection *', *Developmental and Comparative Immunology*, 65, pp. 64–72. doi: 10.1016/j.dci.2016.06.021.
- Valero, Y., Arizcun, M., Angeles, M., Cuesta, A. and Chaves-pozo, E. (2016) 'Transcription of histones H1 and H2B is regulated by several immune stimuli in gilthead seabream and European sea bass', *Fish & Shellfish Immunology*, 57, pp. 107–115. doi: 10.1016/j.fsi.2016.08.019.
- Valero, Y. *et al.* (2018) 'Genes related to cell-mediated cytotoxicity and interferon response are induced in the retina of European sea bass upon intravitreal infection with nodavirus', *Fish and Shellfish Immunology*, 74(July 2017), pp. 627–636. doi: 10.1016/j.fsi.2018.01.034.
- Vendramin, N. *et al.* (2016) 'Fish health in Mediterranean Aquaculture, past mistakes and future challenges', *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 36(1), pp. 38–45.
- Vinagre, C., Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H. N. and Diniz, M. (2012) 'Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*', *Ecological Indicators*, 23, pp. 274–279. doi: 10.1016/j.ecolind.2012.04.009.
- Wang, G., Li, X. and Wang, Z. (2015) 'APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education', *Nucleic Acids Research Advance Access*, 1, pp. 1–7. doi: 10.1093/nar/gkv1278.
- Watts, M., Munday, B. L. and Burke, C. M. (2001) 'Immune responses of teleost fish', *Veterinary Journal*, pp. 570–574.
- Weyts, F. A. A., Cohen, N., Flik, G. and Verburg- Van Kemenade, B. M. L. (1999) 'Interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish', *Fish & Shellfish Immunology*, 9, pp. 1–20.
- Whyte, S. K. (2007) 'The innate immune response of finfish - A review of current knowledge', *Fish & Shellfish Immunology*, 23, pp. 1127–1151. doi: 10.1016/j.fsi.2007.06.005.
- WorldFish (2007) 'The threat to fisheries and aquaculture from climate change'.
- Wu, X.-Y., Xiang, L.-X., Huang, L., Jin, Y. and Shao, J.-Z. (2018) 'Characterization , expression and evolution analysis of Toll-like receptor 1 gene in pufferfish (*Tetraodon nigroviridis*)', *Journal of Immunogenetics*, (August). doi: 10.1111/j.1744-

313X.2008.00759.x.

- Wu, Y. C. and Chi, S. C. (2007) 'Cloning and analysis of antiviral activity of a barramundi (*Lates calcarifer*) Mx gene *', *Fish & Shellfish Immunology*, 23, pp. 97-108. doi: 10.1016/j.fsi.2006.09.008.
- Xiang, L., He, D., Dong, W., Zhang, Y. and Shao, J. (2010) 'Deep sequencing-based transcriptome profiling analysis of bacteria-challenged *Lateolabrax japonicus* reveals insight into the immune-relevant genes in marine fish', *BMC Genomics*.
- Xiao, J. *et al.* (2007) 'Tumor necrosis factor-alpha gene from mandarin fish, *Siniperca chuatsi*: Molecular cloning, cytotoxicity analysis and expression profile', *Molecular Immunology*, 44, pp. 3615-3622. doi: 10.1016/j.molimm.2007.03.016.
- Xiao, X., Qin, Q. and Chen, X. (2011) 'Molecular characterization of a Toll-like receptor 22 homologue in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) and promoter activity analysis of its 5'-flanking sequence', *Fish & Shellfish Immunology*, 30, pp. 224-233. doi: 10.1016/j.fsi.2010.10.014.
- Yang, C. and Su, J. (2010) 'Molecular identification and expression analysis of Toll-like receptor 3 in common carp *Cyprinus carpio*', *Journal of Fish Biology*, 76, pp. 1926-1939. doi: 10.1111/j.1095-8649.2010.02624.x.
- Yousif, A. N., Albright, L. J. and Evelyn, T. P. T. (1991) 'Occurrence of lysozyme in the eggs of coho salmon *Oncorhynchus kisutch*', *Diseases of Aquatic Organisms*, 10, pp. 3-8. doi: 10.3354/dao010045.
- Zapata, A., Diez, B., Tejalvo, T., Gutiérrez-de Frías, C. and Cortés, A. (2006) 'Ontogeny of the immune system of fish', *Fish & Shellfish Immunology*, 20, pp. 126-136. doi: 10.1016/j.fsi.2004.09.005.
- Zhang, Z., Wu, H., Xiao, J., Wang, Q., Liu, Q. and Zhang, Y. (2012) 'Immune responses of zebrafish (*Danio rerio*) induced by bath-vaccination with a live attenuated *Vibrio anguillarum* vaccine candidate', *Fish and Shellfish Immunology*, 33(1), pp. 36-41. doi: 10.1016/j.fsi.2012.03.031.
- Zhu, L., Nie, L., Zhu, G., Xiang, L. and Shao, J. (2013) 'Advances in research of fish immune-relevant genes: A comparative overview of innate and adaptive immunity in teleosts', *Developmental and Comparative Immunology*, 39(1-2), pp. 39-62. doi: 10.1016/j.dci.2012.04.001.
- Αμπατζόπουλος, Θ. Ι., Αντωνοπούλου, Ε., Κωνσταντίνος, Γ., Γκέλης, Σ., Σταϊκού, Α. and Τριανταφυλλίδης, Α. (2015) *Υδατοκαλλιέργειες*.
- Κοσμά, Ι. (2016) 'Σύγκριση αποτελεσματικότητας διδύναμου εμπορικού και πειραματικών εμβολίων κατά της δονακίωσης και φωτοβακτηριδίασης στη τσιπούρα *Sparus aurata* (L.): διερεύνηση της ανοσολογικής αντίδρασης με τις μεθόδους ELISA και Western Blot', *Πτυχιακή Εργασία Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Σχολή Περιβάλλοντος, Τμήμα Επιστημών της Θάλασσας*.
- Περάμαντζη, Φ. (2013) *Ανασοβιολογικό σύστημα ιχθύων*. ΤΕΙ ΜΕΣΣΟΛΟΓΓΙΟΥ.
- ΣΕΘ (2019) 'Ελληνική Υδατοκαλλιέργεια', *Σύλλογος Ελληνικών Θαλασσοκαλλιεργειών*, p. 60.
- Σπίνος, Ε. (2019) 'Επίδραση του εμβολιασμού στην σωματική ανάπτυξη

εμβολιασμένων πληθυσμών εκτρεφόμενου λαβρακιού *Dicentrarchus labrax* (L. 1758) με δύο εμπορικά εμβόλια.’, *Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Σχολή Περιβάλλοντος, Τμήμα Ωκεανογραφίας & Θαλάσσιων Βιοεπισημών, (Διδακτορική Διατριβή),* p. 293.

Τελιούσης, Χ. Κ. (2012) ‘Συμβολή στην παθολογοανατομική μελέτη της κανακίωσης του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*)’, *Διδακτορική Διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Κτηνιατρική Σχολή, Τομέας λοιμωδών και παρασιτικών νοσημάτων και παθολογικής ανατομικής,* p. 209.

