

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ  
ΤΟΥ  
Παναγιώτη Εριόν

ΘΕΜΑ: «ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΕΪΧΘΥΩΝ»

ΜΕΛΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

κ. Ιωάννης Γεωργουλάκης

κ. Χρήστος Νεοφύτου

κα. Παναγιώτα Παναγιωτάκη



ΒΟΛΟΣ 2006



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ & ΚΕΝΤΡΟ ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ  
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 6809/1  
Ημερ. Εισ.: 09-04-2009  
Δωρεά: Συγγραφέας  
Ταξιδετικός Κωδικός: ΠΤ - ΖΠΥΠ  
2006  
ΕΡΙ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ  
ΤΟΥ  
Παναγιώτη Εριόν

ΘΕΜΑ: «ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΕΪΧΘΥΩΝ»

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

κ. Ιωάννης Γεωργουλάκης

ΜΕΛΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

κ. Χρήστος Νεοφύτου

κα. Παναγιώτα Παναγιωτάκη



ΒΟΛΟΣ 2006

## **Π Ε Ρ Ι Ε Χ Ο Μ Ε Ν Α**

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	<b>3</b>
1.1 Οι υδατοκαλλιέργειες και η σημασία τους	3
1.2 Βασικά στοιχεία της διατροφής των ιχθύων	4
1.3 Αρχές διατροφικής παθολογίας	7
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΑ ΚΥΡΙΑ ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ</b>	<b>11</b>
2.1 Πρωτεΐνες	11
2.2 Υδατάνθρακες	16
2.3 Λίπη	19
2.4 Ινώδεις ουσίες	25
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΑ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ</b>	<b>26</b>
3.1 Εισαγωγή	26
3.2 Βιταμίνες	26
3.2.1 Λιποδιαλυτές βιταμίνες	28
3.2.1.1 Βιταμίνη Α	28
3.2.1.2 Βιταμίνη D (Καλσιφερόλη)	31
3.2.1.3 Βιταμίνη Ε	34
3.2.1.4 Βιταμίνη Κ	37
3.2.2 Υδατοδιαλυτές βιταμίνες	39
3.2.2.1 Θειαμίνη (Βιταμίνη Β <sub>1</sub> )	39
3.2.2.2 Ριβοφλαβίνη (Βιταμίνη Β <sub>2</sub> )	41
3.2.2.3 Πυριδοξίνη (Βιταμίνη Β <sub>6</sub> )	42
3.2.2.4 Παντοθενικό οξύ	43
3.2.2.5 Ινοσιτόλη	45
3.2.2.6 Νιασίνη	48
3.2.2.7 Βιοτίνη	50
3.2.2.8 Χολίνη	51

3.2.2.9 Κυανοκοβαλαμίνη (Βιταμίνη B <sub>12</sub> )	52
3.2.2.10 Φολικό οξύ	52
3.2.2.11 Βιταμίνη C	54
3.3 Ανόργανα στοιχεία	60
3.3.1 Σίδηρος	60
3.3.2 Χαλκός	63
3.3.3 Μαγγάνιο	66
3.3.4 Ψευδάργυρος	68
3.3.5 Φώσφορος	70
3.3.6 Ιώδιο	76
3.3.7 Ασβέστιο	77
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΤΟΞΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΣΤΗΝ ΤΡΟΦΗ</b>	84
4.1 Μυκοτοξίνες	84
4.2 Τοξικά φύκη	94
4.3 Τοξίνες του βαμβακόσπορου	95
4.4 Ανθρωπογενούς προέλευσης χημικά	97
4.5 Συγκολλητικά	98
4.6 Φωτοευαισθητοποιητές	99
4.7 Τοξικότητα των φαρμάκων	102
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	103
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	105

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

#### 1.1 Ο ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΚΑΙ Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥΣ

Η έννοια των «Υδατοκαλλιεργειών» αναφέρεται στην προσπάθεια του ανθρώπου, μέσω καταβολής εργασίας και ενέργειας, προς την κατεύθυνση της εκτροφής και της εκμετάλλευσης υδρόβιων οργανισμών. Οι Υδατοκαλλιεργείες είναι ο υδάτινος ομόλογος της χερσαίας φυτικής και ζωικής παραγωγής, δηλαδή της Γεωργίας.

Οι Υδατοκαλλιεργείες και η Γεωργία διέπονται από τους ίδιους νόμους και αντιμετωπίζουν πολλά κοινά προβλήματα, ενώ οι διαφορές τους αφορούν ουσιαστικά τους οργανισμούς με τους οποίους ασχολείται η κάθε μία και το περιβάλλον διαβίωσης αυτών.

Από την άποψη της διαδικασίας της παραγωγής, δηλαδή της σχέσης καταβολής εργασίας και ενέργειας με την παραγωγή, οι Υδατοκαλλιεργείες, όπως άλλωστε και η Γεωργία, διήλθαν από πολλά στάδια για να φτάσουν στη σημερινή τους μορφή. Ξεκινώντας από το στάδιο του κυνηγιού ή της σύλληψης των προς εκμετάλλευση οργανισμών, τείνουν πλέον να στηρίζονται σε απόλυτα ελεγχόμενες μεθόδους παραγωγής.

Σε ό,τι αφορά τις χερσαίες μεθόδους παραγωγής, τούτο έχει επιτευχθεί απόλυτα. Στην περίπτωση των Υδατοκαλλιεργειών, η ραγδαία εξέλιξή τους κατά τις τελευταίες δεκαετίες, οδήγησε στις μέρες μας, στην κάλυψη του 20 –21% της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής, ποσοστό που διαφαίνεται πως γρήγορα θα ανέλθει στο 25% αυτής. Το υπόλοιπο, καλύπτεται ακόμα, από τη διαδικασία εφαρμογής μεθόδων αλιείας φυσικών αποθεμάτων.

Σήμερα, οι Υδατοκαλλιεργείες εφαρμόζονται για τους λόγους που ακολουθούν, σημαντικότερος των οποίων είναι ο πρώτος:

1. Παραγωγή τροφίμων για τον άνθρωπο
2. Παραγωγή τροφής για τα κατοικίδια ζώα
3. Παραγωγή προϊόντων για τη βιομηχανία
4. Βελτίωση φυσικών αποθεμάτων υδρόβιων οργανισμών με τεχνητές μεθόδους
5. Παραγωγή διακοσμητικών υδρόβιων οργανισμών
6. Παραγωγή δολωμάτων κυρίως για την αλιεία ψαριών
7. Παραγωγή ψαριών κατάλληλων για τον εμπλουτισμό φυσικών υδάτινων μαζών για την ερασιτεχνική αλιεία

## 8. Ανακύκλωση οργανικών αποβλήτων.

Οι Υδατοκαλλιέργειες, ως νέα μορφή παραγωγής τροφίμων και ιδιαίτερα πρωτεϊνών, δύνανται να διαδραματίσουν σημαντικότατο ρόλο στην επίλυση του προβλήματος των τροφίμων στον πλανήτη μας. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να τονιστεί η ανάγκη κατάλληλου χειρισμού του υδάτινου περιβάλλοντος, ώστε η παραγωγή που τελικά θα πετύχουμε να μην διαταράξει την οικολογική του ισορροπία.

## 1.2 ΒΑΣΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΩΝ ΙΧΘΥΩΝ

Τα ψάρια, όπως όλοι οι ζωικοί οργανισμοί, για την επιβίωση, την ανάπτυξη και τη σύνθεση φυσιολογικών προϊόντων (αυγά), χρειάζονται την κατάλληλη ποσότητα και ποιότητα τροφής. Η πραγματική ανάπτυξή τους συνίσταται στην επαύξηση της ποσότητας της σάρκας (πρωτεΐνες) και των οστών τους. Σε αυτή, δεν συμπεριλαμβάνονται οι εναποθέσεις λίπους και νερού του σώματος τους (Παπουτσόγλου, 1985).

Με τον όρο τροφή, εννοούμε κάθε ύλη φυτικής, ζωικής ή ανόργανης προέλευσης, παραγόμενη φυσικώς ή βιομηχανικώς, η οποία προάγει το φαινόμενο της θρέψης χωρίς να θίγει την υγεία του ζώου. Οι τροφές περιέχουν θρεπτικά συστατικά, στα οποία υπάγεται κάθε ουσία η οποία επιτρέπει στον οργανισμό την εκδήλωση μίας ή περισσότερων εκ των πάσης φύσεως φυσιολογικών λειτουργιών του (Καλαϊσάκης, 1981).

Η φύση, που στην προκειμένη περίπτωση είναι το υδρόβιο περιβάλλον, προσέφερε πάντα και συνεχίζει να προσφέρει στα ψάρια, μεγάλη ποικιλία ζωικών και φυτικών τροφών. Ο τρόπος πρόσληψης των διάφορων θρεπτικών συστατικών απευθείας από το νερό, δεν είναι απόλυτα γνωστός, ούτε για όλα τα είδη των ψαριών ούτε και για τα διάφορα μεγέθη και ηλικίες αυτών. Ωστόσο, σημειώνεται ότι για πολλές απαραίτητες ενώσεις και ιόντα που βρίσκονται διαλυμένα στο νερό, έχει αποδειχτεί ότι προσλαμβάνονται άμεσα από τα βράγχια ή από το στόμα μαζί με την τροφή.

Η ποικιλία της τροφής που προσφέρει το περιβάλλον στα ψάρια, συνίσταται κυρίως σε μεγάλο αριθμό διαφόρων ειδών και μεγεθών υδρόβιων μικροοργανισμών (πλαγκτονικοί και ζωοπλαγκτονικοί οργανισμοί, σκώληκες, μαλάκια, καρκινοειδή, αρθρόποδα), ενώ δεν θα ήταν υπερβολή να αναφερθεί ότι για τα περισσότερα ψάρια, αντιπρόσωποι όλων των κλάσεων των σπονδυλωτών (πτηνά, θηλαστικά, ερπετά, αμφίβια,



ψάρια, ακόμα και ο ίδιος ο άνθρωπος) αποτελούν μέρος ή και ολόκληρη τη φυσική τους τροφή (Παπουτσόγλου, 1985).

Με την ανάπτυξη των Υδατοκαλλιεργειών και ιδιαίτερα των εκτροφών των ψαριών και με την εφαρμογή των διαφόρων συστημάτων και μεθόδων που χρησιμοποιούνται σε αυτές, επιδιώκεται η αυξημένη ανάπτυξη των υδρόβιων οργανισμών, κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες. Δημιουργείται δηλαδή μια κατάσταση, της οποίας το κύριο χαρακτηριστικό είναι η διαρκής επιδίωξη της παρουσίας των κατάλληλων για κάθε οργανισμό συνθηκών του νερού, που σε συνδυασμό με την ελεγχόμενη διατροφή του, οδηγεί στο επιθυμητό οικονομικό αποτέλεσμα.

Ένα κατάλληλο προϊόν διατροφής ψαριών, εκτός από το να εξασφαλίζει το καλύτερο δυνατό οικονομικό αποτέλεσμα για τον εκτροφέα, πρέπει να καλύπτει επαρκώς τις ανάγκες θρέψης, να βελτιώνει τον εγκλιματισμό των ψαριών στις συνθήκες χειρισμού του ζωτικού τους χώρου και να θίγει ελάχιστα τη φυσικοχημική σταθερότητα του νερού εκτροφής. Η ταυτόχρονη κάλυψη αυτών των στόχων παρουσιάζει αρκετές δυσχέρειες, ιδιαίτερα στην περίπτωση των θαλασσινών ειδών ψαριών, διότι η γνώση των διατροφικών αναγκών τους, παραμένει μέχρι σήμερα πλημμελής. Είναι επομένως απαραίτητη η άντληση στοιχείων και δεδομένων από τον ευρύτερο χώρο γνώσεων επί της Διατροφής, η διαρκής παρατήρηση και ο έλεγχος των αποτελεσμάτων, η συνεχής αξιολόγηση των συνθηκών παραγωγής, καθώς και η κατάλληλη επιλογή και επεξεργασία των πρώτων υλών. Δηλαδή επιβάλλεται η συνεχής εξέλιξη, η οποία πρέπει να αποτελέσει ως πράξη τη βασική αρχή της φιλοσοφίας παρασκευής των διαφόρων σιτηρεσίων (Αναστασίου, 1996).

Στο φυσικό περιβάλλον οι διατροφικές παθήσεις είναι σπάνιες. Η ξηρασία ή η ρύπανση είναι δυνατόν να περιορίσουν την διαθεσιμότητα της τροφής, και ιδιαίτερα φαινόμενα, όπως η ανεπάρκεια ωκεάνιων ρευμάτων, μπορεί περιστασιακά να οδηγήσουν στην κατάρρευση της πλαγκτονικής παραγωγής και σε επακόλουθο λιμό των αρπαγέων του (πλαγκτόν). Γενικά, ωστόσο, τα μη καλλιεργούμενα ψάρια έχουν κάθε ευκαιρία, στο φυσικό τους περιβάλλον, να καλύψουν σε λογικά επίπεδα όλες τις διατροφικές τους απαιτήσεις για επιβίωση. Αυτό δεν σημαίνει ότι στον κανονικό κύκλο ζωής του ζώου, ιδιαίτερα στις εύκρατες ζώνες, οι εποχιακές θερμοκρασιακές επιδράσεις, ή οι κυκλικές μεταβολές, οι σχετικές με την αναπαραγωγή, δεν θα δημιουργήσουν δευτερεύουσες κλινικές και ιστο-παθολογικές ενδείξεις εξάντλησης από δίψα ή πείνα. Η εξάντληση του



Ατλαντικού σολομού από δίψα το χειμώνα, μετά τη γέννηση αυγών - ένα ψάρι που μοιάζει ελάχιστα με το μεγαλοπρεπή σολομό ελευθέρως βοσκής – είναι ένα φανερό παράδειγμα του ορμονικά προκληθέντος λιμού.

Η παροχή τροφής στα εκτρεφόμενα ψάρια μπορεί να πάρει τη μορφή ενός πλήρους διαιτολογίου, συγχωνεύοντας όλες τις διατροφικές απαιτήσεις, σε κατάλληλα επίπεδα για κάθε συστατικό. Εναλλακτικά, στην περίπτωση των ψαριών δεξαμενής η παροχή μιας συμπληρωματικής διαίτας έχει ως σκοπό να επαυξήσει το ρυθμό ανάπτυξης των ψαριών, τα οποία αναμένεται να λάβουν τουλάχιστον ένα τμήμα του διατροφικού τους συμπληρώματος από το φυσικό περιβάλλον των δεξαμενών τους. Αυτές οι δεξαμενές θα έχουν λογικά λιπανθεί, έτσι ώστε να αυξηθεί η πρωτογενής τους παραγωγή.

Είναι συνήθως εξαιρετικά δύσκολο, κάτω από συνθήκες εκτροφής, να οριστούν τα διατροφικά νοσήματα με ακριβείς όρους, διότι είναι σπάνιο να υπάρχει ανεπάρκεια ενός μόνο απαραίτητου θρεπτικού συστατικού. Θρεπτικά εξισορροπημένες δίαιτες συχνά κάνουν τα ψάρια πιο επιρρεπή σε συνθήκες μόλυνσης, οι οποίες είναι περισσότερο εμφανείς κλινικά και μπορεί να κάνουν την εν δυνάμει διατροφική βάση δύσκολο να καθοριστεί. Βέβαια η ανεπάρκεια ενός απαραίτητου συστατικού αποτελεί μία μόνο μορφή διατροφικού νοσήματος, η οποία έχει οριστεί ως η ανεπάρκεια, υπερβολή, ή εσφαλμένη ισορροπία των συστατικών που είναι παρόντα σε μια ιχθυολογική διαίτα (Snieszko, 1972). Πιο σωστά, ο ορισμός θα πρέπει να περιλαμβάνει την παρουσία επιβλαβών ή τοξικών συστατικών των τροφών, ή ενδογενών μη θρεπτικών παραγόντων (DeSilva and Anderson, 1995· Jauncey, 1998), ένα πρόβλημα αυξημένης σοβαρότητας λόγω εξέλιξης της εντατικής Υδατοκαλλιέργειας.

Παρόλο που τα περισσότερα νοσήματα ανεπάρκειας σχετίζονται με πολυσύνθετες οριακές ή απόλυτες ανεπάρκειες, ουσιαστική κατανόηση της διατροφικής παθολογίας των ψαριών μπορεί να επιτευχθεί μόνο μέσω λεπτομερών πειραματικών μελετών για συνθήκες ανεπάρκειας ενός μόνο συστατικού για κάθε είδος. Σε πειραματικές συνθήκες ανεπάρκειας ενός συστατικού, οι οποίες περιγράφηκαν από τον Halver και τους συνεργάτες του (1972), επιδείχτηκε μια ευρεία γκάμα ειδικών και συχνά παθολογικών ενδείξεων. Σε κλινική κατάσταση, ωστόσο, είναι περισσότερο κοινό ένα γενικότερο σύνδρομο, συχνά με την ανορεξία, το σκοτεινίασμα του χρώματος της επιδερμίδας και την περιορισμένη ανάπτυξη να είναι τα μόνα εμφανή κλινικά χαρακτηριστικά (Hardy, 2001).

Τεχνητές δίαιτες σαν πλήρεις πηγές θρεπτικών συστατικών, όταν παρασκευάζονται από μεγάλους παραγωγούς, είναι συνήθως υψηλής ποιότητας. Δεν συμβαίνει, παρά μονάχα σπάνια, μια συγκεκριμένη παρτίδα να είναι υπεύθυνη για κάποιο πρόβλημα. Ωστόσο, όταν εφαρμόζονται οι οικιακά αναμειγνυόμενες υγρές δίαιτες ή παρέχονται στα ψάρια απορρίμματα, η πιθανότητα ενός συνδρόμου ανεπάρκειας ή ανισορροπίας είναι πολύ μεγαλύτερη. Ακόμα και τα υψηλής ποιότητας εμπορικά παρασκευαζόμενα δια μίξης σιτηρέσια είναι επιρρεπή σε εκφυλισμό κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης τους. Αυτό είναι ιδιαίτερα πιθανό εάν η αποθήκευση γίνεται κάτω από συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας ή υγρασίας.

### 1.3 ΑΡΧΕΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

Ο λιμός μπορεί να οφείλεται σε πλήρη στέρηση τροφής, σε ανεπαρκή επίπεδα τροφοδοσίας ενός διαιτολογίου το οποίο αυτό καθ' αυτό είναι απόλυτα ικανοποιητικό, σε συμπεριφοριακή, φυσιολογική, ή μηχανική παρεμπόδιση της λήψης της τροφής.

Πλήρης στέρηση τροφής μπορεί να λάβει χώρα εάν τα ψάρια τυχαία εγκαταλειφθούν σε μια εγκατάσταση. Ανεπαρκή επίπεδα τροφοδοσίας μπορεί να σχετίζονται με κακή διαχείριση ή, στην περίπτωση ψυχαγωγικών ψαρότοπων, υπεύθυνη μπορεί να είναι η υπερσυγκέντρωση. Λιμός λόγω συμπεριφοράς, είναι ο όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει την κατάσταση που απαντά συχνά, όταν γίνονται προσπάθειες να ανατραφούν ψάρια σε βρεφικό στάδιο με τεχνητά σιτηρέσια, στα οποία οι λάρβες δεν αναγνωρίζουν ούτε δέχονται το σιτηρέσιο, λόγω ανεπαρκούς εμφάνισης, υφής ή γεύσης. Οι μη σιτιζόμενες λάρβες καταβολίζοντας τα θρεπτικά συστατικά των ιστών τους, επιβιώνουν για ένα σημαντικό χρονικό διάστημα, αν και στο τέλος, εμφανίζονται σκουρόχρωμες και με το κεφάλι συνήθως δυσανάλογα μεγάλο.

Όταν οι λάρβες, ή άλλα ταχέως αναπτυσσόμενα ψάρια, όπως ο σολομός, λιμοκτονούν, φθάνουν τελικά σε ένα στάδιο κατά το οποίο ο βαθμός της σωματικής βλάβης που έχει προκληθεί από την καταβολική κατάρρευση είναι τέτοιος που ακόμα και αν επανέλθει η κανονική διατροφή, αυτά δεν μπορούν να επανέλθουν. Αυτό το στάδιο, πέρα από το οποίο τα ψάρια δεν μπορούν να επανέλθουν, είναι γνωστό ως το σημείο χωρίς επιστροφή (Point of No Return / PNR). Οι λάρβες που περνούν αυτό το στάδιο, μπορούν

παρ' όλα αυτά να επιβιώσουν για ένα υπολογίσιμο χρονικό διάστημα πριν να υποκύψουν αναπόφευκτα (Ehrlich, 1974).

Η διαδικασία του φυσιολογικού λιμού χαρακτηρίζεται, όπως πιθανώς αναμένεται, από απώλεια βάρους και αλλαγή στο σχήμα. Έτσι, τα προσβεβλημένα ψάρια αδυνατίζουν και το κεφάλι γίνεται σχετικά μεγαλύτερο κατ' αναλογία. Το χρώμα του δέρματος γίνεται πολύ σκοτεινό και τελικά το ψάρι χάνει την όρεξη του. Κατά τη νεκροψία, επικρατεί συνήθως χλωμάδα, συνδεδεμένη με αναιμία, και κανένα κοιλιακό λιπίδιο δεν υπάρχει. Το συκώτι είναι κατά κανόνα συρρικνωμένο με αιχμηρές άκρες, και, όπου υπάρχουν πυλωρικά ή εντερικά τυφλά, είναι ευθυτενή και επειδή δεν καλύπτονται καθόλου από σπλαχνικό λίπος, είναι πολύ εμφανή.

Ιστολογικά, το κυρίαρχο στοιχείο, πέρα από την έλλειψη λιπώδη ιστού, είναι ο χαρακτηριστικός κοκκώδης εκφυλισμός των σκελετικών μυϊκών ινών μαζί με την κεντρική μετανάστευση των πυρήνων του σαρκώδηματος. Βασικά παρατηρείται εμφάνιση χλωρής κηλίδωσης και το σαρκόπλάσμα τους είναι συμπυκνωμένο σε νήματα και τα κοκκώδη ιζήματα σε ένα στρώμα καθαρού υγρού. Το πεπτικό σύστημα είναι συμπυκνωμένο με μια εμφανώς αυξημένη αναλογία κολλαγόνου, κυττάρων συνεκτικού ιστού και πυρηνικών στοιχείων. Ο αιμοποιητικός ιστός είναι σκουρόχρωμος και συμπυκνωμένος αλλά διακριτικό χαρακτηριστικό είναι το αυξημένο μέγεθος των μελανομακροφάγων κέντρων του σπλήνα και του νεφρού, με μεγάλα αποθέματα λιποφουσκίνης μέσα τους, καθώς επίσης και μια αύξηση στην περιεκτικότητα μελανίνης. (Agius and Roberts, 1981). Ένα ιδιαίτερα σημαντικό χαρακτηριστικό των μελανομακροφάγων κέντρων ενός λιμοκτονούντος ψαριού είναι το υψηλό ποσοστό αιμοσιδερίνης που είναι απομονωμένη εκεί, φανερώνοντας το προσόν να συγκρατεί τα σύμπλοκα σιδήρου μέσα στο σώμα, ακόμη και σε ακραίες καταστάσεις (Agius, 1981).

Τα ψάρια ιχθυοτροφείου, περισσότερο από κάθε άλλο εκτρεφόμενο ζώο, φανερώνουν τα κλασσικά χαρακτηριστικά της θεωρίας του Selye για την καταπόνηση (1950). Παρ' όλα αυτά, είναι ο ορισμός των ψαριών του Brett (1958) για την καταπόνηση, που ταιριάζει πιθανώς στην κατάσταση που παρατηρείται στις περισσότερες διαχειριζόμενες περιπτώσεις. Περιγράφει την καταπόνηση σαν «ένα στάδιο προκαλούμενο από κάποιον περιβαλλοντικό ή άλλο παράγοντα ο οποίος παρατείνει τις αντιδράσεις προσαρμογής ενός ζώου πέρα από το φυσιολογικό βαθμό ή που διαταράσσει τη

φυσιολογική λειτουργία σε τέτοιο βαθμό που οι περιπτώσεις επιβίωσης μειώνονται αισθητά». Στη διαχείριση ψαριών, τέτοιου είδους παράγοντες, σχετιζόμενοι με πυκνότητα, περιβαλλοντική πρόνοια, ή άλλα διαχειριστικά χαρακτηριστικά, είναι πάντοτε παρόντες.

Το πρωταρχικό καθήκον του εκτροφέα είναι να επιχειρήσει να διατηρήσει ένα σύστημα όπου τα διάφορα συστατικά τα οποία είναι ικανά να δράσουν ως παράγοντες καταπόνησης βρίσκονται στο κατώτερο δυνατό επίπεδο, συμβιβάσιμα με την οικονομική επιτυχία. Ένας αριθμός παραγόντων καταπόνησης που είναι δυνατόν να παίξουν κάποιο ρόλο στο να καθορίσει κανείς τα επίπεδα μη συγκεκριμένης καταπόνησης στα ψάρια, σχετίζεται με την τροφή και τη διατροφή. Μαζί με τα πραγματικά ανεπαρκή σιτηρέσια, άλλοι παράγοντες όπως η ακανόνιστη διατροφή, η παροχή τροφής σε ακατάλληλη μορφή, ή η συσσώρευση των άχρηστων τριμμάτων τροφής, μπορεί συνολικά να συμβάλλουν στο τελικό αποτέλεσμα των πιέσεων που ασκούνται πάνω στην προσαρμοστική ικανότητα των ζώων.

Οι φυσιολογικές και βιοχημικές μεταβολές που συμβαίνουν στο ζώο υπό την επίρεια των περιβαλλοντικών παραγόντων καταπόνησης, και οι οποίες εξυπηρετούν στο να μετριάσουν τις αρνητικές συνέπειες της καταπόνησης, ορίζονται ως Γενικό Σύνδρομο Προσαρμογής. Δεν είναι ούτε κάποιο είδος, ούτε κάποιος συγκεκριμένος παράγοντας καταπόνησης και επιτυγχάνονται δια της μεσολάβησης νευρικής και ορμονικής δράσης. Το τελικό αποτέλεσμα, εάν η αντίδραση προσαρμογής διεγείρεται πέρα από φυσιολογικά επίπεδα και έχει επιτευχθεί η προσαρμοστική εξάντληση, ασχέτως εάν το ερέθισμα έχει περιβαλλοντική ή σχετική με τη διαχείριση προέλευση, είναι τα ψάρια βαθμιαία να γίνονται ευπαθή στη μόλυνση. Αυτό ίσως είναι εσκεμμένα υποχρεωτικό ή να οφείλεται σε εν δυνάμει παθογενείς παράγοντες που υπάρχουν στο περιβάλλον των ψαριών. Έτσι πολλές διατροφικές παθήσεις στα ψάρια επιβαρύνονται από βακτηριακή ή μυκητολογική μόλυνση. Πράγματι, συμβαίνει συχνά άπειροι ειδικοί στις διαγνώσεις τους να υποθέτουν ότι ο μικροβιακός παράγοντας είναι το πρωτογενές παθογόνο και να αποτυγχάνουν να διακρίνουν το βαθύτερο διατροφικό παράγοντα καταπόνησης (Moller, 1981, 1984).

Η διατροφική δραστηριότητα σχετίζεται με ένα συγκεκριμένο μεταβολικό κόστος το οποίο αναφέρεται ως κόστος Ειδικής Δυναμικής Δράσης (SDA). Αυτό έχει να κάνει ιδιαίτερα με το μεταβολισμό, τον σχετικό με την πέψη, την αυξημένη κυκλοφορική αγγειακή δραστηριότητα στα σπλάχνα και τα σχετικά όργανα, την ενζυματική και τις άλλες

μεταβολικές δραστηριότητες που συνδέονται με χημικές διαδικασίες όπως η απαμίνωση των αμινοξέων και η απέκκριση αζωτούχων μεταβολικών ουσιών. Επικρατεί μια αξιοσημείωτη αβεβαιότητα για το ποιες ακριβώς διαδικασίες συμβάλλουν στο συνολικό αποτέλεσμα του SDA και αυτή οδήγησε τον Ware (1975) στο να προτείνει έναν ευρύτερο ορισμό του SDA ως έναν «εντροπικό φόρο που πληρώνεται κατά τη διάρκεια μετατροπής της τροφής». Όποιες κι αν είναι όμως οι αμφιβολίες, σχετικά με τις ακριβείς διαδικασίες που συμβάλλουν στις απαιτήσεις μεταβολικού οξυγόνου οι οποίες δημιουργούνται από την SDA, είναι δεδομένο ότι σε υψηλές θερμοκρασίες, όταν τα επίπεδα διαλυμένου οξυγόνου στο νερό μειώνονται και ακόμη και η απαίτηση μεταβολικού οξυγόνου του ψαριού είναι υψηλή, η σίτιση μέχρι κορεσμού μπορεί να καταλήξει σε τόσο υψηλό βαθμό απαίτησης οξυγόνου για να ικανοποιηθεί η SDA, που μπορεί να επέλθει έντονη θνησιμότητα.

Τα κλινικά χαρακτηριστικά τέτοιου είδους απωλειών είναι τυπικά εκείνα του λοιμού λόγω οξυγόνου. Ψάρια πεθαίνουν περίπου 2 ώρες αφού σιτιστούν με ανοιχτά τα στόματα και με σημαντικά ποσά αχώνευτης τροφής στα σπλάχνα. Τα προβλήματα εκτροφής σε υψηλή θερμοκρασία εντείνονται εάν υπάρχει κάποια προγενέστερη βραγχιολογική ή αιματολογική παθολογία. Συχνά, όταν η υπερπλαστική ή η τηλεαγγειοστατική φθορά των βράγγων, η οποία σχετίζεται με τη μόλυνση, τη μεταφορά ή τον τρόπο χειρισμού, έχει οδηγήσει στην εξασθένηση της λειτουργίας των βράγγων, το ψάρι μπορεί να επιβιώσει έως ότου τα επίπεδα διαλυμένου οξυγόνου μειωθούν. Είναι συχνά ένα διατροφικό επεισόδιο το οποίο δίνει το τελικό απαιτούμενο μεταβολικό ποσό οξυγόνου, το οποίο δεν μπορεί να αντιμετωπιστεί από το συμβιβασμένο αναπνευστικό σύστημα.

Άλλες καταστάσεις οι οποίες μπορεί να αυξήσουν την ευπάθεια σε θανάτους για τους οποίους ευθύνεται η SDA, περιλαμβάνουν το σύνδρομο του λιπώδους εκφυλισμού του ήπατος το οποίο αναστέλλει την αιματοποίηση και έναν αριθμό χρόνιων αιμορραγικών καταστάσεων όπως η δηλητηρίαση από αιμοδιαλυτικό, η χρόνια αιμορραγική σπλαιμία και η πολλαπλασιαστική νεφροπάθεια. Η γενική ιστοπαθολογία των διατροφικών ασθενειών έχει συνοψιστεί από τον Ashley (1970).



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΑ ΚΥΡΙΑ ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

#### 2.1 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Οι πρωτεΐνες είναι απαραίτητες στα ψάρια για την ανάπτυξη, την αναπαραγωγή και την αναπλήρωση των ιστών του σώματος τους. Όλα τα είδη των ψαριών, χρειάζονται σχετικά υψηλά επίπεδα πρωτεϊνών, τις οποίες χρησιμοποιούν ως πηγή αμινοξέων για τη σύνθεση των πρωτεϊνών του σώματος τους και γενικά για τη γλυκονεογένεση. Συνεπώς, τα σιτηρέσια τους πρέπει να περιέχουν υψηλά ποσοστά πρωτεϊνών και μάλιστα αυτές να είναι υψηλής διατροφικής αξίας. Όμως, καθώς οι πρωτεΐνες αποτελούν τα πιο ακριβά συστατικά του σιτηρεσίου, οι παρασκευαστές προσπαθούν κατά την κατάρτιση ενός σιτηρεσίου να μειώσουν όσο το δυνατόν περισσότερο το κόστος του, καλύπτοντας παράλληλα επαρκώς τις ανάγκες των ψαριών.

Όλες οι πρωτεΐνες δεν θεωρούνται ισότιμες όσον αφορά τη διατροφική τους αξία. Η τελευταία, είναι σε μεγάλο βαθμό συνάρτηση των αμινοξέων που τις αποτελούν, ιδιαίτερα δε των απαραίτητων αμινοξέων, καθώς και της βιοδιαθεσιμότητας τους. Απαραίτητα θεωρούνται εκείνα τα αμινοξέα τα οποία δεν μπορούν να συντεθούν εντός του οργανισμού με τη διαδικασία της τρανσαμίνωσης από άλλα αμινοξέα. Από φυλογενετική άποψη, είναι σημαντικό το γεγονός ότι για τα περισσότερα από τα ψάρια που έχουν μελετηθεί, απαραίτητα είναι τα ίδια δέκα αμινοξέα που έχουν χαρακτηριστεί ως απαραίτητα και για τα θηλαστικά ζώα. Αυτά είναι τα ακόλουθα: Αργινίνη, Ιστιδίνη, Ισολευκίνη, Λευκίνη, Λυσίνη, Μεθειονίνη, Φαινυλαλανίνη, Θρεονίνη, Τρυπτοφάνη και Βαλίνη.

Συνήθως, η παροχή απαραίτητων αμινοξέων με την τροφή είναι ικανοποιητική. Όμως, αν η κατανάλωση τους είναι περιορισμένη, είναι δυνατόν να μεταβολιστούν προς σχηματισμό άλλων, μη απαραίτητων αμινοξέων. Άρα, τελικά, διατροφικά ικανοποιητικά για την ανάπτυξη και τη συντήρηση των εκτρεφόμενων ψαριών είναι εκείνα τα σιτηρέσια τα οποία περιέχουν ικανοποιητικές ποσότητες τόσο απαραίτητων όσο και μη απαραίτητων αμινοξέων.

Υπό κανονικές συνθήκες, είναι ασυνήθιστο να συναντήσουμε έντονη έλλειψη αμινοξέων, ενώ σε τέτοιες περιπτώσεις, τα ψάρια θα παρουσιάζουν μια ποικιλία κλινικών

χαρακτηριστικών που συνδέονται κυρίως με μειωμένη ανάπτυξη και με σκούρο χρωματισμό του δέρματος. Ακόμη, όσον αφορά τους γεννήτορες πολλών εκτρεφόμενων σαρκοφάγων κυρίως ψαριών (τσιπούρα, λαβράκι, πέστροφα), η έλλειψη απαραίτητων αμινοξέων στο σιτηρέσιο τους, επηρεάζει αρνητικά τα ποσοστά επιβίωσης των λεκιθοφόρων και ατελών ιχθυδίων, καθώς και το ρυθμό ανάπτυξης των νεαρών ατόμων, ενώ η έλλειψη απαραίτητων αμινοξέων που χαρακτηρίζουν τη χημική σύσταση των αυγών τους, βλάπτει αισθητά τους μηχανισμούς συνθέσεως της βιτελογενίνης, μιας λιπογλυκοφωσφοπρωτεΐνης που εκκρίνεται από τα ηπατικά κύτταρα των ιχθύων υπό την επίδραση της 17-β-οιστραδιόλης και που μέσω της κυκλοφορίας του αίματος φτάνει στα αναπτυσσόμενα ωοκύτταρα όπου μετατρέπεται σε πρωτεΐνες της λεκίθου (Παπουτσόγλου, 1998).

Κάτω από παλαιότερες πειραματικές συνθήκες, εκτός από τη μείωση στο ρυθμό ανάπτυξης και το σκούρο χρωματισμό του δέρματος των ψαριών, καταγράφηκαν και άλλα συμπτώματα, τα οποία κάλλιστα μπορεί να επισυμβούν και στην καθημερινή πρακτική της εκτροφής των ιχθύων. Σε αυτά περιλαμβάνονται:

- ✓ διάβρωση των ραχιαίων και ουραίων πτερυγίων, η οποία συνδέεται με έλλειψη λυσίνης
- ✓ παραμορφώσεις της σπονδυλικής στήλης, οι οποίες συνδέονται με έλλειψη τρυπτοφάνης, λευκίνης, λυσίνης, αργινίνης, ιστιδίνης
- ✓ καταρράκτης, ο οποίος συνδέεται με την έλλειψη μεθειονίνης ή τρυπτοφάνης

(Roberts & Bullock, 1989).

Στις διατροφικές μελέτες των ψαριών, ο καθορισμός των απαιτήσεων σε πρωτεΐνη για την ανάπτυξη τους έχει γενικά πρωταρχική σημασία γιατί η πρωτεΐνη δεν είναι μόνο το κυριότερο συστατικό του σώματος των ψαριών, αλλά έχει και κρίσιμες λειτουργίες σαν ένζυμα και ορμόνες (NRC, 1993). Κατά συνέπεια, μια συνεχής παροχή πρωτεΐνης με καλά ισορροπημένα αμινοξέα είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη και συντήρηση των ψαριών. Από την άλλη πλευρά, μεγάλη παροχή πρωτεΐνης, προκαλεί μεταβολισμό της σαν πηγή ενέργειας παρά αποτελεσματική χρησιμοποίησή της για την ανάπτυξη. Πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για τον καθορισμό των απαιτήσεων των ψαριών σε πρωτεΐνη και οι εκτιμώμενες απαιτήσεις κυμαίνονταν από 30-55% επί του ξηρού σιτηρεσίου ανάλογα με το



είδος του ψαριού, το μέγεθος του, την πηγή της πρωτεΐνης, τις περιβαλλοντικές συνθήκες κλπ. (NRC, 1993).

Ο Lee και οι συνεργάτες του (2001) συνέταξαν μια μελέτη για να καθορίσουν τις απαιτήσεις σε πρωτεΐνη για την ανάπτυξη των νεαρών ατόμων της πέστροφας (*Brachymystax lenok*). Τρεις πανομοιότυπες ομάδες ψαριών που ζύγιζαν 3,44 g σιτίστηκαν με 5 ισοθερμιδικά σιτηρέσια που περιείχαν διαφορετικά ποσά πρωτεΐνης, τα οποία κυμαίνονταν μεταξύ 29 και 57% για 10 εβδομάδες. Γεύματα λευκού ψαριού χρησιμοποιήθηκαν σαν μοναδική πηγή πρωτεΐνης. Η αύξηση του βάρους και η αποτελεσματικότητα του σιτηρεσίου των ψαριών βελτιώθηκε με την αύξηση της πρωτεΐνης μέχρι το επίπεδο του 43 και 49%, αντίστοιχα, και έφτασε σε ένα μέγιστο πάνω από αυτά τα ποσοστά. Οι απαιτήσεις σε πρωτεΐνη για την αύξηση του βάρους των ψαριών εκτιμήθηκαν στο 43,6%. Ο συντελεστής αξιοποίησης της πρωτεΐνης έτεινε να μειωθεί με την αύξηση των επιπέδων της πρωτεΐνης, αλλά δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ των σιτηρεσίων που περιείχαν 29, 35 και 43% πρωτεΐνη. Η περιεκτικότητα της πρωτεΐνης στα ψάρια που τους χορηγήθηκε σιτηρέσιο με 29% πρωτεΐνη ήταν σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη στα ψάρια που τους χορηγήθηκε σιτηρέσιο με 57% πρωτεΐνη. Ωστόσο, η περιεκτικότητα σε υγρασία, λίπη και τέφρα των ψαριών δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τα επίπεδα της πρωτεΐνης. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι 43 - 44% πρωτεΐνη σε συνδυασμό με 10% λιπίδια και 19,2 MJ ολικής ενέργειας/kg σιτηρεσίου μπορεί να προταθούν για την άριστη ανάπτυξη και την αποτελεσματική αξιοποίηση της πρωτεΐνης από τα νεαρά άτομα της πέστροφας (*Brachymystax lenok*).

Οι πρωτεΐνες και τα λιπίδια, τα κύρια συστατικά του κρόκου του αυγού, θεωρείται ότι παίζουν ρόλο ζωτικής σημασίας στην αναπαραγωγή. Επιπλέον οι πρωτεΐνες δρουν σαν πηγή αμινοξέων και δεξαμενές αποθήκευσης υλικών, τα οποία χρησιμοποιούνται σε δραστηριότητες βιοσύνθεσης απαραίτητων για τα πρώτα στάδια της εμβρυογένεσης (Metcoff, 1986). Έχει επισημανθεί ότι υπάρχει άριστο επίπεδο πρωτεΐνης για αναπαραγωγική επιτυχία και ότι αυτό το επίπεδο σχετίζεται με την ανάπτυξη των εμπλεκόμενων ειδών (De Silva & Anderson, 1995). Ωστόσο, πολύ λίγες μελέτες έχουν εκτιμήσει τις επιδράσεις των επιπέδων της πρωτεΐνης στην αναπαραγωγική απόδοση των ψαριών (Dahlgren 1980, Watanabe et al. 1984a, 1985, De Silva & Radampola 1990,

Gunasekera et al. 1995, 1996a, Gunasekara & Lam 1997, Siddiqui et al. 1998, Manissery et al. 2001).

Μια διατροφική μελέτη 360 ημερών πραγματοποιήθηκε από τον Khan και τους συνεργάτες του (2005) για να παρατηρηθεί η επίδραση των διαφόρων επιπέδων πρωτεΐνης στην ανάπτυξη, την αναπαραγωγική απόδοση και τη σύσταση του σώματος και των αυγών του κυπρίνου (*Labeo rohita*). 20 ψάρια (μήκος  $40,4 \pm 0,24$  cm,  $852 \pm 4,9$  g) σε υπαίθριες τσιμεντένιες δεξαμενές ( $200 \text{ m}^2$ ), σε δύο πανομοιότυπες ομάδες σιτίστηκαν με σιτηρέσια ποικίλων επιπέδων (200, 250, 300, 350 και 400 g/kg) ακατέργαστης πρωτεΐνης σε ανταλλαγή με υδατάνθρακες σε φαινομενικό κορεσμό, δύο φορές την ημέρα, στις 9 το πρωί και στις 5 το απόγευμα. Μεγαλύτερη αύξηση βάρους ήταν διακριτή στα ψάρια που τους χορηγήθηκε πρωτεΐνη  $\geq 300$  g/kg. Ο γοναδιοσωματικός δείκτης ήταν ισοδύναμος μεταξύ των ψαριών των διαφορετικών ομάδων, εκτός από εκείνον των ψαριών που τους χορηγήθηκαν 200 g/kg πρωτεΐνης, τα οποία απέδωσαν ελάχιστες τιμές. Η διάμετρος των αυγών παρέμεινε ανεπηρέαστη από τις διακυμάνσεις των επιπέδων της πρωτεΐνης. Η σχετική γονιμότητα ήταν μέγιστη στα ψάρια που τους χορηγήθηκαν τα σιτηρέσια των 250 και 300 g πρωτεΐνης/kg. Με εξαίρεση τα ψάρια που έλαβαν 200 g πρωτεΐνης/kg σιτηρεσίου, η ικανότητα γονιμοποίησης παρέμεινε ανεπηρέαστη από τις διακυμάνσεις των επιπέδων της πρωτεΐνης. Η ικανότητα εκκόλαψης (%) παρουσίασε ανάλογη συμπεριφορά με την ικανότητα γονιμοποίησης. Η άμεση σύσταση των μυών και των αυγών ποίκιλε σημαντικά με τα επίπεδα της πρωτεΐνης. Για τους γεννήτορες του (*L. rohita*), επίπεδα πρωτεΐνης της τάξης των 250 g/kg βρέθηκαν να είναι άριστα σε ότι αφορούσε την αναπαραγωγική απόδοση, την ποιότητα των αυγών και τη σύσταση.

Οι Ogunji και Wirth (2002) μελέτησαν την επίδραση της ανεπάρκειας πρωτεΐνης στη σύσταση των αμινοξέων και των λιπαρών οξέων της τιλάπια (*Oreochromis niloticus*). Δύο πειραματικά σιτηρέσια (0,81% και 33,32% πρωτεΐνη σε ξηρά ουσία) καταρτίστηκαν. Η περιεκτικότητα της πρωτεΐνης στα ψάρια που τους χορηγήθηκε το σιτηρέσιο 1 (0,81% πρωτεΐνη) μειώθηκε από 57,14% σε 49,18% σε 8 εβδομάδες. Τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκε το σιτηρέσιο 2 (33,32% πρωτεΐνη) παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά πρωτεΐνης και αμινοξέων. Το ποσοστό των λιπιδίων στα ψάρια του σιτηρεσίου 1 ήταν υψηλότερο από εκείνο των ψαριών του σιτηρεσίου 2, υποδηλώνοντας ότι οι υδατάνθρακες μετατράπηκαν σε λιπίδια. Τα επίπεδα των λιπαρών οξέων 16:0 και 18:2 n-6 στα ψάρια του

σιτηρεσίου I παρέμειναν σχεδόν αμετάβλητα και δεν αντιπροσώπευαν το σιτηρέσιο, καταδεικνύοντας ότι τα λιπαρά οξέα του σιτηρεσίου I μπορεί να μην είχαν ενσωματωθεί στα τριγλυκερίδια των ιστών. Πιθανή βλάβη στη λιπιδιακή έκκριση του συκωτιού, προκαλούμενη από ελάττωση της πρωτεΐνης στη λιποπρωτεΐνη του αίματος, μπορεί να έχει επηρεάσει τη μεταφορά των λιπιδίων στους μύες. Η ανεπάρκεια πρωτεΐνης έχει σαν αποτέλεσμα όχι μόνο ανεπάρκεια των απαραίτητων αμινοξέων στο σώμα, αλλά και επηρεάζει τη μεταφορά και αποθήκευση των λιπιδίων εντός του σώματος του ψαριού.

Η Royes και οι συνεργάτες της (2005) πραγματοποίησαν ένα διατροφικό πείραμα το οποίο περιελάμβανε έξι σιτηρέσια με επίπεδα πρωτεΐνης που κυμαίνονταν από 32,5-58,8% για να καθορίσουν τα επίπεδα πρωτεΐνης που θα παρείχαν επαρκή ανάπτυξη και εμπλουτισμένη πρωτεΐνη χωρίς αλλαγές στα ηπατοκύτταρα των νεαρών ατόμων Αφρικανικής κιχλίδας, (*Pseudotropheus socolofi*). Τα ψάρια (0,11g, 1,8cm) σιτίζονταν 3 φορές καθημερινά με σιτηρέσιο ίσο με το 12% του βάρους του σώματος τους για 10 εβδομάδες. Η επιβίωση των ψαριών ήταν μεγαλύτερη από 95% για όλα τα σιτηρέσια. Στο τέλος του πειράματος όλα τα ψάρια είχαν παρόμοια τελικά μεγέθη. Το τελικό βάρος και η τελική αύξηση βάρους ήταν σημαντικά διαφορετικά μεταξύ των ψαριών των διαφορετικών σιτηρεσίων και οι δύο μεταβλητές παρουσίασαν διαβαθμισμένη απόκλιση. Το τελικό βάρος και η τελική αύξηση του αυξήθηκαν, καθώς αυξήθηκαν τα επίπεδα της πρωτεΐνης μέχρι το 42,5% και στη συνέχεια μειώθηκαν σταδιακά σε επίπεδα πρωτεΐνης μεγαλύτερα από 42,5%. Για τα ψάρια όλων των σιτηρεσίων, η τελική σύσταση της πρωτεΐνης του σκελετού ήταν παρόμοια της αρχικής. Ο συντελεστής αξιοποίησης της πρωτεΐνης και της μετατροπής της μειώθηκαν με αύξηση της πρωτεΐνης. Ο ηπατοσωματικός δείκτης δεν ήταν σημαντικά διαφορετικός μεταξύ των σιτηρεσίων. Υπήρξε μια μετριασμένη συσσώρευση λιπιδίων στο συκώτι ανεξάρτητα από το σιτηρέσιο. Παρ' αυτά, κανένα από τα σιτηρέσια δεν προκάλεσαν παθολογικά προβλήματα στο συκώτι. Τα ελάχιστα επίπεδα πρωτεΐνης για τη βέλτιστη ανάπτυξη του (*P. socolofi*), κάτω από αυτές τις πειραματικές συνθήκες και χωρίς σημαντικές παθολογικές αλλαγές στο συκώτι, ήταν 40%.

## 2.2 ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ

Παρόλο που η γλυκόζη αποτελεί κεντρικό μόριο στο μεταβολισμό των περισσοτέρων σπονδυλωτών, ιδιαίτερα των θηλαστικών, δεν φαίνεται να αποτελεί και πανάκεια για το μεταβολισμό των ψαριών. Το συστατικό αυτό μπορεί να είναι κυρίαρχης σημασίας σαν οξειδωτικό υπόστρωμα για κάποια κύτταρα και ιστούς στα ψάρια, αλλά μπορεί να παίζει μόνο δευτερεύοντα ρόλο για τα λίπη και τις πρωτεΐνες. Η γλυκόζη του πλάσματος είναι μάλλον μεταβλητή όχι μόνο μεταξύ διαφορετικών ειδών αλλά και μεταξύ ατόμων του ίδιου είδους σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης και διαφορετικά μοντέλα διατροφής. Παρόλο που τα ελασμοβράγχια ψάρια με το μεταβολισμό τους που στηρίζεται στα λίπη και τις πρωτεΐνες, μπορεί να αποτελέσουν μία κατηγορία από μόνα τους, πειράματα με αυτά τα ψάρια ενισχύουν την άποψη ότι η γλυκόζη είναι περιορισμένης σημασίας για το μεταβολισμό των ψαριών. Εξωγενής εφαρμογή ινσουλίνης σε κεντρόνια (*Squalus acanthias*) μειώνει τα επίπεδα της γλυκόζης στο πλάσμα σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα, χωρίς εμφανή σημάδια ασθένειας στα ζώα (deRoos et al., 1985), και πολύ χαμηλά επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα με επακόλουθη έκθεση σε ινσουλίνη θηλαστικών έχουν αναφερθεί για την πέστροφα και το ψάρι (*Opsanus tau*), χωρίς τα ψάρια να μπαίνουν σε καταστάσεις ανάλογες του ινσουλινικού σοκ. Στην ουσία, η συζήτηση αφορά στο γεγονός ότι τα περισσότερα είδη τελεόστεων είναι ανθεκτικά από φύσεως στη γλυκόζη και οι πρωταρχικές λειτουργίες των υψηλών συγκεντρώσεων ινσουλίνης στο πλάσμα είναι η ανάπτυξη που σχετίζεται με το μεταβολισμό των αμινοξέων και έτσι εστιάζεται σε αυτόν (Mommesen & Plisetskaya, 1991). Κατά συνέπεια, αναμένεται, τα τεστ ανεκτικότητας στη γλυκόζη να δείξουν σχετικά την αργή απομάκρυνση των υδατανθράκων από το πλάσμα (Shikata et al., 1994, Ottolenghi et al., 1995). Ωστόσο, πρόσφατα, έχουν αυξηθεί τα στοιχεία για το ότι αυτή η εικόνα είναι ακραία (Moon, 2001) και μια πολύπλοκη διακύμανση των παραμέτρων μεταξύ των ειδών που περιλαμβάνουν και το μεταβολισμό των υδατανθράκων φαίνεται να είναι ο κανόνας.

Οι ρυθμοί μετατροπής της γλυκόζης και οξείδωσης αυτής στα ψάρια είναι ένα ή δύο επίπεδα χαμηλότερης σημασίας από εκείνους των θηλαστικών και μόνο σε μερικά μοναδικά είδη, όπως τα χέλια και οι τόνοι, οι ρυθμοί είναι ίδιοι. Καθώς η χαμηλότερη θερμοκρασία σώματος και ο αργός ρυθμός μεταβολισμού μπορεί να θεωρηθούν ότι ευθύνονται κατά ένα ποσοστό για τη διαφορά αυτή, μειωμένη έμφαση στη γλυκόζη σαν

βασικό μεταβολικό στοιχείο μπορεί να είναι παράγοντας ελέγχου του υπόλοιπου ποσοστού. Η γλυκόζη και το γλυκογόνο παίζουν αδιαφιλονίκητο ρόλο κλειδί στο μεταβολισμό κατά την άσκηση των μυών, με παράδειγμα την κατά τριάντα φορές αύξηση της αξιοποίησης της γλυκόζης κατά τη μέγιστη δραστηριότητα (West et al., 1993).

**Επίδραση των υδατανθράκων στην ανάπτυξη, την αξιοποίηση της τροφής και αλληλεπίδραση με τις πρωτεΐνες και τα λίπη.** Ο Phillips και οι συνεργάτες του (1948) ήταν από τους πρώτους που περιέγραψαν την αξιοποίηση της ενέργειας των υδατανθράκων στα ψάρια και κατέληξε στο ότι επίπεδα αμύλου της τάξης του 12% στην τροφή ήταν ένα άριστο επίπεδο για την πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*). Επακόλουθες δημοσιεύσεις έκαναν αυστηρό διαχωρισμό της αξιοποίησης των υδατανθράκων μεταξύ των παμφάγων και των σαρκοφάγων κατηγοριών: τα παμφάγα μπορούν να ανεχθούν υψηλότερα επίπεδα υδατανθράκων και να εξοικονομήσουν πρωτεΐνη σε μεγαλύτερο ποσοστό από τα σαρκοφάγα (Hemre et al., 1993a, 1995a, Shikata et al., 1993, Shimeno & Shikata, 1993b, Shimeno et al., 1993, Jantraratotai et al., 1998, Deng et al., 2000). Πάρ'αυτα, τα σαρκοφάγα ψάρια επιδεικνύουν προαγωγή της ανάπτυξης όταν, ζελατινοποιημένα άμυλα συμπεριλαμβάνονται σε χαμηλά επίπεδα (Hemre et al., 1989, 1995a, Hung et al., 1989, Stephan et al., 1996, Hemre & Hansen, 1998), και εφόσον η πρωτεΐνη διατηρείται εντός ελάχιστων επαρκών ορίων (Beamish et al., 1986, Degani et al., 1986). Οι υδατάνθρακες είναι ένα από τα διατροφικά συστατικά που επηρεάζουν σημαντικά την αξιοποίηση της τροφής. Αυξήσεις στα επίπεδα του αμύλου άνω του 10% της ξηράς ουσίας, έχουν σαν αποτέλεσμα μείωση της αξιοποίησης της τροφής στο μπακαλιάρο (*Gadus morhua*), το καλκάνι (*Hippoglossus hippoglossus*) και το σολομό, όλα υποχρεωτικά σαρκοφάγα (Hemre et al., 1993a, 1995a, Helland & Grisdale-Helland 1998). Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα σαρκοφάγα ψάρια είναι ικανά να αντισταθμίσουν μια μεγαλύτερη πρόσληψη τροφής για να διατηρήσουν την ανάπτυξη όταν το άμυλο είναι υπεύθυνο για ένα αυξημένο μέρος της διαθέσιμης ενέργειας (Bergot, 1979a, Hilton & Atkinson 1982, Bergot & Breque 1983, Stephan et al. 1996). Έτσι, παρατηρείται βελτιωμένη αξιοποίηση της τροφής και διατήρηση των πρωτεϊνών στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), τον Ατλαντικό σολομό, το Ευρωπαϊκό χέλι (*Anguilla anguilla*), το μπακαλιάρο και διάφορα είδη κυπρίνου (*Catla catla*, *Labeo rohita*, *Cirrhinus mrigala*), στα οποία χορηγήθηκαν σιτηρέσια που περιείχαν χαμηλά επίπεδα υδατανθράκων σε σχέση με σιτηρέσια που δεν στερούνταν υδατανθράκων (Koops



et al. 1974, Bergot 1979a, Degani et al. 1986, Degani & Viola 1987, Hemre 1992, Hemre et al. 1995a, Erfanullah 1998).

Η προαγωγή της ανάπτυξης και η εξοικονόμηση πρωτεϊνών μπορεί να σχετίζεται με το γεγονός ότι η γλυκόζη είναι το προτιμώμενο οξειδωτικό υπόστρωμα για το νευρικό ιστό και τα κύτταρα του αίματος και οι υδατάνθρακες στα σιτηρέσια των ψαριών μπορούν να καταστείλουν τη γλυκονογενετική δράση, εκτρέποντας έτσι τα αμινοξέα από τα οξειδωτικά μονοπάτια (Cowe et al. 1977b, Sanchez-Muros et al. 1996).

Τα στοιχεία για την αποτελεσματικότητα των υδατανθράκων στην εξοικονόμηση πρωτεϊνών ποικίλει, ακόμη και μεταξύ των ατόμων του ίδιου είδους. Αυτή η διαφοροποίηση μπορεί να οφείλεται στο είδος του ψαριού που χρησιμοποιείται, στους περιβαλλοντικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της θερμοκρασίας, του συστήματος του φωτός και της εποχής, ή στον τύπο και το ποσό του σακχάρου/αμύλου που παρέχεται μέσω του σιτηρεσίου (Thibault et al. 1997, Medale et al. 1999). Για παράδειγμα, ο Ατλαντικός σολομός που διατηρείται σε θερμοκρασία 12,5°C παρουσιάζει καλύτερη εξοικονόμηση πρωτεϊνών και αξιοποίηση ενέργειας από το ζελατινοποιημένο άμυλο απ' ότι στους 2°C, μαζί με ουσιαστικά βελτιωμένη ανεκτικότητα στη γλυκόζη στις υψηλότερες θερμοκρασίες (Hemre et al. 1995b, Hemre & Hansen, 1998). Η πολυπλοκότητα των υδατανθράκων μπορεί να επηρεάσει την αξιοποίηση τους. Συγκρίνοντας τη γλυκόζη και το ακατέργαστο άμυλο, παρόντα σε σιτηρέσια σε επίπεδα 250 g/kg ξηράς ουσίας, οι τιμές της καθαρής ενέργειας στην πέστροφα (*rainbow trout*) είναι 25% και 13-14% των τιμών της ολικής ενέργειας, αντίστοιχα (Hilton et al. 1987, Bureau 1998). Συγκρίνοντας τους πολύπλοκους με τους απλούς υδατάνθρακες σε διατροφικά πειράματα με τιλάπια (Shiau & Chen 1993, Shiau & Lin 1993, Shiau & Peng 1993, Shiau & Liang 1995), γατόψαρο των καναλιών (Robinson & Li 1995), οξύρυγχο (Hung et al. 1989, Deng et al. 2000) και Ατλαντικό σολομό (Arnesen et al. 1995) εξήχθη το συμπέρασμα ότι η λιπογενετική δράση στο συκώτι ήταν υψηλότερη και η ανάπτυξη βελτιωμένη με το ζελατινοποιημένο άμυλο παρά με την καθαρή γλυκόζη ή άλλους μονοσακχαρίτες.

Καθώς τα σαρκοφάγα ψάρια που σιτίζονται με σιτηρέσια μεγάλης περιεκτικότητας σε άμυλο φαίνεται να εμφανίζουν μια φτωχή ικανότητα να μεριμνήσουν για την περίσσεια γλυκόζης (Bergot 1979b, Hilton et al. 1987, Hemre et al. 1993a, 1995b, Moon 2001) είναι δυνατόν να θεωρηθεί ότι αυτά τα ψάρια βρίσκονται κάτω από συνεχές

μεταβολική καταπόνηση (Pieper & Pfeffer, 1980), το οποίο μπορεί πάλι να οδηγήσει σε αναστολή των ανοσοποιητικών λειτουργιών. Οι Pickering και Pottinger (1989) εισηγήθηκαν ότι τιμές της κορτιζόλης του πλάσματος ακόμα και τόσο χαμηλές όσο 10 ng/ml, που μπορούν να συμβούν από χρόνιους παράγοντες καταπόνησης, επηρέασαν την ευαισθησία σε μολυσματικές ασθένειες λόγω της ανοσοκαταστολής. Στον μπακαλιάρο, έχει ταυτοποιηθεί ένας συσχετισμός μεταξύ της κορτιζόλης του πλάσματος και της γλυκόζης (Hemre & Kahrs, 1997).

Εκτός από την αύξηση της γλυκόζης του πλάσματος, κάποια είδη ψαριών όπως η πέστροφα, παρουσιάζουν μη λειτουργικό ηπατικό μεταβολισμό, σαν αποτέλεσμα της υψηλής απόθεσης γλυκογόνου μετά από χορήγηση σιτηρεσίων πλούσιων σε άμυλο (Austreng et al. 1977, Hilton et al. 1987, Bæverfjord 1992). Έτσι, έχουν συνταχθεί μελέτες για τη μέτρηση διαφόρων παραμέτρων υγείας και για το πώς αυτές επηρεάζονται από τους υδατάνθρακες. Καμία ουσιαστική επίδραση της μακροχρόνιας χορήγησης σιτηρεσίων πλούσιων σε υδατάνθρακες επί της μη εξειδικευμένης ανοσίας, όπως η δράση της λυσοζύμης ή η παραγωγή μακροφαγικού υπεροξειδίου, δεν παρατηρήθηκε στην πέστροφα (Page et al., 1999). Στον Ατλαντικό σολομό, η αιμολυτική δράση του ορρού συσχετίστηκε αρνητικά με τους υδατάνθρακες και τη Hb του αίματος (Waagbø et al., 1994).

Η βακτηριακή χλωρίδα του εντέρου μπορεί να αλλάξει ανάλογα με τη διατροφική σύνθεση (Onarheim et al. 1994, Ø. Berg 1995). Ένα αυξημένο περιεχόμενο άπεπτων θρεπτικών συστατικών (άμυλο, φυτικές ίνες, ανόργανα μέταλλα, λιπίδια κλπ.) στον Ατλαντικό σολομό στον οποίο χορηγήθηκαν σιτηρέσια πλούσια σε άμυλο (Hemre et al., 1995) πιθανόν να αντιπροσωπεύει εκλεκτικά μέσα ανάπτυξης διαφορετικών ειδών βακτηρίων (Hoff, 1989). Κατά συνέπεια, η σύσταση του περιεχομένου του εντέρου και η διατροφική κατάσταση του ψαριού είναι δυνατόν να προκαλέσουν αλλαγές στο βακτηριακό μεταβολισμό και τους μηχανισμούς τοξικότητας.

### 2.3 ΛΙΠΗ

Τα διατροφικά νοσήματα που συνδέονται με τα λίπη που περιέχονται στην τροφή, φαίνεται πως είναι τα σοβαρότερα, αλλά και τα επικρατέστερα όλων των διατροφικών νοσημάτων των ιχθύων. Τα διατροφικώς ενεργά συστατικά των λιπών της τροφής είναι τα λιπαρά οξέα. Στον οργανισμό του ψαριού, μόνο ένα μικρό ποσοστό του λίπους βρίσκεται με



τη μορφή λιπαρών οξέων, με επικρατέστερα μάλιστα εκείνα της n-3 σειράς, ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό αυτού υφίσταται με τη μορφή τριγλυκεριδίων κα φωσφολιπιδίων.

Οι λειτουργίες των απαραίτητων λιπαρών οξέων μπορούν να χωριστούν σε δύο ευρείες κατηγορίες. Διάφορα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως το εικοσιπενταενοϊκό οξύ (EPA) είναι ενσωματωμένα στα φωσφολιπίδια των μεμβρανών και συμμετέχουν στη διατήρηση της δομικής και λειτουργικής ακεραιότητας των βιολογικών μεμβρανών (Hazel, 1995). Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όπως το EPA και το αραχιδονικό οξύ (AA) αποτελούν προδρόμους των εικοσανοειδών, μιας ομάδας υψηλής βιολογικής δράσης ορμονών όπως οι προσταγλαδίνες, τα λευκοτριένια και τα υδροξυεικοσατετρανικά οξέα (Howard και Stanley, 1999). Δυσκολίες στη βελτιστοποίηση της σύνθεσης των απαραίτητων λιπαρών οξέων στην τροφή των ψαριών της θάλασσας προκύπτουν από την ανταγωνιστική αλληλεπίδραση μεταξύ των διαφόρων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων για φωσφολιπιδιακή βιοσύνθεση και σχηματισμό εικοσανοειδών (Sargent et al., 1999). Δεδομένων των παραπάνω, συστήνεται να λαμβάνεται υπόψη η συνολική ισορροπία μεταξύ των διαφόρων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων για να αποφευχθεί τυχόν διατροφική ανεπάρκεια.

Η σημασία των PUFA για τα ψάρια σε λαρβικό στάδιο έχει μελετηθεί εκτενώς κατά τη διάρκεια των τελευταίων 20 χρόνων (Wantanabe 1993, Watanabe and Kiron 1994, Sargent et al. 1999). Το εικοσιδυαεξαενοϊκό οξύ (DHA, 22:6n-3), το εικοσαπενταενοϊκό οξύ (EPA, 20:5n-3) και το αραχιδονικό οξύ (AA, 20:4n-6) είναι απαραίτητα λιπαρά οξέα (EFA) για πολλά θαλάσσια είδη. Ωστόσο, οι ζωντανές τροφές που χρησιμοποιούνται συνήθως σαν πρώτη τροφή των θαλάσσιων λαρβών, όπως τροχόζωα και *Artemia sp.*, χαρακτηρίζονται από χαμηλή περιεκτικότητα σε αυτά τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA). Κατά συνέπεια, καθίσταται απαραίτητος ο εμπλουτισμός των ζωντανών τροφών με λίπη πλούσια σε PUFA πριν τη χορήγηση τους στα ψάρια.

Πρόσφατα, επιδείχθηκε η σημασία του υπολογισμού των σχετικών ποσών DHA, EPA και AA ταυτοχρόνως (McEvoy et al. 1998, Estevez et al. 1999, Sargent et al. 1999). Αυτή οφείλεται στις ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ DHA και EPA καθώς και EPA και AA. Ο ανταγωνισμός μεταξύ DHA και EPA προκύπτει από τη χρήση και των δύο μορίων των ιδίων ενζύμων για την εστεροποίηση των λιπαρών οξέων σε φωσφολιπιδιακές μορφές (Mourente et al. 1991, Sargent et al. 1999). Δεδομένου ότι το DHA απαντά σε πολύ υψηλά επίπεδα στο νευρικό ιστό, έχει θεωρηθεί ότι παίζει έναν εξειδικευμένο ρόλο στη

δομή και λειτουργία της νευρικής μεμβράνης (Bell και Dick, 1991). Επομένως, αυξημένα επίπεδα EPA σε σχέση με το DHA έχει θεωρηθεί ότι έχουν αρνητική επίδραση στη λειτουργία του νευρικού συστήματος των λαρβών και κατά συνέπεια στην ανάπτυξη και επιβίωση τους (Bell et al. 1995, Rodriguez et al. 1997).

Η ανταγωνιστική αλληλεπίδραση μεταξύ EPA και AA είναι σημαντική στο σχηματισμό των εικοσανοειδών. Τα εικοσανοειδή είναι μια ομάδα βιολογικά ενεργών μορίων, γνωστά κάποτε ως τοπικές ορμόνες, τα οποία περιλαμβάνουν τις προσταγλαδίνες, τις θρομβοξάνες και τα λευκοτριένια. Τα εικοσανοειδή παίζουν μια ευρεία ποικιλία εντοπισμένων φυσιολογικών ρόλων στα ψάρια, οι οποίοι μπορεί να ποικίλουν από ιονική ρύθμιση μέχρι έναρξη της αποβολής των αυγών από το ώριμο θηλυκό (Sargent, 1995). Το EPA και το AA αποτελούν υποστρώματα για το σχηματισμό εικοσανοειδών με το AA να είναι το προτιμώμενο υπόστρωμα, το οποίο και παράγει εικοσανοειδή υψηλότερης βιολογικής δράσης (Bell et al., 1994). Το EPA παράγει εικοσανοειδή χαμηλότερης βιολογικής δράσης και έτσι διαμορφώνει την αποτελεσματικότητα του AA. Οι λάρβες του καλκανιού ανέπτυξαν υψηλά επίπεδα δυσχρωματισμού όταν τους χορηγήθηκαν μεγαλύτερες ποσότητες AA σε σχέση με εκείνες του EPA (McEvoy et al. 1998, Estevez et al. 1999). Οι παρατηρήσεις αυτές θεωρήθηκαν αποτέλεσμα του στρες που προκλήθηκε από αυξημένη δράση των εικοσανοειδών (Estevez et al. 1999, Sargent et al. 1999).

Οι Copeman, Parrish, Brown και Harel (2002) μελέτησαν το ρόλο των διαιτητικών αναλογιών των DHA, EPA και AA στην πρώτη ανάπτυξη, την επιβίωση, τη σύσταση των λιπών και τον αποχρωματισμό στο πλατύψαρο (*Limanda ferruginea*). Τα τροχόζωα εμπλουτίστηκαν με γαλακτώματα λιπών τα οποία περιείχαν υψηλά ποσοστά DHA (43,3% των ολικών λιπαρών οξέων), DHA + EPA (37,4% και 14,2%, αντίστοιχα), DHA + AA (36,0% και 8,9%), ή ένα γαλάκτωμα μάρτυρα που περιείχε μόνο ελαιόλαδο (όχι DHA, EPA ή AA). Οι λάρβες διατράφηκαν με διαφορετικά εμπλουτισμένα τροχόζωα για 4 εβδομάδες μετά την εκκόλαψη. Την 4<sup>η</sup> εβδομάδα, οι λάρβες του πλατύψαρου στις οποίες χορηγήθηκε το σιτηρέσιο που περιείχε υψηλά ποσά DHA ήταν σημαντικά μεγαλύτερες ( $9,7 \pm 0,2$  mm) και παρουσίαζαν μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης ( $22,1 \pm 0,4\%$ ), ενώ οι λάρβες του σιτηρεσίου μάρτυρα ήταν σημαντικά μικρότερες ( $7,3 \pm 0,2$  mm) και επέδειξαν χαμηλότερα ποσοστά επιβίωσης ( $5,2 \pm 1,9\%$ ). Το προφίλ των λιπιδίων και των λιπαρών οξέων διέφερε σημαντικά μεταξύ των σιτηρεσίων με τις λάρβες που λάμβαναν σιτηρέσια με υψηλά ποσά

πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) να εμφανίζουν υψηλότερα σχετικά ποσά τριακυλ-γλυκερολών (18 – 21% των ολικών λιπιδίων) από τις λάρβες του σιτηρεσίου μάρτυρα (11%). Τα λιπαρά οξέα των λαρβών αντικατόπτριζαν τα διαιτητικά επίπεδα των DHA, EPA και AA, ενώ οι λάρβες του σιτηρεσίου μάρτυρα μείωσαν τα ποσά των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (MUFA) και αύξησαν τα επίπεδα των PUFA σε σχέση με τα διαιτητικά επίπεδα. Μια ισχυρή σχέση παρατηρήθηκε μεταξύ της αναλογίας DHA/EPA στο σιτηρέσιο και του μεγέθους της λάρβας και της επιβίωσης. Μετά τη μεταμόρφωση, η συχνότητα αποχρωματισμού ήταν υψηλότερη στο DHA + AA σιτηρέσιο (92%) απ' ότι στα υπόλοιπα (~ 50%). Τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι οι λάρβες του πλατύψαρου(yellowtail) απαιτούν υψηλά επίπεδα DHA για μέγιστη ανάπτυξη και επιβίωση ενώ τα σιτηρέσια που περιέχουν αυξημένο AA προκαλούν αρνητικές επιδράσεις στη χρώση των λαρβών.

Ο Koven και οι συνεργάτες του (2001) μελέτησαν την επίδραση των υψηλών διαιτητικών ποσοστών του εικοσιδυαεξαενοϊκού οξέος και των κυμαινόμενων ποσοστών αραχιδονικού οξέος στην ανάπτυξη, την επιβίωση και την αντίσταση στο στρες σε λάρβες τσιπούρας ηλικίας 5-35 ημερών. Τρία εμπλουτισμένα σιτηρέσια που διέφεραν στη αναλογία DHA/AA χορηγήθηκαν σε τροχόζωα (*Brachionus rotundiformis*) και *Artemia nauplii*. Το εμπλουτισμένο με υψηλά ποσά DHA σιτηρέσιο (DHA-PL) (35,9% των ολικών λιπαρών οξέων) δεν περιείχε αραχιδονικό οξύ και περιείχε λίπη από το ετερότροφα ανεπτυγμένο, πλούσιο σε DHA δινομαστιγωτό (*Cryptocodinium sp.*). Ένα δεύτερο εμπλουτισμένο σιτηρέσιο, υποκατέστησε το πλούσιο σε DHA σιτηρέσιο με ένα λίπος πλούσιο σε αραχιδονικό οξύ (52% των ολικών λιπαρών οξέων) από τον ετερότροφα ανεπτυγμένο μύκητα (*Mortierella alpina*). Ένα τρίτο εμπλουτισμένο σιτηρέσιο (ALGA) ήταν το εμπορικό προϊόν Algamac 2000, το οποίο είναι απαλλαγμένο από αραχιδονικό οξύ, αλλά περιέχει εικοσιδυαπενταενοϊκό οξύ (DPA, 22:5n-6). Τροχόζωα που τους χορηγήθηκαν τα DHA-PL, AADHA και ALGA σιτηρέσια επέδειξαν μια ποικιλία DHA/AA αναλογιών (20,9, 5,6 και 10,1, αντίστοιχα) όπως και το *Artemia nauplii* (25,8, 3,7 και 4,6, αντίστοιχα).

Τα εμπλουτισμένα τροχόζωα χορηγήθηκαν σε λάρβες οι οποίες ανατράφηκαν σε δεξαμενές 400 λίτρων σχήματος V από την 5<sup>η</sup> μέχρι τη 19<sup>η</sup> ημέρα μετά την εκκόλαψη. Μετά από αυτή την περίοδο, οι λάρβες εκτέθηκαν σε ελεγχόμενη καταπόνηση χειρισμού κατά τη μεταφορά σε ενυδρείο 27 λίτρων, όπου τους χορηγήθηκε εμπλουτισμένο *nauplii* από την 20<sup>η</sup> έως την 35<sup>η</sup> ημέρα μετά την εκκόλαψη. Παρόλο που τα προφίλ των λιπαρών

οξέων στις λάρβες αντικατόπτριζαν τα εμπλουτισμένα σιτηρέσια, δεν υπήρξαν αξιοσημείωτες διαφορές στην επιβίωση και ανάπτυξη των λαρβών 5-19 ημερών στο τέλος της χορήγησης τροχόζωων. Ωστόσο, οι λάρβες που τους χορηγήθηκαν τα εμπλουτισμένα με AA τροχόζωα πριν την καταπόνηση λόγω μεταφοράς στο ενυδρείο επέδειξαν καθημερινά και σημαντικά χαμηλότερη συσσωρευμένη θνησιμότητα μετά τη μεταφορά και κατά τη διάρκεια της χορήγησης Artemia απ'ότι οι λάρβες που τους χορηγήθηκαν οι δίαιτες DHA-PL και ALGA. Καθώς χορηγήθηκε στις λάρβες η δίαιτα ALGA, τα τροχόζωα μετέτρεπαν εκ νέου μερικώς το DPA σε AA στους ιστούς τους, η τελική επιβίωση (31,0%) σε αυτές τις λάρβες ήταν σημαντικά καλύτερη από εκείνη στις λάρβες που τους χορηγούνταν τα DHA τροχόζωα (17,5%), αλλά σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη στις λάρβες που τους χορηγούνταν AADHA τροχόζωα (42,9%). Αντιστρόφως, η συσσωρευμένη θνησιμότητα σε λάρβες που τους χορηγούνταν τροχόζωα ανεπαρκή σε AA δεν μπορεί να διορθωθεί αργότερα με χορήγηση εμπλουτισμένης με AA Artemia. Τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι το AA που χορηγήθηκε πριν την καταπόνηση βελτίωσε την επιβίωση αποτελεσματικότερα απ'ότι όταν χορηγήθηκε μετά την καταπόνηση. Τα ευρήματα αυτά επίσης υποδηλώνουν τη σημασία της διατροφής στο λαρβικό στάδιο για την επιβίωση κατά τα επόμενα στάδια ανάπτυξης κατά τη διάρκεια συνωστισμού, διαχωρισμού ή άλλων στρεσογόνων καταστάσεων.

Ο Olsen και οι συνεργάτες του (2000) μελέτησαν την επίδραση του λινελαίου και των κορεσμένων λιπαρών οξέων στα κύτταρα του τυφλού εντέρου της αρκτικής πέστροφας (*Salvelinus alpinus L.*). Οι πέστροφες (arctic char) σιτίστηκαν για μια περίοδο τριών εβδομάδων είτε με ένα σιτηρέσιο του εμπορίου, είτε με ένα από επτά σιτηρέσια τα οποία είχαν βάση την καζεΐνη. Τα τελευταία αυτά σιτηρέσια ήταν είτε απαλλαγμένα από λιπίδια είτε εμπλουτισμένα με 50-200 g λινέλαιο/kg ξηρού σιτηρεσίου, 160 g λινέλαιο και 40 g 14:0 ή 160 g λινέλαιο και 40 g 16:0. Τρία ψάρια με γεμάτα εντόσθια δειγματίστηκαν από κάθε διατροφική ομάδα και αναλύθηκαν για αλλαγές στην υπερδομή του πρωτοπλάσματος στο πυλωρικό τυφλό έντερο.

Αυξάνοντας τα επίπεδα των λιπιδίων αυξήθηκε και η συσσώρευση των λιπιδιακών σταγόνων στα κυλινδρικά απορροφητικά εντεροκύτταρα από περίπου 9% του επιθηλιακού όγκου στα ψάρια που σιτίστηκαν με 50 g λινέλαιο, σε σχεδόν 61% στα ψάρια που σιτίστηκαν με 200 g λινέλαιο. Αντικαθιστώντας το λινέλαιο στο σιτηρέσιο με 14:0 (160 g

λινέλαιο + 40 g 14:0 /kg σιτηρεσίου) παράχθηκε μικρότερος λιπιδιακός όγκος (περίπου 53%) αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Ωστόσο, αντικαθιστώντας 40g λινελαίου με 40g 16:0 παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του λιπιδιακού φορτίου της τάξης του 10%. Η έκταση της ζημιάς ακολουθούσε τα επίπεδα του λιπιδιακού φορτίου, όντας χαμηλότερη στα ψάρια που σιτιζόνταν με σιτηρέσια απαλλαγμένα ή χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπη και υψηλότερη σε εκείνα των οποίων το σιτηρέσιο περιελάμβανε 200g λινελαίου. Αντικαθιστώντας το λινέλαιο με 14:0 (160g λινέλαιο + 40g 14:0) παρατηρήθηκε μείωση της βλάβης αλλά όχι σημαντική. Ωστόσο, σημαντική μείωση της βλάβης παρατηρήθηκε όταν το λινέλαιο αντικαταστάθηκε με 16:0.

Καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι υψηλά ποσοστά λινελαίου προάγουν τη συσώρευση σταγόνων λιπιδίων στα εντεροκύτταρα. Οι σταγόνες πιθανώς σχετίζονται με το ποσό των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων των λιπιδίων. Ο ενδοκυτταρικός σχηματισμός σταγόνων και η κυτταρική βλάβη μειώνονται με την προσθήκη κορεσμένων λιπαρών οξέων στο σιτηρέσιο. Το γεγονός αυτό μπορεί να σχετίζεται με διάρρηξη του ρυθμού συνάθροισης των λιποπρωτεϊνών. Οι κυτταρικές βλάβες που παρατηρήθηκαν σε σιτηρέσια πλούσια σε λιπίδια πιθανόν να είναι παθολογικές και μπορεί να οδηγήσουν σε εντερική δυσλειτουργία και αποτελούν σημαντική μολυσματική οδό για παθογόνα βακτήρια.

Ο Caballero και οι συνεργάτες του (2002) πραγματοποίησαν μια μελέτη για να καθορίσουν την επίδραση της αντικατάστασης του 50% τουλάχιστον του ιχθυελαίου από εναλλακτικές πηγές λιπιδίων στα σιτηρέσια της πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) στην ανάπτυξη, την πεπτικότητα των λιπιδίων, το προφίλ των λιπαρών οξέων στο συκώτι και τους μύες καθώς και στην ιστολογία των ιστών. Τέσσερα πειραματικά σιτηρέσια καταρτίστηκαν συνδυάζοντας δύο ιχθυέλαια αντσούγιας και του ψαριού (*Mallotus villosus*) με διάφορα φυτικά έλαια (σόγιας, ελαιοκράμβης, φοίνικα και ελιάς) και ένα τύπο ζωικού λίπους (λαρδί), έτσι ώστε να επιτευχθεί 60 έως 80% αντικατάσταση του ιχθυελαίου. Ένα πέμπτο σιτηρέσιο που προετοιμάστηκε με καθαρό ιχθυέλαιο από το ψάρι (*Mallotus villosus*) χρησιμοποιήθηκε σαν μάρτυρας. Τα σιτηρέσια χορηγήθηκαν σε φαινομενικό κορεσμό δύο φορές την ημέρα σε τρεις πανομοιότυπες ομάδες που αποτελούνταν από 30 πέστροφες με αρχικό βάρος 250g για 64 ημέρες στους 12°C.

Η ανάπτυξη ήταν καλή και ανεξάρτητη του σιτηρεσίου. Το τελικό σωματικό βάρος ήταν κατά μέσο όρο 760g. Οι συντελεστές μετατροπής της τροφής (FCR)



κυμαίνονταν από 0,72 μέχρι 0,79. Η μόνη σημαντική διαφορά στην FCR παρατηρήθηκε στην ομάδα στην οποία χορηγήθηκε ένας συνδυασμός ελαιολάδου-λαρδιού που αντικατέστησε το ιχθυέλαιο κατά 80%. Το σιτηρέσιο αυτό επίσης παρουσίασε χαμηλότερη φαινομενική πεπτικότητα λιπιδίων (79% έναντι 91 – 94% για τα υπόλοιπα σιτηρέσια). Οι συστάσεις των λιπαρών οξέων του ήπατος και των μυών ήταν παρόμοιες μεταξύ των ομάδων και αντικατόπτριζαν αυτές των σιτηρεσίων. Αλλά, τα επίπεδα στους ιστούς των 20:5n-3 ήταν χαμηλότερα και τα επίπεδα των 22:6n-3 ήταν υψηλότερα από τα αντίστοιχα τους διαιτητικά ποσοστά. Ιστολογικά, μια υπερπυρηνική συσσώρευση σταγονιδίων λιπιδίων παρατηρήθηκε στα εντερικά κύτταρα κάποιων από τις ομάδες που τους χορηγήθηκαν σιτηρέσια που περιείχαν φυτικά έλαια. Παρομοίως, τα συκώτια από αυτές τις ομάδες επέδειξαν μεγάλα ποσά σταγονιδίων λιπιδίων εντός των ηπατοκυττάρων.

Τα παρόντα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι το περισσότερο ιχθυέλαιο μπορεί να αντικατασταθεί από εναλλακτικές πηγές που έχουν ελεγχθεί χωρίς να επηρεάζεται η ανάπτυξη και η αξιοποίηση της τροφής. Ωστόσο, οι ιστολογικές αλλαγές που παρατηρήθηκαν υποδεικνύουν μια επίδραση της λιπιδιακής πηγής στη μεταφορά και/ή στο μεταβολισμό του λίπους στο ψάρι. Αυτό απαιτεί περαιτέρω έρευνα.

#### 2.4 ΙΝΩΔΕΙΣ ΟΥΣΙΕΣ

Ο ρόλος των ινωδών ουσιών στη διατροφή των ζώων έχει αποκτήσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τους ερευνητές. Μάλιστα, ο Davies (1985), σε σχετική ανασκόπηση του καταδεικνύει τη σημασία των ουσιών αυτών στη διατροφή των ψαριών. Σύμφωνα, ωστόσο, με τα εκεί αναγραφόμενα, δεν φαίνεται να υπάρχει παθολογική επίδραση εκπορευόμενη από υπερβολικά υψηλά ή χαμηλά επίπεδα ινωδών ουσιών στο σιτηρέσιο, παρά μόνο αρνητική επίδραση στο ρυθμό ανάπτυξης.

Υπάρχει, παρόλα αυτά, η πεποίθηση ότι η απομάκρυνση των ινωδών ουσιών από σιτηρέσια με υψηλά ποσοστά πρωτεϊνών ή από εκείνα που χρησιμοποιούνται στα διάφορα πειράματα, είναι δυνατόν να επηρεάσει αρνητικά τη θρεπτική αξία αυτών των σιτηρεσίων. Στο σιτηρέσιο ορισμένων ειδών, όπως είναι το γατόψαρο, είναι απαραίτητο να περιλαμβάνονται υψηλά ποσά ινωδών ουσιών προκειμένου η ταχύτητα απορρόφησης των θρεπτικών στοιχείων να καθίσταται όσο χρειάζεται αργή.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΑ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ

#### 3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ιχνοστοιχεία, όπως το όνομά τους υποδηλώνει, είναι τα θρεπτικά στοιχεία της τροφής, τα οποία αν και απαραίτητα για τον οργανισμό, απαιτούνται μόνο σε σχετικά μικρές ποσότητες. Αν δε αυτά απουσιάζουν από το σιτηρέσιο ή βρίσκονται σε αυτό σε μη επαρκείς για την κάλυψη των αναγκών του οργανισμού ποσότητες, δίνουν αφορμή για συγκεκριμένα Διατροφικά Νοσήματα, τα οποία συχνά εκδηλώνονται με ιδιαίτερα κλινικά και ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά.

Στην πράξη, βέβαια, τα σιτηρέσια σπάνια αποδεικνύονται ελλιπή σε ένα μόνο συγκεκριμένο ιχνοστοιχείο. Έτσι, τα παρατηρούμενα κλινικά και ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά δεν είναι σαφώς συγκεκριμένα. Ωστόσο, έχει διεξαχθεί σημαντικός αριθμός ερευνητικών εργασιών κατά τις οποίες χρησιμοποιήθηκαν σιτηρέσια ελλιπή σε ένα συγκεκριμένο συστατικό, με αποτέλεσμα την ολοκληρωμένη απόκτηση γνώσεων περί των συναφών Διατροφικών Νοσημάτων, τουλάχιστον για ορισμένα είδη ψαριών.

#### 3.2 ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ

Οι βιταμίνες είναι σύνθετες οργανικές ενώσεις, μικρού συνήθως μοριακού βάρους, οι οποίες κρίνονται αναγκαίες για πάρα πολλές μεταβολικές διεργασίες. Η παρουσία τους στα σιτηρέσια απαιτείται σε μικρές ποσότητες, αλλά οι απαιτήσεις αυτές συνήθως αυξάνονται κατά τις φάσεις της ανάπτυξης και της ωοτοκίας. Ακόμη, υπάρχουν αποδείξεις ότι οι απαιτήσεις των ψαριών αυξάνονται και όταν οι συνθήκες του περιβάλλοντος είναι δυσμενείς ή δημιουργούν επιπρόσθετη καταπόνηση, καθώς και όταν υπάρχει ανάγκη για μεγαλύτερη αντοχή στις ασθένειες. Στην πρώτη περίπτωση, αυξάνονται οι ανάγκες, ιδιαίτερα οι ανάγκες σε βιταμίνη C, ενώ στη δεύτερη, κυρίως οι ανάγκες σε βιταμίνες C, E και πιθανώς σε βιταμίνη B<sub>6</sub>, παντοθενικό οξύ και χολίνη (Tacon, 1992).

Η σταθερότητα των βιταμινών επηρεάζεται από πολλούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η υγρασία, η θερμοκρασία, το φως, η παρουσία οξειδωτικών και αναγωγικών παραγόντων, η παρουσία ιχνοστοιχείων και η τιμή του pH. Συνεπώς, η έλλειψη των βιταμινών στο σιτηρέσιο μπορεί να οφείλεται και σε καταστροφικές επιδράσεις κατά



την επεξεργασία ή την αποθήκευσή τους. Επίσης, ακόμη και όταν το σιτηρέσιο που παρέχεται στα ψάρια περιέχει τις διάφορες βιταμίνες στις απαραίτητες προς κάλυψη των αναγκών τους ποσότητες, είναι πιθανό να παρατηρούνται τελικά συμπτώματα από την έλλειψη αυτών, που οφείλονται σε διάφορους άλλους παράγοντες, όπως:

✓ Διαρροή των υδατοδιαλυτών βιταμινών στο νερό. Σε αντίθεση με τις λιποδιαλυτές βιταμίνες (A, D, E, K), στην περίπτωση των υδατοδιαλυτών βιταμινών είναι δυνατόν αυτές να απολεσθούν εύκολα από την τροφή, πριν την κατανάλωση της από το ψάρι. Γενικά, όσο μικρότερου μεγέθους είναι τα τεμαχίδια του σιτηρεσίου και όσο μεγαλύτερο είναι το χρονικό διάστημα που αυτά παραμένουν στο νερό πριν την κατανάλωση τους από τα ψάρια, τόσο εντονότερη είναι και η απώλεια των υδατοδιαλυτών τους συστατικών, συμπεριλαμβανομένων και των βιταμινών.

✓ Παρουσία στο σιτηρέσιο αντι-βιταμινικών παραγόντων. Τέτοιοι παράγοντες είναι:

➤ Η αβιδίνη, η οποία καταστρέφει τη βιοτίνη και βρίσκεται στο ωμό ασπράδι του αυγού. Η αβιδίνη καταστρέφεται αμέσως από τη θερμότητα.

➤ Το ένζυμο θειαμινάση, η οποία καταστρέφει τη θειαμίνη και βρίσκεται σε ορισμένα ωμά ψάρια, σε οστρακόδερμα, σε μαλάκια, στο αποφλοιωμένο ρύζι, στο λιναρόσπορο, στους καρπούς του ινδικού σιναπιού και στους καρπούς του (*Phaseolus aureus*), (πράσινο φασόλι). Η επίδραση αυτού μπορεί να ανασταλεί είτε με κατάλληλη θερμική επεξεργασία των ωμών τροφών που το περιέχουν, είτε με προσθήκη στην τροφή διβενζουλθειαμίνης (DBT), η οποία είναι μια ανθεκτική στο ένζυμο αυτό μορφή της θειαμίνης.

➤ Διάφοροι αντι-βιταμινικοί παράγοντες που βρίσκονται σε ωμούς καρπούς σόγιας και καταστρέφουν τις βιταμίνες A, E, D και B<sub>12</sub>. Και αυτοί μπορούν να απενεργοποιηθούν με κατάλληλη θερμική επεξεργασία.

➤ Ένας αντι-βιταμινικός παράγοντας που βρίσκεται στο λιναρόσπορο και καταστρέφει την πυριδοξίνη. Η απενεργοποίησή του είναι δυνατή και πάλι με τη χρήση θερμότητας.

✓ Προσθήκη αντιβιοτικών στο σιτηρέσιο. Η χορήγηση αντιβιοτικών μέσω της τροφής προς καταπολέμηση ασθενειών, είναι δυνατόν να μειώσει την ικανότητα που έχουν οι μικροοργανισμοί της μικροχλωρίδας του εντέρου των ψαριών να συνθέτουν

ορισμένες βιταμίνες και έτσι να συμβάλλουν , στην περίπτωση των χορτοφάγων και των παμφάγων ψαριών, στην κάλυψη των αναγκών τους σε αυτές.

### 3.2.1 ΛΙΠΟΔΙΑΛΥΤΕΣ ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ

#### 3.2.1.1 ΒΙΤΑΜΙΝΗ Α

Η βιταμίνη Α απαντά στο σώμα των ζώων σαν ρετινόλη (ROL), ρετινάλη και εστέρες της ρετινόλης (National Research Council 1993, Combs 1998), και με ρετινοϊκό οξύ (μεταβολίτης της ρετινόλης). Η βιταμίνη Α παίζει σημαντικό ρόλο σε πολυάριθμες βιολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της όρασης, της αναπαραγωγής, της εμβρυϊκής εξέλιξης, της ανάπτυξης, της διαφοροποίησης, της εξέλιξης των οστών και της διατήρησης της γενικής υγείας ενός οργανισμού (Combs 1998, Halver 2002). Τα ψάρια, όπως και τα υπόλοιπα σπονδυλωτά, στερούνται της ικανότητας να συνθέσουν βιταμίνη Α και χρειάζονται μια πηγή βιταμίνης Α για την ανάπτυξη τους (Halver, 2002). Οι άριστες συγκεντρώσεις βιταμίνης Α (IU/kg) που έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα για τα ψάρια, έχουν ως εξής: πέστροφα(*Oncorhynchus mykiss*), 2500-3500 (Kitamura et al.1967), guppy (*Poecilia reticulata*), 2000-4000 (Shim & Tan 1990), τιλάπια (*Oreochromis niloticus*), 5000-10000 (Saleh et al. 1995), κοινός κυπρίνος (*Cyprinus caprio*) 4000-20000 (Aoe et al. 1968), πλατύψαρο (*Seriola quinqueradiata*), 10500-12500 (Shimeno 1991), γατόψαρο (*Ichthalurus punctatus*), 1000-2000 (NRC 1993), ροφός (*Ephinephelus tauvina*), 3101 (Mohamed et al. 2003), και φαγκρί (*Chrysophrys major*), 5000-20000 (Hernandez et al. 2003).

Το 2001 ο Furuita και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν μια μελέτη για να ερευνήσουν τις επιδράσεις της βιταμίνης Α στην αναπαραγωγή και την ποιότητα των αυγών της γλώσσας (*Paralichthys olivaceus*). Γεννήτορες σιτίστηκαν με πειραματικά χάπια που περιείχαν δύο επίπεδα βιταμίνης Α [ $11 \times 10^3$  U/100g (σιτηρέσιο μάρτυρας CD),  $337 \times 10^3$  U/100g (πειραματικό σιτηρέσιο ED)] για περίπου 2 μήνες πριν τη γέννηση των αυγών και κατά τη διάρκεια της περιόδου γέννησης. Δύο ομάδες των πέντε θηλυκών (μέσο βάρος 1,4 kg) και 10 αρσενικών (μέσο βάρος 0,7 kg) τοποθετήθηκαν τυχαία σε δύο εσωτερικές δεξαμενές των 10 m<sup>3</sup>. Η συνολική παραγωγή αυγών της CD ομάδας ήταν ελαφρώς υψηλότερη από εκείνης της ED ομάδας. Σε ότι αφορά άλλες παραμέτρους ποιότητας των αυγών, όπως το ποσοστό των λαρβών με ανωμαλίες και η αντοχή των λαρβών στην έλλειψη

τροφής, δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων. Στο τέλος του πειράματος, το χρώμα της επιδερμίδας των γεννητόρων της ED ομάδας ήταν σκοτεινότερο σε σχέση με εκείνο της CD ομάδας. Η περιεκτικότητα των αυγών της ED ομάδας σε βιταμίνη A ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνη της CD ομάδας. Ωστόσο, η διαφορά της περιεκτικότητας των αυγών σε βιταμίνη A μεταξύ των δύο ομάδων ήταν πολύ χαμηλότερη από εκείνη στο συκώτι των θηλυκών μεταξύ των δύο ομάδων. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η σίτιση των γεννητόρων με υψηλότερα επίπεδα βιταμίνης A προκαλεί αύξηση της περιεκτικότητας των αυγών σε βιταμίνη A αλλά δεν επηρεάζει την ποιότητα των αυγών της γλώσσας διότι η περίσσεια βιταμίνης A αποθηκεύεται κυρίως στο συκώτι των γεννητόρων.

Ο Cuesta και οι συνεργάτες του (2002) μελέτησαν τις επιδράσεις των υψηλών ενέσιμων δόσεων οξικού εστέρα της ρετινόλης μέσω της τροφής ή ενδοπεριτοναϊκώς στο ενδογενές ανοσοποιητικό σύστημα της τσιπούρας (*Sparus aurata L.*). Αντιπροσωπευτικά δείγματα τσιπούρας σιτίστηκαν με ένα εμπορικό σιτηρέσιο που περιείχε 1,75 mg βιταμίνης A/kg (σαν μάρτυρας) ή με το ίδιο σιτηρέσιο το οποίο συμπληρώθηκε με 50, 150 ή 300 mg οξικού εστέρα της ρετινόλης/kg (σαν πηγή βιταμίνης A). Μετά από 1, 2, 4 ή 6 εβδομάδες, λήφθηκαν δείγματα ορρού και ηπατικά λευκοκύτταρα από κάθε ψάρι. Η δράση της λυσοζύμης του ορρού και η περιεκτικότητα σε μυελοϋπεροξειδάση (MPO) ήταν ανεπηρέαστες από την περιεκτικότητα του σιτηρεσίου σε βιταμίνη A. Η φαγοκύτωση στα ηπατικά λευκοκύτταρα δεν ενισχύθηκε από τη λήψη βιταμίνης A αλλά μειώθηκε λίγο μετά από 2 εβδομάδες, ενώ η αναπνευστική τους δράση αυξήθηκε στα ψάρια που τους χορηγήθηκαν 150 και 300 mg οξικού εστέρα της ρετινόλης/kg για μία ή δύο εβδομάδες. Η περιεκτικότητα των λευκοκυττάρων σε μυελοϋπεροξειδάση επίσης αυξήθηκε όταν χορηγήθηκε στις τσιπούρες η υψηλότερη δόση βιταμίνης A για 2 ή 4 εβδομάδες και αφού τους χορηγήθηκαν τα σιτηρέσια που περιείχαν 150 ή 50 mg για 4 ή 6 εβδομάδες αντίστοιχα. Σε τρεις διαφορετικές ομάδες τσιπούρας έγιναν ενδοπεριτοναϊκώς ενέσεις 1 mg φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος που περιείχε ένα ποσό οξικού εστέρα της ρετινόλης ισοδύναμο με τα καθημερινά διατροφικά συμπληρώματα από το πρώτο πείραμα (0-μάρτυρας, 0,05 ή 0,3 mg/100g βιομάζας). Και οι δύο ενέσιμες δόσεις οξικού εστέρα της ρετινόλης ήταν τοξικές για την τσιπούρα το οποίο εμφάνισε σημάδια υπερβιταμίνωσης. Αυτά τα στοιχεία δείχνουν ότι ο οξικός εστέρας της ρετινόλης παίζει σημαντικό ρόλο στα

κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος εξαιτίας των αντιοξειδωτικών της ιδιοτήτων. Επίσης επισημαίνουν τη σημασία του τρόπου με τον οποίο χορηγείται στα ψάρια, μέσω της διατροφής ή ενδοπεριτοναϊκώς.

Το 2003, ο Mohamed και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν μια μελέτη 10 εβδομάδων για να καθορίσουν τις απαιτήσεις σε βιταμίνη A του νεαρού ροφού. Οκτώ σιτηρέσια που περιείχαν 210, 476, 914, 1774, 3764, 7063, 14342 και 29193 IU βιταμίνης A (υπό μορφή οξικού εστέρα της ρετινόλης)/kg σιτηρεσίου χορηγήθηκαν δύο φορές την ημέρα σε τρεις όμοιες ομάδες (20 ψάρια/ομάδα) ψαριών (αρχικό βάρος  $5,84 \pm 1,5$  g/ψάρι). Τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκε το βασικό σιτηρέσιο (210 IU βιταμίνης A/g σιτηρεσίου) παρουσίασαν αιμορραγίες στην επιδερμίδα που καλύπτει τα πτερύγια και τον ουραίο μίσχο. Κανένα από αυτά τα συμπτώματα δεν παρατηρήθηκαν στα ψάρια που τους χορηγήθηκαν τα σιτηρέσια που περιείχαν συμπληρώματα βιταμίνης A. Σημαντικά υψηλότερη αύξηση βάρους, αποτελεσματικότητα της πρωτεΐνης και επιβίωση και χαμηλότερη μετατροπή της τροφής παρατηρήθηκαν στα ψάρια που τους χορηγήθηκε το 3764 IU βιταμίνης A/kg σιτηρέσιο. Το ολικό σωματικό ακατέργαστο λίπος μειώθηκε σημαντικά στα ψάρια που σιτίστηκαν με αυξανόμενα επίπεδα βιταμίνης A. Προσθήκη βιταμίνης A στο βασικό σιτηρέσιο δεν επηρέασε σημαντικά την ολική σωματική πρωτεΐνη και τέφρα των ψαριών. Ωστόσο, η χορήγηση συμπληρωμάτων βιταμίνης A δεν επηρέασε σημαντικά την ολική σωματική υγρασία. Η περιεκτικότητα του ορρού σε βιταμίνη A επηρεάστηκε από τα επίπεδα της βιταμίνης. Αυξημένη περιεκτικότητα του ορρού σε βιταμίνη A παρατηρήθηκε με την αύξηση των συγκεντρώσεων της βιταμίνης από 210 μέχρι 3764 IU/kg και έτεινε να φτάσει στο μέγιστο της στα ψάρια που σιτίζονταν με τα υψηλότερα ποσά βιταμίνης A.

Πρόσφατα (2005) ο Hernandez και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν ένα διατροφικό πείραμα για να εκτιμήσουν τις απαιτήσεις σε βιταμίνη A της νεαρής γλώσσας (*Paralichthys olivaceus*). Έξι σιτηρέσια με συμπληρώματα βιταμίνης A 0, 5000, 10000, 15000, 20000 και 25000 IU/kg χορηγήθηκαν δύο φορές την ημέρα σε τρεις όμοιες ομάδες των 20 νεαρών ατόμων ανά δεξαμενή με αρχικό βάρος  $1,59 \pm 0,01$  g. Η αύξηση του βάρους και ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης αυξήθηκαν καθώς αυξήθηκε η βιταμίνη A μέχρι τα 10000 IU/kg. Σημαντικά χαμηλότερη αύξηση βάρους και ειδικού ρυθμού ανάπτυξης παρατηρήθηκαν για το σιτηρέσιο των 0 IU/kg από ότι για τα σιτηρέσια των 5000, 10000 και 15000 IU/kg. Η υψηλότερη αύξηση βάρους και ρυθμού ανάπτυξης παρατηρήθηκαν στα

10000 IU/kg. Ελαφρώς χαμηλότερες τιμές καταγράφηκαν στα 15000, 20000 και 25000 IU/kg. Καμία σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε στο ρυθμό επιβίωσης μεταξύ των σιτηρεσίων. Τα ολικά σωματικά λιπίδια ήταν σημαντικά υψηλότερα στα 0 και 5000 IU/kg από ότι στα άλλα επίπεδα. Μειωμένη ανάπτυξη και μικρά συκώτια παρατηρήθηκαν σαν σημάδια ανεπάρκειας βιταμίνης Α στα ψάρια των 0 IU/kg. Η ολική περιεκτικότητα του συκωτιού και των ματιών σε ρετινόλη αυξήθηκε με την αύξηση των επιπέδων της βιταμίνης. Καθόλου ρετινόλη δεν ανιχνεύθηκε στο συκώτι, και σημαντικά χαμηλότερη ολική περιεκτικότητα σε ρετινόλη παρατηρήθηκε στα μάτια των ψαριών των 0IU/kg. Η βέλτιστη συγκέντρωση βιταμίνης Α για την ανάπτυξη βρέθηκε ότι είναι τα 9000 IU/kg.

Η υπερβιταμίνωση Α στα ψάρια έχει αναφερθεί στα ιχθύδια του πεστροφοειδούς (*Salvelinus fontinalis*) (Poston et al., 1965), της πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) (Hilton, 1983) και της τιλάπια (*Oreochromis niloticus*) (Saleh et al., 1995) και στις λάρβες της γλώσσας (*Paralychthys olivaceus*) (Dedi et al., 1995). Τα κυριότερα σημάδια υπερβιταμίνωσης Α στην πέστροφα είναι η μείωση της ανάπτυξης, η αυξημένη θνησιμότητα, μη φυσιολογικά και νεκρωτικά κωλικά, ουραία, θωρακικά πτερύγια και εκείνα της λεκάνης καθώς και ωχρά κίτρινα εύθραυστα συκώτια (Hilton, 1983). Στις λάρβες της γλώσσας, η συμπίεση της σπονδυλικής στήλης αποτελεί κύριο σημάδι (Dedi et al., 1995). Τοξικά επίπεδα βιταμίνης Α είναι τα  $2 \times 10^5$  IU/100g σιτηρεσίου για τα ιχθύδια της πέστροφας (Hilton, 1983),  $4 \times 10^3$  IU/100g σιτηρεσίου για την τιλάπια (Saleh et al., 1995) και  $4 \times 10^4$  IU/100g (*Artemia nauplii*) (ξηρό βάρος) για τις λάρβες της γλώσσας (Dedi et al., 1995). Η υπερβιταμίνωση Α στην πέστροφα εμφανίζεται μετά από 8 εβδομάδες από την έναρξη της χορήγησης περίσσειας βιταμίνης Α (Hilton, 1983), και μετά από λίγες ημέρες χορήγησης περίσσειας βιταμίνης Α κατά το ευαίσθητο στάδιο της υπερβιταμίνωσης Α (στάδιο G) στη γλώσσα (Dedi et al., 1997). Η υπερβιταμίνωση Α συνοδεύεται από αλλοίωση της επιδερμίδας και πολύ υψηλή περιεκτικότητα του ηπατελαίου σε βιταμίνη Α (Halver, 1989).

### 3.2.1.2 ΒΙΤΑΜΙΝΗ D (ΚΑΛΣΙΦΕΡΟΛΗ)

Οι καλσιφερόλες είναι μια ομάδα στεροειδών, σταθερών στις μεταβολές της θερμοκρασίας. Συμβάλλουν στην ενεργοποίηση των αλκαλικών φωσφατασών, στην



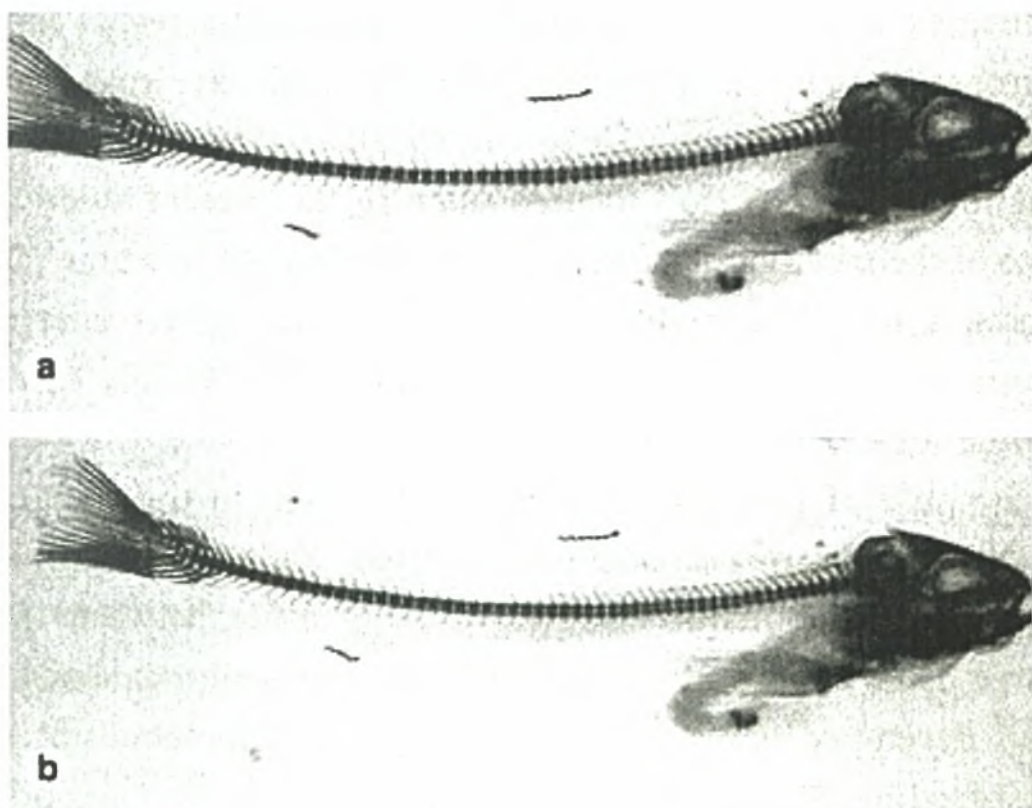
ενίσχυση της απορρόφησης του ασβεστίου και στο σχηματισμό των οστών (Halver, 1995). Ακόμα, χαρακτηρίζονται από αντιραχητικές ιδιότητες (Παπουτσόγλου, 1998).

Παρά τις προσπάθειες έρευνας για τη βιταμίνη D στα ψάρια, τα σημερινά επιστημονικά δεδομένα για τη λειτουργία της είναι σπάνια. Στα θερμόαιμα σπονδυλωτά, ωστόσο, είναι καλά τεκμηριωμένο ότι η βιταμίνη D και ο βιοχημικά ενεργός μεταβολίτης της, 1,25-διϋδροξύ-βιταμίνη D, είναι κρίσιμες για τη διατήρηση της σωστής ισορροπίας ασβεστίου και φωσφόρου και για την κινητοποίηση αυτών των ανοργάνων μετάλλων από τα οστά (Haussler 1986, Norman 1990). Στα ψάρια, αντιφατικά αποτελέσματα έχουν δημοσιευτεί για το ρόλο της βιταμίνης D στην ομοιοστασία του ασβεστίου και του φωσφόρου. Υπερασβεσταιμία προκαλούμενη από τη βιταμίνη D<sub>3</sub> έχει βρεθεί στο αρσενικό γατόψαρο (*Clarias batrachus*) (Swarup & Srivastav 1982, Swarup et al. 1984), στο χέλι (*Amphiprinos cuchia*) (Srivastav 1983), το Αμερικάνικο χέλι (*Anguilla rostrata*) (Fenwick et al. 1984) και τα αρσενικά κυπρινοειδή (*Cyprinus caprio*) (Swarup et al. 1991), ενώ παρόμοια επίδραση δεν παρατηρήθηκε στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) που της χορηγήθηκε περίσσεια βιταμίνης D<sub>3</sub> (Hilton & Ferguson 1982). Οι Rao και Raghuramulu (1999) σε μια πιο πρόσφατη μελέτη κατέληξαν ότι η βιταμίνη D<sub>3</sub> πιθανώς δεν παίζει κανένα ρόλο στο μεταβολισμό του ασβεστίου και του φωσφόρου στην τιλάπια (*Tilapia mossambica*).

Τα περισσότερα τελεόστεα έχουν μεγάλες αποθήκες βιταμίνης D<sub>3</sub> στο συκώτι και το λιπώδη ιστό και η βιταμίνη είναι αφθονότερη στα θαλασσινά είδη. Κατά συνέπεια, τα γεύματα και τα ηπατέλαια που παρασκευάζονται από ψάρια της θάλασσας περιέχουν υψηλά επίπεδα βιταμίνης D<sub>3</sub>. Παρόλο που οι ιχθυοτροφές και τα ιχθυέλαια συνεχίζουν να χρησιμοποιούνται εκτεταμένα σαν συστατικά σε εμπορικά χάπια ψαριών, λίγα είναι γνωστά για τις πιθανές τοξικές επιδράσεις στα ψάρια που τους χορηγούνται μεγάλες δόσεις βιταμίνης D. Μελέτες στον Ατλαντικό σολομό αναπαραγωγής (*Salmo salar*) υποδεικνύουν ότι αυτό το είδος σε αυτό το στάδιο είναι ανθεκτικό στην περίσσεια βιταμίνης D<sub>3</sub> (Horvli & Lie 1998), ενώ λίγες μελέτες έχουν εστιάσει στα πρώιμα στάδια της ζωής των ψαριών.

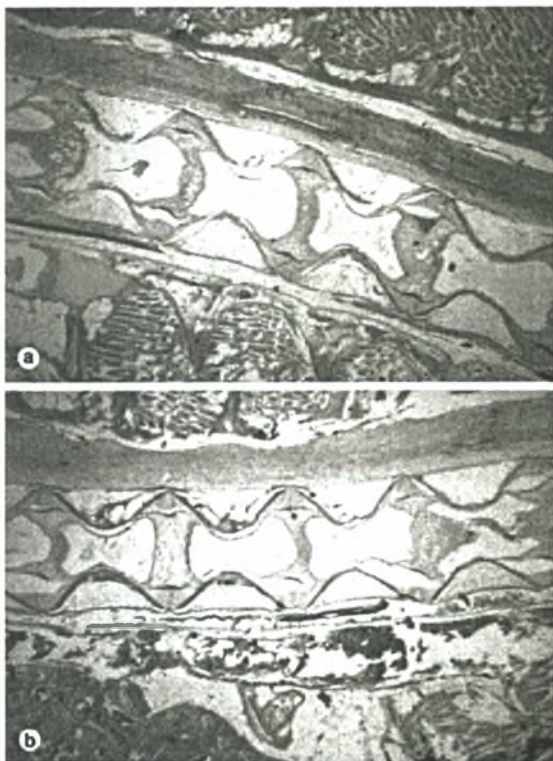
Ο Graff και οι συνεργάτες του (2002) πραγματοποίησαν μια μελέτη κατά την οποία χορηγήθηκαν σε Ατλαντικό σολομό (*Salmo salar L.*) σιτηρέσια βασισμένα στα ψάρια με τρία διαφορετικά επίπεδα βιταμίνης D<sub>3</sub> (0,2, 5 και 57mg βιταμίνης D<sub>3</sub>/kg σιτηρεσίου) σαν πρώτη τροφή για 14 εβδομάδες. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές στο βάρος,

το μήκος, τον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης, τη θνησιμότητα ή τη συγκέντρωση του ασβεστίου στα νεφρά μεταξύ των διαφορετικών ομάδων. Δεν αναφέρθηκαν σκελετικές δυσμορφίες ή ιστοπαθολογικές αλλαγές σε καμία ομάδα. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι ο Ατλαντικός σολομός είναι ιδιαίτερα ανθεκτικός στις μεγάλες δόσεις βιταμίνης D<sub>3</sub> για ένα περιορισμένο χρονικό διάστημα (Εικόνες 1-2).





**Εικόνα 1:** Μορφολογία της σπονδυλικής στήλης γόνων του Ατλαντικού σολομού: (a) γόνοι που έλαβαν σιτηρέσια υψηλής περιεκτικότητας σε βιταμίνη D<sub>3</sub> για 68 ημέρες και (b) γόνοι που έλαβαν σιτηρέσια χαμηλής περιεκτικότητας σε βιταμίνη D<sub>3</sub> για 68 ημέρες.



**Εικόνα 2:** Μικρογραφήματα των ενδιάμεσων τμημάτων της σπονδυλικής στήλης του γόνου του Ατλαντικού σολομού: (a) γόνοι στους οποίους χορηγήθηκαν σιτηρέσια χαμηλής περιεκτικότητας σε βιταμίνη D<sub>3</sub> για 104 ημέρες και (b) γόνοι στους οποίους χορηγήθηκαν σιτηρέσια υψηλής περιεκτικότητας σε βιταμίνη D<sub>3</sub> για 68 ημέρες.

### 3.2.1.3 ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε

Η βιταμίνη Ε παίζει σημαντικό ρόλο στην ανοσία των ψαριών, μιας και είναι ένα σημαντικό συστατικό της κυτταρικής μεμβράνης και έχει ένα σαφή ρόλο σαν αντιοξειδωτικό, ελέγχοντας την υπεροξειδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων. Σιτηρέσια με χαμηλή περιεκτικότητα σε βιταμίνη Ε έχει αναφερθεί ότι μειώνουν τη φαγοκύτωση των μακροφάγων και τη λειτουργία των Τ και Β λεμφοκυττάρων στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) κατά του *Yersinia ruckeri*, μειώνουν τη συμπληρωματική δράση στον Ατλαντικό σολομό, καταστρέφουν την αντίδραση των αντισωμάτων στην πέστροφα, μειώνουν τη θανατηφόρο βακτηριακή δράση των απομονωμένων νεφρικών μακροφάγων του

Ατλαντικού σολομού, μειώνουν τη λειτουργία των περιτονιακών μακροφάγων στο γατόψαρο των καναλιών και την εναλλακτική συμπληρωματική δράση στην τσιπούρα (*Sparus aurata*) (Montero et al., 1998).

Ωστόσο, παρόλο που υπάρχουν πολλές αποδείξεις ότι οι διατροφικές ανισορροπίες βιταμινών επηρεάζουν την αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος, υπάρχουν ελάχιστες μελέτες για τη σχέση μεταξύ των βιταμινών και των αντιδράσεων στην καταπόνηση των ψαριών (Davis et al., 1998), από τις οποίες οι περισσότερες εστιάζουν στο ρόλο της βιταμίνης C στην αντίδραση των ψαριών στην καταπόνηση (Ishibashi et al., 1992, Thompson et al., 1993, Henrique et. al., 1998), και μερικές εστιάζουν στο ρόλο της βιταμίνης E (Montero et al., 1999b).

Είναι γνωστό ότι διάφορες συνθήκες στις ιχθυοκαλλιέργειες προκαλούν μια αντίδραση καταπόνησης που χαρακτηρίζεται από την έκκριση ορμονών (κορτιζόλη και κατεχολαμίνες) με επακόλουθες φυσιολογικές αντιδράσεις όπως καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος και αυξημένη θνησιμότητα (Wedemeyer, 1997). Η υψηλή αποθηκευτική πυκνότητα έχει θεωρηθεί χρόνιος παράγοντας καταπόνησης των ιχθυοκαλλιεργειών προκαλώντας μια χρόνια ανύψωση της κορτιζόλης του πλάσματος. Οξείες φυσιολογικές αντιδράσεις είναι δυνατό να παρατηρηθούν όταν άλλοι παράγοντες καταπόνησης των ιχθυοκαλλιεργειών όπως η διακίνηση και ταξινόμηση λάβουν χώρα (Barton & Iwama, 1991). Η κορτιζόλη είναι το κύριο κορτικοστεροειδές στα ψάρια (Idler & Truscott, 1972) και χρησιμοποιείται σαν ένας γενικός δείκτης καταστάσεων καταπόνησης στα σπονδυλωτά και ιδιαίτερα στα ψάρια (Pickering & Pottinger, 1989).

Για το λόγο αυτό ο Montero και οι συνεργάτες του (2001) πραγματοποίησαν μια μελέτη για να ερευνήσουν την επίδραση της βιταμίνης E στα νεαρά άτομα της τσιπούρας κάτω από καταστάσεις καταπόνησης, εστιάζοντας στην επίδραση στην ανάπτυξη, την αιματολογία, κάποιες ανοσοποιητικές παραμέτρους και την κορτιζόλη του πλάσματος σαν δείκτες στρες. Δύο πειραματικά σιτηρέσια, εκ των οποίων το ένα περιείχε συμπλήρωμα 150 mg α-τοκοφερόλης/kg σιτηρεσίου (μάρτυρας) και ένα άλλο χωρίς συμπλήρωμα βιταμίνης E (σιτηρέσιο NE), δοκιμάστηκαν κάτω από δύο διαφορετικές στρεσογόνους καταστάσεις: συνωστισμός σαν χρόνιος παράγοντας καταπόνησης (κατά τη διάρκεια 15 εβδομάδων) και επαναληπτική καταδίωξη σαν έντονος επαναληπτικός παράγοντας καταπόνησης.

Χαμηλά επίπεδα βιταμίνης Ε στο σιτηρέσιο μείωσαν την εναλλακτική συμπληρωματική δράση [από 167,23 U/ml (ψάρι μάρτυρας) σε 100,99 U/ml] και τη μη εξειδικευμένη αιμοσυγκόλληση. Επίσης, τα ψάρια που τους χορηγήθηκαν σιτηρέσια χωρίς συμπληρώματα παρουσίασαν μια αύξηση των βασικών επιπέδων της κορτιζόλης του αίματος χωρίς την επίδραση παράγοντα καταπόνησης [από 3,91 ng κορτιζόλη/ml πλάσματος (ψάρι μάρτυρας) σε 21,70 ng κορτιζόλη/ml πλάσματος]. Χαμηλά επίπεδα βιταμίνης Ε στο σιτηρέσιο επίσης προκάλεσαν μια αύξηση στην ευθραυστότητα των ερυθροκυττάρων.

Κάτω από συνθήκες χρόνιας καταπόνησης, τα ψάρια στα οποία χορηγούνται σιτηρέσια ανεπαρκή σε βιταμίνη Ε παρουσίασαν μείωση στην ανάπτυξη και την επιβίωση και μεταβολές στις αιματολογικές παραμέτρους, όπως μια πρόσθετη αιμοσυμπύκνωση σαν αντίδραση στο συνωστισμό όταν συγκρίθηκαν με τα ψάρια μάρτυρες. Κάτω από επαναληπτική καταπόνηση, τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκε το ανεπαρκές σε βιταμίνη Ε σιτηρέσιο εμφάνισαν ταχύτερη αύξηση των επιπέδων κορτιζόλης του πλάσματος σαν αντίδραση στην καταπόνηση και ένα χαμηλότερο ρυθμό επιβίωσης σε σχέση με τα ψάρια μάρτυρες. Η παραγωγή ριζών οξυγόνου των ουδετερόφιλων κυττάρων του αίματος μειώθηκε κάτω από επαναληπτική καταπόνηση στα ψάρια του σιτηρεσίου που δεν περιείχε συμπληρώματα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι τα ψάρια που λάμβαναν σιτηρέσια ανεπαρκή σε βιταμίνη Ε είχαν μικρότερη αντίσταση στην καταπόνηση.

Ο Bell και οι συνεργάτες του (2000) χορήγησαν σε δύο πανομοιότυπες ομάδες Ατλαντικού σολομού μετά την περίοδο αναπαραγωγής τέσσερα σιτηρέσια τα οποία περιείχαν συμπληρώματα τόσο βιταμίνης Ε όσο και του καροτινοειδούς ασταξανθίνη (Ax) (+E, +Ax), ή συμπληρώματα μόνο βιταμίνης Ε ή μόνο Ax (-E, +Ax και +E, -Ax) ή σιτηρέσια ανεπαρκή τόσο σε βιταμίνη Ε όσο και σε ασταξανθίνη (-E, -Ax) για 22 εβδομάδες. Δεν υπήρξαν επιδράσεις του σιτηρεσίου στο ρυθμό ανάπτυξης, αλλά μια εκτεταμένη λιποειδής εκφυλιστική βλάβη στο συκώτι παρατηρήθηκε στο 15% των ψαριών που τους χορηγήθηκαν σιτηρέσια ανεπαρκή σε βιταμίνη Ε. Οι συγκεντρώσεις βιταμίνης Ε στους ιστούς ποίκιλαν σύμφωνα με τη βιταμίνη Ε του συκωτιού, των μυών, της καρδιάς, του πλάσματος, του εγκεφάλου και των ματιών. Τα επίπεδα μειώθηκαν περίπου 3% στο συκώτι αλλά μόνο στο 40% στα μάτια των ψαριών που τους χορηγήθηκαν σιτηρέσια ανεπαρκή σε βιταμίνη Ε σε σύγκριση με εκείνα που τους χορηγήθηκαν σιτηρέσια τα οποία

περιείχαν συμπληρώματα βιταμίνης E. Ανεπάρκεια τόσο βιταμίνης E όσο και ασταξανθίνης αύξησε σημαντικά την επανάκτηση ακόρεστων και επιμηκυμένων προϊόντων [ $1-^{14}\text{C}$ ] 18:3(n-3) και [ $1-^{14}\text{C}$ ] 20:5(n-3) σε απομονωμένα ηπατοκύτταρα, υποδηλώνοντας ότι η μετατροπή των λιπαρών οξέων στα ακόρεστα μακράς αλυσίδας προϊόντα τους μπορεί να διεγερθεί από μια ανεπάρκεια λιποδιαλυτών αντιοξειδωτικών. Η αντιοξειδωτική συνεργιστική δράση της βιταμίνης E και της ασταξανθίνης στηρίχθηκε από την ικανότητα τους να μειώνουν το σχηματισμό μαλονδιαλδεύδης σε μια *in vitro* διέγερση της μικροσωματικής λιπιδιακής υπεροξειδωσης και να μειώνουν τα επίπεδα 8-ισοπροστανής στο πλάσμα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι τόσο η βιταμίνη E όσο και το καροτινοειδές ασταξανθίνη έχουν αντιοξειδωτικές λειτουργίες στον Ατλαντικό σολομό.

#### 3.2.1.4 BITAMINH K

Η μόνη βιολογική λειτουργία της βιταμίνης K που ήταν γνωστή ήταν εκείνη ως συνένζυμο στην πήξη του αίματος. Πρόσφατα ωστόσο, αποκαλύφθηκε ένας σημαντικός ρόλος της βιταμίνης K στην υγιή ανάπτυξη των οστών των θηλαστικών (Vermeer et al., 1996). Μια ειδική υπολειμματική καρβοξυλίωση των πρωτεϊνών είναι γνωστή λειτουργία της βιταμίνης K και οι ασβεστοπρωτεΐνες όπως η οστεοκαλσίνη και η matrix-Gla πρωτεΐνη επίσης απαιτούν βιταμίνη K για την καρβοξυλίωση τους. Για το λόγο αυτό, η σημασία της βιταμίνης K στην ανάπτυξη των οστών των θηλαστικών έχει προκαλέσει το ενδιαφέρον πολλών μελετητών (Kohlmeier, 1996), ενώ δεν υπάρχουν αναφορές που σχετίζονται με την ανεπάρκεια βιταμίνης K στα οστά των ψαριών. Υπάρχουν μερικές αναφορές που σχετίζονται με τη βιταμίνη K στη διατροφή των ψαριών (Woodward, 1994). Όσον αφορά το γατόψαρο (*Ictalurus punctatus*), κανένα σύμπτωμα ανεπάρκειας βιταμίνης K δεν παρατηρήθηκε (Murai & Andrews, 1977). Από την άλλη πλευρά, ο Taveekijakarn και οι συνεργάτες του (1996) ανέφεραν ότι η θνησιμότητα της ασιατικής πέστροφας, (*Oncorhynchus rhodurus*) λόγω ανεπάρκειας βιταμίνης K έφτασε το 50%. Υπάρχει άλλη μια αναφορά ότι τα ψάρια επηρεάστηκαν από μια ανεπάρκεια βιταμίνης K κατά τη διάρκεια της περιόδου γέννησης (Udagawa & Hirose, 1998).

Μια ποικιλία φυσικών ενώσεων της βιταμίνης K είναι γνωστή συμπεριλαμβανομένης της φυλλοκινόνης (PK), η οποία είναι φυσικής προέλευσης, και των μενακουϊνονών (menaquinones) (MK), οι οποίες είναι βακτηριακής προέλευσης. Επιπλέον,

υπάρχει και η συνθετική βιταμίνη K και πολλά διαφορετικά παράγωγα της είναι διαθέσιμα. Έχουν την ίδια δομή ναφθοκινόνης αλλά διαφορετικές αλειφατικές πλευρικές αλυσίδες. Η μεναδιόνη χρησιμοποιείται γενικά στις ιχθυοτροφές σαν συμπληρωματικός παράγοντας της βιταμίνης K υπό τη μορφή ενός υδατοδιαλυτού παραγώγου του δισουλφιδικού νατρίου (MSB). Η μεναδιόνη, συνθετικό προϊόν της βιταμίνης K δεν είναι βιολογικά ενεργή από μόνη της. Η πλειοψηφία της μεναδιόνης που παραλαμβάνεται εκκρίνεται εύκολα στους αρουραίους (Losito et al., 1968), και μόνο ένα μέρος γίνεται αποτελεσματικό μετά από μετατροπή σε μια ενεργή μορφή, MK-4, στο συκώτι του αρουραίου (Taggard & Matschiner, 1969) και του μπακαλιάρου (Grahl-Madsen, 1997). Έτσι, στην πράξη, η MSB προστίθεται στην τροφή σε περίσσεια. Ωστόσο, έχει αναφερθεί ότι η μεναδιόνη και οι ανάλογες ενώσεις είναι τοξικές σε ορισμένα ζώα (ποντίκια, αρουραίοι, άλογα και άνθρωποι) και προκαλούν ανωμαλίες στο συκώτι, τα νεφρά και τους πνεύμονες, καθώς και αιμορραγία, αιμολυτική αναιμία, και άλλες φυσιολογικές ανωμαλίες. Στη φύση, τα ψάρια προσλαμβάνουν την PK και/ή τη MK-4 σαν πηγές βιταμίνης K και είναι επίσης γνωστό ότι οι PK και MK-4, ιδιαίτερα η PK, συσσωρεύονται σε διάφορα είδη ψαριού στο συκώτι σε σημαντικά υψηλές συγκεντρώσεις (Udagawa 1993, 1996, 1999).

Η επίδραση διαφορετικών δόσεων βιταμίνης K, είτε σαν φυλλοκινόνη, είτε σαν μεναδιόνη δισουλφιδικό νάτριο (MSB), στο σχηματισμό της σπονδυλικής στήλης κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του ψαριού, (*Fundulus heteroclitus*) μελετήθηκε (Udagawa, 2001). Σιτηρέσια χωρίς βιταμίνη K προκάλεσαν σημαντικά περισσότερα περιστατικά δυσμορφίας των οστών των ψαριών απ'ότι τα σιτηρέσια με συμπληρώματα MSB ή φυλλοκινόνης. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η βιταμίνη K είναι απαραίτητη στο (*F. Heteroclitus*). Μια μαζική δόση MSB προκάλεσε υψηλά ποσοστά δυσμορφίας των οστών παρά μια μικρότερη δόση, ενώ μια αυξημένη δόση φυλλοκινόνης δεν προκάλεσε σημαντική διαφορά στη δυσμορφία. Η δυσμορφία της σπονδυλικής στήλης ήταν σημαντικά υψηλότερη στα ψάρια που τους χορηγήθηκε σιτηρέσιο απαλλαγμένο βιταμίνης K (ομάδα μάρτυρας) και σιτηρέσιο με MSB σε σχέση με τα ψάρια που τους χορηγήθηκε σιτηρέσιο με φυλλοκινόνη (PK1). Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η φυλλοκινόνη είναι περισσότερο κατάλληλη από το MSB σαν πηγή βιταμίνης K στις ιχθυοτροφές.

Έχει προσδιοριστεί μια ομάδα ανταγωνιστών της βιταμίνης K, που είναι οι δικουμαρόλες. Πρόκειται για αιμοδιαλυτικές ουσίες που χρησιμοποιούνται συχνά ως



ποντικοφάρμακα και είναι δυνατόν να δηλητηριάσουν τα σιτηρέσια των ψαριών, όταν εφαρμόζονται στους χώρους αποθήκευσης αυτών. Τα δε συμπτώματα που προκαλούνται σε περίπτωση δηλητηρίασης των ψαριών από τις ουσίες αυτές, είναι παρόμοια με εκείνα που προκαλούνται από την έλλειψη της βιταμίνης Κ.

### 3.2.2 ΥΔΑΤΟΔΙΑΛΥΤΕΣ ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ

#### 3.2.2.1 ΘΕΙΑΜΙΝΗ (ΒΙΤΑΜΙΝΗ B<sub>1</sub>)

Η θειαμίνη είναι συνένζυμο πολλών απαραίτητων για τον καταβολισμό των υδατανθράκων ενζύμων. Είναι απαραίτητη για την πέψη, την αναπαραγωγή και την καλή λειτουργία του κεντρικού και του περιφερειακού νευρικού συστήματος.

Συμπτώματα από έλλειψη της βιταμίνης αυτής είναι δυνατόν να παρατηρηθούν λόγω παρουσίας στο σιτηρέσιο της θειαμινάσης, η οποία την καταστρέφει. Η συγκέντρωση της θειαμινάσης είναι υψηλή στους ιστούς ορισμένων ειδών ψαριών, ιδιαίτερα των κυπρινοειδών και των ψαριών της οικογένειας (*Clupeidae*) και όσον αφορά τα φυτά, σε ορισμένα είδη της οικογένειας των Ψυχανθών. Καλό είναι να αποφεύγεται η χρησιμοποίηση τέτοιων τροφών στο σιτηρέσιο.

Συμπτώματα από την έλλειψη θειαμίνης έχουν περιγραφεί σε πολλά θηλαστικά, πτηνά και ψάρια και φαίνεται ότι τα κλινικά και παθολογικά γνωρίσματα αυτών είναι παρόμοια στα διάφορα φύλα. Όσον αφορά τα ψάρια, καταστάσεις έλλειψης της βιταμίνης αυτής είναι συχνότερες στα σολομονοειδή και στα χέλια και λιγότερο συχνές, παραδόξως, σε είδη όπως οι κυπρίνοι, παρά το ότι το σιτηρέσιο αυτών είναι αναλογικά πλουσιότερο σε υδατάνθρακες, στο μεταβολισμό των οποίων η θειαμίνη παίζει σημαντικό ρόλο.

Τα κλινικά συμπτώματα που παρατηρούνται στα είδη αυτά από την έλλειψη της περιλαμβάνουν αλλαγή του χρωματισμού του δέρματος και αιμορραγίες στη βάση των πτερυγίων, με συχνότερο όμως σύμπτωμα την ευερεθιστικότητα, η οποία συνοδεύεται από παράλυση ή από παρεκκλίνουσα κολύμβηση (Roberts & Bullock, 1989).

Πρωτόκολλα που χρησιμοποιήθηκαν για θεραπευτικούς χειρισμούς με θειαμίνη για το Πρώιμο Σύνδρομο Θνησιμότητας (EMS) των σολομονοειδών μελετήθηκαν στην πέστροφα (*Salvelinus namaycush*) και το σολομό (*Oncorhynchus kisutch*) από τον Brown και τους συνεργάτες του (2005) για να εκτιμηθεί η δύναμη τους. Τουλάχιστον 500mg θειαμίνης HCl/H που προστέθηκαν σε λουτρά αυγών απαιτήθηκαν για να παραχθεί μια



παρατεινόμενη αύξηση της περιεκτικότητας σε θειαμίνη στα αυγά της πέστροφας. Η πρόσληψη θειαμίνης από τα λουτρά των αυγών δεν επηρεάστηκε από το pH που κυμαινόταν από 5,5 – 7,5 ή από σκληρότητα νερού της τάξης των 2 – 200 mg CaCO<sub>3</sub>/l. Παρατηρήθηκε φτωχότερη πρόσληψη θειαμίνης όταν τα αρχικά επίπεδα θειαμίνης ήταν χαμηλά υποδηλώνοντας ότι οι υπάρχουσες αγωγές μπορεί να μην είναι τόσο αποτελεσματικές όταν τα επίπεδα θειαμίνης μειώνονται σημαντικά και ότι υψηλότερες δόσεις επεξεργασίας είναι απαραίτητες. Έκθεση των αυγών στο περισσότερο λιποδιαλυτό ανάλογο θειαμίνης, τη βενφατιαμίνη (100 mg/l) μείωσε το EMS αλλά δεν παρήγαγε ανιχνεύσιμες αυξήσεις στην περιεκτικότητα των αυγών σε θειαμίνη. Παρόλο που η βενφατιαμίνη μπορεί να είναι αποτελεσματικότερη από τη θειαμίνη στο μετριασμό του EMS είναι ακριβότερη από τη θειαμίνη HCl ή την αλιθειαμίνη. Επιπλέον, είναι αναγκαία η πιο λεπτομερής εξέταση των σχέσεων δόσης-αντίδρασης. Η έρευνα κατέληξε στο ότι η αλιθειαμίνη είναι μια εναλλακτική στη χρήση της θειαμίνης στα λουτρά αυγών σαν θεραπευτικός χειρισμός για το EMS των σολομονοειδών.

Ένα σιτηρέσιο που περιέχει υψηλή αναλογία ρέγγας (*Alosa pseudoharengus*) έχει σαν αποτέλεσμα ανεπάρκεια θειαμίνης που έχει συσχετιστεί με υψηλή θνησιμότητα των λαρβών των σολομονοειδών, γνωστή σαν Πρώιμο Σύνδρομο Θνησιμότητας (EMS), αλλά σχετικά λίγα είναι γνωστά για την επίδραση της ανεπάρκειας στα ενήλικα άτομα. Ο Fitzsimons και οι συνεργάτες του (2005) χρησιμοποιώντας εμβόλια θειαμίνης (50 mg θειαμίνης/kg σωματικού βάρους) στον ανερχόμενο ενήλικο θηλυκό σολομό (*Oncorhynchus kisutch*) στο Platte River του Μίσιγκαν, ερεύνησαν τις επιδράσεις των συμπληρωμάτων θειαμίνης στη μετανάστευση, την επιβίωση των ενήλικων ατόμων και την κατάσταση της θειαμίνης. Οι συγκεντρώσεις σε θειαμίνη των αυγών, των μυών (ερυθρών και λευκών), της σπλήνας, του προνεφρού και του νεφρού και του ήπατος και η δραστηριότητα της τρανσκετολάσης του ήπατος, του προνεφρού και του νεφρού των ψαριών που εμβολιάστηκαν με θειαμίνη διαλυμένη σε φυσιολογικό αλατούχο διάλυμα (salin) (PST ή φυσιολογικό αλατούχο διάλυμα μόνο (PS) συγκρίθηκαν με εκείνα των ψαριών που δεν εμβολιάστηκαν. Ο εμβολιασμός δεν επηρέασε τον αριθμό των ψαριών που έκαναν την 15 χιλιόμετρων αντίθετα προς το ρεύμα μετανάστευση σε ένα ιχθυόφραγμα συλλογής, όπου η επιβίωση των PST εμβολιασμένων ψαριών ήταν σχεδόν διπλάσια του μάρτυρα. Οι συγκεντρώσεις θειαμίνης στα αυγά και το σκώτι των PS ψαριών που δειγματίστηκαν μετά

την αντίθετα προς το ρεύμα μετανάστευση ήταν σημαντικά χαμηλότερες από εκείνες των ψαριών που δεν εμβολιάστηκαν και που συλλέχθηκαν στο ιχθυόφραγμα στην κατεύθυνση του ρεύματος, αλλά οι συγκεντρώσεις θειαμίνης των λευκών μυών δεν διέφεραν μεταξύ των δύο ομάδων. Στο άνω ιχθυόφραγμα, τα επίπεδα θειαμίνης στο ήπαρ, τη σπλήνα, το πρνεφρό και το νεφρό των PS ψαριών ήταν δυσδιάκριτα από εκείνα των ψαριών που δεν εμβολιάστηκαν (wigglers) που έπασχαν από σοβαρή ανεπάρκεια και επεδείκνυαν μειωμένη ισορροπία, ένα στάδιο που προηγείται ολική απώλεια ισορροπίας και θάνατο. Για τα PST ψάρια που συλλέχθηκαν στο αντίθετα προς το ρεύμα ιχθυόφραγμα, τα επίπεδα ολικής θειαμίνης σε όλους τους ιστούς ήταν σημαντικά αυξημένα σε σχέση με εκείνα των PS ψαριών. Βασισμένη στον περιορισμένο αριθμό ιστών που εξετάστηκαν, η κατάσταση της θειαμίνης υποδεικνυόταν καλύτερα από τη δράση της τρανσκετολάσης. Η μέθοδος εμβολιασμού των ενήλικων ατόμων που χρησιμοποιήθηκε φαίνεται να είναι ένα περισσότερο αποτελεσματικό μέσο αύξησης των επιπέδων θειαμίνης των αυγών από την εμβάπτιση τους σε διάλυμα θειαμίνης.

#### 3.3.2.2 ΡΙΒΟΦΛΑΒΙΝΗ (ΒΙΤΑΜΙΝΗ B<sub>2</sub>)

Η ριβοφλαβίνη είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη η οποία είναι απαραίτητη σε όλα τα ζώα. Υπό τη μορφή δεσμευμένου συνενζύμου λειτουργεί σαν τα συνένζυμα φλαβίνη (μονονουκλεοτίδιο – FMN) και φλαβίνη-αδενίνη (δινουκλεοτίδιο – FAD), τα οποία συμμετέχουν σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής σε διάφορα μεταβολικά μονοπάτια και στην παραγωγή ενέργειας μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας. Κατά συνέπεια, μια έλλειψη ριβοφλαβίνης θα έβλαπτε τον ενεργειακό μεταβολισμό.

Παρόλο που η ριβοφλαβίνη είναι παρούσα σε πολλά συστατικά των ιχθυοτροφών, η ολική ενδογενής ριβοφλαβίνη των πρακτικών ιχθυοτροφών είναι κανονικά πολύ χαμηλή για να καλύψει τις ανάγκες των περισσότερων αν όχι όλων των ψαριών. Έτσι, η ριβοφλαβίνη προστίθεται στις ιχθυοτροφές υπό τη μορφή ξηράς σκόνης σε ένα βιταμινούχο έτοιμο μίγμα (NRC, 1993). Στα ψάρια, τα συνήθη σημάδια ανεπάρκειας ριβοφλαβίνης είναι η φτωχή ανάπτυξη και η ανορεξία. Άλλα ειδικά σημάδια ανεπάρκειας, όπως υψηλή θνησιμότητα, ασυντόνιστο κολύμπι, φωτοφοβία, καταρράκτης και σκούρα χρώση της επιδερμίδας, έχουν αναφερθεί σε διάφορα είδη ψαριών (NRC, 1993).

Μια δοκιμή 8 εβδομάδων πραγματοποιήθηκε από τους Deng και Wilson (2003) για την εκτίμηση των απαιτήσεων σε ριβοφλαβίνη των νεαρών ατόμων της πέρκας (*Morone chrysops* ♀) x (*Morone saxatilis* ♂) ή sunshine bass. Επτά σιτηρέσια (350g πρωτεΐνης και 3480 kcal διαθέσιμης ενέργειας/kg ξηρού σιτηρεσίου) σχηματοποιήθηκαν για να περιέχουν 1,37, 3,45, 4,72, 6,60, 8,43, 9,97 και 1232 mg ριβοφλαβίνης/kg ξηρού σιτηρεσίου. Κάθε σιτηρέσιο τυχαία κατανεμήθηκε σε 3 ομάδες ψαριών. Τα ψάρια διατηρήθηκαν σε ενυδρεία συνεχούς ροής (110 l/δεξαμενή) σε θερμοκρασία νερού  $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  με 20 ψάρια στην καθεμία ( $1,94 \pm 0,02\text{g}$ ). Τα ψάρια ταΐζονταν δύο φορές την ημέρα μέχρι φαινομενικού κορεσμού. Τα ψάρια στα οποία χορηγούνταν σιτηρέσιο με 1,37mg ριβοφλαβίνη/kg ξηρού σιτηρεσίου επέδειξαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας, μικρότερη αύξηση βάρους, χαμηλότερη αξιοποίηση της τροφής και μικρότερη δραστηριότητα της ηπατικής D-αμινοοξειδάσης (D-AAO) σε σχέση με τα ψάρια που τους χορηγούνταν τα υπόλοιπα σιτηρέσια. Τα ψάρια με ανεπάρκεια ριβοφλαβίνης επέδειξαν ανορεξία, σκοτεινό χρωματισμό σώματος και καταρράκτη. Επίπεδα ριβοφλαβίνης 3,45mg/kg ξηρού σιτηρεσίου ήταν επαρκή για να αποτρέψουν τα συμπτώματα ανεπάρκειας. Υψηλότερα επίπεδα ριβοφλαβίνης, ωστόσο, ήταν απαραίτητα για να επιτευχθεί μέγιστη αύξηση βάρους και δράση της D-AAO. Οι απαιτήσεις σε ριβοφλαβίνη για μέγιστη αύξηση βάρους και δράση της D-AAO καθορίστηκαν στα 4,1 και 5,0mg/kg ξηρού σιτηρεσίου, αντίστοιχα.

### 3.2.2.3 ΠΥΡΙΔΟΞΙΝΗ (ΒΙΤΑΜΙΝΗ B<sub>6</sub>)

Η πυριδοξίνη εμπλέκεται σε πολλές αντιδράσεις αποκαρβοξυλίωσης και τρανσαμίνωσης και συνεπώς είναι άκρως σημαντική για τα ψάρια, των οποίων η ταχεία ανάπτυξη συνεπάγεται τον καταβολισμό και τον αναβολισμό μεγάλων ποσοτήτων πρωτεϊνών. Ακόμα, παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό της τρυπτοφάνης, στη χρησιμοποίηση του γλουταμινικού οξέος, της λυσίνης, της μεθειονίνης και της ιστιδίνης και είναι ιδιαίτερα σημαντική για το μεταβολισμό των απαραίτητων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Τέλος, λαμβάνει μέρος στη σύνθεση του μεταφορικού RNA, μέσω του οποίου οι γενετικές πληροφορίες μεταφέρονται στην πολυπεπτιδική σύνθεση (Halver, 1995).

Η βιταμίνη αυτή είναι ευρέως διαδεδομένη στους ζυμομύκητες, στους σπόρους των δημητριακών και στους ζωικούς ιστούς. Καθώς οι τροφές αυτές χρησιμοποιούνται ευρέως στα σιτηρέσια των ψαριών, είναι μικρή η πιθανότητα το παρεχόμενο σιτηρέσιο να

είναι ελλιπές στη βιταμίνη αυτή. Μειονέκτημά της όμως, είναι η ευαισθησία της στην υπερϊώδη ακτινοβολία, υπό την επίδραση της οποίας μετουσιώνεται.

Η ποιότητα των φιλέτων ψαριού επηρεάζεται από την ποιότητα των ιχθυοτροφών. Πιο συγκεκριμένα, η διαθεσιμότητα της βιταμίνης B<sub>6</sub> βελτιώνει το ρυθμό ανάπτυξης και τη διατροφική αξία, γιατί σχετίζεται με το μεταβολισμό των πρωτεϊνών και των λιπιδίων. Μια μελέτη της Maranest και των συνεργατών της (2005) ερευνά την επίδραση των αυξανόμενων ποσών βιταμίνης B<sub>6</sub> στην ανάπτυξη, τη σύσταση των λιπαρών οξέων και την υπεροξειδωση των λιπιδίων του μυϊκού ιστού της πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*). Τέσσερις όμοιες ομάδες πέστροφας μέσου αρχικού βάρους 110g σιτίστηκαν με σιτηρέσια που περιείχαν συμπληρώματα τεσσάρων διαφορετικών ποσοτήτων βιταμίνης B<sub>6</sub> (0, 10, 25 και 50 mg/kg σιτηρέσιου). Κατά την πειραματική περίοδο δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές στην αύξηση του βάρους και την πρόσληψη τροφής, καθώς η συγκέντρωση σε βιταμίνη B<sub>6</sub> των μυών επηρεάστηκε από τη διατροφική πρόσληψη, παρόλο που η αύξηση της δεν ήταν ανάλογη της συγκέντρωσης στα σιτηρέσια. Η σύσταση των λιπαρών οξέων στα λιπίδια των μυών παρουσίασαν διαφορές μεταξύ των τεσσάρων ομάδων. Το ποσοστό των ακόρεστων λιπαρών οξέων με μακριές αλυσίδες, ιδιαίτερα το εικοσαδωαεαενοϊκό οξύ, αυξήθηκε σημαντικά στις ομάδες που περιείχαν συμπληρώματα βιταμίνης B<sub>6</sub>. Ωστόσο, παρά το αυξημένο περιεχόμενο σε ακόρεστα λιπαρά οξέα, οι παράμετροι της λιπιδιακής υπεροξειδωσης, όπως η περιεκτικότητα σε βιταμίνη E, η παραγωγή μαλονδιαλδεΐδης, οι ενεργότητες της ρεδοκτάσης της γλουταθειόνης και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης δεν παρουσίασαν σημαντικές αλλαγές, που σημαίνει ότι το υψηλότερο επίπεδο ακόρεστων λιπαρών οξέων με μακριές αλυσίδες δεν αύξησε την ευαισθησία των μυών στην οξειδωτική καταπόνηση

#### 3.2.2.4 ΠΑΝΤΟΘΕΝΙΚΟ ΟΞΥ

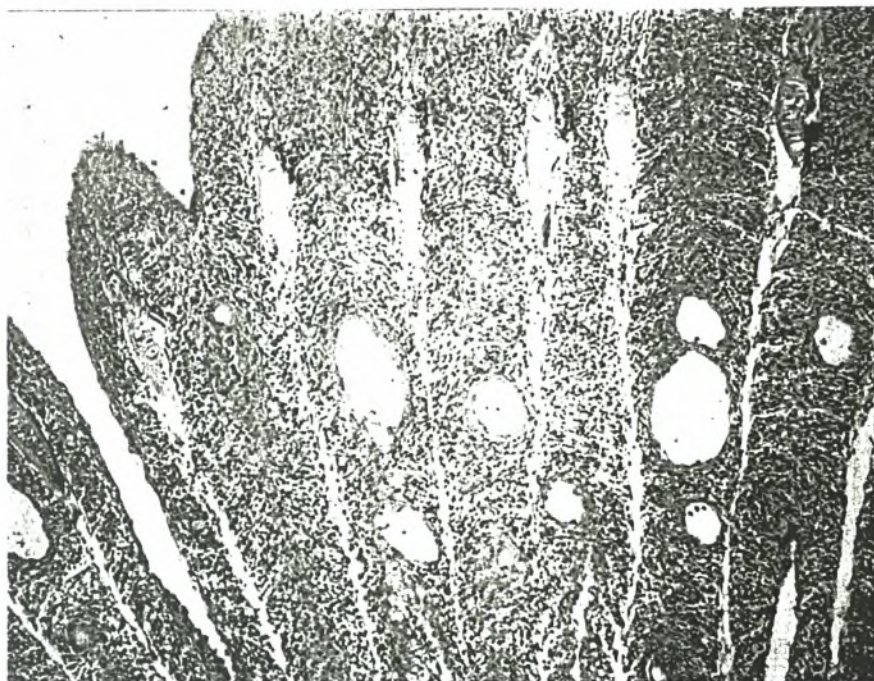
Το παντοθενικό οξύ εμπλέκεται στις αντιδράσεις ακετυλίωσης του μεταβολισμού των λιπών και των υδατανθράκων, καθώς και στις αντιδράσεις συμπύκνωσης κατά το σχηματισμό των ιστών. Ακόμη, παίζει σημαντικό ρόλο στην καλή ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος.

Όπως υπαινίσσεται και το όνομα του, το παντοθενικό οξύ είναι ευρέως διαδεδομένο στις τροφές. Παρά το γεγονός αυτό όμως, δεν είναι απίθανο να παρατηρηθούν



συναφείς ανεπάρκειες στα ψάρια. Μάλιστα σε νεαρής ηλικίας άτομα, παρουσιάζονται συμπτώματα έλλειψης αυτού, συχνότερα από οποιασδήποτε βιταμίνης του συμπλέγματος Β (Roberts, 1989).

Η έλλειψή του στην τροφή προκαλεί ανορεξία, καθώς και ανάπτυξη υπερπλασίας στα πρωτογενή ελάσματα των βραγχίων, που συνοδεύεται από πληκτροδακτυλία των δευτερογενών ελασμάτων. Η υπερπλασία των ελασμάτων εξαπλώνεται βαθμιαία από την αρχική της εντόπιση στην περιφέρεια των πρωτογενών ελασμάτων και η εξάπλωσή της αυτή, προηγείται ή και συμπίπτει με την εκδήλωση ανορεξίας (Εικόνα 3). Η υπερπλασία των ελασμάτων, συνοδευόμενη από υπερβολική έκκριση βλέννας, καταλήγει συχνά, σε δευτερογενή μόλυνση από μυξοβακτήρια. Η μόλυνση αυτή όμως, δεν πρέπει να συγχέεται με τη μυξοβακτηριακής φύσεως ασθένεια των βραγχίων, η οποία αποτελεί πολλαπλασιαστική αντίδραση στην πρωτογενή μυξοβακτηριακή μόλυνση και η οποία καθόλου δεν σχετίζεται με την έλλειψη παντοθενικού οξέος (Roberts, 1989).



**Εικόνα 3:** Βράγγιο πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) στην οποία παρασχέθηκε ελλιπές σε παντοθενικό οξύ πειραματικό σιτηρέσιο. Παρατηρείται σοβαρή υπερπλασία των πρωτογενών ελασμάτων και συγχώνευση των αναπνευστικών περιοχών των δευτερογενών ελασμάτων.

Σε περίπτωση υφιστάμενης επί μακρῶ ἔλλειψης παντοθενικού οξέος, παρατηρείται διάβρωση των πτερυγίων, των μουστακίων και της εξωτερικής επιφάνειας του σώματος των ψαριών, καθώς και αναιμία. Τα συμπτώματα αυτά ὅμως, είναι δυνατόν να συνδέονται είτε με την παρατηρούμενη ανορεξία είτε με αυτή καθεαυτή την ἔλλειψη παντοθενικού οξέος. Με την προϋπόθεση ὅτι οι αλλοιώσεις δεν είναι ἄκρως σοβαρές, είναι δυνατόν, με την κάλυψη των αναγκῶν σε παντοθενικό οξύ, τα ψάρια να θεραπευτοῦν.

Οι Boonyaratpalin και Wanakowat (1993) μελέτησαν την επίδραση της απουσίας παντοθενικού οξέος ἀπὸ το σιτηρέσιο νεαρῶν ἀτόμων, μέσου βάρους 1,2 g, του λαβρακιῦ της Ταϊλάνδης (*Later calcarifer*), που αποτελεί το σημαντικότερο, ἀπὸ οικονομική ἀποψη, εκτρεφόμενο εἶδος ψαριῦ στη χώρα αυτή, διενεργώντας πείραμα διάρκειας 16 εβδομάδων. Μετά την 4<sup>η</sup> εβδομάδα αὐτοῦ του στερητικῦ σε παντοθενικό οξύ πειράματος, τα ἄτομα χωρίστηκαν σε 2 ομάδες, ἐκ των οποίων ἡ μία συνέχισε να λαμβάνει το ἴδιο σιτηρέσιο, ἐνῶ ἡ ἄλλη ἔλαβε πλήρες βιταμινῶν σιτηρέσιο, μέχρι το τέλος του πειράματος. Μέσα σε 2 εβδομάδες ἀπὸ την ἔναρξη του πειράματος, παρατηρήθηκαν συμπτώματα ὅπως σκούρος χρωματισμός του δέρματος, ανορεξία, ἀπώλεια ἰσορροπίας κατὰ την κολύμβηση, αιμορραγία στα βραγχικά επικαλύμματα, διάβρωση των κοιλιακῶν πτερυγίων, στρέβλωση των βραγχίων και υψηλή θνησιμότητα. Τα ἄτομα ὅμως, που μετὰ την 4<sup>η</sup> εβδομάδα ἔλαβαν πλήρες βιταμινῶν σιτηρέσιο ἀνάρρωσαν ταχέως και οι θάνατοι εξαλείφθηκαν.

Ο Masutomo και οι συνεργάτες του (1993) μελέτησαν την επίδραση ἐλλειπῶς σε π καταπόνηση ἀντοθενικό οξύ σιτηρεσίου (1,3 mg/kg σιτηρεσίου), σε ἄτομα μέσου βάρους 150 g, της πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*), με πείραμα που διήρκεσε 28 εβδομάδες. Τα κλινικά συμπτώματα που παρατηρήθηκαν στο τέλος του πειράματος αὐτοῦ ἦταν μειωμένη ἀνάπτυξη, ανορεξία και υπερπλασία των βραγχίων. Αρχικά, ἀνωμάλως πολλαπλασιαζόμενα ἐπιθηλιακά κύτταρα γέμισαν το μεταξύ των ελασμάτων κενό, δίνοντας στα βράγχια μία στρεβλωμένη ὄψη. Ἀκολούθως, ἄρχισαν να σχηματίζονται στη βάση των ελασμάτων υπερπλαστικά κύτταρα και ἔτσι ἡ υπερπλασία προχώρησε προς τα βραγχιακά τόξα. Ἡ βλάβη αὐτή των βραγχίων ὅμως, δεν ἐπηρέασε σημαντικά την ἰκανότητα της ὠσμωτικής ρύθμισης των ψαριῶν, ὅπως ἀποδείχθηκε κατόπιν υποβολῆς αὐτῶν σε ἀκόλουθη δοκιμασία παραμονῆς τους σε αλμυρό νερό ἐπὶ 24 ὥρες. Κανένα ἀπὸ τα προαναφερθέντα συμπτώματα δεν ἐκδηλώθηκε σε ἄτομα που λάμβαναν 36 mg παντοθενικού οξέος/kg σιτηρεσίου.



### 3.2.2..5 ΙΝΟΣΙΤΟΛΗ

Η ινοσιτόλη (μυο-ινοσιτόλη) είναι ευρέως διαδεδομένη στα φυτά και τα ζώα, κυρίως σαν δομικό συστατικό των βιολογικών μεμβρανών στη φωσφολιπιδιακή μορφή. Οι βιοχημικές λειτουργίες της φωσφατιδυλ ινοσιτόλης περιλαμβάνουν τη μεσολάβηση των κυτταρικών αντιδράσεων στα εξωτερικά ερεθίσματα, τη νευρική μεταβίβαση και τη ρύθμιση της ενζυμικής δράσης μέσω ειδικών αλληλεπιδράσεων με διάφορες πρωτεΐνες (Chang et al., 2001).

Η ανεπάρκεια ινοσιτόλης προκαλεί αλοπεκία, καθυστέρηση της ανάπτυξης και λιποδυστροφία χαρακτηριζόμενη από ανώμαλη λιπιδιακή συσσώρευση στο συκώτι και/ή το λεπτό έντερο, συνοδευόμενη από υπολιποπρωτεϊναιμία, αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης και τριακυλ-γλυκερολών αλλά μειωμένα ποσά ολικών φωσφολιπιδίων, φωσφατιδυλοχολίνης, φωσφατιδυλαιθανολαμίνης και φωσφατιδυλ ινοσιτόλης (Chu & Hegsted 1980, Chu & Geyler 1981, 1983, Holub 1986).

Στα ψάρια, τα διατροφικά στοιχεία υποδεικνύουν ότι η μεταβολική σύνθεση ινοσιτόλης λαμβάνει χώρα σε κάποιο βαθμό στο συκώτι, τα νεφρά και άλλους ιστούς (Aoe & Masuda 1967, Burtle & Lovell 1988, Deng et al. 2002). Για κάποια είδη ψαριών, ωστόσο, η εξ αρχής σύνθεση είναι ανεπαρκής για την κάλυψη των μεταβολικών τους αναγκών και, κατά συνέπεια, απαιτούν μια εξωγενή πηγή αυτής της βιταμίνης. Φτωχή ανάπτυξη, ανορεξία, διάβρωση των πτερυγίων, σκοτεινός χρωματισμός του δέρματος, αργή γαστρική κένωση και μειωμένη δράση της χολινεστεράσης και της αμινοτρανσφεράσης παρατηρήθηκαν στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), τον chinook σολομό, τον κοινό κυπρίνο, το φαγκρί, το πλατύσαρο και το Ιαπωνικό χέλι, στα οποία χορηγήθηκε ανεπαρκές σε ινοσιτόλη σιτηρέσιο (McLaren et al. 1947, Halver 1953, Aoe and Masuda 1967, Kitamura et al. 1967, Yone et al. 1971, Arai et al. 1972). Οι καταγεγραμμένες ποσοτικές απαιτήσεις ινοσιτόλης γι'αυτά τα είδη κυμαίνονται από 250 έως 500 mg/kg σιτηρεσίου (NRC, 1993). Άλλα είδη ψαριών, όπως το γατόψαρο των καναλιών, το ασιατικό λαβράκι και το sunshine bass δεν χρειάζονται συμπληρώματα ινοσιτόλης για κανονική ανάπτυξη και εξέλιξη (Burtle & Lovell 1988, Boonyaratpalin & Wanakowat 1993, Deng et al. 2002). Οι Burtle και Lovell (1988) και ο Deng και οι συνεργάτες του (2002) έδειξαν ότι η εξ αρχής σύνθεση ινοσιτόλης ήταν επαρκής για την κανονική ανάπτυξη του γατόψαρου των καναλιών και της πέρκας (*Morone chrysops*♀) x (*Morone saxatilis*♂). Αυτοί υπέδειξαν ότι

η σύνθεση της ινοσιτόλης από τους μικροοργανισμούς στο πεπτικό σύστημα ήταν ασήμαντη πηγή αυτής της βιταμίνης (Burtle & Lovell 1988, Deng et al. 2002).

Ένα αναπτυξιακό πείραμα 8 εβδομάδων πραγματοποιήθηκε από τους Shiau και Su (2005) για να εκτιμήσουν τις απαιτήσεις μυο-ινοσιτόλης για τα νεαρά άτομα της υβριδικής τιλάπιας. Συμπληρώματα MI 0, 150, 250, 350, 450, 600 και 1200 mg/kg σιτηρεσίου προστέθηκαν στο βασικό σιτηρέσιο παρέχοντας 0, 167, 259, 367, 479, 612 και 1253 mg MI/kg σιτηρεσίου. Βασικό σιτηρέσιο χωρίς MI αλλά με σουξινυλσουλφαθιαζόλη (succinylsulphathiazole) για να εμποδίσει τη σύνθεση MI από εντερικά βακτήρια συμπεριλήφθηκε για σύγκριση. Κάθε σιτηρέσιο χορηγήθηκε σε τρεις πανομοιότυπες ομάδες τιλάπια (μέσο αρχικό βάρος  $0,51 \pm 0,01$  g). Τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκαν σιτηρέσια με  $MI \geq 367$  mg παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερη αύξηση βάρους και ακολουθούσαν τα ψάρια του σιτηρεσίου των 259 mg MI/kg, ενώ τη χαμηλότερη αύξηση βάρους παρουσίασαν τα ψάρια που τους χορηγήθηκε το βασικό σιτηρέσιο χωρίς MI. Τα ψάρια που τους χορηγήθηκε  $MI \geq 367$  mg/kg σιτηρεσίου επέδειξαν υψηλότερη αξιοποίηση της τροφής σε σχέση με τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκε το βασικό σιτηρέσιο. Η παροχή συμπληρωμάτων ινοσιτόλης δεν επηρέασε την επιβίωση της τιλάπιας. Οι συγκεντρώσεις MI στο συκώτι ήταν οι υψηλότερες στα ψάρια που έλαβαν  $\geq 479$  mg MI/kg σιτηρεσίου και ακολουθούσαν τα ψάρια των σιτηρεσίων που περιείχαν 259 και 167 mg MI/kg, ενώ οι ελάχιστες παρατηρήθηκαν στα ψάρια του βασικού σιτηρεσίου. Η συγκέντρωση των ηπατικών λιπιδίων ήταν υψηλότερη στα ψάρια του σιτηρεσίου των 367 mg MI/kg παρά στα ψάρια των 259 mg MI/kg σιτηρεσίου. Το ποσοστό αύξησης βάρους και οι συγκεντρώσεις MI στο συκώτι για τα διαφορετικά σιτηρέσια αναλύθηκαν και εξήχθη το συμπέρασμα ότι οι απαιτήσεις σε MI για την αναπτυσσόμενη τιλάπια είναι περίπου 400 mg/kg σιτηρεσίου. Η προσθήκη αντιβιοτικού στο βασικό σιτηρέσιο δεν επηρέασε την ανάπτυξη και τη συγκέντρωση της ηπατικής ινοσιτόλης της τιλάπιας, υποδηλώνοντας ότι η εντερική μικροβιακή σύνθεση δεν ήταν σημαντική πηγή ινοσιτόλης για την τιλάπια.

Η Peres και οι συνεργάτες της (2004) πραγματοποίησαν μια μελέτη για να καθορίσουν την επίδραση των διαιτητικών επιπέδων ινοσιτόλης στην ανάπτυξη, την αξιοποίηση της τροφής, τις ανοσοποιητικές αντιδράσεις και την αντίσταση της τιλάπιας (*Tilapia niloticus*) στην προσβολή από το (*Streptococcus iniae*). Έξι ισοαζωτούχα (38% ακατέργαστη πρωτεΐνη), ισοθερμιδικά (3300 kcal DE/kg) σιτηρέσια, τα οποία περιείχαν

συμπληρώματα με διαβαθμισμένα επίπεδα ινοσιτόλης (0, 50, 100, 200, 400 ή 800 mg/kg σιτηρεσίου) χορηγήθηκαν σε νεαρά άτομα τιλάπιας μέσου βάρους  $5,8 \pm 0,1$  g σε τρία ίδια ενυδρεία δύο φορές την ημέρα σε φαινομενικό κορεσμό για 10 εβδομάδες. Η χρήση συμπληρωμάτων ινοσιτόλης δεν είχε καμία επίδραση στην τελική αύξηση βάρους, την πρόσληψη τροφής, την αξιοποίηση της τροφής και την επιβίωση. Επίσης, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στις μετρήσεις των ολικών κυττάρων και των ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων καθώς και τον αιματοκρίτη και της αιμογλοβίνης του πλάσματος. Ο ηπατοσωματικός δείκτης δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τα χρησιμοποιούμενα σιτηρέσια. Τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκε το σιτηρέσιο των 800 mg ινοσιτόλης επέδειξαν σημαντικά χαμηλότερο λιπιδιακό περιεχόμενο στους μύες σε σχέση με τα ψάρια των 200 mg ινοσιτόλης ή λιγότερο, αλλά αυτές οι τιμές δεν διέφεραν για τα ψάρια των 400 mg ινοσιτόλης. Η περιεκτικότητα των ηπατικών λιπιδίων μειώθηκε σημαντικά όταν η ινοσιτόλη αυξήθηκε στα 100 mg/kg σιτηρεσίου ή περισσότερο. Η δραστηριότητα της λυσοζύμης του πλάσματος και η ισχύς των αντισωμάτων στο (*S. iniae*) δεν επηρεάστηκαν από τα συμπληρώματα ινοσιτόλης. Η αθροιστική θνησιμότητα μετά από 14 ημέρες άμυνας κατά του (*S. iniae*) επίσης δεν επηρεάστηκε από τα επίπεδα της ινοσιτόλης. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης υποδεικνύουν ότι τα νεαρά άτομα της τιλάπιας δεν χρειάζονταν εξωγενή πηγή ινοσιτόλης για να επιτευχθεί φυσιολογική ανάπτυξη, αξιοποίηση της τροφής και ερυθροποίηση. Η χρήση συμπληρωμάτων ινοσιτόλης δεν επηρέασε τη βελτίωση της αντίστασης της τιλάπιας στο (*S. iniae*). Ωστόσο, τα συμπληρώματα ινοσιτόλης στα σιτηρέσια είναι απαραίτητα για να αποτρέψουν τη λιποτροφική επίδραση της ανεπάρκειας ινοσιτόλης.

#### 3.2.2.6 ΝΙΑΣΙΝΗ

Η νιασίνη εμπλέκεται στις λειτουργίες των συνενζύμων NAD και NADP, καθώς και στις αφυδρογονώσεις των αλκοολών, της γλυκόζης και διαφόρων οξέων, όπως το γαλακτικό, το μηλικό, το γλουταμινικό, το τριφωσφορικό και το εξαφωσφορικό (Halver, 1995). Η μετατροπή της τρυπτοφάνης σε νιασίνη είναι περιορισμένη στα ψάρια και η νιασίνη πρέπει να χορηγείται για να αποφευχθεί η ανεπάρκεια και η προβληματική ανάπτυξη (Halver 1989, Chuang 1991, Ng, Serrini, Zhang & Wilson 1997).

Σε πειράματα που διεξήχθησαν σε κυπρινοειδή, σε γατόψαρα και σε χέλια, οι εντοπισθείσες σε πολλά μέρη του σώματος αιμορραγίες αποδόθηκαν σε έλλειψη νιασίνης στο σιτηρέσιο. Στην αιτία αυτή αποδόθηκαν και οι μυϊκοί σπασμοί και το οίδημα του γαστρικού βλεννογόνου που παρατηρήθηκαν σε άλλα πειράματα σε σολομονοειδή (Halver, 1989). Ωστόσο, οι συνηθέστερες αλλοιώσεις που συνδέονται κλινικά με την έλλειψη νιασίνης στο σιτηρέσιο, περιλαμβάνουν ποικίλες δερματώσεις, συνηθέστερη και σημαντικότερη των οποίων θεωρείται η προδιάθεση που η έλλειψη αυτή δημιουργεί προς διάβρωση της επιδερμίδας στην περιοχή της ράχης, κατόπιν υπεριώδους ακτινοβόλησής της. Η κατάσταση αυτή ονομάστηκε από τους ερευνητές «ξεφλούδισμα της ράχης» (back-peel).

Μία αναπτυξιακή μελέτη συντάχθηκε από τους Mohamed και Ibrahim (2001) για να καθορίσουν τις απαιτήσεις σε νιασίνη των ιχθυδίων του γατόψαρου, (*Heteropneustes fossilis*) (Bloch) (μέσο βάρος  $9,41 \pm 0,18$  g). Σιτηρέσια με πέντε διαφορετικά συμπληρώματα νιασίνης (0, 5, 10, 20 και 40 mg/kg σιτηρεσίου) χορηγήθηκαν στο (*H. fossilis*) για 15 εβδομάδες. Κάθε σιτηρέσιο χορηγήθηκε σε τρεις πανομοιότυπες ομάδες ψαριών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μεγαλύτερη αύξηση βάρους παρατηρήθηκε στα ψάρια που έλαβαν σιτηρέσιο με 20 mg νιασίνης/kg και ακολουθούσαν τα ψάρια που έλαβαν τα σιτηρέσια των 40, 10 και 5 mg νιασίνης/kg, ενώ η χαμηλότερη αύξηση βάρους παρατηρήθηκε στα ψάρια στα οποία δεν χορηγήθηκε συμπλήρωμα νιασίνης. Ανάλογη συμπεριφορά επέδειξαν τα μοντέλα του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR) και το συντελεστή αξιοποίησης της πρωτεΐνης (PER). Η επιβίωση των ψαριών τα οποία δεν έλαβαν συμπληρώματα νιασίνης και εκείνων που τους χορηγήθηκαν συμπληρώματα ήταν 58% και 91 –100% αντίστοιχα. Συμπτώματα ανεπάρκειας νιασίνης όπως, ανορεξία, λήθαργος και αιμορραγία του δέρματος παρατηρήθηκαν στα ψάρια τα οποία δεν έλαβαν συμπληρώματα νιασίνης. Οι ηπατοσωματικοί δείκτες (HSI) των ψαριών όλων των σιτηρεσίων δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους. Τόσο η σωματική πρωτεΐνη όσο και τα σωματικά λιπίδια ήταν υψηλότερα στα ψάρια που τους χορηγήθηκαν συμπληρώματα νιασίνης 20 και 40 mg, αντίστοιχα, απ'ότι εκείνα τα ψάρια που τους χορηγήθηκαν τα υπόλοιπα σιτηρέσια. Η περιεκτικότητα της νιασίνης στο συκώτι αντικατόπτριζε το επίπεδο του συμπληρώματος στο σιτηρέσιο και κυμαινόταν από 29,11 έως 40,31 mg/g ιστού. Η σχετική περιεκτικότητα της ηπατικής νιασίνης για την ανάπτυξη ήταν περίπου 47 mg/g

ιστού. Η ανάλυση των στοιχείων του πειράματος έδειξε ότι οι απαιτήσεις σε νιασίνη για μέγιστη ανάπτυξη του (*H. fossilis*) κάτω από αυτές τις πειραματικές συνθήκες ήταν περίπου 25 mg/kg σιτηρεσίου.

### 3.2.2.7 BIOTINΗ

Η βιοτίνη εμπλέκεται στην καρβοξυλίωση και την αποκαρβοξυλίωση του τρικαρβοξυλικού οξέος, στην απαμίνωση και τη βιοσύνθεση της κιτρουλίνης, στην κατά τη σύνθεση των λιπαρών οξέων μετατροπή των πολυακόρεστων στη σταθερή –cis μορφή και τέλος, στη σύνθεση της αργινίνης των πυριμιδινών (Halver, 1995).

Επειδή η βιοτίνη είναι συνένζυμο ιδιαίτερης σημασίας για πολλές φάσεις του μεταβολισμού των υδατανθράκων και των λιπών. Είναι ευρέως διαδεδομένη μεταξύ των τροφών που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ψαριών. Επίσης, συντίθεται από τα βακτήρια που βρίσκονται στο έντερο των ψαριών. Για τους λόγους αυτούς, σπάνια συναντάται έλλειψη της.

Σε πειράματα που διεξήχθησαν σε είδη της οικογένειας των σολομονοειδών, η απουσία αυτής από το χορηγηθέν σιτηρέσιο αποδείχτηκε υπεύθυνη για τη διαπιστούμενη μείωση της ανάπτυξης και της μετατρεψιμότητας της τροφής, για τον παρατηρηθέντα σκούρο χρωματισμό του δέρματος, για την εκδήλωση ανορεξίας, καθώς και για την αυξημένη θνησιμότητα που παρατηρήθηκε. Τα συμπτώματα αυτά, είναι τυπικά συμπτώματα της έλλειψης από το σιτηρέσιο βιταμινών του συμπλέγματος Β.

Η προσθήκη συμπληρωμάτων βιοτίνης σε ένα πρακτικό σιτηρέσιο μελετήθηκε στους αναπτυσσόμενους γόνους του ψαριού (*Lisa parsia*) από τον Chavanetal (2003). Έξι σιτηρέσια με διαφορετικά επίπεδα (0, 0,4, 0,8, 1,6, 3,2, και 6,4 mg/kg σιτηρεσίου) βιοτίνης χορηγήθηκαν στην (*L. parsia*) για 90 ημέρες. Το πείραμα συντάχθηκε για τέσσερις πανομοιότυπες ομάδες. Οι παράμετροι που παρατηρήθηκαν ήταν η αύξηση του μήκους, η πρόσληψη βάρους, ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης και η επιβίωση. Η μέγιστη αύξηση μήκους (292,80%), πρόσληψη βάρους (2287,20%) και ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (3,52) καταγράφηκαν στο σιτηρέσιο των 3,2 mg βιοτίνης, ενώ η μέγιστη επιβίωση (85%) στο σιτηρέσιο των 1,6 mg βιοτίνης. Η άριστη απαίτηση βιοτίνης για καλύτερη ανάπτυξη του *L. parsia* είναι περίπου 3,2 mg/kg σιτηρεσίου.



### 3.2.2.8 ΧΟΛΙΝΗ

Η απλή δομή της βιταμίνης αυτής (αποτελείται από τρία μεθύλια), την καθιστούν δότη μεθυλικών μονάδων στη μεθυλίωση των συστατικών του σώματος. Ακόμη, η χολίνη αποτελεί αντιαιμορραγικό παράγοντα, αλλά και λιποτροπικό λιπομεταφορέα, γιατί εμπλέκεται στη σύνθεση των απαραίτητων για τη μεταφορά λίπους φωσφολιπιδίων (Halver, 1995).

Οι απαιτήσεις χολίνης για την ανάπτυξη και επιβίωση των λαρβών του φαγκριού (*Pagrus majro*) εξετάστηκαν από τους Liu και Lei (2001), οι οποίοι χρησιμοποίησαν τροχόζωα (*Brachiomus plicatilis*) και *Artemia* με διάφορα επίπεδα χολίνης. Τέσσερις διαφορετικές συγκεντρώσεις χολίνης στα τροχόζωα και *Artemia* προετοιμάστηκαν με χορήγηση διαφόρων ελαιογαλακτωμάτων, κατ' ακολουθία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χολίνη επηρεάζει σημαντικά τα επίπεδα χολίνης στα ψάρια και είναι απαραίτητη για την καλή ανάπτυξη και επιβίωση των λαρβών του φαγκριού.

Οι Kasper και Brown (2003) πραγματοποίησαν μια μελέτη για να εξετάσουν τις επιδράσεις της φωσφατιδυλοχολίνης (PC) σιτηρεσίων τα οποία χορηγήθηκαν σε νεαρά άτομα της τιλάπιας (*Tilapia nilotica*) (μέσο αρχικό βάρος = 12,4 g. Το βασικό σιτηρέσιο περιείχε 32% ακατέργαστη πρωτεΐνη, τροφοδοτούμενη από καζείνη και ζελατίνη (10,1%) και ένα κρυσταλλικό μίγμα L-αμινοξέος (21,9%). Η ολική συγκέντρωση θειοαμινοξέος του βασικού σιτηρεσίου ήταν 0,5%, η αναλογία μεθειονίνη:κυστεΐνη ήταν 94:6, η συγκέντρωση χολίνης ήταν 0,3% και η συγκέντρωση του λινολεϊκού οξέος 1,1 – 3,3%. Διαβαθμισμένα επίπεδα φωσφατιδυλοχολίνης προστέθηκαν στο βασικό σιτηρέσιο σε βάρος των λιπιδίων, οπότε και προέκυψαν επτά διαφορετικά σιτηρέσια (0,25, 0,50, 0,75, 1,0, 1,5 και 2,0% επί του ξηρού σιτηρεσίου). Οι διαβαθμισμένες προσθήκες φωσφατιδυλοχολίνης επηρέασαν σημαντικά την αύξηση βάρους και τη μετατρεψιμότητα της τροφής στα νεαρά άτομα της τιλάπιας. Η αύξηση βάρους των ψαριών που τους χορηγήθηκε 1,5% και 2,0% φωσφατιδυλοχολίνη ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη των ψαριών που έλαβαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις, και οι τιμές της μετατρεψιμότητας της τροφής ήταν υψηλότερες στα ψάρια στα οποία χορηγήθηκε 1,5% φωσφατιδυλοχολίνη. Ενώ η ολική συγκέντρωση ηπατικών λιπιδίων και η επιβίωση δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τη φωσφατιδυλοχολίνη, η ολική ακατέργαστη πρωτεΐνη και τα ολικά λιπίδια επηρεάστηκαν σημαντικά, παρόλο που δεν υπήρχαν σαφείς τάσεις προς αυτή την κατεύθυνση. Κατά



συνέπεια, με βάση την αύξηση βάρους και τη μετατρεψιμότητα της τροφής εξάγεται το συμπέρασμα ότι η φωσφατιδυλοχολίνη αποτελεί ωφέλιμο θρεπτικό στοιχείο για την τιλάπια και συστήνεται τα σιτηρέσια τα οποία χορηγούνται στα νεαρά άτομα να περιέχουν 1,5% φωσφατιδυλοχολίνη.

### 3.2.2.9 ΚΥΑΝΟΚΟΒΑΛΑΜΙΝΗ (ΒΙΤΑΜΙΝΗ B<sub>12</sub>)

Η βιταμίνη αυτή είναι υπεύθυνη για την ενεργοποίηση του φολικού οξέος και την πρόληψη κατά τον τρόπο αυτό της αναιμίας. Επίσης, εμπλέκεται στη μεταφορά και τη χρησιμοποίηση των ασταθών μεθυλίων κατά τη βιοσύνθεση των πουρινών, των πυριμιδινών, της μεθειονίνης και της κυστεΐνης (Halver, 1995).

Η απουσία της κυανοκοβαλαμίνης, στην οποία αποδόθηκε ένα είδος θανατηφόρας αναιμίας στους ανώτερους ζωικούς οργανισμούς, σχετίστηκε στην περίπτωση των ψαριών με την δυσκρασία του αίματος, αλλά τα στοιχεία σχετικά με αυτόν το μηχανισμό είναι περιορισμένες.

Ο Halver (1989) έδειξε ότι η αντίδραση του σολομού (*Oncorhynchus kisutch*) στην έλλειψη της βιταμίνης αυτής, εκδηλώθηκε με αναιμία και μειωμένη ανάπτυξη, ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε σκούρος χρωματισμός του δέρματος και ποικίλων εντάσεων ερυθροκυτταρική ύφεση.

Μεταγενέστεροι ερευνητές, πειραματιζόμενη με τον ινδικό κυπρίνο (*Labeo rohita*), έδειξαν ότι η έλλειψη κυανοκοβαλαμίνης στην τροφή προκαλεί λευκοκυτταροποίηση που συνδέεται συνήθως με τον αριθμό των αιμοπεταλίων και σε μικρότερο βαθμό με τα ηωσινόφιλα, ενώ ο αριθμός των ουδετερόφιλων, καθώς και των μεγάλων λεμφοκυττάρων καταστέλλεται σημαντικά (Roberts, 1989).

### 3.2.2.10 ΦΟΛΙΚΟ ΟΞΥ

Το φολικό οξύ λειτουργεί σαν συνένζυμο στο μεταβολισμό του άνθρακα και στη βιοσύνθεση των νουκλεοξέων και μερικών αμινοξέων (Shane 1995, Herbert 1999). Οι απαιτήσεις σε φολικό οξύ σχετίζονται με τους ρυθμούς ανάπτυξης και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, οι οποίοι είναι ιδιαίτερα υψηλοί κατά τη διάρκεια της ταχείας μητρικής και εμβρυακής ανάπτυξης κατά την κύηση. Παρομοίως, αυξημένος καταβολισμός του

φολικού οξέος παρατηρείται στην εγκυμοσύνη (McPartlin et al., 1993). Αποτελέσματα από μελέτες σε ανθρώπους υποδεικνύουν ότι μετριασμένη πρόσληψη φολικού οξέος μειώνει τα περιστατικά αναπτυξιακών ανωμαλιών, όπως ανωμαλίες του νευρικού σωλήνα του εμβρύου (MRC 1991, Scott et al. 1995). Επίσης το φολικό οξύ είναι απαραίτητο στα τελεόστεα (Halver, 1989) όπως μελετήθηκε σε διάφορα είδη ψαριού, συμπεριλαμβανομένης της πέστροφας, (*Oncorhynchus mykiss*) (Cowey & Woodward, 1993), του γατόψαρου των καναλιών, (*Inctalurus punctatus*) (Duncan et al., 1993) και του Ατλαντικού σολομού, (*Salmo salar*) (A. Maeland, ανέκδοτα στοιχεία).

Ένα κρίσιμο στάδιο στην παραγωγή του καλκανιού μέχρι σήμερα φαίνεται να είναι η περίοδος μεταξύ της πρώτης χορήγησης τροφής και της μεταμόρφωσης, οπότε οι λάρβες αντιμετωπίζουν υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, αναπτυξιακές δυσμορφίες και δυσχρωματισμό (Mangor-Jensen et al. 1998, Olsen et al. 1999, Shields et al. 1999). Διάφορες πιθανές αιτίες για αυτό το πρόβλημα που έχουν προταθεί, αφορούν μικροβιολογικές προκλήσεις, υπερωρίμανση των αυγών και σχέσεις με τη διατροφή των γεννητόρων και τη διατροφική κατάσταση των αυγών (Bromage et al. 1991, Lie & Mangor-Jensen 1993, Fernandez-Palacios et al. 1995, Nortvert et al. 2001). Το φολικό οξύ είναι μια από τις ευαίσθητες βιταμίνες των ιχθυοτροφών και σημαντικές απώλειες λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της παραγωγής της τροφής (50-65%) και της αποθήκευσης (Gabaudan & Hardy, 2000). Η έλλειψη τυποποίησης των ιχθυοτροφών (μεγάλα μεγέθη χαπιών) και η προσθήκη συμπληρωμάτων βιταμινών στις τροφές για τους γεννήτορες του καλκανιού αυξάνουν τις πιθανότητες ανεπάρκειας φολικού οξέος.

Η κινητοποίηση του φολικού οξέος από τη λέκιθο κατά τη διάρκεια την ανάπτυξης των λαρβών μελετήθηκε από τον Maeland και τους συνεργάτες του (2003), οι οποίοι ανέλυσαν τη συγκέντρωση του φολικού οξέος σε όλο το σώμα, το έμβρυο και τη λέκιθο σε μία ομάδα αυγών και λαρβών του καλκανιού, (*Hippoglossus hippoglossus L.*), η οποία παρουσίασε επιτυχή γονιμοποίηση και ανάπτυξη. Υπήρξε καθαρή απώλεια φολικού οξέος από τη λέκιθο περίπου 50% κατά τη διάρκεια της ενδογενούς θρέψης. Επιπλέον, μόνο το 23% της μείωσης του φολικού οξέος της λεκίθου διατηρήθηκε στο σώμα των λαρβών. Τα στοιχεία υποδεικνύουν μια ανάγκη για φολικό οξύ για μεταβολικούς και αναπτυξιακούς σκοπούς κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης της τάξης των 2 μg/g αύξησης βάρους. Σχετικά με αυτά τα στοιχεία και τις δημοσιοποιημένες ανάγκες σε φολικό οξύ των ειδών

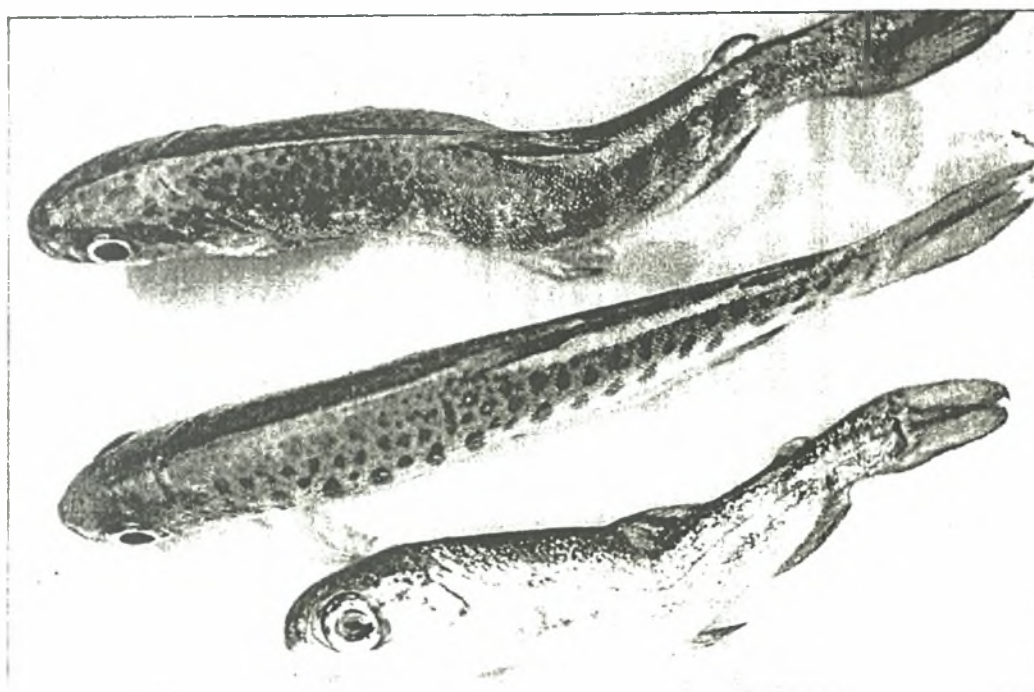
των ψυχρών νερών, ομάδες αυγών από 16 γεννήτορες του Ατλαντικού μπακαλιάρου περιείχαν μεταβλητά και, για κάποιες ομάδες, κρίσιμα χαμηλά επίπεδα φολικού οξέος. Το γεγονός αυτό μπορεί να αποτελεί πιθανό πρόβλημα για την ανάπτυξη των λαρβών μέχρι την έναρξη της σίτισης.

### 3.2.2.11 ΒΙΤΑΜΙΝΗ C

Το ασκορβικό οξύ μπορεί να συντεθεί σε μια ποικιλία φυτών και σε όλα τα ζώα εκτός από τα πρωτεύοντα θηλαστικά, τα ινδικά χοιρίδια και τα περισσότερα ψάρια. Οι McLaren, Leller, O'Donnell & Elvehjem (1947) πρώτοι ανέφεραν ότι το ασκορβικό οξύ ήταν σημαντικό στη διατροφή των ψαριών. Από τότε πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι το ασκορβικό οξύ είναι απαραίτητο θρεπτικό συστατικό για τη διατήρηση των φυσιολογικών διεργασιών διαφόρων ζώων συμπεριλαμβανομένων των περισσότερων ψαριών.

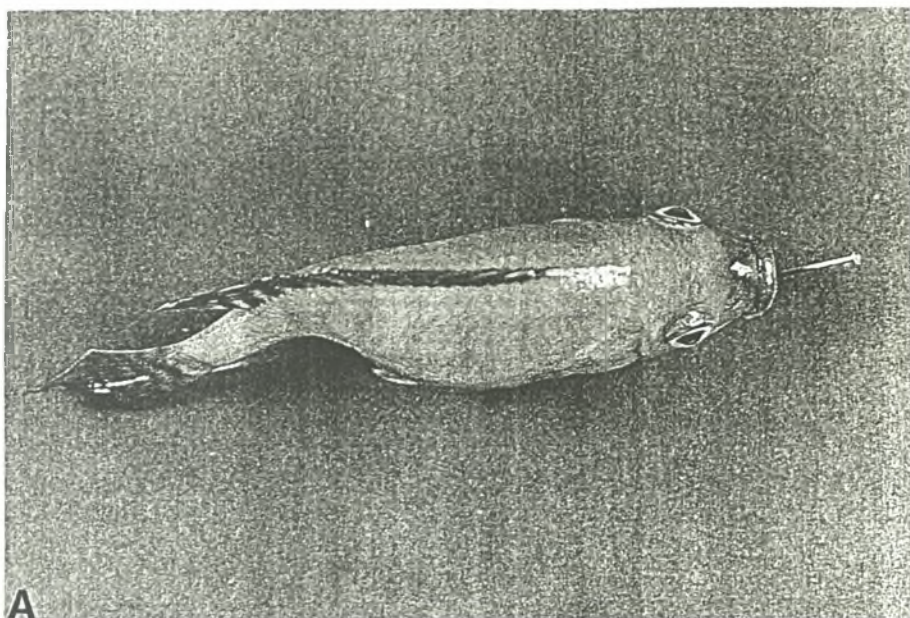
Το L-ασκορβικό οξύ είναι ο κυριότερος ενδοκυτταρικός αναγωγικός παράγοντας στους ιστούς των ψαριών. Παίξει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό των χόνδρων, στην αποκατάσταση των βλαβών στα οστά, στην επούλωση των πληγών, στην διατήρηση της ακεραιότητας των τριχοειδών αγγείων, στην ωρίμανση των ερυθροκυττάρων και στην καλή διατήρηση της αιμογλοβίνης του αίματος. Ακόμη, λαμβάνει ενεργά μέρος στο σχηματισμό των κυτταρικών μεμβρανών, μέσω μετατροπής του προκολλαγόνου σε κολλαγόνο των ιστών. Δρά ως φυσικό αντιοξειδωτικό και λειτουργεί συνεργιστικά με τη βιταμίνη E, το σελήνιο, τον ψευδάργυρο και το χαλκό για την προστασία των κυτταρικών μεμβρανών. Επίσης, εμπλέκεται σε πολλές υδρολυτικές αντιδράσεις, στην υδροξυλίωση των στεροειδών, στη λειτουργία των ορμονών, στα αντι-τοξικά συστήματα και στην αναγωγή του σιδήρου του οποίου αυξάνει κατά τον τρόπο αυτό την απορρόφηση. Πρωταρχικής σημασίας εξάλλου, είναι η ιδιότητα της βιταμίνης C ως αναγωγικό στοιχείο, γιατί ανάγει τα διάφορα μέταλλα σε μεταλλοένζυμα, καθιστώντας τα έτσι βιολογικώς ενεργά. Μια άλλη ιδιότητα που αποδίδεται στη βιταμίνη αυτή, είναι η δυνατότητα που προσφέρει στην καταπολέμηση της καταπόνησης (Halver, 1995). Τέλος, η παρουσία του προβλεπόμενου για κάθε είδος ιχθύος και συγκεκριμένων συνθηκών εκτροφής, επιπέδου βιταμίνης C, προάγει την ανάπτυξη των γονάδων, τα ποσοστά εκκόλαψης, καθώς και τη φυσιολογική κατάσταση των νεαρών ατόμων (Παπουτσόγλου, 1998).

Φαίνεται πως σε όλα τα είδη των ψαριών που μελετήθηκαν, η βιταμίνη αυτή σχετίζεται με δύο ειδών σύνδρομα. Αφενός μεν πρόκειται για μια αξιοπρόσεκτη μείωση της ικανότητας των ατόμων να θεραπεύουν μόνα τους τα προκληθέντα σε αυτά τραύματα και αφετέρου δε, για ένα σύνδρομο σκελετικών δυσμορφιών, στις οποίες περιλαμβάνονται λόρδωση και σκολίωση της σπονδυλικής στήλης (Εικόνες 4, 5), θραύση αυτής (Εικόνα 6), παραμόρφωση των βραγχιακών ελασμάτων και των καλυμμάτων των βραγχίων (Εικόνες 7, 8), καθώς και συμύκνωση του σωματικού κολοβώματος («stump-body»). Επιπρόσθετα, παρατηρείται τάση προς αιμορραγίες και δευτερογενείς επιμολύνσεις. Όλα αυτά τα χαρακτηριστικά συμπτώματα φαίνεται ότι σχετίζονται με την αδυναμία σύνθεσης κολλαγόνου.

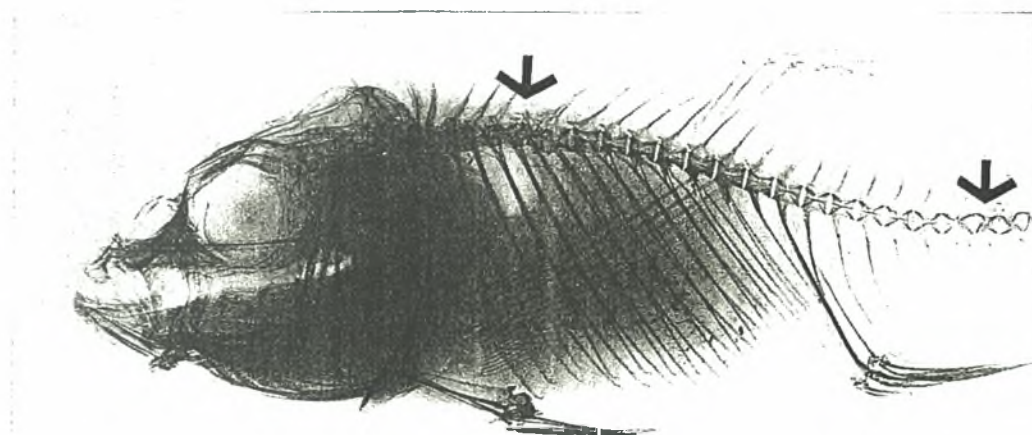


**Εικόνα 4:** Σκολίωση (επάνω) και Λόρδωση (κάτω) σε νεαρά άτομα του σολομού (*Oncorhynchus kisutch*), στα οποία είχαν παρασχεθεί επί 22 εβδομάδες σιτηρέσιο ελλιπές σε βιταμίνη C. Το μεσαίο ψάρι είναι ένας κανονικός σολομός, ο οποίος λάμβανε πλήρες βιταμινών σιτηρέσιο.

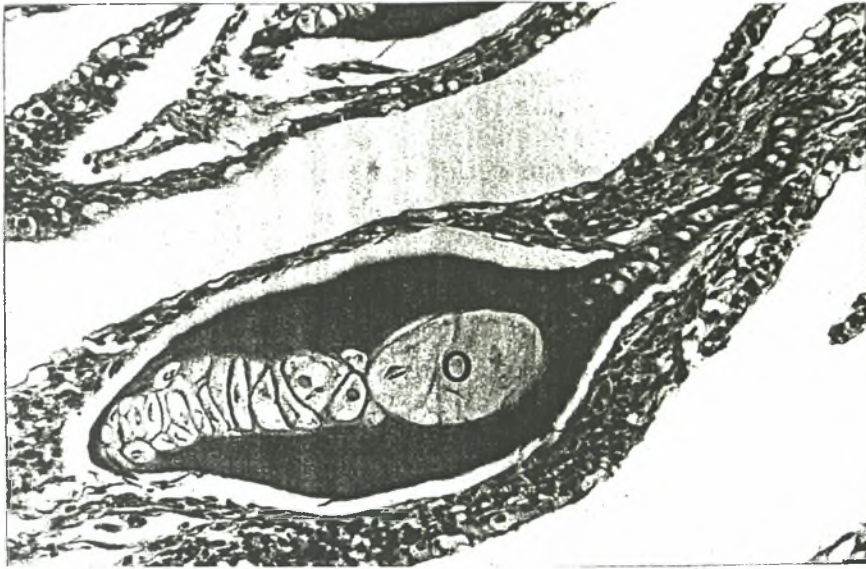




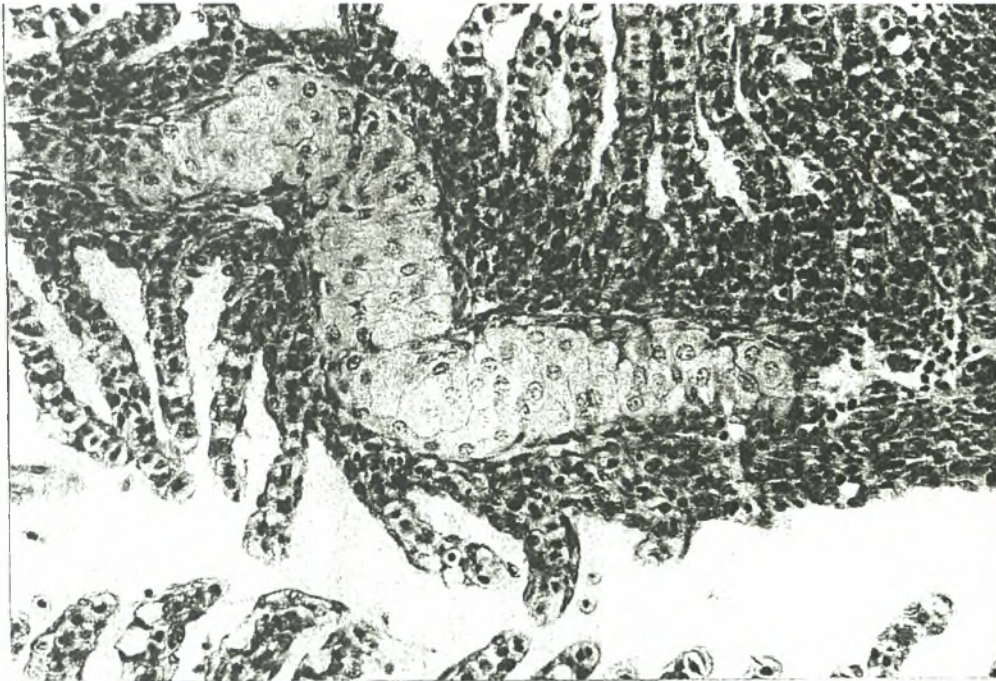
**Εικόνα 5:** Τιλάπια (*Oreochromis niloticus*) στην οποία χορηγούνταν ελλιπές σε βιταμίνη C σιτηρέσιο, με αποτέλεσμα παραμόρφωση της σπονδυλικής στήλης.



**Εικόνα 6:** Ακτινογραφία τιλάπιας (*Oreochromis niloticus*), στην οποία χορηγούνταν ελλιπές σε βιταμίνη C σιτηρέσιο. Διακρίνεται η παραμόρφωση της σπονδυλικής της στήλης στο επίπεδο των θωρακικών και των κοκκυγικών σπονδύλων.



Εικόνα 7: Μεταπλασία του χόνδρου των βραγχιακών ελασμάτων, η οποία συνδέεται με έλλειψη βιταμίνης C από το σιτηρέσιο εκτρεφόμενης τιλάπιας.



Εικόνα 8: Παραμορφωτική προδιάθεση των υπερπλαστικών χόνδρων των βραγχιακών ελασμάτων γατόψαρου των καναλιών (*Ictalurus punctatus*) συνδεόμενη με έλλειψη βιταμίνης C από το χορηγηθέν σιτηρέσιο.



Το ασκορβικό οξύ είναι πολύ ασταθές στις τροφές. Ωστόσο, σήμερα, είναι διαθέσιμες πιο σταθερές και βιοδιαθέσιμες μορφές ασκορβικού οξέος. Τα φωσφορικά παράγωγα του ασκορβικού οξέος έχει αποδειχτεί ότι έχουν δράση κατά του σκορβούτου στο γατόψαρο των καναλιών (El Naggar and Lovell, 1991a,b), την τιλάπια (Soliman et al., 1986, Shiau and Hsu, 1995), την πέστροφα (Miyasaki et al., 1992, Cho and Cowey, 1993, Dabrowski et al., 1996), την πέρκα (Kanazawa et al., 1992) και της γλώσσας (Teshima et al., 1993).

Ο Wang και οι συνεργάτες του (2002) συνέταξαν ένα πείραμα για να μελετήσουν τις επιδράσεις των διαφορετικών επιπέδων βιταμίνης C, υπό μορφή L-ασκορβυλ-2-πολυφωσφορικού (ASPP), στην ανάπτυξη και τη συγκέντρωση βιταμίνης C στους ιστούς στο νεαρό πλατύψαρο (*Paralichthys olivaceus*) (Temminck et Schlegel). Στα ψάρια χορηγήθηκαν έξι διαφορετικά σιτηρέσια τα οποία περιείχαν 0, 25, 50, 75, 150 ή 1500 mg ασκορβικού οξέος (AA) / kg σιτηρεσίου υπό μορφή ASPP για 12 εβδομάδες. Η αύξηση βάρους (WG) και ο συντελεστής αξιοποίησης της πρωτεΐνης (PER) των ψαριών του C<sub>0</sub> σιτηρεσίου ήταν σημαντικά χαμηλότερα από εκείνα των ψαριών που τους χορηγήθηκαν άλλα σιτηρέσια, και το WG και η PER των ψαριών των C<sub>25</sub>, C<sub>50</sub> και C<sub>75</sub> σιτηρεσίων ήταν σημαντικά χαμηλότερα από εκείνα των ψαριών του C<sub>1500</sub> σιτηρεσίου. Τα ψάρια τα οποία σιτίστηκαν με το C<sub>0</sub> σιτηρέσιο εμφάνισαν σημάδια ανεπάρκειας βιταμίνης C όπως ανορεξία, σκολίωση, καταρράκτη, εξοφθαλμία και αιμορραγία πτερυγίων στο τέλος του πειράματος. Μετά από 12 εβδομάδες διατροφικής δοκιμής, οι συγκεντρώσεις του ασκορβικού οξέος στα βράγχια, τα νεφρά και το συκώτι των ψαριών που τους χορηγήθηκαν τα C<sub>0</sub>, C<sub>25</sub>, C<sub>50</sub> και C<sub>75</sub> σιτηρέσια ήταν χαμηλότερες από εκείνες των ψαριών που τους χορηγήθηκαν τα C<sub>150</sub>, και C<sub>1500</sub> σιτηρέσια. Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι τα άριστα επίπεδα βιταμίνης C για αύξηση βάρους και το συντελεστή αξιοποίησης της πρωτεΐνης ήταν 91 και 93 mg AA/kg σιτηρεσίου, αντίστοιχα. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι οι απαιτήσεις σε βιταμίνη C πρέπει να είναι 93 mg AA/kg σιτηρεσίου για να επιτευχθεί φυσιολογική ανάπτυξη, και περισσότερα από 150 mg AA/kg σιτηρεσίου μπορεί να απαιτούνται για κορεσμό των κύριων ιστών των νεαρών ατόμων του πλατύψαρου κάτω από πειραματικές συνθήκες.

Μια πειραματική δοκιμή διάρκειας 11 εβδομάδων συντάχθηκε από τον Wang και τους συνεργάτες του (2003) για να μελετήσουν τις επιδράσεις των διαφορετικών επιπέδων

βιταμίνης C στην ανάπτυξη, τις συγκεντρώσεις ασκορβικού οξέος στους ιστούς και τις ιστοπαθολογικές αλλαγές στο παπαγαλόψαρο. Σιτηρέσια με βάση την καζεΐνη και τη ζελατίνη καταρτίστηκαν έτσι ώστε να περιέχουν 0, 60, 120, 240, 480 και 2000 mg ασκορβικού οξέος (AA)/kg σιτηρεσίου υπό μορφή L-ascorbyl-2-monophosphate (AMP), και 60 και 240 mg AA/kg σιτηρεσίου υπό μορφή L-ασκορβικού οξέος. Ωστόσο, τα αναλυόμενα επίπεδα ασκορβικού οξέος ήταν 0,50, 100, 2005, 42 και 1869 mg AA/kg στα σιτηρέσια στα οποία προστέθηκαν συμπληρώματα AMP. Έτσι, τα σιτηρέσια ορίστηκαν ως απαλλαγμένα ασκορβικού οξέος, AMP<sub>50</sub>, AMP<sub>100</sub>, AMP<sub>205</sub>, AMP<sub>426</sub>, AMP<sub>1869</sub>, AA<sub>36</sub> και AA<sub>149</sub>. Ψάρια μέσου βάρους  $3,9 \pm 0,06$  g σε τρεις πανομοιότυπες ομάδες τυχαία σιτίστηκαν με τα πειραματικά σιτηρέσια για 11 εβδομάδες. Η αύξηση βάρους των ψαριών που τους χορηγήθηκαν τα AMP<sub>50</sub> και AA<sub>36</sub> σιτηρέσια ήταν σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη των άλλων ομάδων, και τα ψάρια που σιτίστηκαν με το AMP<sub>1869</sub> σιτηρέσιο παρουσίασαν μεγαλύτερη αύξηση βάρους από τα ψάρια των AMP<sub>50</sub>, AMP<sub>100</sub>, AMP<sub>205</sub>, AA<sub>36</sub> και AA<sub>149</sub> σιτηρεσίων. Ωστόσο, δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στην αύξηση βάρους μεταξύ των ψαριών των AMP<sub>426</sub> και AMP<sub>1869</sub> σιτηρεσίων και μεταξύ των ψαριών των AMP<sub>100</sub>, AMP<sub>205</sub>, AMP<sub>426</sub> και AA<sub>149</sub> σιτηρεσίων. Τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκε σιτηρέσιο απαλλαγμένο ασκορβικού οξέος άρχισαν να εμφανίζουν συμπτώματα ανεπάρκειας, όπως καθυστερημένη ανάπτυξη, σκοτεινίασμα, ανορεξία και υψηλή θνησιμότητα, μετά από 3 εβδομάδες του πειράματος. Μετά από 6 εβδομάδες πειράματος, το σκώτι των ψαριών που τους χορηγήθηκε το σιτηρέσιο χωρίς ασκορβικό οξύ επέδειξαν σοβαρή ατροφία. Μέχρι το τέλος της 7<sup>ης</sup> εβδομάδας, όλα τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκε σιτηρέσιο απαλλαγμένο ασκορβικού οξέος ήταν νεκρά. Η συγκέντρωση ασκορβικού οξέος στο σκώτι των ψαριών του AMP<sub>50</sub> σιτηρεσίου ήταν σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη των ψαριών των AMP<sub>205</sub>, AMP<sub>426</sub>, AMP<sub>1869</sub> και AA<sub>149</sub> σιτηρεσίων και τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκαν τα AMP<sub>50</sub>, AMP<sub>100</sub>, AA<sub>36</sub> σιτηρέσια παρουσίασαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις ασκορβικού οξέος σε σχέση με τα ψάρια που τους χορηγήθηκαν τα AMP<sub>205</sub>, AMP<sub>426</sub>, AMP<sub>1869</sub> σιτηρέσια. Από το πείραμα αυτό προέκυψε ότι απαιτήσεις του parrot fish σε βιταμίνη C είναι  $118 \pm 12$  mg AA/kg σιτηρεσίου υπό τη μορφή του L-ascorbyl-2-monophosphate για μέγιστη ανάπτυξη.

### 3.3 ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα σχετικών ερευνητικών εργασιών, τα στοιχεία που θεωρούνται απαραίτητα για την ανάπτυξη των ψαριών είναι το ασβέστιο, το νάτριο, ο φώσφορος, το χλώριο, το μαγνήσιο, το μολυβδαίνιο, ο σίδηρος, το ιώδιο, το σελήνιο, ο χαλκός, το μαγνήσιο, το κοβάλτιο, ο ψευδάργυρος, το φθόριο, το χρώμιο και το κάλιο.

Η παρουσία των στοιχείων αυτών στο σώμα των ψαριών εξυπηρετεί βασικές μεταβολικές διαδικασίες, από τις οποίες οι πιο σημαντικές είναι η κατασκευή και η ανάπτυξη των οστών, η λειτουργία του μηχανισμού της ωσμωτικής και ιοντικής ρυθμίσεως του νευρικού και ενδοκρινικού τους συστήματος. Επίσης, εξαιτίας της παρουσίας τους ως συστατικών του αίματος, των ενζύμων και των διαφόρων οργανικών ενώσεων των ιστών και των οργάνων τους, θεωρούνται απαραίτητα για την εναλλαγή των αερίων, καθώς και για τη χρησιμοποίηση της ενέργειας των ψαριών.

Τα περισσότερα σιτηρέσια των ψαριών που διατίθενται στο εμπόριο περιέχουν σε επαρκείς ποσότητες όλα σχεδόν τα απαραίτητα ανόργανα στοιχεία. Ακόμη, τα ψάρια, ζώντας σε ένα υδρόβιο περιβάλλον, μπορούν να απορροφούν ανόργανα στοιχεία και από το νερό. Για τους λόγους αυτούς δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι τα ψάρια δεν αντιμετωπίζουν τόσο συχνά όσο τα ζώα της ξηράς ελλείψεις ανόργανων στοιχείων, όπου, παρόλα αυτά, παρουσιάζονται συμπτώματα ελλείψεων στα ψάρια, συνδέονται περισσότερο με μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των ανόργανων στοιχείων, παρά με καθαρή έλλειψη αυτών στην τροφή.

#### 3.3.1 ΣΙΔΗΡΟΣ

Ο σίδηρος είναι ένα βασικό στοιχείο με πολυάριθμους θεμελιώδεις ρόλους στη βιοχημεία των κυττάρων και το μεταβολισμό. Οι ρόλοι αυτοί περιλαμβάνουν την ένωση του οξυγόνου με τις αιμοπρωτεΐνες και τη δημιουργία των ενεργών κέντρων στα ένζυμα τα οποία συμμετέχουν στη μεταφορική αλυσίδα ηλεκτρονίων των μιτοχονδρίων (De Silva et al. 1996, Aisen et al. 2001). Ο σίδηρος επίσης, μπορεί να μεταβάλλει την οξειδοαναγωγική του κατάσταση και μπορεί ταχύτατα να οξειδωθεί από  $Fe^{2+}$  σε  $Fe^{3+}$  παρουσία οξυγόνου. Αυτή η αντίδραση προκαλεί τη δημιουργία του ανιόντος του υπεροξειδίου, το οποίο, μέσω μιας σειράς οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων οδηγεί στο σχηματισμό τοξικών ριζών υδροξυλίου (De Silva et al., 1996, Aisen et al., 2001). Κατά συνέπεια, ο σίδηρος μπορεί να

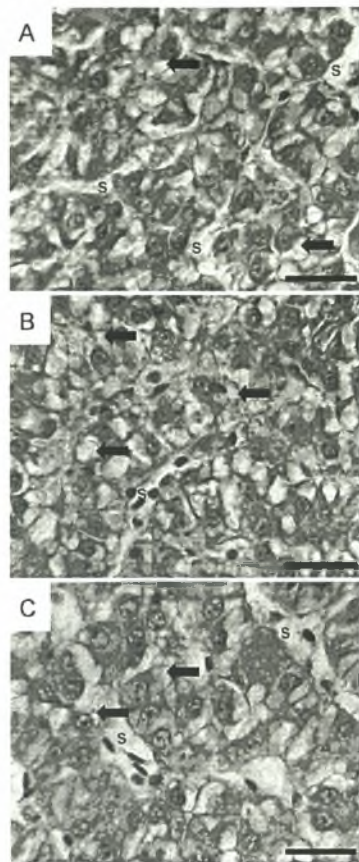
είναι τόσο τοξικός όσο και ωφέλιμος για τους οργανισμούς και η κατάσταση του στο σώμα πρέπει να καθορίζεται προσεκτικά ώστε να παρέχεται επαρκής σίδηρος για τις βιολογικές λειτουργίες, ενώ να αποφεύγεται η περίσσεια  $Fe^{2+}$  η οποία μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες.

Τα ψάρια προσλαμβάνουν το σίδηρο κυρίως μέσω της διατροφής τους και με αμελητέα πρόσληψη σιδήρου από τα βράγχια σε σύγκριση με το έντερο (Andersen et al. 1997, Bury et al. 2001). Τα τελεόστεα ψάρια χρειάζονται περίπου 30-200 mg/kg ξηρού σιτηρεσίου (Davis and Gatlin 1991, Watanabe et al. 1997). Υπάρχουν ελάχιστες μελέτες που αφορούν στην ανεπάρκεια σιδήρου στα ψάρια, και αυτές εστιάζουν στον καθορισμό των διαιτητικών απαιτήσεων για την αποφυγή αναιμίας και καθυστέρησης της ανάπτυξης στις ιχθυοκαλλιέργειες (Kawatsu 1972, Sakamoto and Yone 1978, Davis and Gatlin 1991, Watanabe et al. 1997). Ακριβείς απαιτήσεις σιδήρου στα ψάρια δεν έχουν καθοριστεί ακόμα. Ωστόσο, κανονικά επίπεδα της τάξης των 100-250 mg/kg ξηράς μάζας τροφής έχουν προταθεί για τα σολομονοειδή (Desjardins et al. 1987, Andersen et al. 1996). Σε κάποιες μελέτες έχουν χρησιμοποιηθεί μεγάλες περισσειες σιδήρου για να ερευνηθεί ο ρόλος του σιδήρου στην οξειδωτική καταπόνηση των ψαριών, όπως υποδεικνύεται από τα προϊόντα της λιπιδιακής υπεροξειδωσης στο συκώτι (π.χ. 6,3 g Fe/kg ξηρού σιτηρεσίου, γατόψαρο της Αφρικής, Baker et al., 1997). Παρά τις πληροφορίες για τις διαιτητικές απαιτήσεις και τις τοξικές επιδράσεις του σιδήρου, έχουν γίνει ελάχιστες προσπάθειες για τη μελέτη των φυσιολογικών ρυθμίσεων και μηχανισμών του μεταβολισμού του σιδήρου στα ψάρια. Ωστόσο, δύο παλαιότερες μελέτες, οι οποίες χρησιμοποίησαν ενέσιμο  $^{59}Fe$  υποδεικνύουν ότι το συκώτι αποτελεί την κύρια δεξαμενή αποθήκευση σιδήρου στα ψάρια (για το *Tinca tinca L.*, Van Dijk et al. 1975, για την πέστροφα, (*Oncorhynchus mykiss*), Walker and From 1976).

Οι Carriquiriborde, Hardy και Davies (2004) πραγματοποίησαν μια μελέτη με σκοπό να παρέχουν μια περίληψη της στρατηγικής που ακολουθείται για το σίδηρο στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*). Στα ψάρια χορηγήθηκαν σιτηρέσια ανεπαρκή, σιτηρέσια με κανονικά επίπεδα και σιτηρέσια με υψηλά επίπεδα σιδήρου (33, 175, 1975 mg Fe/kg σιτηρεσίου, αντίστοιχα) για 8 εβδομάδες. Τα σιτηρέσια ήταν έτσι επιλεγμένα ώστε να μην παρατηρηθούν αλλαγές στην ανάπτυξη, την αναλογία μετατροπής της τροφής, στην αιματολογία ή εμφάνιση οξειδωτικού στρες. Η αύξηση του σιδήρου στο σιτηρέσιο

προκάλεσε συσσώρευση σιδήρου ιδιαίτερα στο στομάχι, το έντερο, το συκώτι και το αίμα. Η αύξηση του σιδήρου στον ορρό αίματος από 10 σε 49  $\mu\text{mol/l}$  μέσα σε 8 εβδομάδες συσχετίστηκε με την αυξημένη ικανότητα δέσμευσης του ολικού σιδήρου και τη μειωμένη ικανότητα σύνδεσης του ακόρεστου σιδήρου, έτσι ώστε στα σιτηρέσια που περιείχαν αυξημένο σίδηρο, ο κορεσμός της τρανσφερίνης να αυξηθεί από 15% στην αρχή του πειράματος σε 37%. Τα ψάρια στα οποία χορηγούνταν σιτηρέσια με αυξημένα ποσά σιδήρου εμφάνισαν αυξημένη συσσώρευση σιδήρου στο συκώτι, η οποία συσχετίστηκε με αύξηση της δράσης της ηπατικής σιδηρορεδουκτάσης και τον κορεσμό της τρανσφερίνης του ορρού του αίματος. Αντιστρόφως, ψάρια σιτιζόμενα με σιτηρέσια χαμηλής περιεκτικότητας σε σίδηρο δεν παρουσίασαν ελάττωση του σιδήρου στους ιστούς τους σε σχέση με τα σιτηρέσια κανονικής περιεκτικότητας και δεν παρατηρήθηκε αλλαγή της δέσμευσης του σιδήρου από την τρανσφερίνη του ορρού του αίματος. Αντιθέτως, αυτά τα ψάρια διπλασίασαν τη δράση της σιδηρορεδουκτάσης του εντέρου, η οποία μπορεί να έχει συνεισφέρει στη διατήρηση της κατάστασης του σιδήρου στους ιστούς. Η απουσία ξεκάθαρων αλλαγών οφειλόμενων στους χειρισμούς της συσσώρευσης του βραγχιακού σιδήρου και της δράσης της σιδηρορεδουκτάσης υποδεικνύει ότι τα βράγχια δεν παίζουν σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό του σιδήρου. Κάποιες παροδικές αλλαγές στην κατάσταση του χαλκού, του ψευδαργύρου και του μαγγανίου έλαβαν χώρα.





**Εικόνα 9:** Τμήματα ήπατος βαμμένα με τριχρωμία Mallory ψαριών στα οποία χορηγήθηκαν σιτηρέσια (A) χαμηλής (B) κανονικής και (C) υψηλής περιεκτικότητας σε σίδηρο για 8 εβδομάδες. Τα συκώτια είναι υγιή, αλλά εμφανίζουν κάποιες περίπλοκες αλλαγές σε ενδοκυτταρική αποθήκευση γλυκογόνου και ημιτονοειδούς κενού μεταξύ των χειρισμών. Τα ψάρια τα οποία έλαβαν σιτηρέσια χαμηλής περιεκτικότητας σε σίδηρο παρουσίασαν μικρότερα ηπατοκύτταρα, με μικρότερη αποθήκευση γλυκογόνου (βέλη) και ελαφρώς περισσότερο ημιτονοειδές κενό (S) από τα σιτηρέσια μάρτυρες. Τα συκώτια των ψαριών που έλαβαν σιτηρέσια υψηλής περιεκτικότητας σε σίδηρο είχαν ελαφρά περισσότερο ημιτονοειδές κενό από τους μάρτυρες και είχαν ελαφρά μεγαλύτερα ηπατοκύτταρα τα οποία περιείχαν λιγότερο γλυκογόνο από τους μάρτυρες.

### 3.3.2 ΧΑΛΚΟΣ

Ο χαλκός είναι ένα απαραίτητο μέταλλο για όλους τους οργανισμούς συμπεριλαμβανομένων και των ψαριών. Παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό και η συγκέντρωσή του είναι καλά ορισμένη. Ωστόσο, ο χαλκός είναι και ένα από τα πιο τοξικά μέταλλα και επηρεάζει διάφορες παραμέτρους του αίματος, την ανάπτυξη, τη συμπεριφορά, τη δράση των ενζύμων και την αναπαραγωγή (Sorensen 1991, Roesijadi & Robinson 1994, Nussey, Van Vuren & Preez 1995).

Η πρόσληψη μετάλλων μέσω της διατροφής αποτελεί σημαντική αιτία μακροπρόθεσμης μόλυνσης των ψαριών σε ελεύθερη κατάσταση (Dallinger, Prosi, Segner & Back, 1987), και παρατηρείται αυξημένο ενδιαφέρον για τις διατροφικές και τοξικολογικές επιδράσεις των μετάλλων στις τροφές των ψαριών (Handy, 1996). Τα ψάρια συσσωρεύουν χαλκό από μολυσμένα περιβάλλοντα και αυτός επαναδιανέμεται στους ιστούς τους. Η συσσώρευση του χαλκού ποικίλει μεταξύ των ιστών ανάλογα με την πηγή, είτε προέρχεται από την τροφή είτε από το νερό (Sorensen, 1991). Ανεξάρτητα από την πηγή, ο χαλκός συσσωρεύεται στα βράγχια, το έντερο και κυρίως στο συκώτι και τα νεφρά. Επειδή τα ψάρια αποτελούν σημαντική τροφή και σημαντικό κομμάτι του οικοσυστήματος, είναι σημαντικό να εκτιμηθεί η επίδραση του χαλκού στα ψάρια. Τα μοντέλα βιοσυσσώρευσης των μετάλλων στους ιστούς των ψαριών μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν αποτελεσματικοί δείκτες της περιβαλλοντικής μεταλλικής μόλυνσης. Επιπλέον, η συσσώρευση των μετάλλων σε συγκεκριμένους ιστούς έχει προταθεί σαν δείκτης χρόνιας έκθεσης (Bergman & Dorward-King, 1997). Έτσι, η κινητική της συσσώρευσης του χαλκού στους ιστούς των ψαριών είναι επίσης μεγάλης σημασίας.

Από τη στιγμή που ο χαλκός αποτελεί απαραίτητο συστατικό όλων των οργανισμών συμπεριλαμβανομένων και των ψαριών, συχνά προστίθενται συμπληρώματα σε εμπορικές τροφές (Lorentzen et al., 1998) σε συγκεντρώσεις οι οποίες μπορεί να φτάσουν στο ανώτατο όριο τοξικότητας. Η χρήση συμπληρωμάτων χαλκού στις ιχθυοτροφές αφορά κατά συνέπεια στην επίτευξη μιας ισορροπίας μεταξύ της κάλυψης των αναγκών σε χαλκό και της αποφυγής της τοξικότητας χαλκού (Mertz, 1993). Για να καθοριστούν τα ανώτερα όρια των συμπληρωμάτων χαλκού, η ανάπτυξη, η αξιοποίηση της τροφής, η δράση των ηπατικών ενζύμων και η συσσώρευση ανόργανων μετάλλων στους ιστούς έχουν χρησιμοποιηθεί σαν παράμετροι τοξικότητας. Ωστόσο, λίγες πληροφορίες υπάρχουν για τη διατροφική κατάσταση των ψαριών που έχουν εκτεθεί σε αυξημένες διαιτητικές συγκεντρώσεις χαλκού.

Η απόθεση στους ιστούς λιπιδίων, πρωτεϊνών, υδατανθράκων και ανόργανων μετάλλων εξαρτάται από την πρόσληψη τροφής, τη μεταβολική χρήση και την εντερική απορρόφηση, και αυτοί οι παράγοντες μπορούν να επηρεαστούν από τις αυξημένες συγκεντρώσεις χαλκού. Ο Lanno και οι συνεργάτες του (1985b) ανέφεραν μειωμένη πρόσληψη τροφής της πέστροφας που εκτέθηκε σε αυξημένες συγκεντρώσεις χαλκού,

παρόλο που η σύσταση του σώματος δεν μετρήθηκε σε αυτή τη μελέτη. Ο DeBoeck και οι συνεργάτες του (1997) ανέφεραν μειωμένη ηπατική και μυϊκή πρωτεΐνη και μειωμένη περιεκτικότητα λιπιδίων και γλυκογόνου στον κοινό κυπρίνο που εκτέθηκε σε χαλκό μέσω του νερού παρά την κανονική κατανάλωση μέσω της τροφής. Η αυξημένη μεταβολική δαπάνη για αποτοξίνωση και διατήρηση της ομοιοστασίας θεωρήθηκαν οι αιτίες αυτής της αλλαγής στις ενεργειακές αποθήκες. Από τη στιγμή που είναι γνωστό ότι οι αυξημένες συγκεντρώσεις χαλκού ευθύνονται για την έναρξη προσαρμοσμένων αντιδράσεων στον Ατλαντικό σολομό (Berntssen και συνεργάτες, 1998), ελάττωση των ενεργειακών αποθεμάτων εξαιτίας αυξημένου μεταβολικού ρυθμού μπορεί να λάβει χώρα ταυτόχρονα.

Η επιβλαβής εντερική απορρόφηση μπορεί να είναι ιδιαίτερα σημαντική γιατί το έντερο είναι το κύριο όργανο-στόχος των διαιτητικών μετάλλων (Handy, 1992). Μια παλιότερη μελέτη για τον μικρό Ατλαντικό σολομό που εκτέθηκε σε αυξημένες συγκεντρώσεις χαλκού έδειξε ένα ξεκίνημα ιστολογικών (πολλαπλασιασμών των εντερικών κυττάρων και απόπτωση) και βιοχημικών (εντερική και ηπατική μεταλλοθειονίνη) αντιδράσεων (Berntssen et al., 1999).

Το 1999 ο Berntssen και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν μια μελέτη για να μελετήσουν την επίδραση της αυξημένης συγκέντρωσης χαλκού και να καθορίσουν τα ανώτερα όρια αυτού στις ιχθυοτροφές. Γόνιοι Ατλαντικού σολομού ανατράφηκαν για 3 μήνες με πειραματικά σιτηρέσια που περιείχαν 5 (μάρτυρες), 35, 500, 700, 900 ή 1750 mg Cu/kg, παρεχόμενου υπό τη μορφή  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  συμπεριλήφθηκε (1%) σε όλα τα σιτηρέσια τις τελευταίες δύο εβδομάδες ώστε να καθορίσει την πέψη τόσο των κύριων συστατικών των τροφίμων όσο και τη διαθεσιμότητα των ανόργανων μετάλλων (Cu, Zn και Se). Η ανάπτυξη μειώθηκε σημαντικά μετά από 3 μήνες σε συγκεντρώσεις χαλκού  $\geq 500$  mg Cu/kg σε σύγκριση με την ομάδα των 35 mg Cu/kg. Παρομοίως, οι περιεκτικότητες της πρωτεΐνης, του γλυκογόνου και του Se μειώθηκαν σημαντικά σε αυτές τις συγκεντρώσεις χαλκού σε σχέση με τους μάρτυρες. Η φαινομενική πεπτικότητα (%) των κύριων συστατικών των τροφίμων και η διαθεσιμότητα του Zn και του Se δεν διέφεραν μεταξύ των δειγμάτων. Ωστόσο, η φαινομενική διαθεσιμότητα του χαλκού μειώθηκε σημαντικά στα ψάρια στα οποία χορηγήθηκαν σιτηρέσια που περιείχαν  $\leq 900$  mg/kg σε σχέση με τους μάρτυρες. Οι ελάχιστες συγκεντρώσεις στο έντερο αυξήθηκαν σημαντικά μόνο στην περίπτωση των σιτηρεσίων που περιείχαν Cu  $\geq 900$  mg /kg σε σχέση με τους μάρτυρες,

υποδεικνύοντας έντονη ρυθμιστική ικανότητα του εντέρου από την πρόσληψη του Cu. Συγκεντρώσεις Cu της τάξης των 500 mg/kg και πάνω προκάλεσαν τοξικές αντιδράσεις στο γόνο του Ατλαντικού σολομού από την ανταγωνιστική αλληλεπίδραση με το Se και μείωσαν την ανάπτυξη και τις αποθήκες ενέργειας (πρωτεΐνη και γλυκογόνο).

Οι Seong-Gil και Ju-Chan (2004) μελέτησαν τη συσσώρευση χαλκού και την επίδραση του στην ανάπτυξη και τις αιματολογικές παραμέτρους στη νεαρή πέρκα (*Sebastes schlegeli*) μετά από ημι-χρόνια διαιτητική έκθεση σε χαλκό (0, 50, 125, 250 και 500 mg/kg) για 60 ημέρες. Το προφίλ της συσσώρευσης του χαλκού μεταξύ των ιστών στο πετρόψαρο εξαρτάται από τις περιόδους έκθεσης και τις συγκεντρώσεις του χαλκού. Το συκώτι του πετρόψαρου είναι σημαντικότερος αποθηκευτικός ιστός σε σχέση με άλλους, και η σειρά συσσώρευσης του χαλκού στους ιστούς ήταν συκώτι > έντερο > νεφρό > βράγχια > μύες. Ο χαλκός μείωσε το ρυθμό ανάπτυξης και παρατηρήθηκε μια αντίστροφη σχέση μεταξύ της ανάπτυξης και της συγκέντρωσης του Cu (>50 mg/kg). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση της έκθεσης στις παραμέτρους του αίματος εκτός από το μαγνήσιο. Η έκθεση στο χαλκό προκάλεσε αύξηση των συγκεντρώσεων της γλουταμινικής τρανσαμινάσης του οξαλοξικού οξέος (GOT) και της γλουταμινικής τρανσαμινάσης του πυρουβικού οξέος (GPT) στον ορό του αίματος αυξανόμενων του χρόνου και της δόσης.

### 3.3.3 ΜΑΓΓΑΝΙΟ

Το μαγγάνιο (Mn) είναι απαραίτητο για τη φυσιολογική ανάπτυξη, την αναπαραγωγή και την αποτροπή σκελετικών ανωμαλιών στα ζώα της ξηράς (Mertz, 1987) και τα ψάρια (Halver, 1989). Το μαγγάνιο δρα μέσω της ικανότητας του να διατηρεί κατάλληλη ενζυμική δράση είτε σαν μεταλλικό συνένζυμο για έναν αριθμό ενζύμων τα οποία σχηματίζουν σύμπλοκα μεταλλοενζύμων (π.χ. γλυκοζυλ-τρανσφεράσες και γλυκοζαμινογλυκάνες), είτε σαν αναπόσπαστο κομμάτι διαφόρων μεταλλοενζύμων. Τα τελευταία περιλαμβάνουν την αργινάση, την καρβοξυλάση του πυρουβικού, την anvimanganin και τη δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) που περιέχει μαγγάνιο, MnSOD. Επίσης, υπάρχουν κάποια στοιχεία ότι το μαγγάνιο συμμετέχει στις ανοσοποιητικές λειτουργίες (Mertz 1987, Rabinovitch & Destefano 1973, Cossarini-Dunier et al. 1988).

Σημάδια ανεπάρκειας μαγγανίου στα ψάρια έχουν αναφερθεί για την πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) (Ogino et al. 1980, Knox et al. 1981, Satoh et al. 1983), τον κυπρίνο (*Cyprinus carpio*) (Ogino et al. 1980, Satoh et al. 1983) και την τιλάπια (*Tilapia mossambica*) (Ishac, 1968). Η ανεπάρκεια μαγγανίου σχετιζόταν με φτωχή ανάπτυξη, μειωμένη πρόσληψη τροφής, σκελετικές ανωμαλίες (νανισμός), καταρράκτες, αυξημένη θνησιμότητα και χαμηλή περιεκτικότητα των ιστών σε μαγγάνιο. Οι δραστηριότητες του Cu, της Zn-SOD και της Mn-SOD τόσο στο συκώτι όσο και στην καρδιά μειώθηκαν σαν αποτέλεσμα της ανεπάρκειας μαγγανίου στην πέστροφα (Knox et al., 1981). Οι ποσοτικές απαιτήσεις σε μαγγάνιο στα ψάρια έχουν αναφερθεί ότι είναι γύρω στα 13 mg/kg σιτηρεσίου για το rainbow trout (Ogino et al., 1980), 12-13 mg/kg σιτηρεσίου για τον κυπρίνο (Ogino et al. 1980, Satoh et al. 1987) και 2,4 mg/kg σιτηρεσίου για το γατόψαρο των καναλιών (Gatlin & Wilson, 1984).

Ο Maage και οι συνεργάτες του (2000) πραγματοποίησαν ένα πείραμα για να καθορίσουν τις απαιτήσεις σε μαγγάνιο για το γόνο του Ατλαντικού σολομού και να εξετάσουν την επίδραση της πρόσληψης μαγγανίου και την κατάσταση του στην αντίδραση στις ασθένειες. Οι γόνοι σολομού χωρίστηκαν σε έξι τριπλότυπες ομάδες και τους χορηγήθηκε ένα σιτηρέσιο καζεΐνης/ζελατίνης (1,1 mg Mn/kg) που περιείχε συμπληρώματα 0, 3, 6, 12 ή 24 mg Mn/kg (υπό μορφή  $MnSO_4$ ) για 12 εβδομάδες. Η ανάπτυξη, η θνησιμότητα και το ολικό μαγγάνιο του σώματος καταγράφονταν κάθε 4 εβδομάδες. Οι συγκεντρώσεις ασβεστίου, φωσφόρου, ψευδαργύρου και σιδήρου σε ολόκληρο το ψάρι και η δραστηριότητα της ολικής ηπατικής δισμουτάσης του υπεροξειδίου μετρήθηκαν μετά από 12 εβδομάδες. Μετά το διατροφικό πείραμα, τα ψάρια κλήθηκαν να αντικρούσουν το (*Vibrio anguillarum*). Τα επίπεδα του μαγγανίου δεν επηρέασαν την ανάπτυξη και τη θνησιμότητα. Η συγκέντρωση του ολικού μαγγανίου στο σώμα αποκρίθηκε άμεσα στα συμπληρώματα μαγγανίου και έφτασε σε ένα μέγιστο στα χορηγούμενα σιτηρέσια που περιείχαν συμπληρώματα μεγαλύτερα των 6 mg/kg. Η παλινδρομική ανάλυση έδειξε ότι η συγκέντρωση του ολικού μαγγανίου στο σώμα διατηρήθηκε σε συγκεντρώσεις διαιτητικού μαγγανίου της τάξης των 7,5-10,5 mg/kg ξηράς τροφής. Συμπλήρωμα της τάξης των 3 mg Mn/kg σιτηρεσίου ήταν αρκετό για να κορρέσει την ολική ενεργότητα της δισμουτάσης του υπεροξειδίου. Τα επίπεδα του διαιτητικού μαγγανίου δεν επηρέασαν τη θνησιμότητα μετά από το βακτηριακό λουτρό με ένα τοξικό στέλεχος του (*V. anguillarum*). Εν κατακλείδι, μια



ελάχιστη απαίτηση μαγγανίου της τάξης των 7,5-10,5 mg/kg ξηρού σιτηρεσίου ήταν απαραίτητη για να διατηρηθεί η κατάσταση του μαγγανίου στον Ατλαντικό σολομό κατά τη διάρκεια της έναρξης σίτισης.

#### 3.3.4 ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ

Ο ψευδάργυρος αποτελεί απαραίτητο στοιχείο για την παραγωγή και δράση της ινσουλίνης. Η έλλειψη ψευδαργύρου συνδέεται με την παρουσία στην τροφή, δεσμευτικών για την απορρόφηση του παραγόντων, όπως είναι τα φυτικά οξέα, το ασβέστιο και ο φώσφορος.

Ο ρόλος του παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην περίπτωση των νεαρών ατόμων. Σε τέτοια άτομα της οικογένειας των σολομονοειδών, παρατηρήθηκε αμφίπλευρος κεντρικός ή άλλοτε υποφακοειδής καταρράκτης, σύμπτωμα το οποίο εμφανιζόταν στις περιπτώσεις όπου η απορρόφηση του ψευδαργύρου αναστελλόταν σημαντικά από τα υψηλά επίπεδα των δεσμευτικών του παραγόντων στην τροφή. Η εμφάνιση καταρράκτη συνέβαινε παράλληλα με τη μείωση της ανάπτυξης και σκούρο χρωματισμό του δέρματος των ψαριών (Roberts, 1989) (Εικόνα 10).



**Εικόνα 10:** Καταρράκτης που οφείλεται στην έλλειψη ψευδαργύρου σε νεαρά άτομα του σολομού (*Salmo salar*). Στο κάτω ψάρι είναι ευδιάκριτος ο κεντρικός φακοειδής καταρράκτης

Η εμφάνιση καταρράκτη συνδέεται, βέβαια, και με άλλους παράγοντες, όπως η έλλειψη ριβοφλαβίνης, η έλλειψη μεθειονίνης, καθώς και οι πολύ χαμηλές θερμοκρασίες και η έκθεση των ψαριών σε ορισμένα χημικά μέσα. Ωστόσο, η εμφάνιση του νοσήματος αυτού, οφείλεται στις περισσότερες περιπτώσεις στην έλλειψη του ψευδαργύρου. Η παθολογία του παρατηρούμενου καταρράκτη είναι διαφορετική, ανάλογα με την αιτία που τον προκαλεί και έρευνες απέδειξαν ότι κάθε τύπος καταρράκτη εμφανίζει το δικό του χαρακτηριστικό μοτίβο πρωτεϊνών, όταν το ιστολογικό του παρασκεύασμα υπόκειται σε ισοηλεκτρική εστίαση (Roberts, 1989).

Ο Satoh και οι συνεργάτες του (1987a) μελέτησαν τη βιοδιαθεσιμότητα του περιεχόμενου σε διάφορα είδη ιχθυαλεύρων ψευδαργύρου, σε νεαρά άτομα της πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*), μέσου αρχικού βάρους 0,7 g, σε πείραμα που διήρκεσε 27 εβδομάδες. Παρατήρησαν ότι η συχνότητα εμφάνισης νανισμού και καταρράκτη, συμπτώματα που προκλήθηκαν στα ψάρια από την έλλειψη ψευδαργύρου, ήταν μεγαλύτερη στις περιπτώσεις όπου αυτά σιτίζονταν με τα μεγαλύτερης περιεκτικότητας σε φωσφορικό τριασβέστιο, ιχθυάλευρα. Το γεγονός αυτό, απέδειξε για άλλη μία φορά ότι και ο φώσφορος αποτελεί δεσμευτικό του ψευδαργύρου παράγοντα και ότι επηρεάζει τη βιοδιαθεσιμότητα. Για να αποτραπούν παρόμοιες καταστάσεις πρέπει να χορηγείται ψευδάργυρος συμπληρωματικά.

Οι ίδιοι ερευνητές, σε άλλο πείραμα τους (Satoh και συνεργάτες, 1987b), απέδειξαν ότι για να εξαλειφθούν τα προαναφερθέντα συμπτώματα που παρουσιάστηκαν επίσης σε άτομα του ίδιου είδους, μέσου βάρους 0,3 g, τα οποία διατρέφονταν επί 40 εβδομάδες με ελλιπές σε ψευδάργυρο σιτηρέσιο, το οποίο περιείχε ως πηγή πρωτεϊνών άλευρο λευκών ψαριών, υψηλής ως γνωστό συγκέντρωσης σε τέφρα, ήταν απαραίτητη η προσθήκη τουλάχιστον 40 mg Zn/kg σιτηρεσίου, μέσω θειικού ή νιτρικού ψευδαργύρου, σκευάσματα που κρίνονται ως οι καλύτερες πηγές για το στοιχείο αυτό.

Οι Sun και Jeng (1999) χορήγησαν σιτηρέσια υψηλής περιεκτικότητας σε ψευδάργυρο (2000 mg/kg) στον κοινό κυπρίνο (*Cyprinus caprio*), το χορτοφάγο κυπρίνο (*Ctenopharyngodon idellus*) και την τιλάπια (*Oreochromis aureus*) για 8 εβδομάδες με σκοπό τη σύγκριση της συσσώρευσης του ψευδαργύρου στα ψάρια. Βρέθηκε ότι η συσσώρευση ψευδαργύρου στον κυπρίνο και την τιλάπια από το σιτηρέσιο ήταν χαμηλή

όταν συγκρίθηκε με εκείνη στον κοινό κυπρίνο. Η μεγαλύτερη διαφορά παρατηρήθηκε στους ιστούς της περιοχής χώνευσης. Οι ιστοί αυτοί στον κοινό κυπρίνο είχαν μια μεγάλη δεξαμενή αποθηκευμένου ψευδαργύρου, η μέση «ικανότητα αποθήκευσης» είναι περίπου 1500  $\mu\text{g Zn/g}$  ζωντανού ιστού, και ο χρόνος που απαιτείται για τον κορεσμό του ιστού όταν χορηγούνται 2000  $\text{mg Zn/kg}$  σιτηρεσίου είναι περίπου 8 εβδομάδες. Ο συσσωρευμένος ψευδάργυρος στους ιστούς της περιοχής χώνευσης του κοινού κυπρίνου ελευθερώθηκε όταν ο ψευδάργυρος μειώθηκε σε κανονικά επίπεδα (50  $\text{mg/kg}$ ) ή σε ανεπαρκή επίπεδα (4  $\text{mg/kg}$ ) για 4 εβδομάδες.

### 3.3.5 ΦΩΣΦΟΡΟΣ

Ο φώσφορος αποτελεί απαραίτητο συστατικό της διατροφής όλων των σπονδυλωτών. Η χρησιμότητα του στο σχηματισμό των σκληρών ιστών όπως τα οστά και τα δόντια έχει αναγνωριστεί εδώ και έναν αιώνα τουλάχιστον, όπως και η σχέση αλληλεπίδρασης του με το ασβέστιο, αλλά επίσης και το γεγονός ότι ο φώσφορος παίζει σημαντικό ρόλο σε πολλές μεταβολικές διαδικασίες (Kreisberg 1977, Haglin 2001). Κατά συνέπεια, η ανεπάρκεια του προκαλεί επιπλοκές όχι μόνο στους σκληρούς ιστούς αλλά και στον ενδιάμεσο μεταβολισμό, οδηγώντας σε βλάβες στην ανάπτυξη.

Η ιχθυοκαλλιέργεια είναι μια από τις ταχέως αναπτυσσόμενες πρακτικές παραγωγής τροφίμων στον κόσμο. Ωστόσο, αυτή η επέκταση των ιχθυοκαλλιεργειών υπόκεινται στην αύξηση της πίεσης από νομικής πλευράς καθώς ο φώσφορος στις εκροές των ιχθυοκαλλιεργειών θεωρείται σημαντική πηγή ευτροφισμού των οικοσυστημάτων γλυκού νερού. Ο εκρέων αυτός φώσφορος είναι διατροφικής προέλευσης και το μεγαλύτερο ποσοστό του παρέχεται από τα σιτηρέσια των ψαριών. Παρόλα αυτά, οι μεγάλες πηγές διαθέσιμου φωσφόρου είναι ανεπιθύμητες και έτσι έχουν αρχίσει να ελέγχονται αυστηρότερα. Κατά συνέπεια, οι ιχθυοκαλλιέργειες απαιτείται να μειώσουν τα ποσά του φωσφόρου στα απόβλητα τους.

Στο παρελθόν, ο φώσφορος ήταν γενικά παρών σε σημαντική περίσσεια σε όλες τις σχηματοποιημένες τροφές των ψαριών λόγω των υψηλών επιπέδων τους σε ιχθυοτροφές και ζωικά παραπροϊόντα. Επομένως, δεν υπήρχε πρακτική ανάγκη για καθορισμό των ακριβών αναγκών σε φώσφορο, καθώς δεν υπήρχε εμφανής κίνδυνος από υπερκατανάλωση. Ωστόσο, η νομοθετική πίεση κατέστησε αναγκαία τη γνώση των

ακριβών απαιτήσεων στα διάφορα στάδια και στα διάφορα συστήματα έτσι ώστε να καταρτιστούν σιτηρέσια με επαρκή και όχι υπερβολικά επίπεδα φωσφόρου.

Σαν αποτέλεσμα της επιβολής νομοθετημένων ελέγχων των επιπέδων φωσφόρου στα απόβλητα των ιχθυοκαλλιεργειών, τα οποία μπορεί να μειώσουν την παραγωγή ψαριών, οι παρασκευαστές ιχθυοτροφών έχουν αφοσιωθεί στην παραγωγή τροφών μειωμένης περιεκτικότητας σε φώσφορο και των φυτικών πρωτεϊνών. Αυτές οι αλλαγές έχουν προκαλέσει ένα νέο επίπεδο πολυπλοκότητας στη δημιουργία ιχθυοτροφών που σχετίζεται με την ευμετάβλητη βιοδιαθεσιμότητα του φωσφόρου στις φυτικές πρωτεΐνες. Υπό την απουσία πλήρους κατανόησης του ρόλου και των αναγκαίων επιπέδων φωσφόρου στα ψάρια των ιχθυοκαλλιεργειών, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της ταχείας ανάπτυξης ή των φάσεων της εκκόλαψης, τέτοιος περιορισμός της διαθεσιμότητας του διαιτητικού φωσφόρου έχει ήδη οδηγήσει σε σοβαρά προβλήματα κλινικών ασθενειών για τους παραγωγούς.

Έχει ευρέως εκτιμηθεί ότι για το σχηματισμό των σκληρών ιστών τόσο το ασβέστιο όσο και ο φώσφορος είναι απαραίτητα. Είναι λιγότερο αναγνωρισμένο ότι ο φώσφορος έχει περιορισμένο ρόλο στην ανάπτυξη ή ότι ο ρυθμός ανάπτυξης μπορεί να επηρεάσει το ρυθμό εξέλιξης των συμπτωμάτων ανεπάρκειας. Η σχέση μεταξύ της ταχύτητας ανάπτυξης και της εμφάνισης ραχίτιδας πρωτοϋποδείχτηκε πολύ παλιά από φυσιολόγους όπως οι Roloff, Voit, Bunge και άλλους του 19<sup>ου</sup> αιώνα αλλά οι Hart, McCollum και Fuller (1909) ήταν οι πρώτοι που καθόρισαν συγκεκριμένες επιδράσεις της ανεπάρκειας φωσφόρου στα ζώα. Οι Shearer και Hardy (1987) περιέγραψαν παρόμοια φαινόμενα στα ψάρια π.χ. η πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) (Walbaum), στην οποία χορηγήθηκε σιτηρέσιο ανεπαρκές σε φώσφορο επέδειξε απώλειες ασβεστίου και μαγνησίου, παρά την επαρκή χορήγηση τους μέσω της διατροφής. Ακολούθως, οι Hardy, Fairgrieve και Scott (1993) έδειξαν ότι η νεαρή πέστροφα που σιτιζόταν με σιτηρέσιο ανεπαρκές σε φώσφορο εμφάνισε κλινικά συμπτώματα ανορεξίας, σκοτεινού χρωματισμού, ληθάργου και μειωμένης ανάπτυξης μετά από 5 εβδομάδες, ενώ μια αντίστοιχη ομάδα που σιτιζόταν με σιτηρέσιο που περιείχε φώσφορο ίσο με το 10% των απαιτήσεων δεν εμφάνισε τα συμπτώματα παρά μόνο μετά την 7<sup>η</sup> εβδομάδα δηλ. η κλινική ανεπάρκεια εμφανίστηκε αφού τα σωματικά αποθέματα φωσφόρου μειώθηκαν κάτω από το φυσιολογικό επίπεδο.

Ένα επιπλέον συμπέρασμα από αυτή τη μελέτη ήταν η παρατήρηση ότι η ανεπάρκεια φωσφόρου είχε μια παροδική επίδραση στην κλινική συμπεριφορά των ψαριών. Τα προσβεβλημένα ψάρια έγιναν αποχαυνωμένα, κείτονταν στο πλάι στον πάτο της δεξαμενής τους και έμοιαζαν νεκρά. Η πρόσληψη τροφής είχε μειωθεί δραματικά και τα ψάρια μετακινούνταν μόνο όταν διεγείρονταν φυσικά. Η επίδραση ήταν παροδική, για μερικές μέρες, και τα μεγαλύτερα ψάρια επηρεάστηκαν δυσμενέστερα.

Οι Baeverfjord, Åsgård και Shearer (1998) ανέφεραν ότι ο νεαρός Ατλαντικός σολομός, (*Salmo salar* L.), αναπτύχθηκε φυσιολογικά για 6 εβδομάδες ενώ σιτιζόταν με σιτηρέσιο ανεπαρκές σε φώσφορο (0,35% P), παρόλο που τα επίπεδα ασβεστίου και φωσφόρου μειώθηκαν αμέσως. Μετά από 9 εβδομάδες τα ψάρια αυτά παρουσίαζαν επίπεδα φωσφόρου και ασβεστίου 5 και 40% των αρχικών επιπέδων αντίστοιχα, και η ανάπτυξη είχε σχεδόν σταματήσει. Αυτές οι παρατηρήσεις υποδηλώνουν ότι οι εκτιμώμενες απαιτήσεις σε φώσφορο με βάση το ρυθμό ανάπτυξης μπορεί να μην είναι ακριβείς και είναι πιθανό να υποτιμηθούν οι πραγματικές απαιτήσεις, εκτός και αν η διάρκεια της μελέτης είναι παρατεταμένη.

Γενικά, η εκτίμηση των απαιτήσεων σε φώσφορο επηρεάζεται σημαντικά όχι μόνο από τη διάρκεια της σίτισης και τα χρησιμοποιούμενα κριτήρια αντίδρασης, αλλά και από το μέγεθος του ψαριού, την επάρκεια του σιτηρεσίου, τη διαθεσιμότητα του φωσφόρου στο σιτηρέσιο και τη χρησιμοποιούμενη στατιστική μέθοδο.

**Επίδραση του φωσφόρου στην αναπαραγωγή.** Η ταχεία αύξηση του οργανικού φωσφόρου στους αναπτυσσόμενους γαμέτες φαίνεται να απαιτεί υψηλότερα επίπεδα φωσφόρου στο σιτηρέσιο κατά τη διάρκεια της ωρίμασης. Ωστόσο, καθώς η περιεκτικότητα του φωσφόρου στις ωοθήκες είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με όλο το σώμα της πέστροφας, όπου οι σκληροί ιστοί είναι τα κύρια σημεία εναπόθεσης (3200 ppm έναντι 4800 ppm, Shearer 1984), τα ψάρια μπορεί να μη χρειάζονται περισσότερο φώσφορο για να αυξήσουν το βάρος των ωοθηκών (κατά τη διάρκεια της ωρίμασης) από εκείνο που χρειάζονται για την αύξηση του σωματικού ιστού. Κατά συνέπεια οι απαιτήσεις σε φώσφορο μπορεί να είναι χαμηλότερες για τους γεννήτορες παρά για τα νεαρά αναπτυσσόμενα ψάρια. Ωστόσο, καθώς πολλά ψάρια στην ωρίμαση μειώνουν την πρόσληψη τροφής και συχνά σταματάνε να τρώνε, είναι δύσκολο να εκτιμηθούν οι ανάγκες τους σε φώσφορο κατά την περίοδο που οδηγεί στην παραγωγή των αυγών.

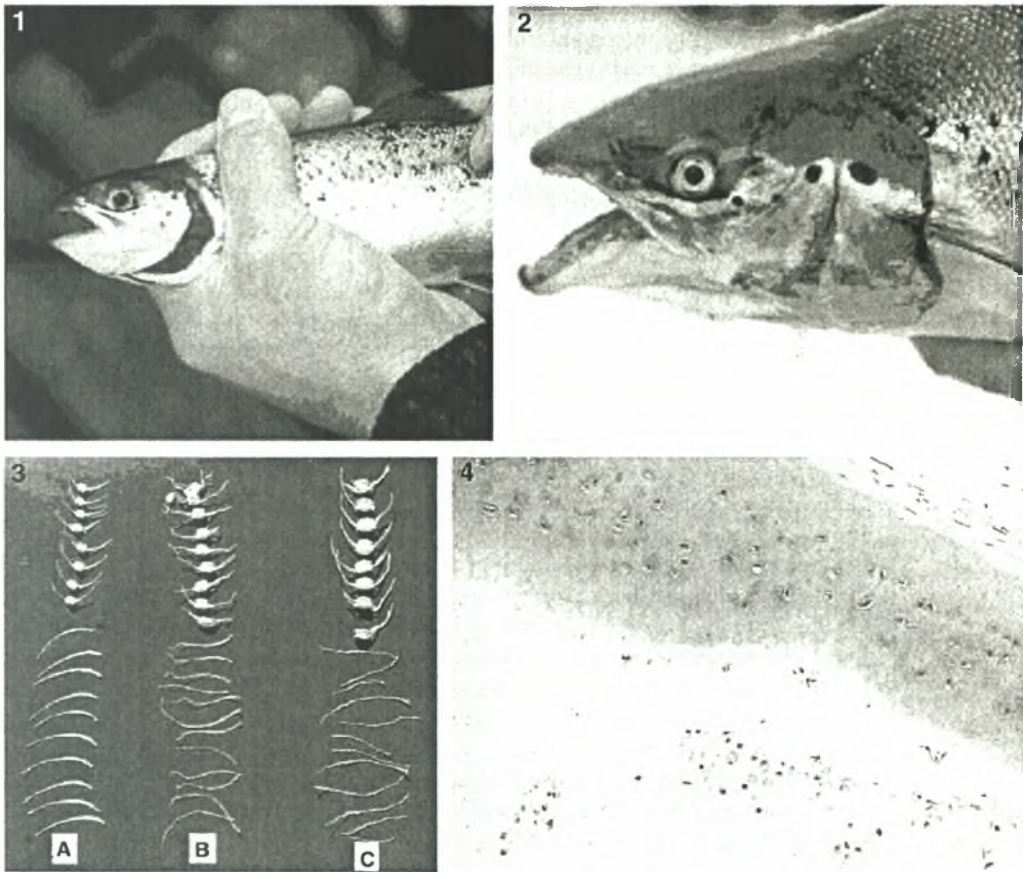


Οι Watanabe, Arakawa, Kitajima & Fujita (1984) και οι Watanabe, Ohhashi, Itoh, Kitajima & Fujita (1984) ανέφεραν ότι μια ιχθυοτροφή που περιείχε 2,2% φώσφορο ήταν ανεπαρκής σε διαθέσιμο φώσφορο για το φαγκρί (*Chrysophrys major*) (Temminck & Schlegel), στους γεννήτορες. Τα ψάρια αυτά σιτιζόμενα με το συγκεκριμένο σιτηρέσιο για επτά μήνες εμφάνισαν μειωμένη γονιμότητα και παρήγαγαν αυγά και λάρβες μειωμένης εκκόλαψης και με περισσότερες ανωμαλίες σε σχέση με εκείνα που τους χορηγούνταν ενισχυμένα σε φώσφορο σιτηρέσια. Ωστόσο, η περιεκτικότητα των ιστών (σπόνδυλοι, συκώτι) και των αυγών σε ανόργανα μέταλλα δεν διέφερε.

**Επίδραση του φωσφόρου στην αντίσταση κατά των ασθενειών.** Λίγα είναι γνωστά για την επίδραση του φωσφόρου στην ανοχή στις ασθένειες. Ωστόσο, πολλές από τις επιδράσεις που έχουν σημειωθεί μπορεί να είναι έμμεσες επιδράσεις της ανεπάρκειας φωσφόρου μετά την ανορεξία που μειώνει την πρόσληψη όλων των θρεπτικών στοιχείων, και μετά το αυξημένο σωματικό λίπος που οδηγεί σε πιθανές αλλαγές στο προφίλ των λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων το οποίο μπορεί να επηρεάσει τη ρευστότητα της κυτταρικής μεμβράνης και το μεταβολισμό των εικοσανοειδών συμπεριλαμβανομένων των προσταγλαδινών και των λευκοτριενίων. Οι ανοσορυθμιστικές λειτουργίες της  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (καλσιτριόλη) είναι ορατές στα περισσότερα ανοσοποιητικά κύτταρα, αλλά η άμεση επίδραση της ανεπάρκειας φωσφόρου στις ανοσοποιητικές λειτουργίες που ρυθμίζονται από τη βιταμίνη D και οι μηχανισμοί σήμανσης είναι άγνωστοι. Χαμηλά επίπεδα ATP στα λευκοκύτταρα τα οποία σχετίζονται με υποφωσφαταιμία είναι ένας άλλος πιθανός τρόπος με τον οποίο τα χαμηλά επίπεδα φωσφόρου μπορεί να επηρεάσουν την αντίσταση στις ασθένειες. Οι Eya & Lovell (1998) χορήγησαν τροφή σε νεαρά γατόψαρα των καναλιών (αρχικό σωματικό βάρος 2,1 g) για 10 εβδομάδες και υπολόγισαν τις απαιτήσεις σε φώσφορο με βάση τη μέγιστη δράση της αλκαλικής φωσφατάσης, την επιβίωση από το (*Edwardsiella ictaluri*) και την πρόσληψη βάρους. Οι εκτιμώμενες ανάγκες κυμαίνονταν από 0,38 έως 0,42% φωσφόρου στο σιτηρέσιο. Οι συγγραφείς κατέληξαν ότι τα επίπεδα φωσφόρου επηρεάζουν την αντίσταση του γατόψαρου στο παθογόνο και ότι οι απαιτήσεις για μεγιστοποίηση της ανάπτυξης είναι επαρκείς και για τη μεγιστοποίηση της αντίστασης στο παθογόνο.

Οι Vielma, Koskela & Ruohonen (2002) πραγματοποίησαν δοκιμές για να καθορίσουν τις απαιτήσεις σε φώσφορο του (*Coregonus lavaretus L.*) ή European whitefish

και για να εκτιμήσουν τις επιδράσεις της ανεπάρκειας φωσφόρου στην ανάπτυξη, την απολιθοποίηση των οστών, τη συσσώρευση λιπιδίων στο σώμα και την ανοχή στη ζέστη και τα μειωμένα ποσά οξυγόνου. Τέσσερις πανομοιότυπες ομάδες ιχθυδίων σιτίστηκαν με περίσσεια ενός από πέντε σιτηρέσια που περιείχαν 4,4 έως 14,9 g P/kg. Τα ψάρια στα οποία δεν τους χορηγήθηκαν συμπληρώματα φωσφόρου παρουσίασαν τυπική υποφωσφαταιμία σε φτωχά απολιθοποιημένα οστά, μικρή σωματική περιεκτικότητα σε φώσφορο και μικρή περιεκτικότητα φωσφορικών στο πλάσμα του αίματος. Τα υποφωσφαταιμικά ψάρια αναπτύχθηκαν βραδύτερα και παρουσίασαν αυξημένη σωματική συγκέντρωση λιπιδίων. Για να ληφθεί το 95% της μέγιστης συγκέντρωσης τέφρας των σπονδύλων και μέγιστη ανάπτυξη, απαιτήθηκαν αντίστοιχα 6,5 και 6,2 g διαθέσιμου P/kg. Ψάρια που σιτίστηκαν με χαμηλά ποσά φωσφόρου παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα σωματικών λιπιδίων σε σχέση με τα ψάρια που σιτίστηκαν με το απαιτούμενο ή υψηλότερο ποσό φωσφόρου. Τα υποφωσφαταιμικά ψάρια παρουσίαζαν ελάχιστα, αλλά στατιστικά σημαντική, χαμηλότερη μέγιστη θερμοκρασία θανάτου σε σχέση με τα ψάρια που τους χορηγήθηκε επαρκής ποσότητα φωσφόρου (28,8 έναντι 29,4°C). Η ανοχή σε μειωμένο διαλυμένο οξυγόνο δεν διέφερε μεταξύ των χαμηλών και υψηλών επιπέδων φωσφόρου (1,47 έναντι 1,45 mg/l).



**Εικόνα 11-14:** (11): Ατλαντικός σολομός αναπαραγωγής πάσχων από ανεπάρκεια φωσφόρου, με αγκυλωμένη άρθρωση σιαγόνων, δυσμορφία του χόνδρου Meckel, σταθερό άνοιγμα στόματος και δυσμορφία του καλύμματος των βραγχίων. Τα βράγχια, ειδικά, είναι πολύ μαλάκά και ελαστικά. (12): συγκομισμένος σολομός ηλικίας 2 ετών, υποβεβλημένος ανεπάρκεια φωσφόρου κατά το στάδιο της αναπαραγωγής, η οποία οδήγησε σε μόνιμη δυσμορφία. Ιδιαίτερα σημειώνεται το μόνιμα ανοιχτό στόμα. (13): σπονδυλική στήλη : (Α) φυσιολογική πέστροφα, (Β) πέστροφα με δυσμορφία εξαιτίας πειραματικού σιτηρεσίου ανεπαρκούς σε φώσφορο και (Γ) σπονδυλική στήλη Ατλαντικού σολομού υποβεβλημένου σε εμπορικό σιτηρέσιο ανεπαρκές σε φώσφορο. (14): τροχιακός χόνδρος προσβεβλημένου σολομού αναπαραγωγής (Εικόνα 11). Το περιεχόμενο του χόνδρου έχει εξαντληθεί, είναι ωχρό και ξεθωριασμένο με λίγο ή καθόλου συνεκτικό ή περιχονδριακό ιστό.

### 3.3.6 ΙΩΔΙΟ

Το ιώδιο αποτελεί συστατικό της θυροξίνης και εμπλέκεται στη ρύθμιση της χρησιμοποίησης του οξυγόνου. Τα ιχθυάλευρα, που λαμβάνουν ευρέως, σήμερα, μέρος στη σύνθεση των σιτηρεσίων των ψαριών, περιέχουν σε επαρκή ποσότητα ιώδιο, με αποτέλεσμα να μην παρατηρούνται, συχνά, συμπτώματα έλλειψής του στα εκτρεφόμενα ψάρια.

Στις περιπτώσεις όμως εκείνες που τα σιτηρέσια των ψαριών είναι διαφορετικής ζωικής προέλευσης, παρατηρείται συχνά βρογχοκήλη (υπερπλασία του θυροειδούς), η οποία τίθεται υπό έλεγχο και υποχωρεί κατόπιν συμπληρωματικής χορήγησης ιωδίου (Εικόνα 15).



**Εικόνα 15:** Προχωρημένου σταδίου υπερπλασία του θυροειδούς στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*).

Αρχικά, τέτοιου είδους βλάβες είχαν χαρακτηριστεί ως αδενοκαρκινώματα του θυροειδούς, παρά το ότι ήδη είχε προσδιοριστεί η βρογχοκλιακή φύση τους. Η σύγχυση μεταξύ βρογχοκήλης και νεοπλασίας γίνεται εύκολα κατανοητή, καθώς, ο θυροειδής αδένας των σολομονοειδών, σε αντιδιαστολή με εκείνον των ανθρώπων, παρουσιάζεται διάχυτα διασκορπισμένος γύρο από την κοιλιακή αορτή και πράγματι ενώ πρόκειται για βρογχοκήλη, μοιάζει πάρα πολύ με μεταστατικό αδενοκαρκίνωμα (Roberts & Bullock, 1989).



### 3.3.7 ΑΣΒΕΣΤΙΟ

Το ασβέστιο παίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των ασβεστοποιηθέντων ιστών, που είναι τα οστά και τα λέπια και στην ιοντική ρύθμιση των επιπέδων των ηλεκτρολυτών στο αίμα. Επιπλέον, συμβάλλει στη συστολή των μυών. Οι απαιτήσεις των ψαριών σε ασβέστιο, είναι υψηλές, αλλά σε κάθε περίπτωση τα σιτηρέσιά τους είναι απίθανο να εμφανίζονται ελλιπή σε αυτό. Εξάλλου, τα ψάρια, απορροφούν άμεσα και εύκολα ασβέστιο από σχεδόν κάθε βαθμού σκληρότητας νερό.

Πάντως, όσον αφορά το σιτηρέσιο, είναι σημαντική η επίτευξη ισορροπίας μεταξύ του ασβεστίου και των άλλων συστατικών της τροφής. Από την ισορροπία αυτή, εξαρτάται αφενός μεν το αν θα λάβει χώρα μεταστατική ασβεστοποίηση, οστεώδης απασβέστωση, οστεοπόρωση και οστεώδης δυστροφία και αφετέρου δε, το αν θα επηρεαστεί η απορρόφηση μεταλλοστοιχείων, όπως ο σίδηρος, ο χαλκός και ο ψευδάργυρος, καθώς σε ορισμένες περιπτώσεις, το ασβέστιο επιδρώντας σε αυτά, τα αναγκάζει να σχηματίζουν μεταλλικούς δακτυλίους ιόντων, επιφέροντας, κατά τον τρόπο αυτό, έλλειψη τους στον οργανισμό.

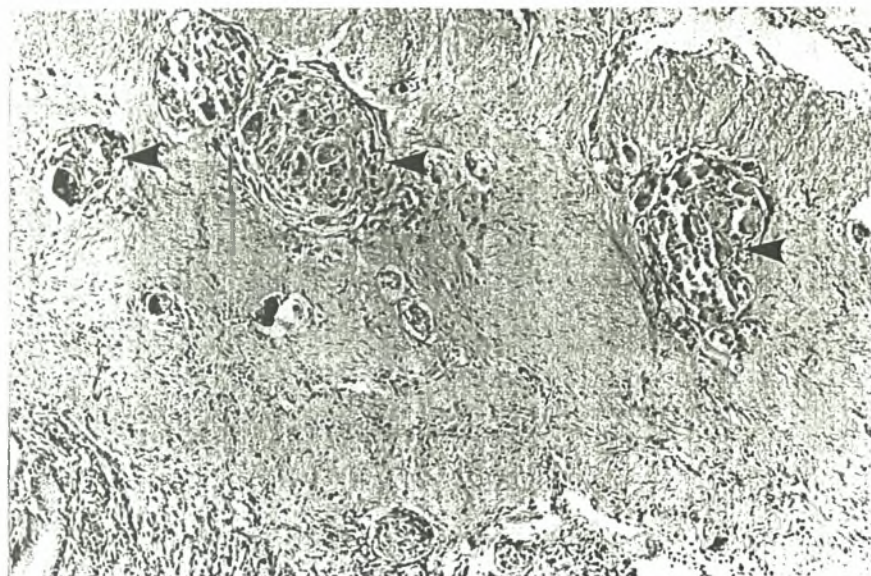
Η μεταστατική ασβεστοποίηση, που στα ψάρια, όπως και σε άλλα ζώα αποτελεί συχνά το τελευταίο στάδιο της επιτυχούς λύσης χρόνιων φλεγμονωδών καταστάσεων όπως η φυματίωση και η εγκύστωση μετάζωων παρασίτων, εμφανίζεται σε συνδυασμό με ένα πλήθος παθολογικών καταστάσεων, εκ των οποίων συνηθέστερη είναι η αποτιάνωση χρόνιων κοκκιωμάτων.

Στην πράξη, στα εκτρεφόμενα σολομονοειδή, απαντούν δύο τέτοιες συγκεκριμένες καταστάσεις, που είναι το σπλαχνικό κοκκίωμα και η ασβέστωση των νεφρών, οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν αυξημένο αριθμό θανάτων. Το σπλαχνικό κοκκίωμα αποτελεί μια συγκεκριμένη κατάσταση εντός των ορίων του πεπτικού συστήματος των σολομονοειδών, κατά την οποία, εστιακά κοκκιώματα αναπτύσσονται στο τοίχωμα του στομάχου, ασβεστοποιούνται, μεγεθύνονται και τελικά μορφοποιούνται σε μεγάλα ασβεστοποιημένα οζίδια που είναι αισθητά, με ψηλάφηση, εξωτερικά του κοιλιακού τοιχώματος.

Η αλλοίωση ξεκινά με ένα μικρό, ξένο προς τον οργανισμό τύπου κοκκίωμα, με επιθηλιοειδή, γιγαντιαία κύτταρα του αρχικού σταδίου ίνωση. Βαθμιαία, καθώς αυξάνεται ο



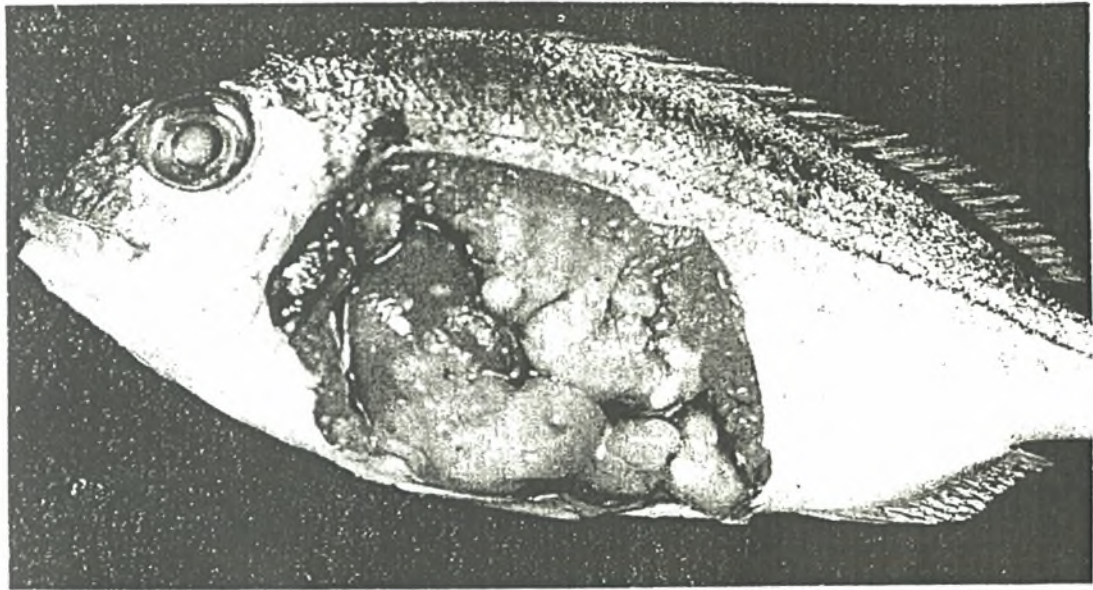
όγκος του και ασβεστοποιείται, αναπτύσσονται γύρω του, και άλλα μικρότερα κοκκιώματα, δημιουργώντας ένα σύμπλεγμα βοτρυώδους σχήματος (Εικόνα 16).



**Εικόνα 16:** Σπλαχνικά κοκκιώματα (βέλη) στο τοίχωμα του στομάχου της πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*).

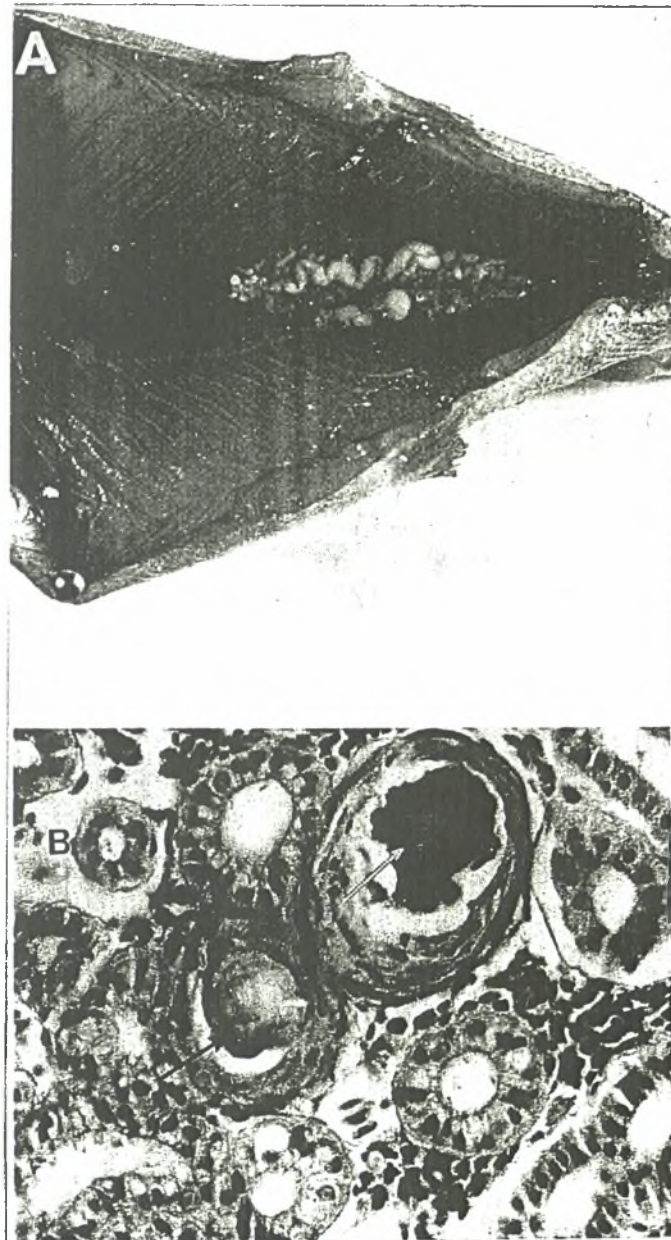
Μέχρι σήμερα, καμία συγκεκριμένη αιτία δεν έχει επισημανθεί ως υπεύθυνη για την εμφάνιση αυτού του φαινομένου, αν και υπάρχει η υποψία, ότι αυτό μπορεί να προκαλείται από κάποιο συστατικό της τροφής, όπως κάποια μυκοτοξίνη ή η ακίδα κάποιου φύκους ή τέλος από το διοξείδιο του πυριτίου. Σε κάθε περίπτωση πάντως, το φαινόμενο αυτό δεν επηρεάζεται από τα επίπεδα ασβεστίου ή φωσφόρου της τροφής, καθώς όπως έχει ήδη αναφερθεί είναι χρόνιας φλεγμονώδους προέλευσης.

Υπάρχουν επίσης αναφορές και για πισσοειδούς τύπου κοκκιώματα, σε άλλους ιστούς των εκτροφόμενων ψαριών. Τέτοια εκτοπική ασβεστοποίηση αναφέρθηκε στην τσιπούρα (*Sparus aurata*), όταν λάμβανε νωπό σιτηρέσιο από παραπροϊόντα ιχθύων, στο οποίο οι συγκεντρώσεις των μετάλλων ήταν υψηλές. Στην περίπτωση αυτή, παρατηρήθηκαν οζώδη κοκκιώματα σε κάθε σημείο του σώματος, ακόμη και στα μάτια και τον εγκέφαλο (Roberts, 1989) (Εικόνα 17).



**Εικόνα 17:** Εκτοπικά ασβεστοποιημένα κοκκιώματα στα σπλάχνα της τσιπούρας (*Sparus aurata*).

Η ασβέστωση των νεφρών δημιουργείται από την καθίζηση συμπλόκων ασβεστίου, εντός του αυλού των νεφρικών σωληνίσκων. Μακροσκοπικά, κατά τα αρχικά στάδια του νοσήματος αυτού, παρατηρούνται μόνο παχύς, ιδιαίτερα εμφανείς, λευκοί ουρητήρες στην επιφάνεια του νεφρού (Εικόνα 18). Καθώς η κατάσταση εξελίσσεται, το νεφρό διογκώνεται, η επιφάνεια του γίνεται ανώμαλη, το χρώμα του γκριζο, ενώ οι ουρητήρες γίνονται ελικοειδείς και αυξάνονται σε όγκο (Εικόνα 19).



**Εικόνα 18:** Ασβέστωση των νεφρών. (A): Μακροσκοπικά, διακρίνονται οι λευκοί ουρητήρες στην επιφάνεια των νεφρών. (B): Ιστολογικό παρασκεύασμα νεφρού, κατά την περίπτωση χρόνιας ασβέστωσης του. Οι νεφρικοί σωληνίσκοι και οι αγωγοί (βέλη) παρουσιάζουν ποικίλων βαθμών ασβέστωση.





**Εικόνα 19:** Τελικό στάδιο ασβέστωσης των νεφρών. Οι νεφρικοί σωληνίσκοι και οι αγωγοί (D) εμφανίζονται ιδιαίτερα διατεταμένοι από συσσωματώσεις ασβεστοποιημένου υλικού, που στην τομή αυτή φαίνεται θρυμματισμένο.

Η ουρολιθίαση, ιστολογικά, ξεκινά με τη συσσώρευση ανώμαλων, ασβεστοποιημένων εγκλείστων στα κύτταρα του περιέχοντος κενοτόπια κεντρικού αυλακωτού επιθηλίου. Ακολουθεί αποβολή των κυττάρων αυτών εντός του αυλού, όπου συσσωρεύονται ως πυκνό, σκοτεινού χρώματος ίζημα που είναι ο ουρόλιθος, ο οποίος δρα ως σωληνοειδές εκμαγείο, γύρω από το οποίο συμπυκνώνεται το εκφυλισμένο σωληνάριο. Έτσι όμως, προκαλείται απόφραξη της ροής του ούρου, που οδηγεί σε διάταση του σωληναρίου προς την αντίθετη κατεύθυνση. Ακολούθως, λαμβάνει χώρα εκφυλισμός αυτών των σωληναρίων, συρρίκνωση των νεφρικών τριχοειδών αγγείων και διάταση της κάψας του νεφρού. Χαρακτηριστικά, το αγγειώδες σπείραμα του νεφρού γίνεται πάρα πολύ μικρό, ενώ η κάψα στην οποία περιέχεται γίνεται μεγάλη, ογκώδης, αποκτά λεπτά τοιχώματα και σκοτεινό χρωματισμό.

Στο τελικό στάδιο, ο αυλακωτός ιστός αντικαθίσταται, στο μεγαλύτερο μέρος του, από ασβεστοποιημένο ινώδη ιστό. Ο αιμοποιητικός ιστός καταστρέφεται, ενώ το νεφρό διογκώνεται, αποκτά γκριζό χρώμα και οι ουρητήρες οροθετούνται πλέον καθαρά, χάρη του λευκού περιεχομένου τους.

Το φαινόμενο της ασβέστωσης των νεφρών μπορεί να εμφανιστεί σε πολλές περιπτώσεις και το είδος της χημικής σύστασης των ουρόλιθων, οι οποίοι εμφανίζονται

ιδιαίτερα μαλακοί και σπάνια αποτελούμενοι από ξεχωριστά σωματίδια σε αντίθεση με τους λίθους των νεφρών των ανώτερων ζωικών οργανισμών, ποικίλει, ανάλογα με την αιτία που το προκαλεί.

Λιθίαση, λαμβάνει χώρα και στη χολή των ψαριών, όπως συμβαίνει και στους ανώτερους ζωικούς οργανισμούς. Και στα ψάρια, όπως και σε αυτούς, οι αιτίες που την προκαλούν δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως. Πάντως, δεν φαίνεται να συνδέονται απόλυτα με το μεταβολισμό του ασβεστίου και αποδίδονται κυρίως στη χρησιμοποίηση νωπών σιτηρεσίων. Χολολιθίαση παρατηρήθηκε στον Ατλαντικό σολομό (*Salmo salar*) και στο σολομό του Ειρηνικού, όταν διατρέφονταν με νωπά σιτηρέσια (Εικόνα 20). Στην περίπτωση της χολολιθίασης, η απόφραξη της χολής, οδηγεί σε απόφραξη των σωληναρίων και διάταση αυτών προς την αντίθετη κατεύθυνση. Στο τέλος προκαλείται αποφρακτικός ίκτερος, ο οποίος καταδεικνύεται από τα υψηλά επίπεδα χολερυθρίνης στο αίμα, ενώ είναι δυνατόν να ακολουθήσει και κύρωση του ήπατος. Στην πράξη όμως, η χολολιθίαση γίνεται αντιληπτή μόνο συμπτωματικά, κατά τη νεκροψία.



**Εικόνα 20:** Χολολιθίαση στο σολομό (*Salmo salar*) κατά τη διατροφή αυτού με νωπό σιτηρέσιο. Η χολή εμφανίζεται διογκωμένη, λόγω της εναπόθεσης κοκκωδών «λίθων».



Το 2000 οι Hossain και Furuichi συνέταξαν μια μελέτη για να καθορίσουν την αναγκαιότητα των συμπληρωμάτων ασβεστίου για τον κέφαλο (*Liza haematocheila*). Τα νεαρά ψάρια τράφηκαν με τέσσερα πειραματικά σιτηρέσια που περιείχαν 2,0 g/kg Ca υπό μορφή γαλακτικού ασβεστίου (σιτηρέσιο 1), καθόλου συμπληρωματικό ασβέστιο (σιτηρέσιο 2) και 2,0 g και 25,0 g/kg ασβέστιο υπό μορφή φωσφορικού τριασβεστίου (TCP, σιτηρέσια 3 και 4), αντίστοιχα. Στο τέλος του πειράματος που είχε διάρκεια 10 εβδομάδες, η ανάπτυξη ήταν σημαντικά μειωμένη στα ψάρια που τράφηκαν με το σιτηρέσιο 2 σε σχέση με τα ψάρια που τους χορηγήθηκαν τα υπόλοιπα σιτηρέσια. Αυτό υποδεικνύει ότι ο κέφαλος δεν προσλαμβάνει επαρκές ασβέστιο από το νερό. Τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκαν τα σιτηρέσια 3 και 4 επέδειξαν παρόμοια ανάπτυξη με εκείνα στα οποία χορηγήθηκε το σιτηρέσιο 1. Ωστόσο το TCP επηρέασε αρνητικά την απολιθοποίηση στα οστά του ψευδαργύρου, του μαγγανίου, του καλίου και του σιδήρου. Τα επίπεδα του ασβεστίου, του ψευδαργύρου και του σιδήρου στο συκώτι ήταν χαμηλά στα ψάρια που τους χορηγήθηκαν σιτηρέσια τα οποία περιείχαν TCP. Από αυτές τις παρατηρήσεις μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η χορήγηση συμπληρωμάτων ασβεστίου είναι απαραίτητη στον κέφαλο. Παρόλο που αυτό το είδος ψαριού μπορεί να χρησιμοποιήσει το TCP σαν πηγή ασβεστίου για την ανάπτυξη του, ένα ευκολοχώνευτο συμπλήρωμα ασβεστίου (μονοβασικό ή διβασικό) σε ένα πλούσιο σε TCP σιτηρέσιο είναι επίσης απαραίτητο για τη διατήρηση των φυσιολογικών επιπέδων των ανόργανων αλάτων στους ιστούς.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### ΤΟΞΙΚΑ ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΣΤΗΝ ΤΡΟΦΗ

#### 4.1 ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΕΣ

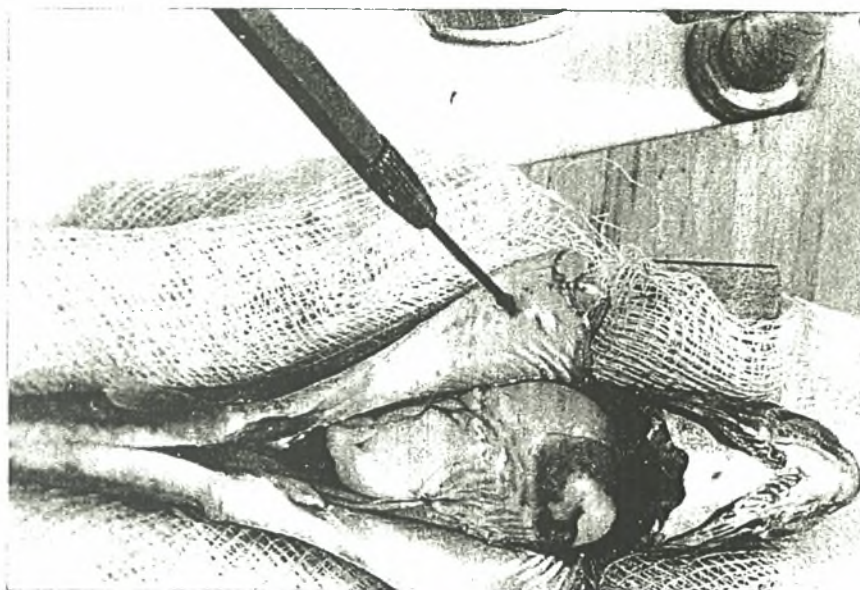
Οι μυκοτοξίνες είναι τοξικοί δευτερεύοντες μεταβολίτες των μυκήτων. Απαντούν ευρέως στη φύση και συχνά απαντούν σε τροφές όπως το καλαμπόκι, ο βαμβακόσπορος, τα φιστίκια και η σόγια. Η παρουσία μυκοτοξινών σε ζωοτροφές και τρόφιμα είναι ένα κοινό παγκόσμιο πρόβλημα (Jelinek et al. 1989, Placinta et al. 1999). Η προσβολή από μυκοτοξίνες μειώνει το ρυθμό ανάπτυξης, την αποδοτικότητα της τροφής, την αναπαραγωγική συμπεριφορά, την αντίσταση σε μολυσματικές ασθένειες και προκαλεί βλάβη στο συκώτι και άλλα όργανα των ψαριών και των εκτρεφόμενων ζώων (Engelhardt et al. 1989, Thiel et al. 1992, Lumbertdacha et al. 1995).

Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερες από 200 διαφορετικές μυκοτοξίνες. Οι σημαντικότερες, από παθολογική άποψη, παράγονται από τους νηματώδεις μύκητες (ευρωμύκητες), των γενών *Aspergillus*, *Penicillium* και *Fusarium* και περιλαμβάνουν τις αφλατοξίνες (αφλατοξίνη B1-2 και G1-2), τις τοξίνες *Fusarium* (ζεαραλενόνες, βομιτοξίνη, T-2), τις ωχρατοξίνες (ωχρατοξίνη A και B), το κυκλοπιαζονικό οξύ, την πατουλίνη, τη σαλφραμίνη και την κιτρίνη (Tacon, 1992). Η παραγωγή μυκοτοξινών από τους ευρωμύκητες στις διάφορες φυτικής προέλευσης ζωοτροφές, γίνεται είτε πριν από τη συγκομιδή των φυτών είτε κατά την αποθήκευση αυτών και πριν την κατανάλωση τους από τα ζώα.

Μεταξύ των τοξικών αυτών μεταβολιτών, τη σημαντικότερη θέση, σε σχέση πάντα με το σιτηρέσιο, κατέχουν οι αφλατοξίνες, οι οποίες παράγονται από τις μεταλλαγμένες τοξικές μορφές του κυανοπράσινου μύκητα της τάξεως των *Mucorales*, *Aspergillus flavus*. Ζωοτροφές ιδιαίτερα ευαίσθητες σε αυτόν είναι τα ελαιούχα σπέρματα, όπως το βαμβάκι και η αραχίδα, τα παραγόμενα από τον αραβόσιτο προϊόντα και σε μικρότερο βαθμό το σιτάρι, το κριθάρι, το ρύζι, το σόργο, η βρώμα, ο ηλίανθος, η σόγια και η ταπιόκα.

Οι αφλατοξίνες, ακόμη και όταν περιέχονται στην τροφή σε πολύ χαμηλά επίπεδα της τάξης των 0,01 ppb, είναι δυνατό να προκαλέσουν νεοπλαστικές μεταβολές στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), έστω και σε μικρό χρονικό διάστημα. Η τοξικότητα των αφλατοξινών για τα ψάρια περιγράφηκε πρώτη φορά κατά τη δεκαετία του 1970, από τον Ashley και τους συνεργάτες του και από τον Halver, οι οποίοι απέδειξαν ότι σε

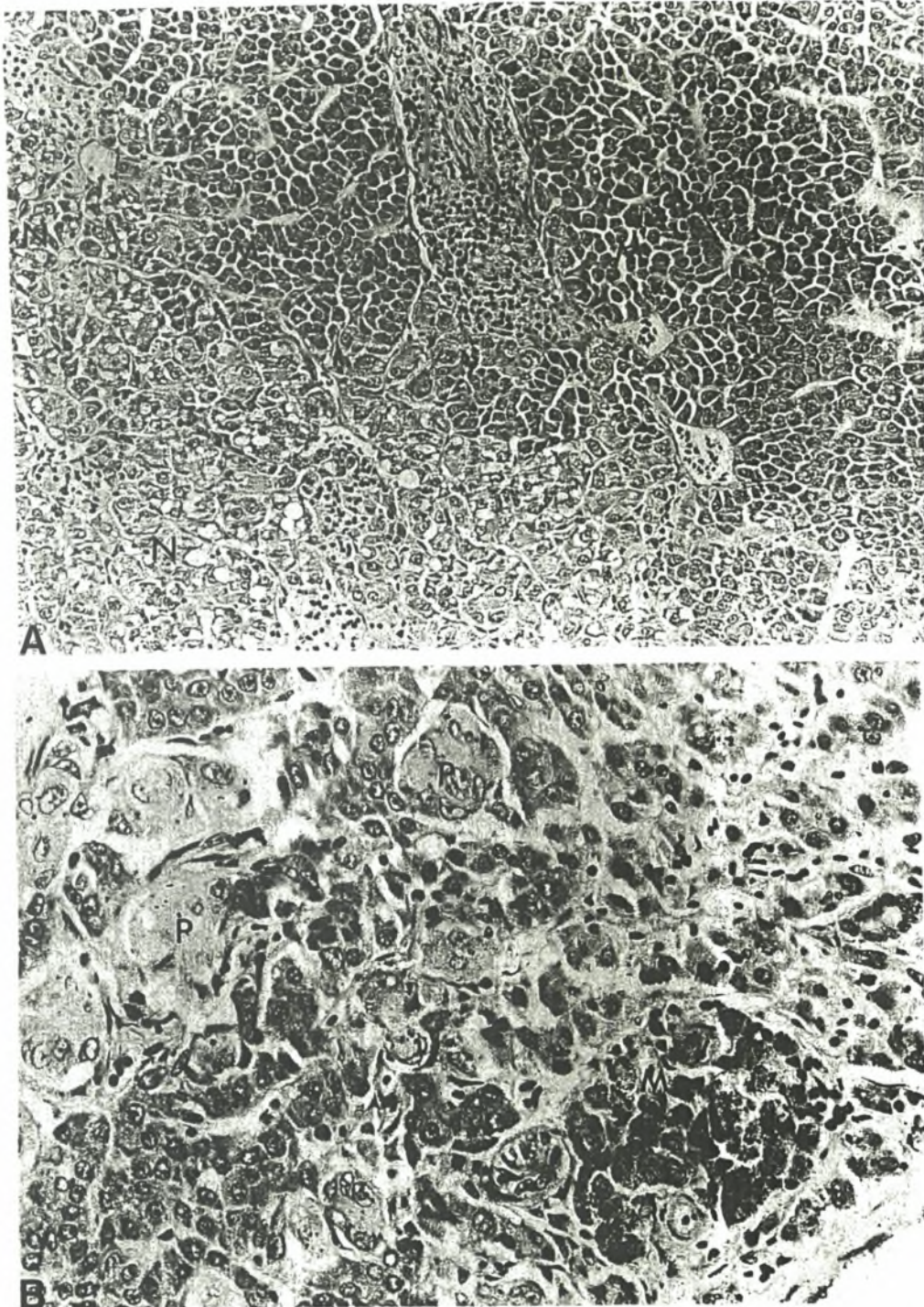
εκτρεφόμενα άτομα της πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*), οι αφλατοξίνες, ακόμη και στην τόσο χαμηλή αυτή προαναφερθείσα συγκέντρωση, είναι άκρως καρκινογόνες και ευθύνονται για τη εκτεταμένη εμφάνιση ηπατικών καρκινωμάτων (Εικόνα 21). Τα ηπατοκαρκινώματα αυτά, συνήθως φθάνουν σε κλινικό επίπεδο μετά την πάροδο 4 – 6 μηνών από τη λήψη της μολυσμένης τροφής (Roberts, 1989).



**Εικόνα 21:** Οξεία Αφλατοξίκωση στο συκώτι της πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*). Παρατηρούνται λευκού χρώματος νεκρωτικές περιοχές, καθώς και πολλές μαύρου χρώματος περιοχές με αιμορραγία.

Όταν οι τοξίνες αυτές βρίσκονται σε συγκεντρώσεις της τάξης των 80 ppb και άνω, προκαλούν οξύ τοξικό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από μαζική εστιακή νέκρωση του ήπατος, οίδημα στα βράγχια και γενικευμένες διάστικτες αιμορραγίες. Ιστολογικά, η αρχική αλλοίωση είναι ένα κακοήθες δοκιδωτό ηπατοκαρκίνωμα, εύκολα διακρινόμενο σε τομή, ήδη από τα πρώτα στάδια, λόγω των εστιακών, σκοτεινού χρώματος ζωνών που παρουσιάζει (Εικόνα 22), οι οποίες μπορούν να απλωθούν εντός της κάψας και η αλλοίωση να συμπεριλάβει χολικό και αγγειώδη ιστό, δημιουργώντας ένα έντονα αγγειώδες στρώμα.





**Εικόνα 22:** Ηπάτωμα στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), το οποίο σχετίζεται με την ύπαρξη Αφλατοξινών στην τροφή. (A): Πρώιμο κακοήθες ηπάτωμα. Ο κακοήθης ιστός είναι πιο σκούρου χρώματος και φαίνεται λιγότερο δοκιδωτός από τον κανονικό λιπώδη ιστό. (B): Μαργαριτόμορφα αναπλαστικά καρκινικά κύτταρα (P) στο ηπάτωμα.



Στα επόμενα στάδια, ο γρήγορα αναπτυσσόμενος και εύθρυπτος τούτος όγκος μπορεί να υποστεί, λόγω χειρισμών, κεντρική εμφρακτική νέκρωση ή τραυματική ρήξη, με αποτέλεσμα να εκδηλωθεί ξαφνική μαζική αιμορραγία, η οποία είτε θα οδηγήσει σε χρόνια αναιμία, είτε θα αποβεί ακαριαίως μοιραία. Περιστασιακά δε, είναι δυνατόν να παρατηρηθεί μετάσταση στον σπλήνα, στο νεφρό ή στα βράγχια, αλλά γενικά το νεόπλασμα χαρακτηρίζεται εισβολικής φύσεως (Roberts, 1989).

Στην εκτρεφόμενη τιλάπια, οι υψηλές συγκεντρώσεις αφλατοξινών στην τροφή σχετίζονται με την εμφάνιση μεγάλης ποικιλίας νεοπλασμάτων, όπως σωληνώδες καρκίνωμα των νεφρών (Εικόνα 23), λέμφωμα και ηπάτωμα (Εικόνα 24).



**Εικόνα 23:** Σωληνώδες καρκίνωμα των νεφρών σε τιλάπια, όταν η παρεχόμενη σε αυτή τροφή είχε αρχίσει να αποσυντίθεται.





**Εικόνα 24:** Ηπάτωμα προκληθέν στην πέστροφα (*Oreochromis mykiss*), λόγω πρόσληψης Αφλατοξινών με την τροφή. Στην τομή, ο λιπώδης ηπατικός ιστός είναι σωστά κεχρωσμένος, αλλά διακρίνονται και σκούρου χρώματος εκφυλισμένα κύτταρα, που αποτελούν το πρώτο σημάδι έναρξης του ηπατώματος.

Ο Chavez και οι συνεργάτες του (1994) μελέτησαν την επίδραση της αφλατοξίνης B1, σε νεαρά άτομα μέσου βάρους 0,5 g της τιλάπιας (*Oreochromis niloticus*). Για το σκοπό αυτό διεξήγαγαν πείραμα, κατά το οποίο αρχικά επί 25 ημέρες χορηγούσαν στα άτομα αυτά, 7 σιτηρέσια διαφορετικά στην τοξίνη αυτή περιεκτικότητας (0,0, 0,94, 1,88, 0,375, 0,752, 1,50 και 3,0 mg/kg τροφής) και κατά τις επόμενες 50 ημέρες χορηγούσαν βασικό σιτηρέσιο χωρίς την προσθήκη αφλατοξίνης. Σε άτομα ψαριών που λήφθηκαν ως δείγματα κατά τη 15<sup>η</sup>, 26<sup>η</sup>, 54<sup>η</sup> και 75<sup>η</sup> ημέρα του πειράματος, έγιναν ιστοπαθολογικές εξετάσεις, κατά τις οποίες το σκώτι των ψαριών που λάμβαναν τα διάφορα σιτηρέσια, εκτός εκείνων της ομάδας μάρτυρα, βρέθηκε εκφυλισμένο ήδη από τη 15<sup>η</sup> ημέρα. Επιπλέον, αλλοιώσεις, όπως συρρίκνωση του αγγειώδους σπειράματος και μελάνωση, παρατηρήθηκαν και στα νεφρά των ψαριών αυτών.

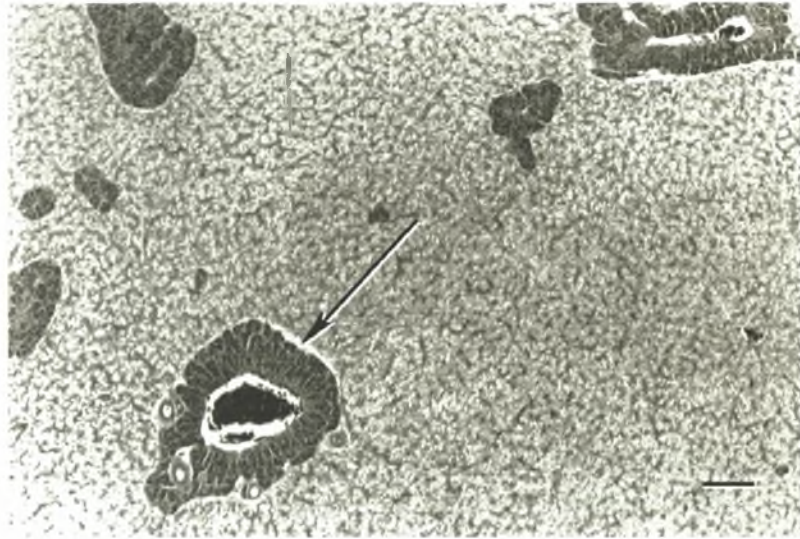
Η τοξίνη T-2 είναι μια μυκοτοξίνη τριχοθηκενίου, η οποία παράγεται από διάφορες μούχλες του γένους *Fusarium* που προσβάλλουν τα σιτηρά, τα παραπροϊόντα σιταριού και γεύματα ελαιοκάρπου, τα οποία χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ζωοτροφών. Ο Manning και οι συνεργάτες του (2003) συνέταξαν μία μελέτη για τα νεαρά άτομα του γατόψαρου των καναλιών (*Ictalurus punctatus*). Πειραματικά σιτηρέσια καταρτίστηκαν, αντικαθιστώντας την ανεπεξέργαστη καζεΐνη ενός σιτηρεσίου με καζεΐνη η οποία έχει υποστεί επεξεργασία με καθαρή τοξίνη T-2 έτσι ώστε να προκύψουν 5 διαφορετικά επίπεδα της τοξίνης. Οι συγκεντρώσεις ήταν 0, 0,625, 1,25, 2,5 και 5,0 mg/kg σιτηρεσίου. Μία

παράλληλη μελέτη με παρομοίου μεγέθους γατόψαρα των καναλιών συντάχθηκε για να επιβεβαιώσει την τοξικότητα της τοξίνης T-2. Η μελέτη αυτή απαιτούσε τη χορήγηση του σιτηρεσίου μάρτυρα στα ίδια επίπεδα καθημερινής κατανάλωσης (pair-feeding) με τα σιτηρέσια με τα τρία υψηλότερα επίπεδα τοξίνης T-2 (1,25, 2,5 και 5,0 mg/kg) έτσι ώστε να συγκριθούν οι διαφορές στην αύξηση βάρους, τη μετατρεψιμότητα της τροφής, τον αιματοκρίτη και την ικανότητα επιβίωσης. Μετά από 8 εβδομάδες, σημαντικές μειώσεις στην ανάπτυξη παρατηρήθηκαν για όλα τα σιτηρέσια με τοξίνη T-2 σε σχέση με το σιτηρέσιο μάρτυρα. Σημαντικά φτωχότερη μετατρεψιμότητα της τροφής βρέθηκε μόνο για το υψηλότερο επίπεδο της τοξίνης. Οι τιμές του αιματοκρίτη επηρεάστηκαν αντιστρόφως με την συμπερίληψη της τοξίνης στα 1,25, 2,5 και 5,0 mg/kg σιτηρεσίου. Τα pair-fed γατόψαρα παρουσίασαν μια σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση σωματικού βάρους σε σχέση με τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκε το υψηλότερο επίπεδο μυκοτοξίνης μόνο. Τα pair-fed σιτηρέσια έδωσαν τιμές αιματοκρίτη που ήταν παρόμοιες με του μάρτυρα και σημαντικά υψηλότερες από εκείνες των ψαριών που έλαβαν 1,25, 2,5 και 5,0 mg/kg σιτηρεσίου. Η ικανότητα επιβίωσης των ψαριών που έλαβαν 2,5 και 5,0 mg τοξίνης T-2/kg σιτηρεσίου ήταν σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη του σιτηρεσίου μάρτυρα και των pair-fed αντιστοίχων τους. Ιστοπαθολογικές ανωμαλίες του στομάχου, του προνεφρού και του νεφρού παρατηρήθηκαν στα ψάρια τα οποία λάμβαναν τα τρία υψηλότερα επίπεδα της τοξίνης T-2. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι αυτή η μυκοτοξίνη που προέρχεται από τις τροφές είναι τοξική για τα νεαρά άτομα του γατόψαρου των καναλιών.

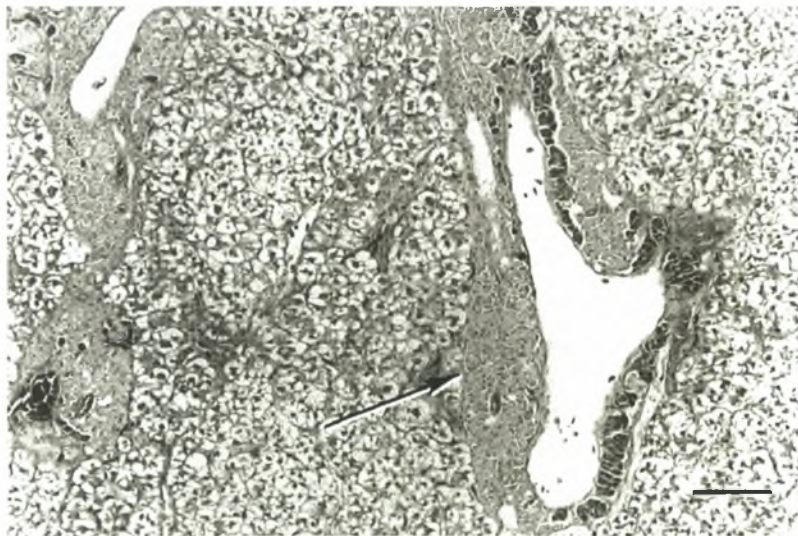
Οι ωχρατοξίνες είναι χημικά συγγενείς μυκοτοξίνες, οι οποίες παράγονται από διάφορα είδη μούχλων των γενών *Penicillium* και *Aspergillus*. Οι μούχλες αυτές είναι δυνατόν να προσβάλλουν τους σπόρους των δημητριακών, όπως το σιτάρι και το κριθάρι και τους ελαιούχους σπόρους, όπως η σόγια και τα φιστίκια. Οι ωχρατοξίνες προκαλούν σοβαρές οικονομικές απώλειες στη βιομηχανία των ιχθύων μειώνοντας το βάρος των ψαριών και αυξάνοντας τη μετατρεψιμότητα της τροφής και τη θνησιμότητα μεταξύ των ψαριών. Η ωχρατοξίνη A (OA) είναι συνήθως η πιο άφθονη από αυτές τις μυκοτοξίνες που προσβάλλουν τις ζωοτροφές. Επίσης θεωρείται η πιο τοξική από τις ωχρατοξίνες (Marquardt & Frohlich, 1992).

Ο Manning και οι συνεργάτες του (2003) συνέταξαν ένα πείραμα για τα νεαρά άτομα του γατόψαρου των καναλιών για να εκτιμήσουν την επίδραση χορηγούμενων

διαβαθμισμένων επιπέδων OA σε ένα σιτηρέσιο για 8 εβδομάδες στην ανάπτυξη, τη μετατρεψιμότητα της τροφής (FCR), την αιματολογία, την επιβίωση και την ιστοπαθολογία του ήπατος και των νεφρών. Γατόψαρα, αρχικού σωματικού βάρους 6,1 g, έλαβαν σιτηρέσια που περιείχαν 0, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 ή 8,0 mg OA/kg σιτηρεσίου, ποσά που προήλθαν από μικροβιακές καλλιέργειες οι οποίες περιείχαν 80 mg OA/kg. Σημαντικές μειώσεις της αύξησης του βάρους παρατηρήθηκαν μετά από μόνο 2 εβδομάδες και σε κάθε διαδοχική μέτρηση ανά δύο εβδομάδες για τα ψάρια που έλαβαν σιτηρέσια τα οποία περιείχαν 2,0 mg OA/kg ή περισσότερο. Την 8<sup>η</sup> εβδομάδα, η αύξηση του βάρους μειώθηκε σημαντικά στα ψάρια στα οποία χορηγήθηκαν σιτηρέσια των 1,0 mg OA/kg ή περισσότερο. Η μετατρεψιμότητα της τροφής ήταν σημαντικά φτωχότερη για τα ψάρια των σιτηρεσίων των 4,0 και 8,0 mg OA/kg. Ο αιματοκρίτης ήταν σημαντικά χαμηλότερος για τα ψάρια τα οποία έλαβαν 8,0 mg OA/kg σιτηρεσίου, αλλά δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων για τα ψάρια οποιουδήποτε σιτηρεσίου. Η επιβίωση ήταν υψηλή για τα ψάρια που έλαβαν 0 – 4 mg OA/kg σιτηρεσίου, αλλά τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκε σιτηρέσιο των 8,0 mg OA/kg παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερη επιβίωση σε σχέση με τα ψάρια των άλλων σιτηρεσίων. Ιστοπαθολογική εξέταση του ήπατος και του οπίσθιου νεφρού στις 8 εβδομάδες αποκάλυψε αυξημένα ποσοστά και βλάβη των μελανομακροφαγικών κέντρων στον ηπατοπαγκρεατικό ιστό και το οπίσθιο νεφρό για τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκαν συγκεντρώσεις OA της τάξης των 2,0 mg/kg και πάνω. Τα εξωκρινή παγκρεατικά κύτταρα, τα οποία κανονικά περιβάλλουν τις ηπατικές πυλαίες φλέβες του γατόψαρου των καναλιών μειώθηκαν σε αριθμό ή ήταν απόντα στα συκώτια των ψαριών που έλαβαν 1,0 mg OA/kg σιτηρεσίου ή περισσότερο (Εικόνες 25, 26, 27, 28).

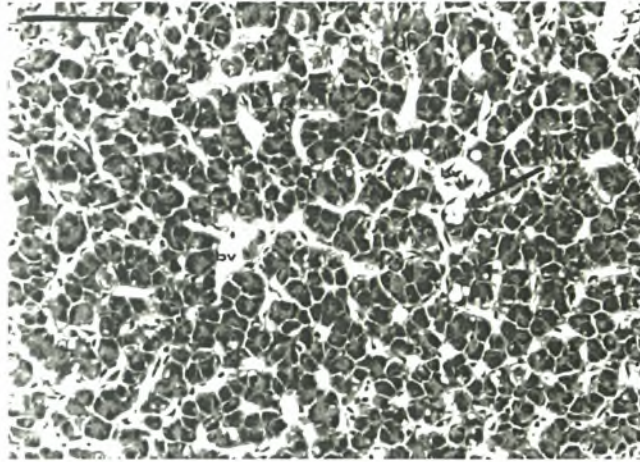


**Εικόνα 25:** Πηκτομικρογράφημα του συκωτιού γατόψαρου μάρτυρα. Με το βέλος σημειώνεται ο εξωκρινής παγκρεατικός ιστός που περιβάλλει μια πυλαία φλέβα.

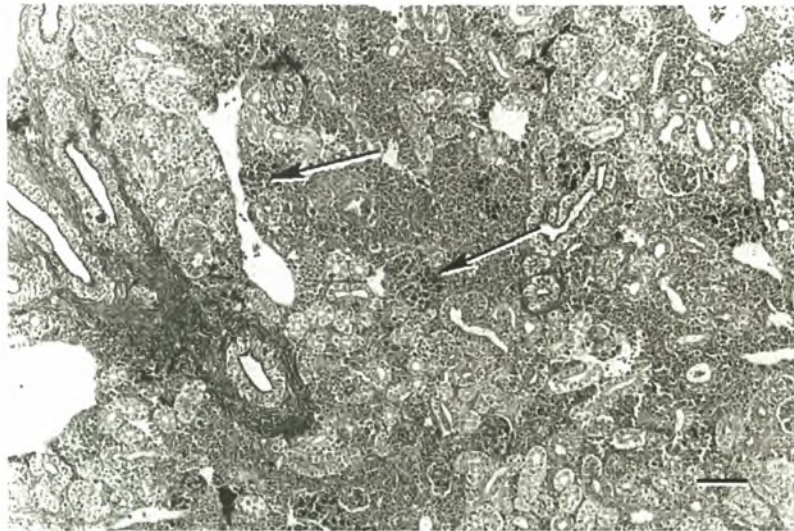


**Εικόνα 26:** Πηκτομικρογραφήμα του συκωτιού του γατόψαρου των καναλιών στο οποίο χορηγήθηκαν 8 mg OA/kg σιτηρεσίου. Με τα βέλη σημειώνονται τα μελανομακροφαγικά κέντρα όπου κανονικά θα βρισκόταν ο παγκρεατικός ιστός.





**Εικόνα 27:** Πηκτομικρογράφημα του οπίσθιου νεφρού του γατόψαρου μάρτυρα.



**Εικόνα 28:** Πηκτομικρογράφημα του οπίσθιου νεφρού του γατόψαρου των καναλιών στο οποίο χορηγήθηκαν 8 mg OA/kg σιτηρεσίου. Με τα βέλη σημειώνονται τα πολλαπλά μελανομακροφαγικά κέντρα στο διάκενο.

Οι φουμονισίνες (fumonisins) παράγονται από το (*Fusarium moniliforme*), η πιο κοινή μυκητολογική προσβολή του αραβοσίτου. Υπάρχουν αρκετοί γνωστοί τύποι φουμονισινών (fumonisins): η φουμονισίνη B<sub>1</sub>, φουμονισίνη B<sub>2</sub>, φουμονισίνη B<sub>3</sub>, φουμονισίνη B<sub>4</sub> και φουμονισίνη C<sub>1</sub>. Η φουμονισίνη B<sub>1</sub> μειώνει το ρυθμό ανάπτυξης, την



κατανάλωση της τροφής και τη μετατρεψιμότητά της και καταστρέφει το μεταβολισμό των σφιγγολιπιδίων στο γατόψαρο των καναλιών (Goel et al. 1994, Li et al. 1994, Lumbertdacha et al 1995).

Η μονιλιφορμίνη (moniliformin) (MON) είναι ένα δευτερεύοντα μεταβολίτης διαφόρων ειδών του *Fusarium*. Ο Yildirim και οι συνεργάτες του (2000) παρατήρησαν χαμηλότερη αύξηση βάρους στο γατόψαρο των καναλιών στο οποίο χορηγήθηκαν σιτηρέσια που περιείχαν 20 mg/kg ή περισσότερο MON. Οι αιματοκρίτες ήταν χαμηλότεροι στο γατόψαρο που του χορηγήθηκαν 60 mg MON/kg σιτηρεσίου και παρατηρήθηκαν μικρότεροι πυρήνες και κενοτοποίηση των ηπατοκυττάρων στα ψάρια τα οποία έλαβαν 120 mg MON/kg σιτηρεσίου.

Αποκρίσεις της τιλάπιας (*Tilapia niloticus*) σε επίπεδο ανάπτυξης, ιστολογικών ανωμαλιών και βιοχημικών αλλαγών σε υποχρόνιες και τοξικές συγκεντρώσεις φουμονισίνης B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) και μονιλιφορμίνης (MON) εκτιμήθηκαν κάτω από ελεγχόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες από τον Tuan και τους συνεργάτες του (2003). Ιχθύδια τιλάπιας (2,7 g) έλαβαν σιτηρέσια που περιείχαν 0, 10, 40, 70, 150 mg/kg FB<sub>1</sub> ή MON για 8 εβδομάδες. Αυτές οι μυκοτοξίνες λήφθηκαν από καλλιέργειες των (*Fusarium moniliforme*) και (*Fusarium proliferatum*), αντίστοιχα. Μεταξύ των ψαριών που έλαβαν σιτηρέσια τα οποία περιείχαν MON, εκείνα στα οποία χορηγήθηκαν 70 ή 150 mg MON/kg σιτηρεσίου παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερη αύξηση βάρους από τα ψάρια μάρτυρες. Ωστόσο, ψάρια τα οποία έλαβαν σιτηρέσια με επίπεδα FB<sub>1</sub> της τάξης των 40 mg/kg ή περισσότερο επέδειξαν χαμηλότερη αύξηση βάρους σε σχέση με τα ψάρια μάρτυρες. Η θνησιμότητα ήταν χαμηλή. Διαφορές στην ποσοστιαία επιβίωση μεταξύ των σιτηρεσίων δεν παρατηρήθηκαν. Ο αιματοκρίτης μειώθηκε σημαντικά στα ψάρια που έλαβαν 150 mg FB<sub>1</sub> ή MON/kg σιτηρεσίου. Τα επίπεδα του πυρουβικού στον ορρό ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με τα ψάρια μάρτυρες για όλα τα ψάρια που έλαβαν MON. Η αναλογία σφιγγανίνης και ελεύθερης σφιγγοσίνης (SA/SO) στο συκώτι αυξήθηκε σημαντικά στα ψάρια στα οποία χορηγήθηκαν 150 mg FB<sub>1</sub>/kg σιτηρεσίου. Ιστοπαθολογικές βλάβες δεν παρατηρήθηκαν στα ψάρια που έλαβαν MON ή FB<sub>1</sub>. Οι αντιδράσεις της τιλάπιας στην FB<sub>1</sub> και τη MON σε αυτό το πείραμα δείχνουν ότι και οι δύο μυκοτοξίνες είναι τοξικές για την τιλάπια και μπορεί να μειώσουν την παραγωγικότητα αυτού του ψαριού.

## 4.2 ΤΟΞΙΚΑ ΦΥΚΗ

Είναι γνωστό ότι η άνθιση των υδρόβιων φυκών αφαιρεί οξυγόνο από το νερό και προκαλεί το θάνατο των ψαριών. Εκτός όμως από αυτό, έχει παρατηρηθεί ότι πολλά φύκη του γλυκού νερού είναι τοξικά, όταν καταναλώνονται από τους ανώτερους ζωικούς οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων και των ψαριών.

Ορισμένοι ερευνητές μελέτησαν την επίδραση των γνωστών για την τοξικότητα τους στελεχών του φύκου (*Microcystis aeruginosa*) και του μη τοξικού φύκου *Anabaena*, σε σχέση με την πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) και την τιλάπια. Η έκθεση των ψαριών στα φύκη έγινε μέσω δύο οδών: δια του στόματος και παρεντερικά. Τα ψάρια κατανάλωσαν και τα τοξικά και τα μη τοξικά φύκη, χωρίς να εκδηλώσουν καμία ασθένεια, ενώ όταν υποβλήθηκαν σε ενδοπεριτοναϊκή έγχυση τοξικών αποσταγμάτων από τα φύκη αυτά, οδηγήθηκαν γρήγορα στο θάνατο. Με τον τρόπο αυτό διαπιστώθηκε ότι η τοξίνη δεν απορροφάται από το έντερο (Roberts et al., 1989).

Τα τοξικά θαλάσσια φύκη, τα οποία είναι γνωστά ως «κόκκινη παλίρροια» ή ως «δυνομαστιγωτά», συνδέονται γενικά με οξείες νεκρωτικές καταστάσεις των βραγχίων. Όμως στην περίπτωση του (*Gyrodinium aureoleum*), το οποίο είναι ένα από τα συνηθέστερα θαλάσσια φύκη, οι τοξίνες απορροφούνται από το πεπτικό σύστημα, με αποτέλεσμα να προκαλείται σοβαρή εντερίτιδα και εστιακή ηπατική νέκρωση (Roberts & Bullock, 1989).

Στην περίπτωση των ψαριών του θαλασσινού νερού, ορισμένα μικροφύκη που είναι τοξικά για τα ψάρια, δημιουργούν σημαντικά προβλήματα κυρίως σε μονάδες υδατοκαλλιέργειών, όπου τα άτομα είναι περιορισμένα στους ιχθυοκλωβούς και δεν μπορούν να διαφύγουν. Τα μικροφύκη αυτά δρουν κυρίως στα βράγχια των ψαριών και τα καταστρέφουν με δύο κυρίως τρόπους: μηχανικά ή με την παραγωγή τοξικών ουσιών. Ορισμένα διάτομα (*Chaetoceros convolutus* και *Chaetoceros concavicornis*) διαθέτουν ακανθώδεις δομές, οι οποίες εγκλωβίζονται στους ιστούς των βραγχίων των ψαριών, με αποτέλεσμα το θάνατο των τελευταίων από αιμορραγία, από ασφυξία λόγω της μη καλής ανταλλαγής των αερίων ή λόγω της υπερπαραγωγής βλέννας ή ακόμα από δευτερογενή μόλυνση των βραγχίων. Άλλα μικροφύκη (*Heterosigma carterae*, *Chattonella antiqua*, *Chrysochromulina polylepis*, *Prymnesium parvum*, *Gymnodinium mikimotoi*) παράγουν ουσίες με αιμολυτική δράση, οι οποίες δρουν κατά κύριο λόγο στα βράγχια των ψαριών,

των οποίων τις λειτουργίες διαταράσσουν ή και προκαλούν την καταστροφή τους. Οι λύσεις που προτείνονται σε μονάδες υδατοκαλλιεργειών ψαριών που αντιμετωπίζουν παρόμοια προβλήματα, είναι κυρίως η πρόσκαιρη μεταφορά των κλωβών σε πιο ασφαλή νερά όταν υπάρχει πρόβλημα, καθώς και η άμεση συλλογή των ψαριών, καθόσον οι τοξίνες δεν συσσωρεύονται στο κρέας των ψαριών (Νικολαΐδης & Ευαγγελόπουλος, 1998).

#### 4.3 ΤΟΞΙΝΕΣ ΤΟΥ ΒΑΜΒΑΚΟΣΠΟΡΟΥ

Ο βαμβακόσπορος ανήκει στην κατηγορία των ελαιούχων σπερμάτων και χρησιμοποιείται πολλές φορές στα σιτηρέσια των ψαριών. Εκτός όμως από το ότι αποτελεί το συνηθέστερο υπόστρωμα για την αφλατοξίκωση, περιέχει και δύο τοξικά συστατικά. Το σημαντικότερο από αυτά είναι η γκοσιπόλη, μια κίτρινου χρώματος χρωστική, η οποία προκαλεί ανορεξία και συσσώρευση μεγάλων λιπαρών κόκκων στο εσωτερικό των ηπατοκυττάρων και των νεφρικών σωληναρίων, δημιουργώντας έτσι πρόσφορο έδαφος για την εκδήλωση κοκκιωματώδους αντίδρασης. Στα νεφρά προκαλείται, επίσης, σπειραματονεφρίτιδα και σωληνώδης νέκρωση (Roberts & Bullock, 1989).

Στο εμπόριο διατίθενται ειδικές ποικιλίες μη κεχρωσμένου βαμβακόσπορου, οι οποίες έχουν προέλθει από ειδικά επιλεγμένα είδη βαμβακόφυτων, στα σπέρματα των οποίων δεν περιέχεται γκοσιπόλη. Όμως, εξακολουθεί να υπάρχει το δεύτερο τοξικό συστατικό του βαμβακόσπορου, που είναι ένα κυκλοπρενοειδές λιπαρό οξύ, το οποίο περιέχεται στον πυρήνα του σπέρματος. (Εικόνα 29).



**Εικόνα 29:** Μικροσκοπική παρατήρηση σε τομή συκωτιού της πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*), της οποίας το παρεχόμενο σιτηρέσιο περιείχε κυκλοπροπενοειδή λιπαρά οξέα του βαμβακόσπορου. το κυτόπλασμα των ηπατοκυττάρων χαρακτηρίζεται για την περίεργη ινιδιακή υφή του.

Σε μία μελέτη του Blom και των συνεργατών του (2001), η πλήρης αντικατάσταση η πρωτεΐνη της ιχθυοτροφής με πρωτεΐνη βαμβακόσπορου δεν επηρέασε την επιβίωση ή το ρυθμό ανάπτυξης της ενήλικης πέστροφας για μια περίοδο 6 μηνών. Η γκοσιπόλη έχει μια



δράση κατά της γονιμότητας στα ζώα της ξηράς, αλλά οι πληροφορίες που αφορούν τα σολομονοειδή είναι ανεπαρκείς. Σε αυτό το πείραμα, θηλυκές πέστροφες έλαβαν σιτηρέσια με 0, 25, 50, 75 ή 100% αντικατάσταση της πρωτεΐνης της ιχθυοτροφής από πρωτεΐνη βαμβακόσπορου μέχρι την πρώτη ωρίμανση και πολλαπλασιασμό για να μελετηθούν οι μακροπρόθεσμες επιδράσεις στην ανάπτυξη και την αναπαραγωγή. Η χορήγηση σιτηρεσίων που περιείχαν βαμβακόσπορο σε μία συνολική περίοδο 10 μηνών δεν προκάλεσε διαφορές στην ανάπτυξη και τη θνησιμότητα σε σχέση με την ομάδα μάρτυρα. Αυξημένα επίπεδα ενσωματωμένου βαμβακόσπορου οδήγησαν σε μείωση της αιμογλοβίνης του αίματος και των επιπέδων του αιματοκρίτη. Το επίπεδο του ενσωματωμένου βαμβακόσπορου δεν είχε καμία επίδραση στον αριθμό των αυγών που παρήγαγε κάθε θηλυκό, αλλά οδήγησε σε μία μείωση του βάρους των αυγών. Η επιβίωση των εμβρύων ήταν χαμηλή σε όλες τις ομάδες και δεν παρουσίασε διαφορές. Ωστόσο, ένα αυξημένο επίπεδο ενσωματωμένου βαμβακόσπορου οδήγησε σε μια γραμμική αύξηση του αριθμού των θηλυκών που παρήγαγαν βιώσιμα έμβρυα. Η γκοσιπόλη του σιτηρεσίου απορροφήθηκε από τη θηλυκή πέστροφα και μεταφέρθηκε στα αυγά. Μια υψηλή συγκέντρωση γκοσιπόλης παρέμεινε στα νεαρά άτομα στο swim-up στάδιο. Τα στοιχεία του πειράματος υποδεικνύουν ότι η αντικατάσταση της πρωτεΐνης της ιχθυοτροφής από πρωτεΐνη βαμβακόσπορου δεν είχε καμία επίδραση στην ανάπτυξη και τη θνησιμότητα αλλά μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς της θηλυκής πέστροφας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα γεύματα βαμβακόσπορου μπορούν να χρησιμοποιηθούν στα σιτηρέσια των γεννητόρων σε ένα επίπεδο κάτω από 30% χωρίς να επηρεαστούν αρνητικά οι αναπαραγωγικές παράμετροι, όπως το μειωμένο βάρος αυγών και η επιβίωση των εμβρύων.

#### 4.4 ΑΝΘΡΩΠΟΓΕΝΟΥΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΧΗΜΙΚΑ

Η ευρέως διαδεδομένη χρήση των παρασιτοκτόνων στη γεωργία, χάρη στην οποία αυξήθηκε σημαντικά η παραγωγικότητα του κλάδου, είχε ως αρνητική συνέπεια το ότι υπολείμματα ουσιών όπως η οργανοχλωρίνες ή τα οργανοφωσφορικά άλατα, περιέχονται πλέον στα διάφορα τρόφιμα και στην περίπτωση των άγριων ψαριών, φτάνουν σε αυτά μέσω της τροφικής αλυσίδας.

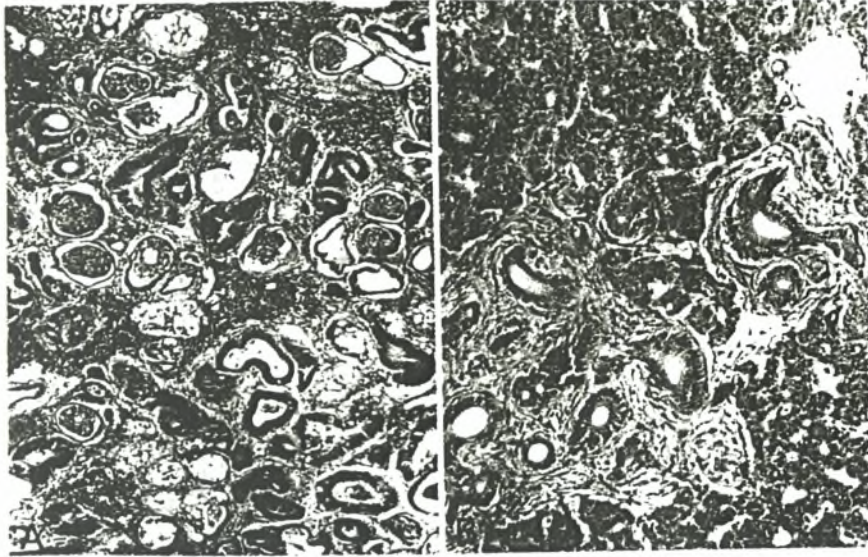
Συνήθως, η συγκέντρωση των καταλοίπων αυτών είναι τέτοια, ώστε τουλάχιστον σε καλώς ελεγχόμενα συστήματα εκτροφής, να μην προκαλούνται στα ψάρια παθολογικές καταστάσεις. Οι επιδράσεις τους πάντως, δύσκολα ανιχνεύονται και συνδέονται ως επί το πλείστον με μείωση του αναπαραγωγικού επιπέδου και της ανάπτυξης.

Ενδεχόμενη, από σφάλμα, αυξημένη χρήση αυτών ή μόλυνση της τροφής, οδηγούν σε οξεία τοξικά επεισόδια. Σε τέτοιες περιπτώσεις επέρχεται γρήγορα θάνατος των περισσότερων ψαριών, ο οποίος οφείλεται σε μαζική νέκρωση των ηπατικών και νεφρικών σωληναρίων ή συχνά, σε αιμορραγία και παρεκκλίνουσα συμπεριφορά. Σε όσα από τα άτομα καταφέρουν να επιβιώσουν, λαμβάνει χώρα ινώδης αντικατάσταση των νεκρωτικών περιοχών και κατά το μεγαλύτερο ποσοστό τους ανακάμπτουν, σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα (Roberts, 1989).

Σε αντίθεση με τα βαρέα μέταλλα, η ένταση της τοξικότητας των οποίων μετριάζεται από τα υπόλοιπα θρεπτικά συστατικά του σιτηρεσίου, στην περίπτωση των περισσότερων παρασιτοκτονικών σκευασμάτων, τα υπόλοιπα συστατικά της τροφής, επηρεάζουν ελάχιστα την οξεία παθογενετικότητα τους. Ωστόσο, όπως έχει αποδειχθεί με χρόνιες μελέτες, τουλάχιστον στην περίπτωση του οργανοχλωριωμένου βενζοϊκού εξαχλωριδίου, το είδος της τροφής στην οποία αυτό ενσωματώνεται, μπορεί να επηρεάσει δραστικά τις μακροχρόνιες συνέπειές του (Roberts & Bullock, 1989).

#### 4.5 ΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΚΑ

Πολλά πειραματικά ή εμπορικά σιτηρέσια των ψαριών του θαλασσινού νερού, βασίζονται στη χρήση χημικών υποκατάστατων πολυκυτταρίνης, ως συγκολλητικών, προκειμένου να μην διασκορπίζονται τα συστατικά τους κατά τη βύθισή τους στο νερό. Υψηλά επίπεδα τέτοιων συγκολλητικών στο σιτηρέσιο, συνδέθηκαν με μία χρόνια εκφυλιστική κατάσταση, γνωστή ως «Ηπατονεφρικό Σύνδρομο». Η κατάσταση αυτή χαρακτηρίζεται κυρίως από κενотоπίωση, νέκρωση και αποκόλληση των νεφρικών σωληναρίων, συμπτώματα που συνοδεύονται από ίνωση του αιμοποιητικού ιστού, σχηματισμό στραβώματος και παράλληλη πολλαπλασιαστική κίρρωση της χολής (Εικόνα 30).



**Εικόνα 30:** «Ηπατονεφρικό Σύνδρομο» στο καλκάνι (*Scophthalmus maximus*). (A): Στα τελικά στάδια το νεφρό παρουσιάζει συμπύκνωση του σωληνοειδούς επιθηλίου και περισωληνική ίνωση. (B): Συκώτι από το ίδιο ψάρι που εμφανίζει σοβαράς μορφής περιχολική κίρρωση.

Τα προσβεβλημένα ψάρια εμφανίζουν μειωμένο ρυθμό ανάπτυξης, ανορεξία, αποκτούν σκούρο χρωματισμό και τελικά αποθνήσκουν. Δεν είναι γνωστό ποιο ακριβώς συστατικό των συγκολλητικών είναι υπεύθυνο για αυτή την κατάσταση, αλλά υπάρχει υποψία ότι πρόκειται για τα σύμπλοκα μεταλλοθιόλης (Roberts & Bullock, 1989).

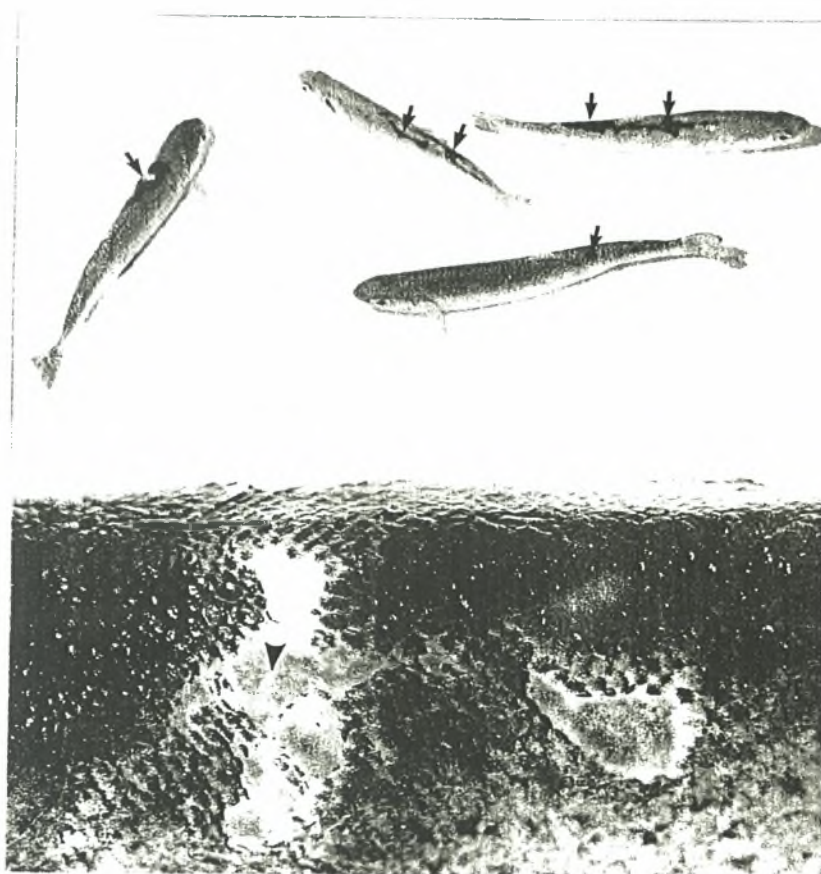
#### 4.6 ΦΩΤΟΕΥΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΤΕΣ

Οι φωτοευαίσθητοποιητές είναι ουσίες οι οποίες έχουν την ιδιότητα να διεγείρονται παρουσία υπεριώδους ακτινοβολίας και να απελευθερώνουν ηλεκτρόνια. Όταν αυτές ενσωματώνονται στα σιτηρέσια των ψαριών, απορροφώνται από τον οργανισμό, μπαίνουν στην κυκλοφορία του αίματος και διαπερνώντας τα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων, φτάνουν στους διαφόρους ιστούς. Όταν, όμως, φτάσουν στα εξωτερικά στρώματα του δέρματος μπορούν να διεγερθούν από την υπεριώδη ακτινοβολία και η ενέργεια που απελευθερώνεται τότε προκαλεί εντοπισμένες βλάβες στους ιστούς, όπως σοβαρή νέκρωση και ελκοποίηση αυτών.

Το σκεύασμα το οποίο συνήθως εμπλέκεται με αυτή την κατάσταση είναι φαινοθουαζίνη, ένα ανθελμινθικό φάρμακο, το οποίο χρησιμοποιείται κυρίως για την καταπολέμηση του εντερικού παρασίτου *Octomitur*. Το φάρμακο αυτό καταδείχθηκε

υπεύθυνο για την κατάσταση αυτή πρώτη φορά το 1957 (Roberts & Bullock, 1989) για το φαινόμενο του «ηλιακού εγκαύματος» (sunburn) ή του «ξεφλουδίσματος της ράχης» (backpeel), που έπληττε τα ψάρια στα οποία είχε χορηγηθεί το προαναφερθέν σκεύασμα.

Αργότερα, άλλοι ερευνητές επιβεβαίωσαν την φωτοτοξική επίδραση αυτού του φαρμάκου στο σολομό του Ατλαντικού (*Salmo salar*), καθώς τα ψάρια τα οποία διατρέφονταν με σιτηρέσια σε μορφή σύμπηκτων (pellets), που ήταν επικαλυμμένα με φαινοθαζίνη, παρουσίαζαν εσχαροποίηση και νέκρωση του δέρματος της περιοχής της ράχης, κατόπιν ακτινοβόλησής τους με ερυθρματώδη μήκη κύματος του υπεριώδους φάσματος, γνωστή και ως ακτινοβολία Β (Εικόνα 31).



**Εικόνα 31:** (A): Φωτοτοξικής αιτιολογίας αλλοιώσεις (βέλη) στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), οι οποίες φαίνονται ως μαύρου χρώματος περιοχές στη ράχη κάθε ψαριού. (B): Μικροσκοπική παρατήρηση της δερμίδας και του μυός των ψαριών αυτών όπου φαίνεται η ελκώδης υποκείμενη αλλοίωση.



Ένα άλλο ζήτημα το οποίο μελετήθηκε και παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, είναι η απορρόφηση της φαινοθυαζίνης από τα ψάρια, όταν αυτή συνδυάζεται με έκθεση των ψαριών σε ακτινοβολία A, η οποία αντιστοιχεί στα μήκη κύματος που προκαλούν έκκριση μελανίνης και μαύρισμα. Σε τέτοιες περιπτώσεις παρατηρήθηκε μια άκρως ειδική αλλοίωση του δέρματος, η οποία όπως φαίνεται με παρατήρηση σε τομή δέρματος, είναι χαρακτηριστικά διαφορετική από την αλλοίωση που παρατηρήθηκε στο σολομό του Ατλαντικού (*Salmo salar*) και που είναι γνωστή ως ελκώδης δερματική νέκρωση (Ulcerative Dermal Necrosis – UDN).

Η κατάσταση αυτή ενυπήρχε σε φυσικούς πληθυσμούς σολομού από τα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα και ενώ αποτελούσε αντικείμενο εκτεταμένων μελετών, δεν ήταν δυνατόν να απομονωθεί κανένας παράγοντας μόλυνσης που να την αιτιολογεί. Αργότερα, όμως, διατυπώθηκε η άποψη ότι η αιτία που την προκαλούσε ήταν ενδεχομένως φωτοτοξικής προέλευσης, καθώς, δεν είναι ασυνήθιστο, ουσίες οι οποίες δυνητικά μπορούν να προκαλέσουν φωτοτοξικότητα να βρίσκονται στη θάλασσα.

Πολλά σκουλήκια (annelids), που είτε κατοικούν σε σωλήνες, είτε τρυπώνουν στο έδαφος του βυθού, συσσωρεύουν, συνήθως σε υπερβολικά μάλιστα βαθμό, πορφυρίνες, οι οποίες είναι ουσίες ικανές να προκαλέσουν φωτοευαισθησία σε πολλούς ιστούς, καθώς και στο αίμα.

Παρότι οι αναφορές σχετικά με την εκδήλωση φωτοευαισθησίας είναι λίγες στην περίπτωση της ελεγχόμενης εκτροφής ψαριών, είναι σημαντικό να μην ξεχνάμε ότι, όσον αφορά τους ανώτερους ζωικούς οργανισμούς, παρόμοιες καταστάσεις δεν είναι καθόλου ασυνήθιστες και ότι αυτές συνδέονται με μία μεγάλη ποικιλία χημικών μορίων. Καθώς μάλιστα σήμερα τα παρασκευαζόμενα προς διατροφή των ψαριών σιτηρέσια είναι όλο και περισσότερο σύνθετα και χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο παρόμοια χημικά, η πιθανότητα να λάβουν τα ψάρια, μέσω του παρεχόμενου σιτηρεσίου, ουσίες φυτικής ή χημικής προέλευσης, που θα αποδειχτούν τελικά φωτοτοξικές, παραμένει ένα ζήτημα αυξημένου ενδιαφέροντος.

#### 4.7 ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Η θεραπεία των μολυσματικών ασθενειών των ψαριών περιλαμβάνει συνήθως ενσωμάτωση αντιβιοτικών ή και άλλων χημειοθεραπευτικών στην τροφή. Παθολογικές μεταβολές στα ψάρια, όμως, προκαλούνται μόνο όταν παρόμοια φάρμακα περιλαμβάνονται σε πολύ μεγάλες ποσότητες στην τροφή ή όταν η χρήση τους είναι παρατεταμένη.

Από τα διάφορα φάρμακα που χρησιμοποιούνται, εκείνα που σχετίζονται συχνότερα με παθολογικές καταστάσεις είναι η ερυθρομυκίνη και τα σουλφοναμίδια. Χορήγηση θεραπευτικής δόσης ερυθρομυκίνης στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) προκάλεσε ιδιόζουσα τοξική κενотоπιώδη εκφύλιση του κεντρικού σωληνοειδούς επιθηλίου των νεφρών (Roberts & Bullock, 1989). Εξάλλου, έχει αποδειχτεί ότι παρατεταμένη θεραπεία των σολομονοειδών με σουλφοναμίδια, προκαλεί καθυστέρηση της ανάπτυξης, στρεβλώσεις των νεφρικών σωληναρίων, σκλήρωση των σπλαγχνικών αρτηριών και εστιακή ηπατική νέκρωση.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση τις γνώσεις τις αποκτηθείσες από τη μελέτη της σχετικής με τα Διατροφικά Νοσήματα των Ιχθύων βιβλιογραφίας, φαίνεται ότι οι διαταραχές στην διατροφή των Ιχθύων οδηγούν στην εμφάνιση 6 κύριων Διατροφικών Νοσημάτων. Αυτά είναι:

1. Σκολίωση και Λόρδωση
2. Καταρράκτης των οφθαλμών
3. Διάβρωση των πτερυγίων
4. Σύνδρομο του Λιπαρού Συκωτιού
5. Εξοφθαλμίωση
6. Αιμορραγία του δέρματος και των πτερυγίων.

Μέχρι σήμερα, δεν έχουν δημοσιευτεί παρά λίγες μόνον μελέτες που αφορούν στην περιγραφή του Καταρράκτη στα σολομονοειδή. Καταδεικνύεται, συνεπώς, η ανάγκη συστηματικής περιγραφής και των άλλων Διατροφικών Νοσημάτων των Ιχθύων από τους ερευνητές.

Από τη σημερινή εμπειρία, τα προβλήματα παραγωγής που σχετίζονται με τα Διατροφικά Νοσήματα των Ιχθύων εντάσσονται σε δύο κατηγορίες (Αναστασίου, 1996). Η πρώτη συνδέεται με το χαμηλό βαθμό ανοσολογικής αντίδρασης των ψαριών. Πολλοί ερευνητές έχουν αναφέρει ότι υπό καθεστώς νοσηρής κατάστασης των ψαριών εξαιτίας της διατροφής, αυτά γίνονται περισσότερο ευάλωτα σε μολυσματικές ασθένειες. Τούτο επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι μη ορθολογικά διατρεφόμενοι πληθυσμοί ψαριών αποδεκατίστηκαν κυριολεκτικά, κατόπιν προσβολής τους από παθογόνα. Πολλοί εκτροφείς έχουν δηλώσει ότι ορισμένες μολυσματικές ασθένειες των ψαριών προλήφθηκαν ή υποχώρησαν κατόπιν διορθωτικής μετατροπής του σιτηρεσίου και συμπληρωματικής παροχής βιταμινών. Η πρώτη αναμφισβήτητη απόδειξη της ισορροπημένης διατροφής είναι η εξάλειψη κάθε είδους Διατροφικών Νοσημάτων. Ο μεταβολισμός των ψαριών που παρουσιάζουν κάποιο Διατροφικό Νόσημα είναι ελαττωμένος και τα ενζυμικά τους συστήματα δυσλειτουργούν.

Η δεύτερη κατηγορία συνδέεται με τη διαμορφούμενη σωματική σύσταση και εμφάνιση του εμπορεύσιμου μεγέθους ψαριών που χαρακτηρίζουν την ποιότητά τους. Όλα

τα Διατροφικά Νοσήματα, όπως έχει ήδη αναφερθεί, συνδέονται σταθερά με μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των ψαριών, ενώ σε πολλές περιπτώσεις έχουν ως τελική κατάληξη το θάνατο αυτών. Ακόμη, όπως είναι φανερό, συνδέονται με αλλοιώσεις των οργανοληκτικών χαρακτηριστικών των ψαριών, ιδιαίτερα όσον αφορά την εξωτερική εμφάνιση, την υφή της σάρκας και τη γεύση των ψαριών. Τα χαρακτηριστικά αυτά, εκτιμώνται ιδιαίτερα από τους καταναλωτές και επηρεάζουν απόλυτα την εμπορευσιμότητα των ψαριών.

Συνεπώς, ακόμη και στην περίπτωση που τα Νοσήματα αυτά δεν έχουν ως κατάληξη το θάνατο, τα προσβεβλημένα ψάρια δύσκολα θα πωληθούν, γεγονός που θα δημιουργήσει πρόβλημα στον εκτροφέα. Το διαμορφούμενο κόστος παραγωγής, εξάλλου, εξαρτάται σαφώς, όπως έχει ήδη αναφερθεί από το κόστος διατροφής, αλλά καθορίζεται κυρίως από το σύνολο των έκτακτων απωλειών του ιχθυοπληθυσμού. Κατά συνέπεια, εάν η ποιότητα της διατροφής συμβάλλει, μέσω της εξάλειψης των Διατροφικών Νοσημάτων, στη μείωση των ποσοστών θνησιμότητας και στη βελτίωση της εμφάνισης των ψαριών, τα οικονομικά αποτελέσματα καθίστανται πολλαπλάσια της μεταβολής του κόστους διατροφής (Αναστασίου, 1996).

Γνωρίζοντας ότι το πεδίο εξέλιξης στον τομέα της Διατροφής των Ιχθύων παραμένει ανοιχτό και η πρόκληση για το καλύτερο είναι μεγάλη, όλοι οι εμπλεκόμενοι και αλληλοεξαρτώμενοι φορείς οφείλουν να δώσουν στις Ιχθυοκαλλιέργειες την προοπτική που τους αξίζει.



## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aisen, P., Enns, C. & Wessling-Resnick, M. (2001) Chemistry and biology of eukariotic iron metabolism. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **33**, 940-959.
- Andersen, F., Maage, A. & Julshamn, K. (1996) An estimation of dietary iron requirement of Atlantic salmon, (*Salmo salar*, L.), parr. *Aquaculture Nutrition*, **2**, 41-47.
- Andersen, O. (1997) Accumulation of waterborne iron and expression of ferritin and transferrin in early developmental stages of brown trout (*Salmo trutta*). *Fish Physiol. Biochem.* **16**, 223-231.
- 
- Aoe, H., Mashuda, I., Mimura, T., Saito, T. & Komo, A. (1968) Requirement of young carp for vitamin A. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **34**, 959-964.
- Aoe, H., Masuda, I. (1967) Water-soluble vitamin requirements of carp: II. Requirements for p-aminobenzoic and inositol. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **33**, 674-680.
- Arai, S., Nose, T., Hashimoto, Y. (1972) Qualitative requirement of young eels (*Anguilla japonica*) for water-soluble vitamins and their deficiency symptoms. *Bull. Freshw. Fish. Res. Lab.*, **22**, 69-83.
- Arnesen, P., Krogdahl, A. & Sundby, A. (1995) Nutrient digestibilities, weight gain and plasma and liver levels of carbohydrate in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) fed diets containing oats and maize. *Aquacult. Nutr.*, **1**, 151-158.
- Austreng, E., Risa, S., Edwards, D. J. & Hvidsten, H. (1977) Carbohydrate in rainbow trout diets. II. Influence of carbohydrate levels on chemical composition and feed utilisation of fish from different families. *Aquaculture*, **11**, 39-50.
- Baeverfjord, G. (1992) Digestible and Indigestible Carbohydrates in Rainbow trout diets. III. Effects on Growth, Digestibility, Pancreatic Hormones, Liver Glycogen Deposition and Liver Morphology. PhD Thesis. Norwegian College of Veterinary Medicine, Oslo, Norway.
- Baeverfjord, G., Asgard, T. & Shearer K. D. (1998) Development and detection of phosphorus deficiency in Atlantic salmon, (*Salmo salar* L.), parr and post-smolts. *Aquaculture Nutrition* **4**, 1-11.
- Baker, R. T. M., Martin, P. & Davies S. J. (1997) Ingestion of sub-lethal levels of iron sulphate by African catfish affects growth and tissue lipid peroxidation. *Aquat. Toxicol.*, **40**, 51-61.
- Beamish, F. W. H., Hilton, J. W., Niimi, E. & Slinger, S. J. (1986) Dietary carbohydrate and growth, body composition and heat increment in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Fish Physiol. Biochem.*, **1**, 85-91.
- Bell, J. G., McEvoy, J., Tocher, D. R. & Sargent, J. R. (2000) Depletion of  $\alpha$ -Tocopherol and Astacanthin in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Affects Autoxidative Defense and Fatty Acid Metabolism. *American Society for Nutritional Sciences*.
- Bell, J. G., Tocher, D. R., Sargent, J. R. (1994) Effect of supplementation of 20:3(n-6), 20:4(n-6) and 20:5(n-3) on the production of prostaglandins E and F of the 1-, 2- and 3-series in turbot (*Scophthalmus maximus*) brain astroglial cells in primary culture. *Biochem. Biophys. Acta* **1211**, 335-342.
- Bell, M. V., Batty, R. S., Dick, J. R., Fretwell, K., Navarro, J. C., Sargent, J. R. (1995) Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus* L.). *Lipids* **30**, 443-449.
- Bell, M. V., Dick, J. R. (1991) Molecular species composition of the major diacylglycerophospholipids from muscle, liver, retina, and brain of cod (*Gadus morhua*). *Lipids* **26**, 565-573.
- Bergman, H. L. & Dorward-King, E. J. (1997) Reassessment of metals criteria for aquatic life protection. Pensacola, SETAC technical publication series. SETAC Press, 114pp.
- Bergot, F. & Breque, J. (1983) Digestibility of starch by rainbow trout: effects of the physical state of starch and of the intake level. *Aquaculture*, **34**, 203-212.
- Bergot, F. (1979a) Carbohydrate in rainbow trout diets: effects of the level and source of carbohydrate

- and the number of meals on growth and body composition. *Aquaculture*, **18**, 157-167.
- Bergot, F. (1979b) Effects of dietary carbohydrates and of their mode of distribution on glycaemia in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **64**, 543-547.
- Berntssen, M. H. G., Hylland, K., Wendelaar Bonga, S. E. & Maage, A. (1999) Toxic levels of dietary copper in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Aquatic Toxicology*, **46**, 87-99.
- Berntssen, M. H. G., Lundebye, A-K., Maage, A. (1999) Effects of elevated dietary copper concentrations on growth, feed utilisation and nutritional status of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. *Aquaculture*, **174**, 167-181.
- Blom, J. H., Lee, K-J., Rinchard, J., Dabrowski, K., Ottobre, J. (2001) Reproductive efficiency and maternal-offspring transfer of gossypol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing cottonseed meal. *Journal of Animal Science*, Vol. 79, no. 6, pp. 1533-1539.
- Boonyaratpalin, M., Wanakowat, J. (1993) Effect of thiamin, riboflavin, pantothenic acid and inositol on growth, feed efficiency and mortality of juvenile seabass. In: Kanshik, S. J., Luquet, P. (Eds.), *Fish Nutrition in Practice*. INRA, Cedex, France, pp. 819-828.
- Bureau, D. (1998) The partitioning of energy from digestible carbohydrates by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Diss. Abst. Int. Part B - Sci. Eng.*, **58B**, 3379.
- Burtle, G. J., Lovell, R. T. (1988) Lack of response of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to dietary myo-inositol. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **46**, 218-222.
- Bury, N. R., Grosell, M., Wood, C. M., Hogstrand, C., Wilson, R. W., Rankin, J. C., Busk, M., Lecklin, T. & Jensen, F. B. (2001) Intestinal iron uptake in the European flounder (*Platichthys flesus*). *J. Exp. Biol.* **204**, 3779-3787.
- Caballero, M. J., Obach, A., Rosenlund, G., Montero, D., Gisvold, M. & Izquierdo, M. S. (2002) Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, **214**, 253-271.
- Carriquiriborde, P., Handy, R. D. & Davies S. J. (2004) Physiological modulation of iron metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed low and high iron diets. *The Journal of Experimental Biology*, **207**, pp. 75-86.
- Chang, T-T., Rosania, G. R., Chung, S-K. (2001) Inositol phospholipid pathway inhibitors and regulators. *Expert Opin. Ther. Pat.*, **11**, 45-59.
- Cho, C. Y., Cowey, C. B. & Watanabe, T. (1985) *Finfish Nutrition in Asia. Part I. Methodological Approaches to Research and Development*, pp. 1-80. Ottawa, Ontario, Canada: International Development Research Centre (IDRC vol. 134).
- Cho, C.Y. & Cowey, C. B. (1993) Utilization of monophosphate esters of ascorbic acid by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In: *Fish Nutrition in Practice* (ed. by S. J. Kaushik & P. Luquet), pp. 149-156. INRA Paris.
- Chu, S. W., Geyer, R. P. (1981) Myo-inositol action in gerbil intestine. Reversal of a diet-induced lipodystrophy and change in microsomal lipase activity. *Biochem. Biophys. Acta*, **664**, 89-97.
- Chu, S. W., Geyer, R. P. (1983) Tissue content and metabolism of myo-inositol in normal and lipodystrophic gerbils. *J. Nutr.*, **113**, 293-303.
- Chu, S. W., Hegsted, D. M. (1980) Myo-inositol deficiency in gerbils: comparative study of the intestinal lipodystrophy in (*Meriones unguiculatus*) and (*Meriones libycus*). *J. Nutr.*, **110**, 1209-1216.
- Chuang, J. L. (1991) Fish and Shrimp. In: *Niacin in Animal Nutrition* (ed. by R. Fenster & R. A. Blum), pp. 34-37. Roche Index No. 2288, Basel.
- Combs, G. F. (1998) *The Vitamins, Fundamental Aspects in Nutrition and Health*, 2nd edn. 618 pp. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Copeman, L. A., Parrish, C. C., Brown, J. A. & Harel, M. (2002) Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder

- (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment. *Aquaculture*, **210**, 285-304.
- Cowey, C. B. & Woodward, B. (1993) The dietary requirement of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for folic acid. *J. Nutr.*, **123**, 1594-1600.
- Cowey, C. B., de la Higuera, M. & Adron, J. W. (1977b) The effect of dietary composition and of insulin on gluconeogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Br. J. Nutr.*, **38**, 385-395.
- Cuesta, A., Ortuno, J., Rodriguez, A., Esteban, M. A., Meseguer, J. (2002) Changes in some innate defence parameters of seabream (*Sparus aurata L.*) induced by retinol acetate. *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 13, no. 4, pp. 279-291.
- Dabrowski, K., Matusiewicz, K., Matusiewicz, M., Hoppe, P. P. & Ebeling, J. (1996) Bioavailability of vitamin C from two ascorbyl monophosphate esters in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*) (Walbaum). *Aquaculture Nutrition* **2**, 3-10.
- Dahlgren, B. T. (1980) The effects of three different dietary protein levels on the fecundity in the guppy, (*Poecilia reticulata*) (Peters). *J. Fish Biol.*, **16**, 83-97.
- Dallinger, R., Prosi, F., Segner, H. & Back, H. (1987) Contaminated food and uptake of heavy metals by fish: a review and a proposal for further research. *Oecologia*, **73**, 91-98.
- Davis, D. A. & Gatlin, D. M. (1991) Dietary mineral requirements of fish and shrimp. In *Proceeding of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop* (ed. D. M. Akiyama & R. K. H. Tan), pp 49-67. Singapore: American Soybean Association.
- De Boeck, G., Vlaeminck, A. & Blust, R. (1997) Effects of sublethal copper exposure on copper accumulation, food consumption, growth, energy stores, and nucleic acid content in common carp. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **33**, 415-422.
- De Silva, D. M., Askwith, C. C. & Kaplan, J. (1996) Molecular mechanisms of iron uptake in eukaryotes. *Physiol. Rev.* **76**, 31-47.
- De Silva, S. S. & Anderson, T. A. (1995) *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman & Hall Aquaculture Series 1, Chapman & Hall, London. UK.
- De Silva, S. S. & Radampola, K. (1990) Effect of dietary protein level on the reproductive performance of (*Oreochromis niloticus*). In: *The Second Asian Fisheries Forum* (Hirano, R. & Hanyu, I. Eds), pp. 559-563. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Dedi, J., Takeuchi, T., Seikai, T., Watanabe, T. (1995) Hypervitaminosis and safe levels of vitamin A for larval flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed *Artemia nauplii*. *Aquaculture*, **133**, 135-146.
- Degani, G. & Viola, S. (1987) The protein sparing effect of carbohydrates in the diet of eels (*Anguilla anguilla*). *Aquaculture*, **64**, 283-291.
- Degani, G., Viola, S. & Levnon, D. (1986) Effects of dietary carbohydrate source on growth and body composition of the European eel (*Anguilla anguilla L.*). *Aquaculture*, **52**, 97-104.
- Deng, D. F., Hemre, G-I., Wilson, R. P. (2002) Juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* (F) \* *M. saxatilis* (M)) do not require dietary myo-inositol. *Aquaculture*, **213**, 387-393.
- Deng, D. F., Refstie, S., Hemre, G. I., Crocker, C. E., Chem, H. Y., Cech, J. J. & Hung, S. S. O. (2000) A new technique of feeding, repeated sampling of blood and continuous collection of urine in white sturgeon. *Fish Physiol. Biochem.*, **22**, 191-197.
- Deng, D-F., Wilson, R. P. (2003) Dietary riboflavin requirement of juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* (F) \* *Morone saxatilis* (M)). *Aquaculture*, **218**, 695-701.
- deRoos, R., deRoos, C. C., Werner, C. S & Werner, H. (1985) Plasma levels of glucose, alanine, lactate and beta-hydroxybutyrate in the unfed spiny dogfish shark (*Squalus acanthias*) after surgery and following mammalian insulin infusion. *General Comp. Endocrinol.*, **58**, 28-43.
- Desjardins, L. M., Hicks, B. D. & Hilton, J. W. (1987). Iron catalysed oxidation of trout diets and its effect on growth and physiological response of rainbow trout. *Fish Physiol. Biochem.* **3**, 173-182.

- Duncan, P. L., Lovell, R. T., Butterworth, C. E., Freeberg, L. E. & Tamurra, T. (1993) Dietary folate requirement determined for channel catfish, (*Ictalurus punctatus*). *J. Nutr.*, **123**, 1888-1897.
- El Naggar, G. O. & Lovell R. T. (1991a) L-ascorbyl-2-monophosphate has equal antiscorbutic activity as L-ascorbic acid but L-ascorbyl-2-sulphate is inferior to L-ascorbic acid for channel catfish. *Journal of Nutrition* **121**, 1622-1626.
- El Naggar, G. O. & Lovell R. T. (1991b) Effects of source and dietary concentration of ascorbic acid on tissue concentrations of ascorbic acid in channel catfish. *Journal of World Aquaculture Society* **22**, 201-206.
- Engelhardt, J. A., Carlton, W. W., Tuite, J. F. (1989) Toxicity of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* for chicks, ducklings, and turkey poults. *Avian Dis.*, **33**, 357-360.
- Erfanullah, J. A. K. (1998) Growth rate, feed conversion, and body composition of (*Catla catly*, *Labeo rohita* and *Cirrhinus*) mrigala fry fed diets of various carbohydrate-to-lipid ratios. *J. World Aquacult. Soc.*, **29**, 84-91.
- Estevez, A., McEnvoy, L. A., Bell, J. G., Sargent, J. R. (1999) Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae fed live-prey enriched in arachidonic and eicosapentaenoic acids. *Aquaculture*, **180**, 321-343.
- Eya, J. C. & Lovell, R. T. (1998) Effects of dietary phosphorus on resistance of channel catfish to (*Edwardsiella ictaluri*) challenge. *Journal of Aquatic Animal Health* **10**, 28-34.
- Fenwick, J.C., Smith, K., Smith, J. & Flik, G. (1984) Effect of various vitamin D analogs on plasma calcium and phosphorus and intestinal calcium absorption in fed and unfed American eels, (*Anquilla rostrata*). *General Comparative Endocrinol.*, **55**, 398-404.
- Furuita, H., Tanaka, H., Yamamoto, T., Shiraishi, M. (2001) Effects of high dose of vitamin A on reproduction and egg quality of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fisheries Science*, **67**, 606-613.
- Graff, I. E., Hoie, S., Totland, G. K. & Lie O. (2002) Three different levels of dietary vitamin D3 fed to first-feeding fry of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*): effect on growth, mortality, calcium content and bone formation. *Aquaculture Nutrition* **8**, pp. 103-111.
- Grahl-Madsen, E., Lie, O. (1997) Effects of different levels of vitamin K in diets for cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, **151**, 269-274.
- Gunasekera, R. M., Shim, K. F. & Lam, T. J. (1995) Effect of dietary protein level on puberty, oocyte growth and egg chemical composition in the tilapia, (*Oreochromis niloticus L.*). *Aquaculture*, **134**, 169-183.
- Gunasekera, R. M., Shim, K. F. & Lam, T. J. (1996a) Effect of dietary protein level on spawning performance and amino acid composition of eggs of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus L.*). *Aquaculture*, **152**, 205-221.
- Gunasekera, R. M., Shim, K. F. & Lam, T. J. (1997) Influence of dietary protein content on the distribution of amino acids in oocytes, serum and muscle of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus L.*). *Aquaculture*, **152**, 205-221.
- Haglin, L. (2001) Hypophosphatemia: cause of the disturbed metabolism in the metabolic syndrome. *Medical Hypothesis* **56**, 657-663.
- Halver, J. E. (1953) Fish diseases and nutrition. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **83**, 254-261.
- Halver, J. E. (1989) The Vitamins. In: *Fish Nutrition*, 2nd edn (ed. by J. E. Halver), pp. 32-102. Academic Press, New York.
- Halver, J. E. (1989) The vitamins. In: Halver J. E. (ed). *Fish Nutrition*, 2nd edn. Academic Press, San Diego, pp. 31-109.
- Halver, J. E. (1989) The vitamins. In: Halver J. E. (ed). *Fish Nutrition*, 2nd edn. Academic Press, San Diego, pp. 60-66.
- Halver, J. E. (1995) Vitamin requirement study techniques. *Journal of Applied Ichthyology*, vol. 11, no. 3-4, pp. 215-224.
- Halver, J. E. (2002) The vitamins. In: *Fish Nutrition*, 3rd edn. (Halver, J. E. & Hardy, R. W. eds.) pp. 61-141. Academic Press Inc., San Diego, CA, USA.
- Handy, R. D. (1996) Dietary exposure to toxic metals in fish. In E. W. Taylor (Ed.), *Toxicology*



of aquatic pollution (pp. 29-60). New York: Cambridge University Press.

Hardy, R. W., Fairgrieve, W. T. & Scott, T. M. (1993) Periodic feeding of low-phosphorus diet and phosphorus retention in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In: Fish Nutrition in Practice (ed. by S. J. Kaushik & P. Luquet), pp. 403-412. INRA Colloquium No. 61, Paris, France.

Hart, E. B., McCollum, E. V. & Fuller, J. G. (1909) The role of inorganic phosphorus in the nutrition of animals. American Journal of Physiology **23**, 246-277.

Hausler, M. R. (1986) Vitamin D receptors: nature and function. Annu. Rev. Nutr., **6**, 527-562.

Helland, B. & Grisdale-Helland, S. J. (1998) Growth, feed utilization and body composition of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets differing in the ratio between the macronutrients. Aquaculture, **166**, 49-56.

Hemre, G. I. & Hansen, T. (1998) Utilisation of different dietary starch sources and tolerance to glucose loading in Atlantic salmon during parr - smolt transformation. Aquaculture, **161**, 145-157.

Hemre, G. I. & Kahrs, F. (1997) 14C-injection in Atlantic cod (*Gadus morhua*), metabolic responses and excretion via the gill membrane. Aquacult. Nutr., **2**, 3-8.

Hemre, G. I. (1992) Studies on Carbohydrate Nutrition in Cod (*Gadus morhua*). Dr. scientiarum Thesis. Institute of Nutrition, University of Bergen, Norway.

Hemre, G. I., Lie, O. & Sundby, A. (1993a) Dietary carbohydrate utilisation in cod (*Gadus morhua*): metabolic responses to feeding and fasting. Fish Physiol. Biochem., **10**, 455-463.

Hemre, G. I., Lie, O., Lied, E. & Lambertsen, G. (1989) Starch as an energy source in feed for cod (*Gadus morhua*): Digestibility and Retention. Aquaculture, **80**, 261-270.

Hemre, G. I., Sandnes, K., Lie, O. & Waagbo, R. (1995b) Blood chemistry and organ nutrient composition in Atlantic salmon, (*Salmo salar L.*), fed graded amounts of wheat starch. Aquacult. Nutr., **1**, 37-42.

Hemre, G. I., Sandnes, K., Lie, O., Torrissen, O. & Waagbo, R. (1995a) Carbohydrate nutrition in Atlantic salmon, (*Salmo salar L.*), growth and feed utilisation. Aq. Nutr., **26**, 149-154

Hemre, G-I., Mommsen, T. P. & Krogdahl, A. (2002). Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth glucose metabolism and hepatic enzymes. Aquaculture Nutrition, **8**, 175-194.

Herbert, V. (1999) Folic acid. In: Modern Nutrition in Health and Disease, 9th edn.

(Shils, M. E., Olson, J. A., Shike, M. & Ross, A. C. eds), pp. 433-446. Williams & Wilkins, Baltimore, MD, USA.

Hernandez, H. L. H., Teshima, S., Tanaka, Y., Ishikawa, M. & Koshio, S. (2003) Dietary vitamin A requirements of juvenile red seabream (*Chrysophrys major*). In: Program and Abstract Book of the Asian Pacific Aquaculture 2003. Pp. 107, Bangkok, Thailand, September 22-25. World Aquaculture Society, Bangkok, Thailand.

Hernandez, L. H. H., Teshima, S-I, Ishikawa, M., Alam, S., Koshio, S., Tanaka, Y. (2005) Dietary vitamin A requirements of juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture Nutrition, Vol. 11, no. 1, pp. 3-9.

Hilton, J. W. & Atkinson, J. L. (1982) Response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increased levels of available carbohydrate in practical trout diets. Br. J. Nutr., **47**, 595-607.

Hilton, J. W. & Ferguson, H. W. (1982) Effects of excess vitamin D3 on calcium metabolism in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Richardson. J. Fish Biol., **21**, 373-379.

Hilton, J. W. (1983) Hypervitaminosis A in rainbow trout (*Salmo gairdoneri*): Toxicity signs and maximum tolerable level. J. Nutr., **113**, 1737-1745.

Hilton, J. W., Plisetskaya, E. M. & Leatherland, J. F. (1987) Does oral 3,5,3'-triiodo-L-thyronine affect dietary glucose utilization and plasma insulin levels in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Fish Physiol. Biochem., **4**, 113-120.

Hoff, K. A. (1989) Survival of (*Vibrio anguillarum* and *Vibrio salmonicidaat*) different salinities. Appl. Environ. Microbiol., **55**, 1775-1786.

- Holub, B. J. (1986) Metabolism and function of myo-inositol and inositol phospholipids. *Annu. Rev. Nutr.*, **6**, 563-597.
- Horvli, O., Lie, O. & Aksnes, L. (1998) Tissue distribution of vitamin D3 in Atlantic salmon (*Salmo salar*): effect of dietary level. *Aquaculture Nutrition*, **4**, 127-131.
- Hossain, M. A. & Furuichi, M. (2000) Essentiality of dietary calcium supplement in fingerling scorpion fish (*Sebastiscus marmoratus*). *Aquaculture*, **189**, 155-163.
- Hossain, M. A. & Furuichi, M. (2000) Essentiality of dietary calcium supplement in redlip mullet (*Liza haematocheila*). *Aquaculture Nutrition*, **6**, 33-38.
- Hung, S. S. O., Fynn-Aikins, F. K., Lutes, P. B. & Xu, R. P. (1989) Ability of juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) to utilize different carbohydrate sources. *J. Nutr.*, **119**, 727-733.
- Jantrarotai, W., Sitasit, P., Jantrarotai, P., Viputhanumas, T. & Srabua, P. (1998) Protein and energy levels for maximum growth, diet utilization, yield of edible flesh and protein sparing of hybrid *Clarias catfish* (*Clarias macrocephalus* \* *Claria gariepinus*). *J. World Aquacult. Soc.*, **29**, 281-289.
- Jelinek, C. F., Pohland, A. E., Wood, G. E. (1989) Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an update. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **72**, 224-229.
- Kanazawa, A., Teshima, S., Koshio, S., Higashi, M. & Itoh, S. (1992) Effect of L-ascorbyl-2-phosphate-Mg on the yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) as a vitamin C source. *Nippon Suisan Gakkaishi* **58**, 337-341.
- Kasper, C. S., Brown, P. B. (2003) Growth improved in Juvenile Nile Tilapia Fed Phosphatidylcholine. *North American Journal of Aquaculture*, Vol. 65, no. 1, pp. 39-43.
- Kawatsu, H. (1972) Studies on the anemia of fish V. Dietary iron deficient anaemia in brook trout, (*Salvelinus fontinalis*). *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab. (Tokyo)* **22**, 59-67.
- Khan, M. A., Jafri, A. K. & Chadha, N. K. (2005) Effects of varying dietary protein levels on growth, reproductive performance, body and egg composition of rohu, (*Labeo rohita*) (Hamilton). *Aquaculture Nutrition* **11**, 11-17.
- Kim, S-G., Kang, J-C. (2004) Effect of dietary copper exposure on accumulation, growth and haematological parameters of the juvenile rockfish, (*Sebastes schlegeli*). *Marine Environmental Research*, **58**, 65-82.
- Kitamura, S., Suwa, T., Ohara, S. & Nakagawa, K. (1967) Studies on vitamin requirements of rainbow trout-III. Requirement for vitamin A and deficiency symptoms. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **33**, 1126-1131.
- Kitamura, S., Suwa, T., Ohara, S., Nakagawa, K. (1967) Studies on vitamin requirements of rainbow trout-II. The deficiency symptoms of fourteen kinds of vitamin. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **33**, 1120-1125.
- Kohlmeier, M., Saloomon, A., Saupe, J., Sheare, M. J. (1996) Transport of vitamin K to bone in humans. *J. Nutr.*, **126**, 1192S-1196S.
- Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Weiss, R., Harel, M., Behrens, P. & Tandler, A. (2001) The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, **193**, 107-122.
- Kreisberg, R. A. (1977) Phosphorus deficiency and hypophosphatemia. *Hospital Practice* **12**, 121-128.
- Lanno, R. P., Slinger, S. J. & Hilton, J. W. (1985) Maximum tolerable and toxicity levels of dietary copper in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Richardson. *Aquaculture*, **49**, 257-268.
- Lee, S-M., Kim, K-D., Park, H. G., Kim, C. H. & Hong, K. E. (2001) Protein requirement of juvenile Manchurian trout (*Brachymystax lenok*). *Fisheries Science*, **67**, 46-51.
- Liu, J., Lei, J. (2001) Effects of Choline enriched living food organisms on the growth and survival of the red sea bream (*Pagrus major*) larvae. *Marine Sciences/Haiyang Kexue*, Vol. 25, no. 11, pp. 42-44.
- Lorentzen, M., Maage, A. & Julshamn, K. (1998) Supplementing copper to a fish meal based diet fed to Atlantic salmon parr affects liver copper and selenium concentration. *Aquaculture Nutrition*, **4**, 67-72.
- Lumbertdacha, S., Lovell, R. T., Shelby, R. A., Lenz, S. D., Kempainen, B. W. (1995). Growth, hematology, and histopathology of channel catfish, (*Ictalurus punctatus*), fed toxins from *Fusarium moniliforme*. *Aquaculture*, **130**, 201-218.

- Maeland, A., Ronnestad, I. & Waagbo, R. (2003) Folate in eggs and developing larvae of Atlantic halibut, (*Hippoglossus hippoglossus* L). *Aquaculture Nutrition*, **9**, 185-188.
- Mangor-Jensen, A., Harboe, T., Shields, R. J., Gara, B. & Naas, K. E. (1998) Atlantic halibut, (*Hippoglossus hippoglossus* L.), larvae cultivation literature, including a bibliography. *Aquacult. Res.*, **29**, 857-886.
- Manissery, J. K., Krishnamurthy, D., Gangadhara, B. & Nandeesh, M. C. (2001). Effect of varied levels of dietary protein on the breeding performance of common carp (*Cyprinus carpio*). *Asian Fish. Sci.*, **14**, 317-322.
- Manning, B. B., Li, M. H., Robinson, E. H., Gaunt, P. S., Camus, A. C., Rottinghaus, G. E. (2003). Response of Channel Catfish to Diets Containing T-2 Toxin. *Journal of Aquatic Animal Health*, Vol. 15, no. 3, pp. 229-238.
- Manning, B. B., Ulloa, R. M., Li, M. H., Robinson, E. H. & Rottinghaus, G. E. (2003) Ochratoxin. A fed to channel catfish (*Ictalurus punctatus*) causes reduced growth and lesion of hepatopancreatic tissue. *Aquaculture* **219**, 739-750.
- Maranesi, M., Marchetti, M., Bochicchio, D. & Cabrini, L. (2005) Vitamin B6 supplementation increases the docosahexaenoic acid concentration of muscle lipids of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, **36**, 431-438.
- McEnvoy, L. A., Estevez, A., Bell, J. G., Shields, R. J., Gara, B., Sargent, J. R. (1998). Influence of dietary levels of eicosapentaenoic and arachidonic acids on the pigmentation success of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) and halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Bull. Aquacult. Assoc. Can.*, **98**, 17-20.
- McLaren, B. A., Keller, E., O'Donnell, D. J., Elvehjem, C. A. (1947) The nutrition of rainbow trout: I. Studies of vitamin requirements. *Arch. Biochem. Biophys.*, **15**, 169-178.
- McPartlin, J., Halligan, A., Scott, J. M., Darling, M. & Weir, D. G. (1993) Accelerated folate breakdown in pregnancy. *Lancet*, **341**, 148-149.
- Medale, F., Poli, J. M., Vallee, F. & Blanc, D. (1999) Utilisation of a carbohydrate-rich diet by common carp reared at 18 and 25°C. *Cybiu. Paris [Cybiu]*, **23**, 139-152.
- Metcoff, J. (1986) Intracellular amino acid levels as predictors of protein synthesis. *J. Am. Coll. Nutr.*, **5**, 107-120.
- Miyasaki, T., Sato, M., Yoshinaka, R. & Sakaguchi, M. (1992) Conversion of ascorbyl-2-polyphosphate to ascorbic acid in rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi* **58**, 2101-2104.
- Mommsen, T. P. & Plisetskaya, E. M. (1991) Insulin in fishes and agnathans: history, structure and metabolic regulation. *Rev. Aquat. Sci.*, **4**, 225-259.
- Montero, D., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J. M. & Izquierdo, M. S. (2001) Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Fish & Shellfish Immunology*, **11**, 473-490.
- Moon, T. W. (2001) Glucose tolerance in fish: fact or fiction? *Comp. Biochem. Physiol.*, **B129**, 243-244.
- Mourente, G., Tocher, D. R., Sargent, J. R. (1991). Specific accumulation of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in brain lipids during development of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Lipids*, **26**, 871-877.
- MRC Vitamin Study Research Group (1991) Prevention of neural tube defects: results of the medical research council vitamin study. *Lancet*, **338**, 131-137.
- Murai, T., Andrews, J. W. (1977) Vitamin K and anticoagulant relationships in catfish diets. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **43**, 785-794.
- National Research Council (NRC). *Nutrient Requirements of Fish*. National Academic Press, Washington, DC, 1993.
- Ng, W. K., Serrini, G., Zhang, Z. & Wilson, R. P. (1997) Niacin requirement and inability of tryptophan to act as a precursor of NAD<sup>+</sup> in channel catfish, (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, **152**, 273-285.
- Norman, A. W. (1990) Intestinal calcium absorption: a vitamin D-hormone-mediated adaptive response. *Am. J. Clin. Nutr.*, **51**, 290-300.
- Nussey, G., Van Vuren, J. H. J. & Preez, H. H. (1995) Effect of copper on the haematology and osmoregulation of the Mozambique tilapia, (*Oreochromis mossambicus*) (Cichlidae). *Comparative Biochemistry and*

Physiology, **111C**, 369-380.

Olsen, R. E., Myklebust, R., Ringo E., Mayhew, T. M. (2000) The influence of dietary linseed oil and saturated fatty acids on caecal enterocytes in Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.): a quantitative ultrastructural study. *Fish Physiology and Biochemistry*, vol. 22, pp. 207-216.

Olsen, Y., Evjemo, J. O. & Olsen, A. (1999) Status of the cultivation technology for production of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) juveniles in Norway/Europe. *Aquaculture*, **176**, 3-13.

Onarheim, A. M., Wiik, R. & Stackebrandt, E. (1994) The cold water vibriosis bacterium (*Vibrio salmonicida*) as part of the indigenous gut flora. International Symposium on Aquatic Animal Health. Seattle, WA, USA, 4-8 September 1994.

Ottolenghi, C., Puviani, A. C., Ricci, D., Brighenti, L. & Morsiani, E. (1995) The effect of high temperature on blood glucose level in two teleost fish (*Ictalurus melas* and *Ictalurus punctatus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **111A**, 229-235.

Page, G. I., Hayworth, K. M., Wade, R. R., Harris, A. M. & Bureau, D. P. (1999) Non-specific immunity parameters and the formation of advanced glycosylation end-products (AGE) in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*) (Walbaum), fed high levels of dietary carbohydrates. *Aquacult. Res.*, **30**, 287-297.

Peres, H., Lim, C., Klesius, P. H. (2004) Growth, chemical composition and resistance to (*Streptococcus iniae*) challenge of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of dietary inositol. *Aquaculture*, **235**, 423-432.

Phillips, A. M. Jr, Tunison, A. V. & Brockway, D. R. (1948) Utilization of carbohydrates by trout. *Fish. Res. Bull.*, **11**, 3-44.

Pickering, A. D. & Pottinger, T. B. (1989) Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiol. Biochem.*, **7**, 1-6.

Pieper, A. & Pfeffer, E. (1980) Studies on comparative efficiency of utilization of gross energy from some carbohydrates, proteins and fats by rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture*, **20**, 323-332.

Placinta, C. M., D'Mello, J. P. F., Macdonald, A. M. C. (1999) A review of worldwide contamination of cereal grains and animals feed with *Fusarium* mycotoxins. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **78**, 21-37.

Poston, H. A. (1964) Effect of dietary vitamin K and sulfaguanidine on blood coagulation time, microhematocrit, and growth of immature brook trout. *Prog. Fish-Cult.*, **26**, 59-64.

Poston, H. A., Livingston D. L., Pyle, E. A., Phillips Jr., A. M. (1965) The toxicity of high levels of vitamin A in the diet of brook trout. *Fish. Res. Bull.*, **29**, 20-24.

Roberts, R. J. & Bullock, A. M. (1989) *Nutritional Pathology. Fish Nutrition*, 2nd edition, Halver, J. E. (ed.), Academic Press, New York, pp. 423-473.

Roberts, R. J. (1989) *Nutritional Pathology of Teleosts. Fish Pathology*, 2nd edition, Tindall, A. B. (ed.), London, pp. 337-362.

Robinson, E. H. & Li, H. M. (1995) Catfish nutrition. Part I. Nutrients and feeds. *Aquaculture Magazine*, May/June, 44-53.

Rodriguez, C., Perez, J. A., Diaz, M., Izquierdo, M. S., Fernandez-Palacios, H., Lorenzo, A. (1997) Influence of EPA/DHA ratio in rotifers on gilthead seabream (*Sparus aurata*) larval development. *Aquaculture*, **150**, 77-89.

Roesijadi, C. & Robinson, W. (1994) Metal regulation in aquatic animals: Mechanisms of uptake, accumulation and release. In D. C. Malins & G. K. Ostrander (Eds.), *Aquatic toxicology, molecular, biochemical and cellular perspectives* (pp. 387-420). Boca Raton: CRC Press.

Royes, J-A. B., Murie D. J. & Ruth F-F. (2005) Optimum Dietary Protein Level for Growth and Protein Efficiency without Hepatocyte Changes in Juvenile African Cichlids (*Pseudotropheus socolofi*). *North American Journal of Aquaculture*, Vol. 67, no. 2, pp. 102-110.

Sakamoto, S. & Yone, Y. (1978) Iron deficiency symptoms in carp. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.*, **44**, 1157-1160.

Saleh, G., Eleraky, W. & Gropp, J. M. (1995) A short note on the effects of vitamin A hypervitaminosis and



- hypovitaminosis on health and growth of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*). *J. Appl. Ichthyol.*, **11**, 382-385.
- Sanchez-Murow, M. J., Garcia-Rejon, L., Lupianez, J. A. & De la Higuera, M. (1996). Long-term nutritional effects on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2. Adaptive response of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity to high carbohydrate/low-protein and high-fat/non-carbohydrate diets. *Aquacult. Nutr.*, **2**, 193-200.
- Sargent, J. R. (1995) Origins and functions of egg lipids: nutritional implications. In: Bromage, N. R., Roberts, J. R. (Eds.), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Oxford Univ. Press, Cambridge, UK, pp. 353-372.
- Sargent, J., McEnvoy, L., Estevez, A., Bell, G., Bell, M., Henderson, J., Tocher, D. (1999) Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture*, **179**, 217-229.
- Satoh, S., Izume, K., Takeuchi, T., Watanabe, T. (1987a) Availability to rainbow trout of zinc contained in various types of fish meals. *Nippon Suisan Gakkaishi, Bulletin of the Japanese Society of Science of Fish*, vol. 53, no. 10, pp. 1861-1866.
- Satoh, S., Takeuchi, T., Watanabe, T. (1987b) Availability to rainbow trout of zinc contained in white fish meal and of various zinc compounds. *Nippon Suisan Gakkaishi, Bulletin of the Japanese Society of Science of Fish*, vol., 53, no. 4, pp. 595-599.
- Scott, J. M., Weir, D. G. & Kirke, P. N. (1995) folate and neural tube defects. In: *Folate in health and disease* (Bailey, L. B. ed.), pp. 329-360. Marcel Dekker Inc, New York, USA.
- Shaik Mohamed J. & Ibrahim, A. (2001) Quantifying the dietary niacin requirement of the Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), fingerlings. *Aquaculture Research*, **32**, 157-162.
- Shaik Mohamed, J., Sivaram, V., Christopher Roy, T. S., Peter Marian, M., Murugadass, S., Raffiq Hussain, M. (2003) Dietary vitamin A requirement of juvenile greasy grouper (*Epinephelus tauvina*). *Aquaculture*, Vol. 219, no. 1-4, pp. 693-701.
- Shane, B. (1995) Folate chemistry and metabolism. In: *Folate in health and disease* (Bailey, L. B. ed.), pp. 1-22. Marcel Dekker Inc, New York, USA.
- Shearer K. D. & Hardy R. W. (1987) Phosphorus deficiency in rainbow trout fed a diet containing deboned fillet scrap. *Progressive Fish-Culturist* **49**, 192-197.
- Shearer, K. D. (1984) Changes in elemental composition of hatchery-reared rainbow trout, (*Salmo gairdneri*), associated with growth and reproduction. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **41**, 1592-1600.
- Shiau, S. Y. & Chen, S. Y. (1993) Carbohydrate utilization by tilapia (*Oreochromis niloticus* \* *O. aureus*) as influenced by different chromium sources. *J. Nutr.*, **123**, 1747-1753.
- Shiau, S. Y. & Hsu, T. S. (1995) L-Ascorbyl-2-sulfate has equal antiscorbutic activity as L-ascorbyl-2-monophosphate for tilapia, (*Oreochromis niloticus* \* *O. aureus*). *Aquaculture* **133**, 147-157.
- Shiau, S. Y. & Liang, H. S. (1995) Carbohydrate utilization and digestibility by tilapia, (*Oreochromis niloticus* \* *O. aureus*), are affected by chromic oxide inclusion in the diet. *J. Nutr.*, **125**, 976-982.
- Shiau, S. Y. & Lin, S. F. (1993) Effect of supplemental dietary chromium and vanadium on the utilization of different carbohydrates in tilapia, (*Oreochromis niloticus* \* *O. aureus*). *Aquaculture*, **110**, 321-330.
- Shiau, S. Y. & Peng, C. Y. (1993) Protein-sparing effect by carbohydrate in diets for tilapia (*Oreochromis niloticus* \* *O. aureus*). *Aquaculture*, **117**, 327-334.
- Shiau, S-Y., Su, S-L. (2005) Juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* \* *Oreochromis aureus*) requires dietary myo-inositol for maximal growth. *Aquaculture*, **243**, 273-277.
- Shields, R. J., Gara, B. & Gillespie, M. J. S. (1999) A UK perspective on intensive hatchery rearing methods for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.), *Aquaculture*, **176**, 15-25.
- Shikata, T., Iwanaga, S. & Shimeno, S. (1994) Effects of dietary glucose, fructose and galactose on hepatopancreatic enzyme activities and body composition in carp. *Fish Sci.*, **60**, 613-617.
- Shikata, T., Kheyyali, D. & Shimeno, S. (1993) Regulation of carbohydrate metabolism in fish. XV.

- Effect of feeding rates on hepatopancreas enzymes and body composition in common carp. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., **59**, 835-839.
- Shim, K. F. & Tan, C. H. (1990) The dietary requirement of vitamin A in guppy (*Poecilia reticulata*, Peters). In: The Current status of Fish Nutrition in Aquaculture, the Proceedings of Third International Symposium on Feeding and Nutrition of Fish (Takeda, M. & Watanabe, T. eds.), pp. 133-140. Toba, Japan, August 28-September 1. Japan Translation Center, Ltd., Tokyo, Japan.
- Shimeno, S. & Shikata, T. (1993b) Regulation of carbohydrate metabolism in fish. XIV. Effects of acclimatization temperature and feeding rate on carbohydrate metabolizing enzyme activity and lipid content of common carp. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., **59**, 661-666.
- Shimeno, S. (1991) Yellowtail, (*Seriola quinqueradiata*). In: Handbook of Nutrient Requirements of Finfish (Wilson, R. P. ed.), pp. 181-191. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, USA.
- Shimeno, S., Duan-Cun-Ming & Takeda, M. (1993) Regulation of carbohydrate metabolism in fish. XVI. Metabolic response to dietary carbohydrate to lipid ratios in (*Oreochromis niloticus*). Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., **59**, 827-833.
- Siddiqui, A. Q., Al-Hafedh, Y. S. & Ali, S. A. (1998) Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus* L.). Aquacult. Res., **29**, 349-358.
- Soliman, A. K., Jauncey, K. & Roberts, R. T. (1986) The effect of varying forms of dietary ascorbic acid on the nutrition of juvenile tilapias (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture **52**, 1-10.
- Soliman, M. K., Khalil, R. H., Saad, T., Mohamed, S. G., Yosseif, S. (2002) Some studies on the effect of Ochrotocin-A on cultured (*Oreochromis niloticus*). Proceedings of the 4th International Conference on Recirculating Aquaculture [np].
- Sorensen, E. M. (1991) Metal poisoning in fish. CRC press: Boca Raton, pp. 175-234.
- Srivastav, A. K. (1983) Calcaemic responses in the freshwater mud eel, (*Amphipnous cuchia*), to vitamin D3 administration. J. Fish Biol., **23**, 301-303.
- Stephan, G., Dreanno, C., Guiollaume, J. & Arzel, J. (1996) Incidence of different amounts of proteins, lipids and carbohydrates in diets on the muscle lipid composition in the turbot (*Scophthalmus maximus*). Ichthyophysiol. Acta, **19**, 11-30.
- Sugiura, S. H., Hardy, R. W. & Roberts R. J. (2004) The pathology of phosphorus deficiency in fish – a review. Journal of Fish Diseases **27**, 255-265.
- Sun, L-T., Jeng, S-S. (1999) Accumulation of zinc from diet and its release in common carp. Fish Physiology and Biochemistry, **20**, 313-324.
- Swarup, H. & Srivastav, S. P. (1982) Vitamin D3-induced hypercalcaemia in male catfish, (*Clarias batrachus*). General Comparative Endocrinol., **46**, 271-274.
- Swarup, K., Das, V. K. & Norman, A. W. (1991) Dose-dependent vitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3-induced hypercalcemia and hyperphosphatemia in male cyprinoid (*Cyprinus carpio*). Comparative Biochem. Physiol., **100A**, 445-447.
- Swarup, K., Norman, A. W., Srivastav, A. K. & Srivastav S. P. (1984) Dose-dependent vitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3-induced hypercalcemia and hyperphosphatemia in male catfish. (*Clarias batrachus*). Comparative Biochem. Physiol., **78B**, 553-555.
- Tacon, A. G. J. (1992) Nutritional Fish Pathology. Morphological signs of nutrient deficiency and toxicity in farmed fish.. FAO Fisheries Technical Paper, no. 330, 75 p.
- Taveekijakarn, P., Miyazaki, T., Matsumoto, M., Arai, S. (1996) Studies on vitamin K deficiency in amago salmon, (*Oncorhynchus rhodurus*) (Jordan & McGregor). J. Fish Dis., **19**, 209-214.
- Teshima, S. I., Kanazawa, A., Koshio, S. & Itoh, S. (1991) L-ascorbyl-2-phosphate-Mg as vitamin source for the Japanese flounder (*Paralichthys Olivaceus*). In: Fish Nutrition in Practice, (ed. by S. J. Kaushik & P. Luquet), pp. 157-166. Biarritz France.
- Thibault, M., Blier, U. & Guderley, H. (1997) Seasonal variation of muscle metabolic organization in

- rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol. Biochem.*, **16**, 139-155.
- Tuan, N. A., Manning, B. B., Lovell, R. T., Rottinghaus, G. E. (2003) Responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing different concentrations of moniliformin or fumonisin B1. *Aquaculture*, **217**, 515-528.
- Udagawa, M. (2001) The effect of dietary vitamin K (phylloquinone and menadione) levels on the vertebral formation in mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Fisheries Science*, **67**, 104-109.
- Udagawa, M., Hirose, K. (1998) Physiological abnormality and the tissue vitamin K level of mummichog (*Fundulus heteroclitus*) fed with avitamin K free diet. *Fisheries Sci.*, **64**, 612-616.
- Udagawa, M., Nakazoe, J., Murai, T. (1993) Tissue distribution of phylloquinone and menaquinone-4 in sardine, (*Sardinops melanostictus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **106B**, 297-301.
- Udagawa, M., Nakazoe, J., Murai, T. (1996) Content of phylloquinone and menaquinone derivatives in the organs of pelagic and demersal fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, **113C**, 331-334.
- Udagawa, M., Nakazoe, J., Murai, T. (1999) Comparison of the composition of vitamin K in different forms between cultured and wild ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Fisheries Sci.*, **65**, 332-333.
- Van Dijk, J. P., Lagerwerf, A. J., Van Eijk, H. G. & Leijnse, B. (1975) Iron metabolism in the tench (*Tinca tinca L.*). Studies by means of intravascular administration of <sup>59</sup>Fe(III) bound to plasma. *J. Comp. Physiol.* **99**, 321-330.
- Vermeer, C., Gijsbers, B. L. M. G., Cracium A. M., Groenen-vanDooren M. M. C. L., Knapen M. H. J. (1996) Effects of vitamin K on bone mass and bone metabolism. *J. Nutr.*, **126**, 1187S-1191S.
- Vielma, J., Koskela, J., Ruohonen, K. (2002) Growth, bone mineralization, and heat and low oxygen tolerance in European whitefish (*Coregonus Lavaretus L.*) fed with graded levels of phosphorus. *Aquaculture*, **212**, 321-333.
- Waagbo, R., Glette, J., Sandnes, K. & Hemre, G. I. (1994) Influence of dietary carbohydrate on blood chemistry, immunity and disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Fish Dis.*, **17**, 245-258.
- Walker, R. L. & Fromm, P. O. (1976). Metabolism of iron by normal and iron deficient rainbow trout. *Comp. Biochem. Physiol.* **55A**, 311-318.
- Wang, X., Kim, K., Bai, S. C. (2002) Effects of different dietary levels of L-ascorbyl-2-polyphosphate on growth and tissue vitamin C concentrations in juvenile olive flounder, (*Paralichthys olivaceus*) (Temminck et Schlegel). *Aquaculture Research*, vol. 33, pp. 261-267.
- Wang, X., Kim, K-W, Bai, S. C., Huh, M-D, Cho, B-Y (2003) Effects of different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*)..*Aquaculture*, **215**, 203-211.
- Watanabe, T. (1993) Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J. World Aquacult. Soc.*, **24**, 152-161.
- Watanabe, T., Arakawa, T., Kitajima, C. & Fujita, S. (1984) Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. *Bulletin of the Japanese Society for Scientific Fisheries* **50**, 495-501.
- Watanabe, T., Itoh, A., Kitajima, C. & Fujita, S. (1984a) Effect of dietary protein levels on reproduction of red sea bream. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **50**, 1015-1022.
- Watanabe, T., Itoh, A., Satoh, S., Kitajima, C. & Fujita, S. (1985) Effects of dietary protein levels and feeding period before spawning on chemical components of eggs produced by red sea bream broodstock. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **51**, 1501-1509.
- Watanabe, T., Kiron, V. & Satoh, S. (1997) Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture* **151**, 185-207.
- Watanabe, T., Kiron, V. (1994) Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture*, **124**, 223-251.
- Watanabe, T., Ohhashi, S., Itoh, A., Kitajima, C. & Fujita S. (1984) Effect of nutritional composition of diets on chemical components of red sea bream broodstock and eggs produced. *Bulletin of the Japanese Society for Scientific Fisheries* **50**, 503-515.
- West, T. G., Arthur, P. G., Suarez, R. K., Doll, C. J. & Hochachka, P. W. (1993) In vivo utilization of glucose by heart and locomotory muscles of exercising rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.*, **177**, 63-79.
- Woodward, B. (1994) Dietary vitamin requirements of cultures young fish, with emphasis on quantitative

estimates for salmonids. *Aquaculture*, **124**, 133-168.

Yone, Y., Furuchi, M., Shitanda, K. (1971) Vitamin requirements of red sea bream: I. Relationship between inositol requirement and glucose levels in diet. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish*, **37**, 149-155.

Zile, M. H. (1998) Vitamin A and embryonic development: An overview. *J. Nutr.*, **128** (Suppl.): 455S-458S.

Αναστασίου, Γ. Σ. (1996) Ιχθυοτροφές: Φιλοσοφία σύνθεσης και σχέση με τις Ελληνικές συνθήκες εκτροφής. *Αλιευτικά Νέα*, τεύχ. 180, σελ. 64-71.

Καλαϊσάκης, Π. (1981) *Φυσιολογία Θρέψεως Αγροτικών Ζώων*, σελ. 436.

Νικολαΐδης, Γ., Ευαγγελόπουλος, Α. (1998) Τοξικό φυτοπλαγκτό- Φυκοτοξίνες. *Αλιευτικά Νέα*, τεύχ. 202, σελ. 94-102.

Παπουτσόγλου, Σ. Ε. (1985) *Εισαγωγή στις Υδατοκαλλιέργειες*. Εκδόσεις Καραμπερόπουλος, Τόμος Α, σελ. 595.

Παπουτσόγλου, Σ. Ε. (1998) *Ενδοκρινολογία Ιχθύων*. Εκδόσεις Α. Σταμούλης, σελ. 599.





ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000097446