



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ
ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Διερεύνηση του ρυθμού ανάπτυξης τροχοζώων με τη χρήση ειδών
φυτοπλαγκτού σε διαφορετικές συνθήκες αλατότητας και
θερμοκρασίας»**

ΔΕΛΗΒΑΣΗ ΓΕΩΡΓΙΑ

ΒΟΛΟΣ 2010

«Διερεύνηση του ρυθμού ανάπτυξης τροχόζων με τη χρήση ειδών φυτοπλαγκτού σε διαφορετικές συνθήκες αλατότητας και θερμοκρασίας»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :

- 1) **Σπυρίδων Κλαουδάτος**, Καθηγητής, Υδατοκαλλιέργειες, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Επιβλέπων**,
- 2) **Κωνσταντίνος Κορμάς**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Οικολογία Υδάτινης Στήλης με έμφαση στα Μικροβιακά και Τροφικά Είδη, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**,
- 3) **Παναγιώτα Παναγιωτάκη**, Μόνιμη Επίκουρος Καθηγήτρια, Υδατοκαλλιέργειες, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**.

Στην οικογένειά μου και στους γονείς μου,

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους αυτούς τους ανθρώπους που συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, Καθηγητή **κ. Σπυρίδωνα Κλαουδάτο**, για την πολύτιμη βοήθειά του και τη διαρκή υποστήριξή του, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος, όσο και κατά τη συγγραφή της, καθώς και τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου, Αναπληρωτή Καθηγητή **κ. Κωνσταντίνο Κορμά** και Μόνιμη Επίκουρη Καθηγήτρια **κα Παναγιώτα Παναγιωτάκη**, για τις χρήσιμες συμβουλές τους και την καθοδήγησή τους καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσής της.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η δυναμική πληθυσμών του τροχόζωου *Brachionus*, σε συνάρτηση με τον τύπο της τροφής, την αλατότητα και τη θερμοκρασία. Το τροχόζωο αυτό ανήκει στο είδος *B. plicatilis*. Το εν λόγω είδος χρησιμοποιείται στις υδατοκαλλιέργειες. Πιο συγκεκριμένα, εκτρέφεται στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς, όπου παρέχεται ως τροφή στις νύμφες ιχθύων και καρκινοειδών. Για το λόγο αυτό, επιλέχθηκαν τροφές που χρησιμοποιούνται στις μαζικές εκτροφές των τροχόζωων και διαφέρουν ως προς τη σύστασή τους. Οι δύο τροφές είναι λιπιδιακά εμπλουτισμένες (Culture Selco plus, Chlorella Docosa) και η τρίτη έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, σε σχέση με τα λίπη (*Saccharomyces cerevisiae*). Στον πειραματικό σχεδιασμό ελήφθησαν υπόψη το πρωτόκολλο χορήγησης των τριών τροφών, η αλατότητα και η θερμοκρασία (στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς), προκειμένου να διευκρινισθεί η επίδραση που τυχόν έχουν στη δυναμική του πληθυσμού.

Η δυναμική αναλύθηκε ως προς τη σύστασή του πληθυσμού του τροχόζωου. Δημιουργήθηκε ένα πρωτόκολλο καταγραφής των ατόμων και των αβγών του εν λόγω οργανισμού. Μετρήσεις ελήφθησαν καθημερινά, με σκοπό να αποκτηθεί μία ολοκληρωμένη εικόνα της δυναμικής του πληθυσμού. Έτσι, διερευνήθηκε η επίδραση της σύστασης της τροφής, της αλατότητας, της θερμοκρασίας και της διάρκειας εκτροφής στη σύστασή του πληθυσμού.

Τα αποτελέσματα του πρώτου πειράματος έδειξαν ότι οι λιπιδιακά εμπλουτισμένες τροφές είχαν θετική επίδραση στην αριθμητική αύξηση του παρθενογενετικού πληθυσμού, συγκριτικά με την τροφή υψηλότερης περιεκτικότητας πρωτεϊνών έναντι των λιπών. Η επίτευξη του υψηλότερου ρυθμού

αύξησης στις δύο δίαιτες αποδόθηκε στη σύσταση της τροφής. Τα λίπη ευνόησαν την αναπαραγωγή στο υπό μελέτη τροχόζωο κατά την παρθενογενετική φάση του κύκλου. Το παραπάνω διαφάνηκε και στη σύσταση του προκυπτόμενου πληθυσμού, ο οποίος περιέχει υψηλότερα ποσοστά ωοφόρων θηλυκών σε σχέση με τον πληθυσμό που αναπτύχθηκε με την τροφή μεγαλύτερης περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες, σε σχέση με τα λίπη. Από τα παραπάνω διαφάνηκε ότι οι πληθυσμοί υψηλότερης λιπιδιακής περιεκτικότητας κατεύθυναν περισσότερη ενέργεια στην αναπαραγωγή, με αποτέλεσμα να παράγουν πιο γρήγορα αυγά. Η αλατότητα δεν επηρεάζει το ρυθμό αύξησης του πληθυσμού.

Το δεύτερο πείραμα έδωσε αποτελέσματα μη στατιστικά σημαντικά όσον αφορά την επίδραση των διάφορων τροφών σε κυμαινόμενες θερμοκρασίες ως προς το ρυθμό αύξησης του πληθυσμού. Παρατηρούμε, όμως, ότι το μεγαλύτερο ρυθμό ανάπτυξης και γονιμότητας τον είχαμε στις υψηλότερες θερμοκρασίες (27 °C και 24 °C), σε σχέση με τη μικρότερη θερμοκρασία (21 °C). Και τα δύο πειράματα έδειξαν σχέση μεταξύ του αριθμού ημερών της εκτροφής και του ρυθμού αύξησης του πληθυσμού, λαμβάνοντας τη μεγαλύτερη τιμή την τρίτη ημέρα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	9
1.1. ΖΩΟΠΛΑΓΚΤΟΝΙΚΟΙ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ.....	9
1.2. ΤΡΟΧΟΖΩΑ.....	9
1.3. <i>BRACHIONUS S.P</i>	11
1.3.1. Ταξινομική κατάταξη του <i>Brachionus</i>	12
1.3.2. Μορφολογία.....	13
1.3.3. Αναπαραγωγή.....	15
1.3.4. Ρόλος στις υδατοκαλλιέργειες.....	16
1.4. Σκοπός της μελέτης.....	23
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	26
2.1. Υλικά.....	26
2.2. Μέθοδος.....	35
2.3. Πειραματική Διαδικασία.....	38
2.4. Στατιστική Ανάλυση.....	43
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	45
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	59
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	67
6. ABSTRACT.....	80

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΖΩΟΠΛΑΓΚΤΟΝΙΚΟΙ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

Ο κυριότερος λόγος για τον οποίο πραγματοποιείται σήμερα η ελεγχόμενη μαζική παραγωγή διαφόρων ειδών ζωοπλαγκτονικών οργανισμών, είναι η χρησιμοποίησή τους ως τροφή στα αρχικά στάδια ανάπτυξης από ανώτερους εκτρεφόμενους υδρόβιους οργανισμούς (ψάρια, καρκινοειδή). Η εκτροφή υδρόβιων οργανισμών για το σκοπό αυτό μπορεί να αφορά τα είδη που χρησιμοποιούνται σε διάφορες φάσεις του βιολογικού τους κύκλου όπως αβγά *Artemia spp.*, προνυμφικά στάδια ή και τέλεια άτομα *Brachionus sp.*

Κατάλληλες τροφές για την διατροφή των νυμφών των ψαριών και καρκινοειδών που εκτρέφονται στους διάφορους ιχθυογενετικούς σταθμούς, θεωρούνται αυτές που μπορούν να προσληφθούν από τις νύμφες, είναι εύπεπτες και περιέχουν την απαιτούμενη θρεπτική αξία. Οι συνήθεις ομάδες ζωντανών τροφών που χρησιμοποιούνται ευρύτατα στις εγκαταστάσεις των ιχθυογεννητικών σταθμών είναι:

- α) Διάφορα είδη μικροφυκών μεγέθους 1 έως 100 μm
- β) Τα τροχόζωα μεγέθους 150 έως 250 μm .
- γ) Οι ναύπλιοι και μεταναύπλιοι της *Artemia spp.* μεγέθους 400 έως 600 μm .

1.2. ΤΡΟΧΟΖΩΑ

Τα τροχόζωα απαντώνται σχεδόν όπου υπάρχει νερό (Nogrady *et al.*, 1993). Πρόκειται για ένα κοσμοπολίτικο φύλλο, μερικά από τα οποία απαντώνται σε όλο τον κόσμο (Dumont, 1983: Gomez, 2005). Το όνομα τροχόζωο προέρχεται από τις ελληνικές λέξεις τροχός και ζώο. Δόθηκε επειδή τα άτομα αυτά διαθέτουν μία

βλεφαριδιφόρα στεφάνη με την οποία συλλέγουν την τροφή τους αλλά και μετακινούνται. Στην λατινική υπάρχει ακριβώς αυτός ο όρος "rotifer" που σημαίνει ο φέρον τροχό, αυτό αναφέρεται στην ανάπτυξη του **cilia** (βλεφαριδοφόρος στεφάνη) γύρω από το στόμα των τροχόζωων. Οι εν λόγω βλεφαρίδες κινούνται με γρήγορο και διαδοχικό ρυθμό, δίνοντας την εντύπωση περιστρεφόμενου τροχού (Ruttner – Kolisko, 1974; Nogrady *et al.*, 1993).

Τα τροχόζωα αποτελούν μια ταξινομική ομάδα μικροσκοπικών κυρίως υδρόβιων ασπόνδυλων οργανισμών, στην οποία έχουν περιγραφεί περισσότερα από 1850 είδη (Segers, 2002). Τα τροχόζωα αποτελούν ξεχωριστό φύλο. Η ομαδοποίηση σε ομοταξίες βασίζεται στον αριθμό των ωοθηκών (γονάδων)- δύο στα Διγόναδα και μία στα Μονογόναδα. Η ομοταξία των Μονογόνων είναι η μεγαλύτερη και περιέχει περίπου 95 γένη και 1.600 είδη βενθικών, πλαγκτικών και εδραίων μορφών (Nogrady *et al.*, 1993). Αν και υπάρχουν ορισμένες αντικρουόμενες απόψεις όσον αφορά τη κατάταξη των τροχόζωων σε κλάσεις, αναγνωρίζονται στο Φύλο τρεις βασικοί κλάδοι (Wallace & Colburn, 1989; Segers, 2002; Sorensen, 2002; Wallace, 2002):

α) Η Κλάση Seisonidea (ή Pararotatoria) που αποτελείται από συνολικά τρία είδη που ομαδοποιούνται σε δύο γένη και είναι επιζωικοί συμβιωτικοί οργανισμοί με αμφιγονική αναπαραγωγή.

β) Η (Υπο) Κλάση Bdelloidea (κατά άλλους Κλάση Eurotatoria) που περιλαμβάνει περίπου 400 είδη. Χαρακτηριστικό γνώρισμα της ομάδας είναι ο αποκλειστικά παρθενογενετικός τρόπος αναπαραγωγής (Mark Welch & Meselson, 2000).

γ) Η (Υπο)Κλάση Monogononta (κατά άλλους Κλάση Eurotatoria), στην οποία ανήκει το *Brachionus*, περιλαμβάνει περισσότερα από 1400 γνωστά είδη και όπως προκύπτει και από το όνομά τους έχουν μια γονάδα σε σχέση με τις προηγούμενες δύο ομάδες που έχουν δύο γονάδες. Αναπαράγονται τόσο με παρθενογένεση όσο και με αμφιγονία (κυκλική παρθενογένεση).

1.3. *BRACHIONUS S.P*

Το τροχόζωο αυτό αποτελεί σήμερα έναν σημαντικό οργανισμό σε ότι αφορά τη χρησιμοποίηση του ως τροφή από εκτρεφόμενους ανώτερους ζωικούς οργανισμούς.

Τα είδη του γένους *Brachionus*:

α) χαρακτηρίζονται από εναλλαγή μεταξύ δύο τύπων αναπαραγωγής (παρθενογένεση και αμφιγονία),

β) διακρίνονται από τη δημιουργία ανθεκτικών κύστεων που περικλείουν το έμβρυο σε διάπαυση με σημαντική ικανότητα διασποράς,

γ) εντοπίζονται τόσο σε μόνιμες όσο και σε εφήμερες υδατοσυλλογές,

δ) επιτυγχάνουν υψηλούς ρυθμούς αύξησης αποτελώντας έτσι σημαντικό συστατικό των υδάτινων οικοσυστημάτων στα οποία απαντώνται,

ε) έχουν σχεδόν παγκόσμια κατανομή,

στ) έχουν ιδιαίτερη οικονομική σημασία για τον άνθρωπο, μια και χρησιμοποιούνται ως ζωντανή τροφή στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς.

Τα παραπάνω έχουν στρέψει το ερευνητικό ενδιαφέρον στην έρευνα των οργανισμών αυτών. Όπως μάλιστα αναφέρουν οι Wallace *et al.*, (2006), οι περισσότερες από τις

γνώσεις για ολόκληρο το φύλο τροχοζώα βασίζονται στα αποτελέσματα των ερευνών σε λίγα μόνο γένη και κυρίως στο γένος *Brachionus*, το οποίο για το λόγο αυτό χαρακτηρίζεται ως το «ινδικό χοιρίδιο» των τροχοζώων.

1.3.1 Ταξινόμική κατάταξη του *Brachionus*

Σύμφωνα με τον Segers (2002), στο γένος *Brachionus* υπάρχουν 55 καταγεγραμμένα είδη. Ωστόσο, έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη κρυπτικών ειδών. Συνεπώς, ο πραγματικός αριθμός των ειδών ενδέχεται να είναι μεγαλύτερος. Η ταξινόμική κατάταξη του γένους *Brachionus* έχει ως εξής (σύμφωνα με το Segers, 2002):

Φύλο: Rotifera (Cuvier, 1817)

Κλάση: Eurotatoria (De Ridder, 1957)

Υπόκλαση: Monogononta (Plate, 1889)

Υπέρταξη: Pseudotrocha (Kutikova, 1970)

Τάξη: Ploima (Hudson and Gosse, 1886)

Οικογένεια: Brachionidae (Ehrenberg, 1838)

Γένος: *Brachionus* (Pallas, 1766)

Στο γένος *Brachionus* η ταξινόμική διάκριση μεταξύ των ειδών του γένους βασίζεται κυρίως:

- α) στο σχήμα και στα μορφολογικά χαρακτηριστικά του σώματος,
- β) στη δομή του ποδίσκου προσκόλλησης, και
- γ) στη δομή της περιοχής της στεφάνης (Ruttner-Kolisko, 1974)

Η μορφολογική διάκριση μεταξύ των βασικών ομάδων του γένους μπορεί να γίνει εύκολα με παρατήρηση των οργανισμών σε οπτικό μικροσκόπιο ή ακόμη σε στερεοσκόπιο με κατάλληλη μεγέθυνση. Η ταξινόμική του είδους *Brachionus plicatilis* έχει πρόσφατα αναθεωρηθεί και το είδος θεωρείται ένα σύμπλεγμα από είδη/βιοτόπους

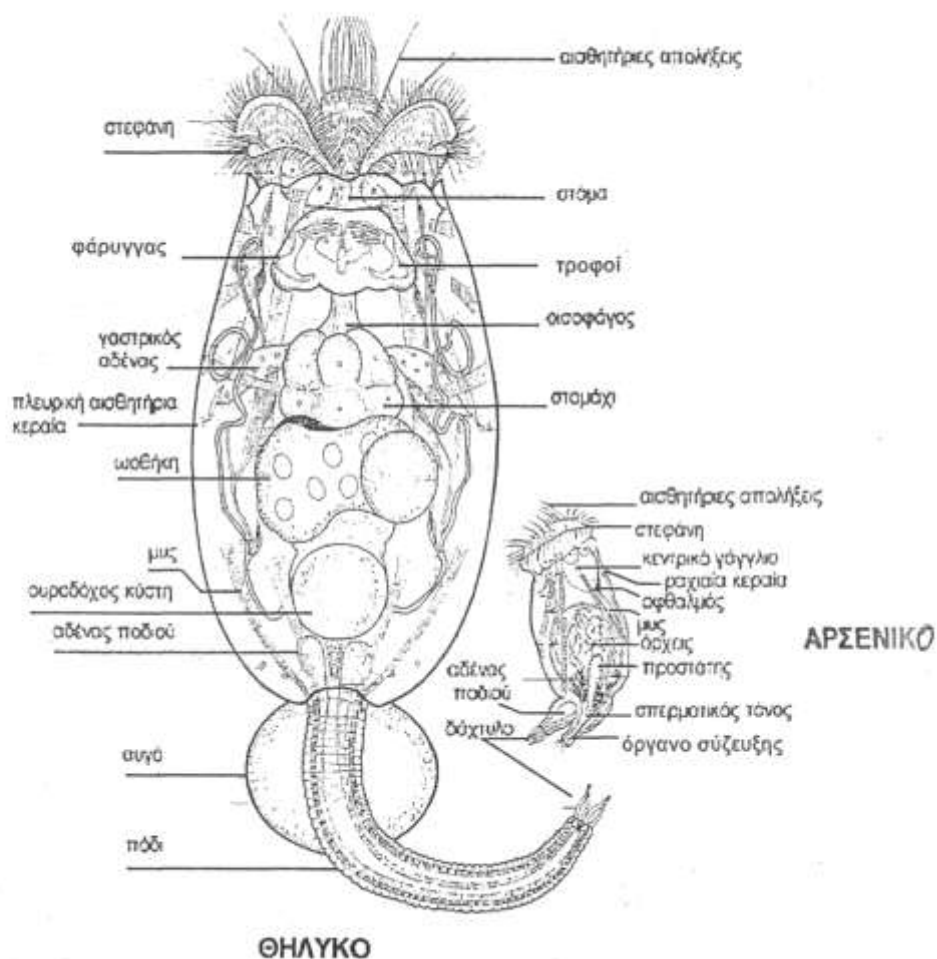
(Κωστοπούλου, 2010). Η αποκάλυψη της παρουσίας κρυπτικών ειδών στο γένος έχει οδηγήσει στην εφαρμογή και τεχνικών ηλεκτρονικής μικροσκοπίας, προκειμένου να διαπιστωθούν οι ενδεχόμενες μορφολογικές διαφορές μεταξύ των κρυπτικών ειδών (Ciros - Perez *et al.*, 2001; Mills, 2006; Fontaneto *et al.*, 2007).

1.3.2. Μορφολογία

Το σώμα του *Brachionus* έχει ασκοειδές σχήμα, είναι διάφανο και αποτελείται από τρία μέρη: το κεφάλι, τον κορμό, και το πόδι (Εικ. 1.1). Στο κεφάλι βρίσκεται η βλεφαριδοφόρος στεφάνη, το στόμα και τα αισθητήρα όργανα αφής και όρασης. Ο κορμός περιέχει τα ακόλουθα όργανα: α) τον πεπτικό σωλήνα, που αποτελείται από: τον φάρυγγα (μάστακας) με σιελογόνους αδένες και μυώδες τμήμα που φέρει ισχυρά σαγόνια (τροφούς), τον οισοφάγο, το στομάχι με τους γαστρικούς αδένες και το έντερο, β) το απεκκριτικό όργανο με τα φλογοκύτταρα, την κύστη και την αμάρα, γ) τα γεννητικά όργανα, που διακρίνονται στην ωθήκη και το βλαστοβιτελλάριο, δ) τον εγκέφαλο, με νευρικές απολήξεις στις ραχιαίες και πλευρικές βλεφαρίδες, στα διάφορα όργανα, τον μάστακα και το πόδι, και ε) κυκλικούς επιμήκεις μύες, που εκτείνονται από το κεφάλι μέχρι το πόδι. Η μετάβαση από τον κορμό στο πόδι φέρει την αμάρα, η οποία αποτελεί κοινό ραχιαίο άνοιγμα για την ουροδόχο κύστη και ωαγωγό. Το εύκαμπτο και συσταλτό πόδι καταλήγει σε δύο δάχτυλα, που περιέχουν αδένες στην άκρη τους. Οι αδένες υποβοηθούν τη μόνιμη ή περιστασιακή προσκόλληση του Τροχόζωου στο υπόστρωμα. Όταν τα Τροχόζωα κολυμπούν, το πόδι μαζεύεται μέσα στο σώμα και δεν είναι ορατό (Ruttner – Kolisko, 1974; Nogrady *et al.*, 1993).

Η επιδερμίδα αποτελείται από ένα διάφανο στρώμα κερατινοειδούς επιδερμιδίου (Bender & Kleinow, 1988), το οποίο καλύπτει ολόκληρο τον κορμό, εκτός

από τη στεφάνη και ονομάζεται θήκη (logica). Η θήκη αποτελεί το τελευταίο διατηρητέο υπόλειμμα του οργανισμού μετά το θάνατο του. Κάτω από το επιδερμίδιο υπάρχει η συγκυτιακή επιδερμίδα (η οποία εκκρίνει το επιδερμίδιο), καθώς και δέσμες μυών, που κατευθύνονται διαμέσου του ψευδόκοιλου προς τα σπλαχνικά όργανα. Το ψευδόκοιλο είναι γεμάτο υγρό, και περιέχει ένα πλέγμα μεσεγγυματικών αμοιβαδοκυττάρων (Hickaman *et al.*, 2002).



Εικόνα 1.1 : Απεικόνιση αρσενικού και θηλυκού ατόμου του τροχόζωου *Brachionus plicatilis* (Nogrady *et al.*, 1993)

1.3.3. Αναπαραγωγή

Τα τροχόζωα του γένους *Brachionus*, όπως και τα υπόλοιπα μέλη της (Υπο)Κλάσης Monogononta, είναι κυκλικά παρθενογενετικοί οργανισμοί. Κατά την παρθενογενετική φάση, ένα διπλοειδές αμειωτικό (amictic) θηλυκό άτομο παράγει με μίτωση ένα επίσης διπλοειδές αμειωτικό (amictic) αβγό. Το τελευταίο εκκολάπτεται και αναπτύσσεται σ' ένα νέο αμειωτικό θηλυκό, γενετικά όμοιο με εκείνο από το οποίο προήλθε (Gilbert 2003; Wallace *et al.*, 2006).

Μέσα από διαδοχικούς παρθενογενετικούς κύκλους οι πληθυσμοί των ειδών *Brachionus* μπορούν να επιτύχουν υψηλούς ρυθμούς αύξησης, τους υψηλότερους μάλιστα γνωστούς μεταξύ των μεταζώων (Sarma *et al.*, 1999).

Δυσμενείς περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως αυξημένη θερμοκρασία, αλατότητα, συγκεντρώσεις (Snell *et al.*, 2006; Wallace *et al.*, 2006), μπορούν να αλλάξουν τον τρόπο αναπαραγωγής από παρθενογένεση σε αμφιγονία. Στην περίπτωση αυτή τα θήλεα άτομα δεν παράγουν διπλοειδή αβγά αλλά κατόπιν μείωσης απλοειδή. Τα απλοειδή αβγά αναπτύσσονται είτε σε αρσενικά είτε σε μειωτικά θηλυκά. Τα αρσενικά άτομα γονιμοποιούν μειωτικά θηλυκά που μετά την γονιμοποίησή τους απελευθερώνουν διπλοειδή αβγά (κύστες) που περιέχουν το έμβρυο σε διάπαυση. Τα αβγά αυτά δεν εκκολάπτονται άμεσα, με αποτέλεσμα να συσσωρεύονται στο υπόστρωμα και τα οποία είναι ανθεκτικά σε αντίξοες συνθήκες. Όταν δοθεί το κατάλληλο ερέθισμα, οι κύστες εκκολάπτονται σε διπλοειδή θηλυκά και ξεκινά η παρθενογενετική φάση του αναπαραγωγικού κύκλου.

Για την μαζική παραγωγή του *B. Plicatilis* μόνο η παρθενογενετική αναπαραγωγή έχει υιοθετηθεί, εξαιτίας του γρηγορότερου ρυθμού αύξησης του

πληθυσμού και της έλλειψης των αρσενικών, τα οποία δεν καταναλίσκονται ως τροφή από τα ψάρια αφού δεν έχουν πεπτικό σύστημα.

1.3.4. Ρόλος στις υδατοκαλλιέργειες

Η μαζική εκτροφή του τροχόζωου *B. Plicatilis* αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά στάδια της παραγωγικής διαδικασίας στις υδατοκαλλιέργειες (Dhert *et al.*, 2001; Lubzens *et al.*, 2001). Το εν λόγω τροχόζωο εκτρέφεται στους ιχθυογενετικούς σταθμούς, με σκοπό να παρασχεθεί τροφή στις νύμφες των ιχθύων των παραγόμενων ψαριών (Lubzens, 1981). Η πρακτική του σημασία και το οικονομικό ενδιαφέρον που συνδέεται με τέτοιου είδους παραγωγικές διαδικασίες, έχουν οδηγήσει στην εκτενή μελέτη του παραπάνω οργανισμού.

Στην χρήση των τροχόζωων πρωτοπόροι ήταν οι Γιαπωνέζοι (Hirano, 1969). Η θρεπτική αξία των τροχόζωων με τα οποία τρέφονται οι νύμφες των ψαριών εξαρτάται από το καθαρό βάρος τους, τις θερμίδες τους, και την βιοχημική τους σύνθεση η οποία έχει στενή σχέση με το είδος της τροφής που αυτά προσέλαβαν. Η επιτυχής εκτροφή ικανοποιητικής ποσότητας και ποιότητας τροχόζωων αποτελεί ένα από τα πιο κρίσιμα στάδια παραγωγής στους ιχθυογενετικούς σταθμούς (Lubzens, 1981; Lubzens *et al.*, 1997, 2001)

Ο ρυθμός αναπαραγωγής εξαρτάται από την ποιότητα και την ποσότητα της τροφής, την θερμοκρασία, την αλατότητα και το είδος. Ένα άριστο επίπεδο τροφής σε συνδυασμό με κατάλληλους βιοτικούς παράγοντες τείνει να αυξήσει το μέγεθος των τροχόζωων. Αντίθετα ένα άριστο επίπεδο τροφής με χαμηλή ή υψηλή θερμοκρασία συνεπάγεται μείωση του σώματος των τροχόζωων.

Στις περισσότερες εκτροφές η διατροφή του τροχόζωου *B. plicatilis*, πραγματοποιείται με διάφορα είδη φυτοπλαγκτού, όπως και στο φυσικό περιβάλλον. Σημαντικό ρόλο στο ρυθμό αύξησης του πληθυσμού παίζει η ποσότητα αλλά και η ποιότητα της προσφερόμενης τροφής. Ο ρυθμός διήθησης και πρόσληψης επηρεάζονται από το είδος, την ηλικία και τη γενικότερη κατάσταση του φυτοπλαγκτού, όπου αυξάνει με την αύξηση της συγκέντρωσης της τροφής μέχρι ενός σημείου, πέραν του οποίου παραμένει σταθερός, με άμεσο αντίκτυπο στην πληθυσμιακή αύξηση (Chotiyarutta & Hirayama, 1978: Starkweather, 1980). Εκτός από φυτοπλαγκτό, το τροχόζωο μπορεί να καταναλώσει και άλλα είδη τροφής, όπως οργανικά θρύμματα, βακτήρια και μαγιά (Pourriot, 1977: Starkweather, 1980: Vadstein *et al.*, 1993: Hlawa & Heerkloss, 1994). Πέραν της αριθμητικής αύξησης, η τροφή επηρεάζει άμεσα και την ποιοτική σύσταση του *B. plicatilis*. Έχει παρατηρηθεί ότι με την ανάλογη διατροφή αυξάνονται τα επίπεδα των πρωτεϊνών και των λιπών των τροχόζωων, ενώ αντίστοιχα μειώνονται εκείνα των υδατανθράκων (Guisande & Serrano, 1989: Frolov *et al.*, 1991: Fernandez-Reiriz *et al.*, 1993). Μεταξύ των πιο σημαντικών παραγόντων που επηρεάζουν την ανάπτυξη και την επιβίωση των νυμφών είναι η μεγάλη αλυσίδα των ωμέγα-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (HUFA) περιλαμβάνοντας τα 22εξανοϊκό οξύ γνωστό ως DHA και εικοσαπεντανοϊκό οξύ γνωστό ως EPA (Owen *et al.*, 1975: Cowey, 1976: Howell, 1979: Scott & Middleton, 1979: Watanabe, 1979: Watanabe *et al.*, 1983). Σε γενικές γραμμές, τα τροχόζωα καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες τροφής. Μπορούν να τραφούν με ένα μεγάλο εύρος ειδών φυτοπλαγκτού σε ξερή ή νωπή μορφή με ή χωρίς φρέσκια ή ξερή μαγιά (Lubzens, 1987: Lubzens *et al.*, 1989: Snell, 1991).

Στη φύση, τα τροχόζωα τρέφονται κυρίως με φυτοπλαγκτό. Η παραγωγή φυτοπλαγκτού στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς αποτελεί μια ιδιαίτερα δαπανηρή

διαδικασία, η οποία απαιτεί συνεχή απασχόληση προσωπικού, καθώς και ύπαρξη ειδικών χώρων και εγκαταστάσεων για τη μαζική καλλιέργεια του. Μέχρι σήμερα δεν έχει βρεθεί κάποιο άλλο πρωτόκολλο διατροφής, το οποίο να αντικαθιστά ισάξια τη διατροφική αξία των μονοκύτταρων φυκών (Dhert *et al.*, 2001). Για να μειωθεί η συνολική ποσότητα καλλιέργειας - άρα και το κόστος-, χρησιμοποιείται είτε φυτοπλαγκτό σε συμπυκνωμένη υγρή μορφή ('πάστα'), είτε άλλα συμπληρώματα διατροφής σε συνδυασμό με το φυτοπλαγκτόν, τα οποία είναι σχετικά φθηνότερα και δεν απαιτούν καμία προεργασία, ειδικές εγκαταστάσεις ή χώρους ειδικών προδιαγραφών. Τέτοια είναι η κοινή μαγιά αρτοποιίας και τα συνθετικά λιπαρά πρόσθετα (εμπλουτιστικά). Οι τροφές αυτές δε μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνες τους, είτε γιατί υποβιβάζουν την ποιότητα του μέσου εκτροφής (εμπλουτιστικά έλαια - Coutteau & Sorgeloos, 1997), είτε γιατί η πεπτικότητά τους είναι μειωμένη όταν χορηγούνται μεμονωμένα (*Saccharomyces cerevisiae* – Hirata, 1980; Hirayama & Funamoto, 1983; Hirayama, 1987). Τα αποτελέσματα έρευνας όσον αφορά την συγκέντρωση του φυτοπλαγκτού έδειξαν, ότι ο μεγαλύτερο αριθμό τροχόζωων επιτυγχάνεται σε συγκέντρωση 4×10^6 cell/ml. Ο ρυθμός πρόσληψης από τα τροχόζωα φαίνεται να λαμβάνει την μέγιστη τιμή $4-8 \times 10^6$ cell/h για συγκέντρωση φυτοπλαγκτού 5×10^6 cell/ml. Σε συνδυασμό με μαγιά ο ρυθμός πρόσληψης φθάνει τα 86×10^2 cell/h. Σε μια άριστη συγκέντρωση φυτοπλαγκτού και φωτοπερίοδο, ο ρυθμός διήθησης και πρόσληψης των τροχόζωων μεγιστοποιείται για θερμοκρασία 25°C (Awaiiss *et al.*, 1992). Σε μια άλλη έρευνα το τροχόζωο *B. plicatilis* (S-type Hawaiian strain) εκτράφηκε με πολλούς συνδυασμούς *Nannochloropsis* και μαγιάς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στην καθημερινή παραγωγή τροχόζωων και στην περιεκτικότητα σε αμινοξέα. Σημαντικά χαμηλά επίπεδα λιπαρών

οξέων, όμως παρατηρήθηκαν σε τροχόζωα ανάλογα με το ποσοστό μαγιάς που υπήρχε στο σιτηρέσιο τους (Tamaru *et al.*, 1993). Επίσης τροχόζωα ταΐστηκαν με τέσσερα είδη μονοκύτταρων φυκών σε μία κλίμακα θερμοκρασιών, όπου μετρήθηκε ο ρυθμός ανάπτυξης, το βάρος, τα επίπεδα πρωτεϊνών, υδατανθράκων και λιπών. Μεγάλες διαφορές βρέθηκαν στο βάρος και στην βιοχημική σύνθεση των τροχόζωων όσον αφορά την ποσότητα της προσφερόμενης τροφής. Ενώ, βρέθηκαν μόνο μικρές διαφορές όσον αφορά το είδος του φυτοπλαγκτού που χρησιμοποιήθηκε ως τροφή (Alexandes P. Scott & Stephen M. Baynes, 1978).

Μια έρευνα των Lubzens *et al.*, (1995) έδειξε ότι το καταψυγμένο είδος *Nannochloropsis* μπορεί να αντικαταστήσει το ζωντανό φυτοπλαγκτό με επιτυχία. Η χρήση του συμπυκνωμένου φυτοπλαγκτού προσφέρει λύση σε πολλά προβλήματα που αντιμετωπίζουν κατά την καλλιέργεια φυτοπλαγκτού και την εκτροφή των νυμφών των ψαριών. Στη συνέχεια η συμπυκνωμένη υγρή μορφή φυτοπλαγκτού ('πάστα') μπορεί να μεταφερθεί εύκολα και να αποθηκευθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα (στην κατάψυξη). Το φυτοπλαγκτό, από το οποίο θα προέρθει η 'πάστα', μπορεί να παραχθεί κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες οι οποίες θα μας δώσουν τροφή υψηλής ποιότητας. Η χημική σύνθεση της, και κατά συνέπεια η θρεπτική αξία του φυτοπλαγκτού, μπορεί να αποφασιστεί από πριν, πριν δοθεί στα τροχόζωα, και έτσι να είμαστε βέβαιοι για την θρεπτική αξία των τροχόζωων πριν οι νύμφες των ψαριών προσλάβουν αυτά για τροφή. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής δείχνουν ότι με τη χρήση καταψυγμένου *Nannochloropsis* μπορούμε να διαχειριστούμε ευκολότερα την παραγωγή βιομάζας τροχόζωων πλούσια σε λιπαρά οξέα, που είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη των νυμφών των ψαριών (Lubzens *et al.*, 1995). Οι Hamada και Hagiwara (1993) αναφέρουν ότι η συμπυκνωμένη υγρή μορφή φυτοπλαγκτού όχι μόνο μπορεί να

αντικαταστήσει το ζωντανό φυτοπλαγκτό με επιτυχία αλλά να οδηγήσει στην αύξηση της γονιμότητας των αβγών διάπαυσης. Η συμπυκνωμένη υγρή μορφή φυτοπλαγκτού επιτρέπει την μαζική (εμπορική) παραγωγή αβγών διάπαυσης τα οποία εξαρτώνται από το τάισμα των τροχόζωων με υψηλής ποιότητας φυτοπλαγκτού.

Ένα άλλο τεχνητό σιτηρέσιο το οποίο είναι θρεπτικά ενισχυμένο είναι το εμπορικό προϊόν Culture Selco (Dhert *et al.*, 2001) . Τροχόζωα που ταΐστηκαν με φυτοπλαγκτό και μαγιά και Culture Selco έδειξε ότι ενώ η περιεκτικότητα σε διαλυτή πρωτεΐνη είναι σχεδόν ίδια, σε όρους όμως επί της εκατό της ακατέργαστης πρωτεΐνης το ποσοστό της διαλυμένης είναι πολύ διαφορετικό. Κυμαίνεται από 44,28% στα τροχόζωα που ταΐστηκαν με φυτοπλαγκτό και μαγιά έως 52,32% στα τροχόζωα που ταΐστηκαν με Culture Selco (Srivastava A., *et al.*, 2006).

Σε προηγούμενη μελέτη, ο Hirayama και Watanabe (1973) συμπέραναν ότι η μαγιά αρτοποιίας θα ήταν πιο αποτελεσματική ως τροφή για τα τροχόζωα εάν χρησιμοποιούταν ως συμπλήρωμα τροφής. Σε άλλη μελέτη που ως τροφή χρησιμοποιήθηκε αποξηραμένη σκόνη *Chlorella*, μαγιά αρτοποιίας, και ζωντανή *Chlorella*, έδειξε ότι η αποξηραμένη σκόνη *Chlorella* είναι λιγότερο αποτελεσματική από την ζωντανή, εάν και είναι πιο αποτελεσματική από το αιώρημα μαγιάς στις ίδιες πυκνότητες. Ο συνδυασμός αποξηραμένης σκόνης *Chlorella* και μαγιάς ίσως είναι περισσότερο πιο αποτελεσματικός από την αποξηραμένη *Chlorella* μόνη της. Τα αποτελέσματα οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η θρεπτική αξία της αποξηραμένης σκόνης *Chlorella*, όσον αφορά τη συμβολή της στον ουσιαστικό ρυθμό ανάπτυξης του πληθυσμού, θα ήταν ένα αποτελεσματικό βιομηχανικό προϊόν για την μαζική εκτροφή τροχόζωων (Hirayama & Nakamura, 1976). Ο Nuria Navaro χρησιμοποιώντας καταψυγμένη *Chlorella* σε σκόνη και ζωντανή, ως τροφή για την εκτροφή τροχόζωων

συμπέρανε ότι είναι μια εξαιρετικά θρεπτική τροφή για τροχόζωα. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως μια καλή μέθοδος για την ακριβή μέτρηση του ρυθμού πρόληψης της τροφής. Το *B. plicatilis* μπορεί καθημερινά να καταναλώσει το 60-70% του καθαρού του βάρους, ενώ το *B. rotundiformis* μπορεί να καταναλώσει το 160% του καθαρού του βάρους (Navarro, 1999).

Ο Ito (1960) σύγκρινε αποτελέσματα από τρία είδη φυτοπλαγκτού (*Chlamydomonas*, *Chlorella*, και *Dunaliella*) στις ίδιες συνθήκες εκτροφής. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο ρυθμός ανάπτυξης αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας από 18°C στους 28°C. Αυτό παρατηρήθηκε και από τον Ito (1960) και από τους Hirayama και Kusano (1972). Το είδος του φυτοπλαγκτού δείχνει να έχει μικρή επίδραση στον ρυθμό ανάπτυξης. Πολλά πειράματα έχουν γίνει όσον αφορά το ρυθμό ανάπτυξης και γονιμότητας των τροχόζωων σε σύγκριση με διάφορα είδη φυτοπλαγκτού και διάφορες θερμοκρασίες. Τα αποτελέσματα μας επιβεβαιώνουν τις παρατηρήσεις του Ito (1960) και των Theilacker και McMaster (1971), ότι ο τύπος του φυτοπλαγκτού έχει μικρή επιρροή στον ρυθμό ανάπτυξης των τροχόζωων (Sayegh F.A.Q. *et al.*, 2007). Σε χαμηλές θερμοκρασίες (18°C) τα τροχόζωα καταναλώνουν την τροφή τους σχετικά αργά και διατηρούν μια σχετικά υψηλής αξίας βιοχημική σύνθεση σε λιπίδια και υδρογονάνθρακες για μεγάλη περίοδο. Σε υψηλές θερμοκρασίες (28°C) η κατανάλωση τροφής είναι ταχύτερη και η βιοχημική σύνθεση των τροχόζωων μειώνεται ταυτόχρονα με το τέλος της τροφής (Scott & Baynes, 1978).

Όπως πολλοί πλαγκτονικοί οργανισμοί, έτσι και ο ρυθμός πρόσληψης της τροφής του *B. plicatilis* επηρεάζεται από την συγκέντρωση της τροφής (Hansen B. *et al.*, 1997) καθώς και από τη θερμοκρασία (Hirayama & Ogawa, 1972: Scott and Baynes, 1978: Dhert, 1996). Και οι δύο αυτοί παράγοντες κατά την εκτροφή των

τροχόζωων θα πρέπει να ελέγχονται. Έτσι η γνώση του συνδυασμού των δύο αυτών παραγόντων είναι χρήσιμη. Η θερμοκρασία επηρεάζει το βιολογικό ρυθμό άμεσα, ενεργοποιώντας το ρυθμό χημικής αντίδρασης, και έμμεσα ενεργοποιώντας τον βαθμό κινητικότητά τους (Montagnes D.J.S., *et al.*, 2001).

Θερμοκρασία και συνδυασμός τροφής έχουν επίδραση στο μέγεθος των τροχόζωων, ενώ θερμοκρασία σε αλληλεπίδραση με τις συγκεντρώσεις φυτοπλαγκτού δεν έδωσαν στατιστικά σημαντική διαφορά (E. Lucía Pavo'n-Meza *et al.*, 2007). Σ' ένα άριστο επίπεδο τροφής και θερμοκρασίας το μέγεθος των τροχόζωων τείνει να είναι μεγαλύτερο, ενώ ένα άριστο επίπεδο τροφής με χαμηλή ή υψηλή θερμοκρασία συνεπάγεται μείωση του σώματος των τροχόζωων (Fernandez - Araiza & Sarma Nandini, 2005). Ως σύνολο, το γένος *Brachionus* είναι ικανό να επιβιώσει σ' ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών και αλατότητας (Hagiwara *et al.*, 1995). Το τροχόζωο *B.plicatilis* χρειάζεται σχετικά υψηλές θερμοκρασίες, για να αναπτυχθεί. Πειράματα στο εργαστήριο έχουν δείξει ότι ο μεταβολικός του ρυθμός παραμένει σταθερός από 20°C έως 28°C (Epp & Lewis, 1980). Εντός των παραπάνω θερμοκρασιακών ορίων εμφανίζεται, θετική επίδραση στην αύξηση του πληθυσμού, μέχρι το ανώτατο όριο ανεκτικότητας, πέρα το οποίο παρατηρείται μείωση της πληθυσμιακής αύξησης (Miracle & Serra, 1989). Όσο μειώνεται η θερμοκρασία της καλλιέργειας από 30-25 °C, η δημιουργία αβγών διάπαυσης αυξάνεται για το *B.rodudiformis* (SS-type) (Assavaaree M. *et al.*, 2003). Επίσης, υπάρχουν είδη που προτιμούν χαμηλές τιμές αλατότητας (π.χ. *B. angularis*, *B. urceolaris*, *B. calyciflorus*), σε σχέση με άλλα που προτιμούν αυξημένες τιμές (π.χ. *B. quadridentatus*, *B. plicatilis*) (Miracle *et al.*, 1987; Santangelo *et al.*, 2007).

1.5. Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της μελέτης ήταν η διερεύνηση των συνθηκών εκτροφής του *B. plicatilis* σε διαφορετικές τιμές θερμοκρασίας και αλατότητας με τη διατροφή τους με τρεις διαφορετικές δίαιτες. Στόχος ήταν να εντοπιστούν οι άριστοι συνδυασμοί έτσι ώστε η εκτροφή τους στους ιχθυογενετικούς σταθμούς να αποδίδει τα καλύτερα αποτελέσματα.

Τα τροχόζωα είναι ένα μικρό φύλλο, το οποίο αποτελείται από 2000 περίπου είδη. Τα περισσότερα είδη ζουν σε γλυκά νερά, ενώ εκείνα που απαντώνται στο θαλάσσιο περιβάλλον είναι αριθμητικά πολύ λίγα (Ruttner – Kolisko, 1974). Στα τελευταία ανήκει το είδος *Brachionus plicatilis*, το οποίο χαρακτηρίζεται από μεγάλη γενετική ποικιλότητα. Η ποικιλότητα αυτή ανιχνεύθηκε πρόσφατα χάρη στην ανάπτυξη μεθόδων μοριακής βιολογίας. Το *B. plicatilis* αποτελεί αντικείμενο έρευνας σε μελέτες φυσιολογίας, οικολογίας και οικοτοξικολογίας (Ricci *et al.*, 2000) γιατί: Πρώτον παρουσιάζει μεγάλη ευκολία στην εκτροφή και έχει μικρό χρόνο γενεάς. Δεύτερον, χορηγείται ως τροφή στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των νυμφών, στις χερσαίες εγκαταστάσεις μονάδων υδατοκαλλιέργειας (Lubzens *et al.*, 1989).

Ένα πρόβλημα που παρουσιάζει το εν λόγω τροχόζωο κατά τη μαζική εκτροφή του στους ιχθυογενετικούς σταθμούς είναι οι ξαφνικές καταρρεύσεις των πληθυσμών, οι οποίες συνδέονται με τη μετάβαση από την παρθενογένεση στην αμφιγονική αναπαραγωγή. Το οικονομικό ενδιαφέρον που συνδέεται με τέτοιου είδους παραγωγικές διαδικασίες σε συνδυασμό με το ερευνητικό ενδιαφέρον που σχετίζεται με τη μελέτη και τη διαχείριση των οργανισμών, έχουν ως αποτέλεσμα ένα μεγάλο μέρος των δημοσιευμένων εργασιών να ασχολείται με τη μαζική εκτροφή των τροχόζωων.

Στην παρούσα μελέτη, ο πειραματικός σχεδιασμός βασίστηκε σε πρακτικές που χρησιμοποιούνται στους ιχθυογενετικούς σταθμούς, λόγω της σημασίας που έχει το εν

λόγω τροχόζωο στις υδατοκαλλιέργειες. Συγκεκριμένα, η προσέγγιση που υιοθετήθηκε, είχε ως σκοπό τη διερεύνηση της δυναμικότητας του τροχόζωου (ρυθμός ανάπτυξης, γονιμότητα) σε σχέση με ορισμένους αβιοτικούς και βιοτικούς παράγοντες (τροφή, αλατότητα και θερμοκρασία). Όσον αφορά την τροφή, στις περισσότερες μελέτες έχουν χρησιμοποιηθεί διαφορετικά είδη φυτοπλαγκτού, το οποίο αποτελεί μέρος της διατροφής του οργανισμού στο φυσικό περιβάλλον. Παρ' όλα αυτά, το τροχόζωο μπορεί να καταναλώσει και άλλα είδη τροφής, που δεν έχουν μελετηθεί αρκετά. Οι τροφές που επιλέχθηκαν στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιούνται στη μαζική εκτροφή των τροχόζωων και διαφέρουν ως προς τη σύσταση και το ενεργειακό περιεχόμενο.

Ο αβιοτικός παράγοντας αλατότητα, μελετήθηκε στο πρώτο πείραμα, για να διαπιστωθεί κατά πόσο επηρεάζει τη δυναμικότητα του πληθυσμού. Τα αποδεκτά επίπεδα αλατότητας στη φύση κινούνται σε ένα ευρύ φάσμα τιμών. Οι ιδανικές τιμές αλατότητας διαφέρουν ανάλογα με το είδος. Το *B. plicatilis s.s* είναι ευρύαλο είδος και διαβιώνει σε αλατότητες από 3-45 psu.

Επιπλέον, μελετήθηκε και ένας άλλος αβιοτικός παράγοντας, η θερμοκρασία. Το γένος *Brachionus* ως σύνολο παρουσιάζει ικανότητα προσαρμογής σ' ένα ευρύ φάσμα αβιοτικών συνθηκών, τα επιμέρους είδη σε αρκετές περιπτώσεις φαίνονται περισσότερο ή λιγότερο εξειδικευμένα σε ένα στενότερο εύρος τιμών των περιβαλλοντικών παραμέτρων. Έτσι, έχει διαπιστωθεί πως στις υψηλότερες θερμοκρασίες αναπτύσσονται καλύτερα τα μικρότερα σε μέγεθος είδη (π.χ. *B. ibericus*, *B. rotundiformis*), ενώ στις χαμηλότερες, τα μεγαλύτερου μεγέθους είδη (π.χ. το είδος *B. plicatilis s.s.*) (Fielder *et al.*, 2000: Lubzens *et al.*, 2001: Ortells *et al.*, 2003). Μάλιστα, η αρνητική συσχέτιση μεγέθους σώματος - θερμοκρασίας επιβεβαιώνεται και

από ανάλογες παρατηρήσεις σε κλωνικές καλλιέργειες ειδών *Brachionus* (Serra & Miracle ,1987).

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη αποτελεί μία προσπάθεια διερεύνησης της δυναμικότητας του πληθυσμού σε σχέση με τρία σιτηρέσια που χρησιμοποιούνται ευρύτατα στους ιχθυογενετικούς σταθμούς, σε μία κλίμακα τριών διαφορετικών αλατοτήτων και θερμοκρασιών. Προκειμένου να αποκτηθεί μία ολοκληρωμένη εικόνα της απόκρισης του στελέχους στις συγκεκριμένες παραμέτρους (προσφερόμενες τροφές αλατότητες και θερμοκρασίες), πραγματοποιήθηκε μία σειρά πειραμάτων, στα οποία συλλέχθηκαν πληροφορίες ως προς τον ρυθμό αύξησης και της γονιμότητας του πληθυσμού.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

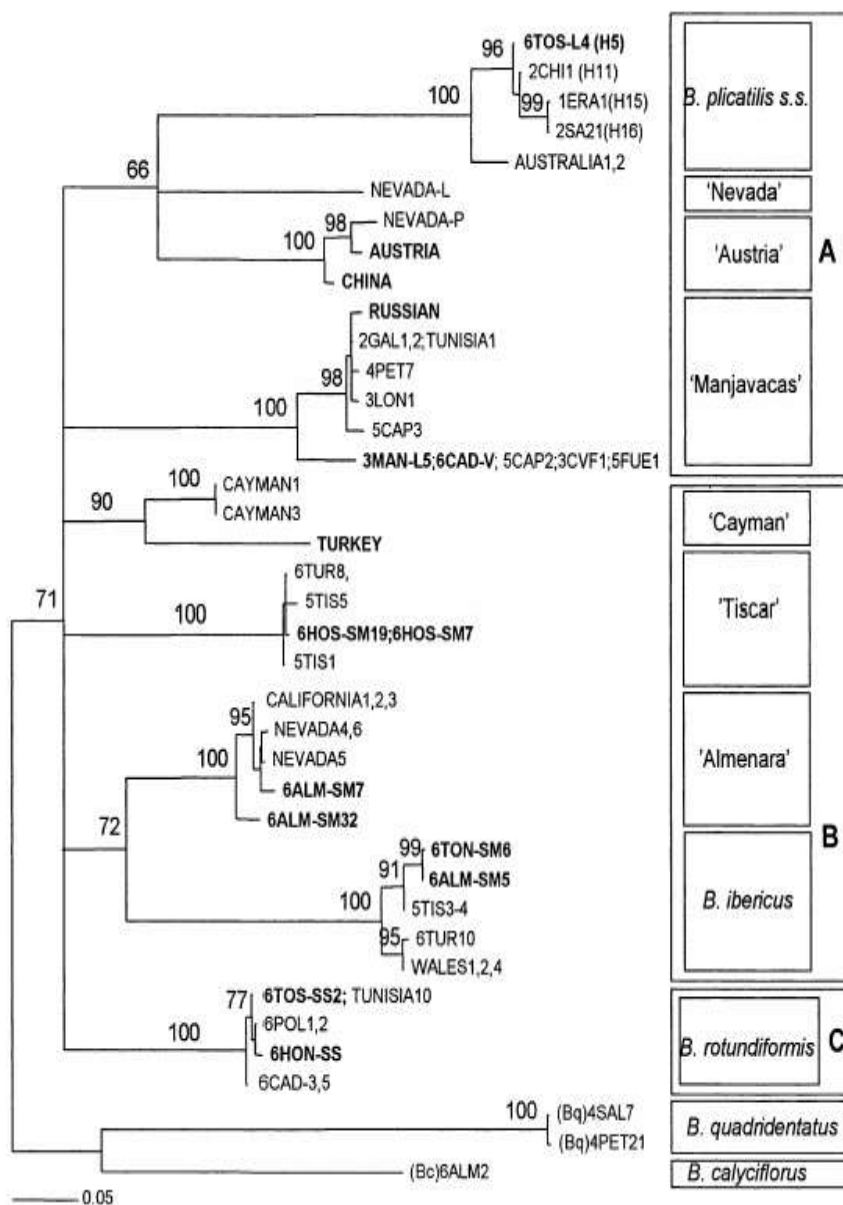
2.1. Υλικά

Με την έναρξη της χρησιμοποίησης του *B. plicatilis* στις υδατοκαλλιέργειες, έγινε αντιληπτό ότι ορισμένα στελέχη του παρουσίαζαν διαφορετική οικολογία αλλά και μέγεθος σώματος. Η πρώτη ομαδοποίηση έγινε με βάση το μέγεθος του σώματος, οπότε και τα στελέχη διακρίθηκαν σε δύο μορφотύπους: «μεγάλο» (Large, L) και «μικρό» (Small, S) (Segers, 1995). Αργότερα, διαφορές μεταξύ των στελεχών L και S οδήγησαν τελικά στον χαρακτηρισμό τους ως ξεχωριστά είδη, τα *B. plicatilis* και *B. rotundiformis* αντίστοιχα (Segers, 1995). Οι διαφορές αυτές αφορούσαν:

- α) το μέγεθος και τη μορφολογία των πρόσθιων-νωτιαίων ακανθών της στεφάνης (Fu *et al.*, 1991),
 - β) τα αλλοενζυμικά πρότυπα (Fu *et al.*, 1991),
 - γ) τον τρόπο αναπαραγωγής (παρθενογένεση ή αμφιγονία) ανάλογα με τη θερμοκρασία (Hirayama & Rumengan, 1993),
 - δ) τον αριθμό των χρωμοσωμάτων (Rumengan *et al.*, 1991) και
 - ε) την ικανότητα διάκρισης των θηλυκών από τα αντίστοιχα αρσενικά κάθε μορφотύπου (Fu *et al.*, 1993: Gomez & Serra, 1995: Rico – Martinez & Snell, 1995).
- Έτσι, δημιουργήθηκαν τρεις ομάδες τροχοζώων *Brachionus*. Οι ομάδες αυτές διακρίθηκαν στους μορφотύπους «μεγάλος» (Large, L), «μεσαίος» (Small, Medium, SM) και «πολύ μικρός» (Super Small, SS), με βάση το μέγεθος του σώματος των τροχοζώων (μήκος περίπου 220 - 240 μm, 150 - 165 μm, 115 - 125 μm και πλάτος 160 - 175 μm, 110 - 125 μm, 100 - 105 μm αντίστοιχα) (Gomez *et al.* 1995). Μορφομετρικά δεδομένα, σε συνδυασμό με τα παραπάνω, οδήγησαν στην αναγνώριση και περιγραφή

ενός είδους σε καθεμιά από τις παραπάνω ομάδες. Έτσι στην ομάδα L αναγνωρίστηκε και περιγράφηκε το είδος *B. plicatilis* και στις ομάδες SM και SS τα είδη *B. ibericus* και *B. rotundiformis* αντίστοιχα (Ciros - Perez *et al.*, 2001).

Η μελέτη ωστόσο της μορφολογίας, της γενετικής (αλλοένζυμα) και της ικανότητας των αρσενικών τροχοζώων να διακρίνουν και να αναπαραχθούν με θηλυκά άτομα σε δείγματα πληθυσμών και από άλλες περιοχές της Ευρώπης αλλά και από την Αμερική, την Ασία και την Αυστραλία, οδήγησε από νωρίς στο συμπέρασμα πως οι παραπάνω τρεις ομάδες φαίνεται να απαρτίζονται από περισσότερα από τρία είδη (Gomez & Snell 1996). Στο πλαίσιο αυτό, η μελέτη της μορφολογίας και της γενετικής, αποκάλυψε την παρουσία εννέα γενετικά διακριτών εξελικτικών γραμμών (Gomez *et al.* 2002a), οι οποίες παρουσιάζονται στην Εικόνα 2.1. (το φυλόγραμμα κατασκευάστηκε με βάση ακολουθίες DNA της περιοχής COI, και μπορούν να παρατηρηθούν οι φυλογενετικές σχέσεις, τα ονόματα και ο μορφότυπος στον οποίο ανήκουν εννέα από τα μέλη του συμπλέγματος). Όπως φαίνεται, τα τρία προαναφερθέντα είδη πλαισιώθηκαν από έξι επιπλέον ομάδες, οι οποίες μια και δεν έχουν περιγραφεί ακόμη ως διακριτά είδη, αναφέρονται ως βιότυποι. Ο όρος βιότυπος χρησιμοποιείται συνήθως για το χαρακτηρισμό πληθυσμών που διακρίνονται μορφολογικά ή γενετικά σε σχέση με άλλους πληθυσμούς και που δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί αν πρόκειται για ενδοειδικούς πολυμορφισμούς ή για διαφοροποίηση μεταξύ ξεχωριστών ειδών (Lawrence 1989, Dres & Mallet 2002). Οι βιότυποι αυτοί ονομάστηκαν με βάση τις υδατοσυλλογές στις οποίες βρέθηκαν αρχικά (*B. sp. Manjavacas*, *B. sp. Tiscar*, *B. sp. Almenara*) ή τη γεωγραφική προέλευση των αρχικών δειγμάτων (*B. sp. Nevada*, *B. sp. Austria*, *B. sp. Cayman*).



Εικόνα 2.1 : Το σύμπλεγμα κρυπτικών ειδών *B. plicatilis*. Μορφότυποι A: «μεγάλος», B: «μεσαίος» και C: «πολύ μικρός» αντίστοιχα (εικόνα τροποποιημένη από Gomez et al. 2002a).

Η επιλογή του τροχόζωου γίνεται με βάση το άνοιγμα του στόματος του ιχθυδίου και τους αβιοτικούς παράγοντες που επικρατούν. Στην πλειονότητα των σταθμών, θεωρούν ότι όλα τα τροχόζωα που εκτρέφουν ανήκουν στο είδος *Brachionus plicatilis* (Εικ 2.2), ενώ ο μόνος διαχωρισμός που γίνεται, βασίζεται στο μέγεθος του σώματος. Το τροχόζωο που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, προήλθε από τον ιχθυογενετικό σταθμό ΔΙΑΣ, ήταν το *Brachionus plicatilis* (Εικ. 2.3).



Εικόνα 2.2 : *Brachionus plicatilis*: θηλυκά άτομα με αβγά



Εικόνα 2.3 : Δοχεία συλλογής *Brachionus plicatilis* μετά την μαζική εκτροφή τους και πριν την εισαγωγή τους στις δεξαμενές εκτροφής των νυμφών τσιπούρας (*Sparus aurata*)

Χρησιμοποιήθηκαν τρία σιτηρέσια, τα οποία αποτελούν αντιπροσωπευτικά δείγματα των τύπων που χορηγούνται στους ιχθυογενετικούς σταθμούς. Το πρώτο σιτηρέσιο ήταν το φυτοπλαγκτόν είδος (*Chlorella minutissima*) (Εικ. 2.3) (45% πρωτεΐνη, 20% λίπος, 20% υδατάνθρακες, 5% ίνες και 10% ανόργανα άλατα και βιταμίνες) και μαγιά της μύρας (*Sacharomyces cerevisiae*) (Εικ. 2.4) σε ποσότητα 1g ανά 10^6 τροχόζωα/ml. Η μαγιά αποτελείται από 8% λίπος, 30% πρωτεΐνη και 46% υδατάνθρακες (Frolov *et al.*, 1991). Στον Πίνακα 2.2 δίνεται η ταξινομική κατάταξη των οργανισμών που χρησιμοποιήθηκαν στο πρώτο σιτηρέσιο. Το φυτοπλαγκτόν καλλιεργήθηκε στο εργαστήριο. Η καλλιέργεια πραγματοποιήθηκε σε αποστειρωμένο νερό (μείγμα θαλάσσιου και αποσταγμένου νερού) αλατότητας 30psu εμπλουτισμένο με θρεπτικά στοιχεία που περιέχονταν στο μέσο F-media (Algal Start-up Formula TYPE II) με την εξής σύσταση (Πιν. 2.1).

Πίνακας 2.1: Σύσταση του θρεπτικού μέσου F-media (Algal Start-up Formula TYPE II).

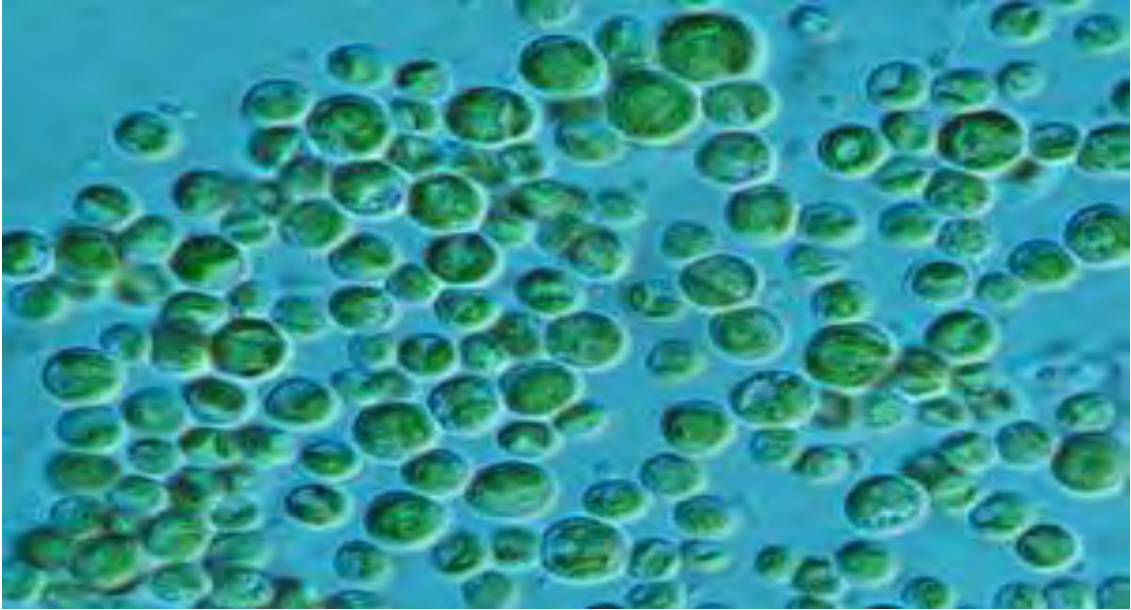
Συστατικά	Περιεκτικότητα
NaNO ₃	30.0%
NH ₄ Cl	10%
NaH ₂ PO ₄ +H ₂ O	2.0%
Na ₂ EDTA	2.0%
FeCl ₂ +6H ₂ O	1.26%
ZnSO ₄ +7H ₂ O	0.0084%
MnCl ₂ +4 H ₂ O	0.008%
CuSO ₄ +5 H ₂ O	0.004%
COCl ₂ +6H ₂ O	0.004%
Na ₂ MoO ₄ +2H ₂ O	0.001%
Θειαμίνη (B ₁) HCL	100 µg/l
Βιοτίνη	5 µg/l
Κυανοκοβαλαμίνη (B ₁₂)	5 µg/l
Αδρανή συστατικά	64%

Το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε για τον εμπλουτισμό του θαλασσινού νερού ήταν 1g/3.78 l.

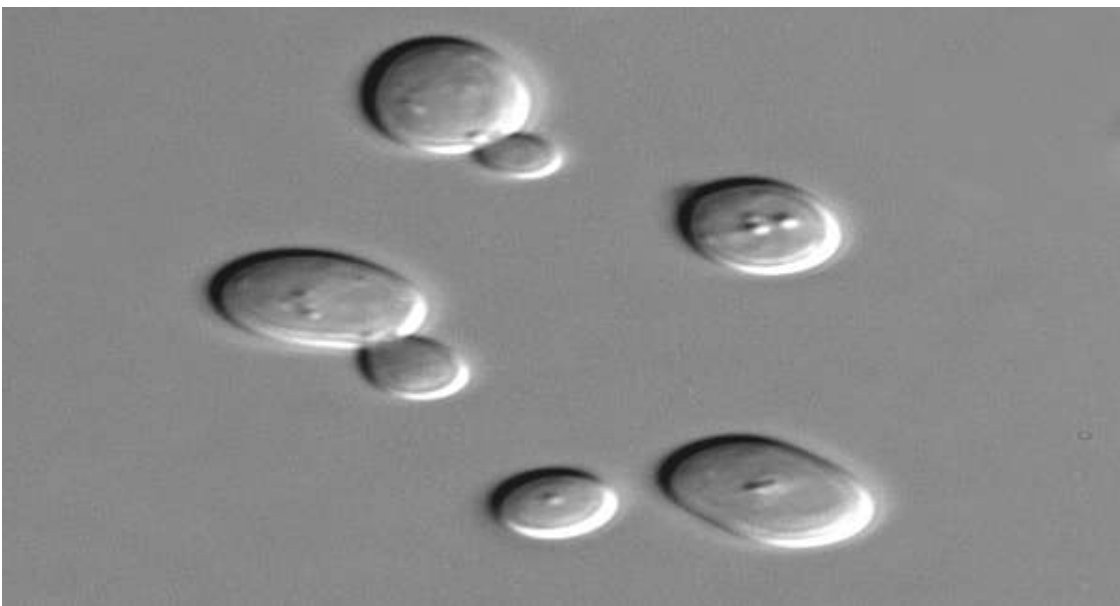
Η αποστείρωση πραγματοποιήθηκε σε ειδικό κλίβανο υγράς αποστείρωσης σε θερμοκρασία 120°C και πίεση 2 atm. Τα δοχεία, χωρητικότητας 500 ml, διατηρήθηκαν σε ειδικό θάλαμο -σταθερής θερμοκρασίας και έντασης φωτός (22°C και φωτισμό 3000 lux) (Εικ. 2.5). Καθημερινά παρακολουθούσαμε την πορεία της καλλιέργειας του φυτοπλαγκτού, την οποία προσδιορίζαμε από την πυκνότητα των κυττάρων, με αιματοκυττόμετρο OLYMPUS CKX 41 σε μεγέθυνση 10x20, ώστε να γίνει ο επόμενος εμβολιασμός όταν η καλλιέργεια βρισκόταν στο μέγιστο της εκθετικής φάσης της.

Πίνακας 2.2: Ταξινομική κατάταξη των οργανισμών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη: *Chlorella minutissima* και *Saccharomyces cerevisiae*

Βασίλειο:	Protista	Βασίλειο:	Μύκητας
Φύλλο:	Chlorophyta	Φύλλο:	Ασκομύκητες
Κλάση:	Trebouxiophyceae	Υποφύλλο:	Saccharomycotina
Τάξη:	Chlorellales	Ομοταξία:	Saccharomycetes
Οικογένεια:	Chlorellaceae	Οικογένεια:	Saccharomycetaceae
Γένος:	<i>Chlorella</i>	Γένος:	Saccharomyces
Είδος:	<i>Chlorella minutissima</i>	Είδος:	S.cerevisiae



Εικόνα 2.3 : Κύτταρα της *Chlorella minutissima*



Εικόνα 2.4: Κύτταρα του *Saccharomyces cerevisiae*



Εικόνα 2.5: Καλλιέργεια φυτοπλαγκτού σε ειδικό θάλαμο υπό σταθερές συνθήκες καλλιέργειας και φωτισμό έντασης 3000Lux (επωαστήρας CDR).

Ως δεύτερη τροφή χορηγήσαμε το προϊόν της Ιαπωνικής εταιρίας Docosa Ltd : SV12 Chlorella, ένα εμπορικό προϊόν, συμπυκνωμένων ειδών *Chlorella vulgaris* εμπλουτισμένο με βιταμίνη B12, DHA και EPA (WWW. Docosa Ltd.com), που παρέχονταν στα εκτρεφόμενα τροχόζωα σε ποσότητες 0,3ml/10⁶ τροχόζωα. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος το προϊόν διατηρούνταν στο ψυγείο.

Το τρίτο σιτηρέσιο ήταν η εμπορική ξερή τροφή Culture Selco Plus της εταιρίας INVE S.A. του Βελγίου (Εικ. 2.6), μία λιπιδιακά εμπλουτισμένη τροφή, ιδιαίτερα σε ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (Dhert *et al.*, 2001), που περιέχει πρωτεΐνες 35%, λιπίδια 15% και σε ποσοστό 23% πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), υδρογονάνθρακες (30%), καροτενοειδή και άλλα ιχνοστοιχεία και βιταμίνες A, D₃, F, και C, (Suantika *et al.*, 2000). Η τροφή αυτή δίνονταν σε ποσότητα 0,5gr/10⁶ τροχόζωα στο ml (Εικ.2.7).



Εικόνα 2.6: Η τροφή Culture Selco Plus που παρέχονταν στα τροχόζωα.



Εικόνα 2.7: Θηλυκό άτομο *B. plicatilis* αμέσως μετά τη διατροφή του με Culture Selco Plus

2.2 Μέθοδος

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε είναι η ασυνεχής εκτροφή που συνήθως εφαρμόζεται στους ιχθυογενετικούς σταθμούς (batch culture). Αυτή η μέθοδος εκτροφής γίνεται με τον ενοφθαλμισμό μιας σχετικά μικρής ποσότητας τροχόζων σε νερό (κατάλληλης αλατότητας, pH, θερμοκρασίας κ.ά.), στο οποίο έχουν προηγουμένως αναπτυχθεί τα μικροφύκη (green water). Μετά την κατανάλωση του συνόλου των φυκών, το μεγαλύτερο μέρος των τροχόζων συλλέγεται και χορηγείται στις προνύμφες των εκτρεφόμενων ψαριών. Ένα μικρό ποσό της εκτροφής ενοφθαλμίζεται σε νέο μέσο εκτροφής, σε επανάληψη του προηγούμενου κύκλου. Σήμερα, η δυνατότητα χρησιμοποίησης συντηρημένου και υψηλής συγκέντρωσης θρεπτικού μέσου (π.χ. συμπυκνωμένα κατεψυγμένα μικροφύκη, τεχνητές τροφές με

βάση κύτταρα ζύμης), έχει επιτρέψει την αύξηση της συγκέντρωσης των εκτρεφόμενων τροχοζώων. Έτσι, αυτά εκτρέφονται πλέον σε δεξαμενές μεγάλου όγκου (π.χ. 1.000 ℓ) σε αρχικές συγκεντρώσεις της τάξεως των 10^2 τροχοζώα/ml. Μετά την πάροδο ωστόσο δύο με τριών ημερών, η συγκέντρωσή τους κατά κανόνα αυξάνεται στα $2-3 \times 10^3$ τροχοζώα/ml. Στο σημείο αυτό το μεγαλύτερο μέρος της εκτροφής συλλέγεται (ολοκληρώνεται ένας κύκλος -batch- της εκτροφής), ενώ σε αυτό που παραμένει προστίθεται όγκος, ίσως με εκείνον που αφαιρέθηκε, νέου μέσου εκτροφής με θρεπτικό υλικό. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται κάθε 2-3 ημέρες. Σημειώνεται πως η υψηλή συγκέντρωση των τροχοζώων στα δοχεία επιβάλλει την απομάκρυνση των οργανικών απορριμμάτων (με κατάλληλο φίλτρο), τη χορήγηση οξυγόνου στις καλλιέργειες όπως επίσης και την τακτική ρύθμιση της αλατότητας, της θερμοκρασίας και του pH (με παροχή υδροχλωρικού οξέος προκειμένου να απομακρυνθεί η παραγόμενη αμμωνία) (Yoshimura *et al.*, 1997, 2003). Σ' ένα εκκολαπτήριο μπορούν να υπάρχουν παράλληλα πολλές τέτοιες εκτροφές, ενώ η ανακύκλωσή τους κάθε 2-3 ημέρες περιορίζει σημαντικά το φόρτο εργασίας σε σχέση με άλλες κατηγορίες εκτροφής.

Τα τροχοζώα, στα πειράματά μας, τοποθετήθηκαν για εκτροφή σε πολυεστερικά κυλινδρικών δοχεία χωρητικότητας 2ℓ το καθένα. Η εκτροφή διήρκεσε 3 ημέρες και η συγκομιδή πραγματοποιήθηκε το πρωί της τετάρτης ημέρας. Το μέσο εκτροφής των τροχοζώων αποτελούταν από αποστειρωμένο νερό (μείγμα γεώτρησης και θαλάσσιου νερού). Η αποστείρωση πραγματοποιήθηκε με υπεριώδη ακτινοβολία (UV). Υπήρχε συνεχής φωτισμός και ήπιος αερισμός. Καθημερινά καταγράφονταν οι φυσικοχημικές και οι βιοτικές παράμετροι της εκτροφής. Πιο συγκεκριμένα, οι φυσικοχημικές παράμετροι που μετριόνταν ήταν η θερμοκρασία (°C) και η περιεκτικότητα του διαλυμένου οξυγόνου (mg/ℓ) με τη χρήση φορητού οξυγονόμετρου.

Καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου κυμάνθηκε από 4,5 έως 5,5gr/ml.

Θερμοκρασία: Οι βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξης των δυο τύπων των τροχοζώων διαφέρουν. Τα τύπου-S και -SS τροχοζώα είναι θερμοφιλα και μπορούν να ανεχθούν αλλαγές θερμοκρασιών 15-35°C, με βέλτιστες θερμοκρασίες για την ανάπτυξη τους 30-35°C, ενώ τα τύπου-L μπορούν να ανεχθούν θερμοκρασίες από 5-25°C και αναπτύσσονται καλύτερα στους 25°C (Hagiwara *et al.*, 1995) (Πιν. 2.3). Σε γενικές γραμμές, η θερμοανθεκτικότητα των τροχοζώων είναι από τις υψηλότερες των Μεταζώων (Nogrady *et al.*, 1993).

Αλατότητα: Η μαζική παραγωγή των τροχοζώων πραγματοποιείται συνήθως σε αλατότητα 25psu. Η μονογονική και αμφιγονική αναπαραγωγή είναι δυναμική στις χαμηλότερες αλατότητες για όλους τους τύπους τροχοζώων (Hagiwara *et al.*, 1995). Το *B. plicatilis* είναι ευρύαλο (Πιν. 2.3). Έχει αναφερθεί ότι αντέχει αλατότητες από 3 μέχρι 97psu (Walker, 1981 Arndt, 1988; Nogrady *et al.*, 1981; Ortells *et al.*, 2000).

Πίνακας 2.3: Φυσιολογικά χαρακτηριστικά των ειδών του συμπλέγματος *B. Plicatilis* (Ciros-Perez *et al.*, 2001; Ortells *et al.*, 2003).

ΕΙΔΟΣ/βιότοπος	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ (°C)	ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ (psu)
<i>B. plicatilis s.s.</i>	Ψυχρόφιλο (< 25)	Ευρύαλο (3-45)
<i>B. ibericus</i>	Θερμόφιλο (15-30)	Ευρύαλο (8-50)
<i>B. rotundiformis</i>	Θερμόφιλο (10-30)	Ευρύαλο (10-57)

Φως: Στην εκτροφή των τροχόζωων το φως δεν παίζει ιδιαίτερο ρόλο, εκτός των περιπτώσεων κατά τις οποίες ο τύπος της τροφής που δίνεται στα τροχόζωα είναι ζωντανοί φυτοπλαγκτικοί οργανισμοί.

Οξυγόνο: Ο αερισμός αποτελεί καθοριστικό παράγοντα φυσιολογικής ανάπτυξης της εκτροφής, καθώς διατηρεί την ομοιογένεια των εν διαλύσει ουσιών, αλλά και των τροχόζωων και τα επίπεδα του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου πάνω από το κρίσιμο όριο των 4 ppm (ειδικά σε εκτροφές μαγιάς ή και τεχνητών σιτηρεσίων). Το *B. plicatilis* βρέθηκε να προτιμά σχετικά υψηλότερες συγκεντρώσεις οξυγόνου σε σύγκριση με τα μικρότερου μεγέθους είδη (*B. ibericus*, *B. rotundiformis* - Gomez *et al.*, 1995; Ortells *et al.*, 2003). Πρέπει, όμως, να αποφεύγεται η έντονη ανάδευση, διότι καταπονεί τους οργανισμούς, προκαλεί έντονες δίνες και επαναιώρηση των επιβλαβών ιζημάτων (Moretti *et al.*, 1999).

2.3. Πειραματική Διαδικασία

Πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα, που έλαβαν χώρα στο εργαστήριο ιχθυοκαλλιέργειας του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Στο πρώτο πείραμα είχαμε τρεις αλατότητες, τρεις τροφές που έλαβαν χώρα σε σταθερή θερμοκρασία 22 °C. Για την επίτευξη σταθερής θερμοκρασίας χρησιμοποιήθηκε θάλαμος καλλιέργειας φυτοπλαγκτού στον οποίο διατηρούνταν, επίσης, και φωτισμός 3000 Lux καθ' όλο το 24ωρο. Η αρχική συγκέντρωση της εκτροφής των τροχόζωων ήταν 500 rotifers/ml. Χρησιμοποιήθηκαν 9 κυλινδρικά δοχεία εκτροφής, ώστε να δημιουργηθούν 3 ομάδες τροχόζωων (Εικ. 2.8). Τα τροχόζωα των δοχείων R1, R2, και R3 εκτράφηκαν με την τροφή Culture Selco Plus, των δοχείων R4, R5, και R6, με το προϊόν της εταιρίας Docosa *Chlorella* και των

δοχείων R7, R8, και R9 με το φυτοπλαγκτόν είδος *Chlorella minutissima* και μαγιά μύρας σε αλατότητες 35psu, 30psu, 25psu αντίστοιχα και στις τρεις ομάδες. Στον Πίνακα 2.4 δίνεται η πορεία της εκτροφής στη διάρκεια του πρώτου πειράματος και στον Πίνακα 2.5 δίνεται η πορεία της εκτροφής του δεύτερου πειράματος.



Εικόνα 2.8: Εκτροφή τροχόζωων *B. plicatilis*, σε δοχεία όγκων 2ℓ, στο εργαστήριο ιχθυοκαλλιέργειας του Τμήματος Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Βόλου, σε ειδικό θάλαμο καλ/ργειας φυτοπλαγκτού. Η παροχή συμπιεσμένου αέρα στα δοχεία εκτροφής πραγματοποιούνταν με πλαστικούς σωλήνες και με την βοήθεια πέτρας αέρος που τοποθετείται μέσα στα δοχεία. Στο κάτω μέρος τα δοχεία έφεραν βάνες για να είναι δυνατή η απομάκρυνση των προϊόντων μεταβολισμού των τροχόζωων.

Πίνακας 2.4: Διαχείριση των πειραματικών εκτροφών του τροχόζωου *B.plicatilis* ως προς την τοποθέτησή τους στα δοχεία, την αλατότητα και τον καθορισμό της ημερήσιας προστιθέμενης ποσότητας τροφής σε σταθερή θερμοκρασία (22 °C) (πείραμα 1).

	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
S psu	35psu	30psu	25psu	35psu	30psu	25psu	35psu	30psu	25psu
Chlorella (cell/ml)							3×10^6	3×10^6	3×10^6
μαγιά(gr/10⁶)							1	1	1
Docosa(ml/10⁶)				0,3	0,3	0,3			
C.S.P.(gr/10⁶)	0,5	0,5	0,5						

Σε καθημερινή βάση πραγματοποιούταν ο έλεγχος της πυκνότητας στις εκτροφές των τροχόζωων καθώς και ο προσδιορισμός του αριθμού των αβγών που έφεραν τα ωοφόρα άτομα και από τα εννέα δοχεία. Ο έλεγχος γινόταν, σε δείγμα 1ml που λαμβάνονταν από κάθε δοχείο εκτροφής και μετά από κατάλληλη αραιώση σε στερεοσκόπιο, OLYMPUS SZ40 και σε μεγέθυνση 10x0.67, μεταξύ 10:00 και 12:00. Καθημερινά μετριόταν και η συγκέντρωση των κυττάρων του φυτοπλαγκτού, με τη βοήθεια του αιματοκυτταρόμετρου, στα δοχεία R7, R8, και R9. Κατόπιν υπολογιζόταν ο ημερήσιος προστιθέμενος όγκος φυτοπλαγκτού, που καλλιεργούταν στο εργαστήριο και βρισκόταν στην εκθετική φάση της καλλιέργειάς του, ώστε να διατηρείται σταθερή η συγκέντρωση των κυττάρων/ml. Η προσθήκη του φυτοπλαγκτού λάμβανε χώρα καθημερινά μεταξύ 13:00 και 14:00, καθώς και η προσθήκη μαγιάς, η οποία υπολογιζόταν ανάλογο με τον αριθμό των ατόμων/ml σε κάθε δοχείο εκτροφής.

Όσον αφορά τα άλλα δύο σιτηρέσια, την συμπυκνωμένη υγρά *Chlorella* (‘πάστα’) και το Culture Selco Plus (C.S.P.), η ημερήσια προσφερόμενη ποσότητα τροφής καθοριζόταν από την πρωινή μέτρηση της πυκνότητας των τροχόζωων της εκάστοτε ημέρας, εξασφαλίζοντας με αυτό τον τρόπο μία σταθερή αναλογία τροφής ανά τροχόζωο. Η προσθήκη των τροφών λάμβανε χώρα καθημερινά τέσσερις φορές την ημέρα σε ίσες δόσεις στις 09:00, 15:00, 21:00, και 03:00. Οι απαιτούμενες ημερήσιες ποσότητες, του C.S.P. και της μαγιάς αραιώνονταν σε αποστειρωμένο μέσο εκτροφής και ακλουθούσε ομογενοποίηση, πριν την προσθήκη στα πειραματικά δοχεία, ενώ της πάστας *Docosa* γινόταν απευθείας στα δοχεία. Οι φυσικοχημικές παράμετροι που μετρούνταν καθημερινά ήταν η θερμοκρασία (22°C) και το διαλυμένο στο νερό οξυγόνο, η συγκέντρωση του οποίου κυμάνθηκε από 4,5 έως 5,5mg/lt. Η παροχή του διαλυμένου οξυγόνου γινόταν με την βοήθεια συσκευής παροχής συμπυκνωμένου αέρα (blower) και πλαστικών σωληνίσκων, που κατέληγαν σε πέτρες αέρα, και τοποθετήθηκαν σε κάθε δοχείο εκτροφής των τροχόζωων (Εικ. 2.8).

Στο τέλος κάθε κύκλου κάθε εκτροφής (δηλ. κάθε τρεις μέρες) συλλέγονταν τα τροχόζωα, που συντηρούταν στην κατάψυξη για την περαιτέρω βιοχημική τους ανάλυση.

Στο δεύτερο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν επίσης εννέα δοχεία. Ο πειραματικός σχεδιασμός ήταν αντίστοιχος με αυτόν του πρώτου πειράματος, με την διαφορά ότι είχαμε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες και σταθερή αλατότητα 30psu. Δημιουργήθηκαν τρεις ομάδες, στην πρώτη (R1, R2, R3) η εκτροφή πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία 21°C, η δεύτερη (R4, R5, R6) σε θερμοκρασία 24 °C και η τρίτη (R7, R8, R9,) σε θερμοκρασία 27°C. Οι τροφές που προσφέρθηκαν ήταν οι ίδιες με το πρώτο πείραμα δηλαδή, Culture Selco Plus, *Chlorella Docosa*, και το φυτοπλαγκτόν *Chlorella*

minutissima και μαγιά της μύρας αντίστοιχα. Ανά τρία τα δοχεία εκτροφής τοποθετούνταν σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας. Η αρχική συγκέντρωση τροχόζωων ήταν 500r/ml, όπως και στο πρώτο πείραμα και όλη η πορεία εκτροφής δίνεται στον Πίνακα 2.5.

Πίνακας 2.5: Διαχείριση των πειραματικών εκτροφών του τροχόζωου *B.plicatilis* ως προς την τοποθέτησή τους στις δεξαμενές, την αλατότητα και τον καθορισμό της ημερήσιας προστιθέμενης ποσότητας τροφής (πείραμα 2).

	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9
T^oC	21 ^o C	21 ^o C	21 ^o C	24 ^o C	24 ^o C	24 ^o C	27 ^o C	27 ^o C	27 ^o C
Chlorella			3x10 ⁶			3x10 ⁶			3x10 ⁶
μαγιά			1gr			1gr			1gr
Docosa		0.3ml			0,3ml			0,3ml	
C.S.P.	0,5gr			0,5gr			0,5gr		

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν ακριβώς ίδια με αυτήν του πρώτου πειράματος και γινόταν καθημερινή καταγραφή του αριθμού και της σύστασης του πληθυσμού των τροχόζωων μεταξύ 10:00 και 12:00. Η ημερήσια προσφερόμενη ποσότητα τροφής καθοριζόταν από την πρωινή μέτρηση της πυκνότητας των τροχόζωων της εκάστοτε ημέρας, σε τέσσερις ίσες δόσεις, όπως και στο πρώτο πείραμα. Η προσθήκη του φυτοπλαγκτού και της μαγιάς λάμβανε χώρα το μεσημέρι, και η ποσότητα καθοριζόταν ανάλογα με τον αριθμό των ατόμων/ml της εκτροφής. Η ποσότητα φυτοπλαγκτού που προσθέταμε κάθε μέρα βασίζονταν στο σχεδιασμό του πειράματος, δηλαδή να διατηρείται σταθερός ο αριθμός των κυττάρων καθ' όλη τη

διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας (3×10^6 κύτταρα/ml). Οι θερμοκρασία και το διαλυμένο στο νερό οξυγόνο μετριόνταν καθημερινά, ώστε πιθανές μεταβολές τους να τεθούν αμέσως υπό έλεγχο, για να μη διακινδυνεύσει η πορεία του πειράματος.

2.4. Στατιστική Ανάλυση

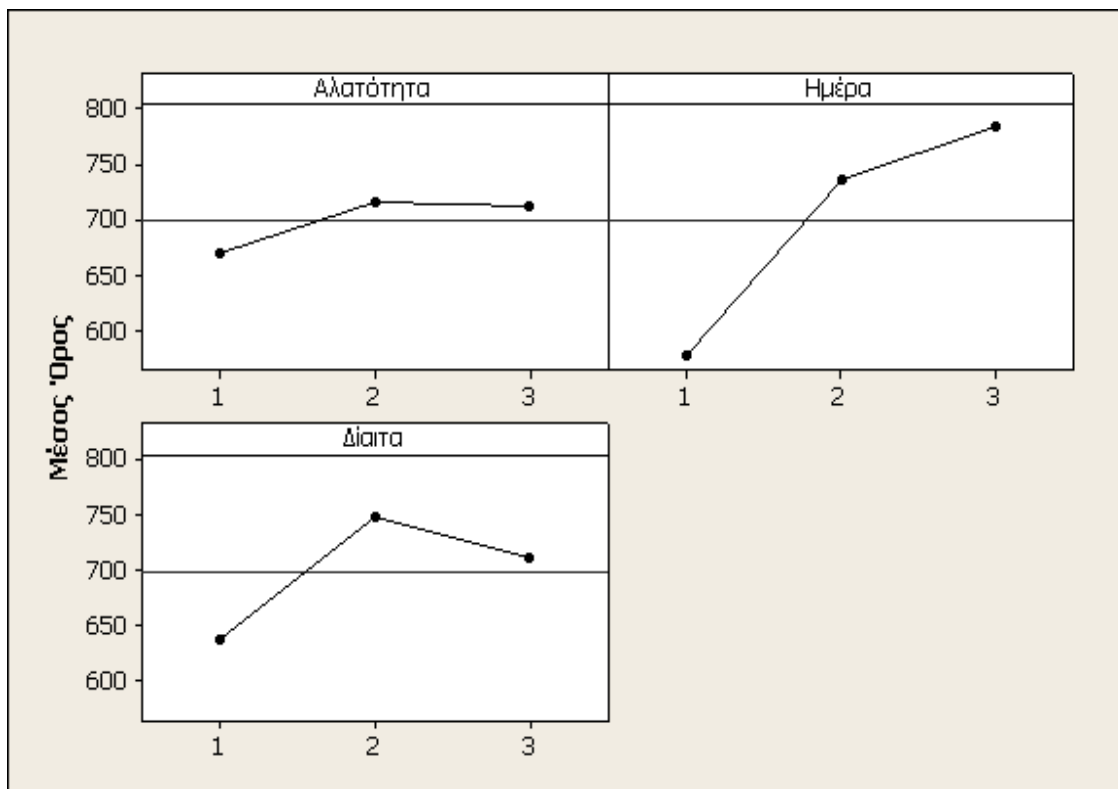
Στη διερεύνηση ενός παράγοντα είναι δυνατόν να θέλαμε να ελέγξουμε ταυτόχρονα δύο διαφορετικές μεταβλητές πλαισίου, δηλαδή μεταβλητές που μπορεί να έχουν σημαντική επίδραση στο αποτέλεσμα που μετριέται στην πειραματική κατάσταση. Ο έλεγχος επιτυγχάνεται με ομαδοποίηση ως προς δύο κατευθύνσεις, γραμμές και στήλες, οι οποίες αντιστοιχούν στις δύο μεταβλητές πλαισίου. Για αυτό ο σχεδιασμός του πειράματος βασίστηκε στο «Λατινικό Τετράγωνο» (Latin Squares), με τους οποίους απαλείφουμε τις δύο πηγές μεταβλητότητας που αντιστοιχούν στις δύο μεταβλητές πλαισίου. Έτσι, μειώνεται το πειραματικό σφάλμα και γίνεται δυνατή η ακριβέστερη μέτρηση των επιδράσεων των διαφορετικών επιπέδων του παράγοντα. Για να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένας σχεδιασμός λατινικού τετραγώνου, πρέπει το πλήθος των επιπέδων -τιμών- κάθε μεταβλητής πλαισίου να ισούται με το πλήθος των συνδυασμών πειραματικών συνθηκών κάτω από τις οποίες πρόκειται να παρατηρηθεί η μεταβλητή απόκρισης (αριθμός ατόμων και αυγών του πληθυσμού) και να είναι τουλάχιστον 3. Ο σχεδιασμός παριστάνεται με ένα τετράγωνο, στο οποίο οι γραμμές αντιστοιχούν στα επίπεδα της μίας μεταβλητής πλαισίου και οι στήλες αντιστοιχούν στα επίπεδα της άλλης μεταβλητής πλαισίου (Κουτρουβέλης I., 2002). Στο πείραμα μας θέλαμε να διερευνήσουμε το ρυθμός αύξησης του πληθυσμού σε τρεις τιμές αλατότητας (πειρ. 1) και τρεις θερμοκρασίες (πειρ. 2). Επειδή πιστεύουμε ότι ο ρυθμός αύξησης του πληθυσμού επηρεάζεται όχι μόνο από την αλατότητα ή τη θερμοκρασία αλλά και από την δίαιτα και το χρόνο καλλιέργειας, αποφασίσαμε να

χρησιμοποιήσουμε ,έναν σχεδιασμό λατινικού τετραγώνου με διαστάσεις 3x3. Σε αυτόν ο παράγοντας αντιστοιχεί στην αλατότητα ή στη θερμοκρασία, η μια μεταβλητή πλαισίου εκφράζεται από τη δίαιτα και η άλλη από τον χρόνο καλλιέργειας. Έτσι σύμφωνα με τα παραπάνω κάθε παράμετρος επιδρά μία φορά με κάθε άλλη (3 δίαιτες x 3 αλατότητες x 3 ημέρες και 3 δίαιτες x 3 θερμοκρασίες x 3 ημέρες).

Η ανάλυση διασποράς για το σχεδιασμό λατινικού τετραγώνου είναι, απλώς, μια επέκταση της ανάλυσης διασποράς για το σχεδιασμό τυχαιοποιημένων πλήρων ομάδων. Οι υπολογισμοί έγιναν με τη χρήση του στατιστικού πακέτου MINITAB. Η ανάλυση διασποράς έγινε με τη μέθοδο General Linear Model (ANOVA). Οι πολλαπλές συγκρίσεις μέσω των τιμών για τους παράγοντες (ημέρα, δίαιτα, αλατότητα, θερμοκρασία) έγιναν με την μέθοδο Tukey.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο σύνολο των δεδομένων, εξαιρούμενης της αρχικής ημέρας εκτροφής (Ημέρα 0). Θεωρήθηκε ότι, εφόσον οι πληθυσμοί κατά την έναρξή των πειραμάτων προέρχονται από την ίδια εκτροφή, δεν παρουσιάζουν διαφορές. Στην Εικόνα 3.1 παρουσιάζονται οι μέσες ανά ml τιμές του αριθμού των ατόμων και αβγών για κάθε μία από τις τρεις παραμέτρους (δίαιτα, ημέρα, και αλατότητα) στο πρώτο πείραμα.



Εικόνα 3.1: Διάγραμμα των μέσων αριθμών των ατόμων ml^{-1} για κάθε διαφορετική παράμετρο, αλατότητας και δίαιτας στις τρεις ημέρες του πρώτου πειράματος.

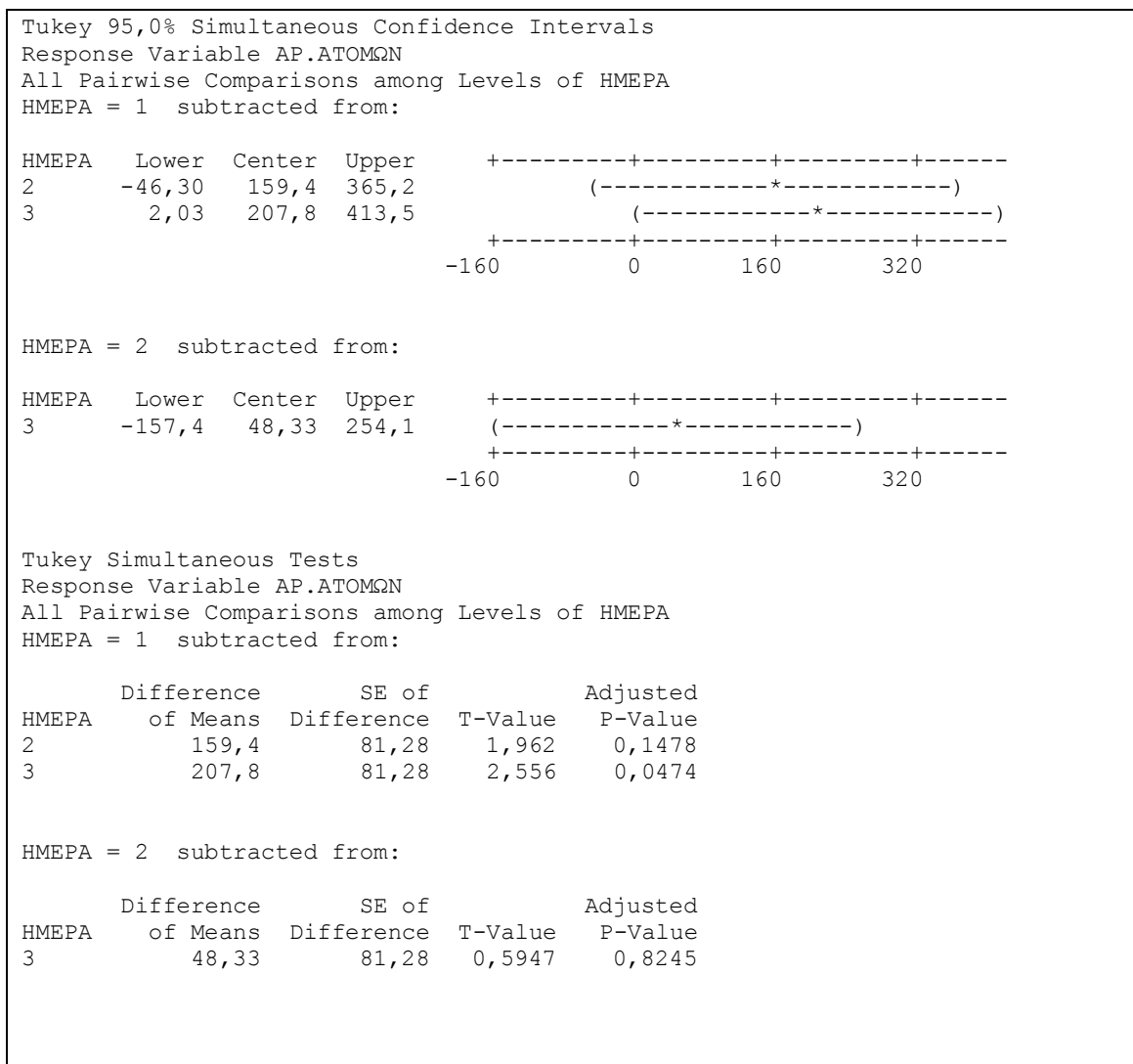
Από τα διαγράμματα της Εικόνας 3.1 φαίνεται η τάση αύξησης του αριθμού των ατόμων στη δεύτερη αλατότητα (30 psu) και δίαιτα 2. Αύξηση επίσης παρατηρήθηκε

στον αριθμό των ατόμων σε όλες τις ομάδες κατά την τρίτη ημέρα του πειράματος, γεγονός που υποδεικνύει την ανάγκη διατήρησης της εκτροφής πέρα των τριών ημερών σε όλες τις δίαιτες και αλατότητες στην περίπτωση που επιθυμούμε να προσφέρουμε στις εκτρεφόμενες νύμφες μεγαλύτερο αριθμό τροχόζων, εφόσον τα εμπλουτίζουμε με συγκεκριμένη δίαιτα. Αντίθετα όπως φαίνεται στην εικόνα ο αριθμός των ατόμων ήταν μικρότερος στην πρώτη αλατότητα (25 psu), την πρώτη ημέρα του πειράματος και με τη δίαιτα 1.

Πίνακας 3.1: Ανάλυση διασποράς για το πρώτο πείραμα όσον αφορά τον αριθμό των ατόμων.

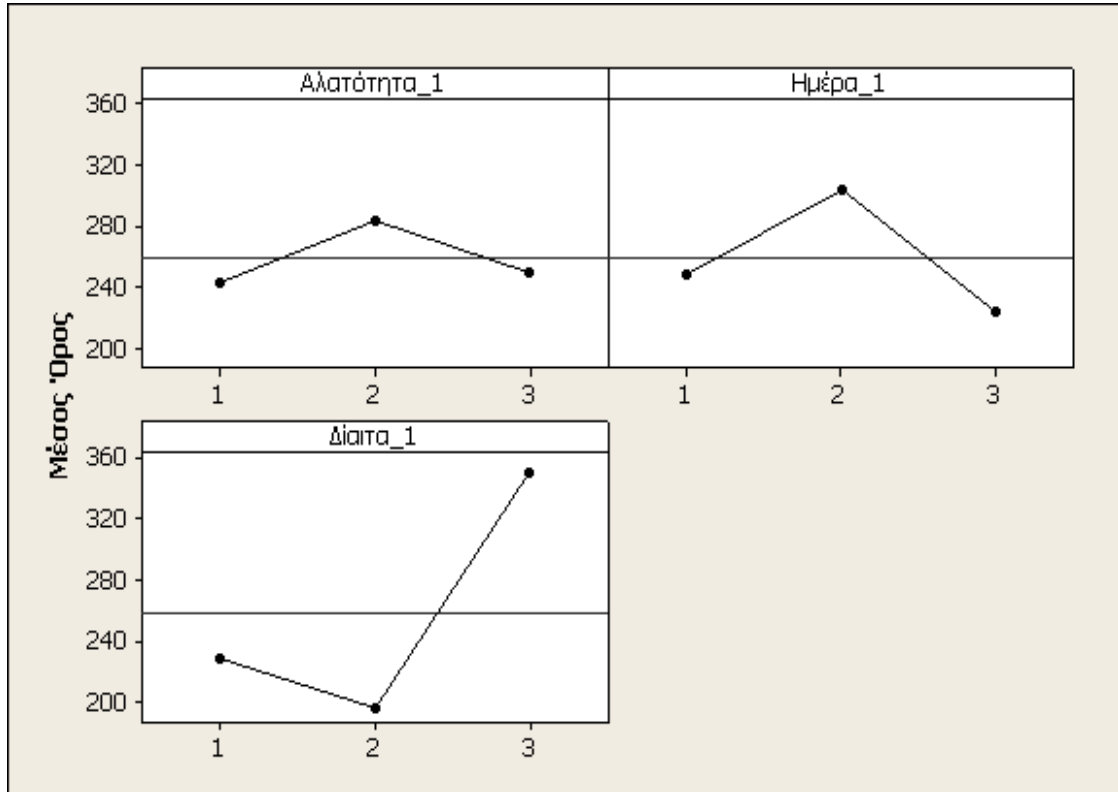
General Linear Model: AP.ATOMΩΝ versus ΗΜΕΡΑ; ΔΙΑΙΤΑ; ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ						
Factor	Type	Levels	Values			
ΗΜΕΡΑ	fixed	3	1; 2; 3			
ΔΙΑΙΤΑ	fixed	3	1; 2; 3			
ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ	fixed	3	25; 30; 35			
Analysis of Variance for AP.ATOMΩΝ, using Adjusted SS for Tests						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
ΗΜΕΡΑ	2	212791	212791	106395	3,58	0,047
ΔΙΑΙΤΑ	2	56591	56591	28295	0,95	0,403
ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ	2	11480	11480	5740	0,19	0,826
Error	20	594541	594541	29727		
Total	26	875402				

Από τον Πίνακα 3.1 ανάλυσης διασποράς του πλαισίου φαίνεται, ότι ο λόγος των μέσων τετραγώνων για τις ημέρες ως προς το μέσο τετράγωνο για το σφάλμα είναι στατιστικά σημαντικός, αφού η τιμή αυτού του λόγου ($F=3,58$) αντιστοιχούν σε τιμή μικρότερη από 0,05 ($P=0,047$). Επομένως, η ομαδοποίηση ως προς τον αριθμό των ατόμων και ως προς τις ημέρες, φαίνεται αιτιολογημένη. Επίσης, παρατηρούμε ότι οι λόγοι των μέσων τετραγώνων για τις δίαιτες και την αλατότητα ως προς το μέσο τετράγωνο για σφάλματα δεν είναι στατιστικά σημαντικοί, αφού οι τιμές αυτών των λόγων είναι μικρές ($F=0,95$ και $F=0,19$ αντίστοιχα) αντιστοιχούν σε τιμές $P>0,05$.

Πίνακας 3.2: Πολλαπλές συγκρίσεις μέσω των τιμών για τις ημέρες

Στον Πίνακα 3.2 βλέπουμε ότι για τα τρία διαστήματα εμπιστοσύνης του Tukey, με 95% ταυτόχρονο βαθμό εμπιστοσύνης, το MINITAB δίνει το κέντρο, τα άκρα και τη γραφική παράσταση. Από τις πολλαπλές συγκρίσεις μέσω των τιμών για τις ημέρες, υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις ότι οι μέσες τιμές των ατόμων διαφέρουν από ημέρα σε ημέρα. Τη μεγαλύτερη μέση τιμή ατόμων την έχουν την τρίτη ημέρα και την μικρότερη την πρώτη ημέρα. Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρούμε μεταξύ της πρώτης

ημέρας του πειράματος, στην οποία ο αριθμός των ατόμων ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερος σε σχέση με την τρίτη ημέρα ($P=0,0474$).



Εικόνα 3.2: Διάγραμμα του μέσου αριθμού των ατόμων που φέρουν αυγά mL^{-1} για κάθε διαφορετική παράμετρο στο πρώτο πείραμα.

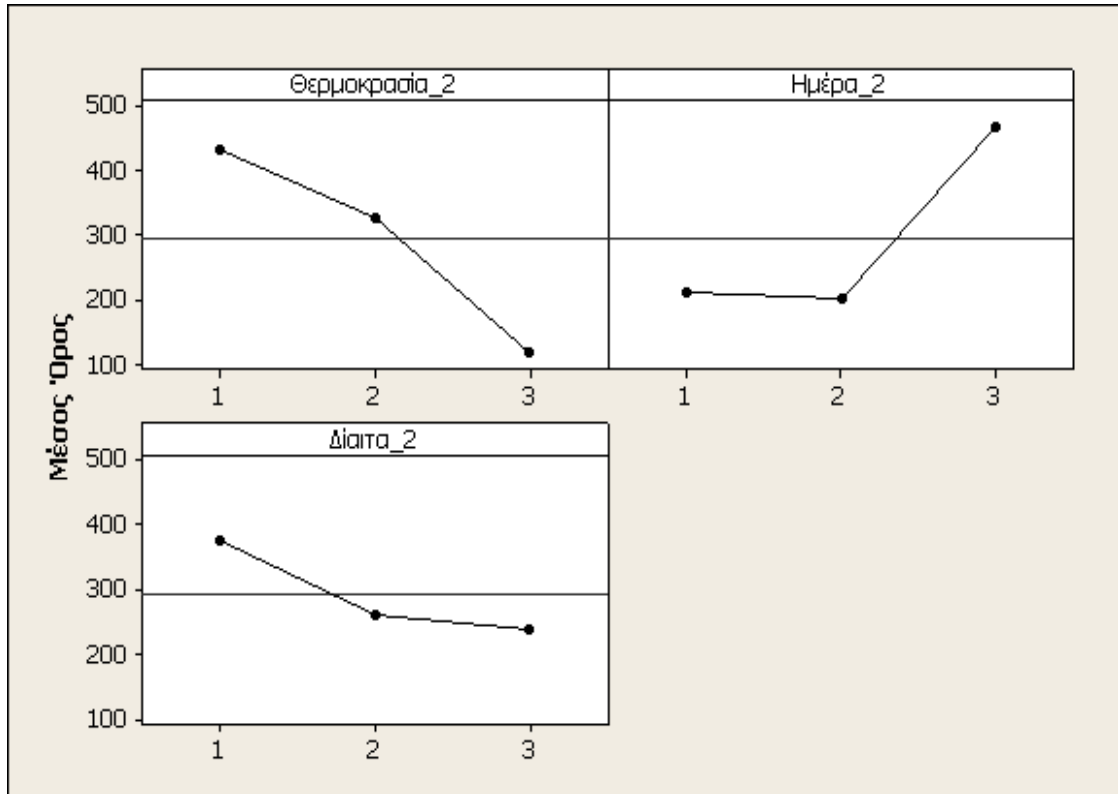
Από τα διαγράμματα της Εικόνας 3.2 φαίνεται επίσης ότι υπάρχει η τάση αύξησης της γονιμότητας στη δεύτερη αλατότητα (30psu) και ημέρα και στη δίαιτα 3. Αντίθετα φαίνεται ότι η γονιμότητα ήταν μικρότερη στην πρώτη αλατότητα (25psu) την τρίτη ημέρα και στην δίαιτα 1.

Πίνακας 3.3: Ανάλυση διασποράς και πολ/πλών συγκρίσεων μέσω των τιμών διαίτας

General Linear Model: ΑΥΓΑ versus ΗΜΕΡΑ; ΔΙΑΙΤΑ; ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ							
Factor	Type	Levels	Values				
HΜΕΡΑ	fixed	3	1; 2; 3				
ΔΙΑΙΤΑ	fixed	3	1; 2; 3				
ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ	fixed	3	25; 30; 35				
Analysis of Variance for ΑΥΓΑ, using Adjusted SS for Tests							
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P	
HΜΕΡΑ	2	30632	30632	15316	1,78	0,195	
ΔΙΑΙΤΑ	2	119001	119001	59500	6,90	0,005	
ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ	2	8401	8401	4200	0,49	0,621	
Error	20	172441	172441	8622			
Total	26	330475					
S = 92,8550 R-Sq = 47,82% R-Sq(adj) = 32,17%							
Tukey 95,0% Simultaneous Confidence Intervals							
Response Variable ΑΥΓΑ							
All Pairwise Comparisons among Levels of ΔΙΑΙΤΑ							
ΔΙΑΙΤΑ = 1 subtracted from:							
ΔΙΑΙΤΑ	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----+-----			
2	-143,3	-32,44	78,36	(-----*-----)			
3	11,0	121,78	232,58	(-----*-----)			
				-120	0	120	240
ΔΙΑΙΤΑ = 2 subtracted from:							
ΔΙΑΙΤΑ	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----+-----			
3	43,42	154,2	265,0	(-----*-----)			
				-120	0	120	240
Tukey Simultaneous Tests							
Response Variable ΑΥΓΑ							
All Pairwise Comparisons among Levels of ΔΙΑΙΤΑ							
ΔΙΑΙΤΑ = 1 subtracted from:							
ΔΙΑΙΤΑ	Difference	SE of		Adjusted			
	of Means	Difference	T-Value	P-Value			
2	-32,44	43,77	-0,7412	0,7423			
3	121,78	43,77	2,7821	0,0296			
ΔΙΑΙΤΑ = 2 subtracted from:							
ΔΙΑΙΤΑ	Difference	SE of		Adjusted			
	of Means	Difference	T-Value	P-Value			
3	154,2	43,77	3,523	0,0058			

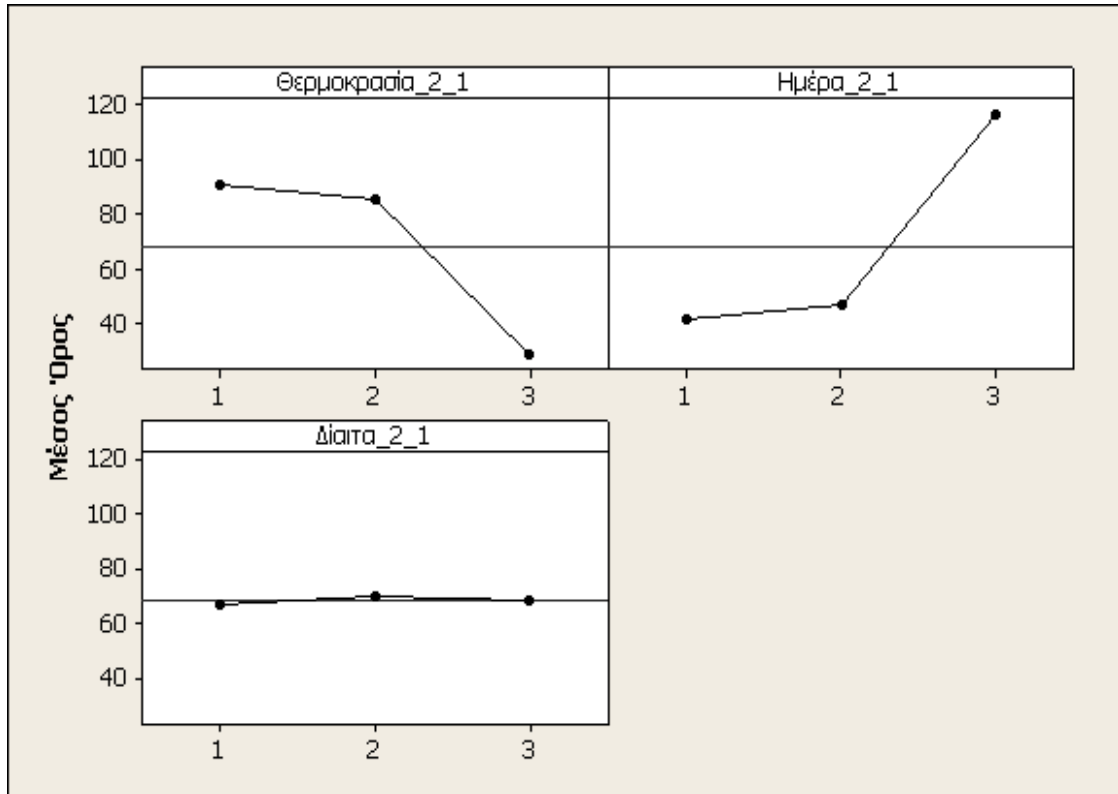
Από τον Πίνακα 3.3 ανάλυσης διασποράς βλέπουμε τα αθροίσματα τετραγώνων και τα μέσα τετράγωνα στις στήλες Adj SS και Adj MS αντίστοιχα. Από τον Πίνακα ανάλυσης διασποράς του πλαισίου, όσον αφορά τον αριθμό των ατόμων με ένα ή δύο αβγά, φαίνεται, επίσης ότι ο λόγος των μέσων τετραγώνων για τις δίαιτες ως προς το μέσο τετράγωνο για το σφάλμα, είναι στατιστικά σημαντικός, αφού η τιμή αυτού του λόγου ($F=6,90$) αντιστοιχεί σε τιμή μικρότερη από 0,05 ($P=0,005$). Επίσης, παρατηρούμε ότι οι λόγοι των μέσων τετραγώνων για τις ημέρες και την αλατότητα ως προς το μέσο τετράγωνο για το σφάλμα δεν είναι στατιστικά σημαντικοί, αφού οι τιμές αυτών των λόγων είναι μικρές ($F=1,78$ και $F=0,49$ αντίστοιχα) αντιστοιχούν σε τιμές $P>0,05$.

Για τα τρία διαστήματα εμπιστοσύνης, βλέπουμε ότι τα δύο διαστήματα δεν περιέχουν το μηδέν και, επομένως, υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις ότι οι μέσες τιμές των ατόμων με ένα ή δύο αβγά διαφέρουν από δίαιτα σε δίαιτα. Τη μεγαλύτερη μέση τιμή ατόμων με αβγά την έχουμε με την τρίτη δίαιτα και την μικρότερη με την δεύτερη δίαιτα. Στατιστικά σημαντικές διαφορές φαίνεται να υπάρχουν μεταξύ της πρώτης δίαιτας και της τρίτης και επίσης μεταξύ της τρίτης και της δεύτερης δίαιτας ($P=0,0296$ και $P=0,0058$ αντίστοιχα).



Εικόνα 3.3: Διάγραμμα του μέσου αριθμού ατόμων ml^{-1} για κάθε διαφορετική παράμετρο, θερμοκρασίας και διαίτας, στις τρεις ημέρες του δεύτερου πειράματος.

Στην Εικόνα 3.3 παρουσιάζονται τα διαγράμματα των μέσων τιμών του αριθμού των ατόμων για κάθε διαφορετική παράμετρο (δίαιτα, ημέρα και θερμοκρασία) για το δεύτερο πείραμα. Διαπιστώνουμε ότι υπάρχει τάση αύξησης του αριθμού των ατόμων στην πρώτη και δεύτερη θερμοκρασία ($27\text{ }^{\circ}\text{C}$ και $24\text{ }^{\circ}\text{C}$), σε συνδυασμό με την πρώτη δίαιτα (*C.minutissima*) την τρίτη ημέρα. Αντίθετα φαίνεται ότι ο αριθμός ατόμων μειώνεται στην τρίτη θερμοκρασία ($21\text{ }^{\circ}\text{C}$) τις δύο πρώτες ημέρες του πειράματος και για τις δύο δίαιτες 2 και 3.



Εικόνα 3.4: Διάγραμμα του μέσου αριθμού ατόμων ml^{-1} που φέρουν αβγά για κάθε διαφορετική παράμετρο στο δεύτερο πείραμα.

Από τα διαγράμματα της Εικόνας 3.4 φαίνεται επίσης ότι υπάρχει η τάση μεγαλύτερης γονιμότητας στην πρώτη και δεύτερη θερμοκρασία ($27\text{ }^{\circ}\text{C}$ και $24\text{ }^{\circ}\text{C}$) και στην τρίτη ημέρα. Αντίθετα φαίνεται ότι η γονιμότητα ήταν μικρότερη στην τρίτη θερμοκρασία ($21\text{ }^{\circ}\text{C}$) τόσο την πρώτη όσο και τη δεύτερη ημέρα του πειράματος.

Πίνακας 3.4: Ανάλυσης διασποράς για το δεύτερο πείραμα όσον αφορά τον αριθμό των ατόμων.

General Linear Model: AP.ATOMΩΝ versus ΗΜΕΡΕΣ; ΔΙΑΙΤΕΣ; ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ						
Factor	Type	Levels	Values			
HΜΕΡΕΣ	fixed	3	1; 2; 3			
ΔΙΑΙΤΕΣ	fixed	3	1; 2; 3			
ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ	fixed	3	21; 24; 27			
Analysis of Variance for AP.ATOMΩΝ, using Adjusted SS for Tests						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
HΜΕΡΕΣ	2	2080628	2080628	1040314	2,44	0,113
ΔΙΑΙΤΕΣ	2	398271	398271	199135	0,47	0,634
ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ	2	2107099	2107099	1053549	2,47	0,110
Error	20	8535761	8535761	426788		
Total	26	13121759				

Ο Πίνακας 3.4 ανάλυσης διασποράς μας δείχνει ότι οι λόγοι των μέσων τετραγώνων για τις ημέρες, τις δίαιτες και τις θερμοκρασίες ως προς το μέσο τετράγωνο για τα σφάλματα δεν είναι στατιστικά σημαντικοί, αφού οι τιμές αυτών των λόγων είναι μικρές ($F=2,44$, $F=0,47$ και $F=2,47$ αντίστοιχα) αντιστοιχούν σε $P>0,05$. Δηλαδή, η στατιστική ανάλυση των διαφορών που παρουσιάστηκαν μεταξύ του αριθμού των ατόμων κατά τη διάρκεια του πειράματος έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντική διαφορά για καμία από τις παραμέτρους που επιδρούν στον αριθμό των ατόμων.

Πίνακας 3.5: Ανάλυση διασποράς και πολ/πλών συγκρίσεων μέσωσ τιμών ημέρας

General Linear Model: AP.ΑΥΤΩΝ versus ΗΜΕΡΕΣ; ΔΙΑΙΤΕΣ; ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ						
Factor	Type	Levels	Values			
HΜΕΡΕΣ	fixed	3	1; 2; 3			
ΔΙΑΙΤΕΣ	fixed	3	1; 2; 3			
ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ	fixed	3	21; 24; 27			

Analysis of Variance for AP.ΑΥΤΩΝ, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
HΜΕΡΕΣ	2	127977	127977	63989	3,46	0,051
ΔΙΑΙΤΕΣ	2	215	215	108	0,01	0,994
ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ	2	85734	85734	42867	2,32	0,124
Error	20	370116	370116	18506		
Total	26	584042				

Tukey 95,0% Simultaneous Confidence Intervals
Response Variable AP.ΑΥΤΩΝ
All Pairwise Comparisons among Levels of ΗΜΕΡΕΣ
ΗΜΕΡΕΣ = 1 subtracted from:

HΜΕΡΕΣ	Lower	Center	Upper	
2	-152,1	10,22	172,6	+-----+-----+-----+----- (-----*-----)
3	-11,4	150,89	313,2	(-----*-----) +-----+-----+-----+-----

-150 0 150 300

ΗΜΕΡΕΣ = 2 subtracted from:

HΜΕΡΕΣ	Lower	Center	Upper	
3	-21,67	140,7	303,0	+-----+-----+-----+----- (-----*-----) +-----+-----+-----+-----

-150 0 150 300

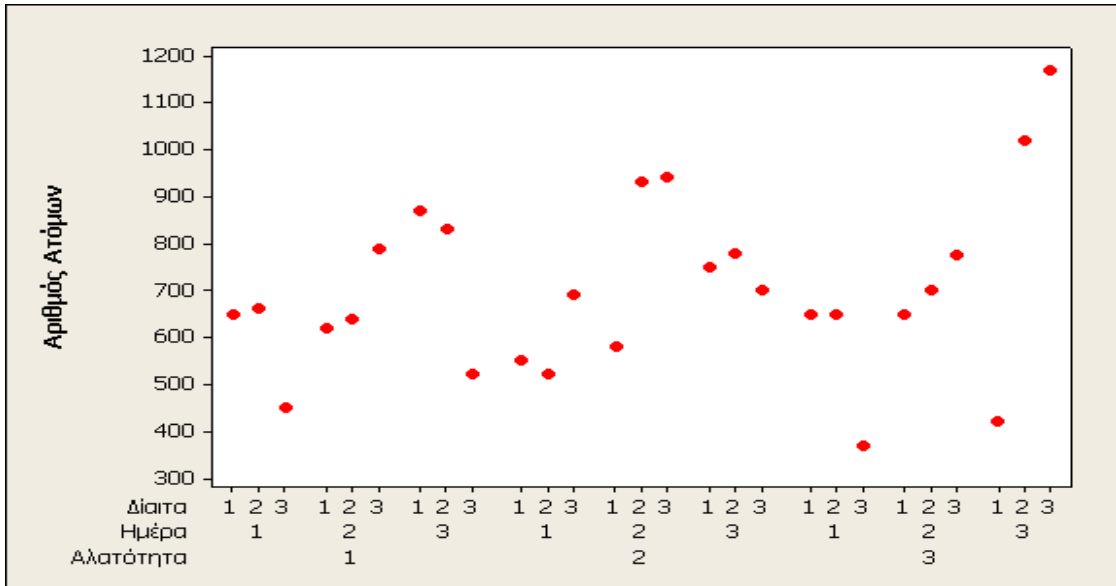
Tukey Simultaneous Tests
Response Variable AP.ΑΥΤΩΝ
All Pairwise Comparisons among Levels of ΗΜΕΡΕΣ
ΗΜΕΡΕΣ = 1 subtracted from:

HΜΕΡΕΣ	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
2	10,22	64,13	0,1594	0,9861
3	150,89	64,13	2,3529	0,0712

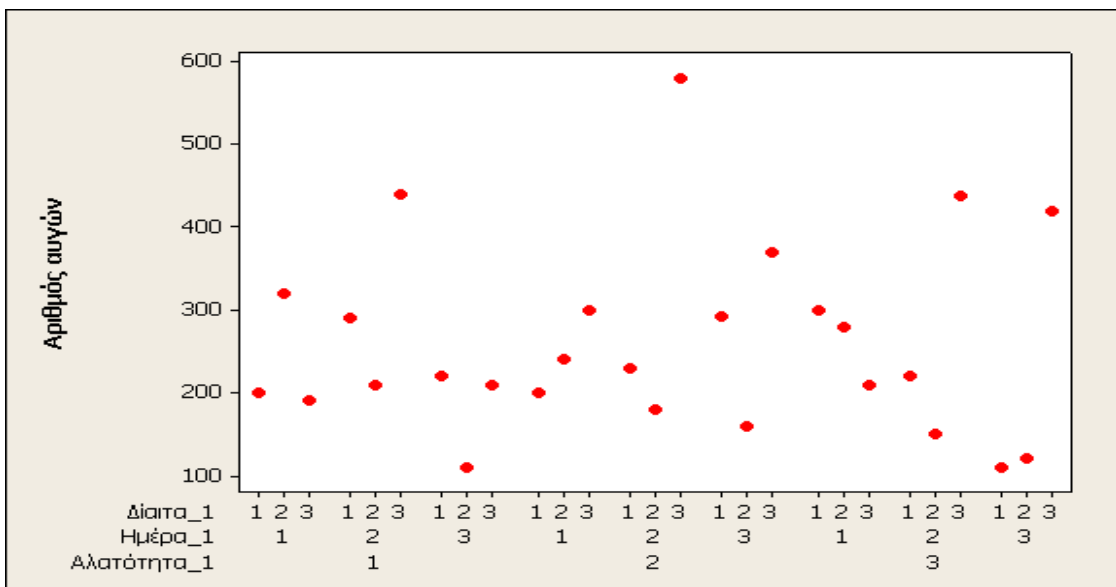
ΗΜΕΡΕΣ = 2 subtracted from:

HΜΕΡΕΣ	Difference of Means	SE of Difference	T-Value	Adjusted P-Value
3	140,7	64,13	2,194	0,0968

Ο Πίνακας 3.5 ανάλυσης διασποράς, όσον αφορά τον αριθμό των ατόμων με ένα ή δύο αβγά, μας δείχνει ότι οι λόγοι των μέσων τετραγώνων για τις ημέρες, τις δίαιτες και τις θερμοκρασίες ως προς το μέσο τετράγωνο για τα σφάλματα δεν είναι στατιστικά σημαντικοί, αφού οι τιμές αυτών των λόγων είναι μικρές ($F=3,46$, $F=0,01$ και $F=2,32$ αντίστοιχα) αντιστοιχούν σε $P>0,05$. Άρα, η στατιστική ανάλυση των διαφορών που παρουσιάστηκαν μεταξύ του αριθμού των ατόμων που έφεραν ένα ή περισσότερα αβγά στις τρεις ομάδες κατά τη διάρκεια του πειράματος έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές για καμία από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν. Πρέπει, όμως να σημειωθεί πως αν και η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($P=0,051$ $F=3,46$) φάνηκε πως στη διάρκεια της τρίτης ημέρας του πειράματος ο αριθμός των ατόμων με αβγά ήταν σημαντικά μεγαλύτερος. Οι πολλαπλές συγκρίσεις μέσων τιμών για τον παράγοντα ημέρα, έδειξε ότι υπάρχει διαφορά μεταξύ της πρώτης και της τρίτης ημέρας αλλά και μεταξύ της δεύτερης και της τρίτης. Όμως δεν είναι στατιστικά σημαντική αφού τα ζευγάρια των τιμών τους περιέχουν το μηδέν.



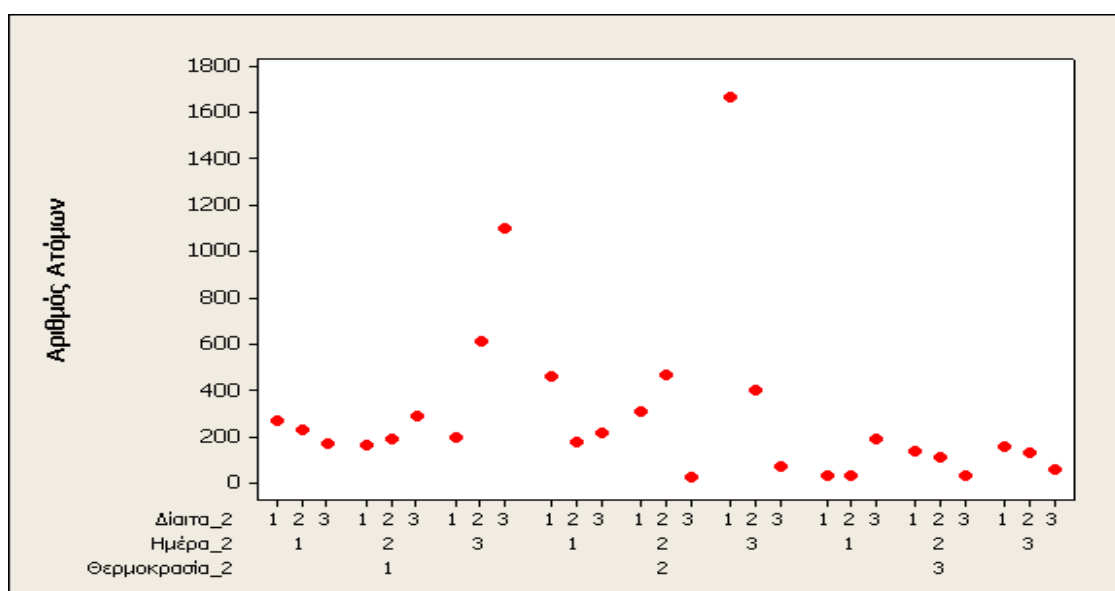
Εικόνα 3.5: Γραφική παράσταση του αριθμού των ατόμων ml^{-1} ως προς τις δίαιτες, ημέρες και αλατότητες (1=25psu, 2=30psu 3=35psu)



Εικόνα 3.6: Γραφική παράσταση του αριθμού των ατόμων ml^{-1} που φέρουν αυγά ως προς τις δίαιτες, ημέρες και αλατότητες (1=25psu, 2=30psu, 3=35psu)

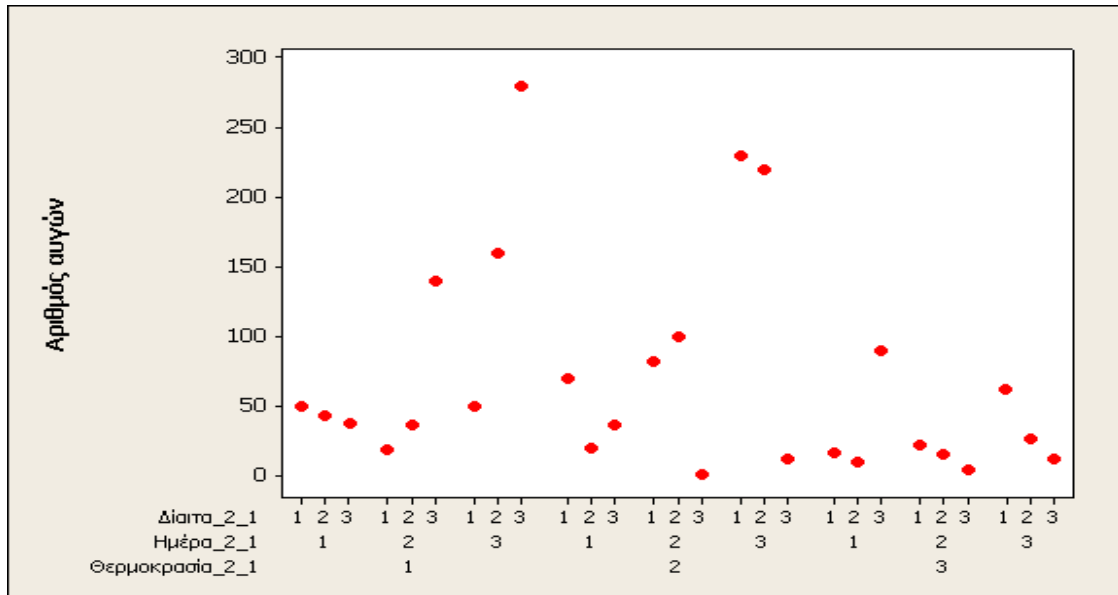
Η γραφική παράσταση της Εικόνας 3.5 δείχνει ότι ο μεγαλύτερος αριθμός ατόμων αντιστοιχεί στην τρίτη δίαιτα, τρίτη ημέρα και σε αλατότητα 35psu, ενώ ο μικρότερος αριθμός ατόμων αντιστοιχεί στην τρίτη δίαιτα, πρώτη ημέρα και αλατότητα 35psu.

Στην Εικόνα 3.6 παρατηρούμε ότι ο μεγαλύτερος αριθμός ατόμων που φέρουν αβγά αντιστοιχεί στην τρίτη δίαιτα, δεύτερη ημέρα και αλατότητα 30psu, ενώ οι μικρότεροι αριθμοί αντιστοιχούν στην πρώτη και δεύτερη δίαιτα, την τρίτη ημέρα και στις αλατότητες 35psu και 25psu αντίστοιχα.



Εικόνα 3.7: Γραφική παράσταση του αριθμού των ατόμων ml^{-1} ως προς τις δίαιτες, ημέρες και θερμοκρασίες (1=27°C, 2=24°C, 3=21°C)

Από την γραφική παράσταση (Εικ. 3.7) μπορούμε να συμπεράνουμε ότι ο μεγαλύτερος αριθμός ατόμων αντιστοιχεί στην πρώτη δίαιτα, τρίτη ημέρα και στη δεύτερη θερμοκρασία (24 °C), ενώ τις μικρότερες τιμές της έχουμε για την θερμοκρασία 21 °C.



Εικόνα 3.8: Γραφική παράσταση των δεδομένων αριθμός ατόμων που φέρουν αβγά ml^{-1} ως προς τις δίαιτες, ημέρες και θερμοκρασίες (1=27°C, 2=24°C, 3=21°C) .

Η γραφική παράσταση (Εικ. 3.8) δείχνει ότι ο μεγαλύτερος αριθμός ατόμων που φέρουν αβγά αντιστοιχεί στην τρίτη δίαιτα, τρίτη ημέρα και 27 °C ενώ τις μικρότερες τιμές τις παρατηρούμε για τη τρίτη θερμοκρασία 21 °C.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η δυναμική του πληθυσμού του τροχόζωου *B. plicatilis*, το οποίο εκτράφηκε σε τρεις διαφορετικές αλατότητες και τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες διατρεφόμενο με τρεις διαφορετικές δίαιτες.

Στο πρώτο πείραμα όπου εξετάστηκαν οι παράμετροι διαίτα, ημέρες, αλατότητα, οι πληθυσμοί των τροχόζωων παρουσίασαν χρονικές διακυμάνσεις ως προς τον αριθμό των ατόμων τους. Στατιστικά σημαντική διαφορά παρουσιάστηκε, ως προς τον αριθμό των ατόμων, σε σχέση με την ημέρα εκτροφής σε όλες τις ομάδες. Η τρίτη ημέρα είχε στατιστικά σημαντική διαφορά από την πρώτη αλλά και από τη δεύτερη. Η δυναμικότητα του πληθυσμού των τροχόζωων υπό συνθήκες μαζικής καλλιέργειας ακολουθούν διάφορες φάσεις, όμοιες με αυτές του φυτοπλαγκτού: 1) Η φάση προσαρμογής, παρατηρείται αμέσως μετά από τον εμβολιασμό, τότε τα τροχόζωα προσαρμόζονται στις περιβαλλοντικές συνθήκες και αρχίζουν να καταναλώνουν φυτοπλαγκτόν και ο αριθμός των ωοφόρων ατόμων αυξάνεται. 2) Η φάση της λογαριθμικής αύξησης, όπου τα τροχόζωα αναπαράγονται πολύ γρήγορα και η αύξηση του πληθυσμού είναι εκθετική. 3) Η μεταβατική φάση, όπου ο ρυθμός ανάπτυξης μειώνεται και τα ωοφόρα άτομα γίνονται σπάνια. 4) Η φάση ισορροπίας όπου διατηρείται σταθερός ο αριθμός των ατόμων και 5) Η φάση κατάρρευσης, όπου σχεδόν μόνο ηλικιωμένα τροχόζωα υπάρχουν και ο αριθμός τους μειώνεται ταχύτατα καθώς ο ρυθμός θανάτων υπερβαίνει το ρυθμό ανάπτυξης. Η ποιότητα του πληθυσμού των τροχόζωων για να αρχίσει μια καινούργια εκτροφή είναι πιο σημαντική από ότι στην καλλιέργεια φυτοπλαγκτού. Κάτω από βέλτιστες συνθήκες, ένας πληθυσμός τροχόζωων πρέπει να φτάσει σε πυκνότητα συγκομιδής μέσα σε 4-5 ημέρες. Γεγονός που υποδεικνύει την ανάγκη διατήρησης της εκτροφής πέρα των τριών ημερών σε όλες τις

δίαιτες και αλατότητες ώστε να επιτευχθεί ικανοποιητική ποσότητα και ποιότητας τροχόζωων, που αποτελεί ένα από τα πιο κρίσιμα στάδια παραγωγής στους ιχθυογενετικούς σταθμούς (Lubzens, 1981; Lubzens *et al.*, 1997, 2001). Από την στατιστική ανάλυση φαίνεται ότι η αλατότητα δεν είχε καμία επίπτωση στον ρυθμό αύξησης των τροχόζωων ανεξάρτητα του είδους προσφερόμενης τροφής. Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να ερμηνευθεί με την μεγάλη προσαρμοστική ικανότητα των τροχόζωων σε μεγάλες διακυμάνσεις των τιμών της αλατότητας (Ito, 1960). Άλλωστε το γεγονός αυτό ενθάρρυνε τη χρήση τους στις εκτροφές νυμφών θαλασσινών ειδών μετά τον εγκλιματισμό τους από τα υφάλμυρα στα αλμυρά νερά (Ito, 1960). Επίσης ο τύπος της διαίτας, φαίνεται να μην παίζει καθοριστικό ρόλο όσον αφορά τον ρυθμό ανάπτυξης των τροχόζωων. Η καταγραφείσα, μη στατιστικά σημαντική, διαφορά στο ρυθμό αύξησης των πληθυσμών που εκτράφηκαν με τα τρία διαφορετικά σιτηρέσια, συμφωνεί με προηγούμενες μελέτες, όπου ελέγχονταν παρόμοιου τύπου τροφές (K.Hirayama & K.Nakamura, 1976; E. Lubzens *et. al.*, 1995; N. Navaro, 1998). Παρ' όλα αυτά οι πληθυσμοί που εκτράφηκαν με την διαίτα 2 και σε αλατότητα 30psu έχουν μια μεγαλύτερη τάση αύξησης του αριθμού των ατόμων τους. Αντίθετα ο αριθμός των ατόμων ήταν μικρότερος στην αλατότητα 25psu, την πρώτη μέρα του πειράματος και με την πρώτη διαίτα. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να οφείλεται στο σοκ που υπέστηκαν τα τροχόζωα μέχρι να εγκλιματιστούν στις νέες συνθήκες εκτροφής καθώς τόσο η αλατότητα της πρωταρχικής εκτροφής όσο και της καλλιέργειας του φυτοπλαγκτου ήταν 30psu.

Οι διαφορές στο ρυθμό αύξησης αντικατοπτρίζουν διαφορετικές αναπαραγωγικές στρατηγικές. Από τη μία, πληθυσμοί που εκτράφηκαν με λιπιδιακά εμπλουτισμένες τροφές (Culure Selco Plus, *Chlorella Docosa*), είχαν μικρότερη

διάρκεια ζωής και παρουσίασαν υψηλότερο ρυθμό αύξησης (αυξημένη γονιμότητα των θηλυκών που έφεραν αβγά, και το ποσοστό των θηλυκών του πληθυσμού με περισσότερα από 2 αβγά) ενώ οι πληθυσμοί που εκτράφηκαν με τροφή υψηλότερης περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες (σε σχέση με τα λίπη) (μαγιά-φυτοπλαγκτό) είχαν μεγαλύτερη διάρκεια αναπαραγωγής και ζωής, παρουσίασαν δηλαδή χαμηλότερο αλλά σταθερό ρυθμό αύξησης. Σύμφωνα με την παρούσα μελέτη, τα άτομα που εκτράφηκαν με την τρίτη δίαιτα (Culture Selco Plus) παράγαν περισσότερα αβγά άρα η γονιμότητα και το ποσοστό του πληθυσμού που βρίσκεται σε αναπαραγωγική φάση, ήταν υψηλότερο. Παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της πρώτης και της τρίτης διαίτας αλλά και μεταξύ της δεύτερης και της τρίτης διαίτας, δηλαδή, η γονιμότητα και το ποσοστό του πληθυσμού που βρίσκεται σε αναπαραγωγική φάση, ήταν υψηλότερα στην περίπτωση της τρίτης διαίτας. Οι υψηλότερες τιμές παρατηρήθηκαν στην περίπτωση των πληθυσμών που εκτράφηκαν με την τρίτη δίαιτα, τη δεύτερη ημέρα, ενώ για τη δεύτερη δίαιτα την πρώτη ημέρα. Οι πληθυσμοί που εκτράφηκαν με τη δεύτερη δίαιτα (Docosa) άρχισαν να παρουσιάζουν μία μείωση της γονιμότητας από την δεύτερη μέρα. Είναι κοινώς αποδεκτό ότι η πυκνότητα των τροχόζωων έχει αρνητική επίδραση στην αναπαραγωγή τους (James *et al.*, 1983). Επίσης η διάρκεια ζωής ενός ατόμου εξαρτάται από το ρυθμό με τον οποίο αυτός αναπαράγεται: εάν ο ρυθμός είναι υψηλός, τότε η αναπαραγωγή περιορίζεται σε λίγες ηλικιακές κλάσεις, και ο οργανισμός έχει μικρότερη διάρκεια ζωής (Κωστοπούλου Β. και συν., 2006). Στην παρούσα μελέτη η αύξηση της αρχικής πυκνότητας του πληθυσμού στην δίαιτα 2 είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της αφθονίας των θηλυκών με αβγά σε σύγκριση με τον πληθυσμό της διαίτας 3. Οι πληθυσμοί που εκτράφηκαν με φυτοπλαγκτό και μαγιά εμφάνισαν μία χαρακτηριστική 24-ωρη

περιοδικότητα στην αφθονία των θηλυκών με ένα ή περισσότερα αυγά, γεγονός που δηλώνει μία ημερήσια σταθερότητα στην απόθεση αυγών. Η σταθερότητα στο ρυθμό απόθεσης των αυγών δεν υπαγορεύτηκε όμως από υψηλότερο ρυθμό αύξησης (Κωστοπούλου Β. και συν., 2006). Οι παρατηρούμενες διακυμάνσεις στη σύσταση των εκτρεφόμενων πληθυσμών θα μπορούσαν να αποδοθούν κυρίως στην ποιότητα της προσφερόμενης τροφής. Σε σύγκριση με τα τρία σιτηρέσια, η τρίτη διαίτα (Culture Selco Plus) είναι μία τροφή πλούσια σε λιπίδια, ιδιαίτερα σε ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (Hirayama & Funamoto, 1983; James *et al.*, 1987; Dhert *et al.*, 2001). Η συγκεκριμένη τροφή μπορεί να συσχετισθεί με την παρουσία θηλυκών με 2 ή περισσότερα αυγά, συνεισφέροντας έτσι σε μία αυξημένη γονιμότητα. Η δεύτερη διαίτα (*Chlorella Docosa*) προκαλεί τη μεγαλύτερη αύξηση του αριθμού των ατόμων (στατιστικά μη σημαντική) ενώ η τρίτη (Culture Selco Plus) προκαλεί μεγαλύτερη αύξηση (στατιστικά σημαντική) του αριθμού των αυγών. Αν ο ρυθμός παραγωγής επιθυμεί ταχύτερη ανάπτυξη βιομάζας σε μικρό χρονικό διάστημα (τέσσερις ημέρες) τότε η τρίτη διαίτα υπερτερεί. Τροχόζωα με διαίτα από εμπλουτισμένα μικροφύκη παρουσίασαν διπλάσιο καθαρό βάρος και περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, λιπίδια, υδρογονάνθρακες σε σχέση με τροχόζωα των οποίων η διαίτα περιλάμβανε ελλειπή θρεπτικά μικροφύκη (Ferreira M. *et al.*, 2008) . Στην περίπτωση, όμως, που η χρονική διάρκεια της εκτροφής επιμηκυνθεί για μία ή δύο ημέρες ακόμη, τότε η πρώτη διαίτα, σε υψηλές συγκεντρώσεις, θεωρείται η καλύτερη τροφή για τα τροχόζωα. Στους ιχθυογενετικούς σταθμούς, τόσο η μαγιά όσο και το Culture Selco χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με το φυτοπλαγκτό, προκειμένου να μειώσουν το κόστος παραγωγής και να βελτιώσουν τη βιοχημική σύσταση του τροχόζωου (WWW. F.A.O. org.).

Η αλατότητα φαίνεται να μην επηρεάζει, στατιστικά σημαντικά, την γονιμότητα των πληθυσμών. Όμως, μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι υπάρχει τάση αύξησή της στη δεύτερη αλατότητα (30psu) και ημέρα και στη δίαιτα 3. Αντίθετα φαίνεται ότι η γονιμότητα ήταν μικρότερη στην πρώτη αλατότητα (25psu) την τρίτη ημέρα και στη δίαιτα 2.

Στο δεύτερο πείραμα που εξετάστηκαν οι παράμετροι δίαιτα, ημέρες και θερμοκρασία διαπιστώθηκε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά για καμία παράμετρος. Από τα αποτελέσματα των μέσων τιμών όμως, διαπιστώνουμε μια τάση αύξησης του αριθμού των ατόμων στην πρώτη και δεύτερη θερμοκρασία (27 °C και 24 °C) ενώ φαίνεται ότι ο αριθμός των ατόμων μειώνεται στην τρίτη θερμοκρασία (21 °C). Η καταγραφείσα διαφορά στο ρυθμό αύξησης των πληθυσμών στις τρεις θερμοκρασίες συμφωνεί με προηγούμενες μελέτες, όπου για τον L-τύπο η καταλληλότερη θερμοκρασία είναι 25-30 °C (Hagiwara *et al.*, 1995). Η θερμοκρασία επιπλέον επηρεάζει τη βασικότερη λειτουργία του τροχόζωου, την κολύμβηση επειδή από αυτήν εξαρτώνται άμεσα η αναζήτηση τροφής, συντρόφου στην περίπτωση της αμφιγονικής αναπαραγωγής, καθώς και η διασπορά. Άρα μείωση της θερμοκρασίας μπορεί να επιφέρει μείωση στο ρυθμό κολύμβησης, καθώς και στη σύλληψη τροφής που λαμβάνει χώρα ταυτόχρονα και την παραγωγή αβγών (Nogrady *et al.*, 1993). Σε ελεγχόμενο περιβάλλον και 25°C, έχει υπολογιστεί ότι η διάρκεια ζωής των τροχόζωων φθάνει τις επτά ημέρες. Σε αυτήν την θερμοκρασία οι νύμφες γίνονται ενήλικες μετά από 0,5-1,5 ημέρες και τα θηλυκά αρχίζουν να αφήνουν αυγά κάθε τέσσερις ώρες. Πιστεύεται ότι ένα θηλυκό μπορεί να παράγει δέκα γενεές απογόνων (WWW. F.A.O. org.). Επίσης η πρώτη δίαιτα, φυτοπλαγκτό και μαγιά, παρουσίασε μία μικρή υπεροχή έναντι των δύο άλλων σε συνδυασμό με τις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας. Η

καταγραφείσα διαφορά στο ρυθμό αύξησης των πληθυσμών που εκτράφηκαν με τα τρία σιτηρέσια δεν συμφωνεί με προηγούμενες μελέτες, όπου ελέγχονταν παρόμοιου τύπου τροφές, στις οποίες η γονιμότητα και το ποσοστό του πληθυσμού που βρίσκεται σε αναπαραγωγική φάση ήταν υψηλότερα, με αποτέλεσμα να έχουν και υψηλότερο ρυθμό αύξησης, στις περιπτώσεις που τα τροχόζωα εκτράφηκαν με τροφές με υψηλότερα επίπεδα λιπιδίων (Κωστοπούλου Β. και συν., 2006: Hirayama & Watanabe, 1973: Hirayama & Funamoto, 1983: James *et al.*, 1983: Nyonje & Radull, 1991: Suantika *et al.*, 2000). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ίσως διαφέρουν από άλλες μελέτες, διότι τα επίπεδα του φυτοπλαγκτού ήταν υψηλότερα σε σχέση με τις άλλες. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι αύξηση στην ποσότητα του φυτοπλαγκτού έχει θετική επίδραση στο ρυθμό αύξησης των τροχόζωων (Theilacker & McMaster, 1971: James *et al.*, 1983: Rezeq & James, 1987). Στην τρίτη θερμοκρασία (21 °C) ο πληθυσμός που εκτράφηκε με την δεύτερη δίαιτα παρουσίασε πολλά αρσενικά άτομα τη δεύτερη και τρίτη ημέρα (είχαμε αλλαγή του τρόπου αναπαραγωγής από παρθενογένεση σε αμφιγονία) γεγονός που πρέπει να το αποδώσουμε ότι η χαμηλή θερμοκρασία προκαλεί δυσμενές περιβάλλον. Το ίδιο φαινόμενο παρουσιάστηκε και στον πληθυσμό που εκτράφηκε με την τρίτη δίαιτα αλλά σε πολλή μικρότερο βαθμό. Και στο δεύτερο πείραμα συμπεραίνουμε ότι την τρίτη ημέρα εκτροφής, ο αριθμός των ατόμων και ο μέσος αριθμός τροχόζωων με αβγά, τείνει να είναι μεγαλύτερος. Η τροφή δεν επηρέασε, στατιστικά σημαντικά, την χρονική διάρκεια που χρειάζεται ο πληθυσμός των τροχόζωων να φτάσει στην υψηλότερη πυκνότητά του (βιολογικό κύκλος τροχόζωου, νυμφική, ενήλικη, αναπαραγωγική, μετα-αναπαραγωγική φάση). Επίσης φαίνεται να υπάρχει τάση μεγαλύτερης γονιμότητας στην πρώτη και δεύτερη θερμοκρασία (27 °C και 24 °C) ενώ είναι

μικρότερη στην τρίτη θερμοκρασία (21 °C) τόσο την πρώτη όσο και δεύτερη ημέρα του πειράματος, όπως παρατηρήθηκε και με το ρυθμό αύξησης. Δεν διαπιστώθηκε όμως καμία στατιστικά σημαντική επίδραση στον μέσο αριθμό αβγών από καμία από τις τρεις δίαιτες. Η αναλογία αβγών προς άτομα καθώς και κολυμβητική ικανότητα των ατόμων μας υποδεικνυε την κατάσταση στην οποία βρίσκεται ο πληθυσμός (Korstad J. *et al.*, 1995) .

Οι παράμετροι της ποιότητας του νερού δεν διέφεραν μεταξύ των χειρισμών και βρίσκονται σε επίπεδα αποδεκτά για τη μαζική εκτροφή των τροχόζωων (Moretti *et al.*, 1999). Επομένως, το μέσο εκτροφής δε φαίνεται να αποτέλεσε παράγοντα που θα πρέπει να ληφθεί υπόψη στην εκτίμηση των αποτελεσμάτων.

Συμπερασματικά, τα τροχόζωα που εκτράφηκαν με την ασυνεχής μέθοδος εκτροφής, χρησιμοποιώντας τρεις δίαιτες, παρουσίασαν ορισμένες διαφορές στο ρυθμό αύξησης του πληθυσμού. Η παρούσα μελέτη δείχνει, ότι ο τύπος της ξηράς τροφής παίζει σημαντικό ρόλο στην αναπαραγωγική στρατηγική του τροχόζωου *B. plicatilis*. Όμως ο ουσιαστικός ρυθμός ανάπτυξης δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών διατροφών ενώ αντίθετα είχαμε σημαντική διαφορά όσον αφορά την γονιμότητα. Η τρίτη δίαιτα υπερείχε σημαντικά έναντι των άλλων δύο, όσον αφορά το ποσοστό θηλυκών ατόμων που φέρουν αβγά, στο πρώτο πείραμα. Η διάρκεια εκτροφής είναι μια παράμετρος που θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη. Επιπλέον, το πρώτο πείραμα υπέδειξε ότι η αλατότητα δεν έχει καμία επίπτωση στον ρυθμό αύξησης των τροχόζωων ανεξάρτητα της προσφερόμενης τροφής. Ενώ, το δεύτερο πείραμα υπέδειξε ότι η θερμοκρασία αποτελεί τον κύριο παράγοντα που επηρεάζει τον ρυθμό αύξησης και γονιμότητας των τροχόζωων, με τις υψηλότερες θερμοκρασίες (27°C και 23°C) να εμφανίζουν τις μεγαλύτερες τιμές και τη χαμηλότερη (21°C) τις μικρότερες

τιμές. Οι παραπάνω συσχετισμοί έχουν άμεσο αντίκτυπο στο προγραμματισμό διατροφής των νυμφών ιχθύων και καρκινοειδών στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς. Επομένως, οι παρατηρούμενες μεταβολές στη σύσταση του πληθυσμού και το ρυθμό αύξησης θα πρέπει να ληφθούν υπόψη στη διαχείριση των μαζικών εκτροφών των τροχόζωων.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη βιβλιογραφία

- Arndt H. (1988) Dynamics and production of a natural population of *Brachionus plicatilis* (Rotatoria, Monogononta) in a eutrophicated inner coastal water of the Balyic. Kieler Meeresforsch. Sonderh. 6: 147-153.
- Assavaaree M., Hagiwara A., Kogane T., Arimoto M. (2003) Effect of temperature on resting egg formation of the tropical SS-type rotifer *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff Fisheries science 69: 520–528.
- Awaiss A., Kestemont P., Claude J.M. (1992) An investigation into the mass production of the freshwater rotifer *B.calyciflorus Pallas* I. An eco-physiological approach to nutrition. Aquaculture 105:325-336.
- Bender K., Kleinow W. (1988) Chemical properties of the lorica and related parts from the integument of *Brachionus plicatilis*. Comp. Biochem. Physiol. 89B: 483-487.
- Ciros-Perez J., Gomez, A., Serra M. (2001) On the taxonomy of three sympatric sibling species of the *Brachionus plicatilis* (Rotifera) complex from Spain, with the description of *B. ibericus* n. sp. Journal of Plankton Research, 23: 1311-1328.
- Chotiyaputta C., Hirayama K. (1978) Foodselectivity of the rotifer *Brahionus plicatilis* feeding on phytoplankton. Mar. Biol. 45: 105-111.
- Coutteau P., Sorgeloos P. (1997) Manipulation of dietary lipids, fatty acids and vitamins in zooplankton cultures. Freshwater Biol. 38 : 501-512.
- Cowey, C.B. (1976) Use of synthetic diets and biochemical criteria in the assessment of nutrient requirements of fish. J. Fish. Res. Board Can., 33: 1040-1045

- Dhert, P., Rombaut G., Suantika G., Sorgeloos P. (2001) Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture*, 200: 129-146.
- Dhert, P. (1996) Rotifers. In: Lavens, P., Sorgeloos, P. (Eds.), *Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture*. FAO Technical Paper, pp. 61–7.
- Dres M., Mallet J. (2002) Host races in plant-feeding insects and their importance in sympatric speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 357: 471-492.
- Dumont H. J. (1983) Biogeography of rotifer. *Hydrobiologia* 104: 19-30.
- E. Lucía Pavo'n-Meza, Sarma Z. S. S. S., Nandini S. (2007) Combined effects of temperature, food (*Chlorella vulgaris*) concentration and predation (*Asplanchna girodi*) on the morphology of *Brachionus havanaensis* (Rotifera) *Hydrobiologia* 593:95–101.
- Epp R.W., Lewis W. M. Jr. (1979) Metabolic uniformity over the environmental temperature rang in *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Hydrobiologia* 73: 145-147.
- Fernandez-Araiza M.A., Sarma S.S.S., Nandini S. (2005) Combined effects of food concentration and temperature on competition among four species of *Brachionus* (Rotifera). *Hydrobiologia*, 546: 519-534.
- Fernandezl-Reiriz M.J., Labarta U., Ferreiro M.J. (1993) Effects of commercial enrichment diets on the nutritional value of rotifer (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture* 112:195-206.
- Ferreira M., Coutinho P., Jaime S., Otero A. (2008) Enriching rotifers with “Premium” microalgae *Nannochloropsis gaditana*. *Mar. Biotechnol* DOI 101007/s10126-008-9174-x.

- Fielder D.S., Purser G.J., Battaglione S.C. (2000) Effect of rapid changes in temperature and salinity on availability of the rotifers *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 189: 85-99.
- Fontaneto D., Giordani I., Melone G., Serra M. (2007) Disentangling the morphological stasis in two rotifer species of the *Brachionus plicatilis* species complex. *Hydrobiologia*, 583: 297-307.
- Frolov A.V., Pankov S.L., Geradze K.N., Pankova S. A., Spektorova L. V. (1991) Influence of the biochemical composition of food on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* 97: 181-202.
- Fu Y., Hirayama K., Natsukaki Y. (1991a) Morphological differences between the two types of the rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Muller. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 151: 29-41.
- Fu Y., Hirayama K., Natsukaki Y. (1991b) Genetic divergence between S and L type strains of the rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Muller. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 151: 43-46.
- Fu Y., Hagiwara A., Hirayama K. (1993) Crossing between seven strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59: 2009-2016.
- Gilbert J.J. (2003a) Environmental and endogenous control of sexuality in a rotifer life cycle: developmental population biology. *Evolution and Development*, 5: 19-24.
- Gomez A., Serra M. (1995) Behavioral reproductive isolation among sympatric strains of *Brachionus plicatilis* Muller 1786: insights into the status of this taxonomic species. *Hydrobiologia*, 313/314: 111-119.
- Gomez A., Snell T.W. (1996) Sibling species and cryptic speciation in the *Brachionus plicatilis* species complex (Rotifera). *Journal of Evolutionary Biology*, 9: 953-964.

- Gomez A., Temprano M., Serra M. (1995) Ecological genetics of a cyclical parthenogen in temporary habitats. *Journal of Evolutionary Biology*, 8: 601-622.
- Gomez A., Serra M., Carvalho G.R., Lunt D.H. (2002a) Speciation in ancient cryptic species complexes: evidence from the molecular phylogeny of *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Evolution*, 56: 1431-1444.
- Gomez A. (2005) Molecular ecology of rotifers: from population differentiation to speciation. *Hydrobiologia*, 546: 83-99.
- Guisande C., Serrano L. (1989) Analysis of protein, carbohydrate and lipid in rotifers. *Hydrobiologia* 186/187: 339-346.
- Hagiwara A., Kotani T., Snell T.W., Assava-Aree M., Hirayama K. (1995). Morphology, reproduction, genetics and mating behaviour of small, tropical marine *Brachionus* strains (Rotifera). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 194:25-37.
- Hamada K., Hagiwara A. (1993) Use of preserved diet for rotifer *Brachionus plicatilis* resting egg formation. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59: 85-91.
- Hansen B., Wernberg-Møller T., Wittrup L. (1997) Particle grazing efficiency and specific growth efficiency of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Müller). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 215: 217-233.
- Hickman C.P.Jr, Roberts L.S., Larson A. (2002) Ζωολογία – Ολοκληρωμένες Αρχές (Α' ΤΟΜΟΣ). Επιμέλεια: Αποστολοπούλου Μ., Μ. Εκδόσεις ΙΩΝ: 371-374.
- Hirano R., (1969) Rearing of Black Sea bream larvae. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 35: 567-569.
- Hirata H. (1980) Culture methods of marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Min. Rev. Data File Fish. Res.* 1: 27-46.

- Hirayama K. (1987) A consideration of why mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* with baker's yeast is unstable. *Hydrobiologia*, 147: 269-270.
- Hirayama K., Funamoto H. (1972) Supplementary effect of several nutrients on nutritive deficiency of baker's yeast for population growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 49: 505-510.
- Hirayama K., Ogawa S. (1972) Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture – I. Filter feeding of rotifer. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 38: 1207-1214.
- Hirayama K., Watanabe K. (1973) Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture – IV Nutritional effect of yeast on population growth of rotifer. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 39: 1129-1133.
- Hirayama K., Nakamura K. (1976) Fundamental studies on the physiology of rotifers in mass culture – V dry *Chlorella* powder as food for rotifers. *Aquaculture*, 8 301-307.
- Hirayama K., Rumengan I.F.M. (1993) The fecundity patterns of S and L type rotifers of *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*, 255/256: 153-157.
- Hlawa S., Heerkloss R. (1994) Experimental studies into the feeding biology of rotifer in brackish water. *J. Plankton Res.* 16: 1021-1038.
- Howell B.R. (1979). Experiments on the rearing of larval turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture*, 18: 215-227.
- James C.M., Dias P., Salman A.E. (1987) The use of marine yeast (*Candida sp.*) and baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in combination with *Chloralla sp.* For mass culture of rotifer *B. plicatilis*. *Hydrobiologia* 147: 263-268.

- James C.M., Bou-Abbas M., Al-khars A.M., Al-Hinty S., Salman A.E. (1983) Production of the rotifer *B. Plicatilis* for aquaculture in Kuwait. *Hydrobiologia* 104: 77-84.
- Ito T. (1960) On the culture of the mixohaline rotifer *Brachionus plicatilis* O. F.Muller, in sea water. *Rep. Fac. Fish. Perfect. Univ. Mie* 3: 708–740.
- Korstad J., Neyts A., Danielsen T., Overrein I., Olsen Y., (1995) Use of swimming speed and egg ration as predictors of the status of rotifer culture in aquaculture. *Hydrobiologia* Vol. 313-314.
- Kostopoulou V., Miliou H., Katis G., Verriopoulos G. (2006) Changes in the population structure of the lineage ‘Nevada’ belonging to the *Brachionus plicatilis* species complex, batch-cultured under different feeding regimes. *Aquaculture International*, 14: 451-466.
- Kogane T., Hagwara A., Imaizumi K., (1997) Temperature conditions enhancing resting eggs productions of the euryhaline rotifer *B. Plicatis* O.F. Müller (Kamiura strain) *Hydrobiologia*, 358: 167-171.
- Lawrence E. (1989) Henderson’s dictionary of biological terms. 10th edition, Longman group, UK, p 732.
- Lubzens E. (1981) Rotifer resting eggs and their application to marine aquaculture. *Eur. Maricult. Soc.* 6: 163-179.
- Lubzens E. (1987) Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia*, 147: 245-255.
- Lubzens E., Tandler A., Minkoff G. (1989) Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiologia*, 186/187: 387-400.

- Lubzens E., Rankevich D., Kolodny G., Gibson O., Cohen A., Khayat M. (1995a) Physiological adaptations in the survival of rotifers (*Brachionus plicatilis*, O.F. Muller) at low temperatures. *Hydrobiologia*, 313/314: 175-183.
- Lubzens E., Gibson O., Zmora O., Sukenik A. (1995b) Potential advantages of frozen algae (*Nannochloropsis sp.*) for rotifer (*Brachionus plicatilis*) culture. *Aquaculture*, 133: 295-309.
- Lubzens E., Minkoff G., Zmora O., Barr Y. (1997) Mari culture in Israel-past achievements and future directions in raising rotifers as food for marine fish larva. *Hydrobiologia* 358: 13-20.
- Lubzens E., Zmora O., Barr Y. (2001) Biotechnology and aquaculture of rotifers. *Hydrobiologia*, 446/447: 337-353.
- Mark Welch D., Meselson M. (2000) Evidence for the evolution of bdelloid rotifers without sexual reproduction or genetic exchange. *Science*, 288: 1211-1215.
- Mills S. (2006) Investigations of the *Brachionus plicatilis* species complex, with particular reference to southwest Western Australia, PhD Thesis, University of Western Australia, Australia, 336 p.
- Miracle M.R., Serra M. (1989) Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. *Hydrobiologia*, 186/187: 81-102.
- Montagnes D.J.S., Kimmance S.A., Tsounis G., Gumbs J.C. (2001) Combined effect of temperature and food concentration on the grazing rate of rotifer *Brachionus plicatilis*. *Mar. Biol.* 139: 975-979.
- Moretti A., Pedini Fernandez-Criado M., Cittolin G., Guidastrri R. (1999) Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream, Vol. 1. FAO, Rome, pp 194.

- Mills S. (2006) Investigations of the *Brachionus plicatilis* species complex, with particular reference to southwest Western Australia, PhD Thesis, University of Western Australia, Australia, p 336.
- Miracle M.R., Serra M., Vicente E., Blanco C. (1987) Distribution of *Brachionus* species in Spanish mediterranean wetlands. *Hydrobiologia*, 147: 75-81.
- Miracle M.R., Serra M. (1989) Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. *Hydrobiologia* 186/187: 81-102.
- Montagnes D.J.S., Kimmance S.A., Tsounis G., Gumbs J.C. (2001) Combined effect of temperature and food concentration on the grazing rate of rotifer *Brachionus plicatilis*. *Mar. Biol.* 139: 975-979.
- Moretti A., Pedini Fernandez-Criado M., Cittolin G., Guidastri R. (1999) Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream, Vol. 1. FAO, Rome, 194pp.
- Navarro N. (1999) Feeding behaviour of the rotifers *Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis* with two types of food: live and freeze-dried microalgae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 237: 75-87.
- Nogrady T., Wallace R.L., Snell T.W. (1993) Rotifera, Volume 1: Biology, Ecology and Systematics. In: Dumont H.J.F. (Co-ordinating Ed), Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental water of the world. Vol. 4 SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands, 142 pp.
- Nyonje B., Radull J. (1991) The effects of feeding freshwater *Chlorella*, baker's yeast and Culture Selco on the culture of rotifers (*Brachionus sp.*). In: Lavens P., Sorgeloos P., Jaspers E. & Ollevier F. (Eds), Eur. Aquacult. Soc., Spec. Publ. No.15, Gent, Belgium, pp. 106-109.

- Ortells R., Snell T.W., Gomez A., Serra M. (2000) Patterns of differentiation in resting eggs banks of a rotifer species complex in Spain. *Arch. Hydrobiol.* 149: 529-551.
- Ortells R., Gomez A., Serra M. (2003) Coexistence of cryptic rotifer species: ecological and genetic characterisation of *Brachionus plicatilis*. *Freshwater Biology*, 48:2194-2202.
- Owen J.M., Adron J.W., Middleton C., Cowey C.B., (1975) Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot, *Scophthalmus maximus* L., and rainbow trout, *Salmo gairdnerii* Rich. *Lipids*, 10: 528-531.
- Pfeiffer T.J., Ludwig G.M., (2007) Small-scale system for the mass production of rotifers using alga past. *North American Journal of Aquaculture* 69: 239-243.
- Pourriot R. (1977) Food and feeding habits of Rotifera. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 8: 243-260.
- Rezeq T.A., James C.M. (1987) Production and nutritional quality of the rotifer *B.plicatilis* fed marine *Chlorella sp.* at different cell densities. *Hydrobiologia* 147: 257-261.
- Ricci C., Serra M., Snell T.W. (2000) Small, beautiful and sexy: what the rotifer tell us about ecology and evolution. *Trends Ecol. Evol.* 15: 220-221.
- Rico-Martinez R., Snell T.W. (1995) Mating behavior and mate recognition pheromone blocking of male receptors in *Brachionus plicatilis* Müller (Rotifera). *Hydrobiologia*, 313/314: 105-110.
- Rumengan I.F.M., Kayano H., Hirayama K. (1991) Karyotypes of S and L type rotifers *Brachionus plicatilis* O.F. Muller. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 154: 171-176.

- Ruttner-Kolisko A. (1974) Plankton Rotifers. Biology and Taxonomy. Binnengewasser 26, Suppl., Schweizerbarts'sche verlag., Stuttgart, 146p.
- Santangelo J.M., Rocha A.M., Bozelli R.L., Carneiro L.S., Esteves F.A. (2007) Zooplankton responses to sandbar opening in a tropical eutrophic coastal lagoon. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 71: 657-668.
- Sarma S.S.S., Fernandez-Araiza M.A., Nandini S. (1999) Competition between *Brachionus calyciflorus* Pallas and *Brachionus patulus* Muller (Rotifera) in relation to algal food concentration and initial population density. Aquatic Ecology, 33: 339-345.
- Sayegh F.A.Q., Radi N., Mantagnes D.J.S. (2007) Do strain differences in microalgae alter their relative quality as a food for the rotifer *Brachionus plicatilis*? Aquaculture 273: 678-665
- Scott A.P., Baynes S.M. (1978) Effect of alga diet and temperature on the biochemical composition of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. Aquaculture 14: 247-260.
- Scott A.P., Middleton L., (1979) Unicellular algae as a food for turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae. The importance of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids. Aquaculture, 18: 227-241.
- Segers H. (1995) Nomenclatural consequences of some recent studies on *Brachionus plicatilis* (Rotifera, Brachionidae). Hydrobiologia, 313/314: 121-122.
- Segers H. (2002) The nomenclature of the Rotifera: annotated checklist of valid family- and genus-group names. Journal of Natural History, 36: 631-640.
- Serra M., Miracle M.R. (1987) Biometric variation in three strains of *Brachionus plicatilis* as a direct response to abiotic variables. Hydrobiologia, 147: 83-89.

- Snell T.W. (1991) Improving the design of mass culture systems for the rotifer, *Brachionus plicatilis*. Rotifer and Microalgae culture systems. Proceeding of a U.S.-Asia workshop, Honolulu, Hawaii, pp. 61-71.
- Snell T.W., Kubanek J., Carter W., Payne A.B., Kim J., Hicks M.K., Stelzer C.P. (2006) A protein signal triggers sexual reproduction in *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Marine Biology*, 149: 763-773.
- Sorensen M.V. (2002) On the evolution and morphology of the rotiferan trophi, with a cladistic analysis of Rotifera. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 40: 129-154.
- Srivastava A., Hamre K., Stoss J., Chakrabarti R., Tonheim S.K. (2006) Protein content and amino acid composition of the live feed rotifer (*Brachionus plicatilis*): With emphasis on the water soluble fraction. *Aquaculture*, 254: 534-543.
- Starkweather P.L. (1980) Aspects of the feeding behaviour and trophic ecology of suspension-feeding rotifers. *Hydrobiologia* 73:63-72.
- Suantika G., Dhert P., Nurhudah M., Sorgeloos P. (2000) High-density production of the rotifer *Brachionus plicatilis* in a recirculation system: consideration of water quality, zootechnical and nutritional aspects. *Aquacultural Engineering*, 21: 201-214.
- Tamaru C.S., Murashige R., Lee C.- S., Ako H., Sato V. (1993) Rotifers fed various diets of baker's yeast and/or *Nannochloropsis oculata* and their effect on the growth and survival of striped mullet (*Mugil cephalus*) and milkfish (*Chanos chanos*) larvae. *Aquaculture* 110:361-372.

- Theilacker G.H., Mc Master M.F. (1971) Mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its evaluation as a food for larval anchovies. *Marine Biology*, 10: 183-188.
- Vadstein O., Øie G., Oslen Y. (1993) Particle size dependent feeding by the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia* 255/256: 261-267.
- Walker K.F. (1981) A synopsis of ecological information on the saline lake rotifer *Brachionus plicatilis* Müller 1786. *Hydrobiologia* 81: 159-167.
- Wallace R.L., Colburn R.A. (1989) Phylogenetic relationships within phylum Rotifera: orders and genus Notholca. *Hydrobiologia*, 186/187: 311-318.
- Wallace R.L. (2002) Rotifers: Exquisite metazoans. *Integrative and Comparative Biology*, 42: 660-667.
- Wallace R.L., Snell T.W., Ricci C., Nogrady T. (2006) Volume 1: Biology, ecology and systematics, 2nd edition, In: H. Segers (ed.) *Rotifera*, Backhuys publishers, Leiden, The Netherlands, 299 p.
- Watanabe T. (1979) Nutritional quality of living feeds used in seed production of fish. *Proc. 7th Japan-Soviet Joint Symp. Aquaculture*, Sept. 1978, Tokyo, pp. 49-66
- Watanabe T., Kitajima C., Fujita, S. (1983) Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture* 34, 115–143.
- WWW. F.A.O. com.
- Yoshimura K., Usuki K., Yoshimatsu T., Kitajima C., Hagiwara A. (1997) Recent development of a high density mass culture system for the rotifer *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff. *Hydrobiologia*, 358: 139-144.

Yoshimura K., Tanaka K., Yoshimatsu T. (2003) A novel culture system for the ultrahigh-density production of the rotifer *Brachionus rotundiformis* - a preliminary report. *Aquaculture*, 227: 165-172.

Ελληνική βιβλιογραφία

Κουτρουβέλης Ι. (2000) Σχεδιασμός και ανάλυση πειραμάτων τόμος Β΄ Πολυτεχνική Σχολή Πανεπιστήμιο Πατρών.

6. Abstract

The present study deals with the population dynamics of rotifer *Brachionus*, with regards to the type of food, salinity and temperature. This rotifer belongs to the *B.plicatilis* species complex, which is used in aquaculture farms as food for fish larvae. For this reason, the types of food those were chosen for the present study come from common aquaculture practices and differing in biochemical composition and energy content. The two food types are a lipid and energy-rich food source (Culture Selco Plus, Chlorella Docosa) and the third (phytoplankton-Saccharomyces cerevisiae) has a higher protein to lipid ration. A protocol was devised, concerning all those parameters (food, salinity, temperature) were included in the experimental design, according to which is used in the aquacultures, so as to test for possible influence on the population dynamics of rotifer.

The dynamics of the rotifer were analyzed by means of population structure analysis. Measurements were made of growth rate, the number of rotifers and the eggs per individual. Measurements were taken every day in order to obtain a comprehensive rotifer dynamics. The influence of the three types of food the salinity the temperature and the span of the culture were examined at the population level, taking into consideration the quantitative characteristics.

The results of the first experiment indicated that the lipid-rich food had a positive influence on the population growth rate of the rotifer parthenogenetic reproduction, compared to the food having a higher protein-to-lipid ration. The attainment of the higher growth rate was attributed to the composition of the feed. The higher lipid content favored rotifer parthenogenetic reproduction. The structure of the population reinforced this finding, the population which feeding with Culture Selco

Plus had a higher ($P < 0,005$) abundance of females carrying one or more eggs in comparison to the population which feeding with alga and yeast. According to the obtain results, the lipid-rich populations directed more energy into reproduction, production at a higher rate eggs. On the other hand, the experiment revealed that the salinity did not influence the growth rate of the population.

In the second experiment there were no significant differences in the rotifer production concerning the influences of the three type of food in a range of temperatures. The highest population growth rate was reached by rotifers cultured in higher temperature (27°C and 24°C) than in lower (21°C). Both of the experiments indicated that the growth rate was higher on the third day. This was attributed to the positive influence of the days' number and the growth rate of the population.