

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

**«Υδατοκαλλιέργειες» -
«Παθολογικά Προβλήματα Εκτρεφόμενων Υδρόβιων Οργανισμών»**

ΣΕ ΣΥΜΠΡΑΞΗ ΜΕ ΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΧΘΥΟΚΟΜΙΑΣ-ΑΛΙΕΙΑΣ ΤΟΥ Τ.Ε.Ι. ΗΠΕΙΡΟΥ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

«Χορήγηση μικροδιαίτων (microdiets) σε προνύμφες τσιπούρας (*Sparus aurata*) και εκτίμηση της καταλληλότητάς τους σε πραγματικές συνθήκες εκτροφής στον Ελληνικό χώρο»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΣ ΦΟΙΤΗΤΗΣ

Γεώργιος Μπενέκος

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Παναγιώτης Πανταζής

ΗΓΟΥΜΕΝΙΤΣΑ 2010



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

POSTGRADUATE STUDIES PROGRAM

“Aquaculture” – “Aquatic Animal Health”

***IN COLLABORATION WITH
THE DEPARTMENT OF AQUACULTURE & FISHERIES, TEI OF EPIRUS***

Thesis:

“Use and evaluation of microdiets in larval stages of sea bream (*Sparus aurata*) in large scale production in Greece”

POSTGRADUATE STUDENT

George Mpenekos

SUPERVISOR

Panagiotis Pantazis

HGOUMENITSA 2010

στον πατέρα μου
που μας άφησε νωρίς...

στη μητέρα μου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε σε έναν εμπορικό ιχθυογεννητικό σταθμό, στο πλαίσιο του μεταπτυχιακού προγράμματος: **«Υδατοκαλλιέργειες» - «Παθολογικά Προβλήματα Εκτρεφόμενων Υδρόβιων Οργανισμών»**, του Τμήματος κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας σε σύμπραξη με το Τμήμα Ιχθυοκομίας-Αλιείας του Τ.Ε.Ι. Ηπείρου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή της παρούσας εργασίας Λέκτορα Δρ. Πανταζή Παναγιώτη, για την επιστημονική του καθοδήγηση, τις συμβουλές και τη βοήθεια του, την υπομονή του και την υποστήριξη του, που μου πρόσφερε καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής αλλά και συγγραφής της εργασίας.

Πολλές ευχαριστίες θα ήθελα να δώσω στους φίλους και συναδέλφους μου, οι οποίοι με βοήθησαν κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια Αθανασοπούλου Φωτεινή και τον Ιχθυολόγο ΝΑΘ Δρ. Περδικάρη Κωνσταντίνο, μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής.

Ένα τεράστιο ευχαριστώ στην οικογένεια μου, η οποία με ώθησε να ξεκινήσω αυτό το μεταπτυχιακό πρόγραμμα και η οποία με στήριξε και με ανέχτηκε από την αρχή μέχρι το τέλος αυτής της προσπάθειας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A/A	Τίτλος	Σελίδα
A	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
B	ABSTRACT	7
1	Εισαγωγή	8
1.1.	Γενικά για τις θαλάσσιες μεσογειακές υδατοκαλλιέργειες	8
1.2.	Το είδος <i>Sparus aurata</i> (Linnaeus, 1758)	10
1.2.1.	Ταξινομική κατάταξη και γεωγραφική εξάπλωση	10
1.2.2.	Αναπτυξιακά στάδια - μορφολογία - ανατομία	12
1.2.3.	Κρίσιμες παράμετροι στην εντατική εκτροφή	16
1.2.4.	Διατροφικές απαιτήσεις των ιχθυονυμφών τσιπούρας	18
1.3.	Αντικατάσταση των ζωντανών τροφών με τεχνητά σιτηρέσια στην διατροφή προνυμφών τσιπούρας	23
1.4.	Σκοπός της εργασίας	25
2	Υλικά και Μέθοδοι	26
2.1.	Πειραματικό υλικό	26
2.2.	Σύστημα εκτροφής	26
2.3.	Συνθήκες εκτροφής	29
2.3.1.	Νερό	29
2.3.2.	Φωτισμός	30
2.3.3.	Αερισμός	31
2.3.4.	Πλαγκτονικοί οργανισμοί που χρησιμοποιήθηκαν	31
2.4.	Διατροφή ιχθυονυμφών	33
2.4.1.	Χορήγηση της «ζωντανής» τροφής	33
2.4.2.	Δειγματοληψία και καταμέτρηση της συγκέντρωσης των πλαγκτονικών οργανισμών	35
2.5.	Τεχνητή τροφή και αποκοπή	35
2.6.	Παράμετροι που ελέγχθηκαν κατά τη μελέτη	39
2.7.	Ανάλυση αποτελεσμάτων	40
3	Αποτελέσματα	42
3.1.	Μετρήσεις φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού	42
3.2.	Επιβίωση	44
3.3.	Αποτελέσματα πειραματικού πληθυσμού	44
3.4.	Σχέση μήκους-βάρους	47
4	Συζήτηση - Συμπεράσματα	48
5	Βιβλιογραφία	50
5.1.	Ξένη βιβλιογραφία	50
5.2.	Ελληνική βιβλιογραφία	55
5.3.	Ηλεκτρονική βιβλιογραφία	56

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η τσιπούρα είναι το είδος που θεωρείται οργανισμός μοντέλο και μεγάλης οικονομικής σημασίας για τη Μεσογειακή ιχθυοκαλλιέργεια. Ο μεγάλος ανταγωνισμός μεταξύ των εταιριών παραγωγής γόνου τσιπούρας ωθεί στη μείωση του κόστους παραγωγής του. Ωστόσο, οι ζωντανές τροφές που χρησιμοποιούνται στην εκτροφή των νυμφών τσιπούρας είναι δαπανηρές, απαιτούν εντατική και δαπανηρή εργασία, αλλά και δεν έχουν σταθερή διαθεσιμότητα και ποιότητα. Αυτό επιβάλλει τη μερική ή πλήρη αντικατάσταση των ζωντανών τροφών με τεχνητά σιτηρέσια.

Αντικείμενο της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη χορήγησης μικροδιαίτων (microdiets) σε προνύμφες τσιπούρας (*Sparus aurata*), με σκοπό την «πρόωρη» αντικατάσταση των ζωντανών τροφών (αποκοπή) και την εκτίμηση της καταλληλότητάς τους σε πραγματικές συνθήκες εκτροφής στον ελληνικό χώρο.

Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε παραγωγή δώδεκα πληθυσμών τσιπούρας σε τέσσερις ομάδες. Η κάθε ομάδα αποτελούνταν από τρεις πληθυσμούς και σε κάθε ομάδα χρησιμοποιήθηκε διαφορετικό πρόγραμμα αντικατάστασης των ζωντανών τροφών με τεχνητή.

Το αποτέλεσμα του πειράματος για την «πρόωρη» αντικατάσταση των ζωντανών τροφών ήταν επιτυχημένο, σύμφωνα με τα ποσοστά επιβίωσης. Ωστόσο, η ανάπτυξη των νυμφών ήταν μικρότερη σε σχέση με τον όψιμο απογαλακτισμό. Οπότε, συνυπολογίζοντας την αύξηση των νυμφών και το κόστος των τροφών (ζωντανών και τεχνητών), συμπεραίνεται ότι ο πρόωρος απογαλακτισμός είναι πιο επικερδής για μια εταιρία παραγωγής γόνου τσιπούρας.

ABSTRACT

Sea bream is considered to be a model organism and of high economic importance for the Mediterranean aquaculture. Competition between companies producing juveniles leads to a decrease in the production cost. Live feed used in larval stages is expensive, needs a lot of effort to be produced and their quality and quantity are unstable. Partial or complete substitution of live feed with artificial feed could be a solution.

In this study microdiets are used in order to replace earlier live feed in sea bream larvae (*Sparus aurata*) cultivation. The performance of microdiets is investigated in large scale cultivation in a commercial hatchery in Greece.

12 different populations were produced in total in order to use 4 groups of different diet schedules.

According to the survival rates the results show a successful early replacement of live feed. On the other hand larvae fed live feed for longer period had a better growth rate. Finally, after considering factors such as growth rate, survival rate, cost of live feed and cost of artificial feed we assume that early replacement of live feed is the best practice for a commercial hatchery of sea bream.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1.1. Γενικά για τις θαλάσσιες μεσογειακές υδατοκαλλιέργειες

Η λεκάνη της Μεσογείου έχει μακρόχρονη παρουσία σε δραστηριότητες που σχετίζονται με τις υδατοκαλλιέργειες. Υπάρχουν ήδη ενδείξεις από την εποχή των Αιγυπτίων όπως μαρτυρούν τοιχογραφίες ηλικίας 2.500 ετών. Οι εκτατικές θαλάσσιες υδατοκαλλιέργειες αναπτύχθηκαν κατά τον 6 αιώνα π.Χ. και περιελάμβαναν είδη όπως η τσιπούρα, το λαβράκι καθώς και τα οστρακοειδή. Το τέλος της Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας σηματοδότησε την εξαφάνισή τους. Μόνο κατά το 12ο αιώνα μ.Χ. άρχισε να ανακάμπτει και πάλι αυτή η δραστηριότητα για τα είδη των γλυκών νερών. Κατά το 19ο αιώνα η οστρακοκαλλιέργεια αποτελούσε συνήθη πρακτική στη δυτική Μεσόγειο και την Αδριατική (Γλυνάτση, 2008).

Η παράδοση σε αυτή τη δραστηριότητα σε συνάρτηση με τις ξεχωριστές οικολογικές συνθήκες της περιοχής ευνόησαν την ευρεία ανάπτυξη της σύγχρονης θαλάσσιας μεσογειακής υδατοκαλλιέργειας που έχει ζωή τρεις μόλις δεκαετίες. Σήμερα οι περισσότερες χώρες που βρέχονται από τη Μεσόγειο εμπλέκονται σε αυτόν τον παραγωγικό τομέα. Γενικά, η Μεσογειακή υδατοκαλλιέργεια παρουσιάζει δυναμική πορεία με μέσο ρυθμό ανάπτυξης 7,1% για το διάστημα 1990-2000 (ειδικά για τις ιχθυοκαλλιέργειες ο ρυθμός αύξησης αγγίζει το 25,7%) και ετήσιο ρυθμό αύξησης που μεταβλήθηκε από 4% σε 13% στη διάρκεια είκοσι ετών (Γλυνάτση, 2008).

Η παραγωγή ιχθύων είχε θεαματική αύξηση ειδικά μετά την άνθηση των υδατοκαλλιεργειών σε Ελλάδα και Τουρκία κατά την προηγούμενη δεκαετία

(παραγωγή τσιπούρας και λαβρακίου κυρίως). Η ανάλυση του ρυθμού αύξησης μεταξύ των ετών 1992 και 2001 καταδεικνύει πως η Ελλάδα και η Τουρκία κατέχουν από τις πρώτες θέσεις. Η παραγωγή τσιπούρας και λαβρακίου ανήλθε σε 243.000 τόνους το 2008 με τη χώρα μας να κατέχει το 40% του συνόλου (σε παγκόσμιο επίπεδο) (Globefish, 2009) (Εικόνα 1).

**Παραγωγή
Λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*): Παγκόσμια**

	2003	2004	2005	2006	2007	2008
	(1000 τόνοι)					
ΕΛΛΑΔΑ	25.4	30.0	36.0	40.0	29.0	35.0
ΤΟΥΡΚΙΑ	15.0	17.0	21.1	30.0	35.0	38.0
ΙΤΑΛΙΑ	8.9	9.0	8.6	9.1	9.2	9.8
ΓΑΛΛΙΑ	3.7	4.0	4.3	5.6	4.6	4.0
ΙΣΠΑΝΙΑ	4.5	4.7	5.5	8.9	10.6	11.8
ΑΙΓΥΠΤΟΣ	3.2	2.8	5.3	2.1	2.6	2.6
ΚΡΟΑΤΙΑ	1.8	1.6	1.9	1.6	1.8	2.0
ΠΟΡΤΟΓΑΛΙΑ	1.5	1.5	1.5	1.4	1.4	1.4
ΤΥΝΗΣΙΑ	0.5	0.5	0.6	0.5	0.8	0.8
ΑΛΛΕΣ	5.5	0.7	0.7	0.6	0.6	0.5
ΣΥΝΟΛΙΚΑ	70.0	71.8	85.5	99.8	95.6	105.9

Πηγή: FAO/AQUAMEDA (για το 2007 και 2008)

**Παραγωγή
Τσιπούρα (*Sparus aurata*): Παγκόσμια**

	2003	2004	2005	2006	2007	2008
	(1000 τόνοι)					
ΕΛΛΑΔΑ	49.0	46.0	44.0	60.0	43.0	60.0
ΤΟΥΡΚΙΑ	12.0	13.9	17.5	22.5	24.0	27.0
ΙΣΠΑΝΙΑ	12.4	13.0	15.6	20.2	23.0	25.0
ΙΤΑΛΙΑ	7.8	8.5	8.5	8.9	9.0	10.0
ΑΙΓΥΠΤΟΣ	3.8	3.8	5.7	3.0	4.1	4.1
ΙΣΡΑΗΛ	2.5	2.9	3.4	2.8	2.9	2.9
ΠΟΡΤΟΓΑΛΙΑ	2.5	2.5	2.5	1.6	1.6	2.0
ΚΡΟΑΤΙΑ	0.7	0.8	1.1	1.0	1.2	1.5
ΓΑΛΛΙΑ	1.1	1.6	1.9	2.2	1.5	1.7
ΑΛΛΕΣ	2.0	2.2	2.6	2.8	3.1	3.0
ΣΥΝΟΛΙΚΑ	93.8	95.2	102.8	125.0	113.4	137.2

Πηγή: FAO/AQUAMEDA (για το 2007 και 2008)

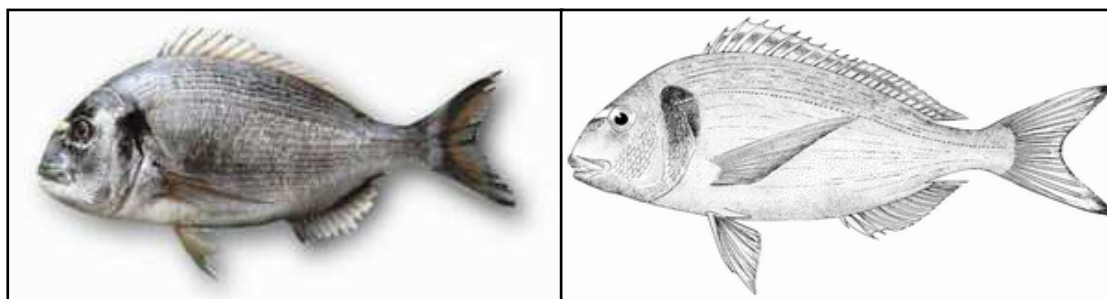
Εικόνα 1. Εξέλιξη της παραγωγής λαβρακιού και τσιπούρας σε παγκόσμιο επίπεδο μέχρι και το έτος 2008

Η ταχεία αύξηση στην παραγωγή ιχθυδίων επιτεύχθηκε χάρη τόσο στην πρόοδο των τεχνικών μέσων όσο και σε επενδύσεις σε μεγαλύτερο αριθμό μονάδων παραγωγής γόνου (εκκολαπτήρια). Εκτιμάται πως λειτουργούν περίπου 90 εκκολαπτήρια τσιπούρας και λαβρακιού στην Ευρώπη τα οποία παράγουν 1-5 εκατομμύρια ιχθυδίων ανά έτος. Επιπλέον, υπάρχουν γύρω στις 10 μονάδες που ειδικεύονται σε μεγαλύτερης κλίμακας παραγωγή (>10 εκατομμύρια ιχθυδίων ανά έτος) και πώλησή τους (Γλυνάτση, 2008).

1.2. Το είδος *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758)

1.2.1. Ταξινόμική κατάταξη και γεωγραφική εξάπλωση

«Τσιπούρα» είναι η κοινή ονομασία του *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758) που χρησιμοποιείται στην Ελλάδα, ενώ στις Αγγλόφωνες χώρες είναι γνωστό ως "Gilthead seabream" (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Η Τσιπούρα, *Sparus aurata*

Η συστηματική κατάταξη της τσιπούρας είναι η ακόλουθη:

Υπόφυλο	Σπονδυλόζωα
Ομοταξία	Οστεϊχθύες
Υφομοταξία	Ακτινοπτερύγιοι
Υπερτάξη	Τελεόστεοι
Τάξη	Περκόμορφοι
Υπόταξη	Περκοειδείς

Οικογένεια	Sparidae
Γένος	<i>Sparus</i>
Είδος	<i>aurata</i>

Η τσιπούρα είναι ένα είδος με ευρεία εξάπλωση, κοινό στη Μεσόγειο, στην Αδριατική θάλασσα και στον Ατλαντικό ωκεανό, όπου απαντάται από τα Βρετανικά νησιά ως το Cape Verde ενώ συναντάται σπάνια στη Μαύρη θάλασσα. Πρόκειται για μοναχικό είδος που σπάνια σχηματίζει μικρές ομάδες. Κατανέμεται σε παράκτιες περιοχές, κοντά σε αμμώδεις βυθούς και λιβάδια ποσειδωνία (*Posidonia oceanica*). Τα ιχθύδια ζουν σε βάθη 30 μέτρων ενώ τα ενήλικα άτομα κατεβαίνουν μέχρι τα 150 μέτρα. Είναι ψάρι ευρύαλο και ευρύθερμο, του οποίου η διατροφή στηρίζεται σε δίθυρα, καρκινοειδή και ψάρια (Szisch, 2003).

Η τσιπούρα είναι πρώτανδρο ερμαφρόδιτο είδος και στο φυσικό της περιβάλλον αναπαράγεται τους φθινοπωρινούς μήνες, από Οκτώβριο έως Δεκέμβριο (Szisch, 2003). Σε ηλικία δύο ετών και μήκος 20-30 cm, φτάνουν τα αρσενικά άτομα στην πρώτη αναπαραγωγική ωριμότητα, που ακολουθείται από την αναστροφή του φύλου. Τα θηλυκά άτομα με τη σειρά τους ωριμάζουν σεξουαλικά στα τρία περίπου χρόνια (μήκος σώματος 33-40 cm) (Szisch, 2003).

Η τσιπούρα είναι ένα είδος με υψηλή οικονομική σημασία ιδιαίτερα στο Μεσογειακό χώρο. Το γεγονός αυτό οδήγησε σε εκτενείς μελέτες όσον αφορά στη βιολογία της. Η εκτροφή της τσιπούρας άρχισε στις αρχές της δεκαετίας του 1980 και οι εργασίες που παρουσιάστηκαν (Szisch, 2003), αποτέλεσαν τη βάση για την αλματώδη ανάπτυξη της δραστηριότητας σε εμπορική κλίμακα. Το 1998 η παραγωγή τσιπούρας στην περιοχή της Μεσογείου έφτασε τα 163 εκατομμύρια ιχθύδια και τους 39.200 τόνους. Τα αποτελέσματα αυτά οφείλονται στην ανάπτυξη αποτελεσματικών τεχνικών και μεθοδολογιών εκτροφής ιδιαίτερα κατά τα πρώτα αναπτυξιακά στάδια (Szisch, 2003). Όμως, παρά την υψηλή παραγωγή των τελευταίων χρόνων, η εκτροφή

στα αρχικά στάδια της ζωής των ατόμων, ιδιαίτερα κάτω από εντατικές συνθήκες, παραμένει δραστηριότητα δύσκολη και άνθρωπο-εξαρτώμενη (Szisch, 2003). Η υψηλή παραγωγή που παρατηρείται σε βιομηχανική κλίμακα δεν οφείλεται στον πλήρη έλεγχο μιας εντατικής παραγωγικής διαδικασίας, αλλά στην εφαρμογή ημι-εντατικών τεχνολογιών εκτροφής και στη δυνατότητα επαναλήψεων της διαδικασίας που προσφέρει ο έλεγχος της αναπαραγωγής (Παπανδρουλάκης, 2000). Για τη διατήρηση της ανταγωνιστικότητας και αποδοτικότητας της δραστηριότητας αυτής, δημιουργείται επομένως η ανάγκη για τη χρησιμοποίηση νέων μεθόδων διαχείρισης των μονάδων και την ελεγχόμενη από υπολογιστές (αυτοματοποιημένη) πραγματοποίηση διαφόρων εργασιών (Παπανδρουλάκης, κ. α. 1998). Η αυτοματοποίηση όμως της διαδικασίας εκτροφής προϋποθέτει την καλή γνώση και κατανόηση των μηχανισμών που επηρεάζουν την ανάπτυξη και την επιβίωση των ατόμων.

1.2.2. Αναπτυξιακά στάδια - μορφολογία – ανατομία

Εμβρυϊκό στάδιο

Τα ωάρια της τσιπούρας έχουν σχήμα σφαιρικό και είναι διαφανή, τελολεκιθικά με άχρωμη και ομογενή λέκιθο. Διαθέτουν μία σταγόνα ελαίου, η οποία λίγη ώρα μετά την γονιμοποίηση, βρίσκεται στην περιφέρεια του ωαρίου. Σε θερμοκρασία 17°C, το στάδιο του εμβρύου (γονιμοποιημένο ωάριο μέχρι εκκόλαψη) διαρκεί περίπου 66 βαθμούς (Κουμουνδούρος, 1993; Polo *et al.*, 1991). Στο χρονικό διάστημα αυτό λαμβάνει χώρα η εμβρυογένεση και τα πιο σημαντικά αναπτυξιακά γεγονότα όσον αφορά στη μορφολογία είναι περιληπτικά τα εξής: ο σχηματισμός της νευρικής χορδής, της κεφαλής, των άχρωμων μη λειτουργικών ματιών, των σωματιών, των πρώτων χρωματοφόρων, της καρδιάς, της στοματικής κοιλότητας, των οσφρητικών λοβών, των ωτόλιθων και του αρχέγονου περιφερειακού

πτερυγίου (Κουμουνδούρος, 1993). Το στάδιο του εμβρύου τερματίζεται με την εκκόλαψη, κατά την οποία με τη βοήθεια ενζύμων που εκκρίνονται από την κεφαλή, διαλύεται τοπικά το χόριο και το σώμα της προνύμφης εξέρχεται με την ουρά προοδευτικά (Κουμουνδούρος, 1993).

Προνυμφικό στάδιο

Το προνυμφικό στάδιο αρχίζει αμέσως μετά την εκκόλαψη και διακρίνεται κυρίως από την ύπαρξη του λεκιθικού σάκου. Το στάδιο αυτό καλείται συχνά και αυτότροφο στάδιο, λόγω του ότι η προνύμφη τρέφεται αποκλειστικά από τη λέκιθο και σε πολύ μικρότερο βαθμό από τη σταγόνα ελαίου (Κουμουνδούρος, 1993).

Αμέσως μετά την εκκόλαψη οι προνύμφες της τσιπούρας φέρουν στο πρόσθιο κοιλιακό μέρος το λεκιθικό σάκο, που περιέχει τα λεκιθικά αποθέματα και τη σταγόνα ελαίου (Εικόνα 2). Οι οφθαλμοί είναι άχρωμοι και μη λειτουργικοί και το στόμα είναι κλειστό. Η καρδιά, που είναι ήδη λειτουργική, είναι τοποθετημένη στο πρόσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου. Το σώμα περιβάλλεται από το αρχέγονο περιφερειακό πτερύγιο. Κατά την ανάπτυξη των προνυμφών η έδρα αποκολλάται από το λεκιθικό σάκο και τα θωρακικά πτερύγια αναπτύσσονται πλήρως. Το έντερο κάμπτεται, σχηματίζοντας στη συνέχεια το στομάχι. Επίσης παρατηρείται ο σχηματισμός του ήπατος και το άνοιγμα του στόματος και της έδρας. Οι προνύμφες τσιπούρας έχουν δύο τύπους χρωματοφόρων κυττάρων, τα μελανοφόρα και τα ξανθοφόρα. Το πρότυπο αυτών των κυττάρων, κυρίως των μελανοφόρων, δεν είναι σταθερό, αλλά μεταβάλλεται με την εξέλιξη της γενικής μορφολογίας. Ο έντονος μαύρος χρωματισμός των ματιών στο τέλος αυτού του σταδίου μαζί με τα αναφερόμενα χαρακτηριστικά σηματοδοτεί το τέλος του αυτότροφου σταδίου και την έναρξη του ετερότροφου σταδίου όπου οι νύμφες έχουν περάσει σε εξωγενή

διατροφή (δηλ. εξωγενούς προέλευσης πηγές ενέργειας και θρεπτικών συστατικών)
(Εικόνα 3) (Κουμουνδούρος, 1993).



Εικόνα 2: Προνύμφη τσιπούρας αμέσως μετά την εκκόλαψη



Εικόνα 3: Προνύμφη τσιπούρας στο τέλος του αυτότροφου σταδίου, λίγο πριν από το πρώτο τάισμα

Νυμφικό στάδιο

Το νυμφικό στάδιο περιλαμβάνει τη φάση της μεταμόρφωσης, κατά την οποία οι νύμφες μετατρέπονται σε ιχθύδια, δηλαδή στην ανήλικη μορφή των ατόμων (Κουμουνδούρος, 1993). Αυτή η μετάβαση χαρακτηρίζεται από πληθώρα μορφολογικών και φυσιολογικών αλλαγών, όπως είναι για παράδειγμα ο σχηματισμός πτερυγίων, λεπιών και εσωτερικών οργάνων και οδηγεί στη διαδοχική μορφολογική και φυσιολογική ολοκλήρωση του ανηλικού ατόμου. Η μεταμόρφωση εκδηλώνεται ποσοτικά με την προοδευτική αλλαγή των μορφομετρικών αναλογιών καθώς αυξάνεται το ολικό μήκος σώματος (Κουμουνδούρος, 1993). Το νυμφικό

στάδιο ταυτίζεται με αυτό του ετερότροφου, μία που οι νύμφες έχουν περάσει τώρα σε εξωτερικές πηγές ενέργειας.

Η γενική μορφολογία των νυμφών της τσιπούρας στην αρχή του νυμφικού σταδίου είναι όμοια με την αντίστοιχη των ατόμων στο τέλος του προνυμφικού σταδίου. Η νηκτική κύστη είναι σχηματισμένη από την αρχή του νυμφικού σταδίου και είναι τοποθετημένη στο ραχιαίο μέρος της κοιλιακής περιοχής. Τα μοναδικά πτερύγια που φέρουν οι νύμφες στην αρχή είναι το αρχέγονο περιφερειακό και το ζεύγος των θωρακικών. Η σταγόνα ελαίου ελαττώνεται σταδιακά μέχρι που εξαφανίζεται πλήρως. Με την εξέλιξη του νυμφικού σταδίου παρατηρείται η προς τα πάνω κάμψη της νωτοχορδής (flexion) ως αποτέλεσμα της ανάπτυξης του υποουραίου συμπλέγματος (Εικόνα 4). Το αρχικά ενιαίο αρχέγονο περιφερειακό πτερύγιο χωρίζεται σε τρία τμήματα, όπου θα σχηματιστούν τα μόνα πτερύγια του σώματος (Εικόνα 5). Στο τέλος του νυμφικού σταδίου παρατηρείται ο σχηματισμός των λεπιών. Λίγο πριν σχηματιστούν τα λέπια, σε όλη την επιφάνεια του σώματος της νύμφης παρατηρούνται πιο άφθονα χρωματοφόρα κύτταρα, με αποτέλεσμα η νύμφη να μην είναι πλέον διαφανής (Εικόνα 6) (Κουμουνδούρος, 1993).



Εικόνα 4: Σχηματισμός των πρώτων ακτίνων της ουράς, της νηκτικής κύστης και κάμψη νωτοχορδής



Εικόνα 5: Ανάπτυξη του ραχιαίου και εδρικού πτερυγίου



Εικόνα 6: Σχηματισμός άφθονων χρωματοφόρων

1.2.3. Κρίσιμες παράμετροι στην εντατική εκτροφή

Η εκτροφή των αρχικών σταδίων της τσιπούρας πραγματοποιείται με διάφορες μεθοδολογίες που καλύπτουν όλο το φάσμα από τις εκτατικές μέχρι τις πλέον εντατικές μορφές. Η διάκριση των συνθηκών σε εκτατικές ή εντατικές γίνεται με βάση την αρχική ιχθυοφόρτιση των δεξαμενών εκτροφής, δηλαδή την αρχική πυκνότητα των ατόμων (Παπανδρουλάκης, 2000). Ως εντατικές συνθήκες χαρακτηρίζονται αυτές που παρουσιάζουν αρχική ιχθυοφόρτιση ίση με 100 περίπου άτομα ανά λίτρο νερού εκτροφής. Οι τεχνολογίες που χρησιμοποιούνται για εντατικές συνθήκες εκτροφής είναι δύο και διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τα χαρακτηριστικά του μέσου εκτροφής. Πρόκειται για τις τεχνολογίες του «καθαρού» και του «πράσινου» νερού που χαρακτηρίζονται αντίστοιχα από την απουσία ή παρουσία φυτοπλαγκτού στο μέσο εκτροφής. Στην πρώτη περίπτωση (τεχνολογία του «καθαρού» νερού) δεν προστίθεται φυτοπλαγκτόν στο μέσο εκτροφής (Παπανδρουλάκης, 2000). Στη δεύτερη περίπτωση, (τεχνολογία του «πράσινου» νερού) προστίθεται φυτοπλαγκτόν και μπορούν να διακριθούν επιμέρους

περιπτώσεις. Όταν εφαρμόστηκε για πρώτη φορά η τεχνολογία εκτροφής του «πράσινου» νερού οι συνθήκες εκτροφής των ιχθυονυμφών (ένταση φωτός) επέτρεπαν τον πολλαπλασιασμό των φυτοπλαγκτονικών κυττάρων (Παπανδρουλάκης, 2000) και η προσθήκη του φυτοπλαγκτού δεν ήταν απαραίτητο να γίνεται καθημερινά. Μία πρόσφατη εξέλιξη της τεχνολογίας είναι η μέθοδος του ψευδοπράσινου νερού (Divanach, κ. α., 1997) η οποία απαιτεί προσθήκη φυτοπλαγκτού σε ημερήσια βάση.

Η εντατική εκτροφή ιχθυονυμφών πραγματοποιείται κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες που αφορούν τόσο στο περιβάλλον της εκτροφής όσο και στο είδος και στην ποιότητα της χορηγούμενης τροφής.

Η τροφή που χρησιμοποιείται αποτελείται από ζωοπλαγκτονικούς οργανισμούς, τα τροχόζωα *Brachionus plicatilis* (Müller, 1786) και τα βραγχιονόποδα καρκινοειδή του γένους *Artemia*. Οι ζωοπλαγκτονικοί αυτοί οργανισμοί μπορούν να παραχθούν μαζικά αλλά δεν ικανοποιούν πλήρως τις διατροφικές απαιτήσεις των ιχθυονυμφών, δεδομένου ότι ζουν σε διαφορετικό φυσικό περιβάλλον από αυτό των εκτρεφόμενων ατόμων. Η επιβίωση και η ανάπτυξη των ιχθυονυμφών στα πρώιμα στάδια καθορίζεται, επομένως, από την προσαρμογή τους στις συνθήκες εκτροφής (Szisch, 2003). Σε πολλές περιπτώσεις, ακόμα και αν τα άτομα επιβιώσουν, παρουσιάζουν αναπτυξιακές ανωμαλίες και δυσμορφίες με αποτέλεσμα τη μειωμένη δυνατότητα ανάπτυξής τους ή την αδυναμία εμπορίας τους (Szisch, 2003).

Ο προσδιορισμός των παραμέτρων εκτροφής της τσιπούρας στα πρώτα αναπτυξιακά στάδια έχει αποτελέσει αντικείμενο εκτεταμένης μελέτης τα τελευταία χρόνια. Από μελέτες των Divanach (1985), Tandler *et al.*, (1989), και Polo *et al.*, (1991) έχουν καθοριστεί τα όρια των αβιοτικών παραμέτρων της εκτροφής

(θερμοκρασία, διαλυτό οξυγόνο, pH, ένταση φωτός, συγκεντρώσεις ιόντων αμμωνίου και νιτρωδών). Από τις τιμές των παραμέτρων αυτών εξαρτώνται όχι μόνο η ανάπτυξη και επιβίωση των ατόμων αλλά και η εμφάνιση ανωμαλιών που παρατηρούνται στα πρώτα αναπτυξιακά στάδια (Παπανδρουλάκης, 2000). Μεταξύ των αβιοτικών παραμέτρων, η διάρκεια της φωτεινής φάσης της ημέρας κατά την εκτροφή έχει αποδειχτεί ότι επηρεάζει τα αποτελέσματα που αφορούν στην ανάπτυξη και επιβίωση των εκτρεφόμενων πληθυσμών (Παπανδρουλάκης, 2000).

1.2.4. Διατροφικές απαιτήσεις των ιχθυονυμφών τσιπούρας

Οι ιχθυονύμφες τσιπούρας μετά την εκκόλαψη δεν έχουν ολοκληρώσει την ανάπτυξη τους και, καθώς δεν είναι ικανές να προσλάβουν εξωγενή τροφή, παραμένουν για μια περίοδο εξαρτώμενες από τα ενδογενή τους αποθέματα. Οι μελέτες για τον προσδιορισμό των ποιοτικών απαιτήσεων, για τα πρώτα αναπτυξιακά στάδια, βασίστηκαν στην υπόθεση ότι η καταλληλότερη δίαιτα θα πρέπει να προσεγγίζει τη σύνθεση της λεκίθου και της σταγόνας ελαίου, που καλύπτουν ικανοποιητικά τις μεταβολικές απαιτήσεις και αντικατοπτρίζουν τις τροφικές απαιτήσεις των ατόμων στα στάδια αυτά (Rainuzzo, 1993).

Οι πρώτες μελέτες για τον προσδιορισμό των τροφικών απαιτήσεων της τσιπούρας στα αρχικά στάδια της εκτροφής πραγματοποιήθηκαν από τους Kentouri, *et al.*, (1981), Kentouri, (1985), Kentouri and Divanach (1986). Από τις μελέτες αυτές προσδιορίστηκαν το μέγεθος και το είδος των ζωοπλαγκτονικών οργανισμών που μπορούν να αποτελέσουν τροφή των νεαρών ατόμων. Καθώς υπό εντατικές συνθήκες εκτροφής, η επιλογή που αφορά στο είδος των ζωοπλαγκτονικών οργανισμών είναι περιορισμένη, δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση στον ποιοτικό προσδιορισμό των διατροφικών απαιτήσεων των ατόμων. Μελετήθηκαν κυρίως οι απαιτήσεις των

ιχθυονομφών σε λιπαρά οξέα, θέμα που αποτέλεσε αντικείμενο για πληθώρα εργασιών την τελευταία δεκαετία (Koven, *et al.*, 1989; Koven, *et al.*, 1990; Sorgeloos and Leger, 1990; Mourente, *et al.*, 1993; Sorgeloos, 1993; Perez, *et al.*, 1994).

Πολλές μελέτες πραγματοποιήθηκαν με στόχο τον προσδιορισμό των προδιαγραφών της καταλληλότερης τροφής, οι οποίες οδήγησαν σε μεθοδολογίες εμπλουτισμού των ζωοπλαγκτονικών οργανισμών, με χρήση γαλακτωμάτων, ώστε να ικανοποιούνται οι διατροφικές απαιτήσεις των εκτρεφόμενων ατόμων (Watanabe, *et al.*, 1983; Kanazawa, 1985; Ben Amotz, *et al.*, 1987; Lavens, *et al.*, 1989; Rainuzzo, *et al.*, 1989; Caric, *et al.*, 1993; Dhert and Sorgeloos, 1995; Lavens, *et al.*, 1995).

Η εκτροφή ιχθυονομφών τσιπούρας, όμως, είναι μία διαδικασία που εξαρτάται από πολλές παραμέτρους. Πρόσφατες μελέτες, που αφορούσαν στην οντογένεση του πεπτικού συστήματος της τσιπούρας (Guyot, *et al.*, 1993; Sarasquete, *et al.*, 1993; Guyot, 1995; Sarasquete, *et al.*, 1995; Moyano, *et al.*, 1996), έδειξαν ότι η απορρόφηση των λιπιδίων από την εξωγενή τροφή περιορίζεται από την ανάπτυξη των πεπτικών ενζύμων, ιδιαίτερα τις πρώτες ημέρες της εξωγενούς θρέψης. Ο εμπλουτισμός επομένως των ζωοπλαγκτονικών οργανισμών με λιπίδια δεν αποτελεί το μοναδικό παράγοντα που καθορίζει την ανάπτυξη και επιβίωση των ατόμων, ιδιαίτερα στα αρχικά στάδια της εκτροφής. Τα τελευταία χρόνια, μελέτες αναφέρονται στο ρόλο των ελεύθερων αμινοξέων σαν πηγή ενέργειας κατά τα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια των ψαριών και στην αναγκαιότητα να συμπεριληφθούν στη δίαιτα εκτρεφόμενων ατόμων (Παπανδρουλάκης, 2000).

Η ανάπτυξη των ιχθυονομφών την περίοδο που εξαρτώνται από τα ενδογενή τους αποθέματα έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζεται άμεσα από τη διατροφή των γεννητόρων. Η διαπίστωση αυτή είχε ως αποτέλεσμα την πραγματοποίηση μελετών που οδήγησαν στην ανάπτυξη κατάλληλης δίαιτας για τη βελτίωσή της ποιότητας των

ωαρίων και των ιχθυονυμφών (Παπανδρουλάκης, 2000). Έχει μελετηθεί, επίσης, η δυνατότητα αντικατάστασης των ζωοπλαγκτονικών οργανισμών και η χορήγηση στις ιχθυονύμφες τσιπούρας αδρανούς διαίτας από την αρχή της εξωγενούς θρέψης (Παπανδρουλάκης, 2000).

Επιπλέον, πειραματικά αποτελέσματα έδειξαν ότι το μέσο εκτροφής επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη και επιβίωση των εκτρεφόμενων ατόμων. Συγκεκριμένα, προσθήκη γλυκόζης στο νερό των δεξαμενών εκτροφής έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της περιεκτικότητας του συκωτιού σε γλυκογόνο ενισχύοντας έτσι την ικανότητα επιβίωσης των ιχθυονυμφών σε συνθήκες έλλειψης τροφής (Παπανδρουλάκης, 2000). Ακόμα, η παρουσία φυτοπλαγκτού επηρεάζει θετικά τα αποτελέσματα της εκτροφής (Παπανδρουλάκης, 2000). Ένας ακόμη παράγοντας που αποδείχθηκε, από μελέτες για άλλα είδη, να επηρεάζει την πορεία της εκτροφής, κατά τα πρώτα αναπτυξιακά στάδια των ατόμων, είναι η σύνθεση και η σταθερότητα του βακτηριοπληθυσμού των δεξαμενών εκτροφής (Παπανδρουλάκης, 2000). Ο τρόπος όμως που οι παράμετροι αυτές επιδρούν στην ανάπτυξη και επιβίωση των εκτρεφόμενων πληθυσμών δεν είναι πλήρως γνωστός, ούτε όμως και οι ενδεχόμενες συσχετίσεις των διάφορων παραμέτρων.

Η μελέτη που σχετίζεται με τον ποσοτικό προσδιορισμό των ενεργειακών απαιτήσεων της τσιπούρας στα πρώτα στάδια, σε αντίθεση με την αντίστοιχη για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της τροφής, είναι περιορισμένη, παρά το γεγονός ότι η ανάπτυξη και η επιβίωση ενός πληθυσμού καθορίζονται από αυτές.

Οι ποσοτικές απαιτήσεις ατόμων τσιπούρας στα πρώτα στάδια μελετήθηκαν από την Kentouri (1985) σε συνθήκες εντατικής εκτροφής και προσδιορίστηκε ο ρυθμός κατανάλωσης ζωοπλαγκτονικών οργανισμών. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η κατανάλωση εξαρτάται από το είδος και τη διαθεσιμότητα της τροφής,

το μέγεθος και την κατάσταση του ατόμου, καθώς και το περιβάλλον της εκτροφής. Οι Tandler and Mason (1984) νωρίτερα είχαν επίσης ερευνήσει και παρακολουθήσει το ρυθμό κατανάλωσης τροχοζώων από ιχθυονύμφες τσιπούρας σε εργαστηριακή κλίμακα, σε σχέση με τη συγκέντρωση της τροφής. Με βάση τα πορίσματα τους κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι για να ικανοποιηθούν οι τροφικές απαιτήσεις των εκτρεφόμενων ατόμων η συγκέντρωση των τροχοζώων στη δεξαμενή εκτροφής θα πρέπει να είναι ιδιαίτερα υψηλή (περίπου 40 άτομα ml⁻¹). Η Ounais Guschemann (1989) παρατήρησε επιστημονικά το ρυθμό κατανάλωσης ζωοπλαγκτονικών οργανισμών από ιχθυονύμφες εκτρεφόμενες κάτω από εντατικές συνθήκες, όχι όμως για όλη τη διάρκεια της εκτροφής. Ακόμα, οι Yufera, *et al.* (1993a) υπολόγισαν το ρυθμό κατανάλωσης τροχοζώων από ιχθυονύμφες ηλικίας 5 και 15 ημερών μετά την εκκόλαψη. Οι Yufera, *et al.*, (1995) τέλος, μελέτησαν την κατανάλωση ατόμων που εκτρέφονταν με ξηρή τροφή.

Όμως η συνεχής εξέλιξη των εφαρμοζόμενων τεχνολογιών εκτροφής και η βελτίωση των μεθόδων εμπλουτισμού των ζωοπλαγκτονικών οργανισμών, παράγοντες που επηρεάζουν τις ποσοτικές απαιτήσεις των ιχθυονυμφών, επιβάλλουν τη συνεχή προσαρμογή των αποτελεσμάτων αυτών ώστε να είναι δυνατή η εφαρμογή τους σε παραγωγικά εκκολαπτήρια.

Το άνοιγμα του στόματος της τσιπούρας καθορίζει το μέγεθος της τροφής που μπορεί να προσλάβει και ως εκ τούτου αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για την επιλογή των θηραμάτων. Παράλληλα, η ανάπτυξη του πεπτικού της συστήματος και, κυρίως, η παρουσία πεπτικών ενζύμων, καθορίζει την ποιότητα της τροφής όσον αφορά την περιεκτικότητά της σε λίπη, πρωτεΐνες και υδατάνθρακες (Παπανδρουλάκης, 2000).

Κατά τις πρώτες ημέρες λήψης εξωγενούς τροφής οι ιχθυονύμφες, μεγέθους περίπου 3,7 – 4 mm, έχουν άνοιγμα στόματος 250 – 270 μm (Παπανδρουλάκης, 2000) και δύνανται να καταναλώσουν τροχόζωα *Brachionus plicatilis* μεγέθους περίπου 100 μm. Η χορήγηση της τροφής γίνεται, μετά από παρατήρηση ατόμων κάτω από στερεοσκόπιο, εφόσον το στόμα τους είναι ανοικτό, τα μάτια τους λειτουργικά (σκούρο μαύρο χρώμα) και ο περισταλτισμός του στομάχου εμφανής. Στο στάδιο αυτό το στομάχι έχει σχηματισθεί αλλά παραμένει άδειο με τα τοιχώματα του ενωμένα. Κάτω από στερεοσκόπιο η εικόνα που εμφανίζει, παρουσιάζει μία περιοχή στο κέντρο επίπεδη και περισσότερο «φωτεινή». Σε αντίθεση βρίσκεται η εικόνα που παρατηρείται μετά από κατάποση νερού διότι δεν παρουσιάζει αυτή την περιοχή.

Σε περίπτωση που η χορήγηση της τροφής πραγματοποιηθεί ενώ οι ιχθυονύμφες δεν είναι ακόμα έτοιμες να τη δεχθούν, τότε, λόγω των επιβαλλόμενων αλλαγών στις φυσικοχημικές συνθήκες της δεξαμενής (φωτισμός, αερισμός, ρυθμός κυκλοφορίας του νερού), οι ιχθυονύμφες καταπονούνται και καθιζάνουν στον πυθμένα της δεξαμενής, όπου και πεθαίνουν. Αντίστοιχη παρατήρηση, έχει επισημανθεί από τους Yuferra et al., (1993b), χωρίς όμως να προσδιορίζονται τα αίτια.

Κατά τις πρώτες ημέρες της διατροφής οι ιχθυονύμφες έχουν μικτή διατροφή, καθώς καταναλώνουν, παράλληλα με τους ζωοπλακτονικούς οργανισμούς, τα λιπιδικά αποθέματα που διαθέτουν. Λόγω της ατελούς ανάπτυξης του πεπτικού συστήματος, η απορρόφηση των λιπών, που προέρχονται από την τροφή, δεν είναι εύκολη (Παπανδρουλάκης, 2000) σε αντίθεση με τους υδατάνθρακες και τις πρωτεΐνες (Παπανδρουλάκης, 2000).

Η ικανότητα θήρευσης των ιχθυονυμφών εξελίσσεται παράλληλα με την ανάπτυξή τους και επηρεάζεται από τη συγκέντρωση των θηραμάτων

(Παπανδρουλάκης, 2000). Η χορήγηση των ζωοπλακτονικών οργανισμών γίνεται με συχνότητα τέτοια ώστε να επιτυγχάνεται η διατήρηση της συγκέντρωσής τους στο περιβάλλον διαβίωσης των ιχθυονυμφών σε τιμές βέλτιστες για αυτές.

1.3. Αντικατάσταση των ζωντανών τροφών με τεχνητά σιτηρέσια στην διατροφή προνυμφών τσιπούρας

Υπάρχει έντονο ενδιαφέρον για αντικατάσταση των ζωντανών τροφών με τεχνητά σιτηρέσια, καθώς οι πρώτες όχι μόνο απαιτούν εντατική και δαπανηρή εργασία, αλλά και δεν έχουν σταθερή ποιότητα. Επιπλέον, η διαθεσιμότητα των κύστεων της *Artemia* στη διεθνή αγορά παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις, με ανάλογες επιπτώσεις στο κόστος αγοράς τους. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί τεχνητές τροφές, οι οποίες μπορούν να συμπληρώσουν ή να αντικαταστήσουν την *Artemia* από το πρώτο εικοσαήμερο της καλλιέργειας (Κλαδάς, 2006).

Η διαδικασία «περάσματος» από ζωντανά θηράματα σε τεχνητά σιτηρέσια συνηθίζεται να ονομάζεται «αποκοπή» ή «απογαλακτισμός» (weaning). Συνήθως η διαδικασία της αποκοπής αρχίζει με τη σταδιακή μείωση των γευμάτων *Artemia*, ενώ παράλληλα ξεκινά η χορήγηση ξηρής τροφής. Από την 50^η ημέρα οι ποσότητες της *Artemia* μειώνονται συνεχώς, ενώ ελέγχεται η κατανάλωση της ξηρής τροφής. Η πλήρης αποκοπή τους επιτυγχάνεται συνήθως από την 60^η ως την 65^η περίπου ημέρα της ζωής των νυμφών (Κλαδάς, 2006).

Τα προβλήματα που συνδέονται με την αποκοπή διακρίνονται σε δυο κατηγορίες, εκείνα που σχετίζονται με το βαθμό αποδοχής των τροφών από τις νύμφες και στα σχετικά με τη δυνατότητα πέψης τους από αυτές.

Αποδοχή

➤ Η παρουσίαση της τροφής είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας αποδοχής της από τις νύμφες και περιλαμβάνει το μέγεθος, την υφή, το χρώμα και την πλευστότητά της. Σημαντικότατο ρόλο έχει επίσης το σύστημα ταΐσματος (τύπος ταΐστρας, ταΐσμα με το χέρι κτλ.) και το σύστημα της δεξαμενής (σχήμα, μέγεθος, υδροδυναμική, φωτισμός κ.ά.).

➤ Ο ρυθμός απορρόφησης της τεχνητής τροφής από τη νύμφη είναι συχνά πολύ χαμηλότερος σε σύγκριση με τον αντίστοιχο των ζωντανών θηραμάτων. Θεωρείται ότι αυτό οφείλεται στη διαφορά της οπτικής αντίληψης, της κίνησης, καθώς και σε διαφορές σε οσφρητικά ερεθίσματα.

Πέψη

Προβλήματα συνδεδεμένα με την πρόωμη αποκοπή των νυμφών των θαλασσινών ειδών αποδίδονται στην απουσία λειτουργικών πεπτικών οργάνων, ειδικότερα στην έλλειψη λειτουργικού στομαχιού ή παραγόντων της γαστρικής φάσης της πέψης (το ένζυμο πεψίνη και το υδροχλωρικό οξύ).

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδικασία της πέψης είναι:

➤ **Εξωγενή ένζυμα:** είναι γενικά παραδεκτό ότι τα πεπτικά ένζυμα των ζωοπλαγκτικών θηραμάτων διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη λειτουργία της πέψης στις νύμφες και με αυτή την έννοια δεν παρουσιάζονται ιδιαίτερα προβλήματα. Συμπεραίνεται, λοιπόν, ότι τα προβλήματα πέψης τεχνητών τροφών στα νυμφικά στάδια (σε πρόωμες αποκοπές) μπορεί να οφείλονται στο ατελώς σχηματισμένο πεπτικό σύστημα, το οποίο ευθύνεται για τη χαμηλή δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων. Τα τελευταία χρόνια κυκλοφορούν τεχνητές τροφές στην αγορά, στις οποίες έχουν ενσωματωθεί εξωτερικά πεπτικά ένζυμα.

➤ **Ελεύθερα αμινοξέα (Free Amino Acids, FAA):** οι οργανισμοί που αποτελούν το φυσικό ζωοπλαγκτόν περιέχουν τεράστιες ποσότητες ελεύθερων αμινοξέων (200-500mM), τις οποίες χρησιμοποιούν στην ωσμωρρύθμιση των κυτταρικών τους υγρών. Στη φύση οι νύμφες των θαλασσινών ειδών εξασφαλίζουν δια μέσου των θηραμάτων τους την πρόσληψη μεγάλων ποσοτήτων ελεύθερων αμινοξέων. Στις τεχνητές τροφές αποκοπής προστίθενται υδρολυμένα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα ψαριών (hydrolyzed fish protein concentrates, HFPC), καθώς έχει αποδειχθεί ότι βοηθούν την επιβίωση τους σε αυτό το στάδιο της νυμφικής καλλιέργειας (Κλαδάς, 2006).

1.4. Σκοπός της εργασίας

Αντικείμενο της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη χορήγησης μικροδιαίτων (microdiets) σε προνύμφες τσιπούρας, με σκοπό την «πρόωρη» αντικατάσταση των ζωντανών τροφών και εκτίμηση της καταλληλότητάς τους σε πραγματικές συνθήκες εκτροφής στον Ελληνικό χώρο.

Η τσιπούρα είναι το είδος που θεωρείται οργανισμός μοντέλο και μεγάλης οικονομικής σημασίας για τη Μεσογειακή ιχθυοκαλλιέργεια. Ο μεγάλος ανταγωνισμός ανάμεσα στις εταιρίες παραγωγής γόνου τσιπούρας, ωθεί στη μείωση του κόστους παραγωγής του. Ωστόσο, οι ζωντανές τροφές που χρησιμοποιούνται στην εκτροφή των νεοεκκολαπτόμενων προνυμφών τσιπούρας είναι δαπανηρές, απαιτούν εντατική και δαπανηρή εργασία, αλλά και δεν έχουν σταθερή διαθεσιμότητα και ποιότητα. Αυτό επιβάλλει τη διερεύνηση των δυνατοτήτων μερικής ή πλήρους αντικατάστασης των ζωντανών τροφών με τεχνητά σιτηρέσια.

Κεφάλαιο 2: Υλικά και Μέθοδοι

2.1. Πειραματικό υλικό

Τα ωάρια που χρησιμοποιήθηκαν, προήλθαν από απόθεμα γεννητόρων εμπορικού ιχθυογεννητικού σταθμού, που συντηρείται σε δεξαμενές των 30 m³ σε φυσικές συνθήκες φωτοπεριόδου και θερμοκρασίας. Τα ωάρια συλλέχθηκαν μετά από αυθόρμητη ωοτοκία από ειδικό συλλέκτη, εφοδιασμένο με πλαγκτονικό δίχτυ (350 μm) που είχε συνδεθεί με τη δεξαμενή ωοτοκίας.

Για τα υπόλοιπα αναπτυξιακά στάδια πραγματοποιήθηκε εκτροφή, όπως περιγράφεται στη συνέχεια, δώδεκα πληθυσμών τσιπούρας σε τέσσερις ομάδες (δηλ. τρεις πληθυσμούς ανά ομάδα). Σε κάθε ομάδα εφαρμόστηκε διαφορετικός τρόπος αντικατάστασης των ζωντανών τροφών, με τη χρήση διαφορετικών (σε σύσταση και μέγεθος) τεχνητών τροφών.

2.2. Σύστημα εκτροφής

Η εκτροφή των πειραματικών πληθυσμών πραγματοποιήθηκε σε εντατικές συνθήκες στο εκκολαπτήριο εμπορικού ιχθυογεννητικού σταθμού κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας και φωτισμού (βλέπε §2.3.1. & §2.3.2.). Η

εκτροφή ξεκίνησε στις 14 Ιουνίου 2009 και είχε διάρκεια 73 ημέρες. Πραγματοποιήθηκε σε δύο φάσεις: (a) μία αρχική, η οποία περιελάμβανε τις ημέρες 0 έως 40 μετά την εκκόλαση (days post hatch, dph) όπου εφαρμόστηκε η τεχνική του «ψευδοπάσινου νερού» («pseudo-green water technique»; Papandroulakis *et al.*, 2002) και (b) μία φάση «αποκοπής» (weaning phase, 40-70 dph), όπου έγινε η αποκοπή από τη ζωντανή τροφή και η προσαρμογή των νυμφών σε αποκλειστικά βιομηχανική δίαιτα.

Η αρχική πυκνότητα εκτροφής ήταν 125 ωάρια l^{-1} , και εκτιμήθηκε με ζύγιση (Mettler PJ). Πριν από την τοποθέτηση τους στις δεξαμενές, προηγήθηκε θερμοκρασιακή προσαρμογή. Η επώαση των ωαρίων έγινε στις ίδιες δεξαμενές εκκόλασης που πραγματοποιήθηκε και η εκτροφή των ιχθυονυμφών.

Στο σύστημα εκτροφής που χρησιμοποιήθηκε διεξήχθησαν όλα τα στάδια της εκτροφής, από την εμβρυογένεση και την εκκόλαση έως και το νυμφικό πλαγκτονοφάγο στάδιο. Έχει αποδειχθεί ότι η κλίμακα πραγματοποίησης του πειράματος είναι δυνατόν να επηρεάσει σημαντικά τα αποτελέσματα (Παπανδρουλάκης, 2000). Η επιλογή των, συγκεκριμένης κλίμακας, εγκαταστάσεων δικαιολογείται καθώς ο προσδιορισμός των τροφικών απαιτήσεων έγινε με στόχο την πιθανή εφαρμογή των αποτελεσμάτων σε παραγωγική κλίμακα.

Το σύστημα αποτελούνταν από 12 δεξαμενές (Εικόνα 7) εκτροφής των 4 m^3 . Οι δεξαμενές ήταν κυλινδροκωνικές και το εσωτερικό τους ήταν χρώματος μαύρου για την αποφυγή προβλημάτων συμπεριφοράς των ιχθυονυμφών που συνδέονται με το φαινόμενο των «τοιχωμάτων» (Ounais Guschemann, 1989). Η είσοδος του νερού στις δεξαμενές γίνονταν από την επιφάνεια τους, και η απορροή γίνονταν από τη στήλη του νερού στο κέντρο της δεξαμενής μέσω μίας, βυθιζόμενης στα 120 cm, εξόδου που καλύπτονταν από δίχτυ με διάμετρο «ματιού» 350 μm . Αυτό είχε ως

σκοπό να δημιουργηθεί ένα ελαφρύ καθοδικό ρεύμα (εφόσον η απορροή στον πυθμένα είναι μεγαλύτερη λόγω της μεγαλύτερης υδροστατικής πίεσης), ώστε να επιτυγχάνεται συνεχής κίνηση του νερού και να μην δημιουργούνται νεκρές περιοχές όπου θα μπορούσαν να παγιδευτούν οι ιχθυονύμφες. Κατά τη διάρκεια του πειράματος το φίλτρο αυτό βούλωνε, λόγω των τροφών, οπότε το φίλτρο αλλαζόταν ή γινόταν είσοδος του νερού από τον πυθμένα.

Σε κάθε δεξαμενή εκτροφής υπήρχε συμπληρωματικός εξοπλισμός που χρησιμοποιούνταν ανάλογα με το στάδιο της εκτροφής και ανάλογα με τις εξεταζόμενες συνθήκες. Αυτός ο εξοπλισμός αποτελούνταν από σύστημα φωτισμού, παροχή αέρα και παροχή οξυγόνου.

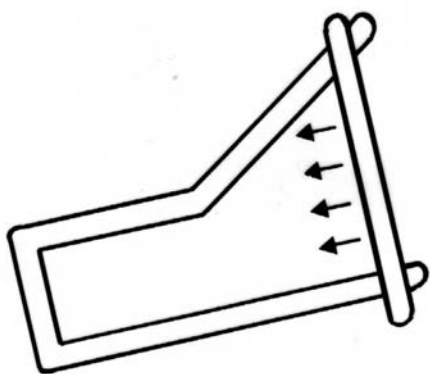


Εικόνα 7: Δεξαμενή εκτροφής

Σε κάθε δεξαμενή είχε επίσης τοποθετηθεί (7^η με 20^η ημέρα) ένα σύστημα (συλλέκτης) απομάκρυνσης του επιφανειακού στρώματος λίπους που δημιουργείται

στην επιφάνεια του νερού από τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα με τα οποία εμπλουτίζονται οι ζωοπλαγκτονικοί οργανισμοί και τα οποία είναι δύσκολο να απομακρυνθούν ολοκληρωτικά πριν την χορήγηση τους στις ιχθυονύμφες. Το στρώμα αυτό εμποδίζει τις ιχθυονύμφες να πληρώσουν τη νηκτική τους κύστη με αέρα (Παπανδρουλάκης, 2000).

Ο συλλέκτης που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη (Εικόνα 8) λειτουργούσε με αέρα, ο οποίος δημιουργούσε ένα επιφανειακό ρεύμα που μετέφερε το λιπαρό στρώμα, παγιδεύοντας το με αυτόν τον τρόπο σε μία κλειστή περιοχή από όπου και απομακρυνόταν στη συνέχεια.



Εικόνα 8: Καθαριστής επιφάνειας

Ο καθαρισμός των δεξαμενών και η απομάκρυνση των νεκρών ατόμων γινόταν σε τακτικά χρονικά διαστήματα κάθε 1-2 ημέρες. Ο καθαρισμός πραγματοποιούνταν με χρήση σιφωνίου.

2.3. Συνθήκες εκτροφής

2.3.1. Νερό

Για όλα τα πειράματα εκτροφής ιχθυονυμφών χρησιμοποιήθηκε νερό γεώτρησης με αλατότητα 28 ‰ και με σταθερή θερμοκρασία 18,5 °C. Πριν από την είσοδο του στα συστήματα εκτροφής είχε υποστεί υπεριώδη ακτινοβολία UV.

Η ανανέωση του νερού στις δεξαμενές στη διάρκεια της εμβρυογένεσης, της εκκόλαψης των ωαρίων και κατά τα προ-νυμφικά στάδια ήταν 2% την ώρα, για να μην κολλάνε τα ωάρια ή οι προνύμφες στο φίλτρο απορροής. Μετά την πρώτη διανομή τροφής, η ανανέωση του νερού αυξανόταν σταδιακά. Με τον τρόπο αυτό, επιτυγχάνονταν μείωση των απωλειών ζωοπλαγκτονικών οργανισμών (που θα επηρέαζαν αρνητικά τη διαθεσιμότητα τροφής στις ιχθυονύμφες), καθώς και των συγκεντρώσεων αμμωνίας και νιτρωδών. Επιπλέον, η σταδιακή αύξηση της ανανέωσης του νερού συμβάδιζε με τη σωματική αύξηση των νυμφών και με την ικανότητα τους να την ανέχονται χωρίς ιδιαιτερότητες.

Η θερμοκρασία του νερού, η τιμή του διαλυτού οξυγόνου και η τιμή του pH ελέγχονταν περιοδικά κατά τη διάρκεια της εκτροφής.

Κατά τη διάρκεια της εκκόλαψης και των προ-νυμφικών σταδίων η θερμοκρασία διατηρήθηκε στους $19,5 \pm 1,0$ °C. Μετά την πρώτη χορήγηση τροφής στις ιχθυονύμφες αυξήθηκε στους $21 \pm 1,0$ °C, καθώς αυτά τα όρια θεωρούνται βέλτιστα για την τσιπούρα (Παπανδρουλάκης, 2000). Ο έλεγχος της θερμοκρασίας επαναλαμβανόταν σε καθημερινή βάση.

Ο έλεγχος του διαλυμένου οξυγόνου, και της τιμής του pH γίνονταν καθημερινά, μετά την τελευταία χορήγηση τροφής, με ηλεκτρονικούς αισθητήρες (WTW) ακρίβειας ενός δεκαδικού ψηφίου.

2.3.2. Φωτισμός

Για το φωτισμό κάθε δεξαμενής εκτροφής είχαν τοποθετηθεί, σε ύψος 1,5 περίπου μέτρου από την επιφάνεια του νερού, τρεις λαμπτήρες ψυχρού βιομηχανικού φωτός (36W 1,20μ No 89). Η ένταση του φωτός άλλαζε ανάλογα με το στάδιο της εκτροφής. Κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης, της εκκόλαψης και των

προνυμφικών σταδίων το σύστημα φωτισμού των δεξαμενών δεν ήταν ενεργό. Στην επιφάνεια του νερού των δεξαμενών όμως η ένταση του φωτός ήταν μερικά lux λόγω της διάχυσης από τον περιβάλλοντα χώρο. Με την πρώτη χορήγηση τροφής στις ιχθυονύμφες, η ένταση του φωτός στην επιφάνεια του νερού αυξανόταν σε 500-700 lux διάρκειας 24L:0D (Παπανδρουλάκης, 2000). Από την 25 μέχρι την 70 ημέρα του πειράματος η φωτοπερίοδος ήταν 15L:9D.

2.3.3. Αερισμός

Η παροχή του αέρα κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης και του προνυμφικού σταδίου ήταν έντονος, ενώ κατά την πρώτη ημέρα της διατροφής μειώθηκε για να διακοπεί τελείως δύο ημέρες αργότερα. Σε κάθε δεξαμενή είχαν τοποθετηθεί τέσσερις πέτρες παροχής αέρα και γίνονταν η χορήγηση στο κεντρικό σημείο του πυθμένα και σε τρία σημεία της δεξαμενής ανά 120° περίπου. Με τη χρήση των πετρών αερισμού απετράπη η δημιουργία φυσαλίδων διαμέτρου μεγαλύτερης του 1 mm η οποία παρεμποδίζει την κολύμβηση των ιχθυονυμφών (Παπανδρουλάκης, 2000). Η χορήγηση αέρα στις δεξαμενές εξυπηρετούσε δύο σκοπούς. Από την μία πλευρά, δημιουργούσε ανοδικό ρεύμα, εμποδίζοντας έτσι την καταβύθιση των ιχθυονυμφών. Από την άλλη πλευρά, επειδή η δυνατότητα κολύμβησης των ιχθυονυμφών είναι μηδενική μετά την εκκόλαψη και πολύ περιορισμένη στη συνέχεια (Kentouri, 1985), ο αερισμός δημιουργούσε ένα προστατευτικό πλαίσιο γύρω από την έξοδο της δεξαμενής ώστε να αποφεύγεται η προσκόλληση των ιχθυονυμφών στο δίχτυ που την κάλυπτε.

2.3.4. Πλαγκτονικοί οργανισμοί που χρησιμοποιήθηκαν

Κατά την εκτέλεση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν ένας φυτοπλαγκτονικός και δύο ζωοπλαγκτονικοί οργανισμοί. Αυτοί ήταν το χλωροφύκος

Chlorella minutissima (Fott and Novakova, 1969), το τροχόζωο *Brachionus plicatilis* και το βραγχιόποδο καρκινοειδές *Artemia sp.*

Ο φυτοπλαγκτονικός οργανισμός καλλιεργείται μαζικά στις εγκαταστάσεις του σταθμού σε σάκους πολυαιθυλενίου των 400 l, σύμφωνα με τη μεθοδολογία των Sanmartin, *et al.*, (1995). Χρησιμοποιήθηκε όταν η καλλιέργεια των κυττάρων ήταν ακόμα στην εκθετική φάση ανάπτυξης και σε συγκέντρωση περίπου 20 - 30 εκατομμύρια κύτταρα ml⁻¹.

Το τροχόζωο *Brachionus plicatilis* αποτελεί την κύρια τροφή των ιχθυονυμφών στα αρχικά στάδια σε συνθήκες εκτροφής, λόγω της καταλληλότητας μεγέθους (80 –150 μm) καθώς και της ευκολίας που παρουσιάζει η εκτροφή του (Παπανδρουλάκης, 2000). Στο εκκολαπτήριο αυτού του σταθμού η εκτροφή των οργανισμών αυτών πραγματοποιείται σε κυλινδροκωνικές δεξαμενές 2m³. Λόγω της ανεπάρκειάς τους σε πρωτεΐνες και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εμπλουτίζονταν πριν από την χορήγησή τους στις ιχθυονύμφες. Ο εμπλουτισμός γίνονταν με χορήγηση στα τροχόζωα φυτοπλαγκτού *Chlorella minutissima* σε συγκέντρωση 3-4 εκατομμύρια κύτταρα ml⁻¹, καθώς και εμπορικών γαλακτωμάτων πλούσιων σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και πρωτεΐνες, σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή. Πραγματοποιούνταν σε κυλινδροκωνικές δεξαμενές των 700 l για περίοδο 12 ωρών σε συμπυκνωμένους πληθυσμούς τροχοζώων (1.000 – 1.500 άτομα ml⁻¹). Πριν τη χορήγηση στις ιχθυονύμφες, τα τροχόζωα ξεπλένονταν για την απομάκρυνση των λιπών και αποθηκεύονταν σε δεξαμενές των 50 λίτρων σε συγκέντρωση περίπου 1.000 – 2.000 άτομα ml⁻¹ παρουσία φυτοπλαγκτού σε συγκέντρωση 2-3 εκατομμύρια κύτταρα ml⁻¹.

Το βραγχιονόποδο *Artemia sp.* αποτελεί το δεύτερο κατά σειρά οργανισμό που χρησιμοποιείται στην εκτροφή ψαριών (Παπανδρουλάκης, 2000). Ο οργανισμός

αυτός χορηγείται είτε στο στάδιο του ναυπλίου (Instar I) αμέσως μετά την εκκόλαψη, είτε μία μέρα μετά την εκκόλαψη στο στάδιο του μεταναυπλίου (Instar II). Οι μεταναύπλιοι εμπλουτίζονται με εμπορικά γαλακτώματα πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και βιταμίνες. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το στέλεχος EG (Great Salt Lake, INVE Aquaculture SA, Belgium) με μέγεθος ατόμων 400 – 500 μm για τους Instar I και 700-900 μm για τους Instar II. Η εκκόλαψη των κύστεων και ο εμπλουτισμός των ατόμων πραγματοποιήθηκαν σε κυλινδρικές δεξαμενές των 2 m³ σε θερμοκρασία 27 – 29 °C.

2.4. Διατροφή ιχθυονυμφών

2.4.1. Χορήγηση της «ζωντανής» τροφής

Μετά την απορρόφηση της σταγόνας λιπιδίων, σε μέγεθος περίπου 4,5 mm, οι απαιτήσεις σε λίπη των ιχθυονυμφών αυξάνουν. Τα τροχόζωα, που χρησιμοποιούνται κατά την περίοδο αυτή, εμπλουτίζονται πριν από τη χορήγηση τους στις ιχθυονύμφες. Η συντήρησή τους, σε δοχεία που περιέχουν φυτοπλαγκτόν μετά τον εμπλουτισμό, είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της ποιότητάς τους.

Καθώς οι ιχθυονύμφες μεγαλώνουν και, κατά συνέπεια, το εύρος του στόματός τους αυξάνει, μπορούν να καταναλώσουν ζωοπλαγκτονικούς οργανισμούς μεγαλύτερου μεγέθους, που είναι απαραίτητο για την ικανοποίηση των διατροφικών τους απαιτήσεων (Παπανδρουλάκης, 2000). Σε μέγεθος περίπου 5 – 5,2 mm γίνεται η πρώτη χορήγηση ναύπλιων Instar I *Artemia*, χωρίς να διακόπτεται η χορήγηση των εμπλουτισμένων τροχοζώων. Η χορήγηση των ναύπλιων Instar I πραγματοποιείται για μικρό χρονικό διάστημα (μέχρις ότου οι ιχθυονύμφες να φτάσουν σε μέγεθος περίπου 6 mm), καθώς η περιεκτικότητά τους σε λίπη είναι

χαμηλή και δεν αποτελούν ιδανική τροφή για τις ιχθυονύμφες (Παπανδρουλάκης, 2000). Η χορήγηση εμπλουτισμένων ναύπλιων Instar II αρχίζει αφού οι ιχθυονύμφες φτάσουν σε μέγεθος περίπου 6 mm πάλι σε συνδυασμό με τροχόζωα. Η επικάλυψη στη χορήγηση διαφορετικών τύπων τροφής γίνεται για λόγους προσαρμογής των ιχθυονυμφών στη νέα δίαιτα.

Για τα τροχόζωα, η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη ήταν 4 άτομα ml⁻¹ κατά τις δύο πρώτες μέρες της χορήγησής τους και, στη συνέχεια, 8-10 άτομα ml⁻¹ μέχρι το τέλος της εκτροφής. Η συγκέντρωση αυτή επιλέχθηκε ως βέλτιστη με βάση τα αποτελέσματα άλλων μελετών (Tandler and Sherman, 1981; Kentouri, 1985; Ounais Guschmann, 1989; Divanach, κ.α., 1997). Για τους ναύπλιους Instar I *Artemia*, η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε ήταν 0,1-0,2 άτομα ml⁻¹, ενώ για τους ναύπλιους Instar II ήταν 0,1 άτομα ml⁻¹ τις πρώτες ημέρες της χορήγησης. Αργότερα αυξήθηκε σταδιακά μέχρι τη συγκέντρωση 1-1,5 άτομα ml⁻¹ στο τέλος της εκτροφής. Η χορήγηση των ζωοπλακτονικών οργανισμών διαρκούσε περίπου 10 ώρες ημερησίως από τις 8:30 μέχρι τις 18:30. Για τα τροχόζωα πραγματοποιούνταν 4 φορές την ημέρα σε χρονικά διαστήματα 2,5-3 ωρών, για τους ναύπλιους Instar I και Instar II 4 φορές ημερησίως, παράλληλα με τη χορήγηση των τροχόζωων. Πριν τη χορήγηση των ζωοπλακτονικών οργανισμών γίνονταν έλεγχος της συγκέντρωσής τους στις δεξαμενές εκτροφής των ιχθυονυμφών ώστε να υπολογιστούν οι απαιτούμενες ποσότητες. Η χορήγηση των θηραμάτων γίνονταν επιφανειακά και με τρόπο ώστε να απλώνονται σε όλη την επιφάνεια της δεξαμενής.

Για την παρούσα μελέτη, στο πείραμα εκτροφής εφαρμόστηκε η τεχνολογία του ψευδοπράσινου νερού, όπου γίνονταν καθημερινά προσθήκη *Chlorella minutissima* κατά τρόπο ώστε η συγκέντρωση των κυττάρων στο μέσο εκτροφής να διατηρείται σε 450 - 650x10³ κύτταρα ml⁻¹. Ο συνολικός όγκος του φυτοπλακτού

που εισάγονταν στη δεξαμενή δεν ξεπερνούσε το 2% του όγκου της. Η εισαγωγή του φυτοπλαγκτού γίνονταν μία φορά ημερησίως από την επιφάνεια της δεξαμενής.

2.4.2. Δειγματοληψία και καταμέτρηση της συγκέντρωσης των πλαγκτονικών οργανισμών

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των τροφικών απαιτήσεων των ιχθυονυμφών της τσιπούρας πραγματοποιήθηκε με αναφορά στις ημερήσιες εκτιμήσεις της συγκέντρωσης των πλαγκτονικών οργανισμών στις δεξαμενές εκτροφής. Οι τιμές των συγκεντρώσεων καθόριζαν επίσης και τις χορηγούμενες ποσότητες πλαγκτονικών οργανισμών με βάση τη μεθοδολογία ταΐσματος που αναπτύχθηκε στην παράγραφο 2.4.1.

Η συγκέντρωση των φυτοπλαγκτονικών κυττάρων εκτιμούνταν μετά από δειγματοληψία από τις δεξαμενές εκτροφής και καταμέτρηση τους σε πλάκες mallassez, κάτω από μικροσκόπιο.

Για τη μέτρηση της συγκέντρωσης των ζωοπλαγκτονικών οργανισμών, γίνονταν δειγματοληψία σε τρία διαφορετικά σημεία της δεξαμενής στη στήλη του νερού. Το μέγεθος κάθε δείγματος ήταν 50 ml και στη συνέχεια λαμβανόταν δείγμα με πιπέτα των 5 ml και τοποθετούνταν σε τριβλία για να καταμετρηθεί κάτω από στερεοσκόπιο.

2.5. Τεχνητή τροφή και αποκοπή

Στο παρόν πείραμα πραγματοποιήθηκε παραγωγή δώδεκα πληθυσμών τσιπούρας σε τέσσερις ομάδες. Η κάθε ομάδα αποτελούνταν από τρεις πληθυσμούς και σε κάθε ομάδα χρησιμοποιήθηκε διαφορετικός τρόπος αντικατάστασης των ζωντανών τροφών με τεχνητή. Σε δύο ομάδες πληθυσμών πραγματοποιήθηκε ο

«απογαλακτισμός» (Πρωτόκολλο Γ) (πίνακας 4) που συνήθως εφαρμόζεται στις ελληνικές ιχθυοκαλλιέργειες, αλλά σε κάθε ομάδα χρησιμοποιήθηκε διαφορετική τροφή. Στις άλλες δύο ομάδες πληθυσμών πραγματοποιήθηκε πρόωρος απογαλακτισμός (Πρωτόκολλα Α & Β) (πίνακες 2, 3) με τη χρήση πιο λεπτόκοκκων τεχνητών τροφών.

Οι τεχνητές τροφές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν (πίνακας 1):

- Τροφή Α σε μεγέθη 100-200 μm, 200-300 μm, 300-400 μm
- Τροφή Β σε μεγέθη 50-100 μm, 100-200 μm, 200-300 μm
- Τροφή C σε μέγεθος 300-500 μm

Πίνακας 1: Σύσταση τροφών

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΤΡΟΦΕΣ		
	A	B	C
ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ	54%	50%	54%
ΛΙΠΑΡΑ	15%	18%	14%
ΤΕΦΡΑ	12%	15%	13%
ΥΓΡΑΣΙΑ	7%	8%	10%
ΙΝΕΣ	1%	2%	1%
ΦΩΣΦΟΡΟΣ	1,70%	1,50%	1,50%
VIT A	30.000 IU/Kg	15.000 IU/Kg	12.500 IU/Kg
VIT D3	2.500 IU/Kg	3.000 IU/Kg	2.500 IU/Kg
VIT E	700 ppm	350 ppm	380 IU/Kg
VIT C	2.000 ppm	1.000 ppm	-
ΣΥΝ. HUFA (ω-3)	30 mg/g	25 mg/g	-
DHA/EPA	2,00	1,5	-

Σε κάθε ομάδα δεξαμενών χρησιμοποιήθηκε διαφορετικό πρωτόκολλο διατροφής:

- Στο πρωτόκολλο Α το τάισμα της *Artemia* και της ξηρής τροφής Α ξεκίνησε την 17^η ημέρα (πίνακας 2).

- Στο πρωτόκολλο **B** το τάισμα της *Artemia* ξεκίνησε τη 15^η ημέρα και της ξηρής τροφής B τη 18^η ημέρα (πίνακας 3).
- Στο πρωτόκολλο **Γ** το τάισμα της *Artemia* ξεκίνησε την 20^η ημέρα και της ξηρής τροφής (A στη μία ομάδα και B στην άλλη ομάδα) την 25^η ημέρα (πίνακας 4).

Πίνακας 2: Πρωτόκολλο διατροφής A

ΗΛΙΚΙΑ (ημέρες)	ΦΥΚΙΑ 20×10 ⁹ κυτ/lt	ΡΟΤΙΦΕΡ 10 ⁶ rot	ARTEMIA A0 10 ⁶ nauplii	ARTEMIA A1 10 ⁶ nauplii	ΞΗΡΗ ΤΡΟΦΗ		
0-3							
4	100	+					
5-16	60	+					
17	60	+	+		A 100-200		
18	60	+	+		A 100-200		
19	60	+	+		A 100-200		
20	60	+	+	+	A 100-200		
21	60	+	+	+	A 100-200		
22	0	+	+	+	A 100-200		
23-27		+	+	+	A 100-200		
28		0	+	+	A 100-200	A 200-300	
29			+	+	A 100-200	A 200-300	
30			0	+		A 200-300	
31-37				+		A 200-300	
38-41				=		A 200-300	A 300-400
42				=			A 300-400
43				=			A 300-400
44				=			A 300-400
45				=			A 300-400
46-53				-			A 300-400
54-57				-			A 300-400 C 300-500
58				0			C 300-500
59-70							C 300-500

Πίνακας 3: Πρωτόκολλο διατροφής Β

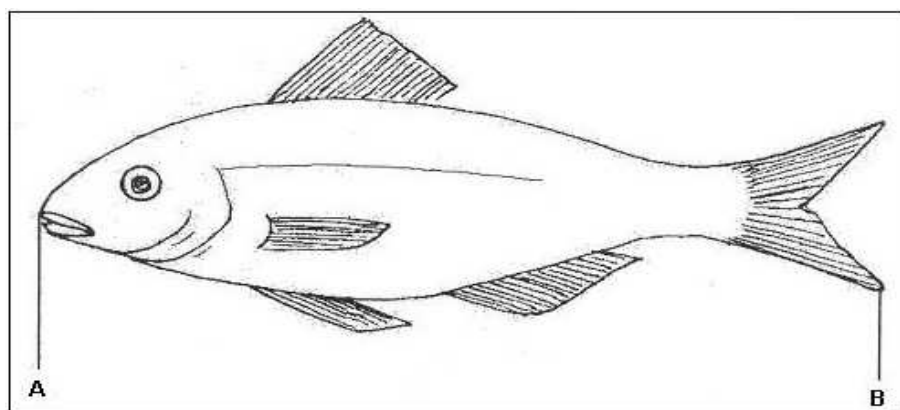
ΗΛΙΚΙΑ (ημέρες)	ΦΥΚΙΑ 20×10 ⁹ κντ/lt	ΡΟΤΙΦΕΡ 10 ⁶ rot	ΑΡΤΕΜΙΑ Α0 10 ⁶ nauplii	ΑΡΤΕΜΙΑ Α1 10 ⁶ nauplii	ΞΗΡΗ ΤΡΟΦΗ		
0-3							
4	100	+					
5-14	60	+					
15	60	+	+				
16	60	+	+				
17	60	+	+				
18-21	60	+	+		B 50-100		
22	0	+	+		B 50-100		
23		+	+	+	B 50-100		
24		+	+	+	B 50-100		
25		+	+	+	B 50-100	B 100-200	
26		+	+	+	B 50-100	B 100-200	
27		+	+	+	B 50-100	B 100-200	
28		+	0	+		B 100-200	
29		0		+		B 100-200	
30-36				+		B 100-200	
37-41				+		B 100-200	B 200-300
42				=		B 100-200	B 200-300
43				=		B 100-200	B 200-300
44				-		B 100-200	B 200-300
45-49				-			B 200-300
50				-			B 200-300 C 300-500
51				0			B 200-300 C 300-500
52-58							B 200-300 C 300-500
59-70							C 300-500

Πίνακας 4: Πρωτόκολλο διατροφής Γ

ΗΛΙΚΙΑ (ημέρες)	ΦΥΚΙΑ 1×10 ⁹ κντ	ΡΟΤΙΦΕΡ 10 ⁶ rot	ΑΡΤΕΜΙΑ Α0 10 ⁶ nauplii	ΑΡΤΕΜΙΑ Α1 10 ⁶ nauplii	ΞΗΡΗ ΤΡΟΦΗ		
0-3							
4	100	+					
5-19	60	+					
20	60	+		+			
21	60	+		+			
22	0	+		+			
23		+		+			
24		+		+			
25		+		+	A (or B) 100-200		
26		+		+	A (or B) 100-200		
27		+		+	A (or B) 100-200		
28		0		+	A (or B) 100-200		
29				+	A (or B) 100-200		
30				+	A (or B) 100-200		
31-35				+	A (or B) 100-200	A (or B) 200-300	
36				+		A (or B) 200-300	
37				+		A (or B) 200-300	
38-49				=		A (or B) 200-300	
50-55				-		A (or B) 200-300	C 300-500
56-65				-			C 300-500
66-70				0			C 300-500

2.6. Παράμετροι που ελέγχθηκαν κατά τη μελέτη

Η ανάπτυξη των ιχθυονομφών κατά τη διάρκεια του πειράματος μελετήθηκε με μετρήσεις ολικού μήκους και μετρήσεις ατομικού νωπού βάρους. Για τις μετρήσεις αυτές έγιναν πέντε δειγματοληψίες, τις ημέρες 14, 21, 36, 52 και 64 μετά την εκκόλαψη. Οι μετρήσεις ολικού μήκους πραγματοποιήθηκαν σε 500 άτομα (περίπου 1,5% του συνολικού πληθυσμού) που συλλέγονταν από κάθε δεξαμενή. Το μήκος των ατόμων (Εικόνα 9) μετριούνταν από το ρύγχος μέχρι το τέλος της ουράς (σε mm) κάτω από στερεοσκόπιο. Μετρήσεις ατομικού νωπού βάρους (σε mg) πραγματοποιήθηκαν στα ίδια 500 άτομα που συλλέγονταν από κάθε δεξαμενή. Η μέτρηση γίνονταν σε ζυγό Mettler Toledo ακριβείας 0,0001 g.



Εικόνα 9: AB = Ολικό μήκος

Η επιβίωση των εκτρεφόμενων πληθυσμών υπολογίστηκε μετά από καταμέτρηση του συνόλου των ιχθυονομφών που επέζησαν στο τέλος της πειραματικής περιόδου. Κάθε δεύτερη ημέρα γίνονταν καθαρισμός του πυθμένα της δεξαμενής και καταγραφή της μετρούμενης θνησιμότητας. Ο καθαρισμός της δεξαμενής γίνονταν με σκούπισμα του πυθμένα και συλλογή των οργανισμών (πλαγκτόν και ιχθυονύμφες) που είχαν καταβυθισθεί. Με αυτό τον τρόπο, η συλλογή του συνόλου των νεκρών δεν ήταν εφικτή καθώς η δημιουργία ρευμάτων νερού, από

την κίνηση της σκούπας, δυσχέρανε τη συλλογή και παράλληλα έμεναν περιοχές χωρίς να καθαρίζονται στη γειτνίαση του πυθμένα με τα πλευρικά τοιχώματα της δεξαμενής. Ο υπολογισμός της πραγματικής ημερήσιας θνησιμότητας έγινε αναδρομικά, στο τέλος του πειράματος οπότε ήταν γνωστή η συνολική θνησιμότητα του πληθυσμού. Οι μετρήσεις θεωρήθηκαν ως το καταμετρημένο ποσοστό της ολικής θνησιμότητας. Με βάση αυτή την υπόθεση προσδιορίστηκε η χρονική μεταβολή κάθε πληθυσμού. Η υπόθεση αυτή είναι σωστή αν ο καθαρισμός της δεξαμενής πραγματοποιείται από το ίδιο πρόσωπο με τον ίδιο τρόπο, προϋποθέσεις που τηρήθηκαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων.

Τις ημέρες 7^η έως 15^η γινόταν έλεγχος των εκτρεφόμενων ατόμων ως προς την παρουσία ή μη νηκτικής κύστης.

2.7. Ανάλυση αποτελεσμάτων

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS for MS WINDOWS Release 6.1. Ως εργαλεία στατιστικής ανάλυσης χρησιμοποιήθηκαν τα τεστ πολλαπλού εύρους Duncan test και Student-Newman-Keuls test (τα οποία στην ουσία είναι πολλαπλές ANOVA).

Duncan's Multiple Range Test, σε αυτό το τεστ οι μέσοι \bar{y}_i των α επιπέδων διατάσσονται κατά αύξουσα σειρά και υπολογίζεται οι τυπική τους απόκλιση από τον

τύπο $S_{y_i\bullet}^- = \sqrt{\frac{MS_E}{n}}$, όπου το n , στην περίπτωση άνισων δειγμάτων μεγέθους n_i ,

αντικαθίσταται από τον αρμονικό τους μέσο $n_h = \frac{\alpha}{\sum_{i=1}^{\alpha} (1/n_i)}$. Στη συνέχεια

υπολογίζονται οι ποσότητες $R_p = r_\alpha(p, f) S_{y_i\bullet}^-$ για $p=2,3,\dots,\alpha$, όπου α το επίπεδο σημαντικότητας και f ο αριθμός των βαθμών ελευθερίας του SS_E (Βασδέκης, 2001).

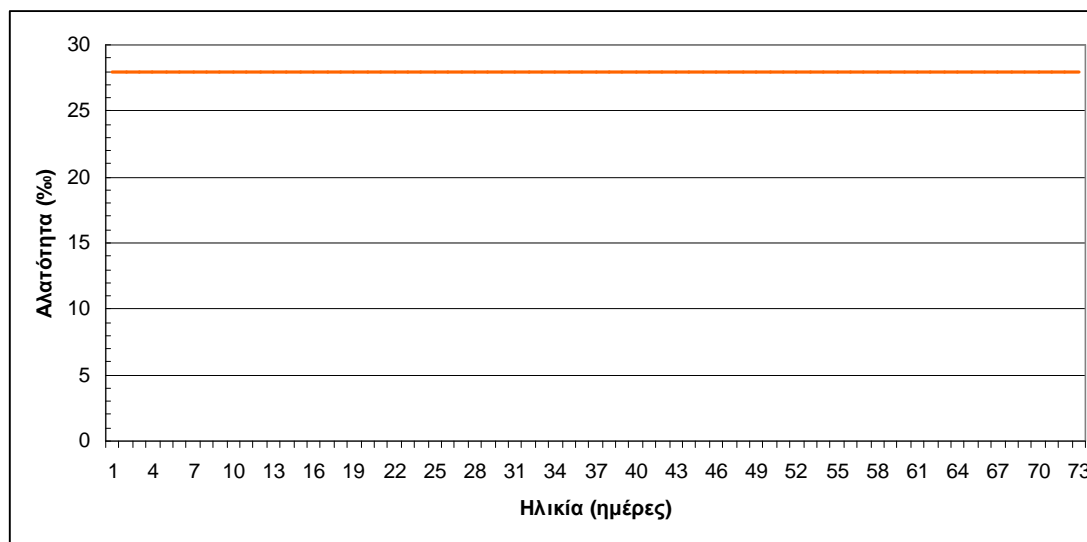
Επειδή η διαδικασία του Duncan είναι πολύ αποτελεσματική στο να ανιχνεύει διαφορές μεταξύ των μέσων όταν πραγματικά υπάρχουν, το τεστ του Duncan είναι από τα πιο δημοφιλή τεστ (Βασδέκης, 2001).

Στο τεστ Newman-Keuls, η διαδικασία είναι ακριβώς η ίδια με του Duncan μόνο που εδώ η σταθερά R αντικαθίσταται με την σταθερά K , με τύπο $K_p = q_\alpha(p, f) S_{\bar{y}_i}$, $p = 2, 3, \dots, a$. Τέλος, επειδή για $p > 2$ είναι πάντοτε $q_a(p, f) > r_a(p, f)$ συμπεραίνουμε ότι το τεστ των Newman-Keuls είναι περισσότερο συντηρητικό από του Duncan (Βασδέκης, 2001).

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα

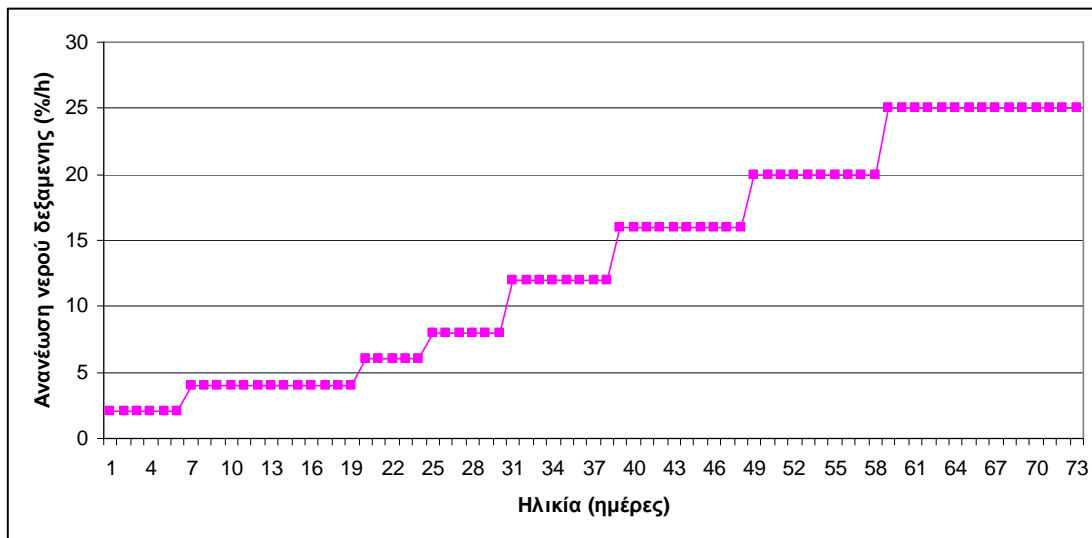
3.1. Μετρήσεις φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού

Η αλατότητα του νερού, το οποίο προερχόταν από γεώτρηση, ήταν σταθερή 28‰ καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος (Εικόνα 12).

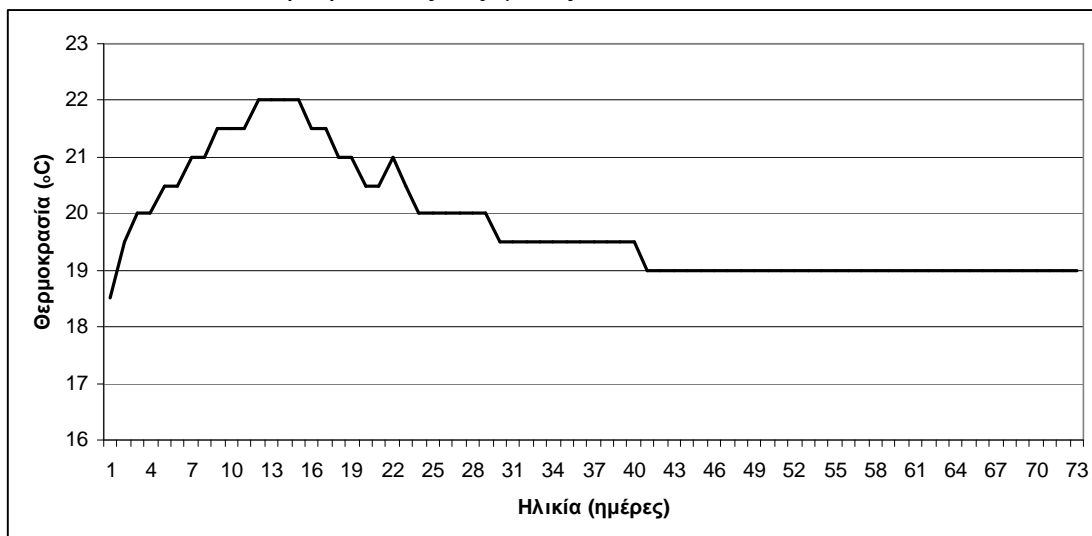


Εικόνα 12: Αλατότητα νερού

Η θερμοκρασία του εισερχόμενου νερού στις δεξαμενές εκτροφής ήταν σταθερή στους 18,5 °C. Αλλά το γεγονός ότι το πείραμα διεξήχθη την καλοκαιρινή περίοδο (δηλ. μεγαλύτερη εξωτερική θερμοκρασία από τους 18,5 °C) και συγχρόνως υπήρχε μεταβολή της ανανέωσης του νερού (Εικόνα 13) στις δεξαμενές εκτροφής, η θερμοκρασία του νερού των δεξαμενών εκτροφής τις πρώτες μέρες του πειράματος δεν ήταν σταθερή (Εικόνα 14).

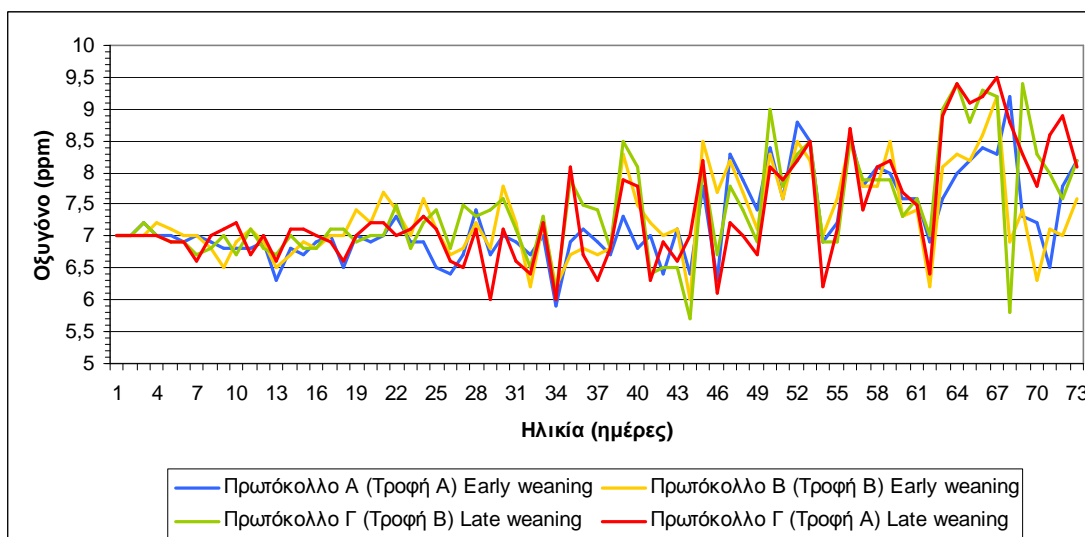


Εικόνα 13: Ανανέωση νερού στις δεξαμενές



Εικόνα 14: Θερμοκρασία νερού των δεξαμενών εκτροφής

Στις δεξαμενές εκτροφής γίνονταν μετρήσεις του διαλυμένου οξυγόνου στο νερό τρεις φορές την ημέρα. Στην Εικόνα 15 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές του διαλυμένου οξυγόνου για κάθε ομάδα, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.



Εικόνα 15: Διαλυμένο οξυγόνο στο νερό των δεξαμενών εκτροφής

3.2. Επιβίωση

Ο αρχικός πληθυσμός ζωντανών ωαρίων σε κάθε δεξαμενή ήταν 500.000 ± 50.000 . Η επιβίωση των εκτρεφόμενων πληθυσμών υπολογίστηκε μετά από καταμέτρηση του συνόλου των ιχθυονυμφών που επέζησαν στο τέλος της πειραματικής περιόδου. Ο τελικός αριθμός ιχθυονυμφών σε κάθε δεξαμενή εκτροφής ήταν 50.000 ± 2.000 (δηλαδή το 10%).

3.3. Αποτελέσματα πειραματικού πληθυσμού

Τα αποτελέσματα από τις πέντε δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν στους πειραματικούς πληθυσμούς για το μέσο ολικό μήκος σώματος και το μέσο ατομικό νωπό βάρος των νυμφών παρουσιάζονται στους Πίνακες 5 και 6. Επίσης, ο ρυθμός ανάπτυξης των νυμφών όσον αφορά το ολικό μήκος σώματος και το ατομικό νωπό βάρος σε συνάρτηση με το χρόνο σε ημέρες παρουσιάζεται στις Εικόνες 10 και 11.

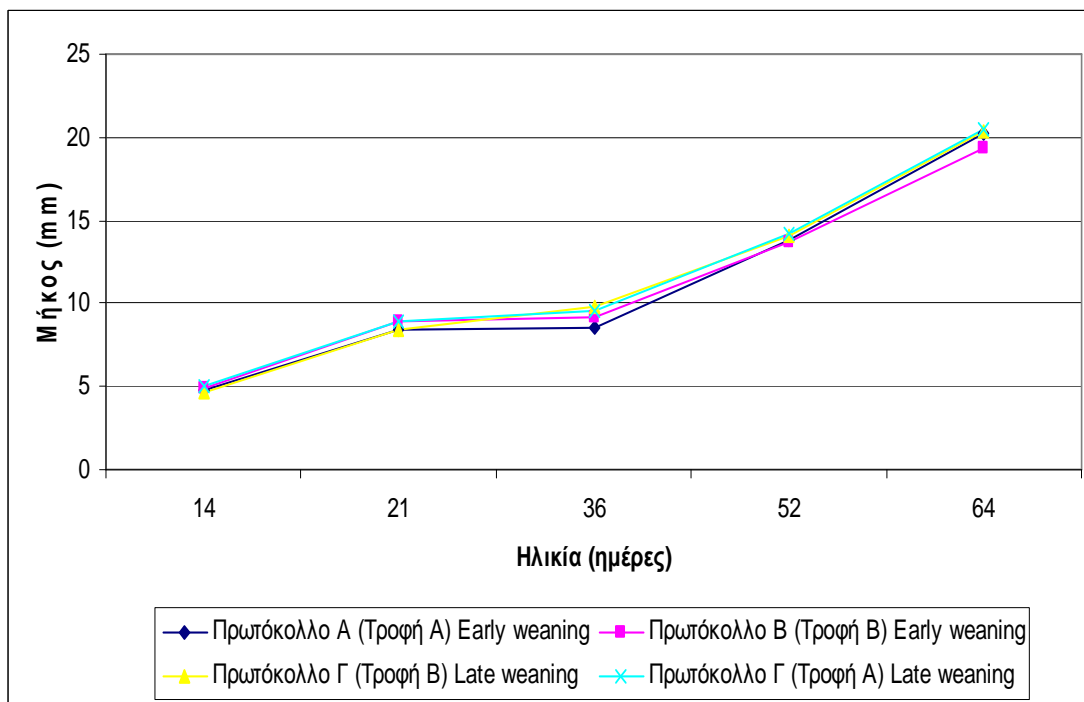
Πίνακας 5: Αποτελέσματα μέσου ολικού μήκους νυμφών

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ	Πρωτόκολλο Α (Τροφή Α)	Πρωτόκολλο Β (Τροφή Β)	Πρωτόκολλο Γ (Τροφή Α)	Πρωτόκολλο Γ (Τροφή Β)
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (mm)	Early weaning (n=500)	Early weaning (n=500)	Late weaning (n=500)	Late weaning (n=500)
D14 (30/06/09)	4,8 ± 0,6	4,95 ± 0,85	4,98 ± 0,48	4,71 ± 0,51
D21(07/07/09)	8,44 ± 3,56	8,96 ± 2,04	8,88 ± 2,88	8,39 ± 3,11
D36(22/07/09)	8,5 ± 3	9,18 ± 3,18	9,51 ± 1,51	9,86 ± 1,94
D52(07/08/09)	13,86 ± 4,84	13,68 ± 4,62	14,25 ± 4,35	14,04 ± 3,96
D64 (19/08/09)	20,25 ± 8,43	19,4 ± 6,61	20,51 ± 7,32	20,39 ± 5,39

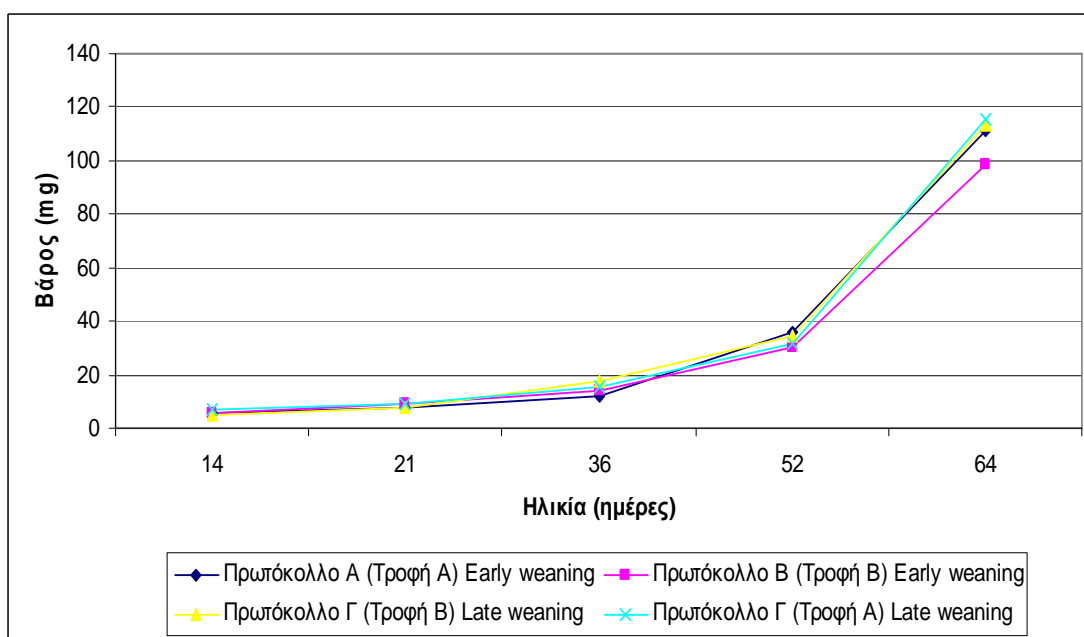
Πίνακας 6: Αποτελέσματα μέσου ατομικού νωπού βάρους

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ	Πρωτόκολλο Α (Τροφή Α)	Πρωτόκολλο Β (Τροφή Β)	Πρωτόκολλο Γ (Τροφή Α)	Πρωτόκολλο Γ (Τροφή Β)
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (mg)	Early weaning (n=500)	Early weaning (n=500)	Late weaning (n=500)	Late weaning (n=500)
D14 (30/06/09)	5,55 ^a ± 1,4*	5,96 ^a ± 1,38	6,88 ^a ± 0,86	5,18 ^a ± 0,94
D21(07/07/09)	8,07 ^a ± 3,8	9,4 ^a ± 3,25	9,12 ^a ± 3,35	7,87 ^b ± 4,3
D36(22/07/09)	11,77 ^a ± 8,07	14,014 ^a ± 5,2	15,47 ^c ± 5,26	17,69 ^b ± 6,7
D52(07/08/09)	36,18 ^a ± 16,7	30,48 ^c ± 11,5	31,43 ^c ± 14,35	34,79 ^b ± 17,14
D64 (19/08/09)	110,98 ^c ± 61,84	98,78 ^d ± 55,3	115,3 ^a ± 47,7	113,3 ^b ± 45,6

* Εκφράζει την Τυπική Απόκλιση. Οι όμοιοι εκθέτες στη ίδια μέρα δειγματοληψίας καταδεικνύουν μη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μέσων όρων σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.



Εικόνα 10: Ρυθμός ανάπτυξης των νυμφών όσον αφορά το μέσο ολικό μήκος



Εικόνα 11: Ρυθμός ανάπτυξης των νυμφών όσον αφορά το μέσο ατομικό νωπό βάρος των νυμφών

3.4. Σχέση μήκους-βάρους

Από τα αποτελέσματα των μετρήσεων αναπτύχθηκαν δύο σχέσεις μήκους-βάρους. Για την περιγραφή της σχέσης μήκους-βάρους χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση : $W = aL^b$, η οποία λαμβάνει με λογαρίθμηση τη γραμμική μορφή: $\text{Log}_{10}W = \text{Log}_{10}a + b \text{Log}_{10}L$, ενώ οι συντελεστές a και b υπολογίστηκαν με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων. Όταν το $b=3$ δηλώνει ισομετρική αύξηση των νυμφών, ενώ για $b>3$ και $b<3$ δηλώνει θετική και αρνητική αντίστοιχα αλλομετρική αύξηση των νυμφών (Sangun, 2007). Συγκεκριμένα,

1. για άτομα μεγέθους 4,1 έως 12,6 mm η σχέση είναι : $W = 0,049 \times L^3$
2. για άτομα μεγέθους 12,7 έως 31,2 mm η σχέση είναι : $W = 0,022 \times L^{2,835}$

Κεφάλαιο 4: Συζήτηση - Συμπεράσματα

Τα περισσότερα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού εκτροφής, κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου, δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφοροποιήσεις και κυμάνθηκαν εντός των ορίων που απαιτούνται για την εκτροφή των νυμφών. Επίσης, ο φωτισμός, η πυκνότητα εκτροφής και γενικότερα όλες οι συνθήκες εκτροφής σε κάθε δεξαμενή ήταν ίδιες. Το μόνο που πραγματικά άλλαξε ήταν ο χρόνος «απογαλακτισμού» σε συνδυασμό με τη σύσταση των τροφών Α και Β. Όμως, σύμφωνα με την επιβίωση, η οποία ήταν 10 ± 1 % σε κάθε δεξαμενή και άρα σε κάθε ομάδα, το μόνο που είχαμε σαν αποτέλεσμα ήταν η διαφορά ανάπτυξης των νυμφών σε κάθε ομάδα.

Το πρωτόκολλο Γ (Late weaning A or B) αποδείχτηκε καλύτερο από τα πρωτόκολλα Α και Β (Early weaning), σύμφωνα με την ανάπτυξη των νυμφών, η οποία φαίνεται από τους Πίνακες 5 και 6.

Καλύτερη τροφή αποδείχτηκε η τροφή Α και στη περίπτωση Early weaning και στη περίπτωση Late weaning το οποίο φαίνεται από τους Πίνακες 5 και 6.

Η νυμφική ανάπτυξη υποστηρίζεται από δίαιτες που περιέχουν υψηλά επίπεδα ενέργειας προερχόμενα από ουδέτερα λιπαρά και μείγματα φωσφολιπιδίων. Η ενσωμάτωση επίσης στη διατροφή υδρο-λυμένων πρωτεϊνών έχει σημαντική επίδραση στην ανάπτυξη και την επιβίωση των νυμφών σε αντίθεση με τον γόνο (Ντόμαλης, 2003). Η βέλτιστη πρωτεΐνη στην ενεργειακή αναλογία των διατροφών για τις νύμφες τσιπούρας είναι 46 έως 55 % και τα λιπαρά 9 έως 17% (Oliva-Teles, 2000).

Η αναλογία DHA/EPA στις τροφές επηρεάζει αρνητικά τις προνύμφες όταν η τιμή της είναι μικρότερη του 1 (Izquierdo, *et al.*, 2007). Στο παρόν πείραμα

ωστόσο, η αναλογία ήταν DHA/EPA 2 και 1,5 για τις τροφές Α και Β αντίστοιχα. Επίσης, η αναλογία DHA/EPA στις τροφές δεν επηρεάζει την αύξηση των προνυμφών, αλλά η αύξηση της αναλογίας αυτής βοηθά στην επιβίωση και στην ανοχή καταστάσεων πίεσης (Robin, *et al.*, 2003).

Η ανάλυση των ωαρίων τσιπούρας αποκαλύπτει τη μεγάλη περιεκτικότητα τους σε λιπαρά οξέα (περίπου 20%). Τα λιπαρά οξέα μαζί με τα ελεύθερα αμινοξέα αποτελούν τις σημαντικότερες πηγές ενέργειας των νυμφών. Σε μελέτες έχει αποδειχτεί ότι οι ανάγκες σε λιπαρά οξέα των νυμφών καθώς και το προφίλ των οξέων αυτών είναι όμοιο με αυτό που τα ωάρια περιέχουν (Ντόμαλης, 2003). Έτσι, καλύτερες πληροφορίες για τα αποτελέσματα αυτού του πειράματος θα είχαμε και με την ανάλυση λιπαρών οξέων, τα οποία όμως, για τεχνικούς λόγους δεν περατώθηκαν (βρίσκονται σε εξέλιξη) και ως εκ τούτου θα μπορούσαμε να αποφανθούμε για την ποσοστιαία ενσωμάτωση λιπαρών οξέων στην κάθε περίπτωση.

Από τις σχέσεις μήκους-βάρους που αναπτύχθηκαν, φαίνεται ότι οι προνύμφες τις πρώτες 36 ημέρες έχουν ισομετρική αύξηση, ενώ από την 37^η έως την 64^η η αύξηση των νυμφών ήταν αρνητική αλλομετρική.

Αν συνυπολογιστεί ο ρυθμός αύξησης των νυμφών και το κόστος των τροφών (ζωντανών και τεχνητών), για κάθε πρωτόκολλο, τότε μπορούμε να αποφασίσουμε ποιος απογαλακτισμός είναι πιο οικονομικός για μια εταιρία παραγωγής γόνου τσιπούρας. Με βάση τα αποτελέσματα του παρόντος πειράματος και από το γεγονός ότι το κόστος των ζωντανών τροφών είναι μεγάλο και η διαθεσιμότητα και η ποιότητα τους δεν είναι σταθερή, ο πρόωρος απογαλακτισμός είναι πιο επικερδής για μια εταιρία παραγωγής γόνου τσιπούρας, (ιδιαίτερα με τη χρήση της τροφής Α σύμφωνα με τους Πίνακες 5 και 6).

Κεφάλαιο 5: Βιβλιογραφία

5.1. Ξένη βιβλιογραφία

- Ben Amotz**, A., Fishler, R. and Schneller, A., 1987. Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acids. *Marine Biology*, 95: 31-36.
- Caric**, M., Sanko Njire, J. and Skaramuca, B., 1993. Dietary effects of different feeds on the biochemical composition of the rotifer (*Brachionus plicatilis* Muller). *Aquaculture*, 110: 141-150.
- Dhert**, P. and Sorgeloos, P., 1995. Live feeds in aquaculture. In: Nambiar K.P.P. and T. Singh (Eds). *Aquaculture Towards the 21st Century*, Proc. Infofish Conference, Malaysia, pp. 209-219.
- Guyot**, E., Connes R. et Diaz J.P. 1993. Résorption des réserves vitellines et passage de l'endotrophie à l'exotrophie chez la larve de Daurade (*Sparus aurata*) nourrie et à jeun. In: Barnabé G. Kestemont P. (Eds.) *Production, Environment and Quality*. Bordeaux Aquaculture 1992. E.A.S. Spec. Pub. 18: 213 – 226.
- Guyot**, E., 1995. Passage de l'endotrophie a l'exotrophie chez la larve de Daurade, *Sparus aurata*, soumise a differents regimes alimentaires: evolution du complexe vitellin, du foie et de l'intestin. Doctorat d'Etat es Sciences - Universite des Sciences et Techniques du Languedoc - Montpellier. 158 p.
- Izquierdo**, M.S., Robaina, I., Juárez-Carrillo, E., Oliva, V., Hernández-Cruz, C.M., and Alfonso, J.M., 2007. Regulation of growth, fatty acid composition and delta 6 desaturase expression by dietary lipids in gilthead sea bream larvae (*Sparus aurata*). *Fish Physiol Biochem*, 34(2):117-2.

- Kanazawa, A.**, 1985. Essential fatty acid and lipid requirement of fish. In: C.B. Cowey, A.M. Mackie and J.G. Bell (eds). Nutrition and feeding in fish: pp. 281-298.
- Kentouri, M.**, Divanach, P. and Paris, J., 1981. Preferences alimentaires et comportement de la larve de daurade *Sparus auratus* face a du zooplancton congele. Ann. Zootech., 30(4): 391-410.
- Kentouri M.** 1985. Comportement larvaire de 4 Sparides méditerranéens en élevage: *Sparus aurata*, *Diplodus sargus*, *Lithognathus mormyrus*, *Puntazzo puntazzo* (Poissons téléostéens). Thèse de doctorat ès Sciences. Université de Sciences et Techniques du Languedoc. Montpellier. 492 p.
- Kentouri, M.** and Divanach, P., 1986. Spectres alimentaires des larves de sparides en conditions controlees. Selectivite specifique de la daurade *Sparus aurata*. Oceanologica Acta, 9(3): 343-348.
- Koven, W.M.**, Kissil, G.W. and Tandler, A., 1989. Lipid and n-3 requirement of *Sparus aurata* larvae during starvation and feeding. Aquaculture, 79: 185-191.
- Koven, W.M.**, Tandler, A., Kissil, G.W., Sklan, D., Friezlander, O. and Harel, M., 1990. The effect of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids on growth, survival and swim bladder development in *Sparus aurata* larvae. Aquaculture, 91: 131-141.
- Lavens, P.**, P. Leger, and P. Sorgeloos, 1989. Manipulation of the fatty acid profile of *Artemia* offspring produced in intensive culture systems. In: N. De Pauw, E. Jaspers, A. Ackefors, N. Wilkins (eds). Aquaculture - A biotechnology in progress. E.A.S., Belgium, pp. 731-739

- Lavens, P., P. Sorgeloos, P. Dhert, B. Devresse, 1995.** Larval foods. In: N.R. Bromage, R.J. Roberts (eds), Broodstock management and egg and larval quality. Blachwell Science Ltd, Oxford, pp. 373-397.
- Mourente, G., Rodriguez, A., Tocher, D.R. and Sargent, J.R., 1993.** Effects of dietary docosahenaenoic acid (DHA; 22: 6n-3) on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding. *Aquaculture*, 112: 79-98.
- Moyano, F.J., Diaz, M., Alarcon, F.J. and Sarasquete, M.C. 1996.** Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 15(2): 121-130.
- Oliva-Teles, A., 2000.** Recent advances in European sea bass and gilthead sea bream nutrition. *Aquaculture International*, 8: 477-492.
- Ounais Guschemann, N. 1989.** Definition d'un modele d'elevage larvaire intensif pour la daurade *Sparus auratus*. Thèse de docteur. Université d'aix Marseille II. Marseilles. 180 p.
- Papandroulakis, N., P. Divanach, P. Anastasiadis, M. Kentouri, 2002.** The pseudo green water technique for intensive rearing of sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture International*, 9: 205-216.
- Perez, J.A., Rodriguez, C., Izquierdo, M.S., Lorenzo, A., Cejas, J.R., 1994.** The effect of high dietary n-3 HUFA levels on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larval culture. *Aquaculture*, 124(1-4): 288.
- Polo, A., Yúfera, M., Pascual, E., 1991.** Effects of temperature on eggs and larval development of *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 92: 367-375.

- Rainuzzo, J.R., Y. Olsen, and G. Rosenlund, 1989.** The effect of enrichment diets on the fatty acid composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 79: 157-161.
- Rainuzzo, J.R., 1993.** Fatty acid and lipid composition of fish egg and larvae. In: Reinertsen, Dahle, Jorgensen, Tvinnereim (eds). *Fish Farming Technology*. Balkema, Rotterdam, pp. 43-49.
- Robin, J.H. and Vincent, B., 2003.** Microparticulate diets as first food for gilthead sea bream larva (*Sparus aurata*): study of fatty acid incorporation. *Aquaculture*, 225: 463–474.
- Sangun, L., Akamca1, E. and Akar, M., 2007.** Weight-Length Relationships for 39 Fish Species from the North-Eastern Mediterranean Coast of Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 7: 37-40.
- Sanmartin, M., Bengoa Ruigomez, M.V., Hatziathanasiou, A., Divanach, P., and Kentouri, M. 1995** On the use of submarine light tubes in large volume intensive *Chlorella* sp. (Beyenick) culture. Definition of the optimum number of lamps per unit of volume. In: F. Castello i Orvay & A. Calderer i Reig (eds). *Proceed. 5th Nat. Congr. Aquacult., Universitat de Barcelona publ.*, pp. 104-108.
- Sarasquete, M.C., A. Polo, and M.L Gonzalez de Canales, 1993.** A histochemical and immunohistochemical study of digestive enzymes and hormones during the larval development of the sea bream, *Sparus aurata* L. *Histochemical Journal*, 25: 430-437.
- Sarasquete, M.C., Polo, A. and Yufera, M., 1995.** Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 130: 79-92.

- Sorgeloos, P.**, and P. Leger, 1990. Improved larviculture outputs of marine fish, shrimp, and prawn. Paper presented at "World aquaculture '90", Halifax, Canada, June 10-14.
- Sorgeloos, P.**, and co-workers, 1993. Live feeds and their substitution products for larval nutrition of fish, shrimp and prawn. In: 3rd International Course on Fish Larvae Nutrition, Wageningen, the Netherlands, May 3-12: 177-207.
- Tandler, A.**, and R. Sherman, 1981. Food organism concentration, environmental temperature and survival of the gilthead bream (*Sparus aurata*) larvae. World Mar. Soc. Spec. Pub., 6: 237-248.
- Tandler, A.**, and C. Mason. 1984. The use of super(14)C labelled rotifers (*Brachionus plicatilis*) in larvae of gilthead seabream (*Sparus aurata*): Measurements of the effect of rotifer concentration, the lighting regime and seabream larval age on their rate of rotifer ingestion. World Mar. Soc., Spec. Pub., 8: 241-259.
- Watanabe, T.**, C. Kitajima and S. Fujita, 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: A review. Aquaculture, 34:115-143.
- Yufera, M.**, E. Pascual, and A. Polo, 1993a. First results on feeding rates of gilthead seabream *Sparus aurata* larvae reared in the laboratory. In: B.T. Walther and H.J. Fyhn (Eds), Physiological and biochemical aspects of fish development. University of Bergen, Norway, pp. 160-166.
- Yufera, M.**, Pascual, E., Polo, A. and Sarasquete, M.C., 1993b. Effect of starvation on the feeding ability of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae at first feeding. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 169: 259-272.
- Yufera, M.**, C. Fernandez-Diaz, E. Pascual, 1995. Feeding rates of gilthead seabream (*Sparus aurata*), larvae on microcapsules. Aquaculture, 134: 257-268.

5.2. Ελληνική βιβλιογραφία

- Βασδέκης, Β., και Ψαράκης, Σ., 2001.** Ανάλυση Διακύμανσης και Σχεδιασμός Πειραμάτων. Οικονομικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Στατιστικής, σελ. 16-18
- Γλυνάτση, Ν., 2008.** Επίδραση των διατροφικών επιπέδων βιταμίνης Α στην οστεολογική ανάπτυξη του λαβρακιού, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). Μεταπτυχιακή Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, σελ. 6-7
- Divanach, P., Παπανδρουλάκης Ν., Αναστασιάδης Π., Στεφανάκης Σ., Ανεζάκη Λ., Κεντούρη Μ., 1997.** Η τεχνολογία του ψευδοπράσινου νερού για εντατική εκτροφή ιχθυονυμφών τσιπούρας (*Sparus aurata*). 3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Υδατοκαλλιεργειών «Έρευνα και Παραγωγή» 14-15 Νοεμβρίου 1996, Αλιευτικά Νέα, 191: 53-61
- Κλαδάς, Ι., 2006.** Παραγωγή ιχθυδίων θαλασσινών ειδών: Καλλιέργειες νυμφών. Ηγουμενίτσα 2006, σελ. 18-19.
- Κουμουνδούρος, Γ., 1993.** Βιολογία ανάπτυξης της τσιπούρας (*Sparus aurata*, Linnaeus, 1758 (Percoidea, Sparidae) υπό εκτατικές συνθήκες καλλιέργειας. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, σελ. 1-84.
- Ντόμαλης, Κ., 2003.** Η αντικατάσταση των ζωντανών τροφών στην διατροφή λαρβών τσιπούρας και λαβρακιού. Αλιευτικά Νέα, 264, σελ. 30-37.
- Παπανδρουλάκης, Ν., Παπαϊωάννου, Δ., Ανεζάκη, Ε., Στεφανάκης, Σ., Χατζιαθανασίου, Α., Bengoa, V., και Divanach, P., 1998.** Αυτοματοποιημένο σύστημα διαχείρισης και ταΐσματος για εντατικά εκκολαπτήρια. 1ο Βαλκανικό Συνέδριο Υδατοκαλλιεργειών, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα, 18-21 Σεπτεμβρίου 1998. Αλιευτικά Νέα, 211, 74-83.

Παπανδρουλάκης, Ν., 2000. Επίδραση των συνθηκών εκτροφής στην ανάπτυξη και κατανάλωση τροφής της τσιπούρας (*Sparus aurata*) κατά τα πρώτα αναπτυξιακά στάδια. Μαθηματικές προσομοιώσεις. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, σελ. 3-4, 13-20.

Szisch, V., 2003. Οντογένεση των θυρεοειδικών ορμονών στην τσιπούρα (*Sparus aurata*). Μεταπτυχιακή Διατριβή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, σελ. 1-4, 17-22.

5.3. Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

FAO Globefish, 2009. Seabass and seabream market reports. www.globefish.org. 16/08/2010.