

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ
ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**«Βιολογία και φυσιολογία θρέψης διακοσμητικών ψαριών σε
ενυδρεία»**

ΒΛΑΧΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΒΟΛΟΣ 2014

«Βιολογία και φυσιολογία θρέψης διακοσμητικών ψαριών σε ενυδρεία»

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

- 1) Ελένη Μεντέ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Φυσιολογία Θρέψης Υδρόβιων Ζωικών οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιβλέπουσα.
- 2) Χρήστος Νεοφύτου, Καθηγητής, Ιχθυολογία-Υδροβιολογία, Τμήμα Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος
- 3) Κωνσταντίνος Αρ. Κορμάς, Αναπληρωτής Καθηγητής, Οικολογία Υδρόβιων Μικροοργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

- 1) Ελένη Μεντέ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Φυσιολογία Θρέψης Υδρόβιων Ζωικών οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιβλέπουσα.
- 2) Χρήστος Νεοφύτου, Καθηγητής, Ιχθυολογία-Υδροβιολογία, Τμήμα Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος
- 3) Κωνσταντίνος Αρ. Κορμάς, Αναπληρωτής Καθηγητής, Οικολογία Υδρόβιων Μικροοργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας Μέλος
- 4) Κοσμάς Βιδάλης, Καθηγητής, Ιχθυογεννητικοί Σταθμοί-Υδατοκαλλιέργειες Ασπονδύλων, Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας-Υδατοκαλλιεργειών, Τ.Ε.Ι. Δυτικής Ελλάδας, Μέλος
- 5) Ιωάννης Νέγκας, Ερευνητής Α, Διατροφή Εκτρεφόμενων Θαλασσιών Ειδών, Ελληνικό Κέντρο Θαλάσσιων Ερευνών, Μέλος
- 6) Ευθυμία Αντωνοπούλου, Επίκουρη Καθηγήτρια, Φυσιολογία Ζωικών οργανισμών με έμφαση στους ιχθύες, Τμήμα Βιολογίας Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Μέλος
- 7) Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης, Λέκτορας, Διατροφή Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος

Νικόλαος Βλάχος

«Βιολογία και φυσιολογία θρέψης διακοσμητικών ψαριών σε ενυδρεία»

Βλάχος Νικόλαος, 2014 «Βιολογία και φυσιολογία θρέψης διακοσμητικών ψαριών σε ενυδρεία»

Αριθμός προκαταρκτικών σελίδων:37

Συνολικός Αριθμός Σελίδων:338

Αριθμός Πινάκων:49

Αριθμός Σχημάτων:27

Αριθμός Εικόνων:52

Αριθμός βιβλιογραφικών αναφορών:332

Στην,

Έφη

&

στα αντίμα μου,

Ειρήνη και Γιώργο

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες στους ανθρώπους που συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Διδακτορική Διατριβή. Η πραγματοποίησή της δεν θα ήταν δυνατή χωρίς την καθολική τους συμπαράσταση.

Ευχαριστώ την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κ. Ελένη Μεντέ για την εμπιστοσύνη, την απεριόριστη κατανόηση, την επιστημονική και πνευματική καθοδήγηση και την ηθική υποστήριξη που έδειξε στο άτομό μου καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διδακτορικής διατριβής καθώς και για την ευκαιρία που μου έδωσε να συνεργαστώ μαζί της όλα αυτά τα χρόνια. Η συμβολή της ήταν καθοριστική όχι μόνο για την ολοκλήρωση της διατριβής αλλά και για την απόκτηση εξειδικευμένων γνώσεων σε θέματα φυσιολογίας και διατροφής ψαριών γενικότερα.

Ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Κορμά μέλος της τριμελούς επιτροπής για τις συμβουλές και χρήσιμες υποδείξεις που έδωσε κατά τη συγγραφή της διατριβής, αλλά και για το ενδιαφέρον που επέδειξε κατά τη διάρκεια διεξαγωγής των πειραμάτων.

Ευχαριστώ τον Καθηγητή κ. Χρήστο Νεοφύτου, μέλος της τριμελούς επιτροπής για τις χρήσιμες συμβουλές του καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της έρευνας.

Επίσης, εκφράζω τις εγκάρδιες ευχαριστίες μου στον Λέκτορα κ. Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη, για την ανιδιοτελή βοήθεια του, την συμπαράσταση του, για τις χρήσιμες πληροφορίες του και τις ατέλειωτες ώρες που διέθεσε σε συζητήσεις επιστημονικού ενδιαφέροντος, την απεριόριστη υπομονή και κατανόησή του καθώς και για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπο μου.

Ευχαριστώ τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Αθανάσιο Εξαδάκτυλο για τις πολύτιμες και χρήσιμες συμβουλές του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής.

Ευχαριστώ την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μαρία Μακρή του Τμήματος Τεχνολογίας Αλιείας-Υδατοκαλλιεργειών του Τ.Ε.Ι. Δυτικής Ελλάδας για τις χρήσιμες συμβουλές της στις αναλύσεις των δειγμάτων.

Επίσης, ευχαριστώ τους Επίκουρους Καθηγητές Αλέξη Ράμφο και Δημήτρη Μουτόπουλο του Τμήματος Τεχνολογίας Αλιείας-Υδατοκαλλιεργειών του Τ.Ε.Ι. Δυτικής Ελλάδας για τις χρήσιμες συμβουλές και την παρότρυνση τους για την ολοκλήρωση της διδακτορικής διατριβής.

Ευχαριστώ τη Δουβή Ξανθίπη, Ε.ΤΕ.Π του Τμήματος Τεχνολογίας Αλιείας-Υδατοκαλλιεργειών του Τ.Ε.Ι. Δυτικής Ελλάδας για την ανιδιοτελή βοήθεια της, στη λυοφιλοποίηση των δειγμάτων.

Ευχαριστώ την Δρ Αλεξάνδρα Μεζίτη για την ανιδιοτελή βοήθεια της, στις εργαστηριακές αναλύσεις βιοποικιλότητας και κλωνοποίησης.

Ευχαριστώ τον υποψήφιο Διδάκτορα Πιερ Ψωφάκη, φίλο και συνάδελφο Ιχθυολόγο ΤΕ για τη βοήθεια στη πραγματοποίηση των πειραματικών εκτροφών και αναλύσεων στο εργαστήριο Φυσιολογίας.

Τη Λίτσα και το Γιώργο Ψωφάκη, που με αγκάλιασαν με την αγάπη τους, με δέχτηκαν σαν αδελφό, με πρόσεχαν σαν παιδί τους όλα αυτά τα χρόνια και με έκαναν να αγαπήσω και να νιώθω το σπίτι τους σαν δικό μου.

Ως πράξη ευγνωμοσύνης ευχαριστώ από τα βάθη της καρδιάς μου, τους γονείς μου Ειρήνη και το Γεώργιο Βλάχο, για την ηθική και υλική τους υποστήριξη, οι οποίοι με έμαθαν πώς να αντιμετωπίζω τις δυσκολίες στη ζωή αλλά και κατά την εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής.

Τέλος, ευχαριστώ τη σύζυγό μου, Έφη Πατσέα, που γεμίζει καθημερινά τη ζωή μου με ελπίδα, αγάπη, συμπαράσταση και στηρίζει κάθε μου βήμα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η εκτροφή και διατήρηση διακοσμητικών ψαριών σε ελεγχόμενες συνθήκες εδώ και πολλές δεκαετίες αποτέλεσε αντικείμενο ερασιτεχνικής και επαγγελματικής ενασχόλησης. Το οικονομικό ενδιαφέρον που παρουσιάζουν σήμερα τα διακοσμητικά ψάρια αυξήθηκε με αποτέλεσμα να γίνονται ολοένα και περισσότερες προσπάθειες εντατικοποίησης της αναπαραγωγής και της εκτροφής τους. Παρά τη μακρόχρονη εμπειρία που υπάρχει σήμερα στη διατήρηση διακοσμητικών ψαριών ελάχιστες είναι οι γνώσεις και οι πληροφορίες για την οντογένεση και τις διαιτητικές ανάγκες σε θρεπτικά συστατικά που ενίσχυνουν τη βέλτιστη ανάπτυξη του ψαριού.

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν: (α) η μελέτη της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς και ειδικότερα των σταδίων οντογένεσης (β) η μελέτη της επίδρασης διαφορετικών τύπου σιτηρεσίων καθώς επίσης και η προέλευση της πρωτεϊνικής πηγής του σιτηρεσίου στην ανάπτυξη, επιβίωση και κατανάλωση της τροφής και (γ) η μελέτη της δομής των κοινοτήτων και τυχόν αλλαγές στη σύνθεση των ειδών του βακτηριοπλαγκτού σε ενυδρεία, σε δυο εκ των δημοφιλέστερων ειδών της οικογένειας των κιχλίδων, της κιχλιδόζεμπρας (*Archocentrus nigroafasciatus*) και του αγγελόψαρου (*Pterophyllum scalare*).

Για τη μελέτη της αναπαραγωγής της κιχλιδόζεμπρας χρησιμοποιήθηκαν 7 ώριμοι γεννήτορες μέσου βάρους 10-20 gr οι οποίοι διατηρήθηκαν σε συνθήκες αιχμαλωσίας για διάστημα ενός έτους σε αναλογία 1♂:1♀. Οι γεννήτορες τοποθετήθηκαν σε 7 υάλινα ενυδρεία χωρητικότητας 45 L σε θερμοκρασία 27 °C, με ολική σκληρότητα 8-10 °dH και pH 6-8 για διάστημα 90 ημερών. Ομοίως 5 γεννήτορες αγγελόψαρου μέσου βάρους 10-25 gr διατηρήθηκαν σε συνθήκες αιχμαλωσίας για διάστημα ενός έτους σε αναλογία 1♂:1♀. Οι γεννήτορες τοποθετήθηκαν σε 5 υάλινα

ενυδρεία χωρητικότητας 65 L σε θερμοκρασία 29 °C, με ολική σκληρότητα 4-5 °dH και pH 6,2-6,5 για διάστημα 300 ημερών. Για τη μελέτη της οντογένεσης στην κιχλιδόζεμπρα χρησιμοποιήθηκαν 600 προνύμφες σε δυο διαφορετικές θερμοκρασίες στους 23 °C και 27 °C (ελάχιστη και μέγιστη θερμοκρασία αναπαραγωγής) για χρονικό διάστημα τριών ημερών μέχρι την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου. Επίσης, στο αγγελόψαρο για την εξέλιξη των σταδίων της οντογένεσης χρησιμοποιήθηκαν 500 προνύμφες σε δυο διαφορετικά pH 6,2 και 7,4 (όξινο και αλκαλικό περιβάλλον) για χρονικό διάστημα τριών ημερών έως την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου και τη λήψη εξωγενούς τροφής. Η μελέτη των θρεπτικών αναγκών στα μελετηθέντα είδη έγινε με μια σειρά πειραμάτων στα οποία χρησιμοποιήθηκαν δυο ισοπρωτεϊνικά (δίαιτα Α και Β) και δυο ισολιπιδικά (δίαιτα Γ και Δ) εμπορικά σιτηρέσια (σύμπηκτα και νιφάδες σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή) τρεις φορές ημερησίως στους 20 °C (ελάχιστη θερμοκρασία θερμικής ανθεκτικότητας) και 27 °C (βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης) για την κιχλιδόζεμπρα και στους 25 °C (ελάχιστη θερμοκρασία θερμικής ανθεκτικότητας) και 29 °C (βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης) για το αγγελόψαρο. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 240 αγγελόψαρα μέσου σωματικού βάρους $1,1 \pm 0,5$ g και ολικού μήκους $3,9 \pm 0,4$ cm τοποθετήθηκαν σε ενυδρεία χωρητικότητας 45 L για διάστημα 60 ημερών στους 25 °C και 29 °C. Σε ότι αφορά την κιχλιδόζεμπρα χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 240 άτομα μέσου σωματικού βάρους $1,25 \pm 0,02$ g και ολικού μήκους $4,0 \pm 0,4$ cm τοποθετήθηκαν σε ενυδρεία χωρητικότητας 45 L για διάστημα 60 ημερών στους 20 °C και 27 °C αντίστοιχα. Όλα τα πειραματικά ενυδρεία χωρίσθηκαν ανά δυο σε δυο διατροφικές ομάδες για κάθε δίαιτα οι οποίες καθημερινά λάμβαναν τροφή 5% του μέσου ζώντος βάρους ψαριού. Μια ομάδα αγγελόψαρων και κιχλιδόζεμπρας παρόμοιου μεγέθους διατηρήθηκε σε συνθήκες ασιτίας για το ίδιο

χρονικό διάστημα και στις δυο θερμοκρασίες εκτροφής. Τα πειράματα κατανάλωσης της τροφής και για τα δυο είδη πραγματοποιήθηκαν σε οκτώ υάλινα ενυδρεία χωρητικότητας 40 L στους 25 °C και 29 °C και χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 80 αγγελόψαρα μέσου βάρους $1,1 \pm 0,1$ g και μέσου μήκους $4,0 \pm 0,4$ cm. Επίσης 80 κιχλιδόζεμπρες μέσου βάρους $1,28 \pm 0,01$ g και μέσου μήκους $4,0 \pm 0,4$ cm τοποθετήθηκαν σε οκτώ υάλινα ενυδρεία χωρητικότητας 40 L στους 20 °C και 27 °C. Στα πειράματα κατανάλωσης της τροφής χορηγήθηκαν τα ισοπρωτεϊνικά σιτηρέσια (δίαιτα Α και Β) τρεις φορές ημερησίως με επίπεδο διατροφής 5% του μέσου βάρους του ψαριού για διάστημα 30 ημερών. Η μελέτη επίδρασης της πρωτεϊνικής πηγής στην ανάπτυξη και επιβίωση του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας πραγματοποιήθηκε σε ξεχωριστό πείραμα όπου καταρτίστηκαν τρία ισοπρωτεϊνικά, ισολιπιδικά και ισοενεργειακά σιτηρέσια τα οποία διέφεραν ως προς την πηγή της διαιτητικής πρωτεΐνης (φυτική πρωτεΐνη, ζωική πρωτεΐνη, ανάμιξη φυτικής και ζωικής πρωτεΐνης). Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 150 αγγελόψαρα μέσου βάρους $0,59 \pm 0,01$ g και μέσου μήκους $3,2 \pm 0,07$ cm τα οποία τοποθετήθηκαν σε 15 υάλινα ενυδρεία 45 L σε θερμοκρασία 27 °C και σε 29 °C, για διάστημα 60 ημερών. Επίσης, 150 κιχλιδόζεμπρες μέσου βάρους $0,29 \pm 0,03$ g και ολικού μήκους $2,2 \pm 0,00$ cm τοποθετήθηκαν σε 15 υάλινα ενυδρεία 45 L σε θερμοκρασία 27 °C. για διάστημα 60 ημερών. Μια ομάδα αγγελόψαρου και κιχλιδόζεμπρας παρόμοιου μεγέθους διατηρήθηκαν σε δέκα ενυδρεία όγκου 45 L σε συνθήκες ασιτίας για διάστημα 60 ημερών. Τέλος μελετήθηκε η δομή κοινοτήτων βακτηριοπλαγκτού και στα δυο είδη ψαριών σε τέσσερα ξεχωριστά ενυδρεία χωρητικότητας 45 L για διάστημα 60 ημερών. Με την έναρξη του πειράματος προστέθηκαν περίπου 50×10^6 κύτταρα νιτροποίησης και απονιτροποίησης. Τη 2^η ημέρα η βακτηριακή αφθονία ήταν μεταξύ περίπου $2,4$ και $5,3 \times 10^6$ κύτταρα ml^{-1} και

την 5^η ημέρα ήταν περίπου $1,2$ και $4,3 \times 10^6$ κύτταρα ml^{-1} . Επίσης διερευνήθηκαν η βακτηριακή κυτταρική αφθονία και η ποικιλομορφία του 16S rRNA γονιδίου κατά την έναρξη (ημέρα 0), τη μέση (ημέρα 30) και στο τέλος του πειράματος.

Τα αποτελέσματα της διδακτορικής διατριβής έδειξαν ότι και τα δυο είδη ψαριών αναπαράχθηκαν με επιτυχία, ενώ η μεγαλύτερη εκκολαψιμότητα παρουσιάστηκε στους 27°C για την κιχλιδόζεμπρα και στους 29°C για το αγγελόψαρο. Ο αριθμός των γονιμοποιημένων αυγών στην κιχλιδόζεμπρα ήταν μεγαλύτερος, όταν στην επώαση συμμετείχαν ενεργά και οι δυο γεννήτορες. Επίσης, το αγγελόψαρο σε όξινο περιβάλλον (pH 6.2) παρουσίασε υψηλότερα ποσοστά γονιμοποίησης και εκκόλαψης (87%) σε αντίθεση με το αλκαλικό περιβάλλον όπου η εκκόλαψη ήταν 43%. Το πρότυπο μοντέλο της μορφολογικής ανάπτυξης των δυο μελετηθέντων ειδών δεν παρουσίασε διαφορές από εκείνο που παρουσιάζουν τα είδη της οικογένειας *Cichlidae*. Η κιχλιδόζεμπρα παρουσίασε ένα στάδιο έντονων μορφομετρικών μεταβολών που εξαρτώνται από τη θερμοκρασία εκκόλαψης. Οι έντονες μεταβολές στους 27°C έλαβαν χώρα από την ηλικία των 32 h μέχρι των 56 h, ενώ στη μικρότερη θερμοκρασία (23°C) οι έντονες μεταβολές έλαβαν χώρα από την ηλικία των 56 h μέχρι των 72 h. Η λήξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου στο αγγελόψαρο παρατηρήθηκε στις 60 h σε pH 6,2 και 12-24 h αργότερα στο αλκαλικό περιβάλλον (pH 7.4). Τα αποτελέσματα προσδιορισμού των διαιτητικών απαιτήσεων έδειξαν ότι τα αγγελόψαρα όταν σιτίστηκαν με εμπορικά σύμπληκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή (δίαιτα A) παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά καλύτερη ανάπτυξη, επιβίωση και μεγαλύτερη κατανάλωση τροφής ($P < 0,05$) σε σχέση με τις εμπορικές νιφάδες όταν χρησιμοποιήθηκαν σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή (δίαιτα B) στη βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης (29°C). Επίσης τα αγγελόψαρα όταν σιτίστηκαν με δυο

ισολιπιδικές δίαιτες (δίαιτα Γ και Δ) παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά καλύτερη ανάπτυξη, μεγαλύτερη επιβίωση και μεγαλύτερη κατανάλωση τροφής, όταν σιτίζονταν με τη δίαιτα Γ (σύμπληκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή) ($P < 0,05$). Ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) για τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν, με εμπορικά σύμπληκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή (δίαιτα Α και δίαιτα Γ) έδειξε υψηλότερα επίπεδα σε λυσίνη και θρουονίνη (δίαιτα Α) σε σχέση με τη δίαιτα Β και αργινίνη σε σχέση με τη δίαιτα Δ.

Ομοίως η κιχλιδόζεμπρα στους 27 °C επέδειξε παρόμοια ανάπτυξη όταν σιτίστηκε με τις ισοπρωτεϊνικές δίαιτες (Α και Β) και τις ισολιπιδικές δίαιτες (Γ και Δ) χωρίς να παρουσίαζε στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$). Αντίθετα στους 20 °C η κιχλιδόζεμπρα όταν σιτίζονταν με εμπορικά σύμπληκτα (δίαιτα Α και Β) παρουσίασε στατιστικά σημαντικά καλύτερη ανάπτυξη ($P < 0,05$) σε σχέση με τις νιφάδες (δίαιτα Γ και Δ). Η κατανάλωση της τροφής για την κιχλιδόζεμπρα που σιτίζονταν με τη δίαιτα Α, ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη ($P < 0,05$) σε σχέση με τη δίαιτα Β. Αντίθετα στους 20 °C, η κιχλιδόζεμπρα παρουσίασε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη κατανάλωση τροφής όταν σιτίζονταν με τη δίαιτα (Β και Δ) και πιθανώς να οφείλονταν στις αυξημένες ανάγκες αξιοποίησης μεταβολικά της τροφής. Σε ότι αφορά την επίδραση της πρωτεϊνικής πηγής του σιτηρεσίου στην ανάπτυξη και επιβίωση του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι και τα δύο είδη παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά καλύτερο ρυθμό ανάπτυξης, μεγαλύτερη αύξηση βάρους και καλύτερη κατανάλωση τροφής όταν σιτίστηκαν με σιτηρέσια από ιχθυάλευρο ή ανάμεικτα σιτηρέσια σε σχέση με τα φυτικά ($P < 0,05$). Σε συνθήκες ασιτίας τα ψάρια έχασαν βάρος. Στα ενυδρεία εκτροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας παρατηρήθηκε αύξηση στη βακτηριακή κοινωνία σε όλο το διάστημα

εκτροφής. Ο μεγαλύτερος αριθμός φυλότυπων παρατηρήθηκε την ημέρα 0 και ο χαμηλότερος σημειώθηκε στις 60 και 30 ημέρες για την κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο, αντίστοιχα, με την πλειοψηφία των κοινών φυλότυπων να ανήκει στα *Proteobacteria*. Από τα παραπάνω υποδηλώνεται ότι η εμπορική δίαιτα Α (σύμπηκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή) οδηγεί σε ταχύτερους ρυθμούς ανάπτυξης και καλύτερη κατανάλωση τροφής όταν η θερμοκρασία διατήρησης των αγγελόψαρων είναι 29 °C σε σχέση με τους 25 °C, υποδεικνύοντας ότι στα ανώτερα θερμοκρασιακά βέλτιστα όρια, ο ρυθμός μεταβολισμού της τροφής ήταν υψηλότερος. Επίσης σε ότι αφορά την κιχλιδόζεμπρα τα ψάρια παρουσίασαν παρόμοια ανάπτυξη όταν σιτίστηκαν με τις εμπορικές πειραματικές δίαιτες στους 27 °C. Το αγγελόψαρο και η κιχλιδόζεμπρα όταν διατρέφονταν με σιτηρέσια από ιχθυάλευρο (FM) ή με σιτηρέσια που έγινε μερική υποκατάσταση της ζωικής πρωτεΐνης από φυτική (MM), παρουσίασαν υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης και μεγαλύτερη αύξηση βάρους σε σχέση με τα ψάρια που σιτίστηκαν με σιτηρέσια που περιείχαν αποκλειστικά πρωτεΐνη φυτικής προέλευσης (PM). Τα αποτελέσματα της παρούσας διδακτορικής διατριβής παρέχουν πληροφορίες σε ό,τι αφορά τη διαχείριση της εκτροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας, προσφέροντας νέες στρατηγικές στην κατάρτιση βελτιωμένων και ισορροπημένων σιτηρεσίων οι οποίες μπορεί να αντισταθμίζουν τη ρύπανση του ενυδρείου και να προωθήσουν τη βέλτιστη ανάπτυξη, τη μεταβολική αξιοποίηση της τροφής και την υγεία των διακοσμητικών ψαριών.

Λέξεις κλειδιά: Αναπαραγωγή, οντογένεση, ανάπτυξη, επιβίωση, διατροφικές απαιτήσεις, βακτηριοπλακτόν, εκτροφή διακοσμητικών ψαριών, *Pterophyllum scalare*, *Archocentrus nigrofasciatus*.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1. Παγκόσμια παραγωγή και χρηματική αξία διακοσμητικών ψαριών	1
1.2. Περιγραφή και οικολογία των ειδών	3
1.2.1. Περιγραφή-βιολογικά χαρακτηριστικά του αγγελόψαρου	3
1.2.2. Περιγραφή-Βιολογικά χαρακτηριστικά του <i>Archocentrus nigrofasciatus</i>	6
1.3. Αναπαραγωγική δραστηριότητα και συμπεριφορά του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας	9
1.3.1. Οντογένεση, λεκιθοφόρα και μεταλεκιθοφόρα νυμφική ανάπτυξη.....	11
1.3.2. Επίδραση της θερμοκρασίας στην εμβρυική ανάπτυξη.....	17
1.4. Διατροφή του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας	19
1.5. Δομή κοινοτήτων βακτηριοπλαγκτού σε ενυδρεία εκτρεφόμενων διακοσμητικών ψαριών με το είδος <i>P. scalare</i> και το <i>A. nigrofasciatus</i>	34
1.6. Σκοπός της Διδακτορικής διατριβής.....	35
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΡΕΥΝΑΣ	38
2.1. Πειραματικός σχεδιασμός αναπαραγωγικής διαδικασίας του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας	38
2.1.1. Συνθήκες εκτροφής-αναπαραγωγής.....	39
2.1.2. Επιλογή γεννητόρων	43
Ολική αμμωνία (T.AN: $\text{NH}_3\text{-N} + \text{NH}_4^+\text{-N}$), mg/L.....	44
Νιτρώδη ιόντα ($\text{NO}_2^-\text{-N}$),mg/L	44
2.1.3. Διατροφή γεννητόρων	47
2.1.4. Αναπαραγωγή-Στάδια Οντογένεσης	48
2.1.5. Παραμετροποίηση των κρίσιμων περιόδων στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης.....	50
2.1.6. Ποσοστά γονιμοποίησης και εκκόλαψης-Επιβίωση	50
2.1.7. Χαρακτηριστικά αυγού κιχλιδόζεμπρας και αγγελόψαρου	51
2.1.8. Αναπτυξιακοί χρόνοι πρώιμων σταδίων	52
2.1.9. Εξέλιξη αναπτυξιακών σταδίων κιχλιδόζεμπρας και αγγελόψαρου.....	53
2.1.10. Δειγματοληψίες.....	57
2.1.11. Διαχείριση πειραματικών ενυδρείων	58

2.1.12. Μετρήσεις φυσικοχημικών παραμέτρων	58
2.1.13. Αρχές λειτουργίας βιολογικού φίλτρου ενυδρείου	59
2.2. Μελέτη στοιχείων διατροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας.....	62
2.2.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	62
2.2.2. Συνθήκες εκτροφής.....	64
2.2.3. Πειραματικά ψάρια και διαχείριση	66
2.2.4. Μετρήσεις μορφομετρικών παραμέτρων των ψαριών.....	69
2.2.5. Πειραματικά σιτηρέσια.....	70
2.2.6. Δειγματοληψίες.....	76
2.2.7. Παράμετροι ανάπτυξης ιχθύων, αξιοποίησης και κατανάλωση της τροφής.....	76
2.2.8. Χημικές αναλύσεις.....	81
2.3. Επίδραση της πρωτεϊνικής πηγής του σιτηρεσίου στην ανάπτυξη και επιβίωση του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας.....	90
2.3.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	90
2.3.2. Συνθήκες εκτροφής και πειραματικά ψάρια.....	90
2.3.3. Πειραματικά σιτηρέσια.....	92
2.4. Έρευνα για τη δομή κοινοτήτων βακτηριοπλαγκτού σε ενυδρεία εκτρεφόμενων διακοσμητικών ψαριών με το είδος <i>Pterophyllum scalare</i> και το <i>Archocentrus nigrofasciatus</i>	95
2.4.1. Συνθήκες εκτροφής.....	95
2.4.2. Βακτηριακή αφθονία και ποικιλομορφία.....	96
2.4.3. Αλληλουχία και φυλογενετική ανάλυση.....	98
2.5. Στατιστική ανάλυση.....	100
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	102
3.1. Αρχή λειτουργίας του βιολογικού φίλτρου	102
3.2. Ποιότητα νερού για τα ενυδρεία αναπαραγωγής.....	103
3.2.1. Ποιότητα νερού για τα ενυδρεία αναπαραγωγής της κιχλιδόζεμπρας.....	103
3.2.2. Ποιότητα νερού για τα ενυδρεία αναπαραγωγής του αγγελόψαρου.....	105
3.3. Αναπαραγωγική διαδικασία των δύο εκτρεφόμενων ειδών	107
3.3.1 Αναπαραγωγική διαδικασία της κιχλιδόζεμπρας.....	107

3.3.1.1. Εμβρυικό, λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας	114
3.3.1.2.Στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυδίου (juvenile) της κιχλιδόζεμπρας.....	140
3.3.1.3. Μορφομετρική εξέλιξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κιχλιδόζεμπρας σε σχέση με τη θερμοκρασία εκκόλαψης	143
3.3.1.4. Ποσοστά γονιμοποίησης-εκκόλαψης και επιβίωσης	148
3.3.2. Αναπαραγωγική διαδικασία του αγγελόψαρου	150
3.4. Αποτελέσματα διατροφικών πειραμάτων	174
3.4.1. Ποιότητα νερού στα ενυδρεία διατροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας.....	174
3.4.2. Έναρξη πειραμάτων διατροφής	180
3.4.3. Επιβίωση	181
3.4.4. Αύξηση βάρους και ειδικός ρυθμός ανάπτυξης.....	182
3.4.5. Αξιοποίηση και κατανάλωση τροφής	187
3.4.6.Χημική σύσταση σώματος.....	188
3.4.7. Παράγοντες ανάπτυξης των ιχθύων της κιχλιδόζεμπρας, αξιοποίησης και κατανάλωσης της τροφής.....	198
3.4.8. Χημική σύσταση σώματος.....	206
3.5. Αποτελέσματα της επίδρασης της πρωτεϊνικής πηγής του σιτηρεσίου (PM, FM MM) στην ανάπτυξη και επιβίωση του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας.....	219
3.5.1. Παράγοντες ανάπτυξης των ιχθύων, αξιοποίησης και κατανάλωσης της τροφής.....	219
3.6. Αποτελέσματα της δομής των κοινοτήτων του βακτηριοπλαγκτού στα ενυδρεία εκτροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας	227
3.6.1. Ποιότητα νερού στα πειραματικά ενυδρεία.....	227
3.6.2. Βακτηριακή αφθονία και ποικιλότητα.....	228
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	233
4.1. Ποιότητα νερού.....	233
4.2. Αναπαραγωγική διαδικασία κιχλιδόζεμπρας και αγγελόψαρου.....	236
4.2.1. Οντογένεση κιχλιδόζεμπρας και αγγελόψαρου	241
4.2.2. Λεκιθοφόρο νυμφικό και νυμφικό στάδιο ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου	246

4.2.3. Επίδραση της θερμοκρασίας στο λεκιθοφόρο νυμφικό και νυμφικό στάδιο ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας	253
4.2.4. Επίδραση του pH στο λεκιθοφόρο νυμφικό και νυμφικό στάδιο ανάπτυξης του αγγελόψαρου	255
4.3. Διατροφή του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας.....	257
4.4. Δομή κοινοτήτων βακτηριοπλαγκτού στα ενυδρεία εκτρεφόμενων διακοσμητικών ψαριών των ειδών <i>Pterophyllum scalare</i> και <i>Archocentrus nigrofasciatus</i>	277
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	283
5.1 Συμπεράσματα οντογένεσης της κιχλιδόζεμπρας και αγγελόψαρου.....	283
5.2. Συμπεράσματα διατροφικών πειραμάτων του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας	285
5.2.1.Συμπεράσματα διατροφικών πειραμάτων του αγγελόψαρου	286
5.2.2.Συμπεράσματα διατροφικών πειραμάτων της κιχλιδόζεμπρας	288
5.3. Συμπεράσματα της δομής των κοινοτήτων του βακτηριοπλαγκτού στα ενυδρεία του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας.....	290
6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	291
7.ABSTRACT	333

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1: Απαιτήσεις σε πρωτεΐνη και ενέργεια σε διακοσμητικά ψάρια γλυκού νερού	25
Πίνακας 1.2: Περιεκτικότητα εναλλακτικών τύπων σιτηρεσίων σε λιπαρά οξέα (mg/100 mg ξηρής ουσίας) που χρησιμοποιούνται στη διατροφή των διακοσμητικών ψαριών γλυκού νερού	30
Πίνακας 1.3: Απαιτήσεις σε βιταμίνη Α και C τεσσάρων διακοσμητικών ψαριών	33
Πίνακας 1.4: Απαιτήσεις σε ιχνοστοιχεία τριών διακοσμητικών ψαριών.....	33
Πίνακας 2.1: Ποιοτικά χαρακτηριστικά νερού για τη διατήρηση των γεννητόρων της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου πριν την αναπαραγωγική διαδικασία.....	44
Πίνακας 2.2: Μορφομετρικοί παράμετροι που μετρήθηκαν κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο.....	55
Πίνακας 2.3: Εβδομαδιαίος προγραμματισμός διαχείρισης πειραματικών ενυδρείων.....	58
Πίνακας 2.4: Παράγοντες και μεταβλητές υπολογισμού του ενεργού βάθους του φίλτρου πυθμένα.....	62
Πίνακας 2.5: Διατροφικά πειράματα για τον προσδιορισμό των διαιτητικών απαιτήσεων του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας.....	63
Πίνακας 2.6: Επιμέρους συστατικά των εμπορικών τροφών που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύσταση των πειραματικών διαιτών.....	71
Πίνακας 2.7: Θρεπτική σύσταση (% επί της ξηρής ουσίας) των τεσσάρων εμπορικών πειραματικών διαιτών, όπως δίνονται εργοστασιακά και αναλύθηκαν εργαστηριακά.....	72

Πίνακας 2.8: Θρεπτική σύσταση (% επί της ξηρής ουσίας) των πειραματικών διαιτών Α και Β που χρησιμοποιήθηκαν στο πρώτο, τρίτο, τέταρτο και έκτο πείραμα διατροφής.....	74
Πίνακας 2.9: Θρεπτική σύσταση (% επί της ξηρής ουσίας) των πειραματικών διαιτών Γ και Δ που χρησιμοποιήθηκαν στο δεύτερο και πέμπτο πείραμα διατροφής.....	74
Πίνακας 2.10: Περιεκτικότητα σε αμινοξέα των επιμέρους εμπορικών τροφών που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύσταση των πειραματικών διαιτών (συντομογραφίες στις παρενθέσεις).....	75
Πίνακας 2.11: Συστατικά και χημική σύσταση των πειραματικών σιτηρεσίων (% της τροφής).....	94
Πίνακας 3.1: Λειτουργικά-τεχνικά χαρακτηριστικά βιολογικού φίλτρου πυθμένα ενυδρείου.....	102
Πίνακας 3.2: Ποιοτικά χαρακτηριστικά του νερού των ενυδρείων μελέτης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κιχλιδόζεμπρας.....	103
Πίνακας 3.3: Ποιότητα νερού στα ενυδρεία μελέτης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου του αγγελόψαρου.....	106
Πίνακας 3.4: Μέση τιμή και τυπική απόκλιση (SD) του ολικού μήκους (TL), του όγκου του λεκιθικού σάκου (ySv) και των αναλογιών των μορφομετρικών χαρακτήρων.....	144
Πίνακας 3.5: Αποτελέσματα της PCA: κύριες συνιστώσες και παραγοντικά φορτία για κάθε μορφομετρικό παράγοντα και για τις τρεις κύριες συνιστώσες.....	145
Πίνακας 3.6: Αποτελέσματα της πολυπαραγοντικής ανάλυσης διακύμανσης (MANOVA): Επι της % επεξηγούμενη διακύμανση από κάθε παράγοντα.....	146

Πίνακας 3.7: Αριθμός αυγών της κιχλιδόζεμπρας που εκκολάφθηκαν παρουσία ή μη των γεννητόρων.....	149
Πίνακας 3.8: Φυσικοχημικές παράμετροι νερού στα πειραματικά ενυδρεία διατροφής του αγγελόψαρου στους (α) 29 °C και (β) 25 °C.....	175
Πίνακας 3.9: Φυσικοχημικοί παράμετροι νερού στα πειραματικά ενυδρεία εκτροφής της κιχλιδόζεμπρας στους (α) 27 °C και (β) 20 °C.....	178
Πίνακας 3.10: Αρχικό μέσο βάρος (g), τελικό βάρος (g), αρχικό μήκος (cm) τελικό μήκος (cm), αύξηση βάρους (g), ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR,%/ημέρα), συντελεστής ευρωστίας (%) του αγγελόψαρου σε συνθήκες ασιτίας και όταν τράφηκε με τις πειραματικές δίαιτες A και B σε θερμοκρασία (α) 29 °C και (β)25 °C.....	185
Πίνακας 3.11: Αρχικό μέσο βάρος (g), τελικό βάρος (g), αρχικό μήκος (cm) τελικό μήκος (cm), αύξηση βάρους (g), ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR,%/ημέρα), συντελεστής ευρωστίας (%) του αγγελόψαρου, συντελεστής μετατρεψιμότητας (FCR), και συντελεστής απόδοσης της πρωτεΐνης (PER) σε συνθήκες ασιτίας και όταν τράφηκε με τις πειραματικές δίαιτες Γ και Δ σε θερμοκρασία (α) 29 °C και (β)25 °C.....	186
Πίνακας 3.12: Ρυθμός ανάπτυξης και κατανάλωσης της τροφής του <i>P.scalare</i> όταν τράφηκε με τις πειραματικές δίαιτες A και B σε θερμοκρασία (α)29 °C και (β)25 °C.....	188
Πίνακας 3.13: Χημική σύσταση σώματος αρχικού και τελικού πληθυσμού όταν τα αγγελόψαρα σιτίζονταν με τη διαίτα A και τη διαίτα B, στους (α) 29 °C και (β)25 °C. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους και εύρος τιμών επί της ξηράς ουσίας.....	189

- Πίνακας 3.14:** Χημική σύσταση σώματος αρχικού και τελικού πληθυσμού για τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τις δίαιτες Γ και Δ, στους α) 29 °C και β) 25 °C. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.....190
- Πίνακας 3.15:** Απαραίτητα και μη απαραίτητα αμινοξέα (% ξηρής ουσίας) του λευκού μυός του αρχικού πληθυσμού των αγγελόψαρων. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τους μέσους όρους και την τυπική απόκλιση.....191
- Πίνακας 3.16:** Λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) στο λευκό μυ του αγγελόψαρου που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία, στις προνύμφες χρυσόψαρου και του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με αποκελυφοποιημένες κύστες και σκουλήκια. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.....194
- Πίνακας 3.17:** Λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) στο λευκό μυ του αγγελόψαρου που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία (δίαιτα Γ & δίαιτα Δ, στις προνύμφες χρυσόψαρου και του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με αποκελυφοποιημένες κύστες και σκουλήκια. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.....197
- Πίνακας 3.18:** Αρχικό βάρος (g), τελικό βάρος (g), αρχικό μήκος (cm) τελικό μήκος (cm), αύξηση βάρους (g), ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR,%/ημέρα), της κιχλιδόζεμπρας σε συνθήκες ασιτίας και όταν τράφηκε με τις πειραματικές δίαιτες Α και Β σε θερμοκρασία (α) 27 °C και (β) 20 °C αντίστοιχα.....202
- Πίνακας 3.19:** Αρχικό μέσο βάρος (g), τελικό βάρος (g), αρχικό μήκος (cm) τελικό μήκος (cm), αύξηση βάρους (g), ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR,%/ημέρα), συντελεστής μετατρεψιμότητας (FCR), και συντελεστής απόδοσης της πρωτεΐνης (PER) της κιχλιδόζεμπρας σε συνθήκες ασιτίας και όταν τράφηκε με τις πειραματικές δίαιτες Γ και Δ σε θερμοκρασία (α) 27 °C και (β) 20 °C.....203

Πίνακας 3.20: Ρυθμός ανάπτυξης και κατανάλωση της τροφής του <i>A.nigroafasciatus</i> όταν τρέφονταν με τις πειραματικές δίαιτες Α και Β σε θερμοκρασία (α) 27 °C και (β) 20 °C.....	206
Πίνακας 3.21: Χημική σύσταση σώματος αρχικού και τελικού πληθυσμού όταν οι κιχλιδόζεμπρες σιτίζονταν με τη δίαιτα Α, τη δίαιτα Β και σε συνθήκες ασιτίας στους (α) 27 °C και (β) 20 °C αντίστοιχα. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τους μέσους όρους και την τυπική απόκλιση επί της ξηράς ουσίας.....	208
Πίνακας 3.22: Χημική σύσταση σώματος αρχικού και τελικού πληθυσμού όταν οι κιχλιδόζεμπρες σιτίζονταν με τη δίαιτα Γ, τη δίαιτα Δ και σε συνθήκες ασιτίας στους (α) 27°C και (β) 20°C αντίστοιχα. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.....	209
Πίνακας 3.23: Απαραίτητα και μη απαραίτητα αμινοξέα (%) του αρχικού και τελικού λευκού μυός της κιχλιδόζεμπρας που δεν σιτίστηκε με τις πειραματικές δίαιτες στους 27 °C και 20 °C αντίστοιχα. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τους μέσους όρους και την τυπική απόκλιση.....	210
Πίνακας 3.24: Λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (Α/Ε) στο λευκό μυ της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C, που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία, στις προνύμφες του κοινού χρυσόψαρου, του <i>Fancy ranchu</i> χρυσόψαρου και του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με αποκελυφοποιημένες κύστες και σκουλήκια. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.....	213
Πίνακας 3.25: Λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (Α/Ε) στο λευκό μυ της κιχλιδόζεμπρας στους 20 °C, που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία, στις προνύμφες κοινού χρυσόψαρου, του <i>Fancy ranchu</i> χρυσόψαρου και του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με αποκελυφοποιημένες κύστες και σκουλήκια. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.....	214

Πίνακας 3.26: Λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) στο λευκό μυ της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C, που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία, στις προνύμφες του κοινού χρυσόψαρου, του *Fancy ranchu* χρυσόψαρου και του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με αποκελυφοποιημένες κύστες και σκουλήκια. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.....217

Πίνακας 3.27: Λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) στο λευκό μυ της κιχλιδόζεμπρας στους 20 °C, που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία, στις προνύμφες του κοινού χρυσόψαρου, του *Fancy ranchu* χρυσόψαρου και του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με αποκελυφοποιημένες κύστες και σκουλήκια. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.....218

Πίνακας 3.28: Αρχικό βάρος (g), τελικό βάρος (g), αρχικό μήκος (cm) τελικό μήκος (cm), αύξηση βάρους (g), ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR,%/ημέρα), του αγγελόψαρου σε συνθήκες ασιτίας και όταν τρέφονταν με τα πειραματικά σιτηρέσια PM, FM και MM στους 29 °C.....222

Πίνακας 3.29: Αρχικό βάρος (g), τελικό βάρος (g), αρχικό μήκος (cm) τελικό μήκος (cm), αύξηση βάρους (g), ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR,%/ημέρα) της κιχλιδοζεμπρας σε συνθήκες ασιτίας και όταν τρέφονταν με τα πειραματικά σιτηρέσια PM, FM και MM στους 27 °C.....225

Πίνακας 3.30: Βιοχημική σύσταση του λευκού μυ του αγγελόψαρου σε πρωτεΐνη (%), λίπος (%), τέφρα (%) και υγρασία (%) όταν χορηγήθηκε φυτική τροφή (PM), τροφή από ιχθυάλευρο (FM), ανάμεικτη τροφή (MM) και σε συνθήκες ασιτίας στους 29 °C. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τους μέσους όρους επί της ξηρής ουσίας.....226

Πίνακας 3.31: Βιοχημική σύσταση του λευκού μυ της κιχλιδόζεμπρας σε πρωτεΐνη (%), λίπος (%), τέφρα (%) και υγρασία (%) όταν χορηγήθηκε Φυτική τροφή (PM),

Τροφή από ιχθυάλευρο (FM), Ανάμεικτη τροφή (MM) και σε συνθήκες ασιτίας στους 27°C. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηρής ουσίας.....227

Πίνακας 4.1: Ποιότητα του νερού κατά την αναπαραγωγική διαδικασία και την ανάπτυξη των νεαρών ατόμων της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου.....235

Πίνακας 4.2: Χαρακτηριστικές διαστάσεις των αυγών της οικογένειας *Cichlidae*.....245

Πίνακας 4.3: Σύγκριση της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου με άλλα διακοσμητικά είδη ψαριών.....248

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 2.1: Πρόγραμμα διατροφής των προνυμφών του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας τις πρώτες 30 ημέρες εκτροφής.....64

Σχήμα 2.2: Πειραματικός σχεδιασμός για την ανάπτυξη και επιβίωση του αγγελόψαρου στους 25°C και στους 29°C (πείραμα 1 & 2) και για την κιχλιδόζεμπρα στους 20°C και 27°C (πείραμα 4 & 5) με τις επαναλήψεις τους διάρκειας 60 ημερών.....67

Σχήμα 2.3: Πειραματικός σχεδιασμός για τον υπολογισμό της κατανάλωσης τροφής του αγγελόψαρου στους 25°C και στους 29°C (πείραμα 3) και για την κιχλιδόζεμπρα στους 20°C και 27°C (πείραμα 6) με τις επαναλήψεις τους διάρκειας 30 ημερών.....68

Σχήμα 2.4: Γραμμική συσχέτιση της υγρής ουσίας και ξηρής ουσίας (α) συμπύκτου (β) νιφάδας και (γ) κατεψυγμένης τροφής.....81

Σχήμα 2.5: Πειραματικός σχεδιασμός για την ανάπτυξη και επιβίωση του αγγελόψαρου στους 29°C (πείραμα 7) και για την κιχλιδόζεμπρα στους 27°C (πείραμα 8) με τις επαναλήψεις τους διάρκειας 60 ημερών.....92

Σχήμα 3.1: Διακύμανση φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού στα ενυδρεία μελέτης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κιχλιδόζεμπρας (α) TAN (mg/L), (β) NO ₃ ⁻ (mg/L), (γ) GH (°dH), (δ)KH (°dH),.....	105
Σχήμα 3.2: Ποιότητα νερού στα ενυδρεία μελέτης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου του αγγελόψαρου (α) T.A.N (mg/L), (β) NO ₃ ⁻ (mg/L).....	106
Σχήμα 3.3: Γράφημα της εμβρυικής ανάπτυξης του <i>A. nigrofasciatus</i> σε σχέση με το σχετικό χρόνο (RTi) στους 27°C.....	124
Σχήμα 3.4: Αναπτυξιακά γεγονότα στο στάδιο της λεκιθοφόρας νυμφικής ανάπτυξης του <i>A.nigrofasciatus</i> σε σχέση με το σχετικό χρόνο RTi στους 27 °C και 23 °C.....	133
Σχήμα 3.5: Χρονοδιάγραμμα εξέλιξης των σημαντικών αναπτυξιακών γεγονότων κατά την εξέλιξη της κιχλιδόζεμπρας στους 27°C και 23°C.....	143
Σχήμα 3.6: Δείκτης ανομοιότητας του μορφολογικού προτύπου των ιχθυδίων της κιχλιδόζεμπρας μεταξύ ηλικιών, ανά θερμοκρασία εκκόλαψης.....	147
Σχήμα 3.7: Ποσοστά (%) εκκόλαψης της κιχλιδοζεμπρας για το σύνολο των ωοτοκιών που έλαβαν χώρα καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας στους 27°C και 23°C αντίστοιχα.....	148
Σχήμα 3.8: Αριθμός αυγών που εκκολάφθηκαν σε σχέση με την παρουσία η μη των γεννητόρων στα ενυδρεία αναπαραγωγής.....	149
Σχήμα 3.9: Εξέλιξη της εμβρυικής ανάπτυξης του αγγελόψαρου <i>P.scalare</i> , σε σχέση με το σχετικό χρόνο (RTi) στους 29°C.....	166
Σχήμα 3.10: Διάγραμμα εξέλιξης των σημαντικών αναπτυξιακών γεγονότων του αγγελόψαρου σε pH 6,2 και 7,4.....	172

Σχήμα 3.11: Ποσοστά (%) εκκόλαψης σε σχέση με το σύνολο των ωοτοκίων που έλαβαν χώρα καθ' όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής διαδικασίας του αγγελόψαρου σε δυο διαφορετικά pH (6,2 και 7,4).....	173
Σχήμα 3.12: Αριθμός γεννών του αγγελόψαρου σε σχέση με το pH.....	174
Σχήμα 3.13: Μεταβολή των αζωτούχων παραγώγων στα ενυδρεία διατροφής του αγγελόψαρου (α) μεταβολή TAN., (β) μεταβολή NO ₂ ⁻ , (γ) μεταβολή NO ₃ ⁻ στους 29 °C και 25 °C.....	176
Σχήμα 3.14: Μεταβολή των αζωτούχων παραγώγων στα ενυδρεία διατροφής της κιχλιδόζεμπρας (α) μεταβολή TAN, (β) μεταβολή NO ₂ ⁻ , (γ) μεταβολή NO ₃ ⁻ στους 27 °C.....	179
Σχήμα 3.15: Μεταβολή των αζωτούχων παραγώγων στα ενυδρεία διατροφής της κιχλιδόζεμπρας (α) μεταβολή TAN., (β) μεταβολή NO ₂ ⁻ , (γ) μεταβολή NO ₃ ⁻ στους 20 °C.....	180
Σχήμα 3.16: Προφίλ αμινοξέων (% του συνολικού) του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με τις δίαιτες Α και Β.....	192
Σχήμα 3.17: Προφίλ αμινοξέων (% του συνολικού) του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με τις δίαιτες Γ και Δ.....	195
Σχήμα 3.18: Προφίλ αμινοξέων (% του συνολικού) της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκε με τις δίαιτες Α και Β.....	211
Σχήμα 3.19: Προφίλ αμινοξέων (% του συνολικού) της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκε με τις δίαιτες Γ και Δ.....	215
Σχήμα 3.20: Χρονικές μεταβολές στο (α) διαλυμένο οξυγόνο, (b) pH, (c) φωσφορικό άλας (d) νιτρικό άλας, (e) στην αμμωνία / DIN και (f) στη βακτηριακή αφθονία (κύτταρα × 10 ⁵ ml ⁻¹) στη υδάτινη στήλη των ενυδρείων της κιχλιδόζεμπρας και του	

αγγελόψαρου. DIN: διαλυμένο ανόργανο άζωτο, δηλαδή συνολικές συγκεντρώσεις νιτρικού άλατος, νιτρώδους άλατος και αμμωνίας.....228

Σχήμα 3.21: Φυλογενετικό δέντρο των κοινών βακτηρίων (με έντονους χαρακτήρες) που παρατηρείται στη υδάτινη στήλη των ενυδρείων της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου κατά την έναρξη (0d), τη μέση (30d) και το τέλος (60d) της περιόδου εκτροφής.231

Σχήμα 3.22: Διάγραμμα Venn για τους φυλότυπους που βρέθηκαν στα δείγματα του νερού των ενυδρείων εκτροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας κατά την έναρξη (t_{0d}), τη μέση (t_{30d}) και το τέλος (t_{60d}) της περιόδου εκτροφής.....232

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα.1.1: Αγγελόψαρο.....4

Εικόνα 1.2: Κιχλιδόζεμπρα7

Εικόνα 2.1: Πειραματικά ενυδρεία που χρησιμοποιήθηκαν για την αναπαραγωγή (α) της κιχλιδόζεμπρας και (β) του αγγελόψαρου39

Εικόνα 2.2: Πέτρα πορόλιθου στα ενυδρεία αναπαραγωγής41

Εικόνα 2.3: Υπόστρωμα εναπόθεσης αυγών (α) κεραμικό υλικό για την κιχλιδόζεμπρα και (β) πλαστική γωνία τοποθετημένη σε γωνία 45° στο ενυδρείο για το αγγελόψαρο43

Εικόνα 2.4: Απόθεμα γεννητόρων (α) κιχλιδόζεμπρας και (β) αγγελόψαρου45

Εικόνα 2.5: Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου (α) αρσενικό άτομο κιχλιδόζεμπρας (β) θηλυκό άτομο κιχλιδόζεμπρας (γ) αρσενικό άτομο αγγελόψαρου (δ) θηλυκό άτομο αγγελόψαρου46

Εικόνα 2.6: Επιλογή φύλου στην κιχλιδόζεμπρα και στο αγγελόψαρο με βάση τον ουρογεννητικό πόρο (α) αρσενικό άτομο κιχλιδόζεμπρας (β) θηλυκό άτομο αγγελόψαρου	47
Εικόνα 2.7: Αναπαραγωγική διαδικασία (α) καταμέτρηση αυγών στη κιχλιδόζεμπρα (β) ανάπτυξη μύκητα fungus σε αυγό αγγελόψαρου.....	50
Εικόνα 2.8: Σχηματική απεικόνιση των κρίσιμων σταδίων ανάπτυξης κατά την εμβρυογένεση των ιχθύων	53
Εικόνα 2.9: Μικροσκόπιο και κάμερα φωτογράφισης	54
Εικόνα 2.10: Μορφομετρικοί παράμετροι που εξετάστηκαν κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο στο <i>A. nigrofasciatus</i> και στο <i>P. scalare</i>	55
Εικόνα 2.11: Αριθμός πρωτογενών ακτίνων επάνω και κάτω τμήματος του εδρικού πτερυγίου (CFRE, Caudal fin ray element)) όπως μετρήθηκαν στην κιχλιδόζεμπρα και στο αγγελόψαρο.....	56
Εικόνα 2.12: Απεικόνιση των κάθετων αξόνων μορφομετρίας με το πρόγραμμα Image pro ver 1.45M	56
Εικόνα 2.13: Διάταξη πειραματικών ενυδρείων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ανάπτυξης.....	65
Εικόνα 2.14: Διάταξη πειραματικών ενυδρείων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα κατανάλωσης τροφής	65
Εικόνα 2.15: Διαδικασία μέτρησης μορφομετρικών χαρακτήρων (α) Λήψη 0,25 ml/L αναισθητικού με σύριγγα ινσουλίνης, (β) προσθήκη ψαριών για αναισθητοποίηση αναισθητοποίηση ψαριών, (γ) παρατήρηση σταδίων.....	69
Εικόνα 3.1: Κατανομή της κοινωνικής κυριαρχίας στο ενυδρείο των γεννητόρων: (α) Επιθέσεις μεταξύ αρσενικών ατόμων του ίδιου είδους (β) Σχηματική απεικόνιση της αναπαραγωγικής ιεραρχίας. Οι συντομογραφίες που χρησιμοποιούνται για την	

περιγραφή της κοινωνικής ιεραρχίας είναι: KZ= Κυρίαρχο ζευγάρι που οριοθετεί την περιοχή ωοτοκίας, μKAμX= Αρσενικό άτομο που δεν οριοθετεί την περιοχή ωοτοκίας του και δεν αναπαράγεται, μKX= Υποδεέστερο αρσενικό άτομο που δεν αναπαράγεται108

Εικόνα 3.2: Περιγραφή της αναπαραγωγικής διαδικασίας της κιχλιδόζεμπρας (α) προστασία φωλιάς, (β) κατασκευή φωλιάς, (γ) προσέλκυση αντίθετου φύλου, (δ) εναπόθεση των αυγών, (ε) γονιμοποίηση, (ζ) απομάκρυνση νεκρών αυγών, (η) μεταφορά μεταλεκιθοφόρων νυμφών με το στόμα113

Εικόνα 3.3:Αυγό κιχλιδόζεμπρας όπου διακρίνονται η μικροπύλη και το χόριο114

Εικόνα 3.4: Αυλακώσεις στη φάση (α) των 2 κυττάρων (1h & 45 min ΜΓ), (β) των 4 κυττάρων (2 h & 05 min), (γ) 8 κυττάρων (2 h &45 min), (δ) 16 κυττάρων (3 h &30 min), (ε) 32 κυττάρων (3 h &50 min), (ζ) 64 κυττάρων (4 h & 55min), του *Archocentrus nigrofasciatus*116

Εικόνα 3.5: Στάδιο του μοριδίου (6 h & 50 min) του *A.nigrofasciatus*117

Εικόνα 3.6: Στάδιο του βλαστιδίου, του *A.nigrofasciatus* (α) πρώιμη φάση βλαστιδίου (5h &30 min) (β) ύστερη φάση βλαστιδίου (6h &30 min)118

Εικόνα 3.7: Στάδια του γαστριδίου, του *A.nigrofasciatus* (α) πρώιμη φάση γαστριδίου ή 1/4 επιβολή (9 h & 30 min), (β) μεσόφαση ή 1/2 επιβολή (17 h & 30 min).....119

Εικόνα 3.8: Στάδια του νευριδίου, του *A.nigrofasciatus* (α) πρώιμη φάση νευριδίου (18 h & 35 min), (β) ύστερη φάση νευριδίου (22 h-23 h), γ) έναρξη δημιουργίας σωματιών (20 h).....120

Εικόνα 3.9:Στάδια οργανογένεσης, του *A.nigrofasciatus* (α) φάση 4 σωματιών (24h), (β) φάση 6 σωματιών (28 h), (γ) φάση 14 σωματιών (33 h), (δ) φάση 17 σωματιών (34 h),

(ε) φάση 20 σωματιών (36 h), (στ) οργανογένεση-έμβρυο (46h), (ζ) οργανογένεση-έμβρυο (53 h), (η) οργανογένεση-3/4 κάλυψη της περιφέρειας του εμβρύου (63 h), (θ) οργανογένεση πολύ δραστήριο έμβρυο (65 h).....	122
Εικόνα 3.10: Εκκόλαση του <i>A.nigrofasciatus</i> (α) διάσπαση του χορίου, (β) απελευθέρωση της λεκιθοφόρας νύμφης	123
Εικόνα 3.11: Δομή του λεκιθικού σάκου της κιχλιδόζεμπρας 4 h μετά την εκκόλαση (ME). Διακρίνονται οι οφθαλμοί και τα οφθαλμικά κυστίδια	125
Εικόνα 3.12: Νυκτική κύστη κιχλιδόζεμπρας 8 h μετά την εκκόλαση	126
Εικόνα 3.13: Πρόσθιο τμήμα της κεφαλής της κιχλιδόζεμπρας	126
Εικόνα 3.14: Διαφοροποίηση γαστρικού σωλήνα της κιχλιδόζεμπρας στους 27°C και 23°C αντίστοιχα.....	127
Εικόνα 3.15: Εμφάνιση εντερικού αυλού και ουρητήρα στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C αντίστοιχα	128
Εικόνα 3.16: Κατανομή χρωματοφόρων κυττάρων στα μυομερή στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C αντίστοιχα	129
Εικόνα 3.17: Σχηματισμός της κάτω σιαγόνας και άνοιγμα της στοματικής κοιλότητας στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C	129
Εικόνα 3.18: Διαφοροποίηση πεπτικού συστήματος στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C	130
Εικόνα 3.19: Εμφάνιση καρδιάς στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C αντίστοιχα	130
Εικόνα 3.20: Κάλυψη των οφθαλμών από μελανοφόρα κύτταρα στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C αντίστοιχα	131
Εικόνα 3.21: Κατανομή του αριθμού μυομερών στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C.....	132

Εικόνα 3.22: Λήξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C	132
Εικόνα 3.23: Εξέλιξη του νυμφικού σταδίου ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C	136
Εικόνα 3.24: Εξέλιξη της κιχλιδόζεμπρας στο στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυδίου (Juvenile) στους 27 °C (α) 170-174 h μετά την εκκόλαψη, (β) 254 h μετά την εκκόλαψη, (γ) 289-305 h μετά την εκκόλαψη, (δ) 325 h μετά την εκκόλαψη, (ε) 15 ημέρες μετά την εκκόλαψη, (στ) 30 ημέρες μετά την εκκόλαψη.....	142
Εικόνα 3.25: Περιγραφή της αναπαραγωγικής διαδικασίας του αγγελόψαρου (α) υπόστρωμα εναπόθεσης αυγών, (β) προσέλκυση αντίθετου φύλου, (γ) εναπόθεση των αυγών, (δ) προετοιμασία γονιμοποίησης αυγών, (ε) γονιμοποίηση αυγών, (στ) γονιμοποιημένα αυγά αγγελόψαρου, τα λευκά αυγά που διακρίνονται είναι χαλασμένα (ζ) νέο-εκκολαπτόμενες νύμφες αγγελόψαρου προσκολλημένες στο υπόστρωμα-γονική φροντίδα, (η) προστασία νυμφών-γονική φροντίδα.....	156
Εικόνα 3.26: Αυγό αγγελόψαρου 20 min μετά τη γονιμοποίηση, όπου διακρίνεται η μικροπύλη και το χόριο.....	157
Εικόνα 3.27: Κυτταρικές διαιρέσεις στο αυγό του αγγελόψαρου (α) δυο κύτταρα 40-42 min μετά τη γονιμοποίηση (β) 4 κύτταρα 1h και 10 min μετά τη γονιμοποίηση (γ) 64 κύτταρα 3 h και 80 min μετά τη γονιμοποίηση	159
Εικόνα 3.28: Στάδιο του μοριδίου (4 h και 45 min) στο έμβryo του αγγελόψαρου	159

- Εικόνα 3.29:** Στάδιο του βλαστιδίου στο έμβρυο του αγγελόψαρου (α) πρώιμη φάση βλαστιδίου (4h και 80 min μετά τη γονιμοποίηση), (β) ύστερη φάση βλαστιδίου (8 h και 30 min)160
- Εικόνα 3.30:** Στάδιο του γαστριδίου στο έμβρυο του αγγελόψαρου (α) πρώιμη φάση γαστριδίου ή ¼ επιβολή (12 h και 35 min μετά τη γονιμοποίηση), (β) μεσόφαση ή ½ επιβολή (19 h και 45 min),(γ) 80-85% επιβολή161
- Εικόνα 3.31:** Στάδιο του νευριδίου στο έμβρυο του αγγελόψαρου (α) πρώιμη φάση νευριδίου (24 h και 30 min μετά τη γονιμοποίηση), (β) ύστερη φάση νευριδίου (26 με 27 h),(γ) έναρξη δημιουργίας σωματιών (22 h)162
- Εικόνα 3.32:** Στάδιο οργανογένεσης στο έμβρυο του αγγελόψαρου (α) φάση 4 σωματιών (22 h μετά τη γονιμοποίηση), (β) φάση 6 σωματιών (24-26 h μετά τη γονιμοποίηση, (γ) φάση 16-18 σωματιών (30 h μετά τη γονιμοποίηση), (δ) φάση αποκόλλησης ουραίου πτερυγίου (48-50 h μετά τη γονιμοποίηση, (ε) εμφάνιση ωτολίθων και χρωματοφόρων αγγείων (50-52 h μετά τη γονιμοποίηση, (στ) οργανογένεση πολύ δραστήριο έμβρυο (58-60 h μετά τη γονιμοποίηση).....164
- Εικόνα 3.33:** Εκκόλαψη του εμβρύου του αγγελόψαρου (α) έναρξη εκκόλαψης (62 h μετά τη γονιμοποίηση), (β) ολοκλήρωση εκκόλαψης165
- Εικόνα 3.34:** Λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης του αγγελόψαρου σε pH 6,2 (α) νέο-εκκολαπτόμενη νύμφη, (β) δημιουργία πεπτικού συστήματος της νύμφης,(γ) εμφάνιση ρινικών και οσφρητικών κοιλοτήτων, (δ) σχηματισμός κάτω σιαγόνας, (ε) εμφάνιση μελανοφόρων κυττάρων, (στ) αριθμός μυομερών και μελανοφόρα κύτταρα, (ζ) λήξη λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου169
- Εικόνα 3.35:** Αγγελόψαρο στο στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυδίου (Juvenile) σε pH 6,2 και σε θερμοκρασία 29 °C (α) ελεύθερη κολύμβηση (175 h μετά

την εκκόλαψη), (β) εμφάνιση χρωστικών ουσιών στο σώμα (225 h μετά την εκκόλαψη), (γ) εμφάνιση ρινικών και οσφρητικών κοιλότητων, (δ) σχηματισμός ραχιαίου και εδρικού πτερυγίου (336 h μετά την εκκόλαψη), (ε) ελικοειδής σχηματισμός εντέρου (336 h) (στ) σχηματισμός ουράς, ανάπτυξη των πρωτογενών ουραίων άκανθων (CFRE:13-14),(300 h μετά την εκκόλαψη), (ζ) εμφάνιση μελανοφόρων κυττάρων στο κεφάλι και πλευρικά (384 h μετά την εκκόλαψη), (η) ομοιόμορφος χρωματισμός που μοιάζει με του ενήλικου ατόμου (600 h μετά την εκκόλαψη), (θ) σχηματισμός ραχιαίου και εδρικού πτερυγίου (720 h μετά την εκκόλαψη).....172

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

T.A.N: total ammonium nitrogen : ολική αμμωνία

CFRE: caudal fin rays elements: αριθμός πρωτογενών ακτινών εδρικού πτερυγίου

GH: general hardness: ολική σκληρότητα

KH: carbonate hardness: ανθρακική σκληρότητα

T.A: τυπική απόκλιση

SGR: specific growth rate: ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

WG: weight gain: αύξηση βάρους

CF: coefficient factor: συντελεστής ευρωστίας

S: survival: επιβίωση

FCR: food conversion ratio: συντελεστής μετατροπής της τροφής

FC: food consumption: κατανάλωση τροφής

DFI: daily feed intake: ημερήσια πρόσληψη τροφής

PER: protein efficiency ratio: συντελεστής απόδοσης πρωτεΐνης

A/E: λόγος απαραίτητων αμινοξέων

ΞΟ: ξηρή ουσία

PM: plant meal: φυτική τροφή

FM: fish meal: τροφή από ιχθυάλευρο

MM: mixed meal: ανάμεικτη τροφή

DAPI: 4',6-διαμιδινό-2-φαινυλινδόλη

ΠΛΟ: πολυακόρεστα λιπαρά οξέα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Παγκόσμια παραγωγή και χρηματική αξία διακοσμητικών ψαριών

Η εκτροφή διακοσμητικών ψαριών και η ανάπτυξη του εμπορίου για τους ερασιτέχνες ενυδρείων είναι μια από τις πιο πρόσφατες και ταχέως αναπτυσσόμενες βιομηχανίες (Tlusty 2002, Bartley 2005, Calado 2008, Olivotto *et al.* 2011). Η εκτροφή διακοσμητικών ειδών προτείνεται ως μια λύση προκειμένου να αντιμετωπιστούν η υπερεκμετάλλευση και η απώλεια ενδιαιτημάτων, καθώς επίσης και το μη βιώσιμο εμπόριο πολλών τροπικών ειδών που χρησιμοποιούνται παραδοσιακά στη βιοατρική ή στη διατήρησή τους σε ενυδρεία (Soriano-Salazar & Hernandez-Ocampo 2002).

Ο Olivier (2003) αναφέρει ότι η παγκόσμια εισαγωγή διακοσμητικών ειδών αυξήθηκε από 50 εκατομμύρια σε 250 εκατομμύρια δολάρια Η.Π.Α, τις δύο τελευταίες δεκαετίες, ενώ η εκτιμώμενη χρηματική αξία των ζωντανών ψαριών ανέρχεται στα 900 εκατομμύρια δολάρια Η.Π.Α (Roberts 2010). Το 60% των ψαριών περίπου προέρχεται από αναπτυσσόμενες χώρες (Bartley 2004), ενώ πάνω από το 50% της παγκόσμιας παραγωγής προέρχεται από την Ασία (Olivier 2003, Knop & Moorhead 2012). Η παραγωγή διακοσμητικών ειδών γλυκού νερού, συμπεριλαμβανομένων ψαριών, καρκινοειδών και μαλακίων, αντιπροσωπεύει πάνω από το ήμισυ του συνόλου της παραγωγής της συνολικής υδατοκαλλιεργητικής παραγωγής διακοσμητικών ειδών, δεδομένου ότι η παραγωγή διακοσμητικών ειδών θαλασσινού νερού, αντιπροσωπεύει το 34% της παγκόσμιας παραγωγής (FAO 2008, Knop & Moorhead 2012).

Σύμφωνα με τον Nelson (2006), το ετήσιο εμπόριο διακοσμητικών ψαριών περιλαμβάνει 4000 είδη του γλυκού νερού και 1400 είδη του θαλασσινού νερού. Κατά προσέγγιση, το 80-90% των διακοσμητικών ψαριών του γλυκού νερού εκτρέφεται.

Παρά τη διαθεσιμότητα των πάνω από 700 διαφορετικών τροπικών ειδών γλυκού νερού, μόνο 30-40 είδη τροπικών διακοσμητικών ειδών γλυκού νερού στοιχειοθετούν στην πλειοψηφία τους τη βιομηχανία του εμπορίου των διακοσμητικών (Helfman 2007). Ωστόσο, μόνο το 2% των θαλάσσιων διακοσμητικών ειδών εκτρέφονται (Dawes 1998, Moe 2001). Εκτιμάται ότι, 100 από τα 1400 θαλάσσια είδη που διακινούνται στη βιομηχανία των ενυδρείων, εκτρέφονται σε συνθήκες αιχμαλωσίας (Dawes 1999), ενώ 21 από τα είδη αυτά έχουν εμπορική αξία (Schiemer 2001). Από τα ψάρια του γλυκού νερού, τα 1300 είδη και 105 γένη, δηλαδή περίπου το 95%, προέρχεται από είδη της οικογένειας *Cichlidae* (Erdogan *et al.* 2012). Τα είδη *Pterophyllum scalare*, *Archocentrus nigrofasciatus*, *Symphysodon aequifasciatus* και *Astronomus Ocelatus* είναι μερικά από τα είδη της οικογένειας *Cichlidae* με αυξημένο εμπορικό ενδιαφέρον λόγω του σχήματος και των ελκυστικών χρωμάτων τους (Bahadir Koca *et al.* 2009, Kasiri *et al.* 2011b). Το αγγελόψαρο (*P. scalare*) και η κιχλιδόζεμπρα (*A. nigrofasciatus*) είναι από τα πιο δημοφιλή είδη κατέχοντας την πρώτη θέση στο εμπόριο των διακοσμητικών ψαριών του γλυκού νερού (Gay 2005, Bahadir Koca *et al.* 2009, Kasiri *et al.* 2011b, Adel *et al.* 2013).

Σε ό,τι αφορά την κατανομή των εξαγωγών μεταξύ των χωρών, το 55% του έτους 2004 προήλθε από την Ασία ενώ το 25% προήλθε από την Ευρώπη (κυρίως από την Τσεχία) (James 2012). Οι περισσότερες από τις αναπτυσσόμενες χώρες, εκμεταλλεύονται την εξαγωγή των διακοσμητικών ψαριών, ως μέσο για την αύξηση της απασχόλησης και τη δημιουργία πλούτου. Ωστόσο, η συλλογή των θαλάσσιων διακοσμητικών ψαριών από το φυσικό τους περιβάλλον προς πώλησή τους οδηγεί σε μία οικολογική υποβάθμιση των βιοτόπων. Ο αριθμός των χωρών που εισήγαγαν διακοσμητικά ψάρια το 2004 έφθασε στις 120 από 32 που ήταν το 1974 (James 2012),

με την Ευρώπη να κατέχει το 51% (19% προέρχεται από το Ηνωμένο Βασίλειο) και τη Νότια Αμερική το 26%, εκ των οποίων το 87% εισάγεται από τις Η.Π.Α (πρώτη θέση παγκοσμίως) (James 2012). Το εμπόριο των διακοσμητικών ψαριών παρουσιάζει μια σημαντική αύξηση στις παγκόσμιες εξαγωγές την τελευταία δεκαετία (2001-2010), με τη μέγιστη τιμή να εμφανίζεται το 2010 στα 5.718.623 εκατομμύρια δολάρια (FAO 2012).

1.2. Περιγραφή και οικολογία των ειδών

1.2.1. Περιγραφή-βιολογικά χαρακτηριστικά του αγγελόψαρου

Το αγγελόψαρο *P. scalare* (Lichtenstein, 1823) (Εικ. 1.1) ανήκει στα νεοτροπικά (James & Reis 2011) ενδημικά διακοσμητικά είδη της νοτίου Αμερικής (Helfman *et al.* 2009). Γεωγραφικά απαντάται σε όλο το μήκος του Ανατολικού (Βραζιλία, Κολομβία) και Δυτικού τμήματος του Αμαζονίου ποταμού (Περού, Γουινέα, Γαλλική Γουινέα), συμπεριλαμβανομένων των παραποτάμων rio Negro, rio Cururu, rio Icana, Orinoco και Nanay (Axelrod & Walker 2000, Perez *et al.* 2003, Sanna-Kaisa & Jukka 2004, Abdolbaghian *et al.* 2010). Ζει σε τροπικές περιοχές με θερμοκρασία που κυμαίνεται από 26,7 έως 29,2 °C (Perez *et al.* 2003), το pH κυμαίνεται από 6,5 έως 7,25 (Kasiri *et al.* 2011c) και η σκληρότητα κυμαίνεται από 100-200 mg/L CaCO₃ (σύμφωνα με SI 2006) (Kasiri *et al.* 2011c, Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012). Οι Val & Almeida-Val (1995) αναφέρουν ότι τα νερά του Αμαζονίου και των παραποτάμων του χαρακτηρίζονται ως «μαύρα» εξαιτίας των αυξημένων συγκεντρώσεων οργανικού υλικού, χουμικών οξέων, φυτικών πολυφαινόλων (τανίνες), με αποτέλεσμα το νερό να γίνεται όξινο (στα ανάντη του ποταμού, το pH είναι 6,9 και στους παραποτάμους το pH είναι 3,8) και πλούσιο σε σίδηρο.

Το αγγελόψαρο ανήκει στα μεγαλόσωμα είδη της οικογένειας με το σώμα του να είναι πλευρικά πεπλατυσμένο, σχεδόν δισκοειδές με μεγάλο ύψος. Φέρει επιμηκυμένο ραχιαίο πτερύγιο, μεγάλο σε μήκος και σχήματος τριγωνικού. Τα θωρακικά πτερύγια είναι λεπτά σε πάχος και φτάνουν σε μήκος το 1/3 του μεσουραίου μήκους του ψαριού. Το εδρικό πτερύγιο αρχίζει από την έδρα και φέρει αρχικά κοντές σκληρές ακτίνες οι οποίες διαδοχικά αντικαθίστανται από μαλακές ακτίνες με την αύξηση του ύψους προς το τέλος της ουράς. Οι φυλλώδεις προεξοχές του ουραίου πτερυγίου μπορούν να φθάσουν σε μήκος τρεις φορές το μήκος του πτερυγίου (Axelrod & Sweeney 1992).

Το στόμα του βρίσκεται στο εμπρόσθιο μέρος της κεφαλής και στο άκρο (τελικό στόμα). Οι οφθαλμοί βρίσκονται εκατέρωθεν της κεφαλής, είναι σχετικά μεγάλοι και διακρίνεται η μεγάλη μαύρη κόρη, η οποία περιβάλλεται από τη χρώματος ασημί ίριδα. Όταν το ψάρι εισέρχεται στην περίοδο αναπαραγωγής, οι οφθαλμοί αποκτούν ερυθρό χρωματισμό. Είναι φιλήσυχο και κολυμπά σε όλο το βάθος της στήλης του νερού, ενώ γίνεται επιθετικό κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής του δραστηριότητας (Swann 1994). Είναι μονογαμικό με αυξημένη γονική φροντίδα επιτηρώντας και προστατεύοντας παράλληλα τη φωλιά του και τις νέο-εκκολαπτόμενες νύμφες (Axelrod & Sweeney 1992, Cahco *et al.* 2007, Vlachos *et al.* 2008).



Εικόνα.1.1: Αγγελόψαρο (Πηγή: προσωπικό αρχείο)

Η περίοδος αναπαραγωγής του αγγελόψαρου στο φυσικό του ενδιαίτημα συμπίπτει με την περίοδο των βροχοπτώσεων (Munro *et al.* 1990, Paugy 2002) που έχει ως επακόλουθο την αύξηση της στάθμης του νερού. Η αναπαραγωγή του πραγματοποιείται με επιτυχία και σε στάσιμα νερά, χωρίς την παρουσία ρευμάτων (Crampton 2008). Χαρακτηρίζεται σύγχρονη, ενώ αναπτύσσει διάφορες στρατηγικές (James & Reis 2011) που του προσδίδουν μια εκτεταμένη περίοδο ωοτοκίας (Degani & Yehuda 1996, Alkins-Koo 2000). Το αγγελόψαρο είναι γονοχωριστικό με αποτέλεσμα ο διαχωρισμός του φύλου να γίνεται με βάση τα μορφολογικά του χαρακτηριστικά (σχήμα, μέγεθος, χρώμα), τη συμπεριφορά του (επιθετικότητα, προσέλκυση αντίθετου φύλου) και την προεκβολή της ουρογεννητικής οπής (Vlachos *et al.* 2008). Το θηλυκό αγγελόψαρο στη φύση εναποθέτει τα αυγά του σε φύλλα φυτών, ρίζες δέντρων και λείες επιφάνειες βράχων, ενώ σε συνθήκες αιχμαλωσίας στις λείες επιφάνειες πλαστικών ή κεραμικών κωνοειδούς σχήματος (Degani & Yehuda 1996, Cahco *et al.* 2007). Οι Cahco *et al.* (2006), Vlachos *et al.* (2008) και El Balaa (2009), αναφέρουν ότι, η ωρίμανση των αρσενικών ατόμων επιτυγχάνεται σε ηλικία 10-12 μηνών με το μήκος να κυμαίνεται από 15 έως 20 cm. Ο μέσος κύκλος ωογένεσης διαρκεί 11 ημέρες, όπου το ωοκύτταρο, διέρχεται από το στάδιο των λεκιθικών κυστιδίων, σφαιριδίων και κοκκίων, την ωρίμανση και την ωοθυλακιορρηξία (Chien & Salmon 1972, Bergman 1986, Degani & Yesuda 1996). Η διάρκεια της ωοτοκίας και η εκκολαψιμότητα επηρεάζονται από την ηλικία του ψαριού και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Η εκκολαψιμότητα του αγγελόψαρου αυξάνει όταν τρέφεται με προνύμφες κουνουπιών και τυποποιημένες τροφές από μυϊκό ιστό γαλοπούλας ή βοδινού και μειώνεται όταν τρέφεται αποκλειστικά με σύμπηκτα (Degani & Yesuda 1996).

Στη φύση τρέφεται με πλαγκτόν, προνούμφες κουνουπιών και εντόμων, σκουλήκι (tubifex ή μαύρο), κωπήποδα και φύλλα φυτών (Soriano-Salazar & Hernandez-Ocampo 2002), ενώ σε συνθήκες αιχμαλωσίας τρέφεται με σύμπηκτα, νιφάδες και κατεψυγμένο σκουλήκι, καρκινοειδή και νωπό ή κατεψυγμένο μυϊκό ιστό καρδιάς γαλοπούλας και βοδινού (Luna-Figuera *et al.* 2000). Ο συνδυασμός τεχνητών σιτηρεσιών, ζωντανών και κατεψυγμένων τροφών επιφέρει καλύτερη ανάπτυξη, υψηλότερη επιβίωση (Luna-Figuera 1999, Luna-Figuera *et al.* 2000, Ortega-Salas *et al.* 2009) και αύξηση της συχνότητας ωστοκίας (Figuerora *et al.* 1977).

1.2.2. Περιγραφή-Βιολογικά χαρακτηριστικά του *Archocentrus nigrofasciatus*

Η κιχλιδόζεμπρα (Εικ. 1.2) ανήκει στα νεοτροπικά (James & Reis 2011) ενδημικά διακοσμητικά είδη της κεντρικής Αμερικής γνωστό με την κοινή εμπορική ονομασία «convict cichlid» (Lehtonen & Lindstrom 2008). Γεωγραφικά απαντάται στις λίμνες και στους ποταμούς που εκτείνονται από το El Salvador έως τη Γουτεμάλα στις λίμνες Atitlan και Amatitlan, την Κοστα Ρίκα και τη Νικαράγουα έως το νότιο τμήμα του Παναμά, σε περιοχές με στάσιμα νερά (Froese & Pauly 2012). Η κιχλιδόζεμπρα ανήκει στο γένος *Archocentrus* (Gunther 1867), ενώ οι Schmitter-Soto (2007) και Heijns (2009) το κατέταξαν αντιστοίχως στο γένος *Amatitlania* και στο γένος *Hypsophrys* της οικογένειας *Cichlidae*. Η επιστημονική του ονομασία είναι *Archocentrus nigrofasciatus*, αλλά είναι γνωστό με τις ονομασίες *Cichlasoma nigrofasciatus*, *Heros nigrofasciatus* και *Cryptoheros nigrofasciatus* (Froese & Pauly 2012). Ζει σε τροπικές περιοχές με μετρίως όξινο ή ελαφρώς αλκαλικό pH (6,6-7,5). Αντέχει σε χαμηλές θερμοκρασίες, με αποτέλεσμα να επιβιώνει σε ηφαιστειογενείς λίμνες σε υψόμετρο 1500 m (Gumm & Itzkowitz, 2007). Οι Barley & Coleman (2010),

αναφέρουν ότι στο φυσικό περιβάλλον που ζει και αναπτύσσεται το είδος το pH είναι 6,6-7,8, η σκληρότητα του νερού είναι 63-77 ppm CaCO₃ και η θερμοκρασία είναι 20-28 °C. Σε ελεγχόμενες συνθήκες, τα επίπεδα της ολικής αμμωνίας (Total Ammonium Nitrogen, T.A.N) και των νιτρωδών ιόντων (NO₂⁻-N), είναι μηδενικά (σε mg/L), ενώ η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων (NO₃⁻-N) είναι 10-20 mg/L (Yamamoto & Tagawa 2000, Vlachos *et al.* 2008).

Το *A.nigrofasciatus* ανήκει στα μικρόσωμα μέλη της οικογένειας Cichlidae, με το σώμα του να είναι πλευρικά σχεδόν συμπιεσμένο, ελαφρά επιμηκυμένο και με μικρό ύψος κορμού (Lavery & Keenleyside 1990). Φέρει πλευρικά 8-9 σκούρες κάθετες γραμμές που διατρέχουν το σώμα του μέχρι το ουραίο πτερύγιο και εκτείνονται έως το ραχιαίο και εδρικό πτερύγιο. Το ραχιαίο πτερύγιο καθώς αυξάνεται καταλήγει να είναι αιχμηρό. Το ουραίο πτερύγιο διαφοροποιείται από εκείνο του αγγελόψαρου, αλλά μοιάζει με των υπολοίπων μελών της οικογένειας Cichlidae και είναι στρογγυλεμένο (Mills & Nevers 1982, Axelrod & Sweeney 1992). Το στόμα του βρίσκεται στο εμπρόσθιο μέρος της κεφαλής και στο άκρο (τελικό στόμα). Οι οφθαλμοί βρίσκονται εκατέρωθεν της κεφαλής με την ίριδα να περιβάλλει τη σχετικά μεγάλη μαύρη και ευδιάκριτη κόρη. Όταν το ψάρι εισέρχεται στην περίοδο αναπαραγωγής οι οφθαλμοί αποκτούν ερυθρό χρωματισμό, ενώ το εδρικό, το ουραίο και το ραχιαίο πτερύγιο χρωματίζονται φωτεινό λαδί με κίτρινες αποχρώσεις (Axelrod & Sweeney 1992).



Εικόνα 1.2: Κιγλιδόζεμπρα (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)

Η περίοδος αναπαραγωγής της κιχλιδόζεμπρας στο φυσικό ενδιαίτημά της συμπίπτει με την περίοδο των βροχοπτώσεων που έχει ως επακόλουθο την αύξηση της στάθμης του νερού. Η αναπαραγωγή πραγματοποιείται με επιτυχία σε στάσιμα νερά, χωρίς την παρουσία ρευμάτων (Gumm & Itzkowitz 2007, Barley & Coleman 2010). Αναπτύσσει στρατηγικές σύγχρονης αναπαραγωγής (James & Reis 2011) με εκτεταμένη ωοτοκία (Alkins-Koo 2000). Είναι μονογαμικό με αυξημένη γονική φροντίδα επιτηρώντας και προστατεύοντας παράλληλα τη φωλιά του και τις νέο-εκκολαπτόμενες νύμφες (Robert & Keenleyside 1990, Rogers 1995, Kim & Grant 2007, Hamilton 2004).

Η θηλυκή κιχλιδόζεμπρα στη φύση οριοθετεί την περιοχή ωοτοκίας εναποθέτοντας τα αυγά σε φύλλα φυτών, ρίζες δέντρων και λείες επιφάνειες βράχων, ενώ σε συνθήκες αιχμαλωσίας σε λείες πλαστικές ή κεραμικές επιφάνειες (Roger 1995, Gay 2005). Η περιοχή ωοτοκίας στο ενυδρείο εξαρτάται από το μέγεθος του ενυδρείου, ενώ συνήθως καλύπτει μια επιφάνεια περίπου 20-40 cm². Είναι γονοχωριστικό (Wesendet 1995) και ο διαχωρισμός του φύλου γίνεται με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά (σχήμα, μέγεθος, χρώμα), τη συμπεριφορά (επιθετικότητα, προσέλκυση αντίθετου φύλου) και με την προεκβολή της ουρογεννητικής οπής (Berstein 1980, Yamamoto & Tagawa 2000). Η περίοδος της αναπαραγωγής αρχίζει να λαμβάνει χώρα από το δεύτερο μήνα της ζωής τους και, σε κατάλληλες συνθήκες, αναπαράγεται καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, με τον αριθμό των αυγών να κυμαίνεται από 40 έως 500 (Loiselle 1995).

Στη φύση τρέφεται με πλαγκτόν, προνύμφες κουνουπιών και εντόμων, σκουλήκι (tubifex ή μαύρο), κωπήποδα και φύκη, ενώ σε συνθήκες αιχμαλωσίας με σύμπηκτα, νιφάδες και κατεψυγμένο σκουλήκι, καρκινοειδή, μύσιδες γαρίδας και νωπό ή

κατεψυγμένο μυϊκό ιστό καρδιάς γαλοπούλας και βοδινού (Townsheand & Wooton 1985). Ο συνδυασμός τεχνητών, ζωντανών και κατεψυγμένων τροφών επιφέρει καλύτερη ανάπτυξη, υψηλότερη επιβίωση (Luna-Figuera 1999, Luna-Figuera *et al.* 2000, Ortega-Salas *et al.* 2009) και αύξηση της συχνότητας ωοτοκίας (Figuerora *et al.* 1977).

1.3. Αναπαραγωγική δραστηριότητα και συμπεριφορά του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας

Η αλιεία διακοσμητικών ψαριών σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές ανά τον κόσμο πραγματοποιείται κυρίως από ερασιτέχνες αλιείς με διάφορα μέσα (όπως για παράδειγμα το κυάνιο) καταστρέφοντας τα ενδιαίτηματα των ψαριών και διαταράσσοντας την ισορροπία των φυσικών οικοσυστημάτων (ποταμών, λιμνών, θαλασσών) τα οποία αποτελούν τις βασικές πηγές αναζήτησης τροφής των τοπικών κοινωνιών (Olivotto *et al.* 2006). Τα είδη αυτά, εξαιτίας της αυξημένης εμπορικής αξίας που παρουσιάζουν, αποτελούν το κλειδί για την ανάπτυξη του εμπορίου των διακοσμητικών ψαριών, ενώ οι έρευνες εστιάζονται κυρίως στην εκτροφή τους σε συνθήκες αιχμαλωσίας (Wabnitz *et al.* 2003, Olivotto *et al.* 2006).

Τα τελευταία χρόνια οι έρευνες εστιάζονται στη μελέτη της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς διαφόρων διακοσμητικών ψαριών γλυκού νερού όπως του αγγελόψαρου, *P. scalare* (Korzeecka-Orkisz *et al.* 2012), της κιχλιδόζεμπρας, *A. nigrofasciatus* (Lavery & Keenleyside 1990), του *Cichlasoma dimerus* (Meijidae & Guerrero 2000, Pandolfi *et al.* 2009), της ζέμπρας, *Danio rerio* (Parichy *et al.* 2009, Sfakianakis *et al.* 2011), της τιλάπιας, *Oreochromis aureus* (Fujimura & Okada 2007) και ψαριών

θαλασσινού νερού όπως του θαλασσινού αγελόψαρου, *Pomacanthus semicirculatus* (Leu *et al.* 2009), του αυτοκρατορικού αγελόψαρου, *Centropyge flavissimus* (Olivotto *et al.* 2006) και του ψαριού κλόουν, *Amphiprion ocellaris* (Hoff 1996, Yasir & Qin 2007). Η μελέτη της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς των ψαριών της οικογένειας των Cichlidae εστιάζεται, από τους περισσότερους ερευνητές, στην στρατηγική επώασης και τη γονική φροντίδα (Fryer & Illes 1972, Jones 1972, Lavery & Keenleyside 1990, Barlow 1991, Keenleyside 1991, Rogers 1995, Meijide & Guerrero 2000, Fujimura & Okada 2007, Pandolfi *et al.* 2009, Korzeecka-Orkisz *et al.* 2012). Συγκριτικά με το μεγάλο αριθμό των μελών της οικογένειας Cichlidae και την ευρεία γεωγραφική κατανομή τους, ελάχιστες είναι οι διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με την πρόιμη ανάπτυξη των κιχλίδων.

Η ανάπτυξη των ψαριών στα πρώιμα στάδια της ζωής τους, συμπεριλαμβάνει μια σειρά από διαδικασίες που σχετίζονται με την εξέλιξη των μορφομετρικών τους χαρακτηριστικών, αποτελώντας όμως περιοριστικό παράγοντα (αναστολή της ανάπτυξης) για την εκτροφή των περισσότερων ψαριών σε συνθήκες αιχμαλωσίας. Η ωτοκία σε συνθήκες αιχμαλωσίας, η ανάπτυξη του εμβρύου και η μετάβαση από την ενδογενή στην εξωγενή διατροφή των προνυμφών, αποτελούν τα βασικά ζητήματα που μελετώνται κατά τη διαδικασία των πρώιμων σταδίων ανάπτυξης του ψαριού (Olivotto *et al.* 2006). Οι κατάλληλες τεχνολογίες και η κατάρτιση κατάλληλων διαιτών περιορίζουν τα προβλήματα που σχετίζονταν με την ποιότητα των αυγών, την ανάπτυξη του εμβρύου και την επώαση (Carnevali *et al.* 1999). Η επιτυχημένη εκτροφή των νυμφών των διακοσμητικών ψαριών εξαρτάται από την κατάρτιση ισορροπημένων σιτηρεσιών, κατάλληλων προγραμμάτων διατροφής και διατήρηση ιδανικών περιβαλλοντικών συνθηκών εκτροφής (Olivotto *et al.* 2003).

1.3.1. Οντογένεση, λεκιθοφόρα και μεταλεκιθοφόρα νυμφική ανάπτυξη

Η οντογένεση έχει μελετηθεί εκτενώς σε πολλά είδη ψαριών, είτε διακοσμητικά είτε εκτρεφόμενα όπως για παράδειγμα στο *Fundulus heteroclitus* (Trinka 1992), την πέστροφα *Salmo gairdneri* (Ballard 1973a), το είδος *Salvelinus fontinalis* (Ballard, 1973a), τη ζέμπρα *Danio rerio* (Warga & Kimmel 1990), την τλάπια *Oreochromis niloticus* (Fujimura & Okada 2007) και *Oreochromis mossambicus* (Rana 1988), τον Ιαπωνικό διακοσμητικό κυπρίνο *Cyprinus carpio* (Nica *et al.* 2012), τα οποία σήμερα αποτελούν πρότυπα μοντέλα ανάπτυξης για τη μελέτη των πρώιμων σταδίων ανάπτυξης στα περισσότερα ψάρια.

Οι μελέτες αυτές εστιάζονται περισσότερο σε διακοσμητικά ψάρια γλυκού νερού, εκ των οποίων τα περισσότερα είδη προέρχονται από την Αφρική (Fryer & Illes 1972, Balon 1977, Kuwamura & Mihigo 1988, Fujimura & Okada 2007). Ένας περιορισμένος αριθμός μελετών αφορά τα νεοτροπικά είδη της οικογένειας Cichlidae (είδη της νοτίου και κεντρικής Αμερικής), (Jones 1972, Martinez & Murillo 1987, Meijide & Guerrero 2000) και ένας ελάχιστος αριθμός αναφέρεται σε είδη θαλασσινού νερού (Yasir & Qin 2007).

Στα είδη *Chaetodontoplus septentrionalis* (Leu *et al.* 2010), *Centropyge flavissimus* (Olivotto *et al.* 2006), *Amphiprion ocellaris* (Yasir & Qin 2007) και *Pomacanthus semicirculatus* (Leu *et al.* 2009) τα αυγά είναι σφαιρικά, τα οποία εναποθέτονται στο υπόστρωμα, σε αντίθεση με τα είδη ψαριών *Cichlasoma dimerus* (Meijide & Guerrero 2000, Pandolfi *et al.* 2009), *Archocentrus nigrofasciatus* (Jones 1972, Gumm & Itzkowitz 2007), *Ptreophyllum scalare* (Yoshida *et al.* 1996, Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012), στα οποία τα αυγά είναι ωοειδή (ελλειπτικά). Η

προσκόλληση στο υπόστρωμα γίνεται με μια κολλώδη ουσία ή με νημάτια τα οποία καλύπτουν περιφερειακά το χόριο.

Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε εκτρεφόμενα είδη ψαριών αναφέρουν ότι η ποιότητα των αυγών επηρεάζεται από τη διατροφή των γεννητόρων, τις περιβαλλοντικές συνθήκες καθώς και από τις πρακτικές διαχείρισης (Brown *et al.* 2003).

Το μέγεθος και το χρώμα του αυγού στα διακοσμητικά είδη της οικογένειας Cichlidae ποικίλλει από κρεμ-ζαχαρί έως σκούρο μπεζ-καφέ ή πορτοκαλί ανάλογα με το είδος του ψαριού (Meijidae & Guerrero 2000 , Leu *et al.* 2010). Τα χαρακτηριστικά των αυγών ανάμεσα στα είδη, φέρουν διαφορετικό χρωματισμό και διαφορετικά εξωτερικά μορφολογικά χαρακτηριστικά (Muir & Roberts 1988). Ο χρωματισμός του αυγού, εξαρτάται από την ποσότητα των χρωστικών ουσιών, όπως για παράδειγμα καροτενοειδή που χορηγούνται στη διατροφή των γεννητόρων. Ανάμεσα στις χαρακτηριστικές διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ των αυγών των ειδών των κιχλίδων είναι η εμφάνιση νηματίων με κολλώδη ουσία που παρατηρούνται στο εξωτερικό στρώμα του χορίου και προέρχονται από τα κύτταρα του θυλακίου (Muir & Roberts 1988). Στην επιφάνεια υπάρχουν πολλά κολλώδη νημάτια τα οποία έχουν την τάση να προσκολλούν το αυγό στο υπόστρωμα.

Στα διακοσμητικά ψάρια του γλυκού νερού η διάμετρος του αυγού κατά τον οριζόντιο άξονα, ποικίλει από 1,65 mm, όπως για παράδειγμα για το είδος *Cichlasoma dimerus* (Meijide & Guerrero 2000) έως 1,44 mm για το είδος *P. scalare* (Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012), ενώ για τα διακοσμητικά ψάρια του θαλασσινού νερού η διάμετρος του αυγού ποικίλει από 1,8 mm για το είδος *Amphiprion ocellaris* (Yasir & Qin 2007),

0,61 mm και 0,83 mm, αντίστοιχα, για τα είδη *Pomacanthus semicirculatus* και *Chaetodontoplus septentrionalis* (Leu *et al.* 2009, Leu *et al.* 2010).

Ο ρυθμός απορρόφησης του λεκιθικού σάκου και της σταγόνας λιπιδίου, αμέσως μετά την εκκόλαψη πραγματοποιείται περίπου με την ίδια περίπου σχετική ταχύτητα και μπορεί να προσδιοριστεί διαμέσου των αλλαγών που πραγματοποιούνται στο σχήμα και στον όγκο του λεκιθικού σάκου. Συνεπώς, η απορρόφηση του λεκιθικού σάκου αρχικά πραγματοποιείται με αργό αλλά σταθερό ρυθμό (περίοδος πριν την εκκόλαψη), στη συνέχεια η απορρόφηση γίνεται με σταθερό αλλά γρήγορο ρυθμό (περίοδος μετά την εκκόλαψη) και ολοκληρώνεται με την απορρόφηση των υπολειμμάτων του λεκιθικού σάκου (έναρξη εξωγενούς θρέψης), (Diwan & Dhakad 1995). Μερικές ώρες πριν και κατά τη διάρκεια της εκκόλαψης, ο ρυθμός απορρόφησης του λεκιθικού σάκου αυξάνεται απότομα. Η αύξηση αυτή πιθανόν να οφείλεται αφενός μεν στην αύξηση της απορροφητικής επιφάνειας λόγω των αλλαγών που γίνονται στο σχήμα της λεκίθου και αφετέρου, στην αύξηση της μεταβολικής δραστηριότητας των πολυκαρυοκυττάρων της λεκίθου (Diwan & Dhakad 1995). Οι παράγοντες που συμβάλλουν στην αύξηση ή τη μείωση του ρυθμού απορρόφησης του λεκιθικού σάκου είναι τα επίπεδα της συγκέντρωσης οξυγόνου, η αλατότητα, η αυξημένη συγκέντρωση της αμμωνίας, η θερμοκρασία του νερού και η συγκέντρωση των τοξικών ξενοβιοτικών στο νερό (Diwan & Dhakad 1995).

Η απορρόφηση του λεκιθικού σάκου στα περισσότερα εμπορικά διακοσμητικά είδη ψαριών του γλυκού νερού κυμαίνεται από 3 έως 9 ημέρες μετά την εκκόλαψη. Για παράδειγμα στο είδος *Chaetodontoplus septentrionalis*, η απορρόφηση διαρκεί 3 ημέρες (Leu *et al.* 2010) και στο είδος *Cichlasoma nigrofasciatus* 3-4 ημέρες (Robert & Keenleyside 1990). Στο τροπικό αγγελόψαρο, *P. scalare*, η απορρόφηση του λεκιθικού

σάκου διαρκεί 6 ημέρες (Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012), σε σχέση με το *Cichlasoma dimerus* όπου η απορρόφηση του λεκιθικού σάκου διαρκεί 9 ημέρες μετά την εκκόλαψη (Meijide & Guerrero 2000).

Στα περισσότερα διακοσμητικά είδη του θαλασσινού νερού η απορρόφηση του λεκιθικού σάκου διαρκεί κατά μέσο όρο 2-3 ημέρες, όπως για παράδειγμα στο είδος *Centropyge flavissimus* (Olivotto *et al.* 2006), ενώ εξαίρεση αποτελεί το είδος *Amphiprion ocellaris* (ψάρι κλόουν) όπου η απορρόφηση διαρκεί 10 ημέρες μετά την εκκόλαψη (Yasir & Qin 2007).

Το αγγελόψαρο και η κιχλιδόζεμπρα ανήκουν στα διακοσμητικά είδη ψαριών τα οποία εναποθέτουν τα αυγά τους σε υπόστρωμα (Gumm & Itzkowitz 2007, Cacho *et al.* 2007). Οι προνύμφες των ψαριών αυτών μετά την εκκόλαψή τους συνεχίζουν να είναι προσκολλημένες στο υπόστρωμα, μιας και διαθέτουν δυναμωμένους αδένες στην περιοχή της κεφαλής, με αποτέλεσμα να πάλλουν ελαφρώς το ουραίο περύγιο (Lavery & Keenleyside 1990, Yosida *et al.* 1996, Meijidae & Guerrero 2000, Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012). Υπάρχουν είδη διακοσμητικών και εδωδιμων ψαριών τα οποία χτίζουν φωλιές σε τρεχούμενα νερά διαθέτοντας ειδικά αναπτυγμένα εμβρυακά αναπνευστικά όργανα, σε σχέση με άλλα είδη τα οποία κατασκευάζουν φωλιές σε στάσιμα νερά εμφανίζοντας ανεπτυγμένο λεκιθικό σάκο (Balon 1975, Diwan & Dhakad 1995).

Στα είδη *Cichlasoma bimaculatum*, *Cichlasoma biocellatum*, *Cichlasoma nigrofasciatum* και *Hemichromis bimaculatus*, που εναποθέτουν τα αυγά τους στο υπόστρωμα, η πρώιμη ανάπτυξη παρουσιάζει πολλές ομοιότητες και διακρίνεται σε πέντε στάδια. Η παρουσία τριών ζευγών εμβρυικών οργάνων με κολλώδη ουσία και η παρουσία της μη νευρικής χρωστικής ακρολοφίας στο έμβρυο είναι από τα χαρακτηριστικά που εμφανίζουν τα είδη αυτά (Jones 1972).

Σύμφωνα με τους Zapata *et al.* (2006), το αγγελόψαρο για παράδειγμα σχηματίζει τα πρώτα αιμοποιητικά κύτταρα στο λεκιθικό σάκο, σε αντίθεση με την ζέμπρα (*Danio rerio*), όπου η πρώτη αιμοποιητική περιοχή είναι μια ενδο-εμβρυική περιοχή, η λεγόμενη ενδιάμεση κυτταρική μάζα (ICM). Ενώ στα killifish (συμπεριλαμβάνονται είδη που ανήκουν στις οικογένειες Aplocheilidae, Cyprinodontidae, Fundulidae, Nothobranchiidae, Profundulidae, Rivulidae και Valenciidae) και στην ιριδίζουσα πέστροφα τα πρώτα αιμοποιητικά κύτταρα εμφανίζονται στο λεκιθικό σάκο για μικρό χρονικό διάστημα και αργότερα η ενδιάμεση κυτταρική μάζα (ICM) γίνεται η κύρια αιμοποιητική περιοχή. Επίσης, στην ίδια μελέτη αναφέρεται ότι, η ζέμπρα (*Danio rerio*) εμφανίζει μυελοβλαστίδια και μυελοκύτταρα ανάμεσα στο λεκιθικό σάκο και στα τοιχώματα του σώματος 24 με 30 h μετά την γονιμοποίηση σε θερμοκρασία 28°C. Οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν ότι άτομα ζέμπρας ηλικίας 1-2 ημερών εμφανίζουν στην περιοχή της ουράς (κάτω μέρος) τα πρώτα αιμοποιητικά κύτταρα. Στους τελεόστεους οργανισμούς, ο θύμος αδένας, το συκώτι και ο σπλήνας αποτελούν σημαντικά στελέχη του ανοσοποιητικού τους συστήματος. Ο θύμος αδένας είναι το μοναδικό όργανο υπεύθυνο για την παραγωγή λεμφοκυττάρων, ενώ το συκώτι και ο σπλήνας περιέχουν μόνο αιμοποιητικά κύτταρα και όχι λεμφοκύτταρα (Zapata *et al.* 2006).

Οι νέο-εκκολαπτόμενες προνύμφες του *Chaetodontoplus septentrionalis*, φθάνουν σε μήκος $1,60 \pm 0,07$ mm, με 27 μυομερή, ενώ 10 ημέρες μετά την εκκόλαψη οι νύμφες έχουν τελικό μήκος $3,95 \pm 0,12$ mm (Leu *et al.* 2010). Επίσης κατά την έναρξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου οι νέο-εκκολαπτόμενες προνύμφες του *Pomacanthus semicirculatus* έχουν ολικό μήκος $1,35 \pm 0,02$ mm με 27 μυομερή (Leu *et al.* 2009). Οι Olivotto *et al.* (2006), αναφέρουν ότι οι νέο-εκκολαπτόμενες προνύμφες

του τροπικού αγγελόψαρου θαλασσινού νερού *Centropyge flavissimus* έχουν αναπτύξει ένα σημαντικό αριθμό μυομερών κατά μήκος του οπίσθιου μέρους του σώματός τους. Το ολικό μήκος που παρουσιάζουν οι λεκιθοφόρες νύμφες του *Cichlasoma dimerus* με την έναρξη του σταδίου είναι $3,32 \pm 0,1 \text{ mm}$ εμφανίζοντας τρία ζεύγη κολλωδών αδένων στο επάνω μέρος της κεφαλής τους (Meijide & Guerrero 2000, Pandolfi *et al.* 2009).

Αναφορικά με τις νέο-εκκολαπτόμενες προνύμφες του αγγελόψαρου *Pterophyllum scalare* αυτές φθάνουν σε μήκος $2,60 \pm 0,093 \text{ mm}$ με μεγάλο λεκιθικό σάκο ($0,64 \pm 0,077 \text{ mm}^3$), ενώ η πρόωμη ανάπτυξη σύμφωνα με τους Korzelecka-Orkisz *et al.* (2012), φαίνεται να επηρεάζεται από το pH του νερού. Οι νύμφες την 1^η ημέρα αναπτύσσουν χρωστικά κύτταρα στο σώμα, ενώ οι οφθαλμοί από την 2^η ημέρα έχουν πάρει την τελική τους μορφή σε ότι αφορά το χρώμα. Μεταξύ 4^{ης} και 5^{ης} ημέρας τα αγγελόψαρα έχουν απορροφήσει το λεκιθικό σάκο και τρέφονται εξωγενώς (Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012).

Η οντογένεση στην τιλάπια *Oreochromis niloticus* μελετήθηκε από τους Fujimura & Okada (2007), για χρονικό διάστημα 30 ημερών μετά τη γονιμοποίηση. Μελετήθηκαν περιγραφικά οι διαδοχικές διαδικασίες ανάπτυξης του κρανίου και ειδικά η διαφοροποίηση και η μορφογένεση του φαρυγγικού σκελετού μέσα από ένα αριθμημένο σύστημα κωδικοποίησης το οποίο αποτελείται από 32 στάδια εκ των οποίων τα 18 στάδια περιγράφουν την εμβρυική ανάπτυξη (ζυγωτό, αυλάκωση, μορίδιο βλαστίδιο, γαστρίδιο, νευρίδιο, οργανογένεση εμβρύου και εκκόλαψη). Τα υπόλοιπα στάδια περιγράφουν τη λεκιθοφόρα και μεταλεκιθοφόρα νυμφική ανάπτυξη. Επίσης, οι ίδιοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι, μια αύξηση στον αριθμό των ακτινών στο ουραίο πτερύγιο (CFRE Caudal fin Rays elements) κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης, αντιστοιχεί σε αύξηση του ολικού μήκους του σώματος της νύμφης. Οι νέο-

εκκολαπτόμενες νύμφες του *Amphiprion ocellaris*, φθάνουν σε μήκος 1,5 φορές το μήκος του αυγού, ενώ το άνοιγμα της στοματικής κοιλότητας γίνεται κατά την 6 ημέρα ενώ ο πεπτικός σωλήνας εμφανίζεται την 7^η ημέρα (Yasir & Qin 2007).

Οι μεταβολές που παρατηρούνται στο αγγελόψαρο κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο λίγες ημέρες μετά την εκκόλαψη, εστιάζονται κυρίως στην κίνηση, η οποία μοιάζει με σπαρτάρισμα και παράλληλα κάμψη πλευρικά της ουράς χωρίς η νύμφη να μετακινείται. Οι προνύμφες του αγγελόψαρου την 5^η με 6^η ημέρα μετά την εκκόλαψη, αρχίζουν να κολυμπούν μηχανικά. Οι κινήσεις αυτές οφείλονται στους μηχανισμούς που αναπτύσσονται στους νευρώνες που είναι υπεύθυνοι για τις δραστηριότητες αυτές (σπαρτάρισμα, κολύμπι). Ο αριθμός των νευρώνων αλλά και η δραστηριότητα αυξάνονται παράλληλα με την ανάπτυξη της προνύμφης, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι μεγαλύτερες σε ηλικία νύμφες έχουν περισσότερο δυναμωμένο ουραίο πτερύγιο σε σχέση με τις μικρότερες (Yoshida *et al.* 1996).

1.3.2. Επίδραση της θερμοκρασίας στην εμβρυική ανάπτυξη

Η θερμοκρασία είναι ένας από τους πιο σημαντικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες που επηρεάζει την ανάπτυξη αλλά και την επιβίωση όπως για παράδειγμα στα εδώδιμα είδη *Pagellus erythrinus* (Klimogianni *et al.* 2004), *Hippoglossus hippoglossus* (Brown *et al.* 2006) και στα διακοσμητικά είδη *Pomacanthus semicirculatus* (Leu *et al.* 2009) και *Chaetodontoplus septentrionalis* (Leu *et al.* 2010). Η θερμοκρασία του νερού κατά τη διάρκεια της ωοτοκίας και επώασης των αυγών, ενδέχεται να επηρεάζει το μεταβολισμό, τη δραστηριότητα, το μέγεθος των προνυμφών

και τη δομή του αναπτυσσόμενου εμβρύου και κατ' επέκταση την ποιότητά του, αλλά και τη διαφοροποίηση του ρυθμού ανάπτυξής του (Klimogianni *et al.* 2004).

Η εμβρυική ανάπτυξη εξαρτάται από τη θερμοκρασία και διαρκεί 15-18 h στους 28 °C για το είδος *Chaetodontoplus septentrionalis* (Leu *et al.* 2010), ενώ για τα είδη *Centropyge flavissimus* και *Cichlasoma dimerus* ολοκληρώνεται σε 15 h στους 28 °C και στις 48 h στους 25 °C (Olivotto *et al.* 2006), αντίστοιχα. Οι Klimogianni *et al.* (2011) στην ερευνά τους αναφέρουν ότι το μυτάκι, *Diplodus puntazzo*, ολοκληρώνει την εμβρυική ανάπτυξη σε 64 h, μετά την γονιμοποίηση, σε θερμοκρασία 21 °C.

Η θερμοκρασία του νερού επηρεάζει επίσης τα ποσοστά εκκόλαψης (Hart & Purser 1995), το μέγεθος των προνυμφών (Hansen & Falk-Petersen 2001), την εξέλιξη και το χρόνο της απορρόφησης των λεκιθικών αποθεμάτων (Pauly & Pullin 1988), καθώς και την επιβίωση των προνυμφών (Akatsu *et al.* 1983). Περαιτέρω επηρεάζει την πρόωρη και τη νυμφική ανάπτυξη, η οποία παρουσιάζει ευαισθησία στην αλλαγή της θερμοκρασίας.

Στη ζέμπρα *Danio rerio*, η θερμοκρασία επηρεάζει τις μορφολογικές αλλαγές (νυκτική κύστη, κοιλιακό πτερύγιο, ουραίο πτερύγιο, ανάπτυξη σκελετού) κατά το στάδιο της μεταμόρφωσης (από μεταλεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο σε πρώιμο και ατελές ιχθύδιο). Επίσης οι αλλαγές αυτές εξαρτώνται από το μέγεθος και την ηλικία της νύμφης (Parichy *et al.* 2009). Το μέγεθος του ψαριού σε σχέση με την ηλικία αποτελεί την καλύτερη ένδειξη για τη μελέτη εξέλιξης των μορφομετρικών προτύπων (Parichy *et al.* 2009).

Η θερμοκρασία στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης του ψαριού επηρεάζει το σχήμα του σώματος και τον ποσοτικό προσδιορισμό των μορφολογικών χαρακτήρων του ψαριού (Blaxter 1991), καθώς και τους χρόνους που πραγματοποιούνται τα

αναπτυξιακά γεγονότα (Kucharczyk *et al.* 1997). Οι Koumoundouros *et al.* (2011), μελετώντας την οντογένεση στο λαβράκι, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ολοκλήρωση συγκεκριμένων οντογενετικών γεγονότων επηρεάζεται από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος ανάπτυξης.

1.4. Διατροφή του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας

Το αγγελόψαρο ως προς το διατροφικό του τύπο, χαρακτηρίζεται είτε ως σαρκοφάγο (Degani 1993) ή ως παμφάγο (Garcia-Ulloa & Gomez- Romero 2005) ή ως θρυμματοφάγο (Crampton 2008), ενώ η κιχλιδόζεμπρα χαρακτηρίζεται ως παμφάγο (Axelrod & Sweeney 1992, Yamamoto & Tagawa 2000, Barley & Coleman 2010).

Η τροφή είναι ένας άλλος σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την αναπαραγωγή και την ανάπτυξη των πληθυσμών των ψαριών (Wootton 1982). Η τροφή και η συχνότητα σίτισης μιας ισορροπημένης διατροφής επηρεάζουν την υγεία των τροπικών ψαριών και τη διατήρηση της ποιότητας του νερού στο ενυδρείο. Η μέγιστη ανάπτυξη στο αγγελόψαρο σύμφωνα με τους Kasiri *et al.* (2011a), επιτυγχάνεται όταν η χορήγηση της τροφής γίνεται δυο φορές ημερησίως ή και περισσότερες σε μικρές ποσότητες. Συνολικά, υπάρχει έλλειψη ειδικών τυποποιημένων τροφών για κάθε στάδιο του κύκλου ζωής τους, ώστε να ικανοποιούν τις διατροφικές τους απαιτήσεις. Η διατροφή των διακοσμητικών ψαριών είναι βασισμένη στην έρευνα για τις απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά και τις πρακτικές που εφαρμόζονται στην εκτροφή ψαριών που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση.

Ωστόσο, αν και τα υψηλά επίπεδα διαιτητικής πρωτεΐνης μεγιστοποιούν την ανάπτυξη των ψαριών, τα υψηλά αυτά επίπεδα μπορεί να αποδειχτούν ακατάλληλα για

τα ψάρια που διατηρούνται σε ενυδρεία στο σπίτι ή σε δημόσια ενυδρεία, καθώς τα υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης ενδέχεται να δημιουργούν προβλήματα ρύπανσης του περιβάλλοντος στο ενυδρείο από τα προϊόντα διάσπασης του μεταβολισμού των πρωτεϊνών (Sales & Janssens 2003).

Σε ότι αφορά τη διατροφή των διακοσμητικών ψαριών, μέχρι σήμερα έχουν πραγματοποιηθεί έρευνες που σχετίζονται με τη χορήγηση διαφορετικών ζωντανών τροφών και εμπορικά αποξηραμένων τροφών (Lim *et al.* 2001, Carvalho *et al.* 2006, Gómez-Requeni *et al.* 2010, Bahadir Koka *et al.* 2009, Zuanon *et al.* 2009) και τις διατροφικές ανάγκες, την επιβίωση και την εκτίμηση της διατροφικής συμπεριφοράς (Blom *et al.* 2000, Sales & Janssens 2003, Velu & Munuswamy 2003, Norouzitallab *et al.* 2009, Ortega-Salas *et al.* 2009, Farahi *et al.* 2010). Ωστόσο, υπάρχει έλλειψη λεπτομερών γνώσεων σχετικά με την επίδραση της ποιότητας της διατροφής και του διατροφικού καθεστώτος για την πρόσληψη των θρεπτικών ουσιών, την αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών και τη διατροφική κατάσταση των διακοσμητικών ψαριών.

Η ποιότητα της τροφής αντανακλάται από την πεπτικότητα και την ισορροπία των θρεπτικών ουσιών, που επηρεάζουν τόσο την πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών όσο και την αξιοποίησή τους (Carter *et al.* 1991). Μελέτες σε εκτρεφόμενα ψάρια έδειξαν ότι ο τύπος της τροφής, η υφή και η σύσταση επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την ανάπτυξή τους (Carter *et al.* 1993, 1998, Carter & Houlihan 2001). Μελέτες που διεξήχθησαν σε συνθήκες ασιτίας παρουσιάζουν τον τρόπο που χρησιμοποιούνται από τα ψάρια οι πηγές ενέργειας όταν δεν ταΐζονται σε συνθήκες εκτροφής (Fishelson 1997, Mente 2003). Επιπλέον, η θερμοκρασία του νερού είναι ο κύριος αβιοτικός παράγοντας που επηρεάζει τη φυσιολογία και την ανάπτυξη των ψαριών (Jobling 1997). Υπάρχει ανάγκη να διερευνηθεί η συνδυασμένη επίδραση της ποιότητας της

διατροφής και της θερμοκρασίας του νερού στην ανάπτυξη και αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών στην εκτροφή διακοσμητικών ψαριών.

1.4.1. Διατροφή και θρεπτικές απαιτήσεις των διακοσμητικών ψαριών

Η διατροφή ως ενδογενής παράγοντας επηρεάζει την ικανότητα που διαθέτει το εκτρεφόμενο ψάρι να αναπτύσσει μια δυναμική που αποσκοπεί στην ανάπτυξη και την αναπαραγωγή του. Η διαφοροποίηση των θρεπτικών απαιτήσεων εξαρτάται από το στάδιο ανάπτυξης του ψαριού (Ricker 1979), με αποτέλεσμα να υπάρχουν διαφοροποιήσεις μεταξύ των ειδών ψαριών και στα διάφορα στάδια ανάπτυξης, ως προς την ποσοτική και ποιοτική απαίτηση σε διάφορα θρεπτικά στοιχεία όπως για παράδειγμα ανόργανα στοιχεία, βιταμίνη C και ακόρεστα λιπαρά (Lovell 2000). Συνεπώς, τα ψάρια προκειμένου να επιτελέσουν τις φυσιολογικές τους λειτουργίες, να αναπτυχθούν, να επιβιώσουν και να αναπαραχθούν απαιτούν μια διατροφή πλούσια σε πρωτεΐνες και συγκεκριμένα σε απαραίτητα αμινοξέα, σε λιπίδια και συγκεκριμένα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, σε ανόργανα στοιχεία και σε βιταμίνες (Erdogan *et al.* 2012).

Σύμφωνα με τους Kasiri *et al.* (2011c), η ανάπτυξη και η αναπαραγωγική δραστηριότητα του ψαριού επηρεάζονται από παράγοντες όπως η συμπεριφορά του ψαριού, τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά της τροφής, η ημερήσια αύξηση, η ημερήσια κατανάλωση της τροφής καθώς και η θερμοκρασία εκτροφής. Τα σιτηρέσια πρέπει να περιέχουν ποιοτικά και ποσοτικά όλα τα θρεπτικά συστατικά προκειμένου να καλύπτουν πλήρως τις απαιτήσεις των ψαριών. Πιθανή έλλειψή τους προκαλεί μείωση της αναπαραγωγικής ικανότητας και της σωματικής τους ανάπτυξης, ενώ στη χειρότερη

περίπτωση το ψάρι οδηγείται στο θάνατο (Sales & Janssens 2003). Η κατάλληλη διαίτα βελτιώνει την πεπτικότητα των θρεπτικών, ενώ παράλληλα μειώνει το κόστος συντήρησης και περιορίζει τη ρύπανση του νερού (Yousefian *et al.* 2012). Στο φυσικό περιβάλλον, τα ψάρια διατηρούν την ικανότητα να προσλαμβάνουν την τροφή τους καλύπτοντας τις διατροφικές τους απαιτήσεις ελαχιστοποιώντας με τον τρόπο αυτό την πιθανότητα να υποφέρουν από διατροφικές ελλείψεις (Velasco-Santamaria & Corredor-Santamaria 2011). Οι πληροφορίες που είναι διαθέσιμες σήμερα για τις διατροφικές απαιτήσεις των διακοσμητικών ψαριών είναι ελάχιστες, ενώ στην πλειοψηφία τους στηρίζονται σε συμπεράσματα που προέρχονται από τα εδώδιμα είδη που εκτρέφονται (Lovell 2000, Chong *et al.* 2003).

A. Θρεπτικές απαιτήσεις σε ενέργεια

Η ενέργεια που απαιτείται για τη συντήρηση και τη σύνθεση της πρωτεΐνης στα ψάρια είναι μικρότερη σε σχέση με τα θηλαστικά (Lovell 2000). Ως εκ τούτου, ο λόγος της πρωτεΐνης προς την ενέργεια στα ψάρια είναι μεγαλύτερος εξαιτίας των χαμηλών απαιτήσεων σε ενέργεια. Τα ψάρια χρησιμοποιούν τη διαιτητική πρωτεΐνη ώστε να διατηρήσουν τις απαιτήσεις τους σε ενέργεια σε βάρος της ανάπτυξης. Τα νεαρά άτομα έχουν μεγαλύτερες απαιτήσεις σε ενέργεια, ενώ η χορήγηση τροφής πρέπει να γίνεται σε τακτό χρονικό διάστημα (Pannevis & Earle 1994, Yousefian *et al.* 2012). Η θρεπτική αξία των συστατικών ενός σιτηρεσίου εξαρτάται εν μέρει από την ικανότητά τους να προσδίδουν ενέργεια. Εκτιμάται ότι 1 g πρωτεΐνης αποδίδει 5,65 kcal / g, 1 g λίπους αποδίδει 9,44 kcal / g και 1 g υδατάνθρακα αποδίδει 4,11 Kcal / g (Craig & Helfrich 2009).

Στα διακοσμητικά ψάρια οι απαιτήσεις σε ενέργεια (Πιν. 1.1) ποικίλουν ανάλογα με το είδος του ψαριού, με το στάδιο ανάπτυξης του ψαριού και το επίπεδο της διαιτητικής πρωτεΐνης. Για παράδειγμα οι ανάγκες σε ενέργεια στο χρυσόψαρο μέσου βάρους 0,2 g είναι 11,72 kJ/g (Lochmann & Phillips 1994), ενώ για τα άτομα μέσου βάρους 0,008 g η απαίτηση σε ολική ενέργεια προσδιορίστηκε σε 20,3 kJ/g (Flogbe & Kestemont 1995). Οι Zuanon *et al.* (2009), αναφέρουν ότι στο αγγελόψαρο μέσου βάρους 2,33 g οι απαιτήσεις σε ενέργεια είναι 12,97 kJ/g, σε αντίθεση με τη Readhead κηλίδα (*Cichlasoma synspillum*), όπου οι απαιτήσεις σε ενέργεια είναι μικρότερες 1,55 kJ/g (Olevera-Novoa *et al.* 1996). Επίσης στο αγγελόψαρο μέσου βάρους 2,33 g οι απαιτήσεις σε ενέργεια είναι μικρότερες (12,97 kJ/g) όταν το επίπεδο της διαιτητικής πρωτεΐνης στην τροφή είναι 26% (Zuanon *et al.* 2009) σε αντίθεση με το αγγελόψαρο μέσου βάρους 1,64 g όπου έχει υψηλότερες απαιτήσεις σε ενέργεια (17,3-17,9 kJ/g), όταν το επίπεδο της διαιτητικής πρωτεΐνης στην τροφή είναι 30%, 35% και 40% (Mohanta *et al.* 2011). Αξίζει να αναφερθεί ότι υψηλά επίπεδα διαιτητικής ενέργειας προκαλούν κορεσμό σε όλα τα εδώδιμα και διακοσμητικά είδη ψαριών όπως για παράδειγμα έχει μελετηθεί στα άτομα του γένους *Cichla spp.*, με αποτέλεσμα να μειώνεται η κατανάλωση της τροφής όσο υψηλότερη είναι η διαιτητική ενέργεια της τροφής (Velasco-Santamaria & Corredor-Santamaria 2011).

B.Θρεπτικές απαιτήσεις σε πρωτεΐνες και αμινοξέα

Οι πρωτεΐνες είναι σύνθετες μεγαλομοριακές οργανικές ενώσεις, οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στη δομή και λειτουργία του οργανισμού των ψαριών και χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξή τους, προκειμένου να καλύψουν τις μεταβολικές τους απαιτήσεις (Earle 1995, Sales & Janssens 2003). Τα ψάρια δε μπορούν να

συνθέσουν 10 αμινοξέα, με αποτέλεσμα αυτά να πρέπει να προσληφθούν αναγκαστικά από την τροφή (απαραίτητα αμινοξέα) (Berg *et al.* 2007, Velasco-Santamaria & Corredor-Santamaria 2011, Yousefian *et al.* 2012).

Οι Elangovan & Shim (1997) και οι Yohana & Wilson (2011), έχουν αποδείξει ότι, στα διακοσμητικά ψάρια οι απαιτήσεις σε πρωτεΐνη εξαρτώνται από το μέγεθος του ψαριού, την ηλικία, το στάδιο ανάπτυξης, τον τύπο του σιτηρεσίου και τις συνθήκες εκτροφής. Για κάθε είδος, σε κάθε στάδιο ανάπτυξης υπάρχει ένα βέλτιστο επίπεδο διαιτητικής πρωτεΐνης, το οποίο αποδίδει το μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης. Έτσι αυξανόμενα επίπεδα διαιτητικής πρωτεΐνης αυξάνουν το ρυθμό ανάπτυξης των ψαριών (Ling *et al.* 2006, Chong *et al.* 2004). Ωστόσο, πέραν ενός ορίου, τα υψηλότερα επίπεδα διαιτητικής πρωτεΐνης (50%) μειώνουν το ρυθμό ανάπτυξης λόγω της υψηλότερης μεταβολικής ενέργειας, που χρησιμοποιείται για την απαμίνωση των πλεοναζουσών ποσοτήτων της πρωτεΐνης (Elangovan & Shim 1997).

Η μέγιστη ανάπτυξη των περισσότερων ειδών διακοσμητικών ψαριών, που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα, επιτυγχάνεται με ένα επίπεδο διαιτητικής πρωτεΐνης το οποίο κυμαίνεται από 25-50% ανάλογα με το υπό μελέτη είδος (επισκόπηση από Sales & Janssens 2003). Για παράδειγμα, για την ανάπτυξη του παμφάγου χρυσόψαρου (*Carassius auratus*) οι απαιτήσεις σε πρωτεΐνη είναι 25%, ενώ έως 50% για την ανάπτυξη του σαρκοφάγου δίσκου (*Symphysodon aequifasciata*) (Sales & Janssens 2003) (Πιν. 1.1). Το ιχθυάλευρο, το άλευρο σόγιας, το άπαχο γάλα σε σκόνη, τα όσπρια, η γλουτένη σίτου και καλαμποκιού είναι πλούσιες πηγές πρωτεΐνης και έχουν χρησιμοποιηθεί σε διάφορες μελέτες ως κύριες πρωτεϊνικές πηγές του σιτηρεσίου των διακοσμητικών ειδών (Royes & Chapman 1997).

Πίνακας 1.1: Απαιτήσεις σε πρωτεΐνη και ενέργεια σε διακοσμητικά ψάρια γλυκού νερού.

Είδος	Βάρος (g)	Ενέργεια (kJ/g)	Απαιτήσεις σε πρωτεΐνη (%)	Αναφορά
<i>Carassius auratus</i>	0,2	11,72	29%	Lochmann & Phillips (1994) Fiogbé & Kestemont (1995)
	0,008	20,3	53%	
<i>Cichlasoma synspilum</i>	0,28	1,55	40,81%	Olevera-Novoa <i>et al.</i> (1996)
<i>Cichla sp.</i>	10 - 30	14,65 (3500 kcal/kg)	37 - 41%	Sampaio <i>et al.</i> (2000)
<i>Poecilia reticulata</i>	0,1	13,10	30-40	Shim and Chua (1986)
<i>Pterophyllum scalare</i>	2,33	12,97 (3100 kcal/kg)	26	Zuanon <i>et al.</i> (2009)
<i>Pterophyllum scalare</i>	1,64	17,3-17,9 (Mj/kg)	30%,35% 40%	Mohanta <i>et al.</i> 2011
<i>Pterophyllum scalare</i>	0,73	17,3-17,9 (Mj/kg)	42%,44% 49%	Bahadir Koca <i>et al.</i> 2009
<i>Symphysodon aequifasciata</i>	4,45 - 4,65	21,65	44,9 - 50,1	Chong <i>et al.</i> (2000)

Στα εδώδιμα είδη ψαριών, η ανάπτυξη των προνυμφών είναι ταχύτερη σε σχέση με τα μεγαλύτερα άτομα. Το ίδιο έχει αποδειχθεί και στα διακοσμητικά είδη που έχουν μελετηθεί όπως για παράδειγμα τα νεαρά και αναπτυσσόμενα άτομα του χρυσόψαρου έχουν μικρότερες ανάγκες σε πρωτεΐνη (29%) σε σχέση με τις νύμφες χρυσόψαρου όπου οι απαιτήσεις σε πρωτεΐνη είναι μεγαλύτερες (53%) (Πιν.1.1) (Lochmann & Phillips 1994, Fiogbe & Kestemont 1995, Yohada & Wilson 2011).

Οι Chong *et al.* (2000) για παράδειγμα, αναφέρουν ότι ο δίσκος (*Symphysodon aequifasciata*) έχει υψηλές απαιτήσεις σε πρωτεΐνη λόγω των διατροφικών του συνηθειών στο φυσικό περιβάλλον (σαρκοφάγο είδος). Ο δίσκος όταν σιτίζεται με καζείνη, ιχθυάλευρο και μυϊκό ιστό καρδιάς βοδινού παρουσιάζει καλύτερη ανάπτυξη σε σχέση με τα άτομα που τρέφονται με άλευρο σόγιας και σίτου. Επίσης, οι Chong *et al.* (2003), αναφέρουν ότι τόσο το σιτηρέσιο καζείνης, όσο και το σιτηρέσιο από

ιχθυάλευρο, άλευρο σόγιας και μυϊκό ιστό καρδιάς βοδινού παρουσιάζουν αυξημένα ποσοστά απορρόφησης.

Όπως στην ανάπτυξη έτσι και στην αναπαραγωγή υπάρχει ένα βέλτιστο επίπεδο πρωτεΐνης που αποφέρει υψηλούς αναπαραγωγικούς δείκτες (πχ αριθμό παραγόμενων αυγών, εκκολασιμότητα αυγών, ποσοστό επιβίωσης λεκιθοφόρων νυμφών, θρεπτική σύσταση αυγών κ.λπ.). Η διατροφή των γεννητόρων καθορίζει την αναπαραγωγική συμπεριφορά του ψαριού. Συνεπώς σιτηρέσια που περιέχουν πρωτεΐνη 30% επιδρούν θετικά στην αναπαραγωγική δραστηριότητα των ψαριών αυξάνοντας κατά πολύ την παραγωγική διαδικασία (Chong *et al.* 2004, Ling *et al.* 2006). Επίσης, η μείωση της διαιτητικής πρωτεΐνης στο 20% επιφέρει μειωμένη περιεκτικότητα πρωτεΐνης στο μυϊκό ιστό και στις ωοθήκες του *Xiphophorus helleri* (Chong *et al.* 2004, Ling *et al.* 2006). Οι Afzal Khan *et al.* (2005), αναφέρουν ότι η ποιότητα των αυγών (σύσταση, ανάπτυξη) είναι πενιχρή όταν τα ενήλικα άτομα σιτίζονται με σιτηρέσια μικρής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (20%).

Τα αμινοξέα αποτελούν τη βασική δομική μονάδα των πρωτεϊνών και διακρίνονται σε απαραίτητα και μη απαραίτητα αμινοξέα. Τα περισσότερα ζώα συμπεριλαμβανομένων των ψαριών, απαιτούν στο σιτηρέσιό τους 10 απαραίτητα αμινοξέα και συγκεκριμένα την αργινίνη, την ιστιδίνη, την ισολευκίνη, τη λευκίνη, τη λυσίνη, τη μεθειονίνη, τη φαινυλαλανίνη, τη θρεονίνη, την τρυπτοφάνη και τη βαλίνη (Παπουτσόγλου 2008, Μεντέ & Νέγκας 2011) και το ίδιο ισχύει για τα διακοσμητικά είδη (Sales & Janssens 2003). Τα διακοσμητικά ψάρια σύμφωνα με τους Velasco-Santamaria & Corredor-Santamaria (2011) έχουν αυξημένες ποσοτικές απαιτήσεις σε αμινοξέα σε σχέση με τα εδώδιμα είδη ψαριών.

Οι απαιτήσεις του χρυσόψαρου μέσου βάρους 0,08 g σε συνολικά απαραίτητα αμινοξέα κυμαίνονται από 3,4% έως 11,8% της τροφής όταν τρέφεται με ιχθυάλευρο-καζείνη (Flogbe & Kestemont 1995), ενώ για το δίσκο μέσου βάρους 4,48 g ποικίλουν από 1,3% έως 16,5% όταν σιτίζεται με σύμπηκτα (Chong *et al.* 2004). Οι Velu & Munuswamy (2003) αναφέρουν ότι οι απαιτήσεις σε απαραίτητα αμινοξέα για το αγγελόψαρο μέσου βάρους 2 g κυμαίνονται από 2,06% έως 28,5% όταν σιτίζεται με σκουλήκια ή αποκελυφοποιημένες κύστες *artemia*. Οι τροφές φυτικής προέλευσης όπως για παράδειγμα το άλευρο σόγιας έχουν μικρή περιεκτικότητα σε μεθειονίνη.

Τα διακοσμητικά ψάρια όταν εκτρέφονται σε συνθήκες αιχμαλωσίας πρέπει να αξιοποιούν στο μέγιστο βαθμό την πρωτεΐνη που περιέχεται στην τροφή (πρωτεΐνη υψηλής πεπτικότητας) προκειμένου να μειωθούν τα επίπεδα ρύπανσης που προκαλούνται από την παραγόμενη ποσότητα αμμωνίας στο ενυδρείο με αποτέλεσμα να διαταράσσεται η ισορροπία του περιβάλλοντος.

Το ιχθυάλευρο είναι ένα συστατικό με υψηλή πεπτικότητα για τα διακοσμητικά ψάρια, ωστόσο λόγω του ότι πολλά διακοσμητικά ψάρια είναι παμφάγα έχουν δοκιμαστεί και άλλα συστατικά για αντικατάστασή του. Για παράδειγμα η αντικατάσταση του ιχθυάλευρου από το άλευρο σόγιας, το οποίο θεωρείται συστατικό με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, είναι μια εναλλακτική μέθοδος, που οδηγεί σε ικανοποιητική ανάπτυξη σε διακοσμητικά είδη ψαριών (Sales & Janssens 2003). Οι ποσοτικές διαιτητικές απαιτήσεις του αγγελόψαρου σε πρωτεΐνη κυμαίνονται από 26% έως 49% (Zuanon *et al.* 2009, Bahadir Koca *et al.* 2009, Mohanta *et al.* 2011), ενώ για την κιχλιδοζέμπρα δεν έχουν προσδιορισθεί ακόμη. Αντίθετα, οι επιστημονικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στηρίζονται κυρίως στην επίδραση της τροφής στην αναπαραγωγή του είδους (Townsheand & Wooton 1984) και στην επίδραση της

θερμοκρασίας στην επιθετικότητα και στη συμπεριφορά του ψαριού κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγής του (Rathasapathi *et al.* 1992).

Γ. Θρεπτικές απαιτήσεις σε λιπίδια και λιπαρά οξέα

Τα λιπίδια είναι πλούσιες πηγές ενέργειας ενώ τα λιπαρά οξέα είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη και την επιβίωση του οργανισμού (Tamaru *et al.* 1997, Sales & Janssens 2003, Yohana & Wilson 2011). Όταν μεταβολίζονται αποδίδουν στον οργανισμό μεγαλύτερα ποσά ενέργειας από τα υπόλοιπα βιομόρια (1g λίπους αποδίδει περίπου 9,45 kcal, 1g πρωτεΐνης αποδίδει 5,65 kcal και 1g υδατάνθρακα αποδίδει 4 kcal) (Παπουτσόγλου 2008, Καραπαναγιωτίδης 2011). Τα λιπίδια χρησιμεύουν, επίσης ως μεταφορείς λιποδιαλυτών βιταμινών και των χρωστικών ουσιών, ενώ προσδίδουν γεύση και οσμή στις ιχθυοτροφές (Tamaru *et al.* 1997).

Παρά τη σημαντική τους σημασία, ελάχιστες πληροφορίες είναι διαθέσιμες σχετικά με τις απαιτήσεις των διακοσμητικών ειδών σε λιπαρά οξέα, σε αντίθεση με τα εδωδιμα είδη όπου έχουν διερευνηθεί αρκετά (Sales & Janssens 2003). Οι απαιτήσεις των ψαριών σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα ποικίλλουν από είδος σε είδος, ενώ τα ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα παρόλο που είναι σημαντικά (Lovell 2000), οι ζωικοί οργανισμοί δεν είναι ικανοί να τα συνθέσουν ενδογενώς (Dabrowski & Portella 2006). Τα ω-3 και ω-6 θεωρούνται απαραίτητα λιπαρά οξέα επειδή δεν μπορούν να τα συνθέσουν τα ψάρια.

Οι απαιτήσεις των ψαριών του γλυκού νερού σε λινολεϊκό οξύ (18:2ω-6) και λινολενικό οξύ (18:3ω-3) είναι αυξημένες και κυμαίνονται από 0,5% έως 1,5%, σε αντίθεση με τα ψάρια του θαλασσινού νερού τα οποία έχουν αυξημένες ανάγκες σε εικοσαπενταενοϊκό οξύ (20:5ω-3) και δοκοσαεξαενοϊκό οξύ (22:6ω-3) (NCR 1993). Το ιχθυέλαιο αποτελεί την πλουσιότερη πηγή λιπαρών οξέων και περιέχει 30%

περισσότερα ω-3 λιπαρά οξέα και αποτελεί την κύρια πηγή λιπιδίων στα σιτηρέσια των ψαριών. Το ιχθυάλευρο είναι μια άλλη πηγή ω-3 λιπαρών οξέων. Η περιεκτικότητα σε λιπίδια ενός σιτηρεσίου που περιέχει ως κύρια πηγή το ιχθυάλευρο είναι 5-10%.

Οι διαιτητικές ανάγκες των ψαριών σε ολικά λιπίδια δεν είναι πλήρως καθορισμένες μιας και αυτές αναφέρονται κυρίως στις ανάγκες σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και όχι στο συνολικό λίπος. Ωστόσο ο βαθμός που είναι ικανά τα διάφορα είδη να μεταβολίζουν τα λιπίδια της τροφής εξαρτάται από το είδος του ψαριού. Για παράδειγμα οι Mohanta *et al.* (2011), αναφέρουν ότι το αγγελόψαρο μέσου βάρους 1,64 g έχει καλύτερη ανάπτυξη όταν η περιεκτικότητα του σιτηρεσίου σε λιπίδια είναι 6% σε σχέση με τα σιτηρέσια που περιείχαν λίπος 8% και 10%, αντίστοιχα. Επίσης, στο χρυσόψαρο η ανάπτυξη ελαττώνεται όταν το ποσοστό χορήγησης των λιπιδίων στην τροφή αυξάνεται από 4,5% σε 13,3% (Lochmann & Phillips 2006), ενώ στο είδος *Xiphophorus helleri* βελτιώνεται όταν η περιεκτικότητα της τροφής σε λίπος κυμαίνεται από 8% έως 16% (Ling *et al.* 2006). Οι απαιτήσεις σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα στο αγγελόψαρο και στην κιχλιδόζεμπρα δεν έχουν προσδιορισθεί ακόμη. Ωστόσο, μελέτες σε άλλα τροπικά είδη ψαριών του γλυκού νερού, όπως η τιλάπια δείχνουν ότι οι απαιτήσεις σε ω-6 λιπαρά οξέα είναι αυξημένες σε σχέση με πιο ψυχρόφιλα είδη του γλυκού νερού, όπως ο κυπρίνος και το χέλι, όπου οι απαιτήσεις συνίστανται σε συνδυασμό ω-3 και ω-6 λιπαρών οξέων (Craig & Helfrich 2009).

Εναλλακτικά σιτηρέσια, όπως το σκουλήκι *tubifex*, οι προνύμφες κουνουπιών, ο μυϊκός ιστός από συκώτι ή καρδιά βοδινού προσφέρονται συχνά σε ορισμένα διακοσμητικά ψάρια του γλυκού νερού, με στόχο τη βελτίωση της αναπαραγωγικής τους ωρίμανσης και ωοτοκίας (Tamaru *et al.* 1997) γιατί είναι πλούσια σε λιπίδια (8,96 και 8,27 mg/100 mg αντιστοίχως) και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (Chong *et al.* 2002).

Το λινολεϊκό οξύ (18:2-ω6) και το αραχιδονικό οξύ (20:4ω-6) παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατροφή των διακοσμητικών ψαριών γιατί εμπλέκονται στην φυσιολογία της αναπαραγωγής των ψαριών και είναι υπεύθυνα για την ωορρηξία (Tamaru *et al.* 1997). Η σύσταση των απαραίτητων λιπαρών οξέων σε σιτηρέσια που χρησιμοποιούνται εναλλακτικά στη διατροφή των ψαριών παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.2.

Πίνακας 1.2:Περιεκτικότητα εναλλακτικών τύπων σιτηρεσίων σε λιπαρά οξέα (mg/100 mg ξηρής ουσίας) που χρησιμοποιούνται στη διατροφή των διακοσμητικών ψαριών γλυκού νερού (Πηγή: Tamaru *et al.* 1997).

Λιπαρά οξέα	Ιστός καρδιάς βοοειδών*	Συκώτι (βοοειδών)	Σκουλήκι (tubifex)	Κόκκινο σκουλήκι	Daphnia moina	Σκουλήκι	Νύμφες κουνουπιών
18:2n-6	1,71	1,56	1,68	1,43	0,11	0,11	0,48
20:4n-6	0,51	0,22	0,90	0,64	0,16	0,22	0,33
18:3n-3	0,2	0,0	0,51	0,19	0,04	0,10	0,31
20:5n-3	0,11	0,0	0,61	0,33	0,07	0,09	0,23
22:6n-3	0,33	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ολικά ΠΛΟ**	4,86	0,0	6,22	4,68	4,22	0,81	8,27

Ιστός καρδιάς βοοειδών: περιέχει 0,33 22:6ω-3 mg/10mg ξηρής ουσίας, το οποίο είναι απαραίτητο και απουσιάζει από τα υπόλοιπα είδη τροφής.** ΠΛΟ=πολυακόρεστα λιπαρά οξέα

Δ. Θρεπτικές απαιτήσεις σε υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες αποτελούν τις φτηνότερες πηγές ενέργειας στη διατροφή των ψαριών και αποτελούν μέρος της σύστασης των σιτηρεσίων των ψαριών καθώς ενισχύουν τον καταβολισμό των πρωτεϊνών και των λιπών (Sales & Janssens 2003).

Η αναλογία και ο τύπος των υδατανθράκων που χρησιμοποιούνται στα σιτηρέσια των διακοσμητικών ψαριών επηρεάζει τη μεταβολική αξιοποίηση και τη διατήρηση της πρωτεΐνης στο μυϊκό ιστό αντί να καλύψει τις ενεργειακές τους δαπάνες (Velasco-Santamaria & Corredor-Santamaria 2011, Yousoufian *et al.* 2012). Τα σιτηρέσια που χρησιμοποιούνται στην εκτροφή διαφόρων ειδών ψαριών περιέχουν χαμηλά ποσοστά υδατανθράκων και εξαρτώνται από το είδος του ψαριού (Krogdahl *et*

al.2004). Τα θερμόφιλα ψάρια είναι ικανά να μεταβολίζουν υψηλότερα ποσοστά δειττητικών υδατανθράκων απ' ότi τα ψυχρόφιλα ψάρια (Wilson 1994). Η πεπτικότητα των υδατανθράκων και το είδος του ψαριού είναι από τους σημαντικούς παράγοντες που καθορίζουν τη μεταβολική αξιοποίηση σε υδατάνθρακες. Συγκεκριμένα, τα φυτοφάγα ψάρια, όπως το χρυσόψαρο (*Carassius auratus*) και το κοί carp (*Cyprinus carpio*) χρησιμοποιούν τη μικροχλωρίδα του εντέρου τους για να πέψουν τους πολύπλοκους υδατάνθρακες σε σχέση με τα σαρκοφάγα ψάρια. Η πεπτικότητα των υδατανθράκων κυμαίνεται από 70% για το χρυσόψαρο (*Carassius auratus*) έως 50% για το γκουράμι (*Trichogaster microlepis*) (Pannevis 1993, Ealre 1995). Σε ορισμένα σαρκοφάγα ψάρια η αυξημένη ποσότητα του άμυλου (> 10%) μειώνει την αξιοποίηση της τροφής με αποτέλεσμα το ψάρι να ελέγχει αποτελεσματικά τη συγκέντρωση της γλυκόζης (Velasco-Santamaria & Corredor-Santamaria 2011).

Ε. Θρεπτικές απαιτήσεις σε βιταμίνες και ανόργανα στοιχεία

Οι απαιτήσεις σε βιταμίνες και τα ανόργανα στοιχεία είναι ποσοτικά αρκετά μικρότερες από εκείνες των μακροθρεπτικών συστατικών και χρησιμοποιούνται από τα ψάρια για την επιτέλεση μιας πληθώρας λειτουργιών του οργανισμού τους. Οι βιταμίνες είναι οργανικές χημικές ενώσεις οι οποίες είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη, την αναπαραγωγή και το μεταβολισμό των ψαριών. Δρουν ως συνένζυμα, έχουν ορμονική δράση και παρέχουν προστασία στις κυτταρικές μεμβράνες (Sales & Janssens 2003, Velasco-Santamaria & Corredor-Santamaria 2011, Yousefian *et al.* 2012). Τα περισσότερα είδη ψαριών απαιτούν συμπληρώματα βιταμινών στα σιτηρέσια οι οποίες τα οποία ποικίλλουν ανάλογα με το είδος, το μέγεθος του ψαριού, το ρυθμό παροχής της τροφής, τους περιβαλλοντικούς παράγοντες, τις συσχετίσεις των θρεπτικών συστατικών και την κατάσταση της υγείας (Lovell 2000). Οι Βιταμίνες Ε και

C είναι αντιοξειδωτικές λόγω της ικανότητας που έχουν να μειώνουν το στρες στα ψάρια (Ortuno *et al.* 2003).

Η βιταμίνη C, δεν συντίθεται από όλα τα είδη ψαριών ενώ χρησιμοποιείται στη σύνθεση του κολλαγόνου, στην προστασία των κυτταρικών μεμβρανών και στην απορρόφηση μετάλλων. Η συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος επηρεάζει τη δραστηριότητα της οξειδάσης που εμπλέκεται στο μεταβολισμό των ξενοβιοτικών (Halver 1995). Η προσθήκη ασκορβικού οξέος στα σιτηρέσια συμπληρώνει τη συγκέντρωση της βιταμίνης C. Οι Fracalossi *et al.* (1998) αναφέρουν ότι το ασκορβικό οξύ είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη του *Astronomus ocelatus*. Το αγγελόψαρο αναπτύσσεται φυσιολογικά, χωρίς να παρατηρούνται μακροσκοπικές αλλοιώσεις και θνησιμότητα, όταν σιτίζεται με σιτηρέσια που περιέχουν 30 έως 1440 mg ασκορβικού οξέος/kg τροφής για χρονικό διάστημα 96 ημερών (Blom & Dabrowski 2000).

Στο αγγελόψαρο, τα υψηλά επίπεδα ασκορβικού οξέος (>360 mg/kg τροφής) αυξάνουν τη συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος στο συκώτι, σε αντίθεση με τα σιτηρέσια που περιέχουν λιγότερο από 120 mg/kg τροφής ασκορβικού οξέος (Blom & Dabrowski 2000). Για να διατηρηθούν τα επίπεδα αποθήκευσης της βιταμίνης C στο συκώτι απαιτούνται υψηλότερα επίπεδα ασκορβικού οξέος σε σχέση με το *Astronomus ocelatus* που απαιτεί 25 mg/kg τροφής, το *Cichlasoma urophthalmus* που απαιτεί 40 mg/kg τροφής και την τιλάπια (*Oreochromis aureus*) που απαιτεί 50 mg/kg τροφής (Πιν.1.3).

Σε ότι αφορά τις θρεπτικές απαιτήσεις σε ανόργανα στοιχεία τα διακοσμητικά ψάρια απορροφούν μερικά υδροδιαλυτά μέταλλα από το νερό (Sales & Janssens 2003). Στο είδος *Poecillia reticulata* (guppy), η καλύτερη ανάπτυξη επιτυγχάνεται όταν σιτίζεται με σιτηρέσια που περιέχουν μαγνήσιο 0,54 g/kg τροφής (Shim & Ng 1988).

Το ασβέστιο, ο φώσφορος, ο χαλκός, το ιώδιο, ο σίδηρος, το μαγνήσιο, το μαγγάνιο, το σελήνιο και ο ψευδάργυρος είναι σημαντικά ανόργανα στοιχεία τα οποία θα πρέπει να περιέχονται στο σιτηρέσιο των διακοσμητικών ψαριών (Πιν. 1.3) (Lovell 2000).

Ο φώσφορος αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά ανόργανα στοιχεία (Πιν. 1.4) επειδή παίζει ρόλο στην ανάπτυξη, στο σχηματισμό των οστών, στο μεταβολισμό των λιπιδίων και των υδατανθράκων και είναι αναγκαίος στη διατροφή εξαιτίας της χαμηλής περιεκτικότητάς του στο νερό (Hua & Bureau 2010).

Πίνακας 1.3: Απαιτήσεις σε βιταμίνη Α και C τεσσάρων διακοσμητικών ψαριών (Πηγή: Velasco-Santamaria & Corredor-Santamaria 2011).

Είδος	Ιχνοστοιχεία	Αρχικό Βάρος (g)	Απαιτήσεις (%)	Αναφορές
<i>Barbus tetrazona</i>	Φώσφορος	0,33	0,52	Elangovan & Shim (1998)
<i>P. reticulata</i>	Φώσφορος	0,24	0,53-1,23	Shim & Ho (1989)
<i>P. reticulata</i>	Σίδηρος	4 εβδομάδες	0,008	Shim & Ong (1992)
<i>P. reticulata</i>	Μαγνήσιο	0,17	0,054	Shim & Ng (1988)
<i>P. reticulata</i>	Ψευδάργυρος	0,25	0,01	Shim & Lee (1993)
<i>Cichlasoma urophthalmus</i>	Φώσφορος	0,40-0,42	1,5 g/kg	Chavez-Sanchez <i>et al.</i> 2000

Πίνακας 1.4: Απαιτήσεις σε ιχνοστοιχεία τριών διακοσμητικών ψαριών

Είδος	Αρχικό βάρος (g)	Βιταμίνη C (mg/kg)	Βιταμίνη A (IU/kg)	Αναφορά
<i>Cichlasoma urophthalmus</i>	0,16 – 0,17 mg	40 (ανάπτυξη) 110 (υγεία)	-	Chávez de Martínez (1990)
<i>Astronotus ocellatus</i>	29,1 ± 1,9	25	-	Fracalossi <i>et al.</i> (2002)
<i>Poecilia reticulata</i>	-	-	2000 - 4000	Shim and Tan (1990)
<i>P. scalare</i>	1,12 ± 0,08	360	-	Blom & Dabrowski (2000)
<i>Cichlasoma urophthalmus</i>	Ασβέστιο	0,40-0,42	1,5 g/kg	Chavez-Sanchez <i>et al.</i> 2000

1.5. Δομή κοινοτήτων βακτηριοπλαγκτού σε ενυδρεία εκτρεφόμενων διακοσμητικών ψαριών με το είδος *P. scalare* και το *A. nigrofasciatus*

Η βιογεωγραφία δηλαδή η χωρική και χρονική διασπορά της ποικιλότητας των οργανισμών, θεωρείται ένα από τα πρώτα και πιο σημαντικά βήματα για την κατανόηση της κατανομής της έμβιας ύλης στον πλανήτη. Πιο συγκεκριμένα, η γνώση της κατανομής των πολλαπλών ειδών στο χρόνο και στο χώρο, σε ένα κοινό φυσικό περιβάλλον, είναι πολύτιμη για να κατανοηθεί ο τρόπος με τον οποίο λειτουργεί ένα οικοσύστημα (Konopka 2009). Για παράδειγμα, η σταθερή δομή μιας μικροβιακής κοινότητας θεωρείται ότι είναι ένας κρίσιμος παράγοντας για την ανθεκτικότητα των οικοσυστημάτων μετά από διαταραχές καθώς και στη λειτουργία των βιογεωχημικών κύκλων στοιχείων και υλικών (Torsvik & Øvreås 2002, Ramond *et al.* 2012).

Είναι γνωστό ότι υπό σταθερές συνθήκες ορισμένοι βακτηριακοί φυλότυποι αναμένεται να κυριαρχήσουν και/ή να προκύψουν λίγες αλλαγές στη δομή της κοινότητας μέχρι να σημειωθούν κάποιες περιβαλλοντικές διαταραχές (Øvreås & Curtis 2011). Υπάρχουν εκτενείς μελέτες στη δομή της κοινότητας του βακτηριοπλαγκτού σε φυσικό περιβάλλον θαλάσσιου και γλυκού νερού (Bomberg *et al.* 2008, Kirchman 2008, Barberan & Casamayor 2010, Newton *et al.* 2011) και τη χρήση τεχνητών ελεγχόμενων συστημάτων για τη μελέτη της δυναμικής της μικροβιακής κοινότητας (Massana *et al.* 2001). Ωστόσο, τα ενυδρεία ψαριών που χρησιμοποιούνται για την εκτροφή τους δεν έχουν μελετηθεί όσον αφορά στη δυναμική του βακτηριοπλαγκτού τους.

Ελάχιστα είναι γνωστά για τον προσδιορισμό της δομής και τη δυναμική των κοινοτήτων του βακτηριοπλαγκτού στα ενυδρεία διακοσμητικών ψαριών. Οι

περισσότερες από τις μελέτες που έχουν διεξαχθεί έχουν επικεντρωθεί είτε στην απομόνωση των βακτηρίων από τους ιστούς των ψαριών (Beran *et al.* 2006) είτε στα βιολογικά φίλτρα των ενυδρείων (Hovanec & DeLong 1996, Burrell *et al.* 2001, Grommen *et al.* 2005, Sugita *et al.* 2005, Sauder *et al.* 2011). Ωστόσο, αυτά τα συστήματα φιλοξενούν ενδιαφέρουσες βακτηριακές κοινότητες που μπορεί να περιέχουν μικροοργανισμούς ανθεκτικούς στα αντιβιοτικά, ως αποτέλεσμα της διαδικασίας επεξεργασίας του νερού κατά την εμπορική μεταφορά των ψαριών (Trust & Whitby 1976). Αναφορικά με τα δύο είδη που εξετάστηκαν, δηλαδή το *Pterophyllum scalare* και το *Archocentrus nigrofasciatus*, είναι γνωστό ότι το *P. scalare* είναι ευαίσθητο στη μυκοβακτηρίωση (Lescenko *et al.* 2003), αν και τα μυκοβακτήρια βρίσκονται και σε υγιή ψάρια (Beran *et al.* 2006).

1.6. Σκοπός της Διδακτορικής διατριβής

Οι γνώσεις που αφορούν την αναπαραγωγή και τη διατροφή των ψαριών ανά είδος κατά την ελεγχόμενη εκτροφή τους, καθώς και την ποιότητα του νερού εκτροφής, αποτελούν σημαντικούς παράγοντες για την επίτευξη του υψηλού ρυθμού ανάπτυξης τους και για την ευζωία τους. Σκοπός της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής ήταν:

α) να περιγράψει την οντογένεση της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου κατά τα πρώτα αναπτυξιακά στάδια (εμβρυικό και λεκιθοφόρο νυμφικό).

Ειδικότερα στόχευε:

- 1) στη μορφολογική ταυτοποίηση των υπό μελέτη ειδών η οποία μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο στην επιλογή κατάλληλων διαχειριστικών χειρισμών για τη συστηματική εκτροφή τους.

2) να μελετήσει την εμβρυακή ανάπτυξη και μεταλεκιθοφόρα νυμφική ανάπτυξη, από τη γονιμοποίηση έως την εκκόλαψη και μέχρι την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου για την μεν κιχλιδόζεμπρα στους 23 °C (έως η ελάχιστη θερμοκρασία αναπαραγωγής) και 27 °C (έως η ακραία τιμή του βέλτιστου θερμοκρασιακού εύρους ανάπτυξης και αναπαραγωγής) και για το αγγελόψαρο στους 29 °C (η ακραία τιμή του βέλτιστου θερμοκρασιακού εύρους ανάπτυξης και αναπαραγωγής). Επιπλέον να μελετήσει για το αγγελόψαρο σε δυο διαφορετικά pH (όξινο το οποίο είναι το βέλτιστο για την αναπαραγωγή του και το κατώτερο αλκαλικό που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αναπαραγωγή του.

β) να μελετήσει τη επίδραση του σιτηρεσίου στην ανάπτυξη και επιβίωση του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας. Ειδικότερα στόχευε:

- 1) στην έρευνα της επίδρασης της διατροφής χρησιμοποιώντας διαφορετικά πειραματικά σιτηρέσια και της ασιτίας στην ανάπτυξη και επιβίωση του νεαρού και αναπτυσσόμενου αγγελόψαρου *P. scalare* και της κιχλιδόζεμπρας *A. nigrofasciatus*,
- 2) στον προσδιορισμό της θερμοκρασίας {25 °C (ελάχιστο θερμοκρασιακό όριο) ή 29 °C (ανώτερο θερμοκρασιακό βέλτιστο όριο) για το αγγελόψαρο και 20 °C (ελάχιστο θερμοκρασιακό όριο) ή 27 °C (ανώτερο θερμοκρασιακό βέλτιστο όριο) για την κιχλιδόζεμπρα} στην οποία ο ρυθμός ανάπτυξης και η μετατρεψιμότητα της τροφής είναι σε μέγιστο βαθμό κατάλληλος/κατάλληλη για την εκτροφή τους σε ενυδρεία,
- 3) στον υπολογισμό του ρυθμού κατανάλωσης των διαφορετικών σιτηρεσίων για το αγγελόψαρο και την κιχλιδόζεμπρα και

4) στη συσχέτιση του προφίλ των αμινοξέων του λευκού μυός του αγγελόψαρου και της κιχλιδοζέμπρας με το προφίλ των αμινοξέων των πειραματικών σιτηρεσίων που χρησιμοποιήθηκαν και να ερευνήσει τον τρόπο με τον οποίο η αναλογία των αμινοξέων στη δίαιτα επηρεάζει την τροφοληψία και την ανάπτυξή τους.

γ) να ερευνήσει την δομή κοινοτήτων και τυχόν αλλαγές στη σύνθεση των ειδών του βακτηριοπλαγκτού σε ενυδρεία στα δύο υπό μελέτη είδη εκτρεφόμενων διακοσμητικών ψαριών του γλυκού νερού.

Τα αποτελέσματα που θα εξαχθούν από τα παραπάνω πειράματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν:

- 1) Στην ευρύτερη κατανόηση της εμβρυολογίας των τροπικών ψαριών και στη δημιουργία ενός πρότυπου μοντέλου σύγκρισης των διαφόρων ειδών ψαριών στα οποία μεταβάλλεται η πορεία της φυσιολογικής τους εξέλιξης.
- 2) Σε μελέτες φυλογενετικών σχέσεων και συστηματικής.
- 3) Στην κατάρτιση νέων σιτηρεσίων υψηλής διαιτητικής αξίας που αφορούν τα δύο υπό μελέτη εκτρεφόμενα διακοσμητικά είδη.
- 4) Στη γνώση της σχέσης σιτηρεσίου και φυσιολογίας θρέψης των δύο εκτρεφόμενων ειδών για κατάρτιση και σύνθεση σιτηρεσίων, βασιζόμενα στη φυσιολογική διατροφική προσαρμογή.
- 5) Στη γνώση της βακτηριακής ποικιλομορφίας των ενυδρείων, όπου εκτρέφονται τα δύο διακοσμητικά είδη, για βελτίωση των συνθηκών διαβίωσής τους .
- 6) Στην υιοθέτηση βελτίωσης πρακτικών αναπαραγωγής, διατροφής και εκτροφή των ειδών αυτών σε ελεγχόμενες συνθήκες.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΡΕΥΝΑΣ

Τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν αφορούσαν τη μελέτη των σταδίων της πρώιμης ανάπτυξης και των διατροφικών απαιτήσεων του αγγελόψαρου (*P. scalare*) και της κιχλιδόζεμπρας (*A. nigrofasciatus*). Επίσης μελετήθηκε η δομή του βακτηριοπλαγκτού σε ενυδρεία εκτρεφόμενων διακοσμητικών ψαριών που ερευνήθηκαν. Τα πειράματα διεξήχθησαν στο Μεσολόγγι στην εργαστηριακή μονάδα των ενυδρείων του Τμήματος Τεχνολογίας Αλιείας-Υδατοκαλλιεργειών του Τ.Ε.Ι. Δυτικής Ελλάδας και στα εργαστήρια του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

2.1. Πειραματικός σχεδιασμός αναπαραγωγικής διαδικασίας του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας

Για τη μελέτη των σταδίων της πρώιμης ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου από την ενεργοποίηση έως και την εκκόλαψη, πραγματοποιήθηκαν δυο πειράματα κάτω από κανονικές συνθήκες:

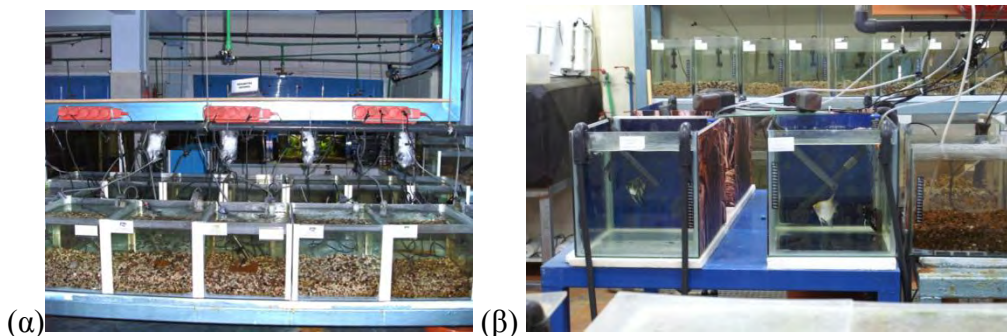
1. Το πρώτο πείραμα αφορούσε τη μελέτη της οντογένεσης στο εμβρυικό στάδιο στην κιχλιδόζεμπρα και στο αγγελόψαρο στους 27 °C και 29 °C, αντίστοιχα. Οι θερμοκρασίες αυτές επιλέχθηκαν ως οι δυο ακραίες τιμές του βέλτιστου θερμοκρασιακού εύρους του φυσικού περιβάλλοντος των δυο ειδών σύμφωνα με τους Perez *et al.* (2003) και Barley & Coleman (2010).
2. Το δεύτερο πείραμα αφορούσε την επίδραση της θερμοκρασίας [23 °C (ως η ελάχιστη θερμοκρασία για την αναπαραγωγή) και 27 °C ως η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης και αναπαραγωγής] στο λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο

ανάπτυξης για την κιχλιδόζεμπρα και την επίδραση του pH (6,2 και 7,4, ως οι δυο ακραίες τιμές του βέλτιστου εύρους τιμών σύμφωνα με τους *kassiri et al.*(2011c) στο λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης για το αγγελόψαρο διατηρώντας σταθερή τη θερμοκρασία στους 29 °C.

Η χρονική περίοδος που διεξήχθησαν τα πειράματα καθορίστηκε από την περίοδο ωτοκίας, αφού τα αυγά που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονταν από γεννήτορες οι οποίοι διατηρούνταν σε συνθήκες αιχμαλωσίας σε υάλινα ενυδρεία.

2.1.1. Συνθήκες εκτροφής-αναπαραγωγής

Για τις ανάγκες των πειραμάτων, χρησιμοποιήθηκαν αυγά κιχλιδόζεμπρας και αγγελόψαρου, τα οποία προήλθαν από ώριμα θηλυκά άτομα που διατηρούνταν σε συνθήκες αιχμαλωσίας στο εργαστήριο και όπου αναπαράχθηκαν. Για την αναπαραγωγική διαδικασία της κιχλιδόζεμπρας χρησιμοποιήθηκαν 7 υάλινα ενυδρεία διαστάσεων 41 x 36 x 30,5 cm χωρητικότητας 45 L (Εικ.2.1α), ενώ αντίστοιχα για την αναπαραγωγή του αγγελόψαρου χρησιμοποιήθηκαν 5 υάλινα ενυδρεία διαστάσεων 51 x 36,5 x 35 cm χωρητικότητας 65 L (Εικ.2.1β).



Εικόνα 2.1: Πειραματικά ενυδρεία που χρησιμοποιήθηκαν για την αναπαραγωγή (α) της κιχλιδόζεμπρας και (β) του αγγελόψαρου (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

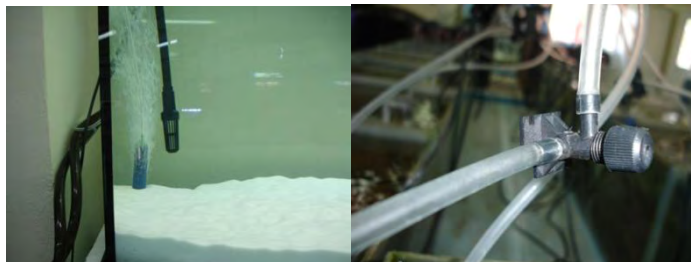
Ο πρωτεύων (αεροσωλήνες, θερμαντικά σώματα, πλακάκια βυθού) και ο δευτερεύων εξοπλισμός (πέτρες πορόλιθου, θερμόμετρα, λάστιχο αέρα) συμπεριλαμβανομένου και των ενυδρείων που χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία, απολυμάνθηκαν με πυκνό διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου (NaOCl). Καθ' όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής διαδικασίας κρίθηκε απαραίτητη η χορήγηση 0,25 mg/L όζοντος στο ενυδρείο το οποίο χρησιμοποιήθηκε για αποστείρωση του νερού.

Τα πειραματικά ενυδρεία τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την αναπαραγωγή της κιχλιδόζεμπρας χωρητικότητας 45 L, πληρώθηκαν με γλυκό νερό ολικής σκληρότητας 10 °dH (179 mg/L). Σε κάθε ενυδρείο τοποθετήθηκε ψευδοπυθμένας ο οποίος καλύφθηκε με 6,5 Kg πορώδους χαλαζιακού χαλικιού (λάβα) μέσου διαμετρήματος $0,92 \pm 0,28$ cm, προκειμένου να δημιουργηθεί ένα βιολογικό φίλτρο πυθμένα, βάθους 10 cm. Η επιφάνεια του κάθε φίλτρου υπολογίστηκε σε 1476 cm². Η ανακύκλωση του νερού ήταν συνεχόμενη διαμέσου μιας αεραντλίας με παροχή νερού 5118 ml/min, δημιουργώντας ταχύτητα φιλτραρίσματος 1,53 cm/min.

Στο αγγελόψαρο, η αναπαραγωγή, η εμβρυική και η λεκιθοφόρα νυμφική ανάπτυξη, πραγματοποιήθηκαν σε 5 διαφορετικά ενυδρεία διαστάσεων 51 x 36,5 x 35 cm, χωρίς εσωτερικό φίλτρο βυθού, τα οποία πληρώθηκαν με 65 L γλυκό νερό ολικής σκληρότητας 4 °dH (71,6 mg/L). Για να διασφαλισθεί η εύρυθμη λειτουργία του ενυδρείου και να αποφευχθούν προβλήματα διαταραχής της ποιότητας του νερού (αύξηση ολικής αμμωνίας και νιτρικών ιόντων) σε κάθε ενυδρείο τοποθετήθηκε εξωτερικό βιολογικό φίλτρο τύπου canister FLUVAL-206, με ρυθμό ανακύκλωσης 458 L/h ή 5 περάσματα ανά ώρα του συνολικού όγκου του ενυδρείου από το φίλτρο. Η θερμοκρασία του νερού για την αναπαραγωγή και την εμβρυική ανάπτυξη στην

κιχλιδόζεμπρα και στο αγγελόψαρο ήταν 27 °C και 29 °C, αντίστοιχα, ενώ η μελέτη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου για την κηχλιδόζεμπρα έγινε στους 23 °C και 27 °C. Η μελέτη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου στο αγγελόψαρο έγινε σε δυο διαφορετικά pH 6,2 και 7,4 διατηρώντας τη θερμοκρασία νερού σε σταθερά επίπεδα στους 29 °C. Η ρύθμιση της θερμοκρασίας στα επιθυμητά επίπεδα, έγινε με θερμαντικά σώματα (TH300-100W), τα οποία συνδέθηκαν με ρυθμιστή θερμοκρασίας (T-controller, T2001 HC AQUAMEDIC), έτσι ώστε η θερμοκρασία να διατηρείται σταθερή με απόκλιση $\pm 0,1$ °C.

Η παροχή του αέρα στα πειραματικά ενυδρεία γινόταν από το κεντρικό σύστημα παροχής του εργαστηρίου, ενώ χρησιμοποιήθηκαν πέτρες πορόλιθου ώστε να εξασφαλισθεί καλύτερη διάχυσή του στο νερό του ενυδρείου. Ο κορεσμός σε οξυγόνο διατηρήθηκε σε σταθερά επίπεδα και κυμαίνονταν μεταξύ 60 και 80% (Εικ.2.2).



Εικόνα 2.2: Πέτρα πορόλιθου στα ενυδρεία αναπαραγωγής (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

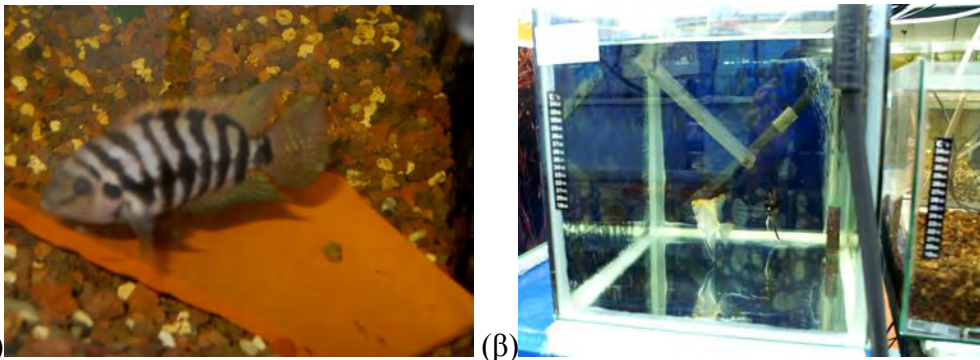
Τα ενυδρεία πριν την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας λειτούργησαν για 24 ώρες προκειμένου να εξατμιστεί κάθε ίχνος χλωρίου. Επίσης, στο φίλτρο κάθε ενυδρείου προστέθηκαν 2-3 κόκκοι χαλκικού από άλλο ενυδρείο που λειτουργούσε ικανοποιητικά, τα οποία χρησίμευσαν ως υλικό ανάπτυξης των νιτροποιητικών βακτηρίων. Σε κάθε ενυδρείο προστέθηκαν και διαλύθηκαν 0,2 g NH₄Cl το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως πηγή αμμωνίας στο φίλτρο και στη διαδικασία εκκίνησης λειτουργίας του φίλτρου (Vlahos *et al.* 2004). Η ολική αμμωνία (Total Ammonium

Nitrogen, T.A.N), τα νιτρώδη ιόντα (NO_2^- -N), τα νιτρικά ιόντα (NO_3^- -N), το pH και το διαλυμένο οξυγόνο μετρούνταν κάθε δυο ημέρες.

Στο φυσικό τους περιβάλλον, η κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο ζουν μεταξύ του τροπικού του Καρκίνου και του τροπικού του Αιγόκερου (τροπική ζώνη) με αποτέλεσμα να αναπαράγονται την περίοδο των έντονων βροχοπτώσεων (Prance 2001, Helfman *et al.* 2009). Με βάση το χαρακτηριστικό αυτό, στα ενυδρεία αναπαραγωγής συνίσταται να γίνονται ημερήσιες αλλαγές νερού που κυμαίνονται από 10% έως 15%. Επίσης στα ενυδρεία, η μείωση του stress στα ψάρια και η δημιουργία ενός περιβάλλοντος αναπαραγωγής όμοιου με το φυσικό, επιτυγχάνεται με προσθήκη χουμικών οξέων (tropol-JBL: τύρφη, δεψίνη, φλοιό από δρυ) και ιώδιο 1 έως 2 φορές την εβδομάδα σε αναλογία 10 ml για κάθε 40 L (Cacho *et al.* 2006, Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012)

Επιπρόσθετα, στα ενυδρεία αναπαραγωγής των μελετηθέντων ειδών από την 3η με 4η ημέρα, μετά τη γονιμοποίηση, προστίθονταν λίγες σταγόνες ιωδιούχου καλίου (KI) 5% (Hoff 1996). Ο φωτισμός στα πειραματικά ενυδρεία ήταν φυσικός με τη φωτοπερίοδο να ακολουθεί τη διάρκεια φωτός - σκότους της ημέρας και το pH στα ενυδρεία αναπαραγωγής της κιχλιδόζεμπρας να κυμαίνεται από 7,2 έως 7,8 σε αντίθεση με τα ενυδρεία αναπαραγωγής του αγγελόψαρου όπου το pH κυμαίνονταν από 6,2 έως 7,4. Η ολική αμμωνία (T.A.N.) και τα νιτρώδη ιόντα (NO_2^-) δεν υπερέβησαν τα 0,25 και 0,1 p.p.m, αντίστοιχα. Οι πειραματικές συνθήκες παρέμειναν σταθερές καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος και ήταν εντός των ορίων που θεωρούνται αποδεκτά για την αναπαραγωγή, ανάπτυξη και επιβίωση της κιχλιδοζέμπρας (Townhed & Wooton 1984, Meijide & Guerrero 2000, Dechaume-Moncharmont *et al.* 2013) και του αγγελόψαρου (Axelrod & Walker 2000, Perez *et al.* 2003, Nourouzitallab *et al.* 2009, Abdolbaghian *et*

al. 2010). Στα ενυδρεία αναπαραγωγής της κιχλιδόζεμπρας τοποθετήθηκε στο πυθμένα και πάνω απο το χαλίκι ένα κομμάτι κεραμικού υλικού διαστάσεων 12×7 cm (Εικ.2.3α) προκειμένου το ζευγάρι να ορίσει την περιοχή ωοτοκίας του και να εναποθέσει τα αυγά του στο υπόστρωμα (Bernstein 1980, Robert & Keenleyside 1990). Στα ενυδρεία αναπαραγωγής του αγγελόψαρου ως υπόστρωμα εναπόθεσης των αυγών τοποθετήθηκε πλαστικός σωλήνας πάχους 3-5 cm και ολικού μήκος 20 cm (Εικ.2.3β), ο οποίος προσαρμόστηκε κατάλληλα στο ενυδρείο (Axelrod & Sweeny 1992, Swann 1994, Cacho *et al.* 2006). Επίσης, για να μειωθεί η επιθετικότητα και το stress στα ζευγάρια της κιχλιδόζεμπρας, ανάμεσα στα ενυδρεία τοποθετήθηκαν χάρτινα χωρίσματα, ενώ στα ενυδρεία αναπαραγωγής του αγγελόψαρου κολλήθηκαν ειδικές πλαστικές επιφάνειες (Βλάχος 2010).



Εικόνα 2.3: Υπόστρωμα εναπόθεσης αυγών (α) κεραμικό υλικό για την κιχλιδόζεμπρα και (β) πλαστική γωνία τοποθετημένη σε γωνία 45° στο ενυδρείο για το αγγελόψαρο (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

2.1.2. Επιλογή γεννητόρων

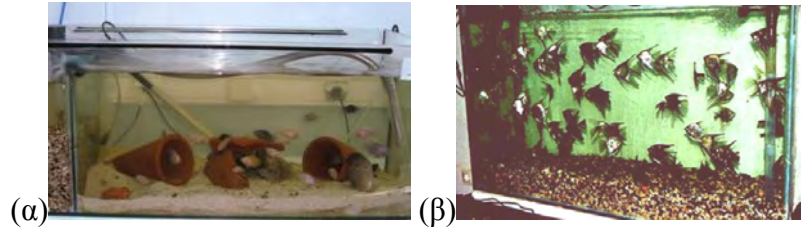
Οι γεννήτορες προήλθαν από απόθεμα ψαριών (Εικ.2.4) που διατηρούνταν σε συνθήκες αιχμαλωσίας σε ενυδρεία στο εργαστήριο και τρέφονταν με σύμπηκτα και νιφάδες σε συνδυασμό με νωπές ή κατεψυγμένες τροφές τρεις φορές ημερησίως. Η

θερμοκρασία του νερού διατηρήθηκε στους 27°C για την κιχλιδόζεμπρα και στους 29°C για το αγγελόψαρο, αντίστοιχα. Το περιβάλλον που ζει και αναπαράγεται το αγγελόψαρο χαρακτηρίζεται ως περιβάλλον με ιδιαίτερες απαιτήσεις και περιβαλλοντικές συνθήκες (οργανικό φορτίο, μαλακό και όξινο νερό, πλούσια χουμικά οξέα, φτωχό σε σίδηρο) (Πιν.2.1), σε αντίθεση με εκείνο της κιχλιδόζεμπρας που δεν είναι τόσο ιδιαίτερο (περισσότερο σκληρά νερά), (Rathasabarathi *et al.* 1992, Val & Almeida-Val 1995, Axelrod & Sweeney 1992). Συνεπώς, εφαρμόζοντας τις προϋποθέσεις εκτροφής των γεννητόρων, δημιουργείται ένα υγιές περιβάλλον, που έχει ως αποτέλεσμα μετά από 2 με 3 μήνες για την κιχλιδόζεμπρα και 8-10 μήνες για το αγγελόψαρο, οι γεννήτορες να ωριμάζουν γεννητικά και να επιλέγονται εκείνα τα άτομα που θα χρησιμοποιηθούν για την αναπαραγωγή. Στη συνέχεια τα άτομα που επιλέγονται απομονώνονται και τοποθετούνται στα ενυδρεία αναπαραγωγής σε αναλογία 1♂:1♀ (Axelrod & Sweeney 1992, Cacho *et al.* 2007, Vlachos *et al.* 2008).

Τα θηλυκά αγγελόψαρα κατά τη διαδικασία της προσέλκυσης (φλερτ), επιλέγουν εκείνο το αρσενικό το οποίο παρουσιάζει την ικανότητα να συνεισφέρει στην αύξηση του γόνου, αξιολογώντας τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά που παρουσιάζει το αρσενικό (Goodenough *et al.* 1993 από Cacho *et al.* 2006).

Πίνακας 2.1: Ποιοτικά χαρακτηριστικά νερού για τη διατήρηση των γεννητόρων της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου πριν την αναπαραγωγική διαδικασία.

Ποιότητα νερού	Κιχλιδόζεμπρα	Αγγελόψαρο
Ολική αμμωνία (T.AN: NH ₃ -N+ NH ₄ ⁺ -N), mg/L	0,0	0,0
Νιτρώδη ιόντα (NO ₂ ⁻ -N),mg/L	0,0	0,0
Νιτρικά ιόντα (NO ₃ ⁻ -N),mg/L	15-25	20-30
pH	6,0-8,0	6,2-6,5
Θερμοκρασία (T) °C	27	29-30
Ολική σκληρότητα νερού (GH),°dH	8-10	4-5
Ανθρακική σκληρότητα (KH),°dH	4-5	2-3



Εικόνα 2.4: Απόθεμα γεννητόρων (α) κιχλιδόζεμπρας και (β) αγγελόψαρου (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Η επιλογή του φύλου στα μελετηθέντα είδη έγινε με βάση τα φαινοτυπικά ή τα γενετικά τους χαρακτηριστικά (Keenleyside 1991, Vlachos *et al.* 2008, Βλάχος 2010).

A. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά (Εικ.2.5)

1. Έντονος χρωματισμός

- Έντονα λαμπερά χρώματα και στα δυο φύλα.
- έντονες γκριζόμαυρες κάθετες ραβδώσεις και στα δύο είδη ψαριού.
- εμφάνιση ερυθρών οφθαλμών (λιγότερο ερυθροί λαμπεροί οφθαλμοί στην κιχλοδόζεμπρα και περισσότερο έντονοι ερυθροί λαμπεροί οφθαλμοί στο αγγελόψαρο).
- στα θηλυκά άτομα η περιοχή της κοιλιάς χρωματίζεται με έντονο πορτοκαλί στην κιχλιδόζεμπρα και έντονα πορτοκαλί-κίτρινο στο αγγελόψαρο.

2. Σωματότυπος

- Τα αρσενικά άτομα είναι μεγαλύτερα σε μήκος (κιχλιδόζεμπρα: L=5-15 cm, W=10-20 g, αγγελόψαρο: L= > 10 cm και W=10-15 gr)
- Τα θηλυκά άτομα είναι μικρότερα σε μήκος (κιχλιδόζεμπρα: L=έως 5 cm, W=4-10 g, αγγελόψαρο: L= 7-10 cm και W= 10 gr).

3. Σαρκώδη χείλη

- Τα αρσενικά άτομα έχουν έντονα σαρκώδη χείλη

- Τα θηλυκά άτομα εμφανίζουν λιγότερο σαρκώδη χείλη

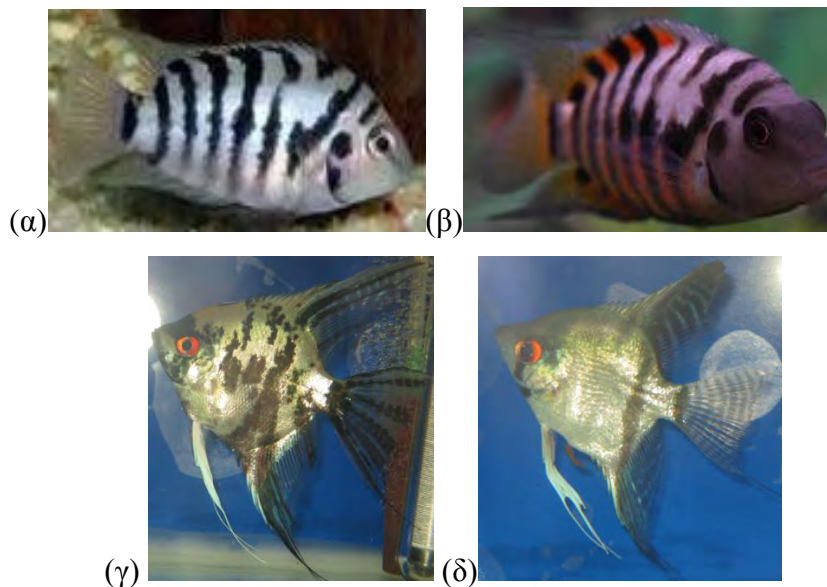
4. Διόγκωση κοιλιακής περιοχής

- Τα θηλυκά άτομα έχουν περισσότερο διογκωμένη κοιλιά σε σχέση με τα αρσενικά.

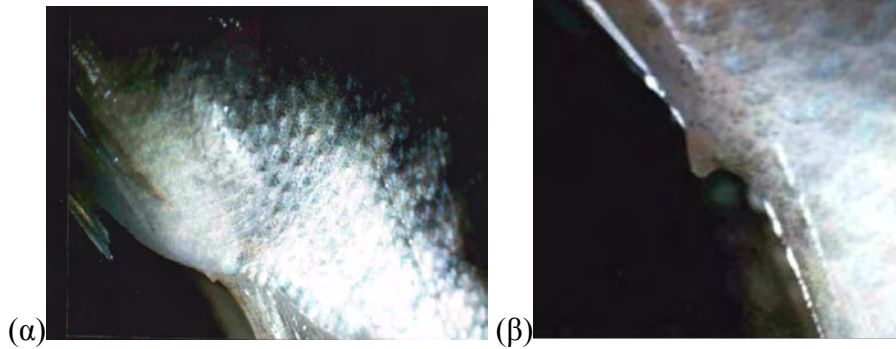
B. Γενετικά χαρακτηριστικά (Εικ.2.6)

1. Προεκβολή ουρογεννητικού πόρου στην περιοχή της έδρας

- Στα αρσενικά άτομα, η προεκβολή της έδρας έχει αιχμηρό κωνικό σχήμα και είναι ελάχιστα ορατή μακροσκοπικά.
- Στα θηλυκά άτομα η προεκβολή της έδρας έχει κύλινδρο-κωνικό σχήμα και είναι ορατή μακροσκοπικά. Η γωνία που δημιουργεί η προεκβολή της έδρας με την κοιλιακή περιοχή (180°) βοηθάει το θηλυκό ώστε κατά την εναπόθεση των αυγών να δημιουργεί ωθήσεις προκειμένου το αυγό να προσκολληθεί στο υπόστρωμα.



Εικόνα 2.5:Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου (α) αρσενικό άτομο κιχλιδόζεμπρας (β) θηλυκό άτομο κιχλιδόζεμπρας (γ) αρσενικό άτομο αγγελόψαρου (δ) θηλυκό άτομο αγγελόψαρου (Πηγή: προσωπικό αρχείο).



Εικόνα 2.6:Επιλογή φύλου στην κιχλιδόζεμπρα και στο αγγελόψαρο με βάση τον ουρογεννητικό πόρο (α) αρσενικό άτομο κιχλιδόζεμπρας (β) θηλυκό άτομο αγγελόψαρου (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Οι γεννήτορες που επιλέχθηκαν πριν τοποθετηθούν στα ενυδρεία αναπαραγωγής αναισθητοποιήθηκαν με Phenoxyethanol σε συγκέντρωση 0,25 ml/L, προκειμένου να μετρηθεί το μέσο βάρος και μήκος τους.

2.1.3. Διατροφή γεννητόρων

Η ποιότητα, η συχνότητα χορήγησης και ο τύπος της τροφής, παίζουν καθοριστικό ρόλο, τόσο στην αναπαραγωγική διαδικασία των γεννητόρων όσο και στην ποιότητα και βιωσιμότητα των αυγών (Rathasabapathi *et al.* 1992). Οι γεννήτορες της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου σιτίζονταν σε ημερήσια βάση από μείγμα ξηρών (σύμπηκτα-νιφάδες, cichlid mix food) και κατεψυγμένων τροφών (προνύμφες λευκών, κόκκινων και μαύρων κουνουπιών, μικροπλαγκτόν, κυκλωποειδή κωπήποδα και krill). Με το συγκεκριμένο πρόγραμμα διατροφής που εφαρμόστηκε επιδιώχθηκε στο μέγιστο η πλήρης κάλυψη των απαιτήσεων των γεννητόρων σε θρεπτικά συστατικά (ισορροπημένη διατροφή). Η σίτιση ελάμβανε χώρα 3 φορές ημερησίως κάθε τέσσερις ώρες σύμφωνα με τα πρωτόκολλα που έχουν περιγραφεί σε άλλες μελέτες με το είδος

(Vlachos *et al.* 2008, Nourouzitallab *et al.* 2009, Abdolbaghian *et al.* 2010). Η χορήγηση της τροφής γίνονταν με την εξής σειρά: ξηρή τροφή (1^ο γεύμα), κατεψυγμένη τροφή (2^ο γεύμα), ανάμειξη ξηρής και κατεψυγμένης τροφής (3^ο γεύμα). Με αυτό τον τρόπο γίνεται καλύτερη διαχείριση της τροφής από τους γεννήτορες με αποτέλεσμα να περιορίζονται οι απώλειές της και η πιθανή επιβάρυνση του ενυδρείου και να προκαλείται μεταβολή των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού (αύξηση αμμωνίας και νιτρωδών ιόντων). Για το λόγο αυτό, η συχνή παρατήρηση των γεννητόρων κατά τη διάρκεια της τροφοληψίας των γεννητόρων καθ' όλο το διάστημα της αναπαραγωγικής διαδικασίας, ήταν σχολαστική.

Ο αριθμός των γευμάτων, η ώρα τροφοληψίας και η ποσότητα της χορηγούμενης τροφής προσαρμόστηκαν στους ρυθμούς διατροφής της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου, οι οποίοι διαφοροποιούνται σε ημερήσια και ετήσια βάση ανάλογα με το είδος του εκτρεφόμενου ψαριού, την ηλικία, το μέγεθος και τις συνθήκες εκτροφής (Azzayadi *et al.* 1999). Το επίπεδο διατροφής ήταν 7% (Yanong 1996) του μέσου ζώντος βάρους ψαριού, ενώ σύμφωνα με τον Παπουτσόγλου (2008), μειώνεται με την αύξηση του μεγέθους του ψαριού και αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας του νερού υπό την προϋπόθεση ότι το σιτηρέσιο θα είναι ισορροπημένο.

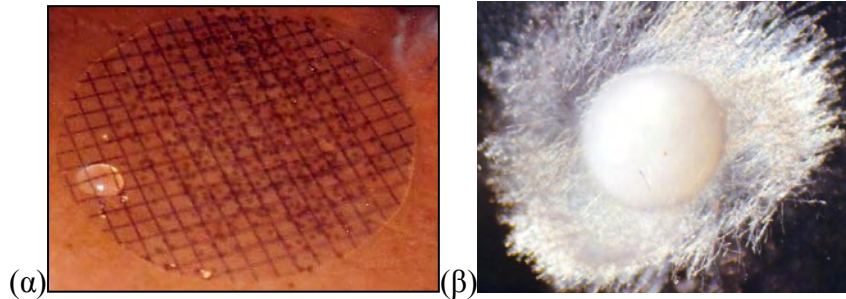
2.1.4. Αναπαραγωγή-Στάδια Οντογένεσης

Η ωοτοκία πραγματοποιήθηκε αυθόρμητα μετά από θερμικό σοκ (με απότομη πτώση της θερμοκρασίας κατά 3-4 °C) ενώ τα αυγά που χρησιμοποιήθηκαν, προήλθαν από μια ωοτοκία (αυγά της ίδιας ομάδας) σε θερμοκρασία 27 °C για την κιχλιδόζεμπρα (Piron 1978 από Mousavi-Sabet 2011, Zworykin *et al.* 2000) και 29 °C για το

αγγελόψαρο (Abdolbaghian *et al.* 2010). Ο φωτισμός στα ενυδρεία ήταν φυσικός με τη φωτοπερίοδο να ακολουθεί τη διάρκεια φωτός-σκότους της ημέρας στη διάρκεια του πειράματος (Μάϊο-Ιούλιο). Η εναπόθεση των αυγών στο υπόστρωμα και η γονιμοποίησή τους από τον αρσενικό γεννήτορα έλαβε χώρα τις πρώτες πρωινές ώρες και διήρκησε από 30 min έως 1h. Αρκετές ώρες πριν γίνει η εναπόθεση των αυγών στο υπόστρωμα οι γεννήτορες άρχισαν να κατασκευάζουν τη φωλιά τους. Για την καλύτερη διαχείριση της πειραματικής διαδικασίας (μέτρηση βάρους, αριθμός αυγών, αριθμός προνυμφών, φωτογράφιση σταδίων οντογένεσης) (Εικ.2.7.α) τοποθετήθηκε κεραμικό υπόστρωμα για την εναπόθεση των αυγών στην κιχλιδόζεμπρα (Robert *et al.* 1990) και πλαστικός σωλήνας στο αγγελόψαρο (Swann 1994, Axelrod & Sweeney 1992).

Ο ρυθμός εκκολαυσιμότητας και η επιβίωση επηρεάζονται από τη θερμοκρασία και τη γονική φροντίδα του κάθε είδους (Taborsky 1994). Η μελέτη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου στην κιχλιδόζεμπρα έγινε μετά από εγκλιματισμό και σταδιακή προσαρμογή των γεννητόρων και των προνυμφών στους $23\pm 0,1$ °C και $27\pm 0,1$ °C, αντίστοιχα. Για τη μελέτη της οντογένεσης και του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου στην κιχλιδόζεμπρα χρησιμοποιήθηκαν 600 αυγά και 600 προνύμφες.

Η μελέτη της οντογένεσης στο αγγελόψαρο έγινε σε θερμοκρασία $29\pm 0,1$ °C και του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου σε pH 6,2 και 7,4, αντίστοιχα. Για το αγγελόψαρο, χρησιμοποιήθηκαν 500 αυγά και 500 προνύμφες. Η μελέτη, των σταδίων οντογένεσης έγινε με τη μεταφορά των γονιμοποιημένων αυγών σε ενυδρεία με τις ίδιες συνθήκες χωρίς την παρουσία των γονέων, ενώ περιοδικά χορηγούνταν 0,25 mg/L όζον για απολύμανση των αυγών για την αντιμετώπιση μυκητιάσεων (Εικ.2.7β). Η εκκολαυσιμότητα και η αναπαραγωγική συμπεριφορά στην κιχλιδόζεμπρα και στο αγγελόψαρο μελετήθηκε με την παρουσία ή απουσία των γονέων στα ενυδρεία.



Εικόνα 2.7: Αναπαραγωγική διαδικασία (α) καταμέτρηση αυγών στη κιχλιδόζεμπρα (β) ανάπτυξη μύκητα σε αυγό αγγελόψαρου,(Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

2.1.5. Παραμετροποίηση των κρίσιμων περιόδων στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης

Η μελέτη της αναπαραγωγικής διαδικασίας, της οντογένεσης, του εμβρυικού σταδίου και του λεκιθοφόρου νυφικού σταδίου στην κιχλιδόζεμπρα και στο αγγελόψαρο εστιάστηκε κυρίως στα εξής:

1. Ποσοστά γονιμοποίησης και εκκόλαψης με παρουσία ή απουσία των γονέων στα ενδρεία και υπολογισμός της επιβίωσης κατά τη διάρκεια του λεκιθοφόρου νυφικού σταδίου
2. Μορφομετρικά χαρακτηριστικά του αυγού
3. Προσδιορισμός των αναπτυξιακών χρόνων
4. Εξέλιξη των αναπτυξιακών σταδίων (μορφολογική ανάπτυξη και εξέλιξη) σε δυο διαφορετικές θερμοκρασίες (23 °C και 27 °C) για την κιχλιδόζεμπρα και σε δυο διαφορετικές τιμές pH (6,2 και 7,4) για το αγγελόψαρο.

2.1.6. Ποσοστά γονιμοποίησης και εκκόλαψης-Επιβίωση

Τα ποσοστά γονιμοποίησης και εκκόλαψης των αυγών της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου υπολογίστηκαν με την εξής διαδικασία: Τα αυγά μετά την

γονιμοποίηση μεταφέρθηκαν σε δοχείο 10 L με νερό ολικής σκληρότητας 8-10°dH για την κιχλιδόζεμπρα και 2-4°dH για το αγγελόψαρο, αντίστοιχα και ελέγχθηκε ο αριθμός των αυγών που γονιμοποιήθηκε. Τα γονιμοποιημένα αυγά επιπλέουν στην επιφάνεια, ενώ τα μη γονιμοποιημένα καθιζάνουν στον πυθμένα. Τα ποσοστά εκκόλαψης υπολογίστηκαν από τον τύπο:

Εκκόλαψη (%)=(Τελικός αριθμός αυγών που εκκολάφθηκε/Αρχικός αριθμός αυγών που γονιμοποιήθηκε)*100

Το ποσοστό επιβίωσης για την κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο στο λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης υπολογίστηκε σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο (Bahadir *et al.* 2009).

Επιβίωση (%) = (Τελικός αριθμός ατόμων/Αρχικός αριθμός ατόμων)*100

2.1.7. Χαρακτηριστικά αυγού κιχλιδόζεμπρας και αγγελόψαρου

Σε ότι αφορά τα χαρακτηριστικά του αυγού μετρήθηκε το νωπό βάρος και η διάμετρος του αυγού εκφρασμένη σε mm κατά τον οριζόντιο και τον κατακόρυφο άξονα λόγω του ελλειπτικού σχήματος που παρουσιάζουν τα αυγά της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου (Meijide & Guerrero 2000, Yoshida *et al.* 1996). Τα αυγά των μελετηθέντων ειδών παρουσιάζουν πολυάριθμα μικρά σταγονίδια λιπιδίων τα οποία είναι διάσπαρτα σε όλο τον όγκο του αυγού (Meijide & Guerrero 2000, Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012), με αποτέλεσμα να είναι δύσκολη η μέτρηση της διαμέτρου της σταγόνας λιπιδίου και ο υπολογισμός του όγκου της. Η διάμετρος του αυγού μετρήθηκε με μικροσκόπιο (Leica ICCA), σε δείγμα 600 και 500 περίπου αυγών για την κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο, αντίστοιχα. Η μέτρηση της διαμέτρου και των μορφομετρικών χαρακτηριστικών των προνυμφών έγινε με τη χρήση του ψηφιακού

προγράμματος Image pro ver 1.45M. Ο προσδιορισμός του νωπού βάρους του αυγού των μελετηθέντων ειδών έγινε με τη ζυγό ακριβείας OHAUS GA 110, με απόκλιση $\pm 0,0001$ g.

2.1.8. Αναπτυξιακοί χρόνοι πρώιμων σταδίων

Οι χρόνοι που έλαβαν χώρα τα διάφορα αναπτυξιακά γεγονότα του εμβρυικού και του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου εκφράστηκαν τόσο ως απόλυτες τιμές (ώρες μετά τη γονιμοποίηση), όσο και ως σχετικές τιμές (Klimogianni *et al.* 2004) και προσδιορίστηκαν από τον τύπο:

$$RT_i = (t_i / T_{sd}) * 100$$

όπου:

RT_i = Σχετικός χρόνος του i αναπτυξιακού γεγονότος (απόλυτη τιμή)

t_i = Χρονικό διάστημα από το t μέχρι το i αναπτυξιακό γεγονός (ώρες)

T_{sd} = Συνολική διάρκεια του σταδίου (ώρες)

Ως σημείο έναρξης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου θεωρήθηκε ο χρόνος όπου το 50% των αυγών εκκολάφθηκε, ενώ το τέλος του σταδίου καθορίστηκε ως το χρονικό σημείο όπου τα λεκιθικά αποθέματα της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου εξαντλήθηκαν πλήρως (Kendall *et al.* 1984).

2.1.9.Εξέλιξη αναπτυξιακών σταδίων κιχλιδόζεμπρας και αγγελόψαρου

A. Εμβρυικό στάδιο ανάπτυξης

Η εξέλιξη του εμβρυικού σταδίου μελετήθηκε καθ' όλη τη διάρκεια του σταδίου σε θερμοκρασία 27°C για την κιχλιδόζεμπρα και 29°C για το αγγελόψαρο. Η παρατήρηση έγινε με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου (Leica ICCA), ενώ κάθε δείγμα φωτογραφήθηκε με ψηφιακή κάμερα (Leica DM 100). Με αφετηρία τη γονιμοποίηση, κάθε 30-35 min λαμβάνονταν δείγμα μέχρι την εκκόλαψη, ενώ ο προσδιορισμός των σταδίων (Εικ. 2.8), πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τους Jones (1972), Kendall *et al.* (1984), Keenleyside (1991), Kamler (1992), Diwan & Dhakad (1995), Meijide & Guerrero (2000) και Klimogianni *et al.* (2004).



Εικόνα 2.8: Σχηματική απεικόνιση των κρίσιμων σταδίων ανάπτυξης κατά την εμβρυογένεση των ιχθύων (Πηγή: Kendall *et al.* 1984, Klimogianni *et al.* 2004).

Β.Λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης

Για τη μελέτη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου στην κιχλιδόζεμπρα και στο αγγελόψαρο χρησιμοποιήθηκε οπτικό μικροσκόπιο (Leica ICCA), ενώ κάθε δείγμα φωτογραφήθηκε με ψηφιακή κάμερα (Leica DM 100), (Εικ.2.9). Με την ολοκλήρωση της εκκόλαψης, δείγμα 15 ατόμων λαμβάνονταν κάθε 4 ώρες μέχρι το τέλος του σταδίου και για τις δύο θερμοκρασίες. Ο όγκος του λεκιθικού σάκου υπολογίστηκε από τον παρακάτω τύπο (Keenleyside 1991, Kamler 1992) λόγω της ελλειψοειδούς μορφής που παρουσιάζει, ενώ ο όγκος της σταγόνας λιπιδίου δεν υπολογίστηκε εξαιτίας της μορφολογίας που παρουσιάζει ο λεκιθικός σάκος (αυξημένη παρουσία χρωστικών και μελανοφόρων κυττάρων):

$$Y_sV = (\pi/6) * Y_{sL} * Y_{sD}^2$$

Όπου:

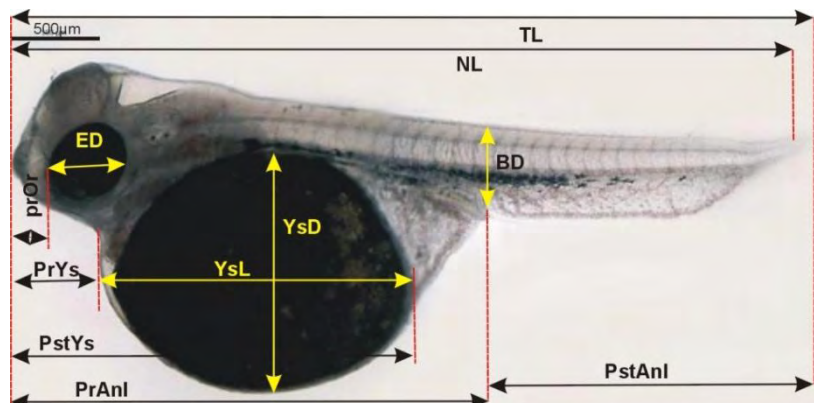
Y_{sL} = Το μήκος του λεκιθικού σάκου στη διεύθυνση του άξονα κεφάλι-ουρά του ατόμου

Y_{sD} = Το μέγιστο ύψος του λεκιθικού σάκου.



Εικόνα 2.9: Μικροσκόπιο και κάμερα φωτογράφισης (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Οι μορφομετρικοί παράμετροι που μετρήθηκαν κατά τη διάρκεια του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου με τη βοήθεια του προγράμματος Image pro ver 1.45M, παρουσιάζονται αντίστοιχα στην Εικόνα 2.10 και στον Πίνακα 2.2.



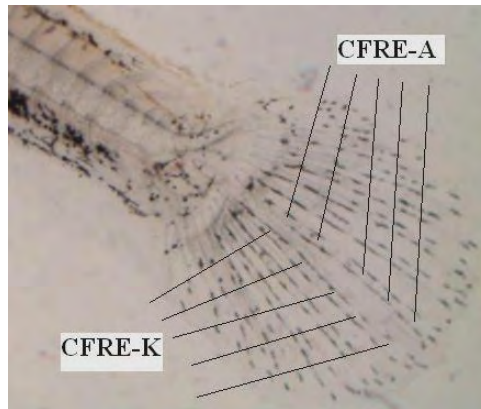
Εικόνα 2.10: Μορφομετρικοί παράμετροι που εξετάστηκαν κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο στο *A. nigrofasciatus* και στο *P. scalare* (Πηγή: Βλάχος και Συν. 2012).

Πίνακας 2.2: Μορφομετρικοί παράμετροι που μετρήθηκαν κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο.

Μορφομετρικοί παράμετροι (συντόμευση)	Περιγραφή
Ολικό Μήκος (TL)	Από το ρύγχος έως το τέλος του σώματος
Μήκος Νωτοχορδής (NL)	Από το ρύγχος έως το τέλος της νωτοχορδής
Ύψος σώματος (BD)	Από το κατώτερο άκρο του εντέρου ως το ανώτερο σημείο του κορμού του σώματος
Προεδρικό Μήκος (PrAnl)	Από το ρύγχος ως το σημείο τομής του εντέρου με την πρωτογενή πτερυγιοπτύχη
Μεταεδρικό Μήκος (PstAnl)	Από το σημείο τομής του εντέρου με την πρωτογενή πτερυγιοπτύχη ως το τέλος του σώματος
Πρόσθιο άκρο Λεκιθικού Σάκου (prYs)	Από το ρύγχος ως το πρόσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου
Οπίσθιο Άκρο Λεκιθικού Σάκου (pstYs)	Από το ρύγχος ως το οπίσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου
Μήκος Λεκιθικού Σάκου (YsL)	Από το πρόσθιο ως το οπίσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου
Ύψος Λεκιθικού Σάκου (YsD)	Το μέγιστο ύψος του λεκιθικού σάκου
Προκογχικό Μήκος (prOr)	Από το ρύγχος ως το πρόσθιο άκρο του οφθαλμού
Διάμετρος Οφθαλμού (ED)	Η διάμετρος του οφθαλμού

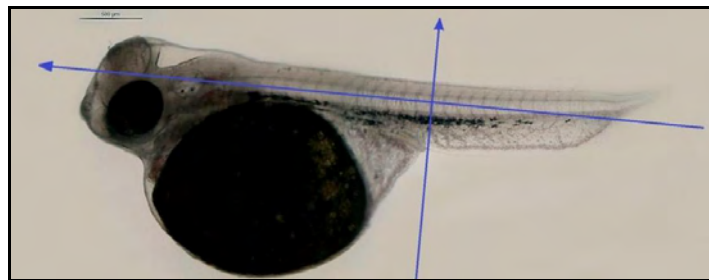
Ο αριθμός των πρωτογενών ακτίνων του εδρικού πτερυγίου (Caudal Fin Ray Elements , CFRE), προσδιορίζεται με τη βοήθεια του στερεοσκοπίου και είναι ένα από τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά της μορφολογικής ανάπτυξης κατά το νυμφικό στάδιο ανάπτυξης (Fujimura & Okada 2007). Το ουραίο πτερύγιο διαχωρίζεται σε δυο τμήματα (άνω και κάτω τμήμα). Ο αριθμός των πρωτογενών ακτίνων (CFRE) του άνω

και κάτω τμήματος του εδρικού πτερυγίου εκφράζει τον συνολικό αριθμό των πρωτογενών ακτίνων του εδρικού πτερυγίου (Εικ.2.11).



Εικόνα 2.11: Αριθμός πρωτογενών ακτίνων άνω και κάτω τμήματος του εδρικού πτερυγίου (CFRE Caudal Fin Ray Elements) όπως μετρήθηκαν στην κιχλιδόζεμπρα και στο αγγελόψαρο (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Η καταμέτρηση του μήκους έγινε σύμφωνα με το νοητό επιμήκη άξονα του σώματος, ενώ τα ύψη μετρήθηκαν κάθετα στον ίδιο άξονα (Εικ. 2.12).



Εικόνα 2.12: Απεικόνιση των κάθετων αξόνων μορφομετρίας με το πρόγραμμα Image pro ver 1.45M (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

2.1.10. Δειγματοληψίες

Η εξέλιξη του εμβρυικού σταδίου (ανάπτυξη αυγού) μελετήθηκε καθ' όλη τη διάρκεια του, στους 27 °C για την κιχλιδόζεμπρα και στους 29 °C για το αγγελόψαρο. Η δειγματοληψία ξεκίνησε αμέσως μετά τη γονιμοποίηση. Λαμβάνονταν δείγμα 10 αυγών για την κιχλιδόζεμπρα και 5-7 αυγών για το αγγελόψαρο, από κάθε ενυδρείο κάθε 30-35 min για διάστημα 72 ωρών (3 ημέρες).

Η μορφομετρική εξέλιξη (μορφομετρικοί παράμετροι) του λεικιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κιχλιδόζεμπρας μελετήθηκε σε 60 άτομα (30 από κάθε ενυδρείο) κάθε 4 ώρες για διάστημα 100 ωρών στους 23 °C και 27 °C, αντίστοιχα. Οι δειγματοληψίες συνεχίστηκαν έως το χρονικό σημείο που επήλθε πλήρης απορρόφηση του λεικιθικού σάκου και την πρόσληψη εξωγενούς τροφής από τα ιχθύδια.

Στο αγγελόψαρο, μελετήθηκαν οι μορφομετρικοί παράμετροι 50 ατόμων (25 από κάθε ενυδρείο) κάθε 4 ώρες σε δυο τιμές pH 6,2 και 7,4, για διάστημα 100 ωρών και συνεχίστηκαν μέχρι το χρονικό σημείο που επήλθε πλήρης απορρόφηση του λεικιθικού σάκου και την πρόσληψη εξωγενούς τροφής από τις νύμφες. Ο διαφορετικός αριθμός ατόμων που χρησιμοποιήθηκε στα παραπάνω πειράματα οφείλεται στο διαφορετικό αριθμό αυγών που παρήχθησαν από το κάθε είδος.

Επίσης, υπολογίστηκε η σχέση L/D ως δείκτης του σχήματος του λεικιθικού σάκου (όταν $L/D=1$ ο σάκος είναι σφαιρικός, $L/D < 1$ ο σάκος είναι ελλειψοειδής).

Όπου:

L = το μήκος του λεικιθικού σάκου στη διεύθυνση του άξονα κεγάλι-ουρά του ατόμου

D = το ύψος του λεικιθικού σάκου

Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με το λογισμικό Image pro ver 1.45M.

2.1.11. Διαχείριση πειραματικών ενυδρείων

Η διαχείριση των πειραματικών ενυδρείων περιλάμβανε μια σειρά από ενέργειες οι οποίες ελάμβαναν χώρα καθημερινά δύο έως επτά φορές την εβδομάδα, με στόχο την εύρυθμη λειτουργία τους (Βλάχος 2010). Αναλυτικότερα οι ενέργειες που συνθέτουν και περιγράφουν τη διαδικασία διαχείρισης των ενυδρείων παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.3.

Πίνακας 2.3:Εβδομαδιαίος προγραμματισμός διαχείρισης πειραματικών ενυδρείων.

Ενέργειες διαχείρισης πειραματικών ενυδρείων	Ημέρες						
	Δ	Τ	Τ	Π	Π	Σ	Κ
Έλεγχος παροχής νερού, παροχής αέρα	√	√	√	√	√	√	√
Καθαρισμός μηχανικών μερών φίλτρου, εσωτερικών επιφανειών με ειδικές βούρτσες και ζύστρες από μικροφύκη	√		√			√	
Αλλαγή νερού 5% -10%	√	√	√	√	√	√	√
Σιφωνισμός για απομάκρυνση περιττωμάτων στα πειραματικά ενυδρεία ανάπτυξης		√		√		√	
Σιφωνισμός για απομάκρυνση περιττωμάτων στα πειραματικά ενυδρεία κατανάλωσης της τροφής	√	√	√	√	√	√	√
Καθαρισμός αερόπετρων (πέτρες πορόλιθου) με εμβάπτιση σε διάλυμα οξικού οξέως για καλύτερη διάχυση του αέρα	√		√			√	
Παρατήρηση συμπεριφοράς ψαριών	√	√	√	√	√	√	√
Μετρήσεις φυσικοχημικών παραμέτρων νερού			√				√

2.1.12.Μετρήσεις φυσικοχημικών παραμέτρων

Η μέτρηση των φυσικοχημικών παραμέτρων [T° , O_2 , pH, T.A.N, νιτρώδη ιόντα (NO_2^- -N) και νιτρικά ιόντα (NO_3^- -N), γενική σκληρότητα (General Hardness, GH), ανθρακική σκληρότητα (Karbohydrate Hardness, KH)], γίνονταν δυο φορές εβδομαδιαία προκειμένου να ελέγχεται το περιβάλλον του ενυδρείου ώστε να μην δυσχεραίνεται ή να αναστέλλεται η αναπαραγωγική διαδικασία των ψαριών. Η μέτρηση του pH και του οξυγόνου έγινε με ειδική ηλεκτρονική συσκευή (HACH HQ 40d multi),

ενώ η ολική αμμωνία, τα νιτρώδη ιόντα και τα νιτρικά ιόντα μετρήθηκαν με φασματοφωτόμετρο (HACH 3800). Για την αμμωνία χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Nessler ενώ για τα νιτρώδη και νιτρικά ιόντα η μέθοδο των powder pillows (Sharma 2005).

2.1.13. Αρχές λειτουργίας βιολογικού φίλτρου ενυδρείου

Η λειτουργία του βιολογικού φίλτρου στα ενυδρεία στηρίζεται στον υπολογισμό των παρακάτω παραμέτρων:

A. Την συγκέντρωση της μη-ιονισμένης αμμωνίας που υπολογίστηκε από την σχέση (Χώτος 2007):

$$(\text{NH}_3\text{-N}) = a \times \text{T.A.N}$$

όπου:

$(\text{NH}_3\text{-N})$ = Συγκέντρωση της μη ιονισμένης αμμωνίας.

a =Ποσοστό διάσπασης της μη ιονισμένης αμμωνίας (από πίνακες), ο οποίος εξαρτάται από το pH και τη θερμοκρασία.

T.A.N.= Συγκέντρωση της συνολικής αμμωνίας.

B.Την ταχύτητα φιλτραρίσματος ($V_{\text{φιλ}}$) που υπολογίστηκε από τον τύπο (Spotte 1991):

$$V_{\text{φιλτρ}} = Q / S \text{ (cm/ min)}$$

Όπου:

Q = Παροχή νερού (cm^3/min)

S = Επιφάνεια φίλτρου (cm^2)

Γ. Την παροχή του νερού διαμέσου του φίλτρου πυθμένα, η οποία προσδιορίστηκε μετρώντας την εκροή του από τον αεροσωλήνα του φίλτρου, όπου το νερό μεταφέρεται από το κάτω μέρος του φίλτρου στην επιφάνεια του ενυδρείου, σε

συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Λήφθηκαν δειγματοληψίες σε χρόνο 10 sec και μετρήθηκε ο όγκος του νερού που εκτοπίστηκε από τον αεροσωλήνα (Spotte 1991). Για τη μέτρηση της παροχής χρησιμοποιήθηκαν ογκομετρική φιάλη και χρονόμετρο.

Η επιφάνεια του φίλτρου ($S_{\text{φιλτρ}}, \text{cm}^2$) διατηρήθηκε σταθερή σε όλα τα πειραματικά ενυδρεία και υπολογίστηκε από τον τύπο (Spotte 1991):

$$S_{\text{φιλτρ}} (\text{cm}^2) = \text{Μήκος}_{\text{φιλτρ}} \times \text{Πλάτος}_{\text{φιλτρ}}$$

Δ.Τον υπολογισμό του ενεργού βάθους του βιολογικού φίλτρου και την ικανότητα φόρτισης του ενυδρείου.

Το ενεργό βάθος του βιολογικού φίλτρου ενυδρείου είναι το βάθος εκείνο σύμφωνα με το οποίο, το ήμισυ της ποσότητας της αμμωνίας που παράγεται, κυρίως από το μεταβολισμό της τροφής, οξειδώνεται σε μη τοξικά νιτρικά ιόντα με μια ανακύκλωση όλου του όγκου νερού μέσω του φίλτρου πυθμένα. Ενώ η ικανότητα φόρτισης του ενυδρείου καθορίζεται από τη βιομάζα των ψαριών (ζωικό φορτίο) που κάποιο υδάτινο σύστημα (ενυδρείο) μπορεί να διατηρήσει με ασφάλεια. Με άλλα λόγια η ικανότητα του συστήματος να απαλλάσσεται από τους ρυπαντές με τους οποίους συνεχώς φορτίζεται, λόγω του μεταβολισμού των ψαριών του (Spotte 1991). Οι παράγοντες που λαμβάνονται υπόψη για τον προσδιορισμό της είναι:

1. Η συγκέντρωση του αζώτου που παράγεται στο σύστημα.
2. Ο ρυθμός απέκκρισης του αζώτου από τα ζώα.
3. Ο ρυθμός μετατροπής του αζώτου από τα βακτήρια του βιολογικού φίλτρου.
4. Το μέγεθος των κόκκων του βιολογικού φίλτρου.
5. Το μέγεθος του φίλτρου.
6. Ο ρυθμός ροής του νερού.

7. Η επίδραση των φυσικοχημικών παραμέτρων (θερμοκρασία, pH, διαλυμένο οξυγόνο, αλατότητα).

Για τον υπολογισμό της ικανότητας φόρτισης χρησιμοποιήθηκε το μαθηματικό πρότυπο του Hirayama που περιγράφεται από τον τύπο:

$$\sum_{i=1}^p \frac{10 * W_i}{0,7 \frac{v_i}{v_i} + \frac{950}{G_i * D_i}} \geq \sum_{i=1}^q (B_j^{0,544} * 0,01) + 0,051 * F$$

Το αριστερό σκέλος της σχέσης, αντιπροσωπεύει την ικανότητα του βιολογικού φίλτρου να οξειδώνει και να απενεργοποιεί τους τοξικούς μεταβολίτες που παράγονται στο ενυδρείο (οξειδωτική ικανότητα του βιολογικού φίλτρου, mg/min O₂). Το δεξιό μέρος αντιπροσωπεύει το ρυθμό ρύπανσης του νερού από τα ψάρια (mg/min O₂).

όπου:

W_i (m²) = η έκταση της επιφάνειας του φίλτρου.

V_i (cm/min) = η ταχύτητα ροής του νερού διαμέσου του φίλτρου.

D_i (cm) = πάχος του στρώματος του φίλτρου.

p = ο αριθμός των φίλτρων που εξυπηρετούν το σύστημα.

G_i = συντελεστής που εκφράζει το μέγεθος των κόκκων των υλικών που αποτελούν το υλικό πλήρωσης του βιολογικού φίλτρου και εκφράζεται από τη σχέση:

$$G = \frac{1}{R_1} * 100 + \frac{1}{R_2} * 100 + \dots + \frac{1}{R_n} * 100$$

όπου :

R_1, R_2, \dots, R_n = διαφορετικό μέγεθος των κόκκων του φίλτρου (mm).

X = το ποσοστό βαρύτητας που καταλαμβάνει το κάθε στρώμα χαλικιού στο σύνολο του φίλτρου.

B = βάρος ψαριού (g).

F = Ημερήσια χορηγούμενη ποσότητα τροφής (g).

q = Αριθμός των ψαριών.

Η ικανή και αναγκαία συνθήκη ώστε το φίλτρο ενός ενυδρείου να λειτουργεί ικανοποιητικά, χωρίς να διαταράσσεται η ισορροπία του είναι: η οξειδωτική ικανότητα του βιολογικού φίλτρου πρέπει να είναι μεγαλύτερη ή τουλάχιστον ίση προς το ρυθμό ρύπανσης από τα ψάρια. Ο Πίνακας 2.4 περιγράφει τους παράγοντες και τις μεταβλητές που λαμβάνονται υπόψη για τον υπολογισμό του ημίσεος βάθους.

Πίνακας 2.4: Παράγοντες και μεταβλητές υπολογισμού του ενεργού βάθους του φίλτρου πυθμένα

Μεταβλητές σχεδιασμού	Παράγοντες	Μονάδες
Επιφάνεια φίλτρου βυθού (S)		m ²
Όγκος ενυδρείου (V)		m ³
Θερμοκρασία νερού		°C
Ταχύτητα ροής διαμέσου του φίλτρου V		m/s
Ημερήσια ποσότητα τροφής		g
Ποσότητα αμμωνίας που αντιστοιχεί στην παρεχόμενη τροφή		%
Μάζα ολικής αμμωνίας (TAN) που προστίθεται στο σύστημα ανά χρόνο ανακύκλωσης (r)		g
Προστιθέμενη συγκέντρωση ολικής αμμωνίας (TAN) ανά όγκο ανά χρόνο ανακύκλωσης (c)		g/m ³ ή mg/L
Επιτρεπτή μέγιστη συγκέντρωση ολικής αμμωνίας-TAN (U)		mg/L
Ειδική επιφάνεια του υλικού του φίλτρου (SSA)		m ² /m ³
Βάθος φίλτρου (D)		m,cm
Συντελεστής κενού (P)		Αδιάστατο
$\ln 2=0,6931$ και εκφράζει τη σταθερά συνεχούς διάλυσης της αμμωνίας στο νερό		μέγεθος
Ζητούμενα		
Χρόνος ανακύκλωσης νερού (T)=D/V		s
Συντελεστής μείωσης συγκέντρωσης αμμωνίας (R) $R= (TAN-U)/(U*\ln 2)$		Αδιάστατο
Ήμισυ βάθος (H)		m, cm
Συντελεστής διόρθωσης θερμοκρασίας (από πίνακα)		Αδιάστατο
Ήμισυ βάθος (H _c)=(H)* Συντελεστής διόρθωσης		m,cm
Λειτουργικό βάθος φίλτρου (D), $D=(H_c)*(R)$		m,cm

2.2. Μελέτη στοιχείων διατροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας

2.2.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Ο πειραματικός σχεδιασμός για τη μελέτη των διατροφικών απαιτήσεων και τον υπολογισμό της κατανάλωσης της τροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας

περιλάμβανε μια σειρά από διατροφικά πειράματα διάρκειας 60 ημερών (πείραμα ανάπτυξης) και 30 ημερών (πείραμα κατανάλωσης τροφής) (Πιν.2.5).

Τα δυο είδη ψαριών διατράφηκαν με:

- εμπορικά σιτηρέσια (σύμπληκτα ή νιφάδες σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή), στη βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης (29 °C για το αγγελόψαρο και 27 °C για την κιχλιδόζεμπρα) και στη θερμοκρασία θερμικής ανθεκτικότητας (25 °C για το αγγελόψαρο και 20 °C για την κιχλιδόζεμπρα)
- καταρτισμένα σιτηρέσια που περιείχαν διαφορετικές πηγές πρωτεΐνης (φυτική, ζωική πρωτεΐνη, ανάμεικτη) στη βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης (29 °C για το αγγελόψαρο και 27 °C για την κιχλιδόζεμπρα)

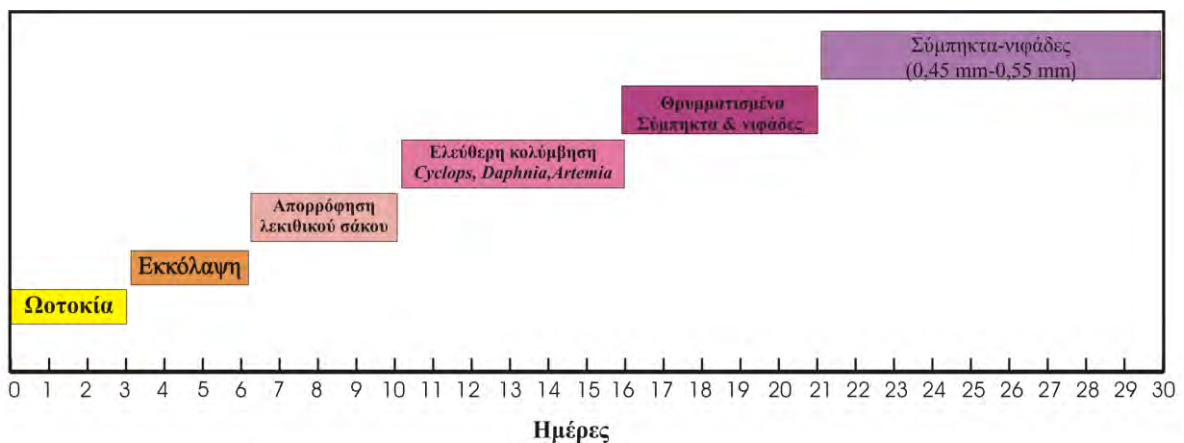
Πίνακας 2.5. Διατροφικά πειράματα για τον προσδιορισμό των διαιτητικών απαιτήσεων του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας

	Είδος που μελετήθηκε	Θερμοκρασία μελέτης	Δίαιτα που χορηγήθηκε*	Δείκτες ανάπτυξης**	Θρεπτική αξία
πείραμα 1	αγγελόψαρο	25°C & 29°C	A & B	SGR, S%	ισοπρωτεϊνικές, ισοενεργειακές
πείραμα 2	αγγελόψαρο	25°C & 29°C	Γ & Δ	SGR, S%	ισολιπιδικές, ισοενεργειακές
πείραμα 3	αγγελόψαρο	25°C & 29°C	A & B	FC	ισοπρωτεϊνικές, ισοενεργειακές
πείραμα 4	κιχλιδόζεμπρα	20°C & 27°C	A & B	SGR, S%	ισοπρωτεϊνικές, ισοενεργειακές
πείραμα 5	κιχλιδόζεμπρα	20°C & 27°C	Γ & Δ	SGR, S%	ισολιπιδικές, ισοενεργειακές
πείραμα 6	κιχλιδόζεμπρα	20°C & 27°C	A & B	FC	ισοπρωτεϊνικές, ισοενεργειακές
πείραμα 7	αγγελόψαρο	29°C	PM,FM,MM	SGR, S%	ισοπρωτεϊνικές, ισολιπιδικές
πείραμα 8	κιχλιδόζεμπρα	27°C	PM,FM,MM	SGR, S%	ισοπρωτεϊνικές, ισολιπιδικές

* Δίαιτα A: εμπορικά σύμπληκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή, Δίαιτα B: εμπορικές νιφάδες σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή, Δίαιτα Γ: εμπορικά σύμπληκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή, Δίαιτα Δ: εμπορικές νιφάδες σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή, Δίαιτα PM: κατάρτιση-παρασκευή φυτικής διαίτας, Δίαιτα FM: κατάρτιση-παρασκευή διαίτας από ιχθυάλευρο, Δίαιτα MM: κατάρτιση-παρασκευή ανάμεικτου σιτηρεσίου (PM +FM). ** Δείκτες ανάπτυξης: SGR (Specific Growth Rate): ειδικός ρυθμός ανάπτυξης, S (Survival): Επιβίωση, FC (Food Consumption): Κατανάλωση τροφής

2.2.2. Συνθήκες εκτροφής

Για τις ανάγκες των πειραμάτων, χρησιμοποιήθηκαν προνύμφες αγγελόψαρου και κιχλιδόζεμπρας οι οποίες προήλθαν από ώριμα θηλυκά άτομα που διατηρούνταν σε συνθήκες αιχμαλωσίας στο εργαστήριο (βλέπε § 2.1.1) και αναπαράχθηκαν. Αρχικά, μετά την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου, οι προνύμφες των δυο ειδών τρέφονταν μέχρι κορεσμού (*ad libitum*) για διάστημα 11 ημερών (4^η-15^η ημέρα) με ναυπλίους *Artemia* (JBL Artemio Pur type, Germany), *Cyclops* και *Daphnia* (Ocean nutrition) (Σχ.2.1), (Sorgeloos *et al.* 1986). Στη συνέχεια μέχρι την 30^η ημέρα (έναρξη της πειραματικής διαδικασίας), η τροφή που τους χορηγήθηκε ήταν σύμπληκτα (Tetrabits complete) και νιφάδες (Aquarium cichlid formula). Τα σύμπληκτα και οι νιφάδες θρυμματίζονταν σε κατάλληλο μέγεθος, κοσκινίζονταν και στη συνέχεια χορηγούνταν στα ψάρια.



Σχήμα 2.1: Πρόγραμμα διατροφής των προνυμφών του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας τις πρώτες 30 ημέρες εκτροφής.

Τα πειράματα που αφορούσαν την ανάπτυξη της κιχλιδόζεμπρας στους 20° C και 27 °C και του αγγελόψαρου στους 25 °C και 29 °C περιγράφονται στην § 2.2.3. Τα

πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε υάλινα ενδρεία διαστάσεων 41 x 36 x 30,5 cm, χωρητικότητας 45 L τα οποία πληρώθηκαν με γλυκό νερό ολικής σκληρότητας 12 °dH για τα ενδρεία της κιχλιδόζεμπρας και 4 °dH για τα ενδρεία του αγγελόψαρου (Εικ.2.13).



Εικόνα 2.13: Διάταξη πειραματικών ενδρείων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ανάπτυξης (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Τα πειράματα που αφορούσαν τον υπολογισμό της κατανάλωσης της τροφής στην κιχλιδόζεμπρα στους 20 °C και 27 °C και στο αγγελόψαρο στους 25°C και 29°C, διεξήχθησαν σε 8 διαφορετικά ενδρεία (4 ενδρεία/θερμοκρασία) διαστάσεων 40 x 29 x 35 cm χωρίς εσωτερικό φίλτρο βυθού, τα οποία πληρώθηκαν με 40 L γλυκό νερό. Για να διασφαλισθεί η εύρυθμη λειτουργία του ενδρείου και να αποφευχθούν προβλήματα διαταραχής της ποιότητας του νερού (αύξηση ολικής αμμωνίας και νιτρικών ιόντων) σε κάθε ενδρείο τοποθετήθηκε εσωτερικό μηχανικό φίλτρο DOLFIN F-800, με ταχύτητα φιλτραρίσματος η οποία υπολογίστηκε στα 0,85 cm/min (Εικ.2.14).



Εικόνα 2.14: Διάταξη πειραματικών ενδρείων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα κατανάλωσης τροφής (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

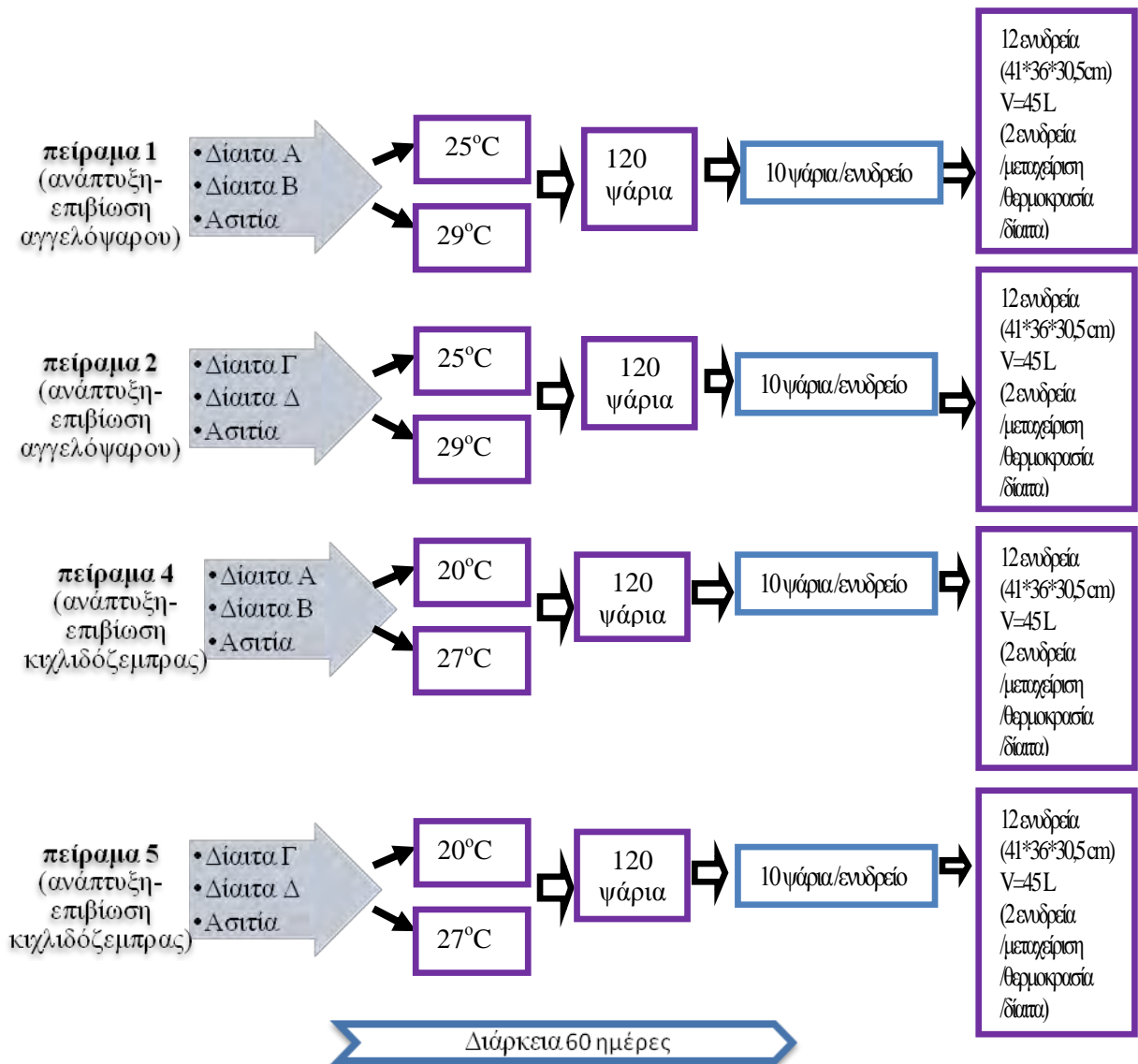
Οι συνθήκες εκτροφής των πειραμάτων ανάπτυξης και κατανάλωσης της τροφής ήταν ίδιες με εκείνες που περιγράφονται στην § 2.1.1 και διατηρήθηκαν σε σταθερά επίπεδα καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

2.2.3. Πειραματικά ψάρια και διαχείριση

Ο αριθμός των ψαριών και ο αριθμός των πειραματικών ενυδρείων που χρησιμοποιήθηκαν ανά διατροφικό πείραμα και για τα δυο είδη περιγράφονται στα Σχήματα 2.2 και 2.3, αντίστοιχα. Σε όλα τα διατροφικά πειράματα, ο αριθμός των πειραματικών ενυδρείων εξαρτιόνταν από τον αριθμό των αγγελόψαρων και της κιχλιδόζεμπρας που ήταν διαθέσιμος μετά την εκκόλαψη. Η διαχείριση των πειραματικών ενυδρείων έγινε σύμφωνα με το πρωτόκολλο που περιγράφηκε στην § 2.1.11.

Τα ψάρια που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ανάπτυξης και επιβίωσης (πείραμα 1, 2, 4 & 5) του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας μεταφέρθηκαν σε 48 πειραματικά ενυδρεία με τις επαναλήψεις τους και διαχωρίστηκαν στις εξής ομάδες μεταχείρισης: ομάδα διαίτας Α, ομάδα διαίτας Β, ομάδα διαίτας Γ, ομάδα διαίτας Δ και ομάδα ασιτίας (Σχ.2.2). Το αγγελόψαρο διατηρήθηκε στους 25 °C και 29 °C, και η κιχλιδόζεμπρα στους 20 °C και 27 °C, αντίστοιχα (Σχ.2.2).

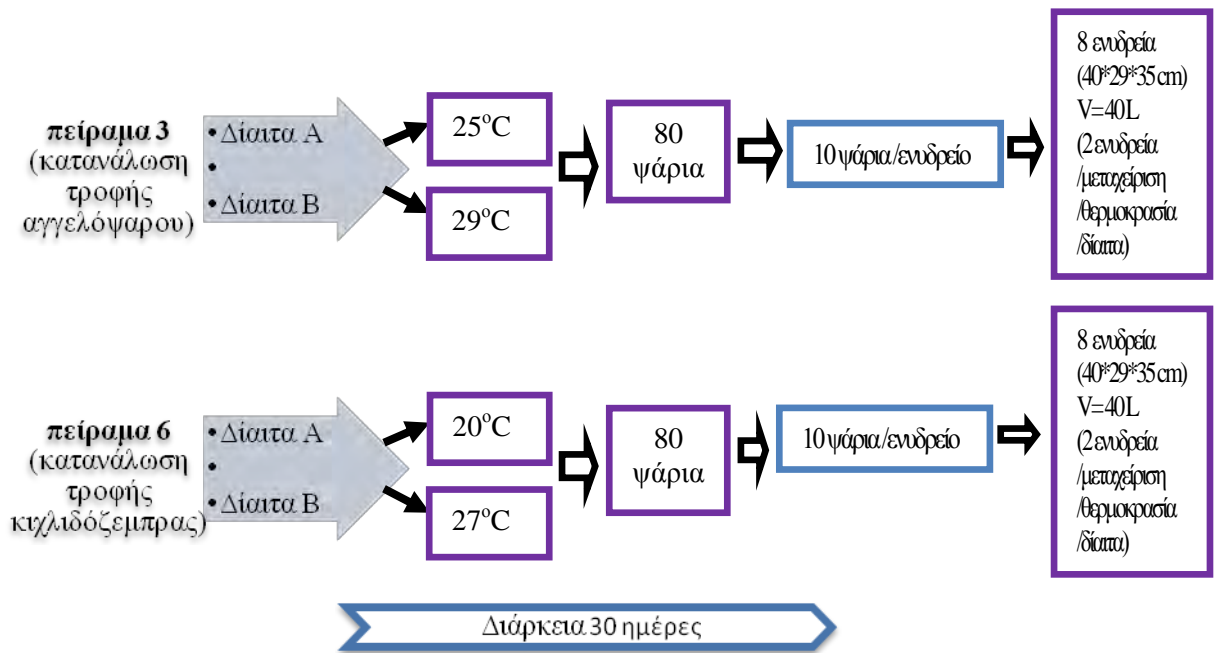
Σε ότι αφορά τον υπολογισμό κατανάλωσης της τροφής για το αγγελόψαρο (πείραμα 3) και την κιχλιδόζεμπρα (πείραμα 6), τα ψάρια μεταφέρθηκαν σε 16 πειραματικά ενυδρεία και διαχωρίστηκαν σε δύο ομάδες μεταχείρισης την ομάδα διαίτας Α και στην ομάδα διαίτας Β. Το αγγελόψαρο διατηρήθηκε στους 25 °C και 29 °C, και η κιχλιδόζεμπρα στους 20 °C και 27 °C, αντίστοιχα (Σχ.2.3).



Σχήμα 2.2: Πειραματικός σχεδιασμός για την ανάπτυξη και επιβίωση του αγγελόψαρου στους 25°C και στους 29°C (πείραμα 1 & 2) και για την κιχλιδόζεμπρα στους 20°C και 27°C (πείραμα 4 & 5) με τις επαναλήψεις τους διάρκειας 60 ημερών.

Για τις ανάγκες υπολογισμού της ανάπτυξης του αγγελόψαρου σχετικά με το πείραμα 1 χρησιμοποιήθηκαν 120 αγγελόψαρα μέσου βάρους (W_i) $1,1 \pm 0,5$ g και μέσου μήκους (L_i) $3,9 \pm 0,4$ cm, ενώ σχετικά με το πείραμα 2, χρησιμοποιήθηκαν 120 αγγελόψαρα, μέσου βάρους (W_i) $1,1 \pm 0,1$ g και μέσου μήκους (L_i) $4,0 \pm 0,4$ cm (Σχ. 2.2). Αντίστοιχα, για τις ανάγκες του πειράματος 4 χρησιμοποιήθηκαν 120 κιχλιδόζεμπρες,

μέσου βάρους (W_i) $1,25\pm 0,02$ g και μέσου μήκους (L_i) $4,0\pm 0,4$ cm, ενώ για τις ανάγκες του πειράματος 5 χρησιμοποιήθηκαν 120 κιχλιδόζεμπρες, μέσου βάρους (W_i) $1,29\pm 0,09$ g και μέσου μήκους $4,1\pm 0,09$ cm (Σχ. 2.2). Η διάρκεια των παραπάνω πειραμάτων ήταν 60 ημέρες.



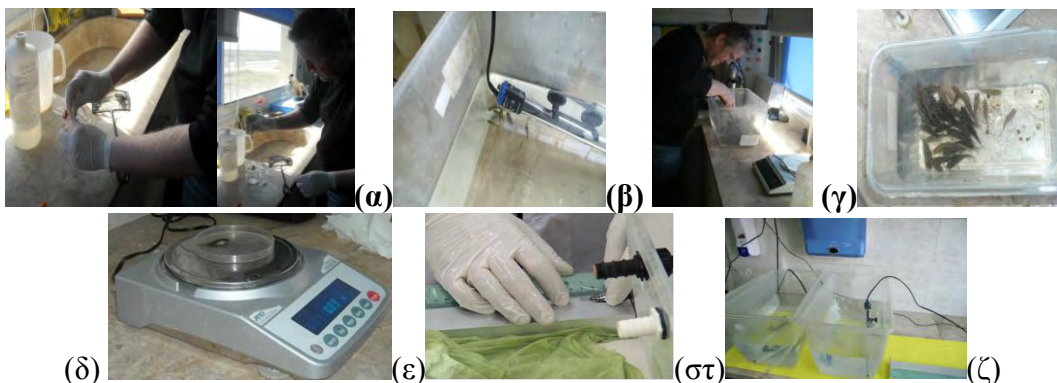
Σχήμα 2.3: Πειραματικός σχεδιασμός για τον υπολογισμό της κατανάλωσης τροφής του αγγελόψαρου στους 25°C και στους 29°C (πείραμα 3) και για την κιχλιδόζεμπρα στους 20°C και 27°C (πείραμα 6) με τις επαναλήψεις τους διάρκειας 30 ημερών.

Στο πείραμα 3 για τον υπολογισμό της κατανάλωσης της τροφής με τις δίαιτες Α και Β, χρησιμοποιήθηκαν 80 αγγελόψαρα μέσου βάρους (W_i) $1,1\pm 0,1$ g και μέσου μήκους (L_i) $4,0\pm 0,4$ cm για διάστημα 30 ημερών. Αντίστοιχα, στο πείραμα 6 για τον υπολογισμό της κατανάλωσης της τροφής με τις δίαιτες Α και Β, χρησιμοποιήθηκαν 80 κιχλιδόζεμπρες μέσου βάρους (W_i) $1,28\pm 0,01$ g και μέσου μήκους (L_i) $4,0\pm 0,4$ cm, για διάστημα 30 ημερών.

2.2.4. Μετρήσεις μορφομετρικών παραμέτρων των ψαριών

Οι μορφομετρικοί παράμετροι των ψαριών αποδίδονται με μετρήσεις του βάρους (W) και του ολικού μήκους (L) και αποτυπώνουν το ρυθμό ανάπτυξής τους. Αρχικά, τα ψάρια αναισθητοποιήθηκαν με φαινοξυαιθανόλη σε συγκέντρωση 0,25 ml/L (Εικ.2.15α), στεγνώθηκαν σε απορροφητικό χαρτί και ακολούθησε η μέτρηση του βάρους και του ολικού μήκους. Χρησιμοποιώντας ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας AXTON (Εικ. 2.15ε), μετρήθηκε το αρχικό βάρος (σε ακρίβεια δεύτερου δεκαδικού ψηφίου) και με τη βοήθεια ιχθυόμετρου (Εικ. 2.15στ) μετρήθηκε το ολικό μήκος του αγγελόψαρου.

Η όλη διαδικασία μέτρησης των μορφομετρικών παραμέτρων των ψαριών που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα ανάπτυξης και υπολογισμού της κατανάλωσης της τροφής, αποτυπώνεται στην Εικόνα 2.15. Η διαδικασία αναισθητοποίησης περιλαμβάνει τη χρονική στιγμή, όπου μετά την προσθήκη 0,25 ml/L φαινοξυαιθανόλης, σε βοηθητικό πλαστικό ενυδρείο 25 L και μετά την πάροδο 3 έως 5 min τα ψάρια χάνουν παντελώς την ισορροπία τους και βυθίζονται σε λήθαργο (Εικ.2.15γ,δ). Η μέτρηση γίνεται γρήγορα, ενώ τα αναισθητοποιημένα ιχθύδια τοποθετούνται στα ενυδρεία ανάνηψης και μετά την πάροδο 5-10 min μεταφέρονται στα πειραματικά ενυδρεία (Εικ. 2.15ζ).



Εικόνα 2.15: Διαδικασία μέτρησης μορφομετρικών χαρακτήρων (α) Λήψη 0,25 ml/L αναισθητικού με σύριγγα ινσουλίνης, (β) προσθήκη ψαριών για

αναισθητοποίηση ψαριών, (γ) παρατήρηση σταδίων αναισθητοποίησης, (δ) αναισθητοποίηση, (ε) μέτρηση βάρους με ζυγό ακριβείας, (στ) μέτρηση ολικού μήκους με ιχθυόμετρο, (ζ) ενυδρεία ανάνηψης ψαριών (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

2.2.5. Πειραματικά σιτηρέσια

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων διατροφής χρησιμοποιήθηκαν 4 δίαιτες (δίαιτα Α, δίαιτα Β, δίαιτα Γ και δίαιτα Δ) που αποτελούνταν από εμπορικά σύμπληκτα ή νιφάδες σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή. Ειδικότερα, οι δίαιτες Α και Γ, αντίστοιχα συνίστανται από ένα μείγμα: συμπλήκτων TetraBits complete και A cichlid super deluxe super color enhancer που προσφέρονταν το πρωί, κατεψυγμένη Discus Formula και Ad konings Cichlid omni formula που χορηγούνταν το μεσημέρι και ανάμεικτη (50% σύμπληκτα και 50% κατεψυγμένη) η οποία χορηγούνταν το απόγευμα. Στις δίαιτες Β και Δ, τα σύμπληκτα αντικαταστάθηκαν από νιφάδες (στη δίαιτα Β από Aquarium cichlid formula και στη δίαιτα Δ από Ocean nutrition maintenance formula), ενώ τα υπόλοιπα στοιχεία διατηρήθηκαν σταθερά. Τα επι μέρους συστατικά των εμπορικών τροφών που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύσταση των πειραματικών διαιτών παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.6 και η θρεπτική σύσταση τους στον Πίνακα 2.7.

Πίνακας 2.6: Επί μέρους συστατικά των εμπορικών τροφών που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύσταση των πειραματικών διαιτών.

Δίαιτα	Τύπος τροφής	Πρωτεΐνη ζωικής προέλευσης	Πρωτεΐνη φυτικής προέλευσης	Αμινοξέα	Λιπίδια	Υποπροϊόντα βιομηχανίας ιχθύων με υψηλή υγρασία	Προμίγμα βιταμινών	Μείγμα ιχθυοστοιχείων & ανόργανων στοιχείων και χρωστικές ουσίες	Συγκολλητικές ουσίες	Χρωστικές ουσίες	Ενισχυτικά γεύσης	Αντιοξειδωτικές ουσίες	Συντηρητικά
Α	Σίμηκα (Tetra bis complete) ^α	•	•		•	•		•		•	•		
	Κοπαυλιμένη (Discus formula) ^β	•	•		•		•	•	•	•	•	•	
	Συλλογικός (50%TB+50%DF)	•	•		•	•	•	•	•	•	•	•	
Β	Νιρόδες (Aequanum Cichlid formula) ^β	•	•		•		•	•		•	•	•	
	Κοπαυλιμένη (Discus formula) ^β	•	•		•		•	•	•	•	•	•	
	Συλλογικός (50%AF+50%DF)	•	•		•	•	•	•	•	•	•	•	
Γ	Σίμηκα (A Cichlid super deluxe super color enhance) ^β	•	•	•	•		•	•		•	•		•
	Κοπαυλιμένη (Ad Konings Cichlid omni formula) ^α	•	•	•	•		•	•	•	•	•	•	•
	Συλλογικός (50%SD+50%AD)	•	•	•	•		•	•	•	•	•	•	•
Δ	Νιρόδες (G Ocean nutrition maintenance formula) ^β	•	•	•	•	•	•	•		•	•	•	•
	Κοπαυλιμένη (Ad Konings Cichlid omni formula) ^α	•	•	•	•		•	•	•	•	•	•	•
	Συλλογικός (50%ON+50%AF)	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•

Ζωική πρωτεΐνη: (α) ψάρια, παράγωγα ψαριού, (β) ψάρι, πρωτεΐνη ψαριού (γ) ιχθυάλευρα, σκουλήκι, μύδια, (δ) ιχθυάλευρο, (ε) ιχθυάλευρο, φιλέτο σολομού, γλαμούδες, ρέγγα, αρτέμια, φιλέτο σολομού, (στ) γαρίδες, φιλέτο ψαριού, ιχθυάλευρο, γλαμούδες **Φυτική Πρωτεΐνη:** (α) άλετρο σίτου, παράγωγα φυτικής προέλευσης, εκχύλισμα φυτικής πρωτεΐνης, (β) άλετρο σίτου, σπιρουλίνα (γ) άλετρα σίτου, σπανάκι, σπιρούλινα, (δ) άλετρο σόγιας, άλετρο σίτου, άλετρο φυκιών, άλετρο μυδικής, σπιρουλίνα, (ε) άλετρο σίτου, άλετρο καλαμποκιού, σόγια, (στ) μαρούλι, αρακάς, κολοκύθι, φίτρο σίτου σπανάκι **Αμινοξέα:** (δ) μεθειονίνη, ταυρίνη, λυσίνη, (ε) αργινίνη, ιστιδίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, λυσίνη, μεθειονίνη, κυστεΐνη, φαινυλαλανίνη, θρεονίνη, τριπτοφάνη, βαλίνη, (στ) μεθειονίνη, ταυρίνη, λυσίνη **Λιπίδια:** (α) έλαια και λίπη, (β) ιχθυέλαιο (γ) σκουλήκι, (δ) αυγά σολομού, (ε) ρέγγα, γλαμούδες, (στ) γλαμούδες **Υποπροϊόντα βιομηχανίας ιχθύων με υψηλή υγρασία:** (ε) εκχύλισμα πρωτεΐνης και αμινοξέων, προϊόντα υδρόλυσης (MPAXX) **Προμίγμα βιταμινών:** (β) χολίνη, χλωρίδιο, L-ασκορβυλο-2-πολυφωσφορικό, παντοθενικό ασβέστιο, ιοζιτόλη, Νιασιναιμίδιο, συμπλήρωμα ιβοφλαβίνης, υδροχλωρική πυριδοξίνη, φολικό οξύ, μεναδιόνη, όξινο θειικό νάτριο, βιοτίνη, συμπλήρωμα βιταμίνης Β12, (γ) χλωριούχο χολίνη, ασκορβικό οξύ συμπεριλαμβανομένων βιταμίνη C, συμπλήρωμα βιταμίνη E, νιασίνη, μονονιτρική θειαμίνη, φολικό οξύ, παντοθενικό οξύ, ριβοφλαβίνη, βιταμίνης A, υδροχλωρική πυριδοξίνη, συμπλήρωμα βιταμίνης Β-12, συμπλήρωμα βιταμίνης D3, βιοτίνη (δ) σταθεροποιητής βιταμίνης C, τοκοφερόλη, βιοτίνη, κυανοκοβαλαμίνη, νιασίνη, ριβοφλαβίνη, θειαμίνη (ε) ασκορβικό οξύ, σταθεροποιητής βιταμίνης C, dl-α τοκοφερόλη, d-παντοθενικό οξύ, ριβοφλαβίνη, νιασίνη, μεναδιόνη, φολακίνη, χοληκαλσιφερόλη, βιοτίνη, θειαμίνη, ρετινόλη, πυροδοξίνη και κυανοκοβαλαμίνη (στ) χλωριούχο χολίνη, ασκορβικό οξύ συμπεριλαμβανομένου σταθεροποιητή βιταμίνης C, βιταμίνη E, νιασίνη, μονονιτρική θειαμίνη, φολικό οξύ, παντοθενικό ασβέστιο, ριβοφλαβίνη, μενοδιόνη, όξινο θειώδες νάτριο, βιταμίνη A, οξικό άλας, υδροχλωρική πυριδοξίνη, βιταμίνη Β12, βιταμίνη D3, β-καροτίνη, βιοτίνη **Μείγμα ιχθυοστοιχείων & ανόργανων στοιχείων:** (α) ανόργανα στοιχεία (β) χλωρίδια (γ) θειικό μαγγάνιο, θειικός Ψαυδάργυρος, θειικός χαλκός, σεληνιώδες νάτριο (δ) χλωριούχο ασβέστιο, ιωδιούχο ποτάσσιο, θειικός σίδηρος, θειικό μαγνήσιο, ανθρακικό μαγνήσιο, θειικός ψευδάργυρος (ε) θειικό μαγνήσιο (στ) θειικό μαγγάνιο, θειούχος ψευδάργυρος, θειούχος χαλκός, ιόντα σεληνιώδους νατρίου **Συγκολλητικές ουσίες:** (γ) ζελέ συγκολλητικής ουσίας (στ) συνδετικό ζελέ **Χρωστικές ουσίες:** (α) φύκη, ξηρή μαγιά (β) τεχνητό χρώμα (κόκκινο 3, κίτρινο 5), μαγιά (γ) γαρίδες, φύκη, πλαγκτόν (δ) ασταξανθίνη, β καροτίνη, κανθαξανθίνη, ξηρό θαλασσινό φύκος, krill, ξηρή μαγιά (ε) ασταξανθίνη, κανθαξανθίνη, τεχνητό χρώμα, καροτενοειδή, μαγιά λεκιθίνη, ανάμειξη φρέσκων θαλασσινών τροφών (στ) καρότα, θαλασσινά άλγη (hyrnea), πλαγκτόν, γαρίδες krill **Ενισχυτικά γεύσης:** (α) μαλάκια, καρκινοειδή, φύκη (β) γαρίδες, άλγη, σκόρδο, όξινο θειικό νάτριο (γ) γαρίδες, φύκη, πλαγκτόν (δ) άλατα οξικού οξέος με νάτριο (ε) β-γλυκάνη (στ) γλαμούδες, αρτέμια, αυγά σολομού **Αντιοξειδωτικές ουσίες:** (β) αιθοξυλίωση (γ) σπανάκι (δ) λεκιθίνη (ε) α-τοκοφερόλη, λεκιθίνη **Αντιμικροβιακές ουσίες:** (β) οξικές ομάδες **Συντηρητικά:** (δ) σορβικό κάλιο, εθοξικουίνη, (ε) αιθοξυλίωση (στ) όξινο θειώδες νάτριο.

Πίνακας 2.7: Θρεπτική σύσταση (% επί της ξηρής ουσίας) των τεσσάρων εμπορικών διαιτών, όπως δίνονται εργοστασιακά και αναλύθηκαν εργαστηριακά.

Δίαιτα	Τύπος τροφής	Εργοστασιακές τιμές				Εργαστηριακές τιμές			
		Πρωτεΐνη (%) (min)	Λίπος (%) (min)	Υγρασία (%) (max)	Τέφρα (%) (max)	Πρωτεΐνη (%)	Λίπος (%)	Υγρασία (%)	Τέφρα (%)
Α	Σύμπληκτα (<i>Tetra bits complete</i>)	47,50	6,50	6,00	10,50	49,75±0,09	5,01±0,06	5,29±0,01	9,68±0,01
	Κατεψυγμένη (<i>Discus formula</i>)	21,40	0,80	81,60	0,60	25,73±0,26	1,35±0,07	73,58±0,40	4,52±0,16
	Συνδυασμός (<i>50% TB + 50% DF</i>)**	34,45	3,65	43,5	5,55	37,63±0,21	3,20±0,03	39,43±0,19	5,44±0,04
Β	Νιφάδες (<i>Aquarium Cichlid formula</i>)	46,00	7,00	8,00	-	46,38±0,25	15,43±0,04	6,83±0,01	7,16±0,00
	Κατεψυγμένη (<i>Discus formula</i>)	21,40	0,80	81,60	0,60	25,73±0,26	1,35±0,07	73,58±0,40	4,52±4,28
	Συνδυασμός (<i>50% AF + 50% DF</i>)**	33,7	3,9	44,8	0,6	35,24±0,03	8,39±0,06	40,20±0,19	4,18±0,03
Γ	Σύμπληκτα (<i>A Cichlid super deluxe super color enhancer</i>)	38,20	6,50	6,5	8,50	43,29±0,05	4,28±0,08	7,05±0,03	8,93±0,02
	Κατεψυγμένη (<i>Ad Konings Cichlid omni formula</i>)	13,00	0,50	83,70	-	24,94±0,26	4,43±0,03	73,05±1,59	4,60±0,28
	Συνδυασμός (<i>50% SD + 50%AD</i>)**	25,61	3,5	45,1	4,25	29,28±6,64	2,74±0,05	40,05±0,01	5,09±0,01
Δ	Νιφάδες (<i>G Ocean nutrition maintenance formula</i>)	29,50	6,50	8,00	5,00	32,58±0,38	4,28±0,10	6,41±0,01	3,44±0,02
	Κατεψυγμένη (<i>Ad Konings Cichlid omni formula</i>)	13,00	0,50	83,70	-	24,94±0,26	4,43±0,03	73,05±1,59	4,60±0,28
	Συνδυασμός (<i>50% ON + 50% AF</i>)**	21,25	3,5	45,85	2,5	28,54±0,19	2,74±0,05	39,73±0,01	3,34±0,01

Τα δεδομένα των εργαστηριακών αναλύσεων αντιπροσωπεύουν τους μέσους όρους ± Τ.Α (Τυπική απόκλιση) πέντε επαναλήψεων επί της ξηρής ουσίας της τροφής.

** Οι τιμές του συνδυασμού δεν είναι εργοστασιακές και είναι μια μέση τιμή των συμπληκτών ή νιφάδων και της κατεψυγμένης τροφής.

Το βασικό χαρακτηριστικό όλων των επιμέρους τροφών του εμπορίου που συνέθεσαν τις 4 πειραματικές δίαιτες (δίαιτα Α, δίαιτα Β, δίαιτα Γ και δίαιτα Δ) που χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία, ήταν οι ζωικές πρωτεΐνες, οι βιταμίνες και τα ανόργανα στοιχεία. Ως πηγές ενέργειας χρησιμοποιήθηκαν τα άλευρα σίτου, τα έλαια και τα λίπη που εμπεριέχουν πολυακόρεστα ω-3 λιπαρά οξέα. Ένα από τα κύρια συστατικά της κατεψυγμένης τροφής είναι η *spirulina*, η οποία χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης, υδατανθράκων, λιπαρών οξέων, μετάλλων, ιχνοστοιχείων, χλωροφύλλης, βιταμινών και καροτενοειδών. Οι βιταμίνες και τα καροτενοειδή λειτουργούν ως αντιοξειδωτικές ουσίες και είναι υπεύθυνα για το χρωματισμό των ψαριών.

Η χορήγηση των πειραματικών τροφών γίνονταν με το χέρι σε ποσοστό 5% του σωματικού βάρους των ιχθύων (Soriano-Salazar & Hernández-Ocampo 2002, Perez *et al.* 2003) τρεις φορές ημερησίως στις 9:00, 13:00 και 17:00 για διάστημα 60 ημερών (Πίν. 2.8 και Πίν. 2.9). Ο ρυθμός τροφοληψίας επαναπροσδιορίζονταν κάθε δυο εβδομάδες. Τα γεύματα προζυγίζονταν σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας AXTON με απόκλιση $\pm 0,00001$ g. Μια ομάδα αγγελόψαρων παρόμοιου μεγέθους διατηρήθηκε σε συνθήκες ασιτίας για διάστημα 60 ημερών.

Ο Πίνακας 2.10, παρουσιάζει αναλυτικά τη χημική σύσταση σε αμινοξέα των επιμέρους εμπορικών τροφών, που αποτελούνται οι 4 πειραματικές δίαιτες και χορηγούνταν στα αγγελόψαρα και στις κιχλιδόζεμπρες σε κάθε γεύμα, σύμφωνα με το ημερήσιο πρόγραμμα διατροφής.

Πίνακας 2.8: Θρεπτική σύσταση (% επί της ξηρής ουσίας τροφής) των πειραματικών διαιτών Α και Β που χρησιμοποιήθηκαν στο πρώτο, τρίτο, τέταρτο και έκτο πείραμα διατροφής.

Δίαιτα	Τύπος τροφής	Πρωτεΐνη (%)	Ολικό λίπος (%)	Τέφρα (%)	Υγρασία (%)	Υδατάνθρακες ¹ (%)	Ενέργεια (Kj/g)
A	Σύμπληκτα	50,65±0,87	6,88±1,72	9,84±0,15	6,98±1,54	51,37±20,64	19,20±0,09
	Καταλυγμένη	24,54±2,17	0,18±0,16	1,12±0,11	74,41±2,06 (25,59) ΞΟ	49,71±21,20	21,90±2,25
	Ανάμεικτη	46,03±2,39	2,85±0,11	4,07±0,12	40,70±1,49	51,25±20,63	20,52±1,88
	M.O±TA	40,44±0,69^a	3,73±0,23^a	5,04±0,01^a	40,69±1,48^a	50,78±0,93^a	20,52±1,07^a
B	Σύμπληκτα	48,28±1,80	16,00±0,52	7,36±0,19	7,53±0,69	48,00±23,91	20,20±2,58
	Καταλυγμένη	24,54±2,17	0,18±0,16	1,12±0,11	74,41±2,06 (25,41) ΞΟ	48,58±23,82	21,90±2,25
	Ανάμεικτη	46,30±0,82	5,48±0,19	2,72±0,70	40,98±1,10	50,07±22,96	21,05±0,85
	M.O±TA ²	39,96±0,90^a	7,37±0,13^b	3,78±0,23^b	40,97±1,09^a	48,88±1,07^a	21,01±0,17^a

¹Το ποσοστό των Υδατανθράκων εκτιμήθηκε με αφαίρεση από το 100 του συνόλου των ποσοστών πρωτεΐνης, λιπιδίων και τέφρας.

²Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσες τιμές±T.A (n=5). Οι μέσες τιμές του κάθε θρεπτικού συστατικού μεταξύ των δυο διαιτών που φέρουν τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά (P>0,05).

Πίνακας 2.9: Θρεπτική σύσταση (% επί της ξηρής ουσίας τροφής) των πειραματικών διαιτών Γ και Δ που χρησιμοποιήθηκαν στο δεύτερο και πέμπτο πείραμα διατροφής.

Δίαιτα	Τύπος τροφής	Πρωτεΐνη (%)	Ολικό λίπος (%)	Τέφρα (%)	Υγρασία (%)	Υδατάνθρακες ¹ (%)	Ενέργεια (Kj/g)
Γ	Σύμπληκτα	44,26±1,20	6,30±1,85	9,31±0,35	8,14±0,99	51,58±20,04	18,38±0,54
	Καταλυγμένη	26,88±2,91	1,23±0,13	1,36±0,32	69,89±3,86 30,11 (ΞΟ)	53,12±19,06	21,38±0,00
	Ανάμεικτη	46,07±1,60	3,30±0,57	4,36±0,12	39,01±1,59	50,92±21,05	19,88±2,12
	M.O±TA	39,18±1,50^a	3,61±0,11^a	5,07±0,14^a	39,01±1,59^a	51,87±1,13^a	19,79±0,27^a
Δ	Σύμπληκτα	33,38±0,76	5,28±0,93	3,53±0,09	7,27±0,79	61,07±17,34	19,75±0,01
	Καταλυγμένη	26,88±3,25	1,23±0,13	1,36±0,32	69,89±3,86 30,11(ΞΟ)	61,30±17,28	21,38±0,00
	Ανάμεικτη	41,20±1,12	3,25±0,53	2,37±0,05	38,58±1,64	58,31±18,99	20,56±1,15
	M.O±TA ²	33,89±1,67^b	3,31±0,33^a	2,42±0,16^b	38,58±1,64^a	60,23±1,66^a	20,57±0,07^a

¹Το ποσοστό των Υδατανθράκων εκτιμήθηκε με αφαίρεση από το 100 του συνόλου των ποσοστών πρωτεΐνης, λιπιδίων και τέφρας.

²Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσες τιμές±T.A. (n=5). Οι μέσες τιμές του κάθε θρεπτικού συστατικού μεταξύ των δυο διαιτών που φέρουν τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά (P>0,05).

Πίνακας 2.10: Περιεκτικότητα σε αμινοξέα των επιμέρους εμπορικών τροφών που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύσταση των πειραματικών διαίτων (συντομογραφίες στις παρενθέσεις)

Αμινοξέα (g/1000g)	Τύπος εμπορικής τροφής			Τύπος εμπορικής τροφής		
	Σύμπληκτα (Tetrabits complete)	Νιφάδες (Aquarium cichlid formula)	Κατενυγμένη (Discus formula)	Σύμπληκτα (A Cichlid super deluxe super color enhancer)	Νιφάδες (Ocean nutrition maintenance formula)	Κατενυγμένη (Ad Konings Cichlid omni formula)
Αλανίνη (Ala)	35,45±1,20	30,60±0,85	78,15±7,00	24,9±0,57	19,1±0,99	60,4±12,81
Αργινίνη (Arg)	38,00±1,41	28,95±0,92	109,60±0,85	30,3±0,42	19,2±1,13	82,3±12,78
Ασπαρτικό οξύ (Asp)	37,15±1,48	38,50±0,71	70,50±1,13	34,0±0,78	23,7±0,42	63,5±16,46
Γλουταμινικό οξύ (Glu)	66,10±0,57	54,00±0,85	48,50±1,13	56,4±0,42	57,2±1,48	35,4±39,36
Γλυκίνη (Gly)	31,30±1,41	30,50±0,71	162,50±3,54	25,5±0,71	28,2±1,98	136,5±18,54
Ιστιδίνη (His)	18,55±1,34	10,15±0,64	11,95±0,49	16,0±0,57	8,4±0,57	8,1±5,54
Ισολευκίνη (Ile)	13,50±0,71	12,80±0,28	24,50±0,57	15,9±2,40	11,7±0,71	15,6±7,77
Λευκίνη (Leu)	38,00±0,57	29,00±0,57	61,70±0,28	25,8±0,42	19,8±1,63	33,2±12,82
Λυσίνη (Lys)	38,50±0,57	24,50±1,41	60,05±0,64	25,7±1,56	8,9±1,34	37,4±5,31
Μεθειονίνη (Met)	25,75±0,92	4,75±0,21	14,35±0,78	3,6±0,00	2,0±0,00	4,9±1,41
Φαινυλανανίνη (Phe)	23,55±0,35	16,65±0,64	46,45±0,64	15,6±0,92	14,2±0,28	25,8±9,84
Προλίνη (Pro)	39,30±1,27	41,00±1,41	144,5±0,71	28,1±2,62	38,6±1,41	101,0±26,29
Σερίνη (Ser)	31,60±1,27	28,60±0,71	28,25±0,21	21,0±0,28	18,0±0,49	23,1±12,34
Θρεονίνη (Thr)	30,60±1,41	25,50±0,71	19,00±0,14	23,1±0,07	14,7±0,85	14,8±9,79
Τυρόσίνη (Tyr)	15,80±0,85	10,75±0,21	18,15±0,35	12,3±0,42	8,4±1,13	9,7±5,14
Βαλίνη (Val)	15,50±0,99	13,55±1,34	37,95±0,92	12,1±0,64	8,5±0,64	20,1±5,53
Σύνολο	498,65	399,80	936,31	370,05	300,35	671,50
M.O±T.A.	31,16±12,98 ^a	24,98±13,08 ^a	58,51±45,76 ^a	23,13±11,86 ^a	18,77±13,59 ^a	41,97±37,50 ^a

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσες τιμές±T.A (n=3). Οι μέσες τιμές στις στήλες με τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (P>0,05).

2.2.6. Δειγματοληψίες

Κατά την έναρξη του πειράματος, μια ομάδα από 25 αγγελόψαρα και κιχλιδόζεμπρες επιλέχθηκαν τυχαία και αφού προζυγίστηκαν, θανατώθηκαν και διατηρήθηκαν κατεψυγμένα στους -80°C . Λήφθηκαν δείγματα λευκού μυός για την ανάλυση της περιεκτικότητάς τους σε ολικές πρωτεΐνες και αμινοξέα, καθώς και δείγματα τροφών για τις αναλύσεις της χημικής τους σύστασης. Στο τέλος του πειράματος ανάπτυξης, τα ψάρια θανατώθηκαν με βύθισή τους σε παγωμένο νερό, ενώ μετρήθηκε το βάρος και το μήκος του σώματος τους. Επίσης λήφθηκαν δείγματα λευκού μυός από κάθε διατροφική αγωγή για ανάλυση αμινοξέων.

Τα δείγματα των ψαριών λήφθηκαν για τον προσδιορισμό της χημικής σύστασης ολόκληρου του σώματος και του μυός. Τα δείγματα των ιστών πάρθηκαν με τεμαχισμό ολόκληρου του φιλέτου μεταξύ του ραχιαίου και του κοιλιακού πτερυγίου. Από το τμήμα αυτό, αφαιρέθηκε το δέρμα, ενώ από το μυ αφαιρέθηκε κάθε ίχνος κοκκάλου και ομογενοποιήθηκε. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι να αναλυθούν (Mente *et al.* 2002).

2.2.7. Παράμετροι ανάπτυξης ιχθύων, αξιοποίησης και κατανάλωση της τροφής

Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν από τις πειραματικές μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν για να υπολογιστούν οι παράμετροι ανάπτυξης των ψαριών, η αξιοποίηση και κατανάλωση της τροφής, σύμφωνα με τους τύπους, όπως αναλύονται στη συνέχεια (Παπουτσόγλου 2008, Bahadir Koka *et al.* 2009, Μεντέ & Νέγκας 2011).

A. Παράμετροι ανάπτυξης ιχθύων και επιβίωση

Η ημερήσια ποσότητα τροφής F (g) που χορηγούνται καθημερινά στα ψάρια υπολογίστηκε από τη σχέση:

$$F (g) = (\text{Αριθμός ψαριών} \times W (g)) \times \text{Επίπεδο διατροφής} (\%)$$

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (S.G.R, Specific Growth Rate, %/ημέρα), εκφράζει την ημερήσια ποσοστιαία αύξηση του ολικού βάρους του ψαριού για το χρονικό διάστημα που διήρκησε το πείραμα και υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\text{S.G.R} (\%/\text{ημέρα}) = \frac{[\ln(W_f) - \ln(W_i)] \times 100}{\text{ημέρες σίτισης}}$$

Η αύξηση του σωματικού βάρους (WG, Weight Gain, g) υπολογίστηκε μετά από δειγματοληψία συγκρίνοντας το μέσο τελικό βάρος (W_f) των ψαριών με το μέσο αρχικό (W_i) και υπολογίστηκε σύμφωνα με τον τύπο:

$$\text{WG} (g) = W_f - W_i$$

Ο συντελεστής ευρωστίας (C.F, Coefficient factor) εκφράζει τη σχέση μεταξύ του μήκους και βάρους των ψαριών και υπολογίστηκε σύμφωνα με τον τύπο (Bahadir Koka *et al.* 2009):

$$\text{C.F} = (W \times L^{-3}) \times 100$$

Η επιβίωση (S, Survival, %) εκφράζει τον εναπομείναντα αριθμό ψαριών κατά τη λήξη της πειραματικής διαδικασίας σύμφωνα με τον τύπο:

$$S (\%) = \left(\frac{\text{Τελικός αριθμός ψαριών}}{\text{Αρχικός αριθμός ψαριών}} \right) \times 100$$

Όπου W_f και W_i είναι το μέσο τελικό και μέσο αρχικό υγρό βάρος των ψαριών κάθε ομάδας σε g, αντίστοιχα, W (g) και L (cm) είναι το μέσο υγρό βάρος και το μέσο ολικό μήκος των ψαριών κάθε ομάδας, αντίστοιχα.

B. Παράμετροι αξιοποίησης και κατανάλωσης της τροφής

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής (F.C.R, Food Conversion Ratio) ορίζεται ως η ποσότητα της καταναλωθείσας τροφής που μετατρέπεται σε σωματικό βάρος από τα ψάρια. Εκφράζει το βαθμό αξιοποίησης της τροφής και υπολογίζεται από τον τύπο:

$$F.C.R = \text{Τροφή που χορηγήθηκε (g)} / \text{αύξηση βάρους (g)}$$

Η κατανάλωση της τροφής (F.C, Food Consumption) εκφράζει την ποσότητα της τροφής που υφίσταται κατάποση από το ψάρι και υπολογίζεται από αν από την προσφερόμενη τροφή αφαιρώντας την τροφή που παρέμεινε στο τέλος του γεύματος σύμφωνα με τον τύπο:

$$F.C(g) = \text{Προσφερόμενη τροφή (g)} - \text{Τροφή που δεν καταναλώθηκε (g)}$$

Η ημερήσια πρόσληψη της τροφής (D.F.I, Daily Food Intake, %/ημέρα) εκφράζει την ποσότητα της τροφής που καταναλώναν τα ψάρια καθημερινά και υπολογίζεται από τον τύπο:

$$D.F.I (\%/ημέρα) = 100 \times [(\text{Κατανάλωση τροφής} / \text{αύξηση βάρους}) / \text{ημέρες σίτισης}]$$

Ο συντελεστής απόδοσης πρωτεΐνης (P.E.R, Protein Efficiency Ratio) εκτιμά τη θρεπτική αξία των πρωτεϊνών και τον τρόπο με τον οποίο συμβάλλει η πρωτεΐνη στην αύξηση του σωματικού βάρους των ψαριών και υπολογίζεται από τον τύπο:

$$P.E.R = \text{Αύξηση βάρους (g)} / \text{πρωτεΐνη που προσφέρθηκε (g)}$$

Τα αποτελέσματα των αμινοξέων εκφράστηκαν ως η ποσοστιαία (%) περιεκτικότητα της πρωτεΐνης στην πειραματική δίαιτα και ως g/100g του προσδιοριζόμενου αμινοξέος. Ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) του κάθε απαραίτητου αμινοξέος (E.A.A) υπολογίστηκε από τον τύπο (Mente *et al.* 2002).

$$A/E=(\text{Απαραίτητο αμινοξύ/ολικά απαραίτητα αμινοξέα}) \times 100$$

Επίσης, στην παρούσα έρευνα ο λευκός μυς του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας χρησιμοποιήθηκε ως η πρωτεΐνη αναφοράς (των εμπορικών πειραματικών διαιτών) ακολουθώντας την υπόθεση ότι μια αποτελεσματική διαίτα θα πρέπει να περιέχει παρόμοιο προφίλ αμινοξέων προς εκείνο του πειραματικού ζώου (D'Abramo *et al.* 1997).

Γ. Υπολογισμός κατανάλωσης τροφής

Η χορηγούμενη ποσότητα σε υγρό βάρος τροφής στα πειραματικά ενυδρεία προζυγίζονταν με ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας (AXON) και αναλογούσε περίπου σε 22 σύμπηκτα ή αντίστοιχα 21 νιφάδες και κατεψυγμένη και συνδυασμός αυτών, τρεις φορές ημερησίως. Η συλλογή της μη καταναλωθείσας εναπομείνουσας τροφής γίνονταν με σιφωνισμό από τον πυθμένα των ενυδρείων, πριν από το τάισμα της επόμενης ημέρας, σε ειδικούς κωδικοποιημένους πλαστικούς δειγματοληπτικούς συλλεκτήρες. Στη συνέχεια, με πιπέτα τύπου paster και πριν τα δείγματα των υπολειμμάτων της τροφής τοποθετηθούν σε ειδικές πορσελάνινες κάψες, απομακρύνονταν τυχόν περιττώματα που συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια του σιφωνισμού της τροφής.

Ο διαχωρισμός των περιττωμάτων από τα υπολείμματα της τροφής έγινε μακροσκοπικά, με βάση το σχήμα και το χρωματισμό τους. Στη συνέχεια, οι κάψες (οι οποίες είχαν προζυγιστεί με ακρίβεια τέταρτου δεκαδικού ψηφίου), που περιείχαν την τροφή που δεν είχε καταναλωθεί, τοποθετούνταν σε φούρνο ξήρανσης στους 105° C για 24 h και στη συνέχεια επαναζυγίζονταν. Με αυτό τον τρόπο υπολογίστηκε η ξηρή ουσία (Ξ.Ο) της εναπομείνουσας τροφής. Για τον υπολογισμό της καταναλωθείσας

τροφής η ΞO της εναπομείνουσας τροφής αφαιρούνταν από την ξηρή ουσία της χορηγούμενης τροφής σύμφωνα με τον τύπο:

$$\text{FC(g)}_{\text{αγγελόψαρου/κιχλιδόζεμπρας}} = \Xi\text{O}_{\text{χορηγούμενης τροφής}} - \Xi\text{O}_{\text{εναπομείνουσας τροφής}}$$

Όπου:

$\Xi\text{O}_{\text{χορηγούμενης τροφής}}$ = Χορηγούμενη ποσότητα τροφής σε ξηρή ουσία αφαιρούμενου του ποσοστού υγρασίας.

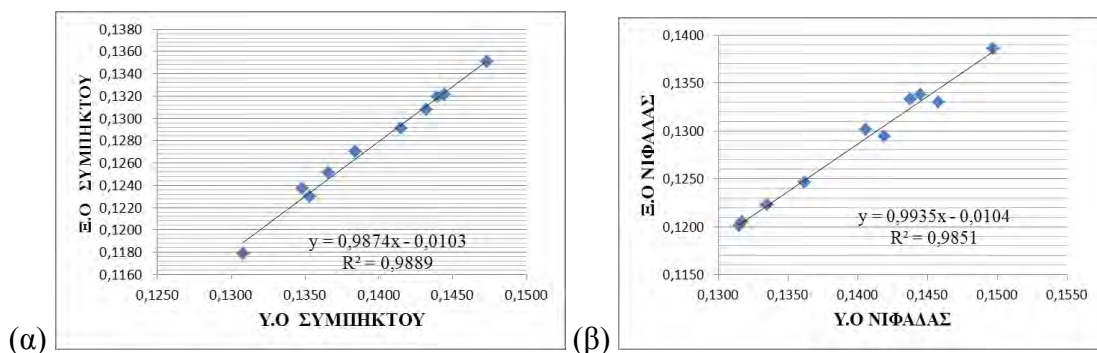
$\Xi\text{O}_{\text{εναπομείνουσας τροφής}}$ = Εναπομείνουσα ποσότητα τροφής στο ενυδρείο μετά από ξήρανση.

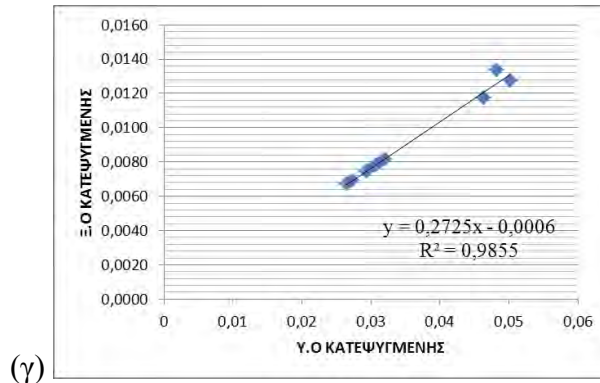
Η ΞO της χορηγούμενης τροφής υπολογίστηκε μέσω της γραμμικής συσχέτισης της ξηρής και υγρής ουσίας του συμπήκτου, της νιφάδας και της κατεψυγμένης τροφής, η οποία υπολογίστηκε από προζυγισμένες ποσότητες 10 συμπήκτων, 10 νιφάδων και 10 τεμαχίων κατεψυγμένης τροφής που αφέθηκαν σε φούρνο στους 105°C για 24 ώρες και επαναζυγίστηκαν. Οι σχέσεις μεταξύ ξηρής ουσίας (ΞO) και υγρής ουσίας (YO) συμπήκτου, νιφάδας και κατεψυγμένης τροφής αποτυπώνονται στο Σχήμα 2.4α,β,γ, και καθορίστηκαν μέσω γραμμικών συσχετίσεων ως εξής:

$$\Xi\text{O}_{\text{συμπήκτου}} (\text{g}) = 0,9874 \times \text{Y}\text{O}_{\text{συμπήκτου}} - 0,0103 \quad (R^2=0,99, n=10) \quad (\text{Σχ.2.2α})$$

$$\Xi\text{O}_{\text{νιφάδας}} (\text{g}) = 0,9935 \times \text{Y}\text{O}_{\text{νιφάδας}} - 0,0104 \quad (R^2=0,99, n=10) \quad (\text{Σχ.2.2β})$$

$$\Xi\text{O}_{\text{κατεψυγμένης}} (\text{g}) = 0,2725 \times \text{Y}\text{O}_{\text{κατεψυγμένης}} - 0,006 \quad (R^2=0,99, n=10) \quad (\text{Σχ.2.2γ})$$





Σχήμα 2.4: Γραμμική συσχέτιση της υγρής ουσίας και ξηρής ουσίας (α) συμπήκτου (β) νιφάδας και (γ) κατεψυγμένης τροφής.

Η σχέση ξηρής και υγρής ουσίας στο τρίτο γεύμα που ήταν ανάμειξη των δυο τροφών υπολογίστηκε με βάση τα ποσοστά χορήγησης σε κάθε γεύμα με τις προ-υπάρχουσες γραμμικές σχέσεις (50% για το σύμπηκτο και 50% για την κατεψυγμένη).

2.2.8.Χημικές αναλύσεις

Οι χημικές αναλύσεις που διενεργήθηκαν για να προσδιοριστεί στα δείγματα η θρεπτική σύσταση της διαίτας και των μυών έγιναν, με βάση τις μεθόδους που περιγράφονται από τον AOAC (1995).

A. Προσδιορισμός υγρασίας

Ο προσδιορισμός της υγρασίας στα δείγματα των τροφών και των ιστών των ψαριών περιλαμβάνει τα εξής στάδια (AOAC 1995):

1. Σε ζυγό ακριβείας, ζυγίζονται 2 g δείγματος.
2. Τα δείγματα τοποθετούνται σε πυραντήριο για 24 ώρες σε θερμοκρασία 105°C.

3. Στη συνέχεια τα δισκία με το ξηρό δείγμα απομακρύνθηκαν από το φούρνο και τοποθετήθηκαν σε ξηραντήριο για να ψυχθούν.

Ο υπολογισμός της ξηρής ουσίας-υγρασίας γίνεται σύμφωνα με τις σχέσεις:

$$W_{\text{ξηρού δείγματος (g)}} = W_{\text{δείγματος \& δισκίου \acute{\epsilon}\pi\epsilon\iota\tau\alpha \acute{\alpha}\pi\omicron \text{ 24 h στους } 105^{\circ} \text{ C (g)}} - W_{\text{δισκίου (g)}}$$

$$\text{\textbf{\textit{Ξηρά Ουσία (\%)}} = (W_{\text{ξηρού δείγματος (g)}} / W_{\text{αρχικού δείγματος (g)}}) \times 100$$

$$\text{\textbf{\textit{Υγρασία (\%)}} = [Υγρασία δείγματος (g) \times 100] / W_{\text{αρχικού δείγματος (g)}}$$

B. Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ουσιών.

Ο προσδιορισμός των ολικών αζωτούχων ενώσεων (ολικών πρωτεϊνών) των τροφών και των ιστών των ψαριών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl (Behr S4, Labor Technik) (AOAC 1995). Ο προσδιορισμός της πρωτεΐνης έγινε σε τρεις φάσεις (πέψη, απόσταξη, τιτλοδότηση). Τα βήματα που ακολουθήθηκαν κατά την πέψη ήταν τα εξής:

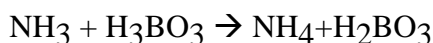
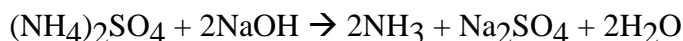
1. Σε ζυγό ακριβείας ζυγίζονταν 0,2g ξηρής ουσίας και ιστών ψαριών σε αλουμινόχαρτο, καταγράφοντας το βάρος τους με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων.
2. Τα δείγματα μεταφέρονταν σε ειδικές φιάλες βρασμού της συσκευής Kjeldahl για πέψη.
3. Στο σωλήνα πέψης τοποθετούνταν δυο ταμπλέτες καταλύτη (περιείχε 5gθειϊκού καλίου K_2SO_4 και 5 g ένυδρου θειϊκού χαλκού $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ για να επιταχυνθεί η αντίδραση) και 15 ml πυκνού θειϊκού οξέος (H_2SO_4) ώστε να πραγματοποιηθεί διάσπαση όλων των αζωτούχων ουσιών, απελευθερώνοντας άζωτο (N), το οποίο στη συνέχεια δεσμεύεται σε θειϊκό αμμώνιο $(NH_4)_2SO_4$, σύμφωνα με την χημική αντίδραση:



4. Οι φιάλες βρασμού τοποθετούνταν στην συσκευή πέψης η οποία ήταν τοποθετημένη σε απαγωγό και τα δείγματα αφέθηκαν να χωνευτούν στους 150°C για 85 min. Με το πέρας της πέψης τα δείγματα αφέθηκαν να ψυχθούν για περίπου 30 min, αφήνοντας σε λειτουργία την παγίδα αερίων και τον απαγωγό.

Κατά τη φάση της απόσταξης η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

1. Σε κωνική φιάλη 300ml προστίθεντο 2-5 σταγόνες δείκτη ερυθρού του μεθυλίου και 50 ml βορικού οξέος (H_2BO_3) η οποία χρησιμοποιήθηκε για τη δέσμευση του άζωτούχου προϊόντος της απόσταξης.
2. Στη συνέχεια, τα δείγματα τοποθετούνταν σε ειδική συσκευή απόσταξης, ενώ σε κάθε δείγμα προστέθηκαν αυτόματα από τη συσκευή 100ml αποσταγμένου νερού, 80 ml υδροξειδίου του νατρίου (NaOH). Τα δείγματα θερμαίνονταν και στο τέλος της διαδικασίας της απόσταξης (συνολικός χρόνος έξι λεπτών) το βορικό αμμώνιο συγκεντρώνονταν στη κωνική φιάλη.
3. Η διαδικασία απόσταξης περιγράφεται ως εξής: το θειικό αμμώνιο αντιδρά με το υδροξείδιο του νατρίου με αποτέλεσμα να αποδεσμεύεται αμμωνία (σε αέρια μορφή) και θειικό νάτριο. Η αμμωνία στη συνέχεια αντιδρά με βορικό οξύ και το άζωτο του δείγματος δεσμεύεται σε μορφή βορικού αμμωνίου, σύμφωνα με τις εξής αντιδράσεις:



4. Στη συνέχεια, το διάλυμα βορικού αμμωνίου τοποθετείτο σε μαγνητικό αναδευτήρα προκειμένου με τη βοήθεια ενός μαγνήτη να αναδευθεί και

τιτλοδοτείτο με HCl συγκέντρωσης 0,1N σύμφωνα με την αντίδραση:

$$\text{NH}_4 + \text{H}_2\text{BO}_3 + \text{HCl} \rightarrow (\text{NH}_4)\text{Cl} + \text{H}_3\text{BO}_3$$
 Η αλλαγή του χρώματος του διαλύματος σηματοδοτούσε και το τελικό σημείο της αντίδρασης.

Η συγκέντρωση των ιόντων υδρογόνου που απαιτείται για να καταλύσει την αντίδραση έως το τελικό σημείο, ισοδυναμεί με τη συγκέντρωση του αζώτου που περιέχει το δείγμα. Η περιεκτικότητα του δείγματος σε άζωτο (N%) υπολογίστηκε από την παρακάτω σχέση:

$$\text{N\%} = \frac{(\text{mlHCl} - \text{mlBlank}) \times \text{N}_{\delta/\tau\omicron\varsigma\text{HCl}} \times 0,014007}{\text{Βάρος Δείγματος (g)}} \times 100$$

Όπου: ml Blank= η τιτλοδότηση κενής φιάλης (χωρίς δείγμα), η οποία χρησιμοποιείται ως συντελεστής διόρθωσης.

Τέλος από την παραπάνω σχέση και λαμβάνοντας υπόψη ότι οι πρωτεΐνες περιέχουν 16%N, είναι δυνατό να υπολογιστεί η περιεχόμενη πρωτεΐνη του κάθε δείγματος σύμφωνα με τον τύπο: Πρωτεΐνη (%) = N (%) x 6,25.

Γ. Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών των δειγμάτων των τροφών και των ιστών των ψαριών έγινε με τη μέθοδο εκχύλισης ολικών λιπιδίων κατά Soxhlet με πετρελαϊκό αιθέρα (40-60°C) σε μηχάνημα Soxtec System HT6 (Soxtherm, Gerhard, Sox 416 macro), (AOAC 1995).

Τα βήματα που ακολουθήθηκαν για τον προσδιορισμό του λίπους ήταν τα εξής:

1. Σε ζυγό ακριβείας ζυγίσθηκε 1g ξηράς ουσίας και τοποθετήθηκε σε ειδικό χάρτινο ηθμό τύπου whatman.

2. Στα γυάλινα δοχεία εκχύλισης προστέθηκαν 3-4 πέτρες βρασμού, το μικτό βάρος των οποίων προζυγίστηκε σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων.
3. Ο ηθμός με το δείγμα μεταφέρθηκε και τοποθετήθηκε στην προζυγισμένη υάλινη φιάλη.
4. Σε κάθε δοχείο εκχύλισης προστέθηκαν 150 ml πετρελαϊκού αιθέρα με τη βοήθεια ενός ογκομετρικού κυλίνδρου, ενώ το χάρτινο δοχείο ηθμού καλύφθηκε με βαμβάκι για την αποφυγή εκτίναξης του δείγματος κατά τη διάρκεια του βρασμού.
5. Τα γυάλινα δοχεία εκχύλισης με τα δείγματα μεταφέρθηκαν στην ειδική συσκευή εκχύλισης λιπαρών ουσιών (συσκευή Soxhlet).
6. Η διαδικασία εκχύλισης περιλάμβανε τα εξής στάδια:
 - Θέρμανση δειγμάτων στους 150°C με παρουσία πετρελαϊκού αιθέρα για 30 min, όπου έλαβε χώρα το πρώτο στάδιο της εκχύλισης. Στη συνέχεια, ο οργανικός διαλύτης απορροφήθηκε και εκπλύνθηκε στο δείγμα για 1,5 ώρες.
 - Ο διαλύτης απορροφήθηκε για 15 min με αποτέλεσμα τα ολικά λιπίδια του δείγματος να παραμείνουν στον πάτο του δοχείου εκχύλισης.
7. Μετά το πέρας της εκχύλισης, τα δοχεία με τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε φούρνο στους 65°C για μισή ώρα προκειμένου να εξατμιστεί εντελώς ο πετρελαϊκός αιθέρας που τυχόν παρέμεινε στο δείγμα.
8. Τα δοχεία εκχύλισης μεταφέρθηκαν σε ξηραντήρα για μια ώρα περίπου ώστε να ψυχθούν.

9. Το χάρτινο δοχείο ηθμού που περιείχε το απολιπασμένο δείγμα απομακρύνθηκε, ενώ τα γυάλινα δοχεία εκχύλισης (που περιείχαν και τις πέτρες βρασμού) επαναζυγίστηκαν.

Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε ολικά λιπίδια προσδιορίστηκε από τη σχέση:

$$\text{Ολικά λιπίδια (\%)} = [\text{τελικό βάρος δοχείου εκχύλισης (g)} - \text{αρχικό βάρος δοχείου (g)}] \times 100 / \text{βάρος δείγματος}$$

Δ. Προσδιορισμός τέφρας

Ο προσδιορισμός της τέφρας των δειγμάτων των τροφών και των ιστών των ψαριών έγινε με την τοποθέτηση των δειγμάτων σε αποτεφρωτήρα για 3 ώρες στους 600°C, (AOAC 1995). Τα βήματα που ακολουθήθηκαν για τον προσδιορισμό της τέφρας ήταν ως εξής:

1. Σε προζυγισμένα πορσελάνινα δοχεία τοποθετήθηκε 1g ξηρής ουσίας δείγματος από κάθε σιτηρέσιο και ιστό ψαριού χωριστά.
2. Οι κάψες πορσελάνης μεταφέρθηκαν στον αποτεφρωτήρα για διάστημα 3 ωρών στους 600°C.
3. Μετά την αποτέφρωση, τα δισκία μεταφέρθηκαν και τοποθετήθηκαν σε ξηραντήριο και επαναζυγίστηκαν.

Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε ολική ανόργανη ουσία υπολογίστηκε από τη σχέση:

$$W_{\text{αποτεφρωμένου δείγματος (g)}} = W_{\text{μικτού αποτεφρωμένου δείγματος (g) \& δισκίου (g)}} - W_{\text{δισκίου (g)}}$$

$$\text{Τέφρα (\%)} = [W_{\text{αποτεφρωμένου δείγματος (g)}} / W_{\text{αρχικού δείγματος (g)}}] \times 100$$

E. Προσδιορισμός υδατανθράκων

Οι υδατάνθρακες στα δείγματα των τροφών και των ιστών των ψαριών εκτιμήθηκαν από την ακόλουθη σχέση (Tacon 1990):

$$\text{Υδατάνθρακες} = 100 - (\text{ολικές πρωτεΐνες} + \text{ολικά λιπίδια} + \text{τέφρα})$$

ΣΤ. Προσδιορισμός ενέργειας

Η ενέργεια στις τροφές υπολογίστηκε με ένα αδιαβατικό θερμιδόμετρο (adiabatic bomb calorimeter), (AOAC 1995). Η αρχή λειτουργίας του θερμιδόμετρου βασίζεται στην μέτρηση της εκλυόμενης θερμότητας από την πλήρη καύση ενός καυσίμου σε περιβάλλον οξυγόνου.

1. 1 g δείγματος ζυγίζεται σε χωνευτήριο, και τοποθετείται μέσα σε ένα δοχείο από ανοξείδωτο χάλυβα και πληρώνεται με 30 bar οξυγόνο.
2. Κατά τη διάρκεια της καύσης, η θερμοκρασία στο χωνευτήριο φθάνει μέχρι 1000°C και η πίεση αυξάνεται κατά προσέγγιση στα 200 bar. Στη συνέχεια γίνεται καύση πρότυπης ουσίας (βενζοϊκό οξύ) γνωστής θερμότητα καύσης, ώστε να προσδιοριστεί η θερμική ικανότητα του νερού, του θερμιδόμετρου και του δοχείου (θερμοχωρητικότητα του οργάνου).
3. Το ξηρό βενζοϊκό οξύ τοποθετείται σε ειδική πρέσα και μετατρέπεται σε ταμπλέτα της οποίας το βάρος προσδιορίζεται με ακρίβεια 0,1mg ώστε να μην ξεπερνά το 1,2g.
4. Στη συνέχεια τοποθετείται στην ειδική υποδοχή της οβίδας δημιουργώντας κύκλωμα με τη βοήθεια ενός λεπτού σύρματος, η οβίδα κλείνει ερμητικά,

γεμίζει με οξυγόνο (O_2) 20At και τοποθετείται στο εσωτερικό δοχείο του θερμιδομέτρου.

5. Το όργανο κλείνει και αρχίζει η διαδικασία αποκατάστασης της θερμικής ισορροπίας μεταξύ του νερού στο εσωτερικό δοχείο και αυτού που βρίσκεται στον εξωτερικό μανδύα.
6. Μετά τη σταθεροποίηση των δύο θερμοκρασιών προκαλείται η ηλεκτρική εκκένωση στο εσωτερικό της οβίδας με αποτέλεσμα την πλήρη καύση της ταμπλέτας στην ατμόσφαιρα οξυγόνου και την απελευθέρωση θερμότητας. (προκαλείται αύξηση της θερμοκρασίας στο θερμιδόμετρο οπότε αυξάνεται και η θερμοκρασία του νερού που το περιβάλλει).
7. Η θερμοκρασία του εξωτερικού μανδύα του οργάνου αυξάνεται προκειμένου η καύση να είναι αδιαβατική και να μην υπάρχει ροή θερμότητας προς το εξωτερικό περιβάλλον. Μετά από μερικά λεπτά αποκαθίσταται μια νέα θερμοκρασιακή ισορροπία η οποία είναι και η ένδειξη της ολοκλήρωσης της καύσης του δείγματος.

Η Θερμότητα Καύσης (Q , Kcal/g) υπολογίζεται από τη σχέση:

$$Q=K (Kcal/^{\circ}C)\times\Delta\theta (^{\circ}C)/\text{Βάρος δείγματος (g)}$$

Όπου:

K = η Θερμοχωρητικότητα του οργάνου και

$\Delta\theta= \theta_2-\theta_1$ = ανύψωση θερμοκρασίας στο εσωτερικό δοχείο που περιέχεται το θερμιδόμετρο

Η θερμοχωρητικότητα του οργάνου υπολογίζεται από τη σχέση

$$K=6,321 (Kcal/g)\times \text{βάρος δείγματος (g)}/\Delta\theta(^{\circ}C)$$

Η Θερμότητα Καύσης υπολογίζεται αρχικά σε Kcal/g λυοφιλιωμένου δείγματος και στη συνέχεια ανάγεται σε Kcal/g νωπού δείγματος αφού προσδιορίστηκαν τα ποσοστά υγρασίας του νωπού και του αντίστοιχου λυοφιλιωμένου δείγματος.

Z. Προσδιορισμός αμινοξέων

Ο προσδιορισμός των αμινοξέων στις τροφές και στους ιστούς των ψαριών έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στους Lyndon *et al.* (1993) και Mente *et al.* (2002). Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε αναλυτής αμινοξέων (Applied Biosystems 420^A). Με τη μέθοδο αυτή, η κυστεΐνη ήταν σε ποσοστό 20-30% και ως εκ τούτου δεν ήταν ποσοτική. Στη συνέχεια ακολούθησε έλεγχος της διαλυτότητας των αμινοξέων σε αιθανόλη 95%. Σύμφωνα με την αρχή της μεθόδου τα βήματα που ακολουθήθηκαν για τον προσδιορισμό των ελεύθερων αμινοξέων ήταν ως εξής:

1. Λήψη δείγματος 200 mg, από το μυ της ουράς και ολόκληρο το σώμα του ψαριού.
2. Ομογενοποίηση σε 4 ml αιθανόλης προσθέτοντας επιπλέον 100 μl νορλευκίνης (2.5 μmol ml⁻¹).
3. Φυγοκέντρηση έως ότου κατακαθίσουν οι πρωτεΐνες.
4. Λήψη του υπερκείμενου υγρού ώστε να μετρηθεί η σύνθεση των αμινοξέων. Δείγμα των 100 μl, ξηραίνεται σε κενό ώστε να ανασυσταθεί σε 100 μl 0,1 mol l⁻¹ HCL. Στη συνέχεια το δείγμα διηθήθηκε, ενώ για την ανάλυση των αμινοξέων λήφθηκαν 5 ml δείγματος.

Για τη μέτρηση των αμινοξέων στις τροφές ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία:

1. Λήψη δείγματος 200 mg

2. Ομογενοποίηση σε 1 ml PCA
3. Φυγοκέντρηση έως ότου κατακαθίσουν οι πρωτεΐνες
4. Λήψη ιζήματος με 6 ml 6M HCl
5. Θέρμανση στους 110°C για 18 ώρες και μέτρηση αμινοξέων σε συσκευή HPLC.

2.3. Επίδραση της πρωτεϊνικής πηγής του σιτηρεσίου στην ανάπτυξη και επιβίωση του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας

2.3.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Για τη μελέτη της επίδρασης της πρωτεϊνικής πηγής του σιτηρεσίου στην ανάπτυξη και επιβίωση του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας καταρτίστηκαν και παρασκευάστηκαν 3 σιτηρέσια που διέφεραν ως προς την πηγή της διαιτητικής πρωτεΐνης: φυτική πρωτεΐνη, ζωϊκή πρωτεΐνη και ανάμιξη φυτικής και ζωϊκής πρωτεΐνης (πειράματα 7 και 8).

2.3.2. Συνθήκες εκτροφής και πειραματικά ψάρια

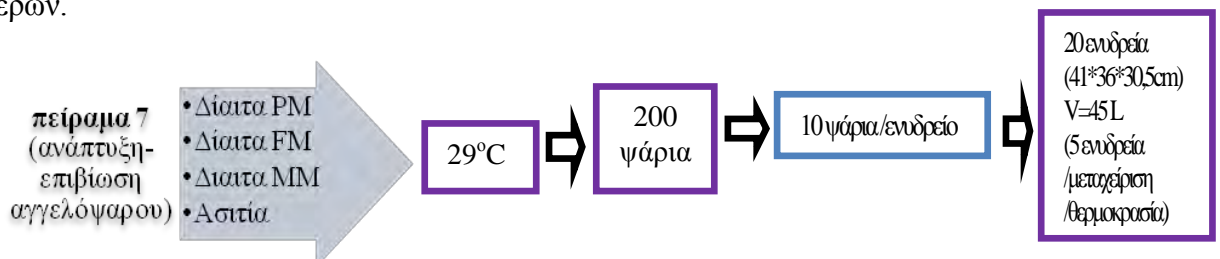
Για τις ανάγκες του πειράματος, χρησιμοποιήθηκαν προνύμφες των μελετηθέντων ειδών που προήλθαν από ώριμα θηλυκά άτομα που διατηρούνταν σε συνθήκες αιχμαλωσίας στο εργαστήριο και αναπαράχθηκαν (βλέπε § 2.1.1). Οι συνθήκες εκτροφής από το στάδιο απορρόφησης του λεκιθικού σάκου μέχρι την 30^η ημέρα για το αγγελόψαρο και την κιχλιδόζεμπρα περιγράφονται στην ενότητα § 2.2.2.

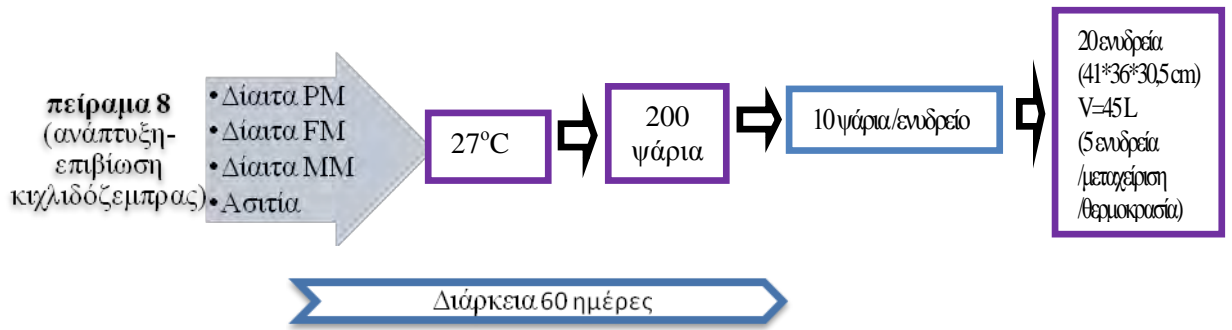
Η ρύθμιση της θερμοκρασίας στις ακραίες τιμές του βέλτιστου θερμοκρασιακού εύρους ανάπτυξης και για τα δυο είδη ψαριών περιγράφεται στην ενότητα § 2.1.1.

Τα ψάρια που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ανάπτυξης και επιβίωσης (πείραμα 7 & 8) του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας μεταφέρθηκαν συνολικά σε 40 πειραματικά ενυδρεία και διαχωρίστηκαν σε 4 μεταχειρίσεις {ομάδα φυτικής πρωτεΐνης (PM, plant meal), ομάδα ανάμεικτης τροφής (MM, mixed meal), ομάδα ζωικής πρωτεΐνης (FM, fish meal), ομάδα ασιτίας} (Σχ. 2.5). Το αγγελόψαρο διατηρήθηκε στους 29 °C και η κιχλιδόζεμπρα στους 27 °C.

Για τις ανάγκες του πειράματος επτά, χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 200 αγγελόψαρα, μέσου βάρους (W_i) $0,59 \pm 0,01$ g και μέσου μήκους (L_i) $3,2 \pm 0,07$ cm εκ των οποίων τα 150 αγγελόψαρα χρησιμοποιήθηκαν για τις τρεις διατροφικές μεταχειρίσεις (50 ψάρια/ μεταχείριση) και τοποθετήθηκαν σε 15 ενυδρεία (10 ψάρια/ενυδρείο/μεταχείριση) με τις επαναλήψεις τους (4 επαναλήψεις/μεταχείριση). Τα υπόλοιπα 50 αγγελόψαρα παρόμοιου μεγέθους διατηρήθηκαν σε συνθήκες ασιτίας και τοποθετήθηκαν σε 5 ενυδρεία (10 ψάρια/ενυδρείο) με τις επαναλήψεις τους.

Επίσης 150 κιχλιδόζεμπρες μέσου βάρους (W_i) $0,29 \pm 0,03$ g και μέσου μήκους (L_i) $2,2 \pm 0,00$ cm (πείραμα 8) τοποθετήθηκαν σε 15 ενυδρεία (10 ψάρια/ενυδρείο/δίαιτα) με τις επαναλήψεις τους (4 επαναλήψεις/μεταχείριση). Μια ομάδα 50 άτομων κιχλιδόζεμπρας παρόμοιου μεγέθους τοποθετήθηκε σε πέντε ενυδρεία (10 ψάρια/ενυδρείο) και διατηρήθηκε σε συνθήκες ασιτίας για διάστημα 60 ημερών.





Σχήμα 2.5: Πειραματικός σχεδιασμός για την ανάπτυξη και επιβίωση του αγγελόψαρου στους 29°C (πειράμα 7) και για την κιχλιδόζεμπρα στους 27°C (πειράμα 8) με τις επαναλήψεις τους διάρκειας 60 ημερών.

Επίσης 150 κιχλιδόζεμπρες μέσου βάρους (W_i) $0,29 \pm 0,03$ g και μέσου μήκους (L_i) $2,2 \pm 0,00$ cm (πειράμα 8) τοποθετήθηκαν σε 15 ενυδρεία (10 ψάρια/ενυδρείο/δίαιτα) με τις επαναλήψεις τους (4 επαναλήψεις/μεταχείριση). Μια ομάδα 50 άτομων κιχλιδόζεμπρας παρόμοιου μεγέθους τοποθετήθηκε σε πέντε ενυδρεία (10 ψάρια/ενυδρείο) και διατηρήθηκε σε συνθήκες ασιτίας για διάστημα 60 ημερών.

2.3.3. Πειραματικά σιτηρέσια

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων καταρτίστηκαν 3 σιτηρέσια που διέφεραν ως προς την πηγή της διαιτητικής πρωτεΐνης: φυτική πρωτεΐνη, ζωϊκή πρωτεΐνη και ανάμιξη φυτικής και ζωϊκής πρωτεΐνης, τα οποία ήταν ισοπρωτεϊνικά (47-49%), ισολιπιδιακά (10,5-11,5%) και ισοενεργειακά (22,9-23,9 Mj/Kg) 9 (Πιν. 2.11).

Το κύριο συστατικό που διαμόρφωσε το ποσοστό της πρωτεΐνης στην φυτική τροφή (PM), είναι η γλουτένη αραβοσίτου, η οποία είναι πλούσια πηγή φυτικής πρωτεΐνης (60%) πλούσια σε απαραίτητα αμινοξέα, βιταμίνες και ανόργανα στοιχεία, ενώ το άλευρο σίτου χρησιμοποιήθηκε ως συμπληρωματική πηγή ενέργειας. Ως

δευτερεύουσα πηγή φυτικής πρωτεΐνης χρησιμοποιήθηκε spirulina σε αποξηραμένη μορφή, η οποία είναι επίσης πλούσια σε απαραίτητα λιπαρά οξέα, ανόργανα στοιχεία, βιταμίνες, χλωροφύλλη και καροτενοειδή που προσδίδουν τον απαραίτητο εξωτερικό χρωματισμό των εκτρεφόμενων ιχθυδίων και λειτουργούν ως αντιοξειδωτικές ουσίες (Ashan *et al.* 2008).

Επιπλέον, ως κύρια πηγή ενέργειας και παροχής των απαραίτητων ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στην τροφή συμπεριλήφθηκε το ιχθυέλαιο (Αδαμίδου & Νέγκας 2011). Το σπανάκι σε ξηρή μορφή χρησιμοποιήθηκε ως πηγή ινωδών ουσιών, Ca, K, Fe, ασκορβικού οξέος και β-καροτίνης που χρησιμοποιείται στον χρωματισμό των ψαριών (Πιν. 2.11) (Kutti & Kutti 1999).

Ομοίως, το βασικό συστατικό που διαμόρφωσε το ποσοστό της πρωτεΐνης στην τροφή ζωικής προέλευσης (FM), ήταν το ιχθυάλευρο, το οποίο είναι εξαιρετική πηγή ζωικής πρωτεΐνης πλούσια σε απαραίτητα αμινοξέα, βιταμίνες και ανόργανα στοιχεία, ενώ τα άλευρα σίτου και αραβοσίτου χρησιμοποιήθηκαν ως συμπληρωματικές πηγές ενέργειας (Πιν. 2.11). Σε ότι αφορά την ανάμεικτη τροφή (MM), αυτή καταρτίστηκε χρησιμοποιώντας τα μέσα ποσοστά χορήγησης των συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν στα σιτηρέσια PM και FM διατηρώντας τη θρεπτική τους σύσταση ισοπρωτεϊνική, ισολιπιδιακή και ισοενεργειακή με τα άλλα δυο σιτηρέσια (Πιν. 2.11).

Στα πειραματικά σιτηρέσια προκειμένου να διασφαλιστεί η κάλυψη των απαιτήσεων των ψαριών σε βιταμίνες και ανόργανα στοιχεία, προστέθηκε σε ποσοστό 1% επί του σιτηρεσίου πρόμιγμα βιταμινών και ανόργανων στοιχείων. Οι απαιτήσεις σε βιταμίνες και ανόργανα στοιχεία για το αγγελόψαρο και την κιχλιδοζεμπρα δεν έχουν προσδιορισθεί ακόμη, και για το λόγο χρησιμοποιήθηκε το κοινό εμπορικό πρόμιγμα που προστίθεται σε σιτηρέσια τσιπούρας και λαβρακιού. Επίσης, προκειμένου να

διασφαλισθεί η ικανοποίηση των αναγκών σε ασβέστιο και φωσφόρο προστέθηκε μονωσφορικό μονοασβέστιο (monocalcium phosphite, MCP) σε ποσοστό 2% επί του σιτηρεσίου (Παπουτσόγλου 2008, Αδαμίδου & Νέγκας 2011). Η συνεκτικότητα των τροφών κατά την πελετοποίηση διασφαλίστηκε με την προσθήκη συγκολλητικής ουσίας σε ποσοστό 1,0% επί του σιτηρεσίου.

Η χορήγηση των πειραματικών τροφών γίνονταν με το χέρι σε ποσοστό 5% του σωματικού τους βάρους (Soriano-Salazar & Hernández-Ocampo 2002, Perez *et al.* 2003) τρεις φορές ημερησίως στις 9:00, 13:00 και 17:00 για διάστημα 60 ημερών.

Πίνακας 2.11:Συστατικά και χημική σύσταση των πειραματικών σιτηρεσίων (% της τροφής).

	Φυτική (PM)	Ιχθυάλευρο (FM)	Ανάμεικτη (MM)
<i>Συστατικά (%)</i>			
Σιτάρι, άλευρο	18,5	20,5	19,5
Καλαμπόκι, άλευρο	0,0	10,0	5,0
Ιχθυάλευρο	0,0	61,0	30,5
Γλουτένη καλαμποκιού	46,0	0,0	23,0
Ιχθυέλαιο ¹	10,0	4,5	7,25
Spirulina	21,0	0,0	10,5
Σπανάκι ξηρό	0,5	0,0	0,25
Βιταμίνες & ανόργανα στοιχεία (προμίγμα) ⁵	1,0	1,0	1,0
Φωσφορικό μονοασβέστιο	2,0	2,0	2,0
Συγκολλητική ουσία	1,0	1,0	1,0
Σύνολο	100,0	100,0	100,0
<i>Χημική σύσταση (%)</i>			
Ολικές αζωτούχες ουσίες	47,65±3,67 ^a	49,34±1,15 ^a	49,20±1,10 ^a
Ολικές λιπαρές ουσίες	11,34±0,72 ^a	10,69±0,12 ^a	11,25±0,23 ^a
Τέφρα	5,50±0,13 ^a	9,60±0,22 ^b	7,33±0,24 ^c
Ινώδεις ουσίες ²	2,49	0,92	1,70
Υδατάνθρακες ³	28,28±3,18 ^a	22,86±0,88 ^a	24,97±1,71 ^a
Υγρασία	7,14±0,68 ^a	7,36±0,68 ^a	7,28±0,83 ^a
Ενέργεια (Mj/Kg) ⁴	23,93±0,24	22,92±0,23	23,57±0,16

¹Το ιχθυέλαιο προέρχονταν από έλαια σολομού και σαρδέλας (50:50) και περιείχε 21% ω-3 λιπαρά οξέα.

²Οι ινώδεις ουσίες εκτιμήθηκαν βάσει των περιεκτικοτήτων των διαφόρων συστατικών σύμφωνα με γνωστές συγκεντρώσεις (NCR 1993).

³ Το ποσοστό των υδατανθράκων εκτιμήθηκε με αφαίρεση από το 100 του συνόλου των ποσοστών πρωτεΐνης, λιπιδίων και τέφρας.

⁴Η ολική ενέργεια υπολογίστηκε ως άθροισμα των επιμέρους ολικών ενεργειών που προσφέρει κάθε θρεπτικό συστατικό λαμβάνοντας υπ' όψη τους συντελεστές 5,64, 9,44 και 4,11 για τις πρωτεΐνες, τα λιπίδια και τους υδατάνθρακες, αντίστοιχα.

⁵Συστατικά βιταμινών και ανόργανων στοιχείων του προμείγματος (ανά Kg μείγματος) Βιταμίνες: E:58,3 g, K₃: 3,3 g, B₁:3,3 g, B₂:6,6 g, B₆:3,3 mg, B₁₂:10 mg, φολικό οξύ: 3,3 g, Βιοτίνη: 100 mg, Βιταμίνη C: 33,3 g, Νικοτινικό οξύ:16,6 g, Παντοθενικό οξύ:13,3 g. Ανόργανα στοιχεία: Co:170 mg, Ιώδιούχο ασβέστιο (Ca(IO₃)₂): 248 mg, Οξείδιο του Μαγγάνιου (MnO):10 g, Οξείδιο του Ψευδάργυρου (ZnO):33 g, Ασβέστιο Ca:235 g, Σεληνιώδες νάτριο (Na₂SeO₃): 2,5 mg-247,5 mg.

²Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσες τιμές±Τ.Α τριών επαναλήψεων. Οι μέσες τιμές στις στήλες με τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές(ANOVA, P>0,05).

2.4. Έρευνα για τη δομή κοινοτήτων βακτηριοπλαγκτού σε ενυδρεία εκτρεφόμενων διακοσμητικών ψαριών με το είδος *Pterophyllum scalare* και το *Archocentrus nigrofasciatus*

2.4.1. Συνθήκες εκτροφής

Μια ομάδα 20 αγγελόψαρων, μέσου αρχικού βάρους (W_i) $1,10 \pm 0,5$ g και 20 κιχλιδόζεμπρες μέσου αρχικού βάρους (W_i) $1,11 \pm 0,11$ g, επιλέχθηκαν και μεταφέρθηκαν σε τέσσερα υάλινα ενυδρεία (10 ψάρια ανά ενυδρείο), χωρητικότητας 45 L, τα οποία πληρώθηκαν με γλυκό νερό. Το κάθε ενυδρείο είχε αυτόνομο βιολογικό φίλτρο βυθού.

Η χορήγηση των εμπορικών τροφών (σύμπηκτα και νιφάδες) γινόταν με το χέρι για διάστημα 60 ημερών. Το επίπεδο διατροφής ήταν 5% του σωματικού τους βάρους και επαναπροσδιορίζονταν κάθε δύο εβδομάδες. Ο αριθμός των ημερησίων γευμάτων ήταν τρία, με τη χορήγηση του πρώτου γεύματος στις 9:00 το πρωί, του δευτέρου στις 13:00 και του τελευταίου το απόγευμα στις 17:00. Σε κάθε ενυδρείο σε ημερήσια βάση τα υπολείμματα της τροφής απομακρύνονταν με σιφωνισμό. Το μέσο βάρος των ψαριών στο τέλος του πειράματος ανάπτυξης ήταν 2 g χωρίς σημαντικές στατιστικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,05$).

Κατά τη διάρκεια του πειράματος, η θερμοκρασία του νερού διατηρήθηκε στους 29 °C και 27 °C, που είναι οι βέλτιστες θερμοκρασίες ανάπτυξης για το αγγελόψαρο και τη κιχλιδόζεμπρα, αντίστοιχα. Η θερμοκρασία διατηρήθηκε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου εκτροφής με τη χρήση θερμαντικών σωμάτων τιτανίου που βρισκόταν στην κεντρική δεξαμενή (όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο υλικά και μέθοδοι 2.2, 2.3). Με την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας τα ενυδρεία αφήθηκαν για 24 h να λειτουργήσουν επιτρέποντας κάθε ίχνος χλωρίου να εξατμιστεί.

Μία με δύο ημέρες αργότερα, προστέθηκαν περίπου 50×10^6 κύτταρα νιτροποίησης και απονιτροποίησης (Biodigest Probio, France). Ο αριθμός των κυττάρων ήταν χαμηλότερος σε σύγκριση με τις προυπάρχουσες καταμετρήσεις κυττάρων. Η προσθήκη κατά τις πρώτες τρεις ημέρες των κυττάρων 50×10^6 σε 45 L νερού ισούται με περίπου 1111 κύτταρα ml^{-1} . Τη 2^η ημέρα η βακτηριακή αφθονία ήταν μεταξύ περίπου 2,4 και 5,3 $\times 10^6$ κύτταρα ml^{-1} και την 5^η ημέρα ήταν περίπου 1,2 και 4,3 $\times 10^6$ κύτταρα ml^{-1} , το οποίο καθιστά μάλλον αμελητέα τα 1111 εισαγμένα κύτταρα. Οι δεξαμενές αποστειρώθηκαν κατά την έναρξη του πειράματος, όμως, οι παραπάνω καταμετρήσεις των κυττάρων που έγιναν, ήταν στο αρχικό νερό βρύσης που χρησιμοποιήθηκε για αυτά τα πειράματα εκτροφής.

2.4.2. Βακτηριακή αφθονία και ποικιλομορφία

Η βακτηριακή κυτταρική αφθονία και η ποικιλομορφία του 16S rRNA γονιδίου διερευνήθηκαν κατά την έναρξη (ημέρα 0), τη μέση (ημέρα 30) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 60) της περιόδου εκτροφής για κάθε είδος από μια δεξαμενή για κάθε ένα από τα είδη. Για τη διερεύνηση της ποικιλότητας του βακτηριοπλαγκτού,

λήφθηκε δείγμα μόνο από μία δεξαμενή για κάθε είδος προκειμένου να μην διαταραχθεί το κύριο πείραμα εκτροφής (π.χ. μείωση της στάθμης του νερού, πιθανή μόλυνση της δεξαμενής νερού κατά το χειρισμό, κλπ.) και θα μπορούσε να επηρεάσει τα πραγματικά αποτελέσματα ανάπτυξης των ψαριών. Από κάθε δεξαμενή εκτροφής, 50 ml νερού μονιμοποιήθηκαν σε τελική συγκέντρωση φορμαλδεΰδης 2% και φυλάσσονταν στους 4°C στο σκοτάδι. Ένα υπό-δείγμα των 10-15 ml διηθήθηκε σε μαύρα φίλτρα Nuclepore (μέγεθος πόρων 0,2 μm) και χρωματίστηκε με DAPI (4',6-διαμιδινο-2-φαινυλινδόλη). Μετά την τοποθέτηση των φίλτρων σε γυάλινες αντικειμενοφόρες πλάκες, τα κύτταρα μετρήθηκαν σε μικροσκόπιο επιφθορισμού Axiostar (Zeiss) σε μεγέθυνση 1.000 x (Porter & Feig, 1980) υπό υπεριώδες φως. Οι καταμετρήσεις DAPI έγιναν τρεις φορές για κάθε χρονικό σημείο δειγματοληψίας από την ίδια δεξαμενή και ο συντελεστής διακύμανσης ήταν πάντοτε μικρότερος από 10%. Παράλληλα, 1-2 L νερού διηθήθηκαν σε πολυανθρακικά φίλτρα διάμετρου 47 mm 0,2 μm μεγέθους πόρων (Millipore, USA) υπό χαμηλή πίεση κενού (≤ 150 mm Hg) και τα φίλτρα αποθηκευτήκαν στους -80°C. Η εκχύλιση του DNA έγινε χρησιμοποιώντας το εμπορικό κιτ UltraClean Soil DNA (MoBio Laboratories, USA) σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή μετά το διαχωρισμό των φίλτρων με αποστειρωμένο νυστέρι. Οι συγκεντρώσεις DNA κυμαινόταν από 7,6 έως 17,8 ng μl⁻¹ (A260/A280 αναλογίες 1,87-2,13). Για την ανίχνευση των 16S rDNA βακτηριακών γονιδίων χρησιμοποιήθηκαν οι εκκινητές GM3 (5'-AGAGT TTGATCMTGGC-3') (Muyzer *et al.* 1995) και 1390r (5'-TGTACACACCGCCCGTC-3') ή GM4 (5'-TACCTT GTTACGACTT-3') (Lane *et al.* 1991). Οι συνθήκες της PCR περιλάμβαναν ένα min στους 94°C 25-29 κύκλους με 45 sec στους 94°C, 45 sec στους 44 °C και 2 min στους 72°C και ένα τελικό στάδιο επιμήκυνσης με 7 min στους 72 °C

Ο αριθμός των κύκλων προσδιορίστηκε για κάθε δείγμα μετά από βελτιστοποίηση του αριθμού των κύκλων PCR. Οι αναλύσεις PCR επαναλήφθηκαν με διαφορετικούς αριθμούς κύκλων PCR και ο χαμηλότερος αριθμός κύκλων που έδωσε θετικό αποτέλεσμα χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια για την κλωνοποίηση και τον προσδιορισμό αλληλουχίας, ώστε να ελαττωθεί σημαντικά η διαφορική αντιπροσώπευση των γονιδίων του rDNA 16S με χαμηλό και υψηλό αριθμό αντιγράφων (Spiegelman *et al.* 2005).

Τα αποτελέσματα της PCR οπτικοποιήθηκαν σε ένα πήκτωμα με 1% αγαρόζη υπό υπεριώδες φως, οι ζώνες αποκόπηκαν και τα προϊόντα της PCR εκχυλίστηκαν με τη χρήση του PureLink Gel Extraction Kit Quick (Invitrogen Corporation, USA) με βάση το πρωτόκολλο του κατασκευαστή. Τα προϊόντα της PCR κλωνοποιήθηκαν με τη χρήση του TOPO TA (Invitrogen Corporation, USA), για να γίνει η αλληλουχία τους με το κιτ κλωνοποίησης και των ηλεκτροϊκανών κυττάρων σύμφωνα με τις προδιαγραφές του κατασκευαστή. Για κάθε δείγμα και για κάθε γονίδιο, αναλύθηκαν τυχαία επιλεγμένοι κλώνοι με ένθετα του αναμενόμενου μήκους. Οι κλώνοι αναπτύχθηκαν σε υγρό μέσο LB με καναμυκίνη και τα πλασμίδια τους καθαρίστηκαν με τη χρήση του κιτ NucleoSpin Plasmid QuickPure (Macherey -Nagel GmbH & Co, KG, Γερμανία) για τον προσδιορισμό της αλληλουχίας DNA.

2.4.3. Αλληλουχία και φυλογενετική ανάλυση

Τα δεδομένα αλληλουχίας λήφθηκαν από την Macrogen Inc. (Νότια Κορέα) με τη χρήση τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης και του κιτ BigDye Terminator (Applied Biosystems Inc., USA) με τους εκκινητές M13F (-20) και M13R. Κάθε ανάγνωση αλληλουχίας ήταν περίπου 900 bp και για κάθε μεμονωμένο κλώνο, συνδυάστηκαν οι

5'→3' και 3'→5' αναγνώσεις. Ο συνδυασμός μεταξύ των αλληλουχιών ελέγχθηκε μέσω της σύγκρισης των γειτονικών σημείων στην ένωση τους, που αποτελούνται από το πρώτο και το δεύτερο μισό όλων των αλληλουχιών. Οι αλληλουχίες με διαφορετικές ομάδες μεταξύ των πρώτου και του δεύτερου μισού ελέγχθηκαν στη συνέχεια με τη χρήση του προγράμματος Pintail (<http://www.bioinformatics-toolkit.org/Web-Pintail>). Οι πιο στενοί συγγενείς για όλες τις ανακτηθείσες αλληλουχίες προσδιορίστηκαν μέσω σύγκρισης με τη χρήση της συνάρτησης BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Αυτόματη ευθυγράμμιση των αλληλουχιών με τους πλησιέστερους συγγενείς τους πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του SILVA (<http://www.arb-silva.de/aligner/>). Ορίστηκαν φυλότυποι που έδειχναν μια ομολογία $\geq 98\%$ μεταξύ των αλληλουχιών. Τα φυλογενετικά δέντρα κατασκευάστηκαν με τη διορθωμένη μέθοδο της ένωσης των πλησιέστερων σημείων Jukes-Cantor. Με τη χρήση του λογισμικού MEGA4 εκτελέστηκαν αναλύσεις τύπου Bootstrap για 1000 επαναλήψεις για μεγαλύτερη εμπιστοσύνη στα αποτελέσματά μας (Tamura *et al.* 2007). Οι αλληλουχίες των μοναδικών φυλότυπων που εντοπίστηκαν στη μελέτη αυτή έχουν αριθμούς JX105530 - JX105733 στην τράπεζα γονιδίων GenBank. Η κάλυψη της βιβλιοθήκης κλώνων υπολογίστηκε με τη χρήση της εξίσωσης $C = [1 - (n_i/N)] \times 100$ όπου n_i είναι ο αριθμός των φυλότυπων και N είναι ο αριθμός των αλληλουχιών του 16S rRNA που εξετάστηκαν (Good 1953, Kemp & Aller 2004).

2.5. Στατιστική ανάλυση

Στα πειράματα αναπαραγωγής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας οι τιμές των παραμέτρων που προσδιορίστηκαν ελέγχθηκαν για την κανονικότητα της κατανομής και την ομοιογένεια της διασποράς τους με τη χρήση του Levene's test. Τα αποτελέσματα των πειραματικών δεδομένων παρουσιάζονται σε πίνακες ως εξής: μέσος όρος \pm T.A ενώ οι μέσοι όροι που έχουν διαφορετικά γράμματα διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

Με στόχο να ελεγχθούν πιθανές διαφορές στην αύξηση του ολικού μήκους και στη διαμόρφωση του μορφολογικού προτύπου ανάλογα με την ηλικία μεταξύ των δύο θερμοκρασιών εκκόλαψης, στα δεδομένα ολικού μήκους και των αποτελεσμάτων των κύριων συνιστωσών, εφαρμόστηκε αντίστοιχα μια πολυπαραγοντική ανάλυση ποικιλότητας (MANOVA), με παράγοντες την ηλικία και τη θερμοκρασία εκτροφής (Zar 1999). Για την ανίχνευση πιθανών έντονων μεταβολών στο μορφολογικό πρότυπο σε σχέση με την ηλικία (inflection points) από τα αποτελέσματα των κύριων συνιστωσών, υπολογίστηκε ο δείκτης ανομοιότητας Bray-Curtis (Hair *et al.* 1998) μεταξύ διαδοχικών ηλικιών για κάθε θερμοκρασία εκκόλαψης. Η υψηλή ανομοιότητα μορφολογικού προτύπου μεταξύ δύο διαδοχικών ηλικιών σηματοδοτεί ένα σημείο έντονης μεταβολής του μορφολογικού προτύπου (inflection point). Επίσης, εκτός του όγκου και του δείκτη σχήματος του λεκιθικού σάκου, οι μορφομετρικοί χαρακτήρες εκφράστηκαν ως αναλογία στο ολικό μήκος. Στον πίνακα δεδομένων [αναλογίες χαρακτήρων x ηλικία] εφαρμόστηκε ανάλυση κύριων συνιστωσών (Principal Component Analysis: PCA) για τον έλεγχο της συμβολής των αναλογιών των μορφομετρικών χαρακτήρων στη διαμόρφωση της μορφής κατά την αύξηση (Hair *et al.*

1998). Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τα λογισμικά SPSS 17 και σε Microsoft Office Excel 2013.

Στα πειράματα διατροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση (T.A). Στη στατιστική ανάλυση, οι διαφορές που παρουσιάζονται με επίπεδο σημαντικότητας 5% θεωρούνται σημαντικές. Τα δεδομένα αναλύθηκαν με t-test, όταν οι συγκρίσεις γίνονταν μεταξύ δύο ομάδων ή μεταξύ δύο μετρήσεων της ίδιας ομάδας (για παράδειγμα, το αρχικό και τελικό βάρος, κ.λπ.).

Επίσης τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με τη μέθοδο της Ανάλυσης Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (one-way ANOVA) όταν συγκρίνονταν για να αξιολογηθούν περισσότερες από δύο ομάδες για τις διαφορές που παρουσιάζουν στην ανάπτυξη μεταξύ των διατροφικών μεταχειρίσεων. Όταν η ανάλυση διακύμανσης μονής κατεύθυνσης (ANOVA) έδειχνε σημαντική επίδραση, τότε χρησιμοποιήθηκε το Tukey test, πολλαπλής σύγκρισης για να συγκρίνει τις διαφορές μεταξύ των μέσων. Ο έλεγχος της ομοιογένειας της παραλλακτικότητας των μέσων όρων έγινε με τον έλεγχο του Levene's test. Όταν οι διακυμάνσεις μεταξύ των μέσων όρων ήταν άνισες τότε εφαρμόστηκε η Kruskal- Wallis μονόδρομη ανάλυση διακύμανσης. Στην περίπτωση που το παραπάνω test έδειξε σημαντική διαφορά, τότε το test Kruskal - Wallis σύγκρισε όλα τα ζεύγη προκειμένου να προσδιορίσει τους μέσους όρους που παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές. Η ανάλυση διακύμανσης με δυο παράγοντες επίσης χρησιμοποιήθηκε για τις διαφορές που παρατηρούνται ανάμεσα στη διατροφή και τις θερμοκρασίες. Η στατιστική μεθοδολογία που εφαρμόστηκε περιγράφεται στο Zar (1999).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Αρχή λειτουργίας του βιολογικού φίλτρου

Η αρχή λειτουργίας του ενυδρείου εξαρτάται από την ικανότητα του βιολογικού φίλτρου πυθμένα, να οξειδώνει την παραγόμενη ποσότητα αμμωνίας, σε νιτρικά ιόντα τα οποία δεν είναι τοξικά. Ο Πίνακας 3.1, παρουσιάζει τα τεχνικά χαρακτηριστικά του βιολογικού φίλτρου πυθμένα στα πειραματικά ενυδρεία των μελετηθέντων ειδών.

Πίνακας 3.1: Λειτουργικά-τεχνικά χαρακτηριστικά βιολογικού φίλτρου πυθμένα ενυδρείου.

Λειτουργικά-Τεχνικά Χαρακτηριστικά Φίλτρου	Τιμές
Βάθος φίλτρου (D, cm)	10±0,00
Διάμετρος χαλκιού (Ø,cm)	0,92±0,28
Ταχύτητα φιλτραρίσματος (V,cm/min)	1,53±0,00
Παροχή νερού (Q,ml/min)	5118
Οξειδωτική ικανότητα φίλτρου (mg,O ₂)	0,17
Βαθμός ρύπανσης του ενυδρείου (mg,O ₂)	0,13
Συνθήκη Hirayama	Ικανοποιείται (0,17>0,13)
Ενεργό βάθος (D _c ,cm)	4,5±0,05
Ρυθμός μείωσης αμμωνίας (R,%)	22,48±2,57

Η οξειδωτική ικανότητα του βιολογικού φίλτρου υπολογίστηκε στα 0,17 mg O₂, ενώ ο βαθμός ρύπανσης που προκλήθηκε στο φίλτρο από την ημερήσια χορηγούμενη ποσότητα τροφής στο ενυδρείο ήταν 0,13 mg O₂. Συνεπώς, ικανοποιείται η συνθήκη της ανισότητας του Hirayama (0,17 mg O₂>0,13 mg O₂), με αποτέλεσμα το φίλτρο σ' όλα τα πειραματικά ενυδρεία να μπορεί να διατηρήσει και να εξυπηρετήσει τη συγκεκριμένη βιομάζα ψαριών της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου, χωρίς να διαταράσσεται η ισορροπία του. Επίσης, σε ότι αφορά τη μέθοδο του «ημίσεος βάθους», τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η βέλτιστη ικανότητα των νιτροποιητικών βακτηρίων στα βιολογικά φίλτρα βάθους 10 cm, επιτεύχθηκε για όλα τα πειραματικά

ενυδρεία σε βάθος $4,5 \pm 0,05$ cm, όπου προκλήθηκε κατά μέσο όρο μείωσης της αμμωνίας κατά $22,48 \pm 2,57\%$.

3.2. Ποιότητα νερού για τα ενυδρεία αναπαραγωγής

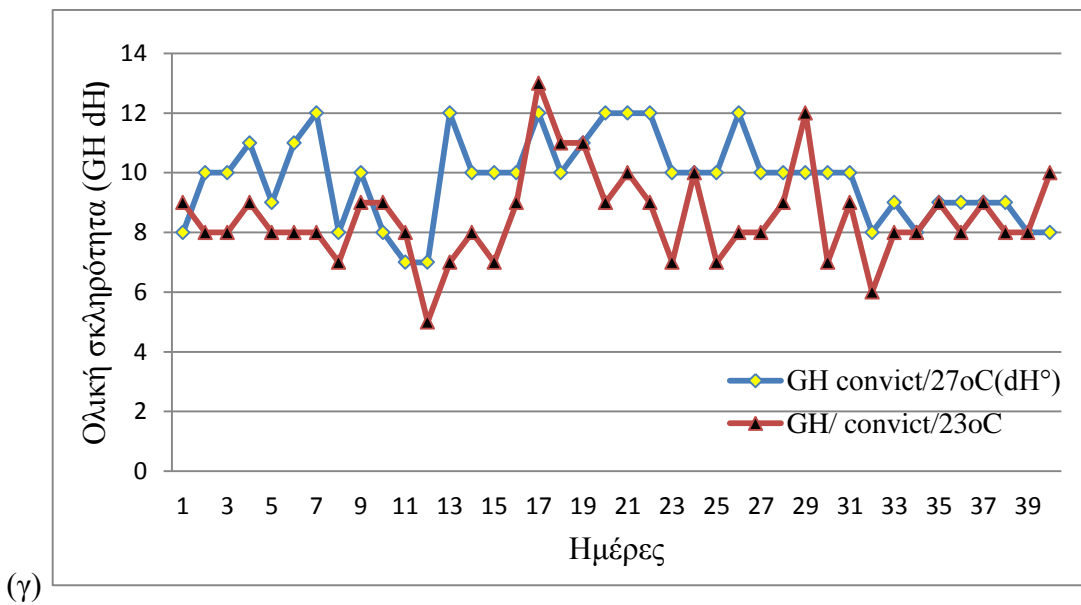
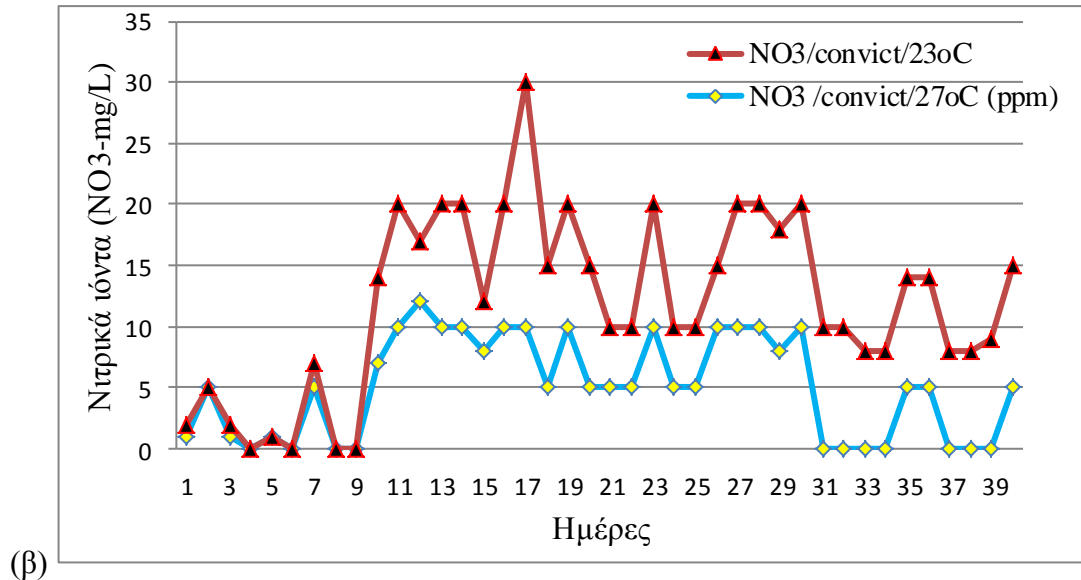
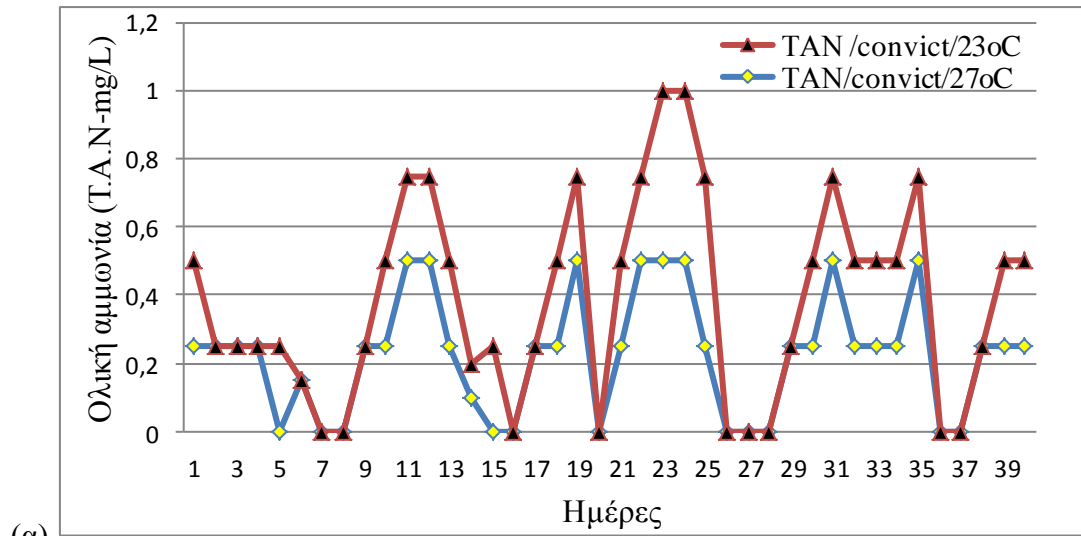
3.2.1. Ποιότητα νερού για τα ενυδρεία αναπαραγωγής της κιχλιδοζέμπρας

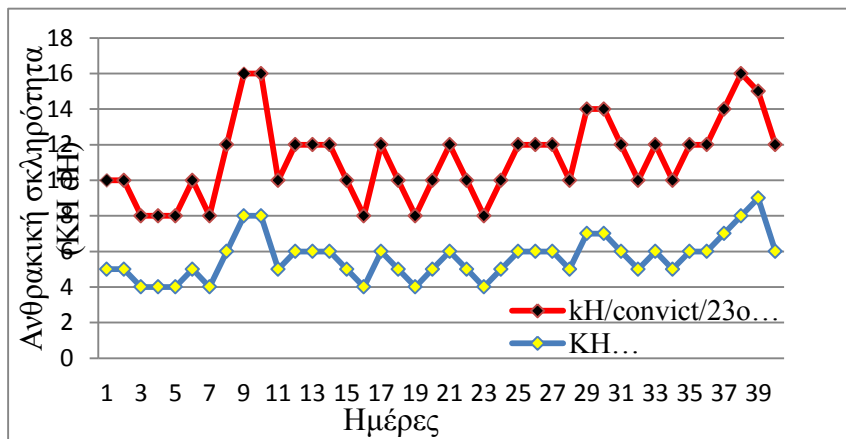
Το pH, η T.A.N, το O₂, τα NO₂⁻ και τα NO₃⁻ δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ενυδρείων της κιχλιδοζέμπρας και στις δυο θερμοκρασίες που ερευνήθηκαν (Πιν. 3.2), (ANOVA, P>0,05). Η TAN και τα NO₂⁻ δεν ξεπέρασαν τις τιμές 0,23 mg/L και 0,16 mg/L στους 27°C και 23°C, αντίστοιχα, ενώ τα NO₃⁻ διακυμάνθηκαν από 5,08 mg/L έως 6,85 mg/L στους 27°C και 23°C, αντίστοιχα (Σχ. 3.1). Η μη ιονισμένη αμμωνία διατηρήθηκε σε σταθερά επίπεδα καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας και ήταν $0,04 \pm 0,03$ mg/L στους 27°C και $0,02 \pm 0,01$ mg/L στους 23°C, δηλώνοντας την ικανοποιητική λειτουργία του βιολογικού φίλτρου βυθού.

Πίνακας 3.2: Ποιοτικά χαρακτηριστικά του νερού των ενυδρείων μελέτης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κιχλιδοζέμπρας

	27°C	23°C
Διαλυμένο οξυγόνο (O ₂ , mg/L)	$8,47 \pm 0,12^a$	$8,46 \pm 0,11^a$
pH	$7,00 \pm 0,25^a$	$7,00 \pm 0,20^a$
Ολική αμμωνία (T.A.N, mg/L)	$0,23 \pm 0,18^a$	$0,16 \pm 0,16^a$
Μη ιονισμένη αμμωνία (NH ₃ -N, mg/L)	$0,04 \pm 0,03$	$0,02 \pm 0,01$
Ιονισμένη αμμωνία (mg/L)	$0,19 \pm 0,15$	$0,14 \pm 0,10$
Νιτρώδη ιόντα (NO ₂ ⁻ -N, mg/L)	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$
Νιτρικά ιόντα (NO ₃ ⁻ -N, mg/L)	$5,08 \pm 4,14^a$	$6,85 \pm 4,37^b$
Ολική σκληρότητα (GH, dH°)	$10,00 \pm 1,44$	$9,00 \pm 1,52$
Ανθρακική σκληρότητα (KH, dH°)	$6,00 \pm 1,23^a$	$6,00 \pm 1,11^a$
Φωσφορικά ιόντα (PO ₄ ⁻ , mg/L)	$0,00 \pm 0,00^a$	$0,00 \pm 0,00^a$

Σε κάθε παράμετρο ποιότητας νερού, οι τιμές μεταξύ των δυο θερμοκρασιών που φέρουν διαφορετικό εκθέτη διαφέρουν σημαντικά (P<0,05)





(δ)

Σχήμα 3.1: Διακύμανση φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού στα ενυδρεία μελέτης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κιχλιδόζεμπρας (α) T.A.N (mg/L), (β) NO_3^- (mg/L), (γ) GH ($^{\circ}\text{dH}$), (δ) KH ($^{\circ}\text{dH}$).

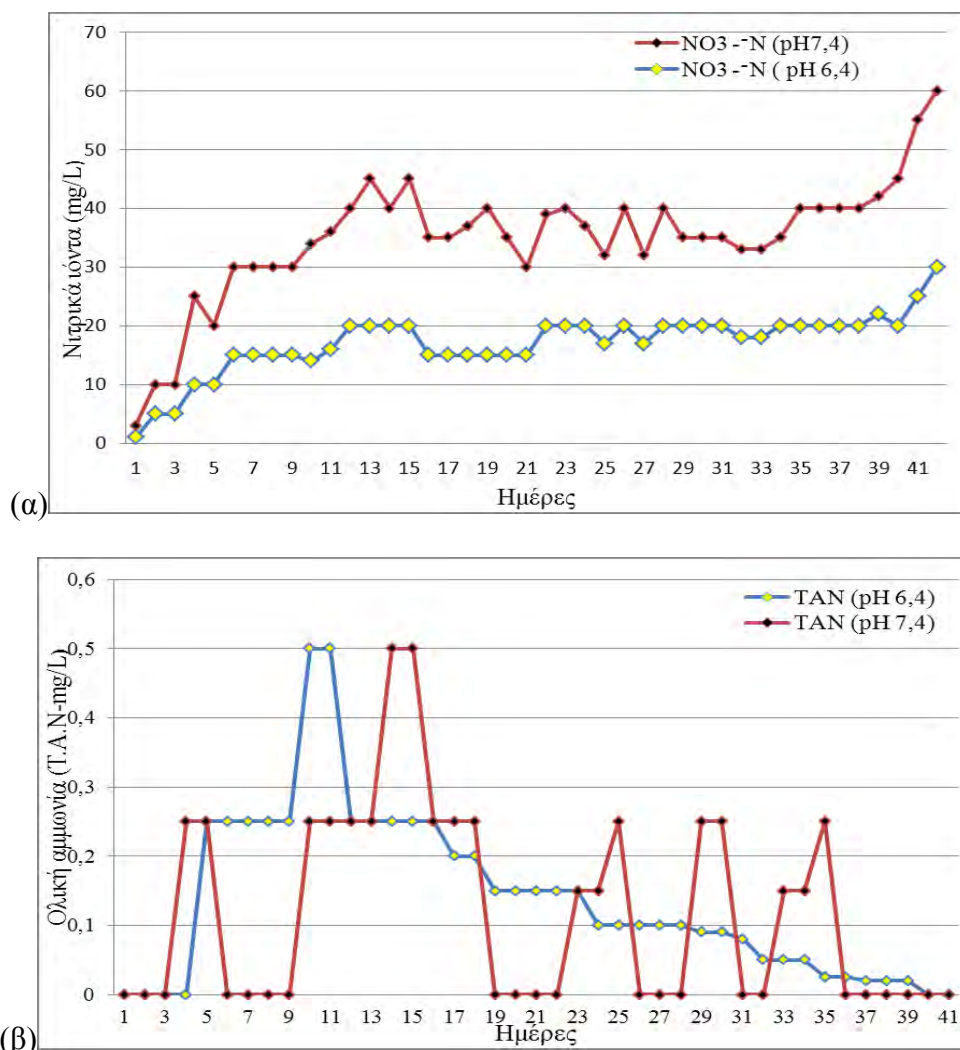
3.2.2. Ποιότητα νερού για τα ενυδρεία αναπαραγωγής του αγγελόψαρου

Η T.A.N (Σχ.3.2), τα NO_3^- (Σχ.3.2) και το O_2 δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ενυδρείων αναπαραγωγής και στα δυο pH (6,2 και 7,4), (t-test, $P > 0,05$) (Πιν. 3.3). Η μη ιονισμένη αμμωνία μεταξύ των ενυδρείων αναπαραγωγής παρουσίασε σημαντικά στατιστικές διαφορές (t-test, $P > 0,05$), δηλώνοντας την ικανοποιητική λειτουργία του βιολογικού φίλτρου (Πιν. 3.3.). Η KH ήταν $4,50 \pm 1,09$ για τα αγγελόψαρα που αναπαράχθηκαν σε pH 6,2 και $2,00 \pm 0,33$ για τα αγγελόψαρα που αναπαράχθηκαν σε pH 7,4 παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,05$).

Πίνακας 3.3: Ποιότητα νερού στα ενυδρεία μελέτης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου του αγγελόψαρου

	pH	
	6,2	7,4
Διαλυμένο οξυγόνο (O ₂ , mg/L)	8,47 ± 0,12 ^a	8,46 ± 0,11 ^a
Ολική αμμωνία (T.A.N, mg/L)	0,14±0,12 ^a	0,17±0,14 ^a
Μη ιονισμένη αμμωνία (NH ₃ -N,mg/L)	0,02±0,01 ^a	0,01±0,00 ^b
Ιονισμένη αμμωνία (mg/L)	0,12±0,11 ^a	0,16±0,13 ^a
Νιτρώδη ιόντα (NO ₂ ⁻ -N,mg/L)	0,00±0,00	0,00±0,00
Νιτρικά ιόντα (NO ₃ ⁻ -N,mg/L)	17,30±4,80 ^a	18,18±5,03 ^a
Ολική σκληρότητα (GH,dH°)	4,00±0,33	4,00±0,33
Ανθρακική σκληρότητα (KH,dH°)	2,00±0,33 ^a	4,50±1,09 ^b
Θερμοκρασία (T°C)	29,00±0,01	29,00±0,01

Σε κάθε παράμετρο ποιότητας νερού, οι τιμές μεταξύ των δυο pH που φέρουν διαφορετικό εκθέτη διαφέρουν σημαντικά (P<0,05)



Σχήμα 3.2: Ποιότητα νερού στα ενυδρεία μελέτης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου του αγγελόψαρου (α) T.A.N (mg/L), (β) NO₃⁻ (mg/L).

3.3. Αναπαραγωγική διαδικασία των δύο εκτρεφόμενων ειδών

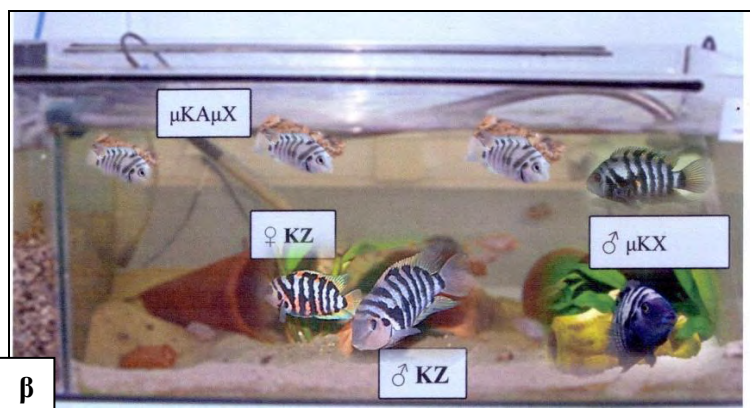
3.3.1 Αναπαραγωγική διαδικασία της κιχλιδόζεμπρας

Η κιχλιδόζεμπρα, χαρακτηρίζεται από οργανωμένη αναπαραγωγική δραστηριότητα η οποία είναι περισσότερο ορατή σε συνθήκες αιχμαλωσίας παρά στο φυσικό περιβάλλον. Η αναπαραγωγική διαδικασία της κιχλιδόζεμπρας σε συνθήκες αιχμαλωσίας περιλάμβανε μια σειρά από πρακτικές που εφαρμόστηκαν προκειμένου τα ψάρια να αναπαραχθούν με επιτυχία. Απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχία της αναπαραγωγικής διαδικασίας και την καταγραφή των αποτελεσμάτων ήταν η ημερήσια παρατήρηση (πρωί και απόγευμα) των ζευγαριών της κιχλιδόζεμπρας, για διάστημα τουλάχιστον 20 έως 30 ημερών. Τα αρσενικά άτομα της κιχλιδόζεμπρας είχαν μέσο βάρος $11,8 \pm 0,84$ g και μήκος $5,3 \pm 0,31$ cm σε αντίθεση με τα θηλυκά άτομα όπου το μέσο βάρος ήταν $4,38 \pm 0,21$ g και μήκος $4,0 \pm 0,26$ cm.

A. Ποιοτική περιγραφή της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς της κιχλιδόζεμπρας- σχηματισμός ζευγαριού

Η οριοθέτηση της περιοχής ωοτοκίας από τα αρσενικά προηγείται του σχηματισμού του ζευγαριού. Τα ώριμα αρσενικά άτομα οριοθέτησαν και υπερασπίζαν την περιοχή ωοτοκίας, με επιθέσεις και απειλές εναντίον των θηρευτών ή ατόμων του ίδιου είδους (Εικ.3.1α). Η οριοθέτηση της περιοχής ωοτοκίας υποδηλώνει κοινωνική κυριαρχία, ιεραρχία και αναπαραγωγική συμπεριφορά. Η καταγραφή των επιθετικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του κυρίαρχου ζευγαριού και των υποδεέστερων ατόμων υποδεικνύει σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων. Στο ενυδρείο των γεννητόρων διαχωρίστηκε ένα κυρίαρχο ζευγάρι (1♂ και 1♀ άτομο) το οποίο οριοθέτησε την

περιοχή αναπαραγωγής του και δυο υποδεέστερα άτομα, 1 αρσενικό και 1 θηλυκό άτομο τα οποία δεν αναπαράχθησαν και δεν οριοθέτησαν την περιοχή φωτοκίας. Κάθε αρσενικό άτομο παρατηρήθηκε ότι υπερασπιζόνταν την περιοχή φωτοκίας του (Εικ.3.1β). Το ζευγάρι δημιουργήθηκε όταν το θηλυκό δραστηριοποιούνταν κοντά στην περιοχή κυριαρχίας του αρσενικού (Εικ.3.1β). Το κυρίαρχο ζευγάρι απομονώθηκε και μεταφέρθηκε στο ενυδρείο αναπαραγωγής χωριτικότητας 45 L.



Εικόνα 3.1: Κατανομή της κοινωνικής κυριαρχίας στο ενυδρείο των γεννητόρων: (α) Επιθέσεις μεταξύ αρσενικών ατόμων του ίδιου είδους (β) Σχηματική απεικόνιση της αναπαραγωγικής ιεραρχίας. Οι συντομογραφίες που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή της κοινωνικής ιεραρχίας είναι: ΚΖ= Κυρίαρχο ζευγάρι που οριοθετεί την περιοχή φωτοκίας, μΚΑμΧ= Αρσενικό άτομο που δεν οριοθετεί την περιοχή φωτοκίας του και δεν αναπαράγεται, μΚΧ= Υποδεέστερο αρσενικό άτομο που δεν αναπαράγεται (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Η στρατηγική που εφαρμόστηκε καθώς και η συμπεριφορά που εκδήλωσε η κιχλιδόζεμπρα κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής της διαδικασίας περιγράφεται ως εξής:

- Προστασία περιοχής ωοτοκίας

Αρχικά, η περιοχή ωοτοκίας προστατεύονταν με την ίδια ένταση, τόσο από τον αρσενικό όσο και από το θηλυκό γεννήτορα. Παράλληλα, το κάθε ένα ξεχωριστά οριοθέτησε στο ενυδρείο την περιοχή κολύμβησής του, ενώ ανά πάσα στιγμή αρσενικό και θηλυκό μπορούν να βρίσκονται πάνω από την περιοχή ωοτοκίας (Εικ.3.2α).

- Επιθέσεις-Απειλές

1. Βραγχιακό επικάλυμμα: Το αρσενικό επιτίθονταν με το κεφάλι του προσκρούοντας επάνω στο βραγχιακό επικάλυμμα του άλλου ψαριού, το οποίο αντιδρούσε άμεσα κάμπτοντας ελαφρώς το σώμα του σε σχήμα «S».
2. Πλευρική απειλή: Το ψάρι πλησίαζε τον αντίπαλό του δηλώνοντας την κυριαρχία του με το άνοιγμα των πτερυγίων.
3. Πλευρική επίθεση: Το αρσενικό προσέγγιζε και δαγκώνει με το στόμα του το θηλυκό άτομο ή κάποιο άλλο αρσενικό το οποίο εισέρχονταν στην περιοχή ωοτοκίας.
5. Διαμάχη στόμα με στόμα: Τα ψάρια πλησίαζαν το ένα το άλλο στόμα με στόμα δαγκώνοντας τις γνάθους. Αυτή η συμπεριφορά διαρκούσε περίπου 1 έως 3 min (Εικ.3.1α).
6. Κυματισμός: Το αρσενικό εκτελούσε πρόσθιες-οπίσθιες κινήσεις πάλλοντας πλευρικά το σώμα του προς την πλευρά του αντιπάλου.

7. Κυνήγι: Τα αρσενικά κολυμπούσαν προς το αντίπαλο αρσενικό, το οποίο κινούνταν προς την αντίθετη κατεύθυνση.

- Κατασκευή φωλιάς

Το αρσενικό και το θηλυκό κατασκεύασαν τη φωλιά τους σκάβοντας το υπόστρωμα απομακρύνοντας το χαλίκι με το στόμα τους. Η φωλιά είχε κωνικό σχήμα και βρισκόνταν στα όρια της περιοχής ωοτοκίας. Για λόγους πρακτικής διαχείρισης (καταμέτρηση, μεταφορά των αυγών) η οριοθέτηση της περιοχής ωοτοκίας σε κάθε ενυδρείο γίνονταν με την προσθήκη ενός τμήματος κεραμιδιού, επιφάνειας 0,84 m² προκειμένου τα ψάρια να εναποθέσουν τα αυγά τους (Εικ.3.2β).

- Προσέλκυση του αντίθετου φύλου (φλερτ)

Η προσέλκυση του αντίθετου φύλου (φλερτ) άρχιζε κοντά ή μέσα στη φωλιά και ολοκληρώθηκε με την έναρξη της ωοτοκίας. Το κυρίαρχο ζευγάρι 2 με 3 εβδομάδες μετά, υπεράσπιζε επιθετικά την περιοχή ωοτοκίας του εκδηλώνοντας στερεότυπες δραστηριότητες προ-ωοτοκίας, όπως για παράδειγμα σπασμοδικές κινήσεις, το σώμα τους πάλλονταν (έτρεμε), έσκαβαν στο χαλίκι, το ένα «τσιμπούσε» το άλλο, σα να μάχονταν πάνω από το υπόστρωμα εναπόθεσης (Εικ.3.2γ).

- Ωοτοκία

Η έναρξη της περιόδου ωοτοκίας επιτεύχθηκε με θερμικό σοκ (με απότομη μείωση της θερμοκρασίας στα ενυδρεία κατά 3-5 °C και επαναφορά στους 27 °C, μετά από χρονικό διάστημα 2 έως 3 ημερών). Η έναρξη της ωοτοκίας έλαβε χώρα με την έδρα του θηλυκού να εφάπτονταν και να «τρίβοταν» επάνω στο υπόστρωμα. Αμέσως, τα κολλώδη αυγά εναποτίθονταν στο υπόστρωμα σε σειρές (Εικ.3.2δ). Όταν το θηλυκό εναπόθετε όλα τα αυγά στο υπόστρωμα, το αρσενικό ελάμβανε ενεργό ρόλο ολισθαίνοντας την προεκβολή της έδρας επάνω στα αυγά, ψεκάζοντας τα, με το σπέρμα

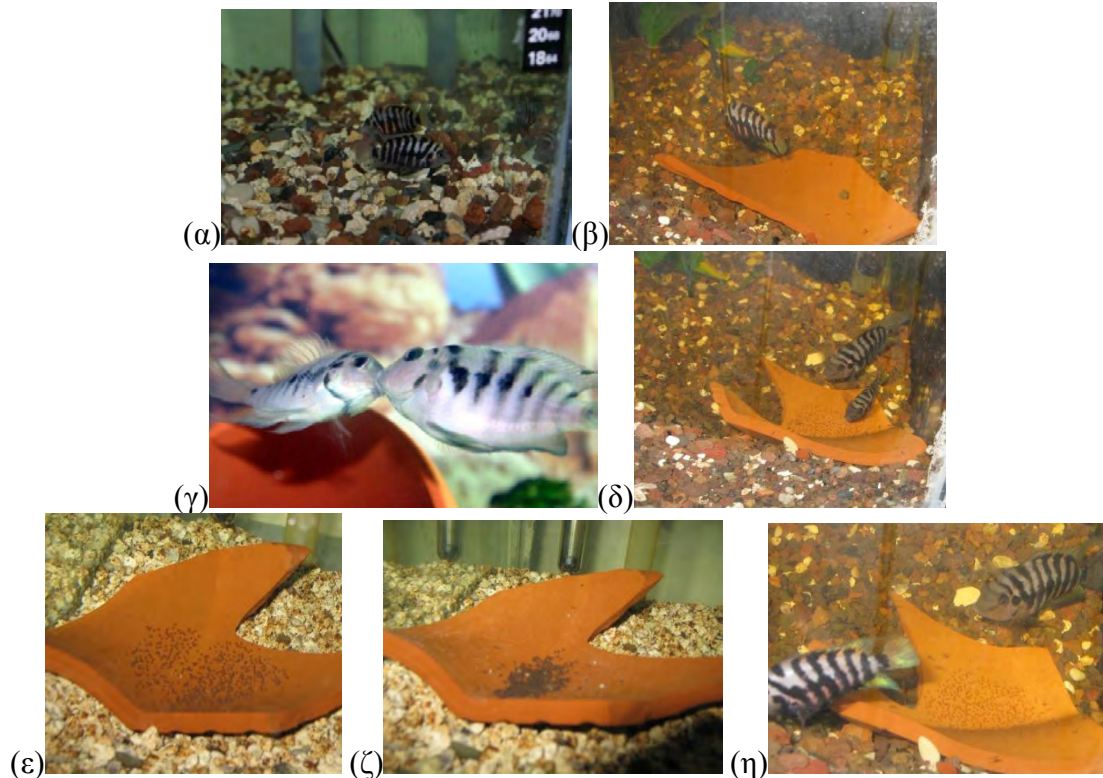
και τα γονιμοποιούσε. Πολλές φορές κατά τη διάρκεια της γονιμοποίησης το αρσενικό εκτελούσε σπασμωδικές κινήσεις απομακρύνονταν από την περιοχή ωτοκίας και επανέρχονταν συνεχίζοντας να γονιμοποιεί τα αυγά. Η συμπεριφορά αυτή, ερμηνεύτηκε ως η στρατηγική που εμφάνιζε το αρσενικό στο φυσικό περιβάλλον όπου κατά τη διάρκεια της γονιμοποίησης επιχείρησε να απομακρύνει από την περιοχή ωτοκίας θηρευτές ή άλλα αρσενικά άτομα του ίδιου είδους, τα οποία χρονικά δεν αναπαράγονταν ή δεν είχαν οριοθετήσει την περιοχή ωτοκίας τους (κρυπτογαμία). Η διαδικασία της γονιμοποίησης επαναλαμβάνονταν 2 έως 3 φορές προκειμένου να διασφαλιστεί από το αρσενικό η γονιμοποίηση όλων των αυγών. Η διάρκεια που ελάμβανε χώρα η εναπόθεση των αυγών και η γονιμοποίησή τους κυμαίνονταν από 45 έως 90 min και συνέβαινε τις πρώτες πρωινές ή απογευματινές ώρες, δηλαδή σε ώρες απόλυτης ηρεμίας. Ο αριθμός των αυγών που εναποτίθονταν στο υπόστρωμα, κατά μέσο όρο κυμαίνονταν από 100 έως 400 αυγά και εξαρτώνταν από το μέγεθος του θηλυκού (Galvani & Coleman 1998, Coleman & Galvani 1998).

- Γονική φροντίδα

Η ωτοκία ακολουθήθηκε από την περίοδο της γονικής φροντίδας, σύμφωνα με την οποία το αρσενικό και το θηλυκό προστάτευαν τη φωλιά με τα γονιμοποιημένα αυγά δημιουργώντας δίνες νερού ή τα αέριζαν εναλλάξ κουνώντας τα θωρακικά πτερύγια πάνω από τα αυγά ή απομακρύνοντας τα νεκρά αυγά, τα οποία συνήθως προσβάλλονται από μύκητες (Εικ.3.2ε). Η επώαση διήρκησε 3 ημέρες (72 h), ενώ η ολοκλήρωση του σταδίου στους 27 °C σηματοδοτήθηκε με την εκκόλαψη ή οποία ξεκίνησε στις 68 h και ολοκληρώθηκε στις 72 με 74 h. Κατά τη διάρκεια της επώασης η κιχλιδόζεμπρα είχε αυξημένη γονική φροντίδα, η οποία συνέχιζε να υπάρχει κατά τη διάρκεια της λεκιθοφόρου προνύμφης. Οι νέο-εκκολαπτόμενες προνύμφες συνέχιζαν να

βρίσκονται προσκολλημένες στο υπόστρωμα μέχρι την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου, πάλλοντας συνεχώς το σώμα τους (Εικ.3.2.ζ). Το ζευγάρι συνέχιζε να κινείται επάνω από τις προνύμφες της κιχλιδόζεμπρας παρέχοντας γονική φροντίδα. Το θηλυκό άτομο γίνονταν πολύ επιθετικό κατά τη διάρκεια του σταδίου αυτού, ενώ το αρσενικό παράμεινε στο ενυδρείο εμφανίζοντας μια στάση αναμονής και υποχώρησης (Pandolfi *et al.* 2009).

Εξαιτίας της έντονης παλμικής κίνησης που παρουσίαζαν οι προνύμφες στο υπόστρωμα, υπήρχε περίπτωση να αποκολληθούν και να απομακρυνθούν από το υπόστρωμα. Το αρσενικό δραστηριοποιήθηκε αμέσως «βάζοντας» την προνύμφη στο στόμα του και την επανατοποθετούσε στο υπόστρωμα (Εικ.3.2η). Πολλές φορές η κιχλιδόζεμπρα λαμβάνε ένα μικρό αριθμό προνυμφών (4-5 προνύμφες) στο στόμα της, τις αναμοχλεύει και τις επανατοποθετούσε στο υπόστρωμα. Η ενέργεια αυτή υποδηλώνει πιθανή απολύμανση των προνυμφών και είναι μια διαδικασία που επαναλαμβάνεται. Η απορρόφηση του λεκιθικού σάκου πραγματοποιήθηκε την 6^η με 7^η ημέρα μετά την γονιμοποίηση, όπου οι μεταλεκιθοφόρες νύμφες αρχίσαν να κολυμπούν και να τρέφονται με εξωτερική τροφή. Οι μεταλεκιθοφόρες νύμφες συνέχιζαν να κολυμπούν γύρω από το ζευγάρι ή σε απόσταση μικρότερη από 5-10 cm για διάστημα 10 ημερών, εκδηλώνοντας προστατευτική συμπεριφορά. Όταν για παράδειγμα, επιχειρείτο να γίνει στο ενυδρείο σιφωνισμός, τότε το ζευγάρι γίνονταν υπερπροστατευτικό απέναντι στις μεταλεκιθοφόρες νύμφες, κάτι το οποίο πιθανό να υποδηλώνει ότι αντιλαμβάνονταν τον κίνδυνο και επιχειρούσε να τις μετακινήσει σε ασφαλές μέρος, βάζοντας τες μια-μια στο στόμα του.



Εικόνα 3.2: Περιγραφή της αναπαραγωγικής διαδικασίας της κιχλιδόζεμπρας (α) οριοθέτηση περιοχή ωοτοκίας, (β) κατασκευή φωλιάς-προστασία φωλιάς, (γ) προσέλκυση αντίθετου φύλου, (δ) εναπόθεση των αυγών, (ε) γονιμοποίηση, (ζ) απομάκρυνση νεκρών αυγών, (η) μεταφορά μεταλεκιθοφόρων νυμφών με το στόμα (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

- Λήψη εξωγενούς τροφής

Οι νέο-εκκολαπτόμενες νύμφες τρέφονταν με *Artemia*, *Cyclops* ή *Daphnia*, με πάστα συμπύκτων ή νιφάδων για διάστημα 30 ημερών. Η θνησιμότητα τον πρώτο μήνα εκτροφής ήταν μικρότερη από 5% εφόσον οι συνθήκες εκτροφής διατηρούνταν σταθερές. Όταν οι συνθήκες του ενυδρείου ήταν ικανοποιητικές και η διατροφή κάλυπτε τις θρεπτικές απαιτήσεις του ψαριού, τότε η κιχλιδόζεμπρα αναπαράγονταν κάθε 20 περίπου ημέρες από τον Απρίλιο έως το Δεκέμβριο. Μια περίοδο παύσης παρατηρήθηκε τους χειμερινούς μήνες Ιανουάριο έως Μάρτιο.

3.3.1.1. Εμβρυικό, λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας

A. Μορφολογία αυγών κιχλιδόζεμπρας

Τα αυγά της κιχλιδόζεμπρας είχαν ελλειπτικό σχήμα, με τον οριζόντιο άξονα να ήταν μεγαλύτερος ($1,74 \pm 0,21$ mm) από τον κάθετο άξονα ($1,35 \pm 0,18$ mm). Τα αυγά ήταν κολλώδη εξαιτίας ενός λεπτού στρώματος βλέννας που περιβάλλει το χόριο το οποίο ήταν λεπτό και ημιδιαφανές. Η κολλώδης ουσία χρησιμεύει προκειμένου τα αυγά να προσκολληθεί στο υπόστρωμα αλλά και να κολληθεί το ένα με το άλλο. Η μικροπύλη βρισκόταν στο ζωικό πόλο του αυγού είχε κωνικό σχήμα και ήταν ορατή (Εικ.3.3). Η διάμετρος του εξωτερικού και του εσωτερικού ανοίγματος της, σύμφωνα με τους Meijide & Guerrero (2000), είναι αντίστοιχα 90 μ m και 1 μ m. Το στρώμα της βλέννας ήταν λιγότερο εμφανές στο ζωικό πόλο, ενώ καλύπτονταν από πολυάριθμες λεπτές ίνες. Οι ίνες, έμοιαζαν με τούφα, δεν ήταν μόνιμες και παρατηρούνταν έως τα πρώτα στάδια της κατάτμησης (4 ή 8 βλαστομερή). Το κυτταρόπλασμα ήταν ενιαίο και η λέκιθος παρουσίαζε πολυάριθμα μικρά σταγονίδια λιπιδίων τα οποία ήταν διάσπαρτα σε όλο τον όγκο του αυγού με αποτέλεσμα να καθίσταται δύσκολη η μέτρηση της διαμέτρου και ο υπολογισμός του όγκου της (Εικ.3.3).



Εικόνα 3.3: Αυγό κιχλιδόζεμπρας όπου διακρίνονται η μικροπύλη και το χόριο
(Πηγή: Προσωπικό αρχείο)

Η εξωτερική επιφάνεια του χορίου παρουσιάζε ελαφρές προεξοχές οι οποίες χωρίζονταν από αύλακες, που πιθανόν να αντιστοιχούσαν σε αποτυπώματα των ωοθυλακικών κυττάρων. Το έμβρυο αναπτύχθηκε στο ζωικό πόλο του αυγού και στην αντίθετη πλευρά από τη σταγόνα λιπιδίων, ενώ καλύπτονταν από μελανοφόρα κύτταρα. Το νωπό μέσο βάρος των αυγών της κιχλιδόζεμπρας που χρησιμοποιήθηκαν για τις ανάγκες των πειραμάτων ήταν $1,19 \pm 0,34$ g.

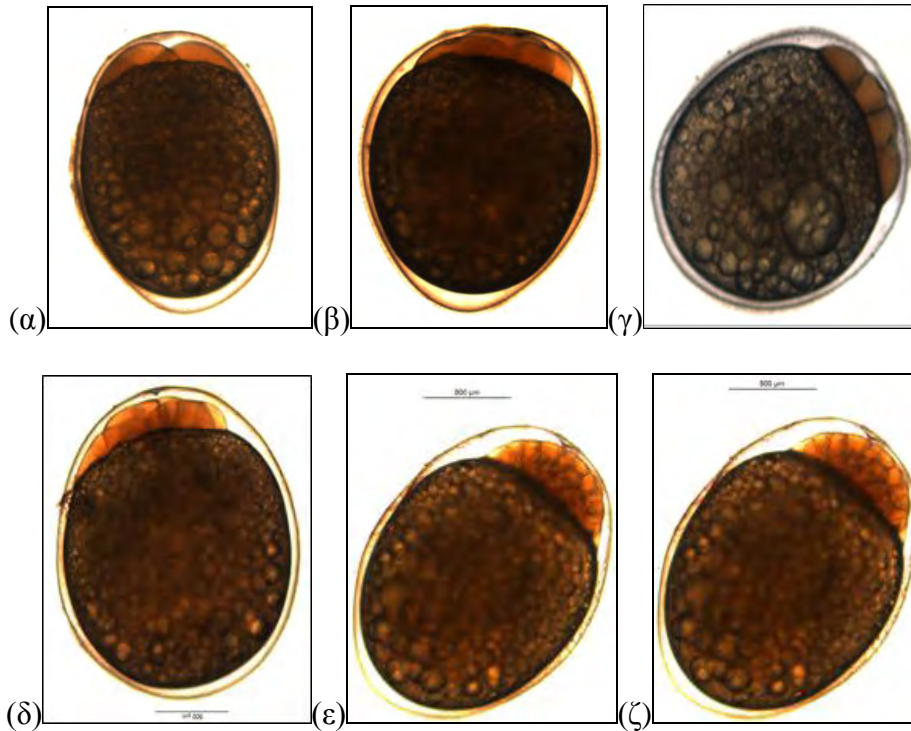
B. Εμβρυική ανάπτυξη κιχλιδόζεμπρας

Η εμβρυική ανάπτυξη στην κιχλιδόζεμπρα μελετήθηκε στους 27°C και διακρίθηκαν τα παρακάτω στάδια:

- Αυλακώσεις

Μετά τη γονιμοποίηση, το πρωτόπλασμα διαφοροποιήθηκε από τη λέκιθο και άρχισε να συγκεντρώνεται στο ζωικό πόλο και αρχίσαν να εμφανίζονται οι αυλακώσεις, οι οποίες ήταν ορατές πάνω από τη λέκιθο και σε διαφοροποιημένη περιοχή του κυτοπλάσματος. Η πρώτη αυλάκωση, πραγματοποιήθηκε στην $1^{\text{η}}$ h και 45 min (στάδιο δυο κυττάρων), το ζυγωτό χωρίστηκε στη μέση δημιουργώντας δυο νέα κύτταρα (Εικ.3.4α). Η έναρξη της δεύτερης αυλάκωσης έγινε πριν ολοκληρωθεί η πρώτη, ενώ ολοκληρώθηκε στις 2 h και 5 min, σχηματίζοντας 4 κύτταρα (Εικ.3.4β). Η επόμενη αυλάκωση έγινε στις 2 h και 45 min σχηματίζοντας 8 κύτταρα (Εικ.3.4γ), ενώ 45 min αργότερα, δημιουργήθηκαν 16 κύτταρα (συνολικός χρόνος 3h και 30 min μετά τη γονιμοποίηση) (Εικ.3.4δ) και 32 κύτταρα μετά από 1 h και 4 min (συνολικός χρόνος 3,5 h) (Εικ.3.4ε). Η κυτταρική διαίρεση συνεχίστηκε με αποτέλεσμα στις 4 h και 55 min το ζυγωτό να χωριστεί σε 64 κύτταρα (Εικ.3.4.ζ). Τα κύτταρα που προέκυψαν από τις πρώτες αυλακώσεις ήταν σύγχρονα και παρουσίαζαν συμμετρία (έως τα 16-32

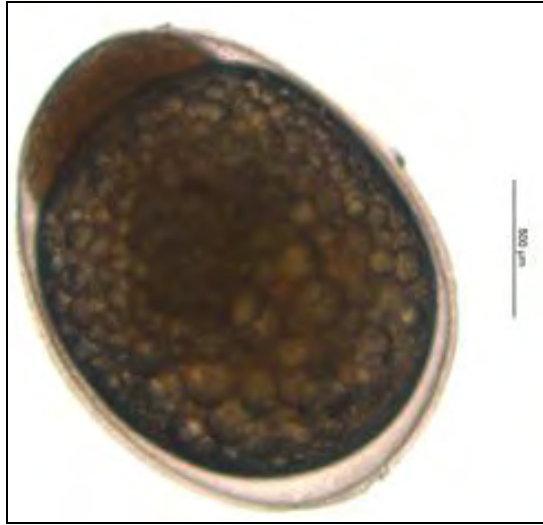
βλαστομερίδια), ενώ από τα 32 κύτταρα και μετά ο συγχρονισμός και η συμμετρία διαπιστώθηκαν με δυσκολία.



Εικόνα 3.4: Αυλακώσεις στη φάση (α) των 2 κυττάρων (1h & 45 min ΜΓ), (β) των 4 κυττάρων (2 h & 05 min), (γ) 8 κυττάρων (2 h & 45 min), (δ) 16 κυττάρων (3 h & 30 min), (ε) 32 κυττάρων (3 h & 50 min), (ζ) 64 κυττάρων (4 h & 55 min), του *Archocentrus nigrofasciatus* (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

- Μορίδιο

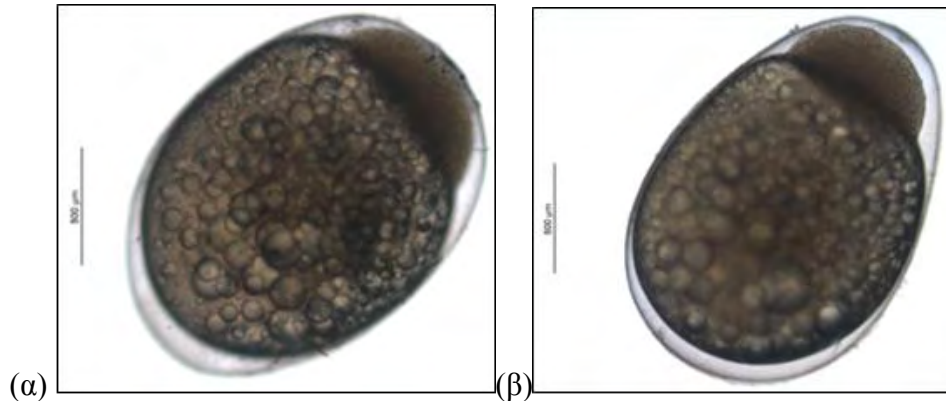
Τα κύτταρα συνέχισαν να πολλαπλασιάζονται (5 h και 30 min), με αποτέλεσμα να γίνονταν όλο και μικρότερα, ενώ το μέγεθος και το σχήμα του εμβρύου παρέμεινε το ίδιο. Η συνεχόμενη κατάτμηση του ζυγωτού είχε σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό μιας συμπαγούς μάζας κυττάρων η οποία έλαβε χώρα στις 6 h και 50 min και έμοιαζε με μούρο (μορίδιο) (Εικ.3.5).



Εικόνα 3.5: Στάδιο του μοριδίου (6 h & 50 min) του *A.nigrofasciatus* (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

- Βλαστίδιο

Μετά το στάδιο του μοριδίου το αυγό εισήλθε στο στάδιο του βλαστιδίου (blastula), με αποτέλεσμα η διάκριση των κυττάρων να περιορίσθηκε, αφού μειώθηκε το μέγεθος των κυττάρων εξαιτίας των κυτταρικών διαιρέσεων (πρώιμη φάση βλαστιδίου) (6 h και 30 min) (Εικ.3.6α). Στις 7 h και 10 min στο ζωικό πόλο, άρχισε να σχηματίζεται ο βλαστοδίσκος που έμοιαζε με κοιλότητα και το έμβρυο βρισκόταν στο στάδιο του βλαστιδίου (ύστερη φάση βλαστιδίου) (Εικ.3.6.β). Χαρακτηριστικό του σταδίου ήταν ότι, το έμβρυο αποτελείτο από χιλιάδες κύτταρα τα οποία στο σύνολό τους σχημάτισαν το βλαστόδερμα.

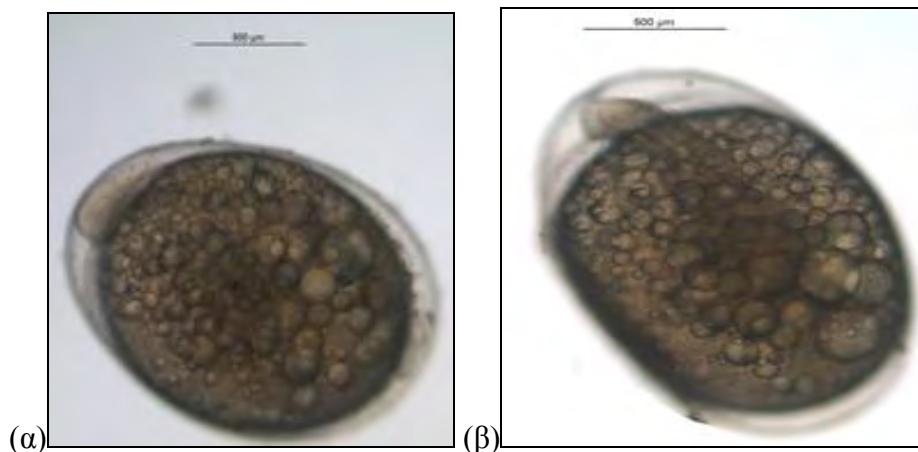


Εικόνα 3.6: Στάδιο του βλαστιδίου, του *A.nigrofasciatus* (α) πρώιμη φάση βλαστιδίου (5h & 30 min) (β) ύστερη φάση βλαστιδίου (7 h & 10 min) (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

- Γαστρίδιο

Το στάδιο της γαστριδίωσης χαρακτηρίζεται από εκτεταμένες και κατευθυνόμενες μετακινήσεις κυττάρων και περιγράφεται σύμφωνα με το ποσοστό κάλυψης της επιφάνειας της λεκίθου από τα κύτταρα του εμβρύου. Το πρώτο στάδιο της επιβολής (πρώιμο γαστρίδιο) εντοπίστηκε στις 9 h και 30 min, όταν το βλαστόδερμα άρχισε να καλύπτει λιγότερο από το $\frac{1}{4}$ της λεκίθου (Εικ.3.7α).

Το δεύτερο στάδιο της επιβολής στα αυγά της κιχλιδόζεμπρας εντοπίστηκε στις 11 h και 30 min, όπου το βλαστόδερμα είχε κάλυψει το $\frac{1}{3}$ της λεκίθου. Στις 17 h και 30 min μετά τη γονιμοποίηση, εντοπίστηκε το τρίτο στάδιο της επιβολής ($\frac{1}{2}$ επιβολή) ή μέσο γαστρίδιο (Εικ.3.7β). Η λήξη του σταδίου σηματοδοτήθηκε από το τέταρτο στάδιο επιβολής $\frac{3}{4}$ (υστερο γαστρίδιο) και εντοπίστηκε στις 21 h και 20 min.



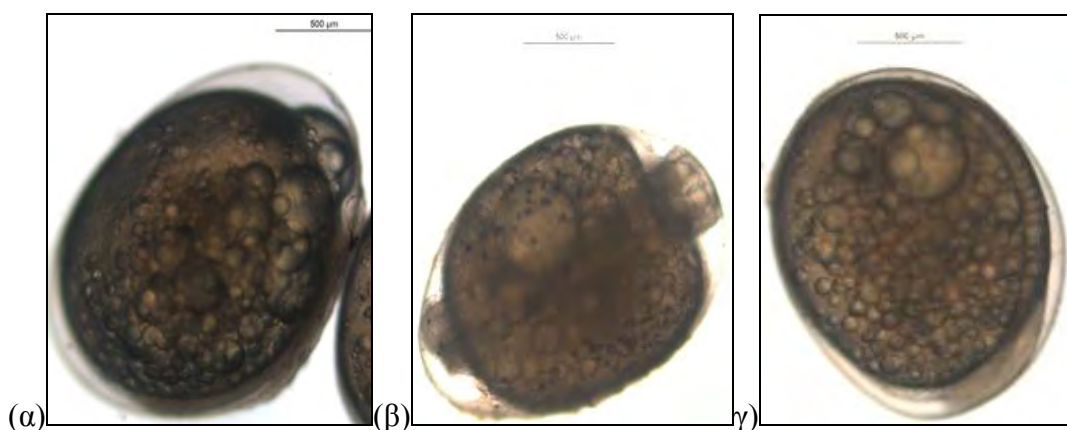
Εικόνα 3.7: Στάδια του γαστριδίου, του *A.nigrofasciatus* (α) πρώιμη φάση γαστριδίου ή 1/4 επιβολή (9 h & 30 min), (β) μεσόφαση ή 1/2 επιβολή (17 h & 30 min), (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Ο σχηματισμός του βλαστοπόρου ήταν η αρχή μιας διεργασίας που σταθεροποιούσε τις σχέσεις μεταξύ των διαφόρων ομάδων των κυττάρων. Η μορφολογία των κυττάρων διαφοροποιήθηκε εξαιτίας της επιμήκυνσης που παρουσίασαν. Η μετακίνηση των κυττάρων μακριά από το βλαστοπόρο είχε σαν αποτέλεσμα την δημιουργία μιας κοιλότητας προς τα έξω που ονομάζεται αρχέντερο. Η δημιουργία και η μορφογένεση των τριών βλαστικών στοιβάδων (εξώδερμα-μεσόδερμα-ενδόδερμα) παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του εμβρύου.

- Νευρίδιο

Η έναρξη του σταδίου του νευριδίου σηματοδοτήθηκε με την εμφάνιση της νευρικής αύλακας που οδηγούσε στη νευρική χορδή. Χρονικά το πρώιμο νευρίδιο στην κιχλιδόζεμπρα παρατηρήθηκε στις 18 h και 35 min. Το σωματίδιο του Kupffer εντοπίστηκε στο νωτιαίο και οπίσθιο μέρος του σώματος με μορφή φυσαλίδας και σχηματίστηκε στις 18 h και 30 min (Εικ.3.8α). Η ολοκλήρωση του σταδίου του νευριδίου πραγματοποιήθηκε στις 22 έως 23 h (Εικ.3.8β). Κατά το στάδιο αυτό

δημιουργήθηκε ο εγκέφαλος (από την εμπρόσθια πεπλατυσμένη νευρική πλάκα) και ο νωτιαίος μυελός (το οπίσθιο και στενότερο κομμάτι της νευρικής πλάκας). Χαρακτηριστικό του σταδίου αυτού ήταν η δημιουργία των σωματιών, οι οποίοι είναι πλάκες που δημιουργήθηκαν από τη διάτμηση του μεσοδέρματος. Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε στις 20 h μετά τη γονιμοποίηση και δεν ήταν ιδιαίτερα ευδιάκριτο (Εικ.3.8γ). Οι σωματίτες είναι υπεύθυνοι για τον σχηματισμό του σκελετού, των μυών και της ράχης του κορμού.



Εικόνα 3.8: Στάδια του νευριδίου, του *A.nigrofasciatus* (α) πρώιμη φάση νευριδίου (18 h & 35 min), (β) ύστερη φάση νευριδίου (22 h-23 h), γ) έναρξη δημιουργίας σωματιών (20 h) (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

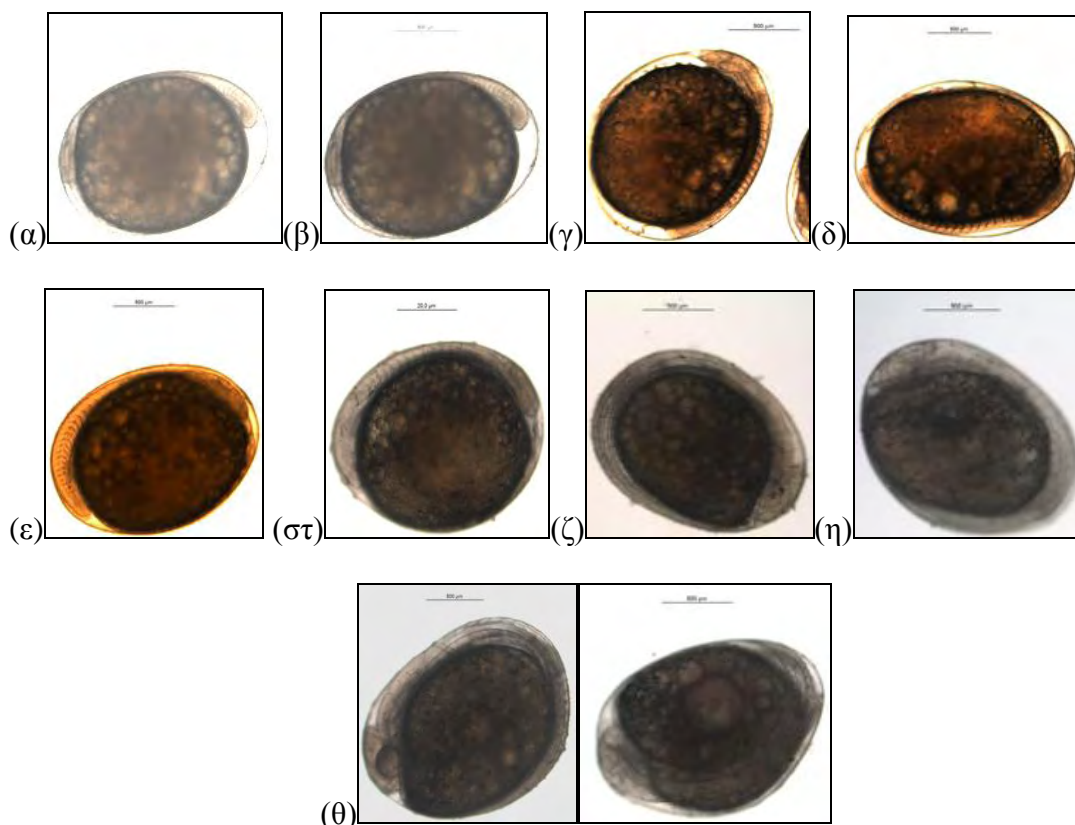
- Οργανογένεση

Στο στάδιο αυτό το έμβρυο απέκτησε την τελική του μορφή, ενώ ο σχηματισμός των σωματιών αποτελεί το βασικό κριτήριο για τον χαρακτηρισμό του σταδίου της οργανογένεσης και διήρκησε έως την εκκόλαψη. Στο στάδιο αυτό σχηματίστηκε η καρδιά, ενώ καθώς το έμβρυο επιμηκύνονταν ένας κυτταρικός πληθυσμός (νευρικές κρηπίδες) αρχίζει να μεταναστεύει σε διάφορα σημεία του εμβρύου διαμορφώνοντας τα χρωματοφόρα, τον συνδετικό ιστό και ορισμένα μέρη του κρανίου.

Η έναρξη του σταδίου σηματοδοτήθηκε με τον σχηματισμό των πρώτων σωμιτών (2 σωμίτες) που παρατηρήθηκε στις 20 h μετά τη γονιμοποίηση. Ο αριθμός των σωμιτών, στις 24 h μετά τη γονιμοποίηση αυξήθηκε στους 4, ενώ το μήκος του εμβρύου αύξανε καλύπτοντας το $\frac{1}{2}$ της περιφέρειας του αυγού (Εικ.3.9α). Στις 28 h μετά τη γονιμοποίηση στο μεσαίο και οπίσθιο τμήμα του εμβρύου οι σωμίτες αυξήθηκαν σε 6 με τα πρώτα χρωματοφόρα να εμφανίστηκαν στο πρόσθιο τμήμα του σώματος και συγκεκριμένα στη ραχιαία περιοχή της κεφαλής (Εικ.3.9β). 5 με 6 ώρες μετά, οι σωμίτες αυξήθηκαν σε 14 και 17 (Εικ.3.9 δ,γ) με το σχηματισμό της καρδιάς να είναι ορατός, αλλά όχι λειτουργικός. Στις 36 h, ο αριθμός των σωμιτών αυξήθηκε στους 20 (Εικ.3.9ε).

Καθώς ο αριθμός των σωμιτών (>22) αυξάνονταν ο όγκος της λεκίθου μειώθηκε μιας και κάλυπτε ενεργειακά τις ανάγκες του εμβρύου. 46 h μετά τη γονιμοποίηση το έμβρυο κάλυπτε περίπου τα $\frac{2}{3}$ της περιφέρειας του αυγού ενώ παράλληλα σχηματίστηκαν οι οπτικοί φακοί, ενώ τα χρωματοφόρα εντοπίστηκαν στο οπίσθιο τμήμα του κορμού (Εικ.3.9στ). Στην πρόσθια και οπίσθια περιοχή των οφθαλμών εντοπίστηκε συγκέντρωση αρκετών χρωματοφόρων. Μετά από 48 h, όπου είχε λάβει χώρα η γονιμοποίηση, το έμβρυο κάλυπτε τα $\frac{3}{4}$ της λεκίθου κάνοντας σπασμωδικές κινήσεις, ενώ 5 h μετά (53h από τη γονιμοποίηση) η λεκίθος είχε μειωθεί, με το έμβρυο να καλύπτει το 100% της λεκίθου, ενώ διακρίνονταν οι ωτόλιθοι και τα ακουστικά κυστίδια (πίσω από τους οφθαλμούς) και η στοματική κοιλότητα πίσω από το ρύγχος. Επίσης ο αριθμός των σωμιτών είχε αυξηθεί (Εικ.3.9ζ). Στις 63 h, ο αριθμός των σωμιτών είχε επιπλέον αυξηθεί ενώ ταυτόχρονα παρατηρήθηκε αποκόλληση του ουραίου πτερυγίου από τη λέκιθο (Εικ.3.9η). Στην οπίσθια περιοχή των ωτολιθών εντοπίστηκαν χρωματοφόρα κύτταρα, ενώ μετά από 1 έως 2 h τα χρωματοφόρα

κύτταρα εμφανίστηκαν στην περιοχή του ουραίου άκρου. Στο στάδιο αυτό ήταν ορατοί οι οφθαλμοί, οι ακανθώδεις κολλώδεις αδένες, ο εγκέφαλος και η καρδιά. Το τέλος του σταδίου της οργανογένεσης σηματοδοτήθηκε μετά από 2 ώρες (65 h) όπου το έμβρυο πραγματοποιούσε έντονες περιστροφές γύρω από τον εαυτό του (Εικ.3.9θ).

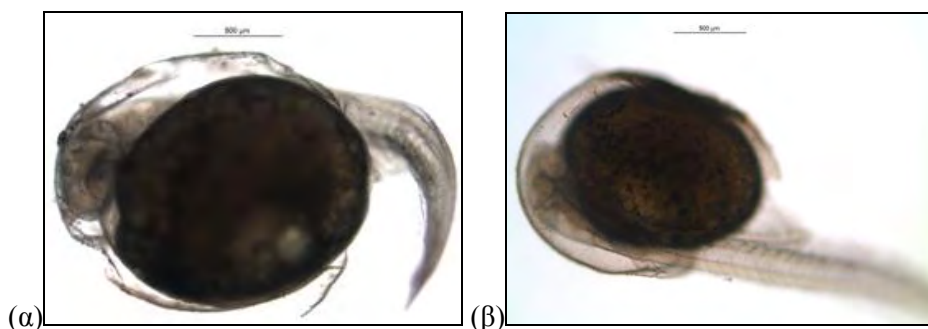


Εικόνα 3.9:Στάδια οργανογένεσης, του *A.nigrofasciatus* (α) φάση 4 σωματιών (24h), (β) φάση 6 σωματιών (28 h), (γ) φάση 14 σωματιών (33 h), (δ) φάση 17 σωματιών (34 h), (ε) φάση 20 σωματιών (36 h), (στ) οργανογένεση-έμβρυο (46h), (ζ) οργανογένεση-έμβρυο (53 h), (η) οργανογένεση-3/4 κάλυψη της περιφέρειας του εμβρύου (63 h), (θ) οργανογένεση πολύ δραστήριο έμβρυο (65 h), (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

- Εκκόλαψη

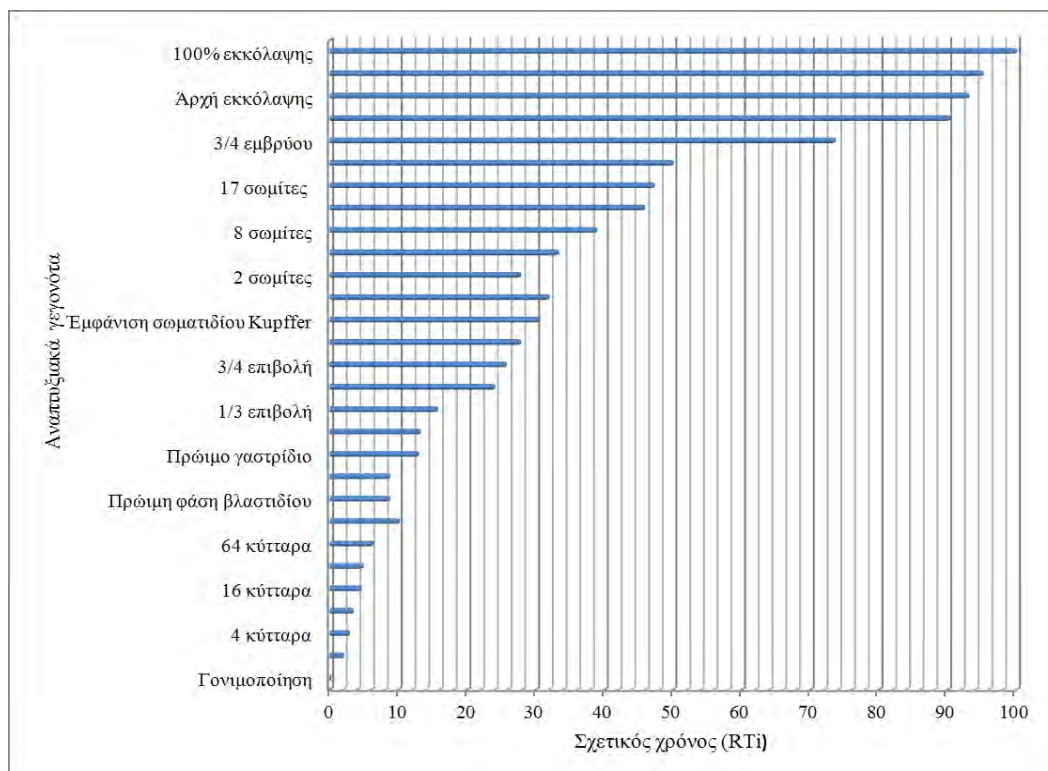
Στις 68 h μετά τη γονιμοποίηση παρατηρήθηκε η εκκόλαψη των πρώτων αυγών στην κιχλιδόζεμπρα (Εικ.3.10α). Το έμβρυο εξήλθε του αυγού με τη βοήθεια ειδικών

αδενικών κυττάρων, τα οποία βρίσκονταν στην κεφαλή εκκρίνοντας πρωτεολυτικά ένζυμα και διαλύοντας τοπικά το χορίο, ενώ με παλλόμενες κινήσεις της κεφαλής άνοιξε η έξοδος που ελευθερώθηκε η λεκιθοφόρα νύμφη, σηματοδοτώντας και τη λήξη του σταδίου. Δυο ώρες μετά εκκολάφθηκε το 85% με 90% των αυγών της κιχλιδόζεμπρας. Η λήξη του σταδίου ολοκληρώθηκε στις 72 h (Εικ.3.10β).



Εικόνα 3.10: Εκκόλαψη του *A.nigrofasciatus* (α) διάσπαση του χορίου, (β) απελευθέρωση της λεκιθοφόρας νύμφης (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Ο αριθμός των σωματιών πριν από την εκκόλαψη δε φάνηκε να αλλάζει σημαντικά (22 σωμαίτες), ενώ ο όγκος του λεκιθικού σάκου περιορίστηκε στο πρόσθιο μισό του σώματος μέχρι και την έδρα, αφήνοντας ελεύθερο το υπόλοιπο σώμα. Η εμβρυική ανάπτυξη στην κιχλιδόζεμπρα σε σχέση με το σχετικό χρόνο RTi στους 27°C αποτυπώνεται στο Σχήμα 3.3.



Σχήμα 3.3: Γράφημα της εμβρυϊκής ανάπτυξης του *A. nigrofasciatus* σε σχέση με το σχετικό χρόνο (RTi) στους 27°C.

Γ. Λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας

Με την έναρξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου (Yolk sac stage), οι λεκιθοφόρες νύμφες της κιχλιδόζεμπρας δε διέφεραν από τα έμβρυά της, πριν από την εκκόλαψη. Ο λεκιθικός σάκος των νέο-εκκολαπτόμενων νυμφών απαντάται στην πρόσθια και κοιλιακή περιοχή του σώματος, είχε ελλειπτικό σχήμα και εκτείνονταν από το μέσο του προκογχικού μήκους μέχρι την έδρα της νύμφης. Καταλάμβανε περίπου το μισό του ολικού μήκους της νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης. Η διάμετρός του ήταν $1,72 \pm 0,05$ cm κατά τον οριζόντιο και $1,37 \pm 0,03$ cm κατά τον κατακόρυφο άξονα.

Ο λόγος του μήκους του λεκιθικού σάκου (YsL) προς το ολικό μήκος της νύμφης (TL), υπολογίστηκε στα $0,39 \pm 0,25$ mm ενώ ο λόγος του ύψους (YsD) προς το

ύψος του σώματος της νύμφης (BD) βρέθηκε $2,5 \pm 0,54$ mm, δηλαδή ήταν περίπου δύο φορές μεγαλύτερο από το σωματικό ύψος της νύμφης ($YsL/TL = 0,42$ mm και $YsD/BD = 3,02$ mm, αντίστοιχα). Η λέκιθος ήταν ομοιογενούς χρώματος ανοιχτού καφέ, αδιαφανής και καλύπτονταν σε μεγάλο ποσοστό από μελανοφόρα κύτταρα. Η σταγόνα λιπιδίου δεν ήταν ευδιάκριτη λόγω της συνεκτικότητας και της χρωστικής ουσίας που παρουσίαζε η λέκιθος (Εικ.3.11).

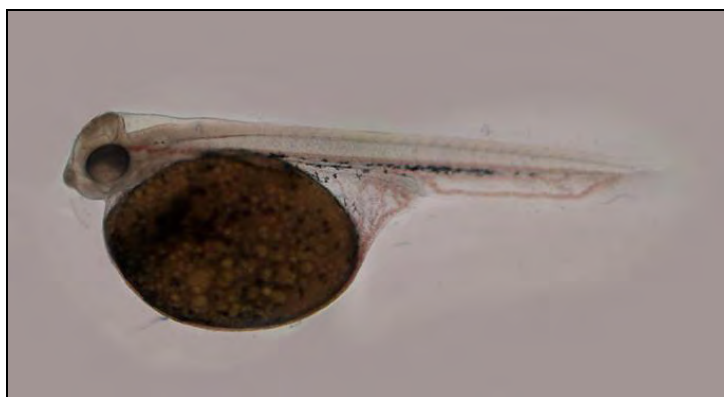


Εικόνα 3.11: Δομή του λεκιθικού σάκου της κιχλιδόζεμπρας 4 h μετά την εκκόλαψη (ME). Διακρίνονται οι οφθαλμοί και τα οφθαλμικά κυστίδια (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Ο κορμός του λεκιθοφόρου ιχθυδίου, σε όλο σχεδόν το μήκος του, από το ύψος των οφθαλμών (κορυφή κεφαλής) μέχρι το ουραίο τμήμα του, γύρω από αυτό και προσθίως του κορμού, μέχρι το οπίσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου, περιβάλλονταν από την πρωτογενή περιφερειακή πτερυγιοπτυχή, η οποία ήταν διάφανη και λεπτή. Το πρόσθιο τμήμα του σώματος ήταν ελαφρώς κεκαμμένο προς τα κάτω, εξαιτίας της στενής επαφής της περιοχής της κεφαλής με το λεκιθικό σάκο. Οι οφθαλμοί είχαν διάμετρο $0,29 \pm 0,02$ mm, ήταν άχρωμοι και στο κέντρο τους διακρίνονταν οι φακοί κρυσταλλίνης και τα οφθαλμικά κυστίδια (Εικ.3.11).

Το πεπτικό σύστημα της νέο-εκκολαφθείσας νύμφης αποτελείτο από κλειστή στοματική κοιλότητα, η οποία ήταν υπό κατασκευή, αδιαμόρφωτο και ευθυτενή γαστρικό σωλήνα, ο οποίος εκτείνονταν έως το οπίσθιο τμήμα του λεκιθικού σάκου,

διακόπτοντας την περυγιοπτυχή, για να καταλήξει στην έδρα η οποία ήταν κλειστή (Εικ.3.11). Η νυκτική κύστη ήταν καλά σχηματισμένη, δεν ήταν ευδιάκριτη και δεν είχε πληρωθεί με αέρα. Βρίσκονταν πρόσθια και ραχιαία της λεκίθου και σε στενή επαφή με το γαστρικό σωλήνα. Φάνηκε 8 h μετά την εκκόλαση (Εικ.3.12).



Εικόνα 3.12: Νυκτική κύστη κιχλιδόξεμπρας 8 h μετά την εκκόλαση (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

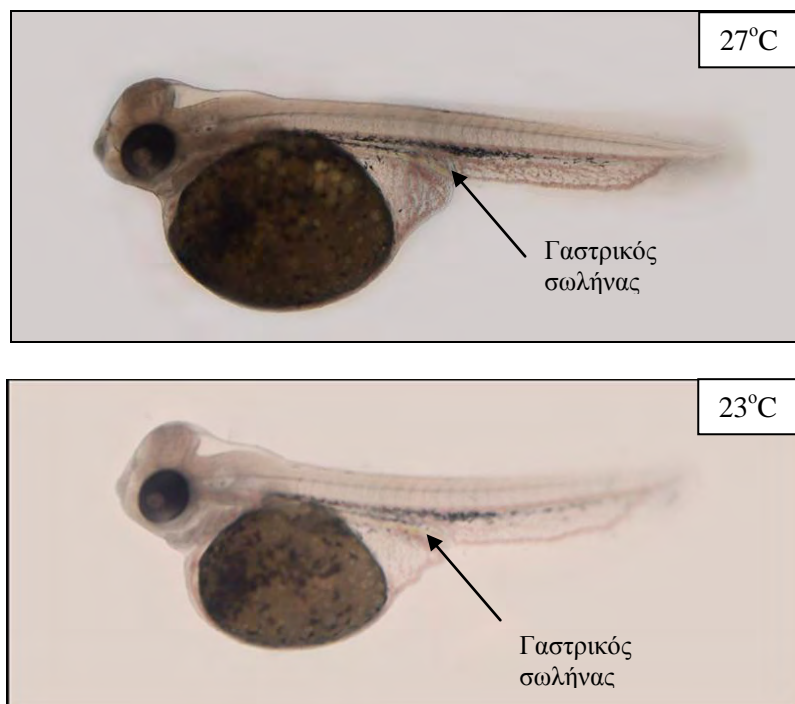
Η καρδιά, ήταν τοποθετημένη πρόσθια και ραχιαία του λεκιθικού σάκου και ήταν λειτουργική. Στο πρόσθιο τμήμα της κεφαλής, μπροστά από τους οφθαλμούς και κοντά στο ρύγχος βρίσκονταν οι ρινικές ή οσφρητικές κοιλότητες (Εικ.3.13), οι δομές των οποίων συνδέθηκαν αργότερα με την πλευρική γραμμή και το εσωτερικό της ακουστικής κοιλότητας. Οι Kendall *et al.* (1984) και οι Fujimura & Okada (2007) αναφέρουν ότι το οπίσθιο άκρο της, επικοινωνεί με εκτεταμένο δίκτυο αγγείων το οποίο αναπτύσσεται στο εσωτερικό της λεκίθου, μέσω του περικαρδίου και της περιλεκιθικής μεμβράνης.



Εικόνα 3.13: Πρόσθιο τμήμα της κεφαλής της κιχλιδόξεμπρας (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

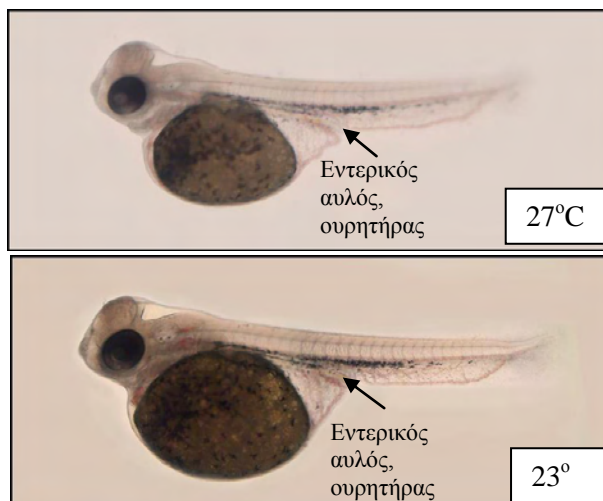
Η νεοεκκολαπτόμενη νύμφη του *A. nigrofasciatus*, δεν είχε κανένα σχηματισμένο πτερύγιο, ενώ ο συνολικός αριθμός των μυομερών κυμαίνονταν από 20-22 εκ των οποίων τα 12 έως 14 μυομερή βρίσκονταν στο προεδρικό τμήμα του κορμού. Η λέκιθος αποτελούνταν από μελανοφόρα κύτταρα τα οποία με την εξέλιξη των σταδίων δεν μεταβάλλονταν. Τέσσερις ώρες μετά την εκκόλαψη εμφανίστηκαν τα πρώτα χρωματοφόρα κύτταρα στην επιφάνεια των οφθαλμών στους 27 °C, ενώ στους 23 °C εμφανίστηκαν 5 h μετά (Σχ.3.13). Ο αριθμός των χρωματοφόρων αυξάνονταν μέχρι να καλύφθει ολόκληρη η επιφάνεια του οφθαλμού.

Η διαφοροποίηση του γαστρικού σωλήνα άρχισε χρονικά να παρατηρείται στις 20 με 24 h μετά την εκκόλαψη στη θερμοκρασία των 27 °C, ενώ στους 23 °C, η διαφοροποίηση του γαστρικού σωλήνα παρατηρήθηκε 2 h αργότερα (δηλαδή 26-28 h) (Σχ.3.14).



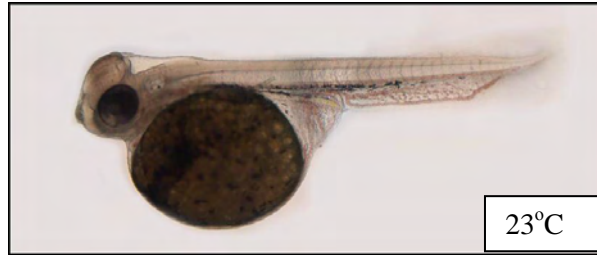
Εικόνα 3.14: Διαφοροποίηση γαστρικού σωλήνα της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C αντίστοιχα (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Η ανάπτυξη της λεκιθοφόρας νύμφης της κιχλιδόζεμπρας, 24-28 h μετά την εκκόλαψη, συνέχιζε να εξελίσσεται με την εμφάνιση του εντερικού αυλού και σε μικρή απόσταση από το έντερο και τον ουρητήρα στους 27 °C, σε αντίθεση με τη μικρότερη θερμοκρασία (23 °C), όπου ο εντερικός αυλός και ο ουρητήρας εμφανίστηκαν 28-32 h μετά την εκκόλαψη (Εικ.3.15). Η κατανομή των χρωματοφόρων κυττάρων στα μυομερή εμφανίστηκε 16-20 h μετά την εκκόλαψη στους 27 °C, σε αντίθεση με τη θερμοκρασία των 23 °C όπου τα χρωματοφόρα διαφαίνονταν 20-24 h μετά την εκκόλαψη (Εικ.3.16).



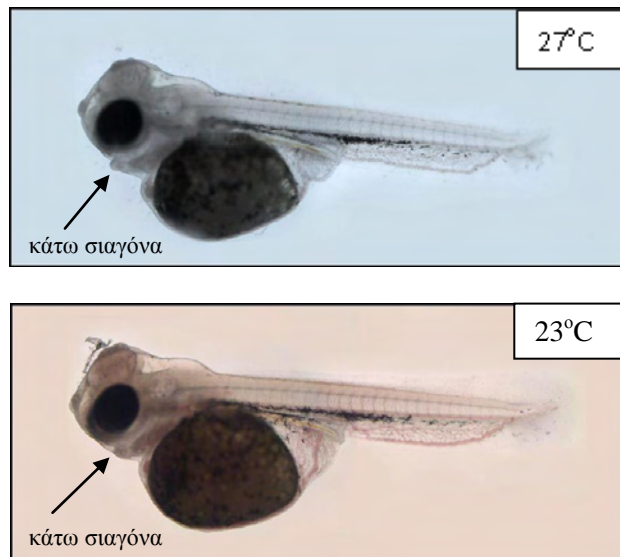
Εικόνα 3.15: Εμφάνιση εντερικού αυλού και ουρητήρα στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C αντίστοιχα (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).





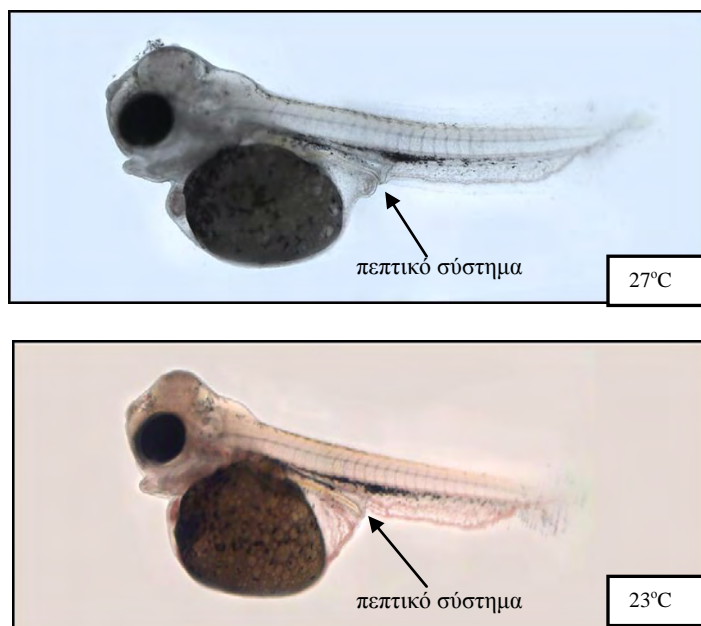
Εικόνα 3.16: Κατανομή χρωματοφόρων κυττάρων στα μυομερή στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C αντίστοιχα (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Τα θωρακικά πτερύγια σχηματίστηκαν χωρίς να είναι ευδιάκριτες οι ακτίνες. Το πεπτικό σύστημα διαφοροποιήθηκε με το σχηματισμό του εντερικού βρόγχου και της κάτω σιαγόνας. Η απορρόφηση της λεκίθου συνέχιζε να μειώνεται με αποτέλεσμα η κεφαλή να αρχίζει να ελευθερώνεται από το πρόσθιο τμήμα της λεκίθου 12-14 h μετά την εκκόλαψη στους 27 °C και 12-16 h στους 23 °C. Ο σχηματισμός της κάτω σιαγόνας εμφανίστηκε 28-32 h μετά την εκκόλαψη τους 27 °C και 40-44 h μετά την εκκόλαψη στους 23 °C (Εικ.3.17).

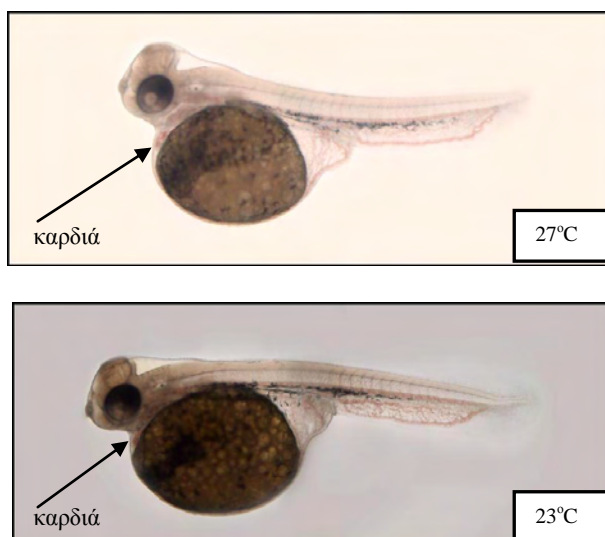


Εικόνα 3.17: Σχηματισμός της κάτω σιαγόνας και άνοιγμα της στοματικής κοιλότητας στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Η διαφοροποίηση του πεπτικού συστήματος έγινε με το σχηματισμό του ήπατος μπροστά και πίσω από το λεκιθικό σάκο, στις 36-40 h μετά την εκκόλαψη στους 27 °C σε αντίθεση με τους 23 °C, όπου παρατηρήθηκε στις 56-60h μετά την εκκόλαψη (Εικ.3.18).



Εικόνα 3.18: Διαφοροποίηση πεπτικού συστήματος στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).



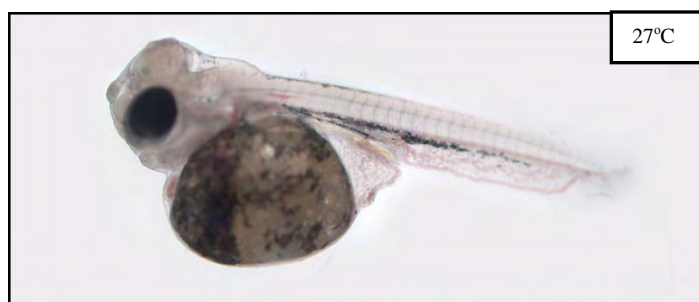
Εικόνα 3.19: Εμφάνιση καρδιάς στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C αντίστοιχα (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Η εμφάνιση της καρδιάς έγινε στις 16-20 h στους 27 °C και στις 20-24 h στους 23 °C αντίστοιχα (Εικ.3.19). 36-40 h μετά την εκκόλαση στους 27 °C, η επιφάνεια των οφθαλμών καλύφθηκε πλήρως με μελανοφόρα και εμφανίστηκε έντονα χρωματισμένη (μαύρη), σε αντίθεση με τους 23 °C που έγινε 52 h μετά την εκκόλαση (Εικ.3.20).



Εικόνα 3.20: Κάλυψη των οφθαλμών από μελανοφόρα κύτταρα στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόξεμπρας στους 27 °C και 23 °C αντίστοιχα (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

36 h και 38 h μετά την εκκόλαση ο αριθμός των μυομερών στην προεδρική περιοχή ήταν 12 με 13 στους 27 °C και 23 °C, αντίστοιχα. Επίσης την ίδια χρονική περίοδο τα μελανοφόρα κύτταρα εντοπίστηκαν στη ραχιαία περιοχή, ενώ στο οπίσθιο τμήμα του εντέρου υπήρχε συγκέντρωση χρωματοφόρων (Εικ.3.21).



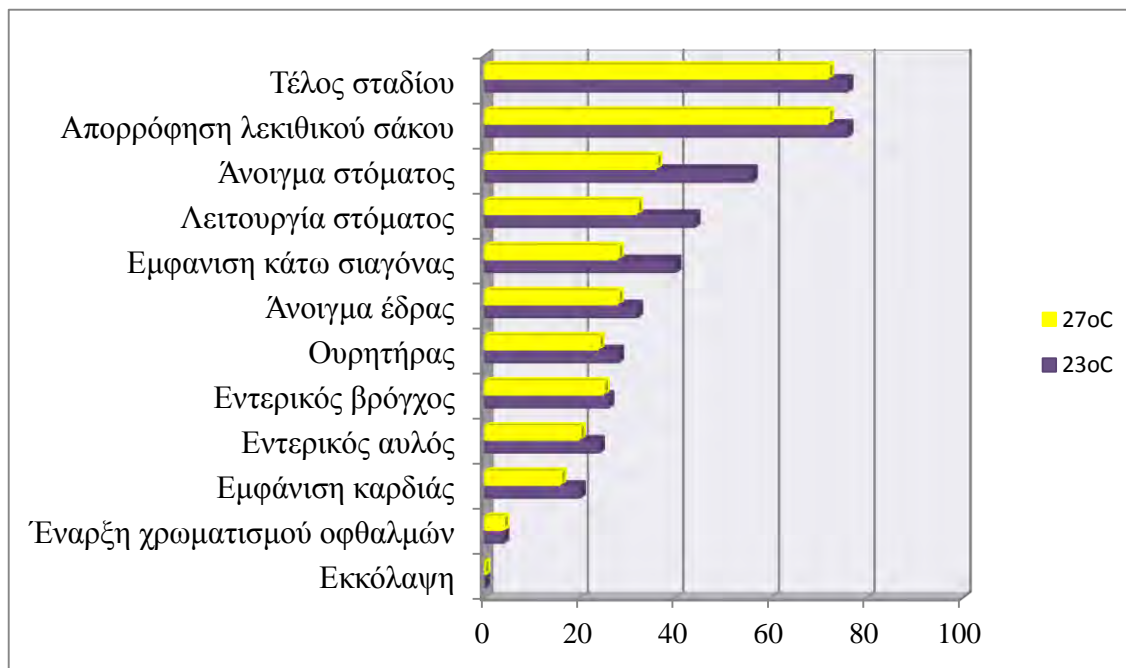


Εικόνα 3.21: Κατανομή του αριθμού μυομερών στη λεκιθοφόρα νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Η λήξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου σηματοδοτήθηκε με την έναρξη απορρόφησης των λεκιθικών αποθεμάτων, η οποία πραγματοποιήθηκε στους 27 °C στις 72-76 h και στους 23 °C στις 76-80 h μετά την εκκόλαψη (Εικ.3.22α). Ο τελικός αριθμός των μυομερών κυμαίνονταν από 23-24 και στις δύο θερμοκρασίες. Η εξέλιξη των σημαντικών γεγονότων κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης του *A. nigrofasciatus*, σε σχέση με το χρόνο που εκδηλώθηκαν τα διάφορα αναπτυξιακά γεγονότα και για τις δυο πειραματικές θερμοκρασίες φαίνεται στο Σχήμα 3.4.



Εικόνα 3.22: Λήξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C και 23 °C (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).



Σχήμα 3.4: Αναπτυξιακά γεγονότα στο στάδιο της λεκιθοφόρας νυμφικής ανάπτυξης του *A. nigrofasciatus* σε σχέση με το σχετικό χρόνο RTi στους 27 °C και 23 °C.

Δ. Νυμφικό στάδιο ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας








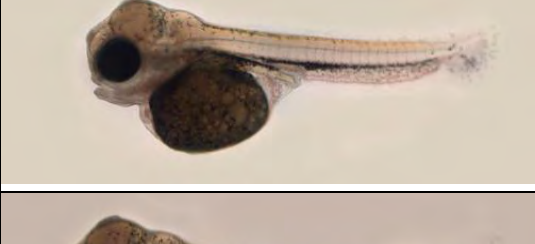

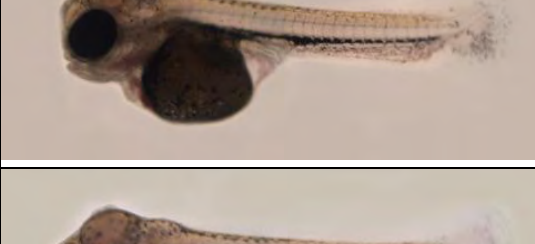
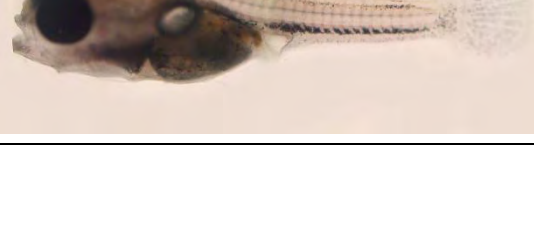

Κύριο χαρακτηριστικό του νυμφικού σταδίου είναι η μετάβαση από την ενδογενή στην εξωγενή θρέψη καθώς και η μορφολογική ολοκλήρωση των ατόμων με σκοπό την κάλυψη του συνόλου των λειτουργικών και ηθολογικών προτιμήσεων τόσο του νυμφικού σταδίου όσο και των μετέπειτα ενήλικων σταδίων. Το νυμφικό στάδιο αποτελεί συνέχεια του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου. Ο αριθμός των πρωτογενών ακτινών του εδρικού περυνγίου αποτελεί ένα δείκτη για την ταξινόμηση των διαφόρων ειδών της οικογένειας Cichlidae, κατά το νυμφικό στάδιο ανάπτυξης. Αύξηση του αριθμού των πρωτογενών ακτίνων στο εδρικό περυνγίο, υποδηλώνει αύξηση του μεγέθους του ψαριού (μήκος σώματος). Οι Morrison *et al.* (2001) αναφέρουν ότι, διαφορές στο ρυθμό ανάπτυξης παρατηρούνται όχι μόνο ανάμεσα στα έμβρυα της ίδιας

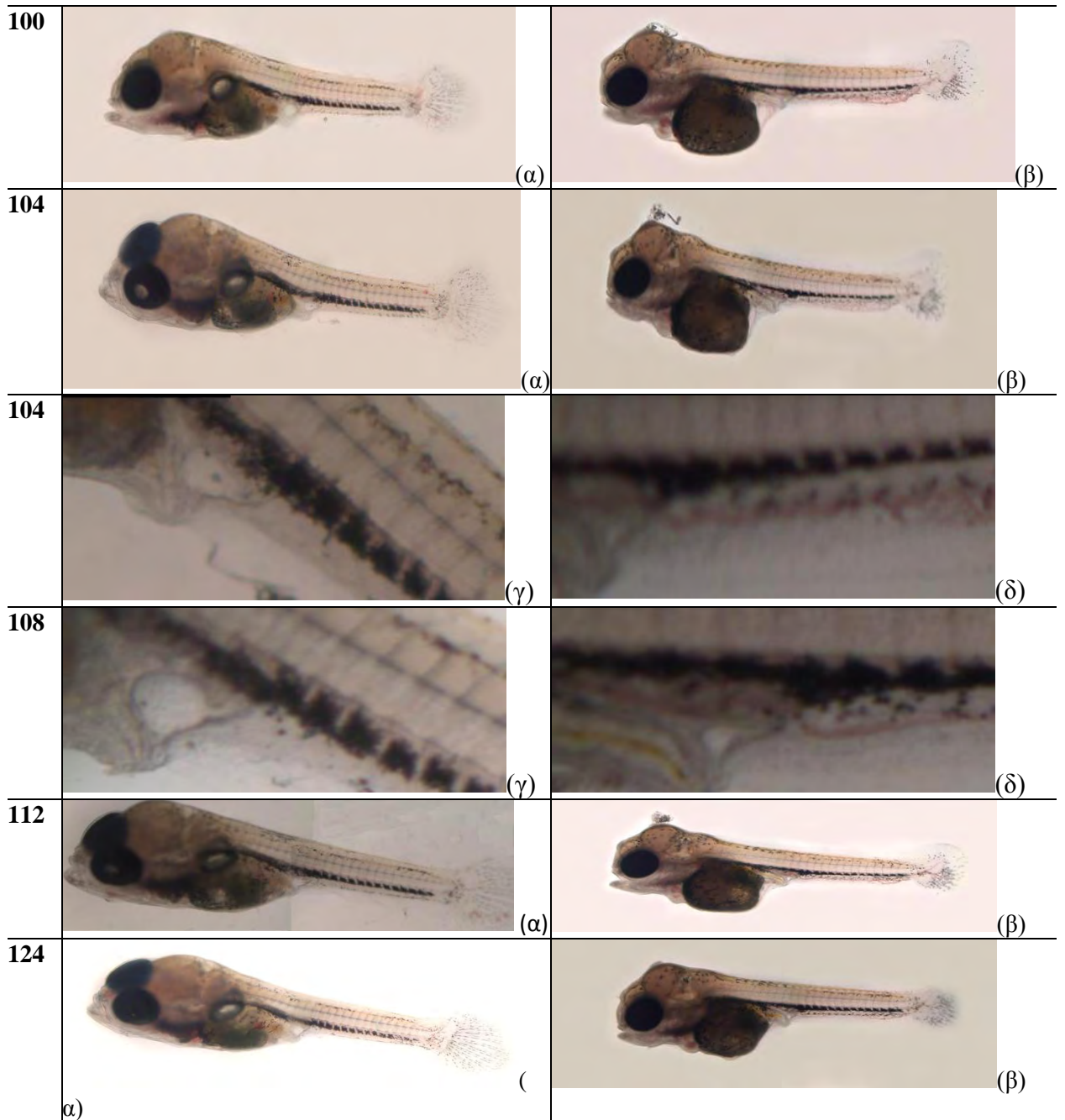
γέννας, αλλά και στα έμβρυα που προέρχονται από διαφορετικές γέννες. Για το λόγο αυτό λαμβάνονται πολλά και διαφορετικά δείγματα προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί το σφάλμα.

Η νύμφη της κιχλιδόζεμπρας συνέχιζε να εξελίσσεται μορφολογικά αρχίζοντας να μεταμορφώνεται σταδιακά σε ενήλικο άτομο. Στους 27 °C, 76 h μετά την εκκόλαψη τα αποθέματα του λεκιθικού σάκου συνέχιζαν να μειώνονται. Οι νύμφες άρχιζαν σταδιακά να κολυμπούν παραμένοντας στον πυθμένα του ενυδρείου. Η παρουσία των μελανοφόρων κυττάρων στην περιοχή της κεφαλής ήταν αυξημένη, σε αντίθεση με το οπίσθιο τμήμα του κορμού όπου η παρουσία των μελανοφόρων ήταν ελάχιστη. Η άνω γνάθος, δεν ήταν πλήρως σχηματισμένη παρόλο που η μεταλεκιθοφόρα νύμφη είχε αρχίσει σταδιακά να τρέφεται με εξωτερική τροφή (ζωντανή τροφή και πάστα συμπήκτων). Το ουραίο πτερύγιο, διαφοροποιήθηκε με τον αριθμό των πρωτογενών ακτινών σε 2 (Εικ.3.23α). Στους 23 °C, 76 h μετά την εκκόλαψη, τα λεκιθικά αποθέματα της νύμφης της κιχλιδόζεμπρας μειώνονταν με αργό ρυθμό. Η παρουσία των μελανοφόρων κυττάρων στην περιοχή της κεφαλής ήταν αυξημένη, σε αντίθεση με το οπίσθιο τμήμα του κορμού όπου η παρουσία των μελανοφόρων ήταν ελάχιστη (Εικ.3.23β). 80 h μετά την εκκόλαψη παρατηρήθηκε μεγαλύτερη μείωση του λεκιθικού σάκου στη νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C σε σχέση με τους 23 °C. Το βραγχιακό επικάλυμμα άρχισε να σχηματίζεται, ενώ η καρδιά της κιχλιδόζεμπρας δεν ήταν ορατή. Η παρουσία των μελανοφόρων κυττάρων στην περιοχή της κεφαλής ήταν αυξημένη, σε αντίθεση με το οπίσθιο τμήμα του κορμού όπου τα μελανοφόρα κύτταρα ήταν ελάχιστα.

Ο θωρακικός μίσχος στη νύμφη της κιχλιδόζεμπρας ήταν εμφανής, ενώ η νωτοχορδή δεν διακρίνονταν. Η πρωτογενής πτερυγιοπτυχή στο εδρικό τμήμα άρχισε

να φαρδαίνει. Ο αριθμός των πρωτογενών ακτινών του ουραίου πτερυγίου ήταν 2, ενώ στη διαμόρφωσή του συνέβαλε η νωτοχορδή (Εικ.3.23α,β).

Ωρες	27°C	23°C
76	 (α)	 (β)
80	 (α)	 (β)
84	 (α)	 (β)
88	 (α)	 (β)
92	 (α)	 (β)
96	 (α)	 (β)



Εικόνα 3.23: Εξέλιξη του νυμφικού σταδίου ανάπτυξης της κιχλιδοζέμπρας στους 27 °C και 23 °C (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Σε ότι αφορά την εξέλιξη του νυμφικού σταδίου στην κιχλιδοζέμπρα στους 23 °C, 84 h μετά την εκκόλαψη σχηματίστηκαν η άνω και η κάτω γνάθος ενώ οι νύμφες της συνεχίζουν να καταναλώνουν τα αποθέματα του λεκιθικού σάκου με αργό ρυθμό. Η

στοματική κοιλότητα είχε διανυχθεί πλήρως, ενώ άρχισαν να κάνουν έντονα την εμφάνισή τους, τα χρωματοφόρα στο ύψος της κεφαλής. Η πρωτογενής πτερυγιοπτυχή άρχισε να αυξάνεται, ενώ στο ουραίο πτερύγιο διαφαίνονταν οι CFRE, οι οποίες ήταν 2. Τα χρωματοφόρα κύτταρα αυξήθηκαν στην πρόσθια και οπίσθια περιοχή των οφθαλμών, στην περιοχή των ωτολίθων και στο ραχιαίο και κοιλιακό μέρος του σώματος της κιχλιδόζεμπρας. Κατά τη διάρκεια του σταδίου αυτού ο αριθμός των μυομερών κατά μήκος του σώματος της νύμφης κυμαίνονταν από 22 έως 25 (Εικ.3.23α,β).

Ο όγκος του λεκιθικού σάκου συνέχιζε να αυξάνει 88 h μετά την εκκόλαψη στους 27 °C, σε αντίθεση με τους 23 °C όπου η μείωση του λεκιθικού σάκου γίνονταν με αργούς ρυθμούς. Επίσης, την ίδια χρονική στιγμή (88 h) και στην ίδια θερμοκρασία (27 °C) ήταν ορατά η νηκτική κύστη, ο ουρητήρας και ο εντερικός σωλήνας. Ο αριθμός των πρωτογενών ακτινών του ουραίου πτερυγίου αυξήθηκε σε 3, ενώ το εδρικό πτερύγιο ήταν ήδη διαμορφωμένο. Τα μελανοφόρα κύτταρα στο κεφάλι της κιχλιδόζεμπρας αυξήθηκαν, ενώ ο αριθμός των μυομερών παρέμεινε σταθερός (22-25) (Εικ.3.23α,β).

Στους 23°C, 88 h μετά την εκκόλαψη τα μελανοφόρα κύτταρα και τα χρωματοφόρα, στο ύψος της κεφαλής, αυξήθηκαν. Ο όγκος της λεκίθου μειώνονταν με αργό ρυθμό, ενώ παρατηρήθηκε άνοιγμα της στοματικής κοιλότητας. Δώδεκα h μετά την εκκόλαψη έκαναν την εμφάνισή τους οι πρωτογενείς ακτίνες, οι οποίες αργότερα σχημάτισαν το ουραίο πτερύγιο, ενώ ήταν ορατή η πτυχή των αιμοφόρων αγγείων του ασχημάτιστου εδρικού πτερυγίου. Η καρδιά φαίνονταν καθαρά, ενώ διακρίνονταν οι κολλώδεις αδένες στο πρόσθιο μέρος της κεφαλής καθώς άρχισε να δημιουργείται ο μίσχος του θωρακικού πτερυγίου. Επίσης η νωτοχορδή άρχισε από τις 68-72 h να

κάμπτεται προς τα επάνω (στάδιο preflexion), ενώ 88 h μετά την εκκόλαψη συνέχιζε να κάμπτεται προς τα επάνω, καθώς το μήκος της μειώνονταν (στάδιο postflexion) (Εικ.3.23α,β). Η απορρόφηση του λεκιθικού σάκου 92 h μετά την εκκόλαψη ήταν μεγαλύτερη στους 27 °C, ενώ η νηκτική κύστη είχε πληρωθεί με αέρα και η νύμφη άρχιζε να κολυμπά σε όλη τη στήλη του νερού (Εικ.3.23α,β).

Στους 23°C, 92 h μετά την εκκόλαψη η νύμφη της κιχλιδόζεμπρας διατηρούσε τα χαρακτηριστικά της, με μικρότερη απορρόφηση του λεκιθικού σάκου. Οκτώ ώρες μετά η λέκιθος συνέχιζε να μειώνεται, ενώ φαινόταν πιο έντονα η καρδιά (100h). Στην περιοχή του κεφαλιού οι ωτόλιθοι ήταν ορατοί και οι οφθαλμοί της νύμφης αυξάνονταν σε διάμετρό. Τα μελανοφόρα κύτταρα ήταν πιο έντονα στο κεφάλι και στο σώμα. Στο στάδιο αυτό η άνω και κάτω γνάθος της νύμφης διαφοροποιούνται, οι πρωτογενείς ακτίνες στην περιοχή της ουράς αυξήθηκαν και έγιναν πιο ορατοί. Η νωτοχορδή συνέχιζε να κάμπει προς τα επάνω μέχρι να λάβει την τελική της θέση (Εικ.3.23α,β).

Στους 27 °C, η εξέλιξη των αναπτυξιακών γεγονότων στη νύμφη της κιχλιδόζεμπρας ήταν πιο γρήγορη σε σχέση με τους 23 °C. 96 h μετά την εκκόλαψη, τα αποθέματα του λεκιθικού σάκου μειώνονταν με αυξημένο ρυθμό. Η νηκτική κύστη αυξήθηκε, ενώ το ουραίο πτερύγιο διαμορφώθηκε με τον αριθμό των πρωτογενών ακτινών (CFRE) να αυξάνεται στις 6, σε αντίθεση με τη νύμφη της κιχλιδόζεμπρας στους 23 °C, όπου η ανάπτυξη γίνονταν με πιο αργό ρυθμό (Εικ.3.23α,β). 100 h (≈ 4 ημέρες) μετά την εκκόλαψη στους 27 °C, η νηκτική κύστη πληρώθηκε με αέρα, η στοματική κοιλότητα της νύμφης ήταν πλήρως σχηματισμένη, ενώ άρχιζαν να διαμορφώνονται οι γονάδες. Η εξέλιξη του σταδίου σηματοδοτήθηκε με την εμφάνιση του βραγχιακού επικαλύμματος και την εμφάνιση των οργάνων όσφρησης. Ο αριθμός

των μελανοφόρων ήταν μεγαλύτερος στο πρόσθιο τμήμα του σώματος της νύμφης (Εικ.3.23α,β).

Αντιθέτα, στους 23 °C, 100 h (\approx 4 ημέρες) μετά την εκκόλαψη οι βραγχιακές ακτίνες ήταν καλύτερα διαφοροποιημένες ενώ αναπτύσσονταν τα βραγχιακά νημάτια, το βραγχιακό έλασμα και οι γονάδες (Εικ.3.23α,β). Στους 27 °C, η νύμφη της κιχλιδόζεμπρας, 104 h μετά την εκκόλαψη, εισείλθε στο στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυδίου. Το στάδιο αυτό σηματοδοτήθηκε με την περίοδο της ελεύθερης κολύμβησης και την ελαχιστοποίηση της διαμέτρου του λεκιθικού σάκου. Ο λεκιθικός σάκος απορροφήθηκε πλήρως στο χρονικό διάστημα των 105 h (\approx 5 ημέρες) έως 110 h μετά την εκκόλαψη. Ο αριθμός των ακτινών στο ουραίο πτερύγιο ήταν 9 (Εικ.3.23α,β).

Αντίστοιχα στους 23 °C, 104 h μετά την εκκόλαψη η νύμφη είχε τα ίδια χαρακτηριστικά με το προηγούμενο στάδιο (100 h). Παρατηρήθηκε διαφοροποίηση της άνω γνάθου από το υπόλοιπο μέρος του κεφαλιού, ενώ το στοματικό άνοιγμα ήταν μεγαλύτερο (Εικ.3.23α,β). Τα αναπτυξιακά γεγονότα έλαβαν χώρα κατά την ανάπτυξη της νύμφης της κιχλιδόζεμπρας 112 h μετά την εκκόλαψη, στους 23 °C, ήταν ο σχηματισμός του βραγχιακού επικαλύμματος, η απορρόφηση του λεκιθικού σάκου και η τελική διαμόρφωση της άνω γνάθου (Εικ.3.23α,β). Ένα άλλο σημαντικό αναπτυξιακό γεγονός που παρατηρήθηκε στη νύμφη ήταν η διαφοροποίηση των γονάδων η οποία έλαβε χώρα στις 108 h στους 23 °C (Εικ.3.23 γ,δ) και 104 h στους 27 °C (Εικ.3.23 γ,δ) μετά την εκκόλαψη.

Στους 23 °C η νύμφη της κιχλιδόζεμπρας, 124 h (\approx 6 ημέρες) μετά την εκκόλαψη, εισήλθε στο στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ατόμου. Το στάδιο αυτό σηματοδοτήθηκε με την περίοδο της ελεύθερης κολύμβησης και την πλήρη

απορρόφηση του λεκιθικού σάκου. Επίσης, στο στάδιο αυτό, ο αριθμός των ακτινών στο εδρικό πτερύγιο ήταν 8 (Εικ.3.23α,β). Η πλήρης απορρόφηση του λεκιθικού σάκου σηματοδοτήθηκε με τη μετάβαση της νύμφης στην εξωγενή θρέψη καθώς και τη μορφολογική ολοκλήρωση της.

3.3.1.2.Στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυδίου (juvenile) της κιχλιδόζεμπρας

Το στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυδίου της κιχλιδόζεμπρας (juvenile) σηματοδοτήθηκε με την πλήρη απορρόφηση του λεκιθικού σάκου και διήρκησε μέχρι την πρώτη ωρίμανση των γαμετών. Η κιχλιδόζεμπρα στο στάδιο αυτό, τρέφονταν με εξωγενή τροφή και τελειοποίησε τα μορφολογικά της χαρακτηριστικά, ενώ αναπτυσσόταν με μικρές διαφορές. Η μελέτη του σταδίου αυτού έγινε σε θερμοκρασία 27 °C.

Μεταξύ 170 και 174 h (\approx 7 ημέρες) μετά την εκκόλαψη, η νύμφη άρχιζε να κολυμπά ελεύθερα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής της, μετά την πλήρη απορρόφηση του λεκιθικού σάκου (8 ημέρες συνολικά) (στάδιο ελεύθερης κολύμβησης). Η νηκτική κύστη ήταν πιο ορατή εξαιτίας της υψηλής διαθλαστικότητας που παρουσίαζε. Η νύμφη άρχιζε να αναπνέει βραγχιακά και όχι με τα προσωρινά εμβρυικά όργανα. Οι αδένες της κεφαλής της ευθυγραμμίστηκαν χάνοντας τη λειτουργικότητά τους και εξαφανίστηκαν πλήρως κατά τη διάρκεια των επόμενων ημερών. Οι πρωτογενείς ακτίνες εμφανίστηκαν στα θωρακικά πτερύγια και οι ακτίνες του ουραίου πτερυγίου αναπτύχθηκαν περισσότερο. Το ραχιαίο και εδρικό πτερύγιο αρχίζε να διαφοροποιείται, αλλά οι ακτίνες των πτερυγίων τους δεν ήταν ορατές. Τα πτερύγια αποτελούνταν από λεπτές διαφανείς μεμβράνες. Οι χρωστικές ουσίες ήταν πιο πυκνά κατανεμημένες στην αρχή,

στη μέση και στο τέλος του κορμού. Το κεφάλι ήταν καλυμμένο με πυκνά ακτινικά μελανοφόρα κύτταρα (Εικ.3.24α).

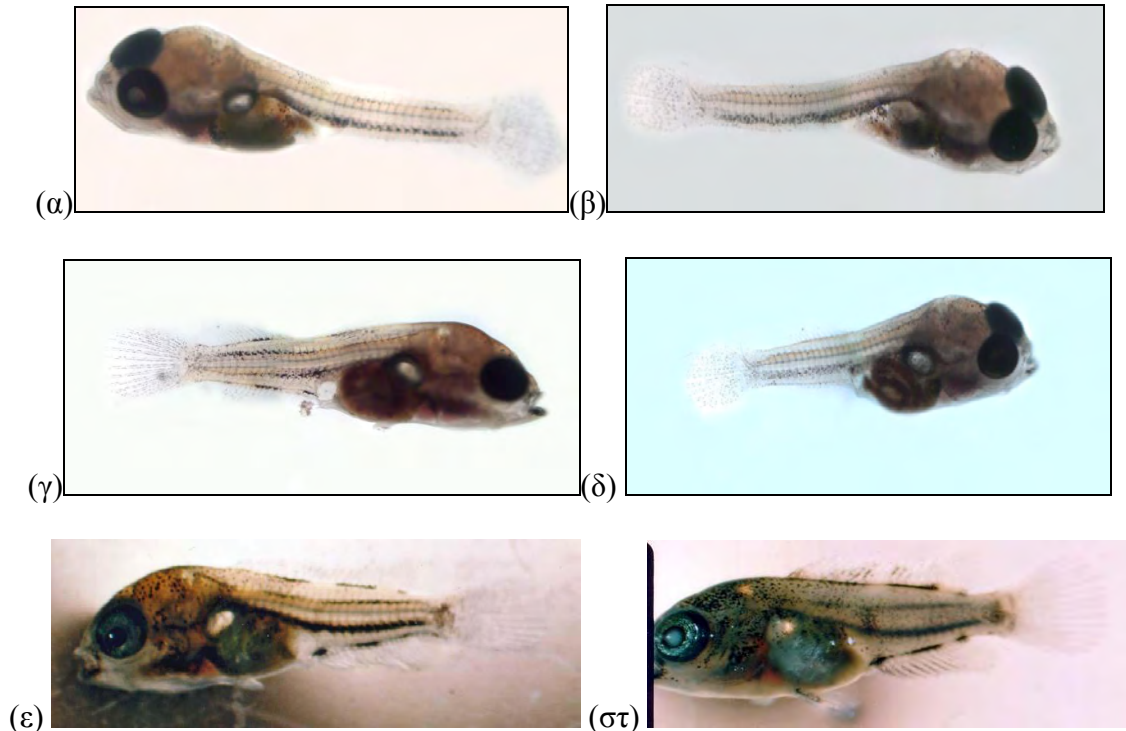
Στις 254 h μετά (\approx 10-11 ημέρες) την εκκόλαψη, οι ακτίνες στο ραχιαίο και εδρικό πτερύγιο άρχισαν να σχηματίζονται χωρίς να είναι ιδιαίτερα εμφανείς. Οι χρωστικές ουσίες ήταν αυξημένες στο πρόσθιο, μεσαίο και οπίσθιο τμήμα του κορμού (Εικ.3.24β). Στις 289-305 h (\approx 12-13 ημέρες) μετά την εκκόλαψη, στο ραχιαίο και στο εδρικό πτερύγιο οι ακτίνες ήταν ορατές και δομημένες. Η ελεύθερη κολύμβηση ήταν περισσότερο ορατή, ενώ η νύμφη άρχιζε να χρωματίζεται έντονα στη ράχη, στη μέση και στο πίσω μέρος του κορμού. Η ουρά της ήταν πολύ καλά σχηματισμένη με τις πρωτογενείς ακτίνες (CFRE) να φθάνουν στις 10-12 (Εικ.3.24γ).

Στις 325 h (\approx 14 ημέρες) μετά την εκκόλαψη, στο ραχιαίο και στο εδρικό πτερύγιο της κιχλιδόζεμπρας ήταν ορατοί οι πρώτοι αρθρωτοί σύνδεσμοι που ήταν πλήρως δομημένοι στις εδρικές ακτίνες. Τα βράγχια ήταν καλά σχηματισμένα και το έντερο άρχιζε να αποκτά ελικοειδή σχηματισμό (αρχικά είναι ίσο). Κατά μήκος του σώματος ήταν ορατές οι χρωστικές ουσίες με μορφή κηλίδων (Εικ.3.24δ).

Στις 15 ημέρες μετά την εκκόλαψη, η κιχλιδόζεμπρα σχημάτισε τα κοιλιακά της πτερύγια (ο σχηματισμός των κοιλιακών πτερυγίων γίνεται τελευταίος). Το ραχιαίο και το εδρικό πτερύγιο ήταν περισσότερο αναπτυγμένα. Στο κεφάλι και επί των πλευρικών και ραχιαίων τμημάτων του σώματος σχηματίστηκαν περισσότερα μελανοφόρα. Το χρώμα της νύμφης άρχιζε να μοιάζει με εκείνο του ενήλικου ατόμου (Εικ.3.24ε).

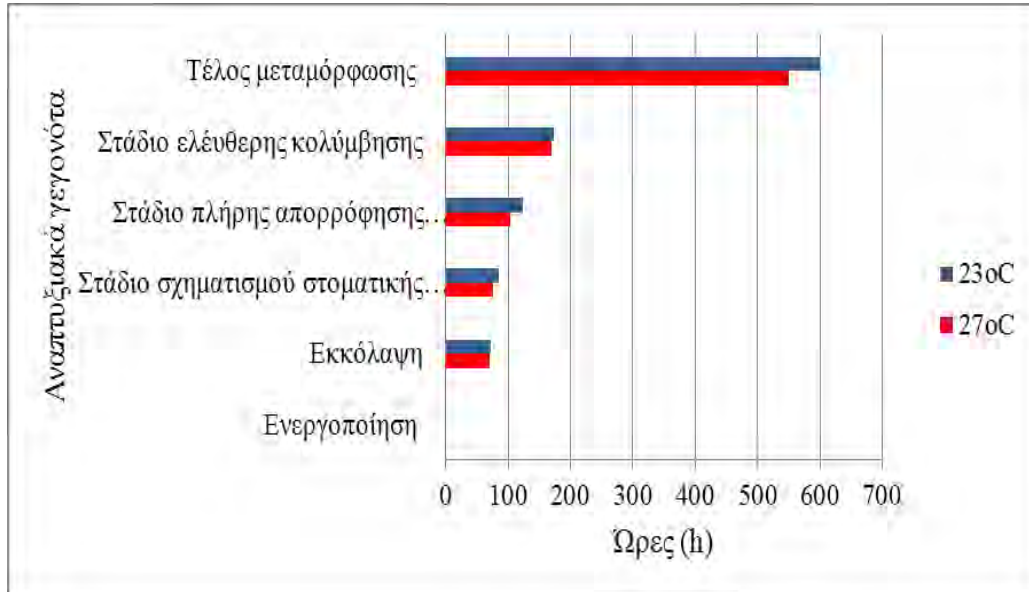
30 ημέρες μετά την εκκόλαψη, το ραχιαίο και εδρικό πτερύγιο της κιχλιδόζεμπρας ήταν καλά αναπτυγμένα και χρωματισμένα. Τα λέπια εμφανίστηκαν από την 32^η ημέρα της ανάπτυξης καλύπτοντας το μεγαλύτερο μέρος του σώματος. Οι

ρώθωνες αναπτύχθηκαν. Το σώμα καλύφθηκε με μελανοφόρα και ο σκελετός παρουσίαζε ένα προηγμένο βαθμό οστεοποίησης (Εικ.3.24στ).



Εικόνα 3.24: Εξέλιξη της κιχλιδόζεμπρας στο στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυοδίου (juvenile) στους 27 °C (α) 170-174 h μετά την εκκόλαψη, (β) 254 h μετά την εκκόλαψη, (γ) 289-305 h μετά την εκκόλαψη, (δ) 325 h μετά την εκκόλαψη, (ε) 15 ημέρες μετά την εκκόλαψη, (στ) 30 ημέρες μετά την εκκόλαψη (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Το Σχήμα 3.5 δείχνει το χρόνο που παρατηρήθηκαν τα σημαντικότερα αναπτυξιακά γεγονότα της κιχλιδόζεμπρας από τη γονιμοποίηση μέχρι το τέλος της μεταμόρφωσης στους 27 °C και 23 °C, αντίστοιχα.



Σχήμα 3.5: Χρονοδιάγραμμα εξέλιξης των σημαντικών αναπτυξιακών γεγονότων κατά την εξέλιξη της κιχλιδόζεμπρας στους 27°C και 23°C.

3.3.1.3. Μορφομετρική εξέλιξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κιχλιδόζεμπρας σε σχέση με τη θερμοκρασία εκκόλαψης

Με την εξέλιξη του νυμφικού σταδίου, το ολικό μήκος της κιχλιδόζεμπρας παρουσίαζε μια τάση αύξησης και στις δυο θερμοκρασίες, ενώ ο ρυθμός της αύξησης μειώθηκε (μέχρι το σχετικό χρόνο 60-70%), για να μηδενιστεί σχεδόν μέχρι το τέλος του σταδίου. Τα θρεπτικά αποθέματα των νυμφών της κιχλιδόζεμπρας καταναλώθηκαν με διαφορετικό τρόπο και πιθανά πιο γρήγορα στην υψηλότερη θερμοκρασία (27 °C), σε σχέση με τη μικρότερη (23 °C). Το ολικό μήκος (TL) στα οντογενετικά στάδια της κιχλιδόζεμπρας κυμάνθηκε από 3,73-5,78 mm παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά με την ηλικία (MANOVA, $P < 0,05$), ενώ ήταν ανεξάρτητο από την θερμοκρασία εκκόλαψης (MANOVA, $P > 0,05$). Στον Πίνακα 3.4 φαίνονται οι μέσες τιμές και η τυπική απόκλιση των μελετηθέντων μορφομετρικών χαρακτηρισμών.

Πίνακας 3.4: Μέση τιμή και τυπική απόκλιση (SD) του ολικού μήκους (TL), του όγκου του λεκιθικού σάκου (ySv) και των αναλογιών των μορφομετρικών χαρακτήρων.

Μορφομετρικοί χαρακτήρες	τιμές
Μήκος νύμφης TL(mm)	5,06±0,38
Όγκος λεκιθικού σάκου (ySv)	1,826±0,996
Αναλογία νωτοχορδής (NL/TL)	0,935±0,036
Αναλογία ύψους σώματος (BD/TL)	0,122±0,010
Αναλογία προεδρικού μήκους (prAnl/TL)	0,534±0,025
Αναλογία μεταεδρικού μήκους (pstAnl/TL)	0,466±0,026
Αναλογία πρόσθιου άκρου λεκιθικού σάκου (prYs/TL)	0,152±0,057
Αναλογία οπίσθιου άκρου λεκιθικού σάκου (pstYs/TL)	0,428±0,031
Αναλογία μήκους λεκιθικού σάκου (YsL/TL)	0,276±0,069
Αναλογία ύψους λεκιθικού σάκου (YsD/TL)	0,207±0,055
Αναλογία προκογχικού μήκους (prOr/TL)	0,041±0,007
Αναλογία διαμέτρου οφθαλμού (ED/TL)	0,096±0,012
Αναλογία μήκους λεκιθικού σάκου (YSL/YsD)	1,347±0,116

Η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες έδειξε ότι η ολική διακύμανση των μετρήσεων ερμηνεύεται από 12 κύριους παράγοντες. Οι σημαντικότεροι παράγοντες (με ιδιοτιμή>1) ήταν οι τρεις πρώτοι (F1, F2 και F3), ερμηνεύοντας το 75,8% της συνολικής διακύμανσης των δεδομένων (Πίν. 3.5).

Η κύρια συνιστώσα F1 εξηγεί το 55,1% της ολικής διακύμανσης και στην διαμόρφωσή της συμμετέχουν με σημαντική βαρύτητα (παραγοντικό φορτίο >|0,60|), ο όγκος (ySv) και οι αναλογίες του λεκιθικού σάκου (YsD/TL & YsL/TL), οι αναλογίες της νωτοχορδής (NL/TL) και του προεδρικού μήκους (prAnl/TL), και του οπίσθιου άκρου του λεκιθικού σάκου (pstYs/TL), με αρνητική συσχέτιση. Οι αναλογίες του μεταεδρικού μήκους (pstAnl/TL), του πρόσθιου άκρου του λεκιθικού σάκου (prYs/TL) και της διαμέτρου του ματιού (ED/TL) συσχετίστηκαν θετικά. Η κύρια συνιστώσα F2 διαμορφώθηκε από την αναλογία του ύψους σώματος (BD/TL) και του προκογχικού μήκους (prOr/TL) και συσχετίστηκε θετικά με την συνιστώσα. Τέλος η κύρια συνιστώσα F3 διαμορφώνεται από την αναλογία μήκους-ύψους (YSL/YsD) του λεκιθικού σάκου με θετική συσχέτιση.

Πίνακας 3.5: Αποτελέσματα της PCA: κύριες συνιστώσες και παραγοντικά φορτία για κάθε μορφομετρικό παράγοντα και για τις τρεις κύριες συνιστώσες.

Παράγοντας	Κύρια συνιστώσα		
	F1	F2	F3
Αναλογία νωτοχροδής (NL/TL)	-0,74	-0,18	0,11
Αναλογία ύψους σώματος (BD/TL)	0,23	0,70	-0,16
Αναλογία προεδρικού μήκους (prAnl/TL)	-0,85	0,07	-0,10
Αναλογία μεταεδρικού μήκους (pstAnl/TL)	0,83	-0,07	0,10
Αναλογία πρόσθιου άκρου λεκιθικού σάκου (prYs/TL)	0,75	0,48	-0,02
Αναλογία οπίσθιου άκρου λεκιθικού σάκου (pstYs/TL)	-0,66	0,42	-0,11
Αναλογία μήκους λεκιθικού σάκου (YsL/TL)	-0,94	-0,28	-0,03
Αναλογία ύψους λεκιθικού σάκου (YsD/TL)	-0,90	-0,27	-0,28
Αναλογία προκογχικού μήκους (prOr/TL)	0,00	0,65	0,21
Αναλογία της διαμέτρου του οφθαλμού (ED/TL)	0,77	0,41	0,02
Αναλογία μήκους λεκιθικού σάκου (YSL/YsD)	0,15	0,04	0,95
Όγκος λεκιθικού σάκου (γSv)	-0,89	-0,23	-0,23
% επεξηγούμενη διακύμανση	55,1	12,2	8,5
% Αθροιστική επεξηγούμενη διακύμανση	55,1	67,3	75,8

Η γραμμική σχέση μεταξύ των αποτελεσμάτων των κύριων συνιστωσών (FSc) και της ηλικίας παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) με θετικό ρυθμό μεταβολής σε σχέση με την ηλικία και για τις τρεις κύριες συνιστώσες:

$$FSc1 = 0,185 \times \text{Ηλικία} - 9,28 \quad R^2 = 0,77$$

$$FSc2 = 0,0568 \times \text{Ηλικία} - 2,84 \quad R^2 = 0,56$$

$$FSc3 = 0,0267 \times \text{Ηλικία} - 1,348 \quad R^2 = 0,35$$

Από τις παραπάνω σχέσεις φαίνεται, ότι η κύρια συνιστώσα F1 περιγράφει μορφολογικές αλλαγές σε σχέση με την ηλικία που αφορούν στην αύξηση του ουραίου περυγίου (μείωση της αναλογίας NL/TL σε σχέση με την ηλικία), αύξηση της ουράς (μείωση και αύξηση της αναλογίας prAnl/TL και pstAnl/TL, αντίστοιχα, σε σχέση με την ηλικία), μείωση του λεκιθικού σάκου (μείωση των αναλογιών YsD/TL και YsL/TL

και του όγκου του -ySv- σε σχέση με την ηλικία), με πιθανή αύξηση του μήκους της κεφαλής (μείωση και αύξηση της αναλογίας pstYs/TL και prYs/TL σε σχέση με την ηλικία) και αύξηση της διαμέτρου του ματιού (αύξηση της αναλογίας ED/TL σε σχέση με την ηλικία).

Αντίστοιχα, η κύρια συνιστώσα F2 περιγράφει τις μορφολογικές αλλαγές σε σχέση με την ηλικία που αφορούν στην αύξηση του ύψους σώματος και του μήκους της στοματικής περιοχής (αύξηση της αναλογίας BD/TL και prOr/TL σε σχέση με την ηλικία, αντίστοιχα). Τέλος η κύρια συνιστώσα F3 περιγράφει την αλλαγή του σχήματος του λεκιθικού σάκου με εντονότερη μείωση του ύψους του, σε σχέση με το μήκος του, ανάλογα με την ηλικία (αύξηση της αναλογίας YSL/YsD σε σχέση με την ηλικία).

Τα αποτελέσματα των κύριων συνιστωσών παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά (MANOVA, $P < 0,05$) τόσο μεταξύ της ηλικίας όσο και μεταξύ της θερμοκρασίας εκκόλαψης. Η ηλικία επεξηγεί το μεγαλύτερο ποσοστό της διακύμανσης το οποίο κυμαίνεται από 36,49% (F3) έως 78,05 % (F1), ενώ η θερμοκρασία εκκόλαψης επεξηγεί αρκετά μικρότερο ποσοστό της διακύμανσης που κυμαίνεται από 0,27% (F2) έως 8, 55% (F1) (Πίν.3.6).

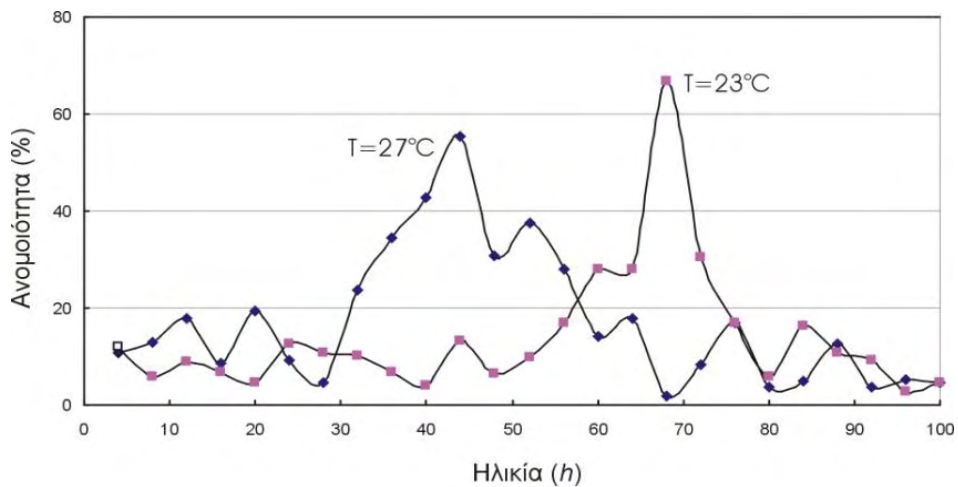
Πίνακας 3.6: Αποτελέσματα της πολυπαραγοντικής ανάλυσης διακύμανσης (MANOVA): Επι της % επεξηγούμενη διακύμανση από κάθε παράγοντα.

Παράγοντας	Κύρια συνιστώσα		
	F1	F2	F3
ηλικία	78,05*	61,96*	36,49*
θερμοκρασία	8,55*	0,27*	2,12*
υπολείμματα	13,40	37,77	61,39
% επεξηγούμενη διακύμανση	86,60	62,23	38,61

*: στατιστικά σημαντική επίδραση του παράγοντα

Ο δείκτης ανομοιότητας (Bray-Curtis) (Bray & Curtis 1957) του μορφολογικού προτύπου μεταξύ ηλικίας, ανά θερμοκρασία εκκόλαψης, έδειξε ότι το είδος

παρουσιάζει ένα στάδιο έντονων μεταβολών του προτύπου, το οποίο εξαρτάται από τη θερμοκρασία εκκόλαψης. Στους 27 °C οι έντονες μεταβολές του μορφολογικού προτύπου (ανομοιότητα >20%) του ιχθυδίου λαμβάνουν χώρα από την ηλικία των 32 h μέχρι των 56 h, ενώ αντίστοιχα στους 23 °C οι έντονες μεταβολές λαμβάνουν χώρα από την ηλικία των 56 h μέχρι των 72 h (Σχ.3.6).

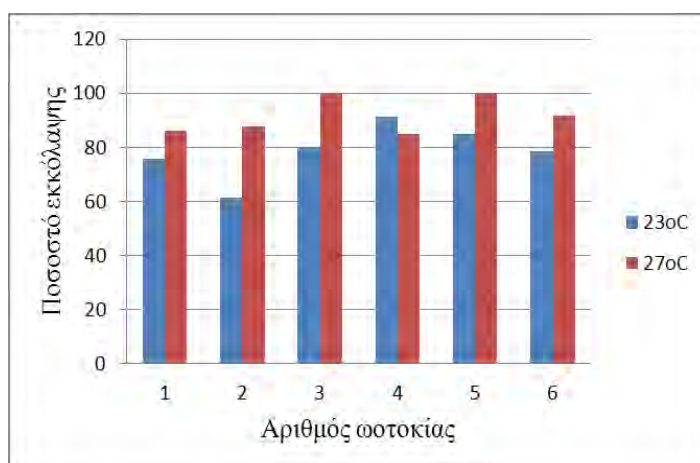


Σχήμα 3.6: Δείκτης ανομοιότητας του μορφολογικού προτύπου των ιχθυδίων της κιχλιδόζεμπρας μεταξύ ηλικιών, ανά θερμοκρασία εκκόλαψης.

Ο σχετικός χρόνος (RTi) που συμβαίνουν τα διάφορα αναπτυξιακά γεγονότα είναι ανεξάρτητος από τη θερμοκρασία, αφού δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά (t test, $P > 0,05$), ενώ η ταχύτητα με την οποία εξελίσσονται οι μορφολογικές αλλαγές επηρεάζεται από την ηλικία της νύμφης και τη θερμοκρασία εκκόλαψης.

3.3.1.4. Ποσοστά γονιμοποίησης-εκκόλαψης και επιβίωσης

Η κιχλιδοζέμπρα παρουσίασε υψηλότερα ποσοστά γονιμοποίησης και εκκόλαψης ($91,8 \pm 6,77\%$) στη θερμοκρασία των $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ σε σχέση με τους $23\text{ }^{\circ}\text{C}$, όπου καταγράφηκαν χαμηλότερα ποσοστά εκκόλαψης ($78,8 \pm 9,79\%$) (Σχ.3.7). Η επιβίωση των λεκιθοφόρων νυμφών διακυμάνθηκε σε σχετικά υψηλά ποσοστά και στις δυο πειραματικές θερμοκρασίες και ήταν 85% στους $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ και 65% στους $23\text{ }^{\circ}\text{C}$. Επίσης, αμέσως μετά την εκκόλαψη και καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, οι λεκιθοφόρες νύμφες αντιδρούσαν στα μηχανικά ερεθίσματα. Οι λεκιθοφόρες νύμφες παρέμειναν προσκολλημένες στο υπόστρωμα, παρουσιάζοντας ομοιόμορφη διασπορά εκδηλώνοντας παθητική κίνηση.



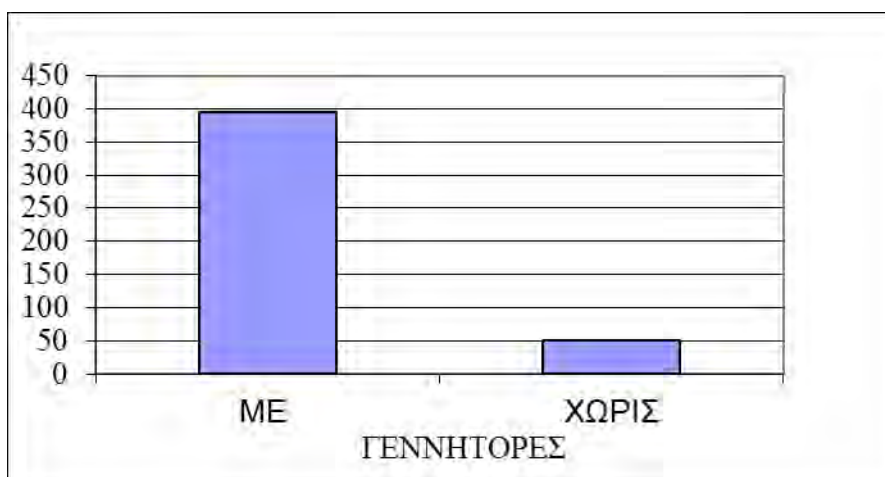
Σχήμα 3.7: Ποσοστά (%) εκκόλαψης της κιχλιδοζέμπρας για το σύνολο των ωοτοκίων που έλαβαν χώρα καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας στους 27°C και 23°C .

Ο αριθμός των γονιμοποιημένων αυγών ήταν μεγαλύτερος, όταν στη διαδικασία της επώασης συμμετείχαν και οι δύο γεννήτορες (σ^{\prime} , ρ), επιδεικνύοντας τα ίδια περίπου ποσοστά στους 27°C ($85,2\%$) και στους 23°C ($85,3\%$) (Πιν.3.7). Η υψηλή γονική

φροντίδα που παρουσιάζει η κιχλιδόζεμπρα παίζει καθοριστικό ρόλο κατά τη διάρκεια της επώασης των αυγών. Στην περίπτωση που το αρσενικό και το θηλυκό άτομο απομακρυνθούν από τα ενυδρεία αναπαραγωγής αμέσως μετά τη γονιμοποίηση, τότε παρατηρήθηκε μείωση του ποσοστού εκκόλαψης, τόσο στους 27 °C (11%) όσο και στους 23 °C (8,9%) (Πιν.3.7 & Σχ.3.8).

Πίνακας 3.7: Αριθμός αυγών της κιχλιδόζεμπρας που εκκολάφθηκαν παρουσία ή μη των γεννητόρων

	27°C	23°C	27°C	23°C
Συχνότητα Γέννας	9	5	64,3%	35,7%
Μ.Ο Αυγών	501	462	-	-
Αριθμός αυγών που εκκολάφθηκαν παρουσία γεννητόρων	427	394	85,2%	85,3%
Αριθμός αυγών που εκκολάφθηκαν απουσία γεννητόρων	51	45	11%	8,9%



Σχήμα 3.8: Αριθμός αυγών που εκκολάφθηκαν σε σχέση με την παρουσία ή μη των γεννητόρων στα ενυδρεία αναπαραγωγής.

3.3.2. Αναπαραγωγική διαδικασία του αγγελόψαρου

Το αγγελόψαρο, επιδεικνύει μια ιδιαίτερη συμπεριφορά κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής του περιόδου. Συγκαταλέγεται ανάμεσα στα μέλη της οικογένειας Cichlidae, που οργανώνει με επιμέλεια την αναπαραγωγική του δραστηριότητα.

Η αναπαραγωγή του αγγελόψαρου σε συνθήκες αιχμαλωσίας, περιλάμβανε ένα σύνολο ενεργειών και δράσεων που εφαρμόζονταν καθημερινά προκειμένου να αναπαραχθεί με επιτυχία. Απαραίτητη προϋπόθεση, αποτελεί η αποκωδικοποίηση όλων των ερεθισμάτων που λήφθηκαν μετά από την ημερήσια παρατήρηση του ζευγαριού, για διάστημα μεγαλύτερο από 5-6 μήνες.

Το μέσο βάρος και μήκος των αρσενικών αγγελόψαρων που χρησιμοποιήθηκαν για τις ανάγκες των πειραμάτων ήταν $15,5 \pm 0,56$ g και $9,2 \pm 0,98$ cm και το μέσο βάρος και μήκος των θηλυκών ήταν, αντίστοιχα, $10,2 \pm 0,92$ g και $7,8 \pm 0,45$ cm.

A. Ποιοτική περιγραφή της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς του αγγελόψαρου-σχηματισμός ζευγαριού

Στο ενυδρείο διατήρησης των γεννητόρων, η αύξηση του μεγέθους του αγγελόψαρου (ηλικίας περίπου 5-6 μηνών), υποδήλωνε ότι εισήλθε σε περίοδο αναπαραγωγής. Το μέγεθος των αρσενικών ατόμων αυξήθηκε περισσότερο σε σχέση με τα θηλυκά. Συνεπώς, το πιο μεγαλόσωμο και πιο ώριμο αρσενικό, άρχιζε σταδιακά να οριοθετεί την περιοχή ωοτοκίας του, υπερασπίζοντάς την, με επιθέσεις και απειλές έναντι των υπολοίπων ψαριών του ενυδρείου. Η περιοχή που επιλέχθηκε από το αρσενικό ήταν ζωτικής σημασίας, μιας και αποτέλεσε το κριτήριο για την επιλογή

συντρόφου. Το θηλυκό, επέλεξε σύντροφο με βάση την ιδιαιτερότητα που παρουσίαζε η περιοχή που είχε επιλέξει το αρσενικό, όπως για παράδειγμα αν στην περιοχή ωοτοκίας υπήρχαν φυτά ή ρίζες δέντρων ή πέτρες τα οποία θα χρησίμευαν, ως υπόστρωμα εναπόθεσης των αυγών. Η οριοθέτηση της περιοχής ωοτοκίας υποδήλωνε την κοινωνική κυριαρχία, την ιεραρχία και την αναπαραγωγική συμπεριφορά του αρσενικού αγγελόψαρου. Το κυρίαρχο ζευγάρι απομονώθηκε και μεταφέρθηκε στο ενυδρείο αναπαραγωγής (65 L) σε αναλογία 1♂:1♀. Το ενυδρείο αναπαραγωγής έφερε τα ίδια ακριβώς φυσικοχημικά χαρακτηριστικά με το ενυδρείο διατήρησης των γεννητόρων (θερμοκρασία, σκληρότητα, pH, αζωτούχα παράγωγα κλπ). Η στρατηγική που εφαρμόστηκε καθώς και η συμπεριφορά που εκδήλωσε το αγγελόψαρο κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής διαδικασίας περιγράφεται ως εξής:

- Προστασία περιοχής ωοτοκίας

Το κυρίαρχο ζευγάρι (1♂ και 1♀) οριοθέτησε εκ νέου την περιοχή ωοτοκίας του έναντι των υπολοίπων αγγελόψαρων τα οποία τα θεωρούσε υποδεέστερα. Η προστασία της περιοχής ωοτοκίας ερμηνεύτηκε με επιθέσεις και απειλές, που εκδηλώθηκαν από το αρσενικό καθ' όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου και ήταν:

1. Πλευρική απειλή: το αρσενικό πλησίαζε έναν αντίπαλο αρσενικό επιδεικνύοντας ή ανοίγοντας τα πτερύγιά του, δηλώνοντας με τον τρόπο αυτό την κυριαρχία του.
2. Πλευρική επίθεση: το αρσενικό προσέγγιζε δαγκώνοντας με το στόμα του κάποιο άλλο αρσενικό ή θηλυκό που επιχειρούσαν να εισέλθουν στην περιοχή ωοτοκίας τους. Οι επιθέσεις αυτές γίνονταν αντιληπτές ακόμη και όταν επιχειρήθηκε να γίνει στο ενυδρείο σιφωνισμός ή όταν τοπθετήθηκε μια

απόχη στο ενυδρείο προκειμένου να εξαλειυθεί το ζευγάρι και να απομονωθεί στο ενυδρείο αναπαραγωγής.

3. Κυνήγι: τα αρσενικά κινούνται με ταχύτητα απέναντι στο αντίπαλο αρσενικό το οποίο κινούνται προς την αντίθετη κατεύθυνση.

Η επιθετικότητα στο αγγελόψαρο εκφράστηκε μέσω ποσοτικοποίησης των αλληπάλληλων επιθέσεων (δάγκωμα πτερυγίων ή κυνήγι) που πραγματοποίησε το αρσενικό απέναντι στα υπόλοιπα αρσενικά και είχαν διάρκεια 1-2 min.

- Κατασκευή-περιποίηση φωλιάς

Η αναπαραγωγική επιτυχία του αρσενικού αγγελόψαρου εξαρτώνταν από τη φυσιολογία της περιοχής που επιλέγει για να αναπαραχθεί (Cacho *et al.* 1999, Chellappa *et al.* 1999a). Η φυσιολογία της περιοχής (φυτά) και το υπόστρωμα εναπόθεσης των αυγών (τύπος), αποτελούσαν τα βασικά κριτήρια επιλογής και οριοθέτησης της περιοχής ωοτοκίας (φωλιά). Στα ενυδρεία αναπαραγωγής δεν τοποθετήθηκαν φυτά και επιλέχθηκε τεχνητό υπόστρωμα εναπόθεσης των αυγών (Axelrod & Sweeney 1992). Συνεπώς, για λόγους διαχείρισης, (καταμέτρηση, μεταφορά αυγών) ως υπόστρωμα εναπόθεσης των αυγών επιλέχθηκε και τοποθετήθηκε στη μια πλευρά του ενυδρείου σε γωνία 45°, πλαστικός σωλήνας πάχους 3-5 cm και ολικού μήκος 20 cm (Εικ.3.25α),(Vlachos *et al.* 2008).

- Προσέλκυση αντίθετου φύλου (φλέρτ)

Η προσέλκυση του αντίθετου φύλου (φλερτ) γίνονταν όταν το θηλυκό ήταν πολύ κοντά στην περιοχή ωοτοκίας (Εικ.3.25β). Οι ενδείξεις που εκδηλώνονταν αρκετές εβδομάδες μετά, περιγράφονται ως εξής:

1. ο «γαμήλιος χορός», όπου το αρσενικό συχνά άνοιγε επιτακτικά τα πτερύγια και το βραγχιακό του επικάλυμμα εκτελώντας ημικυκλικές κινήσεις γύρω από το θηλυκό,
 2. οι σπασμωδικές κινήσεις του αρσενικού αγγελόψαρου,
 3. το αρσενικό αγγελόψαρο «τσίμπαγε» ανά τακτά χρονικά διαστήματα την έδρα του θηλυκού,
 4. το σώμα του θηλυκού ελαφρώς πάλλοταν (έτρεμε),
 5. το αρσενικό εκτίνασσε το σώμα του απέναντι στα υπόλοιπα άτομα του ενυδρείου, εκτός από το θηλυκό, δηλώνοντας με τον τρόπο αυτό, ότι είχε τον έλεγχο της περιοχής ωοτοκίας, την κυριαρχία του και ότι είχε επιλεχθεί από το θηλυκό.
- Ωοτοκία

Αρχικά, το ζευγάρι των αγγελόψαρων απέκτησε έντονο χρωματισμό, έγινε πολύ κινητικό και κολυμπούσε το ένα δίπλα στο άλλο. Η έναρξη της περιόδου σηματοδοτήθηκε με τη μείωση της θερμοκρασίας κατά 5 °C και επαναφορά της στην αρχική θερμοκρασία (29 °C) μετά από 2 έως 3 ημέρες. Η έναρξη της ωοτοκίας έλαβε χώρα μία εβδομάδα μετά, με το θηλυκό να καθάριζε με αυξημένη προσοχή το υπόστρωμα από φύκια ή υπολείμματα τροφής. Μετά από ορισμένα ψεύτικα περάσματα επάνω από τον πλαστικό σωλήνα, η έδρα του θηλυκού εφάπτονταν άρχιζε να τρίβοταν επάνω στο υπόστρωμα εναποθέτοντας τα αυγά σε παρτίδες, τα οποία προσκολλήθηκαν στο υπόστρωμα σε σειρές (Vlachos *et al.* 2008). Στη συνέχεια, το αρσενικό άρχισε να λαμβάνει ενεργή δράση ακολουθώντας κάθε κίνηση του θηλυκού γονιμοποιώντας τα αυγά ψεκάζοντάς τα με σπέρμα (Εικ.3.25δ & Εικ.3.25ε). Η διαδικασία της ωοτοκίας, συμπεριλαμβανομένης και της γονιμοποίησης, έλαβε χώρα τις πρώτες πρωινές ώρες και

διήρκησε από 45 min έως 2 h. Όταν η γονιμοποίηση ολοκληρώθηκε τότε από κοινού αρσενικό και θηλυκό εκτελούσαν συχνές μετακινήσεις πάνω από τα αυγά προκειμένου να αερίσουν την περιοχή. Ο αριθμός των αυγών κυμάνθηκε από 500 έως 1000 και εξαρτώνταν από το μέγεθος του θηλυκού και το βαθμό επιθετικότητας του αρσενικού, ενώ το μέγεθος των αυγών εξαρτώνταν από τη διαθεσιμότητα και την ποιότητα της τροφής που τρέφονταν οι γεννήτορες (Swann 1994).

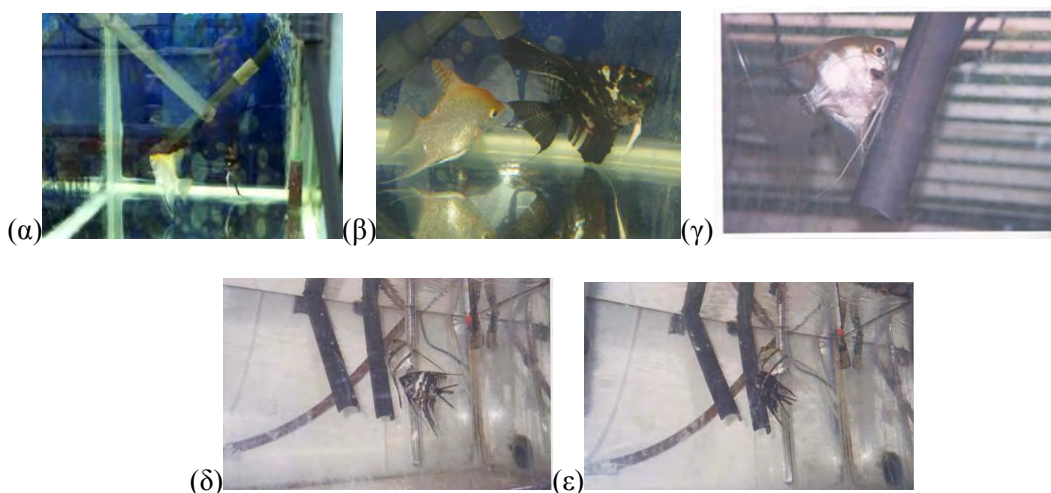
- Γονική φροντίδα

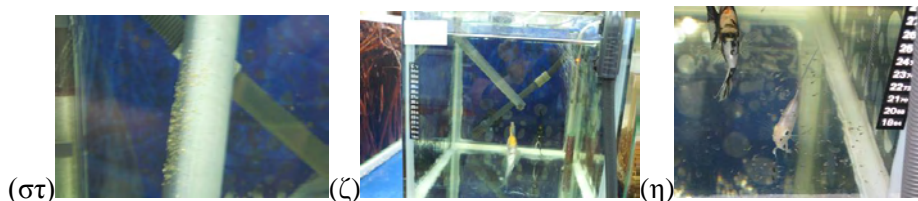
Το αγγελόψαρο, σύμφωνα με τους Axelrod & Sweeney (1992) και τους Cacho *et al.* (2006), ανήκει στις κιχλίδες που παρουσιάζουν μονογαμία, η οποία ερμηνεύεται ως η συμμετοχή κάθε μέλους του ζευγαριού στην αναπαραγωγική διαδικασία με τον καλύτερο δυνατό τρόπο. Αναπτύσσουν ένα είδος γονικής φροντίδας συμμετέχοντας και οι δυο γονείς στην προστασία των γονιμοποιημένων αυγών δημιουργώντας δίνες νερού ή αερίζοντας τα αυγά εναλλάξ κουνώντας τα θωρακικά πτερύγια ή απομακρύνοντας τα νεκρά αυγά, τα οποία συνήθως προσβάλλονται από μύκητες (Εικ.3.25στ), (Chellappa 2000).

Κατά τη διάρκεια της γονικής φροντίδας τα αυγά εποπτεύονται περισσότερο από το θηλυκό και σε λιγότερο βαθμό από το αρσενικό (Cacho *et al.* 1999). Η συμπεριφορά του αρσενικού πιθανά να σχετίζεται με την αναζήτηση ενός άλλου θηλυκού το οποίο παρουσίαζε και αυτό αναπαραγωγική δραστηριότητα (Cacho *et al.* 1999). Η επιβίωση των εμβρύων, εξαρτάται από το επίπεδο επιθετικότητας του αρσενικού αγγελόψαρου κατά τη διάρκεια της γονικής φροντίδας. Όσο περισσότερο επιθετική είναι η συμπεριφορά του αρσενικού τόσο μεγαλύτερη είναι η επιβίωση των εμβρύων και των νυμφών του αγγελόψαρου (Cacho *et al.* 2006). Η επώαση διήρκησε 3 ημέρες (72 h). Η αυξημένη γονική φροντίδα που παρουσίαζε το αγγελόψαρο συνέχισε

να υφίσταται ακόμη και όταν οι νέο-εκκολαπτόμενες νύμφες απορρόφησαν το λεκιθικό τους σάκο. Οι προνύμφες του αγγελόψαρου συνέχιζαν να είναι προσκολλημένες στο υπόστρωμα με τη βοήθεια μικρών νηματίων που εκκρίνονται από αδένες, μέχρι να απορροφήσουν το λεκιθικό σάκο, πάλλοντας διαρκώς το σώμα τους χωρίς να μετακινούνται (πλευρική κάμψη της ουράς), (Εικ.3.25ζ).

Το ζευγάρι συνέχιζε να εκτελεί κινήσεις δίπλα από τις νέο-εκκολαπτόμενες προνύμφες παρέχοντας προστασία. Η επιθετικότητα του θηλυκού κατά τη διάρκεια του σταδίου αυξήθηκε σε αντίθεση με το αρσενικό το οποίο φάνηκε να κρατά μια στάση αναμονής. Όταν ο λεκιθικός σάκος απορροφήθηκε (5^η ή 6^η ημέρα), οι νύμφες του αγγελόψαρου άρχισαν να κολυμπούν αναζητώντας τροφή, αλλά εξακολουθούσαν να φυλάσσονται και να προστατεύονται από τους γονείς (Εικ.3.25η). Οι κινήσεις των κοιλιακών πτερυγίων των γονέων κατά το στάδιο αυτό υποδηλώνουν μηνύματα ότι οι νύμφες ανταποκρίνονται πλήρως στη φροντίδα τους (Yoshida *et al.* 1996, Cacho *et al.* 2007, Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012). Επίσης κατά τη διάρκεια της γονικής φροντίδας παρατηρήθηκε να παρέχεται στις νέο-εκκολαπτόμενες νύμφες μια ενδοστοματική φροντίδα, η οποία σχετίζονταν με την επιβίωση τους. Η ενέργεια αυτή υποδηλώνει ότι το ζευγάρι που αναπαράχθηκε ήταν έμπειρο (Axelrod & Sweeney 1992).





Εικόνα 3.25: Περιγραφή της αναπαραγωγικής διαδικασίας του αγγελόψαρου (α) υπόστρωμα εναπόθεσης αυγών, (β) προσέλευση αντίθετου φύλου, (γ) εναπόθεση των αυγών, (δ) προετοιμασία γονιμοποίησης αυγών, (ε) γονιμοποίηση αυγών, (στ) γονιμοποιημένα αυγά αγγελόψαρου, τα λευκά αυγά που διακρίνονται είναι χαλασμένα (ζ) νέο-εκκολαπτόμενες νύμφες αγγελόψαρου προσκολλημένες στο υπόστρωμα-γονική φροντίδα, (η) προστασία νυμφών-γονική φροντίδα (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

- Λήψη εξωτερικής τροφής

Οι νέο-εκκολαπτόμενες νύμφες σιτίστηκαν με πάστα συμπύκτων ή νιφάδων, *Artemia*, *Cyclops* ή *Daphnia* για διάστημα 30 ημερών. Στο στάδιο αυτό η θνησιμότητα που παρατηρήθηκε ήταν 35%. Το αγγελόψαρο αναπαράγονταν κάθε 25 ημέρες, από Μάιο έως Νοέμβριο, όταν οι συνθήκες ήταν κανονικές και η διατροφή κάλυπτε τις θρεπτικές απαιτήσεις του ψαριού. Επίσης, στο συγκεκριμένο είδος, παρατηρήθηκε μια περίοδος παύσης 5 μηνών.

- Προβλήματα που παρατηρήθηκαν κατά την αναπαραγωγική διαδικασία του αγγελόψαρου

Από τα βασικότερα προβλήματα που παρατηρήθηκαν κατά την αναπαραγωγή του αγγελόψαρου ήταν ο κανιβαλισμός μεταξύ του ζευγαριού σε περίοδο έντονου στρες. Για παράδειγμα, παρατηρήθηκε ότι το ζευγάρι έτρωγε τα αυγά του όταν ήταν στρεσαρισμένο και εγκατέλειπε την περιοχή φωτοκίας του. Όταν το ζευγάρι έχανε την επαφή με τα αυγά του για περισσότερο από μερικά δευτερόλεπτα, τα έτρωγε.

Στο παρόν πείραμα, τα αυγά φαγώθηκαν αρκετές φορές από τους γεννήτορες είτε εξαιτίας του μικρού αριθμού που εναποτίθονταν στο υπόστρωμα είτε λόγω της πεινχρής ανάπτυξης που παρουσίαζαν. Επίσης, τα νεκρά αυγά τρώγονταν από το ζευγάρι και στην περίπτωση όπου στο υπόστρωμα παρέμεινε προσκολλημένος ένας μικρός αριθμός γονιμοποιημένων αυγών ενώ η ωοτοκία επαναλαμβάνονταν μετά από 10-15 ημέρες. Όταν οι νέο-εκκολαπτόμενες νύμφες απομακρύνονταν από τους γονείς, τότε ζευγάρι τις αναγνώριζε ως τροφή και τις έτρωγε.

3.3.2.1. Εμβρυικό, λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης του αγγελόψαρου

A. Μορφολογία αυγών αγγελόψαρου

Τα αυγά του αγγελόψαρου ήταν λεπτά και διαφανή, ενώ σύμφωνα με τους Korzelecka-Orkisz *et al.* (2012), το πάχος τους κυμαίνεται από 1,67 έως 2,19 μm . Είχαν σχήμα ωοειδές με διάμετρο $1,46 \pm 0,20$ mm κατά τον οριζόντιο άξονα και $1,21 \pm 0,15$ mm κατά τον κατακόρυφο άξονα. Το νωπό βάρος του αυγού ήταν $1,02 \pm 0,12$ g και προέκυψε από την καταμέτρηση 465 αυγών. Το χόριο του αυγού ήταν λεπτό και ημιδιαφανές, ενώ περιβάλλονταν από ένα στρώμα βλέννας που έκανε τα αυγά να είναι κολλώδη και να προσκολλούνται στο υπόστρωμα. Η μικροπύλη βρισκόταν στο ζωικό πόλο του αυγού, είχε κωνικό σχήμα και ήταν ορατή (Εικ.3.26).



Εικόνα 3.26: Αυγό αγγελόψαρου 20 min μετά τη γονιμοποίηση, όπου διακρίνεται η μικροπύλη και το χόριο (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Κατά τη διάρκεια του εμβρυικού σταδίου, τα σταγονίδια λιπιδίου ήταν διασκορπισμένα σε όλο τον όγκο του αυγού, με αποτέλεσμα να ήταν δύσκολη η μέτρηση της διαμέτρου τους και ο υπολογισμός του όγκου τους. Το έμβρυο αναπτύσσεται στο ζωικό πόλο του αυγού και προς την αντίθετη πλευρά από τη σταγόνα λιπιδίων.

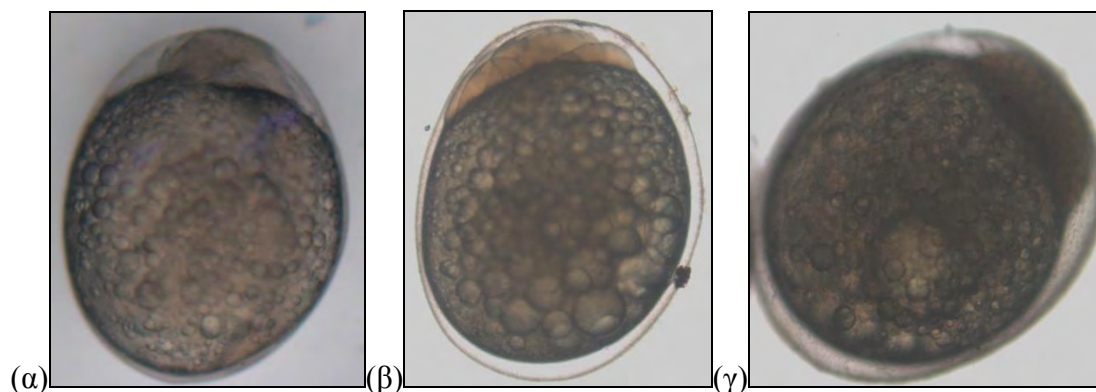
B. Εμβρυική ανάπτυξη του αγγελόψαρου

Η εμβρυική ανάπτυξη στο αγγελόψαρο μελετήθηκε στους 29 °C και περιλάμβανε τα εξής στάδια:

- Αυλάκωση

Το πρωτόπλασμα διαφοροποιήθηκε από τη λέκιθο και συγκεντρώθηκε στο ζωικό πόλο, με αποτέλεσμα να εμφανιστούν οι κυτταρικές διαιρέσεις (αυλακώσεις). Οι κυτταρικές διαιρέσεις έλαβαν χώρα πάνω από τη λέκιθο και σε περιοχή όπου διαφοροποιείται από το κυτόπλασμα. Η πρώτη αυλάκωση έλαβε χώρα 40-42 min μετά τη γονιμοποίηση και χώρισε το ζυγωτό στη μέση δημιουργώντας δυο νέα κύτταρα (Εικ.3.27α). Η δεύτερη αυλάκωση πραγματοποιήθηκε περίπου 1 h και 10 min μετά τη γονιμοποίηση, σχηματίζοντας 4 νέα κύτταρα (Εικ.3.27β). Η επόμενη αυλάκωση έγινε 15 min μετά, δηλαδή σε χρόνο 1h και 25 min από τη γονιμοποίηση, σχηματίζοντας 8 κύτταρα. Οι κυτταρικές διαιρέσεις συνεχίστηκαν, ενώ 1h και 65 min μετά τη γονιμοποίηση δημιουργήθηκαν 16 κύτταρα και 32 κύτταρα σε χρόνο 3h και 15 min. Η κυτταρική διαίρεση συνεχίστηκε χωρίζοντας το ζυγωτό σε 64 κύτταρα σε χρόνο 3 h και 80 min μετά τη γονιμοποίηση (Εικ.3.27γ). Τα κύτταρα που προέκυψαν από τις πρώτες

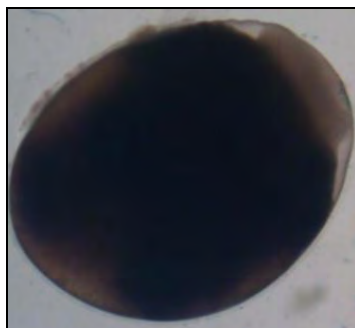
αυλακώσεις ήταν σύγχρονα και παρουσίαζαν συμμετρία (έως τα 16-32 βλαστομερίδια), ενώ από τα 32 και μετά ο συγχρονισμός και η συμμετρία δύσκολα διακρίνονταν.



Εικόνα 3.27: Κυτταρικές διαιρέσεις στο αυγό του αγγελόψαρου (α) δυο κύτταρα 40-42 min μετά τη γονιμοποίηση (β) 4 κύτταρα 1h και 10 min μετά τη γονιμοποίηση (γ) 64 κύτταρα 3 h και 80 min μετά τη γονιμοποίηση (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

- Μορίδιο

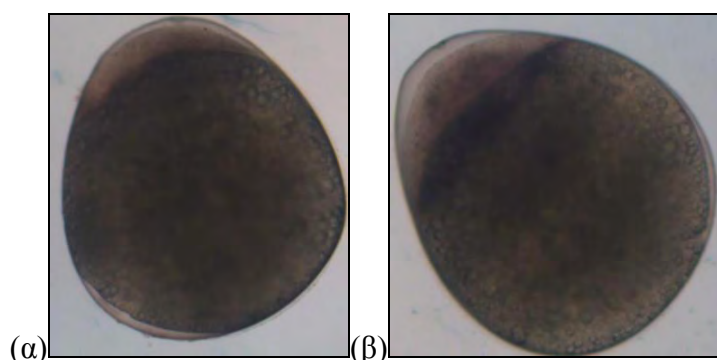
Τα κύτταρα συνέχισαν να διαιρούνται με αποτέλεσμα να γίνονται όλο και μικρότερα ενώ το μέγεθος και το σχήμα του εμβρύου παρέμεινε το ίδιο. Η συνεχόμενη κατάτμιση του ζυγωτού είχε σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό του μοριδίου (μια συμπαγή μάζα από κύτταρα) σε χρόνο 4 h και 45 min μετά τη γονιμοποίηση (Εικ.3.28).



Εικόνα 3.28: Στάδιο του μοριδίου (4 h και 45 min) στο έμβρυο του αγγελόψαρου (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

- Βλαστίδιο

Μετά το στάδιο του μοριδίου το αυγό εισήλθε στο στάδιο του βλαστιδίου, όπου τα κύτταρα δεν ήταν ευδιάκριτα λόγω της μείωσης του αριθμού των κυτταρικών διαιρέσεων (πρώιμη φάση βλαστιδίου) (4h και 80 min) (Εικ.3.29α). Στις 8 h και 30 min μετά τη γονιμοποίηση στο ζωικό πόλο σχηματίστηκε ο βλαστοδίσκος που έμοιαζε με κοιλότητα και το έμβryo βρίσκονταν στο στάδιο του βλαστιδίου (ύστερη φάση βλαστιδίου) (Εικ.3.29β). Το έμβryo αποτελούνταν από χιλιάδες κύτταρα τα οποία στο σύνολό τους σχημάτιζαν το βλαστώδερμα.

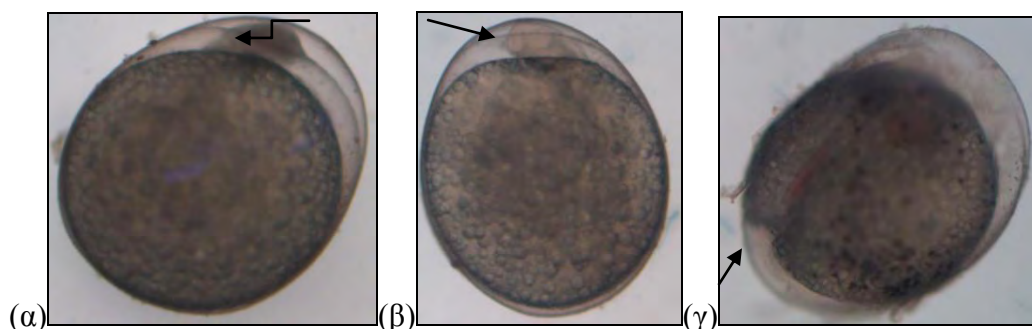


Εικόνα 3.29: Στάδιο του βλαστιδίου στο έμβryo του αγγελόψαρου (α) πρώιμη φάση βλαστιδίου (4h και 80 min μετά τη γονιμοποίηση), (β) ύστερη φάση βλαστιδίου (8 h και 30 min) (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

- Γαστρίδιο

Το στάδιο της γαστριδίωσης χαρακτηρίζεται από εκτεταμένες κατευθυνόμενες μετακινήσεις κυττάρων και περιγράφεται σύμφωνα με το ποσοστό κάλυψης της επιφάνειας της λεκίθου από τα κύτταρα του εμβρύου. Το πρώτο στάδιο της επιβολής (πρώιμο γαστρίδιο) εντοπίστηκε στις 12 h και 35 min, όταν το βλαστώδερμα είχε αρχίσει να καλύπτει λιγότερο από το 1/4 της λεκίθου (Εικ.3.30α). Το δεύτερο στάδιο της επιβολής εντοπίστηκε στις 16 h και 20 min μετά τη γονιμοποίηση, όπου το βλαστώδερμα είχε καλύψει το 1/3 της λεκίθου. Σε χρόνο 19 h και 45 min μετά τη

γονιμοποίηση, εντοπίστηκε το τρίτο στάδιο της επιβολής (1/2 επιβολή) ή μέσο γαστριδίο (Εικ.3.30β). Η λήξη του σταδίου σηματοδοτήθηκε από το τέταρτο στάδιο με επιβολή $\frac{3}{4}$ (ύστερη φάση γαστριδίου) και πραγματοποιήθηκε στις 21 h και 15 min μετά τη γονιμοποίηση (Εικ.3.30γ). Στο στάδιο αυτό (80-85% επιβολή), ο βλαστοπόρος παρέμεινε ανοικτός, ενώ τα πολυκαρυοκύτταρα του λεκιθικού σάκου έδειξαν μια λείανση των κυττάρων στις παρυφές τους.



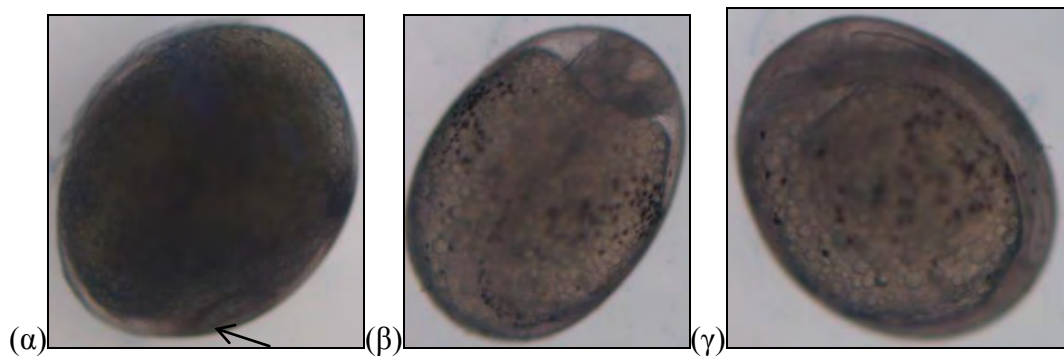
Εικόνα 3.30: Στάδιο του γαστριδίου στο έμβryo του αγγελόψαρου (α) πρώιμη φάση γαστριδίου ή $\frac{1}{4}$ επιβολή (12 h και 35 min μετά τη γονιμοποίηση), (β) μεσόφαση ή $\frac{1}{2}$ επιβολή (19 h και 45 min), (γ) 80-85% επιβολή (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Ο σχηματισμός του βλαστοπόρου ήταν η αρχή μιας διεργασίας που σταθεροποίησε τις σχέσεις μεταξύ των διαφόρων ομάδων των κυττάρων. Η μορφολογία των κυττάρων διαφοροποιήθηκε εξαιτίας της επιμήκυνσης που παρουσιάζαν. Η μετακίνηση των κυττάρων μακριά από το βλαστοπόρο είχε σαν αποτέλεσμα να δημιουργηθεί μια κοιλότητα προς τα έξω που ονομάζεται αρχέντερο. Η δημιουργία και μορφογένεση των τριών βλαστικών στοιβάδων (εξώδερμα, μεσόδερμα, ενδόδερμα) παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του εμβρύου.

- Νευρίδιο

Η έναρξη του σταδίου σηματοδοτήθηκε με την εμφάνιση της νευρικής αύλακας που οδήγησε στη νευρική χορδή. Χρονικά το πρώιμο νευρίδιο στο αγγελόψαρο

παρατηρήθηκε στις 24 h και 30 min. Το σωματίδιο του kuppfer εντοπίστηκε στο νωτιαίο και οπίσθιο μέρος του σώματος με μορφή φυσαλίδας και σχηματίστηκε στις 23 h και 55 min (Εικ.3.31α). Η ολοκλήρωση του σταδίου πραγματοποιήθηκε στις 26 με 27 h (Εικ.3.31β). Στο στάδιο αυτό δημιουργήθηκε ο εγκέφαλος (από την εμπρόσθια πεπλατυσμένη νευρική πλάκα) και ο νωτιαίος μυελός (το οπίσθιο και στενότερο κομμάτι της νευρικής πλάκας). Επίσης, στο στάδιο αυτό έλαβε χώρα η δημιουργία σωματιών (από τη διάτμηση του μεσοδέρματος), από τις 22 h μετά τη γονιμοποίηση (Εικ.3.31γ).



Εικόνα 3.31: Στάδιο του νευριδίου στο έμβryo του αγγελόψαρου (α) πρώιμη φάση νευριδίου (24 h και 30 min μετά τη γονιμοποίηση), (β) ύστερη φάση νευριδίου (26 με 27 h), (γ) έναρξη δημιουργίας σωματιών (22 h) (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

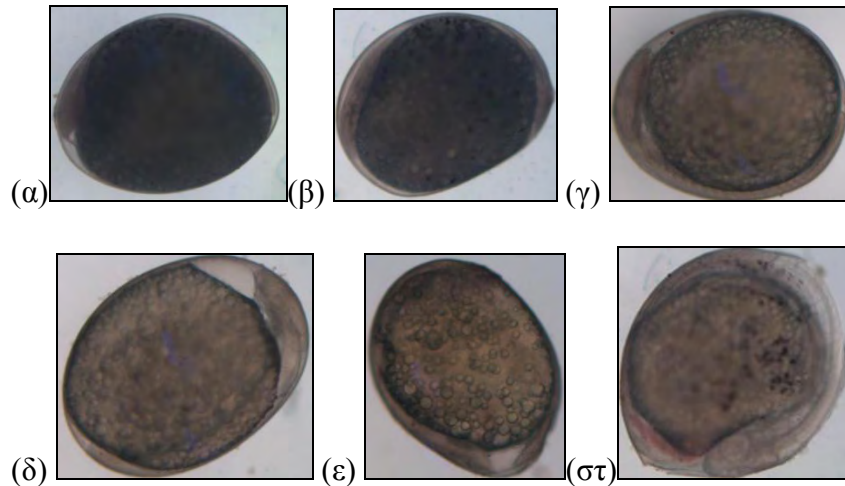
- Οργανογένεση

Στο στάδιο αυτό το έμβryo απέκτησε την τελική του μορφή, ενώ ο σχηματισμός των σωματιών αποτέλεσε το βασικό κριτήριο για το χαρακτηρισμό του σταδίου της οργανογένεσης και διήρκεσε έως την εκκόλαψη. Σχηματίστηκε η καρδιά ενώ καθώς το έμβryo επιμηκύνονταν ένας κυτταρικός πληθυσμός (νευρικές κρηπίδες) άρχισε να μεταναστεύει σε διάφορα σημεία του εμβρύου διαμορφώνοντας τα χρωματοφόρα, τον συνδετικό ιστό και ορισμένα μέρη του κρανίου.

Η έναρξη του σταδίου σηματοδοτήθηκε με τον σχηματισμό των πρώτων σωματιών (2 σωμαίτες) στις 22 h μετά τη γονιμοποίηση. Στη συνέχεια ο αριθμός των σωματιών αυξήθηκε στους 4, ενώ το μήκος του εμβρύου κάλυψε το $\frac{1}{2}$ της περιφέρειας του αυγού (Εικ.3.32α). Στις 24 h μετά τη γονιμοποίηση στο μεσαίο και οπίσθιο τμήμα του εμβρύου οι σωμαίτες έγιναν 6, με τα πρώτα χρωματοφόρα να εμφανίστηκαν στο πρόσθιο τμήμα του σώματος και συγκεκριμένα στη ραχιαία περιοχή της κεφαλής (Εικ.3.32β). Στις 25-26 h, οι σωμαίτες αυξήθηκαν ενώ ο σχηματισμός της καρδιάς ήταν ορατός και όχι λειτουργικός.

Καθώς ο αριθμός των σωματιών (>22) αυξάνονταν ο όγκος της λεκίθου μειώνονταν. Στις 30 h μετά τη γονιμοποίηση το έμβρυο κάλυπτε περίπου τα $\frac{2}{3}$ της περιφέρειας του αυγού με τον αριθμό των σωματιών να είναι 16, ενώ παράλληλα σχηματίστηκαν οι οπτικοί φακοί και τα χρωματοφόρα εντοπίζονταν στο οπίσθιο τμήμα του κορμού (Εικ.3.32γ). Στην πρόσθια και οπίσθια περιοχή των οφθαλμών εντοπίστηκε συγκέντρωση αρκετών χρωματοφόρων. Στις 38 h μετά τη γονιμοποίηση το έμβρυο κάλυπτε τα $\frac{3}{4}$ της λεκίθου κάνοντας σπασμωδικές κινήσεις, ενώ 5 h μετά (43 h από γονιμοποίηση) η λέκίθος είχε μειωθεί, με το έμβρυο να καλύπτει το 100% της λεκίθου.

Οι ωτόλιθοι, τα ακουστικά κυστίδια (πίσω από τους οφθαλμούς) και η στοματική κοιλότητα πίσω από το ρύγχος άρχισαν να διακρίνονται. Στις 48-50 h ο αριθμός των σωματιών συνέχιζε να αυξάνεται ενώ παρατηρήθηκε αποκόλληση του ουραίου πτερυγίου από τη λέκίθο (Εικ.3.32δ). Στην οπίσθια περιοχή των ωτολίθων εντοπίστηκαν χρωματοφόρα κύτταρα, ενώ χρωματοφόρα κύτταρα εμφανίστηκαν και στην περιοχή του ουραίου άκρου, 1 με 2 h μετά (50-52 h),(Εικ.3.32ε). Στο στάδιο αυτό, ήταν ορατοί οι οφθαλμοί, οι ακανθώδεις κολλώδεις αδένες, ο εγκέφαλος και η καρδιά.



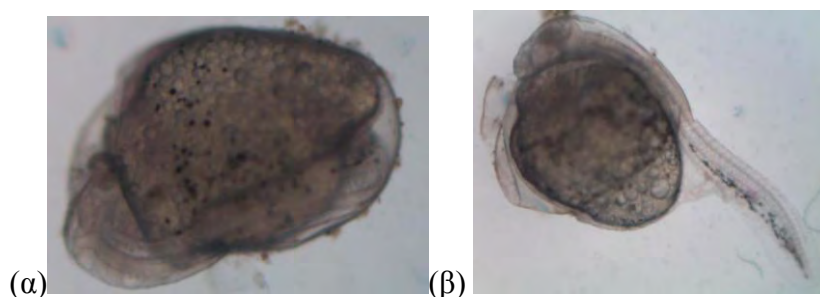
Εικόνα 3.32: Στάδιο οργανογένεσης στο έμβρυο του αγγελόψαρου (α) φάση 4 σωματιών (22 h μετά τη γονιμοποίηση), (β) φάση 6 σωματιών (24-26 h μετά τη γονιμοποίηση), (γ) φάση 16-18 σωματιών (30 h μετά τη γονιμοποίηση), (δ) φάση αποκόλλησης ουραίου πτερυγίου (48-50 h μετά τη γονιμοποίηση), (ε) εμφάνιση ωτολίθων και χρωματοφόρων αγγείων (50-52 h μετά τη γονιμοποίηση), (στ) οργανογένεση πολύ δραστήριο έμβρυο (58-60 h μετά τη γονιμοποίηση), (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Το τέλος του σταδίου της οργανογένεσης σηματοδοτήθηκε μετά από 2 ώρες (58-60 h) όπου το έμβρυο του αγγελόψαρου έκανε έντονες περιστροφές γύρω από τον εαυτό του (Εικ.3.32στ).

- Εκκόλαψη

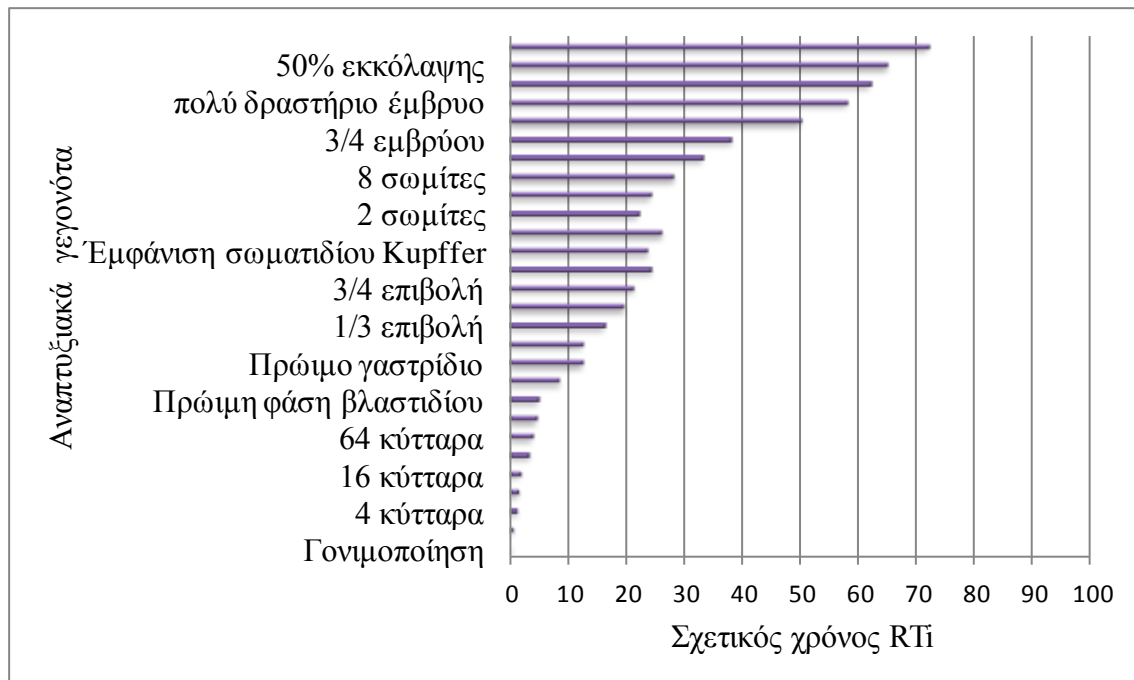
Η πρώτη εκκόλαψη των αυγών παρατηρήθηκε στις 62 h μετά τη γονιμοποίηση (Εικ.3.33α). Οι Korzelecka-Orkiz *et al.* (2012), αναφέρουν ότι τη στιγμή της εκκόλαψης οι κτύποι της καρδιάς στο έμβρυο του αγγελόψαρου μετρήθηκαν στους 130 παλμούς/min. Το έμβρυο εξέρχεται από το αυγό με τη βοήθεια ειδικών αδένων, που βρίσκονται στην κεφαλή εκκρίνοντας πρωτεολυτικά ένζυμα διαλύοντας τοπικά το

χόριο. Η λήξη του σταδίου σηματοδοτήθηκε με τη λεκιθοφόρα νύμφη να σπάει το χόριο με παλλόμενες κινήσεις και να εξέρχεται του αυγού (Εικ.3.33β). Στις 65 h εκκολάφθηκε περίπου το 50% των αυγών, ενώ 7 h μετά (72h μετά την εκκόλαψη) εκκολάφθηκε το 100% των αυγών, όπου σηματοδοτήθηκε και η λήξη του σταδίου. Ο αριθμός των σωματιών πριν την εκκόλαψη δε φάνηκε να αλλάζει σημαντικά (22 σωματίτες), ενώ ο όγκος του λεκιθικού σάκου περιορίσθηκε στο πρόσθιο μισό του σώματος μέχρι την έδρα, αφήνοντας ελεύθερο το υπόλοιπο σώμα.



Εικόνα 3.33: Εκκόλαψη του εμβρύου του αγγελόψαρου (α) έναρξη εκκόλαψης (62 h μετά τη γονιμοποίηση), (β) ολοκλήρωση εκκόλαψης (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Η εμβρυική ανάπτυξη του αγγελόψαρου σε σχέση με τον σχετικό χρόνο RTi στους 29°C αποτυπώνεται στο Σχήμα 3.9.



Σχήμα 3.9: Εξέλιξη της εμβρυϊκής ανάπτυξης του αγγελόψαρου *P. scalare*, σε σχέση με το σχετικό χρόνο (RTi) στους 29°C.

Γ. Λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης

Με την έναρξη του σταδίου, οι λεκιθοφόρες νύμφες του αγγελόψαρου δεν διέφεραν από τα έμβρυά του, πριν την εκκόλαψη. Ο λεκιθικός σάκος του νέο-εκκολαπτόμενου αγγελόψαρου ήταν στην πρόσθια και κοιλιακή περιοχή του σώματος, είχε ελλειπτικό σχήμα και εκτείνονταν από το μέσο του προκογχικού μήκους της έδρας της νύμφης, καταλαμβάνοντας περίπου το μισό του ολικού μήκους της λεκιθοφόρας νύμφης (Εικ.3.34α). Η διάμετρος του λεκιθικού σάκου μετρήθηκε $1,77 \pm 0,18$ mm κατά το οριζόντιο άξονα και $1,47 \pm 0,07$ mm κατά τον κατακόρυφο άξονα. Ο λόγος του μήκους του λεκιθικού σάκου (YsL) προς το ολικό μήκος της νύμφης (TL), υπολογίστηκε ίσος με 0,45 ενώ ο λόγος του ύψους (YsD) προς το ύψος του σώματος της νύμφης (BD) βρέθηκε 3,87, δηλαδή κατά 3 φορές μεγαλύτερο ύψος από το

σωματικό ύψος της νύμφης. Η λέκιθος καλύπτονταν στο σύνολό της από μελανοφόρα κύτταρα, με αποτέλεσμα η σταγόνα λιπιδίου δεν ήταν ευδιάκριτη λόγω τη συνεκτικότητας και της χρωστικής της ουσίας. Ήταν ομοιογενής, χρώματος ανοικτού καφέ, αδιαφανής και καλύπτονταν στο σύνολό της από μελανοφόρα κύτταρα (Εικ.3.34β).

Ο κορμός του λεκιθοφόρου ιχθυδίου, από το ύψος των οφθαλμών μέχρι το ουραίο τμήμα, γύρω από αυτό και προσθίως του κορμού, μέχρι το οπίσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου, περιβάλλονταν από την πρωτογενή περιφερειακή πτερυγιοπτυχή, η οποία ήταν διαφανής και λεπτή. Το πρόσθιο τμήμα του σώματος ήταν ελαφρώς κεκαμμένο προς τα κάτω, εξαιτίας της στενής επαφής της περιοχής της κεφαλής με το λεκιθικό σάκο. Οι οφθαλμοί είχαν διάμετρο $0,29 \pm 0,02$ mm, ήταν άχρωμοι και στο κέντρο τους διακρίνονταν οι φακοί κρυσταλλίνης και τα οφθαλμικά κυστίδια.

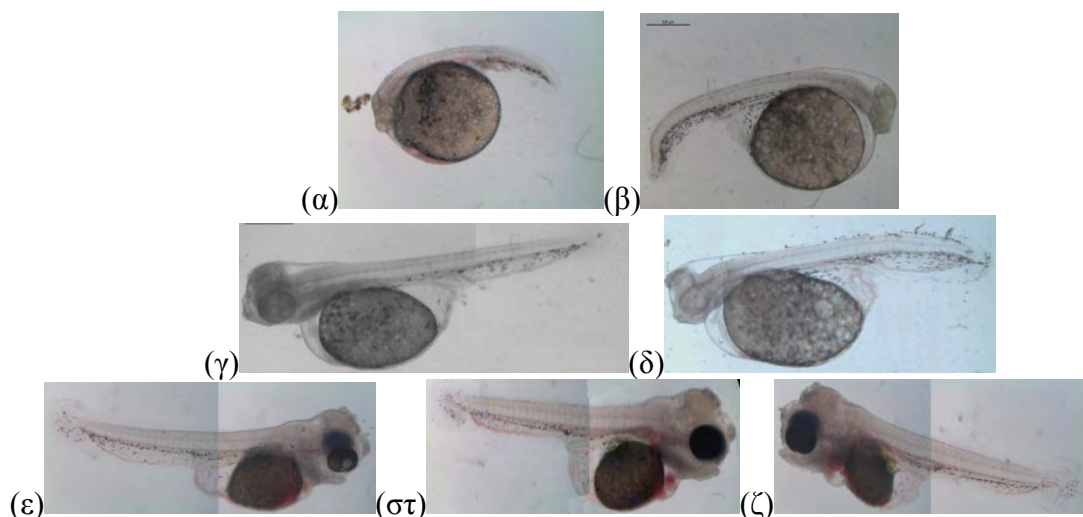
Το πεπτικό σύστημα της νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης 8 h μετά την εκκόλαψη αποτελούνταν από κλειστή στοματική κοιλότητα η οποία ήταν υπό κατασκευή, αδιαμόρφωτο και ευθυτενή γαστρικό σωλήνα ο οποίος εκτείνονταν έως το οπίσθιο τμήμα του λεκιθικού σάκου, διακόπτοντας την πρωτογενή πτερυγιοπτυχή, για να καταλήξει στην έδρα η οποία ήταν κλειστή (Εικ.3.34γ). Η νυκτική κύστη ήταν καλά σχηματισμένη, βρίσκονταν πρόσθια και ραχιαία της λεκίθου και σε στενή επαφή με το γαστρικό σωλήνα, δεν ήταν ευδιάκριτη και δεν είχε πληρωθεί ακόμη με αέρα.

Η καρδιά εμφανίστηκε στις 12-14 h μετά την εκκόλαψη όταν το pH ήταν 6,2, σε αντίθεση με το υψηλότερο pH (7,4), όπου η καρδιά εμφανίστηκε μετά από 2-3 h. Η καρδιά της νέο-εκκολαφθείσας λεκιθοφόρας νύμφης ήταν τοποθετημένη πρόσθια και ραχιαία του λεκιθικού σάκου και ήταν λειτουργική. Το οπίσθιο άκρο της, επικοινωνεί με εκτεταμένο δίκτυο αγγείων το οποίο είναι αναπτυγμένο στο εσωτερικό της λεκίθου,

μέσω του περικαρδίου και της περιλεκιθικής μεμβράνης (Fujimura & Okada 2007). Στο πρόσθιο τμήμα της κεφαλής, μπροστά από τους οφθαλμούς και κοντά στο ρύγχος βρίσκονταν οι ρινικές ή οσφρητικές κοιλότητες (Εικ.3.34δ), οι δομές των οποίων συνδέθηκαν αργότερα με την πλευρική γραμμή και το εσωτερικό της ακουστικής κοιλότητας. Η νεοεκκολαπτόμενη νύμφη του αγγελόψαρου δεν έφερε κανένα σχηματισμένο περύγιο, ενώ ο αριθμός των μυομερών κυμαίνονταν από 22 έως 24.

Τα θωρακικά περύγια σχηματίστηκαν χωρίς να ήταν ευδιάκριτες οι πρωτογενείς ακτίνες. Η διαφοροποίηση του πεπτικού συστήματος άρχισε με το σχηματισμό του εντερικού βρόγχου και της κάτω σιαγόνας. Η απορρόφηση των λεκιθικών αποθεμάτων μειώνονταν με αποτέλεσμα η κεφαλή άρχισε να ελευθερώνεται από το πρόσθιο τμήμα της λεκίθου στις 12-14 h μετά την εκκόλαψη σε pH 6,2 και 16-20 h όταν το pH ήταν 7,4. Ο σχηματισμός της κάτω σιαγόνας άρχισε να εμφανίζεται στις 28-32 h μετά την εκκόλαψη σε pH 6,2 και στις 40-44 h μετά την εκκόλαψη σε pH 7,4 (Εικ.3.34ε). Η διαφοροποίηση του πεπτικού συστήματος έγινε 32-36 h, με το σχηματισμό του ήπατος που ήταν πίσω από το λεκιθικό σάκο σε pH 6,2 σε αντίθεση με την υψηλότερη τιμή pH, όπου ο σχηματισμός του, χρονικά έγινε στις 40 h μετά την εκκόλαψη. Η λεκιθοφόρα νύμφη του αγγελόψαρου συνέχιζε να αναπτύσσεται και να παρατηρούνταν μικροδιαφορές στην εξέλιξη των αναπτυξιακών γεγονότων ανάμεσα στα δυο pH (6,2 και 7,4). Συνεπώς, 32 h μετά την εκκόλαψη, οι οφθαλμοί της λεκιθοφόρας νύμφης του αγγελόψαρου καλύπτονταν πλήρως από μελανοφόρα κύτταρα και εμφανίζονταν εντόνως χρωματισμένα μαύρα σε pH 6,2, σε αντίθεση, όταν το pH ήταν 7,4, η εξέλιξη του εν λόγω σταδίου παρατηρήθηκε 45-50 h μετά την εκκόλαψη (Εικ.3.34στ). Στις 36 h και 38 h μετά την εκκόλαψη, ο αριθμός των μυομερών στην προεδρική περιοχή ήταν 15 με 16 σε pH 6,2 και 12 με 13 σε pH 7,4.

Επίσης, την ίδια χρονική στιγμή τα μελανοφόρα κύτταρα εντοπίστηκαν στη ραχιαία περιοχή, ενώ στο οπίσθιο τμήμα του εντέρου εντοπίστηκε συγκέντρωση χρωματοφόρων (Εικ.3.34στ).



Εικόνα 3.34: Λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης του αγγελόψαρου σε pH 6,2 (α) νέο-εκκολαπτόμενη νύμφη, (β) δημιουργία πεπτικού συστήματος της νύμφης,(γ) εμφάνιση ρινικών και οσφρητικών κοιλοτήτων, (δ) σχηματισμός κάτω σιαγόνας, (ε) εμφάνιση μελανοφόρων κυττάρων, (στ) αριθμός μομερών και μελανοφόρα κύτταρα, (ζ) λήξη λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Η λήξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου σηματοδοτήθηκε με την απορρόφηση των λεκιθικών αποθεμάτων, η οποία πραγματοποιήθηκε στις 60-72 h όταν το pH ήταν 6,2 και στις 72-84 h όταν το pH ήταν 7,4. (Εικ.3.34ζ).

3.3.2.2. Στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυδίου (juvenile) του αγγελόψαρου

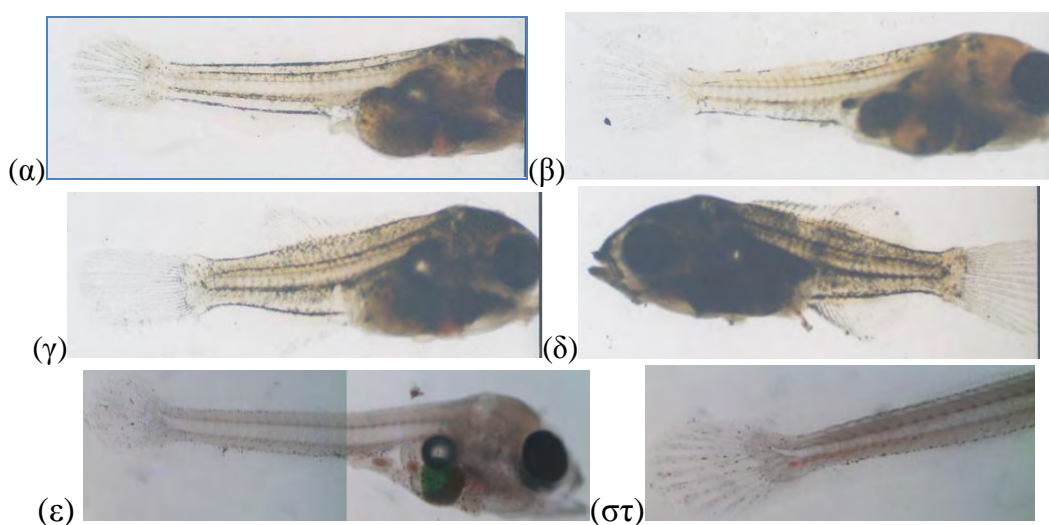
Το στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυδίου του αγγελόψαρου (juvenile) σηματοδοτήθηκε με την πλήρη απορρόφηση του λεκιθικού σάκου και διήρκησε μέχρι την πρώτη ωρίμανση των γαμετών. Το αγγελόψαρο στο στάδιο αυτό, τρέφονταν με εξωτερική τροφή και τελειοποίησε τα μορφολογικά του χαρακτηριστικά. Η μελέτη του σταδίου αυτού έγινε σε θερμοκρασία 29 °C και pH 6,2.

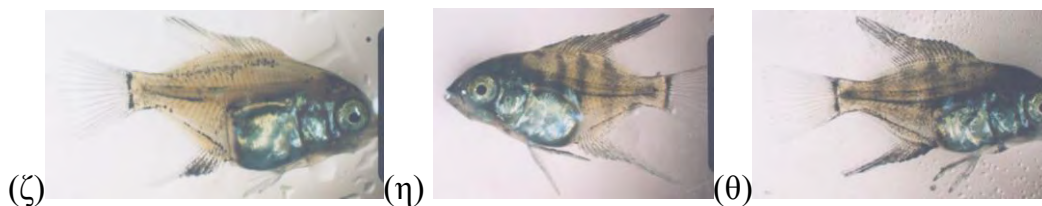
175 h μετά την εκκόλαψη (7 ημέρες), η νύμφη του αγγελόψαρου εισήλθε στο στάδιο της ελεύθερης κολύμβησης, ενώ ο λεκιθικός της σάκος είχε απορροφηθεί πλήρως. Η νηκτική κύστη ήταν ορατή εξαιτίας της υψηλής διαθλαστικότητας που παρουσίαζε. Οι CFRE εμφανίστηκαν στα θωρακικά πτερύγια και ο αριθμός τους ήταν περίπου 8. Το ραχιαίο και το εδρικό πτερύγιο διαφοροποιήθηκαν και αποτελούνταν από λεπτές διαφανείς μεμβράνες χωρίς να ήταν ευδιάκριτες. Οι χρωστικές ουσίες κατανέμονταν στην αρχή στη μέση και στο τέλος του κορμού της νύμφης. Το κεφάλι ήταν καλυμμένο με πυκνά ακτινικά μελανοφόρα κύτταρα (Εικ.3.35α). 225 h (9 ημέρες) μετά την εκκόλαψη, οι χρωστικές ουσίες αυξήθηκαν στο πρόσθιο, μεσαίο και οπίσθιο τμήμα του κορμού, ενώ οι πρωτογενείς ακτίνες στο ραχιαίο και το εδρικό πτερύγιο δεν ήταν ορατές. (Εικ.3.35β). Οι CFRE, 288-300 h (12 ημέρες) μετά την εκκόλαψη, στο ραχιαίο και στο εδρικό πτερύγιο ήταν ορατές και δομημένες. Η ελεύθερη κολύμβηση ήταν ορατή, ενώ ο χρωματισμός της νύμφης στη ράχη, στη μέση και στο πίσω μέρος του κορμού ήταν έντονος. Η ουρά ήταν πολύ καλά σχηματισμένη, ενώ οι CFRE ήταν 13-14 (Εικ.3.35γ).

336 h (14 ημέρες) μετά την εκκόλαψη, το ραχιαίο και το εδρικό πτερύγιο του αγγελόψαρου σταδιακά διαφοροποιήθηκε ενώ οι πρώτοι αρθρωτοί σύνδεσμοι ήταν ορατοί και πλήρως δομημένοι στις εδρικές τους ακτίνες (Εικ.3.35δ). Τα βράγχια ήταν καλά σχηματισμένα και το έντερο άρχισε να αποκτά ελικοειδή σχηματισμό (αρχικά

ήταν ίσο) (Εικ.3.35ε). Κατά μήκος του σώματος ήταν ορατές οι χρωστικές ουσίες με μορφή κηλίδων (Εικ.3.35στ). Το ολικό μήκος του νεαρού αγγελοψαρού αυξήθηκε με τις πρωτογενείς ακτίνες στο εδρικό πτερύγιο και ήταν περισσότερες από 20. Το σώμα του νεαρού και αναπτυσσόμενου αγγελοψαρού έμοιαζε με εκείνο του ενήλικου ατόμου.

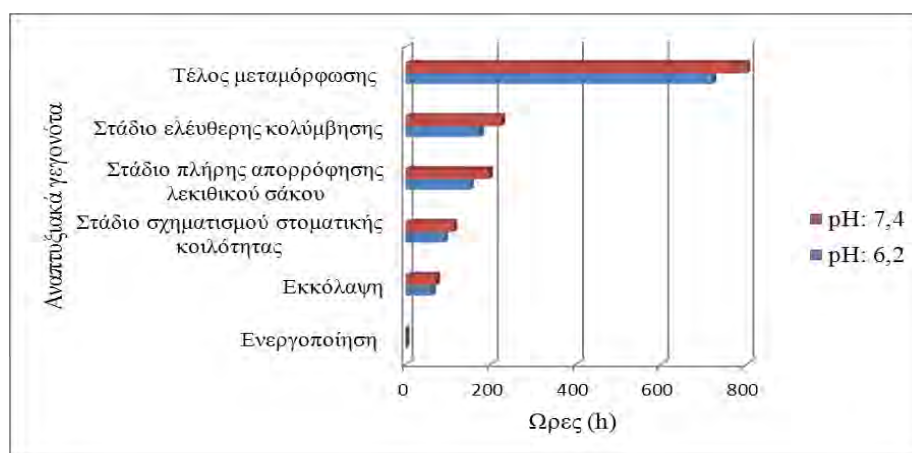
Ο σχηματισμός των κοιλιακών πτερυγίων πραγματοποιήθηκε στις 384 h (15 ημέρες) μετά την εκκόλαψη. Το ραχιαίο και το εδρικό πτερύγιο ήταν περισσότερο αναπτυγμένα. Περισσότερα μελανοφόρα αναπτύχθηκαν στο κεφάλι και επί των πλευρικών και ραχιαίων τμημάτων του σώματος (Εικ.3.35ζ). Το χρώμα της νύμφης 25 ημέρες (600 h) μετά την εκκόλαψη, άρχιζε να μοιάζει με εκείνο του ενήλικου ατόμου. 30 ημέρες (720 h) μετά την εκκόλαψη, τα πτερύγια του αγγελοψαρού ήταν καλά αναπτυγμένα (Εικ.3.35θ). Το ραχιαίο και το εδρικό πτερύγιο ήταν καλά χρωματισμένα και ελαφρώς διαφανή. Τα λέπια, εμφανίστηκαν την 32^η ημέρα της ανάπτυξης, καλύπτοντας το μεγαλύτερο μέρος του σώματος. Οι ρόθωνες σχηματίστηκαν. Το σώμα, ήταν καλυμμένο με μελανοφόρα κύτταρα και ο σκελετός παρουσίαζε ένα προηγμένο βαθμό οστεοποίησης. Το σχήμα του σώματος και ο χρωματισμός του έμοιαζε με εκείνο του ενήλικου ψαριού (Εικ.3.35η).





Εικόνα 3.35: Αγγελόψαρο στο στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυδίου (Juvenile) σε pH 6,2 και σε θερμοκρασία 29 °C (α) ελεύθερη κολύμβηση (175 h μετά την εκκόλαψη), (β) εμφάνιση χρωστικών ουσιών στο σώμα (225 h μετά την εκκόλαψη), (γ) εμφάνιση ρινικών και οσφρητικών κοιλοτήτων, (δ) σχηματισμός ραχιαίου και εδρικού πτερυγίου (336 h μετά την εκκόλαψη), (ε) ελικοειδής σχηματισμός εντέρου (336 h) (στ) σχηματισμός ουράς, ανάπτυξη των πρωτογενών ουραίων άκανθων (CFRE:13-14),(300 h μετά την εκκόλαψη), (ζ) εμφάνιση μελανοφόρων κυττάρων στο κεφάλι και πλευρικά (384 h μετά την εκκόλαψη), (η) ομοιόμορφος χρωματισμός που μοιάζει με του ενήλικου ατόμου (600 h μετά την εκκόλαψη), (θ) σχηματισμός ραχιαίου και εδρικού πτερυγίου (720 h μετά την εκκόλαψη), (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

Το Σχήμα 3.10 δείχνει το χρόνο που παρατηρήθηκαν τα σημαντικότερα αναπτυξιακά γεγονότα του αγγελόψαρου.

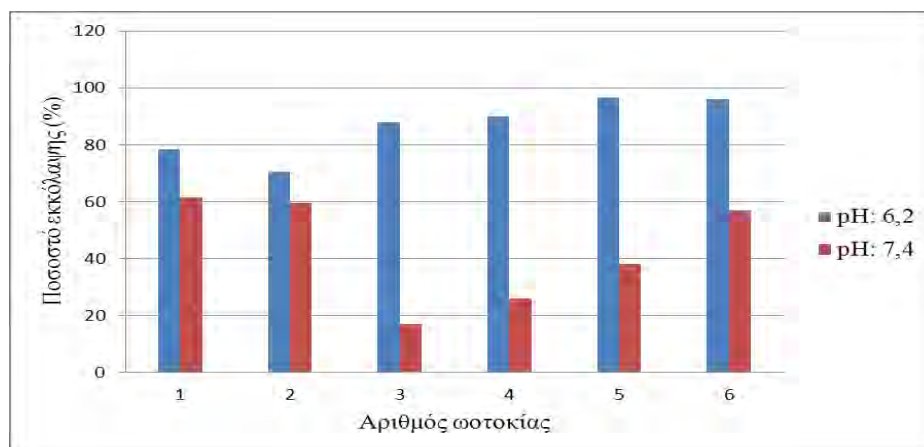


Σχήμα 3.10: Διάγραμμα εξέλιξης των σημαντικών αναπτυξιακών γεγονότων του αγγελόψαρου σε pH 6,2 και 7,4.

3.3.2.3. Ποσοστά γονιμοποίησης-εκκόλαψης

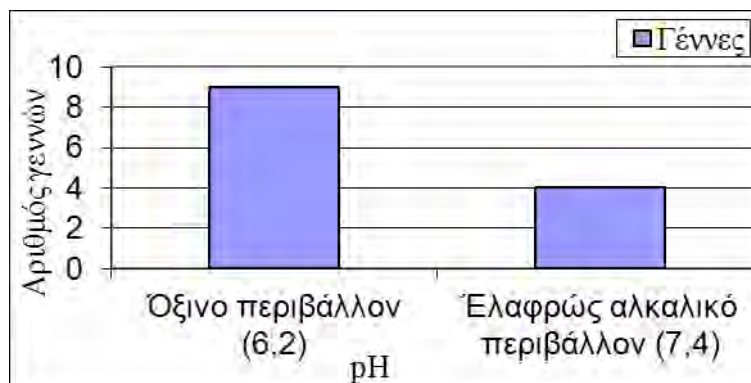
Το αγγελόψαρο όταν αναπαράχθηκε σε όξινο περιβάλλον (pH 6,2) παρουσίασε υψηλότερα ποσοστά γονιμοποίησης και εκκόλαψης (87 %) σε αντίθεση με το αλκαλικό περιβάλλον (pH 7,4), όπου η εκκόλαψη ήταν 43% (Σχ.3.11). Μεγαλύτερη επιβίωση (85%) παρατηρήθηκε στις λεκιθοφόρες νύμφες του αγγελόψαρου που αναπτύχθηκαν σε pH 6,2, σε αντίθεση με εκείνες που αναπτύχθηκαν σε pH 7,4, όπου η επιβίωσή ήταν 35%.

Σε περίπτωση απομάκρυνσης των γεννητόρων από το ενυδρείο αναπαραγωγής, κατά τη διάρκεια της επώασης, παρατηρήθηκαν μικρότερα ποσοστά εκκόλαψης, σε σχέση με τα ενυδρεία που δεν απομακρύνθηκαν οι γεννήτορες. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν όταν το ζευγάρι απομακρύνθηκε από τις λεκιθοφόρες νύμφες. Οι λεκιθοφόρες νύμφες του αγγελόψαρου που παρέμειναν προσκολλημένες στο υπόστρωμα εναπόθεσης, παρουσίαζαν ομοιόμορφη διασπορά εκδηλώνοντας παθητική κίνηση.



Σχήμα 3.11: Ποσοστά (%) εκκόλαψης σε σχέση με το σύνολο των ωοτοκίων που έλαβαν χώρα καθ' όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής διαδικασίας του αγγελόψαρου σε δυο διαφορετικά pH (6,2 & 7,4).

Η αναπαραγωγική διαδικασία του αγγελόψαρου ήταν περισσότερο αποτελεσματική όταν πραγματοποιούνταν σε όξινο περιβάλλον με pH 6,2 σε αντίθεση, με το αλκαλικό περιβάλλον, με pH 7,4 (Σχ.3.12).



Σχήμα 3.12: Αριθμός γεννών του αγγελόψαρου σε σχέση με το pH.

3.4. Αποτελέσματα διατροφικών πειραμάτων

Διάφορα στοιχεία διατροφής και ο υπολογισμός της κατανάλωσης της τροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόξεμπρας μελετήθηκαν με την πραγματοποίηση 8 πειραμάτων, ο πειραματικός σχεδιασμός των οποίων παρουσιάστηκε αναλυτικά στο κεφάλαιο υλικά και μέθοδοι έρευνας (βλέπε § 2.2.1, σελ. 62).

3.4.1. Ποιότητα νερού στα ενδρεία διατροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόξεμπρας

Το pH, η T.A.N, το O₂, τα NO₂⁻ και τα NO₃⁻ (Πιν. 3.8) δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διατροφικών αγωγών και στις δυο θερμοκρασίες (ασιτία, δίαιτα A, δίαιτα B, ANOVA, P>0,05). Η T.A.N και τα NO₂⁻ δεν ξεπέρασαν τις τιμές 0,25 mg/L και 0,10 mg/L αντιστοίχα, ενώ τα NO₃⁻ σε όλα τα πειραματικά ενδρεία διακυμάνθηκαν από 38,00 mg/L έως 39,67 mg/L στους 29 °C και από 37,59 mg/L έως 38,59 mg/L στους 25 °C κα θόλο το διάστημα της πειραματικής

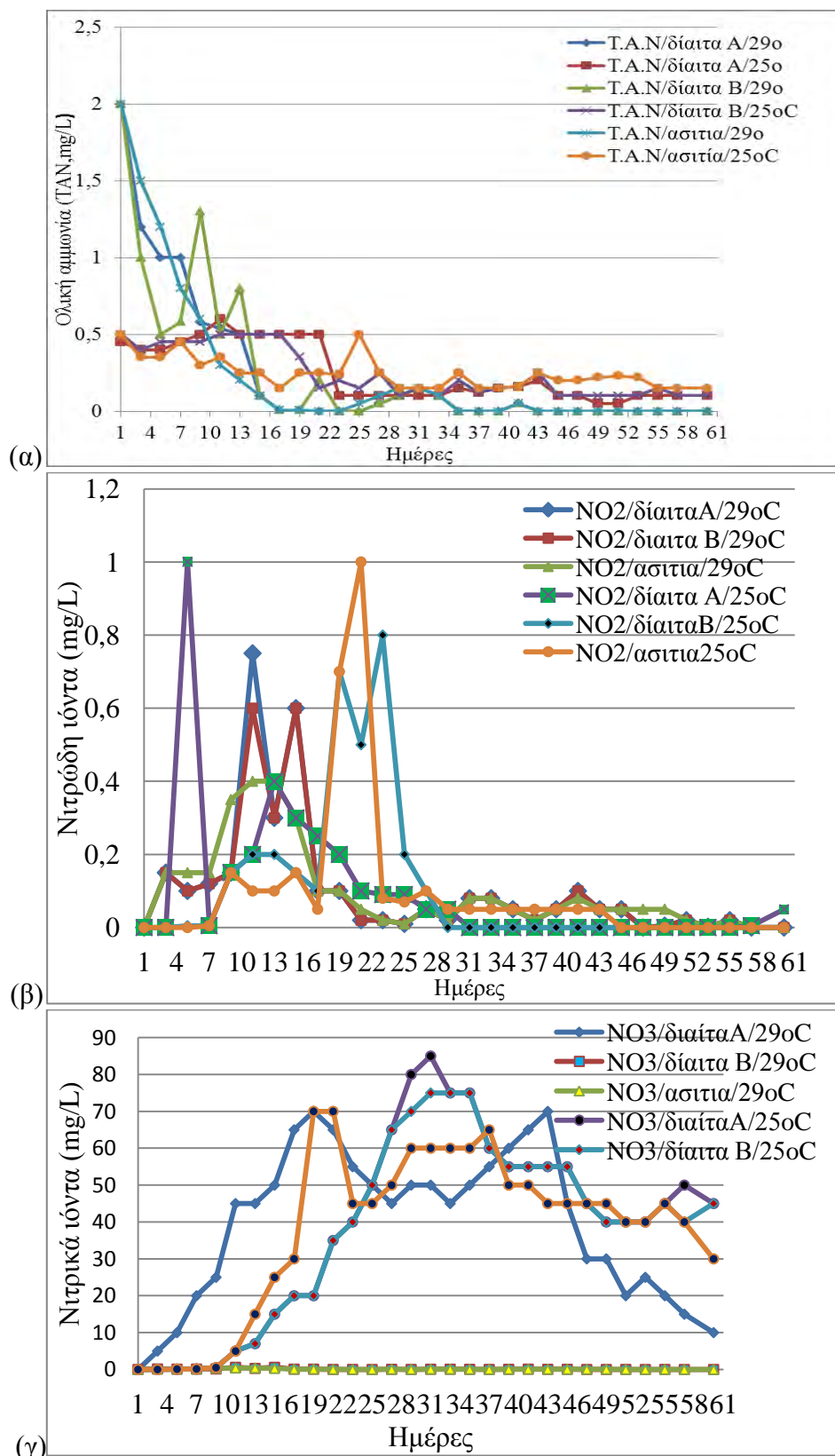
εκτροφής (60 ημέρες) (Σχ. 3.13). Η μη ιονισμένη αμμωνία διατηρήθηκε σε σταθερά επίπεδα καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας και ήταν $0,05 \pm 0,03$ mg/L στους 29°C και $0,04 \pm 0,03$ mg/L στους 25°C , δηλώνοντας την ικανοποιητική λειτουργία του βιολογικού φίλτρου βυθού.

Πίνακας 3.8: Φυσικοχημικές παράμετροι νερού στα πειραματικά ενυδρεία διατροφής του αγγελόψαρου στους (α) 29°C και (β) 25°C .

α)			
	29° C		
	Δίαιτα Α	Δίαιτα Β	Ασιτία
Διαλυμένο O ₂ (mg/L)	8,47 ± 0,12 ^a	8,46 ± 0,11 ^a	8,43 ± 0,13 ^a
pH	6,88 ± 0,19 ^a	6,86 ± 0,16 ^a	7,00 ± 0,28 ^a
Ολική αμμωνία (T.A.N.,NH ₄ +NH ₃ -N mg/L)	0,25 ± 0,48 ^a	0,25 ± 0,47 ^a	0,24 ± 0,49 ^a
Μη ιονισμένη αμμωνία (NH ₃ -N,mg/L) ^{**}	0,05± 0,03	0,05± 0,03	0,05± 0,03
Ιονισμένη αμμωνία (NH ₄ ,mg/L) [*]	0,20± 0,19	0,20± 0,19	0,20± 0,19
Νιτρώδη ιόντα (NO ₂ ⁻ -N,mg/L)	0,10± 0,17 ^a	0,10 ± 0,15 ^a	0,10 ± 0,12 ^a
Νιτρικά ιόντα (NO ₃ ⁻ -N ,mg/L)	39,67 ± 20,50	38,83 ± 19,64	38,00± 8,83
Ανθρακική σκληρότητα (KH,ppm)	2,20±0,41 ^a	2,27±0,52 ^a	2,20±0,48 ^a
Γενική σκληρότητα (GH,ppm)	4,00±0,00 ^a	4,00±0,00 ^a	4,00±0,00 ^a
Φωσφορικά ιόντα (PO ₄ ⁻ ,mg/L)	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a

β)			
	25° C		
	Δίαιτα Α	Δίαιτα Β	Ασιτία
Διαλυμένο O ₂ (mg/L)	8,4 ± 0,12 ^a	8,31 ± 0,19 ^a	8,26 ± 0,19 ^a
pH	6,9 ± 0,42 ^a	6,8 ± 0,32 ^a	6,8 ± 0,24 ^a
Ολική αμμωνία (T.A.N.,NH ₄ +NH ₃ -N, mg/L)	0,25 ± 0,18 ^a	0,25 ± 0,16 ^a	0,25 ± 0,10 ^a
Μη ιονισμένη αμμωνία (NH ₃ -N,mg/L) ^{**}	0,04± 0,03	0,04± 0,03	0,04± 0,03
Ιονισμένη αμμωνία (NH ₄ ,mg/L) [*]	0,21± 0,19	0,21± 0,19	0,21± 0,19
Νιτρώδη ιόντα (NO ₂ ⁻ -N,mg/L)	0,10± 0,20 ^a	0,10 ± 0,21 ^a	0,10 ± 0,21 ^a
Νιτρικά ιόντα (NO ₃ ⁻ -N ,mg/L)	38,59 ± 26,21 ^a	37,59 ± 25,06 ^a	37,86± 22,42 ^a
Ανθρακική σκληρότητα (CH,ppm)	2,00 ± 0,83 ^a	2,00±0,87 ^a	2,00±0,76 ^a
Γενική σκληρότητα (GH,ppm)	4,00±0,00 ^a	4,00±0,00 ^a	4,00±0,00 ^a
Φωσφορικά ιόντα (PO ₄ ⁻ ,mg/L)	0,01±0,03 ^a	0,01±0,02 ^a	0,01±0,02 ^a

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές±T.A. Οι μέσοι όροι οι οποίοι εκφράζονται από τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0,05$). * Η ιονισμένη αμμωνία, υπολογίστηκε από την σχέση Ιονισμένη αμμωνία = $\alpha \cdot \text{T.A.N.}$ (Χώτος 2007), (όπου α : γραμμομοριακό κλάσμα διάσπασης της αμμωνίας και υπολογίζεται από πίνακες σε σχέση με το pH και τη θερμοκρασία). ** Η μη ιονισμένη αμμωνία, υπολογίστηκε από τη σχέση Μη Ιονισμένη αμμωνία = T.A.N–Ιονισμένη αμμωνία (Χώτος 2007)



Σχήμα 3.13: Μεταβολή των αζωτούχων παραγώγων στα ενυδρεία διατροφής του αγγελόψαρου (α) μεταβολή της T.A.N, (β) μεταβολή των NO_2^- , (γ) μεταβολή των NO_3^- στους 29 °C και 25 °C.

Στα ενυδρεία διατροφής της κιχλιδόζεμπρας το pH, η T.A.N., το O₂ και τα NO₂⁻ κυμαίνονταν σε σταθερά επίπεδα καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, χωρίς να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, P>0,05) μεταξύ των διατροφικών μεταχειρίσεων στους 27 °C και 20 °C αντίστοιχα (Πιν.3.9). Η ολική αμμωνία διακυμάνθηκε από 0,04 έως 0,11 mg/L και τα νιτρώδη ιόντα από 0,01 έως 0,02 mg/L στους 27 °C. Τα νιτρικά ιόντα στα ενυδρεία όπου χορηγήθηκε η δίαιτα A ήταν 24,97 mg/L και στα ενυδρεία όπου χορηγήθηκε η δίαιτα B ήταν 28,97 mg/L. Στα ενυδρεία όπου τα ψάρια βρίσκονταν σε συνθήκες ασιτίας τα νιτρικά ήταν 14,99 mg/L.

Στους 20 °C η T.A.N και τα NO₂⁻ σε όλα τα ενυδρεία που χορηγήθηκε η δίαιτα A και B κυμαίνονταν από 0,09 mg/L έως 0,11 mg/L αντίστοιχα. Τα NO₃⁻ κυμαίνονταν από 25,83 mg/L έως 28,63 mg/L και 8,36 mg/L στα ενυδρεία όπου η κιχλιδόζεμπρα διατηρήθηκε σε συνθήκες ασιτίας. Στα Σχήματα 3.14 και 3.15 παρουσιάζονται οι μεταβολές της T.A.N, των NO₂⁻ και NO₃⁻ καθόλη τη διάρκεια των περιεργιών διατροφής (60 ημέρες) στους 27°C και 20°C.

Πίνακας 3.9: Φυσικοχημικοί παράμετροι νερού στα πειραματικά ενυδρεία εκτροφής της κιχλιδόζεμπρας στους (α) 27 °C και (β) 20 °C.

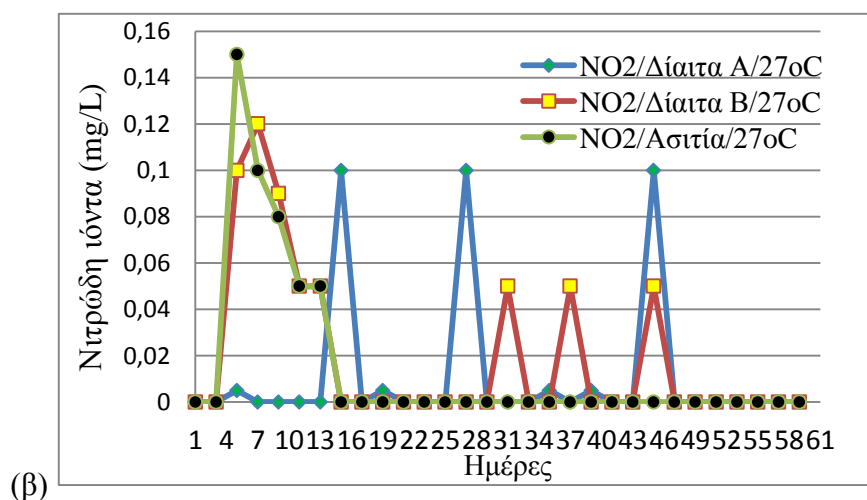
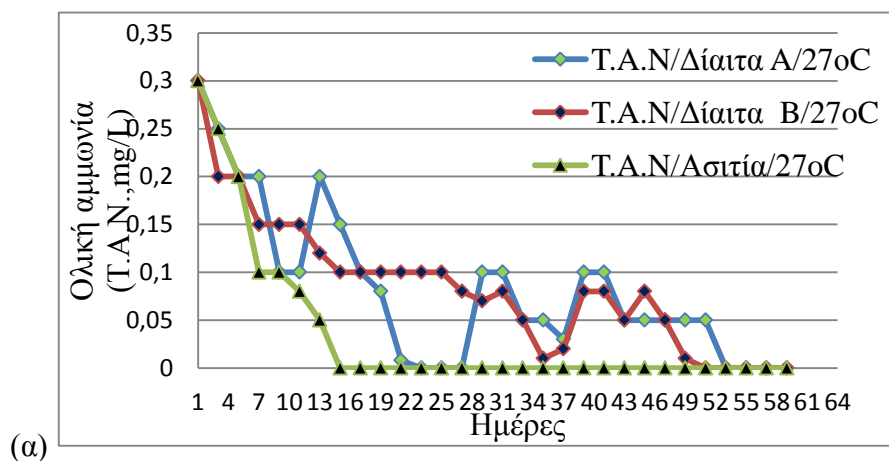
(α)

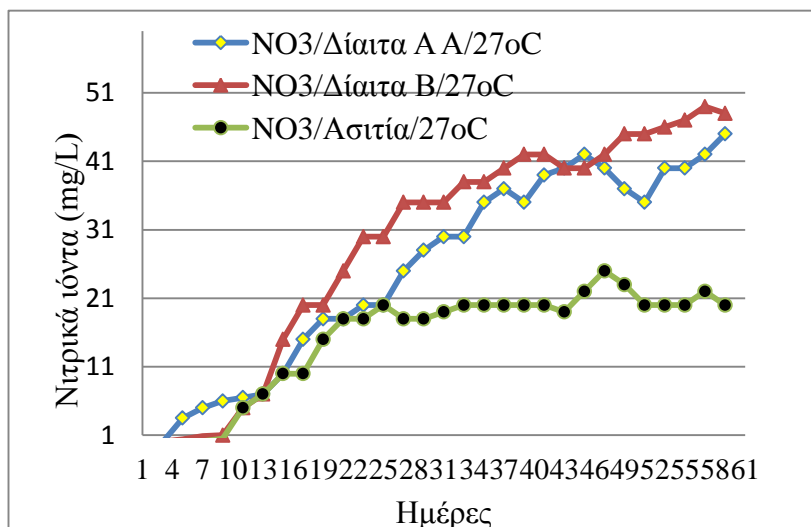
	27°C		
	Δίαιτα A	Δίαιτα B	Ασιτία
Διαλυμένο οξυγόνο O ₂ (mg/L)	7,35±0,25	7,41±0,24	7,15±0,19
pH	6,78±0,10	6,68±0,11	6,67±0,11
Ολική αμμωνία (T.A.N:NH ₄ +NH ₃ -N), (mg/L)	0,08±0,08	0,08±0,07	0,04±0,08
Μη ιονισμένη αμμωνία (NH ₃ -N, mg/L)	0,0004±0,00	0,0004±0,00	0,0001±0,00
Ιονισμένη αμμωνία (NH ₄ ⁺ ,mg/L)	0,1043±0,06	0,1086±0,05	0,0319±0,06
Νιτρώδη ιόντα (NO ₂ ⁻ -N,mg/L)	0,01±0,03	0,02±0,03	0,01±0,04
Νιτρικά ιόντα (NO ₃ ⁻ -N,mg/L)	24,97±14,78	28,71±17,15	14,99±8,09

(β)

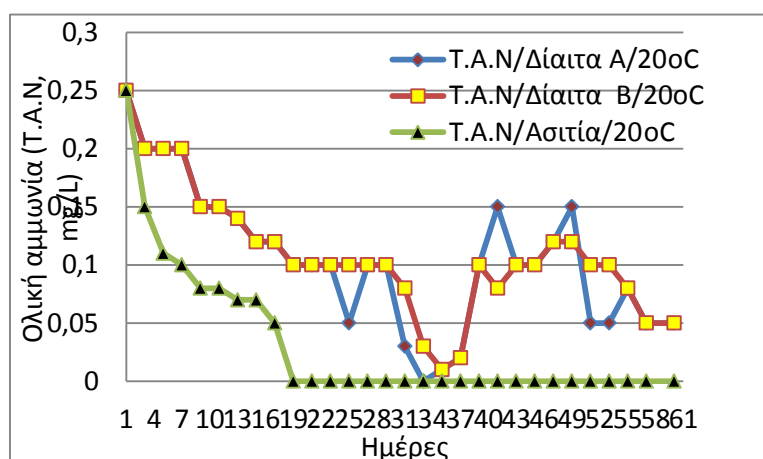
	20°C		
	Δίαιτα Α	Δίαιτα Β	Ασιτία
Διαλυμένο οξυγόνο O ₂ (mg/L)	7,34±0,12	7,11±0,13	7,15±0,19
pH	7,33±0,14	7,27±0,12	7,12±0,09
Ολική αμμωνία (T.A.N:NH ₄ +NH ₃ -N), (mg/L)	0,10±0,06	0,11±0,05	0,09±0,20
Μη ιονισμένη αμμωνία (NH ₃ -N, mg/L)	0,001±0,00	0,001±0,00	0,000±0,00
Ιονισμένη αμμωνία (NH ₄ ⁺ ,mg/L)	0,082±0,08	0,084±0,07	0,036±0,08
Νιτρώδη ιόντα (NO ₂ ⁻ -N,mg/L)	0,05±0,05	0,05±0,05	0,01±0,03
Νιτρικά ιόντα (NO ₃ ⁻ -N,mg/L)	25,83±14,45	28,63±17,19	8,36±4,09

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές±T.A. Οι μέσοι όροι που εκφράζονται με τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (P>0,05). *Η ιονισμένη αμμωνία, υπολογίστηκε από την σχέση Ιονισμένη αμμωνία = α*T.A.N. (Χώτος 2007), (α: γραμμομοριακό κλάσμα διάσπασης της αμμωνίας και υπολογίζεται από πίνακες σε σχέση με το pH και τη θερμοκρασία). **Η μη ιονισμένη αμμωνία, υπολογίστηκε από τη σχέση Μη Ιονισμένη αμμωνία = T.A.N-Ιονισμένη αμμωνία (Χώτος 2007)

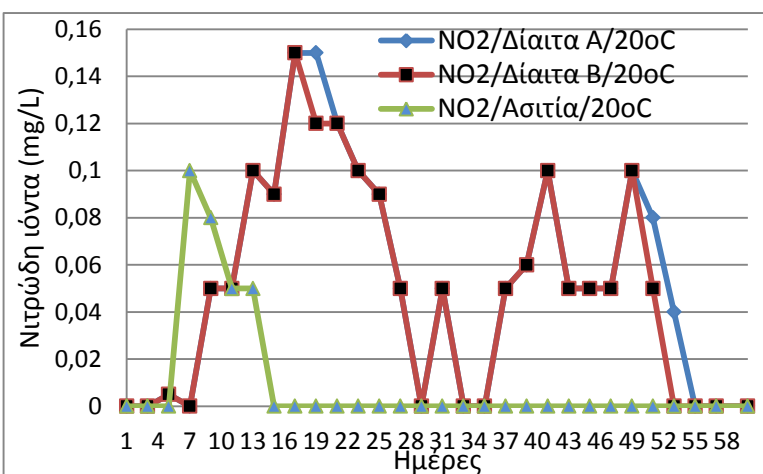




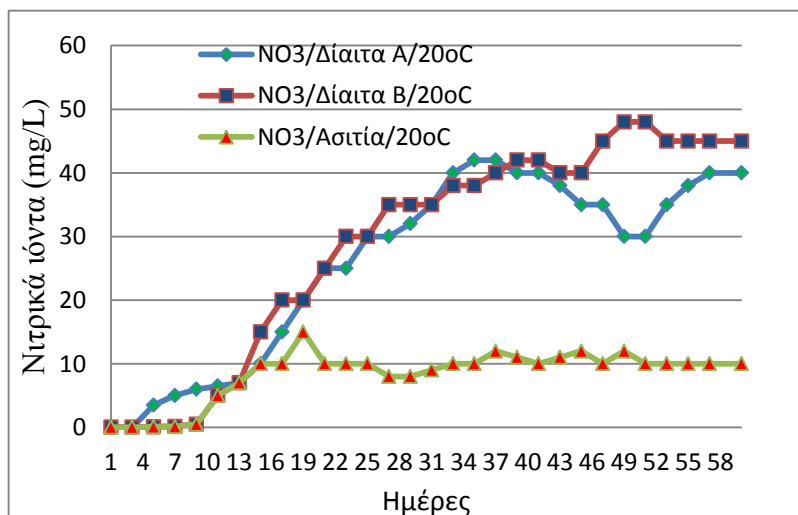
(γ) **Σχήμα 3.14:** Μεταβολή των αζωτούχων παραγώγων στα ενυδρεία διατροφής της κιχλιδόζεμπρας (α) μεταβολή της T.A.N, (β) μεταβολή των NO_3^- , (γ) μεταβολή των NO_3^- στους 27 °C.



(α)



(β)



(γ)
Σχήμα 3.15: Μεταβολή των αζωτούχων παραγώγων στα ενυδρεία διατροφής της κιχλιδόξεμπρας (α) μεταβολή της T.A.N, (β) μεταβολή των NO₃⁻, (γ) μεταβολή των NO₃ στους 20 °C.

3.4.2. Έναρξη πειραμάτων διατροφής

Πείραμα 1

Το μέσο αρχικό βάρος και μήκος των αγγελόψαρων κατά την έναρξη του πρώτου πειράματος στους 29 °C ήταν $1,13 \pm 0,15$ g και $4,11 \pm 0,49$ cm, αντίστοιχα για τα άτομα που διατράφηκαν με τη δίαιτα A, ενώ για τα άτομα που διατράφηκαν με τη δίαιτα B ήταν $1,12 \pm 0,14$ g και $4,25 \pm 0,48$ cm, αντίστοιχα. Σε συνθήκες ασιτίας στην ίδια θερμοκρασία το μέσο αρχικό βάρος και μήκος των αγγελόψαρων ήταν $1,14 \pm 0,96$ g και $3,97 \pm 0,41$ cm, αντίστοιχα. Επίσης, στους 25 °C, το μέσο αρχικό βάρος και μήκος ήταν $1,10 \pm 0,11$ g και $4,07 \pm 0,43$ cm για τα άτομα που διατράφηκαν με τη δίαιτα A, ενώ για τα άτομα που διατράφηκαν με τη δίαιτα B ήταν $1,09 \pm 0,08$ g και $3,85 \pm 0,38$ cm, αντίστοιχα. Σε συνθήκες ασιτίας στους 25 °C το μέσο βάρος και μήκος των αγγελόψαρων ήταν αντίστοιχα $1,11 \pm 0,09$ g και $3,68 \pm 0,37$ cm. Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι στην αρχή της πειραματικής διαδικασίας τα μέσα αρχικά βάρη

και μήκη των αγγελόψαρων δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P>0,05$), στους 29 °C και 25 °C (Πιν.3.10).

Πείραμα 2

Κατά την έναρξη του δεύτερου πειράματος ανάπτυξης τα αρχικά μέσα βάρη και μήκη των αγγελόψαρων που σιτίστηκαν με τις δίαιτες Γ και Δ, δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P>0,05$), στους 29 °C και 25 °C, αντίστοιχα. Τα μέσα αρχικά βάρη και μήκη των αγγελόψαρων που σιτιστήκαν με τη διαίτα Γ, στους 29 °C ήταν $1,09\pm 0,10$ g και $4,1\pm 0,48$ cm, ενώ για τα άτομα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Δ ήταν $1,08\pm 0,09$ g και $4,1\pm 0,46$ cm, αντίστοιχα. Σε συνθήκες ασιτίας στην ίδια θερμοκρασία το μέσο βάρος και μήκος των αγγελόψαρων ήταν, αντίστοιχα, $1,14\pm 0,10$ g και $4,0\pm 0,41$ cm. Ομοίως στους 25 °C, το μέσο αρχικό βάρος και μήκος των ψαριών ήταν $1,11\pm 0,12$ g και $4,0\pm 0,45$ cm, για τα άτομα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Γ και $1,11\pm 0,12$ g και $4,0\pm 0,38$ cm για τα άτομα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Δ. Σε συνθήκες ασιτίας το μέσο βάρος και μήκος των ψαριών ήταν $1,11\pm 0,09$ g και $3,7\pm 0,37$ cm (Πιν.3.11).

3.4.3. Επιβίωση

Πείραμα 1

Η μεγαλύτερη επιβίωση (100%) στους 29 °C καταγράφηκε στα αγγελόψαρα που τράφηκαν με τη διαίτα Α, σε αντίθεση με τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Β, τα οποία παρουσίασαν επιβίωση 50%. Στους 25 °C η επιβίωση κυμάνθηκε από 65% για τα νεαρά και αναπτυσσόμενα αγγελόψαρα που διατράφηκαν με τη διαίτα Β έως 95% για τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Α (Πιν.3.10). Τα αγγελόψαρα, σε

συνθήκες ασιτίας παρουσίασαν τη μικρότερη επιβίωση 35% στους 25°C σε σχέση με τους 29 °C όπου η επιβίωση ήταν μεγαλύτερη (55%).

Πείραμα 2

Σε ότι αφορά το δεύτερο πείραμα, η μεγαλύτερη επιβίωση παρατηρήθηκε στους 29 °C και ήταν 95%, όταν τα αγγελόψαρα σιτίστηκαν και με τις δυο πειραματικές δίαιτες (δίαιτα Γ και δίαιτα Δ). Στους 25 °C, η μεγαλύτερη επιβίωση παρατηρήθηκε στη δίαιτα Γ (90%), σε σχέση με τη δίαιτα Δ, όπου η επιβίωση ήταν 75%. Σε συνθήκες ασιτίας στους 25 °C το αγγελόψαρο παρουσιάζει τη μικρότερη επιβίωση (35%), σε σχέση με τους 29 °C όπου παρατηρήθηκε μεγαλύτερη επιβίωση (55%, Πιν.3.11).

3.4.4. Αύξηση βάρους και ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

Πείραμα 1

Το τελικό μέσο βάρος και μήκος των αγγελόψαρων τα οποία σιτίστηκαν με τις δίαιτες Α και Β (Πίν. 3.10), ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο σε σχέση με τα αγγελόψαρα που ήταν σε συνθήκες ασιτίας και στις δυο θερμοκρασίες (25 °C και 29 °C). Οι πειραματικές τροφές (δίαιτα Α και δίαιτα Β) φαίνεται να έχουν μια σημαντική επίδραση στο ρυθμό ανάπτυξης των αγγελόψαρων στα οποία χορηγήθηκαν για 60 ημέρες σε σχέση με τα αγγελόψαρα που ήταν σε συνθήκες ασιτίας. Στη βέλτιστη θερμοκρασία 29 °C, η αύξηση βάρους και στις δυο διατροφικές ομάδες δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά (ANOVA, $P>0,05$, Πιν. 3.10). Στο τέλος του πειράματος, ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης των αγγελόψαρων ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος σε σχέση με τα αγγελόψαρα που ήταν σε συνθήκες ασιτίας (ANOVA, $P<0,05$).

Στους 29 °C, όταν τα αγγελόψαρα τρέφονται με νιφάδες (δίαιτα Β), παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο (two-way ANOVA, $P < 0,05$) ρυθμό ανάπτυξης σε σχέση με τα αγγελόψαρα που διατρέφονταν με νιφάδες (δίαιτα Β) στους 25 °C. Τα αγγελόψαρα που τρέφονταν με τη δίαιτα Α και στις δυο θερμοκρασίες, έδειξαν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση στο συντελεστή ευρωστίας σε σχέση με τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Β και στις δυο θερμοκρασίες (Πιν.3.10).

Επίσης, η ανάλυση διακύμανσης με δυο παράγοντες έδειξε ότι η τροφή επιδρά στατιστικά σημαντικά στον ημερήσιο ρυθμό ανάπτυξης του ψαριού (two-way ANOVA, $P < 0,001$), σε αντίθεση με τη θερμοκρασία όπου δεν επιδρά στην ανάπτυξη του αγγελόψαρου ($P > 0,05$).

Πείραμα 2

Στους 29 °C, τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Γ και Δ παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο μέσο τελικό βάρος, σε σχέση με τα αγγελόψαρα που ήταν σε συνθήκες ασιτίας (ANOVA, $P < 0,05$, Πιν.3.11). Στους 25 °C, τα αγγελόψαρα που σιτίζονταν και με τις δυο διατροφικές αγωγές (δίαιτα Γ, δίαιτα Δ) παρουσίασαν παρόμοιο μέσο τελικό βάρος, το οποίο ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο από εκείνο των αγγελόψαρων που παρέμειναν σε συνθήκες ασιτίας (ANOVA, $P < 0,05$, Πιν.3.11). Τα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με τη δίαιτα Γ (σύμπληκτα) είχαν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση βάρους στους 29 °C από τις άλλες δυο ομάδες ενώ και η ομάδα που διατράφηκε με τη δίαιτα Δ είχε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση βάρους από τα άσιτα άτομα (ANOVA, $P < 0,05$, Πιν.3.11).

Στο τέλος του πειράματος στους 29 °C, ο ημερήσιος ρυθμός ανάπτυξης (SGR) των αγγελόψαρων ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερος σε σχέση με τα αγγελόψαρα

που ήταν σε συνθήκες ασιτίας (ANOVA, $P < 0,05$, Πιν.3.11). Επίσης στους 29 °C, τα αγγελόψαρα που διατρέφονταν με σύμπηκτα (δίαιτα Γ) παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης σε σχέση με τα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με την ίδια δίαιτα στους 25 °C (ANOVA, $P < 0,05$). Στους 25 °C, τα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με τις δίαιτες Γ και Δ παρουσίασαν παρόμοιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (ANOVA, $P > 0,05$) που ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερος ($P < 0,05$) συγκριτικά με εκείνον που είχαν τα αγγελόψαρα σε συνθήκες ασιτίας (ANOVA, $P < 0,05$, Πιν.3.11).

Τα αγγελόψαρα που διατρέφονταν με τη δίαιτα Γ και στις δυο θερμοκρασίες παρουσίασαν μεγαλύτερο συντελεστή ευρωστίας σε σχέση με τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Δ και στις δυο θερμοκρασίες (Πιν.3.11). Επίσης, η ανάλυση διακύμανσης με δυο παράγοντες έδειξε ότι η τροφή επιδρά στατιστικά σημαντικά στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης του ψαριού (two-way ANOVA, $P < 0,001$) σε αντίθεση με τη θερμοκρασία ή οποία δεν φαίνεται να επιδρά στην ανάπτυξη του αγγελόψαρου ($P > 0,05$).

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας στους 29 °C για τα αγγελόψαρα που διατρέφονταν με τη δίαιτα Δ ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερος σε σχέση με τα αγγελόψαρα που διατρέφονταν με τη δίαιτα Γ (ANOVA, $P < 0,05$). Ο FCR, στους 29 °C για τα αγγελόψαρα που διατρέφονταν με τη δίαιτα Δ παρουσίαζε στατιστικά σημαντικά τη μεγαλύτερη τιμή σε σχέση με τα αγγελόψαρα που διατρέφονταν με την ίδια δίαιτα στους 25 °C (ANOVA, $P < 0,05$, Πιν.3.11). Επίσης ο συντελεστής PER στους 29 °C για τα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με τη δίαιτα Γ παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τα αγγελόψαρα που τρέφονταν με τη δίαιτα Β στην ίδια θερμοκρασία (ANOVA, $P < 0,05$, Πιν.3.11). Στους 25 °C, ο συντελεστής PER δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διατροφικών μεταχειρίσεων (ANOVA,

P>0,05, Πιν.3.11). Ο αριθμός των συμπηκτων που κατανάλωσε το αγγελόψαρο από τη δίαιτα Γ ανήλθε σε 55 σύμπηκτα και σε 54 νιφάδες από τη δίαιτα Δ.

Πίνακας 3.10: Αρχικό μέσο βάρος (g), τελικό βάρος (g), αρχικό μήκος (cm) τελικό μήκος (cm), αύξηση βάρους (g), ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα), συντελεστής ευρωστίας (%) του αγγελόψαρου σε συνθήκες ασιτίας και όταν τράφηκε με τις πειραματικές δίαιτες Α και Β σε θερμοκρασία (α) 29 °C και (β) 25 °C.

α)

	29°C		
	Δίαιτα Α	Δίαιτα Β	Ασιτία
Αρχικό μέσο βάρος (g)	1,13±0,03 ^a	1,12±0,03 ^a	1,14±0,02 ^a
Τελικό μέσο βάρος (g)	2,09±0,10 ^a	2,21±0,09 ^a	0,75±0,04 ^b
Αύξηση βάρους (g)	0,96±0,11 ^a	1,11±0,11 ^a	-0,42±0,05 ^b
Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα)	0,99±0,09 ^a	1,16±0,10 ^{a,**}	-0,77±0,12 ^b
Επιβίωση (%)	100	50	55
Αρχικός συντελεστής ευρωστίας	1,74±0,12 ^a	1,56±0,12 ^a	1,91±0,10 ^a
Τελικός συντελεστής ευρωστίας	1,09±0,10 ^a	0,58±0,03 ^b	0,97±0,12 ^a
Αρχικό μέσο μήκος (cm)	4,11±0,10 ^a	4,25±0,10 ^a	3,97±0,09 ^a
Τελικό μέσο μήκος (cm)	6,00±0,27 ^a	7,25±0,09 ^b	4,40±0,21 ^c

β)

	25°C		
	Δίαιτα Α	Δίαιτα Β	Ασιτία
Αρχικό μέσο βάρος (g)	1,10±0,02 ^a	1,09±0,01 ^a	1,11±0,06 ^a
Τελικό μέσο βάρος (g)	1,87±0,08 ^a	1,58±0,14 ^a	0,74±0,07 ^b
Αύξηση βάρους (g)	0,77±0,39 ^a	0,49±0,51 ^a	-0,39±0,18 ^b
Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα)	0,85±0,06 ^a	0,56±0,13 ^{a,**}	-0,75±0,14 ^b
Επιβίωση (%)	95	65	35
Αρχικός συντελεστής ευρωστίας	1,76±0,13 ^a	2,01±0,11 ^a	2,33±0,13 ^a
Τελικός συντελεστής ευρωστίας	1,14±0,08 ^a	0,48±0,32 ^b	1,30±0,23 ^{b,a}
Αρχικό μέσο μήκος (cm)	4,07±0,09 ^a	3,85±0,08 ^a	3,68±0,08 ^a
Τελικό μέσο μήκος (cm)	5,59±0,19 ^a	6,88±0,09 ^b	3,93±0,12 ^c

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές±T.A. Οι μέσοι όροι κάθε παραμέτρου μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών μεταχειρίσεων που φέρουν τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (P>0,05). ** Στατιστικά σημαντική διαφορές μεταξύ των δυο θερμοκρασιακών τιμών και των πειραματικών διαιτών.

Πίνακας 3.11: Αρχικό μέσο βάρος (g), τελικό βάρος (g), αρχικό μήκος (cm) τελικό μήκος (cm), αύξηση βάρους (g), ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα), συντελεστής ευρωστίας (%) του αγγελόψαρου, συντελεστής μετατρεψιμότητας (FCR), και συντελεστής απόδοσης της πρωτεΐνης (PER) σε συνθήκες ασιτίας και όταν τράφηκε με τις πειραματικές δίαιτες Γ και Δ σε θερμοκρασία (α) 29 °C και (β) 25 °C.

α)

	29°C		
	Δίαιτα Γ	Δίαιτα Δ	Ασιτία
Αρχικό μέσο βάρος (g)	1,09±0,02 ^a	1,08±0,02 ^a	1,14±0,02 ^a
Τελικό μέσο βάρος (g)	2,18±0,12 ^a	1,62±0,06 ^b	0,75±0,04 ^c
Αύξηση βάρους (g)	1,08±0,12 ^a	0,53±0,05 ^b	-0,42±0,05 ^c
Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα)	1,10±0,09 ^a	0,65±0,05 ^{b**}	-0,78±0,12 ^c
Επιβίωση (%)	95	95	55
Αρχικός συντελεστής ευρωστίας	1,75±0,11 ^a	1,73±0,11 ^a	1,91±0,10 ^a
Τελικός συντελεστής ευρωστίας	1,21±0,13 ^a	1,12±0,08 ^a	0,97±0,12 ^a
Αρχικό μέσο μήκος (cm)	4,1±0,10 ^a	4,1±0,10 ^a	4,0±0,09 ^a
Τελικό μέσο μήκος (cm)	5,9±0,21 ^a	5,4±0,16 ^a	4,4±0,211
Συντελεστής μετατρεψιμότητας (F.C.R)	3,48±0,34 ^a	5,37±0,49 ^b	-
Συντελεστής απόδοσης πρωτεΐνης (P.E.R)	0,91±0,10 ^a	0,60±0,06 ^b	-

β)

	25°C		
	Δίαιτα Γ	Δίαιτα Δ	Ασιτία
Αρχικό μέσο βάρος (g)	1,11±0,02 ^a	1,11±0,02 ^a	1,11±0,01 ^a
Τελικό μέσο βάρος (g)	2,14±0,11 ^a	1,97±0,08 ^a	0,74±0,07 ^b
Αύξηση βάρους (g)	1,04±0,10 ^a	0,86±0,08 ^a	-0,39±0,06 ^b
Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα)	1,08±0,07 ^a	0,95±0,07 ^{a**}	-0,75±0,14 ^b
Επιβίωση (%)	90	75	35
Αρχικός συντελεστής ευρωστίας	1,84±0,13 ^a	1,88±0,12 ^a	2,23±0,13 ^b
Τελικός συντελεστής ευρωστίας	1,19±0,10 ^a	1,02±0,11 ^a	1,30±0,23 ^a
Αρχικό μέσο μήκος (cm)	4,0±0,10 ^a	4,0±0,08 ^a	3,7±0,08 ^a
Τελικό μέσο μήκος (cm)	5,7±0,17 ^a	6,0±0,24 ^a	3,9±0,12 ^b
Συντελεστής μετατρεψιμότητας (F.C.R)	3,14±0,36 ^a	3,11±0,09 ^a	-
Συντελεστής απόδοσης πρωτεΐνης (P.E.R)	1,00±0,10 ^a	1,14±0,12 ^a	-

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές±Τ.Α.Οι μέσοι όροι κάθε παραμέτρου μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών μεταχειρίσεων που φέρουν τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (P>0,05). ** Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο θερμοκρασιακών τιμών και των πειραματικών διαιτών.

3.4.5. Αξιοποίηση και κατανάλωση τροφής

Πείραμα 3

Για τις πειραματικές τροφές, που χορηγήθηκαν στα νεαρά αγγελόψαρα για διάστημα 30 ημερών, καταγράφηκε η ημερήσια κατανάλωση της τροφής και παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.12. Η κατανάλωση της τροφής στα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Α παρουσίασε στατιστικά σημαντική υψηλότερη τιμή σε σχέση με εκείνα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Β και στις δύο πειραματικές θερμοκρασίες 29 °C και 25 °C (ANOVA, $P < 0,05$, Πίν.3.12). Η κατανάλωση της τροφής για τα αγγελόψαρα που διατράφηκαν με τη δίαιτα Α στους 29 °C και 25 °C αντίστοιχα, υπολογίστηκε σε 355,88 mg/ημέρα (ή 22 σύμπηκτα) και 348,51 mg/ημέρα (ή 21 σύμπηκτα), σε σχέση με τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Β στους 29 °C και 25 °C που ήταν 325,50 mg/ημέρα και 310,22 mg/ημέρα, αντίστοιχα. Ο S.G.R (% / ημέρα) και ο συντελεστής P.E.R στα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με τη δίαιτα Α παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές σε σχέση με εκείνα που σιτίζονταν με τη δίαιτα Β στους 29 °C (ANOVA, $P < 0,005$, Πίν.3.12).

Ο S.G.R (% / ημέρα) και ο συντελεστής P.E.R στους 25 °C για τα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με τις δυο πειραματικές δίαιτες (Α και Β) δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,005$, Πίν.3.12). Η πρόσληψη της τροφής για τα αγγελόψαρα που διατράφηκαν με τη δίαιτα Β στους 25 °C, παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με εκείνα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Α (ANOVA, $P < 0,05$). Ο FCR στα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Β παρουσίασε στατιστικά σημαντικά υψηλότερη τιμή σε σχέση με εκείνα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Α στους 29 °C και 25 °C (ANOVA, $P < 0,05$, Πίν.3.12). Η ανάλυση διακύμανσης με δυο παράγοντες έδειξε ότι η επίδραση της θερμοκρασίας και της διαίτας στον ειδικό ρυθμό

ανάπτυξης του αγγελόψαρου παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά για τις πρώτες 30 ημέρες ανάπτυξης.

Πίνακας 3.12: Ρυθμός ανάπτυξης και κατανάλωσης της τροφής του *P. scalare* όταν τράφηκε με τις πειραματικές δίαιτες Α και Β σε θερμοκρασία (α) 29 °C και (β) 25 °C.

α)

	29°C	
	Δίαιτα Α	Δίαιτα Β
Αρχικό μέσο βάρος (g)	1,10±0,02 ^a	1,09±0,01 ^a
Τελικό μέσο βάρος (g)	1,88±0,03 ^a	1,64±0,04 ^b
Αύξηση βάρους (g)	0,77±0,06 ^b	0,55±0,04 ^b
Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα)	1,74±0,13 ^{a,**}	1,34±0,10 ^b
Επιβίωση (%)	90	85
Κατανάλωση τροφής (mg/ημέρα)	355,88±0,00 ^a	325,50±0,00 ^b
Συντελεστής μετατρεψιμότητας (F.C.R)	1,74±0,22 ^a	2,37±0,30 ^b
Πρόσληψη τροφής (%/ημέρα)	1,27±0,02 ^a	1,31±0,00 ^a
Συντελεστής απόδοσης πρωτεΐνης (P.E.R)	1,90±0,17 ^a	1,37±0,11 ^b

β)

	25° C	
	Δίαιτα Α	Δίαιτα Β
Αρχικό μέσο βάρος (g)	1,10±0,01 ^a	1,06±0,01 ^a
Τελικό μέσο βάρος (g)	1,71±0,06 ^a	1,65±0,05 ^a
Αύξηση βάρους (g)	0,60±0,06 ^a	0,59±0,05 ^a
Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα)	1,42±0,13 ^a	1,46±0,12 ^{a,**}
Επιβίωση (%)	85	80
Κατανάλωση τροφής (mg/ημέρα)	348,51±0,00 ^a	310,22±0,00 ^b
Συντελεστής μετατρεψιμότητας (F.C.R)	2,31±0,31 ^a	2,18±0,30 ^a
Πρόσληψη τροφής (%/ημέρα)	1,37±0,02 ^a	1,30±0,00 ^b
Συντελεστής απόδοσης πρωτεΐνης (P.E.R)	1,48±0,16 ^a	1,48±0,13 ^a

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές±T.A. Οι μέσοι όροι οι οποίοι εκφράζονται από τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0,05$). **Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο θερμοκρασιών και των πειραματικών διαιτών.

3.4.6. Χημική σύσταση σώματος

3.4.6.1. Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες και λιπαρές ουσίες

Πείραμα 1

Η περιεκτικότητα του σώματος του αγγελόψαρου σε ολικές αζωτούχες και λιπαρές ουσίες στο τέλος του διατροφικού πειράματος παρουσιάζονται στον Πίνακα

3.13. Τα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με τη διαίτα Α και στις δυο θερμοκρασίες είχαν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη σε σχέση με τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Β. Ομοίως, η περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες του ιστού των αγγελόψαρων εμφανίστηκε να ήταν μεγαλύτερη στα αγγελόψαρα που διατρέφονταν με τη διαίτα Α στους 29 °C και 25 °C αντίστοιχα, σε σχέση με τη διαίτα Β. Η περιεκτικότητα του ιστού, σε τέφρα και υγρασία παρουσίαζε αυξομειώσεις μεταξύ των δυο διατροφικών ομάδων και στις δυο θερμοκρασιακές τιμές.

Πίνακας 3.13: Χημική σύσταση σώματος αρχικού και τελικού πληθυσμού όταν τα αγγελόψαρα σιτίζονταν με τη διαίτα Α και τη διαίτα Β, στους (α) 29 °C και (β) 25 °C. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους και εύρος τιμών επί της ξηράς ουσίας.

(α)

Χημική σύσταση (%)	29°C		
	Αρχικό δείγμα n=10*	Τελικό δείγμα Δίαιτα Α (max-min) n=2**	Τελικό δείγμα Δίαιτα Β (max-min) n=2**
Πρωτεΐνη	14,59±0,03	16,54-16,13	16,96-16,85
Λίπος	2,46±0,26	3,22-2,91	2,68-2,59
Τέφρα	4,74±0,07	4,60-3,82	6,20-6,19
Υγρασία	3,31±0,04	2,57-2,65	3,30-2,68

(β)

Χημική σύσταση (%)	25°C		
	Αρχικό δείγμα n=10*	Τελικό δείγμα Δίαιτα Α (max-min) n=2**	Τελικό δείγμα Δίαιτα Β (max-min) n=2**
Πρωτεΐνη	14,59±0,03	16,25-15,85	15,66-15,65
Λίπος	2,46±0,26	4,03-3,72	2,53-2,45
Τέφρα	4,74±0,07	3,82-3,68	4,57-4,56
Υγρασία	3,31±0,04	2,02-1,93	3,00-2,96

Τα δεδομένα εκφράζονται ως: * μέσες τιμές ±T.Α δέκα επαναλήψεων για τον αρχικό πληθυσμό. ** εύρος τιμών δυο επαναλήψεων (max-min) για τις δυο πειραματικές δίαιτες.

Πείραμα 2

Η περιεκτικότητα του σώματος του αγγελόψαρου σε ολικές αζωτούχες και λιπαρές ουσίες στο τέλος του δεύτερου διατροφικού πειράματος παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.14. Τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Γ και Δ στους 29 °C και 25 °C, αντίστοιχα, παρουσίαζαν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη σε σχέση με τα αγγελόψαρα του αρχικού πληθυσμού. Ομοίως, η περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες του ιστού του αγγελόψαρου εμφανίστηκε να ήταν μεγαλύτερη όταν τα αγγελόψαρα τρέφονταν με τη διαίτα Δ και στις δυο θερμοκρασίες. Σε ότι αφορά την περιεκτικότητα του ιστού των αγγελόψαρων σε τέφρα και υγρασία στους 29 °C και 25 °C, φάνηκε να παρουσιάζει αυξομειώσεις όταν τα αγγελόψαρα τρέφονταν με τις δίαιτες Γ και Δ.

Πίνακας 3.14: Χημική σύσταση σώματος αρχικού και τελικού πληθυσμού για τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τις δίαιτες Γ και Δ, στους (α) 29 °C και (β) 25 °C. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους και εύρος τιμών επί της ξηράς ουσίας.

α)

Χημική σύσταση (%)	29°C		
	Αρχικό δείγμα n=10*	Τελικό δείγμα Δίαιτα Γ (max-min) n=2**	Τελικό δείγμα Δίαιτα Δ (max-min)n=2**
Πρωτεΐνη	14,59±0,03	13,13-16,10	15,37-15,00
Λίπος	2,46±0,26	3,72-3,64	5,90-5,59
Τέφρα	4,74±0,07	4,36-4,16	3,52-3,35
Υγρασία	3,31±0,04	2,60-2,38	1,58-1,48

β)

Χημική σύσταση (%)	25°C		
	Αρχικό δείγμα n=10*	Τελικό δείγμα Δίαιτα Γ (max-min) n=2**	Τελικό δείγμα Δίαιτα Δ (max-min) n=2**
Πρωτεΐνη	14,59±0,03	15,25-15,19	14,92-14,80
Λίπος	2,46±0,26	3,40-3,27	4,81-3,82
Τέφρα	4,74±0,07	3,68-3,63	3,21-3,16
Υγρασία	3,31±0,04	2,99-2,94	2,13-2,10

Τα δεδομένα εκφράζονται ως: * μέσες τιμές ±T.Α δέκα επαναλήψεων για τον αρχικό πληθυσμό .

** εύρος τιμών (max-min) δυο επαναλήψεων για τις πειραματικές δίαιτες..

3.4.6.2. Προφίλ αμινοξέων

Πείραμα 1

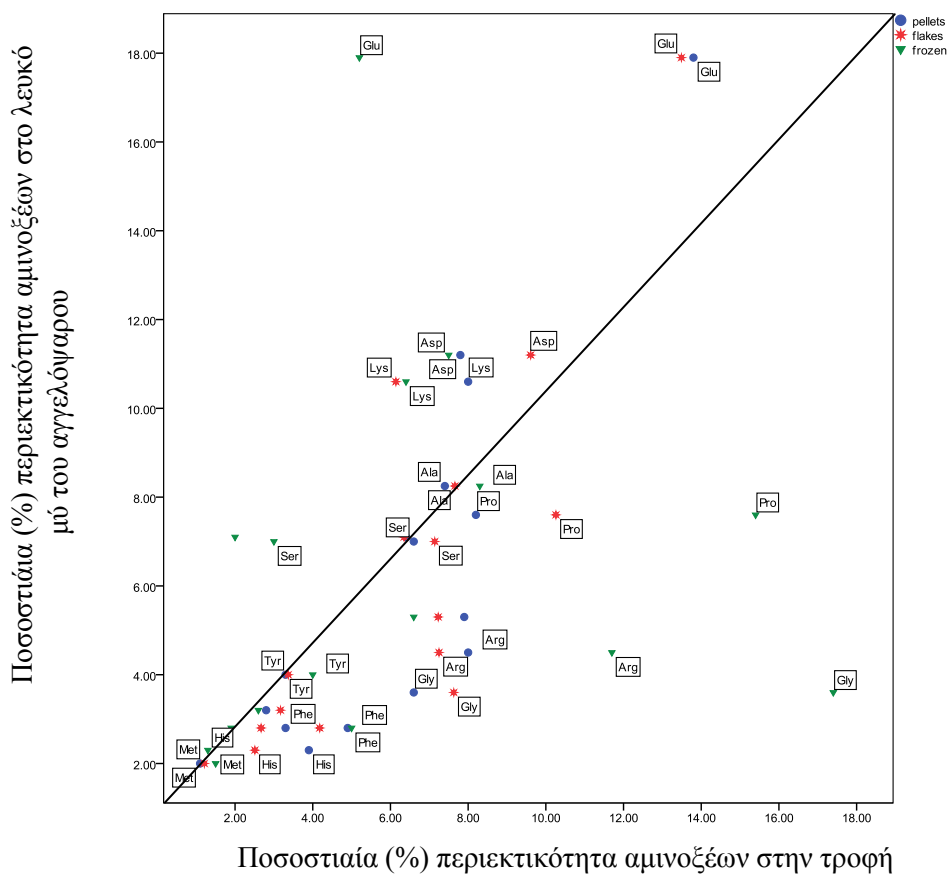
Η περιεκτικότητα του σώματος του αγγελόψαρου σε απαραίτητα και μη απαραίτητα αμινοξέα του αρχικού πληθυσμού των αγγελόψαρων παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.15. Η κατανομή των αμινοξέων των πειραματικών τροφών έδειξε ότι σε σχέση με τη διαίτα Β, η διαίτα Α είχε μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λυσίνη, ιστιδίνη και μεθειονίνη, ενώ το ασπαρτικό οξύ είναι σε μικρότερα επίπεδα.

Πίνακας 3.15: Απαραίτητα και μη απαραίτητα αμινοξέα (% ξηρής ουσίας) του λευκού μυός του αρχικού πληθυσμού των αγγελόψαρων. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τους μέσους όρους και την τυπική απόκλιση.

Αμινοξέα	Αρχικό δείγμα λευκού μυ n=5
Απαραίτητα	
Arg	4,50±0,21
His	2,28±0,39
Ile	3,25±0,78
Leu	5,25±0,71
Lys	10,60±3,11
Met	2,00±0,21
Phe	2,78±0,18
Thr	7,13±0,04
Tyr	2,75±0,42
Val	4,08±1,38
Ολικά Α.Α	44,60
Μέσος Όρος Α.Α±Τ.Α	4,46±2,66 ^a
Μη-απαραίτητα	
Ala	8,25±0,00
Asp	11,18±1,31
Glu	17,89±0,39
Gly	3,60±0,35
Pro	7,58±0,53
Ser	7,03±1,31
Ολικά Μ.Α.Α	55,50
Μέσος Όρος μη ΑΑ±Τ.Α	9,25±4,87 ^a
ΜΟ ΑΑ±Τ.Α	6,23±4,23
Ολικά Α.Α	100,00

Τα δεδομένα εκφράζονται ως * μέσες τιμές ±Τ.Α πέντε επαναλήψεων για τον αρχικό πληθυσμό των αγγελόψαρων

Το Σχήμα 3.16 δείχνει τη σχέση μεταξύ του προτύπου της πρωτεΐνης αμινοξέων σε όλες τις πειραματικές δίαιτες και στην πρωτεΐνη του λευκού μυ του αγγελόψαρου. Η σχέση αποτυπώθηκε γραμμικά, απεικονίζοντας το περιεχόμενο των πειραματικών διαιτών σε αμινοξέα σε σχέση με την περιεκτικότητα σε αμινοξέα στο λευκό μυ των αγγελόψαρων. Η διαίτα Α, αποτυπώνονταν μέσω της γραμμικής σχέσης η οποία βρίσκονταν πλησίον της ιδανικής συσχέτισης, ενώ η απόκλιση της υποδήλωνε την ανεπάρκεια της κατεψυγμένης τροφής και των νιφάδων σε λυσίνη. Ο ρυθμός αφομοίωσης όλων των αμινοξέων ανάμεσα στις δυο πειραματικές δίαιτες θεωρήθηκε ότι ήταν παρόμοιος.



Σχήμα 3.16: Προφίλ αμινοξέων (% του συνολικού) του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με τις δίαιτες Α και Β.

Υπολογίστηκε ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων ως προς τα ολικά αμινοξέα A/E (Πίν.3.16) και έδειξε ότι η δίαιτα A (σύμπληκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη) περιείχε υψηλότερα επίπεδα λυσίνης και ισολευκίνης, σε σχέση με τη δίαιτα B (νιφάδες σε συνδυασμό με κατεψυγμένη). Ο λόγος A/E, αποτυπώνει την περιεκτικότητα των αμινοξέων στις πειραματικές δίαιτες και τις σημαντικές διαφορές που σημειώθηκαν μεταξύ του αρχικού πληθυσμού των αγγελόψαρων και εκείνων που σιτίζονταν με τις πειραματικές δίαιτες, οι οποίες ήταν ιδιαίτερα περιορισμένες σε λυσίνη, θρεονίνη και μεθειονίνη (Πίν.3.16). Ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων A/E στα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με τη δίαιτα A επέδειξε υψηλότερα επίπεδα στη λυσίνη, τυροσίνη και θρεονίνη και χαμηλότερα επίπεδα σε αργινίνη, ιστιδίνη, ισολευκίνη, λευκίνη και βαλίνη σε σχέση με τα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με τη δίαιτα B.

Πίνακας 3.16: Λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) στο λευκό μυ του αγγελόψαρου που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία, στις προνύμφες χρυσόψαρου και του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με αποκελυφοποιημένες κύστες και σκουλήκια. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.

Αμινοξέα	Αγγελόψαρο (1g) ^a αρχικό δείγμα	Αγγελόψαρο (2g, διαίτα A) ^a τελικό δείγμα	Αγγελόψαρο (2 g, διαίτα B) ^a τελικό δείγμα	Προνύμφες χρυσόψαρου <i>C. auratus</i> ^b	Αγγελόψαρο (αποκελυφοποιημένες κύστες) ^c	Αγγελόψαρο (σκουλήκια) ^c
Arg	10,00	9,56	11,11	7,80	10,55	13,28
His	5,04	4,22	6,00	4,10	2,06	8,75
Ile	7,22	7,56	9,56	6,00	20,77	10,65
Leu	11,67	10,11	11,89	9,10	28,49	24,09
Lys	23,56	28,67	18,89	11,80	15,74	4,12
Met	4,44	2,22	2,56	3,40	4,88	12,64
Phe	6,16	6,33	5,89	5,60	4,12	6,53
Thr	15,82	16,33	15,22	6,40	2,65	8,97
Tyr	6,11	6,78	5,78			
Val	9,06	8,67	13,78	7,00	3,47	5,95

Λόγος A/E = (Απαραίτητα αμινοξέα/ολικά απαραίτητα αμινοξέα) x 100

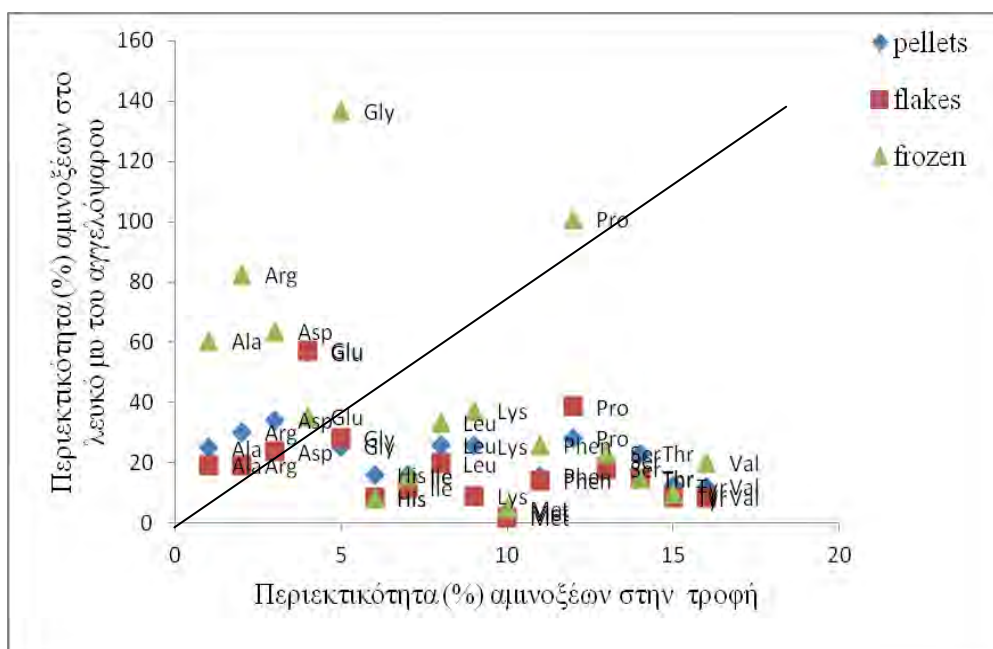
^a Παρούσα μελέτη

^b Δεδομένα από Fioghe & kestemont 1995, Sales & Janssens 2003

^c Δεδομένα από Velu & Munuswamy 2003

Πείραμα 2

Η κατανομή των αμινοξέων των πειραματικών τροφών, έδειξε ότι η δίαιτα Δ σε σχέση με τη δίαιτα Γ είχε μικρότερη περιεκτικότητα σε λυσίνη, ιστιδίνη και μεθειονίνη, ενώ το ασπαρτικό οξύ και η τυροσίνη ήταν σε μικρότερα επίπεδα. Η σχέση μεταξύ του προτύπου των περιεχόμενων αμινοξέων στις πειραματικές δίαιτες Γ και Δ και στο λευκό μυ του αγγελόψαρου αποτυπώθηκε γραμμικά στο Σχήμα 3.17.



Σχήμα 3.17: Προφίλ αμινοξέων (% του συνολικού) του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με τις δίαιτες Γ και Δ.

Η δίαιτα Γ αποτυπώθηκε μέσω της γραμμικής σχέσης η οποία βρίσκονταν πλησίον της ιδανικής συσχέτισης ενώ η απόκλιση της δήλωνε την ανεπάρκεια των νιφάδων και της κατεψυγμένης τροφής σε λυσίνη, ιστιδίνη, θρεονίνη, αλανίνη, αργινίνη, λευκίνη και της ασπαραγίνης. Ο ρυθμός αφομοίωσης των αμινοξέων ανάμεσα στις δυο δίαιτες θεωρείται ότι ήταν παρόμοιος. Επίσης υπολογίστηκε ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων ως προς τα ολικά αμινοξέα A/E (Πιν.3.17) και έδειξε ότι η δίαιτα Γ

(σύμπληκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή) περιείχε υψηλότερα επίπεδα σε θρεονίνη σε σχέση με τη δίαιτα Δ (νιφάδες σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή). Ο λόγος A/E, αποτυπώνει την περιεκτικότητα των αμινοξέων στις πειραματικές δίαιτες και τις σημαντικές διαφορές που σημειώθηκαν μεταξύ του αρχικού πληθυσμού των αγγελόψαρων και εκείνων που σιτίζονταν με τις πειραματικές δίαιτες, οι οποίες ήταν ιδιαίτερα περιορισμένες σε σχέση με την ιστιδίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, μεθειονίνη, τυροσίνη και βαλίνη (Πίν.3.17).

Ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων A/E στα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με τη δίαιτα Γ επέδειξε υψηλότερα επίπεδα στη λυσίνη, αργινίνη και θρεονίνη και χαμηλότερα επίπεδα σε ιστιδίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, μεθειονίνη, τυροσίνη και βαλίνη σε σχέση με τα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με τη δίαιτα Δ.

Πίνακας 3.17: Λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) στο λευκό μυ του αγγελόψαρου που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία (δίαιτα Γ & δίαιτα Δ, στις προνύμφες χρυσόψαρου και του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με αποκελυφοποιημένες κύστες και σκουλήκια. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.

αμινοξέα	αγγελόψαρο (1g) ^a αρχικό δείγμα	αγγελόψαρο (2 g Δίαιτα Γ 25°C) ^a τελικό δείγμα	αγγελόψαρο (2g Δίαιτα Δ 25°C) ^a τελικό δείγμα	αγγελόψαρο (2 g Δίαιτα Γ 29°C) ^a τελικό δείγμα	αγγελόψαρο (2 g, Δίαιτα Δ 29°C) ^a τελικό δείγμα	προνύμφες κοινού χρυσόψαρου <i>C. auratus</i> ^b	αγγελόψαρο (αποκελυφοποιημένες κύστες) ^c	αγγελόψαρο (σκουλήκια) ^c
Arg	10,08	11,20	10,74	10,27	9,58	7,80	10,55	13,28
His	5,11	4,07	5,31	4,24	4,46	4,10	2,06	8,75
Ile	7,28	8,71	9,11	6,47	6,75	6,00	20,77	10,65
Leu	11,76	12,44	12,80	11,16	10,77	9,10	28,49	24,09
Lys	23,75	24,43	24,30	27,46	29,38	11,80	15,74	4,12
Met	4,48	2,26	2,17	3,79	2,18	3,40	4,88	12,64
Phe	6,23	5,88	5,86	6,36	6,31	5,60	4,12	6,53
Thr	15,97	12,44	15,18	17,08	16,65	6,40	2,65	8,97
Tyr	6,16	5,09	4,66	5,36	5,33			
Val	9,18	13,46	9,87	7,81	8,60	7,00	3,47	5,95

Λόγος A/E = (Απαραίτητα αμινοξέα/ολικά απαραίτητα αμινοξέα) x 100

^a Παρούσα μελέτη

^b Δεδομένα από Fioghe & kestemont 1995, Sales & Janssens 2003

^c Δεδομένα από Velu & Munuswamy 2003.

3.4.7. Παράγοντες ανάπτυξης των ιχθύων της κιχλιδόζεμπρας, αξιοποίησης και κατανάλωσης της τροφής

3.4.7.1. Έναρξη πειραμάτων διατροφής

Πείραμα 4

Το αρχικό βάρος και μήκος των ατόμων της κιχλιδόζεμπρας κατά την έναρξη του πρώτου διατροφικού πειράματος στους 27 °C, ήταν $1,23 \pm 0,30$ g και $3,9 \pm 0,37$ cm για τα άτομα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Α, ενώ για τα άτομα που διατράφηκαν με τη διαίτα Β ήταν $1,26 \pm 0,31$ g και $4,00 \pm 0,30$ cm αντίστοιχα. Σε συνθήκες αστίας στην ίδια θερμοκρασία το αρχικό μέσο βάρος και μήκος της κιχλιδόζεμπρας ήταν $1,22 \pm 0,28$ g και $3,9 \pm 0,34$ cm αντιστοίχως. Επίσης, στους 20 °C, το μέσο αρχικό βάρος και μήκος ήταν $1,34 \pm 0,21$ g και $4,0 \pm 0,31$ cm για τα άτομα που διατράφηκαν με τη διαίτα Α, ενώ για τα άτομα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Β ήταν $1,36 \pm 0,04$ g και $4,1 \pm 0,13$ cm αντιστοίχως. Σε συνθήκες αστίας στους 20 °C το μέσο βάρος και μήκος των ατόμων της κιχλιδόζεμπρας ήταν $1,33 \pm 0,17$ g και $4,3 \pm 0,27$ cm αντίστοιχα. Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι, στην αρχή της πειραματικής διαδικασίας τα μέσα αρχικά βάρη και μήκη των ατόμων της κιχλιδόζεμπρας δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,05$) στους 27 °C και 20 °C αντίστοιχα (Πιν.3.18).

Πείραμα 5

Με την έναρξη του δεύτερου διατροφικού πειράματος το μέσο αρχικό βάρος και μήκος των ατόμων της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκαν με τις δίαιτες Γ και Δ στους 27 °C και 20 °C αντίστοιχα, δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,05$). Οι κιχλιδόζεμπρες που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο Γ είχαν αρχικό μέσο βάρος $1,22 \pm 0,24$ g και μέσο μήκος $3,8 \pm 0,34$ cm, ενώ τα άτομα που

διατράφηκαν με τη διαίτα Δ είχαν μέσο βάρος $1,22 \pm 0,10$ g και μέσο μήκος $4,0 \pm 0,41$ cm, αντιστοίχα. Σε συνθήκες ασιτίας, το μέσο αρχικό βάρος και μήκος των ατόμων της κιχλιδόζεμπρας ήταν $1,22 \pm 0,10$ g και $3,9 \pm 0,34$ cm αντιστοίχως στους 27 °C και $1,33 \pm 0,17$ g και $4,3 \pm 0,27$ cm στους 20 °C αντιστοίχα (Πιν.3.19).

3.4.7.2. Επιβίωση

Πείραμα 4

Τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που διατράφηκαν με τη διαίτα Α παρουσίασαν μεγαλύτερη επιβίωση (85%) στους 27 °C, σε αντίθεση με εκείνα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Α όπου η επιβίωση ήταν 50% (Πιν 3.18). Τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκαν με τη διαίτα Α παρουσίασαν μεγαλύτερη αύξηση βάρους και μικρότερη επιβίωση, η οποία οφείλεται στην αυξημένη επιθετικότητα των ατόμων της κιχλιδόζεμπρας εξαιτίας της αναπαραγωγικής της δραστηριότητας. Σε συνθήκες ασιτίας τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας παρουσίασαν επιβίωση 55%. Στους 20 °C η επιβίωση κυμάνθηκε από 70 έως 90% για τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκαν με τη διαίτα Γ και Δ αντίστοιχα. Οι κιχλιδόζεμπρες σε συνθήκες ασιτίας παρουσίασαν τη μικρότερη επιβίωση στους 27 °C (55%) σε σχέση με τους 20 °C όπου η επιβίωση ήταν 85% (Πιν.3.18). Στο πείραμα προσδιορισμού κατανάλωσης της τροφής στους 27 °C, η μεγαλύτερη επιβίωση παρατηρήθηκε στα άτομα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Β (75%) σε σχέση με τα άτομα που διατράφηκαν με τη διαίτα Α (55%). Στους 20 °C η μεγαλύτερη επιβίωση παρατηρήθηκε στα άτομα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Α (90%) σε σχέση με τη διαίτα Β (79%).

Πείραμα 5

Στους 27 °C, η μεγαλύτερη επιβίωση παρατηρήθηκε στα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκαν με τη διαίτα Δ (80%) σε σχέση με τις κιχλιδόζεμπρες

που σιτίστηκαν με τη διαίτα Γ, που παρουσίασαν τη μικρότερη επιβίωση (40%). Επίσης, η επιβίωση για τα άτομα που ήταν σε συνθήκες ασιτίας ήταν 55% (Πιν.3.19). Η μικρότερη επιβίωση παρατηρήθηκε στην κιχλιδόζεμπρα η οποία διατρέφονταν με τη διαίτα Γ στους 27 °C και οφείλονταν στην εκδήλωση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας του ψαριού όπου παρουσίαζε έντονη επιθετικότητα. Στους 20 °C, η μεγαλύτερη επιβίωση (75%) παρατηρήθηκε στα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που διατράφηκαν με τη διαίτα Δ, σε σχέση με τη διαίτα Γ όπου παρατηρήθηκε επιβίωση 65%. Σε συνθήκες ασιτίας η κιχλιδόζεμπρα παρουσίασε τη μεγαλύτερη επιβίωση στους 20 °C (85%) σε σχέση με τους 27 °C, όπου η επιβίωση ήταν 55% (Πιν. 3.19).

3.4.7.3. Αύξηση βάρους και ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

Πείραμα 4

Το τελικό μέσο βάρος και μήκος των ατόμων της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκαν με τη διαίτα Α και Β ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο σε σχέση με τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που ήταν σε συνθήκες ασιτίας και στις δυο θερμοκρασίες της πειραματικής εκτροφής (ANOVA, $P < 0,05$). Τα πειραματικά σιτηρέσια (δίαιτα Α και δίαιτα Β) που χορηγήθηκαν στις κιχλιδόζεμπρες φαίνεται να είχαν μια σημαντική επίδραση στο ρυθμό ανάπτυξης σε σχέση με τις κιχλιδόζεμπρες που ήταν σε συνθήκες ασιτίας. Επίσης, οι κιχλιδόζεμπρες που διατράφηκαν με τις πειραματικές δίαιτες Α και Β και τις δυο θερμοκρασίες (27 °C και 20 °C αντίστοιχα), παρουσίασαν παρόμοια αύξηση βάρους χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,05$) (Πιν 3.18). Η απώλεια βάρους που παρατηρήθηκε στις κιχλιδόζεμπρες που ήταν σε συνθήκες ασιτίας ήταν $-0,33 \pm 0,25$ g (22% του αρχικού τους βάρους) και $-0,46 \pm 0,19$ g (33% του αρχικού τους βάρους) στους 27 °C και 20 °C αντίστοιχα. Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας στο τέλος της

πειραματικής διαδικασίας και στις δυο θερμοκρασίες ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος σε σχέση με τις κιχλιδόζεμπρες που ήταν σε συνθήκες ασιτίας (ANOVA, $P < 0,05$). Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ατόμων της κιχλιδόζεμπρας που διατράφηκαν με τις δίαιτες Α και Β στους 29 °C και 20 °C, αντίστοιχα (ANOVA, $P > 0,05$) Η ανάλυση διακύμανσης με δυο παράγοντες έδειξε ότι η τροφή και η θερμοκρασία δεν επιδρούν στατιστικά σημαντικά στον ημερήσιο ρυθμό ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας (ANOVA, $P > 0,05$).

Πείραμα 5

Η κιχλιδόζεμπρα όταν σιτίζεται είτε με τη δίαιτα Γ είτε με τη δίαιτα Δ στους 27 °C, παρουσιάζει παρόμοιο τελικό βάρος, παρόμοια αύξηση βάρους και παρόμοιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης, ενώ οι παράμετροι αυτοί ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότεροι σε σχέση με τη κιχλιδόζεμπρα που ήταν σε συνθήκες ασιτίας (ANOVA, $P < 0,05$), (Πιν.3.19).

Σε ότι αφορά τη θερμοκρασία των 20 °C, τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που διατράφηκαν με τη δίαιτα Γ παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο τελικό μέσο βάρος (W), μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG) και μεγαλύτερο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR) σε σχέση με τα άτομα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Δ και εκείνα που ήταν σε συνθήκες ασιτίας (ANOVA, $P < 0,05$) (Πιν.3.19). Στους 27 °C, τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που διατράφηκαν με τις δίαιτες Γ και Δ παρουσίασαν παρόμοιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης και παρόμοια αύξηση βάρους (ANOVA, $P > 0,05$). Αντίθετα, στη θερμοκρασία των 20 °C, τα άτομα που σιτίστηκαν όταν σιτίζεται με τη δίαιτα Γ είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο SGR σε σχέση με τα άτομα της Δ ομάδας, ενώ ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης των ατόμων σε ασιτία ήταν αρνητικός (ANOVA, $P < 0,05$), (Πιν.3.19). Η ανάλυση διακύμανσης με δυο παράγοντες έδειξε ότι η τροφή

επιδρά στατιστικά σημαντικά στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (ANOVA, $P < 0,05$) σε αντίθεση με τη θερμοκρασία η οποία φαίνεται να μην επιδρά στατιστικά σημαντικά στην ανάπτυξη της κιχλιδόζεμπρας (ANOVA, $P > 0,05$).

Πίνακας 3.18: Αρχικό βάρος (g), τελικό βάρος (g), αρχικό μήκος (cm) τελικό μήκος (cm), αύξηση βάρους (g), ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα), της κιχλιδόζεμπρας σε συνθήκες ασιτίας και όταν τράφηκε με τις πειραματικές δίαιτες Α και Β σε θερμοκρασία (α) 27 °C και (β) 20 °C αντίστοιχα.

α)

	27° C		
	Δίαιτα Α	Δίαιτα Β	Ασιτία
Αρχικό μέσο Βάρος (g)	1,23±0,06 ^a	1,26±0,06 ^a	1,22±0,06 ^a
Τελικό μέσο Βάρος (g)	2,21±0,30 ^a	1,86±0,11 ^a	0,97±0,03 ^b
Αύξηση βάρους (g)	0,89±0,30 ^a	0,58±0,12 ^a	-0,33±0,07 ^b
Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR) % / ημέρα	0,76±0,22 ^a	0,63±0,13 ^a	-0,46±0,10 ^b
Επιβίωση (%)	50	85	55
Αρχικό μέσο Μήκος (cm)	3,9±0,08 ^a	4,0±0,06 ^a	3,9±0,07 ^a
Τελικό μέσο Μήκος (cm)	4,8±0,15 ^a	4,7±0,09 ^a	4,0±0,07 ^b

β)

	20°C		
	Δίαιτα Α	Δίαιτα Β	Ασιτία
Αρχικό μέσο Βάρος (g)	1,34±0,04 ^a	1,36±0,00 ^a	1,33±0,03 ^a
Τελικό μέσο Βάρος (g)	2,06±0,16 ^a	2,07±0,08 ^a	0,90±0,03 ^b
Αύξηση βάρους (g)	0,77±0,15 ^a	0,72±0,08 ^a	-0,46±0,04 ^b
Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR) % / ημέρα	0,74±0,11 ^a	0,72±0,07 ^a	-0,70±0,07 ^b
Επιβίωση (%)	70	90	85
Αρχικό μέσο Μήκος (cm)	4,0±0,07 ^a	4,1±0,03 ^a	4,3±0,06 ^a
Τελικό μέσο Μήκος (cm)	4,8±0,09 ^a	4,7±0,05 ^a	4,1±0,05 ^b

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές±Τ.Α. Οι μέσοι όροι οι οποίοι εκφράζονται από τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$).

Πίνακας 3.19: Αρχικό μέσο βάρος (g), τελικό βάρος (g), αρχικό μήκος (cm) τελικό μήκος (cm), αύξηση βάρους (g.) ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR,%/ημέρα), συντελεστής μετατρεψιμότητας (FCR), και συντελεστής απόδοσης της πρωτεΐνης (PER) της κιχλιδόζεμπρας σε συνθήκες ασιτίας και όταν τρέφονταν με τις πειραματικές δίαιτες Γ και Δ σε θερμοκρασία (α) 27 °C και (β) 20 °C.

α)

	27° C		
	Δίαιτα Γ	Δίαιτα Δ	Ασιτία
Αρχικό μέσο βάρος (g)	1,22±0,05 ^a	1,22±0,02 ^a	1,22±0,06 ^a
Τελικό μέσο βάρος (g)	2,22±0,26 ^a	1,93±0,16 ^a	0,97±0,03 ^b
Αύξηση βάρους (g)	1,06±0,24 ^a	0,68±0,16 ^a	-0,40±0,07 ^b
Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR), % /ημέρα	1,06±0,20 ^{a**}	0,63±0,14 ^a	-0,46±0,10 ^b
Επιβίωση (%)	40	80	55
Συντελεστής μετατρεψιμότητας (FCR)	2,23±0,50 ^a	3,78±0,55 ^b	-
Συντελεστής απόδοσης πρωτεϊνών (PER)	1,30±0,26 ^a	1,16±0,28 ^a	-
Αρχικό μέσο μήκος (cm)	3,8±0,07 ^a	4,0±0,09 ^a	3,9±0,07 ^a
Τελικό μέσο μήκος (cm)	4,8±0,17 ^a	4,8±0,11 ^a	4,0±0,07 ^b

β)

	20°C		
	Δίαιτα Γ	Δίαιτα Δ	Ασιτία
Αρχικό μέσο βάρος (g)	1,29±0,01 ^a	1,29±0,04 ^a	1,33±0,03 ^a
Τελικό μέσο βάρος (g)	2,64±0,19 ^a	1,43±0,08 ^b	0,90±0,03 ^c
Αύξηση βάρους (g)	1,37±0,19 ^a	0,14±0,10 ^b	-0,39±0,03 ^c
Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR), % /ημέρα	1,18±0,11 ^a	0,14±0,11 ^{b**}	-0,62±0,06 ^c
Επιβίωση (%)	65	75	85
Συντελεστής μετατρεψιμότητας (FCR)	2,75±0,35 ^a	4,01±1,23 ^b	-
Συντελεστής απόδοσης πρωτεϊνών (PER)	1,17±0,16 ^a	0,16±0,11 ^b	-
Αρχικό μέσο μήκος (cm)	4,1±0,05 ^a	4,1±0,07 ^a	4,3±0,06 ^a
Τελικό μέσο μήκος (cm)	5,1±0,10 ^a	4,5±0,07 ^b	4,1±0,05 ^c

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές±Τ.Α.Οι μέσοι όροι οι οποίοι εκφράζονται από τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0,05$). **Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο θερμοκρασιών και των πειραματικών τροφών.

3.4.7.4. Αξιοποίηση και κατανάλωση της τροφής

Πείραμα 6

Η κατανάλωσης της τροφής στη νεαρή και αναπτυσσόμενη κιχλιδόζεμπρα προσδιορίστηκε χορηγώντας τις πειραματικές δίαιτες Α και Β για χρονικό διάστημα 30 ημερών σε διαφορετικό πείραμα. Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης για τα άτομα που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο Α στους 27°C ήταν $2,04 \pm 0,85$ %/ημέρα, ενώ εκείνα που

σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο B παρουσίασαν ειδικό ρυθμό ανάπτυξης $1,45 \pm 0,45$ %/ημέρα. Ομοίως, ο συντελεστής απόδοσης πρωτεΐνης (PER) για τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που διατράφηκαν με τη δίαιτα A στους $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ ήταν $2,91 \pm 1,85$ σε σχέση με τα άτομα που διατράφηκαν με τη δίαιτα B τα οποία παρουσίασαν μικρότερο συντελεστή απόδοσης πρωτεΐνης ($1,72 \pm 0,64$), (Πιν.3.20). Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR%/ημέρα) και ο συντελεστής απόδοσης πρωτεΐνης (P.E.R) στην κιχλιδόζεμπρα στους $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ που σιτίστηκε με τη δίαιτα A παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P < 0,05$) σε σχέση με τα άτομα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα B στην ίδια θερμοκρασία (Πιν.3.20). Τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκαν με τη δίαιτα A στους $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη κατανάλωση τροφής ($426 \pm 0,05$ mg/ ημέρα ή 64 σύμπηκτα), σε σχέση με τα άτομα που διατράφηκαν με τη δίαιτα B, όπου παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά μικρότερη κατανάλωση τροφής ($392 \pm 0,01$ mg/ ημέρα ή 63 νιφάδες) στην ίδια θερμοκρασία (ANOVA, $P < 0,05$), (Πιν.3.20). Η κατανάλωση της τροφής στους $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ υπολογίστηκε σε $390 \pm 0,01$ mg/ ημέρα (63 σύμπηκτα) και $399 \pm 0,01$ mg/ ημέρα (64 νιφάδες) για τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκαν με τη δίαιτα A και τη δίαιτα B αντιστοίχως, παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P < 0,05$) (Πιν.3.20).

Η πρόσληψη της τροφής (FI) και ο συντελεστής FCR στους $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ ήταν αντιστοίχως $1,48 \pm 0,15$ %/ημέρα και $0,79 \pm 0,47$ για τα άτομα που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο A, ενώ $2,68 \pm 0,09$ %/ημέρα και $1,08 \pm 0,41$ για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο B (Πιν.3.20). Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο διατροφικών ομάδων αναφορικά με την πρόσληψη της τροφής (ANOVA, $P < 0,05$). Σε ότι αφορά τους συντελεστές FCR και το FI στους $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ατόμων

που διατράφηκαν με τη δίαιτα Α και εκείνων με τη δίαιτα Β (ANOVA, $P < 0,05$) (Πιν.3.20).

Ο συντελεστής PER στους 27 °C (Πιν.3.20), υπολογίστηκε $2,91 \pm 1,85$ για τα άτομα που κατανάλωσαν τη δίαιτα Α και $1,72 \pm 0,64$ για τα άτομα που κατανάλωσαν τη δίαιτα Β. Η στατιστική ανάλυση έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P < 0,05$) μεταξύ των δυο διατροφικών μεταχειρίσεων. Ομοίως στους 20 °C, ο συντελεστής PER (Πιν.3.20), υπολογίστηκε $1,07 \pm 0,61$ για τα άτομα που διατράφηκαν με τη δίαιτα Α και $1,03 \pm 0,53$ για τα άτομα που διατράφηκαν με τη δίαιτα Β, χωρίς να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,05$). Η ανάλυση διακύμανσης με δυο παράγοντες έδειξε ότι η επίδραση της θερμοκρασίας και της τροφής στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης και στην κατανάλωση της τροφής της κιχλιδόζεμπρας μέσου βάρους 1,27 g είναι στατιστικά σημαντική για τις πρώτες 30 ημέρες ανάπτυξης (two-way ANOVA, $P < 0,01$).

Ο συντελεστής FCR, στους 27 °C για τα άτομα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Γ και τη δίαιτα Δ υπολογίστηκε αντιστοίχως $2,23 \pm 1,76$ και $3,78 \pm 1,84$ παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P < 0,05$) (Πιν.3.19). Ο συντελεστής PER, για τα άτομα που διατράφηκαν με τη δίαιτα Γ και Δ δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,05$) (Πιν.3.19). Ομοίως, στους 20 °C ο συντελεστής FCR και ο συντελεστής PER παρουσίασαν στατιστικά υψηλότερες τιμές για τα άτομα που διατράφηκαν με τη δίαιτα Γ σε σχέση με τη δίαιτα Δ (ANOVA, $P < 0,05$) (Πιν.3.19). Η κατανάλωση τροφής για τα άτομα που τρέφονται με τη δίαιτα Γ και Δ εκτιμήθηκε σε 64 σύμπηκτα και 61 νιφάδες, αντιστοίχως.

Πίνακας 3.20: Ρυθμός ανάπτυξης και κατανάλωση της τροφής της κιχλιδόζεμπρας όταν τρέφονταν με τις πειραματικές δίαιτες Α και Β σε θερμοκρασία (α) 27 °C και (β) 20 °C.

α)

	27°C	
	Δίαιτα Α	Δίαιτα Β
Αρχικό μέσο βάρος (g)	1,29±0,02 ^a	1,27±0,03 ^a
Τελικό μέσο βάρος (g)	2,48±0,23 ^a	1,94±0,05 ^b
Αύξηση βάρους (g)	1,18±0,22 ^a	0,69±0,06 ^b
Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα)	2,04±0,25 ^{a**}	1,45±0,12 ^b
Επιβίωση (%)	55	75
Κατανάλωση τροφής (mg/ημέρα)	426±0,00 ^{a**}	392±0,00 ^b
Συντελεστής μετατρεψιμότητας (F.C.R)	0,79±0,14 ^a	1,08±0,10 ^a
Πρόσληψη τροφής (%/ημέρα)	1,48±0,02 ^a	2,68±0,01 ^b
Συντελεστής απόδοσης πρωτεΐνης (P.E.R)	2,91±0,55 ^a	1,72±0,16 ^b

β)

	20°C	
	Δίαιτα Α	Δίαιτα Β
Αρχικό μέσο βάρος (g)	1,27±0,02 ^a	1,28±0,01 ^a
Τελικό μέσο βάρος (g)	1,70±0,07 ^a	1,68±0,05 ^a
Αύξηση βάρους (g)	0,41±0,05 ^a	0,41±0,04 ^a
Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα)	0,82±0,11 ^a	0,91±0,09 ^a
Επιβίωση (%)	90	79
Κατανάλωση τροφής (mg/ημέρα)	390±0,00 ^a	399±0,00 ^b
Συντελεστής μετατρεψιμότητας (F.C.R)	2,24±0,31 ^a	0,63±0,07 ^b
Πρόσληψη τροφής (%/ημέρα)	1,58±0,01 ^a	1,49±0,00 ^b
Συντελεστής απόδοσης πρωτεΐνης (P.E.R)	1,07±0,14 ^a	1,03±0,12 ^a

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές±Τ.Α. Οι μέσοι όροι οι οποίοι εκφράζονται από τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0,05$). ** Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο θερμοκρασιών και της κατανάλωσης τροφής

3.4.8. Χημική σύσταση σώματος

Πείραμα 4

Ο Πίνακας 3.21 παρουσιάζει την περιεκτικότητα του σώματος της κιχλιδόζεμπρας σε ολικές αζωτούχες και λιπαρές ουσίες στο τέλος του διατροφικού πειράματος. Τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που διατράφηκαν με τα σιτηρέσια Α και Β παρουσίασαν μεγαλύτερο μέσο πρωτεϊνικό περιεχόμενο σε σχέση με τα αρχικά άτομα στους 27 °C. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη για τα άτομα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα

A και B καθώς και στον αρχικό πληθυσμό είναι $14,70\pm 0,46\%$, $15,07\pm 0,13\%$ και $13,58\pm 0,14\%$, αντιστοίχως (Πιν.3.21). Ομοίως στους $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, τα άτομα που διατράφηκαν με τη δίαιτα A, παρουσίασαν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ($14,19\pm 0,23\%$), ενώ τα άτομα που διατράφηκαν με τη δίαιτα B παρουσίασαν μικρότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη $12,81\pm 0,02\%$ από τον αρχικό πληθυσμό της κιχλιδόζεμπρας ($13,58\pm 0,14\%$) Σε συνθήκες ασιτίας και στις δυο θερμοκρασίες τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας παρουσίασαν μικρότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.

Ομοίως, σε ότι αφορά την περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες στον ιστό της κιχλιδόζεμπρας και στις δυο θερμοκρασίες, εμφανίστηκε να είναι μικρότερη και στις δυο διατροφικές μεταχειρίσεις σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό. Εξαιρέση αποτέλεσαν τα άτομα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα A στους $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, όπου παρουσίασαν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λιπαρές ουσίες ($3,92\pm 0,23\%$) σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό ($3,28\pm 0,07\%$) (Πιν.3.21). Σε συνθήκες ασιτίας και στις δυο θερμοκρασίες, τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας παρουσίασαν μικρότερη περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό. Η περιεκτικότητα του ιστού της κιχλιδόζεμπρας σε τέφρα και στις δυο θερμοκρασίες παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό της κιχλιδόζεμπρας. Εξαιρέση αποτελεί η περιεκτικότητα σε τέφρα στα άτομα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα A στους $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, όπου παρουσίασαν μικρότερη μέση περιεκτικότητα σε τέφρα. Σε ότι αφορά την περιεκτικότητα του ιστού της κιχλιδόζεμπρας σε υγρασία σε όλες τις διατροφικές μεταχειρίσεις και στις δυο θερμοκρασίες παρουσιάζει μικρότερες τιμές. Εξαιρέση αποτελούν τα άτομα στους $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, τα οποία παρουσίασαν μεγαλύτερη μέση περιεκτικότητα σε υγρασία (Πιν. 3.21).

Πίνακας 3.21: Χημική σύσταση σώματος αρχικού και τελικού πληθυσμού όταν οι κιχλιδόζεμπρες σιτίζονταν με τη διαίτα Α, τη διαίτα Β και σε συνθήκες ασιτίας στους (α) 27 °C και (β) 20 °C αντίστοιχα. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τους μέσους όρους και εύρος τιμών επί της ξηράς ουσίας.

α)

27°C				
Χημική σύσταση (%)	Αρχικό δείγμα n=10	Τελικό δείγμα Δίαιτα Α (max-min) n=2	Τελικό δείγμα Δίαιτα Β (max-min) n=2	Τελικό δείγμα Ασιτία (max-min) n=2
Πρωτεΐνη	13,58±0,14	15,03-14,38	15,17-14,98	12,64-12,24
Λίπος	3,28±0,07	2,59-2,57	2,69-2,60	2,86-2,73
Τέφρα	5,32±0,11	5,90-5,17	7,08-6,98	8,16-7,99
Υγρασία	3,53±0,02	3,93-2,35	2,67-2,49	1,83-1,81

β)

20°C				
Χημική σύσταση (%)	Αρχικό δείγμα n=10	Τελικό δείγμα Δίαιτα Α (max-min) n=2	Τελικό δείγμα Δίαιτα Β (max-min) n=2	Τελικό δείγμα Ασιτία (max-min) n=2
Πρωτεΐνη	13,58±0,14	14,35-14,03	12,82-12,80	11,86-11,68
Λίπος	3,28±0,07	2,74-2,67	2,39-2,19	2,34-2,30
Τέφρα	5,32±0,11	5,71-5,48	6,61-6,58	8,68-8,30
Υγρασία	3,53±0,02	2,93-2,77	2,37-2,21	3,87-3,88

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές ±T.A, δέκα επαναλήψεων για τον αρχικό πληθυσμό και το εύρος τιμών (max-min) δυο επαναλήψεων για τις πειραματικές δίαιτες.

Πείραμα 5

Η περιεκτικότητα του ιστού σε πρωτεΐνη και στις δυο διατροφικές μεταχειρίσεις ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με τα άτομα του αρχικού πληθυσμού. Εξαίρεση αποτελούν τα άτομα που διατράφηκαν με τη διαίτα Γ στους 27 °C, όπου παρουσίασαν μικρότερη περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ουσίες. Σε συνθήκες ασιτίας και στις δυο θερμοκρασίες τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας παρουσιάζουν μικρότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Σε ότι αφορά την περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες στον ιστό της κιχλιδόζεμπρας για τα άτομα που διατράφηκαν με τα

δυο σιτηρέσια και στις δυο θερμοκρασίες ήταν μεγαλύτερη με εξαίρεση τα άτομα που διατράφηκαν με την διαίτα Γ στους 27 °C, σε σχέση με τα άτομα του αρχικού πληθυσμού. Σε συνθήκες ασιτίας και στις δυο θερμοκρασίες, η περιεκτικότητα σε λίπος παρουσίαζε μικρότερες τιμές σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό (Πιν.3.22). Ο ιστός της κιχλιδόζεμπρας παρουσίαζε μικρότερη περιεκτικότητα σε υγρασία όταν τα άτομα τρέφονταν με τις δυο δίαιτες και στις δυο θερμοκρασίες. Σε συνθήκες ασιτίας η περιεκτικότητα σε υγρασία στους 20 °C παρουσίαζε μεγαλύτερη τιμή σε σχέση με τους 27 °C όπου η περιεκτικότητα σε υγρασία ήταν μικρότερη (Πιν.3.22).

Πίνακας 3.22: Χημική σύσταση σώματος αρχικού και τελικού πληθυσμού όταν οι κιχλιδόζεμπρες σιτίζονταν με τη διαίτα Γ, τη διαίτα Δ και σε συνθήκες ασιτίας στους (α) 27 °C και (β) 20 °C αντίστοιχα. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.

α)

Χημική σύσταση (%)	27°C			
	Αρχικό δείγμα n=10	Τελικό δείγμα Δίαιτα Γ (max-min) n=2	Τελικό δείγμα Δίαιτα Δ (max-min) n=2	Τελικό δείγμα Ασιτία (max-min) n=2
Πρωτεΐνη	13,58±0,14	10,26-10,01	14,02-13,98	12,64-12,24
Λίπος	3,35±0,08	3,19-3,09	5,60-5,31	2,86-2,73
Τέφρα	5,32±0,11	4,28-4,22	6,08-6,02	8,16-7,99
Υγρασία	3,53±0,02	2,20-1,95	2,67-2,49	1,83-1,81

β)

Χημική σύσταση (%)	20°C			
	Αρχικό δείγμα n=10	Τελικό δείγμα Δίαιτα Γ (max-min) n=2	Τελικό δείγμα Δίαιτα Δ (max-min) n=2	Τελικό δείγμα Ασιτία (max-min) n=2
Πρωτεΐνη	13,58±0,14	14,91-14,56	13,80-13,60	11,86-11,68
Λίπος	3,35±0,08	4,90-4,37	5,14-4,95	2,34-2,30
Τέφρα	5,32±0,11	5,56-5,38	5,44-5,28	8,68-8,30
Υγρασία	3,53±0,02	1,76-1,71	2,61-2,44	3,87-3,88

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές ±T.A, δέκα επαναλήψεων για τον αρχικό πληθυσμό και το εύρος τιμών (max-min) δύο επαναλήψεων για τις πειραματικές δίαιτες.

3.4.8.1. Προφίλ αμινοξέων

Πείραμα 4

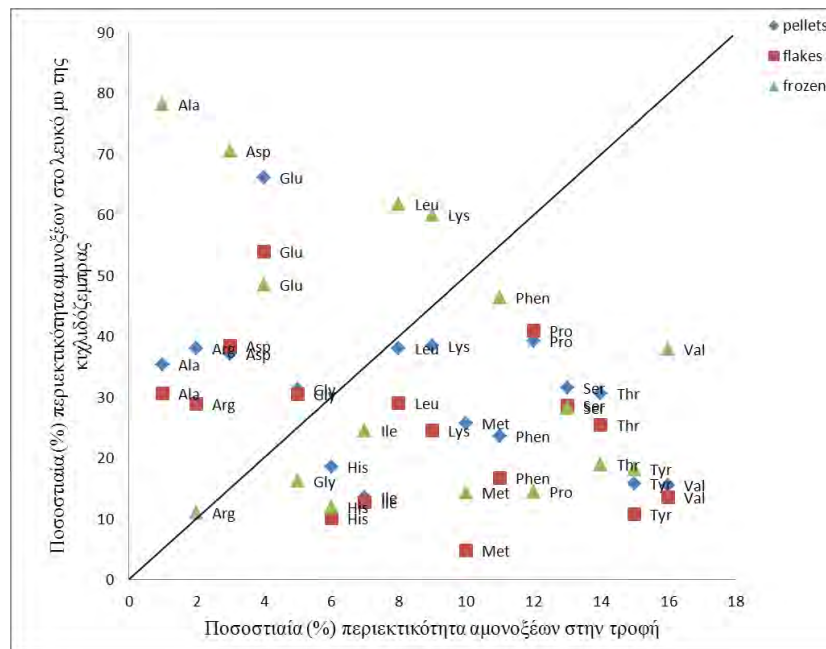
Η περιεκτικότητα του ιστού των ατόμων του αρχικού πληθυσμού της κιχλιδόζεμπρας και εκείνων σε συνθήκες ασιτίας σε απαραίτητα και μη απαραίτητα αμινοξέα παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.23. Σε συνθήκες ασιτίας η μέση περιεκτικότητα των ατόμων της κιχλιδόζεμπρας σε απαραίτητα και μη απαραίτητα αμινοξέα ήταν $4,16 \pm 3,10$ % και $6,24 \pm 4,45$ % στους 27 °C και $3,88 \pm 2,11$ % και $6,25 \pm 3,88$ % στους 20 °C.

Πίνακας 3.23: Απαραίτητα και μη απαραίτητα αμινοξέα (%) του αρχικού και τελικού λευκού μυός της κιχλιδόζεμπρας που δεν σιτίστηκε με τις πειραματικές δίαιτες στους 27 °C και 20 °C αντίστοιχα. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τους μέσους όρους και την τυπική απόκλιση.

Αμινοξέα	Αρχικό δείγμα λευκού μυ n=5	Τελικό δείγμα (27°C) Ασιτία n=4	Τελικό δείγμα (20°C) Ασιτία n=4
Απαραίτητα			
Arg	$5,70 \pm 0,42$	$6,30 \pm 1,13$	$5,55 \pm 1,01$
His	$2,45 \pm 0,07$	$2,35 \pm 0,21$	$2,45 \pm 0,70$
Ile	$3,20 \pm 0,71$	$3,25 \pm 0,07$	$2,90 \pm 0,77$
Leu	$5,65 \pm 0,35$	$5,50 \pm 0,28$	$3,93 \pm 0,79$
Lys	$9,30 \pm 0,71$	$8,95 \pm 0,07$	$7,43 \pm 2,85$
Met	$1,20 \pm 0,14$	$1,15 \pm 0,07$	$1,45 \pm 0,29$
Phe	$2,50 \pm 0,00$	$2,35 \pm 0,07$	$2,08 \pm 0,29$
Thr	$7,00 \pm 0,42$	$6,25 \pm 0,35$	$6,80 \pm 1,34$
Tyr	$1,85 \pm 0,07$	$1,85 \pm 0,21$	$1,90 \pm 0,53$
Val	$4,00 \pm 1,27$	$4,15 \pm 0,07$	$4,33 \pm 1,45$
Ολικά A,A	42,85	42,10	38,8
MO A,A \pm T.A	$4,29 \pm 2,57^a$	$4,16 \pm 3,10^a$	$3,88 \pm 2,11^a$
Μη-απαραίτητα			
Ala	$8,40 \pm 0,85$	$8,80 \pm 0,14$	$9,55 \pm 1,98$
Asp	$8,05 \pm 2,62$	$5,60 \pm 1,84$	$7,35 \pm 0,29$
Glu	$18,75 \pm 0,64$	$19,15 \pm 1,06$	$15,70 \pm 1,53$
Gly	$6,10 \pm 0,85$	$7,05 \pm 0,07$	$8,63 \pm 1,80$
Pro	$9,55 \pm 1,34$	$11,30 \pm 0,71$	$12,08 \pm 2,37$
Ser	$6,45 \pm 0,21$	$5,90 \pm 1,41$	$7,98 \pm 2,69$
Ολικά M.A.A	57,30	57,80	61,28
MOMAA \pm T.A	$9,55 \pm 4,68^a$	$9,63 \pm 5,12^a$	$10,21 \pm 3,15^a$
MO AA \pm T.A	$6,26 \pm 4,13$	$6,24 \pm 4,45$	$6,25 \pm 3,88^a$
Ολικά A.A	100,00	99,9	100,00

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές \pm T.A, πέντε επαναλήψεων για τον αρχικό πληθυσμό και τεσσάρων επαναλήψεων για την ασιτία. Οι μέσοι όροι με τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$).

Το Σχήμα 3.18 δείχνει τη γραμμική σχέση μεταξύ του πρότυπου της πρωτεΐνης των αμινοξέων στις πειραματικές δίαιτες και στην πρωτεΐνη του λευκού μυ της κιχλιδόζεμπρας. Η διαίτα Α αποτυπώθηκε μέσω της γραμμικής σχέσης η οποία πλησίαζε την ιδανική συσχέτιση, ενώ η απόκλισή της υποδήλωνε την ανεπάρκεια της τροφής σε λυσίνη. Ο ρυθμός αφομοίωσης όλων των αμινοξέων ανάμεσα στις δυο πειραματικές δίαιτες θεωρήθηκε ότι ήταν παρόμοιος.



Σχήμα 3.18: Προφίλ αμινοξέων (% του συνολικού) της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκε με τις δίαιτες Α και Β.

Ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων A/E (Πιν.3.24), έδειξε ότι η διαίτα Α περιέχει υψηλότερα επίπεδα λυσίνης ισολευκίνης και βαλίνης σε σχέση με τη διαίτα Β. Ο λόγος A/E, εκφράζει αφενός μεν την περιεκτικότητα των πειραματικών σιτηρεσίων σε αμινοξέα και αφετέρου δε, τις διαφορές που παρατηρήθηκαν μεταξύ του αρχικού πληθυσμού της κιχλιδόζεμπρας και των ατόμων που σιτίζονταν με τα πειραματικά σιτηρέσια (δίαιτα Α και Β), οι οποίες ήταν ιδιαίτερα περιορισμένες σε σχέση με τη λυσίνη.

Επίσης, ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων στα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που σιτίζονταν με τη δίαιτα Α εμφάνιζε υψηλότερα επίπεδα στη λυσίνη, ισολευκίνη και βαλίνη σε σχέση με τα άτομα που σιτίζονταν με τη δίαιτα Β (Πιν.3.24). Ομοίως στους 20 °C, ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων έδειξε ότι η δίαιτα Α περιείχε υψηλότερα επίπεδα σε λυσίνη και θρεονίνη και χαμηλότερα επίπεδα σε μεθειονίνη σε σχέση με τη δίαιτα Β (Πιν.3.25). Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν μεταξύ των ατόμων που σιτίστηκαν με τις πειραματικές δίαιτες και του αρχικού πληθυσμού ήταν ιδιαίτερα περιορισμένες σε σχέση με την αργινίνη, την ιστιδίνη και τη λευκίνη (Πιν.3.25).

Πίνακας 3.24: Λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) στο λευκό μυ της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C, που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία, στις προνύμφες του κοινού χρυσόψαρου, του *Fancy ranchu* χρυσόψαρου και του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με αποκελυφοποιημένες κύστες και σκουλήκια. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.

Αμινοξέα	κιχλιδόζεμπρα (1g) ^a αρχικό δείγμα	κιχλιδόζεμπρα 2 g διαίτα A 27°C ^a τελικό δείγμα	κιχλιδόζεμπρα 2g διαίτα B 27° C ^a τελικό δείγμα	προνύμφες κοινού χρυσόψαρου <i>Carassius auratus</i> ^b	κοινό χρυσόψαρο <i>Carassius auratus</i> ^b	χρυσόψαρο <i>Fancy ranchu</i> ^b	αγγελόψαρο (αποκελυφοποι ημένες κύστες) ^c	αγγελόψαρο α (σκουλήκι α) ^c
Arg	13,30	11,70	13,99	7,80	13,40	13,20	10,55	13,28
His	5,72	5,74	6,26	4,10	5,10	5,10	2,06	8,75
Ile	7,47	9,34	7,24	6,00	7,80	8,10	20,77	10,65
Leu	13,19	12,94	13,99	9,10	14,70	15,10	28,49	24,09
Lys	21,70	16,87	13,50	11,80	16,90	15,80	15,74	4,12
Met	2,80	2,25	3,19	3,40	8,10	5,60	4,88	12,64
Phe	5,83	6,52	6,63	5,60	14,20	8,70	4,12	6,53
Thr	16,34	15,64	18,28	6,40	9,20	9,00	2,65	8,97
Tyr	4,32	5,06	5,64					
Val	9,33	13,95	11,29	7,00	8,80	9,10	3,47	5,95

Λόγος A/E = (Απαραίτητα αμινοξέα/ολικά απαραίτητα αμινοξέα) x 100

^a Παρούσα μελέτη

^b Δεδομένα από Sales & Janssens 2003, Snellgrove & Alexander 2011

^c Δεδομένα από Velu & Munuswamy 2003

Πίνακας 3.25: Λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) στο λευκό μυ της κιχλιδόζεμπρας στους 20 °C, που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία, στις προνύμφες κοινού χρυσόψαρου, του *Fancy ranchu* χρυσόψαρου και του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με αποκελυφοποιημένες κύστες και σκουλήκια. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.

Αμινοξέα	κιχλιδόζεμπρα (1g) ^a αρχικό δείγμα	κιχλιδόζεμπρα 2 g διαίτα A 20°C ^a τελικό δείγμα	κιχλιδόζεμπρα 2g διαίτα B 20°C ^a τελικό δείγμα	προνύμφες κοινού χρυσόψαρου <i>Carrasius</i> <i>auratus</i> ^b	κοινό χρυσόψαρο <i>Carrarius</i> <i>auratus</i> ^b	χρυσόψαρο <i>Fancy</i> <i>ranchu</i> ^b	αγγελόψαρο (αποκελυφοποι ημένες κύστες) ^c	αγγελόψαρο (σκουλήκι α) ^c
Arg	13,30	10,55	10,78	7,80	13,40	13,20	10,55	13,28
His	5,72	5,28	4,78	4,10	5,10	5,10	2,06	8,75
Ile	7,47	5,28	7,11	6,00	7,80	8,10	20,77	10,65
Leu	13,19	11,01	9,22	9,10	14,70	15,10	28,49	24,09
Lys	21,70	29,59	30,33	11,80	16,90	15,80	15,74	4,12
Met	2,80	2,29	4,33	3,40	8,10	5,60	4,88	12,64
Phe	5,83	5,62	6,44	5,60	14,20	8,70	4,12	6,53
Thr	16,34	18,35	14,89	6,40	9,20	9,00	2,65	8,97
Tyr	4,32	5,16	5,44					
Val	9,33	6,88	6,67	7,00	8,80	9,10	3,47	5,95

Λόγος A/E = (Απαραίτητα αμινοξέα/ολικά απαραίτητα αμινοξέα) x 100

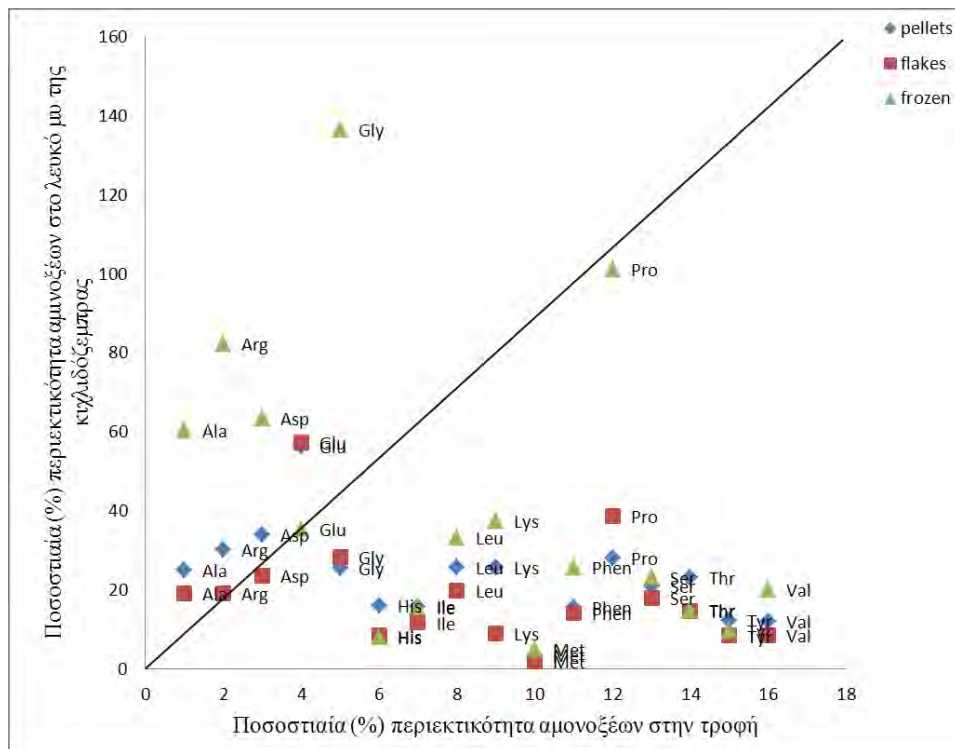
^a Παρούσα μελέτη

^b Δεδομένα από Sales & Janssens 2003, Snellgrove & Alexander 2011

^c Δεδομένα από Velu & Munuswamy 2003

Πείραμα 5

Από την κατανομή των αμινοξέων στις πειραματικές τροφές, φαίνεται ότι η διαίτα Δ σε σχέση με τη διαίτα Γ είχε μικρότερη περιεκτικότητα σε λυσίνη, ιστιδίνη και μεθειονίνη, ενώ το ασπαρτικό οξύ και η τυροσίνη ήταν σε μικρότερα επίπεδα. Η σχέση μεταξύ του προτύπου των αμινοξέων στις πειραματικές δίαιτες Γ και Δ και στο λευκό μυ αποτυπώθηκε γραμμικά στο Σχήμα 3.19. Η διαίτα Γ απεικονίστηκε πλησίον της ιδανικής συσχέτισης, ενώ η απόκλιση της δήλωνε την ανεπάρκεια της διαίτας Δ, σε λυσίνη, λευκίνη, μεθειονίνη και προλίνη. Ο ρυθμός αφομοίωσης των αμινοξέων ανάμεσα στις δυο δίαιτες θεωρήθηκε ότι ήταν παρόμοιος.



Σχήμα 3.19: Προφίλ αμινοξέων (% του συνολικού) της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκε με τις δίαιτες Γ και Δ.

Ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) αποτυπώνει την περιεκτικότητα των αμινοξέων στις πειραματικές δίαιτες καθώς και τις σημαντικές διαφορές που σημειώθηκαν μεταξύ του αρχικού πληθυσμού και των ατόμων που διατρέφονταν με

τα πειραματικά σιτηρέσια. Ο υπολογισμός του λόγου των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) στους 27 °C, έδειξε ότι η δίαιτα Γ περιέχει υψηλότερα επίπεδα σε λυσίνη και βαλίνη σε σχέση με τη δίαιτα Δ. Επίσης, οι διαφορές που παρατηρήθηκαν μεταξύ του αρχικού πληθυσμού και των ατόμων που διατράφηκαν με τις πειραματικές δίαιτες ήταν ιδιαίτερα περιορισμένες σε σχέση με την αργινίνη (Πιν.3.26).

Ομοίως στους 20 °C, ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων έδειξε ότι η δίαιτα Γ περιέχει υψηλότερα επίπεδα σε αργινίνη και λευκίνη και χαμηλότερα επίπεδα σε λυσίνη σε σχέση με τη δίαιτα Δ (Πιν.3.27). Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν μεταξύ των ατόμων που σιτίστηκαν με τις πειραματικές δίαιτες και του αρχικού πληθυσμού ήταν ιδιαίτερα περιορισμένες σε σχέση με την ιστιδίνη, λυσίνη, θρυονίνη και βαλίνη (Πιν.3.27).

Πίνακας 3.26: Λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) στο λευκό μυ της κιχλιδόζεμπρας στους 27 °C, που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία, στις προνύμφες του κοινού χρυσόψαρου, του *Fancy ranchu* χρυσόψαρου και του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με αποκελυφοποιημένες κύστες και σκουλήκια. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.

Αμινοξέα	κιχλιδόζεμπρα (1g) ^a αρχικό δείγμα	κιχλιδόζεμπρα 2 g διαίτα Γ 27°C ^a τελικό δείγμα	κιχλιδόζεμπρα 2g διαίτα Δ 27°C ^a τελικό δείγμα	προνύμφες κοινού χρυσόψαρου <i>Carassius auratus</i> ^b	Κοινό χρυσόψαρο <i>Carassius auratus</i> ^b	χρυσόψαρο <i>Fancy ranchu</i> ^b	αγγελόψαρο (αποκελυφοπ οιημένες κύστεις) ^c	αγγελόψαρο (σκουλήκια) ^c
Arg	13,30	12,02	12,24	7,80	13,40	13,20	10,55	13,28
His	5,72	5,52	6,88	4,10	5,10	5,10	2,06	8,75
Ile	7,47	10,55	7,81	6,00	7,80	8,10	20,77	10,65
Leu	13,19	14,85	14,92	9,10	14,70	15,10	28,49	24,09
Lys	21,70	22,33	13,75	11,80	16,90	15,80	15,74	4,12
Met	2,80	3,07	3,15	3,40	8,10	5,60	4,88	12,64
Phe	5,83	6,63	5,94	5,60	14,20	8,70	4,12	6,53
Thr	16,34	17,06	18,65	6,40	9,20	9,00	2,65	8,97
Tyr	4,32	5,52	4,90					
Val	9,33	13,99	11,77	7,00	8,80	9,10	3,47	5,95

Λόγος A/E = (Απαραίτητα αμινοξέα/ολικά απαραίτητα αμινοξέα) x 100

^a Παρούσα μελέτη

^b Δεδομένα από Sales & Janssens 2003, Snellgrove & Alexander 2011

^c Δεδομένα από Velu & Munuswamy 2003

Πίνακας 3.27: Λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) στο λευκό μυ της κιχλιδόζεμπρας στους 20 °C, που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία, στις προνύμφες του κοινού χρυσόψαρου, του *Fancy ranchu* χρυσόψαρου και του αγγελόψαρου που σιτίστηκε με αποκελυφοποιημένες κύστες και σκουλήκια. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηράς ουσίας.

Αμινοξέα	κιχλιδόζεμπρα (1g) ^a αρχικό δείγμα	κιχλιδόζεμπρα 2 g διαίτα Γ 20°C ^a τελικό δείγμα	κιχλιδόζεμπρα 2g διαίτα Δ 20°C ^a τελικό δείγμα	προνύμφες κοινού χρυσόψαρου <i>Carassius auratus</i> ^b	κοινό χρυσόψαρο <i>Carassius auratus</i> ^b	χρυσόψαρο <i>Fancy ranchu</i> ^b	αγγελόψαρο (αποκελυφοπ οιημένες κύστεις) ^c	αγγελόψαρο (σκουλήκια) ^c
Arg	13,30	16,86	10,10	7,80	13,40	13,20	10,55	13,28
His	5,72	5,20	4,69	4,10	5,10	5,10	2,06	8,75
Ile	7,47	7,08	7,45	6,00	7,80	8,10	20,77	10,65
Leu	13,19	14,67	7,81	9,10	14,70	15,10	28,49	24,09
Lys	21,70	17,38	28,49	11,80	16,90	15,80	15,74	4,12
Met	2,80	2,81	4,45	3,40	8,10	5,60	4,88	12,64
Phe	5,83	8,84	6,13	5,60	14,20	8,70	4,12	6,53
Thr	16,34	12,90	17,31	6,40	9,20	9,00	2,65	8,97
Tyr	4,32	6,66	5,89					
Val	9,33	7,60	7,69	7,00	8,80	9,10	3,47	5,95

Λόγος A/E = (Απαραίτητα αμινοξέα/ολικά απαραίτητα αμινοξέα) x 100

^a Παρούσα μελέτη

^b Δεδομένα από Sales & Janssens 2003, & Snellgrove & Alexander 2011

^c Δεδομένα από Velu & Munuswamy 2003

3.5. Αποτελέσματα της επίδρασης της πρωτεϊνικής πηγής του σιτηρεσίου (PM, FM MM) στην ανάπτυξη και επιβίωση του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας

3.5.1. Παράγοντες ανάπτυξης των ιχθύων, αξιοποίησης και κατανάλωσης της τροφής

3.5.1.1. Έναρξη πειραματικής διαδικασίας

Πείραμα 7

Το μέσο αρχικό βάρος και μήκος των αγγελόψαρων κατά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας στους 29 °C, ήταν $0,58 \pm 0,09$ g και $3,10 \pm 0,30$ cm για τα άτομα που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο PM, ενώ για τα άτομα που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο FM ήταν $0,59 \pm 0,07$ g και $3,21 \pm 0,29$ cm αντιστοίχα. Το μέσο βάρος και μήκος των ατόμων που διατρέφθηκαν με το σιτηρέσιο MM, ήταν $0,59 \pm 0,07$ g και $3,11 \pm 0,29$ cm. Σε συνθήκες αστίας στην ίδια θερμοκρασία το μέσο αρχικό βάρος και μήκος των αγγελόψαρων ήταν $0,58 \pm 0,09$ g και $3,23 \pm 0,27$ cm αντιστοίχα. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι στην αρχή της πειραματικής διαδικασίας τα μέσα αρχικά βάρη και μήκη του αγγελόψαρου δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,05$) (Πιν.3.28).

Πείραμα 8

Το μέσο αρχικό βάρος και μήκος των ιχθύων, ήταν $0,27 \pm 0,13$ g και $2,2 \pm 0,46$ cm για τα άτομα που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο PM, $0,27 \pm 0,15$ g και $2,2 \pm 0,41$ cm για άτομα διατρέφθηκαν με το σιτηρέσιο FM και $0,27 \pm 0,10$ g και $2,2 \pm 0,30$ cm αντιστοίχα για τα άτομα που διατρέφθηκαν με το σιτηρέσιο MM. Ομοίως, σε συνθήκες αστίας το μέσο βάρος και μήκος των ατόμων της κιχλιδόζεμπρας ήταν αντίστοιχα $0,33 \pm 0,27$ g και $2,20 \pm 0,38$ cm. Τα αρχικά μέσα βάρη και μήκη των ατόμων της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκαν με τα πειραματικά σιτηρέσια

(PL,FM,MM) δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην αρχή της πειραματικής διαδικασίας (ANOVA, $P>0,05$), στους 27 °C (Πιν.3.29).

3.5.1.2. Επιβίωση

Πείραμα 7

Η επιβίωση που παρατηρήθηκε στα αγγελόψαρα ήταν 83% για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο PM, 77% για τα άτομα που σιτιστήκαν με το σιτηρέσιο FM και 80% για τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο MM. Σε συνθήκες αστίας τα αγγελόψαρα δεν ήταν ανθεκτικά μιας και παρουσίασαν επιβίωση 7% καθ' όλο το διάστημα των 60 ημερών που διήρκησε το πείραμα (Πιν.3.28).

Πείραμα 8

Η μεγαλύτερη επιβίωση (60%) παρατηρήθηκε στην κιχλιδόζεμπρα που διατράφηκε αντίστοιχα με τα σιτηρέσια FM και MM, σε αντίθεση με τη κιχλιδόζεμπρα που σιτιστήκε με το σιτηρέσιο PM, η οποία παρουσίασε μικρότερη επιβίωση 46%. Σε συνθήκες αστίας η κιχλιδόζεμπρα παρουσίασε τη μικρότερη επιβίωση 14% καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας (60 ημέρες) (Πιν.3.29).

3.5.1.3. Αύξηση βάρους και ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

Πείραμα 7

Το τελικό μέσο βάρος και μήκος των αγγελόψαρων τα οποία σιτιστήκαν με το σιτηρέσιο FM και MM σύμφωνα με τον Πίνακα 3.28, ήταν στατιστικά παρόμοιο (ANOVA, $P>0,05$). Τα αγγελόψαρα, που σιτιστήκαν με το σιτηρέσιο MM

παρουσίασαν μεγαλύτερο μέσο βάρος $1,52 \pm 0,55$ g, σε σχέση με τα άτομα που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο PM όπου παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά μικρότερο μέσο βάρος $0,96 \pm 0,55$ g (ANOVA, $P < 0,05$). Σε συνθήκες ασιτίας το αγγέλωπαρο παρουσίασε το μικρότερο μέσο βάρος $0,28 \pm 0,11$ g (Πιν.3.28). Η αύξηση βάρους (WG), στα αγγέλωπαρα που σιτίστηκαν με τα σιτηρέσια FM και MM ήταν στατιστικά σημαντικά παρόμοια (ANOVA, $P > 0,05$) σε αντίθεση με τα άτομα που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο PM ($0,40 \pm 0,25$ g), τα οποία παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά τη μικρότερη τιμή (ANOVA, $P < 0,05$) (Πιν.3.28). Ο SGR ήταν $0,85 \pm 0,42$ % / ημέρα για τα άτομα της διατροφικής ομάδας PM, $1,32 \pm 0,39$ % / ημέρα για τα άτομα της διατροφικής ομάδας FM και $3,18 \pm 0,25$ % / ημέρα για τα άτομα της διατροφικής ομάδας MM. Η στατιστική ανάλυση έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών διατροφικών μεταχειρίσεων (ANOVA, $P < 0,05$) (Πιν.3.28).

Ο FCR (Πιν.3.28), προσδιορίστηκε σε $1,26 \pm 1,11$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας PM, $0,62 \pm 0,39$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας FM και $0,60 \pm 0,45$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας MM. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι τα αγγέλωπαρα που σιτίζονταν με το σιτηρέσιο PM παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη τιμή (ANOVA, $P < 0,05$) σε σχέση με τα άτομα που σιτίστηκαν με τα σιτηρέσια FM και MM, τα οποία παρουσίαζαν στατιστικά παρόμοιο FCR (ANOVA, $P > 0,05$) (Πιν.3.28).

Ομοίως, ο συντελεστής FE (Πιν.3.28), προσδιορίστηκε σε $1,30 \pm 0,77$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας PM, $2,00 \pm 0,76$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας FM και $2,37 \pm 1,36$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας MM. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι ο FE παρουσίαζε στατιστικά σημαντικά μικρότερη τιμή για τα άτομα που σιτίζονταν με το σιτηρέσιο PM (ANOVA, $P < 0,05$) σε σχέση με τα άτομα που

σιτίζονταν με τα σιτηρέσια FM και MM αντίστοιχα, τα οποία μεταξύ τους δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική διαφορά (ANOVA, $P>0,05$) (Πιν.3.28).

Ο PER (Πιν.3.28) υπολογίστηκε σε $2,89\pm 1,73$ για τα άτομα που κατανάλωσαν το σιτηρέσιο PM, $4,20\pm 1,63$ για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο FM και $4,70\pm 1,97$ για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο MM. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο PM παρουσίασαν σημαντικά στατιστικά μικρότερο συντελεστή απόδοσης πρωτεϊνών (ANOVA, $P<0,05$) σε σχέση με τα άτομα των διατροφικών ομάδων FM και MM, τα οποία δεν παρουσίασαν μεταξύ τους στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P>0,05$).

Πίνακας 3.28: Αρχικό βάρος (g), τελικό βάρος (g), αρχικό μήκος (cm) τελικό μήκος (cm), αύξηση βάρους (g), ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR,% / ημέρα), του αγγελοψαρου σε συνθήκες ασιτίας και όταν τρέφονταν με τα πειραματικά σιτηρέσια PM, FM και MM στους 29 °C.

	29°C			
	Φυτική τροφή (PM)	Ιχθυάλευρο (FM)	Ανάμεικτη (MM)	Ασιτία
Αρχικό μέσο Βάρος (g)	0,58±0,01 ^a	0,59±0,01 ^a	0,59±0,01 ^a	0,58±0,01 ^a
Τελικό Μέσο Βάρος (g)	0,96±0,05 ^a	1,35±0,06 ^b	1,52±0,11 ^b	0,28±0,07 ^a
Αύξηση Βάρους (g)	0,40±0,05 ^a	0,75±0,06 ^b	0,93±0,10 ^b	-0,20±0,03 ^c
Ειδικός ρυθμός Ανάπτυξης (SGR (%/day))	0,85±0,08 ^a	1,32±0,08 ^b	3,18±0,50 ^c	-0,97±0,31 ^d
Επιβίωση (%)	83	77	80	7
Συντελεστής Μετατρεψιμότητας Τροφής (FCR)	1,26±0,22 ^a	0,62±0,08 ^b	0,60±0,09 ^b	-
Συντελεστής Απόδοσης τροφής (FE)	1,30±0,15 ^a	2,00 ±0,15 ^b	2,37±0,27 ^b	-
Συντελεστής Απόδοσης πρωτεΐνης (PER)	2,89±0,35 ^a	4,20±0,34 ^b	4,70±0,40 ^b	-
Αρχικός Συντελεστής Ευρωστίας	2,01±0,10 ^a	1,82±0,08 ^a	2,06±0,11 ^a	1,81±0,11 ^a
Τελικός Συντελεστής Ευρωστίας	2,04±0,08 ^a	2,15±0,07 ^a	2,27±0,10 ^a	0,78±0,04 ^b
Αρχικό Μέσο Μήκος (cm)	3,10±0,05 ^a	3,21±0,05 ^a	3,11±0,05 ^a	3,23±0,04 ^a
Τελικό Μέσο Μήκος (cm)	3,60±0,08 ^a	3,98±0,08 ^b	4,06±0,12 ^b	3,25±0,55 ^b

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές± Τ.Α.Οι μέσοι όροι οι οποίοι εκφράζονται από τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0,05$).

Τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο MM έδειξαν μεγαλύτερη αύξηση στο συντελεστή ευρωστίας σε σχέση με τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τα σιτηρέσια PM και FM αντίστοιχα (Πιν.3.28), χωρίς να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P>0,05$). Σε συνθήκες ασιτίας τα αγγελόψαρα παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά μικρότερο συντελεστή ευρωστίας σε σχέση με εκείνα που διατράφηκαν με τα τρία σιτηρέσια (ANOVA, $P<0,05$) (Πιν.3.28).

Πείραμα 8

Το μέσο τελικό βάρος των ατόμων της κιχλιδόζεμπρας κατά τη λήξη της πειραματικής διαδικασίας ήταν $0,39\pm 0,18$ g για τα άτομα της διατροφικής ομάδας PM, $0,66\pm 0,22$ g για τα άτομα της διατροφικής ομάδας FM και $0,74\pm 0,24$ g για τα άτομα της διατροφικής ομάδας MM. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι, όταν τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας τρέφονταν με το σιτηρέσιο FM και MM, παρουσίασαν στατιστικά παρόμοιο τελικό βάρος (ANOVA, $P>0,05$), σε αντίθεση με τα άτομα που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο PM, όπου παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά το μικρότερο μέσο τελικό βάρος σε σχέση με τις υπόλοιπες διατροφικές ομάδες (ANOVA, $P<0,05$). Σε συνθήκες ασιτίας τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά το μικρότερο μέσο τελικό βάρος σε σχέση με τα άτομα που σιτίστηκαν με τις πειραματικά σιτηρέσια (ANOVA, $P<0,05$) (Πιν 3.29).

Ο δείκτης WG στα άτομα που σιτίστηκαν με τα σιτηρέσια FM και MM ήταν στατιστικά παρόμοια (ANOVA, $P>0,05$), σε αντίθεση με τα άτομα της διατροφικής ομάδας PM, τα οποία παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά τη μικρότερη αύξηση βάρους (ANOVA, $P<0,05$) (Πιν.3.29). Σε συνθήκες ασιτίας η απώλεια βάρους που παρατηρήθηκε στην κιχλιδόζεμπρα ήταν στατιστικά σημαντικά μικρότερη σε σχέση με τα άτομα που διατράφηκαν με τα σιτηρέσια PM, FM και MM (ANOVA, $P<0,05$).

Ο SGR, ήταν $1,02 \pm 0,50$ % / ημέρα για τα άτομα της διατροφικής ομάδας PM, $1,49 \pm 0,65$ % / ημέρα για τα άτομα της διατροφικής ομάδας FM και $1,79 \pm 0,64$ % / ημέρα για τα άτομα της διατροφικής ομάδας MM. Σε συνθήκες ασιτίας η κιχλιδόζεμπρα παρουσίασε αρνητικό ρυθμό ανάπτυξης $-1,88 \pm 0,83$ % / ημέρα (Πιν.3.29).

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έδειξε ότι τα άτομα που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο FM και MM παρουσίασαν παρόμοιο ρυθμό ανάπτυξης (ANOVA, $P > 0,05$) και είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης σε σχέση με εκείνα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο PM (Πιν.3.29) (ANOVA, $P < 0,05$).

Ο FCR (Πιν.3.29), προσδιορίστηκε σε $1,20 \pm 0,66$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας PM, $0,53 \pm 0,22$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας FM και $0,50 \pm 0,36$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας MM. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι τα άτομα που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο PM παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη τιμή (ANOVA, $P < 0,05$) σε σχέση με εκείνα που σιτίστηκαν με τα σιτηρέσια FM και MM, τα οποία παρουσιάζουν παρόμοιο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (ANOVA, $P > 0,05$) (Πιν.3.29).

Το ίδιο πρότυπο παρουσίαζε ο FE, ο οποίος εμφανίζει στατιστικά σημαντικά τη μικρότερη τιμή για τα άτομα που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο PM (ANOVA, $P < 0,05$) σε σχέση με τα άτομα που διατρέφονταν με τα σιτηρέσια FM και MM, τα οποία μεταξύ τους δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,05$) (Πιν.3.29).

Ο συντελεστής PER (Πιν.3.29) υπολογίστηκε σε $2,53 \pm 1,64$ για τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που κατανάλωσαν το σιτηρέσιο PM, $4,34 \pm 1,90$ για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο FM και $5,34 \pm 2,16$ για εκείνα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο MM. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που

διατράφηκαν με το σιτηρέσιο PM, είχαν στατιστικά σημαντικά μικρότερο συντελεστή απόδοσης πρωτεϊνών (ANOVA, $P < 0,05$) σε σχέση με τα άτομα των διατροφικών ομάδων FM και MM, τα οποία δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,05$).

Πίνακας 3.29: Αρχικό βάρος (g), τελικό βάρος (g), αρχικό μήκος (cm) τελικό μήκος (cm), αύξηση βάρους (g), ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, % / ημέρα) της κιχλιδοζέμπρας σε συνθήκες ασιτίας και όταν τρέφονταν με τα πειραματικά σιτηρέσια PM, FM και MM στους 27 °C.

	27° C			
	Φυτική Τροφή (PM)	Ιχθυάλευρο (FM)	Ανάμεικτη (MM)	Ασιτία
Αρχικό Μέσο Βάρος (g)	0,27±0,01 ^a	0,27±0,02 ^a	0,27±0,01 ^a	0,33±0,03 ^a
Τελικό Μέσο Βάρος (g)	0,39±0,03 ^a	0,66±0,04 ^b	0,74±0,04 ^b	0,15±0,01 ^c
Αύξηση Βάρους (g)	0,18±0,02 ^a	0,37±0,02 ^b	0,48±0,03 ^b	-0,34±0,10 ^c
Ειδικός ρυθμός Ανάπτυξης (SGR (%/day))	1,02±0,10 ^a	1,49±0,11 ^b	1,79±0,11 ^b	-1,88±0,31 ^c
Επιβίωση (%)	46	60	60	14
Συντελεστής Μετατρεψιμότητας Τροφής (FCR)	1,20±0,13 ^a	0,53±0,04 ^b	0,50±0,06 ^b	-
Συντελεστής Απόδοσης τροφής (FE)	1,07±0,15 ^a	2,14 ±0,19 ^b	2,51±0,20 ^b	-
Συντελεστής Απόδοσης πρωτεΐνης (PER)	2,53±0,34 ^a	4,34±0,35 ^b	5,34±0,39 ^b	-
Αρχικό Μέσο Μήκος (cm)	2,2±0,06 ^a	2,2±0,05 ^a	2,2±0,04 ^a	2,2±0,04 ^a
Τελικό Μέσο Μήκος (cm)	2,6±0,09 ^a	2,9±0,07 ^a	3,2±0,07 ^b	2,1±0,03 ^c

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές±T.A. Οι μέσοι όροι οι οποίοι εκφράζονται από τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$).

3.5.2. Χημική σύσταση σώματος αγγελόψαρου και κιχλιδοζέμπρας

3.5.2.1. Περικτικότητα σε ολικές αζωτούχες και λιπαρές ουσίες

Πείραμα 7

Τα άτομα του αγγελόψαρου που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο FM παρουσίασαν στατιστικά παρόμοια ($P > 0,05$) περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, σε ολικές

λιπαρές ουσίες, σε τέφρα και σε υγρασία στο λευκό μυ σε σχέση με τα άτομα που διατράφηκαν με τα σιτηρέσια PM και MM (Πιν.3.30). Σε συνθήκες ασιτίας τα άτομα του αγγελόψαρου παρουσίασαν τη μικρότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ($4,89\pm 0,14\%$).

Πίνακας 3.30:Βιοχημική σύσταση του λευκού μυ του αγγελόψαρου σε πρωτεΐνη (%), λίπος (%), τέφρα (%) και υγρασία (%) όταν χορηγήθηκε φυτική τροφή (PM), τροφή από ιχθυάλευρο (FM), ανάμεικτη τροφή (MM) και σε συνθήκες ασιτίας στους 29 °C. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τους μέσους όρους επί της ξηρής ουσίας.

	Αρχικό δείγμα n=5	Φυτική Τροφή (PM) n=5	Ιχθυάλευρο (FM) n=5	Ανάμεικτη (MM) n=5	Ασιτία n=5
Πρωτεΐνη (%)	14,24±0,08 ^a	12,85±0,05 ^a	14,93±1,18 ^a	13,51±0,18 ^a	4,89±0,14 ^b
Λίπος (%)	4,22±0,03 ^a	4,06±0,05 ^a	4,35±0,32 ^a	4,11±0,05 ^a	-
Τέφρα (%)	5,02±0,03 ^a	4,70±0,02 ^a	5,11±0,41 ^a	4,33±0,09 ^a	-
Υγρασία (%)	3,64±0,01 ^a	3,48±0,00 ^a	3,66±0,18 ^a	3,56±0,03 ^a	1,93±0,01 ^b

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές ±T.A, πέντε επαναλήψεων. Οι μέσοι όροι οι οποίοι εκφράζονται από τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0,05$).

Πείραμα 8

Τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο FM παρουσίασαν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ($13,73\pm 0,46\%$), σε ολικές λιπαρές ουσίες ($4,33\pm 0,14\%$), σε τέφρα ($4,03\pm 0,13\%$) και σε υγρασία ($3,63\pm 0,08\%$) σε σχέση με τα άτομα που διατράφηκαν με τα σιτηρέσια PM και MM (Πιν.3.31). Σε συνθήκες ασιτίας τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά τη μικρότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ($5,10\pm 0,86\%$) σε σχέση με τα άτομα που σιτίστηκαν με τα πειραματικά σιτηρέσια PM, FM και MM ($P<0,05$).

Πίνακας 3.31:Βιοχημική σύσταση του λευκού μυ της κιχλιδόζεμπρας σε πρωτεΐνη (%), λίπος (%), τέφρα (%) και υγρασία (%) όταν χορηγήθηκε Φυτική τροφή (PM), Τροφή από ιχθυάλευρο (FM), Ανάμεικτη τροφή (MM) και σε συνθήκες ασιτίας στους 27°C. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους επί της ξηρής ουσίας.

	Αρχικό Δείγμα n=5	Φυτική τροφή (PM) n=5	Ιχθυάλευρο (FM) n=5	Ανάμεικτη (MM) n=5	Ασιτία n=5
Πρωτεΐνη (%)	10,47±0,37 ^b	12,10±1,38 ^{a,b}	13,73±0,46 ^a	11,76±0,55 ^{a,b}	5,10±0,86 ^c
Λίπος (%)	3,36±0,06 ^a	3,92±0,44 ^a	4,33±0,14 ^a	3,60±0,22 ^a	-
Τέφρα (%)	4,00±0,12 ^a	3,90±0,46 ^a	4,03±0,13 ^a	4,73±0,24 ^a	-
Υγρασία (%)	3,09±0,05 ^a	3,44±0,30 ^a	3,63±0,08 ^a	3,46±0,12 ^a	1,94±0,06 ^b

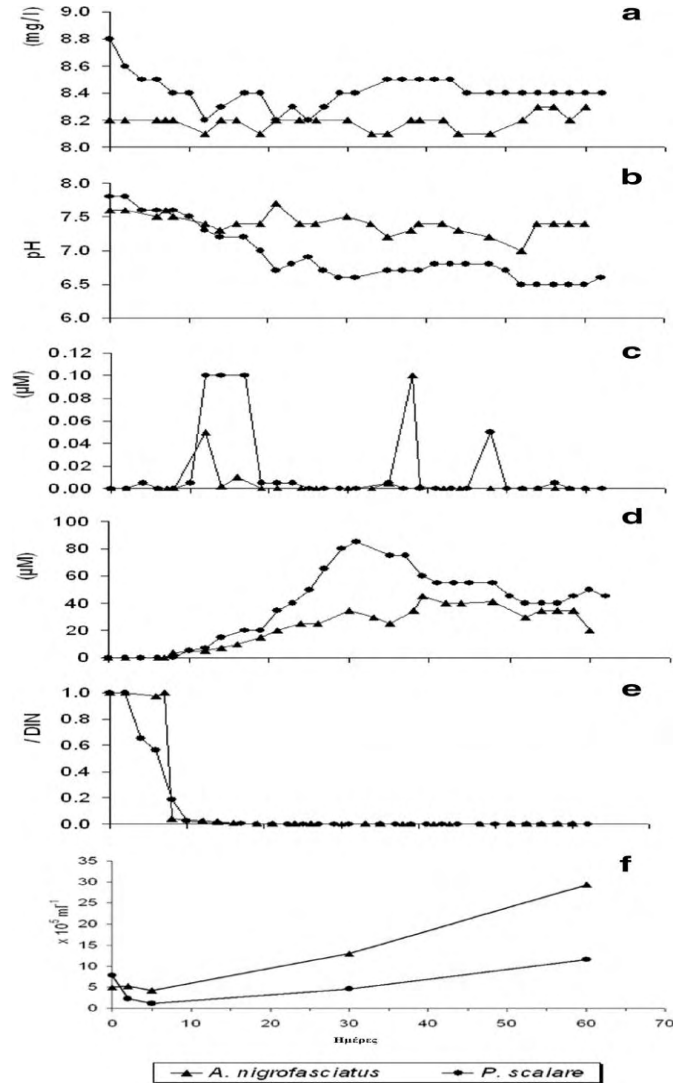
Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσες τιμές ±Τ.Α, πέντε επαναλήψεων. Οι μέσοι όροι οι οποίοι εκφράζονται από τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (P>0,05).

3.6. Αποτελέσματα της δομής των κοινοτήτων του βακτηριοπλαγκτού στα ενυδρεία εκτροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας

3.6.1. Ποιότητα νερού στα πειραματικά ενυδρεία

Η θερμοκρασία παραμένει στα επιθυμητά επίπεδα καθ' όλο το διάστημα εκτροφής και για τα δύο είδη. Παρ' όλο που οι συγκεντρώσεις του διαλυμένου οξυγόνου έδειξαν διαφορετικά πρότυπα διακύμανσης για τις δύο αγωγές εκτροφής (8,1 έως 8,3 και 8,2 έως 8,8 mg I⁻¹ για την κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο, αντίστοιχα), δεν ανιχνεύθηκαν περιοριστικές συγκεντρώσεις. Οι μεταβολές στο pH (Σχ. 3.20) ήταν επίσης διαφορετικές, ειδικά μετά τις πρώτες 10 ημέρες (7,0 έως 7,7 και 6,5 έως 7,8 για την κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο, αντίστοιχα). Τα επίπεδα φωσφορικών αλάτων (Σχ. 3.20) παρουσίασαν μικρή διακύμανση (0,000 έως 0,001 μM) αλλά οι υψηλότερες τιμές ελήφθησαν σε διαφορετικά χρονικά σημεία και για τα

δύο είδη. Όσον αφορά στις αζωτούχες ενώσεις (Σχ. 3.20), δεν ανιχνεύθηκε αμμωνία μετά τις πρώτες έξι έως οκτώ ημέρες του πειράματος αλλά τα επίπεδα των νιτρικών αυξήθηκαν μετά από αυτό το χρονικό σημείο.



Σχήμα 3.20: Χρονικές μεταβολές στο (α) διαλυμένο οξυγόνο, (β) pH, (γ) φωσφορικό άλας (δ) νιτρικό άλας, (ε) στην αμμωνία / DIN και (ς) στη βακτηριακή αφθονία (κύτταρα $\times 10^5 \text{ ml}^{-1}$) στη υδάτινη στήλη των ενυδρείων της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου. DIN: διαλυμένο ανόργανο άζωτο, δηλαδή συνολικές συγκεντρώσεις νιτρικού άλατος, νιτρώδους άλατος και αμμωνίας.

3.6.2. Βακτηριακή αφθονία και ποικιλότητα

Οι καταμετρήσεις κυττάρων της υδάτινης στήλης αυξήθηκαν μέχρι το τέλος της περιόδου εκτροφής και για τα δύο είδη (Σχ.3.21). Η αρχική αφθονία των κυττάρων ήταν συγκρίσιμη και στις δύο αγωγές ($0,5$ και $0,8 \times 10^6$ κύτταρα ml^{-1} για το *A. nigrofasciatus* και το *P. scalare*, αντίστοιχα) και ακολουθήθηκε από μία αρχική μείωση των ενυδρείων του αγγελόψαρου. Στο τέλος του πειράματος, η αφθονία των βακτηριακών κυττάρων έφθασε σε $2,9 \times 10^6$ και $1,2 \times 10^6$ κύτταρα ml^{-1} για την κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο, αντίστοιχα.

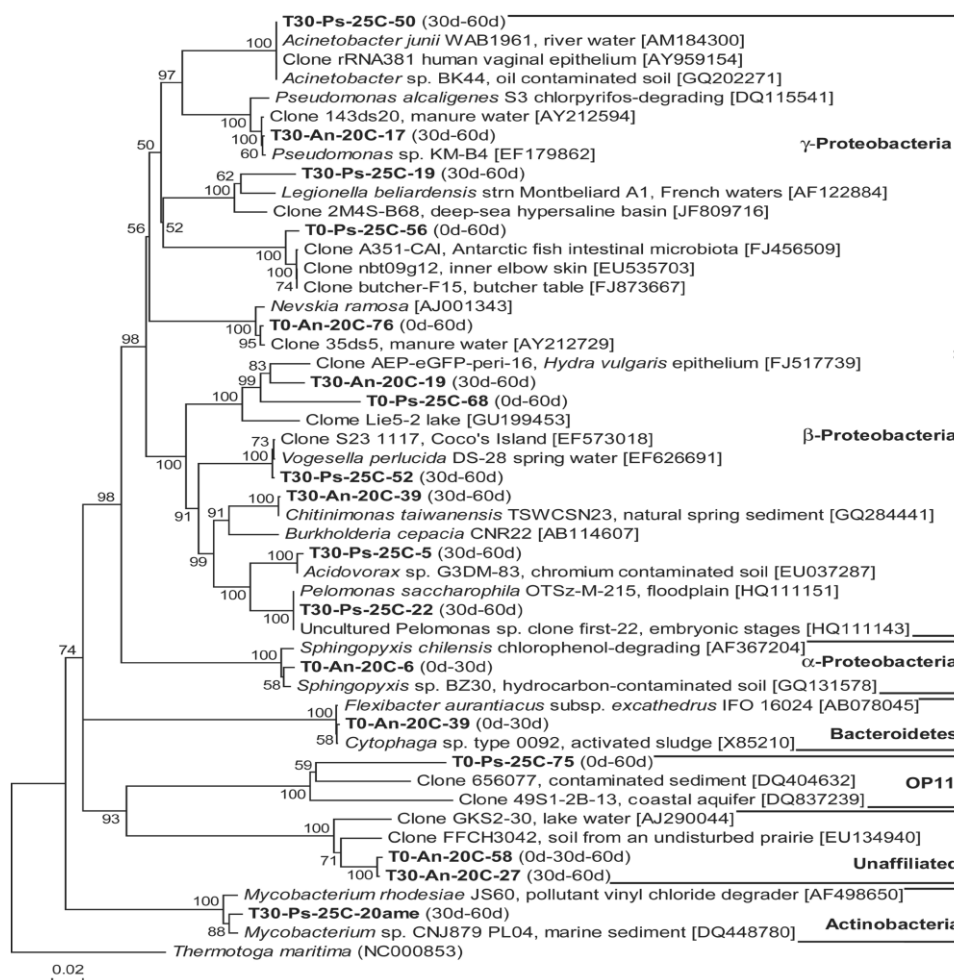
Για κάθε βιβλιοθήκη κλώνων αναλύθηκαν 41 έως 72 κλώνοι, οι οποίοι αντιστοιχούσαν σε 21-50 μοναδικούς φυλότυπους (Σχ.3.21). Το επίπεδο κάλυψης των κλώνων έδειξε ότι ο εκτιμώμενος πλούτος ειδών των δειγμάτων είναι υψηλός, σε συνδυασμό με την έλλειψη οποιουδήποτε κυρίαρχου φυλότυπου (δηλαδή, οι πιο άφθονοι φυλότυποι έφθασαν σε επίπεδα 8,6 % και 13,9 % για την κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο, αντίστοιχα).

Οι πολυάριθμοι φυλότυποι που εμφανίστηκαν με μόνο ένα ή δύο αντίγραφα του γονιδίου 16S rRNA, υποδήλωναν την παρουσία πολυποίκιλων κοινοτήτων που δεν είχαν αποκαλυφθεί πλήρως με την τρέχουσα μεθοδολογία. Και στις δυο μεταχειρίσεις, ο μεγαλύτερος αριθμός των φυλότυπων σημειώθηκε την ημέρα 0 και ο χαμηλότερος σημειώθηκε στις 60 ημέρες για την κιχλιδόζεμπρα και στις 30 ημέρες για αγγελόψαρο. Για κάθε επεξεργασία, μόνο δύο έως έξι φυλότυποι εντοπίστηκαν σε περισσότερες από μία βιβλιοθήκες κλώνων (Σχ.3.21), αλλά η σχετική αφθονία τους ήταν χαμηλή στις περισσότερες περιπτώσεις. Για την κιχλιδόζεμπρα, ο φυλότυπος T0-An-20C-58 εμφανίστηκε σε τρία χρονικά σημεία, αλλά δεν εντοπίστηκαν κοινοί φυλότυποι για το αγγελόψαρο μεταξύ των 30 και 60 ημερών.

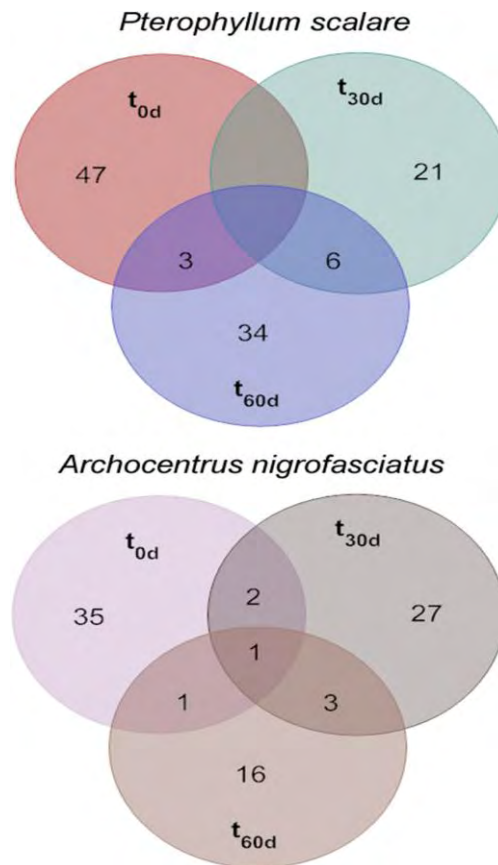
Δεν εντοπίστηκαν κοινοί φυλότυποι που να κυριαρχούν σε οποιοδήποτε από τα χρονικά σημεία δειγματοληψίας, σε κάθε ένα από τα ενυδρεία και για τα δύο είδη

ψαριών. Η φυλογενετική ανάλυση των κοινών φυλότυπων (Σχ.3.21) αποκάλυψε ότι η πλειοψηφία ανήκε στα Proteobacteria. Αυτοί οι φυλότυποι ήταν στενά συνδεδεμένοι με γνωστές ταξινομικές ομάδες: *Acinetobacter junii*, *Pseudomonas* spp., *Nevskia ramosa*, *Vogesella perlucida*, *Chitinomonas taiwanensis*, *Acidovorax* spp. και *Pelomonas saccharophila*. Οι υπόλοιποι φυλότυποι ανήκαν στα α-Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, υποψήφιο φύλο OP11 και σε μία άγνωστη φυλογενετική ομάδα. Ένα υποσύνολο αυτών των φυλότυπων ήταν στενά συνδεδεμένο με γνωστές ταξινομικές ομάδες συμπεριλαμβανομένων των *Sphingopyxis chilensis*, *Flexibacter aurantiacus* subsp. *excathedrus* και *Mycobacterium* spp.

Οι υπόλοιποι φυλότυποι και για τα δύο δείγματα, απαντήθηκαν σε μία μόνο βιβλιοθήκη κλώνων και ανήκαν στα α-, β-, γ-, δ-Proteobacteria, Fusobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Firmicutes και άγνωστες φυλογενετικές ομάδες. Στα δείγματα της κιχλιδόζεμπρας, οι φυλότυποι ανήκαν στα φύλα των Deinococcus-Themus, Planctomycetes, Verrucomicrobia ενώ εντοπίστηκαν και ορισμένοι φυλογενετικοί κλάδοι σχετικοί με πλαστίδια.



Σχήμα 3.21: Φυλογενετικό δέντρο των κοινών βακτηρίων (με έντονους χαρακτήρες) που παρατηρείται στη υδάτινη στήλη των ενυδρείων της κιχλιδοζέμπρας και του αγγελόψαρου κατά την έναρξη (0d), τη μέση (30d) και το τέλος (60d) της περιόδου εκτροφής. *Το δέντρο των φυλότυπων του γονιδίου 16S rRNA των βακτηρίων (περίπου 1.500 bp, 1013 θέσεις) βασίστηκε στη μέθοδο της ένωσης πλησιέστερων γειτόνων, όπως καθορίστηκε μέσω των φυλογενετικών αποστάσεων τους, με τη χρήση της διόρθωσης δύο παραμέτρων του Kimura. Διεξήχθησαν χίλιες αναλύσεις τύπου bootstrap (γενετική απόσταση), και τα ποσοστά $\geq 50\%$ αναγράφονται στους κόμβους. Οι αριθμοί στις παρενθέσεις είναι οι αριθμοί προσβάσης GenBank. Η γραμμική κλίμακας αντιπροσωπεύει το 2% της εκτιμώμενης γενετικής απόστασης.



Σχήμα 3.22: Διάγραμμα Venn για τους φυλότυπους που βρέθηκαν στα δείγματα του νερού των ενυδρείων εκτροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας κατά την έναρξη (t_{0d}), τη μέση (t_{30d}) και το τέλος (t_{60d}) της περιόδου εκτροφής.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. Ποιότητα νερού

Η ποιότητα του νερού παίζει σημαντικό ρόλο στην αναπαραγωγή, στην ανάπτυξη και στη διατήρηση των γεννητόρων της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου. Το είδος του ψαριού που πρόκειται να αναπαραχθεί καθώς και το στάδιο ανάπτυξης στο οποίο βρίσκεται το ψάρι καθορίζουν την ποιότητα του νερού (Yanong 1996). Τα διακοσμητικά ψάρια του γλυκού νερού έχουν αυξημένες απαιτήσεις στην ποιότητα του νερού, παρά την ανθεκτικότητα που πιθανόν να παρουσιάζουν κάποια είδη, σε ό,τι αφορά τις συγκεντρώσεις της ολικής αμμωνίας (T.A.N), των νιτρικών (NO_2^-) και νιτρικών ιόντων (NO_3^-), της ολικής και ανθρακικής σκληρότητας και του pH (Moorhead & Zeng 2010).

Ο Πίνακας 4.1, παρουσιάζει τις απαιτήσεις διαφόρων διακοσμητικών ψαριών ως προς το pH, τη θερμοκρασία ($^{\circ}\text{C}$), την ολική αμμωνία (T.A.N.), τα νιτρώδη ιόντα (NO_2^-), τα νιτρικά ιόντα (NO_3^-), την ανθρακική (KH) και ολική (GH) σκληρότητα, το διαλυμένο οξυγόνο και τη φωτοπερίοδο συμπεριλαμβανομένων της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου, που χρησιμοποιήθηκαν στο παρόν πείραμα και άλλων ειδών ψαριών, όπως καταγράφηκαν σε μελέτες της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς από διάφορους ερευνητές. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας σε ό,τι αφορά τις απαιτήσεις της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου σε pH, θερμοκρασία ($^{\circ}\text{C}$), T.A.N, NO_2^- , NO_3^- , KH και GH και διαλυμένο οξυγόνο, συμφωνούν με εκείνα άλλων ερευνητών που παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.1.

Ένα βασικό κριτήριο που σηματοδότησε την αναπαραγωγή του αγγελόψαρου σε σχέση με άλλα είδη ψαριών όπως για παράδειγμα το είδος *Paracheirodon axelrodi* ή το είδος *Ciclasoma nigrofasciatum* (Πιν.4.1) ήταν το ελαφρώς όξινο pH που

κυμαίνονταν από 6,2 έως 6,8 και το μαλακό νερό με τη σκληρότητα να κυμαίνονταν από 4 °dH (80 mg/L) έως 8 °dH (142 mg/L). Η διάρκεια της φωτοπεριόδου για την αναπαραγωγή και την ανάπτυξη των νυμφών της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου στο παρόν πείραμα διατηρήθηκε σε παρόμοια επίπεδα σε σχέση με εκείνη που παρατηρήθηκε σε άλλα διακοσμητικά είδη ψαριών (Πιν.4.1). Για παράδειγμα στο αγγελόψαρο του θαλασσινού νερού *Centropyge flavissimus* η φωτοπερίοδος διατηρείται σε 12 h ημέρα : 12 h σκοτάδι ή επεκτείνεται μέχρι 24 ώρες φωτός (Olivotto *et al.* 2006a). Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι οι νύμφες του *Amphiprion melanopus* επωφελούνται από την αυξημένη έκθεση στο φως, αλλά μπορούν να απαιτούν μια περίοδο σκότους προκειμένου να βελτιστοποιήσουν την αύξηση βάρους (Arvedlund *et al.* 2000).

Πίνακας 4.1: Ποιότητα του νερού κατά την αναπαραγωγική διαδικασία και την ανάπτυξη των νεαρών ατόμων της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου.

Είδος	pH	T°C	T.A.N. (mg/L)	NO ₂ ⁻ (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	KH	GH	Διαλυμένο οξυγόνο (mg/L)	Φωτοπερίοδος (Φως:Σκοτάδι)	Αναφορά
<i>Amphiprion percula</i>	8,1-8,3	24,0-27,0	0-0,02	0-0,01	<25	-	-	6,5-8,0	14h:10h	Gordon <i>et al.</i> 1998, Onal <i>et al.</i> 2008
<i>Pomacanthus semicirulatus</i>	7,9-8,3	26,0-28,2	-	-	-	-	-	5,62-8,09	-	Leu <i>et al.</i> 2009
<i>Centropyge flavissimus</i>	-	26,0-28,0	-	-	-	-	-	-	24h:0h	Olivotto <i>et al.</i> 2006a
<i>Priolepis nocturna</i>	8,2	30,0	<0,02	<2,0	-	-	-	-	14h:10h	Wittenrich <i>et al.</i> 2007
<i>Pterophyllum scalare</i>	6,8-7,2	26,0-28,0	-	-	100	-	-	-	8h:12h	Swann 1994
<i>Pterophyllum scalare</i>	7,5	28	-	-	-	-	1	-	-	Korzelecka-Orkisz <i>et al.</i> 2012
<i>Pterophyllum scalare</i>	6,8-7,0	27	-	-	-	-	-	7,7-8,0	6h:18h	Cacho <i>et al.</i> 2007
<i>Pterophyllum scalare</i>	6,7-7,0	25-27	-	-	-	-	-	7,1-7,6	12h:12h	Bisnoi 2013
<i>Paracheirodon axelrodi</i>	7,8-8,0	25	0,02-0,9	0,04-0,08	-	-	-	6,2-8,2	-	De Oliveira <i>et al.</i> 2008
<i>Pterophyllum scalare</i>	8,6	25-27	0,3	-	-	-	8	6	-	Ghiasi & Jasour 2012
<i>Archocentrus nigrofasciatus</i>	6,5-8,0	22-27	0	0	-	-	9-20	-	-	Bangerter 2007
<i>Ciclasoma nigrofasciatum</i>	7,5	28	-	-	-	-	9	6,9	16h:8h	Mousavi-Sabet 2011
<i>Cichlasoma managuense</i>	7	28,1	-	-	-	-	-	6,4	13h:11h	Gunther <i>et al.</i> 1992
<i>Cyprinus carpio (koi)</i>	6,1-7,5	-	0,20	0,007	0,148	-	-	6,35	-	Jha <i>et al.</i> 2008
<i>Symphysodon aequifasciata</i>	6,2-6,8	27-30	0	0	5	1	2	-	12h:12h	Axelrod & Scott 2005
<i>Archocentrus nigrofasciatus</i>	7	23-27	0,16-0,23	0	5-7	6	10-20	8,5	12h:12h	Παρούσα μελέτη
<i>Pterophyllum scalare</i>	6,2-7,4	29	0,14-0,17	0	17-18	2-4,5	4	8,5	12h:12h	Παρούσα μελέτη

4.2. Αναπαραγωγική διαδικασία κιχλιδόζεμπρας και αγγελόψαρου

Η κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο είναι δυο από τα πιο εμπορικά διακοσμητικά είδη της οικογένειας Cichlidae. Ανήκουν στα διακοσμητικά είδη τα οποία εναποθέτουν τα αυγά τους σε υπόστρωμα (Axelrod & Sweeney 1992, Wisenden 1995, Axelrod & Scott 2005, Gumm & Itzkowitz 2007, Cacho *et al.* 2007). Η αποτελεσματικότητα της αναπαραγωγής εξαρτάται από την εποχή και τη συχνότητα της αναπαραγωγικής δραστηριότητας. Στη φύση για παράδειγμα, η περίοδος της αναπαραγωγής είναι σχετικά μικρή, διαρκεί περίπου 3-4 μήνες (Axelrod & Sweeney 1992, Wisenden 1995) και λαμβάνει χώρα όταν η θερμοκρασία του νερού και η φωτοπερίοδος αυξάνονται (Cacho *et al.* 2007, Alonso *et al.* 2011).

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας έδειξαν ότι η κιχλιδόζεμπρα χαρακτηρίζεται από μια μακρά περίοδο ωοτοκίας η οποία διαρκεί σχεδόν όλο το χρόνο (από τον Απρίλιο έως το Δεκέμβριο), ενώ ο κύκλος αναπαραγωγής του αγγελόψαρου είναι μεσαίας διάρκειας (περίπου 8 μήνες, Μάιο-Νοέμβριο), υπό την προϋπόθεση ότι η θερμοκρασία του νερού δεν μεταβάλλονταν.

Η περίοδος ωοτοκίας που παρατηρήθηκε στην κιχλιδόζεμπρα και στο αγγελόψαρο ήταν παρόμοιας διάρκειας από την αντίστοιχη περίοδο που εμφανίζουν τα περισσότερα νεοτροπικά είδη ψαριών και αναφέρονται σε μελέτες, όπως για παράδειγμα το *Cichlasoma dimerus* (Alonso *et al.* 2011), το *Neotroplus nematopus* (McKaye *et al.* 2010), το *Pterophyllum scalare* (Swann 1994, Axelrod & Scott 2005, Cacho *et al.* 2007), τα οποία αναπαράγονται σε συνθήκες αιχμαλωσίας. Ο Wisenden (1995), αναφέρει ότι ελάχιστα είδη διακοσμητικών ψαριών αναπαράγονται περισσότερο από μια φορά στον ίδιο κύκλο αναπαραγωγής. Για παράδειγμα το 28%

των αρσενικών ατόμων του *Cichlasoma nigrofasciatum* αναπαράγεται στο πεδίο μια φορά, ενώ μόνο το 5% των θηλυκών ατόμων του ίδιου είδους αναπαράγεται 2 φορές στον ίδιο κύκλο αναπαραγωγής. Επίσης, στην ίδια μελέτη αναφέρεται ότι, τα αρσενικά και θηλυκά άτομα του *Cichlasoma nigrofasciatum* στην συντριπτική τους πλειοψηφία τους (58 στα 59 άτομα) επανέλαβαν την ωοτοκία στον ίδιο κύκλο παραγωγής με άλλο σύντροφο. Η συχνότητα ωοτοκίας εξαρτάται από τον αριθμό των αυγών ή των απογόνων με τα μεγαλύτερα θηλυκά άτομα να εναποθέτουν περισσότερα αυγά απ' ό,τι τα μικρότερα σε μέγεθος άτομα μέσα σ' ένα κύκλο αναπαραγωγής (Coleman & Gross 1991).

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι το κυρίαρχο ζευγάρι της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου μεταφέρθηκε στο ενυδρείο αναπαραγωγής και, 2 με 3 εβδομάδες μετά, υπεράσπιζε επιθετικά την περιοχή ωοτοκίας του, εκδηλώνοντας στερεότυπες δραστηριότητες προ-ωοτοκίας, όπως για παράδειγμα σπασμωδικές κινήσεις, το σώμα τους πάλλοταν (έτρεμε), σκάψιμο στο χαλίκι (για την κιχλιδόζεμπρα), καθάρισμα πλαστικού υποστρώματος (για το αγγελόψαρο), το ένα «τσιμπούσε» το άλλο στην έδρα ή στα πλευρικά σα να μάχονται πάνω από το υπόστρωμα εναπόθεσης. Οι Axelrod & Sweeney (1992), ο Santangelo (2005), οι Early *et al.* (2006) και οι Gumm & Itzkowitz (2007) μελετώντας την αναπαραγωγική δραστηριότητα της κιχλιδόζεμπρας κατέληξαν στα ίδια αποτελέσματα. Επίσης, σε ότι αφορά το αγγελόψαρο, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν με εκείνα των Swann (1992), Cacho *et al.* (2006), Vlachos *et al.* (2008), Faramarzi *et al.* (2011) και των Korzelecka-Orkisz *et al.* (2012), όπου το αγγελόψαρο κατά την αναπαραγωγή του εκδήλωσε δραστηριότητες προ-ωοτοκίας.

Η κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο παρουσιάζουν οργανωμένη αναπαραγωγική δραστηριότητα (προσέλκυση αντίθετου φύλου, προ-ωοτοκία, γονική φροντίδα) (Axelrod & Sweeney 1992, Swann 1994, Santangelo 2005, Early *et al.* 2006, Cacho *et al.* 2006, Gumm & Itzkowitz 2007, Vlachos *et al.* 2008, Faramarzi *et al.* 2011, Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012). Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι η αναπαραγωγή της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου εκδηλώθηκε από το μεγαλύτερο σε μέγεθος αρσενικό άτομο, το οποίο επιλέχθηκε από το θηλυκό άτομο. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με εκείνα των Nooman *et al.* (1983), Garliardi-Seeley *et al.* (2009) και Arnott & Elwood (2010), όπου τα θηλυκά άτομα του είδους *Amatitlania nigrofasciata* επιλέγουν το μεγαλύτερο αρσενικό άτομο μεταξύ δυο αρσενικών. Οι Nuttal & Keenleyside (1993), αναφέρουν ότι το αρσενικό άτομο κιχλιδόζεμπρας επιλέγει για αναπαραγωγή το μεγαλύτερο σε μέγεθος θηλυκό άτομο. Επίσης, οι Alonso *et al.* (2011) έδειξαν ότι τα θηλυκά άτομα του *C. dimerus*, παρά το γεγονός ότι έχουν ήδη επιλέξει ένα αρσενικό άτομο, κατά την περίοδο προσέλκυσης του αντίθετου φύλου (φλερτ), επισκέπτονταν δυο αρσενικά άτομα ταυτόχρονα μέχρι να ωοτοκήσουν εφαρμόζοντας ως τακτική «το φλερτ».

Ένα άλλο χαρακτηριστικό που παρατηρήθηκε στην αναπαραγωγή της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου είναι η αυξημένη επιθετικότητα που παρουσίασαν κατά την περίοδο της αναπαραγωγής τους. Τα περισσότερα είδη της οικογένειας Cichlidae, όπως το *Amphilophus citrinellus* (Rogers 1987), το *Cichlasoma dimerus* (Fiszbzbein *et al.* 2010, Alonso *et al.* 2011), το *Laetacara araguaiaie* (Teresa & Concalves-de-Freitos 2011), το *Pterophyllum scalare* (Yamamoto *et al.* 1999), το *Astatotilapia burtonic* (Fernald 2002), η τιλάπια *Oreochromis aureus* (Keenleyside 1991) και το *Neotroplus nematopus* (Mckaye *et al.* 2010) επιδεικνύουν την ίδια

ακριβώς επιθετικότητα που εκδηλώνεται από το αρσενικό άτομο της κιχλιδόζεμπρας, δείχνοντας αυξημένη επιθετικότητα προς τα υπόλοιπα αρσενικά άτομα σε σχέση με τα θηλυκά άτομα κιχλιδόζεμπρας και αγγελόψαρου στο ενυδρείο. Ένα άλλο χαρακτηριστικό που εκδήλωσαν και τα δυο διακοσμητικά είδη κατά την αναπαραγωγή, ήταν η αλλαγή του χρώματος στις κάθετες λωρίδες οι οποίες έγιναν πιο σκούρες. Σύμφωνα με τους Beeching *et al.* (1998), οι αλλαγές που παρατηρούνται στο χρωματισμό ανάμεσα στα θηλυκά άτομα, επηρεάζοντας την επιθετικότητα ανάμεσα στα ώριμα θηλυκά, ελέγχονται από το νευρικό σύστημα του ψαριού.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι η κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο παρουσίασαν αυξημένη γονική φροντίδα, η οποία παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια επώασης των αυγών και κατά τη διάρκεια ανάπτυξης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου και διήρκησε μέχρι το στάδιο της ελεύθερης κολύμβησης. Στα μελετηθέντα είδη το στάδιο της ελεύθερης κολύμβησης παρατηρήθηκε σε ηλικία 170-174 h (\approx 7 ημέρες) μετά την εκκόλαψη. Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξαν οι McKaye (2010), μελετώντας τη βιολογία αναπαραγωγής του ενδημικού είδους της Κεντρικής Αμερικής *Neotropus nematorus*, όπου διαπίστωσαν ότι η γονική φροντίδα διήρκησε μέχρι το στάδιο της ελεύθερης κολύμβησης, 5-6 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση. Τα μεγαλύτερα ζευγάρια των κιχλίδων κερδίζουν ένα πλεονέκτημα στην αναπαραγωγή, εξαιτίας της αποτελεσματικής γονικής φροντίδας που παρέχουν (Alonzo *et al.* 2001). Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι το μέγεθος των γεννητόρων και η έκταση της γονικής φροντίδας επηρέασαν αποτελεσματικά την αναπαραγωγή της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου και συμφωνούν με εκείνα των Alonzo *et al.* (2001), όπου μελέτησαν τη γονική φροντίδα του *Archocentrus nigrofasciatus* στη λίμνη Xiloa της Νικαράγουα. Τα μικρότερα σε μέγεθος είδη, όπως το *A. nigrofasciatus* και το

Neotroplus nematopus, φαίνονται να ωφελούνται περισσότερο σε σχέση με τα μεγαλύτερα είδη (όπως για παράδειγμα το *Dimidiochromis compressiceps*) εξαιτίας της συνεργασίας που παρουσιάζουν προκειμένου να προστατεύσουν τους απογόνους τους (McKaye *et al.* 2010). Το μέγεθος του σώματος παίζει σημαντικό ρόλο στα συγκεκριμένα είδη ψαριών για την απόκτηση της περιοχής ωοτοκίας (McKaye 1977), στην επιλογή συντρόφου (Noonan 1983), στην υπεράσπιση των νεογνών (Keenleyside 1985) και στη γονιμότητα (Townshend & Wootten 1985).

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ακόμη ότι, μεγαλύτερα ποσοστά εκκόλαψης και επιβίωσης (85%) παρατηρήθηκαν όταν κατά τη διαδικασία της επώασης συμμετέχει ενεργά το ζευγάρι της κιχλιδόζεμπρας. Μικρότερα ποσοστά εκκόλαψης (8,9%) παρατηρήθηκαν όταν το ζευγάρι απομακρύνθηκε από το ενυδρείο. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν με εκείνα των Alonso *et al.* (2001) και Alonso *et al.* (2011), οι οποίοι μελέτησαν τη συμπεριφορά της κιχλιδόζεμπρας, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η αυξημένη επιβίωση οφείλονταν στη γονική φροντίδα που εκδηλώνει το είδος κατά την περίοδο αναπαραγωγής. Επίσης, οι Olivotto *et al.* (2006) μελετώντας την αναπαραγωγή του *Centropyge flavissimus* σε θερμοκρασία 26 °C κατέγραψαν αυξημένα ποσοστά εκκόλαψης (98%) και επιβίωσης (90%) στις προνύμφες του είδους.

Σε ό,τι αφορά το αγγελόψαρο, ο βαθμός εκκόλαψης και επιβίωσης ήταν μικρότερος όταν απομακρύνθηκε το ζευγάρι από το ενυδρείο κατά την επώαση και την ανάπτυξη των νυμφών (στάδιο λήψης εξωγενούς τροφής), σε αντίθεση με τα αυξημένα ποσοστά εκκόλαψης (85%) που παρατηρήθηκαν όταν το ζευγάρι δεν απομακρύνθηκε από το ενυδρείο. Στα περισσότερα διακοσμητικά ψάρια, η επιβίωση των αυγών και των εμβρύων εξαρτάται από την επιθετικότητα του αρσενικού ατόμου και τη γονική

φροντίδα, όπως για παράδειγμα στο *P. scalare* (Cacho *et al.* 2006) στο *C. dimerus* (Meijidae & Guerrero 2000), στο *A.nigrofasciatus* (Alonzo *et al.* 2000, Alonso *et al.* 2011), στο *Cichlasoma citrinellum* (Roger 1995), στο *Neetroplus nematopus* (McKaye *et al.* 2010), στο *Laetacara araguaiae* (Teresa & Goncalves-de-Freitas 2011), στο *Symphosodon aequifasciatus* (Coleman 2002) και στο αγγελόψαρο του θαλασσινού νερού (*Chaetodontoplus septentriinalis*) (Leu *et al.* 2010).

Στην παρούσα μελέτη δείχθηκε ότι η αναπαραγωγή του αγγελόψαρου είναι πιο αποτελεσματική σε όξινο pH σε αντίθεση, με το αλκαλικό pH, εξαιτίας των ειδικών απαιτήσεων και των μηχανισμών που αναπτύσσει το αγγελόψαρο στο φυσικό περιβάλλον. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν οι Swann (1992), οι Axelrod & Sweeney (1992) και οι Cacho *et al.* (2006), οι οποίοι μελέτησαν την αναπαραγωγή του αγγελόψαρου σε ελεγχόμενες συνθήκες.

4.2.1. Οντογένεση κιχλιδόζεμπρας και αγγελόψαρου

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ανάπτυξη του εμβρυικού σταδίου δύο χαρακτηριστικών αντιπροσώπων της οικογένειας Cichlidae, της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου. Και τα δυο είδη ψαριών είναι μονογαμικά, εναποθέτουν τα αυγά τους σε υπόστρωμα, ενώ η αναπαραγωγική τους δραστηριότητα χαρακτηρίζεται ως σύγχρονη (Jones 1972, Yoshida *et al.* 1996, Cacho *et al.* 2007, Alonso *et al.* 2011). Και τα δυο είδη, οργανώνουν μεθοδικά και επιδέξια την αναπαραγωγική τους δραστηριότητα (Jones 1972, Cacho *et al.* 2006) και δεν διαφέρουν από τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας που επωάζουν τα αυγά στη στοματική τους κοιλότητα (Fujimura & Okada 2007).

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι τα αυγά της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου ήταν κολλώδη με ελλειπτικό σχήμα και παρέμειναν προσκολλημένα στο υπόστρωμα με τη βοήθεια ινών, μέχρι να απορροφήσουν το λεκιθικό τους σάκο. Παρουσίασαν τα ίδια χαρακτηριστικά με τα είδη τα οποία η προεκβολή της έδρας ήταν μεγαλύτερη, όπως παρατηρείται στο αλγοφάγο πλακόστομα, *Ancistrus dolichopterus* (Aldridge 1999).

Οι τιμές των μορφομετρικών χαρακτήρων των αυγών στην κιχλιδόζεμπρα και στο αγγελόψαρο βρίσκονταν ανάμεσα στο εύρος διακύμανσης των διαφόρων ειδών της οικογένειας Cichlidae που έχουν μελετηθεί, με τη διάμετρό τους να τοποθετείται πολύ κοντά σε αυτή του *Cichlasoma dimerus*, του *Symphosodon aequifasciatus* και του *Aequidens pulcher* κατατάσσοντας τα, σε μια μικρή έως μεσαία μεγέθους κλίμακα (Πιν.4.2).

Η διάμετρος (μήκος, πλάτος) των αυγών, το σχήμα, η σύσταση και ο χρωματισμός της λεκίθου, ο αριθμός και το μέγεθος των σταγόνων λιπιδίων παίζουν σημαντικό και ουσιαστικό ρόλο στην συστηματική τους ταξινόμηση (Keenleyside 1991, Kamler 1992, Diwan & Dhakad 1995). Το μέγεθος του αυγού δεν αποτελεί κριτήριο ταξινομικής αξίας των αυγών αφού επηρεάζεται από βιολογικούς παράγοντες (ηλικία και μέγεθος γεννητόρων), γενετικούς παράγοντες (κληρονομικότητα, γενεαλογικές σχέσεις), χώρο-χρονικούς παράγοντες (γεωγραφική κατανομή, εποχικότητα), περιβαλλοντικούς παράγοντες (θερμοκρασία, αλατότητα, οξυγόνο, ρύπανση) και διαχειριστικούς παράγοντες (συγκέντρωση αυγών στην επώαση, μηχανικό στρες) (Chambers & Trippel 1997, Keenleyside 1991). Η διάμετρος των αυγών μπορεί να καθορίζει θεωρητικά τα είδη της κάθε οικογένειας επειδή το μέγεθος του αυγού διαφέρει ακόμη και ανάμεσα στα θηλυκά άτομα του ίδιου είδους και

εξαρτάται από την ηλικία, το χρόνο ωοτοκίας, τη γεωγραφική προέλευση και τη διατροφή του είδους (Kjorvik *et al.* 1990). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, τα αυγά της κιχλιδόζεμπρας είχαν μήκος $1,74 \pm 0,21$ mm και πλάτος $1,35 \pm 0,18$ mm, συνολικής διαμέτρου $1,6 \pm 0,20$ mm το οποίο προέκυψε από δείγμα 500 αυγών. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξε ο Coleman (2002), ο οποίος υπολόγισε τη διάμετρο της κιχλιδόζεμπρας από δείγμα 170 αυγών και βρέθηκε να είναι 1,5 mm. Επίσης, η διάμετρος των αυγών της κιχλιδόζεμπρας βρέθηκε να είναι περίπου ίση με τη διάμετρο των αυγών του *Cichlasoma dimerus* (1,5 mm) (Meijide & Guerrero 2000), μεγαλύτερη κατά 0,5 mm από τη διάμετρο των αυγών του *Symphosodon aequifasciatus* (Coleman 2002) και μικρότερη κατά 0,7 mm από τη διάμετρο των αυγών του *Geophagus steindachneri* (Coleman 2002). Αντίστοιχα, το αυγό του αγγελόψαρου είχε μήκος $1,46 \pm 0,20$ mm και πλάτος $1,21 \pm 0,15$ mm, συνολικής διαμέτρου $1,3 \text{ mm} \pm 0,17$ mm το οποίο προέκυψε από δείγμα 465 αυγών μέσου νεπού βάρους $1,02 \pm 0,12$ g. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν οι Korzelecka-Orkisz *et al.* (2012) και ο Coleman (2002), όπου η διάμετρος του αυγού του αγγελόψαρου υπολογίστηκε σε 1,3 mm και περίπου ίση με τη διάμετρο των αυγών του *Symphosodon aequifasciatus* (Coleman 2002). Τα αυγά των αγγελόψαρων είχαν τη μικρότερη διάμετρο σε σύγκριση με αυτά των ειδών της οικογένειας Cichlidae (Coleman 2002) και μεγαλύτερη από τα αυγά της οικογένειας Pomacanthidae (Leu *et al.* 2009). Είναι 5 φορές μικρότερα από τα αυγά του *Theraps irregular* (2,2mm) και 8 φορές μικρότερα από τα αυγά του *Thorichthys tuba* (2,6 mm), (Coleman 2002).

Το κυτταρόπλασμα των αυγών της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου ήταν ενιαίο και η λέκιθος παρουσίαζε πολυάριθμα μικρά σταγονίδια λιπιδίων, τα οποία ήταν διάσπαρτα σε όλο τον όγκο του αυγού με αποτέλεσμα να καθίσταται δύσκολη η

μέτρηση της διαμέτρου και ο υπολογισμός του όγκου της. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν οι Korzelecka-Orkisz *et al.* (2012) για τη μορφολογία των αυγών του αγγελόψαρου, οι Fujimura & Okada (2007) για τα αυγά του *Oreochromis niloticus*, ο Jones (1972) για τα αυγά των ειδών *Cichlasoma bimaculatum*, *Cichlasoma biocellatum*, *Cichlasoma nigrofasciatum* και του *Hemichromis bimaculatus*, οι Meijide & Guerrero (2000) και οι Pandolfi *et al.* (2009) για τα αυγά του *Cichlasoma dimerus*.

Η εξέλιξη της εμβρυϊκής ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου της παρούσας μελέτης ακολούθησε σε γενικές γραμμές το πρότυπο μοντέλο ανάπτυξης των ειδών της οικογένειας Cichlidae. Η σειρά εμφάνισης των αναπτυξιακών γεγονότων στα μελετηθέντα είδη παρουσίαζε πολλές ομοιότητες με την αντίστοιχη χρονολογική και μορφολογική διαδοχή των *Cichlasoma bimaculatum*, *Cichlasoma biocellatum*, *Cichlasoma nigrofasciatum* και του *Hemichromis bimaculatus* (Jones 1972), του *Cichlasoma dimerus* (Meijide & Guerrero 2000, Pandolfi *et al.* 2009), του *Pterophyllum scalare* (Yosida *et al.* 1996, Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012), του *Oreochromis niloticus* (Fujimura & Okada 2007) και του *Danio rerio* (Parichy *et al.* 2009).

Πίνακας 4.2: Χαρακτηριστικές διαστάσεις των αυγών της οικογένειας *Cichlidae*.

Είδος	Μήκος αυγού (mm)	Πλάτος αυγού (mm)	Διάμετρος αυγού (mm)	Αναφορά
<i>Amphilophus citrinellum</i>	2	1,4	1,6	Coleman 2002
<i>Archocentrus nigrofasciatus</i>	1,8	1,3	1,5	Coleman 2002
<i>Archocentrus spilurus</i>	2	1,4	1,6	Coleman 2002
<i>Heros severus</i>	1,7	1,3	1,4	Coleman 2002
<i>Herotilapia multispinosa</i>	1,6	1,3	1,4	Coleman 2002
<i>Hypsophrys nicaraguensis</i>	2,2	1,7	1,9	Coleman 2002
<i>Neetroplus nematopus</i>	2,6	1,9	2,1	Coleman 2002
<i>Parachromis dovii</i>	2,9	2,1	2,4	Coleman 2002
<i>Petenia splendida</i>	2,2	1,7	1,8	Coleman 2002
<i>Pterophyllum scalare</i>	1,5	1,2	1,3	Coleman 2002
<i>Pterophyllum scalare</i>	1,4	1,2	1,3	Korzelecka-Orkisz <i>et al.</i> 2012
<i>Symphosodon aequifasciatus</i>	1,5	1,1	1,2	Coleman 2002
<i>Cichlasoma facetum</i>	2	1,5	1,7	Coleman 2002
<i>Cichlasoma festae</i>	2,5	1,8	2	Coleman 2002
<i>Cichlasoma salvini</i>	1,9	1,4	1,6	Coleman 2002
<i>Geophagus steindachneri</i>	2,6	2,1	2,3	Coleman 2002
<i>Thorichthys tuba</i>	3,1	2,4	2,6	Coleman 2002
<i>Ciclasoma bimaculatum</i>	1,7	1,3	1,4	Coleman 2002
<i>Cichlasoma dimerus</i>	1,6	1,2	1,4	Coleman 2002
<i>Cichlasoma dimerus</i>	1,7	1,3	1,5	Meijide & Guerrero 2000
<i>Theraps irregular</i>	2,6	2	2,2	Coleman 2002
<i>Archocentrus nigrofasciatus</i>	1,7	1,4	1,6	Παρούσα έρευνα
<i>Pterophyllum scalare</i>	1,5	1,2	1,3	Παρούσα έρευνα

4.2.2. Λεκιθοφόρο νυμφικό και νυμφικό στάδιο ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου

Το πρότυπο της μορφολογικής ανάπτυξης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου των ειδών της οικογένειας Cichlidae, αφορά πρωτογενώς την οργανογένεση και δευτερογενώς την εξασφάλιση της κολυμβητικής και της τροφοληπτικής ικανότητας, τα οποία είναι τα βασικά χαρακτηριστικά του μετα-λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου (Jones 1972, Meijidae & Guerrero 2000, Fujimura & Okada 2007, Pandolfi *et al.* 2009).

Οι λεκιθοφόρες και μεταλεκιθοφόρες νύμφες (έως το στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυδίου) της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου, ακολούθησαν το ίδιο πρότυπο μοντέλο ανάπτυξης με τα περισσότερα είδη της οικογένειας Cichlidae, ανεξάρτητα εάν επωάζουν τα αυγά στο στόμα ή τα εναποθέτουν στο υπόστρωμα (Jones 1972, Meijide & Guerrero 2000, Fujimura & Okada 2007, Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012).

Η ομοιογένεια και η αδιαφάνεια του λεκιθικού σάκου, η έντονη παρουσία των μελανοφόρων κυττάρων σε όλο τον όγκο του λεκιθικού σάκου, η δυσδιάκριτη σταγόνα λιπιδίου καθώς και η ομοιότητα που παρουσιάζουν οι λεκιθοφόρες νύμφες με τα έμβρυα πριν από την εκκόλαψη, συγκαταλέγονται στα κοινά χαρακτηριστικά ανάμεσα στα είδη της οικογένειας Cichlidae. Η ανάπτυξη των μορφομετρικών χαρακτήρων της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου γίνεται με γρήγορους ρυθμούς και εξαρτάται από την ηλικία του ψαριού (Keenleyside 1991, Kamler 1992, Diwan & Dhakad 1995).

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι ο κορμός της λεκιθοφόρας νύμφης της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου, σχεδόν σ' όλο το

μήκος της (από τους οφθαλμούς έως το ουραίο τμήμα) περιβάλλονταν από την πρωτογενή περιφερειακή πτερυγιοπτυχή, η οποία ήταν διάφανη και λεπτή. Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξε ο Jones (1972), οποίος μελέτησε τα είδη *Cichlasoma bimaculatum*, *Cichlasoma biocellatum*, *Cichlasoma nigrofasciatum* και το *Hemichromis bimaculatus*, οι Meijide & Guerrero (2000) που μελέτησαν το *Cichlasoma dimerus* και οι Korzelecka-Orkisz *et al.* (2012) που μελέτησαν το *Pterophyllum scalare*.

Το μήκος της νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης της κιχλιδοζέμπρας (Πιν.4.3), που καταγράφηκε στην παρούσα μελέτη ήταν μεγαλύτερο κατά 0,84 mm από το μήκος που παρουσιάζει η νέο-εκκολαπτόμενη νύμφη του *Cichlasoma dimerus* (Meijide & Guerrero 2000, Pandolfi *et al.* 2009), 1,2 φορές μεγαλύτερο, από το μήκος του *P. scalare* (Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012) και μικρότερο κατά 0,6 mm από το μήκος της νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης του *Oreochromis niloticus* (Fujimura & Okada 2007). Το μήκος της νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης του αγγελόψαρου (Πιν.4.3) ήταν περίπου ίσο με εκείνο που εμφανίζουν τα αγγελόψαρα στη μελέτη των Korzelecka-Orkisz *et al.* (2012) και 1-1,5 φορές μικρότερο από το μήκος που παρουσιάζουν αντίστοιχα η νύμφη του *Cichlasoma dimerus* (Meijide & Guerrero 2000), του *Oreochromis niloticus* (Fujimura & Okada 2007) και της ζέμπρας *Danio rerio* (Kimmel *et al.* 1995). Επίσης, οι νέο-εκκολαπτόμενες νύμφες της κιχλιδοζέμπρας και του αγγελόψαρου ήταν, αντίστοιχα, 2,5 φορές και 1 φορά μεγαλύτερες από το μήκος των θαλασσινών διακοσμητικών ψαριών, όπως για παράδειγμα του *C. flavicauda* (Hioki 1999), του *C. flavissimus* (Olivotto *et al.* 2006a) και του *C. multicolor* (Baensch 2003), (Πιν.4.3).

Πίνακας 4.3: Σύγκριση της κηλιδοζέμπρας και του αγγελόψαρου με άλλα διακοσμητικά είδη ψαριών.

Είδη	Παραγωγή αυγών	Διάμετρος αυγού (mm)	Θερμοκρασία επώασης (°C)	Ωρα εκκόλαψης (h)	TL Νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης (mm)	Απορρόφηση λεκιθικού σάκου (d)	TL κατά την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου (mm)	Αναφορές
<i>Apolemichthys trimaculatus</i>	Φυσική ωοτοκία	0,75-0,80	25,4-26,0	16-17	1,60-1,63	3	2,84-2,92	Hioki & Suzuki (1995b)
<i>Centropyge flavicauda</i>	Φυσική ωοτοκία	0,68-0,73	26,5-27,5	14-15	1,13-1,25	3	2,15-2,38	Hioki (1999)
<i>Centropyge flavissimus</i>	Φυσική ωοτοκία	0,70-0,75	26,5-27,0	15-16	1,55-1,63	3	2,55-2,63	Olivotto <i>et al.</i> (2006a)
<i>Centropyge heraldi</i>	Φυσική ωοτοκία	0,73-0,75	26,4-27,1	13-14	1,45-1,63	3	2,36-2,74	Hioki (1999)
<i>Centropyge multicolor</i>	Φυσική ωοτοκία	0,7	27	16-18	-	2	2,3	Baensch (2003)
<i>Centropyge multispinis</i>	Φυσική ωοτοκία	0,70-0,73	27,1	15-16	1,43-1,50	3	2,64-2,72	Hioki (1999)
<i>Genicanthus Lamarck</i>	Φυσική ωοτοκία	0,75-0,80	24,5-24,9	17-18	1,58-1,68	3	3,00-3,08	Suzuki <i>et al.</i> (1979)
<i>Genicanthus melanospilos</i>	Φυσική ωοτοκία	0,73-0,75	27,0-27,5	13-14	1,50-1,55	-	-	Hioki <i>et al.</i> (1982)
<i>Danio rerio</i>	Φυσική ωοτοκία	-	25-33	48-72	3,1	3	3,5-4,6	Kimmel <i>et al.</i> (1995)
<i>Pomacantus semicirculatus</i>	Φυσική ωοτοκία	0,57-0,64	24,8-28,5	18-21	1,32-1,40	3	2,32-2,44	Leu <i>et al.</i> (2009)
<i>Cichlasoma dimerus</i>	Φυσική ωοτοκία	1,5	27	55	3,32	2	5,38	Meijide & Guerrero 2000
<i>Cichlasoma dimerus</i>	Φυσική ωοτοκία	1,5	27	55	3,32	2	5,5	Pandolfi <i>et al.</i> (2009)
<i>Pterophyllum scalare</i>	Φυσική ωοτοκία	1,3	28	54-56	2,6	2,5-3	5,7	Korzelecka-Orkisz <i>et al.</i> (2012)
<i>Oreochromis niloticus</i>	Φυσική ωοτοκία	2,5	28	90-110	4,9	9-10,	8,1	Fujimura & Okada 2007
<i>Archocentrus nigrofasciatus</i>	Φυσική ωοτοκία	1,6	27	72-80	4,16	3	5,31	Παρούσα έρευνα
<i>Pterophyllum scalare</i>	Φυσική ωοτοκία	1,3	29	60-72	2,9	2,5-3	5,2	Παρούσα έρευνα

Φυσική ωοτοκία: αύξηση θερμοκρασίας

T.L: Ολικό μήκος (mm)

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν με εκείνα των Meijidae & Guerrero (2000) όπου μελέτησαν το είδος *Cichlasoma dimerus*, του Jones (1972), που μελέτησε τα είδη *Cichlasoma bimaculatum*, *Cichlasoma biocellatum*, *Cichlasoma nigrofasciatum* και του *Hemichromis bimaculatus*. Το μέγεθος του λεκιθικού σάκου βρέθηκε ότι εξαρτάται κυρίως από τις διαστάσεις του αυγού και από την ποσότητα της λεκίθου που έχει καταναλωθεί από το έμβρυο πριν την εκκόλαψη (Kendall *et al.* 1984, Fujimura & Okada 2007, Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012). Σύμφωνα με τους Balon (1977) και Holden & Bruton, (1994), ο λεκιθικός σάκος χρησιμεύει ως μια συμπληρωματική πηγή διατροφής, προκειμένου οι λεκιθοφόρες νύμφες να αναπτύξουν δυνατότητες για την συλλογή της τροφής τους από το εξωτερικό περιβάλλον, που αρχίζει με την έναρξη του σταδίου της ελεύθερης κολύμβησης, όπως παρατηρείται και στην παρούσα μελέτη.

Ο ρυθμός κατανάλωσης των λεκιθικών αποθεμάτων κατά τη διάρκεια του αυτότροφου σταδίου, είναι σταθερά αυξανόμενος, ενώ ο όγκος του λεκιθικού σάκου μειώνεται με την πάροδο του χρόνου και την εξέλιξη του σταδίου και εξαρτάται από τη θερμοκρασία. Τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης συμφωνούν με εκείνα των Fujimura & Okada (2007), οι οποίοι μελέτησαν το *Oreochromis niloticus* και με τους Leu *et al.* (2010), όπου μελέτησαν το είδος *Chaetodontoplus septentrionalis* της οικογένειας Pomacanthidae. Στην παρούσα μελέτη, παρατηρήθηκε ότι τα λεκιθικά αποθέματα δεν εξαντλήθηκαν πλήρως κατά το στάδιο μετάβασης από την ενδογενή στην εξωγενή θρέψη και για τα δυο είδη ψαριών. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με εκείνα των Meijidae & Guerrero (2000) που μελέτησαν το *C. dimerus* και των Korzelecka-Orkisz *et al.* (2012), που μελέτησαν το *P. scalare*, παρατηρώντας περίπου την ίδια συμπεριφορά των νυμφών κατά την μετάβαση από την ενδογενή στην εξωγενή

θρέψη. Μέχρι την ώρα που οι νύμφες της κιχλιδοζέμπρας και του αγγελόψαρου άρχισαν να κολυμπούν ελεύθερα, δηλαδή την 8^η ημέρα και την 6^η ημέρα από την γονιμοποίηση, αντίστοιχα, τα σκελετικά και αισθητήρια συστήματα είχαν αναπτυχθεί επαρκώς επιτρέποντας την αναζήτηση της τροφής. Η εκκόλαψη για την κιχλιδοζέμπρα ξεκίνησε 72 και 76 h στους 23 °C και 27 °C, αντίστοιχα, ενώ η αλλαγή που παρατηρήθηκε ήταν ο χρωματισμός των οφθαλμών τέσσερις ώρες μετά την εκκόλαψη. Στα ίδια περίπου αποτελέσματα κατέληξαν και οι Meijidae & Guerrero (2000) για το είδος *Cichlasoma dimerus*. Στο αγγελόψαρο η εκκόλαψη ξεκίνησε στις 62 h και ολοκληρώθηκε στις 72 h στους 29 °C. Οι Korzelecka-Orkisz *et al.* (2012), αναφέρουν ότι κατά τη διαδικασία της εκκόλαψης οι κύττοι της καρδιάς στο έμβρυο του αγγελόψαρου μετρήθηκαν στους 130 παλμούς/min. Αμέσως μετά την εμφάνιση της καρδιάς άρχισε να διαμορφώνεται το πεπτικό σύστημα της νύμφης της κιχλιδοζέμπρας και του αγγελόψαρου.

Η νεο-εκκολαπτόμενη νύμφη του *A. nigrofasciatus* και του *P. scalare*, δεν έφερε κανένα σχηματισμένο πτερύγιο, ενώ ο συνολικός αριθμός των μυομερών κυμάνθηκε από 20-22 με 12 έως 14 να βρίσκονται στο προεδρικό τμήμα του κορμού και στις δυο θερμοκρασίες εκκόλαψης (23 °C και 27 °C) για την κιχλιδοζέμπρα και 22-24 αντίστοιχα για το αγγελόψαρο και στα δυο pH (6,2 και 7,4). Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξαν ο Jones (1972), ο οποίος μελέτησε τα είδη *Cichlasoma bimaculatum*, *Cichlasoma biocellatum*, *Cichlasoma nigrofasciatum* και *Hemichromis bimaculatus* καθώς και οι Meijidae & Guerrero (2000), οι οποίοι μελέτησαν αντίστοιχα το *Cichlasoma dimerus*.

Στην κιχλιδοζέμπρα, τα πτερύγια αναπτύσσονταν πλήρως, οι σκελετικές δομές οστεοποιήθηκαν βαθμιαία και τα λέπια άρχισαν σταδιακά να καλύπτουν το σώμα από

την 15^η -20^η ημέρα μετά την εκκόλαψη, όπου η μορφή σώματος και ο χρωματισμός ομοιάζε με εκείνη των ενηλίκων ατόμων. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στα είδη *Cichlasoma dimerus*, *Cichlasoma bimaculatum*, *Cichlasoma biocellatum*, *Cichlasoma nigrofasciatum* και *Hemichromis bimaculatus*, τα οποία μελετήθηκαν από τους Meijidae & Guerrero (2000) και Jones (1972).

Οι μορφομετρικοί παράγοντες (ολικό μήκος, μήκος νωτοχορδής, ύψος σώματος, διάμετρος οφθαλμού, προεδρικό και μεταεδρικό μήκος) που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία για την κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο, παρουσίαζαν μια τάση αύξησης σε σχέση με το χρόνο, ενώ σύμφωνα με τα αποτελέσματα φαίνεται να είναι ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία εκκόλαψης. Ο σχετικός χρόνος (RTi) που συνέβαιναν τα διάφορα αναπτυξιακά γεγονότα είναι ανεξάρτητος από τη θερμοκρασία, μιας και δεν παρουσιάζονται σημαντικές στατιστικές διαφορές, ενώ η ταχύτητα εξέλιξης των μορφολογικών αλλαγών επηρεάστηκε από την ηλικία της νύμφης παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντικές διαφορές (MANOVA, $p < 0.05$). Η παρούσα εργασία επιβεβαιώνει τα αποτελέσματα που βρέθηκαν στο φαγκρί (Klimogianni *et al.* 2004) και στη ζέμπρα *Danio rerio* (Parichy *et al.* 2009, Sfakianakis *et al.* 2011).

Το στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυδίου της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου σηματοδοτήθηκε με την πλήρη απορρόφηση του λεκιθικού σάκου και το στάδιο της ελεύθερης κολύμβησης. Η πλήρης απορρόφηση του λεκιθικού σάκου για την κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο έλαβε χώρα αντίστοιχα στις 3 ημέρες και 2,5 ημέρες μετά την εκκόλαψη. Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξαν και οι Meijidae & Guerrero (2000) οι οποίοι μελέτησαν το *C. dimerus* και οι Korzelecka-Orkisz *et al.* (2012) που μελέτησαν το *P. scalare*.

Στο στάδιο της ελεύθερης κολύμβησης η κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο εισήλθαν την 7^η ημέρα και 6^η ημέρα μετά την εκκόλαψη. Κατά το στάδιο αυτό η νηκτική κύστη ήταν πλήρως διαμορφωμένη, ενώ σύμφωνα με τους Korzelecka-Orkisz *et al.* (2012) στο 4% των νυμφών του αγγελόψαρου η νηκτική κύστη απουσίαζε, εμφανίζοντας προβλήματα με την κολύμβησή τους. Κατά την έναρξη της κολύμβησης η παλμική συχνότητα των κινητικών νευρώνων συγκλίνει σε ένα στενό εύρος τιμών, που αντιστοιχεί σε ένα σταθερό και συνεχές ρυθμό κολύμβησης της νύμφης (Yoshida *et al.* 1996).

Ο αριθμός των πρωτογενών ακάνθων (CFRE) στο ουραίο πτερύγιο στην κιχλιδόζεμπρα και στο αγγελόψαρο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης αύξησης του μήκους του ψαριού. Όταν η κιχλιδόζεμπρα εισήλθε στο στάδιο της ελεύθερης κολύμβησης ο αριθμός των πρωτογενών ακάνθων ήταν 6-8, ενώ στο αγγελόψαρο ο αριθμός αυτός ήταν 8. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν με εκείνα των Fujimura & Okada (2007), όπου ο αριθμός των πρωτογενών ακάνθων στην τιλάπια *Oreochromis niloticus* βρέθηκε να είναι 8, όταν η τιλάπια εισέρχεται στο στάδιο του νεαρού και αναπτυσσόμενου ιχθυδίου. Όσο αυξάνονται η ηλικία και το μήκος της νύμφης αυξάνει και ο αριθμός των πρωτογενών ακάνθων (CFRE) στο ουραίο πτερύγιο (Fujimura & Okada 2007).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το εδρικό και το ραχιαίο πτερύγιο της κιχλιδόζεμπρας άρχισε να διαφοροποιείται σταδιακά 13-15 ημέρες μετά την εκκόλαψη, ενώ στο αγγελόψαρο η εμφάνισή τους έλαβε χώρα στις 14-15 ημέρες μετά την εκκόλαψη. Τα κοιλιακά πτερύγια της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου άρχισαν να εμφανίζονται 15 ημέρες μετά την εκκόλαψη. Το σώμα τους ήταν καλυμμένο με

μελανοφόρα και ο σκελετός τους παρουσίαζε ένα προηγμένο βαθμό οστεοποίησης. Το σχήμα του σώματος και ο χρωματισμός τους ομοιάζε με εκείνα του ενήλικου ατόμου.

Στο λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας η επιβίωση ήταν μεγαλύτερη (85%) στους 27 °C σε αντίθεση με τους 23 °C, όπου τα ποσοστά επιβίωσης ήταν 65%. Αντίστοιχα σε ότι αφορά την επιβίωση στο αγγελόψαρο, μεγαλύτερη επιβίωση (85%) παρατηρήθηκε στις λεκιθοφόρες νύμφες του αγγελόψαρου που αναπτύχθηκαν σε pH 6,2, σε αντίθεση με εκείνες που αναπτύχθηκαν σε pH 7,4, όπου η επιβίωσή ήταν 35%.

4.2.3. Επίδραση της θερμοκρασίας στο λεκιθοφόρο νυμφικό και νυμφικό στάδιο ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας

Η θερμοκρασία είναι από τους σημαντικότερους περιβαλλοντικούς παράγοντες που επηρεάζει την επιβίωση, την ανάπτυξη (Brown *et al.* 2006), το βαθμό εκκόλαψης (Hart & Purser 1995), το μέγεθος των προνυμφών (Hansen & Falk-Petersen 2001), το χρόνο απορρόφησης των λεκιθικών αποθεμάτων (Pauly & Pullin 1988), καθώς και την επιβίωση των προνυμφών (Akatsu *et al.* 1983). Κατά τη διάρκεια της ωοτοκίας και της επώασης των αυγών, η θερμοκρασία ενδεχομένως να επηρεάζει το μεταβολισμό, την ποιότητα καθώς και τη μορφομετρία και την ανάπτυξη του εμβρύου (Klimogianni *et al.* 2004).

Ο αριθμός των μεταβολών που πραγματοποιήθηκε εστιάζεται στη μορφολογία και στη λειτουργικότητα των οργάνων της κιχλιδόζεμπρας και διαρκούν καθ' όλη τη διάρκεια του σταδίου (εκκόλαψη έως την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου). Οι μεταβολές, σηματοδότησαν την έναρξη της εξωγενούς θρέψης της νέο-εκκολαπτόμενης

νύμφης (Meijide & Guerrero 2000, Fujimura & Okada 2007). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης και στα δυο είδη ψαριών, το πεπτικό σύστημα διαφοροποιήθηκε στα επιμέρους τμήματα και όργανά του, ενώ παράλληλα έλαβε χώρα η προετοιμασία των λεκιθοφόρων νυμφών της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου για εξωγενή λήψη τροφής μέσω των περιβαλλοντικών ερεθισμάτων (οφθαλμοί, οσφρητικά κυστίδια), αλλά και για κολύμβηση (σχηματισμός του θωρακικού πτερυγίου, ανάπτυξη του ουραίου τμήματος και αντικατάσταση της λειτουργίας της αναπνοής από την πρωτογενή περιφερειακή πτερυγιοπτυχή από τη βραγχιακή αναπνοή).

Η παραπάνω διαδοχή των οντογενετικών γεγονότων δικαιολογείται από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, που έδειξαν μεταβολές στις αναλογίες των επιμέρους τμημάτων του σώματος σε σχέση με το ολικό μήκος, οι οποίες ήταν αποτέλεσμα της μείωσης της κυρτότητας του σώματος (κυρίως της κεφαλής και του κορμού γύρω από το λεκιθικό σάκο) και της μείωσης του λεκιθικού σάκου.

Η μορφολογική διαφοροποίηση είναι μια συνεχής διαδικασία, οπότε αναμενόμενα υπάρχει ισχυρή σύνδεσή της με την ηλικία, ενώ η θερμοκρασία εκκόλαψης φάνηκε να επηρεάζει την ταχύτητά της. Έχει παρατηρηθεί ότι η θερμοκρασία εκκόλαψης συνδέεται με διαφορές στο μορφολογικό πρότυπο σε διάφορα είδη ψαριών όπως π.χ., τα είδη *Dicentrarchus labrax* (Koumoudouros *et al.* 2002), *Danio rerio* (Sfakianakis *et al.* 2011), *Pterophyllum scalare* (Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012), *Centropyge flavissimus* (Olivotto *et al.* 2006a), *Pomacanthus semicirculatus* (Leu *et al.* 2009), *Amphiprion ocellaris* (Yasir & Qin 2007).

Αντίστοιχα, στη παρούσα εργασία φάνηκε ότι η ηλικία των εντόνων μορφολογικών μεταβολών του είδους *A. nigrofasciatus*, διαφοροποιήθηκε σε σχέση με

τη θερμοκρασία εκκόλαψης. Η ηλικία των έντονων μεταβολών ήταν μικρότερη σε θερμοκρασία εκκόλαψης 27 °C (40 h) σε σχέση με αυτή που παρατηρήθηκε όταν η θερμοκρασία εκκόλαψης ήταν 23 °C (70 h), υποδηλώνοντας μια πιθανή σχέση μεταξύ της μορφολογικής και λειτουργικής οντογένεσης. Η θερμοκρασία επηρεάζει τον πραγματικό χρόνο που λαμβάνει χώρα ένα αναπτυξιακό γεγονός, ενώ η εξέλιξη του σταδίου (από την έναρξή του έως την ολοκλήρωσή του) δεν επηρεάζεται από τη θερμοκρασία. Οι Kucharczyk *et al.* (1997), διαπίστωσαν ότι, με την αύξηση της θερμοκρασίας (από 13,2 έως 26,8 °C) αυξήθηκε ο ρυθμός εξέλιξης του εμβρυικού και νυμφικού σταδίου του είδους *Abramis brama*. Ο υπολογισμός της βέλτιστης θερμοκρασίας πραγματοποιείται σύμφωνα με τα ποσοστά εκκόλαψης (Rana 1990) και τη χρονική διάρκεια του εμβρυικού σταδίου (Polo *et al.* 1991).

4.2.4. Επίδραση του pH στο λεκιθοφόρο νυμφικό και νυμφικό στάδιο ανάπτυξης του αγγελόψαρου

Η αναπαραγωγή του αγγελόψαρου σε ελεγχόμενες συνθήκες πραγματοποιείται υπό την προϋπόθεση ότι θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του νερού στο φυσικό περιβάλλον (pH, θερμοκρασία, σκληρότητα νερού) (Swann 1994, Axelrod & Sweeney 1992, Ghiasi & Jasour 2012, Bishnoi 2013). Ο Αμαζόνιος ποταμός, ένα από τα φυσικά ενδιαιτήματα του αγγελόψαρου, αποτελείται από σωματίδια λάσπης, χουμικά οξέα και τανίνες τα οποία έχουν την ιδιότητα να μειώνουν την τιμή του pH. Για παράδειγμα, στα ανάντη του συγκεκριμένου ποταμού το pH ανέρχεται στο 6,9 και μειώνεται στο 3,8 στους παραποτάμους του rio Negro, rio Cururu και rio Icana, οι οποίοι αποκαλούνται ως οι παραπόταμοι με τα μαύρα νερά (Val &

Almeida-Val 1995, Prance 2001). Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι η αναπαραγωγή του αγγελόψαρου ήταν περισσότερο αποτελεσματική και με μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης των προνυμφών και νυμφών όταν το pH ήταν όξινο σε αντίθεση με το αλκαλικό. Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξαν οι Korzelecka-Orkisz *et al.* (2012), οι οποίοι παρατήρησαν μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης στις προνύμφες και νύμφες του αγγελόψαρου όταν το pH ήταν 6,8 σε σχέση με το υψηλότερο pH (8,2). Επίσης, οι Axelrod & Walker (2000) αναφέρουν ότι το αλκαλικό pH (8,2) γίνεται θνησιγενές για τις νύμφες του αγγελόψαρου. Στην ίδια μελέτη αναφέρεται ότι, τα ώριμα ψάρια σε σχέση με τα νερά παρουσιάζουν αυξημένη ικανότητα προσαρμογής σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες προκειμένου να αναπαραχθούν (π.χ. ελαφρώς αλκαλικό pH). Οι προνύμφες και οι νύμφες του αγγελόψαρου που αναπτύσσονται σε ακραίες συνθήκες δεν επιβιώνουν και οδηγούνται σε θάνατο (Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, η εξέλιξη των αναπτυξιακών γεγονότων όταν το pH ήταν 6,2 έγινε με επιταχυνόμενους ρυθμούς σε αντίθεση με το αλκαλικό pH (7,4) όπου η εξέλιξη των αναπτυξιακών γεγονότων ακολούθησε μια επιβραδυνόμενη πορεία και διήρκησε από 2-4 h ανά αναπτυξιακό γεγονός ή παρατηρήθηκε να διακόπτεται.

Το pH είναι από τους παράγοντες εκείνους που επηρεάζει το μεταβολισμό και τη φυσιολογία των υδρόβιων οργανισμών (Parra & Baldisserotto 2007) και καθορίζει την περαιτέρω εξελικτική πορεία του αγγελόψαρου στο εμβρυικό στάδιο ανάπτυξης (Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012). Είδη ψαριών, όπως για παράδειγμα ο δίσκος, το αγγελόψαρο, το blue acara και διάφορα άλλα που ζουν και αναπτύσσονται στον Αμαζόνιο ποταμό, εξαιτίας της ιδιαιτερότητάς τους, αναπτύσσουν προσαρμοστικούς

μηχανισμούς, οι οποίοι αρχίζουν να ενεργοποιούνται από τα πρώιμα στάδια της οντογένεσης (Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012). Οι προσαρμοστικοί μηχανισμοί σχετίζονται με τη μεταβολή των επιπέδων οξυγόνου στο αίμα, τη μεταβολή (αύξηση) καρδιακών παλμών και τη συγκέντρωση της αιμογλοβίνης στο αίμα (Val & Almeida-Val 1995, Korzelecka-Orkisz *et al.* 2012). Οι ακραίες τιμές στο pH επηρεάζουν αρνητικά την αναπαραγωγή και την αύξηση των ψαριών, προκαλώντας πολλές φορές μαζική θνησιμότητα εξαιτίας της ασφυξίας (εκφυλισμός των βραγχιακών ιστών) που προκαλείται (Zweig *et al.* 1999). Η ανθεκτικότητα του ψαριού σε ακραίες τιμές pH εξαρτάται από το είδος και την ηλικία του ψαριού και είναι μειωμένη στο εμβρυικό και νυμφικό στάδιο ανάπτυξης (Zaniboni-Filhlo *et al.* 2008). Τα περισσότερα είδη ψαριών που εκτίθενται σε όξινο ή αλκαλικό περιβάλλον δείχνουν μεγαλύτερη επιβίωση στα σκληρά νερά σε σχέση με τα μαλακά νερά (Parra & Baldisserotto 2007). Οι νύμφες του αγγελόψαρου σύμφωνα με την παρούσα μελέτη μπορούν να επιβιώσουν σε ένα εύρος pH που κυμαίνεται από 6,2 έως 7,4 δείχνοντας μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στο μικρότερο pH. Μεγάλο εύρος επιβίωσης παρατηρήθηκε στις νύμφες του είδους *Prochilodus lineatus* όταν το pH κυμαίνονταν από 4,8 έως 9,2 (Zaniboni-Filhlo *et al.* 2008).

4.3. Διατροφή του αγγελόψαρου και της κιχλιδοζέμπρας

Η διατήρηση διακοσμητικών ψαριών είναι μια αυξανόμενη και δημοφιλής ενασχόληση σε ένα ταχύτατα αναπτυσσόμενο τομέα της υδατοκαλλιέργειας. Η υδατοκαλλιέργεια διακοσμητικών ψαριών αποσκοπεί στην παραγωγή και διατήρηση σε

ενυδρεία ενός πολυτελούς προϊόντος μέσω της ερασιτεχνικής ενασχόλησης, που ασκείται κυρίως στις Ηνωμένες Πολιτείες, στην Ιαπωνία και στην Ευρώπη, ιδιαίτερα στη Γερμανία, στη Γαλλία, στο Βέλγιο, στην Ιταλία και στο Ηνωμένο Βασίλειο (Tlusty 2002 , Olivier 2003, Wabnitz *et al.* 2003). Ωστόσο, η αλιεία ψαριών από το φυσικό περιβάλλον με σκοπό την υδατοκαλλιέργεια, εξακολουθεί να αποτελεί απειλή για τα άγρια είδη.

Η καταστροφή των ενδιαιτημάτων, η υπερεκμετάλλευση για εμπόριο και άλλες αιτίες ανά τον κόσμο οδηγεί στην εξαφάνιση περισσότερων ειδών. Υπάρχουν σοβαρές ανησυχίες σχετικά με τη βιωσιμότητα της εξαλίευσης από το φυσικό περιβάλλον που διενεργείται στο γλυκό και θαλασσινό νερό (Calado 2006). Επομένως, κάτω από ιδανικές συνθήκες ανάπτυξης, η βιομηχανία των διακοσμητικών ψαριών θα μπορούσε να έχει θετικό αντίκτυπο στην παγκόσμια οικονομία και στον περιορισμό των ανησυχιών για τη διατήρηση των ψαριών.

Τα δημόσια ενυδρεία συμμετέχουν στη διατήρηση των διακοσμητικών ψαριών. Ορισμένα είδη διατηρούνται μέσω του εμπορίου ενός επιτυχούς προγράμματος αναπαραγωγής σε συνθήκες αιχμαλωσίας (Knop & Moorhead 2012). Τα διακοσμητικά ψάρια αποτελούν ένα υπόδειγμα οργανισμών από τη δεκαετία του 1990, που συμμετέχουν στην έρευνα για τη βιοϊατρική, την ανάπτυξη, τη μοριακή βιολογία και τη γενετική (Fishman 2001).

Ωστόσο, οι περιορισμένες εργασίες που έχουν πραγματοποιηθεί, τα αξιολογούν ως υπόδειγμα σε μελέτες διατροφής, συμπεριλαμβανομένων των παραμέτρων της εφαρμοσμένης υδατοκαλλιέργειας (Gomez-Requeni *et al.* 2010).

Η γνώση, για τη διατροφή των διακοσμητικών ψαριών αναπτύχθηκε κατά κύριο λόγο από τις εμπειρίες των μεμονωμένων εκτροφέων, χρησιμοποιώντας τα δικά τους

πρωτόκολλα για αναπαραγωγή και ανάπτυξη, για την παραγωγή του ψαριού και όχι για να μεγιστοποιηθεί η ανάπτυξή τους ή για να διερευνηθούν διάφοροι παράγοντες διατροφής (Socolof 1980 , Gomez-Requeni *et al.* 2010).

Η μακροχρόνια εμπειρία και η εφαρμογή της, που αποκομίστηκε από την εκτροφή και διατήρηση διακοσμητικών ψαριών σε ενυδρεία αναφέρεται εκτεταμένα από πολλούς ερευνητές (Vlachos *et al.* 2008, Chakrabarty *et al.* 2010, Kasiri *et al.* 2011c). Οι σύγχρονοι μέθοδοι εκτροφής και αναπαραγωγής των διακοσμητικών ψαριών, παρόλο που βελτιώθηκαν απαιτούν τη συνεχή παροχή μιας ισορροπημένης και οικονομικά αποδοτικής διατροφής (Tacon & De Silva 1997, Hasan *et al.* 2007, Mandal *et al.* 2010). Οι περισσότερες έρευνες εστιάζονται στις πρακτικές τεχνικές που εφαρμόζονται και αποσκοπούν στην ολοκληρωμένη διαχείριση της τροφής εξαιτίας του υψηλού κόστους της.

Δίαιτες οι οποίες είναι εύγευστες, θρεπτικές, δυσδιάλυτες, ικανές να επιπλέουν, ανθεκτικές, και ενισχυμένες με χρωστικές, όπως τα σύμπηκτα και οι νιφάδες, χρησιμοποιούνται σήμερα ευρέως για τα ψάρια ενυδρείου. Στη βιομηχανία των διακοσμητικών ψαριών, υπάρχουν άμεσες προσπάθειες για τη δημιουργία οδηγών διατροφής για τα ψάρια ενυδρείου, προκειμένου να βελτιωθεί ο τύπος της τροφής, ούτως ώστε τα ψάρια ενυδρείου να μπορούν να αναπτυχθούν σε ένα υγιές περιβάλλον, μειώνοντας παράλληλα τον κίνδυνο υπερκατανάλωσης της τροφής και την επιβάρυνση του ενυδρείου.

Αυτό προϋποθέτει την εξέλιξη της γνώσης για τα διάφορα είδη, τη βελτίωση των μεθόδων καλλιέργειας, τις διατροφικές ανάγκες και τις επιδόσεις της ανάπτυξης. Η θρεπτική αξία της τροφής σε σχέση με τις διατροφικές απαιτήσεις των ειδών και η πρόσληψη τροφής είναι σημαντικές παράμετροι που θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη

για την επιλογή και την αξιολόγηση ενός σιτηρεσίου, στην εκτροφή των διακοσμητικών ψαριών.

Τα διακοσμητικά ψάρια σε συνθήκες αιχμαλωσίας θα πρέπει να χρησιμοποιούν τη διαιτητική πρωτεΐνη τους όσο το δυνατόν πιο αποδοτικά ώστε να ελαχιστοποιούνται τα προϊόντα διάσπασης του μεταβολισμού των πρωτεϊνών (κυρίως αμμωνία), τα οποία μολύνουν άμεσα το περιβάλλον διαβίωσής τους (Pannevis 1993, Earle 1995). Οι Sales & Janssens (2003) αναφέρουν ότι τα διαιτητικά επίπεδα της πρωτεΐνης για διάφορα διακοσμητικά είδη κυμαίνονται από 30 έως 50% για την καλύτερη απόδοση της ανάπτυξης τους. Ωστόσο, οι πληροφορίες σχετικά με τις απαιτήσεις σε πρωτεΐνη στα αγγελόψαρα είναι περιορισμένη.

Μελέτες διερεύνησαν την χρήση των ζωντανών τροφών (Soriano-Salazar & Hernández-Ocampo 2002) με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες ή νιφάδες και σύμπηκτα με διαφορετικά επίπεδα πρωτεΐνης (Luna-Figueroa 2003, García-Ulloa & Gómez-Romero 2005, Zuanon *et al.* 2009) οριοθετώντας τις διατροφικές απαιτήσεις σε ολικές πρωτεΐνες στα αγγελόψαρα από 26% έως 54%. Ο Degani (1993) έδειξε ότι τα αγγελόψαρα μέσου βάρους 0,8-1,5 g, απαιτούν στη διατροφή τους ένα επίπεδο πρωτεΐνης 40-50%. Στο παρόν πείραμα, το επίπεδο της ολικής πρωτεΐνης στις πειραματικές τροφές στα αγγελόψαρα (δίαιτα Α και δίαιτα Β) ήταν 40%.

Στο διακοσμητικό είδος neon tetras (*Paracheirodon innesi*) όταν η συχνότητα του γεύματος αυξάνει από ένα σε τρία γεύματα ημερησίως είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης από 0,32% σε 0,52%. Επιπρόσθετη αύξηση στον αριθμό των γευμάτων σε τέσσερα γεύματα ημερησίως, παρατηρήθηκε μείωση του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR) ως 0,27% (Pannevis & Earle 1994). Στην παρούσα μελέτη ο αριθμός των γευμάτων καθορίστηκε στα τρία ημερησίως και

χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις τύποι τροφών: η διαίτα Α και η διαίτα Γ, οι οποίες περιελάμβαναν ένα συνδυασμό συμπηκτων με κατεψυγμένη τροφή και οι δίαιτες Β και η διαίτα Δ, όπου τα σύμπηκτα αντικαταστάθηκαν από νιφάδες σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης στα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τις πειραματικές δίαιτες Α και Β, ήταν στατιστικά μεγαλύτερος σε σχέση με τα αγγελόψαρα που ήταν σε ασιτία ($P < 0,05$). Επίσης τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τις πειραματικές δίαιτες Γ και Δ στους 29 °C, ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης, ήταν στατιστικά μεγαλύτερος σε σχέση με τα αγγελόψαρα που ήταν σε συνθήκες ασιτίας ($P < 0,05$).

Η επιβίωση ήταν υψηλότερη στα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Α, δηλαδή τα σύμπηκτα σε συνδυασμό με την κατεψυγμένη τροφή. Ο συντελεστής ευρωστίας και ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης ήταν μεγαλύτεροι στα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Α (σύμπηκτα), σε σχέση με τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Β (νιφάδες). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με εκείνα των Bahadir Koca *et al.* (2009), οι οποίοι βρήκαν ότι ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης και ο συντελεστής ευρωστίας ήταν υψηλότεροι για αγγελόψαρα μέσου βάρους 0,73 g, τα οποία σιτίστηκαν με εμπορική τροφή συμπηκτων περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 49% για διάστημα 60 ημερών σε σύγκριση με τις εμπορικές νιφάδες.

Επίσης στο δεύτερο πείραμα, όταν τα αγγελόψαρα σιτίστηκαν με τη διαίτα Γ (σύμπηκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή) παρουσίασαν μεγαλύτερη επιβίωση. Ο συντελεστής ευρωστίας στα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Γ και Δ, που περιείχε περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη $39,18 \pm 1,50\%$ και $33,89 \pm 1,67\%$ αντίστοιχα, παρουσίασε παρόμοιες τιμές, χωρίς να παρουσιάζει σημαντικά στατιστικές διαφορές

($P>0,05$). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με εκείνα των Bahadir Koca *et al.* (2009). Στην ίδια μελέτη βρέθηκε ότι, η μεγαλύτερη επιβίωση επιτεύχθηκε με τα εμπορικά σύμπληκτα, ενώ η χαμηλότερη σημειώθηκε στις εμπορικές νιφάδες.

Οι Kasiri *et al.* (2001b), βρήκαν ότι ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης ήταν 0,65% / ημέρα για τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με σύμπληκτα περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 48% για διάστημα 12 εβδομάδων. Ο Erdogan (2010), βρήκε ότι ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης στα αγγελόψαρα μέσου βάρους 0,91 g, τα οποία σιτίστηκαν με εμπορικές τροφές και τροφές που περιείχαν αυξημένα επίπεδα ελαιοκράμβης (canola) κυμαίνονταν από 1,86 έως 1,26 %/ημέρα. Οι Zuanon *et al.* (2009), βρήκαν ότι το αγγελόψαρο μέσου βάρους 2,33 g παρουσίαζε SGR 1,03 %/ημέρα όταν τρέφονταν με σύμπληκτα περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 34% σε σχέση με εκείνα που σιτίζονταν με σιτιρέσια περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 26% όπου το SGR ήταν 0,93%/ημέρα.

Στην ίδια μελέτη αναφέρονταν ότι η αύξηση βάρους για αγγελόψαρα 2,33 g που τρέφονται με τροφές περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 26, 30 και 34%, ήταν 1,37 και 1,53 g αντίστοιχα, ενώ ο Luna-Figueroa (2003) στην έρευνά του αναφέρει ότι, όταν τα αγγελόψαρα σιτίζονται με τροφές περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 27,43 και 45% παρουσιάζουν αύξηση βάρους 0,63, 0,68 και 0,78 g αντίστοιχα. Ο συγγραφέας συμπέρανε ότι, η διακύμανση στην αύξηση βάρους του είδους σχετίζεται με παράγοντες όπως η ποιότητα της πρωτεΐνης που χρησιμοποιείται (σύσταση αμινοξέων και πεπτικότητα), η συχνότητα ταΐσματος, η ποσότητα του χορηγούμενου σιτηρεσίου και το στάδιο ανάπτυξης του ψαριού.

Οι Soriano-Salazar & Hernández-Ocampo (2002) βρήκαν ότι τα αγγελόψαρα μέσου αρχικού βάρους 0,10 g, τα οποία σιτίζονταν με εμπορικά σύμπληκτα για διάστημα 60 ημερών, η αύξηση ήταν 3,58 mg/ημέρα. Οι Garcia-Ulloa & Gomez-Romero (2006)

αναφέρουν ότι, όταν τα αγγελόψαρα μέσου βάρους 0,30 g σιτίζονται με εμπορικά σύμπηκτα, αποκλειστικοποιημένες κύστες *Artemia* και εμπορικές νιφάδες ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης αντίστοιχα ήταν 2,67 %/ημέρα, 4,36 %/ημέρα και 3,50 %/ημέρα.

Οι διαφορές που παρατηρούνται στο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης στις διάφορες μελέτες, οφείλονται στο μικρό μέγεθος των ψαριών που χρησιμοποιούνται, στις διαφορετικές διατροφικές στρατηγικές που εφαρμόζονται, στον τύπο τροφής, στη βιοχημική σύσταση της τροφής και στη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών στη τροφή.

Η κατανάλωση της τροφής και ο συντελεστής απόδοσης πρωτεΐνης στα αγγελόψαρα μέσου βάρους 1 g που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Α (σύμπηκτα) στους 29 °C για διάστημα 30 ημερών, ήταν στατιστικά μεγαλύτεροι από εκείνους που εμφάνισαν τα αγγελόψαρα όταν σιτίστηκαν με τη δίαιτα Β (νιφάδες) στην ίδια θερμοκρασία. Η δίαιτα Β (νιφάδες) περιείχε υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες σε σχέση με τη δίαιτα Α και αυτό ίσως να οδήγησε σε χαμηλότερη λήψη της τροφής και κατά συνέπεια στην πρόσληψη λιγότερων θρεπτικών συστατικών που είναι απαραίτητα για τη μεγιστοποίηση της ανάπτυξης σε αντίθεση με τις δίαιτες Γ και Δ που περιείχαν χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες (Chou & Shiaou 1996, Erfanullah & Jafri 1998, El Sayed & Garling 1998).

Οι Ellis & Reigh (1991) βρήκαν μικρότερο ρυθμό ανάπτυξης και κατανάλωσης της τροφής, όταν τα άτομα του είδους *Sciaenops ocellatus* (red drum) με μέσο βάρος 2,9 g σιτίζονταν με τροφές υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρές ουσίες. Μελέτες που πραγματοποίησαν οι Yanong (1996), Lewbart (1998), και Gaylord & Gatlin (2000) αναφέρουν ότι, στα τροπικά ψάρια η περιεκτικότητα της τροφής σε ολικές λιπαρές ουσίες θα πρέπει να είναι μικρότερη από 10%, σε αντίθεση με τις τροφές που

χρησιμοποιούνται στα ψυχρόφιλα ψάρια που έχουν υψηλότερες απαιτήσεις σε ολικές λιπαρές ουσίες.

Η βέλτιστη κατανομή των αμινοξέων μπορεί να διαφοροποιείται μεταξύ των ειδών και στο ίδιο το είδος και εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως για παράδειγμα, η θερμοκρασία και η φυσιολογική κατάσταση του ζώου (Conceicao *et al.* 1998). Η διαταραχή της ισορροπίας των αμινοξέων στην τροφή έχει αποδειχθεί ότι οδηγεί στην αύξηση της οξείδωσης των αμινοξέων, στη μείωση του ρυθμού αποτελεσματικότητας της τροφής και στη μείωση διατήρησης των συστατικών από το ζώο (Mente *et al.* 2003, Conceição *et al.* 2010). Οι διαφορές μεταξύ της κατανομής των αμινοξέων στην τροφή και στις προνύμφες των ψαριών μπορούν να προκαλέσουν καταβολισμό μεγαλύτερο του 40% των ολικών απορροφημένων αμινοξέων (Conceição *et al.* 2003). Η σύγκριση μεταξύ της κατανομής των αμινοξέων στις πειραματικές τροφές στην παρούσα έρευνα έδειξε ότι, η δίαιτα Α ήταν πλούσια σε λυσίνη, μεθειονίνη, φαινυλαλανίνη, αλανίνη, αργινίνη, γλουταμινικό οξύ, ιστιδίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, σερίνη, θρεονίνη και βαλίνη.

Η αλανίνη προκαλεί διατροφική διέγερση (εξωγενής τροφή) και συμβάλλει επίσης στο σχηματισμό του συνδετικού ιστού (Mearns 1986). Η κατανομή των απαραίτητων αμινοξέων (EAA) των ιστών των ψαριών αποτελεί ένα καλό δείκτη των απαιτήσεων σε αμινοξέα από τα ψάρια (Mambrini & Kaushik 1995). Ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) για τις εμπορικές νιφάδες ήταν χαμηλός σε λυσίνη. Μεταξύ των απαραίτητων αμινοξέων (EAA), η μεθειονίνη και η λυσίνη είναι το πρώτο περιοριστικό αμινοξύ στις τροφές για τα ψάρια.

Σε ότι αφορά τις δίαιτες Γ και Δ, ο λόγος A/E στα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Γ επέδειξε υψηλότερα επίπεδα στη λυσίνη, αργινίνη και θρεονίνη και

χαμηλότερα επίπεδα σε ιστιδίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, μεθειονίνη, τυροσίνη και βαλίνη σε σχέση με τα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με τη δίαιτα Δ.

Ο λόγος A/E για αγγελόψαρα μέσου βάρους 0,6-1,5 g τα οποία σιτίστηκαν με αποκελυφοποιημένες προνύμφες γαριδών, έδειξαν υψηλότερα επίπεδα σε λευκίνη, ισολευκίνη και λυσίνη σε συγκριση με τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με σκουλήκια. Ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων αποτυπώνει την περιεκτικότητά τους στις δίαιτες που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα.

Στην παρούσα μελέτη τα αγγελόψαρα μέσου βάρους 1 g περιείχαν υψηλότερα επίπεδα λυσίνης, λευκίνης, θρεονίνης και αργινίνης. Στο τέλος του πειράματος ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων των αγγελόψαρων που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Α έδειξαν υψηλότερα επίπεδα σε λυσίνη, θρεονίνη και τυροσίνη. Παρόμοια παρατήρηση αναφέρεται για τις προνύμφες του χρυσόψαρου, *Carassius auratus*, όπου ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων είχε υψηλότερα επίπεδα σε αργινίνη, λευκίνη και λυσίνη. Η κατανομή των αμινοξέων στις εμπορικές νιφάδες και στην κατεψυγμένη τροφή, ιδιαίτερα για την περιεκτικότητα σε λυσίνη, εμφανίστηκε να ήταν μη ικανοποιητική. Η μειωμένη περιεκτικότητα σε λυσίνη, ενός απαραίτητου αμινοξέος, στα συστατικά που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή εμπορικών ιχθυοτροφών αλλά και η έρευνα, έδειξε ότι τα διαιτητικά επίπεδα της λυσίνης επηρεάζουν την ανάπτυξη και την υγεία των ψαριών (Li *et al.* 2008). Αυτό υποδεικνύει την ανάγκη συμπλήρωσής της στις δίαιτες που κρίνονται ανεπαρκείς σε λυσίνη (Li *et al.* 2008).

Η δυσαναλογία σε λευκίνη και ισολευκίνη θεωρείται ένας περιοριστικός παράγοντας στην απορρόφηση της λυσίνης και της αργινίνης, αλλά σε αυτή τη μελέτη, τα επίπεδα στην εμπορική δίαιτα των νιφάδων ήταν υψηλά και πιθανόν να σταθεροποιηθεί τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο αμινοξέων. Επιπλέον, στην

παρούσα μελέτη τα αυξημένα επίπεδα της αργινίνης ενδέχεται να έχουν ελαχιστοποιήσει τον ανταγωνισμό της λυσίνης-αργινίνης στις εμπορικές νιφάδες και στην κατεψυγμένη τροφή.

Η προσθήκη συμπληρωμάτων αμινοξέων ή παράγωγων τους στις τροφές, υπόσχεται την εφαρμογή νέων στρατηγικών στη δημιουργία μιας ισορροπημένης διατροφής σε αμινοξέα, η οποία μπορεί να αντισταθμίσει τη ρύπανση του ενυδρείου και να βελτιώσει την ανάπτυξη και την υγεία των διακοσμητικών ψαριών.

Στα ψάρια, ο ρυθμός κατανάλωσης, ο ρυθμός ανάπτυξης, και η ικανότητα αύξησης, ακολουθούν την αύξηση της θερμοκρασίας σε βέλτιστα επίπεδα και ακολουθείται από μια πτώση της θερμοκρασίας του νερού (McCarthy *et al.* 1998). Η ικανότητα αύξησης του ψαριού μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τη θερμοκρασία του νερού (Katersky & Carter 2005). Τα νεαρά και αναπτυσσόμενα αγγελόψαρα προσαρμόζονται σε ένα σχετικά μικρό θερμοκρασιακό εύρος, που κυμαίνεται κατά προσέγγιση μεταξύ 26,7 και 29,2 °C. Σε περίπτωση που η θερμοκρασία μειωθεί κάτω από 25 °C ή αυξηθεί πάνω από 30 °C, η απόδοση πολλών φυσιολογικών λειτουργιών μειώνεται (Perez *et al.* 2003). Οι Ratnasabapathi *et al.* (1992) έδειξαν ότι οι κιχλίδες παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα επιθετικότητας όταν εκτρέφονται στους 30 °C σε σχέση με του 26 °C.

Οι προτεινόμενες συνθήκες για την εκτροφή αγγελόψαρων σε ενυδρεία είναι, όταν η θερμοκρασία του νερού κυμαίνεται μεταξύ 26-29 °C (Roberts 2010). Στην παρούσα μελέτη, τα αγγελόψαρα όταν σιτίστηκαν με τις δίαιτες A και B παρουσίασαν στατιστικά υψηλότερη αύξηση βάρους στη βέλτιστη θερμοκρασία των 29 °C ($P < 0,05$).

Τα αγγελόψαρα σε συνθήκες αστίας έχασαν βάρος και στις δυο θερμοκρασίες, παρουσιάζοντας τη μικρότερη επιβίωση στους 25 °C. Η διατροφή των αγγελόψαρων με

νιφάδες (δίαιτα Β) στους 29 °C προκάλεσε μια σημαντική αύξηση ($P < 0,05$) στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης, συγκρινόμενο με εκείνον που παρουσίασαν τα αγγελόψαρα στους 25 °C, όταν τρέφονταν με την ίδια δίαιτα (δίαιτα Β). Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι η επίδραση της θερμοκρασίας στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης ήταν σημαντική.

Η ικανότητα κατακράτησης των θρεπτικών συστατικών αντανακλά τον τρόπο με τον οποίο τα ζώα χρησιμοποιούν τις θρεπτικές ουσίες, ιδίως όταν τρέφονται με τυποποιημένες τροφές (Carter & Houlihan 2001). Τα νεαρά αγγελόψαρα μεγιστοποίησαν την ανάπτυξή τους όταν αξιοποιούν σε ικανοποιητικό βαθμό τα θρεπτικά συστατικά της τροφής στη βέλτιστη θερμοκρασία (29 °C).

Επιπλέον, η μειωμένη ικανότητα αύξησης στη χαμηλότερη θερμοκρασία (25 °C), έδειξε το χαμηλότερο θερμοκρασιακό εύρος αντοχής του αγγελόψαρου. Η θερμοκρασία στην οποία η πρόσληψη της τροφής και η ανάπτυξη παραμένουν σε υψηλά επίπεδα, καταδεικνύοντας την ικανότητα του αγγελόψαρου να αξιοποιήσει αποτελεσματικά τα διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά στη βέλτιστη θερμοκρασία.

Αρχικά, κατά την έναρξη του πειράματος διατροφής της κιχλιδόζεμπρας, το μέσο βάρος και μήκος των ατόμων ήταν παρόμοιο, χωρίς να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,05$). Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι, μετά από 60 ημέρες όλες οι κιχλιδόζεμπρες και των δυο διατροφικών ομάδων (δίαιτα Α, δίαιτα Β) στους 27°C αύξησαν το βάρος του σώματός τους, χωρίς στατιστικά να είναι σημαντική (ANOVA, $P > 0,05$). Αντίστοιχα στους 20 °C όταν οι κιχλιδοζέμπρες τρέφονταν με τη δίαιτα Α και Β, παρόλο που η αύξηση του βάρους ήταν εμφανής, η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στην αύξηση του βάρους δεν ήταν στατιστικά σημαντικές (ANOVA, $P > 0,05$).

Η κιχλιδόζεμπρα, όταν σιτίστηκε με σύμπηκτα τα οποία περιείχαν πρωτεΐνη 40,44% (δίαιτα Α) σε θερμοκρασία 27 °C δεν παρουσίασε καλύτερη ανάπτυξη σε σχέση με όταν ταΐζεται με τα ίδια σύμπηκτα σε μικρότερη θερμοκρασία (20 °C), (t-test, $P>0,05$). Επίσης, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, όταν τα ιχθύδια της κιχλιδόζεμπρας διατρέφονταν με νιφάδες, με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 39,96% (δίαιτα Β), δεν παρουσίασαν καλύτερη ανάπτυξη σε θερμοκρασία 27 °C σε σχέση με τη θερμοκρασία 20 °C (t-test, $P>0,05$).

Η στατιστική ανάλυση μεταξύ του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης της κιχλιδοζέμπρας όταν σιτίστηκε με σύμπηκτα και νιφάδες στους 20 °C και 27 °C αντίστοιχα, έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά (t-test, $P>0,05$).

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν με εκείνα των Rojas & Verdegem (1994), όπου τα άτομα του είδους *Cichlasoma managuense*, μέσου βάρους 0,5-1,0 g όταν διατρέφονταν με σύμπηκτα υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (40%), παρουσιάζουν καλύτερη αύξηση βάρους (4,59 g) σε σχέση με τα άτομα που ταΐστηκαν με τροφή περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 35% σε μέση ημερήσια θερμοκρασία 26,8 °C. Σε παρεμφερή αποτελέσματα κατέληξαν οι Olvera-Novoa *et al.* (1996) για το είδος *Cichlasoma synspilum*, μέσου βάρους 280 mg, το οποίο όταν σιτίζεται με σύμπηκτα υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 40%, 45%, 50% και 55% για διάστημα 90 ημερών, παρουσίασε καλύτερη ανάπτυξη σε σχέση με όταν τρέφεται με σύμπηκτα περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη 30% και 35% αντίστοιχα.

Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν, οι Royes *et al.* (2005), για το είδος *Pseudotropheus socolofi*, μέσου βάρους 0,11 g, το οποίο όταν τρέφεται με σύμπηκτα υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (42,5%), παρουσιάζει σημαντική αύξηση βάρους (1,058 g), σε θερμοκρασία 28 °C-30 °C. Επίσης οι Αχτύπη και συν.(2012) αναφέρουν

ότι η αύξηση της διαιτητικής πρωτεΐνης από 20% έως 42% οδήγησε σε αυξήσεις του σωματικού βάρους, του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης και του συντελεστή αποδοτικότητας της τροφής.

Η κιχλιδόζεμπρα όταν διατρέφεται με νιφάδες στους 27 °C σε σχέση με όταν διατρέφεται με νιφάδες στους 20 °C, παρουσίασε μικρότερο ρυθμό ανάπτυξης, ο οποίος πιθανόν να οφείλεται στην αυξημένη περιεκτικότητα της τροφής σε λίπος που οδηγεί σε μειωμένη ανάπτυξη εξαιτίας της μείωσης της κατανάλωσης της τροφής, όπως παρατηρήθηκε σε άτομα του είδους *Sciaenops ocellatus* μέσου βάρους 2,9 g (Ellis & Reigh 1991).

Συγκρίνοντας τις απαιτήσεις σε πρωτεΐνη της κιχλιδόζεμπρας σε σχέση με άλλα διακοσμητικά είδη ψαριών βρέθηκε να είναι υψηλότερη από το χρυσόψαρο μέσου βάρους 0,2 g (29-30%) (Lochmann & Phillips 1994), το dwarf gourami (*Trichogaster lalius*) μέσου βάρους 1,04 g (35%) (Zuanon *et al.* 2013) ή περίπου ίδια με το foil barb (*Barbus schwanefeldi*) μέσου βάρους 0,8 g (41,75%) (Elangovan & Shim 1997), το *Cichlasoma urophthalmus* μέσου βάρους 0,45 g (40%) (Martinez-Palacios *et al.* 1990) ή μικρότερο από τα είδη του γένους *Symphysodon spp* μέσου βάρους 4,40-4,60 g (50%) (Chong *et al.* 2000). Αυτό οφείλεται στις συνήθειες του είδους στο φυσικό περιβάλλον το οποίο αρέσκεται να σιτίζεται σε μεγάλο ποσοστό με υδρόβια έντομα (Weerasooriya *et al.* 1999).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος κατανάλωσης τροφής, η μέση κατανάλωση τροφής της κιχλιδόζεμπρας σε θερμοκρασία 27 °C, όταν τρέφονταν με νιφάδες ήταν μικρότερη (392 mg.d⁻¹) σε σχέση με τα σύμπηκτα (426 mg.d⁻¹) παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά (t-test, $P < 0,05$). Αντίθετα, τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας όταν σιτίζονταν με νιφάδες στους 20 °C, παρουσίασαν μεγαλύτερη

μέση κατανάλωση τροφής ($399 \text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$) σε σχέση με τα σύμπηκτα ($390 \text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$) η οποία ήταν στατιστικά σημαντική (t-test, $P<0,05$).

Τα άτομα της κιχλιδόζεμπρας που σιτίστηκαν με τις δυο διατροφικές αγωγές, εμφάνισαν στατιστικά παρόμοιο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής χωρίς σημαντικές διαφορές στους 27°C , σε αντίθεση με τα άτομα, που σιτίστηκαν με τα σύμπηκτα στους 20°C , όπου παρουσίασαν στατιστικά μεγαλύτερο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής σε σχέση με εκείνα που τρέφονταν με τις νιφάδες (t-test, $P<0,05$). Οι Martinez-Palacio *et al.* (1996), αναφέρουν ότι το είδος *Cichlasoma urophthalmus*, σημείωσε σημαντική μείωση του συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής όταν το επίπεδο της πρωτεΐνης στην τροφή αυξάνονταν από 35% σε 56%.

Σε παρεμφερή αποτελέσματα κατέληξαν οι Chong *et al.* (2000), για τα είδη του γένους *Symphysodon spp.* όπου ο συντελεστής μετατρεψιμότητας κυμαίνονταν από 2,2-3,8 και ήταν αντιστρόφως ανάλογος από το ρυθμό ανάπτυξης του ψαριού.

Η μέση τιμή του συντελεστή απόδοσης πρωτεΐνης ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη στα άτομα που διατράφηκαν με τα σύμπηκτα στους 27°C και 20°C , αντίστοιχα, σε σχέση με τις νιφάδες. Οι Lochmann & Phillips (1994), αναφέρουν ότι το είδος *Carassius auratus* όταν τρέφεται με σύμπηκτα με διαφορετικά επίπεδα σε πρωτεΐνη τα οποία κυμαίνονται από 21%-34,5% παρουσιάζουν υψηλό συντελεστή απόδοσης της πρωτεΐνης. Τα άτομα του *Cichlasoma synspilum* μέσου βάρους 0,28 g, όταν τρέφονται με σιτηρέσια αυξημένης περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (45%-55%) εμφάνισαν μικρότερο συντελεστή απόδοσης πρωτεΐνης (0,64-0,92) σε αντίθεση με εκείνα που σιτίζονταν με σιτηρέσια χαμηλότερης περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (30%-40%), τα οποία εμφάνισαν μεγαλύτερο συντελεστή απόδοσης πρωτεϊνών (Olivera-Novoa *et al.* 1996)

Υψηλά επίπεδα λίπους στην τροφή, προκαλούν μείωση στην ανάπτυξη των ψαριών επηρεάζοντας αρνητικά τη σύσταση του σώματος σε λίπος (Jauncey 1982, Erfanullah & Jafri 1998a, El Sayed & Garling 1998).

Σε ότι αφορά τις απαιτήσεις σε αμινοξέα, διάφορες μελέτες έδειξαν τη συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ της διατροφικής απαίτησης του ψαριού και της απαίτησης σε αμινοξέα, χωρίς να προσδιορίζεται πλήρως η απαίτηση του κάθε ψαριού ανά αμινοξύ (Snellgrove & Alexander 2011). Ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων στην κιχλιδόζεμπρα μέσου βάρους 1-2 g, που σιτίστηκε με τις δίαιτες Α και Β, παρουσίαζε μεγαλύτερο ποσοστό λυσίνης σε σχέση με τις προνύμφες του κοινού χρυσόψαρου (*Carassius auratus*), το fancy ranchu χρυσόψαρο (*Carassius auratus*), τα ιχθύδια του κοινού χρυσόψαρου (*Carassius auratus*) και το αγγελόψαρο (*P. scalare*) που τρέφεται με σκουλήκια και αποκελυφοποιημένες κύστες.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι, μετά από 60 ημέρες, όλες οι κιχλιδόζεμπρες και των δυο διατροφικών ομάδων (δίαιτα Γ, δίαιτα Δ) στους 27 °C αύξησαν το βάρος του σώματός τους, χωρίς στατιστικά να είναι σημαντική (ANOVA, $P > 0,05$). Αντίστοιχα στους 20 °C όταν οι κιχλιδόζεμπρες τρέφονταν με τη δίαιτα Γ και Δ, η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στην αύξηση του βάρους ήταν στατιστικά σημαντικές (ANOVA, $P > 0,05$). Σε συνθήκες ασιτίας και στις δυο θερμοκρασίες τα ψάρια έχασαν βάρος.

Η αύξηση του βάρους και ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης, στις κιχλιδόζεμπρες που τρέφονταν με τη δίαιτα Γ και Δ στους 20 °C, παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (t-test, $P < 0,05$).

Σε παρεμφερή αποτελέσματα κατέληξαν οι Lochmann & Phillips (1996), για το είδος *Carassius auratus*, μέσου βάρους 0,47 g, το οποίο όταν τρέφονταν με σύμπηκτα

περιεκτικότητας σε λίπος 4,5% παρουσίαζε μεγαλύτερη αύξηση βάρους (2,9 g) σε σχέση με τα σιτηρέσια που περιέχουν 13,3% λίπος. Επίσης παρατηρήθηκε ότι, όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα σε λίπος τόσο μειώνεται η αύξηση βάρους στο χρυσόψαρο.

Οι Erdogan *et al.* (2012), αναφέρουν ότι τα είδη *Pseudotropheus socolofi* μέσου βάρους 1,16 g και *Haplochromis ahli* μέσου βάρους 1,68 g, όταν τρέφονται με σύμπηκτα με περιεκτικότητα σε λίπος 9% αύξησαν σημαντικά το βάρος τους και τον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης, σε αντίθεση με τα άτομα που τρέφονταν με σιτηρέσια περιεκτικότητας σε λίπος 16%.

Σύμφωνα με έρευνα των Gaylord & Gatlin (2000), Hardy (1999) και Wilson (1994) τα σιτηρέσια που χορηγούνται σε ιχθύδια θερμών νερών περιέχουν λιγότερο από 10% λιπίδια σε αντίθεση με τα ιχθύδια ψυχρών νερών (σαλμονοειδή) τα οποία περιέχουν λιπίδια έως 30%. Οι Chou & Shiaou (1996), αναφέρουν ότι οι ελάχιστες απαιτήσεις στην τροφή σε λίπος για τα υβρίδια της τιλάπιας είναι της τάξης του 5%. μέσου βάρους 1,34 g Οι Fitzsimmons *et al.* (1997) δε βρήκαν καμία σημαντική στατιστική διαφορά στην ανάπτυξη, στην αποτελεσματικότητα της τροφής και στα επίπεδα λίπους στον μυϊκό ιστό του είδους *Tilapia mozambicus*, μέσου βάρους 68 g σε τροφές που περιείχαν λίπος 3%, 6% ή 8%, αντίστοιχα.

Οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν ότι τα ιχθύδια της τιλάπιας χρησιμοποιούν τα ελάχιστα επίπεδα λιπών που περιέχονται στην τροφή όταν εκτρέφεται σε κλειστά συστήματα εκτροφής. Τα επίπεδα της τροφής σε λίπος για τα περισσότερα είδη τιλάπιας της οικογένειας Cichlidae κυμαίνονται μεταξύ 10% και 15% και εξαρτώνται από την σύσταση της τροφής (El-Sayed & Garling 1988, Chou & Shiaou 1996).

Επίσης, η κιχλιδόζεμπρα που σιτίστηκε με τη δίαιτα Γ στους 27 °C και 20 °C, αντίστοιχα, παρουσίασε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο μέσο συντελεστή

μετατρεψιμότητας της τροφής (t-test, $P < 0,05$). Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν οι Zuanon *et al.* (2006) για το αγγελόψαρο και οι Chong *et al.* (2000) για τα είδη του γένους *Symphysodon spp.* Επίσης τα είδη *Pseudotropheus socolofi* με μέσο βάρος 1,16 g και *Haplochromis ahli* με μέσο βάρος 1,68 g, παρουσίασαν καλύτερο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής όταν τρέφονταν με σύμπηκτα περιεκτικότητας σε λίπη 8% και 16%, αντίστοιχα, (Erdogan *et al.* 2012). Σε αυτή τη μελέτη, οι τιμές του FCR βρέθηκαν να είναι μεγαλύτερες από εκείνες των άλλων ειδών της οικογένειας Cichlidae.

Η διατροφική αξία προϊόντων φυτικής προέλευσης σε σιτηρέσια για την ανάπτυξη τροπικών ψαριών, μελετήθηκε στο δίσκο *Symphysodon aequifasciatus* ενώ στα είδη όπως η κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο παρόλο το οικονομικό ενδιαφέρον που παρουσιάζουν δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς.

Τα αποτελέσματα της παρούσης εργασίας έδειξαν ότι, το αγγελόψαρο όταν τρέφονταν με σιτηρέσια στα οποία η ζωική πρωτεΐνη (FM) αντικαταστάθηκε από φυτική πρωτεΐνη (PM) σε ποσοστό 30%, παρουσίασε σημαντικά μεγαλύτερο ρυθμό ανάπτυξης ($3,18 \pm 0,25$ %/ημέρα), σε σχέση με τα άτομα που σιτίστηκαν με σιτηρέσιο από ιχθυάλευρο (FM) ($1,32 \pm 0,39$ %/ημέρα) (ANOVA, $P < 0,05$). Όταν το αγγελόψαρο σιτίστηκαν εξολοκλήρου με φυτική τροφή (PM) παρουσίαζε σημαντικά μικρότερο ρυθμό ανάπτυξης ($0,85 \pm 0,42$ %/ημέρα) (ANOVA, $P < 0,05$).

Τα αποτελέσματα που εξήχθησαν από το παρόν πείραμα συμφωνούν με εκείνα των Fatima & Murtuza (2010), όπου το αγγελόψαρο μέσου βάρους 0,91 g όταν σιτίστηκε με σιτηρέσιο που περιέχει ελαιοκράμβη έως 16% (σε αντικατάσταση του ιχθυάλευρου) παρουσίασε παρόμοια ανάπτυξη σε σχέση με τα άτομα που διατρέφονταν με ιχθυάλευρο ($P > 0,05$). Όταν το ποσοστό αντικατάστασης σε ελαιοκράμβη είναι

μεγαλύτερο από 24%, τότε το αγγελόψαρο παρουσιάζει σημαντικά τη μικρότερη ανάπτυξη ($P < 0,05$) (Fatima & Murtuza 2010).

Σε παρεμφερή αποτελέσματα κατέληξαν οι Chong *et al.* (2003) για το δίσκο (*Symphrydodon aequifasciatus*), μέσου βάρους 3,5-4 g, όταν σιτίζεται με σιτηρέσιο που περιέχει άλευρο σόγιας έως 30% παρουσίασε παρόμοια ανάπτυξη σε σχέση με τα άτομα που διατρέφονταν με ιχθυάλευρο ($P > 0,05$). Στην ίδια μελέτη αναφέρεται ότι, όταν τα άτομα του δίσκου σιτίζονται με σιτηρέσια στα οποία η αντικατάσταση της ζωικής πρωτεΐνης είναι μεγαλύτερη από 30%, παρατηρείται η χειρότερη ανάπτυξη.

Στο παρόν πείραμα, ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής για τα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με το σιτηρέσιο PM, ήταν υψηλότερος ($1,26 \pm 1,11$) σε σχέση με εκείνον στα άτομα που σιτίζονταν με τα σιτηρέσια FM και MM (ANOVA, $P < 0,05$). Τα αποτελέσματα συμφωνούν με εκείνα των Chong *et al.* (2003) για το δίσκο μέσου βάρους 3,5-4 g όταν σιτίζεται με σιτηρέσια που περιέχουν άλευρο σόγιας σε ποσοστό 50% παρουσιάζουν σημαντικά μεγαλύτερο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής σε σχέση με εκείνα που σιτίζονται με άλευρο σόγιας σε ποσοστό 0%, 10%, 20%, 25%, 30%, 35% και 40% (ANOVA, $P < 0,05$). Επίσης, ο συντελεστής μετατρεψιμότητας για τα αγγελόψαρα που σιτίζονταν με το σιτηρέσιο από ιχθυάλευρο (FM) ήταν $0,62 \pm 0,39$ και για τα άτομα που σιτίζονταν με το σιτηρέσιο στο οποίο έγινε αντικατάσταση της ζωικής πρωτεΐνης με φυτική (MM) ήταν $0,60 \pm 0,45$, χωρίς να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA, $P > 0,05$). Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν οι Chong *et al.* (2003) και οι Fatima & Murtuza (2010), όπου ο δίσκος μέσου βάρους 3,5-4 g και το αγγελόψαρο μέσου βάρους 0,91 g, όταν σιτίζονται με σιτηρέσια από ιχθυάλευρο παρουσιάζουν σημαντικά μικρότερο

συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής σε σχέση με τα σιτηρέσια που περιέχουν άλευρο σόγια και ελαιοκράμβη σε μεγάλο ποσοστό.

Επίσης, ο συντελεστής απόδοσης της τροφής (FE), όταν το αγγελόψαρο σιτίζονταν με το σιτηρέσιο PM παρουσιάζει σημαντικά μειωμένη απόδοση της τροφής σε σχέση με τα αγγελόψαρα που σιτίζονται με τα σιτηρέσια FM και MM. Όταν η προσφερόμενη τροφή περιέχει μεγάλα ποσά φυτικής πρωτεΐνης (άλευρο σόγιας), τότε η αποδοτικότητα της τροφής μειώνεται εξαιτίας της γευστικότητας που παρουσιάζει (Chong *et al.* 2003).

Επίσης, στο παρόν πείραμα παρατηρήθηκε ότι το σιτηρέσιο PM παρουσίασε σημαντικά χαμηλότερο συντελεστή απόδοσης πρωτεΐνης σε σχέση με τις υπόλοιπες διατροφικές ομάδες FM και MM (ANOVA <math>P < 0,05</math>). Υψηλότερη τιμή του συντελεστή παρατηρήθηκε στην ομάδα που διατράφηκε με το σιτηρέσιο MM.

Σε παρεμφερή αποτελέσματα κατέληξαν και οι Chong *et al.* (2003), για το είδος *Symphysodon aequifasciatus* μέσου βάρους 3,5-4 g, το οποίο όταν τρέφεται με σιτηρέσια που περιέχουν άλευρο σόγια σε ποσοστό έως 30% παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερο συντελεστή με εκείνα που περιέχουν άλευρο σόγια σε ποσοστό 35%-50%.

Σε ότι αφορά τη χημική σύσταση του σώματος του αγγελόψαρου βρέθηκε ότι, όταν το αγγελόψαρο σιτίστηκε με το σιτηρέσιο FM παρουσίαζε παρόμοια περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και ολικές λιπαρές ουσίες σε σχέση με τα άτομα που σιτίζονταν με σιτηρέσια PM και MM.

Στο τέλος του πειράματος διατροφής η επιβίωση των ατόμων του αγγελόψαρου παρουσίασε αυξημένα ποσοστά και ήταν 83% για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο PM, 77% για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο FM και 80% για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο MM. Σε συνθήκες αστίας τα αγγελόψαρα

παρουσιάσαν μικρότερη επιβίωση (7%). Τα αποτελέσματα της παρούσης εργασίας συμφωνούν με εκείνα των Fatima & Murtuza (2010) και των Chong *et al.* (2003), όπου το αγγελόψαρο και ο δίσκος παρουσιάζουν αυξημένη επιβίωση όταν σιτίζονται αντίστοιχα με άλευρο ελαιοκράμβης σε ποσοστό 0-16% και άλευρο σόγιας σε ποσοστό 0-30%.

Ομοίως, τα αποτελέσματα της επίδρασης της αντικατάστασης της ζωικής πρωτεΐνης με φυτική πρωτεΐνη (MM) για την κηχλιδόζεμπρα έδειξαν σημαντικά μικρότερη αύξηση βάρους (WG) ($0,18 \pm 0,11$ g) και μικρότερο ρυθμό ανάπτυξης ($1,02 \pm 0,50\%$ /ημέρα), όταν τρέφονταν με σιτηρέσια που περιείχαν φυτική πρωτεΐνη (PM) σε σχέση με τα υπόλοιπα σιτηρέσια (ANOVA, $P < 0,05$). Όταν η κηχλιδόζεμπρα σιτίζονταν με το σιτηρέσιο FM και MM, παρουσίαζε παρόμοια αύξηση βάρους και ρυθμό ανάπτυξης χωρίς να παρουσιάζουν σημαντικά στατιστικές σημαντικές διαφορές μεταξύ τους (ANOVA, $P < 0,05$).

Στο παρόν πείραμα, ο συντελεστής FCR για τις κηχλιδόζεμπρες που σιτίζονταν με το σιτηρέσιο PM, παρουσίασε σημαντικά μεγαλύτερο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής ($1,20 \pm 0,66$) και μικρότερο FE (ANOVA, $P < 0,05$), σε σχέση με τα άτομα που σιτίζονταν με το σιτηρέσιο FM και MM τα οποία παρουσίασαν μικρότερο FCR ($0,53 \pm 0,22$ και $0,50 \pm 0,36$ αντιστοίχως) και μεγαλύτερο FE ($2,14 \pm 1,00$ και $2,51 \pm 1,14$ αντιστοίχως). Η μειωμένη απόδοση στην τροφή οφείλεται στη γευστικότητα που παρουσιάζει η τροφή, εξαιτίας της φυτικής πρωτεΐνης που περιέχεται σ' αυτή (Chong *et al.* 2003).

Επίσης, στο παρόν πείραμα παρατηρήθηκε ότι το σιτηρέσιο PM παρουσίασε σημαντικά χαμηλότερο συντελεστή PER (ANOVA, $P < 0,05$) σε σχέση με τα άτομα που διατράφηκαν με τα σιτηρέσια FM και MM, τα οποία παρουσίασαν αντίστοιχα

υψηλότερο PER. Η υψηλότερη τιμή του συντελεστή είχε η ομάδα που διατράφηκε με το σιτηρέσιο MM ($5,34 \pm 2,16$). Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν με εκείνα των Fatima & Murtuza (2010) και Chong *et al.* (2003) όπου το αγγελόψαρο μέσου βάρους 0,91 g και ο δίσκος μέσου βάρους 3,5-4 g σιτίστηκαν με ελαιοκράμβη (0-16%) και άλευρο σόγιας αντίστοιχα, παρουσίασαν, σημαντικά το μικρότερο συντελεστή PER όταν τρέφονταν με ελαιοκράμβη (24%-40%) και σημαντικά το μεγαλύτερο συντελεστή όταν τρέφονταν με άλευρο σόγιας (30%) (ANOVA, $P < 0,05$).

Ο λευκός μυς της κιχλιδόζεμπρας παρουσίασε μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και ολικές λιπαρές ουσίες όταν σιτίζονταν με το σιτηρέσιο FM και MM, αντίστοιχα, σε σχέση με τα άτομα που σιτίζονταν με το σιτηρέσιο PM.

Στο τέλος του πειράματος διατροφής της κιχλιδόζεμπρας η μεγαλύτερη επιβίωση (60%) παρατηρήθηκε στα άτομα που διατρέφονταν με το σιτηρέσιο FM και MM σε σχέση με τα άτομα που σιτίζονταν με το σιτηρέσιο PM, όπου παρουσίασαν τη μικρότερη επιβίωση (46%). Σε συνθήκες αστιίας η επιβίωση ήταν 14%.

4.4. Δομή κοινοτήτων βακτηριοπλαγκτού στα ενυδρεία εκτρεφόμενων διακοσμητικών ψαριών των ειδών *Pterophyllum scalare* και *Archocentrus nigrofasciatus*

Σε αυτήν την εργασία μελετήθηκαν για πρώτη φορά οι κοινότητες των βακτηρίων που αναπτύχθηκαν στην υδάτινη στήλη, κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες εκτροφής, σε δύο είδη διακοσμητικών ψαριών, οι οποίες χαρακτηρίζονται από υψηλό αριθμό ειδών αλλά και από σχετικά χαμηλή αφθονία.

Η κάλυψη των βιβλιοθηκών κλώνων είναι χαμηλή λόγω του μεγάλου αριθμού των σπάνιων ειδών (δηλαδή, είδη με σχετική αφθονία $\leq 0,1\%$). Σε δείγματα από νερό

βρύσης (Kormas *et al.* 2010, Poitelon *et al.* 2010, Revetta *et al.* 2010) ή από δεξαμενές πόσιμου νερού (Simek *et al.* 2001, Lympferopoulou *et al.* 2012), η αφθονία των αλληλουχιών που μετρήθηκε ήταν επαρκής για να απεικονιστούν τα κυρίαρχα μέλη της βακτηριακής κοινότητας. Στην παρούσα μελέτη, η κάλυψη ήταν ικανοποιητική μόνο για τις 60 ημέρες στο δείγμα του *A. nigrofasciatus*, χωρίς όμως να εντοπιστούν κυρίαρχοι φυλότυποι.

Το pH και τα νιτρικά σε σχέση με τις υπόλοιπες παραμέτρους που μετρήθηκαν, παρουσίασαν τέτοια πρότυπα διακυμάνσεων, τα οποία μπορούσαν να επηρεάσουν τη δομή της κοινότητας των βακτηριακών ειδών. Η διακύμανση του pH ήταν σημαντική στο ενυδρείο του *A. nigrofasciatus* αλλά όχι στο ενυδρείο του *P. scalare* και στα τρία σημεία δειγματοληψίας.

Τα νιτρικά παρουσίασαν αντίθετο πρότυπο. Τα επίπεδα των νιτρικών στο *P. scalare* κορυφώθηκαν την 30^η ημέρα και στη συνέχεια μειώθηκαν σχεδόν στο μισό της τιμής αυτής κατά την 60^η ημέρα. Για το *A. nigrofasciatus*, δεν σημειώθηκε σαφής μέγιστη τιμή και τα επίπεδα των νιτρικών δεν έφθασαν ποτέ αυτά του *P. scalare*.

Παρά τις διαφορές αυτές και οι δύο μεταχειρίσεις έδειξαν μικρή συγκάλυψη μεταξύ των φυλοτύπων στα σημεία δειγματοληψίας, καθιστώντας την παρουσία τους ανεξάρτητη από τις αλλαγές των παραμέτρων αυτών ή τουλάχιστον με χρονική υστέρηση η οποία δεν εντοπίστηκε στα διαστήματα 30 ημερών που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή τη μελέτη .

Η νιτροποίηση θα πρέπει να έλαβε χώρα και στις δύο επεξεργασίες, επειδή η αμμωνία δεν ήταν ανιχνεύσιμη μετά από τις πρώτες έξι έως οκτώ ημέρες, και μετά από αυτό το χρονικό διάστημα, το άζωτο αυξήθηκε μέχρι το τέλος του πειράματος. Τα νιτρικά και τα φωσφορικά είναι, από τους σημαντικούς περιοριστικούς παράγοντες

ανάπτυξης των μικροοργανισμών στο υδάτινο περιβάλλον. Είναι πιθανό οι αυξημένες συγκεντρώσεις των νιτρικών να οφείλονται στην αύξηση των κυττάρων που παρατηρήθηκε μέχρι το τέλος του πειράματος, ευνοώντας με τον τρόπο αυτό την κυριαρχία ορισμένων βακτηρίων που μειώνουν τα νιτρικά.

Τα φωσφορικά αναμένεται, επίσης, να μετατρέπονται γρήγορα, δηλαδή, να χρησιμοποιούνται αμέσως και για το λόγο αυτό τα επίπεδα τους παρέμειναν κάτω από το όριο ανίχνευσης. Οι Burke *et al.* (2011), αναφέρουν ότι μεταξύ δύο κοινοτήτων, η λειτουργική επικάλυψη των διαφορετικών ειδών μπορεί να είναι υψηλή καθώς και η βακτηριακή ποικιλομορφία και η δομή της κοινότητας μπορεί να είναι εξαιρετικά μεταβλητές. Στην παρούσα μελέτη, δεν παρατηρήθηκε σαφής κυριαρχία συγκεκριμένων φυλότυπων, παρά το γεγονός ότι, οι περισσότεροι από τους κοινούς φυλότυπους είχαν στενή σχέση με τα είδη που μειώνουν τα νιτρικά που πιθανά να οφείλονται στις αυξημένες συγκεντρώσεις τους, μετά τις πρώτες ημέρες του πειράματος.

Ο φυλότυπος T0-An-20C-76 είναι παρόμοιος με το *Nevskia ramosa*, ένα είδος το οποίο αναπτύσσεται καλύτερα στους 20-25 °C (Brenner *et al.* 2005) σε επαφές μεταξύ αέρα γλυκού νερού (Pladdies *et al.* 2004) ή σε βιοϋμένιο πόσιμου νερού (Keinänen-Toivola *et al.* 2006). Ένας άλλος φυλότυπος (T30-Ps-25C-52) είναι το *Vogesella perlucida* που μπορεί να εκτελέσει αναγωγή νιτρικών στους 4-45°C, με 0-2 % NaCl και σε pH 7-9 (βέλτιστη ανάπτυξη στους 30 °C, 0,5 % NaCl και pH 7,5) (Chou *et al.* 2008). Ο φυλότυπος T0-An-20C-39 είναι παρόμοιος με το *Burkholderia cepacia*, ένα είδος που είναι γνωστό ότι καθορίζει το N₂, αλλά μπορεί επίσης να προκαλέσει την ινοκυστική νόσο (κυστική ίνωση) (Brenner *et al.* 2005). Ο φυλότυπος T0-An-20C-39 εντοπίστηκε μόνο στο οπίσθιο τμήμα του εντέρου της τιλάπιας, *Oreochromis niloticus*

που εκτρέφεται σε ημι-εντατικό σύστημα (Molinari *et al.* 2003), και στον Ατλαντικό σολομό της Χιλής που εκτρέφεται σε γλυκό νερό (Miranda & Zemelman, 2002), αναφέρεται ότι εμπλέκεται στην παθογένεια των ψαριών (νεαρά και αναπτυσσόμενα ιχθύδια γατόψαρου *Clarias gariepinus*, Nzeako *et al.* 2001). Ο φυλότυπος πιθανόν να προέρχεται από το έντερο των ψαριών, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα ενυδρεία αποτελούν πηγές μικροοργανισμών που προέρχονται από τα κόπρανα τους. Ωστόσο, ο φυλότυπος αυτός, απαντάται και σε φυσικά ρυάκια (Santmiré & Leff 2006) και έχει συσχετιστεί θετικά με συγκεντρώσεις νιτρικών (Olapade *et al.* 2005). Συνεπώς ο φυλότυπος T0-An-20C-39 μπορεί να συμβάλει στη νιτροποίηση του ενυδρείου. Ο φυλότυπος T30-Ps-25C-22 είναι παρόμοιος με το *Pelomonas saccharophila* (Xie & Yokota 2005) το οποίο συμβάλλει στη μείωση των νιτρικών, από κοινού με το φυλότυπο T30-Ps-25C-5, συγκροτούν μια ομάδα φυλότυπων του γένους *Acidovorax* spp. που είναι υπεύθυνοι για την απονιτροποίηση (Brenner *et al.* 2005).

Ο φυλότυπος T0-An-20C-6 είναι κατά πάσα πιθανότητα ένα *Flexibacter aurianticus*, το οποίο αναπτύσσεται στους 10-25 °C και μπορεί να ανάγει τα νιτρικά σε νιτρώδη (Brenner *et al.* 2005). Ο φυλότυπος T0-An-20C-6, είναι παρόμοιος με το στέλεχος *Sphingorhysis* (συνώνυμο με το *Sphingomonas*) το οποίο είναι γνωστό ότι συμβάλλει στη μείωση των νιτρικών (Godoy *et al.* 2003).

Η βακτηριακή αφθονία συνέχισε να αυξάνεται μέχρι το τέλος του πειράματος, λόγω της σημαντικής έλλειψης πίεσης (Sherr & Sherr 2002), που αποδεικνύεται από την αδυναμία να βρεθούν νανομαστιγωτά (δηλαδή, πάντα κάτω από το όριο ανίχνευσης) (Κορμάς, αδημοσίευτα στοιχεία). Σε ομαδοποιημένες καλλιέργειες ειδών (batch culture-closed), η αύξηση του αριθμού των βακτηριακών κυττάρων συνήθως αποδίδεται σε ελάχιστα κυρίαρχα είδη, γεγονός το οποίο δεν αποτέλεσε αντικείμενο

μελέτης στην παρούσα εργασία. Όχι μόνο δεν υπήρχαν κυρίαρχα είδη, αλλά λιγότερα από εκείνα που υπήρχαν κατά την ημέρα 30 και την ημέρα 0 εμφανίστηκαν και την ημέρα 60 ενώ εντοπίστηκε μεγάλος αριθμός σπανίων φυλότυπων.

Συνήθως υψηλοί αριθμοί σπανίων φυλότυπων, αναμαίνονται σε μεταβλητά περιβάλλοντα (Reid & Buckley 2011). Ο αριθμός αυτός μειώνεται με την ταυτόχρονη κυριαρχία ταξινομικών ομάδων σε ένα πιο σταθερά φυσικό περιβάλλον με λιγότερο εμφανείς αλλαγές στις επικρατούσες συνθήκες (Øvreås & Curtis 2011).

Οι οικοφυσιολογικοί μηχανισμοί φαίνεται να είναι υπεύθυνοι για τη διατήρηση ενός μεγάλου αριθμού σπάνιων ταξινομικών ομάδων, είναι ο χαμηλός μεταβολικός ρυθμός ή ρυθμός ανάπτυξης, ο ανταγωνισμός-αλληλοπάθεια, η ισορροπία μεταξύ του ρυθμού ανάπτυξης και του ρυθμού απομάκρυνσης και η εξειδίκευση σε υποστρώματα ή ενδιαιτήματα (Pedrós-Alió 2012).

Σε ότι αφορά τους μεταβολικούς ρυθμούς χαρακτηρισμένων βακτηριακών ειδών, οι επικρατούσες συνθήκες (π.χ. θερμοκρασία, pH, αλατότητα) στις δεξαμενές εμπίπτουν στο εύρος που απαιτείται από τους περισσότερους κοινούς φυλότυπους (βλ. παραπάνω). Ο ανταγωνισμός στο βακτηριοπλαγκτόν των δεξαμενών αναμένεται να είναι υψηλός, και αυτό θα μπορούσε να προκαλέσει μια έλλειψη κυριάρχων φυλότυπων.

Επειδή χρησιμοποιήθηκε κλειστό σύστημα, δεν εισήχθηκαν νέα είδη. Εντούτοις, τα ενυδρεία δεν απομονώθηκαν από τον αέρα με αποτέλεσμα την πιθανή μεταφορά αερομεταφερόμενων βακτηρίων στις δεξαμενές. Παρόλα αυτά η εδραίωση τους παραμένει αμφίβολη και άγνωστη.

Ο άνωθεν έλεγχος ήταν αμελητέος, καθώς δεν παρατηρήσαμε βακτηριακούς θηρευτές, δηλαδή ετεροτροφικά νανομαστιγωτά ή μεγαλύτερα πρωτόζωα (Κορμάς,

προσωπική παρατήρηση), αλλά το αποτέλεσμα της ιογενούς λοίμωξης και λύσης δεν μπορεί να αποκλειστεί (Wommack & Colwell 2000).

Ο παράγοντας που πρέπει να ληφθεί υπόψη είναι η ποιότητα και η ποσότητα του άνθρακα γιατί μπορεί να μεταβάλλει τις συνθήκες στην υδάτινη στήλη της δεξαμενής. Το υπόστρωμα του άνθρακα προέρχεται από υπολείμματα τροφών και απεκκρίσεις ψαριών.

Παρ' όλα αυτά εκτιμήθηκε, ο ρυθμός παραγωγής των διαλυμένων και σωματιδιακών αζωτούχων αποβλήτων του εκτρεφόμενου σολομού (Davies 2000, *Mente et al.* 2006). Πρόσφατα, υποστηρίχτηκε ότι η υψηλή ή η χαμηλή πυκνότητα εκτροφής της τσιπούρας (*Sparus aurata*) σε ιχθυοκλωβούς προκαλεί σημαντικές διαφορές στους αριθμούς των βακτηριακών κυττάρων εξαιτίας της υψηλότερης ή χαμηλότερης ποσότητας αποβαλλόμενου υλικού των ψαριών (*Mente et al.* 2012).

Η ανάπτυξη των εγκαταστάσεων εκτροφής σε εμπορική κλίμακα είναι σύμφωνες με τις εξελίξεις στον τομέα της έρευνας για την βελτίωση των συνθηκών εκτροφής προωθώντας την περαιτέρω ανάπτυξη της εκτροφής των διακοσμητικών ψαριών.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής δείχνουν ότι η κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο, μπορεί να αποτελέσουν δυο κατάλληλα είδη για ελεγχόμενη εκτροφή στο μέλλον. Είναι είδη με μεγάλο οικονομικό, εμπορικό και βιολογικό ενδιαφέρον για τους εξής λόγους:

- Η διατήρηση και η ανάπτυξή τους σε συνθήκες αιχμαλωσίας, παρουσιάζει αξιόλογο ενδιαφέρον υπό την προϋπόθεση να μην μεταβάλλονται οι φυσικοχημικές παράμετροι του νερού (pH, θερμοκρασία, σκληρότητα νερού, αζωτούχα παράγωγα)
- Η παραγωγή αυτών των ειδών μπορεί να εντατικοποιηθεί και να βελτιστοποιηθεί εξαιτίας του κατάλληλου μεγέθους τους, καθώς και της ποσοτικής και ποιοτικής διαχείρισής τους

5.1 Συμπεράσματα οντογένεσης της κιχλιδόζεμπρας και αγγελόψαρου

Σε ότι αφορά τα συμπεράσματα που προέκυψαν από τη μελέτη της οντογένεσης για τα δυο είδη ψαριών συνοψίζονται ως εξής:

- Η μελέτη των πρώιμων (εμβρυική ανάπτυξη) και των ύστερων σταδίων ανάπτυξης (λεκιθοφόρα και νυμφική ανάπτυξη) και στα δυο είδη ψαριών μπορεί να γίνει υπό την επίδραση της θερμοκρασίας ή του pH του νερού.
- Ο σεξουαλικός διμορφισμός, η ωριμότητα και ο ετήσιος αναπαραγωγικός κύκλος αποτελούν κριτήρια για τη διερεύνηση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας των ειδών αυτών.

- Δεν απαντώνται ιδιαίτερες διαφορές ανάμεσα στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των αυγών μεταξύ της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου με εκείνα των υπολοίπων ειδών της οικογένειας Cichlidae.
- Η σειρά εμφάνισης και η εξέλιξη των διαφόρων αναπτυξιακών γεγονότων στο στάδιο της εμβρυακής ανάπτυξης της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου ακολουθούν το μοντέλο εξέλιξης των ειδών της οικογένειας Cichlidae που έχουν μελετηθεί.
- Ο σχετικός χρόνος (RTi) που σχηματίζονται οι μορφολογικοί παράγοντες είναι σταθερός και ανεξάρτητος από τη θερμοκρασία εκκόλαψης για την κιχλιδόζεμπρα καθώς και του pH για το αγγελόψαρο.
- Η διάρκεια του εμβρυακού σταδίου για την κιχλιδόζεμπρα μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας, ενώ για το αγγελόψαρο μειώνεται με την μείωση του pH.
- Τα ποσοστά επιβίωσης στην κιχλιδόζεμπρα είναι μεγαλύτερα στην υψηλότερη θερμοκρασία εκκόλαψης (27 °C) σε σύγκριση με τη μικρότερη θερμοκρασία (23 °C). Στο αγγελόψαρο, τα ποσοστά επιβίωσης αυξάνονται όταν το pH είναι 6,2 σε σύγκριση με το αλκαλικότερο pH (7,4).

Από τη μελέτη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου εξήχθησαν τα εξής συμπεράσματα:

- Η πλειοψηφία των νέο-εκκολαπτόμενων νυμφών φέρει σταγόνα λιπιδίου η οποία δεν είναι ευδιάκριτη.
- Το πρότυπο της μορφολογικής ανάπτυξης των λεκιθοφόρων νυμφών της κιχλιδόζεμπρας και του αγγελόψαρου δε διαφέρει από το αντίστοιχο των υπολοίπων ειδών της οικογένειας Cichlidae που έχουν μελετηθεί.

- Τα μελανοφόρα κύτταρα που αναπτύσσονται στην μεταεδρική περιοχή και ο αριθμός των πρωτογενών ουραίων ακτινών (CFRE) τόσο στην κιχλιδόζεμπρα όσο και στο αγγελόψαρο αποτελούν αξιόλογο ταξινομικό χαρακτήρα.
- Η εξέλιξη των μορφομετρικών παραμέτρων στην κιχλιδόζεμπρα επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία, ενώ στο αγγελόψαρο επηρεάζεται από το pH.
- Η απορρόφηση του λεκιθικού σάκου στην κιχλιδόζεμπρα στους 27 °C παρατηρήθηκε στις 100 h μετά την εκκόλαψη και στις 124 h μετά την εκκόλαψη, στους 23 °C
- Η απορρόφηση του λεκιθικού σάκου στο αγγελόψαρο παρατηρήθηκε στις 60-72 h μετά την εκκόλαψη σε pH 6,2 και στις 72-84 h σε pH 7,4.
- Το pH και η σκληρότητα του νερού είναι από τους βασικούς παράγοντες που καθορίζουν την αναπαραγωγική διαδικασία του αγγελόψαρου, ενώ θα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω η πιθανή επίδραση της σκληρότητας του νερού στο εμβρυακό στάδιο ανάπτυξης του ψαριού.

5.2. Συμπεράσματα διατροφικών πειραμάτων του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας

Ελάχιστα είναι γνωστά για τη διατροφή των διακοσμητικών ψαριών και οι όποιες γνώσεις της επιστημονικής κοινότητας βασίζονται κυρίως σε γνώσεις για τις θρεπτικές απαιτήσεις και τις πρακτικές που εφαρμόζονται στα εδάδιμα εκτρεφόμενα είδη ψαριών. Η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη μελέτη για τα υπό εξέταση είδη της επίδρασης του τύπου και της προέλευσης της πρωτεϊνικής πηγής της δίαιτας στην επιβίωση, την κατανάλωση τροφής, στις παραμέτρους ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής, καθώς και τη χημική σύσταση του λευκού μυός των ψαριών. Παράλληλα, η

μελέτη της επίδρασης των διαφορετικών διαιτών εξετάστηκε και σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Συγκεκριμένα, για το αγγελόψαρο, στη θερμοκρασία των 29 °C (βέλτιστη θερμοκρασία) και σε μια μικρότερη θερμοκρασία των 25 °C (θερμική ανθεκτικότητα) και για την κιχλιδόζεμπρα στη θερμοκρασία των 27 °C (βέλτιστη θερμοκρασία) και σε μια μικρότερη θερμοκρασία των 20 °C (θερμική ανθεκτικότητα). Η κατάρτιση κατάλληλων και ισορροπημένων σιτηρεσίων έχει ως αποτέλεσμα την βέλτιστη ανάπτυξη των μελετηθέντων ειδών καθώς και τη μεταβολική αξιοποίηση της τροφής.

Οι πληροφορίες που αντλούνται από τα πειράματα διατροφής, έχουν πολλαπλές χρήσεις, όσον αφορά τη διαχείριση εκτροφής του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας προσφέροντας νέες στρατηγικές στην κατάρτιση βελτιωμένων και ισορροπημένων σιτηρεσίων με στόχο τη βελτίωση της ανάπτυξης και της υγείας των διακοσμητικών ψαριών αλλά και του ελέγχου του ρυπαντικού φορτίου στο ενυδρείο που προέρχεται από τις τροφές.

5.2.1. Συμπεράσματα διατροφικών πειραμάτων του αγγελόψαρου

- Η παρούσα μελέτη δείχνει ότι ο τύπος της χορηγούμενης διαίτας όσο και η θερμοκρασία του νερού επηρεάζουν το ρυθμό ανάπτυξης του είδους. Συγκεκριμένα δείχθηκε ότι, μια διαίτα που αποτελείται από σύμπηκτα και κατεψυγμένη τροφή οδηγεί σε ταχύτερους ρυθμούς ανάπτυξης συγκριτικά με μια ισοπρωτεϊνική και συνάμα ισοενεργειακή διαίτα που αποτελείται από νιφάδες και την ίδια κατεψυγμένη τροφή. Αυτό οφείλεται στην υψηλότερη κατανάλωση των συμπηκτων συγκριτικά με τις νιφάδες πιθανόν εξαιτίας της

διαφορετικής διαλυτότητάς τους στο νερό, αλλά και στη διαφορετική θρεπτική σύσταση συμπηκτων και νιφάδων (λιπιδικό περιεχόμενο)

- Η δίαιτα με τα σύμπηκτα οδηγεί σε ταχύτερους ρυθμούς ανάπτυξης όταν η θερμοκρασία του νερού διατήρησης των αγγελόψαρων είναι 29 °C σε σχέση με τους 25 °C, υποδεικνύοντας ότι στα ανώτερα θερμοκρασιακά βέλτιστα όρια, ο ρυθμός μεταβολισμού της τροφής είναι υψηλότερος.
- Επίσης, ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με σύμπηκτα έδειξαν υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης και καλύτερη κατανάλωση τροφής σε σύγκριση με τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με νιφάδες σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή.
- Στο τέλος του πειράματος ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) για τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη δίαιτα Α, έδειξε υψηλότερα επίπεδα στο αμινοξύ λυσίνη.
- Τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με ισολιπιδιακά σιτηρέσια (δίαιτα Γ και Δ), στους 29 °C, παρουσίασαν καλύτερη ανάπτυξη και υψηλότερη επιβίωση όταν τρέφονται με σύμπηκτα (δίαιτα Γ) σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή τρεις φορές ημερησίως σε σχέση με τις νιφάδες (δίαιτα Δ). Επίσης τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με την δίαιτα Γ στους 29 °C, παρουσίασαν μεγαλύτερη κατανάλωση τροφής σε σχέση με τα άτομα που σιτίστηκαν με τις νιφάδες.
- Στους 25 °C, τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με σύμπηκτα και νιφάδες σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή παρουσίασαν παρόμοια ανάπτυξη. Η κατανάλωση τροφής και η επιβίωση στους 25 °C, ήταν μεγαλύτερη όταν το αγγελόψαρο τρέφονταν με σύμπηκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή.

- Ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) για τα αγγελόψαρα που σιτίστηκαν με τη διαίτα Γ, έδειξε υψηλότερα επίπεδα στο αμινοξύ λυσίνη και αργινίνη.

5.2.2. Συμπεράσματα διατροφικών πειραμάτων της κιχλιδόζεμπρας

- Η κιχλιδόζεμπρα στους 27 °C επιδεικνύει παρόμοια ανάπτυξη όταν σιτίζεται είτε με τα ισοπρωτεϊνικά σιτηρέσια (δίαιτα Α και Β), είτε σιτίζεται με τα ισολιπιδιακά σιτηρέσια (δίαιτα Γ και Δ). Στη μικρότερη θερμοκρασία (20 °C) η κιχλιδόζεμπρα όταν τρέφεται με τα σύμπηκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή (δίαιτα Γ) παρουσιάζει καλύτερη ανάπτυξη σε σχέση με τις νιφάδες σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή.
- Η κιχλιδόζεμπρα στους 27 °C παρουσίασε μεγαλύτερη κατανάλωση τροφής όταν σιτίστηκε με σύμπηκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή (δίαιτα Α), σε αντίθεση με τη μικρότερη θερμοκρασία (20 °C), όπου παρουσίασε μεγαλύτερη κατανάλωση τροφής όταν σιτίστηκε με νιφάδες σε συνδυασμό με την κατεψυγμένη τροφή.
- Μικρότερη επιβίωση παρατηρήθηκε όταν σιτίστηκε με τη διαίτα Α, γιατί εκδήλωσε αναπαραγωγική δραστηριότητα και αυτό είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση της επιθετικής συμπεριφοράς.
- Στους 20 °C, η μεγαλύτερη επιβίωση παρατηρήθηκε όταν η κιχλιδόζεμπρα σιτίστηκε με σύμπηκτα σε συνδυασμό με κατεψυγμένη τροφή (δίαιτα Γ) Η μικρότερη θερμοκρασία φαίνεται να επηρεάζει χρονικά την καθυστέρηση της αναπαραγωγικής συμπεριφορά της κιχλιδόζεμπρας.

- Ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) για την κιχλιδόζεμπρα που σιτίστηκε με τη δίαιτα A (σύμπληκτα) στους 27 °C, έδειξε υψηλότερα επίπεδα στα αμινοξέα λυσίνη και ισολευκίνη, σε αντίθεση με τη μικρότερη θερμοκρασία (20 °C) όπου ο λόγος των απαραίτητων αμινοξέων (A/E) έδειξε υψηλότερα ποσοστά σε αργινίνη για την κιχλιδόζεμπρα που σιτίστηκε με τη δίαιτα

Τέλος τα συμπεράσματα που εξήχθησαν για τα μελετηθέντα είδη από τη χρήση των σιτηρεσίων που περιείχαν διαφορετική πρωτεϊνική πηγή (PM, FM και MM) είναι τα εξής:

- Το αγγελόψαρο και η κιχλιδόζεμπρα όταν διατρέφονταν με σιτηρέσια από ιχθυάλευρο (FM) ή με σιτηρέσια που έγινε μερική υποκατάσταση της ζωικής πρωτεΐνης από φυτική (MM), παρουσίασαν υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης και μεγαλύτερη αύξηση βάρους σε σχέση με τα ψάρια που σιτίστηκαν με σιτηρέσια που περιείχαν αποκλειστικά πρωτεΐνη φυτικής προέλευσης (PM).
- Οι τροφές που είναι πλούσιες σε ζωική πρωτεΐνη επιδρούν στην ταχύτερη αναπαραγωγική ωρίμανση και στα δύο είδη, με αποτέλεσμα να μην αναπτύσσουν επιθετική συμπεριφορά, ενώ όταν η διατροφή τους περιλαμβάνει τροφές φυτικής προέλευσης (άλευρο σόγιας, ελαιοκράμβη, κλπ) έχει ως αποτέλεσμα να επιμηκύνεται χρονικά ο «απογαλακτισμός» των νυμφών, να επιβραδύνεται η ανάπτυξή τους και η αναπαραγωγική τους διαδικασία.
- Η παρούσα μελέτη μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι, ο συνδυασμός τροφών φυτικής και ζωικής προέλευσης δίνει τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα στην ανάπτυξη, επιβίωση και αναπαραγωγική δραστηριότητα των μελετηθέντων

ειδών, αλλά και στην κατάρτιση νέων, βελτιωμένων, διατροφικά ισορροπημένων και οικονομικά καταλληλότερων τροφών.

5.3. Συμπεράσματα της δομής των κοινοτήτων του βακτηριοπλαγκτού στα ενυδρεία του αγγελόψαρου και της κιχλιδόζεμπρας

- Στην παρούσα διδακτορική διατροφή μελετήθηκαν για πρώτη φορά οι κοινότητες των βακτηρίων που αναπτύχθηκαν στην υδάτινη στήλη κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες εκτροφής στα μελετηθέντα είδη. Πιο συγκεκριμένα, οι κοινότητες των βακτηρίων και στα δυο είδη διακοσμητικών ψαριών χαρακτηρίζονται από υψηλό αριθμό ειδών και από σχετικά χαμηλή αφθονία.
- Η φυλογενετική ανάλυση έδειξε ότι δεν παρατηρήθηκε σαφής κυριαρχία συγκεκριμένων φυλοτύπων, με το μεγαλύτερο αριθμό να ανήκει στα Proteobacteria η οποία παρατηρήθηκε την ημέρα 0 και ο χαμηλότερος αριθμός σημειώθηκε την 60^η ημέρα και την 30^η ημέρα, για την κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο αντίστοιχα. Οι περισσότεροι από τους κοινούς φυλότυπους είχαν στενή σχέση με τα είδη που μειώνουν τα νιτρικά ιόντα που πιθανά να οφείλονται στις αυξημένες συγκεντρώσεις τους, μετά τις πρώτες ημέρες του πειράματος.
- Η γνώση της βακτηριακής ποικιλομορφίας των ενυδρείων όπου εκτρέφονται διακοσμητικά ψάρια αποβλέπει στη βελτίωση των συνθηκών διαβίωσης τους.

6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Διεθνής βιβλιογραφία

- Abdolbaghian S., Jamili S., Matinfar A. (2010) The effect of temperature and diet on the degrees of specific growth rate percentage (SGR %) and weight growth (WG %) of angel fish fry *Pterophyllum scalare*. Journal of Fisheries and Aquatic Science, 5: 311-315.
- Adel M., Saeedi A.A., Safari R., Azizi R.H., Adel M. (2013) *Pterophyllum scalare* (Perciformes: Cichlidae) A New Paratenic Host of *Capillaria* sp. (Nematoda: Capillariidae) in Iran, World Journal of Zoology, 8(4): 371-375
- Afzal Khan M., Jafri A.K., Chadha N.K. (2005) Effects of varying dietary protein levels on growth, reproductive performance, body and egg composition of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton). Aquaculture Nutrition, 11(1):11-17
- Ahsan M., Habib B., Parvin M., Huntington C.T., Hasan R.M. (2008) A Review on culture, production and use of Spirulina as food for humans and Feeds for Domestic animal and Fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1034 FIMA/C1034 (En) p 1-25
- Akatsu S., Al-Abdul-Elah K.M., Teng S.K. (1983) Effects of salinity and water temperature on the survival and growth of brown-spotted grouper larvae. (*Epinephelus tauvina* Serranidae). Journal of the World Mariculture Society 14:624–635
- Aldrige D.C. (1999) Development of the European bitterling in the gills of freshwater mussels, Journal of Fish Biology, 54:138-151

- Alkins-Koo M. (2000) Reproductive timing of fishes in a tropical intermittent stream. *Environmental Biology of Fishes*, 57:49–66
- Allonso F., Canepa M., Moreira., Pandolfi M. (2011) Social and reproductive physiology and behavior of the Neotropical cichlid fish *Cichlasoma dimerus* under Laboratory conditions. *Neotropical Ichthyology*, 9(3):559-570
- Alonzo J.J., McKaye R.K., Van de Berghe P.E. (2001) Parental defence of young by the convict cichlid *Archocentrus nigrofasciatus*, in Lake Xilola, Nicaragua. *Journal of Aquaculture and Aquatic Sciences*, 9:209-228
- AOAC (1995) Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA. *Aquaculture* 302, 131–152
- Arnott G., Elwood R.W. (2010) Startle durations reveal visual assessment abilities during contests between convict cichlids. *Behavioural Processes* 84:750-756.
- Arvedlund M., McCormick M.I., Ainsworth T. (2000) Effects of Photoperiod on Growth of Larvae and Juveniles of the Anemonefish *Amphiprion melanopus*. *Naga, Worldfish Centre Quarterly*, 23:18-23
- Axelrod H., Walker B. (2000) The guide to owning angelfish. New Jersey, TFH Publication, Inc, New Jersey, USA, p 64
- Axelrod R.H., Sweeney E.M. (1992) Angelfish, *Pterophyllum scalare*. In: The Fascination of Breeding Aquarium Fish. TFH Publication, Inc, USA, p 142-155
- Axelrod S.G., Scott M.B. (2005) Encyclopedia of Exotic Tropical Fishes, For Fresh Water Aquariums. In: TFH Publication, Inc, Neptune City, NJ07753, pp 837
- Azzayadi M., Rubio F.C., Martinez F.J., Zamora S., Sanchez-Vazquez F.J., Madrid J.A. (1999) Effect of meal size modulation on growth performance and feeding

- rhythms, growth in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 170:253-266
- Baensch F. (2003) Marine copepods and the culture of two new pygmy angelfish species. *Freshwater and Marine Aquarium*, 26:156-162
- Bahadir Koca S., Diler I., Dulluc A., Yigit N.O., Bayrak H. (2009) Effect of different types on growth and Feed Conversion Ratio of Angel Fish (*Pterophyllum scalare* Lichtenstein,1823). *Journal of Applied Biological Sciences*, 3(2):6-10
- Ballard W.W. (1973a) Normal embryonic stages for salmonid fishes based on *Salmo gairdneri* and *Salvelinus fontinalis*. *Journal of Experimental Zoology*, 184: 7-26
- Balon E. K. (1975) Reproductive guilds of fishes: a proposal and definition. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32: 821-864
- Balon E.K. (1977) Early ontogeny of *Labeotropheus* Ahl, 1927 (Mbuna Cichlidae, Lake Malawi), with a discussion on advanced protective styles in fish reproduction and development. *Environmental Biology of fishes*, 2:147-176
- Bangerter L.D. (2007) Freshwater tropical Aquariums Fish Species Descriptions Stats, Cichlids. In: By Doctor Foster & Smith, www.LiveAquaria.com
- Barberán A., Casamayor E. (2010) Global phylogenetic community structure and β -diversity patterns in surface bacterioplankton metacommunities. *Aquatic Microbial Ecology*, 59:1–10
- Barley A., Coleman M.R. (2010) Habitat structure directly affects aggression in convict cichlids *Archocentrus nigrofasciatus*. *Current Zoology*, 56 (1):52-56
- Barlow G.W.(1991) Mating systems among Cichlid fishes. In *Cichlid fishes behavior, ecology and evolution*: 173-190. Keenleyside M.H.A. (ed.), London: Chapman & Hall

- Bartley D.M. (2004) Responsible ornamental fisheries. *FAO Aquaculture Newsletter* 24:10-14
- Bartley D.M. (2005) Fisheries and Aquaculture topics. Ornamental fish. Topics Fact Sheets. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome, <http://www.fao.org/fishery/topic/13611/en>
- Beeching S.C., Gross S. H., Bretz H., Hariatis E. (1998) Sexual dichromatism in convict cichlids: the ethological significance of female ventral coloration. *Animal Behaviour*, 56: 1021-102
- Beran V., Matlova L., Dvorska L., Svastova P., Pavlik I. (2006) Distribution of mycobacteria in clinically healthy ornamental fish and their aquarium environment. *Journal of Fish Diseases*, 29:383–393
- Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. (2007) Βιοχημεία Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης. Ηράκλειο, Τόμος 1, pp 745.
- Bergman H.,(1986) Eine descriptive Verhaltensanalyse des Segelflossers (*Pterophyllum scalare* (Cu. & Val.) (Cichlidae, Pisces). *Z.f. Tierpsychol.*, 25: 559-587.
- Bernstein J.W. (1980) Parental care in the Cichlid fish *Cichlasoma nigrofasciatus*. *Copeia*, 80 (40): 682-686
- Bishnoi K.R. (2013) Study of rearing and breeding of angelfish (*Pterophyllum scalare*) in glass aquarium. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Science*, ISSN:2231-6345.3(2):53-57
- Blaxter J.H.S. (1991) The effect of temperature on larval fishes. *Netherlands Journal of Zoology*, 42:336-357
- Blom J.H., Dabrowski K. (2000) Vitamin C requirements of the Angelfish *Pterophyllum scalare*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 31(1): 115-118

- Bomberg M., Montonen L., Münster U., Jurgens G. (2008) Diversity and function of archaea in freshwater habitats. *Current Trends Microbiology*, 4:61–89
- Bray JR., Curtis JT. (1957). An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological monographs*, 27: 325-349
- Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T. (2005) *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol two, Second eds, The Proteobacteria. Springer, New York
- Brown J.A., Minkoff G., Puvanendran V. (2003) Larviculture of Atlantic cod (*Gadus morhua*): progress, protocols and problems. *Aquaculture*, 227(1-4):357-372
- Brown N.P., Shields R.J., Bromage N.R. (2006) The influence of water temperature on spawning patterns and egg quality in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* 261, 993-1002
- Burke C., Thomas T., Lewis M., Steinberg P., Kjelleberg S. (2011) Composition, uniqueness and variability of the epiphytic bacterial community of the greenalga *Ulva australis*. *The ISME Journal*, 5:590–600
- Burrell P.C., Phalen C.M., Hovanec T.A. (2001) Identification of Bacteria responsible for ammonia oxidation in freshwater aquaria. *Applied and Environmental Microbiology*, 67:5791–5800
- Cacho M.S.R.F., Yamamoto M.E., Chellappa S. (1999) Comportamento reprodutivo do acará bandeira, *Pterophyllum scalare* (Osteichthyes, Cichlidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 16:653-664
- Cacho M.S.R.F., Chellappa S., Yamamoto M.E. (2006) Reproductive success and female preference in the Amazonian cichlid angel fish, *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823). *Neotropical Ichthyology*, 4(1):87-91

- Cacho M.S.R.F., Chellapa S., Yamamoto M.E. (2007) Mating system of the amazonian cichlid angel fish, *Pterophyllum scalare* Brazilian Journal of Biology, 67(1): 161-165
- Calado R. (2006) Marine ornamental species from European waters: a valuable overlooked resource or a future threat for the conservation of marine ecosystems? Scientia Marina, 70(3): 389-398
- Calado R. (2008) Marine ornamental shrimp: biology, aquaculture and conservation. John Wiley & Sons, UK, pp 280
- Carnevali O., Carletta R., Cambi A., Vita A., Bromage N.(1999) Yolk formation and degradation during oocyte maturation in sea bream *Sparus aurata*: involvement of two lysosomal proteinases. Biology of Reproduction, 60:140–146
- Carter C.G., Brafield A.E. (1991) The bioenergetics of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.): Energy allocation at different planes of nutrition. Journal of Fish Biology, 39(6): 873–887
- Carter C.G., Houlihan D.F. (2001) Protein synthesis. In: Nitrogen Excretion, Fish Physiology Volume 19, p 31-75. Edited by P.A.Wright and P.M. Anderson. Academic Press, New York
- Carter C.G., Houlihan D.F., Buchanan B., Mitchell A.I. (1993) Protein-nitrogen flux and protein growth efficiency of individual Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Fish Physiology and Biochemistry, 12:305-315
- Carter C.G., Houlihan D.F., Owen S.F. (1998) Protein synthesis, nitrogen excretion and long-term growth of juvenile *Pleuronectes flesus*. Journal of Fish Biology, 53:272-284

- Carvalho A.P., Araújo L., Santos M.M. (2006) Rearing zebrafish (*Danio rerio*) larvae without live food: evaluation of a commercial, a practical and a purified starter diet on larval performance. *Aquaculture Research*, 37:1107–1111
- Cato J., Brown C.L. (2003) (Eds.) *Marine Ornamental Species: Collection, Culture and Conservation*. Iowa State University Press, p 11–28
- Chakrabarty D., Das S.K., Das M.K., Bag M.P. (2010) Low cost fish feed for aquarium fish: a test case using *Colisa fasciata*. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8(2):312-316
- Chamber R.C., Trippel E.A. (1997) In *Early life History and Recruitment in fish populations* (Chamber R.C., Trippel E.A. (eds)). p 225-245. *Fish and Fisheries*, series 21, Chapman & Hall, UK
- Chao N.L., Petry P., Prang G., Sonneschien L., Tlusty M. (2001) *Conservation and Management of Ornamental Fish Resources of the Rio Negro Basin, Amazonia, Brazil - Project Piaba*. Manaus, Amazonas Brazil: Editoria da Universidade de Amazonas, Manaus, Brazil, pp310
- Chapman F.A., Fitz-Coy S.A., Thunberg E.M., Adams C.M. (1997) United States of America trade in ornamental fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28:1-10.
- Chávez de Martínez M. (1990) Vitamin C requirement of the Mexican native cichlid *Cichlasoma urophthalmus* (Gunther). *Aquaculture*, 86(4):409-416
- Chavez-Sanchez Ma C., Martinez-Palacios C.A., Martinez-Perez G., Ross L.G.(2000) Phosphorus and calcium requirements in the diet of the American cichlid *Cichlasoma urophthalmus* (Günther). *Aquaculture Nutrition*, 6(10):1-9

- Chellapa S., Yamamoto E., Cacho M.S.R.F., Huntingford F.A. (1999a) Prior residence, body size and the dynamics of territorial disputes between male freshwater angelfish. *Journal of Fish Biology*, 55(6):1163-1170
- Chellappa S. (2000) A review on reproductive strategies and ecology of cichlid fishes of Northeastern Brazil. *Revista de Ecologia Aquática Tropical*, 10:5 -11
- Chien A.K., Salmon M. (1972) Reproductive behaviour of the angelfish, *Pterophyllum scalare*. I. A quantitative analysis of spawning and parental behaviour. *Forma et Functio*, 5:45-74
- Chong A., Hashim R., Ali A.B. (2000) Dietary protein requirements for discus (*Symphysodon* spp.). *Aquaculture Nutrition*, 6(4):275-278
- Chong A., Hashim R., Ali A.B. (2003) Assessment of soybean meal in diets for discus (*Symphysodon aequifasciatus* HECKEL) farming through a fish meal replacement study. *Aquaculture Research*, 34:913-922
- Chong A., Ishak S.D., Osman Z., Hashim R. (2004) Effect of dietary protein level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). *Aquaculture*, 234(1-4): 381-392
- Chou Y.J., Chou J.H., Lin M.C., Arun A.B., Young C.C., Chen W.M. (2008) *Vogesella perlucida* sp. nov., a non-pigmented bacterium isolated from spring water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58:2677–2681
- Chou B.S., Shiau S.Y. (1996) Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, 143:185-195
- Coleman M.R., Gross M.R. (1991) Parental investment theory: the role of past investment. *Trends in Ecology and Evolution*, 6:404-406

- Coleman M.R., Galvani P.A. (1998) Egg Size Determines offspring size in Neotropical Cichlid Fishes (Teliostei: Cichlidae). *Copeia*, 1:209-213
- Coleman M.R. (2002) Cichlid Research homepages. Cichlid egg size data. Available from: <http://cichlidresearch.com/eggtab3.html#Ptychochromines>
- Conceição L.E.C., Grasdalen H., Rønnestad I. (2003) Amino acid requirements of fish larvae and post-larvae: new tools and recent findings. *Aquaculture*, 227:221-232
- Conceição L.E.C., Ozório R.O.A., Suurd, E.A.M., Verreth J.A.J. (1998) Amino acid profiles and amino acid utilization in larval African catfish (*Clarias gariepinus*): effects of ontogeny and temperature. *Fish Physiology and Biochemistry* 19:43-57
- Conceição L.E.C., Aragão C., Rønnestad I. (2010) Protein Metabolism and Amino Acid Requirements in Fish Larvae. In: Cruz-Suarez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J. (Eds), *Avances en Nutrición Acuícola X - Memorias del Décimo Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*, 8-10 de Noviembre, San Nicolás de los Garza, N. L., México. ISBN 978-607-433-546-0. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, p 250-263
- Craig S., Helfrich L. A. (2009) *Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding*. Virginia cooperative Extension, publication 420, p 256
- Crampton W. G.R. (2008) Ecology and life history of an Amazon floodplain cichlid: the discus fish *Symphysodon* (Perciformes:Cichlidae). *Neotropical Ichthyology*, 6(4):599-612
- Dabramo L.R., Conklin D.E., Akiyama D.M. (1997) Crustacean nutrition. *Advances in World Aquaculture*. Vol. 6, World Aquaculture Society

- Dabrowski K., Portella M.C. (2006) Feeding plasticity and nutritional in tropical fishes.
In: Val A.L., de Almeida-Val V.M.F., Randall D.J.(eds) The physiology of tropical fishes. Academic Press, USA, p 155-224
- Davies I.M. (2000) Waste production by farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Scotland. ICES, CM, Copenhagen, p 6, 2000/0:01
- Dawes J. (1998) International experiences in ornamental marine species management. Part I: Perspectives. Paper presented at workshop: Management Strategies for the Marine Ornate Species of the Gulf of California, La Paz, Baja California Sur, Mexico, 18–19 November 1998. Taken from the official website of the Ornamental Fish International Organization at: <http://ornamental-fish-int.org>
- Dawes J. (1999) International experience in ornamental species management. Part 2: some resource management strategies. OFI J., 27:10–12
- De Oliveira S.R., De Souza R.T.Y.B., Nunes E.D.S.S., De Carvalho C,S,M., De Menezes G.C., Marcon J.L., Akifumi Ono R.R.E., Affonso E.G.(2008) Tolerance to temperature,pH, ammonia and nitrite in cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi*, an Amazonian ornamental fish. Acta Amazonica, 38(4):773-780
- Dechaume-Moncharmont F.X., Freychet M., Motreuil S., Cézilly F. (2013) Female mate choice in convict cichlids is transitive and consistent with a self-referent directional preference. Frontiers in Zoology, 10(69):1-10
- Degani G. (1993) Growth and body composition of juveniles of *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein) (Pisces;Cichlidae) at different densities and diets. Aquaculture and Fishery Management, 24:725-730

- Degani G., Yehuda Y. (1996) Effects of diets on reproduction of angelfish, *Pterophyllum scalare* (Cichlidae) Indian Journal of Fisheries, 43(2):121-126
- Diwan A.P., Dhakad N.K. (1995) Embryology of Fishes. Anmol publications Pvt Ltd, New Delhi, pp 340
- Earle K.E. (1995) The nutritional requirement of ornamental fish. Veterinary Quarterly, 17(1):S53-S55
- Earley R.L., Edwards J.T., Aseem O., Felton K., Blumer L.S., Karom M., Grober M.S. (2006) Social interactions tune aggression and stress responsiveness in a territorial cichlid fish (*Archocentrus nigrofasciatus*). Physiology & Behavior, 88: 353-363
- El Ballaa R. (2009) Anti-predatory behavior of wild vs captive freshwater Angelfish, *Pterophyllum scalare*. Honours project Thesis (EVS4009). University Ottawa, Canada
- Elangovan A., Shim K.F. (1997) Growth response of juvenile *Barbodes altus* fed isocaloric diets with variable protein levels. Aquaculture, 158(3-4): 321-329
- Elangovan A., Shim K.F. (1997) Growth response of juvenile *Barbodes altus* fed isocaloric diets with variable protein levels. Aquaculture, 158: 321-329
- Ellis S.C., Reigh R.C. (1991) Effects of dietary lipid and carbohydrate-levels on growth and bodycomposition of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture, 97:383-394
- El-Sayed A.M., Garling Jr. D.L. (1988) Carbohydrate-to-lipid ratio in diets for *Tilapia zilli* fingerlings. Aquaculture, 73:157-163

- Erdogan F., Olmez M. (2009) Effects of enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in angel fish, *Pterophyllum scalare*. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8(9):1740-1745
- Erdogan F., Olmez M. (2010) Digestibility and utilization of canola meal in angel fish, *Pterophyllum scalare* feeds. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(4):831-836
- Erdogan F., Erdogan M., Gümü E. (2012) Effects of Dietary Protein and Lipid Levels on Growth Performances of Two African Cichlids (*Pseudotropheus socolofi* and *Haplochromis ahli*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 12:635-640
- Erfanullah, Jafri, A. K. (1998a) Effect of dietary carbohydrate-to- lipid ratio on growth and body composition of walking catfish (*Clarias batrachus*). Aquaculture, 161(1-4):159-168
- FAO (2008) State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA) —SOFIA 2006. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp 162
- Farahi A., Kasiri M., Talebi A., Sudagar M. (2010) Effects of different feed types on growth, spawning, hatching and larval survival in angelfish (*Pterophyllum scalare* Lichtenstein, 1823). Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation, International Journal of Bioflux Society (AAFL BIOFLUX), 3(4):299-303
- Faramarzi M., Kiaalvandi S., Iranshahi F. (2011) Influence of Ceolomic Flyid on Sperm Motility Characteristics in Angel Fish (*Pterophyllum scalare*, Schultze). During Spawning Season and its Chemical Composition. Global Veterinaria, 6(3):324-328

- Fatima E., Murtaza O. (2010) Digestability and Utilization of Canola meal in Angelfish (*Pterophyllum scalare*, Lichtenstein 1823) Feeds. Journal of Animal and Veterinary advances, 9(4):831-836
- Fernald R.D. (2002) Social regulation of the brain:sex,size and status. Novartis Foundation. Novartis Foundation Symposium, 244:169-184
- Figueroa T.J., Berrum R.G., Luna F.J. (1977) Reproduccion del pez angel *Pterophyllum scalare*, var. Perlada, p 109, in V Congreso Nacional de Ictiologia, Mazatlan Sinaloa, Mexico
- Fiogbé E.D., Kestemont P. (1995) An assessment of the protein and amino acid requirement in goldfish (*Carassius auratus*) larvae. Journal of Applied Ichthyology, 11(3-4):282-289
- Fishman M.C. (2001) Zebrafish-the canonical vertebrate. Science, 294:1290–1291
- Fiszbein A., Cánepa M., Vázquez G.R., Maggese C., Pandolfi M. (2010) Photoperiodic modulation of reproductive physiology and behaviour in the cichlid fish *Cichlasoma dimerus*. Physiology and Behavior, 99(4):425-432
- Fitzsimmons K., Dickenson G., Brand C., Davis J. (1997) Effects of reducing dietary lipid levels on growth and body composition of hybrid tilapia in an intensive recirculating-water system. Progressive Fish Culturist, 59:293-296
- Fracalossi D.M., Allen M.E., Nichols D.K., Oftedal O.T. (1998) Oscar, *Astronotus ocellatus*, have a dietary requirement for vitamin C. The Journal of Nutrition, 128:1745-1751
- Francis G., Makkar P.S.H., Becker K. (2001) Antinutritional factors present in plant-derived alternative fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture, 199:197-227

- Froese R., Pauly D. (2012) Fish Base. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (8/2012)
- Fryer G., Illes T.D. (1972) The Cichlid fishes of the great lakes of Africa: their biology and evolution. Neptune City, NJ, TFH Publications, pp 250
- Fujimura K., Okada N. (2007) Development of the embryo, larva and early Juvenile of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). Developmental Staging system. *Development Growth and Differentiation*, 49:301-324
- Gagliardi-Seeley J., Leese J., Santangelo N., Itzkowitz M. (2009) Mate choice in female convict cichlids (*Amatitlania nigrofasciata*) and the relationship between male size and dominance. *Journal of Ethology*, 27:249-254
- Galvani P.A., Coleman M.R. (1998) Do parental convict cichlids of different sizes value the same brood number equally. *Animal Behaviour*, 56:541-546
- Garcia-Ulloa M., Gomez-Romero H.J. (2005) Growth of angel fish *Pterophyllum scalare* juveniles fed inert diets. *Avances en Investigacion Agropecuaria*, 9(3): 49-60
- Gay J. (2005) The perfect aquarium. Hamlyn, Octopus Publishing Group Ltd., pp 256
- Gaylord T.G., Gatlin III D.M. (2000) Dietary lipid level but not carnitine affects growth performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂). *Aquaculture*, 190:237-246
- Ghiasi F., Jasour M.S. (2012). The effects of natural zeolite (Clinoptilloite) on water Quality, Growth Performance and Nutritional Parameters of fresh water aquarium fish, Angel (*Pterophyllum scalare*). *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*, 2(3):22-25

- Godoy F., Vancanneyt M., Martinez M., Steinbachel A., Swings J., Rehm B.H.A. (2003) *Sphingopyxis chilensis* sp. nov., a chlorophenol-degrading bacterium that accumulates polyhydroxyalkanoate, and transfer of *Sphingomonas alaskensis* to *Sphingopyxis alaskensis* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53:473–477
- Gómez-Requeni P., Conceição L.E.C., Olderbakk Jordal A.E., Rønnestad I. (2010) A reference growth curve for nutritional experiments in zebrafish (*Danio rerio*) and changes in whole body proteome during development. *Fish Physiology and Biochemistry*, DOI 10.1007/s10695-010-9400-0
- Good I.J. (1953) The population frequencies of species and the estimation of population parameters. *Biometrika*, 40:237–264
- Goodenough J., Mc Guire B., Wallace R. (1993) *Perspectives on Animal Behavior*. New York, John Welley & Sons, pp 764
- Gordon A. K., Kaiser H., Britz P. J., Hecht (1998) Effect of feed type at weening on growth and survival of clownfish *Amphiprion percula* (Pomacentridae). *Aquarium Sciences and Conservation*, 2:215–226
- Grant J.W.A., Girard I.L., Breau C., Weir L.K. (2002) Influence of the food abundance on the competitive aggression in juvenile convict cichlid. *Animal Behaviour*, 63:323-330
- Grommen R., Dauw L., Verstraete W. (2005) Elevated salinity selects for a less diverse ammonia-oxidizing population in aquarium biofilters. *FEMS Microbiology Ecology*, 52:1-11
- Gumm M.J., Itzkowitz M. (2007) Pair-bond formation and breeding-site limitation in the convict cichlid, *Archocentrus nigrofasciatus*. *Acta Ethology*, 10:29-33

- Günther A. (1867) On the fishes of the states of Central America, founded upon specimens collected in fresh and marine waters of various parts of that country by Messrs. Salvin and Godman and Capt. J. M. Dow. Proceedings of the General Meetings for Scientific Business of the Zoological Society of London, 1866(3):600-604
- Gunther J., Galvez-Hidalgo N., Ulloa-Rojas J., Coppolse J., Verreth J. (1992). The effect of feeding level on growth and survival of jaguar guapote (*Cichlasoma managuense*) larvae fed *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 107:347-358
- Güroy D., Sahin I., Güroy B., Altin A., Merrifield D.L. (2012) Effect of dietary protein level on growth performance and nitrogen excretion of the yellow tail cichlid, *Pseudotropheus acei*, *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 64(1):1-8
- Hair J.F., Anderson R.E., Tatham R.L., Black W.C. (1998) *Multivariate data analysis*. 4th edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, pp 730
- Halver J. (1995) The Role of Vitamin C in Nutrition and Fish Health. En: *Annual Conference Proceedings - American Zoo and Aquarium Association*. Seattle WA, 1995
- Hamilton L.M. (2004) Distance to neighbours influences the trade-off between hiding after disturbance and defending food patches in convict cichlids (*Archocentrus nigrofasciatus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 56:530-538
- Hansen T.K., Falk-Petersen I.B. (2001) The influence of rearing temperature on early development and growth of spotted wolfish *Anarhichas minor* (Olafsen). *Aquaculture Research*, 32:369-378

- Hardy R.W. (1999) Problems and opportunities in fish feed formulation. *Aquaculture Magazine* 25:56–60
- Hart P.R., Purser G.J. (1995) Effects of salinity and temperature on eggs and yolk sac larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862) *Aquaculture*,136:221-230
- Hasan M.R., Hecht T., De Silve S.S., Tacon A.G.J. (2007) Study and analyses of feeds and fertilizers for sustainable aquaculture development. FAO Fisheries Technical Paper No.498, Rome FAO, pp 510
- Heijns W. (2009) Central American heroine cichlids, a phylogenetic approach. *Cichlid News*, p 14-22
- Helfman G. S., Collette B.B., Facey E.D., Bowen W.B. (2007) The Diversity of Fishes Biology, Evolution, and Ecology (2nd ed) In: Wiley-Blackwell p 329-355
- Helfman G.S. (2007) Fish conservation: A guide to understanding and restoring global aquatic biodiversity and fishery resources. Island Press, Washington, USA
- Hioki S. (1999) Characteristics of eggs and larvae of twelve angelfishes belong to the genus *Centropyge* (Teleostei, Pomacanthidae) with special reference to their sub generic relationships. *Science Reports of the Museum Tokai University*, 1:1-36
- Hioki S., Suzuki K. (1995b) Spawning behavior, eggs, and larvae of the angelfish, *Apolectichthys trimaculatus*, in Captivity. *Bulletin of Institute of Oceanic Research and Development, Tokai University*, 16:13-22
- Hioki S., Suzuki K., Tanaka Y. (1982) Spawning behavior, eggs, and larvae development, and sex succession of the hermaphroditic pomacanthine, *Genicathus melanospilos*, in the aquarium. *Journal of Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University*, 15:359-366

- Hoff F.H. (1996) Conditioning, spawning and rearing of fish with emphasis on marine clown-fish. Aquaculture Consultants Inc., pp 212
- Holden K.K., Bruton M.N. (1994) The early ontogeny of the southern mouthbrooder, *Pseudocrenilabrus philander* (Pisces, Cichlidae). Environmental Biology of Fishes, 41:311-329
- Hotos G., Vlachos N. (1999) Observations on the conditioning of filter bed in hypersaline aquaria, Aquaculture engineering, 19:215-222
- Hovanec T.A., DeLong E.F. (1996) Comparative analysis of nitrifying bacteria associated with freshwater and marine aquaria. Applied and Environmental Microbiology, 62:2888-2896
- Hua K., Bureau D.P. (2010) Quantification of differences in digestibility of phosphorus among cyprinids, cichlids and salmonids through a mathematical modelling approach. Aquaculture, 308:152-158
- James S.A., Reis R.E. (2011) Historical Biogeography of Neotropical freshwater Fishes. University of California Press, pp 308, Retrieved 28 June 2011
- James J. (2012) Ornamental fish and Invertebrates for home. International Aqua Feed, 15(3):34-36
- Jauncey K. (1982b) Carp (*Cyprinus carpio*) nutrition - a review Muir J.F & Roberts R.J. (Eds.). In: *Recent advances in aquaculture*, Croom Helm, London, England
- Jha P., Barat S., Nayak R.C. (2008) Fish production, Water Quality and Bacteriological Parameters of Koi Carp Ponds Under Live-food and Nature Based Management Regimes. Zoological Research, 29(2):165-173
- Jobling M. (1997) Temperature and growth: modulation of growth rate via temperature change. In: Wood C.M., McDonald D.G. (Eds.), *Global Warming: Implications*

for Freshwater and Marine Fish. Cambridge University Press, Cambridge, p 225-253

Jones J.A. (1972) The early development of substrate-brooding cichlids (Teleostei: Cichlidae) with a discussion of a new system of staging. *Journal of Morphology*, 136:255-272

Kamler E. (1992) Early life History of Fish. An energetics approach, Chapman & Hall, Fish and Fisheries, series 21,UK, pp 267

Kasiri M., Farah A., Sudagar M. (2011) Effects of feeding frequency on growth performance and survival rate of angel fish, *Pterophyllum scalare* (Perciformes: Cichlidae). *Veterinary Research Forum*, 2(2):97-102

Kasiri M., Farahi A., Sudagar M. (2011b) Effects of supplemented diets by levamisole and Echinacea purpurea extract on growth and reproductive parameters in angelfish (*Pterophyllum scalare*). *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation, International Journal of Bioflux Society (AACL BIOFLUX)*, 4(1):46-51

Kasiri M., Farahi A., Sudagar M. (2011c) Effects of feeding frequency on growth performance and survival rate of angelfish *Pterophyllum scalare* (Perciformes: Cichlidae). *Veterinary Research Forum*, 2(2):97-102

Kasiri M., Sudagar M., Hosseini S.A. (2011c) Effect Of Water Hardness On Egg Hatchability And Larval Viability Of Angelfish (*Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823). *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*, 1(1):6-10

Katersky R.S., Carter C.G. (2005) Growth efficiency of juvenile barramundi, *Lates calcarifer*, at high temperatures. *Aquaculture*, 250:775–780

- Kawamura T., Mihigo N.K. (1988) Early ontogeny of a substrate-brooding cichlid, *Boulengerochromis microlepis*, compared with mouthbrooding species in Lake Tanganyika. *Physiology and Ecology of Japan*, 25:19-25
- Keenleyside M.H.A. (1985) Bigamy and mate choice in the biparental cichlid fish *Cichasoma nigrofasciatum*. *Behavioral Ecology Sociobiology*, 17:285-290
- Keenleyside M.H.A. (1991) Parental care. In *Cichlid fishes: Behavior, ecology and evolution*:173-224. Keenleyside, M.H.A.(ed.), London, Chapman & Hall
- Keinänen-Toivola M.M., Revetta R.P., Santo Domingo J.W. (2006) Identification of active bacterial communities in a model drinking water biofilm system using 16S rRNA-based clone libraries. *FEMS Microbiology Letters*, 257:182–188
- Kemp P.F., Aller J.Y. (2004) Estimating prokaryotic diversity: When are 16S rDNA libraries large enough? *Limnology and Oceanography Methods*, 2:114–125
- Kendall A.W., Ahlstrom F. H., Moser H. G. (1984) Early life history stages of fishes and their characters. In: *Ontogeny and systematics of fish* (Moser H.G., Richards W.J., Cohen D.M., Fahey M.P., Kendall A.W., Richardson S.L., eds), p 11-22 Spec. Publ, No1, American society of Ichthyologists and Herpetologists Allen Press, Lawrence, Kansas, USA
- Kim J., Grant J.W.A. (2007) Effects of patch shape and groups size on the effectiveness of defence by juvenile convict cichlids. *Animal Behaviour*, 73: 275-280
- Kimmel B.W., Ballard W.W., Kimmel S., Ullman B., Schilling T.F. (1995) Stages of embryonic development of the zebrafish. *Development Dynamics*, 203:255-310
- Kirchman D.L. (2008) *Microbial ecology of the oceans*, Second eds., Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA

- Kjorsvic E., Mangeor-Jensen A., Holmefjord I. (1990) Egg Quality in Fish. *Advance Marine Biology*, 26:71-113
- Klimogianni A., Koumoundouros G., Kaspiris P., Kentouri M. (2004) Effect of temperature on the egg and yolk-sac larval development of common pandora, *Pagellus erythrinus*. *Marine Biology*, 145:1015-1022
- Klimogianni A., Kalanji M., Pyrenis G., Zoulioti A., Trakos G. (2011) Ontogeny of Embryonic and Yolk-Sac Larval stage of the Sparid Sharpsnout Sea Bream (*Diplodus puntazzo*, Cetti 1777). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 6(1):62-73
- Knop D., Moorhead J. (2012) Ornamentals. In: Lucas J.S. and Southgate P.C. (eds) *Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants*. Wiley-Blackwell, Oxford, p 583-605
- Koldewey H.J., Martin-Smith K.M. (2010) A global review of seahorse aquaculture. *Aquaculture*, 302:131–152
- Konings A., Dieckhoff W.D. (1989) Malawi cichlids in their natural habitat. *Raket B.V.*, Pijnacket Holland, pp 299
- Konopka A. (2009) What is microbial community ecology? *ISME J.*, 3:1223–1230
- Kormas K.A., Neofitou C., Pachiadaki M., Koufostathi E. (2010) Changes of the bacterial assemblages throughout an urban drinking water distribution system. *Environ Monit Assess* 165:27–38
- Korzelecka-Orkisz A., Szalast Z., Pawlos D., Smaruj I., Tanski A., Szulc J., Formicki K. (2012) Early ontogenesis of the angelfish, *Pterophyllum scalare*, Schultz 1823 (Cichlidae), *Neotropical Ichthyology*, 10(3):567-576

- Koumoundouros G., Pavlidis M., Anezaki L., Kokkari C., Steriotti A., Divanach P., Kentouri M. (2002) Temperature sex determination in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L., 1758) (Teleostei, Perciformes, Moronidae): critical sensitive ontogenetic phase. *Journal of Experimental Zoology*, 292:573–579
- Koumoundouros G., Divanach P., Anezaki L., Kentouri M. (2011) Temperature-induced ontogeny plasticity in seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Marine Biology*, 139:817-830
- Krogdahl A., Hemre G.I., Mommsen T.P. (2004) Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutrition*, 11(2):103-122
- Kucharczyk D., Luczynski M., Kujawa R., Czerkies P. (1997) Effect of temperature on embryonic and larvae development of bream (*Abramis brama* L). *Aquaculture Science*, 99:214-224
- Kuti J.O., Kuti H.O. (1999) Proximate composition and mineral content of two edible species of *Cnidoscolus* (tree spinach). *Plant Foods for Human Nutrition*, 53:275–283
- Lane D.J. (1991) 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackenbrandt E., Goodfellow M. (eds) *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley & Sons, Chichester
- Lavery R. J., Keenleyside M. H. A. (1990) Parental investment of a biparental cichlid fish, *Cichlasoma nigrofasciatum*, in relation to brood size and past investment. *Animal Behaviour*, 40:1128–1137
- Lehtonen K.T., Lindstrom K. (2008) Density dependent sexual selection in the monogamous fish *Archocentrus nigrofasciatus*. *Oikos*, 117:867-874

- Lescenko P., Matlova L., Dvorska L., Bartos M., Vavra O., Navratil S., Novotny L., Pavlik I. (2003) Mycobacterial infection in aquarium fish. *Veterinary Medicine*, 48:71–78
- Leu M.Y., Liou C.H., Wang W.H, Yang S.D., Meng P. J. (2009) Natural spawning, early development and first feeding of the semicircle angelfish [*Pomacanthus semicirculatus* (Cuvier, 1831)] in captivity. *Aquaculture Research*, 40:1019-1030
- Leu M.Y., Meng P.J., Huang C.S., Tew K.S., Kuo J., Liou C.H. (2010) Spawning behavior, early development and first feeding of the bluestriped angelfish [*Chaetodontoplus septentrionalis* (Temmick & Schlegel,1844)], *Aquaculture Research*,41:39-52
- Lewbart G.A. (1998) Clinical nutrition of ornamental fish. *Seminars in avian and exotic pet medicine*, 7(3):154-158
- Li P., Mai K., Trushenski J., Wu G. (2007) New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids*, DOI 10.1007/s00726-008-0171-1
- Lim L.C., Wong C.C. (1997) Use of the rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas, in freshwater ornamental fish larviculture. *Hydrobiologia*, 358:269–273
- Lim L.C., Sho A., Dhert P., Sorgeloos P. (2001) Production and application of on-grown *Artemia* in freshwater ornamental fish farm. *Aquaculture Economics & Management*, 5:211–228
- Ling S., Hashim R., Kolkovski S., Chong Shu-Chien A. (2006) Effect of varying dietary lipid and protein levels on growth and reproductive performance of

- female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). *Aquaculture Research*, 37(13):1267-1275
- Lochmann R.T., Phillips H. (1994) Dietary protein requirement of juvenile golden shiners (*Notemigonus crysoleucas*) and goldfish (*Carassius auratus*) in aquaria. *Aquaculture*, 128(3-4):277-285
- Loiselle Paul V. (1995) *The Cichlid Aquarium*. Germany: Tetra Press, ISBN 1- 56465-146-0
- Lovell R.T. (2000) Nutrition of ornamental fish. En: Bonagura J. (Ed.), *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII-Small Animal Practice*. Saunders W.B., Philadelphia, USA, p 1191-1196
- Luna-Figuerora J. (1999) Influencia de alimento vivo sobre la reproducción y el crecimiento del pez angel *Pterophyllum scalare* (Pirciformes: Cichlidae): *Acta Universitaria*, 1:21-29
- Luna-Figueroa, J. (2003) *Pterophyllum scalare* (Pisces: Cichlidae): Influencia de alimento vivo en la reproducción y el crecimiento. II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura 20, 55-65.
- Luna-Figuerora J., Figuerora –Torres J.Y., Hernandez de la Rosa L.P. (2000) Efecto de alimentos con diferente contenido proteico en la reproducción del pez angel, *Pterophyllum scalare* variedad perlada (Pisces:Cichlidae). *Ciencia y Mar*, 4:3-9
- Lymperopoulou D.S., Kormas K.A., Karagouni A.D. (2012) Variability of prokaryotic community structure in a drinking water reservoir (Marathonas, Greece). *Microbes and Environments*, 27:1–8

- Lyndon A.R., Davidson I., Houlihan D.F. (1993) Changes in tissue and plasma free amino acid concentrations after feeding in Atlantic cod. *Fish Physiology and Biochemistry*, 10(5):365–375
- Mambrini M., Kaushik S.J. (1995) Indispensable amino acids requirements of fish: correspondence between quantitative data and amino acid profiles of tissues proteins. *Journal of Applied Ichthyology*, 11:240-247
- Mandal B., Mukherjee A., Banerjee S. (2010) Growth and pigmentation development efficiencies in fantail guppy, *Poecilia reticulata* fed with commercially available feeds. *Biology Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(6):1264-1267
- Martinez G., Murillo R. (1987) Desarrollo larval de *Cichlasoma nigrofasciatum* (Gunther,1868) (Pisces:Cichlidae) en cultivos de laboratorio. *Revista de Biología Tropical*, 35:113-119
- Martinez-Palacios C.A., Ross L.G., Rosado-Vallado M. (1990) The effect of salinity on the survival and growth of juvenile *Cichlasoma urophthalmus*. *Aquaculture*, 91:65-67
- Massana R., Pedrós-Alió C., Casamayor E.O., Gasol J.M. (2001) Changes in marine bacterioplankton phylogenetic composition during incubations designed to measure biogeochemically significant parameters. *Limnology and Oceanography*, 46:1181–1188
- McCarthy I., Moksness E., Pavlov D.A. (1998) The effects of temperature on growth rate and growth efficiency of juvenile common wolffish. *Aquaculture International*, 6:207–218

- McKaye K.R. (1977) Competition for breeding sites between the cichlid fishes of Lake Jiloa, Nicaragua. *Ecology*, 58:291-302
- McKaye K.R., Hale J. (2010) The reproductive biology of a central American cichlid *Neotropus nematopus* in Lake Xiloa, Nicaragua. *Current Zoology*, 56(1):43-51
- Mearns K.J. (1986) Sensitivity of brown trout (*Salmo trutta* L.) and Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry to amino acids at the start of exogenous feeding. *Aquaculture*, 5:191-200
- Meijide J.F., Guerrero A.G. (2000) Embryonic and larval development of a substrate-brooding cichlid *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840) under laboratory conditions. *Journal of Zoology*, 252:481-493
- Mente E., Stratakos A., Boziaris I.S., Kormas K.A., Karapanagiotidis I., Catsiki V.A., Leondiadis L., Karalazos V. (2012) Sustainable aquaculture development: a case of environmentally friendly sea bream production in Greece. *Scientia Marina* 76:549–560
- Mente E., Pierce G.J., Santos M.B., Neofitou C. (2006) Effect of feed and feeding in the culture of salmonids on the marine aquatic environment: a synthesis for European aquaculture. *Aquaculture International*, 14:499–522
- Mente E., Houlihan D.F., Coutteau P., Sorgeloos P. (2003) Protein turnover, amino acid profile and amino acid flux in juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei*: effects of dietary protein source. *Journal of Experimental Biology*, 205:3107-3122
- Mills D., Vevers G. (1982) The cichlids. In: *The practical encyclopedia of freshwater. Tropical aquarium fishes*. Salamander books, London, p 160-169
- Miranda C.D., Zemelman R. (2002) Bacterial resistance to oxytetracycline in Chilean salmon farming. *Aquaculture*, 212:31–47

- Moe M.A. (2001) Marine ornamentals: the industry and the hobby. Proceedings of Marine Ornamentals 99. University of Hawaii Sea Grant College Program, p 53–63.
- Moe M.A. (2003) Culture of marine ornamentals: for love, for money, and for science. In: Moe M.A.(2001) Marine ornamentals: the industry and the hobby. Proceedings of Marine Ornamentals 99. University of Hawaii Sea Grant College Program, p 53–63
- Mohanta N.K.,Subramanian S.,Korikanthimath S.V. (2011) Effect of dietary protein and lipid levels on growth and Utilization of fresh water angelfish *Pterophyllum scalare*. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 64:756-761
- Molinari L.M., De Oliveira S.D., Pedroso R.B., De Lucas Rodrigues Bittencourt N., Nakamura C.V., Ueda-Nakamura T., De Abreu Filho B.A., Dias Filho B.P. (2003) Bacterial microflora in the gastrointestinal tract of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, cultured in a semi-intensive system. Acta Scientiarum: Biological Sciences, 25:267–271
- Moorhead A.J., Zeng C. (2010) Development Captive breeding Techniques for marine ornamental fish: a Review. Review in Fisheries Science, 18(4):315-343
- Morrison C. M., Miyake T., Wright Jr J.R. (2001) Histological study of the development of the embryo and early larva of *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). Journal of Morphology, 247:172–195
- Mousavi-Sabet H. (2011) The effect of 17-alpha Methyl Testosterone on Masculinization,Mortality rate and Growth in Convict cichlid (*Cichlasoma nigrogasciatum*). Journal of Fish Marine Sciences, 3(5):422-426

- Muir J., Roberts J.R. (1988) Recent advances in Aquaculture. Published in Australia By Croom Helm, Australia, p 364-373
- Munro A.D., Scott A.P., Lam T.J. (1990) Reproductive seasonality in teleosts: environmental influences. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp 254
- Muyzer G., Teske A., Wirsen C.O., Jannasch H.W. (1995) Phylogenetic-relationships of *Thiomicrospira* species and their identification in deep-sea hydrothermal vent samples by denaturing gradient gel-electrophoresis of 16s rDNA fragments. *Archives of Microbiology*, 164:165–172
- NCR (National Research Council) (1993) Nutrient Requirement of Warmwater Fishes and Shellfishes. National Academy Press, Washigton, DC, USA, pp 102
- Nelson J. S. (2006) Fishes of the world. John Wiley and Sons, Inc. New York. 4th edition, pp 601
- Newton R.J., Jones S.E., Eiler A., McMahon K.D., Bertilsson S. (2011) A guide to the natural history of freshwater lake Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 75:14–49
- Nica A., Cristea V., Gheorghe D., Hoha G.V., Enache I.B. (2012) Embryonic and Larval development of Japanese ornamental Carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758), University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Iasi, Romania, *Lucrări Științifice-Seria Zootehnie*, 58:116-120
- Noonan K. (1983) Female mate choice in the cichlid fish *Cichlasoma nigrofasciatum*. *Animal Behaviour*, 31:1005-1010
- Norouzitallab P., Farharmgi M., Badapour M., Rahimi R., Sinha K., Baruah K. (2009) Comparing the efficacy of dietary a-tocopherol with that of DL-a-tocopheroyl acetate, both either alone or in combination with ascorbic acid on growth and

- stress resistance of angelfish, *Pterophyllum scalare*, juveniles. *Aquaculture International*, 17:207-216
- Nutall D.B., Keenleyside M.H.A. (1993) Mate choice by the male convict cichlid, (*Cichlasoma nigrofasciatum* ; Pisces, Cichlidae). *Ethology*, 95:247-256
- Nzeako B.C., Okafor N., Inyang M.M. (2001) Gross bacterial contamination associated with mortality in catfish fingerlings during transportation. *South African Journal of Wildlife Research*, 31:93–97
- Olapade O.A., Gao X., Leff L.G. (2005) Abundance of three bacterial populations in selected streams. *Microbial Ecology*, 49:461–467
- Olevera-Novoa M.A., Gasca-Leyva E., Martinez-Palacios C.A. (1996) The dietary protein requirements of *Cichlasoma synspilum* Hubbs, 1935 (Pisces: Cichlidae) fry. *Aquaculture Research*, 27(3):167-173
- Olivier K. (2003) World trade in ornamental species. In: *Marine Ornamental Species: Collection, Culture and Conservation* (eds. J Cato, C Brown), p 49-63. Iowa State Press, Ames, USA.
- Olivotto I., Holt S.A., Carnevali O., Holt G.J. (2006a) Spawning, early development and first feeding in the lemonpeel angelfish *Centropyge flavissimus*. *Aquaculture*, 253:270–278
- Olivotto I., Planas M., Simoes N., Holt J.G., Avella A.M., Calado R.(2011) Advances in Breeding and Rearing Marine Ornamentals. *Journal of The World Aquaculture Society*, 42(2):135-166
- Olivotto I., Scott A., Carnevali O., Holt G.J. (2006) Spawning, early development, and first feeding in the lemonpeel angelfish *Centropyge flavissimus*. *Aquaculture*, 253:270-278

- Olvera-Novoa M.A., Gasca-Leyva E., Martinez-Palacios C.A. (1996) The dietary protein requirements of *Cichlasoma synspilum* Hubbs, 1935 (Pisces:Cichlidae) fry. *Aquaculture Research*, 27(3):167-168
- Onal U., Langdon C., Celik I. (2008) Ontogeny of the digestive tract of larval percula clownfish, *Amphiprion percula* (Lacepede, 1802): A histological perspective. *Aquaculture Research*, 39:1077–1086
- Ortega-Salas A.A., Cortez G.I., Reyes-Bustamante H. (2009) Fecundity, and survival of the angel fish *Pterophyllum scalare* (Perciformes:Cichlidae) under laboratory conditions. *Revista de Biología Tropical*, 57(3):741-747
- Ortuño J., Esteban M.A., Meseguer J. (2003) The effect of dietary intake of vitamins C and E on the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunology*, 14(2):145-156
- Øvreås L., Curtis T.P. (2011) Microbial diversity and ecology. In: Magurran A.E., McGill B.J. (eds) *Biological diversity. Frontiers in measurement and assessment*. Oxford University Press, Oxford
- Pandolfi M., Canepa M.M., Meijide J.F., Alonso F., Rey Vazquez G., Maggese M.C., Vissio G.P. (2009) Studies on the reproductive and developmental biology of *Cichlasoma dimerus* (Perciformes,Cichlidae), *Biocell*, 33(1):1-18
- Pannevis M.C. (1993) Nutrition of ornamental fish. In: Burger I.H. (Ed.), *The Waltham Book of Companion Animal Nutrition*. Pergamon Press, Oxford, p 85-96
- Pannevis M.C., Earle K.E. (1994) Maintenance energy requirement of five popular species of ornamental fish. *Journal of Nutrition*, 124:2616-2618

- Pannevis M., Earle K.E. (1994) Nutrition of ornamental fish: water soluble vitamin leaching and growth of *Paracheirodon innesi*. The Journal of Nutrition, 124:26335-26355
- Para J.E.G., Baldisserotto B. (2007) Effects of water pH and hardness on survival and growth of freshwater teleosts, In: Baldisserotto B., Mancera J.M., Kapoor B.G. (Eds) Fish Osmoregulation. Science Publishers, Enfield
- Parichy M.D., Elizondo R.M., Mills G.M., Goedon N.T., Engeszer E.R. (2009) Normal table of postembryonic Zebrafish Development: Staging by Externally Visible Anatomy of the Living Fish. Developmental Dynamics, 238:2975-3015
- Paugy D. (2002) Reproductive strategies of fishes in a tropical temporary stream of the Upper Senegal basin: Baoulé River in Mali. Aquatic Living Resources, 15:25–35
- Pauly D., Pullin R.S.V. (1988) Hatching time in spherical, pelagic marine fish eggs in response to temperature and egg size. Environmental Biology of Fishes, 22:261-271
- Pedrós-Alió C. (2012) The rare bacterial biosphere. Annual Review of Marine Science, 4:449-466
- Perez E., Diaz F., Espina S. (2003) Thermoregulatory behaviour and critical thermal limits of the angelfish *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein) (Pisces: Cichlidae). Journal of Thermal Biology, 28:531-537
- Piron R.D. (1978) Breeding the convict cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*) for use in the laboratory fish toxicity tests. Journal of Fish Biology, 13:119-122
- Pladdies T., Babenzien H.D., Cypionka H. (2004) Distribution of *Nevskia ramosa* and other rosette-forming neustonic bacteria. Microbial Ecology, 47:218-223

- Poitelon J.B., Joyeux M., Welté B., Duguet J.P., Prestel E., Dubow M.S. (2010) Variations of bacterial 16S rDNA phylotypes prior to and after chlorination for drinking water production from two surface water treatment plants. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 37:117–128
- Polo A., Yufera M., Pascual E. (1991) Effects of temperature on egg and Larval development of *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 92:367-375
- Porter K.G., Feig Y.S. (1980) The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and Oceanography*, 25:943–948
- Prance G. (2001) Amazon Ecosystems. *Encyclopedia of Biodiversity*, 1:145-157
- Raja J., Sampath K. (2004) Effect of feeding frequency on growth and fecundity in an ornamental fish, *Betta splendens* (Regan). *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 55(2):136-145
- Ramond J.B., Welz P.J., Cowan D.A., Burton S.G. (2012) Microbial community structure stability, a key parameter in monitoring the development of constructed wetland mesocosms during start-up. *Research in Microbiology*, 163:28–35
- Rana K.J. (1988) Reproductive Biology and the Hatchery rearing of tilapia Eggs and fry. In: Muir F.J., Roberts J.R. (eds) *Recent advances in Aquaculture*. Croom Helm Ltd, Australia, p 343-397
- Rana K.J. (1990) Influence of incubation temperature on *Oreochromis niloticus* (L.) eggs and fry. Gross embryology, temperature tolerance and rates of embryonic development. *Aquaculture*, 87:165-181
- Rathasabapathi D., Burns J., Soucek R. (1992) Effects of temperature and prior residence on the territorial Aggression in the convict cichlid *Cichlasoma nigrofasciatum*. *Aggressive behavior*, 18(5):365-372

- Reid A., Buckley M. (2011) The rare biosphere. A report from the American Society of Microbiology, ASM Press, Washington DC, USA
- Revetta R.P., Pemberton A., Lamendella R., Iker B., Santo Domingo J.W. (2010) Identification of bacterial populations in drinking water using 16S rRNA-based sequence analyses. *Water Research*, 44:1353–1360
- Ricker W.E. (1979) Growth rates and models. *Fish Physiology*, Vol.VIII, Bioenergetics and growth. In: Hoar W.S., Randall D.J., Brett J.R. (editors). Academic Press, New York, USA, p 599-675
- Robert J.L., Keenleyside H.M. (1990) Parental investment of a biparental cichlid fish *Cichlasoma nigrofasciatum*, in relation to brood size and Past investment. *Animal Behaviour*, 40:1128-1137
- Roberts H.E. (2010) Fundamentals of ornamental fish health. Willy-Blackwell, USA, pp 224
- Rogers W. (1987) Sex ratio monogamy and breeding success in the Midas Cichlid (*Cichlasoma citrinellum*). *Behavior Ecology and Sociobiology*, 21:47-51
- Rogers W. (1995) Female choice predicts the best father in a biparental fish, the Midas cichlid (*Cichlasoma citrinellum*). *Ethology*, 100:230-241
- Ronnestad I., Robertson R.R., Fyhn H.J. (1996) Free amino acids and protein content in pelagic and demersal eggs of tropical marine fishes. In: MacKinlay D.D., Eldridge M. (Eds.), *The Fish Egg*, American Fisheries Society, Physiology Section, Bethesda
- Royes J. B., Chapman F. (1997) *Preparing Your Own Fish Feeds*. University of Florida, IFAS Extension

- Royes J.B., Murie D.J., Francis-Floyd R. (2005) Optimum dietary protein level for growth and protein efficiency without hepatocyte changes in juvenile African Cichlids *Pseudotropheus socolofi*, North American Journal of Aquaculture, 67(2):102-110
- Rojas J.B.U., Verdegem M.C.J. (1994) Effects of the protein : energy ratio in isocaloric diets on the growth of *Cichlasoma managuense* (Günther 1869). Aquaculture and Fisheries Management, 25:631-637
- Sales J., Janssens G.P.J. (2003) Nutrient requirements of ornamental fish. Aquatic Living Resources, 16(6):533-540
- Sanna-Kaisa J., Jukka S. (2004) Sustainable use of ornamental fish populations in Peruvian Amazonia. Iyonia, 7(2):53-59
- Santangelo N. (2005) Courtship in the monogamous convict cichlid; what are individuals saying to rejected and selected mates. Animal Behaviour, 69:143-149
- Santmire J.A., Leff L.G. (2006) Temporal changes in the bacterial assemblage of a Northeast Ohio stream: a comparison of community and population-level responses. Archiv für Hydrobiologie, 166:491–503
- Sauder L.A., Engel K., Stearns J.C., Masella A.P., Pawliszyn R., Neufeld J.D. (2011) Aquarium nitrification revisited: Thaumarchaeota are the dominant ammonia oxidizers in freshwater aquarium biofilters. PLOS ONE, 6(8):e23281
- Schiemer G. (2001) Captive-bred marine fish. Aquarium Fish Magazine, p 41–45
- Schmitter-Soto J.J. (2007) Asystematic revision of the genus *Archocentrus* (Perciformes:Cichlidae), with the description of two new genera and six new species. Zootaxa, 1063:1-78

- Sharma B.K. (2005) Instrumental methods of chemical analysis. GOEL Publishing House, Meerut. 24th revised and enlarged edition 2005. Published by Khrishna, Prakgshan Media (l) Ltd.pp500
- Sfakianakis G.D., Leris I., Kentouri M. (2011) Effect of developmental temperature on swimming performance of zebrafish (*Danio rerio*) juveniles. Environmental Biology of Fishes, 90:421-427
- Sherr E.B., Sherr B.F. (2002) Significance of predation by protists in aquatic microbial food webs. Antonie Van Leeuwenhoek, 81:293–308
- Shim K.F., Chua Y.L. (1986) Some studies on the protein requirement of the guppy, *Poecilia reticulata* (Peters). Journal of Aquarium and Aquatic Sciences, 4(4):79-84
- Shim K.F., Ng S.H. (1988) Magnesium requirement of the guppy (*Poecilia reticulata*, Peters). Aquaculture, 73(1-4):131-141
- Shim K.F., Ho C.S. (1989) Calcium and phosphorus requirements of guppy *Poecilia reticulata*. Nippon Suisan Gakkaishi, 55:1947–1953
- Shim K.F., Lee T.L. (1993) Zinc requirements of the guppy (*Poecilia reticulata* Peters). Journal of Aquaculture in the Tropics, 8:81–90
- Shim K.F., Ong S.I. (1992) Iron requirement of the guppy (*Poecilia reticulata* Peters). Journal of Aquarium and Aquatic Science, 6:33–40
- Shing R.K., Chavan J.B., Vartak V.R., Belsare S.G. (2003) Effect of a probiotic bacterium supplemented feed on survival and growth of fry of two ornamental fishes, *Pterophyllum scalare* and *Matynnis schreitmuelleri*. Indian Journal of Fish, 50(1):35-39

- Simek K., Pernthaler J., Weinbauer M.G., Hornák K., Dolan J.R., Nedoma J., Masín M., Amann R. (2001) Changes in bacterial community composition and dynamics and viral mortality rates associated with enhanced flagellate grazing in a mesoeutrophic reservoir. *Applied and Environmental Microbiology*, 67:2723-2733
- Snellgrove L.D., Alexander G. (2011) Whole body amino acid composition of adult fancy ranchu goldfish (*Carassius auratus*). *British Journal of Nutrition*, 106:110-112
- Socolof R. (1980) Tropicals. Pages 163-206 in E.E. Brown and J.B. Gratzek, eds. *Fish Farming Handbook: Food, Bait, Tropicals and Goldfish*. AVI Publishing Co., Westport, Connecticut
- Sorgeloos P., Lavens Ph., Léger P., Tackaert W., Versichele D. (1986) Manual for the Culture of Brine Shrimp *Artemia* in Aquaculture. University of Ghent, Ghent, Belgium, pp 319
- Soriano-Salazar M.B., Hernandez-Ocampo D. (2002) Tasa de crecimiento del pez angel *Pterophyllum scalare* en condiciones de laboratorio. *Acta Universitaria*, 12(2):28-33
- Spiegelman D., Whissell G., Greer C.W. (2005) A survey of the methods for the characterization of microbial consortia and communities. *Canadian Journal of Microbiology*, 51:355–386
- Spotte S. (1991) *Captive Seawater Fishes*. John Wiley & Sons, New York, pp 52-135
- Sugita H., Nakamura H., Shimada T. (2005) Microbial communities associated with filter materials in recirculating aquaculture systems of freshwater fish. *Aquaculture*, 243:403–409

- Suzuki K., Hioki S., Tanaka Y., Iwasa K. (1979) Spawning behavior, eggs, larvae and sex reversal of two pomacanthidae fish, *Genicanthus lamarck* and *G.semifasciatus*, in the aquarium. Journal of Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University, 12:149-165
- Swann L. (1994) Reproductive of Angelfish (*Pterophyllum scalare*). Illinois-Indiana Sea Grant Program, Aquaculture extension, Purdue University, Fact Sheet AS-489, p 6
- Taborsky M. (1994) Sneakers, satellites, and helpers: parasitic and cooperative behavior in fish reproduction. Advances in the Study of Behavior, 23:1-100
- Tacon A.G.J. (1990) Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp, Washington DC, Argent Laboratories Press, pp 454
- Tacon A.G.J., De Silva S.S. (1997) Feed preparation and feed management strategies within semi-intensive fish farming systems in the tropics. Aquaculture, 151:379-405
- Tamaru C.S., Ako H., Paguirigan R. (1997) Essential fatty acid profiles of maturation feeds used in freshwater ornamental fish culture. Hydrobiologia, 358(1):265-268
- Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution, 24:1596–1599
- Terresa F.B., Goncalves-de-Freitas E. (2011) Reproductive behavior and parental roles of the cichlid fish *Laetacara araguaiae*. Neotropical Ichthyology, 9(2):355-362
- Tlusty M.(2002) The benefits and risks of aquacultural production for the aquarium trade. Aquaculture, 205:203-219

- Torsvik V., Øvreås L. (2002) Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 5:240–245
- Townshead J.T., Wootton, R.J. (1984) Effects of food supply on the reproduction of the convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum*. *Journal of Fish Biology*, 24:91-104
- Townshead J.T., Wootton R.J.(1985) Variation in the mating system of a biparental cichlid fish, *Cichlasoma pananense*, *Behaviour*, 95:181-197
- Trinkaus J.P. (1992) The midblastula transition, the YSL transition and the onset of gastrulation in *Fundulus*. *Development (Suppl)*:75-80
- Trust T.J., Whitby J.L. (1976) Antibiotic resistance of bacteria in water containing ornamental fishes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 10:598–603
- Val A., Almeida-Val V.M.F. (1995) Fishes of the Amazon and their environments. Physiological and biochemical features. Heidelberg, Springer Verlag, pp 224
- Velasco-Santamaria Y., Corredor-Santamaria W. (2011) Nutritional requirements of fresh water ornamental fish a review. *Revista MVZ Córdoba*, 16(2):1258-2469
- Velu C.S., Munuswamy N. (2003) Nutritional evaluation of decapsulated cysts of fairy shrimp (*Streptocephalus dichotomus*) for ornamental fish larval rearing. *Aquaculture Research*, 34:967-974
- Vlachos N., Mente E., Hotos G.N., Kormas K., Tzoganis C., Psafakis P., Neofitou C. (2008) Commercial production of *Pterophyllum scalare* (Cn: angelfish, Pisces: Cichlidae) in aquarium. 4th International Congress on Aquaculture, Fisheries Technology and Environmental Management Athens, Greece, November 21-22, ISBN 978-960-87795-2-5, p 1-6
- Vlachos N., Mente E., Hotos G.N., Kormas K., Tzoganis C., Psafakis P., Neofitou C. (2008) Effect of food supply on the growth rate of the convict cichlid,

- Archocentrus nigrofasciatus* (Pisces Cichlidae) in aquariums. 4th International Congress on Aquaculture, Fisheries Technology and Environmental Management Athens, Greece, November 21-22, ISBN 978-960-87795-2-5, p 1-5
- Vlahos N., Hotos G., Kapetanios N. (2004) The effect of temperature on the conditioning of the filter bed in aquaria. 2nd International Congress on Aquaculture, Fisheries Technology and Environmental Management. Athens 18-19 June 2004, Evgenidion Foundation, ISBN978-960-87795-3-2
- Wabnitz C., Taylor M., Green E., Razak T. (2003) From Ocean to Aquarium. UNEP–WCMC, Cambridge, UK
- Warga R.M., Kimmel C.B. (1990) Cell movements during epiboly and gastrulation in zebrafish. *Development*, 108:569-580
- Weerasooriya A.C., Edirisinghe U., Silva P., Dematawewa C.M.B. (1999) Feeding behavior and acceptability of different feeds by *Puntius nigrofasciatus*. *Tropical Agricultural Research and Extension*, 11:221-228
- Wilson R.P. (1994) Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture*, 124:67-80.
- Wisenden B. (1995) Reproductive behaviour of free-ranging convict cichlids, *Cichlasoma nigrofasciatum*. *Environmental Biology of Fishes*, 43:121–134
- Wittenrich M.L., Turingan R.G., Creswell R. L. (2007) Spawning, early development and first feeding in the gobiid fish *Priolepis nocturna*. *Aquaculture*, 270:132-141
- Wommack K.E., Colwell R.R. (2000) Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64:69–114
- Wootton R. J. (1982) Energy costs of egg production and environmental determinants of fecundity in teleost fishes. *Symposium of Zoological Society of London*, 44:133-159

- Xie C.H., Yokota A. (2005) Reclassification of *Alcaligenes latus* strains IAM 12599T and IAM 12664 and *Pseudomonas saccharophila* as *Azohydromonas lata* gen. nov., comb. nov., *Azohydromonas australica* sp. nov. and *Pelomonas saccharophila* gen. nov., comb. nov., respectively. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, 55:2419–2425
- Yamamoto M.N., Tagawa W. A. (2000) Hawaii's native and exotic freshwater animals. Mutual Publishing, Honolulu, Hawaii, pp 200
- Yamamoto M.E., Chellappa S., Cacho M.S.R.F., Huntingford F.A. (1999) Mate guarding in an Amazonian cichlid, *Pterophyllum scarale*. *Journal of Fish Biology*, 55:(4):888-891
- Yanong R.P.E. (1996) Reproductive Management of fresh water Ornamental fish. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 5(4):222-235
- Yasir I., Qin G.J. (2007) Embryology and early ontogeny of an anemonefish *Ampiprion ocellaris*, *Journal of The Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87:1025-1033
- Yohana V., Wilson C. (2011) Nutritional requirements of freshwater Ornamental Fish. *Revista MVZ Córdoba*, 16(2):2458-2469
- Yoshida M., Matsuura K., Uematsu K. (1996) Development changes in the Swimming behavior and Underlying Motoneuron Activity in the Larval Angelfish, *Pterophyllum scalare*, *Zoological Science*, 13:229-234
- Yousefian M., Gharaati A., Hadian M., Hashemi S.F., Navazandeh A., Abbas esmaeili molla (2012) Food requirements and Dietary in aquarium fish (Review). *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 2(3):112-20

- Zaniboni-Filho E., Nuner A.P.O., Reynalte-Tataje D.A. (2008) Water pH and *Prochilodus lineatus* larvae survival. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35(1):151-155
- Zapata A., Diez B., Cejalvo T., Gutierrez-de Frias C., Cortes A. (2006) Ontogeny of the immune system of fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 20:126-136
- Zar J.H. (1999) *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall International Editions, London, UK
- Zuanon J.A.S., Salaro A.L., Silveira-Moraes S.S., de Oliveira-Alves L.M., Balbino E.M., Siqueira Araújo E. (2009) Dietary protein and energy requirements of juvenile freshwater angelfish. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(6):989-993
- Zuanon J.A.S., Carneiro A.P. S., da Silva Nascimento L., Aparecido da Silva D., Duarte Pontes M., Kanashiro M.Y., Salaro L.A. (2013) Protein requirement for *Trichogaster lalius*, blue variety. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 42(2):144-147
- Zweig R.D., Morton J.D., Stewart M.M. (1999) *Source water quality for aquaculture. A guide for assessment*. World Bank, Washington, pp 72
- Zworykin D.D., Budaev S., Mochek A.D. (2000) Does parental fin digging improve feeding opportunities for offspring in the convict cichlid. *Environmental Biology of Fishes*, 57:443–449

Ελληνική βιβλιογραφία

- Αδαμίδου Σ., Νέγκας Ι.(2011) Συστατικά Ιχθυοτροφών. In :Μεντέ Ε., Νέγκας Ι. (eds) *Στοιχεία Φυσιολογία Θρέψεως και Εφαρμοσμένης Διατροφή Ιχθύων και Καρκινοειδών*. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, σελ. 381-431
- Αχτύπη Κ., Γεροντής Θ., Καραπαναγιωτίδης Ι.Θ., Βλάχος Ν. και Μεντέ Ε. (2012) Επίδραση διαφορετικών επιπέδων διαιτητικής πρωτεΐνης στην ανάπτυξη της

- κιχλιδόζεμπρας (*Archocentrus nigrofasciatus*). Πρακτικά 34^{ου} Επιστημονικού Συνεδρίου της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών, Τρίκαλα 17-19 Μαΐου 2012. Σελ. 14
- Βλάχος Ν. (2010) Καλλιέργειες Διακοσμητικών ψαριών. Εκπαιδευτικές Σημειώσεις, Τμήμα Υδατοκαλλιεργειών & Αλιευτικής Διαχείρισης, Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου Εκδόσεις Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου, Μεσολόγγι, σελ. 351
- Βλάχος Ν., Βασιλόπουλος Μ., Μεντέ Ε., Βιδαλης Κ., Χώτος Γ., Κατσέλης Γ. (2012) Μορφομετρική εξέλιξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου του είδους *Archocentrus nigrofasciatus* (Pisces:Cichlidae) σε σχέση με τη θερμοκρασία εκκόλαψης, 10^ο Πανελλήνιο Συμπόσιο Ωκεανογραφίας και Αλιείας, 7-11 Μαΐου, Αθήνα. Πρακτικά, σελ. 187
- Καραπαναγιωτίδης Ι. (2011) Λιπίδια. In :Μεντέ Ε., Νέγκας Ι. (eds) Στοιχεία Φυσιολογία Θρέψεως και Εφαρμοσμένης Διατροφή Ιχθύων και Καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, σελ. 165-234
- Μεντέ Ε., Νέγκας Χ. (2011) Στοιχεία Φυσιολογίας Θρέψης και Εφαρμοσμένη Διατροφή Ιχθύων και Καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, σελ. 809
- Παπουτσόγλου Σ. (2008) Διατροφή Ιχθύων. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα, σελ. 976
- Χώτος Γ. (2007) Καλλιέργειες σε ανακυκλούμενα Νερά. Εκπαιδευτικές Σημειώσεις, Εκδόσεις: Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου, Μεσολόγγι, σελ. 104-142

ABSTRACT

Ornamental aquaculture has been proposed as one solution to address overexploitation and habitat loss and the unsustainable trade of many tropical species used either for traditional medicine or aquarium fishes. Recently, ornamental fish culture and aquarium hobbyist trade is among the most valuable and rapidly growing industries. Freshwater angelfish are considered one of the most popular of all tropical aquarium fish due to the variety of strains and the ease of maintenance. They are one of the most economically important species to ornamental fish growers. Ornamental fish rearing is a complex process, highly dependant on the ethology of the reared species, its feeding requirements and the water quality of the tank. Feed consumption and eating habits is an important barrier for the development of effective diets of growing ornamental freshwater angelfish in each stage of their life cycle. The nutrition of ornamental fish is based on extrapolation of nutrient requirements and practices derived from the culture of fish for human consumption.

This PhD thesis examines: a) reproductive behavior and the morphometric characters and the main morphological features of the i) convict cichlid fish *Archocentrus nigrofasciatus* during its yolk-sac larval development under two different temperatures (27°C and 23°C), and ii) angelfish *Pterophyllum scalare* until its yolk sac absorption in two different pH, (pH 6,2 and 7,4), b) the effect of different temperatures and different types of feed on the food consumption, growth, survival rate and amino acid profiles of cichlid angelfish and the convict cichlid and c) the structure and changes of the water bacterioplankton community structure based on 16S rRNA

gene diversity, during a 60-day growth experiment in the above two studied freshwater ornamental cichlids.

For the reproductive behavior experiments mature convict cichlids and angelfish were kept in captivity for a year in a ration of 1♂: 1♀. The morphometric characters and the main morphological features of the i) convict cichlid fish during its yolk-sac larval development under two different temperatures 27°C and 23°C and ii) angelfish from time zero until its yolk-sac complete absorption in two different pH, (pH 6,2 and 7,4) were studied. The initial time zero was defined as when 50% of the fish had hatched, and the ending time of the last stage was defined as when the yolk-sac had completely reabsorbed (between 3 and 4 days after time zero). This characterisation showed that total length increased during yolk-sac larval development and differed significantly by age and not by temperature. This species undergoes a phase of intense change in growth pattern (termed an inflection point), which depends on the temperature. At 27°C (the thermal optimum), intense changes in morphological pattern occur between 32 and 56 hours, while at 23°C (thermal tolerance), the aforementioned changes occur between 56 and 72 hours of development. Angelfish in acidic environment (pH 6,2) showed higher fertilization and hatching rates (87%) in contrast to the alkaline environment where the hatching was 43%. Yolk sac development stage ended in 60 h at pH 6,2 and 12-24 h later in the alkaline environment (pH 7,4) in angelfish.

Juvenile angelfish and convict cichlid were distributed into the aquarium tanks, divided into 6 groups of 10 individuals, kept at two different temperatures (25°C and 29°C) and fed four experimental diets, three times per day for a period of 60 days. A group of angelfish and convict cichlids were also kept in starvation. The effect of protein source on growth and survival of angelfish and convict cichlid was studied

separately where diets with different dietary protein source were prepared (plant meal protein, fish meal protein, mix- fish meal and plant meal protein). The results showed that survival was higher in the angelfish fed the pellet diet in combination with frozen food at a temperature of 29 °C. Starvation caused a statistically significant weight loss ($P > 0.05$). The specific growth rate values were higher in fish fed the pellet diet in combination with frozen food, in comparison with the flake diet in combination with frozen food at the above temperature ($P < 0.05$). The food consumption rates of angelfish fed the pellet diet in combination with frozen food were statistically significantly higher than those fed the flake diet at both temperature levels tested ($P < 0.05$). The amino acid profile of the commercial flake diet, particularly for the lysine content, appeared to be unsatisfactory. The convict cichlid at 27 °C showed similar growth rates when they were fed the pellet diet and the flake diet in combination with frozen ($P > 0.05$) whereas food consumption was statistically significantly higher ($P < 0.05$) for those fish fed the pellet diet in combination with frozen. Similarly, at 20°C the convict cichlid when fed with the pellet diet in combination with frozen food showed a statistically significantly better growth ($P < 0.05$) relative to the flakes diet in combination with frozen food. In contrast, at 20 °C, the convict cichlid showed statistically significantly greater food consumption when fed the flake diet in combination with frozen due to the increased metabolic needs for the utilization of the food. Regarding the effect of the different protein source of the diet on growth and survival of the angelfish and the convict cichlid, results showed that both types showed significantly statistically better growth rate, higher weight gain and better food consumption when fed with the fish meal diet (100% fish meal diet) or the mixed meal diet (50/5 fish meal/50% plant meal) in comparison with the plant meal diet (100% plant meal ($P < 0.05$)). To conclude, the

commercial pellet diet in combination with frozen food leads to better growth rates and food consumption when the rearing temperature is kept to 29 °C (the optimum rearing temperature) in comparison to 25 °C. Furthermore, the convict cichlid showed similar growth rates when fed the above diet at 27 °C. The angelfish and the convict cichlid when fed with fish meal diets (FM) or mix diets partial replacement of fish meal with plant protein meal, exhibited a higher growth rate and weight gain in comparison with those fed with diets containing only plant meal protein.

The structure and changes of the water bacterioplankton community structure based on 16S rRNA gene diversity, during a 60-day growth experiment in the two freshwater ornamental cichlids the angelfish and the convict cichlid was investigated. During the experiment, basic water physical and chemical parameters remained stable. However, the bacterial community at the beginning, middle and end of the growth period showed marked differences, both in cell abundance and diversity. Clone coverage was low suggesting that the estimated species richness of the samples is high. This, along with the lack of any dominant phylotype (i.e. the most abundant phylotypes reached 8.6% and 13.9% for *A. nigrofasciatus* and *P. scalare*, respectively), depict highly diverse communities. In both treatments, the highest number of phylotypes occurred at the start of the experiment (0d). For each treatment, only few of the phylotypes were found in more than one clone library but in most cases their relative abundance was low. For *A. nigrofasciatus*, only one phylotype occurred in all three-time points while for *P. scalare* no common phylotypes were detected between 30d and 60d. None of the common phylotypes was found to dominate in any of the sampling points in both aquaria. The majority of the common phylotypes belonged to the Proteobacteria and were closely related to *Acinetobacter junii*, *Pseudomonas sp.*, *Nevskia ramosa*,

Vogesella perlucida, *Chitinomonas taiwanensis*, *Acidovorax* sp., *Pelomonas saccharophila*. The rest of the phylotypes belonged to the α -Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, candidate division OP11 and one unaffiliated group. Some of these phylotypes were closely related to known taxa including *Sphingopyxis chilensis*, *Flexibacter aurantiacus* subsp. *excathedrus* and *Mycobacterium* sp. Despite the high phylogenetic diversity, and the anticipated dominance of only a few phylotypes towards the end of the experiment, most of the inferred ecophysiological roles of the found phylotypes are related to nitrogen metabolism, a key process for the proper functioning of the aquaria. Our results show that under fairly stable conditions, such as in the water column of ornamental fish aquaria, the succession of bacteria is characterised by very few common species and the expected dominance of specific bacterial phylotypes does not take place.

The developmental larval information is necessary for a more thorough analysis of egg and larval models of rearing the above studied experimental species for ornamental trade and aquaculture. In addition, this information can be used to estimate the behaviour of developing larvae in the natural environment. The nutritional experiments conducted in the study offer further insight on the performance of angelfish fed the experimental diets and identifies the limitations of these diets used in ornamental rearing. In this thesis, food consumption, survival, growth, and growth efficiency data have been assessed in relation to diet quality and dietary regimes for two freshwater cichlid species at different recommended temperature level, the thermal optimum and tolerance of the studied species. The results of this thesis provide information regarding the breeding and feeding management of angelfish and convict cichlids in the aquariums. It offers new strategies, which can offset the environmental pollution at the

aquarium and promote optimal growth, better food utilization and better health for the reared ornamental fish.

Keywords: Reproduction, ontogeny, growth, survival, nutritional requirements, bacterioplankton, rearing ornamental fish, *Pterophyllum scalare*, *Archocentrus nigrofasciatus*.