

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΖΩΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

*Διατροφή και φυσιολογία του αχινού *Paracentrotus lividus**

Παπαδόπουλος Ανδρέας

ΒΟΛΟΣ 2011

<< Διατροφή και φυσιολογία του αχινού *Paracentrotus lividus*.>>

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

- **Μεντέ Ελένη, Μόνιμη Επίκουρη Καθηγήτρια, Φυσιολογία Θρέψης Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιβλέπουσα.**
- **Βαφείδης Δημήτριος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Βιοποικιλότητα των Θαλάσσιων Βενθικών Ασπόνδυλων και άμεση - έμμεση χρηστικότητα τους, Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος.**
- **Κορμάς Κωνσταντίνος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Οικολογία Υδρόβιων Μικροοργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος.**

Στην οικογένεια μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ξεκινώντας, θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς ευχαριστίες μου σε όλους αυτούς τους ανθρώπους που συνέβαλλαν στο να φέρω εις πέρας την παρούσα προπτυχιακή διπλωματική εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επιβλέπουσα της εργασίας αυτής, την Επίκουρο Καθηγήτρια κ. Μεντέ Ελένη για την αμέριστη και υπερπολύτιμη βοήθειά της και τη διαρκή υποστήριξή της σε όλους τους τομείς, καθώς και τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου, αποτελούμενη από τους κ. Βαφείδη Δημήτριο και κ. Κορμά Κωνσταντίνο, Αναπληρωτές Καθηγητές, για τις χρήσιμες συμβουλές τους, αλλά και την κατανόηση τους στην περίοδο πριν από την παράδοση. Απαραίτητη ήταν και η βοήθεια του Λέκτορα κ. Καραπαναγιωτίδη Ιωάννη για τη βοήθεια στη χρήση των στατιστικών πακέτων, καθώς και τον κ. Βλάχο Νίκο που ανήκει στο ειδικό τεχνικό προσωπικό του Τμήματος Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης της Σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας του Τ.Ε.Ι Μεσολογγίου για την απαραίτητη βοήθεια που μου προσέφερε στη συναρμολόγηση του κλειστού κυκλώματος του νερού. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους συμφοιτητές μου, Μακρυγιάννη Αλέξανδρο και Σαμαρά Σουλτάνα για την στήριξη και βοήθεια τους στην αρχή της περιόδου του πειράματος καθώς χωρίς αυτούς το πείραμα δε θα μπορούσε να ξεκινήσει, καθώς επίσης την Τσούρα Έλενα και την Χάλαρη Νικολέτα για τη βοήθεια που μου προσέφεραν απλόχερα.

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

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αντικείμενο της έρευνας που πραγματοποιήθηκε στα εργαστήρια του Τμήματος Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος, αποτέλεσε ο κοινός αχινός *Paracentrotus lividus*. Σκοπός της ήταν ο προσδιορισμός του λίπους, των πρωτεϊνών και της τέφρας σε γονάδες άγριων αχινών (Πείραμα 1) και σύγκριση με εκτρεφόμενους με *Spirulina* sp. (Πείραμα 2). Επίσης μελετήθηκε η επίδραση της τεχνητής τροφής και της ασιτίας στην επιβίωση των αχινών και καταγράφηκαν οι ημερήσιες κινήσεις τους σε εργαστηριακές συνθήκες. Ενήλικα άτομα του *P. lividus* με μέση διάμετρο $48,51 \pm 5,03$ mm, μέσο βάρος $42,81 \pm 12,76$ g και μέσο ύψος $26,15 \pm 2,63$ mm τοποθετήθηκαν σε πλαστικά δοχεία χωρητικότητας 16 λίτρων. Τοποθετήθηκαν τρία άτομα ανά δοχείο και το πείραμα κράτησε 20 ημέρες. Οι αχινοί χωρίστηκαν σε δύο ομάδες των δεκατριών ατόμων. Η ομάδα Α εκτρεφόταν με σύμπληκτα *Spirulina* κάθε δυο μέρες, ενώ η ομάδα Β κρατήθηκε σε συνθήκες ασιτίας καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος. Η επιβίωση για την ομάδα της ασιτίας ήταν 46% και 38% για την εκτρεφόμενη ομάδα. Αύξηση δεν παρατηρήθηκε, καθώς οι ημερήσιοι ρυθμοί αύξησης SGR ήταν -0.46% για την εκτρεφόμενη ομάδα και -0,36% για την ομάδα που διατηρούνταν σε ασιτία. Μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στις γονάδες των άγριων αχινών (αρχικό δείγμα) πριν την εκτροφή (Πείραμα 1) έδειξαν συγκέντρωση υγρασίας 77%, ενώ οι μετρήσεις μετά την εκτροφή σε εργαστηριακές συνθήκες (Πείραμα 2) ήταν 70% και για τις δύο ομάδες Α και Β. Επίσης, οι αζωτούχες ενώσεις αποτελούσαν το 49% του βάρους των γονάδων στο αρχικό δείγμα ενώ στο τέλος του πειράματος αποτελούσαν το 43% της ομάδας Α και το 42% της ομάδας Β. Στο λίπος υπήρξε

μείωση του ποσοστού στις γονάδες μετά την εκτροφή καθώς από $17,5\pm 0,07\%$ είχαμε μια μείωση της τάξης του 5% περίπου, στο 11,81% στην ομάδα B, ενώ αντίθετα στην ομάδα A κυμάνθηκε στα πλαίσια των μετρήσεων του πειράματος 1, με συγκέντρωση 16,6%. Όσον αφορά τις ημερήσιες μετακινήσεις τους δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων A και B.

Λέξεις κλειδιά: αχινοί, διατροφή, φυσιολογία

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1 Εχινόδερμα	10
1.2 Εχινοειδή	10
1.2.1 <i>Paracentrotus lividus</i>	11
1.3 Διατροφή	14
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	19
2.1 Δειγματοληψία αχινών	19
2.2 Πείραμα εκτροφής	20
2.3 Στόχοι πειράματος	20
2.4 Περιγραφή και λειτουργία κλειστού κυκλώματος	21
2.5 Μέτρηση φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού της εκτροφής	25
2.6 Τοποθέτηση των αχινών στις δεξαμενές	25
2.7 Περιγραφή σιτηρεσίου των αχινών και χορήγηση τροφής	26
2.8 Θανάτωση αχινών, συλλογή ιστών και τελικές μετρήσεις	27
2.9 Βιοχημική ανάλυση	27
2.9.1 Προσδιορισμός Υγρασίας	28
2.9.2 Προσδιορισμός Ολικών Λιπαρών Ουσιών (Μέθοδος Soxhlet)	28
2.9.3 Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ενώσεων	30
2.9.4 Προσδιορισμός Τέφρας	32
2.10 Στατιστική επεξεργασία	34
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	35
3.1 Αρχικά βάρη, διάμετρος και ύψος αχινών	35
3.2 Θνησιμότητα αχινών	37
3.3 Ημερήσια μετακίνηση αχινών	39
3.4 Χημική ανάλυση τροφής	42
3.5 Τελικά βάρη, διάμετροι και ύψη αχινών	44
3.6 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης	46
3.7 Χημική σύσταση των γονάδων του <i>P. lividus</i>	47
3.7.1 Πείραμα 1	47
3.7.1.1 Υγρασία	47
3.7.1.2 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ενώσεις	49
3.7.1.3 Περιεκτικότητα σε ολικά λιπίδια	49
3.7.1.4 Περιεκτικότητα σε τέφρα	50
3.7.2 Πείραμα 2	50
3.7.2.1 Υγρασία	51
3.7.2.2 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ενώσεις	51

3.7.2.3 Περιεκτικότητα σε ολικά λιπίδια	52
3.8 Μετρήσεις φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού εκτροφής	52
3.9 Συζήτηση	53
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	57
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	59
6. ABSTRACT	65

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει παρατηρηθεί μείωση των φυσικών πληθυσμών πολλών ειδών αχινού, συμπεριλαμβανομένου και του *Paracentrotus lividus* στη Μεσόγειο και στα ΝΔ παράλια της Ευρώπης, κυρίως λόγω της υπεραλίευσης (Hagen 1996, Spirlet et al. 2001, Martinez et al. 2003). Τα νομικά μέτρα που έχουν θεσπιστεί περιορίζονται τόσο στη μείωση των ποσοτήτων των αλιευμάτων, στο ελάχιστο επιτρεπτό μέγεθος αλίευσης, όσο και στην έκταση των αλιευτικών πεδίων, ώστε να είναι εφικτή η φυσική ανάκαμψη των πληθυσμών από το απόθεμα ή μέσα από μετανάστευση (San Martin 1987, Botsford et al. 1999, Yokota et al. 2002). Λόγω απουσίας ενός ολοκληρωμένου νομοθετικού πλαισίου, εκτός από αυτό του ελαχίστου μεγέθους αλίευσης, πρέπει να υπάρξει μια ολοκληρωμένη πρόταση για την εντατική καλλιέργειά τους σε ελεγχόμενες συνθήκες. Τα τελευταία χρόνια και κυρίως λόγω της ζήτησης από την αγορά της Ιαπωνίας και της Γαλλίας υπάρχουν αυξημένες ανάγκες σε αχινούς (Le Gall 1990, Saito 1992, Pearse 2006). Οι αχινοί οι οποίοι εκτρέφονται αυτή τη στιγμή ανά τον κόσμο είναι τα *Strongylocentrotus intermedius*, *S. nudus* (Sakai et al. 2004), *Tripneustes gratilla* (Shimabukuro 1991) και *Loxechinus albus* (Carcamo 2004), κυρίως από τότε που επετεύχθη η μαζική παραγωγή γόνου. Επίσης, άλλα είδη που καλλιεργούνται κάτω από συνθήκες κλειστών κυκλωμάτων αλλά και πολυκαλλιέργειας στην ανοικτή θάλασσα είναι τα *P. lividus* και *S. droebachiensis* (Grosjean et al. 1998). Τεχνητές δίαιτες που επιτρέπουν την καλύτερη γοναδοσωματική αύξηση τους αναπτύσσονται συνεχώς (Lawrence & Lawrence 2004).

Αντικείμενο μελέτης της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη της συμπεριφοράς, της διατροφής και της φυσιολογίας του αχινού *P. lividus* σε ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες.

1.1 Εχινόδερμα

Το φύλο αυτό περιλαμβάνει τους αστερίες, τα εχινοειδή, τα κρινοειδή, τα οφιοουροειδή και τα ολοθούρια (Leclerc et al. 1986). Τα εχινόδερμα έχουν σκελετό ο οποίος αποτελείται από ασβεστοανθρακικές πλάκες κάτω από το δέρμα. Στο εσωτερικό τους υπάρχει ένα μοναδικό σύστημα με κανάλια γεμάτα με νερό, που ονομάζεται υδροαγγειακό σύστημα, το οποίο τους επιτρέπει να κινούνται και να αναπνέουν. Τα εχινόδερμα είναι μεροπλανγκτικοί οργανισμοί, τυπικοί κάτοικοι του βυθού και ζουν σε υφάλους και ακτές. Συναντώνται σε όλα τα βάθη και σε όλα τα κλίματα (Λαζαρίδου 1992).

1.2 Εχινοειδή

Τα εχινοειδή διακρίνονται σε κανονικά (π.χ *Arbacia lixula*, *Strongylocentrotus purpuratus*) και ακανόνιστα (π.χ *Echinocardium cordatum*, *Echinodiscus auritus*). Στα κανονικά το στόμα βρίσκεται από την κάτω πλευρά ενώ η έδρα από την πάνω. Στα ακανόνιστα το στόμα βρίσκεται στο κέντρο, ενώ η έδρα εκτός του αντιπολικού του σημείου (Λαζαρίδου 1992). Προτιμούν σκληρό υπόστρωμα ενώ υπάρχουν και μερικά είδη όπως το *Echinocardium cordatum* (θαλάσσια πατάτα), που προτιμούν το μαλακό υπόστρωμα και συνήθως εισέρχονται στη λάσπη (Groot 1984). Η κίνηση τους στο σκληρό υπόστρωμα γίνεται με τους ποδίσκους και τις άκανθες, ενώ στα μαλακά υποστρώματα λαμβάνει μέρος και ο λύχνος του Αριστοτέλη. Ο λύχνος του Αριστοτέλη είναι ένα σκληρό και πολύπλοκο μασητικό σύστημα, που αποτελείται από πολλά ασβεστολιθικά τμήματα. Αυτά σχηματίζουν πέντε σιαγόνες διατεταγμένες ακτινωτά με ισάριθμα επιμήκη ασβεστολιθικά δόντια. Τα εχινοειδή είναι κυρίως οργανισμοί

φυτοφάγοι, συχνά ξύνουν επιφάνειες και καταναλώνουν φύκη (Kempf 1962, Verlaque 1987). Αποτελούν τροφή για τα αστεροειδή, αλλά και λεία διαφόρων ψαριών, πουλιών και θαλάσσιων θηλαστικών (Tertschnig 1989, Sala 1996). Οι γονάδες ορισμένων ειδών αποτελούν εκλεκτή και πολύ ακριβή τροφή για τον άνθρωπο (Pancucci-Paradopolou 1996).

1.2.1 *Paracentrotus lividus*

Ο κοινός αχινός (*Paracentrotus lividus*, Lamarck, 1816), (Εικ. 1) είναι από τα πιο γνωστά είδη Εχινοδέρμων της Μεσογείου (Lozano et al. 1995, Boudouresque & Verlaque 2001), αλλά επίσης εμφανίζεται συχνά και στα ΝΑ παράλια της Ευρώπης (Saldanha 1974, Barnes et al. 2002).



Εικόνα 1: Κοινός αχινός, *Paracentrotus lividus*, στο εργαστήριο (Προσωπικό αρχείο, 2007) .

Η συστηματική κατάταξη του είδους είναι η εξής:

Βασίλειο: Animalia

Φύλο: Echinodermata

Κλάση: Echinoidea

Υποκλάση: Euechinoidea

Τάξη: Diadematoida

Υπόταξη: Camaraodonta

Οικογένεια: Echinidae

Γένος: *Paracentrotus*

Είδος: *Paracentrotus lividus* (Lamarck 1816)

Τα είδη αχινών που εμφανίζονται στο Αιγαίο σύμφωνα με τους Koukoura et al. (2007) είναι τα *Arbacia lixula*, *Arbaciella elegans*, *Brissopsis lyrifera*, *Brissopsis atlantica mediterranea*, *Brissus unicolor*, *Centrostephanus longispinus*, *Cidaris cidaris*, *Echinocardium cordatum*, *Echinocardium mediterraneum*, *Echinocyamus pusillus*, *Echinus acutus*, *Echinus melo*, *Genocidaris maculata*, *Hemiaster expergitus*, *Paracentrotus lividus*, *Plagiobrissus costai*, *Psammechinus microtuberculatus*, *Schizaster canaliferus*, *Spatangus purpureus*, *Sphaerechinus granularis* και *Stylocidaris affinis*. Το *P. lividus* είναι ένα από τα πιο γνωστά είδη Εχινοδέρμων της Μεσογείου (Tortonese 1965). Απαντάται στη Μεσόγειο και στον ανατολικό Ατλαντικό Ωκεανό, μέχρι την Ιρλανδία και τη Σκωτία. Μπορεί να εξαπλωθεί και να ζήσει μέχρι το βάθος των 80 m, όπου έχουν βρεθεί μεμονωμένα άτομα (Cherbonnier 1956, Tortonese 1965). Συνήθως ζει από την επιφάνεια μέχρι το βάθος των 20 m (Gamble 1965, Tortonese 1965, Allain 1975, Rigis 1978, Harmelin et al. 1981, Crook et al. 2000). Το σώμα του είναι σφαιρικό και λίγο πεπλατυσμένο. Η μέση διάμετρος του σώματος του ενήλικου, χωρίς τις άκανθες, είναι περίπου 5 cm, πάραυτα, έχουν βρεθεί και άτομα μεγαλύτερα,

μεγέθους 7,5 cm (Boudouresque et al. 1989, Lozano et al. 1995). Ο χρωματισμός ποικίλλει και είναι είτε πράσινος ή καφέ ή κοκκινωπός. Το χρώμα δεν σχετίζεται με το βάθος στο οποίο ζει ή το μέγεθος του αχινού (Mortensen 1943, Cherbonnier 1956, Tortonese 1965). Το συγκεκριμένο είδος στην περιοχή της Μεσογείου τρέφεται κυρίως τη νύχτα. Παρατηρήθηκε ότι ο ρυθμός απορρόφησης της τροφής είναι μεγαλύτερος σε πειραματικές εκτροφές όταν οι αχινοί τρέφονται τη νύχτα παρά τη μέρα (Shepherd 1987). Για τη Μεσόγειο κύριοι θηρευτές θεωρούνται τα ψάρια *Diplodus sargus* (σαργός) και *Diplodus vulgaris* (κακαρέλος) καθώς και διάφοροι αστερίες όπως το *Marthasterias glacialis* (Dance & Savy 1987, Roscchi 1987, Sala & Zabala 1996, Sala 1997). Το *P. lividus* έχει τη δυνατότητα προσκόλλησης στο σκληρό υπόστρωμα χάρη σε ένα πολύπλοκο βαδιστικό σύστημα, του οποίου ένα μέρος (οι ποδίσκοι) είναι εξωτερικά ορατό, ενώ το μεγαλύτερο μέρος βρίσκεται στο εσωτερικό του σώματος. Οι ποδίσκοι της κοιλιακής επιφάνειας, που βρίσκονται κοντά στο στόμα και σε άμεση επαφή με το υπόστρωμα, χρησιμεύουν για να συγκρατήσουν το ζώο στο υπόστρωμα αλλά και για την τροφοληψία. Κινούνται και μπορούν να διανύσουν σημαντικές αποστάσεις συγκριτικά με το μέγεθός τους (Hereu 2005). Οι κινήσεις τους είναι πολύ αργές, αλλά τους επιτρέπουν να αναζητήσουν τροφή ή να βρουν μια καλύτερη θέση σε σχέση με τις συνθήκες του περιβάλλοντος (π.χ. καταιγίδα, έντονος κυματισμός, άμπωτη και πλημμυρίδα) (Dance 1987). Σε μερικές περιπτώσεις μπορούν να αφεθούν στα ρεύματα και να μεταφερθούν σε άλλο μέρος. Σε ρηγά νερά έχουν παρατηρηθεί συντονισμένες νυχτερινές κινήσεις ατόμων του *P. lividus*, με μέγιστη δραστηριότητα γύρω στο ηλιοβασίλεμα και την ανατολή (Shepherd & Boudouresque, 1979). Η παραπάνω κίνηση δε φαίνεται να επηρεάζεται ούτε από την εποχή ούτε από την παρουσία θηρευτών μονάχα εν μέρει από άσχημες καιρικές συνθήκες και από την

παρουσία τροφής. Το *P. lividus* ζει συνήθως σε περιοχές εκτεθειμένες στον κυματισμό, δηλαδή σε περιοχές που είναι πλούσιες σε οξυγόνο (Tortonese 1965). Η αναπνευστική ανταλλαγή γίνεται εύκολα μέσω όλης της επιφάνειας του σώματος. Επιπλέον, διαθέτει δέκα βράγχια σε ένα περιστοματικό κύκλο που αντιστοιχούν σε διακλαδιζόμενες αποφύσεις μιας κοιλότητας η οποία βρίσκεται στην μπροστινή περιοχή του πεπτικού σωλήνα (Pancucci-Papadopoulou 1996). Είναι ένα από τα είδη που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιολογικός δείκτης χημικής ρύπανσης και μικροβιακής μόλυνσης των θαλασσινών νερών, αφού βρίσκεται και σε περιοχές όπου έχουν υποστεί ρύπανση, και οι μικροβιακές συγκεντρώσεις τους είναι αντιπροσωπευτικές της μικροβιακής ποιότητας του νερού (Portocali *et al.* 1996).

Οι γονάδες των αχινών αποτελούν είδος πολυτελείας στις αγορές της Μεσογείου αλλά και ολοκλήρου του κόσμου (Pancucci-Papadopoulou 1996). Το *P. lividus* παρουσιάζει μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον, με σταθερή ζήτηση στη διεθνή αγορά. Λόγω της ζήτησης του όμως υπάρχει συρρίκνωση των αποθεμάτων (Martinez *et al.* 2003).

1.3 Διατροφή

Το μελετηθέν είδος είναι κατά κανόνα φυτοφάγος οργανισμός (Kempff 1962, Verlaque 1987a). Η μελέτη του στομαχικού περιεχομένου αχινών από διαφορετικές περιοχές φανερώνει και τη χρησιμοποίηση ζωικών ειδών. Πολλά είδη είναι παμφάγα και κάποια σαρκοφάγα (Karlson 1978). Κατά ένα μεγάλο βαθμό, οι διατροφικές συνήθειες του *P. lividus* έχουν προσδιοριστεί με πειράματα σε ενυδρεία (Lawrence 2007). Εκεί τα άτομα του αχινού εκτέθηκαν σε πολλά είδη τροφών με παρόμοιες ποσότητες σε επίπεδο κορεσμού. Έτσι αναλύθηκε ποια τροφή προτιμούν οι αχινοί και ποια αποφεύγουν. Επιπλέον πληροφορίες για τις διατροφικές συνήθειες του, μπορούν να ληφθούν από τη

σύγκριση της αφθονίας των αντικειμένων του στομαχικού του περιεχομένου, καθώς και του περιβάλλοντος από το οποίο συλλέχθηκαν τα άτομα αυτά (Ivlev 1961).

Σύμφωνα με έρευνα των Fernandez & Boudouresque (1998), η αυξημένη απορρόφηση του ιχθυαλεύρου από άτομα αχιών ίσως φανερώνει παμφαγία. Η διατροφή των νεαρών ατόμων του είδους είναι διαφορετική σε σχέση με τα ενήλικα.

Αν και όπως αναφέρθηκε το *P. lividus* είναι συνήθως φυτοφάγος οργανισμός, η μελέτη του στομαχικού περιεχομένου μερικών ατόμων από διαφορετικά περιβάλλοντα δείχνει την ύπαρξη και ζωικών τροφών. Η διατροφή των ατόμων του μελετηθέντος είδους διαφέρει ανάλογα με το περιβάλλον και την εποχή (Kovitu 1991, Aubin 2004). Έχουν γίνει πολλές μελέτες για τη διατροφή του είδους αυτού. Ενδεικτικά από ανάλυση στομαχικού περιεχομένου, από ανάλυση κοπράνων και από παρατηρήσεις πεδίου, βρέθηκαν φύκη του γένους *Enteromorpha* (Εικ.2), διάτομα, τρηματοφόρα, άμμος, *Posidonia* (Εικ.3), *Codium*, *Dictyota*, *Ectocarpale*, *Gelidiales*, *Lithophyllum*, *Cystoseira*, *Ulva* (Εικ.4), *Laurencia*, *Mytilus*, *Enteromorpha*, Κνιδόζωα, διάφορα Κωπήποδα, Υδροζωα, Βρυόζωα (Εικ.5) και Πολύχαιτοι (Valentin 1841, Kitching & Ebling 1967, Ebling et al. 1966, Kempf 1962, Niell & Pastor 1973, Traer 1980).



Εικόνα 2: Φύκος του είδους *Enteromorpha* (www.msc.ucla.edu).



Εικόνα 3: Υποβρύχιο λιβάδι από φύκος του είδους *Posidonia oceanica* (www.mondosub.com).

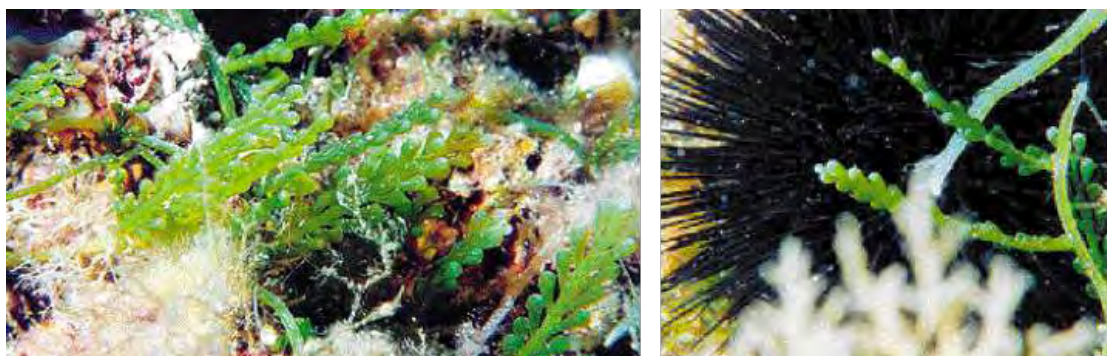


Εικόνα 4: *Ulva lobata* (www.palaeos.com).



Εικόνα 5: Βρυόζωα (<http://www.starfish.ch/Fotos/bryozoans-Moostierchen/Bryozoa-sp1-1.jpg>).

Τα θρύμματα του είδους *Posidonia oceanica* θεωρούνται τυχαία φερτή ύλη, όπου το ζώο συχνά χρησιμοποιεί για κάλυψη και κατανάλωση. Μερικές φορές καλύπτει το 40% των τροφικών αναγκών του με αυτή (Verlaque & Nedelec 1983b). Σύμφωνα με τους Harmelin et al. (1981) έχουν βρεθεί άτομα του *P. lividus* να καταναλώνουν κουφάρια νεκρών ψαριών. Σε ενυδρεία μπορούν να τους προσφερθούν ακόμα και μύδια (Haya and Rigis 1995). Το επεκτατικό, εισβολικό είδος *Caulerpa taxifolia* (Εικ. 6) είναι ένα φύκος, το οποίο όπως αποδείχθηκε από διατροφικά πειράματα δεν προσφέρεται για εκτροφή αχινού, καθώς προκαλεί πτώση μικρού αριθμού αγκαθιών και μείωση της γοναδοσωματικής αναλογίας σε σχέση με άτομα τα οποία κατανάλωσαν άλλες τροφές (Boudouresque et al. 1996). Όταν υπάρχουν είδη τα οποία αποφεύγει ο *P. lividus* (π.χ *C. taxifolia*) μπορεί να καταναλώσει μεγάλες ποσότητες άμμου (Lemie et al. 1996).



Εικόνα 6 : Ο επεκτατικός εισβολέας *Caulerpa taxifolia* (www.tovima.dolnet.gr).

Τα άτομα του κοινού αχινού μπορούν ακόμα και να καταφύγουν σε κανιβαλισμό εάν υπάρχουν παρατεταμένες συνθήκες ασιτίας (Pastor 1971).

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Δειγματοληψία αχινών

Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε στις 16 Ιουνίου του 2010 στην Κάτω Γατζέα (Εικ. 7) με συντεταγμένες $39^{\circ}18'25,62''$ Βόρεια και $23^{\circ}05'50,67''$ Ανατολικά, σε βάθος 1-2,5 μέτρων και αλατότητα 36 ‰ η οποία μετρήθηκε με ειδικό μηχανικό αλατόμετρο. Συλλέχτηκαν 32 άτομα *Paracentrotus lividus* με μέσο ύψος $21,7 \pm 2,87$ mm, μέση διάμετρο $43,2 \pm 5,82$ mm και μέσο βάρος $40,1 \pm 9,61$ g για αρχικές βιοχημικές αναλύσεις (αρχικό δείγμα) (Πείραμα 1) και επιπλέον άλλα 32 άτομα με μέσο ύψος $26,2 \pm 2,63$ mm, μέση διάμετρο $48,5 \pm 5,03$ mm και μέσο βάρος $42,8 \pm 12,76$ g για το πείραμα εκτροφής (Πείραμα 2).



Εικόνα 7 : Κάτω Γατζέα (Προσωπικό αρχείο 2010).

Για τη μεταφορά τους στο εργαστήριο χρησιμοποιήθηκε ειδική δεξαμενή και φορητή συσκευή οξυγόνωσης. Ύστερα από τη συλλογή του απαιτούμενου αριθμού αχινών, μεταφέρθηκε με προσοχή η δεξαμενή μεταφοράς στο Εργαστήριο. Το αρχικό δείγμα του 1^{ου} πειράματος αποθηκεύτηκε στους -20 °C για περαιτέρω αναλύσεις.

2.2 Πείραμα εκτροφής

Το πείραμα εκτροφής του κοινού αχινού *P. lividus*, διεξήχθη στο Εργαστήριο Υδατοκαλλιεργειών του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος. Αρχικά τοποθετήθηκαν 32 άτομα για μια περίοδο επτά ημερών σε συνθήκες εγκλιματισμού, όπου δεν προσφέρονταν τροφή. Από αυτά επιβίωσαν την περίοδο της νηστείας 26, δηλαδή υπήρξε θνησιμότητα 18,75%. Στη συνέχεια χωρίστηκαν σε δύο ομάδες των 13 ατόμων με διαφορετική μεταχείριση. Στην ομάδα Α χορηγούνταν τροφή του είδους *Spirulina* sp. υπό τη μορφή συμπήκτων (pellets), ενώ η ομάδα Β παρέμεινε σε κατάσταση ασιτίας καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Οι αχινοί τοποθετήθηκαν σε οκτώ δεξαμενές, συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις δεξαμενές για κάθε ομάδα.

2.3 Στόχοι πειράματος

Οι στόχοι του πειράματος ήταν:

- Η επίδραση της τεχνητής τροφής και της ασιτίας στην επιβίωση των αχινών σε εργαστηριακές συνθήκες.
- Καταγραφή της ημερήσιας κίνησης των αχινών στις δεξαμενές.

- Ο προσδιορισμός του ποσοστού λίπους, πρωτεϊνών και τέφρας στις γονάδες των αχινών του αρχικού δείγματος (Πείραμα 1).
- Ο προσδιορισμός του ποσοστού λίπους, πρωτεϊνών και τέφρας στις γονάδες των εκτρεφόμενων (με σύμπηκτο *Spirulina*) και ασιτίας αχινών (Πείραμα 2).

2.4 Περιγραφή και λειτουργία κλειστού κυκλώματος

Για την διεξαγωγή του πειράματος εκτροφής των αχινών, δημιουργήθηκε ένα πρότυπο κλειστό κύκλωμα κυκλοφορίας νερού στους χώρους του Εργαστηρίου, το οποίο αποτελείται από τα εξής:

1. Οκτώ κυλινδρικά δοχεία όγκου περίπου 16 λίτρων το καθένα (Εικ. 8)
2. Ένα ενυδρείο χωρισμένο σε τέσσερα μέρη χωρητικότητας 200 λίτρων περίπου (Εικ. 9)
3. Μηχανικό φίλτρο (Εικ. 10)
4. Βιολογικό φίλτρο (Εικ. 10)
5. Αντλία συνεχούς ροής θαλασσινού νερού (Εικ. 10)



Εικόνα 8: Άποψη των κυλινδρικών δοχείων (Προσωπικό αρχείο 2010).



Εικόνα 9: Κύριο ενυδρείο συστήματος (Προσωπικό αρχείο 2010).



Εικόνα 10: Διαμερίσματα ενυδρείου συστήματος (Προσωπικό αρχείο 2010).

Το κλειστό κύκλωμα λειτουργούσε ως εξής: όλα τα δοχεία διέθεταν ένα σύστημα υπερχειλίσης του πυθμενικού νερού έτσι ώστε να μην δημιουργούνται στάσιμες περιοχές χαμηλής οξυγόνωσης (Εικ. 11). Επίσης ήταν συνδεδεμένες με σωληνώσεις απορροής οι οποίες οδηγούσαν το νερό στο ενυδρείο και συγκεκριμένα στο πρώτο διαμέρισμα όπου βρισκόταν το μηχανικό φίλτρο. Αφού κατακρατούνταν τα στερεά σωματίδια, το νερό περνούσε στο δεύτερο διαμέρισμα του ενυδρείου όπου βρισκόταν το βιολογικό φίλτρο. Αυτό αποτελείτο από σφαίρες, οι οποίες διέθεταν μεγάλη επιφάνεια αποίκησης και επέτρεπαν μεγάλη ροή νερού ανάμεσα τους. Έτσι, μέσα στις σφαίρες είχε αναπτυχθεί πληθυσμός απονιτροποιητικών βακτηρίων του γένους *Nitrosomonas* και *Nitrobacter*, ώστε να πετυχαίνεται η μετατροπή της τοξικής αμμωνίας σε νιτρώδη και στη συνέχεια νιτρικά. Στη συνέχεια της ροής του, το νερό εμπλουτιζόταν με συμπιεσμένο ατμοσφαιρικό αέρα μέσα από ένα σύστημα που κατέληγε σε μια ειδική πορώδη κατασκευή, η οποία ευνοούσε τη δημιουργία πολλών μικρών φυσαλίδων αέρα, που παρείχαν καλό αερισμό του νερού (Hawkins & Anthony

1981). Ακολούθως το νερό έφτανε στο διαμέρισμα της αντλίας όπου ήταν η αφετηρία για ένα καινούργιο κύκλο στο σύστημα (Σχ. 1). Τέλος το νερό διηθούνταν μηχανικά άλλη μια φορά πριν χυθεί στις δεξαμενές (Εικ. 12). Αλλαγές του νερού του κυκλώματος πραγματοποιούνταν κάθε επτά ημέρες για να μην επηρεαστούν οι αχινόι, με μικρές όμως ποσότητες, της τάξης του 10% του συνολικού όγκου του νερού.

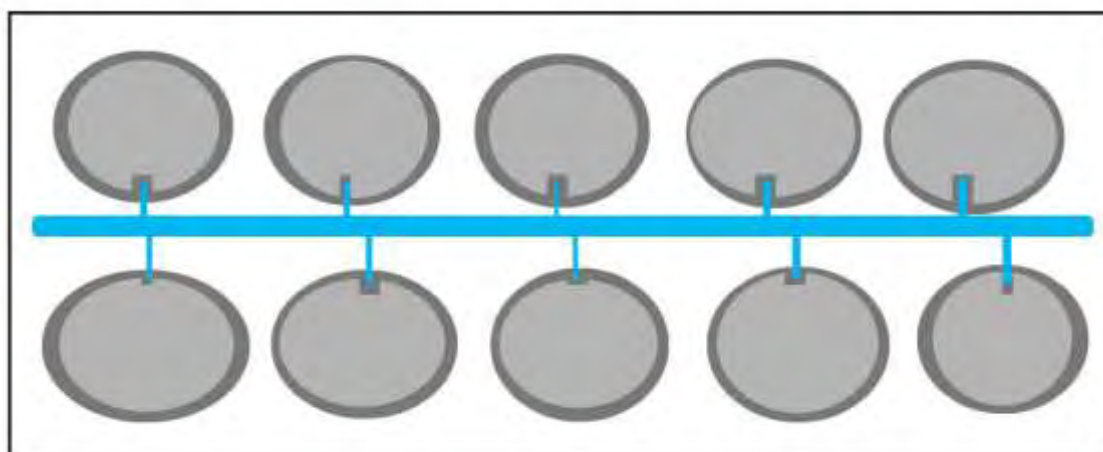


Εικόνα 11: Σύστημα πυθμενικής υπερχειλίσης (Προσωπικό αρχείο 2010).



Μηχανικά
φίλτρα στις
απορροές

Εικόνα 12: Άποψη του συστήματος (Προσωπικό αρχείο 2010).



Σχήμα 1: Σχεδιάγραμμα συστήματος εκτροφής (Προσωπικό αρχείο 2009).

2.5 Μέτρηση φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού της εκτροφής

Καθημερινά γινόταν μετρήσεις αμμωνίας (NH_3), νιτρικών (NO_2), νιτρικών (NO_3), σκληρότητας (KH), pH, θερμοκρασίας ($^{\circ}\text{C}$) και αλατότητας (S). Οι μετρήσεις έγιναν με ειδικά τεστ της εταιρίας API που εξειδικεύεται σε προϊόντα που προορίζονται για ενυδρεία. Για τη μέτρηση της θερμοκρασίας χρησιμοποιήθηκε θερμόμετρο, το οποίο με τη βοήθεια βεντούζας είχε προσκολληθεί στο βιολογικό φίλτρο για να μπορεί να ελέγχεται. Τέλος, για τη μέτρηση της αλατότητας χρησιμοποιήθηκε μηχανικό σαλινόμετρο.

2.6 Τοποθέτηση των αχινών στις δεξαμενές

Στο εργαστήριο οι αχινοί αφού ζυγίστηκαν με ζυγό ακριβείας μονάδων και μετρήθηκαν με ηλεκτρονικό παχύμετρο το ύψος και η διάμετρος του σώματος τους, τοποθετήθηκαν στις δεξαμενές με συγκεκριμένο τρόπο. Κάθε ομάδα αποτελείτο από 13

άτομα επί συνόλου 26, χωρισμένα ανά τρία σε κάθε δεξαμενή, ενώ σε δύο τοποθετήθηκαν τέσσερα (Εικ. 13).



Εικόνα 13: Άτομα *P. lividus* μέσα στη δεξαμενή (Προσωπικό αρχείο 2010).

2.7 Περιγραφή σιτηρεσίου των αχινών και χορήγηση τροφής

Η τροφή προσφέρονταν μία φορά κάθε δύο μέρες. Το βάρος της τροφής που παρέχονταν στους αχινούς ήταν το ίδιο, ένα σύμπηκτο *Spirulina* $0,3 \pm 0,04$ g ανά αχινό. Η τροφή που χορηγείτο αποτελούσε το 0,75 % του νωπού βάρους των αχινών, ανάλογα με το μέγεθος τους. Στις τέσσερις πρώτες δεξαμενές (Ομάδα Α, διατροφή με σύμπηκτο) χορηγούνταν τροφή, ένα σύμπηκτο *Spirulina* ανά άτομο, ενώ στις υπόλοιπες τέσσερις (Ομάδα Β, ασιτίας) δεν χορηγούνταν κανενός είδους τροφή. Η συλλογή της μη καταναλισκόμενης τροφής γινόταν λίγο πριν από κάθε νέα χορήγηση με σιφωνισμό

των δεξαμενών και κατόπιν διήθηση του νερού. Σύμφωνα με ειδική σήμανση της εταιρίας η περιεκτικότητα των συμπύκνων *Spirulina* σε ολικό λίπος, ολικές αζωτούχες ενώσεις, υγρασία και υδατάνθρακες είναι 4%, 52%, 4-5 % και 20%, αντίστοιχα.

2.8 Θανάτωση αχινών, συλλογή ιστών και τελικές μετρήσεις

Η διακύμανση της θνησιμότητας κατά τη διάρκεια του πειράματος 2 ήταν η εξής. Την τρίτη ημέρα του πειράματος βρέθηκε ένας αχινός νεκρός, την 13^η εννέα και την 18^η πέντε, σύνολο 15 άτομα. Αυτό δε σημαίνει ότι υπήρξαν μαζικοί θάνατοι λόγω κάποιας συγκεκριμένης αιτίας. Απλώς, οι αχινοί λόγω της ιδιομορφίας που έχουν ως οργανισμοί, είναι δύσκολο να αντιληφτεί κανείς ότι έχουν πεθάνει, παρά μόνο εάν χάσουν μεγάλο αριθμό από τις άκανθες τους. Στις 13 Ιουλίου 2010 θανατώθηκαν στο σύνολο τους οι αχινοί οι οποίοι είχαν επιζήσει (11 άτομα) από όλες τις δεξαμενές. Στη συνέχεια αφαιρέθηκαν από το εσωτερικό του σώματός τους το σύνολο των γονάδων τους, το οποίο μετέπειτα αναλύθηκε για τα επίπεδα υγρασίας (%), ολικού λίπους (%), τέφρας (%) και ολικών αζωτούχων ενώσεων (πρωτεϊνών) (%).

2.9 Βιοχημική ανάλυση

Η βιοχημική ανάλυση είχε ως σκοπό τον προσδιορισμό του ολικού λίπους, των ολικών αζωτούχων ενώσεων (πρωτεΐνες) και της τέφρας στις γονάδες των αχινών (AOAC 1995, Νήτας 2004). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Φυσιολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος. Παράλληλα πραγματοποιήθηκε σύγκριση με τα αρχικά δείγματα τα οποία είχαν αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία -20 °C.

Από τους αχινούς που διατρέφονταν (Ομάδα Α) χρησιμοποιήθηκαν 5 άτομα, από τους αχινούς της ασιτίας (Ομάδα Β) χρησιμοποιήθηκαν 6 άτομα. Από κάθε άτομο συλλέχθηκε το σύνολο των γονάδων του. Επειδή ο αριθμός των τελικών δειγμάτων ήταν μικρός και η ποσότητα βάρους των γονάδων αντιστοίχως μικρή, πραγματοποιήθηκε ομογενοποίηση των δειγμάτων ανά ομάδα.

2.9.1 Προσδιορισμός Υγρασίας

Υπολογίστηκε το αρχικό νωπό βάρος όλων των δειγμάτων. Έπειτα τοποθετήθηκαν σε κλίβανο με θερμοκρασία 105°C για 24 ώρες ώστε να αποβληθεί η υγρασία και να προσδιοριστεί η ξηρή ουσία. Μετά τη ξήρανση των δειγμάτων, ζυγίστηκε το νέο βάρος των γονάδων και τέλος κονιορτοποιήθηκαν και τοποθετήθηκαν σε ειδικά πλαστικά δοχεία συλλογής.

2.9.2 Προσδιορισμός Ολικών Λιπαρών Ουσιών (Μέθοδος Soxhlet)

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπιδίων της τροφής (σύμπηκτο) και των γονάδων των αχινών έγινε με τη μέθοδο Soxhlet. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκαν γυάλινα δοχεία εκχύλισης στα οποία προστέθηκαν τρεις με τέσσερις πέτρες βρασμού, το μικτό βάρος των οποίων προζυγίστηκε σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων. Κατόπιν, σε κάθε γυάλινο δοχείο εκχύλισης τοποθετήθηκε ένα χάρτινο δοχείο ηθμού, μέσα στο οποίο προστέθηκε ένα g ξηρής ουσίας δείγματος. Σε κάθε δοχείο εκχύλισης προστέθηκαν 150 ml πετρελαϊκού αιθέρα με τη βοήθεια ενός ογκομετρικού κυλίνδρου και το χάρτινο δοχείο ηθμού σκεπάστηκε με βαμβάκι για την αποφυγή εκτίναξης του δείγματος κατά τη διάρκεια του βρασμού που θα ακολουθούσε.

Τα γυάλινα δοχεία εκχύλισης με τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε ειδική συσκευή εκχύλισης λιπαρών ουσιών (συσκευή Soxhlet) (Εικ. 14). Κατά τη διαδικασία της

εκχύλισης, τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 150 °C υπό την παρουσία του οργανικού διαλύτη, όπου έλαβε χώρα το πρώτο στάδιο της εκχύλισης. Έπειτα, ο οργανικός διαλύτης απορροφήθηκε και εκπλύθηκε στο δείγμα για 1,5 ώρες, όπου έλαβε χώρα το δεύτερο στάδιο της εκχύλισης. Κατόπιν, απορροφήθηκε ο διαλύτης για 15 λεπτά της ώρας με αποτέλεσμα τα ολικά λιπίδια του δείγματος να παραμείνουν στον πάτο του δοχείου εκχύλισης. Μετά το πέρας της εκχύλισης, τα δοχεία με τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε φούρνο στους 75° C για 0,5 ώρες προκειμένου να εξατμιστεί εντελώς ο πετρελαϊκός αιθέρας που τυχόν παρέμεινε στο δείγμα. Στη συνέχεια τα δοχεία εκχύλισης μεταφέρθηκαν στο ξηραντήρα για μία ώρα περίπου ώστε να κρυώσουν. Αφού απομακρύνθηκε το χάρτινο δοχείο ηθμού που περιείχε το απολιπασμένο δείγμα, ακολούθησε επαναζύγιση των γυάλινων δοχείων εκχύλισης (που περιείχαν και τις πέτρες βρασμού) και καταγράφηκε το βάρος τους. Με τη βοήθεια της παρακάτω σχέσης προσδιορίστηκε η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε ολικά λιπίδια:

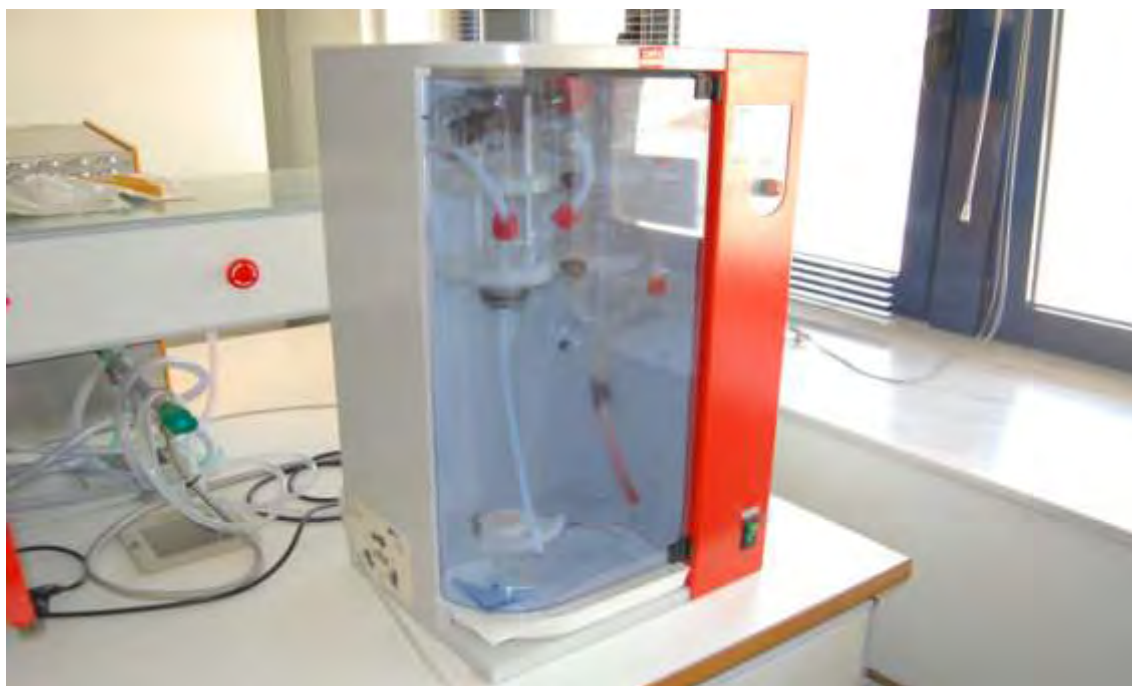
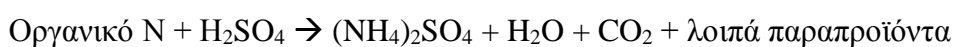
$$\text{Ολικά λιπίδια (\%)} = [\text{τελικό βάρος δοχείου εκχύλισης (g)} - \text{αρχικό βάρος(g)}] \times 100$$



Εικόνα 14: Συσκευή Soxhlet (Προσωπικό αρχείο 2010).

2.9.3 Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ενώσεων

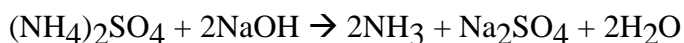
Ο προσδιορισμός των αζωτούχων ενώσεων (ολικών πρωτεϊνών) του συμπήκτου και των γονάδων των αχινών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο προσδιορισμού αζωτούχων ενώσεων Kjeldahl (Εικ. 15). Αρχικά, ζυγίστηκαν 200 mg (0,2 g) δείγματος και καταγράφηκαν τα βάρη τους. Κατόπιν τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε ειδικές φιάλες βρασμού της συσκευής Kjeldahl και ακολούθησε η διαδικασία της πέψης των δειγμάτων. Κατά τη διαδικασία αυτή, τα δείγματα θερμαίνονταν παρουσία πυκνού θειικού οξέος (παράγοντας οξειδωσης με τον οποίο πέπτεται το δείγμα) και πραγματοποιείται η διάσπαση όλων των αζωτούχων ουσιών, απελευθερώνεται το άζωτο (N) του δείγματος, το οποίο κατόπιν δεσμεύεται σε θειικό αμμώνιο, σύμφωνα με την παρακάτω χημική αντίδραση:



Εικόνα 15: Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών (Προσωπικό αρχείο 2010).

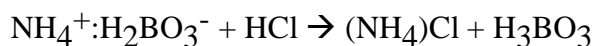
Σε κάθε φιάλη βρασμού προστέθηκαν, χρησιμοποιώντας τον ειδικό δοσομετρητή, 15 ml πυκνού H_2SO_4 (καθαρότητας 96%) και δύο ταμπλέτες καταλύτη Kjeldahl (περιείχε θείο) για να επιταχύνει την αντίδραση. Οι φιάλες βρασμού τοποθετήθηκαν σε ειδική συσκευή πέψης που ήταν τοποθετημένη σε απαγωγό και τα δείγματα αφέθηκαν να χωνευτούν στους 150 °C για 85 min. Τα δείγματα αφέθηκαν να κρυώσουν για περίπου 30 min , αφήνοντας σε λειτουργία την παγίδα αερίων και τον απαγωγό.

Κατόπιν, ακολούθησε η διαδικασία της απόσταξης κατά την οποία το θειικό αμμώνιο αντιδρά με το υδροξείδιο του νατρίου και αποδεσμεύεται αμμωνία (σε αέρια μορφή) και θειικό νάτριο. Η αμμωνία έπειτα αντιδρά με το βορικό οξύ και το άζωτο του δείγματος δεσμεύεται σε μορφή βορικού αμμωνίου, σύμφωνα με τις εξής αντιδράσεις:



Για τη διαδικασία της απόσταξης, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε ειδική συσκευή απόσταξης. Σε κάθε δείγμα προστέθηκαν 100 ml απεσταγμένου H_2O , 80 ml (0,5N)NaOH και 50 ml H_3BO_3 . Ο συνολικός χρόνος της απόσταξης κάθε δείγματος ήταν 6 min. Το βορικό αμμώνιο συγκεντρώνονταν σε κωνική φιάλη που περιείχε 4 σταγόνες βάμματος.

Έπειτα ακολούθησε η διαδικασία της τιτλοδότησης κατά την οποία το βορικό αμμώνιο τιτλοδοτείται με υδροχλωρικό οξύ χρησιμοποιώντας ένα δείκτη για το τελικό σημείο της παρακάτω χημικής αντίδρασης:



Η συγκέντρωση (σε moles) των ιόντων υδρογόνου που απαιτούνται για να καταλύσουν την αντίδραση έως το τελικό σημείο ισοδυναμεί με τη συγκέντρωση του αζώτου που περιέχει το δείγμα.

Η κωνική φιάλη που περιείχε βορικό αμμώνιο τοποθετήθηκε σε θέση συνεχούς ανακίνησης και προσθέτονταν σε αυτήν με αργό ρυθμό καταγεγραμμένη ποσότητα δεκατοκανονικού διαλύματος (0,1N) HCl. Η αλλαγή του χρώματος στο διάλυμα ομολογούσε το τελικό σημείο της αντίδρασης. Η περιεκτικότητα του δείγματος σε άζωτο (N %) υπολογίστηκε από τη σχέση :

$$\text{N}\% = \frac{(\text{ml HCl} - \text{ml Blank}) \times \text{N}_{\delta/\text{τοςHCl}} \times 0,014007}{\text{Βάρος Δείγματος, g}} \times 100$$

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

Κατόπιν, από τη συγκέντρωση του αζώτου (N) στο δείγμα μπορεί να υπολογιστεί η περιεχόμενη πρωτεΐνη του σύμφωνα με τον τύπο:

$$\text{Πρωτεΐνη (\%)} = \text{N (\%)} \times 6,25$$

Όπου, ο συντελεστής 6,25 προκύπτει από την παραδοχή ότι οι πρωτεΐνες περιέχουν 16% N.

2.9.4 Προσδιορισμός Τέφρας

Η τέφρα αντιπροσωπεύει τη συνολική ανόργανη ουσία του δείγματος. Ο προσδιορισμός της τέφρας πραγματοποιήθηκε τοποθετώντας 1 g ξηρής ουσίας δείγματος σε αποτεφρωτήρα (Εικ. 16) για τρεις ώρες σε θερμοκρασία 600 °C (AOAC 1995). Μετά την αποτέφρωση, τα δισκία τοποθετήθηκαν σε ξηραντήριο για να ψυχθούν. Ο προσδιορισμός της τέφρας των δειγμάτων υπολογίστηκε ως εξής:

W αποτεφρωμένου δείγματος (g) = W μεικτού αποτεφρωμένου δείγματος (g) και πορσελάνινου δισκίου (g) – W πορσελάνινου δισκίου (g)

Τέφρα (%) = [W αποτεφρωμένου δείγματος (g) / W αρχικού δείγματος (g)] * 100



Εικόνα 16: Αποτεφρωτήρας (Προσωπικό αρχείο 2010).

2.10 Στατιστική επεξεργασία

Για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε χρήση του προγράμματος SGwin 5, SPSS 18 καθώς και του EXCEL. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν η μονοπαραγοντική ανάλυση διακυμάνσεων (one way ANOVA) και το T-test. Χρησιμοποιήθηκε επίπεδο εμπιστοσύνης 95% ($\alpha=0,05$).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Αρχικά βάρη, διάμετρος και ύψος αχινών

Το πείραμα διήρκησε συνολικά 20 ημέρες. Τα αρχικά βάρη, οι αρχικές διαμέτροι και τα αρχικά ύψη των αχινών δίνονται στον Πίνακα 1. Στους Πίνακες 2, 3 και 4 φαίνονται τα αποτελέσματα της περιγραφικής στατιστικής για τα παραπάνω αρχικά χαρακτηριστικά των αχινών. Ο μεγαλύτερος μέσος όρος βάρους παρατηρήθηκε στην δεξαμενή εννέα με 51,66 g, ενώ ο μικρότερος στην πέντε με 37,66 g. Αντιθέτως ο μεγαλύτερος μέσος όρος διαμέτρου και ύψους παρατηρήθηκε στην δεξαμενή τέσσερα με 51,98 mm και 27,3 mm αντίστοιχα, ενώ ο μικρότερος στην δεξαμενή ένα με διάμετρο 45,85 mm και ύψος 24,23 mm.

Πίνακας 1: Αρχικές μετρήσεις αχινών.

Δεξαμενές	Μεταχείριση	Βάρος* (g)	Υψος (mm)	Διάμετρος (mm)
1	Ομάδα Α	56	28,09	52,19
1	Ομάδα Α	36	22,59	44,5
1	Ομάδα Α	28	22,01	40,86
2	Ομάδα Α	35	25,85	49,65
2	Ομάδα Α	31	25,17	44,42
2	Ομάδα Α	31	24,11	44,35
2	Ομάδα Α	56	29,36	56,67
3	Ομάδα Α	68	30,1	57,3
3	Ομάδα Α	40	25,41	47,22
3	Ομάδα Α	31	22,35	44,46
4	Ομάδα Α	51	27,51	52,06
4	Ομάδα Α	50	28,11	53,52
4	Ομάδα Α	47	26,28	50,36
5	Ομάδα Β	27	24,23	41,5
5	Ομάδα Β	37	26,63	45,76
5	Ομάδα Β	49	25,85	51,53
6	Ομάδα Β	35	24,05	44,95
6	Ομάδα Β	31	21,89	44,22
6	Ομάδα Β	32	24,04	43,39
6	Ομάδα Β	69	29,61	57,2
9	Ομάδα Β	71	30,06	58,47
9	Ομάδα Β	44	27,07	47,33
9	Ομάδα Β	40	24,76	47,23
10	Ομάδα Β	36	25,39	46,79
10	Ομάδα Β	44	29,8	48,3
10	Ομάδα Β	38	29,65	46,91

* Η απουσία δεκαδικών ψηφίων οφείλεται στον ψηφιακό ζυγό.

Πίνακας 2: Περιγραφική στατιστική για τα αρχικά βάρη των αχινών (σε g).

Δεξαμενές	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Τυπικό σφάλμα	Ελάχιστο	Μέγιστο
Ομάδα Α (Spirulina)	43,08	12,49	3,46	28	68
Ομάδα Β (ασιτία)	42,54	13,54	3,75	27	71

Πίνακας 3: Περιγραφική στατιστική για τις αρχικές διαμέτρους των αχινών (σε mm).

Δεξαμενές	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Τυπικό σφάλμα	Ελάχιστο	Μέγιστο
Ομάδα Α (Spirulina)	49,04	5,19	1,44	40,86	57,3
Ομάδα Α (ασιτία)	47,97	5,02	1,39	41,5	58,47

Πίνακας 4: Περιγραφική στατιστική για τα αρχικά ύψη των αχινών (σε mm).

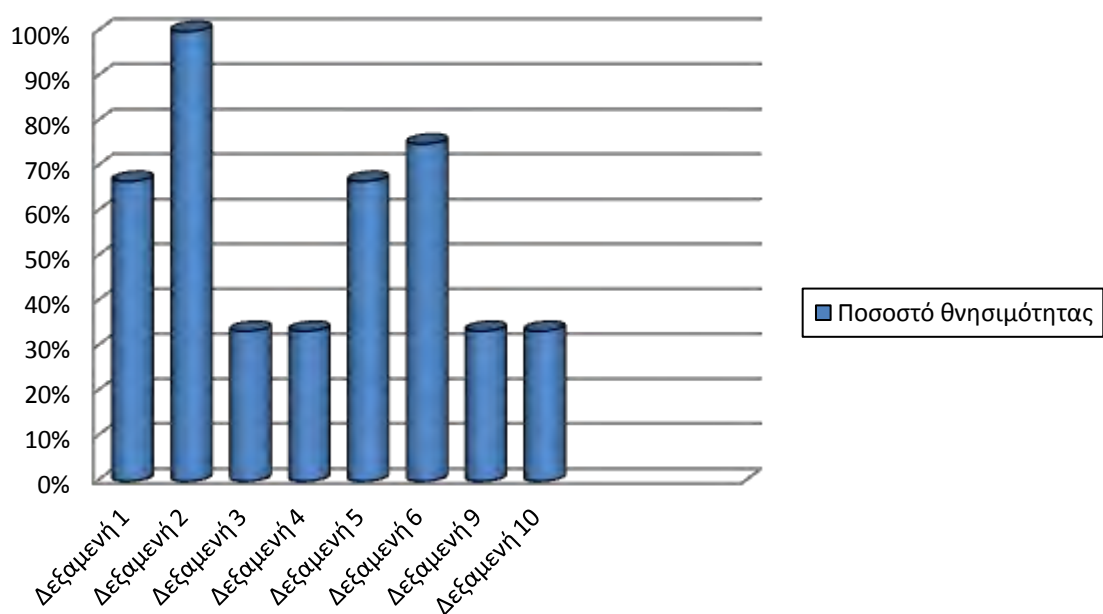
Δεξαμενές	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Τυπικό σφάλμα	Ελάχιστο	Μέγιστο
Ομάδα Α (Spirulina)	25,91	2,66	74	22,01	30,1
Ομάδα Β (ασιτία)	26,39	2,69	0,75	21,89	30,06

Για την ανεύρεση σημαντικής στατιστικής διαφοράς ή όχι μεταξύ των διακυμάνσεων των κύριων μορφομετρικών χαρακτηριστικών των αχινών (βάρους, ύψους και διαμέτρου) από την έναρξη του πειράματος, χρησιμοποιήθηκε η στατιστική μέθοδος της ANOVA. Η παραπάνω επιλογή έγινε καθώς έπρεπε να γίνει σύγκριση μεταξύ των δεξαμενών (οκτώ) των μεθόδων μεταχείρισης. Σύμφωνα με την ANOVA, στο αρχικό βάρος, ύψος και διάμετρο δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($\alpha = 0,05$, $P = 0,69$) ($\alpha = 0,05$, $P = 0,62$) ($\alpha = 0,05$, $P = 0,60$).

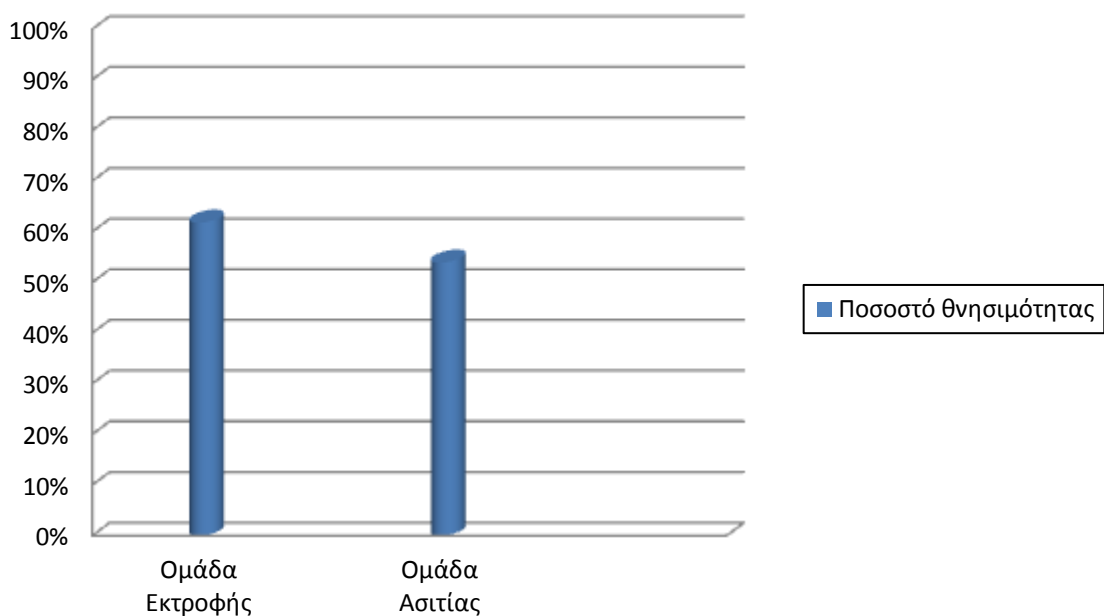
3.2 Θνησιμότητα αχινών

Η μεγαλύτερη θνησιμότητα παρουσιάστηκε στις δεξαμενές δυο και έξι, ανεξάρτητα από την μέθοδο μεταχείρισης κυρίως λόγω προβλήματος συνωστισμού καθώς ήταν οι δεξαμενές με τα περισσότερα άτομα (τέσσερα) (Σχ. 2). Στις συγκεκριμένες δεξαμενές στην περίπτωση της δύο υπήρξε 100% θνησιμότητα ενώ στην έξι 75%. Στις δεξαμενές της ομάδας Α (ένα έως τέσσερα) παρόλο που προσφέρονταν τροφή με ρυθμό που αναφέρθηκε παραπάνω (Κεφ. 2.6) οι αχινοί φάνηκε να την

αποφεύγουν συνειδητά. Η συνολική θνησιμότητα ανά μέθοδο μεταχείρισης ήταν για την ομάδα που εκτρεφόταν 61,54% και για την ομάδα ασιτίας 53,85% (Σχ. 3).



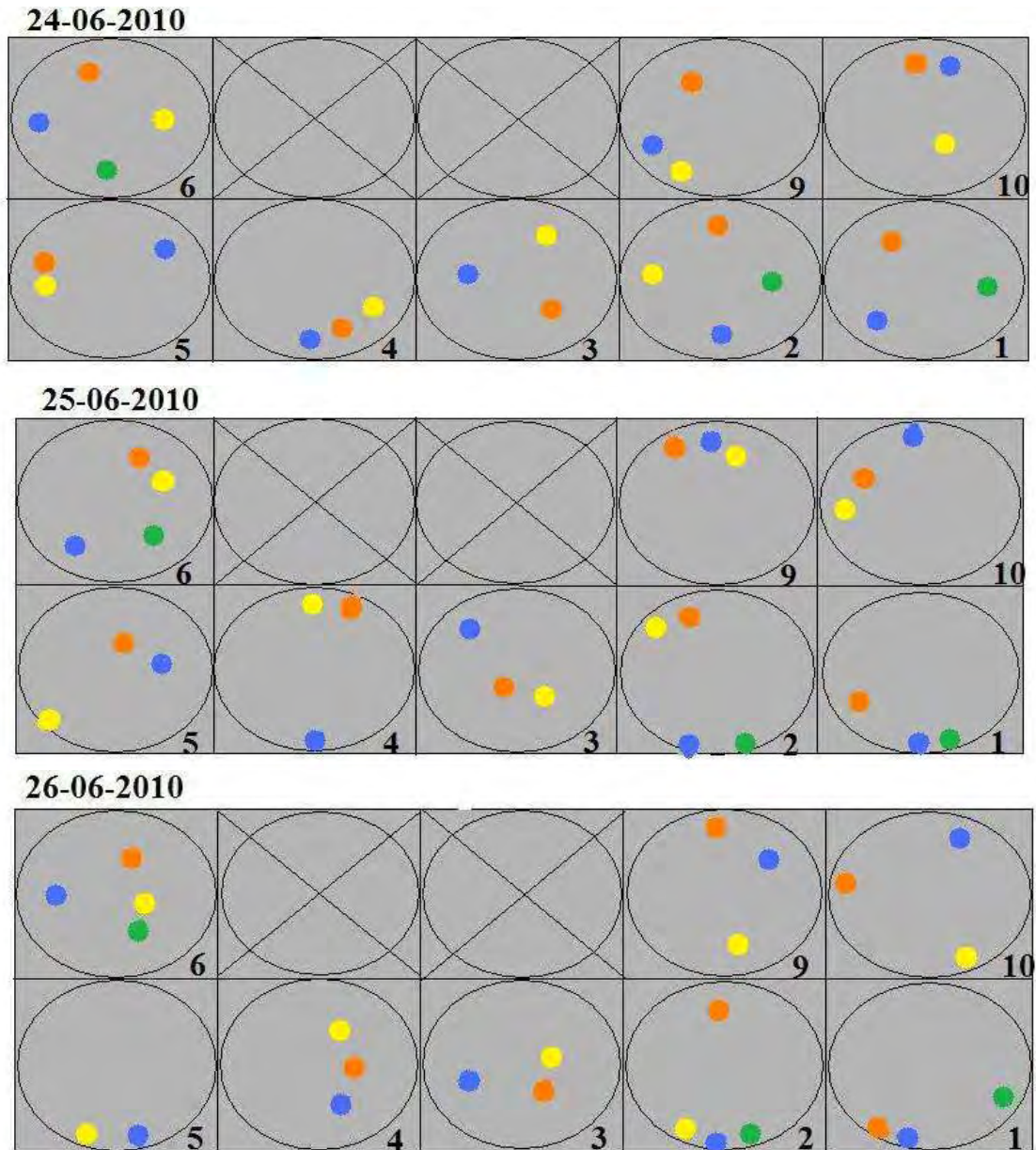
Σχήμα 2: Θνησιμότητα αχνών ανά δεξαμενή (%).



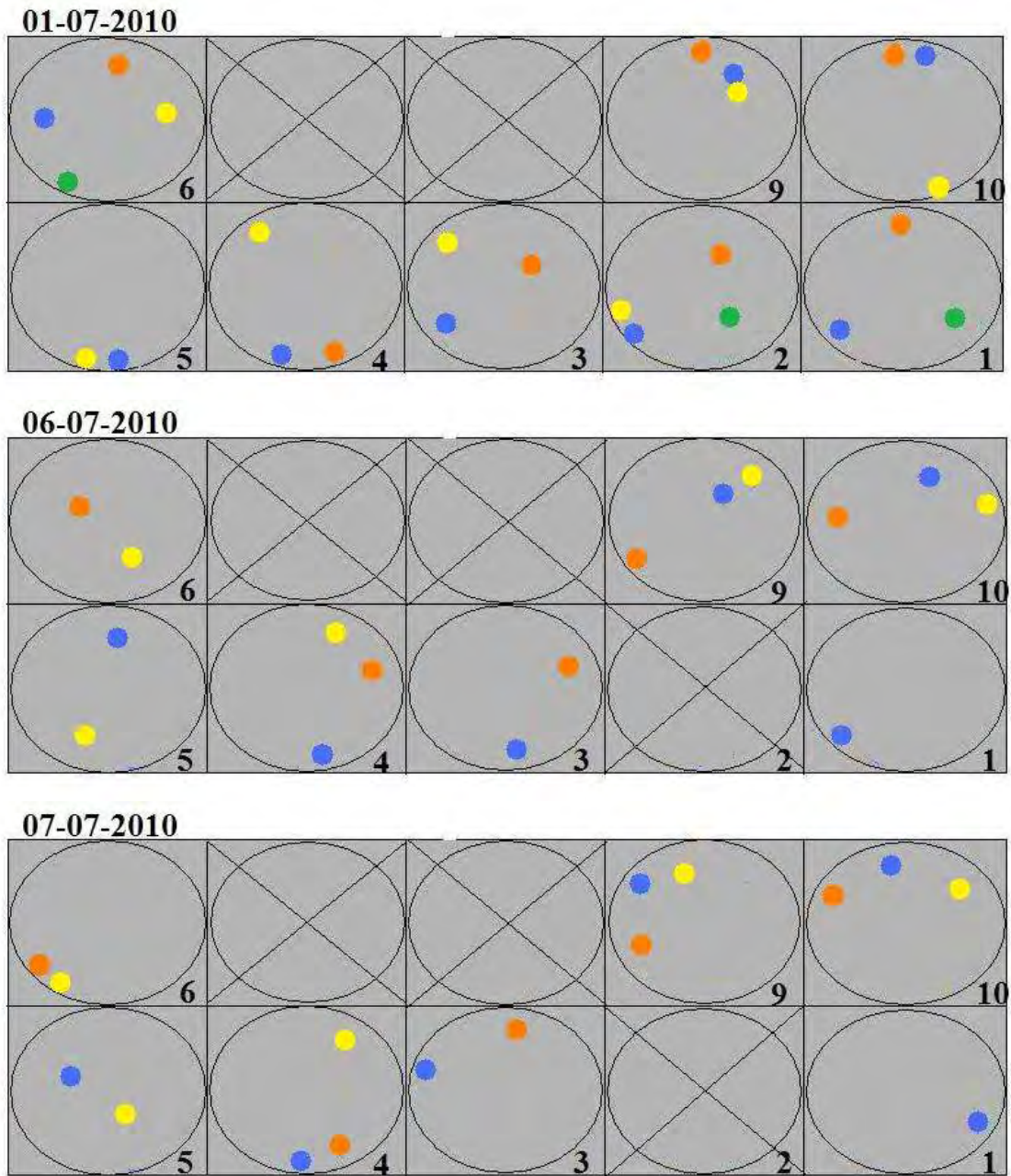
Σχήμα 3: Θνησιμότητα αχνών ανά μέθοδο μεταχείρισης (%).

3.3 Ημερήσια μετακίνηση αχινών

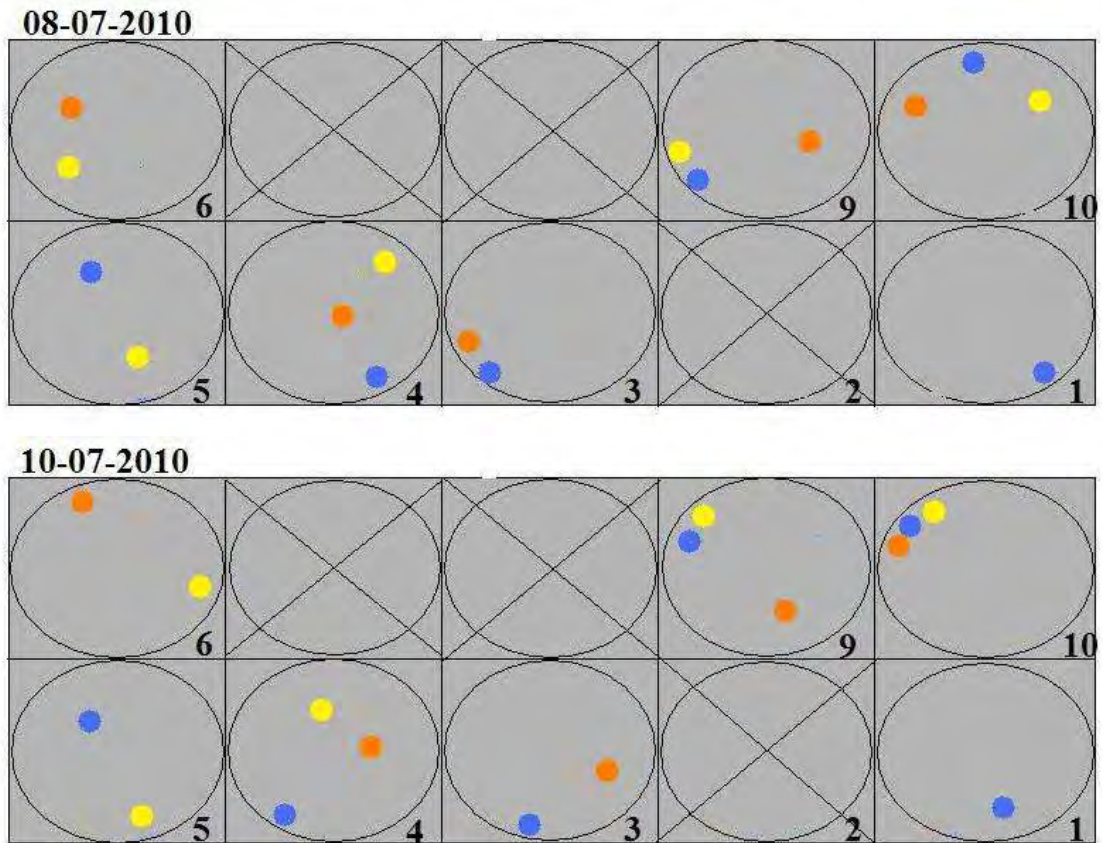
Με την μέθοδο της προσωπικής παρατήρησης, πραγματοποιήθηκε παρακολούθηση της ημερήσιας κίνησης τόσο των εκτρεφόμενων όσο και των ατόμων που διατηρούνταν σε ασιτία. Το παραπάνω έγινε για να διερευνηθεί εάν επηρέαζε η διαθεσιμότητα τροφής την κίνηση των αχινών. Επίσης καταγράφονταν και οι απώλειες που υπήρχαν από τον αρχικό πληθυσμό κατά τη διάρκεια του πειράματος. Παρακάτω ακολουθούν οι σχηματικές απεικονίσεις των μετακινήσεων των αχινών σε κάθε δεξαμενή, αλλά και ξεχωριστά σαν μεμονωμένα άτομα (Σχ. 4, 5 και 6).



Σχήμα 4: Μετακίνηση ατόμων του αχινού *P. lividus* (Προσωπικό αρχείο 2010).



Σχήμα 5: Μετακίνηση ατόμων του αχινού *P. lividus* (Προσωπικό αρχείο 2010).



Σχήμα 6: Μετακίνηση ατόμων του αχινού *P. lividus* (Προσωπικό αρχείο 2010).

Λόγω της μικρής διαμέτρου του πυθμένα των δεξαμενών δεν μπορούσε να εκτιμηθεί η κίνηση τους σε cm καθώς ήταν αδύνατο να διαπιστωθεί αν κατευθύνονται στις θέσεις όπου βρίσκονταν την στιγμή της αποτύπωσης της θέσης τους από την πρώτη στιγμή. Δεν διαπιστώθηκε κάποια διαφορά στις μετακινήσεις των αχινών της ομάδας A και B.

3.4 Χημική ανάλυση τροφής

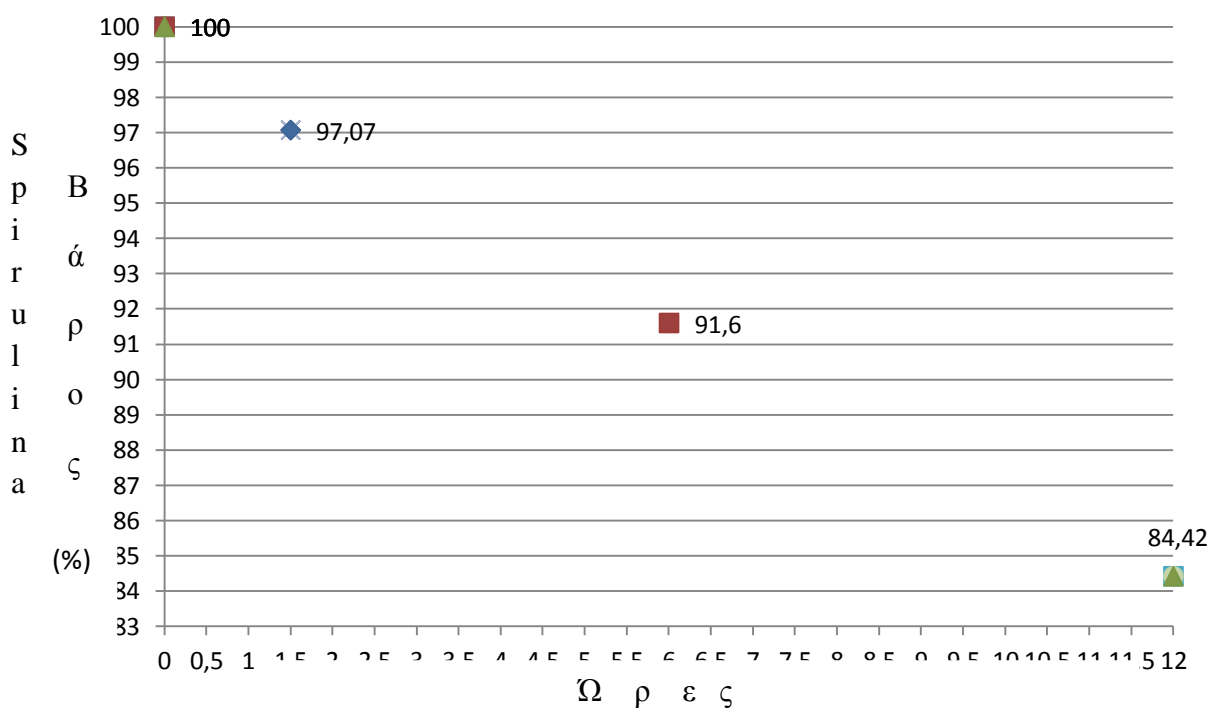
Παρόλο που οι μετρήσεις των συστατικών του συμπήκτου δίνονταν πολύ αναλυτικά από την εταιρία παραγωγής, θεωρήθηκε αναγκαία η μέτρηση των χαρακτηριστικών που μπορούσαν να προσδιοριστούν από τα όργανα του εργαστηρίου. Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά της *Spirulina* MR.

Πίνακας 5: Ποσοστιαία (%) χημική σύσταση του συμπήκτου *Spirulina*.

	Μετρήσεις εταιρίας *	Μετρήσεις εργαστηρίου
Ολικό λίπος	4%	3±0,2%
Ολ. Αζωτ. ενώσεις	52%	56±0,3%
Τέφρα	Απουσιάζει μέτρηση	11±0,3%
Υγρασία	4-5%	8±0,2%
Υδατάνθρακες	20%	23±0,2%

*-(http://www.spirulina-mr.com/Pages/SpirulinaVoorU/analyse.asp?f_menuCat=analyse&f_menuCatNumber=1)

Λόγω της διαλυτότητας που παρατηρήθηκε στα σύμπηκτα *Spirulina*, έγιναν μετρήσεις για τον ακριβή προσδιορισμό αυτής της διαλυτότητας. Έγιναν μετρήσεις μετά από 1,5, έξι και δώδεκα ώρες πόντισης σε θαλασσινό νερό (Σχ. 7). Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν έδειξαν ότι μετά από 1,5 ώρα πόντισης το σύμπηκτο της *Spirulina* χάνει το 2,9 % του αρχικού βάρους του, μετά από 6 ώρες χάνει το 8,4 % του αρχικού βάρους του, ενώ τέλος μετά από 12 ώρες χάνει το 15,6 % του αρχικού βάρους του.

**Σχήμα 7:** Διάγραμμα διαλυτότητας % *Spirulina* 1.5, 6 και 12 ωρών.

3.5 Τελικά βάρη, διάμετροι και ύψη αχινών

Τα τελικά βάρη, οι τελικές διάμετροι και τα τελικά ύψη των αχινών δίνονται στον Πίνακα 6. Στους Πίνακες 7, 8 και 9 φαίνονται τα αποτελέσματα της περιγραφικής στατιστικής για τα παραπάνω τελικά χαρακτηριστικά των αχινών. Ο μεγαλύτερος μέσος όρος βάρους παρατηρήθηκε στην δεξαμενή εννέα με 51 g, ενώ ο μικρότερος στην πέντε με 23 g. Αντιθέτως ο μεγαλύτερος μέσος όρος διαμέτρου και ύψους παρατηρήθηκε στην δεξαμενή τρία με 50,89 mm και 24,67 mm αντίστοιχα, ενώ ο μικρότερος στην δεξαμενή πέντε με διάμετρο 40,64 mm και ύψος 20,59 mm. Στην επεξεργασία των τελικών βαρών, δεν συμπεριλαμβάνονται τα άτομα των αχινών που πέθαναν πριν το τέλος του πειράματος. Κανένα άτομο και από τις 2 ομάδες δεν φάνηκε να κερδίζει βάρος.

Πίνακας 6: Τελικές μετρήσεις αχινών.

Δεξαμενές	Μεταχείριση	Βάρος ατόμων (g)	Υψος ατόμων (mm)	Διάμετρος ατόμων (mm)
1	Ομάδα Α	21,52	40,65	27
3	Ομάδα Α	20,86	44,5	27
3	Ομάδα Α	28,48	57,28	66
4	Ομάδα Α	23,82	50,7	38
4	Ομάδα Α	23,09	49,03	31
5	Ομάδα Β	20,59	40,64	23
6	Ομάδα Β	22,4	43,52	28
9	Ομάδα Β	22,94	47,39	35
9	Ομάδα Β	25,3	57,94	59
10	Ομάδα Β	20,34	44,34	19
10	Ομάδα Β	24	45,5	36

Πίνακας 7: Περιγραφική στατιστική για τα τελικά βάρη των αχινών (σε g).

Δεξαμενές	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Τυπικό σφάλμα	Ελάχιστο	Μέγιστο
Ομάδα Α (Spirulina)	37,8	16,4	7,33	27	66
Ομάδα Β (ασιτία)	32,8	15,82	7,07	19	59

Πίνακας 8: Περιγραφική στατιστική για τις τελικές διαμέτρους των αχινών (σε mm).

Δεξαμενές	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Τυπικό σφάλμα	Ελάχιστο	Μέγιστο
Ομάδα Α (Spirulina)	48,43	6,32	2,83	40,65	57,28
Ομάδα Β (ασιτία)	46,77	6,69	3	40,64	57,94

Πίνακας 9: Περιγραφική στατιστική για τα τελικά ύψη των αχινών (σε mm).

Δεξαμενές	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Τυπικό σφάλμα	Ελάχιστο	Μέγιστο
Ομάδα Α (Spirulina)	23,55	3	1,34	20,86	20,48
Ομάδα Β (ασιτία)	22,13	2,01	0,9	20,34	25,3

Σύμφωνα με το T-test που εφαρμόστηκε δεν εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών μεταχειρίσεων (Ομάδα Α, Ομάδα Β) ύψος ($\alpha=0,05$, $P=0,54$), διάμετρος ($\alpha=0,05$, $P=0,63$) και βάρος ($\alpha=0,05$, $P=0,63$). Τα αρχικά και τελικά βάρη, οι αρχικές και τελικές διαμέτροι, καθώς και τα αρχικά και τελικά ύψη των αχινών της ομάδας Α δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ($\alpha=0,05$, $P=0,47$), ($\alpha=0,05$, $P=0,84$) και ($\alpha=0,05$, $P=0,12$) αντίστοιχα όπως επίσης και τα αρχικά και τελικά βάρη, οι αρχικές και τελικές διαμέτροι και τα αρχικά και τελικά ύψη της ομάδας Β ($\alpha=0,05$, $P=0,19$), ($\alpha=0,05$, $P=0,59$), ($\alpha=0,05$, $P=0,21$).

3.6 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

Ο υπολογισμός του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR %/ημέρα, Specific Growth Rate), πραγματοποιήθηκε για τους αχινούς οι οποίοι θανατώθηκαν μετά το πέρας των ημερών του πειράματος και όχι για τις απώλειες που υπήρχαν κατά τη διάρκεια αυτού. Δηλαδή υπολογίστηκε από 6 άτομα της ομάδας Β και 5 της ομάδας Α. Έτσι, για τους αχινούς που εκτρέφονταν, ο μέσος όρος των SGR υπολογίστηκε να είναι $-0,36 \pm 0,15$ ενώ για τα άτομα που βρισκόταν σε ασιτία ήταν $-0,46 \pm 0,12$ (Πίν. 6). Επομένως παρατηρήθηκε απώλεια βάρους. Το γεγονός ότι και οι δυο μέσοι όροι είναι αρνητικοί είναι επόμενο αφού οι αχινοί της ομάδας Α απέφυγαν να καταναλώσουν τα σύμπληκτα *Spirulina*. Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 10, οι χαμηλότεροι ειδικοί ρυθμοί αύξησης, παρατηρήθηκαν στους αχινούς των δεξαμενών 4 και 10.

Πίνακας 10: Ειδικός ρυθμός αύξησης αχινών στην ομάδα Α (εκτροφή) και στην ομάδα Β (ασιτία) (SGR %/ημέρα).

Άτομο	Δεξαμενές	Τελικό βάρος (g)	Ημέρες επιβίωσης	S.G.R ανά ημέρα (%)
1	1 (Ομάδα Α)	27	20	-0,05
2	3 (Ομάδα Α)	27	20	-0,2
3	3 (Ομάδα Α)	66	20	-0,1
4	4 (Ομάδα Α)	38	20	-0,65
5	4 (Ομάδα Α)	31	20	-0,8
6	5 (Ομάδα Β)	23	20	-0,2
7	6 (Ομάδα Β)	28	20	-0,2
8	9 (Ομάδα Β)	35	20	-0,45
9	9 (Ομάδα Β)	59	20	-0,6
10	10 (Ομάδα Β)	19	20	-0,85
11	10 (Ομάδα Β)	36	20	-0,4
M.O ± SE	Ομάδας Α			-0,36±0,15
M.O ± SE	Ομάδας Β			-0,46±0,12

α-Ομάδα Α (εκτροφή)

β- Ομάδα Β (ασιτία)

Οι ειδικοί ρυθμοί αύξησης των αχινών των επτά δεξαμενών του πειράματος με τουλάχιστον ένα ζωντανό άτομο δεν παρουσίασαν στατιστική διαφορά ανάμεσα στις διακυμάνσεις των βαρών τους σύμφωνα με την ANOVA ($\alpha = 0,05$, $P = 0,12$). Τέλος, σύμφωνα με T-test που εφαρμόστηκε μεταξύ της ομάδας A και B και όχι των δεξαμενών δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στους ρυθμούς αύξησης ανά μεταχείριση ($\alpha = 0,05$, $P = 0,63$).

3.7 Χημική σύσταση των γονάδων του *P. lividus*

3.7.1 Πείραμα 1

Η χημική σύσταση των γονάδων του *P. lividus* (Πείραμα 1, Κεφ. 2) είναι η εξής.

3.7.1.1 Υγρασία

Για τον προσδιορισμό της υγρασίας στις γονάδες των αχινών ακολουθήθηκε συγκεκριμένο πρωτόκολλο (Κεφ. 2.9) με τα ακόλουθα αποτελέσματα που εμφανίζονται στον Πίνακα 11.

Πίνακας 11: Βάρος γονάδων, προσδιορισμός υγρασίας και ξηρής ουσίας (%) αρχικού δείγματος.

	Καθ. Βαρ. Γονάδων (g)	Υγρασία %	Ξηρή ουσία
1	0,91	77,26	22,74
2	0,71	73,44	26,56
3	0,79	78,73	21,27
4	1,06	75,25	24,75
5	2,24	78,21	21,79
6	1,29	76,05	23,95
7	2,82	73,51	26,49
8	3,86	75,49	24,51
9	0,68	79,10	20,90
10	0,56	72,78	27,22
11	0,96	73,72	26,28
12	0,25	78,34	21,66
13	1,47	73,17	26,83
14	1,63	76,82	23,18
15	1,56	82,08	17,92
16	1,11	74,42	25,58
17	2,17	74,08	25,92
18	1,72	78,36	21,64
19	1,15	82,38	17,62
20	1,50	73,86	26,14
21	0,95	80,56	19,44
22	0,69	77,22	22,78
23	0,79	79,92	20,08
24	2,95	74,09	25,91
25	1,79	77,75	22,25
26	0,80	81,41	18,59
27	0,75	72,82	27,18
28	1,84	82,25	17,75
29	1,30	79,94	20,06
30	0,21	79,56	20,44
31	0,83	77,54	22,46
32	0,88	76,44	23,56
M.O ± SE	1,32 ± 0,14	77,08 ± 0,52	22,92 ± 0,52

3.7.1.2 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ενώσεις

Για τον προσδιορισμό των ολικών αζωτούχων ενώσεων στις γονάδες των αχινών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος προσδιορισμού αζωτούχων ενώσεων Kjeldahl (Κεφ. 2.9.2) με τα ακόλουθα αποτελέσματα που εμφανίζονται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12: Περιεκτικότητα αρχικού δείγματος σε πρωτεΐνες %.

Δείγμα	Βάρος δείγματος (g)	Πρωτεΐνες %
1	0,2	49.61
2	0.2	49.91
3	0,2	49.74
M.O ± SE		49.75 ± 0,09

3.7.1.3 Περιεκτικότητα σε ολικά λιπίδια

Για τον προσδιορισμό των ολικών λιπιδίων στις γονάδες των αχινών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος προσδιορισμού ολικών λιπαρών Soxhlet (Κεφ. 2.9.1) με τα ακόλουθα αποτελέσματα που εμφανίζονται στον Πίνακα 13.

Πίνακας 13: Περιεκτικότητα αρχικού δείγματος σε λιπίδια %.

Δείγμα	Βάρος κενού (g)	Βάρος δείγματος (g)	Μεικτό λίπος (g)	Λίπος (g)	Λίπος%
1	144,39	1,04	144,58	0,18	17,60
2	143,99	1,13	144,18	0,20	17,37
3	144,12	1,07	145,19	0,19	17,52
M.O ± SE					17,5 ± 0,07

3.7.1.4 Περιεκτικότητα σε τέφρα

Για τον προσδιορισμό της τέφρας στις γονάδες των αχινών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος προσδιορισμού τέφρας (Κεφ. 2.9.3) με τα ακόλουθα αποτελέσματα που εμφανίζονται στον Πίνακα 14.

Πίνακας 14: Περιεκτικότητα αρχικού δείγματος σε τέφρα %.

Δείγμα	Βάρος κενού (g)	Βάρος δείγματος (g)	Μεικτό αποτέφρωσης (g)	Τέφρα (g)	Τέφρα%
1	20,93	1,01	20,99	0,05	5,41
2	21,22	1,02	21,28	0,06	5,57
3	21,11	1,03	21,16	0,06	5,42
M.O ±SE					5,46 ±0,05

3.7.2 Πείραμα 2

Για τις αναλύσεις των τελικών συγκεντρώσεων σε υγρασία, πρωτεΐνες, λίπη και τέφρα χρησιμοποιήθηκαν μόνο οι γονάδες των αχινών οι οποίοι ολοκλήρωσαν το πείραμα. Ο μικρός αριθμός αχινών στο τέλος του πειράματος επέτρεψε μια μέτρηση για τον τελικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης σε ολικά λιπίδια και ολικές αζωτούχες ενώσεις ανά μέθοδο φροντίδας. Για την τέφρα δεν θα αναφερθούν αποτελέσματα καθώς με μόνο μια μέτρηση για όλο τον πληθυσμό χωρίς να υπολογίζεται η διαφορά ανά μεταχείριση δεν μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα.

3.7.2.1 Υγρασία

Για τον προσδιορισμό της υγρασίας στις γονάδες των αχινών ακολουθήθηκε συγκεκριμένο πρωτόκολλο (Κεφ. 2.9) με τα ακόλουθα αποτελέσματα που εμφανίζονται στον Πίνακα 15.

Πίνακας 15: Προσδιορισμός Υγρασίας % τελικού δείγματος ανά μεταχείριση.

Ατομα	Μέθοδος μεταχείρισης	Καθ. Βαρ. Γονάδων (g)	Υγρασια %	Ξηρα ουσια %
1	Ομάδα Α	1,17	56,59	43,41
2	Ομάδα Α	0,5	71,54	28,46
3	Ομάδα Α	1,32	75,24	24,76
4	Ομάδα Α	1,06	78,41	21,59
5	Ομάδα Α	2,48	68,23	31,77
6	Ομάδα Β	0,49	68,81	31,19
7	Ομάδα Β	1,37	64,39	35,61
8	Ομάδα Β	1,67	71,3	28,7
9	Ομάδα Β	1,91	72,56	27,44
10	Ομάδα Β	0,6	74,78	25,22
11	Ομάδα Β	0,53	68,63	31,37
M.O ±SE	Ομάδα Α	1,31 ±0,32	70 ±3,77	30 ±3,77
M.O ±SE	Ομάδα Β	1,09 ±0,26	70,08 ±1,48	29,92 ±1,48

3.7.2.2 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ενώσεις

Για τον προσδιορισμό των ολικών αζωτούχων ενώσεων στις γονάδες των αχινών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος προσδιορισμού αζωτούχων ενώσεων Kjeldahl (Κεφ. 2.9.2) με τα ακόλουθα αποτελέσματα που εμφανίζονται στον Πίνακα 16.

Πίνακας 16: Περιεκτικότητα τελικού δείγματος σε πρωτεΐνες % ανά μεταχείριση.

Δείγμα	Μέθοδος φροντίδας	Βάρος δείγματος (g)	Πρωτεΐνες %
1	Εκτροφή	0,20	43,64
2	Ασιτία	0,20	42,71

3.7.2.3 Περιεκτικότητα σε ολικά λιπίδια

Για τον προσδιορισμό των ολικών λιπιδίων στις γονάδες των αχινών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος προσδιορισμού ολικών λιπαρών Soxhlet (Κεφ. 2.9.1) με τα ακόλουθα αποτελέσματα που εμφανίζονται στον Πίνακα 17.

Πίνακας 17: Περιεκτικότητα τελικού δείγματος σε Λιπίδια % ανά μεταχείριση.

Δείγμα	Μέθοδος φροντίδας	Λίπος (g)	Λίπος%
1	Εκτροφή	0,17	16,6
2	Ασιτία	0,12	11,81

3.8 Μετρήσεις φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού εκτροφής.

Η θερμοκρασία του νερού κυμαινόταν στους $18,2 \pm 0,65$ °C, ενώ η αλατότητα ήταν $36,6 \pm 0,21$ ‰. Η θερμοκρασία αυτή επιλέχτηκε καθώς ήταν η ίδια με την θερμοκρασία του νερού στην περιοχή συλλογής. Η αμμωνία και τα νιτρικά κυμαίνονταν στα $0,3 \pm 0,06$ mg/L και $24,8 \pm 3,59$ mg/L. Οι μετρήσεις σκληρότητας και pH κυμαίνονταν στα $6,6 \pm 0,16$ °d και $8,2 \pm 0,3$.

3.9 Συζήτηση

Το πείραμα εκτροφής του *P. lividus* διήρκησε 20 ημέρες. Σε αυτό το χρονικό διάστημα όλοι οι αχινοί ανεξάρτητα από τη μέθοδο μεταχείρισης έχασαν βάρος με ρυθμούς, $SGR = -0,36\%$ (Ομάδα Α) και $SGR = -0,46\%$ (Ομάδα Β). Ο αριθμός μείωσης που παρατηρήθηκε στην Ομάδα Β εξηγείται από το γεγονός ότι τα σύμπηκτα *Spirulina* δεν φάνηκε σε κανένα σημείο να προτιμούνται από τους αχινούς. Τα απέφευγαν μέχρι και το τέλος του πειράματος παρόλο που ήταν η μόνη τροφή που τους παρέχονταν.

Η περίοδος εγκλιματισμού που χρησιμοποιήθηκε είχε ως σκοπό αφενός τον εγκλιματισμό των αχινών στο περιβάλλον της εκτροφής και αφετέρου την αποβολή του συνόλου του στομαχικού και εντερικού περιεχομένου έτσι ώστε να μην επηρεαστεί το πείραμα. Το τελευταίο σύμφωνα με πειράματα σε κλειστά συστήματα εκτροφής επιτυγχάνεται για τα άτομα του *P. lividus* σε 1,5 με τρεις ημέρες (Nedelec et al. 1981, San Martin 1987). Οι Cook & Kelly (2007) προτείνουν περίοδο εγκλιματισμού δύο εβδομάδων, αντίθετα οι Spirlet et al. (2001) προτείνουν τέσσερις μέρες εγκλιματισμού για μικρά πειράματα εκτροφής περίπου 15 ημερών. Η περίοδος εγκλιματισμού είναι μια πολύ σημαντική παράμετρος στον αρχικό σχεδιασμό ενός πειράματος καθώς εάν υπάρξει λανθασμένη διάρκεια, το πείραμα κινδυνεύει να καταστραφεί. Εάν τηρηθεί μικρότερη περίοδος εγκλιματισμού από αυτήν που χρειάζεται πιθανός να οδηγηθούμε σε λανθασμένα αποτελέσματα λόγω πολλών προβλημάτων, όπως π.χ την μη κένωση του εντερικού σωλήνα.

Κατά το ίδιο διάστημα γινόταν παράλληλη καταγραφή των ημερήσιων μετακινήσεων τους. Οι ημερήσιες μετακινήσεις των αχινών δεν επηρεάζονται από την εποχή και το μέγεθος τους (Rico 1989). Παρατηρήθηκε έντονη μετακίνηση σε όλες τις μέρες του

πειράματος η οποία δεν ελαχιστοποιήθηκε σε κανένα σημείο. Η μετακίνηση έδειξε να είναι ανεξάρτητη της μεθόδου μεταχείρισης (Ομάδα Α ή Β). Οι αχινοί αν και φαίνονται οργανισμοί ακίνητοι μπορούν να καλύψουν μέχρι και 40 cm ανά ώρα (Dance 1987, Hereu 2005). Σύμφωνα με τον San Martin (1995) η κατεύθυνση της κίνησης τους είναι τυχαία, επομένως δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα από το είδος της κίνησης τους. Δυστυχώς δεν μπόρεσε να μετρηθεί σε cm η μετακίνηση τους καθώς δεν υπήρχε η δυνατότητα της γνώσης, εάν οι αχινοί μετακινούνταν απευθείας στις θέσεις που καταγράφονταν ή όχι. Εάν υπάρχει χώρος μπορούν να καλύψουν πολύ μεγάλες αποστάσεις ανά ημέρα, της τάξης των 480 cm (Gamble 1965, Cuenca 1987).

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η αλατότητα στις δεξαμενές κυμαίνονταν στα $36,6 \pm 0,21$ ‰, τιμή που βρίσκεται στο μέσον όρο των τιμών που υπάρχουν στη βιβλιογραφία και αναφέρουν τιμές αλατότητας 38-39 ‰ (Fernandez & Boudouresque 1998), ή 33,5 ‰ (Spirlet et al. 2001). Επομένως η αποφυγή της προσφερόμενης τροφής δεν οφείλεται σε πρόβλημα στην αλατότητα, καθώς εάν υπήρχε θα εμφανιζόταν ακόμα μεγαλύτερες θνησιμότητες εξαιτίας του γεγονότος ότι ο *P. lividus* είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος σε χαμηλές (15-20 ‰) και υψηλές (39-40 ‰) αλατότητες (Pastor 1971, Allain 1975, Le Gall et al. 1989).

Όσον αφορά το pH, οι τιμές $8,2 \pm 0,3$ που υπήρχαν στις δεξαμενές αν και βρίσκονται στο ανώτατο όριο των τιμών που υπάρχουν στη βιβλιογραφία, σύμφωνα με τους Grosjean et al. (1996) και Spirlet et al. (2001) που χρησιμοποίησαν τιμές 7,8-8 και 7,95-8,05 χωρίς κανένα πρόβλημα σε κλειστά συστήματα εκτροφής, ήταν απόλυτα φυσιολογικές καθώς λήφθηκε υπόψη το pH της περιοχής συλλογής.

Όσον αφορά την θερμοκρασία, αυτή κυμαινόταν στους $18,2\pm 0,65$ °C, τιμή η οποία έρχεται σε συμφωνία με τις τιμές που βρέθηκαν στην βιβλιογραφία, όπως των Grosjean et al. (1998) με $18-20\pm 1$ °C ενώ βρίσκεται στο ανώτατο όριο που αναφέρεται παρακάτω. Αυτό δεν επηρεάζει το πείραμα καθώς και πάλι όπως και στην αλατότητα βασικός παράγοντας ήταν η θερμοκρασία στην περιοχή συλλογής Βέλτιστη θερμοκρασία για ανάπτυξη του *P. lividus* είναι οι 12-18 °C την περίοδο της άνοιξης (Azzolina 1988, Fernandez & Caltagirone 1994, Turon et al. 1995, Shpigel et al. 2004). Σύμφωνα με τους Spirlet et al. (2000) ο *P. lividus* δείχνει καλύτερη απορροφητικότητα της τροφής σε θερμοκρασίες 16-24 °C.

Οι τιμές της αμμωνίας στο σύστημα και κατ' επέκταση στις δεξαμενές ήταν της τάξης των $0,3\pm 0,06$ mg/L, τιμή η οποία είναι μικρή και δεν δημιουργεί πρόβλημα στον ευαίσθητο στην αμμωνία σύμφωνα με τους Lawrence et al. (2003) *P. lividus*, όπως βρέθηκε ύστερα από πειράματα σε κλειστά συστήματα.

Επίσης, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις (Πείραμα 1) των επιπέδων των πρωτεϊνών, της τέφρας, του λίπους και της υγρασίας στις γονάδες των αχινών. Οι μετρήσεις πρωτεϊνών 49.8%, υγρασίας 77,1%, λίπους 17,5% και τέφρας που καταγράφονται στο Κεφάλαιο 3.6.1 έχουν μικρή απόκλιση από τις τιμές που εμφανίζονται στη βιβλιογραφία. Συγκεκριμένα οι Cruz-García et al. (2000) δίνουν τιμές υγρασίας 73% και πρωτεϊνών 56%. Αντίθετα η Fernandez (1997) μας δίνει τις τιμές λίπους, πρωτεϊνών και τέφρας για εκτροφή του *P. lividus* με τέσσερα είδη τροφής (*Cymonea nodosa*, τεχνητή τροφή βασισμένη σε φυτικούς ιστούς, τεχνητή τροφή βασισμένη σε ζωικούς ιστούς και τεχνητή τροφή ανάλογων ποσοτήτων φυτικών και ζωικών ιστών), καθώς και τις τιμές από δειγματοληψία στο πεδίο. Αυτές είναι, πρωτεΐνες 38,5 %, λίπος 15.25% και τέφρα 8,5 % για την εκτροφή με το φύκος *Cymonea nodosa*, πρωτεΐνες 39 %, λίπος 15.5% και

τέφρα 8,25 % για την τεχνητή εκτροφή βασισμένη σε φυτικής προέλευσης τροφές, πρωτεΐνες 38,5 %, λίπος 17.6% και τέφρα 8,25 % για την τεχνητή εκτροφή με ισόποση αναλογία συστατικών φυτικής και ζωικής προέλευσης, πρωτεΐνες 38,5 %, λίπος 20% και τέφρα 7,6 % για την εκτροφή με αποκλειστικά ζωικής προέλευσης συστατικά και τέλος πρωτεΐνες 39 %, λίπος 15.75% και τέφρα 8 % για την δειγματοληψία πεδίου. Όσον αφορά το Πείραμα 2 η μόνη διαφορά η οποία φάνηκε να υπάρχει είναι στα επίπεδα του λίπους που μετρήθηκαν στις γονάδες, τα οποία έδειξαν μία διαφορά της τάξης του 5 % συγκριτικά με την εκτρεφόμενη ομάδα. Αυτό δεν μπορεί να εξηγηθεί εύκολα καθώς δεν υπήρχε δεύτερο δείγμα για να ελέγξουμε την ακρίβεια της πρώτης μέτρησης. Ως ένδειξη όμως φανερώνει ότι η ομάδα B που διατηρούνταν σε ασιτία με την παντελή έλλειψη οποιασδήποτε τροφής κατανάλωσε 40% μεγαλύτερο ποσοστό του λίπους των γονάδων από ότι η ομάδα A που μπορεί να μην τράφηκε αλλά η παρουσία τροφής στο περιβάλλον των αχινών πιθανός να μην δημιούργησε συνθήκες στρες και επομένως να μην ένιωσαν την ασιτία όπως την έλαβαν οι αχινοί της ομάδας B.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο κορεσμός του κλάδου των υδατοκαλλιεργειών από ορισμένα είδη (τσιπούρα, λαβράκι), δημιουργεί προοπτικές για την εκτροφή νέων ειδών. Σε αυτά δεν πρέπει να ανήκουν απαραίτητα είδη ιχθύων. Έτσι, μπορούν να εκτραφούν και αρκετά είδη αχινών, με ένα από αυτά να είναι και το *Paracentrotus lividus*. Παρόλα αυτά, απαιτείται περισσότερη έρευνα, με σκοπό την ανεύρεση του βέλτιστου σιτηρεσίου. Παράλληλα η έρευνα πρέπει να εστιαστεί και στην εύρεση των διατροφικών του αναγκών, έτσι ώστε να επιτευχθεί όσο το δυνατόν γρηγορότερα το εμπορεύσιμο μέγεθος (40mm). Από την αποφυγή της τροφής για το μικρό διάστημα εκτροφής μπορεί να διατυπωθεί, ότι είναι πιθανό τα σύμπηκτα ή σκόνη *Spirulina* να μην ενδείκνυνται για την εκτροφή του *P. lividus*. Θα ήταν ατυχές εάν με τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής, εκφέραμε άποψη για το εάν ο αχινός *P. lividus* μπορεί ή όχι να εκτραφεί με σύμπηκτα ή σκόνη *Spirulina*. Η ηλικία των αχινών του πειράματος ήταν περίπου τρία έτη. Σε αυτές τις ηλικίες και μεγέθη η ανάπτυξη φαίνεται πολύ πιο αργά και με μικρότερο ρυθμό από ότι σε ανήλικα άτομα. Όσον αφορά τις ημερήσιες κινήσεις τους, θα πρέπει να υπάρξει περαιτέρω έρευνα με πιο αποδοτικά μέσα καταγραφής όπως λόγου χάρη βιντεοσκόπηση. Τα πρώτα δείγματα δεν δείχνουν διαφορά στις μετακινήσεις στην εκτρεφόμενη και την ομάδα που κρατούνταν σε ασιτία. Όσον αφορά την επίδραση της τροφής, φανέρωσε θνησιμότητα ανά μέθοδο μεταχείρισης για την ομάδα που εκτρεφόταν 61,54% και για την ομάδα ασιτίας 53,85%. Μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στις γονάδες των αχινών πριν την εκτροφή (Πείραμα 1) έδειξαν συγκέντρωση υγρασίας $77,08 \pm 0,52\%$, ενώ οι μετρήσεις μετά την εκτροφή (Πείραμα 2) ήταν $70 \pm 3,77\%$ για την ομάδα Α και $70,08 \pm 1,48\%$ για την ομάδα Β. Επίσης, οι

αζωτούχες ενώσεις αποτελούσαν το $49.75 \pm 0,09\%$ του βάρους των γονάδων πριν το πείραμα ενώ μετά αποτελούσαν το $43,64\%$ της ομάδας A και το $42,71\%$ της ομάδας B. Στο λίπος υπήρξε μείωση του ποσοστού στις γονάδες μετά την εκτροφή καθώς από $17,5 \pm 0,07\%$ είχαμε μια μείωση της τάξης του 5% περίπου, στο $11,81\%$ στην ομάδα B, ενώ αντίθετα στην ομάδα A κυμάνθηκε στα πλαίσια των μετρήσεων του πειράματος 1, με συγκέντρωση $16,6\%$. Επομένως μπορεί να διατυπωθεί ότι οι αχινοί της ομάδας της ομάδας της ασιτίας κατανάλωσαν μεγαλύτερο ποσοστό του λίπους των γονάδων τους σε σχέση με την εκτρεφόμενη ομάδα.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Allain JY. (1975) Structure des populations de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) (Echinodermata, Echinoidea) soumises la peche sur les tes Nord de Bretagne. Rev Trav Institute Peches Marit 39 (2):171–212
- AOAC. (1995) Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th edition, vol. 2, Arlington, Virginia
- Aubin G. (2004) Regime alimentaire des deux oursins reguliers *Paracentrotus lividus* et *Sphaerechinus granularis*. Aquaculture, Volume 28, Issue 21:1355–1361
- Azzolina JF. (1988) Contribution l'institute de la dynamique des populations de l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* (Lmck.). Croissance, recrutement, mortaliti, migrations. Thse Doct, Univ Aix-Marseille 2
- Barnes DKA., Crook A.C. (2001) Quantifying behavioural determinants of the coastal European sea-urchin *Paracentrotus lividus*. Mar Biol 138: 1205–1212
- Barnes DKA., Verling E., Crook, A., Davidson I., O'Mahoney M. (2002) Local population disappearance follows (20 yr after) cycle collapse in a pivotal ecological species. Mar. Ecol., Prog. Ser. 226:311–313
- Basuyaux O., Mathieu M. (1999) Inorganic nitrogen and its effect on growth of the abalone *Haliotis tuberculata* (Linnaeus) and the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck). Aquaculture 174(1–2):95–107
- Bonnet A. (1925) Documents pour servir l'institute des variations chez les Echinides. Bull Inst Octanogr 462:1–28
- Botsford L.W., Juan Carlos Castilla, Charles H. Peterson. (1999) The Management of Fisheries and Marine Ecosystems. *Science* July 1999: 277: 509 – 515
- Boudouresque C.F., Verlaque M., Azzolina JF., Meinesz A., Nedelec H., Rico V. (1989) Evolution des populations de *Paracentrotus lividus* et d' *Arbacia lixula* (Echinoidea) le long d'un transect permanent ũ Galeria (Corse). Trav Sci Parc Nat Rig Ris Nat Corse 22:65–82
- Boudouresque C.F., Lemée R., Mari X., Meinesz A. (1996) The invasive alga *Caulerpa taxifolia* is not a suitable diet for the sea urchin *Paracentrotus lividus*. Aquatic Botany. Vol.53:245–250
- Boudouresque, C.F., Verlaque, M. (2001) Ecology of *Paracentrotus lividus*. In: Lawrence, J.M. (Ed.), Edible Sea Urchins: Biology and Ecology. Elsevier, Amsterdam, 177–216
- Carcamo P.F. (2004) Massive production of larvae and seeds of the sea urchin *Loxechinus albus*. In: Lawrence JM, Guzman O (eds). Sea urchins: fisheries and ecology. Destech Publications, Lancaster. :299–306
- Cherbonnier G. (1956) Les Echinodermes de Tunisie. Bull Statocia Salammb 53:1–23
- Cook, MS. Kelly. (2007) Effect of variation in the protein value of the red macroalga *Palmaria palmata* on the feeding, growth and gonad composition of the sea urchins *Psammechinus miliaris* and *Paracentrotus lividus* (Echinodermata) Aquaculture 270:207–217

- Cook, M.S. Kelly. (2007) Enhanced production of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in integrated open-water cultivation with Atlantic salmon *Salmo salar* Aquaculture 273:573–585
- Crook AC., Long M., Barnes DKA. (2000) Quantifying daily migration in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. J Mar Biol Ass UK 80:177–178
- Cruz-García, J López-Hernández, MJ González-Castro, AI Rodríguez-Bernaldo De Quirós, J Simal-Lozano. (2000) Protein, amino acid and fatty acid contents in raw and canned sea urchin (*Paracentrotus lividus*) harvested in Galicia (NW Spain), Journal of the Science of Food and Agriculture Volume 80, Issue 8:1189–1192
- Cuenca C. (1987) Quelques methodes de marquages des oursins echinidts (Echinodermes). Bull Soc Sci Nat Ouest Fr, NS 9 (1):26–37
- Dance C., S. Savy. (1987) Predation on *Paracentrotus lividus* by *Marthasterias glacialis* : An in situ experiment at Port-Cros (France, Mediterranean). *Posidonia Newsletter*, 1(2):35-41
- Dance C. (1987) Patterns of activity of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the bay of Port-Cros (Var, France, Mediterranean). PSZNI: Mar Ecol 8 (2):131–142
- Ebling F.J., A.D. Hawkins, J.A. Kitching, L. Muntz, V. M. Pratt. (1966) The ecology of Ough Ine. XVI. Predation and diurnal migration in the *Paracentrotus* community. *J. anim. Ecol.*, 35 :559-566
- Fernandez C., Caltagirone A. (1994) Growth rate of adult sea urchins, *Paracentrotus lividus* in a lagoon environment: the effect of different diet types. In: David B, Guille A, Fural JP, Roux M (eds) Echinoderms through time. AA Balkema, Rotterdam, pp 655–660
- Fernandez C. (1997) Effect of diet on the biochemical composition of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata:Echinoidea) under natural and rearing conditions. *Comp Biochem Physiol* 118A(4):1377–1384
- Fernandez C., Boudouresque CF. (1998) Evaluating artificial diets for small *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) Echinoderms :San Francisco, Mooi & Telford (eds) © 1998 Balkema, Rotterdam.
- Frantzis A., Grumare A. (1992) Ingestion, absorption and growth rates of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata:Echinoidea) fed different macrophytes. *Mar Ecol Progr Ser* 95:169–183
- Gamble JC. (1965) Some observations on the behaviour of two regular echinoids. In: Lythgoe JN, Woods JD (eds) Symposium underwater association. Underwater Ass., Malta, pp 47–50
- Groot. (1984) Ocean Management. Volume 9, Issues 3-4:177-190
- Grosjean Ph., Ch. Spirlet, M. Jangoux. (1996) Experimental study of growth in the echinoid *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 201:173-184
- Grosjean Ph., Ch. Spirlet, P. Gosselin, D. Vaïtilingon, M. Jangoux. (1998) Land-based closed-cycle echiniculture of *Paracentrotus lividus* (Lamarck) a long-term experiment at a pilot scale *Journal of Shellfish Research*, 17(5):1523-1531
- Guerriero A., Meinesz A., D’Ambrosio M., Pietra F. (1992) Isolation of toxic and potentially toxic sesqui- and monoterpenes from the tropical green seaweed *Caulerpa taxifolia* which has invaded the region of Cap Martin and Monaco. *Helv Chim Acta* 75:689–695
- Hagen N.T. (1996) Echinoculture: from fishery enhancement to closed cyclecultivation. *World Aquaculture*, Dec. 1996 :7-19

- Harmelin JG., Bouchon C., Duval C., Hong JS. (1980) Les échinodermes des substrats durs de l'île de Port-Cros, Parc National (Méditerranée Nord-occidentale). *Trav Sci Parc Nation Port-Cros* 6:25–38
- Harmelin JG., Bouchon C., Hong JS. (1981) Impact de la pollution sur la distribution des échinodermes des substrats durs en Provence (Méditerranée Nord-occidentale). *Tithys* 10 (1):13–36
- Haya D., Rigis MB. (1995) Comportement trophique de *Paracentrotus lividus* (Lam.) (Echinodermata: Echinoidea) soumis à six régimes alimentaires dans des conditions expérimentales. *Misogone* 54:35–42
- Hawkins A., Loyd R. (1981) Materials for the aquarium, *Aquarium systems* :171-196,
- Hereu B. (2005) Movement patterns of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in a marine reserve and an unprotected area in the NW Mediterranean. *Mar Ecol* 26:54–62
- Ivlev VS. (1961) Experimental ecology of the feeding of the fishes. Yale University Press, New Haven:256-257
- Karlson R. (1978) Predation and space utilization pattern in a marine epifaunal community. *J. exp. Mar. Biol. Ecol.*, 31:225-239
- Kempf M., (1962) Recherches d'écologie comparée sur *Paracentrotus lividus* et *Arbacia lixula*. *Rec. Trav. Sta. mar. Endoume*, 25(39) :47-116
- Kitching J.A., F.J. Ebling. (1961) The ecology of Lough Ine. XI. The control of algae by *Paracentrotus lividus* (Echinoidea). *J. Animal. Ecology*, 30 :373-383
- Kitching J.A., F.J. Ebling. (1967) Ecological studies at Lough Ine. *Adv. ecol. Res.*, 4:197-291
- Koukouras A., Sinis AI., Bobori D., Kazantzidis S., Kitsos MS. (2007) The echinoderm (Deuterostomia) fauna of the Aegean Sea, and comparison with those of the neighbouring seas. *Journal of biological research-Thessaloniki*,7:67-92
- Kovitou M. (1991) Feeding preferences of the sea-urchin *Paracentrotus lividus* (in Greek, English abstract). *Res Dipl Univ Thessaloniki*
- Lawrence JM (1975). On the relationships between marine plants and sea urchins. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 13:213–286
- Lawrence JM., McBride SC., Plank LR., Shpigel M. (2003) Ammonia tolerance of the sea urchins *Lytechinus variegatus*, *Arbacia punctulata*, *Strongylocentrotus franciscanus*, and *Paracentrotus lividus*. *AA Balkema, Lisse*,233–236
- Lawrence AL., Lawrence JM. (2004) Importance, status and future research needs for formulated feeds for sea urchin aquaculture. In: Lawrence JM, Guzman O (eds). *Sea urchins: fisheries and ecology*. DEStech Publications, Lancaster,275–283
- Lawrence JM. (2007) *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology* Second Edition, *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* :37
- Leclerc M., Brillouet C., Luquet G., Binaghi R.A. (1986) The immune system of invertebrates: the sea star *Asterias rubens* (Echinoderma) as a model of study *vol. 84*:311-330
- Lemie R., Boudouresque CF., Gobert J., Malestroit P, Mari X., Meinesz A., Munager V., Ruitton S. (1996) Feeding behaviour of *Paracentrotus lividus* in the presence of *Caulerpa taxifolia* introduced in the Mediterranean Sea. *Oceanol Acta* 19 (3–4):245–253
- Le Gall P., Bucaille D., Dutot P. (1989) Resistance aux variations de salinité chez *Paracentrotus* et *Psammechinus*. *Vie Mar HS* 10:83–84

- Le Gall P., D. Bucaille. (1989) Sea urchins production by inland farming. In: N. De Pauw, E. Jaspers, H. Ackefors & N. Wilkins (eds.). Aquaculture - a biotechnology in progress. European Aquaculture Society, Bredene, Belgium. :53-59.
- Le Gall, P., (1990) Culture of echinoderms, In: G. Barnabé (ed.). Aquaculture, Vol. 1. Ellis Horwood, New York. :443-462
- Lozano J., Galera J., Lopez S., Turon X., Palacin C., Morera G. (1995) Biological cycles and recruitment of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats. *Mar Ecol Progr Ser* 122:179–191.
- Martinez I., Garcia FJ., Sanchez AI., Daza JL., del Castillo F. (2003) Biometric parameters and reproductive cycle of *Paracentrotus lividus* (Lamarck) in three habitats of southern Spain. *Echinoderm research 2001*. AA Balkema, Lisse, :281–287
- Mortensen T. (1943) A monograph of the Echinoidea, III.3 Camarodonta. II. Echinidae, Strongylocentrotidae, Parasaleniididae, Echinometridae. CA Reitzel, Copenhagen
- Nedelec H., M. Verlaque, A. Diapoulis. (1981) Preliminary data on *Posidonia* consumption by *Paracentrotus lividus* in Corsica (France). *Rapp. Comm. int. Mer Medit.*, 27(2):203-204
- Niell, F.X., R. Pastor. (1973) Relaciones troficas de *Paracentrotus lividus* (Lmk) en la zona litoral. *Invest. Pesq.*, 37 :1-7
- Pancucci-Papadopoulou M.A. (1996) Fauna Graeciae. Echinodermata. Hellenic Zoological Society Ed., :162
- Pantazis P., Kelly MS., Connoly JG., Black KD. (2000) The effect of artificial diets on growth, lipid utilization and gonad biochemistry of the adult sea urchin *Psammechinus miliaris* (Gmelin). *J Shellfish Res* 19(2):995–1001
- Pantazis. (2008) The culture potential of *Paracentrotus lividus* (Lamarck 1816) in Greece: a preliminary report *Aquaculture Int* 17:545–552
- Pastor R. (1971) Distribución del erizo de mar, *Paracentrotus lividus* (Lmk), en la Rva de Vigo. *Publ Tcn Dir Gen Pesca Marvt*, Spain 9:255–270
- Pearse J.S. (2006) Perspective—ecological role of purple sea urchins, *Science* 314: 940–941
- Portocali Ph., Iliopoulou-Georgoudaki J., Catsiki V.A., Papapetropoulou M. (1996) The role of Echinoderms as bioindicators of seawater pollution: A case study from Patraicos and Corinthiacos Gulf, N. Peloponnesus, Greece. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 59:293-303
- Rico V. (1989) Contribution à l'institute des preferenda alimentaires et du comportement moteur de l'oursin régulier *Paracentrotus lividus*. *Dipl Etudes Approf Océanogr*, Univ Aix-Marseille 2
- Rigis MB., Arfi R. (1978) Etude comparee de la croissance de trois populations de *Paracentrotus lividus* (Lamarck), occupant des biotopes différents, dans le golfe de Marseille *CR Acad Sci Paris*, Sér D 286:1211–1214
- Rosecchi E. 1985 (1987) L'alimentation de *Diplodus sargus*, *Diplodus vulgaris* et *Sparus aurata* (Pisces, Sparidae) dans le golfe du Lion et les lagunes littorales. *Rev. Trav. Inst. Peches marit.*, 49(3 et 4):125-141
- Ruiz-Fernandez JM. (2000) Respusta de la fanerogama marina *Posidonia oceanica* (L.) Delile as. Tesis Biologva Univ Murcia, Spain
- Saito K. (1992) Japan's sea urchin enhancement experience. In: C.M. Dewees (ed.). *The Management and enhancement of sea urchins and other kelp bed resources: a*

- Pacific rim perspective. Publication no. T-CSGCP-028, California Sea Grant College, University of California, La Jolla, CA 92093-0232. :1-38
- Sakai Y, Tajima I-I., Agatasuma Y. (2004) Mass production of seed of the Japanese edible sea urchins *Strongylocentrotus intermedius* and *Strongylocentrotus nudus*. In: Lawrence JM, Guzman O (eds). Sea urchins: fisheries and ecology. Destech Publications, Lancaster. :287–298
- Sala E., Zabala M. (1996) Fish predation and the structure of the sea urchin *Paracentrotus lividus* populations in the NW Mediterranean. Mar Ecol Progr Ser 140:71–81
- Sala E, (1997) Fish predators and scavengers of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in protected areas of the north-west Mediterranean Sea. Mar Biol 129:531–539
- Saldanha L. (1974) Estudo do povoamento dos horizontes superiores da rocha litoral da costa da Arrábida (Portugal). Arq. Mus. Bocage, Lisbon :1–382
- San Martin G.A. (1986) Contribution a l'étude du comportement trophique de l'échinoïde *Paracentrotus lividus* dans l'Etang de Thau (Herault). Dipl. Etud. Appr. Oeanol., Univ. Aix Marseille II :42
- San Martin, G.A. (1987) Comportement alimentaire de *Paracentrotus lividus* (Lmk) (Echinodermata: Echinidae) dans l'Etang de Thau (Herault, France). In: *Colloque international sur Paracentrotus lividus et les oursins comestibles*, C.F. Boudouresque ed., GIS Posidonie Publ., Marseille :37-57
- San Martin G.A. (1995) Contribution a la gestion des stocks d'oursins: etude des populations et transplantations de *Paracentrotus lividus* a Marseille (France, Mediterranee) et production de *Loxechinus albus* a Chiloe (Chili, Pacifique). These Doct, Univ Aix-Marseille 2
- Shepherd S.A., C.F. Boudouresque. (1979) A preliminary note on the movement of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. Trav. sci. Parc nation. Port-Cros, 5: 155-158.
- Shepherd SA (1987) Grazing by the sea-urchin *Paracentrotus lividus* in *Posidonia* beds at Banyuls, France. GIS Posidonie, Marseilles, :83–96
- Shimabukuro S. (1991) *Tripneustes gratilla* (sea urchin). In: Shokita S, Kakazu K, Tomori A, Toma T (eds). Aquaculture in Tropical Areas (English edition: Yamaguchi M). Midori Shobo Co., Ltd., Tokyo
- Shpigel M., McBride SC., Marciano S., Lupatsch I. (2004) The effect of photoperiod and temperature on thereproduction of European sea urchin *Paracentrotus lividus*. Aquaculture 232:342–35.
- Spirlet Ch., Ph. Grosjean, M. Jangoux. (1998) Optimizing food distribution in closed-circuit cultivation of edible sea urchins (*Paracentrotus lividus*: Echinoidea). *Aquatic. Living Resources*, 11(4):273-277
- Spirlet C., Grosjean P., Jangoux M. (2000) Optimization of gonad growth by manipulation of temperature and photoperiod in cultivated sea urchins, *Paracentrotus lividus*(Lamarck) (Echinodermata). Aquaculture 185:85–99
- Spirlet Ch., Ph. Grosjean, M. Jangoux. (2001) Cultivation of *Paracentrotus Lividus* (Echinodermata:Echinoidea) fed extruded feeds: digestion efficiency,somatic production and gonadal growth. *Aquatic. Nutrition.*,7(2):91- 99
- Tertschnig WP. (1989) Predation on the sea urchin *Paracentrotus lividus* by the spider crab *Maia crispata*. Vie mar 10 :95–103
- Tortonese E. (1965) Fauna d'Italia, Echinodermata. Edizioni Calderini, Bologna, :422

- Traer K. (1980) The consumption of *Posidonia oceanica* Delile by echinoids at the Isle of Ischia. In: *Echinoderms: Present and Past* (Jangoux, M. ed.), Balkema, Rotterdam, :241-244
- Turon X., Giribet G., Lopez S., Palacin C. (1995) Growth and population structure of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats. *Mar Ecol Progr Ser* 122:193-204
- Verlaque M., Nedelec H. (1983) Biologie de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) sur substrat rocheux en Corse (Mediterranee, France): alimentation des adultes. *Vie Milieu* 33 (3-4):191-201
- Verlaque M. (1987) Relations entre *Paracentrotus lividus* (Lamarck) et le phytobenthos de Mediterranee occidentale. In: Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles, C.F. Boudouresque ed., GIS Posidonie Publ., Marseille : 5-36
- Valentin G. (1841) Anatomie du genre *Echinus*. In: *Anatomie des Echinodermes*, L. Agassiz (ed.), Neuchatel, :126
- Yokota Y., Matraga V., Smolenca Z. (2002) The Sea Urchin: from basic biology to aquaculture. Swet & Zeitlinger, Lisse, the Netherlands:187-196

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Νήτας, Δ. (2004) Διατροφή Αγροτικών Ζώων - Χημικές αναλύσεις. 2^η έκδοση. ISBN 960-287-026-5. Εκδοτικό Κέντρο Τ.Ε.Ι.-Θ. Θεσσαλονίκη, σελ.155
- Λαζαρίδου-Δημητριάδου Μ. (1992) Γενική Ζωολογία, Εκδόσεις ΠΙΑΧΟΥΔΗ, σελ.101

6. ABSTRACT

Sea urchin roe is a delicacy worldwide. However, sea urchin *Paracentrotus lividus* fisheries have been declined particularly in the Mediterranean Sea, over the last decade due to environmental changes and over-catching. Sea urchin aquaculture assists in improving the production although research is still needed in the development of artificial feeds. Further research is needed to formulate diets that fulfil the nutritional requirements of growing species under laboratory conditions and to allow commercial scale culture protocols to be established. This research study examines the effect of *Spirulina* Sp. feed on growth and survival rate of the edible sea urchin *P. lividus*. The growth experiments were carried out in the Laboratory of aquaculture, at the Department of Ichthyology and Aquatic Environment, University of Thessaly, Greece. Adults *P. lividus* with a diameter of $48,51 \pm 5,03$ mm, weight of $42,81 \pm 12,76$ g and height of $26,15 \pm 2,63$ mm were placed in 16lt plastic tanks. Three individuals were placed per tank. They were acclimatized for a week. The experiment lasted 20 days. The animals were divided into 2 groups of 13 individuals. The first group were kept in starvation. The second group was fed *Spirulina* pellets (Marcus Rohrer *Spirulina* ®) every 2 days. The survival was 46,15% for the starved group and 38,46% for the fed group. Performance indicators such as feed intake and gonad protein growth will be examined.

KEYWORDS: Sea urchin, nutrition, physiology