

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

**ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Τίτλος: Μεταγευματική μεταβολή των βακτηριακών κοινοτήτων  
στα κόπρانا ιριδιζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss* )**

**Όνομα: Καϊοπούλου Ευτυχία**

**ΑΜ: 1618**

**Βόλος, 2021**

**Τίτλος : Μεταγευματική μεταβολή των βακτηριακών κοινοτήτων  
στα κόπρانا ιριδιζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss* )**

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή**

**Κωνσταντίνος Κορμάς**, Καθηγητής, Οικολογία Υδροβίων Μικροοργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

**Επιβλέπων Έλενα Μεντέ**, Καθηγήτρια, Φυσιολογία θρέψης ιχθύων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

**Μέλος Παναγιώτης Βερίλλης**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Μικροσκοπία και Ανάλυση Εικόνας στην Ιστολογία και στους Υδροβίους Οργανισμούς, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

*Στον παππού μου, Κωνσταντίνο Παπαδόπουλο*

**ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες, σε όσους συνέβαλαν στην συγγραφή και διεκπεραίωση της παρούσας Προπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας. Συγκεκριμένα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επιβλέπουσα της εργασίας αυτής, κα Ε. Μεντέ, για την αμέριστη συμπαράσταση και την πολύτιμη βοήθειά της, καθώς και τον κ. Κορμά για τις χρήσιμες συμβουλές και την υποστήριξη.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κα Ε. Νικούλη για την συνεχή και άμεση ανταπόκριση καθόλα τα στάδια διεκπεραίωσης της παρούσας εργασίας.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένεια μου και τους συγγενείς μου, που όλα αυτά τα χρόνια ήταν δίπλα μου και μου προσέφεραν όσα εφόδια χρειάστηκα, με κατανόηση και υπομονή.

## Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	5
ABSTRACT .....	6
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1.1 Συστηματική κατάταξη και βιολογία της ιριδίζουσας πέστροφας .....	7
1.1.1 Συστηματική κατάταξη .....	7
1.1.2 Εξωτερική μορφολογία .....	8
1.1.3 Αναπαραγωγική στρατηγική και βιολογικός κύκλος .....	10
1.1.4 Διατροφικές προτιμήσεις της Ιριδίζουσας Πέστροφας στο Περιβάλλον και στην Υδατοκαλλιέργεια .....	12
1.1.5 Βιογεωγραφία και ενδιαίτημα .....	13
1.2 Φυσιολογία θρέψης ιχθύων .....	14
1.2.1 Πεπτικός σωλήνας .....	14
1.2.2 Μικροβιακές κοινότητες πεπτικού συστήματος .....	15
1.3 Στόχο & Σκοπός.....	16
2. Υλικά και μέθοδοι .....	17
2.1 Πειραματικός σχεδιασμός – Δειγματοληψία.....	17
2.2 Απομόνωση DNA .....	18
2.2 Στατιστική επεξεργασία.....	18
3. Αποτελέσματα .....	19
4. Συζήτηση.....	24
5. Συμπεράσματα .....	34
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	35
5.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία.....	35
5.2 Ελληνική βιβλιογραφία.....	37
5.3 Ηλεκτρονική βιβλιογραφία.....	37

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μελέτη του μικροβιώματος του πεπτικού σωλήνα των ιχθύων είναι παρά πολύ σημαντική καθώς τα συμπεράσματα που προκύπτουν από τις εκάστοτε μελέτες εφαρμόζονται εξασφαλίζοντας όσο το δυνατόν καλύτερη και αποτελεσματική πρακτική της υδατοκαλλιέργειας. Το μικροβίωμα του εντέρου, στο οποίο περιλαμβάνονται και οι βακτηριακές κοινότητες των οποίων η μεταβολή μελετάτε στην παρούσα εργασία, παίζει καθοριστικό ρόλο αρχικά στην πέψη και στη διατροφή τους και κατ' επέκταση επηρεάζει την αναπαραγωγή την ανάπτυξη και την ευπάθεια των ιχθύων και συνεπώς την συνολική δυναμική του πληθυσμού. Η ανάπτυξη νέων τεχνικών αλληλούχισης σε συνδυασμό με την ανάπτυξη του τομέα της βιοπληροφορικής, έδωσε τη δυνατότητα στους ερευνητές να κατανοήσουν την λειτουργία άγνωστων μέχρι πρότινος μικροοργανισμών καθώς και να μελετήσουν αποτελεσματικά πολύπλοκες μικροβιακές αλληλεπιδράσεις, τόσο μεταξύ των κοινοτήτων των μικροοργανισμών όσο και μεταξύ μικροοργανισμών και ενδονημάτων.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η μεταγευματική μεταβολή των βακτηριακών κοινοτήτων στο γαστρεντερικό σύστημα εκτρεφόμενων ατόμων πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) τρεις ώρες μετά από ένα γεύμα. Πραγματοποιήθηκαν δύο δειγματοληψίες, μία στις 0h και ακόμα μία στις 3h. Τόσο στη πρώτη (0h) όσο και στη δεύτερη (3h) δειγματοληψία εντοπίστηκαν βακτήρια των φύλλων Proteobacteria, Firmicutes καθώς Actinobacteria. Από την μελέτη εντοπίστηκαν 18 OTUs κοινά και στις δύο ομάδες «0h» και «3h», ενώ μοναδικά στην ομάδα «h0» εντοπίστηκαν 16 OTUs και στην ομάδα «3h» εντοπίστηκαν μοναδικά 81 OTUs

Η παρούσα πτυχιακή παρουσίασε νέα δεδομένα εμπλουτίζοντας τα ήδη υπάρχοντα, προάγοντας με αυτόν το τρόπο τη μελλοντική έρευνα πάνω στο γαστρεντερικό σύστημα των ιχθύων.

**ABSTRACT**

The research on fish gut microbiome is essential for optimizing health and productivity in aquaculture systems. The creation of new DNA sequencing techniques, along with development in Bioinformatics, have given the opportunity to the researchers to thoroughly study the microbes and clarify the relations between them and also their interaction with the environment. This thesis studies the postprandial gut bacterial communities in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) 3 h after feeding a single meal. There was found that there are 16 unique OTUs in the first sample (0h) and 88 unique OTUs in the second sample which was taken at three hours after their last meal. The present research presents new data in the scientific community and enriches the existing knowledge. It also supports and promotes the further investigation on this specific scientific topic.

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Συστηματική κατάταξη και βιολογία της ιριδίζουσας πέστροφας

#### 1.1.1 Συστηματική κατάταξη

Η ιριδίζουσα πέστροφα ή αλλιώς αμερικάνικη πέστροφα, ανήκει στην οικογένεια Salmonidae, στο γένος *Oncorhynchus* και στο είδος *mykiss*, και Η ονομασία αυτή δόθηκε από τον Justus Erich Walbaum το 1792.

Η αρχική ονομασία ήταν *Salmo mykiss* και είχε δοθεί από τον Walbaum το 1792 (RJ Behnke, 1992), ενώ αργότερα, το 1836 Vancouver του Καναδά, της δόθηκε το όνομα *Salmo gairdneri* από τον Richardson (McPhail and Lindsey, 1970). Το τελικό όνομα δόθηκε το 1989 όπου το είδος κατατάχθηκε στο γένος *Onchorhynchus*, και θεωρείται πιο κοντά στον σολομό απ' ότι σε άλλα είδη πέστροφας (Smith and Stearley, 1989).

<u>Συστηματική Κατάταξη Ιριδίζουσας Πέστροφας (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)</u>	
ΥΠΕΡΒΑΣΙΛΕΙΟ	Eukaria
ΒΑΣΙΛΕΙΟ	Animalia
ΥΠΟΒΑΣΙΛΕΙΟ	Bilateria
ΣΥΝΟΜΟΤΑΞΙΑ (ΦΥΛΟ)	Deuterostomia
ΥΠΟΣΥΝΟΜΟΤΑΞΙΑ	Vertebrata
ΑΝΘΥΠΟΣΥΝΟΜΟΤΑΞΙΑ	Craniata
ΥΠΕΡΟΜΟΤΑΞΙΑ	Gnathostomata
ΥΠΕΡΤΑΞΗ	Actonipterigii
ΤΑΞΗ	Teleostei
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	Salmoninae
ΓΕΝΟΣ	<i>Oncorhynchus</i>
ΕΙΔΟΣ	<i>Oncorhynchus mykiss</i>

Πίνακας 1: Συστηματική Κατάταξη είδους *O. mykiss*.



### 1.1.2 Εξωτερική μορφολογία

Η ιριδίζουσα πέστροφα περιγράφεται από τους Kottelat και Freyhof, το 2007 στην βάση δεδομένων Froese and Pauly, ως ψάρι με επίμηκες, πλευρικά συμπιεσμένο σώμα με ξεχωριστό ουραίο ποδίσκο. Το σώμα της είναι πιο πλατύ από εκείνο της κοινής πέστροφας (Φώτης, 2003).

Ο χρωματισμός της ποικίλει ανάλογα με το περιβάλλον στο οποίο ζει, το μέγεθος και τη φάση του αναπαραγωγικού κύκλου που βρίσκεται. Οι ιχθύες που ζουν στα ποτάμια και οι ενήλικες αναπαραγωγικά έχουν χρώμα πιο σκούρο, και χρωματισμό πιο έντονο. Εκείνοι που ζούνε σε λίμνες και σε ανάδρομες μορφές, είναι πιο ανοιχτόχρωμοι, πιο φωτεινοί και στιλπνοί. Το συγκεκριμένο είδος πέστροφας, φέρει κάποια χαρακτηριστικά που το κάνουν να διαφέρει από όλα τα υπόλοιπα. Αρχικά μεταξύ του ραχιαίου οστού και το έντονα διχαλωτού ουρικού πτερυγίου υπάρχει ένα σαρκώδες λιπώδες πτερύγιο, γνωστό και ως ραχιαίο πτερύγιο. Το πτερύγιο αυτό φέρει 15 διακλαδισμένες ακτίνες, οι οποίες έχουν μήκος 20 έως 22 εκατοστά. Τα θωρακικά πτερύγια έχουν 13 με 14 ακτίνες ενώ το ουραίο έχει 11. Τέλος τα κοιλιακά πτερύγια έχουν 12 με 14 ακτίνες Στην μέση της πλευρικής σειράς φέρουν 115 με 130 κυκλοειδή λέπια. Επίσης έχουν 16 με 17 βραγχιάκανθες στο πρώτο βραγχιακό τόξο και 60 με 66 σπονδύλους. Τα αρσενικά δεν έχουν καμπούρα. Φέρουν φαρδιά πλαϊνή γραμμή, η οποία ξεκινάει από το κεφάλι τους και φτάνει έως το ουραίο κόκκαλο και το χρώμα της ποικίλει από ροζ μέχρι κόκκινο. Ωστόσο δεν φέρει το χαρακτηριστικό αυτό η μορφή που ζει στη θάλασσα.

Τα νεαρά άτομα στα πλαϊνά εκτός από τη λωρίδα ροζ ή κόκκινου χρώματος, φέρουν επίσης 5 έως 10 πλευρικά σημάδια. Τα ανάδρομα άτομα μπορούν να φτάσουν πάνω από 1,2 μέτρα και 25 κιλά βάρος, ωστόσο το σύνηθες μήκος είναι στα 60 εκατοστά και το βάρος των 10 κιλών είναι το μέγιστο βάρος που παρατηρείται πιο συχνά (Froese and Pauly, 2021; ISSG, 2021). Μια ενήλικη πέστροφα που ζει σε ποτάμι συνήθως ζυγίζει μεταξύ 0,5 και 2,5 κιλά. Οι εκτρεφόμενες πέστροφες συνήθως συγκομίζονται στα 0,6-0,7 κιλά, στο γλυκό νερό και όταν φτάσουν τα 4-5 κιλά στη θάλασσα.



*Εικόνα 1 : Ιριδίζουσα Πέστροφα (O. mykiss) (fishbase.org)*

### 1.1.3 Αναπαραγωγική στρατηγική και βιολογικός κύκλος

Η πέστροφα είναι μεταναστευτικό είδος. Έχει τη δυνατότητα είτε να ζει και να αναπαράγεται στο γλυκό νερό, είτε κατά τη διάρκεια της ζωής της να μεταναστεύσει στο θαλασσινό νερό και να επιστρέψει στο γλυκό μόνο για λόγους αναπαραγωγής.

#### Βιολογικός κύκλος στο γλυκό νερό

Οι πέστροφες που κατοικούν στο γλυκό νερό συνήθως εντοπίζονται σε μικρά έως μετρίου μεγέθους ρηχά ποτάμια με καλά οξυγονωμένο νερό και χαλίκια. Όσον αφορά αυτές που ζουν σε λίμνες, εντοπίζονται σε λίμνες μέτριου βάθους με κρύα νερά και γενικώς όταν πρόκειται να αναπαραχθούν χρειάζεται να έχουν πρόσβαση σε ρυάκια με χαλίκια. Συνήθως τα σημεία στα οποία αναπαράγονται αποτελούνται από λεπτό χαλίκι σε σημεία που είναι πιο κοντά στην επιφάνεια. Αυτή η δομή για την αναπαραγωγή δημιουργείται από το θηλυκό το οποίο χτυπάει την ουρά του στο έδαφος. Συνήθως το θηλυκό παράγει 2000 με 3000 αυγά για κάθε μονάδα βάρους του. Τα αυγά έχουν μέγεθος 4 έως 5 εκατοστά (Tyler et al., 1996). Ταυτόχρονα με τη απελευθέρωση των αυγών από το θηλυκό άτομο, το αρσενικό περνώντας από πάνω τους απελευθερώνει σπέρμα για να τα γονιμοποιήσει. Τα αυγά εκκολάπτονται μετά από τέσσερις με επτά εβδομάδες. Η ταχύτητα ανάπτυξης της πέστροφας εξαρτάται από την περιοχή που κατοικεί, καθώς και την ποσότητα και την ποιότητα της τροφής της. Στα γλυκά νερά η πέστροφα είναι αρπακτικό και τρέφεται με αμφίβια και με μαλακά όστρακα. Κάποιες φορές τρέφεται και με έντομα όπως μύγες.

### **Ο κύκλος ζωής της ανάδρομης πέστροφας**

Η ανάδρομη μορφή της πέστροφας είναι αυτή που ναι μεν γεννιέται σε γλυκά νερά, αλλά κατά την ενήλικη ζωή της ζει σε αλμυρά νερά ενώ κατά την περίοδο αναπαραγωγής επιστρέφει σε γλυκά νερά για να αναπαραχθεί. Στην Αμερική και τον Καναδά το είδος της πέστροφας αυτό είναι γνωστό ως «Σιδεροκέφαλη» (steelhead). Στην Τασμάνια καλλιεργούνται για εμπορικούς σκοπούς σε αλμυρά νερά και είναι γνωστές ως πέστροφες του ωκεανού. Στην Ελλάδα δεν έχει καταγραφεί η πέστροφα σε αλμυρά νερά. Το συγκεκριμένο είδος πέστροφας αναπαράγεται πολλές φορές το χρόνο με αποτέλεσμα να κάνει πολλές διαδρομές μεταξύ αλμυρών και γλυκών νερών. Η συγκεκριμένη μορφή του είδους υφίσταται ορισμένες αλλαγές κατά τη διάρκεια της άνοιξης στο πρώτο με τέταρτο έτος της ζωής της, οι οποίες της επιτρέπουν να επιβιώσει σε αλμυρό νερό. Κατά την διάρκεια της φάσης που ζούνε στο αλμυρό νερό τρέφονται με καλαμάρια και μικρότερα ψάρια. Υπάρχουν δύο γενότυποι, "summer-run steelhead" and "winter-run steelhead" (Busby et al. 1996, Hess et al. 2016). Η πρώτη κατηγορία φεύγει από τον ωκεανό μεταξύ Μαΐου και Οκτωβρίου, πριν τα αναπαραγωγικά όργανα ωριμάσουν πλήρως και γενικώς αναπαράγονται σε μακριά ποτάμια της ενδοχώρας ενώ βρίσκονται καθ' οδόν για το σημείο της αναπαραγωγής στο οποίο φτάνουν και αναπαράγονται την άνοιξη. Η δεύτερη κατηγορία φεύγει από τον ωκεανό μεταξύ Νοεμβρίου και Απριλίου, και αναπαράγονται αφού φτάσουν στο σημείο αναπαραγωγής σε πιο μικρού μήκους ποτάμια που βρίσκονται κοντά στην ακτή. Από τη στιγμή που φτάσουν στο σημείο αναπαραγωγής οι πέστροφες που ζούσαν στο αλμυρό νερό αναπαράγονται το ίδιο με εκείνες που ζούσαν στο γλυκό νερό. Οι πέστροφες αυτές μπορούν να φτάσουν σε βάρος έως και τα 20 κιλά σε πλήρη ωριμότητα, ενώ οι πέστροφες του γλυκού νερού είναι συνήθως 2 κιλά (Behnke, 2002).

#### 1.1.4 Διατροφικές προτιμήσεις της Ιριδίζουσας Πέστροφας στο Περιβάλλον και στην Υδατοκαλλιέργεια

Η ιριδίζουσα πέστροφα (*O. mykiss*) χαρακτηρίζεται ως σαρκοφάγο ψάρι. Αυτό σημαίνει ότι η διατροφή της χαρακτηρίζεται κυρίως από πρωτεΐνες και λίπη καθώς και από υδατάνθρακες και βιταμίνες. Η διατροφή της πέστροφας αποτελείται συνήθως από μικρά οστρακοειδή, μικρά ψάρια και από μια πληθώρα εντόμων διαφόρων αναπτυξιακών σταδίων. Το συγκεκριμένο είδος ωστόσο, στην περίπτωση που είναι μικρού μοριακού βάρους αλλά και κάτω από ορισμένες διατροφικές συνθήκες, υπάρχει περίπτωση να εμφανίσει διατροφική εκλεκτικότητα όσον αφορά την λήψη υδατανθράκων (Παπουτσόγλου, 2008). Πιο συγκεκριμένα οι τροφές που καταναλώνουν έχουν ποσοστά πρωτεϊνών 45-50% ενώ τα επίπεδα των υδατανθράκων φτάνουν μέχρι το 9% ενώ τα λίπη 5-8%. Συμπερασματικά ο δείκτης μετατρεψιμότητας τροφής FCR δεν παίρνει σταθερές τιμές καθώς σε ιδανικές συνθήκες ισούται με 1,5:1, ενώ έχουν καταγραφεί περιπτώσεις στις οποίες FCR= 2:1 σε περίπτωση φτωχής σε πρωτεΐνες.

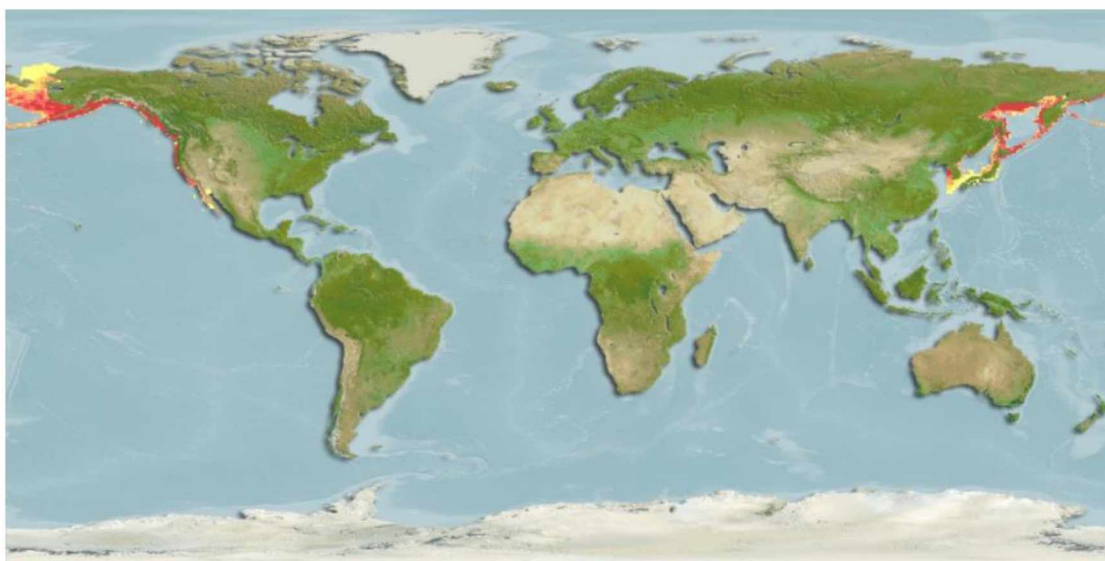
Αξίζει να αναφερθούν μερικά λιπίδια τα οποία είναι απαραίτητα για την σωστή ανάπτυξη των ιχθύων. Αρχικά δύο οξέα που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των πεστρόφων και τα οποία θα πρέπει να λαμβάνονται μέσω της τροφής και να αποτελούν το 20-10% των συνολικών, είναι τα λινολενικό και λινολεϊκό. Η παρουσία τους είναι σημαντική για τη βιοσύνθεση άλλων νέων ουσιών. Συνεχίζοντας ο λόγος Ω3/Ω6 λιπαρά θα πρέπει να προσεγγίζει το 0,37, ενώ απαραίτητη είναι και η παρουσία αμινοξέων στην τροφή της πέστροφας. Τα βασικά τέσσερα αμινοξέα των οποίων η απουσία επηρεάζει αρνητικά την ανάπτυξη του ψαριού είναι η λυσίνη η μεθειονίνη, η τρυπτοφάνη και η αργινίνη (Μεντε Ε., Νέγκας Ι., (2011).

Όσον αφορά τα είδη των βιταμινών που πρέπει να λαμβάνονται μέσω της τροφής είναι δύο, οι υδατοδιαλυτές και οι λιποδιαλυτές βιταμίνες, και η αναλογία στην οποία πρέπει να βρίσκονται εξαρτάται από το περιβάλλον στο οποίο ζει το ψάρι καθώς και την ηλικία του ( Φώτης και Αγγελίδης, 2003).

Πιο συγκεκριμένα η τροφή της πέστροφας θα πρέπει να είναι πλούσια σε ασβέστιο, μαγνήσιο, κάλιο και φώσφορο καθώς και σε μικροστοιχεία όπως το ιώδιο, ο σίδηρος και ο ψευδάργυρος. Η αναλογία του του ασβεστίου προς το φώσφορο θα πρέπει να είναι 0,8/1 (Φώτης και Αγγελίδης, 2003). Η απουσία των ιχνοστοιχείων έχει συνδεθεί με εμφάνιση παθογενειών. Τέλος, το κοβάλτιο, το μαγγάνιο, το σελήνιο και ο χαλκός είναι επίσης απαραίτητα καθώς το κοβάλτιο χρησιμεύει στη σύνθεση της B12, ενώ ο χαλκός είναι απαραίτητος για τη σύσταση της αιμοσφαιρίνης. Ωστόσο τα επίπεδα του χαλκού δεν θα πρέπει να υπερβαίνουν τα 4mg/kg καθώς τότε γίνεται τοξικός.

Στην ιχθυοκαλλιέργεια στις μέρες οι διατροφή αποτελεί βασικό παράγοντα επιτυχίας γιατί και ανάλογα με το αναπτυξιακό στάδιο δίνεται και η κατάλληλη τροφή. Οι τροφές πλέον έχουν εξελιχθεί έτσι ώστε να καλύπτουν τις ανάγκες των ιχθύων και δεν αποτελούνται μόνο από ιχθυάλευρα αλλά και από φυτικά.

### 1.1.5 Βιογεωγραφία και ενδιαίτημα



Εικόνα 2: Βιογεωγραφία της Ιριδίζουσας Πέστροφας (*O. mykiss*) (fishbase.org)

Το ενδιαίτημα της πέστροφας είναι τα φρέσκα γλυκά νερά των εύκρατων ζωνών. Η μεταναστευτική μορφή ολοκληρώνει την ωρίμανση της σε ορεινά ποτάμια, ενώ την υπόλοιπη ζωή της μεταναστεύει στον ωκεανό. Οι ιδανικές συνθήκες θερμοκρασίας για την ανάπτυξη της πέστροφας είναι γύρω στους 12 βαθμούς Κελσίου το καλοκαίρι, ωστόσο έχει καταγραφεί η επιβίωση τους και σε πιο ζεστά νερά μέχρι και 24 βαθμούς

κελσίου. Ο βυθός των ποταμών στους οποίους αναπαράγεται το είδος πρέπει να είναι ανάγλυφος, με αρκετά υψώματα και πλούσιος σε βλάστηση για σκίαση. Επίσης ο βυθός θα πρέπει να έχει χαλίκι. Οι νεαρές πέστροφες προτιμούν τα μικρά ήρεμα ρυάκια καθώς δεν επιβιώνουν σε πολύ ορμητικά νερά. Είναι ιθαγενές είδος της Δυτικής Αμερικής και έτσι εντοπίζεται σε παράκτια ποτάμια χαμηλής ροής κατά τη διάρκεια των καλοκαιρινών μηνών (University of Michigan, 2006).

Το είδος *O. mykiss* εντοπίζεται στην Βόρεια Ακτή της Αμερικής στον Ειρηνικό Ωκεανό, ξεκινώντας από την Αλάσκα και φτάνοντας μέχρι τα σύνορα τη Καλιφόρνιας με το Μεξικό. ωστόσο περίπου το 1880 παρουσιάστηκε από την Αμερική και σε άλλες περιοχές όπως την Ιαπωνία, την Νέα Ζηλανδία και τη Δυτική Ευρώπη (CABI).

## 1.2 Φυσιολογία θρέψης ιχθύων

### 1.2.1 Πεπτικός σωλήνας

Η βασική λειτουργία του πεπτικού σωλήνα είναι η πέψη της τροφής και η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών της. Είναι γεγονός ότι οι ιχθύες σαν οργανισμοί μπορούν να αλλάξουν και να προσαρμόσουν τα χαρακτηριστικά του πεπτικού τους σωλήνα ανάλογα με τις ανάγκες τους, καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους. Αυτή η αλλαγή συμβαίνει λόγω των επιπέδων ορμονών καθώς και των ενδοκρινών κυττάρων του παγκρέατος, και δίνει τη δυνατότητα στους ιχθύες να προσαρμόζονται σε νέες συνθήκες περιβάλλοντος.

Όπως προαναφέρθηκε οι πέστροφες είναι είδος σαρκοφάγο και το πεπτικό τους σύστημα αποτελείται όπως όλων των σαρκοφάγων ιχθύων από οκτώ διαφορετικά μέρη.

Ξεκινώντας, το στόμα είναι το πρώτο μέρος του πεπτικού σωλήνα και είναι το μέσο με το οποίο ο οργανισμός λαμβάνει τροφή και νερό. Το στόμα τους αλλάζει ανάλογα με τις διατροφικές συνήθειες του οργανισμού. Το επόμενο μέρος του πεπτικού σωλήνα είναι ο οισοφάγος. Το όργανο αυτό σε πολλούς ιχθύες είναι δύσκολο να διακριθεί από το φάρυγγα και το στομάχι, λόγω του μικρού του μήκους. Στην πέστροφα όμως είναι ευδιάκριτο λόγω της ύπαρξης ραβδοειδών μυών που συσπώνται εθελούσια. Στην

συνέχεια, ακολουθεί ο στόμαχος, ο οποίος λόγω της διατροφής του συγκεκριμένου είδους έχει την μορφή σάκου. Στο είδος *O. mykiss* το στομάχι περιγράφεται ως διεσταλμένο σχήματος U και χωρικά εντοπίζεται μεταξύ του οισοφάγου και του εντέρου. Σε λαρβικό επίπεδο, το στομάχι δεν υπάρχει και εμφανίζεται μετά την μεταμόρφωση. Ο πυλωρός είναι το τέλος του στομάχου, και ρυθμίζει το πέρασμα της τροφής από το στομάχι στο λεπτό έντερο και εξασφαλίζει την μη παλινδρόμηση της τροφής. Μέρος του πυλωρού είναι και τα πυλωρικά τυφλά τα οποία αυξάνουν την επιφάνεια του πεπτικού σωλήνα και αυξάνουν την πρόσληψη της τροφής. Τέλος, το επόμενο τμήμα είναι το έντερο το οποίο αποτελείται από το πρόσθιο, το κεντρικό, το ακραίο και το τελικό τμήμα. Σε αυτό το σημείο ολοκληρώνεται η απορρόφηση των θρεπτικών. Πέρα από το σημαντικό ρόλο που έχει το έντερο στην απορρόφηση της τροφής, συμβάλει στη διατήρηση της ισορροπίας των ηλεκτρολυτών και του νερού καθώς σημαντικό ρόλο έχει και για την ενδοκρινή ρύθμιση αλλά και για την ανοσία. Περιφερειακά του στομάχου ή κάποιες φορές από πάνω, εντοπίζεται το ήπαρ το οποίο εκκρίνει τη χολή, αποθηκεύει το γλυκογόνο αλλά τελεί και άλλες βιοχημικές λειτουργίες. Τελευταίο σημείο του πεπτικού αποτελεί η έδρα (Νεοφύτου, 1997: Παπουτσόγλου, 2008).

Η ανατομία και η φυσιολογία του γαστρεντερικού σωλήνα είναι σημαντικοί καθοριστικοί παράγοντες για τη δημιουργία της μικροβιακής κοινότητας. Τα μικρόβια που ευδοκίμουν στο έντερο είναι επίσης πιθανόν να συνδέονται με την πέψη και με την παραγωγή των εξωγενών ενζύμων και βιταμινών (Ray & Ringo, 2014).

### **1.2.2 Μικροβιακές κοινότητες πεπτικού συστήματος**

Οι μικροβιακές κοινότητες που εντοπίζονται στον πεπτικό σωλήνα των ιχθύων διαφέρουν ανάλογα με τη διατροφή τους. Για παράδειγμα στην περίπτωση φυτοφάγων ιχθύων εντοπίζονται κυρίως κυτταρινολυτικά βακτήρια, ενώ στους σαρκοφάγους εντοπίζονται κυρίως πρωτεϊνολυτικά βακτήρια (Κορμάς & Μεζίτη, 2011). Θεωρητικά, η οποιαδήποτε μεταβολή στην τροφή των ιχθύων μπορεί να διαταράξει την



βιοποικιλότητα του εντέρου, και για το λόγο αυτό η ιχθυοτροφές θα πρέπει να εμπλουτίζονται σε προβιοτικά (Romero et al. 2014).

Η λειτουργία αυτών των μικροοργανισμών είναι πολύ σημαντική για την υγεία των ιχθύων, ενώ παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο και στην αύξηση και την παραγωγικότητα των ζώων. Ωστόσο είναι απαραίτητο οι προβιοτικοί οργανισμοί να είναι μεταβολικώς ενεργοί στο εσωτερικό του πεπτικού, καθώς και να μην δημιουργούν προβλήματα τοξικότητας στον οργανισμό (Κορμάς & Μεζίτη, 2011).

Όσον αφορά τους μικροοργανισμούς, και πιο συγκεκριμένα τα βακτήρια τα οποία εντοπίζονται στο εσωτερικό του πεπτικού σωλήνα, δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρος ο τρόπος κατά τον οποίο μεταβάλλονται, αν μεταβάλλονται, και επίσης δεν είναι ξεκάθαροι ούτε οι παράγοντες οι οποίοι τους μεταβάλλουν.

Παλαιότερα, για τη μελέτη της εντερικής μικροβιακής ποικιλότητας χρησιμοποιούνταν καλλιεργητικές μέθοδοι σε συνδυασμό με ενζυμικούς ελέγχους Βασικό εργαλείο αποτελούσε και η χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου. Με την ανάπτυξη ωστόσο της επιστήμης αναπτύχθηκαν διάφορες μοριακές τεχνικές οι οποίες χρησιμοποιούνται μέχρι και σήμερα (Κορμάς & Μεζίτη, 2011).

Οι βασικοί βακτηριακοί πληθυσμοί οι οποίοι εντοπίζονται στο πεπτικό σωλήνα των ιχθύων είναι κατά κύριο λόγο βακτήρια των φύλων Actinobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria, Firmicutes.

### 1.3 Στόχο & Σκοπός

Σκοπός της εργασίας αποτέλεσε η μελέτη της μεταγευματικής μεταβολής των βακτηριακών κοινοτήτων στο γαστρεντερικό σύστημα εκτρεφόμενων ατόμων πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) τρεις ώρες μετά από ένα γεύμα..

## 2. Υλικά και μέθοδοι

### 2.1 Πειραματικός σχεδιασμός – Δειγματοληψία

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, στην πόλη του Βόλου. Συμπεριλήφθηκαν σε αυτό 120 ιχθύδια πέστροφας και των δύο φύλων, με βάρος  $44,98 \pm 1.08$  γραμμάρια. Τα ιχθύδια μοιράστηκαν ισάριθμα σε τρεις δεξαμενές γλυκού νερού, όγκου 250 λίτρων. Οι συνθήκες εκτροφής εξασφάλιζαν συνθήκες φυσικής φωτοπεριόδου και περιεκτικότητα οξυγόνου 90%. Η θερμοκρασία ρυθμίστηκε στους 12 βαθμούς Κελσίου και το pH στο 7.6.

Τα ψάρια ταΐζονταν *ad libitum* δύο φορές την ημέρα, 09:00 το πρωί και 15:00 το απόγευμα, για πέντε εβδομάδες. Η τροφή με την οποία ταΐζονταν μπορεί να βρεθεί στο εμπόριο, και περιλάμβανε ιχθυάλευρο, ιχθυέλαιο, φυτικά έλαια, σόγια, γλουτένη καλαμποκιού και σιτάρι.

Στη τελευταία φάση του πειράματος, τα ψάρια αφέθηκαν νηστικά για 24 ώρες. Από κάθε δεξαμενή λήφθηκαν τυχαία δύο ψάρια, θυσιάστηκαν με αναισθησία και χτύπημα στο κεφάλι και αποτελούσαν την αρχική ομάδα πριν το τάισμα (0h). Οι πέστροφες που απέμειναν ταΐστηκαν και 3 ώρες αργότερα, επιλέχθηκαν επίσης τυχαία από κάθε δεξαμενή ακόμα έξι οι οποίες θυσιάστηκαν (3h) και αυτές με αναισθησία και χτύπημα στο κεφάλι. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε αφαίρεση του γαστρεντερικού ιστού και συλλογή των κοπράνων τους σε αποστειρωμένα φιαλίδια. Τα δείγματα ψύχθηκαν άμεσα σε υγρό άζωτο και διατηρήθηκαν στους -80 βαθμούς Κελσίου μέχρι να αναλυθούν περαιτέρω.

## 2.2 Απομόνωση DNA

Πραγματοποιήθηκε εκχύλιση γενετικού υλικού από δύο δείγματα κοπράνων της ομάδας «0h» καθώς και τριών δειγμάτων από την ομάδα «3h». Το γενετικό υλικό των δειγμάτων απομονώθηκε με το εμπορικό σετ απομόνωσης Power Soil (MoBio, CA, USA). Καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας τηρήθηκε πιστά το πρωτόκολλο του κατασκευαστή. Η διαδικασία με την οποία πραγματοποιήθηκε η ανάλυση ποικιλότητας του βακτηριακού 16S rRNA (περιοχή V3-V4), ήταν η 454 πυροαλληλούχιση. Το ζεύγος εκκινητών που χρησιμοποιήθηκε ήταν οι S-DBact-0341-b-S-17 και S-D-Bact-0785-a-A-21 (Klindworth et al. 2013). Στη συνέχεια ακολούθησε ο έλεγχος ποιότητας και εξομάλυνσης των δεδομένων με χρήση της πλατφόρμας MOTHUR (Schloss et al. 2009). Με βάση το πρωτόκολλο των Schloss et al. (2011), απέμειναν 90 μοναδικές (97% ομοιότητα) βακτηριακές λειτουργικές ταξινομικές ομάδες (OTUs) των, περίπου, 250bp. Ακολούθησε η συστηματική κατάταξη των ταξινομικών αυτών ομάδων η οποία πραγματοποιήθηκε στην διαδικτυακή βάση δεδομένων SILVA (<https://www.arb-silva.de/aligner>), σύμφωνα με την τελευταία έκδοση SILVA για την μικρή (16S) υπομονάδα του ριβοσωμικού RNA.

## 2.2 Στατιστική επεξεργασία

Αρχικά έγινε η καταγραφή των αποτελεσμάτων σε excel. Στην συνέχεια για την ανάλυση των δεδομένων έγινε ανάλυση παραλλακτικότητας ενός παράγοντα, γνωστή και ως one Way Anova, αφού πρώτα ελέγχθηκε η κανονικότητα και η ομοιογένεια των δειγμάτων με τους ελέγχους Shapiro-Wilk- test και Levene's test αντίστοιχα. Η ανάλυση έγινε μέσω του προγράμματος Spss και εντοπίστηκε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της ομάδας «0h» και της ομάδας «3h». Συμπερασματικά, από την ανάλυση προέκυψε ότι η διατροφή της πέστροφας δεν επηρέασε τους βακτηριακούς πληθυσμούς του πεπτικού σωλήνα στατιστικώς σημαντικά. Τα αποτελέσματα θεωρούνταν στατιστικώς σημαντικά στο επίπεδο  $P < 0.05$ .

### 3. Αποτελέσματα

Η ανάλυση δεδομένων οδήγησε στο συμπέρασμα ότι ο παράγοντας «τάισμα» δεν επηρεάζει την ποικιλότητα των βακτηριακών κοινοτήτων στατιστικά σημαντικά ( $P>0.05$ ).

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1) φαίνονται αναλυτικά οι μέσοι όροι των OTUs πριν το γεύμα (Average h=0) καθώς και τρεις ώρες αργότερα (Average h=3). Οι μέσοι όροι εκφράζονται ως ποσοστό επί του συνόλου.

OTUs	Average h=0	Average h=3			
Otu0001	50.543	1.079	Otu0039	0.056	0.149
Otu0003	27.693	47.786	Otu0056	0.028	1.693
Otu0002	5.288	0	Otu0047	0.028	0.595
Otu0016	1.948	5.024	Otu0018	0.028	0.577
Otu0015	1.92	3.647	Otu0079	0.028	0.279
Otu0031	1.865	0.912	Otu0005	0.028	0.149
Otu0052	1.865	0	Otu0021	0	2.996
Otu0027	1.586	1.47	Otu0024	0	2.828
Otu0019	1.002	3.387	Otu0023	0	2.307
Otu0030	0.779	1.358	Otu0009	0	1.656
Otu0093	0.724	0	Otu0014	0	1.265
Otu0072	0.64	0	Otu0037	0	1.172
Otu0104	0.612	0	Otu0080	0	0.986
Otu0133	0.39	0	Otu0038	0	0.893
Otu0136	0.39	0	Otu0025	0	0.875
Otu0144	0.362	0	Otu0074	0	0.67
Otu0146	0.362	0	Otu0045	0	0.651
Otu0059	0.306	0.037	Otu0122	0	0.595
Otu0179	0.223	0	Otu0033	0	0.447
Otu0189	0.223	0	Otu0078	0	0.391
Otu0197	0.195	0	Otu0081	0	0.391
Otu0199	0.195	0	Otu0082	0	0.391
Otu0012	0.167	2.847	Otu0028	0	0.372
Otu0211	0.167	0	Otu0048	0	0.372
Otu0247	0.139	0	Otu0088	0	0.372
Otu0050	0.083	0.186	Otu0162	0	0.354
Otu0177	0.083	0	Otu0066	0	0.298
Otu0013	0.056	1.898	Otu0143	0	0.298
			Otu0148	0	0.298

Otu0129	0	0.261	Otu0058	0	0.074
Otu0120	0	0.242	Otu0068	0	0.074
Otu0004	0	0.223	Otu0099	0	0.074
Otu0151	0	0.223	Otu0206	0	0.074
Otu0210	0	0.223	Otu0226	0	0.074
Otu0067	0	0.205	Otu0233	0	0.074
Otu0109	0	0.205	Otu0236	0	0.074
Otu0011	0	0.186	Otu0239	0	0.074
Otu0119	0	0.186	Otu0285	0	0.074
Otu0034	0	0.167	Otu0029	0	0.056
Otu0069	0	0.167	Otu0158	0	0.056
Otu0124	0	0.167	Otu0171	0	0.056
Otu0145	0	0.167	Otu0248	0	0.056
Otu0087	0	0.149	Otu0260	0	0.056
Otu0125	0	0.149	Otu0311	0	0.056
Otu0180	0	0.149	Otu0051	0	0.037
Otu0191	0	0.149	Otu0055	0	0.037
Otu0007	0	0.13	Otu0172	0	0.037
Otu0168	0	0.13	Otu0174	0	0.037
Otu0271	0	0.13	Otu0297	0	0.037
Otu0100	0	0.112	Otu0314	0	0.037
Otu0181	0	0.112	Otu0315	0	0.037
Otu0182	0	0.112	Otu0325	0	0.037
Otu0203	0	0.112	Otu0336	0	0.037
Otu0204	0	0.112	Otu0348	0	0.037
Otu0186	0	0.093	Otu0372	0	0.037
Otu0193	0	0.093	Otu0373	0	0.037
Otu0202	0	0.093	Otu0396	0	0.037
Otu0035	0	0.074	Otu0433	0	0.037

Πίνακας 2: Μέση Όροι OTUs ως ποσοστό % του συνόλου.

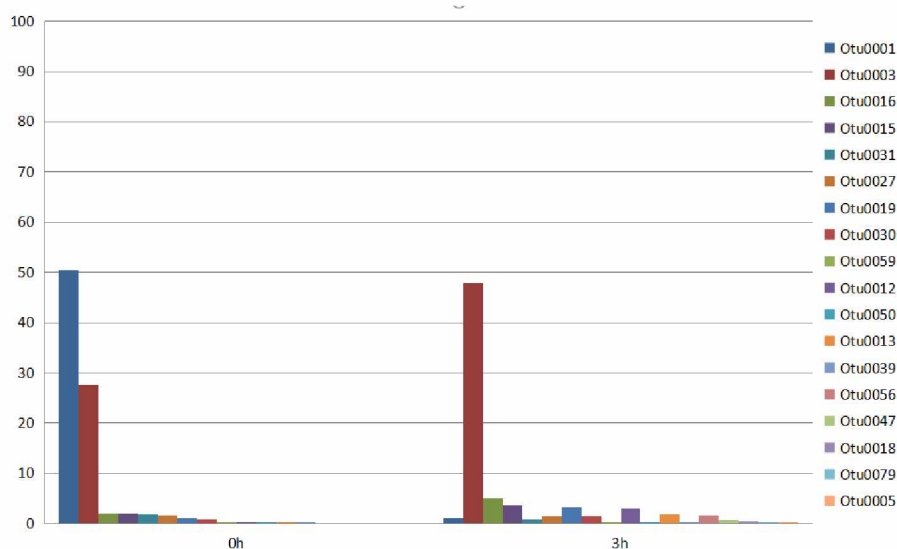
Για κάθε δειγματοληψία έγιναν τρεις διαφορετικές αλληλουχίσεις του γενετικού υλικού. Σε κάθε περίπτωση παρατηρήθηκε η ύπαρξη διαφόρων ειδών μικροοργανισμών οι οποίοι ήταν περισσότεροι αριθμητικά σε σχέση με τους υπολοίπους. Επίσης πριν και μετά το τάισμα καταγράφηκαν διαφορετικοί μικροοργανισμοί, ωστόσο η παρουσία κάποιων ήταν κοινή. Τα είδη των βακτηρίων που εντοπίστηκαν σε μεγαλύτερα ποσοστά και στις δύο περιπτώσεις ανήκαν σε 5 φύλα : Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria, Firmicutes.

Από την μελέτη εντοπίστηκαν 18 OTUs κοινά και στις δύο ομάδες «0h» και «3h», ενώ μοναδικά στην ομάδα «0h» εντοπίστηκαν 16 OTUs και στην ομάδα «3h» εντοπίστηκαν μοναδικά 81 OTUs. Στον Πίνακα 2 φαίνονται τα OTUs που καταγράφηκαν τόσο στην ομάδα «0h» όσο και στην ομάδα «3h». Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό επί του συνόλου.

OTUs	Average h=0	Average h=3
Otu0001	50.543	1.079
Otu0003	27.693	47.786
Otu0016	1.948	5.024
Otu0015	1.92	3.647
Otu0031	1.865	0.912
Otu0027	1.586	1.47
Otu0019	1.002	3.387
Otu0030	0.779	1.358
Otu0059	0.306	0.037
Otu0012	0.167	2.847
Otu0050	0.083	0.186
Otu0013	0.056	1.898
Otu0039	0.056	0.149
Otu0056	0.028	1.693
Otu0047	0.028	0.595
Otu0018	0.028	0.577
Otu0079	0.028	0.279
Otu0005	0.028	0.149

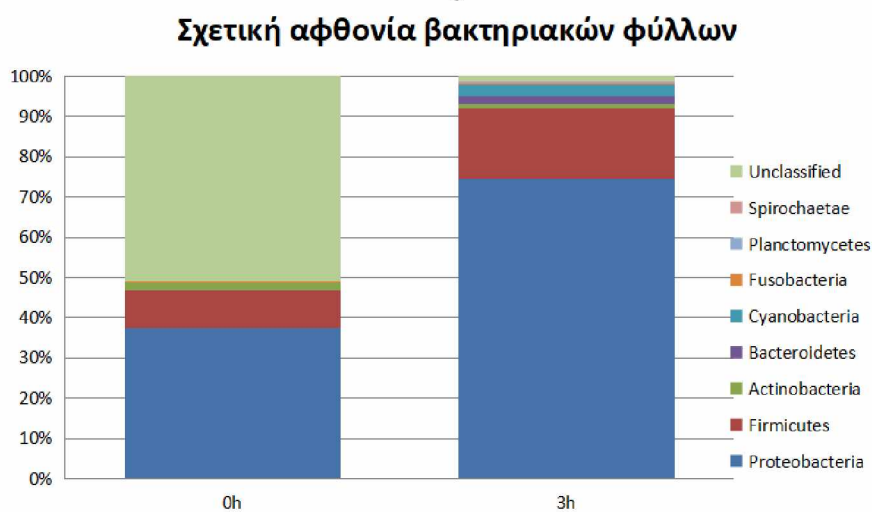
Πίνακας 3: Μέσος Όρος %, κοινών βακτηρίων.

Σε αφθονία τόσο στην πρώτη ομάδα όσο και στη δεύτερη ομάδα βρέθηκε μόνο το Otu0003. Όπως φαίνεται τόσο από τον Πίνακα 2 όσο και από το Διάγραμμα 1 τα κοινά είδη βακτηρίων είναι 18 και είναι τα: Otu0001, Otu0003, Otu0016, Otu0015, Otu0031, Otu0027, Otu0019, Otu0030, Otu0059, Otu0012, Otu0050, Otu0013, Otu0039, Otu0056, Otu0047, Otu0018, Otu0079 και το Otu0005.



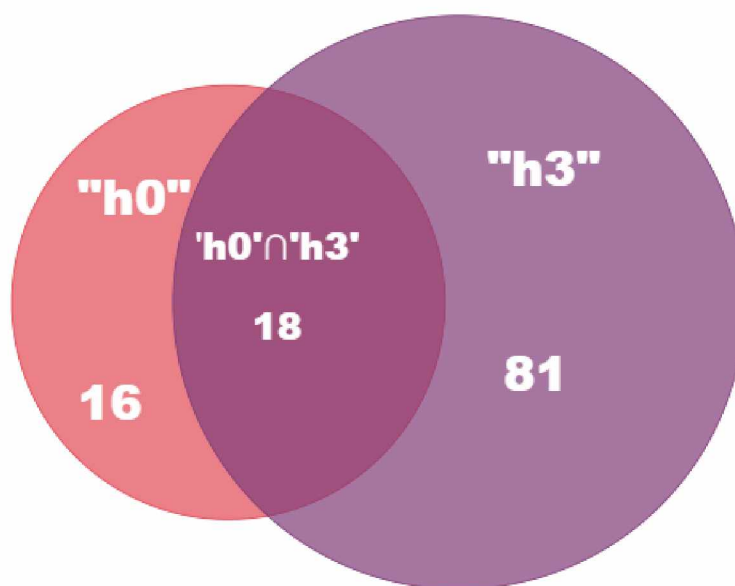
Διάγραμμα 1: Κοινά OTUs και στις δύο ομάδες («0h», «3h»).

Παρ' όλο που δεν εντοπίστηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, παρατηρήθηκε ότι οι βακτηριακοί πληθυσμοί που βρέθηκαν στις δύο ομάδες δεν ήταν ίδιοι.



Διάγραμμα 2 : Βακτηριακά Φύλα στις δύο ομάδες («0h», «3h»).

Προχωρώντας, με τον σχηματισμό ενός διαγράμματος Venn υπάρχει η δυνατότητα να δούμε ποιο ξεκάθαρα τα βακτήρια που είναι κοινά πριν και μετά το τσίσμα. Όπως φαίνεται από το Διάγραμμα 3 τα περισσότερα OTUs της ομάδας «h0» βρέθηκαν και στην ομάδα «h3», ενώ στην ομάδα «h3» βρέθηκαν 81 μοναδικά OTUs.

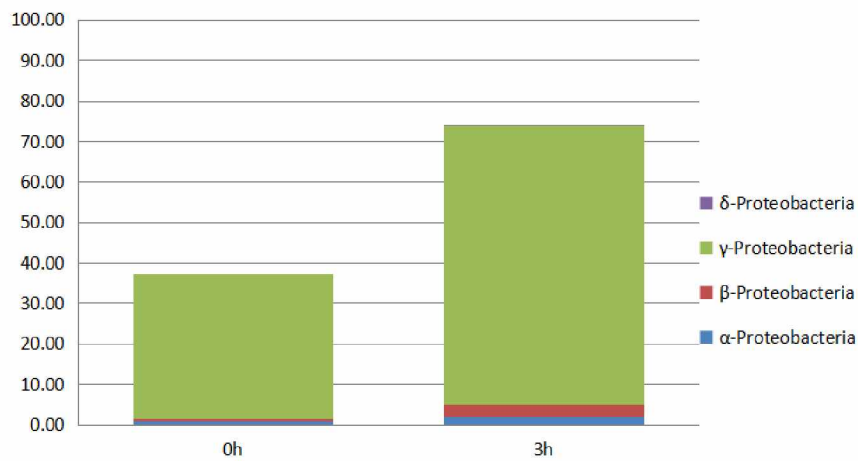


Διάγραμμα 3: Διάγραμμα Venn κοινών OTUs.

Συνδυάζοντας τις πληροφορίες των παραπάνω διαγραμμάτων γίνεται αντιληπτό ότι και στις δύο ομάδες κυριάρχησαν τα Proteobacteria καθώς και τα Firmicutes.

Συνεχίζοντας στο Διάγραμμα 4 απεικονίζεται η σχετική αφθονία των βακτηριακών κλάσεων του φύλλου Proteobacteria το οποίο βρέθηκε και σε μεγαλύτερη αφθονία.

### Σχετική αφθονία βακτηριακών κλάσεων του φύλλου Protobacteria



Διάγραμμα 4: Αναλυτικά κλάσεις του Φύλλου Proteobacteria.



#### 4. Συζήτηση

Το πεδίο της έρευνας πάνω στο μικροβίωμα των οργανισμών, συμπεριλαμβανομένων και των βακτηριακών κοινοτήτων που βρίσκονται στο εσωτερικό του πεπτικού σωλήνα, είναι πολύ ευρύ και ακόμα δεν έχει μελετηθεί πλήρως παρ' όλο που η σημαντικότητα του έχει επισημανθεί (Etyemez et al.2015). Όπως προαναφέρθηκε ο πεπτικός σωλήνας και κυρίως το τμήμα του εντέρου, συμμετέχει και σε άλλες λειτουργίες εκτός από αυτή της πέψης όπως η ωσμωρύθμιση και η ανοσοποιητική άμυνα του οργανισμού. Σύμφωνα με τους Ringo & Song (2016), ο πεπτικός σωλήνας παρέχει στον οργανισμό μηχανισμούς άμυνας έναντι διαφόρων παθογόνων. Οι διαφορές που παρουσιάζονται στις βακτηριακές κοινότητες του εντέρου μεταξύ των οργανισμών, θεωρείται ότι οφείλονται στην ίδια τη δράση των βακτηρίων καθώς αυτή μπορεί να επηρεάσει τον αριθμό των κοινοτήτων και κατά συνέπεια τη σύνθεση των μικροβιακών κοινοτήτων του εντέρου. Παρ' όλο που δεν έχουν προσδιοριστεί οι παράγοντες οι οποίοι μεταβάλλουν τις βακτηριακές κοινότητες του εντέρου, υπάρχει η θεωρία ότι η διαθεσιμότητα της τροφής καθώς και γενικότερα η τροφικές συνήθειες είναι ένας από τους παράγοντες επιρροής (Μεζίτη et al. 2010). Η θεωρία αυτή έχει υποστηριχθεί επίσης από τους Ghanbari et al.(2015) καθώς και από τους Tzeng et al (2015), οι οποίοι εντόπισαν διαφορές στους βακτηριακούς πληθυσμούς μεταξύ σαρκοφάγων, φυτοφάγων και άλλων ειδών. Από την μελέτη των βακτηριακών κοινοτήτων και γενικότερα τη μελέτη του μικροβιώματος η επιστημονική κοινότητα θα μπορέσει να εκμεταλλευτεί στο έπακρον τα οφέλη που αφορούν την καλή ανάπτυξη και την αποδοτικότητα των ιχθύων (Wu et al. 2012).

Είναι γεγονός πως η μελέτη του μικροβιώματος και η πλήρης κατανόηση της λειτουργίας τους δε είναι εύκολη λόγω του είναι ένα πολύπλοκο σύστημα που αποτελείται από πολλούς μικροοργανισμούς και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις. Από ζώο σε ζώο διαφέρει και δεν είναι δυνατό να βγουν πολύ συγκεκριμένα συμπεράσματα. Σύμφωνα με τους Desai et al. (2012) σε ζώα που ανατράφηκαν σε απόλυτα ελεγχόμενες συνθήκες και στα οποία παρείχαν συγκεκριμένη διαίτα, καταγράφηκαν κάποιοι μικροοργανισμοί οι οποίοι διέφεραν από άτομο σε άτομο.

Στην φυσιολογική μικροχλωρίδα των ιχθύων περιλαμβάνονται και μικροοργανισμοί οι οποίοι είναι δυνητικά παθογόνοι όμως περιλαμβάνει και μικροοργανισμούς

συμβιωτικούς οι οποίοι επηρεάζουν το ανοσοποιητικό των ψαριών και μπορούν να δράσουν κατά των φλεγμονών (Al-Hisnawi et al.2015).

Η αξία των συμβιωτικών μικροοργανισμών είναι πολύ μεγάλη και γι αυτό πολλοί επιστήμονες έχουν στραφεί στη μελέτη τους. Λόγω της έντονης δράσης τους υπέρ της καλής υγείας των ιχθύων, θεωρείται πως μελετώντας τον τρόπο λειτουργίας των οργανισμών αυτών θα βρεθεί τρόπος αντικατάστασης των αντιβιοτικών. Πολλοί πιστεύουν ότι θα πρέπει με την τροφή να χορηγούνται στους ιχθύες προβιοτικοί οργανισμοί έτσι ώστε να δημιουργήσουν καλύτερο ανοσοποιητικό το οποίο θα αντιμετωπίζει επιτυχώς ξένα παθογόνα.

Στην συνέχεια παρατίθεται ενδεικτικός πίνακας ερευνών (Πίνακας 4) που έχουν γίνει πάνω σε υδρόβιους οργανισμούς με σκοπό τον προσδιορισμό του μικροβιώματός τους.

*Πίνακας 4: Έρευνες σε υδρόβιους οργανισμούς με σκοπό τον προσδιορισμό των μικροοργανισμών στον πεπτικό σωλήνα των ιχθύων.*

Είδος	Μέθοδος	Αποτελέσματα	Πηγή
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	<p>29 άτομα, ηλικίας τριών ετών, του είδους <i>O. mykiss</i> μελετήθηκαν.</p> <p>Αναλύθηκε στομαχικό δείγμα, με αλληλούχιση νέας γενιάς ( NGS) και ανάλυση των 16S ριβοσωμικών RNA γονιδίων.</p> <p>Στην συνέχεια προσδιορίστηκε ο βαθμός στον οποίο το μικροβίωμα επηρεάζει τη μόλυνση υγιών και ασθενών οργανισμών.</p>	<p>Δεν υπήρξε διαφορά στο μικροβίωμα μεταξύ υγιών και ασθενών οργανισμών.</p>	<p>Parshukov, A. N., Kashinskaya, E. N., Simonov, E. P., Hlunov, O. V., Izvekova, G. I., Andree, K. B., &amp; Solovyev, M. M. (2019).</p>
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	<p>Δείγματα από το εντερικό σωλήνα των ιχθύων συλλέχθηκαν, πραγματοποιήθηκε αλληλούχιση του 16S βακτηρικού RNA με σκοπό τον ακριβή προσδιορισμό του μικροβιώματος. Το πρόγραμμα PICRUST</p>	<p>Το μικροβίωμα των ιχθύων δεν φάνηκε να επηρεάζεται από την τοποθεσία στην οποία είχαν αναπτυχθεί, γεγονός που σημαίνει ότι μπορεί να διαμορφωθεί πλήρως από τους ιχθυοκαλλιεργητές. Ωστόσο, εντοπίστηκαν διαφορές εντός των πληθυσμών γεγονός που σημαίνει ότι κάποιοι μικροοργανισμοί μπορούν να βρεθούν μόνο σε συγκεκριμένο περιβάλλον και μπορούν να αποικίσουν στην ιριδίζουσα</p>	<p>Lyons, P. P., Turnbull, J. F., Dawson, K. A., &amp; Crumlish, M. (2017).</p>

	<p>χρησιμοποιήθηκε για να προσδιοριστεί η λειτουργική προοπτική των κοινοτήτων που βρέθηκαν.</p>	<p>πέστροφα. Στην έρευνα βρέθηκαν μικροοργανισμοί που επηρεάζουν αισθητά τον μεταβολισμό.</p>	
<p><i>Oncorhynchus mykiss</i>, <i>Oncorhynchus tshawytscha</i></p>	<p>Από φάρμες στη Νέα Ζηλανδία και στην Τουρκία συλλέχθηκαν δείγματα από άτομα του είδους <i>Oncorhynchus mykiss</i> καθώς και του είδους <i>Oncorhynchus tshawytscha</i>. Στην συνέχεια έγινε αλληλούχιση του 16S βακτηριακού RNA.</p>	<p>Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα περισσότερα OTUs συσχετίστηκαν με το γένος <i>Mycoplasma</i> χωρίς ωστόσο να ταυτοποιηθούν με κάποιο ήδη υπάρχων είδος. Κατέληξαν στο ότι πιθανότατα πρόκειται για νέα είδη το γένους.</p>	<p>Mora-Sánchez, B., Pérez-Sánchez, T., &amp; Balcázar, J. L. (2020).</p>
<p><i>Oncorhynchus mykiss</i></p>	<p>Χρησιμοποιήθηκαν 1540 πέστροφες οι οποίες είχαν όλες αρχικό βάρος μέσο όρο <math>94,6 \pm 14,2</math> γραμμάρια. Οι ιριδίζουσες πέστροφες τράφηκαν με τροφή ζωικής προέλευσης (PBM). Ταΐστηκαν</p>	<p>Η τροφή έπαιξε καίριο ρόλο στη διαμόρφωση του γαστρικού μικροβιώματος. Οι πέστροφες που ταΐζονταν με ζωικής προέλευσης τροφή αναπτύχθηκαν το ίδιο καλά με αυτές που ταΐστηκαν τροφή πλούσια σε FM και χωρίς καθόλου PBM. Τα OTUs που βρέθηκαν ταξινομήθηκαν στα παρακάτω γένη, Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes and Actinobacteria.</p>	<p>Rimoldi, S., Terova, G., Ascione, C., Giannico, R., &amp; Brambilla, F. (2018)</p>

	με διαφορετικές τροφές για 12 εβδομάδες. Έγινε ανάλυση νέας γενιάς (NGS) για την ανάλυση του μικροβιώματος.	Η διατροφή που είχε ως βάση φυτικούς ιστούς ευνόησε την αναλογία Firmicutes:Proteobacteria σε σχέση με την διατροφή που βασιζόταν σε ζωικής προέλευσης τροφή.	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Ιριδίζουσες πέστροφες αναπτύχθηκαν σε συνθήκες φυτικής διατροφής και σε διάφορες πυκνότητες για 10 μήνες. Μελετήθηκε η ανάπτυξη του κάθε ιχθύος ξεχωριστά καθώς και με αλληλούχιση του 16S ριβοσωμικού RNA ερευνήθηκε το μικροβίωμα του εντέρου.	Βρέθηκαν 52 είδη βακτηρίων κοινά, τα οποία εντοπίστηκαν σε κάθε διατροφική μεταχείριση και πυκνότητα. Οι διαφορετικές συνθήκες πυκνότητας και διατροφής προκάλεσαν ελάχιστες αλλαγές. Η αλληλεπίδραση του περιβάλλοντος με την διατροφή φαίνεται να επηρέασε την αφθονία του γένους <i>Staphylococcus</i> .	Wong, S., Waldrop, T., Summerfelt, S., Davidson, J., Barrows, F., Kenney, P. B., Welch, T., Wiens, G. D., Snekvik, K., Rawls, J. F., & Good, C. (2013).
<i>Salmo trutta</i>	Καφέ πέστροφες αναπτύχθηκαν και στη συνέχεια συλλέχθηκαν ιστοί από διάφορα μέρη του εντέρου. Οι μικροοργανισμοί αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό	Οι ομάδες δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά κυρίαρχο είδος ήταν το <i>Carnobacterium maltaromaticum</i> . Εντοπίστηκαν πολλά OTUs σε όλο τον γαστρεντερικό σωλήνα ενώ κάποια συγκεντρώνονταν σε συγκεκριμένες περιοχές.	Ali Al-Hisnawi, Einar Ringø, Simon J Davies, Paul Waines, Graham Bradley & Daniel Lee Merrifield (2015)

	<p>υπόστρωμα με άγαρ σόγιας. Στη συνέχεια με τη χρήση PCR-DGGE αναλύθηκαν οι κοινότητες βακτηρίων του γαλακτικού οξέος (Lactic acid bacteria, LAB)</p>		
<p><i>Nephrops norvegicus</i></p>	<p>Αστακοί συλλέχθηκαν από τον Παγασιτικό κόλπο και κρατήθηκαν για 6 μήνες σε δεξαμενές, σε ελεγχόμενες συνθήκες. Εφαρμόστηκαν τρεις διαφορετικές διατροφικές μεταχειρίσεις, η πρώτη κατεψυγμένη φυσική τροφή, η δεύτερη πέλετ, και η τρίτη ήταν διατήρηση των ζώων σε συνθήκες ασιτίας. Λήφθηκαν δείγματα από το μικροβίωμα του εντέρου στην αρχή του πειράματος, και</p>	<p>Οι οργανισμοί οι οποίοι ταΐστηκαν βρέθηκαν πλούσιοι σε Gammaproteobacteria, Epsilonproteobacteria και Tenericutes. Η διατροφή οδήγησε στην ενίσχυση συγκεκριμένων βακτηριακών πληθυσμών οι οποίοι πιθανότατα σχετίζονται με την θρέψη των οργανισμών.</p>	<p>Meziti, A., Mente, E., &amp; Kormas, K. A. (2012).</p>

	στη συνέχεια μετά από τρεις μήνες και τέλος μετά από 6 μήνες. Έγινε αλληλούχιση του 16S ριβοσωμικού RNA τόσο στα δείγματα των ιχθύων, όσο και στις δεξαμενές και στις τροφές.		
<i>Ctenopharyngodon idellus</i> , <i>Carassius cuvieri</i> , <i>Hypophthalmichthys nobilis</i>	Συλλέχθηκαν μικροοργανισμοί από το πεπτικό σωλήνα των <i>Ctenopharyngodon idellus</i> , <i>Carassius cuvieri</i> , <i>Hypophthalmichthys nobilis</i> . Με εφαρμογή 454 πυροαλληλούχιση και με ανιχνεύσιμους εκκινητές εντοπίστηκαν οι V4 με V5 του 16S RNA βακτηριακού γονιδίου. Πραγματοποιήθηκε PCoA με σταθμισμένη	Εντοπίστηκαν πληθυσμοί των Fusobacteria, Firmicutes, Proteobacteria and Bacteroidetes και στα τρία είδη, σε σημαντικά διαφορετικές συγκεντρώσεις στο κάθε ένα. Στο είδος <i>Carassius cuvieri</i> βρέθηκε κυρίως το γένος <i>Cetobacterium</i> , ενώ στα άλλα δύο είδη βρέθηκε σε ποσοστό 40-60%. Στο είδος <i>Hypophthalmichthys nobilis</i> υπήρχε μεγαλύτερη ποικιλία βακτηρίων. Το μικροβίωμα δεν αντικατοπτρίζει μόνο με το περιβάλλον διαβίωσης αλλά και συμπεριφορικά μεταβολικά και ανοσοποιητικά χαρακτηριστικά.	Li, T., Long, M., Gatesoupe, F. J., Zhang, Q., Li, A., & Gong, X. (2015).

	απόσταση καθώς και Heatmap.		
<i>Macrobrachium nipponense</i>	Συλλέχθηκαν γαρίδες του είδους <i>Macrobrachium nipponense</i> , γένους αρσενικού από λίμνες και ποτάμια και συγκρίθηκαν με παρόμοιο κοντινό είδος. Από το δείγμα αφαιρέθηκαν τα εντόσθια και με πυροαλληλούχιση έγινε μικροβιολογική ανάλυση.	Τα γένη που βρέθηκαν σε αφθονία ήταν τα Proteobacteria, Firmicutes και Actinobacteria. Η διαφορά μεταξύ των ειδών δεν ήταν τόσο μεγάλη όσο η διαφορά μεταξύ των οργανισμών που προέρχονταν από λίμνες και εκείνων που προέρχονταν από ποτάμια.	Tzong-Der Tzeng, Yueh-Yang Pao, Po-Cheng Chen, Francis Cheng-Hsuan Weng, Wen Dar Jean, Daryi Wang (2015)
<i>Salmo salar</i>	Ιχθύες του είδους <i>Salmo salar</i> χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Η κάθε μία σιτίστηκε με διαφορετική τροφή, η μία είχε ως βάση το ιχθυάλευρο (FM) ενώ η άλλη του αλεύρι σόγιας (SBM). Τέσσερις με έξι ώρες μετά την τελευταία σίτιση συλλέχθηκαν πέντε άτομα από την κάθε	Τα κυρίαρχα γένη που εντοπίστηκαν ήταν τα <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Lactococcus sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Photobacterium phosphoreum</i> , <i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> και <i>Vibrio sp.</i> Επίσης ανιχνεύθηκαν βακτήρια γαλακτικού οξέος καθώς και τα γένη <i>Vibrio sp.</i> , <i>Acinetobacter sp.</i> και <i>Pseudomonas sp.</i> , τα οποία δεν είχαν εντοπιστεί στις άμεσες αναλύσεις που είχαν πραγματοποιηθεί.	Maria Befring Hovda, Bjørn Tore Lunestad, Ramon Fontanillas, Jan Thomas Rosnes (2007)



	<p>ομάδα. Αφαιρέθηκε ο πεπτικός σωλήνας και με τη χρήση PCR και DGGE ανάλυσης έγινε περαιτέρω ανάλυση των δειγμάτων. Επίσης έγινε ανάλυση και με την υπομονάδα 16S ριβοσωματικού RNA.</p>		
<i>Sparus aurata</i>	<p>Άτομα του είδους <i>Sparus aurata</i> συλλέχθηκαν και σιτίστηκαν με βιολογική τροφή και με μη βιολογική, συμβατική τροφή για 12 μήνες. Με την ανάλυση της 16S RNA υπομονάδας οι βακτηριακοί πληθυσμοί ταξινομήθηκαν και συγκρίθηκαν με τους αντίστοιχους βακτηριακούς πληθυσμούς άγριων ατόμων του γένους.</p>	<p>Τα περισσότερα βακτήρια που βρέθηκαν ανήκαν στα γένη Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria, και Bacteroidetes. Η βιολογική τροφή επηρέασε αρνητικά την παρουσία των OTUs καθώς βρέθηκε αρκετά μειωμένος αριθμός στα άτομα που τράφηκαν με αυτή. Σε όλα τα άτομα σε αφθονία βρέθηκαν είδη του γένους <i>Diaphorobacter</i>. Τα OTUs που εντοπίστηκαν στα άγρια άτομα ήταν ακόμα λιγότερα. Πιο συγκεκριμένα 17 OTUs βρέθηκαν κοινά σε όλες τις περιπτώσεις, τα 12 ήταν κοινά ανάμεσα στα άτομα τα οποία σιτίστηκαν με τις δύο διαφορετικές τροφές και τα 5 ήταν κοινά ανάμεσα στα άγρια άτομα τσιπούρας και στα άτομα που τράφηκαν με συμβατική τροφή.</p>	<p>Konstantinos A. Kormas, Alexandra Meziti, Eleni Mente &amp; Athanasios Frentzos (2014)</p>

<i>Lates calcarifer</i>	Ελέγχθηκαν τέσσερις διαφορετικές διατροφικές μεταχειρίσεις σε νεαρά άτομα του είδους <i>Lates calcarifer</i> . Η πρώτη είχε ως βάση το λούπινο, η δεύτερη ήταν γεύμα BSF, η τρίτη ήταν ΤΗ και η τέταρτη ήταν τροφή βασισμένη στο κοτόπουλο (PBM). Μια ακόμα ομάδα σιτίστηκε με συμβατική τροφή ιχθυοκαλλιέργειας.	Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα άτομα που ταΐστηκαν με τροφή 50% συμβατική παρουσίασαν αλλαγή στον πληθυσμό των βακτηρίων του γένους <i>Psychrobacter</i> . Συμπερασματικά, η πλήρης αντικατάσταση της συμβατικής τροφής δεν προτείνεται και οι αλλαγές θα πρέπει να γίνονται βάση τη φυσική κατάσταση του είδους.	Gupta, S.K., Fotedar, R., Foysal, M.J. et al. (2020)
-------------------------	---	---	--

## 5. Συμπεράσματα

Η ανάπτυξη των μοριακών τεχνικών και της Βιοπληροφορικής, έχουν συμβάλει αναμφίβολα στην καλύτερη μελέτη των μικροοργανισμών.. Όσον αφορά τη μελέτη του μικροβιώματος των ιχθύων, είναι σαφές πως η σημαντικότητα των επιστημονικών αυτών επιτευγμάτων είναι ανεκτίμητη καθώς μέσω της επισταμένης μελέτης τόσο των οργανισμών όσο και των μεταξύ τους σχέσεων, θα υπάρξει η δυνατότητα ανάπτυξης νέων τροφών ιχθυοκαλλιέργειας. Όπως προαναφέρθηκε, οι προβιοτικοί οργανισμοί, συμβάλουν στην ανάπτυξη του ανοσοποιητικού, σε σημείο που η χορήγηση τους να θεωρηθεί ικανή να αντικαταστήσει στο μέλλον τα αντιβιοτικά τα οποία χρησιμοποιούνται κατά κόρον στις εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες (Ghanbari et al.2015).

Οι Heikkinen et al. (2006) αναφέρουν ότι οι βακτηριακές κοινότητες αλληλοεπιδρούν με τον ξενιστή άμεσα τόσο στα πτηνά όσο και στα θηλαστικά και στα ψάρια. Είναι γεγονός ότι εμπνευσμένοι από την επιρροή του μικροβιώματος στο ανοσοποιητικό, όσον αφορά τα θηλαστικά, ο τομέας της ιχθυοκαλλιέργειας δείχνει έντονο ενδιαφέρον για την ενίσχυση του ανοσοποιητικού με την χρήση προβιοτικών. Για το λόγω αυτό γίνεται η προσπάθεια ενίσχυσης της τροφής με τέτοιου είδους μικροοργανισμούς. Πέρα από την στήριξη του ανοσοποιητικού, άλλα οφέλη της χρήσης τους είναι η καλύτερη πέψη της τροφής καθώς και η καλύτερη εντερική υγεία.

Από τη μελέτη που έγινε για την σύνταξη της εργασίας μπορούμε να πούμε ότι η διατροφή μπορεί να επηρεάσει αλλά όχι στατιστικώς σημαντικά, τις βακτηριακές κοινότητες των ιχθύων.

## 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 5.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

1. RJ Behnke, “Native Trout of Western North America”, American Fisheries Society, 1992
2. Warren, M. (2020). Percopsidae: Trout-perches. *Freshwater Fishes of North America.*, 2, 261-280.
3. Gerald R. Smith & Ralph F. Stearley (1989) The Classification and Scientific Names of Rainbow and Cutthroat Trouts, *Fisheries*, 14:1, 4-10, DOI:
4. Tyler, C. R., Pottinger, T. G., Santos, E., Sumpter, J. P., Price, S. A., Brooks, S., & Nagler, J. J. (1996). Mechanisms controlling egg size and number in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Biology of Reproduction*, 54(1), 8-15.
5. Klindworth, A.; Pruesse, E.; Schweer, T.; Peplies, J.; Quast, C.; Horn, M.; Glöckner, F.O. (2013) Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*. 41(1):e1. doi:10.1093/nar/gks808
6. Wu, M., & Scott, A. J. (2012). Phylogenomic analysis of bacterial and archaeal sequences with AMPHORA2. *Bioinformatics*, 28(7), 1033-1034.
7. Ghanbari, Mahdi & Kneifel, Wolfgang & Domig, Konrad. (2015). A new view of the fish gut microbiome: Advances from next-generation sequencing. *Aquaculture*. 448. 464-475. 10.1016/j.aquaculture.2015.06.033.
8. Parshukov, A. N., Kashinskaya, E. N., Simonov, E. P., Hlunov, O. V., Izvekova, G. I., Andree, K. B., & Solovyev, M. M. (2019). Variations of the intestinal gut microbiota of farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), depending on the infection status of the fish. *Journal of applied microbiology*, 127(2), 379–395. <https://doi.org/10.1111/jam.14302>
9. Lyons, P. P., Turnbull, J. F., Dawson, K. A., & Crumlish, M. (2017). Phylogenetic and functional characterization of the distal intestinal microbiome of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* from both farm and aquarium settings. *Journal of applied microbiology*, 122(2), 347–363. <https://doi.org/10.1111/jam.13347>

10. Brenda Mora-Sánchez, Tania Pérez-Sánchez, José Luis Balcázar, Phylogenetic analysis of intestinal microbiota reveals novel Mycoplasma phylotypes in salmonid species, *Microbial Pathogenesis*, Volume 145, 2020, 104210, ISSN 0882-4010, <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104210>.
11. Rimoldi, S., Terova, G., Ascione, C., Giannico, R., & Brambilla, F. (2018). Next generation sequencing for gut microbiome characterization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed animal by-product meals as an alternative to fishmeal protein sources. *PloS one*, 13(3), e0193652. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193652>
12. Wong, S., Waldrop, T., Summerfelt, S., Davidson, J., Barrows, F., Kenney, P. B., Welch, T., Wiens, G. D., Snekvik, K., Rawls, J. F., & Good, C. (2013). Aquacultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) possess a large core intestinal microbiota that is resistant to variation in diet and rearing density. *Applied and environmental microbiology*, 79(16), 4974–4984. <https://doi.org/10.1128/AEM.00924-13>
13. Al-Hisnawi, Ali & Ringoe, Einar & Davies, Simon & Waines, Paul & Bradley, Graham & Merrifield, Daniel. (2014). First report on the autochthonous gut microbiota of brown trout (*Salmo trutta* Linnaeus). *Aquaculture Research*. 46. 10.1111/are.12451.
14. Meziti, A., Mente, E., & Kormas, K. A. (2012). Gut bacteria associated with different diets in reared *Nephrops norvegicus*. *Systematic and applied microbiology*, 35(7), 473–482. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2012.07.004>
15. Li, T., Long, M., Gatesoupe, F. J., Zhang, Q., Li, A., & Gong, X. (2015). Comparative analysis of the intestinal bacterial communities in different species of carp by pyrosequencing. *Microbial ecology*, 69(1), 25–36. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0480-8>
16. Tzeng, T. D., Pao, Y. Y., Chen, P. C., Weng, F. C., Jean, W. D., & Wang, D. (2015). Effects of Host Phylogeny and Habitats on Gut Microbiomes of Oriental River Prawn (*Macrobrachium nipponense*). *PloS one*, 10(7), e0132860. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132860>
17. Maria Befring Hovda, Bjørn Tore Lunestad, Ramon Fontanillas, Jan Thomas Rosnes, Molecular characterisation of the intestinal microbiota of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), *Aquaculture*, Volume 272, Issues 1–4, 2007,

Pages 581-588, ISSN 0044-8486,  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.045>.

18. Kormas, K. A., Meziti, A., Mente, E., & Frentzos, A. (2014). Dietary differences are reflected on the gut prokaryotic community structure of wild and commercially reared sea bream (*Sparus aurata*). *MicrobiologyOpen*, 3(5), 718–728. <https://doi.org/10.1002/mbo3.202>
19. Gupta, S.K., Fotedar, R., Foysal, M.J. *et al.* Impact of varied combinatorial mixture of non-fishmeal ingredients on growth, metabolism, immunity and gut microbiota of *Lates calcarifer* (Bloch, 1790) fry. *Sci Rep* **10**, 17091 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72726-9>

## 5.2 Ελληνική βιβλιογραφία

1. Gavriilidou, I., Batzios, C., & Fotis, G. (2003). *Reproductive Output of Rainbow Trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum), Fed Increasing Levels of Ascorbic Acid* (No. RefW-22-17918). Aristotle University of Thessaloniki.
2. Έλενα Μεντέ, Ιωάννης Νέγκας, «Στοιχεία Φυσιολογίας Θρέψεως και Εφαρμοσμένη Διατροφή Ιχθύων και Καρκινοειδών.», Εκδόσεις Παπαζήση ΑΕΒΕ., 2011.
3. Φώτης Δ. Γεώργιος, Παναγιώτης Γ. Αγγελίδης, «Εκτροφή και Παθολογία Ιχθύων, Τόμος Πρώτος», Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, 2003
4. Ευθυμία Αντωνοπούλου, «Καλλιέργεια Ιχθύων, Διατροφή και Θρέψη.», Κεφάλαιο 3.

## 5.3 Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

1. Froese, R. and D. Pauly. Editors. (2021). FishBase. *Salmo mykiss* Walbaum, 1792. Accessed through: World Register of Marine Species at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=306027> on 2021-09-26
2. Ridolfi, K. 2006. "Oncorhynchus mykiss" (On-line), Animal Diversity Web. Accessed September 28, 2021 at [https://animaldiversity.org/accounts/Oncorhynchus\\_mykiss/](https://animaldiversity.org/accounts/Oncorhynchus_mykiss/)
3. CABI.org <https://www.cabi.org/isc/datasheet/71813> accessed 28/9/20201

4. Schloss PD, Gevers D, Westcott SL (2011) Reducing the Effects of PCR Amplification and Sequencing Artifacts on 16S rRNA-Based Studies. PLOS ONE 6(12): e27310. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027310>