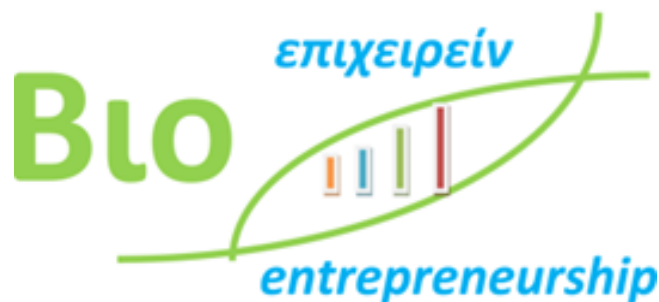




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΧΗΜΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

**ΔΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ**



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΠΡΟΜΕΛΕΤΗ ΣΚΟΠΙΜΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΑΝΑΣΥΝΔΙΑΣΜΕΝΩΝ ΠΕΠΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ (ΘΡΥΨΙΝΗΣ, ΑΜΥΛΑΣΗΣ) ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΟΝ ΠΡΟΩΡΟ ΑΠΟΓΑΛΑΚΤΙΣΜΟ ΤΟΥ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ (*DICENTRARCHUS LABRAX*).

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ΜΟΥΤΟΥ, ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ.

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΦΟΙΤΗΤΗ: ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

A.M.: 00082

ΛΑΡΙΣΑ, 2022

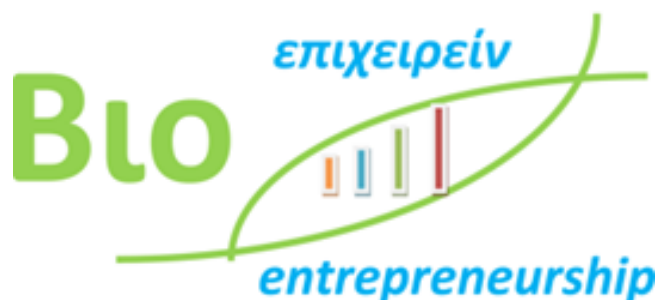


UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY
NATIONAL HELLENIC RESEARCH FOUNDATION
INSTITUTE OF CHEMICAL BIOLOGY



INTERSTITUTIONAL PROGRAM OF POSTGRADUATE STUDIES

IN



MASTER THESIS

FEASIBILITY STUDY FOR THE CREATION OF RECONSTRUCTED DIGESTIVE ENZYMES (TRYPSIN, AMYLASE) FOR THE PURPOSE OF THE EARLY WEAPPING OF SEA BASS (*DICENTRARCHUS LABRAX*).

SUPERVISOR: AIKATERINI MOUTOU, ASSOCIATE PROFESSOR

TRIANTAFYLLOU KONSTANTINOS

A.M.:00082

LARISA, 2022

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο σπουδών για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στο

ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ

που απονέμει το Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Εγκρίθηκε την από την τριμελή
εξεταστική επιτροπή:

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΔΑ	ΥΠΟΓΡΑΦΗ
ΜΟΥΤΟΥ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ	ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Π.Θ	
ΖΩΓΡΑΦΟΣ ΣΠΥΡΙΔΩΝ	ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΕΡΕΥΝΩΝ ΕΙΕ.	
ΛΕΩΝΙΔΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ	ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Π.Θ	

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε στο πλαίσιο του μεταπτυχιακού προγράμματος ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ που συνδιοργανώνεται από το Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών και το Τμήμα Βιοχημείας Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου και να ευχαριστήσω έναν αριθμό ανθρώπων, χωρίς τους οποίους δεν θα ήταν δυνατή η πραγματοποίηση της μεταπτυχιακής μου εργασίας, όπως επίσης δε θα ήταν ίδια και η εμπειρία του μεταπτυχιακού.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια Αικατερίνη Μούτου για την υπομονή και την καθοδήγηση που μου παρείχε κατά την διάρκεια της εργασίας. Κατόπιν θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον κ. Τρούλη ο οποίος από την πρώτη διάλεξη του στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα με έκανε να θέλω να συνδυάσω μια ερεύνα με το κομμάτι της προμελέτης για την σκοπιμότητα ενός προϊόντος, καθώς και για το γεγονός ότι με βοήθησε πολύ με τις οδηγίες του, στο να δομήσω την εργασία.

Τέλος θα ήθελα να πω ένα ευχαριστώ στους δικούς μου ανθρώπους για την στήριξη που μου παρείχαν καθ' όλη την διάρκεια της εργασίας αυτής.

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	4
1.ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
1.ABSTRACT.....	7
2.ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΣΚΟΠΟΣ.....	8
ΣΚΟΠΟΣ.....	8
3.ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ.....	9
3.1 Υδατοκαλλιέργειες και ιστορική αναδρομή.....	9
3.2 Οι υδατοκαλλιέργειες παγκοσμίως.....	10
3.3 Κατηγορίες υδατοκαλλιεργειών.....	11
3.3.1 Εκτατική υδατοκαλλιέργεια.....	11
3.3.2 Ημιεντατική υδατοκαλλιέργεια.....	12
3.3.3 Εντατική υδατοκαλλιέργεια.....	13
3.4 Οι υδατοκαλλιέργειες στην Ελλάδα.....	13
3.5 Ιχθυογεννητικοί σταθμοί Μεσογειακών θαλάσσιων ειδών.....	15
3.6 Ζωντανή τροφή και σημαντικότητα αυτής.....	17
3.7 Εκτρεφόμενο είδος - Λαβράκι (Dicentrarchuslabrax).....	18
3.8Διατροφή υδρόβιων οργανισμών.....	21
3.9 Ιχθυοτροφές.....	22
4.ΠΑΡΑΓΩΓΗ-ΚΟΣΤΗ.....	25
4.1 Παραγωγή ενζύμων-φυσιολογική δράση.....	25
4.2 Περιγραφή συστήματος παραγωγής πεπτικών ενζύμωνστο εργαστήριο.....	27
4.3 Χορήγηση προϊόντος - εμπλουτισμός.....	30
4.4Παρακολούθηση της επίδοσης των εμπλουτισμένων σύμπληκτων σε ιχθυογεννητικό σταθμό.....	30
4.4.1 Μεθοδολογία εκτροφής.....	31
4.4.2 Συγκριτικές επιδόσεις των πρωτοκόλλων.....	32
4.4.3 Ανάλυση ωφελειών από το επιτυχημένο πρωτόκολλο β.....	33
5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	35
6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	37

1.ΠΕΡΙΛΗΨΗ.

Ο κλάδος των υδατοκαλλιεργειών και ειδικά των ιχθυοκαλλιεργειών είναι άμεσα εξαρτώμενος από την κλάδο των τροφίμων. Σε καλλιεργούμενους ιχθυοπληθυσμούς η βελτιστοποίηση της διατροφής συντελεί στην καλύτερη ποιότητα του τελικού προϊόντος που στην παρούσα μελέτη είναι το λαβράκι (*Dicentrarchus Labrax*). Η παρούσα ερευνητική μελέτη στοχεύει στην εύρεση και χορήγηση κατάλληλης σίτισης ώστε να επιτευχθεί σμίκρυνση του χρόνου απογαλακτισμού κατά μια εβδομάδα. Ο επιτυχημένος απογαλακτισμός επιτυγχάνεται με τον εμπλουτισμό των ιχθυοτροφών με τα ένζυμα θρυψίνη και αμυλάση. Αρχικά διεξάγεται εργαστηριακή παραγωγή των ανασυνδυασμένων πεπτικών ενζύμων θρυψίνης και αμυλάσης. Με το πέρας της παρασκευής αυτών των ενζύμων σειρά έχει ο εμπλουτισμός των ιχθυοτροφών με τα ανασυνδυασμένα ένζυμα μέσω της διαδικασίας ψεκασμού. Πραγματοποιήθηκε πείραμα διατροφής στο οποίο χρησιμοποιήθηκαν 6 δεξαμενές ίδιων συνθηκών (θερμοκρασίας, οξυγόνου, αλατότητας κ.α.), χωρισμένες σε δύο σέτ των τριών για δυο διαφορετικά πρωτόκολλα σίτισης Α και Β. Το πρωτόκολλο Α περιλάμβανε τη διατροφή αρχικά με ζωντανή τροφή και μετά την χορήγηση εμπορικής τροφής, ενώ το πρωτόκολλο Β περιλάμβανε την παροχή ζωντανής τροφής και κατόπιν την συγχορήγηση των ανασυνδυασμένων ενζύμων. Σε κάθε περίπτωση οι προνύμφες σιτίστηκαν με ζωντανές τροφές (φυτοπλαγκτόν, ζωοπλαγκτόν και *Artemia*) το διάστημα από την 3^η έως την 27^η ημέρα.

Κατά την διάρκεια του πειράματος μετρήθηκαν οι ακόλουθοι δείκτες: 1) μηκών 15^{ης}, 40^{ης} και 50^{ης} ημέρας 2) λειτουργικής νηκτικής κύστης, 3) διασποράς αύξησης, 4) επιβίωσης, 5) παραγωγικότητας δεξαμενής και 6) σκελετικών ανωμαλιών. Από τα αποτελέσματά των παραπάνω δεικτών ακολούθησε ανάλυση των δεδομένων και παρατέθηκαν τα ποιοτικά άμεσα και έμμεσα οφέλη. Οφέλη που αποσβένουν το υψηλό κόστος παραγωγής των ανασυνδυασμένων ενζύμων θρυψίνης και αμυλάσης. Τέλος, ακολουθεί το κομμάτι των συμπερασμάτων για την καλύτερη κατανόηση αυτών.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:

Πεπτικά ένζυμα, εμπλουτισμός, συγχορήγηση, απογαλακτισμός, ωφέλειες.

1. ABSTRACT.

The aquaculture sector and especially the fish farming sector is directly dependent on the food sector. In cultivated fish populations, the optimization of the diet contributes to the better quality of the final product, which in this study is the sea bass (*Dicentrarchus Labrax*). The present research study aims to find and administer a proper diet to achieve shortening of the premature weaning by one week. Successful weaning is achieved by the administration of fish feed enriched with enzymes trypsin and amylase. Initially, recombinant digestive enzymes and trypsin and amylase are produced in the laboratory. Then, the fish feed is enriched with the recombinant enzymes through the spraying process. A feeding experiment was performed in which 6 tanks of the same conditions (temperature, oxygen, salinity, etc.) were divided in two sets (3 tanks each) for the employment of two different feeding protocols, A and B. Protocol A included feeding initially with live food and then with commercially available fish-food, while in protocol B the feeding with live food was followed by the feeding of food enriched with the recombinant digestive enzymes. In each case the larvae were fed with live food (phytoplankton, zooplankton, Artemia) from day 3 to day 27. The following indicators were measured during the experiment: 1) day lengths 15th, 40th, 50th 2) functional fasting bladder, 3) increase dispersion, 4) survival, 5) reservoir productivity and 6) skeletal abnormalities. The values of these indicators were qualitatively analysed for direct and indirect effects in the market value.

2.ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΣΚΟΠΟΣ.

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας – προμελέτης σκοπιμότητας είναι η δημιουργία ενός καινοτόμου προϊόντος ανασυνδυασμένων πεπτικών ενζύμων (θρυψίνης, αμυλάσης) για τον εμπλουτισμό τροφών απογαλακτισμού σε ιχθυογεννητικούς σταθμούς λαβρακιού. Στόχος του παραπάνω προϊόντος είναι να επιταχύνει κατά μια εβδομάδα τουλάχιστον το στάδιο του απογαλακτισμού των ιχθυδίων από τις ζωντανές τροφές, διότι το κόστος των τμημάτων παραγωγής φυτοπλαγκτού, ζωοπλαγκτού είναι το δεύτερο μεγαλύτερο έξοδο για έναν ιχθυογεννητικό σταθμό. Παράλληλα, εκτός από το οικονομικό όφελος μέσω της συγχορήγησης ανασυνδυασμένων πεπτικών ενζύμων στοχεύουμε σε καλύτερη ποιότητα γόνου, καθώς ο εμπλουτισμός με τα πεπτικά ένζυμα θα προωθήσει μια γρηγορότερη ανάπτυξη του πεπτικού σωλήνα και άρα θα επιτευχθεί μεγαλύτερη βιωσιμότητα και βελτιωμένη μετατρεψιμότητα τροφής. Επιπροσθέτως, σημαντικό θεωρείται και το γεγονός ότι θα μειωθεί και η εξάρτηση της ιχθυογέννησης από *Artemia*, η οποία είναι φυσικό απόθεμα με τιμολογιακές διακυμάνσεις. Τέλος, εκτός από τα παραπάνω, σε περίπτωση επιτυχούς προϊόντος ξεχωριστής σημασίας αποτελεί η δημιουργία πλάνου στρατηγικής – πολιτικής, γι' αυτό το λόγο ακολουθεί και προμελέτη σκοπιμότητας για την δημιουργία του προϊόντος αυτού ή όχι.

3.ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ.

3.1 Υδατοκαλλιέργειες και ιστορική αναδρομή

Με τον όρο υδατοκαλλιέργειες εννοούμε τις επιχειρηματικές δραστηριότητες εκείνες για την εκτροφή και καλλιέργεια (εμπορική εκμετάλλευση) υδρόβιων οργανισμών. Ο κλάδος των υδατοκαλλιεργειών, της γεωργίας και της κτηνοτροφίας αποτελούν τους πυλώνες της πρωτογενούς παραγωγής. Οι υδατοκαλλιέργειες στην πράξη είναι η υδάτινη μορφή της πρωτογενούς παραγωγής και γι' αυτό άλλωστε διέπονται από τους ίδιους θεμελιώδεις νόμους και αρχές και αντιμετωπίζουν κοινά προβλήματα με οποιαδήποτε πρωτογενή παραγωγή (Παπουτσόγλου,1997). Η βασικότερη διαφορά τους είναι το περιβάλλον διαβίωσης των οργανισμών.

Το ξεκίνημα της υδατοκαλλιέργειας χρονολογείται πριν από αιώνες. Υπάρχουν στοιχεία για αλιεία ψαριών και «καλλιέργεια» σε λιμνοθάλασσες και λίμνες που χρονολογούνται για πάνω από 2.000 χρόνια. Οι υδατοκαλλιέργειες εμφανίστηκαν σε περιοχές που όχι μόνο πληρούσαν τις κατάλληλες συνθήκες, αλλά εφαρμοστήκαν και από μη νομαδικούς λαούς που κατοικούσαν σταθερά σε μία περιοχή. Οι παραπάνω προϋποθέσεις χαρακτηρίζαν κυρίως πληθυσμούς της Νότιας Άπω Ανατολής. Οι Κινέζοι, το 500 π.Χ., έθεσαν τα θεμέλια καλλιεργώντας κοινούς Κυπρίνους (*Cyprinus carpio*), ένα είδος το οποίο συναντάται στις λίμνες και στα ποτάμια τους. Πιο συγκεκριμένα, στον Κινέζο πολιτικό Fan Lei αποδίδεται το πρώτο γραπτό που αναφέρεται στις ιχθυοκαλλιέργειες, στο οποίο διατείνεται πως τα πλούτη του οφείλονται στην καλλιέργεια των κυπρίνων (Lling, 1977; Rabanal, 1988). Επίσης, γύρω στο 2000 π.Χ. στην Αίγυπτο ξεκίνησε η εκτροφή του είδους *Tilapia nilotita*, ενώ τότε έλαβε χώρα και η πρώτη προσπάθεια εκτροφής στρειδιών σε περιοχές Ιαπωνικών νήσων. Τον 5^ο αιώνα στην Αρχαία Ελλάδα ασκούσαν με επιτυχία οστρακοκαλλιέργειες. (Basurco & Lovatelli 2003)

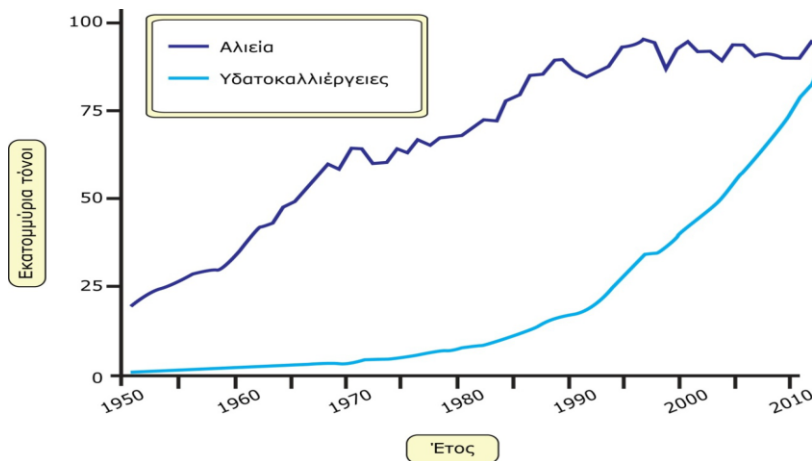
Η θεμελιώδης διαφορά ανάμεσα στην πρώιμη και την σύγχρονη καλλιέργεια θαλάσσιων οργανισμών είναι πως τότε αιχμαλώτιζαν τους πληθυσμούς και τους μετέφεραν σε ένα τεχνητό περιβάλλον για να επιτευχθεί η πάχυνση (Εικόνα 1), ενώ τώρα η παραγωγή είναι πλήρως καθετοποιημένη και όλα της τα στάδια λαμβάνουν χώρα εντός της υδατοκαλλιέργειας. Τέλος, σημείο αναφοράς για τις ιχθυοκαλλιέργειες υπήρξε το 1733, όταν επιτεύχθηκε η συλλογή και γονιμοποίηση αυγών πέστροφας καθώς και η εκκόλαψη και εκτροφή ιχθυδίων στην Γερμανία (Nash,2011; Rabanal,1988).



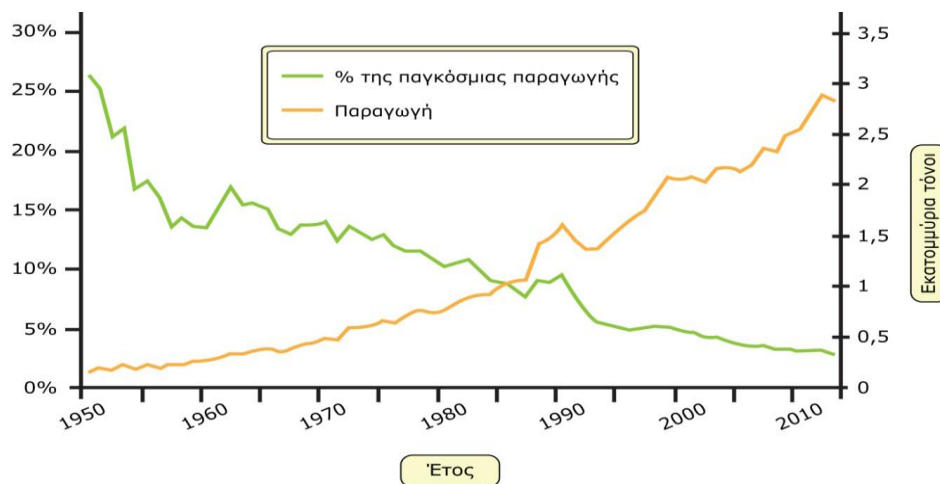
Εικόνα 1: η αρχή της ιχθυοκαλλιέργειας

3.2 Οι υδατοκαλλιέργειες παγκοσμίως

Οι υδατοκαλλιέργειες είναι ένας κλάδος που αναπτύσσεται όλο και περισσότερο με την πάροδο των χρόνων. Σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων & Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (FAO) η παγκόσμια παραγωγή υδατοκαλλιεργειών αυξάνεται συνεχώς με ποσοστό 10-20% ετησίως, όχι όμως για όλα τα είδη. Οι μονάδες παρουσιάζουν χαρακτηριστικά βιομηχανικής κλίμακας, καθώς καθετοποιούν τις παραγωγές τους με αποτέλεσμα να γίνονται περισσότερο αυτόνομες. Ο μεγαλύτερος ρυθμός αύξησης παραγωγής σημειώθηκε το 1990-1999 (Εικόνα 2), όπου η άνθηση του κλάδου ήταν τόσο μεγάλη που χαρακτηρίστηκε ως “blue revolution” (μπλε επανάσταση), μετατρέποντας την στην ταχύτερα αναπτυσσομένη βιομηχανία της εποχής (Holmes,1996). Η υδατοκαλλιέργεια, αν και δεν έχει πλέον την δυναμική ανάπτυξης των δεκαετιών του 1980 και του 1990, συνεχίζει να αναπτύσσεται ταχύτερα από άλλους σημαντικούς κλάδους παραγωγής τροφίμων. Σύμφωνα με τα διαθέσιμα στοιχεία του FAO έχει καταγραφεί ανά τον κόσμο μέχρι σήμερα τουλάχιστον η εκτροφή 580 διαφορετικών ειδών με διαφορετικά συστήματα και τεχνολογίες εκτροφής στη θάλασσα ή σε εσωτερικά ύδατα. Τα 360 εξ’ αυτών είναι είδη ψαριών. Αυτό οφείλεται κυρίως στην ταχύτατη τεχνολογική ανάπτυξη που έχει επιτευχθεί στον τομέα τις τελευταίες δεκαετίες. Παράλληλα όμως υπάρχουν και πολλές εγκαταστάσεις που παραμένουν σε επίπεδο οικογενειακής παραγωγής εξειδικεύοντας τα προϊόντα τους ή συνδυάζοντας τις μικρές υδατοκαλλιέργειές τους με άλλες εργασίες του πρωτογενούς τομέα. Η Ευρώπη διαθέτει τη μεγαλύτερη ποικιλία τύπων εκτροφής και εκτρεφόμενων ειδών (Εικόνα 3), με κυριότερα είδη εκτροφής την τσιπούρα (*Sparus aurata*), το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*), το σολομό του Ατλαντικού (*Salmosalar*), την πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) και τον κυπρίνο (*Cyprinus carpio*).



Εικόνα 2: Ετήσια μεταβολή της παραγωγής της εμπορικής αλιείας και της υδατοκαλλιέργειας σε παγκόσμιο επίπεδο (στοιχεία από FAO, 2015).



Εικόνα 3: Ετήσια μεταβολή στην παραγωγή της Ευρωπαϊκής υδατοκαλλιέργειας και στο ποσοστό που αντιπροσωπεύει στην παγκόσμια παραγωγή (στοιχεία από FAO 2015).

3.3 Κατηγορίες υδατοκαλλιεργειών

3.3.1 Εκτατική υδατοκαλλιέργεια

Αποτελεί την πρώτη μορφή υδατοκαλλιέργειας που εφαρμόστηκε και στόχος αυτής αποτελεί η παγίδευση των άγριων υδρόβιων ζώων μέσα σε λιμνοθάλασσες, υδάτινες λεκάνες ή αβαθείς μικρές λίμνες, έτσι ώστε να είναι διαθέσιμα οποιαδήποτε στιγμή. Η εκτατική υδατοκαλλιέργεια χαρακτηρίζεται από πολυκαλλιέργεια, χαμηλή ιχθυοπυκνότητα (0,03 – 1 tn/ha) αλλά και τη μη χορήγηση τροφής. Το σύστημα αυτό βασίζεται στις τυπικές ή όχι μεταναστεύσεις ψαριών. Μετά την εκκόλαψη των αυγών και την παραμονή των ιχθυδίων, για μικρό ή για μεγάλο διάστημα, στην ανοικτή θάλασσα, ακολουθεί η μετανάστευση και η είσοδος τους σε ημίκλειστες παράκτιες

περιοχές, όπου οι φυσικοχημικές αλλά και οι βιολογικές τους συνθήκες, παρέχουν σε αυτά κατάλληλο περιβάλλον αναπτύξεως. Αυτήν την εποχή της εισόδου των ιχθυδίων, οι ελεγχόμενοι είσοδοι των υδατοσυλλογών είναι ανοικτές. Κλείνουν μετά την μαζική είσοδο των ιχθυδίων και παραμένουν κλειστές μέχρι την επόμενη περίοδο. Όταν το περιβάλλον των υδατοσυλλογών αυτών αλλοιωθεί, κυρίως από την άποψη της θερμοκρασίας του νερού, ή όταν οι οργανισμοί, για άλλους λόγους κυρίως γεννητικής ωριμότητας, προσπαθήσουν να επιστρέψουν στην ανοικτή θάλασσα, εγκλωβίζονται σε κατάλληλες συνθήκες, από τις οποίες αλιεύονται εύκολα. (Παπουτσόγλου, 1997).

3.3.2 Ημιεντατική υδατοκαλλιέργεια

Σε αυτές τις περιπτώσεις δεν υπάρχει μόνο φυσική ανάπτυξη των ειδών σε λίμνες ή λιμνοθάλασσες, αλλά και υποβοηθούμενη εκτροφή μέσω εισαγωγής στις υδάτινες λεκάνες ιχθυδίων που έχουν γεννηθεί σε εκκολαπτήρια, καθώς και χορήγηση τροφής. Ο τύπος αυτός εκτροφής εφαρμόζεται σε μικρές τεχνητές λίμνες 50 – 100ha, σε περικόλιστα που μπορούν να κατασκευασθούν εντός ή περιφερειακά των υδατοσυλλογών και σε χωμάτινες δεξαμενές από 1 έως 10ha, όπου εκτρέφονται είδη όπως, "άγρια" πέστροφα, πέρκα, τούρνα (λούτσος των ποταμών) αλλά και είδη όλων των άλλων οικογενειών, συνήθως με την μέθοδο της πολυκαλλιέργειας. Σε αυτόν το τύπο καλλιέργειας η διατροφή των ψαριών βασίζεται σε ποσοστό 20 – 30% σε ιχθυοτροφές που παρέχονται από τον εκτροφέα ενώ σε ποσοστό 70 – 80% σε φυσικούς οργανισμούς (τροφική αλυσίδα). Την κατάλληλη εποχή αλιεύονται γεννήτορες και με φυσικό ή ελεγχόμενο τρόπο απελευθερώνουν τα γεννητικά τους προϊόντα. Οι προνύμφες παραμένουν στις λεκάνες των γεννητόρων και μετά από 10 – 60 ημέρες μεταφέρονται σε λεκάνες γόνου κατάλληλα προετοιμασμένες, με πλούσια φυσική τροφή ή απομακρύνονται οι γεννήτορες και παραμένουν οι προνύμφες. Με το πέρας σχεδόν 1-2 μηνών λαμβάνει χώρα η μεταφορά των προνυμφών σε λεκάνες πάχυνσης. Η ενίσχυση της πρωτογενούς παραγωγής θεωρείται απαραίτητη σε όλα τα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας. Το πλέον χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η εκτροφή κυπρίνων σε λίμνες, η οποία είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη στις χώρες της κεντρικής Ευρώπης (Περδικάρης Κ. κ.α., 2006).

3.3.3 Εντατική υδατοκαλλιέργεια

Η εντατική θαλασσοκαλλιέργεια αναφέρεται στις εκμεταλλεύσεις εκτροφής ή καλλιέργειας υδρόβιων οργανισμών, όπου ο άνθρωπος επεμβαίνει σε όλα τα στάδια ανάπτυξης, χρησιμοποιώντας διάφορες τεχνικές, ανάλογα με το είδος εκτροφής.

Αυτή χαρακτηρίζεται από μεγάλες παραγωγές- αποδόσεις. Ενώ τέλος περιλαμβάνει τα στάδια παραγωγής φυτο- και ζωοπλαγκτού και παραγωγής γόνου καθώς και την διαδικασία της προπάχυνσης και της πάχυνσης.

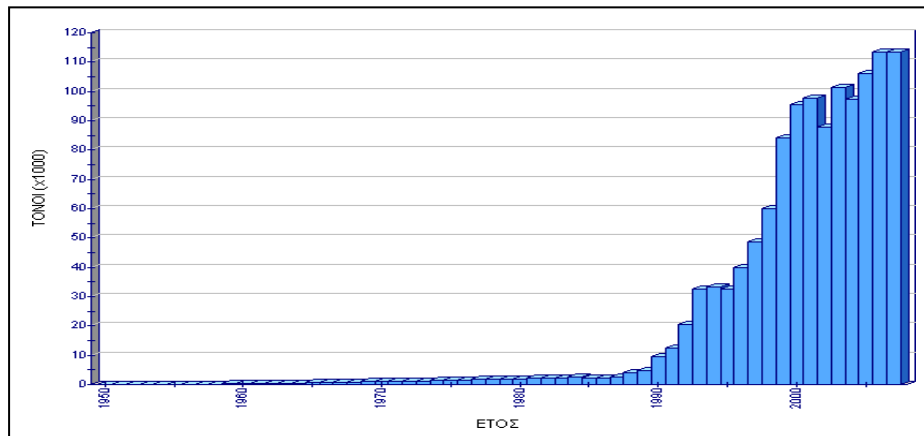
3.4 Οι υδατοκαλλιέργειες στην Ελλάδα

Η Ελλάδα αν και σε σχέση με άλλα κράτη υιοθέτησε σχετικά αργά (μετά το 1956), τις υδατοκαλλιέργειες, σημείωσε θεαματική πρόοδο τα τελευταία 20 χρόνια ξεπερνώντας σε ετήσια παραγωγή τους 120.000 τόνους (Εικόνα 4). Επίσης, το 62% της εγχώριας παραγωγής αλιευτικών προϊόντων προέρχεται από την υδατοκαλλιέργεια και το 38% από την αλιεία (Εικόνα 5, ΣΕΘ,2019). Αυτό οφείλεται σε μια σειρά παραγόντων. Αρχικά, η Ελλάδα έχει μήκος θαλάσσιων ακτών 15.000 χιλιόμετρα και συνολική επιφάνεια υδάτων περίπου 1.800.000 στρέμματα. Επίσης, ξεχωριστοί παράγοντες για την επιτυχία των υδατοκαλλιεργειών είναι οι ιδιαίτερες γεωμορφολογικές (ποικιλία υδάτων από λίμνες, ποταμιά, θάλασσες) και κλιματολογικές συνθήκες και η εισαγωγή τεχνολογίας και τεχνογνωσίας. Παρόλη την ως τώρα ανάπτυξη, η χώρα προσφέρει αξιόλογες χερσαίες εκτάσεις για την δημιουργία υδατοκαλλιεργειών και αυτό διότι ακόμα παρουσιάζεται έλλειμμα αλιευτικών προϊόντων στην Ελλάδα. Συγκεκριμένα το έλλειμμα αντιπροσωπεύει περίπου το 2,7% του ακαθάριστου γεωργικού προϊόντος και περίπου το 20% των αναγκών ζωικής πρωτεΐνης των Ελλήνων.

Στην Ελλάδα δραστηριοποιούνται πάνω από 100 εταιρίες με 12.000 περίπου εργαζομένους (άμεσης και έμμεσης εργασίας) κυρίως σε παράκτιες ή απομακρυσμένες περιοχές (ΣΕΘ,2019). Η συνολική έκταση εγκαταστάσεων είναι 7,8 τετραγωνικά χιλιόμετρα. Η Ελλάδα αποτελεί βασική χώρα παραγωγό τσιπούρας (*Sparus aurata*) και λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) με μερίδιο της παγκόσμιας παραγωγής άνω του 55% (Maniatis & Danchev,2011; ICAP,2009). Σύμφωνα με την ετήσια έκθεση του ΣΕΘ (2019), η συνολική παραγωγή τσιπούρας και λαβρακιού το 2018 στην Ελλάδα ανήλθε σε 117.000 τόνους (Εικόνα 6), με την τσιπούρα να αντιστοιχεί στο 57% του όγκου παραγωγής και το λαβράκι στο 43%. Σε αυτή τη ποσότητα συμπεριλαμβάνονται 800 τόνοι βιολογικής τσιπούρας και λαβρακιού (ΣΕΘ, 2019). Ο κλάδος των ιχθυοκαλλιεργειών είναι ιδιαίτερα εξαγωγικός, της τάξεως 75-80 %. Το 2018 οι εξαγωγές του κλάδου εκτιμώνται σε 87.155 τόνους εκ των οποίων το 72% διοχετεύτηκε σε αγορές της Ε.Ε. και 7% σε τρίτες χώρες (ΣΕΘ,2019).

Εκτός από τις θαλάσσιες υδατοκαλλιέργειες στην Ελλάδα συναντάμε και υδατοκαλλιέργειες εσωτερικών υδάτων που αποτελούν μια περισσότερο παραδοσιακή μορφή πρωτογενούς παραγωγής και πηγή κύριας ή συμπληρωματικής απασχόλησης και εισοδήματος για κατοίκους ορεινών και απομακρυσμένων

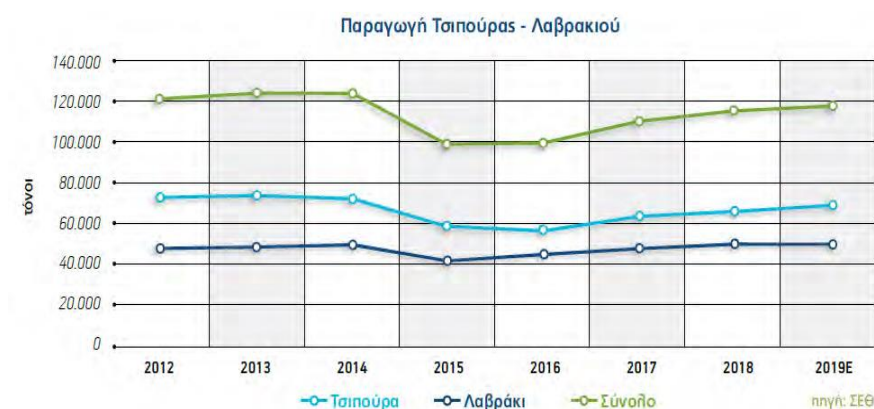
ηπειρωτικών περιοχών. Στην Ελλάδα τα κυριότερα εκτρεφόμενα είδη εσωτερικών υδάτων είναι η ιριδιζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), ο κοινός κυπρίνος (*Cyprinus carpio*) και ο σολομός (*Oncorhynchus kisutsch*). Είδη όπως ο οξύρρυγχος (*Acipenser* sp.), το ευρωπαϊκό γατόψαρο (*Silurus glanis*, γουλιανός), ο κέφαλος (*Mugil cephalus*), η τιλάπια (*Oreochromis* sp) έχουν επίσης καλλιεργηθεί



Εικόνα 4: Παραγωγή προϊόντων υδατοκαλλιέργειας στην Ελλάδα (Στοιχεία FAO).



Εικόνα 5: Προσφορά αλιευτικών προϊόντων στη Ελλάδα 1950-2017(ΣΕΘ, 2019).



Εικόνα 6: Παραγωγή τσιπούρας – λαβρακιού (ΣΕΘ,2019).

3.5 Ιχθυογεννητικοί σταθμοί Μεσογειακών θαλάσσιων ειδών

Στην Ελλάδα υπάρχουν και λειτουργούν σήμερα 10 ιχθυογεννητικοί σταθμοί. Ένας ιχθυογεννητικός σταθμός αποτελείται από τα παρακάτω τμήματα: 1) Μονάδα παραγωγής φυτοπλαγκτού, 2) Μονάδα παραγωγής ζωοπλαγκτού, 3) Τμήμα γεννητόρων, 4) Τμήμα εκκόλαψης, 5) Τμήμα ανάπτυξης νυμφών, 6) Τμήμα απογαλακτισμού ιχθυδίων και 7) Τμήμα προπάχυνσης ιχθυδίων.

1) Μονάδα παραγωγής φυτοπλαγκτού: Στο τμήμα αυτό λαμβάνουν χώρα οι καλλιέργειες φυτοπλαγκτού σε πλήρως ελεγχόμενες συνθήκες. Συνήθως απαιτείται μια ημερήσια παραγωγή 100 λίτρων καλλιέργειας σε σάκους των 2 – 200 λίτρων. Το φυτοπλαγκτόν προορίζεται για την διατροφή του ζωοπλαγκτού. Οι κυριότεροι πλαγκτονικοί οργανισμοί που καλλιεργούνται είναι *Chlorellasp*, *Rhodomonas salina* και *Nannochloropsis oculata*.

2) Μονάδα παραγωγής ζωοπλαγκτού: Στο τμήμα αυτό γίνονται καλλιέργειες τροχοζώων και κωπήποδων. Η ημερήσια παραγωγή είναι της τάξεως των ~500.000.000 ατόμων από κάθε είδος, σε δεξαμενές των 0,5 – 2 m³. Επίσης τα όργανα μέτρησης είναι καταγραφικά και παρέχουν τη δυνατότητα συνεχούς ελέγχου των τιμών των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού εκτροφής, ώστε να γίνονται οι απαραίτητες διορθωτικές παρεμβάσεις στην περίπτωση που αυτές δεν βρίσκονται μέσα στα επιθυμητά όρια. Τα διάφορα είδη ζωοπλαγκτονικών οργανισμών θα αποτελέσουν την ζωντανή τροφή για τις νεοεκκολαπτόμενες λάβρες. Οι κυριότεροι ζωοπλαγκτικοί οργανισμοί που καλλιεργούνται είναι *Brachionus calyciflorus*, *Brachionus plicatilis* και *Artemia* sp.

3) Τμήμα γεννητόρων: Είναι ένα απομονωμένο μέρος του οποίου οι δεξαμενές είναι χωρητικότητας όγκου 50 m³ και δεν δέχονται καμία αλληλεπίδραση με τις υπόλοιπες δεξαμενές. Σ' αυτές επιλέγονται και αναπτύσσονται οι πιο εύρωστοι γεννήτορες. Η αναλογία αρσενικών και θηλυκών ψαριών είναι συνήθως 1:2. Από τις δεξαμενές αυτές, τα αυγά λαμβάνονται μέσω της υπερχειλίσης μερικές ώρες μετά την ωοτοκία και την γονιμοποίηση. Η διατροφή τους αποτελείται από σύνθετες τροφές υψηλής περιεκτικότητας σε θρεπτικά συστατικά (πρωτεΐνες λιπαρά, ιχνοστοιχεία και υδατάνθρακες) ώστε να παραχθεί μεγάλη ποσότητα αυγών υψηλής ποιότητας, ενώ παράλληλα ζουν στις ιδανικότερες τεχνητές συνθήκες (προσομοίωση με το φυσικό τους περιβάλλον).

4) Τμήμα εκκόλαψης: Στο τμήμα αυτό γίνεται η διαχείριση και ανάπτυξη των αυγών των γεννητόρων, έτσι ώστε να επιτευχθεί η ποσότητα που έχει προγραμματιστεί βάσει του χρονοδιαγράμματος. Στόχος του τμήματος είναι να επιβιώσουν όσο το δυνατόν περισσότερα αρτιμελή και εύρωστα νεαρά ιχθύδια. Για την τσιπούρα και το λαβράκι η πυκνότητα των αυγών είναι 100-200 ανά λίτρο. Τέλος, στο τμήμα αυτό αφού διασφαλιστεί η ποιότητα και ποσότητα λαμβάνει χώρα η μεταφορά των νεαρών λάβρων στο τμήμα ανάπτυξης νυμφών.

5) Τμήμα ανάπτυξης νυμφών: Αυτό το τμήμα ξεκινάει με την παραλαβή των νεοεκκολαφθέντων νυμφών και έχει την ευθύνη διατροφής λαβρών. Τις πρώτες τρεις με τέσσερις ημέρες οι νεοεκκολαπτόμενες λάβρες δεν έχουν την δυνατότητα να τρέφονται, επειδή δεν έχουν σχηματιστεί μορφολογικά ολοκληρωμένα τα μάτια και το στόμα. Με το πέρας των 3-4 ημερών ορίζεται ένα σιτηρέσιο ώστε να τρέφονται με ζωντανή τροφή όπως το γνωστό τροχόζωο *Brachionus plicatilis*. Ο λόγος που χρησιμοποιείται το συγκεκριμένο είδος τροχόζωου είναι επειδή είναι μικρό σε μέγεθος και είναι ιδανικό για να καταποθεί από το μικρό στόμα των εκτρεφόμενων ιχθύων. Με την πάροδο των ημερών οι λάβρες αυξάνονται σε μέγεθος και αναπτύσσονται περισσότερο με αποτέλεσμα να μπορεί να τραφούν με μεγαλύτερου μεγέθους ζωντανή τροφή. Εδώ το κωπήποδο *Artemia* sp. έρχεται να αντικαταστήσει το *Brachionus plicatilis* αφού γίνει και η ανάλογη προσαρμογή. Τα νεαρά ιχθύδια αναπτύσσονται συνήθως σε 45 ημέρες, και με το πέρας των 45 ημερών οι νεαρές λάβρες μεταμορφώνονται σε νεαρά ιχθύδια.

6) Τμήμα «απογαλακτισμού» ιχθύων: Το τμήμα αυτό αναλαμβάνει να «απογαλακτίσει» τα νεαρά ιχθύδια τσιπούρας και λαβρακιού, και να τα σιτίζει πλέον με συνθετικές τροφές όπως τα σύμπηκτα ώστε να πάψουν να τρέφονται με ζωντανή τροφή. Οι βιομηχανικές αυτές τροφές ονομάζονται μικροτροφές λόγω του μεγέθους τους (100-500 μm). Το στάδιο αυτό είναι το πλέον κρίσιμο διότι χαρακτηρίζεται από υψηλές θνησιμότητες, έντονους κανιβαλισμούς και πιθανές ανωμαλίες. Όσον αφορά την αντικατάσταση των ζωντανών τροφών με μικροτροφές αυτή γίνεται σταδιακά. Πιο συγκεκριμένα στα τελικά στάδια εκτροφής των νυμφών χορηγούνται παράλληλα ζωντανές και τεχνητές τροφές για κάποιες ημέρες και καθημερινά μειώνονται οι ποσότητες ζωντανών τροφών έως ότου αυτές να εξαλειφθούν. Το κόστος των μικροτροφών (τροφές απογαλακτισμού) είναι πολύ μεγαλύτερο και αυτό διότι έχουν πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (έως 70%).

7) Τμήμα προπάχυνσης ιχθυδίων: Οι χωροταξικές εγκαταστάσεις είναι εσωτερικές ή εξωτερικές και ο σκοπός που καλείται να επιτύχει το εν λόγω τμήμα είναι ο εγκλιματισμός των νεαρών ιχθύων, σε συνθήκες φυσικού περιβάλλοντος. Αύτη η

διαδικασία είναι επίπονη για τον πληθυσμό των νεαρών ιχθυδίων τσιπούρας και λαβρακιού. Βραχυπρόθεσμα υπάρχει μια πραγματική εικόνα σχετικά με την επιβίωση των νεαρών ιχθυδίων, στην μονάδα προπάχυνσης, λόγω απωλειών κατά την προσαρμογή. Συνήθως η θνησιμότητα δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 3%.

3.6 Ζωντανή τροφή και σημαντικότητα αυτής

Η ζωντανή τροφή αποτελεί το κύριο στοιχείο στην εκτροφή θαλάσσιων οργανισμών και έχει ιδιαίτερη σημασία για την ανάπτυξη και επιβίωση τους, όταν αυτά βρίσκονται σε προνυμφικά στάδια. Αποτελείται από φυτοπλακτονικούς και ζωοπλακτονικούς οργανισμούς.

Αρχικά οι προνύμφες τρέφονται από τον λεκιθικό τους σάκο μέχρι αυτός να εξαντληθεί. Κατά το στάδιο της πρώιμης διατροφής τους, το πεπτικό σύστημα των οργανισμών είναι υποτυπώδες και ένα μεγάλο μέρος της πέψης πρωτεϊνών λαμβάνει χώρα σε επιθηλιακά κύτταρα (Gonoieta. 1986). Στις περισσότερες περιπτώσεις ένα τέτοιο πεπτικό σύστημα είναι αδύνατον να επεξεργαστεί τις τυποποιημένες τροφές και να επιτρέψει την ανάπτυξη και επιβίωση των προνυμφών (Conceicaoeta. 2010). Τα τελευταία χρόνια σημειώθηκαν πολλές προσπάθειες χορήγησης συμπληκτων ως τροφή σε προνυμφικά στάδια ψαριών που εκτρέφονται σε εκκολαπτήρια και των οποίων η αρχική διατροφή βασιζόταν στη χρήση ζωντανής τροφής. Στο εμπόριο έκαναν την εμφάνιση τους προϊόντα αντικατάστασης της *Artemia*, αλλά και αυτά στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν σε συνδυασμό ή παράλληλα με την ζωντανή τροφή (Cornoweta. 2006). Οι λόγοι για τους οποίους χρησιμοποιήθηκε και συνεχίζεται ακόμα και σήμερα η χορήγηση ζωντανών τροφών στα προνυμφικά στάδια εκτρεφόμενων ψαριών, ποικίλουν. Σημαντική αιτία, όπως ήδη αναφέρθηκε είναι η περιορισμένη πεπτική ικανότητα των προνυμφών. Ένας άλλος λόγος είναι πως τα θηράματα είναι σε θέση να κολυμπούν και να καταλαμβάνουν τη στήλη του νερού μέσα στις δεξαμενές εκτροφής. Το γεγονός αυτό τα καθιστά πολύ εύκολα διαθέσιμα στις προνύμφες. Τα σύμπληκτα έχουν το χαρακτηριστικό ότι διατίθενται στην επιφάνεια του νερού όπου και επιπλέουν εκεί για αρκετό χρονικό διάστημα ή βυθίζονται μέσα σε λίγα λεπτά, άρα είναι λιγότερο διαθέσιμα στα νεαρά ψάρια σε αντίθεση με τις ζωντανές τροφές (Conceicaoeta. 2010). Μια επίσης σημαντική αιτία χορήγησης ζωντανών οργανισμών σε εκκολαπτήρια είναι ο χαρακτηρισμός των προνυμφών ως «οπτικών τροφοδοτών». Αυτό σημαίνει ότι είναι προσαρμοσμένες να επιτίθενται στην κινούμενη λεία τους στη φύση. Η κίνηση των ζωντανών τροφών στον νερό είναι πολύ πιθανό να ενισχύει την ανταπόκριση των προνυμφών για διατροφή (Fernandezeta. 1994). Παράλληλα, οι οργανισμοί αυτοί όπως είναι τα άτομα *Artemia*

έχουν λεπτό εξωσκελετό και υψηλή περιεκτικότητα σε νερό (περίπου 80%), έχουν χαμηλότερη συγκέντρωση θρεπτικών στοιχείων και είναι πιο εύπεπτες για τις προνύμφες σε σύγκριση με τις τροφές υπό μορφή σύμπηκτων. Τέλος, σημαντικό ρόλο παίζει το μέγεθος κάθε μορφής τροφής, το οποίο πρέπει να είναι μικρότερο από το άνοιγμα του στόματος της προνύμφης και να είναι γρήγορα αποδεκτό ή να απορρίπτεται, με βάση την γευστικότητα του (Bengtson 2003). Αξίζει να αναφερθεί ότι το κόστος της ζωντανής τροφής σε μονάδες εκτροφής ιχθυδίων (ΙΧ.Σ.) καταλαμβάνει σημαντική θέση στο τελικό κόστος παραγωγής. Συγκεκριμένα, η σύγκριση τριών διαφορετικών ιχθυογεννητικών σταθμών, ανέδειξε πως η παραγωγή ζωντανής τροφής καταλαμβάνει την δεύτερη θέση στην κατηγορία δαπανών, μετά το εργατικό κόστος (Παππάς, 2010), και κυμαίνεται σε ποσοστό μεταξύ 18 έως 25% των συνολικών δαπανών ενός ΙΧ.Σ. Το γεγονός αυτό οφείλεται κυρίως στην επιλογή εκτρεφόμενου οργανισμού, δηλαδή σσιπούρας ή λαυρακιού, αλλά και στο γενικό πρωτόκολλο διατροφής που ακολουθεί η κάθε εταιρεία. Επίσης, βασικό παράγοντα του αυξημένου κόστους αποτελεί η επιλογή των τροφών που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για την εκτροφή των τροχοζώων, αλλά και των εμπλουτιστικών που θα χορηγηθούν.

3.7 Εκτρεφόμενο είδος - Λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*)

Το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) είναι οστεϊχθύς (Perciformes), της οικογένειας των Moronidae και του γένους *Dicentrarchus*. Θεωρείται ένα από τα πιο αξιόλογα, ιδιαίτερα είδη εκτροφής, όχι μόνο για την Ελλάδα αλλά και για όλες τις Μεσογειακές και Ευρωπαϊκές χώρες. Η σημαντική εμπορική του αξία είναι αποτέλεσμα της μεγάλης ετήσιας ελεγχόμενης παραγωγής του, όπου σε συνδυασμό με την προσιτή του τιμή συντέλεσαν στην μεγάλη διαθεσιμότητα του λαβρακιού σχεδόν σε όλες τις αγορές (Παπουτσόγλου, 2008). Το λαβράκι παρουσιάζει αρκετά ευρεία εξάπλωση. Εκτείνεται στον Ατλαντικό ωκεανό, από τις ακτές του Μαρόκου μέχρι τη Βαλτική θάλασσα (Χώτος & Ρογδάκης, 1992). Συναντάται σε κάθε περιοχή της Μεσογείου και των γύρω θαλασσών και προτιμά ανοικτές θάλασσες, κόλπους, λιμνοθάλασσες, δέλτα ποταμών ή ακόμα και λιμάνια. Το *D. labrax* είναι ένα τυπικό θαλάσσιο είδος, το οποίο περνά το μεγαλύτερο μέρος της ζωής του σε παράκτια μεταβατικά οικοσυστήματα, ωστόσο έχει παρατηρηθεί η παρουσία του και σε ποτάμια οικοσυστήματα (Vázquez & Cueto, 2014). Στο τέλος της νεαρής ηλικίας τα λαβράκια περιστασιακά μεταναστεύουν σε μικρές αποστάσεις, προτού απομακρυνθούν από την ακτή και μεταναστεύσουν σε μεγάλες αποστάσεις. (Jennings & Pawson 1992; Picket & Pawson 1994). Είναι ψάρι που ζει γενικά σε

βραχώδεις, αμμώδεις ή βυθούς καλυμμένους με φύκη. Συναντάται όμως και σε περιοχές με υψηλή θολερότητα όπου συνδέεται με την εποχή της έντονης τροφοληψίας του. Είναι κατεξοχήν ευρύαλο και ευρύθερμο είδος. Προσαρμόζεται εύκολα και αναπτύσσεται εύκολα ακόμη και σε σχεδόν γλυκά νερά. Η θερμοκρασία στην οποία διατρέφεται είναι 7-30°C, με βέλτιστες 14-28°C (Χώτος & Ρογδάκης, 1992).

Οι διατροφικές του συνήθειες το κατατάσσουν στα κατεξοχήν σαρκοφάγα και αδηφάγα είδη ιχθύων. Τρέφεται με μικρά ψάρια, καρκινοειδή, κεφαλόποδα και πλήθος άλλων ζωικών υδρόβιων και ημιυδρόβιων οργανισμών. Το λαβράκι είναι πρώτανδρο είδος αναπαραγόμενο μια φορά ετησίως μεταξύ χειμώνα και άνοιξης (στην Μεσόγειο η αναπαραγωγή ξεκινάει τον Δεκέμβριο, κορυφώνεται τον Ιανουάριο και τελειώνει τον Μάρτιο), σε θερμοκρασία 12-13 °C και αλατότητα 20-30 ‰. Στην Μεσόγειο η πρώτη αναπαραγωγική ωρίμανση γίνεται εντός 2-4 ετών, ενώ στον Ατλαντικό εντός 4-8 ετών (Παπουτσόγλου, 2008).

Η πρώτη καταγεγραμμένη αναφορά εντατικής καλλιέργειας του ευρωπαϊκού λαβρακίου (*Dicentrarchus labrax*) χρονολογείται στις αρχές της δεκαετίας του '70 και πραγματοποιήθηκε από τον G. Barnaby (Montpellier, France). Στις περισσότερες περιπτώσεις, το είδος αυτό εκτρέφεται σε πλωτούς κλωβούς (στη Μεσόγειο και τις Κανάριες Νήσους). Σε άλλες εκμεταλλεύσεις, εκτός πλωτών κλωβών, εκτρέφεται σε χερσαίες δεξαμενές, όπου χρησιμοποιείται ένα σύστημα επανακυκλοφορίας και ελέγχου του νερού. Μερικές εκμεταλλεύσεις χρησιμοποιούν παραδοσιακές εκτατικές και ημιεντατικές μεθόδους. Η δρομολόγηση της εντατικής εκτροφής του εντοπίζεται την περίοδο 1980-1985, όπου σημειώνεται ραγδαία πρόοδος στη βελτίωση της επιβίωσης των νυμφικών σταδίων (Volckaert *et al.*, 2008). Έτσι το λαβράκι καλλιεργήθηκε εμπορικά στην Ευρώπη και αυτή τη στιγμή αποτελεί το σημαντικότερο καλλιεργούμενο ψάρι της Μεσογείου. Η Ελλάδα, η Τουρκία, η Ιταλία, η Ισπανία, η Κροατία και η Αίγυπτος είναι οι μεγαλύτερες χώρες παραγωγοί. (Εικόνα 7).



Εικόνα 7: Χώρες παραγωγού λαβρακιού (Στοιχεία FAO, 2002).

Όσον αφορά την μορφολογία του, το σώμα του είναι επίμηκες με το στόμα ελαφρά προεξέχον. Διαθέτει δύο ξεχωριστά ραχιαία πτερύγια (Εικόνα 8). Το πρώτο αποτελείται από 8 - 10 σκληρές ακτίνες και το δεύτερο με μια σκληρή και 12 -13 μαλακές ακτίνες. Το ουραίο πτερύγιο είναι διχαλωτό με δύο ίσους λοβούς. Το χρώμα του λαβρακιού είναι ασημί – γκρι στις πλευρές ενώ γίνεται σκούρο προς την ραχιαία περιοχή. Τα νεαρά ιχθύδια εμφανίζουν σκούρες κηλίδες στο πάνω μέρος του σώματος οι οποίες όμως απουσιάζουν από τα ενήλικα άτομα.



Εικόνα 8 : Λαβράκι (*Dycentrarchus labrax*).

Πηγη: www.fao.org

Συστηματική κατάταξη λαβρακιού

ΟΜΟΤΑΞΙΑ	OSTEICHTHYES
ΥΦΟΜΟΤΑΞΙΑ	ACTINOPTERYGII
ΤΑΞΗ	PERCIFORMES
ΥΠΟΤΑΞΗ	PERCOIDEI
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	MORONIDAE
ΓΕΝΟΣ	DICENTRARCHUS
ΕΙΔΟΣ	LABRAX

3.8 Διατροφή υδρόβιων οργανισμών

Η διατροφή των εκτρεφόμενων οργανισμών ξεκίνησε εμπειρικά με νωπά αλιεύματα ή άλλα προϊόντα χαμηλού κόστους. Κατόπιν όμως γεννήθηκε η ανάγκη για περαιτέρω μελέτη των διαιτητικών απαιτήσεων. Η διατροφή στις υδατοκαλλιέργειες έχει ένα καθοριστικό και συνεχώς αυξανόμενο ρόλο, όχι μόνο στον τομέα της οικονομίας, μειώνοντας το κόστος, αλλά και συμβάλλοντας στην υγεία των οργανισμών και στη βελτίωση της απόδοσης όσον αφορά την αναπαραγωγή και την ανάπτυξη (Kaushik, 1993). Πιο συγκεκριμένα η επιστήμη ασχολείται με την διατροφή των οργανισμών και αποσκοπεί στην διασφάλιση της επιβίωσης, της υγείας και της ανάπτυξης των εκτρεφόμενων οργανισμών. Μέσω αυτής οι οργανισμοί (α) εφοδιάζονται με τα κατάλληλα θρεπτικά συστατικά (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λίπη, βιταμίνες κ.α.), με σκοπό να καλυφθούν οι διατροφικές τους ανάγκες και (β) πραγματοποιούνται οι απαραίτητες διεργασίες με σκοπό την ανάπτυξη. Επιπρόσθετα, με την βελτίωση της αξιοποίησης της τροφής για αύξηση βιομάζας επιτυγχάνεται μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων, στόχος που αποβλέπει στη δημιουργία συνθηκών μακροχρόνιας βιωσιμότητας (Cho & Bureau, 2001). Η διατροφή διαφέρει από στάδιο σε στάδιο (εναρκτήρια σιτηρέσια, σιτηρέσια κύριας εκτροφής, σιτηρέσια γεννητόρων) διότι οι απαιτήσεις αλλάζουν κατά την ανάπτυξη, όπως και από είδος σε είδος. Κλειδιά στη δημιουργία της ιδανικής τροφής για το κάθε είδος εκτρεφόμενου οργανισμού είναι η κατανόηση των μηχανισμών πρόσληψης τροφής, πέψης,

απορρόφησης και μεταβολισμού (Lucas & Southgate, 2003; Steffents, 1989; Halver & Hardy 2002; De Silva & Anderson 1995).

3.9 Ιχθυοτροφές

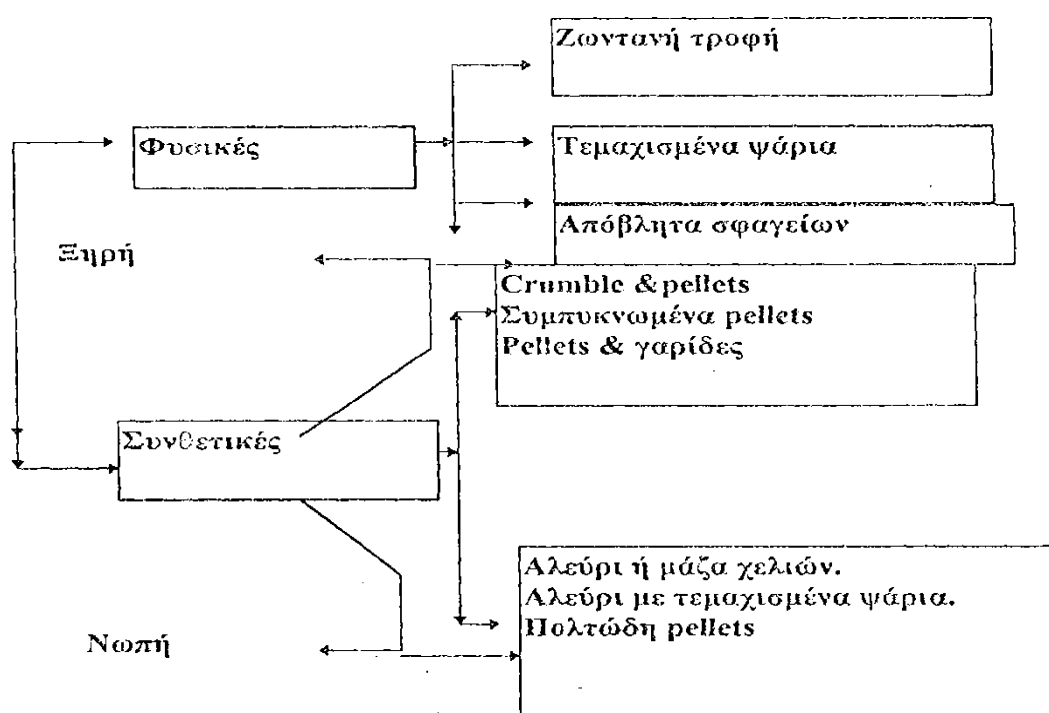
Σιτηρέσιο λέγεται το σύνολο των τροφών που χορηγούνται σε έναν οργανισμό μέσα σε ένα εικοσιτετράωρο για να καλύψει τις ανάγκες του σε ύλη και ενέργεια. Τα ψάρια εκμεταλλεύονται καλύτερα την τροφή από άλλα εκτρεφόμενα είδη διότι είναι ποικιλόθερμα ζώα και δεν καταναλώνουν ενέργεια για να διατηρήσουν την θερμοκρασία του σώματος τους. Η βιομηχανία παραγωγής τροφών για τα καλλιεργούμενα είδη ιχθύων είναι η πλέον αυξανόμενη απ' όλες τις γεωργικές βιομηχανίες. Το 2003 ο ρυθμός, η παραγωγή ιχθυοτροφών αντιπροσώπευε το 3% της παγκόσμιας παραγωγής ζωοτροφών, έχοντας ετησίως ρυθμό αύξησης που ξεπερνάει το 30% (Francis *et al.*, 2003). Οι ιχθυοτροφές αποτελούν το μεγαλύτερο κόστος στην παραγωγική διαδικασία των υδατοκαλλιεργειών καθώς αντιπροσωπεύουν σχεδόν το 57-59% του συνολικού κόστους παραγωγής. Ως πρώτες ύλες χρησιμοποιούνται ιχθυάλευρα, ιχθυέλαια, δημητριακά, φυτικές πρωτεΐνες, βιταμίνες, ανόργανα στοιχεία κ.α. Οι ιχθυοτροφές ταξινομούνται σε α) φυσικές-ζωντανές και β) συνθετικές τροφές. Επίσης μπορούν να ομαδοποιηθούν σε α) νωπές και β) ξηρές (Εικόνα 9).

Οι ζωντανές τροφές των ιχθυογεννητικών σταθμών, καλλιεργούνται στη μονάδα και είναι κατά κύριο λόγο φυτοπλαγκτόν και ζωοπλαγκτόν (Παράγραφος 1.5).

Όσον αφορά τις συνθετικές τροφές, αυτές χορηγούνται σε περισσότερα από ένα αναπτυξιακά στάδια (μικροτροφές, προπάχυνσης, πάχυνσης κ.α.). Η κύρια διαφορά μεταξύ νωπών και ξηρών τροφών είναι ότι οι νωπές τροφές όταν είναι έτοιμες για διανομή στα ψάρια παρουσιάζουν υψηλό ποσοστό υγρασίας. Η αλήθεια είναι πως παρόλο που σε κάποια είδη (π.χ. χέλι και μαγιάτικο) οι νωπές τροφές παρουσιάζουν πολλά πλεονεκτήματα συνήθως μειονεκτούν έναντι των ξηρών τροφών. Πρώτον, οι νωπές τροφές χρειάζεται να αποθηκευτούν μέχρι να διανεμηθούν, σε αποθήκες που να μπορούν να διατηρούν το προϊόν σε χαμηλές θερμοκρασίες ώστε να μην αλλοιωθούν. Αν δεν διατηρηθούν σωστά υπάρχει μείωση της σταθερότητας κάποιων βιταμινών, οξειδωση λιπών και ανάπτυξη μυκήτων. Δεύτερον, όταν στις νωπές τροφές περιέχονται φρέσκα ψάρια ή υπολείμματα αυξάνεται ο κίνδυνος εισαγωγής παθογόνων παραγόντων.

Από την άλλη πλευρά οι ξηρές τροφές παράγονται, μεταφέρονται, αποθηκεύονται και διανέμονται εύκολα στα εκτρεφόμενα είδη. Μετά την χρήση ξηρών τροφών παρατηρήθηκε μεγάλη ανάπτυξη των ιχθυοτροφικών παγκοσμίως. Επίσης, μέσω των ξηρών τροφών υπάρχει καλύτερη διανομή της τροφής με αποτέλεσμα να μην

συσσωρεύονται μεγάλες ποσότητες αποβλήτων, και ως εκ τούτου συμβάλουν στην μείωση της ρύπανσης των υδάτων. Τέλος, οι ξηρές τροφές διακρίνονται σε α) απλά σύμπηκτα (pellets) και β) συμπυκνωμένα εξωθημένα (extruded). Στην Ελλάδα υπάρχουν οκτώ (8) παρασκευαστές σύνθετων ιχθυοτροφών. Τρεις από αυτές είναι εταιρίες ιχθυοκαλλιέργειας (Σελόντα-Περσεύς, Νηρεύς, Γράμμος Α.Ε. κ.α.), που κατέχουν ή συμμετέχουν σε εταιρείες παρασκευής ιχθυοτροφών, ενώ υπάρχει και μια εταιρεία που δραστηριοποιείται κυρίως στην παρασκευή ζωοτροφών και έχει στην ιδιοκτησία της μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας (ΣΕΘ, 2019).



Εικόνα 9: Κατηγοριοποίηση ιχθυοτροφών.

Οι πωλήσεις τροφών το 2018 ανήλθαν περίπου σε 255.000 τόνους (Εικόνα 10). Σύμφωνα με τα διαθέσιμα στοιχεία, εξ' αυτών το 95% των τροφών που καταναλώθηκαν παράχθηκε σε ελληνικά εργοστάσια, το υπόλοιπο 4,5% εισάχθηκε

από εμπορικές επιχειρήσεις και ένα πολύ μικρό ποσοστό της τάξεως του 0,5% αφορούσε εισαγωγές από το εξωτερικό (ΣΕΘ,2019).



Εικόνα 10: Πωλήσεις τροφών 2012-2018 (ΣΕΘ,2019).

Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό το γεγονός, πως η αποδοτικότητα των ιχθυοτροφών (μετατρεψιμότητα της καταναλωμένης τροφής σε βάρος, FCR) αποτελεί ίσως το σημαντικότερο παράγοντα για την κερδοφορία της ιχθυοκαλλιέργειας. Για την εκτροφή της τσιπούρας και του λαβρακιού, η τιμή FCR συνήθως ποικίλει από 1,8 έως 2,6 ευρώ (ή και υψηλότερη) ανάλογα και με το παραγωγικό στάδιο.

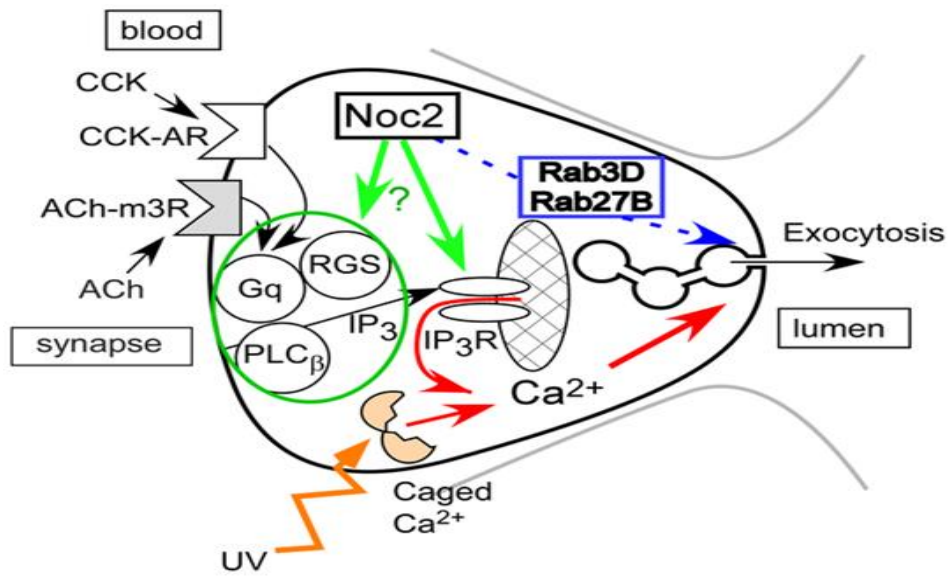
4. ΠΑΡΑΓΩΓΗ-ΚΟΣΤΗ.

4.1 Παραγωγή ενζύμων-φυσιολογική δράση

Η θρυψίνη (EC 3.4.21.4) αποτελεί τη βασική πρωτεάση του πεπτικού συστήματος των ζωικών οργανισμών, συντίθεται ως ένα πρόδρομο ανενεργό μόριο που καλείται θρυψινογόνο, και ενεργοποιείται, με πρωτεόλυση, στο δωδεκαδάκτυλο μέσω της δράσης της εντεροπεπτιδάσης ή της ίδιας της θρυψίνης με αυτοκαταλυτικό τρόπο. Η ενεργοποίηση της θρυψίνης είναι υπεύθυνη για την πρωτεόλυση των υπόλοιπων πεπτικών ενζύμων που έχουν απελευθερωθεί από τα εξωκρινή κύτταρα, μετατρέποντάς τα στην ενεργή τους μορφή. Η α-αμυλάση (EC 3.2.1.1) από την άλλη είναι μια καρβοϋδρογονάση που υδρολύει το άμυλο σε γλυκόζη. Το βέλτιστο pH για τη δράση της είναι 7 – 8. Η πέψη του αμύλου στα σαρκοφάγα είδη είναι αντιστρόφως ανάλογη του ποσοστού του αμύλου στην τροφή. Τα ψάρια παράγουν ένα μεγάλο αριθμό πρωτεασών και λιπασών αλλά μόνο μια αμυλάση, η οποία καταλύει την υδρόλυση πολυσακχαριτών.

Τα πεπτικά ένζυμα παράγονται από τα εξωκρινή κύτταρα παγκρέατος, αποθηκεύονται μέσα σε κοκκία (zymogen granules) και απελευθερώνονται, μέσω εξωκύττωσης, στον εντερικό αυλό, έπειτα από την ύπαρξη κατάλληλου σήματος (ουσίες που προάγουν την έκκριση-secretagogues). Τέτοιου είδους ουσίες (π.χ. η πεπτιδικής φύσεως ορμόνη, χολοκυστοκίνη) συνδέονται με τους υποδοχείς τους (υποδοχείς συζευγμένοι με πρωτεΐνες G, GPCR) και συμβάλλουν στην απελευθέρωση των ζυμογόνων μέσω του σηματοδοτικού συστήματος φωσφατιδυλινοσιτόλης-ασβεστίου. Σε αυτό το σηματοδοτικό σύστημα, η αλληλεπίδραση ορμόνης-υποδοχέα οδηγεί, μέσω της φωσφολιπάσης C, στην υδρόλυση της 4,5-διφωσφορικής φωσφατιδυλινοσιτόλης σε 1,2-διακυλογλυκερόλη και 1,4,5-τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3). Αυτή με την σειρά της προάγει την απελευθέρωση ασβεστίου από το ενδοπλασματικό δίκτυο στο κυτταρόπλασμα, και κατ' επέκταση, την αύξηση της συγκέντρωσης του ελεύθερου ασβεστίου. Η διακυλογλυκερόλη ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C, η οποία τροποποιεί την κατάσταση φωσφορυλίωσης των ρυθμιστικών πρωτεϊνών που συμβάλλουν στην εξωκύττωση των ζυμογόνων.

Στόχος του πειράματος είναι η παραγωγή σε μεγάλη κλίμακα (large scale) ενζύμων λαβρακιού, και συγκεκριμένα της θρυψίνης και της αμυλάσης μέσω της δημιουργίας ενός εκκρινόμενου συστήματος ιδιοσυστατης παραγωγής πεπτικών ενζύμων λαβρακιού.



Lee et al. 2005 Regulation of zymogen granule exocytosis by Ca^{2+} , cAMP, and PKC in pancreatic acinar cells.

Εικόνα 11: Ενεργοποίηση παγκρεατικών ενζύμων.



Εικόνα 12: Ενεργοποίηση θρυψίνης.

4.2 Περιγραφή συστήματος παραγωγής πεπτικών ενζύμων στο εργαστήριο

Η δημιουργία του εκκρινόμενου συστήματος ιδιοσυστατης παραγωγής πεπτικών ενζύμων λαβρακιού πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας (Επικεφαλής: Αναπληρώτρια Καθ. Αικατερίνη Μούτου). Συγκεκριμένα δημιουργήθηκε μια σταθερά διαμολυσμένη κυτταρική σειρά που εκφράζει ιδιοσυστατα τα γονίδια του θρυψινογόνου και της αμυλάσης. Η κυτταρική σειρά που χρησιμοποιήθηκε ήταν η RTH-149 (ATCC® CRL-1710™), η οποία αποτελείται από ηπατικά επιθηλιακά κύτταρα με παθολογία ηπατώματος από το ψάρι ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*). Οι «γονιδιακές κασέτες» που χρησιμοποιήθηκαν για τη διαμόλυνση των κυττάρων αποτελούνταν από τα cDNA των γονιδίων, τον φορέα κλωνοποίησης pcDNA3 και όλα τα απαραίτητα ρυθμιστικά στοιχεία για τη μεταγραφή και τη μετάφραση των γονιδίων αλλά και τα χρήσιμα δραστικά στοιχεία *cis* για την αυξημένη και συνεχή έκφραση των γονιδίων στο κυτταρικό σύστημα. Η σύνθεση των γονιδίων και η υποκλωνοποίησή τους στον pcDNA3 έγινε από την εταιρία Genscript (<https://www.genscript.com>). Η έκφραση των γονιδίων ελέγχθηκε με realtime PCR με ειδικά σχεδιασμένους εκκινητές και η δραστηριότητα των ενζύμων με κατάλληλα σχεδιασμένα και βελτιστοποιημένα πρωτόκολλα από το Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας. Στόχος του πειράματος ήταν η έκκριση των ενζύμων στο θρεπτικό μέσο καλλιέργειας η οποία επιτεύχθηκε με τη χρήση της χολοκυστοκινίνης (CCK) και του ασβεστίου (CaCl₂) προσομοιώνοντας τις *in vivo* συνθήκες ενεργοποίησης των σηματοδοτικών μονοπατιών. Με αυτόν τον τρόπο μειώνονται στο ελάχιστο τα στάδια καθαρισμού και απομόνωσης των προϊόντων.

Η παραπάνω διαδικασία αφορά την παραγωγή των ενζύμων σε μικρή κλίμακα και διακρίνεται σε δύο φάσεις:

1. Φάση I: δημιουργία σταθερά διαμολυσμένων κυτταρικών σειρών που παράγουν θρυψίνη και αμυλάση. Αυτή η φάση λαμβάνει χώρα άπαξ και αποτελεί αρχική βασική επένδυση στην όλη διαδικασία
2. Φάση II: διενέργεια κύκλων παραγωγής ενζύμων σύμφωνα με τις εκάστοτε αναγκαίες χρήσεις.

Τα βασικά κόστη της φάσης I για τη δημιουργία του παραπάνω εκκρινόμενου συστήματος αφορούν: α) την αγορά της κυτταρικής σειράς, β) την κατασκευή των «γονιδιακών κασετών», γ) κατάλληλο θρεπτικό μέσο καλλιέργειας (L15), δ) τα βασικά αντιδραστήρια για την καλλιέργεια κυττάρων δηλαδή FBS, PBS,

Penicillin/Streptomycin, Trypsin-EDTA, DMSO, L-glutamine) το κατάλληλο αντιδραστήριο για τη διαμόλυνση (λιποφεκταμίνη), ζ) την χολοκυστοκινίνη και το χλωριούχο ασβέστιο και ε) το αντιβιοτικό για τη δημιουργία της σταθερά διαμολυσμένης κυτταρικής σειράς (G418). Επίσης, στα βασικά κόστη συμπεριλαμβάνονται τα αντιδραστήρια για την δημιουργία μεγάλης ποσότητας πλασμιδιακού DNA των «γονιδιακών κασετών». Αυτά είναι τα δεκτικά βακτηριακά στελέχη *E.coli* (DH5a competent cells) που χρησιμοποιήθηκαν για το μετασχηματισμό των τριών «γονιδιακών κασετών», το κιτ απομόνωσης πλασμιδιακού DNA (Qiagenplasmid maxi kit) και το αντιβιοτικό αμπικιλίνη. Τέλος, στα βασικά κόστη της φάσης I συμπεριλαμβάνονται και τα αναλώσιμα υλικά που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια των πειραμάτων. Σε αυτά ανήκουν: i) οι φλάσκες (25cm², 75cm²), τα τρυβλία (10cm) και τα πιάτα πολλαπλών θέσεων (12 wellplate, 24 wellplate, 6 wellplate) καλλιέργειας των ευκαρυωτικών κυττάρων, ii) τα σιφόνια που προσαρμόζονται στον πιπεταδόρο (2ml, 5ml, 10ml), iii) σωληνάρια για ψύξη των κυττάρων (cryovials), iv) βιδωτά σωληνάρια των 1,5ml και συμβατικά σωληνάρια των 1,5 ml, 15ml και 50ml v) γυάλινοι κύλινδροι για απομόνωση κλώνων κυττάρων κατά τη δημιουργία σταθερά διαμολυσμένης κυτταρικής σειράς, vi) τρυβλία καλλιέργειας βακτηριακών κυττάρων, vii) ρύγχη για πιπέτες των 10 μ L, 200 μ L και 1000 μ L, και viii) γυάλινες πιπέτες Pasteur. Στον Πίνακα 1 συνοψίζονται τα κόστη χημικών και πλαστικών αναλωσίμων της φάσης I καθώς και το κόστος απασχόλησης εξειδικευμένου ανθρώπινου δυναμικού. Το μικτό κόστος του ανθρώπινου δυναμικού έχει υπολογιστεί σε 2800 ευρώ το μήνα.

Τα βασικά κόστη της φάσης II για τη διενέργεια κύκλων παραγωγής πεπτικών ενζύμων αφορούν: α) κατάλληλο θρεπτικό μέσο καλλιέργειας, β) τα βασικά αντιδραστήρια για την καλλιέργεια κυττάρων δηλαδή FBS, PBS, Penicillin/Streptomycin, Trypsin-EDTA, DMSO, L-glutamine) την χολοκυστοκινίνη και το χλωριούχο ασβέστιο. Επίσης, στα βασικά κόστη της φάσης II συμπεριλαμβάνονται και τα αναλώσιμα που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια των πειραμάτων. Σε αυτά ανήκουν: i) οι φλάσκες (25cm², 75cm²), τα τρυβλία (10cm) και τα πιάτα πολλαπλών θέσεων (12 well plate, 24 well plate, 6 well plate) καλλιέργειας των ευκαρυωτικών κυττάρων, ii) τα σιφόνια που προσαρμόζονται στην πιπέτα (2ml, 5ml, 10ml), iii) σωληνάρια για ψύξη των κυττάρων (cryovials), iv) βιδωτά σωληνάρια των 1,5ml και συμβατικά σωληνάρια των 1,5 ml, 15ml και 50ml v) γυάλινοι κύλινδροι για απομόνωση κλώνων κυττάρων κατά τη δημιουργία σταθερά διαμολυσμένης κυτταρικής σειράς, vi) τρυβλία καλλιέργειας βακτηριακών κυττάρων, vii) ρύγχη για πιπέτες των 10 μ L, 200 μ L και 1000 μ L, και viii) γυάλινες πιπέτες Pasteur. Στον

Πίνακα 2 συνοψίζονται τα κόστη χημικών και πλαστικών αναλωσίμων της φάσης II, υπολογισμένα ανά 10 mg παραγόμενου ενζύμου.

Πίνακας 1: Βασικά κόστη για τη δημιουργία σταθερά διαμολυσμένων κυτταρικών σειρών του εκκρινόμενου συστήματος ιδιοσυστατης παραγωγής πεπτικών ενζύμων λαβρακιού (Φάση I). Οι τιμές δίνονται σε ευρώ και δεν περιλαμβάνουν ΦΠΑ

	Αμυλάση	Θρυψίνη
Χημικά αναλώσιμα	1.668	1507
Πλαστικά αναλώσιμα	157	162
Ανθρώπινο δυναμικό	14.000	14.000
Σύνολο	15.825	15.669

Πίνακας 2: Βασικά κόστη για τη διεξαγωγή κύκλου παραγωγής πεπτικών ενζύμων λαβρακιού (Φάση II) με τελική απόδοση 10 mg ενζύμου. Οι τιμές δίνονται σε ευρώ και δεν περιλαμβάνουν ΦΠΑ

	Αμυλάση	Θρυψίνη
Χημικά αναλώσιμα	17	15
Πλαστικά αναλώσιμα	16	10
Σύνολο	33	25

Η παραγωγή των ενζύμων σε μεγάλη κλίμακα οργανώνεται επίσης σε φάσεις:

1. Φάση I: ταυτοποίηση

Περιλαμβάνει διαδικασίες παραγωγής, επαλήθευσης και ταυτοποίησης των ενζύμων που παράγονται από το εκκρινόμενο σύστημα ιδιοσυστατης παραγωγής με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι των παραγόμενων ενζύμων.

2. Φάση II: πιλοτική παραγωγή

Περιλαμβάνει τους χειρισμούς ενίσχυσης της παραγωγής των ενζύμων από τις διαμολυσμένες κυτταρικές σειρές και τον καθαρισμό τους και παραγωγή ποσοτήτων 30-100mg καθαρού ενζύμου

3. Φάση III: αύξηση της κλίμακας παραγωγής.

Η παραγωγή σε μεγάλη κλίμακα είναι αντικείμενο εταιρειών βιοτεχνολογίας και τα κόστη παραγωγής για τα συγκεκριμένα ένζυμα δεν είναι διαθέσιμα. Ωστόσο, σε ένα βελτιστοποιημένο σύστημα παραγωγής όπως είναι αυτό της ινσουλίνης, υπολογίζεται ότι το κόστος παραγωγής είναι 0,001 USD ανά μονάδα δραστηριότητας.

4.3 Χορήγηση προϊόντος - εμπλουτισμός

Τα ανασυνδυσασμένα πεπτικά ένζυμα παράγονται σε υγρά αιωρήματα και είναι σημαντικό ο τρόπος με τον οποίο προστίθενται στις ιχθυοτροφές ώστε να μην απειλούνται με μετουσίωση. Ως εκ τούτου, ένας κατάλληλος χειρισμός κρίθηκε η προσθήκη τους σε έτοιμα σύμπληκτα μετά από ανάμιξή τους με έλαια και ψεκασμό. Αυτό γίνεται μέσω μεταφοράς των συμπληκτων εντός ειδικού θαλάμου συνεχούς ψεκασμού με έλαια. Ο ψεκασμός (ή αλλιώς επιφανειακή διασπορά) των ελαίων στα σύμπληκτα είναι τυπική πρακτική για την προσθήκη ουσιών ευαίσθητων στη θερμότητα, όπως ένζυμα, χρωστικές, βιταμίνες, ελκυστικές ουσίες κ.λπ., που μπορούν να συμπεριληφθούν στο σύμπληκτο μετά την πελλετοποίηση χωρίς τη μερική καταστροφή τους. Έτσι, τα πεπτικά ένζυμα τοποθετούνται στην εξωτερική επιφάνεια των συμπληκτων.

4.4 Παρακολούθηση της επίδοσης των εμπλουτισμένων συμπληκτων σε ιχθυογεννητικό σταθμό

Η παραγωγικότητα ενός ιχθυογεννητικού σταθμού αποτιμάται με δείκτες που αντανακλούν την ποσότητα και την ποιότητα γόνου που παράγεται σε σχέση με τους πόρους που επενδύονται σε αυτόν. Ο τύπος και η συχνότητα εμφάνισης σκελετικών ανωμαλιών, ο ρυθμός αύξησης μήκους, η διασπορά αύξησης, το ποσοστό επιβίωσης και η παραγωγικότητα ανά δεξαμενή είναι οι δείκτες επίδοσης ενός ιχθυογεννητικού σταθμού.

Στόχος της χρήσης εμπλουτισμένων ιχθυοτροφών είναι ο πρώιμος απογαλακτισμός και η εξοικονόμηση πόρων από την παραγωγή ζωντανής τροφής για την παραγωγή γόνου υψηλής ποιότητας. Προς αυτή την κατεύθυνση συγκρίθηκαν οι επιδόσεις ενός πάγιου διατροφικού σχήματος κοινής εμπορικής τροφής με ένα σχήμα που

βασιζόταν σε ιχθυοτροφές απογαλακτισμού εμπλουτισμένες με πεπτικά ένζυμα σε ποσοστό 0,5%.

	Εμπλουτισμέ να τροχόζωα	Artemi a instar	Εμπλουτισμέ νη Artemia instar	Ξηρή τροφή απογαλακτισμ ού	Απογαλακτισμ ός
Πρωτόκολλο A	4-25 dph	5-25 dph	19-45 dph	Από την 35 ημέρα	10 ημέρες
Πρωτόκολλο B	4-18 dph	5-18 dph	19-37 dph	Από την 28 ημέρα	18 μέρες

*dph, (days post hatching, ημέρες μετά την εκκόλαψη).

4.4.1 Μεθοδολογία εκτροφής

Ακολουθεί πείραμα εκτροφής δυο διαφορετικών τύπων Πρωτόκολλο A,B (εμπορική τροφή, συνδυασμός εμπορική τροφή με ανασυνδισμένα πεπτικά ένζυμα).

Ελήφθησαν αυγά από γεννήτορες λαβρακιού βάρους $5,3 \pm 0,8$ kg, και τα αυγά συγκεντρώθηκαν σε επιφανειακούς συλλέκτες 50 L που ήταν συνδεδεμένοι στην εκροή των δεξαμενών των γεννητόρων. Τα αυγά αφαιρούνταν από τους συλλέκτες γύρω στις 15.00 και υποβάλλονταν σε απολύμανση με πιστοποιημένα χημικά προϊόντα πριν μεταφερθούν σε επωαστήρες αυγών και στη συνέχεια σε δεξαμενές εκτροφής προνυμφών.

Η εκτροφή των προνυμφών πραγματοποιήθηκε σε κυλινδρικές δεξαμενές όγκου 10m^3 , με πράσινα τοιχώματα. Η εκτροφή προνυμφών πραγματοποιήθηκε σε συστήματα ροής που τροφοδοτούνταν από νερό γεώτρησης και επεξεργαζόταν με υπεριώδη ακτινοβολία και όζον. Η μέση θερμοκρασία του νερού αυξήθηκε σταδιακά από $18,5$ °C κατά την ωοτοκία, σε $21,5$ °C στη μεταμόρφωση (50 μέρες μετά την εκκόλαψη, dph). Το οξυγόνο ήταν συνεχώς σε επίπεδα κορεσμού και η μέση αλατότητα του νερού ήταν γενικά σταθερή κατά τη διάρκεια της περιόδου εκτροφής. Η επώαση των αυγών και η καλλιέργεια των προνυμφών μέχρι την πλήρη απορρόφηση του λεκιθικού σάκου διεξήχθησαν στο σκοτάδι, ενώ κατά την έναρξη της σίτισης που εφαρμόστηκε η φωτοπερίοδος ήταν Light:Dark (L:D) 16:8.

Έξι δεξαμενές προνυμφών χρησιμοποιήθηκαν για μια σύγκριση δύο διατροφικών πρωτοκόλλων, με και χωρίς εμπλουτισμό σε ανασυνδισμένα ένζυμα, χρησιμοποιώντας τρεις δεξαμενές για κάθε πρωτόκολλο. Σε κάθε περίπτωση οι προνύμφες εκτράφηκαν παρουσία φυτοπλαγκτού το διάστημα 3-27dph.

Τα πρωτόκολλα διατροφής που συγκρίθηκαν ήταν τα εξής.

Πρωτόκολλο A: εμπορική τροφή
 Εμπλουτισμένα τροχόζωα το διάστημα 4-25 dph
 Artemia instar I το διάστημα 5-25 dph
 Εμπλουτισμένη Artemia instar II το διάστημα 19-45 dph
 Ξηρή τροφή απογαλακτισμού από την 35 dph
 Διάρκεια απογαλακτισμού: 10 ημέρες

Πρωτόκολλο B: εμπλουτισμένη πειραματική τροφή
 Εμπλουτισμένα τροχόζωα το διάστημα 4-18 dph
 Artemia instar I το διάστημα 5-18 dph
 Εμπλουτισμένη Artemia instar II το διάστημα 19-37 dph
 Εμπλουτισμένη πειραματική τροφή από την 28 dph
 Διάρκεια απογαλακτισμού: 18 ημέρες. Ο απογαλακτισμός άρχισε με μείωση των γευμάτων Artemia από 5 σε 3 ημερησίως, μετά σε 2 ημερησίως, και στη συνέχεια σε 1 γεύμα ημερησίως, και αντικατάσταση των υπολοίπων με τεχνητή τροφή.

4.4.2 Συγκριτικές επιδόσεις των πρωτοκόλλων

Η επίδραση των διαφορετικών διατροφικών πρωτοκόλλων στους δείκτες επίδοσης του ιχθυογεννητικού σταθμού φαίνονται στον παρακάτω πίνακα 3. Δίνεται το μήκος (mm) σε τρεις διαφορετικές μέρες, το ποσοστό των προνυμφών με λειτουργική νηκτική κύστη, η διασπορά αύξησης, το ποσοστό επιβίωσης την 50 dph, η παραγωγικότητα ανά δεξαμενή (ποσοστό προνυμφών που επιβίωσαν την 50 dph/ L νερού) και το συνολικό ποσοστό σκελετικών ανωμαλιών.

Η στήλη «Πρωτόκολλο B» αναφέρεται σε μια επιτυχημένη εφαρμογή της πειραματικής τροφής.

Πίνακας 3.

Δείκτης	Πρωτόκολλο A	Πρωτόκολλο B
Μήκος σε 15 dph(mm)	5,1 ± 0,7	5,3 ± 0,6
Μήκος σε 40dph (mm)	13,8 ± 2,9	14,1 ± 2,7
Μήκος σε 50dph (mm)	17,6 ± 2,7	18,6 ± 3,7
Λειτουργική νηκτική κύστη (%)	86 ± 6	91 ± 6
Διασπορά αύξησης (CV%)	11 ± 3	8 ± 2
Ποσοστό επιβίωσης (%)	32 ± 10	40 ± 12
Παραγωγικότητα ανά	42 ± 21	51 ± 26

δεξαμενή		
Συχνότητα σκελετικών ανωμαλιών (%)	12.3 ± 4.7	12,6 ± 5,1

4.4.3 Ανάλυση ωφελειών από το επιτυχημένο πρωτόκολλο β.

1) Στον πίνακα αποτυπώνονται τα μήκη σε χιλιοστά (mm), σε τρεις διαφορετικές φάσεις. Και στις 3 φάσεις γίνεται αντιληπτό το γεγονός πως το μήκος των ατόμων είναι μεγαλύτερο ακολουθώντας την εμπλουτισμένη τροφή σε σχέση με το κοινό πρωτόκολλο διατροφής Α. Η μέγιστη διαφορά επιτυγχάνεται την 50^η ημέρα όπου βλέπουμε πως είναι κατά 1 mm μεγαλύτερο πράγμα που δηλώνει: α) γρηγορότερη ανάπτυξη, συνεπώς και λιγότερες μέρες παραμονής στον Ιχθυογεννητικό σταθμό, β) λιγότερες μέρες παροχής τροφής φτάνοντας ταχύτερα στο επιθυμητό μέγεθος, γ) καλύτερη μετατρεψιμότητα τροφής, δ) μεγαλύτερη βιωσιμότητα-ανθεκτικότητα κτλ.

2) Διαφορά παρατηρείται και στο δείκτη λειτουργικής νηκτικής κύστης και πιο συγκεκριμένα με το πρωτόκολλο Β (εμπλουτισμένη με ένζυμα τροφή). Από τα δεδομένα γίνεται αντιληπτό πως 5% περισσότερα άτομα έχουν λειτουργική νηκτική κύστη. Αυτή σχετίζεται με την σωστή πλευστότητα γεγονός που είναι ζωτικής σημασίας για τα άτομα αυτά. Με την αύξηση των ατόμων που παρουσιάζουν λειτουργική νηκτική κύστη ο ιχθυογεννητικός σταθμός επωφελείται τόσο άμεσα, έχοντας περισσότερα ζώντα και ανθεκτικά άτομα, όσο και έμμεσα με την καλύτερη ποιότητα αυτών.

3) Ένα από τα μεγαλύτερα οφέλη από την επιτυχημένη παροχή του πρωτοκόλλου Β έχει να κάνει με την διασπορά αύξησης. Πιο συγκεκριμένα βλέπουμε πως το ποσοστό της διασποράς αύξησης μειώνεται με το Β κατά 6-10%, σε σχέση με το Α όπου είναι από 8-14%. Πρακτικά αυτό σημαίνει ορθή διατροφή και ανάπτυξη των ψαριών και ότι δεν υπάρχουν μεγάλες αποκλίσεις στα μεγέθη τους δηλαδή παραγωγή με την ίδια ταχύτητα ανάπτυξης. Με την μείωση της διασποράς ένας ιχθυογεννητικός σταθμός μπορεί να γλυτώσει έμμεσα το σημαντικό έξοδο της διαλογής και διαχωρισμού των ψαριών σε μεγέθη. Αυτό γίνεται με το χέρι και είναι μια χρονοβόρα και κοστοβόρα διαδικασία. Επίσης, με την μείωση της ο ιχθυογεννητικός σταθμός απαλλάσσεται και από άλλα έξοδα όπως αυτό της διατροφής των ατόμων που μεγαλώνουν αργά.

4) Σημαντικό και άμεσα μετρήσιμο όφελος για έναν ιχθυογεννητικό σταθμό αποτυπώνεται στον δείκτη του ποσοστού επιβίωσης. Με το πρωτόκολλο Α βλέπουμε πως το ποσοστό επιβίωσης κυμαίνεται από 22-42%, ενώ με το πρωτόκολλο Β το ποσοστό κυμαίνεται από 30-52%. Η βελτίωση αυτή είναι πραγματικά πολύ μεγάλη (~10%) ακόμα και σε μια απλή αναγωγή του 1.000.000 ατόμων όπως αποδεικνύεται

και στο παραπάνω πείραμα. Το όφελος αυτό είναι άμεσα μετρήσιμο και πολύ κερδοφόρο για έναν ιχθυογεννητικό σταθμό, αποσβένοντας έτσι σε ένα βαθμό το κόστος στις εμπλουτισμένης με ένζυμα τροφής.

5) Ακολουθεί ο δείκτης παραγωγικότητας ανά δεξαμενή. Με το πρωτόκολλο A βλέπουμε πως η παραγωγικότητα ανά δεξαμενή κυμαίνεται από 21-63 άτομα/L νερού. Ενώ με το πρωτόκολλο B ο αριθμός αυτός κυμαίνεται από 25-77 άτομα /L νερού. Είναι αντιληπτό το γεγονός πως ο δείκτης της παραγωγικότητάς είναι ένας από τους σημαντικότερους δείκτες για κάθε ιχθυογεννητικό σταθμό, διότι εκτός από την μεγάλη παραγωγικότητα και τα παρεπόμενα οφέλη από αυτή, ο ιχθυογεννητικός σταθμός επωφελείται και από την μείωση των εξόδων. Πιο συγκεκριμένα στις δεξαμενές πρέπει να παρέχονται οι κατάλληλες συνθήκες (θερμοκρασία, αλατότητα, O₂, κα). Γεγονός που είναι κοστοβόρο όταν υπάρχουν χαμηλές παραγωγικότητες. Απλή αναγωγή στα έξοδα είναι τα κόστη X για επίτευξη των κατάλληλων συνθηκών. Συνεπώς για το πρωτόκολλο A είναι $X/42 \pm 21$, ενώ για το πρωτόκολλο B τα κόστη είναι $X/51 \pm 26$. Ακόμα ένα έμμεσο όφελος που αποσβένει τα έξοδα για την δημιουργία εμπλουτισμένης τροφής.

6) Τέλος όσων αφορά τον δείκτη των σκελετικών ανωμαλιών, βλέπουμε πως δεν υπάρχει κάποια σημαντική ωφέλεια με την εφαρμογή είτε του πρωτοκόλλου A, είτε του B. Τα ποσοστά κυμαίνονται σε παρόμοια επίπεδα με τις διαφορές να είναι ελάχιστες. Με βάση αυτά τα δεδομένα για να παρατηρηθεί τυχόν μείωση των σκελετικών ανωμαλιών με το πρωτόκολλο B θα πρέπει να παρέχουμε την εμπλουτισμένη τροφή και σε επομένους κύκλους.

5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.

Στο σημείο αυτό θα αποτυπωθούν ενδεικτικά διάφορα στοιχεία από τα κόστη-οφέλη που αφορούν την εφαρμογή απογαλακτισμού κατά μια εβδομάδα νωρίτερα μέσω της συγχορήγησης ανασυνδιασμένων ενζύμων και μικροτροφών και θα γίνει αναγωγή για 1.000.000 ιχθύδια. Τα στοιχεία δόθηκαν από ιχθυογεννητικό σταθμό που διεξάγει πειράματα σε συνεργασία με την κα Μούτου.

- Αρχικά για γόνο λαβρακιού μέσου μεγέθους 3 γραμμαρίων η τιμή πώλησης αποτιμάται στα 8 λεπτά/κομμάτι.
- Η μια εβδομάδα μείωσης της περιόδου απογαλακτισμού ισοδυναμεί με μια εβδομάδα μείωσης της καλλιέργειας και παροχής ζωντανής τροφής της οποίας το κόστος ανέρχεται ~ 5.000 ευρώ.
- Για να επιτευχθεί ο πρώιμος απογαλακτισμός κατά μια εβδομάδα χρειάζονται ~5 κιλά τροφής της οποίας το κόστος ανέρχεται ~ 20€/κιλό συν το κόστος παραγωγής των ενζύμων.
- Για την δημιουργία παραγωγής και χορήγηση ανασυνδιασμένων ενζύμων θρυψίνης και αμυλάσης το κόστος ανέρχεται σε 31.400 ευρώ (κόστος εγκαταστάσεων) και 58.000ευρω για 10γρ θρυψίνης και 10γρ αμυλάσης. Άρα Μεικτό κόστος= κόστος εγκατάστασής + κόστος παραγωγής + κόστος τροφής → Μεικτό κόστος=31.400+87.000+100 = 118.500 ευρώ.
- Παρά το υψηλό κόστος παραγωγής και συγχορήγησης θα αποτυπωθούν τα έμμεσα και άμεσα οφέλη που προκύπτουν για τον ιχθυογεννητικό από τους δείκτες που μετρήθηκαν

Δείκτες επιδόσεων	Άμεσα οφέλη	Έμμεσα οφέλη
1) Μήκος 15 ^η ,40 ^η και 50 ^η ημέρα. Αύξηση μήκους →	-Γρηγορότερη αύξηση. -Λιγότερες μέρες παραμονής - χορήγησής τροφής.	-Καλύτερη μετατρεψιμότητα τροφών. -Μεγαλύτερα άτομα ,μεγαλύτερη ανθεκτικότητα, ποιότητα-υγιή άτομα.
2)Λειτουργική νηκτική κύστη. Αύξηση ποσοστού →	-Αύξηση ζώντων ατόμων.	-Αύξηση υγείων ατόμων. -Καλύτερα περισσότερα και ανθεκτικότερα άτομα.
3)Διασπορά αύξησης Μείωση ποσοστού→	-Μείωση εξόδων διαλογής - διαχωρισμού σε ομάδες	-Ορθή διατροφή ιχθύων.

	<p>παρομοίων μεγεθών.</p> <p>-Μείωση έξτρα εβδομάδων σίτισης των αδικημένων (μικρότερων ατόμων που τους έτρωγαν τη τροφή τα μεγαλύτερα άτομα).</p>	-Σωστή και παρόμοια ανάπτυξη για όλα τα άτομα χωρίς μεγάλες διακυμάνσεις στα μεγέθη.
4)Ποσοστό επιβίωσης. Αύξηση ποσοστού→	-Με την αύξηση ~ 10% σημαίνει πως πωλούνται ~10% περισσότερα άτομα γόνου μέσης τιμής 0,08 €/κομμάτι, άρα σχεδόν 8.000 € άμεσο οικονομικό όφελος για τον ιχθυογεννητικό (κόστος που αποσβένει σε ένα βαθμό τα έξοδα).	
5)Παραγωγικότητα/δεξαμενή Αύξηση παραγωγικότητας→	-Μείωση παγίων εξόδων για την παροχή κατάλληλων συνθήκων δεξαμενών. πχ πάγια έξοδα=χ έξοδα/42±21 Ενώ με την αύξηση παραγωγικότητας Πάγια έξοδα=χ έξοδα/51±26 (Άμεσο οικονομικό όφελος για την απόσβεση εξόδων παραγωγής ανασυνδιασμένων ενζύμων.	-Περισσότερα άτομα/lt νερού.

- Πρόκειται για μελέτη αποτίμησης ωφελειών νέας τεχνολογίας στη διατροφή απογαλακτισμού λαβρακιού βασισμένη σε επίπεδο εργαστηριακών μελετών.
- Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι υπάρχει σημαντική οικονομική και ποιοτική ωφέλεια η οποία τεκμηριώνει την σκοπιμότητα συνέχισης μελέτης σε πιλοτικό και βιομηχανικό επίπεδο.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.

Βιβλιογραφία

- Παπουτσόγλου, Σ., 1997. Εισαγωγή στις υδατοκαλλιέργειες. Αθήνα: Σταμούλη Α.Ε.
- Χώτος Γ. ,Ρογδάκης Ι. 1992, Υδατοκαλλιέργειες ευρύαλων ψαριών. Εκδόσεις Ίων, Αθήνα.
- Παπουτσόγλου Σ., 2008, Διατροφή ιχθύων, Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, Αθήνα.
- Bengtson D.A. (2003) Status of marine aquaculture in relation to live prey: past, present and future. Live Feeds in Marine Aquaculture (ed. by J.G. Strottrup & L.A. McEvoy), pp.1-16. Blackwell publishing Oxford, UK.
- Lucas, J., Southgate, P., 2003, Aquaculture, farming aquatic animals and plants, Blackwell Publications
- Nash, C., 2011, The History of Aquaculture, Wiley-Blackwell, uk.
- Steffents, W., 1989, Principles of Fish Nutrition. Ellis Horwood, Chichester
- De Silva, S.S., Anderson, T.A., (1995), Fish Nutrition in Aquaculture, Chapman & Hall, UK.
- F.Javier Sánchez Vázquez & José A. Muñoz-Cueto (2014), Biology of European Sea Bass, United States: CRC Press, p

Αρθρογραφία

- Lovatelli, A.; Basurco, B. 2003 The Aquaculture Situation In The Mediterranean Sea Predictions For The Future, pp. 1-6.
- Herminio, R., 1988. History of Aquaculture. ASEAN/UNDP/FAO Regional Small-Scale Coastal Fisheries Development Project, pp. 1-13
- Jennings S. and Pawson M.G. (1992) The origin and recruitment of bass, *Dicentrarchus labrax* larvae to nursery areas, J. Mar. Biol. ASSOC. UK, Pp 199-211
- Conceicao L. E C, Yufera M., Makridis P., Morais S., Dinis M. T. (2010) Live feeds for early stages of fish rearing. Aquaculture Research Vol 41 pp 613-640
- Govoni J.J., Boehlert G.W. ,Watanabe Y. (1986): The physiology of digestion in fish larvae. Environmental Biology of Fishes Vol 16 pp. 59-77
- Fernandez-Diaz C., Pascual E., Yufera M. (1994) Feeding behavior and prey size selection of gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae fed on inert and live food. Marine Biology vol 118 pp 323-328
- Curnow J., King J., Bosmans J., Kolkovski S. (2006) The effect of reduced Artemia and rotifer use facilitated by a new microdiet in the rearing of barramundi *Lates calcarifer* (BLOCH) larvae. Aquaculture Vol 257 pp 204-213
- Holmes, R., (1996) Blue Revolution. New Science, Vol 62, pp 661-674

Volckaert F.A.M., Batargias C., Canario A., Chatziplis D., Chistiakov D., Haley C., Libertini A., Tsigenopoulos C. (2008), *Genome Mapping and Genomics in Fishes and Aquatic Animals*, Berlin: Springer, Volume 2, pp. 117-133

Cho C.Y. & Bureau D. P. (2001), A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture, *Aquaculture Research*, 32 (Suppl. 1), 349-360

Picket G.D. and Pawson M.G. (1994) *Sea bass: biology, exploitation and conservation*. In *Fish and Fisheries Series*, Vol. 12 (ed T.J. Pitcher). Chapman and Hall, pp. 1-235

Halver, J., H., Hardy, R., W., (2002), *Fish Nutrition*, Academic Press, pp 755-770

Rabanal, H.R., 1988, *History of Aquaculture*, ASEAN/UNDP/FAO Regional Small-Scale Coastal Fisheries Development Project

Ιστογραφία

ΣΕΘ, 2019. *Ελληνική υδατοκαλλιέργεια 2019*, σελ. 16-34

Παππάς, Ν. (2010) Διερεύνηση διαμόρφωσης κόστους ιχθυδίων τσιπούρας και λαυρακιού σε Ιχθυογεννητικούς Σταθμούς. Μεταπτυχιακή Διατριβή. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, σελ. 68

ICAP, (2009), *Sector study: Aquaculture*, ICAP

Maniatis, G., Danchev, S., (2011), *Sector study: Aquaculture*, FOUNDATION FOR ECONOMIC & INDUSTRIAL RESEARCH

Ling, S.W. 1977, *Aquaculture in Southeast Asia: A Historical Review*, University of Washington Post. Seattle

Kaushik, S. J., (1993), Preface. In: *Fish Nutrition in Practice. Nutrition and Feeding*, 24-27 June

"Τει Ηπείρου-Τμήμα Ιχθυοκομίας Αλιείας, Εργαστήριο Υδατοκαλλιεργειών και Εσωτερικών Υδάτων, Ηλεκτρονικές Σημειώσεις για την Παραγωγή Ιχθύων Γλυκού Νερού, Επιμέλεια: Περδικάρης Κώστας, Ναθαναηλίδης Κοσμάς, Γκούβα Ευαγγελία, Εργολάβου Άννα, Πάσχος Γιάννης, Ηγουμενίτσα, Ιανουάριος 2006.

