ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Επίδραση αποξηραμένου εκχυλίσματος ανώριμου νερατζιού στην ανάπτυξη της τσιπούρας (Sparus aurata) και ιστολογική μελέτη του ήπατος αυτής»

Παπαγιαννόπουλος Νικόλαος

Βόλος 2015

Επίδραση αποξηραμένου εκχυλίσματος ανώριμου νερατζιού στην ανάπτυξη της τσιπούρας (*Sparus aurata*) και ιστολογική μελέτη του ήπατος αυτής

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. **Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης,** Λέκτορας, Διατροφή Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Επιβλέπων**
2. **Παναγιώτης Βερίλλης,** Λέκτορας, Χρήση Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας και Ανάλυσης Εικόνας στην Ιστολογία, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**
3. **Έλενα Γκολομάζου,** Λέκτορας, Ιχθυοπαθολογία, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**

Στην μνήμη του αγαπημένου φίλου, Ερμή.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους ανθρώπους που συνέβαλαν προκειμένου να φέρω εις πέρας την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Συγκεκριμένα, τον Επιβλέποντα της Προπτυχιακής Εργασίας, κ. Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη, για τη συνεχή βοήθεια και υποστήριξη, τόσο κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής του πειράματος, όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας. Επίσης, τα άλλα δύο μέλη της εξεταστικής επιτροπής, τον κ. Παναγιώτη Βερίλλη και την κ. Έλενα Γκολομάζου για τις χρήσιμες συμβουλές τους κατά τη διάρκεια της ιστολογικής μελέτης. Θα ήθελα να ευχαριστήσω και τους προπτυχιακούς συμφοιτητές μου, κ. Στέφανο Φούντα και κ. Αργύριο Μπουζιανά, για την συνεργασία και την επιτυχή διεξαγωγή του πειράματος. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον ιχθυογεννητικό σταθμό ΔΙΑΣ για την δωρεά των ιχθυδίων τσιπούρας, τη BioMar Hellas, βιομηχανία ιχθυοτροφών για τη δωρεά πρώτων υλών και το Δήμο Νέας Ιωνίας Βόλου για τη μεταφορά θαλασσινού νερού στον πειραματικό σταθμό του Τμήματος Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, Μιχάλη και Κίρσι, για την υπομονή και την υποστήριξη καθ’ όλη τη διάρκεια των σπουδών μου και τον αδερφό μου, Έσα, για την συγκατοίκηση τα δύο τελευταία χρόνια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στο διατροφικό πείραμα της εν λόγο εργασίας, χρησιμοποιήθηκαν 240 ιχθύδια τσιπούρας (*Sparus aurata*). Χωρίστηκαν σε 4 διατροφικές ομάδες για να δοκιμασθεί η φυτοβιοτική ουσία Provigoro. Η A διατροφική ομάδα ήταν ομάδα μάρτυρας και η τροφή της δεν περιείχε Provigoro. Η τροφή της B περιείχε 0.25% Provigoro, η τροφή της C περιείχε 0.50% και η τροφή της διατροφικής ομάδας D περιείχε 1% Provigoro. Το πείραμα είχε χρονική διάρκεια 120 ημέρες και πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος στο Βόλο. Μελετήθηκαν οι παράμετροι ανάπτυξης για τις τέσσερις διατροφικές ομάδες. Συγκεκριμένα, το ποσοστό επιβίωσης, το ποσοστό αύξησης βάρους, ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR) και ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR). Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις διατροφικές ομάδες, ωστόσο υπήρξαν αναλογικές αυξήσεις έως και την διατροφική ομάδα C (μέγιστη τιμή) στο ποσοστό αύξησης του βάρους. Επίσης, μελετήθηκε το ήπαρ από τα ψάρια και των τεσσάρων διατροφικών ομάδων. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές, όμως παρατηρήθηκε μεγάλος αριθμός λιποσταγονιδίων λόγω του υψηλού ποσοστού λίπους (18.2%) στην τροφή των εκτρεφόμενων ιχθύων. Είναι σημαντικό να γίνουν επιπλέον έρευνες για την επίδραση των φυτοβιοτικών στα εκτρεφόμενα ψάρια καθώς η προοπτικές που παρουσιάζουν είναι πολλά υποσχόμενες για την μεγιστοποίηση των κερδών και την βελτίωση των προϊόντων.

Πίνακας περιεχομένων

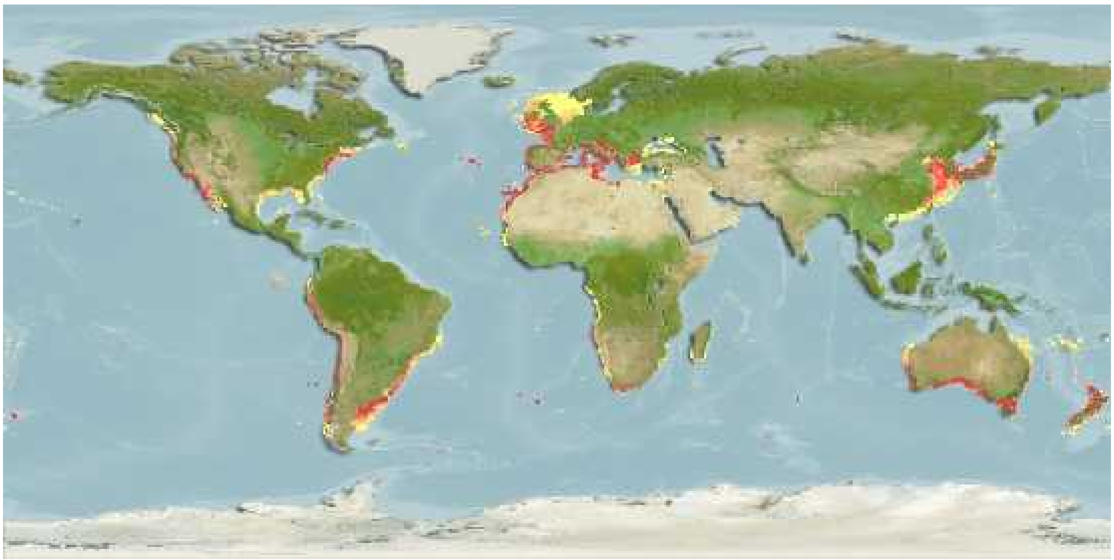
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1.Βιολογικά χαρακτηριστικά του *Sparus aurata*

Η τσιπούρα (*Sparus aurata*, Linnaeus 1758, Εικόνα 1.1.1) είναι ένα από τα πιο γνωστά ψάρια της Ελληνικής αγοράς και έχει μεγάλη εμπορική αξία. Το προηγούμενο επιστημονικό όνομα της τσιπούρας ήταν *Chrysphrys aurata* και προέκυψε από την χρυσή καμπύλη λωρίδα που υπάρχει κατά μήκος του μετώπου, που έχει στα περιθώριά της δύο σκουρόχρωμες ζώνες, κυρίως στα ενήλικα. Είναι είδος αβλαβές για τον άνθρωπο και ανήκει στην οικογένεια των Sparidae, η οποία περιλαμβάνει τα περισσότερα είδη ψαριών στην Ελλάδα. Η πλήρης συστηματική κατάταξη του είδους είναι η εξής:

- Βασίλειο: Animalia
- Συνομοταξία: Chordata
- Ομοταξία: Osteichthyes
- Υφομοταξία: Acanthopterygii
- Υπέρταξη: Teleostei
- Τάξη: Perciformes
- Υπόταξη: Percoides
- Οικογένεια: Sparidae
- Γένος: *Sparus*
- Είδος: *S. Aurata*

Η τσιπούρα έχει σώμα ατρακτοειδές χρώματος ασημί-γκρι, ψηλό με μία μεγάλη μαύρη κηλίδα στο βραγχιακό επικάλυμμα, στη συνέχεια της οποίας διακρίνονται χρυσές και ερυθρές αποχρώσεις. Το ουραίο πτερύγιο είναι διχαλωτό και το ρύγχος είναι διπλάσιο σε μήκος από τη διάμετρο του ματιού. Το είδος διαθέτει 11

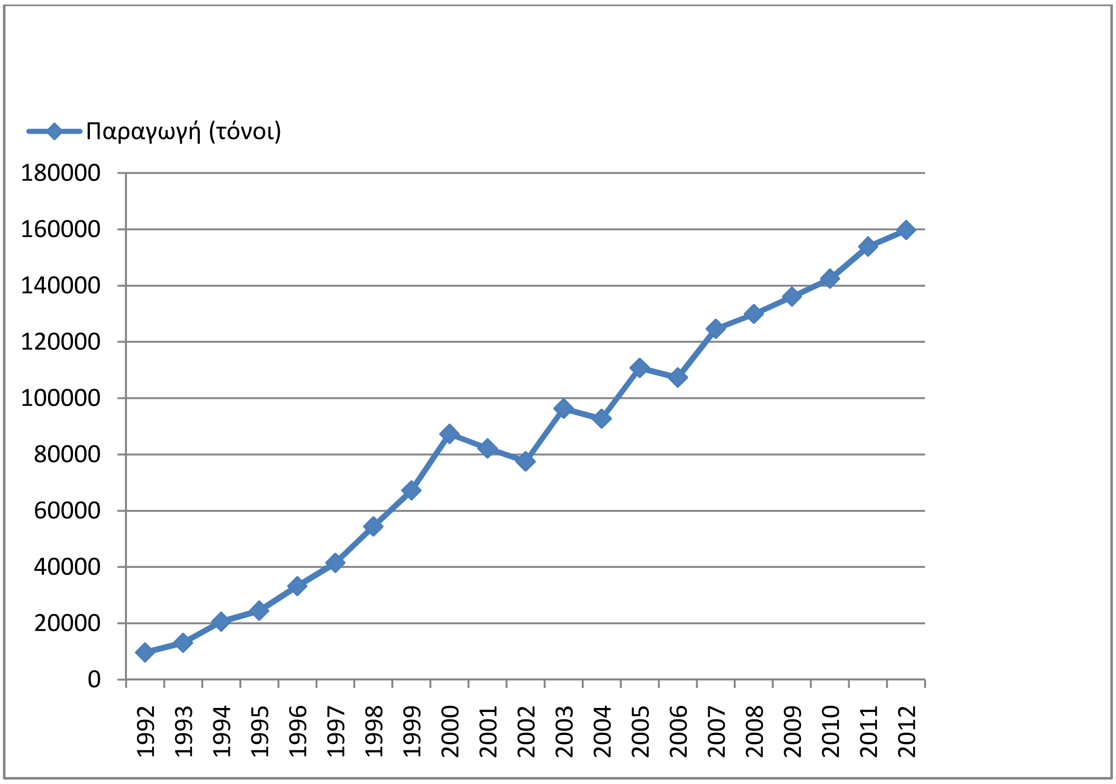


1.2.Εκτροφή του *Sparus aurata*

Η αναπαραγωγή και η εκτροφή ψαριών καθώς και η καλλιέργεια υδρόβιων οργανισμών, είναι μια τεχνική γνωστή εδώ και 4000 χρόνια. Έχει ως σκοπό την παραγωγή πρώτων υλών, τροφής για τον άνθρωπο και, πολλές φορές γόνου, ο οποίος προορίζεται για τον εμπλουτισμό ιχθυοτρόφων νερών (Φώτης & Αγγελίδης 2003). Από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα, η ανάπτυξη των βιολογικών επιστημών καθώς και της τεχνολογίας, σε συνδυασμό με την ολοένα αυξανόμενη ζήτηση σε προϊόντα υψηλής θρεπτικής αξίας, μετατρέπουν τις μονάδες υδατοκαλλιέργειας από οικιακές και μικρομεσαίες επιχειρήσεις συσσώρευσης κεφαλαίου πολλές φορές ακόμα και πολυεθνικού χαρακτήρα (Κουσουρής και συν. 1995).

Η τσιπούρα είναι ένα είδος με υψηλή οικονομική σημασία ιδιαίτερα στον Μεσογειακό χώρο που κάνουν αυτό το είδος να είναι στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος των εντατικών υδατοκαλλιεργειών στην Ελλάδα τα τελευταία 20 χρόνια. Σύμφωνα με το FAO, το 85% της συνολικής ιχθυοπαραγωγής των δυο κυρίαρχων ειδών στη Μεσόγειο, δηλαδή της τσιπούρας και του Ευρωπαϊκού λαβρακιού, πραγματοποιείται με την εφαρμογή των πλωτών ιχθυοκλωβών. Η Τουρκία, η Ελλάδα και η Κύπρος είναι οι χώρες στις οποίες αυτή η συγκεκριμένη μέθοδος εκτροφής κυριαρχεί.

Σε ότι αφορά το θέμα του ελληνικού εμπορίου, το 2007 το 57% της συνολικής παραγωγής της τσιπούρας εξάγεται. Ο κυριότερος προορισμός των εξαγωγών τσιπούρας είναι η Ιταλία, η Ισπανία, η Γαλλία και η Μεγάλη Βρετανία. Παράλληλα, μετά την κρίση των ελληνικών υδατοκαλλιεργειών το 2000-2002, εξαιτίας της υπερπαραγωγής και του κορεσμού της εσωτερικής και διεθνούς αγοράς, οι επιχειρήσεις του κλάδου στράφηκαν όχι μόνο στην αναζήτηση νέων αγορών αλλά και


Παραγωγή (τόνοι)
180000
160000
140000
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
1992
1993
1994
1995
1996
1997
1998
1999
2000
2001
2002
2003
2004
2005
2006
2007
2008
2009
2010
2011
2012

ομοιοστασίας τους, για την αύξηση του σώματός τους καθώς και για την αναπαραγωγή τους.

Όπως στους υπόλοιπους ζωικούς οργανισμούς, έτσι και στους ιχθύς, η διατροφή αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζει και καθορίζει τον ρυθμό ανάπτυξης, την ποιότητα και το κόστος παραγωγής. Πολύ σημαντικός παράγοντας για τη σωστή διατροφή των ιχθύων είναι η γνώση των αρχών που διέπουν τα φαινόμενα της πέψεως, του μεταβολισμού και της φυσιολογίας των ιχθύων καθώς και των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού.

1.3.1.Θρεπτικές απαιτήσεις σε πρωτεΐνες και αμινοξέα

Η τσιπούρα είναι είδος σαρκοφάγο οπότε οι πρωτεΐνες είναι το πιο σημαντικό θρεπτικό συστατικό στην εκτροφή της και καθορίζουν την ανάπτυξή της. Τα ιχθύδια της τσιπούρας έχουν μεγαλύτερες απαιτήσεις σε πρωτεΐνες από τις ενήλικες καθώς ο ρυθμός ανάπτυξής τους είναι μεγαλύτερος. Η βέλτιστη αξιοποίηση των πρωτεϊνών από τις εκτρεφόμενες τσιπούρες εκτιμήθηκε σε ποσοστό 47% (Lupatsch & Kissil 2003).

Οι πρωτεΐνες αποτελούνται από 20-25 διαφορετικά αμινοξέα συνδεδεμένα μεταξύ τους με πεπτιδικούς δεσμούς. Τα περισσότερα αμινοξέα μπορούν να συντεθούν από τις τσιπούρες, ωστόσο υπάρχουν αμινοξέα τα οποία δεν μπορούν να συντεθούν (Gonzalez & Allan 2007). Αυτά είναι τα 10 απαραίτητα αμινοξέα όπως εμφανίζονται στον Πίνακα 1.3.

Πίνακας 1.3: Τα απαραίτητα για την εκτροφή της τσιπούρας αμινοξέα σε mg/g πρωτεΐνης (Webster and Lim, 2002).

Αργινίνη	<2.6
Ιστιδίνη	1.7
Ισολευκίνη	2.6
Λευκίνη	4.5
Λυσίνη	5
Μεθειονίνη	4
Φαινυλαλανίνη	2.9
Θρεονίνη	2.8
Τρυπτοφάνη	0.6
Βαλίνη	3

1.3.2.Θρεπτικές απαιτήσεις σε λιπίδια, λιπαρά οξέα και ενέργεια

Οι περισσότεροι ερευνητές υποστηρίζουν ότι ο κύριος παράγοντας που καθορίζει την αβίαστη κατανάλωση τροφής από τα διάφορα είδη ιχθύων είναι η πεπτή ενέργεια των σιτηρεσίων (Kaushik & Medale 1994). Η κύρια πηγή ενέργειας στις τσιπούρες, όπως και στα περισσότερα είδη ψαριών, είναι τα λιπίδια. Αυτός είναι ο λόγος που μερικοί ερευνητές συστήνουν τη χορήγηση σιτηρεσίων με χαμηλή περιεκτικότητα σε λίπη όταν οι ιχθύες σιτίζονται σε επίπεδα κορεσμού ή κοντά σε αυτά (Vergara et al. 1996). Η περιεκτικότητα σε λιπίδια του σιτηρεσίου της τσιπούρας, κατά τη διάρκεια του νεαρού και ενήλικου σταδίου, δεν πρέπει να υπερβαίνει το επίπεδο των 12-15% (Corazze 2001).

Η διατροφή των εκτρεφόμενων ψαριών πρέπει να περιέχει πολυακόρεστα λιπαρά οξέα ω-3 και ω-6 (Koven *et al.* 2001). Είναι γνωστό ότι η μερική αντικατάσταση των ιχθυελαίων με φυτικές πρώτες ύλες στα σιτηρέσια των ιχθύων έχει οδηγήσει στην παραγωγή τελικών προϊόντων με μειωμένη περιεκτικότητα πολυακόρεστων λιπαρών οξέων της σειράς ω-3 και ω-6. Οι απαιτήσεις της τσιπούρας σε απαραίτητα λιπαρά οξέα ικανοποιούνται μέσω των 20:5ω-3 και 22:6ω-3, με ποσοστό 1% (ή και λιγότερο) επί της ξηρής ουσίας της τροφής (Μεντέ και Νέγκας 2011).

1.3.3.Θρεπτικές απαιτήσεις σε βιταμίνες και ανόργανα στοιχεία

Οι βιταμίνες είναι τάξη οργανικών χημικών ενώσεων, οι οποίες είναι απαραίτητες για την κανονική αύξηση και διατήρηση ενός ζωντανού οργανισμού, ο οποίος δεν είναι σε θέση να τις συνθέσει. Ανευρίσκονται στην τροφή των οργανισμών, δρουν ακόμη και όταν ανευρίσκονται σε πολύ μικρές ποσότητες, ενώ δεν έχουν θερμιδική αξία. Η δράση τους έγκειται στην ρύθμιση της μεταβολικής διαδικασίας και των ενεργειακών μετατροπών που συμβαίνουν στον οργανισμό. Η έλλειψη βιταμινών από την τροφή μειώνει την ανάπτυξη της τσιπούρας και μπορεί να προκαλέσει θνησιμότητες (Ortuno et al. 1999).

Τα ανόργανα συστατικά των τροφίμων δεν προσφέρουν στον οργανισμό ενέργεια, αλλά είναι απαραίτητα σε πολύ μικρές ποσότητες, για τη σωστή λειτουργία του. Πολλά ανόργανα στοιχεία δρουν συνεργιστικά με άλλες βιταμίνες στη ρύθμιση του μεταβολισμού. Τα ανόργανα συστατικά συμμετέχουν και προσδίδουν αντοχή και σκληρότητα στους σκελετικούς και άλλους ιστούς, αλλά αποτελούν και συστατικό των οργανικών ενώσεων και των μαλακών ιστών του οργανισμού. Συμμετέχουν στην ενεργοποίηση των ενζυμικών συστημάτων σα μέρος του μορίου του ενζύμου ή σα συμπαράγοντες. Οι απαιτήσεις ιχθυδίων της τσιπούρας σε φώσφορο είναι 0,75% αλλά το ποσοστό μεταβάλλεται καθώς μεγαλώνουν (Pimentel-Rodrigues & Oliva-Teles 2001).

1.4.Κυριότερες ασθένειες στις εκτρεφόμενες τσιπούρες

Στον κλάδο των υδατοκαλλιεργειών υπάρχουν κίνδυνοι οι οποίοι μπορούν να προκαλέσουν τεράστιες ζημιές. Ένας από αυτούς είναι οι διάφορες ασθένειες που μπορεί να μεταδοθούν στα εκτρεφόμενα ψάρια. Ίσως η μεγαλύτερη απειλή για τις μονάδες εκτροφής τσιπούρας είναι η παστερέλλωση η οποία οφείλεται στο βακτήριο *Pasteurella piscicida*. Η μετάδοση της νόσου γίνεται με το νερό, με την τροφή και από ψάρι σε ψάρι. Ως πύλες εισόδου θεωρούνται τα βράγχια, το στόμα και ο υποδόριος ιστός ύστερα από λύση συνέχειας του δέρματος. Η παστερέλλωση είναι δυνατό να έχει σύντομη εξέλιξη με μαζικούς θανάτους (οξεία μορφή) ή να διαρκέσει αρκετούς μήνες (χρόνια μορφή). Τα ασθενή ψάρια στην οξεία μορφή παρουσιάζουν έντονο σκούρο χρωματισμό του δέρματος και μόνο. Τις περισσότερες φορές ο θάνατος επέρχεται γρήγορα χωρίς να εμφανιστούν εξωτερικές αλλοιώσεις (Φώτης & Αγγελίδης 2003).

Ακόμα μία επικίνδυνη ασθένεια για τις εκτρεφόμενες τσιπούρες είναι η δονακίωση (vibriosis). Η δονακίωση προκαλείται από δονάκια όπως το *V. anguillarum* (*Listonella anguillarum*) και το *V. alginolyticus*. Πηγές μόλυνσης είναι τα κατεστραμμένα δίχτυα, το ίζημα των δεξαμενών, περιττώματα, τροφή που δεν καταναλώθηκε, τα ψάρια φορείς της εκτροφής αλλά και αυτά που ζουν ελεύθερα. Στα προσβεβλημένα ψάρια μπορεί να παρατηρηθούν αιμορραγίες γύρω από την έδρα και από τις βάσεις των πτερυγίων, στα βράγχια και στη στοματική κοιλότητα (Akayli & Timur 2002).

Επίσης ένας μεγάλος κίνδυνος για τις εκτρεφόμενες τσιπούρες είναι ο ιός της λεμφοκύστης (LCDV). Η λεμφοκύστη χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό μικρών οζιδίων, τα οποία είναι διασκορπισμένα σε πολλά σημεία του σώματος συμπεριλαμβανομένων και των πτερυγίων. Η μετάδοση γίνεται κυρίως με το μολυσμένο νερό και με την επαφή. Στη μετάδοση της νόσου συμβάλλουν επίσης και εξωπαράσιτα. Η νόσος παρουσιάζει χρόνια εξέλιξη χωρίς άμεσους θανάτους (Cano et al. 2006).

1.5.Φυτοβιοτικά στη διατροφή των εκτρεφόμενων ιχθύων

Τα φυτοβιοτικά είναι ένα ευρύ φάσμα βιολογικών ενεργών ενώσεων που μπορούν να εξαχθούν από διάφορες φυτικές πηγές (Dorojan *et al*. 2014). Εδώ και εκατοντάδες χρόνια η επίδραση των φυτοβιοτικών στον ανθρώπινο οργανισμό είναι γνωστή (Antache *et al*. 2013). Κατά τα τελευταία χρόνια, έχουν εμφανιστεί νέες ενδιαφέρουσες εφαρμογές των φυτοβιοτικών στη ζωική παραγωγή (Dorojan *et al*. 2014, Πίνακας 1.5). Έχουν δοκιμάσει στη διατροφή των ψαριών με σκοπό την αντικατάσταση των αντιβιοτικών και των χημειοθεραπευτικών στις υδατοκαλλιέργειες. Έχει αποδειχθεί η ευεργετική επίδραση που έχουν τα φυτοβιοτικά στο ανοσοποιητικό σύστημα των ψαριών, καθώς και σε πολλές περιπτώσεις στην απόδοση αναπτύξεώς τους (Antache *et al*. 2013). Τα φυτοβιοτικά συμβάλλουν στη βελτίωση του μηχανισμού άμυνας των ψαριών, προσφέροντας προστασία ενάντια στις μολύνσεις και ως εκ τούτου έχουν θετική επιρροή στις αναπτυξιακές επιδόσεις (Dorojan *et al*. 2014). Ωστόσο, δεν πρέπει να αγνοηθεί ότι η έκθεση των ψαριών σε αντιβιοτικές ουσίες για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια της λειτουργίας του ανοσοποιητικού, έτσι το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα χάνει την ευαισθησία του (Dorojan *et al*. 2014).

Πίνακας 1.5: Κύρια εκχυλίσματα βοτάνων & φυτών και οι πολλαπλές θεραπευτικές τους ιδιότητες στον τομέα των υδατοκαλλιεργειών (Cristea *et al*. 2012).

Όνομα	Επιστημονικό όνομα	Χρήσιμο στοιχείο	Ενεργή ουσία	Θεραπευτικές ιδιότητες
Μοσχοκάρυδο	*Myristica flagrans*	Σπόρος	Σαβινένιο	Πεπτικό τονωτικό
Κανέλα	*Cinnamomum zeylanicum*	Φλοιός	Ammameldehyde	Τονωτικό όρεξης & πέψης, αντισηπτικό
Γαριφαλόδενδρο	*Syzygium aromaticum*	Γαρίφαλο	Ευγενόλη	Τονωτικό όρεξης & πέψης, αντισηπτικό
Κακουλέ	*Elettaria caramomum*	Σπόρος	Cinook	Τονωτικό όρεξης & πέψης
Κόλιανδρος	*Coriandum sativum L*	Φύλλα	Unalol	Πεπτικό τονωτικό
Κύμινο	*Cuminum cyminum*	Σπόρος	Cuminaldehyde	Πεπτικό τονωτικό
Γλυκάνισος	*Illicum verum*	Φρούτο	Anethole	Πεπτικό τονωτικό
Σέλινο	*Apium graveolens*	Φρούτο/Φύλλα	Phtalides	Τονωτικό όρεξης & πέψης
Μαϊντανός	*Pelroselinum crispum*	Φύλλα	Apiol	Τονωτικό όρεξης & πέψης, αντισηπτικό
Τριγωνέλλα	*Trigonella foenumgraecum*	Σπόρος	Τριγωνελλίνη	Τονωτικό όρεξης
Πιπεριά	*Capsicum annum longum*	Φρούτο	Καψαϊκίνη	Διεγερτικό τονωτικό, αντιφλεγμονώδη
Πιπεριά	*Piper nigrum*	Φρούτο	Πιπερίνη	Πεπτικό τονωτικό
Χρένο	*Cochlearia armoracia*	Ρίζα	Ισοθειοκυανικό Αλλύλιο	Τονωτικό όρεξης
Σπόρος μουστάρδας	*Brassica spp.*	Σπόρος	Ισοθειοκυανικό Αλλύλιο	Πεπτικό τονωτικό
Πιπερόριζα	*Zingiber officinale*	Ρίζα	Zingerole	Γαστρικό διεγερτικό
Σκόρδο	*Allium tuberosum*	Βολβός	Allicin	Τονωτικό πέψης, αντισηπτικό
Δενδρολίβανο	*Aniba rosaeodora*	Φύλλα	Κινεόλη	Τονωτικό πέψης, αντισηπτικό, αντιοξειδωτικό
Θυμάρι	*Thymus vulgaris*	Ολόκληρο	Θυμόλη	Τονωτικό πέψης, αντισηπτικό, αντιοξειδωτικό
Φασκόμηλο	*Salvia apiana*	Φύλλα	Κινεόλη	Τονωτικό πέψης, αντισηπτικό, αντιοξειδωτικό
Δάφνη	*Laurus nobilis*	Φύλλα	Κινεόλη	Τονωτικό όρεξης & πέψης, αντισηπτικό
Μέντα	*Mentha piperita*	Φύλλα	Μινθόλη	Τονωτικό όρεξης & πέψης, αντισηπτικό
Αρτεμίσια	*Artemisia annua*	Φύλλα	Αρτεμισίνη	Αντικοκκιδιακό
Neem	*Azadirachta indica*	Φύλλα/Φλοιός	Azadirachtin, salanin	Αντι-ιικές, αντισηπτικό, μυκητοκτόνος

Τα αιθανολικά εκχυλίσματα των διαφόρων φυτοβιοτικών είναι πιο αποτελεσματικά από τα ωμά φυτοβιοτικά, τα υδατικά ή τα μεθανολικά εκχυλίσματα φυτοβιοτικών. Οι μελέτες διαφόρων επιστημόνων έχουν αποδείξει πόσο αποτελεσματικά είναι τα φυτοβιοτικά στη βελτίωση του ανοσοποιητικού συστήματος στα ψάρια, αλλά και τις επιδόσεις της ανάπτυξής τους. Ωστόσο, απαιτούνται περισσότερες μελέτες για γίνει γνωστή η βέλτιστη χρήση των διαφόρων φυτοβιοτικών με ειδικές αναφορές στη δοσολογία και τη μέθοδος χορήγησης (Cristea *et al.* 2012).

Έχουν διεξαχθεί αρκετές έρευνες για την χρήση φυτοβιοτικών ουσιών στα ψάρια. Η έρευνα των Antache *et al.* 2013(a) δείχνει ότι η χορήγηση ιπποφαούς σε συγκέντρωση 1% τροφής, έχει το καλύτερο αποτέλεσμα για την αναπτυξιακή επίδοση της *Oreochromis niloticus*. Η έρευνα των Antache *et al.* 2013(b) έδειξε πως η χορήγηση θυμαριού, τριγωνέλλας και *Azadirachta indica* στην τροφή του *Oreochromis niloticus* οδήγησε στην αλλαγή της συγκέντρωσης της μηλονοδιαλδεΰδης, της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας και σε μειωμένη γλουταθειόνη σε διάφορους ιστούς καθώς και στο αίμα.

1.6.Ιστολογία ήπατος

Η χρήση του ήπατος ως όργανο δείκτης της θρεπτικής και φυσιολογικής κατάστασης είναι γνωστή εδώ και πολλά χρόνια (Hibiya 1982, Storch & Juario 1983, Segner & Juario 1986). Αρκετοί συγγραφείς έχουν περιγράψει μεταβολές στο ήπαρ που προκαλούνται από διαφορετικούς διατροφικούς παράγοντες. Έχουν καταγραφεί ηπατικές διαταραχές στην τσιπούρα όταν οι τροφές αποθηκεύονταν σε υψηλή θερμοκρασία (Godino *et al.* 1990). Άλλοι συγγραφείς έχουν περιγράψει παθολογικές καταστάσεις στο ήπαρ ως αποτέλεσμα διατροφικών ανισορροπιών των λιπιδίων (Watanabe *et al.* 1989). Η μη καλή ποιότητα τροφής μπορεί να οδηγήσει στην συσσώρευση λιποσταγονιδίων στο ήπαρ και είναι μία από τις πιο καθοριστικές παραμέτρους στην ανάπτυξη των ιχθυδίων και την μεταβολική απόδοση του ήπατος από την ποιότητα της τροφής (Caballero *et al.* 1999).

Ο μεταβολισμός των λιπιδίων ρυθμίζεται κυρίως από το ήπαρ, συμπεριλαμβανομένων τη σύνθεση και την αποικοδόμηση των λιπαρών οξέων. Διάφορα ένζυμα που ρυθμίζουν αυτές τις διεργασίες δείχνουν ποικίλες συγγένειες για τα διάφορα λιπαρά οξέα τα οποία διατίθενται στο όργανο και έτσι τυχόν ανισορροπίες στα λιπαρά οξέα της τροφής θα μπορούσαν να τροποποιήσουν τη λειτουργία και τη μορφολογία του οργάνου (Henderson 1996). Το ήπαρ λειτουργεί ως κύρια δεξαμενή ενέργειας, συχνά με τη μορφή των τριγλυκεριδίων, σε ορισμένα είδη, όπως ο μπακαλιάρος, η τσιπούρα και το λαβράκι (Kaushik 1997). Έτσι, όταν τα λιπίδια της διατροφής ή η ενέργεια υπερβαίνει την ικανότητα των ηπατικών κυττάρων να οξειδώνουν τα λιπαρά οξέα, ή όταν η σύνθεση πρωτεΐνης είναι μειωμένη, το αποτέλεσμα είναι η μεγάλη σύνθεση και εναπόθεση των τριγλυκεριδίων σε λιποσταγονίδια, που οδηγούν σε ένα μορφολογικό πρότυπο είναι γνωστό ως στεάτωση. Η ηπατική στεάτωση έχει παρατηρηθεί πολλές φορές σε εκτρεφόμενα ψάρια με διατροφικές ανισορροπίες (Tacon 1996).

Όσον αφορά την τσιπούρα, η στεάτωση έχει παρατηρηθεί ως αποτέλεσμα αυξημένου ποσοστού λιπιδίων στην διατροφή (Caballero *et al.* 1999), έλλειψης απαραίτητων λιπαρών οξέων (Montero *et al.* 2001), χρήσης τεχνητής τροφής (Spisni *et al.* 1998), και χρήσης φυτικών ελαίων στις τροφές (Alexis 1997). Σύμπηκτα υψηλής ενεργειακής περιεκτικότητας προκαλούν μεγάλες συγκεντρώσεις λιπιδίων στο ήπαρ της τσιπούρας, γεγονός το οποίο προκαλεί ανησυχία στους παραγωγούς (Caballero 2004).

1.7.Σκοπός της έρευνας

Ο σκοπός του πειράματος, που πραγματοποιήθηκε στο Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, ήταν η δοκιμή του εκχυλίσματος ανώριμου νεραντζιού σε μορφή σκόνης (Provigoro) στην ανάπτυξη της τσιπούρας καθώς και στην βελτίωση της υγείας της τσιπούρας, παρατηρώντας το ήπαρ. Στο τέλος του πειράματος προσδιορίστηκαν οι ακόλουθοι παράμετροι: η αύξηση του βάρους των ψαριών, η ποσοστιαία αύξηση του βάρους των ψαριών, ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης και ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής. Επίσης πάρθηκαν φωτογραφίες από οπτικό μικροσκόπιο για την μελέτη του ήπατος των ψαριών.

2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1.Ιχθύδια και συνθήκες πειράματος

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε από τις 12 Μαΐου 2012 έως τις 10 Σεπτεμβρίου 2012, διήρκησε δηλαδή 120 ημέρες, στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο Βόλο. Τα 240 ιχθύδια, που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα, προήλθαν από τον ιχθυογενετικό σταθμό ΔΙΑΣ, μεταφέρθηκαν σε ειδικούς πλαστικούς σάκους μεταφοράς και είχαν βάρος περίπου 2 γραμμάρια το καθένα (Πίνακας 2.1.1). Αφού πρώτα υπήρξε μια σύντομη περίοδος εγκλιματισμού και διατροφής με τροφή εμπορίου 10 ημερών, χωρίστηκαν σε 4 κύριες ομάδες A ,B ,C και D ανάλογα με την τροφή που λάμβαναν. Κάθε ομάδα χωρίστηκε σε 3 μικρότερες υποομάδες των 20 ιχθύων και τοποθετήθηκαν σε διαφορετικές δεξαμενές για τη δημιουργία επαναληψιμότητας (20 ψάρια / δεξαμενή, 3 επαναλήψεις / διατροφική μεταχείριση, συνολικά 4 διατροφικές ομάδες).

Πίνακας 2.1.1: Το μέσο αρχικό βάρος κάθε ομάδας.

Διατροφική Ομάδα	Σωματικό Βάρος (g)
A1	2,04± 0,27
A2	2,03± 0,23
A3	2,01± 0,21
B1	2,05± 0,32
B2	2,02± 0,26
B3	1,99 ±0,15
C1	2,03 ±0,29
C2	2,05± 0,23
C3	1,97± 0,22
D1	2,01± 0,28
D2	2,06 ±0,27
D3	1,99± 0,18

Χρησιμοποιήθηκαν 6 ενυδρεία θαλασσινού νερού 130 λίτρων με αυτόνομα φίλτρα και σταθερή ελεγχόμενη, λόγω του κλιματισμού, θερμοκρασία. Το θαλασσινό νερό προήλθε από την περιοχή των Αλυκών Βόλου, μεταφέρθηκε με φορτηγό του Δήμου Νέας Ιωνίας Βόλου και αποθηκεύτηκε σε ειδική δεξαμενή με οξυγόνωση στις εγκαταστάσεις του πανεπιστημίου. Τα ενυδρεία χωρίστηκαν στη μέση με πλαστικό διαχωριστικό με μικρές τρύπες, έτσι ώστε να υπάρχει κυκλοφορία νερού αλλά να μην μπορούν να περάσουν τα ιχθύδια στην διπλανή ομάδα. Κάθε ενυδρείο είχε 2 τυχαίες ομάδες ιχθύων από τις A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2, C3, D1, D2, D3 αλλά όχι 2 από την ίδια κύρια ομάδα. Το θαλασσινό νερό αποστειρωνόταν πριν μεταφερθεί στα ενυδρεία, για προληπτικούς λόγους, με ειδική συσκευή υπεριώδους ακτινοβολίας (UV). Κάθε ενυδρείο είχε ένα εξωτερικό φίλτρο όπου χρησιμοποιήθηκαν αρχικά 80 ml βακτήρια ElviRestorer. Κάθε εβδομάδα πραγματοποιήθηκε μέτρηση NH4 και συμπληρώνονταν βακτήρια με στόχο να παραμείνει η συγκέντρωση του NH4 κάτω από 0,50 mg/l. Η αλατότητα στα ενυδρεία ήταν 35-36‰ καθ’ όλη την διάρκεια του πειράματος και η θερμοκρασία ήταν 21^{o}C. Χρησιμοποιήθηκε ένα κεντρικό σύστημα παροχής οξυγόνου με δύο ελαφρόπετρες, έτσι ώστε το επίπεδο του διαλυμένου οξυγόνου να παραμένει στα 7,2-7,4 mg/l, σε κάθε ενυδρείο. Εφαρμόστηκε φωτοπερίοδος 12 ωρών, από τις 8 το πρωί μέχρι τις 8 το απόγευμα. Για να μετρήσουμε το βάρος και το μήκος των ψαριών χρησιμοποιήσαμε ειδική ηλεκτρονική ζυγαριά και ιχθυόμετρο αντίστοιχα. Προκειμένου να πραγματοποιήσουμε τις παραπάνω ενέργειες χρησιμοποιήσαμε αναισθητικό διάλυμα φαινοξυαιθανόλης. Στη συνέχεια επιστρέφαμε τα ψάρια στα ενυδρεία όσο το δυνατόν πιο γρήγορα για να αποφύγουμε τυχόν θνησιμότητες.


KERN
ALS 220-4
1.4231 g
Max 220g d=0.1mg
TARE

Πίνακας 2.2.3: Τα συστατικά (%) των τεσσάρων σιτηρεσίων που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα. Το σιτηρέσιο A αποτέλεσε το σιτηρέσιο της ομάδας μάρτυρα και είναι το μοναδικό στο οποίο δεν χρησιμοποιήθηκε καθόλου το συστατικό provigoro. Όπως βλέπουμε στον πίνακα στα υπόλοιπα σιτηρέσια μειώθηκε το ποσοστό του σιταριού καθώς αντικαταστάθηκε από το provigoro.

Συστατικά	**A**	**B**	**C**	**D**
Σιτάρι, άλευρο	14,00	13,75	13,50	13,00
Ιχθυάλευρο	35,00	35,00	35,00	35,00
Γλουτένη καλαμποκιού	35,00	35,00	35,00	35,00
Ιχθυέλαιο	15,00	15,00	15,00	15,00
Πρόμιγμα Βιτ. & Αν. Στοιχείων	0,75	0,75	0,75	0,75
Provigoro	0,00	0,25	0,50	1,00
Monocalcium Phosphate	0,25	0,25	0,25	0,25

Πίνακας 2.2.4: Η θρεπτική σύσταση και η ενέργεια των σιτηρεσίων.

	A	B	C	D
Υγρασία %	7,3	7,2	7,2	7,2
Ξηρή ουσία %	92,7	92,8	92,8	92,8
Πρωτεΐνη %	47,8	47,8	47,7	47,7
Λίπος %	18,2	18,2	18,2	18,2
Υδατάνθρακες %	21,2	21,0	20,9	20,50
Ινώδεις Ουσίες %	1,8	1,8	1,7	1,7
Τέφρα %	5,3	5,3	5,3	5,3
Ενέργεια (KJ/g)	22,0	21,9	21,9	21,8

Σημ.: Τα συστατικά προμηθεύτηκαν από την BioMar Hellas, το σιτάρι από την τοπική, ενώ το Provigoro από την Citrox Technologies Ltd.

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

[2] Οι ινώδεις ουσίες εκτιμήθηκαν βάσει των περιεκτικοτήτων των διαφόρων συστατικών σύμφωνα με γνωστές συγκεντρώσεις (NRC 1993)

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

2.3. Δειγματοληψίες

Καθ’ όλη τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν συνολικά 7 δειγματοληψίες. Αναλυτικότερα, η πρώτη δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε την 14η ημέρα του πειράματος, η δεύτερη την 32η ημέρα του πειράματος, η τρίτη 46η ημέρα του πειράματος, η τέταρτη την 61η ημέρα του πειράματος, η πέμπτη την 79η ημέρα του πειράματος, η έκτη την 101η ημέρα του πειράματος και η τελευταία την 121η ημέρα του πειράματος. Μετά την τελευταία δειγματοληψία τα ψάρια τοποθετήθηκαν σε νερό που περιείχε μεγάλη ποσότητα φαινοξυαιθανόλης και θανατώθηκαν. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε κουτιά κατασκευασμένα από φελιζόλ τα οποία ήταν γεμάτα με πάγο και διατηρήθηκαν στους 0 C^{o}.

2.4.Παράμετροι ανάπτυξης ιχθύων και αξιοποίησης της τροφής

Σε κάθε δειγματοληψία κατά την διάρκεια του πειράματος έγιναν υπολογισμοί διαφόρων παραμέτρων που αφορούν την ανάπτυξη των ιχθύων καθώς και την αξιοποίηση της χορηγούμενης τροφής. Οι παράμετροι αυτοί μας δίνουν χρήσιμα στοιχεία για την ανάπτυξη των ψαριών και την αποτελεσματικότητα της τροφής και είναι οι εξής:

1. Ποσοστό επιβίωσης
2. Αύξηση σωματικού βάρους των ψαριών
3. Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης
4. Συντελεστής μετατρεψιμότητας

2.4.1.Ποσοστό επιβίωσης

Το ποσοστό επιβίωσης των ψαριών (Survival Rate) δίνεται από τον τύπο:

$$SR = 100 * (n_{αρχ} – \text{ολικές θνησιμότητες})/ n_{αρχ} \%$$

όπου $n_{αρχ}$ είναι ο αρχικός αριθμός των ζωντανών ψαριών.

2.4.2.Αύξηση σωματικού βάρους των ψαριών

Η παράμετρος αυτή υπολογίστηκε από τον τύπο:

$$WG \text{ (Weigh Gain)} = W_{τελ} – W_{αρχ} \text{ γραμμάρια}$$

όπου $W_{τελ}$ είναι το βάρος των ψαριών κατά τη δειγματοληψία και $W_{αρχ}$ το βάρος των ψαριών στην προηγούμενη δειγματοληψία.

2.4.3.Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (Specific Growth Rate - SGR) εκφράζει την ημερήσια ποσοστιαία αύξηση του ολικού βάρους του ψαριού κατά τη διάρκεια του πειράματος και δίνεται από τη σχέση:

$$SGR = 100 * (LnW_{τελ} – LnW_{αρχ}) / \text{ημέρες σίτισης}$$

όπου Ln W_2 είναι ο φυσικός λογάριθμος του τελικού ολικού βάρους και Ln W_1 είναι ο φυσικός λογάριθμος του αρχικού ολικού βάρους.

2.4.4.Συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής (Food Conversion Ratio - FCR) εκφράζει το βαθμό αξιοποίησης της τροφής και ορίζεται ως η ποσότητα της καταναλωθείσας τροφής που μετατράπηκε σε σωματικό βάρος από τους ιχθύες. Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής υπολογίζεται ως εξής:

FCR = τροφή που χορηγήθηκε /αύξηση βιομάζας ιχθύων

2.4.5.Στατιστική ανάλυση των παραμέτρων

Οι παράμετροι που υπολογίστηκαν σε κάθε δειγματοληψία επεξεργάστηκαν με τη μέθοδο Ανάλυσης της Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (one-way ANOVA). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας που χρησιμοποιήθηκε είναι ($P<0,05$) και το στατιστικό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε είναι το SPSS.

2.5.Παρασκευή των δειγμάτων για παρατήρηση μέσω μικροσκοπίου

Για τις ανάγκες του πειράματος συλλέξαμε το ήπαρ από 36 ψάρια, 9 από κάθε ομάδα. Τα δείγματα ήπατος, πριν την τελική παρατήρησή τους στο μικροσκόπιο, προετοιμάστηκαν σύμφωνα με το κάτωθι ιστολογικό πρωτόκολλο:

1. Μονιμοποίηση
2. Αφυδάτωση
3. Εμποτισμός σε παραφίνη
4. Σκήνωση με παραφίνη
5. Κοπή

6. Χρώση

2.5.1.Μονιμοποίηση

Ο σκοπός της μονιμοποίησης είναι η διατήρηση της μορφολογικής και χημικής σύστασης του ιστού για όσο το δυνατό μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Η μονιμοποίηση έγινε αμέσως μετά την συλλογή του ιστού για να αποφευχθεί η αυτόλυση. Δεν υπάρχει τέλεια μονιμοποιητική ουσία, η φορμόλη όμως εμφανίζει τα περισσότερα πλεονεκτήματα και για αυτό τον λόγο χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα φορμόλης 10%.

2.5.2.Αφυδάτωση και εμποτισμός σε παραφίνη

Αυτό το πρωτόκολλο αποτελείται από 12 στάδια και έχει διάρκεια 19 ώρες:

1) Εμβάπτιση σε αιθανόλη (ethanol) 70% για μία ώρα
2) Εμβάπτιση σε αιθανόλη (ethanol) 80% για μία ώρα
3) Εμβάπτιση σε αιθανόλη (ethanol) 95% για μία ώρα
4) Εμβάπτιση σε αιθανόλη (ethanol) 95% για δύο ώρες
5) Εμβάπτιση σε αιθανόλη (ethanol) 100% για μία ώρα
6) Εμβάπτιση σε αιθανόλη (ethanol) 100% για μία ώρα
7) Εμβάπτιση σε αιθανόλη (ethanol) 100% για δύο ώρες
8) Εμβάπτιση σε ξυλένιο (xylene) για δύο ώρες
9) Εμβάπτιση σε ξυλένιο (xylene) για δύο ώρες
10) Εμβάπτιση σε παραφίνη (parafin) για δύο ώρες
11) Εμβάπτιση σε παραφίνη (parafin) για τέσσερις ώρες

2.5.3.Σκήνωση σε παραφίνη

Η παραφίνη που χρησιμοποιήθηκε πρώτα έλιωσε σε φούρνο στους 60 C^o και ακολούθησε εμπότιση του ιστού έτσι ώστε να εισχωρήσει σε όλα τα μεσοκυττάρια διαστήματα αλλά και στα κύτταρα κάνοντας τους ιστούς δύσκαμπτους, άρα πιο ανθεκτικούς στο κόψιμο. Οι διαποτισμένοι με παραφίνη ιστοί τοποθετήθηκαν σε ειδικές κασέτες έγκλεισης για να διευκολυνθεί η κοπή τους.

2.5.4.Κοπή

Οι κύβοι παραφίνης τοποθετήθηκαν σε μικροτόμο για την παραγωγή των τομών πάχους 6 μm. Οι κομμένες τομές επέπλεαν σε ένα δοχείο με νερό και μετά επιλέγονταν οι καλύτερες και τοποθετούνταν προσεκτικά σε αντικειμενοφόρους πλάκες. Έπειτα οι αντικειμενοφόροι τοποθετήθηκαν σε φούρνο για περίπου 15 λεπτά έτσι ώστε να υποβοηθηθεί η προσκόλληση της τομής.

2.5.5.Χρώση

Η διαδικασία αυτή έχει διάρκεια περίπου 70 λεπτά και τα στάδια της χρώσης έχουν ως εξής:

1) Εμβάπτιση σε ξυλένιο (xylene) για 15 λεπτά
2) Εμβάπτιση σε ξυλένιο για 15 λεπτά
3) Εμβάπτιση σε αλκοόλη 100% για 2 λεπτά
4) Εμβάπτιση σε αλκοόλη 100% για 2 λεπτά

5) Εμβάπτιση σε αλκοόλη 96% για 2 λεπτά
6) Εμβάπτιση σε αλκοόλη 80% για 1 λεπτό
7) Εμβάπτιση σε αλκοόλη 70% για 1 λεπτό
8) Εμβάπτιση σε νερό για 2 λεπτά
9) Εμβάπτιση σε φιλτραρισμένη αιματοξυλίνη (hematoxylin) για 7 λεπτά
10) Εμβάπτιση σε τρεχούμενο νερό για 2 λεπτά
11) 3 εμβαπτίσεις σε αλκοολικό οξύ (acid alcohol) 1%
12) Εμβάπτιση σε τρεχούμενο νερό για 2 λεπτά
13) Εμβάπτιση σε εωσίνη (eosin) για 3 λεπτά
14) Εμβάπτιση σε νερό για 30 δευτερόλεπτα
15) Εμβάπτιση σε αλκοόλη 70% για 30 δευτερόλεπτα
16) Εμβάπτιση σε αλκοόλη 80% για 30 δευτερόλεπτα
17) Εμβάπτιση σε αλκοόλη 96% για 30 δευτερόλεπτα
18) Εμβάπτιση σε αλκοόλη 96% για 30 δευτερόλεπτα
19) Εμβάπτιση σε αλκοόλη 100% για 2 λεπτά
20) Εμβάπτιση σε αλκοόλη 100% για 2 λεπτά
21) Εμβάπτιση σε ξυλένιο για 2 λεπτά
22) Εμβάπτιση σε ξυλένιο για 5 λεπτά
23) Αφού στεγνώσει το ξυλένιο, τοποθετούμε βάλσαμο του Καναδά και μετά κλείνουμε τα δείγματα με καλυπτρίδες

3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Παράμετροι ανάπτυξης των ιχθύων και αξιοποίησης της τροφής

3.1.1. $1^η$ ημέρα του διατροφικού πειράματος

Την πρώτη ημέρα του πειράματος το μέσο βάρος της διατροφικής ομάδας A ήταν 2,03 ± 0,02 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας B ήταν 2,02 ± 0,03 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας C ήταν 2,02 ± 0,04 γραμμάρια και της διατροφικής ομάδας D ήταν 2,02 ± 0,04 γραμμάρια (Πίνακας 3.1.1). Οι μέσοι όροι των βαρών των διατροφικών ομάδων ήταν στατιστικά παρόμοιοι ($P>0,05$).

Πίνακας 3.1.1.Το μέσο βάρος των ιχθυδίων, σε γραμμάρια

	A	B	C	D
Αρχικό βάρος	2,03 ± 0,02	2,02 ± 0,03	2,02 ± 0,04	2,02 ± 0,04

3.1.2. 14η ημέρα του διατροφικού πειράματος

Μέχρι την 14η ημέρα του διατροφικού πειράματος δεν υπήρξαν θνησιμότητες σε καμία από τις διατροφικές ομάδες του πειράματος. Το μέσο βάρος της διατροφικής ομάδας A ήταν 2,94 ± 0,23 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας B ήταν 3,10 ± 0,11 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας C ήταν 3,25 ± 0,16 και της διατροφικής ομάδας D ήταν 3,06 ± 0,30 (Πίνακας 3.1.2). Επίσης δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στους μέσους όρους των βαρών των ψαριών ($P>0,05$).

Το ποσοστό της αύξησης του σωματικού βάρους ήταν 45,28 ± 10,88 % για την διατροφική ομάδα A, 53,75 ± 7,73 % για την διατροφική ομάδα B, 61,27 ± 6,63 % για την διατροφική ομάδα C και 51,76 ± 17,17 % για την διατροφική ομάδα D (Πίνακας 3.1.2). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0,05$).

Πίνακας 3.1.2.Το μέσο βάρος, οι παράμετροι ανάπτυξης και το ποσοστό επιβίωσης των ψαριών την 14^{η} ημέρα του διατροφικού πειράματος.

Παράμετρος	A	B	C	D
Βάρος (γραμ.)	2,94 ± 0,23	3,10 ± 0,11	3,25 ± 0,16	3,06 ± 0,30
WG %	45,28 ± 10,88	53,75 ± 7,73	61,27 ± 6,63	51,76 ± 17,17
SGR %/ημέρα	2,87 ± 0,57	3,31 ± 0,39	3,68 ± 0,32	3,21 ± 0,90
FCR	1,26 ± 0,21	1,12 ± 0,17	0,98 ± 0,11	1,21 ± 0,49
SR %	100	100	100	100

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης για την διατροφική ομάδα A ήταν 2,87 ± 0,57 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα B ήταν 3,31 ± 0,39 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα C ήταν 3,68 ± 0,32 %/ημέρα και για την διατροφική ομάδα D ήταν 3,21 ± 0,90 %/ημέρα (Πίνακας 3.1.2). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής για την διατροφική ομάδα A ήταν 1,26 ± 0,21, για την διατροφική ομάδα B ήταν 1,12 ± 0,17, για την διατροφική ομάδα C ήταν 0,98 ± 0,11 και για την διατροφική ομάδα D ήταν 1,21 ± 0,49 (Πίνακας 3.1.2). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

3.1.3. 32η ημέρα διατροφικού πειράματος

Μέχρι την 32η ημέρα του διατροφικού πειράματος υπήρξαν θνησιμότητες σε όλες τις διατροφικές ομάδες του πειράματος. Συγκεκριμένα, το ποσοστό επιβίωσης της διατροφικής ομάδας A ήταν 86,66 %, της διατροφικής ομάδας B ήταν 96,66 %, της διατροφικής ομάδας C ήταν 98,33% και της διατροφικής ομάδας D ήταν 90% (Πίνακας 3.1.3).

Το μέσο βάρος της διατροφικής ομάδας A ήταν 4,70 ± 0,68 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας B ήταν 4,95 ± 0,21 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας C ήταν

4,91 ± 0,09 και της διατροφικής ομάδας D ήταν 4,82 ± 0,56 (Πίνακας 3.1.3). Επίσης δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στους μέσους όρους των βαρών των ψαριών (*P>0,05*).

Το ποσοστό της αύξησης του σωματικού βάρους ήταν 132,11 ± 32,90 % για την διατροφική ομάδα A, 145,10 ± 13,76 % για την διατροφική ομάδα B, 143,50 ± 6,49 % για την διατροφική ομάδα C και 138,89 ± 31,51 % για την διατροφική ομάδα D (Πίνακας 3.1.3). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

Πίνακας 3.1.3.Το μέσο βάρος, οι παράμετροι ανάπτυξης και το ποσοστό επιβίωσης των ψαριών την 32^{η} ημέρα του διατροφικού πειράματος.

Παράμετρος	A	B	C	D
Βάρος (γραμ.)	4,70 ± 0,68	4,95 ± 0,21	4,91 ± 0,09	4,82 ± 0,56
WG %	132,11 ± 32,90	145,10 ± 13,76	143,50 ± 6,49	138,89 ± 31,51
SGR %/ημέρα	4,68 ± 0,77	4,98 ± 0,31	4,94 ± 0,15	4,84 ± 0,76
FCR	1,59 ± 1,11	1,36 ± 0,09	1,29 ± 0,07	1,48 ± 1,27
SR %	86,66	96,66	98,33	90

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης για την διατροφική ομάδα A ήταν 4,68 ± 0,77 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα B ήταν 4,98 ± 0,31 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα C ήταν 4,94 ± 0,15 %/ημέρα και για την διατροφική ομάδα D ήταν 4,84 ± 0,76 %/ημέρα (Πίνακας 3.1.3). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής για την διατροφική ομάδα A ήταν 1,59 ± 1,11, για την διατροφική ομάδα B ήταν 1,36 ± 0,09, για την διατροφική ομάδα C ήταν 1,29 ± 0,07 και για την διατροφική ομάδα D ήταν 1,48 ± 1,27 (Πίνακας 3.1.3). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

3.1.4. 46η ημέρα διατροφικού πειράματος

Μέχρι την 46η ημέρα του διατροφικού πειράματος υπήρξαν θνησιμότητες σε όλες τις διατροφικές ομάδες του πειράματος, συνεπώς μεταβλήθηκαν τα ποσοστά επιβίωσης. Συγκεκριμένα, το ποσοστό επιβίωσης της διατροφικής ομάδας A ήταν 80%, της διατροφικής ομάδας B ήταν 90%, της διατροφικής ομάδας C ήταν 96,66% και της διατροφικής ομάδας D ήταν 86,66% (Πίνακας 3.1.4).

Το μέσο βάρος της διατροφικής ομάδας A ήταν 6,00 ± 0,60 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας B ήταν 6,13 ± 0,34 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας C ήταν 6,22 ± 0,72 και της διατροφικής ομάδας D ήταν 5,77 ± 0,23 (Πίνακας 3.1.4). Επίσης δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στους μέσους όρους των βαρών των ψαριών (*P>0,05*).

Το ποσοστό της αύξησης του σωματικού βάρους ήταν 196,22 ± 28,14 % για την διατροφική ομάδα A, 204,01 ± 12,84 % για την διατροφική ομάδα B, 208,42 ± 36,67 % για την διατροφική ομάδα C και 185,76 ± 16,16 % για την διατροφική ομάδα D (Πίνακας 3.1.4). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

Πίνακας 3.1.4.Το μέσο βάρος, οι παράμετροι ανάπτυξης και το ποσοστό επιβίωσης των ψαριών την 46^{η} ημέρα του διατροφικού πειράματος.

Παράμετρος	A	B	C	D
Βάρος (γραμ.)	6,00 ± 0,60	6,13 ± 0,34	6,22 ± 0,72	5,77 ± 0,23
WG %	196,22 ± 28,14	204,01 ± 12,84	208,42 ± 36,67	185,76 ± 16,16
SGR %/ημέρα	7,76 ± 0,67	7,94 ± 0,30	8,05 ± 0,86	7,50 ± 0,41
FCR	1,74 ± 0,97	1,57 ± 0,29	1,35 ± 0,34	1,77 ± 0,40
SR %	80	90	96,66	86,66

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης για την διατροφική ομάδα A ήταν 7,76 ± 0,67 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα B ήταν 7,94 ± 0,30 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα C ήταν 8,05 ± 0,86 %/ημέρα και για την διατροφική ομάδα D ήταν 7,50 ± 0,41 %/ημέρα (Πίνακας 3.1.4). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής για την διατροφική ομάδα A ήταν 1,74 ± 0,97, για την διατροφική ομάδα B ήταν 1,57 ± 0,29, για την διατροφική ομάδα C ήταν 1,35 ± 0,34 και για την διατροφική ομάδα D ήταν 1,77 ± 0,40 (Πίνακας 3.1.4). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

3.1.5. 61η ημέρα διατροφικού πειράματος

Μέχρι την 61η ημέρα του διατροφικού πειράματος υπήρξαν θνησιμότητες σε όλες τις διατροφικές ομάδες του πειράματος, συνεπώς μεταβλήθηκαν τα ποσοστά επιβίωσης. Συγκεκριμένα, το ποσοστό επιβίωσης της διατροφικής ομάδας A ήταν 75%, της διατροφικής ομάδας B ήταν 83,33%, της διατροφικής ομάδας C ήταν 93,33% και της διατροφικής ομάδας D ήταν 83,33% (Πίνακας 3.1.5).

Το μέσο βάρος της διατροφικής ομάδας A ήταν 8,38 ± 0,52 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας B ήταν 8,22 ± 0,83 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας C ήταν 8,81 ± 1,35 και της διατροφικής ομάδας D ήταν 7,86 ± 0,50 (Πίνακας 3.1.5). Επίσης δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στους μέσους όρους των βαρών των ψαριών (*P>0,05*).

Το ποσοστό της αύξησης του σωματικού βάρους ήταν 313,57 ± 22,74 % για την διατροφική ομάδα A, 307,45 ± 35,48 % για την διατροφική ομάδα B, 342,48 ± 68,50 % για την διατροφική ομάδα C και 289,46 ± 31,45 % για την διατροφική ομάδα D (Πίνακας 3.1.5). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

Πίνακας 3.1.5.Το μέσο βάρος, οι παράμετροι ανάπτυξης και το ποσοστό επιβίωσης των ψαριών την 61^{η} ημέρα του διατροφικού πειράματος.

Παράμετρος	A	B	C	D
Βάρος (γραμ.)	8,38 ± 0,52	8,22 ± 0,83	8,81 ± 1,35	7,86 ± 0,50
WG %	313,57 ± 22,74	307,45 ± 35,48	342,48 ± 68,50	289,46 ± 31,45
SGR %/ημέρα	9,46 ± 0,37	9,37 ± 0,57	9,83 ± 1,06	9,06 ± 0,54
FCR	2,24 ± 2,54	1,65 ± 0,16	1,41 ± 0,15	1,66 ± 0,15
SR %	75	83,33	93,33	83,33

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης για την διατροφική ομάδα Α ήταν 9,46 ± 0,37 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα Β ήταν 9,37 ± 0,57 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα C ήταν 9,83 ± 1,06 %/ημέρα και για την διατροφική ομάδα D ήταν 9,06 ± 0,54 %/ημέρα (Πίνακας 3.1.5). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0,05$).

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής για την διατροφική ομάδα Α ήταν 2,24 ± 2,54, για την διατροφική ομάδα Β ήταν 1,65 ± 0,16, για την διατροφική ομάδα C ήταν 1,41 ± 0,15 και για την διατροφική ομάδα D ήταν 1,66 ± 0,15 (Πίνακας 3.1.5). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0,05$).

3.1.6. 79η ημέρα διατροφικού πειράματος

Μέχρι την 79η ημέρα του διατροφικού πειράματος υπήρξαν θνησιμότητες στις διατροφικές ομάδες Α, Β και C, συνεπώς μεταβλήθηκαν τα ποσοστά επιβίωσής τους. Συγκεκριμένα, το ποσοστό επιβίωσης της διατροφικής ομάδας Α ήταν 73,33%, της διατροφικής ομάδας Β ήταν 81,66%, της διατροφικής ομάδας C ήταν 90% και της διατροφικής ομάδας D παρέμεινε 83,33% (Πίνακας 3.1.6).

Το μέσο βάρος της διατροφικής ομάδας Α ήταν 12,72 ± 1,39 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας Β ήταν 11,10 ± 2,75 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας C ήταν 11,20 ± 2,56 και της διατροφικής ομάδας D ήταν 10,58 ± 0,84 (Πίνακας 3.1.6). Επίσης δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στους μέσους όρους των βαρών των ψαριών ($P>0{,}05$).

Το ποσοστό της αύξησης του σωματικού βάρους ήταν 527,59 ± 64,30 % για την διατροφική ομάδα Α, 450,10 ± 131,72 % για την διατροφική ομάδα Β, 455,85 ± 125,57 % για την διατροφική ομάδα C και 424,44 ± 38,44 % για την διατροφική ομάδα D (Πίνακας 3.1.6). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0{,}05$).

Πίνακας 3.1.6.Το μέσο βάρος, οι παράμετροι ανάπτυξης και το ποσοστό επιβίωσης των ψαριών την 79η ημέρα του διατροφικού πειράματος.

Παράμετρος	A	B	C	D
Βάρος (γραμ.)	12,72 ± 1,39	11,10 ± 2,75	11,20 ± 2,56	10,58 ± 0,84
WG %	527,59 ± 64,30	450,10 ± 131,72	455,85 ± 125,57	424,44 ± 38,44
SGR %/ημέρα	10,20 ± 0,59	9,47 ± 1,38	9,53 ± 1,21	9,21 ± 0,41
FCR	1,42 ± 0,32	1,65 ± 0,47	1,49 ± 0,33	1,60 ± 0,21
SR %	73,33	81,66	90	83,33

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης για την διατροφική ομάδα Α ήταν 10,20 ± 0,59 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα Β ήταν 9,47 ± 1,38 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα C ήταν 9,53 ± 1,21 %/ημέρα και για την διατροφική ομάδα D ήταν 9,21 ± 0,41 %/ημέρα (Πίνακας 3.1.6). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0{,}05$).

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής για την διατροφική ομάδα Α ήταν 1,42 ± 0,32, για την διατροφική ομάδα Β ήταν 1,65 ± 0,47, για την διατροφική ομάδα C ήταν 1,49 ± 0,33 και για την διατροφική ομάδα D ήταν 1,60 ± 0,21 (Πίνακας 3.1.6). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

3.1.7. 101η ημέρα διατροφικού πειράματος

Μέχρι την 101η ημέρα του διατροφικού πειράματος υπήρξαν θνησιμότητες στην διατροφική ομάδα Β, συνεπώς μεταβλήθηκε το ποσοστό επιβίωσής της. Συγκεκριμένα, το ποσοστό επιβίωσης της διατροφικής ομάδας Α ήταν 73,33%, της διατροφικής ομάδας Β ήταν 76,66%, της διατροφικής ομάδας C ήταν 90% και της διατροφικής ομάδας D παρέμεινε 83,33% (Πίνακας 3.1.7).

Το μέσο βάρος της διατροφικής ομάδας Α ήταν 17,02 ± 1,83 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας Β ήταν 17,42 ± 2,46 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας C ήταν 20,13 ± 4,95 και της διατροφικής ομάδας D ήταν 15,82 ± 0,26 (Πίνακας 3.1.7). Επίσης δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στους μέσους όρους των βαρών των ψαριών (*P>0,05*).

Πίνακας 3.1.7.Το μέσο βάρος, οι παράμετροι ανάπτυξης και το ποσοστό επιβίωσης των ψαριών την 101^η ημέρα του διατροφικού πειράματος.

Παράμετρος	A	B	C	D
Βάρος (γραμ.)	17,02 ± 1,83	17,42 ± 2,46	20,13 ± 4,95	15,82 ± 0,26
WG %	740,19 ± 84,28	763,37 ± 103,95	898,69 ± 97,76	684,08 ± 0,67
SGR %/ημέρα	9,67 ± 0,47	9,80 ± 0,55	10,46 ± 0,52	9,36 ± 0,00
FCR	1,30 ± 0,13	1,49 ± 0,06	1,19 ± 0,05	1,36 ± 0,06
SR %	73,33	76,66	90	83,33

Το ποσοστό της αύξησης του σωματικού βάρους ήταν 740,19 ± 84,28 % για την διατροφική ομάδα A, 763,37 ± 103,95 % για την διατροφική ομάδα B, 898,69 ± 97,76 % για την διατροφική ομάδα C και 684,08 ± 0,67 % για την διατροφική ομάδα D (Πίνακας 3.1.7). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης για την διατροφική ομάδα A ήταν 9,67 ± 0,47 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα B ήταν 9,80 ± 0,55 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα C ήταν 10,46 ± 0,52 %/ημέρα και για την διατροφική ομάδα D ήταν 9,36 ± 0,00 %/ημέρα (Πίνακας 3.1.7). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής για την διατροφική ομάδα A ήταν 1,30 ± 0,13, για την διατροφική ομάδα B ήταν 1,49 ± 0,06, για την διατροφική ομάδα C ήταν 1,19 ± 0,05 και για την διατροφική ομάδα D ήταν 1,36 ± 0,06 (Πίνακας 3.1.7). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

3.1.8. 121η ημέρα διατροφικού πειράματος

Μέχρι την 121η ημέρα του διατροφικού πειράματος υπήρξαν θνησιμότητες στις διατροφικές ομάδες B και D, συνεπώς μεταβλήθηκαν τα ποσοστά επιβίωσής τους. Συγκεκριμένα, το ποσοστό επιβίωσης της διατροφικής ομάδας A ήταν 73,33%, της διατροφικής ομάδας B ήταν 73,33%, της διατροφικής ομάδας C ήταν 90% και της διατροφικής ομάδας D παρέμεινε 80% (Πίνακας 3.1.8).

Το μέσο βάρος της διατροφικής ομάδας A ήταν 21,08 ± 2,15 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας B ήταν 22,25 ± 2,50 γραμμάρια, της διατροφικής ομάδας C ήταν 24,59 ± 2,65 και της διατροφικής ομάδας D ήταν 19,89 ± 0,37 (Πίνακας 3.1.8).

Επίσης δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στους μέσους όρους των βαρών των ψαριών (*P>0,05*).

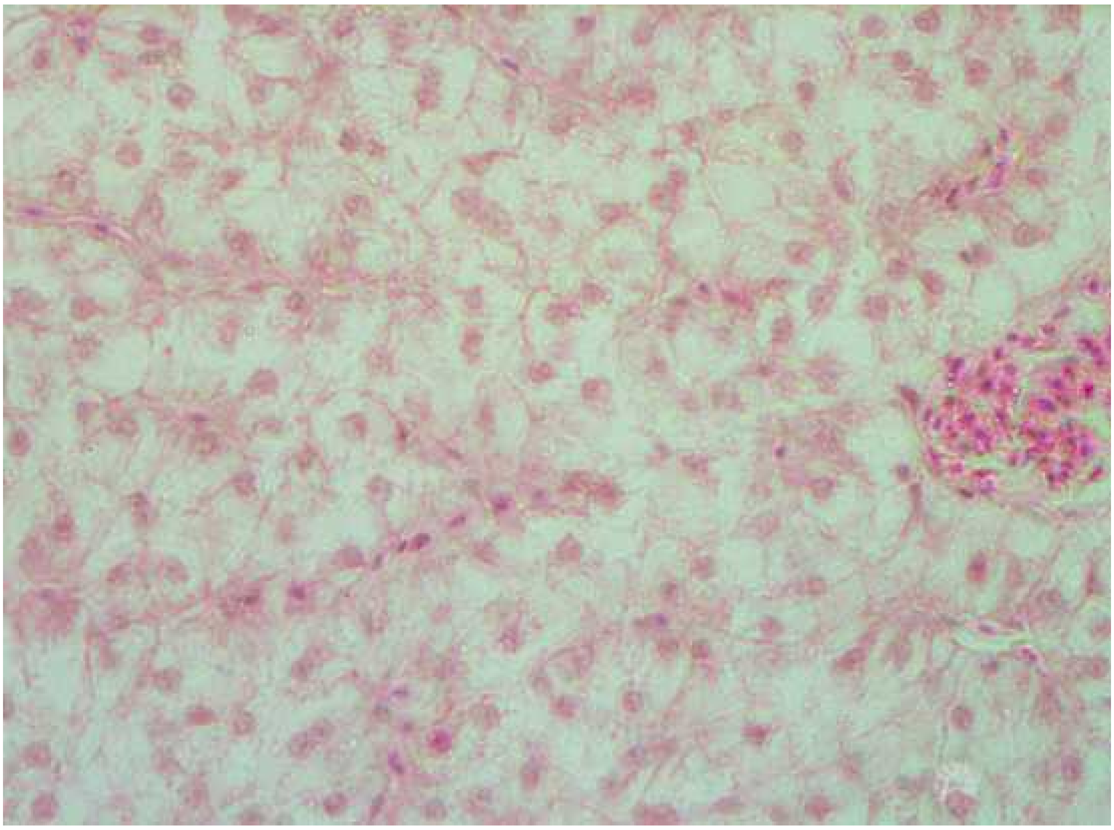
Πίνακας 3.1.8.Το μέσο βάρος, οι παράμετροι ανάπτυξης και το ποσοστό επιβίωσης των ψαριών την 121^{η} ημέρα του διατροφικού πειράματος.

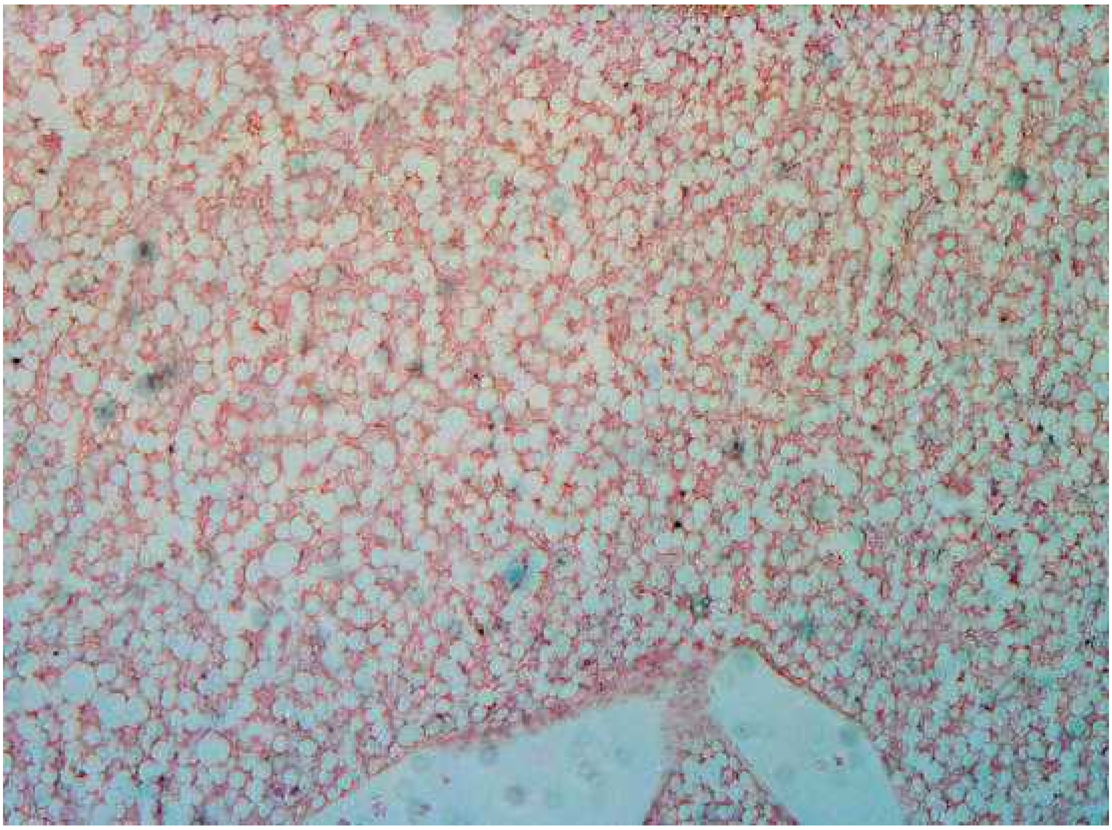
Παράμετρος	A	B	C	D
Βάρος (γραμ.)	21,08 ± 2,15	22,25 ± 2,50	24,59 ± 2,65	19,89 ± 0,37
WG %	940,52 ± 98,69	1002,44 ± 101,08	1120,14 ± 96,88	885,64 ± 35,01
SGR %/ημέρα	11,71 ± 0,49	12,00 ± 0,46	12,51 ± 0,51	11,44 ± 0,18
FCR	1,32 ± 0,08	1,51 ± 0,12	1,14 ± 0,05	1,41 ± 0,13
SR %	73,33	73,33	90	80

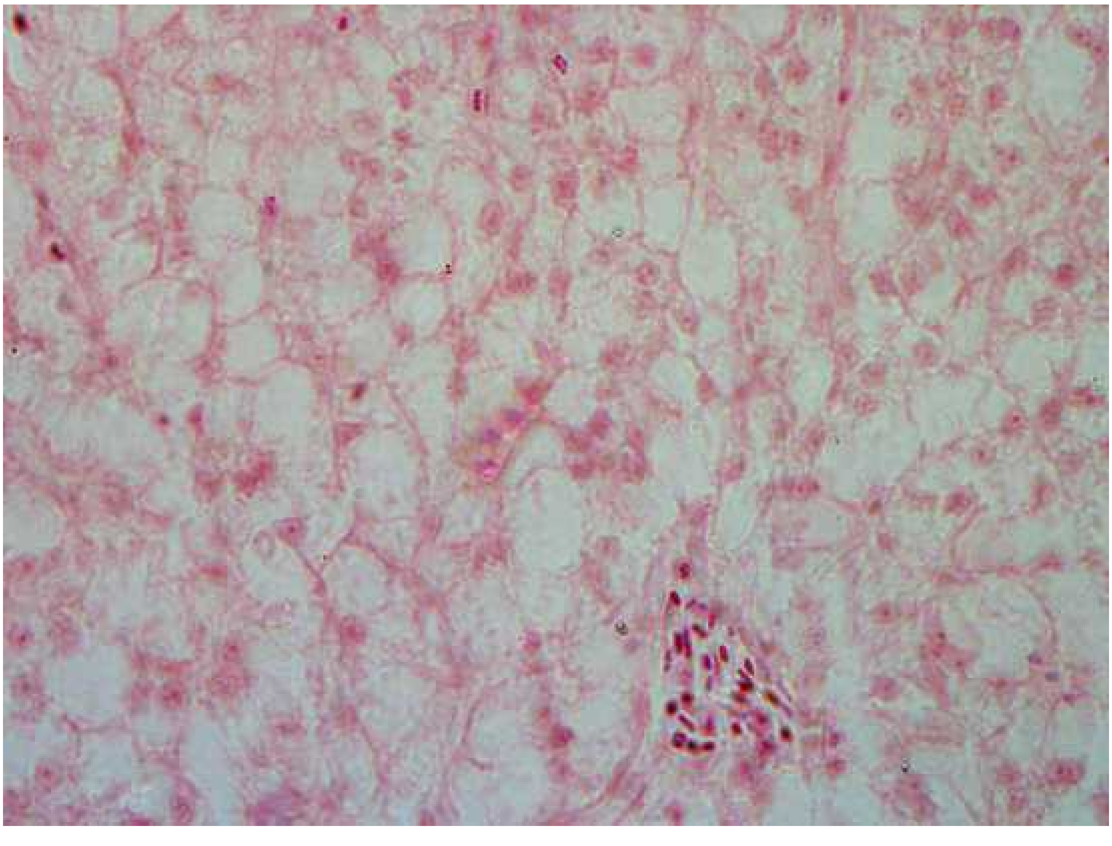
Το ποσοστό της αύξησης του σωματικού βάρους ήταν 940,52 ± 98,69 % για την διατροφική ομάδα A, 1002,44 ± 101,08 % για την διατροφική ομάδα B, 1120,14 ± 96,88 % για την διατροφική ομάδα C και 885,64 ± 35,01 % για την διατροφική ομάδα D (Πίνακας 3.1.8). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

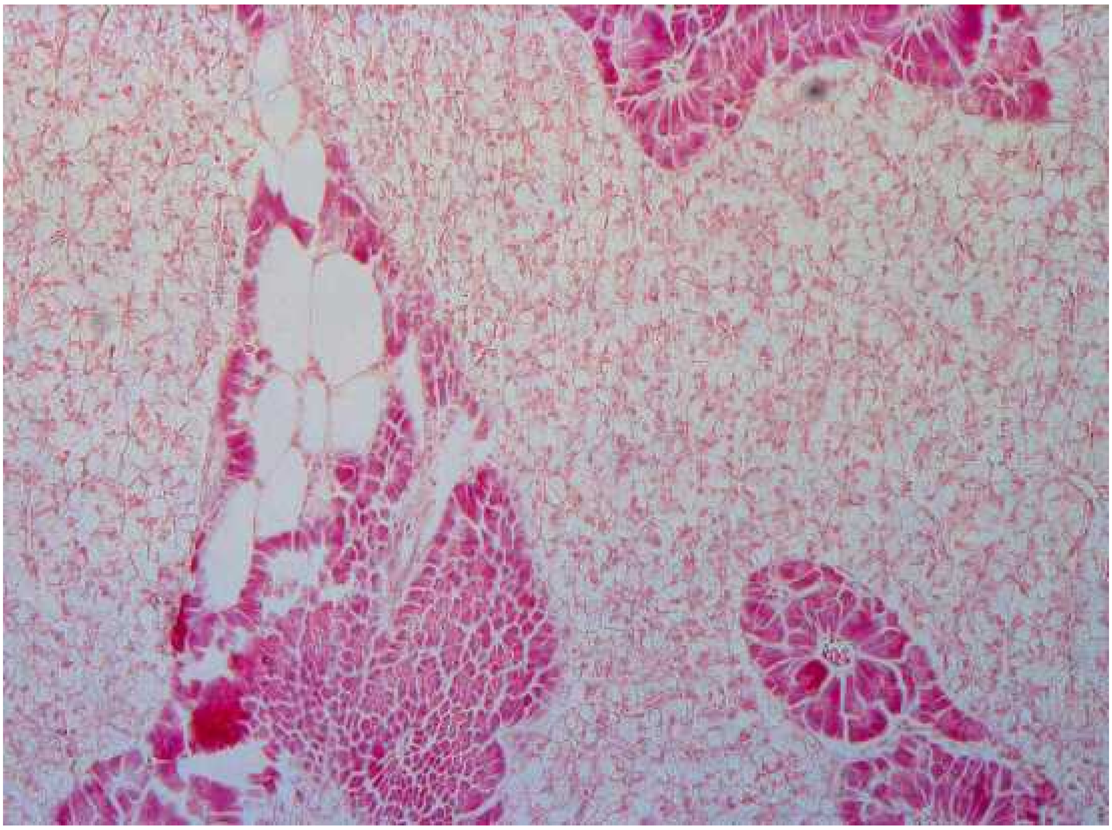
Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης για την διατροφική ομάδα A ήταν 11,71 ± 0,49 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα B ήταν 12,00 ± 0,46 %/ημέρα, για την διατροφική ομάδα C ήταν 12,51 ± 0,51 %/ημέρα και για την διατροφική ομάδα D ήταν 11,44 ± 0,18 %/ημέρα (Πίνακας 3.1.8). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής για την διατροφική ομάδα A ήταν 1,32 ± 0,08, για την διατροφική ομάδα B ήταν 1,51 ± 0,12, για την διατροφική ομάδα C ήταν 1,14 ± 0,05 και για την διατροφική ομάδα D ήταν 1,41 ± 0,13 (Πίνακας 3.1.8). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (*P>0,05*).









4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τα αποτελέσματα μπορούμε να συμπεράνουμε πως η αύξηση βάρους σε όλες τις διατροφικές ομάδες ήταν ικανοποιητική. Παρόλο που δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, μπορούμε να διακρίνουμε μερικά χρήσιμα στοιχεία. Η αύξηση της συμμετοχής του συστατικού Provigoro στα πειραματικά σιτηρέσια από 0% σε 0,25% σε 0,50% και σε 1% επέφερε αναλογικές αυξήσεις έως και την διατροφική ομάδα C (μέγιστη τιμή) στην αύξηση του βάρους και του ποσοστού αύξησης του βάρους των ψαριών. Σε αντίθεση το πείραμα των Antache *et al.* (2013) έδειξε πως σε ποσοστό 1% στην τροφή το ιπποφαές είχε το μέγιστο ποσοστό αύξησης του βάρους στο είδος *Oreochromis niloticus*. Άξιο αναφοράς είναι επίσης πως όταν το συστατικό Provigoro χρησιμοποιήθηκε σε ποσοστό 1%, το ποσοστό αύξησης βάρους είχε την τάση να είναι μικρότερο από όταν χρησιμοποιήθηκε σε ποσοστό 0%.

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης είχε παρόμοια τάση με το ποσοστό αύξησης του βάρους, δηλαδή επέφερε αναλογικές αυξήσεις έως και την διατροφική ομάδα C όπου και είχε την μέγιστη τιμή. Οι διαφορές όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Ο βαθμός αξιοποίησης της τροφής δεν φαίνεται να είχε σημαντικές διαφορές σε καμία από τις διατροφικές ομάδες αν και είχε την τάση να είναι χαμηλότερος στην διατροφική ομάδα C (0,50% Provigoro). Όσον αφορά τις θνησιμότητες υπήρξε μία αναλογική αύξηση με μέγιστη τιμή στην διατροφική ομάδα D (1% Provigoro), όμως οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

Στο παρελθόν δεν έχουν γίνει μελέτες για την επίδραση του συστατικού Provigoro στην τροφή της τσιπούρας (*Sparus aurata*), οπότε δεν μπορεί να γίνει σύγκριση με άλλα αποτελέσματα. Ωστόσο έχουν γίνει αρκετές μελέτες με άλλα φυτοβιοτικά σε ψάρια με θετικά αποτελέσματα, από τις οποίες μπορούμε να εξάγουμε κάποια συμπεράσματα.

Σε πείραμα που έγινε σε πέστροφες (*Salmo gairdneri*) από την Citrox Ltd Inc (2003), το Provigoro είχε θετικά αποτελέσματα. Σε ποσοστό 0,25% το ποσοστό επιβίωσης είχε σημαντικές διαφορές και το φαινόμενο του κανιβαλισμού δεν εμφανίστηκε. Επίσης, έπειτα από έντονες βροχοπτώσεις, τα ψάρια μάρτυρες είχαν πολλές θνησιμότητες λόγο κάποιας ασθένειας ενώ τα ψάρια που ταΐζονταν με την τροφή που περιείχε Provigoro δεν επηρεάστηκαν. Τέλος, το Provigoro δεν είχε επιπτώσεις στην ποιότητα του νερού.

Στο πείραμα των Ceulemans *et al.* (2009), δοκιμάστηκε μείγμα με φυτικά εκχυλίσματα και ενισχυτικά πέψης στην διατροφή της τιλάπιας. Τα αποτελέσματα του πειράματος αυτού έδειξαν πως τα ψάρια που έλαβαν την εν λόγο διατροφή είχαν μεγαλύτερο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) καθώς και των πρωτεϊνών από τα ψάρια που σιτίστηκαν με τροφή του εμπορίου. Ανάμεσα σε πολλά βότανα που δοκιμάστηκαν κατά της λοίμωξης από *A. hydrophila* σε τιλάπια (*Oreochromis niloticus*), το εκχύλισμα αιθανόλης του *Psidium guajava* βρέθηκε να έχει την υψηλότερη αντιμικροβιακή δράση (*Pachanawan et al. 2008*).

Οι Seung-Cheol *et al.* (2007) έδειξαν ότι η προσθήκη ενός από διάφορα φυτικά εκχυλίσματα (*Massa medicata, Crataegi fructus, Artemisia capillaries, Cnidium officinale*) ή ένα μείγμα από όλα τα βότανα βελτίωσε την ανάπτυξη και την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος του *Pagrus major*. Η έρευνα των Dorojan *et al.* (2014) έδειξε πως η προσθήκη θυμαριού και ιπποφαούς σε ποσοστό 2% στην τροφή του *A. stellatus* βελτίωσε την βιοχημική σύσταση του κρέατος.

Η έρευνα των Hany & Riad (2014), όπου δοκιμάστηκε αιθέριο έλαιο από ρίγανη και *Spirulina platensis* στην τροφή της τιλάπιας (*O. niloticus*), είχε θετικά αποτελέσματα. Και τα δύο συστατικά βελτίωσαν σημαντικά τις παραμέτρους ανάπτυξης της τιλάπιας και το ανοσοποιητικό της σύστημα. Το καλύτερο αποτέλεσμα είχαν οι τροφές οι οποίες περιελάμβαναν τις φυτοβιοτικές ουσίες σε ποσοστό 5% και 10%. Συμπέραναν πως οι φυτοβιοτικές ουσίες μπορούν να αντικαταστήσουν τα αντιβιοτικά αποτελεσματικά στην εκτροφή της τιλάπιας.

Όπως δείχνουν οι Εικόνες 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3 και 3.2.4, υπήρξαν πολλά και μεγάλα λιποσταγονίδια στο ήπαρ όλων των ψαριών του διατροφικού πειράματος. Αυτό οφείλεται κατά πάσα πιθανότητα στο υψηλό ποσοστό λίπους στην τροφή (18,2%) που είχε ως συνέπεια την αποθήκευση της περισσευούμενης ενέργειας στο ήπαρ. Οι δομικές τροποποιήσεις των πυρήνων που παρατηρούνται μέσα στα ηπατοκύτταρα θα μπορούσαν είναι ένδειξη κάποιας διατροφικής ασθένειας. Αρκετοί συγγραφείς έχουν αναφέρει πως το μέγεθος των πυρήνων των ηπατοκυττάρων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένας δείκτης της θρεπτικής κατάστασης των ψαριών (Escaffre & Bergot, 1986, Segner & Braunbeck, 1988, Strussmann & Takashima 1990). Η έρευνα του Mosconi-Bac (1987) παρατήρησε τροποποιήσεις στο σχήμα, στην πυκνότητα των πυρήνων της χρωματίνης και στην άτυπη εναπόθεση των λιποσταγονιδίων στο ήπαρ λαβρακιών, που τρέφονταν με τεχνητές δίαιτες ως αλλαγή στο μεταβολισμό των λιπαρών οξέων, τα οποία είναι σημάδια διατροφικής παθολογίας. Ο Ghittino (1978) εξέτασε επίσης την εναπόθεση λιποσταγονιδίων ως μια παθολογική διαδικασία και αναφέρεται ως στεάτωση, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για τις ηπατικές διαταραχές στο μεταβολισμό του λίπους. Οι Spisni *et al.* (1998) περιγράφουν ως στεάτωση του ήπατος την αλλοίωση που οφείλεται σε υπερβολική πρόσληψη λιπιδίων που διαταράσσει τη φυσιολογική ικανότητα του ήπατος που οδηγεί σε συσσώρευση λιποσταγονιδίων. Παρόμοια ηπατική εναπόθεση λιποσταγονιδίων οφείλεται στην υπερβολική θερμιδική πρόσληψη και έχει περιγραφεί για άλλα σπονδυλωτά όπως τα πουλερικά, υποδηλώνοντας μια παθολογική κατάσταση (Stake *et al.* 1980).

Στην Εικόνα 3.2.4 διακρίνονται μεγάλα λιποσταγονίδια στις παγκρεατικές νησίδες του ήπατος, που μπορεί να είναι ένδειξη στεάτωσης (Caballero *et al.* 1999). Στην έρευνα των Caballero *et al.* (1999) εμφανίστηκε στεάτωση σε τσιπούρες στις διατροφικές ομάδες που είχαν ποσοστό λίπους 27% στην τροφή. Παρομοίως με την παρούσα μελέτη, υπήρχαν μεγάλα λιποσταγονίδια στις παγκρεατικές νησίδες καθώς και στο υπόλοιπο ήπαρ. Ωστόσο, στις διατροφικές ομάδες με ποσοστό λίπους 22% και 17% δεν υπήρξε στεάτωση, παρόλο που υπήρχαν λιποσταγονίδια στο ήπαρ των ψαριών. Επισήμαναν πως εξίσου σημαντικός παράγοντας στην εμφάνιση στεάτωσης και άλλων παθήσεων του ήπατος είναι η ποιότητα του ιχθυάλευρου που χρησιμοποιείται στην τροφή.

Η έρευνα των Valaroutsou *et al.* (2013) επιβεβαίωσε το γεγονός πως όσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό λίπους στην τροφή της τσιπούρας τόσο περισσότερα λιποσταγονίδια εμφανίζονται στο ήπαρ. Στο πείραμά τους δοκίμασαν δύο τροφές με ποσοστό λίπους 14% και μία τροφή του εμπορίου με ποσοστό λίπους 17%. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν πως στις τροφές με ποσοστό λίπους 14% υπήρξαν πολύ λιγότερα λιποσταγονίδια στο ήπαρ και το μέγεθός τους ήταν μικρότερο από τα λιποσταγονίδια που εμφανίστηκαν στο ήπαρ των ψαριών που σιτίστηκαν με την τροφή που είχε ποσοστό λίπους 17%.

Δεν έχουν γίνει μελέτες στο ήπαρ της τσιπούρας έπειτα από εκτροφή με φυτοβιοτικές ουσίες, οπότε δεν μπορεί να γίνει ακριβής σύγκριση για την επίδραση των φυτοβιοτικών. Οι περισσότερες ιστολογικές μελέτες στο ήπαρ της τσιπούρας έγιναν έπειτα από δοκιμές στο επίπεδο λιπαρών οξέων καθώς και έπειτα από προσθήκη φυτικών πρωτεϊνών.

Τέλος, είναι σημαντικό να γίνει περαιτέρω έρευνα για την επίδραση των φυτοβιοτικών στην ανάπτυξη και στην βελτίωση της υγείας των εκτρεφόμενων ιχθύων. Σε πολλές περιπτώσεις, τα φυτοβιοτικά συστατικά θα μπορούσαν να αντικαταστήσουν τα κοινά αντιβιοτικά τα οποία ανεβάζουν το κόστος παραγωγής και προκαλούν άλλα προβλήματα. Επίσης μπορούν να βελτιώσουν τις παραμέτρους ανάπτυξης των ιχθύων επιφέροντας έτσι μεγαλύτερα κέρδη για τις επιχειρήσεις.

5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

Akayli T., Timur G. (2002) Vibriosis in Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata* L.) in Farms in the Aegean Sea Coast of Turkey. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 2: 89-91

Alexis M.N. (1997) Fish meal and fish oil replacers in Mediterranean marine fish diets. Cahiers Options Mediterraneennes 22:183–204

Antache A., Cristea V., Dediu L., Vasilean I., Petrea S.M., Coada M.T. (2013) The Growth Performance of *Oreochromis niloticus* Reared in a Recirculating Aquaculture System in Condition of Some Phytobiotics Administered in Feed. Animal Science and Biotechnologies 70(1):185-186

Bauchot, M.L. & Hureau, J.C. (1990) Sparidae. In: Check-List of the Fishes of the Eastern Tropical Atlantic (CLOFETA), Vol. 2 (eds. J.C. Quero, J.C. Hureau, C. Karrer, A. Post, & L. Saldanha), pp. 790–812. JNICT, Lisbon; SEI, Paris; and UNESCO, Paris

Caballero M.J., Lopez-Calero G., Socorro J., Roo F.J., Izquierdo M.S., Fernandez A.J. (1999) Combined effect of lipid level and fish meal quality on liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*). Aquacultrure 179:277-290

Caballero M.J., Izquierdo M.S., Kjorsvik E., Fernandez A.J., Rosenlund G. (2004) Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus aurata* L., caused by short- or long-term feeding with vegetable oils. Recovery of normal morphology after feeding fish oil as the sole lipid source. Journal of Fish Diseases 27:531–541

Campillo, A., 1992. Les pêcheriesfrançaises de Méditeranée: synthèse des connaissances. InstitutFrancais de Recherche pour lƎxploitation de la Mer, France. 206 p.

Cano I., Alonso M. C., Garcia-Rosado E., Rodriguez Sainta-Jean S., Castro D., Borrego J. (2006) Detection of lymphocystis disease virus (LCDV) in asymptomatic cultured gilthead seabream (*Sparus aurata*, L.) using an immunoblot technique. Veterinary Microbiology 113: 137-141

Ceulemans S., Robles R., Coutteau P. (2009) Innovative Feed Additives Improve Feed Utilization In Nile Tilapia, Global Aquaculture Advocate

Corraze G. (2001) Lipid nutrition. Influence of dietary lipids on body composition and fish quality. In “Nutrition and Feeding of Fish and Crustacean: Eds. J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot & R. Metailler, Publ. Springer Praxis Publishing, Chichester, UK

Cristea V., Antache A., Grecu I., Docan A., Dediu L., Mocanu M. (2012) The use of phytobiotics in aquaculture. Seria Zootehnie 57: 250-255

Dorojan O.G., Cristea V., Ion S., Petrea S.M. (2014) The Influence of some Phytobiotics (Thyme, Seabuckthorn) on Growth Performance of Stellate Sturgeon (*A. stellatus*, Pallas, 1771) in an Industrial Recirculating Aquaculture System. Animal Science and Biotechnologies 47(1): 205-210

Escaffre, A.M., Bergot, P. (1986) Morphologie quantitative du foie des alevins de truite arcen-ciel ŽSalmo gairdnerii. issus de gros ou de petits oeufs: incidence de la date de premier repas. Arch. Hydrobiol. 107: 331–348

Ghittino, P. (1978) L’ascite della cieca Ž . Anguilla anguilla d’allevamento da degenerazione lipoidea epatica. Riv. Ital. Piscic. Ittiop. A 13: 97–100

Godino C., Santiago A., Santamaria J. (1990) Estudio histopatologico de las alteraciones producidas en ´higado de doradas. Sparus aurata alimentadas con piensos almacenados a diferentes temperaturas. III Congreso Nacional Acuicultura, 715–720.

Gonzalez C. and Geoff Allan (2007) PREPARING FARM-MADE FISH FEED. Australian Centre for International Agricultural Research, NSW Department of Primary Industries. 5-7

Hany M.R.A.L., Riad H.K. (2014) Evaluation of two Phytobiotics, Spirulina platensis and Origanum vulgare extract on Growth, Serum antioxidant activities and Resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to pathogenic Vibrio alginolyticus. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies 1(5): 250-255

Henderson R.J. (1996) Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. Archives of Animal Nutrition 49:5–22

Hibiya T. (1982) An Atlas of Fish Histology: Normal Pathological and Features. Kodansha, Tokyo, Japan

Kaushik S.J., Medale F. (1994) Energy requirements, utilization and dietary supply to salmonids. Aquaculture 124: 81-87

Kaushik S.J. (1997) Recent developments in the nutrition and feeding of marine finfish of interest to the Mediterranean. Communication at INVE Conference Nutritional and the improvement of the sea bass and sea bream production in the Mediterranean Region. ALIIA Trades Show, Thessaloniki, Greece.

Koven W., Barr Y., Lutzky S., Ben-Altia I., Weiss R., Harel M., Behrens P., Tandler A. (2001) The effect of dietary arachidonic acid (20:4*n*-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. Aquaculture 193: 107-122

Lloris, D., 2005. A world overview of species of interest to fisheries. Chapter: Sparusaurata. Retrieved on 08 July 2005, from www.fao.org/figis/servlet/species?fid=2384.3p. FIGIS Species Fact Sheets. Species Identification and Data Programme-SIDP, FAO-FIGIS

Lupatsch I., Kissil G.W. (2003) Defining energy and protein requirements of gilthead seabream (*Sparus aurata*) to optimize feeds and feeding regimes. The Israeli Journal of Aquaculture – bamidgeh 55(4): 243-257

Montero D., Robaina L.E., Socorro J., Vergara J.M., Tort L. & Izquierdo M.S. (2001) Alteration of liver and muscle fatty acid composition in gilthead sea bream (Sparus aurata) juveniles held at high stocking density and fed an essential fatty acid deficient diet. Fish Physiology and Biochemistry 24:63–72

Mosconi-Bac, N. (1987) Hepatic disturbances induced by artificial feed in the sea bass Ž . Dicentrarchus labrax during the first year of life. Aquaculture 153: 251–261

Muus, B.J. andJ.G. Nielsen, 1999.Seafish.ScandinavianFishingYearBook, Hedehusene, Denmark.340 p.

Ortuno J., Esteban M. A., Meseguer J. (1999) Effect of high dietary intake of vitamin C on non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) Fish & Shellfish Immunology 9(5): 429–443

Pachanawan A., Phumkhachorn P., Rattanachaikunsopon P. (2008) Potential of Psidium guajava supplemented fish diets in controlling Aeromonas hydrophila infection in tilapia (Oreochromis niloticus), J. Biosci. Bioeng. 106: 419-424

Pimentel-Rodrigues A.M., Oliva-Teles A. (2001) Phosphorus requirements of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. Aquaculture Research 32(1): 157–161

Segner H., Juario J.V. (1986) Histological observations on the rearing of milkfish, *Chanos chanos*, fry using different diets. J. Appl. Ichthyol. 4:162–173

Segner, H., Braunbeck, T. (1988) Hepatocellular adaptation to extreme nutritional conditions in ide, Leuciscus idus melanotus L. Cyprinidae . A morphofunctional analysis. Fish Physiol. Biochem. 5: 79–97

Seung-Cheol J., Takaoka O., Jeong G.S., Lee S.W., Ishimaru K., Seoka M., Takii K. (2007) Dietary medicinal herbs improve growth and some nonspecific immunity of red sea bream Pagrus major, Fisheries Science 73: 63–69

Spisni E., Tugnoli M., Ponticelli A., Mordenti T. & Tomasi V. (1998) Hepatic steatosis in artificially fed marine teleosts. Journal of Fish Diseases 21:177–184

Stake, P.E., Fredrickson, T.N., Bourdeau, C.A. (1980) Induction of fatty liver-hemorrhagic syndrome in laying hens by exogenous b-estradiol. Avian Dis. 25: 410–422

Storch V., Juario J.V. (1983) The effect of starvation and subsequent feeding on the hepatocytes of *Chanos chanos* fingerlings and fry. J. Fish Biol. 23:95–103

Strussmann, C.A., Takashima, F. (1990) Hepatocyte nuclear size and nutritional condition of larval pejerrey, ¨ Odontesthes bonariensis Ž . Cuvier et Valenciennes . J. Fish Biol. 36: 59–65

Tacon A.G.J. (1996) Lipid nutritional pathology in farmed fish. Archives of Animal Nutrition 49:33–39

Valaroutsou E., Voudanta E., Mente E., Berillis P. A microscope and image analysis study of the liver and exocrine pancreas of sea bream *Sparus aurata* fed different diets. International Journal of Zoology Research, 2013, 3(1):54-58

Vergara J.M., Robaina L., Izquierdo M.S., De la Higuera M. (1996) Protein sparing effect of lipids in diets for fingerlings of gilthead sea bream. Fisheries Science 62: 624-628

Watanabe T., Thongrod S., Takeuchi T., Satoh S., Kubota S.S., Fujimaki Y., Young-Cho C. (1989) Effect of dietary n-6 and n-3 fatty acids on growth, fatty acid composition and histological changes of white fish *Coregonus lavaretus maraena*. Nippon Suisan Gakkaishi 55:1977–1982.

Webster C.D. and Lim C.E. (2002). Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CABI Publishing, New York, 64-78

Zohar Y., Harel M., Hassin S., Tandler A. (1995) Gilthead seabream. In “Broodstock management and egg and larve quality. Ed. N.R. Bromage & R.J. Roberts, Publ. Blackwell Science, Oxford, UK.

Ελληνική βιβλιογραφία

Κουσούρης Θ. Σ., Φώτης Γ. Δ., Κονίδης Α. Ι. (1995) Περιβάλλον & υδατοκαλλιέργεια. Η αμφίδρομη σχέση των επιπτώσεων. Αγροτική Τράπεζα της Ελλάδος Α.Ε., Αθήνα.

Μεντέ Ε. και Νέγκας Ι. (2011). Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, 196

Φώτης Γ. Δ., Αγγελίδης Π. Γ. (2003) Εκτροφή και παθολογία ιχθύων, τόμος Α’ (Υδάτινο περιβάλλον, στοιχεία ιχθυολογίας, ιχθυολογία και ιχθυοπαθολογία)

6.ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the growth parameters of *Sparus aurata* fed with the phytobiotic Provigoro in their diets and also detect any major differences in the liver of the fish. A total of 240 juvenile *Sparus aurata* were used for the purposes of this study and were split into four dietary groups. The diet of group A did not contain Provigoro, the diet of group B contained 0.25% Provigoro, the diet of group C contained 0.50% and the diet of group D contained 1% Provigoro. The following growth parameters were evaluated: survival rate, weight gain percentage, specific growth rate (SGR) and feed conversion ratio (FCR). The results didn’t show any statistically significant differences in any of the growth parameters. No major differences were also found in the histological analysis of the liver. Although, the livers of the fish were filled with lipid droplets as a consequence of the high lipid percentage in the feed (18.2%). In conclusion, further studies are needed to find out the effective use of various phytobiotics with special reference to the timing, dosage, and method of administration.