



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ



Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η επίδραση του πρωτοκόλλου χορήγησης τροφής (ασιτία-επαναδιατροφή) στην αύξηση της τσιπούρας *Sparus aurata*.

ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

Βόλος 2016

**UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF AGRICULTURAL SCIENCES
DEPARTMENT OF ICHTHYOLOGY AND AQUATIC
ENVIRONMENT**

POSTGRADUATE MASTER'S THESIS

**« The effect of feeding protocol (starvation-subsequent refeeding) on the
growth of sea bream *Sparus aurata* »**

Papanikolaou Georgios

VOLOS 2016

« Η επίδραση του πρωτοκόλλου χορήγησης τροφής (ασιτία-επαναδιατροφή) στην αύξηση της τσιπούρας *Sparus aurata* »

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1. Παναγιώτα Παναγιωτάκη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Υδατοκαλλιέργειες, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Επιβλέπουσα*.

2. Ελένη Μήλιου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Εφαρμοσμένη Υδροβιολογία, Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, *Μέλος*.

3. Ελένη Γκολομάζου, Λέκτορας, Ιχθυοπαθολογία, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος*.

*Σ'εκείνους που κρατούν
ακόμη τον πυρσό τους μέσα
στο σκοτάδι των καιρών μας*

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα της μεταπτυχιακής αυτής εργασίας, την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Δρ. Παναγιώτα Παναγιωτάκη για την συνεχή υποστήριξη της κατά την διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας αυτής, την πνευματική στήριξη που μου παρείχε ακόμα και όταν οι προσωπικοί αγώνες στην καθημερινότητα, μοιραία, έθεταν οτιδήποτε ακαδημαϊκό και επαγγελματικό σε δεύτερη προτεραιότητα. Είναι η απόδειξη πως έννοιες όπως άνθρωπος και επιστήμονας μπορούν να βαδίσουν χέρι-χέρι.

Την συνεπιβλέπουσα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και διευθύντρια του Εργαστηρίου Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας Δρ. Ελένη Μήλιου-Μπαρσάκη για την παροχή του απαραίτητου εξοπλισμού και των χώρων που αυτή η διατριβή εκπονήθηκε, την πίστη της σε μένα, τις γνώσεις της. Δεχόμενος επιρροές από το ακαδημαϊκό της εκτόπισμα έμαθα πολλά και έγινα καλύτερος.

Την συνεπιβλέπουσα, Λέκτορα του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Δρ. Έλενα Γκολομάζου για την συνεργασία, την βοήθεια της και το απαραίτητο “motivation” που κάποιες φορές είναι πολύ αναγκαίο.

Τον Γεώργιο Κωνσταντίνου, ΕΤΕΠ, για την τεχνική υποστήριξη και την βοήθεια του κατά την διάρκεια των γνωστών καθημερινών αναποδιών.

Τον Αριστείδη Τσοπελάκο και την Ερατώ Ζωγοπούλου για την συμβολή, την άριστη συνεργασία, και την πολύ καλή παρέα τους. Τίποτα δεν θα ήταν ίδιο χωρίς εκείνους.

Ευχαριστίες επίσης στα μέλη ΔΕΠ, στους φοιτητές όπως και σε κάθε συνεργάτη μου στο εργαστήριο που με τον δικό του τρόπο ο καθένας, άλλος λιγότερο, άλλος περισσότερο αλλά πάντα με καλή θέληση συνετέλεσαν σε όλο αυτό, όποτε τους ζητήθηκε.

Τέλος, στην οικογένειά μου που πάντα στηρίζει τις επιλογές μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	vii
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
Αύξηση αντιστάθμισης.....	1
Συνιστώσες της αύξησης αντιστάθμισης στους ιχθείς.....	4
Παράγοντες που επηρεάζουν την αύξηση αντιστάθμισης	5
Μελέτη της αύξησης αντιστάθμισης στην Μεσογειακή τσιπούρα.....	10
Σκοπός της εργασίας.....	14
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	15
Πειραματικός σχεδιασμός.....	15
Εγκαταστάσεις πειραματισμού.....	16
Το βιολογικό υλικό.....	17
Χειρισμοί.....	17
Αναλύσεις.....	20
Δείκτες αύξησης και ανάπτυξης ιχθυοπληθυσμών.....	24
Στατιστική επεξεργασία.....	24
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	25
Προσδιορισμός βιομετρικών χαρακτηριστικών και αξιοποίησης προσλαμβανόμενης τροφής.....	25
Προσδιορισμός χημικής σύστασης του σώματος των ιχθύων.....	29
Προσδιορισμός παραμέτρων του αίματος των ιχθύων.....	31
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	33
Βάρη πληθυσμών.....	33
Χημική σύσταση ολικού σώματος.....	35

Παράμετροι ανάπτυξης.....	38
Αιματολογικές παράμετροι.....	39
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	43
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	44
ABSTRACT.....	57

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Πολλοί οργανισμοί μετά από περιόδους ολικής ή μερικής ασιτίας παρουσιάζουν γρηγορότερη αύξηση συγκρινόμενοι με αυτούς που σιτίζονται κανονικά, φαινόμενο που ονομάζεται αύξηση αντιστάθμισης. Το φαινόμενο αυτό σχετιζόμενο με την παραγωγή έχει εξαιρετικό ενδιαφέρον αφού, παίρνοντας υπόψιν το κόστος της τροφής μέσα στον κύκλο παραγωγής, διαφαίνεται η προοπτική για ελαχιστοποίηση του κόστους αυτού.

Στην εργασία αυτή χρησιμοποιήθηκαν τσιπούρες σε δύο ομάδες πειραματισμού με τρεις επαναλήψεις εκάστη, μέσου αρχικού βάρους 262.99 ± 58.16 γραμμαρίων σε περιβάλλον σταθερών τιμών θερμοκρασίας και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών. Η μία σιτιζόταν μέχρι κορεσμού (ad libitum), δύο φορές την ημέρα, πέντε ημέρες την εβδομάδα, καθ'ολη την διάρκεια του πειράματος (μάρτυρες). Η άλλη ομάδα υποβλήθηκε σε ολική ασιτία τις τέσσερις πρώτες εβδομάδες και στη συνέχεια (οκτώ εβδομάδες) ακολούθησε το πρόγραμμα σιτηρεσίου που ακολουθούσαν ήδη οι μάρτυρες (φάση επανασίτισης). Στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας καταγράφηκε το βάρος της κάθε ομάδας τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά καθώς και ποιοτικά (ποσοστό πρωτεΐνης, λίπους, υγρασίας και τέφρας) μαζί με τα βιοχημικά χαρακτηριστικά (αιματολογικές παράμετροι).

Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι το τελικό βάρος καθώς και το ολικό και σταθερό μήκος διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων (μεταχειρίσεις-μάρτυρες) ($P > 0.05$) υποδεικνύοντας ότι δεν υπήρξε αντιστάθμιση. Οι τιμές για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του σώματος και οι αιματολογικές παράμετροι των δύο ομάδων των ιχθύων δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0.05$).

Συμπερασματικά το πρωτόκολλο ασιτίας-επανασίτισης σε αυτή την μορφή και σε οργανισμούς με αυτή την κλάση βάρους φαίνεται ότι δεν επηρεάζει ώστε να υπάρξει αύξηση αντιστάθμισης και ως εκ τούτου περαιτέρω έρευνα είναι αναγκαία είτε σε εργαστηριακό χώρο είτε στο πεδίο.

Λέξεις κλειδιά: Τσιπούρα, *Sparus aurata*, αύξηση αντιστάθμισης, πλήρης ασιτία, εντατική εκτροφή

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Αύξηση αντιστάθμισης

Έχει παρατηρηθεί ότι πολλοί οργανισμοί μετά από ολική νηστεία η μερική αποχή από αυτή επανέρχονται όταν τους χορηγηθεί τροφή σε διαθέσιμες ποσότητες, συγκρινόμενοι με άλλους οι οποίοι έχουν σταθερά απεριόριστη πρόσβαση σε αυτή και παρουσιάζουν γρηγορότερο ρυθμό ανάπτυξης. Οι οργανισμοί αυτοί μπορούν να επιτύχουν αύξηση ανάλογη με εκείνων που βρίσκονται σε ευνοϊκές καταστάσεις. Αυτή η αντίδραση που τείνει να επαναφέρει την ομαλή πορεία της αύξησης του οργανισμού ονομάζεται αύξηση αντιστάθμισης (Jobling *et al.* 1994).

Το φαινόμενο της αύξησης αντιστάθμισης (Compensatory Growth) (ή ανάπτυξης αντιστάθμισης σε ορισμένες περιπτώσεις) έχει παρατηρηθεί από ζωοτέχνες σε ενδόθερμους οργανισμούς όπως θηλαστικά και πτηνά από τις αρχές του 20ου αιώνα (Wilson and Osbourn 1960). Εντούτοις η επιστημονική προσέγγιση του θέματος όσον αφορά στους ιχθείς έχει παρουσιάσει αρκετά αποτελέσματα τις τελευταίες δεκαετίες και κατά μεγάλη πλειοψηφία αφορούν στα είδη της οικογένειας Salmonidae λόγω της μεγάλης εμπορικής αξίας των ιχθύων αυτών στον δυτικό κόσμο καθώς και τη σύνδεση με την παράδοση τους. Επιπλέον, το φαινόμενο της αύξησης αντιστάθμισης στα ψάρια κέντρισε το ενδιαφέρον των επιστημόνων, καθώς σχετίζεται με έναν από τους θεμελιώδεις προβληματισμούς που αφορούν την εντατικής μορφής ιχθυοκαλλιέργεια σε παγκόσμιο επίπεδο, τη συμπίεση δηλαδή του κόστους παραγωγής με παράλληλη επίτευξη ταχέων ρυθμών αύξησης. Άλλες οικογένειες ιχθύων που έχουν μελετηθεί είναι αυτές των Κυπρινοειδών (Cyprinidae), των γνωστότερων εδώδιμων γατόψαρων (Ictaluridae), των Κιχλιδών (Cichlidae), των Γλωσσιδών (Soleidae) και σε μικρότερο

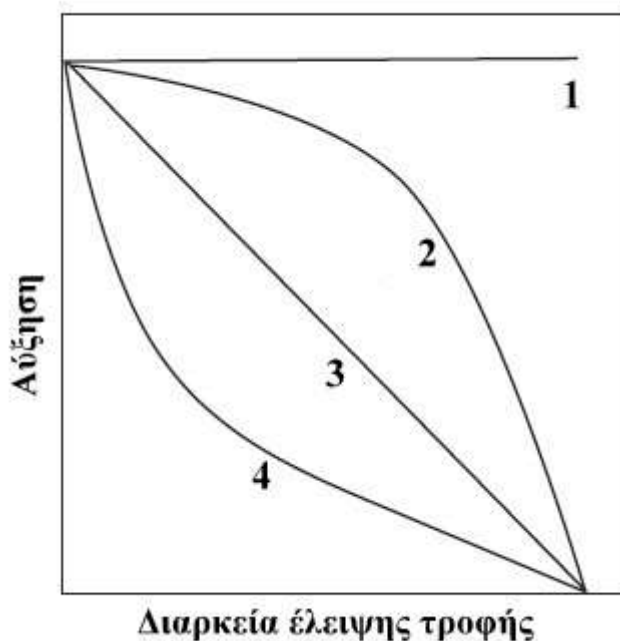
βαθμό άλλων οικογενειών και ειδών όπως των Μεσογειακών Σπαριδών (Sparidae) και Μορονιδών (Moronidae) αλλά και ειδών του γλυκού νερού.

Αναλογιζόμενοι το ποσοστό που καταλαμβάνουν οι Τελεόστει μέσα στην υφομοταξία των Ακτινοπτερυγίων και γενικότερα βασει του γεγονότος του ότι αριθμούν στο μισό του συνόλου των σπονδυλωτών (Wootton 1998) γίνεται εύκολα κατανοητό ότι το φαινόμενο της αύξησης αντιστάθμισης έχει πολλά ακόμη περιθώρια έρευνας στους ιχθείς. Ο κλάδος της ελληνικής ιχθυοκαλλιέργειας αφορά τομέα της αγροτικής παραγωγής με 120.000 τόννους το χρόνο παραγωγή, περίπου 80 εταιρίες, 300 μονάδες, 10.000 εργαζόμενους και 500 εκ. ευρώ κύκλος εργασιών (στοιχεία ΣΕΘ , 2015).

Εκτός αυτού η αυξανόμενη ζήτηση σε ιχθυηρά σε παγκόσμια κλίμακα σε συνδυασμό με την τάση προς όλο και περισσότερη ελάττωση του κόστους παραγωγής στην βιομηχανία των ιχθυοκαλλιεργειών θέτουν την εφαρμογή του φαινομένου σε πρώτο πλάνο. Σε αυτό συνηγορεί και το κόστος των τροφών που σε μια μονάδα αποτελεί περίπου το 40%-60% των παγίων εξόδων της (Jobling *et al.* 1994).

Η αύξηση αντιστάθμισης εκτός από *in vitro* προσεγγίσεις και κατ'επέκταση την πρακτική εφαρμογή της και το ενδιαφέρον που παρουσιάζει, ως βιολογικό φαινόμενο έχει φυσικά καταγραφεί και σε άγριους πληθυσμούς που λόγω δυσμενών συνθηκών είτε αναγκάζονται να ζήσουν σε περιβάλλοντα με μειωμένη παροχή τροφής είτε υποβάλλονται σε συνθήκες που αποκλίνουν σημαντικά από την ομοιόστασή τους όπως θερμοκρασιακές μεταβολές και υποξικές συνθήκες, καθώς επίσης και σε περιόδους με αυξημένες ανάγκες σε ενέργεια όπως αυτή της αναπαραγωγής. Η αύξηση αντιστάθμισης σε έναν πληθυσμό που υποβάλλεται σε στέρηση τροφής και μέσω αυτού ανακάμπτει πλησιάζοντας τα επίπεδα του πληθυσμού που σιτίζεται η διαβιεί κανονικά

έχει παρατηρηθεί ότι έχει υψηλότερους ρυθμούς από αυτό των προβλεπόμενα διαβιούντων ιχθύων. Αυτός ο ρυθμός τείνει να πέσει καθώς πλησιάζει αυτόν των τελευταίων (Ali *et al.* 2003). Περίοδοι με περιορισμένη διαθέσιμη τροφή έχουν επιπτώσεις στις πεπτικές διαδικασίες των ιχθύων και οι ίδιοι αναγκάζονται να αναπτύξουν ένα μηχανισμό αντιστάθμισης έτσι ώστε να ανταποκριθούν στις νέες συνθήκες (Larsson & Levander 1973). Το γενικό μοντέλο αύξησης αντιστάθμισης που συσχετίζει την αύξηση σε σωματική μάζα και την διάρκεια που ο οργανισμός απέχει από την τροφή δίνεται στο Σχήμα 1 (Wootton 2001).



Σχήμα 1. Γενικό μοντέλο αύξησης αντιστάθμισης συσχετίζοντας την αύξηση σε σωματική μάζα και την διάρκεια που ο οργανισμός απέχει από την τροφή. 1. Ο οργανισμός παρουσιάζει ολική αύξηση αντιστάθμισης 2. Ο οργανισμός στα πρώτα στάδια παρουσιάζει αντιστάθμιση μέχρι το σημείο που αρχίζει να φθίνει 3. Γραμμική πτωτική πορεία 4. Ο οργανισμός παρουσιάζει εξαιρετική ευαισθησία από τα πρώτα μόλις στάδια (Wootton 2001).

Εκτός από την σχέση αύξησης-αποχής από την τροφή που είναι ο σημαντικότερη έκφραση του φαινομένου της αύξησης αντιστάθμισης υπάρχουν και

αλλες δυο εκφράσεις του φαινομένου, αυτή που συσχετίζει την μείωση της ιχθυοπυκνότητας σε μια δεδομένη στιγμή με την τροφή που καθίσταται διαθέσιμη ως απόρροια της και εκείνη που συσχετίζει την διαθέσιμη τροφή σε έναν πληθυσμό που βρίσκεται στο κατώφλι μιας σημαντικής αλλαγής του κύκλου ζωής του όπως π.χ η φάση της μετανάστευσης του σολομού του Ατλαντικού (*Salmo salar*) από τα γλυκά νερά στη θάλασσα (Ali *et al.* 2003).

1.2 Συνιστώσες της αύξησης αντιστάθμισης στους ιχθείς. Αύξηση αντιστάθμισης και το φαινόμενο της υπερφαγίας.

Το φαινόμενο μπορεί να προκληθεί από μια σειρά αιτιών η από έναν συνδυασμό αυτών. Πολλές εργασίες έχουν στηρίξει ότι εκτός από τον πρωτεύοντα ρόλο που έχει μεταβολικά η υπερκατανάλωση τροφής (υπερφαγία) μετά από περίοδο ασιτίας υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που συμβάλλουν στο φαινόμενο της αύξησης αντιστάθμισης. Αυτοί συμπεριλαμβάνουν το χαμηλό ενεργειακό κόστος ανά περιόδους που συνεπάγεται χαμηλή κινητικότητα, μειωμένο μεταβολισμό και υψηλό ρυθμό αύξησης. Αυτοί όμως συγκριτικά πάντα με την υπερφαγία έχουν πολύ μικρό ρόλο στο φαινόμενο (Ali *et al.*, 2003).

Παράγοντες όπως ενδεχόμενη μεταβολή της θερμοκρασίας και διαθεσιμότητας της τροφής σε μια δεδομένη χρονική στιγμή μπορούν να κάνουν την τροφή που βρίσκεται στην εντερική κοιλότητα του ιχθύ να αποβληθεί γρηγορότερα η και πιο αργά από το προβλεπόμενο διάστημα. Στην περίπτωση που η τροφή διανύσει την πορεία της στον πεπτικό σωλήνα γρηγορότερα θα χαρακτηριζόταν από υπερφαγική δραστηριότητα.

Στο φυσικό ενδιαίτημα τους οι ιχθείς αναγκάζονται πολλές φορές να παραμένουν σε υποβαθμισμένα περιβάλλοντα λόγω έλλειψης τροφής ή άλλων περιβαλλοντικών συνθηκών. Η αλλαγή αυτή προκαλεί αυξομειώσεις στο μεταβολικό ρυθμό. Ειδικότερα όταν η τροφή μειώνεται ο μεταβολισμός πέφτει (Wieser *et al.* 1992; Ali *et al.* 2003; Du Preez *et al.* 1986)

1.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την αύξηση αντιστάθμισης στους ιχθείς

1.3.1 Επίπεδα παροχής τροφής και διάρκεια αποχής

Στη βιβλιογραφία απαντάται πληθώρα πρωτοκόλλων που αφορούν στην αύξηση αντιστάθμισης: από πληθυσμούς χειριζόμενους είτε ατομικά είτε κατά κλάσεις, υποβολή αυτών σε νηστεία κατά περιόδους (κυκλικά) ή όχι, με ολική ή μερική στέρηση της τροφής, με συνδυασμό αυτών και με αποτελέσματα που ποικίλουν αντίστοιχα (Ali *et al.* 2003).

Ολική αύξηση αντιστάθμισης (full compensation) έχει παρουσιαστεί σε άτομα των ειδών *Phoxinus phoxinus*, *Carassius auratus gibelio*, *Gasterosteus aculeatus* *Cyprinus carpio* κ.α. με διαφορετικά κυκλικά πρωτόκολλα σίτισης-επανασίτισης (Zhu *et al.* 2001; Russel & Wooton 1992; Schwartz *et al.* 1985). Μερική αύξηση αντιστάθμισης (partial compensation) έχει παρουσιαστεί σε είδη όπως *Salvelinus alpinus* σε άτομα της οικογένειας των Cyprinidae (Miglavns and Jobling 1989; Russel & Wooton 1992). Μηδενική αύξηση αντιστάθμισης επίσης σε άτομα του βακαλάου του Ατλαντικού *Gadus morhua* (Jobling *et al.* 1994).

Σε ένα πλαίσιο σίτισης –επανασίτισης ο ρυθμός με τον οποίο παρέχονται τα γεύματα παίζει ρόλο στην αύξηση του οργανισμού. Εάν η παροχή είναι συχνή η

υπερφαγία που θα παρατηρηθεί θα ακυρώσει ενδεχόμενη πτώση της αύξησης (Ali & Wooton 1998)

Οι περίοδοι ασιτίας έχουν διαφορετικά αποτελέσματα σε πληθυσμούς από αυτούς που υπόκειται σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Οι Metcalfe *et al.* (2002) σε πείραμα που έγινε σε νεαρά άτομα του σολομού του Ατλαντικού *Salmo salar* που υποβλήθηκαν σε ασιτία το καλοκαίρι και το φθινόπωρο μέχρι να μειωθούν αισθητά τα αποθέματα λίπους τους, κατά την ανάνηψη τα άτομα της καλοκαιρινής ομάδας παρουσίασαν αντιστάθμιση σε μάζα και μέγεθος ενώ η ομάδα του φθινοπώρου μόνο σε μέγεθος. Οι Pirhonen & Forsman (1998) πειραματιζόμενοι με το συγγενικό είδος της κοινής πέστροφας *Salmo trutta* και εφαρμόζοντας μερική νηστεία τις ίδιες εποχές λόγω του ότι κατά το φθινόπωρο και τις χαμηλές θερμοκρασίες η όρεξη και κατ'επέκταση η πρόσληψη της τροφής είναι περιορισμένη, η αύξηση αντιστάθμισης δεν επετεύχθη. Αλλαγές στη σχέση βάρους-μήκους μετά από επανασίτιση έχει επίσης παρατηρηθεί (Jobling *et al.* 1993).

Ανάμεσα σε εφαρμογή πρωτοκόλλων νηστείας και θερμοκρασίας οι Nicieza & Metcalfe (1997) σε εργασία σε νεαρά άτομα σολομού του Ατλαντικού *Salmo salar* παρατήρησαν ότι ο χρόνος μεταξύ τέλους μείωσης μάζας και αρχής αύξησης αντιστάθμισης είναι μεγαλύτερος όταν η θερμοκρασία είναι ο παράγοντας.

1.3.2 Αλληλεπιδράσεις περιβάλλοντος-οργανισμού

Η αύξηση αντιστάθμισης μπορεί να είναι μέσα στα πλαίσια αλληλεπίδρασης παραγόντων όπως ο ρυθμός αύξησης και ο βαθμός επιβίωσης όταν υπάρχει παρουσία θηρευτών (McNamara & Houston 1987).

Περιβαλλοντικοί παράγοντες συσχετισμένοι με την ηθολογία του εκάστοτε οργανισμού είτε εκτρεφόμενου είτε βρισκόμενου στο φυσικό του περιβάλλον αποτελούν ένα σημαντικό μέρος στο πλαίσιο των παραγόντων που εμπλέκονται στην υπερφαγία, το βαθμό της και κατ'έπεκταση στην αύξηση αντιστάθμισης. Παράγοντες όπως οι ιχθυοπυκνότητα και οι κοινωνικές αλληλεπιδράσεις αυξομειώνουν τις τιμές της πρόσληψης τροφής κατά άτομο μέσα σε έναν πληθυσμό (Ali & Wootton, 2003; Vera Cruz & Mair 1994; Basiao *et al.* 1996; Jobling & Koskela 1996).

Οι Jobling & Koskela (1996) σε εργασία τους στην ιριδίζουσα πέστροφα *Oncorhynchus mykiss* διαπίστωσαν ότι ανάμεσα στα άτομα που υποβλήθησαν στο πείραμα υπήρξαν κάποια που λόγω καλύτερης κατάστασης ή υψηλότερης θέσης στην ιεραρχία μεγεθών (dominance hierarchy) καταναλώνανε μεγαλύτερες ποσότητες τροφής σε σχέση με κάποια άλλα όταν η τροφή παρείχετο σε μικρές ποσότητες και στατιστικά η κατανομή των βαρών ήταν ετερογενής. Όταν η παροχή τροφής επανήλθε στα κανονικά επίπεδα τα άτομα έδειξαν υπερφαγία και η αύξηση αντιστάθμισης ήταν μεγαλύτερη.

1.3.3 Οντογενετικά στάδια

Στα πρώτα στάδια ανάπτυξης το μικρό μέγεθος και σε περιπτώσεις έλλειψης τροφής όπως και το ιστορικό σίτισης όταν πρόκειται για ελεγχόμενες συνθήκες εκτροφής, συνηγορούν αρνητικά στην εύρεση τροφής και οι συνέπειες μπορούν να αφορούν στην πιθανότητα επιβίωσης της εκάστοτε κλάσης μεγέθους (Miller *et al.* 1988; Letcher *et al.* 1996). Τα διαστήματα ανάμεσα στις αλλαγές στα στάδια αυτά επίσης είναι συνυφασμένες με αυξημένη στην κατανάλωση τροφής και με περαιτέρω αύξηση αντιστάθμισης (Ali *et al.* 2003).

Κάποια είδη λόγω δυσμενών συνθηκών στα πρώτα στάδια ανάπτυξης τους όπως η καθυστέρηση στη λήψη τροφής, η θερμοκρασία και η απουσία φωτός δυσχεραίνουν την ανάπτυξη του οργανισμού και δεν παρατηρείται αύξηση στην επανασίτιση ούτε και η αναμενόμενη αντιστάθμιση της (Lagardere 1989). Η μετάβαση όμως σε περιβάλλοντα όπου η τροφή είναι επαρκής συμβάλει σε έναν γρηγορότερο ρυθμό αύξησης (Ali *et al.* 2003; McDowall 2001).

Σε αντίθεση με τον όρο “αύξηση αντιστάθμισης” που παραπέμπει σε μεταβολές του βάρους των ιχθύων και της μάζας τους, ο όρος “ανάπτυξη αντιστάθμισης” μπορεί να χρησιμοποιηθεί όταν οι αλλαγές λόγω των εφαρμοσμένων πρωτοκόλλων στο σιτηρέσιο αλλά και στο φυσικό του ενδιαίτημα έχουν αποτελέσματα σε οντογενετικό επίπεδο στον οργανισμό. Κάποιες ενδεχόμενες αλλαγές στη φυσιολογία και στη μορφολογία του οργανισμού στα πρώτα στάδια δύνανται να έχουν συνέπειες αρνητικές η θετικές στα επόμενα οντογενετικά στάδια όπως στον ρυθμό αύξησης και την κολυμβητική ικανότητα (Ali *et al.* 2003; Chambers *et al.* 1988; Bertram *et al.* 1993).

1.3.5 Αναπαραγωγική ωριμότητα

Είναι κοινώς αποδεκτό ότι παράγοντες όπως οι συνθήκες περιβάλλοντος και η διατροφική ποιότητα σε έναν οργανισμό μπορούν να επηρεάσουν την αναπαραγωγική ωριμότητα του. Η μεγάλη δαπάνη σε ενέργεια που παρατηρείται εκείνη την εποχή λόγω αυξημένης κινητικότητας και παραγωγής γονάδων έχει ως αποτέλεσμα στην πολύ μειωμένη αύξηση σε σωματικό βάρος (Ali *et al.* 2003; Wooton 1998). Η υποβολή του οργανισμού σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από τις συνήθεις εκτός από τον αναμενόμενο χαμηλό ρυθμό αύξησης, καθυστερεί επίσης και τον σχηματισμό των

γονάδων. Η επαναφορά των οργανισμών σε ιδανικές συνθήκες προκάλεσε αύξηση αντιστάθμισης αλλά δεν έγινε το ίδιο στις γονάδες (Chmilenkii 1994).

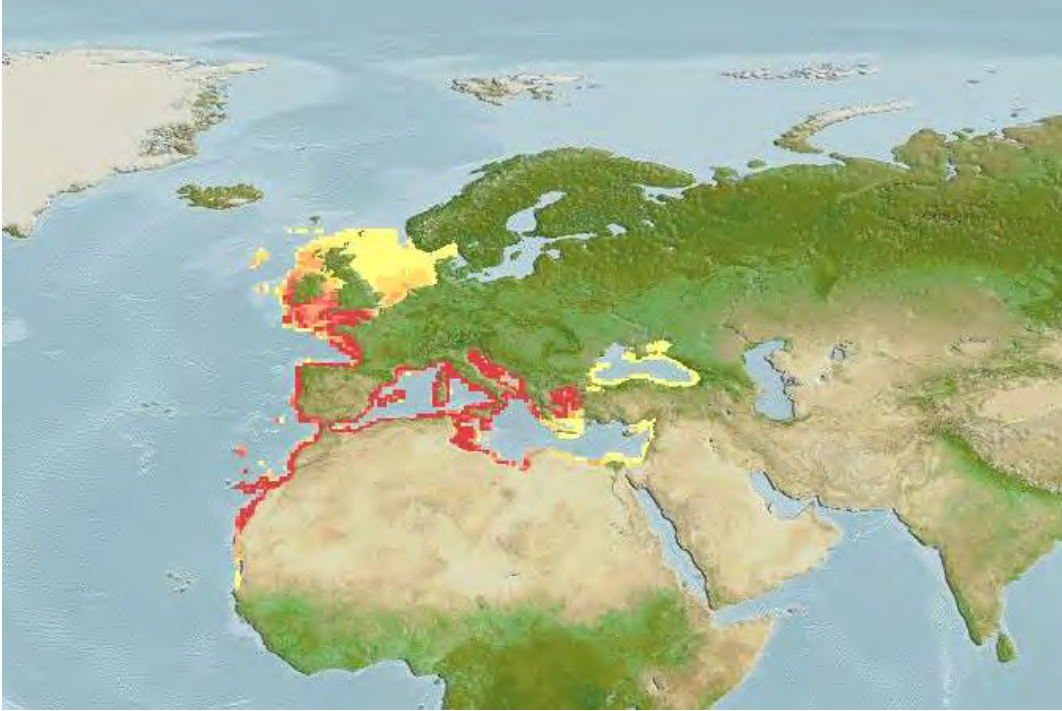
Σε κάποια είδη ιχθύων η “πυροδότηση” της ωριμότητας των γονάδων οφείλεται σε συγκεκριμένα ποσοστά λίπους κάποια συγκεκριμένη εποχή και πιο συγκεκριμένα όταν αυτό το σημείο ξεπεραστεί. Η αύξηση αντιστάθμισης καταναλώνει τα ενεργειακά αποθέματα που υπό άλλες συνθήκες θα χρησιμοποιούντο για τις ανάγκες της αναπαραγωγής. Με άλλα λόγια η αύξηση των επιπέδων του λίπους και της μάζας του οργανισμού έχει τον πρώτο λόγο συγκριτικά με την ενέργεια που θα καταναλωνόταν για τις ανάγκες της αναπαραγωγής (Ali et al 2003).

1.4 Μελέτη της αύξησης αντιστάθμισης στην Μεσογειακή τσιπούρα

Ενώ το είδος εκτρέφεται μαζικά, εντατικά και επιτυχημένα από τις αρχές τις δεκαετίας του 1980 οι εργασίες που έχουν εκπονηθεί όσον αφορά στην τσιπούρα και την αύξηση αντιστάθμισης και γενικότερα στα μεσογειακά είδη είναι λίγες συγκριτικά με τους ιχθύες των βορειοευρωπαϊκών χωρών. Το γεγονός αυτό αφήνει ένα μεγάλο περιθώριο για εφαρμογή και περαιτέρω ανάπτυξη της υφιστάμενης τεχνογνωσίας.

1.4.1 Βιολογικά - οικολογικά στοιχεία της τσιπούρας και συστηματική κατάταξη

Είδος βενθοπελαγικό με βαθυμετρική κατανομή έως 150μ. με συνηθέστερη αυτή των 30μ. Και γεωγραφική εξάπλωση από τον Α. Ατλαντικό (στενά του Γιβραλτάρ έως το Πράσινο Ακρωτήριο και γύρω από τα Κανάρια Νησιά) έως τη Μεσόγειο Θάλασσα (Εικ. 1).



Εικόνα 1. Γεωγραφική κατανομή του *Sparus aurata* sp. (Fishbase.org)

Το σώμα είναι ατρακτοειδές, ψηλό με μια μαύρη κηλίδα στο βραγχιακό επικάλυμμα. Απαντά σε λιβάδια φυκιών και αμμώδεις βυθούς. Την άνοιξη μπορεί να παρατηρηθεί σε υφάλμυρα νερά. Ουραίο πτερύγιο διχαλωτό, ρύγχος διπλάσιο σε μήκος από τη διάμετρο του ματιού. Χρώμα ασημί-γκρι με μια χρυσή λωρίδα κατά μήκος του μετώπου πάνω από το ύψος των οφθαλμών, από το οποίο προέκυψε και το προηγούμενο επιστημονικό του όνομα *Chrysophrys aurata*. Είναι πρώτανδρο ερμαφρόδιτο, σαρκοφάγο και μόνο συμπληρωματικά φυτοφάγο. Η κατάσταση του αποθέματος στην Ελλάδα κρίνεται ως υπεραλιευμένη και λαμβάνοντας υπ'όψιν την οικολογική ευπάθεια και την ελαστικότητα του είδους προτείνεται να αλιεύεται σε μέγεθος μεγαλύτερο από 35cm (Stergiou *et al* 2011). Είδος με τεράστια οικονομική σημασία, υψηλή διατροφική αξία και εξαιρετικά βιολογικά χαρακτηριστικά όπως υψηλός ρυθμός αύξησης και χαμηλή θνησιμότητα που το θέτουν στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος των παραγωγών εδώ και δεκαετίες.



Ταξινομική κατάταξη:

Συνομοταξία:	Chordata
Υποσυνομοταξία:	Vertebrata
Υπερομοταξία:	Gnathostomata
Ομοταξία:	Osteichthyes
Υφομοταξία:	Actinopterygii
Υπερτάξη:	Teleostei
Τάξη:	Perciformes
Υποτάξη:	Percoidei
Οικογένεια:	Sparidae
Γένος:	Sparus
Είδος:	<i>Sparus aurata</i>

1.5 Σκοπός της παρούσας εργασίας

Σήμερα, το κυρίαρχο πρόβλημα που έχει να αντιμετωπίσει ο κλάδος των ιχθυοκαλλιεργειών είναι η αύξηση του κόστους παραγωγής λόγω της αύξησης της τιμής των πρώτων υλών για την παραγωγή της τροφής (η οποία αποτελεί περίπου το 60% του κόστους εκτροφής) σε συνδυασμό με την υποβάθμιση της διατροφικής της αξίας για τα εκτρεφόμενα ψάρια, και η αύξηση των θνησιμοτήτων έχουν οδηγήσει σε αύξηση του κόστους παραγωγής κατά 20-30% την τελευταία 2ετία (2012-2013) χωρίς να έχει ακολουθηθεί με αντίστοιχη αύξηση των τιμών πώλησης. Το φαινόμενο της αύξησης αντιστάθμισης δεν έχει μελετηθεί στην τσιπούρα εκτενώς, ως προς την ποσότητα της προσφερόμενης τροφής όπως επίσης και για τα χρονικά διαστήματα εναλλαγής ασιτίας - επαναδιατροφής. Το γεγονός αυτό καθώς και ο γενικότερος προβληματισμός που υπάρχει στον κλάδο των ιχθυοκαλλιεργειών στη χώρα μας αλλά και παγκόσμια, σχετικά με την ανάγκη μείωσης του κόστους παραγωγής, οδήγησε στο σχεδιασμό της παρούσας εργασίας δεδομένου ότι η τσιπούρα αποτελεί το κυριότερο είδος που εκτρέφεται σε πλωτούς ιχθυοκλωβούς στη χώρα μας.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Πειραματικός σχεδιασμός

Η διάρκεια του πειράματος ορίστηκε σε 12 ημερολογιακές εβδομάδες (από Δευτέρα 30/09/2013 έως 22/12/2013) και περιλάμβανε δύο ομάδες με τρεις επαναλήψεις η κάθε μία. Στην πρώτη ομάδα (Μάρτυρες) η σίτιση καθορίστηκε ad libitum δύο φορές την ημέρα, πρωί (09:00) και μεσημέρι (14:00). Η δεύτερη ομάδα (Μεταχείριση) διατηρήθηκε σε πλήρη ασιτία 4 ημερολογιακών εβδομάδων (30/09/2013 – 28/10/2013) με όλους τους υπόλοιπους παράγοντες του περιβάλλοντος εκτροφής σταθερούς. Μετά το πέρας των εβδομάδων ασιτίας οι πληθυσμοί της Μεταχείρισης σιτίστηκαν σε επίπεδα ίδια με αυτά των μαρτύρων (ad libitum) για τις επόμενες 8 εβδομάδες (30/10/2013 – 22/12/2013). Ανάμεσα στις περιόδους ασιτίας – επανασίτισης καθώς και στην έναρξη έγινε ζύγισμα των ιχθύων και καταγραφή του βάρους. Στο τέλος οι ιχθείς θανατώθηκαν, ακολούθησε αιμοληψία και συλλογή ήπατος και πεπτικού σωλήνα με το υπόλοιπο μέρος να ομογενοποιείται για να καταψυχθεί στη συνέχεια.

Στο τέλος της φάσης εκτροφής και πριν την θανάτωση για τη δειγματοληψία έγινε καταγραφή σωματομετρικών στοιχείων των ιχθύων για τον υπολογισμό της αύξηση βάρους (WG, Weight Gain), τον ρυθμό αύξησης (GR, Growth rate), τον ειδικό ρυθμό αύξησης (SGR, Specific Growth Rate), τον ρυθμό μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR), τον δείκτη ευρωστίας (Condition factor), του ηπατοσωματικού δείκτη (HSI) αλλά και της προσλαμβανόμενης τροφής (DFI).

2.2 Εγκαταστάσεις πειραματισμού

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε μέρος του κλειστού κυκλώματος του εργαστηρίου Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας στο Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών, (ΓΠΑ), όπου ο πληθυσμός παρέμεινε κατά τη διάρκεια της πρώτης φάσης του πειράματος μέχρι το επόμενο ζύγισμα. Το κύκλωμα αποτελούταν από 6 ενυδρεία με γυάλινα τοιχώματα, διαστάσεων 88cm x 68cm x 36cm και όγκου 215,5l η κάθε μία. Κάθε ενυδρείο διέθετε σύστημα οξυγόνωσης, παροχής του νερού, αποχέτευσης και σύστημα φίλτρων. Το σύστημα οξυγόνωσης αποτελούταν από σωλήνες PVC που διοχετεύουν τον ατμοσφαιρικό αέρα μέσω πλαστικών εύκαμπτων σωληνίσκων διαμέτρου 6mm. Η παροχή του νερού στις δεξαμενές πραγματοποιούνταν μέσω δικτύου που διεμοίραζε το θαλασσινό νερό στα κυκλώματα του εργαστηρίου. Η παροχή ρυθμίστηκε στα 250ml/10’’ τουτέστιν 1,5L/min (ή 90L/h). Το σύστημα αποχέτευσης αποτελούταν από σωλήνα ενσωματωμένο στην “πλάτη” του κάθε ενυδρείου και λειτουργούσε και σαν σημείο ελέγχου της στάθμης του νερού. Το σύστημα του φίλτρου αποτελείτο από έναν συνδυασμό μηχανικών (σπόγγι) και βιολογικών (χαλίκια) φίλτρων, συν τις λυχνίες υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) για τον έλεγχο των παθογόνων μικροοργανισμών.

Στο κύκλωμα υπήρχε επίσης σύστημα ψύξης του νερού. Η φωτοπερίοδος ήταν ρυθμισμένη όμοια σε όλους τους ιχθυοπληθυσμούς, με 12 ώρες συνεχούς φωτός και 12 σκότους (07:00-19:00 και 19:00-07:00 αντίστοιχα).

2.3 Το βιολογικό υλικό

Για την υλοποίηση των σκοπών του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν έξι ομοιογενείς πληθυσμοί των πέντε ατόμων έκαστος, μέσου αρχικού βάρους $262,99 \pm 58,16$ g. Τα άτομα των πληθυσμών προέκυψαν από ζύγισμα του ήδη υπάρχοντος πληθυσμού που ήταν εγκλιματισμένος στις συνθήκες του εργαστηρίου καθώς είχε υποβληθεί σε πείραμα που είχε λάβει χώρα στο εργαστήριο κάποιες εβδομάδες πιο πριν. Το ζύγισμα έγινε με ηλεκτρονικό ζυγό ακρίβειας 0,1g και στη συνέχεια “κλασαρίστηκε” με τα άτομα να τοποθετούνται εκ νέου στις δεξαμενές.

2.4 Χειρισμοί

Σε καθημερινή βάση πραγματοποιούνταν χειρισμοί ρουτίνας σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα με σκοπό την ομαλότητα και την εξάλειψη πιθανής απόκλισης από την προγραμματισμένη διαδικασία που θα επέφεραν ενδεχόμενη εκδήλωση stress από του ιχθείς. Η εργαστηριακή ρουτίνα πραγματοποιούνταν από Δευτέρα έως Παρασκευή.

2.4.1 Χορήγηση τροφής

Τα ημερήσια σιτηρέσια των ιχθυοπληθυσμών χωριζόντουσαν σε δύο μέρη ένα πρωινό (09:00) και ένα μεσημεριανό (14:00). Η τροφή που χρησιμοποιήθηκε ήταν εμπορίου μεγέθους 4.5mm. Η χορήγηση της τροφής στις δεξαμενές πραγματοποιούνταν αφού πρώτα ζυγίζοταν σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας. Το ζυγισμένο βάρος της τροφής καταγραφόταν και οι ιχθείς ταιζόντουσαν ανά δεξαμενή. Η διαδικασία του ταΐσματος σταματούσε όταν παρατηρούνταν ότι τα pellets δεν καταναλωνόντουσαν από τους εκτρεφόμενους οργανισμούς. Πέντε λεπτά αργότερα τα υπολειπόμενα pellets συλλεγόντουσαν με σιφωνισμό και καταμετρούνταν έτσι ώστε να υπολογισθεί το βάρος

της τροφής που περίσσεψε και κατ'επέκταση η ποσότητα που καταναλώθηκε από τους ιχθείς. Καθημερινά καταγράφονταν η κατανάλωση της τροφής για κάθε δεξαμενή του κάθε χειρισμού.

2.4.2 Καθαρισμοί

Καθαρισμός των μηχανικών φίλτρων των κυκλωμάτων πραγματοποιούνταν κάθε μέρα και των δεξαμενών μια φορά την εβδομάδα με σκοπό την απομάκρυνση των αιρούμενων σωματιδίων (περιττώματα των ιχθύων) και την μείωση του οργανικού φορτίου. Ο καθαρισμός πραγματοποιούνταν με σπόγγο εμπορίου, σιφωνισμό και ανανέωση του νερού εκτροφής κατά το $\frac{1}{2}$ περίπου του όγκου κάθε δεξαμενής. Όπου κρίθηκε αναγκαίο γινόταν και καθαρισμός του βιολογικού φίλτρου του κυκλώματος.

2.4.3 Λήψη φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού εκτροφής

Καθημερινά πραγματοποιούνταν μετρήσεις για την ποιότητα του νερού όσον αφορά στο pH, την αλατότητα και τα επίπεδα οξυγόνου. Οι μετρήσεις γινόντουσαν κάθε πρωί 45 λεπτά πριν τον πρώτο διαμοιρασμό του σιτηρεσίου (08:15). Όλες οι μετρήσεις καταγράφονταν καθημερινά.

2.4.3.1 Δεσμευμένο οξυγόνο DO (ppm, και % κορεσμού)

Οι μετρήσεις για τα επίπεδα οξυγόνου πραγματοποιούνται με φορητή συσκευή μέτρησης “τύπου” Handygamma της Oxyguard. Το όργανο καλιμπραριζόταν πριν κάθε χρήση και τοποθετούταν στη δεξαμενή για την μέτρηση.

2.4.3.2 pH

Για την μέτρηση του pH χρησιμοποιήθηκε φορητή συσκευή “τύπου” handyPH της Oxyguard. Το όργανο καλιμπραριζόταν πριν κάθε χρήση και τοποθετούταν στη δεξαμενή για την μέτρηση. Για την σταθεροποίηση του pH του νερού εκτροφής χρησιμοποιήθηκε όπου κρίθηκε αναγκαίο, διάλυμα CaCO_3 .

2.4.3.3 Sal (‰)

Η αλατότητα μετρούταν με αλατόμετρο (refractometer) μοντέλου Signstek ATC.

2.4.3.4 Ολική αμμωνία ($\text{N-NH}_4^+-\text{NH}_3^-$) και νιτρώδη ιόντα (N-NO_2^-).

Σε εβδομαδιαία βάση, δύο φορές την εβδομάδα (Δευτέρα και Παρασκευή) γινόταν δειγματοληψία νερού εκτροφής από όλες τις δεξαμενές για τον προσδιορισμό της ολικής αμμωνίας και των νιτρωδών ιόντων. Συγκεκριμένα στη μέση της ημέρας, δύο ώρες πριν το μεσημεριανό τάισμα (12:00) με τη βοήθεια λεπτού σιφωνιού συλλέγονταν νερό και μέσω διηθητικού χαρτιού για την απομάκρυνση των αιωρούμενων σωματιδίων, αποθηκεύονταν σε φιαλίδια των 100ml που στη συνέχεια κατεψύχοντο (-30°C).

2.4.4 Ζύγισμα των πληθυσμών

Η διαδικασία αυτή πραγματοποιούταν στο τέλος κάθε φάσης του πειράματος, συνολικά τρεις φορές, στην έναρξη (30/09/2013) στο τέλος της περιόδου ασιτίας (30/10/2013) και στο τέλος του πειράματος (22/12/2013). Ο πληθυσμός του κάθε ενυδρείου εξαλειυόταν και μετά την τοποθέτηση του σε δεξαμενή με οξυγόνωση και διάλυμα αναισθησίας (2-φαινοξυαιθανόλη), τοποθετούταν κατ' άτομο σε ηλεκτρονικό

ζυγό ακριβείας 0,1g όπου καταγραφόταν το βάρος του κάθε ατόμου και στη συνέχεια υπολογίζονταν η συνολική βιομάζα της δεξαμενής. Επίσης κάθε άτομο μετρούταν και καταγραφόταν το ολικό (TL), σταθερό (SL) και μεσουραίο (FL) μήκος του. Στην περίπτωση των θανατώσεων γινόταν εκσπλαχνισμός και καταγραφόταν το βάρος του ήπατος και του πεπτικού σωλήνα. Στη συνέχεια ο πεπτικός σωλήνας και το συκώτι αποθηκεύτηκαν στον καταψύκτη ενώ το υπολοιπο μέρος των ιχθύων ομογενοποιήθηκε σε κνιδομηχανή και στη συνέχεια καταψύχθηκε.

2.5 Αναλύσεις

2.5.1 Αναλύσεις ολικής αμμωνίας ($N-NH_4^+-NH_3^-$) και νιτρωδών ιόντων($N-NO_2^-$)

2.5.1.1. Ολική αμμωνία ($N-NH_4^+-NH_3^-$)

Ο προσδιορισμός της ολικής αμμωνίας έγινε με τη μέθοδο της οπτικής απορρόφησης σε φασματοφωτόμετρο Helios α – Thermo Electron Cooperation και των αντιδραστηρίων της φαινόλης, του υποχλωριώδους διαλύματος και του νιτροπρωσικού νατρίου. Μέσω χημικής αντίδρασης της αμμωνίας, της φαινόλης και του υποχλωριώδους διαλύματος προσδιορίστηκε η συγκέντρωση της ολικής αμμωνίας όπου λόγω του νιτροπρωσικού νατρίου έδινε το χαρακτηριστικό μπλε χρώμα του οποίου η ένταση ποίκιλε ανάλογα με τη συγκέντρωση της αμμωνίας (Greenberg *et al.*, 1992).

Η συγκέντρωση τη τοξικής, μη ιονισμένης μορφής της αμμωνίας (NH_3-N) υπολογίστηκε μέσω του τύπου:

$$\text{Τοξική (NH}_3\text{) (ppm)} = [\text{ολική αμμωνία}] / [\text{antilog pKaS(T)-pH}]$$

όπου:

$$[\text{ολική αμμωνία}] = \text{συγκέντρωση ολικής αμμωνίας (ppm)}$$

$$pK_aS(T) = (T=298 \text{ }^\circ\text{C}) + 0,0324 (298-T \text{ }^\circ\text{C})$$

$pK_aS(T=298 \text{ }^\circ\text{C})$ η σταθερά που εξαρτάται από την αλατότητα, την θερμοκρασία και την τιμή του pH

T η θερμοκρασία ($^\circ\text{C}$)

2.5.1.2 Νιτρώδη ιόντα (N-NO₂-)

Τα νιτρώδη ιόντα προσδιορίστηκαν με το φασματοφωτόμετρο του ίδιου τύπου και τα αντιδραστήρια σουλφαναμιδίου και NED (N-CL-naphthyl-Ethylenediamine-Dihydrochloride) όπου αντιδρούν με τα νιτρώδη ιόντα και δίνουν το χαρακτηριστικό ερυθροϊώδες χρώμα.

2.5.2 Αναλύσεις βιοχημικών χαρακτηριστικών σάρκας των ιχθύων

2.5.2.1 Ποσοτικός προσδιορισμός αζωτούχων ουσιών

Οι ολικές πρωτεΐνες υπολογίστηκαν με την μέθοδο Kjeldahl. Τα κατεψυγμένα ομογενοποιημένα δείγματα υπέστησαν λυοφιλίωση και στη συνέχεια ακολουθήθηκε η παραπάνω μέθοδος για τον προσδιορισμό των ολικών αζωτούχων ουσιών η οποία απαρτίζεται από τρεις φάσεις:

1η φάση: Υγρή οξείδωση-πέψη δείγματος

2η φάση: Απόσταξη

3η φάση: Τιτλοδότηση

Ο τύπος που δίνει τις ολικές αζωτούχες ουσίες και το ποσοστό της πρωτεΐνης είναι:

$$OA\% = \frac{N_{HCl} \cdot a \cdot 1400}{b}$$

όπου:

α = ml HCl που χρησιμοποιήθηκαν κατά την τιτλοδότηση

β =mg δείγματος

Πρωτεΐνες % = $\text{OA}\% \times 6.25$

2.5.2.2 Προσδιορισμός ολικών λιπών

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπών έγινε με την μέθοδο Folch. Το ομογενοποιημένο υλικό από το σώμα των ιχθύων, βάσει της μεθόδου υποβλήθηκε σε μία σειρά φυγοκεντρίσεων με ενδιάμεσες προσθήκες διαλυμάτων χλωροφορμίου, μεθανόλης και χλωριούχου καλίου. Στο τέλος και μετά από ανάμιξη (vortex) έγινε λήψη της κάτω φάσης όπου και ακολούθησε ξήρανση στους 50°C.

2.5.2.3 Υγρασία

Για τον προσδιορισμό της υγρασίας τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε πορσελάνινα πινάκια, στη συνέχεια σε αποτεφρωτήρα (105°C για 24 ώρες) και τέλος σε ξηραντήρα πριν την τοποθέτηση τους σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας 0,0001 g.

2.5.2.4 Τέφρα

Για τον προσδιορισμό της ανόργανης ουσίας τα τοποθετημένα σε πορσελάνινα πινάκια προζυγισμένα δείγματα τοποθετήθηκαν σε αποτεφρωτήρα όπου παρέμειναν για 6 ώρες σε θερμοκρασία 530°C. Εν συνεχεία τα δείγματα επαναζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας 0,0001 g και από την αφαίρεση προέκυψε το βάρος της ανόργανης ουσίας.

2.5.3 Αιματολογικοί παράμετροι

2.5.3.1 Αιματοκρίτης (Hct)

Για τον αιματοκρίτη πραγματοποιήθηκε αιμοληψία σε κάθε άτομο ξεχωριστά με ηπαρινισμένες σύριγγες του 1 ml και στη συνέχεια τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φυγόκεντρο μικροαιματοκρίτη όπου μετά από φυγοκέντριση σε 104r/m για 10 λεπτά, αναγνώστηκαν οι τιμές.

2.5.3.2 Γλυκόζη (Glc), Τριγλυκερίδια (TG), Χοληστερόλη (Chol)

Για τη μέτρηση της γλυκόζης, των τριγλυκεριδίων και της χοληστερολης στο αίμα των ιχθύων χρησιμοποιήθηκε ειδικό κιτ. Το διάλυμα εργασίας μαζί με τα δείγματα πλάσματος του αίματος, το τυφλό δείγμα και τα πρότυπα διαλύματα της γλυκόζης μεταφέρθηκαν σε πλάκα και ακολούθησε επώαση της πλάκας σε θερμοκρασία 37° C για 15 min όσον αφορά την γλυκόζη και τα τριγλυκερίδια και 5 min για την χοληστερόλη. Στην συνέχεια έγινε ανάδευση και φωτομέτρηση, σε μήκος κύματος 540nm. Για τον τελικό υπολογισμό των τιμών της γλυκόζης χρησιμοποιήθηκε ο τύπος: $\text{Γλυκόζη (mg/dl)} = A\Delta/AS \times 100$. Για των τριγλυκεριδίων ο τύπος: $\text{Τριγλυκερίδια (mg/dl)} = A\Delta/AS \times 200$, και για την χοληστερόλη: $\text{Χοληστερόλη (mg/dl)} = A\Delta/AS \times 200$

2.6 Δείκτες αύξησης και ανάπτυξης ιχθυοπληθυσμών.

2.6.1 Εκατοστιαία αύξηση ζώντος βάρους (%WG)

Ο υπολογισμός του %WG έγινε με τον παρακάτω τύπο: $\%WG = 100 [(W_{\text{τελ}} - W_{\text{αρχ}})/W_{\text{αρχ}}]$, όπου: $W_{\text{τελ}}$ = μέσο αρχικό βάρος σε g, $W_{\text{αρχ}}$ = μέσο αρχικό βάρος σε g

2.6.2 Ειδικός Ρυθμός Αύξησης (SGR, Specific Growth Rate)

Ο υπολογισμός του %SGR έγινε με τον παρακάτω τύπο: $SGR = 100 [(lnW_{τελ} - lnW_{αρχ})/t]$, όπου: $W_{τελ}$ = μέσο αρχικό βάρος σε g, $W_{αρχ}$ = μέσο αρχικό βάρος σε g, t = ο χρόνος εκτροφής σε ημέρες.

2.6.3 Ρυθμός Μετατρεψιμότητας Τροφής (FCR - Food Conversion Ratio)

Ο υπολογισμός του FCR έγινε με τον παρακάτω τύπο: $FCR = KT/AZB$, όπου: KT = καταναλωθείσα τροφή σε g, AZB = αύξηση ζώντος βάρους σε g

2.6.4 Μέσο (FL) και ολικό μήκος (TL)

Στο τέλος του πειράματος αναγνώστηκαν οι τιμές των παραπάνω παραμέτρων χρησιμοποιώντας ιχθυόμετρο.

2.7 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πακέτο IBM SPSS Statistics v.20. Ελέγχθηκε η ομοιογένεια και εφαρμόστηκε t-test στα βιοχημικά χαρακτηριστικά του σώματος των ιχθύων (ολικές αζωτούχες, λίπη, υγρασία, τέφρα, αιματολογικά χαρακτηριστικά) και στους δείκτες ανάπτυξης και αξιοποίησης τροφής (SGR, FCR, HSI,) όπως και στα βάρη των πληθυσμών ανά χρονική περίοδο.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Προσδιορισμός βιομετρικών χαρακτηριστικών του σώματος των ιχθύων και αξιοποίησης προσλαμβανόμενης τροφής

Για όλες τις υπό εξέταση παραμέτρους εφαρμόστηκε test Kolmogorov-Smirnov μεταξύ των τιμών της ομάδος των μαρτύρων και εκείνης της μεταχείρισης έτσι ώστε να ελεγχθεί αν οι τιμές ακολουθούν κανονική κατανομή. Εφόσον δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των επαναλήψεων στην ομάδα των μαρτύρων και της μεταχείρισης οι επαναλήψεις ομογενοποιήθηκαν. Στη συνέχεια εφαρμόστηκε t-test για τον έλεγχο των μέσων τιμών μεταξύ των μαρτύρων και της μεταχείρισης.

3.1.1 Βάρη πληθυσμών

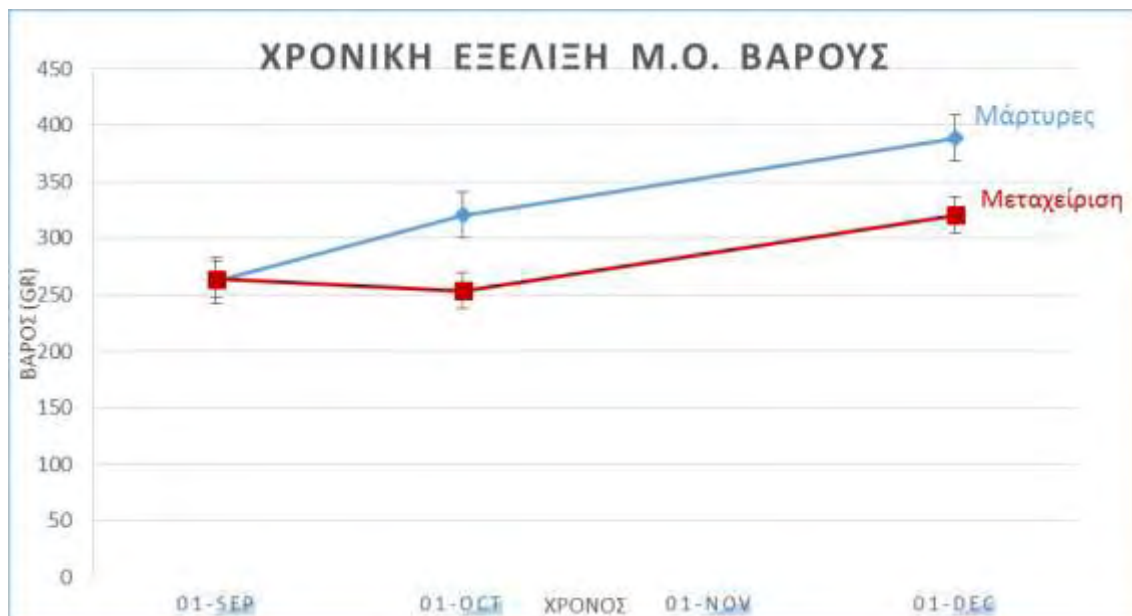
Οι μέσες τιμές του βάρους των πληθυσμών των ομάδων μαρτύρων και μεταχείρισης δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά κατά την έναρξη του πειράματος. Στο τέλος της περιόδου της νηστείας (δεύτερο ζύγισμα) οι δύο πειραματικοί πληθυσμοί παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά υπέρ της ομάδας των μαρτύρων ($P < 0.05$). Συγκεκριμένα ο μέσος όρος του βάρους των δύο ομάδων την περίοδο της έναρξης του πειράματος ήταν 262.26 ± 14.07 και 263.72 ± 14.88 (μέσος όρος και τυπικό σφάλμα) για την ομάδα των μαρτύρων και της μεταχείρισης αντίστοιχα. Την περίοδο της έναρξης της επανασίτισης, στο δεύτερο ζύγισμα οι τιμές είχαν ως εξής: Ο μέσος όρος της ομάδος των μαρτύρων και εκείνης της μεταχείρισης ήταν: 320.56 ± 16.07 και 253.70 ± 12.25 αντίστοιχα όπου και χαρακτηρίζονται ως στατιστικώς σημαντικές με το ίδιο κριτήριο ($P < 0.05$).

Στην τελική δειγματοληψία, με το πέρας της τελευταίας πειραματικής φάσης αυτή της επανασίτισης οι μέσοι όροι των βαρών χαρακτηρίζονται και πάλι ως

στατιστικώς σημαντικοί με τις εξής τιμές: 388.37 ± 20.46 και 320.47 ± 15.80 ($P < 0.05$) για μάρτυρες και μεταχείριση αντίστοιχα. Οι τιμές με το τυπικό σφάλμα ($x \pm s.e$) και τα επίπεδα σημαντικότητας παρουσιάζονται στον πίνακα 3.1 καθώς και η εξέλιξη του μέσου βάρους για τους δύο ομογενοποιημένους πληθυσμούς στο σχήμα 3.1.

Πίνακας 3.1: Αύξηση μέσου βάρους (g) όλων των ομάδων ιχθύων κατά τη διάρκεια του πειράματος (μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα)

Ημέρες	1		30		84	
Βάρος	$x \pm s.e.$	Επίπεδο σημ/τητας (P)	$x \pm s.e.$	Επίπεδο σημ/τητας (P)	$x \pm s.e.$	Επίπεδο σημ/τητας (P)
Μάρτυρας	262.26 ± 14.07	ΜΣ (>0.05)	320.56 ± 16.07	ΣΣ (<0.05)	388.37 ± 20.46	ΣΣ (<0.05)
Μεταχείριση	263.72 ± 14.88		253.70 ± 12.25		320.47 ± 15.80	



Σχήμα 3.1: Εξέλιξη του μέσου όρου του βάρους των δύο ομάδων του πειράματος. Το τυπικό σφάλμα (s.e.) υποδεικνύεται με τις κάθετες μπάρες

3.1.2 Συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής (FCR), ειδικός ρυθμός αύξησης (SGR), εκατοστιαία αύξηση ζώντος βάρους (%WG), ηπατοσωματικός δείκτης (HSI), ολικό μήκος (TL) και σταθερό μήκος (FL).

Μετά το πέρας της πειραματικής διαδικασίας υπολογίσθηκαν οι παραπάνω δείκτες και τα αποτελέσματα αναλύθηκαν περαιτέρω στατιστικώς. Συγκεκριμένα οι τιμές του συντελεστή αξιοποίησης τροφής (FCR) της ομάδας των μαρτύρων και της μεταχείρισης ήταν 2.26 ± 0.18 και 2.98 ± 0.96 όπου κρίνονται ως μη στατιστικώς σημαντικοί. Όσον αφορά στον ειδικό ρυθμό αύξησης (SGR) οι τιμές για μάρτυρες και μεταχείριση ήταν 0.35 ± 0.40 και 0.38 ± 0.77 αντίστοιχα. Στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων δεν υπήρξε. Οι τιμές για την εκατοστιαία αύξηση ζώντος βάρους (%WG) ήταν 21.04 ± 2.59 και 16.69 ± 8.96 για μάρτυρες και μεταχείριση αντίστοιχα, χωρίς ωστόσο να σημειωθούν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Όσον αφορά στον ηπατοσωματικό δείκτη (HSI) οι τιμές ήταν 1.30 ± 0.08 και 1.32 ± 0.12 για μάρτυρες και μεταχείριση αντίστοιχα χωρίς πάλι να υπάρξει στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσά τους. Ακολούθως το ολικό μήκος για την ομάδα των μαρτύρων και μεταχείρισης πήρε τιμές 27.94 ± 0.41 και 26.24 ± 0.49 αντίστοιχα και παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντικό εύρημα. Οι τιμές του σταθερού μήκους ήταν 25.88 ± 0.40 και 24.24 ± 0.47 . Οι τιμές με το τυπικό σφάλμα ($x \pm s.e$) και τα επίπεδα σημαντικότητας παρουσιάζονται λεπτομερώς στους πίνακες 3.2 και 3.3.

Πίνακας 3.2: Παράμετροι ανάπτυξης και συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής των ομάδων ιχθύων στο τέλος του πειράματος (μέσος όρος $x \pm$ τυπικό σφάλμα).

Παράμετρος	FCR		SGR		% WG	
	$x \pm$ s.e.	Επίπεδο σημ/τητας (P)	$x \pm$ s.e.	Επίπεδο σημ/τητας (P)	$x \pm$ s.e.	Επίπεδο σημ/τητας (P)
Μάρτυρας	2.26±0.18	ΜΣ (>0.05)	0.35±0.40	ΜΣ (>0.05)	21.04±2.59	ΜΣ (>0.05)
Μεταχείριση	2.98±0.96		0.38±0.77		16.69±8.96	

Πίνακας 3.3: Ηπατοσωματικός δείκτης (HSI), ολικό (TL) και σταθερό μήκος (SL) των ομάδων ιχθύων στο τέλος του πειράματος (μέσος όρος $x \pm$ τυπικό σφάλμα).

Παράμετρος	HSI		TL		SL	
	$x \pm$ s.e.	Επίπεδο σημ/τητας (P)	$x \pm$ s.e.	Επίπεδο σημ/τητας (P)	$x \pm$ s.e.	Επίπεδο σημ/τητας (P)
Μάρτυρας	1.30±0.08	ΜΣ (>0.05)	27.94±0.41	ΣΣ (<0.05)	25.88±0.40	ΣΣ (<0.05)
Μεταχείριση	1.32±0.12		26.24±0.49		24.24±0.47	

3.2 Προσδιορισμός χημικής σύστασης του σώματος των ιχθύων

Στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας εξαλειύθησαν τυχαίως άτομα από κάθε δεξαμενή και θανατώθηκαν προκειμένου να προσδιοριστούν τα χαρακτηριστικά της χημικής σύνθεσης του σώματός τους (carcass composition). Τα αποτελέσματα των αναλύσεων αναλύθηκαν περαιτέρω στατιστικώς. Συγκεκριμένα ελέγχθηκε η κανονική κατανομή με το τεστ Kolmogorov-Smirnov και αφού αυτή διαπιστώθηκε, έγινε έλεγχος των μέσων όρων με χρήση t-test. Η περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ενώσεις ($x \pm s.e$) στους μάρτυρες και στην μεταχείριση ήταν 17.82 ± 0.30 και 18.53 ± 0.16 αντίστοιχα και δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ανάμεσά τους ($P < 0.05$). Η περιεκτικότητα σε λίπος ($x \pm s.e$) ανήλθε σε 12.68 ± 0.40 και 11.77 ± 0.60 για την μεταχείριση και τον μάρτυρα αντίστοιχα και ομοίως δεν υπήρξε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0.05$). Το ποσοστό της τέφρας σε μάρτυρες και μεταχείριση ήταν 3.41 ± 0.16 και 2.82 ± 0.07 ($x \pm s.e$) αντίστοιχα όπου πάλι δεν παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0.05$) μεταξύ των ομάδων. Τα ποσοστά της υγρασίας ($x \pm s.e$) δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά και διαπιστώθηκαν τιμές 66.56 ± 0.65 και 66.00 ± 0.31 για τους μάρτυρες και την μεταχείριση αντίστοιχα (Πίνακας 3.4 και 3.5).

Πίνακας 3.4: Περιεκτικότητα (%ΞΒ) σε πρωτεΐνη και λίπος ολικού σώματος ιχθύων (μέσος όρος $x \pm$ τυπικό σφάλμα).

Παράμετρος (%ΞΒ)	Ολ. αζωτούχες		Λίπος	
	$x \pm$ s.e.	Επίπεδο σημ/τητας (P)	$x \pm$ s.e.	Επίπεδο σημ/τητας (P)
Μάρτυρας	17.82±0.30	ΜΣ (>0.05)	12.68±0.40	ΜΣ (>0.05)
Μεταχείριση	18.53±0.16		11.77±0.60	

Πίνακας 3.5: Περιεκτικότητα (%ΞΒ) σε τέφρα και υγρασία ολικού σώματος ιχθύων (μέσος όρος $x \pm$ τυπικό σφάλμα).

Παράμετρος (%ΞΒ)	Τέφρα		Υγρασία	
	$x \pm$ s.e.	Επίπεδο σημ/τητας (P)	$x \pm$ s.e.	Επίπεδο σημ/τητας (P)
Μάρτυρας	3.41±0.16	ΜΣ (>0.05)	66.56±0.65	ΜΣ (>0.05)
Μεταχείριση	2.82±0.07		66.00±0.31	

3.3 Προσδιορισμός παραμέτρων του αίματος των ιχθύων

Υπολογίστηκαν οι τιμές για τον αιματοκρίτη, τα τριγλυκερίδια, την χοληστερόλη και την γλυκόζη του αίματος των ιχθύων και έπειτα από έλεγχο κανονικότητας και εφαρμογή t-test συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ μαρτύρων και μεταχείρισης ($P>0.05$).

Συγκεκριμένα ο αιματοκρίτης (Hct) πήρε τιμές 17.76 ± 2.78 και 17.00 ± 2.03 ($\mu.o\pm s.e$) για μάρτυρες και μεταχείριση αντίστοιχα, τα τριγλυκερίδια (TG), 151.40 ± 14.08 και 171.19 ± 16.61 , η χοληστερόλη (Chol) 118.53 ± 11.19 και 120.89 ± 10.74 και η γλυκόζη (Glc) 155.43 ± 13.69 και 164.43 ± 14.89 για την ομάδα των μαρτύρων και της μεταχείρισης αντίστοιχα. Καμία παράμετρος δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P>0.05$) (Πίνακες 3.6 και 3.7).

Πίνακας 3.6: Αιματολογικοί παράμετροι ιχθύων: Αιματοκρίτης (%) και τριγλυκερίδια (mg/100ml) (μέσος όρος $x \pm$ τυπικό σφάλμα)

Παράμετρος (%, mg/100ml)	Hct		TG	
	$x \pm s.e.$	Επίπεδο σημ/τητας (P)	$x \pm s.e.$	Επίπεδο σημ/τητας (P)
Μάρτυρας	17.76 ± 2.78	ΜΣ (>0.05)	151.40 ± 14.08	ΜΣ (>0.05)
Μεταχείριση	17.00 ± 2.03		171.19 ± 16.61	

Πίνακας 3.7: Αιματολογικοί παράμετροι ιχθύων: Χοληστερόλη (mg/100ml) και γλυκόζη (mg/100ml) (μέσος όρος $\bar{x} \pm$ τυπικό σφάλμα)

Παραμέτρος (mg/100ml)	Chol		Glc	
	$\bar{x} \pm$ s.e.	Επίπεδο σημ/τητας (P)	$\bar{x} \pm$ s.e.	Επίπεδο σημ/τητας (P)
Μάρτυρας	118.53 \pm 11.19	ΜΣ (>0.05)	155.43 \pm 13.69	ΜΣ (>0.05)
Μεταχείριση	120.89 \pm 10.74		164.43 \pm 14.89	

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές αναφορές σχετιζόμενες άμεσα η έμμεσα με την αύξηση/ανάπτυξη αντιστάθμισης μελετώντας αποκλειστικά το φαινόμενο ή χρησιμοποιώντας χαρακτηριστικά του με σκοπό την εύρεση λύσεων στο ευρύτερο φάσμα της εφαρμοσμένης ιχθυολογίας και των βιολογικών επιστημών γενικότερα. Συναντώνται διάφορα πειραματικά πρωτόκολλα όπως π.χ. εκτροφή πληθυσμών κατά μικρές η μεγάλες ιχθυοφορτίσεις, κατ' άτομο ή σε ομαδική εκτροφή, σε κλειστά κυκλώματα ή στο πεδίο, με παροχή σιτηρεσίων και εφαρμογή σίτισης-νηστείας κατά επίπεδα η σε κύκλους, με μικρά η μεγάλα μεγέθη ζώων κ.α. Στη παρούσα εργασία το πείραμα έγινε σε κλειστό κύκλωμα νερού με μεγέθη κοντά σε αυτό του εμπορεύσιμου.

4.1 Βάρη πληθυσμών

Το δεύτερο ζύγισμα των υπό εξέταση πληθυσμών πραγματοποιήθηκε την 30ή ημέρα της εκτροφής. Παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στην ομάδα των μαρτύρων και της μεταχείρισης ($P < 0.05$) Η υπεροχή των μαρτύρων απέναντι των ατόμων της μεταχείρισης μετά από 30 ημέρες νηστείας είναι καταφανής. Μετά το πέρας της περιόδου επανασίτισης και το τελευταίο ζύγισμα, μετά το πέρας της επανασίτισης των οκτώ εβδομάδων, τα βάρη των πληθυσμών παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ τους, γεγονός που δηλώνει ότι δεν υπήρξε αντιστάθμιση της ομάδας της μεταχείρισης προς αυτήν των μαρτύρων. Οι Peres *et al.* (2011) μετά από νηστεία και ακολούθως επανασίτιση για οκτώ εβδομάδες, δύο φορές την ημέρα σε αντίστοιχο πείραμα με ιχθείς του ίδιου είδους ομοίως δεν παρατήρησαν αύξηση

αντιστάθμισης. Οι Eroldogan *et al.* (2006) σε πειραματικό σχεδιασμό που αφορούσε σε κυκλική φάση σίτισης-διακοπής σίτισης του *S. aurata* δεν παρατήρησαν το φαινόμενο της ολικής αύξησης αντιστάθμισης πάρα μόνο μερική (partial compensation) και αυτό μπορεί ενδεχομένως να αποδοθεί στο γεγονός του ότι δεν υπήρξε στον πειραματικό σχεδιασμό ασιτία μεγάλης χρονικής διάρκειας. Σε πείραμα των ίδιων συγγραφέων όπου τα κυκλικά πρωτόκολλα σίτισης-ασιτίας ακολούθησε ένα μικρό διάστημα τριών εβδομάδων δεν υπήρξε ολική αντιστάθμιση πάρα μόνο μερική (Eroldogan *et al.* 2006). Η επίδραση του πρωτοκόλλου ταΐσματος και η διάρκεια της ασιτίας έχει ουσιαστικό ρόλο στη εμφάνιση του φαινομένου της αύξησης αντιστάθμισης. Συγκεκριμένα σε πείραμα που πραγματοποίησε ο Πανταρίδης (2005) πέτυχε μερική αντιστάθμιση σε άτομα τσιπούρας, που παρόλο που παρέμειναν άσιτα για πάνω από μία εβδομάδες, και παρουσίασαν απώλεια βάρους τις πρώτες μέρες της ασιτίας, στο τέλος κατάφεραν να προσεγγίσουν σε ανάπτυξη τους μάρτυρες που σιτίστηκαν κανονικά.

Οι Weatherley και Gill (1981) μελέτησαν άτομα ιριδίτσουσας πέστροφας αρχικού βάρους περίπου 10 g, παρουσίασαν αύξηση αντιστάθμισης, η οποία προέκυψε μετά από μια περίοδο δεκατριών εβδομάδων ασιτίας. Παρ' όλα αυτά, οι Eroldogan *et al.* (2006), σε πείραμα που πραγματοποίησαν σε νεαρά άτομα τσιπούρας *Sparus aurata* διάρκειας 40 ημερών και μέσου αρχικού βάρους περίπου 14 g, απέδειξαν ανάπτυξη αντιστάθμισης σε μία από τις μεταχειρίσεις τους. Η συγκεκριμένη μεταχείριση στερούνταν τροφή για μία εβδομάδα και ταΐζονταν μέχρι το επίπεδο κορεσμού για τις υπόλοιπες δύο εβδομάδες.

Οι Turano *et al.* (2008) σε εργασία τους συμπέραναν ότι το υβρίδιο *Morone chrysops* x *M. Saxatilis* υποβαλλόμενο σε συνθήκες σίτισης-νηστείας με κυκλικό πρωτόκολλο και διαφορετικούς κύκλους δεν αντισταθμίζει όσον αφορά στο τελικό

βάρος. Παρόμοια αποτελέσματα παρουσιάζουν και οι Wang *et al.* (2005) οι οποίοι σε υβρίδιο τιλάπιας (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) και έπειτα από περίοδο νηστείας και επανασίτισης τεσσάρων εβδομάδων δεν παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0.05$) μεταξύ μαρτύρων και μεταχείρισης. Αντιστοιχο πείραμα σε άτομα τιλάπιας του Νείλου (*Oreochromis niloticus*) και κυκλική εναλλαγή νηστείας-επανασίτισης υπέδειξε αδυναμία αντιστάθμισης ολικού βάρους σώματος (Wang *et al.* 2009).

4.2 Χημική σύσταση ολικού σώματος

Η χημική σύσταση του ολικού σώματος των ατόμων που εξαλειύθησαν κατά την τελική δειγματοληψία δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($P < 0.05$) μεταξύ των δύο ομάδων σε ότι αφορά στην πρωτεΐνη, στα λίπη, στην υγρασία και στην τέφρα. Στη βιβλιογραφία απαντώνται εργασίες που αναφέρουν είδη που χρησιμοποιούν διαφορετικές κατηγορίες βιομορίων σαν πηγή ενέργειας σε περιόδους στέρησης τροφής. Κάποιες από αυτές αφορούν σε εκείνα που χρησιμοποιούν τις πρωτεΐνες (Dave *et al.* 1975, Renaud & Moon 1980, Moon & Johnston 1980) και άλλες σε είδη που τα αποθεματικά λίπους είναι η πρώτη πηγή (Ince & Thorpe 1976, Mendez & Wieser 1993, Collins & Anderson 1995). Γενικά κατά την περίοδο που ο οργανισμός υπόκειται σε νηστεία χρησιμοποιεί τα αποθέματα λίπους του για τις μεταβολικές του ανάγκες σε πρώτη φάση (Larsson and Lewander 1973; Stirling 1976; Ince and Thorpe 1976; Jezierska *et al.* 1982) και παρουσιάζει μειωμένο ποσοστό αλλά όταν επανέρχεται σε κανονικές συνθήκες εκτροφής το λίπος επανέρχεται στα φυσιολογικά επίπεδα (Quinton & Blake 1990; Kim & Lovell 1995; Wang *et al.* 2000). Αυτό παρατηρήθηκε και στους πληθυσμούς της τσιπούρας που ενώ η ομάδα των μαρτύρων έδωσε μέση τιμή λίπους

μεγαλύτερη από εκείνη της μεταχείρισης, μεταξύ τους δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά. Σε πείραμα που διεξήχθη σε άτομα του είδους *C. auratus gibelio* το ποσοστό του λίπους στο ολικό σώμα των ιχθύων παρουσίασε μείωση μετά από νηστεία δύο εβδομάδων αλλά επανήλθε στα φυσιολογικά επίπεδα μετά από επανασίτιση δύο εβδομάδων (Xie *et al.* 2001). Οι Metcalfe and Thorpe (1992) σε αντίστοιχο πείραμα σε σολομό του Ατλαντικού συμπέραναν ότι τα αποθέματα λίπους που μειώνονται κατά την διάρκεια της νηστείας επανέρχονται λαμβάνοντας τιμές κοντά σε αυτές των μαρτύρων μετά την φάση της επανασίτισης. Ομοίως οι Sung-Yong *et al.* (2007) σε εργασία τους με άτομα φαγκριού (*Pagrus major*) καταλήγουν σε παρόμοιο συμπέρασμα. Ο μηχανισμός αναπροσαρμογής των επιπέδων του λίπους στο σώμα των ιχθύων επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι πέρα από την κατάσταση ελεγχόμενης εκτροφής και τους διάφορους πειραματισμούς, οι άγριοι πληθυσμοί κάποιων ειδών, όταν αντιμετωπίζουν στο περιβάλλον τους δυσμενείς ως προς την διατροφή τους συνθήκες και εξ αυτού χρησιμοποιούν τα αποθέματα λίπους για να καλύψουν τις ανάγκες τους, μετά το πέρας της στρεσογόνου αυτής περιόδου και την επαναφορά των ιδεατών συνθηκών διαβίωσης, επανακάμπτουν σε ότι αφορά τα εν λόγω αποθέματα. (Collins and Anderson, 1995). Σε εργασία των Peres *et al.* (2011) σε άτομα τσιπούρας που απείχαν από σίτιση για μία και δύο εβδομάδες παρατηρήθηκε μείωση του ποσοστού του λίπους στην δεύτερη ομάδα αλλά μετά την επανασίτιση οκτώ εβδομάδων τα επίπεδα του λίπους ήταν τα ίδια ανάμεσα στους μάρτυρες και την ομάδα της μεταχείρισης οι οποίες δεν αντιστάθμισαν το ολικό βάρος τους συμπεραίνοντας ότι μετά από σύντομη νηστεία και σχετικά πιο μεγάλη περίοδο επανασίτισης, οι ιχθείς αντισταθμίζουν τα ενεργειακά τους αποθέματα. Το ποσοστό των ολικών αζωτούχων στο ολικό σώμα των ψαριών μετά την περίοδο επανασίτισης των οκτώ εβδομάδων δεν

εμφάνισε σημαντική διαφορά υπέρ κάποιας ομάδας. Γενικότερα σε πληθώρα εργασιών αναφέρεται η συνέργεια των διαθέσιμων πηγών ενέργειας, λίπους και πρωτεΐνης στην διαχείριση των αναγκών του οργανισμού κάτω από περιόδους διατροφικού στρες (Collins and Anderson, 1995; Quinton & Blake 1990; Ali, M. Nicieza, A. Wooton, R.J. 2003, Almazan-Rueda *et al.*, 2004). Το πρωτόκολλο περιελάμβανε οκτώ εβδομάδες επανασίτισης που συγκρινόμενο με αντίστοιχες περιόδους βιβλιογραφικά κρίνεται ως μεγάλο και κατ'επέκταση δίνει το απαραίτητο περιθώριο στον οργανισμό να αντισταθμίσει τις απαραίτητες ως προς αυτόν αναγκες για δόμηση των πρωτεϊνών του σώματος τους και την αύξηση του σωματικού τους βάρους. Σε εργασία των Cui and Wang, (2007) στο είδος *C. Auratus gibelio* μετά από νηστεία 56 ημερών και η πρωτεΐνη του σώματος των ιχθύων είχε μειωθεί κατά 30%. Στην εργασία αυτή δεν αναφέρεται όμως περίοδος επανασίτισης ώστε τα αποτελέσματα να είναι επι ίσοις όροις συγκρίσιμα, πράγμα που γίνεται σε πείραματα των Wang *et al.* (2005), (2009) σε δύο διαφορετικά είδη τιλάπιας όπου συμπεραίνεται ότι η επανασίτιση των πληθυσμών για 4 εβδομάδες μετά από 1, 2 και 4 εβδομάδες νηστείας επαναφέρει τα επίπεδα των πρωτεϊνών στο ολικό σώμα των ιχθύων παίρνοντας τιμές στατιστικώς μη σημαντικές από αυτές των μαρτύρων. Οι Xie *et al.* (2001) μετά από νηστεία 1 και 2 εβδομάδων και στη συνέχεια επανασίτισης 5 εβδομάδων κατέγραψαν αυξημένα ποσοστά πρωτεϊνών αλλά και λίπους και τέφρας για 1 και 2 εβδομάδες αντίστοιχα και στη συνέχεια αντιστάθμιση με αυτά των μαρτύρων. Η υγρασία και η τέφρα, ομοίως, δεν παρουσίασαν διαφορές ανάμεσα στις δύο μεταχειρίσεις. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με εργασίες όπου είτε υπήρξε αντιστάθμιση μετά την περίοδο της επανασίτισης (Xie *et al.* 2001; Abdel-Tawwab *et al.* 2008, Wang *et al.* 2009; Sung-Yong *et al.* 2007; Xiangli and Jian 2003; Eroldogan *et al.* 2008; Rueda *et al.* 1998).

4.3 Παράμετροι ανάπτυξης

Είναι πολλές οι βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με την αύξηση αντιστάθμισης που αναφέρουν διάφορα αποτελέσματα σχετιζόμενα με τους διάφορους παραμέτρους ανάπτυξης και του φαινομένου αυτού καθαυτού. Τα αποτελέσματα διαφέρουν ανάλογα με το υπό εξέταση είδος, τις μεθόδους και τα πρωτόκολλα που εφαρμόζονται. Στην εργασία αυτή ο δείκτης μετατρεψιμότητας τροφής, η ποσοστιαία αύξηση του βάρους και οι τιμές του ολικού και σταθερού μήκους είναι με μικρή διαφορά υπέρ της ομάδας των μαρτύρων αν και δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($P < 0.05$). Για την τιμή του ειδικού ρυθμού αύξησης η πολύ μικρή υπεροχή είναι της ομάδας της μεταχείρισης χωρίς πάλι ωστόσο, να υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0.05$). Οι Xiao *et al.* (2013) σε πείραμα με *Acanthopagrus schlegelii* που υπέβαλαν σε διαφορετικούς κύκλους σίτισης επανασίτισης παρατήρησαν ότι στις τελευταίες εβδομάδες του πειράματος οι ιχθείς έδειχναν να έχουν ειδικό ρυθμό αύξησης παρόμοιο με των μαρτύρων. Οι Turano *et al.* (2008) παρατηρούν επίσης ότι ο ειδικός ρυθμός αύξησης παρουσιάζει μία άνοδο κατά τις πρώτες ημέρες της επανασίτισης. Οι Quinton and Blake (1990) σε εργασία που αφορούσε πλυθησμούς ιριδιζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) οι οποίοι υπόκειντο σε ασιτία τριών εβδομάδων την οποία διαδέχθηκε επανασίτιση ίδιου χρονικού διαστήματος δεν έδειξε διαφορές στον ειδικό ρυθμό αύξησης μεταξύ των μαρτύρων και μεταχείρισης στο τέλος του πειράματος. Μπορούμε να συμπεράνουμε ότι ο ειδικός ρυθμός αύξησης αυξάνεται τις πρώτες μέρες της επανασίτισης και ξεπερνά αυτόν των μαρτύρων λόγω υπερφαγίας και στη συνέχεια επανέρχεται στα γενικότερα πλαίσια που ορίζει το είδος, μη παρουσιάζοντας σημαντική διαφορά από αυτόν του συνεχώς σιτιζόμενου πληθυσμού. Η μεταπτυχιακή αυτή εργασία στην οποία εφαρμόστηκε μακροχρόνια, οκτώ εβδομάδων, επανασίτιση,

ενισχύει την εικασία αυτή. Οι Perez *et al.* (2007) που υπέβαλαν σε ασιτία ομάδες ευρωπαϊκού λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) για 9 ημέρες με ακολούθως 12 ημέρες επανασίτισης δεν παρατήρησαν καμία μεταβολή στην τιμή του ηματοσωματικού δείκτη (HSI) στο τέλος της περιόδου της επανασίτισης μεταξύ μαρτυρα και μεταχειρίσεων, εργασία στην οποία ο συντελεστής απόδοσης τροφής (FCE) ομοίως, δεν διέφερε μεταξύ των δύο ομάδων.

4.4 Αιματολογικές παράμετροι

Οι τιμές των αιματολογικών παραμέτρων μεταξύ των δύο υπό πειραματισμό ομάδων δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($P < 0.05$). Η τιμή του αιματοκρίτη της ομάδος του μάρτυρα και αυτής της μεταχείρισης στην τελευταία (τελική) δειγματοληψία δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους μολονότι η πρώτη υπερέχει οριακά σαν μέση τιμή της δεύτερης. Ο αιματοκρίτης είναι αιματολογικός δείκτης stress (Winberg *et al.* 1992) και σε τέτοιους περιόδους όπως αυτή της ασιτίας η τιμή του αυξάνεται. Σε εργασία των Christensen and McLean (1998) σε άτομα τιλάπιας τα οποία είχαν υποβληθεί σε κυκλικές περιόδους σίτισης-ασιτίας παρατήρησαν αυξημένες τιμές στον αιματοκρίτη της ομάδας της μεταχείρισης χωρίς ωστόσο να εφαρμόσουν περίοδο επανασίτισης ώστε να παρατηρήσουν εάν οι τιμές επανερχόντουσαν σε αυτές κοντά στον μαρτύρων. Οι Ince and Thorpe (1976) σε πείραμα σε *E. lucius* ανέγνωσαν τιμές αιματοκρίτη στατιστικώς μη σημαντικές με αυτές των μαρτύρων μετά από επανασίτιση. Ομοίως οι Abdel-Tawwab *et. al* (2008) μετά από επανασίτιση αρκετών εβδομάδων, ομάδων τιλάπιας καταλήγουν σε παρόμοια συμπεράσματα καταδεικνύοντας ότι οι ιχθείς έπειτα από επανασίτιση ξεπερνούν το στάδιο του stress και επανέρχονται στα κανονικά επίπεδα όντας υγιείς. Επί προσθέτως

ο αιματοκρίτης δεν επηρεάζεται πάντα από περιόδους ασιτίας αφού έχουν παρατηρηθεί περιπτώσεις στις οποίες τα άτομα της μεταχείρισης δεν αυξομείωσαν τις τιμές τους (Caruso *et al.* 2011) συμπεραίνοντας έτσι ότι υπάρχει μια διαφαινόμενη σχέση ανάμεσα στα πρωτόκολλα σίτισης-νηστείας και του είδους (Christensen and McLean, 1998). Δείκτης stress επίσης είναι και η γλυκόζη στο πλάσμα των ιχθύων (Mourente *et al.* 2007, Bagni *et al.* 2007) με την αύξηση της στο αίμα να σηματοδοτεί το πέρασμα σε εκτός ομοιόστασης κατάσταση για τον οργανισμό. Η διατροφική κατάσταση των ιχθύων είναι άμεσα συνδεδεμένη με τα επίπεδα των αιματολογικών και βιοχημικών παραγόντων όπως η γλυκόζη (Roncarati *et al.* 2006). Οι τιμές μεταξύ των δύο επεμβάσεων δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στο τέλος του πειράματος, μετά από τις οκτώ εβδομάδες επανασίτισης. Βιβλιογραφικά οι περιπτώσεις αύξησης της γλυκόζης και στη συνέχεια αποκατάστασης της μετά από επανασίτιση ποικίλουν όπως και περιπτώσεις που δεν αυξήθηκε καθόλου μετά από στέρηση τροφής, ιδίως όταν αυτή επιβλήθηκε για σύντομο χρονικό διάστημα. Σε εργασία σε λαβράκι δεν παρατηρήθηκε αλλαγή της τιμής της γλυκόζης μετά από εικοσιτετράωρη νηστεία (Di Marco *et al.* 2008) ενώ ίδια, αρνητικά ως προς την αύξηση της γλυκόζης στο αίμα αποτελέσματα υπάρχουν σε εργασία που αφορά σε νηστεία σε κυπρίνο όπου οι συνεχόμενα σιτιζόμενοι μάρτυρες και η ομάδα που απείχε 22 ημέρες από την τροφή δεν παρουσίασαν διαφορά (Nagai and Ikeda, 1971). Οι Blasco *et al.* (1992) παρατηρούν μία αύξηση στην συγκεντρωση της γλυκόζης στο πλάσμα μετά από νηστεία 50 ημερών στον κυπρίνο λόγω ανάγκης του οργανισμού σε ενέργεια. Αντιθέτως, στις 19 ημέρες μετά την στέρηση, η γλυκόζη δεν είχε ακόμα σημαντική διαφορά από τους μάρτυρες. Επανασίτιση δεν εφαρμόζεται όμως, ώστε να δοθεί περιθώριο οι τιμές του βιοχημικού αυτού παράγοντα να επανέλθει στα κανονικά επίπεδα. Οι Chatzifotis *et al.* (2011) δεν

παρατήρησαν μεταβολή των τιμών της γλυκόζης στο αίμα του λαβρακιού μετά από πείραμα και πρωτόκολλο νηστείας-επανασίτισης 3,2 και 1,2 μηνών αντίστοιχα. Παρόμοια αποτελέσματα δίνουν και οι Caruso *et al.* (2011) όπου μετά από νηστεία 31 ημερών δεν παρατηρήθηκε διαφορά ανάμεσα στα λαβράκια των δύο μεταχειρίσεων. Τα επίπεδα της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα του αίματος δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο μεταχειρίσεις. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στην μακροχρόνια περίοδο επανασίτισης κατά την οποία η συγκέντρωση τους στο αίμα να επανέκαμψαν μετά από ενδεχόμενη πτώση τους κατά την διάρκεια της αποχής από την τροφή. Οι Perez-Jimenez *et al.* (2007) σε εργασία πάνω στο λαβράκι όπου οι σιτιζόμενοι ιχθείς λάμβαναν δύο διαφορετικού πρωτεϊνικού περιεχομένου αλλά ισοενεργειακές τροφές, παρατήρησαν ότι η ομάδα που τρεφόταν με την πρωτεϊνικά ανώτερη τροφή αντιστάθμισε μόνο στο τέλος της επανασίτισης ενώ είχε προηγηθεί μείωση της τιμής ενδιάμεσα. Ομοίως διακυμάνθηκαν και οι τιμές των τριγλυκεριδίων και για τις δύο ομάδες. Οι δύο αυτοί δείκτες, γενικά, παρουσιάζουν μείωση σε περιόδους ασιτίας (Xiao *et al.*, 2013 Caruso *et al.*, 2011) λόγω των αναγκών του οργανισμού αλλά η επακόλουθη επανασίτιση είναι πολύ πιθανόν να επαναφέρει τις προ ασιτίας τιμές. Το φαινόμενο της αύξησης αντιστάθμισης σχετίζεται άμεσα με την ευζωία των εκτρεφόμενων οργανισμών καθώς η εφαρμογή των πρωτοκόλλων ασιτίας-επανασίτισης καταπονεί τον οργανισμό. Το 1996 το Βρετανικό συμβούλιο για την ευζωία των εκτρεφόμενων ζώων (FAWC) θέσπισε πέντε προϋποθέσεις οι οποίες ήταν προϊόν έρευνας και όταν θα τηρούνται θα εξασφαλίζουν το επιθυμητό αποτέλεσμα (απουσία πείνας και δίψας, ενόχλησης, πόνου, τραυματισμού και ασθένειας, η δυνατότητα εκδήλωσης φυσικής συμπεριφοράς και απουσία φόβου – δυσφορίας). Η μελέτη της ευζωίας απαιτεί μια σφαιρική προσέγγιση, εκτιμώντας τη γενική κατάσταση

των ζώων και προϋποθέτει ότι όταν το ζώο είναι υγιές, μπορεί να ανταπεξέλθει στο περιβάλλον που ζει, διατηρείται σε καλή φυσική κατάσταση, καλή φυσιολογία, έχει τη δυνατότητα να εκφράσει οποιαδήποτε φυσική συμπεριφορά, δε βιώνει αρνητικές εμπειρίες, και υπάρχει η δυνατότητα έκφρασης φυσικής συμπεριφοράς (Huntingford *et al.*, 2012; Dawkins, 2004; Boissy *et al.*, (2007). Ειδικά για τους ιχθείς, το θέμα της ευζωίας τους είναι ένα θέμα για το οποίο έχουν εκφραστεί συγκρουόμενες απόψεις, γιατί η φυσιολογία τους διαφέρει από εκείνη των θηλαστικών αν και έχουν αναφερθεί ομοιότητες σχετικά με την συμπεριφορά και την φυσιολογία τους εν γένει (Bergqvist and Gunnarsson, 2011; Huntingford *et al.*, 2006; Lund *et al.*, 2007) και αφετέρου διότι η οπτική πάνω στο συγκεκριμένο θέμα είναι διαφορετική και έγκειται στην εκάστοτε προσέγγιση (παραγωγός, επιστήμονας κτλ). Συγκεκριμένα ο εγκέφαλος τους σε αντίθεση με των τελευταίων, στερείται νεοφλοιού, ο οποίος σχετίζεται με την αίσθηση του πόνου στα ανώτερα θηλαστικά (Braithwaite, 2010; Rose, 2002). Ωστόσο, στους τελεόστεους, η ύπαρξη άλλων αισθητήριων οργάνων όπως η πλευρική γραμμή και αντίστοιχες περιοχές στον εγκέφαλο των ιχθύων όπως στον προσθιο τμήμα (τελεγκέφαλος) όπου και παρουσιάζεται παρόμοια δραστηριότητα κατά την διάρκεια επιβλαβούς δραστηριότητας όπως παρατηρήθηκε σε πείραμα με ιριδίζουσα πέστροφα (*Onchorhynchus mykiss*) και χρυσόψαρο (*Carassius auratus*) (Dunlop and Laming, 2005) μπορούν να θεωρηθούν στοιχεία ύπαρξης πόνου σε διάφορα είδη. Σε κάθε περίπτωση, η επίδραση πρωτοκόλλων μερικής ή ολικής νηστείας στην εκτροφή των ιχθύων με στόχο την γενικότερη ευζωία των εκτρεφόμενων οργανισμών αποτελεί ερευνητικό στόχο.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, ένας βελτιστοποιημένος τρόπος ταισματος που θα οδηγήσει σε αντισταθμιστικές αλλαγές στους εκτρεφόμενους ιχθείς, αποτελεί βασικό σκοπό του φαινομένου της αύξησης αντιστάθμισης που μέσω πειραματικών πρωτοκόλλων αλλά και της άμεσης η έμμεσης εφαρμογής της σε μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας θα οδηγήσει σε επίτευξη χαμηλότερου κόστους στην παραγωγή και σε ελαχιστοποίηση του οικολογικού αποτυπώματος μέσω της μείωσης του οργανικού φορτίου από τα απορρίμματα της τροφής, στον πυθμένα κάτω από τους πλωτούς ιχθυοκλωβούς.

Το φαινόμενο είναι συνάρτηση πολλών παραγόντων όπως η βιολογία του εκάστοτε είδους (ηθολογία, διατροφικές συνήθειες, μεταβολισμός, στάδιο σεξουαλικής ωρίμανσης), το στάδιο ανάπτυξης που βρίσκεται την στιγμή της εφαρμογής του πρωτοκόλλου, την διάρκεια, την μορφή και την ένταση της ασιτίας και της επανασίτισης που εφαρμόζεται.

Τα πρωτόκολλα που θα χρησιμοποιηθούν θα πρέπει να είναι αποτέλεσμα κατάλληλης έρευνας βάσει του εκτρεφόμενου είδους, την ηλικία του και το στάδιο της παραγωγής ώστε να υπάρξει το βέλτιστο αποτέλεσμα, τουτέστιν μέγιστη δυνατή ανάπτυξη και αξιοποίηση προσλαμβανόμενης τροφής. Θα πρέπει να καθορίζουν το εύρος της μείωσης της αύξησης, που προκαλεί την αύξηση αντιστάθμισης, καθώς και το βαθμό της αντιστάθμισης που θα επιτευχθεί (Schwarz *et al.* 1985) Η εφαρμογή σταθερών περιόδων ασιτίας και επανασίτισης σε συνδυασμό με περαιτέρω έρευνα και ελαστικές μορφές –ανάλογα με το υπό εξέταση είδος- εφαρμογής πειραματικών πρωτοκόλλων μπορεί να οδηγήσει στα επιθυμητά αποτελέσματα.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

- **Abdel-Tawwab M, Abdel-Rahman A.M., Ismael N.E.M., (2008)** Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*, *Aquaculture*, 280, 185-189
- **Ali, M. Nicieza, A. Wootton, R.J. (2003).** Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and Fisheries* 4147-190.
- **Ali, M. and Wootton, R.J. (2001).** Capacity for growth compensation in juvenile three-spined sticklebacks experiencing food deprivation. *Journal of Fish Biology* 58, 1531-1544.
- **Pablo Almazán-Rueda, Johan W Schramaa, Johan A.J Verretha (2004).** Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Aquaculture* Volume 231
- **Bagni, M., Civitareale, C. Priori, A. Ballerini, M. Finoia, G. Brambilla, G. Marino (2007).** Pre-slaughter crowding stress and killing procedures affecting quality and welfare in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*), *Aquaculture* 263, 52–60
- **Bartussek, H., (1999).** A review of the animal needs index (ANI) for the assessment of animals' well-being in the housing systems for Austrian proprietary products and legislation. *Livestock Production Science*, 61, 179-192.

- **Basiao, Z.U., Doyle, R.W. and Arago, A.L. (1996).** A statistical power analysis of the 'internal reference' technique for comparing growth and growth depensation of tilapia strains. *Journal of Fish Biology* 49, 277-286.
- **Bergqvist, J., Gunnarsson, S., (2011).** Finfish aquaculture: Animal welfare, the environment, and ethical implications. *Journal Agricultural and Environmental Ethics*, 26, 75-99.
- **Bertram, D.F., Chambers, R.C. and Leggett, W.C. (1993).** Negative correlations between larval and juvenile growth rates in winter founder- implications of compensatory growth for variation in size-at-age. *Marine Ecology Progress Series* 96, 209-215.
- **Blasco J, Fernández J, Gutiérrez J (1992).** Variations in tissue reserves, plasma metabolites and pancreatic hormones during fasting in immature carp (*Cyprinus carpio*). *Comparative Biochemistry and Physiology-A Physiology* Volume 103, 357-363
- **Boissy, A., Manteuffel, G., Jensen, M.B., Moe, R.O., Spruijt, B., Keeling, L.J., Winckler, C., Forkman, B., Dimitrov, I., Langbein, J., Bakken, M., Veissier, I., Aubert, A., (2007).** Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiology and Behavior*, 92, 375–397.
- **Braithwaite, V., 2010. Do fish feel pain?** Oxford University Press, New York, 194 pp.
- **Bull, C. Metcalfe, N. (1997).** Regulation of hyperphagia in response to varying energy deficits in overwintering juvenile *Atlantic salmon*. *Journal of Fish Biology* 50, 498–510

- **Caruso Gabriela, Maria Gabriella Denaro, Rosalba Caruso, Ferdinando Mancari, Lucrezia Genovese a, Giulia Maricchiolo (2011).** Response to short term starvation of growth, haematological, biochemical and non-specific immune parameters in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*), *Marine Environmental Research* 72, 46-52.
- **Chatzifotis Stavros, Papadaki Maria, Despoti Smaragda, Roufidou Chrysoula, Antonopoulou Efthimia (2011),** Effect of starvation and re-feeding on reproductive indices, body weight, plasma metabolites and oxidative enzymes of sea bass (*Dicentrarchus labrax*), *Aquaculture* 316, 53–59
- **Chambers, R.C. Leggett, W.C. and Brown, J.A. (1988).** Variation in and among early life history traits of laboratoryreared winter founder *Pseudopleuronectes americanus*. *Marine Ecology Progress in Series* 47, 1-15
- **Chmievskii, D.A. (1998)** The influence of low temperature on the growth of *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Ichthyology* 38, 86-92
- **Chmievskii, D.A. (1994)** Vliyanie ponizhennoj temperatury na on oogenez tilapii *Oreochromis mossambicus* 2. Vozdejstvie na ryb v vozraste dvadtsati dvukh sutok posle vylupleniya. *Voprosy Ikhtiologii* 34,675-680. [In Russian].
- **Christensen, S.M., McLean E. (1998).** Compensatory growth in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*), fed a sub-optimal diet, *Ribarstvo*, 56, 3-19
- **Collins A. L., Anderson T. A. (1995).** The regulation of endogenous energy stores during starvation and refeeding in the somatic tissue of the golden perch. *Journal of Fish Biology*, 47, 1004-1015

- **Cui Z. and Wang Y. (2007)** Temporal changes in body mass, body composition and metabolism of gibel carp *Carassius auratus gibelio* during food deprivation. *Journal of Applied Ichthyology* 23), 215–220
- **Dave G., Johansson-Sjobeck M. L., Larsson A., Lewander K., Lidman U. (1975)** Metabolic and hematological effects of starvation in the European eel (*Anguilla anguilla* L.) I. Carbohydrate, lipid, protein and inorganic ion metabolism. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 52, 423-433
- **Dawkins, M.S., (2004).** Using behaviour to assess animal welfare. *Animal Welfare*, 13: 3-7.
- **Di Marco P, Priori A, Finoia M.G., Massari A., Mandich A., Marino G., (2008)** Physiological responses of European sea bass *Dicentrarchus labrax* to different stocking densities and acute stress challenge, (2008) *Aquaculture* 275: 319–328
- **Dunlop, R. and Laming, P., (2005)** Mechanoreceptive and nociceptive responses in the central nervous system of goldfish (*Carassius auratus*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal Of Pain* 6 (9): 561-568.
- **Du Preez, H.H. Strydom, W. and Winter, P.E.D. (1986b)** Oxygen consumption of two teleosts *Lithognathus mormyrus* (Linnaeus, 1758) and *Lithognathus lithognathus* (Cuvier, 1830) (Teleosti: Sparidae). *Comparative Biochemistry and Physiology* 85A,313-331.
- **EFSA (European Food Safety Authority), (2009).** General approach to fish welfare and to the concept of sentience in fish-Scientific opinion of the panel on animal health and welfare. *The EFSA Journal*, 954: 1-27.
- **Greenberg, A.E., Clesceri, L.S. and Eaton, A.D. (eds.), 1992b.** Standard Methods for The Examination of Water And Wastewater. American Public Health

Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, p. 4-84

- **Eroldogan O. T., O. Tasbozan, and S. Tabakoglu (2008)** Effects of Restricted Feeding Regimes on Growth and Feed Utilization of Juvenile Gilthead Sea Bream, *Sparus aurata*, Journal Of The World Aquaculture Society, Vol 39 Nr2
- **Eroldogan, O. Kumlu, M. Sezer, B. Kiris G. (2006)** Compensatory growth response of *Sparus aurata* following different starvation and refeeding protocols. Aquaculture Research 37, 535-537
- **FAWC, (Farmed Animal Welfare Council), (1996).** Report on the Welfare of Farmed Fish. Surrey, Surbiton
- **FSBI 2002** Fish welfare, Briefing Report 2. Fisheries Society of the British Isles, Granta Information Centre, Cambridge, UK.
- **S.S Giri, S.K Sahoo, B.B Sahu, A.K Sahu, S.N Mohanty, P.K Mukhopadhyay, S Ayyappan (2002)** Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schneider): effects of light, photoperiod and feeding regimes. Aquaculture 213, 151-161
- **Huntingford, F., Kadri, S., Jobling, M. (2012) Introduction: Aquaculture and Behaviour.** In "Aquaculture and Behavior" Ed. Huntingford, F., Kadri, S., Jobling, M., Blackwell Publishing Ltd., Chichester, West Sussex, UK, pp. 1-35.
- **Huntingford, F.A., Adams, C., Braithwaite, V.A., Kadri, S., Pottinger, T.G., Sandøe, P., Turnbull, J.F., (2006).** Current issues in fish welfare. Journal of Fish Biology, 68, 332-372.

- **Huntingford, F.A., Metcalfe, N.B., Thorpe, J.E., Graham, W.D., Adams, C.E., (1990).** Social dominance and body size in Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Biology*, 36: 877-881.
- **Lund, V., Mejdell, C.M., Rocklinsberg, H., Anthony, R., Hastein, T., (2007).** Expanding the moral circle: farmed fish as objects of moral concern. *Diseases of Aquatic Organisms*, 75: 109.
- **Ince, B. W, Thorpe A. (1976)** The effects of starvation and force-feeding on the metabolism of the Northern pike, *Esox lucius* L. *Journal of Fish Biology*, 8: 79-88.
- **Jeziarska, B. Hazel, J.R. and Gerking, S.D. (1982)** Lipid mobilization during starvation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, with attention to fatty-acids. *Journal of Fish Biology* 21, 681-692
- **Jobling, M. and Koskela, J. (1996)** Interindividual variations in feeding and growth in rainbow trout during restricted feeding and in subsequent period of compensatory growth. *Journal of Fish Biology* 49, 658–667
- **Jobling, M. Meloy, O.H. dos Santos, J. and Christiansen, B (1994)** The compensatory growth response of the Atlantic cod: effects of nutritional history. *Aquaculture International* 2, 75-90.
- **Jobling, M. (1994)** *Fish Bioenergetics*. Chapman & Hall, London.
- **Jobling, M., Jørgensen, E. H. & Siikavuopio, S. I. (1993).** The influence of previous feeding regime on the compensatory growth response of maturing and immature Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Journal of Fish Biology* 43, 409–419.
- **Kim M.K. & Lovell R.T. (1995)** Effect of restricted feeding regimes on compensatory weight gain and body tissue changes in channel catfish *Ictalurus punctatus* in pond. *Aquaculture* 135, 185-193

- **Lagardere, F. (1989)** Influence of feeding conditions and temperature on growth rate and otolith increment deposition of larval Dover sole (*Solea solea* L.). *Rapports Process: Verbaux Reunion Conseil International Pour l'Exploration de la Mer* 191, 390-399.
- **Larsson, A. & Lewander, K. (1973).** Metabolic effects of starvation in the eel, *Anguilla anguilla* L. *Comparative Biochemistry and Physiology* 44A, 367–374.
- **Letcher, B.H. Rice, J.A. and Crowder, L.B. (1996).** Size-dependent effects of continuous and intermittent feeding on starvation time and mass loss in starving yellow perch larvae and juveniles. *Transactions of the American Fisheries Society* 125, 14-26.
- **Quinton, J. C. & Blake, R. W. (1990).** The effect of feed cycling and ration level on the compensatory growth response in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Biology* 37, 33–41.
- **McDowall, R.M. (2001).** Anadromy and homing: two life-history traits with adaptive synergies in salmonid fishes. *Fish and Fisheries* 2, 78-85
- **McNamara, J. M., and A. I. Houston. (1987)** Starvation and predation as factors limiting population size. *Ecology* 68: 1515–1519.
- **Mendez G., Wieser W. (1993)** Metabolic responses to food deprivation and refeeding in juveniles of *Rutilus rutilus* (Teleostei: Cyprinidae). *Environmental Biology of Fishes*, 36, 73-81
- **Metcalfe, N.B., Bull, C.D. and Mangel, M. (2002)** Seasonal variation in catch-up growth reveals state-dependent somatic allocations in salmon. *Evolutionary Ecology Research* 4,871-881

- **Metcalf, N.B. and Thorpe, J.E. (1992)** Anorexia and defended energy levels in over-wintering juvenile salmon. *Journal of Animal Ecology* 61, 175-181
- **Miglav, I. and Jobling, M. (1989a)** The effect of feeding regime on proximate body composition and patterns of energy deposition in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Journal of Fish Biology* 35, 1-11.
- **Miglav, I. and Jobling, M. (1989b)** Effects of feeding regime on food consumption, growth rates and tissue nucleic acids in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, with particular respect to compensatory growth. *Journal of Fish Biology* 34, 947-957.
- **Miller, T.J., Crowder, L.B., Rice, J.A. and Marshall, E.A. (1988)** Larval size and recruitment mechanisms in fishes: toward a conceptual framework. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 45, 1657-1670.
- **Moon T. W, Johnston I. A. (1980)** Starvation and the activities of glycolytic and gluconeogenic enzymes in skeletal muscles and liver of the plaice, *Pleuronectes platessa*. *Journal of Comparative Physiology*, B36, 31-38.
- **Mourente G, Good JE, Thompson KD, Bell JG (2007)**. Effects of partial substitution of dietary fish oil with blends of vegetable oils, on blood leucocyte fatty acid compositions, immune function and histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L) *British Journal of Nutrition* 98: 770-779
- **Nagai, M. and Ikeda, S. (1971)** Carbohydrate metabolism in fish. I. Effects of starvation and dietary composition on the blood glucose level and the hepatopancreatic glycogen and lipid contents in carp. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 37, 404-409

- **Nicieza, A.G. and Metcalfe, N.B. (1997)** Growth compensation in juvenile Atlantic salmon: Responses to depressed temperature and food availability. *Ecology* 78, 2385-2400.
- **Peres, H. Santos, S. Teles, A. (2011)** Lack of compensatory growth response in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles following starvation and subsequent refeeding. *Aquaculture* 318 384–388
- **Perez-Jimenez A., Guedes M.J., Morales A.E. & Oliva-Teles A. (2007)** Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture* 265, 325–335.
- **Quinton J.C. & Blake R.W. (1990)** The effect of feed cycling and ration level on the compensatory growth response in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Biology* 37, 33-41
- **Renaud J. M., Moon T. W. (1980)** Starvation and the activities of glycolytic and gluconeogenic enzymes in skeletal muscles and liver of the plaice *Pleuronectes platessa*. *Journal of Comparative Physiology*, B36, 31–38.
- **Rose, J.D., (2002).** The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. *Reviews in Fisheries Science*, 10: 1-38.
- **Royann J. Petrell, Keng Pee Ang, (2001)** Effects of pellet contrast and light intensity on salmonid feeding behaviours. *Aquaculture Engineering* 25, 175-186
- **Pirhonen, J. and Forsman, L. (1998)** Effect of prolonged feed restriction on size variation, feed consumption, body composition, growth and smolting of brown trout, *Salmo trutta*. *Aquaculture* 162, 203-217.
- **Roncarati A., Melotti P., Dees A., Mordenti O., Angellotti L., (2006)** Welfare status of cultured seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) and seabream (*Sparus aurata*

L.) assessed by blood parameters and tissue characteristics, *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 225-234

- **Rueda, FM FJ Martinez, S Zamora, M Kentouri, P Divanach (1998).** Effect on Fasting and Refeeding on Growth and Body Composition of red porgy, *Pagrus pagrus* L. *Aquaculture Research* 29, 447-452
- **Russell, N.R. and Wootton, R.J. (1992)** Appetite and growth compensation in the European minnow, *Phoxinus phoxinus* (Cyprinidae) following short term of food restriction. *Environmental Biology of Fishes* 34, 277-285.
- **Turano, M. J., Russell J Borski & Harry V Daniels. (2008).** Effects of cyclic feeding on compensatory growth of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) foodfish and water quality in production ponds. *Aquaculture Research* 39, 1514-1523
- **Stergiou K. et al (2011)** Shouting Fishes: Fishes from the Greek Seas – Biology fisheries and management, Patakis Publishers
- **Stirling, H.P. (1976)** Effect of experimental feeding and starvation on the proximate composition of the European bass, *Dicentrarchus labrax*. *Marine Biology* 34, 85-91.
- **Sung-Yong Oh, Choong Hwan Noh and Sung Huang Cho, (2007).** Effect of Restricted Feeding Regimes on Compensatory Growth and Body Composition of Red Sea Bream, *Pagrus major*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38
- **Schwarz, F.J., Plank, J. and Kirchgessner, M. (1985)** Effects of protein or energy restriction with subsequent realimentation on performance of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* 48, 23-33

- **Vera-Cruz, E.M. and Mair, G.C. (1994).** Conditions for effective androgen sex reversal in *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 122, 237-248.
- **Wang, Cui Li, Jian G Qin & Hua Han. (2009).** Cyclical feed deprivation and refeeding fails to enhance compensatory growth in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research*, 40, 204-210
- **Wang, Y. Cui, Y. Yang and F. Cai (2005).** Partial compensatory growth in hybrid tilapia *Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus* following food deprivation. *Journal of Applied Ichthyology* 21, 389–393
- **Wang Y., Cui Y. & Yang Y. (2005)** Partial compensatory growth in hybrid tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) following food deprivation. *Journal of Applied Ichthyology* 21, 389-393
- **Weatherley, A.H. and Gill, H.S. (1981)** Recovery growth following periods of restricted rations and starvation in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* 18,195-208.
- **Wieser, W., Krumschnabel, G. and Ojwang-Okwor, J.P. (1992).** The energetics of starvation and growth after refeeding in juveniles of three cyprinid species. *Environmental Biology of Fishes* 33,63-71
- **Wieser, W. & N. Medgyesy. 1990).** Aerobic maximum for growth in the larvae and juveniles of a cyprinid fish, *Rutilus rutilus* (L.): implications for energy budgeting in small poikilotherms. *Functional Ecology* 4: 233-242
- **Wieser, W., H. Forstner, F. Schiemer & W. Mark (1988a).** Growth rates and growth efficiencies in larvae and juveniles of *Rutilus rutilus* and other cyprinid species: effects of temperature and food in the laboratory and in the field. *Can. J. Fish. Aqu. Sci.* 45: 943-950.

- **Wilson, P.N. and Osbourn, D.F. (1960)** Compensatory growth after undernutrition in mammals and birds. *Biological Review* 35, 324-363.
- **Winberg, S., Nilsson, G.E. & Olsen, K.H. (1992)** The effect of stress and starvation on brain serotonin utilization in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) *Journal of Experimental Biology* 165: 226-239
- **Wootton, R.J. (1998)** *Ecology of Teleost Fishes*, 2nd edn. Kluwer, Dordrecht
- **Xiangli Tiana, Jian G. Qin (2003)**. A single phase of food deprivation provoked compensatory growth in barramundi *Lates calcarifer*. *Aquaculture* 224 169–179
- **Xiao JX, Zhou F, Yin N, Zhou J, Gao S, Li H, ShaO QJ & Xu JZ (2013)** Compensatory growth of juvenile black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii* with cyclical feed deprivation and refeeding, *Aquaculture Research*, 44, 1045–1057
- **Xie, S., Zhu, X., Cui, Y., Lei, W., Yang, Y. and Wootton, R.J. (2001)** Compensatory growth in the gibel carp following feed deprivation: temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition. *Journal of Fish Biology* 58, 999-1009
- **Zhu, X., Cui, Y., Ali, M. and Wootton, R.J. (2001)**. Comparison of compensatory growth responses of juvenile threespined stickleback and minnow following similar food deprivation protocols. *Journal of Fish Biology* 58, 1149-1165.

Ελληνική Βιβλιογραφία

- **Πανταρίδης Κ. (2005)** Διερεύνηση του φαινομένου της αντιστάθμισης στην εντατική εκτροφή της τσιπούρας (*Sparus aurata*). Μεταπτυχιακή Διατριβή. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας Βόλος.

7. ABSTRACT

Many animal organisms exhibit faster growth during recovery after a period of total or partial starvation, compared with the corresponding periods of continuous delivery of sufficient quantities of food, a phenomenon “called growth compensation”. This particular phenomenon, production-wise, is of great interest when it comes to the cost that the fish feed has in the industry and its possible reduction that potentially will benefit the sector in general.

In this experiment two different groups of fish were studied with three repetitions each. The initial average weight was 262.99 ± 58.16 g in an environment of stable temperature and physicochemical characteristics. One was fed to satiation (*ad libitum*), twice daily, five days a week throughout the experiment (control group) and the other was in a regime of complete abstinence of food (complete starvation) for the first four weeks of the experiment which later, for the last eight weeks, in the phase of refeeding, followed the same feeding regime as the control group did (refeeding phase).

At the end of the experiment the weight of the two groups were recorded as well as the qualitative characteristics (protein, lipid, moisture and ash percentage) along with the biochemical ones (hematological parameters).

Statistical analysis showed that the final weight and the total and standard length of fish differed significantly between the two treatments groups ($P > 0.05$), indicating that there was no compensation after all. The values for the qualitative characteristics and the hematological parameters of fish showed no significant difference between each other ($P < 0.05$).

In conclusion the starvation-refeeding protocol in this particular form applied on fish of that weight class, does not appear to affect to provide increased compensation and therefore further investigation is necessary in the laboratory or in the field.

Keywords: Bream, *Sparus aurata*, growth compensation