



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ  
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ -  
ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΧΕΡΣΑΙΩΝ ΚΑΙ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

---

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ  
ΤΟΥ ΤΡΟΧΟΦΟΡΟΥ *Brachionus plicatilis*  
ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΘΕΩΡΙΑΣ  
ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟΥ ΙΣΟΖΥΓΙΟΥ**



**ΔΡΑΚΟΥ ΣΟΦΙΑ**

**ΗΡΑΚΛΕΙΟ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2015**



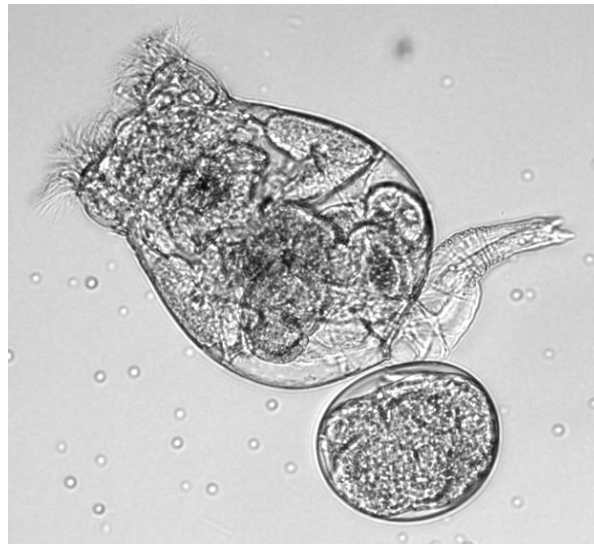
UNIVERSITY OF CRETE  
DEPARTMENT OF BIOLOGY  
POSTGRADUATE PROGRAMME ENVIRONMENTAL BIOLOGY -  
MANAGEMENT OF TERRESTRIAL AND MARINE RESOURCES



GRADUATE PROJECT

---

**STUDY OF THE POPULATION DYNAMICS  
OF THE ROTIFER *Brachionus plicatilis*  
USING THE DYNAMIC ENERGY BUDGET THEORY**



**DRAKOU SOPHIA**

**HERAKLION, SEPTEMBER 2015**

Τα μέλη της  
Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

Κωνσταντία Λύκα  
Επίκουρη Καθηγήτρια  
Τμήμα Βιολογίας  
Πανεπιστήμιο Κρήτης

Pascal Divanach  
Ερευνητής Α  
Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας,  
Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών  
Ελληνικό Κέντρο  
Θαλάσσιων Ερευνών

Μαρουδιώ Κεντούρη  
Καθηγήτρια  
Τμήμα Βιολογίας  
Πανεπιστήμιο Κρήτης

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μια προσπάθεια δύο χρόνων κατά τη διάρκεια των οποίων ευτυχώς είχα τη στήριξη αρκετών ανθρώπων.

Αρχικά ευχαριστώ την καθηγήτρια μου κ. Κωνσταντία Λύκα που δέχτηκε να επιβλέψει την διπλωματική μου εργασία και με βοήθησε ώστε να βελτιώσω τον τρόπο που σκέφτομαι, αντιλαμβάνομαι και προσεγγίζω επιστημονικά θέματα.

Επιπλέον ευχαριστώ θερμά τον κ. Divanach Pascal για την καθοδήγηση και τις συμβουλές του κατά τη διάρκεια των πειραμάτων στο ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. και την κ. Κεντούρη Μαρουδιώ που δέχτηκε να συμμετάσχει στην τριμελή επιτροπή.

Από το ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την Βενετία Κωστοπούλου που μου έμαθε όλες τις πρωτόγνωρες για εμένα τεχνικές καθώς και τους τεχνικούς του εργαστηρίου, Ευσεβία, Γιώτα και Γιώργο, που ήταν πάντα εκεί σε κάθε απορία μου.

Βέβαια ευχαριστώ και τις συμφοιτήτριες μου, Ματίνα και Θέκλα, τόσο για την πολύτιμη βοήθειά τους στις βιολογικού περιεχομένου απορίες μου όσο και για τις στιγμές χαλάρωσης και ξεγνοιασιάς όποτε μας δινόταν (ή και όχι) η ευκαιρία.

Φυσικά ευχαριστώ όλους τους φίλους μου και κυρίως τη Λουίζα που έπαιξε τον σημαντικότερο ρόλο στην αρχή όλου αυτού του “ταξιδιού”, την Ευγενία που δεν έπαψε να μου δίνει δύναμη λέγοντας μου πόσο πιστεύει σε εμένα, τον Αλέξανδρο και την Έρη για τις συμβουλές και την ψυχολογική στήριξη σε περιόδους άγχους.

Τέλος το μεγαλύτερο ευχαριστώ αξίζει στους γονείς μου και την αδερφή μου που όλα αυτά τα χρόνια έκαναν ότι μπορούσαν για να φτάσω ως εδώ.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	vi
ABSTRACT	vii
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1. ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ	2
1.2. ΤΑ ΤΡΟΧΟΦΟΡΑ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ	4
1.3. ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΩΝ ΤΡΟΧΟΦΟΡΩΝ	6
1.4. ΘΕΩΡΙΑ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟΥ ΙΣΟΖΥΓΙΟΥ (DEB)	7
1.5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	8
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	9
2.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΡΟΧΟΦΟΡΩΝ	10
2.1.1. ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ <i>Brachionus plicatilis</i>	10
2.1.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ	12
2.2. ΘΕΩΡΙΑ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟΥ ΙΣΟΖΥΓΙΟΥ (DEB THEORY)	16
2.2.1. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΘΕΩΡΙΑΣ	16
2.2.2. ΤΟ ΑΤΟΜΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟΥ ΙΣΟΖΥΓΙΟΥ	17
2.2.3. ΤΟ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟΥ ΙΣΟΖΥΓΙΟΥ	22
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	24
3.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ	25
3.1.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ 1	25
3.1.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ 2	29
3.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ	31
3.2.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΤΟΜΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ	31
3.2.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ	36
3.3. ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ	38
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	39
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	47
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	48

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Για την μελέτη της δυναμικής του πληθυσμού του τροχοφόρου *Brachionus plicatilis* εφαρμόστηκε η θεωρία δυναμικού ενεργειακού ισοζυγίου (DEB theory), η οποία βασίζεται στην περιγραφή του πώς η ενέργεια που αφομοιώνεται από την τροφή κατανέμεται μεταξύ των διάφορων μεταβολικών διεργασιών. Αρχικά αναπτύχθηκε το ατομικό μοντέλο ενεργειακού ισοζυγίου, για το οποίο εκτιμήθηκαν οι παράμετροι και ποσοτικοποιήθηκαν οι μεταβλητές που σχετίζονται με τις φυσιολογικές διεργασίες των μεμονωμένων ατόμων. Μέσω του ατομικού μοντέλου έγινε μελέτη της ανάπτυξης του ατόμου, της χρονικής διάρκειας των επιμέρους φάσεων του κύκλου ζωής του και τέλος του χρόνου μεταξύ των διαδοχικών αποθέσεων που πραγματοποιεί, για διαφορετικές τιμές της θερμοκρασίας και της διαθεσιμότητας της τροφής. Τα αποτελέσματα του ατομικού μοντέλου συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, λαμβάνοντας βέβαια υπόψη τις υποθέσεις του μοντέλου. Στη συνέχεια το ατομικό μοντέλο ενσωματώθηκε σε ένα εξατομικευμένο πληθυσμιακό μοντέλο με σκοπό τη διερεύνηση της δυναμικής του πληθυσμού και των αλληλεπιδράσεων των ατόμων με περιβαλλοντικές μεταβλητές, κυρίως την πυκνότητα της τροφής. Ο έλεγχος του πληθυσμιακού μοντέλου έγινε με δεδομένα που προέκυψαν από πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ζωντανής Τροφής του Ινστιτούτου Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. Πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα διαφορετικής τροφής των τροχοφόρων (“πάστα” φυτοπλαγκτού και μαγιά) με τρεις χειρισμούς διαφορετικής πυκνότητας της τροφής για το κάθε πείραμα. Οι προσομοιώσεις έδειξαν το ίδιο πρότυπο αυξομείωσης του πληθυσμού με τα πειραματικά δεδομένα για τους χειρισμούς που ελέγχθηκαν, το οποίο συμφωνεί και με τις βιβλιογραφικές αναφορές. Γενικά λοιπόν το ατομικό μοντέλο απεικονίζει ικανοποιητικά την πορεία του ατόμου του είδους *Brachionus plicatilis* στη διάρκεια της ζωής του και επιπλέον το πληθυσμιακό μοντέλο φαίνεται πως αποδίδει αρκετά καλά σε σύγκριση με τα μετρήσιμα πειραματικά δεδομένα.

## ABSTRACT

To study the population dynamics of the rotifer *Brachionus plicatilis* we applied the Dynamic Energy Budget theory which is based on the description of how the energy absorbed from food distributed among the various metabolic processes. Firstly we developed the individual energy budget model which represents the dynamics of the individual over time, for which were evaluated the parameters and quantified the variables related to physiological processes of individuals. The individual model studied the development of the individual, the duration of the phases of its life cycle and finally the time between successive deposits, for different values of the temperatures and the availability of food. The results of the individual model are in agreement with the literature data, of course taking into account the assumptions of the model. Then the individual model incorporated into an individual-based population model to investigate population dynamics and interactions of individuals with environmental variables, especially the food density. The verification of the model was based on data obtained from experiments performed in the Live Food laboratory of the Institute of Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture at the Hellenic Centre for Marine Research. Two different feeding experiments were performed (phytoplankton "paste" and yeast) with three different density manipulations for each experiment. The simulations showed the same fluctuation pattern of the population with the experimental data for the operations audited, which are in agreement with the literature data. Generally the individual model illustrates sufficiently the procedures of the individuals of the species *Brachionus plicatilis* during its lifetime and furthermore the population model seems to perform quite well in comparison to the experimental data.

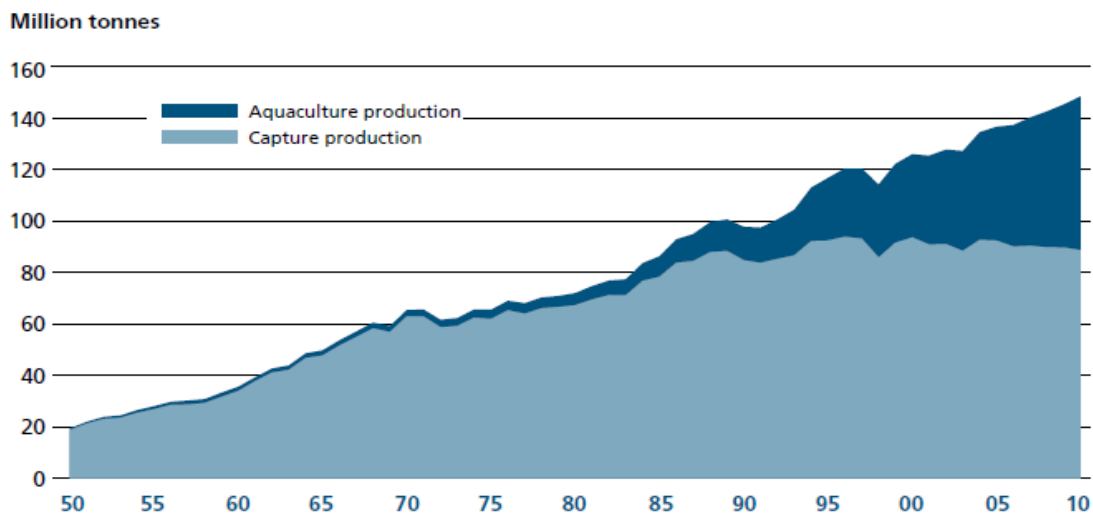
## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

---



### 1.1. ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Ο όρος υδατοκαλλιέργειες αφορά στην ελεγχόμενη εκτροφή υδρόβιων οργανισμών, η οποία εμφανίζει μια συνεχώς αυξανόμενη ανάπτυξη κατά τις τελευταίες δεκαετίες (FAO, 2010). Ενώ η αλιευτική παραγωγή παραμένει σταθερή από τη δεκαετία του 1990, η παραγωγή των υδατοκαλλιεργειών παρουσιάζει έντονη ανάπτυξη με μέσο ετήσιο ρυθμό αύξησης περίπου 6.5% για την δεκαετία του 2000 και αύξηση της παραγωγής από 35 εκατομμύρια τόνους το 2000 σε 60 εκατομμύρια τόνους το 2010 (Διάγραμμα 1.1). Αν και ο ρυθμός αυτός έχει μειωθεί συγκριτικά με τις προηγούμενες δεκαετίες, οι υδατοκαλλιέργειες παραμένουν ο ταχύτερα αναπτυσσόμενος κλάδος ζωικής παραγωγής τροφίμων για κατανάλωση από τον άνθρωπο.



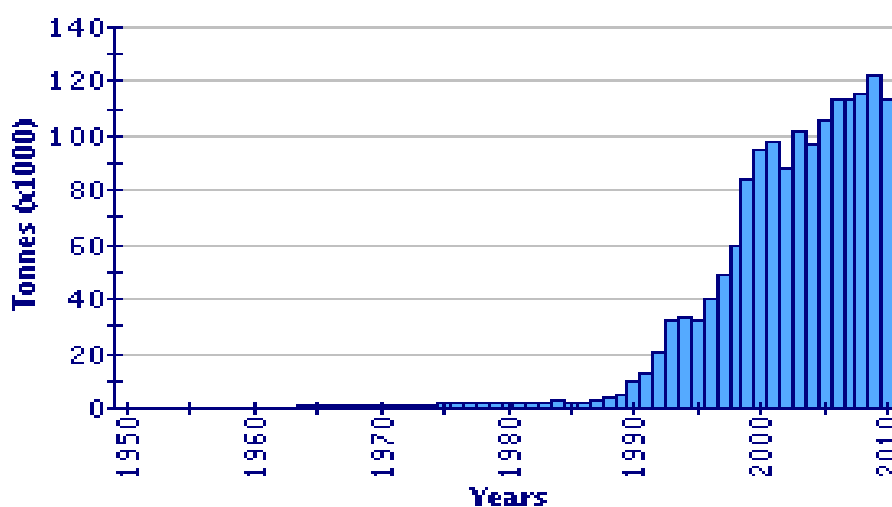
**Διάγραμμα 1.1.** Παγκόσμια αλιευτική παραγωγή και παραγωγή υδατοκαλλιεργειών από το 1950 (FAO, 2012)

Τα ψάρια αποτελούν πλούσια πηγή πρωτεϊνών, βιταμινών, ιχνοστοιχείων και άλλων θρεπτικών βασικών για μια ισορροπημένη διατροφή. Η συμβολή των υδατοκαλλιεργειών στην παραγωγή ψαριών για ανθρώπινη κατανάλωση ήταν 47% το 2010 σε σύγκριση με μόνο 9% το 1980. Η ραγδαία αυτή αύξηση φανερώνει την ανάγκη κάλυψης του κενού που αφήνει η αλιευτική παραγωγή στις διατροφικές απαιτήσεις του ανθρώπου. Για τον λόγο αυτό οι υδατοκαλλιέργειες είναι πλέον η κινητήρια δύναμη της αύξησης της συνολικής παραγωγής ψαριών καθώς η παγκόσμια αλιευτική παραγωγή έχει σταθεροποιηθεί. Είναι λοιπόν προφανής ο ρόλος και η σπουδαιότητα της συγκεκριμένης δραστηριότητας για τον συνεχώς αυξανόμενο ανθρώπινο πληθυσμό.

Αυτή η παγκόσμια αύξηση της ζήτησης, βοηθάει την ραγδαία ανάπτυξη και βελτίωση της τεχνολογίας στις υδατοκαλλιέργειες, αφού οδήγησε τους κρατικούς μηχανισμούς να υποστηρίξουν τον κλάδο παγκοσμίως, με εθνικά και διεθνή προγράμματα χρηματοδότησης, που συμβάλλουν στην μείωση του κόστους παραγωγής, στη βελτίωση της ποιότητας του παραγόμενου προϊόντος και κυρίως στη συνέχιση της ανάπτυξης της συγκεκριμένης δραστηριότητας (FAO, 2010).

Σήμερα εκτρέφονται περισσότερα από 600 είδη σε 190 χώρες, μεταξύ των οποίων κύριοι παραγωγοί είναι οι: Κίνα, Ινδία, Βιετνάμ, Ινδονησία, Μπαγκλαντές, Ταϊλάνδη, Μιανμάρ, Φιλιππίνες, Ιαπωνία, Αίγυπτος, Χιλή και Νορβηγία (FAO, 2010).

Στην Ελλάδα οι υδατοκαλλιέργειες αποτελούν έναν από τους πιο γρήγορα αναπτυσσόμενους βιομηχανικούς κλάδους. Περίπου τριάντα χρόνια πριν ήταν πρακτικά ανύπαρκτες, ωστόσο από τη δεκαετία του 1980 γνώρισαν μεγάλη άνθιση σαν αποτέλεσμα των καλών κλιματικών συνθηκών, των εθνικών και ευρωπαϊκών επενδύσεων στον τομέα, του καταρτισμένου ανθρώπινου δυναμικού μαζί με την επανάσταση στην τεχνολογία των εκκολαπτηρίων και της διατροφής (Διάγραμμα 1.2).



Διάγραμμα 1.2. Παραγωγή υδατοκαλλιεργειών στην Ελλάδα από το 1960 (FAO, 2012)

Η Ελλάδα περιλαμβάνεται στους κορυφαίους παραγωγούς της Ευρώπης με παραγωγή περίπου 140.000 τόνους το 2011 (FAO, 2012). Το μεγαλύτερο ποσοστό της συνολικής παραγωγής αποτελείται από τσιπούρα (*Sparus aurata*) και λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*), είδη για τα οποία η Ελλάδα κατέχει τα υψηλότερα ποσοστά παραγωγής στην Ευρώπη μαζί με την Ισπανία, ενώ σε μικρότερα ποσοστά καλλιεργείται το φαγκρί (*Pagrus pagrus*), ο κρανιός (*Argyrosomus regius*), το μυλοκόπι (*Umbrina Cirrosa*), το μυτάκι (*Puntazzo puntazzo*), η πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), η συναγρίδα (*Dentex dentex*) κ.α. Πραγματοποιείται επίσης μια σημαντική παραγωγή οστρακοειδών και δίθυρων, μικρότερης όμως οικονομικής αξίας.

Συμπερασματικά λοιπόν οι υδατοκαλλιέργειες αποτελούν πλέον έναν από τους δυναμικότερους παραγωγικούς κλάδους της χώρας μας αλλά και της Μεσογείου γενικότερα. Τα τελευταία χρόνια ο κλάδος έχει εξελιχθεί και αναβαθμιστεί τεχνολογικά, εξαιτίας της σημαντικής ερευνητικής προσπάθειας που πραγματοποιείται σε όλα τα πεδία της παραγωγής, ένα από τα οποία είναι και η παραγωγή ιχθυοτροφών.

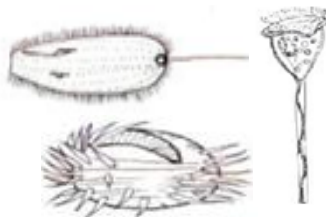
## 1.2. ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΤΡΟΧΟΦΟΡΩΝ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Τα τροχοφόρα είναι πλαγκτονικοί οργανισμοί που αποτελούν την τροφή των προνυμφών των παραγόμενων ψαριών για τις πρώτες 10 έως 30 ημέρες της ζωής τους. Τα είδη που χρησιμοποιούνται στις υδατοκαλλιέργειες ανήκουν στο γένος *Brachionus* και κυρίως το είδος *Brachionus plicatilis*. Τα τροχοφόρα επιλέγονται σαν πρώτη τροφή των προνυμφών κυρίως λόγω της διαθεσιμότητάς τους σε μεγάλες ποσότητες, του μεγέθους τους που είναι τόσο όσο και το άνοιγμα του στόματος των προνυμφών (Lubzens *et al.*, 2001), του εύκολου εμπλουτισμού τους με τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για τις προνύμφες και τέλος της περιορισμένης μετατόπισης και αδιάκοπης κίνησής τους που εξυπηρετεί τις προνύμφες που παρουσιάζουν περιορισμένη κολυμβητική ικανότητα και αντίληψη του χώρου.

Είναι προφανές ότι η μαζική εκτροφή των τροχοφόρων είναι ένα σημαντικό στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας στις υδατοκαλλιέργειες, αφού η παραγωγή εκατομμυρίων προνυμφών συνεπάγεται την παραγωγή πολύ μεγάλων ποσοτήτων τροχοφόρων. Όμως πέραν της ποσότητας σημαντικό ρόλο παίζει και η ποιότητά τους καθώς θα μεταφέρουν στις προνύμφες τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά. Τα τροχοφόρα αποτελούν τροφή πολύ υψηλής θρεπτικής αξίας, γεγονός που τα καθιστά σημαντικά για την επιβίωση, την ανάπτυξη και τη θρεπτικότητα των προνυμφών (Lie, 2001).

Η βιοσύνθεση των λιπιδίων των τροχοφόρων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την τροφή την οποία καταναλώνουν (Lubzens, 1985). Για τη διατροφή τους σε συνθήκες καλλιέργειας μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες κατηγορίες τροφών, με πιο αποδοτική την καλλιέργεια μικροφυκών. Όμως η παραγωγή μικροφυκών αποτελεί μια πολύ δαπανηρή διαδικασία που απαιτεί συνεχή απασχόληση προσωπικού και ύπαρξη ειδικών εγκαταστάσεων. Για τον λόγο αυτό συνήθως χρησιμοποιείται είτε φυτοπλαγκτό σε συμπυκνωμένη μορφή ("πάστα") είτε άλλα συμπληρώματα διατροφής σε συνδυασμό με αυτό, όπως η μαγιά αρτοποιίας (*Saccharomyces cerevisiae*). Η μαγιά είναι μεν φθηνότερη και δεν απαιτεί καμία προεργασία ή ειδικές εγκαταστάσεις αλλά δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνη της γιατί υποβιβάζει την ποιότητα του μέσου εκτροφής.

Ένα πρόβλημα στις καλλιέργειες τροχοφόρων αποτελεί η εμφάνιση βλεφαριδωτών, τα οποία ανταγωνίζονται με τα τροχοφόρα για την τροφή. Τα είδη που συναντώνται στις καλλιέργειες είναι το *Uronema sp.* και το *Euplotes sp.* Το *Uronema* εμφανίζεται πρώτο και καθώς δεν αντέχει τον ανταγωνισμό με το *Euplotes* εξαφανίζεται γρήγορα. Η παρουσία του *Euplotes* συνοδεύεται με πολύ μεγάλη μείωση της παραγωγικότητας των τροχοφόρων. Σπανιότερα παρατηρείται το είδος *Vorticella sp.* η παρουσία του οποίου συνδέεται με επιδείνωση της ποιότητας του μέσου καλλιέργειας (Εικόνα 1.1). Για το πρόβλημα των βλεφαριδωτών ο μόνος τρόπος πρόληψης είναι η χρήση φίλτρων.



**Εικόνα 1.1.** Βλεφαριδωτά που εμφανίζονται σε καλλιέργειες τροχοφόρων (πάνω αριστερά *Uronema sp.*, κάτω αριστερά *Euplotes sp.*, δεξιά *Vorticella sp.*)

Οι καλλιέργειες των τροχοφόρων πραγματοποιούνται σε βιοαντιδραστήρες βιομηχανικής κλίμακας, των οποίων ο όγκος φτάνει μέχρι και τα 300.000 L. Γενικά διακρίνονται τρεις κύριοι μέθοδοι καλλιέργειας τροχοφόρων, οι κλειστές καλλιέργειες, οι ημι-συνεχείς καλλιέργειες και οι συνεχείς καλλιέργειες. Στις κλειστές καλλιέργειες τα τροχοφόρα καλλιεργούνται σε χαμηλή πυκνότητα και συλλέγονται αφού καταναλωθούν όλα τα μικροφύκη που αποτελούν την τροφή τους. Οι ημι-συνεχείς καλλιέργειες είναι ένα σύστημα το οποίο βασίζεται σε περιοδική απομάκρυνση μιας ποσότητας τροχοφόρων και αντικατάσταση με φρέσκο θρεπτικό υλικό (Εικόνα 1.2). Τέλος οι συνεχείς καλλιέργειες βασίζονται σε χημειοστατικά μοντέλα μικροοργανισμών όπου οι συνθήκες ελέγχονται πλήρως (Lubzens *et al.*, 1985).

Τα τροχοφόρα είναι γενικά ευρύαλοι οργανισμοί αλλά για την επίτευξη της βέλτιστης αναπαραγωγής θα πρέπει να είναι σε ένα μέσο με αλατότητα κάτω από 35‰ (Dhert, 1996). Όσον αφορά τα επίπεδα οξυγόνου τα τροχοφόρα μπορούν να ζήσουν σε νερό με χαμηλά επίπεδα διαλυμένου οξυγόνου, ακόμη και σε νερό με μόλις 1 mg/L διαλυμένο οξυγόνο (Dhert, 1996). Κάτω από τέτοιες συνθήκες όμως μειώνεται ο μεταβολικός ρυθμός τους και ο ρυθμός αύξησης (Esparcia *et al.*, 1989). Στις καλλιέργειες τροχοφόρων είναι αναγκαίο να δημιουργηθεί συνεχής αερισμός, που θα βοηθήσει τη διανομή της τροφής σε όλη τη δεξαμενή, όχι όμως τόσο ισχυρός ώστε να προκαλεί βλάβες στους οργανισμούς. Τα υψηλά επίπεδα αμμωνίας είναι τοξικά για τα τροχοφόρα, γενικά οι συγκεντρώσεις κάτω από 1 mg/L NH<sub>3</sub> είναι ασφαλείς (Dhert, 1996). Τα τροχοφόρα ζουν σε νερό με pH από 5,6 έως 8,5 (Err *et al.*, 1978) και είναι πιο ανθεκτικά σε όξινο παρά σε αλκαλικό pH, αν και έχει αναφερθεί παρουσία τροχοφόρων σε pH περίπου 10 (Michaloudi *et al.*, 2004). Η βέλτιστη θερμοκρασία του μέσου καλλιέργειας εξαρτάται από το είδος του τροχοφόρου και κυμαίνεται από 18 °C έως 35 °C. Σε γενικές γραμμές η αύξηση της θερμοκρασίας, εντός του εύρους των βέλτιστων τιμών για το κάθε είδος, αυξάνει την αναπαραγωγική δραστηριότητα. Γενικά η θερμοανεκτικότητα των τροχοφόρων είναι από τις υψηλότερες των Μεταζώων (Nogrady *et al.*, 1993).

Στις μέρες μας σαν συνέπεια της αυξημένης ανάπτυξης των υδατοκαλλιεργειών στη χώρα ακολουθεί το μεγάλο ενδιαφέρον για παραγωγή τροχοφόρων που συνδέεται άμεσα και με την εκτενή έρευνα τόσο για τις βέλτιστες συνθήκες καλλιέργειας όσο και για τους οικονομικότερους τρόπους παραγωγής τους.



**Εικόνα 1.2.** Δεξαμενές καλλιέργειας τροχοφόρων στις εγκαταστάσεις του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. (φωτογραφίες: Δράκου Σοφία)

### 1.3. ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΩΝ ΤΡΟΧΟΦΟΡΩΝ

Στις μέρες μας υπάρχει ανάγκη στη βιομηχανία για πιο προηγμένα συστήματα υποστήριξης τόσο σε σχέση με τον προγραμματισμό της παραγωγής των τροχοφόρων όσο και με τις μεθόδους παρακολούθησης και ελέγχου των εγκαταστάσεων. Η μοντελοποίηση της δυναμικής συμπεριφοράς των βιολογικών διεργασιών που λαμβάνουν χώρα αποτελεί σημαντικό θεμέλιο για την ανάπτυξη αυτών των εργαλείων, αφού όταν τα ευρήματα της επιστημονικής αναζήτησης εκφράζονται με μαθηματικούς όρους μπορεί να επαληθευτούν ή να αναιρεθούν με το πείραμα.

Η δυναμική του πληθυσμού των τροχοφόρων είναι γενικά απλή για να περιγραφεί από την άποψη του μέγιστου ρυθμού αύξησης, της φέρουσας ικανότητας και του ποσοστού θνησιμότητας (Olsen, 2004).

Οι Ciro-Perez *et al.* (2001) εφάρμοσαν το μοντέλο του Tilman (Tilman, 1982) προκειμένου να προβλέψουν την έκβαση του ανταγωνισμού μεταξύ δύο ειδών του συμπλέγματος *Brachionus plicatilis* για δύο διαφορετικού μεγέθους είδη μικροφυκών. Τα πειραματικά αποτελέσματα επιβεβαίωσαν τα αποτελέσματα του μοντέλου όσον αφορά την ανταγωνιστική υπεροχή του κάθε είδους τροχοφόρων, ωστόσο η συνύπαρξη τους βρέθηκε σε συνθήκες στις οποίες το μοντέλο είχε προβλέψει μια ασταθή ισορροπία.

Οι Kelpin *et al.* (2000) χρησιμοποίησαν δύο αριθμητικές μεθόδους για την επίλυση ενός μοντέλου που περιγράφει τη συμπεριφορά ενός συστήματος θηρευτή – θηράματος που αποτελείται από τροχοφόρα και φύκη. Ο πληθυσμός του θηράματος περιγράφηκε από μια συνήθους διαφορική εξίσωση ενώ η δυναμική των τροχοφόρων περιγράφηκε από έναν συνδυασμό μερικών διαφορικών εξισώσεων με αρχικές και συνοριακές συνθήκες για τα δύο στάδια της ζωής τους, το αυγό και το ενήλικο στάδιο.

Οι Fussmann *et al.* (2000) μελέτησαν τη δυναμική συμπεριφορά ενός συστήματος υδρόβιων ειδών, που περιελάμβανε τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ ενός πληθυσμού τροχοφόρων, ενός πρωτογενούς παραγωγού και των θρεπτικών συστατικών. Η ποιοτική δυναμική συμπεριφορά του πειραματικού αυτού συστήματος, δηλαδή κύκλοι, ισορροπίες και εξαφάνιση, βρέθηκε εξαιρετικά προβλέψιμη από ένα απλό μη γραμμικό μοντέλο.

Ωστόσο οι McNair *et al* (1998) απέδειξαν την αδυναμία των κλασικών μοντέλων πληθυσμού να αντιπροσωπεύσουν τα μεταβατικά στάδια του πληθυσμού. Για τον σκοπό αυτό είναι απαραίτητο ένα πιο λεπτομερές, μηχανιστικό μοντέλο βασισμένο στις φυσιολογικές διεργασίες του οργανισμού.

#### 1.4. ΘΕΩΡΙΑ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟΥ ΙΣΟΖΥΓΙΟΥ (DEB THEORY)

Ένα ενεργειακό ισοζύγιο είναι ο προσδιορισμός της πρόσληψης ενέργειας από το περιβάλλον από έναν οργανισμό και η χρήση της ενέργειας αυτής για την εκπλήρωση των φυσιολογικών διεργασιών. Ένα στατικό ενεργειακό ισοζύγιο αποτελεί ένα είδος στιγμιότυπου αυτών των ροών για έναν οργανισμό σε μια δεδομένη κατάσταση, ενώ ένα δυναμικό ενεργειακό ισοζύγιο ακολουθεί τις μεταβολές αυτών των ροών κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής του οργανισμού.

Η θεωρία DEB διατυπώθηκε από τον Kooijman σε μια σειρά δημοσιεύσεων κατά τη δεκαετία του 1980 και παρατίθεται αναλυτικά στο βιβλίο του με τίτλο: Dynamic Energy Budget theory (Kooijman, 2010). Η θεωρία βελτιώνεται και επεκτείνεται συνεχώς με δημοσιεύσεις τόσο του Kooijman όσο και άλλων (Brandt *et al.*, 2003; Van der Meer, 2006; Lika *et al.*, 2011).

Ένα ατομικό μοντέλο δυναμικού ενεργειακού ισοζυγίου χρησιμοποιεί διαφορικές εξισώσεις για να περιγράψει τους ρυθμούς με τους οποίους ο οργανισμός αφομοιώνει και χρησιμοποιεί την ενέργεια για τη διατήρηση (maintenance), τη σωματική αύξηση (growth), την ωρίμανση (development) και την αναπαραγωγή (reproduction), ως μια συνάρτηση της κατάστασης του οργανισμού και του περιβάλλοντός του. Η κατάσταση του οργανισμού χαρακτηρίζεται από την ηλικία και το μέγεθος, ενώ το περιβάλλον από την πυκνότητα της τροφής και τη θερμοκρασία. Οι λύσεις των εξισώσεων ενός DEB μοντέλου αναπαριστούν την πορεία του ατόμου στη διάρκεια της ζωής του μέσα σε ένα δυναμικά μεταβαλλόμενο περιβάλλον. Επομένως η κατασκευή ενός αξιόπιστου ατομικού μοντέλου δίνει τη δυνατότητα να το χρησιμοποιήσουμε για να κάνουμε προβλέψεις στα ανώτερα επίπεδα οργάνωσης της ζωής. Ένα βασικό κίνητρο για την ανάπτυξη της θεωρίας DEB ήταν να εξηγήσει τη δυναμική του πληθυσμού με όρους των ατομικών χαρακτηριστικών του κύκλου ζωής, ώστε να εξασφαλιστεί μια ενοποιημένη θεωρία σε όλα τα επίπεδα της βιολογικής οργάνωσης. Τα ατομικά μοντέλα δυναμικού ενεργειακού ισοζυγίου μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως τα βασικά δομικά στοιχεία στα μοντέλα της δυναμικής των πληθυσμών (Nisbet *et al.*, 2000).

Το DEB μοντέλο έχει εφαρμοστεί σε μια ευρεία ποικιλία ζωικών ειδών και μια συλλογή για τις τιμές των παραμέτρων διάφορων ειδών υπάρχει ελεύθερη στο διαδίκτυο ([http://www.bio.vu.nl/thb/deb/deblab/add\\_my\\_pet/](http://www.bio.vu.nl/thb/deb/deblab/add_my_pet/)). Ωστόσο αναφέρονται δύο μόνο εργασίες σε είδη τροχοφόρων, το *Asplanchna girodi* και το *Brachionus plicatilis*.

Οι Alver *et al.* (2006) είχαν ως στόχο την κατασκευή ενός εξατομικευμένου πληθυσμιακού μοντέλου για το τροχοφόρο *Brachionus plicatilis*, όπου η δυναμική του πληθυσμού να βασίζεται σε μια λεπτομερή περιγραφή των ατόμων. Κάθε άτομο χαρακτηρίστηκε από το μέγεθος, τα ενεργειακά αποθέματα και τα αυγά, καθώς και τη φυσιολογική ηλικία του. Οι προσομοιώσεις του μοντέλου βρίσκονταν σε συμφωνία με τα πειραματικά δεδομένα.

Στη συνέχεια οι Alver *et al.* (2007) πραγματοποίησαν μια σειρά από αλλαγές στο υφιστάμενο μοντέλο ώστε να περιγράψει τον πλήρη κύκλο αναπαραγωγής των πληθυσμών του *Brachionus plicatilis*. Όμως για τη διερεύνηση της εγκυρότητας των προβλέψεων του μοντέλου έγινε σύγκριση με πειραματικά δεδομένα που έδειξε ορισμένες αποκλίσεις.

## 1.5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός αυτής της εργασίας είναι η ανάπτυξη ενός εξατομικευμένου πληθυσμιακού μοντέλου για τα τροχοφόρα, στο οποίο οι δυναμικές του πληθυσμού να βασίζονται σε μια λεπτομερή περιγραφή των μεμονωμένων ατόμων.

Αρχικά επανεξετάζουμε το ατομικό μοντέλο ενεργειακού ισοζυγίου των Alver *et al.* (2006) για το τροχοφόρο *Brachionus plicatilis*, μέσω του οποίου ποσοτικοποιούνται μεταβλητές και παράμετροι που σχετίζονται με τις μεταβολικές διεργασίες των μεμονωμένων ατόμων και εξάγονται τα διαγράμματα της δυναμικής συμπεριφοράς τους.

Στη συνέχεια ενσωματώνουμε το ατομικό μοντέλο σε ένα εξατομικευμένο πληθυσμιακό μοντέλο με σκοπό την διερεύνηση της δυναμικής του πληθυσμού των τροχοφόρων και των αλληλεπιδράσεων των ατόμων με περιβαλλοντικές μεταβλητές, κυρίως με την πυκνότητα της τροφής.

Τέλος ο ποσοτικός και ποιοτικός έλεγχος του πληθυσμιακού μοντέλου γίνεται με δεδομένα που προκύπτουν από πειραματικές μετρήσεις που πραγματοποιούνται στο εργαστήριο Ζωντανής Τροφής του Ινστιτούτου Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών του Ελληνικού Κέντρου Θαλασσίων Ερευνών. Για τις ανάγκες των μετρήσεων αυτών πραγματοποιούνται καλλιέργειες τροχοφόρων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις δύο ειδών τροφής, παρόμοιων με τα σιτηρέσια που χρησιμοποιούνται στους ιχθυογενετικούς σταθμούς.

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

---



## 2.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΡΟΧΟΦΟΡΩΝ

### 2.1.1. ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ *Brachionus plicatilis*

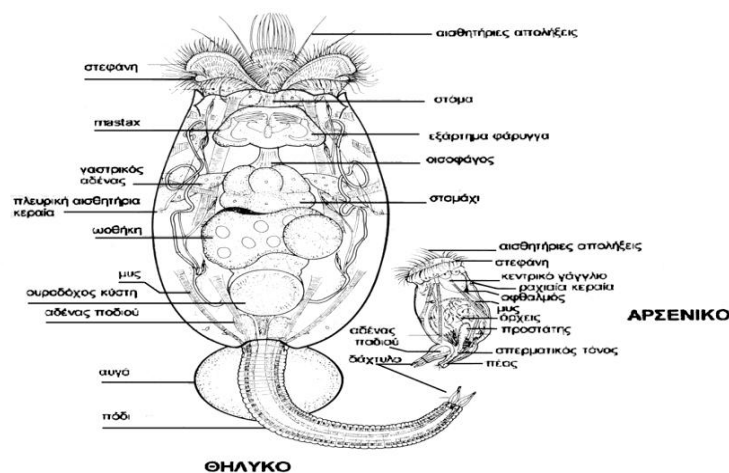
Τα τροχοφόρα, τα οποία ανήκουν στα μικρότερα Μετάζωα, είναι πλαγκτονικοί οργανισμοί που ανήκουν στο φύλο Rotifera και το είδος που χρησιμοποιείται στις υδατοκαλλιέργειες είναι το *Brachionus plicatilis*. Τα τροχοφόρα (Ελλην. τροχός + φέρω) οφείλουν το όνομα τους στη χαρακτηριστική στεφάνη βλεφαρίδων, η οποία όταν δονείται δίνει την εντύπωση τροχού που περιστρέφεται. Το μήκος τους κυμαίνεται από 40 μm μέχρι 2 mm, αλλά συνήθως ποικίλλουν μεταξύ 100 και 300 μm. Συνολικά υπάρχουν περίπου 2.000 είδη τροχοφόρων (Hickman *et al.*, 2011).

Τα τροχοφόρα χαρακτηρίζονται από συγκυτιακή δομή και ευτελική ανάπτυξη. Το συγκύτιο έγκειται στην απουσία κυτταρικών δομών τόσο μεταξύ των πυρήνων, όσο και μεταξύ των οργάνων τα οποία βρίσκονται ως μια μάζα στο κυτταρόπλασμα. Η ευτελική ανάπτυξη επιτυγχάνεται μέσω αύξησης του μεγέθους και όχι του αριθμού των πυρήνων. Η αύξηση του αριθμού των κυττάρων συμβαίνει μόνο κατά την ανάπτυξη του εμβρύου και μετά την εκκόλαψη το άτομο μεγαλώνει με διόγκωση του κυτταροπλάσματος (Kostoroulou, 2007).

Το διαφανές σώμα των τροχοφόρων αποτελείται από τρία μέρη, το κεφάλι, τον κορμό και το πόδι (Εικόνα 2.1). Στο κεφάλι βρίσκεται η βλεφαριδοφόρος στεφάνη που χρησιμοποιείται για την κίνηση και την πρόσληψη της τροφής, το στόμα και τα αισθητήρια όργανα αφής και όρασης. Στον κορμό βρίσκονται ο πεπτικός σωλήνας, το απεκκριτικό όργανο, το γεννητικό όργανο, ο εγκέφαλος και οι μύες. Τέλος το συσταλό πόδι καταλήγει σε δύο δάχτυλα που βοηθούν την προσκόλληση του ζώου στο υπόστρωμα.

Τα τροχοφόρα δεν διαθέτουν αναπνευστικό σύστημα και η πρόσληψη οξυγόνου γίνεται μέσω της εξωτερικής επιφάνειάς τους (Ruttner-Kolisko, 1974). Τα τροχοφόρα δεν διαθέτουν ούτε κυκλοφορικό σύστημα. Οι μεταβολικές ουσίες μεταφέρονται με συσπάσεις μέσα στη σωματική κοιλότητα και στη συνέχεια τα προϊόντα του μεταβολισμού μεταφέρονται μέσω ενός ρεύματος στην κύστη η οποία αδειάζει μέσω συσπάσεων.

Τα αρσενικά τροχοφόρα είναι μικρότερα σε μέγεθος και απλούστερα σε δομή από τα θηλυκά, και καθώς δεν τρέφονται, ζουν μόνο 72 ώρες περίπου.



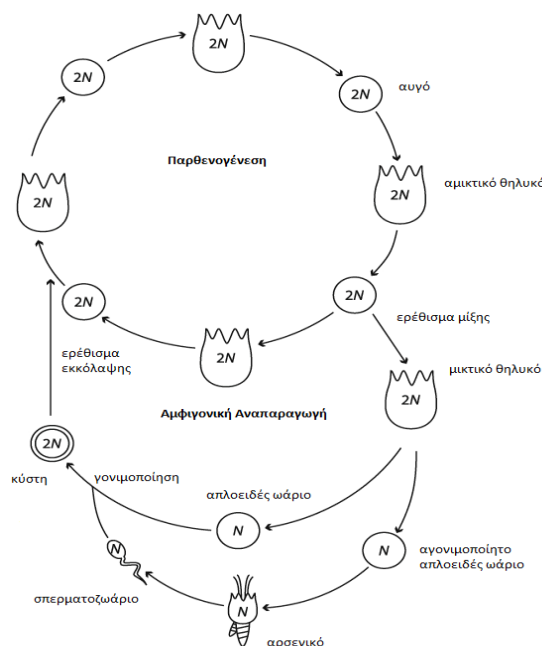
Εικόνα 2.1. Απεικόνιση θηλυκού και αρσενικού ατόμου (Nogrady *et al.*, 1993)

Τα τροχοφόρα αναπαράγονται με κυκλική παρθενογένεση. Ο πληθυσμός αποτελείται αποκλειστικά από παρθενογενετικά (αμικτικά) θηλυκά, τα οποία με μίτωση παράγουν διπλοειδή αυγά που αναπτύσσονται σε αμικτικά θηλυκά και έτσι ο κύκλος επαναλαμβάνεται.

Κάτω όμως από ορισμένες συνθήκες ξεκινάει η αμφιγονική αναπαραγωγή. Τότε τα αμικτικά θηλυκά παράγουν διπλοειδή αυγά τα οποία αναπτύσσονται σε μικτικά θηλυκά. Τα μικτικά θηλυκά παράγουν με μείωση απλοειδή αυγά τα οποία αναπτύσσονται σε αρσενικά άτομα. Ο ρόλος των αρσενικών ατόμων είναι να γονιμοποιήσουν μικτικά θηλυκά. Εάν αυτό επιτευχθεί, προκύπτουν αυγά διάπαισης (κύστεις) τα οποία δεν εκκολάπτονται άμεσα και είναι ανθεκτικά σε αντίξοες συνθήκες. Όταν δοθεί το κατάλληλο ερέθισμα οι κύστες εκκολάπτονται σε αμικτικά θηλυκά και ξεκινά η παρθενογενετική φάση του αναπαραγωγικού κύκλου (Εικόνα 2.2).

Αρκετοί παράγοντες έχουν συνδεθεί με την έναρξη της αμφιγονικής αναπαραγωγής, όπως μείωση της θερμοκρασίας (Hino *et al.*, 1984) και της αλατότητας (Lubzens, 1981) ή αλλαγή στην ποσότητα και ποιότητα της προσφερόμενης τροφής (Snell *et al.*, 1988). Αυτοί οι παράγοντες ευνοούν τη μίξη χωρίς όμως να σημαίνει ότι την προκαλούν. Το ερέθισμα που είναι υπεύθυνο για την πρόκληση της μίξης έχει βρεθεί ότι είναι η πολύ υψηλή πυκνότητα του πληθυσμού (Hino *et al.*, 1976; Snell *et al.*, 1988; Carmona *et al.*, 1993, 1995).

Τα αμικτικά και μικτικά θηλυκά δεν διαφέρουν μορφολογικά και ο μόνος τρόπος διαχωρισμού είναι μέσω των αυγών και των απογόνων τους. Τα μικτικά αυγά που δεν είναι γονιμοποιημένα και τα οποία θα δώσουν αρσενικά άτομα, είναι μικρά σε μέγεθος και πολυάριθμα ανά θηλυκό. Οι κύστεις είναι μεγάλες σε μέγεθος, σκουρόχρωμες και απαντώνται πάντα μεμονωμένες. Τα αμικτικά αυγά είναι ενδιάμεσα σε μέγεθος και δεν ξεπερνούν τα τέσσερα ανά θηλυκό (Hickman *et al.*, 2011).



Εικόνα 2.2. Απεικόνιση παρθενογενετικής και αμφιγονικής αναπαραγωγής (Hickman *et al.*, 2011)

### 2.1.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ

Ο πειραματικός σχεδιασμός βασίστηκε σε μεθόδους που αναφέρονται από προηγούμενες μελέτες καλλιέργειας τροχοφόρων στη βιβλιογραφία (Kostoroulou *et al.*, 2007, 2012; Ciroso-Perez *et al.*, 2001, 2004; Yufere *et al.*, 1995; Yoshinaga *et al.*, 2003).

Τα τροχοφόρα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη προήλθαν από τις καλλιέργειες του εργαστηρίου Ζωντανής Τροφής του Ινστιτούτου Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών του Ελληνικού Κέντρου Θαλάσσιων Ερευνών στο Ηράκλειο Κρήτης.

Στους χειρισμούς χρησιμοποιήθηκαν τροχοφόρα από τις δεξαμενές του εργαστηρίου (1.600 L), ενώ έγιναν και κάποιες δοκιμές με τροχοφόρα από τις κάθετες κολώνες (blooms) του εργαστηρίου (200 L). Η διαφορά τους, εκτός από την πυκνότητα, έγκειται στις διατροφικές τους συνθήκες. Στις κάθετες κολώνες τα τροχοφόρα τρέφονται με ζωντανό φυτοπλαγκτό, ενώ στις δεξαμενές τρέφονται με φυτοπλαγκτό σε συμπυκνωμένη μορφή ("πάστα" *Chlorella sp.*, INVE HELLAS) και ξηρή μαγιά *Saccharomyces cerevisiae* (SAF Instant).

Πριν την καταμέτρηση και εισαγωγή των τροχοφόρων στις φιάλες φιλτράρονταν με ένα δίχτυ 50 μm ώστε να απομακρυνθούν τυχόν βλεφαριδωτά που ίσως υπήρχαν στις καλλιέργειες του εργαστηρίου. Αυτό ελέγχονταν γιατί η παρουσία των βλεφαριδωτών στις καλλιέργειες επηρεάζει σημαντικά την αύξηση των τροχοφόρων. Σε περίπτωση που εμφανίζονταν βλεφαριδωτά σε υψηλή πυκνότητα μέσα στις φιάλες κατά τις πρώτες ημέρες της καλλιέργειας, τα πειράματα τερματίζονταν καθώς η υψηλή πυκνότητα των βλεφαριδωτών λειτουργούσε ανασταλτικά για τον πληθυσμό των τροχοφόρων.

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα στα οποία χρησιμοποιήθηκαν δύο σιτηρέσια, που αποτελούν αντιπροσωπευτικά δείγματα των τύπων τροφής που χρησιμοποιούνται στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς. Στο πρώτο πείραμα χρησιμοποιήθηκε μόνο φυτοπλαγκτό σε συμπυκνωμένη μορφή (“πάστα” *Chlorella sp.*, INVE HELLAS) σε διαφορετικές πυκνότητες και στο δεύτερο πείραμα χρησιμοποιήθηκε ένας συνδυασμός πάστας και ξηρής μαγιάς *Saccharomyces cerevisiae* (SAF Instant) με την εισαγωγή της μαγιάς σε διαφορετικές ημέρες άρα και σε διαφορετική ποσότητα.

Η καλλιέργεια των τροχοφόρων πραγματοποιήθηκε σε Erlenmeyer κωνικές φιάλες χωρητικότητας 250 mL. Κάθε φιάλη περιείχε 200 mL αραιωμένο θαλασσινό νερό αλατότητας  $S = 28 \text{ ‰}$  σε θερμοκρασία  $T = 25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ . Στον χώρο υπήρχε φυσικός φωτισμός και μέσα στις φιάλες ήπιος αερισμός. Για κάθε χειρισμό πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις. Σε κάποιους από τους χειρισμούς οι φιάλες ήταν τοποθετημένες πάνω σε ένα orbital shaker (100 rpm) για καλύτερη ανακίνηση (Εικόνα 2.3).



Εικόνα 2.3. Πειραματικές κωνικές φιάλες (φωτογραφίες: Δράκου Σοφία)

Η αρχική πυκνότητα των τροχοφόρων που εισάγονταν σε κάθε φιάλη και των δύο πειραμάτων ήταν 1 άτομο/mL ενώ η πυκνότητα της τροφής τους (“πάστα” φυτοπλαγκτού ή “πάστα” φυτοπλαγκτού και μαγιά) ήταν διαφορετική σε κάθε χειρισμό των πειραμάτων και παρουσιάζεται στον Πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1. Πυκνότητα και τύπος τροφής που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε χειρισμό στα δύο πειράματα (n=3)

Πείραμα	Χειρισμός	Πάστα φυτοπλαγκτού ( <i>Chlorella sp</i> )	Μαγιά ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )
1	1	πυκνότητα $10^7$ κύτταρα/mL	—
	2	πυκνότητα $10^8$ κύτταρα/mL	—
	3	πυκνότητα $10^9$ κύτταρα/mL	—
2	1	πυκνότητα $10^8$ κύτταρα/mL	προσθήκη την Ημέρα 2 (πυκνότητα $0.5 \text{ g}/10^6$ τροχοφόρα)
	2	πυκνότητα $10^8$ κύτταρα/mL	προσθήκη την Ημέρα 4 (πυκνότητα $0.5 \text{ g}/10^6$ τροχοφόρα)
	3	πυκνότητα $10^8$ κύτταρα/mL	προσθήκη την Ημέρα 8 (πυκνότητα $0.5 \text{ g}/10^6$ τροχοφόρα)

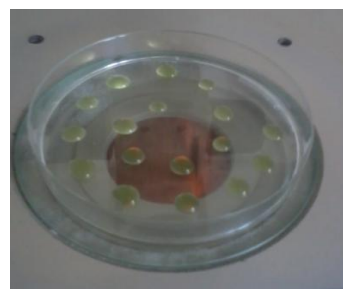
Σε κανέναν από τους χειρισμούς δεν πραγματοποιήθηκε εκ νέου εισαγωγή “πάστας” φυτοπλαγκτού. Η εισαγωγή της “πάστας” γινόταν πάντα την Ημέρα 0 του πειράματος, ενώ η εισαγωγή της μαγιάς γινόταν την Ημέρα 2, 4 ή 8 ανάλογα με τον χειρισμό, όπως αναφέρονται στον Πίνακα 2.1.

Το Πείραμα 1 πραγματοποιήθηκε σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές, τους μήνες Ιούλιο και Αύγουστο του 2013 και τους μήνες Ιούνιο και Ιούλιο του 2014. Το Πείραμα 2 πραγματοποιήθηκε μόνο τους μήνες Ιούλιο και Αύγουστο του 2013.

Ιδιαίτερη προσοχή δινόταν για να κρατηθούν σταθερές οι κύριες φυσικοχημικές παράμετροι καθ’ όλη τη διάρκεια των πειραμάτων. Καθημερινά γινόταν μέτρηση της θερμοκρασίας, του οξυγόνου και του pH με το όργανο HQ40d (Hach, Germany) και της αλατότητας με το διαθλασίμετρο Atago (S/Mill, Atago CO LTD, Japan). Σε τακτά χρονικά διαστήματα, συνήθως κάθε δύο ημέρες, γινόταν μέτρηση των επιπέδων αμμωνίας, γιατί η αύξηση της αμμωνίας πέραν ενός ορισμένου ορίου οδηγεί σε σταδιακή μείωση της κινητικότητας των τροχοφόρων και συνεπώς της γονιμότητάς τους.

Καθημερινά την ίδια ώρα (10:00 πμ.) γινόταν λήψη δείγματος 1 mL από κάθε κωνική φιάλη. Η λήψη του δείγματος γινόταν μετά από ελαφριά ανακίνηση της φιάλης καθώς και ανάδευση με την πιπέτα.

Από τα 500 μL αυτού του δείγματος γινόταν η καταμέτρηση της πυκνότητας των τροχοφόρων στο στερεοσκόπιο (Olympus SZ40, Olympus, Germany). Στην ανάλυση των τροχοφόρων γινόταν καταμέτρηση των θηλυκών ατόμων, των αυγών (ελεύθερων ή προσαρτημένων στα θηλυκά), των νεκρών ατόμων (με κριτήριο την όψη και την κίνηση του σώματός τους) και των αυγών που φέρουν αυτά καθώς και η τυχόν παρουσία αρσενικών ατόμων (Εικόνα 2.4).



Εικόνα 2.4. Καταμέτρηση τροχοφόρων

Από τα υπόλοιπα 500 μL του δείγματος γινόταν η καταμέτρηση της συγκέντρωσης της τροφής στο μικροσκόπιο (Olympus CH2, Olympus, Germany). Ο προσδιορισμός του αριθμού των κυττάρων φυτοπλαγκτού και μαγιάς γινόταν με τη μέθοδο του αιματοκυτταρόμετρου τύπου Neubauer (Εικόνα 2.5). Πριν από την έναρξη των πειραμάτων έγινε καταμέτρηση των κυττάρων της “πάστας” για τον προσδιορισμό της πυκνότητάς της, η οποία υπολογίστηκε  $10^{10}$  κύτταρα/mL, και συλλογή δειγμάτων όγκου 2 mL τα οποία οδηγήθηκαν σε κλίβανο στους 65 °C για 24 ώρες για τον προσδιορισμό της ξηρής βιομάζας, η οποία υπολογίστηκε  $0,04 \cdot 10^{-10}$  g/κύτταρο.



Εικόνα 2.5. Καταμέτρηση κυττάρων φυτοπλαγκτού & μαγιάς

Τα πειράματα τερματίζονταν όταν ο πληθυσμός ήταν σε αρκετά χαμηλά επίπεδα, συνήθως μετά από 11 – 15 ημέρες.

Στον Χειρισμό 3 του Πειράματος 1, στον οποίο η πάστα φυτοπλαγκτού χορηγήθηκε σε πυκνότητα  $10^9$  cells/mL, δεν παρατηρήθηκε κανένα τροχοφόρο σε καμία ημέρα του πειράματος ενώ παράλληλα μετρήθηκαν πολύ χαμηλές τιμές του οξυγόνου (<1 mg/L).

Για να ελέγξουμε λοιπόν εάν το οξυγόνο ήταν ο περιοριστικός παράγοντας, έγινε εισαγωγή οξυγόνου στις φιάλες μέσω μιας φιάλης που περιείχε υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) σε συγκέντρωση 50% και ρινίδια σιδήρου. Η αντίδραση αυτή απελευθερώνει νερό και οξυγόνο.

Ο χειρισμός αυτός πραγματοποιήθηκε σε δύο χρονικές στιγμές. Η διαφορά ήταν ότι την πρώτη φορά υπήρχε μία φιάλη με το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και τα ρινίδια σιδήρου η οποία διοχέτευε με οξυγόνο και τις τρεις φιάλες του πειράματος ενώ την δεύτερη φορά υπήρχαν τρεις διαφορετικές φιάλες με το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και τα ρινίδια σιδήρου ώστε η κάθε μία φιάλη του πειράματος να τροφοδοτείται από την δική της “φιάλη οξυγόνου”. Τέλος στη δεύτερη δοκιμή οι φιάλες ήταν τοποθετημένες πάνω σε ένα orbital shaker ενώ στην πρώτη όχι (Εικόνα 2.6). Τα τροχοφόρα που χρησιμοποιήθηκαν σε όλες τις δοκιμές του συγκεκριμένου χειρισμού ήταν από τις δεξαμενές του εργαστηρίου.



Εικόνα 2.6. Πειραματικές κωνικές φιάλες, Πείραμα 1 – Χειρισμός 3 (φωτογραφίες: Δράκου Σοφία)

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ένας συμπληρωματικός χειρισμός 6 ωρών, προκειμένου να ελέγχουμε κάθε μία ώρα τη θνησιμότητα και την κατάσταση των ζωντανών τροχοφόρων. Η φιάλη περιείχε 200 mL νερό αλατότητας 28 ‰ σε θερμοκρασία  $T = 25$  °C, χωρίς εισαγωγή οξυγόνου ή αέρα, αλλά με έντονη κίνηση πάνω στο orbital shaker. Η πυκνότητα της “πάστας” φυτοπλαγκτού ήταν  $10^9$  cells/mL και των τροχοφόρων 10 άτομα/mL. Τα τροχοφόρα που συλλέγονταν με την πιπέτα κάθε μία ώρα παρατηρούνταν στο μικροσκόπιο.

## 2.2. ΘΕΩΡΙΑ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟΥ ΙΣΟΖΥΓΙΟΥ (DEB THEORY)

### 2.2.1. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΘΕΩΡΙΑΣ

Οι βασικές αρχές της DEB θεωρίας είναι οι νόμοι διατήρησης της μάζας και της ενέργειας. Η εφαρμογή αυτών των νόμων σε συστήματα ζωντανών οργανισμών δεν είναι πάντα εύκολη. Τα μοντέλα DEB αποτελούνται από κανόνες βασισμένους σε φυσιολογικούς μηχανισμούς, που περιγράφουν την πρόσληψη και τη χρήση της ενέργειας από έναν οργανισμό (Kooijman, 2001; Nisbet *et al.*, 2000). Οι ρυθμοί με τους οποίους ο οργανισμός αφομοιώνει και διαχειρίζεται την ενέργεια για τις διάφορες μεταβολικές διεργασίες περιγράφονται με συνήθεις διαφορικές εξισώσεις. Αφού οι ρυθμοί εξαρτώνται από την κατάσταση του οργανισμού (ηλικία, μέγεθος) και από τις περιβαλλοντικές μεταβλητές (διαθεσιμότητα τροφής, θερμοκρασία) οι εξισώσεις ενός μοντέλου DEB αναπαριστούν την πορεία του οργανισμού σε ένα δυναμικά μεταβαλλόμενο περιβάλλον.

Οι περιβαλλοντικές μεταβλητές είναι μεγέθη που περιγράφουν τις συνθήκες κάτω από τις οποίες αναπτύσσεται ο οργανισμός. Τέτοια μεγέθη είναι η πυκνότητα της τροφής, η θερμοκρασία του περιβάλλοντος, η αλατότητα κ.α. Οι περιβαλλοντικές μεταβλητές μπορούν να παραμένουν σταθερές ή να μεταβάλλονται.

Ένα άτομο περιγράφεται από τρεις μεταβλητές, τον όγκο δομικής μάζας ( $V$ ), το ενεργειακό απόθεμα ( $E$ ) και την ωριμότητα, που εκφράζεται σε όρους επιπέδου ωριμότητας ( $E_H$ ). Ο όγκος δομικής μάζας, ή αλλιώς βιο-όγκος, είναι ο όγκος των δομικών και λειτουργικών ιστών. Ένας όγκος (οργανισμός) που ζει μέσα σε έναν άλλο όγκο (περιβάλλον) είναι περιορισμένος να επικοινωνεί με αυτόν μέσω της επιφάνειάς του. Έτσι η σωματική επιφάνεια (surface area) του οργανισμού είναι συνάρτηση του βιο-όγκου του. Το ενεργειακό απόθεμα αφορά την ενέργεια που βρίσκεται αποθηκευμένη στους ιστούς. Τα ενεργειακά αποθέματα χρησιμοποιούνται για τις φυσιολογικές λειτουργίες των κυττάρων και αναπληρώνονται συνεχώς κατά την διάρκεια της κυτταρικής λειτουργίας. Οι δυναμικές των αποθεμάτων αποτελούν τον πυρήνα του μοντέλου DEB. Τέλος η ωριμότητα σχετίζεται με το ηλικιακό στάδιο στο οποίο βρίσκεται ο οργανισμός την κάθε στιγμή.

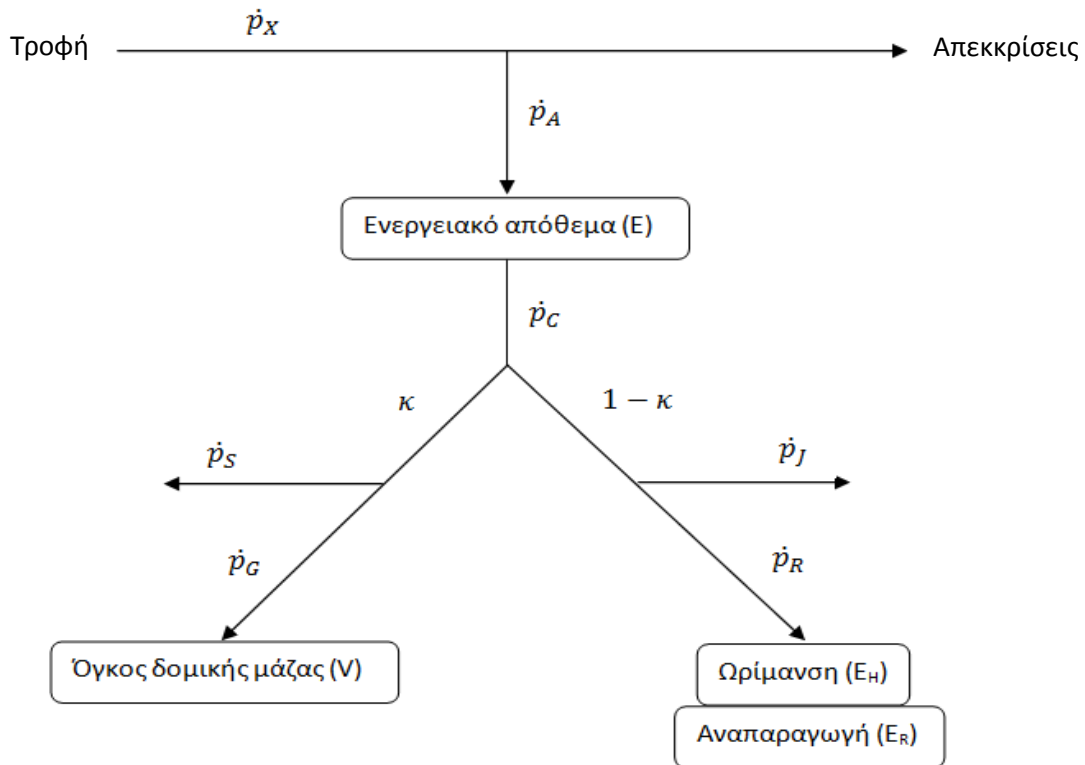


### 2.2.2. ΤΟ ΑΤΟΜΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟΥ ΙΣΟΖΥΓΙΟΥ

Το βασικό μοντέλο DEB (standard DEB model) θεωρεί ένα τύπο τροφής και αναφέρεται σε ισόμορφους οργανισμούς, δηλαδή οργανισμούς που δεν αλλάζουν σχήμα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής τους.

Ένας οργανισμός αντλεί ενέργεια από την τροφή η οποία προστίθεται στο αποθεματικό και στη συνέχεια χρησιμοποιείται για την αύξηση του όγκου δομικής μάζας, τη διατήρηση, την ανάπτυξη ή την αναπαραγωγή. Ένα σταθερό κλάσμα  $\kappa$  της ενέργειας που ρέει έξω από το αποθεματικό διατίθενται για σωματικές λειτουργίες (σωματική διατήρηση και αύξηση) και το υπόλοιπο μέρος  $1 - \kappa$  διατίθενται για αναπτυξιακές και αναπαραγωγικές λειτουργίες (διατήρηση ωριμότητας και αναπαραγωγή) (Εικόνα 2.7).

Η διατήρηση, δηλαδή η διατήρηση των δομικών ιστών του κυττάρου, είναι ένα σύνολο διαδικασιών όπως διατήρηση των μεμβρανών, ορμονική ρύθμιση κ.α., που επιτρέπει στους οργανισμούς να παραμείνουν ζωντανοί. Η αύξηση του όγκου δομικής μάζας, δηλαδή η αύξηση των δομικών και λειτουργικών ιστών του οργανισμού, είναι μια διαδικασία που έπεται της διατήρησης. Ως εκ τούτου η αύξηση σταματάει όταν όλα τα αποθέματα διατίθενται για λειτουργίες που απαιτούνται για τη διατήρηση.



Εικόνα 2.7. Σχηματική απεικόνιση των κύριων μεταβολικών διεργασιών όπως ορίζεται από τη θεωρία DEB



Η πρόσληψη της τροφής  $\dot{p}_x$  θεωρείται ότι ακολουθεί μια σχέση λειτουργικής απόκρισης με την πυκνότητα της τροφής και ότι είναι ανάλογη με την επιφάνεια του οργανισμού. Η λειτουργική απόκριση  $f$ , δηλαδή ο ρυθμός τροφοληψίας ως κλάσμα του μέγιστου ρυθμού τροφοληψίας, είναι μία τιμή μεταξύ 0 και 1 (με το 0 να αντικατοπτρίζει την ασιτία και το 1 την σίτιση κατά βούληση) και χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση της διαθεσιμότητας της τροφής.

Η αφομοίωση  $\dot{p}_A$  είναι η διαδικασία που μετατρέπει την τροφή σε αποθεματική ενέργεια. Σε ένα έμβρυο, που χρησιμοποιεί τα ενεργειακά αποθέματα για να αναπτυχθεί, ισχύει ότι η τιμή της αφομοίωσης  $\dot{p}_A$  είναι μηδέν.

Η ενέργεια που διατίθεται για την αύξηση του όγκου δομικής μάζας  $\dot{p}_G$  είναι ένα σταθερό κλάσμα του ρυθμού καταβολισμού των ενεργειακών αποθεμάτων  $k\dot{p}_C$ , μετά την αφαίρεση του κόστους της ενέργειας για τη διατήρηση του σώματος  $\dot{p}_S$ .

Το επίπεδο ωριμότητας  $E_H$  αυξάνεται με την κατανομή του υπόλοιπου κλάσματος του ρυθμού καταβολισμού των ενεργειακών αποθεμάτων  $(1 - \kappa)\dot{p}_C$  μετά την αφαίρεση για τη διατήρηση της ωριμότητας  $\dot{p}_J$ . Στους ενήλικες η ενέργεια διατίθεται στην αναπαραγωγή αντί στην ωρίμανση.

Το DEB μοντέλο διαχωρίζει τον κύκλο ζωής σε τρία στάδια: το εμβρυϊκό όπου ο οργανισμός ούτε τρέφεται ούτε αναπαράγει, το νεανικό όπου τρέφεται αλλά δεν αναπαράγει και το ενήλικο όπου τρέφεται και αναπαράγει.

Η μετάβαση από το ένα στάδιο στο άλλο προκύπτει όταν η αθροιστική ενεργειακή επένδυση στην ωρίμανση ( $E_H$ ) υπερβεί κάποια συγκεκριμένα όρια. Για τη γέννηση, δηλαδή την έναρξη της τροφοληψίας, η μεταβλητή  $E_H$  πρέπει να φτάσει την τιμή  $E_H^b$  και για την ενηλικίωση την τιμή  $E_H^p$ . Η ωρίμανση, που ορίζεται ως μια μορφή μεταβολικής μάθησης, σταματά κατά την ενηλικίωση, δηλαδή την έναρξη του ενήλικου σταδίου, μετά την οποία ξεκινά η διάθεση της ενέργειας για την αναπαραγωγή.

Οι μεταβλητές κατάστασης που περιγράφουν τον οργανισμό καθώς και οι ροές και οι δυναμικές του πρότυπου μοντέλου DEB παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.2 και οι παράμετροι του μοντέλου δίνονται στον Πίνακα 2.3. Από την συλλογή που υπάρχει ελεύθερη στο διαδίκτυο ([http://www.bio.vu.nl/thb/deb/deblab/add\\_my\\_pet/](http://www.bio.vu.nl/thb/deb/deblab/add_my_pet/)) για το είδος *Brachionus plicatilis* προέρχονται οι τιμές των παρακάτω παραμέτρων.

**Πίνακας 2.2.** Μεταβλητές κατάστασης, ροές και δυναμικές που ορίζουν το βασικό μοντέλο DEB για έναν ισόμορφο οργανισμό που τρέφεται με τροφή σταθερής σύνθεσης. Οι ποσότητες που εκφράζονται ανά μονάδα δομικού όγκου έχουν αγκύλες [] και οι ποσότητες που εκφράζονται ανά μονάδα δομικής επιφάνειας έχουν άγκιστρα {}.

Σύμβολο	Ερμηνεία	Τύπος
<b>Μεταβλητές κατάστασης</b>		
$V$	Όγκος δομικής μάζας	
$L$	Δομικό μήκος	$V^{1/3}$
$E$	Ενεργειακό απόθεμα	
$[E]$	Πυκνότητα ενεργειακού αποθέματος	$E/V$
$E_H$	Ενέργεια που επενδύεται στην ωρίμανση	
$E_R$	Ενέργεια που επενδύεται στην αναπαραγωγή	
<b>Ροές</b>		
$\dot{p}_A$	Ρυθμός αφομοίωσης	$\{\dot{p}_{Am}\}fL^2$
$\dot{p}_C$	Ρυθμός καταβολισμού	$L^3[E](v/L - \dot{r})$ με $\dot{r} = \frac{\kappa[E]\dot{v}/L - [\dot{p}_S]}{[E_G] + [E]\kappa}$
$\dot{p}_S$	Ρυθμός σωματικής διατήρησης	$[\dot{p}_M]L^3 + \{\dot{p}_r\}L^2$
$\dot{p}_J$	Ρυθμός διατήρησης ωριμότητας	$\dot{k}_J \min(E_H, E_H^p)$
$\dot{p}_G$	Ρυθμός αύξησης	$\kappa\dot{p}_C - \dot{p}_S$
$\dot{p}_R$	Ροή ενέργειας στην ωρίμανση/αναπαραγωγή	$(1 - \kappa)\dot{p}_C - \dot{p}_J$
<b>Δυναμικές</b>		
$\frac{d}{dt} V = \dot{r}V$		
$\frac{d}{dt} [E] = [\dot{p}_A] - [E]\dot{v}/L$		
$\frac{d}{dt} E_H = \dot{p}_R \quad , \quad E_H < E_H^p$		
$\frac{d}{dt} E_R = \dot{p}_R \quad , \quad E_H \geq E_H^p$		

**Πίνακας 2.3.** Παράμετροι του βασικού μοντέλου DEB για θερμοκρασία 25 °C. Οι ποσότητες που εκφράζονται ανά μονάδα δομικού όγκου έχουν αγκύλες {} και οι ποσότητες που εκφράζονται ανά μονάδα δομικής επιφάνειας έχουν άγκιστρα {}.

Σύμβολο	Ερμηνεία	Μονάδες	Τιμή
<b>Βασικές παράμετροι</b>			
$\{F_m\}$	Ειδικός ρυθμός αναζήτησης	$m^3 cm^{-2} d^{-1}$	0,1358
$\{\dot{p}_{Am}\}$	Ειδικός μέγιστος ρυθμός αφομοίωσης	$J cm^{-2} d^{-1}$	9,8
$\dot{v}$	Ενεργειακή αγωγιμότητα	$cm d^{-1}$	0,03
$\kappa$	Ποσοστό ενέργειας που κατανέμεται στην αύξηση	–	0,66
$\kappa_x$	Αποδοτικότητα πέψης	–	0,7
$\kappa_R$	Αναπαραγωγική ικανότητα	–	0,95
$[\dot{p}_M]$	Ρυθμός σωματικής διατήρησης σε σχέση με τον όγκο	$J cm^{-3} d^{-1}$	480,2
$\dot{k}_j$	Συντελεστής ειδικού ρυθμού διατήρησης ωριμότητας	$d^{-1}$	0,001
$[E_G]$	Ειδικό κόστος για τη δομή	$J cm^{-3}$	1438
$E_H^b / E_H^p$	Όριο ωριμότητας για τη γέννηση / ενηλικίωση	$J$	4,132e-5 1,225e-4
$h_a$	Weibull επιτάχυνση γήρανσης	$d^{-2}$	0,0005871
$s_G$	Gompertz συντελεστής στρες	–	0,0001
<b>Βοηθητικές παράμετροι</b>			
$T_A$	Arrhenius θερμοκρασία	$K$	8000
<b>Άλλες παράμετροι</b>			
$z$	Συντελεστής zoom: $L_m/L_m^{ref}$ , $L_m^{ref} = 1 cm$	–	0,01354
$f$	Λειτουργική απόκριση	–	1

Η θερμοκρασία του νερού της καλλιέργειας έχει σημαντικό αντίκτυπο στη δυναμική του πληθυσμού των τροχοφόρων, αφού επηρεάζει τον ρυθμό όλων των μεταβολικών διεργασιών. Γενικά οι ρυθμοί αυξάνονται με αύξηση της θερμοκρασίας μέχρι ένα βέλτιστο επίπεδο, πέρα από το οποίο επέρχεται αναστολή. Στο μοντέλο οι τιμές των παραμέτρων δίνονται για μια θερμοκρασία αναφοράς  $T_1$ , ενώ για άλλες τιμές της θερμοκρασίας πολλαπλασιάζονται με έναν συντελεστή διόρθωσης  $T_C$  που υπολογίζεται από τον τύπο

$$T_C = \exp\left(\frac{T_A}{T_1} - \frac{T_A}{T_w}\right)$$

όπου  $T_w$  είναι η θερμοκρασία του νερού της καλλιέργειας,  $T_1$  είναι η θερμοκρασία αναφοράς και  $T_A$  είναι η Arrhenius θερμοκρασία, που καθορίζει το πόσο απότομα αυξάνεται ο συντελεστής διόρθωσης (Kooijman, 2001). Ο συντελεστής διόρθωσης ισούται με 1 για τη θερμοκρασία αναφοράς.

### 2.2.3. ΤΟ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟΥ ΙΣΟΖΥΓΙΟΥ

Προκειμένου να επιτευχθεί η περαιτέρω χρήση της θεωρίας δυναμικού ενεργειακού ισοζυγίου στα πλαίσια του πληθυσμού, έχει αναπτυχθεί ένα εξατομικευμένο πληθυσμιακό μοντέλο (individual-based model – IBM) που βασίζεται στη θεωρία DEB. Το μοντέλο αυτό, το οποίο υλοποιείται μέσω της πλατφόρμας λογισμικού NetLogo, χρησιμοποιεί τη θεωρία DEB προκειμένου να εκφράσει τη διατήρηση, την αύξηση, την ωρίμανση και την αναπαραγωγή των μεμονωμένων ατόμων. Έτσι το εξατομικευμένο αυτό μοντέλο και η θεωρία δυναμικού ενεργειακού ισοζυγίου μπορούν να χρησιμοποιηθούν μαζί ώστε να διερευνηθούν ιδιότητες τόσο των ατομικών χαρακτηριστικών του κύκλου ζωής όσο και της δυναμικής του πληθυσμού.

Το πληθυσμιακό μοντέλο βασίζεται στις παρακάτω υποθέσεις. Αρχικά ότι η συγκέντρωση της τροφής είναι ομοιογενώς κατανομημένη σε όλη τη στήλη του νερού. Επίσης ότι τα άτομα δεν επηρεάζουν το ένα το άλλο εκτός από τον ανταγωνισμό για την τροφή. Αυτή είναι μια υπόθεση που δεν ισχύει σε υψηλές πυκνότητες του πληθυσμού των τροχοφόρων λόγω της θνησιμότητας εξαιτίας των τοξικών συνθηκών που δημιουργούνται στο περιβάλλον τους (Yoshinaga *et al.*, 2001).

Σε αυτό το μοντέλο το είδος καθορίζεται από οκτώ DEB παραμέτρους, με δύο επιπλέον παραμέτρους για το υπομοντέλο γήρανσης, δύο παραμέτρους που απαιτούνται για το υπομοντέλο τροφοληψίας και δύο παραμέτρους ( $r$  και  $K$ ) που περιγράφουν την αύξηση του πληθυσμού του θηράματος σε περίπτωση λογιστικής αύξησης.

Οι τιμές των DEB παραμέτρων είναι αυτές που εξήχθησαν από το ατομικό DEB μοντέλο (αναφέρονται ως DEB-IBM parameters), κάποιες από τις οποίες εισάγουμε εμείς και οι υπόλοιπες υπολογίζονται από τον κώδικα.

Στη συνέχεια ζητούνται δύο παράμετροι που σχετίζονται με τη γήρανση οι οποίες χρησιμοποιούνται εάν το συγκεκριμένο υπομοντέλο έχει ενεργοποιηθεί και μία παράμετρος που αναφέρεται ως σταθερός ρυθμός ημερήσιας θνησιμότητας που χρησιμοποιείται εάν το υπομοντέλο γήρανσης είναι απενεργοποιημένο (αναφέρονται ως ageing related parameters)

Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ένας συντελεστής ενδοειδικής διακύμανσης μεταξύ των DEB παραμέτρων. Αν ο συντελεστής οριστεί στο 0, τότε θεωρείται ότι δεν υπάρχει ενδοειδική διακύμανση.

Τέλος όσον αφορά τις παραμέτρους που σχετίζονται με τη σίτιση (αναφέρονται ως feeding related parameters) μπορούμε αρχικά να επιλέξουμε εάν η ποσότητα της τροφής θα μεταβάλλεται σταθερά ή δυναμικά, στη συνέχεια να ορίσουμε τη λειτουργική απόκριση σε ένα εύρος τιμών από 0 έως 1 και τέλος, σε περίπτωση λογιστικής μεταβολής του πληθυσμού του θηράματος, πρέπει να οριστούν δύο ακόμα παράμετροι που αφορούν το μέγιστο ρυθμό αναζήτησης της τροφής και το μέγιστο ρυθμό πρόσληψής της. Ο πληθυσμός του θηράματος χαρακτηρίζεται από την πυκνότητα  $X$ , τον ρυθμό αύξησης  $X_r$  και τη φέρουσα ικανότητα  $X_K$ .

Η λειτουργική απόκριση  $f$  εξαρτάται από τη συγκέντρωση της τροφής και εκφράζεται από τον τύπο

$$f = \frac{X}{X + X_K}$$

όπου  $X_K = \{j_{XAm}\} / \{F_m\}$  ( $g L^{-1}$ ) είναι η σταθερά ημι-κορεσμού για την πρόσληψη της τροφής. Αυτό είναι ένα είδος Holling Type 2 λειτουργικής απόκρισης (Holling, 1965). Η λειτουργική απόκριση, η οποία εκφράζει το ρυθμό τροφοληψίας ως κλάσμα του μέγιστου ρυθμού τροφοληψίας ενός ατόμου συγκεκριμένου μεγέθους, είναι μια τιμή μεταξύ 0 και 1 (με το 0 να αντικατοπτρίζει την ασιτία και το 1 την σίτιση κατά βούληση) και χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση της διαθεσιμότητας της τροφής.

Λογιστική μεταβολή της ποσότητας της τροφής σημαίνει ότι τα άτομα του πληθυσμού του θηρευτή αλληλεπιδρούν έμμεσα μέσω του ανταγωνισμού για την τροφή τους. Ο πληθυσμός του θηράματος τότε ακολουθεί λογιστική αύξηση μείον τη μείωση λόγω της θήρευσης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση έχουμε μηδενίσει την λογιστική αύξηση καθώς στην παρούσα μελέτη ο πληθυσμός του θηράματος δεν αυξάνεται.

### **3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

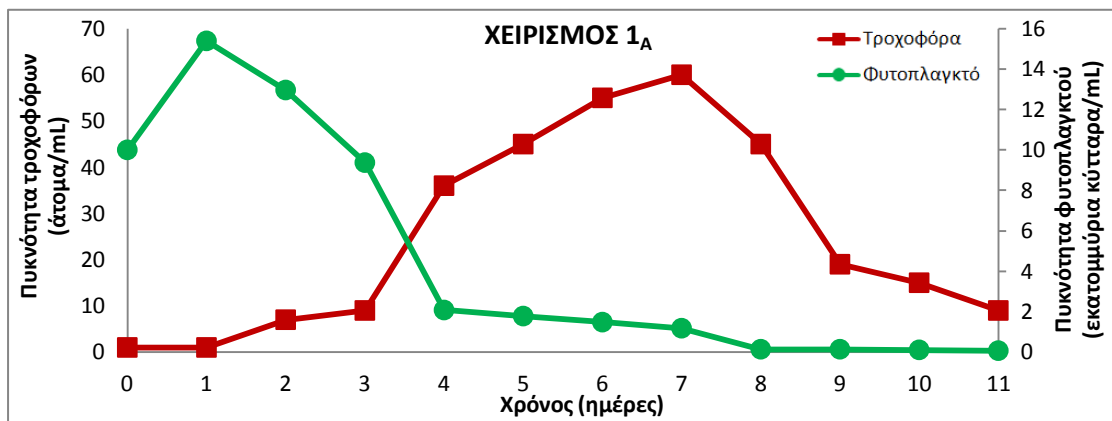
---

### 3.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

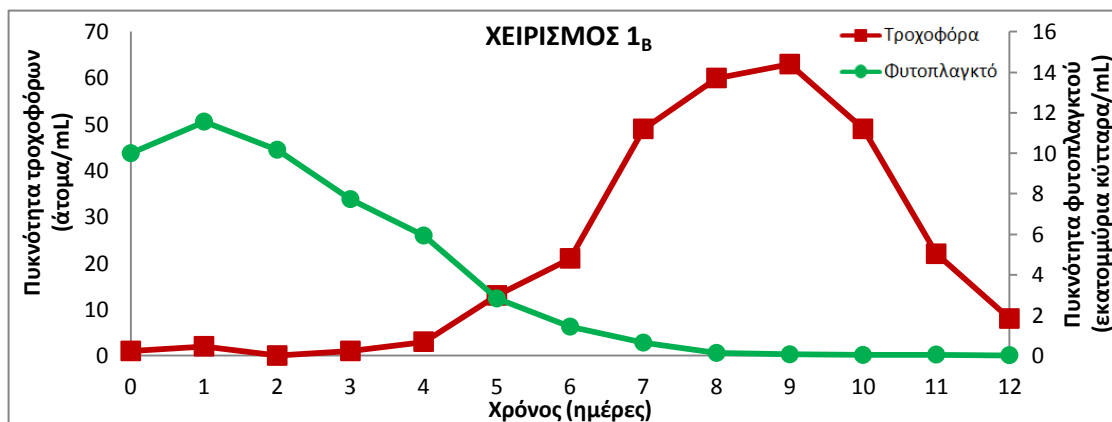
#### 3.1.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ 1

Το Πείραμα 1 πραγματοποιήθηκε σε δύο χρονικές στιγμές, τους μήνες Ιούλιο και Αύγουστο του 2013 και τους μήνες Ιούνιο και Ιούλιο του 2014. Τα τροχοφόρα σε αυτές τις δοκιμές προέρχονταν από τις δεξαμενές καλλιέργειας του εργαστηρίου. Η μόνη διαφορά είναι ότι την πρώτη φορά οι φιάλες ήταν τοποθετημένες σε ένα orbital shaker ενώ τη δεύτερη όχι.

Στα Διαγράμματα 3.1. και 3.2. φαίνονται τα αποτελέσματα του Χειρισμού 1 στον οποίο η "πάστα" φυτοπλαγκτού εισήχθη σε πυκνότητα  $10^7$  κύτταρα/mL. Η πυκνότητα των τροχοφόρων σε αυτόν τον χειρισμό του πειράματος έφτασε τιμές μέχρι 60 άτομα/mL με την μέγιστη τιμή να παρατηρείται τις Ημέρες 7 και 9 αντίστοιχα. Η συνολική δηλαδή αφθονία των τροχοφόρων ξεκινώντας από 200 άτομα έφτασε τα 12.500 άτομα σε περίπου 8 ημέρες με εισαγωγή μόνο 200  $\mu$ L "πάστας" την αρχική ημέρα του πειράματος. Το πείραμα τερματίστηκε τις Ημέρες 11 και 12 αντίστοιχα, όταν η πυκνότητα των τροχοφόρων έφτασε σε τιμές κάτω από 10 άτομα/mL. Οι τιμές του οξυγόνου ήταν 7 mg/L, του pH από 5,5 έως 8,5 και η θερμοκρασία κυμαίνονταν μεταξύ 24°C και 27°C. Βλεφαριδωτά του είδους *Uroneta sp.* εμφανίστηκαν την Ημέρα 7.



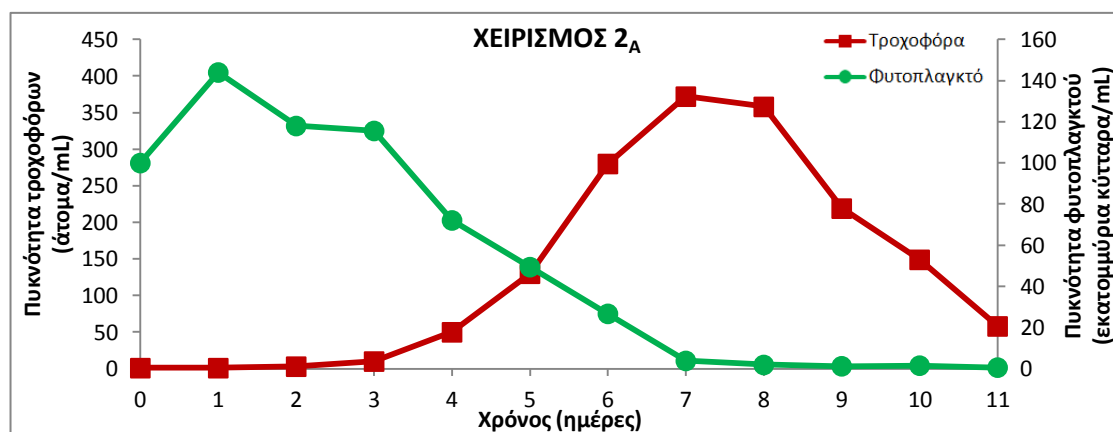
Διάγραμμα 3.1. Πυκνότητα τροχοφόρων - φυτοπλαγκτού σε σχέση με τον χρόνο. Πείραμα 1 - Χειρισμός 1 (2013)



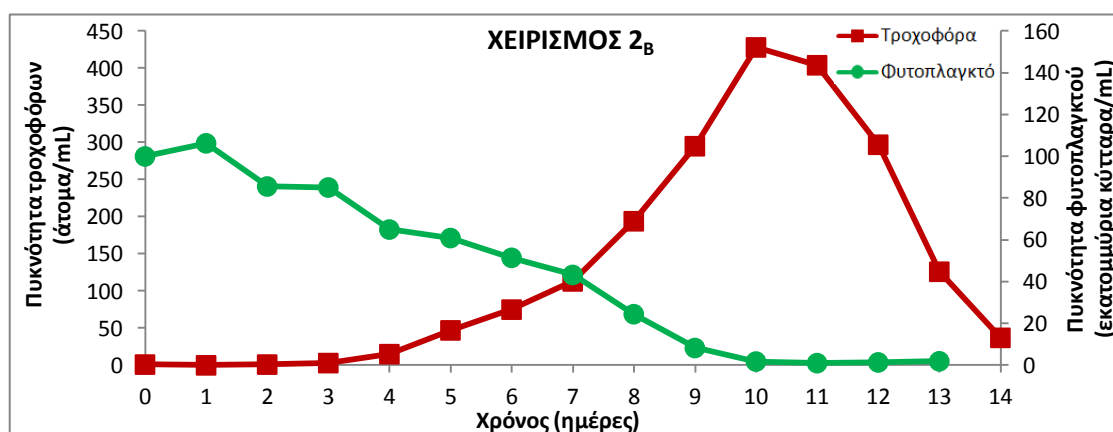
Διάγραμμα 3.2. Πυκνότητα τροχοφόρων - φυτοπλαγκτού σε σχέση με τον χρόνο. Πείραμα 1 - Χειρισμός 1 (2014)



Στα Διαγράμματα 3.3. και 3.4. φαίνονται τα αποτελέσματα του Χειρισμού 2 στον οποίο η “πάστα” φυτοπλαγκτού εισήχθη σε πυκνότητα  $10^8$  κύτταρα/mL. Η πυκνότητα των τροχοφόρων σε αυτόν τον χειρισμό του πειράματος έφτασε τιμές μέχρι 400 άτομα/mL με την μέγιστη τιμή να παρατηρείται τις Ημέρες 7 και 10 αντίστοιχα. Η συνολική δηλαδή αφθονία των τροχοφόρων ξεκινώντας από 200 άτομα έφτασε τα 85.000 άτομα σε περίπου 9 ημέρες με εισαγωγή μόνο 2 mL “πάστας” την αρχική ημέρα του πειράματος. Το πείραμα τερματίστηκε τις Ημέρες 11 και 14 αντίστοιχα, όταν η πυκνότητα των τροχοφόρων έφτασε σε τιμές κάτω από 50 άτομα/mL. Οι τιμές του οξυγόνου ήταν 5 έως 7 mg/L, του pH από 5,5 έως 8,5 και η θερμοκρασία κυμαίνονταν μεταξύ 23°C και 28°C. Βλεφαριδωτά του είδους *Uronema sp.* εμφανίστηκαν την Ημέρα 4 και του είδους *Euplotes sp.* εμφανίστηκαν την Ημέρα 5.

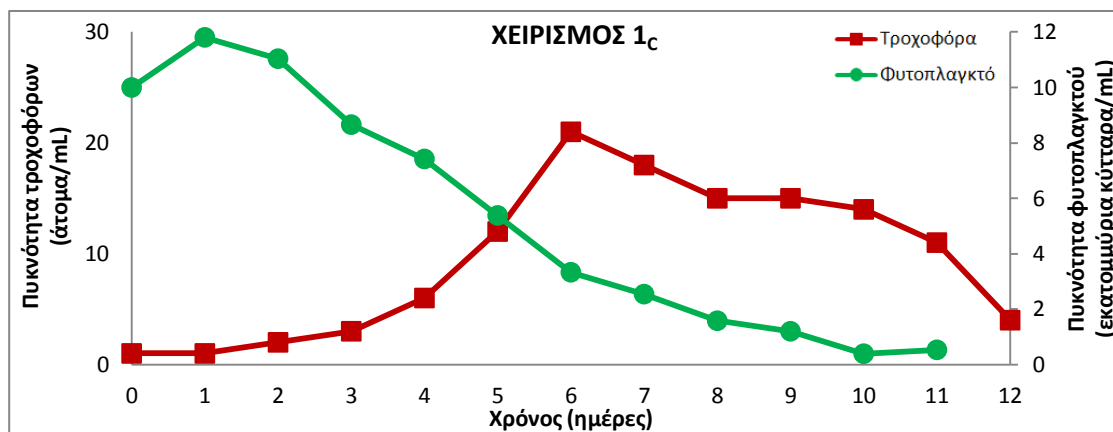


Διάγραμμα 3.3. Πυκνότητα τροχοφόρων - φυτοπλαγκτού σε σχέση με τον χρόνο. Πείραμα 1 - Χειρισμός 2 (2013)

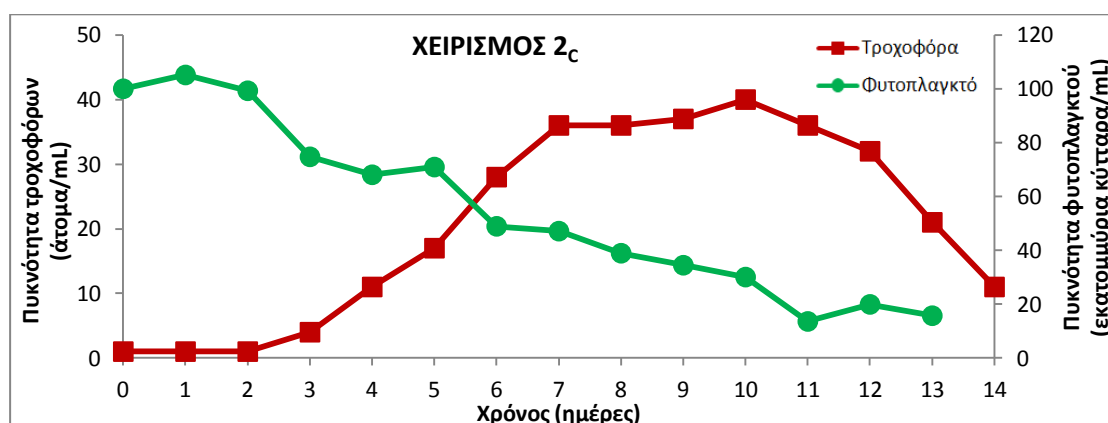


Διάγραμμα 3.4. Πυκνότητα τροχοφόρων - φυτοπλαγκτού σε σχέση με τον χρόνο. Πείραμα 1 - Χειρισμός 2 (2014)

Στα Διαγράμματα 3.5 και 3.6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των Χειρισμών 1 και 2 του Πειράματος 1, δηλαδή με πάστα φυτοπλαγκτού σε πυκνότητα  $10^7$  κύτταρα/mL και  $10^8$  κύτταρα/mL αντίστοιχα, αλλά με τροχοφόρα που προέρχονταν από τις κάθετες κολώνες (blooms) του εργαστηρίου. Οι χειρισμοί αυτοί πραγματοποιήθηκαν τον Μάιο του 2014. Η πυκνότητα των τροχοφόρων στον Χειρισμό 1 έφτασε τιμές μέχρι 20 άτομα/mL με την μέγιστη τιμή να παρατηρείται την Ημέρα 6 του πειράματος και στον Χειρισμό 2 μέχρι 40 άτομα/mL με την μέγιστη τιμή να παρατηρείται την Ημέρα 10. Η συνολική δηλαδή αφθονία των τροχοφόρων ξεκινώντας από 200 άτομα έφτασε τα 4.000 και 8.000 άτομα αντίστοιχα. Το πείραμα τερματίστηκε τις Ημέρες 12 και 14 αντίστοιχα, όταν η πυκνότητα των τροχοφόρων έφτασε σε τιμές κάτω από 10 άτομα/mL. Οι τιμές του οξυγόνου ήταν 6 έως 7 mg/L και του pH 8,5. Η θερμοκρασία κυμαινόταν μεταξύ 23°C και 27°C, αλλά τις Ημέρες 0 και 1 ήταν 21°C. Βλεφαριδωτά δεν εμφανίστηκαν σε κανέναν από τους δύο χειρισμούς.



Διάγραμμα 3.5. Πυκνότητα τροχοφόρων - φυτοπλαγκτού σε σχέση με τον χρόνο. Πείραμα 1 - Χειρισμός 1 (2014)



Διάγραμμα 3.6. Πυκνότητα τροχοφόρων - φυτοπλαγκτού σε σχέση με τον χρόνο. Πείραμα 1 - Χειρισμός 2 (2014)

Στον Χειρισμό 3, όπου η “πάστα” φυτοπλαγκτού χορηγήθηκε σε πυκνότητα  $10^9$  κύτταρα/mL, δεν παρατηρήθηκε κανένα τροχοφόρο σε καμία ημέρα του πειράματος και τις δύο χρονικές στιγμές που πραγματοποιήθηκε ενώ παράλληλα μετρήθηκαν πολύ χαμηλά επίπεδα οξυγόνου (<1 mg/L). Η τιμή του pH ήταν από 6,5 έως 7,5 και η θερμοκρασία κυμαίνονταν μεταξύ 24°C και 28°C.

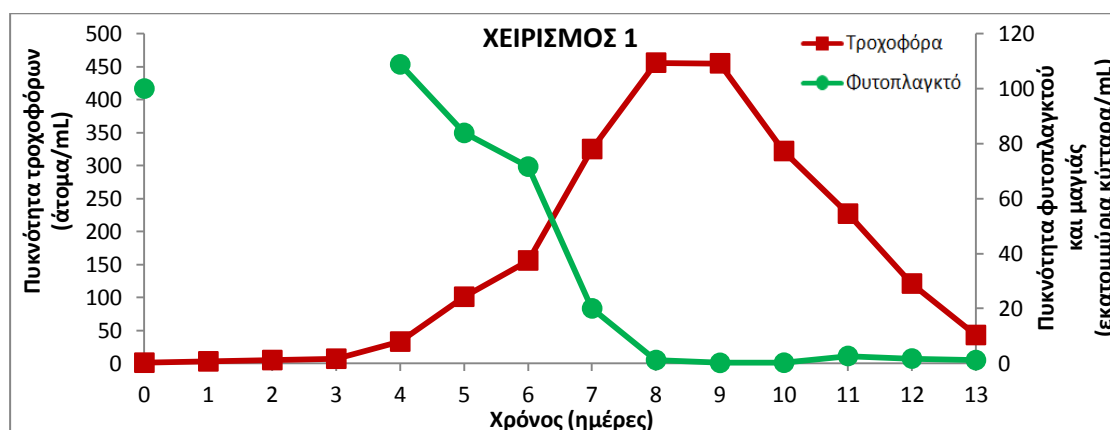
Μετά την εισαγωγή του οξυγόνου στις φιάλες, με τον τρόπο που αναφέρθηκε προηγουμένως, η μέγιστη τιμή του πληθυσμού των τροχοφόρων παρουσιάστηκε την Ημέρα 4 του πειράματος και ήταν 5 άτομα/mL. Έκτοτε ο πληθυσμός μειωνόταν. Το πείραμα τερματίστηκε την Ημέρα 8 αφού ήδη από την Ημέρα 7 δεν μετρήθηκε κανένα τροχοφόρο. Οι τιμές του οξυγόνου ήταν 1,5 έως 6 mg/L και του pH 8,5. Η θερμοκρασία κυμαίνονταν μεταξύ 24°C και 25°C. Από την Ημέρα 5 άρχισαν να εμφανίζονται βλεφαριδωτά του είδους *Uronema sp.* Δεν παρουσιάστηκε κάποια σημαντική διαφορά ανάμεσα στον χειρισμό που ήταν τοποθετημένος στο orbital shaker και σε εκείνον που δεν ήταν.

Στην δοκιμή των 6 ωρών όπου τα τροχοφόρα εισήχθησαν σε πυκνότητα 10 άτομα/mL, ήταν φανερό ότι από ώρα σε ώρα το σώμα όλων όσων συλλέγονταν είχε ολοένα και περισσότερο φυτοπλαγκτό. Επίσης ώρα με την ώρα ο πληθυσμός τους μειωνόταν αισθητά και στις 6 ώρες μετά την εισαγωγή τους είχαν πλέον φτάσει τα 4 άτομα/mL.

### 3.1.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ 2

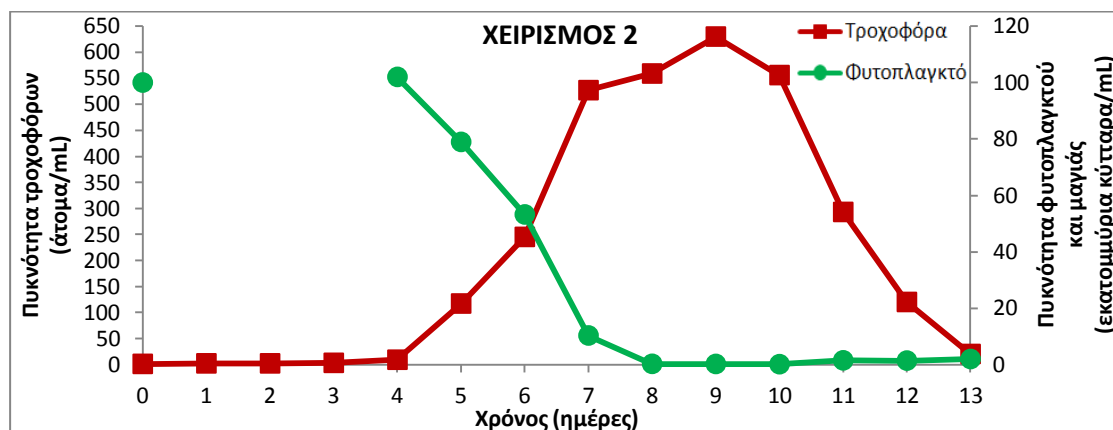
Το Πείραμα 2 πραγματοποιήθηκε τους μήνες Ιούλιο και Αύγουστο του 2013. Τα τροχοφόρα σε αυτές τις δοκιμές προέρχονταν από τις δεξαμενές καλλιέργειας του εργαστηρίου. Όλες οι φιάλες ήταν τοποθετημένες πάνω σε ένα orbital shaker για καλύτερη ανακίνηση. Και στους τρεις χειρισμούς αυτού του πειράματος η “πάστα” φυτοπλαγκτού εισήχθη σε πυκνότητα  $10^8$  κύτταρα/mL, αφού αυτή η πυκνότητα ήταν που έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα στο Πείραμα 1. Στους συγκεκριμένους χειρισμούς τις τρεις πρώτες ημέρες δεν έγιναν μετρήσεις της πυκνότητας της τροφής.

Στο Διάγραμμα 3.7. φαίνονται τα αποτελέσματα του Χειρισμού 1 στον οποίο η μαγιά εισήχθη στις φιάλες την Ημέρα 2. Η πυκνότητα των τροχοφόρων σε αυτόν τον χειρισμό του πειράματος έφτασε τιμές μέχρι 450 άτομα/mL με την μέγιστη τιμή να παρατηρείται τις Ημέρες 8 και 9 του πειράματος. Η συνολική δηλαδή αφθονία των τροχοφόρων ξεκινώντας από 200 άτομα έφτασε τα 90.000 άτομα σε 8 ημέρες με εισαγωγή μόνο 2 mL “πάστας” την αρχική ημέρα του πειράματος και 0,0001 g μαγιάς. Το πείραμα τερματίστηκε την Ημέρα 13, όταν η πυκνότητα των τροχοφόρων έφτασε σε τιμές κάτω από 50 άτομα/mL. Οι τιμές του οξυγόνου ήταν από 5,5 έως 6,5 mg/L, του pH από 5,5 έως 8,5 και η θερμοκρασία κυμαίνονταν μεταξύ 26°C και 27°C.



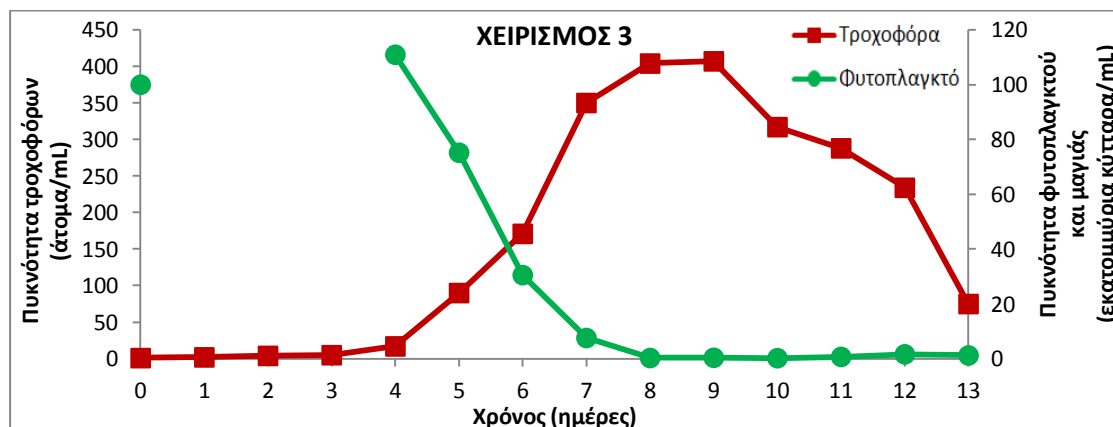
**Διάγραμμα 3.7.** Πυκνότητα τροχοφόρων – φυτοπλαγκτού & μαγιάς σε σχέση με τον χρόνο. Πείραμα 2 - Χειρισμός 1 (2013)

Στο Διάγραμμα 3.8. φαίνονται τα αποτελέσματα του Χειρισμού 2 στον οποίο η μαγιά εισήχθη στις φιάλες την Ημέρα 4. Η πυκνότητα των τροχοφόρων σε αυτόν τον χειρισμό του πειράματος έφτασε τιμές μέχρι 600 άτομα/mL με την μέγιστη τιμή να παρατηρείται την Ημέρα 9 του πειράματος. Η συνολική δηλαδή αφθονία των τροχοφόρων ξεκινώντας από 200 άτομα έφτασε τα 120.000 άτομα σε 9 ημέρες με εισαγωγή μόνο 2 mL “πάστας” την αρχική ημέρα του πειράματος και 0,0009 g μαγιάς. Το πείραμα τερματίστηκε την Ημέρα 13, όταν η πυκνότητα των τροχοφόρων έφτασε σε τιμές κάτω από 20 άτομα/mL. Οι τιμές του οξυγόνου ήταν από 5 έως 7 mg/L, του pH από 5,5 έως 8,5 και η θερμοκρασία κυμαίνονταν μεταξύ 26°C και 27°C.



**Διάγραμμα 3.8.** Πυκνότητα τροχοφόρων – φυτοπλαγκτού & μαγιάς σε σχέση με τον χρόνο. Πείραμα 2 - Χειρισμός 2 (2013)

Στο Διάγραμμα 3.9. φαίνονται τα αποτελέσματα του Χειρισμού 3 στον οποίο η μαγιά εισήχθη στις φιάλες την Ημέρα 8. Η πυκνότητα των τροχοφόρων σε αυτόν τον χειρισμό του πειράματος έφτασε τιμές μέχρι 400 άτομα/mL με την μέγιστη τιμή να παρατηρείται την Ημέρα 9 του πειράματος. Η συνολική δηλαδή αφθονία των τροχοφόρων ξεκινώντας από 200 άτομα έφτασε τα 80.000 άτομα σε 9 ημέρες με εισαγωγή μόνο 2 mL “πάστας” την αρχική ημέρα του πειράματος και 0,04 g μαγιάς. Το πείραμα τερματίστηκε την Ημέρα 13, όταν η πυκνότητα των τροχοφόρων έφτασε σε τιμές κάτω από 80 άτομα/mL. Οι τιμές του οξυγόνου ήταν από 5,5 έως 7 mg/L, του pH από 5,5 έως 8,5 και η θερμοκρασία κυμαίνονταν μεταξύ 26°C και 27°C.



**Διάγραμμα 3.9.** Πυκνότητα τροχοφόρων – φυτοπλαγκτού & μαγιάς σε σχέση με τον χρόνο. Πείραμα 2 - Χειρισμός 3 (2013)

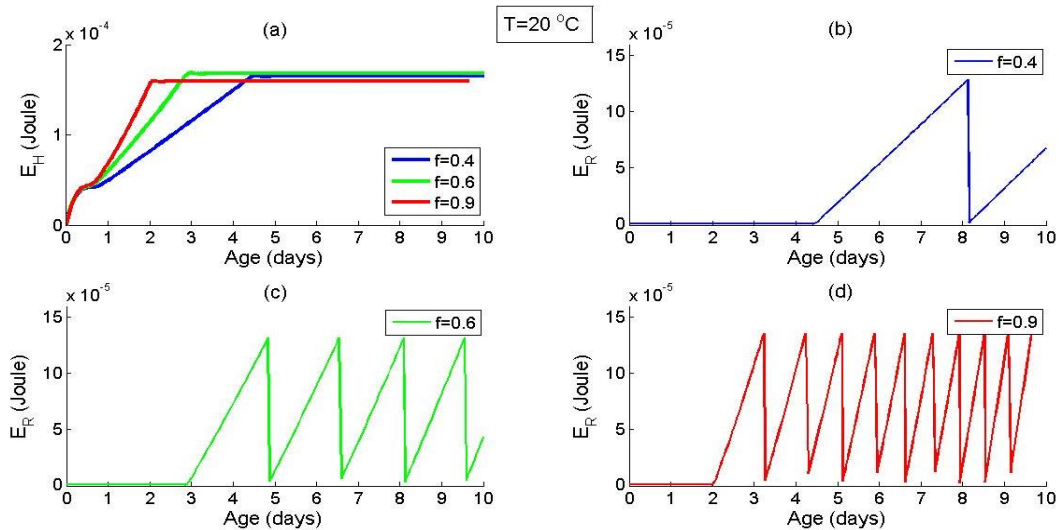
## **3.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ**

### **3.2.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΤΟΜΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ**

Στην παρούσα εργασία έγινε μελέτη της ανάπτυξης του ατόμου του είδους *Brachionus plicatilis* για διαφορετικές τιμές της θερμοκρασίας και της διαθεσιμότητας της τροφής. Επιλέχθηκαν να μελετηθούν οι δύο αυτοί παράγοντες καθώς είναι οι κύριοι περιοριστικοί παράγοντες στις καλλιέργειες τροχοφόρων.

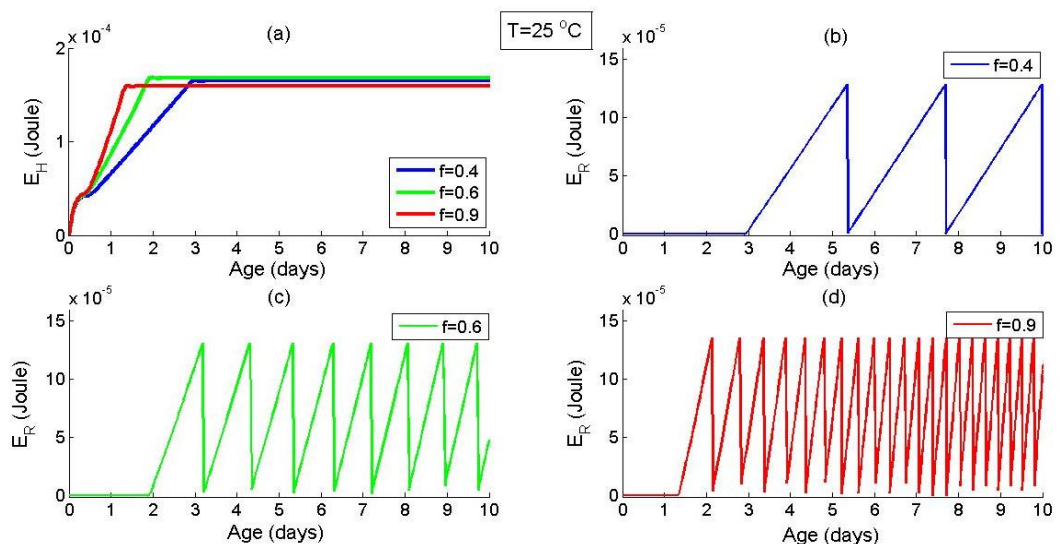
Στα Διαγράμματα 3.10 και 3.11 παρουσιάζονται οι προσομοιώσεις του DEB μοντέλου για θερμοκρασίες 20 °C και 25 °C αντίστοιχα και διαφορετικές τιμές της λειτουργικής απόκρισης (0.4, 0.6 και 0.9) η οποία εκφράζει τη διαθεσιμότητα της τροφής, χρησιμοποιώντας τις τιμές των παραμέτρων που αναγράφονται στον Πίνακα 2.3. Η κατανομή της ενέργειας για ωρίμανση και αναπαραγωγή παρουσιάζονται σε σχέση με τον χρόνο. Η κατανομή της ενέργειας για ωρίμανση αυξάνεται με τον ίδιο τρόπο σε όλες τις περιπτώσεις έως ένα σημείο, το οποίο είναι το σημείο της εκκόλαψης του αυγού. Στη συνέχεια η κλίση της καμπύλης αλλά και η μέγιστη τιμή εξαρτώνται από την ποσότητα της τροφής. Η ενέργεια για ωρίμανση αυξάνεται μέχρι την ημέρα 1.5 έως 4. Έκτοτε η κατανομή ενέργειας για ωρίμανση σταματάει και ξεκινά κατανομή ενέργειας για την αναπαραγωγή η οποία έως τότε ήταν μηδενική. Η ενέργεια που επενδύεται στην αναπαραγωγή αυξάνεται γραμμικά και όταν φτάσει στην τιμή που απαιτείται για την παραγωγή ενός αυγού, πραγματοποιείται η απόθεση, η ενέργεια πέφτει σχεδόν στο μηδέν και ξεκινάει πάλι η γραμμική αύξησή της και η διαδικασία επαναλαμβάνεται. Οι κορυφές στο διάγραμμα της κατανομής ενέργειας για αναπαραγωγή αντιπροσωπεύουν τις αποθέσεις που πραγματοποιεί το άτομο.

Στους 20 °C και σε συνθήκες σχεδόν αστικής το άτομο ωριμάζει μετά από 4 ημέρες (a) και πραγματοποιεί μόνο 1 απόθεση (b), ενώ σε συνθήκες σίτισης κατά βούληση ωριμάζει μετά από 3 ή 2 ημέρες (a) και πραγματοποιεί 4 έως 10 αποθέσεις αντίστοιχα, με διαφορετική όμως συχνότητα (c και d).



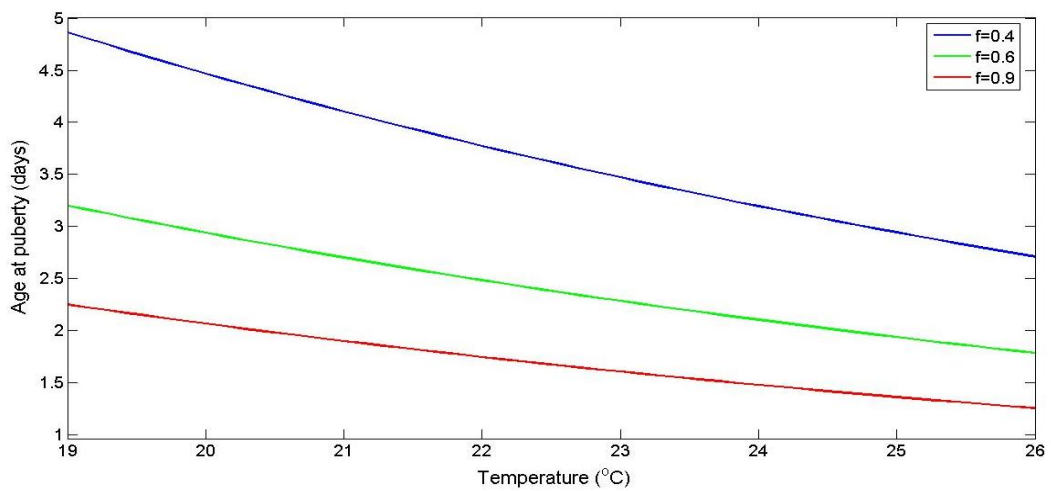
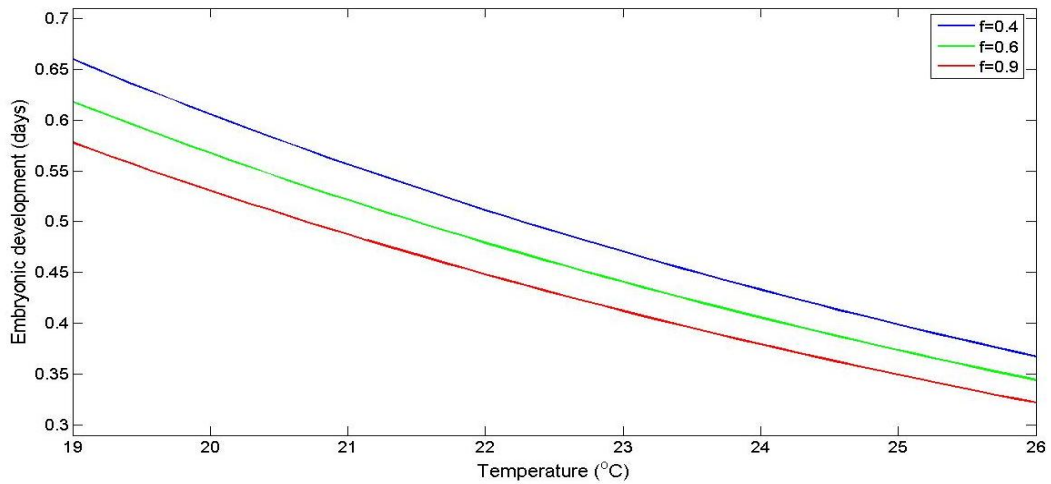
**Διάγραμμα 3.10.** Αποτελέσματα DEB μοντέλου για θερμοκρασία 20 °C. (a) αθροιστική κατανομή ενέργειας για ωρίμανση (b) κατανομή ενέργειας για αναπαραγωγή για  $f=0.4$  (c) κατανομή ενέργειας για αναπαραγωγή για  $f=0.6$  (d) κατανομή ενέργειας για αναπαραγωγή για  $f=0.9$

Στους 25 °C και σε συνθήκες σχεδόν αστικής το άτομο ωριμάζει μετά από 3 ημέρες (a) και πραγματοποιεί μέχρι 3 αποθέσεις (b), ενώ σε συνθήκες σίτισης κατά βούληση ωριμάζει μετά από 2 ή 1.5 ημέρες (a) και πραγματοποιεί 8 ή 21 αποθέσεις αντίστοιχα, με διαφορετική όμως συχνότητα (c και d).



**Διάγραμμα 3.11.** Αποτελέσματα DEB μοντέλου για θερμοκρασία 25 °C. (a) αθροιστική κατανομή ενέργειας για ωρίμανση (b) κατανομή ενέργειας για αναπαραγωγή για  $f=0.4$  (c) κατανομή ενέργειας για αναπαραγωγή για  $f=0.6$  (d) κατανομή ενέργειας για αναπαραγωγή για  $f=0.9$

Στη συνέχεια έγινε έλεγχος της ηλικίας κατά την οποία το άτομο περνάει (a) από την εμβρυική στη νεανική φάση, δηλαδή ο χρόνος εμβρυικής ανάπτυξης, και (b) από τη νεανική στην ενήλικη σε σχέση με τη θερμοκρασία για τρεις διαφορετικές τιμές της διαθεσιμότητας της τροφής (0.4, 0.6, 0.9). Οι τιμές της θερμοκρασίας που επιλέχθηκαν είναι από 19 °C έως 26 °C, αφού αυτές είναι οι συνηθέστερες σε πειράματα αλλά και σε παραγωγικές μονάδες τροχοφόρων. Παρατηρούμε ότι η αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί πιο γρήγορη γέννηση αλλά και ωρίμανση του ατόμου, τα οποία εξαρτώνται βέβαια και από την ποσότητα της τροφής.

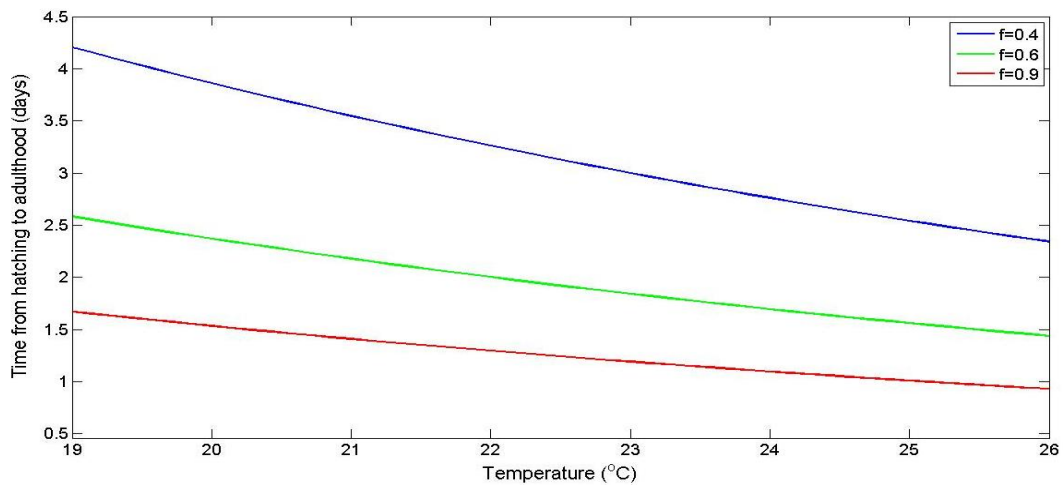


**Διάγραμμα 3.12.** Ηλικία (a) γέννησης και (b) ενηλικίωσης σε σχέση με τη θερμοκρασία για διαφορετικές τιμές της διαθεσιμότητας της τροφής



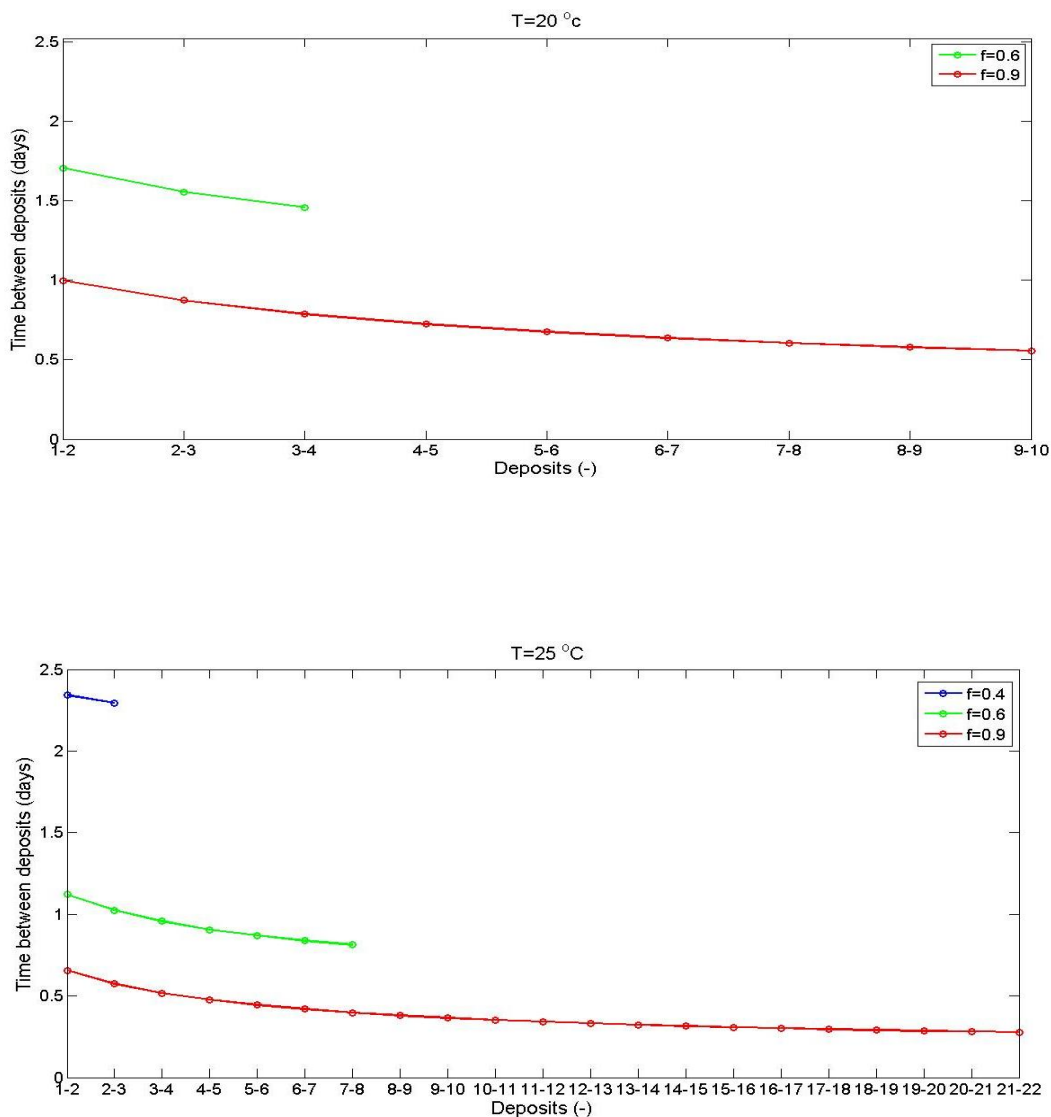
Όμως το μοντέλο ξεκινάει όλες τις μετρήσεις από τη στιγμή της έναρξης της παραγωγής του αυγού. Δηλαδή για τον υπολογισμό της ηλικίας κατά την οποία το άτομο περνά στην αναπαραγωγική φάση (Age at maturity) έχει υπολογιστεί και η εμβρυική φάση. Έτσι αν θέλουμε να υπολογίσουμε την ηλικία από τη γέννηση του ατόμου έως την ενηλικίωση του πρέπει να αφαιρέσουμε την εμβρυική περίοδο. Αυτό θα βοηθήσει στη σύγκριση των αποτελεσμάτων με βιβλιογραφικές μελέτες.

Στο Διάγραμμα 3.13 παρουσιάζεται ο χρόνος από την γέννηση (εκκόλαψη του αυγού) έως την ενηλικίωση του ατόμου σε σχέση με τη θερμοκρασία (από 19 °C έως 26 °C) για τρεις διαφορετικές τιμές της διαθεσιμότητας της τροφής (0.4, 0.6, 0.9).



**Διάγραμμα 3.13.** Χρόνος από τη γέννηση έως την ενηλικίωση του ατόμου σε σχέση με τη θερμοκρασία για διαφορετικές τιμές της διαθεσιμότητας της τροφής

Τέλος έγινε έλεγχος του αριθμού των αποθέσεων και των χρονικών διαστημάτων μεταξύ τους για δύο διαφορετικές τιμές της θερμοκρασίας και τρεις τιμές της διαθεσιμότητας της τροφής. Για τη θερμοκρασία επιλέχθηκαν οι τιμές (a) 20 °C και (b) 25 °C ενώ για τη λειτουργική απόκριση, η οποία εκφράζει τη διαθεσιμότητα της τροφής, οι τιμές 0.4, 0.6 και 0.9. Παρατηρούμε ότι όταν η λειτουργική απόκριση έχει την τιμή 0.4 το άτομο πραγματοποιεί μέχρι 3 αποθέσεις στους 25 °C, για την τιμή 0.6 πραγματοποιεί 4 και 8 αποθέσεις στους 20 °C και 25 °C αντίστοιχα και την τιμή 0.9 πραγματοποιεί 10 και 22 αποθέσεις στους 20 °C και 25 °C αντίστοιχα. Σε γενικές γραμμές φαίνεται ότι με αύξηση της θερμοκρασίας οι αποθέσεις ξεκινούν πιο γρήγορα και πραγματοποιούνται με πιο σύντομα χρονικά διαστήματα μεταξύ τους, ενώ με την αύξηση της χορηγούμενης τροφής αυξάνεται ο αριθμός τους.

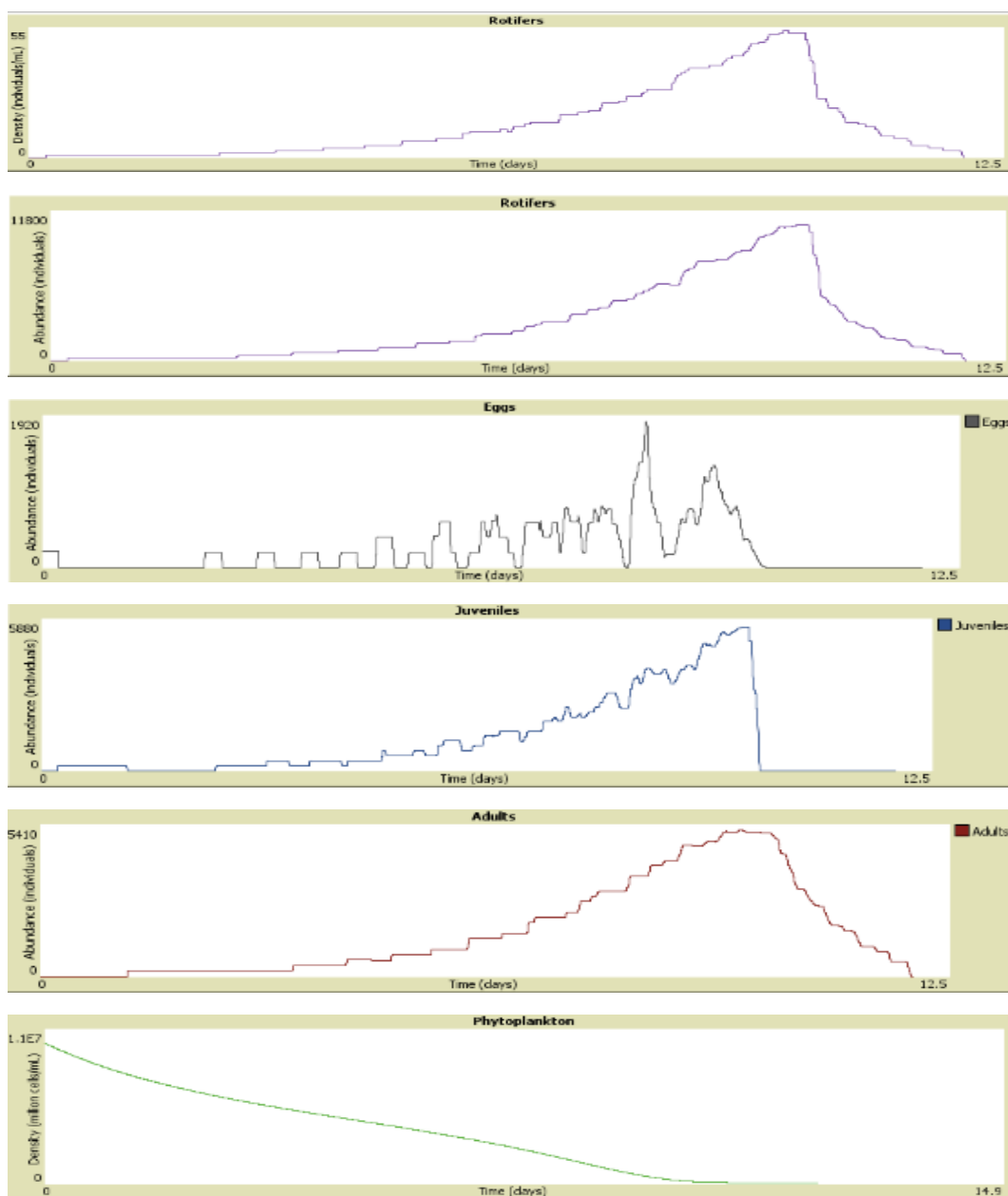


**Διάγραμμα 3.14.** Χρόνος μεταξύ διαδοχικών αποθέσεων αυγών ενός ατόμου για θερμοκρασία (a) 20 °C και (b) 25 °C και τρεις διαφορετικές τιμές της διαθεσιμότητας της τροφής

### 3.2.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

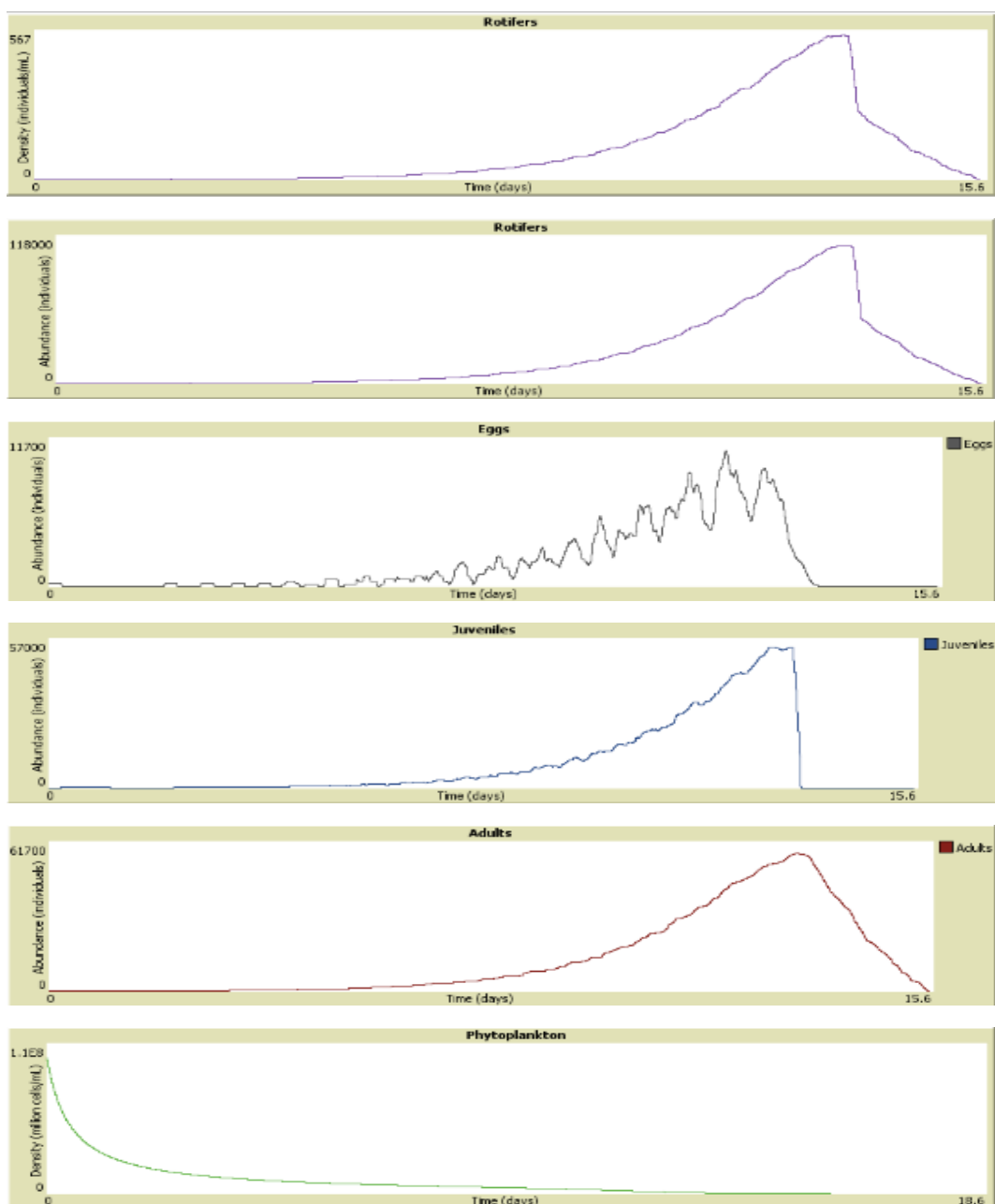
Τώρα θέλουμε να διερευνήσουμε το μοντέλο σε επίπεδο πληθυσμού χρησιμοποιώντας το λογισμικό NetLogo που περιγράφηκε προηγουμένως.

Στο Διάγραμμα 3.15 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του Χειρισμού 1 του Πειράματος 1. Στο πρώτο διάγραμμα φαίνεται η μεταβολή της πυκνότητας του πληθυσμού των τροχοφόρων και ακολουθούν η μεταβολή του συνολικού πληθυσμού τους, του αριθμού των αυγών, των μη αναπαραγωγικών τροχοφόρων και των τροχοφόρων στην αναπαραγωγική φάση και τέλος η μεταβολή της πυκνότητας του φυτοπλαγκτού. Φαίνεται ότι το πείραμα διήρκησε 12 ημέρες και η μέγιστη τιμή του πληθυσμού εμφανίστηκε την Ημέρα 10, όπου η καλλιέργεια έφτασε περίπου τα 11.000 άτομα συνολικά.



**Διάγραμμα 3.15.** Αποτελέσματα πληθυσμιακού μοντέλου για τον Χειρισμό 1 - Πείραμα 1 σε σχέση με τον χρόνο (α) πυκνότητας τροχοφόρων (b) συνολικού αριθμού τροχοφόρων (c) αριθμού αυγών (d) αριθμού μη αναπαραγωγικών θηλυκών (e) αριθμού αναπαραγωγικών θηλυκών (f) πυκνότητας κυττάρων φυτοπλαγκτού

Στο Διάγραμμα 3.16 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του Χειρισμού 2 του Πειράματος 1. Στο πρώτο διάγραμμα φαίνεται η μεταβολή της πυκνότητας του πληθυσμού των τροχοφόρων και ακολουθούν η μεταβολή του συνολικού πληθυσμού τους, του αριθμού των αυγών, των μη αναπαραγωγικών τροχοφόρων και των τροχοφόρων στην αναπαραγωγική φάση και τέλος η μεταβολή της πυκνότητας του φυτοπλαγκτού. Φαίνεται ότι το πείραμα διήρκησε 15 ημέρες και η μέγιστη τιμή του πληθυσμού εμφανίστηκε την Ημέρα 13, όπου η καλλιέργεια έφτασε περίπου τα 110.000 άτομα συνολικά.

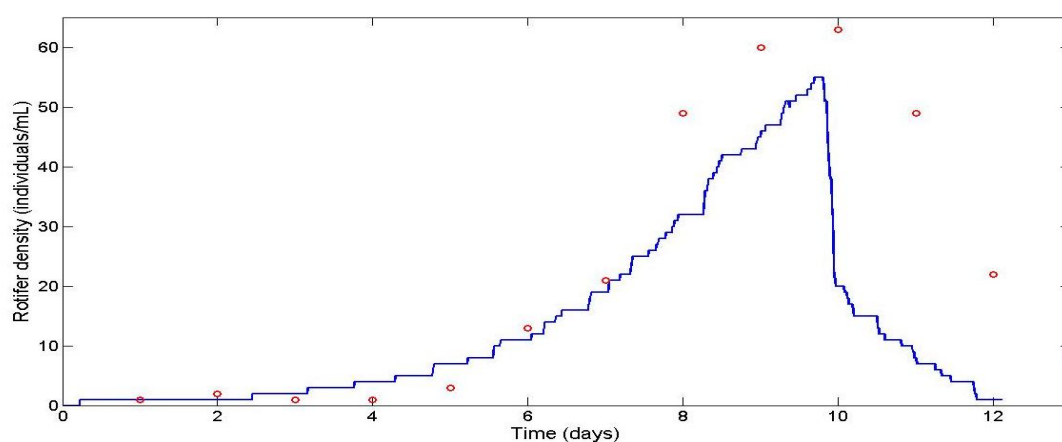


**Διάγραμμα 3.16.** Αποτελέσματα πληθυσμιακού μοντέλου για τον Χειρισμό 2 - Πείραμα 1 σε σχέση με τον χρόνο (a) πυκνότητας τροχοφόρων (b) συνολικού αριθμού τροχοφόρων (c) αριθμού αυγών (d) αριθμού μη αναπαραγωγικών θηλυκών (e) αριθμού αναπαραγωγικών θηλυκών (f) πυκνότητας κυττάρων φυτοπλαγκτού

### 3.3. ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

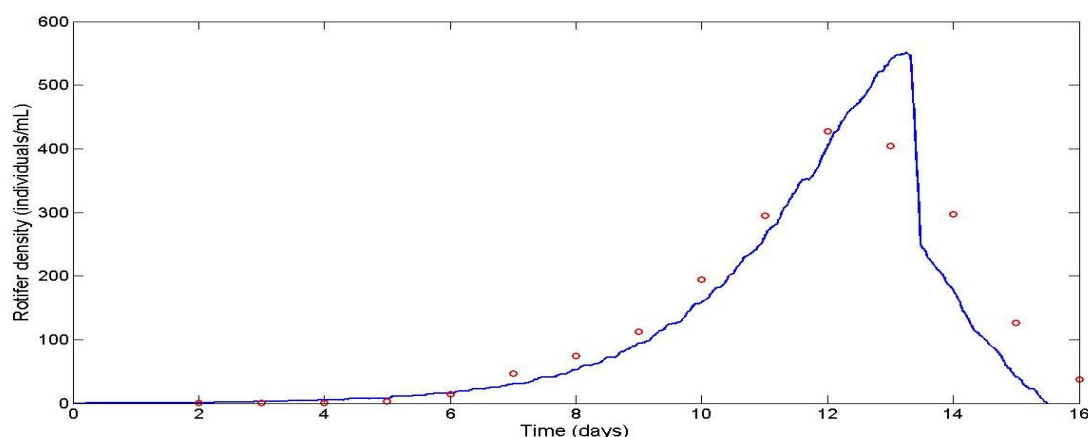
Στα δύο επόμενα διαγράμματα παρουσιάζονται οι προσομοιώσεις του μοντέλου σε σύγκριση με τα μετρήσιμα πειραματικά δεδομένα του πληθυσμού των τροχοφόρων ανά mL καλλιέργειας για τους Χειρισμούς 1 και 2 του Πειράματος 1.

Στον χειρισμό όπου η “πάστα” φυτοπλαγκτού χορηγήθηκε σε πυκνότητα  $10^7$  κύτταρα/mL (Πείραμα 1 - Χειρισμός 1) το μοντέλο φτάνει την Ημέρα 10 τη μέγιστη τιμή του πληθυσμού που είναι 55 άτομα/mL, ενώ στα πειραματικά δεδομένα η μέγιστη τιμή εμφανίστηκε την Ημέρα 9 και ήταν 63 άτομα/mL. Ως προς τη διάρκεια του πειράματος, το μοντέλο τερμάτισε μετά από 12 ημέρες και το πείραμα τερματίστηκε και αυτό μετά από 12 ημέρες όπου υπήρχαν λιγότερα από 10 άτομα/mL στην καλλιέργεια.



**Διάγραμμα 3.17.** Αποτελέσματα μοντέλου (συνεχής γραμμή) και πειραματικών μετρήσεων (σημεία). Πείραμα 1 – Χειρισμός 1

Στον χειρισμό όπου η “πάστα” φυτοπλαγκτού χορηγήθηκε σε πυκνότητα  $10^8$  κύτταρα/mL (Πείραμα 1 - Χειρισμός 2) το μοντέλο φτάνει την Ημέρα 13 τη μέγιστη τιμή του πληθυσμού που είναι περίπου 550 άτομα/mL, ενώ στα πειραματικά δεδομένα η μέγιστη τιμή εμφανίστηκε την Ημέρα 10 και ήταν 428 άτομα/mL. Ως προς τη διάρκεια του πειράματος, το μοντέλο τερμάτισε μετά από 15 ημέρες, ενώ το πείραμα τερματίστηκε μετά από 14 ημέρες όπου υπήρχαν λιγότερα από 50 άτομα/mL στην καλλιέργεια.



**Διάγραμμα 3.18.** Αποτελέσματα μοντέλου (συνεχής γραμμή) και πειραματικών μετρήσεων (σημεία). Πείραμα 1 – Χειρισμός 2

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

---

Σε αυτή τη διατριβή αρχικά αναπτύχθηκε ένα ατομικό μοντέλο για τα τροχοφόρα του είδους *Brachionus plicatilis*, το οποίο ποσοτικοποιεί παραμέτρους που σχετίζονται με τις φυσιολογικές λειτουργίες ενός οργανισμού-ατόμου με στόχο την ενσωμάτωση του σε ένα εξατομικευμένο πληθυσμιακό μοντέλο για τη διερεύνηση της δυναμικής του πληθυσμού των τροχοφόρων. Ο έλεγχος του μοντέλου έγινε με πειραματικά δεδομένα. Πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα με διαφορετική τροφή για τα τροχοφόρα και με τρεις χειρισμούς διαφορετικής πυκνότητας της τροφής για το κάθε πείραμα.

Η θεωρία που επιλέχθηκε για την κατασκευή των μοντέλων είναι η Θεωρία Δυναμικού Ενεργειακού Ισοζυγίου, η οποία έχει αναπτυχθεί προκειμένου να κατανοηθούν οι δυναμικές των βιολογικών συστημάτων μέσω μιας προσέγγισης ισοζυγίου για τη μάζα και την ενέργεια. Ένα από τα δυνατά σημεία της θεωρίας είναι ότι τα άτομα θεωρούνται το κλειδί για την κατανόηση των δυναμικών συστημάτων των υψηλότερων επιπέδων οργάνωσης, καθώς τα ισοζύγια είναι ευκολότερο να υπολογιστούν στο επίπεδο του ατόμου (Martin *et al.*, 2013).

Η θεωρία μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο για να γίνουν γενικές εκτιμήσεις των χαρακτηριστικών του πληθυσμού, όπως ο ρυθμός αύξησης, όσο και ως εργαλείο για την κατανόηση του πώς οι φυσιολογικές ιδιότητες των ατόμων επηρεάζουν τη δυναμική των πληθυσμών. Ενώ άλλα μοντέλα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να εκτιμηθεί ο πληθυσμιακός ρυθμός αύξησης σε σταθερά περιβάλλοντα, δεν μπορούν εύκολα να επεκταθούν και σε δυναμικά περιβάλλοντα (Martin *et al.*, 2012). Αυτό είναι ένα ακόμη πλεονέκτημα της συγκεκριμένης θεωρίας, αφού γενικά θεωρεί ότι το θήραμα ακολουθεί λογιστική αύξηση και μειώνεται μέσω της θήρευσης αλλά μπορεί να προσαρμοστεί όταν χρειάζεται διαφορετική μοντελοποίηση της δυναμικής του πληθυσμού του θηράματος ενός συγκεκριμένου συστήματος. Έτσι έγινε και στην συγκεκριμένη εργασία όπου ο πληθυσμός του θηράματος δεν ακολουθεί καμία αύξηση παρά μόνο μείωση λόγω θήρευσης.

Παρόλα αυτά είναι λογικό ένα μαθηματικό μοντέλο να μην μπορεί να καλύψει όλες τις ιδιότητες ενός βιολογικού συστήματος. Προκειμένου ένα μοντέλο να είναι χρήσιμο πρέπει να εστιάζει στις ιδιότητες εκείνες που είναι σημαντικές για την συγκεκριμένη εφαρμογή και να μην επικεντρώνεται σε εκείνες που είτε είναι λιγότερο σημαντικές είτε είναι δύσκολο ή ακόμη και ακατόρθωτο να ποσοτικοποιηθούν.

Μια σημαντική απλοποίηση στον παρόν μοντέλο είναι ότι έχουμε αγνοήσει την επίδραση των βακτηρίων, των περιττωμάτων και άλλων ουσιών στο νερό της καλλιέργειας, εκτός από την τροφή. Τα βακτήρια μπορεί υπό ορισμένες συνθήκες να χρησιμεύσουν ως πρόσθετη τροφή για τα τροχοφόρα, ενώ κάποιες τοξίνες που αποβάλλονται από τα ίδια τα τροχοφόρα μπορεί να έχουν αρνητικές επιπτώσεις στον πληθυσμό (Yoshinaga *et al.*, 2001). Μια άλλη απλοποίηση είναι ότι στο παρόν μοντέλο η αφομοίωση θεωρούμε ότι πραγματοποιείται ακαριαία. Η απλούστευση αυτή οδηγεί σε μια μικρή πηγή σφάλματος, αφού αγνοείται η καθυστέρηση λόγω του χρόνου πέψης.

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκαν πειραματικές μετρήσεις σε καλλιέργειες τροχοφόρων του είδους *Brachionus plicatilis* προκειμένου να γίνει ο έλεγχος του πληθυσμιακού μοντέλου.

Αρχικά όσον αφορά την θερμοκρασία μελετώντας την κινητική αύξησης και τις μέγιστες τιμές στις οποίες έφτασε ο πληθυσμός των τροχοφόρων, παρατηρείται ότι οι υψηλότερες τιμές εμφανίζονται στις καλλιέργειες με θερμοκρασία  $25 \pm 1$  °C. Στις καλλιέργειες που πραγματοποιήθηκαν σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (20 °C, 23 °C) ο πληθυσμός των τροχοφόρων δεν αναπτυσσόταν και επίσης μετά από την Ημέρα 5 υπήρχε έξαρση βλεφαριδωτών (*Uronema sp.*, *Eurplotes sp.*) στις φιάλες. Για τον λόγο αυτό οι χειρισμοί που παρουσιάστηκαν προηγουμένως ήταν όλοι σε θερμοκρασία  $25 \pm 1$  °C. Στους χειρισμούς αυτούς οι παράμετροι της ποιότητας του νερού δεν διέφεραν και βρίσκονταν σε επίπεδα αποδεκτά για την καλλιέργεια των τροχοφόρων (Moretti *et al.*, 1999). Επομένως το μέσο καλλιέργειας δεν φαίνεται να αποτέλεσε παράγοντα που θα πρέπει να ληφθεί υπόψη στην εκτίμηση των αποτελεσμάτων.

Μόνη εξαίρεση σε αυτό αποτελεί ο χειρισμός όπου έγινε εισαγωγή “πάστας” φυτοπλαγκτού σε συγκέντρωση  $10^9$  κύτταρα/mL (Πείραμα 1 - Χειρισμός 3) στον οποίο οι τιμές του διαλυμένου οξυγόνου ήταν σε πολύ χαμηλά επίπεδα (<1 mg/L) λόγω της υψηλής συγκέντρωσης του φυτοπλαγκτού. Στον χειρισμό αυτό δεν εμφανίστηκε κανένα τροχοφόρο καμία ημέρα του πειράματος σε όσες δοκιμές επαναλήφθηκε. Για τον λόγο αυτό ο συγκεκριμένος χειρισμός αντιμετωπίστηκε διαφορετικά. Μετά την εισαγωγή οξυγόνου στις φιάλες, με την μέθοδο που αναλύθηκε σε προηγούμενη ενότητα, οι τιμές του διαλυμένου οξυγόνου αυξήθηκαν και εμφανίστηκαν τροχοφόρα μέχρι τις επόμενες πέντε ημέρες. Ωστόσο τα άτομα αυτά δεν ήταν αρκετά ώστε να αποτελούν σημαντική αύξηση του πληθυσμού (μέχρι 5 άτομα/mL). Στη δοκιμή των 6 ωρών που πραγματοποιήθηκε παρατηρήθηκε μείωση του πληθυσμού ώρα με την ώρα, ενώ το σώμα των ατόμων που εξετάζονταν στο μικροσκόπιο είχε ολοένα και περισσότερο φυτοπλαγκτό. Για τους λόγους αυτούς θεωρούμε ότι ο περιοριστικός παράγοντας στον συγκεκριμένο χειρισμό δεν ήταν οι χαμηλές τιμές του διαλυμένου οξυγόνου αλλά μάλλον η τόσο υψηλή πυκνότητα τροφής.

Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι αύξηση στην ποσότητα του φυτοπλαγκτού έχει θετική επίδραση στο ρυθμό αύξησης των τροχοφόρων (Theilacker *et al.*, 1971; James *et al.*, 1983). Αυτό επιβεβαιώθηκε και στα πειράματα της παρούσας μελέτης, αφού με την αύξηση της συγκέντρωσης του φυτοπλαγκτού κατά μία τάξη μεγέθους η μέγιστη τιμή του πληθυσμού των τροχοφόρων αυξήθηκε κατά 350 άτομα/mL.

Η διαφορά σε σχέση με τις προηγούμενες μελέτες βρίσκεται στην αρχική συγκέντρωση του φυτοπλαγκτού αλλά και στη μορφή αυτού. Στις περισσότερες μελέτες καλλιέργειας τροχοφόρων χρησιμοποιείται ζωντανό φυτοπλαγκτό σε συγκέντρωση συνήθως  $10^6$  κύτταρα/mL (Snell *et al.*, 2001; Yufera *et al.*, 1995). Όμως από τη στιγμή που στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε “πάστα” φυτοπλαγκτού είναι λογικό η αρχική συγκέντρωση να είναι υψηλότερη καθώς δεν επέρχεται αύξηση αυτού τις επόμενες ημέρες. Σε κάποιους χειρισμούς που έγιναν με τις συγκεντρώσεις που αναφέρονται στη βιβλιογραφία δεν παρουσιάστηκε αύξηση του πληθυσμού των τροχοφόρων και για τον λόγο αυτό αποφασίστηκε η δοκιμή σε υψηλότερες αρχικές συγκεντρώσεις φυτοπλαγκτού.



Οι χειρισμοί στους οποίους έγινε εισαγωγή “πάστας” φυτοπλαγκτού σε συγκέντρωση  $10^7$  κύτταρα/mL και  $10^8$  κύτταρα/mL (Πείραμα 1 - Χειρισμοί 1 και 2) πραγματοποιήθηκαν δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές προκειμένου να ελεγχθεί η επαναληψιμότητα του πειράματος. Ο κάθε ένας χειρισμός έδειξε παρόμοια αποτελέσματα και στις δύο δοκιμές. Στον χειρισμό στον οποίο η “πάστα” φυτοπλαγκτού εισήχθη σε συγκέντρωση  $10^7$  κύτταρα/mL (Πείραμα 1 - Χειρισμός 1), ο πληθυσμός των τροχοφόρων έφτασε έως 60 άτομα/mL (Διαγράμματα 3.1 και 3.2) εμφανίζοντας τη μέγιστη τιμή την Ημέρα 7 και 9, στην πρώτη και δεύτερη δοκιμή αντίστοιχα. Στον χειρισμό στον οποίο η “πάστα” φυτοπλαγκτού εισήχθη σε συγκέντρωση  $10^8$  κύτταρα/mL (Πείραμα 1 - Χειρισμός 2) ο πληθυσμός των τροχοφόρων έφτασε έως 400 άτομα/mL (Διαγράμματα 3.3 και 3.4) εμφανίζοντας τη μέγιστη τιμή την Ημέρα 7 και 10, στην πρώτη και δεύτερη δοκιμή αντίστοιχα. Είναι προφανές ότι ο Χειρισμός 2 έδωσε καλύτερα αποτελέσματα και για τον λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκε η συγκεκριμένη αρχική συγκέντρωση “πάστας” στο Πείραμα 2.

Στο Πείραμα 2, όπου έγινε επιπλέον εισαγωγή μαγιάς σε διαφορετικές ημέρες, παρατηρήθηκαν οι εξής διαφορές σε σύγκριση με τον Χειρισμό 2 του Πειράματος 1. Στον χειρισμό όπου η μαγιά εισήχθη την Ημέρα 2 (Πείραμα 2 - Χειρισμός 1) δεν παρατηρήθηκε κάποια διαφορά (Διάγραμμα 3.7) ίσως γιατί η εισαγωγή της μαγιάς έγινε πολύ σύντομα και έτσι δεν είχε κάποια επίδραση. Στον χειρισμό όπου η μαγιά εισήχθη την Ημέρα 4 (Πείραμα 2 - Χειρισμός 2) φαίνεται ότι ο πληθυσμός των τροχοφόρων έφτασε την μέγιστη τιμή την ίδια ημέρα με τον χειρισμό όπου εισήχθη μόνο “πάστα” στην ίδια πυκνότητα (Πείραμα 1 – Χειρισμός 2) όμως τώρα τα άτομα ήταν 200 περισσότερα (Διάγραμμα 3.8). Αυτό ίσως οφείλεται στο γεγονός ότι η εισαγωγή της μαγιάς έγινε την Ημέρα 4 του πειράματος δηλαδή ακριβώς όταν ξεκινούσε η φάση της εκθετικής αύξησης του πληθυσμού. Στον χειρισμό όπου η μαγιά εισήχθη την Ημέρα 8 (Πείραμα 2 - Χειρισμός 3) δεν παρατηρείται διαφορά στην μέγιστη τιμή του πληθυσμού όμως φαίνεται ότι εδώ ο πληθυσμός διατηρείται σε υψηλά επίπεδα για περισσότερες ημέρες (Διάγραμμα 3.9). Αυτό πιθανόν οφείλεται στο γεγονός ότι η εισαγωγή της μαγιάς έγινε την Ημέρα 8 του πειράματος, δηλαδή την ημέρα που τα κύτταρα του φυτοπλαγκτού είχαν εξαντληθεί και έτσι η μαγιά έδρασε σαν πρόσθετη τροφή “διατήρησης” του πληθυσμού.

Για τους χειρισμούς με πυκνότητα “πάστας” φυτοπλαγκτού  $10^7$  κύτταρα/mL και  $10^8$  κύτταρα/mL (Πείραμα 1 - Χειρισμοί 1 και 2) έγιναν και δύο δοκιμές με τροχοφόρα που προέρχονταν από τις κάθετες κολώνες (blooms) του εργαστηρίου και όχι από τις δεξαμενές καλλιέργειας. Η διαφορά αυτών των δοκιμών (Διαγράμματα 3.5 και 3.6) είναι εμφανής σε σύγκριση με τους ίδιους χειρισμούς αλλά με τροχοφόρα από τις δεξαμενές (Διαγράμματα 3.1 έως 3.4). Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί εν μέρει να οφείλεται και στο γεγονός ότι σε αυτές τις δοκιμές τις Ημέρες 0 και 1 η θερμοκρασία ήταν στους  $21^{\circ}\text{C}$ , λόγω λάθος χειρισμού, και έτσι να επηρεάστηκε η περαιτέρω πορεία των πληθυσμών. Το πιο πιθανό όμως είναι οι τόσο διαφορετικές τιμές να οφείλονται στις διατροφικές συνθήκες των οργανισμών αυτών, αφού στις κάθετες κολώνες τα τροχοφόρα τρέφονται με ζωντανό φυτοπλαγκτό και ίσως δεν μπόρεσαν να προσαρμοστούν γρήγορα στην νέα μορφή τροφής.

Οι μετρήσεις της αμμωνίας, που γίνονταν κάθε δύο ημέρες, έδειχναν φυσιολογικές τιμές σε όλους τους χειρισμούς και έτσι δεν χρησιμοποιήθηκε κάποιο σκεύασμα ουδετεροποίησης (ClorAm-X).

Τα αποτελέσματα του ατομικού DEB μοντέλου, που παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 3.10 και 3.11, αφορούν τις δυναμικές ενός ατόμου του είδους *Brachionus plicatilis* στην πορεία του χρόνου ζωής του για δύο διαφορετικές θερμοκρασίες, στους 20 °C και 25 °C αντίστοιχα, και διαφορετική πυκνότητα τροφής. Γενικά παρατηρούμε ότι το άτομο ωριμάζει πιο σύντομα με την αύξηση της θερμοκρασίας και την αύξηση της διαθεσιμότητας της τροφής.

Η κατανομή της ενέργειας για ωρίμανση αυξάνεται με τον ίδιο τρόπο σε όλες τις περιπτώσεις έως ένα σημείο, το οποίο είναι το σημείο της εκκόλαψης του αυγού. Στη συνέχεια η κλίση της καμπύλης αλλά και η μέγιστη τιμή εξαρτώνται από την ποσότητα της τροφής. Η ενέργεια για ωρίμανση αυξάνεται μέχρι την ημέρα 1.5 έως 4, ανάλογα με τη θερμοκρασία και τη διαθεσιμότητα της τροφής. Έκτοτε η κατανομή ενέργειας για ωρίμανση σταματάει και ξεκινά κατανομή ενέργειας για την αναπαραγωγή η οποία έως τότε ήταν μηδενική. Η ενέργεια που επενδύεται στην αναπαραγωγή αυξάνεται γραμμικά και όταν φτάσει στην τιμή που απαιτείται για την παραγωγή ενός αυγού, πραγματοποιείται η απόθεση, η ενέργεια πέφτει σχεδόν στο μηδέν και ξεκινάει πάλι η γραμμική αύξησή της και η διαδικασία επαναλαμβάνεται. Οι κορυφές στο διάγραμμα της κατανομής ενέργειας για αναπαραγωγή αντιπροσωπεύουν τις αποθέσεις που πραγματοποιεί το άτομο, οι οποίες είναι από μόλις 1 έως 22 ανάλογα με τη θερμοκρασία και τη διαθεσιμότητα της τροφής. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με πειραματικές μελέτες (Yoshinaga *et al.*, 2000, 2003) στις οποίες αναφέρεται ότι όταν τα τροχοφόρα υποβλήθηκαν σε περιοδική ασιτία παρατηρήθηκε επιμήκυνση της διάρκειας ζωής, χωρίς όμως αυτή να συνοδεύεται από αύξηση του αριθμού των απογόνων. Η επιμήκυνση αυτή αποδόθηκε στην αύξηση των πιθανοτήτων επιβίωσης σε περίπτωση ανάκαμψης των αποθεμάτων τροφής.

Παρατηρώντας λοιπόν από τα αποτελέσματα αυτά ότι η θερμοκρασία του μέσου καλλιέργειας και η ποσότητα της χορηγούμενης τροφής επηρεάζουν τον βιολογικό κύκλο του τροχοφόρου, προχωρήσαμε σε επιπλέον μελέτη της ηλικίας του ατόμου κατά την οποία περνάει από το ένα στάδιο στο άλλο σε σχέση με τη θερμοκρασία και για διαφορετικές τιμές της πυκνότητας της τροφής.

Ως προς τη θερμοκρασία το μοντέλο δείχνει ότι με την αύξησή της το αυγό εκκολάπτεται πιο σύντομα και το άτομο ωριμάζει πιο γρήγορα. Αυτό φαίνεται από το Διάγραμμα 3.12 όπου βλέπουμε ότι στους 25 °C το αυγό εκκολάπτεται μετά από 0.35 έως 0.65 ημέρες (ανάλογα με τη διαθεσιμότητα της τροφής) και ο οργανισμός περνάει στο ενήλικο στάδιο μετά από 1.5 έως 3.5 ημέρες, σε αντίθεση με τους 20 °C όπου το αυγό εκκολάπτεται μετά από 0.55 έως 0.65 ημέρες και ο οργανισμός περνάει στο ενήλικο στάδιο μετά από περίπου 2 έως 4.5 ημέρες. Γενικά θεωρείται ότι η διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης εξαρτάται μόνο από τη θερμοκρασία (Herzig, 1983) και η διάρκεια της προ-αναπαραγωγικής περιόδου είναι μια σαφής συνάρτηση της θερμοκρασίας (Miracle *et al.*, 1989). Ως προς την ποσότητα της χορηγούμενης τροφής το μοντέλο δείχνει και εδώ ότι με την αύξησή της το αυγό εκκολάπτεται πιο σύντομα και το άτομο ωριμάζει πιο γρήγορα, αποτέλεσμα που έχει επιβεβαιωθεί και πειραματικά (Schmid-Araya, 1991).

Τέλος μέσω του μοντέλου ελέγχθηκε και ο αριθμός των παραγόμενων απογόνων καθώς και τα χρονικά διαστήματα μεταξύ των διαδοχικών αποθέσεων του ατόμου για δύο διαφορετικές τιμές της θερμοκρασίας και τρεις τιμές της διαθεσιμότητας της τροφής.

Η αύξηση της ποσότητας της τροφής είχε θετική επίδραση στο βιολογικό κύκλο του τροχοφόρου, αφού είχε σαν αποτέλεσμα τόσο την πιο γρήγορη έναρξη της αναπαραγωγής όσο και την αύξηση του αριθμού των απογόνων. Πειραματικά έχει παρατηρηθεί καθυστέρηση στην έναρξη της αναπαραγωγής κατά την εκτροφή του τροχοφόρου σε χαμηλά επίπεδα τροφής (Schmid-Araya, 1991). Αύξηση όμως παρατηρήθηκε και στο ρυθμό παραγωγής των απογόνων, όπως φαίνεται από το χρονικό διάστημα μεταξύ των διαδοχικών αποθέσεων το οποίο ήταν μικρότερο στις υψηλότερες συγκεντρώσεις τροφής. Αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία (Ruttner-Kolisko, 1974) όπου αναφέρεται ότι το χρονικό διάστημα μεταξύ των αποθέσεων σχετίζεται και με το μεταβολισμό της μητέρας ο οποίος καθορίζεται από την εισερχόμενη τροφή. Έτσι υψηλότερες συγκεντρώσεις τροφής οδηγούν σε πιο συχνή απόθεση αυγών (Schmid-Araya, 1991), όπως δείχνουν και οι προβλέψεις του μοντέλου.

Για τις χαμηλές τιμές της διαθεσιμότητας της τροφής η αύξηση της θερμοκρασίας του μέσου καλλιέργειας είχε σαν αποτέλεσμα τόσο την πιο γρήγορη έναρξη της αναπαραγωγής όσο και την αύξηση του αριθμού των απογόνων. Η αύξηση της θερμοκρασίας για τη μεγαλύτερη τιμή της διαθεσιμότητας της τροφής είχε σαν αποτέλεσμα την πιο γρήγορη έναρξη της αναπαραγωγής όχι όμως και την αύξηση του αριθμού των απογόνων, ο οποίος παρέμεινε σταθερός με διαφορετικό όμως το χρονικό διάστημα μεταξύ των αποθέσεων. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με βιβλιογραφικές μελέτες που αναφέρουν ότι, παρουσία ικανοποιητικής ποσότητας τροφής, η θερμοκρασία (εντός των κατάλληλων τιμών για την κανονική λειτουργία των οργανισμών) επηρεάζει τα χρονικά διαστήματα αλλά όχι τη γονιμότητα, δηλαδή τον αριθμό των απογόνων ανά άτομο (Miracle *et al.*, 1989).

Συμπερασματικά λοιπόν το ατομικό DEB μοντέλο έδειξε ότι η θερμοκρασία του μέσου καλλιέργειας και η ποσότητα της χορηγούμενης τροφής επηρεάζουν τον βιολογικό κύκλο του τροχοφόρου. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία τόσο με την βιβλιογραφία (Yoshinaga *et al.*, 1999) όσο και με τις πειραματικές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας μελέτης και αναλύθηκαν προηγουμένως.

Προσπαθώντας να μεταβούμε στη συνέχεια σε επίπεδο πληθυσμού ενσωματώσαμε το ατομικό DEB μοντέλο σε ένα εξατομικευμένο πληθυσμιακό μοντέλο με σκοπό τη διερεύνηση της δυναμικής του πληθυσμού των τροχοφόρων. Έχοντας ένα μοντέλο που συνδέει τη δυναμική των πληθυσμών με το μέγεθος, την ωριμότητα, τα ενεργειακά αποθέματα και την πρόσληψη τροφής των ατόμων που τον αποτελούν, η εξατομικευμένη οικολογία βασίζεται σε μια σταθερή και ολόένα πιο επιβεβαιωμένη θεωρία (Grimm *et al.*, 2005). Τα είδη θα συνεχίσουν να δείχνουν διαφορετικές φυσιολογικές και συμπεριφορικές στρατηγικές, αλλά με ένα εξατομικευμένο μοντέλο που βασίζεται στη θεωρία δυναμικού ενεργειακού ισοζυγίου, θα έχουμε μια καλύτερη ιδέα για το πού και πότε να χρησιμοποιούνται οι βασικές-πρότυπες προσεγγίσεις και πού να αναζητούνται πιο συγκεκριμένα υπομοντέλα (Martin *et al.*, 2013). Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το βασικό μοντέλο της θεωρίας δυναμικού ενεργειακού ισοζυγίου μαζί με ένα υπομοντέλο γήρανσης των ατόμων και ένα υπομοντέλο αναπαραστάσης της σίτισης των οργανισμών.

Αρχικά ως προς τον ποιοτικό έλεγχο του πληθυσμιακού μοντέλου, παρατηρείται ότι οι προβλέψεις του μοντέλου και τα πειραματικά δεδομένα παρουσιάζουν το ίδιο πρότυπο όσον αφορά τη δυναμική του πληθυσμού. Η συμπεριφορά αυτή συμφωνεί και με αναφορές της βιβλιογραφία (Walz, 1993; Rothhaupt, 1985; Yufere *et al.*, 1995). Δηλαδή αρχικά της τρεις περίπου πρώτες ημέρες παρατηρείται μια λανθάνουσα φάση, μάλλον λόγω της προσαρμογής των ατόμων στο νέο περιβάλλον. Στη συνέχεια παρατηρείται εκθετική αύξηση του πληθυσμού για της επόμενες έξι με επτά ημέρες, μέχρι τα κύτταρα του φυτοπλαγκτού να εξαντληθούν. Τέλος ακολουθεί απότομη μείωση του πληθυσμού λόγω έλλειψης τροφής. Η σταθερή κατάσταση, αν υπάρχει, είναι πολύ σύντομη, αφού διαρκεί μόνο δύο ημέρες.

Ως προς τον ποσοτικό έλεγχο για τους δύο χειρισμούς που ελέγχθηκαν οι τιμές του μοντέλου συμπίπτουν με τις πειραματικές μετρήσεις με μικρές αποκλίσεις στις μέγιστες τιμές του πληθυσμού (Διαγράμματα 3.17 και 3.18). Για τον χειρισμό όπου έγινε εισαγωγή “πάστας” φυτοπλαγκτού σε συγκέντρωση  $10^7$  κύτταρα/mL (Πείραμα 1 - Χειρισμός 1) η μέγιστη τιμή του πληθυσμού στις μετρήσεις του μοντέλου εμφανίστηκε την Ημέρα 10 όπου η καλλιέργεια έφτασε συνολικά τα 11.100 άτομα, ενώ στις πειραματικές μετρήσεις εμφανίστηκε την Ημέρα 9 με 12.600 άτομα συνολικά. Για τον χειρισμό όπου έγινε εισαγωγή “πάστας” φυτοπλαγκτού σε συγκέντρωση  $10^8$  κύτταρα/mL (Πείραμα 1 - Χειρισμός 2) η μέγιστη τιμή του πληθυσμού στις μετρήσεις του μοντέλου εμφανίστηκε την Ημέρα 13 όπου η καλλιέργεια έφτασε συνολικά τα 110.000 άτομα, ενώ στις πειραματικές μετρήσεις εμφανίστηκε την Ημέρα 10 με 85.600 άτομα συνολικά.

Μια μικρή απόκλιση υπήρχε λόγω του γεγονότος ότι στην καλλιέργεια κατά την έναρξη των πειραμάτων ο αρχικός πληθυσμός των 200 ατόμων ήταν τυχαία άτομα από της δεξαμενές του εργαστηρίου σε διαφορετικές φάσεις του αναπαραγωγικού κύκλου, ενώ το μοντέλο ξεκινάει “δημιουργώντας” 200 αυγά. Αυτό διορθώθηκε λαμβάνοντας υπόψη στο μοντέλο μια χρονική μεταβολή μίας ημέρας, δηλαδή όσο περίπου χρειάζεται ώστε να υπάρξει μια σχετική ανομοιογένεια μέσα στον πληθυσμό.

Οι προσομοιώσεις έδειξαν ότι το μοντέλο αποδίδει αρκετά καλά σε σύγκριση με τα μετρήσιμα πειραματικά δεδομένα και επιπλέον απεικονίζει ικανοποιητικά την πορεία του ατόμου του είδους στη διάρκεια της ζωής του. Το μοντέλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την προσομοίωση ενός ευρέως φάσματος σεναρίων, και επομένως μπορεί να βοηθήσει στη διερεύνηση διαφόρων ιδιοτήτων των τροχοφόρων. Στο πλαίσιο της υδατοκαλλιέργειας το μοντέλο μπορεί να χρησιμεύσει ως ένα εργαλείο σχεδιασμού και ελέγχου της παραγωγής. Τα αποτελέσματα της διατριβής δίνουν επίσης κάποια υπόσχεση όσον αφορά την σύνδεση μεταξύ ατόμων και πληθυσμών των τροχοφόρων, ωστόσο απαιτούνται περαιτέρω εργασίες για μια ακόμη καλύτερη αναπαράσταση.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Το ατομικό μοντέλο δυναμικού ενεργειακού ισοζυγίου προσομοιώνει σωστά τη δυναμική των μεμονωμένων ατόμων του είδους *Brachionus plicatilis* σύμφωνα με βιβλιογραφικές αναφορές
- Το μοντέλο δείχνει ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας του μέσου καλλιέργειας και της ποσότητας της χορηγούμενης τροφής το άτομο ωριμάζει πιο γρήγορα και πραγματοποιεί και περισσότερες αποθέσεις αυγών
- Πειραματικά αποδείχθηκε ότι η αποδοτικότερη πυκνότητα “πάστας” φυτοπλαγκτού είναι  $10^8$  κύτταρα/mL
- Η προσθήκη μαγιάς κατά την ημέρα έναρξης της εκθετικής αύξησης του πληθυσμού συμβάλει σε ακόμη υψηλότερες τιμές του πληθυσμού
- Η προσθήκη μαγιάς κατά τις ημέρες του μέγιστου πληθυσμού συμβάλει στην διατήρηση του πληθυσμού για λίγες ακόμη ημέρες αλλά σε χαμηλότερες τιμές
- Στον χειρισμό με πυκνότητα “πάστας” φυτοπλαγκτού  $10^9$  κύτταρα/mL αποδείχθηκε ότι περιοριστικός παράγοντας δεν είναι οι χαμηλές τιμές οξυγόνου αλλά μάλλον η τόσο υψηλή πυκνότητα τροφής
- Το πληθυσμιακό μοντέλο δυναμικού ενεργειακού ισοζυγίου προσομοιώνει ικανοποιητικά την εικόνα του πληθυσμού σε σύγκριση με τα πειραματικά δεδομένα

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alver M., Alfredsen J., Olsen O. (2006) An individual-based population model for rotifer (*Brachionus plicatilis*) cultures. *Hydrobiologia*, 560: 93-108
- Alver M., Hagiwara A. (2007) An individual-based population model for the prediction of rotifer population dynamics and resting egg production. *Hydrobiologia*, 593: 19-26
- Brandt B., Kooijman S.A.L.M. (2003) A general model for multiple substrate biodegradation. Application to co-metabolism of structurally non-analogous compounds. *Water Research*, 37: 4843-4854
- Carmona M.J., Serra M., Miracle M.R. (1993) Relationship between mixis in *Brachionus plicatilis* and preconditioning of culture medium by crowding. *Hydrobiologia*, 255/256: 145-152
- Carmona M.J., Gomez A., Serra M. (1995) Mictic patterns of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Müller) in small ponds. *Hydrobiologia*, 313/314: 365-371
- Ciros-Perez J., Carmona M., Serra M. (2001) Resource competition between sympatric sibling rotifer species. *Limnology and Oceanography*, 46(6): 1511-1523
- Dhert P. (1996) Manual on the production and use of live food for aquaculture. Fisheries technical paper No. 361, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 49-78
- Epp R., Winston P. (1978) The effects of salinity and pH on the activity and oxygen consumption of *Brachionus plicatilis* (Rotatoria). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 59A: 9-12
- Esparcia A., Miracle M., Serra M. (1989) *Brachionus plicatilis* tolerance to low oxygen concentrations. *Hydrobiologia*, 186/187: 331-337
- FAO (2011) World aquaculture 2010. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Technical paper No. 500/1, Rome, 105 pp.
- FAO (2011) Review of the state of world marine fishery resources. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Technical paper No. 569, Rome, 334 pp.
- FAO (2012) The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Technical paper No. 569, Rome, 209 pp.
- Fussmann G., Ellner S., Shertzer K., Hairston N. (2000) Crossing the Hopf Bifurcation in a Live Predator-Prey System. *Science*, Vol 290: 1358-1360
- Grimm V., Railsback S.F. (2005) *Individual-based Modeling and Ecology*. Princeton University Press, Princeton, NJ
- Grimm V., Berger U., DeAngelis D., Polhill G., Giske J., Railsback S. (2010) The ODD protocol: A review and first update. *Ecological Modelling*, 221: 2760-2768

- Herzig A. (1983) Comparative studies on the relationship between temperature and duration of embryonic development of rotifers. *Hydrobiologia*, 104: 237-246
- Hickman C., Roberts L., Larson A., (2002) Ζωολογία - Ολοκληρωμένες αρχές. Εκδόσεις ΙΩΝ
- Hickman C., Roberts L., Keen S., Larson A., Anson H., Eisenhour D. (2011) Ζωολογία - Ολοκληρωμένες αρχές. Εκδόσεις Utopia
- Hino A., Hirano R. (1976) Ecological studies on the mechanism of bisexual reproduction in the rotifer *Brachionus plicatilis* – I. General aspects of bisexual reproduction inducing factors. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 42: 1093-1099
- Hino A., Hirano R. (1984) Relationship between water temperature and bisexual reproduction rate in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 50: 1481-1485
- Holling C. (1965) The functional response of predators to prey density and its role in mimicry and population regulation. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 45: 3-60
- James C., Bou-Abbas M., Al-Khars A., Al-Hinty S., Salman A. (1983) Production of the rotifer *Brachionus plicatilis* for aquaculture in Kuwait. *Hydrobiologia*, 104: 77-84
- Kelpin F.D.L, Kirkilionis M.A., Kooi B.W. (2000) Numerical Methods and Parameter Estimation of a Structured Population Model with Discrete Events in the Life History. *Journal of Theoretical Biology*, 207: 217-230
- Kooijman S.A.L.M. (2001) Quantitative aspects of metabolic organization: a discussion of concepts. *Philosophical Transactions of the Royal Society B, Biological Sciences*, 356: 331-349
- Kooijman S.A.L.M. (2010) *Dynamic Energy Budget theory for metabolic organisation*. Third edition, Cambridge university press, Cambridge
- Korstad J., Olsen Y., Vadstein O. (1989a) Life history characteristics of *Brachionus plicatilis* (Rotifera) fed different algae. *Hydrobiologia*, 186/187: 43-50
- Kostopoulou V., Vadstein O. (2007) Growth performance of the rotifers *Brachionus plicatilis*, B. 'Nevada' and B. 'Cayman' under different food concentrations. *Aquaculture*, 273: 449-458
- Kostopoulou V., Vasilakis M., Divanach P. (2012) Semi-continuous mass culture of rotifers (*Brachionus plicatilis*) using an automatic feeder. *Aquaculture Research*, 43: 91-98
- Lie O., Haaland H., Hemre G., Maage A., Lied E., Rosenlund G., Sandnes K., Olsen Y. (1997) Nutritional composition of rotifers following a change in diet from yeast and emulsified oil to microalgae. *Aquaculture International*, 5: 427-438
- Lie O. (2001) Flesh quality - the role of nutrition. *Aquaculture Research*, 32: Issue Supplement s1: 341-348



- Lika K., Kooijman S.A.L.M. (2011) The comparative topology of energy allocation in budget models. *Journal of Sea Research*, 66: 381-391
- Lika K., Kearney M., Freitas V., Van der Veer H., Van der Meer J., Wijsman J., Pecquerie L., Kooijman S.A.L.M. (2011) The “covariation method” for estimating the parameters of the standard Dynamic Energy Budget model I: Philosophy and approach. *Journal of Sea Research*, 66: 270-277
- Lubzens E. (1981) Rotifer resting eggs and their application to marine aquaculture. *European Mariculture Society*, 6: 163-179
- Lubzens E., Minkoff G., Marom S. (1985) Salinity dependence of sexual and asexual reproduction in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Marine Biology*, 85: 123-126
- Lubzens E., Zmora O., Barr Y. (2001) Biotechnology and aquaculture of rotifers. *Hydrobiologia*, 446/447: 337-353
- Martin B., Zimmer E., Grimm V., Jager T. (2012) Dynamic Energy Budget theory meets individual-based modelling: a generic and accessible implementation. *Methods in Ecology and Evolution*, 3: 445-449
- Martin B., Jager T., Nisbet R., Preuss T., Grimm V. (2013) Predicting Population Dynamics from the Properties of Individuals: A Cross-Level Test of Dynamic Energy Budget Theory. *The American naturalist*, 181/4: 506-519
- McNair J., Boraas M., Seale D. (1998) Size-structure dynamics of the rotifer chemostat: a simple physiologically structured model. *Hydrobiologia*, 387/388: 469-476
- Michaloudi E., Kostecka M. (2004) Zooplankton of lake Koroneia (Macedonia, Greece). *Biologia*, 59: 165-172
- Miracle M., Serra M. (1989) Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. *Hydrobiologia*, 186/187: 81-102
- Moretti A., Pedini Fernandez-Criado M., Cittolin G., Guidastri R. (1999) Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream. FAO Vol. 1, Rome, 194 pp
- Nisbet R., Müller E., Lika K., Kooijman S.A.L.M. (2000) From molecules to ecosystems through dynamic energy budget models. *Journal of Animal Ecology*, 69: 913-926
- Nogrady T., Wallace R., Snell T. (1993) Rotifera, Volume 1: Biology, ecology and systematic. In: Dumont H.J.F., Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. Vol. 4. SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands, 142 pp
- Ruttner-Kolisko A. (1974) Plankton rotifers: biology and taxonomy. *Die Binnengewässer* VolXXVI/1, Stuttgart, 146 pp
- Rothhaupt K. (1985) A model approach to the population dynamics of the rotifer *Brachionus rubens* in two-stage chemostat culture. *Oecologia*, 65: 252-259

- Schmid-Araya J. (1991) The effect of food concentration on the life histories of *Brachionus plicatilis* (O.F.M.) and *Encentrum linnhei* SCOTT. *Archiv Fur Hydrobiologie*, 121: 87-102
- Snell T., Boyer E. (1988) Thresholds for mictic female production in the rotifer *Brachionus plicatilis* (Müller). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 124: 73-85
- Snell T., Dingmann B., Serra M. (2001) Density-dependent regulation of natural and laboratory rotifer populations. *Hydrobiologia*, 446/447: 39-44
- Theilacker G., McMaster M. (1971) Mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its evaluation as a food for larval anchovies. *Marine Biology*, 10: 183-188
- Van der Meer J. (2006) An introduction to Dynamic Energy Budget (DEB) models with special emphasis on parameter estimation. *Journal of sea Research*, 56: 85-102
- Walz N. (1993) Model simulations of continuous rotifer cultures. *Hydrobiologia*, 255/256: 165-170
- Yoshinaga T., Hagiwara A., Tsukamoto K. (1999) Effect of conditioned media on the asexual reproduction of the monogonont rotifer *Brachionus plicatilis* O.F.Müller. *Hydrobiologia*, 412: 103-110
- Yoshinaga T., Hagiwara A., Tsukamoto K. (2000) Effect of periodical starvation on the life history of *Brachionus plicatilis* O.F.Müller (Rotifera): a possible strategy for population stability. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 253: 253-260
- Yoshinaga T., Hagiwara A., Tsukamoto K. (2001) Effect of periodical starvation on the survival of offspring in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Fisheries Science*, 67: 373-374
- Yoshinaga T., Hagiwara A., Tsukamoto K. (2003) Life history response and age-specific tolerance to starvation in *Brachionus plicatilis* O.F.Müller (Rotifera). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 287: 261-271
- Yufero M. (1987) Effect of algal diet and temperature on the embryonic development time of the rotifer *Brachionus plicatilis* in culture. *Hydrobiologia*, 147: 319-322
- Yufero M., Navarro N. (1995) Population growth dynamics of the rotifer *Brachionus plicatilis* cultured in non-limiting food condition. *Hydrobiologia*, 313/314: 399-405
- Κωστοπούλου Β. (2007) Δυναμική πληθυσμών και στρατηγική αναπαραγωγής του τροχοφόρου *Brachionus* βιότυπου 'Nevada' σε σχέση με την τροφή. Διδακτορική διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών