



**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών:
Περιβαλλοντική βιολογία-
Διαχείριση Χερσαίων και Θαλάσσιων Βιολογικών Πόρων**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
Βιολογικές βάσεις καλλιέργειας του κρانيού
(*Argyrosomus regius*)**



Επιβλέποντες:
Κεντούρη Μαρουδιώ
Μυλωνάς Κωνσταντίνος

Παναγιωτίδου Μαρία

Ηράκλειο 2007

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
ABSTRACT.....	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο – ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	12
1.1 Το είδος και η καλλιέργειά του.....	12
1.2 Πυκνότητα εκτροφής	15
1.3 Διατροφή.....	17
1.4 Σκοπός της εργασίας.....	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο – ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΣΤΗΝ	
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΚΡΑΝΙΟΥ.....	20
2.1 Εισαγωγή.....	20
2.2 Υλικά και μέθοδοι.....	22
2.2.1 Ψάρια και συνθήκες εκτροφής.....	22
2.2.2 Δειγματοληψίες.....	23
2.2.3 Στατιστική ανάλυση.....	25
2.3 Αποτελέσματα.....	25
2.4 Συζήτηση.....	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο – ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟΥ	
ΛΙΠΟΥΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΚΡΑΝΙΟΥ	37
3.1 Εισαγωγή.....	37
3.2 Υλικά και μέθοδοι.....	39
3.2.1 Πειραματικά σιτηρέσια.....	39
3.2.2 Ψάρια και συνθήκες εκτροφής.....	39
3.2.3 Δειγματοληψίες.....	40
3.2.4 Στατιστική ανάλυση.....	42

3.3 Αποτελέσματα.....	42
3.4 Συζήτηση.....	44
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	57
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1 - ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ	58
A) Αναλύσεις σύστασης	58
B) Σύσταση σώματος.....	58
1. Πρωτεΐνες.....	58
2. Λίπος.....	59
3. Υγρασία	60
4. Τέφρα	61
Γ) Σύσταση ήπατος.....	61
1. Προσδιορισμός γλυκογόνου	61
2. Προσδιορισμός ολικού λίπους (Folch)	62
Δ) Σύσταση τροφών.....	62
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2 - ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΑΙΜΑΤΟΣ.....	63
1. Προσδιορισμός Γλυκόζης.....	63
2. Προσδιορισμός Ολικών πρωτεϊνών	64
3. Προσδιορισμός Χοληστερόλης.....	65
4. Προσδιορισμός Τριγλυκεριδίων	66
5. Προσδιορισμός Φωσφολιπιδίων	67
6. Προσδιορισμός μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων (NEFA)	68
7. Προσδιορισμός L-Γαλακτικού.....	69
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3 - ΠΙΝΑΚΕΣ	71
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 4 - ΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΣΤΑΣΕΙΣ.....	76
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	83

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ιχθύων, του Ινστιτούτου Υδατοκαλλιεργειών, στο Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών στο Ηράκλειο από τον Οκτώβριο του 2005 μέχρι το Σεπτέμβριο του 2006. Στη συνέχεια, οι αιματολογικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ιχθύων του Βιολογικού Τμήματος της Σχολής Θετικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Κρήτης τον Οκτώβριο του 2006 και οι αναλύσεις σύστασης πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Διατροφής, του Ινστιτούτου Υδατοκαλλιεργειών, στο Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών στον Αγ.Κοσμά Ελληνικού από το Νοέμβριο του 2006 μέχρι και τον Ιανουάριο του 2007.

Ευχαριστώ θερμά τον Κωνσταντίνο Μυλωνά, ερευνητή Β', του Ινστιτούτου Υδατοκαλλιεργειών του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. για τη συνεχή επίβλεψή του, τη βοήθειά του στο πειραματικό μέρος της εργασίας αλλά και τις διορθώσεις και τα εύστοχα σχόλια πάνω στο κείμενο. Τον ευχαριστώ επίσης για την κατανόηση που έδειξε στα προσωπικά και οικογενειακά προβλήματα υγείας που προέκυψαν κατά την περίοδο παραμονής μου στο εργαστήριό του, όπως επίσης και για τη χρηματοδότηση της εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια του τμήματος Βιολογίας και Αντιπρύτανη του Πανεπιστημίου Κρήτης, Κεντούρη Μαρουδιά, που δέχθηκε να επιβλέψει αυτήν την εργασία. Το Σταύρο Χατζηφώτη ερευνητή Γ', του Ινστιτούτου Υδατοκαλλιεργειών του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. ευχαριστώ για τη βοήθεια στις δειγματοληψίες και την κατανόησή του και συνέναιση να γίνουν οι αναλύσεις στο ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε στην Αθήνα.

Επίσης πρέπει να ευχαριστήσω τους τεχνικούς του Ινστιτούτου Υδατοκαλλιεργειών, στο Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών στο Ηράκλειο. Ξεκινώ από την Ειρήνη Συγγελάκη, υπεύθυνη για τη διαχείριση των ψαριών, που με βοήθησε σε όλες τις ατελείωτες και κουραστικές δειγματοληψίες μου και τη Μαρία Παπαδάκη για τη βοήθεια της μέσα στο εργαστήριο και τη συμμετοχή της στις δειγματοληψίες μου. Και τις δύο τις ευχαριστώ για τα ταΐσματα που ανέλαβαν όσο χρειάστηκε να λείψω. Ευχαριστώ πολύ το Στέλιο, τους Νικολήδες, την Ευσεβία, το Μανώλη, το Γιάννη και το Χρήστο που έκαναν την παραμονή μου εκεί πιο ευχάριστη.

Χρωστάω ένα μεγάλο ευχαριστώ στο Μιχαηλ Παυλίδη, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης, που μου παραχώρησε το εργαστήριό του για τις αναλύσεις αίματος και για τις πολύτιμες συμβουλές του. Τα κορίτσια του εργαστηρίου και καλές μου φίλες, Βέρα και Ελευθερία, ευχαριστώ πολύ που μετέτρεψαν τη δουλειά μου εκεί σε ψυχαγωγία, αλλά και γιατί ήταν δίπλα μου όποτε τις χρειάστηκα.

Από βάθη ψυχής πρέπει να ευχαριστήσω το Γιάννη Νέγκα, ερευνητή Β', του Ινστιτούτου Υδατοκαλλιεργειών του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., που μου παραχώρησε το εργαστήριό του για τις αναλύσεις ολικής σύστασης. Γιάννη, σ' ευχαριστώ πολύ για ό,τι έχεις κάνει και συνεχίζεις να κάνεις, για τις πολύτιμες συμβουλές σου, για την επίλυση πολλών προβλημάτων και αποριών μου και για την ηθική στήριξη. Επίσης, ευχαριστώ οφείλω στην Ελένη Φουντουλάκη, ερευνήτρια Γ', του Ινστιτούτου Υδατοκαλλιεργειών του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., που με καθοδήγησε στην πρώτη μου εμπειρία με κάποιες αναλύσεις. Για τον ίδιο λόγο ευχαριστώ και τον Κωνσταντίνο Παππά-Σκέλλα, ιχθυολόγο του εργαστηρίου Διατροφής στο ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., που με καθοδήγησε υπομονετικά και με βοήθησε σε όλες τις αναλύσεις μου. Τέλος, όλους τους

παραπάνω και όσους δεν έχω αναφέρει, Δήμητρα, Άννα, Στέλλα, Υβόνη, Παναγιώτη και Αντιγόνη τους ευχαριστώ για τη θερμή φιλοξενία τους στο εργαστήριο και που έκαναν τις πολλές ώρες δουλειάς εκεί ευχάριστες.

Επίσης ευχαριστώ οφείλω στην Κωνσταντίνα Λύκα, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης, για τις συμβουλές της για τις στατιστικές αναλύσεις της εργασίας.

Τους Παπασολομώντος Σωτήρη και Παπαϊωάννου Νίκο, από την εταιρεία ΚΕΓΟ, ευχαριστώ πολύ για την παρασκευή των τροφών και τη χρηματοδότηση του δεύτερου πειράματος της εργασίας.

Τελευταίους, αλλά περισσότερο από όλους θέλω να ευχαριστήσω τις φίλες μου και τους φίλους που ήταν δίπλα μου σε όλες τις καλές και κακές στιγμές αυτά τα χρόνια και όλα τα μέλη της οικογένειάς μου, το αδερφάκι μου, και τους (4!) γονείς μου, για τη συμπαράσταση και την οικονομική και ηθική στήριξή τους, την υπομονή και την αγάπη τους. Χωρίς αυτά δε θα είχα κάνει τίποτα. Η εργασία είναι αφιερωμένη σ' αυτούς.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο κρανιός θεωρείται νέο είδος για την ιχθυοκαλλιέργεια. Λόγω του πολύ μικρού αριθμού μελετών για το συγκεκριμένο είδος, οι γνώσεις για την εκτροφή του είναι πραγματικά περιορισμένες. Στόχος λοιπόν της εργασίας ήταν να συνεισφέρει στην απόκτηση γνώσεων κι εμπειριών, απαραίτητων για την καλλιέργεια του είδους. Ο προσδιορισμός της βέλτιστης ιχθυοφόρτισης, αποτελεί πολύ βασική γνώση για την εκτροφή ενός είδους. Σκοπός του πρώτου πειράματος ήταν η μελέτη των επιδράσεων των διαφορετικών ιχθυοφορτίσεων στην αύξηση, την αξιοποίηση της τροφής, τη σύσταση του σώματος, του μυός και του ήπατος και τους βιοχημικούς μεταβολίτες στο αίμα του κρανιού και ο προσδιορισμός της βέλτιστης πυκνότητας εκτροφής για το συγκεκριμένο είδος. Ιχθύδια βάρους 84 ± 10 g. (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση) τοποθετήθηκαν σε κυλινδρικές δεξαμενές 500 lt, σε ιχθυοφορτίσεις 12, 24 και 48 ψάρια/δεξαμενή (χαμηλή, μεσαία, υψηλή) (n=3) για 206 ημέρες. Κάθε μήνα πραγματοποιούνταν μετρήσεις μήκους και βάρους όλων των ατόμων. Στην αρχή και το τέλος του πειράματος ελήφθησαν δείγματα ήπατος, μυός αλλά και ολόκληρα σώματα για αναλύσεις σύστασης, καθώς επίσης και αίμα για βιοχημικές αναλύσεις. Κατά τη διάρκεια του πειράματος, το μήκος και το βάρος των ψαριών της μεσαίας πυκνότητας ήταν σημαντικά μεγαλύτερα από αυτά της υψηλής (ANOVA, DNMR, $p < 0,05$), ενώ τα ψάρια της χαμηλής πυκνότητας παρουσίασαν ενδιάμεσα μήκη και βάρη. Παρόλα αυτά όταν η ανάλυση έγινε μόνο για τα τελικά δεδομένα, δε διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις τρεις πυκνότητες, έχοντας μέσες τιμές μήκους $272,5 \pm 5,2$ mm και βάρους $214,7 \pm 11,6$ g. Επίσης δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στον ειδικό ρυθμό αύξησης (specific growth rate, SGR), στο δείκτη μετατρεψιμότητας της τροφής (feed conversion ratio, FCR)

και στο συντελεστή ευρωστίας (condition factor, CF), οι μέσες τιμές των οποίων ήταν $0,46 \pm 0,02$, $1,26 \pm 0,10$ και $1,05 \pm 0,01$, αντίστοιχα. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στον ηπατοσωματικό και το σπλαγνοσωματικό δείκτη. Οι αναλύσεις σύστασης έδειξαν ότι οι αλλαγές της πυκνότητας εκτροφής δεν επηρέασαν γενικά τη σύσταση του σώματος και του μυός. Πιο συγκεκριμένα, δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά σε κανένα από τα συστατικά του μυ, ενώ η μόνη διαφορά που διαπιστώθηκε στη σύσταση του σώματος, ήταν στην τέφρα, όπου τα ψάρια της υψηλής ($3.31 \pm 0.32\%$) και της μεσαίας ($3.94 \pm 0.17\%$) ιχθυοφόρτισης παρουσίασαν μεγαλύτερα ποσοστά τέφρας, από αυτά της χαμηλής πυκνότητας ($2.38 \pm 0.23\%$). Διαφορές παρατηρήθηκαν και στη σύσταση του ήπατος. Το περιεχόμενο του ήπατος σε λίπος διέφερε και στις τρεις ιχθυοφορτίσεις. Πιο συγκεκριμένα, τα ψάρια της υψηλής ιχθυοφόρτισης εμφάνισαν $15.37 \pm 0.68\%$ λίπος, της μεσαίας $8.87 \pm 0.58\%$ και της χαμηλής $19.18 \pm 1.66\%$. Αντιθέτως, στο γλυκογόνο του ήπατος δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά ανάμεσα στις τρεις ιχθυοφορτίσεις, του οποίου οι τιμές κυμάνθηκαν από 6.86-7.59%. Ανεπηρέστα έμειναν και τα βιοχημικά συστατικά του αίματος από τις αλλαγές στην πυκνότητα εκτροφής. Συμπερασματικά, η ιχθυοφόρτιση δε φάνηκε να επηρεάζει την αύξηση του κρανίου, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό καθώς επιτρέπει την εκτροφή του σε υψηλές ιχθυοφορτίσεις ($22,7 \text{ kg m}^{-3}$).

Ο σκοπός του δεύτερου πειράματος ήταν να μελετηθούν οι επιδράσεις των διαφορετικών επιπέδων λίπους της τροφής στην αύξηση, την αξιοποίηση της τροφής, τη σύσταση του σώματος, του μυός και του ήπατος και τους βιοχημικούς μεταβολίτες στο αίμα του κρανίου και να προσδιοριστεί το καταλληλότερο επίπεδο διατροφικού λίπους για τη βέλτιστη ανάπτυξη του είδους. Ιχθύδια βάρους $229.7 \pm 1.4 \text{ g}$ (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση) τοποθετήθηκαν σε κυλινδρικές δεξαμενές 500 lt, και τρέφονταν με τρεις δίαιτες με 13, 17, και 21% λίπος ($n=3$) για 16 εβδομάδες. Κάθε μήνα

πραγματοποιούνταν μετρήσεις μήκους και βάρους όλων των ατόμων. Στην αρχή και το τέλος του πειράματος ελήφθησαν δείγματα ήπατος, μυός αλλά και ολόκληρα σώματα για αναλύσεις σύστασης, καθώς επίσης και αίμα για βιοχημικές αναλύσεις. Το βάρος, μήκος και ο ειδικός ρυθμός αύξησης των ψαριών που τρέφονταν με το σιτηρέσιο με 17% λιπος (βάρος: $385.4 \pm 1.1\text{g}$, μήκος: $337.0 \pm 0.8\text{mm}$, SGR: $0.46 \pm 0.00\%$ ημέρα⁻¹) ήταν σημαντικά υψηλότερα από αυτά των ψαριών που τρέφονταν με τα σιτηρέσια με 21% λίπος (βάρος: $371.0 \pm 1.8\text{g}$, μήκος: $333.4 \pm 1.2\text{mm}$, SGR: $0.43 \pm 0.00\%$ ημέρα⁻¹), και 13% λίπος (βάρος: $357.1 \pm 5.1\text{g}$, μήκος: $328.9 \pm 1.0\text{mm}$, SGR: $0.40 \pm 0.00\%$ ημέρα⁻¹) (ANOVA, DNMR, $p < 0,05$). Η ημερήσια κατανάλωση τροφής δεν επηρεάστηκε από το διατροφικό επίπεδο λίπους, αλλά υπήρχαν σημαντικές διαφορές στο δείκτη μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) (17%: 1.38 ± 0.03 , 21%: 1.47 ± 0.02 , 13%: 1.61 ± 0.03) και το δείκτη αξιοποίησης της πρωτεΐνης (PER) (17%: 1.68 ± 0.04 , 21%: 1.59 ± 0.02 , 13%: 1.44 ± 0.02). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο συντελεστή ευρωστίας (CF), τον ηπατοσωματικό και το σπλαγχοσωματικό δείκτη. Οι αναλύσεις σύστασης έδειξαν ότι τα επίπεδα σωματικού και μυϊκού λίπους επηρεάστηκαν από την αύξηση του διατροφικού λίπους (21%: σώμα: $7.41 \pm 0.45\%$, μυς: $0.64 \pm 0.13\%$, 17%: σώμα: $5.92 \pm 0.12\%$, μυς: $0.37 \pm 0.08\%$, 13%: σώμα: $5.76 \pm 0.23\%$, μυς: $0.31 \pm 0.02\%$), ενώ τα υπόλοιπα χημικά συστατικά του σώματος, του μυός και του ήπατος έμειναν ανεπηρέαστα. Ανεπηρέαστα έμειναν και τα βιοχημικά συστατικά του αίματος από τις αλλαγές του διατροφικού λίπους. Συμπερασματικά ο κρانيός είναι είδος με μέτριες απαιτήσεις λίπους και συνίσταται να αποφεύγονται μεγάλες ποσότητες διατροφικού λίπους, καθώς είναι υπεύθυνες για τη μείωση της αύξησης και τη συσσώρευση λίπους.

ABSTRACT

At present, fish farming in the Mediterranean Sea is based almost exclusively on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). The need to diversify the number of reared fish species has been identified a method to ensure the sustained growth of the industry. Meagre (*Argyrosomus regius*) is one of the candidate species, since it exhibits a fast growth rate and is strongly appreciated for its flesh quality; and it has been ranked 7th among 27 candidate species for aquaculture development. Since scientific knowledge of the culture of meagre is scarce, the aim of the present study was to contribute some basic information on growth and culture of meagre. Stocking density is a major factor affecting fish growth under farmed conditions. The objective of the first experiment was to evaluate the effects of stock density on growth, feed utilization, body composition and serum metabolites of meagre juveniles. Triplicate groups of fish (average weight \pm SD, 84 \pm 10 g) were stocked in nine 500-L cylindrical tanks, under stocking densities of 12, 24 and 48 fish per tank (low, medium and high), for seven months. During the trial, fish were individually weighed every month. Two fish from each replicate at the end of the trial were randomly sampled and pooled for whole body composition analysis. Wet weight, viscera and liver weights were recorded for determination of hepatosomatic and visceral indices. Furthermore, liver and muscle samples were taken from three other fish per replicate for glycogen and lipid determinations. Serum metabolites were measured by enzymatic colorimetric methods using commercially available kits. All data are presented as mean \pm SEM. During the experimental period, body weight and total length of fish held at medium stocking density were significantly higher than that of fish stocked at high and low density (ANOVA,

DNMR, $p < 0,05$). Despite these differences, the statistical analysis of the final data indicated no significant differences among the three stocking densities (length: $272,5 \pm 5,2$ mm and weight: $214,7 \pm 11,6$ g). Specific Growth Rate (SGR: $0,46 \pm 0,02$), Feed Conversion Ratio (FCR: $1,26 \pm 0,10$) and Condition Factor (CF: $1,05 \pm 0,01$) were not affected by stocking density. There was no significant difference in hepatosomatic or viscerosomatic indexes. Proximate analysis indicated that the ash content of whole body was affected by stocking density, whereas the other chemical components of whole body and muscle were unaffected by the different levels of stocking density. Whole body of fish held at low stocking density showed significantly lower values ($2.38 \pm 0.23\%$) of ash content than fish stocked at medium ($3.94 \pm 0.17\%$) and high stocking density ($3.31 \pm 0.32\%$). Liver glycogen was not affected by stocking density, but there were significant differences in liver lipid content among the three stocking densities (high: $15.37 \pm 0.68\%$, medium: $8.87 \pm 0.58\%$ and low: $19.18 \pm 1.66\%$). Serum metabolites did not show significant differences among the three stocking densities. In conclusion, since stocking density did not affected growth performance of meagre, high stocking densities (22 kg m^{-3}) can be applied to the culture of the species.

The objective of the second experiment was to evaluate the effects of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and serum metabolites of meagre juveniles. Triplicate groups of fish (average weight \pm SD, $229.7 \pm 1.4\text{g}$) were fed three isonitrogenous (43% crude protein, Dry Matter) experimental diets containing 13, 17, or 21% lipid for 16 weeks. During the trial, fish were individually weighed every month. Twelve fish at the beginning and two fish from each replicate at the end of the trial were randomly sampled and pooled for whole body composition analysis. Wet weight, viscera and liver weights were recorded for determination of

hepatosomatic and visceral indices. At the end of the trial, liver and muscle samples were taken from three other fish per replicate for glycogen and lipid determinations. Serum metabolites were measured by enzymatic colorimetric methods using commercially available kits. All data are presented as mean \pm SEM. Body weight, total length and Specific Growth Rate of fish fed the 17% lipid diet (weight: 385.4 ± 1.1 g, length: 337.0 ± 0.8 mm, SGR: $0.46 \pm 0.00\%$ day⁻¹) were significantly higher than that of fish fed the 13% (weight: 357.1 ± 5.1 g, length: 328.9 ± 1.0 mm, SGR: $0.40 \pm 0.00\%$ day⁻¹), and 21% lipid diets (weight: 371.0 ± 1.8 g, length: 333.4 ± 1.2 mm, SGR: $0.43 \pm 0.00\%$ day⁻¹) (ANOVA, DNMR, $p < 0.05$). Daily feed intake was not affected by the dietary lipid level, but there were significant differences in feed conversion ratio (FCR) (17%: 1.38 ± 0.03 , 21%: 1.47 ± 0.02 , 13%: 1.61 ± 0.03) and protein efficiency ratio (PER) (17%: 1.68 ± 0.04 , 21%: 1.59 ± 0.02 , 13%: 1.44 ± 0.02). There was no significant difference in condition factor, hepatosomatic or viscerosomatic indexes. Proximate analysis indicated that the lipid content of whole body and muscle was affected by the diets, whereas the other chemical components of whole body, muscle and liver were unaffected by the increase in dietary lipid content. Whole body and muscle of fish fed the 21% lipid diet showed significantly higher values (body: $7.41 \pm 0.45\%$ and muscle: $0.64 \pm 0.13\%$) than fish fed 17 and 13% lipid (body: $5.92 \pm 0.12\%$, muscle: $0.37 \pm 0.08\%$ and body: $5.76 \pm 0.23\%$, muscle: $0.31 \pm 0.02\%$, respectively). Serum metabolites did not show significant differences among the three dietary lipid levels. In conclusion, meagre is a fish with medium lipid requirement and excess dietary lipid level should be avoided, since the increase of dietary lipid level beyond 17% resulted in higher fat accretion and impaired growth performance.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο – ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Το είδος και η καλλιέργειά του

Σε μια εποχή που ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξάνεται ραγδαία και το βιοτικό επίπεδο ανεβαίνει συνεχώς, η υδατοκαλλιέργεια αποτελεί μια σημαντική πηγή υψηλής ποιότητας πρωτεΐνης και συμβάλλει στη μείωση της πίεσης που ασκείται στους άγριους ιχθυοπληθυσμούς λόγω της υπεραλίευσης και της θαλάσσιας ρύπανσης. Τα τελευταία χρόνια, ο τομέας της υδατοκαλλιέργειας εξελίσσεται συνεχώς. Η συμβολή της υδατοκαλλιέργειας στη συνολική παγκόσμια παραγωγή αλιευμάτων αυξάνεται ραγδαία. Σύμφωνα με στοιχεία του FAO, το ποσοστό του βάρους των αλιευμάτων που προέρχονται από την υδατοκαλλιέργεια αυξήθηκε από 3.9% το 1970 σε 32.4% του βάρους των συνολικών αλιευμάτων το 2004 (FAO, 2006). Παρόμοιους ρυθμούς ανάπτυξης παρουσίασε και η μεσογειακή υδατοκαλλιέργεια τα τελευταία χρόνια. Ιδιαίτερα για το τμήμα της ιχθυοκαλλιέργειας ο ρυθμός ανάπτυξης τις δύο τελευταίες δεκαετίες έφτασε το 25.7% (IUCN, 2004).

Οι ιχθυοκαλλιέργειες στις ακτές της Μεσογείου βασίζονται κυρίως στην παραγωγή τσιπούρας (*Sparus aurata*) και λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) (Abellan and Basurco, 1999; Quémèner et al., 2002; Suquet et al., 2002), η παραγωγή των οποίων έφτασε τους 120000 τόνους το 2000 (Quemener et al., 2002; Suquet et al., 2002). Η αύξηση της παραγωγής αυτών των ειδών και η σταθεροποίηση της ζήτησής τους, οδήγησε σε σημαντική μείωση της τιμής πώλησής τους, γεγονός το οποίο προκάλεσε κρίση στις αρχές της δεκαετίας του 2000 (Kentouri et al., 1995; Abellan and Basurco, 1999). Η διαφοροποίηση της παραγωγής με νέα είδη αποτελεί μια ενδιαφέρουσα λύση, η οποία ανοίγει νέες αγορές (Kentouri et al., 1995). Αυτή η

παγκόσμια τάση ενισχύεται από τη ζήτηση των καταναλωτών και εφόσον υπάρχουν υποψήφια είδη με υψηλές αυξητικές επιδόσεις, υποστηρίζεται ότι θα επιφέρει αύξηση της παραγωγής, θα μειώσει τον κίνδυνο ξεσπάσματος ασθενειών και θα δώσει τη δυνατότητα στους ιχθυοκαλλιεργητές να επιλέγουν από μια ποικιλία ειδών αυτό που θα προσαρμόζεται καλύτερα στις τοπικές περιβαλλοντικές συνθήκες και τις ποικίλες καλλιεργητικές τεχνικές (Quémèner et al., 2002; Suquet et al., 2002).

Στα πλαίσια αυτής της παγκόσμιας προσπάθειας, και καθώς υπάρχει πληθώρα υποψηφίων ειδών, προτάθηκε μια μέθοδος επιλογής υποψηφίων για ιχθυοκαλλιέργεια ειδών και δημιουργήθηκε μια κατατακτήρια λίστα από 27 είδη ψαριών που παρουσιάζουν ενδιαφέρον για καλλιέργεια (Quémèner et al., 2002). Την όγδοη θέση στην κατατακτήρια λίστα κατέχει ο κρانيός (*Argyrosomus regius*), που αποτελεί ένα πολύ ενδιαφέρον είδος για καλλιέργεια (Quémèner et al., 2002). Ο κρانيός (*Argyrosomus regius*, Asso, 1801) ανήκει στην Ομοταξία Actinopterygii, Διαίρεση Teleostei, Τάξη Perciformes, Οικογένεια Sciaenidae (Chao L.N. and E. Trewavas, 1990). Η οικογένεια των Sciaenidae περιλαμβάνει 70 γένη και 270 είδη. Το συγκεκριμένο γένος περιλαμβάνει οκτώ είδη (Quémèner, 2002). Ο κρانيός συναντάται κατά μήκος των ακτών του Ατλαντικού, βόρεια του English Channel, της Βόρειας Θάλασσας και νότια της Νορβηγίας και Σουηδίας, όπως επίσης και σε όλη τη Μεσόγειο, στο δυτικό άκρο της Μαύρης Θάλασσας και της Θάλασσας του Μαρμαρά, καθώς επίσης στις λίμνες του Δέλτα του Νείλου και από τις Bitter Lakes έως τη διώρυγα του Σουέζ. Επίσης νότια του Κονγκό συμπεριλαμβανομένων και των Καναρίων Νήσων (Whitehead et al., 1986).

Είναι είδος που συναντάται σε παράκτιες περιοχές, από 15-200 μέτρα βάθος. Μπαίνει σε εκβολές ποταμών και παράκτιες λιμνοθάλασσες. Συναθροίζεται σε παράκτιες περιοχές την περίοδο της ωοτοκίας (Whitehead et al., 1986). Τρέφεται με

ψάρια, κεφαλόποδα και καρκινοειδή που κολυμπούν (Quero & Vayne, 1997). Τα νεαρά άτομα σχηματίζουν κοπάδια, ενώ τα ενήλικα συναντώνται απομονωμένα είτε σε μικρές ομάδες. Πρόκειται για είδος που περνά περιόδους της ζωής του και σε γλυκό και σε θαλασσινό νερό (Quèmèner, 2002). Οι κρانيοί μεταναστεύουν για να αναπαραχθούν, να τραφούν και να προφυλαχτούν από το κρύο στον κόλπο Gironde στη Γαλλία, στη Μεσόγειο, στις εκβολές του Νείλου και στη Μαυριτανία στον κόλπο Levrier (Quero & Vayne, 1997).

Ο κρانيός αναπαράγεται από Απρίλιο έως Ιούλιο στην Νότια Μεσόγειο συνήθως σε εκβολές ποταμών (Whitehead et al., 1986). Κατά τη διάρκεια της περιόδου της αναπαραγωγής, τα αρσενικά εκπέμπουν υπόκωφους κρωγμούς, που προέχονται από τη δράση των κοιλιακών μυών πάνω στα τοιχώματα της νυκτικής κύστης (Quèmèner, 2002).

Μπορεί να φτάσει σε μέγεθος τα 140 cm, ίσως και τα 200 cm SL, με συχνότερη τιμή τα 50 cm (Whitehead et al., 1986). Η ανάπτυξη του είδους πραγματοποιείται κυρίως κατά τους θερινούς μήνες και φαίνεται ότι κατά τη διάρκεια του χειμώνα δεν τρέφεται καθόλου (Quèmèner, 2002). Η ανάπτυξη των νεαρών ατόμων είναι πολύ γρήγορη αφού μέχρι τον πρώτο χειμώνα της ζωής τους (περίπου 6 μηνών) αποκτούν κατά μέσο όρο μήκος 20cm και βάρος 50g, ενώ το δεύτερο χειμώνα 40cm και 1000g και τον τρίτο 55cm και 3000g. Η ανάπτυξή τους παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις ανάμεσα στα έτη, που οφείλονται στη θερινή θερμοκρασία και τη διαθέσιμη τροφή (Quero & Vayne, 1997).

Το γεγονός ότι είναι ευρύθερμο και ευρύαλο είδος του προσφέρει υψηλές δυνατότητες προσαρμογής σε ποικίλα περιβάλλοντα, γεγονός ιδιαίτερα ευνοϊκό για την καλλιέργεια του είδους (Quèmèner, 2002). Επίσης είναι είδος που ανέχεται την αιχμαλωσία (Quèmèner, 2002). Η σάρκα του είναι ιδιαίτερα αξιόλογη. Το μικρό

ποσοστό και η ποιοτική σύσταση των λιπιδίων της σάρκας καθιστούν τον κρανιό ένα είδος υψηλής διατροφικής αξίας (Poli et al., 2003; Quèmèner, 2002).

Προς το παρόν, έχουν γίνει λίγες προσπάθειες καλλιέργειας του κρανιού. Μόνο σε μία περίπτωση, στη Γαλλία, έχει επιτευχθεί η τεχνητή αναπαραγωγή και εκτροφή του είδους. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις έχει γίνει εντατική εκτροφή του γόνου ως το εμπορεύσιμο μέγεθος (Poli et al., 2003).

1.2 Πυκνότητα εκτροφής

Στην ιχθυοκαλλιέργεια, ο όρος πυκνότητα ενσωματώνει τον αριθμό των ιχθύων ανά μονάδα τρισδιάστατου χώρου, τον αριθμό των ιχθύων ή το βάρος των ιχθύων ανά όγκο στατικού ύδατος και τη βιομάζα των ιχθύων ανά όγκο ρέοντος ύδατος στη μονάδα του χρόνου (Beleau, 1990 από Conte, 2004).

Έχουν αναφερθεί τρεις διαφορετικές αλλά συσχετιζόμενες έννοιες που είναι βασικές για την κατανόηση της πυκνότητας, ειδικά στην εντατική ιχθυοκαλλιέργεια (Wedemeyer, 1996; Ellis et al., 2002). Οι έννοιες αυτές είναι η φέρουσα ικανότητα (carrying capacity), ο συνωστισμός (crowding) και η ιχθυοφόρτιση (fish loading density).

Φέρουσα ικανότητα, με την οικολογική έννοια, ορίζεται ως ο μέγιστος αριθμός ψαριών που μπορεί να συντηρήσουν οι πόροι ενός συγκεκριμένου ενδιαιτήματος. Στην ιχθυοκαλλιέργεια, συνήθως εκφράζεται ως βάρος ιχθύων ανά μονάδα ροής ύδατος, παρά σαν αριθμός ψαριών. Η φέρουσα ικανότητα σε μια ορισμένη ποσότητα νερού καθορίζεται από το ρυθμό κατανάλωσης οξυγόνου των ψαριών και την απόκριση στην αμμωνία, το διοξείδιο του άνθρακα και άλλα τοξικά μεταβολικά απόβλητα που παράγονται (Wedemeyer, 1996). Η φέρουσα ικανότητα έχει περιγραφεί στη βιβλιογραφία με τρεις εκφράσεις: 1) μεταβολική ιχθυοφόρτιση

kg/l/min, 2) kg τροφής/ημέρα/m³, και 3) τροφή/διαθέσιμο O₂/l/min (Ellis et al., 2002). Υποστηρίζεται επίσης ότι η φέρουσα ικανότητα γενικά χρησιμοποιείται για αναφορά στη μέγιστη βιομάζα ψαριών βασιζόμενη στις φυσιολογικές ανάγκες και αγνοώντας έτσι τις χωρικές ανάγκες (Ellis et al., 2002).

Ο συνωστισμός συχνά περιγράφεται αόριστα σαν υψηλή ιχθυοφόρτιση. Πιο συγκεκριμένα σχετίζεται με τις συμπεριφορικές απαιτήσεις των ψαριών για χώρο και εκφράζεται με όρους πυκνότητας βάρους ή βάρους ιχθύων ανά μονάδα όγκου ύδατος, αλλά όχι ροής ύδατος (Wedemeyer, 1996). Τέλος, ιχθυοφόρτιση είναι το βάρος των ψαριών ανά μονάδα ροής ύδατος (Wedemeyer, 1996). Διαφέρει από τη φέρουσα ικανότητα γιατί απευθύνεται τόσο στις χωρικές όσο και στις φυσιολογικές απαιτήσεις των ψαριών (Ellis et al., 2002).

Οι υψηλές πυκνότητες εκτροφής επιτρέπουν καλύτερη εκμετάλλευση του χώρου και μεγιστοποίηση της παραγωγής, συντελώντας στην αύξηση του κέρδους μιας ιχθυοπαραγωγικής μονάδας. Παρόλα αυτά, μειωμένη ανάπτυξη και αυξημένη συχνότητα εμφάνισης ασθενειών έχουν παρατηρηθεί σε ψάρια που εκτρέφονται σε υψηλές ιχθυοφορτίσεις (Bolasina et al., 2006). Η ιχθυοπυκνότητα ευθύνεται για αλλαγές στην τροφική συμπεριφορά, το ρυθμό ανάπτυξης, την κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος των ψαριών σε συνθήκες ιχθυοκαλλιέργειας (Jobling 1995; Yi et al., 1996; Hengsawat et al., 1997), και τα αυξημένα επίπεδα διαφόρων μεταβολιτών στο αίμα (Schreck, 1982).

Η μειωμένη ανάπτυξη με την αύξηση της ιχθυοφόρτισης αποδίδεται γενικά στην υποβάθμιση της ποιότητας του νερού, στη μείωση της κατανάλωσης τροφής λόγω ανταγωνισμού, στις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις, την επιθετική συμπεριφορά (Vijayan and Leatherland, 1988; Alanärä and Brännäs, 1996; Montero et al., 1999, 2001; Boujard et al., 2002) ή στην αυξημένη κινητικότητα που οφείλεται στο

συνωστισμό (Holm et al., 1990). Επίσης αναφέρεται ότι ο συνωστισμός προκαλεί χρόνιο στρες στο ψάρι, γεγονός το οποίο αυξάνει τις μεταβολικές ανάγκες του (Vijayan and Leatherland, 1988; Montero et al., 1999).

Παρόλα αυτά, έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις στις οποίες η αύξηση της ιχθυοπυκνότητας επέδρασε θετικά στην ανάπτυξη των ψαριών, όπως ο αρκτικός σαλβελίνος (*Salvelinus alpinus*) (Wallace et al., 1988; Jorgensen et al., 1993), το λαβράκι (Papoutsoglou et al., 1998) και το largemouth bass (*Micropterus salmoides*) (Tidwell et al., 1998). Είναι λοιπόν εμφανές ότι οι επιδράσεις της αύξησης της πυκνότητας εκτροφής είναι διαφορετικές σε κάθε είδος και είναι στενά συνδεδεμένες με την ηθολογία και συμπεριφορά του είδους (Papoutsoglou et al., 2006).

1.3 Διατροφή

Η διατροφή των ψαριών είναι ένα από τα πιο μελετημένα πεδία στη βιολογία των ψαριών και συνεχίζει να προσελκύει το επιστημονικό ενδιαφέρον καθώς καθορίζει την αύξηση, την αναπαραγωγή και την υγεία των ψαριών. Από την άλλη, τα τελευταία χρόνια έχει δοθεί ιδιαίτερη έμφαση στις αλληλεπιδράσεις της υδατοκαλλιέργειας με το περιβάλλον, κι ιδιαίτερα της ρύπανσης που προκαλείται από την υδατοκαλλιέργεια και την απόλυτη εξάρτηση της παραγωγής από την καλή ποιότητα του νερού (Hempel, 1993). Ιδιαίτερη προσοχή έχει δοθεί στη δημιουργία τροφών που θα μεγιστοποιούν τη συγκράτηση των θρεπτικών και θα ελαχιστοποιούν την απώλειά τους ώστε να περιοριστεί κατά το δυνατόν η ρύπανση της υδατοκαλλιέργειας (Tacon, 1997). Επίσης, επειδή το πρωτεϊνικό περιεχόμενο στις τροφές των ψαριών αποτελεί συνήθως το μεγαλύτερο κόστος στις τροφές, σκοπός είναι η ελαχιστοποίηση της πρωτεΐνης με παράλληλη βελτίωση της αύξησης (Watanabe, 2002).

Τα λιπίδια παίζουν σημαντικό ρόλο σαν πηγή διαιτητικής ενέργειας για την ανάπτυξη των ψαριών, ιδίως στα σαρκοφάγα είδη που έχουν περιορισμένες δυνατότητες αξιοποίησης των υδατανθράκων σαν πηγή ενέργειας. Μεταβολίζονται καλά από τα ψάρια και είναι απαραίτητα για την επίτευξη υψηλών ρυθμών αύξησης (Watanabe, 1982). Με την αύξηση του ενεργειακού περιεχομένου της τροφής, με την προσθήκη λίπους, αναφέρεται ότι αντικαθίσταται η πρωτεΐνη που θα μεταβολιζόταν για ενεργειακό σκοπό κι έτσι καθίσταται δυνατή η καλύτερη αξιοποίησή της για την αύξηση του ψαριού (protein sparing effect) (De Silva et al., 1991; Skalli et al., 2004; Hillestad and Johnsen, 1994; Helland and Grisdale-Helland, 1998; Torstensen et al., 2001; Lee et al., 2002) και ελαχιστοποιούνται οι απώλειες αζώτου στο περιβάλλον (Cho and Kaushik, 1990). Από την άλλη, η υπερβολική αύξηση του λίπους στην τροφή κι επομένως της ενέργειας, μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της κατανάλωσης της τροφής και της λήψης θρεπτικών συστατικών, με αποτέλεσμα τη μείωση της αύξησης (Page and Andrews, 1973; Watanabe, 1982; Daniels and Robinson, 1986; Ellis and Reigh, 1991). Επιπλέον, η αύξηση των επιπέδων λίπους της τροφής, μπορεί να επηρεάσει τη σύσταση της σάρκας του ψαριού και να οδηγήσει σε αυξημένη εναπόθεση λίπους (Bromley, 1980; Hillestad and Johnsen, 1994). Επομένως, η αύξηση του διατροφικού λίπους πρέπει να εκτιμάται και να καθορίζεται προσεκτικά, ώστε να επιδρά μόνο θετικά στην ανάπτυξη των ψαριών.

1.4 Σκοπός της εργασίας

Ο κρυνιός θεωρείται νέο είδος με καλή προοπτική για την ιχθυοκαλλιέργεια. Λόγω του πολύ μικρού αριθμού μελετών για το συγκεκριμένο είδος, οι γνώσεις για την εκτροφή του είναι πραγματικά περιορισμένες. Σκοπός λοιπόν της εργασίας ήταν να συνεισφέρει στην απόκτηση γνώσεων κι εμπειριών, απαραίτητων για την καλλιέργεια του είδους. Ο προσδιορισμός της βέλτιστης ιχθυοφόρτισης, αποτελεί πολύ βασική γνώση για την εκτροφή ενός είδους. Σκοπός του πρώτου πειράματος ήταν η μελέτη των επιδράσεων των διαφορετικών ιχθυοφορτίσεων στην αύξηση, την αξιοποίηση της τροφής, τη σύσταση του σώματος, του μυός και του ήπατος και τους βιοχημικούς μεταβολίτες στο αίμα του κρυνιού με στόχο τον προσδιορισμό της βέλτιστης πυκνότητας εκτροφής για το συγκεκριμένο είδος. Σκοπός του δεύτερου πειράματος ήταν να μελετηθούν οι επιδράσεις των διαφορετικών επιπέδων λίπους της τροφής στην αύξηση, την αξιοποίηση της τροφής, τη σύσταση του σώματος, του μυός και του ήπατος και τους βιοχημικούς μεταβολίτες στο αίμα του κρυνιού και να προσδιοριστεί το καταλληλότερο επίπεδο διατροφικού λίπους για τη βέλτιστη ανάπτυξη του είδους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο – ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΚΡΑΝΙΟΥ

2.1 Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια το επιστημονικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στη μελέτη νέων ειδών υποψηφίων προς καλλιέργεια, καθώς θεωρείται ότι η διαφοροποίηση της παραγωγής με νέα είδη θα συντελέσει σε μεγάλο βαθμό στην ανάπτυξη του τομέα της υδατοκαλλιέργειας (Abellan and Basurco, 1999). Ο κρυνός (*Argyrosomus regius*) αποτελεί ένα πολύ ενδιαφέρον είδος για καλλιέργεια. Ανήκει στην οικογένεια των Sciaenidae και είναι σαρκοφάγο είδος. Εξαπλώνεται κατά μήκος των ακτών του Ατλαντικού, σε όλη τη Μεσόγειο, στη Μαύρη Θάλασσα και τη Θάλασσα του Μαρμαρά. Είναι είδος που συναντάται σε παράκτιες περιοχές, κοντά στον πυθμένα, στην επιφάνεια ή και ενδιάμεσα, από 15-200 μέτρα βάθος (Whitehead et al., 1986). Το γεγονός ότι είναι ευρύθερμο και ευρύαλο είδος του προσφέρει μεγάλες δυνατότητες προσαρμογής σε ποικίλα περιβάλλοντα, γεγονός ιδιαίτερα ευνοϊκό για την καλλιέργεια του είδους. Επίσης είναι είδος που ανέχεται την αιχμαλωσία (Quémener, 2002) και παρουσιάζει γρήγορη ανάπτυξη (Quero & Vayne, 1997). Η σάρκα του είναι ιδιαίτερα αξιόλογη. Το μικρό ποσοστό και η ποιοτική σύσταση των λιπιδίων της σάρκας καθιστούν τον κρυνό ένα είδος υψηλής διατροφικής αξίας (Poli et al., 2003; Quémener, 2002). Προς το παρόν, έχουν γίνει λίγες προσπάθειες καλλιέργειας του κρυνού. Μόνο σε μία περίπτωση, στη Γαλλία, έχει επιτευχθεί η τεχνητή αναπαραγωγή και εκτροφή του είδους. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις έχει γίνει εντατική εκτροφή του γόνου ως το εμπορεύσιμο μέγεθος (Poli et al., 2003). Η έλλειψη γνώσεων κι εμπειρίας και η απουσία επιστημονικών εργασιών σχετικών με

την καλλιέργεια και την αύξηση του είδους, καθιστούν αναγκαία τη μελέτη του προκειμένου να επιτευχθεί επιτυχής και συμφέρουσα καλλιέργεια του είδους.

Οι υψηλές ιχθυοφορτίσεις επιτρέπουν καλύτερη εκμετάλλευση του χώρου και μεγιστοποίηση της παραγωγής, συντελώντας στην αύξηση του κέρδους μιας ιχθυοπαραγωγικής μονάδας. Παρόλα αυτά, μειωμένη ανάπτυξη και αυξημένη συχνότητα εμφάνισης ασθενειών, έχουν παρατηρηθεί σε ψάρια που εκτρέφονται σε υψηλές ιχθυοφορτίσεις (Bolasina et al., 2006). Η ιχθυοπυκνότητα ευθύνεται για αλλαγές στην τροφική συμπεριφορά, το ρυθμό ανάπτυξης, την κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος των ψαριών σε συνθήκες ιχθυοκαλλιέργειας (Jobling 1995; Yi et al., 1996; Hengsawat et al., 1997) και τα αυξημένα επίπεδα διαφόρων μεταβολιτών στο αίμα (Schreck, 1982).

Η μειωμένη ανάπτυξη με την αύξηση της ιχθυοφόρτισης αποδίδεται γενικά στην υποβάθμιση της ποιότητας του νερού, στη μείωση κατανάλωσης τροφής λόγω ανταγωνισμού, στις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις, στην επιθετική συμπεριφορά (Vijayan and Leatherland, 1988; Alanärä and Brännäs, 1996; Montero et al., 1999, 2001; Boujard et al., 2002) ή στην αυξημένη κινητικότητα που οφείλεται στο συνωστισμό (Holm et al., 1990). Επίσης αναφέρεται ότι ο συνωστισμός προκαλεί χρόνιο στρες στο ψάρι, γεγονός το οποίο αυξάνει τις μεταβολικές ανάγκες του (Vijayan and Leatherland, 1988; Montero et al., 1999).

Παρόλα αυτά, έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις στις οποίες η αύξηση της ιχθυοπυκνότητας επέδρασε θετικά στην ανάπτυξη των ψαριών, όπως ο αρκτικός σαλβελίνος (*Salvelinus alpinus*) (Wallace et al., 1988; Jorgensen et al., 1993), το λαβράκι (Papoutsoglou et al., 1998) και το largemouth bass (*Micropterus salmoides*) (Tidwell et al., 1998). Είναι λοιπόν εμφανές ότι οι επιδράσεις της αύξησης της

πυκνότητας εκτροφής είναι διαφορετικές σε κάθε είδος και είναι στενά συνδεδεμένες την ηθολογία και τη συμπεριφορά του είδους (Papoutsoglou et al., 2006).

Ο προσδιορισμός της βέλτιστης ιχθυοφόρτισης, λοιπόν είναι πολύ βασική γνώση για την εκτροφή ενός είδους. Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετήσει τις επιδράσεις των διαφορετικών ιχθυοφορτίσεων στην αύξηση, την αξιοποίηση της τροφής, τη σύσταση του σώματος, του μυός και του ήπατος και τους βιοχημικούς μεταβολίτες στο αίμα του κρανίου και να προσδιορίσει τη βέλτιστη πυκνότητα εκτροφής.

2.2 Υλικά και μέθοδοι

2.2.1 Ψάρια και συνθήκες εκτροφής

Τα ψάρια προέρχονταν από γεννήτορες που διατηρούνταν στις εγκαταστάσεις του Φάρου στο Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών του Ελληνικού Κέντρου Θαλασσίων Ερευνών. Εκκολάφθηκαν και εκτράφηκαν με την τεχνική του μεσόκοσμου (Divanach και Kentouri, 2000).

Χρησιμοποιήθηκαν 252 ψάρια, μέσου βάρους 84 ± 10 g, ηλικίας 136 ημερών, τα οποία κατανεμήθηκαν τυχαία σε 9 κυλινδρικές δεξαμενές όγκου 430 λίτρων, σε τρεις ιχθυοφορτίσεις, 12, 24 και 48 ψάρια ανά δεξαμενή, δηλαδή 2.3, 4.7 και 9.3 kg m^{-3} . Υπήρχαν 3 επαναληπτικοί πληθυσμοί για κάθε ιχθυοφόρτιση. Πάνω από τις δεξαμενές τοποθετήθηκαν δίχτυα, προκειμένου να αποφευχθούν απώλειες, λόγω των παρατηρηθέντων αλμάτων που εκτελεί ο κρανιός. Στις τρεις περιπτώσεις που υπήρξαν απώλειες, λόγω των προαναφερθέντων αλμάτων, τα άτομα δεν αντικαταστάθηκαν από άλλα, γιατί θεωρήθηκε ότι θα ήταν προτιμότερο να μην

γίνουν αντικαταστάσεις από άτομα με διαφορετικό ιστορικό, που δεν έχουν αναπτυχθεί στις ίδιες συνθήκες. Άλλωστε, μια και οι τρεις περιπτώσεις ήταν σε διαφορετικές δεξαμενές, η απώλεια των ατόμων δεν προκάλεσε ουσιαστικές αλλαγές στην πυκνότητα. Η διάρκεια του πειράματος ήταν 7 μήνες περίπου, από 24/10/05 έως 18/5/06.

Οι δεξαμενές περιείχαν αερόπετρες στην περίμετρό τους, παρέχοντας μικρή ανάδευση της στήλης του νερού. Τροφοδοτούνταν με θαλασσινό νερό, αλατότητας 38-40‰. Τα επίπεδα του διαλυμένου οξυγόνου ήταν στο 77-98% του κορεσμού και για τις τρεις ιχθυοφορτίσεις. Τα επίπεδα της ολικής αμμωνίας κυμάνθηκαν από 0.00-0.02 mg L⁻¹. Τα ψάρια, καθόλη τη διάρκεια του πειράματος, ήταν εκτεθειμένα σε συνθήκες φυσικής φωτοπεριόδου και θερμοκρασίας (Γράφική παράσταση 1). Προκειμένου να διατηρηθούν όμοιες οι φυσικοχημικές παράμετροι κι επομένως η ποιότητα του νερού ανάμεσα στις τρεις πυκνότητες, ώστε να παρατηρηθούν οι άμεσες επιδράσεις της ιχθυοφόρτισης στην ανάπτυξη των ψαριών και όχι οι έμμεσες, μέσω της υποβάθμισης της ποιότητας του νερού, ο ελάχιστος ρυθμός ανανέωσης του νερού ήταν ελαφρώς μεγαλύτερος στην υψηλή ιχθυοφόρτιση (280% ώρα⁻¹) σε σχέση με αυτόν της μεσαίας (258% ώρα⁻¹) και της χαμηλής (223% ώρα⁻¹).

Το τάισμα γινόταν με το χέρι, μέχρι κορεσμού, δύο φορές ημερησίως, εξι ημέρες την εβδομάδα. Η τροφή ήταν η ίδια και για τις τρεις ιχθυοφορτίσεις και ήταν ξηρή βιομηχανοποιημένη τροφή, 2^{ης} περιόδου (ΙΧΘΥΣ Α.Ε. Ελλάδα).

2.2.2 Δειγματοληψίες

Τα ψάρια την παραμονή της δειγματοληψίας υποβάλλονταν σε νηστεία. Κατά τις δειγματοληψίες, γινόταν μερική αναισθησία με γαρυφαλέλαιο (0,01 ml L⁻¹) διαλυμένο σε αιθανόλη 1:10 στη δεξαμενή προκειμένου να ηρεμήσουν και να

αποφευχθούν καταπόνηση και τυχόν τραυματισμοί των ψαριών κατά τη σύλληψή τους. Μετά τη σύλληψη με την απόχη, τα ψάρια τοποθετούνταν σε πλαστικές δεξαμενες που περιείχαν θαλασσινό νερό και γαρυφαλέλαιο συγκέντρωσης 0,04 ml L⁻¹ όπου υποβάλλονταν σε ολική αναισθησία, έτσι ώστε να είναι δυνατή η διαχείρισή τους.

Ατομικές μετρήσεις μήκους και βάρους όλων των ψαριών πραγματοποιήθηκαν στην αρχή του πειράματος, κάθε 4 εβδομάδες κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου και στο τέλος του πειράματος. Σε κάθε μηνιαία δειγματοληψία τα ψάρια μετακινούνταν σε διαφορετική δεξαμενή, ώστε να αποφευχθεί τυχόν επίδραση των ιδιαίτερων συνθηκών μιας δεξαμενής στην αύξηση των ψαριών. Δύο άτομα από κάθε επανάληψη κάθε θεραπείας στο τέλος του πειράματος, θανατώθηκαν και αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη (στους -20°C) για αναλύσεις ολικής σύστασης. Επιπλέον, δείγματα ήπατος και μυός ελήφθησαν από πέντε ψάρια πριν την έναρξη του πειράματος και από τρία ψάρια από κάθε επανάληψη κάθε θεραπείας στο τέλος του πειράματος, για αναλύσεις ολικής σύστασης. Στα ίδια άτομα έγιναν μετρήσεις υγρού ολικού βάρους, βάρους ήπατος και σπλάχνων για τον προσδιορισμό του ηπατοσωματικού και σπλαγνοσωματικού δείκτη, καθώς επίσης και αιμοληψία για τον προσδιορισμό βιοχημικών μεταβολιτών στο αίμα.

Τα δείγματα του αίματος πάρθηκαν από την ουραία φλέβα/αρτηρία των ψαριών με τη χρήση συριγγών χωρητικότητας 2.5 ml που περιείχαν μικρή ποσότητα ηπαρίνης συγκέντρωσης 4000 IU ml⁻¹ προκειμένου ν'αποφευχθεί η πήξη του αίματος. Τοποθετήθηκαν σε πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες των 5 ml και φυγοκεντρήθηκαν στους 4°C στις 6000 r.p.m. για 15 λεπτά. Τα δείγματα του

πλάσματος τοποθετήθηκαν σε erpendorf χωριτικότητας 0.5 ml. Στη συνέχεια διατηρήθηκαν στους -20°C μέχρι την ανάλυσή τους.

2.2.3 Στατιστική ανάλυση

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσες τιμές \pm τυπικό σφάλμα (mean \pm standard error). Για την διαπίστωση σημαντικών διαφορών στις παραμέτρους που ελέγχθηκαν, τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση διασποράς για ένα παράγοντα (Analysis of variance, ANOVA) σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$ και στη συνέχεια, όπου βρέθηκαν διαφορές, έγιναν αναλύσεις post-hoc με το test Duncan's New Multiple Range (DNMR), σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$. Επίσης για τη διαπίστωση σημαντικών διαφορών στις παραμέτρους που ελέγχθηκαν καθόλη τη διάρκεια του πειράματος, τα δεδομένα υποβλήθηκαν και σε φωλιασμένη ανάλυση διασποράς για δύο παράγοντες (nested 2way-ANOVA), με φωλιασμένο τον παράγοντα επανάληψη στον παράγοντα πυκνότητα, σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$. Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το λογισμικό Statistica 6 και τα γραφήματα δημιουργήθηκαν με το λογισμικό Microsoft Excel for Windows 2003.

2.3 Αποτελέσματα

Η αύξηση του κρανιού στις τρεις πειραματικές ιχθυοφορίσεις παρουσιάζεται αναλυτικά στον πίνακα 1. Οι αλλαγές στην πυκνότητα εκτροφής δε φάνηκε να επηρεάζουν την αύξηση των ψαριών. Το μέσο υγρό βάρος των ψαριών δε διέφερε σημαντικά μεταξύ των τριών ιχθυοφορτίσεων. Τα ψάρια της υψηλής πυκνότητας είχαν μέσο βάρος στο τέλος του πειράματος 207.6 ± 3.2 g, της μεσαίας πυκνότητας 222.3 ± 1.7 g και της χαμηλής 214.1 ± 10.6 g. Παρομοίως, και το μήκος δε διέφερε

σημαντικά μεταξύ των τριών ιχθυοφορτίσεων. Το ολικό μήκος των ψαριών της υψηλής πυκνότητας στο τέλος του πειράματος ήταν 269.4 ± 1.8 mm, της μεσαίας πυκνότητας 275.5 ± 1.3 mm και της χαμηλής 272.7 ± 4.7 mm. Δεν εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο συντελεστή ευρωστίας (Condition Factor, CF) (1.05 ± 0.01 και για τις τρεις ομάδες) και την ημερήσια κατανάλωση τροφής (Daily Feed Intake, DFI), όπου οι τιμές ήταν $0.66 \pm 0.02\%$ ανά ημέρα για τα ψάρια της υψηλής και της χαμηλής ιχθυοφόρτισης, και $0.70 \pm 0.02\%$ για τα ψάρια της μεσαίας ιχθυοφόρτισης. Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών ιχθυοφορτίσεων δε διαπιστώθηκαν ούτε και για τον ειδικό ρυθμό αύξησης (Specific growth rate, SGR), όπου τα ψάρια της υψηλής πυκνότητας παρουσίασαν ειδικό ρυθμό αύξησης 0.44 ± 0.01 % ημέρα⁻¹, της μεσαίας πυκνότητας 0.47 ± 0.00 % ημέρα⁻¹ και της χαμηλής 0.46 ± 0.02 % ημέρα⁻¹. Ούτε ο δείκτης μετατρεψιμότητας της τροφής (Food Conversion Ratio, FCR) διέφερε σημαντικά ανάμεσα στις τρεις ιχθυοφορτίσεις, όπου οι τιμές ήταν 1.26 ± 0.03 για τα ψάρια της υψηλής και της μεσαίας ιχθυοφόρτισης, και 1.21 ± 0.08 για τα ψάρια της χαμηλής ιχθυοφόρτισης. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ούτε στο συντελεστή μεταβλητότητας του βάρους, του οποίου οι τιμές ήταν $18.7 \pm 0.2\%$ για τα ψάρια της υψηλής ιχθυοφόρτισης, $16.4 \pm 2.0\%$ για τα ψάρια της μεσαίας ιχθυοφόρτισης, και $19.5 \pm 2.5\%$ για τα ψάρια της χαμηλής ιχθυοφόρτισης. Δεν εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στον ηπατοσωματικό δείκτη (Hepatosomatic Index, HSI), όπου οι τιμές του ήταν για την υψηλή πυκνότητα 1.19 ± 0.15 , για τη μεσαία πυκνότητα 1.16 ± 0.04 και για τη χαμηλή πυκνότητα 1.19 ± 0.11 , και το σπλαγχοσωματικό δείκτη (Viscerosomatic Index, VSI), όπου οι τιμές ήταν 5.20 ± 0.26 , 5.14 ± 0.09 και 4.98 ± 0.17 για την υψηλή, τη μεσαία και τη χαμηλή ιχθυοφόρτιση αντίστοιχα.

Στις παραπάνω μετρήσεις, όταν έγινε Ανάλυση Διασποράς για δύο παράγοντες (πυκνότητα εκτροφής και χρόνος), με φωλιασμένο τον παράγοντα επανάληψη, προκειμένου να διαπιστωθούν τυχόν διαφορές κατά τη διάρκεια του χρόνου στις διάφορες παραμέτρους, διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές στο μήκος και το βάρος ανάμεσα στη μεσαία και την υψηλή ιχθυοφόρτιση, αλλά όχι στις άλλες παραμέτρους (Γραφική παράσταση 3, 4, 5).

Δεν παρατηρήθηκε θνησιμότητα λόγω της ιχθυοφόρτισης και οι τρεις περιπτώσεις των νεκρών ψαριών οφείλονταν στη γενικευμένη συνήθεια του κρανιού να πηδαι εκτός του νερού και συχνά να καταλήγει εκτός της δεξαμενής.

Οι αναλύσεις σύστασης (Πίνακας 2) έδειξαν ότι οι αλλαγές της πυκνότητας εκτροφής δεν επηρέασαν γενικά τη σύσταση του σώματος και του μυός. Πιο συγκεκριμένα, δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά σε κανένα από τα συστατικά του μυ, ενώ η μόνη διαφορά που διαπιστώθηκε στη σύσταση του σώματος, ήταν στην τέφρα, όπου τα ψάρια της υψηλής ($3.31 \pm 0.32\%$) και της μεσαίας ($3.94 \pm 0.17\%$) ιχθυοφόρτισης παρουσίασαν μεγαλύτερα ποσοστά τέφρας, από αυτά της χαμηλής πυκνότητας ($2.38 \pm 0.23\%$). Διαφορές παρατηρήθηκαν και στη σύσταση του ήπατος. Το περιεχόμενο του ήπατος σε λίπος διέφερε και στις τρεις ιχθυοφορτίσεις. Πιο συγκεκριμένα, τα ψάρια τη υψηλής ιχθυοφόρτισης εμφάνισαν $15.37 \pm 0.68\%$ λίπος, της μεσαίας $8.87 \pm 0.58\%$ και της χαμηλής 19.18 ± 1.66 . Αντιθέτως, στο γλυκογόνο του ήπατος δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά ανάμεσα στις τρεις ιχθυοφορτίσεις, του οποίου οι τιμές κυμάνθηκαν από 6.86-7.59%.

Οι αναλύσεις του αίματος έδειξαν ότι οι παράμετροι που μετρήθηκαν δεν επηρεάστηκαν από τα διαφορετικά επίπεδα ιχθυοφόρτισης. Οι τιμές για τα τριγλυκερίδια κυμάνθηκαν από 1.76-1.85 mmol L⁻¹, τη χοληστερόλη από 3.75-3.86

mmol L⁻¹, τις ολικές πρωτεΐνες από 3.46-3.53 g dl⁻¹, τη γλυκόζη από 4.43 έως 6.41 mmol/l και το γαλακτικό οξύ 1.62-1.75 mmol L⁻¹ (Γραφική παράσταση 6).

2.4 Συζήτηση

Το πείραμα εκτελέστηκε σε τρεις διαφορετικές ιχθυοφορτίσεις, 12, 24 και 48 ψάρια ανά δεξαμενή, για να μελετηθεί η επίδραση της πυκνότητα εκτροφής στην ανάπτυξη των ψαριών. Οι ιχθυοφορτίσεις που επιλέχθηκαν ήταν τέτοιες ώστε να μην υπερβαίνουν στο τέλος του πειράματος τις ιχθυοφορτίσεις που χρησιμοποιούνται σε πραγματικές συνθήκες παραγωγής στην τσιπούρα και το λαβράκι.

Υποστηρίζεται πως η μεγάλη ιχθυοφόρτιση έχει αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη αρκετών καλλιεργούμενων ειδών ψαριών όπως η τιλάπια (*Oreochromis niloticus*) (Yi et al., 1996; Yi and Lin, 2001; El-Sayed, 2002; Ridha et al., 2006; Abou et al., 2007), το blackchin tilapia, (*Sarotherodon melanotheron*) (Ouattara et al., 2003), ο σαργός (*Diplodus sargus*) (Papoutsoglou et al., 2006), η τσιπούρα (Canario et al., 1998), το φαγκρί (*Pagrus pagrus*) (Maragoudaki et al., 1999), η ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) (Papoutsoglou et al., 1987; Holm et al., 1990; Boujard et al., 2002; Trenzado et al., 2006), το Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) (Bolasina et al., 2006), ο κλαρίας (*Clarias gariepinus*) (Hogendoorn and Koops, 1983; Hengsawat et al., 1997; Hossain et al., 1998) το African catfish (*Heterobranchus bidorsalis*) (Coulibaly et al., 2007), το turbot (*Scophthalmus maximus*) (Irwin et al., 1999), το halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) (Bjornsson, 1994), το California halibut (*Paralichthys californicus*) (Merino et al., 2007), το Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) (Mazur et al., 1993), ο βακαλάος (*Gadus morhua*) (Lambert and Dutil, 2001), η γλώσσα (*Solea solea*) (Schram et al.,

2006). Αντιθέτως, υπάρχουν είδη για τα οποία αναφέρεται ότι η αύξηση της ιχθυοφόρτισης ευνοεί την ανάπτυξή τους, όπως ο αρκτικός σαλβελίνος (*Salvelinus alpinus*) (Wallace et al., 1988; Jorgensen et al., 1993), το λαβράκι (Papoutsoglou et al., 1998), και το largemouth bass (*Micropterus salmoides*) (Tidwell et al., 1998), ενώ για το ίδιο είδος αναφέρεται μείωση της ανάπτυξης με την αύξηση της ιχθυοφόρτισης (Petit et al., 2001). Τέλος, υπάρχουν μελέτες που έδειξαν ότι η ανάπτυξη κάποιων ειδών δεν επηρεάστηκε από τις αλλαγές της πυκνότητας εκτροφής, όπως ο σολωμός του Ατλαντικού (*Salmo salar*) (Refstie and Kittelsen, 1976; Kjartansson et al., 1988), ο βακαλάος (Björnsson and Olafsdottir, 2006), το cobia (*Rachycentron canadum*) (Webb et al., 2007), το silver perch (*Bidyanus bidyanus*) (Rowland et al., 2006). Παρόμοια συμπεράσματα προκύπτουν κι από την παρούσα μελέτη, καθώς το τελικό βάρος, μήκος και ο ειδικός ρυθμός αύξησης δε φάνηκε να επηρεάζονται από τα διαφορετικά επίπεδα ιχθυοφόρτισης. Οι διαφορές που εντοπίστηκαν στο μήκος και το βάρος ανάμεσα στη μεσαία και την υψηλή ιχθυοφόρτιση, όταν έγινε Ανάλυση διασποράς για δύο παράγοντες (πυκνότητα εκτροφής και χρόνος), προκειμένου να διαπιστωθούν τυχόν διαφορές κατά τη διάρκεια του χρόνου στις διάφορες παραμέτρους, προέκυψαν λόγω της πολλαπλής επανάληψης των μικρών διαφορών ανάμεσα στις δύο ιχθυοφορτίσεις, αλλά δεν τις αξιολογούμε ως σημαντικές, καθώς τα τελικά δεδομένα δεν έδειξαν το ίδιο και θεωρούμε ότι το τελικό αποτέλεσμα είναι πιο σημαντικό και είναι αυτό που ενδιαφέρει τον παραγωγό.

Έχει αναφερθεί ότι η υψηλή ιχθυοφόρτιση αυξάνει το συντελεστή μεταβλητότητας του βάρους, ένδειξη ανάπτυξης ιεραρχιών και μείωσης της αύξησης ορισμένων ατόμων (Jobling, 1995; Irwin et al., 1999; Lambert and Dutil, 2001). Αντίθετα, στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο συντελεστή μεταβλητότητας του βάρους ανάμεσα στις τρεις ιχθυοφορτίσεις, γεγονός το οποίο

συμφωνεί με προηγούμενες μελέτες σε άλλα είδη (Maragoudaki et al., 1999; Boujard et al., 2002; Paspatis et al., 2003). Απόκλιση από τις προηγούμενες παρατηρήσεις παρουσιάζει το φαινόμενο του μεγαλύτερου συντελεστή μεταβλητότητας του βάρους στη μεσαία πυκνότητα που παρατήρησαν οι Petit et al., 2001.

Σε αντίθεση με άλλους ερευνητές που έχουν παρατηρήσει ότι σε υψηλές ιχθυοφορτίσεις παρατηρείται μείωση της πρόσληψης της τροφής (Papoutsoglou et al., 1979; Leatherland, 1993; Alanärä and Brännäs, 1996; Boujard et al., 2002; Trenzado et al., 2006), δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές της κατανάλωσης τροφής λόγω της πυκνότητας. Επίσης οι Ellis et al. (2002), αναφέρουν ότι στην πλειοψηφία των εργασιών που μελέτησαν αναφέρεται ότι η αύξηση της πυκνότητας εκτροφής συνοδεύεται από μείωση της μετατρεψιμότητας της τροφής, φαινόμενο το οποίο επιβεβαιώνεται κι από άλλους ερευνητές (Cruz and Ridha, 1991; Abou et al., 2007). Αντιθέτως, καλύτερη μετατρεψιμότητα της τροφής στην υψηλή ιχθυοφόρτιση παρατηρήθηκε στο λαβράκι (Papoutsoglou et al., 1998), ενώ στο φαγκρί και την ιριδίζουσα πέστροφα δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στη μετατρεψιμότητα της τροφής ανάμεσα στα διαφορετικά επίπεδα πυκνότητας εκτροφής (Maragoudaki et al., 1999; Boujard et al., 2002). Παρόμοια αποτελέσματα εμφάνισε και ο κρانيός καθώς ο δείκτης μετατρεψιμότητας της τροφής δεν παρουσίασε μεταβολές ανάμεσα στις τρεις ιχθυοφορτίσεις.

Ο συντελεστής ευρωστίας και ο ηπατοσωματικός δείκτης αποτελούν καλούς δείκτες των επιπέδων των ενεργειακών αποθεμάτων στα ψάρια (Goede and Barton, 1990). Ανεπηρέαστος έμεινε ο συντελεστής ευρωστίας του κρانيού από τα διαφορετικά επίπεδα πυκνότητας εκτροφής. Παρόμοιο φαινόμενο παρατηρήθηκε και στο chinook salmon (Mazur et al., 1993), ενώ αντίστροφη σχέση εμφάνισε ο δείκτης ευρωστίας της ιριδίζουσας πέστροφας με την πυκνότητα εκτροφής (Ellis et al., 2002;

Trenzado et al., 2006), υποδεικνύοντας την αυξημένη κατανάλωση της αποθηκευμένης ενέργειας λόγω της αύξησης των μεταβολικών αναγκών στις υψηλές ιχθυοφορτίσεις. Δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές ούτε στον ηπατοσωματικό δείκτη και την περιεκτικότητα του ήπατος σε γλυκογόνο του κρανίου με την αύξηση της ιχθυοφόρτισης, παρά την ανεξήγητα μικρότερη περιεκτικότητα λίπους που παρουσιάστηκε στο ήπαρ της ομάδας της μεσαίας πυκνότητας, ενώ μείωση του ηπατοσωματικού δείκτη, αλλά καμία επίδραση στο γλυκογόνο ή το λίπος του ήπατος με την αύξηση της ιχθυοφόρτισης αναφέρεται για την ιριδιζούσα πέστροφα (Leatherland and Cho, 1985; Leatherland, 1993). Αντιθέτως, στο ίδιο είδος, παρατηρήθηκαν ανεπηρεάστα επίπεδα γλυκογόνου του ήπατος αλλά και ηπατοσωματικός δείκτης (Trenzado et al., 2006). Μείωση του ηπατικού λίπους με την αύξηση της ιχθυοφόρτισης παρατηρήθηκε στο σαργό (Papoutsoglou et al., 2006), αλλά αντίθετα από το brook charr (*Salvelinus fontinalis*) (Vijayan et al., 1990) και την τσιπούρα (Montero et al., 1999, 2001) παρατηρήθηκε αύξηση του ηπατοσωματικού δείκτη.

Η σύσταση του σώματος των ψαριών επηρεάζεται από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες. Η πρωτεΐνη και η τέφρα εξαρτώνται περισσότερο από το μέγεθος του ψαριού, ρυθμίζονται δηλαδή ενδογενώς, ενώ το λίπος επηρεάζεται περισσότερο από εξωγενείς παράγοντες όπως το μέγεθος, την πρόσληψη ενέργειας μέσω της διατροφής και τις απαιτήσεις μεταβολικής ενέργειας (ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες) (Shearer, 1994). Η ποιοτική σύσταση του κρανίου δε φάνηκε να επηρεάζεται από τα διαφορετικά επίπεδα ιχθυοφόρτισης, εκτός από την τέφρα των ολόκληρων σωμάτων που εμφανίζεται μικρότερη στην ομάδα της χαμηλής ιχθυοφόρτισης. Σε όλα τα υπόλοιπα συστατικά του σώματος και του μυός δεν παρατηρήθηκαν διαφορές, γεγονός το οποίο δείχνει ότι η αύξηση της πυκνότητας δε

συνοδεύτηκε από αύξηση στα επίπεδα δραστηριότητας που συνδέεται συνήθως με τις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις. Το ίδιο φαινόμενο αναφέρεται και για την ιριδίζουσα πέστροφα, καθώς η πυκνότητα εκτροφής δεν επηρέασε την ποιοτική σύσταση του σώματός της (Leatherland and Cho, 1985; Boujard et al., 2002), ενώ στο ίδιο είδος παρατηρήθηκε μείωση του σωματικού λίπους με την αύξηση της ιχθυοφόρτισης (Papoutsoglou et al., 1987). Στο σαργό, η αύξηση της υγρασίας του σώματος με την αύξηση της ιχθυοφόρτισης, συσχετίστηκε με την παράλληλη μη στατιστικά σημαντική μείωση του σωματικού λίπους (Papoutsoglou et al., 2006). Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα σε πειράματα στο σολωμό (*Oncorhynchus kisutch*), όπου η μεγάλη ιχθυοφόρτιση συσχετίστηκε με μείωση του μέσου βάρους των ψαριών και αύξηση του ποσοστού του νερού με ταυτόχρονη μείωση στο ποσοστό πρωτεΐνης και λίπους (Fagerlund et al., 1981). Ακριβώς τα ίδια αναφέρονται και για την ιριδίζουσα πέστροφα (Trenzado et al., 2006).

Τα ψάρια σε συνθήκες υδατοκαλλιέργειας υπόκεινται συχνά σε περιβαλλοντικές αλλαγές ή διαχειριστικούς παράγοντες που μπορούν να προκαλέσουν στρες. Οι υψηλές ιχθυοφορτίσεις είναι ένας από αυτούς τους παράγοντες (Kubilay & Ulucoy, 2002). Πολλοί ερευνητές αναφέρουν υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα στρεσαρισμένων ψαριών (Thomas and Robertson, 1991; Rotlland & Tort, 1997; Rotlland et al., 1997; Pottinger 1998; Kubilay & Ulucoy, 2002; Bracewell et al., 2004; Trenzado et al., 2006), γεγονός που πιθανώς οφείλεται στη δράση κατεχολαμίνων στο αποθηκευμένο γλυκογόνο που υπάρχει στο ήπαρ και τους άλλους ιστούς (Pottinger 1998, Rotlland et al., 1997; Bracewell et al., 2004). Έτσι η γλυκόζη είναι ένας από τους αξιόπιστους ενδοκρινολογικούς δείκτες στρες που χρησιμοποιούνται εργαστηριακά (Thomas & L. Robertson, 1991; Kubilay & Ulucoy, 2002). Η συσσώρευση γαλακτικού οξέος στο αίμα ή στο μυ θεωρείται επίσης καλός

δείκτης καταπόνησης. Οξεία καταπόνηση έχει συχνά σαν αποτέλεσμα ταχεία αύξηση στα επίπεδα γαλακτικού οξέος στους μύες και το πλάσμα (Wedemeyer, 1996). Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στη συγκέντρωση της γλυκόζης και του γαλακτικού οξέος στο αίμα, ανάμεσα στις τρεις ομάδες, υποδεικνύοντας ότι η αύξηση της ιχθυοφόρτισης δεν προκάλεσε στρες στα ψάρια. Στο ίδιο συμπέρασμα έχουν καταλήξει και άλλοι ερευνητές που παρατήρησαν ότι δεν υπήρξαν μεταβολές στη συγκέντρωση της γλυκόζης και του γαλακτικού οξέος στο αίμα λόγω αλλαγών στην πυκνότητα εκτροφής (Klinger et al., 1983; Leatherland and Cho, 1985; Papoutsoglou et al., 1987; Ruane and Comen, 2003; Van der Salm et al., 2004; Foss et al., 2006; Trenzado et al., 2006). Αντιθέτως, αύξηση της γλυκόζης και του γαλακτικού οξέος με την αύξηση της πυκνότητας εκτροφής αναφέρονται για τον κυπρίνο (*Cyprinus carpio*) (Ruane et al., 2002), ενώ αύξηση της γλυκόζης και μείωση του γαλακτικού οξέος με την αύξηση της ιχθυοφόρτισης αναφέρονται για το σολομό του Ατλαντικού (Kjartansson et al., 1988). Οι τιμές για τη γλυκόζη κυμάνθηκαν από 4.43 έως 6.41 mmol L⁻¹ (Γραφική παράσταση 6) και είναι στα ίδια επίπεδα με αυτές που αναφέρονται για το σολομό του Ατλαντικού (Kjartansson et al., 1988) και μεγαλύτερες από αυτές που αναφέρονται για το channel catfish (*Ictalurus punctatus*) (1.9-2.4 mmol L⁻¹) (Klinger et al., 1983) και τον κυπρίνο (2.3-3 mmol L⁻¹) (Ruane and Comen, 2003). Οι τιμές για το γαλακτικό οξύ κυμάνθηκαν από 1.62-1.75 mmol L⁻¹ (Γραφική παράσταση 6) και είναι χαμηλότερες από αυτές που αναφέρονται για το σολομό του Ατλαντικού (3.5-8 mmol L⁻¹) (Kjartansson et al., 1988), το channel catfish (2.7-4.2 mmol L⁻¹) (Klinger et al., 1983) και τον κυπρίνο (2.7-4.5 mmol L⁻¹) (Ruane and Comen, 2003).

Οι υπόλοιπες παράμετροι που ελέγχθηκαν στο αίμα των ψαριών, ολικές πρωτεΐνες, χοληστερόλη και τριγλυκερίδια, (Γραφική παράσταση 6) παρέμειναν

επίσης αμετάβλητες από τα διαφορετικά επίπεδα της πυκνότητας εκτροφής, επιβεβαιώνοντας το συμπέρασμα που προκύπτει από όλα τα υπόλοιπα δεδομένα, ότι η ανάπτυξη του κρανίου δεν επηρεάστηκε από την ιχθυοφόρτιση. Αμετάβλητη συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών στο αίμα αναφέρεται και για το σολομό του Ατλαντικού (Kjartansson et al., 1988), ενώ αύξησή τους αναφέρεται για την τσιπούρα (Montero et al., 1999). Ακριβώς η αντίθετη σχέση παρατηρήθηκε στην ιριδίζουσα πέστροφα (Leatherland and Cho, 1985) και το σαλβελίνο (Vijayan and Leatherland, 1988), όπου η αύξηση της ιχθυοφόρτισης συνοδεύτηκε από μείωση των ολικών πρωτεϊνών. Οι τιμές της συγκέντρωσης των ολικών πρωτεϊνών στα προαναφερθέντα είδη ήταν στα ίδια επίπεδα περίπου με αυτές του κρανίου, 3.4-3.6 g dl⁻¹. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στη χοληστερόλη ούτε και στο σολομό του Ατλαντικού (Kjartansson et al., 1988), ο οποίος εμφάνισε πολύ μεγαλύτερες τιμές χοληστερόλης (7.5-12.9 mmol L⁻¹) από αυτές του κρανίου (3.7-3.9 mmol L⁻¹), ενώ μείωσή της με την αύξηση της πυκνότητας εκτροφής παρατηρήθηκε στην ιριδίζουσα πέστροφα (Papoutsoglou et al., 1987). Μη σημαντικές διαφορές στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στο αίμα ανάμεσα στα διαφορετικά επίπεδα ιχθυοφόρτισης διαπιστώθηκαν και για την ιριδίζουσα πέστροφα (Leatherland and Cho, 1985) και το σολομό του Ατλαντικού (Kjartansson et al., 1988), ο οποίος εμφάνισε μεγαλύτερες τιμές τριγλυκεριδίων (3.6-4.5 mmol L⁻¹) σε σχέση με τον κρανίο (1.76-1.85 mmol L⁻¹).

Η θνησιμότητα δεν επηρεάστηκε από τις ιχθυοφορτίσεις που εξετάστηκαν. Στην πραγματικότητα δεν παρατηρήθηκε θνησιμότητα λόγω ιχθυοφόρτισης, ούτε λόγω χειρισμών. Ο κρανιός αποδείχθηκε ανθεκτικό είδος στους χειρισμούς που υποβάλλονται τα ψάρια σε συνθήκες ιχθυοκαλλιέργειας. Οι τρεις περιπτώσεις θανάτων που παρατηρήθηκαν οφείλονταν στη συνήθεια του να πηδάει εκτός του

νερού αρκετά συχνά και ιδίως όταν παρενοχλείται από θορύβους και δονήσεις, γεγονός που αποτελεί και μειονέκτημα για την καλλιέργεια του είδους, καθώς μπορεί να αποτελέσει σοβαρό αίτιο διαφυγής ή και θνησιμότητας.

Η μειωμένη ανάπτυξη με την αύξηση της ιχθυοφόρτισης αποδίδεται γενικά στην υποβάθμιση της ποιότητας του νερού, στη μείωση κατανάλωσης τροφής λόγω ανταγωνισμού, στις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις, την επιθετική συμπεριφορά (Vijayan and Leatherland, 1988; Alanärä and Brännäs, 1996; Montero et al., 1999, 2001; Boujard et al., 2002) ή στην αυξημένη κινητικότητα που οφείλεται στο συνωστισμό (Holm et al., 1990). Επίσης αναφέρεται ότι ο συνωστισμός προκαλεί χρόνια καταπόνηση στο ψάρι, γεγονός το οποίο αυξάνει τις μεταβολικές ανάγκες του (Vijayan and Leatherland, 1988; Montero et al., 1999). Οι Ellis et al., 2002, σε ανασκόπηση 43 ερευνητικών εργασιών που αφορούν την επίδραση της πυκνότητας στην ιριδίζουσα πέστροφα με μετρήσεις που περιλαμβάνουν την κατανάλωση τροφής, τη μετατρεψιμότητα της τροφής, το δείκτη ευρωστίας, το ρυθμό αύξησης, τον ηπατοσωματικό δείκτη, την ποιοτική σύσταση σώματος και ήπατος και μετρήσεις δεικτών καταπόνησης στο αίμα, κατέληξαν ότι η υποβάθμιση της ποιότητας του ύδατος είναι η πρωταρχική αιτία για τα δυσμενή αποτελέσματα της αυξημένης πυκνότητας, ενώ η αυξημένη επιθετικότητα δεν επηρεάζει τόσο άμεσα. Στο παρόν πείραμα, η ποιότητα του νερού δεν επηρεάστηκε από την πυκνότητα εκτροφής καθώς έγιναν προσπάθειες για τη διατήρηση ίδιων επιπέδων οξυγόνου και αμμωνίας στις τρεις ομάδες και πιθανότατα δεν υπήρχε ανταγωνισμός για την τροφή καθώς τα ψάρια ταΐζονταν μέχρι κορεσμού και όλα τα άτομα είχαν πρόσβαση στην τροφή. Επίσης, όπως προαναφέρθηκε, δεν παρατηρήθηκε μείωση κατανάλωσης της τροφής λόγω αύξησης της ιχθυοφόρτισης. Επιπλέον, οι δείκτες καταπόνησης, γλυκόζη και γαλακτικό, δεν έδειξαν ότι οι αλλαγές της πυκνότητας προκάλεσαν παραπάνω

καταπόνηση σε κάποια ομάδα, ενώ δεν παρατηρήθηκε αύξηση της επιθετικότητας σε κάποια ομάδα. Ίσως αυτά να είναι τα βασικά αίτια τα οποία είναι υπεύθυνα για την όμοια ανάπτυξη των ψαριών και στις τρεις πυκνότητες.

Βέβαια, οι πυκνότητες που χρησιμοποιήθηκαν δεν ήταν πολύ μεγάλες και επιλέχτηκαν ώστε να μην υπερβαίνουν στο τέλος του πειράματος την ιχθυοφόρτιση των 20-30 kg m⁻³ που θεωρείται οριακή σε πραγματικές συνθήκες παραγωγής για τα μεσογειακά είδη τσιπούρα και λαβράκι. Πράγματι, σε κάποια άλλα είδη οι τελικές πυκνότητες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν πολύ υψηλότερες, όπως στην ιριδίζουσα πέστροφα, 14-88 kg m⁻³ (Papoutsoglou et al., 1987), 35-170 kg m⁻³ (Trzebiatowski et al., 1981), 135-300 kg m⁻³ (Leatherland and Cho, 1985), 240-450 kg m⁻³ (Holm et al., 1990), 25-100 kg m⁻³ (Boujard et al., 2002), το λαβράκι, όπου τα 35 kg m⁻³ ήταν η μεγαλύτερη ιχθυοφόρτιση (Paspatis et al., 2003) ή στο σολωμό 35-125 kg m⁻³ όπου δε διαπιστώθηκαν και διαφορές στην ανάπτυξη των ψαριών (Kjartansson et al., 1988). Επίσης στον αρκτικό σαλβελίνο, που παρατηρήθηκε θετική επίδραση της πυκνότητας εκτροφής στην ανάπτυξη των ψαριών, η ιχθυοφόρτιση ξεπερνούσε τα 100 kg m⁻³ (Jorgensen et al., 1993). Αντιθέτως σε μικρότερες ιχθυοφορτίσεις στην τσιπούρα (16.7 kg m⁻³) (Canario et al., 1995) και στο σαργό (11.2 kg m⁻³) (Papoutsoglou et al., 2006) παρατηρήθηκε μείωση της αύξησης, ενώ στο cobia τα 11.5 kg m⁻³ ήταν η μεγαλύτερη ιχθυοφόρτιση (Webb et al., 2007). Στο βακαλάο (Foss et al., 2006) παρουσιάστηκε μείωση της αύξησης πάνω από 16 kg m⁻³, για το ίδιο είδος οι Lambert and Dutil, 2001 χρησιμοποίησαν αρχικές πυκνότητες 40 kg m⁻³. Είναι εμφανές λοιπόν το γεγονός ότι κάθε είδος παρουσιάζει διαφορετική απόκριση σε αυτό που λέγεται υψηλή ιχθυοφόρτιση και έχει τα δικά του όρια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο – ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟΥ ΛΙΠΟΥΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΚΡΑΝΙΟΥ

3.1 Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια το επιστημονικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στη μελέτη νέων ειδών υποψηφίων προς καλλιέργεια, καθώς θεωρείται ότι η διαφοροποίηση της παραγωγής με νέα είδη θα συντελέσει σε μεγάλο βαθμό στην ανάπτυξη του τομέα της υδατοκαλλιέργειας (Abellan and Basurco, 1999). Ο κρυνιός (*Argyrosomus regius*) αποτελεί ένα πολύ ενδιαφέρον είδος για καλλιέργεια. Ανήκει στην οικογένεια των Sciaenidae και είναι σαρκοφάγο είδος. Εξαπλώνεται κατά μήκος των ακτών του Ατλαντικού, σε όλη τη Μεσόγειο, στη Μαύρη Θάλασσα και τη Θάλασσα του Μαρμαρά. Είναι είδος που συναντάται σε παράκτιες περιοχές, από 15-200 μέτρα βάθος (Whitehead et al., 1986). Το γεγονός ότι είναι ευρύθερμο και ευρύαλο είδος του προσφέρει υψηλές δυνατότητες προσαρμογής σε ποικίλα περιβάλλοντα, γεγονός ιδιαίτερα ευνοϊκό για την καλλιέργεια του είδους. Επίσης είναι είδος που ανέχεται την αιχμαλωσία (Quémener, 2002) και παρουσιάζει γρήγορη ανάπτυξη (Quero & Vayne, 1997). Η σάρκα του είναι ιδιαίτερα αξιόλογη, λόγω του μικρού ποσοστού και της ποιοτικής σύστασης των λιπιδίων της σάρκας, γεγονός το οποίο τον καθιστά είδος υψηλής διατροφικής αξίας (Poli et al., 2003; Quémener, 2002). Προς το παρόν, έχουν γίνει λίγες προσπάθειες καλλιέργειας του κρυνιού. Μόνο σε μία περίπτωση, στη Γαλλία, έχει επιτευχθεί η τεχνητή αναπαραγωγή και εκτροφή του είδους. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις έχει γίνει εντατική εκτροφή του γόνου ως το εμπορεύσιμο μέγεθος (Poli et al., 2003). Η έλλειψη γνώσεων κι εμπειρίας και η απουσία επιστημονικών εργασιών σχετικών με την καλλιέργεια και την αύξηση του είδους,

καθιστούν αναγκαία τη μελέτη του προκειμένου να επιτευχθεί συμφέρουσα καλλιέργεια του είδους.

Για την καλύτερη ανάπτυξή τους τα ψάρια χρειάζονται ισορροπημένες δίαιτες που να καλύπτουν τις ανάγκες τους σε θρεπτικά στοιχεία. Τα λιπίδια παίζουν σημαντικό ρόλο σαν πηγή διαιτητικής ενέργειας για την ανάπτυξη των ψαριών, ιδίως στα σαρκοφάγα είδη που έχουν περιορισμένες δυνατότητες αξιοποίησης των υδατανθράκων σαν πηγή ενέργειας. Μεταβολίζονται καλά από τα ψάρια και είναι απαραίτητα για την επίτευξη υψηλών ρυθμών αύξησης (Watanabe, 1982). Με την αύξηση του ενεργειακού περιεχομένου της τροφής, με την προσθήκη λίπους, αναφέρεται ότι αντικαθίσταται η πρωτεΐνη που θα μεταβολιζόταν για ενεργειακό σκοπό κι έτσι καθίσταται δυνατή η καλύτερη αξιοποίησή της για την αύξηση του ψαριού (protein sparing effect) (De Silva et al., 1991; Skalli et al., 2004; Hillestad and Johnsen, 1994; Helland and Grisdale-Helland, 1998; Torstensen et al., 2001; Lee et al., 2002) και ελαχιστοποιούνται οι απώλειες αζώτου στο περιβάλλον (Cho and Kaushik, 1990). Από την άλλη, η υπερβολική αύξηση λίπους στην τροφή κι επομένως της ενέργειας, μπορεί να οδηγήσει στη μείωση κατανάλωσης της τροφής και της λήψης θρεπτικών συστατικών, με αποτέλεσμα τη μείωση της αύξησης (Page and Andrews, 1973; Watanabe, 1982; Daniels and Robinson, 1986; Ellis and Reigh, 1991). Επιπλέον, η αύξηση των επιπέδων λίπους της τροφής, μπορεί να επηρεάσει τη σύσταση της σάρκας του ψαριού και να οδηγήσει σε αυξημένη εναπόθεση λίπους (Bromley, 1980; Hillestad and Johnsen, 1994). Επομένως, η αύξηση του διατροφικού λίπους πρέπει να εκτιμάται και να καθορίζεται προσεκτικά.

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να προσδιορίσει τις επιδράσεις των επιπέδων λίπους της τροφής στην αύξηση, την αξιοποίηση της τροφής, τη σύσταση

του σώματος, του μυός και του ήπατος και τους βιοχημικούς μεταβολίτες στο αίμα του κρανίου.

3.2 Υλικά και μέθοδοι

3.2.1 Πειραματικά σιτηρέσια

Παρασκευάστηκαν 3 πειραματικά σιτηρέσια περιεκτικότητας 43% σε πρωτεΐνη, με τρία διαφορετικά επίπεδα λίπους, 13, 17 και 21% (KEGO). Η ανάλυση της ολικής σύστασης της τροφής επί ξηρού και τα συστατικά % που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των πειραματικών σιτηρεσίων δίνονται στον Πίνακα 3.

3.2.2 Ψάρια και συνθήκες εκτροφής

Χρησιμοποιήθηκαν τα ψάρια του προηγούμενου πειράματος, τα οποία προηγουμένως παρέμειναν για μία εβδομάδα σε μία δεξαμενή 5 κυβικών μέτρων, αφού προέρχονταν από διαφορετικές πυκνότητες εκτροφής. Κατά τη διάρκεια αυτής της εβδομάδας, τα ψάρια ταΐζονταν με την τροφή μεσαίας περιεκτικότητας σε λίπος, προκειμένου να τη συνηθίσουν.

162 ψάρια από αυτά, μέσου βάρους 229.7 ± 1.4 g, ηλικίας 1 έτους κατανεμήθηκαν τυχαία σε 9 κυλινδρικές δεξαμενές όγκου 430 λίτρων (18 άτομα ανά δεξαμενή). Χρησιμοποιήθηκαν 3 επαναληπτικοί πληθυσμοί για κάθε δίαιτα. Πάνω από τις δεξαμενές τοποθετήθηκαν δίχτυα, προκειμένου να αποφευχθούν απώλειες, λόγω των παρατηρηθέντων αλμάτων που εκτελεί ο κρανιός. Την 9^η εβδομάδα του πειράματος, τα ψάρια μεταφέρθηκαν σε 9 δεξαμενές 2 κυβικών μέτρων, στις οποίες όμως ο όγκος του νερού καθορίστηκε πάλι περίπου στα 430 λίτρα. Σκοπός της

μετακίνησης ήταν ο περιορισμός των απωλειών των ψαριών που παρατηρήθηκε στις μικρότερες δεξαμενές, λόγω των αλμάτων των ψαριών εκτός της δεξαμενής, παρα την παρουσία των διχτυών. Στις τέσσερις περιπτώσεις που υπήρξαν απώλειες, λόγω των προαναφερθέντων αλμάτων, τα άτομα αντικαταστάθηκαν από άλλα μαρκαρισμένα, προκειμένου να μην συμπεριληφθούν στις αναλύσεις, αλλά και να μην υπάρξουν τυχόν αλλαγές στην πυκνότητα εκτροφής των ψαριών που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την ανάπτυξή τους. Η διάρκεια του πειράματος ήταν 16 εβδομάδες, από 1/6/06 έως 19/9/06.

Οι δεξαμενές περιείχαν αερόπετρες στην περίμετρό τους, παρέχοντας μικρή ανάδευση της στήλης του νερού. Τροφοδοτούνταν με θαλασσινό νερό, αλατότητας 38-40‰, με ελάχιστο ρυθμό ανανέωσης 246% την ώρα. Τα επίπεδα του διαλυμένου οξυγόνου ήταν στο 68-95% του κορεσμού. Τα επίπεδα της ολικής αμμωνίας κυμάνθηκαν από 0.00-0.02mg L⁻¹. Τα ψάρια, καθόλη τη διάρκεια του πειράματος, ήταν εκτεθειμένα σε συνθήκες φυσικής φωτοπεριόδου και θερμοκρασίας. Στη γραφική παράσταση 2 φαίνονται οι τιμές της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

Το τάισμα γινόταν με το χέρι, μία φορά ημερησίως, εξι ημέρες την εβδομάδα, μέχρι κορεσμού. Προκειμένου να περιοριστεί το σφάλμα της μέτρησης κατανάλωσης της τροφής, τοποθετήθηκαν απόχες που συγκρατούσαν την τροφή που έβγαινε από τη δεξαμενή χωρίς να καταναλωθεί. Το ξηρό βάρος της τροφής που δεν καταναλώθηκε αφαιρούταν από το βάρος της τροφής που δόθηκε στα ψάρια.

3.2.3 Δειγματοληψίες

Τα ψάρια την παραμονή της δειγματοληψίας υποβάλλονταν σε νηστεία. Κατά τις δειγματοληψίες, γινόταν μερική αναισθησία με γαρυφαλέλαιο (0,01 ml L⁻¹)

διαλυμένο σε αιθανόλη 1:10 στη δεξαμενή προκειμένου να ηρεμήσουν και να αποφευχθούν καταπόνηση και τυχόν τραυματισμοί των ψαριών κατά τη σύλληψή τους. Μετά τη σύλληψη με την απόχη, τα ψάρια τοποθετούνταν σε πλαστικές δεξαμενες που περιείχαν θαλασσινό νερό και γαρυφαλέλαιο συγκέντρωσης 0,04 ml L⁻¹ όπου υποβάλλονταν σε ολική αναισθησία, έτσι ώστε να είναι δυνατή η διαχείρισή τους.

Ατομικές μετρήσεις μήκους και βάρους όλων των ψαριών πραγματοποιήθηκαν στην αρχή του πειράματος, κάθε 4 εβδομάδες κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου και στο τέλος του πειράματος. Σε κάθε μηνιαία δειγματοληψία τα ψάρια μετακινούνταν σε διαφορετική δεξαμενή, ώστε να αποφευχθεί τυχόν επίδραση των ιδιαίτερων συνθηκών μιας δεξαμενής στην αύξηση των ψαριών. Δώδεκα άτομα πριν την έναρξη του πειράματος και δύο άτομα από κάθε επανάληψη κάθε θεραπείας στο τέλος του πειράματος, θανατώθηκαν και αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη (στους -20°C) για αναλύσεις ολικής σύστασης. Επιπλέον, δείγματα ήπατος και μύος ελήφθησαν από δώδεκα ψάρια πριν την έναρξη του πειράματος και από τρία ψάρια από κάθε επανάληψη κάθε θεραπείας στο τέλος του πειράματος, για αναλύσεις ολικής σύστασης. Στα ίδια άτομα έγιναν μετρήσεις υγρού ολικού βάρους, βάρους ήπατος και σπλάχνων για τον προσδιορισμό του ηπατοσωματικού και σπλαγνοσωματικού δείκτη, καθώς επίσης και αιμοληψία για τον προσδιορισμό βιοχημικών μεταβολιτών στο αίμα.

Τα δείγματα του αίματος πάρθηκαν από την ουραία φλέβα/αρτηρία των ψαριών με τη χρήση συριγγών χωρητικότητας 2.5 ml που περιείχαν μικρή ποσότητα ηπαρίνης προκειμένου ν'αποφευχθεί η πήξη του αίματος. Τοποθετήθηκαν σε πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες των 5 ml και φυγοκεντρήθηκαν στους 4°C στις 6000 r.p.m. για 15 λεπτά. Τα δείγματα του πλάσματος τοποθετήθηκαν σε eppendorf

χωριτικότητα 0.5 ml. Στη συνέχεια διατηρήθηκαν στους -20°C μέχρι την ανάλυσή τους.

3.2.4 Στατιστική ανάλυση

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσες τιμές \pm τυπικό σφάλμα (mean \pm standard error). Για την διαπίστωση σημαντικών διαφορών στις παραμέτρους που ελέγχθηκαν, τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση διασποράς για ένα παράγοντα (Analysis of Variance, ANOVA) σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$ και στη συνέχεια, όπου βρέθηκαν διαφορές, έγιναν αναλύσεις post-hoc με το test Duncan's New Multiple Range (DNMR), σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$. Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το λογισμικό Statistica 6 και τα γραφήματα δημιουργήθηκαν με το λογισμικό Microsoft Excel for Windows 2003.

3.3 Αποτελέσματα

Η αύξηση και η αξιοποίηση των 3 πειραματικών σιτηρέσιων από τον κρανιό παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 4. Το διατροφικό επίπεδο λίπους επηρέασε σημαντικά την αύξηση των ψαριών. Το μέσο υγρό βάρος των ψαριών διέφερε σημαντικά μεταξύ των τριών πειραματικών σιτηρέσιων. Στο τέλος του πειράματος το μεγαλύτερο βάρος εμφάνισαν τα ψάρια που τρέφονταν με την τροφή μεσαίας περιεκτικότητας σε λίπος (385.4 ± 1.1 g), ακολούθησαν αυτά που τρέφονταν με την τροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος (371.0 ± 1.8 g), ενώ σημαντικά μικρότερο βάρος κι από τις δύο άλλες ομάδες παρουσίασαν αυτά που τράφηκαν με το λιγότερο λίπος (357.1 ± 5.1 g). Παρόμοια πρότυπα εμφανίστηκαν και στο μήκος το οποίο διέφερε σημαντικά μεταξύ των τριών τροφών. Το ολικό μήκος των ψαριών του

σιτηρεσίου με 17% λίπος (337.0 ± 0.8 mm) ήταν σημαντικά μεγαλύτερο από αυτό των ψαριών των σιτηρεσίων με 21% (333.4 ± 1.2 mm) και 13% (328.9 ± 1.0 mm) λίπος. Στατιστικά σημαντικές ήταν και οι διαφορές μεταξύ των τριών σιτηρεσίων και για τη μέση τιμή του ειδικού ρυθμού αύξησης (Specific growth rate, SGR), όπου τα ψάρια που τράφηκαν με την τροφή 17% λίπους παρουσίασαν μεγαλύτερο ρυθμό αύξησης (0.46 ± 0.00 %/ημέρα), από αυτά που τράφηκαν με τις τροφές με 21% (0.43 ± 0.00 %/ημέρα) και 13% (0.40 ± 0.00 %/ημέρα) λίπος. Δεν εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο συντελεστή ευρωστίας (Condition Factor, CF) (0.99 ± 0.01 και για τις τρεις ομάδες) και την ημερήσια κατανάλωση τροφής, όπου οι τιμές ήταν $0.78 \pm 0.01\%$ ανά ημέρα για τα ψάρια που τρέφονταν με την τροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος, $0.80 \pm 0.01\%$ για τα ψάρια που τρέφονταν με την τροφή μεσαίας περιεκτικότητας σε λίπος και $0.82 \pm 0.01\%$ για τα ψάρια που τρέφονταν με την τροφή μικρής περιεκτικότητας σε λίπος. Ο δείκτης μετατρεψιμότητας της τροφής (Feed Conversion Ratio, FCR) διέφερε σημαντικά ανάμεσα στα τρία πειραματικά σιτηρέσια. Τη μικρότερη τιμή εμφάνισαν τα ψάρια που τρέφονταν με την τροφή μεσαίας περιεκτικότητας σε λίπος (1.38 ± 0.03), ακολούθησαν αυτά που τρέφονταν με την τροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος (1.47 ± 0.02), ενώ σημαντικά μεγαλύτερη τιμή κι από τις δύο άλλες ομάδες παρουσίασαν αυτά που τράφηκαν με το λιγότερο λίπος (1.61 ± 0.03). Στατιστικά σημαντικές ήταν και οι διαφορές μεταξύ των τριών σιτηρεσίων και για το δείκτη αξιοποίησης της πρωτεΐνης (Protein Efficiency Ratio, PER), όπου τα ψάρια που τράφηκαν με την τροφή 17% λίπους παρουσίασαν μεγαλύτερο δείκτη αξιοποίησης της πρωτεΐνης (1.68 ± 0.04), από αυτά που τράφηκαν με τις τροφές με 21% (1.59 ± 0.02) και 13% (1.44 ± 0.02) λίπος. Δεν εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στον ηπατοσωματικό δείκτη (Hepatosomatic Index, HSI) (21% λίπος: 0.99

± 0.06 , 17% λίπος: 0.88 ± 0.11 και 13% λίπος: 0.97 ± 0.20) και το σπλαγνοσωματικό δείκτη (Viscerosomatic Index, VSI) (21% λίπος: 2.78 ± 0.06 , 17% λίπος: 2.53 ± 0.15 και 13% λίπος: 2.62 ± 0.22).

Δεν παρατηρήθηκε θνησιμότητα λόγω της ιχθυοφόρτισης και οι τέσσερις περιπτώσεις των νεκρών ψαριών οφείλονταν στη γενικευμένη συνήθεια του κρανιού να πηδάει εκτός του νερού και συχνά να καταλήγει εκτός της δεξαμενής.

Οι αναλύσεις σύστασης έδειξαν ότι η αύξηση του επιπέδου του λίπους στην τροφή επηρέασε την περιεκτικότητα του σώματος και του μυός σε λίπος. Το σώμα και οι μύες των ψαριών που τρέφονταν με την τροφή με 21% λίπος παρουσίασαν σημαντικά μεγαλύτερη περιεκτικότητα λίπους (σώμα: $7.41 \pm 0.45\%$, μυς: $0.64 \pm 0.13\%$) από αυτά που τράφηκαν με τις τροφές με 17% (σώμα: $5.92 \pm 0.12\%$, μυς: $0.37 \pm 0.08\%$) και 13% (σώμα: $5.76 \pm 0.23\%$, μυς: $0.31 \pm 0.02\%$) λίπος. Αντιθέτως, τα υπόλοιπα χημικά συστατικά του σώματος, του μυός και του ήπατος έμειναν ανεπηρέαστα από την αύξηση του επιπέδου λίπους της τροφής (Πίνακας 5).

Οι αναλύσεις του αίματος έδειξαν ότι οι βιοχημικοί μεταβολίτες δεν επηρεάστηκαν από τα διαφορετικά επίπεδα λίπους της τροφής. Οι τιμές για τα τριγλυκερίδια κυμάνθηκαν από 2.01-2.11 mmol L⁻¹, τη χοληστερόλη από 2.47-2.55 mmol L⁻¹, τις ολικές πρωτεΐνες από 3.85-4.11 g dl⁻¹, τη γλυκόζη από 6.43 έως 8.16 mmol L⁻¹, τα φωσφολιπίδια από 547- 622 mg dl⁻¹ και τα μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα (NEFA) από 2.84-3.64 mmol L⁻¹ (Γραφική παράσταση 10).

3.4 Συζήτηση

Τα λιπίδια παίζουν σημαντικό ρόλο σαν πηγή διαιτητικής ενέργειας για την ανάπτυξη των ψαριών, ιδίως στα σαρκοφάγα είδη που έχουν περιορισμένες δυνατότητες αξιοποίησης των υδατανθράκων σαν πηγή ενέργειας. Επίσης

συνεισφέρουν στην καλύτερη αξιοποίηση των πρωτεϊνών αφού αντικαθιστούν τις πρωτεΐνες που πρόκειται να μεταβολιστούν με σκοπό την παραγωγή ενέργειας (Watanabe, 1982).

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι η αύξηση του διατροφικού λίπους εντός ορίων συμβάλλει στην καλύτερη ανάπτυξη των ψαριών. Παρόλα αυτά, η περαιτέρω αύξηση του λίπους μπορεί να έχει αρνητικές επιδράσεις στην αύξηση (Murai et al., 1985; Willians et al., 1985; Daniels and Robinson, 1986; Weatherup et al., 1997; Silverstein et al., 1999; Espinos et al., 2003; Pei et al., 2004; Du et al., 2005; Lopez et al., 2006), γεγονός το οποίο επιβεβαιώθηκε και από την παρούσα μελέτη. Τα αποτελέσματα υπέδειξαν την τροφή με τη μεσαία περιεκτικότητα σε λίπος (17%) ως την καταλληλότερη για την καλύτερη αύξηση των ψαριών. Τα ψάρια που τρέφονταν με αυτή παρουσίασαν μεγαλύτερο βάρος, μήκος και ειδικό ρυθμό αύξησης (SGR) και από τις δύο άλλες ομάδες. Οι χαμηλότεροι ρυθμοί αύξησης παρατηρήθηκαν στην ομάδα που τρεφόταν με το λιγότερο λίπος (13%), γεγονός που υποδεικνύει τη συγκεκριμένη περιεκτικότητα ανεπαρκή. Χαμηλότερη αύξηση σε σχέση με την τροφή με 17% λίπος, αλλά μεγαλύτερη από την ομάδα της τροφής με 13% λίπος, παρατηρήθηκε στην ομάδα που χρησιμοποιήθηκε η τροφή με το περισσότερο λίπος (21%). Το αποτέλεσμα της παρούσας μελέτης συμφωνεί με τα συμπεράσματα που αναφέρονται για άλλα είδη, όπως το red drum (*Sciaenops ocellatus*), το rockfish (*Sebastes schlegeli*), το φαγκρί (*Pagrus pagrus*), το Asian seabass (*Lates calcarifer*), και το white seabass (*Atractoscion nobilis*) που εμφάνισαν μεγαλύτερη αύξηση όταν τρέφονταν με σιτηρέσια με περίπου 17% λίπος (Craig et al., 1999; Lee et al., 2002; Takeuchi et al., 1991; Williams et al., 2003; Lopez et al., 2006).

Πολλοί ερευνητές αναφέρουν ότι η αύξηση του λίπους στην τροφή έχει θετικά αποτελέσματα στην αύξηση, την αξιοποίηση της τροφής και της πρωτεΐνης, καθώς η επιπλέον ποσότητα λίπους αντικαθιστά την πρωτεΐνη που θα μεταβολιζόταν για ενεργειακό σκοπό και επιτρέπει την καλύτερη αξιοποίησή της για την αύξηση του ψαριού (protein sparing effect) (De Silva et al., 1991; Skalli et al., 2004; Hillestad and Johnsen, 1994; Helland and Grisdale-Helland, 1998; Torstensen et al., 2001; Lee et al., 2002). Παρόλα αυτά κάποιοι συγγραφείς αναφέρουν ότι δεν παρατήρησαν το συγκεκριμένο φαινόμενο στα πειράματά τους (McGoogan and Gatlin, 1999; Thoman et al., 1999). Η καλύτερη αύξηση, αξιοποίηση της τροφής και της πρωτεΐνης στη διαίτα με το 17% λίπος σε σχέση με αυτή με το 13%, επιτρέπει εν μέρει την επιβεβαίωση αυτού του φαινομένου από την παρούσα εργασία. Οι μειωμένες αυξητικές επιδόσεις όμως, που παρουσίασαν τα ψάρια στα οποία χρησιμοποιήθηκε η τροφή με το 21% λίπος, σε συνδυασμό με το μικρότερο δείκτη αξιοποίησης της πρωτεΐνης, όχι μόνο δεν επιβεβαιώνουν το φαινόμενο, αλλά οδηγούν και στο συμπέρασμα ότι η υπέρβαση των ορίων στο διατροφικό λίπος έχει σαν αποτέλεσμα τη μειωμένη αύξηση και συσσώρευση λίπους στο σώμα του ψαριού. Παρόμοιο φαινόμενο παρατηρήθηκε και στην τσιπούρα, το λαβράκι, το cobia (*Rachycentron canadum*), το καλκάνι (*Psetta maxima*) και τη συναγρίδα (*Dentex dentex*) (Company et al., 1999; Peres and Oliva-Teles, 1999; Chou et al., 2001; Wang et al., 2005; Regost et al., 2001; Espinos et al., 2003).

Η μείωση της αύξησης που παρατηρήθηκε όταν σε κάποια είδη χορηγήθηκαν υψηλά επίπεδα διατροφικού λίπους, μπορεί να οφείλεται στη μειωμένη δυνατότητα πέψης και απορρόφησης υψηλών ποσοτήτων λίπους, στην υπερβολική συσσώρευση λίπους στο ήπαρ και άλλα όργανα ή στην πρόκληση μεταβολικών δυσλειτουργιών (Luo et al., 2005). Οι περισσότεροι μελετητές όμως, αποδίδουν το φαινόμενο της

μειωμένης αύξησης των ψαριών που τρέφονται με δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος στην υπερβολική ενέργεια των τροφών αυτών, η οποία μπορεί να προκαλέσει μείωση της κατανάλωσης της τροφής και συνεπώς μειωμένη αύξηση των ψαριών (Jobling and Wandsvik, 1983; Kaushik and Oliva Teles, 1985; Ellis and Reigh, 1991; Kaushik and Medale, 1994; Paspatis and Boujard, 1996; Lupatsch et al., 2001; Wang et al., 2005). Παρόλα αυτά, σε διάφορες μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι το πρωτεϊνικό περιεχόμενο της διαίτας σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι το ενεργειακό της, παίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της λήψης τροφής από το ψάρι (Kentouri et al., 1995; Marti-Palanca et al., 1996; Santinha et al., 1996; Peres and Oliva-Teles, 1999; Φουντουλάκη, 2003; Du et al., 2005). Στην παρούσα μελέτη πάντως, η αύξηση της ενέργειας της τροφής, λόγω της αύξησης του λίπους, δε φάνηκε να επηρεάζει την πρόσληψη τροφής, καθώς δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην ημερήσια κατανάλωση τροφής ανάμεσα στις τρεις ομάδες ($0.80 \pm 0.02\%$). Η τιμή αυτή που παρατηρήθηκε για την ημερήσια κατανάλωση τροφής φαίνεται μικρή, συγκρινόμενη με αυτή που καταναλώνουν άλλα είδη της οικογένειας Sparidae (2-3% περίπου) ίδιας ηλικίας (Santinha et al., 1996; Vergara et al., 1999; Skalli et al., 2004).

Παρά το ότι η κατανάλωση τροφής δε διέφερε ανάμεσα στις τρεις ομάδες, το γεγονός ότι η ομάδα που τρεφόταν με την τροφή με 17% λίπος παρουσίασε μεγαλύτερη αύξηση, είχε σαν αποτέλεσμα την καλύτερη μετατρεψιμότητα τροφής της ομάδας αυτής σε σχέση με τις δύο άλλες. Ο δείκτης μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) παρουσίασε τη μικρότερη τιμή σε αυτήν την ομάδα, ακολούθησαν τα ψάρια που τρέφονταν με την τροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος, ενώ σημαντικά μεγαλύτερη τιμή κι από τις δύο άλλες ομάδες παρουσίασαν αυτά που τρέφονταν με το λιγότερο λίπος. Διαφορετικά αποτελέσματα εμφανίζονται από προηγούμενες μελέτες καθώς θετικές επιδράσεις στην αξιοποίηση της τροφής είχε η αύξηση του λίπους στο

λαβράκι (Boujard et al., 2004), ενώ ακριβώς το αντίθετο αποτέλεσμα παρατηρήθηκε στο συκίο (*Sciaena umbra*) (Chatzifotis et al., 2006). Καμία επίδραση στο δείκτη μετατρεψιμότητας της τροφής ανάμεσα στις δίαιτες που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρεται για το Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) (Martins et al., 2007).

Ο συντελεστής ευρωστίας αποτελεί καλό δείκτη των επιπέδων των ενεργειακών αποθεμάτων (Goede and Barton, 1990), και της υγείας του ψαριού. Δεν εμφανίστηκαν σημαντικές διαφορές στο συντελεστή ευρωστίας (CF) ανάμεσα στις τρεις ομάδες (0.99 ± 0.01), φαινόμενο το οποίο επιβεβαιώνεται και από προηγούμενες μελέτες στο ίδιο είδος (Poli et al., 2003; Piccolo et al., 2006) αλλά και στο συκίο (Chatzifotis et al., 2006). Κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου όμως, ο συντελεστής ευρωστίας εμφάνισε πτωτική τάση (Γραφική παράσταση 9). Αυτό πιθανότατα να οφείλεται στην έντονη αύξηση του παρανομαστή (μήκους) σε σχέση με τον αριθμητή (βάρος). Είναι γεγονός ότι τα ψάρια κατά τους πρώτους μήνες ή και έτη της ζωής τους μεγαλώνουν πολύ γρήγορα σε μήκος, παρά σε βάρος. Έτσι τα ενήλικα άτομα είναι συνήθως πολύ βαρύτερα ανά μονάδα μήκους από τα ανώριμα άτομα (Moyle and Cech, 2000). Είναι πιθανό, μια και το πείραμα διεξήχθη κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, οι υψηλές θερμοκρασίες να συντέλεσαν στην έντονη ανάπτυξη του μήκους του ψαριού. Πάντως ο συντελεστής ευρωστίας στο τέλος του πειράματος (0.99) δεν ήταν ανησυχητικά χαμηλός, μια και δε διαφέρει πολύ από τον αρχικό (1.03) και από τις τιμές που αναφέρουν οι Poli et al., 2003 (1.04 και 0.94), για ψάρια 2 ετών περίπου, δηλαδή διπλάσιας ηλικίας.

Η σύσταση του σώματος των ψαριών επηρεάζεται από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες. Η πρωτεΐνη και η τέφρα εξαρτώνται περισσότερο από το μέγεθος του ψαριού, ρυθμίζονται δηλαδή ενδογενώς, ενώ το λίπος επηρεάζεται περισσότερο από εξωγενείς παράγοντες, όπως η διατροφή (Shearer, 1994). Η

συσχέτιση μεταξύ του διατροφικού λίπους και της περιεκτικότητας λίπους στο σώμα έχει μελετηθεί αρκετά και είναι γνωστό ότι υψηλές ποσότητες διατροφικού λίπους μπορεί να οδηγήσουν σε υπέρμετρη εναπόθεση λίπους στο σώμα του ψαριού (Arzel et al., 1994; Catacutan and Coloso, 1995; Vergara et al., 1996; Weatherup et al., 1997; Hemre and Sandnes, 1999; Lanari et al., 1999; Peres and Oliva-Teles, 1999; Wang et al., 2005; Lopez et al., 2006). Στην παρούσα μελέτη πράγματι, τα σώματα των ψαριών που τρέφονταν με την τροφή με 21% λίπος παρουσίασαν σημαντικά μεγαλύτερη περιεκτικότητα λίπους ($7.41 \pm 0.45\%$) από αυτά που τρέφονταν με τις τροφές με 17% ($5.92 \pm 0.12\%$) και 13% ($5.76 \pm 0.23\%$) λίπος. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και για άλλα είδη όπως το red drum (Daniels and Robinson, 1986; Ellis and Reigh, 1991), το λαβράκι (Lanari et al., 1999; Peres and Oliva-Teles, 1999), την τσιπούρα (Vergara et al., 1996), το grouper (*Epinephelus coioides*) (Luo et al., 2005), το cobia (Wang et al., 2005), τον κυπρίνο (*Ctenopharyngodon idella*) (Du et al., 2005) το Atlantic halibut (Martins et al., 2007), την ιριδιζούσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) (Jobling et al., 1998) και την κόκκινη τιλάπια (De Silva et al., 1991). Η σύγκριση των τιμών της περιεκτικότητας λίπους στο σώμα του κраниού σε σχέση με αυτές από άλλα είδη, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι είναι ένα ψάρι με χαμηλά επίπεδα λίπους. Τα επίπεδα λίπους που αναφέρονται για το cobia κυμαίνονται από 9-20% (Wang et al., 2005), για το Atlantic halibut από 7.3-10.3% (Martins et al., 2007), για το λαβράκι από 11.7-14.9% (Peres and Oliva-Teles, 1999) και για το σαργό (*Diplodus sargus*) 10-14% (Sa et al., 2006).

Στην παρούσα μελέτη, η αύξηση του διατροφικού λίπους συνοδεύτηκε και από αύξηση στα μυϊκά επίπεδα λίπους. Οι μύες των ψαριών που τρέφονταν με την τροφή με 21% λίπος παρουσίασαν σημαντικά μεγαλύτερη περιεκτικότητα λίπους

($0.64 \pm 0.13\%$) από αυτά που τρέφονταν με τις τροφές με 17% ($0.37 \pm 0.08\%$) και 13% ($0.31 \pm 0.02\%$) λίπος. Το ίδιο διαπίστωσαν και οι Piccolo et al., 2006 που έλεγξαν τις επιδράσεις δύο σιτηρέσιων (14 και 19% λίπος) στον κρανίο, αλλά σύμφωνα με τα αποτελέσματά τους, οι μύες παρουσίασαν πολύ μεγαλύτερες περιεκτικότητες λίπους, 2,4 και 3,6 αντίστοιχα. Αντιθέτως, οι Poli et al., 2003 συγκρίνοντας δυο ομάδες που διεδράφησαν με 22% και 32% λίπος δε διαπιστώσαν διαφορές στα επίπεδα λίπους του μυός του κρανίου, ενώ η τιμή της περιεκτικότητας του μυ σε λίπος είναι 2,5% περίπου, δηλαδή κοντά σε αυτές που αναφέρουν οι Piccolo et al., 2006. Ανεπηρέαστα παρέμειναν τα μυϊκά επίπεδα λίπους (2%) στο σκυϊό (Chatzifotis et al., 2006), το red drum (1,4- 2,4%) (Mc Googan and Gatlin, 1999), το Atlantic halibut (2-2.5 %) (Martins et al., 2007) και το λαβράκι (1.57-1.83 %) (Peres and Oliva-Teles, 1999) από τις αλλαγές των επιπέδων λίπους της τροφής, υποδεικνύοντας την περιορισμένη δυνατότητα του μυϊκού ιστού αυτών των ειδών να αποθηκεύει λίπος. Αυτό το συμπέρασμα ενισχύουν και οι σχετικά χαμηλές τιμές λίπους (~2%) που εμφανίζουν οι μύες αυτών των ειδών. Παρά τις εξαιρέσεις που υπάρχουν, είναι γεγονός ότι αυτό είναι σύνηθες στα βαθύβια είδη που είναι πιο στατικά, σε σχέση με τα πελαγικά που για να καλύψουν τις κινητικές ανάγκες τους διατηρούν υψηλότερα ποσοστά λιπιδίων στο μυϊκό ιστό (Sheridan, 1988).

Σε αντίθεση με τα προηγούμενα αποτελέσματα, υπάρχουν είδη, όπως το cobia, στα οποία η μυϊκή μάζα παίζει σημαντικό ρόλο στην αποθήκευση λίπους, όπως υποδεικνύουν οι υψηλότερες τιμές λίπους (3.2-8.8%) και η άμεση σχέση τους με το διατροφικό επίπεδο λίπους (Wang et al., 2005). Υψηλές τιμές μυϊκού λίπους (9-17.4%) και εμφανή συσχέτισή του με το διατροφικό επίπεδο λίπους, αναφέρονται και για τον κυπρίνο (Du et al., 2005).

Τα υπόλοιπα χημικά συστατικά του μυός και του σώματος έμειναν ανεπηρέαστα από την αύξηση του λίπους στην τροφή. Η πρωτεΐνη θεωρείται ότι παραμένει σταθερή στο σώμα του ψαριού, ανεξαρτήτως σύστασης τροφής, ενώ φαίνεται ότι εξαρτάται κατά βάση από το βάρος του ψαριού. Για την τέφρα επίσης αναφέρεται ότι ρυθμίζεται ενδογενώς, ενώ η περιεκτικότητα σε υγρασία φαίνεται να είναι αντίστροφη από αυτή του λίπους (Shearer, 1994). Τα αποτελέσματα από αυτό το πείραμα δεν επαληθεύουν αυτή τη σχέση καθώς δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στην περιεκτικότητα σε υγρασία του σώματος και του μυ ανάμεσα στις τρεις δίαιτες, παρότι οι μικρές διαφορές που εμφανίζονται στις τιμές της υγρασίας δείχνουν μια τέτοια τάση.

Το συκώτι αποτελεί για τα ψάρια αποθήκη λίπους και γλυκογόνου (McClelland et al., 1995; Péres et al., 1999). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι το συκώτι έμεινε ανεπηρέαστο από τις μεταβολές του λίπους στην τροφή, αφού δεν εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στον ηπατοσωματικό δείκτη (HSI) και στο περιεχόμενο του ήπατος σε λίπος και γλυκογόνο ανάμεσα στις τρεις δίαιτες. Ανεπηρέαστος από τις μεταβολές του διατροφικού λίπους ηπατοσωματικός δείκτης αναφέρεται και για άλλα είδη, όπως για το Atlantic halibut (Berge and Storebakken, 1991; Helland and Grisdale-Helland, 1998; Martins et al., 2007), το red drum (Thoman et al., 1999), το χέλι (*Anguilla australis*) (De Silva et al., 2001), το σαργό (Sa et al., 2006), και το συκίο (Chatzifotis et al., 2006). Αντιθέτως για το βακαλάο (*Gadus morhua*) (Dos Santos et al., 1993), το red drum (Daniels and Robinson, 1986), το grouper (Luo et al., 2005), το haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) (Nanton et al., 2001; Tibbetts et al., 2005), το rockfish (Lee et al., 2002), το cobia (Wang et al., 2005), το white seabass (Lopez et al., 2006), και το λαβράκι (Peres and Oliva-Teles 1999) υπήρχαν διαφορές στον ηπατοσωματικό

δείκτη με τις διακυμάνσεις του διατροφικού λίπους. Πολλοί ερευνητές συσχετίζουν αυτές τις διαφορές στον ηπατοσωματικό δείκτη με το γλυκογόνο ή το αυξημένο λίπος του ήπατος (Kaushik et al., 1989, Hemre et al., 1989, Kim and Kaushik, 1992; Diaz et al., 1998; Peres and Oliva-Teles 1999; Φουντουλάκη, 2003; Wang et al., 2005). Πράγματι, η αύξηση του λίπους στην τροφή συνοδεύτηκε από παράλληλη αύξηση του λίπος στο ήπαρ, στα περισσότερα είδη, όπως στο cobia (Wang et al., 2005), το σολομό (Sheehan et al., 1996; Hemre and Sandnes, 1999), το red drum (Mc Googan and Gatlin, 1999), το Atlantic halibut (Martins et al., 2007), το white seabass (Lopez et al., 2006), την πέρκα (*Perca fluviatilis*) (Xu et al., 2001), το grouper (Luo et al., 2005), το λαβράκι (Boujard et al., 2004) και το rockfish (Lee et al., 2002). Είναι γνωστό ότι τα ψάρια που τρέφονται με σιτηρέσια υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος συνήθως αποθηκεύουν περισσότερο λίπος στους ιστούς τους, ιδίως στο συκώτι και τη σπλαχνική κοιλότητα (Regost et al., 2001; Mathis et al., 2003). Από την παρούσα μελέτη, πάντως δεν επιβεβαιώθηκε αυτή η παρατήρηση καθώς όπως προαναφέρθηκε, η περιεκτικότητα του ήπατος σε λίπος δεν επηρεάστηκε από την αύξηση του διατροφικού λίπους στον κρανίο.

Συγκρίνοντας τα δεδομένα με αντίστοιχα από άλλα είδη, παρατηρείται ότι ο κρανιός εμφανίζει μικρότερες τιμές (0.88-0.99) ηπατοσωματικού δείκτη από άλλα είδη, όπως ο συκτός (1,8) (Chatzifotis et al., 2006), το red drum (1.88–3.55 και 1.75–1.91) (Daniels and Robinson 1986; Mc Googan and Gatlin, 1999), το λαβράκι (2–2.8) (Peres and Oliva-Teles 1999), ο σαργός (1.27-2.16) (Sa et al., 2006), το χέλι (1.83-2.41) (De Silva et al., 2001), η ιριδίζουσα πέστροφα (1.4–2.1) (Kaushik et al. 1995), το grouper (2.15 - 2.97) (Luo et al., 2005), το rockfish (2.6-3) (Lee et al., 2002), το Atlantic halibut (1.44-1.97) (Grisdale-Helland, 1998) και το haddock (9.3-12.6 και 10–15%) (Tibbetts et al., 2005; Nanton et al., 2003). Επίσης, ο κρανιός

εμφανίζει και στο συκώτι χαμηλά ποσοστά λίπους (10.5-12.9%) σε σχέση με άλλα είδη, όπως ο συκιός (39-43%) (Chatzifotis et al., 2006), το red drum (30%), το cobia (42-58%) (Wang et al., 2005), το λαβράκι (20-25%) (Peres and Oliva-Teles 1999), ο βακαλάος (>50%) (Dos Santos et al., 1993; Morais et al., 2001), το Atlantic halibut (13-19%) (Martins et al., 2007) και το καλκάνι (12-21%) (Regost et al., 2001).

Το γεγονός ότι η σύσταση του συκωτιού και ο ηπατοσωματικός δείκτης έμειναν ανεπηρέαστα από τις μεταβολές του λίπους στην τροφή σε συνδυασμό με το χαμηλό επίπεδο λίπους του ήπατος και το χαμηλό ηπατοσωματικό δείκτη και δείχνουν ότι το συκώτι δεν παίζει καθοριστικό ρόλο στην αποθήκευση λίπους στον κраниό.

Τα διαφορετικά επίπεδα λίπους δεν επηρέασαν το σπλαγνοσωματικό δείκτη (VSI), γεγονός που υποδεικνύει ότι ο κраниός δεν αποθηκεύει λίπος στη σπλαχνική κοιλότητα. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται και για το σαργό (Sa et al., 2006), και το Atlantic halibut (Martins et al., 2007), ενώ αντιθέτως για το ίδιο είδος παρατηρείται αύξηση της σπλαχνικής απόθεσης λίπους με την αύξηση του διατροφικού λίπους (Aksnes et al., 1996). Αυτές οι διαφορές μπορεί και να οφείλονται σε διαφορές στην ηλικία, τη σύνθεση της τροφής και τους ρυθμούς αύξησης του ψαριού. Αύξηση του σπλαγνοσωματικού δείκτη (VSI) παράλληλα με την αύξηση του λίπους στην τροφή αναφέρεται και για το cobia (Wang et al., 2005), για το συκιό (Chatzifotis et al., 2006), για το grouper (Luo et al., 2005), το red drum (Daniels and Robinson, 1986) και τον κορήγονο (*Coregonus lavaretus*) (Koskela et al. 1998). Η σύγκριση των τιμών με αυτές από άλλα είδη δείχνει ότι και ο σπλαγνοσωματικός δείκτης φαίνεται να παίρνει ιδιαίτερα μικρές τιμές στο κраниό (2.5-2.8), συγκρινόμενος με άλλα είδη όπως το grouper (8.4-9.4) (Luo et al., 2005), την ιριδίζουσα πέστροφα (8.1-10.5), (Kaushik et al. 1995), το λαβράκι (10.3-12.7)

(Peres and Oliva-Teles 1999), τον κορήγονο (7.3–8.8) (Koskela et al. 1998), το φαγκρί (9.1–10.3) (Ogata and Shearer 2000), το surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) (5.7–7.5) (Martino et al. 2002), το rockfish (6.9-8.5) (Lee et al., 2002), το σαργό (9.1-10.6) (Sa et al., 2006), το Atlantic halibut (5.0-5.6) (Martins et al., 2007), το cobia (11.5-14.7) (Wang et al., 2005) και το συκίο (6,5-7,5) (Chatzifotis et al., 2006).

Οι αιματολογικές αναλύσεις δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές λόγω των αλλαγών στο διατροφικό επίπεδο λίπους. Η γλυκόζη είναι ένας δείκτης στρες (Rotlland & Tort, 1997; Rotlland et al., 1997; Pottinger 1998), αλλά επηρεάζεται και από άλλους παράγοντες, όπως τη θερμοκρασία, το μέγεθος του ψαριού (Hemre and Sandnes, 1999), τη φωτοπερίοδο και το χρονικό διάστημα από το τελευταίο γεύμα (Pavlidis et al., 1999). Το γεγονός ότι δεν παρουσιάστηκαν μεταβολές στη συγκέντρωσή της ανάμεσα στις τρεις ομάδες δείχνει ότι η αύξηση του λίπους δεν προκάλεσε στρες, σε αντίθεση με το σολωμό (Hemre and Sandnes, 1999) και το βακαλάο (Rosenlund et al., 2004), όπου παρατήρηθηκε αύξηση της γλυκόζης με την αύξηση του διατροφικού λίπους. Υποστηρίζεται ότι η γλυκόζη αυξάνεται με την αύξηση του αμύλου στην τροφή (Hemre et al., 1996), ενώ για το white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) αναφέρεται ότι δεν υπήρξαν μεταβολές λόγω της αύξησης του λίπους της τροφής στα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα (Hung et al., 1997). Οι τιμές που αναφέρονται για το σολωμό (Hemre and Sandnes, 1999) είναι ελαφρώς μεγαλύτερες (6.4-10.3 mmol L⁻¹) από αυτές που παρατηρήθηκαν στον κρانيό (6.4 έως 8.2 mmol L⁻¹).

Αμετάβλητα έμειναν και τα επίπεδα της χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων και των ολικών πρωτεϊνών στο αίμα του κρانيού (Γραφική παράσταση 10). Το ίδιο φαινόμενο παρατήρηθηκε και στο βακαλάο, με παρόμοια επίπεδα ολικών πρωτεϊνών,

αλλά πολύ μεγαλύτερα επίπεδα χοληστερόλης, 8.5-11.2 mmol L⁻¹ έναντι 2.5 mmol L⁻¹ που βρέθηκαν στο αίμα του κρανίου (Rosenlund et al., 2004). Αντιθέτως, αύξηση των παραπάνω παραγόντων με την αύξηση του διατροφικού λίπους αναφέρονται για τον κυπρίνο (Du et al., 2005) και το σολομό (Hamre et al., 2004), ο οποίος εμφανίζει ελαφρώς υψηλότερες τιμές ολικών πρωτεϊνών, 5.4-6.1 g dl⁻¹ έναντι 3.8-4.1 g dl⁻¹ του κρανίου και πολύ υψηλότερες τιμές χοληστερόλης, 11.1-14.6 mmol L⁻¹ έναντι 2.5 mmol L⁻¹ που βρέθηκαν στο αίμα του κρανίου. Οι τιμές των τριγλυκεριδίων και της χοληστερόλης που αναφέρονται για τον κυπρίνο (Du et al., 2005) είναι παρόμοιες με αυτές του κρανίου. Στα ίδια επίπεδα με του κρανίου είναι και οι τιμές της συγκέντρωσης των ολικών πρωτεϊνών και των τριγλυκεριδίων που αναφέρονται για τη συναγρίδα (Chatzifotis et al., 2004), αλλά η συγκέντρωση της χοληστερόλης είναι πολύ μεγαλύτερη 7-12 mmol L⁻¹ έναντι 2.5 mmol L⁻¹ του κρανίου.

Λαμβάνοντας υπόψιν όλα τα παραπάνω δεδομένα για τον ηπατοσωματικό και σπλαγνοσωματικό δείκτη, τα χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης και τα χαμηλά επίπεδα λίπους του μυός, του σώματος και του ήπατος του κρανίου σε σχέση με άλλα είδη επιβεβαιώνεται το συμπέρασμα στο οποίο είχαν καταλήξει και οι Poli et al., 2003, ότι ο κρανιός είναι ένα είδος υψηλής διατροφικής αξίας, με σπάνια ισχνή σάρκα, αναμφισβήτητα θετικό χαρακτηριστικό καθώς η συνολική περιεκτικότητα λίπους στο σώμα των ψαριών είναι ένας σημαντικός και καθοριστικός παράγοντας της αποδοχής των καταναλωτών και η μεγάλη απόθεση λίπους στη σπλαχνική κοιλότητα (από τις υψηλής ενέργειας δίαιτες) μπορεί να μειώσει την εμπορική αξία του προϊόντος (Otwell and Rickards, 1981).

Δυστυχώς, οι ρυθμοί αύξησης που παρατηρήθηκαν δεν είναι στα ίδια επίπεδα με αυτά που έχουν αναφερθεί για τον κρανιό από τους Pastor-Gracia et al., 2002 όπου ιχθύδια 110 g έφτασαν τα 1850 g σε 8 μήνες. Βέβαια οι ίδιοι διαπίστωσαν ότι αυτά

τα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν μόνο σε κλωβούς και ότι στις δεξαμενές δεν παρατηρήθηκαν ίδιοι ρυθμοί αύξησης, καθώς τα ψάρια φάνηκε να στρεσάρονται και αυτό έγινε αιτία να μην τρέφονται κανονικά. Αυτή η παρατήρηση συμφωνεί με τα δεδομένα της παρούσας μελέτης, καθώς όπως προαναφέρθηκε, παρατηρήθηκε μικρή κατανάλωση τροφής, παρά το γεγονός ότι το πείραμα διεξήχθη κατά τη διάρκεια της θερινής περιόδου. Είναι γεγονός ότι τα ψάρια δεν έτρωγαν με όρεξη καθώς έδειχναν να στρεσάρονται από την ανθρώπινη παρουσία κατά τη διάρκεια του ταΐσματος και συχνά πηδούσαν εκτός του νερού. Επομένως θα ήταν προτιμότερο σε επόμενα πειράματα ή προσπάθεια καλλιέργειας του κρانيού το τείσμα να μη γίνεται με το χέρι, αλλά με ταΐστρες, ώστε να ελαχιστοποιείται η ανθρώπινη παρουσία. Το γεγονός πάντως ότι δεν εμφανίστηκε θνησιμότητα πλην των περιπτώσεων που χάθηκαν ψάρια, λόγω αλμάτων εκτός της δεξαμενής, δείχνει ότι το είδος αντέχει την αιχμαλωσία και είναι ανθεκτικό σε ασθένειες, ισχυρά πλεονεκτήματα για την καλλιέργεια ενός είδους.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι εφόσον η αύξηση της ιχθυοφόρτισης δεν επηρέασε την ανάπτυξη του κρανιού, ούτε προκάλεσε στρες, η καλλιέργεια του είδους μπορεί να γίνεται και σε υψηλές ιχθυοφορτίσεις, συμφέρουσες για τον παραγωγό, τουλάχιστον μέχρι τα επίπεδα που ελέγχθηκαν (22 kg m^{-3}). Επιπλέον, από το πείραμα με τα τρία διαφορετικά σιτηρέσια προέκυψε ότι η αύξηση του διατροφικού λίπους από 13% σε 17% συνέβαλλε στην καλύτερη ανάπτυξη των ψαριών. Η περαιτέρω αύξηση του λίπους, πέρα από αυτά τα όρια όμως είχε ως αποτέλεσμα μειωμένη ανάπτυξη και συσσώρευση λίπους στο σώμα και το μυ του κρανιού. Συμπερασματικά, η καταλληλότερη περιεκτικότητα λίπους στην τροφή για τον κρανιό αποδείχθηκε περίπου στο 17%.

Γενικότερα, ο κρανιός αποδείχθηκε ανθεκτικό είδος στους χειρισμούς που υποβάλλονταν τα ψάρια σε συνθήκες ιχθυοκαλλιέργειας, καθώς δεν υπήρχε καθόλου θνησιμότητα και δεν παρουσιάστηκαν ασθένειες. Επειδή φάνηκε να καταπονείται από την ανθρώπινη παρουσία θα ήταν προτιμότερο το τάισμα να μη γίνεται με το χέρι, αλλά με ταΐστρες, ώστε να μην επηρεάζεται η κατανάλωση της τροφής. Τέλος, επιβεβαιώθηκε και από την παρούσα μελέτη ότι είναι είδος υψηλής διατροφικής αξίας, με σπάνια ισχνή σάρκα.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1 - ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ

A) Αναλύσεις σύστασης

Οι αναλύσεις σύστασης πραγματοποιούνται στο σώμα, στους μύες και στο ήπαρ των ψαριών, καθώς επίσης και στις τροφές.

Τα ψάρια και οι ιστοί διατηρούνταν στους -20°C μέχρι τις αναλύσεις σύστασης. Πριν την έναρξη των αναλύσεων έγινε άλεση των σωμάτων και των μυών σε ειδική μηχανή κιμά, λυοφιλίωση για 48 ώρες (μέθοδος απομάκρυνσης της υγρασίας με εξάχνωση) και άλεση σε μύλο ώστε να είναι λεπτόκοκκα.

B) Σύσταση σώματος

Για τον υπολογισμό του ολικού λίπους, των ολικών πρωτεϊνών, της υγρασίας και της τέφρας των ιστών, χρησιμοποιήθηκαν οι μέθοδοι που περιγράφονται παρακάτω. Τα αποτελέσματα όλων των μετρήσεων εκφράζονται σε ποσοστά %. Οι λεπτομερείς διαδικασίες που χρησιμοποιούνταν για τον προσδιορισμό της ολικής σύστασης περιγράφονται στο AOAC (1984) και συνοψίζονται παρακάτω:

1. Πρωτεΐνες

Οι ολικές πρωτεΐνες ενός δείγματος υπολογίζονται με την μέθοδο Kjeldahl κατά την οποία το αζωτούχο περιεχόμενο του δείγματος υπολογίζεται απ'ευθείας και μετατρέπεται σε πρωτεϊνικό περιεχόμενο χρησιμοποιώντας τον συντελεστή 6,25. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στο γεγονός ότι, κατά την αντίδραση με το πυκνό θειικό οξύ και τους καταλύτες πραγματοποιείται μετατροπή του αζώτου σε αμμωνία υπό μορφή όξινου θειικού αμμωνίου, το οποίο στη συνέχεια εξουδετερώνεται με πυκνό καυστικό

νάτριο και απελευθερώνει με απόσταξη την αμμωνία, η οποία συλλέγεται σε κορεσμένο διάλυμα βορικού οξέως με δείκτη. Στη συνέχεια ακολουθεί τιτλοδότηση με υδροχλώριο.

Πιο συγκεκριμένα, τοποθετούνται στους ειδικούς σωλήνες 200mg δείγματος (εκτός από δύο που χρησιμοποιούνταν ως τυφλά), ένα χάπι καταλύτη των 1.7g στο κάθε δείγμα και στα δύο τυφλά, 2-3 γιάλινες σφαίρες για καλύτερο βρασμό καθώς επίσης και 6ml πυκνό θειικό οξύ και 1ml υπεροξειδίου του υδρογόνου. Τα δείγματα τοποθετούνται στην ήδη προθερμασμένη στους 410° C ειδική μηχανή βρασμού για 1 ώρα. Μετά το πέρας της μιας ώρας και αφού κρυώσουν προστίθεται σε κάθε σωλήνα και στα τυφλά 20ml απιονισμένο νερό. Σε ποτήρι ζέσεως των 250ml προστίθενται 5 σταγόνες δείκτη (Methyl red (0.1% in alcohol): Bromocresol green (0.2% in alcohol) = 1:5) και 20ml κορεσμένο βορικό οξύ. Το ποτήρι ζέσεως μαζί με το σωλήνα που περιέχει το δείγμα τοποθετούνται στη μηχανή Kjeldahl. Αφού συλλεχθούν στο ποτήρι ζέσεως περίπου 120ml, ακολουθεί τιτλοδότηση με HCL 0.1N.

Ο υπολογισμός της πρωτεΐνης (%) των δειγμάτων έγινε βάσει του παρακάτω τύπου:

$\% \text{ πρωτεΐνης} = 100 \times \text{γραμμάρια N} \times 6,25 / \text{gr δείγματος}$

όπου, γραμμ N δείγματος : $(\text{ml HCL δείγματος} - \text{ml HCL blank}) / 1000 \times 14,01,$

6,25 : ο παράγοντας N που χρησιμοποιείται για να μετατρέψει το συνολικό N σε ολική πρωτεΐνη (οι πρωτεΐνες θεωρείται ότι αποτελούνται από 16% N).

2. Λίπος

Το λίπος προσδιορίζεται ύστερα από εκχύλιση προζυγισμένου δείγματος με πετρελαϊκό αιθέρα 40°-60° σε ειδική συσκευή Soxhlet. Σε ειδικά δοχεία εκχύλισης

προστίθενται μερικές πετρούλες, κι αφού ζυγιστούν, 50ml πετρελαϊκό αιθέρα 40-60°. Σε ειδική χαρτούζα τοποθετούνται 3gr δείγματος, μαζί με βαμβάκι, ώστε να μην προσκολλάται το δείγμα στη χαρτούζα. Οι χαρτούζες και τα δοχεία εκχύλισης τοποθετούνται στην ήδη προθερμασμένη στους 100°C μηχανή εκχύλισης. Οι χαρτούζες παραμένουν στην θέση βρασμού επί 15 λεπτά. Στη συνέχεια, παραμένουν στη θέση απόσταξης επί 45 λεπτά. Μετά την εκχύλιση ο αιθέρας εξατμίζεται και τα δοχεία εκχύλισης τοποθετούνται στο φούρνο για 1 ώρα στους 60°. Στη συνέχεια μπαίνουν στο ξηραντήρα για να κρυώσουν και ζυγίζονται στον αναλυτικό ζυγό. Η αφαίρεση του μικτού βάρους από το βάρος δοχείου δίνει το λίπος σε γραμμάρια και η διαίρεσή του με το βάρος υλικού, πολλαπλασιασμένο επί 100, την εκατοστιαία (%) περιεκτικότητα.

3. Υγρασία

Για τη μέτρηση της υγρασίας των δειγμάτων, τοποθετούνταν 1,5 gr δείγματος σε προζυγισμένες κάψες (τρεις επαναλήψεις), οι οποίες ξαναζυγίζονταν για να υπολογιστεί το μικτό βάρος δοχείου και δείγματος. Οι μετρήσεις γίνονταν σε ζυγό ακριβείας (4 δεκαδικά ψηφία). Στη συνέχεια οι κάψες τοποθετούνταν σε φούρνο όπου παρέμεναν για ξήρανση στους 105°C για 24 ώρες. Μετά τη λήξη του χρόνου, αφού παρέμεναν στον ξηραντήρα για να κρυώσουν για μία ώρα, οι κάψες ζυγίζονταν σε ζυγό ακριβείας.

Υπολογισμός υγρασίας:

Υγρό βάρος δείγματος = Μικτό υγρό βάρος - Βάρος δοχείου

Ξηρό βάρος δείγματος = Μικτό ξηρό βάρος - Βάρος δοχείου

% Υγρασία = (Ξηρό βάρος δείγματος / Υγρό βάρος δείγματος) x 100

4. Τέφρα

Η τέφρα είναι τα ανόργανα κατάλοιπα που παραμένουν μετά από κάψιμο του δείγματος στους 500°C για 12 ώρες. Οι κάψες με το ξηρό δείγμα από την προηγούμενη μέτρηση τοποθετούνταν σε πυραντήρα, στους 500°C. Μετά την πάροδο 12 ωρών, οι κάψες τοποθετούνταν σε ξηραντήρα για μια ώρα περίπου, μέχρι να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια ζυγίζονταν σε ζυγό ακριβείας.

Υπολογισμός τέφρας:

Βάρος τέφρας = Μικτό βάρος αποτεφρωμένου δείγματος – Βάρος δοχείου

% Τέφρα = (Βάρος τέφρας/ Ξηρό βάρος) x 100.

Γ) Σύσταση ήπατος

Οι αναλύσεις σύστασης ήπατος συνίστανται στον προσδιορισμό γλυκογόνου και ολικού λίπους.

1. Προσδιορισμός γλυκογόνου

Δείγμα κατεψυγμένου ομογενοποιημένου ήπατος 100-120mg ζυγίζονταν σε ειδικούς σωλήνες ομογενοποίησης και ομογενοποιούνταν σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέως υπό ψύξη. Στη συνέχεια γινόταν προσθήκη 100ml του ενζύμου αμυλογλυκοσιδάση για να υδρολυθεί το γλυκογόνο σε γλυκόζη κι ακολουθούσε 24 ώρες επώαση σε θερμοκρασία δωματίου. Η γλυκόζη αντιδρούσε χρωματομετρικά με αντιδραστήριο της HUMAN kit no 10260 και η απορρόφηση της μετριοταν στα 500 nm. Η συγκέντρωση υπολογίζονταν σε σύγκριση με αυτή προτύπου διαλύματος γνωστής συγκέντρωσης. Ο προσδιορισμός εκφραζόταν σε % βάρους ήπατος.

2. Προσδιορισμός ολικού λίπους (Folch)

Δείγμα κατεψυγμένου ομογενοποιημένου ήπατος 250 – 300mg ζυγίζοταν σε αναλυτικό ζυγό και ομογενοποιούταν σε χλωροφόρμιο/μεθανόλη 2:1 υπό ψύξη. Στη συνέχεια πραγματοποιούταν φιλτράρισμα του δείγματος σε προζυγισμένο σωλήνα (W1) υπό κενό, προσθήκη 20% v/v NaCl 0,9% και φυγοκέντρωση στις 2000 στροφές για 5 λεπτά. Μετά τη φυγοκέντρωση γινόταν απομάκρυνση της πάνω φάσης με αντλία κενού, προσθήκη 1 – 2ml διαλύματος Folch (χλωροφόρμιο/ μεθανόλη/NaCl 3/48/47) και απομάκρυνση της πάνω φάσης με αντλία κενού. Ακολουθούσε εξάτμιση με άζωτο, στέγνωμα των σωλήνων στους 50 – 60°C για μία ώρα, κρύωμα στον ξηραντήρα και ζύγισμα των σωλήνων (W2). Η διαφορά του αρχικού βάρους από το τελικό βάρος, πολλαπλασιασμένη επί 100, προς το βάρος του υλικού δίνει την εκατοστιαία (%) περιεκτικότητα σε λίπος. $((W2 - W1) * 100/W \text{ gr sample})$

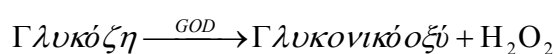
Δ) Σύσταση τροφών

Συνήθως χρησιμοποιείται ο όρος «ολική σύσταση» και αφορά τον καταμερισμό μιας τροφής στις εξής κατηγορίες: πρωτεΐνες, λίπη, υγρασία, τέφρα και υδατάνθρακες. Στις τέσσερις πρώτες κατηγορίες η διαδικασία είναι η ίδια με αυτή που περιγράφηκε για τη σύσταση σώματος. Όσον αφορά τους υδατάνθρακες, υπολογίζονται ως το ποσοστό που παραμένει ύστερα από αφαίρεση όλων των άλλων κατηγοριών από το 100%.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2 - ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΑΙΜΑΤΟΣ

1. Προσδιορισμός Γλυκόζης

Για την ποσοτική ανάλυση της γλυκόζης χρησιμοποιήθηκαν εμπορικές συσκευασίες (Biosis, Hellas). Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στις ακόλουθες αντιδράσεις:



Η γλυκόζη του πλάσματος των δειγμάτων αντιδρά με τη γλυκόζη οξειδάση (GOD), και μετατρέπεται σε γλυκονικό οξύ και υπεροξείδιο του υδρογόνου. Στη συνέχεια, το υπεροξείδιο του υδρογόνου αντιδρά με αμινοφαιναζόνη και φαινολικό παράγωγο, και δίνει το τελικό προϊόν της αντίδρασης (ερυθρού χρώματος), στο οποίο γίνεται φωτομέτρηση. Το ένζυμο που καταλύει αυτήν την αντίδραση είναι η υπεροξειδάση (POD).

Εργαστηριακή εκτέλεση:

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της γλυκόζης, τοποθετήθηκαν 0.01 ml από κάθε δείγμα και 1 ml από το διάλυμα εργασίας σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Επίσης τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πρότυπο διάλυμα γλυκόζης (0.01 ml γλυκόζη 100mg dl⁻¹ και 1 ml διάλυμα εργασίας) και τυφλό (0.01 ml απεσταγμένο νερό και 1 ml διάλυμα εργασίας). Ακολούθησε επώαση για 15 min σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37°C και στη συνέχεια ανάδευση.

Η διαδικασία ολοκληρώνεται με τη φωτομέτρηση όλων των αντιδραστηρίων έναντι τυφλού σε μήκος κύματος 510 nm. Ο υπολογισμός της ποσότητας της γλυκόζης στα δείγματα γίνεται με βάση τους τύπους:

$$\boxed{\text{mg dl}^{-1} \text{ γλυκόζης} = A_{\Delta} / A_S \times 100}$$

$$\boxed{\text{mmoles L}^{-1} \text{ γλυκόζης} = A_{\Delta} / A_S \times 5.55} \quad \text{όπου,}$$

A_{Δ} = η τιμή απορρόφησης δείγματος και

A_S = η τιμή απορρόφησης του πρότυπου διαλύματος γλυκόζης (100 mg dl^{-1}).

2. Προσδιορισμός Ολικών πρωτεϊνών

Για τον προσδιορισμό των ολικών πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκαν εμπορικές συσκευασίες (Biosis, Hellas). Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στο γεγονός ότι σε αλκαλικό περιβάλλον οι πρωτεΐνες σχηματίζουν έγχρωμο σύμπλοκο με ιόντα χαλκού.

Εργαστηριακή εκτέλεση:

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των πρωτεϊνών, τοποθετήθηκαν 0.02 ml από κάθε δείγμα και 1 ml από το διάλυμα εργασίας σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Επίσης τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πρότυπο διάλυμα πρωτεϊνών (0.02 ml πρωτεϊνών $5,78 \text{ g dl}^{-1}$ και 1 ml διάλυμα εργασίας) και τυφλό (1 ml διάλυμα εργασίας). Ακολούθησε επώαση για 30 min σε θερμοκρασία 20-25°C και στη συνέχεια ανάδευση.

Η διαδικασία ολοκληρώνεται με τη φωτομέτρηση όλων των αντιδραστηρίων έναντι τυφλού σε μήκος κύματος 540 nm. Ο υπολογισμός της ποσότητας των πρωτεϊνών στα δείγματα γίνεται με βάση τον τύπο:

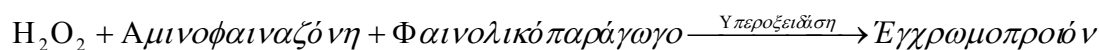
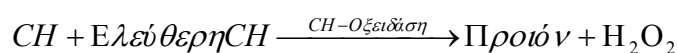
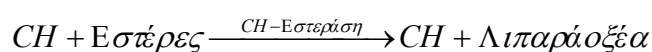
$$\boxed{\text{g dl}^{-1} \text{ πρωτεϊνών} = A_{\Delta} / A_S \times 5,78} \quad \text{όπου,}$$

A_{Δ} = η τιμή απορρόφησης δείγματος και

A_S = η τιμή απορρόφησης του πρότυπου διαλύματος πρωτεϊνών ($5,78 \text{ g dl}^{-1}$).

3. Προσδιορισμός Χοληστερόλης

Για την ποσοτική ανάλυση της χοληστερόλης χρησιμοποιήθηκαν εμπορικές συσκευασίες (Biosis, Hellas). Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στις ακόλουθες αντιδράσεις:



CH: Χοληστερόλη

Εργαστηριακή εκτέλεση:

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της χοληστερόλης, τοποθετήθηκαν 0.01 ml από κάθε δείγμα και 1 ml από το διάλυμα εργασίας σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Επίσης τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πρότυπο διάλυμα χοληστερόλης (0.01 ml χοληστερόλης 200 mg dl^{-1} και 1 ml διάλυμα εργασίας) και τυφλό (0.01 ml απεσταγμένο νερό και 1 ml διάλυμα εργασίας). Ακολούθησε επώαση για 5 min σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37°C και στη συνέχεια ανάδευση.

Η διαδικασία ολοκληρώνεται με τη φωτομέτρηση όλων των αντιδραστηρίων έναντι τυφλού σε μήκος κύματος 510 nm. Ο υπολογισμός της ποσότητας της χοληστερόλης στα δείγματα γίνεται με βάση τους τύπους:

$$\boxed{\text{mg dl}^{-1} \text{ χοληστερόλης} = A_\Delta / A_S \times 200}$$

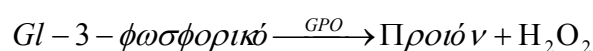
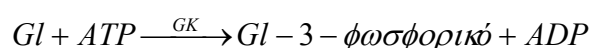
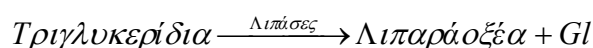
$$\boxed{\text{mmoles L}^{-1} \text{ χοληστερόλης} = A_\Delta / A_S \times 5.17} \quad \text{όπου,}$$

A_{Δ} = η τιμή απορρόφησης δείγματος και

A_S = η τιμή απορρόφησης του πρότυπου διαλύματος χοληστερόλης (200 mg dl⁻¹).

4. Προσδιορισμός Τριγλυκεριδίων

Για την ποσοτική ανάλυση των τριγλυκεριδίων χρησιμοποιήθηκαν εμπορικές συσκευασίες (Biosis, Hellas). Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στις ακόλουθες αντιδράσεις:



GK: Γλυκερολ-κινάση, POD: Υπεροξειδάση, GPO: Γλυκερόλ-3-P-Οξειδάση, Gl: Γλυκερόλη

Εργαστηριακή εκτέλεση:

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των τριγλυκεριδίων, τοποθετήθηκαν 0.01 ml από κάθε δείγμα και 0.5 ml από το διάλυμα εργασίας σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Επίσης τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πρότυπο διάλυμα τριγλυκεριδίων (0.01 ml τριγλυκερίδια 200mg dl⁻¹ και 0.5 ml διάλυμα εργασίας) και τυφλό (0.01 ml απεσταγμένο νερό και 0.5 ml διάλυμα εργασίας). Ακολούθησε επώαση για 5 min σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37°C και στη συνέχεια προστέθηκαν σε όλα τα δείγματα, το πρότυπο και το τυφλό, 0.5 ml σταθεροποιητικού διαλύματος.

Η διαδικασία ολοκληρώνεται με την ανάδευση και τη φωτομέτρηση όλων των αντιδραστηρίων έναντι τυφλού σε μήκος κύματος 510 nm. Ο υπολογισμός της ποσότητας των τριγλυκεριδίων στα δείγματα γίνεται με βάση τους τύπους:

$$\boxed{\text{mg dl}^{-1} \text{ τριγλυκεριδίων} = A_{\Delta} / A_S \times 200}$$

$$\boxed{\text{mmoles L}^{-1} \text{ τριγλυκεριδίων} = A_{\Delta} / A_S \times 2.29}$$
 όπου,

A_{Δ} = η τιμή απορρόφησης δείγματος και

A_S = η τιμή απορρόφησης του πρότυπου διαλύματος τριγλυκεριδίων (200 mg dl⁻¹).

5. Προσδιορισμός Φωσφολιπιδίων

Για την ποσοτική ανάλυση των φωσφολιπιδίων χρησιμοποιήθηκαν εμπορικές συσκευασίες (Wako). Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στις ακόλουθες αντιδράσεις: τα φωσφολιπίδια στον ορό (λεκιθίνη, λυσολεκιθίνη και σφιγγομυελίνη) υδρολύονται από τη φωσφολιπάση D σε ελεύθερη χολίνη. Ακολούθως, η χολίνη που ελευθερώνεται οξειδώνεται σε βηταΐνη από την οξειδάση χολίνης με ταυτόχρονη παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου που παράγεται σε ποσότητα συνδέεται οξειδωτικά με 4-αμινοαντιπυρίνη και φαινόλη για να σχηματιστεί μία χρωμογόνο ουσία με μέγιστη απορρόφηση σε μήκος κύματος $\lambda=505\text{nm}$.

Εργαστηριακή εκτέλεση:

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των φωσφολιπιδίων, τοποθετήθηκαν 0.02 ml από κάθε δείγμα και 3 ml από το διάλυμα χρωματικού αντιδραστηρίου σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Επίσης τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πρότυπο διάλυμα φωσφολιπιδίων (0.02 ml φωσφολιπιδία 300mg dl⁻¹ και 3 ml διάλυμα

χρωματικού αντιδραστηρίου) και τυφλό (0.02 ml απεσταγμένο νερό και 3 ml διάλυμα χρωματικού αντιδραστηρίου). Ακολούθησε επώαση για 10 min σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37°C και στη συνέχεια ανάδευση.

Η διαδικασία ολοκληρώνεται με τη φωτομέτρηση όλων των αντιδραστηρίων έναντι τυφλού σε μήκος κύματος 505 nm. Ο υπολογισμός της ποσότητας των φωσφολιπιδίων στα δείγματα γίνεται με βάση τον τύπο:

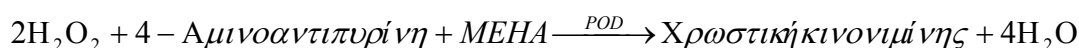
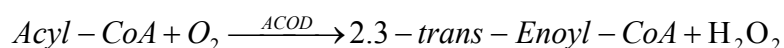
$$\boxed{\text{mg dl}^{-1} \text{ φωσφολιπιδίων} = A_{\Delta} / A_S \times 300} \text{ όπου,}$$

A_{Δ} = η τιμή απορρόφησης δείγματος και

A_S = η τιμή απορρόφησης του πρότυπου διαλύματος φωσφολιπιδίων (300 mg dl⁻¹).

6. Προσδιορισμός μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων (NEFA)

Για την ποσοτική ανάλυση των NEFA χρησιμοποιήθηκαν εμπορικές συσκευασίες (Wako). Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στις ακόλουθες αντιδράσεις:



Η ένταση του κόκκινου χρώματος είναι ανάλογη προς τη συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο δείγμα. Το ασκορβικό οξύ απομακρύνεται από το δείγμα από την ασκορβική οξειδάση. Μέγιστη απομάκρυνση στα 550nm.

Εργαστηριακή εκτέλεση:

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των NEFA, τοποθετήθηκαν 0.02 ml από κάθε δείγμα και 0.5 ml από το διάλυμα χρωματικού αντιδραστηρίου Α σε

δοκιμαστικούς σωλήνες. Επίσης τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πρότυπο διάλυμα NEFA (0.02 ml NEFA 28.2 mg dl⁻¹ και 0.5 ml διάλυμα εργασίας) και τυφλό (0.02 ml απεσταγμένο νερό και 0.5 ml διάλυμα εργασίας). Ακολούθησε ανάδευση και επώαση για 10 min σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37°C. Στη συνέχεια προστέθηκε σε όλα τα δείγματα, το τυφλό και το πρότυπο, 1 ml από το διάλυμα χρωματικού αντιδραστηρίου B. Ακολούθησε ανάδευση και επώαση για 10 min σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37°C.

Η διαδικασία ολοκληρώνεται με τη φωτομέτρηση όλων των αντιδραστηρίων έναντι τυφλού σε μήκος κύματος 550 nm. Ο υπολογισμός της ποσότητας των NEFA στα δείγματα γίνεται με βάση τον τύπο:

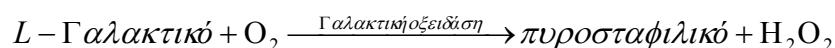
$$\boxed{\text{mg dl}^{-1} \text{ NEFA} = A_{\Delta} / A_S \times 28.2} \text{ όπου,}$$

A_{Δ} = η τιμή απορρόφησης δείγματος και

A_S = η τιμή απορρόφησης του πρότυπου διαλύματος NEFA (28.2 mg dl⁻¹).

7. Προσδιορισμός L-Γαλακτικού

Για την ποσοτική ανάλυση του L-Γαλακτικού χρησιμοποιήθηκαν εμπορικές συσκευασίες (BioMerieux). Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στις ακόλουθες αντιδράσεις:



Η ένταση του μετρούμενου χρωματισμού (κινονειμίνη) είναι ανάλογη με την ποσότητα της λευκοματίνης που βρίσκεται στο δείγμα.

Εργαστηριακή εκτέλεση:

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό του L-Γαλακτικού, τοποθετήθηκαν 0.01 ml από κάθε δείγμα και 1 ml από το διάλυμα εργασίας σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Επίσης τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πρότυπο διάλυμα L-Γαλακτικού (0.01 ml L-Γαλακτικό 3mmol L^{-1} και 1 ml διάλυμα εργασίας) και τυφλό (1 ml διάλυμα εργασίας). Ακολούθησε επώαση για 5 min σε θερμοκρασία 20-25°C και στη συνέχεια ανάδευση.

Η διαδικασία ολοκληρώνεται με τη φωτομέτρηση όλων των αντιδραστηρίων έναντι τυφλού σε μήκος κύματος 505 nm. Ο υπολογισμός της ποσότητας του L-Γαλακτικού στα δείγματα γίνεται με βάση τον τύπο:

$$\boxed{\text{mmoles L}^{-1} \text{ L-Γαλακτικού} = A_{\Delta} / A_{\Sigma} \times 3} \quad \text{όπου,}$$

A_{Δ} = η τιμή απορρόφησης δείγματος και

A_{Σ} = η τιμή απορρόφησης του πρότυπου διαλύματος του L-Γαλακτικού (3mmol L^{-1}).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3 - ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 1. Μέση τιμή (\pm τυπικό σφάλμα) αύξησης, αξιοποίησης της τροφής και μορφομετρικών παραμέτρων του κρανιού στις 3 πειραματικές ιχθυοφορτίσεις. Οι τιμές με διαφορετικά λατινικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($p < 0.05$).

	Πυκνότητα εκτροφής		
	Υψηλή	Μεσαία	Χαμηλή
Αρχικό βάρος (g)	84.4 \pm 0.1	84.0 \pm 0.3	83.5 \pm 0.8
Τελικό βάρος (g)	207.6 \pm 3.2	222.3 \pm 1.7	214.1 \pm 10.6
Αρχικό μήκος (mm)	201.7 \pm 0.2	203.5 \pm 0.8	202.4 \pm 1.2
Τελικό μήκος (mm)	269.4 \pm 1.8	275.5 \pm 1.3	272.7 \pm 4.7
CF ¹	1.05 \pm 0.01	1.05 \pm 0.01	1.05 \pm 0.00
DFI (%) ²	0.66 \pm 0.02	0.70 \pm 0.02	0.66 \pm 0.03
SGR (% ημέρα ⁻¹) ³	0.44 \pm 0.01	0.47 \pm 0.00	0.46 \pm 0.02
FCR ⁴	1.26 \pm 0.03	1.26 \pm 0.02	1.21 \pm 0.08
CV (%) ⁵	18.7 \pm 0.2	16.4 \pm 2.0	19.5 \pm 2.5
HSI (%) ⁶	1.19 \pm 0.15	1.16 \pm 0.04	1.19 \pm 0.11
VSI (%) ⁷	5.20 \pm 0.26	5.14 \pm 0.09	4.98 \pm 0.17

¹CF: συντελεστής ευρωστίας = Βάρος (g) / (ολικό μήκος)³ (cm³), ²DFI: Ημερήσια κατανάλωση τροφής % = 100 x Βάρος τροφής που καταναλώθηκε (g) / μέσο συνολικό βάρος (g) / χρόνος (ημέρες), ³SGR: Ειδικός ρυθμός αύξησης = (ln[τελικού μέσου βάρους (g)] - ln[αρχικού μέσου βάρους (g)]) x 100/ χρόνος πειράματος (ημέρες), ⁴FCR: Δείκτης μετατρεψιμότητας της τροφής = Βάρος τροφής που καταναλώθηκε (g) / Αύξηση βάρους (g), ⁵CV = Συντελεστής μεταβλητότητας του βάρους = 100 x τυπική απόκλιση βάρους / μέση τιμή βάρους, ⁶HSI: Ηπατοσωματικός δείκτης = Βάρος ήπατος (g) x 100/ Βάρος σώματος (g), ⁷VSI: Σπλαγνοσωματικός δείκτης = Βάρος σπλάχνων (g) x 100/ Βάρος σώματος (g).

Πίνακας 2. Σύσταση σώματος, μυός και ήπατος του κρανιού στις 3 πειραματικές ιχθυοφορτίσεις (Μέσες τιμές \pm τυπικό σφάλμα). Οι τιμές με διαφορετικά λατινικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($p < 0.05$).

	Πυκνότητα εκτροφής		
	Υψηλή	Μεσαία	Χαμηλή
Σύσταση σώματος %			
Πρωτεΐνες %	17.44 \pm 0.16	16.97 \pm 0.62	17.46 \pm 0.18
Λίπη %	6.56 \pm 0.13	5.87 \pm 0.19	6.64 \pm 0.56
Τέφρα %	3.31 \pm 0.32 ^b	3.94 \pm 0.17 ^b	2.38 \pm 0.23 ^a
Υγρασία %	72.42 \pm 0.17	72.92 \pm 0.80	73.17 \pm 0.79
Σύσταση μυός %			
Πρωτεΐνες %	21.86 \pm 0.10	21.55 \pm 0.11	21.49 \pm 0.21
Λίπη %	0.82 \pm 0.07	0.82 \pm 0.17	0.88 \pm 0.20
Τέφρα %	1.55 \pm 0.03	1.55 \pm 0.00	1.53 \pm 0.02
Υγρασία %	75.82 \pm 0.06	76.02 \pm 0.12	76.15 \pm 0.02
Σύσταση ήπατος %			
Γλυκογόνο %	7.59 \pm 1.09	8.43 \pm 0.80	6.86 \pm 0.19
Λίπος %	15.37 \pm 0.68 ^b	8.87 \pm 0.58 ^a	19.18 \pm 1.66 ^c

Πίνακας 3. Σύσταση των πειραματικών σιτηρέσιων

	Επίπεδο λίπους στην τροφή		
	21%	17%	13%
Συστατικά (g/100g)			
Ιχθυάλευρο	34.5	34.5	34.5
Ιχθυέλαιο	15.9	11.9	7.9
Σόγια 48%	15.5	14.5	13.5
Γλουτένη	16.5	16.5	16.5
Σιτάρι	13.4	18.4	23.4
Σογιέλαιο	1.75	1.75	1.75
Ανόργανα Άλατα	2.22	2.22	2.22
Βιταμίνες+ιχνοστοιχεία	0.23	0.23	0.23
Ολική σύσταση			
Πρωτεΐνες % (Nx6.25%)	43.4	43.1	43.2
Ολ. Λίπος %	23.1	17.3	12.9
Υγρασία %	8.4	8.0	8.7
Τέφρα %	8.0	8.1	8.3
Υδατάνθρακες % ¹	17.1	23.5	26.9
Ενέργεια (kJ/g) ²	22.3	21.1	19.9

¹Υδατάνθρακες% = 100 – (πρωτεΐνες% +λίπος% + υγρασία% + τέφρα%)

²Ενέργεια (KJ/g τροφής) = (%πρωτεΐνη x 23.6)+(%λίπος x 39.5)+(%υδατάνθρακες x17.3)

Πίνακας 4. Μέση τιμή (\pm τυπικό σφάλμα) αύξησης, αξιοποίησης της τροφής και μορφομετρικών παραμέτρων του κρανιού στις 3 πειραματικές δίαιτες. Οι τιμές με διαφορετικά λατινικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($p < 0.05$).

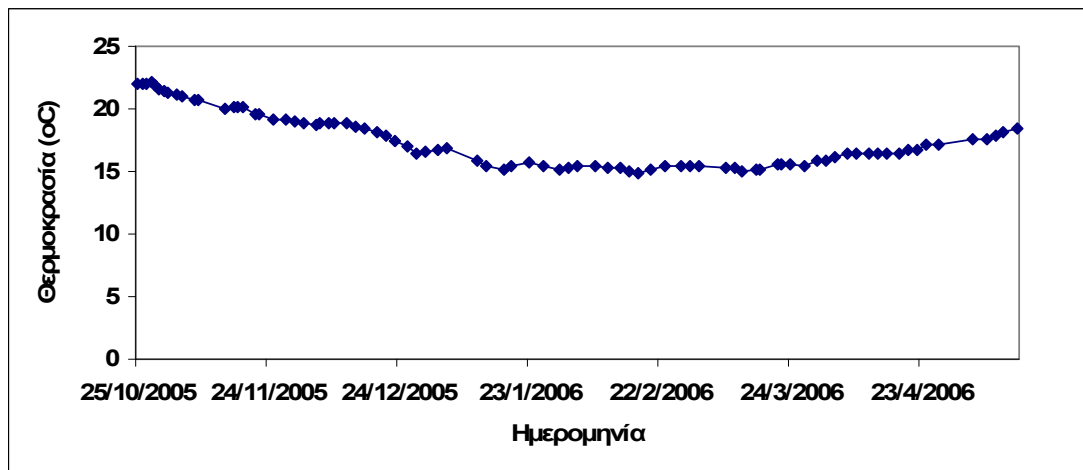
	Επίπεδο λίπους στην τροφή		
	21%	17%	13%
Αρχικό βάρος (g)	230.4 \pm 0.1	230.6 \pm 1.5	228.1 \pm 3.2
Τελικό βάρος (g)	371.0 \pm 1.8 ^b	385.4 \pm 1.1 ^c	357.1 \pm 5.1 ^a
Αρχικό μήκος (mm)	280.5 \pm 1.3	280.8 \pm 0.7	281.2 \pm 1.0
Τελικό μήκος (mm)	333.4 \pm 1.2 ^b	337.0 \pm 0.8 ^c	328.9 \pm 1.0 ^a
CF ¹	0.99 \pm 0.01	0.99 \pm 0.01	0.99 \pm 0.00
DFI (%) ²	0.78 \pm 0.01	0.80 \pm 0.01	0.82 \pm 0.01
SGR (% ημέρα ⁻¹) ³	0.43 \pm 0.00 ^b	0.46 \pm 0.00 ^c	0.40 \pm 0.00 ^a
FCR ⁴	1.47 \pm 0.02 ^a	1.38 \pm 0.03 ^a	1.61 \pm 0.03 ^b
PER ⁵	1.59 \pm 0.02 ^b	1.68 \pm 0.04 ^c	1.44 \pm 0.02 ^a
HSI (%) ⁶	0.99 \pm 0.06	0.88 \pm 0.11	0.97 \pm 0.20
VSI (%) ⁷	2.78 \pm 0.06	2.53 \pm 0.15	2.62 \pm 0.22

¹CF: συντελεστής ευρωστίας = Βάρος (g) / (ολικό μήκος)³ (cm³), ²DFI: Ημερήσια κατανάλωση τροφής % = 100 x Βάρος τροφής που καταναλώθηκε (g) / μέσο συνολικό βάρος (g) / χρόνος (ημέρες), ³SGR: Ειδικός ρυθμός αύξησης = (ln[τελικού μέσου βάρους (g)] - ln[αρχικού μέσου βάρους (g)]) x 100/ χρόνος πειράματος (ημέρες), ⁴FCR: Δείκτης μετατρεψιμότητας της τροφής = Βάρος τροφής που καταναλώθηκε (g) / Αύξηση βάρους (g), ⁵PER = Δείκτης αξιοποίησης της πρωτεΐνης = Αύξηση βάρους (g) / Πρωτεΐνη που καταναλώθηκε (g), ⁶HSI: Ηπατοσωματικός δείκτης = Βάρος ήπατος (g) x 100/ Βάρος σώματος (g), ⁷VSI: Σπλαγνοσωματικός δείκτης = Βάρος σπλάγχων (g) x 100/ Βάρος σώματος (g).

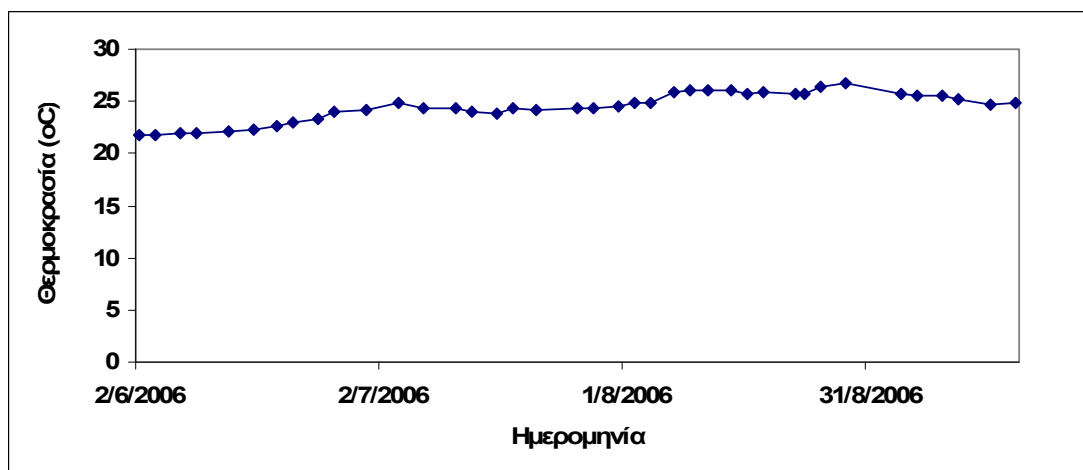
Πίνακας 5. Σύσταση σώματος, μυός και ήπατος του κρανιού στις 3 πειραματικές δίαιτες (Μέσες τιμές \pm τυπικό σφάλμα). Οι τιμές με διαφορετικά λατινικά γράμματα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά. ($p < 0.05$).

	Επίπεδο λίπους στην τροφή		
	21%	17%	13%
Σύσταση σώματος %			
Πρωτεΐνες %	17.97 \pm 0.18	18.18 \pm 0.09	18.82 \pm 0.36
Λίπη %	7.41 \pm 0.45 ^b	5.92 \pm 0.12 ^a	5.76 \pm 0.23 ^a
Τέφρα %	3.97 \pm 0.09	4.13 \pm 0.07	4.01 \pm 0.09
Υγρασία %	70.65 \pm 0.19	71.54 \pm 0.15	71.23 \pm 0.50
Σύσταση μυός %			
Πρωτεΐνες %	21.92 \pm 0.02	22.18 \pm 0.16	22.33 \pm 0.18
Λίπη %	0.64 \pm 0.13 ^b	0.37 \pm 0.08 ^{ab}	0.31 \pm 0.02 ^a
Τέφρα %	1.55 \pm 0.01	1.54 \pm 0.01	1.56 \pm 0.01
Υγρασία %	75.89 \pm 0.16	76.00 \pm 0.11	75.84 \pm 0.30
Σύσταση ήπατος %			
Γλυκογόνο %	8.52 \pm 0.27	6.97 \pm 1.01	9.51 \pm 1.19
Λίπος %	12.87 \pm 1.80	10.45 \pm 2.12	11.33 \pm 1.72

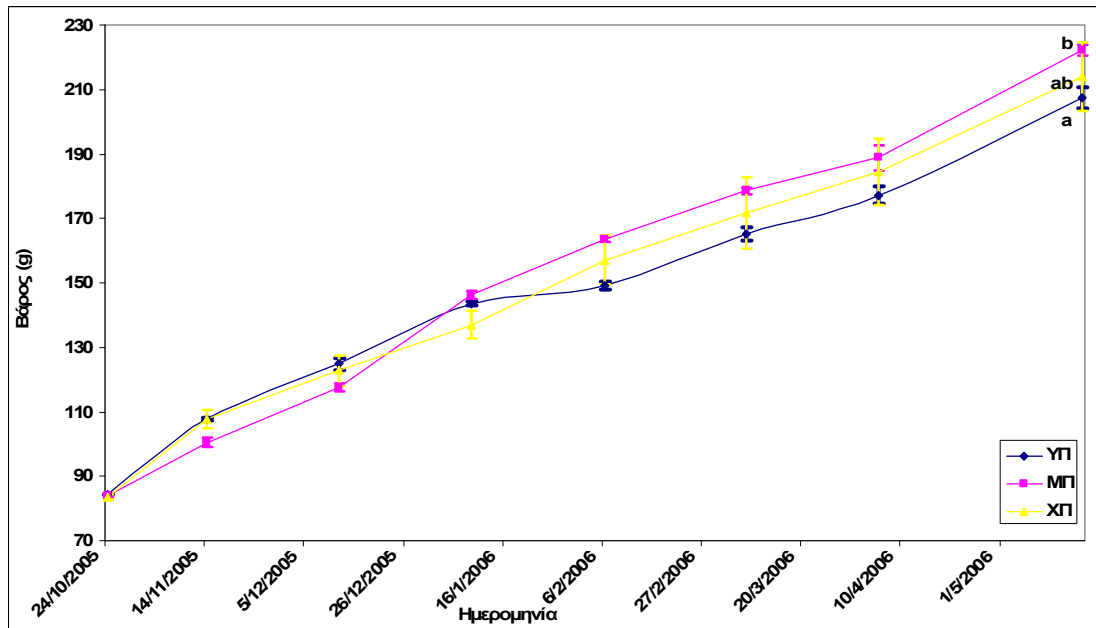
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 4 - ΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΣΤΑΣΕΙΣ



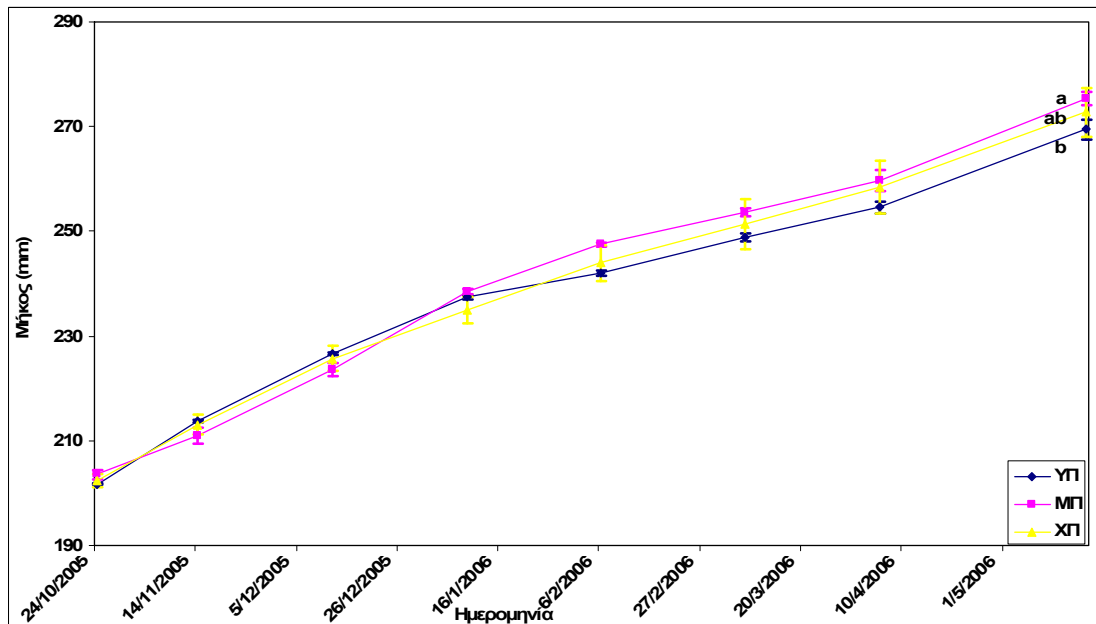
Γραφική παράσταση 1. Θερμοκρασία (°C) κατά την περίοδο του πειράματος της επίδρασης της πυκνότητας εκτροφής στην αύξηση του κρανίου Οκτώβριος 2005 – Μάιος 2006.



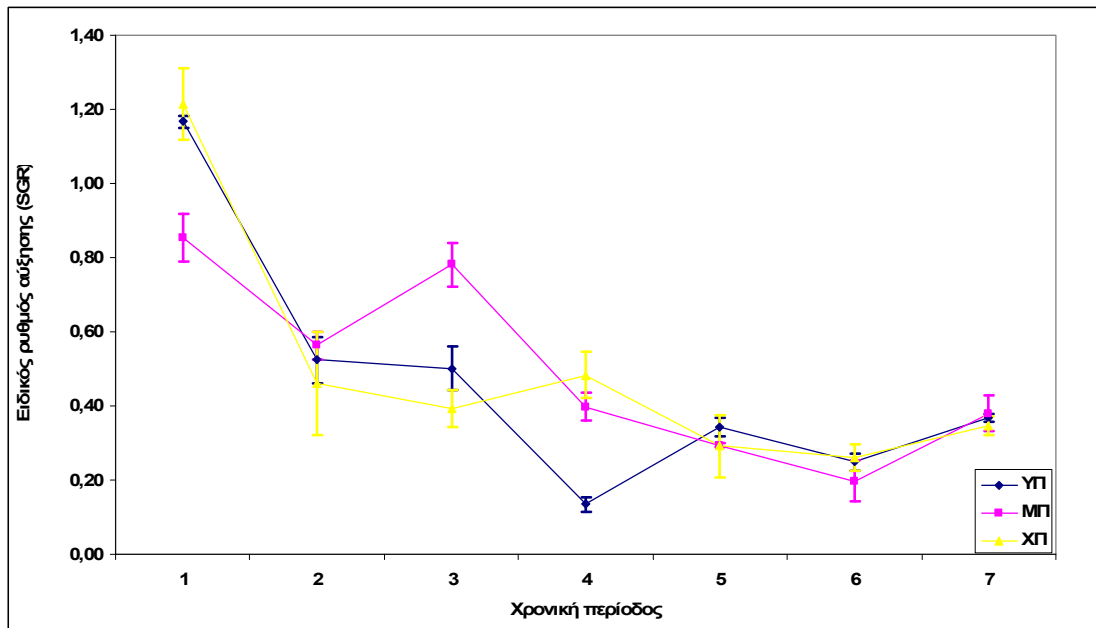
Γραφική παράσταση 2. Θερμοκρασία (°C) κατά την περίοδο του πειράματος της επίδρασης του διατροφικού λίπους στην αύξηση του κρανίου Ιούνιος – Σεπτέμβριος 2006.



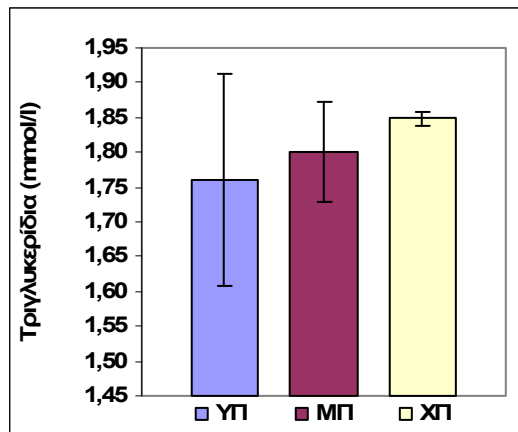
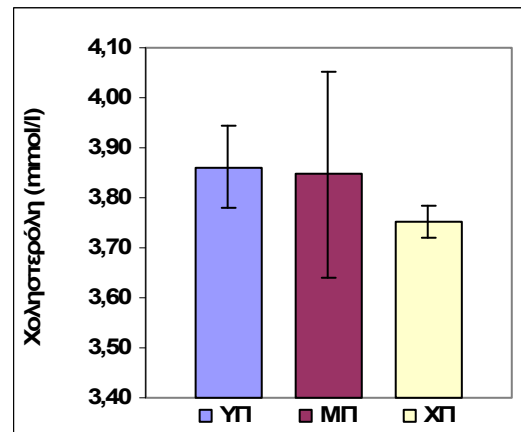
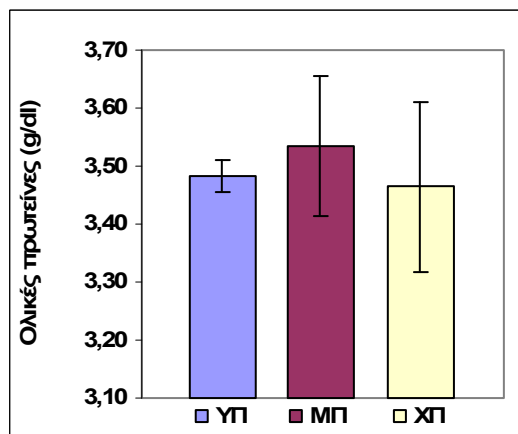
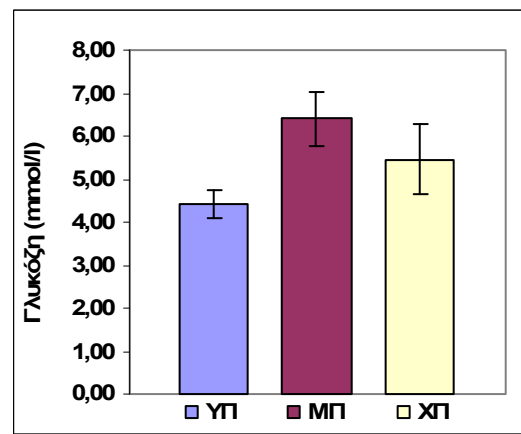
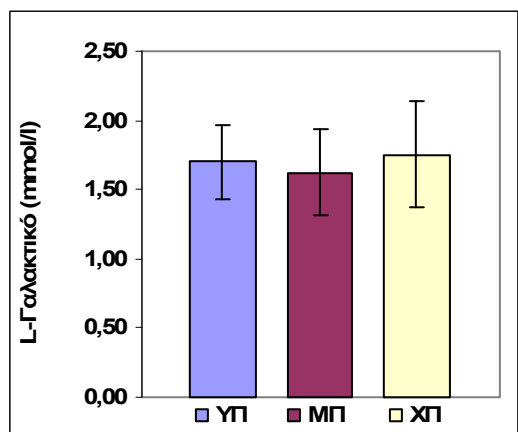
Γραφική παράσταση 3. Μέση τιμή (\pm τυπικό σφάλμα) του βάρους (g) των ψαριών στις τρεις ιχθυοφορτίσεις κατά τη διάρκεια του πειράματος. Τα διαφορετικά μικρά λατινικά γράμματα δηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANONA, DNMR, $p < 0.05$).



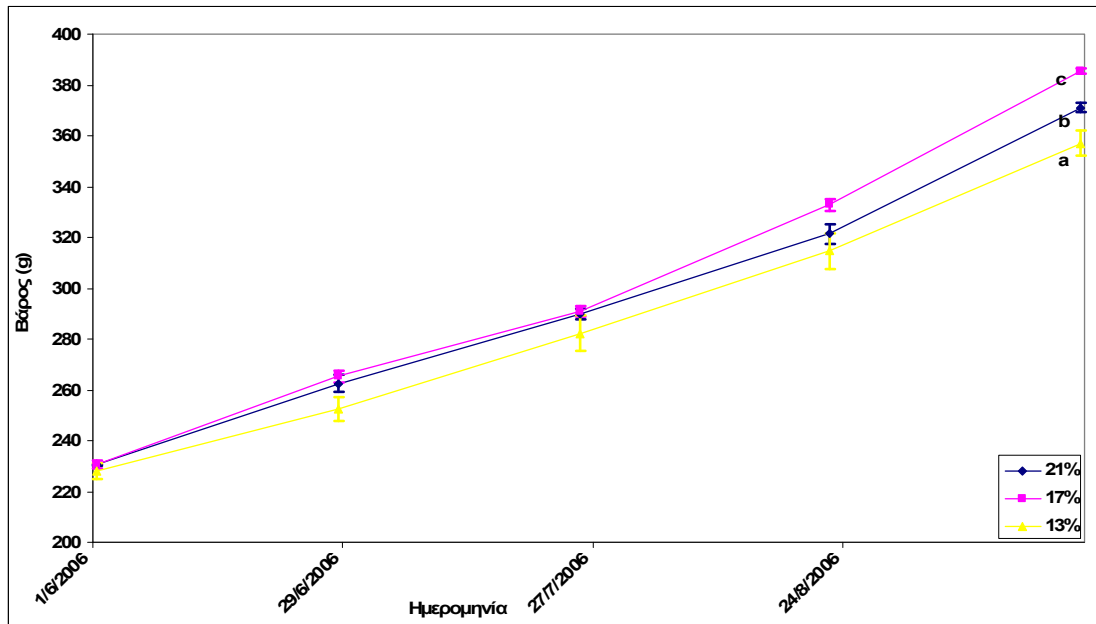
Γραφική παράσταση 4. Μέση τιμή (\pm τυπικό σφάλμα) του μήκους (mm) των ψαριών στις τρεις ιχθυοφορτίσεις κατά τη διάρκεια του πειράματος. Τα διαφορετικά μικρά λατινικά γράμματα δηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANONA, DNMR, $p < 0.05$).



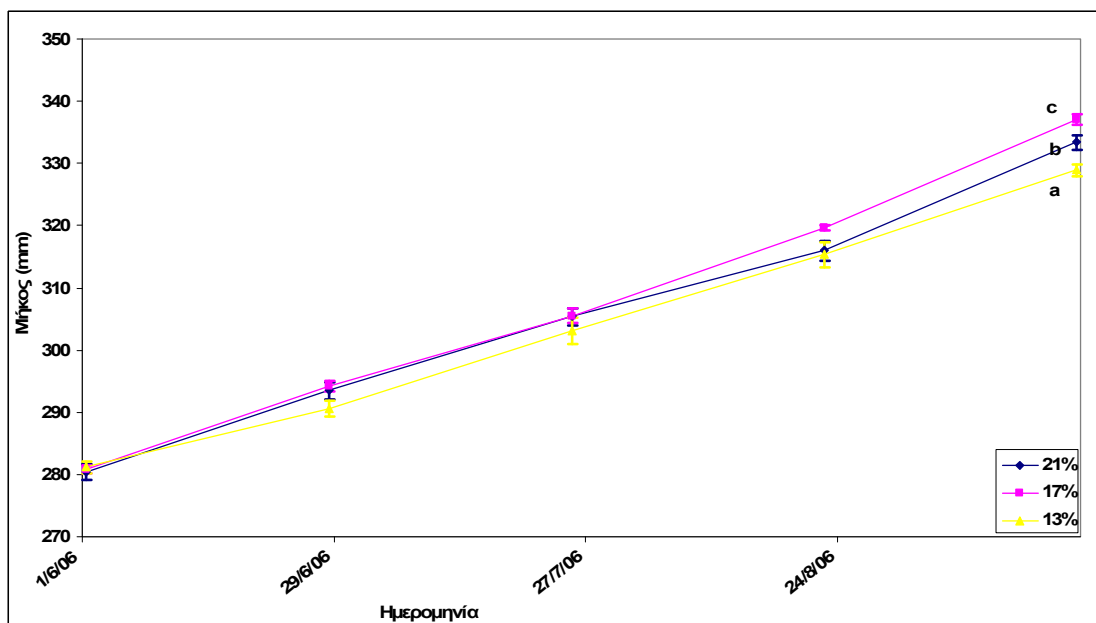
Γραφική παράσταση 5. Μέση τιμή (\pm τυπικό σφάλμα) του ειδικού ρυθμού αύξησης (SGR) (%) των ψαριών στις τρεις ιχθυοφορτίσεις κατά τη διάρκεια του πειράματος. Η απουσία σήμανσης δηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς ($p < 0.05$).

A**B****C****D****E**

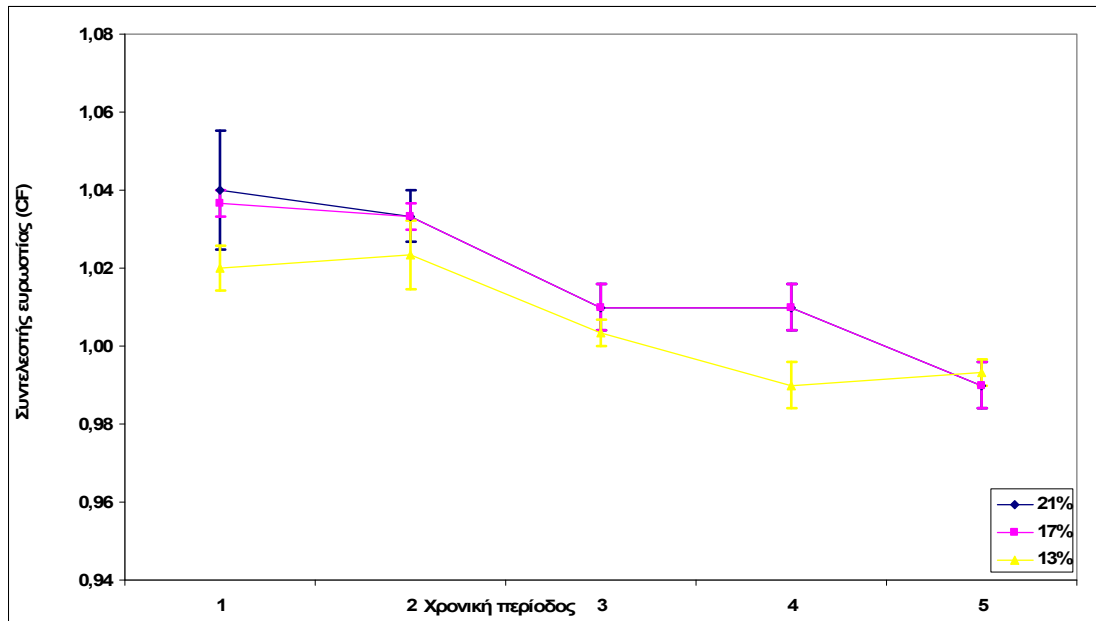
Γραφική παράσταση 6. Μέση τιμή (\pm τυπικό σφάλμα) των παραμέτρων: (a) τριγλυκεριδίων (mmol L^{-1}), (b) χοληστερόλης (mmol L^{-1}), (c) ολικών πρωτεϊνών (g dL^{-1}), (d) γλυκόζης (mmol L^{-1}), (e) γαλακτικού οξέος (mmol L^{-1}), στο τέλος του πειράματος της επίδρασης της πυκνότητας εκτροφής στην αύξηση του κρανιού. Η απουσία σήμανσης δηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς ($p < 0.05$).



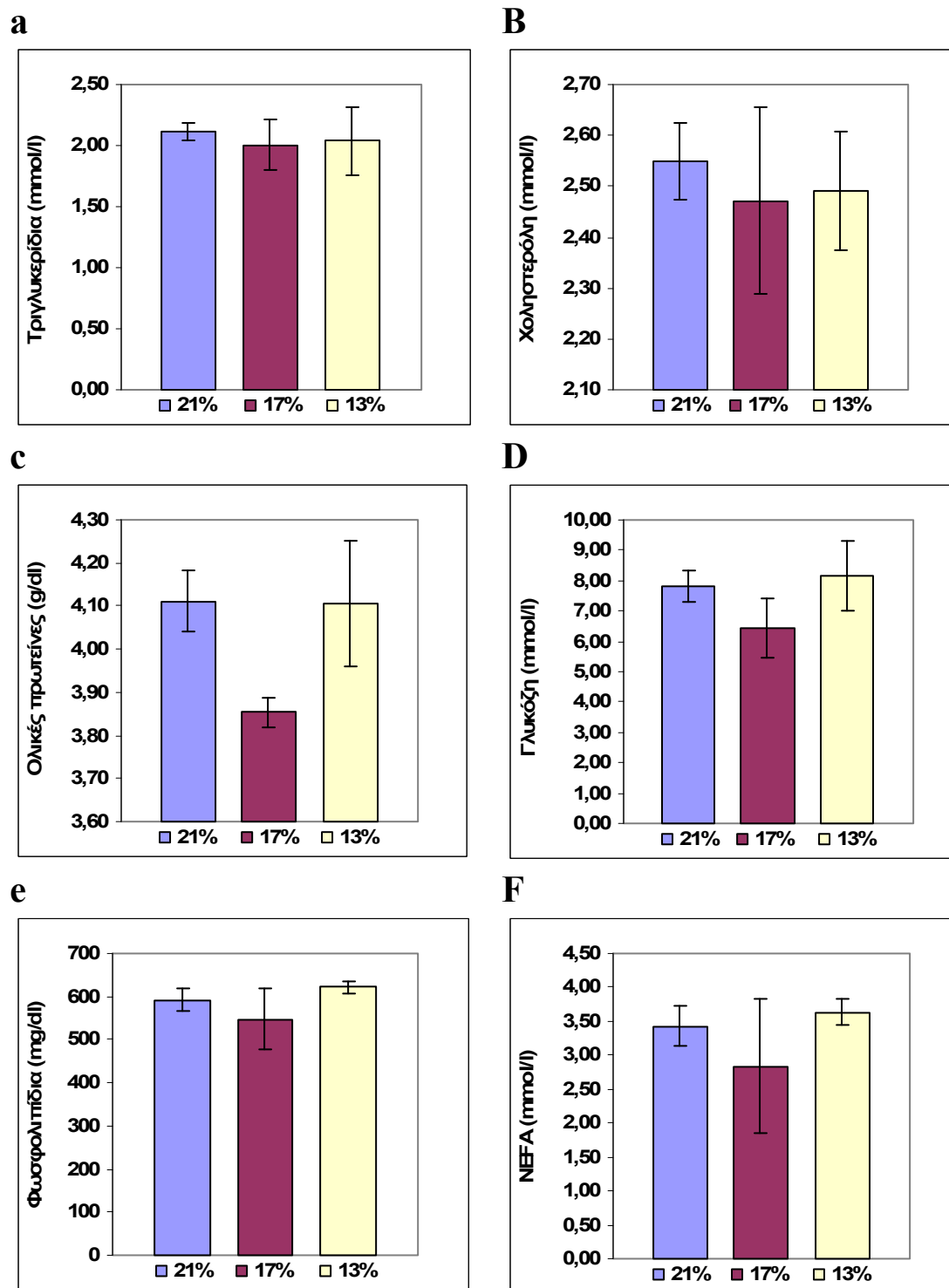
Γραφική παράσταση 7. Μέση τιμή (\pm τυπικό σφάλμα) του βάρους (g) των ψαριών στις τρεις δίαιτες κατά τη διάρκεια του πειράματος. Τα διαφορετικά μικρά λατινικά γράμματα δηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANONA, DNMR, $p < 0.05$).



Γραφική παράσταση 8. Μέση τιμή (\pm τυπικό σφάλμα) του μήκους (mm) των ψαριών στις τρεις δίαιτες κατά τη διάρκεια του πειράματος. Τα διαφορετικά μικρά λατινικά γράμματα δηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANONA, DNMR, $p < 0.05$).



Γραφική παράσταση 9. Μέση τιμή (\pm τυπικό σφάλμα) του συντελεστή ευρωστίας (CF) των ψαριών στις τρεις δίαιτες κατά τη διάρκεια του πειράματος. Η απουσία σήμανσης δηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς ($p < 0.05$).



Γραφική παράσταση 10. Μέση τιμή (\pm τυπικό σφάλμα) των παραμέτρων: (a) τριγλυκεριδίων (mmol L^{-1}), (b) χοληστερόλης (mmol L^{-1}), (c) ολικών πρωτεϊνών (g dL^{-1}), (d) γλυκόζης (mmol L^{-1}), (e) φωσφολιπιδίων (mg dL^{-1}), (f) μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων (NEFA) (mmol L^{-1}), στο τέλος του πειράματος της επίδρασης του διατροφικού λίπους στην αύξηση του κρανίου.

Η απουσία σήμανσης δηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς ($p < 0.05$).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- A.O.A.C., 1984. In: Williams, S. (Ed.), Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, pp. 1018.
- Abellan, E., Basurco, B., 1999. Options Méditerranéennes, No. 24: Marine Finfish Species Diversification; Current Situation and Prospects in Mediterranean Aquaculture. C.I.H.E.A.M., Zaragoza, Spain.
- Abou, Y., D Fiogbe, E., Micha, J.C., 2007. Effects of stocking density on growth, yield and profitability of farming Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., fed Azolla diet, in earthen ponds. Aquaculture Research 38, 595-604.
- Aksnes, A., Hjertnes, T., Opstvedt, J., 1996. Effect of dietary protein level on growth and carcass composition in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture 145: 225–233.
- Alanärä, A., Brännäs, E., 1996. Dominance in demand feeding behaviour in Arctic charr and rainbow trout: the effect of stocking density. Journal of Fish Biology 48: 242–254.
- Arzel, J., Martinez Lopez, F.X., Métailler, R., Stéphan, G., Viau, M., Gandemer, G., Guillaume, J., 1994. Effect of dietary lipid on growth performance and body composition of brown trout (*Salmo trutta*) reared in seawater. Aquaculture 123: 361-375.
- Beleau, M.H., 1990. High-density culture systems. In: Tucker, C.S., Robinson, E.H. (Ed.), Channel Catfish Farming Handbook. Van Nostrand Reinhold, New York, pp. 85–105.

- Berge, G.M., Storebakken, T., 1991. Effect of dietary fat level on weight gain, digestibility, and fillet composition of Atlantic halibut. *Aquaculture* 99: 331–338.
- Björnsson, B., 1994. Effects of stocking density on growth rate of Halibut (*Hippoglossus hippoglossus L.*) reared in large circular tanks for three years. *Aquaculture* 123: 259–270.
- Björnsson, B., Olafsdottir, S.R., 2006. Effects of water quality and stocking density on growth performance of juvenile cod (*Gadus morhua L.*). *ICES Journal of Marine Science* 63: 326-334.
- Bolasina, S., Tagawa, M., Yamashita, Y., Tanaka, M., 2006. Effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity and cortisol level in larvae and juveniles of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 259: 432-443.
- Boujard, T., Labbe, L., Auperin, B., 2002. Feeding behaviour, energy expenditure, and growth of rainbow trout in relation to stocking density and food accessibility. *Aquaculture Research* 33: 1233-1242.
- Boujard, T., Gélineau, A., Coves, D., Corraze, G., Dutto, G., Gasset, E., Kaushik, S., 2004. Regulation of feed intake, growth, nutrient and energy utilisation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high fat diets. *Aquaculture* 231: 529–545.
- Bracewell, P., Cowx, I.G., Uglow, R.F., 2004. Effects of handling and electrofishing on plasma glucose and whole blood lactate of *Leuciscus cephalus*. *Journal of Fish Biology* 64: 65–71.
- Bromley, P.J., 1980. Effect of dietary protein, lipid and energy content on the growth of turbot *Scophthalmus maximus*. *Aquaculture* 19: 359– 369.

- Canario, A.V.M., Condeca, J., Power, D.M., Ingleton, P.M., 1998. The effect of stocking density on growth in the gilthead sea-bream, *Sparus aurata* (L.). *Aquaculture Research* 29: 177-181.
- Catacutan, M.R., Coloso, R.M., 1997. Growth of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*, fed varying carbohydrate and lipid levels. *Aquaculture* 149: 137–144.
- Chatzifotis, S., Muje, P., Pavlidis, M., Ågren, J., Paalavuo, T., Mölsä, H., 2004. Evolution of tissue composition and serum metabolites during gonadal development in the common dentex (*Dentex dentex*). *Aquaculture* 236: 557-573.
- Chatzifotis, S., Villamor Martin-Prat, A., Papandroulakis, N., Divanach, P., 2006. First data on growth of cultured brown meagre *Sciaena umbra* using diets with different protein and fat contents. *Fisheries Science* 72: 83–88.
- Cho, C.Y., Kaushik, S.J., 1990. Nutritional energetic in fish: energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *World Review of Nutrition and Dietetics* 61: 132–172.
- Chou, R.L., Su, M.S., Chen, H.Y., 2001. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 193: 81–89.
- Company, R., Calduch-Giner, J.A., Kaushik, S., Perez-Sanchez, J., 1999. Growth performance and adiposity in gilthead sea bream (*Sparus aurata*): risks and benefits of high-energy diets. *Aquaculture* 171: 279–292.
- Conte, F.S., 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science* 86: 205 – 223.
- Coulibaly, A., Ouattara, N.I., Koné, T., N' Douba, V., Snoeks, J., Gooré Bi, G., Kouamélan, E.P., 2007. First results of floating cage culture of the African

- catfish *Heterobranchus longifilis* Valenciennes, 1840: Effect of stocking density on survival and growth rates. *Aquaculture* 263:61-67.
- Craig, S., Washburn, B., Gatlin, D., 1999. Effects of dietary lipids on body composition and liver function in juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Fish Physiology and Biochemistry* 21: 249–255.
- Cruz, E.M., Ridha, M., 1991. Production of the tilapia *Oreochromis spirulus* Gunther stocked at different densities in sea cages. *Aquaculture* 99: 95 – 103.
- Daniels, W.H., Robinson, E.H., 1986. Protein and energy requirements of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* 53: 243 – 252.
- De Silva, S.S., Gunasekera, R.M., Shim, K.F., 1991. Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: evidence of protein sparing. *Aquaculture* 95, 305– 318.
- De Silva, S.S., Gunasekera, R.M., Gooley, G., Ingram, B.A., 2001. Growth of Australian shorfin eel (*Anguilla australis*) elvers given different dietary protein and lipid levels. *Aquaculture Nutrition* 7: 53-57.
- Dias, J., Alvarez, M.J., Diez, A., Arzel, J., Corraze, G., Bautista, J.M., Kaushik, S.J., 1998. Regulation of hepatic lipogenesis by dietary protein/energy in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 161: 169–186.
- Dos Santos, J.D., Burkow, I.C., Jobling, M., 1993. Patterns of growth and lipid deposition in cod (*Gadus morhua*) fed natural prey and fish based feeds. *Aquaculture* 110: 173–189.
- Du, Z.-Y., Liu, Y.-J., Tian, L.-X., Wang, J.-T., Wang, Y., Liang, G.-Y., 2005. Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutrition* 11: 139–146.

- Ellis, S.C., Reigh, R.C., 1991. Effects of dietary lipid and carbohydrate levels on growth and body composition of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture* 97: 383–394.
- Ellis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M., Gadd, D., 2002. The relationship between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 61: 493–531.
- El-Sayed, A.F.M., 2002. Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry. *Aquaculture Research* 33:621-626.
- Espinós, F.J., Tomás, A., Pérez, L.M., Balasch, S., Jover, M., 2003. Growth of dentex fingerlings (*Dentex dentex*) fed diets containing different levels of protein and lipid. *Aquaculture* 218: 479–490.
- Fagerlund, U.H.M., McBride, J.R., Stone, E.T., 1981. Stress-related effects of hatchery rearing density on coho salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* 110:644-9.
- FAO, 2006. *The State of World Fisheries and Aquaculture: 2006*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Foss, A., Kristensen, T., Åtland, Å., Hustveit, H., Hovland, H., Øfsti, A., Imsland, A.K., 2006. Effects of water reuse and stocking density on water quality, blood physiology and growth rate of juvenile cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture* 256(1-4):255-263
- Fréchette, M., 2005. A comment on the methodology of stocking experiments. *Aquaculture* 250: 291-299.

- Goede, R.W., Barton, B.A., 1990. Organismic indices and an autopsy-based assessment as indicators of health and condition of fish. American Fisheries Society Symposium 8: 93–108.
- Grisdale-Helland, B., Helland, S.J., 1998. Macronutrient utilization by Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): diet digestibility and growth of 1 kg fish. Aquaculture 166: 57–65.
- Hamre, K., Christiansen, R., Waagbø, R., Maage, A., Torstensen, B.E., Lygren, B., Lie, Ø., Wathne, E., Albrektsen, S., 2004. Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.): effects on growth performance and fillet quality. Aquaculture Nutrition 10: 113–123.
- Hatziathanasiou, A., Paspatis, M., Houbart, M., Kestemont, P., Stefanakis, S., Kentouri, M., 2002. Survival, growth and feeding in early life stages of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) intensively cultured under different stocking densities. Aquaculture 205: 89–10.
- Helland, S.J., Grisdale-Helland, B., 1998. Growth, feed utilization and body composition of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets differing in the ratio between the macronutrients. Aquaculture 166: 49–56.
- Hempel, E., 1993. Constraints and possibilities for developing aquaculture. Aquaculture International 1: 1–19.
- Hemre, G.-I., Lie, Ø., Lied, E., Lambertsen, G., 1989. Starch as an energy source in feed for cod (*Gadus morhua*): digestibility and retention. Aquaculture 80: 261–270.
- Hemre, G.I., Hjertnes, B., Aksnes, A., Waagbø, R., 1996. Effect of gelatinized wheat and maize in diets for large Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) on glycogen retention, plasma glucose, and fish health. Aquaculture Nutrition 2: 33–39.

- Hemre, G.I., Sandnes, K., 1999. Effect of dietary lipid level on muscle composition in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture Nutrition* 5: 9 – 16.
- Hengsawat, K., Ward, F.J., Jarutjaramorn, P., 1997. The effect of stocking density on yield, growth and mortality of African catfish (*Clarias gariepinus* Burshell 1822) cultured in cages. *Aquaculture* 152: 67–76.
- Hillestad, M., Johnsen, F., 1994. High-energy/low-protein diets for Atlantic salmon: effects on growth, nutrient retention and slaughter quality. *Aquaculture* 124: 109–116.
- Hogendoorn, H., Koops, W.J., 1983. Growth and production of the African catfish, *Clarias lazera* (C&V). I. The effects of stocking density, pond size and mixed culture with tilapia (*Sarotherodon niloticus* L.) under extensive field conditions. *Aquaculture* 4: 227–248.
- Holm, J.C., Refstie, T., Sigbjorn, B., 1990. The effect of fish density and feeding regimes on individual growth rate and mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 89: 225-232.
- Hossain, M.A.R., Beveridge, M.C.M., Haylor, G.S., 1998. The effects of density, light and shelter on the growth and survival of African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) fingerlings. *Aquaculture* 160: 251–258.
- Hung, S.S.O., Storebakken, T., Cui, Y., Tian, L., Einen, O., 1997. High-energy diets for white sturgeon, *Acipenser transmontanus* Richardson. *Aquaculture Nutrition* 3: 281–286.
- Irwin, S., O'Halloran, J., FitzGerald, R.D., 1999. Stocking density, growth and growth variation in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (Rafinesque). *Aquaculture* 178: 77-88.

- IUCN, 2004. Mediterranean marine aquaculture and environment. Identification of issues, IUCN Centre for Mediterranean Cooperation, Barcelona, pp. 34.
- Jobling, M., Wandsvik, A., 1983. An investigation of factors controlling food intake in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. *Journal of Fish Biology* 23: 391-404.
- Jobling, M., 1995. Simple indices for the assessment of the influences of social environment on growth performance, exemplified by studies on Arctic charr. *Aquaculture International* 3: 60–65.
- Jobling, M., Koskela, J., Savolainen, R., 1998. Influence of dietary fat level and increased adiposity on growth and fat deposition in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) *Aquaculture Research* 29: 601-607.
- Jørgensen, E.H., Christiansen, J.S., Jobling, M., 1993. Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* 110:191–204.
- Kaushik, S.J., Oliva-Teles, A., 1985. Effect of digestible energy on nitrogen and energy balance in rainbow trout. *Aquaculture* 50: 89-101.
- Kaushik, S.J., Medale, F., Fauconneau, B., Blanc, D., 1989. Effect of digestible carbohydrates on protein/energy utilization and on glucose metabolism in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture* 79: 63-74.
- Kaushik, S.J., Medale, F., 1994. Energy requirement, utilization and dietary supply to salmonids. *Aquaculture* 124: 81–97.
- Kaushik, S.J., Cravedi, J.P., Lalles, J.P., Sumpter, J., Fauconneau, B., Laroche, M., 1995. Partial or total replacement of fish meal by soya protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout. *Aquaculture* 133: 257-274.

- Kentouri, M., Papandroulakis, N., Divanach, P., 1995. Specific diversification in Greek finfish mariculture In: Cahiers Options Méditerranéennes, v. (Ed.), Aspects économiques de la production aquacole = Aquaculture production economics C.I.H.E.A.M., Zaragoza, Spain.
- Kentouri, M., Divanach, P., Geurden, I., Anthouard, M., 1995. Mise en évidence du comportement adaptatif de la daurade (*Sparus aurata L.*) en relation avec la composition de la ration, dans une situation de nourrissage auto-contrôle. *Ichthyophysiological Acta* 18: 125–143.
- Kim, J.D., Kaushik, S.J., 1992. Contribution of digestible energy from carbohydrates and estimation of protein/energy requirements for growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 106: 161–169.
- Kjartansson, H., Fivelstad, S., Thomassen, J.M., Smith, M.J., 1988. Effects of different stocking densities on physiological parameters and growth of adult Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) reared in circular tanks. *Aquaculture* 73: 261–274.
- Klinger, H., Delventhal, H., Hilge, V., 1983. Water quality and stocking density as stressors of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 30: 263-272.
- Koskela, J., Jobling, M., Savolainen, R., 1998. Influence of dietary fat level on feed intake, growth and fat deposition in the whitefish *Coregonus lavaretus*. *Aquaculture International* 6: 95–102.
- Kubilay, A., Ulukoy, G., 2002. The Effects of Acute Stress on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turk J Zool* 26: 249-254.
- Lambert, Y., Dutil, J.D., 2001. Food intake and growth of adult Atlantic cod (*Gadus morhua L.*) reared under different conditions of stocking density, feeding frequency and size-grading. *Aquaculture* 192: 233–247.

- Lanari, D., Bianca, M.P., Ballestrazzi, R., Lupi, P., D'agaro, E., Mecatti, M., 1999. The effects of dietary fat and NFE levels on growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*). Growth rate, body and fillet composition, carcass traits and nutrient retention efficiency. *Aquaculture* 179: 351 – 364.
- Leatherland, J.F., Cho, C.Y., 1985. Effect of rearing density on thyroid and interrenal gland activity and plasma and hepatic metabolite levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* 27: 583–592.
- Leatherland, J.F., 1993. Stocking density and cohort sampling effects on endocrine interactions in rainbow trout. *Aquaculture International* 1:137–156.
- Lee, S.M., Jeon, I.G., Lee, J.Y., 2002. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture* 211: 227–239.
- López, L.M., Torres, A.L., Durazo, E., Drawbridge, M., Bureau, D.P., 2006. Effects of lipid on growth and feed utilization of white seabass (*Atractoscion nobilis*) fingerlings. *Aquaculture* 253: 557–563.
- Luo, Z., Liu, Y., Mai, K., Tian, L., Liu, D., Tan, X., Lin, H., 2005. Effect of dietary lipid level on growth performance, feed utilization and body composition of grouper *Epinephelus coioides* juveniles fed isonitrogenous diets in floating netcages. *Aquaculture International* 13: 257–269.
- Lupatsch, G., Kissil, W.M., Sklan, D., Pfeffer, E., 2001. Effects of varying dietary protein and energy supply on growth, body composition and protein utilization in gilthead seabream (*Sparus aurata L.*). *Aquaculture Nutrition* 7: 71–80.
- Maragoudaki, D., Paspatis, M., Kentouri, M., 1999. Influence of stocking density on growth of juvenile red porgy *Pagrus pagrus L.* under different feeding conditions. *Aquaculture Research* 30: 501-508.

- Marti Palanca, H., Martinez Barbera, J.P., Pendon, C., Valdivia, M.M., Perez Sanchez, J., Kaushik, S., 1996. Growth hormone as a function of age and dietary protein/energy ratio in a marine teleost, the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Growth Regulation* 6: 253–259.
- Martino, R.C., Cyrino, J.E.P., Portz, L.T., L.C., 2002. Effect of dietary lipid level on nutritional performance of the surubim, *Pseudoplatystoma coruscans*. *Aquaculture* 209: 209–218.
- Martins, D.A., Valente, L.M.P., Lall, S.P., 2007. Effects of dietary lipid level on growth and lipid utilization by juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus, L.*). *Aquaculture* 263: 150–158.
- Mathis, N., Feidt, C., Brun-Bellut, J., 2003. Influence of protein/energy ratio on carcass quality during the growing period of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquaculture* 217: 453–464.
- Mazur, C.F., Tillapaugh, D., Brett, J.R., Iwama, G.K., 1993. The effect of feeding level and rearing density on growth, feed conversion and survival in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) reared in salt water. *Aquaculture* 117:129-140.
- McClelland, G., Zwingelstein, G., Weber, J.-M., Brichon, G., 1995. Lipid composition of tissue and plasma in two Mediterranean fishes, the gilthead sea bream (*Chrysophrys auratus*) and the European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52: 161–170.
- McGoogan, B.B., Gatlin, D.M., 1999. Dietary manipulations affecting growth and nitrogenous waste production of red drum *Sciaenops ocellatus*: I. Effects of dietary protein and energy levels. *Aquaculture* 178: 333–348.

- Merino, G.E., Piedrahita, R.H., Conklin, D.E., 2007. The effect of fish stocking density on the growth of California halibut (*Paralichthys californicus*) juveniles. *Aquaculture* 265:176-186.
- Montero, D., Izquierdo, M.S., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J.M., 1999. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry* 20 (1): 53–60.
- Montero, D., Robaina, L.E., Socorro, J., Vergara, J.M., Tort, L., Izquierdo, M.S., 2001. Alteration of liver and muscle fatty acid composition in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles held at high stocking density and fed an essential fatty acid deficient diet. *Fish Physiology and Biochemistry* 24: 63-72.
- Morais, S., Bell, J.G., Robertson, D.A., Roy, W.J., Morris, P.C., 2001. Protein/lipid ratios in extruded diets for Atlantic cod (*Gadus morhua L.*): effects on growth, feed utilisation, muscle composition and liver histology. *Aquaculture* 203: 101–119.
- Moyle, P., Cech, J., 2000. *Fishes: An Introduction to Ichthyology* Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall.
- Murai, T., Takeuchi, T., Watanabe, T., Nose, T., 1985. Effects of dietary protein and lipid levels on performance and carcass composition of fingerling carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 51: 605–608.
- Nanton, D.A., Lall, S.P., McNiven, M.A., 2001. Effects of dietary lipid level on liver and muscle lipid deposition in juvenile haddock, *Melanogrammus aeglefinus L.* *Aquaculture Research* 32: 225–234.

- Nanton, D.A., Lall, S.P., Ross, N.W., McNiven, M.A., 2003. Effect of dietary lipid level on fatty acid β -oxidation and lipid composition in various tissues of haddock. *Comparative Biochemistry and Physiology* 135B: 95–108.
- Ogata, H.Y., Shearer, K.D., 2000. Influence of dietary fat and adiposity on feed intake of juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture* 189: 237–249.
- Otwell, W.S., Rickards, L.W., 1981. Cultured and wild American eels, *A. rosfrata*: fat content and fatty acid composition. *Aquaculture* 26: 67–76.
- Ouattara, N.I., Teugels, G.G., Douba, V.N., Philippart, J.-C., 2003. Aquaculture potential of the black-chinned tilapia, *Sarotherodon melanotheron* (Cichlidae). Comparative study of the effect of stocking density on growth performance of landlocked and natural populations under cage culture conditions in Lake Ayame (Côte d'Ivoire). *Aquaculture Research* 34: 1223-1229.
- Page, J.W., Andrews, J.W., 1973. Interaction of dietary levels of protein and energy on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Journal of Nutrition* 103: 1339–1346.
- Papoutsoglou, S.E., Papapaskeva-Papoutsoglou, E.G., Dendrinou, P.K., 1979. Studies on the effect of density on body composition, growth rate and survival of rainbow trout fry, reared in semiclosed system. *Thalassographica* 1: 43–56.
- Papoutsoglou, S.E., Papapaskeva-Papoutsoglou, E., Alexis, M.N., 1987. Effect of Density on Growth Rate and Production of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* Rich.) over a Full Rearing Period. *Aquaculture* 66: 9-17.
- Papoutsoglou, S.E., Tziha, G., Vrettos, X., Athanasiou, A., 1998. Effects of stocking density on behavior and growth rate of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles reared in a closed circulated system. *Aquacultural Engineering* 18:135-144.

- Papoutsoglou, S.E., Karakatsouli, N., Pizzonia, G., Dalla, C., Polissidis, A., Papadopoulou-Daifoti, Z., 2006. Effects of rearing density on growth, brain neurotransmitters and liver fatty acid composition of juvenile white sea bream *Diplodus sargus* L. *Aquaculture Research* 37: 87-95.
- Paspatis, M., Boujard, T., 1996. A comparative study of automatic feeding and self-feeding in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets of different energy levels. *Aquaculture* 145: 245– 257.
- Paspatis, M., Boujard, T., Maragoudaki, D., Blanchard, G., Kentouri, M., 2003. Do stocking density and feed reward level affect growth and feeding of self-fed juvenile European sea bass? *Aquaculture* 216: 103 – 113.
- Pastor Gracia E., A.G.J., E. Massuti Pascual, and Y.A. Sánchez de, Rey, L., 2002. Preliminary results of growth of meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) in sea cages and indoor tanks. *Aquaculture Europe*, October 16-19, 2002 - Seafarming, Today and Tomorrow. EAS/Special publication N°32, Trieste, Italy.
- Pavlidis, M., Paspatis, M., Koistinen, M., Paavola, T., Divanach, P., Kentouri, M., 1999. Diel rhythms of serum metabolites and thyroid hormones in red porgy held in different photoperiod regimes. *Aquaculture International* 7: 29–44.
- Pei, Z., Xie, S., Lei, W., Zhu, X., Yang, Y., 2004. Comparative study on the effect of dietary lipids level on growth and feed utilization for gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) and Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Gunther). *Aquaculture Nutrition* 10: 209–216.
- Péres, H., Oliva-Teles, A., 1999. Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by European seabass juveniles *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 179: 325–334.

- Péres, H., Gonçalves, P., Oliva-Teles, A., 1999. Glucose tolerance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 179: 415–423.
- Petit, G., Beauchaud, M., Buisson, B., 2001. Density effects on food intake and growth of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture Research* 32: 495–497.
- Piccolo, G., Bovera, F., Salati, F., Morra, F., De Riu, N., Moniello, G., 2006. Biometric measurements, somatic indexes, and chemical composition meagre *Argyrosomus regius* fed two commercial diets with different protein/fat ratio, *Aqua* 2006. World Aquaculture Society, Florence, Italy.
- Poli, B.M., Parisi, G., Zampacavallo, G., Iurzan, F., Mecatti, M., Lupi, P., Bonelli, A., 2003. Preliminary results on quality and quality changes in reared meagre (*Argyrosomus regius*): body and fillet traits and freshness changes in refrigerated commercial-size fish. *Aquaculture International* 11: 301-311.
- Pottinger, T.G., 1998. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets. *Journal of Fish Biology* 53: 728–742.
- Quémener, L., Suquet, M., Mero, D., Gaignon, J.-L., 2002. Selection method of new candidates for finfish aquaculture: the case of the French Atlantic, the Channel and the North Sea coasts. *Aquatic Living Resources* 15: 293-302,
- Quémener, L., 2002. Le maigre commun (*Argyrosomus regius*). *Biologie, pêche, marche et potential aquacole*. Editions Ifremer, Plouzané, France. 31 pp.
- Quéro, J.C., Vayne, J.J., 1997. *Les poissons de mer des pêches françaises*. Delachaux et Niestlé SA, Lausanne-Paris, France, 304 pp.
- Refstie, T., Kittelsen, A., 1976. Effect of density on growth and survival of artificially reared Atlantic salmon. *Aquaculture* 8: 319–326.

- Regost, C., Arzel, J., Cardinal, M., Robin, J., Laroche, M., Kaushik, S.J., 2001. Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 193: 291–309.
- Ridha, M.T., 2006. Comparative study of growth performance of three strains of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, L. at two stocking densities. *Aquaculture Research* 37: 172-179.
- Rosenlund, G., Karlsen, Ø., Tveit, K., Mangor-Jensen, A., Hemre, G.-I., 2004. Effect of feed composition and feeding frequency on growth, feed utilization and nutrient retention in juvenile Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture Nutrition* 10: 371–378.
- Rotllant, J., Tort, L., 1997. Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. *Journal of Fish Biology* 51: 21– 28.
- Rotllant, J., Pavlidis, M., Kentouri, M., Adad, M.E., Tort, L., 1997. Non-specific immune responses in the red porgy, *Pagrus pagrus*, after crowding stress. *Aquaculture* 156: 279 – 290.
- Rowland, S.J., Mifsuda, C., Nixona, M., Boyd, P., 2006. Effects of stocking density on the performance of the Australian freshwater silver perch (*Bidyanus bidyanus*) in cages. *Aquaculture* 253: 301 – 308.
- Ruane, N.M., Carballo, E.C., Komen, J., 2002. Increased stocking density influences the acute physiological stress response of common carp *Cyprinus carpio* (L.). *Aquaculture Research* 33 (10): 777– 784.
- Ruane, N.M., Komen, H., 2003. Measuring cortisol in the water as an indicator of stress caused by increased loading density in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 218: 685–693.

- Sá, R., Pousão-Ferreira, P., Oliva-Teles, A., 2006. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and feed utilization of white sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. *Aquaculture Nutrition* 12: 310–321.
- Santinha, P.J.M., Medale, F., Corraze, G., Gomes, E.F.S., 1999. Effects of the dietary protein: lipid ratio on growth and nutrient utilization in gilthead seabream (*Sparus aurata L.*). *Aquaculture Nutrition* 5: 147–156.
- Schram, E., Van der Heul, J.W., Kamstra, A., Verdegem, M.C.J., 2006. Stocking density-dependent growth of Dover sole (*Solea solea*). *Aquaculture* 252: 339 – 347.
- Schreck, C.B., 1982. Stress and rearing of salmonids. *Aquaculture* 28: 241-249.
- Shearer, K.D., 1994. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture* 119: 63-88.
- Sheehan, E.M., O'Connor, T.P., Sheehy, P.J.A., Buckley, D.J., FitzGerald, R., 1996. Effect of dietary fat intake on the quality of raw and smoked salmon. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 35: 37– 42.
- Sheridan, M.A., 1988. Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comparative Biochemistry and Physiology* 90B, 679–690.
- Silverstein, J.T., Shearer, K.D., Dickoff, W.W., Plisetskaya, E.M., 1999. Regulation of nutrient intake and energy balance in salmon. *Aquaculture* 177: 161-169.
- Skalli, A., Hidalgo, M.C., Abellan, E., Arizcun, M., Cardenete, G., 2004. Effects of the dietary protein/lipid ratio on growth and nutrient utilization in common dentex (*Dentex dentex L.*) at different growth stages. *Aquaculture* 235: 1–11.
- Suquet, M., Quemener, L., Gaignon, J.L., Divanach, P., 2002. Criteria for cost-effective diversification for European finfish mariculture In: Paquotte, P.,

- Mariojous, C., Young, J. (Eds.). Cahiers Options Méditerranéennes, vol. 59: Seafood market studies for the introduction of new aquaculture products C.I.H.E.A.M., Zaragoza, Spain.
- Tacon, A.G.J., 1997. Feeding tomorrow's fish: keys for sustainability. In: Tacon, A., Basurco, B. (Eds.), Feeding Tomorrow's Fish, Proc. of the Work. CIHEAM Network Technology of Aquaculture in the Mediterranean, Mazarrón, Spain, pp. 11–33.
- Takeuchi, T., Shiina, Y., Watanabe, T., 1991. Suitable protein and lipid levels in diet for fingerlings of red sea bream *Pagrus major*. Nippon Suissan Gakkaishi 55: 521–527.
- Thoman, E.S., Davis, D.A., Arnold, C.R., 1999. Evaluation of growout diets with varying protein and energy levels for red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture 176: 343 – 353.
- Thomas, P., Robertson, L., 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine sulfate and metomidate. Aquaculture 96: 69-86.
- Tibbetts, S.M., Lall, S.P., Milley, J.E., 2005. Effects of dietary protein and lipid levels and DP DE) ratio on growth, feed utilization and hepatosomatic index of juvenile haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. Aquaculture Nutrition 11: 67–75.
- Tidwell, J.H., Webster, C.D., Coyle, S.D., Schulmeister, G., 1998. Effect of stocking density on growth and water quality for largemouth bass *Micropterus salmoides* growout in ponds. Journal of the World Aquaculture Society 29: 79-83.

- Torstensen, B.E., Lie, O., Hamre, K., 2001. A factorial experimental design for investigation of effects of dietary lipid content and pro- and antioxidants on lipid composition in Atlantic salmon (*Salmo salar*) tissues and lipoproteins. *Aquaculture Nutrition* 7: 265–276.
- Trenzado, C., Morales, A.E., De la Higuera, M., 2006. Physiological effects of crowding in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, selected for low and high stress-responsiveness. *Aquaculture* 258: 583-593.
- Trzebiatowski, R., Filipiak, J., Jakubowski, R., 1981. Effect of stocking density on growth and survival of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich). *Aquaculture* 22: 289–295.
- Van der Salm, A.L., Martinez, M., Flika, G., Wendelaar Bonga, S.E., 2004. Effects of husbandry conditions on the skin colour and stress response of red porgy, *Pagrus pagrus*. *Aquaculture* 241: 371–386.
- Vergara, J.M., Robaina, L., Izquierdo, M.S., De la Higuera, M., 1996. Protein sparing effect of lipids in diets for fingerlings of gilthead seabream. *Fisheries Science* 62: 624–628.
- Vergara, J.M., Lopez-Calero, G., Robaina, L., Caballero, M.J., Montero, D., Izquierdo, M.S., Aksnes, A., 1999. Growth, feed utilization and body lipid content of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed increasing lipid levels and fish meals of different quality. *Aquaculture* 179: 35 – 44.
- Vijayan, M.M., Leatherland, J.F., 1988. Effect of stocking density on the growth and stress-response in brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Aquaculture* 75: 159–170.
- Vijayan, M.M., Ballantyne, J.S., Leatherland, J.F., 1990. High stocking density alters the energy metabolism of brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Aquaculture* 88: 371 – 381.

- Wallace, J.C., Kolbeinshavn, A.G., Reinsnes, T.G., 1988. The effects of stocking density on early growth in Arctic Charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *Aquaculture* 73:101-110.
- Wang, J.T., Liu, Y.J., Tian, L.X., Mai, K.S., Du, Z.Y., Wang, Y., Yang, H.J., 2005. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 249: 439–447.
- Watanabe, T., 1982. Lipid nutrition in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73B: 3 –15.
- Watanabe, T., 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science* 68: 242 – 252.
- Weatherup, R.N., McCracken, K.J., Foy, R., Rice, D., McKendry, J., Mairs, R.J., 1997. The effects of dietary fat content on performance and body composition of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 151: 173–184.
- Webb Jr., K.A., Hitzfelder, G.M., Faulk, C.K.G., Holt, J., 2007. Growth of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*, at three different densities in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture* 264: 223–227.
- Wedemeyer, G.A., 1996. *Physiology of fish in intensive culture systems*. Chapman & Hall, ITP, New York.
- Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.-L., Hureau, J.-C., Nielsen, J., Tortonese, E., 1986. *Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris.
- Williams, K.C., Barlow, C.G., Rodgers, L., Hockings, I., Agcopra, C., Ruscoe, I., 2003. Asian seabass *Lates calcarifer* perform well when fed pelleted diets high in protein and lipid. *Aquaculture* 225: 191–206.

- Xu, X.L., Fontaine, P., Melard, C., Kestemont, P., 2001. Effects of dietary fat levels on growth, feed efficiency and biochemical compositions of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture International* 9: 437–449.
- Yi, Y., Lin, C.K., Diana, J.S., 1996. Influence of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) stocking density in cages on their growth and yield in cages and in ponds containing the cages. *Aquaculture* 146: 205-215.
- Yi, Y., Lin, C.K., 2001. Effects of biomass of caged Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and aeration on the growth and yields in an integrated cage-cum-pond system. *Aquaculture* 195: 253-267.
- Φουντουλάκη, Ε., 2003. Επίδραση της διατροφής με διαφορετικά ποσοστά πρωτεΐνης / ενέργειας και απαραίτητων λιπαρών οξέων στην ανάπτυξη, στη φυσιολογία και στο μεταβολισμό νεαρών ατόμων τσιπούρας (*Sparus aurata* L.), Τμήμα Βιολογίας. Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.