

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗΣ ΥΔΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΩΝ ΤΗΣ
ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ
ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ *Sparus aurata*

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Π. ΚΑΠΕΛΟΣ

Συμβουλευτική Επιτροπή:

Μουντζούρης Κ., Επ. Καθηγητής

Καρακατσούλη Ν., Επ. Καθηγήτρια

Παπουτσόγλου Ε., Λέκτορας

Αθήνα, Απρίλιος 2011

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗΣ ΥΔΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΩΝ ΤΗΣ
ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ
ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ *Sparus aurata*

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Π. ΚΑΠΕΛΟΣ

Εξεταστική Επιτροπή:

Καρακατσούλη Ν., Επ. Καθηγήτρια

Μουντζούρης Κ., Επ. Καθηγητής

Παπαδομυελάκης Γ., Λέκτορας

Παπουτσόγλου Ε., Λέκτορας

Φεγγερός Κ., Καθηγητής

Αθήνα, Απρίλιος 2011

Στη γυναίκα μου, Σαββούλα
και στα παιδιά μου,
Φωτεινή και Παναγιώτα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους με βοήθησαν ηθικά και υλικά στην εκπόνηση της παρούσας μελέτης. Με τυχαία σειρά ευχαριστώ θερμά τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Μουντζούρη Κωνσταντίνο, την Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Καρακατσούλη Ναυσικά, τον Λέκτορα κ. Παπουτσόγλου Ευστράτιο, τον Καθηγητή κ. Φεγγερό Κωνσταντίνο και τον Λέκτορα κ. Παπαδομιχελάκη Γεώργιο για τις πολύτιμες συμβουλές και διορθώσεις τους.

Επίσης ευχαριστώ την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα. Μήλιου Ελένη για την σωστή καθοδήγηση και τις συμβουλές την κατάλληλη στιγμή.

Από τις ευχαριστίες μου δεν θα ήταν δυνατό να λείπει ο Καθηγητής κ. Σωφρόνιος Παπουτσόγλου, για τη μακροχρόνια συμβολή του στην κατάρτισή μου.

Στις ευχαριστίες μου δεν θα μπορούσα να παραλείψω και το τεχνικό προσωπικό του εργαστηρίου Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας, τον κ. Βρεττό Ξενοφόντα και τον κ. Κωνσταντίνου Γεώργιο. Επιπλέον ευχαριστώ για τη βοήθειά τους όλους μεταπτυχιακούς συμφοιτητές μου και ιδιαίτερα το φίλο, συνάδελφο και κουμπάρο μου Φανουράκη Στέλιο.

Πάνω απ' όλα ευχαριστώ τη σύζυγό μου, Σαββούλα, η οποία με την ανοχή και την αμέριστη συμπαράστασή της με καθοδηγεί σε κάθε μου βήμα.

Τέλος, ευχαριστώ και αφιερώνω την παρούσα μελέτη στη μητέρα και στον πατέρα μου. Πατέρα, να 'σαι καλά εκεί ψηλά που βρίσκεσαι και να καμαρώνεις για μας...

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A/A	Τίτλος	Σελίδα
A	Περίληψη	1
B	Abstract	2
Γ	ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	3
1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	3
1.1	Διαιτητική αξία των ιχθύων	3
1.2	Βιολογία και οικολογία της τσιπούρας	4
1.2.1	Συστηματική κατάταξη και μορφολογία	4
1.2.2	Γεωγραφική εξάπλωση και οικολογία	5
1.2.3	Αναπαραγωγή, βιολογικός κύκλος και κινητικότητα	6
1.3	Εκτροφή και συστήματα παραγωγής της τσιπούρας	7
1.3.1	Εισαγωγή	7
1.3.2	Οι κυριότερες χώρες εκτροφής τσιπούρας	8
1.3.3	Συστήματα παραγωγής	8
1.3.3.1	Η εκτροφή στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς	8
1.3.3.2	Συστήματα εκτροφής	10
1.3.4	Μέθοδοι εξαλίευσης	13
1.3.5	Κόστος παραγωγής	14
1.3.6	Κυριότερα προβλήματα	14
1.4	Διατροφή	14
1.4.1	Σημασία της διατροφής	14
1.4.2	Η χρήση των προβιοτικών στις υδατοκαλλιέργειες	17
1.4.2.1	Εισαγωγή	17
1.4.2.2	Μηχανισμοί δράσης	19
1.4.2.3	Κριτήρια επιλογής των κατάλληλων προβιοτικών και τρόποι χορήγησης	21
1.4.2.4	Τα οξυγαλακτικά βακτήρια και η χρήση τους ως προβιοτικά στις υδατοκαλλιέργειες	22
1.4.2.5	Η έρευνα για την επιλογή και χρήση των κατάλληλων προβιοτικών για τις υδατοκαλλιέργειες	23
1.5	Σκοπός της παρούσας εργασίας	35
Δ	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	36

2	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	36
2.1	Πειραματόζωα και πειραματικός σχεδιασμός	36
2.2	Περιγραφή των πειραματικών εγκαταστάσεων	37
2.3	Οι πειραματικές επεμβάσεις	37
2.3.1	Καθημερινές επεμβάσεις	38
2.3.1.1	Διαδικασία παρασκευής, ενσωμάτωσης και χορήγησης της προβιοτικής καλλιέργειας (LP) με την τροφή	38
2.3.1.2	Χορήγηση τροφής	39
2.3.1.3	Μετρήσεις των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού	40
2.3.1.4	Λήψη και ανάλυση δειγμάτων νερού	40
2.3.2	Περιοδικές επεμβάσεις	41
2.3.2.1	Καθαρισμοί	41
2.3.2.2	Ζύγισμα ιχθυοπληθυσμών	42
2.4	Μετρήσεις και αναλύσεις στους ιχθυοπληθυσμούς	42
2.5	Παράμετροι πειράματος	43
2.5.1	Δείκτες ανάπτυξης	43
2.5.2	Δείκτες αξιοποίησης της τροφής (Λιπών και πρωτεϊνών)	43
2.5.3	Οργανοσωματικοί δείκτες	44
2.6	Στατιστική επεξεργασία	44
3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	45
3.1	Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού εκτροφής	45
3.2	Χαρακτηριστικά ανάπτυξης	46
3.2.1	Ζων Βάρος	46
3.2.2	Σωματομετρήσεις ιχθυοπληθυσμού	46
3.2.3	Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR: Specific Growth Rate)	47
3.2.4	Εκατοστιαία αύξηση του ζώντος βάρους (PWG: Percentage Weight Gain)	47
3.3	Δείκτες αξιοποίησης της τροφής και των συστατικών της	47

3.3.1	Συντελεστής εκμετάλλευσης της τροφής (FCR: Feed Conversion Ratio)	48
3.3.2	Συντελεστής μετατρεψιμότητας πρωτεϊνών της τροφής (PER: Protein Efficiency Ratio)	48
3.3.3	Συντελεστής μετατρεψιμότητας λιπών της τροφής (LER: Lipid Efficiency Ratio)	48
3.3.4	Δείκτες αξιοποίησης πρωτεϊνών (PPV) και λιπών (LPV) της τροφής	49
3.4	Η χημική σύσταση του σώματος των ιχθύων	49
3.5	Οργανοσωματικοί δείκτες	49
3.6	Αιματοκρίτης	50
4	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	51
5	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	59
Ε	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	60

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΩΝ ΤΗΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ *Sparus aurata*

ΚΑΠΕΛΟΣ Π. ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών, Εργαστήριο
Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας, Ιερά Οδός 75, Αθήνα, 11855,

email: kmountzouris@aua.gr

Περίληψη

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης προβιοτικών στη διατροφή της τσιπούρας, *Sparus aurata*. Ενενήντα άτομα μέσου αρχικού βάρους $137,3 \pm 0,96$ g κατανεμήθηκαν τυχαία (σε ομάδες των 10 ατόμων, αρχικής πυκνότητας εκτροφής $5,70$ kg/m³) σε 3 διατροφικές επεμβάσεις με 3 επαναλήψεις. Οι 3 πειραματικές επεμβάσεις ήταν: α) μάρτυρας (C), χωρίς τη χορήγηση προβιοτικού, β) χαμηλή συγκέντρωση (PL) προβιοτικού, 10^8 CFU/g τροφής και γ) υψηλή συγκέντρωση (PH) προβιοτικού, 10^{10} CFU/g τροφής. Η εκτροφή πραγματοποιήθηκε σε γυάλινες δεξαμενές, όγκου 241,1 L η κάθε μία, σε ημίκλειστο κύκλωμα θαλασσινού νερού, αλατότητας $35,7 \pm 0,07$ ‰. Η παροχή του νερού ρυθμίστηκε στα 2,1 L/min, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται 12,54 φορές ημερήσια ανανέωση του νερού εκτροφής. Η θερμοκρασία του νερού κυμαινόταν μεταξύ 25,66 και 25,71 °C και το διαλυμένο οξυγόνο (DO) διατηρήθηκε στα 5,65 – 5,82 ppm. Η χορήγηση της τροφής πραγματοποιούνταν 2 φορές την ημέρα, 08:15 και 14:15, και το Επίπεδο Διατροφής ήταν 2% του ΖΒ, ανεξάρτητα της διατροφικής επέμβασης. Η ενσωμάτωση της προβιοτικής καλλιέργειας στην ιχθυοτροφή πραγματοποιούνταν ακολουθώντας προκαθορισμένη διαδικασία 15 λεπτά πριν από την χορήγηση στους ανάλογους ιχθυοπληθυσμούς σε καθημερινή βάση. Οι ιχθύες διατρέφονταν με ιχθυοτροφή του εμπορίου (Ξηρά ουσία 92,49 %, Τέφρα 6,29%, Ολικές λιπαρές ουσίες 23,21%, Ολικές πρωτεΐνες 40,97%, ΕΝΕΟ & Ινώδεις ουσίες 22,02%).

Στο τέλος της πειραματικής περιόδου δεν παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση της χορήγησης *Lactobacillus plantarum* στην ανάπτυξη (τελικό βάρος, %WG, SGR), στους συντελεστές αξιοποίησης της τροφής (FCR, PER, PPV, LER, LPV) και στη χημική σύσταση του σώματος των ιχθύων. Αντίθετα, σημαντική αύξηση παρατηρήθηκε στο γοναδοσωματικό δείκτη (GSI) και σημαντική μείωση στην ολική και στην τοξική αμμωνία, καθώς και στα νιτρώδη ιόντα κατά τη διατροφική επέμβαση με την υψηλή συγκέντρωση προβιοτικού.

Συμπερασματικά, η χορήγηση *Lactobacillus plantarum* βελτίωσε το γοναδοσωματικό δείκτη (GSI) και ορισμένα χαρακτηριστικά του νερού εκτροφής, ενώ φαίνεται πως απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση του εξειδικευμένου ρόλου του *Lactobacillus plantarum* στη διατροφή της τσιπούρας *Sparus aurata*.

Λέξεις κλειδιά: τσιπούρα (*Sparus aurata*), προβιοτικά, *Lactobacillus plantarum*, δείκτες ανάπτυξης, αξιοποίηση τροφής

THE EFFECT OF POTENTIAL USE OF PROBIOTICS ON THE NUTRITION OF GILTHEAD SEA BREAM *Sparus aurata*

KAPELOS P. KONSTANTINOS

*Agricultural University of Athens, Faculty of Animal Science and Aquaculture,
Laboratory of Applied Hydrobiology, Iera Odos 75, Athens 11855, Greece,*

email: kmountzouris@aua.gr

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of probiotics in the nutrition of gilthead sea bream, *Sparus aurata*. Ninety individuals of mean initial body weight 137.3 ± 0.96 g were randomly distributed (in groups of 10; initial stocking density 5.70 kg/m^3) in 3 experimental treatments, each having three replicates. The 3 experimental treatments were: a) control (C), without dietary administration of probiotic *Lactobacillus plantarum*, b) low concentration (PL) of probiotic (10^8 CFU/g feed) and c) high concentration (PH) of probiotic, (10^{10} CFU/g feed). The rearing took place in glass tanks of 241.1 L each, in a recirculated seawater system (salinity 35.7 ± 0.07 ‰). The water supply was adjusted to 2.1 L/min, which resulted in renewal of the rearing water 12.54 times daily. The water temperature ranged between 25.66 and 25.71 °C and dissolved oxygen (DO) was maintained between 5.65 – 5.82 ppm. Fish were fed twice daily, at 8:15 and 14:15, at a feeding level 2% of BW. The inclusion of probiotic in fish feed was made by following a standard procedure 15 minutes before feeding fish populations on a daily basis. The fish were fed with a commercial fish diet (Dry Matter 92.49%; Ash 6.29%; Crude fat 23.21%; Crude protein 40.97%; Nitrogen-Free Extract & Crude Fiber 22.02%, as fed basis).

At the end of the experimental period, there were no significant effects of *Lactobacillus plantarum* on growth (final weight, PWG, SGR), feed utilization (FCR, PER, PPV, LER, LPV) and carcass composition of fish. Significant increases were observed in gonad-somatic index (GSI) and a significant decrease in total and un-ionized ammonia as well as in nitrite concentration, when the high concentration probiotic was administered.

In conclusion, *Lactobacillus plantarum* improved gonad-somatic index (GSI) and some chemical characteristics of rearing water, and it appears that further investigation is required concerning the role of *Lactobacillus plantarum* in the diet of sea bream *Sparus aurata*.

Keywords: gilthead sea bream (*Sparus aurata*), probiotics, *Lactobacillus plantarum*, growth performance, feed utilization

Γ. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Διαιτητική αξία των ιχθύων για τον άνθρωπο

Από τις αρχές του εικοστού αιώνα με την πρόοδο της επιστήμης σε θέματα θρέψης του ανθρώπου, άρχισε να γίνεται γνωστό στο ευρύτερο κοινό, η ανάγκη καθημερινής κατανάλωσης πρωτεϊνών ζωικής προέλευσης. Η ανάγκη συνεχούς ύπαρξης στον ανθρώπινο οργανισμό των κατάλληλων ποσοτήτων των απαραίτητων αμινοξέων θεωρείται πρωταρχικής σημασίας για τη σωστή λειτουργία και τη διατήρηση της υγείας του ανθρώπινου οργανισμού. Αργότερα με τη βελτίωση των επιστημονικών μεθόδων, αποδείχτηκε ότι οι υδρόβιοι ζωικοί οργανισμοί, όχι μόνο είναι πλούσιοι σε άριστους συνδυασμούς αμινοξέων, αλλά επιπλέον είναι ιδιαίτερα πλούσιοι σε βιταμίνες και ιχνοστοιχεία. Αυτά τα στοιχεία, τα τεκμηριωμένα από πλήθος επιστημονικών ερευνών, αποδεικνύουν την πολύ μεγάλη διαιτητική αξία των ιχθύων.

Οι ιχθύες που καταναλώνει ο άνθρωπος, αποτελούν ίσως τη μοναδική τροφή, η οποία παρουσιάζει, από την άποψη της χημικής σύστασης του σώματος τους, τόσο επιτυχή συνδυασμό θρεπτικών συστατικών. Η ύπαρξη στο σώμα των ιχθύων, υψηλών ποσοστών απαραίτητων αμινοξέων (αργινίνη, λυσίνη, ιστιδίνη, μεθειονίνη κλπ.), βιταμινών (A, B₁₂, D, κλπ.), ανόργανων στοιχείων (νάτριο, ασβέστιο, κάλιο, φώσφορο, κλπ.), καθώς και πολύ υψηλού ποσοστού πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, τα καθιστά όχι μόνο τρόφιμα υψηλής βιολογικής αξίας για τον άνθρωπο, αλλά και μέσα πρόληψης καρδιαγγειακών παθήσεων.

Η υψηλή περιεκτικότητα των ιχθύων σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και κυρίως της σειράς ω-3, δρα προληπτικά στην αποφυγή εμφάνισης πολλών νόσων που οφείλονται στη μεγάλη κατανάλωση κορεσμένων λιπαρών οξέων. Τα ω-3 μειώνουν ή αναστέλλουν τη δράση επικίνδυνων παραγόντων (π.χ. μειώνουν στον άνθρωπο τα επίπεδα χοληστερόλης) (Degaldo *et al.*, 1994). Παλαιότερες επιδημιολογικές έρευνες που έγιναν σε Εσκιμώους της Γροιλανδίας και σε Ιάπωνες ψαράδες, έδειξαν ότι η θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο ήταν πολύ χαμηλή. Το γεγονός αυτό αποδόθηκε στη μεγάλη κατανάλωση ιχθύων τα οποία ήταν πλούσια σε ω-3. Αντίθετα, άτομα από τις ίδιες ομάδες των παραπάνω πληθυσμών, τα οποία διατρέφονταν με τροφές πλούσιες σε κορεσμένα λιπαρά οξέα, παρουσίασαν 10 φορές μεγαλύτερο ποσοστό θνησιμότητας από στεφανιαίες νόσους.

Οι ευεργετικές, για την υγεία του ανθρώπου, δράσεις των πολυακόρεστων ω3 λιπαρών οξέων συνοψίζονται στις εξής:

- Μειώνουν την αρτηριακή πίεση και παράλληλα βελτιώνουν τη δράση αντιυπερτασικών φαρμάκων.
- Μειώνουν τις κοιλιακές αρρυθμίες (είναι η αιτία εκδήλωσης μαρμαρυγής).
- Μειώνουν την εκδήλωση στεφανιαίων νόσων.
- Μειώνουν τη συγκέντρωση της χοληστερίνης στο αίμα

Σε ό,τι αφορά στη χημική σύσταση του εδώδιμου μέρους των υδρόβιων οργανισμών από τα αποτελέσματα της διεθνούς βιβλιογραφίας εξάγεται το συμπέρασμα ότι, η συχνή (3-5 γεύματα εβδομαδιαίως) κατανάλωση των οργανισμών αυτών μπορεί να συμβάλλει αποτελεσματικά όχι μόνο στη μείωση των τριγλυκεριδίων και της LDL (κακής) χοληστερόλης στο αίμα, αλλά ταυτόχρονα και στη θεαματική αύξηση της HDL (καλής) χοληστερόλης. Επίσης, θεωρείται σκόπιμο να τονιστεί ότι η σωστή ενημέρωση των πληθυσμών προηγμένων χωρών (π.χ. Η.Π.Α., Αυστραλία κ.α.), σχετικά με τη διαιτητική αξία των υδρόβιων οργανισμών, είχε ως αποτέλεσμα τη θεαματική μείωση των καρδιοπαθειών (Παπουτσόγλου, 1992).

Από τα παραπάνω εξάγεται το συμπέρασμα ότι οι ιχθύες, ως πηγή τροφής για τον άνθρωπο, δεν συμβάλλουν μόνο στην κάλυψη ενός μέρους των διατροφικών του αναγκών, αλλά επιπλέον διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στην πρόληψη και αντιμετώπιση πολλών ασθενειών, που οι αιτίες τους είναι κυρίως διατροφικής φύσης. Επομένως δεν είναι υπερβολικό να ειπωθεί ότι για λόγους υγείας επιβάλλεται η αυξημένη συμμετοχή των ιχθύων στη διατροφική αλυσίδα του ανθρώπου και η μείωση της συμμετοχής τροφίμων πλούσιων σε κορεσμένα λιπαρά οξέα, όπως είναι το κρέας και τα γαλακτοκομικά προϊόντα.

1.2 Βιολογία και οικολογία της τσιπούρας

1.2.1 Συστηματική κατάταξη και μορφολογία

Η συστηματική ταξινόμηση της τσιπούρας έχει ως εξής:

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



Η οικογένεια Sparidae απαντάται στη Μεσόγειο και γενικά σε εύκρατα θαλάσσια νερά. Τα περισσότερα είδη σχηματίζουν σμήνη, τα οποία ζουν σε αμμώδεις, λασπώδεις ή βραχώδεις πυθμένες. Έχουν σώμα ωοειδές, πλευρικά συμπιεσμένο, με ένα σχετικά μικρό στόμα, τοποθετημένο χαμηλά στην κεφαλή. Το πρόσθιο μέρος του ραχιαίου πτερυγίου φέρει 11 σκληρές ακτίνες και το οπίσθιο 12-13 μαλακές

διακλαδισμένες. Τα κοιλιακά πτερύγια έχουν μια σκληρή και πέντε μαλακές ακτίνες και το εδρικό πτερύγιο τρεις σκληρές και 12 μαλακές. Φέρουν ευμεγέθη ευδιάκριτα λέπια. Τα δόντια είναι είτε λαβιδοειδή για την απόξεση φυκών και μικρών προσκολλημένων ασπόνδυλων από τους βράχους, είτε αγκιστροειδή σαν κυνόδοντες για τη σύλληψη ιχθύων, είτε πλατυσμένοι σαν τραπεζίτες για τη σύνθλιψη των οστράκων υδρόβιων οργανισμών. Ορισμένα από τα πολύ γνωστά είδη που ανήκουν στην οικογένεια αυτή είναι: *Sparus aurata* (τσιπούρα), *Dentex dentex* (συναγρίδα), *Pagrus pagrus* (φαγκρί), *Pagellus erythrinus* (λυθρίνι), *Boops boops* (γόπα), *Boops salpa* (σάλπα), *Diplodus annularis* (σπάρος) κ.α. (Παπουτσόγλου, 1994; Κασπίρης, 1998).

Η τσιπούρα είναι είδος μεγάλης οικονομικής σημασίας και θεωρείται από τα πιο εκλεκτά εκτρεφόμενα είδη. Χαρακτηρίζεται από σώμα ψηλό, με μεγαλύτερο ύψος στο μπροστινό του τμήμα, μάλλον ατρακτοειδές, πλευρικά πιεσμένο που καλύπτεται από μεγάλα λέπια ελαφρά κτενοειδή. Το ραχιαίο πτερύγιο φέρει εν μέρει σκληρές ακτίνες και το ουραίο είναι διχαλωτό. Έχει στόμα λίγο εκτατό, χονδρά χείλη και κεφάλι ισχυρό. Τα μάτια της είναι αρκετά μεγάλα, μεταξύ των οποίων υπάρχει μια χρυσού χρώματος λωρίδας σχήματος V, στην οποία οφείλεται το όνομά της. Παρουσιάζει ετεροδοντία που της επιτρέπει να τρέφεται με ποικιλία οργανισμών, πάντως είναι κατεξοχήν σαρκοφάγο. Οι σιαγόνες της στο πρόσθιο τμήμα τους χαρακτηρίζονται από την παρουσία έξι οδόντων μορφής κυνόδοντα και πλευρικά, από την παρουσία τεσσάρων ή πέντε σειρών οδόντων μορφής τραπεζίτη στην επάνω σιαγόνα και τριών ή τεσσάρων σειρών της ίδιας μορφής στην κάτω. Το χρώμα της ράχης της είναι κυανό-σκοτεινό ενώ τα πλευρικά τμήματα του σώματος της έχουν αργυροκίτρινο χρωματισμό που παρουσιάζει χρυσές αντανακλάσεις. Επίσης, στην αρχή της πλευρικής της γραμμής υπάρχει μια μελανή κηλίδα στο χρώμα της «σκουριάς» στο επάνω μέρος του βραγχιακού επικαλύμματος, καθώς και μια περιοχή ερυθρού χρώματος στη βάση των θωρακικών πτερυγίων (Παπουτσόγλου, 1994; Κασπίρης, 1998).

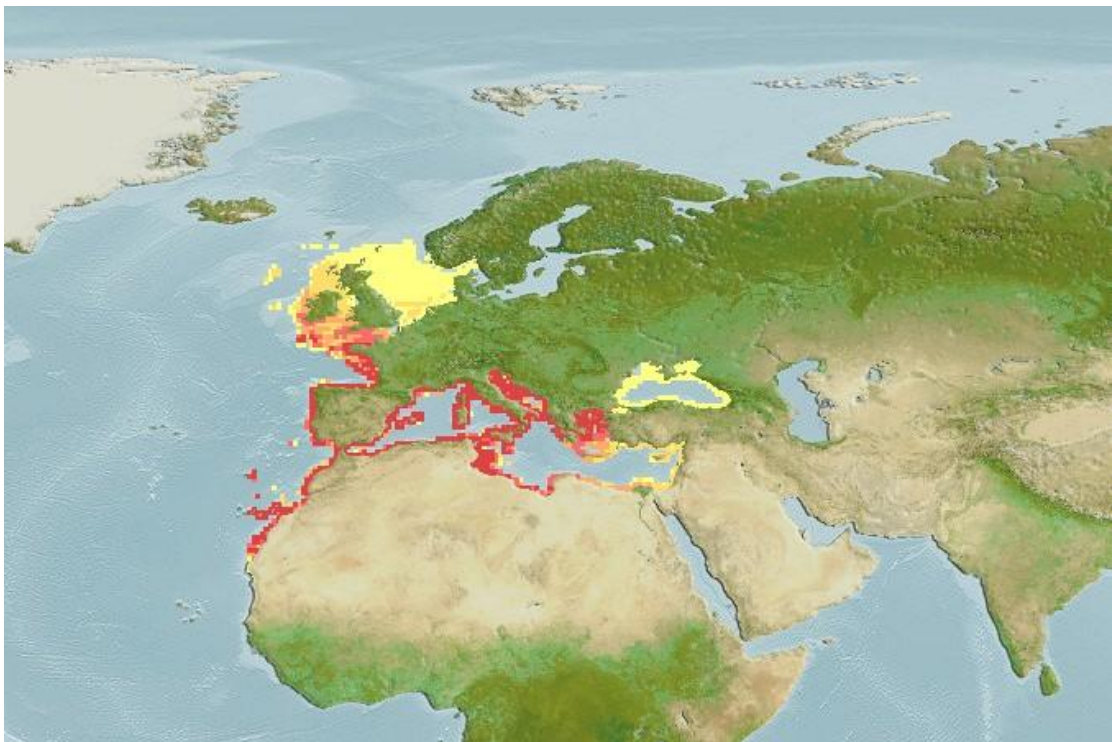
1.2.2 Γεωγραφική εξάπλωση και οικολογία

Η τσιπούρα είναι ιχθύς κοινός στη Μεσόγειο θάλασσα και στον Ατλαντικό Ωκεανό, από τη Σενεγάλη μέχρι τα βρετανικά νησιά, όπου σπανίζει (εικ. 1.2.2). Ζει κοντά στις ακτές και μπορεί να φτάσει μέχρι το βάθος των 60m. Προτιμά τα λιμνοθαλάσσια οικοσυστήματα, στα οποία εισχωρεί την άνοιξη παραμένει όλο το καλοκαίρι και τα εγκαταλείπει στο τέλος του φθινοπώρου. Η ανάπτυξη της μέσα στα συστήματα αυτά είναι πιο γρήγορη από εκείνη της θάλασσας. Πράγματι μια τσιπούρα τριών ετών μπορεί να φτάσει το μέγεθος των 43cm στη λιμνοθάλασσα, ενώ εκείνη της θάλασσας δεν ξεπερνάει τα 25cm (FAO, 2009).

Η τσιπούρα είναι κατεξοχήν ευρύαλο και ευρύθερμο είδος. Παρουσιάζει μεγάλη αντοχή στις μεταβολές της θερμοκρασίας και της αλατότητας. Στην πράξη

μπορεί να ζήσει σε αλατότητες 5-44‰ και θερμοκρασίες 3-36°C με ευαισθησία στις χαμηλές τιμές, όπου κάτω των 3°C δεν επιβιώνει (Κασπίρης, 1998).

Είναι σαρκοφάγος ιχθύς και διατρέφεται συνήθως με διάφορα Μαλάκια (Δίθυρα και Γαστερόποδα), Καρκινοειδή, Εχινόδερμα, Τελεόστεους και Πολύχαιτους. Η τροφή, που ποικίλει υπερβολικά, εξαρτάται κυρίως από το μέγεθος του ψαριού και την διαθεσιμότητα της. Λαμβάνει ως τροφή μια μεγάλη ποικιλία οργανισμών και η διατροφή τους δεν είναι «εκλεκτική» ως προς ένα είδος. Όταν ένα ορισμένο διατροφικό είδος ή ομάδα καθίστανται σπάνια, η τσιπούρα στρέφεται σε εναλλακτικές πηγές τροφής, περιορίζοντας έτσι την οποιαδήποτε επίδραση από την σπανιότητα της τροφής (Wassef & Abu Wafaa, 1985). Σε σχέση με το μέγεθος, έχει αποδειχτεί ότι τα μικρότερου μεγέθους ιχθύες καταναλώνουν μικρούς και σχετικά μαλακής σάρκας οργανισμούς, όπως πολύχαιτους και μικρά καρκινοειδή. Καθώς το μέγεθος του αυξάνει ο ιχθύς τείνει να διατραφεί με μεγαλύτερα και με πιο σκληρό κέλυφος ζώα, κυρίως οστρακόδερμα, δίθυρα και ιχθύες.



Εικόνα 1.2.2: Η γεωγραφική εξάπλωση της τσιπούρας ¹

1.2.3 Αναπαραγωγή, βιολογικός κύκλος και κινητικότητα

Η τσιπούρα χαρακτηρίζεται από πρωτανδρικό ερμαφροδιτισμό. Σύμφωνα με τα στοιχεία που υπάρχουν, ο ιχθύς αυτός μέχρι και το δεύτερο έτος της ηλικίας του

¹ <http://www.fishbase.org/Summary/speciesSummary.php?id=1164&lang=english>

είναι αρσενικό και μετά το ίδιο άτομο γίνεται θηλυκό. Πρέπει, όμως να τονιστεί ότι δεν υπάρχουν σαφείς ενδείξεις σχετικά με τους παράγοντες που επιδρούν στην αλλαγή αυτή του φύλου της τσιπούρας. Υποστηρίζεται ότι, εκτός από την ηλικία, το βάρος των ιχθύων είναι πιθανό να επηρεάζει το φαινόμενο αυτό, δεδομένου ότι ανεξάρτητα από την ηλικία, άτομα μέχρι βάρους 500, 700 ή και 800g είναι συνήθως αρσενικά και στη συνέχεια αλλάζουν φύλο (Παπουτσόγλου, 1994; FAO, 2009).

Η φυσική αναπαραγωγή της τσιπούρας λαμβάνει χώρα στις ακτές της Μεσογείου και ειδικότερα στις νοτιότερες ακτές, στη θάλασσα, κατά το χρονικό διάστημα Οκτωβρίου-Δεκεμβρίου, όπου η θερμοκρασία μειώνεται από τους 17°C στους 13°C. Κατά την περίοδο αυτή σημειώνεται μετανάστευση κατά σμήνη αυτών των ψαριών από τα λιμνοθαλάσσια συστήματα προς τη θάλασσα. Η βιολογική αυτή ανάγκη έχει βοηθήσει στην αλιεία της τσιπούρας με αποτέλεσμα την προοδευτική μείωση της παραγωγής λόγω υπεραλιείας και ρύπανσης των διαφόρων συστημάτων (Κασπίρης, 1998; FAO, 2009).

Η γονιμότητα της τσιπούρας ποικίλει, κατά μέσο όρο όμως είναι 100.000 αυγά/kg σωματικού βάρους. Τα αυγά έχουν διάμετρο 0,9-1,0mm, είναι χρώματος ανοιχτού κιτρινωπού και εφοδιασμένα με μια σταγόνα ελαίου που τους δίνει τη δυνατότητα να επιπλέουν στο νερό. Η συλλογή των γονιμοποιημένων αυγών και η τοποθέτησή τους στους επωαστήρες γίνεται με τη βοήθεια διχτύου, επειδή τα αυγά επιπλέουν. Τα ποσοστά των γονιμοποιούμενων αυγών ποικίλουν από 80% για τους νεαρούς γεννήτορες έως 34% για τους ηλικιωμένους (Κασπίρης, 1998; FAO, 2009).

1.3 Εκτροφή και συστήματα παραγωγής της τσιπούρας²

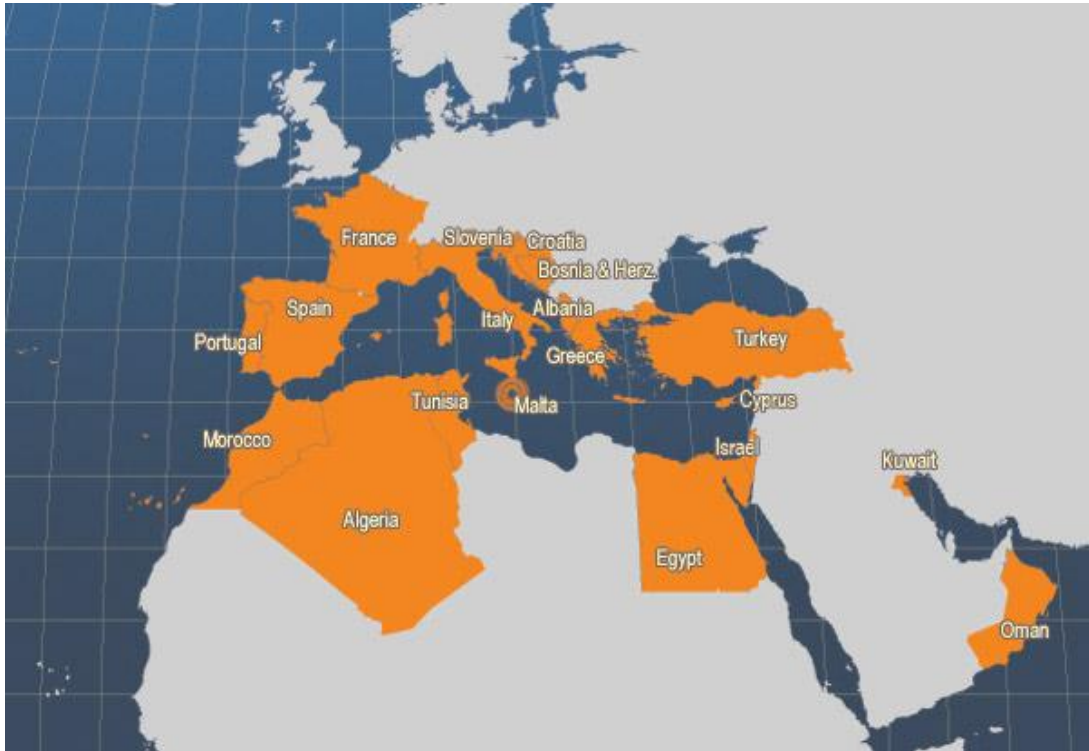
1.3.1 Εισαγωγή

Οι πιο συνήθεις μέθοδοι εκτροφής της τσιπούρας είναι ο εκτατικός και ο εντατικός τρόπος (Εικ. 1.2.4α και 1.2.4β). Ο συνηθέστερος τρόπος είναι ο πρώτος, ενώ τα τελευταία χρόνια με την πληρέστερη γνώση της βιολογίας της και την ανάπτυξη της εν γένει τεχνολογίας επεκτάθηκε η εντατική εκτροφή. Στην Ελλάδα, με τη χρήση πλωτών κλωβών, η τσιπούρα φτάνει το εμπορικό βάρος (300 – 350g) σε περίπου 14 – 16 μήνες. Κατά την εκτατική μέθοδο τα νεαρά ιχθύδια της τσιπούρας και άλλα ευρύαλα είδη, εγκλωβίζονται σε κλειστά ιχθυοτροφεία υφάλμυρων υδάτων, λιμνοθάλασσες, όπου παραμένουν την άνοιξη, το καλοκαίρι και κατά το τέλος του φθινοπώρου, όταν προσπαθούν να εγκαταλείψουν τα υδροστάσια συλλαμβάνονται στις ειδικές ιχθυοσυλληπτικές εγκαταστάσεις. Σημαντικό στοιχείο στα εκτατικά εκτροφεία είναι η εξασφάλιση χώρων διαχείμασης ώστε οι θερμοκρασίες να μην κατέρχονται κάτω των 5°C (Κασπίρης, 1998; FAO, 2009).

² http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en

1.3.2 Οι κυριότερες χώρες εκτροφής τσιπούρας

Στην Εικόνα 1.2.3 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι χώρες με τη σημαντικότερη παραγωγή τσιπούρας. Όπως φαίνεται από την παρακάτω εικόνα, η σημαντικότερη παραγωγή τσιπούρας πραγματοποιείται στις χώρες της Μεσογείου Θάλασσης.



Εικόνα 1.2.3: Οι κυριότερες χώρες παραγωγής τσιπούρας (FAO Fishery Statistics, 2006)³

1.3.3 Συστήματα παραγωγής

1.3.3.1 Η εκτροφή στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς

Συνήθως κάθε εκκολαπτήριο έχει τη δική της μονάδα γεννητόρων, όπου οι γεννήτορες των διαφόρων ηλικιακών ομάδων, από 1 έτους αρσενικά μέχρι 5 ετών θηλυκά, οι οποίοι διατηρούνται υπό μακροχρόνιες συνθήκες εκτροφής. Οι γεννήτορες μπορεί να προέρχονται είτε από εκμετάλλευση, είτε από το φυσικό τους περιβάλλον.

Κατά την έναρξη της ωοτοκίας, η επιλεγμένη παρτίδα γεννητόρων μεταφέρεται από τις δεξαμενές συντήρησης στις δεξαμενές αναπαραγωγής. Ο έλεγχος της αναλογίας φύλου της αναπαραγωγικής δεξαμενής είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας για την τσιπούρα και πρέπει να ληφθούν κατάλληλες προφυλάξεις, επειδή η αλλαγή του φύλου είναι κοινωνικά καθορισμένη. Η παρουσία των νεαρών αρσενικών, στο τέλος της αναπαραγωγικής περιόδου, για παράδειγμα, αυξάνει τον αριθμό των γηραιότερων ιχθύων που γίνονται θηλυκά. Από την άλλη πλευρά, η

³ http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en

εμφάνιση των ηλικιωμένων θηλυκών μειώνει την αναστροφή του φύλου των νεαρότερων ιχθύων.

Εκτός εποχής ωοτοκία στην τσιπούρα πραγματοποιείται με τον έλεγχο των παραμέτρων του περιβάλλοντος, προκειμένου να επεκταθεί ή να τροποποιηθεί η περίοδος αναπαραγωγής. Οι ιχθύες τοποθετούνται σε δεξαμενές εφοδιασμένες με συστήματα θέρμανσης/ψύξης του νερού και ελέγχου της θερμοκρασίας και της έντασης του φωτός. Η σεξουαλική ωρίμανση επιτυγχάνεται με την έκθεση του γεννητόρων σε συνθήκες φωτοπεριόδου και θερμοκρασίας του νερού όμοιες με τις συνθήκες της φυσικής περιόδου ωοτοκίας. Θηλυκά αναπαραγωγής μπορούν να αποκτηθούν με ενοφθαλμισμό GnRH_a (1) (D-Ala6; Pro9Net-mGnRH) σε ποσότητα 5-20 mg/kg.

Υπάρχουν δύο βασικά συστήματα εκτροφής των ατελών ιχθυδίων τσιπούρας, μικρής κλίμακας και μεγάλης κλίμακας. Το μικρής κλίμακας (<10m³) σύστημα χαρακτηρίζεται από μέγιστο έλεγχο των περιβαλλοντικών παραμέτρων και είναι σχεδιασμένο με τέτοιο τρόπο, ώστε να παράγεται μεγάλος αριθμός νεαρών ατόμων (150-250/λίτρο). Η μεγάλης κλίμακας (~200m³) τεχνική προσομοιώνει ένα φυσικό οικοσύστημα. Η τεχνική αυτή εξασφαλίζει πολύ καλύτερη ποιότητα των ιχθυδίων σε σχέση με τα μικρής κλίμακας συστήματα, αλλά παράγει πολύ λιγότερο αριθμό νεαρών ιχθυδίων (μέγιστο 10/λίτρο).

Τα λεκιθοφόρα ιχθύδια απορροφούν το λεκιθοφόρο σάκο μετά από 3-4 ημέρες ενδογενούς σίτισης. Σε αυτό το στάδιο, τα μάτια είναι χρωματισμένα και το στόμα αναπτυγμένο, επιτρέποντας στα ιχθύδια να αναζητούν ζωντανή τροφή. Στα περισσότερα συστήματα εκτροφής οι πρώτοι ζωντανοί οργανισμοί που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ατελών ιχθυδίων είναι τροχόζωα (π.χ. *Brachionus plicatilis*). Αυτά επιλέγονται λόγω της σχετικής ευκολίας με την οποία μπορούν να καλλιεργηθούν σε μεγάλη κλίμακα. Μετά από 10-11 ημέρες, τα τροχόζωα έχουν αντικατασταθεί με ναύπλιους *Artemia salina* μέχρι την ολοκλήρωση της μεταμόρφωσης (32-35 ημέρες μετά την εκκόλαψη).

Το τεχνητό σιτηρέσιο, με τη χορήγηση ξηράς τροφής υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (50-60%), λαμβάνει χώρα όταν οι ιχθύες αποκτήσουν βάρος 5-10 mg. Τα νεαρά ιχθύδια των 45 ημερών περίπου, μεταφέρονται σε ένα ειδικό τμήμα του ιχθυογεννητικού σταθμού, το οποίο είναι εξοπλισμένο με μεγαλύτερες στρογγυλές ή ορθογώνιες δεξαμενές (10-25m³), όπου ξεκινά η χορήγηση της ξηράς τροφής. Το στάδιο αυτό είναι ένα πραγματικό σύστημα εντατικής εκτροφής. Η αρχική πυκνότητα του γόνου είναι 10-20/litre σε θερμοκρασία 18°C και η αλατότητα 35-37‰. Η τελική πυκνότητα μπορεί να φθάσει τα 20kg/m³ σε ιχθύες των 2-3g. Η τροφή χορηγείται ανά 2 ώρες μεταξύ 08:00 – 20:00, με σταδιακή αύξηση του ποσοστού του τεχνητού σιτηρέσιου, η οποία αποτελείται από σωματίδια των 150-300μm.

1.3.3.2 Συστήματα εκτροφής

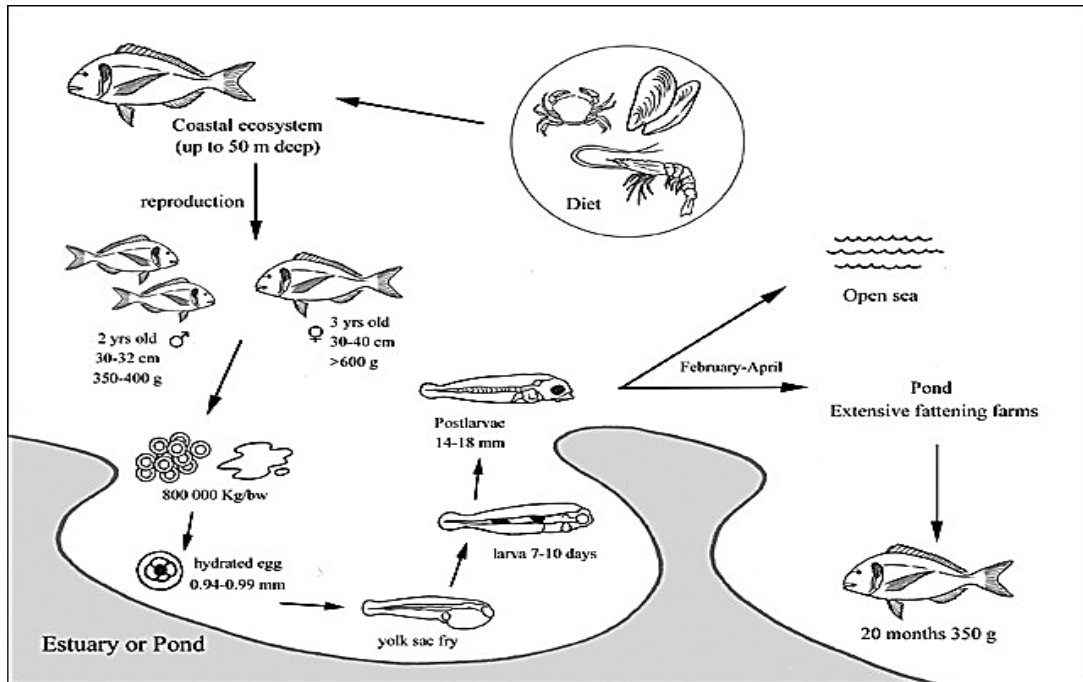
Η τσιπούρα είναι δυνατόν να εκτρέφεται με διάφορους τρόπους, όπως σε παράκτιες λίμνες και λιμνοθάλασσες, με εκτατικό και ημιεντατικό σύστημα, ή σε χερσαίες εγκαταστάσεις και σε ιχθυοκλωβούς στη θάλασσα, με συστήματα εντατικής εκτροφής. Αυτές οι μέθοδοι είναι πολύ διαφορετικές, ιδίως όσον αφορά την πυκνότητα εκτροφής και τη χορήγηση ιχθυοτροφών.

Εκτατικό σύστημα

Το σύστημα αυτό βασίζεται στη φυσική μετανάστευση των ευρύαλων ιχθύων, όταν αυτά μπορούν να αλιεύονται, εν γένει με τη χρήση των τυπικών αλιευτικών παγίδων. Δεδομένου ότι η πρακτική αυτή προσφέρει μια πολύ περιορισμένη και απρόβλεπτη πηγή ιχθυδίων από το φυσικό περιβάλλον, πολλές σύγχρονες εκτατικές μονάδες παραγωγής βασίζονται τόσο σε αλιεύμενα άγρια ιχθύδια, όσο και σε προερχόμενα από ιχθυογεννητικούς σταθμούς.

Σε αυτό το σύστημα εκτροφής, το εμπορικό μέγεθος (350g) επιτυγχάνεται σε 20 μήνες και συνήθως εκτρέφεται μαζί με κέφαλους, χέλια και ευρωπαϊκό λαβράκι. Στις λιμνοθάλασσες της βόρειας Μεσογείου, η διαχείμαση σε βαθιές λεκάνες με διαστρωμάτωση γλυκού/θαλασσινού νερού, είναι απαραίτητη για την προστασία της ενός έτους τσιπούρας.

Η συνολική παραγωγή αυτού του συστήματος πολυκαλλιέργειας κυμαίνεται μεταξύ 30 – 150 kg/ha/έτος, ανάλογα με την παραγωγικότητα της λιμνοθάλασσας. Κατά τη διάρκεια του παραγωγικού κύκλου, οι ιχθύες διατρέφονται από τους φυσικούς πόρους της λιμνοθάλασσας και συμπληρωματική τροφή δεν παρέχεται. Στην εκτατική ιχθυοκαλλιέργεια η πυκνότητα εκτροφής των ιχθύων κατά κανόνα δεν υπερβαίνει τα 0,0025kg/m³.



Εικόνα 1.2.4α: Παραγωγικός κύκλος εκτατικής εκτροφής της τσιπούρας⁴

Ημιεντατικό σύστημα

Σε αυτό το σύστημα οι ανθρώπινες επεμβάσεις στο περιβάλλον της εκτροφής είναι μεγαλύτερες σε σχέση με το εκτατικό σύστημα. Μπορεί να συνεπάγεται απλό εμπλουτισμό των λιμνοθαλασσών με νεαρά άτομα προερχόμενα από ένα εντατικό σύστημα, με στόχο την ελαχιστοποίηση της θνησιμότητας και την ελάττωση του χρόνου εκτροφής. Σε αυτή την περίπτωση είναι επίσης δυνατόν να πραγματοποιηθεί λίπανση της περιοχής εκτροφής, προκειμένου να αυξηθεί η διαθεσιμότητα της φυσικής τροφής.

Άλλοι τύποι ημιεντατικής εκτροφής συνίστανται σε μεγαλύτερο έλεγχο και περιλαμβάνουν την παροχή τεχνητών ζωοτροφών, καθώς και συμπληρωματική παροχή οξυγόνου. Αυτό το είδος της ημιεντατικής εκτροφής πραγματοποιείται συνήθως σε περιορισμένες περιοχές των λιμνοθαλασσών.

Η τελική παραγωγή μπορεί να ποικίλλει σημαντικά, ανάλογα με το μέγεθος των αποθεμάτων και τη διαθέσιμη ποσότητα τροφής. Η πυκνότητα εκτροφής σε ημιεντατικά συστήματα συνήθως δεν υπερβαίνει το 1,00kg/m³ και η παραγωγή κυμαίνεται μεταξύ 500-2.400 kg/ha/έτος.

⁴ http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en

Εντατικό σύστημα

Τα εντατικά συστήματα εκτροφής συνήθως ακολουθούν άλλες εντατικές φάσεις εκτροφής, δηλαδή την αναπαραγωγή, την εκτροφή του γόνου και την προπάχυνση. Οι φάσεις της εντατικής προπάχυνσης και της εκτροφής μπορούν να διεξαχθούν σε χερσαίες εγκαταστάσεις με ορθογώνιες δεξαμενές από σκυρόδεμα που ποικίλουν σε μέγεθος (200-3 000 m), ανάλογα με το μέγεθος των ιχθύων και τις απαιτήσεις της παραγωγής. Εκτροφή μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί σε ιχθυοκλωβούς στη θάλασσα, είτε σε στεγασμένες, είτε ημικτεθειμένες (επιπλέοντα κλουβιά) ή πλήρως εκτεθειμένες τοποθεσίες (ημι- ή πλήρως καταδυόμενους κλωβούς).

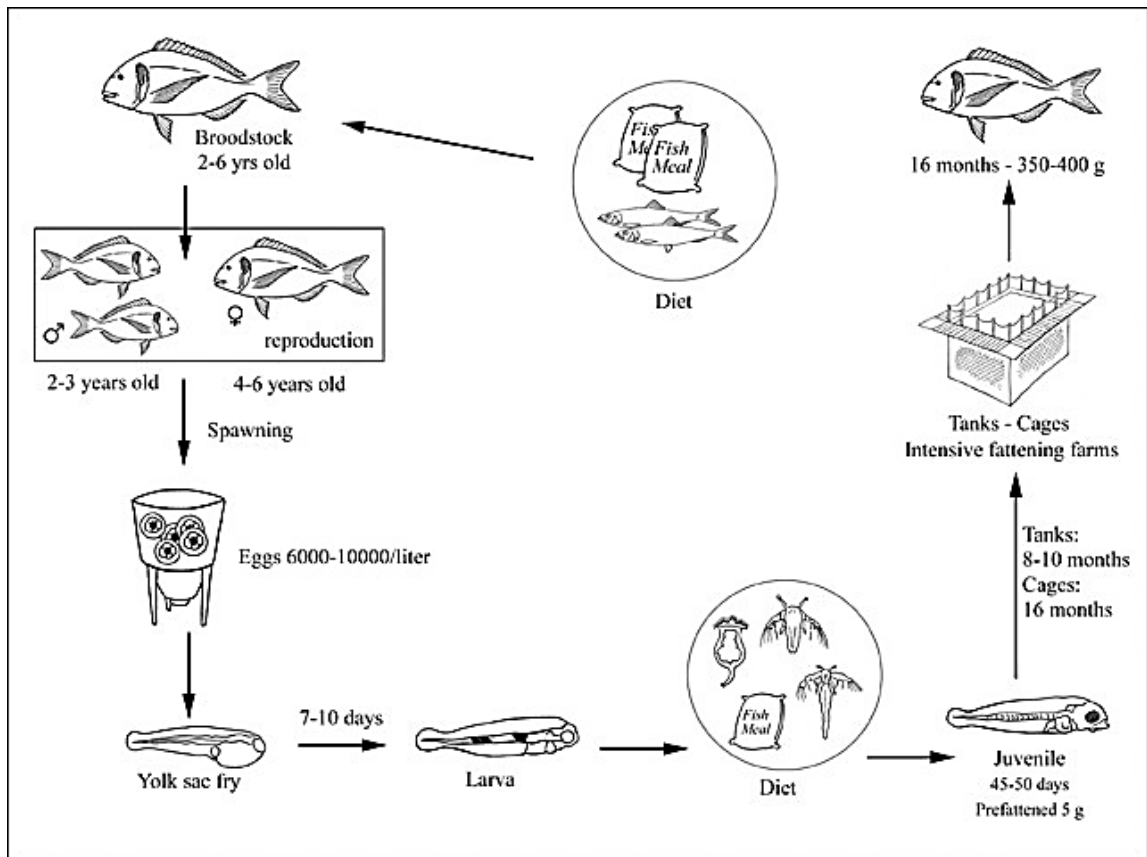
Τα εντατικά συστήματα μπορεί να εφοδιάζονται με γόνο που προμηθεύονται από χωριστούς ιχθυογεννητικούς σταθμούς, αλλά οι μεγάλες μονάδες παραγωγής συνήθως διαθέτουν ιδιόκτητο ιχθυογεννητικό σταθμό. Στο εντατικό σύστημα ο συντελεστής εκμετάλλευσης της τροφής (FCR) είναι συνήθως πολύ θετικός (περίπου 1,3).

Κατά την εκτροφή της τσιπούρας (*Sparus aurata*) σε δεξαμενές, επιτυγχάνονται πολύ υψηλές πυκνότητες, οι οποίες κυμαίνονται από 15 έως 45 kg/m³ και η παροχή οξυγόνου είναι απαραίτητη για να εξασφαλιστεί η επιβίωση των ιχθύων. Υπό εξαιρετικές συνθήκες (18-26°C), τα ιχθύδια των 5 g επιτυγχάνουν το εμπορικό μέγεθος (350 - 400 g) σε περίπου ένα χρόνο.

Η εκτροφή σε θαλάσσιους ιχθυοκλωβούς είναι απλή και οικονομική. Είναι το σύστημα εκτροφής που χρησιμοποιείται συνήθως στη λεκάνη της Μεσογείου. Αν και οι πυκνότητες (10-15 kg/m³) είναι χαμηλότερες σε σχέση με την εκτροφή σε δεξαμενές, υπάρχουν μεγάλα πλεονεκτήματα που καθιστούν τους κλωβούς εκτροφής πιο κερδοφόρους. Για παράδειγμα, δεν υπάρχει το κόστος της ενέργειας για την άντληση, την παροχή οξυγόνου, ή την επεξεργασία του νερού εκτροφής.

Ωστόσο, δεν είναι δυνατόν να ελεγχθεί η θερμοκρασία, κατά την εκτροφή σε κλωβούς, με αποτέλεσμα μεγαλύτερη περίοδος επίτευξης του εμπορεύσιμου μεγέθους. Κατά μέσο όρο, ιχθύδια των 10g φθάνει στο εμπορικό μέγεθος (350-400g) σε περίπου ένα χρόνο, ενώ ιχθύδια των 5g επιτυγχάνουν το ίδιο μέγεθος σε περίπου 16 μήνες.

Η ιχθυοτροφή διανέμεται ανά 2 ώρες, είτε με αυτόματες ταΐστρες, από τις 08:00 έως τις 20:00 για τους ιχθύες των 1-3g, αυξάνοντας σταδιακά το ποσοστό του τεχνητού σιτηρεσίου (σωματίδια 150-300μm), είτε με το χέρι για τους μεγαλύτερους ιχθύς.



Εικόνα 1.2.4β: Παραγωγικός κύκλος εντατικής εκτροφής της τσιπούρας⁵

1.3.4 Μέθοδοι εξαλίευσης

Πριν από τη συγκομιδή απαιτούνται κάποιες μέρες ασιτίας. Η διάρκεια αυτής της περιόδου διαφέρει, ανάλογα με τη θερμοκρασία και το ρυθμό σίτισης (για παράδειγμα, στους 25°C, 24 ώρες ασιτίας είναι αρκετές). Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, 48-72 ώρες είναι απαραίτητες. Μετά την ορθή ασιτία, οι ιχθύες είναι έτοιμοι για εξαλίευση. Πριν από την έναρξη αυτής της διαδικασίας, πρέπει να γίνει έλεγχος για νεκρούς ιχθύες.

Η εξαλίευση των ιχθύων στις χερσαίες εγκαταστάσεις μπορεί να πραγματοποιηθεί σε οποιοσδήποτε καιρικές συνθήκες. Μεγάλη προσοχή δίνεται στην καθαριότητα του πυθμένα της δεξαμενής πριν από τη συγκομιδή. Αυτό εξασφαλίζει πιο υγιεινούς ιχθύες και διασφαλίζει ότι θα έχουν καλά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, δεδομένου ότι αποφεύγονται ανεπιθύμητες ύλες που εισέρχονται από τα βράγχα και το στόμα.

Η εξαλίευση από τους ιχθυοκλωβούς μπορεί να πραγματοποιηθεί όταν οι καιρικές συνθήκες είναι αποδεκτές για την ασφάλεια των εργαζομένων. Οι ιχθύες πρέπει να είναι συγκεντρωμένοι σε μια σχετικά μικρή περιοχή, έτσι ώστε τα ζώα να μπορούν να συλλέγονται με τις αντλίες κενού.

⁵ http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en

1.3.5 Κόστος παραγωγής

Το κόστος παραγωγής για ιχθύδια των 2g στην Ιταλία ποικίλει από 0,10-0,18€/ιχθύδιο, ανάλογα με το σύστημα εκτροφής. Το κόστος για ιχθύδια των 5g είναι περίπου 0,26-0,28€/ιχθύδιο. Το κόστος εκτροφής για την παραγωγή τσιπούρας 350g κυμαίνεται μεταξύ 3,0 - 4,0€, ανάλογα με το σύστημα εκτροφής.

1.3.6 Κυριότερα προβλήματα

Ο κλάδος θα μπορούσε να περιγραφεί ως ένας τομέας που εισέρχεται ήδη στην ώριμη φάση του, που πρέπει όμως να εφαρμοστούν νέες τεχνολογίες και ακόμη πιο αποδοτικά συστήματα παραγωγής. Οι νέες τεχνολογίες πρέπει να λαμβάνουν υπόψη την ανάγκη ελαχιστοποίησης του πιθανού αντίκτυπου των ιχθυοκαλλιεργειών στις παράκτιες περιοχές, όπως:

- Η θέση εγκατάστασης της μονάδας και οι επιπτώσεις των απορρίψεων των οργανικών υλών, του φωσφόρου και του αζώτου, τα οποία μπορούν να προκαλέσουν φαινόμενα υπερευτροφισμού.
- Οι διαφυγόντες εκτρεφόμενοι ιχθύες μπορεί να οδηγήσουν σε μια σειρά προβλημάτων, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης του γενετικού αποθέματος των άγριων αποθεμάτων μέσω της διασταύρωσης, μειωμένη γονιμότητα του άγριου αποθέματος, καθώς και αλλαγές στη δομή του τροφικού πλέγματος.
- Η μετάδοση παρασιτικών ασθενειών μεταξύ των εκτρεφόμενων και των άγριων ιχθύων.
- Εισαγωγή μη αυτοχθόνων ειδών που μπορούν να δρουν ως «παράσιτα» στις τοπικές κοινότητες.

1.4 Διατροφή

1.4.1 Σημασία της διατροφής

Για την επιτυχημένη εκτροφή οποιουδήποτε ζωικού οργανισμού, εκτός από την εξασφάλιση των κατάλληλων συνθηκών, σημαντικότατο ρόλο παίζει η διατροφή. Η εξασφάλιση ισορροπημένης διατροφής για μέγιστο ρυθμό αύξησης, προϋποθέτει τη γνώση των αναγκών των ζώων για τα διάφορα θρεπτικά συστατικά. Οι οργανισμοί χρησιμοποιούν τα θρεπτικά συστατικά της τροφής για τη διατήρηση της ομοιοστασίας τους, για την αύξηση του σώματος τους, για την παραγωγή βιολογικών προϊόντων (γάλα, αυγά, σπέρμα κ.α.) και γενικά για την ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου και τη διαίωσιση του είδους τους.

Όπως στους υπόλοιπους ζωικούς οργανισμούς, έτσι και στους ιχθύς, η διατροφή αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες που όχι μόνο επηρεάζει, αλλά και καθορίζει άμεσα ή και έμμεσα τόσο το ρυθμό ανάπτυξης, την ποιότητα (εξωτερική εμφάνιση, βιολογική αξία, γεύση), όσο και το κόστος της παραγωγής τους. Η συνολική εκτίμηση της διατροφής περιλαμβάνει τη χημική σύσταση της τροφής, τη μορφή της, την ποσότητά της, τον τρόπο και τη συχνότητα

παροχής της, τη διαδικασία της παρασκευής ή παραγωγής της καθώς και τη διαδικασία της συντήρησής της.

Πέρα όμως από τις προαναφερθείσες διατροφικές παραμέτρους, πολύ σημαντικός παράγοντας για τη σωστή διατροφή των ιχθύων είναι η γνώση αφενός των αρχών που διέπουν τα φαινόμενα της πέψης, του μεταβολισμού και της φυσιολογίας των ιχθύων και αφετέρου της ποιότητας του περιβάλλοντος διαβιώσεως των ιχθύων και κυρίως των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού.

Όσον αφορά στην καλύτερη εκμετάλλευση και αξιοποίηση της τροφής, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει το επίπεδο διατροφής. Η χορήγηση μεγαλύτερης ποσότητας τροφής από αυτή που μπορούν να καταναλώσουν οι οργανισμοί ή το αντίστροφο, έχει αρνητικές συνέπειες στο κόστος της εκτροφής. Κρίνεται, λοιπόν, απαραίτητη η κατάρτιση ισορροπημένου σιτηρεσίου, έτσι ώστε να καλύπτονται τόσο οι ανάγκες συντηρήσεως όσο και οι ανάγκες που αφορούν στην πραγματοποίηση των φυσιολογικών παραγωγικών διαδικασιών (π.χ. αύξηση του σωματικού βάρους, παραγωγή των προϊόντων της αναπαραγωγής), όσο και εκείνων που συνδέονται με τη διαδικασία της οσμωτικής και ιοντικής ρυθμίσεως τους και την παραγωγή θερμότητας. Το κατάλληλο επίπεδο διατροφής το οποίο εξασφαλίζει τον καλύτερο ρυθμό ανάπτυξης και τον καλύτερο συντελεστή εκμετάλλευσης της τροφής, διαφέρει ανάλογα με το μέγεθος των ιχθύων και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού εκτροφής. Για παράδειγμα, σύμφωνα με τους Hidalgo et al. (1987), το βέλτιστο επίπεδο διατροφής το λαυράκι, *Dicentrarchus labrax*, μέσου βάρους 20 έως 30 g, είναι 1,7% σε θερμοκρασία 20°C, ενώ σε θερμοκρασία 15°C είναι 1,2%.

Αξίζει επίσης να αναφερθεί ότι οι ανάγκες σε ενέργεια των ιχθύων είναι λιγότερες από εκείνες των ομοιόθερμων ζωικών οργανισμών επειδή οι ποικιλόθερμοι οργανισμοί, των οποίων η θερμοκρασία του σώματος τους είναι σχεδόν ίση με τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος στο οποίο ζουν, δεν χρειάζεται να δαπανήσουν ενέργεια για να διατηρήσουν τη θερμοκρασία του σώματός τους σταθερή. Αντίθετα οι ομοιόθερμοι οργανισμοί αναγκάζονται να δαπανούν μεγάλα ποσά ενέργειας για τη διατήρηση της θερμοκρασίας του σώματός τους σταθερή. Γι' αυτό το λόγο, στους ιχθείς ο συντελεστής εκμετάλλευσης της τροφής είναι μικρότερος από 1,4 και ενίοτε μικρότερος από 1 (Καλαϊσάκης, 1982).

Στους ιχθύς καταναλώνεται σχετικά λιγότερη ενέργεια, τόσο για τη διατήρηση του σώματός τους σε συγκεκριμένο σημείο μέσα στην υδάτινη μάζα, όσο και για τη μετακίνησή τους μέσα σ' αυτήν, σε σύγκριση με την ανάλογη κατανάλωση ενέργειας από τα πτηνά και τα θηλαστικά. Από μηχανικής άποψης, οι ιχθύες έχουν μια σωματική πυκνότητα παρόμοια περίπου με το εξωτερικό περιβάλλον, γεγονός που τους επιτρέπει να έχουν περιορισμένα προβλήματα στήριξης. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι προσπάθειες του ζώου για κίνηση είναι πολύ μικρές, είτε διότι τα ζώα ζουν στον πυθμένα, είτε διότι ευνοούνται από τα ρεύματα, αλλά γενικά το ενεργειακό κόστος για μετακινήσεις είναι πολύ χαμηλό (Κασπίρης, 1998).

Επιπλέον, οι ιχθύες καταναλώνουν μικρότερα ποσά ενέργειας για τον καταβολισμό των πρωτεϊνών και την έκκριση των άχρηστων αζωτούχων ουσιών, επειδή η απομάκρυνση των ουσιών αυτών πραγματοποιείται κατά 85% σε μορφή αμμωνίας, ενώ στα θηλαστικά με μορφή ουρίας και στα πτηνά ως ουρικό οξύ.

Στους ιχθύς η κατανάλωση ενέργειας για την αφομοίωση της προσληφθείσας τροφής είναι πολύ μικρότερη (3-5% της ΜΕ) από εκείνη των άλλων ζώων (περίπου 30% της ΜΕ στα θηλαστικά) (Παπουτσόγλου, 1992).

Μερικά είδη ιχθύων τρέφονται αδιάκοπα, κατά τη διάρκεια της ημέρας (φυτοφάγα είδη και πλαγκτονοφάγα) και καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες τροφής, συγκρίνοντάς τα μάλιστα με τα σαρκοφάγα είδη. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στο ότι η θρεπτική αξία αυτών των τροφών είναι κατώτερη της σάρκας των διαφόρων ζωικών ομάδων. Διαφορές όμως παρατηρούνται και μεταξύ των σαρκοφάγων ειδών ιχθύων, που και αυτό το φαινόμενο αποδίδεται στη διαφορετική σύσταση των θηραμάτων, έτσι ένα είδος που καταναλώνει καρκινοειδή πρέπει να εξασφαλίσει αρκετές ποσότητες, γιατί μεγάλο μέρος απ' αυτές τις αποβάλλει άπεπτες, ενώ ένα ιχθυοφάγο είδος καταναλώνει μικρότερα ποσά γιατί έχει λιγότερες άπεπτες.

Κάποια είδη ιχθύων λαμβάνουν ένα ικανοποιητικό γεύμα, το οποίο είναι αρκετό για να διατηρηθούν μια εβδομάδα ή και περισσότερο, ενώ άλλα παρουσιάζουν μια σπουδαία ικανότητα να επιζούν για μεγάλες περιόδους ασιτίας, καταναλώνοντας τα αποθέματά τους σε λίπη και πρωτεΐνες (το χέλι μπορεί να διατηρηθεί επί ένα χρόνο χωρίς να τρέφεται).

Οι ποσότητες της καταναλισκόμενης τροφής από τους ιχθύες σε ορισμένη χρονική περίοδο εκφράζεται σαν μέσος όρος καταναλώσεως ανά ημέρα ή μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Μ' αυτό το μέσο όρο αποδεικνύεται εύκολα η κύρια επίδραση της θερμοκρασίας στη διατροφή (Παπουτσόγλου, 1992). Για παράδειγμα, για το είδος *Lepomis macrochirus* αποδείχτηκε ότι καταναλώνει τροφές ανά εβδομάδα 35% του βάρους του σώματός του (5% ημερησίως) το καλοκαίρι σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 20 °C, ενώ το χειμώνα 1% (δηλαδή 0,14% ημερησίως) σε θερμοκρασία 2-3 °C. Η διαφορά αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι ένας ιχθύς σε υψηλή θερμοκρασία σώματος απαιτεί περισσότερη τροφή για να καλύψει τις ενεργειακές του ανάγκες απ' ότι έναν ιχθύ σε χαμηλότερη θερμοκρασία. Η θερμοκρασία δεν επηρεάζει μόνο το ποσό της προσλαμβανόμενης τροφής, αλλά και την ικανότητα αφομοίωσης (Κασπίρης, 1998).

Τέλος, η ημερήσια κατανάλωση τροφής διαφέρει επίσης σύμφωνα με το μέγεθος του ιχθύος. Έτσι, παρατηρείται ότι τα μικρά άτομα απαιτούν περισσότερη τροφή ανά γραμμάριο βάρους σώματος απ' όση τα μεγάλα, διότι ο μεταβολικός τους ρυθμός, ανά μονάδα βάρους σώματος είναι υψηλότερος.

1.4.2 Η χρήση των προβιοτικών στις υδατοκαλλιέργειες

1.4.2.1 Εισαγωγή

Ο όρος προβιοτικό πολύ απλά σημαίνει «για τη ζωή», προερχόμενος από τη λατινική λέξη «pro» και την ελληνική λέξη και «βίος» (Merrifield et al., 2010; Kesarcodi-Watson et al., 2008). Ο πιο διαδεδομένος ορισμός, σύμφωνα με τους Merrifield et al. (2010) Kesarcodi-Watson et al. (2008) και Irianto & Austin (2002), δόθηκε από τον Fuller το 1989, ο οποίος όρισε το προβιοτικό ως «ένα ζωντανό μικροβιακό συμπλήρωμα διατροφής, το οποίο επιδρά ευεργετικά στο ζώο – ξενιστή, βελτιώνοντας την εντερική ισορροπία και λειτουργία». Πρόσφατες αναφορές και επιστημονικά δεδομένα σχετικά με τους μηχανισμούς δράσης έδειξαν ότι και μη βιώσιμα μικροβιακά συστατικά δρουν με ευεργετικό τρόπο και μάλιστα η δράση αυτή δεν περιορίζεται μόνο στο γαστρεντερικό σωλήνα (Gatesoupe, 1999; Kesarcodi-Watson et al., 2008).

Η γενική ιδέα της προβιοτικής δράσης προέρχεται από το γεγονός ότι η ενεργή διαμόρφωση της γαστρεντερικής οδού θα μπορούσε να παρέχει ανταγωνισμό ενάντια σε παθογόνα, ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος, διατροφικά οφέλη και προστασία του εντερικού βλεννογόνου. Σήμερα, η χρήση των προβιοτικών αποτελεί κοινοτυπία για την υγεία, προωθώντας, τόσο «λειτουργικές τροφές» για τον άνθρωπο, όσο και θεραπευτικά, προφυλακτικά συμπληρώματα, αλλά και συμπληρώματα ανάπτυξης στη ζωική παραγωγή και την ανθρώπινη υγεία (Gatesoupe, 1999; Kesarcodi-Watson et al., 2008).

Ως προς τα βακτήρια με χρήση ως προβιοτικά, τα οξυγαλακτικά βακτήρια (Lactic Acid Bacteria – LAB), έχουν χρησιμοποιηθεί και ερευνηθεί σε ευρεία κλίμακα για τον άνθρωπο και τα χερσαία ζώα. Επίσης, είναι γνωστή η παρουσία των οξυγαλακτικών βακτηρίων στον εντερικό σωλήνα των ιχθύων (Gatesoupe, 1999; Irianto & Austin, 2002; Kesarcodi-Watson et al., 2008). Το ενδιαφέρον για τα οξυγαλακτικά βακτήρια πηγάζει από το γεγονός ότι αποτελούν φυσικούς κατοίκους της γαστρεντερικής οδού, διαθέτοντας ικανότητα αντοχής στο όξινο περιβάλλον που επικρατεί εκεί. Ως εκ τούτου, προκαλούν μείωση του pH και με φυσικό τρόπο εμποδίζουν την ανάπτυξη πολλών βακτηριακών αποικιών. Οι γαλακτοβάκιλλοι και τα bifidobacteria αποτελούν τα πιο ευρέως ερευνηθέντα και χρησιμοποιούμενα οξυγαλακτικά βακτήρια (Irianto & Austin, 2002; Kesarcodi-Watson et al., 2008).

Μια άλλη κατηγορία προβιοτικών, η οποία έχει μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό, περιλαμβάνει το σποριογόνο είδος *Bacillus* spp. και τους ζυμομύκητες (ζύμες). Το *Bacillus* spp. διαθέτει ικανότητες πρόσφυσης, παράγει βακτηριοκτόνες ουσίες (αντιμικροβιακά πεπτίδια) και προκαλεί ανοσοδιέγερση. Τα στελέχη του φαίνεται πως αποτελούν αποτελεσματικά προβιοτικά και τα διάφορα εμπορικά προϊόντα που περιέχουν τέτοια στελέχη έχουν επιδείξει βελτίωση στην παραγωγή γαρίδας, σε επίπεδο παρόμοιο με τη χρήση αντιμικροβιακών φαρμάκων (Gatesoupe, 1999; Kesarcodi-Watson et al., 2008). Το *Bacillus* spp. ως προβιοτικό διαθέτει μία επιπλέον ικανότητα, η οποία του προσδίδει πρόσθετο ερευνητικό και εμπορικό ενδιαφέρον:

μπορεί να διατηρηθεί υπό τη μορφή σπορίων και επομένως να αποθηκευτεί επ' αόριστον στο ράφι. Ο ζυμομύκητας *Saccharomyces cerevisiae*, έχει μελετηθεί ευρέως για τις προβιοτικές του ιδιότητες, σύμφωνα με τις οποίες επιδεικνύει ανοσοδιεγερτική ικανότητα και παραγωγή ανασταλτικών ουσιών (Kesarcodi-Watson et al., 2008).

Υπάρχουν πολλοί τρόποι με τους οποίους τα προβιοτικά είναι δυνατόν να δράσουν ευεργετικά στον οργανισμό, με τη χορήγηση είτε ενός μόνο, είτε συνδυασμού προβιοτικών. Συνοπτικά, η επίδραση των προβιοτικών περιλαμβάνει την αναστολή δράσης παθογόνων μέσω της παραγωγής ανταγωνιστικών ενώσεων, του ανταγωνισμού για τους εντερικούς επιθηλιακούς υποδοχείς προσκόλλησης, της μετατροπής της ενζυμικής δραστηριότητας των παθογόνων, του ανταγωνισμού για θρεπτικά στοιχεία και των λειτουργιών ανοσοδιέγερσης. Εκτός της ανοσολογικής, η δράση των προβιοτικών περιλαμβάνει και διατροφικά οφέλη, όπως βελτίωση της πεπτικότητας και της εκμετάλλευσης της τροφής (Fuller, 1989; Irianto & Austin, 2002; Kesarcodi-Watson et al., 2008).

Συχνά αναφέρεται ότι ένα προβιοτικό πρέπει να είναι προσκολλημένο και να αποικεί στο γαστρεντερικό σωλήνα, να αναπαράγεται σε υψηλούς αριθμούς, να παράγει αντιμικροβιακές ουσίες, καθώς επίσης και να είναι ανθεκτικό στο όξινο περιβάλλον του γαστρεντερικού σωλήνα. Εκτός από την αντίληψη ότι ένα προβιοτικό πρέπει να γίνεται μόνιμο μέλος της εντερικής χλωρίδας, έχει αποδειχθεί ότι και τα παροδικά (διερχόμενα) βακτήρια μπορεί να ασκήσουν ευεργετική επίδραση. Τα προβιοτικά πολλαπλών στελεχών και ειδών έχουν αποδείξει ότι είναι δυνατόν να παρέχουν βακτήρια τα οποία παρέχουν συμπληρωματικούς τρόπους δράσης για την ενίσχυση της προστασίας (Kesarcodi-Watson et al., 2008).

Σύμφωνα με τους Balcàzar et al. (2006), οι παράγοντες που επηρεάζουν τον αποικισμό των μικροοργανισμών, μπορούν να ομαδοποιηθούν ως εξής:

1. Παράγοντες που σχετίζονται με τον ξενιστή.
Τέτοιοι είναι η θερμοκρασία σώματος, τα ένζυμα, τα επίπεδα του οξειδοαναγωγικού δυναμικού και η γενετική αντίσταση. Με αυτόν τον τρόπο, κάποια βακτήρια μπορεί να εισέλθουν μέσω του στόματος και να εγκατασταθούν ως τμήμα της υπάρχουσας μικροχλωρίδας. Κάποια όμως μπορεί να καταστραφούν κατά τη διαδικασία της πέψης ή να διέλθουν του εντέρου και να εξουδετερωθούν μέσω των κοπράνων.
2. Παράγοντες που σχετίζονται με τους μικροοργανισμούς.
Τέτοιοι παράγοντες είναι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ ανταγωνιστικών μικροοργανισμών, οι πρωτεάσες, βακτηριοκτόνες ουσίες, λυσοζύμες, το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), ο σχηματισμός αμμωνίας, το διακετύλιο και η αλλαγή των τιμών του pH με την παραγωγή οργανικών οξέων. Για παράδειγμα, τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι γνωστό ότι παράγουν ενώσεις, μεταξύ των οποίων και βακτηριοκτόνα, τα οποία αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών.

1.4.2.2 Μηχανισμοί δράσης

Η παρεμπόδιση από τα προβιοτικά, της δημιουργίας αποικιών και/ή η απευθείας ανασταλτική δράση κατά των παθογόνων είναι σημαντικοί παράγοντες μείωσης της συχνότητας και της διάρκειας των ασθενειών. Τα προβιοτικά στελέχη έχουν αποδειχθεί ότι αναστέλλουν τη δράση παθογόνων βακτηρίων *in vitro* και *in vivo*, μέσω πολλών διαφορετικών μηχανισμών. Την τελευταία δεκαετία έχουν δημοσιευτεί αρκετές μελέτες σχετικές με τα προβιοτικά. Ωστόσο, οι ηθικοί και μεθοδολογικοί περιορισμοί των μελετών σε ζώα καθιστούν δύσκολη την κατανόηση των μηχανισμών δράσης των προβιοτικών, και μόνο μερικές εξηγήσεις είναι διαθέσιμες (Balcàzar et al., 2006).

Τα πιθανά οφέλη από τη χορήγηση προβιοτικών είναι τα εξής (Balcàzar et al., 2006):

1. Ανταγωνιστικός αποκλεισμός των παθογόνων βακτηρίων

Ο βακτηριακός ανταγωνισμός είναι ένα σύννηθες φαινόμενο στη φύση. Ως εκ τούτου, οι μικροβιακές αλληλεπιδράσεις παίζουν σημαντικό ρόλο στην ισορροπία του ανταγωνισμού μεταξύ των επωφελών και των δυνητικά παθογόνων μικροοργανισμών. Ωστόσο, η σύνθεση των μικροβιακών κοινοτήτων μπορεί να μεταβληθεί από τις ζωοτεχνικές πρακτικές και τις περιβαλλοντικές συνθήκες, με στόχο την ενθάρρυνση της διάδοσης επιλεγμένων βακτηριακών ειδών. Είναι γνωστό ότι η μικροχλωρίδα στο γαστρεντερικό σωλήνα των υδρόβιων ζώων μπορεί να τροποποιηθεί κατάλληλα, για παράδειγμα με την κατάποση διαφόρων άλλων μικροοργανισμών. Επομένως, οι μικροβιακοί χειρισμοί αποτελούν ένα βιώσιμο μέσο για τη μείωση ή την εξάλειψη της συχνότητας εμφάνισης των ευκαιριακών παθογόνων (Balcàzar et al., 2006).

2. Παροχή θρεπτικών συστατικών και ενζυμική συνεισφορά στην πέψη

Ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι οι μικροοργανισμοί έχουν ευεργετική επίδραση στην πεπτική λειτουργία των υδρόβιων ζώων. Στους ιχθύες, έχει αναφερθεί ότι τα *Bacteroides* sp. και *Clostridium* sp. έχουν συμβάλει στη διατροφή του ξενιστή, ιδίως με την παροχή λιπαρών οξέων και βιταμινών. Ορισμένοι μικροοργανισμοί, όπως τα *Agrobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Brevibacterium* sp., *Microbacterium* sp. και *Staphylococcus* sp. μπορούν να συνεισφέρουν στις διατροφικές διεργασίες του ιχθύος *Salvelinus alpinus*. Επιπλέον, ορισμένα βακτήρια συμμετέχουν στις διαδικασίες πέψης των δίθυρων μαλακίων με την παραγωγή εξωκυτταρικών ενζύμων, όπως πρωτεάσες, λιπάσες, καθώς επίσης και με την παροχή διαφόρων θρεπτικών συστατικών. Παρόμοιες παρατηρήσεις έχουν αναφερθεί για τη μικροβιακή χλωρίδα των ενηλίκων ατόμων γαρίδας της οικογένειας *Penaeidae*, *Penaeus chinensis*, όπου παράγεται συμπλήρωμα των πεπτικών ενζύμων και συντίθενται ενώσεις αφομοιώσιμες από το ζώο. Η μικροχλωρίδα μπορεί να χρησιμεύσει ως συμπληρωματική πηγή τροφής και μικροβιακής δραστηριότητας στην πεπτική οδό, ενώ μπορεί να αποτελεί μια πηγή βιταμινών ή απαραίτητων αμινοξέων (Balcàzar et al., 2006).

3. Επίδραση στην ποιότητα του νερού

Η βελτίωση της ποιότητας του νερού έχει κυρίως συσχετιστεί με το *Bacillus* sp. Το σκεπτικό είναι ότι τα Gram⁺ βακτήρια είναι καλύτεροι μετατροπείς της οργανικής ύλης σε CO₂, σε σύγκριση με τα Gram⁻ βακτήρια. Κατά τη διάρκεια του παραγωγικού κύκλου, τα υψηλά επίπεδα των Gram⁺ βακτηρίων μπορεί να ελαχιστοποιήσουν τη συγκέντρωση του διαλυμένου και του αιωρούμενου οργανικού άνθρακα. Έχει αναφερθεί ότι η χρήση του γένους *Bacillus*, βελτιώνει την ποιότητα του νερού, την επιβίωση και το ρυθμό ανάπτυξης, ενώ επίσης αυξάνει την υγιεινή κατάσταση των νεαρών ατόμων της γαρίδας *Penaeus monodon* και μειώνει τα παθογόνα *Vibrio* (Δονάκια) (Balcàzar et al., 2006).

4. Βελτίωση της ανοσολογικής αντίδρασης ενάντια σε παθογόνους μικροοργανισμούς

Η μη ειδική (έμφυτη) ανοσία είναι δυνατόν να διεγερθεί με τη χρήση προβιοτικών. Έχει αποδειχθεί ότι η χορήγηση του βακτηρίου *Clostridium butyricum* από το στόμα, στην ιριδίζουσα πέστροφα, *Oncorhynchus mykiss*, βελτίωσε την αντίσταση στη δονακίωση, αυξάνοντας τη φαγοκυτταρική δραστηριότητα των λευκοκυττάρων (Irianto and Austin, 2002; Balcàzar et al., 2006). Οι Balcàzar et al., (2006) ανέφεραν ότι, η χρήση του γένους *Bacillus* (Στέλεχος S11) παρέχει προστασία από τις ασθένειες, με την ενεργοποίηση τόσο της κυτταρικής, όσο και της χυμικής ανοσίας στις γαρίδες τίγρης (*P. monodon*). Η χορήγηση μείγματος στελεχών βακτηρίων (*Bacillus* και *Vibrio* sp.) έχει αποδειχθεί ότι επιδρά θετικά στην ανάπτυξη και την επιβίωση των νεαρών ατόμων λευκής γαρίδας, ενώ εμφανίζει και προστατευτική επίδραση έναντι των παθογόνων *Vibrio harveyi* και του ιού του συνδρόμου των λευκών κηλίδων. Η προστασία αυτή οφείλεται στη διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος, αυξάνοντας την φαγοκυττάρωση και την αντιβακτηριακή δράση. Επιπλέον, η χορήγηση του *Lactobacillus rhamnosus* (στέλεχος ATCC 53103) στο επίπεδο των 10⁵ CFU g⁻¹ τροφής, βελτίωσε την εκκίνηση των οξειδωτικών διεργασιών στην ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) (Balcàzar et al., 2006).

5. Αντιϊκές ιδιότητες

Μερικά βακτήρια που χρησιμοποιούνται ως υποψήφια προβιοτικά εμφανίζουν αντιϊκά αποτελέσματα. Αν και ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο αυτά τα βακτήρια δρουν δεν είναι γνωστός, οι εργαστηριακές εξετάσεις δείχνουν ότι η αδρανοποίηση των ιών μπορεί να προκύψει από χημικές και βιολογικές ουσίες, όπως είναι τα εκχυλίσματα θαλάσσιων φυκών και η εξωκυτταρική ύλη των βακτηρίων. Έχει αναφερθεί ότι τα στελέχη των *Pseudomonas* sp., *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp., και ομάδες κορυνόμορφων που έχουν απομονωθεί από ιχθυογεννητικού σταθμούς ειδών της οικογένειας Salmonidae, έδειξαν δράση κατά του ιού της λοιμώδους αιμοποιητικής νέκρωσης (IHNV) με περισσότερο

από 50% μείωση της ιογενούς πλάκας (Balcàzar et al., 2006). Οι Girones et al. (1989) ανέφεραν ότι ένα θαλάσσιο βακτήριο, δοκιμαστικά κατατασσόμενο στο γένος *Moraxella*, έδειξε αντιϊκή ικανότητα, με υψηλή εξειδίκευση στον ιό της πολιομυελίτιδας (Balcàzar et al., 2006). Δύο στελέχη του *Vibrio* sp., τα Nica 1030 και Nica 1031, τα οποία απομονώθηκαν από ιχθυογεννητικό σταθμό μαύρης γαρίδας-τίγρη εμφάνισαν αντιϊκή δραστηριότητα κατά του ιού της λοιμώδους αιμοποιητικής νέκρωσης (IHNV) και του ιού του *Oncorhynchus masou* (*Oncorhynchus masou* virus – OMV), με ποσοστά μείωσης της ιογενούς πλάκας μεταξύ 62 και 99%, αντίστοιχα (Balcàzar et al., 2006).

1.4.2.3 Κριτήρια επιλογής των κατάλληλων προβιοτικών και τρόποι χορήγησης

Ένα προβιοτικό πρέπει να διαθέτει συγκεκριμένες ιδιότητες και οι οποίες προτάθηκαν με σκοπό την παροχή κατευθυντήριων γραμμών για τη σωστή δημιουργία νέων, αποτελεσματικών και ασφαλών προϊόντων (Balcàzar et al., 2006). Σύμφωνα με τις απαιτούμενες ιδιότητες, ένα προβιοτικό (Merrifield et al., 2010):

1. δεν πρέπει να είναι επιβλαβές για τον επιθυμητό ξενιστή και κατ' επέκταση για τον καταναλωτή (άνθρωποι)
2. πρέπει να μην περιέχουν γονίδια λοιμογόνου ανθεκτικότητας ή γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά
3. πρέπει να είναι ανθεκτικό στα χολικά άλατα και στο χαμηλό pH
4. πρέπει να προσκολλάται και/ή να αναπτύσσεται ικανοποιητικά εντός του εντερικού επιθηλίου
5. πρέπει να είναι ικανό να αποικήσει στην επιφάνεια του εντερικού επιθηλίου
6. πρέπει να έχει καταχωρηθεί για χρήση ως πρόσθετο τροφίμων
7. πρέπει να εμφανίζει ανταγωνιστικά χαρακτηριστικά ανάπτυξης (μικρή περίοδο υστέρησης, μικρή περίοδο διπλασιασμού, κλπ)
8. πρέπει να επιδεικνύει ανταγωνιστικές ιδιότητες ενάντια σε ένα ή περισσότερα σημαντικά παθογόνα
9. πρέπει να παράγει, ανάλογα με το επιθυμητό αποτέλεσμα, εξωκυτταρικά πεπτικά ένζυμα ή βιταμίνες
10. πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικό της μικροχλωρίδας του ξενιστή ή του περιβάλλοντος εκτροφής
11. πρέπει να διατηρείται η ζωτικότητά του υπό τις συνήθεις συνθήκες αποθήκευσης και να επιβιώνει των βιομηχανικών διαδικασιών

Ο κατάλογος των εν λόγω προϋποθέσεων σκοπό έχει να δοθεί η δυνατότητα σταδιακής εξέτασης των πιθανών προβιοτικών προς χρήση. Ωστόσο, το σύνολο πολλών από αυτές τις ιδιότητες, θα μπορούσε να δοκιμαστεί άμεσα με *in vivo* πειράματα στο ζώο-στόχο. Στην ουσία, αυτές οι ιδιότητες περιγράφουν μια απλή ερώτηση, «μπορεί το εξεταζόμενο προβιοτικό να παράσχει ένα συνολικό όφελος για την υγεία, όταν χορηγηθεί στο ζώο;» (Kesarcodi-Watson et al., 2008).

Τα προβιοτικά μπορούν να χορηγηθούν στον ξενιστή ή να προστεθούν στο υδάτινο περιβάλλον με διάφορους τρόπους. Οι κυριότεροι μέθοδοι χορήγησης ή προσθήκης είναι οι παρακάτω (Balcàzar et al., 2006):

1. Προσθήκη μέσω ζωντανής τροφής.
2. Εμβάπτιση.
3. Προσθήκη στο νερό εκτροφής.
4. Προσθήκη στο τεχνητό σιτηρέσιο.

Για παράδειγμα, έχει αναφερθεί ότι η καθημερινοί εμβολιασμοί των δεξαμενών προνυμφών λευκής γαρίδας, *L. vannamei*, με προβιοτικά βακτήρια σε πυκνότητα 10^5 CFU/ml εμπόδισε την αποίκιση από παθογόνα βακτήρια κατά τη διάρκεια των προνυμφικών σταδίων εκτροφής (Balcàzar et al., 2006).

1.4.2.4 Τα οξυγαλακτικά βακτήρια και η χρήση τους ως προβιοτικά στις υδατοκαλλιέργειες

Ως οξυγαλακτικά βακτήρια χαρακτηρίζονται τα Gram⁺, συνήθως μη κινητικά και μη σποριογόνα βακτήρια, τα οποία παράγουν γαλακτικό οξύ ως το κυριότερο ή το μοναδικό προϊόν του μεταβολισμού τους. Μέλη αυτής της ομάδας αποτελούν τόσο ραβδόμορφα (*Lactobacillus* και *Carnobacterium* sp.), όσο και κοκκιομορφα (στρεπτόκοκκοι) βακτήρια. Γενικά είναι αρνητικά καταλάσης και συνήθως δεν έχουν κυτταρόχρωμα. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια, από διατροφική άποψη, είναι απαιτητικά, χρειάζονται υδρογονάνθρακες, αμινοξέα, πεπτίδια, παράγωγα νουκλεϊνικών οξέων και βιταμίνες (Ringø & Gatesoupe, 1998). Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται οι βασικές διαφορικές ιδιότητες των οξυγαλακτικών βακτηρίων.

Πίνακας 1.3.1α: Οι βασικές διαφορικές ιδιότητες των οξυγαλακτικών βακτηρίων

Γένος	Είδος ζύμωσης	Μορφή κυττάρων	Διάταξη κυττάρων
<i>Streptococcus</i>	Ομογαλακτικά	Κόκκοι	Ζεύγος, αλυσίδα
<i>Leuconostoc</i>	Ετερογαλακτικά	Κόκκοι	Ζεύγος, αλυσίδα
<i>Pediococcus</i>	Ομογαλακτικά	Κόκκοι	Τετράδα, διάσπαρτα
<i>Aerococcus</i>	Ομογαλακτικά	Κόκκοι	Τετράδα, διάσπαρτα
<i>Enterococcus</i>	Ομογαλακτικά	Κόκκοι	Ζεύγος, αλυσίδα
<i>Vagococcus</i>	Ομογαλακτικά	Κόκκοι ή ράβδοι	Ζεύγος, αλυσίδα
<i>Lactobacillus</i>	Ομο- ή ετερογαλακτικά	Ράβδοι	Ζεύγος, αλυσίδα
<i>Carnobacterium</i>	Ετερογαλακτικά	Ράβδοι	Ζεύγος, αλυσίδα

Πηγή: Ringø & Gatesoupe, 1998

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια συνήθως απαντώνται στην γαστρεντερική οδό των περισσότερων ομοιόθερων οργανισμών, όπως οι ποντικοί, οι χοίροι, οι αρουραίοι, τα πουλικά και οι άνθρωποι, στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα αλιευτικά προϊόντα και στην επιφάνεια ορισμένων φυτών. Γενικά χρησιμοποιούνται στην

παραγωγή και τη συντήρηση των τροφίμων, όπως το τυρί, το ξινολάχανο, το κρέας, το γιαούρτι και το ενσίρωμα (Ringø & Gatesoupe, 1998).

Η παρουσία των οξυγαλακτικών βακτηρίων στη γαστρεντερική οδό των ιχθύων έχει ερευνηθεί σε μεγάλο βαθμό, ενώ έχει διερευνηθεί αρκετά και η χρήση τους ως προβιοτικά στις υδατοκαλλιέργειες. Τα κυριότερα οξυγαλακτικά βακτήρια, στα οποία έχει διαπιστωθεί η παρουσία στη γαστρεντερική οδό και έχει διερευνηθεί η χρήση τους ως προβιοτικά στις υδατοκαλλιέργειες, ανήκουν στα είδη *Lactobacillus* και *Carnobacterium* (Ringø & Gatesoupe, 1998; Hansen & Olafsen 1999; Irianto & Austin, 2002; Ringø et al., 2006). Λεπτομέρειες για τα κυριότερα οξυγαλακτικά βακτήρια, τα οποία θεωρείται πως μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προβιοτικά στις υδατοκαλλιέργειες, παρατίθενται στον Πίνακα 1.3.1β.

Πίνακα 1.3.1β: Οξυγαλακτικά βακτήρια για πιθανή χρήση ως προβιοτικά στις υδατοκαλλιέργειες (Irianto & Austin, 2002)

Είδος προβιοτικού	Πηγή	Εφαρμογή	Μέθοδος εφαρμογής
<i>Carnobacterium</i> sp. BA 211	Γαστρεντερικός σωλήνας <i>Oncorhynchus mykiss</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Πρόμιγμα με την τροφή
<i>Carnobacterium inhibens</i> K1	Εντερικός σωλήνας σολομού του Ατλαντικού	Salmonidae	Πρόμιγμα με την τροφή
<i>Carnobacterium divergens</i>	Εντερικός σωλήνας σολομού του Ατλαντικού	<i>Gadus morhua</i>	Τροφή
<i>Enterococcus faecium</i> SF 68	Προϊόν εμπορίου	<i>Anguilla anguilla</i>	Τροφή
<i>Lactobacillus</i> sp.	Εντερικός σωλήνας τιλάπιας	<i>Oreochromis niloticus</i>	Πρόμιγμα με την τροφή
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Ατελή ιχθύδια καλκακιού	<i>Scophthalmus maximus</i>	Έμμεσα μέσω τροχόζωων
<i>Lactobacillus lactis</i> AR21	Μαζική καλλιέργεια τροχόζωων	<i>Brachionus plicatilis</i>	Πρόσθετο τροφής
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Ατελή ιχθύδια καλκακιού	<i>Scophthalmus maximus</i>	Έμμεσα μέσω τροχόζωων
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC53103	Συλλογή διάφορων καλλιιεργειών	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Μίγμα με την τροφή
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Ατελή ιχθύδια καλκακιού	<i>Scophthalmus maximus</i>	Έμμεσα μέσω τροχόζωων
Οξυγαλακτικά βακτήρια (ανώνυμα)	Σολομός του Ατλαντικού	<i>Salmo salar</i>	Πρόμιγμα με την τροφή
Μίγμα καλλιέργειας, κυρίως <i>Bacillus</i> sp.	Προϊόν εμπορίου	<i>Brachionus plicatilis</i>	Προσθήκη στο νερό

1.4.2.5 Η έρευνα για την επιλογή και χρήση των κατάλληλων προβιοτικών για τις υδατοκαλλιέργειες

Τα περισσότερα προβιοτικά που προτείνονται ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου στις υδατοκαλλιέργειες ανήκουν στα οξυγαλακτικά βακτήρια (*Lactobacillus* και *Carnobacterium* sp.), στο γένος *Vibrio* (*B. alginolyticus*), στο γένος *Bacillus*, ή στο γένος *Pseudomonas*, αν και άλλα γένη ή είδη, έχουν επίσης αναφερθεί (*Aeromonas* και *Flavobacterium*) (Balcàzar et al., 2006).

Θα πρέπει να υπογραμμιστεί ότι, εξ ορισμού, ένα προβιοτικό το μόνο που χρειάζεται είναι να ωφελεί τον ξενιστή, και αυτή η ωφέλεια θα μπορούσε να είναι, είτε θρεπτική, είτε αλλαγή στο περιβάλλον διαβίωσής του. Ωστόσο, ο έλεγχος μέχρι

σήμερα έχει επικεντρωθεί στην αναζήτηση για προβιοτικά δραστικά ενάντια σε παθογόνα. Κι αυτό ίσως λόγω των προβλημάτων που μπορούν να προκαλέσουν τα διάφορα παθογόνα βακτήρια στο υδάτινο περιβάλλον της εκτροφής (Kesarcodi-Watson et al., 2008).

Στον πίνακα Πίνακα 1.3.2 παρατίθενται συγκεντρωτικά ορισμένες από τις υπάρχουσες έρευνες σχετικά με τα προβιοτικά υδατοκαλλιέργειας.

Πίνακας 1.3.2: Ορισμένες έρευνες για τα προβιοτικά στις υδατοκαλλιέργειες

Βιβλιογραφική αναφορά	Χειρισμοί	Αριθμός ιχθύων (n) Ηλικία πληθυσμού (Διάρκεια πειράματος)	Είδος ιχθύος	Παράμετροι	Αποτελέσματα
Abdel – Tawwab et al 2008	6 διατροφικοί χειρισμοί με 3 επαναλήψεις με τη χρήση μαγιάς αρτοποιίας που περιέχει <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (B.F.P. UK) σε ποσότητες 0 (Μάρτυρας), 0.25, 0.50, 1.0, 2.0, και 5.0 g/kg τροφής	<ul style="list-style-type: none"> • n=450 • Μέσο βάρος 0,33g • Διάρκεια 12 εβδομάδες • Πυκνότητα πληθυσμού 25 ιχθύδια/δεξαμενή(140lit) • 18 δεξαμενές 	Τιλάπια Νείλου, <i>Oreochromis niloticus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Χημικές αναλύσεις τροφής και ψαριών • Αναλύσεις ποιότητας νερού • Δείκτες ανάπτυξης • Φυσιολογικές αναλύσεις • Δοκιμή αντοχής σε παθογόνα (με <i>Aeromonas hydrophilla</i>) • Βακτηριοκτόνος δράση 	<ul style="list-style-type: none"> • Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR), το τελικό βάρος και η αύξηση βάρους, αυξήθηκαν σημαντικά (P<0,05) με την αύξηση του επιπέδου της μαγιάς στη διατροφή. Η βέλτιστη ανάπτυξη επιτεύχθηκε στο 1,0 – 5,0 g μαγιάς/kg τροφής • Υψηλότερη κατανάλωση τροφής έδειξαν οι ιχθύες που διατράφηκαν με 1,0 g/kg • Ο χαμηλότερος FCR επιτεύχθηκε στα 5,0 g/kg και ο υψηλότερος στο μάρτυρα • Η αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών βελτιώθηκε με τον εμπλουτισμό με μαγιά • Στο 1,0 – 5,0g μαγιάς/kg τροφής εμφανίστηκαν τα υψηλότερα επίπεδα ρυθμού απόδοσης πρωτεϊνών (PER), αξιοποίησης πρωτεϊνών (PU) & αξιοποίησης ενέργειας (EU) • Η χρήση μαγιάς βελτιώνει την σύσταση του σώματος σε πρωτεΐνες (P>0,05) • Οι ιχθύες στο 2,0 – 5,0g/kg παρουσίασαν σημαντικά (P<0,05) χαμηλότερα επίπεδα λιπιδίων • Η διατροφή με 1,0 – 5,0g μαγιάς/kg τροφής έδειξε υψηλότερες τιμές RBC, Hb & Ht (P<0,05) • Η αύξηση του επιπέδου της μαγιάς στη διατροφή προκάλεσε την πτώση (P<0.05) του ποσοστού θνησιμότητας, κατά τη δοκιμή με <i>Aeromonas hydrophilla</i> και τη μείωση του αριθμού των βακτηρίων μετά από επώαση
Brunt et al. 2008	<ul style="list-style-type: none"> • 2 ομάδες χειρισμών: <i>Aeromonas sobria</i> (GC2) 10⁸ κύτταρα/g τροφής <i>Bacillus sp.</i> (JB – 1) 10⁸ κύτταρα/g τροφής • Πριν από τη χρήση των προβιοτικών, οι ιχθύες διατράφηκαν με ιχθυοτροφή εμπορίου, έγινε αιμοληψία και τα αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρας 	<ul style="list-style-type: none"> • Διάρκεια 14 ημέρες • Μέσο βάρος 25g 	Ιριδίζουσα πέστροφα, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Αιματολογικές αναλύσεις • Πρωτεϊνικές αναλύσεις (Ταυτοποίηση των πρωτεϊνών του ορού) 	<ul style="list-style-type: none"> • Οι πρωτεΐνες Pt1, Pt2 & Pt3 έδειξαν στατιστικά σημαντική αύξηση με τη χρήση του GC2 • Οι πρωτεΐνες Ptc & Ptd έδειξαν στατιστικά σημαντική αύξηση με τη χρήση του JB – 1 • Οι Pt1, Pt2 & Pt3 ταυτοποιήθηκαν αντίστοιχα ως αφυδρογονάση του NADH, δυστροφίνη και mKIAA0350 • Οι Ptc & Ptd ταυτοποιήθηκαν αντίστοιχα ως τρανσφερίνη και EnsangP0000001

Carnevalli et. al. 2004	<p>3 πειραματικές ομάδες (κάθε μια εις διπλούν):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ομάδα Μάρτυρας. Τροφή όμοια με τις ομάδες A & B, όμως χωρίς τη χρήση του μίγματος προβιοτικών • Ομάδα Α. Διατροφή με μίγμα των 2 προβιοτικών στελεχών από την ημέρα 5 – 90 • Ομάδα Β. Διατροφή με μίγμα των 2 προβιοτικών στελεχών από την ημέρα 27 – 90 <p>Το προβιοτικό μίγμα αποτελείται από <i>Lactobacillus fructivorans</i> 80% & <i>L. plantarum</i> 20% (w/w), σε συγκέντρωση 10^{10} CFU/g</p>	<ul style="list-style-type: none"> • $n=25.000$ λεκιθοφόρα ιχθύδια • διάρκεια 90 ημέρες • Ομάδα Α. Παροχή προβιοτικών: 5 – 26 ημέρα με Rotifers 27 – 56 ημέρα με Artemia 57 – 90 ημέρα με pellets • Ομάδα Β. Παροχή προβιοτικών: 27 – 56 ημέρα με Artemia 57 – 90 ημέρα με pellets 	Τσιπούρα, <i>Sparus aurata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ανάλυση ενδογενούς μικροχλωρίδας (έλεγχος αποίκισης των προβιοτικών στελεχών στο έντερο) 	<ul style="list-style-type: none"> • Μετά την 39^η ημέρα, το ποσοστό θνησιμότητας στις ομάδες που χορηγήθηκαν τα προβιοτικά ήταν σημαντικά ($P<0,05$) χαμηλότερο από την ομάδα μάρτυρα • Την 66^η ημέρα τα προβιοτικά στελέχη εγκαταστάθηκαν στον εντερικό σωλήνα των ιχθυδίων. Το ίδιο παρατηρήθηκε και την 90^η ημέρα • Στην ομάδα Α η διατροφή προκάλεσε την εγκατάσταση του <i>L. plantarum</i> στο έντερο, ενώ το αυτόχθονο <i>L. fructivorans</i> εξέλειψε (35^η ημέρα), καθώς και σε μικρότερο ποσοστό στην Β • Την 66^η ημέρα, το <i>L. fructivorans</i> ήταν παρών και στις 2 ομάδες, ενώ το <i>L. plantarum</i> ήταν παρών μόνο στην ομάδα Α (σημαντικά χαμηλότερα από την 35^η ημέρα) • Την 90^η ημέρα στις 2 ομάδες υπήρχε μόνο το <i>L. fructivorans</i>, το οποίο αύξησε σημαντικά ($P<0,05$) την παρουσία του στο έντερο των ιχθυδίων
-------------------------	--	---	-----------------------------------	--	---

Carnevalli et. al. 2006	<p>3 ομάδες χειρισμών (πείραμα εις διπλούν):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Μάρτυρας (Control Group) Rotifers από 11 – 29 ημέρα μετά την εκκόλαψη. Artemia από 30 – 45 και Artemia + Ξηρά τροφή από 46 – 70 ημέρα • Ομάδα Α. Rotifers + προβιοτικά από 11 – 29 ημέρα μετά την εκκόλαψη. Artemia + προβιοτικά από 30 – 45 και Artemia + Ξηρά τροφή + προβιοτικά από 46 – 70 • Ομάδα Β. Rotifers από 11 – 29 ημέρα μετά την εκκόλαψη. Artemia + προβιοτικά από 30 – 45 και Artemia + Ξηρά τροφή + προβιοτικά από 46 – 70 <p>Προβιοτικό στέλεχος: <i>Lactobacillus delbrueckii delbrueckii</i> σε συγκέντρωση 10^5 βακτήρια/ml</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 40.000 λεκιθοφόρα ιχθύδια σε δεξαμενές των 400 lit • Διάρκεια πειράματος 70 ημέρες 	<p>Λαβράκι, <i>Dicentrarchus labrax</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Φυσικοχημικές παράμετροι νερού • Βακτήρια – ταυτοποίηση με PCR (<i>Lactobacillus sp.</i>) • Συγκέντρωση κορτιζόλης (ανάλυση με εκχύλιση του σώματος) • Δείκτες ανάπτυξης 	<ul style="list-style-type: none"> • Στις ομάδες Α και Β το προβιοτικό στέλεχος εγκαταστάθηκε στον εντερικό σωλήνα • <u>Επίπεδα κορτιζόλης</u>: χαμηλότερα στις ομάδες Α και Β, αλλά σημαντικά χαμηλότερα στην ομάδα Α • <u>Σωματικό Βάρος</u>: οι ομάδες Α & Β εμφάνισαν μεγαλύτερη αύξηση βάρους από το μάρτυρα, με μεγαλύτερη αύξηση στην Α από τη Β • <u>IGF 1</u>: Υψηλότερος στις ομάδες Α & Β από ότι στο μάρτυρα (στην Α υψηλότερος από την Β)
El – Dakar et al 2007	<p>5 διατροφικοί χειρισμοί με 3 επαναλήψεις (σε ιχθυοτροφία του εμπορίου):</p> <ul style="list-style-type: none"> • <u>Ομάδα 1 (Μάρτυρας)</u>. Χωρίς προβιοτικό • <u>Ομάδα 2</u>. Biogen® 1 g/kg τροφής • <u>Ομάδα 3</u>. Biogen® 2 g/kg τροφής • <u>Ομάδα 4</u>. Biogen® 3 g/kg τροφής • <u>Ομάδα 5</u>. Biogen® 4 g/kg τροφής <p>Το Biogen® περιέχει <i>Bacillus subtilis</i> (6×10^7 κύτταρα/g)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • $n=150$ νεαρά ιχθύδια • Διάρκεια 98 ημέρες • Μέσο βάρος 10,3g • 15 δεξαμενές 	<p>Λαγόψαρο, <i>Siganus rivulatus</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Δείκτες ανάπτυξης • Ποσοστό επιβίωσης • Ανάλυση κόστους 	<ul style="list-style-type: none"> • Ο μάρτυρας έδειξε σημαντικά χαμηλότερη ανάπτυξη και αξιοποίηση της τροφής, σε σχέση με τις ομάδες των προβιοτικών • Η χρήση των προβιοτικών μειώνει σημαντικά το κόστος διατροφής ανά μονάδα ανάπτυξης • Μεταξύ των ομάδων των προβιοτικών δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην ανάπτυξη και την αξιοποίηση της τροφής

El-Haroun et. al. 2006	<p>2 πειραματικές ομάδες, με 5 διατροφικούς χειρισμούς (σε ιχθυοτροφή του εμπορίου):</p> <ul style="list-style-type: none"> • <u>Ομάδα 1 (Μάρτυρας).</u> Χωρίς προβιοτικό • <u>Ομάδα 2.</u> Biogen® 0,5% (3X10⁷/g τροφής) • <u>Ομάδα 3.</u> Biogen® 1,5% (6X10⁷/g) • <u>Ομάδα 4.</u> Biogen® 2,0% (9X10⁷/g) • <u>Ομάδα 5.</u> Biogen® 2,5% (12X10⁷/g) Το Biogen® περιέχει <i>Bacillus subtilis</i> (όχι λιγότερο από 6X10⁷/g τροφής) 	<ul style="list-style-type: none"> • n=240 (22,96 – 26,40g) • Διάρκεια 120 ημέρες • οι ιχθύες χωρίστηκαν σε 10 ομάδες σε 10 τσιμεντένιες δεξαμενές (24 τιλάπιες ανά δεξαμενή) 	Τιλάπια Νείλου, <i>Oreochromis niloticus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Δείκτες ανάπτυξης (αύξηση βάρους, ειδικός ρυθμός ανάπτυξης – SGR) • Αξιοποίηση θρεπτικών συστατικών • Οικονομική αποδοτικότητα 	<ul style="list-style-type: none"> • Οι δείκτες ανάπτυξης εμφανίστηκαν σημαντικά υψηλότεροι (P<0,01) στις διατροφές με προβιοτικό, σε σχέση με το μάρτυρα • Η Ομάδα 2 είχε τα χαμηλότερα επίπεδα ολικών λιπιδίων και μικτού ενεργειακού περιεχομένου • Η παραγωγή και η οικονομική αποδοτικότητα ήταν υψηλότερα στις ομάδες που διατράφηκαν με Biogen®
Hidalgo et al 2006	<p>7 διατροφικές επεμβάσεις (με 3 επαναλήψεις η κάθε μία):</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Μάρτυρας 2. T0.5 <i>Bacillus toyoi</i> (Toyocerin) σε ποσότητα 0,5g/kg τροφής 3. T1 <i>Bacillus toyoi</i> σε ποσότητα 1,0g/kg τροφής 4. T2 <i>Bacillus toyoi</i> σε ποσότητα 2,0g/kg τροφής 5. E0.5 <i>Bacillus cereus</i> (Esporafeed) σε ποσότητα 0,5g/kg τροφής 6. E1 <i>Bacillus cereus</i> σε ποσότητα 1,0g/kg τροφής 7. E2 <i>Bacillus cereus</i> σε ποσότητα 2,0g/kg τροφής 	<ul style="list-style-type: none"> • n=1.050 • Μέσο βάρος 2,5 ± 0,1g • 21 γυάλινες δεξαμενές 180lit (50 άτομα/δεξαμενή) 	Συναγρίδα, <i>Dentex dentex</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Δείκτες ανάπτυξης • Αξιοποίηση τροφής • Επιβίωση 	<ul style="list-style-type: none"> • Οι τιμές του SGR των ιχθύων που έλαβαν τροφή με προβιοτικά παρουσίασαν αύξηση που κυμάνθηκε από 3% μέχρι 8,5% (εκτός της E2), συγκριτικά με το μάρτυρα, χωρίς να είναι στατιστικά σημαντική (P>0,05) • Οι τιμές του FCR των ιχθύων δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των χειρισμών (P>0,05)

Lara – Flores et al 2003	<ul style="list-style-type: none"> • Φωτοπερίοδος: 12h/12h φως/σκοτάδι • 5 ισοθερμιδικές τροφές: CON 40 (Μάρτυρας): πρωτεΐνες 40% ALL40: πρωτεΐνες 40% και μίγμα <i>Streptococcus faecium</i> & <i>Lactobacillus acidophilus</i> (ALL – LACTTM, AllTech) ALL27: πρωτεΐνες 27% και μίγμα <i>S. faecium</i> & <i>L. acidophilus</i> (ALL – LACTTM, AllTech) Y40: πρωτεΐνες 40% και προσθήκη μαγιάς, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (BioSafTM, SafAgri) Y27: πρωτεΐνες 27% και προσθήκη μαγιάς, <i>S. cerevisiae</i> (BioSafTM, SafAgri) 	<ul style="list-style-type: none"> • 40 αυτό – καθαριζόμενες πλαστικές δεξαμενές (20lit) • 2 πυκνότητες πληθυσμού: 20 ατελή ιχθύδια/δεξαμενή 10 ατελή ιχθύδια/δεξαμενή • Μέσο βάρος 152,3 mg • Διάρκεια: 9 εβδομάδες 	Τιλάπια Νείλου, <i>Oreochromis niloticus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Τα χαμηλά επίπεδα πρωτεϊνών και η υψηλή πυκνότητα πληθυσμού, ως παράγοντες stress • Δείκτες ανάπτυξης • Αξιοποίηση τροφής 	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Ρυθμός ανάπτυξης:</u> καλύτερος στην ομάδα με το σιτηρέσιο Y40 και πυκνότητα 10 ιχθύδια /δεξ. (Y40/10) • <u>Επιβίωση:</u> χαμηλότερη στους μάρτυρες (CON40/10 & CON40/20) • <u>Συντελεστής Εκμετάλλευσης Τροφής (FCR):</u> ο καλύτερος παρατηρήθηκε στις ομάδες Y40/20, Y40/10, Y27/10 και ALL27/10 • <u>Συντελεστής αξιοποίησης πρωτεϊνών (PER):</u> υψηλότερος στους χειρισμούς Y27/20 και All27/20
Nayak et al 2007	<ul style="list-style-type: none"> • 4 διατροφικοί χειρισμοί (εις διπλούν): Μάρτυρας. Ιχθυοτροφή εμπορίου Προβιοτικό. <i>Bacillus subtilis</i> 10⁸ CFU/g τροφής Βιταμίνη C. Της εταιρίας Hi- Media, 100 mg/kg τροφής Προβιοτικό + Βιταμίνη C Συνδυασμός των ίδιων περιεκτικότητων με παραπάνω 	<ul style="list-style-type: none"> • n=80 νεαρά ιχθύδια • Διάρκεια 60 ημέρες • Μέσο βάρος 60±0,19g 	Κυπρίνος Ινδίας, <i>Labeo rohita</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Φυσικοχημικές παράμετροι νερού • Αιματολογικές παράμετροι • Ανοσολογικές παράμετροι 	<ul style="list-style-type: none"> • Το περιεχόμενο του ορού σε ολική πρωτεΐνη & σφαιρίνες ήταν σημαντικά (P<0,05) υψηλότερο στην ομάδα που χορηγήθηκε προβιοτικό • Η αναπνευστική απόδοση (respiratory burst) των ουδετερόφιλων του αίματος ήταν σημαντικά υψηλότερη στην ομάδα της βιταμίνης C • Το επίπεδο των αντισωμάτων ήταν σημαντικά υψηλότερο στην ομάδα του προβιοτικού, ακολουθούμενο από την ομάδα της συνδυασμένης διατροφής • Η θνησιμότητα ήταν σημαντικά χαμηλότερη στις ομάδες με την εξής σειρά: προβιοτικό (25%)< βιταμίνη C (35%)< προβιοτικό + βιταμίνη C (40%)

Nikoskelainen et al 2001	<ul style="list-style-type: none"> • 3 πειραματικές ομάδες των 100 ατόμων κάθε μία και μία ομάδα μάρτυρα των 80 ατόμων • 2 διατροφικοί χειρισμοί με τη χρήση <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (ATCC 53103): - LAB10⁹, σε συγκέντρωση 10⁹ CFU/g τροφής - LAB10¹², σε συγκέντρωση 10¹² CFU/g τροφής 	<ul style="list-style-type: none"> • n=300 (+80 ομάδα ελέγχου) • Διάρκεια 51 ημέρες • Μέσο βάρος 32,2g 	Ιριδίζουσα πέστροφα, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Δοκιμή αντοχής στο <i>Aeromonas salmonicida</i> • Δείκτες ανάπτυξης • Αναλύσεις νερού εκτροφής 	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Δοκιμή αντοχής</u>: Σημαντικά χαμηλότερη θνησιμότητα (P<0,0001) παρατηρήθηκε στην ομάδα LAB10⁹ (18,9%), σε σχέση με το 52,6% του μάρτυρα. Επίσης, η θνησιμότητα των ψαριών της LAB10¹² ήταν σημαντικά μειωμένη (46,3%), συγκριτικά με το 52,6% του μάρτυρα. Όλες οι απώλειες προκλήθηκαν από το <i>Aeromonas salmonicida</i> • <u>Ρυθμός ανάπτυξης</u>: δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης μεταξύ των 3 ομάδων • <u>Ποιότητα νερού εκτροφής</u>: στις δεξαμενές του μάρτυρα δεν ανιχνεύτηκε παρουσία γαλακτοβάκκων. Υψηλά ποσά ανιχνεύθηκαν στις άλλες 2 ομάδες, ακόμα και 24 ώρες μετά την παροχή τροφής
Panigrahi et al. 2004	<p>3 ομάδες χειρισμών, με 3 επαναλήψεις η κάθε μια:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ομάδα Μάρτυρας Ιχθυοτροφή του εμπορίου • Προβιοτικό 10⁹ CFU/g τροφής • Προβιοτικό 10¹¹ CFU/g τροφής <p>Προβιοτικό: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> JCM 1136</p>	<ul style="list-style-type: none"> • n=135 νεαρά άτομα • Διάρκεια 30 ημέρες • Μέσο βάρος 75g 	Ιριδίζουσα πέστροφα, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ανοσολογική απάντηση • Μικροβιακή σύνθεση εντερικής χλωρίδας 	<ul style="list-style-type: none"> • Το προβιοτικό ανιχνεύτηκε στον εντερικό σωλήνα και όχι στο στόμαχο των ομάδων που διατράφηκαν με αυτό, η παρουσία του οποίου στο έντερο εξαρτάται από την περιεκτικότητα στην τροφή • Η φαγοκυτταρική δραστηριότητα αυξήθηκε σημαντικά στις ομάδες των προβιοτικών, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ των 2 προβιοτικών • Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος αυξήθηκε σημαντικά στην ομάδα με την υψηλή συγκέντρωση σε προβιοτικό • Η δραστηριότητα της λυσοζύμης αυξήθηκε σημαντικά στην ομάδα με την υψηλή συγκέντρωση σε προβιοτικό • Το επίπεδο της ανοσοσφαιρίνης του ορού εμφανίστηκε σημαντικά υψηλότερο στις ομάδες των προβιοτικών

Panigrahi et al. 2005	<p>3 ομάδες χειρισμών (3 επαναλήψεις η κάθε μια), με <i>Lactobacillus rhamnosus</i> JCM 1136 σε 3 μορφές:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Αδρανοποίηση με θερμότητα (heat – inactivated) • Ζωντανή μορφή (live – sprayed) • Ξήρανση με ψύξη (freeze – dried) 	<ul style="list-style-type: none"> • n=135 νεαρά άτομα • Διάρκεια 45 ημέρες, 30 διατροφή με προβιοτικά και στη συνέχεια 15 με την τροφή μάρτυρα (ιχθυοτροφή εμπορίου) • Μέσο βάρος 126g 	Ιριδίζουσα πέστροφα, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Μη ειδική ανοσολογική αντίδραση • Σύσταση μικροχλωρίδας εντέρου 	<ul style="list-style-type: none"> • Οι ζωντανές μορφές προάγουν καλύτερα την φαγοκυτταρική δραστηριότητα και την ενεργοποίηση του συμπληρώματος • Τα επίπεδα των ανοσοσφαιρινών του πλάσματος δείχνουν μια τάση αύξησης στις ζωντανές μορφές • Με τη διακοπή χορήγησης των οξυγαλακτικών βακτηρίων, σταματά και η παρουσία τους στον εντερικό σωλήνα
Picchiatti et al 2007	<ul style="list-style-type: none"> • 3 πειραματικές ομάδες (η κάθε μία εις διπλούν) • <u>MARTYPAΣ</u> (Control group) • <u>ΟΜΑΔΑ Α</u> <p>Μίγμα των 2 βακτηριακών στελεχών από 5^η μέχρι 26^η ημέρα από την εκκόλαψη, μέσω Rotifers, από 27^η μέχρι 56^η μέσω Artemia και από 57^η μέχρι 99^η μέσω pellets (ξηρά τροφή)</p> <ul style="list-style-type: none"> • <u>ΟΜΑΔΑ Β</u> <p>Το ίδιο μίγμα, από 27^η μέχρι 56^η μέσω Artemia και από 57^η μέχρι 99^η μέσω pellets (ξηρά τροφή)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Μίγμα βακτηριακών στελεχών: <i>Lactobacillus fructivorans</i> (AS17B) & <i>L. plantarum</i>, συγκέντρωσης 10¹⁰ CFU/g cell pellet, αναμεμιγμένα σε αναλογία 80% - 20% αντίστοιχα 	<ul style="list-style-type: none"> • n=150.000 λεκιθοφόρα ιχθύδια, 25.000 ανά χειρισμό • διάρκεια 99 ημέρες 	Τσιπούρα, <i>Sparus aurata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ιστολογικές αναλύσεις • Ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις 	<ul style="list-style-type: none"> • Την 28^η ημέρα, στον εντερικό λεμφικό ιστό εγκαταστάθηκαν λευκοκύτταρα του βλεννογόνου, χωρίς να υπάρχουν διαφορές μεταξύ των ομάδων • Την 99^η ημέρα, η πυκνότητα των Ig⁺ κυττάρων (+51%) και των ηωσινόφιλων κοκκιοκυττάρων (+284%) ήταν υψηλότερη (P<0,05) στην ΟΜΑΔΑ Α, σε σχέση με το MARTYPA • Επίσης, η ΟΜΑΔΑ Β είχε υψηλότερη πυκνότητα των Ig⁺ κυττάρων (+17%) και των ηωσινόφιλων κοκκιοκυττάρων (+130%), σε σχέση με το MARTYPA
Reyes-Becerril et al 2008	<ul style="list-style-type: none"> • 2 διατροφικοί χειρισμοί (2 επαναλήψεις): 1. Μάρτυρας Ιχθυοτροφή του εμπορίου 2. Διατροφή με προβιοτικό Ιχθυοτροφή εμπλουτισμένη με <i>Debaromyces hansenii</i> (στέλεχος CBS 8339) 1,1% (10⁶ CFU/g τροφής) 	<ul style="list-style-type: none"> • n=80 • Διάρκεια 4 εβδομάδες • Μέσο βάρος 80±7g • 4 δεξαμενές (20 άτομα/δεξαμενή) 	Τσιπούρα, <i>Sparus aurata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ανοσολογικές παράμετροι • Αντιοξειδωτικά ένζυμα 	<ul style="list-style-type: none"> • Η παροχή προβιοτικού προάγει σημαντικά την αναπνευστική έκρηξη και την υπεροξειδάση των λευκοκυττάρων την 4^η εβδομάδα • Η φαγοκυτταρική και η κυτταροτοξική δραστηριότητα αυξήθηκαν την 2^η εβδομάδα

Robertson et. al 2000	<p>- Προπειραματική περίοδος 14 ημερών - 3 επαναλήψεις με 2 διατροφικούς χειρισμούς:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Χωρίς τη χρήση προβιοτικών (Control). Ιχθυοτροφή του εμπορίου εμπλουτισμένη με ιχθυέλαιο • Διατροφή με προβιοτικά. Ιχθυοτροφή του εμπορίου εμπλουτισμένη με ιχθυέλαιο που περιέχει το προβιοτικό, <i>Carnobacterium</i> sp. στέλεχος K1. Δόση 5×10^7 κύτταρα/g τροφής 	<ul style="list-style-type: none"> • Ομάδες 200 ατελών ιχθυδίων (1 – 2g) και 50 νεαρών ιχθυδίων (15 – 20g) από κάθε είδος • Περίοδος εγκλιματισμού 7 ημερών και μετά παροχή τροφής κατά βούληση με τις πειραματικές τροφές (με ή χωρίς προβιοτικά) για 28 ημέρες 	<ul style="list-style-type: none"> • Σολομός Ατλαντικού, <i>Salmo salar</i> • Ιριδίζουσα πέστροφα, <i>Oncorhynchus mykiss</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Πιθανή βλαπτική επίδραση των προβιοτικών • Ικανότητα εγκατάστασης των προβιοτικών στον εντερικό σωλήνα των ιχθύων • Ανταγωνισμός με <i>Aeromonas salmonicida</i>, <i>Vibrio anguillarum</i>, <i>V. ordalii</i>, <i>V. ruckeri</i> • Πληθυσμός του <i>Carnobacterium</i> (colony counts) 	<ul style="list-style-type: none"> • Το <i>Carnobacterium</i> αναστέλλει τη δράση των <i>A. hydrophilla</i>, <i>A. Salmonicida</i>, <i>Flavobacterium psychrophilum</i>, <i>Photobacterium damsella</i> subspp. <i>piscicida</i>, <i>V. anguillarum</i>, <i>V. ordalii</i>, <i>S. milleri</i> • Το <i>Carnobacterium</i> δεν αναστέλλει τη δράση των <i>Debaryomyces hansenii</i>, <i>J. lividum</i>, <i>V. alginolyticus</i>, <i>V. harveyi</i>, <i>Yersinia ruckeri</i> • Χρόνος συντήρησης του προβιοτικού στην τροφή: >6 μήνες όταν αποθηκεύεται στους 4, 8 και 22° C, με τη μικρότερη μείωση στους 4° C • Χρόνος παραμονής του προβιοτικού στην πεπτική οδό: συνεχής αύξηση κατά τη διατροφή με προβιοτικά. Όταν διακοπεί η διατροφή με προβιοτικά, τότε το <i>Carnobacterium</i> είναι μη ανιχνεύσιμο μετά από 6 ημέρες • Η επιβίωση βελτιώθηκε μετά από 28 ημέρες, σε σχέση με το μάρτυρα (Control diet)
Rollo et al 2006	<p>3 πειραματικές ομάδες (κάθε μια εις διπλούν):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ομάδα Μάρτυρας • Ομάδα Α. Διατροφή με μίγμα των 2 προβιοτικών στελεχών από την ημέρα 5 – 47 • Ομάδα Β. Διατροφή με μίγμα των 2 προβιοτικών στελεχών από την ημέρα 27 – 47 <p>Το προβιοτικό μίγμα αποτελείται από <i>Lactobacillus fructivorans</i> 80% & <i>L. plantarum</i> 20% (w/w), σε συγκέντρωση 10^{10} CFU/g of cell pellet</p>	<ul style="list-style-type: none"> • $n=25.000$ λεκιθοφόρα ιχθύδια • διάρκεια 47 ημέρες • Ομάδα Α. Παροχή προβιοτικών: 5 – 26 ημέρα με Rotifers (Τροχόζωα) 27 – 47 ημέρα με <i>Artemia</i> • Ομάδα Β. Παροχή προβιοτικών: 27 – 47 ημέρα με <i>Artemia</i> 	<p>Τσιπούρα, <i>Sparus aurata</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Ανάλυση ενδογενούς μικροχλωρίδας • Πρόκληση stress με pH • Αναλύσεις του επιπέδου κορτιζόλης (με εκχύλιση του σώματος) 	<ul style="list-style-type: none"> • Την 35 ημέρα, οι αναλύσεις έδειξαν ότι τα στελέχη των <i>Lactobacillus</i> εγκαταστάθηκαν στον εντερικό σωλήνα των ψαριών που διατράφηκαν με το μίγμα των προβιοτικών, σε σχέση με το μάρτυρα • Πριν την εφαρμογή του stress, τα επίπεδα της κορτιζόλης ήταν σημαντικά χαμηλότερα στις ομάδες των προβιοτικών • Μετά την εφαρμογή του stress, τα επίπεδα της κορτιζόλης αυξήθηκαν σημαντικά σε όλες τις ομάδες, με την υψηλότερη συγκέντρωση στο μάρτυρα

Taoka et al 2006	<p>3 χειρισμοί με 3 επαναλήψεις:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <u>ΟΜΑΔΑ ΜΑΡΤΥΡΑΣ</u> Ιχθυοτροφή του εμπορίου και εκτροφή σε νερό χωρίς προβιοτικά • <u>ΟΜΑΔΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΜΕ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟ</u> Διατροφή με τροφή που περιέχει προβιοτικά (1%) και εκτροφή σε νερά χωρίς προβιοτικά • <u>ΟΜΑΔΑ ΠΑΡΟΧΗΣ ΜΕ ΤΟ ΝΕΡΟ</u> Διατροφή με την τροφή μάρτυρας και εκτροφή σε νερό με προβιοτικά <p><u>Σύσταση προβιοτικών:</u> Προβιοτικά του εμπορίου, τα οποία περιέχουν <i>Bacillus subtilis</i> (>1.6X10⁷CFU/g), <i>Lactobacillus acidophilus</i> (>1.2X10⁷CFU/g), <i>Clostridium butyricum</i> (>2X10⁷ CFU/g), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (>1.6X10⁷CFU/g)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • n=180 • Μέσο βάρος 15g • Πυκνότητα πληθυσμού 20 άτομα/ενυδρείο • Διάρκεια 50 ημέρες 	Γλώσσα Ιαπωνίας, <i>Paralichthys olivaceus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ποιότητα νερού • Δείκτες ανάπτυξης • Μη ειδική ανοσολογική αντίδραση • Ανοχή στο stress 	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Πείραμα εκτροφής</u> Το λιπιδιακό περιεχόμενο ήταν χαμηλότερο στην Ομάδα διατροφής με προβιοτικό, σε σχέση με τις άλλες 2 ομάδες (P<0,05), με το υψηλότερο να εμφανίζεται στο μάρτυρα (P<0,05). Δεν παρουσιάστηκαν διαφορές στην ποιότητα του νερού εκτροφής. Η προσθήκη προβιοτικών στο νερό εκτροφής είχε ως αποτέλεσμα καλύτερους δείκτες ανάπτυξης. Υψηλότερη επιβίωση στις ομάδες των προβιοτικών. • <u>Ανοχή στο stress</u> Το LT50 δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων • <u>Ανοχή στα παθογόνα</u> Η δοκιμή με <i>Vibrio anguillarum</i> έδειξε ότι στην ομάδα μάρτυρα ο πληθυσμός των ιχθύων μειώθηκε στο 86% την 4^η ημέρα και στο 76% την 6^η. Όλα οι ιχθύες των προβιοτικών ομάδων επιβίωσαν και ο ρυθμός επιβίωσης ήταν σημαντικά υψηλότερος σε σχέση με το μάρτυρα
Taoka et al 2006	<ul style="list-style-type: none"> • 4 χειρισμοί με 2 ταυτόχρονες επαναλήψεις: <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Ομάδα Μάρτυρας</u> Ιχθυοτροφή του εμπορίου και εκτροφή σε νερό χωρίς προβιοτικά 2. <u>Ομάδα Διατροφής με Προβιοτικό</u> Διατροφή με τροφή που περιέχει προβιοτικά (1%) και εκτροφή σε νερά χωρίς προβιοτικά 3. <u>Ομάδα Διατροφής με Νεκρά Προβιοτικά Κύτταρα</u> Διατροφή με τροφή που περιέχει νεκρά προβιοτικά κύτταρα (1%) και εκτροφή σε νερά χωρίς προβιοτικά 4. <u>Ομάδα Παροχής με το Νερό</u> Διατροφή με την τροφή μάρτυρας και εκτροφή σε νερό με προβιοτικά <ul style="list-style-type: none"> • <u>Σύσταση προβιοτικών:</u> Προβιοτικά του εμπορίου, τα οποία περιέχουν <i>Bacillus subtilis</i> (>1.6X10⁷CFU/g), <i>Lactobacillus acidophilus</i> (>1.2X10⁷CFU/g), <i>Clostridium butyricum</i> (>2X10⁷ CFU/g), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (>1.6X10⁷CFU/g) 	<ul style="list-style-type: none"> • n=400 • 40 δεξαμενές • Μέσο βάρος 111,1±5,9g • Διάρκεια 30 ημέρες 	Τιλάπια Νείλου, <i>Oreochromis niloticus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Μη ειδική ανοσολογική αντίδραση • Ανοχή στο stress • Ανοχή σε ασθένειες • Αιματολογικές παράμετροι 	<ul style="list-style-type: none"> • Το ποσοστό επιβίωσης ήταν 100% σε όλες τις πειραματικές ομάδες • Οι πρωτεΐνες του βλεννογόνου ήταν σημαντικά υψηλότερες την 15^η ημέρα στο μάρτυρα. Την 30^η ημέρα δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές • Οι πρωτεΐνες του πλάσματος την 15^η ημέρα δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές. Την 30^η ημέρα, η συγκέντρωση των πρωτεϊνών ήταν σημαντικά υψηλότερη στις ομάδες των προβιοτικών • Η βακτηριοκτόνος δράση ήταν σημαντικά υψηλότερη στις ομάδες των προβιοτικών • Το ποσοστό των ζωντανών μακροφάγων που εισήλθαν στη νηκτική κύστη την 30^η ημέρα, ήταν σημαντικά υψηλότερο στην ομάδα που διατράφηκε με το ζωντανό προβιοτικό • Η ανοχή στα παθογόνα, κατά τη δοκιμή με ενδοπεριτοναϊκή έγχυση <i>Edwardsiella tarda</i>, ήταν υψηλότερη στις ομάδες των προβιοτικών

Tovar – Ramírez et al 2004	<ul style="list-style-type: none"> • 4 επαναλήψεις ανά χειρισμό (3X4=12 δεξαμενές) • 3 διατροφικοί χειρισμοί: <ul style="list-style-type: none"> - Μάρτυρας (Control diet) - 1,1% ζυμομύκητες (μαγιά), 10⁶ CFU/g τροφής - 5,7% ζυμομύκητες (μαγιά), 6X10⁶ CFU/g τροφής 	<ul style="list-style-type: none"> • Πυκνότητα πληθυσμού 60 λεκιθοφόρα ιχθυΐδια/lit • 12 κωνικές δεξαμενές (35lit) • Διάρκεια πειράματος 35 ημέρες, από τη 2^η μέρα εκκόλαψης μέχρι την 37^η 	Λαβράκι, <i>Dicentrarchus labrax</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ενζυμικές μετρήσεις (θρυψίνη, αμυλάση, λιπάση, ένζυμα BBM) • Ανάπτυξη • Επιβίωση • Δυσμορφίες σπονδυλικής στήλης 	<ul style="list-style-type: none"> • Η ανάπτυξη των ιχθυΐδων που διατράφηκαν με 1,1% ζυμομύκητες ήταν διπλάσια σε σχέση με τις άλλες 2 διατροφικές ομάδες • Η διατροφή με 1,1% ζυμομύκητες είχε ως αποτέλεσμα χαμηλότερο ρυθμό σχηματισμού δυσμορφιών (1,1 ± 1,63%), από ότι στις άλλες 2 ομάδες • Την 26 ημέρα από την εκκόλαψη, η ειδική δραστηριότητα της θρυψίνης ήταν υψηλότερη στις ομάδες που διατράφηκαν με ζυμομύκητες, σε σχέση με το μάρτυρα • Την 36 ημέρα από την εκκόλαψη, η ειδική δραστηριότητα της θρυψίνης ήταν υψηλότερη στην ομάδα που διατράφηκε με 1,1% ζυμομύκητες • Η ειδική δραστηριότητα της αμυλάσης ήταν υψηλότερη στο μάρτυρα, την 26 και 36 ημέρα από την εκκόλαψη • Η ειδική δραστηριότητα της λιπάσης ήταν υψηλότερη στις ομάδες διατροφής με ζυμομύκητες
Tovar et. al. 2002	<p>3 διατροφικοί χειρισμοί:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Μάρτυρας (Control diet) • Ομάδα DH. <i>Debaryomyces hansenii</i> HF1 0,9 mg/g (≈7X10⁵ CFU/g τροφής) • Ομάδα SC. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> X2180 0,9 mg/g (≈7X10⁵ CFU/g τροφής) 	<ul style="list-style-type: none"> • Λεκιθοφόρα ιχθυΐδια λαβρακιού σε 12 κωνικές δεξαμενές, με πυκνότητα πληθυσμού 60 λεκιθ. ιχθυΐδια/lit • Διάρκεια 42 ημέρες μετά την εκκόλαψη 	Λαβράκι, <i>Dicentrarchus labrax</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ενζυμικές μετρήσεις • Προσδιορισμός πολυαμινών 	<ul style="list-style-type: none"> • Οι πολυαμίνες πουτρεΐνη, σπερμιδίνη και σπερμίνη ήταν 3 φορές υψηλότερες στη DH, σε σχέση με την SC • Μεγαλύτερη επιβίωση στις ομάδες της DH, σε σχέση με τις υπόλοιπες • Η παγκρεατική έκκριση της αμυλάσης ήταν 3 φορές υψηλότερη στην ομάδα DH, σε σχέση με την ομάδα SC, την 42^η ημέρα μετά την εκκόλαψη
Wang & Xu 2006	<p>4 διατροφικοί χειρισμοί, με 3 επαναλήψεις:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ομάδα 1 (PSB). Περιέχει λυοφυλιωμένα κύτταρα φωτοσυνθετικών βακτηρίων (προβιοτικό) σε ποσότητα 1g/kg τροφής (0,1% NB) • Ομάδα 2 (B) <i>Bacillus</i> sp ως προβιοτικό σε ποσότητα 0,1 % NB • Ομάδα 3 (PSB+B) Μίγμα λυοφυλιωμένα κύτταρα φωτοσυνθετικών βακτηρίων 0,1% NB και <i>Bacillus</i> sp 0,1% NB • Ομάδα μάρτυρας 	<ul style="list-style-type: none"> • n=120 νεαρά άτομα • Διάρκεια 60 ημέρες • 12 δεξαμενές • Μέσο βάρος 6,46–6,49 g 	Κοινός κυπρίνος, <i>Cyprinus carpio</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Δείκτες ανάπτυξης • Αξιοποίηση τροφής (Συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής – FCR) • Ενεργότητα πεπτικών ενζύμων (πρωτεάσες, αμυλάσες, λιπάσες) 	<ul style="list-style-type: none"> • Οι τιμές της ημερήσιας αύξησης και της σχετικής αύξησης του βάρους ήταν σημαντικά (P<0,05) υψηλότερες στην Ομάδα 3, σε σχέση με τις υπόλοιπες • Ο FCR ήταν σημαντικά (P<0,05) καλύτερος στις ομάδες των προβιοτικών, με τον καλύτερο στις Ομάδες 2 και 3 • Καλύτερη ανάπτυξη επιτεύχθηκε με το μίγμα των 2 προβιοτικών • Η ενεργότητα της πρωτεάσης ήταν σημαντικά (P<0,05) υψηλότερη στις Ομάδες 2 & 3, σε σχέση με την 1 και το μάρτυρα • Η ομάδα 3 εμφάνισε σημαντικά (P<0,05) υψηλότερη ενεργότητα στην αμυλάση και τη λιπάση, σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες

1.5 Σκοπός της παρούσας εργασίας

Ο κύριος σκοπός των μονάδων εκτροφής είναι η επιτυχημένη ανάπτυξη των υδρόβιων οργανισμών. Η επιτυχία αυτή εξαρτάται από τη δυνατότητα επίτευξης του εμπορεύσιμου μεγέθους τους στο συντομότερο δυνατό χρονικό διάστημα, με το μικρότερο δυνατό κόστος παραγωγής και σε συνθήκες που προάγουν την ευζωία των εκτρεφόμενων οργανισμών. Ο συνδυασμός αυτών γίνεται με γνώμονα την καλύτερη ποιότητα για τον καταναλωτή. Η διατροφή αποτελεί τον καθοριστικό παράγοντα, όχι μόνο για τη μεγιστοποίηση της παραγωγής, αλλά και για τον καθορισμό της ποιότητας των εκτρεφόμενων οργανισμών.

Οι κυριότεροι λόγοι που μας οδήγησαν στην επιλογή της τσιπούρας για τη διεξαγωγή του πειράματος ήταν: α) η ευρείας κλίμακας εκτροφή της στη νότια Ευρώπη και ειδικότερα στις ακτές της Μεσογείου, συμπεριλαμβανόμενης της Ελλάδας, γεγονός με μεγάλη οικονομική σημασία και β) η μεγάλη ανάπτυξη και η ευρύτατη διάδοση της εκτροφής της κυρίως στην Ελλάδα, γεγονός που έχει καταστήσει τη χώρα μας τη μεγαλύτερη παραγωγό του είδους.

Στην παρούσα πειραματική μελέτη, διερευνήθηκε η επίδραση του εμπλουτισμού της ιχθυοτροφής με προβιοτική καλλιέργεια *Lactobacillus plantarum*, στους δείκτες ανάπτυξης (τελικό βάρος, %WG, SGR), στους συντελεστές αξιοποίησης της τροφής (FCR, PER, PPV, LER, LPV) και στη χημική σύσταση του σώματος νεαρών ατόμων τσιπούρας, *Sparus aurata*.

Ολοκληρώνοντας, οι διατροφικές επεμβάσεις αφορούσαν στη χρήση δύο επιπέδων συγκέντρωσης προβιοτικής καλλιέργειας, μίας υψηλής (PH) και μίας χαμηλής (PL), σε συνδυασμό με την ύπαρξη και των απαραίτητων δεξαμενών – μαρτύρων (Control, διατροφή χωρίς προβιοτικά), προκειμένου να διερευνηθεί η βέλτιστη συγκέντρωση προβιοτικής καλλιέργειας στην τροφή.

Δ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Πειραματόζωα και πειραματικός σχεδιασμός

Για την υλοποίηση των σκοπών του πειράματος, χρησιμοποιήθηκαν 9 ομοιογενείς πληθυσμοί των 10 ατόμων τσιπούρας, *Sparus aurata*, μέσου αρχικού βάρους $137,3 \pm 0,96$ g και αρχικής πυκνότητας εκτροφής $5,70$ kg/m³. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε ημίκλειστο σύστημα θαλασσινού νερού με αλατότητα $35,7 \pm 0,07$ ‰. Τα άτομα των ιχθύων επιλέχθηκαν έπειτα από προζύγισμα, ενώ είχαν εγκλιματιστεί στις συνθήκες του εργαστηρίου. Οι 9 πληθυσμοί κατανεμήθηκαν ανά τρεις, σε τρεις επεμβάσεις οι οποίες περιλάμβαναν δύο διαφορετικές διατροφικές επεμβάσεις, με την προσθήκη στην τροφή προβιοτικής καλλιέργειας *Lactobacillus plantarum* σε δύο συγκεντρώσεις, μίας υψηλής (PH – 10^{10} CFU/g τροφής) και μίας χαμηλής συγκέντρωσης (PL – 10^8 CFU/g τροφής), καθώς και τη διατήρηση ενός μάρτυρα (C – Control). Στον πίνακα 2.1 παρουσιάζονται αναλυτικά για κάθε δεξαμενή, η εφαρμοζόμενη επέμβαση και ο πληθυσμός των ιχθύων που εγκαταστάθηκε σε αυτές.

Πίνακας 2.1: Σωματομετρήσεις αρχικού πληθυσμού ιχθύων (n=10)

Δεξαμενή	Επέμβαση	Αρχικό Ζων Βάρος (g)	Αρχικό Ολικό Μήκος (cm)	Αρχικό Σταθερό Μήκος (cm)	Συντελεστής Ευρωστίας (g/cm ³)
Γ1	Control (C)	136,26±3,149	21,26±0,210	17,90±0,145	1,44±0,016
Γ2	P Low (PL)	137,48±2,896	20,91±0,209	17,73±0,161	1,51±0,038
Γ3	P High (PH)	137,18±2,805	21,24±0,196	18,00±0,162	1,43±0,034
Γ4	P Low (PL)	137,86±3,240	21,17±0,079	18,11±0,086	1,45±0,033
Γ5	Control (C)	137,44±2,809	21,27±0,139	17,93±0,111	1,43±0,029
Γ6	P High (PH)	136,72±3,169	21,28±0,178	17,92±0,108	1,42±0,026
Γ8	Control (C)	137,80±2,953	21,43±0,165	18,18±0,185	1,41±0,042
Γ9	P Low (PL)	137,58±2,886	21,30±0,249	18,16±0,197	1,43±0,036
Γ10	P High (PH)	137,78±3,123	21,32±0,256	18,14±0,221	1,43±0,042
Στατιστική Ανάλυση (P)		ΜΣ	ΜΣ	ΜΣ	ΜΣ

ΜΣ: Μη Σημαντικό ($P > 0,05$)

Το βάρος των ιχθύων μετρήθηκε με ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας 0,1g, οι διαστάσεις του σώματος καταγράφηκαν με ειδικό χάρακα από μιλιμετρέ χαρτί και ωρολογιακό παχύμετρο ακριβείας 0,1mm, ενώ για κάθε ιχθύ υπολογίστηκε και ο συντελεστής ευρωστίας.

Η διάρκεια της κύριας πειραματικής περιόδου ήταν 8 εβδομάδες, από 2/6/2008 έως 28/7/2008, ενώ προηγήθηκε προπειραματική περίοδος διάρκειας μίας εβδομάδας (26/5/2008 – 1/6/2008), ώστε να εγκλιματιστούν στις πειραματικές συνθήκες οι πληθυσμοί των ιχθύων.

2.2 Περιγραφή των πειραματικών εγκαταστάσεων

Το πείραμα διεξήχθη σε ημίκλειστο κύκλωμα θαλασσινού νερού, του Εργαστηρίου Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας του Τμήματος Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών. Για τον καθαρισμό του νερού, το κύκλωμα διέθετε σύστημα μηχανικού (σπόγγοι) και βιολογικού (χαλίκια) καθαρισμού, ενώ για τον έλεγχο των παθογόνων μικροοργανισμών χρησιμοποιούνταν 1 λαμπτήρας υπεριώδους (UV) ακτινοβολίας. Για τον έλεγχο και τη σταθεροποίηση της θερμοκρασίας, το κύκλωμα διέθετε σύστημα ψύξης του νερού. Το κύκλωμα που χρησιμοποιήθηκε για τη διεξαγωγή του πειράματος, ήταν απομονωμένο από το υπόλοιπο κύκλωμα θαλασσινού νερού του εργαστηρίου, εξαιτίας της χρησιμοποίησης της προβιοτικής καλλιέργειας στην τροφή των ιχθύων.

Η εκτροφή των ιχθύων πραγματοποιήθηκε σε 9 γυάλινες δεξαμενές, διαστάσεων 120cm x 41cm x 49cm (μήκος x πλάτος x ύψος) και συνολικού όγκου 241,1 L ανά δεξαμενή. Κάθε δεξαμενή διέθετε σύστημα παροχής νερού, παροχής ατμοσφαιρικού αέρα και αποχέτευσης/διατήρησης σταθερής στάθμης νερού. Η παροχή του νερού ήταν σταθερή και βρισκόταν στην επιφάνεια, ενώ η απομάκρυνσή του πραγματοποιούνταν από σωλήνα τοποθετημένο στο ύψος της στάθμης του νερού. Οι δεξαμενές είχαν ανοικτή οπτική πρόσβαση στο εμπρόσθιο τμήμα τους. Ο ρυθμός ανανέωσης κατά την διάρκεια της πειραματικής περιόδου ρυθμίστηκε στα 350 ml/10sec (2,1 L/min) ή 126 L/h, γεγονός που συνεπάγεται πως πραγματοποιούνταν 12,54 πλήρεις ανανεώσεις του νερού ημερησίως. Ο ατμοσφαιρικός αέρας στο νερό διοχετεύονταν μέσω πλαστικών σωληνίσκων διαμέτρου 6mm, οι οποίοι κατέληγαν σε ειδικές κατασκευές ομοιόμορφης απελευθέρωσης αέρα στο νερό με τη μορφή μικροσκοπικών φυσαλίδων (αερόπετρες ή οξυγονόπετρες). Όσον αφορά στην ένταση του φωτισμού, δεν πραγματοποιήθηκε κάποια ειδική επέμβαση, αλλά χρησιμοποιήθηκε ο φωτισμός ολόκληρου του κυκλώματος με λαμπτήρες φωτισμού. Η μοναδική επέμβαση στο φωτισμό ήταν η δημιουργία ομοιόμορφης έντασης 350 lux στην επιφάνεια του νερού, η οποία επιτεύχθηκε με την κατάλληλη σκίαση ή μη των καπακιών των δεξαμενών. Η φωτοπερίοδος κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν σταθερή, 12 ώρες φως : 12 ώρες σκοτάδι (12Φ:12Σ) (07:00 – 19:00).

2.3 Οι πειραματικές επεμβάσεις

Εκτός από τις επιθυμητές διαφοροποιήσεις στις συνθήκες εκτροφής κατά την πειραματική περίοδο και προκειμένου όλοι οι πληθυσμοί να δέχονται τις ίδιες εξωτερικές παρεμβάσεις, κρίθηκε αναγκαίο οι καθημερινές επεμβάσεις να γίνονται σε προκαθορισμένα τακτικά χρονικά διαστήματα και όσο το δυνατόν κάτω από τις ίδιες συνθήκες για όλους τους πληθυσμούς. Επίσης, βασική επιδίωξη κατά τη διάρκεια των επεμβάσεων ήταν η ελάχιστη παρενόχληση των ιχθύων προς αποφυγή εκδήλωσης συμπτωμάτων stress. Στις επόμενες παραγράφους ακολουθεί λεπτομερής περιγραφή του είδους, του τρόπου και του χρόνου εφαρμογής των επεμβάσεων αυτών, οι οποίες είναι κοινές για όλες τις δεξαμενές του πειράματος.

2.3.1 Καθημερινές επεμβάσεις

Στη συνέχεια ακολουθεί λεπτομερής περιγραφή του είδους και του χρόνου εφαρμογής των επεμβάσεων του πειράματος, οι οποίες πραγματοποιούνταν σε καθημερινή βάση, εκτός Κυριακής, και ήταν πανομοιότυπες για όλους τους πληθυσμούς.

2.3.1.1 Διαδικασία παρασκευής, ενσωμάτωσης και χορήγησης της προβιοτικής καλλιέργειας (LP) με την τροφή

Καταρχήν διευκρινίζεται ότι κατά τη διαδικασία παρασκευής και χορήγησης της προβιοτικής καλλιέργειας εφαρμόζονταν όλα τα απαραίτητα μέτρα προφύλαξης που αφορούν στο χειρισμό ζωντανών μικροοργανισμών, με τη χρήση του κατάλληλου εξοπλισμού, όπως μάσκα, προστατευτικά γάντια και γυαλιά. Η προβιοτική καλλιέργεια *Lactobacillus plantarum* (LP) που χρησιμοποιούνταν για την παρασκευή των δύο συγκεντρώσεων από το εργαστήριο Γαλακτοκομίας του Γ.Π.Α.

Η διαδικασία ξεκινούσε με την παρασκευή της προβιοτικής καλλιέργειας LP συγκέντρωσης 10^{10} CFU/g τροφής (PH – υψηλή). Καταρχήν γινόταν ο υπολογισμός της τροφής που απαιτούνταν με βάση το Ημερήσιο Επίπεδο Διατροφής (HEΔ) 2%, λαμβάνοντας υπόψη το μέσο ζων βάρος των ιχθύων του κάθε πληθυσμού. Με αυτόν τον τρόπο, μετά από κάθε 15ήμερο ζύγισμα γινόταν προσαρμογή της ποσότητας της τροφής και της προβιοτικής καλλιέργειας που χορηγούνταν στους ιχθυοπληθυσμούς. Η προετοιμασία της προβιοτικής καλλιέργειας LP πραγματοποιούνταν, με τη διάλυση και ομογενοποίηση της απαιτούμενης ποσότητας λυοφιλοποιημένου προβιοτικού σε κατάλληλο όγκο νερού (1 g LP/0,25ml H₂O), έτσι ώστε η προσθήκη 0,25 ml ομογενοποιημένου LP σε H₂O να δώσει την απαιτούμενη συγκέντρωση LP.

Για την διαβροχή των pellets χρησιμοποιούνταν 9 δοχεία ζέσεως των 250ml, ένα για κάθε δεξαμενή του πειράματος. Σε κάθε δοχείο ζέσεως τοποθετούνταν η ανάλογη με την εβδομάδα εκτροφής ποσότητα τροφής και τα pellets διαβρέχονταν με τις παραπάνω προβιοτικές καλλιέργειες, αντίστοιχα για κάθε επέμβαση. Η διαβροχή γινόταν με τη χρήση κατάλληλης πιπέτας, λαμβάνοντας τα απαιτούμενα ml από το σακουλάκι με την προβιοτική καλλιέργεια και φροντίζοντας να γίνεται ομοιόμορφη διαβροχή όλων των pellets της ιχθυοτροφής. Στη συνέχεια το δοχείο αφηνόταν ακίνητο για 5 λεπτά περίπου και ακολουθούσε ήπια ανάδευση με κυκλικές κινήσεις για περίπου άλλα 2 λεπτά. Κάθε δοχείο ζέσεως, μετά τη χορήγηση της κάθε τροφής, ξεπλενόταν μέσα στην αντίστοιχη δεξαμενή.

2.3.1.2 Χορήγηση τροφής

Για τη διατροφή των ιχθύων χρησιμοποιήθηκε ιχθυοτροφή του εμπορίου υπό μορφή συμπύκτων (pellets), ενώ η καταλληλότητα του μεγέθους προσδιορίστηκε ανάλογα με το μέγεθος του στόματος των ιχθύων. Κατά τη διάρκεια της κύριας πειραματικής περιόδου χορηγήθηκε ένα είδος ιχθυοτροφής, στο οποίο ανάλογα με την επέμβαση γινόταν εμπλουτισμός της ιχθυοτροφής του εμπορίου, χωρίς προσθήκη LP. Ο εμπλουτισμός πραγματοποιούνταν με την προσθήκη προβιοτικής καλλιέργειας *Lactobacillus plantarum* σε δύο συγκεντρώσεις, μίας υψηλής (PH – 10^{10} CFU/g τροφής) και μίας χαμηλής συγκέντρωσης (PL – 10^8 CFU/g τροφής), όπως αυτή περιγράφηκε αναλυτικά στην παράγραφο 2.3.1.1. Ο μάρτυρας (C – Control) διατρεφόταν με την ιχθυοτροφή του εμπορίου. Η προετοιμασία και η προσθήκη της προβιοτικής καλλιέργειας στην τροφή γινόταν σε καθημερινή βάση, 15 λεπτά πριν τη χορήγηση του κάθε γεύματος, προκειμένου να ενυδατώνονται οι λυοφιλοποιημένοι μικροοργανισμοί και να διατηρεί η καλλιέργεια τη ζωτικότητα της. Η χημική σύσταση της τροφής (υγρασία, τέφρα, ολικές πρωτεΐνες και ολικά λίπη) προσδιορίστηκε με τις ίδιες μεθόδους με τις οποίες πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός της χημικής σύστασης του σώματος των ιχθύων, ενώ οι ENEO και οι Ινώδεις Ουσίες υπολογίστηκαν με αφαίρεση. Στον πίνακα 2.3.1 παρουσιάζεται η προσδιορισθείσα χημική σύσταση της χορηγούμενης ιχθυοτροφής.

Πίνακας 2.3.1: Προσδιορισθείσα χημική σύσταση της ιχθυοτροφής
g/kg νωπού βάρους

Ξ.Ο.	924,9
Υγρασία	75,1
Τέφρα	62,9
Ολικές Λιπαρές Ουσίες	232,1
Ολικές Πρωτεΐνες	409,7
ENEO† + Ι.Ο.‡	220,2

† Ελεύθερες αζώτου εκχυλισματικές ουσίες

‡ Ινώδεις Ουσίες

Η παροχή τροφής στους ιχθύς γινόταν σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα. Από Δευτέρα έως Παρασκευή η χορήγηση της τροφής γινόταν σε δύο γεύματα. Το κάθε γεύμα προκειμένου να ολοκληρωθεί απαιτούσε 15 λεπτά και συγκεκριμένα το πρώτο πραγματοποιούνταν από 08:15 έως 08:30 και το δεύτερο από 14:15 έως 14:30. Το Σάββατο χορηγούνταν ένα γεύμα στις 10:00, ενώ την Κυριακή οι ιχθύες διατηρούνταν άσιτοι. Η ημερήσια ποσότητα της χορηγούμενης τροφής καθορίστηκε στο Επίπεδο Διατροφής 2, δηλ. ποσότητα 2% του ζώντος βάρους ανά ημέρα η οποία καταμεριζόταν σε 1% του ζώντος βάρους ανά γεύμα.

Η χορήγηση της τροφής γινόταν στο κέντρο της δεξαμενής και όσον το δυνατόν πιο μακριά από το σωλήνα αποχέτευσης, ώστε να αποφευχθεί ανεπιθύμητη απομάκρυνση της προβιοτικής καλλιέργειας προτού αυτή καταναλωθεί από τους ιχθύες. Για τον ίδιο λόγο η χορήγηση της τροφής γινόταν με τη μικρότερη δυνατή διασπορά και το ταχύτερο δυνατόν. Η παροχή της τροφής πραγματοποιούνταν σε όλες τις δεξαμενές με την ίδια σειρά. Κατά τη χορήγηση κάθε γεύματος ελεγχόταν η κατανάλωση της τροφής και η συμμετοχή των ατόμων της δεξαμενής στο γεύμα, δίνοντας ιδιαίτερη προσοχή ώστε όλες οι ενέργειες να προκαλούν το λιγότερο δυνατό stress στους ιχθύς.

Κάθε δύο εβδομάδες πραγματοποιούνταν ζύγισμα των ιχθυοπληθυσμών, προκειμένου να προσδιοριστεί η βιομάζα των δεξαμενών και να αναπροσαρμοστεί η ποσότητα της τροφής και της προβιοτικής καλλιέργειας.

2.3.1.3 Μετρήσεις των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού

Καθημερινά, 30 λεπτά πριν από τη χορήγηση του πρώτου γεύματος (07:45) και 30 λεπτά μετά τη χορήγηση του τελευταίου (15:00) λαμβάνονταν οι τιμές της θερμοκρασίας, της συγκέντρωσης του δεσμευμένου οξυγόνου, του κορεσμού του νερού σε οξυγόνο και του pH. Για τη μέτρηση του δεσμευμένου οξυγόνου (D.O.) και της θερμοκρασίας χρησιμοποιήθηκε φορητός μετρητής τύπου OxyGuard (Handy Gamma), ο οποίος στο ηλεκτρόδιο διαθέτει ενσωματωμένο ψηφιακό θερμόμετρο. Το pH μετρήθηκε με όργανο τύπου OxyGuard (Handy Gamma). Όλες οι μετρήσεις καταγράφονταν σε ημερήσια βάση, σε πρωτόκολλα για κάθε δεξαμενή του πειράματος.

Λόγω της ιδιαιτερότητας του πειράματος (προσθήκη προβιοτικής καλλιέργειας στην τροφή), κατά τη λήψη των δειγμάτων νερού δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή ώστε να αποφευχθούν επιμολύνσεις μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών χειρισμών.

Για τη σταθεροποίηση της τιμής του pH του νερού εκτροφής χρησιμοποιούνταν διαλυμένη ποσότητα CaCO_3 .

2.3.1.4 Λήψη και ανάλυση δειγμάτων νερού

Παράλληλα με τη λήψη των μεσημβρινών μετρήσεων (30' μετά το τέλος του μεσημβρινού γεύματος) γινόταν και λήψη δειγμάτων νερού από κάθε δεξαμενή. Τα δείγματα συλλέγονταν έπειτα από διήθηση με τη βοήθεια ηθμού, σε φιαλίδια χωρητικότητας 100ml. Η ποσότητα που συλλέγονταν ήταν 100ml από κάθε δεξαμενή, η οποία στη συνέχεια μεταφερόταν σε φιάλη των 1.000ml και καταψυχόταν. Τα παραπάνω δείγματα χρησιμοποιούνταν για τον εβδομαδιαίο προσδιορισμό της συγκέντρωσης των νιτρικών ιόντων και της ολικής αμμωνίας του νερού εκτροφής.

Η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων ($\text{NO}_2^- \text{N}$) προσδιορίστηκε φωτομετρικά με τη μέθοδο του σχηματισμού ρόδινου ερυθροϊώδους χρώματος σε pH 2,0 – 2,5 προερχόμενο από την αντίδραση των νιτρικών ιόντων με διάλυμα σουλφανιλαμίδης

και NED (N-Cl-naphthyl-Ethylenediamine Dihydrochloride) (Greenberg et al., 1992). Η μέτρηση της οπτικής απορρόφησης πραγματοποιήθηκε σε φασματοφωτόμετρο (Helias a, Thermo Electron Cooperodion).

Η συγκέντρωση της ολικής αμμωνίας ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3 - \text{N}$) προσδιορίστηκε φωτομετρικά μέσω της αντίδρασης της αμμωνίας με φαινόλη και υποχλωριώδες διάλυμα, σε αλκαλικό περιβάλλον, δίνοντας μπλε της ινδοφαινόλης. Η ένταση του γαλάζιου αυτής της ένωσης προσδιορίζεται με τη χρήση νιτροπρωσικού νατρίου (Greenberg et al., 1992). Η μέτρηση της οπτικής απορρόφησης πραγματοποιήθηκε στο ίδιο με παραπάνω φασματοφωτόμετρο (Helias a, Thermo Electron Cooperodion).

Η συγκέντρωση της τοξικής, μη ιονισμένης, μορφής της αμμωνίας ($\text{NH}_3 - \text{N}$) υπολογίστηκε μέσω του τύπου:

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

Όπου:

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

$$\text{p}K_a\text{S}(\text{T}) = (\text{T} = 298^\circ\text{K}) + 0,0324 (298 - \text{T}^\circ\text{K})$$

$\text{p}K_a\text{S}(\text{T} = 298^\circ\text{K})$ σταθερά που εξαρτάται από την αλατότητα, τη θερμοκρασία, και την τιμή του pH

T θερμοκρασία ($^\circ\text{K}$)

2.3.2 Περιοδικές επεμβάσεις

Πλέον των καθημερινών, απαραίτητες ήταν και επεμβάσεις, οι οποίες πραγματοποιούνταν σε τακτά χρονικά διαστήματα, κυρίως σε εβδομαδιαία και δεκαπενθήμερη βάση. Στη συνέχεια, αυτές οι επεμβάσεις περιγράφονται αναλυτικά, καθώς επίσης και ο χρόνος εφαρμογής τους.

2.3.2.1 Καθαρισμοί

Ο καθαρισμός των μηχανικών φίλτρων του κυκλώματος πραγματοποιούνταν μία φορά την ημέρα, αργά το μεσημέρι, ώστε να αποτραπεί το ενδεχόμενο απόφραξης τους.

Ο καθαρισμός των πειραματικών δεξαμενών του κυκλώματος, πραγματοποιούνταν μια φορά την εβδομάδα κάθε Τρίτη, και περιλάμβανε τον καθαρισμό των γυάλινων επιφανειών με τη χρήση σπόγγου και την αφαίρεση νερού με σιφωνισμό (περίπου στο $\frac{1}{2}$ του όγκου της δεξαμενής).

Οι αερόπετρες των δεξαμενών καθαρίζονταν δύο φορές την εβδομάδα, κάθε Τρίτη και Σάββατο. Στον καθαρισμό περιλαμβανόταν η απομάκρυνση των διαφόρων υλικών που επικάθονταν στην επιφάνεια με τη χρήση σπόγγου και ο καθαρισμός των πόρων των πετρών μέσω της διέλευσης αέρα υψηλής πίεσης.

2.3.2.2 Ζύγισμα ιχθυοπληθυσμών

Κάθε δύο εβδομάδες (15 ημέρες) πραγματοποιούνταν στους πειραματικούς πληθυσμούς ατομικό ζύγισμα, με σκοπό την εκτίμηση της διαφορετικής ανάπτυξης, με βάση τη χορήγηση τροφής με δύο επίπεδα προσθήκης προβιοτικής καλλιέργειας, υψηλής και χαμηλής συγκέντρωσης. Κάθε ιχθυοπληθυσμός ανά δεξαμενή μεταφερόταν σε ειδικό χώρο όπου είχε τοποθετηθεί νερό κυκλώματος, παροχή αέρα και αναισθητικό (2 – φαινόξυαιθανόλη), ανάλογο της αναμενόμενης βιομάζας (εκτίμηση του αναμενόμενου βάρους με βάση το ρυθμό ανάπτυξης, που προϋποθέτει η ηλικία και το μέγεθος των ιχθύων του προηγούμενου ζυγίσματος) της κάθε δεξαμενής. Μετά την αναισθητοποίηση των ιχθύων πραγματοποιούνταν ατομικό ζύγισμα, με τη βοήθεια ζυγού ακριβείας 0,1g. Στη συνέχεια, κάθε ιχθύς επιστρεφόταν στη δεξαμενή εκτροφής του.

Με την ολοκλήρωση του ατομικού ζυγίσματος, ακολουθούσε προσδιορισμός της νέας βιομάζας ανά δεξαμενή και η αναπροσαρμογή της ποσότητας της τροφής και της προβιοτικής καλλιέργειας ανά δεξαμενή και άτομο.

2.4 Μετρήσεις και αναλύσεις στους ιχθυοπληθυσμούς

Οι ιχθύες του πειράματος θανατώθηκαν ακαριαία με τη χορήγηση κατάλληλης συγκέντρωσης (0,14ml/g βιομάζας/ml νερού) αναισθητικού (2 – φαινόξυαιθανόλη). Μετά τη θανάτωση του πληθυσμού της κάθε δεξαμενής μετρήθηκε, για κάθε άτομο χωριστά, το ολικό και το σταθερό μήκος (cm), το ύψος (cm), το πλάτος (cm) και το βάρος (g). Το βάρος των ιχθύων μετρήθηκε με ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας 0,1g, ενώ οι διαστάσεις του σώματος μετρήθηκαν με ωρολογιακό παχύμετρο ακριβείας 0,1mm και ειδικούς χάρακες με μιλιμετρέ διαβάθμιση.

Αμέσως μετά την αναισθητοποίηση των ιχθύων και προτού επέλθει ο θάνατος τους, πραγματοποιήθηκε αιμοληψία από τη ραχιαία φλέβα. Για τη λήψη του αίματος χρησιμοποιήθηκαν ηπαρινισμένες σύριγγες του 1ml, καθώς και ηπαρινισμένα φιαλίδια των 1,5ml, για την αποτροπή της πήξης των δειγμάτων. Μια ποσότητα του δείγματος χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση του αιματοκρίτη με τη χρήση μικροφυγόκεντρου, φυγοκεντρώντας στα 12000 x g για 10 λεπτά (Micro-haematocrit Centrifuge, Hawksley & Sons Ltd).

Έπειτα απομονώθηκαν το ήπαρ, οι γονάδες, ο σπλήνας, το περισπλαχνικό λίπος και ο πεπτικός σωλήνας, τα οποία ζυγίστηκαν χωριστά με ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας 0,1mg (SCIENTECH SA 210), προκειμένου να προσδιοριστούν αντίστοιχα ο ηπατοσωματικός δείκτης, ο γοναδοσωματικός δείκτης, ο σπληνοσωματικός δείκτης, ο δείκτης του περισπλαχνικού λίπους και το σχετικό βάρος του πεπτικού σωλήνα. Η αφαίρεσή τους από κάθε άτομο πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια ψαλιδιού, χειρουργικού νυστεριού, ανατομικής βελόνας και λαβίδων. Ο πεπτικός σωλήνας αποθηκεύτηκε σε κατάψυξη (-80°C), ώστε να χρησιμοποιηθεί για περαιτέρω αναλύσεις.

Τα άτομα κάθε ιχθυοπληθυσμού, ομογενοποιήθηκαν χωρίς εντόσθια, με τη χρήση κρεατομηχανής. Στα ομογενοποιημένα δείγματα προσδιορίστηκε η υγρασία (105°C για 24 ώρες) και η τέφρα (600°C για 12 ώρες) του σώματος των ιχθύων. Στη συνέχεια, τα ναυπά ομογενοποιημένα δείγματα διατηρήθηκαν σε κατάψυξη (-30°C). Τα κατεψυγμένα δείγματα υποβλήθηκαν σε ξήρανση με τη διαδικασία της λυοφιλίωσης (Unitor 600SL Freezemobile 12, VIRTIS) και ακολούθησε προσδιορισμός των ολικών πρωτεϊνών με τη μέθοδο Kjeldahl και των ολικών λιπών με τη μέθοδο Soxhlet (AOAC, 1984). Αντίστοιχα προσδιορίστηκε και η χημική σύσταση της χορηγούμενης ιχθυοτροφής.

2.5 Παράμετροι πειράματος

2.5.1 Δείκτες ανάπτυξης

Οι δείκτες ανάπτυξης που υπολογίστηκαν για κάθε πληθυσμό ιχθύων του πειράματος, ήταν οι εξής:

- **Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR)**

$$SGR = \{[\ln (W_T) - \ln (W_A)]/T\} * 100$$

Όπου: W_T = το μέσο τελικό βάρος του πληθυσμού (g)

W_A = το μέσο αρχικό βάρος του πληθυσμού (g)

T = η χρονική διάρκεια της εκτροφής (ημέρες)

- **Η εκατοστιαία Αύξηση Ζώντος Βάρους (% WG)**

$$\% WG = [(W_T - W_A)/W_A] * 100$$

- **Συντελεστής Ευρωστίας (CF)**

$$CF = [W_T / (\text{ολικό μήκος})^3] * 100 \text{ (g/cm}^3\text{)}$$

2.5.2 Δείκτες αξιοποίησης της τροφής (Λιπών και πρωτεϊνών)

- **Συντελεστής Εκμετάλλευσης Τροφής (FCR)**

$$FCR = \text{Ποσότητα καταναλισκόμενης τροφής (g) / Αύξηση ζώντος βάρους (g)}$$

- **Δείκτης Αξιοποίησης Λιπών (LPV ή LR)**

$$LPV = [\text{Αύξηση σωματικού λίπους (g) / καταναλωθέν λίπος (g)}] * 100$$

- **Συντελεστής Απόδοσης Λιπών (LER)**

$$LER = \text{Αύξηση ζώντος βάρους (g) / καταναλωθέν λίπος (g)}$$

- **Δείκτης Αξιοποίησης Πρωτεϊνών (PPV ή PR)**

$$PPV = [\text{Αύξηση σωματικής πρωτεΐνης (g) / καταναλωθείσα πρωτεΐνη (g)}] * 100$$

- **Συντελεστής Απόδοσης Πρωτεϊνών (PER)**

PER=Αύξηση ζώντος βάρους (g)/καταναλωθείσα πρωτεΐνη (g)

2.5.3 Οργανοσωματικοί δείκτες

- Δείκτης Περιπλαχνικού Λίπους (ΔΠΛ)
$$\Delta\Pi\Lambda = [\text{Βάρος περιπλαχνικού λίπους (g)/ZB (g)}] \times 100$$
- Σπληνοσωματικός Δείκτης (ΣΣΔ)
$$\Sigma\Sigma\Delta = [\text{Βάρος σπλήνα (g)/ZB (g)}] \times 100$$
- Γοναδοσωματικός Δείκτης (ΓΣΔ)
$$\Gamma\Sigma\Delta = [\text{Βάρος γονάδων (g)/ZB (g)}] \times 100$$
- Ηπατοσωματικός Δείκτης (ΗΣΔ)
$$\text{Η}\Sigma\Delta = [\text{Βάρος ήπατος (g)/ZB (g)}] \times 100$$
- Βάρος Πεπτικού Σωλήνα % Ζώντος Βάρους (ΒΠΣ % ΖΒ)
$$\text{ΒΠ}\Sigma \ \% \ \text{ΖΒ} = [\text{ΒΠ}\Sigma \text{ (g)/ZB (g)}] \times 100$$

Όπου: ΖΒ = Ζων Βάρος

2.6 Στατιστική επεξεργασία

Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων του πειράματος, χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα STATGRAPHICS Centurion XV (version 15.2.05). Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού, τα χαρακτηριστικά ανάπτυξης (τελικό βάρος, SGR, %WG, CF), οι δείκτες αξιοποίησης της τροφής και των συστατικών της (FCR, LPV/LR, LER, PPV/PR, PER), η χημική σύσταση του σώματος, οι οργανοσωματικοί δείκτες και ο αιματοκρίτης αναλύθηκαν με μονοπαραγοντική ανάλυση παραλλακτικότητας (one-way ANOVA). Δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των επαναλήψεων κάθε επέμβασης ($P > 0,05$). Ως πειραματική μονάδα χρησιμοποιήθηκε η δεξαμενή ($n=3$). Σε όλα τα δεδομένα πραγματοποιήθηκε έλεγχος για την κανονική κατανομή και την ομοιογένεια της διασποράς, ενώ έγιναν οι απαραίτητες μετατροπές (λογαρίθμηση, τετραγωνική ρίζα, κλπ) όπου αυτές δεν ίσχυαν. Για τη σύγκριση των μέσων χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο Duncan, ενώ οι διαφορές κρίθηκαν σημαντικές όταν $P < 0,05$. Στους πίνακες, τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσοι όροι \pm ΤΣ (τυπικό σφάλμα) χωρίς μετατροπή, ενώ στις περιπτώσεις που εντοπίζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, η διαφοροποίηση εμφανίζεται με διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού εκτροφής

Στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών επεμβάσεων, εμφανίζεται στις συγκεντρώσεις της ολικής και τοξικής αμμωνίας, καθώς και των νιτρωδών ιόντων. Συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις της ολικής και της τοξικής αμμωνίας εμφανίζονται στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες στην υψηλή συγκέντρωση (PH) προβιοτικών στην τροφή, σε σχέση με τη χαμηλή (PL) και το μάρτυρα (C). Επιπροσθέτως, στην επέμβαση PH η συγκέντρωση των νιτρωδών ιόντων ήταν σημαντικά χαμηλότερη ($P<0,05$), συγκριτικά με την PL και το μάρτυρα. Τα υπόλοιπα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού εκτροφής (Πιν. 3.1) δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Πίνακας 3.1: Η επίδραση των προβιοτικών στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού εκτροφής

Μετρήσεις	ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ			P
	Control (C)	Low (PL)	High (PH)	
ΠΡΩΙ (07:45)				
D.O. (ppm)	5,79±0,022	5,81±0,026	5,82±0,008	ΜΣ
Κορεσμός (%)	89,84±0,544	90,10±0,305	90,35±0,126	ΜΣ
Θερμοκρασία (°C)	25,71±0,002	25,70±0,003	25,70±0,014	ΜΣ
pH	7,25±0,005	7,26±0,003	7,26±0,002	ΜΣ
ΜΕΣΗΜΕΡΙ (15:00)				
D.O. (ppm)	5,65±0,022	5,65±0,011	5,65±0,004	ΜΣ
Κορεσμός (%)	87,74±0,087	87,68±0,159	87,76±0,286	ΜΣ
Θερμοκρασία (°C)	25,68±0,010	25,67±0,010	25,66±0,001	ΜΣ
pH	7,19±0,005	7,19±0,003	7,19±0,003	ΜΣ
ΕΒΔΟΜΑΔΙΑΙΕΣ				
(NH ₄ ⁺ +NH ₃)-N (ppm)	0,649±0,0062 b	0,633±0,0079 b	0,595±0,0063 a	**
NH ₃ -N (ppm)	0,005±0,0001 b	0,005±0,0001 ab	0,004±0,0001 a	*
NO ₂ -N (ppm)	0,070±0,0015 b	0,066±0,0036 a	0,059±0,0012 a	*

(NH₄⁺+NH₃)-N: Άζωτο Ολικής Αμμωνίας (περιλαμβάνει το μετρούμενο αμμωνιακό άζωτο το οποίο προέρχεται από την ιονισμένη και μη μορφή της αμμωνίας).

NH₃-N: Άζωτο Τοξικής Αμμωνίας (περιλαμβάνει το μετρούμενο αμμωνιακό άζωτο το οποίο προέρχεται από τη μη ιονισμένη μορφή της αμμωνίας)

NO₂-N: Άζωτο Νιτρωδών Ιόντων (περιλαμβάνει το άζωτο το οποίο προέρχεται από τα Νιτρώδη Ιόντα)

P: Επίπεδο σημαντικότητας

ΜΣ: Μη Σημαντικό

* P<0,05

** P<0,01

Μέσοι όροι για τον ίδιο παράγοντα με κοινό γράμμα, δε διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά (P>0,05).

3.2 Χαρακτηριστικά ανάπτυξης

Το αρχικό μέσο ατομικό ζων βάρος (Πιν. 3.2) του ιχθυοπληθυσμού δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά, μεταξύ των επεμβάσεων. Δεν παρατηρήθηκαν επίσης, μεταξύ των διατροφικών επεμβάσεων σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου, στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις στις τιμές του ζώντος βάρους (Πιν. 3.2), στις σωματομετρήσεις (Πιν. 3.3), στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR) (Πιν. 3.4) και στην εκατοστιαία αύξηση του ζώντος βάρους (%WG) (Πιν. 3.5).

3.2.1 Ζων Βάρος

Πίνακας 3.2: Η επίδραση των προβιοτικών της τροφής στο μέσο ατομικό ζων βάρος (g) κατά την πειραματική περίοδο.

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΖΥΓΙΣΜΑΤΟΣ	ΗΜΕΡΕΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ (g)			P
		Control (C)	Low (PL)	High (PH)	
(1) 26/05/2008	0	137,17±0,465	137,64±0,114	137,23±0,307	ΜΣ
(2) 02/06/2008	7	148,86±0,734	148,88±0,224	148,94±0,328	ΜΣ
(3) 16/06/2008	21	172,89±3,056	169,20±1,860	170,84±0,243	ΜΣ
(4) 30/06/2008	35	198,87±3,671	197,58±0,996	196,15±0,654	ΜΣ
(5) 14/07/2008	49	232,05±4,269	228,39±1,341	228,69±1,242	ΜΣ
(6) 28/07/2008	63	270,96±4,339	268,89±2,542	266,75±2,895	ΜΣ

P: Επίπεδο σημαντικότητας

ΜΣ: Μη Σημαντικό ($P>0,05$)

3.2.2 Σωματομετρήσεις ιχθυοπληθυσμού

Πίνακας 3.3: Οι τελικές σωματομετρήσεις του ιχθυοπληθυσμού της πειραματικής περιόδου

	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ			P
	Control (C)	Low (PL)	High (PH)	
Ολικό Μήκος (cm)	24,90±0,084	24,66±0,459	24,83±0,130	ΜΣ
Σταθερό Μήκος (cm)	20,88±0,090	20,78±0,043	20,83±0,033	ΜΣ
Ύψος (cm)	8,65±0,066	8,58±0,054	8,62±0,061	ΜΣ
Πλάτος (cm)	3,22±0,019	3,27±0,033	3,20±0,011	ΜΣ
Συντελεστής Ευρωστίας CF (g/cm ³)	1,75±0,013	1,79±0,015	1,74±0,018	ΜΣ

P: Επίπεδο σημαντικότητας

ΜΣ: Μη Σημαντικό ($P>0,05$)

3.2.3 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR: Specific Growth Rate)

Πίνακας 3.4: Η επίδραση των προβιοτικών της τροφής στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR) μεταξύ των ζυγισμάτων της πειραματικής περιόδου

	ΗΜΕΡΕΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ			P
		Control (C)	Low (PL)	High (PH)	
SGR 1-2	8	1,02±0,027	0,98±0,009	1,02±0,004	ΜΣ
SGR 2-3	14	1,07±0,097	0,91±0,089	0,98±0,021	ΜΣ
SGR 3-4	14	1,00±0,016	1,11±0,071	0,99±0,016	ΜΣ
SGR 4-5	14	1,10±0,017	1,04±0,020	1,10±0,023	ΜΣ
SGR 5-6	14	1,11±0,017	1,17±0,028	1,10±0,039	ΜΣ
SGR 1-6	63	1,06±0,022	1,05±0,016	1,04±0,019	ΜΣ
SGR 2-6	56	1,07±0,021	1,05±0,019	1,04±0,021	ΜΣ

P: Επίπεδο σημαντικότητας

ΜΣ: Μη Σημαντικό ($P>0,05$)

3.2.4 Εκατοστιαία αύξηση του ζώντος βάρους (PWG: Percentage Weight Gain)

Πίνακας 3.5: Η επίδραση των προβιοτικών της τροφής στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR) μεταξύ των ζυγισμάτων της πειραματικής περιόδου

	ΗΜΕΡΕΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ (%)			P
		Control (C)	Low (PL)	High (PH)	
PWG 1-2	8	8,51±0,245	8,18±0,070	8,53±0,033	ΜΣ
PWG 2-3	14	16,13±1,584	13,65±1,417	14,71±0,341	ΜΣ
PWG 3-4	14	15,02±0,254	16,80±1,175	14,81±0,260	ΜΣ
PWG 4-5	14	16,68±0,280	15,59±0,329	16,59±0,380	ΜΣ
PWG 5-6	14	16,78±0,280	17,73±0,465	16,64±0,643	ΜΣ
PWG 1-6	63	97,53±2,808	95,36±1,974	94,39±2,394	ΜΣ
PWG 2-6	56	82,01±2,190	80,61±1,933	79,11±2,160	ΜΣ

P: Επίπεδο σημαντικότητας

ΜΣ: Μη Σημαντικό ($P>0,05$)

3.3 Δείκτες αξιοποίησης της τροφής και των συστατικών της

Καμία στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση δεν παρατηρήθηκε στην αξιοποίηση της χορηγούμενης τροφής, κατά τη χρονική διάρκεια της πειραματικής περιόδου. Η αξιοποίηση της χορηγούμενης τροφής περιγράφεται από το συντελεστή εκμετάλλευσης τροφής (FCR) (Πιν. 3.6), τους δείκτες αξιοποίησης πρωτεϊνών (Πιν. 3.7) και λιπών (Πιν. 3.8), καθώς και τους συντελεστές μετατρεψιμότητας πρωτεϊνών και λιπών (Πιν. 3.9).

3.3.1 Συντελεστής εκμετάλλευσης της τροφής (FCR: Feed Conversion Ratio)

Πίνακας 3.6: Η επίδραση των προβιοτικών της τροφής στο συντελεστή εκμετάλλευσης τροφής (FCR) μεταξύ των ζυγισμάτων της πειραματικής περιόδου

	ΗΜΕΡΕΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ			P
		Control (C)	Low (PL)	High (PH)	
FCR 1-2	8	2,35±0,065	2,45±0,020	2,34±0,009	ΜΣ
FCR 2-3	14	1,27±0,119	1,51±0,171	1,37±0,027	ΜΣ
FCR 3-4	14	1,33±0,023	1,20±0,081	1,35±0,021	ΜΣ
FCR 4-5	14	1,20±0,021	1,24±0,020	1,21±0,029	ΜΣ
FCR 5-6	14	1,19±0,020	1,09±0,042	1,21±0,042	ΜΣ
FCR 1-6	63	1,33±0,022	1,32±0,023	1,36±0,027	ΜΣ
FCR 2-6	56	1,24±0,019	1,22±0,022	1,27±0,030	ΜΣ

P: Επίπεδο σημαντικότητας

ΜΣ: Μη Σημαντικό ($P>0,05$)

3.3.2 Συντελεστής μετατρεψιμότητας πρωτεϊνών της τροφής (PER: Protein Efficiency Ratio)

Πίνακας 3.7: Η επίδραση των προβιοτικών της τροφής στο συντελεστή μετατρεψιμότητας πρωτεϊνών της τροφής (PER) μεταξύ των ζυγισμάτων της πειραματικής περιόδου

	ΗΜΕΡΕΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ			P
		Control (C)	Low (PL)	High (PH)	
PER 1-2	8	1,04±0,030	1,00±0,007	1,04±0,003	ΜΣ
PER 2-3	14	1,96±0,201	1,65±0,168	1,78±0,039	ΜΣ
PER 3-4	14	1,83±0,032	2,05±0,142	1,81±0,032	ΜΣ
PER 4-5	14	2,03±0,034	1,97±0,032	2,02±0,044	ΜΣ
PER 5-6	14	2,05±0,035	2,24±0,085	2,03±0,078	ΜΣ
PER 1-6	63	1,83±0,031	1,84±0,027	1,79±0,039	ΜΣ

P: Επίπεδο σημαντικότητας

ΜΣ: Μη Σημαντικό ($P>0,05$)

3.3.3 Συντελεστής μετατρεψιμότητας λιπών της τροφής (LER: Lipid Efficiency Ratio)

Πίνακας 3.8: Η επίδραση των προβιοτικών της τροφής στο συντελεστή μετατρεψιμότητας λιπιδίων της τροφής (LER) μεταξύ των ζυγισμάτων της πειραματικής περιόδου

	ΗΜΕΡΕΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ			P
		Control (C)	Low (PL)	High (PH)	
LER 1-2	8	1,83±0,050	1,76±0,015	1,84±0,006	ΜΣ
LER 2-3	14	3,45±0,353	2,92±0,297	3,15±0,068	ΜΣ
LER 3-4	14	3,24±0,054	3,62±0,251	3,19±0,056	ΜΣ
LER 4-5	14	3,59±0,060	3,48±0,061	3,57±0,081	ΜΣ
LER 5-6	14	3,61±0,061	3,96±0,147	3,59±0,135	ΜΣ
LER 1-6	63	3,23±0,056	3,26±0,053	3,16±0,070	ΜΣ

P: Επίπεδο σημαντικότητας, ΜΣ: Μη Σημαντικό ($P>0,05$)

3.3.4 Δείκτες αξιοποίησης πρωτεϊνών (PPV) και λιπών (LPV) της τροφής

Πίνακας 3.9: Η επίδραση των προβιοτικών της τροφής στους δείκτες αξιοποίησης πρωτεϊνών (PPV) και λιπών (LPV) της τροφής

	ΗΜΕΡΕΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ			P
		Control (C)	Low (PL)	High (PH)	
Δείκτης αξιοποίησης λιπών (LPV) (%)	63	66,96±4,592	65,32±2,146	69,29±1,310	ΜΣ
Δείκτης αξιοποίησης πρωτεϊνών (PPV) (%)	63	37,72±0,597	39,79±2,273	38,10±1,017	ΜΣ

P: Επίπεδο σημαντικότητας

ΜΣ: Μη Σημαντικό ($P>0,05$)

3.4 Η χημική σύσταση του σώματος των ιχθύων

Καμία στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση ($P>0,05$) δεν προκύπτει στη χημική σύσταση του σώματος μεταξύ των ιχθυοπληθυσμών, όσον αφορά στην επίδραση του επιπέδου των προβιοτικών στη χορηγούμενη τροφή (Πιν. 3.10).

Πίνακας 3.10: Η επίδραση των προβιοτικών της τροφής στη χημική σύσταση του σώματος των ιχθύων

		ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ			P
		Control (C)	Low (PL)	High (PH)	
%	Υγρασία	64,44±0,174	64,76±0,497	64,48±0,208	ΜΣ
% Νωπού Βάρους	Τέφρα	3,83±0,189	3,81±0,185	3,74±0,062	ΜΣ
	Πρωτεΐνες	18,38±0,065	18,82±0,449	18,67±0,084	ΜΣ
	Λίπη	12,54±0,637	12,13±0,287	13,00±0,183	ΜΣ
% Ξηρού Βάρους	Τέφρα	10,72±0,567	10,78±0,397	10,51±0,215	ΜΣ
	Πρωτεΐνες	51,69±0,423	53,41±0,787	52,56±0,381	ΜΣ
	Λίπη	35,26±1,733	34,46±1,248	36,60±0,300	ΜΣ

P: Επίπεδο σημαντικότητας

ΜΣ: Μη Σημαντικό ($P>0,05$)

3.5 Οργανοσωματικοί δείκτες

Ο ηπατοσωματικός δείκτης (HSI), ο δείκτης περιπλαχνικού λίπους (ΔΠΛ), ο σπληνοσωματικός δείκτης (SSI) και το σχετικό βάρος του πεπτικού σωλήνα (ΒΠΣ%ΖΒ) δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των διατροφικών επεμβάσεων κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου (Πιν. 3.11). Ο γοναδοσωματικός δείκτης (ΓΣΔ) εμφανίζεται σημαντικά υψηλότερος ($P<0,05$) στην επέμβαση με την υψηλή συγκέντρωση (PH – High) προβιοτικών στην τροφή, σε σύγκριση με το μάρτυρα και τη χαμηλή συγκέντρωση (PL – Low) προβιοτικών στην τροφή (Πιν. 3.11).

Πίνακας 3.11: Η επίδραση των προβιοτικών της τροφής στους οργανοσωματικούς δείκτες των ιχθύων

%ZB	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ			P
	Control (C)	Low (PL)	High (PH)	
Γοναδοσωματικός Δείκτης (GSI)	0,141±0,0067a	0,134±0,0176a	0,212±0,0152b	*
Ηπατοσωματικός Δείκτης (HSI)	1,210±0,0396	1,173±0,0516	1,154±0,0552	ΜΣ
Δείκτης Περισπλαχνικού Λίπους (ΔΠΛ)	1,336±0,1246	1,248±0,1135	1,416±0,0590	ΜΣ
Σπληνοσωματικός Δείκτης (SSI)	0,079±0,0008	0,077±0,0037	0,077±0,0033	ΜΣ
ΒΠΣ	3,135±0,0463	3,102±0,0773	3,021±0,1501	ΜΣ

P: Επίπεδο σημαντικότητας

ΜΣ: Μη Σημαντικό ($P>0,05$)

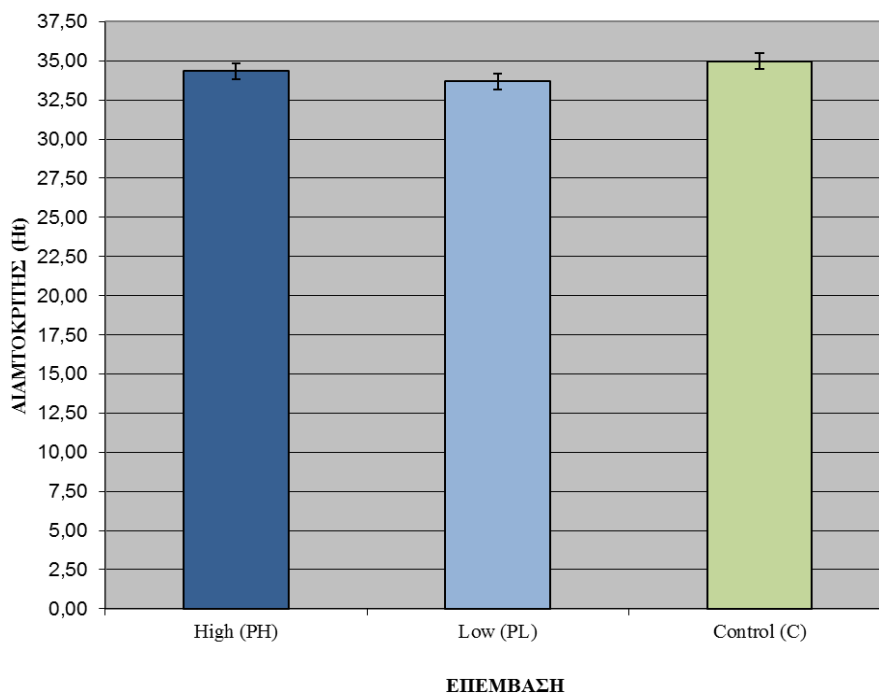
* $P<0,05$

ΒΠΣ: Βάρος Πεπτικού Σωλήνα

3.6 Αιματοκρίτης

Δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση για τον αιματοκρίτη (Ht), μετά από 8 εβδομάδες εκτροφής (Διάγραμμα 3.6).

Διάγραμμα 3.6: Η επίδραση των προβιοτικών της τροφής στον αιματοκρίτη των ιχθύων



4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκαν οι δυνατότητες της χρησιμοποίησης των προβιοτικών στη διατροφή της τσιπούρας, *Sparus aurata*. Για το σκοπό αυτό, ως προβιοτικό χρησιμοποιήθηκε το *Lactobacillus plantarum*, σε δύο συγκεντρώσεις, μία υψηλή (PH) με 10^{10} CFU/g τροφής και μία χαμηλή (PL) με 10^8 CFU/g τροφής, κατόπιν προσθήκης σε τυποποιημένη τροφή του εμπορίου υπό μορφή συμπύκνων. Η ίδια τροφή, χωρίς την προσθήκη προβιοτικού, χρησιμοποιήθηκε για την επέμβαση του μάρτυρα (C). Οι διαδικασίες αυτές περιγράφονται αναλυτικά στο κεφάλαιο «**Υλικά και μέθοδοι**».

Αξίζει να σημειωθεί, ότι η πλειονότητα της ερευνητικής δραστηριότητας αναφέρεται στη χρήση των προβιοτικών στα χερσαία ζώα και στον άνθρωπο, μιας και η αντίστοιχη έρευνα στους ιχθύες ξεκίνησε πιο πρόσφατα. Επιπλέον, οι υπάρχουσες έρευνες, αφορούν κυρίως στις επιδράσεις της χρήσης των προβιοτικών καλλιεργειών στο ανοσοποιητικό σύστημα και στην πρόκληση ανοσοδιέγερσης (Kesarcodi-Watson et al., 2008). Επομένως, οι επιδράσεις των προβιοτικών στη διατροφή και την ανάπτυξη των χερσαίων ζώων και των ιχθύων είναι ένας τομέας ο οποίος έχει διερευνηθεί σε αρκετά μικρότερο βαθμό. Ένα επιπλέον δεδομένο, το οποίο πρέπει να ληφθεί υπόψη, είναι το γεγονός ότι οι περισσότερες έρευνες σχετικά με την επίδραση των προβιοτικών στην ανάπτυξη των ιχθύων, αφορούν στην μικτή διερεύνηση της επίδρασης στην ανάπτυξη και στο ανοσοποιητικό σύστημα.

Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων, όσον αφορά στις καθημερινές μετρήσεις (**Πιν. 3.1**) των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού εκτροφής (D.O., κορεσμός, θερμοκρασία και pH). Τα μετρηθέντα χαρακτηριστικά παρέμειναν εντός των αποδεκτών ορίων, για τη σωστή ανάπτυξη των ιχθύων. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν από τον Wang (2007) σε πείραμα διατροφής με προβιοτικά (*Bacillus* sp. και φωτοσυνθετικά βακτήρια) στη γαρίδα *Penaeus vannamei*, τους Wang et al. το 2008 όπου μελετήθηκε η επίδραση του *Enterococcus faecium* ως προβιοτικού στην ανάπτυξη και την ανοσοδιέγερση της τιλάπιας του Νείλου, *Oreochromis niloticus* και τους Wang & Xu (2006), κατά τη διερεύνηση της επίδρασης προβιοτικών (*Bacillus* sp. και φωτοσυνθετικά βακτήρια) στην ανάπτυξη και τη δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων του κοινού κυπρίνου, *Cyprinus carpio*. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, ήταν σύμφωνα με τη μελέτη των El-Haroun et al. (2006), όπου η χορήγηση του προβιοτικού Biogen® στην τιλάπια του Νείλου, δεν παρουσίασε καμία διαφοροποίηση στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του νερού εκτροφής (D.O., κορεσμός, θερμοκρασία και pH). Όσον αφορά στον κορεσμό, το D.O., τη θερμοκρασία και το pH, η ποιότητα του νερού εκτροφής δεν φαίνεται να επηρεάστηκε από την παρουσία προβιοτικών καλλιεργειών στην ανάπτυξη του αφρικανικού γατόψαρου ($5,31 \pm 0,31$ g), *Clarias gariepinus* (Al-Dohail et al., 2009), του είδους *Catla catla* ($6,48 \pm 0,43$ g) (Bandyopadhyay & Das Mohapatra, 2009) και του Ιαπωνικού καλκανιού, *Paralichthys olivaceus* (Taoka et al., 2006). Όπως αναφέρουν οι Taoka et al. (2006), η προσθήκη προβιοτικών στην ιχθυοτροφή όμως φαίνεται πως βελτιώνει

κάποια φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού εκτροφής, όπως την ολική $\{(NH_4^+ + NH_3)-N\}$ και την τοξική αμμωνία NH_3-N , καθώς και τα νιτρώδη ιόντα (NO_2-N). Επιπλέον, οι Wang & He (2009) μελέτησαν την επίδραση των προβιοτικών (εμπορικό σκεύασμα *Bacillus* sp., *Nitrosomonas* sp., *Nitribacter* sp. και *Lactobacillus* sp.) στη δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης και των θρεπτικών συστατικών του ιζήματος του πυθμένα δεξαμενών εκτροφής γαρίδας *Penaeus vannamei*. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας, μεταξύ άλλων έδειξαν ότι η χρήση προβιοτικών (απευθείας διάλυση στο νερό εκτροφής) προκαλεί σημαντική μείωση της συγκέντρωσης του ολικού αζώτου (TN) των δεξαμενών εκτροφής. Οι παραπάνω παρατηρήσεις επιβεβαιώνουν τα ευρήματα της παρούσας έρευνας, σύμφωνα με τα οποία η ολική $\{(NH_4^+ + NH_3)-N\}$, η τοξική αμμωνία NH_3-N , καθώς και τα νιτρώδη ιόντα (NO_2-N) μειώθηκαν σημαντικά με τη χρήση του *Lactobacillus plantarum*, στην υψηλή συγκέντρωση 10^{10} CFU/g τροφής (Πιν. 3.1). Η βελτίωση της ποιότητας του νερού, ειδικά για την αμμωνία, πιθανόν να οφείλεται στο μεταβολισμό του αζώτου, διότι η απέκκριση του αζώτου από τους ιχθύς εξαρτάται από τα συστατικά της τροφής, την πεπτικότητα και τη δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων, χαρακτηριστικά τα οποία πιθανόν βελτιώνονται με την επίδραση των προβιοτικών (Taoka et al. 2006).

Μεταξύ των διατροφικών επεμβάσεων σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου, το τελικό ζων βάρος (Πιν. 3.2), οι σωματομετρήσεις (Πιν. 3.3), ο συντελεστής ευρωστίας CF (Πιν. 3.3), ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR) (Πιν. 3.4) και η εκατοστιαία αύξηση του ζώντος βάρους (%WG) (Πιν. 3.5) δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές. Πρακτικά, αυτό σημαίνει ότι η προσθήκη του *Lactobacillus plantarum* στην τροφή και η χορήγησή του στους ιχθύες για 63 ημέρες δεν επηρέασε σημαντικά τα χαρακτηριστικά ανάπτυξης της τσιπούρας, *Sparus aurata*. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με την έρευνα των Varela et al. (2010), όπου σε νεαρά άτομα ($38,28 \pm 0,81$ g) τσιπούρας (*Sparus aurata*) έπειτα από τη διατροφή τους με το προβιοτικό Rdp11 (*Shewanella putrefaciens*) δεν εμφανίστηκε σημαντική επίδραση στην εκατοστιαία αύξηση του βάρους (%WG) και του ειδικού ρυθμού αύξησης (SGR). Όμοια αποτελέσματα, ως προς τον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης και το τελικό ζων βάρος, εμφανίστηκε και στην μελέτη των Garcia de la Banda et al. (2010), όπου η χορήγηση 2 προβιοτικών στελεχών του γένους *Shewanella* (Rdp11 & Rdp13) σε νεαρά άτομα ($26,7 \pm 4,6$ g) γλώσσας της Σενεγάλης (*Solea senegalensis*) δεν έδειξε σημαντική επίδραση των δύο στελεχών στο τελικό ζων βάρος και του Rdp11 στον SGR. Επίσης, η ανάπτυξη (συγκεκριμένα το τελικό ζων βάρος και ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης) ατελών ιχθυδίων (0,26 g) κυπρίνου (*Cyprinus carpio*) δεν βελτιώθηκε με τη διατροφική χορήγηση *Lactobacillus acidophilus* (βασική τροφή + 0,5%) έπειτα από πειραματική περίοδο 45 ημερών (Dhanaraj et al., 2010). Από τη μελέτη των Hernandez et al. (2010), οι οποίοι διερεύνησαν την επίδραση εμπορικού σκευάσματος *Lactobacillus casei* στην ανάπτυξη νεαρών ατόμων (47 ± 9 mg) του είδους *Poecilopsis gracilis*, προκύπτει ότι δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές στην ανάπτυξή του (ZB, WG & SGR). Επίσης η προσθήκη *Pediococcus acidilactici* σε υψηλή και χαμηλή συγκέντρωση (10^8 και 10^7 CFU/g τροφής) στη διατροφή νεαρών ατόμων (9 g) ιριδίζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*), δεν είχε σημαντική επίδραση στους δείκτες ανάπτυξης, όπως

το τελικό ζων βάρος, την εκατοστιαία αύξηση βάρους (%WG) και τον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR), έπειτα από 10 εβδομάδες εκτροφής (Merrifield et al., 2011). Η μη επίδραση της χορήγησης προβιοτικών στην ανάπτυξη της ιριδίζουσας πέστροφας, επιβεβαιώνεται και από τους Waché et al. (2006), κατόπιν προσθήκης των *Saccharomyces cerevisiae* και *S. boulardii* στη διατροφή νεαρών ιχθυδίων του είδους, από την έναρξη λήψης εξωτερικής τροφής μέχρι την 37^η ημέρα. Οι Merrifield et al. (2010a & 2010b), σε δύο προηγούμενα πειράματά τους (στο ένα έπειτα από θεραπεία με οξολονικό οξύ και στο άλλο χωρίς τη χορήγηση αντιβιοτικού αντίστοιχα) διερεύνησαν την επίδραση της διατροφικής χορήγησης *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* και *Enterococcus faecium* (σε 3 συνδυασμούς, *B. subtilis*+*B. licheniformis*, *E. faecium* & *B. subtilis*+*B. licheniformis*+*E. faecium*) στην ανάπτυξη νεαρών ατόμων (70 & 45 g αντίστοιχα) ιριδίζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*). Τα αποτελέσματα και αυτής της μελέτης έδειξαν ότι, η χορήγηση των προβιοτικών δεν επέδρασε σημαντικά στα χαρακτηριστικά ανάπτυξης, παρά μόνο έπειτα από τη θεραπεία με οξολονικό οξύ και στην επέμβαση με το μίγμα *B. subtilis*+*B. licheniformis*. Επιπλέον, η προσθήκη στη διατροφή του ιαπωνικού καλκανιού, *Paralichthys olivaceus*, προβιοτικών του εμπορίου (μίγμα *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Clostridium butyricum* & *Saccharomyces cerevisiae*) δεν επέδρασε σημαντικά στα χαρακτηριστικά ανάπτυξης (μεταξύ των άλλων και στο συντελεστή ευρωστίας CF), όπως αναφέρουν οι Taoka et al. (2006). Άλλη μία έρευνα, όπου η διατροφική χορήγηση 2 ειδών *Bacillus*, των *B. toyoi* & *B. cereus* σε 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις το καθένα, δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές στην ανάπτυξη της συναγρίδας (*Dentex dentex*) έπειτα από 5 εβδομάδες εκτροφής, πραγματοποιήθηκε από τους Hidalgo et al. (2006). Η διατροφική χορήγηση *Bacillus subtilis* σε 4 είδη διακοσμητικών ιχθύων (*Poecilia reticulata*, *Poecilia sphenops*, *Xiphophorus helleri* & *Xiphophorus maculatus*), δεν προκάλεσε καμία σημαντική επίδραση στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR) στα *P. reticulata* & *P. sphenops*, όπως παρατηρήθηκε από τους Ghosh et al. (2007). Κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη του ευρωπαϊκού λαυρακιού, *Dicentrarchus labrax*, η διατροφική παροχή 1,1% *Debaryomyces hansenii* (CBS 8339), σύμφωνα με τους Tovar-Ramírez et al. (2004), δεν είχε σημαντική επίδραση στην ανάπτυξη (ζων βάρος). Τέλος, η μελέτη των He et al. (2009) σε νεαρά άτομα (50,89±0,27 g) υβριδίου τιλάπιας (*Oreochromis niloticus* ♀ x *O. aureus* ♂) δεν έδειξε σημαντική επίδραση της διατροφικής χορήγησης *Saccharomyces cerevisiae* (DVAQUA[®]) στην αύξηση βάρους (WG), στο ζων βάρος και στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR). Οι Suzer et al. (2008), έπειτα από χορήγηση μίγματος προβιοτικών (εμπορικά σκευάσματα οξυγαλακτικών βακτηρίων *Lactobacillus plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *Streptococcus thermophiles*, *Bifidobacterium bifidum* & *Enterococcus faecium*) σε νεοεκκολαφθέντα ιχθύδια τσιπούρας, παρατήρησαν ότι το τελικό βάρος και οι σωματομετρήσεις δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές. Αντίθετα, σημαντική αύξηση παρουσιάστηκε στον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR) των ιχθυδίων, γεγονός που έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Πρέπει να σημειωθεί ότι, έπειτα από τη διερεύνηση της βιβλιογραφίας δεν κατέστη δυνατό να βρεθούν στοιχεία για την επίδραση των προβιοτικών στο συντελεστή ευρωστίας (Condition factor, CF) των ιχθύων.

Όπως παρατήρησαν οι Sáenz de Rodrigáñez et al. (2009), η χορήγηση με την τροφή δύο βακτηριακών στελεχών της οικογένειας *Alteromonadaceae* (Rdp11 & Rdp13) σε νεαρά άτομα γλώσσας Σενεγάλης, *Solea senegalensis*, κατά την παροχή του Rdp11 (*Shewanella putrefaciens*) δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές στην αξιοποίηση της τροφής (FCR, PER & PPV), αν και εμφανίστηκαν σημαντικές τάσεις αύξησης των δεικτών αυτών. Από τη μελέτη των Hidalgo et al. (2006), προκύπτει ότι οι δείκτες αξιοποίησης της τροφής και συγκεκριμένα τα FCR, PER & PPV, δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τη διατροφική χορήγηση δύο προβιοτικών, *Bacillus toyoi* & *B. cereus*, σε τρεις συγκεντρώσεις (0,5, 1,0 & 2 g/kg τροφής). Όμοια αποτελέσματα παρουσιάστηκαν και από τους Dhanaraj et al. (2010), όπου η χορήγηση *Lactobacillus acidophilus* στον κυπρίνο, *Cyprinus carpio*, δεν επέδρασε σημαντικά στους δείκτες αξιοποίησης της τροφής (FCR, PER & PPV). Η εκτίμηση της επίδρασης του *Pediococcus acidilactici* στην ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) από τους Merrifield et al. (2011), έδειξε ότι η διατροφική προσθήκη του προβιοτικού δεν προκαλεί σημαντική επίδραση στην αξιοποίηση της τροφής, ειδικότερα στο συντελεστή εκμετάλλευσης (FCR) τροφής και στο συντελεστή μετατρεψιμότητας των πρωτεϊνών (PER) της τροφής. Επίσης, οι Merrifield et al. (2010a & 2010b), σε δύο πειράματά τους (στο ένα χωρίς τη χορήγηση αντιβιοτικού και στο 2^ο έπειτα από θεραπεία με οξολονικό οξύ) διερεύνησαν την επίδραση της διατροφικής χορήγησης *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* και *Enterococcus faecium* (σε 3 συνδυασμούς, *B. subtilis*+*B. licheniformis*, *E. faecium* & *B. subtilis*+*B. licheniformis*+*E. faecium*) στην ανάπτυξη και την αξιοποίηση της τροφής νεαρών ατόμων ιριδίζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*). Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι, η χορήγηση των προβιοτικών δεν επέδρασε σημαντικά αξιοποίηση της τροφής (FCR & PER), όταν προηγήθηκε θεραπεία με οξολονικό οξύ, ενώ χωρίς την αντιβιοτική θεραπεία υπάρχει σημαντική βελτίωση στην αξιοποίηση της τροφής με την προσθήκη των προβιοτικών. Η έρευνα των He et al. (2009), σχετικά με την επίδραση της διατροφικής παροχής *Saccharomyces cerevisiae* στην ανάπτυξη νεαρών ατόμων υβριδίου τιλάπιας (*Oreochromis niloticus* ♀ x *O. aureus* ♂), δεν έδειξε σημαντικές διαφορές στο συντελεστή εκμετάλλευσης τροφής (FCR) και στην ημερήσια κατανάλωση τροφής. Παρόμοια αποτελέσματα ως προς το FCR παρουσιάστηκαν κατά τη χορήγηση δύο προβιοτικών στελεχών, των *Bacillus* NL110 & *Vibrio* NE17, σε νεαρά άτομα της γαρίδας *Macrobrachium rosenbergii* (Mujeeb Rahiman et al., 2010). Όπως παρατήρησαν οι Ghosh et al. (2007), η διατροφική χορήγηση *Bacillus subtilis* σε 4 είδη διακοσμητικών ιχθύων (*Poecilia reticulata*, *Poecilia sphenops*, *Xiphophorus helleri* & *Xiphophorus maculatus*), δεν προκάλεσε καμία σημαντική επίδραση στο συντελεστή εκμετάλλευσης της τροφής (FCR), στο *P. sphenops* σε καμία συγκέντρωση προβιοτικών. Τα αποτελέσματα των προαναφερθεισών ερευνών είναι παρόμοια με αυτά της παρούσας μελέτης, κατά την οποία παρατηρήθηκε ότι η διατροφική χορήγηση του *Lactobacillus plantarum* σε δύο συγκεντρώσεις σε νεαρά άτομα τσιπούρας, *Sparus aurata*, δεν προκάλεσε σημαντική επίδραση στους δείκτες αξιοποίησης της τροφής, FCR (Πιν. 3.6), PER (Πιν. 3.7), LER (Πιν. 3.8), PPV & LPV (Πιν. 3.9). Ένας πιθανός λόγος, όπου η χορήγηση του *Lactobacillus plantarum* δεν είχε σημαντική επίδραση στους δείκτες ανάπτυξης της

τσιπούρας και την αξιοποίηση της τροφής, μπορεί να είναι η μη ικανοποιητική αποίκιση του γαλακτοβάκιλλου στη γαστρεντερική οδό των ιχθύων. Αυτό προκύπτει από την έρευνα των Carnevali et al. (2004), όπου παρατήρησαν πως το *Lactobacillus plantarum* εγκαθίσταται ικανοποιητικά σε νεαρότερα στάδια ανάπτυξης της τσιπούρας. Δυστυχώς, από τη διερεύνηση της βιβλιογραφίας δεν κατέστη δυνατό να βρεθούν στοιχεία, σχετικά με την επίδραση των προβιοτικών στους υπόλοιπους δείκτες αξιοποίησης της τροφής, και ειδικότερα για το συντελεστή μετατρεψιμότητας (LER) και το δείκτη αξιοποίησης των λιπών (LPV), περιορίζοντας τη δυνατότητα σύγκρισης των σχετικών δεδομένων.

Από τη διερεύνηση της βιβλιογραφίας, παρατηρήθηκε ότι υπάρχει ποικιλομορφία ως προς την επίδραση των προβιοτικών στην ανάπτυξη και στην αξιοποίηση της τροφής των ιχθύων. Γι' αυτό κρίθηκε σκόπιμο να γίνει αναφορά σε κάποιες από τις έρευνες, στις οποίες με την διατροφική χορήγηση προβιοτικών παρατηρήθηκε βελτίωση των δεικτών ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής. Σύμφωνα με τους Suzer et al. (2008), η χορήγηση μίγματος προβιοτικών (εμπορικά σκευάσματα οξυγαλακτικών βακτηρίων *Lactobacillus plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *Streptococcus thermophiles*, *Bifidobacterium bifidum* & *Enterococcus faecium*) σε νεοεκκολαφθέντα ιχθύδια τσιπούρας, είχε ως αποτέλεσμα σημαντική αύξηση των δεικτών ανάπτυξης. Η διατροφική παροχή *Lactobacillus plantarum* (Son et al., 2009) και *Saccharomyces cerevisiae* (Chiu et al., 2010), προκάλεσε σημαντική αύξηση της εκατοστιαίας αύξησης βάρους (%WG) και της μετατρεψιμότητας της τροφής της σφυρίδας, *Epinephelus coioides*. Άλλο ένα είδος γαλακτοβάκιλλου, του οποίου η χρήση στα νεαρά ιχθύδια αφρικανικού γατόψαρου (*Clarias gariepinus*) προκάλεσε σημαντική αύξηση στους δείκτες ανάπτυξης (ZB, SGR) και αξιοποίησης της τροφής (FCR, PER), είναι το *Lactobacillus acidophilus* (Al-Dohail et al., 2009). Σημαντική βελτίωση της ανάπτυξης (Ζων Βάρος) παρατηρήθηκε από τους Carnevali et al. (2006) σε νεαρά άτομα λαυρακιού (*Dicentrarchus labrax*), έπειτα από χορήγηση του οξυγαλακτικού στελέχους *Lactobacillus delbrueckii delbrueckii*. Σε συνέχεια των παραπάνω, σημαντική αύξηση του ζώντος βάρους και της ημερήσιας αύξησης βάρους εμφανίστηκε με τη διατροφική χορήγηση του *Enterococcus faecium* σε νεαρά άτομα τιλάπιας (*Oreochromis niloticus*), όπως παρατήρησαν οι Wang et al. (2008). Η χορήγηση με την τροφή 2 διαφορετικών προβιοτικών καλλιεργειών, ενός μίγματος *Streptococcus faecium* & *Lactobacillus acidophilus*, και *Saccharomyces cerevisiae* (Lara-Flores et al., 2003), καθώς επίσης και του εμπορικού σκευάσματος Biogen® (*Bacillus subtilis*) (El-Haroun et al., 2006), προκάλεσε σημαντική αύξηση στους δείκτες ανάπτυξης (ZB, WG, SGR) και αξιοποίησης της τροφής (FCR, PER, PPV). Η χορήγηση *Bacillus* sp. σε νεαρά ιχθύδια κοινού κυπρίνου, *Cyprinus carpio*, βελτίωσε σημαντικά το τελικό ZB, την ημερήσια αύξηση βάρους, το σχετικό ρυθμό ανάπτυξης (RGR) και το συντελεστή εκμετάλλευσης τροφής (FCR), όπως παρατηρήθηκε από τους Wang & Xu (2006). Από τη διατροφική χορήγηση *Debaryomyces hansenii* σε ατελή ιχθύδια λαυρακιού, *Dicentrarchus labrax*, προέκυψε ότι αυξήθηκε σημαντικά το τελικό βάρος των ιχθυδίων, σύμφωνα με τους Tovar et al. (2010).

Η χημική σύσταση του σώματος των ιχθύων της παρούσας έρευνας αφορούσε την εκατοστιαία σύσταση σε υγρασία, τέφρα, πρωτεΐνες και λίπη, στο νωπό (%NB) και στο ξηρό βάρος (%EB). Τα αποτελέσματα των αναλύσεων της χημικής σύστασης (Πιν. 3.10) εμφανίζονται όμοια με την διάρκειας 11 εβδομάδων μελέτη των Hernandez et al. (2010), όπου η διατροφική χορήγηση *Lactobacillus casei* (εμπορικό σκεύασμα Yakult®) σε νεαρά άτομα *Poecilopsis gracilis* δεν προκάλεσε σημαντικές διαφορές στη σύσταση του σώματος (υγρασία, τέφρα πρωτεΐνες και λίπη). Μη σημαντική επίδραση της διατροφικής χορήγησης *Pediococcus acidilactici* στη χημική σύσταση του σώματος νεαρών ατόμων ιριδιζουσας πέστροφας, *Oncorhynchus mykiss*, παρατήρησαν και οι Merrifield et al. (2011), έπειτα από τη διενέργεια σχετικής έρευνας. Η χορήγηση με τη διατροφή *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* και *Enterococcus faecium* (σε 3 συνδυασμούς, *B. subtilis*+*B. licheniformis*, *E. faecium* & *B. subtilis*+*B. licheniformis*+*E. faecium*) σε νεαρά άτομα ιριδιζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*), έδειξε ότι η χημική σύσταση δεν επηρεάστηκε από την προσθήκη των προβιοτικών (Merrifield et al., 2010b). Διενεργώντας το ίδιο με προηγούμενος πείραμα, με τη μοναδική διαφορά ότι προηγήθηκε αντιβιοτική θεραπεία με οξολονικό οξύ, οι Merrifield et al. (2010a) και πάλι δεν παρατήρησαν κάποια σημαντική διαφορά στη χημική σύσταση του σώματος των ιχθύων. Η υγρασία, η τέφρα, οι πρωτεΐνες και τα λίπη, δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τη διατροφική χορήγηση του προβιοτικού Rdp11 σε νεαρά άτομα σενεγαλέζικης γλώσσας, *Solea senegalensis* (Sáenz de Rodríguez et al., 2009), καθώς και του *Bacillus subtilis* στα διακοσμητικά είδη *Poecilia sphenops* & *Xiphophorus helleri* (Ghosh et al., 2007). Σύμφωνα με τους Taoka et al. (2006), η χορήγηση προβιοτικών στην τροφή του ιαπωνικού καλκανιού, *Paralichthys olivaceus*, δεν επέδρασε στη χημική σύσταση του σώματος, εκτός του λίπους, όπου εμφανίστηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων πειραματικών επεμβάσεων. Η σύσταση του σώματος του κυπρίνου, *Cyprinus carpio*, κατόπιν χορήγησης *Lactobacillus acidophilus* και/ή *Saccharomyces cerevisiae* σε διάφορες συγκεντρώσεις, δεν παρουσίασε σημαντικές διαφοροποιήσεις ως προς την εκατοστιαία αναλογία πρωτεϊνών και λιπών του σώματος των ιχθύων (Dhanaraj et al., 2010).

Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης προκύπτει ότι ο γοναδοσωματικός δείκτης (GSI, Gonad-Somatic Index), κατά τη διατροφή του ιχθυοπληθυσμού με τη συγκέντρωση προβιοτικού 10^{10} CFU/g τροφής (υψηλή, PH), ήταν σημαντικά υψηλότερος σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις (Πιν. 3.11). Παρόμοια αποτελέσματα, όσον αφορά στο γοναδοσωματικό δείκτη παρουσίασαν και οι Ghosh et al. (2007), σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε σε 4 είδη διακοσμητικών ιχθύων (*Poecilia reticulata*, *Poecilia sphenops*, *Xiphophorus helleri* & *Xiphophorus maculatus*). Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική αύξηση του γοναδοσωματικού δείκτη (GSI) για τα *Poecilia reticulata*, *Poecilia sphenops* & *Xiphophorus helleri*, κατόπιν χορήγησης *Bacillus subtilis* σε 4 διαφορετικές συγκεντρώσεις. Η αύξηση του γοναδοσωματικού δείκτη πιθανόν να σημαίνει ότι τα προβιοτικά επηρεάζουν προς το καλύτερο την αναπαραγωγική κατάσταση των ιχθύων, ή προκαλούν τη γεννητική τους ωρίμανση γρηγορότερα. Σύμφωνα με τους Ghosh et al. (2007) τα προβιοτικά προκαλούν ρύθμιση της αναπαραγωγικής φυσιολογίας, βελτιώνοντας την έκκριση

ενζύμων του ξενιστή, με αποτέλεσμα την αύξηση της πεπτικότητας του συμπλέγματος των πρωτεϊνών και των λιπιδίων της τροφής. Με αυτόν τον τρόπο, μέσω των απαραίτητων λιπαρών οξέων παρέχεται η απαιτούμενη, για την αναπαραγωγική διαδικασία, ενέργεια. Επιπλέον, η παραγωγή βιταμινών του συμπλέγματος Β και διαφόρων διεγερτικών ουσιών από τα προβιοτικά βακτήρια, πιθανόν διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αύξηση της αναπαραγωγικής κατάστασης των ιχθύων. Πλέον των παραπάνω, η διατροφή με προβιοτικά πιθανόν προκαλεί υψηλότερη γονιμότητα, ως αποτέλεσμα της αύξησης της αναρρόφησης νερού και των διαδικασιών φωσφορυλίωσης, σε συνδυασμό με τη μεταβολή των δευτερογενών πρωτεϊνικών δομών (Giorgini et al., 2010). Όσον αφορά στους υπόλοιπους οργανοσωματικούς δείκτες, συγκεκριμένα τον ηπατοσωματικό δείκτη (HSI), το δείκτη περισπλαχνικού λίπους (ΔΠΑ) και το σπληνοσωματικό δείκτη (SSI), προέκυψε ότι δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων της παρούσας έρευνας. Σύμφωνα με τους Varela et al. (2010), η διατροφική χορήγηση του προβιοτικού Rdp11 (*Shewanella putrefaciens*) στην τσιπούρα, *Sparus aurata*, δεν προκέλεσε σημαντική διαφοροποίηση στον ηπατοσωματικό δείκτη. Παρόμοια αποτελέσματα, σχετικά με την επίδραση των προβιοτικών στον ηπατοσωματικό δείκτη, παρουσίασαν οι Taoka et al. (2006), έπειτα από διατροφική παροχή προβιοτικών του εμπορίου (μίγμα *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Clostridium butyricum* & *Saccharomyces cerevisiae*) σε άτομα ιαπωνικού καλκανιού, *Paralichthys olivaceus*. Αντίθετα με την παρούσα, ο ηπατοσωματικός δείκτης παρουσίασε σημαντική αύξηση, όταν χορηγήθηκε εμπορικό προβιοτικό Biogen® (*Bacillus subtilis*), σε νεαρά άτομα λαγόψαρου (*Siganus rivulatus*), όπως παρατηρήθηκε από τους El-Dakar et al. (2007). Από τη διερεύνηση της βιβλιογραφίας, δεν βρέθηκαν στοιχεία, σχετικά με την επίδραση των προβιοτικών στους υπόλοιπους οργανοσωματικούς δείκτες του πειράματος, και συγκεκριμένα για το σπληνοσωματικό δείκτη και το δείκτη του περισπλαχνικού λίπους.

Η μοναδική αιματολογική παράμετρος που αναλύθηκε στην παρούσα έρευνα, ήταν ο αιματοκρίτης (Ht). Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι η διατροφική χορήγηση του *Lactobacillus plantarum* στα νεαρά άτομα τσιπούρας, *Sparus aurata*, δεν είχε καμία σημαντική επίδραση στις τιμές του αιματοκρίτη των ιχθύων. Σύμφωνα με τους Aly et al. (2008), ο αιματοκρίτης νεαρών ατόμων τιλάπιας του Νείλου, *Oreochromis niloticus*, δεν επηρεάστηκε στατιστικά σημαντικά από τη χορήγηση *Bacillus pumilus* και του εμπορικού σκευάσματος Organic Green™ (μίγμα *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces* & *Aspergillus oryzae*) με την τροφή. Η χορήγηση με τη διατροφή *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* και *Enterococcus faecium* (σε 3 συνδυασμούς, *B. subtilis*+*B. licheniformis*, *E. faecium* & *B. subtilis*+*B. licheniformis*+*E. faecium*) σε νεαρά άτομα ιριδίζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*), έδειξε ότι η τιμή του αιματοκρίτη δεν επηρεάστηκε από την προσθήκη των προβιοτικών (Merrifield et al., 2010b). Διενεργώντας το ίδιο με προηγούμενος πείραμα, με τη μοναδική διαφορά ότι προηγήθηκε αντιβιοτική θεραπεία με οξολονικό οξύ, οι Merrifield et al. (2010a) και πάλι δεν παρατήρησαν κάποια σημαντική διαφορά στην τιμή του αιματοκρίτη των ιχθύων. Μη σημαντική επίδραση της διατροφικής παροχής *Pediococcus acidilactici* στον αιματοκρίτη νεαρών ατόμων ιριδίζουσας πέστροφας,

Oncorhynchus mykiss, παρατηρήθηκε από τους Merrifield et al. (2011). Σύμφωνα με τους Aly et al. (2008), η μη σημαντική επίδραση στην τιμή του αιματοκρίτη σημαίνει ότι η δοσολογία των χορηγούμενων προβιοτικών βρίσκεται εντός των ασφαλών ορίων για τους ιχθύες. Αντίθετα με τα προαναφερθέντα, σημαντική αύξηση του αιματοκρίτη προκάλεσαν η χορήγηση *Lactobacillus acidophilus* σε νεαρά ιχθύδια αφρικανικού γατόψαρου, *Clarias gariepinus* (Al-Dohail et al., 2009) και *Saccharomyces cerevisiae* (στις υψηλές συγκεντρώσεις) σε νεαρά ιχθύδια τιλάπιας του Νείλου, *Oreochromis niloticus* (Abdel-Tanwab et al., 2008). Η αύξηση των τιμών του αιματοκρίτη με τη χορήγηση προβιοτικών συνεπάγεται τη βελτίωση της υγείας των ιχθύων, μέσω της μείωσης των επιπέδων της κορτιζόλης στο πλάσμα του αίματος (Al-Dohail et al., 2009; Abdel-Tanwab et al., 2008).

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τη διερεύνηση της βιβλιογραφίας, προκύπτει ότι υπάρχουν σημαντικές διαφοροποιήσεις, όσον αφορά στην επίδραση των προβιοτικών στη διατροφή των ιχθύων. Η ποικιλία των αποτελεσμάτων, ακόμα και με τη χρήση του ίδιου προβιοτικού και του ίδιου είδους ιχθύων, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η επίδραση της χορήγησης προβιοτικών είναι εξαιρετικά πολύπλοκη διαδικασία και τις περισσότερες φορές τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατό να επαναληφθούν (Merrifield et al., 2010a). Οι πιθανοί παράγοντες που επηρεάζουν τα δεδομένα των ερευνών, μπορούν να συνοψιστούν στους εξής:

1. Το στάδιο ανάπτυξης των ιχθύων
2. Η χρονική διάρκεια της πειραματικής εκτροφής
3. Η φυσιολογική κατάσταση των ιχθύων (διατροφική, υγιεινή, κλπ)
4. Το είδος του ιχθύος
5. Η μέθοδος και ο τρόπος χορήγησης των προβιοτικών (διατροφική ή με το νερό εκτροφής)
6. Αλληλεπιδράσεις και ανταγωνισμός μεταξύ των προβιοτικών και της ενδογενούς εντερικής χλωρίδας των ιχθύων
7. Η παρουσία των προβιοτικών ως μέρος του ιθαγενούς πληθυσμού της εντερικής χλωρίδας των ιχθύων
8. Οι συνθήκες εκτροφής
9. Η εποχιακή διακύμανση της μικροχλωρίδας του γαστρεντερικού σωλήνα των ιχθύων
10. Δεν έχουν διερευνηθεί πλήρως οι μηχανισμοί δράσης και αποίκησης των προβιοτικών στη γαστρεντερική οδό των ιχθύων

Τα δεδομένα της παρούσας έρευνας, συνιστούν ότι το *Lactobacillus plantarum* δεν επέδρασε σημαντικά στις περισσότερες παραμέτρους που μελετήθηκαν. Υπήρξε όμως σημαντική βελτίωση του γοναδοσωματικού δείκτη, καθώς και ελάττωση στις τιμές της αμμωνίας (ολική και τοξική) και των νιτρωδών ιόντων του νερού εκτροφής. Με βάση αυτές τις σημαντικές διαφοροποιήσεις, αλλά και το γεγονός ότι στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν μελέτες που παρουσιάζουν πληθώρα θετικών επιδράσεων, προτείνεται περαιτέρω διερεύνηση του εξειδικευμένου ρόλου του *Lactobacillus plantarum*, καθώς και άλλων προβιοτικών, στη διατροφή της τσιπούρας, *Sparus aurata*.

E. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abdel-Tawwab M., Abdel-Rahman A.M., Ismael N.E.M., 2008.** Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 280, pp. 185-189.
- Al-Dohail M.A., Hashim R., Aliyu-Paiko M., 2009.** Effects of the probiotic, *Lactobacillus acidophilus*, on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerling. *Aquaculture Research*, 40, pp. 1642-1652.
- Aly S.M., Mohamed M.F., John G., 2008.** Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research*, 39, pp. 647-656.
- Balcázar J.L., de Blas I., Ruiz-Zarzuela I., Cunningham D., Venrdrell D., Múzquiz J.L., 2006.** Review: The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*, 114, pp. 173-186.
- Bandyopadhyay P., Das Mohapatra P.K., 2009.** Effect of a probiotic bacterium *Bacillus circulans* PB7 in the formulated diets: on growth, nutritional quality and immunity of *Catla catla* (Ham.). *Fish Physiol Biochem*, 35, pp. 467-478.
- Brunt J., Hansen R., Jamieson D.J., Austin B., 2008.** Proteomic analysis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) serum after administration of probiotics in diets. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 121, pp. 199-205.
- Carnevali O., de Vivo L., Sulpizio R., Gioacchini G., Olivotto I., Silvi S., Cresci A., 2006.** Growth improvement by probiotic in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*, L.), with particular attention to IGF-1, myostatin and cortisol gene expression. *Aquaculture*, 258, pp. 430-438.
- Carnevali O., Zamponi M.C., Sulpizio R., Rollo A., Nardi M., Orpianesi C., Silvi S., Caggiano M., Polzonetti A.M., Cresci A., 2004.** Administration of probiotic strain to improve sea bream wellness during development. *Aquaculture International*, 12, pp. 377-386.
- Chiu C.H., Cheng C.H., Gua W.R., Guu Y.K., Cheng W., 2010.** Dietary administration of the probiotic, *Saccharomyces cerevisiae* P13, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology*, 29, pp. 1053-1059.
- Delgado A., Estevez A., Hortelano P., Alejandro M.J., 1994.** Analysis of fatty acids from different lipids in liver and muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Influence of temperature and fasting. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Vol. 4, 108a, pp. 673-680.
- Dhanaraj M., Haniffa M.A., Arun Singh S.V., Jesu Arockiaraj A., Muthu Ramakrishanan C., Seetharaman S., Arthimanju R., 2010.** Effect of

Probiotics on Growth Performance of Koi Carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Applied Aquaculture*, 22, pp. 202-209.

- El-Dakar A.Y., Shalaby S.M., Saoud I.P., 2007.** Assessing the use of a dietary probiotic/prebiotic as an enhancer of spinefoot rabbitfish *Siganus rivulatus* survival and growth. *Aquaculture Nutrition*, 13, pp. 407-412.
- EL-Haroun E.R., Goda A.M.A-S, Kabir Chowdhury M.A., 2006.** Effect of dietary probiotic Biogen supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture Research*, 37, pp. 1473-1480.
- FAO. 2009.,** *The state of world fisheries and aquaculture 2008*. Fisheries and aquaculture Department. Rome : s.n., 2009.
- Fuller, R., 1989.** Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, pp. 365-378.
- García de La Banda I., Lobo C., León-Rubio J.M., Tapia-Paniagua S., Balebona M.C., Moriñigo M.A., Moreno-Ventas X., Lucas L.M., Linares F., Arce F., Arijo S., 2010.** Influence of two closely related probiotics on juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) performance and protection against *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. *Aquaculture*, 306, pp. 281-288.
- Gatesoupe, F.-J., 1999.** Review: The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180, pp. 147-165.
- Ghosh S., Sinha A., Sahu C., 2007.** Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. *Aquaculture Nutrition*, 13, pp. 1-11.
- Ghosh S., Sinha A., Sahu C., 2007.** Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish. *Aquaculture Research*, 38, pp. 518-526.
- Giorgini E., Conti C., Ferraris P., Sabbatini S., Tosi G., Rubini C., Vaccari L., Giocchini G., Carnevali O., 2010.** Effects of *Lactobacillus rhamnosus* on zebrafish oocyte maturation: an FTIR imaging and biochemical analysis. *Anal Bioanal Chem*, 398, pp. 3063-3072.
- Girones R., Jofre J.T., Bosch A., 1989.** Isolation of marine bacteria with antiviral properties. *Canadian Journal of Microbiology*, 35, pp. 1015-1021.
- Gomez-Gil B., Herrera-Vega M., Abeu-Grobois F., Roque A., 1998.** Bioencapsulation of two different *Vibrio* species in nauplii of the brine shrimp (*Artemia franciscana*). *Applied Environmental Microbiology*, 64, pp. 2318-2322.
- Greenberg, A.E., Clesceri, L.S. and Eaton, A.D., 1992.** *Standard methods for the examination of water and wastewater*. s.l. : American Public Health Association. American Water Works Association. Water Environmental Federation. pp. 4-85.

- Hansen, G.H. and Olafsen, J.A., 1999.** Bacterial Interactions in Early Life Stages of Marine Cold Water Fish. *Microbial ecology*, 38, pp. 1-26.
- He S., Zhou Z., Liu Y., Shi P., Yao B., Ringø E., Yoon I., 2009.** Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product (DVAQUA®) on growth performance, intestinal autochthonous bacterial community and non-specific immunity of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀×*O. aureus* ♂) cultured in cages. *Aquaculture*, 294, pp. 99-107.
- Hernandez L.H.H., Barrera T.C., Mejia J.C., Mejia G.C., Del Carmen M., Dosta M., De Lara Andrade R., Sotres J.A.M., 2010.** Effects of the commercial probiotic *Lactobacillus casei* on the growth, protein content of skin mucus and stress resistance of juveniles of the Porthole livebearer *Poeciliopsis gracilis* (*Poeciliidae*). *Aquaculture Nutrition*, 16, pp. 407-411.
- Hidalgo F., Alliot E., Thebault H., 1987.** Influence of water temperature on food intake and gross composition on juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 64, pp. 199-207.
- Hidalgo M.C., Skalli A., Abellán E., Arizcun M., Cardenete G., 2006.** Dietary intake of probiotics and maslinic acid in juvenile dentex (*Dentex dentex* L.): effects on growth performance, survival and liver proteolytic activities. *Aquaculture Nutrition*, 12, pp. 256-266.
- Irianto A., Austin B., 2002.** Probiotics in aquaculture. *Journal of fish diseases*, 25, pp. 633-642.
- Irianto A., Austin B., 2002.** Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 25, pp. 333-342.
- Kesarcodi-Watson A., Kaspar H., Josie Lategan M., Gibson L., 2008.** Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms. *Aquaculture*, 274, pp. 1-14.
- Lara-Flores M., Olvera-Novoa M.A., Guzmán-Méndez B.E., López-Madrid W., 2003.** Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216, pp. 193–201.
- Merrifield D.L., Bradley G., Harper G.M., Baker R.T.M., Davies S.J., 2010.** Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) II. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria post antibiotic treatment. *Aquaculture Nutrition*, 16, pp. 496-503.
- Merrifield D.L., Bradley G., Harper G.M., Baker R.T.M., Munn C.B., Davies S.J., 2011.** Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilactici* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 17, pp. 73-79.

- Merrifield D.L., Dimitroglou A., Bradley G., Baker R.T.M., Davies S.J., 2010.** Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) I. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria. *Aquaculture Nutrition*, 16, pp. 504-510.
- Merrifield D.L., Dimitroglou A., Foey A., Davies S.J., Baker R.T.M., Bøgwald J., Castex M., Ringø E., 2010.** The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, 302, pp. 1-18.
- Momba A., Nemcova R., Mudrona D., Guba P., 2002.** The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 13, pp. 121-126.
- Mujeeb Rahiman K.M., Jesmi Y., Thomas A.P., Mohamed Hatha A.A., 2010.** Probiotic effect of *Bacillus* NL110 and *Vibrio* NE17 on the survival, growth performance and immune response of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture Research*, 41, pp. 120-134.
- Nayak S.K., Swain R., Mukherjee S.C., 2007.** Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham.). *Fish & Shellfish Immunology*, 23, pp. 892-896.
- Nikoskelainen S., Ouwehand A., Salminen S., Bylund G., 2001.** Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*. *Aquaculture*, 198, pp. 229-236.
- Nikoskelainen S., Salminen S., Bylund G., Ouwehand A., 2001.** Characterization of the properties of human and dairy-derived probiotics for prevention of infectious diseases in fish. *Applied Environmental Microbiology*, 67, pp. 2430-2435.
- Panigrahi A., Kirana V., Kobayashi T., Puangkaew J., Satoh S., Sugita H., 2004.** Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 102, pp. 379-388.
- Panigrahi A., Kirana V., Kobayashi T., Puangkaew J., Satoh S., Sugita H., 2005.** The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 243, pp. 241-254.
- Peeters M., Rodriguez J., 1999.** Problemas bacterianos en la industria camaronera ecuatoriana, practicas de manejo y alternativas de control. *El Mundo Acuicola*, 5, pp. 13-18. (in spanish).
- Picchietti S., Mazzini M., Taddei A.R., Renna R., Fausto A.M., Mulero V, Carnevali O., Cresci A., Abelli L., 2007.** Effects of administration of probiotic strains on GALT of larval gilthead seabream: Immunohistochemical and ultrastructural studies. *Fish & Shellfish Immunology*, 22, pp. 57-67.
- Ringø, E. and Gatesoupe, F.J., 1998.** Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160, pp. 177-203.

- Ringø E., Sperstad S., Myklebust R., Refstie S., Krogdahl Å., 2006.** Characterisation of the microbiota associated with intestine of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). The effect of fish meal, standard soybean meal and a bioprocessed soybean meal. *Aquaculture*, 261, pp. 829-841.
- Robertson P.A.W., O'Dowd C., Burrells C., Williams P., Austin B., 2000.** Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Aquaculture*, 185, pp. 235-243.
- Rollo A., Sulpizio R., Nardi M., Silvi S., Orpianesi C., Caggiano M., Cresci A., Carnevali O., 2006.** Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. *Fish Physiology & Biochemistry*, 32, pp. 167-177.
- Sáenz de Rodrigáñez M.A., Díaz-Rosales P., Chabrilón M., Smidt H., Arijo S., León-Rubio J.M., Alarcón F.J., Balebona M.C., Moriñigo M.A., Cara J.B., Moyano F.J., 2009.** Effect of dietary administration of probiotics on growth and intestine functionality of juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858). *Aquaculture Nutrition*, 15, pp. 177-185.
- Sakai M., Yoshida T., Astuta S., Kobayashi M., 1995.** Enhancement of resistance to vibriosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), by oral administration of *Clostridium butyricum* bacteria. *Journal of Fish Diseases*, 18, pp. 187-190.
- Son V.M., Chang C.C., Wu M.C., Guu Y.K., Chiu C.H., Cheng W., 2009.** Dietary administration of the probiotic, *Lactobacillus plantarum*, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology*, 26, pp. 691-698.
- Spanggaard B., Huber I., Nielsen J., Sick E., Pipper C., Martinussen T., Slierendrecht W., Gram L., 2001.** The probiotic potential against vibriosis of the indigenous microflora of rainbow trout. *Environmental Microbiology*, 3, pp. 755-765.
- Suzer C., Çoban D., Okan Kamaci H., Saka Ş., Firat K., Otgucuoglu Ö., Küçüksari H., 2008.** *Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae: Effects on growth performance and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 280, pp. 140-145.
- Taoka Y., Maeda H., Jo J.-Y., Jeon M.-J., Bai S.C., Lee W.-J., Yuge K., Koshio S., 2006.** Growth, stress tolerance and non-specific immune response of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, to probiotics in a closed recirculating system. *Fisheries Science*, 72, pp. 310-321.
- Taoka Y., Maeda H., Jo J.-Y., Kim S.-M., Park S.-I., Yoshikawa T., Sakata T., 2006.** Use of live and dead probiotic cells in tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fisheries Science*, 72, pp. 755-766.

- Tovar-Ramírez D., Mazurais D., Gatesoupe J.F., Quazuguel P., Cahu C.L., Zambonino-Infante J.L., 2010.** Dietary probiotic live yeast modulates antioxidant enzyme activities and gene expression of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*, 300, σσ. 142-147.
- Tovar-Ramírez D., Zambonino-Infante J., Cahu C., Gatesoupe F.J., Vázquez-Juárez R., 2004.** Influence of dietary live yeast on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larval development. *Aquaculture*, 234, pp. 415-427.
- Varela J.L., Ruiz-Jarabo I., Vargas-Chacoff L., Arijo S., León-Rubio J.M., García-Millán I., Martín del Río M.P., Moriñigo M.A., Mancera J.M., 2010.** Dietary administration of probiotic Pdp11 promotes growth and improves stress tolerance to high stocking density in gilthead seabream *Sparus auratus*. *Aquaculture*, 309, pp. 265-271.
- Waché Y., Auffray F., Gatesoupe F.J., Zambonino J., Gayet V., Labbé L., Quentel C., 2006.** Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, fry. *Aquaculture*, 258, pp. 470-478.
- Wang Y.B., 2007.** Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 269, pp. 259-264.
- Wang Y.B., He Z., 2009.** Effect of probiotics on alkaline phosphatase activity and nutrient level in sediment of shrimp, *Penaeus vannamei*, ponds. *Aquaculture*, 287, pp. 94-97.
- Wang Y.B., Tian Z.Q., Yao J.T., Li W.F., 2008.** Effect of probiotics, *Enterococcus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Aquaculture*, 277, pp. 203-207.
- Wang Y.B., Xu Z., 2006.** Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Animal Feed Science and Technology*, 127, pp. 283-292.
- Wassef E., Abu Wafaa M., 1985.** Food and feeding habits of wild and reared gilthead bream *Sparus aurata* L. Ph.D. Thesis. Cairo : Faculty of Science, Cairo University. pp. 233-241.
- Καλαϊσάκης Π., 1982.** Εφαρμοσμένη διατροφή αγροτικών ζώων. 2α. Αθήνα : Εκδόσεις Αθαν. Σταμούλης. σ. 563.
- Κασπίρης Π., 1998.** Πανεπιστημιακές παραδόσεις Ιχθυολογίας. Πάτρα : Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, 1998.
- Κασπίρης Π., 1998.** Πανεπιστημιακές παραδόσεις Υδατοκαλλιέργειών. Πάτρα : Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, 1998.
- Παπουτσόγλου, Σ.Ε., 1992.** Βιολογική και διαιτητική αξία των ιχθύων. *Αλιευτικά Νέα*. Μάρτιος 1992, σσ. 20-21.

Παπουτσόγλου, Σ.Ε., 1994. *Μαθήματα Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας. Ειδικό Μέρος: Εκτροφές Υδρόβιων Οργανισμών.* Αθήνα : Τυπογραφείο Γ.Π.Α., 1994. σσ. 93-96.

Παπουτσόγλου, Σ.Ε., 1992. Ο ρόλος της διατροφής στη διαχείριση των μονάδων παραγωγής ευρύαλων ψαριών. *Αλιευτικά Νέα.* Ιούνιος 1992, σσ. 49-67.