**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΦΗΡΜΟΣΜΕΝΗΣ ΥΔΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

# ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΑΣΙΤΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗΣ ΣΤΑ ΠΕΠΤΙΚΑ ΕΝΖΥΜΑ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (*Sparus aurata*) ΚΑΙ ΤΟΥΛΑΒΡΑΚΙΟΥ (*Dichentrarchus labrax*)

***ΦΑΝΟΥΡΑΚΗΣ ΣΤΥΛΙΑΝΟΣ***

**Εξεταστική Επιτροπή:**

| | |
|---|---|
| **Παπουτσόγλου Σ.** | **Καθηγητής** |
| **Φεγγερός Κ.** | **Καθηγητής** |
| **Καρακατσούλη Ν. Επ.** | **Καθηγητής** |
| **Μουντζούρης Κ.** | **Λέκτορας** |
| **Παπαδομιχελάκης Γ.** | **Λέκτορας** |

**Αθήνα, Σεπτέμβριος 2009**

# Α. ΔΙΕΡΕΥΝΙΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΑΣΙΤΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗΣ ΣΤΑ ΠΕΠΤΙΚΑ ΕΝΖΥΜΑ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (*Sparus aurata*) ΚΑΙ ΤΟΥ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ (*Dichentrarchus labrax*)

***ΦΑΝΟΥΡΑΚΗΣ ΣΤΥΛΙΑΝΟΣ***

***Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών, Εργαστήριο Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας, Ιερά Οδός 75, Αθήνα, 118 55***

## *Περίληψη*

ΕΙΣΑΓΩΓΗ:

Οι ιχθύες στο φυσικό τους περιβάλλον και ανάλογα με το είδος της διατροφής τους υφίστανται διαστήματα κατά τα όποια στερούνται τροφής και φαίνονται να ανέχονται καλώς, εν αντιθέση με τα χερσαία θηλαστικά. Οι ακριβείς επιδράσεις της ασιτίας και της επανασίτισης δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς. Η παρούσα εργασία αποσκοπεί στη διερεύνηση της επίδρασης μικρών διαστημάτων ασιτίας και επανασίτισης στην ενεργότητα, στην πεπτική ικανότητα (πρωτεασών και καρβοϋδρασών) καθώς και σε ορισμένα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ιχθύων και των πεπτικών ιστών τους.

ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ:

Χρησιμοποιήθηκαν 84 άτομα τσιπούρας, *Sparus aurata* (164±41.5 g) και 84 λαβρακιού, *Dicentrarchus labrax* (130.8±38 g), που διατηρούνταν στο ημίκλειστο κύκλωμα του θαλασσινού νερού του Εργαστηρίου Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας του Τμήματος Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Οι ιχθύες θανατώνονταν, ζυγίζονταν και μετρούνταν. Εν συνεχεία, διαχωρίζονταν και ζυγίζονταν ο στόμαχος, τα πυλωρικά τυφλά και το έντερο, ομογενοποιούνταν και το εκχύλισμά τους χρησιμοποιούνταν για τον προσδιορισμό των ενεργοτήτων των πεπτικών τους ενζύμων. Η μέτρηση των χαρακτηριστικών και η εκτίμηση των τιμών των ενεργοτήτων και των πεπτικών ικανοτήτων έγινε στη διαχρονική τους εξέλιξη από την τελευταία λήψη τροφής και για το διάστημα έως και 192 ωρών μετά από αυτήν. Συγκεκριμένα έγινε για τα διαστήματα 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 και 96 ωρών (ασιτίας) και 120, 144, 168, 192 ωρών (επανασίτισης μια φόρα ανά ημέρα) και για τα 2 είδη ιχθύων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος, η ασιτία και η επανασίτιση δεν επέδρασαν στο σωματικό βάρος της τσιπούρας, αντίθετα, ο ηπατοσωματικός δείκτης της επηρεάστηκε, πτωτικά από την ασιτία. Στο λαβράκι δεν επηρεάστηκε το βάρος και ο ηπατοσωματικός δείκτης μετά από 4 μέρες ασιτίας.

Όσον αφόρα στις μεταβολές της **ενεργότητας πρωτεασών** στην **τσιπούρα** ακολούθησαν ένα γενικό μοτίβο για όλα τα ενζυμα το οποίο λειτουργούσε ως κάτωθι: αρχικώς και ως και τις 3 με 6 ώρες μετά το γεύμα είχαμε μια άνοδο της ενεργότητας τους και εν συνεχεία πτώση της τιμής της ενεργότητας, φτάνοντας στη χαμηλότερη τιμή την $12^{η}$ ώρα ασιτίας. Περαιτέρω, οι τιμές της ενεργότητας παρουσίασαν αύξηση έως τις 96 ώρες ασιτίας και έδωσαν πολύ υψηλές τιμές ενεργότητας κατά την επανασίτιση.

Εν αντιθέση με την τσιπούρα, στο **λαβράκι** η ολική **ενεργότητα** των **πρωτεασών** δεν επηρεάστηκε στατιστικώς σημαντικά από την ασιτία, πάρα το γεγονός ότι η ενεργότητα της πεψίνης στον στόμαχο σημείωσε κατά την ασιτία στατιστικώς σημαντική αύξηση. Αναλυτικότερα, η επίδραση της ασιτίας στην ενεργότητα των πρωτεασών του στομάχου του λαβρακιού, δηλαδή στην ενεργότητα της πεψίνης, παρατηρήσαμε ότι είναι αύξουσα σε σχέση με τον χρόνο, με μέγιστο τις 96 ώρες.

Όσον αφόρα στις **καρβοϋδράσες** στην **τσιπούρα** επηρεάστηκαν από την ασιτία παρουσιάζοντας μια πτώση των αρχικά υψηλοτέρων τιμών στατιστικώς σημαντική στις 72 και 96 ώρες, εν συνέχεια μια άνοδο σε μη στατιστικά διαφορετικές τιμές για την 1η, 2η και 3η ημέρα από την ώρα μηδέν. Την 4η ημέρα επανασίτισης είχαμε εκ νέου πτώση. Στο **λαβράκι** είχαμε άνοδο στις 3 και 12 ώρες ασιτίας και εν συνεχεία επαναφορά στα επίπεδα των μηδέν ωρών.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ:

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα, παρατηρείται διατήρηση ή και αύξηση των τιμών των ενεργοτήτων των πρωτεασών στην ασιτία, ενώ ταυτόχρονα μείωση των τιμών των ενεργοτήτων των καρβοϋδρασών. Συμπερασματικά λοιπόν μπορούμε να πούμε ότι οι ιχθύες κατά την ασιτία παραμένουν ικανοί να πέψουν την πρωτεΐνη και λιγότερο τους υδατάνθρακες.

***Λέξεις κλειδιά:*** *Πεπτικά ενζυμα, ασιτία, επανασίτιση, Τσιπούρα, Λαβράκι.*

# B. THE EFFECT ON DIGESTIVE ENZYME ACTIVITY (PROTEASES AND CARBOHYDRASES) OF SHORT TERM FASTING AND REFEEDING IN SEA BASS (*Dichentrarchus labrax*) AND SEA BREAM (*Sparus aurata*)

***FANOYRAKIS STYLIANOS***

***Faculty Of Animal Science and Aquaculture, Department of Applied Hydrobiology, Iera odos st. 75, Athens, 118 55***

## *Abstract*

INTRODUCTION:

Fish in their natural environment experience natural periods of food deprivation. This situation seems to be well tolerated by the fish. The exact effects of fasting are not yet studied thoroughly. The aim of the present study was to investigate the effects of short term fasting and refeeding in the activity and capacity of the digestive enzymes carbohydrases, proteases and in some phenotypic characteristics of the fish and their gut tissues.

MATERIALS & METHODS:

In this study, 84 gilt-head sea bream, *Sparus aurata* (164±41.5 g) and 84 European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (130.8±38 g) were used and maintained in the recirculated facilities of the Animal Production Department of the Agricultural University of Athens in Greece. Fish were weighted, measured and dissected. Stomach, pyloric caccea and intestine were homogenized, and their supernatant was used to produce samples for the total carbohydrases and proteases assays. The sampling was done according to a time table, which was set for studying the changes through time. According to this, 0 time was set as the time of the last meal of the post experiment period and sampling was performed after 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hours (Fasting). Also after 120,144, 168 and 192 hours (Refeeding –Once a day-) for both species.

## RESULTS

Fasting and refeeding did not seem to have any significant effect on body mass for both species. The condition factor after 4 days of fasting was significantly affected only on seabream and showed a fall of the values that the fish had at zero time.

Short term fasting and refeeding had a significantly important effect on the activity of the stomach's **digestive proteases** of the **seabass**, even though total proteases were not affected. Stomach digestive proteases of the seabass rise during food deprivation and reach their highest level at 96 hours of fasting. In **seabream**, after 3 and 6 hours of fasting, there was a significantly important raise in values that was followed by a fall at 12 hours. In all next samples enzyme activity showed high values.

Total **carbohydrases** were affected by starvation. In **sea bream,** there was a fall statistically different after 72 and 96 hours of starvation, that was followed by a rise in the same level of zero hours during the first three days of refeeding. At the $4^{th}$ day of refeeding, the results were lower. In **sea bass**, total carbohydrases showed a rise in values after 3 and 6 hours of starvation and returned on the levels of zero hours for the next of starvation and refeeding.

## DISCUSSION:

The results of the present study show that after starvation in sea bass and sea bream there is a fall in the levels of total carbohydrates. The results were partially reversed in the case of proteases. So, it is concluded that during starvation both species maintain their ability of digesting protein, but not carbohydrates.

***Key words:*** *digestive enzymes, fasting, refeeding, sea bass, sea bream.*

**ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Ευχαριστώ πολύ την οικογένεια μου και κυρίως την σύζυγό μου Ήλια που με την υπομονή, την υποστήριξη και τις θυσίες τους, έκαναν δυνατή αυτήν μου την προσπάθεια.

Ακόμη ευχαριστώ τους συναδέλφους και συμφοιτητές Λουκά Χριστίνα και Καπέλο Κώστα, όλα τα παιδιά του εργαστήριου και τους καθηγητές μου, που άλλος περισσότερο ή λιγότερο, πρόσφεραν ανιδιοτελώς τη βοήθεια τους.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ


| Α/Α | | Τίτλος | | Σελίδα |
|---|---|---|---|---|
| **Α** | | **Περίληψη** | | **I** |
| **Β** | | **Abstract** | | **II** |
| | | Περιεχόμενα | | **3-4** |
| **Γ** | | **Θεωρητικό Μέρος** | | **5** |
| **1** | | Εισαγωγή | | **5** |
| **1.1.1** | | Οι υδατοκαλλιέργειες στην Ελλάδα | | **5** |
| **1.1.2** | | Ιστορική Αναδρομή- Υφιστάμενη κατάσταση | | **5-7** |
| **1.2** | | Τα κυριότερα είδη των Ελληνικών υδατοκαλλιεργειών | | **8** |
| **1.2.1** | | Τσιπούρα | | **8-9** |
| **1.2.2** | | Λαβράκι | | **10-11** |
| **1.3** | | Μορφολογία πεπτικού συστήματος ιχθύων & φυσιολογία έκκρισης των πεπτικών ενζύμων | | **11** |
| **1.3.1** | | Στόμαχος | | **12** |
| **1.3.2** | | Πυλωρός | | **12** |
| **1.3.3** | | Έντερο – Πυλωρικά τυφλά | | **13** |
| **2** | | Ασιτία –Επανασίτιση στους ιχθύες | | **14-17** |
| **2.1.1** | | Ασιτία – Επανασίτιση & πεπτικά ένζυμα | | **17-18** |
| **Δ** | | **Πειραματικό μέρος** | | **19** |
| **1** | | Εισαγωγή - Σκοπός | | **19-20** |
| **2** | | Υλικά και μέθοδοι | | **21** |
| **2.1.1** | | Οι ιχθύς του πειράματος | | **21** |
| **2.1.2** | | Συνθήκες | | **21** |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **2.1.3** | | Χειρισμοί | | **21-22** |
| **2.1.4** | | Ομογενοποίηση των διαφόρων τμημάτων του πεπτικού σωλήνα | | **23-24** |
| **2.1.5** | | Μέθοδος προσδιορισμού των πρωτεασών | | **24-25** |
| **2.1.6** | | Μέθοδος προσδιορισμού των καρβοϋδρασών | | **25-26** |
| **2.1.7** | | Στατιστική επεξεργασία | | **26** |
| **2.1.8** | | Τύποι και συντομογραφίες | | **27-29** |
| **3** | | **ΑΠΟΤΕΛΕΜΑΤΑ** | | **30** |
| **3.1** | | Λαβράκι - Αποτελέσματα | | **30** |
| **3.1.1** | | Λαβράκι - σωματομετρικά | | **30-33** |
| **3.1.2** | | Λαβράκι- καρβοϋδράσες | | **33-36** |
| **3.1.3** | | Λαβράκι - πρωτεάσες | | **37-45** |
| **3.2** | | Τσιπούρα - Αποτελέσματα | | **46** |
| **3.2.1** | | Τσιπούρα - σωματομετρικά | | **46-49** |
| **3.2.2** | | Τσιπούρα - καρβοϋδράσες | | **50-53** |
| **3.2.3** | | Τσιπούρα - πρωτεάσες | | **53-60** |
| **3.3** | | Δείγματα τροφής | | **61-62** |
| **4** | | **Αποτελέσματα - Σχολιασμός** | | **63-66** |
| **Ε** | | **Συμπεράσματα** | | **67** |
| **ΣΤ** | | **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ** | | **68-80** |
| **Ζ** | | **Βιβλιογραφία** | | **81-86** |

# Γ. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.

## 1. Εισαγωγή.

### 1.1.1 Οι υδατοκαλλιέργειες στην Ελλάδα.

Οι υδατοκαλλιέργειες στην Ελλάδα είναι ένας από τους ταχύτατα αναπτυσσόμενους τομείς που συμβάλλει σημαντικά στο ΑΕΠ και στην τοπική ανάπτυξη. Τα προϊόντα των υδατοκαλλιεργειών αποτελούν το τρίτο σπουδαιότερο εξαγώγιμο αγροτικό προϊόν της Ελλάδας. Η σημερινή Ελληνική πραγματικότητα των υδατοκαλλιεργειών αφορά σχεδόν αποκλειστικά την παραγωγή της τσιπούρας-gilthead seabream (*Sparus aurata*), του λαβρακιού seabass (*Dicentrarchus labrax*) και μερικών άλλων ειδών ιχθύων γλυκέων υδάτων όπως πέστροφα, χέλι και κυπρίνος. Επιπροσθέτως, υπάρχουν και οστρακοκαλλιέργειες - κυρίως μυδιών - αλλά με σχετικά μικρή οικονομική σημασία. Ειδικότερα, στα περίπου 16.000 χιλιόμετρα των ελληνικών ακτών, βρίσκονται εγκατεστημένες περίπου 167 μονάδες υδατοκαλλιεργειών και 25 σταθμοί παραγωγής γόνου, ενώ συνολικά απασχολούνται άμεσα 10.000 άτομα. Οι παραγωγικές μονάδες είναι διάσπαρτες στην Ελληνική ακτογραμμή και οι πιο πολλές είναι εγκατεστημένες κοντά στις κεντρικές της περιοχές. Στα μεσογειακά είδη, κυρίως στην τσιπούρα και στο λαβράκι, η ελληνική παραγωγή ανέρχεται στους 103.000 τόνους αναδεικνύοντας τη χώρα μας στην πρώτη θέση στη Μεσόγειο, με παραγωγή που ξεπερνά το 57% της παγκόσμιας παραγωγής (FAO, 2007).

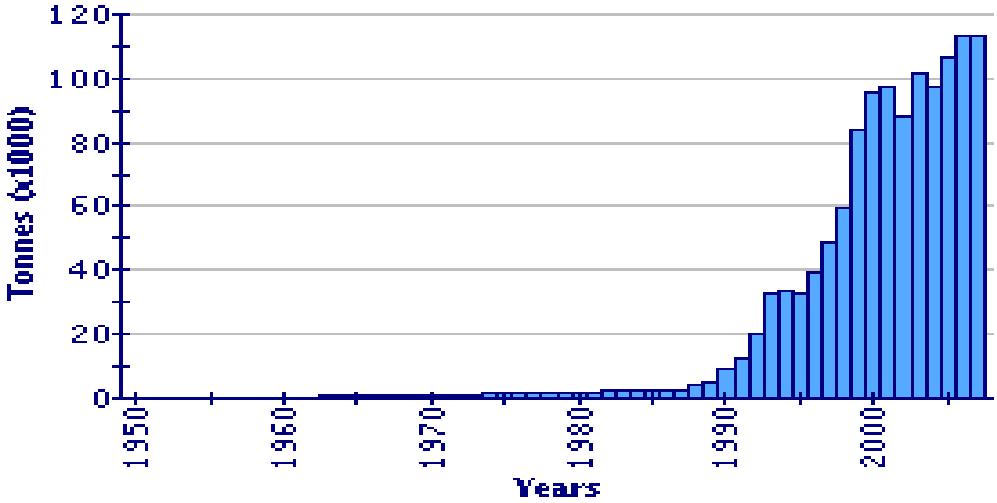
### 1.1.2 Ιστορική Αναδρομή- Υφιστάμενη κατάσταση.

Οι ιχθυοκαλλιέργειες των εσωτερικών υδάτων έχουν μακρά ιστορία, η οποία φαίνεται να ξεκινά από την Άπω Ανατολή. Παρά το γεγονός της εκτροφής υδρόβιων οργανισμών στον Ελλαδικό χώρο από την αρχαιότητα, οι πρώτες συλλεχθείσες πληροφορίες αναφέρονται στην αρχαία Κινά, ενώ αργότερα γύρω στο 2500 π.Χ., συναντάμε παρόμοιες αναφορές για την Αρχαία Αίγυπτο και την Ελλάδα. Οι ιχθυοκαλλιέργειες στην Ευρώπη – με κύριο εκπρόσωπο τον κυπρίνο (*Cyprinus carpio*) – άρχισαν το μεσαίωνα στα μοναστήρια, αν και υπάρχουν αναφορές από την Ρωμαϊκή εποχή (*Παπουτσόγλου,* 1997).

Τα κύρια εκτρεφόμενα σήμερα είδη στην Ελλάδα (τσιπούρα, λαβράκι) άρχισαν να εκτρέφονται μόλις τα νεώτερα χρόνια και συγκεκριμένα από το 1980 και μετά. Στις αρχές της δεκαετίας του ’70 οι ερευνητικές προσπάθειες ινστιτούτων και πανεπιστημίων κυρίως της Γαλλίας, της Ιταλίας και της Ισπανίας απέδωσαν καρπούς επιτυγχάνοντας τον έλεγχο του βιολογικού κύκλου των ιχθύων αυτών. Έτσι εμφανίστηκαν οι πρώτοι ιχθυογεννητικοί σταθμοί. Η υιοθέτηση των ιχθυοκλωβών από την εκτροφή σολομού, η μεγάλη ζήτηση για το προϊόν, οι ιδανικές κλιματικές και περιβαλλοντικές συνθήκες σε συνδυασμό με την μεγάλη ακτογραμμή, τα διαυγή

ύδατα, τις ήπιες θερμοκρασίες των νερών, έκαναν την Ελλάδα χώρα επιλογής για την επένδυση στον τομέα αυτό (*FAO*, 2007).

Η πολιτική της Ευρωπαϊκής Ένωσης αναφορικά με τις ιχθυοκαλλιέργειες και ειδικότερα οι επιδοτήσεις της αλλά και το επενδυτικό δαιμόνιο των πρώτων επιχειρηματιών σε συνδυασμό με τις ερευνητικές εξελίξεις στον τομέα αυτό, την τεχνογνωσία που δημιουργήθηκε από τους πρωτοπόρους του κλάδου αλλά και τα ερευνητικά ιδρύματα, δημιούργησαν τον νέο αυτό οικονομικό κλάδο, του οποίου η διαχρονική εξέλιξη του ύψους της παραγωγής φαίνεται στο επόμενο διάγραμμα (Διάγραμμα 1 ).




**Διάγραμμα 1.1.2. 1.** Αναφερθείσες ποσότητες παραγωγής ιχθύων στην Ελλάδα (από 1950-2007) (*Fao Fishery Statistic*)

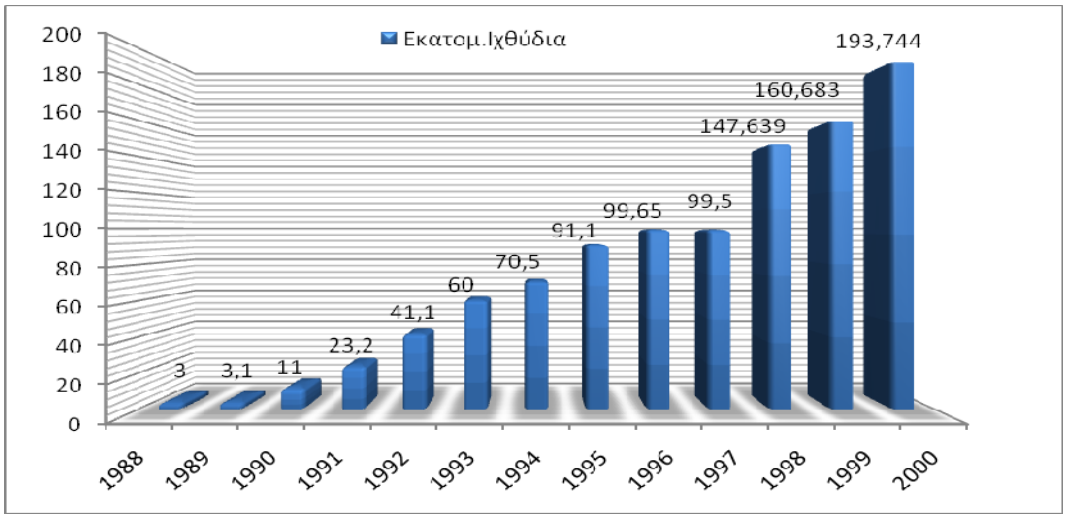
Με την αλματώδη αύξηση της παραγωγής λόγω της ραγδαίας ανάπτυξης και ίδρυσης μονάδων υδατοκαλλιεργειών, παρατηρήθηκε μείωση των τιμών παραγωγής, που από € 15.57 το κιλό το 1989 ολίσθησε σε περίπου € 4.50 το 2000 και ακόμα χαμηλότερα το 2002 και το 2003. Οι μειώσεις αυτές ήταν αποτέλεσμα της υπερπροσφοράς που δημιουργήθηκε, του υπερβολικά μεγάλου αριθμού των εταιρειών του κλάδου, του ανεπαρκούς συντονισμού τους και των κακών τιμολογιακών πρακτικών (*FAO, 2007*).

Οι κοινωνικές και οικονομικές εξελίξεις της υπό εξέταση περιόδου επέφεραν ένα πλήθος αλλαγών, οι οποίες μεταφράστηκαν με όλο και περισσότερες συγχωνεύσεις και πτωχεύσεις των εν λόγω εταιρειών, που σε συνδυασμό με την ανάγκη καθετοποιημένης παραγωγής, που να ξεκινά από την παρασκευή της τροφής ως και την διανομή του τελικού προϊόντος στον καταναλωτή, συνέβαλαν ουσιαστικά στην μείωση του αριθμού των παραγωγών στους 167 το 2002.

Προσπάθειες διαφοροποίησης των παραγομένων προϊόντων έχουν γίνει κυρίως ως προς την εισαγωγή νέων ειδών ιχθύων προς εκτροφή όπως μυτάκι (*Diplodus puntazzo*), συναγρίδα (*Dentex dentex*), φαγκρί (*Pagrus pagrus*), σαργός (*Diplodus*

), λυθρίνι (*Pangelus erythrinus*) και γλώσσα (*Solea solea*), με περιορισμένη όμως επιτυχία αφού συνολικά η παραγωγή αυτή των ιχθύων δεν αποτελεί ούτε το 5% της συνολικής παραγωγής ιχθύων (*FAO,* 2007).

Όσον αφόρα στην οικονομική συμβολή του κλάδου των υδατοκαλλιεργειών, πρέπει να σημειωθεί ότι ο κλάδος των υδατοκαλλιεργειών είναι κυρίως εξαγωγικός, με το 80% της εγχώριας παράγωγης να εξάγεται κυρίως στην Ιταλία και στην Ισπανία, καθώς επίσης αποτελεί το 3$^{o}$ σπουδαιότερο εξαγώγιμο γεωργικό προϊόν της Ελλάδος (*FAO,* 2007).




**Διάγραμμα 1.1.2. 2.** Ετήσια εγχώρια παραγωγή ιχθυδίων από τους ιχθυογεννητικούς σταθμούς.

*(http://www.minagric.gr/greek/alieia/statistika.htm)*

**Πίνακας 1.1.2.1.** Διαχρονική Εξέλιξη Παραγωγής των Ελληνικών Υδατοκαλλιεργειών σε τόνους.

| ***Διαχρονική Εξέλιξη Παραγωγής Υδατοκαλλιεργειών σε τόνους*** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **1993** | **1997** | **1998** | **1999** | **2000** |
| **Εκτροφές ιχθύων σε θαλάσσια νερά** | | | | | |
| **α) Μονάδες πάχυνσης** | 11.500 | 26.720 | 31.129 | 42.627 | 50.295,7 |
| **β) ΙΧ.Σ. (ιχθύδια)** | 60.000.000 | 99.500.000 | 147.639.000 | 160.683.000 | 193.744.000 |
| **Εκτροφή πέστροφας** | 1.884 | 2.762,66 | 2.328 | 2.480 | 2.660 |
| **Εκτροφή χελιού** | 337 | 309,5 | 542 | 507 | 675 |
| **Γλυκών νερών (Κυπρίνος, σολομός, κέφαλος κ.α)** | 263 | 265 | 280 | 265 | 321 |
| **Οστρακοκαλλιέργειες** | 16.700 | 25.000 | 26.013 | 25.366 | 32.550 |
| **Εκτροφή γαρίδας** | - | 6 | 2 | - | 0 |
| **Λιμνοθάλασσες** | 1.820 | 1.317,4 | 1.295 | 1.490 | 1.623 |
| **Επαγγελματική αλιεία (εσωτερικών νερών)** | 1.140 | 1.284 | 1.522,8 | 1.790 | 1.810 |
| **Σύνολο** | **33.644** | **57.664,56** | **63.111,8** | **74.525** | **89.934,7** |

*(http://www.minagric.gr/greek/alieia/statistika.htm)*

## 1.2 Τα κυριότερα είδη των Ελληνικών υδατοκαλλιεργειών.

### 1.2.1 Τσιπούρα.

| | |
|---|---|
| Ομοταξία | OSTEICHTHYES |
| Υφομοταξία | ACTINOPTERYGII |
| Τάξη | PERCIFORMES |
| Υποτάξη | PERCOIDEI |
| Οικογένεια | SPARIDAE |
| Γένος | SPARUS |
| Είδος | AURATUS |

**Εικόνα 1.2.1.1**. Τσιπούρες στο Εργαστήριο Εφηρμοσμένης Υδροβιολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Φωτογραφία του συγγραφέα).

Το σχήμα του σώματος της τσιπούρας είναι μάλλον ατρακτοειδές, πλευρικά πεπιεσμένο και με το μεγαλύτερο ύψος στο μπροστινό του τμήμα. Έχει χονδρά χείλη

και κεφάλι ισχυρό. Τα μάτια της είναι αρκετά μεγάλα. Οι σιαγόνες της στο πρόσθιο τμήμα τους χαρακτηρίζονται, από την παρουσία 6 κωνοειδούς μορφής οδόντων και πλευρικά, από την παρουσία 4 ή 5 σειρών μυλοειδούς μορφής οδόντων, στην επάνω σιαγόνα, και 3 ή 4 σειρών της ίδιας μορφής στην κάτω σιαγόνα. Το χρώμα της ράχης είναι κυανό-σκοτεινό ενώ τα πλευρικά τμήματα του σώματος της χαρακτηρίζονται από αργυροκίτρινο που παρουσιάζει χρυσές ανακλάσεις στα πολύ νωπά άτομα. Το κεφάλι της τσιπούρας χαρακτηρίζεται από την παρουσία μεταξύ των ματιών μιας χρυσού χρώματος λωρίδας, σχήματος V. Επίσης στην αρχή της πλευρικής γραμμής υπάρχει μια σκουρόχρωμη κηλίδα, στο επάνω μέρος του βραγχιακού επικαλύμματος, καθώς και μια περιοχή ερυθρού χρώματος στη βάση των θωρακικών πτερυγίων.

Είναι ένας κοινός ιχθύς στη Μεσόγειο θάλασσα και στον Ατλαντικό Ωκεανό, από τα Βρετανικά νησιά ως την Σενεγάλη. Η τσιπούρα είναι ευρύαλος και ευρύθερμος ιχθύς και διαβιεί σε νερά με ποικίλα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και συχνάζει στις παράκτιες περιοχές. Γενικά θα μπορούσε να λεχθεί ότι προτιμά ημίκλειστες παράκτιες περιοχές με υφάλμυρα ύδατα στις οποίες εισέρχεται την άνοιξη και τις εγκαταλείπει για την ανοικτή θάλασσα το φθινόπωρο.

Είναι σαρκοφάγος ιχθύς και διατρέφεται συνήθως με διάφορα μαλάκια και καρκινοειδή. Το κοινό του μέγεθος είναι περίπου 25 εκατοστά, ενώ έχουν αναφερθεί και άτομα 70 εκατοστών. Πιστεύεται ότι η φυσική του αναπαραγωγή πραγματοποιείται από τον Οκτώβριο ως τον Δεκέμβριο σε νερά θερμοκρασίας 13-17$C^o$. Κατά την περίοδο αυτή παρατηρείται μαζική μετανάστευση των ιχθύων αυτών από τα υφάλμυρα νερά προς την θάλασσα (*Παπουτσόγλου*, 1994).

Όσον αφορά την εκτροφή της τσιπούρας οι πρώτες προσπάθειες πρόκλησης γεννητικής ωρίμανσης της ξεκίνησαν στην Γαλλία και την Ιταλία και αργότερα στην Ισπανία. Σήμερα η τεχνητή αναπαραγωγή της τσιπούρας γίνεται με επιτυχία μεγαλύτερη του 95%, με διάφορες τεχνικές που έχουν αναπτυχθεί. Εν συνεχεία, για την ανάπτυξη των νεαρών ιχθυδίων, χρησιμοποιούνται διάφορες φυσικές τροφές όπως διάφορα κωπήποδα αλλά και τεμαχισμένα μύδια και τεμαχίδια ιχθύων, ανάλογα με την ηλικία. Στο τελικό στάδιο της πάχυνσης τα νεαρά άτομα τσιπούρας μεταφέρονται κατά κανόνα σε πλωτούς ιχθυοκλωβούς και επιτυγχάνουν το εμπορεύσιμο βάρος σε 18 με 20 μήνες (*Παπουτσόγλου*, 1994).

### 1.2.2 Λαβράκι.

| | |
|---|---|
| Ομοταξία | OSTEICHTHYES |
| Υφομοταξία | ACTINOPTERYGII |
| Τάξη | PERCIFORMES |
| Υποτάξη | PERCOIDEI |
| Οικογένεια | SERRANIDAE |
| Γένος | DICHENTRARCHUS |
| Είδος | LABRAX |

**Εικόνα 1.2.2.1.** Λαβράκια στο Εργαστήριο Εφηρμοσμένης Υδροβιολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Φωτογραφία του συγγραφέα).

Το λαβράκι είναι κοινός ιχθύς σε όλη την περιοχή της Μεσογείου και τις Ανατολικές ακτές του Ατλαντικού, από τα Βρετανικά νησιά ως την Σενεγάλη. Είναι ευρύαλο και ευρύθερμο είδος ιχθύος με εξαιρετικά μεγάλη εμπορική σημασία.

Χαρακτηρίζεται από επίμηκες σώμα και από την παρουσία 2 ραχιαίων πτερυγίων. Στο επάνω μέρος του κεφαλιού το λαβράκι φέρει κυκλοειδή λέπια. Στην

πλευρική γραμμή του σώματος υπάρχουν 71-72 λέπια. Τα μεγάλα άτομα χαρακτηρίζονται από την παρουσία μελανών στιγμάτων. Το πιο σύνηθες μήκος του ψαριού είναι 45cm, συχνά όμως φτάνει και το 1m.

Το λαβράκι είναι ικανό να προσαρμοστεί σε διάφορα επίπεδα αλατότητας ακόμα και σε γλυκέα ύδατα. Συνήθως όμως προτιμά τα υφάλμυρα νερά, όπου βρίσκεται συνήθως κατά τους μήνες της Άνοιξης. Στην θάλασσα επιστρέφει την περίοδο της αναπαραγωγής. Γενικά έχει παρατηρηθεί ότι συχνάζει στα παράκτια ύδατα ανεξάρτητα από το βάθος τους. Το λαβράκι είναι εξαιρετικά αδηφάγο. Διατρέφεται με μικρά ιχθύδια, καρκινοειδή και κεφαλόποδα. Στο λαβράκι υπάρχουν ξεχωριστά φύλα. Στην περιοχή της Μεσογείου η αναπαραγωγή του πραγματοποιείται συνήθως κατά το χρονικό διάστημα, από το τέλος Οκτωβρίου μέχρι της αρχές Μαρτίου, με την εντονότερη αναπαραγωγική δραστηριότητα να παρατηρείται κατά τον μήνα Ιανουάριο. Τα θηλυκά άτομα δεν ωριμάζουν γεννητικά παρά μόνο αν η αλατότητα υπερβαίνει το 10‰.

Όσον αφορά την εκτροφή του λαβρακιού, η πρώτη επιτυχής προσπάθεια της τεχνητής γονιμοποίησης έγινε το 1965. Έκτοτε διάφορες μέθοδοι προταθήκαν και βελτιώθηκαν. Τα λεκιθοφόρα ιχθύδια αρχίζουν να διατρέφονται την $4^{η}$ ή την $5^{η}$ μέρα, ενώ για την διατροφή τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί τεχνητή ή φυσική τροφή. Μετά τα πρώτα αρχικά στάδια της ανάπτυξης τους τα ιχθύδια συνήθως μεταφέρονται σε ιχθυοκλωβούς όπου πραγματοποιείται και η τελική πάχυνση ενώ το εμπορεύσιμο μέγεθος επιτυγχάνεται σε 1-2 χρόνια. (*Παπουτσόγλου*, 1994).

## 1.3 Μορφολογία πεπτικού συστήματος ιχθύων και Φυσιολογία έκκρισης πεπτικών ένζυμων του. (*Παπουτσόγλου,* 2008).

Το πεπτικό σύστημα του λαβρακιού και της τσιπούρας είναι τυπικό των σαρκοφάγων ιχθύων και αποτελείται από το **στόμα**, τον **οισοφάγο**, τον **στόμαχο**, τον **πυλωρό**, τα **πυλωρικά τυφλά**, το **έντερο** (πρόσθιο και οπίσθιο) τμήμα και την **έδρα.** Αν και η σημασία του στόματος και του οισοφάγου για την πρόσληψη, κατάποση ή και τον τεμαχισμό της τροφής είναι αδιαμφισβήτητη, δεν έχει αποδειχτεί ως σήμερα έκκριση ενζύμων στα τμήματα αυτά του πεπτικού σωλήνα.

Τα ενζυμα που μετέχουν στην χημική πέψη των ιχθύων είναι **υδρολάσες** (πρωτεϊνικής δομής, υδατοδιαλυτά ενζυμα ) που καταλύουν την υδρόλυση, **πρωτεϊνών** ( πρωτεολυτικά ενζυμα-πρωτεάσες, πεπτιδάδες και πρωτεινάσες), **εστέρων** (λιπολυτικά ενζυμα- εστεράσες, λιπάσες) και **υδατανθράκων** (αμυλολυτικά ενζυμα, καρβοϋδράσες).

### 1.3.1 Στόμαχος.

Η ιστολογική υφή του οισοφάγου και του στομάχου χαρακτηρίζεται από την παρουσία τριών διακριτών χιτώνων (βλεννογόνος, μυϊκός και ορογόνος). Οι σημαντικότερες διαφορές, οι οποίες άλλωστε χαρακτηρίζουν την εξιδανικευμένη λειτουργική σημασία του στομάχου, αφορούν στην εντονότερη διαφοροποίηση των βλεννογόνων κυττάρων του επιθηλίου του βλεννογόνου χιτώνα σε σχέση με εκείνη των άλλων τμημάτων του πεπτικού σωλήνα, στην παρουσία των κυττάρων, που συνθέτουν ή συμβάλουν στη σύνθεση διαφόρων ουσιών εξειδικευμένης δράσεως ουσιών (HCL, πεψινογόνο κ.λ.π) και τα οποία βρίσκονται μόνο στο στόμαχο, καθώς και στην ανάπτυξη των μυϊκών στρωμάτων.

Στους ιχθύες οι εμπλεκόμενες ουσίες δρουν σε όλα τα τμήματα του πεπτικού σωλήνα και στις περιπτώσεις που υπάρχει στόμαχος είναι το πρώτο τμήμα στο οποίο αρχίζουν οι διεργασίες αυτές. Οι ουσίες που κυρίως δρουν στον στόμαχο είναι το υδροχλωρικό οξύ και το πρωτεολυτικό ενζυμο πεψίνη. Η παράγωγη του $H^+$ και του $Cl^-$ (από τα οποία συντίθεται το υδροχλωρικό οξύ- HCl ) όσο και του πεψινογόνου πιθανότατα γίνεται από τα γαστρικά κύτταρα-αδένες. Το πεψινογόνο ενεργοποιείται σε όξινες συνθήκες (τιμή pH χαμηλότερη του 6) και μετατρέπεται με απόσπαση μέρους του μορίου του στο πρωτεολυτικό ενζυμο πεψίνη (καρβοξυλό-οξυ-πρωτεϊνάση) του οποίου η ενεργότητα ποικίλει ανάλογα με την τιμή του pH του αυλού του στομάχου. Γενικά στους ιχθύες η αναφορά στην πεψίνη περιλαμβάνει και άλλα παρεμφερούς δομής και δράσης, ένζυμα ενώ δεν αποκλείεται και η έκκριση στον στόμαχο α-αμυλασών, χιτινασών και εστερασών. Το pH του στομάχου είναι πάντοτε όξινο αλλά αυξομειώνεται ανάλογα με το είδος, το βιολογικό στάδιο, τη χημική σύσταση της τροφής καθώς και την χρονική διάρκεια μετά το τελευταίο γεύμα.

Η διαδικασία συνθέσεως της πεψίνης καθορίζεται από την ενεργοποίηση του πεψινογόνου η οποία είναι αυτοκαταλυτική αντίδραση και καταλύεται από ιόντα $H^+$ ή από την πεψίνη με απομάκρυνση του 20% του μορίου του πεψινογόνου. Η αναστολή της βιοσύνθεσης του πεψινογόνου πραγματοποιείται με την διαδικασία της αυτορρύθμισης, ενώ η αναστολή της σύνθεσης της πεψίνης πραγματοποιείται από την δράση ενός πολυπεπτιδίου (αναστολέα) που προκύπτει από το μόριο του πεψινογόνου σε συνθήκες σχετικά υψηλού pH.

### 1.3.2 Πυλωρός.

Ο πυλωρός ταυτίζεται με το τέλος του στομάχου. Ανατομικά και ιστολογικά ανήκει στον στόμαχο και πρόκειται περί ισχυρού, κυκλικού σχήματος, μυός, ο οποίος ενεργώντας ως σφιγκτήρας ελέγχει την διέλευση της επεξεργασμένης τροφής (χυμού) από το στόμαχο στο λεπτό έντερο και συγχρόνως αποτρέπει την αντίθετη ροη.

## 1.3.3 Έντερο– Πυλωρικά τυφλά.

Ο διαχωρισμός του εντέρου των ιχθύων σε διάφορα τμήματα δεν είναι ευχερής. Στην συνέχεια από τον πυλωρό, ο πεπτικός σωλήνας ονομάζεται **έντερο**, το οποίο μπορεί να διακριθεί σε πρόσθιο τμήμα του εντέρου, οπίσθιο τμήμα και έδρα. Στο πρόσθιο τμήμα του εντέρου που ακολουθεί μετά τον πυλωρό βρίσκονται τα **πυλωρικά τυφλά** (πυλωρικοί τυφλοί σάκοι ή εντερικοί τυφλοί σάκοι) είναι αποφύσεις του λεπτού εντέρου η παρουσία των οποίων χαρακτηρίζει την τσιπούρα και το λαβράκι. Τα πυλωρικά τυφλά δε διαφέρουν ιστολογικά από το έντερο του οποίου η δομή είναι (από μέσα προς τα έξω), βλεννογόνος, υποβλεννογόνιος, μυϊκός και ορογόνος χιτώνας. Το pH του αυλού τους είναι βασικής αντίδρασης. Στα πυλωρικά τυφλά δεν έχει διαπιστωθεί περάν αμφισβήτησης η προέλευση των ενζύμων. Στον βλεννογόνο χιτώνα του λεπτού εντέρου των διαφόρων ειδών τελεόστεων ιχθύων, μπορούν να διακριθούν τα απορροφητικά κύτταρα, τα καλυκοειδή κύτταρα που είναι κύτταρα που παράγουν βλέννη, τα κοκκιοκύτταρα και μια υποβλεννογόνια μυϊκή στοιβάδα.

Σε πολλούς ιχθύες το πρόσθιο τμήμα αρχίζει από τον πυλωρό και καταλήγει στην έδρα. Σε γενικές γραμμές το έντερο αυξάνει σε μήκος με την ηλικία του ιχθύ ενώ στους σαρκοφάγους ιχθύες είναι σχετικά μικρό (σε σχέση με τους φυτοφάγους και τους παμφάγους ιχθύες). Ο λόγος του μήκους του σώματος των σαρκοφάγων ιχθύων σπάνια είναι μεγαλύτερος από την μονάδα ενώ κυμαίνεται συνήθως από 0,75 ως 1,50. Στους ιχθύες που εξετάστηκαν στην παρούσα εργασία οι λόγοι των μήκων του σώματος, προς τα μήκη των εντέρων ήταν για την μεν τσιπούρα 0,73 ± 0,014 , ενώ για το λαβράκι ήταν 0,53 ± 0,010. Οι τιμές αυτές συμφωνούν με αυτές που αναφέρονται για τα 2 αυτά είδη.

Όσον αφορά την φυσιολογία τα κύτταρα του βλεννογόνου του εντέρου συνθέτουν τα διάφορα πεπτικά ενζυμα και εκκρίνουν υγρά με πιθανή αντιόξινη δράση. Ακόμη υπάρχουν εμφανείς προεκβολές του βλεννογόνου χιτώνα γνώστες και ως **εντερικές λάχνες**. Πρόκειται περί κυλινδρικού σχήματος προεκβολών του πρωτοπλάσματος των απορροφητικών κυττάρων, που αυξάνουν δραματικά την επιφάνεια επαφής του εντερικού χυλού με τα τοιχώματα του εντέρου. Τα ενζυμα του εντέρου περιλαμβάνουν **εντερικής προέλευσης πρωτεάσες** (αμινοπεπτιδάσες, διπεπτιδάσες, τριπεπτιδάσες), **καρβοϋδράσες** (α-αμυλάση, α-γλυκοσιδάση, β-γλυκοσιδάση, λαμιναρινάση, χιτινάση) και **εστεράσες** (λιπάσες) και **παγκρεατικής προέλευσης πρωτεάσες** (θρυψίνη, χυμοθρυψίνη, καρβοξυπεπτιδάση και ελαστάση), **καρβοϋδράσες** (α-αμυλαση, χιτινάση), **εστεράσες** (λιπάσες). Τέλος **μικροχλωριδικής προέλευσης** αμυλάσες (χιτινάσες κυττάσες) η σε ορισμένες περιπτώσεις πρωτεάσες και εστεράσες. Στα πυλωρικά τυφλά έχει πιστοποιηθεί η σύνθεση (σε ορισμένους ιχθύες) γ-γλουταμυλοπεπτιδάσης, αλκαλικής-φωσφατάσης, θρυψίνης, ελαστάσης, φωσφολιπάσης $A_2$, μαλτάσης (α-γλυκοσιδάση) .

# 2 Ασιτία- Επανασίτιση στους Ιχθύες.

Η ασιτία είναι η κατάσταση στην οποία βρίσκεται ο οργανισμός όταν δεν προσλαμβάνει τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την συντήρηση. Η ασιτία επιφέρει ένα πλήθος αλλαγών στη φυσιολογική λειτουργία ενός οργανισμού, οι οποίες βέβαια σχετίζονται και με τη χρονική της διάρκεια.

Επανασίτιση είναι η επανέναρξη της τακτής πρόσληψης θρεπτικών συστατικών μέσω της τροφής, έπειτα από ένα διάστημα ασιτίας.

Αρκετά είδη ιχθύων στη διάρκεια της ζωής τους κατά την ελεύθερη διαβίωση θα αντιμετωπίσουν καταστάσεις ασιτίας ή υποσιτισμού. Η ασιτία γίνεται καλώς ανεκτή από τους οργανισμούς των ιχθύων - εν αντίθεση με τους οργανισμούς των χερσαίων θηλαστικών - λόγω κυρίως των μειωμένων αναγκών συντήρησης σε σχέση με αυτά (*Belanger et al.,*2002, *Krogdahl & Bakke-McKellep,* 2005, *Παπουτσόγλου,* 2008). Κατά την εκτροφή των ιχθύων για διαφόρους λόγους, όπως για παράδειγμα η υπερπαραγωγή ή ο καλύτερος συγχρονισμός της παραγωγής με τις ανάγκες της αγοράς, είναι δυνατόν να στερούνται τροφής οι ιχθύες, ως διαχειριστικό μέτρο ή αναγκαστικό επακόλουθο των καιρικών συνθηκών.

Η εφαρμογή της πρακτικής αυτής δημιουργεί ερωτήματα όσον αφόρα τις ακριβείς επιδράσεις της στους ιχθύες, στο πεπτικό τους σύστημα, στην ανάπτυξη, στην αντιμετώπιση του stress και στην επιλογή του ικανοποιητικότερου διατροφικού σχήματος (διαστήματα, ποσότητες, σύσταση κλπ.) για την επανασίτιση.

Η βιβλιογραφία παρέχει ελάχιστες πληροφορίες όσον αφορά τις επιδράσεις της ασιτίας στους ιχθύες. Για την επανασίτιση έχει μελετηθεί από αρκετούς συγγραφείς η αυξημένη ανάπτυξη (υπερανάπτυξη) και η «αντισταθμιστική ανάπτυξη» (eg. *Compensatory growth*), που παρουσιάζεται κατά την επανασίτιση. Η αυξημένη ανάπτυξη αποτελεί κοινό παρονομαστή σε όλες τις μελέτες που αφορούν την επανασίτιση και είναι ουσιαστικά το πλέον ενδιαφέρον οικονομικό χαρακτηριστικό για μια πετυχημένη εκτροφή ενός ιχθύος. Όπως μάλιστα αναφέρεται στον ιχθύ τσιρώνι roach (*Rutilus rutilus*) η υπερανάπτυξη μετά από ασιτία παρουσιάζεται και σε θερμοκρασίες «απαγορευτικές» για την ανάπτυξη του συγκεκριμένου είδους (*VanDijk et al*., 2002).

Συμφώνα με τους *Krogdahl και Bake-McKellep* (2005) η ασιτία και η επανασίτιση επηρέασαν το βάρος και το πρωτεϊνικό περιεχόμενο των ιστών των τμημάτων του πεπτικού σωλήνα, με παρόμοιο τρόπο. Δηλαδή, αρχικά για δυο ημέρες υπήρξε μια δραματική μείωση του βάρους και του πρωτεϊνικού περιεχομένου των ιστών του πεπτικού σωλήνα και εν συνεχεία μια γρήγορη αύξηση αυτών (όταν η τροφή έγινε πάλι διαθέσιμη κατά την επανασίτιση). Η απουσία τροφής προκαλεί μια άμεση αύξηση των απωλειών του πεπτικού ιστού σε πρωτεΐνη. Στην συνέχεια υπάρχει μια διαφοροποίηση στο ρυθμό των απωλειών των πρωτεϊνών από τους ιστούς του πεπτικού σωλήνα, ο οποίος σχεδόν σταθεροποιείται στο ελάχιστο. Ακόμη, η ασιτία επηρεάζει το

μεταβολισμό της γλυκόζης και των κετονοσωμάτων μετά την 7η ημέρα εφαρμογής της σε σολομούς του Ατλαντικού (Atlantic salmon, *Salmo salar*)( *Soengas et al*., 1996).

Παρόλα αυτά, όσον αφορά το ζων βάρος σε μπακαλιάρους του Ατλαντικού (Atlantic cod, *Gadus morhua),* η ασιτία για διάστημα 1-2 μηνών είχε μικρή επίδραση στο βάρος τους (*Belanger et al.,* 2002). Στο φαγκρί (Red porgy, *Pagrus pagrus L*.) , με την επιβολή ασιτίας μίας έως τεσσάρων εβδομάδων, πιθανώς λόγω του καταβολισμού λίπους και της αντικατάστασης του με νερό, δηλαδή της μεταβολής της σωματικής σύστασης βρέθηκαν παρόμοια αποτελέσματα: μη σημαντική μείωση του βάρους ενώ αντίθετα αύξηση του βάρους του απεντερισμένου ιχθύ (όταν αυτός έχει υποστεί ασιτία σε σχέση με τους μάρτυρες ) (*Rueda et al.,* 2002). Στην ίδια μελέτη των *Rueda et al.* (2002) αναφέρεται σημαντική μείωση του ηπατοσωματικού δείκτη, με στατιστικώς σημαντικότερες τις διαφορές στους ιχθύες που έμειναν άσιτοι για μεγαλύτερο διάστημα. Στην πρώτη εβδομάδα ασιτίας τα σπλάχνα τον ιχθύων μειωθήκαν κατά 50%, κυρίως λόγω μείωσης του βάρους του ήπατος και του πεπτικού σωλήνα. Οι *Krogdahl και Bake-McKellep* (*2005*) θεωρούν μικρότερο το διάστημα της δραματικής μείωσης του βάρους των πεπτικών ιστών και ότι η μείωση αυτή επισυμβαίνει στις δύο πρώτες ημέρες της ασιτίας. Κατά την επανασίτιση παρατηρείται ραγδαία αναγέννηση του πεπτικού ιστού και αυξημένη κατανάλωση τροφής στα περισσότερα είδη, κυρίως κατά την πρώτη μέρα της επανασίτισης. Ακόμη, στο λαβράκι έχει παρατηρηθεί η μείωση της βιοσύνθεσης της προγαστρίνης κατά την ασιτία και η αύξηση της στην επανασίτιση, μάλιστα τα αυξημένα επίπεδα έκλυσης προγαστρίνης είναι ανάλογα του διαστήματος της προηγηθείσης ασιτίας. (*Terova et al,* 2007b).

Αντίθετα στην τσιπούρα, ασιτία τριών εβδομάδων προκάλεσε σημαντική μείωση του βάρους των ιχθύων και των θυρεοειδικών ορμονών, ενώ επανασίτιση μιας εβδομάδας δεν ήταν αρκετή για την επαναφορά των οργανισμών στην προ της ασιτίας κατάσταση (*Power et al.,* 2000).

Οι *Terova et al*. (2007a) κατέδειξαν στο λαβράκι ότι για την επιτυχημένη στρατηγική προσαρμογής των ιχθύων στις καταστάσεις έλλειψης τροφής και στην αξιοποίηση της επανεμφάνισης της, φαίνεται να συμμετέχουν και οι αυξητικές ορμόνες ινσουλινοειδούς δομής. Συγκεκριμένα, στην εργασία τους υπήρχε μια σημαντική μείωση των IGF-I και IGF-II στα άσιτα λαβράκια (28 ημέρες ασιτίας), και μια δραματική αύξηση αυτών στην επανασίτιση.

Στα περισσότερα είδη ιχθύων το γλυκογόνο του ήπατος αποτελεί την άμεση ενεργειακή λύση για τη διατήρηση της γλυκόζης του αίματος του ιχθύ στα πρώτα στάδια της ασιτίας. Σχεδόν παράλληλα καταβολίζεται και λιπώδης ιστός για την απόκτηση ενέργειας. Όταν η ασιτία συνεχιστεί τότε αρχίζει και ο καταβολισμός μυϊκής πρωτεΐνης (*Navarro and Gutierez,* 1995, *Zhang et al*., 2007 *Perez-Jimenez et al.,* 2007).

Όσον αφορά τις αιματολογικές μεταβολές που επισυμβαίνουν σε καταστάσεις ασιτίας στο είδος τιλάπια (Nile tilapia *Oreochromis niloticus*), παρατηρήθηκε μια πτώση των ερυθρών αιμοσφαιρίων, του αιματοκρίτη και της γλυκόζης του αίματος,

πράγμα που μπορεί να υποδηλώνει μια απειλή για την υγεία των ιχθύων. Στην επανασίτιση που ακολούθησε την ασιτία μίας εβδομάδας στο συγκεκριμένο είδος, παρατηρήθηκε άμεση αποκατάσταση όλων των αιματολογικών παραμέτρων και βελτίωση του ρυθμού ανάπτυξης και του τελικού βάρους ακόμη και σε σχέση με τους μάρτυρες. Τα αποτελέσματα αυτά όμως δεν επαναλήφθηκαν στην ασιτία 2, 3 και 4 εβδομάδων. Για ασιτία 2, 3 και 4 εβδομάδων το διάστημα που απαιτήθηκε για την επαναφορά των επίπεδων της γλυκόζης του αίματος ήταν πολύ μεγαλύτερο και σχεδόν το διπλάσιο της εφαρμοζόμενης ασιτίας (*Abdel-Tawwab et al.,* 2006 *).* Οι ίδιοι ερευνητές συστήνουν για το συγκεκριμένο είδος την αποφυγή παρατεταμένης ασιτίας, η οποία να μην υπερβαίνει δηλαδή την μία εβδομάδα ώστε να αποφευχθεί ο κίνδυνος υποβάθμισης της υγείας των ιχθύων. Σε νεαρά ιχθύδια του είδους, Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) υπήρχε μεγάλη θνησιμότητα ύστερα από την εφαρμογή ασιτίας 6 ημερών (*Bolasina et al*., 2005).

Αντίθετα, το λαβράκι επιδεικνύει άμεσες μεταβολικές προσαρμογές και στις δύο καταστάσεις, ασιτία και επανασίτιση. Σε ασιτία 9 ημερών και επανασίτιση, η πτώση της γλυκόζης του πλάσματος του αίματος, αν και ήταν άμεση δεν κατήλθε του βασικού επιπέδου των 65-70 mg/dl, του οποίου η διατήρηση οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην κινητοποίηση του γλυκογόνου του ήπατος. Ακόμη, κατά την διάρκεια της επανασίτισης οι δείκτες (γλυκόζη, τριγλυκερίδια, ολικά λιπίδια, χοληστερόλη και ελεύθερα αμινοξέα) επανήλθαν στα προ της ασιτίας επίπεδα σε μία μέρα (*Perez-Jimenez et al.,* 2007).

Με την εφαρμογή της παρατεταμένης ασιτίας, πέραν των προαναφερθέντων κινδύνων για την ευρωστία τους, οι ιχθύες χρειάζονται πολύ μεγαλύτερα διαστήματα επανασίτισης για την επαναφορά στη προ ασιτίας κατάσταση. Σε ασιτία 72 ημερών, στην πέστροφα trout (*Oncorhynchus mykiss*) και στους οξύρυγχους sturgeon (*Acipenser naccarii*), όσον αφορά στις ενεργότητες των πεπτικών ένζυμων και κυρίως της αμυλάσης, η επανασίτιση 140 ημερών δεν ήταν αρκετή για την επαναφορά στην προ της ασιτίας κατάσταση (*Furne et al.,*2008). Όσον αφορά στην αύξηση βάρους, σε νεαρά άτομα πέστροφας trout (*Oncorhynchus mykiss*), παρατηρήθηκε ότι η ασιτία 2 και 4 ημερών δεν είχε καμία αρνητική επίδραση στην τελική τους ανάπτυξη. Αντιθέτως, ασιτία 14 ημερών έδειξε να απαιτεί παρατεταμένο διάστημα επανασίτισης, άνω τον 80 ημερών. Στους ιχθύες αυτούς η γρήγορη ανάπτυξη που εμφανίζεται στην επανασίτιση οφειλόταν αποκλειστικά στην αυξημένη κατανάλωση τροφής και όχι στην βελτίωση της μετατρεψιμότητας της (*Nikkia et al.,*2004). Η ασιτία σε νεαρούς ιχθύες του είδους cuvier *Colossoma macropomum*, επηρέασε το βάρος τους προκαλώντας σε αυτό μείωση ενώ το βάρος του πεπτικού ιστού εμφάνισε πιο δραματική μείωση. Κατά την επανασίτιση, τα πεπτικά ενζυμα (ενεργότητα) και το σχετικό βάρος του ήπατος υπερέβησαν τις προηγούμενες αρχικές τιμές τους (*Kohla et al*., 1992). Παρατηρήσεις σχετικές με την μείωση του βάρους του πεπτικού ιστού κατά την ασιτία βρίσκουμε σε όλους τους ερευνητές. Η επανασίτιση συμφώνα με όλες τις προαναφερθείσες έρευνες συνοδεύεται με αυξημένη κατανάλωση τροφής και αυξημένη ανάπτυξη. Τα διαστήματα που εμφανίζεται η αυξημένη ανάπτυξη σε σχέση με την ανάπτυξη του μάρτυρα, ποικίλουν ανάλογα με το είδος του ιχθύος και την χρονική διάρκεια της προηγηθείσας ασιτίας. Για παράδειγμα στην τιλάπια Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*)

απαιτείται χρονικό διάστημα μεγαλύτερο της μίας ημέρας επανασίτισης για ασιτία 3 ή και 5 ημερών (*Chan et al*., 2007).

### 2.1.1 Ασιτία επανασίτιση και Πεπτικά ένζυμα.

Γενικότερα, η ενεργότητα των ένζυμων του πεπτικού σωλήνα επηρεάζεται από ένα μεγάλο αριθμό παραγόντων εκτός των διατροφικών όπως π.χ. το στάδιο ανάπτυξης του ιχθύ (ηλικία), το είδος του ιχθύ, το είδος του ενζύμου, το pH, τη θερμοκρασία κ.α. (*Kuz'mina*, 1996). Με την ηλικία, για παράδειγμα στην Τούρνα (Pike, *Esox lucius*), η ενεργότητα των αμυλασών αρχικά μειώνεται ενώ αντίθετα αυξάνεται η ενεργότητα των πρωτεασών. Γενικά στους περισσότερους σαρκοφάγους ιχθύες η ενεργότητα της α-αμυλάσης μειώνεται με την ηλικία. Αντίθετα η συνολική ενζυμική δραστηριότητα αυξάνεται με την ηλικία του ιχθύ κυρίως λόγω της αύξησης του μεγέθους των ιστών που εκκρίνουν τα ένζυμα. Σε σχετικές όμως τιμές η ενεργότητα αυτή μπορεί να είναι μεγαλύτερη στους νεαρούς ιχθύες (*Kuz'mina*, 1996). Όσον αφόρα στην επίδραση του pH, το μέγιστο της ενεργότητας της αμυλάσης στην Τσιπούρα και το πλατύψαρο (Turbot, *Scophtalmus maximus*) επιτυγχάνεται σε ουδέτερο pH (7,0-7,5). Αντίθετα στο Κοκκινόψαρο (red fish, *Sebastes mentela*) το μέγιστο της ενεργότητας της αμυλάσης είναι σε pH( 4,5-5,0) (*Munilla-Moran and Saborido-Rey,* 1996). Με δεδομένο τον φυσιολογικό ρόλο των πεπτικών ένζυμων για την λειτουργία της πέψης των ιχθύων, αλλά και τον προσανατολισμό της συγκεκριμένης ερευνητικής προσπάθειας, κρίθηκε σκόπιμη η αναλυτικότερη παρουσίαση των επιδράσεων στην ενεργότητα των ενζύμων, των διαστημάτων ασιτίας και επανασίτισης.

Η ασιτία σε νεαρά άτομα του ιχθύ Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus* ) προκάλεσε μείωση στην ενεργότητα των ενζύμων, η οποία διατηρήθηκε κατά την επανασίτιση για διάστημα ανάλογο με αυτό που προηγήθηκε (*Bolasina et al*., 2006). Επαναλαμβανόμενα διαστήματα ασιτίας (25 ημερών) και επανασίτισης (70 ημερών) στη γλώσσα (Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*), βελτίωσαν την μετατρεψιμότητα της τροφής και δεν επηρέασαν το τελικό βάρος σε σχέση με μάρτυρα (*Foss et al*., 2009), Παρόμοια αποτελέσματα, δηλαδή βελτίωση του συντελεστή εκμετάλλευσης της τροφής βρήκαν και στην πέστροφα, σε δεδομένες συνθήκες, οι (*Quinton, & Blake.*, 1990). Οι αλλαγές στην ενζυμική δραστηριότητα κατά την επανασίτιση, ως απάντηση των οργανισμών των ιχθύων στις περιόδους ασιτίας, μπορεί να αποτελούν το κλειδί για την κατανόηση του μηχανισμού που διέπει το φαινόμενο αυτό. Όπως πράγματι προκύπτει από την μελέτη των *Krogdahl and Bakke-McKellep*, (2005) τέτοιες αλλαγές που οδηγούν στην αυξημένη ενζυμική δραστηριότητα μετά από βραχυχρόνια διαστήματα ασιτίας επισυμβαίνουν κατά την επανασίτιση μετά την παρέλευση του διαστήματος της ασιτίας.

Άλλες έρευνες –σε αντίθεση με το παραπάνω- δείχνουν ότι μετά από μακροχρόνια διαστήματα ασιτίας οι ιχθύες παρουσιάζουν ουσιαστική πτώση της ενεργότητας των πεπτικών τους ένζυμων, που σε συνδυασμό με την γρήγορη μείωση

του βάρους του πεπτικού ιστού οδηγεί σε μεγαλύτερη μείωση της πεπτικής τους ικανότητας. Κατ' αυτόν τον τρόπο, μακροχρόνια διαστήματα ασιτίας στο βακαλάο Atlantic cod (*Gadus morhua*) προκαλούν μείωση της ενζυμικής του ενεργότητας, ιδίως στην αμυλάση, ενώ στις πρωτεάσες και συγκεκριμένα η ενεργότητα της τρυψίνης που βρίσκεται στα πυλωρικά τυφλά πλησίασε σχεδόν άμεσα τα προ της εφαρμογής ασιτίας επίπεδα (*Bélanger et al*. 2002). Παρόλα αυτά στον ίδιο ιχθύ δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της ενεργότητας των πρωτεασών κατά το διάστημα από 10 έως 25 ημέρες ασιτία (*Gildberg*, 2004). Εν κατακλείδι, η βραχυχρόνια ασιτία είναι καλώς ανεκτή από τους ιχθύες και μπορεί να οδηγεί σε αύξηση της ενζυμικής τους ενεργότητας, ενώ η μακροχρόνια ασιτία δύναται να υποβαθμίσει την ενεργότητα των ένζυμων και την υγεία των ιχθύων.

# Δ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.

## 1. Εισαγωγή- Σκοπός.

Η ύπαρξη μεταβολών στην ενεργότητα των ένζυμων δηλαδή στην ταχύτητα κατάλυσης της αντίδρασης ενζύμου-υποστρώματος, μπορεί να οφείλεται σε ένα μεγάλο αριθμό παραγόντων όπως η θερμοκρασία, το είδος και η ποσότητα της τροφής, η τιμή του pH, η αλατότητα, το stress κ.λ.π.( *Kuz'mina,* 1996). Η γνώση των επιδράσεων αυτών στην ενεργότητα των πεπτικών ένζυμων, έχει ιδιαίτερη σημασία για την διατροφή τους. Μέρος της μελέτης των μη διατροφικών επιδράσεων, είναι και η παρούσα εργασία που αποσκοπεί στην μελέτη της επίδρασης μικρών διαστημάτων ασιτίας στην πεπτική ικανότητα των κυριοτέρων ομάδων ενζύμων αλλά και στη διαχρονική τους μεταβολή από τη λήψη της τροφής ή την απουσία της.

Τα διαστήματα ασιτίας μπορεί να προκύψουν στην εκτροφή των ιχθύων, είτε λόγω καιρικών συνθηκών είτε λόγω διατροφικής διαχείρισης. Η επιλογή των προς μελέτη ειδών ιχθύων έγινε με γνώμονα τη σπουδαιότητα τους για την ελληνική πραγματικότητα των υδατοκαλλιεργειών. Η επιλογή της μελέτης των βραχυχρόνιων διαστημάτων ασιτίας είναι πιο κοντά στην ελληνική πραγματικότητα των υδατοκαλλιεργειών και των ελληνικών εκτρεφόμενων ειδών (τσιπούρα και λαβράκι), αφού τόσο οι κλιματικές συνθήκες (οι θερμοκρασίες των νερών και οι κυματισμοί), όσο και η επιχειρηματική και επιστημονική διαχείριση που πραγματοποιείται από τις μεγάλες εταιρείες του κλάδου των υδατοκαλλιεργειών, σχεδόν αποκλείουν την εφαρμογή συστημάτων μη εντατικής εκμετάλλευσης των ιχθύων, δηλαδή την πιθανή εφαρμογή μακροχρόνιας ασιτίας ως διαχειριστικού μέτρου (Προσωπική άποψη).

Η μελέτη αυτή φιλοδοξεί ακόμη να συμβάλει στην κατανόηση της διαδικασίας της ενζυμικής πέψης και της εξέλιξης της στον χρόνο και των μεταβολών της ενεργότητας των ενζύμων στις καταστάσεις της ασιτίας και της επανασίτισης. Από την παρατήρηση της «αντισταθμιστικής ανάπτυξης» έχουν σήμερα γίνει κάποιες προσπάθειες για τη φυσιολογική ερμηνεία του φαινομένου αυτού. Οι *Kohla et al*., (1992) παρατήρησαν αυξημένη ενεργότητα των ενζύμων μετά από διαστήματα ασιτίας, έτσι ώστε αν το παραπάνω ισχύει για το λαβράκι ή την τσιπούρα ή και για τα δύο, ιδιαίτερο ενδιαφέρον θα είχε η εύρεση των ιδανικών μεσοδιαστημάτων ασιτίας για την καλύτερη αξιοποίηση της τροφής. Τέτοιες προσπάθειες με παρόμοιο πρωτόκολλο έχουν έως σήμερα γίνει για τον ιχθύ *Seriola quinqueradiata*, από τους *Murashita et al*., (2005), οι οποίοι προσδιόρισαν σε 48 ώρες τον χρόνο αποκατάστασης της ποσότητας και της ενεργότητας της τρυψίνης στα πυλωρικά τυφλά ενηλίκων ατόμων του συγκεκριμένου ιχθύ. Ακόμη, με την πραγματοποίηση μιας πιο πρακτικής προσέγγισης, δηλαδή την εφαρμογή σε νεαρά άτομα τσιπούρας διατροφικών σχημάτων που περιλάμβαναν επαναλαμβανόμενα βραχεία διαστήματα κορεσμού και περιορισμένης διατροφής, παρατηρήθηκε αύξηση της ενεργότητας των ολικών πρωτεασών, αμυλασών και καλύτερη αξιοποίηση της τροφής (*Eroldogan et al*., 2008). Η ενζυμική δραστηριότητα

στην τιλάπια για ασιτία 5 ημερών έδειξε αύξηση σε σχέση με αυτήν του μάρτυρα κατά την επανασίτιση (*Mommsen et al*. 2003). Όπως λοιπόν καταδεικνύουν οι μελέτες γύρω από την ενεργότητα των πεπτικών ενζύμων υπάρχει μια μεταβολή της ανάλογα με το χρόνο λήψης και του προηγούμενου γεύματος.

Ακόμη, η εργασία αυτή αποσκοπεί να προσδιορίσει και να καταδείξει διαφορές μεταξύ των δυο κυριότερων εγχωρία εκτρεφόμενων ιχθύων, στα επίπεδα της ενεργότητας των ενζύμων και των επιδράσεων της ασιτίας-επανασίτισης.

Στην παρούσα εργασία επιλέχτηκε η μελέτη της επίδρασης της ασιτίας στην ενεργότητα των ολικών καρβοϋδρασών, των ολικών πρωτεασών καθώς και σε ορισμένα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ιχθύων και των ιστών τους. Η μέτρηση των χαρακτηριστικών αυτών έγινε στη διαχρονική τους εξέλιξη από την τελευταία λήψη τροφής και για το διάστημα έως και 96 ωρών μετά από αυτήν και συγκεκριμένα για τα διάστημα 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 και 96 ωρών και για 4 ημέρες επανασίτισης (μια φόρα ανά ημέρα) για τα 2 είδη ιχθύων τσιπούρα και λαβράκι. Κάτι τέτοιο δεν έχει γίνει έως σήμερα για τα είδη αυτά.

# 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

## 2.1.1 Οι ιχθύες του πειράματος.

Στην πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν 84 άτομα τσιπούρας *Sparus aurata* ζώντος βάρους **163,95 ± 4,530** και ολικού μήκους σώματος **22,1 ± 0,17** και 84 άτομα λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) ζώντος βάρους **130,83 ± 4,210** και ολικού μήκους σώματος **23,99 ± 0,024**, που εκτρέφονταν στο Εργαστήριο Υδροβιολογίας του Τμήματος Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και προέρχονταν από τοπικούς ελληνικούς ιχθυογεννητικούς σταθμούς.

## 2.1.2 Συνθήκες.

Οι ιχθύες εκτρέφονταν στις πειραματικές εγκαταστάσεις του εργαστηρίου Εφηρμοσμένης Υδροβιολογίας του Τμήματος Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (με γεωγραφικό μήκος 23° 43` 48`` Α και γεωγραφικό πλάτος 37° 58` 27`` Β.), στο ημίκλειστο κύκλωμα θαλασσινού ύδατος στην αίθουσα δεξαμενών Νο 3 στην δεξαμενή Δ3 (Εικόνα 3) για την τσιπούρα και Δ8 για το λαβράκι. Οι διαστάσεις των δεξαμενών ήταν 1,60m Χ 0,90m Χ 0,90m και ο συνολικός όγκος του νερού ανά δεξαμενή ήταν 1,018 $m^3$. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε με φυσικό φωτισμό (Ιούνιος-Ιούλιος) σε χρώματος μπλε δεξαμενές με μια γυάλινη πλευρική επιφάνεια. Η μέση τιμή της θερμοκρασίας του ύδατος ήταν 23,9 ±0,15$^o$ C. Η αλατότητα διατηρήθηκε στο 35‰. Η μέση τιμή του pH του κυκλώματος ήταν 7,23±0,02. Το δεσμευμένο οξυγόνο ήταν D.O =5,6 ±0,07 ppm , ενώ ο κορεσμός ήταν στο 81,6% ±1,37.

## 2.1.3 Χειρισμοί.

Οι ιχθύες του πειράματος διατρέφονταν με τυποποιημένη τροφή εμπορίου σε μορφή συμπήκτων. Προ της πειραματικής περιόδου ταΐζονταν καθημερινώς και για 7 ημέρες στις 9 π.μ., με ποσότητα που αντιστοιχούσε στο 2% του Ζώντος Βάρους. Την 7$^η$ ημέρα, 15 λεπτά μετά το τάισμα αλιεύτηκαν 7 τσιπούρες και 7 λαβράκια.

Τα άτομα αυτά αμέσως μετά τη θανάτωσή τους και αφού έγιναν και καταγράφηκαν οι απαραίτητες μετρήσεις (ζων βάρος, ολικό μήκος, σταθερό μήκος, πλάτος και ύψος) διατηρήθηκαν σε χαμηλή θερμοκρασία και στη συνέχεια, αφαιρέθηκαν τα σπλάχνα τους προκειμένου να διαχωριστούν ( πεπτικό σύστημα, ήπαρ και σπλήνα), να ζυγιστούν σε ζυγό ακριβείας, να συσκευαστούν και να διατηρηθούν στην κατάψυξη, έως ότου γίνει η ομογενοποίηση.

Η ανωτέρω περιγραφείσα διαδικασία επαναλήφθηκε αρχικά μετά από 3 περίπου ώρες (στις 12:15μ.μ), εν συνεχεία, μετά από 6 και 12 ώρες (στις 15:15 μ.μ και 21:15 μ.μ., αντιστοίχως) για τον ίδιο αριθμό ιχθύων του κάθε είδους. Τις επόμενες τρεις ημέρες στις 9:15 π.μ. επαναλήφθηκε η δειγματοληψία με την περιγραφείσα μέθοδο χωρίς όμως να ταϊστούν οι ιχθύες. Ενώ στη συνέχεια του πειράματος και για τις επόμενες τέσσερις ημέρες πριν την αλίευση προηγείτο τάισμα με ποσότητα που αντιστοιχούσε στο 2% του Ζώντος Βάρους. Θεωρώντας ως ώρα μηδέν (0) την ώρα της πρώτης δειγματοληψίας (9:15 π.μ.) δηλαδή 15 λεπτά μετά το τελευταίο τάϊσμα της προπειραματικής περιόδου, οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν στις 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 και 192 ώρες. Οι ιχθύες αλιεύονταν τυχαία από την δεξαμενή στα προγραμματισμένα χρονικά διαστήματα.

**Εικόνα 2.1.3.1.** Άποψη των δεξαμενών Δ (1, 2 και 3) της αίθουσας 3 του Εργαστηρίου Εφηρμοσμένης Υδροβιολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Φωτογραφία του συγγραφέα).

## 2.1.4 ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΠΕΠΤΙΚΟΥ ΣΩΛΗΝΑ ΤΩΝ ΙΧΘΥΩΝ.

Προκειμένου να γίνει εφικτός ο προσδιορισμός των ενζύμων των εξεταζόμενων ιχθύων τσιπούρας και λαβρακιού, ακολουθήθηκε για την προετοιμασία των διαφόρων τμημάτων του πεπτικού σωλήνα των ιχθύων αυτών, και την ομογενοποίηση τους έτσι ώστε αυτά να χρησιμοποιηθούν ως δείγματα στις αναλύσεις που ακολούθησαν. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε περιγράφεται στις εργασίες των *Papoutsoglou and Lyndon*., (2005, 2006a & 2006b).

Ο πεπτικός σωλήνας των ιχθύων (από το τέλος του οισοφάγου ως την έδρα), αμέσως μετά την αφαίρεσή του και τον προσδιορισμό του βάρους αυτού σε ζυγό ακριβείας, συσκευάζεται αεροστεγώς και διατηρείται στην κατάψυξη.

Κατά την διαδικασία της ομογενοποιήσεώς τους, τα δείγματα εξέρχονται από την κατάψυξη ξεχωριστά. Ο πεπτικός σωλήνας του ιχθύος αφήνεται να ξεπαγώσει σε θερμοκρασία δωματίου για σύντομο χρονικό διάστημα, προκειμένου να είναι εύκολος και δυνατός ο χειρισμός του, να μη σπάσει, αλλά και να μην ενεργοποιηθούν τα περιέχοντα σε αυτόν πεπτικά ένζυμα. Το δείγμα τοποθετώντας το δείγμα επί παγοκύστης, η οποία διατηρείται καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας, φροντίζοντας να είναι καλά παγωμένη. Απομακρύνθηκε, με μεγάλη σχολαστικότητα και χωρίς να καταστραφούν οι ιστοί, το λίπος που ενδεχομένως να περιέχονταν. Το δείγμα ζυγίζονταν ολόκληρο σε ζυγό ακριβείας.

Στη συνέχεια, ο πεπτικός σωλήνας πάντοτε ευρισκόμενος σε καλά παγωμένη παγοκύστη, τεμαχίζεται, προκειμένου να ληφθούν ξεχωριστά τα αντίστοιχα τμήματα που τον συγκροτούν, δηλαδή **ο στόμαχος**, τα **πυλωρικά τυφλά** και το **έντερο**. Κάθε ένα εξ αυτών ζυγίζεται ξεχωριστά σε ζυγό ακριβείας, το βάρος αυτού καταγράφεται και στη συνέχεια γίνεται ο τεμαχισμός του. Στην περίπτωση κατά την οποία παρατηρηθεί πως ο στόμαχος έχει περιεχόμενο, αυτό αφαιρείται με προσοχή, προσδιορίζεται το βάρος του με ζύγιση και καταγράφεται. -Η διαδικασία αυτή έγινε μονό για όσα δείγματα ήταν δυνατόν να παρθεί το περιεχόμενο του στομάχου χωρίς να αφαιρεθεί η βλέννη του στομάχου. Στα πυλωρικά τυφλά και στο έντερο δεν αφαιρέθηκε περιεχόμενο. Έχοντας ως δεδομένο το βάρος του κάθε τμήματος του πεπτικού σωλήνα του ιχθύος, δηλαδή του στομάχου, του περιεχόμενου του στομάχου, εφόσον αυτό υπάρχει, των πυλωρικών τυφλών και του εντέρου, τα δείγματα τοποθετούνται σε κατάλληλο σωληνάκι ή ποτήρι ζέσεως κατάλληλου όγκου και γίνεται προσθήκη 9-πλάσιας ποσότητας φυσιολογικού ορού ( 0,9% NaCl), ο οποίος διατηρείται στο ψυγείο. Έτσι, προκύπτει όγκος 10 φορές μεγαλύτερος του αρχικού του κάθε τμήματος. Το κάθε δείγμα ξεχωριστά, ομογενοποιείται με τη χρήση **υπερήχων** μέσα σε πάγο, εξασφαλίζοντας πάντα τη διατήρηση της χαμηλής θερμοκρασίας του. Όταν η διαδικασία της ομογενοποίησης ολοκληρωθεί, δίνοντας ένα το δυνατόν ομοιογενές αποτέλεσμα, τα δείγματα διατηρούνται επίσης σε θερμοκρασία χαμηλότερη του μηδενός.

Στη συνέχεια, πραγματοποιείται η φυγοκέντρηση των δειγμάτων σε φυγόκεντρο, στις 4200 g, στη θερμοκρασία των $4^oC$ και για χρονικό διάστημα 10 λεπτών. Μόλις η διαδικασία αυτή ολοκληρωθεί, το κάθε δείγμα ξεχωριστά τοποθετείται σε τέσσερα με πέντε διαφορετικούς κωνικούς πλαστικούς περιέκτες του 1,5 ml (eppendorfs). Σε αυτά ήταν καταγεγραμμένα, τα στοιχεία του αναλυόμενου ιχθύος, δηλαδή το είδος αυτού, ο αριθμός και η δεξαμενή του, καθώς και το αντίστοιχο τμήμα του πεπτικού σωλήνα που περιέχεται. Η συντήρησή τους στη συνέχεια πραγματοποιείται μέσα στην κατάψυξη ($-32^oC$). Εξήλθαν από αυτήν όταν ήρθε η ώρα για τις αντίστοιχες χημικές αναλύσεις, προκειμένου να καταστεί εφικτός ο προσδιορισμός των περιεχόμενων πεπτικών ενζύμων όπως περιγράφεται στη συνέχεια.

## 2.1.5 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΑΣΩΝ

Στην παρούσα εργασία και προκειμένου να προσδιοριστεί η ενεργότητα των πεπτικών ενζύμων (ολικών πρωτεασών) που περιέχονται στα διάφορα τμήματα του πεπτικού σωλήνα των εξεταζόμενων ιχθύων, ακολουθήθηκε η μέθοδος της υδρόλυσης της καζεΐνης που αναπτύχθηκε από τον *Kunitz* ( 1947) και τροποποιήθηκε από τον *Walter* ( 1984). Οι μετρήσεις πραγματοποιούνται στο στόμαχο, στο περιεχόμενο του στομάχου (στην περίπτωση που υπάρχει), τα πυλωρικά τυφλά και το έντερο του υπό εξέταση ιχθύος. Μετά από σχετικές δοκιμές που έλαβαν χώρα, προσδιορίστηκαν προς χρήση τα ακόλουθα ρυθμιστικά διαλύματα: ένα με (pH 1.5), (0.1M KCl-HCl ) για το στόμαχο και το περιεχόμενο αυτού, ένα με (pH=7,0) ), (0.1M κιτρικού-φωσφορικού ) και ένα με (pH=10,0) (0.1M glycine-NaOH ), για τα πυλωρικά τυφλά και το έντερο. Προτιμήθηκε να μη γίνει ο προσδιορισμός ξεχωριστά κάθε ενζύμου που ανήκει στις πρωτεάσες, αλλά να προσδιοριστούν συνολικά και να διακριθούν στη συνέχεια με βάση την τιμή του pH. Οι τιμές για κάθε επίπεδο αυτού παρέχουν μία ένδειξη για την ενεργότητα των ειδικών πρωτεασών, καθώς ανταποκρίνονται στην ιδανική τιμή του pH ή κοντά σε αυτήν. Δηλαδή, pH=1,5 για την πεψίνη, pH= 7,0 για την θρυψίνη, χυμοθρυψίνη και pH=9,0-10,0 για την καρβοξυπεπτιδάση, ελαστάση και κολλαγενάση (*Hidalgo et al.*, 1999).

Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν σωληνάκια διαβάθμισης, στα οποία τοποθετήθηκαν 0,25ml ( 250μl ) από το αντίστοιχο ρυθμιστικό διάλυμα, με αυτόματη πιπέτα ανάλογα με το υπό εξέταση τμήμα του πεπτικού σωλήνα. Τα υπό εξέταση δείγματα που ήταν τοποθετημένα σε κωνικούς πλαστικούς περιέκτες όγκου 1,5ml αεροστεγώς κλεισμένους ( eppendorfs), έβγαιναν από την κατάψυξη και σε θερμοκρασία δωματίου και ανακινούνταν (με συσκευή Vortex) προκειμένου να ξεπαγώσουν τόσο όσο απαιτείται προκειμένου να μην περιέχουν τεμάχια πάγου και να είναι εφικτή η καλή ομογενοποίηση τους. Ακολούθησε η προσθήκη 0,1ml ( 100μl ) από το αντίστοιχο δείγμα στο αντίστοιχο σωληνάκι διαβάθμισης με το ρυθμιστικό διάλυμα. Στη συνέχεια, γίνεται προσθήκη 0,25ml ( 250μl) υποστρώματος, δηλαδή καζεΐνης ( 5%). Τα δείγματα τοποθετούνται στον επωαστήρα

προς επώαση για χρονικό διάστημα 60 λεπτών ( 1,0 ώρα), στη θερμοκρασία των 25$^{o}$C, προκειμένου να δράσουν τα περιεχόμενα ένζυμα. Όταν ολοκληρωθεί ο απαραίτητος χρόνος αυτής, τα δείγματα εξέρχονται του επωαστήρα και προκειμένου να σταματήσει η αντίδραση, ακολουθεί η προσθήκη 0,6ml ( 600μl) TCA ( 8%) trichloroacetic acid ). Ακολουθεί παραμονή των δειγμάτων για χρονικό διάστημα 60 λεπτών (1,0 ώρα) εντός του ψυγείου. Όταν ο απαιτούμενος χρόνος ολοκληρωθεί, γίνεται φυγοκέντρηση των δειγμάτων για χρονικό διάστημα 10 λεπτών, σε ψυχόμενη φυγόκεντρο, στις 1800 g και στη θερμοκρασία των 4$^{o}$C. Όταν η διαδικασία ολοκληρωθεί, γίνεται η μέτρηση των δειγμάτων στο φωτόμετρο, στα 280nm και καταγράφονται οι αντίστοιχες ενδείξεις.

Για τα Control δείγματα, τα οποία χρησιμοποιούνται προκειμένου να αποκλειστούν τα άλλα ένζυμα με παρόμοια δομή εκείνης των πρωτεασών, ακολουθείται ακριβώς η ίδια διαδικασία, αλλά παραλείπεται τελείως η επώαση. Προστίθεται άμεσα TCA και τα δείγματα τοποθετούνται στο ψυγείο για χρονικό διάστημα 60 λεπτών (1,0ώρα ). Ακολουθεί η φυγοκέντρηση, όπως ακριβώς και στα κανονικά δείγματα.

Η πρότυπη καμπύλη δημιουργείται με καθαρή τυροσίνη σε συγκεντρώσεις των 0,0 ml ( 0,0μl ), 0,04 ml ( 40 μl ), 0,06 ml ( 60 μl ), 0,08 ml ( 80 μl ), 0,1 ml (100 μl ) και 0,2 ml (200μl ). Ακολουθεί μία διαδικασία ακριβώς όμοια με εκείνη για τα Control δείγματα (απουσία της επώασης ) και η μέτρηση των δειγμάτων στο φωτόμετρο, στα 280nm, όπου καταγράφονται οι αντίστοιχες ενδείξεις. Έτσι οι τιμές που μετρώνται τελικώς στα δείγματα αντιστοιχούν σε mg τυροσίνης που παράγονται ανά g μάζας ιστού ανά λεπτό υδρόλυσης.

## 2.1.6 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΚΑΡΒΟΥΔΡΑΣΩΝ.

Ο προσδιορισμός των καρβοϋδρασών των εξεταζόμενων ιχθύων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο των Somogyi-Nelson ( *Robyt and Whelan*, 1968, *Papoutsoglou and Lyndon*, 2006 ), με την χρήση αμύλου ως υπόστρωμα.

Σε καταλλήλους δοκιμαστικούς σωλήνες βάλαμε 1ml ( 1000μl ) ρυθμιστικό διάλυμα με pH 7,6, η διατήρηση του οποίου γινόταν στο ψυγείο. Τα δείγματα που βρίσκονταν σε πλαστικούς αεροστεγώς κλεισμένους κωνικούς περιέκτες των 1,5 ml (Eppendorf ) έβγαιναν από την κατάψυξη, διατηρούνταν σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να ξεπαγώσουν, να αποκτήσουν δηλαδή υγρή μορφή χωρίς τεμάχια πάγου και ανακατεύονταν σε συσκευή ανακίνησης δοκιμαστικών σωλήνων (Vortex). Από αυτά γινόταν προσθήκη 0,1ml ( 100μl ) δείγματος, στα αντίστοιχα σωληνάκια. Στη συνέχεια, προστίθενταν 0,5ml ( 500μl ) υποστρώματος, δηλαδή αμύλου. Όσον αφορά τη προετοιμασία του αμύλου, δημιουργούταν μία πάστα με την ανάμειξη 1,0g αμύλου με 3,0ml μεθανόλης. Γινόταν προσθήκη σε 150ml απεσταγμένου ύδατος. Ακολουθούσε βρασμός για 15 με 20 λεπτά, προκειμένου να προκύψει ένας όγκος 100,0ml.(*Clark et al*., 1984)

Τα σωληνάκια τοποθετούνταν για επώαση, στη θερμοκρασία των 25$^{o}$C για χρονικό διάστημα 90 λεπτών προκειμένου να ενεργοποιηθούν τα περιεχόμενα στα δείγματα ένζυμα. Όταν ολοκληρωνόταν ο χρόνος της επώασης, τα δείγματα μεταφέρονταν σε χαμηλή θερμοκρασία. Από αυτά λαμβανόταν 0,1ml Τοποθετούταν σε σωληνάκι, το οποίο περίεχε 0,9ml αποσταγμένου ύδατος. Ακολουθούσε προσθήκη του αντιδραστηρίου IV$^{\dagger}$ -προέκυπτε από την ανάμειξη του αντιδραστηρίου I$^{\dagger}$ (Ανθρακικά και Θειικά άλατα του Νάτριου) με το αντιδραστήριο II$^{\dagger}$ (Θειικό χαλκό και Θειικό οξύ) σε αναλογία 25:1 , και βρασμός. Τα σωληνάκια, πωματίζονταν για να αποφευχθεί η απώλεια του περιεχομένου τους κατά τη διάρκεια του βρασμού, αλλά και η πιθανή είσοδος ύδατος σε αυτά και τοποθετούνταν σε υδατόλουτρο που έβραζε για χρονικό διάστημα 20 λεπτών. Όταν ο βρασμός ολοκληρωνόταν, απομακρύνονταν από το υδατόλουτρο και αφήνονταν να κρυώσουν, σε κρύο νερό. Τέλος, γινόταν προσθήκη του αντιδραστηρίου III (Μολυβδούχο Αμμώνιο, Θειικό οξύ κ Αρσενικό Νάτριο) και εν συνεχεία αραίωση με αποσταγμένο νερό. Λίγο πριν γίνει η μέτρηση της απορρόφησης στο φωτόμετρο, γινόταν προσεκτική, αλλά καλή ανάδευση των δειγμάτων. Ακολουθούσαν οι μετρήσεις στο φωτόμετρο σε μήκος κύματος 600nm και καταγράφονταν οι αντίστοιχες ενδείξεις, που λαμβάνονταν από αυτό.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τα Control δείγματα, είναι ακριβώς η ίδια με τα δείγματα, αλλά παραλειπόταν η διαδικασία της επώασης.

Η πρότυπη καμπύλη πραγματοποιήθηκε με τη χρήση γλυκόζης σε συγκεντρώσεις 0,0 ml ( 0,0μl ), 0,04 ml ( 40 μl ), 0,06 ml ( 60 μl ), 0,08 ml ( 80 μl), 0,1 ml ( 100 μl) και 0,2 ml ( 200μl) και 0,3ml ( 300μl). Η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι ακριβώς η ίδια με τα Control δείγματα. Τελικώς, οι μετρήσεις θα αντιστοιχούν σε mg γλυκόζης που παράγονται ανά g μάζας ιστού ανά λεπτό υδρόλυσης, Όλα τα δείγματα εκτός των Control δειγμάτων, γίνονταν εις διπλούν.

$^{\dagger}$Οι ονομασίες I,II,III και IV των αντιδραστηρίων, όπως αναφέρονται στη μέθοδο των Somogyi-Nelson

### 2.1.7 Στατιστική επεξεργασία.

Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων των μετρήσεων και των αναλύσεων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα Statgraphics ver. 4.0. Οι πιθανές επιδράσεις του χειρισμού στο μετρούμενο αποτέλεσμα ελέγχθηκαν σε πρώτο στάδιο για την κανονικότητα της κατανομής, την ομοιογένεια, την καλή προσαρμογή των δεδομένων και την ύπαρξη ακραίων τιμών. Εφόσον τα δεδομένα, με ή χωρίς μετασχηματισμό, πληρούσαν τις προϋποθέσεις, τότε τα αποτελέσματα αναλύονταν με την ανάλυση παραλλακτικότητας ενός παράγοντα (one way-ANOVA). Η σημαντικότητα της επίδρασης ορίστηκε στο $P \leq 0,05$. Στις περιπτώσεις που τα αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA) ήταν σημαντικά, τότε γινόταν ο έλεγχος πολλαπλών συγκρίσεων (*multiple range test*) κατά Dunkan. Εάν τα δεδομένα δεν πληρούσαν τις προϋποθέσεις (κανονικότητας, ομοιογένειας κ.λ.π.) - ακόμα και μετά

από μετασχηματισμό - τότε ελεγχόταν με την μη παραμετρική μέθοδο η σημαντικότητα τους (κατά Kruskal-Wallis). Εφόσον τα αποτελέσματα ήταν σημαντικά (κατά Kruskal-Wallis) ($P_{KW} \leq 0,05$), τότε γινόταν ο έλεγχος πολλαπλών συγκρίσεων (*multiple range test*) κατά Dunkan.

Στους πίνακες και στα διαγράμματα παρουσιάζονται οι μέσοι όροι ± τυπικό σφάλμα χωρίς μετατροπή, ενώ στις περιπτώσεις που εντοπίζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, η διαφοροποίηση εμφανίζεται με διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες. Στην μελέτη ορίστηκε ως επίπεδο σημαντικότητας το $P \leq 0,05$. Τα μη σημαντικά αποτελέσματα σημειώνονται με ($^{ΜΣ}$). Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται με έναν αστερίσκο(*) έχουν $P \leq 0,05$, με δύο αστερίσκους (**) έχουν $P \leq 0,01$ και με τρεις αστερίσκους (***) έχουν $P \leq 0,001$.

### 2.1.8 Τύποι και συντομογραφίες.

Για κάθε ιχθύ υπολογίστηκε:

- ο συντελεστής ευρωστίας

  **(CF) (**Condition factor)= $(W/L^3)*100$

Όπου W= βάρος (g) και L= ολικό μήκος (cm) του ιχθύ

- Ο ηπατοσωματικός δείκτης

  **(LI)** (Liver index)=$(W_L/W)*100$

$W_L$= βάρος (g) του ήπατος,

- Ο ηπατοσωματικός δείκτης

  **(SI)** (Spleen index)=$( W_S/W)*100$

$W_S$= βάρος (g) του σπληνός

- Το σχετικό μήκος έντερου

  (**IL**) =$(L_{int}/L)*100$

$L_{int}$ == ολικό μήκος (cm) του εντέρου του ιχθύ (χωρίς τα πυλωρικά τυφλά)

- Σχετικό βάρος πεπτικού ιστού

  (**ΣΒΠΙ**) )=$( (W_{ΠΣ}- W_T) /W)*100$

$W_{ΠΣ}$= βάρος (g) του πεπτικού σωλήνα (μετά των περιεχομένων οργανικών ουσιών), από τον στόμαχο ως την έδρα. $W_T$ =βάρος (g) της ανευρεθείσας άπεπτης τροφής στον στόμαχο

- Σχετικό βάρος ιστού του στομάχου

  **(ΣΒΣΤ)**= (W $_{\mathbf{ΣΒΣΤ}}$ /W)*100

W $_{\mathbf{ΣΒΣΤ}}$ =βάρος (g) του πεπτικού ιστού του στομάχου

- Σχετικό βάρος του στομάχου (οργάνου ως έχει)

  **(ΣΒΣΤΠ)**= (W $_{\mathbf{ΣΒΣΤΠ}}$ /W)*100

W $_{\mathbf{ΣΒΣΤΠ}}$=βάρος (g) του πεπτικού ιστού του στομάχου μαζί με τα περιεχόμενα

- Σχετικό βάρος πυλωρικών τυφλών

  **(ΣΒΠΥΛ)**= (W $_{\mathbf{ΣΒΠΥΛ}}$ /W)*100

W $_{\mathbf{ΣΒΠΥΛ}}$ =βάρος (g) του πεπτικού ιστού των πυλωρικών τυφλών μαζί με τα περιεχόμενα.

- Σχετικό βάρος εντερικού σωλήνα εκτός πυλωρικών τυφλών

  **(ΣΒΕΝΤ)**= (W $_{\mathbf{ΣΒΕΝΤ}}$ /W)*100

W $_{\mathbf{ΣΒΕΝΤ}}$=βάρος (g) του πεπτικού ιστού του εντέρου (εκτός πυλωρικών τυφλών) μαζί με τα περιεχόμενα.

- Πεπτική Ικανότητα $_{X}$ ιστού

  **(Π.Ι.** $_{\mathbf{x\text{-}ΙΣΤΟΥ1}}$**)**= ( $W_{\mathbf{x\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$)* ($E_{\mathbf{x\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$)

$W_{\mathbf{x\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$ =βάρος (g) του εκάστοτε –x πεπτικού ιστού, $E_{\mathbf{x\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$= η τιμή του αθροίσματος της ενεργότητας όλων των ενζυμων (pH) του εκάστοτε –x πεπτικού ιστού.

- Πεπτική Ικανότητα σε pHX-( ενζύμων)

  **(Π.Ι.** $_{pHX}$ ενζύμων**)**= ( $W_{\mathbf{x\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$)* ($E_{\mathbf{x\text{-}ΙΣΤΟΥpHX}}$) +( $W_{\mathbf{y\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$)* ($E_{\mathbf{y\text{-}ΙΣΤΟΥpHX}}$)

($E_{\mathbf{x\text{-}ΙΣΤΟΥpHX}}$), ($E_{\mathbf{y\text{-}ΙΣΤΟΥpHX}}$)= Οι τιμες της ενεργότητας των ενζύμων σε συγκεκριμένο pH του εκάστοτε –x,-y πεπτικού ιστού.

- Ολική Ενεργότητα πρωτεασών- καρβοϋδρασών

  **(Εολ)= (Π.Ι.** $_{\mathbf{x\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$ **+Π.Ι.** $_{\mathbf{y\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$**)/ (** $W_{\mathbf{x\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$+$W_{\mathbf{y\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$**)**

Εολ= Το κλάσμα του αθροίσματος των πεπτικών ικανοτήτων όλων των ιστών για το συγκεκριμένο ενζυμο, ως προς το άθροισμα των βαρών των ιστών αυτών.

- Ολική Πεπτική Ικανότητα πρωτεασών- καρβοϋδρασών

  **(Π.Ι.ολ)= (Π.Ι.** $_{\mathbf{x\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$ **+Π.Ι.** $_{\mathbf{y\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$ + ….+**Π.Ι** $_{\mathbf{Z\text{-}ΙΣΤΟΥ}}$**)**

Π.Ι.ολ= Το άθροισμα όλων των τιμών των πεπτικών ικανοτήτων των ιστών για όλες τις τιμές pH στις οποίες υπολογίστηκαν οι Π.Ι.

- Σχετική τιμή Πεπτικής Ικανότητας $_{\text{Χ}}$ ιστού

  (Σχ.**Π.Ι.** $_{\text{Χ-ΙΣΤΟΥ}}$**)**= [(**Π.Ι.** $_{\text{Χ-ΙΣΤΟΥ}}$**)/W**)]*100

Δεδομένου ότι η μάζα (βάρος) ενός ιχθύος έχει θετική συσχέτιση με την μάζα (βάρος) των πεπτικών ιστών του - άρα επηρεάζει την πεπτική ικανότητα - (*Kuz'mina*, 1996), σε όλα τα αποτελέσματα υπολογίστηκε και το σχετικό μέγεθος του αποτελέσματος, δηλαδή μια «διόρθωσή» τους ως προς το βάρος των ιχθύων. Η διόρθωση αυτή θεωρήθηκε επιβεβλημένη αφού οι ιχθύες δεν είχαν το ίδιο βάρος άρα και η προσαρμογή των αποτελεσμάτων σε ιχθύς 100g, δίνει μια άμεσα συγκρίσιμη και αντικειμενικότερη εικόνα αυτών.

# 3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το βάρος των ιχθύων μετρήθηκε με ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας 0,1 gr, ενώ οι διαστάσεις του σώματος ελήφθησαν με ωρολογιακό παχύμετρο ακριβείας 0,1 mm. (βερνίερο). Οι μετρήσεις των βαρών των τμημάτων των ιστών έγιναν με ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας 0,0001g. Οι μετρήσεις της ενεργότητας των ένζυμων έγιναν σε φασματοφωτόμετρο (Helios α Thermospectonic U.V.-Visible)

## 3.1 Λαβράκι Αποτελέσματα

### 3.1.1 Λαβράκι-Σωματομετρικά.

Στον πίνακα **3.1.1.1.** παρουσιάζονται οι τιμές των: Ζών βάρος, ολικό μήκος συντελεστή ευρωστίας, ηπατοσωματικό και σπληνοσωματικό δείκτη. Από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι δεν υπάρχουν σημαντικές επιδράσεις ($P>0,05$) από την ώρα της δειγματοληψίας και συνεπώς από την εφαρμογή 4 ημερών ασιτίας και επανασίτισης στο βάρος, στο μήκος των ιχθύων και στον συντελεστή ευρωστίας. Αντίθετα στον σπλήνα υπάρχουν στατιστικά σημαντικές επιδράσεις ($P\leq0,05$) σύμφωνα με τις οποίες διαφαίνεται μια τάση αύξησης του σπληνός από τους χειρισμούς. Μέγιστη τιμή έχουμε την $3^{η}$ ημέρα επανασίτισης.

**Πινάκας 3.1.1.1.** Μεταβολές Ζώντος βάρους, ολικού μήκους, συντελεστή ευρωστίας, ηπατοσωματικού και σπληνοσωματικού δείκτη του λαβρακιού.

| Ώρες δειγματοληψίας | Ζ.Β (g) | ΟΛΙΚΟ ΜΗΚΟΣ (cm). | ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΕΥΡΩΣΤΙΑΣ (CF) | ΗΠΑΤΟ-ΣΩΜΑΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ (LI) | ΣΠΛΗΝΟ-ΣΩΜΑΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ (SI) |
|---|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | | |
| **0** | 118,88±9,927 | 23,3±0,94 | 0,93±0,040 | 1,54±0,143 | 0,056±0,0073[ab] |
| **3** | 133,20±12,643 | 23,9±0,72 | 0,96±0,027 | 1,43±0,128 | 0,053±0,0046[ab] |
| **6** | 143,77±19,514 | 24,4±1,01 | 0,95±0,026 | 1,67±0,109 | 0,051±0,0059[a] |
| **12** | 131,98±8,459 | 23,8±0,38 | 0,98±0,022 | 1,49±0,078 | 0,054±0,0048[ab] |
| **24** | 124,70±11,867 | 23,8±0,84 | 0,91±0,035 | 1,69±0,135 | 0,054±0,0043[ab] |
| **48** | 168,55±20,599 | 26,1±1,08 | 0,92±0,030 | 1,57±0,092 | 0,053±0,0047[ab] |
| **72** | 102,50±5,399 | 22,7±0,20 | 0,88±0,020 | 1,50±0,043 | 0,070±0,0063[bc] |
| **96** | 150,10±12,265 | 25,0±0,84 | 0,95±0,028 | 1,48±0,159 | 0,061±0,0030[abc] |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | | |
| **120** | 119,71±8,257 | 23,9±0,69 | 0,88±0,045 | 1,23±0,088 | 0,064±0,0037[abc] |
| **144** | 133,70±15,741 | 24,3±0,89 | 0,90±0,036 | 1,39±0,104 | 0,062±0,0039 [abc] |
| **168** | 110,88±13,339 | 22,9±0,70 | 0,90±0,026 | 1,42±0,144 | 0,072±0,0056[c] |
| **192** | 132,97±20,423 | 23,,8±1,07 | 0,95±0,028 | 1,55±0,101 | 0,071±0,0034[abc] |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | **ΜΣ** | **ΜΣ** | **ΜΣ** | **ΜΣ** | * |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

*†ΜΤ. ±**Τ.Σ** =Μέση τιμή συν/πλην τυπικό σφάλμα.*

Στον Πίνακα **3.1.1.2.** παρουσιάζονται χρονικά οι μεταβολές που επισυμβαίνουν στον πεπτικό ιστό σε σχέση με την ασιτία και την επανασίτιση.

**Πίνακας 3.1.1.2.** Μεταβολές του πεπτικού συστήματος και των τμημάτων του σε συνθήκες ασιτίας και επανασίτισης στο Λαβράκι.

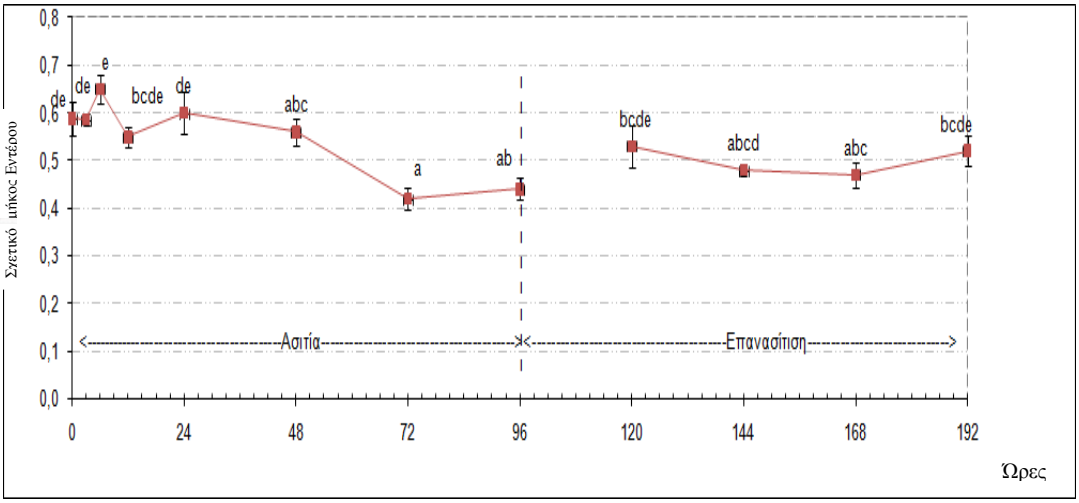
| Ώρες δειγματοληψίας | Σχετ. Βάρος πεπτικού Ιστού (Π.Ι.) | Σχετ. Βάρος πεπτικού σωλήνα (ΠΣ) | Σχετ. Βάρος Ιστού Στομάχου (ΣΒΣΤ) | Σχετ. Βάρος Πυλωρικών τυφλών (ΣΒΠΥΛ) | Σχετ. Βάρος Εντέρου (ΣΒΕΝΤ) |
|---|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | | |
| **0** | 2,78±0,210$^{bcde}$ | 5,34±0,855 $^{bc}$ | 0,96±0,082 $^{abc}$ | 0,29±0,040 $^{abc}$ | 1,36±0,127 $^{cde}$ |
| **3** | 4,35±0,138$^{de}$ | 6,36±0,986$^{c}$ | 1,19±0,083$^{bc}$ | 0,35±0,021 $^{bc}$ | 1,70±0,091 $^{bc}$ |
| **6** | 3,35±0,205$^{de}$ | 6,57±1,186$^{c}$ | 1,20±0,103$^{bc}$ | 0,37±0,027 $^{bc}$ | 1,92±0,223 $^{h}$ |
| **12** | 3,61±0,309$^{e}$ | 6,98±1,262$^{c}$ | 1,17±0,124$^{abc}$ | 0,35±0,035 $^{bc}$ | 1,81±0,144 $^{fh}$ |
| **24** | 3,13±0,256$^{cde}$ | 3,81±0,445$^{ab}$ | 1,32±0,153$^{c}$ | 0,31±0,025 $^{abc}$ | 1,44±0,102 $^{defh}$ |
| **48** | 2,45±0,181$^{abc}$ | 3,11±0,626$^{ab}$ | 0,98±0,066$^{abc}$ | 0,28±0,035 $^{ab}$ | 1,11±0,108 $^{bc}$ |
| **72** | 2,26±0,130$^{ab}$ | 2,26±0,130$^{a}$ | 0,92±0,045$^{abc}$ | 0,34±0,031 $^{abc}$ | 0,93±0,070 $^{ab}$ |
| **96** | 1,88±0,077$^{a}$ | 1,88±0,077$^{a}$ | 0,82±0,046$^{bc}$ | 0,24±0,014 $^{a}$ | 0,77±0,028 $^{a}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | | |
| **120** | 2,44±0,215$^{abc}$ | 3,45±0,264$^{ab}$ | 0,78±0,203$^{a}$ | 0,32±0,019 $^{bcde}$ | 1,30±0,099 $^{cde}$ |
| **144** | 3,14±0,519$^{cde}$ | 3,77±0,311$^{ab}$ | 0,88±0,198$^{bc}$ | 0,34±0,014 $^{bcde}$ | 1,53±0,051 $^{defh}$ |
| **168** | 2,62±0,217$^{abcd}$ | 3,09±0,482$^{ab}$ | 0,99±0,084$^{abc}$ | 0,30±0,019 $^{bcde}$ | 1,31±0,159 $^{cd}$ |
| **192** | 2,95±0,332$^{bcde}$ | 3,95±0,850$^{ab}$ | 1,11±0,131$^{abc}$ | 0,38±0,026 $^{bcde}$ | 1,42±0,168 $^{bcde}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | *** | *** | *** | * | ** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

Στον πίνακα **3.1.1.2.** όσον αφόρα στο σχετικό βάρος του πεπτικού ιστού βλέπουμε ότι είχαμε αρχικώς μια άνοδο, η οποία φτάνει το μέγιστό της στις 12 ώρες μετά τη λήψη της τροφής, και εν συνεχεία μια απότομη πτώση που γίνεται στατιστικώς σημαντική μετά από τις 48 ώρες. Κατά την επανασίτιση έχουμε επαναφορά σε μη στατιστικά διαφορετικές τιμές από αυτές της έναρξης. Η εικόνα αυτή ισχύει και για το σχετικό βάρος του πεπτικού σωλήνα (Βλ. παράρτημα διαγράμματα 3-4). Όσον αφορά στα σχετικά βάρη του στομάχου, των πυλωρικών τυφλών και του εντέρου, έχουμε και εκεί στατιστικά σημαντικές μεταβολές. Η μέγιστη τιμή στα σχετικά βάρη του στομάχου και των πυλωρικών τυφλών επιτυγχάνεται στις 6 ώρες, χωρίς όμως μεγάλες διαφοροποιήσεις. Στον ιστό του εντέρου η διαφοροποίηση γίνεται ήδη από τις 3 πρώτες ώρες που έχουμε στατιστικά σημαντική άνοδο του σχετικού του βάρους, αλλά

το μέγιστο της τιμής αυτής επιτυγχάνεται στις 12 ώρες. Η επαναφορά της τιμής στα αρχικά επίπεδα (0 ωρών) επιτυγχάνεται στις 24 ώρες ασιτίας. Εν συνεχεία, η τιμή του βάρους μειώνεται στατιστικά σημαντικά στις 72 και 96 ώρες. Στην επανασίτιση,με την πρώτη μέτρηση φτάνουμε στα επίπεδα τον 0 ωρών. (Βλ. παράρτημα διαγράμμα 5).

Η διαχρονική μεταβολή του σχετικού μήκους του εντέρου παρουσιάζεται αναλυτικότερα στο διάγραμμα **3.1.1.1** που ακολουθεί, στο όποιο διαφαίνεται αύξηση του σχετικού μήκους του ιστού στις πρώτες 6 ώρες από τη λήψη της τροφής. Στατιστικά σημαντική μείωση από την ώρα μηδέν έχουμε στις 72 ώρες ασιτίας. Στην επανασίτιση την πρώτη μέρα, υπάρχει αυξητική ανταπόκριση αλλά τα αποτελέσματα και για τις 4 μέρες επανασίτισης δεν διαφέρουν στατιστικά.




**Διάγραμμα 3.1.1.1.** Σχετικό μήκος εντέρου λαβρακιού/ώρα ***.

## 3.1.2 Λαβράκι- Καρβοϋδράσες.

Μετά από αντίστοιχες δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν, δεν εντοπίστηκε δράση καρβοϋδρασών στον στόμαχο και στο περιεχόμενο αυτού.

Στον επόμενο πίνακα παρουσιάζονται οι τιμές (μέσοι όροι ± τυπικό σφάλμα) των μετρήσεων της Ενεργότητας (Ε, activity) στα πυλωρικά τυφλά και στο έντερο, καθώς και οι αντίστοιχες τιμές της Πεπτικής Ικανότητας (Π.Ι., capacity), ανά χρονική στιγμή δειγματοληψίας.

**Πίνακας 3.1.2.1.** Ενεργότητα† και πεπτική ικανότητα‡ καρβοϋδρασών εντέρου και πυλωρικών τυφλών στο λαβράκι.

| Ώρες δειγματο-ληψίας | Ενεργότητα καρβο/σων πυλωρικά τυφλά ($E_{\pi}$) | Ενεργότητα καρβο/σων Εντέρου ($E_{\varepsilon}$) | Πεπτική Ικανότητα καρβο/σων πυλωρικών ($ΠΙ_{ΠΥΛ}$) | Πεπτική Ικανότητα καρβο/σων Εντέρου ($ΠΙ_{Εντ}$) |
|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | |
| **0** | 1,504 ± 0,2371$^{abc}$ | 3,851 ± 0,8116$^{bc}$ | 0,850 ± 0,2416$^{ab}$ | 5,677 ± **1,0697**$^{abc}$ |
| **3** | 2,008 ± 0,2366$^{bc}$ | 6,871 ± 1,4659$^{d}$ | 1,878 ± 0,2966$^{cd}$ | 13,857 ± **2,4121**$^{de}$ |
| **6** | 1,645 ± 0,2463$^{abc}$ | 5,083 ± 0,8781$^{cd}$ | 1,479 ± 0,3245$^{bcd}$ | 11,303 ± **2,5936**$^{cde}$ |
| **12** | 2,074 ± 0,2612$^{c}$ | 6,499 ± 0,5794$^{d}$ | 2,173 ± 0,5084$^{d}$ | 15,350 ± **2,0131**$^{e}$ |
| **24** | 1,036 ± 0,1463$^{a}$ | 3,532 ± 0,5560$^{bc}$ | 0,447 ± 0,1245$^{a}$ | 6,067 ± **0,9057**$^{abc}$ |
| **48** | 1,261 ± 0,2003$^{a}$ | 3,739 ± 0,8145$^{bc}$ | 0,770 ± 0,1855$^{ab}$ | 6,971 ± **1,8236**$^{bc}$ |
| **72** | 1,430 ± 0,1348$^{abc}$ | 0,888 ± 0,1919$^{a}$ | 0,743 ± 0,1409$^{ab}$ | 0,860 ± **0,1939**$^{a}$ |
| **96** | 1,620 ± 0,1202$^{abc}$ | 1,793 ± 0,1692$^{ab}$ | 0,965 ± 0,1391$^{ab}$ | 2,065 ± **0,2333**$^{ab}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 1,485 ± 0,0487$^{abc}$ | 4,532 ± 0,6839$^{cd}$ | 0,842 ± 0,0567$^{ab}$ | 9,019 ± **2,1063**$^{cd}$ |
| **144** | 1,319 ± 0,2396$^{a}$ | 5,692 ± 0,7626$^{cd}$ | 0,794 ± 0,1890$^{ab}$ | 11,211 ± **1,5981**$^{cde}$ |
| **168** | 1,304 ± 0,2302$^{a}$ | 4,108 ± 0,7927$^{cd}$ | 0,516 ± 0,1329$^{a}$ | 7,229 ± **2,6431**$^{bc}$ |
| **192** | 1,355 ± 0,2461$^{a}$ | 4,845 ± 1,0757$^{cd}$ | 1,224 ± 0,4786$^{abc}$ | 7,605 ± **2,4319**$^{bc}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | * | *** | * | * |

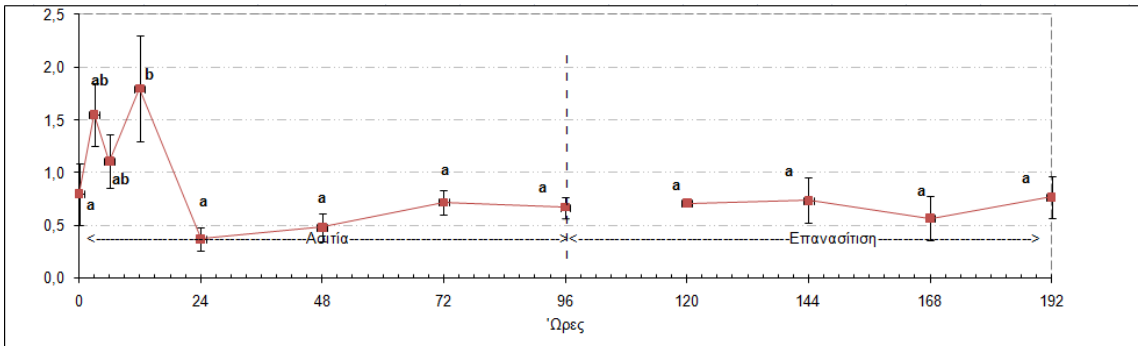
** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

† mg γλυκόζης/ g μάζας ιστού/min ‡( mg γλυκόζης που παράγεται από τον ιστό/min)

Στα διαγράμματα (12,13,14 & 15) που βρίσκονται στο παράρτημα, απεικονίζονται και γραφικά οι μεταβολές των τιμών της ενεργότητας και της πεπτικής ικανότητας ανά ιστό. Όπως προκύπτει από τον πίνακα για την ενεργότητα των καρβοϋδρασών στα πυλωρικά τυφλά του λαβρακιού, στις 0, 3, 6 και 12 ώρες ασιτίας έχουμε αυξημένες τιμές ενώ στις 24 ώρες χουμε την ελάχιστη τιμή, που διαφέρει στατιστικώς σημαντικά από τις τιμές των 3 και 6 ωρών. Κατά την επανασίτιση, οι τιμές δε διαφέρουν από αυτές στην ώρα μηδέν. Στην ενεργότητα των καρβοϋδρασών του εντέρου παρατηρείται στατιστικά σημαντική άνοδος από την ώρα μηδέν στις 3 ώρες ασιτίας και στατιστικά σημαντική πτώση στις 72 ώρες. Όσον αφόρα την Π.Ι των καρβοϋδρασών στα πυλωρικά τυφλά έχουμε άνοδο με μέγιστη τιμή στις 12 ώρες και εν συνέχεια πτώση ως τις 24 ώρες. Στη συνέχεια της ασιτίας και στην επανασίτιση, οι τιμές δε διαφοροποιούνται στατιστικά. Για την Π.Ι. των καρβοϋδρασών του εντέρου, έχουμε μιαν κορύφωση των τιμών στις 3 και 12 ώρες και εν συνεχεία πτώση στα

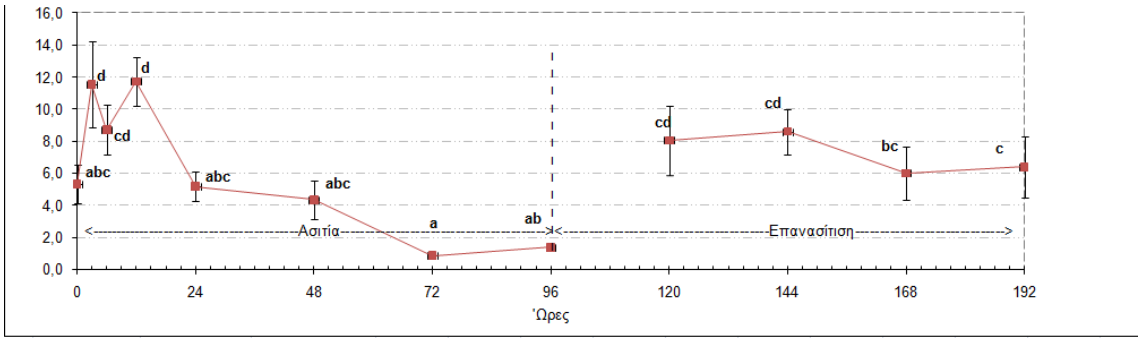
επίπεδα των μηδέν ωρών (στις 24 ώρες) και με την πρόοδο της ασιτίας παρατηρείται παραμονή σε χαμηλά επίπεδα με ελάχιστο στις 72 ώρες.

Από την σχετική Π.Ι καρβοϋδρασών των πυλωρικών στο Λαβράκι, προκύπτει μια κορύφωση μετά το γεύμα με μέγιστο στις 12 ώρες και ασυνέχεια διατήρηση της. στατιστικώς αμετάβλητη.




**Διάγραμμα 3.1.2.1** Σχετική Π.Ι καρβοϋδρασών των πυλωρικών στο Λαβράκι(**)

Από την σχετική Π.Ι καρβοϋδρασών του εντέρου στο Λαβράκι, προκύπτει μια κορύφωση μετά το γεύμα με μέγιστο στις 3 και 12 ώρες και εν συνέχεια διατήρηση της Π.Ι. στατιστικώς αμετάβλητη.




**Διάγραμμα 3.1.2.2** Σχετική Π.Ι καρβοϋδρασών του εντέρου στο Λαβράκι(***)

Εν συνεχεία, υπολογίσαμε την ολική πεπτική ικανότητα και τη σχετική ολική πεπτική ικανότητα καθώς και την ποσοστιαία συμμετοχή σε αυτήν των πυλωρικών τυφλών και του έντερου. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πινάκα 5.

**Πίνακας 3.1.2.2.** Πεπτικές ικανότητες‡ ολική ενεργότητα† καρβοϋδρασών στο λαβράκι.

| Ώρες δειγματο-ληψίας | Ολική Πεπτική ικανότητα καρβο/σων ΠΙολ | Σχετική Ολική Πεπτική ικανότητα καρβο/σων | Ολική Ενεργότητα καρβο/σων ($E_{ολ}$) | Πεπτική Ικανότητα καρβο/σων Εντέρου %της ολικής ($ΠΙ_{Εντ}$) |
|---|---|---|---|---|
| | **ΑΣΙΤΙΑ** | | | |
| **0** | 6,52 ± 1,140$^{abc}$ | 6,11 ± 1,811$^{abc}$ | 3,598 ± 0,7129$^{abc}$ | 85,9 ± 3,06$^{c}$ |
| **3** | 15,73 ± 2,609$^{d}$ | 13,08 ± 2,469$^{d}$ | 6,445 ± 1,3735$^{d}$ | 87,8 ± 2,41$^{c}$ |
| **6** | 12,61 ± 2,415$^{cd}$ | 9,82 ± 1,781$^{cd}$ | 4,722 ± 0,6396$^{cd}$ | 91,4 ± 2,59$^{c}$ |
| **12** | 17,52 ± 2,199$^{d}$ | 13,52 ± 1,5794$^{d}$ | 6,229 ± 0,5725$^{d}$ | 87,6 ± 2,01$^{c}$ |
| **24** | 6,51 ± 0,841$^{abc}$ | 5,55 ± 1,160$^{abc}$ | 3,120 ± 0,4373$^{abc}$ | 91,3 ± 0,90$^{c}$ |
| **48** | 7,74 ± 1,717$^{bc}$ | 4,81 ± 0,815$^{abc}$ | 3,356 ± 0,5855$^{abc}$ | 84,5 ± 1,82$^{c}$ |
| **72** | 1,60 ± 0,226$^{a}$ | 1,58 ± 1,123$^{a}$ | 1,236 ± 0,1609$^{a}$ | 52,2 ± 8,19$^{a}$ |
| **96** | 3,03 ± 0,299$^{ab}$ | 2,05 ± 0,242$^{ab}$ | 2,015 ± 1,1391$^{ab}$ | 67,9 ± 4,33$^{b}$ |
| | **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | |
| **120** | 9,86 ± 2,168$^{c}$ | 8,53 ± 2,168$^{cd}$ | 5,295 ± 0,6237$^{cd}$ | 87,3 ± 2,10$^{c}$ |
| **144** | 12,01 ± 1,156$^{cd}$ | 9,69 ± 1,156$^{cd}$ | 4,872 ± 0,8901$^{cd}$ | 90,7 ± 1,59$^{c}$ |
| **168** | 8,49 ± 2,727$^{bc}$ | 7,10 ± 1,727$^{bc}$ | 4,088 ± 0,1329$^{bcd}$ | 83,9 ± 2,62$^{c}$ |
| **192** | 8,41 ± 2,857$^{bc}$ | 7,84 ± 1,857$^{bc}$ | 4,285 ± 0,9186$^{bcd}$ | 85,8 ± 2,4$^{c}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | *** | *** | *** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

† mg γλυκόζης/ g μάζας ιστού/min ‡( mg γλυκόζης που παράγεται από τον ιστό/min)

Όπως παρατηρούμε για την ολική πεπτική αλλά και τη σχετική ολική πεπτική ικανότητα των καρβοϋδρασών έχουμε στατιστικά σημαντική άνοδο της τιμής της στις 3, 6 και 12 ώρες ασιτίας, ενώ στις 24 ώρες έχουμε επαναφορά στις αρχικές τιμές .Μια πτωτική τάση παρατηρείται στη συνεχεία μετά τις 48 και ως τις 96 ώρες ασιτίας. Οι τιμές της ολικής ενεργότητας στις καρβοϋδράσες στο λαβράκι κατά την ασιτία παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη άνοδο στο διάστημα από 6 έως 12 ώρες μετά το τελευταίο γεύμα. Στην επανασίτιση, η επαναφορά σε τιμές ενεργότητας και πεπτικής ικανότητας που δε διαφέρουν σημαντικά από τις τιμές στην ώρα μηδέν είναι άμεση.

Ιδιαίτερη μνεία θα πρέπει να γίνει στην μεταβολή που παρατηρείται στη συμμέτοχη της πεπτικής ικανότητας του εντέρου σε σχέση με την ολική. Μετά τις 72 ώρες ασιτίας, υπάρχει μια μειωμένη συμμετοχή του εντερικού ιστού στην πεπτική ικανότητα. Επίσης, παρατηρήθηκε άνοδος του ποσοστού της πεπτικής ικανότητας των πυλωρικών τυφλών στατιστικά σημαντική στις 72 και 96 ώρες (P<0,001) (βλ. παράρτημα διάγραμμα 41).

### 3.1.3 Λαβράκι- Πρωτεάσες.

Στις πρωτεάσες μετρήθηκε η ενεργότητα σε όλους τους πεπτικούς ιστούς και σε διαφορετικά pH. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων όλων των ενεργοτήτων και πεπτικών ικανοτήτων για τα 84 άτομα λαβρακιού του πειράματος παρουσιάζονται στους επομένους πινάκες και στα διαγράμματα. Ακόμη προσδιορίστηκε η ενεργότητα σε δείγματα άπεπτης τροφής (ολόκληρα σύμπηκτα), από τον στόμαχο όσων ιχθύων ήταν δυνατόν να βρεθεί κάτι τέτοιο, όμως σε κανένα από τα δείγματα αυτά δεν ανευρέθει δράση ένζυμων.

Στον πινάκα 3.1.3.1 παρουσιάζονται οι τιμές της ενεργότητας των πυλωρικών τυφλών και του εντέρου σε pH= 7 και pH= 10. Η ενεργότητα των πρωτεασών των πυλωρικών τυφλών σε pH =7 παρουσιάζει μια στατιστικά σημαντική άνοδο στις πρώτες 3 ώρες μετά το γεύμα. Οι αυξημένες τιμές διατηρούνται ως τις 48 ώρες , ενώ μετά από 72 ώρες υπάρχει στατιστικά σημαντική πτώση από την τιμή στις 48 ώρες ασιτίας. Εν συνεχεία, στις 96 ώρες ασιτίας έχουμε την ελάχιστη τιμή της ενεργότητας. Με την επανασίτιση έχουμε μια άμεση επαναφορά. Παρόμοια εικόνα παρουσιάζει η ενεργότητα των πυλωρικών τυφλών σε pH 10 με κύρια διαφορά τη μεγιστοποίηση στις 12 ώρες της τιμής της ενεργότητας, τη διατήρηση της σε υψηλά επίπεδα ακόμα και μετά από 96 ώρες(βλ. διάγραμμα 23 στο παράρτημα).

Στο έντερο η ενεργότητα των πρωτεασών σε pH= 7 και σε pH= 10 παρουσιάζει μια αρχικά σαφή πτωτική τάση η όποια φτάνει στο ελάχιστο στις 12 ώρες για το pH=7 και στις 24 για την ενεργότητα σε pH= 10. Εν συνεχεία, έχουμε επαναφορά της αρχικής τιμής στις 24 και 48 ώρες, αντίστοιχα. Στη συνέχεια έχουμε πτώση ως τις 96 ώρες και άμεση επαναφορά σε μη στατιστικά διαφορετικές τιμές από την πρώτη ημέρα επανασίτισης (βλέπε διάγραμμα 24 στο παράρτημα).

**Πινάκας 3.1.3.1.** Ενεργότητες πρωτεασών† στο λαβράκι.

| Ώρες δειγματο-ληψίας | Ενεργότητα Πρωτεασών πυλωρικά τυφλά pH=7 | Ενεργότητα Πρωτεασών πυλωρικά τυφλά pH=10 | Ενεργότητα Πρωτεασών έντερο pH=7 | Ενεργότητα Πρωτεασών έντερο pH=10 |
|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | |
| **0** | 0,189 ± 0,0150$^{cd}$ | 0,197 ± 0,0241$^{abc}$ | 0,153 ± 0,0036$^{ef}$ | 0,196 ± **0,0361**$^{d}$ |
| **3** | 0,239 ± 0,0064 $^{f}$ | 0,251 ± 0,0163$^{cd}$ | 0,165 ± 0,0060$^{f}$ | 0,179 ± **0,0108**$^{bcd}$ |
| **6** | 0,225 ± 0,0074 $^{ef}$ | 0,267 ± 0,0246$^{e}$ | 0,128 ± 0,0169$^{bcde}$ | 0,161 ± **0,0217** $^{bcd}$ |
| **12** | 0,207 ± 0,0074 $^{def}$ | 0,321 ± 0,0193$^{f}$ | 0,108 ± 0,0061$^{bc}$ | 0,152 ± **0,0140** $^{bcd}$ |
| **24** | 0,205 ± 0,0087$^{cde}$ | 0,207 ± 0,0198$^{abc}$ | 0,154 ± 0,0042$^{ef}$ | 0,135 ± **0,0113** $^{bcd}$ |
| **48** | 0,210 ± 0,0126 $^{def}$ | 0,247 ± 0,0198$^{cd}$ | 0,137 ± 0,0121$^{cdef}$ | 0,197 ± **0,0136**$^{d}$ |
| **72** | 0,166 ± 0,0142 $^{bc}$ | 0,192 ± 0,0156$^{abc}$ | 0,102 ± 0,0074$^{b}$ | 0,127 ± **0,0085**$^{ab}$ |
| **96** | 0,107 ± 0,0097 $^{a}$ | 0,153 ± 0,0111$^{a}$ | 0,062 ± 0,0115$^{a}$ | 0,097 ± **0,0139**$^{a}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 0,169 ± 0,0110$^{bc}$ | 0,240 ± 0,0138$^{cd}$ | 0,135 ± 0,0043$^{cdef}$ | 0,169 ± **0,0099**$^{bcd}$ |
| **144** | 0,185 ± 0,0110$^{bcd}$ | 0,210 ± 0,0146$^{abcd}$ | 0,149 ± 0,0078$^{def}$ | 0,167 ± **0,0072**$^{bcd}$ |
| **168** | 0,165 ± 0,0127$^{bc}$ | 0,167 ± 0,0179$^{ab}$ | 0,118 ± 0,0187$^{bcde}$ | 0,186 ± **0,0317**$^{cd}$ |
| **192** | 0,153 ± 0,0134$^{b}$ | 0,217 ± 0,0125$^{bcd}$ | 0,144 ± 0,0046$^{def}$ | 0,167 ± **0,0084**$^{bcd}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | *** | ** | *** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

*†mg τυροσίνης /g ιστού/min*

Στον πινάκα **3.1.3.2** παρουσιάζονται οι πεπτικές ικανότητες των πρωτεασών αρχικά στα πυλωρικά τυφλά και στο έντερο σε pH 7 και εν συνεχεία οι πεπτικές ικανότητες των πρωτεασών στα πυλωρικά τυφλά και στο έντερο σε pH 10.

**Πινάκας 3.1.3.2.** Πεπτικές Ικανότητες† πρωτεασών στο λαβράκι.

| Ώρες δειγματο-ληψίας | Πεπτική Ικανότητα Πυλωρικών pH=7 | Πεπτική Ικανότητα Εντέρου pH=7 | Πεπτική Ικανότητα Πυλωρικών pH=10 | Πεπτική Ικανότητα Εντέρου pH=10 |
|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | |
| **0** | 0,062 ± 0,007$^{abc}$ | 0,244 ± 0,026$^{cd}$ | 0,066 ± 0,011$^{ab}$ | 0,295 ± 0,0409$^{cd}$ |
| **3** | 0,115 ± 0,014$^{de}$ | 0,380 ± 0,052$^{f}$ | 0,119 ± 0,014$^{de}$ | 0,406 ± 0,0519$^{de}$ |
| **6** | 0,123 ± 0,024$^{e}$ | 0,355 ± 0,037$^{ef}$ | 0,139 ± 0,024$^{e}$ | 0,437 ± 0,0684$^{e}$ |
| **12** | 0,093 ± 0,007$^{cde}$ | 0,260 ± 0,033$^{cde}$ | 0,142 ± 0,006$^{e}$ | 0,362 ± 0,0453$^{cde}$ |
| **24** | 0,079 ± 0,009$^{bc}$ | 0,261 ± 0,026$^{cde}$ | 0,079 ± 0,010$^{abc}$ | 0,238 ± 0,0326$^{bc}$ |
| **48** | 0,093 ± 0,009$^{cde}$ | 0,248 ± 0,036$^{cde}$ | 0,112 ± 0,015$^{cde}$ | 0,345 ± 0,0363$^{cde}$ |
| **72** | 0,057 ± 0,006$^{abc}$ | 0,096 ± 0,007$^{ab}$ | 0,067 ± 0,007$^{ab}$ | 0,121 ± 0,0130$^{ab}$ |
| **96** | 0,039 ± 0,004$^{a}$ | 0,071 ± 0,015$^{a}$ | 0,055 ± 0,005$^{a}$ | 0,108 ± 0,0151$^{a}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 0,066 ± 0,008$^{abc}$ | 0,215 ± 0,021$^{cd}$ | 0,093 ± 0,010$^{abcd}$ | 0,257 ± 0,0179$^{c}$ |
| **144** | 0,086 ± 0,011$^{bcd}$ | 0,304 ± 0,038$^{def}$ | 0,097 ± 0,014$^{bcd}$ | 0,345 ± 0,0462$^{cde}$ |
| **168** | 0,056 ± 0,010$^{ab}$ | 0,173 ± 0,038$^{bc}$ | 0,056 ± 0,010$^{a}$ | 0,253 ± 0,0410$^{c}$ |
| **192** | 0,077 ± 0,012$^{bc}$ | 0,271 ± 0,046$^{cde}$ | 0,106 ± 0,014$^{cde}$ | 0,308 ± 0,0536$^{cde}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | *** | *** | *** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

*†mg τυροσίνης /min*

Συμφώνα με τα αποτελέσματα του πινάκα **3.1.3.2** και όσον αφορά στην πεπτική ικανότητα των πυλωρικών τυφλών στο pH 7, βλέπουμε αρχικώς στις 3 και στις 6 ώρες μια στατιστικώς σημαντική άνοδο, ενώ οι υπόλοιπες τιμές δεν διαφέρουν στατιστικά από αυτές στην ώρα μηδέν. Στο έντερο και για pH 7, έχουμε στατιστικώς σημαντική άνοδο στις 3-6 ώρες ασιτίας και στατιστικά σημαντική πτώση στις 72 και 96 ώρες ασιτίας. Στην επανασίτιση δεν έχουμε στατιστικά σημαντικές διάφορες από τις τιμές στην ώρα μηδέν. Στα πυλωρικά τυφλά σε pH 10 έχουμε στατιστικώς σημαντική άνοδο στις 3,6 , 12 και 48 ώρες ασιτίας. Οι υπόλοιπες μετρήσεις δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά από αυτές στην ώρα μηδέν. Στην επανασίτιση έχουμε επαναφορά των τιμών στα επίπεδα των μηδέν ωρών και μονό την 4$^{η}$ μέρα αυξημένες τιμές. Στο έντερο και για pH 10, έχουμε στατιστικώς σημαντική άνοδο στις 6 ώρες ασιτίας και στατιστικά

σημαντική πτώση στις 72 και 96 ώρες ασιτίας. Στην επανασίτιση δεν έχουμε στατιστικά σημαντικές διάφορες από τις τιμές στην ώρα μηδέν.

Στο πινάκα **3.1.3.3** παρουσιάζονται η τιμή της ενεργότητας των πρωτεασών στον στόμαχο, η σχετική πεπτική ικανότητα (Π.Ι) του στομάχου, η σχετική πεπτική ικανότητα των πυλωρικών τυφλών (σε pH7+σε pH10) καθώς και σχετική πεπτική ικανότητα του εντέρου σε (σε pH7+σε pH10).

**Πινάκας 3.1.3.3.** Ενεργότητα στομάχου† – Σχετικές Πεπτικές Ικανότητες πρωτεασών στο λαβράκι.

| Ώρες δειγματο-ληψίας | Ενεργότητα Πρωτεασών Στόμαχος pH=1,5 | Σχ. Πεπτική Ικανότητα Πρωτεασών Στόμαχος pH=1,5 | Σχ. Πεπτική Ικανότητα Πρωτεασών Πυλωρικά τυφλά pH=7+10 | Σχ. Πεπτική Ικανότητα Πρωτεασών Εντέρου pH=7+10 |
|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | |
| **0** | 0,358 ± 0,0512$^{ab}$ | 0,332 ± 0,0367 | 0,118 ± 0,0247$^{b}$ | 0,460 ± **0,0420**$^{bc}$ |
| **3** | 0,421 ± 0,0381$^{abcd}$ | 0,509 ± 0,0671 | 0,175 ± 0,0105$^{cd}$ | 0,581 ± **0,0230**$^{cd}$ |
| **6** | 0,472 ± 0,0682$^{abcd}$ | 0,531 ± 0,0524 | 0,181 ± 0,0137$^{d}$ | 0,603 ± **0,0630**$^{d}$ |
| **12** | 0,329 ± 0,0609$^{a}$ | 0,361 ± 0,0354 | 0,182 ± 0,0147$^{d}$ | 0,469 ± **0,0370**$^{b}$ |
| **24** | 0,383 ± 0,0538$^{abc}$ | 0,481 ± 0,0667 | 0,128 ± 0,0075$^{b}$ | 0,422 ± **0,0420**$^{b}$ |
| **48** | 0,426 ± 0,0707$^{abcd}$ | 0,400 ± 0,0770 | 0,127 ± 0,0130$^{b}$ | 0,368 ± **0,0370**$^{b}$ |
| **72** | 0,518 ± 0,0493$^{bcd}$ | 0,489 ± 0,0453 | 0,122 ± 0,0130$^{b}$ | 0,214 ± **0,0200**$^{a}$ |
| **96** | 0,580 ± 0,0433$^{d}$ | 0,474 ± 0,0861 | 0,064 ± 0,0047$^{a}$ | 0,122 ± **0,0151**$^{a}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 0,462 ± 0,0468$^{abcd}$ | 0,327 ± 0,0268 | 0,135 ± 0,0127$^{bc}$ | 0,406 ± **0,0194**$^{b}$ |
| **144** | 0,517 ± 0,0345$^{bcd}$ | 0,373 ± 0,0447 | 0,139 ± 0,0125$^{bcd}$ | 0,488 ± **0,0306**$^{bcd}$ |
| **168** | 0,542 ± 0,0457$^{cd}$ | 0,533 ± 0,0982 | 0,102 ± 0,0150$^{ab}$ | 0,400 ± **0,0688**$^{b}$ |
| **192** | 0,442 ± 0,0585$^{abcd}$ | 0,461 ± 0,0389 | 0,143 ± 0,0138$^{bcd}$ | 0,436 ± **0,0435**$^{b}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | * | **ΜΣ** | *** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

*†mg τυροσίνης /g ιστού/min*

Όπως παρατηρούμε στον πίνακα, δεν έχουμε στατιστικά σημαντική μεταβολή της Π.Ι. στομάχου αλλά έχουμε μεταβολή της ενεργότητας της πεψίνης και μάλιστα

αύξηση της κατά την ασιτία με μέγιστη τιμή στις 96 ώρες. Η διαχρονική εξέλιξη μπορεί να γίνει πιο κατανοητή από το διάγραμμα 42 στο παράρτημα. Ακόμη, η σχετική Π.Ι του ιστού των πυλωρικών τυφλών (προκύπτει από το άθροισμα της πεπτικής ικανότητας των πυλωρικών τυφλών σε pH7 με αυτήν σε pH10), παρουσιάζει μια στατιστικά σημαντική κορύφωση των τιμών της στις 3 με 12 ώρες μετά από τη λήψη της τροφής. Στην συνέχεια έχουμε μια σταθεροποίηση στα επίπεδα της ώρας μηδέν και μόνο μετά από 96 ώρες έχουμε στατιστικά σημαντική πτώση της τιμής. Την ίδια εικόνα παρουσιάζει και η Π.Ι του ιστού του εντέρου (προκύπτει ως άθροισμα αυτής σε pH 7 και σε pH 10) με τη διαφορά ότι η αύξηση γίνεται στατιστικώς σημαντική στις 6 ώρες. Ακόμη, η πτώση των τιμών είναι πιο σύντομη με στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση από τις 72 ώρες.

Στον πίνακα 3.1.3.4 παρουσιάζονται οι τιμές της ολικής ενεργότητας των πρωτεασών, της ολικής Π.Ι., της σχετικής ολικής Π.Ι. και της σχετικής Π.Ι της τρυψίνης και χυμοθρυψίνης.

**Πινάκας 3.1.3.4.** Ενεργότητες – Σχετικές Πεπτικές Ικανότητες πρωτεασών στο λαβράκι.

| Ώρες δειγματο-ληψίας | ΟΛΙΚΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΠΡΩΤΕΑΣΩΝ | Ολική Πεπτική Ικανότητα ΠΡΩΤΕΑΣΩΝ | Σχ. Ολική Πεπτική Ικανότητα ΠΡΩΤΕΑΣΩΝ | Σχ. Πεπτική Ικανότητα Εντέρου & Πυλωρικών pH=7 |
|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | |
| **0** | 0,3537 ± 0,0216 | 1,077 ± 0,0361$^{abc}$ | 0,910 ± 0,0361$^{b}$ | 0,2634 ± **0,0230**$^{cd}$ |
| **3** | 0,3882 ± 0,0141 | 1,688 ± 0,0697$^{de}$ | 1,265 ± 0,0697$^{c}$ | 0,3658 ± **0,0188**$^{f}$ |
| **6** | 0,3658 ± 0,0249 | 1,924 ± 0,0322$^{e}$ | 1,309 ± 0,0322$^{c}$ | 0,3378 ± **0,0212**$^{ef}$ |
| **12** | 0,3112 ± 0,0249 | 1,348 ± 0,0601$^{bcde}$ | 1,012 ± 0,0601$^{b}$ | 0,2684 ± **0,0249**$^{cd}$ |
| **24** | 0,3246 ± 0,0262 | 1,246 ± 0,1164$^{bcd}$ | 1,011 ± 0,1164$^{b}$ | 0,2794 ± **0,0310**$^{cde}$ |
| **48** | 0,3850 ± 0,0315 | 1,476 ± 0,0901$^{abc}$ | 0,895 ± 0,0901$^{b}$ | 0,2110 ± **0,0208**$^{bc}$ |
| **72** | 0,3694 ± 0,0249 | 0,837 ± 0,0908$^{a}$ | 0,825 ± 0,0908$^{ab}$ | 0,1511 ± **0,0101**$^{b}$ |
| **96** | 0,3589 ± 00,220 | 0,985 ± 0,0423$^{ab}$ | 0,661 ± 0,0423$^{a}$ | 0,0738 ± **0,0080**$^{a}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 0,3474 ± 0, 0188 | 0,940 ± 0,0543$^{ab}$ | 0,811 ± 0,0543$^{ab}$ | 0,2435 ± **0,0147**$^{cd}$ |
| **144** | 0,3832 ± 0, 0086 | 1,209 ± 0,0347$^{bcd}$ | 1,001 ± 0,0347$^{b}$ | 0,2953 ± **0,0202**$^{de}$ |
| **168** | 0,3819 ± 0, 0329 | 1,142 ± 0,1363$^{abc}$ | 1,033 ± 0,1363$^{b}$ | 0,2093 ± **0,0345**$^{bc}$ |
| **192** | 0,3667 ± 0, 0226 | 1,357 ± 0,0645$^{ab}$ | 1,039 ± 0,0645$^{b}$ | 0,2632 ± **0,0263**$^{cd}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | **ΜΣ** | *** | *** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

*†mg τυροσίνης /g ιστού/min*

Στα αποτελέσματα του πίνακα **3.1.3.4**, βλέπουμε ότι για την ολική ενεργότητα των πρωτεασών στο λαβράκι δεν έχουμε στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Αντίθετα η ολική πεπτική ικανότητα των πρωτεασών έχει στατιστικώς σημαντικά υψηλότερές τιμές από αυτήν στην ώρα μηδέν, στις 3 και 6 ώρες ασιτίας και στατιστικά σημαντική πτώση τιμών από τις μέγιστες στις 72 και 96 ώρες. Παρόμοια εικόνα παρουσιάζει και η σχετική ολική Π.Ι δηλαδή άνοδος στις 3-6 ώρες ασιτίας και στατιστικά σημαντική πτώση στις 96 ώρες ασιτίας. Τέλος παρόμοια εικόνα έχουμε και στην σχ. Π.Ι. σε pH 7, έτσι άνοδο έχουμε στις 3 και 6 ώρες ασιτίας και πτώση στις 72 και 96 ώρες ασιτίας.

Στον Πίνακα **3.1.3.5.** παρουσιάζονται κατά σειρά: η σχετική Π.Ι πρωτεασών των πυλωρικών για pH 7, σχετική Π.Ι πρωτεασών εντέρου για pH 7,η σχετική Π.Ι πρωτεασών των πυλωρικών για pH 10 και η σχετική Π.Ι πρωτεασών εντέρου για pH 10.

**Πινάκας 3.1.3.5.** Σχετικές Πεπτικές Ικανότητες† πρωτεασών στο λαβράκι.

| Ώρες δειγματο-ληψίας | Σχ. Πεπτική Ικανότητα Πυλωρικών pH=7 | Σχ. Πεπτική Ικανότητα Εντέρου pH=7 | Σχ. Πεπτική Ικανότητα Πυλωρικών pH=10 | Σχ. Πεπτική Ικανότητα Εντέρου pH=10 |
|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | |
| **0** | 0,057 ± 0,0108$^{b}$ | 0,207 ± 0,0180$^{bcde}$ | 0,061 ± 0,0141$^{bc}$ | 0,254 ± 0,0371$^{cde}$ |
| **3** | 0,086 ± 0,0058$^{c}$ | 0,280 ± 0,0173$^{e}$ | 0,089 ± 0,0063$^{def}$ | 0,301 ± 0,0151$^{de}$ |
| **6** | 0,084 ± 0,0073$^{cd}$ | 0,250 ± 0,0228$^{de}$ | 0,097 ± 0,0092$^{ef}$ | 0,316 ± 0,0531$^{e}$ |
| **12** | 0,072 ± 0,0067$^{bcd}$ | 0,196 ± 0,0203$^{bcde}$ | 0,110 ± 0,0090$^{f}$ | 0,272 ± 0,0263$^{cde}$ |
| **24** | 0,065 ± 0,0056$^{bc}$ | 0,216 ± 0,0256$^{cde}$ | 0,063 ± 0,0042$^{bc}$ | 0,194 ± 0,0214$^{bc}$ |
| **48** | 0,059 ± 0,0076$^{b}$ | 0,152 ± 0,0184$^{b}$ | 0,068 ± 0,0067$^{bcd}$ | 0,216 ± 0,0216$^{cd}$ |
| **72** | 0,057 ± 0,0065$^{b}$ | 0,094 ± 0,0077$^{a}$ | 0,066 ± 0,0069$^{bcd}$ | 0,120 ± 0,0138$^{ab}$ |
| **96** | 0,026 ± 0,0015$^{a}$ | 0,048 ± 0,0088$^{a}$ | 0,038 ± 0,0040$^{a}$ | 0,075 ± 0,0106$^{a}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 0,056 ± 0,0055$^{b}$ | 0,184 ± 0,0123$^{bcd}$ | 0,086 ± 0,0037$^{cde}$ | 0,217 ± 0,0115$^{cd}$ |
| **144** | 0,065 ± 0,0054$^{bc}$ | 0,230 ± 0,0192$^{cde}$ | 0,074 ± 0,0080$^{bcd}$ | 0,257 ± 0,0158$^{cde}$ |
| **168** | 0,050 ± 0,0065$^{b}$ | 0,159 ± 0,0301$^{bc}$ | 0,052 ± 0,0088$^{ab}$ | 0,241 ± 0,0426c$^{de}$ |
| **192** | 0,059 ± 0,0072$^{b}$ | 0,204 ± 0,0226$^{bcde}$ | 0,083 ± 0,0071$^{cde}$ | 0,232 ± 0,0228$^{cde}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | *** | *** | *** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

*†mg τυροσίνης /min*

Στα αποτελέσματα του πίνακα **3.1.3.5,** η σχετική Π.Ι πρωτεασών των πυλωρικών τυφλών για pH 7 παρουσιάζει στατιστικά σημαντική αύξηση στις 3 και 6 ώρες ασιτίας, μη διαφορετικές στατιστικά τιμές ως και τις 72 ώρες και στατιστικά σημαντικώς χαμηλότερη τιμή στις 96 ώρες. Όσον αφορά στην σχ. Π.Ι πρωτεασών του εντέρου σε pH 7, φαίνεται να έχουμε μια πτώση από τις αρχικά αυξημένες τιμές των πρώτων μετρήσεων, η οποία γίνεται στατιστικώς σημαντική στις 72 και 96 ώρες. Όσον

αφορά στη σχετική Π.Ι πρωτεασών των πυλωρικών τυφλών για pH 10, έχουμε άνοδο ως τις 12 ώρες (στατιστικά σημαντική) και εν συνεχεία στατιστικά σημαντική πτώση με ελάχιστο τις 96 ώρες ασιτίας. Όσον αφορά στην σχ. Π.Ι πρωτεασών του εντέρου σε pH 10, οι αρχικά αυξημένες τιμές (μέγιστο στις 6 ώρες) παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική πτώση στις 72 και 96 ώρες. Στην επανασίτιση έχουμε επαναφορά για όλα τα δεδομένα σε μη στατιστικά σημαντικώς διαφορετικές τιμές από αυτές της ώρας μηδέν.

Στον Πίνακα **3.1.3.6.** παρουσιάζονται κατά σειρά το ποσοστό της πεπτικής ικανότητας των πρωτεασών του στομάχου, των πυλωρικών τυφλών (σε pH 7 και pH 10), του εντέρου (σε pH 7 και pH 10), της τρυψίνης, της χυμοθρυψίνης (pH=7 ) του εντέρου και των πυλωρικών τυφλών, σε σχέση με την ολική πεπτική ικανότητα και τη μεταβολή των ποσοστών αυτών στο χρόνο.

**Πινάκας 3.1.3.6.** Πεπτικές ικανότητες πρωτεασών ως ποσοστά της ολικής Π.Ι στο λαβράκι.

| **Ώρες δειγματο-ληψίας** | **Πεπτική Ικανότητα πρωτεασών στομάχου % της ολικής** | **Πεπτική Ικανότητα πρωτεασών πυλωρικών σε pH=7 +10 % της ολικής** | **Πεπτική Ικανότητα πρωτεασών Εντέρου σε pH=7 +10 % της ολικής** | **Πεπτική Ικανότητα πρωτεασών Εντέρου & ΠΥΛ σε pH=7 % της ολικής** |
|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | |
| **0** | 36,8 ± 4,31$^{ab}$ | 12,8 ± 2,53$^{ab}$ | 50,5 ± 3,838$^{c}$ | 29,07 ± **2,650**$^{c}$ |
| **3** | 39,3 ± 3,21$^{ab}$ | 14,3 ± 1,54$^{bc}$ | 46,34 ± 1,296$^{bc}$ | 29,47 ± **2,411**$^{c}$ |
| **6** | 39,5 ± 4,49$^{ab}$ | 14,4 ± 0,73$^{bc}$ | 46,03 ± 4,603$^{bc}$ | 25,76 ± **1,244**$^{c}$ |
| **12** | 35,1 ± 4,29$^{a}$ | 18,5 ± 2,11$^{c}$ | 46,37 ± 2,508$^{bc}$ | 26,71 ± **2,249**$^{c}$ |
| **24** | 44,5 ± 4,01$^{bc}$ | 13,0 ± 1,07$^{abc}$ | 42,50 ± 3,124$^{bc}$ | 28,37 ± **3,266**$^{c}$ |
| **48** | 44,1 ± 4,71$^{bc}$ | 14,4 ± 1,32$^{bc}$ | 41,46 ± 3,184$^{bc}$ | 23,73 ± **1,988**$^{bc}$ |
| **72** | 58,4 ± 2,13$^{de}$ | 15,4 ± 1,94$^{bc}$ | 26,26 ± 0,940$^{a}$ | 18,85 ± **1,074**$^{b}$ |
| **96** | 71,9 ± 1,97$^{e}$ | 9,8 ± 0,75$^{a}$ | 18,34 ± 1,139$^{a}$ | 11,10 ± **1,019**$^{a}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 30,9 ± 3,28$^{a}$ | 18,2 ± 1,08$^{c}$ | 50,84 ± 2,056$^{c}$ | 30,22 ± **1,169**$^{c}$ |
| **144** | 36,2 ± 5,49$^{ab}$ | 14,6 ± 1,64$^{bc}$ | 49,79 ± 4,189$^{c}$ | 30,32 ± **3,041**$^{c}$ |
| **168** | 53,4 ± 3,24$^{cd}$ | 9,8 ± 1,32$^{a}$ | 36,98 ± 3,132$^{b}$ | 19,06 ± **2,043**$^{b}$ |
| **192** | 44,3 ± 3,71$^{b}$ | 13,8 ± 1,22$^{bc}$ | 41,13 ± 3,478$^{bc}$ | 25,15 ± **1,559**$^{c}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | *** | *** | *** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

Όπως παρατηρούμε από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα, η ασιτία επιδρά στα ποσοστά της πεπτικής ικανότητας που έχει κάθε ιστός και κάθε ομάδα ενζύμων. Έτσι, με την πρόοδο της ασιτίας έχουμε αύξηση του ποσοστού της Π.Ι. που οφείλεται στην πεψίνη αλλά μείωση του ποσοστού της Π.Ι των υπολοίπων ενζύμων στο έντερο και τα πυλωρικά τυφλά. Παρόλα αυτά, η μείωση στα πυλωρικά τυφλά απαιτεί 96 ώρες για να εμφανιστεί σε σχέση με αυτήν στο έντερο που απαιτεί 72 ώρες. Επιπρόσθετα, παρατηρείται μείωση στο ποσοστό της Π.Ι. της τρυψίνης και της χυμοθρυψίνης. Η ποιοτική μεταβολή της διάρθρωσης της πεπτικής ικανότητας των πρωτεασών φαίνεται στο διάγραμμα 30 του παραρτήματος.

## 3.2 Τσιπούρα- Αποτελέσματα

### 3.2.1 Τσιπούρα-Σωματομετρικά.

Στον πίνακα **3.2.1.1**, παρουσιάζονται ζων βάρος ολικό μήκος CF, ηπατοσωματικού και σπληνοσωματικός δείκτης.

**Πίνακας 3.2.1.1.** Μεταβολές των μορφολογικών χαρακτηριστικών της τσιπούρας.

| Ώρες δειγματοληψίας | Ζ.Β (Μ.Τ±Τ.Σ) | ΟΛΙΚΟ ΜΗΚΟΣ (Μ.Τ±Τ.Σ) | ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΕΥΡΩΣΤΙΑΣ (CF) | ΗΠΑΤΟ-ΣΩΜΑΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ (LI) | ΣΠΛΗΝΟ-ΣΩΜΑΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ (SI) |
|---|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | | |
| **0** | 183,50±19,781 | 22,3±0,71 | 1,62±0,036$^{b}$ | 1,25±0,143$^{ef}$ | 0,045±0,0035$^{abc}$ |
| **3** | 161,29±12,643 | 21,8±0,56 | 1,55±0,055$^{ab}$ | 1,01±0,128$^{cd}$ | 0,040±0,0031$^{ab}$ |
| **6** | 156,31±20,833 | 21,1±0,72 | 1,61±0,055$^{b}$ | 1,08±0,109$^{de}$ | 0,036±0,0029$^{a}$ |
| **12** | 163,01±8,724 | 22,4±0,48 | 1,51±0,054$^{ab}$ | 1,46±0,078f | 0,048±0,0034$^{bc}$ |
| **24** | 186,99±14,108 | 23,4±0,50 | 1,41±0,033$^{a}$ | 1,34±0,135f | 0,053±0,0069$^{bcd}$ |
| **48** | 144,46±20,069 | 21,4±0,81 | 1,42±0,043$^{a}$ | 0,95±0,092$^{bcd}$ | 0,052±0,0059$^{bcd}$ |
| **72** | 156,17±20,015 | 21,6±0,69 | 1,50±0,042$^{ab}$ | 0,84±0,043$^{bc}$ | 0,066±0,0042$^{d}$ |
| **96** | 163,50±14,559 | 22,5±0,55 | 1,41±0,038$^{a}$ | 0,71±0,159$^{a}$ | 0,065±0,0054$^{d}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | | |
| **120** | 158,70±11,257 | 22,1±0,49 | 1,45±0,017$^{a}$ | 0,84±0,088$^{b}$ | 0,052±0,0021$^{abc}$ |
| **144** | 164,36±13,201 | 22,1±0,55 | 1,49±0,041$^{ab}$ | 0,94±0,104$^{bcd}$ | 0,055±0,0060$^{abc}$ |
| **168** | 152,03±17,045 | 21,7±0,73 | 1,46±0,041$^{a}$ | 1,04±0,144$^{cd}$ | 0,058±0,0056$^{c}$ |
| **192** | 177,08±15,178 | 22,9 ±0,45 | 1,45±0,056$^{a}$ | 1,01±0,101$^{d}$ | 0,054±0,0042$^{abc}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | **ΜΣ** | **ΜΣ** | * | *** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

Από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι δεν υπάρχουν σημαντικές επιδράσεις (P<0,05) από την ώρα της δειγματοληψίας κατά την εφαρμογή των 4 ημερών ασιτίας και κατά την επανασίτιση, στο βάρος και στο μήκος των ιχθύων. Αντίθετα, στον σπλήνα, στον συντελεστή ευρωστίας και στον ηπατοσωματικό δείκτη υπάρχουν στατιστικά σημαντικές επιδράσεις. Σύμφωνα λοιπόν με αυτά τα δεδομένα, οι τσιπούρες στην έναρξη του πειράματος και έπειτα από 6 ώρες είχαν στατιστικώς

σημαντικά υψηλότερες τιμές απο τους ιχθύς μετά από 1, 2, & 4 μέρες ασιτίας. Η διαφορά αυτή δεν αποκαταστάθηκε μετά από 4 μέρες επανασίτιση.

Στο Διάγραμμα 7 του παραρτήματος παρουσιάζονται σχηματικά οι μεταβολές του ηπατοσωματικού δείκτη. Στην ασιτία ο δείκτης αρχικά παρουσιάζει μια πτώση στατιστικώς σημαντική στις 3 ώρες και εν συνεχεία λαμβάνει τη μέγιστη τιμή του στις 24 ώρες. Έπειτα βαίνει μειούμενος ως τις 96 ώρες. Στην επανασίτιση υπάρχει σαφής ανοδική τάση από την $1^{η}$ ως και την $4^{η}$ ημέρα επανασίτισης, οι οποίες διαφέρουν σημαντικά. Όσον αφορά στον συντελεστή ευρωστίας παρατηρούμε ότι η τιμη στις μηδεν ώρες ασιτίας είναι στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη από τις τιμές στις 24, 48, 96, 120, 168 και 192 ώρες. Τέλος στον σπληνοσωματικό δείκτη τις υψηλότερες τιμές έχουμε μετά από 72 και 96 ώρες ασιτίας, και την χαμηλότερη στις 6 ώρες ασιτίας.

Στον Πίνακα **3.2.1.2.**, παρουσιάζονται χρονικά οι μεταβολές που επισυμβαίνουν στον πεπτικό ιστό σε σχέση με την ασιτία και την επανασίτιση. Συγκεκριμένα, παρουσιάζονται τα σχετικά βάρη των πυλωρικών τυφλών, του στομάχου, του εντέρου, το σχετικό βάρος του πεπτικού ιστού (Βάρος πεπτικού σωλήνα αφαιρούμενης της τροφής) και το σχετικό βάρος του πεπτικού συστήματος (πεπτικός σωλήνας).

**Πίνακας 3.2.1.2.** Μεταβολές τμημάτων των ιστών του πεπτικού σωλήνα της τσιπούρας.

| Ώρες δειγματοληψίας | Σχετ. Βάρος πεπτικού Ιστού | Σχετ. Βάρος πεπτικού σωλήνα (ΠΣ) | Σχετ. Βάρος Στομάχου (ΣΒΣΤΠ) | Σχετ. Βάρος Πυλωρικών (ΣΒΠΥΛ) | Σχετ. Βάρος Εντέρου (ΣΒΕΝΤ) |
|---|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | | |
| **0** | 3,47±0,181$^{de}$ | 5,19±0,586 $^{d}$ | 3,53±0,720 $^{abc}$ | 0,47±0,055$^{b}$ | 2,45±0,236 $^{cd}$ |
| **3** | 3,45±0,127$^{de}$ | 5,77±0,515$^{de}$ | 3,20±0,731$^{bc}$ | 0,42±0,032 $^{ab}$ | 2,45±0,069 $^{cd}$ |
| **6** | 3,91±0,165$^{e}$ | 6,27±0,403$^{e}$ | 4,42±1,102$^{d}$ | 0,60±0,068$^{c}$ | 2,76±0,123 $^{d}$ |
| **12** | 3,53±0,218$^{de}$ | 4,98±0,462$^{cd}$ | 4,54±1,116$^{d}$ | 0,50±0,028$^{bc}$ | 2,10±0,082 $^{abc}$ |
| **24** | 3,43±0,245$^{de}$ | 4,02±0,436$^{bc}$ | 2,00±0,997$^{c}$ | 0,50±0,033$^{bc}$ | 2,25±0,215 $^{bcd}$ |
| **48** | 2,91±0,088$^{abcd}$ | 3,22±0,096$^{ab}$ | 1,64±0,734$^{bc}$ | 0,42±0,010$^{ab}$ | 1,91±0,080 $^{abc}$ |
| **72** | 2,62±0,213$^{ab}$ | 2,83±0,235$^{a}$ | 0,92±0,814$^{abc}$ | 0,46±0,035$^{b}$ | 1,77±0,201 $^{ab}$ |
| **96** | 2,52±0,146$^{a}$ | 2,72±0,165$^{a}$ | 0,82±0,687$^{bc}$ | 0,32±0,025$^{a}$ | 1,66±0,134 $^{a}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | | |
| **120** | 3,22±0,146$^{bcd}$ | 3,39±0,264$^{ab}$ | 1,80±1,397$^{a}$ | 0,43±0,021$^{ab}$ | 2,09±0, 109 $^{abc}$ |
| **144** | 3,03±0,293$^{abcd}$ | 3,48±0,423$^{ab}$ | 0,88±0,427$^{bc}$ | 0,40±0,017 $^{ab}$ | 2,03±0,246 $^{abc}$ |
| **168** | 3,35±0,280$^{cde}$ | 3,56±0,295$^{ab}$ | 1,45±0,753$^{abc}$ | 0,40±0,027 $^{ab}$ | 2,28±0,255 $^{bcd}$ |
| **192** | 2,77±0,054$^{abc}$ | 3,09±0,127$^{ab}$ | 2,10±0,846$^{abc}$ | 0,41±0,025 $^{ab}$ | 1,90±0,129 $^{abc}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | * | *** | * | ** | * |

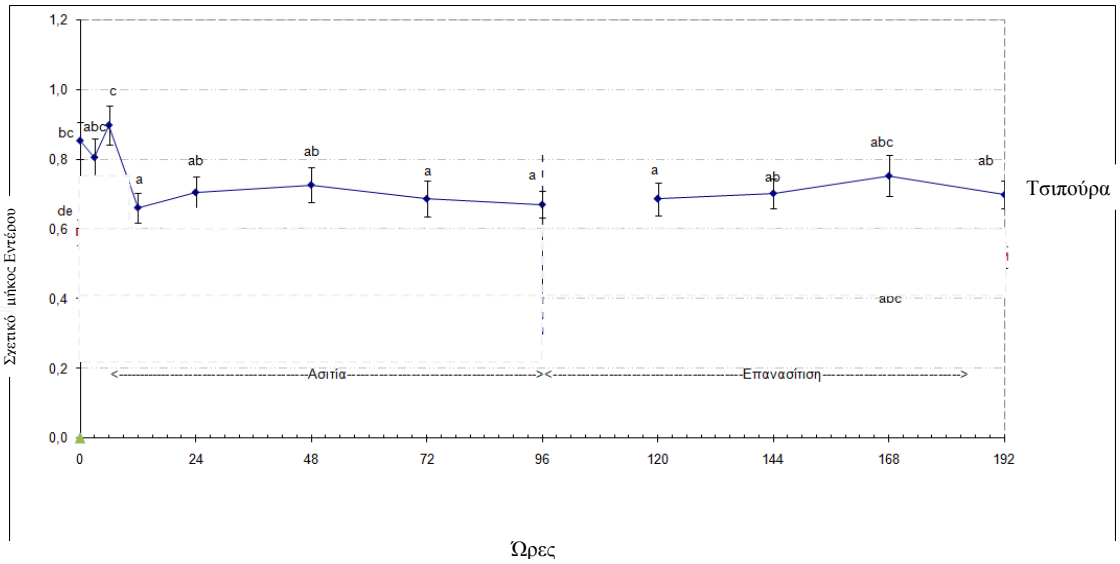
** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

Από τις μεταβολές του σχετικού βάρους του πεπτικού ιστού προκύπτει ότι την πρώτη μέρα της ασιτίας οι τιμές παραμένουν σταθερά σε υψηλά επίπεδα (Διάγραμμα 9 του παραρτήματος) ενώ η πτωτική τάση που ακολουθεί γίνεται στατιστικώς σημαντική μετά τις 48 ώρες. Με την επανασίτιση δεν έχουμε στατιστικά σημαντικές διάφορες των τιμών από τα προ της ασιτίας επίπεδα. Στο Διάγραμμα 8 που βρίσκεται στο παράρτημα παρουσιάζεται η μεταβολή του ποσοστού του βάρους του πεπτικού ιστού (από τον στόμαχο ως έδρα χωρίς την τροφή) σε σχέση με το συνολικό βάρος.

Από την μελέτη των ανωτέρω δεδομένων προκύπτει ότι ο πεπτικός ιστός μετά από 72 ώρες ασιτίας μειώνεται σημαντικά. Η επαναφορά του πεπτικού ιστού στα ποσοστά προ της ασιτίας επισυμβαίνει σε πρώτη ημέρα επανασίτισης με στατιστικώς σημαντική διαφορά από τη χαμηλότερη τιμή που παρατηρήθηκε στις 96 ώρες ασιτίας.

Όσον αφόρα τη διαχρονική εξέλιξη του βάρους του εντέρου κατά την ασιτία και την επανασίτιση, αυτή παρουσιάζεται αναλυτικότερα στο διάγραμμα 10 του παραρτήματος, στο όποιο διαφαίνονται και οι αντίστοιχες τιμές σε κάθε δειγματοληψία και για το λαβράκι με σκοπό τη σύγκριση.

Η διαχρονική μεταβολή του σχετικού μήκους του εντέρου παρουσιάζεται αναλυτικότερα στο διάγραμμα 11 που ακολουθεί και στο όποιο διαφαίνεται μια μικρή αύξηση του μήκους του ιστού του εντέρου να πραγματοποιείται ήδη στις πρώτες 6 ώρες από τη λήψη της τροφής, ενώ το μήκος αρχίζει να μειώνεται στατιστικώς σημαντικά στις 12 ώρες ασιτίας. Στην επανασίτιση δεν υπάρχουν σημαντικές διάφορες από τα επίπεδα της ασιτίας.




**Διάγραμμα 3.2.1.1.** Σχετικό μήκος εντέρου/ ώρα (τσιπούρα).

### 3.2.2 Τσιπούρα- Καρβοϋδράσες.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ενεργότητα των ολικών καρβοϋδρασών στα πυλωρικά τυφλά και στο έντερο. Μετά από αντίστοιχες δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν, δεν εντοπίστηκε δράση καρβοϋδρασών στο στόμαχο και στο περιεχόμενο αυτού.

Στον επόμενο πίνακα παρουσιάζονται οι τιμές (μεσοί όροι ± τυπικό σφάλμα) των μετρήσεων της Ενεργότητας (Ε) activity στα πυλωρικά τυφλά και στο έντερο, καθώς και οι αντίστοιχες τιμές της Πεπτικής Ικανότητας (Π.Ι) (capacity), ανά χρονική στιγμή δειγματοληψίας.

**Πίνακας 3.2.2. 1** Πεπτικά ενζυμα- Ενεργότητες και Πεπτικές ικανότητες καρβοϋδρασών στην τσιπούρα.

| Ώρες δειγματο-ληψίας | Ενεργότητα καρβο/σων πυλωρικά τυφλά ($E_{\pi}$) | Ενεργότητα καρβο/σων Εντέρου ($E_{\varepsilon}$) | Πεπτική Ικανότητα καρβο/σων πυλωρικών τυφλών ($ΠΙ_{ΠΥΛ}$) | Πεπτική Ικανότητα καρβο/σων Εντέρου ($ΠΙ_{Εντ}$) |
|---|---|---|---|---|
| | **ΑΣΙΤΙΑ** | | | |
| **0** | 9,28 ± 1,237 | 16,45 ± 3,355 $^{d}$ | 8,08 ± 3,242 | 71,25 ± 14,407$^{e}$ |
| **3** | 6,53 ± 0,518 | 14,46 ± 1,296$^{bcd}$ | 4,31 ± 2,296 | 56,57 ± 5,666$^{cde}$ |
| **6** | 8,22 ± 0,758 | 15,45 ± 1,498 $^{d}$ | 7,78 ± 2,603 | 65,41 ± 9,493$^{de}$ |
| **12** | 8,61 ± 2,358 | 14,56 ± 2,531 $^{cd}$ | 7,19 ± 1,508 | 49,20 ± 8,570$^{bcd}$ |
| **24** | 8,82 ± 2,346 | 11,44 ± 1,556$^{abcd}$ | 7,66 ± 2,124 | 50,27 ± 13,506$^{bcd}$ |
| **48** | 12,07 ± 1,945 | 7,97 ± 1,595$^{abc}$ | 6,77 ± 2,184 | 19,46 ± 2,797$^{a}$ |
| **72** | 6,53 ± 0,848 | 5,20 ± 0,629 $^{a}$ | 4,74 ± 3,140 | 13,52 ± 1,743$^{a}$ |
| **96** | 9,34 ± 1,951 | 5,33 ± 0, 962 $^{a}$ | 4,96 ± 2,139 | 13,12 ± 1,724$^{a}$ |
| | **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | |
| **120** | 7,52 ± 0,829 | 11,84 ± 1,601$^{abcd}$ | 5,84 ± 1,056 | 39,94 ± 6,954$^{ab}$ |
| **144** | 10,02 ± 1,243 | 10,33 ± 1,693$^{abcd}$ | 6,79 ± 3,189 | 33,36 ± 5,955$^{abc}$ |
| **168** | 10,35 ± 1,569 | 11,04 ± 2,827$^{abcd}$ | 5,98 ± 4,132 | 36,14 ± 9,856$^{abc}$ |
| **192** | 7,00 ± 1,552 | 11,04 ± 2,275$^{ab}$ | 5,13 ± 2,478 | 27,07 ± 7,998$^{ab}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | **ΜΣ** | *** | **ΜΣ** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

† mg γλυκόζης/ g μάζας ιστού/min ‡( mg γλυκόζης που παράγεται από τον ιστό/min)

Η ενεργότητα των καρβοϋδρασών στα πυλωρικά τυφλά της τσιπούρας αλλά και η πεπτική ικανότητα δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διάφορες. Η ενεργότητα και η πεπτική ικανότητα των καρβοϋδρασών του εντέρου της τσιπούρας, παρουσιάζουν πτώση που γίνεται στατιστικά σημαντική στις 72 ώρες. Κατά την επανασίτιση δεν έχουμε πλήρη επαναφορά των αρχικών τιμών.

Στα διαγράμματα (16 και 17 του παραρτήματος) απεικονίζονται γραφικά οι μεταβολές των τιμών της ενεργότητας των καρβοϋδρασών του εντέρου και της πεπτικής ικανότητας του εντέρου όπως προσδιορίσαμε ανά δειγματοληψία και όπως υπολογίστηκαν αντίστοιχα.

Εν συνεχεία, υπολογίσαμε την ολική πεπτική ικανότητα, την σχετική ολική πεπτική ικανότητα καθώς και την ποσοστιαία συμμετοχή (στην ολική πεπτική ικανότητα) των πυλωρικών τυφλών και του έντερου.

**Πίνακας 3.2.2. 2.** Πεπτικά ενζυμα-καρβοϋδράσες στην τσιπούρα.

| Ώρες δειγματο-ληψίας | Ολική Πεπτική‡ ικανότητα καρβο/σων | Σχετική Ολική Πεπτική ικανότητα καρβο/σων | Ολική Ενεργότητα† Καρβο/σων ($E_{ολ}$) | Πεπτική Ικανότητα καρβο/σων πυλωρικών %της ολικής |
|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | |
| **0** | 79,34 ± 14,948$^{d}$ | 44,20 ± 8,952$^{cd}$ | 15,42 ± 3,031$^{c}$ | 12,2 ± **3,00**$^{a}$ |
| **3** | 60,88 ± 5,607$^{bcd}$ | 38,17 ± 3,156$^{bcd}$ | 13,27 ± 1,084$^{c}$ | 7,6 ± **1,16**$^{a}$ |
| **6** | 73,19 ± 10,878$^{cd}$ | 48,13 ± 5,966$^{d}$ | 14,17 ± 1,327$^{c}$ | 10,4 ± **0,97**$^{a}$ |
| **12** | 56,39 ± 9,147$^{bcd}$ | 35,69 ± 6,284$^{bcd}$ | 13,59 ± 2,307$^{c}$ | 13,9 ± **3,86**$^{ab}$ |
| **24** | 57,93 ± 15,840$^{bcd}$ | 32,89 ± 8,554$^{bcd}$ | 10,91 ± 2,338$^{abc}$ | 14,5 ± **1,29**$^{ab}$ |
| **48** | 25,75 ± 2,826$^{a}$ | 20,53 ± 3,55$^{ab}$ | 8,71 ± 1,566$^{abc}$ | 25,6 ± **4,17**$^{c}$ |
| **72** | 17,76 ± 1,887$^{a}$ | 12,29 ± 1,842$^{a}$ | 5,49 ± 0,653$^{a}$ | 24,7 ± **2,32**$^{c}$ |
| **96** | 17,77 ± 2, 483$^{a}$ | 11,93 ± 2,314$^{a}$ | 6,03 ± 1,137$^{ab}$ | 25,4 ± **3,59**$^{c}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 45,30 ± 7,712$^{abc}$ | 28,41 ± 4,133$^{abcd}$ | 11,09 ± 1,430$^{bc}$ | 12,2 ± **1,17**$^{ab}$ |
| **144** | 40,15 ± 5,707$^{ab}$ | 26,62 ± 5,194$^{abc}$ | 10,45 ± 1,418a$^{bc}$ | 19,7 ± **4,76**$^{bc}$ |
| **168** | 42,12 ± 10,482$^{ab}$ | 32,41 ± 10,246$^{bcd}$ | 10,98 ± 2,630a$^{bc}$ | 17,9 ± **3,20**$^{bc}$ |
| **192** | 32,20 ± 8,956$^{ab}$ | 19,61 ± 6,936$^{ab}$ | 7,77 ± 2,173$^{ab}$ | 18,0 ± **2,22**$^{bc}$ |
| ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑ | ** | *** | ** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

† mg γλυκόζης/ g μάζας ιστού/min ‡( mg γλυκόζης που παράγεται από τον ιστό/min)

Όπως παρατηρούμε. η ολική ενεργότητα των καρβοϋδρασών παρουσιάζει πτώση με την πρόοδο της ασιτίας με στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες τιμές, στις 72 ώρες. Η ολική και η σχετική πεπτική ικανότητα των καρβοϋδρασών στην τσιπούρα, παρουσιάζουν επίσης πτώση με την πρόοδο της ασιτίας με στατιστικά

σημαντική διάφορα στις 48 ώρες. Κατά την επανασίτιση και για τα 2 μεγέθη δεν έχουμε πλήρη επαναφορά των τιμών. Τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται και σχηματικά στο παράρτημα (διαγράμματα 18 &19 20).

Μεταβολή επίσης παρατηρείται στη συμμέτοχη της πεπτικής ικανότητας των πυλωρικών τυφλών, σε σχέση με την ολική πεπτική ικανότητα των καρβοϋδρασών. Η ποσοστιαία συμμέτοχη της πεπτικής ικανότητας των πυλωρικών τυφλών στην Ολική Πεπτική Ικανότητα των καρβοϋδρασών της Τσιπούρας αυξάνει ως τις 48 ώρες και τις στατιστικά σημαντικές αυξημένες τιμές διατηρεί ως το πέρας της ασιτίας. (Βλέπε διάγραμμα 21 του παραρτήματος)

### 3.2.3 Τσιπούρα – Πρωτεάσες.

Στους επόμενους πινάκες παρουσιάζονται αρχικά οι τιμές της ενεργότητας των πυλωρικών τυφλών και του εντέρου σε pH= 7 και pH= 10 και εν συνεχεία παρουσιάζονται η τιμή της ενεργότητας στον στόμαχο, η πεπτική ικανότητα του καθώς και οι πεπτικές ικανότητες των πυλωρικών τυφλών (σε pH7+σε pH10).

Στον πινάκα 3.2.3.1 και όσον αφόρα στην ενεργότητα των πρωτεασών των πυλωρικών τυφλών σε pH 7 παρατηρούμε ότι η ενεργότητα βαίνει συνεχώς αυξανόμενη μετά τη λήψη της τροφής με στατιστικά σημαντική διαφορά από την ώρα μηδέν στις 3 ώρες μετά. Την μέγιστη τιμή έχουμε στις 96 ώρες ασιτίας. Κατά την επανασίτιση έχουμε σταδιακή πτώση των τιμών από τη μέγιστη τιμή των 96 ωρών. Ακόμα και μετά από 4 μέρες επανασίτισης έχουμε στατιστικά σημαντική διαφορά από την ώρα μηδέν (βλέπε διάγραμμα 32 στο παράρτημα).

Όσον αφορά στις πρωτεάσες του εντέρου τόσο σε pH 7 όσο και σε pH 10, έχουμε μια στατιστικά σημαντική κορύφωση των τιμών της ενεργότητας στις 3 με 6 ώρες ασιτίας, εν συνεχεία μια πτώση στις 12 ώρες ασιτίας και στις επόμενες μετρήσεις μια αυξητική τάση που γίνεται στατιστικώς σημαντική στις 96 ώρες ασιτίας. Με την επανασίτιση, έχουμε σταδιακή πτώση σε μη (στατιστικά σημαντικώς) διαφορετικές τιμές από την ώρα μηδέν στην $3^{η}$ και $4^{η}$ ημέρα επανασίτισης, για την ενεργότητα σε pH 7 και για την ενεργότητα σε pH 10 στην $2^{η}$, $3^{η}$ και $4^{η}$ μέρα επανασίτισης. (βλ. διαγράμματα 33- 34 του παραρτήματος).

**Πίνακας** 3.2.3.1 Ενεργότητες† πρωτεασών στην τσιπούρα.

| Ώρες δειγματο-ληψίας | Ενεργότητα Πρωτεασών πυλωρικά τυφλά pH=7 | Ενεργότητα Πρωτεασών πυλωρικά τυφλά pH=10 | Ενεργότητα Πρωτεασών έντερο pH=7 | Ενεργότητα Πρωτεασών έντερο pH=10 |
|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | |
| **0** | 0,137 ± 0,009$^{a}$ | 0,160 ± 0,015$^{a}$ | 0,114 ± 0,0036$^{a}$ | 0,154 ± 0,017$^{a}$ |
| **3** | 0,174 ± 0,007$^{b}$ | 0,198 ± 0,009$^{abc}$ | 0,219 ± 0,0060$^{d}$ | 0,269 ± 0,018$^{bc}$ |
| **6** | 0,170 ± 0,006$^{b}$ | 0,225 ± 0,017$^{bcde}$ | 0,200 ± 0,0169$^{cd}$ | 0,226 ± 0,024$^{ab}$ |
| **12** | 0,181 ± 0,012$^{b}$ | 0,189 ± 0,026$^{abc}$ | 0,159 ± 0,0061$^{abc}$ | 0,163 ± 0,017$^{ab}$ |
| **24** | 0,190 ± 0,011$^{bc}$ | 0,217 ± 0,019$^{bcde}$ | 0,161 ± 0,0042$^{abc}$ | 0,185 ± 0,015$^{ab}$ |
| **48** | 0,221 ± 0,008$^{cd}$ | 0,231 ± 0,021$^{bcdef}$ | 0,158 ± 0,0121$^{abc}$ | 0,184 ± 0,012$^{ab}$ |
| **72** | 0,192 ± 0,010$^{bc}$ | 0,238 ± 0,028$^{cdef}$ | 0,169 ± 0,0074$^{bc}$ | 0,189 ± 0,023$^{ab}$ |
| **96** | 0,268 ± 0,012$^{e}$ | 0,294 ± 0,021$^{f}$ | 0,187 ± 0,0115$^{bcd}$ | 0,217 ± 0,015$^{bc}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 0,236 ± 0,024$^{de}$ | 0,252 ± 0,054$^{def}$ | 0,135 ± 0,0043$^{cd}$ | 0,269 ± 0,023$^{c}$ |
| **144** | 0,193 ± 0,002$^{bc}$ | 0,270 ± 0,026$^{ef}$ | 0,149 ± 0,0078$^{bcd}$ | 0,202 ± 0,025$^{abc}$ |
| **168** | 0,185 ± 0,009$^{b}$ | 0,174 ± 0,021$^{ab}$ | 0,118 ± 0,0187$^{ab}$ | 0,161 ± 0,010$^{ab}$ |
| **192** | 0,178 ± 0,007$^{b}$ | 0,217 ± 0,029$^{bcde}$ | 0,144 ± 0,0046$^{abc}$ | 0,185 ± 0,027$^{ab}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | *** | *** | *** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05), **σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

† mg τυροσίνης/ g μάζας ιστού/min

**Πινάκας 3.1.3.2.** Πεπτικές Ικανότητες† πρωτεασών στην τσιπούρα

| Ώρες δειγματο-ληψίας | Πεπτική Ικανότητα Πυλωρικών pH=7 | Πεπτική Ικανότητα Εντέρου pH=7 | Πεπτική Ικανότητα Πυλωρικών pH=10 | Πεπτική Ικανότητα Εντέρου pH=10 |
|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | |
| **0** | 0,136 ± 0,024$^{abc}$ | 0,499 ± 0,063$^{ab}$ | 0,252 ± 0,042$^{ab}$ | 0,587 ± 0,080$^{abc}$ |
| **3** | 0,136 ± 0,015$^{abc}$ | 0,860 ± 0,111$^{d}$ | 0,258 ± 0,031$^{abc}$ | 1,062 ± 0,082$^{d}$ |
| **6** | 0,208 ± 0,036$^{c}$ | 0,806 ± 0,065$^{cd}$ | 0,366 ± 0,062$^{bc}$ | 0,907 ± 0,057$^{d}$ |
| **12** | 0,150 ± 0,020$^{abc}$ | 0,535 ± 0,031$^{a}$ | 0,297 ± 0,033$^{abc}$ | 0,501 ± 0,030$^{abc}$ |
| **24** | 0,198 ± 0,022$^{c}$ | 0,679 ± 0,108$^{bc}$ | 0,371 ± 0,037$^{c}$ | 0,776 ± 0,080$^{bc}$ |
| **48** | 0,131 ± 0,028$^{ab}$ | 0,410 ± 0,051$^{a}$ | 0,218 ± 0,013$^{a}$ | 0,490 ± 0,032$^{a}$ |
| **72** | 0,161 ± 0,014$^{bc}$ | 0,443 ± 0,025$^{a}$ | 0,281 ± 0,038$^{abc}$ | 0,471 ± 0,039$^{ab}$ |
| **96** | 0,150 ± 0,017$^{abc}$ | 0,484 ± 0,051$^{ab}$ | 0,285 ± 0,030$^{abc}$ | 0,568 ± 0,034$^{abc}$ |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 0,182 ± 0,022$^{bc}$ | 0,677 ± 0,126$^{cd}$ | 0,362 ± 0,036$^{c}$ | 0,952 ± 0,097$^{c}$ |
| **144** | 0,174 ± 0,018$^{bc}$ | 0,575 ± 0,090$^{ab}$ | 0,300 ± 0,027$^{abc}$ | 0,643 ± 0,043$^{abc}$ |
| **168** | 0,106 ± 0,012$^{a}$ | 0,467 ± 0,036$^{a}$ | 0,220 ± 0,027$^{a}$ | 0,517 ± 0,044$^{ab}$ |
| **192** | 0,155 ± 0,013$^{abc}$ | 0,493 ± 0,035$^{abc}$ | 0,288 ± 0,028$^{abc}$ | 0,520 ± 0,047$^{ab}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | *** | *** | *** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

*†mg τυροσίνης /min*

Συμφώνα με τα αποτελέσματα του πινάκα 3.1.3.2 και όσον αφορά στην πεπτική ικανότητα των πυλωρικών τυφλών στο pH 7, βλέπουμε αρχικώς στις 6 και στις 24 ώρες ασιτίας μια στατιστικώς σημαντική άνοδο σε σχέση με τις 48 και τις 168 ώρες. Οι υπόλοιπες τιμές δεν διαφέρουν στατιστικά από αυτές στις 6 και στις 24, άλλα και από την ώρα μηδέν. Στο έντερο και για pH 7, έχουμε στατιστικώς σημαντική άνοδο στις 3-6 ώρες ασιτίας και στατιστικά σημαντική πτώση απ τις τιμές αυτές, στις 48,72 και 96 ώρες ασιτίας. Στην επανασίτιση έχουμε στατιστικά σημαντική αύξηση τιμών την πρώτη μέρα, σε σχέση τις τιμές στην ώρα μηδέν. Στα πυλωρικά τυφλά σε pH 10 έχουμε στατιστικώς σημαντική άνοδο στις 24 ώρες ασιτίας. Οι υπόλοιπες μετρήσεις δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά από αυτές στην ώρα μηδέν. Στην επανασίτιση έχουμε επαναφορά των τιμών στα επίπεδα των μηδέν ωρών και μονό την 1$^{η}$ μέρα

έχουμε αυξημένες τιμές. Στο έντερο και για pH 10, έχουμε στατιστικώς σημαντική άνοδο στις 3 και 6 ώρες ασιτίας. Οι υπόλοιπες τιμές καθώς και οι τιμές στην επανασίτιση δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικώς από τις τιμές στην ώρα μηδέν.

Στον πινάκα 3.2.3.3 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα όσον αφόρα στην ενεργότητα της πεψίνης pH 1,5 και οι σχετικές πεπτικές ικανότητες, του στομάχου, των πυλωρικών τυφλών και του εντέρου. Συμφώνα με τα αποτελέσματα αυτά , η ενεργότητα της πεψίνης παρουσιάζει μια έντονη άνοδο με στατιστικά υψηλότερες τιμές από τις 6 ως και τις 96 ώρες ασιτίας. Κατά την επανασίτιση την $1^{η}$ μέρα έχουμε στατιστικά χαμηλότερη τιμή από αυτήν στις 96 ώρες ασιτίας. Εν συνεχεία, έχουμε άνοδο και διατήρηση των υψηλών τιμών κατά την $2^{η}$ $3^{η}$ και $4^{η}$ μέρα επανασίτισης (βλ. διάγραμμα 31 του παραρτήματος).

Η σχετική πεπτική ικανότητα των πρωτεασών των πυλωρικών τυφλών - άθροισμα αυτής σε pH 7 και pH 10- δεν επηρεάστηκε από τους χειρισμούς μας. Η σχετική Π.Ι του εντέρου φάνηκε να επηρεάζεται από την ασιτία και πιο συγκεκριμένα 3 και 6 ώρες μετά το τελευταίο γεύμα παρουσιάζει στατιστικά σημαντική άνοδο.

**Πίνακας 3.2.3.3** Ενεργότητες και σχετικές Πεπτικές ικανότητες πρωτεασών στην τσιπούρα.

| **Ώρες δειγματο-ληψίας** | **Ενεργότητα Πρωτεασών Στόμαχος pH=1,5** | **Σχ. Πεπτική Ικανότητα Πρωτεασών Στόμαχος pH=1,5** | **Σχ. Πεπτική Ικανότητα Πρωτεασών Πυλωρικά τυφλά pH=7+10** | **Σχ. Πεπτική Ικανότητα Πρωτεασών Εντέρου pH=7+10** |
|---|---|---|---|---|
| | **ΑΣΙΤΙΑ** | | | |
| **0** | 0,119 ± 0,0130$^{a}$ | 0,057 ± 0,0067$^{a}$ | 0,140 ± 0,0199 | 0,674 ± 0,0701$^{ab}$ |
| **3** | 0,199 ± 0,0010$^{abc}$ | 0,115 ± 0,0084$^{bc}$ | 0,158 ± 0,0136 | 1,191 ± 0,0695$^{c}$ |
| **6** | 0,242 ± 0,0200$^{bcd}$ | 0,126 ± 0,0086$^{bc}$ | 0,235 ± 0,0137 | 1,185 ± 0,1434$^{c}$ |
| **12** | 0,213 ± 0,0250$^{bcd}$ | 0,121 ± 0,0092$^{bc}$ | 0,186 ± 0,0147 | 0,709 ± 0,0579$^{ab}$ |
| **24** | 0,266 ± 0,0120$^{cd}$ | 0,153 ± 0,0067$^{c}$ | 0,201 ± 0,0075 | 0,797 ± 0,1122$^{ab}$ |
| **48** | 0,213 ± 0,0260$^{bcd}$ | 0,120 ± 0,0202$^{bc}$ | 0,193 ± 0,0130 | 0,651 ± 0,0470$^{ab}$ |
| **72** | 0,295 ± 0,0300$^{d}$ | 0,128 ± 0,0123$^{bc}$ | 0,182 ± 0,0148 | 0,624 ± 0,0682$^{a}$ |
| **96** | 0,275 ± 0,0300$^{cd}$ | 0,141 ± 0,0187$^{bc}$ | 0,178 ± 0,0047 | 0,675 ± 0,0769$^{ab}$ |
| | **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | |
| **120** | 0,169 ± 0,0340$^{ab}$ | 0,099 ± 0,0199$^{ab}$ | 0,198 ± 0,0201 | 1,024 ± 0,1599$^{bc}$ |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **144** | 0,270 ± 0,0540$^{cd}$ | 0,142 ± 0,0255$^{bc}$ | 0,185 ± 0,0178 | 0,778 ± 0,1060$^{ab}$ |
| **168** | 0,297 ± 0,0330$^{d}$ | 0,160 ± 0,0208$^{c}$ | 0,146 ± 0,0166 | 0,691 ± 0,0720$^{ab}$ |
| **192** | 0,296 ± 0,0190$^{d}$ | 0,153 ± 0,0117$^{c}$ | 0,164 ± 0,0134 | 0,656 ± 0,1240$^{a}$ |
| **ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗ** | ** | ** | **ΜΣ** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

† mg τυροσίνης/ g μάζας ιστού/min ‡( mg τυροσίνης που παράγεται από τον ιστό/min)

Στον επόμενο πίνακα (Πίνακας 3.2.3.4), παρουσιάζονται οι τιμές της ολικής Ενεργότητας και των σχετικών πεπτικών ικανοτήτων των πρωτεασών στην Τσιπούρα.

Συγκεκριμένα, της ολικής Π.Ι. των πρωτεασών, της σχετικής ολικής Π.Ι. των πρωτεασών και της σχετικής ολικής Π.Ι σε pH 7 (τρυψίνης και χυμοθρυψίνης).

**Πίνακας** 3.2.3.4 Ενεργότητες και σχετικές Π.Ι. πρωτεασών στην τσιπούρα.

| **Ώρες δειγματο-ληψίας** | **ΟΛΙΚΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΠΡΩΤΕΑΣΩΝ** | **Ολική Πεπτική Ικανότητα ΠΡΩΤΕΑΣΩΝ** | **Σχ. Ολική Πεπτική Ικανότητα ΠΡΩΤΕΑΣΩΝ** | **Σχ. Πεπτική Ικανότητα Εντέρου & Πυλωρικών Τυφλών pH=7** |
|---|---|---|---|---|
| | **ΑΣΙΤΙΑ** | | | |
| **0** | 0,219 ± 0,031$^{a}$ | 1,430 ± 0,121$^{ab}$ | 0,878 ± 0,0829$^{a}$ | 0, 346 ± **0,0403**$^{a}$ |
| **3** | 0,427 ± 0,023$^{d}$ | 2,368 ± 0,225$^{d}$ | 1,465 ± 0,0756$^{c}$ | 0,607 ± **0,0353**$^{c}$ |
| **6** | 0,385 ± 0,030$^{cd}$ | 2,345 ± 0,207$^{d}$ | 1,528 ± 0,1584$^{c}$ | 0,655 ± **0,0680**$^{c}$ |
| **12** | 0,281 ± 0,030$^{ab}$ | 1,621 ± 0,052$^{bc}$ | 1,006 ± 0,0718$^{ab}$ | 0,427 ± **0,0319**$^{a}$ |
| **24** | 0,336 ± 0,020$^{bcd}$ | 2,080 ± 0,269$^{cd}$ | 1,130 ± 0,1301$^{ab}$ | 0,463 ± **0,0566**$^{ab}$ |
| **48** | 0,330 ± 0,020$^{bcd}$ | 1,308 ± 0,186$^{a}$ | 0,942 ± 0,0701$^{a}$ | 0,394 ± **0,0343**$^{a}$ |
| **72** | 0,355 ± 0,028$^{bcd}$ | 1,407 ± 0,099$^{ab}$ | 0,934 ± 0,0808$^{a}$ | 0,368 ± **0,0377**$^{a}$ |
| **96** | 0,399 ± 0,022$^{cd}$ | 1,567 ± 0,087$^{ab}$ | 0,995 ± 0,0823$^{ab}$ | 0,398 ± **0,0412**$^{a}$ |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 0,374 ± 0,058$^{bcd}$ | 2,417 ± 0,203$^{d}$ | 1,329 ± 0,2013$^{bc}$ | 0,596 ± 0,0907$^{bc}$ |
| **144** | 0,374 ± 0,026$^{bcd}$ | 1,768 ± 0,153$^{bc}$ | 1,106 ± 0,1056$^{ab}$ | 0,450 ± 0,0528$^{a}$ |
| **168** | 0,313 ± 0,022$^{bc}$ | 1,434 ± 0,077$^{ab}$ | 1,077 ± 0,0450$^{ab}$ | 0,437 ± 0,0144$^{a}$ |
| **192** | 0,337 ± 0,030$^{bcd}$ | 1,632 ± 0,107$^{bc}$ | 0,845 ± 0,0445$^{a}$ | 0,320 ± 0,0133$^{a}$ |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑ | * | *** | *** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

Η ολική ενεργότητα των πρωτεασών της τσιπούρας παρουσιάζεται αναλυτικά και στο διάγραμμα 35 του παραρτήματος. Συμφώνα με τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζεται μια κορύφωση των τιμών της ολικής ενεργότητας στις 3 με 6 ώρες μετά την ώρα 0 και εν συνεχεία μια αυξητική τάση ως και τις 96 ώρες ασιτίας. Η τάση αυτή είναι στατιστικά σημαντική για την ενεργότητα. Κατά την επανασίτιση, εμφανίζεται μια πτωτική τάση από τις αυξημένες τιμές που παρουσιάζει η πρώτη μέρα επανασίτισης που είναι στατιστικά σημαντική για την ολική Π.Ι, τη σχετική ολική Π.Ι, και τη σχετική Π.Ι. σε pH 7. Ακόμη, στα διαγράμματα 36 και 37 του παραρτήματος μπορούμε να παρατηρήσουμε την Π.Ι του στομάχου, την ολική Π.Ι και την εξομάλυνση που προκαλεί η διόρθωση των τιμών ως προς το βάρος των ιχθύων δηλαδή σε σχετικές τιμές.

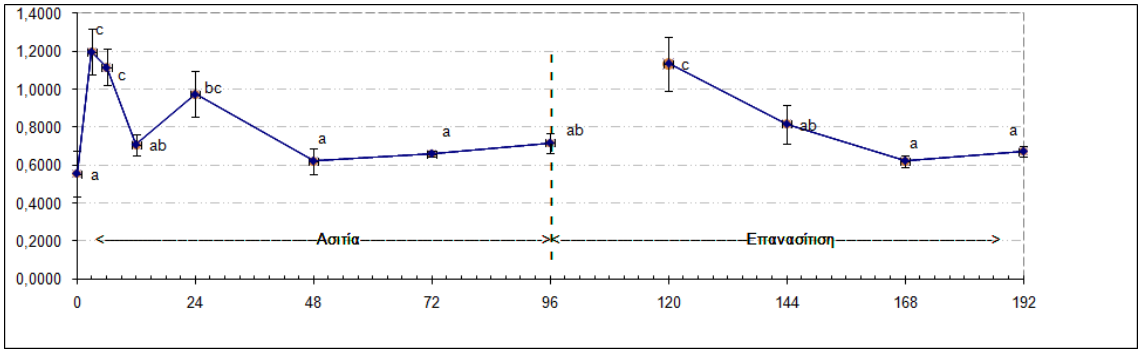
Στον πινάκα 3.2.3.5 παρουσιάζονται ορισμένα ποσοστά των πεπτικών ικανοτήτων των πρωτεασών στην τσιπούρα με στόχο να μελετηθεί η ύπαρξη κάποιας ποιοτικής μεταβολής της Π.Ι. των πρωτεασών. Όπως καταδεικνύουν τα αποτελέσματα μας υπάρχει αύξηση του ποσοστού της Π.Ι. του στομάχου μετά της 12 ώρες (στατιστικώς σημαντική). Στην επανασίτιση, το ποσοστό της Π.Ι. του στομάχου επανέρχεται στα επίπεδα της ώρας μηδέν την 1$^{η}$ ημέρα, αλλά εν συνεχεία αυξάνει στατιστικώς σημαντικά. Το ποσοστό της Π.Ι των πυλωρικών τυφλών παρουσιάζει ελάχιστη τιμή στις 3 ώρες ασιτίας και εν συνεχεία αυξάνει και διατηρεί την ποσοστιαία συμμετοχή του στην συνολική Π.Ι κατά την ασιτία με μέγιστη τιμή στις 72 ώρες. Στο έντερο, το ποσοστό της Π.Ι. των πρωτεασών βαίνει μειούμενο με την πρόοδο της ασιτίας με ελάχιστη τιμή στις 72 ώρες (Οι τιμές από τις 12 ώρες ασιτίας ως και τις 96 ώρες διαφέρουν σημαντικά από αυτές στις 3 ώρες). Το ποσοστό της Π.Ι σε pH 7 ( τρυψίνη, χυμοθρυψίνη δεν μεταβάλλεται στατιστικώς σημαντικά.

**Πίνακας** 3.2.3.5 Ποσοστά πεπτικών ικανοτήτων πρωτεασών στην τσιπούρα.

| Ώρες δειγματο-ληψίας | Πεπτική Ικανότητα πρωτεασών στομάχου % της ολικής | Πεπτική Ικανότητα πρωτεασών πυλωρικών τυφλών σε pH=7 +10 % της ολικής | Πεπτική Ικανότητα πρωτεασών Εντέρου σε pH=7 +10 % της ολικής | Πεπτική Ικανότητα πρωτεασών Εντέρου & ΠΥΛ σε pH=7 % της ολικής |
|---|---|---|---|---|
| **ΑΣΙΤΙΑ** | | | | |
| **0** | 8,90 ± 1,930[a] | 16,79 ± 2,249[bc] | 78,20 ± 0,523[d] | 43,38 ± **1,937** |
| **3** | 8,06 ± 0,808[a] | 11,07 ± 0,135[a] | 81,17 ± 1,098[d] | 41,46 ± **1,037** |
| **6** | 8,71 ± 0,475[ab] | 16,76 ± 1,207[bc] | 74,54 ± 1,376[bcd] | 42,66 ± **0,754** |
| **12** | 13,89 ± 0,739[bc] | 20,07 ± 2,336[bc] | 67,40 ± 2,960[ab] | 43,16 ± **2,471** |
| **24** | 14,42 ± 1,939[c] | 17,56 ± 1,356[bc] | 68,03 ± 3,047[ab] | 39,81 ± **0, 612** |
| **48** | 12,38 ± 1,605[abc] | 20,27 ± 1,137[bc] | 69,44 ± 0,776[abc] | 40,66 ± **1,555** |
| **72** | 14,00 ± 1,432[c] | 21,20 ± 1,475[c] | 64,33 ± 1,981[a] | 40,30 ± **2,261** |
| **96** | 14,68 ± 2,096[c] | 18,28 ± 1,639[bc] | 67,05 ± 3,220[ab] | 39,69 ± **1,365** |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 8,57 ± 1,163[a] | 14,94 ± 0,693[ab] | 76,95 ± 1,261[cd] | 39,82 ± **1,528** |
| **144** | 13,94 ± 2,797[abc] | 17,51 ± 1,423[bc] | 68,76 ± 3,432[ab] | 40,58 ± **2,492** |
| **168** | 16,01 ± 1,288[c] | 15,69 ± 2,241[abc] | 68,30 ± 2,453[ab] | 40,36 ± **1,037** |
| **192** | 16,64 ± 1,609[c] | 17,92 ± 1,825[bc] | 65,44 ± 2,926[a] | 38,26 ± **1,715** |
| **ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ** | *** | ** | *** | **ΜΣ** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

Τέλος όσον αφορά στις πρωτεάσες της τσιπούρας, στο επόμενο διάγραμμα παρουσιάζεται άθροισμα της πεπτικής ικανότητας των πρωτεασών σε pH 10.




**Διάγραμμα 3.2.3.1**. Πεπτική ικανότητα πρωτεασών τσιπούρας σε pH 10(***)

Όπως βλέπουμε στο Διάγραμμα 3.2.3.1 η πεπτική ικανότητα πρωτεασών τσιπούρας σε pH 10, αρχικώς στις 3-6 αλλά και στις 24 ώρες ασιτίας έχει στατιστικά σημαντική άνοδο τιμών της, ενώ οι υπόλοιπες τιμές δεν διαφέρουν στατιστικώς. Στην επανασίτιση έχουμε στατιστικά αυξημένες τιμές από αυτές της ώρας μηδέν την $1^{η}$ μέρα.

## 3.3 Δείγματα τροφής

Στην βιβλιογραφία υπάρχει μεγάλη ποικιλία μεθόδων για το δειγματισμό. Για παράδειγμα έκπλυση με αλατούχο διάλυμα και προσδιορισμός στον πεπτικό ιστό (*Woo and Kelly*, 1995). Ακόμη αναφέρεται απόξεση με πλαστική σπάτουλα και προσδιορισμός στον ιστό και στα περιεχόμενα (*Kuzmina.,* 1996), (*Einarsson et al*, 1996), ή ομογενοποίηση όλου του ιχθύ για πολύ μικρά ιχθύδια. (*Suzer et al*,2007). Στην παρούσα εργασία, επιλέχτηκε -σε αντίθεση με άλλες προσεγγίσεις- να μην αφαιρεθεί πλήρως η τροφή (περιεχόμενα) από τον στόμαχο και από το έντερο με απόξεση. Αφαιρέθηκε μόνο τροφή από τον στόμαχο και μόνο όσο μέρος της μπορούσε να αφαιρεθεί χωρίς τη βλέννη που περιέβαλε εσωτερικά τον στόμαχο και εξωτερικά την τροφή. Ο στόχος της διαφορετικής προσέγγισης ήταν να αποκλειστεί τυχόν υπερεκτίμηση των ενεργοτήτων στο περιεχόμενο της τροφής, λόγω της απόξεσης ή της έκπλυσης των ιστών που συνήθως εφαρμόζεται, να περιοριστεί η επίδραση του δειγματολήπτη αλλά και να διερευνηθεί η ύπαρξη στην τροφή εξωγενούς προέλευσης ενζύμων. Η επιλεχθείσα μεθοδολογία περιμέναμε να προκαλέσει μια υποεκτίμηση της ενεργότητας στα δείγματα των περιεχομένων αλλά μια καλύτερη εικόνα της πορείας της πέψης, δηλαδή του ρυθμού κένωσης του στομάχου, αφού δεν θα μετρήθηκε η βλέννη και ο ιστός ως τροφή. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα άλλων εργασιών που προσδιορίζουν την ενεργότητα σε δείγματα που έχουν ληφθεί με άλλη μέθοδο(απόξεση των ιστών) και για τα οποία προσδιορίζεται ενζυμική δραστηριότητα σε περιεχόμενα.

Προσδιορίστηκε λοιπόν η ενεργότητα στα δείγματα άπεπτης τροφής (ολόκληρα σύμπηκτα), από τον στόμαχο όσων ιχθύων ήταν δυνατόν να βρεθεί κάτι τέτοιο, όμως σε κανένα από τα δείγματα αυτά δεν ανεβρέθει δράση ένζυμων. Ο μέγιστος αριθμός άπεπτων συμπήκτων άμεσα αναγνωρίσιμων ήταν 12 για το λαβράκι και 16 για την τσιπούρα με συνολικά βάρη = 5,48 gr και 6,69 gr αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα όσον αφόρα στις ζυγίσεις τον περιεχομένων παρουσιάζονται στον επόμενο πινάκα και για τους 2 ιχθύες. Στον πινάκα αυτό οπού υπάρχει παύλα σημαίνει ότι δεν πάρθηκε δείγμα (ακόμα και αν είχε περιεχόμενα ο στόμαχος), για να μην αφαιρεθεί και ποσότητα βλέννας.

**Πίνακας 3.3.1.** Σχετικά βάρη και ποσοστό των περιεχομένων στον στόμαχο- Τσιπούρα & Λαβράκι-

| Ώρες δειγματο-ληψίας | ΛΑΒΡΑΚΙ Σχετικό βάρος τροφής | ΛΑΒΡΑΚΙ βάρος τροφής | ΤΣΙΠΟΥΡΑ Σχετικό βάρος τροφής | ΤΣΙΠΟΥΡΑ βάρος τροφής |
|---|---|---|---|---|
| **0** | 2,563 ± 0,6843 bcd | 2,72 ± 0,669 bc | 1,393 ± 0,5206 bc | 2,408 ± 0,596 bc |
| **3** | 2,943 ± 0,9507 cd | 2,65 ± 0,907 cd | 1,851 ± 0,4774 cd | 2,920 ± 0,484 cd |
| **6** | 3,215 ± 1,0086 d | 4,06 ± 1,186 d | 2,242 ± 0,1005 d | 2,985 ± 0,145 cd |
| **12** | 3,368 ± 0,3426 d | 4,04 ± 0,356 d | 1,086 ± 0,4743 b | 1,701 ± 0,443 b |
| **24** | 0,684 ± 0,1463 a | 0,82 ± 0,173 a | 0,342 ± 0,2210 a | 0, 699 ± 0,290 a |
| **48** | 0,660 ± 0,2003 a | 0,88 ± 0,213 a | 0,000 ± 0,000 a | 0,000 ± 0,000 a |
| **72** | 0,000 ± 0,000 a | 0,0 ± 0,000 a | 0,000 ± 0,000 a | 0,000 ± 0,000 a |
| **96** | 0,000 ± 0,000 a | 0,0 ± 0,000 a | 0,000 ± 0,000 a | 0,000 ± 0,000 a |
| **ΕΠΑΝΑΣΙΤΙΣΗ** | | | | |
| **120** | 1,189 ± 0,0642 abc | 1,21 ± 0,066 abc | 0,842 ± 0,0567 a | 0,645 ± 0,0592 a |
| **144** | 0,729 ± 0,1970 ab | 0,63 ± 0,210 ab | ---† ± --- | 0,167 ± 0,697 a |
| **168** | 0,467 ± 0,3159 a | 0,62 ± 0,355 ab | ----- ± ----- | ----- ± ------- |
| **192** | 0,989 ± 0,6570 ab | 0,88 ± 0,673 ab | ---- ± ------ | ----- ± -------- |
| ΕΠΙΠΕΔΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ | *** | *** | *** | *** |

** σημαντικές επιδράσεις (P<0,05),**σημαντικές επιδράσεις P<0,01) *** σημαντικές επιδράσεις( P<0,001), ΜΣ μη σημαντικές*

† *δεν πάρθηκε δείγμα*

Από τα αποτελέσματα αυτά παρατηρούμε την στατιστικά σημαντική μείωση των άπεπτων περιεχομένων του στομάχου να συμβαίνει στις πρώτες 24 ώρες. Ακόμη μια παρατήρηση που πρέπει να σημειωθεί για τα αποτελέσματα αυτά που αφορά και στην μακροσκοπική εξέταση των περιεχομένων του στομάχου, είναι η κατακράτηση της τροφής στον στόμαχο κατά την ασιτία. Εμφανώς διαχωριζόμενη τροφή ανεβρέθη και μετά από 48 ώρες ασιτίας στο λαβράκι. Στην τσιπούρα εμφανώς διαχωριζόμενη τροφή ανεβρέθη και μετά από 24ώρες ασιτίας.

# 4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων αναφορικά με τα **μορφολογικά χαρακτηριστικά** προκύπτει ότι δεν υπάρχουν σημαντικές επιδράσεις (P>0,05) από την ώρα της δειγματοληψίας στο βάρος και το μήκος των ιχθύων, γεγονός που συμφωνεί με τις παρατηρήσεις για την εφαρμογή βραχυχρόνιας ή και μεγαλυτέρου διαστήματος ασιτίας των *Belanger et al.* (2002), *Rueda et al.* (2002) και *Perez-Jimenez et al* (2007). Περαιτέρω, παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική επίδραση στον ηπατοσωματικό δείκτη του λαβρακιού και στον συντελεστή ευρωστίας, γεγονός που δεν είναι αναμενόμενο για τον ηπατοσωματικό δείκτη, βάση προηγούμενων μελετών των *Power et al.* (2000), *Perez-Jimenez et al.,* (2007). Όμως, η χαμηλότερη τιμή του ηπατοσωματικού δείκτη παρατηρείται την 1$^{η}$ ημέρα επανασίτισης, οπότε και είναι πιθανό να μην ηταν στατιστικά σημαντική η επίδραση λόγω του μικρού διαστήματος ασιτίας και του μικρού αριθμού δειγμάτων (N=7). Αντιθέτως στην τσιπούρα οι επιδράσεις στο συντελεστή ευρωστίας και στον ηπατοσωματικό δείκτη ήταν στατιστικά σημαντικές (P<0,05). Οι τσιπούρες στην έναρξη του πειράματος διέφεραν από αυτές που προέκυψαν έπειτα από τις 48 ώρες ασιτίας στον ηπατοσωματικό δείκτη και η διαφορά αυτή δεν αποκαταστάθηκε μετά από 4 μέρες επανασίτιση (Διάγραμμα 7 στο παράρτημα).

Ακόμη, στους ιχθύες του πειράματος και ιδίως στο λαβράκι διαπιστώθηκε η γρήγορη μεταβολή του πεπτικού ιστού, ο όποιος μετά από 96 ώρες ασιτίας μειώθηκε σημαντικά (Διαγράμματα 4 και 5 στο παράρτημα). Η μείωση αυτή ήταν 33% από την ώρα μηδέν και 48% από τη μέγιστη τιμή που έφτασε το βάρος του πεπτικού ιστού στις 12 ώρες μετά το τελευταίο γεύμα. Η επαναφορά του πεπτικού ιστού στα επίπεδα προ της ασιτίας επισυμβαίνει στη δεύτερη μέρα επανασίτισης. Η διαφορά της τιμής από την χαμηλότερη τιμή των 96 ωρών ασιτίας είναι στατιστικά σημαντική και η ποσοστιαία αύξηση είναι περίπου 160%. Η γρήγορη μείωση κατά βάρος του πεπτικού ιστού και η επαναφορά συμφωνεί με τις παρατηρήσεις και των *Krogdahl and Bakke-McKellep* (2005) πάνω στο θέμα αυτό.

Από την μελέτη της επίδρασης της τροφής στο βάρος του πεπτικού ιστού προκύπτει ότι αυτός μεγιστοποιείται στις 6 με 12 ώρες από τη λήψη της τροφής και μετά τις 24 με 48 ώρες παίρνει στατιστικά χαμηλότερες τιμές, φτάνοντας στο ελάχιστο στις 96 ώρες ασιτίας (Διαγράμματα 3 και 8 στο παράρτημα). Αναλυτικότερα, στα πυλωρικά τυφλά οι τιμές αυξάνουν από τις 3 έως και τις 12 ώρες από τη λήψη της τροφής και μειώνονται στατιστικώς σημαντικά στις 96 ώρες. Η αύξηση του βάρους του πεπτικού ιστού στις 6 με 12 ώρες μετά τη λήψη της τροφής δικαιολογείται από την κατάποση ύδατος, που είναι μια φυσιολογική διεργασία για τους ιχθύες που διαβιούν σε αλμυρά ύδατα (*Παπουτσόγλου,* 1998).

Όσον αφόρα τις μεταβολές της **ενεργότητας πρωτεασών** στην **τσιπούρα** ακολούθησαν ένα γενικό μοτίβο για όλα τα ενζυμα το οποίο λειτουργούσε ως κάτωθι: αρχικώς και ως και τις 3 με 6 ώρες μετά το γεύμα είχαμε μια άνοδο της ενεργότητας

τους και εν συνεχεία πτώση της τιμής της ενεργότητας, φτάνοντας στη χαμηλότερη τιμή την 12η ώρα ασιτίας (η παρατήρηση αυτή συμφωνεί με αυτήν των *Uys et al.,*(1987) οι οποίοι και προσδιόρισαν την μέγιστη τιμή της ενεργότητας των πρωτεασών στις 2,5 με 4 ώρες μετά το γεύμα). Περαιτέρω, οι τιμές της ενεργότητας παρουσίασαν αύξηση έως τις 96 ώρες ασιτίας και έδωσαν πολύ υψηλές τιμές ενεργότητας κατά την επανασίτιση.

Εν αντιθέση με την τσιπούρα, στο **λαβράκι** η ολική **ενεργότητα των πρωτεασών** δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την ασιτία, πάρα το γεγονός ότι η ενεργότητα της πεψίνης στον στόμαχο σημείωσε κατά την ασιτία στατιστικώς σημαντική αύξηση. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με τα ευρήματα των *Einarsson et al*, (1996), οι οποίοι στον βακαλάο του ατλαντικού *Gadus morhua* μέτρησαν αύξηση της ενεργότητας της πεψίνης ως και την 5η ημέρα ασιτίας και εν συνεχεία πτώση. Στο διάγραμμα 38 στο παράρτημα παρουσιάζονται οι ολικές ενεργότατες των πρωτεασών και για του δυο ιχθύς.

Όσον αφόρα στην **ενεργότητα των καρβοϋδρασών** δεν έχουμε την ίδια εικόνα: στην **τσιπούρα** κατά την ασιτία έχουμε πτώση της, που μετά τις πρώτες 24 ώρες είναι άμεση και στατιστικώς σημαντική. Οι τιμές της ενεργότητας κατά την επανασίτιση - αν και δε διαφέρουν σημαντικά από αυτές στην έναρξη του πειράματος, εκτός από την τιμή στην 4η ημέρα επανασίτισης- είναι σε χαμηλότερα επίπεδα.

Οι τιμές της **ενεργότητας** στις **καρβοϋδράσες** στο **λαβράκι** κατά την ασιτία παρουσιάζουν τις μεγαλύτερες τιμές στο διάστημα από 6 έως 12 ώρες μετά το τελευταίο γεύμα. Γενικά, η πτώση της τιμής της ενεργότητας είναι πιο ήπια με στατιστικά σημαντικές διαφορές μετά της 48 ώρες. Στην επανασίτιση, η επαναφορά σε τιμές ενεργότητας που δεν διαφέρουν σημαντικά από τις τιμές στην ώρα μηδέν είναι άμεση. Βέβαια εδώ πρέπει να σημειωθεί η μεγάλη διάφορα στην πεπτική ικανότητα συνολικά των καρβοϋδρασών στο λαβράκι σε σχέση με την τσιπούρα , η οποία συνίσταται σε τετραπλάσιο μεγαλύτερο αριθμό. Στο διάγραμμα 39 στο παράρτημα παρουσιάζονται οι ολικές ενεργότατες των καρβοϋδρασών και για του δυο ιχθύς.

Ακόμη, στο λαβράκι - εν αντίθεση με την τσιπούρα - έχουμε υψηλοτέρα επίπεδα πεψίνης στο στόμαχο, ενώ στην τσιπούρα το μεγαλύτερο ποσοστό της πέψης των πρωτεϊνών οφείλεται στα παγκρεατικά ενζυμα θρυψίνη και χυμοθρυψίνη (pH=7) και γίνεται στο έντερο.

Δεδομένου ότι οι δυο ιχθύες διαφέρουν στο διατροφικό τους τύπο, παραπάνω αποτελέσματα συμφωνούν με ό,τι αναφέρεται για την αναλογία της πεψίνης στις συνολικές πρωτεάσες σε ιχθύες φυτοφάγους ή που διατρέφονται με μικρού μεγέθους οργανισμούς (τσιπούρα) σε σχέση με σαρκοφάγους ιχθύες (λαβράκι). Σύμφωνα είναι τα αποτελέσματα με την αναφερθείσα αρνητική συσχέτιση του μήκους του εντέρου του ιχθύος με τα επίπεδα της πεψίνης (*Παπουτσόγλου*, 2008).

Επίσης, παρατηρώντας αναλυτικότερα την επίδραση της ασιτίας στην ενεργότητα των πρωτεασών του στομάχου του **λαβρακιού**, δηλαδή στην ενεργότητα της πεψίνης, βλέπουμε ότι είναι αύξουσα σε σχέση με τον χρόνο, με μέγιστο τις 96

ώρες. Αντίθετα, **η σχετική πεπτική ικανότητα του στομάχου δεν επηρεάστηκε στατιστικώς σημαντικά**.

Τέλος, η σχετική ολική πεπτική ικανότητα δείχνει πιο γρήγορη πτώση της Πεπτικής Ικανότητας στην τσιπούρα από το λαβράκι (βλέπε διάγραμμα 40 στο παράρτημα).

Η ενεργότητα των τρυψίνης, χυμοθρυψίνης, ελαστάσης, καρβοξυπεπτιδασών και κολαγενάσης στα πυλωρικά τυφλά και στο έντερο φαίνεται επίσης να επηρεάζεται και να παρουσιάζει μια δεύτερη κορύφωση, εκτός από αυτήν που παρουσιάζεται αμέσως μετά τη λήψη της τροφής της, στις 48 ώρες ασιτίας στο λαβράκι. Μάλιστα, η παρατήρηση αυτή συμφωνεί με αυτήν του ιδιαίτερου και αυξανόμενου ρόλου των πυλωρικών τυφλών στη συνολική πεπτική ικανότητα κατά την ασιτία. Όπως διαφαίνεται από το πείραμα, η παρουσία της τροφής διεγείρει την έκκριση των πεπτικών ενζύμων, η οποία δεν σταματά άμεσα, αλλά συνεχίζεται και απουσία τροφής. Τα παγκρεατικά ενζυμα κατά την ασιτία συγκεντρώνονται στα πυλωρικά τυφλά και περιμένουν την έκκρισή τους στον πεπτικό χυλό με την παρουσία της τροφής. Άλλωστε, μια παρόμοια περιγραφή του φυσιολογικού ρόλου τους έχει γίνει και για τον Ιαπωνικό κυνηγόψαρο ($_{eg}$ Japanese Amberjack) yellowtail *(Seriola quinqueradiata)* από τους *Murashita et al*. (2005), οι οποίοι προσδιόρισαν το χρόνο αποκατάστασης της ποσότητας και της ενεργότητας της τρυψίνης στα πυλωρικά τυφλά σε ενήλικα άτομα του συγκεκριμένου ιχθύ στις 48 ώρες.

Πέραν της σημασίας των πυλωρικών τυφλών κατά την ασιτία, ιδιαίτερο ρόλο έχουν και κατά την «αποζημιωτική» ανάπτυξη (*Belanger et al,*. 2002). Τα παγκρεατικά ένζυμα, τρυψίνη και χυμοθρυψίνη, συγκεντρώνονται στα πυλωρικά τυφλά και δρουν σε βασικό pH. Η ενεργότητα των ενζύμων αυτών, έχει θετική συσχέτιση με το ρυθμό ανάπτυξης και τον συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής FCR, ιδιαίτερα δε η ενεργότατα της τρυψίνης (*Lemieux et al.,*1998). Σε πιο σύγχρονες έρευνες βρέθηκε ότι ο λόγος της ενεργότητας της τρυψίνης προς χυμοθρυψίνη (*Blier et al.,* 2002), (*Belanger et al.,*2002), (*Murashita et al*., 2005) έχει θετική συσχέτιση με τον ρυθμό ανάπτυξης και ότι υπάρχει αύξηση του ποσοστού συμμετοχής της χυμοθρυψίνης κατά την ασιτία και μείωση της σε σχέση με την τρυψίνη κατά την ανάπτυξη, όπως εντόπισαν στον σολομό οι *Rungruangsak-Torrisen et al.,*(2005). Τα αποτελέσματα από την ποσοστιαία συμμετοχή των πυλωρικών τυφλών στη συνολική πεπτική ικανότητα επιβεβαιώνουν τον ιδιαίτερο ρόλο των ιστών αυτών και για τους ιχθύες του συγκεκριμένου πειράματος.

Ικανοποιητική εξήγηση για τα ευρήματα μας δίνεται αν αναλογιστούμε το διατροφικό τύπο της τσιπούρας και του λαβρακιού. Όπως άλλωστε αναφέρεται και από τον *Παπουτσόγλου*, (2008) για την δραστηριότητα των πρωτεασών, η δράση τους σε ιχθύες με μικρότερο έντερο αναμένεται να αφόρα κυρίως τον στόμαχο και την πεψίνη και λιγότερο το έντερο-πυλωρικά τυφλά και τα παγκρεατικά πρωτεολυτικά ενζυμα.

Οι μεταβολές της ενεργότητας στις πρωτεάσες και στις καρβοϋδράσες, εξηγούνται πιθανώς από μια διατροφική προσαρμογή στην κατάσταση της ασιτίας του

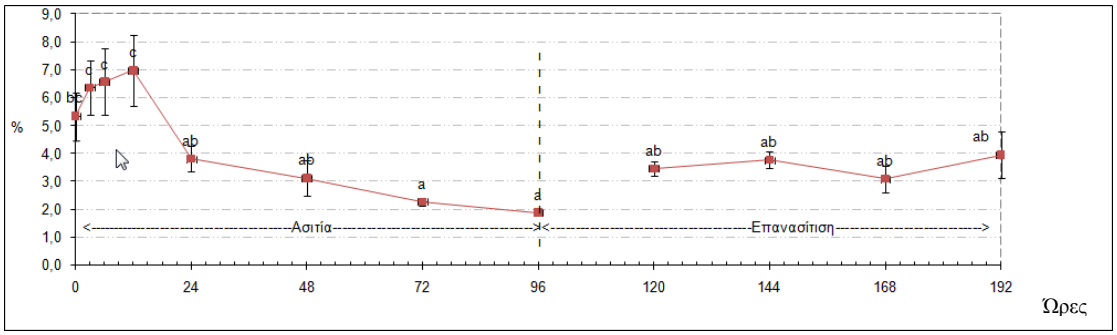
διατροφικού τύπου κυρίως της τσιπούρας (που στην φύση τρέφεται κυρίως με μαλάκια και μικρά καρκινοειδή), σε έναν πιο σαρκοφάγο ιχθύ όπως το λαβράκι που είναι κυρίως ιχθυοφάγο και ως εκ τούτου διατρέφεται πλέον ευκαιριακά.

Τέλος, ως πρόταση που μπορεί να εξαχθεί από τη διατήρηση ή την αύξηση της ενεργότητας στις πρωτεάσες σε σχέση με τις καρβοϋδράσες είναι ότι πρέπει να συμπεριλαμβάνεται σε μεγαλύτερο βαθμό η πρωτεΐνη στα σιτηρέσια σε καταστάσεις επανασίτισης. Άλλωστε, είναι μια επιλογή που οι ίδιοι οι ιχθύες κάνουν σε επανασίτιση μετά από ασιτία (*Arranta et al,* 2001). Ακόμη, καλό είναι να γίνεται ομαλή μετάβαση σε σιτηρέσια με μεγαλύτερο ποσοστό υδατανθράκων και να δίδονται συχνότερα, ώστε να διατηρείται η ενεργότατα των καρβοϋδρασών σε υψηλά επίπεδα.

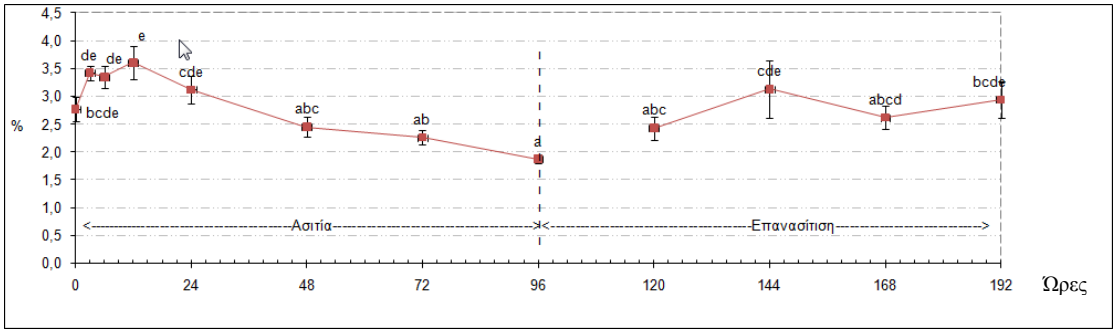
# Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.

- Οι μικρές αλλά στατιστικά σημαντικές επιδράσεις στους σωματομετρικούς δείκτες της τσιπούρας και κυρίως η επίδραση στο συντελεστή ευρωστίας (CF), υποδηλώνουν μικρότερη ανοχή της τσιπούρας στην ασιτία σε σχέση με αυτήν του λαβρακιού. Όσον αφόρα τις μορφολογικές προσαρμογές του πεπτικού ιστού διαφαίνεται μια μικρότερη ετοιμότητα της τσιπούρας σε σχέση με το λαβράκι (διαγράμματα 10-11 & Πίνακες 4-5).
- Διαφορές στην ενζυμική πέψη υπάρχουν και στους δυο ιχθύες. Όσον αφορά στις πρωτεάσες, η ποσοστιαία αναλογία της πεπτικής ικανότητας του εντέρου στην συνολική πεπτική ικανότητα των πρωτεασών είναι μεγαλύτερη στην τσιπούρα σε σχέση με το λαβράκι. Στο λαβράκι το μεγαλύτερο ποσοστό πεπτικής ικανότητας των πρωτεϊνών έχει ο στόμαχος. Ακόμη, στις καρβοϋδράσες στην τσιπούρα έχουμε πολύ μεγαλύτερες τιμές πεπτικής ικανότητας αλλά μικρότερη ικανότητα διατήρησής τους σε καταστάσεις ασιτίας.
- Στο λαβράκι, σε κατάσταση ασιτίας η πεπτική ικανότητα δεν φαίνεται να επηρεάζεται τόσο όσο της τσιπούρας. Στις τσιπούρες υπάρχουν στατιστικά σημαντικές μεταβολές της πεπτικής ικανότητας σε περισσότερους ιστούς από ότι στο λαβράκι και μη πλήρης επαναφορά στα προ της έναρξης της ασιτίας επίπεδα. Γενικά, συνεκτιμώντας και τα μορφολογικά δεδομένα του πεπτικού σωλήνα, η τσιπούρα δείχνει να διαφοροποιείται από το λαβράκι στην ανοχή της ασιτίας.
- Από την αύξηση της ποσοστιαίας συμμετοχής της πεπτικής ικανότητας των πυλωρικών τυφλών στην συνολική πεπτική ικανότητα (πρωτεάσες, καρβοϋδράσες και στους 2 ιχθύες), προκύπτει ότι σε καταστάσεις ασιτίας και επανασίτισης τα πυλωρικά τυφλά έχουν ιδιαίτερο και αυξανόμενο ρόλο.
- Είναι πολύ πιθανό, επαναλαμβανόμενα διαστήματα ασιτίας και επανασίτισης να έχουν θετική επίδραση στην ενεργότητα των ενζύμων και στη μετατρεψιμότητα της τροφής. Πάντα σε συνάρτηση με το είδος της τροφής και με δεδομένες συνθήκες.
- Κατά την επανασίτιση μετά από ασιτία, οι οργανισμοί των ιχθύων είναι ικανότεροι να αξιοποιήσουν την πρωτεΐνη, ενώ αντίθετα για την διατήρηση της ενεργότητας των καρβοϋδρασών σε υψηλά επίπεδα, χρειάζεται συνεχή παρουσία υποστρώματος. Έτσι, ένα υψιπρωτεϊνικό σιτηρέσιο προσαρμογής μετά από καταστάσεις ασιτίας θα συντελούσε στην καλύτερη αξιοποίηση των πεπτικών δυνατοτήτων των ιχθύων με μικρότερη ανοχή στην ασιτία, όπως η τσιπούρα.

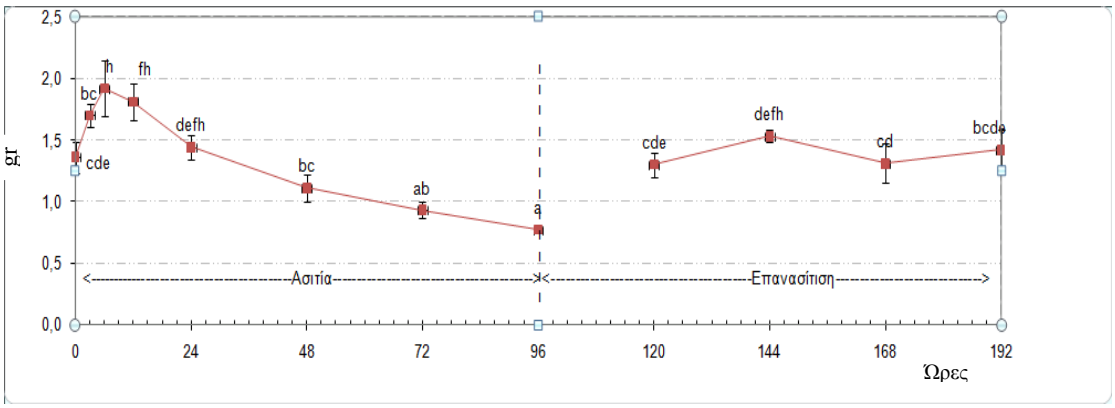
# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ



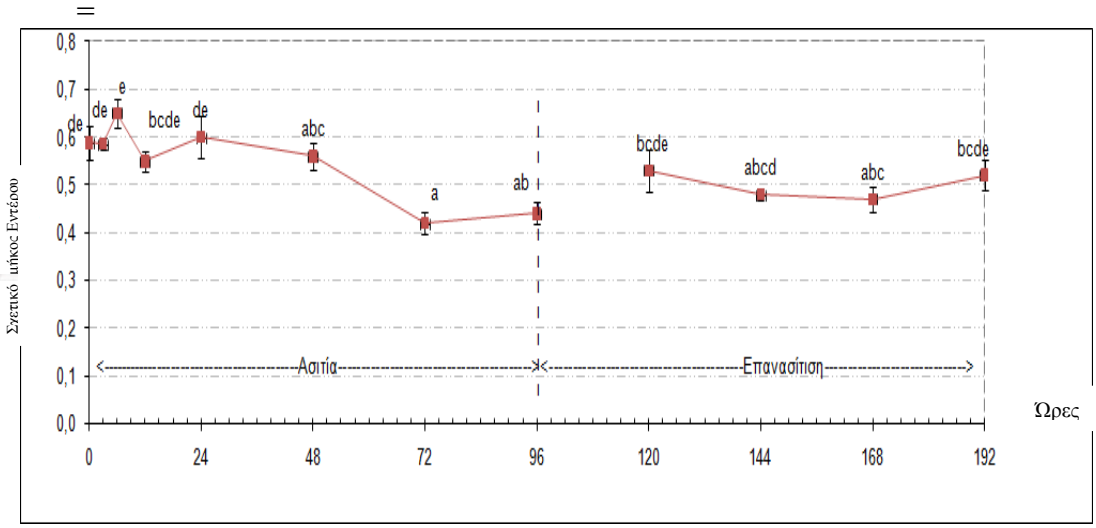

**Διάγραμμα 3.** Σχετικό βάρος πεπτικού σωλήνα λαβρακιού.



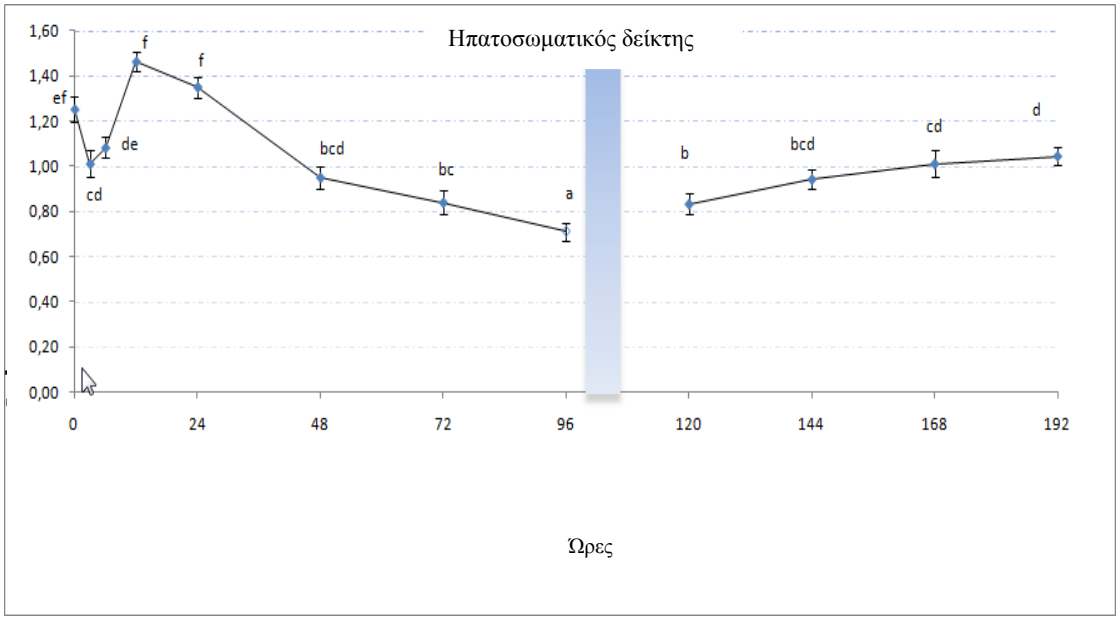

**Διάγραμμα 4.** Σχετικό βάρος πεπτικού ιστού λαβρακιού.



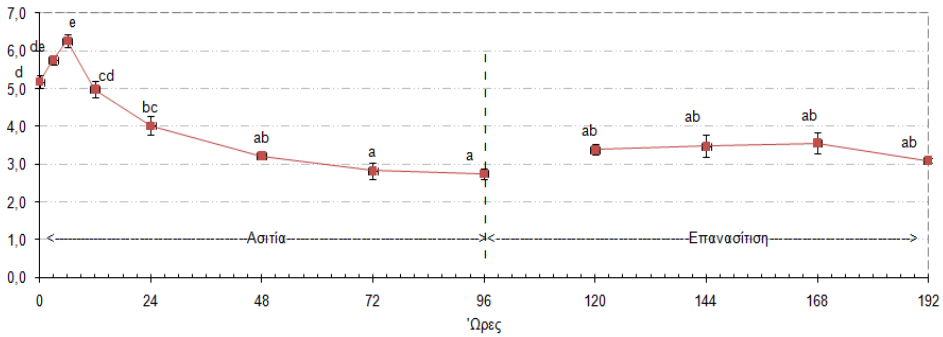

**Διάγραμμα 5.** Σχετικό βάρος εντέρου λαβρακιού/ώρα.



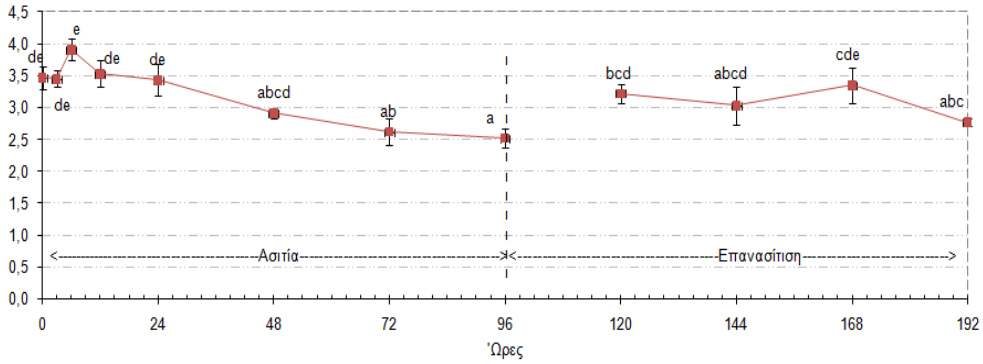

**Διάγραμμα 6.** Σχετικό μήκος εντέρου λαβρακιού/ώρα.



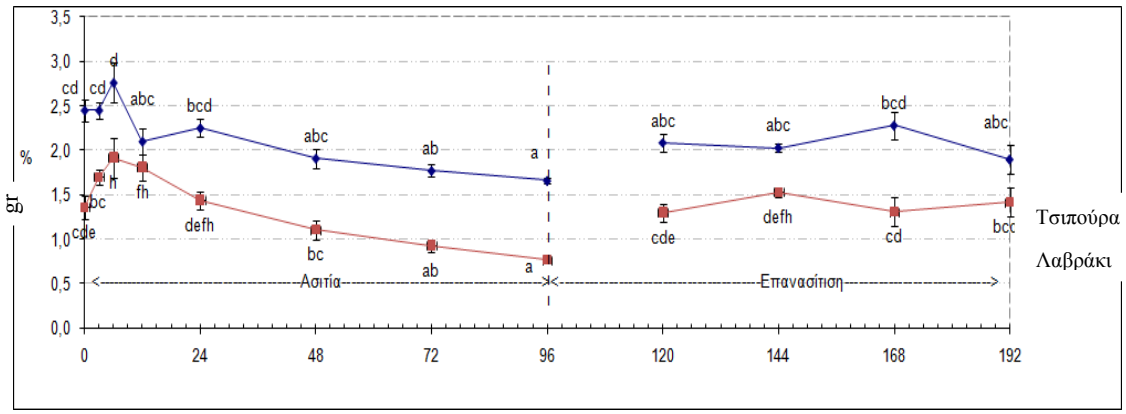

**Διάγραμμα 7.** Ασιτία - Επανασίτιση-Μεταβολές του ηπατοσωματικού δείκτη στην Τσιπούρα.




**Διάγραμμα 8.** Σχετικό βάρος πεπτικού σωλήνα της τσιπούρας (μαζί με περιεχόμενα)



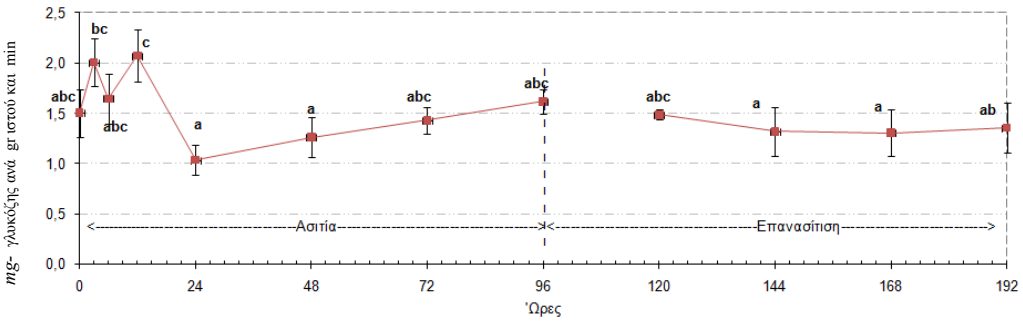

**Διάγραμμα 9.** Σχετικό βάρος πεπτικού συστήματος τσιπούρας χωρίς τροφή.



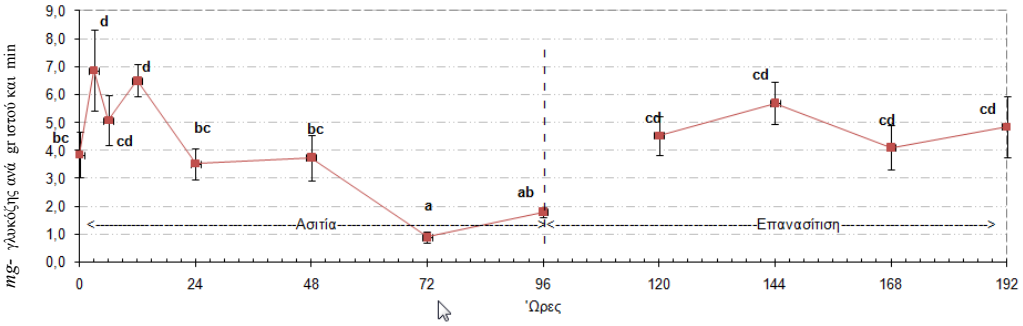

**Διάγραμμα 10.** Σχ. Βάρος εντέρου/ ώρα ( τσιπούρα και λαβράκι) .



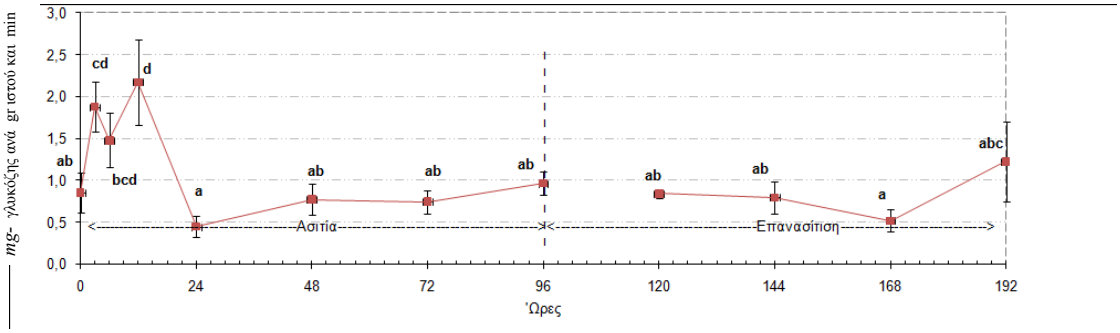
Ώρες



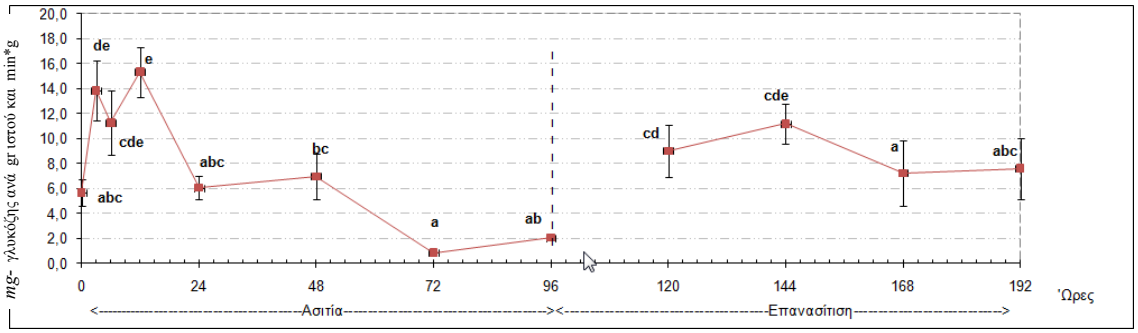

**Διάγραμμα 12.** Ενεργότητα καρβοϋδρασών στο πυλωρικά τυφλά του λαβρακιού.



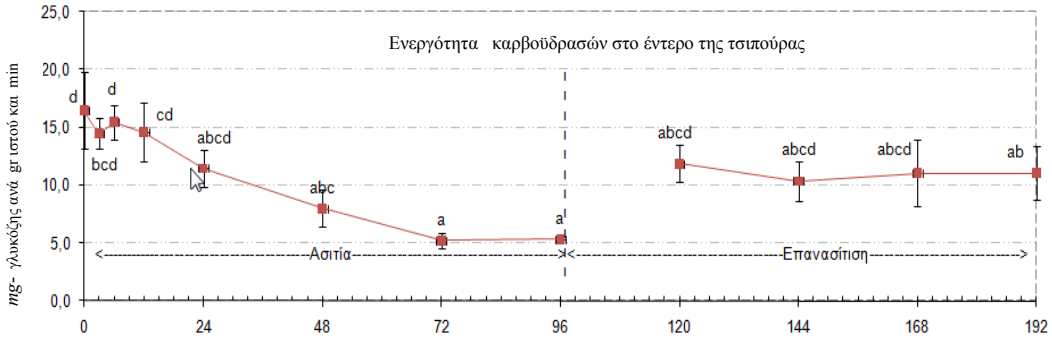

**Διάγραμμα 13.** Ενεργότητα καρβοϋδρασών στο έντερο του λαβρακιού.



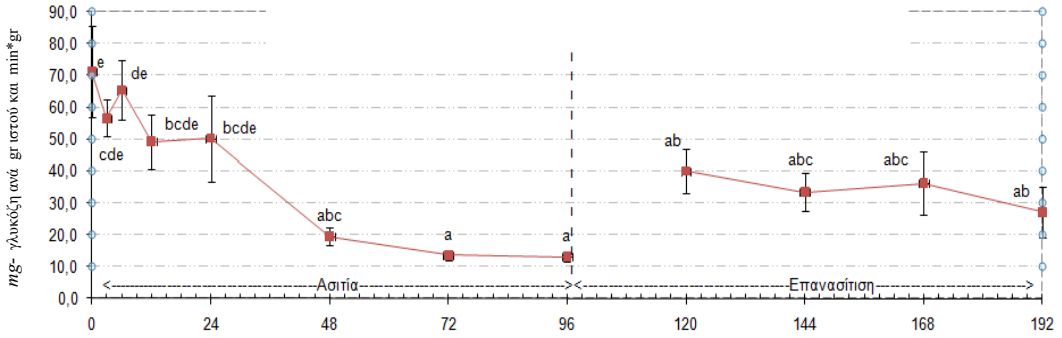

**Διάγραμμα 14.** Πεπτική ικανότητα καρβοϋδρασών στα πυλωρικά τυφλά του λαβρακιού.



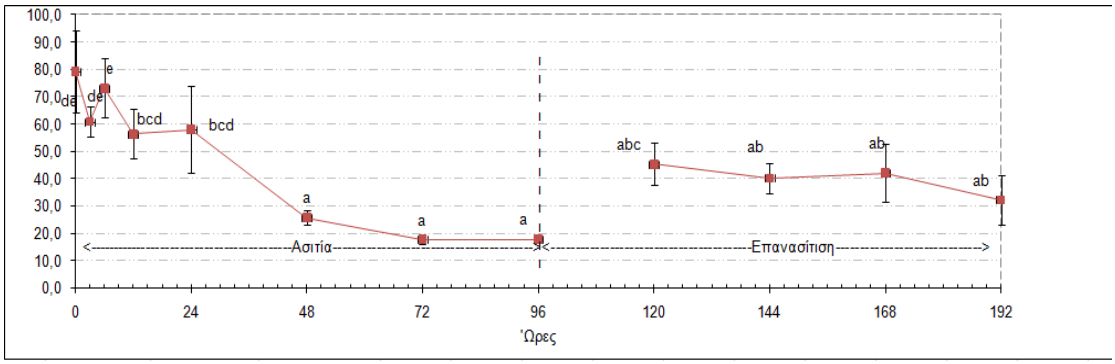

**Διάγραμμα 15.** Πεπτική ικανότητα καρβοϋδρασών στο έντερο του λαβρακιού



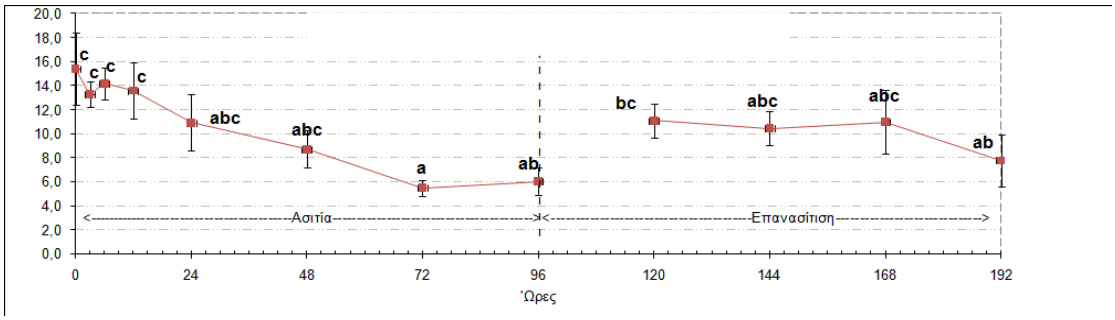

**Διάγραμμα 16.** Ενεργότητα καρβοϋδρασών του εντέρου τσιπούρας.



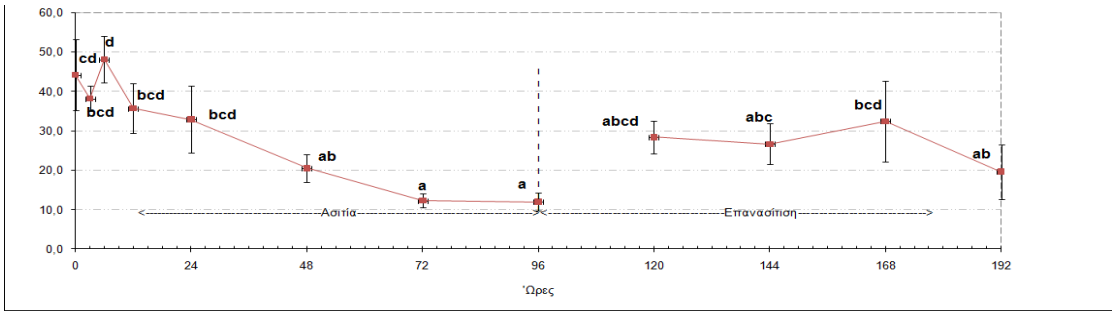

**Διάγραμμα 17.** Πεπτική Ικανότητα καρβοϋδρασών του εντέρου τσιπούρας



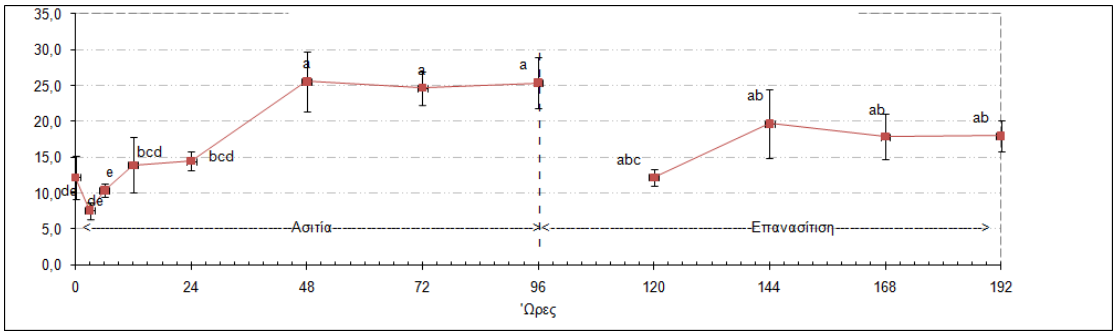

**Διάγραμμα 18.** Ολική Πεπτική Ικανότητα καρβοϋδρασών του εντέρου της τσιπούρας.



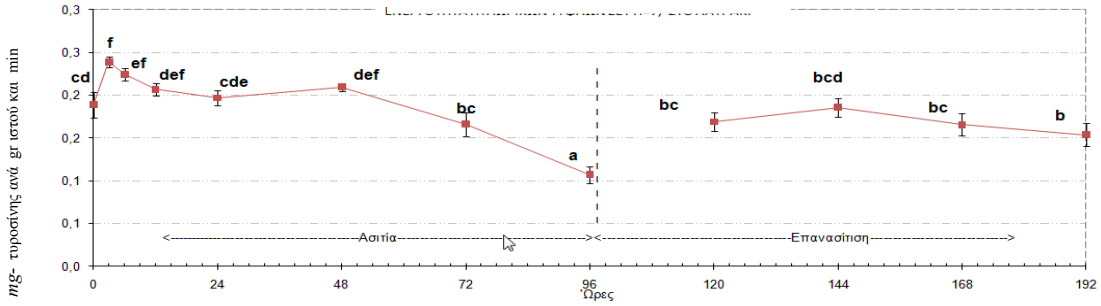

**Διάγραμμα 19.** Ολική ενεργότητα καρβοϋδρασών του εντέρου Τσιπούρας.



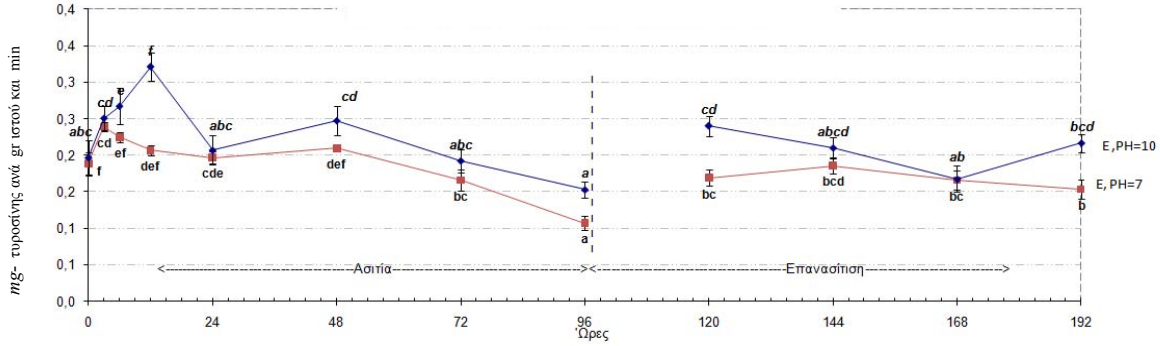

**Διάγραμμα 20.** Σχετική Ολική Πεπτική Ικανότητα καρβοϋδρασών Τσιπούρας.



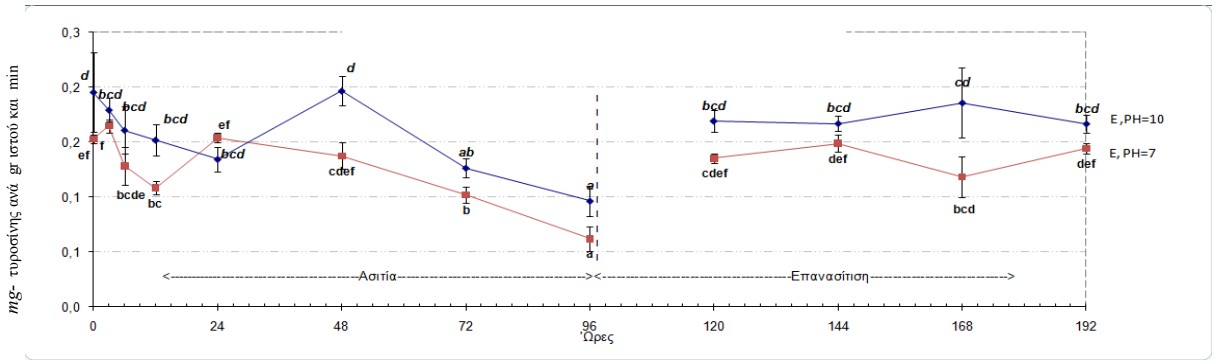

**Διάγραμμα 21.** Ποσοστό της Π.Ι πυλωρικών τυφλών στην ολική Πεπτική Ικανότητα.



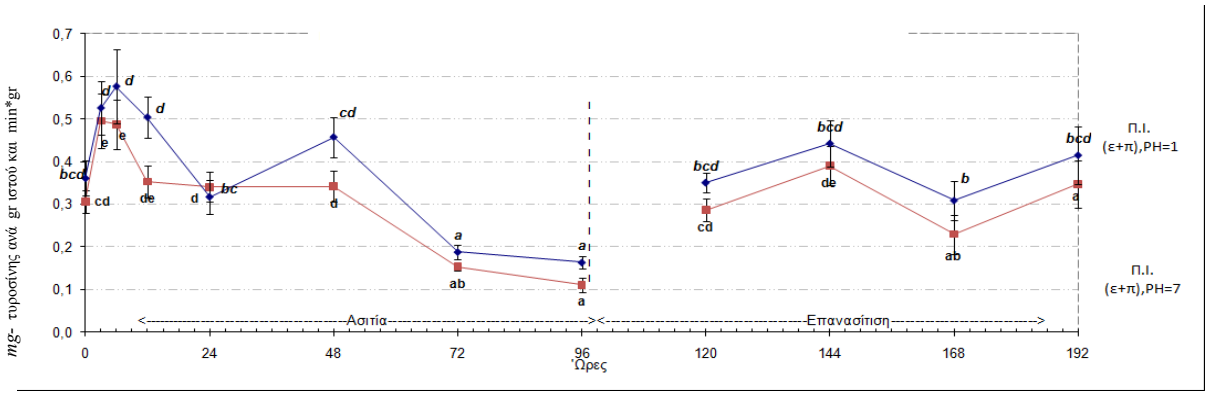

**Διάγραμμα 22.** Ενεργότητα πρωτεασών πυλωρικών τυφλών σε pH=7.



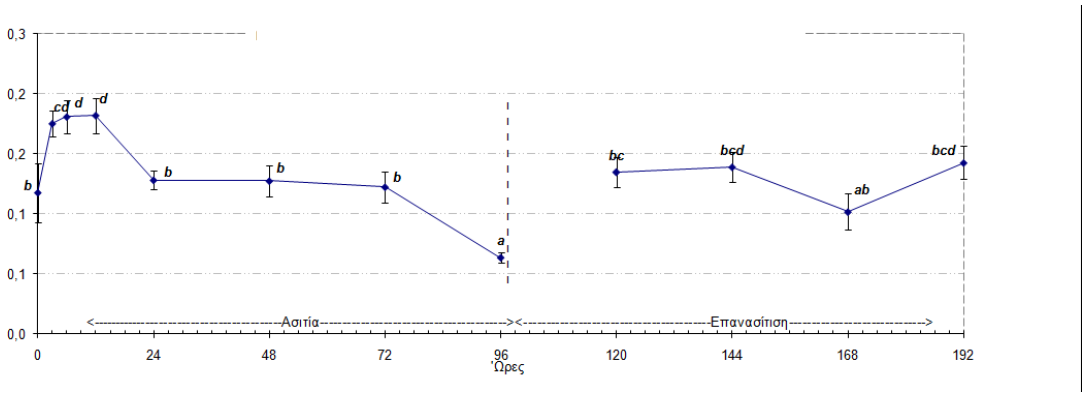

**Διάγραμμα 23.** Ενεργότητα πυλωρικών τυφλών σε pH=7 και σε pH=10 στο Λαβράκι



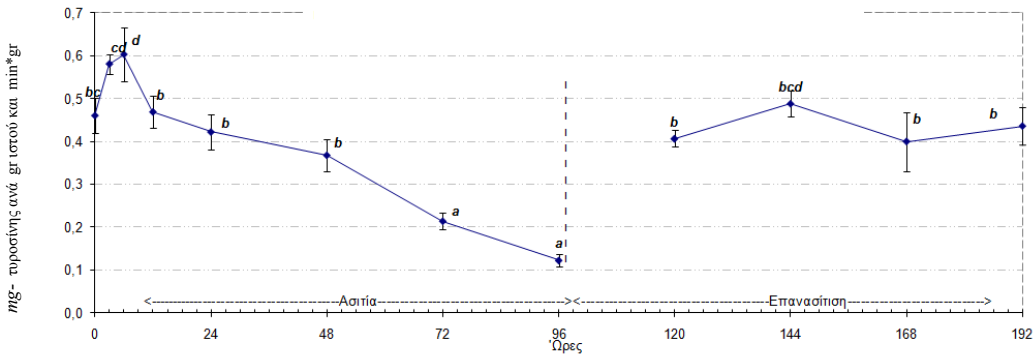

**Διάγραμμα 24**. Ενεργότητα εντέρου σε pH=7 και σε pH=10 στο Λαβράκι.



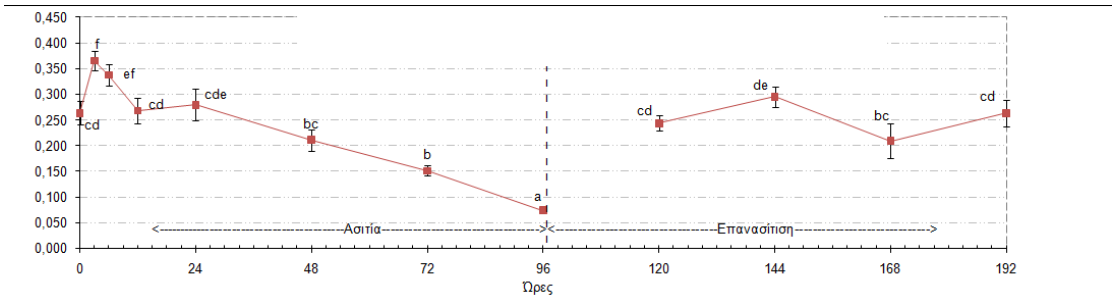

**Διάγραμμα 25.** Πεπτικές ικανότητες εντέρου και πυλωρικών τυφλών σε pH=7 και σε pH=10 στο Λαβράκι.



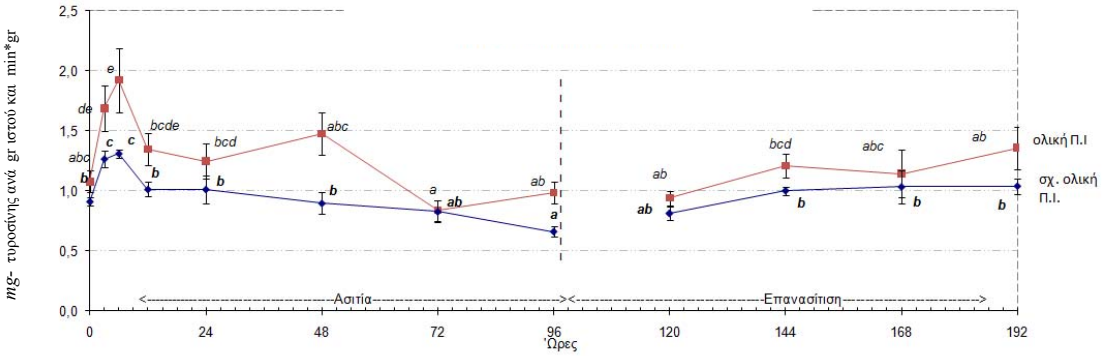

**Διάγραμμα 26.** Πεπτική ικανότητα πυλωρικών τυφλών σε pH=7 + pH=10 στο λαβράκι.



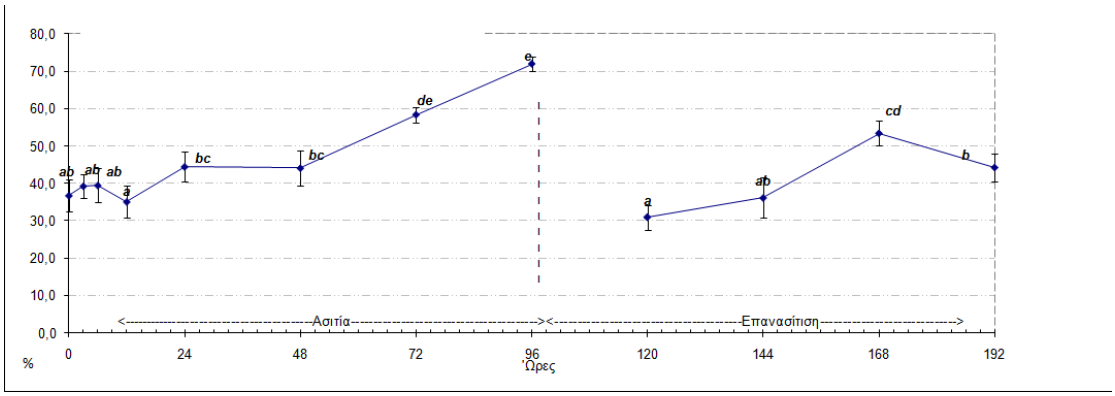

**Διάγραμμα 27.** Πεπτικές ικανότητες εντέρου και πυλωρικών τυφλών σε pH=7 και σε pH=10 στο Λαβράκι.



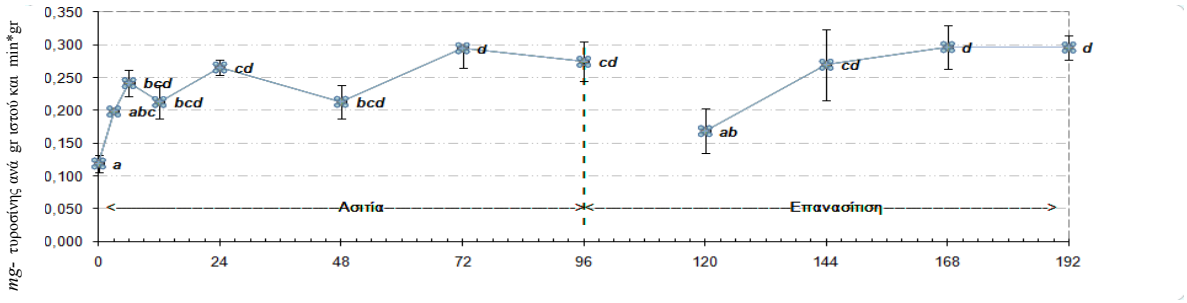

**Διάγραμμα 28.** Άθροισμα πεπτικής ικανότητας εντέρου + πυλωρικών τυφλών του Λαβρακίου στο pH=7.



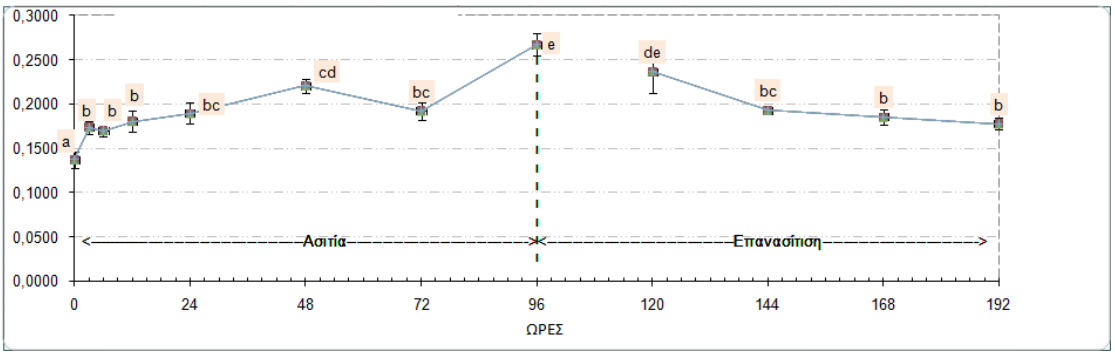

**Διάγραμμα 29**. Ολική και σχετική ολική πεπτική ικανότητα πρωτεασών στο λαβράκι.



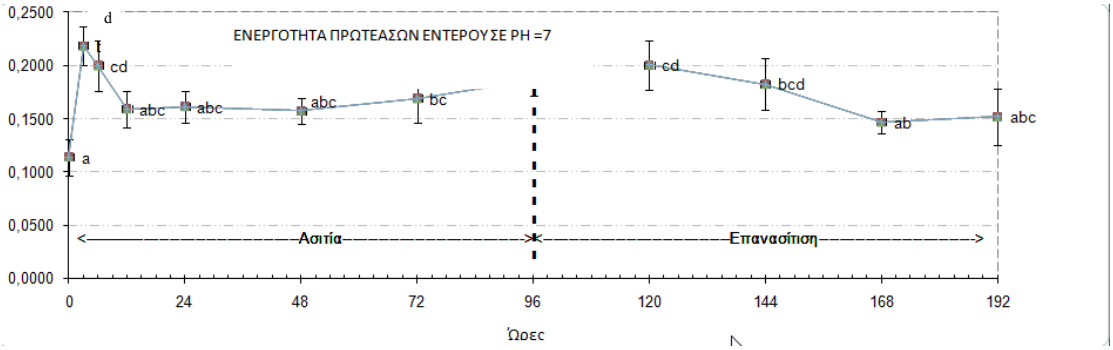

**Διάγραμμα 30**. Ποσοστό Πεπτικής Ικανότητας πρωτεασών στο στομάχι σε σχέση με την ολική πεπτική ικανότητα.



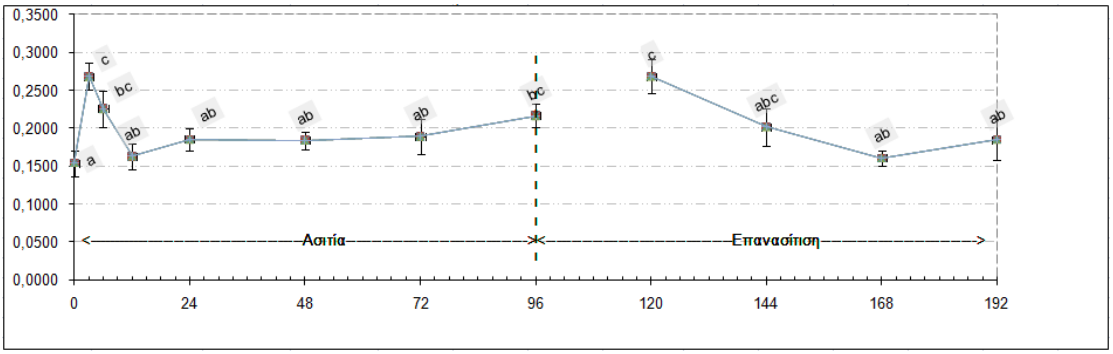

**Διάγραμμα 31**. Ενεργότητα πρωτεασών στομάχου στην τσιπούρα.



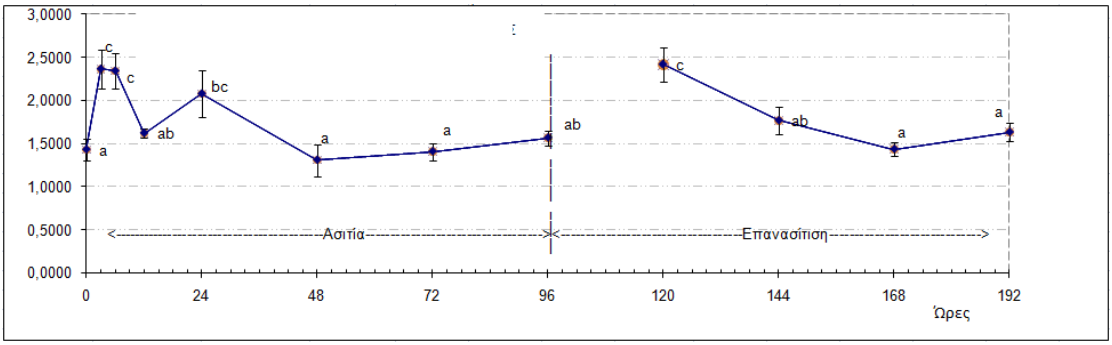

**Διάγραμμα 32.** Ενεργότητα πρωτεασών πυλωρικών τυφλών (pH =7) στην τσιπούρα.




**Διάγραμμα 33.** Ενεργότητα πρωτεασών εντέρου (pH=7) στην τσιπούρα.

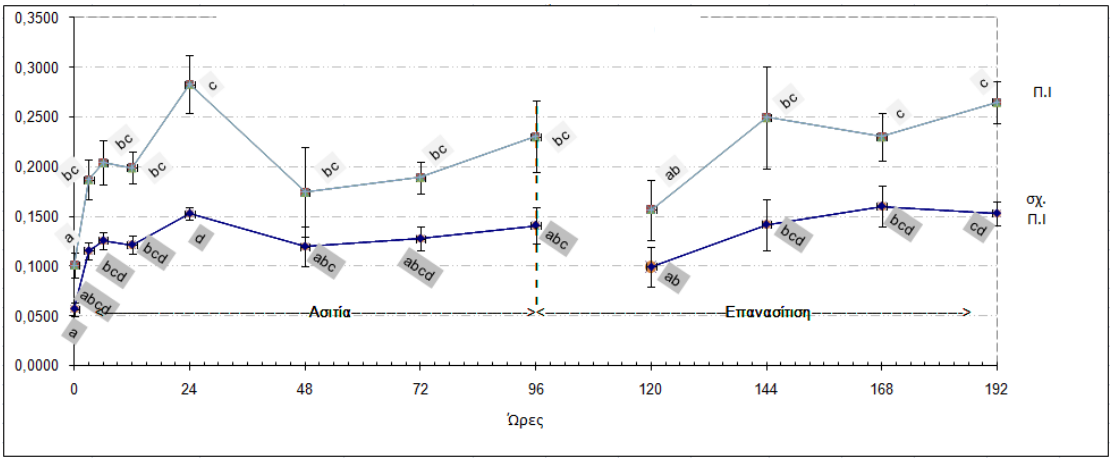



**Διάγραμμα 34.** Ενεργότητα πρωτεασών εντέρου (pH=10), στην τσιπούρα.

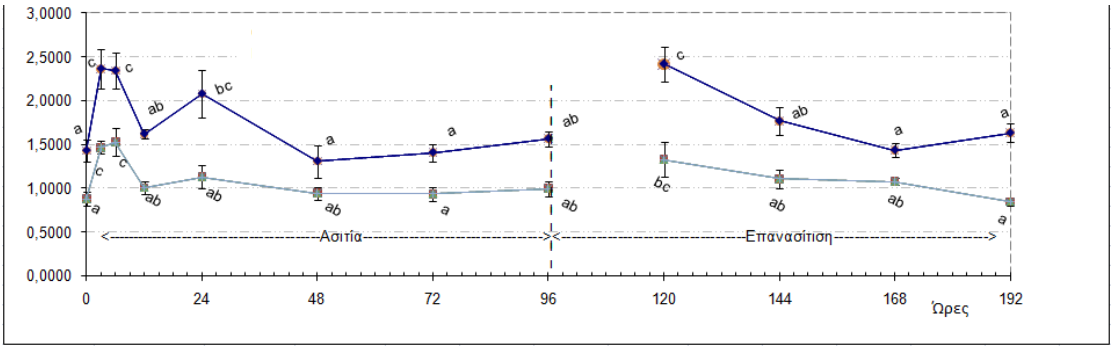



**Διάγραμμα 35.** Ολική πεπτική ικανότητα πρωτεασών στην τσιπούρα.

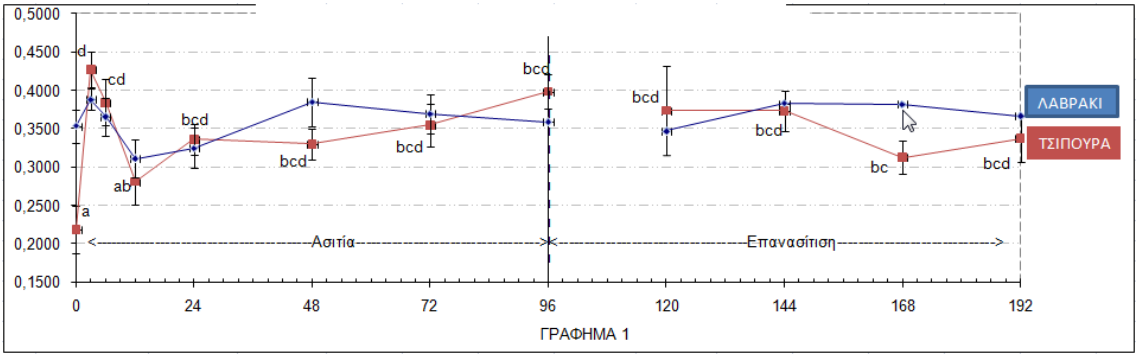
Στο διάγραμμα 35 θα πρέπει να σημειωθεί η διατήρηση της πεπτικής ικανότητας πρωτεασών μετά από 4 ημέρες ασιτίας.



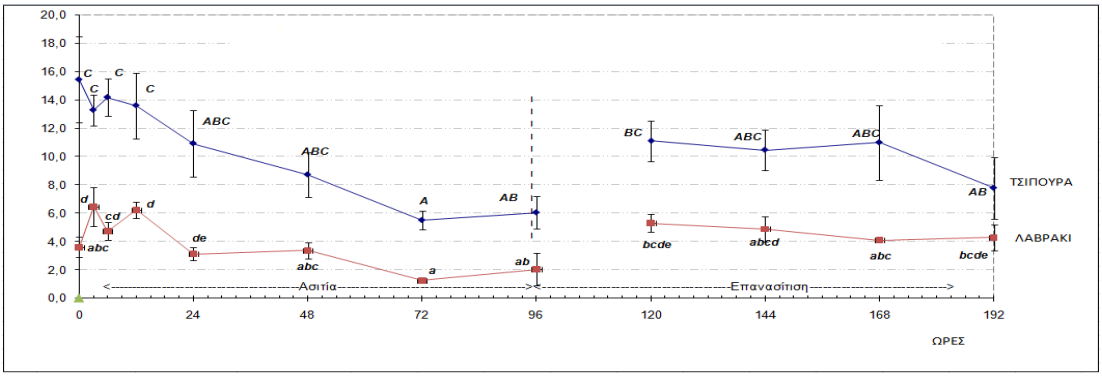

**Διάγραμμα 36.** Πεπτική ικανότητα πρωτεασών Στομάχου & Σχετική τιμή της στην τσιπούρα.



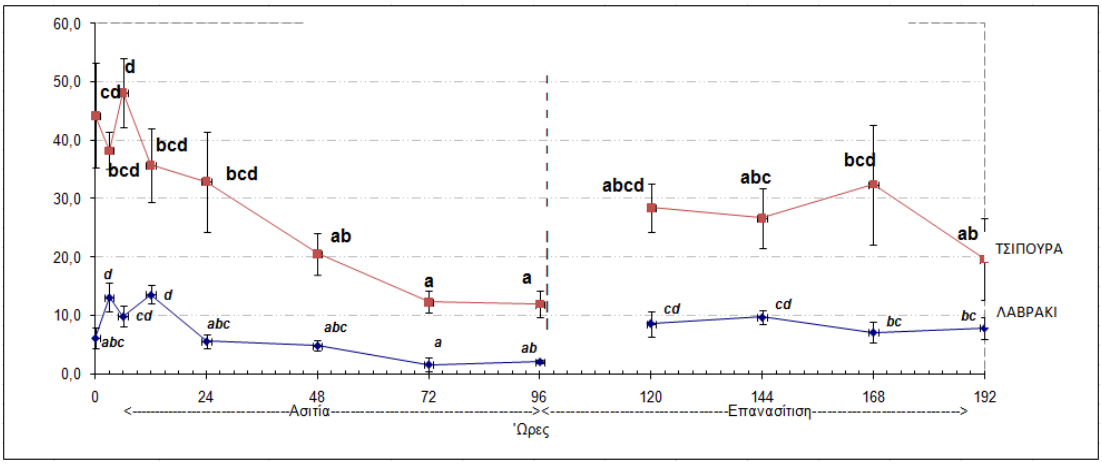

**Διάγραμμα 37.** Ολική πεπτική ικανότητα πρωτεασών & Σχετική τιμή της στην τσιπούρα.



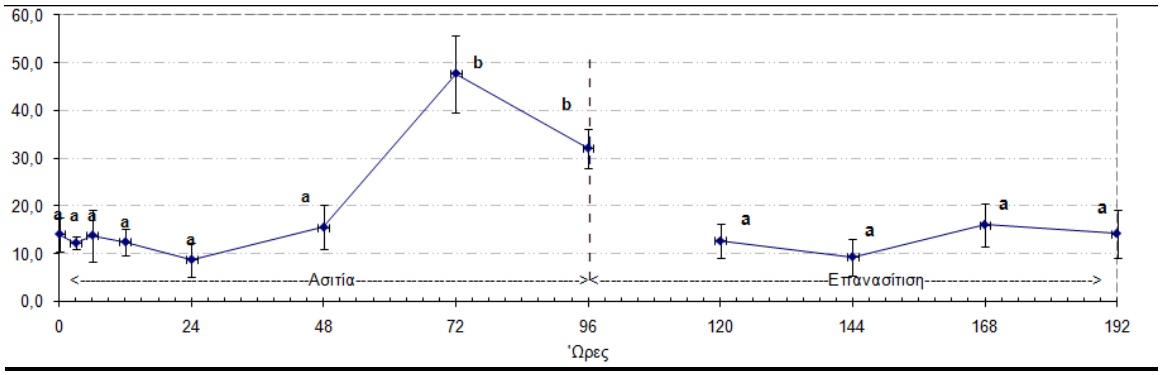

**Διάγραμμα 38.** Ολική Ενεργότητα Πρωτεασών τσιπούρας και λαβρακιού.



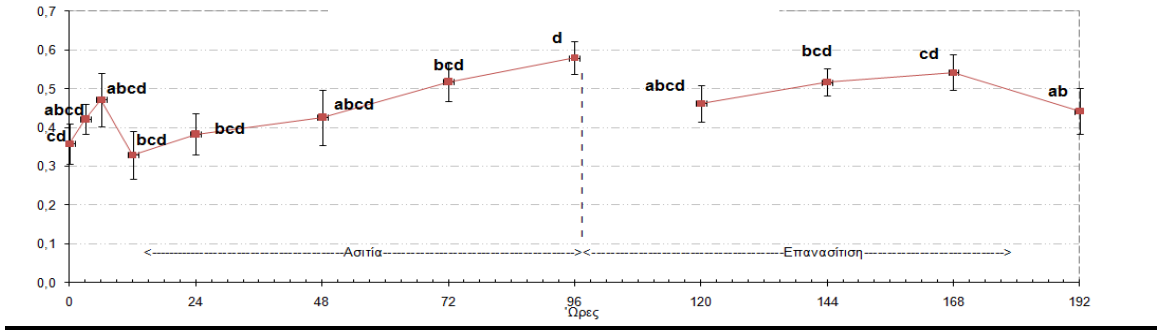

**Διάγραμμα 39.** Ολική Ενεργότητα Καρβοϋδρασών.




**Διάγραμμα 40.** Σχετική Ολική Πεπτική Ικανότητα Καρβοϋδρασών στην τσιπούρα και το λαβράκι.




**Διάγραμμα 41.** Διαχρονική μεταβολή του ποσοστού της Πεπτική ικανότητας των καρβοϋδρασών των πυλωρικών τυφλών του λαβρακιού.




**Διάγραμμα 42.** Διαχρονική μεταβολή της ενεργότητας της πεψίνης στον στόμαχο του λαβρακιού.

# Ζ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ


Παπουτσόγλου Σ.(1997),. Μαθήματα Εφηρμοσμένης Υδροβιολογίας Ειδικό μέρος: Εκτροφή Υδροβίων Οργανισμών. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών: 90-97.

Παπουτσόγλου Σ. (2008) .Διατροφή Ιχθύων. Αθήνα, Εκδόσεις Αθάν. Σταμούλης :151-187 & 213-232.

Abdel-Tawwab, M., Khattab, Y., Ahmad M. and Shalaby A.(2006) 'Compensatory Growth, Feed Utilization, Whole-Body Composition, and Hematological Changes in Starved Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.)',Journal of Applied Aquaculture,18:3,:17 – 36.

Arranda A., Sanchez-Vazquez, Madrid J.A.,(2001), 'Effect of short term fasting on Macronutrient self selection in sea bass' Physiology and Behavior, 73, (2001): 105-109.

Belanger F., Blier P.U. and Dutil J.-D, 2002, " Digestive capacity and compensatory growth in Atlantic Cod ( *Gadus morhua* ), Fish Physiology and Biochemistry 26: 2002 :121-128.

Blier P.U, Dutil J.-D, Lemieux H. Belanger F. and Biterera L. (2007), ' Phenotypic flexibility of digestive system in Atlantic cod (*Gadus morhua*) Comparative Biochemistry Physiology, Part A 146 :174- 179.

Blier, P.U., Lemieux, H., Devlin, R.H. (2002) "Is the growth rate of fish set by digestive enzymes or metabolic capacity of tissues? Insight from transgenic coho salmon" Aquaculture 209: 379-384.

Bolasina S., Perez A., Yamashita Yoh., (2006), 'Digestive enzymes activity during ontogenetic development and effect of starvation in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus'* , Aquaculture: 252:503-515.

Chan C., Lee D., Cheng Y, Dennis J. and Weng C, (2008), 'Feed Deprivation and Re-feeding on Alterations of Proteases in Tilapia *Oreochromis mossambicus'* Zoological Studies 47(2): 207-214.

Clark, J., McDonald, N.L., Stark, J.R., (1985). Metabolism in marine flatfish: II. Protein digestion in dover sole_*Solea solea L* Comparative Biochemistry Physiology B Biochemistry Molecular Biology. 81,: 217–222.

Einarsson Sigfús, P. Spenser Davies and Clive Talbot,1996, " The effect of feeding on the secretion of pepsin, trypsin and chymotrypsin in the Atlantic salmon, *Salmo salar L*"- Fish Physiology and Biochemistry vol. 15 no. 5:439-446.

Eroldoğan O., Süzer C., Oğuz T., Tabakoğlu S., (2008) 'The Effects of Rate-restricted feeding Regimes in Cycles on Digestive Enzymes of Gilthead Sea-bream, *Sparus aurata*' Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 8: 49-54.

Foss A., Imsland A., Vikingstad E., Stefansson S., Norberg B., Pedersen S., Sandvik T., and Roth B., (2009),'Compensatory growth in Atlantic halibut: Effect of starvation and subsequent feeding on growth, maturation, feed utilization and flesh quality', Aquaculture Volume 290, Issues 3-4, 19 May 2009, : 304-310.

Furne M., Garcia-Gallego M. Carmen Hildago M., Morales A., Domezain A., Domezain J., Sans A., (2008), "Effect of strarvation and refeeding on digestive enzyme activities in sturgeon ( *Acipenser nacarii*) and (*Oncorynchus mykiss*)", 2008, Comparative Biochemistry Physiology Part A 149:420-425.

Gildberg A., (2004), "Digestive enzyme in strarved pre-slaugther farmed and wild-captured, Atlantic cod (*Gadus morhua*)"- Aquaculture 238: 343-353.

Hidalgo M.C, Urea E., Sanz A. (1999), 'Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities' Aquaculture 170: 267–283.

Kohla U., Saint-Paul U., Friebe J., Hilge V.,Braum E., Gropp J., (1992), 'Growth digestive enzymes activities and hepatic glycogen levels in juvenile *Colossoma macropomum* Cuvier from South Africa during feeding starvation and refeeding'., (1992), Aquaculture and fisheries management, 23:189-208.

Krogdahl A., Bakke-McKellep A., (2005), "Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon

(*Salmo salar L.*)",2005,Comparative Biochemistry and Physiology, 2005,Part A 141:450 – 460.

Kunitz, M., (1947). Crystalline soybean trypsin inhibitor: II. General properties. Journal General Physiology 30, 291–310.

Kuz'mina V.V.,(1996), "Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts"- Aquaculture 148(1996) 25-37.

Lemieux H., Blier P., Dutil J.-D, (1999), "Do digestive enzymes set a physiological limit on the growth rate and food convertion efficiency in the Atlantic cod ( *Gadus morhua* )?", Fish Biology and Biochemistry 20:293-303.

Mommsen TP, Osachoff HL, Elliott ME. (2003). Metabolic zonation in teleost gastrointestinal tract. Effects of fasting and cortisol in tilapia. Journal Comparative Physiology ,2003 B 173: 409-418.

Munilla-Moran R. and Stark J.R., (1990), "Metabolism in marine flatfish-VI. Effect of nutritional state on digestion in turbot, *Scophalmus maximus* L."- Comparative Biochemistry and Physiology. Vol95B, No3, (1990): 625-634.

Munilla-Moran R. and Saborido-Rey F., (1996), "Digestive Enzymes in Marine Species. II. Amylase Activities in Gut from Seabream (*Sparus aurata*), Turbot ( *Scophtalmus maximus*) and Redfish (*Sebastes mentela*)"- Comparative Biochemistry and Physiology, Vol13B, No4, (1996) :827-834.

Murashita K., Kubota S., Yumi P., Kofuji M., Hosokawa H & Masumoto T., (2005), 'Trypsin restoration time in the pyloric ceca of yellowtail *Seriola quinqueradiata*' Fisheries Science, 71: 1274–1279.

Navarro I, J Gutiérrez. 1995. Fasting and starvation. In PW Hochachka, TP Mommsen, eds. Biochemistry and molecular biology of fishes. Amsterdam: Elsevier, :. 393-434.

Nikkia J., Pirhonena J, Jobling M. Karjalainena J., (2004) 'Compensatory growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), held individually' Aquaculture 235:285–296.

Papoutsoglou E.S. , Lyndon A.R., (2005), "In vitro comparison of hydrolysis of different cereal starches along the digestive tract of teleosts important for aquaculture", 2005, European Aquaculture Society (EAS), special publication 35:358-359.

Papoutsoglou E.S. , Lyndon A.R.,(2006) 'Digestive proteases and carbohydrases along the alimentary tract of the stargazer, *Uranoscopus scaber* Linnaeus, 1758', Mediterranean Marine Science Volume 7/1, 2006,: 5-14.

Papoutsoglou E.S. , Lyndon A.R., (2006) 'Digestive enzymes of *Anarhichas minor* and the effect of diet composition on their performance' Journal of Fish Biology 69,: 446–460.

Perez-Jimenez A., Guedes J. M., Olivia-Teles A.,2007 , "Metabolic responces to short starvation and refeeding in *Dichentrarchus labrax*. Effect of dietary composition"-Aquaculture 265 (2007) :325-335.

Power D. M., Melo J., Santos C.,2000, 'The effect of food deprivation and refeeding on the liver, thyroid hormones and transthyretin in sea bream' Journal of Fish Biology , 56, :374–387.

Quinton, J.C., Blake, R.W., (1990). 'The effect of feed cycling and ration level on the compensatory growth response in rainbow trout Oncorhynchus mykiss.

Journal of Fish Biology. 37, :33– 41

Robyt, J.F., and Whelan, W.J.,(1968). 'Amylases and their actions on starch', Chapter 14 in: Starch and Its Derivates 4th ed J.A. Radley, editions Chapman & Hall Ltd., London

Rueda F.M., Martinez F.J., Zamera S., Kentouri M., Divanach P., (1998), "Effect of Fasting and Refeeding on growth and body composition of Red Porgy, (*Pagrus pagrus* L.), Aquaculture Research, 29, :447-452.

Rungruangsak-Torrissen K., R. Moss, L. H. Andresen, A. Berg, and R. Waag, (2006),"Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth

in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*),” Fish Physiology and Biochemistry, (2006) vol. 32, no. 1, :7–23.

Soengas J.L.,. Strong E.F,. Fuentes J,. Veira J. and Andros M.D. (1996) ‘Food deprivation and refeeding in Atlantic salmon, *Salmo salar*: effects on brain and liver carbohydrate and ketone bodies metabolism’ Fish Physiology and Biochemistry vol. 15 no. 6,:491-511.

Suzer C., Aktulun S., Coban D. Okan Kamaci H., Saka S., Firat K. Albaz A.,(2007). ‘Digestive enzyme activities in larvae of sharpsnout seabream (Diplodus puntazzo)’.Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 148: 470-477

Terova G., Rimoldi S., Chini V., Gornati R., Bernardini G. and Saroglia M., (2007),‘Cloning and expression analysis of insulin-like growth factor I and II in liver and muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) during long-term fasting and refeeding’ Journal of Fish Biology (2007) 70 (Supplement B),:219–233.

Terova, G., Rimoldi, S., Larghi, S., Bernardini, G., Gornati, R., Saroglia, M. (2007) Regulation of progastricsin mRNA levels in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in response to fluctuations in food availability. Biochemical and biophysical research communications. Vol. 363, Issue 3, :591-596.

Uys W., T. Hecht, M. Walters 1987. Changes in digestive enzyme activities of *Clarias gariepinus* (Pisces: Clariidae) after feeding. *Aquaculture* 63:243-251).

Van Dijk P.L.M. Staaks · G Hardewig. · I. (2002)‘The effect of fasting and refeeding on temperature preference, activity and growth of roach, *Rutilus rutilus*’ Oecologia (2002) 130:496–504.

Walter, H.E., (1984). Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer,H.U._Ed.., Methods of Enzymatic Analysis, Vol. V. Verlag Chemie, Weinheim, : 270–277.

Woo N., Kelly S. (1995),‘Effects of salinity and nutritional status on growth and metabolismn of *Sparus sarba* in a closed sea water system’ Aquaculture 135:229-238

Zhang X. , Wu T, Cai L. Zhu Y. 2007 ‘ Influence of fasting on muscle composition and antioxidant defenses of market-size *Sparus macrocephalus’* Journal of Zhejiang University SCIENCE B ISSN 1673-1581(Print) Vol. 8 No. 12 : 906-911.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS FAO-Fisheries and Aquaculture Department http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_greece/en.

FAO (2002). "Fisheries Statistics." (www.fishbase.org).

FAO (2005). Review of the state of world marine fishery resources. Rome, FAO Fisheries : 235.

FAO (2006). State of world aquaculture 2006. Rome, FAO Fisheries: Technical Paper. No.500 :134:, http://www.fao.org/docrep/009/a0874e/a0874e00.htm.

FAO (2007). Fishery Statistical Collections. . Rome, Fishery Information Data and Statistics Unit (FIDI) - FIGIS Data Collection. FAO.

http://www.minagric.gr/greek/alieia/statistika.htm).