

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΥΠΟΔΟΜΩΝ ΚΑΙ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΦΗΡΜΟΣΜΕΝΗΣ ΥΔΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΜΕΡΙΚΗ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΙΧΘΥΕΛΑΙΟΥ ΑΛΙΕΙΑΣ
ΣΕ ΤΡΟΦΕΣ ΓΙΑ ΛΑΒΡΑΚΙ (*DICENTRARCHUS
LABRAX*) ΑΠΟ ΙΧΘΥΕΛΑΙΟ ΥΠΟΠΡΟΙΟΝΤΩΝ
ΣΟΛΟΜΟΥ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΕΛΑΙΟ
ΕΛΑΙΟΚΡΑΜΒΗΣ: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ
ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΣΩΜΑΤΟΣ, ΣΕ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΕΡΟΤΟΝΙΝΕΡΓΙΚΗ ΚΑΙ
ΝΤΟΠΑΜΙΝΕΡΓΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΚΝΣ**

ΕΡΑΤΩ Ν. ΖΩΓΟΠΟΥΛΟΥ

**Επιβλέπων Καθηγητής:
Μήλιου Ελένη, Αν. Καθηγήτρια ΓΠΑ**

Αθήνα, Νοέμβριος 2014

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΥΠΟΔΟΜΩΝ ΚΑΙ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΦΗΡΜΟΣΜΕΝΗΣ ΥΔΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΜΕΡΙΚΗ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΙΧΘΥΕΛΑΙΟΥ ΑΛΙΕΙΑΣ
ΣΕ ΤΡΟΦΕΣ ΓΙΑ ΛΑΒΡΑΚΙ (*DICENTRARCHUS
LABRAX*) ΑΠΟ ΙΧΘΥΕΛΑΙΟ ΥΠΟΠΡΟΙΟΝΤΩΝ
ΣΟΛΟΜΟΥ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΕΛΑΙΟ
ΕΛΑΙΟΚΡΑΜΒΗΣ: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ
ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΣΩΜΑΤΟΣ, ΣΕ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΕΡΟΤΟΝΙΝΕΡΓΙΚΗ ΚΑΙ
ΝΤΟΠΑΜΙΝΕΡΓΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΚΝΣ**

ΕΡΑΤΩ Ν. ΖΩΓΟΠΟΥΛΟΥ

Εξεταστική Επιτροπή :

**Ε. Μήλιου, Αν. Καθηγήτρια (Επ. Υπεύθυνη)
Ε. Τσιπλάκου, Επίκ. Καθηγήτρια
Χ. Δάλλα, Επίκ. Καθηγήτρια**

Αθήνα, Νοέμβριος 2014

ΜΕΡΙΚΗ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΙΧΘΥΕΛΑΙΟΥ ΑΛΙΕΙΑΣ ΣΕ ΤΡΟΦΕΣ
ΓΙΑ ΛΑΒΡΑΚΙ (*DICENTRARCHUS LABRAX* L.) ΑΠΟ ΙΧΘΥΕΛΑΙΟ
ΥΠΟΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΣΟΛΟΜΟΥ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΕΛΑΙΟ
ΕΛΑΙΟΚΡΑΜΒΗΣ: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ
ΣΩΜΑΤΟΣ, ΣΕ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ
ΣΤΗ ΣΕΡΟΤΟΝΙΝΕΡΓΙΚΗ ΚΑΙ ΝΤΟΠΑΜΙΝΕΡΓΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ
ΤΟΥ ΚΝΣ

Ερατώ Ζωγοπούλου

*Σχολή Αγροτικής Παραγωγής, Υποδομών και Περιβάλλοντος, Τμήμα Επιστήμης
Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών, Εργαστήριο Εφαρμοσμένης
Υδροβιολογίας, Ιερά Οδός 75 11855
elenmi@aua.gr*

Περίληψη

Το Ευρωπαϊκό λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*), μαζί με την τσιπούρα, είναι ένα από τα σημαντικότερα εμπορικά είδη ψαριών της Ελλάδας. Η εκτροφή του γίνεται κυρίως σε εντατικά/ημιεντατικά συστήματα παραγωγής. Η διατροφή των ψαριών παίζει τεράστιο ρόλο στην εκτροφή τους, καθώς είναι ο κύριος παράγοντας ανάπτυξής τους, ενώ παράλληλα αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος των λειτουργικών εξόδων των εταιρειών του κλάδου.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας μερικής αντικατάστασης του ιχθυελαίου συλλεκτικής αλιείας σε τροφές για λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*), από ιχθυέλαιο υποπροϊόντων σολομού εκτροφής και έλαιο ελαιοκράμβης. Συγκεκριμένα, παρασκευάστηκαν 4 σιτηρέσια με την προσθήκη ίσης ποσότητας διαφορετικών μειγμάτων ελαίων (15g μείγματος ελαίων / 100g τροφής) σε εξωθημένη τροφή χαμηλής λιποπεριεκτικότητας. Το ένα (T3) περιείχε ένα μίγμα ελαίου από υποπροϊόντα σολομού εκτροφής και ιχθυελαίου αλιείας (2:1), το οποίο ήδη χορηγείται στις υδατοκαλλιέργειες χωρίς προηγούμενη έρευνα. Σε καθένα από τα υπόλοιπα τρία σιτηρέσια προστέθηκε μίγμα (2:1) ελαίου υποπροϊόντων σολομού εκτροφής και ελαίου ελαιοκράμβης (T1) ή μίγμα (2:1) ιχθυελαίου αλιείας και ελαίου ελαιοκράμβης (T2) ή μόνο ιχθυέλαιο αλιείας (M).

Πραγματοποιήθηκε πείραμα διάρκειας 351 ημερών σε ημίκλειστο κύκλωμα θαλασσινού νερού του Εργαστηρίου Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η δοκιμή των τεσσάρων σιτηρεσίων αφορούσε σε δύο περιόδους: θερμή ($23.9 \pm 0.43^\circ\text{C}$) για 131 ημέρες και ψυχρή ($20.1 \pm 0.88^\circ\text{C}$) για 120 ημέρες. Ακολούθησε μία περίοδος (100 ημέρες) σίτισης όλων των πληθυσμών με την τροφή μάρτυρα (επανασίτιση). Χρησιμοποιήθηκαν 4 δεξαμενές για κάθε επέμβαση (σύνολο 16) με συνολικό πληθυσμό 184 άτομα. Στο τέλος κάθε περιόδου της κύριας εκτροφής πραγματοποιήθηκαν αιμοληψίες, καθώς και δειγματοληψίες εγκεφάλου και σάρκας. Επιπλέον, στο μέσο και στο τέλος της επανασίτισης λήφθηκαν δείγματα εγκεφάλου και σάρκας. Προσδιορίστηκαν τα επίπεδα του αιματοκρίτη στο αίμα, της

γλυκόζης, της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα του αίματος, των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου (5-HT, 5-HIAA, DA, DOPAC, HVA), η χημική σύσταση της σάρκας των ψαριών (υγρασία, τέφρα, πρωτεΐνες, λίπη), καθώς και η περιεκτικότητα της σε λιπαρά οξέα.

Από την εξέταση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης, προκύπτει ότι η μερική αντικατάσταση ιχθυελαίου αλιείας σε τροφές για λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) από ιχθυέλαιο υποπροϊόντων σολομού εκτροφής και έλαιο ελαιοκράμβης δεν διαφοροποίησε σε επίπεδο στατιστικά σημαντικό τις αιματολογικές παραμέτρους και τη σεροτονινεργική και ντοπαμινεργική λειτουργία του ΚΝΣ, στο τέλος της θερμής και της ψυχρής περιόδου. Μόνη εξαίρεση ήταν τα υψηλότερα επίπεδα χοληστερόλης που παρουσίασαν τα άτομα που είχαν εκτραφεί με T2 κατά την ψυχρή περίοδο, όπου και εμφάνισαν χαμηλότερη ανάπτυξη και αξιοποίηση της τροφής. Όσον αφορά στη χημική σύσταση του φιλέτου, στο τέλος της κύριας εκτροφής, ο χειρισμός T1 παρουσίασε αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και μειωμένη σε λίπος (%ΞΒ). Σχετικά με τα λιπαρά οξέα, τα ωμέγα-3 παρουσιάστηκαν υψηλότερα στους χειρισμούς T3 και M. Επιπλέον, ο χειρισμός M εμφάνισε το υψηλότερο επίπεδο DHA+EPA, ενώ ο T1 το χαμηλότερο. Στο μέσο της επανασίτισης ο χειρισμός T2 παρουσίασε μειωμένη περιεκτικότητα σε λίπος και αυξημένη πρωτεΐνη (%ΞΒ), ως αποτέλεσμα της αντιστάθμισης που επιτεύχθηκε από τη χορήγηση του σιτηρεσίου χωρίς αντικατάσταση ιχθυελαίου. Επίσης, παρουσιάστηκαν διαφορές στις συγκεντρώσεις του DOPAC και του λόγου [5-HIAA]/[5-HT] στα άτομα που είχαν διατραφεί με T1 και T2 αντίστοιχα. Οι μεταβολές αυτές πιθανώς να οφείλονται στην αλλαγή του σιτηρεσίου. Ωστόσο, στο τέλος της επανασίτισης δεν παρουσιάστηκαν διαφορές στις συγκεντρώσεις των νευροδιαβιβαστών. Επιπλέον, δεν υπήρχε διαφορά στην ποσότητα του λίπους, καθώς και στα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα. Τα επίπεδα DHA+EPA στους χειρισμούς T1 και T2 πλησίασαν εκείνα του μάρτυρα (M). Συγχρόνως, βελτιώθηκε ο λόγος ω-3/ω-6 στους T1 και T2, σε σχέση με τον αντίστοιχο στο τέλος της εκτροφής.

Συμπερασματικά, από τον παραπάνω πειραματισμό φαίνεται ότι η μερική αντικατάσταση (72%) ιχθυελαίου αλιείας στις ιχθυοτροφές από έλαιο υποπροϊόντων σολομού εκτροφής (T3), δεν επηρεάζει καμία από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν. Η αντικατάσταση (97%) ιχθυελαίου αλιείας από μείγμα (2:1) ελαίου υποπροϊόντων σολομού εκτροφής και ελαίου ελαιοκράμβης (T1) μπορεί να επιφέρει μεταβολές στη σύσταση των λιπαρών οξέων και συνιστάται χορήγηση τροφής χωρίς αντικατάσταση ιχθυελαίου, για διάστημα τουλάχιστον 100 ημερών πριν την εξαλίευση. Οι παραπάνω αντικαταστάσεις μπορούν να συμβάλουν στη μείωση του κόστους των ιχθυοτροφών και στην αειφορία του κλάδου των υδατοκαλλιεργειών.

Λέξεις Κλειδιά: Αντικατάσταση Λίπους, Λιπαρά Οξέα, Νευροδιαβιβαστές

PARTIAL REPLACEMENT OF FISH OIL IN AQUAFEEDS FOR SEABASS (*DICENTRARCHUS LABRAX* L.) WITH SALMON AND RAPESEED OIL: EFFECT ON GROWTH AND FLESH QUALITY PARAMETERS

Erato Zogopoulou

*Faculty of Agricultural Production, Infrastructure and Environment Department
of Animal Science and Aquaculture, Laboratory of Applied Hydrobiology, Iera
Odos 75 11855
elenmi@aua.gr*

Abstract

European seabass (*Dicentrarchus labrax*), together with seabream, is one of the most important commercial species of Greece. Seabass aquaculture is carried out in intensive/semi-intensive production systems. Fish nutrition plays a key role in the production cycle, as it constitutes the most important growth factor, as well as the major portion of the aquaculture industries' operating expenses.

The aim of this study was the assessment of the partial fish oil replacement in aquafeeds for sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.), by salmon and rapeseed oil. Four diets were prepared, by incorporating four different mixtures of oils to an extruded, low fat feed for sea bass (15g of mixture/100g of feed). One diet (T3) was top coated with a salmon:fish oil (2:1) mixture. This type of diet is already administered in commercial sea bass aquaculture, without prior experimentation though. The mixtures used for the remaining aquafeeds were salmon:rapeseed oil (T1) and fish:rapeseed oil (T2), all following a 2:1 ratio. A control diet (M), top coated with fish oil, was also prepared.

The 351-day experimental rearing took place in a recirculating water system, in the facilities of the Laboratory of Applied Hydrobiology of the Agricultural University of Athens. The main experimental period was differentiated in a 131-day warm ($23.9\pm 0.43^{\circ}\text{C}$) and a 120-day cold ($20.1\pm 0.88^{\circ}\text{C}$) period. A 100-day wash-out period followed, where treatments T1 and T2 were feed the control diet. Four tanks were used for each treatment (total of 16), with a total population of 184 specimens. At the end of the main experimental period blood, brain and fillet samplings were carried out. Brain and fillet were also sampled in the middle and the end of the wash-out period. Whole blood hematocrit, plasma glucose, cholesterol and triglyceride levels were determined. Brain neurotransmitter (5-HT, 5-HIAA, DA, DOPAC, HVA) concentration, fillet chemical composition (moisture, ash, protein, fat) as well as fatty acid composition analyses were also carried out.

The results of the present study suggest that at the end of the main experimental period (warm and cold), the partial replacement of fish oil in the aquafeeds for sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.), by salmon and rapeseed oil, did not

differentiate in a statistically significant level blood parameters, as well as the serotonergic and dopaminergic activities of the central nervous system. A sole exception was the higher cholesterol level of the specimens fed on T2 during the cold period, where lower growth and feed utilization were also observed for the same treatment. At the end of the main experimental period, fillets from treatment T1 showed elevated protein and lower fat (% dry matter). Fatty acid composition (% total fatty acids) analysis revealed higher omega-3 levels in treatments T3 and M. Additionally, EPA+DHA level in treatment M was significantly higher, while in T1 was the lowest. At the middle of the wash-out period, treatment T2 revealed lower fat and increased protein levels, as a result of the compensation achieved from the administration of the control diet. Significant differences were observed in the concentration of DOPAC and the [5-HIAA]/[5-HT] ratio for T1 and T2 respectively. These alterations may be attributed to the diet exchange. Moreover, there were no differences in the amount of fat and fatty acid concentrations. EPA+DHA levels of T1 and T2 were found similar to the control group, while omega-3/omega-6 ratio for the same treatments was also improved, compared to the one observed at the end of the main rearing.

The aforementioned experimentation suggests that partial substitution (72%) of fish oil from selective fisheries in aquafeeds, by salmon aquaculture by-product oil (T3) does not affect any of the parameters tested. The replacement (97%) of fish oil by a mixture (2:1) of salmon:rapeseed oil (T1) may affect fillet fatty acid composition and a minimal 100-day wash out period is suggested, prior to harvesting. Both substitution regimes may contribute to the reduction of aquafeed production cost and the sustainability of the aquaculture industry.

Keywords: Fat replacement, Fatty acids, Neurotransmitters

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μελέτη δε θα είχε πραγματοποιηθεί χωρίς την ουσιαστική βοήθεια και συνεχή υποστήριξη των καθηγητών, των συνεργατών, της οικογένειας και των φίλων μου. Για το λόγο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω:

Την **καθηγήτρια μου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Εφηρμοσμένης Υδροβιολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών Δρ. Ελένη Μήλιου-Μπαρσάκη**, για τη συνεχή υποστήριξή της, τις γνώσεις της και την αγάπη που μου έδειξε. Την ευχαριστώ ιδιαίτερα γιατί πίστεψε σε μένα, αναθέτοντας μου ένα τόσο δύσκολο και ταυτόχρονα ενδιαφέρον επιστημονικό θέμα, αλλά και άλλες αρμοδιότητες. Η κα Μήλιου αποτελεί για μένα πρότυπο επιστήμονα κι ανθρώπου κι αισθάνομαι πολύ τυχερή που μπόρεσα να συνεργαστώ μαζί της και να αναπτύξω μια ιδιαίτερη σχέση.

Τη **Δρ. Ελένη Τσιπλάκου, Επίκουρη Καθηγήτρια του Εργαστηρίου Διατροφής Αγροτικών Ζώων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών**, για τις πολύτιμες συμβουλές της και τις γνώσεις που μου μετέδωσε στο πλαίσιο των προπτυχιακών μαθημάτων, αλλά και τα υπέροχα λόγια της καθώς και την ηθική αναπτέρωση που με έκανε να νιώσω σε όλες τις συζητήσεις που κάναμε μαζί.

Τη **Δρ. Χριστίνα Δάλλα, Επίκουρη Καθηγήτρια του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας, της Ιατρικής Σχολής του Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών**, για τις στοχευμένες συμβουλές της, την καθοδήγηση και τη δημιουργία του ευχάριστου κλίματος μεταξύ μας. Επίσης, ευχαριστώ εκείνη και τους επιστημονικούς της συνεργάτες για την άριστη συνεργασία μας στο πλαίσιο του προγράμματος «ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΑ 2011», αλλά και για την πολύ καλή δουλειά που έγινε κατά τη διαδικασία των αναλύσεων των συγκεντρώσεων των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου. Περισσότερο την ευχαριστώ που δέχτηκε να γίνει μέλος της εξεταστικής επιτροπής μου και για την κατανόηση που έδειξε.

Το **Δρ. Κωνσταντίνο Μουντζούρη, Επίκουρο Καθηγητή του Εργαστηρίου Διατροφής Αγροτικών Ζώων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών** και τα μέλη του εργαστηρίου, για την παραχώρηση χώρου και χρόνου στο εργαστήριο του, ώστε να πραγματοποιηθούν οι αναλύσεις προσδιορισμού των αιματολογικών παραμέτρων έγκαιρα. Η συνδρομή του ήταν πολύτιμη.

Την εταιρία **BIOMAR HELLENIC AΒΕΕΙ** για το διαρκή εφοδιασμό με βασική τροφή κι έλαια και πιο συγκεκριμένα τον **Δρ. Βασίλειο Καραλάζο** και τον **κο Ιωάννη Καρακόστα** για τις σημαντικές συμβουλές τους και το ενδιαφέρον τους για την επιτυχημένη έκβαση του πειράματος αυτού.

Τον τεχνικό του εργαστηρίου Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών **κο Γεώργιο Κωνσταντίνου** και τον **Παναγιώτη Φούγια**, για τη συμμετοχή τους σε όλες τις δειγματοληψίες, τη βοήθεια που μου παρείχαν στην καθημερινότητα και την τεχνική υποστήριξη.

Τον καλό μου φίλο **Ιωάννη Νομικό**, ο οποίος βοήθησε ακούραστος σε όλες τις φάσεις του πειράματος αυτού, με στήριξε, μου χάρισε αρκετή από τη χαρά και το γέλιο του και έκανε τις μέρες μου πιο φωτεινές.

Τη **Δρ. Ευανθία Χατζόγλου**, για τη σημαντικότερη βοήθεια που μου προσέφερε σε αρκετές από τις αναλύσεις αυτού του πειράματος, για τις συμβουλές και την καθοδήγηση, αλλά κυρίως για την ευχάριστη συντροφιά και το τεράστιο χαμόγελο που μας προσφέρει καθημερινά.

Τον μεταπτυχιακό φοιτητή **Γεώργιο Παπανικολάου** για τη μεγάλη συνεισφορά του σε αρκετές από τις αναλύσεις που έγιναν, για τη συντροφικότητα, την ωραία παρέα.

Τους γονείς μου **Νικόλαο Ζωγόπουλο** και **Πιπίνα Μποκόρου** για τη συνεχή υποστήριξη πάσης φύσεως και την αγάπη τους όλα αυτά τα χρόνια.

Κράτησα την τελευταία θέση σε αυτές τις ευχαριστίες για έναν πολύ σημαντικό για μένα άνθρωπο, τον υποψήφιο διδάκτορα **Αριστείδη Τσοπελάκο**, η συμβολή του οποίου ήταν καθοριστική όχι μόνο για την πραγματοποίηση αυτής της μελέτης. Τον ευχαριστώ από το βάθος της καρδιάς μου για τις γνώσεις που μου έχει μεταδώσει, τις τεχνικές που μου έχει μάθει, τη στήριξή του, την υπομονή του, την κατανόηση που έδειχνε στις δύσκολες στιγμές και για το ότι ήταν δίπλα μου. Αποτελεί για μένα μέντορα και πιστεύω πως είναι ο καλύτερος συνεργάτης που θα μπορούσα να έχω. Χωρίς εκείνον τίποτα δε θα ήταν το ίδιο.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	i
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	iii
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ	vi
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ	vi
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	vii
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	viii
<i>Περίληψη</i>	ix
<i>Abstract</i>	xi
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	2
1.1 Το λαβράκι (<i>Dicentrarchus labrax</i> Linnaeus, 1758)	2
1.2 Οι υδατοκαλλιέργειες στην Ελλάδα.....	5
1.3 Λιπίδια.....	8
1.4 Λιπαρά οξέα	10
1.4.1 Λιπαρά οξέα στη διατροφή των ψαριών και αντικατάσταση λίπους στις ιχθυοτροφές.....	11
1.4.2 Λιπαρά οξέα και ποιότητα σάρκας των ψαριών	20
1.5 Stress	21
1.5.1 Γενικό Σύνδρομο Προσαρμογής	22
1.5.3 Οξύ και χρόνιο stress.....	22
1.5.4 Stress και ελεγχόμενη εκτροφή ψαριών.....	22
1.6 Νευροδιαβιβαστές	23
1.6.1 Σεροτονίνη.....	24
1.6.2 Κατεχολαμίνες.....	27
1.7 Αιματολογικές Παράμετροι.....	29
1.8 Επανασίτιση	30
1.9 Σκοπός της εργασίας	31

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β.....	32
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	32
2.1 Πειραματικός σχεδιασμός	32
2.2 Παρασκευή πειραματικών τροφών	32
2.3 Προσδιορισμός λίπους και αναλογίας λιπαρών οξέων στις τροφές και στη σάρκα των ψαριών	34
2.4 Σύσταση λιπαρών οξέων ελαίων και τροφών	36
2.5 Προσδιορισμός πρωτεΐνης στη σάρκα των ψαριών	38
2.5 Προσδιορισμός της υγρασίας και της τέφρας της σάρκας	39
2.6 Προσδιορισμός της γλυκόζης στο αίμα.....	39
2.7 Προσδιορισμός της χοληστερόλης στο αίμα.....	40
2.8 Προσδιορισμός των τριγλυκεριδίων στο αίμα	40
2.9 Προσδιορισμός του αιματοκρίτη του αίματος	40
2.10 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου	41
2.10.1 Δειγματοληψία	41
2.10.2 Μέθοδος Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης με Ηλεκτροχημικό Ανιχνευτή (HPLC-ED) για προσδιορισμό μονοαμινών.....	41
2.10.3 Προετοιμασία για την παρασκευή των δειγμάτων.....	42
2.10.4 Προετοιμασία HPLC	42
2.9.5 Μετρήσεις.....	43
2.11 Μέτρηση φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού εκτροφής	43
2.12 Προσδιορισμός Νιτρωδών και Ολικής Αμμωνίας	44
2.13 Στατιστική Επεξεργασία.....	46
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ	47
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	47
3.1 Χημική Σύσταση Σάρκας	47

3.1.1 Υγρασία, τέφρα, πρωτεΐνη, λίπος σάρκας.....	47
3.1.2 Λιπαρά Οξέα σάρκας	48
3.1.3 Λόγος n3/n6.....	51
3.2 Αιματολογικές Παράμετροι.....	51
3.3 Νευροδιαβιβαστές	52
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Δ.....	54
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	54
4.1 Χημική Σύσταση Σάρκας	54
4.2 Αιματολογικές Παράμετροι.....	56
4.3 Νευροδιαβιβαστές	57
4.4 Οικονομικά οφέλη.....	59
4.4 Συμπεράσματα.....	61
Βιβλιογραφία	62

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: <i>Dicentrarchus labrax</i> L., (http://www.deutschesee.de).....	2
Εικόνα 2: Εντατικό σύστημα με πλωτούς κλωβούς, (http://www.my-fish.info)	5
Εικόνα 3: Κλειστό-Ημίκλειστο κύκλωμα με δεξαμενές, (http://growfishanywhere.com)	5
Εικόνα 4: Διακύμανση ετήσιας παραγωγής της τσιπούρας και του λαβρακιού στην Ελλάδα, (FAO 2013)	6
Εικόνα 5: Διακύμανση ετήσιας παραγωγής του λαβρακιού σε παγκόσμιο επίπεδο, (FAO 2013).....	7
Εικόνα 6: Λινολεϊκό οξύ (LA), (http://commons.wikimedia.org).....	14
Εικόνα 7: α-Λινολενικό οξύ (ALA), (http://commons.wikimedia.org)	14
Εικόνα 8: Εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA), (http://commons.wikimedia.org)	17
Εικόνα 9: Δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA), (http://www.mentalhelp.net)	18
Εικόνα 10: Αραχιδονικό οξύ (AA), (http://commons.wikimedia.org).....	19
Εικόνα 11: Σεροτονίνη (5-HT), (http://commons.wikimedia.org)	24
Εικόνα 12: Σύνθεση Σεροτονίνης, , (http://commons.wikimedia.org).....	25
Εικόνα 13: Μεταβολισμός Σεροτονίνης, (http://commons.wikimedia.org).....	25
Εικόνα 14: Σύνθεση Κατεχολαμινών, (http://commons.wikimedia.org)	27
Εικόνα 15: Μεταβολίτες Ντοπαμίνης, (http://commons.wikimedia.org).....	28
Εικόνα 16: Νοραδρεναλίνη (NA), (http://commons.wikimedia.org).....	29
Εικόνα 17: Ντοπαμίνη (DA), (http://commons.wikimedia.org).....	29
Εικόνα 18: Agilent Technologies 6890N GC/FID, (http://www.agilent.com).....	36
Εικόνα 19: Ειδική πλάκα ανάγνωσης αιματοκρίτη, (http://www.highlands.edu)	41

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Σύσταση πειραματικών σιτηρεσιών.....	32
Πίνακας 2: Σύνθεση πειραματικών σιτηρεσιών	33
Πίνακας 3: Σύσταση μίγματος λίπους που προστέθηκε στις τροφές, πλήθος και χωρητικότητα δεξαμενών ανά πειραματική επέμβαση.....	33
Πίνακας 4: Ποσοστά αντικατάστασης.....	34

Πίνακας 5: Αναλογίες (% Ολικών λιπαρών οξέων) λιπαρών οξέων του λίπους της βασικής τροφής που χρησιμοποιήθηκε (T) και των ελαίων που αναμίχθηκαν για την παρασκευή των διαφορετικών μιγμάτων που προστέθηκαν (MA: Μη Ανιχνεύσιμο).....	37
Πίνακας 6: Αναλογίες λιπαρών οξέων του λίπους των πειραματικών τροφών (MA: Μη Ανιχνεύσιμο).....	38
Πίνακας 7: Μετρήσεις (\pm τυπική απόκλιση) επιπέδων διαλυμένου Οξυγόνου (ppm), κορεσμού του νερού εκτροφής σε οξυγόνο (%), pH και θερμοκρασίας ($^{\circ}$ C)	44
Πίνακας 8: Επίπεδα (ppm \pm τυπικό σφάλμα) ολικής αμμωνίας, τοξικής αμμωνίας και νιτρωδών ιόντων, στο νερό εκτροφής.....	45
Πίνακας 9: Υγρασία (%) ανά περίοδο εκτροφής.....	47
Πίνακας 10: Τέφρα (% ΞΒ) ανά περίοδο εκτροφής.....	47
Πίνακας 11: Πρωτεΐνη (% ΞΒ) ανά περίοδο εκτροφής.....	47
Πίνακας 12: Λίπος (% ΞΒ) ανά περίοδο εκτροφής.....	48
Πίνακας 13: % Ολικών Λιπαρών Οξέων, στο τέλος της κύριας εκτροφής, (\pm τυπικό σφάλμα)	49
Πίνακας 14: % Ολικών Λιπαρών Οξέων, στο τέλος της περιόδου επανασίτισης, (\pm τυπικό σφάλμα).....	50
Πίνακας 15: Αιματοκρίτης (%) στις δύο περιόδους αιμοληψίας	52
Πίνακας 16: Χοληστερόλη (mg/100ml) στις δύο περιόδους αιμοληψίας	52
Πίνακας 17: Τριγλυκερίδια (mg/100ml) στις δύο περιόδους αιμοληψίας	52
Πίνακας 18: Γλυκόζη (mg/100ml) στις δύο περιόδους αιμοληψίας.....	52
Πίνακας 19: Συγκέντρωση νευροδιαβιβαστών εγκεφάλου (ng/g ιστού) (\pm τυπικό σφάλμα)	53
Πίνακας 20: Τιμές πρώτων υλών (έλαια) και οικονομική ωφέλεια από τη χρήση τους	59

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Λόγος ω_3/ω_6 για τις πειραματικές τροφές στο τέλος της κύριας εκτροφής και στο τέλος της περιόδου επανασίτισης.	51
--	----

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AA	Arachidonic Acid, Αραχιδονικό οξύ
ALA	α -Linolenic Acid, α -Λινολενικό οξύ
BHT	Butylated Hydroxytoluene
DA	Dopamin, Ντοπαμίνη
DHA	Docosahexanoid Acid, Δοκοσαεξανοϊκό οξύ
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylacetic acid
EFA	Essential Fatty Acids, Απαραίτητα λιπαρά οξέα
EPA	Eicosapentanoic Acid, Εικοσαπεντανοϊκό οξύ
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FID	Flame Ionization Detector, Ανιχνευτής Ιονισμού Φλόγας
FO	Fish Oil, Ιχθυέλαιο αλιείας
GAS	General Adaptation Syndrome
GC	Gas Chromatographer, Αέριος χρωματογράφος
HACCP	Hazard analysis and critical control points
HUFA	Highly Unsaturated Fatty Acids, Υψηλά Ακόρεστα Λιπαρά Οξέα (μακράς αλυσίδας)
HVA	Homovanillic acid
FIFFO	International Fishmeal and Fish Oil Organization
ISO	International Organization for Standardization
LA	Linoleic Acid, Λινολεϊκό οξύ
LO	Linseed Oil, Λινέλαιο
MONO	Monounsaturated, μονοακόρεστα λιπαρά οξέα
NED	N-C1-naphthyl-Ethylenediamine Dihydrochloride
OA	Oleic Acid, Ολεϊκό οξύ
PBDEs	Polybrominated Diphenyl Ethers, Πολυβρωμιωμένοι Διφαινυλαιθέρες
PCBs	Polychlorinated Biphenols, Πολυχλωριομένες βιοφαινόλες
PCDDs	Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins, Πολυχλωριομένες Διβενζο-p-Διοξίνες
PCDFs	Polychlorinated Dibenzofurans, Πολυχλωριομένες Διβενζο-φουράνες
POP	Persistent Organic Pollutants, Επίμονοι οργανικοί ρυπαντές
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acids, Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα
RO	Rapeseed Oil, Έλαιο ελαιοκράμβης
SAT	Saturated, Κορεσμένα λιπαρά οξέα
SO	Salmon Oil, Έλαιο από υποπροϊόντα εκτροφής σολομού
VO	Vegetable Oils, Φυτικά έλαια
ΛΟ	Λιπαρά οξέα
ΜΣ	Μη Σημαντικό
ΚΝΣ	Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
ΓΣΠ	Γενικό Σύνδρομο Προσαρμογής

ΜΕΡΙΚΗ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΙΧΘΥΕΛΑΙΟΥ ΑΛΙΕΙΑΣ ΣΕ
ΤΡΟΦΕΣ ΓΙΑ ΛΑΒΡΑΚΙ (*DICENTRARCHUS LABRAX* L.) ΑΠΟ
ΙΧΘΥΕΛΑΙΟ ΥΠΟΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΣΟΛΟΜΟΥ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΕΛΑΙΟ
ΕΛΑΙΟΚΡΑΜΒΗΣ: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ
ΣΩΜΑΤΟΣ, ΣΕ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ
ΣΤΗ ΣΕΡΟΤΟΝΙΝΕΡΓΙΚΗ ΚΑΙ ΝΤΟΠΑΜΙΝΕΡΓΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ
ΤΟΥ ΚΝΣ

Ερατώ Ζωγοπούλου

*Σχολή Αγροτικής Παραγωγής, Υποδομών και Περιβάλλοντος, Τμήμα
Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών, Εργαστήριο Εφηρμοσμένης
Υδροβιολογίας, Ιερά Οδός 75 11855*

elenmi@aaua.gr

Περίληψη

Το Ευρωπαϊκό λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*), μαζί με την τσιπούρα, είναι ένα από τα σημαντικότερα εμπορικά είδη ψαριών της Ελλάδας. Η εκτροφή του γίνεται κυρίως σε εντατικά/ημιεντατικά συστήματα παραγωγής. Η διατροφή των ψαριών παίζει τεράστιο ρόλο στην εκτροφή τους, καθώς είναι ο κύριος παράγοντας ανάπτυξής τους, ενώ παράλληλα αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος των λειτουργικών εξόδων των εταιρειών του κλάδου.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας μερικής αντικατάστασης του ιχθυελαίου συλλεκτικής αλιείας σε τροφές για λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*), από ιχθυέλαιο υποπροϊόντων σολομού εκτροφής και έλαιο ελαιοκράμβης. Συγκεκριμένα, παρασκευάστηκαν 4 σιτηρέσια με την προσθήκη ίσης ποσότητας διαφορετικών μειγμάτων ελαίων (15g μείγματος ελαίων / 100g τροφής) σε εξωθημένη τροφή χαμηλής λιποπεριεκτικότητας. Το ένα (T3) περιείχε ένα μίγμα ελαίου από υποπροϊόντα σολομού εκτροφής και ιχθυελαίου αλιείας (2:1), το οποίο ήδη χορηγείται στις υδατοκαλλιέργειες χωρίς προηγούμενη έρευνα. Σε καθένα από τα υπόλοιπα τρία σιτηρέσια προστέθηκε μίγμα (2:1) ελαίου υποπροϊόντων σολομού εκτροφής και ελαίου ελαιοκράμβης (T1) ή μίγμα (2:1) ιχθυελαίου αλιείας και ελαίου ελαιοκράμβης (T2) ή μόνο ιχθυέλαιο αλιείας (M).

Πραγματοποιήθηκε πείραμα διάρκειας 351 ημερών σε ημίκλειστο κύκλωμα θαλασσινού νερού του Εργαστηρίου Εφηρμοσμένης Υδροβιολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η δοκιμή των τεσσάρων σιτηρεσίων αφορούσε σε δύο περιόδους: θερμή ($23.9 \pm 0.43^\circ\text{C}$) για 131 ημέρες και ψυχρή ($20.1 \pm 0.88^\circ\text{C}$) για 120 ημέρες. Ακολούθησε μία περίοδος (100 ημέρες) σίτισης όλων των πληθυσμών με την τροφή μάρτυρα (επανασίτιση). Χρησιμοποιήθηκαν 4 δεξαμενές για κάθε επέμβαση (σύνολο 16) με συνολικό πληθυσμό 184 άτομα. Στο τέλος κάθε περιόδου της κύριας εκτροφής πραγματοποιήθηκαν αιμοληψίες, καθώς και δειγματοληψίες εγκεφάλου και

σάρκας. Επιπλέον, στο μέσο και στο τέλος της επανασίτισης λήφθηκαν δείγματα εγκεφάλου και σάρκας. Προσδιορίστηκαν τα επίπεδα του αιματοκρίτη στο αίμα, της γλυκόζης, της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα του αίματος, των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου (5-HT, 5-HIAA, DA, DOPAC, HVA), η χημική σύσταση της σάρκας των ψαριών (υγρασία, τέφρα, πρωτεΐνες, λίπη), καθώς και η περιεκτικότητα της σε λιπαρά οξέα.

Από την εξέταση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης, προκύπτει ότι η μερική αντικατάσταση ιχθυελαίου αλιείας σε τροφές για λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) από ιχθυέλαιο υποπροϊόντων σολομού εκτροφής και έλαιο ελαιοκράμβης δεν διαφοροποίησε σε επίπεδο στατιστικά σημαντικό τις αιματολογικές παραμέτρους και τη σεροτονινεργική και ντοπαμινεργική λειτουργία του ΚΝΣ, στο τέλος της θερμής και της ψυχρής περιόδου. Μόνη εξαίρεση ήταν τα υψηλότερα επίπεδα χοληστερόλης που παρουσίασαν τα άτομα που είχαν εκτραφεί με T2 κατά την ψυχρή περίοδο, όπου και εμφάνισαν χαμηλότερη ανάπτυξη και αξιοποίηση της τροφής. Όσον αφορά στη χημική σύσταση του φιλέτου, στο τέλος της κύριας εκτροφής, ο χειρισμός T1 παρουσίασε αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και μειωμένη σε λίπος (%ΞΒ). Σχετικά με τα λιπαρά οξέα, τα ωμέγα-3 παρουσιάστηκαν υψηλότερα στους χειρισμούς T3 και M. Επιπλέον, ο χειρισμός M εμφάνισε το υψηλότερο επίπεδο DHA+EPA, ενώ ο T1 το χαμηλότερο. Στο μέσο της επανασίτισης ο χειρισμός T2 παρουσίασε μειωμένη περιεκτικότητα σε λίπος και αυξημένη πρωτεΐνη (%ΞΒ), ως αποτέλεσμα της αντιστάθμισης που επιτεύχθηκε από τη χορήγηση του σιτηρεσίου χωρίς αντικατάσταση ιχθυελαίου. Επίσης, παρουσιάστηκαν διαφορές στις συγκεντρώσεις του DOPAC και του λόγου [5-HIAA]/[5-HT] στα άτομα που είχαν διατραφεί με T1 και T2 αντίστοιχα. Οι μεταβολές αυτές πιθανώς να οφείλονται στην αλλαγή του σιτηρεσίου. Ωστόσο, στο τέλος της επανασίτισης δεν παρουσιάστηκαν διαφορές στις συγκεντρώσεις των νευροδιαβιβαστών. Επιπλέον, δεν υπήρχε διαφορά στην ποσότητα του λίπους, καθώς και στα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα. Τα επίπεδα DHA+EPA στους χειρισμούς T1 και T2 πλησίασαν εκείνα του μάρτυρα (M). Συγχρόνως, βελτιώθηκε ο λόγος ω-3/ω-6 στους T1 και T2, σε σχέση με τον αντίστοιχο στο τέλος της εκτροφής.

Συμπερασματικά, από τον παραπάνω πειραματισμό φαίνεται ότι η μερική αντικατάσταση (72%) ιχθυελαίου αλιείας στις ιχθυοτροφές από έλαιο υποπροϊόντων σολομού εκτροφής (T3), δεν επηρεάζει καμία από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν. Η αντικατάσταση (97%) ιχθυελαίου αλιείας από μείγμα (2:1) ελαίου υποπροϊόντων σολομού εκτροφής και ελαίου ελαιοκράμβης (T1) μπορεί να επιφέρει μεταβολές στη σύσταση των λιπαρών οξέων και συνιστάται χορήγηση τροφής χωρίς αντικατάσταση ιχθυελαίου, για διάστημα τουλάχιστον 100 ημερών πριν την εξαλίευση. Οι παραπάνω αντικαταστάσεις μπορούν να συμβάλουν στη μείωση του κόστους των ιχθυοτροφών και στην αειφορία του κλάδου των υδατοκαλλιεργειών.

Λέξεις Κλειδιά: Αντικατάσταση Λίπους, Λιπαρά Οξέα, Νευροδιαβιβαστές

PARTIAL REPLACEMENT OF FISH OIL IN AQUAFEEDS FOR SEABASS (*DICENTRARCHUS LABRAX* L.) WITH SALMON AND RAPESEED OIL: EFFECT ON GROWTH AND FLESH QUALITY PARAMETERS

Erato Zogopoulou

Faculty of Agricultural Production, Infrastructure and Environment

Department of Animal Science and Aquaculture, Laboratory of Applied

Hydrobiology, Iera Odos 75 11855

elenmi@aua.gr

Abstract

European seabass (*Dicentrarchus labrax*), together with seabream, is one of the most important commercial species of Greece. Seabass aquaculture is carried out in intensive/semi-intensive production systems. Fish nutrition plays a key role in the production cycle, as it constitutes the most important growth factor, as well as the major portion of the aquaculture industries' operating expenses.

The aim of this study was the assessment of the partial fish oil replacement in aquafeeds for sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.), by salmon and rapeseed oil. Four diets were prepared, by incorporating four different mixtures of oils to an extruded, low fat feed for sea bass (15g of mixture/100g of feed). One diet (T3) was top coated with a salmon:fish oil (2:1) mixture. This type of diet is already administered in commercial sea bass aquaculture, without prior experimentation though. The mixtures used for the remaining aquafeeds were salmon:rapeseed oil (T1) and fish:rapeseed oil (T2), all following a 2:1 ratio. A control diet (M), top coated with fish oil, was also prepared.

The 351-day experimental rearing took place in a recirculating water system, in the facilities of the Laboratory of Applied Hydrobiology of the Agricultural University of Athens. The main experimental period was differentiated in a 131-day warm ($23.9 \pm 0.43^\circ\text{C}$) and a 120-day cold ($20.1 \pm 0.88^\circ\text{C}$) period. A 100-day wash-out period followed, where treatments T1 and T2 were feed the control diet. Four tanks were used for each treatment (total of 16), with a total population of 184 specimens. At the end of the main experimental period blood, brain and fillet samplings were carried out. Brain and fillet were also sampled in the middle and the end of the wash-out period. Whole blood hematocrit, plasma glucose, cholesterol and triglyceride levels were determined. Brain neurotransmitter (5-HT, 5-HIAA, DA, DOPAC, HVA) concentration, fillet chemical composition (moisture, ash, protein, fat) as well as fatty acid composition analyses were also carried out.

The results of the present study suggest that at the end of the main experimental period (warm and cold), the partial replacement of fish oil in the aquafeeds for sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.), by salmon and rapeseed oil, did not differentiate in a statistically significant level blood parameters, as well as the serotonergic and dopaminergic activities of the central nervous system. A sole exception was the higher cholesterol level of the specimens fed on T2 during the cold period, where lower growth and feed utilization were also observed for the same treatment. At the end of the main experimental period, fillets from treatment T1 showed elevated protein and lower fat (% dry matter). Fatty acid composition (% total fatty acids) analysis revealed higher omega-3 levels in treatments T3 and M. Additionally, EPA+DHA level in treatment M was significantly higher, while in T1 was the lowest. At the middle of the wash-out period, treatment T2 revealed lower fat and increased protein levels, as a result of the compensation achieved from the administration of the control diet. Significant differences were observed in the concentration of DOPAC and the [5-HIAA]/[5-HT] ratio for T1 and T2 respectively. These alterations may be attributed to the diet exchange. Moreover, there were no differences in the amount of fat and fatty acid concentrations. EPA+DHA levels of T1 and T2 were found similar to the control group, while omega-3/omega-6 ratio for the same treatments was also improved, compared to the one observed at the end of the main rearing.

The aforementioned experimentation suggests that partial substitution (72%) of fish oil from selective fisheries in aquafeeds, by salmon aquaculture by-product oil (T3) does not affect any of the parameters tested. The replacement (97%) of fish oil by a mixture (2:1) of salmon:rapeseed oil (T1) may affect fillet fatty acid composition and a minimal 100-day wash out period is suggested, prior to harvesting. Both substitution regimes may contribute to the reduction of aquafeed production cost and the sustainability of the aquaculture industry.

Keywords: Fat replacement, Fatty acids, Neurotransmitters

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758)

Συστηματική κατάταξη

Συνομοταξία	Chordata
Υποσυνομοταξία	Vertebrata
Υπερομοταξία	Gnathostomata
Ομοταξία	Osteichthyes
Υφομοταξία	Actinopterygii
Υπερτάξη	Teleostei
Τάξη	Perciformes
Υπόταξη	Percoidei
Οικογένεια	Serranidae
Γένος	<i>Dicentrarchus</i>
Είδος	<i>labrax</i>



Εικόνα 1: *Dicentrarchus labrax* L., (<http://www.deutschesee.de>)

Το ευρωπαϊκό λαβράκι (Εικόνα 1) είναι ένα ευρύθερμο, ευρύαλο, ωκεανόδρομο και υποτροπικό είδος ψαριού (Tsevis, Klaoudatos et al. 1992; Dalla Via, Villani et al. 1998; Varsamos, Connes et al. 2001; Cordier, Brichon et al. 2002). Έχει διαπιστωθεί πως μπορεί να εγκλιματιστεί και να αναπτυχθεί σε νερά με πολύ μεγάλη έως και αρκετά μικρή αλατότητα (Chervinski 1974; Venturini, Cataldi et al. 1992; Eroldogan, Kumlu et al. 2004). Έχει αποδειχθεί πως μπορεί να επιβιώσει σε θερμοκρασίες νερού εύρους 2-35°C, όμως οι ευνοϊκές για τον υψηλό ρυθμό ανάπτυξής του ανήκουν στο όριο 20-25°C. Στους 10°C το λαβράκι σταματάει να αναπτύσσεται, ενώ κάτω από τους 7°C σταματάει να τρέφεται (Hidalgo and Alliot 1988; Barnabé 1990; Pastoureaud 1991; Dalla Via, Villani et al. 1998). Εντοπίζεται στη Μεσόγειο, στη Μαύρη Θάλασσα, στον Ανατολικό Ατλαντικό (από τη Νορβηγία έως το Μαρόκο), στα Κανάρια Νησιά και στη Σενεγάλη. Δε συναντάται καθόλου στη Λευκή και στη Θάλασσα Μπάρεντς, στην Κασπία και στη Βαλτική (FishBase ; Smith 1990).

Το σώμα του λαβρακιού είναι επίμηκες και ατρακτοειδούς σχήματος. Φέρει δύο ραχιαία πτερύγια, ένα ουραίο πτερύγιο και κυκλοειδή λέπια στο άνω μέρος της κεφαλής. Το στόμα του λαβρακιού μπορεί να χαρακτηριστεί ως ημιτελικό κάτω και προεκτεινόμενο. Το χρώμα του ποικίλει, στα ενήλικα άτομα όμως, είναι συνήθως σκούρο γκριζό στη ράχη και ασημί στην κοιλιακή και πλευρική χώρα. Τα ανήλικα άτομα φέρουν σκούρες κηλίδες στη ράχη, οι οποίες εξαφανίζονται σταδιακά με την πάροδο του χρόνου (Παπαναστασίου 1990; Παπουτσόγλου 1994; Brosowski 1999; FAO 2013).

Στην εκτροφή του λαβρακιού χρησιμοποιούνται πολλά συστήματα παραγωγής σήμερα. Στη Μεσόγειο (άρα και στην Ελλάδα) τα πιο εφαρμοσμένα είναι τα εντατικά και ημιεντατικά συστήματα, με χρήση πλωτών κλωβών στις παράκτιες θαλάσσιες περιοχές ή τεχνητών υδατοσυλλογών (Barnabé 1990; Barbato, Fanari et al. 1991; Nehr, Blancheton et al. 1996; Papoutsoglou, Costello et al. 1996; Eroldogan, Kumlu et al. 2004). Επίσης, η εκτροφή του λαβρακιού γίνεται και σε κλειστά/ημίκλειστα κυκλώματα με χρήση δεξαμενών (Lavenant and Paquotte 1995; Papoutsoglou, Tziha et al. 1998) (εντατικά συστήματα), αλλά και σε ημικτατικά συστήματα παραγωγής (EC 2012).

Το ευρωπαϊκό λαβράκι ανήκει στην κατηγορία των σαρκοφάγων ψαριών. Έχουν μεγάλη ποικιλία στρατηγικών ώστε να βρίσκουν και να αιχμαλωτίζουν τη λεία τους. Η συνηθέστερη είναι το να κυνηγούν ατομικά στο επιφανειακό υδάτινο στρώμα και να επιτίθενται στη λεία από κάτω. Στη φύση τα ενήλικα άτομα τρέφονται κυρίως με μικρά αφρόψαρα, όπως σαρδέλες, αθερίνες και κέφαλους, αλλά και με Καρκινοειδή και Μαλάκια (Leaute 1984; Kelley 1987). Τα νεαρά άτομα τρέφονται κυρίως με ασπόνδυλα (Pickett and Pawson 1994; Brosowski 1999). Μέσα στην εκτροφή τα ψάρια τρέφονται με εμπορική τροφή, η οποία αποτελείται κυρίως από ιχθυάλευρο, ιχθυέλαιο και κάποιον ισοροπιστή. Γενικά, οι τροφές αυτές πρέπει να καλύπτουν τις ανάγκες των ψαριών σε πρωτεΐνη, λίπος, υδατάνθρακες, βιταμίνες και ιχνοστοιχεία.

Το ενήλικο λαβράκι είναι γονοχωριστικό είδος. Η αναπαραγωγή του γίνεται με εξωτερική γονιμοποίηση, ενώ στο φυσικό περιβάλλον η αναπαραγωγική περίοδος αρχίζει το Φεβρουάριο και τελειώνει τον Ιούλιο. Η θερμοκρασία παίζει πολύ σημαντικό

ρόλο σε αυτή τη διαδικασία, καθώς τα ψάρια δεν γεννούν κάτω από τους 8.5-9°C και πάνω από τους 15°C. Κατά την αναπαραγωγική περίοδο, κάθε ώριμο θηλυκό άτομο μπορεί να παράγει 250-500.000 αυγά/kg σωματικού βάρους. Τα αυγά του λαβρακιού είναι πελαγικά και εκκολάπτονται 4-9 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση τους, ανάλογα με τη θερμοκρασία του νερού. Κατά τη διάρκεια των επόμενων 2-3 μηνών οι λάρβες παρασύρονται από την ανοικτή θάλασσα παράκτια προς την ακτή και καταλήγουν σε ρυάκια και εκβολές ποταμών. Τα μέρη αυτά αποτελούν για τα νεαρά ιχθύδια πια, ενδαιτήματα προστασίας για τα επόμενα 4 με 5 χρόνια, μέχρι αυτά να ενηλικιωθούν, να ωριμάσουν και να αποκτήσουν συνήθειες ενήλικων ψαριών (Brosowski 1999).

Σήμερα, στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς υπάρχει η δυνατότητα ελέγχου όλων των φάσεων της αναπαραγωγικής διαδικασίας. Αρχικά, επιλέγονται και συντηρούνται οι κατάλληλοι γεννήτορες, δηλαδή το κατάλληλο γενετικό υλικό από το οποίο θα προκύψει ο κατάλληλος αριθμός, αλλά και η κατάλληλη ποιότητα απογόνων. Στη συνέχεια επιδιώκεται η σύγχρονη πρόκληση της γεννητικής ωρίμανσης των γεννητόρων. Οι κατάλληλες συνθήκες (η απότομη αλλαγή θερμοκρασίας, η φωτοπερίοδος, το μέγεθος των δεξαμενών κλπ) είναι, και εδώ, απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχία. Επίσης, γίνεται χορήγηση ορμονών, οι οποίες βοηθούν στο συγχρονισμό. Ακολουθεί η φάση της τεχνητής γονιμοποίησης, δηλαδή η παραλαβή και η ανάμιξη των αυγών του θηλυκού και του σπέρματος του αρσενικού. Σκοπός αυτής της διαδικασίας είναι η επίτευξη μεγάλου αριθμού γονιμοποιημένων αυγών. Τέλος, γίνεται η επώαση και η εκκόλαψη των αυγών. Και εδώ ελέγχονται αυστηρά τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού και ο φωτισμός, ενώ σημαντική είναι η απομάκρυνση των μη γονιμοποιημένων αυγών ή αυγών με νεκρά έμβρυα, όπως επίσης και η άμεση αντιμετώπιση κάθε πιθανής ασθένειας που μπορεί να προσβάλει τα αυγά (π.χ. εξωπαράσιτα, μύκητες κ.α.). Τα νεαρά ιχθύδια που θα εκκολαφθούν θα πρέπει να διατραφούν σωστά και να ζήσουν σε ιδανικές συνθήκες ώστε να υπάρξουν όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες (Παπουτσόγλου 1997).

Το εμπορικό μέγεθος του λαβρακιού κυμαίνεται από 300g έως 500g (EC, 2012).



Εικόνα 2: Εντατικό σύστημα με πλωτούς κλωβούς, (<http://www.my-fish.info>)

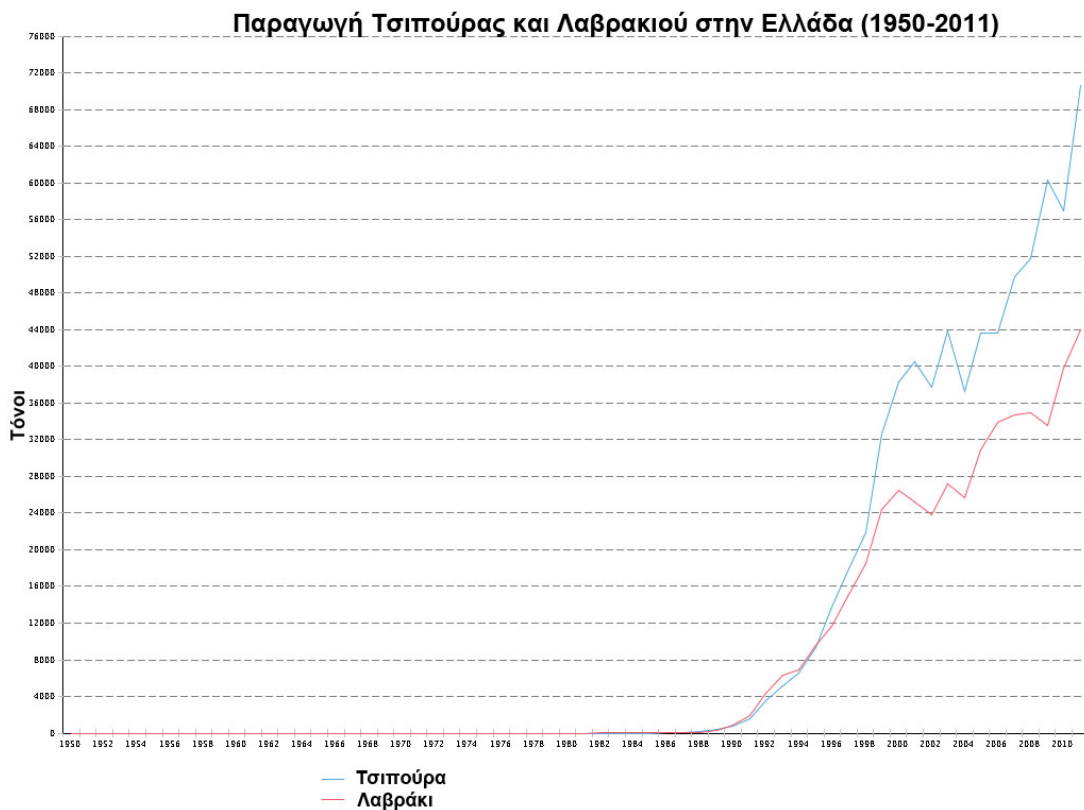


Εικόνα 3: Κλειστό-Ημίκλειστο κύκλωμα με δεξαμενές, (<http://growfishanywhere.com>)

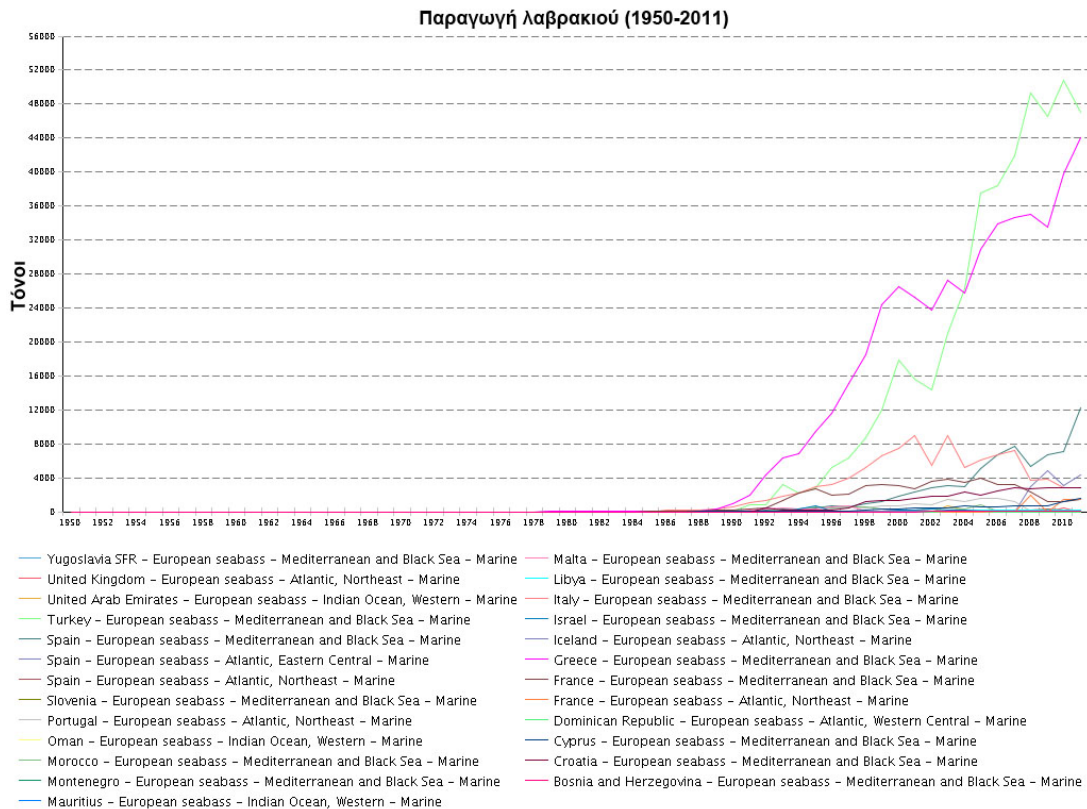
1.2 Οι υδατοκαλλιέργειες στην Ελλάδα

Οι υδατοκαλλιέργειες συμβάλουν σημαντικά στον πρωτογενή τομέα της Ελλάδας. Είναι ένας πολύ δυναμικός κλάδος που συνεισφέρει ουσιαστικά στην Εθνική Οικονομία της χώρας. Σήμερα, η Ελλάδα έρχεται πρώτη στην παραγωγή τσιπούρας-

λαβρακιού παγκόσμια. Από τη δεκαετία του '80 και μετά παρατηρείται σημαντική ενασχόληση με την εκτροφή κυρίως του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) και της τσιπούρας (*Sparus aurata*) και αυτό λόγω των καλών κλιματικών συνθηκών, της εκτεταμένης και προστατευόμενης ακτογραμμής, της τεχνολογικής ανάπτυξης σε τομείς όπως η διατροφή και η εκκόλαση των ψαριών, αλλά και λόγω Διεθνών και Ευρωπαϊκών χρηματικών επενδύσεων στον τομέα. Στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 4) παρουσιάζεται η ετήσια παραγωγή της τσιπούρας και του λαβρακιού στην Ελλάδα, από το 1950 έως το 2011(FAO 2013).



Εικόνα 4: Διακόμανση ετήσιας παραγωγής της τσιπούρας και του λαβρακιού στην Ελλάδα, (FAO 2013)



Εικόνα 5: Διακύμανση ετήσιας παραγωγής του λαβρακιού σε παγκόσμιο επίπεδο, (FAO 2013)

Οι Έλληνες παραγωγοί κάνουν μεγάλες προσπάθειες για επέκταση της εκτροφής με νέα είδη όπως το μυτάκι (*Diplodus puntazzo*), τη συναγρίδα (*Dentex dentex*), το φαγκρί (*Pagrus pagrus*), το σαργό (*Diplodus sargus*), το λυθρίνι (*Pagellus erythrinus*) και τη γλώσσα (*Solea solea*). Η παραγωγή αυτών των ειδών το 2010 ανήλθε στους 2013t (FAO 2013).

Το μεγαλύτερο ποσοστό της ελληνικής παραγωγής υδρόβιων οργανισμών εξάγεται κυρίως στην Ιταλία και στην Ισπανία. Τα ψάρια και κυρίως το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) και η τσιπούρα (*Sparus aurata*), είναι το δεύτερο σημαντικότερο εξαγόμενο προϊόν, μετά το ελαιόλαδο (FAO 2013).

Από το 1990 οι περισσότερες ελληνικές επιχειρήσεις έχουν καταφέρει να πιστοποιήσουν τα προϊόντα τους (ISO 9001 και HACCP), γεγονός που επικροτεί την εμπιστοσύνη των καταναλωτών (FAO 2013).

Στην παραπάνω εικόνα (Εικόνα 5) παρουσιάζεται η διακύμανση της ετήσιας παραγωγής του λαβρακιού σε παγκόσμιο επίπεδο (FAO 2013).

1.3 Λιπίδια

Με βάση τη διαλυτότητα, ως λιπίδια ορίζονται οργανικά μόρια, που απαντούν στη φύση και μπορούν να απομονωθούν κατά την εκχύλιση κυττάρων και ιστών με υδρόφοβους οργανικούς διαλύτες (McMurry 2005).

Τα λιπίδια ταξινομούνται σε δύο βασικές κατηγορίες:

1. Σε αυτά που περιέχουν εστερομάδες που μπορούν να υδρολυθούν (λίπη, κηροί)
2. Σε αυτά που δεν περιέχουν εστερομάδες και δεν υδρολύονται (χοληστερόλη, στεροειδή) (McMurry 2005).

Τα ψάρια χρειάζονται τα λιπίδια σαν πηγή διαθέσιμης ενέργειας, σαν δομικά στοιχεία των μεμβρανών, σαν φορείς των λιποδιαλυτών βιταμινών, σαν πρόδρομα των εικοσανοειδών, των ορμονών και της βιταμίνης D και σαν ενζυμικοί συμπαράγοντες (Higgs and Dong 2000; Turchini, Torstensen et al. 2009). Στα ψάρια, τα λιπίδια αποτελούν καλή πηγή απαραίτητων λιπαρών οξέων με σκοπό τη διατήρηση της καλής υγείας, της σωστής ανάπτυξης του σώματος, της αναπαραγωγής και των λοιπών λειτουργιών του σώματος. Όλοι οι σπονδυλωτοί οργανισμοί (και τα ψάρια) έχουν υψηλές απαιτήσεις σε n-3 και σε n-6 PUFA. Τα τελευταία χρόνια, ο ρόλος των λιπιδίων στη διατροφή των ψαριών έχει γίνει πιο σημαντικός λόγω της παραγωγής και της εφαρμογής σιτηρεσιών υψηλής περιεκτικότητας σε ενέργεια (Turchini, Torstensen et al. 2009). Αυτό ωφελεί όχι μόνο τον εκτροφέα, καθώς μειώνεται η περίοδος εκτροφής, αλλά ταυτόχρονα και το περιβάλλον (Sargent, Tocher et al. 2002).

Τα όρια των κυττάρων σχηματίζονται από βιολογικές μεμβράνες, τους φραγμούς που καθορίζουν το εσωτερικό και το εξωτερικό του κυττάρου. Οι φραγμοί αυτοί εμποδίζουν μόρια που έχουν παραχθεί μέσα στο κύτταρο να διαχυθούν προς το εξωτερικό του κυττάρου και ανεπιθύμητα μόρια από το εξωτερικό να εισχωρήσουν μέσα σ' αυτό. Ωστόσο, τα κύτταρα περιέχουν συστήματα μεταφοράς, τα οποία επιτρέπουν την πρόσληψη συγκεκριμένων μορίων από αυτά καθώς και την απομάκρυνση ανεπιθύμητων μορίων από το εσωτερικό τους. Αυτά τα συστήματα προσδίνουν στις μεμβράνες τη σημαντική ιδιότητα της επιλεκτικής διαπερατότητας (Berg, Tymoczko et al. 2001).

Οι μεμβράνες είναι δυναμικές δομές στις οποίες οι πρωτεΐνες «πλέουν» σε μια θάλασσα λιπιδίων. Τα λιπίδια λειτουργούν ως φραγμός διαπερατότητας, ενώ οι πρωτεΐνες λειτουργούν ως σύστημα μεταφοράς αποτελούμενο από αντλίες και διαύλους, προσδίνοντας έτσι στη μεμβράνη τη δυνατότητα της επιλεκτικής διαπερατότητας (Berg, Tymoczko et al. 2001).

Οι μεμβράνες αποτελούνται κυρίως από λιπίδια και πρωτεΐνες. Ο λόγος της μάζας της πρωτεΐνης προς τη μάζα του λιπιδίου στις περισσότερες βιολογικές μεμβράνες κυμαίνεται από 1:4 έως 4:1. Οι μεμβράνες περιέχουν επίσης υδατάνθρακες που είναι συνδεδεμένοι με τα λιπίδια και τις πρωτεΐνες. Τα μεμβρανικά λιπίδια είναι συγκριτικά μικρά μόρια, τα οποία έχουν μια υδρόφοβη και μια υδρόφιλη ομάδα. Αυτά τα λιπίδια σε υδατικό περιβάλλον σχηματίζουν αυθόρμητα κλειστά διαμοριακά λεπτά φύλλα.

Αυτές οι διπλοστοιβάδες λιπιδίων αποτελούν φραγμούς στη ροή πολικών μορίων. Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες είναι βυθισμένες στη διπλοστοιβάδα λιπιδίων, η οποία δημιουργεί το κατάλληλο περιβάλλον για τη δράση τους (Berg, Tymoczko et al. 2001).

Οι μεμβράνες είναι μη ομοιοπολικά συγκροτήματα. Τα μόρια πρωτεϊνών και λιπιδίων που τις αποτελούν διατηρούνται ως δομημένο σύνολο μέσω των πολλών μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων, οι οποίες είναι και συνεργειακές (Berg, Tymoczko et al. 2001).

Οι μεμβράνες είναι ρευστές δομές. Τα λιπιδικά μόρια διαχέονται με μεγάλη ταχύτητα μέσα στο μεμβρανικό επίπεδο, όπως κάνουν και οι μεμβρανικές πρωτεΐνες, εκτός εάν είναι αγκυροβολημένες μέσω ειδικών αλληλεπιδράσεων. Αντίθετα, ούτε τα λιπίδια, ούτε οι πρωτεΐνες μπορούν να περιστραφούν από τη μία όψη της μεμβράνης στην άλλη (εγκάρσια διάχυση). Οι μεμβράνες μπορούν να θεωρηθούν ως δισδιάστατα διαλύματα προσανατολισμένων λιπιδίων και πρωτεϊνών (Berg, Tymoczko et al. 2001).

Οι περισσότερες μεμβράνες είναι ηλεκτρικά πολωμένες, έτσι ώστε το εσωτερικό τους να είναι αρνητικό (-60mV). Το μεμβρανικό δυναμικό παίζει πρωταρχικό ρόλο στη μεταφορά μορίων, στη μετατροπή ενέργειας και στη διεγερσιμότητα (Berg, Tymoczko et al. 2001).

1.4 Λιπαρά οξέα

Από τις πιο σημαντικές ιδιότητες των λιπιδίων είναι οι υδροφοβικές τους ιδιότητες. Οι ιδιότητες αυτές οφείλονται κυρίως σε ένα συστατικό των λιπιδίων, τα λιπαρά οξέα ή απλώς λίπη. Τα λιπαρά οξέα είναι αλυσίδες υδρογονανθράκων διαφόρων μηκών και βαθμών κορεσμού, οι οποίες απολήγουν σε καρβοξυλικές ομάδες. Η συστηματική ονοματολογία για ένα λιπαρό οξύ προκύπτει από το όνομα του αρχικού υδρογονάνθρακα με αλλαγή της κατάληξης από -ιο σε -ικό. Παραδείγματος χάριν, το κορεσμένο λιπαρό οξύ C₁₈ καλείται δεκαοκτανικό οξύ, διότι ο αρχικός υδρογονάνθρακας καλείται δεκαοκτάνιο. Ένα C₁₈ λιπαρό οξύ με έναν διπλό δεσμό καλείται δεκαοκτενικό οξύ, με δύο διπλούς δεσμούς δεκαοκταδιενικό οξύ και με τρεις διπλούς δεσμούς δεκαοκτατριενικό οξύ. Ο συμβολισμός 18:0 σημαίνει λιπαρό οξύ C₁₈ χωρίς διπλούς δεσμούς, ενώ ο συμβολισμός 18:2 δηλώνει ότι υπάρχουν δύο διπλοί δεσμοί (Berg, Tymoczko et al. 2001).

Από τις πιο σημαντικές ιδιότητες των λιπιδίων είναι οι υδροφοβικές τους ιδιότητες. Οι ιδιότητες αυτές οφείλονται κυρίως σε ένα συστατικό των λιπιδίων, τα λιπαρά οξέα ή απλώς λίπη. Τα λιπαρά οξέα είναι αλυσίδες υδρογονανθράκων διαφόρων μηκών και βαθμών κορεσμού, οι οποίες απολήγουν σε καρβοξυλικές ομάδες. Η συστηματική ονοματολογία για ένα λιπαρό οξύ προκύπτει από το όνομα του αρχικού υδρογονάνθρακα με αλλαγή της κατάληξης από -ιο σε -ικό. Παραδείγματος χάριν, ο κορεσμένο λιπαρό οξύ C₁₈ καλείται δεκαοκτανικό οξύ, διότι ο αρχικός υδρογονάνθρακας καλείται δεκαοκτάνιο. Ένα C₁₈ λιπαρό οξύ με έναν διπλό δεσμό καλείται δεκαοκτενικό οξύ, με δύο διπλούς δεσμούς δεκαοκταδιενικό οξύ και με τρεις διπλούς δεσμούς δεκαοκτατριενικό οξύ. Ο συμβολισμός 18:0 σημαίνει λιπαρό οξύ C₁₈ χωρίς διπλούς δεσμούς, ενώ ο συμβολισμός 18:2 δηλώνει ότι υπάρχουν δύο διπλοί δεσμοί (Berg, Tymoczko et al. 2001).

Τα άτομα άνθρακα του λιπαρού οξέος αριθμούνται αρχίζοντας από το τελικό καρβοξύλιο. Τα άτομα στις θέσεις 2 και 3 ονομάζονται συχνά α και β αντίστοιχα. Το πλέον απομακρυσμένο άτομο άνθρακα ονομάζεται και άτομο ω-άνθρακα. Η θέση του διπλού δεσμού δηλώνεται με το σύμβολο Δ με έναν εκθέτη. Π.χ., cis-Δ⁹ σημαίνει ότι υπάρχει ένας διπλός δεσμός cis μεταξύ των ατόμων 9 και 10, ενώ trans-Δ² σημαίνει ότι υπάρχει ένας διπλός δεσμός trans μεταξύ των ατόμων 2 και 3. Εναλλακτικά, η θέση του διπλού δεσμού μπορεί να υποδειχθεί με αρίθμηση από τον πιο απομακρυσμένο άνθρακα (Berg et al., 2001).

Ο φυσιολογικός ρόλος των λιπαρών οξέων συγκεντρωτικά είναι :

1. Είναι δομικοί λίθοι φωσφολιπιδίων και γλυκολιπιδίων.
2. Πολλές πρωτεΐνες τροποποιούνται με την ομοιοπολική δέσμευση λιπαρών οξέων, τα οποία τις καθοδηγούν στις θέσεις τους στις μεμβράνες.
3. Είναι καύσιμα μόρια. Αποθηκεύονται ως τριακυλογλυκερόλες (=ουδέτερα λίπη ή τριγλυκερίδια), οι οποίες είναι μη φορτισμένοι εστέρες της

γλυκερόλης με λιπαρά οξέα. Οι τριακυλογλυκερόλες κινητοποιούν λιπαρά οξέα, τα οποία οξειδώνονται, για να καλύψουν ενεργειακές ανάγκες του κυττάρου ή του οργανισμού.

4. Παράγωγα των λιπαρών οξέων χρησιμεύουν ως ορμόνες και ως ενδοκυτταρικοί αγγελιαφόροι (Berg, Tymoczko et al. 2001).

Τα λιπαρά οξέα που χορηγούνται με την τροφή στα εκτρεφόμενα ψάρια και κατ' επέκταση στον άνθρωπο περιλαμβάνουν τα πολυακόρεστα ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα και αποτελούν δομικές ομάδες των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης (Fountoulaki, Alexis et al. 2003). Τα λιπαρά οξέα ως συστατικό των φωσφολιπιδίων, προσδίδουν στο μόριο τις υδρόφοβες ιδιότητες, ενώ τα υπόλοιπα συστατικά τις υδρόφιλες, οι οποίες επιτρέπουν την επικοινωνία με το περιβάλλον (Berg, Tymoczko et al. 2001). Επιπλέον, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα συμβάλλουν και στη φυσιολογική λειτουργία πολλών νευροορμονικών μηχανισμών (Bhathena 2000; Tanskanen, Hibbeln et al. 2001; Young and Conquer 2005).

Η αφθονία ενός λιπαρού οξέως στην τροφή (π.χ. του αραχιδονικού) θα μεταβάλει την διαιτητική ανάγκη για κάποιο άλλο απαραίτητο λιπαρό οξύ (όπως το EPA). Επιπλέον, το τελικό επίπεδο του EPA επηρεάζεται από τις ικανότητες του οργανισμού (γενετικά προκαθορισμένες) να βιοσυνθέτει το συγκεκριμένο λιπαρό οξύ από πρόδρομες ενώσεις, μικρότερης αλυσίδας και να καταβολίζει τόσο την πρόδρομη ένωση όσο και το προϊόν. Αυτές οι ιδιαιτερότητες καθιστούν αναγκαία την πλήρη κατανόηση της θρέψης των λιπιδίων, γεγονός που πιθανώς να εξηγεί την αυξημένη ενασχόληση των επιστημόνων με αυτή (Sargent, Tocher et al. 2002).

1.4.1 Λιπαρά οξέα στη διατροφή των ψαριών και αντικατάσταση λίπους στις ιχθυοτροφές

Η βιομηχανία της υδατοκαλλιέργειας αποτελεί μέχρι σήμερα τον γρηγορότερα αναπτυσσόμενο τομέα παραγωγής τροφίμων, αυξανόμενη με ένα μέσο ετήσιο ρυθμό 8.9% από το 1950 έως το 2004 (FAO 2007). Η παγκόσμια υδατοκαλλιέργεια παράγει περίπου 60 εκατομμύρια τόνους θαλασσινών προϊόντων αξίας πάνω από US\$70 δισεκατομμυρίων ετησίως. Τα ψάρια υδατοκαλλιέργειας αποτελούν περίπου το 50% όλων των ψαριών που καταναλώνονται παγκοσμίως και αυτό το ποσοστό προβλέπεται να συνεχίζει να αυξάνει σαν αποτέλεσμα της μείωσης της παραγωγής από τη συλλεκτική αλιεία και της αυξανόμενης κατανάλωσης θαλασσινών προϊόντων. Η παραγωγή από τη συλλεκτική αλιεία δεν προβλέπεται να αυξηθεί και η υδατοκαλλιέργεια καλείται να καλύψει τις ανάγκες σε θαλασσινά προϊόντα ενός αυξανόμενου ανθρώπινου πληθυσμού. Σύμφωνα με εκτιμήσεις, οι ιχθυοτροφές χρησιμοποιούν το 87% των παγκόσμιων αποθεμάτων του ιχθυελαίου ως πηγή λίπους (Tacon, Hasan et al. 2006). Επίσης, σύμφωνα με στοιχεία του FAO και του IFFO (International Fishmeal and Fish Oil Organization), το 2012 οι υδατοκαλλιέργειες

κατανάλωσαν περίπου το 88% των παγκόσμιων αποθεμάτων σε ιχθυέλαιο (Tacon and Metian 2008). Το 2006 η παγκόσμια παραγωγή εκτρεφόμενων ψαριών και καρκινοειδών των 23.85 εκατομμυρίων τόνων κατανάλωσε 25.36 εκατομμύρια τόνους ιχθυοτροφών που περιείχαν 0.83 εκατομμύρια τόνους ιχθυελαίου που αντιστοιχούν σε 16.6 εκατομμύρια τόνους πελαγικών ψαριών (Tacon and Metian 2008). Η παραγωγή του ιχθυελαίου από τη συλλεκτική αλιεία ανήλθε σε 0.99 εκατομμύρια τόνους το 2006 (Turchini, Torstensen et al. 2009). Επίσης, πρόσφατα αρχίζει να αυξάνει η ζήτηση του ιχθυελαίου και από τις βιομηχανίες παραγωγής άλλων τροφίμων, προκειμένου να βελτιώσουν την ποιότητα των προϊόντων που καταναλώνονται από τον άνθρωπο ή τα ζώα.

Τα τελευταία τριάντα χρόνια η ετήσια παραγωγή ιχθυελαίου δεν έχει ξεπεράσει τους 1.5 εκατομμύρια τόνους ανά έτος (Turchini, Torstensen et al. 2009) και η γρήγορα αυξανόμενη βιομηχανία υδατοκαλλιέργειας δεν μπορεί να συνεχίζει να βασίζεται στα αποθέματα θαλάσσιων πελαγικών ψαριών για τη προμήθεια ιχθυελαίου. Μάλιστα, ο Διεθνής Οργανισμός Ιχθυάλευρων και Ιχθυελαίων (International Fishmeal and Fish Oil Organization) προβλέπει περαιτέρω μείωση της παραγωγής του ιχθυελαίου, επιδεινώνοντας τη δραματική κατάσταση των διαθέσιμων αποθεμάτων ιχθυελαίου (Tacon and Metian 2008).

Η Ελλάδα είναι η πρώτη χώρα στην Ευρώπη, στην παραγωγή λαβρακιού. Το κόστος των ιχθυοτροφών αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για τη βιωσιμότητα του κλάδου. Η μειωμένη διαθεσιμότητα ιχθυελαίων και το υψηλό κόστος μπορεί να αποτελέσουν τροχοπέδη για τον κλάδο των υδατοκαλλιεργειών, που είναι ο δεύτερος σε εξαγωγές στον πρωτογενή τομέα της Ελλάδας. Οι ανάγκες σε ιχθυέλαιο, το οποίο και εισάγεται, συνεχώς αυξάνονται ακολουθώντας τη μέχρι σήμερα συνεχή ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών. Η αειφόρος ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών αποτελεί σημαντικό στόχο του νέου Επιχειρησιακού Προγράμματος Αλιείας (FAO 2013).

Στην αγορά της Βορειοδυτικής Ευρώπης η τιμή του ιχθυελαίου αυξήθηκε από 314 US\$ ανά τόνο το 1999 σε 812 US\$ ανά τόνο το 2006 (Turchini, Torstensen et al. 2009). Σύμφωνα με πρόσφατα στοιχεία που δίνονται από τον FAO (Μάρτιος, 2010) η παραγωγή ιχθυελαίου μειώθηκε το 2010, λόγω φαινομένου El Niño αλλά και του σεισμού στη Χιλή, που προκάλεσε καταστροφές στη βιομηχανία της. Σύμφωνα με τα τελευταία στοιχεία του FAO (Globefish 2013), η τιμή του ιχθυελαίου στο τελευταίο τρίμηνο του 2012 ανήλθε στα US\$2183/t, η οποία είναι 43% αυξημένη σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή του ιχθυελαίου κατά το τελευταίο τρίμηνο του 2011.

Παρά το υψηλό κόστος του ιχθυελαίου, οι παραγωγοί ιχθυοτροφών συνεχίζουν να χρησιμοποιούν αυτό το προϊόν για την παρασκευή των ιχθυοτροφών, θεωρώντας ότι είναι η καλύτερη πηγή λίπους για την εκτροφή των ψαριών, ιδιαίτερα των θαλάσσιων σαρκοφάγων ειδών. Ο IFFO (Chamberlain 2011) προτείνει τη χρήση του ιχθυελαίου μόνο για τις ιχθυοτροφές στην αρχή (γόνος) και στο τέλος της εκτροφής των ψαριών, καθώς και των γεννητόρων. Το κύριο χαρακτηριστικό του ιχθυελαίου είναι το υψηλό επίπεδο των n-3 ακόρεστων λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας (Highly unsaturated fatty acids, HUFA), που είναι γνωστό ότι είναι απαραίτητα για την καλή ανάπτυξη και υγεία

των εκτρεφόμενων ψαριών. Όμως αυτή η κατάσταση δεν αναμένεται να συνεχισθεί εξαιτίας πολλών παραγόντων. Πέρα από τους οικονομικούς λόγους της αύξησης των τιμών του ιχθυελαίου και των περιορισμένων αποθεμάτων, η βιομηχανία της υδατοκαλλιέργειας υφίσταται έντονη κριτική από τους επιστήμονες και τις περιβαλλοντικές ομάδες σχετικά με τη μακροπρόθεσμη αειφορία των αλιευτικών αποθεμάτων (Naylor, Goldburg et al. 2000; Worm, Barbier et al. 2006). Η ηθική της χρήσης αλιευτικών πηγών, και κυρίως πελαγικών ψαριών, για ζωικές τροφές αντί για άμεση ανθρώπινη κατανάλωση, είναι επίσης ένα θέμα παγκόσμιας συζήτησης και σχετικές πολιτικές αρχίζουν να αναπτύσσονται (FAO 2007).

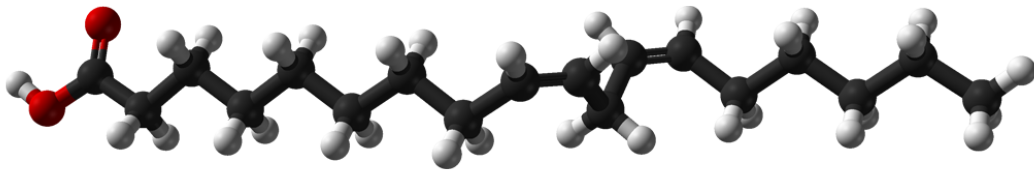
Για τους λόγους αυτούς, υπάρχει άμεσα μεγάλη ανάγκη στη βιομηχανία της υδατοκαλλιέργειας να βρει και να εφαρμόσει εναλλακτικές πηγές λίπους. Η πρόκληση για την παραγωγή ψαριών είναι να διατηρήσει ή και να βελτιώσει τα αναγνωρισμένα πλεονεκτήματα των ψαριών για την υγεία του ανθρώπου, ενώ συγχρόνως να μεγιστοποιήσει την αειφορία, την υγεία των ψαριών και τα οικονομικά οφέλη. Ερευνητικές δραστηριότητες διεξάγονται πρόσφατα για την αξιολόγηση εναλλακτικών πηγών λίπους (Turchini, Torstensen et al. 2009).

Αντίθετα με την παραγωγή του ιχθυελαίου, η οποία έχει μείνει στατική τις τρεις τελευταίες δεκαετίες, η παραγωγή φυτικών ελαίων (VO) έχει αυξηθεί σημαντικά. Η παγκόσμια παραγωγή φυτικών ελαίων εκτιμήθηκε σε πάνω από 115 εκατομμύρια τόνους το 2005 (MPOB 2005) και η παραγωγή τους συνεχίζει να αυξάνει ετησίως. Η μέση ετήσια τιμή του ιχθυελαίου για το 2013 ανέρχεται στα US\$2,257.86, ενώ του ελαίου ελαιοκράμβης στα US\$1,134.71 (FAO 2013). Προβλέπεται ότι αυτή η διαφορά των τιμών μπορεί και να αυξηθεί, με το ιχθυέλαιο να δέχεται υψηλή ζήτηση από τη βιομηχανία των ιχθυοτροφών και συγχρόνως η παγκόσμια παραγωγή του να μειώνεται. Ωκεάνια φαινόμενα, όπως η επανεμφάνιση El Niño (το 1998 και το 2003), μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά την αλιεία πελαγικών ψαριών προκαλώντας αύξηση στην τιμή του ιχθυελαίου (Turchini, Torstensen et al. 2009). Αυτό κάνει τα φυτικά έλαια ελκυστικά από την οικονομική πλευρά στους παραγωγούς ιχθυοτροφών που θέλουν φθηνότερες και πραγματοποιήσιμες εναλλακτικές λύσεις για το ιχθυέλαιο. Οι τιμές των φυτικών ελαίων αυξάνουν τα τελευταία χρόνια λόγω αυξημένων αναγκών για ανθρώπινη κατανάλωση αλλά και της αναπτυσσόμενης βιομηχανίας βιο-αερίου. Όμως γενικά η αύξηση στις τιμές του ιχθυελαίου είναι μεγαλύτερη από αυτή στις τιμές των φυτικών ελαίων.

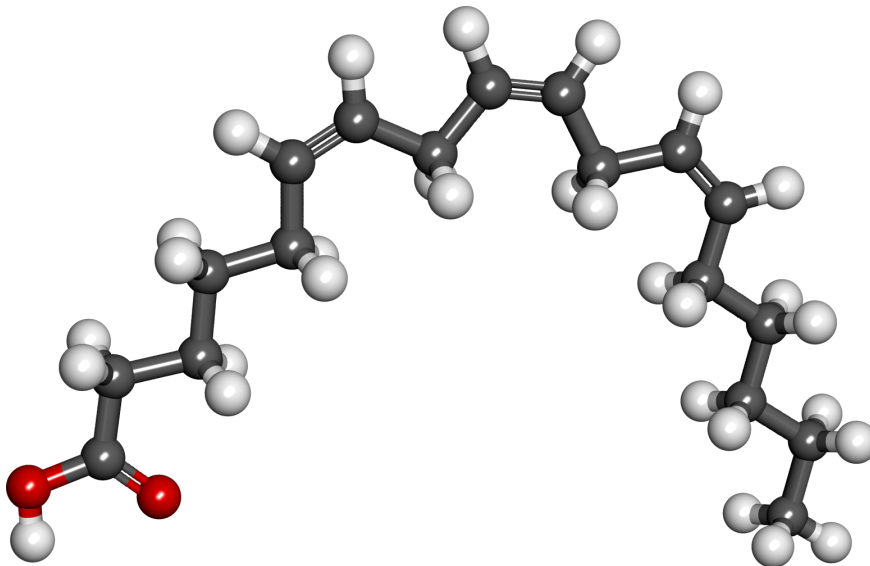
Η πρόσφατη έρευνα έχει δείξει ότι τα φυτικά έλαια εύκολα καταβολίζονται από τα ψάρια σαν πηγές ενέργειας για την ανάπτυξη (Bell, McEvoy et al. 2001; Stubhaug, Lie et al. 2007). Επομένως, μεγάλη ποσότητα ιχθυελαίου που χρησιμοποιείται στις ιχθυοτροφές μπορεί να αντικατασταθεί με φυτικά έλαια, που είναι πιο διαθέσιμα και μικρότερου σχετικά κόστους. Όμως, τα χημικά χαρακτηριστικά των φυτικών ελαίων, και ιδιαίτερα η σύστασή τους σε λιπαρά οξέα, θέτουν περιορισμούς σε αυτές τις εναλλακτικές λύσεις λίπους.

Τα λίπη είναι αναγκαία για τα ψάρια ως πηγή διαθέσιμης ενέργειας, ως δομικά συστατικά των βιομεμβρανών, ως μεταφορείς λιποδιαλυτών βιταμινών, ως πρόδρομες

ενώσεις των εικασανοειδών, ορμονών και βιταμίνης D και ως συνένζυμα (Higgs and Dong 2000). Στα ψάρια, τα λίπη της τροφής αποτελούν σημαντική πηγή των απαραίτητων λιπαρών οξέων για κανονική ανάπτυξη, αναπαραγωγή και διάφορες σωματικές λειτουργίες. Οι διατροφικές απαιτήσεις των ψαριών αφορούν κυρίως τα n-3 και n-6 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA). Οι βιολογικά ενεργές μορφές των απαραίτητων λιπαρών οξέων είναι γενικά οι C20 και C22 μεταβολίτες του λινολεϊκού οξέος (LA: 18:2n-6) (Εικόνα 6) και α-λινολενικού οξέος (ALA:18:3n-3) (Εικόνα 7). Το ιχθυέλαιο παραδοσιακά χρησιμοποιείται ως η μόνη πηγή λίπους στις εμπορικές τροφές των ψαριών, κυρίως λόγω της αφθονίας των απαραίτητων λιπαρών οξέων σε αυτό το προϊόν.



Εικόνα 6: Λινολεϊκό οξύ (LA), (<http://commons.wikimedia.org>)



Εικόνα 7: α-Λινολενικό οξύ (ALA), (<http://commons.wikimedia.org>)

Τα περισσότερα φυτικά έλαια είναι σχετικά φτωχές πηγές των n-3 λιπαρών οξέων σε σύγκριση με το θαλάσσιο ιχθυέλαιο. Τα απαραίτητα n-3 HUFA για την ανάπτυξη και την υγεία των ψαριών απουσιάζουν από όλα τα φυτικά έλαια. Τα φυτικά έλαια είναι πλούσια σε n-6 και n-9 λιπαρά οξέα, κυρίως LA και ολεϊκό (OA, 18:1n-9), με εξαίρεση το λινέλαιο (LO, linseed oil), το οποίο είναι πλούσιο σε ALA. Ανάλογα με το είδος, τα ψάρια έχουν διάφορες ικανότητες της βιομετατροπής του 18:3n-3 σε n-3 HUFA

(Sargent, Tocher et al. 2002), αλλά στις περισσότερες περιπτώσεις, ιδιαίτερα στα θαλάσσια σαρκοφάγα είδη, όπως το λαβράκι, η ποσότητα των n-3 HUFA που παράγεται in vivo είναι ανεπαρκής για να ικανοποιήσει τη καλή ανάπτυξη και υγεία των ψαριών. Οι πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι σημαντική ποσότητα του ιχθυελαίου μπορεί να αντικατασταθεί με φυτικά έλαια στις τροφές αρκετών ειδών ψαριών χωρίς να επηρεάσει την ανάπτυξη και την αξιοποίηση της τροφής, με την προϋπόθεση ότι επαρκείς ποσότητες των ειδικών απαραίτητων λιπαρών οξέων (EFA) παρέχονται στο σιτηρέσιο. Τα επίπεδα αυτά διαφοροποιούνται από πολλούς παράγοντες, όπως το είδος, το στάδιο ανάπτυξης, κλπ. Όταν, το ιχθυέλαιο αντικαθίσταται τελείως με έλαια που δεν έχουν EFA, συγχρόνως και με σημαντική αντικατάσταση του ιχθυάλευρου, υπάρχει κίνδυνος η τροφή να είναι ανεπαρκής. Για τον λόγο αυτό το ποσοστό αντικατάστασης του ιχθυελαίου με φυτικά έλαια παίζει σημαντικό ρόλο. Το ποσοστό αντικατάστασης εξαρτάται από την περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα των συστατικών της τροφής και πρέπει να υπολογίζεται έτσι ώστε να επιτρέψει την παρουσία των EFA σε επαρκή επίπεδα για την ανάπτυξη του κάθε είδους.

Άλλες νέες εναλλακτικές πηγές λίπους είναι έλαια από καλλιέργειες μονοκύτταρων μικροφυκών και κωπηπόδων. Όμως η διαθεσιμότητα αυτών των ελαίων είναι πολύ περιορισμένη και το κόστος παραγωγής πολύ υψηλό. Η εφαρμογή της βιοτεχνολογίας για γενετικά τροποποιημένα φυτά για την παραγωγή ελαίων πλούσιων σε n-3 HUFA δείχνει καλά αποτελέσματα. Όμως, γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί θεωρούνται ότι είναι απειλή για το περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία (Myhr and Dalmo 2005). Τα λίπη από τα υποπροϊόντα χερσαίων ζώων αποτελούν μία φθηνή διαθέσιμη πηγή για τη βιομηχανία των ιχθυοτροφών. Όμως η χρήση τους στις ιχθυοτροφές έχει απαγορευθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση.

Τα υποπροϊόντα των ψαριών στις μονάδες μεταποίησης, θεωρούνταν ως χαμηλής αξίας και επομένως αποβάλλονταν. Όμως, λόγω των οικονομικών και περιβαλλοντικών πλεονεκτημάτων της χρησιμοποίησης τέτοιων υποπροϊόντων, μερικές χώρες χρησιμοποιούν τα υποπροϊόντα αλιείας και υδατοκαλλιέργειας για την παραγωγή θαλάσσιων προϊόντων, όπως ιχθυάλευρα. Τα υποπροϊόντα των ψαριών, κυρίως τα εντόσθια, επίσης έχουν μεγάλη δυνατότητα για χρήση στη παραγωγή ιχθυελαίου για την εκτροφή των ψαριών (Mondal, Kaviraj et al. 2006; Faul, Erdfelder et al. 2007).

Πρόσφατα, έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για τη δυνατότητα χρήσης αλεύρων και ελαίων από υποπροϊόντα υδρόβιων οργανισμών για την παραγωγή πιστοποιημένων βιολογικών (οργανικών) εκτρεφόμενων ψαριών. Σύμφωνα με τον Κανονισμό (Ε.Κ.) αριθ. 710/2009, που αφορά στη θέσπιση λεπτομερών κανόνων για τη βιολογική παραγωγή ζώων υδατοκαλλιέργειας, δίνεται προτεραιότητα στη χρήση βιολογικών προϊόντων υδατοκαλλιέργειας, ιχθυάλευρων και ιχθυελαίων από υπολείμματα βιολογικής υδατοκαλλιέργειας για την παρασκευή των ιχθυοτροφών καθώς και από υπολείμματα ψαριών που έχουν ήδη αλιευθεί για ανθρώπινη κατανάλωση στο πλαίσιο βιώσιμης αλιείας. Στην περίπτωση που αυτές οι πρώτες ύλες δεν είναι διαθέσιμες μπορούν να χρησιμοποιούνται ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια από υπολείμματα μη βιολογικής υδατοκαλλιέργειας (μέχρι 30% του ημερήσιου σιτηρεσίου) για μεταβατική

περίοδο που λήγει στις 31 Δεκεμβρίου 2014. Η χρήση και η ανακύκλωση αυτών των υδάτινων υποπροϊόντων για την αντικατάσταση του ιχθυελαίου στις εμπορικές ιχθυοτροφές μπορεί να μειώσει σημαντικά το κόστος των τροφών, να μειώσει τα απόβλητα στο περιβάλλον και να βελτιώσει την παραγωγικότητα και την αειφορία της υδατοκαλλιέργειας. Όμως, κατάλληλη συντήρηση, επεξεργασία και έλεγχος της ποιότητας του ελαίου από τα υποπροϊόντα εκτρεφόμενων ψαριών απαιτούνται για τη προώθηση μίας πιο φιλικής για το περιβάλλον και αειφόρου υδατοκαλλιέργειας. Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει απαγορεύσει τη διατροφή ενός είδους με το ίδιο είδος (intra-species ban), για την αποφυγή κινδύνων μετάδοσης ασθενειών. Όμως, τα ιχθυέλαια από τα υποπροϊόντα της μεγάλης βιομηχανίας παραγωγής σολομού μπορεί να χρησιμοποιηθούν για τη διατροφή άλλων ειδών, όπως της τσιπούρας και του λαβρακιού. Τέτοια ιχθυέλαια υπάρχουν πρόσφατα στο εμπόριο και με συμφέρουσες τιμές.

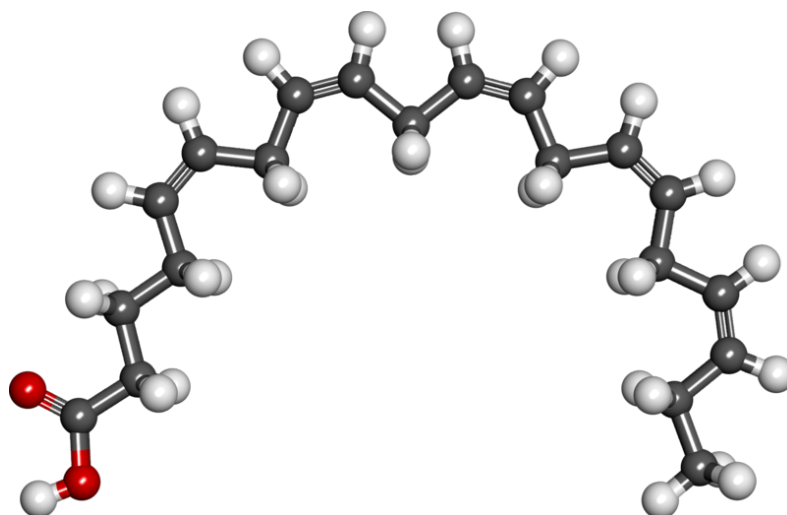
Η παραγωγή από την εκτροφή σολομού παγκοσμίως ανέρχεται σε ένα εκατομμύριο τόνους περίπου, και μετά από την επεξεργασία προκύπτουν περίπου 250.000 τόνοι υποπροϊόντων (εντόσθια, δέρμα, οστά). Από αυτά προκύπτουν ιχθυέλαια που υφίστανται κατάλληλη επεξεργασία (salmon oil microfiltration), ώστε να μειωθούν οι οργανικοί ρυπαντές και να εξασφαλισθεί η υγιεινή ποιότητα των προϊόντων. Στα έλαια αυτά παραμένουν οι χρωστικές (carotenoid pigments, astaxanthin), που είναι φυσικά αντιοξειδωτικά (Wright 2004) και ευεργετικά για την υγεία του ανθρώπου (Seierstad, Seljeflot et al. 2005). Επίσης, τα έλαια αυτά έχουν ικανοποιητικά επίπεδα n-3 HUFA. Παρά ταύτα η χρήση τους στις ιχθυοτροφές χρειάζεται έρευνα, καθώς η εφαρμογή της χρήσης αυτών των ελαίων είναι πολύ πρόσφατη. Τα δημοσιευμένα δεδομένα σχετικά με τις επιδράσεις τους στην ανάπτυξη και φυσιολογία των ψαριών είναι περιορισμένα. Ιδιαίτερη σημασία έχει η μελέτη της σύστασης σε λιπαρά οξέα αυτών των ελαίων που προέρχονται από τον σολομό και οι αλλαγές που προκαλούνται στη σύσταση των ιστών σε λιπαρά οξέα των ψαριών, στα οποία έχουν προσφερθεί μέσω της τροφής.

Σε αρκετές μελέτες αναφέρονται υψηλά επίπεδα περιβαλλοντικών ρυπαντών σε ιχθυοτροφές και στον εκτρεφόμενο σολομό Ατλαντικού. Αυτοί περιλαμβάνουν οργανικούς ρυπαντές (POP) που μπορεί να αποβούν επιβλαβείς για τον καταναλωτή: διοξίνες (PCBs, PCDDs, PCDFs), PBDEs και οργανοχλωριωμένα ζιζανιοκτόνα. Τα μέταλλα δεν συσσωρεύονται συνήθως στα έλαια. Οι οργανικοί ρυπαντές είναι λιποδιαλυτοί και εύκολα βιομεγεθύνονται στη τροφική αλυσίδα. Είναι γνωστό ότι οι POP ρυπαντές προκαλούν καρκίνο και καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος του ανθρώπου, αλλά είναι επίσης επιβλαβείς και για τα ψάρια. Τα ιχθυέλαια από τα θαλάσσια πελαγικά ψάρια στις ιχθυοτροφές είναι η κύρια πηγή των POP στον εκτρεφόμενο σολομό. Αντικατάσταση του ιχθυελαίου με φυτικά έλαια έχει δείξει ότι είναι αποτελεσματική στη μείωση των επιπέδων των διοξινών και οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων στις ιχθυοτροφές και στον εκτρεφόμενο σολομό (Berntssen, Torstensen et al. 2007). Όμως υπάρχουν πιθανότητες χημικής μόλυνσης και από τη χρήση φυτικών ελαίων, λόγω των οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων, αν και έχουν απαγορευθεί σε αρκετές χώρες της Ευρώπης και της Αμερικής. Η καθιέρωση αποδεκτών ορίων για

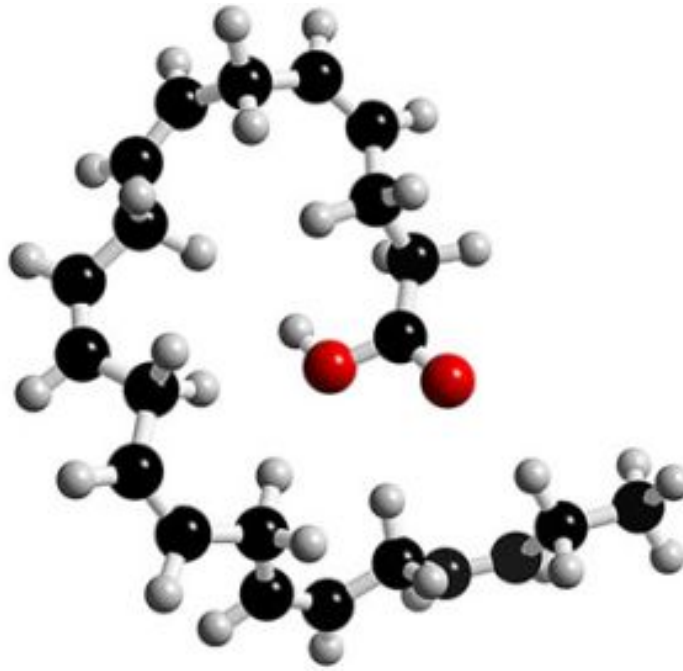
αυτούς τους οργανικούς ρυπαντές από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Directive 2003/57/EC) το 2003 για διάφορα συστατικά τροφών, περιλαμβάνοντας και το ιχθυέλαιο, σημαίνει πρόσθετο κόστος για τη μείωση των συγκεντρώσεων αυτών των ρυπαντών (Tacon, Hasan et al. 2006).

Από τα ανωτέρω γίνεται σαφής η επιτακτική ανάγκη εύρεσης πηγών για την αντικατάσταση του ιχθυελαίου. Επίσης, από την παράθεση των πιθανών πηγών προκύπτει ότι τα φυτικά έλαια και τα υποπροϊόντα υδρόβιων οργανισμών αποτελούν τις μόνες ρεαλιστικές και οικονομικές λύσεις για την αντικατάσταση του ιχθυελαίου στις ιχθυοτροφές. Στην παρούσα μελέτη το ιχθυέλαιο (έλαιο από ψάρια αλιείας) αντικαταστάθηκε μερικώς με έλαιο ελαιοκράμβης (RO) και με ιχθυέλαιο από υποπροϊόντα σολομού υδατοκαλλιέργειας (SO) σε ιχθυοτροφή για λαβράκι. Τα έλαια που χρησιμοποιήθηκαν είναι πιστοποιημένα πως δεν αποτελούν κίνδυνο για την υγεία του ανθρώπου.

Είναι γνωστό ότι τα ψάρια με υψηλή συγκέντρωση σε EPA (20:5n-3) (Εικόνα 8) και DHA (22:6n-3) (Εικόνα 9) σε συνδυασμό με ένα χαμηλό λόγο n-6/n-3 αποτελούν ένα σημαντικό μέρος της υγιεινής διατροφής του ανθρώπου. Η κατανάλωση αυτών των ψαριών συνιστάται λόγω των ευεργετικών ιδιοτήτων που προσφέρουν στον άνθρωπο, και ιδιαίτερα όσον αφορά στην πρόληψη καρδιαγγειακών νοσημάτων και την κατάθλιψη (Sinclair, Begg et al. 2007). Όμως, στα ψάρια που έχουν εκτραφεί με φυτικά έλαια με αυξημένη περιεκτικότητα σε λινολεϊκό οξύ (LA, 18:2n-6), οι ιστοί έχουν αυξημένη αναλογία n-6/n-3 και η θρεπτική τους αξία για τη διατροφή του ανθρώπου μειώνεται. Ο λόγος n-6/n-3 στη σημερινή διατροφή του ανθρώπου είναι 10-20:1 και συνιστάται να είναι 4-5:1 (Simopoulos 2002). Τα φυτικά έλαια που χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα στη διατροφή των ψαριών έχουν αυξημένη αναλογία LA/ALA, εκτός από το λινέλαιο, που έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε α-λινολενικό οξύ (ALA, 18:3n-3).

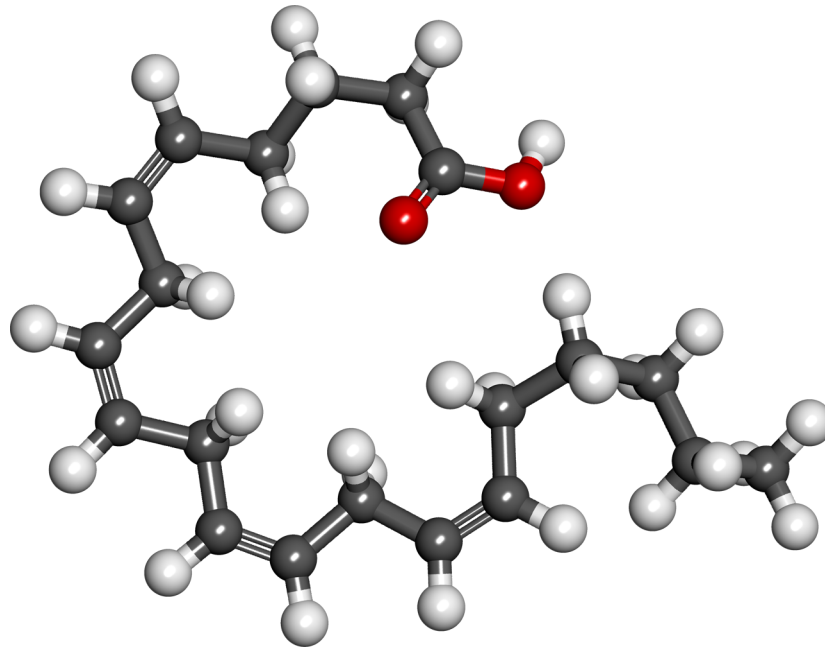


Εικόνα 8: Εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA), (<http://commons.wikimedia.org>)



Εικόνα 9: Δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA), (<http://www.mentalhelp.net>)

Μεγάλης σημασίας κατά την αντικατάσταση του ιχθυελαίου είναι οι λόγοι n-3/n-6 και EPA/DHA/AA (Sargent, Bell et al. 1999). Τα λιπαρά οξέα EPA και AA (Arachidonic, 20:4n-6) (Εικόνα 10) είναι πρόδρομες ενώσεις των εικοσανοειδών που εμπλέκονται σε πολλές φυσιολογικές δραστηριότητες, ανοσολογικές ανταποκρίσεις, αιματολογική και καρδιαγγειακή δραστηριότητα, αναπαραγωγή, νεφρική και νευρική λειτουργία των ψαριών (Tocher 2003). Ένα σημαντικό πρόβλημα για την υγεία των ψαριών, που προκύπτει από την αντικατάσταση του ιχθυελαίου με φυτικά έλαια πλούσια n-6 λιπαρά οξέα, είναι η καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος. Αλλαγή του λόγου n-3/n-6 στο σιτηρέσιο των ψαριών προκαλεί μεταβολές στο λόγο EPA/AA στα ψάρια σε κυτταρικό επίπεδο. Τα εικοσανοειδή που προέρχονται από το AA έχουν μεγαλύτερη ενεργότητα από τα αντίστοιχα του EPA, και η αύξησή τους είναι υπεύθυνη για μεταβολές σε αρκετές φυσιολογικές ανταποκρίσεις των ψαριών, συμπεριλαμβανομένης και της καταστολής του ανοσοποιητικού συστήματος (Tocher 2003). Η αναλογία των n-3 προς n-6 λιπαρών οξέων στη τροφή φαίνεται ότι παίζει τον σημαντικότερο ρόλο σε αυτές τις διαδικασίες. Σε άτομα τσιπούρας, που στο σιτηρέσιο το ιχθυέλαιο έχει μερικώς αντικατασταθεί 60-80% με λινέλαιο, δεν έχουν παρατηρηθεί τέτοια φαινόμενα, παρά μόνο στην ακραία περίπτωση ολικής αντικατάστασης του ιχθυελαίου με λινέλαιο (Montero, Grasso et al. 2008).



Εικόνα 10: Αραχιδονικό οξύ (AA), (<http://commons.wikimedia.org>)

Κάποια από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα φυτικά έλαια για την αντικατάσταση του ιχθυελαίου περιέχουν υψηλά επίπεδα ολεϊκού οξέος (OA, 18:1n-9), το οποίο έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει το λίπος του ήπατος και τον μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών στα ψάρια (Vegusdal, Gjæren et al. 2005). Επίσης, υψηλά επίπεδα του λινολεϊκού οξέος (LA) στο σιτηρέσιο των ψαριών συνδυάζονται με λιπώδη διήθηση του ήπατος. Αντίθετα, δεν παρατηρούνται συνήθως τέτοια φαινόμενα όταν το ιχθυέλαιο έχει αντικατασταθεί με λινέλαιο (Turchini, Torstensen et al. 2009).

Άλλο πρόβλημα που προκύπτει από τα φυτικά έλαια πλούσια σε LA αφορά στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων, καθώς υπάρχει διαφορά στο άρωμα που έχουν οι πτητικές αλδεϋδες που προκύπτουν από τις οξειδώσεις των λιπαρών οξέων. Συγκεκριμένα, οι πτητικές αλδεϋδες από την οξείδωση των n-3 λιπαρών οξέων είναι γενικά ευχάριστες (άρωμα πράσινου μήλου, μανιταριών, κλπ), ενώ των n-6 δυσάρεστο (άρωμα λίπους). Σε αντίθεση με τα περισσότερα φυτικά έλαια, το λινέλαιο στα σιτηρέσια δεν φαίνεται να διαφοροποιεί τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ψαριών, στις εργασίες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα (Regost, Arzel et al. 2003; Turchini, Torstensen et al. 2009).

Σε ορισμένες εργασίες αναφέρεται ότι τα φυτικά έλαια μπορεί να λειτουργήσουν και ως παράγοντες stress. Από τις λίγες εργασίες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα φαίνεται ότι η αυξημένη αναλογία των n-3 προς τα n-6 PUFA, και ιδιαίτερα η αυξημένη περιεκτικότητα σε ALA, παίζει τον καθοριστικό ρόλο για την αύξηση των στρεσσοκών αντιδράσεων των ψαριών. Αυξημένα επίπεδα κορτιζόλης παρατηρήθηκαν σε άτομα τσιπούρας εκτροφόμενα με τροφές που περιείχαν υψηλά ποσοστά ALA μετά από χειρισμούς αύξησης της ιχθυοπυκνότητας (overcrowding) (Caballero, Obach et al. 2002).

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι τα φυτικά έλαια πλούσια σε n-6 μπορεί να προκαλέσουν καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος, αύξηση του λίπους και λιπώδη διήθηση στο ήπαρ, καθώς και υποβάθμιση της ποιότητας του τελικού προϊόντος. Τα φυτικά έλαια πλούσια σε n-3 μπορεί να προκαλέσουν αύξηση των στρεσσογόνων αντιδράσεων των ψαριών, αν και το θέμα χρήζει περισσότερης διερεύνησης. Για το λόγο αυτό, στην παρούσα μελέτη δόθηκε έμφαση στον έλεγχο της ευζωίας του εκτρεφόμενου πληθυσμού με τα προτεινόμενα σιτηρέσια.

Η αντικατάσταση του ιχθυελαίου με φυτικά έλαια μεταβάλλει τη σύσταση των ιστών σε λιπαρά οξέα και επομένως και το εδωδιμο μέρος των ψαριών. Για τον λόγο αυτό συνήθως μετά από τη σίτιση των ψαριών με τροφές που περιέχουν φυτικά έλαια ακολουθεί σίτιση με τροφές χωρίς αντικατάσταση του ιχθυελαίου προς το τέλος της εκτροφής (refeeding, finishing diet, wash-out). Με τον τρόπο αυτό επιχειρείται η επαναφορά σε μία σύσταση λιπαρών οξέων στους ιστούς που να προσομοιάζει αυτής των ψαριών που ως πηγή λίπους έχουν μόνο ιχθυέλαιο. Αυτό όμως δεν επιτυγχάνεται πλήρως, καθώς λιπαρά οξέα που είναι σε αφθονία στα φυτικά έλαια παραμένουν στους ιστούς σε αυξημένες αναλογίες για αρκετό διάστημα, σχεδόν και μετά τον διπλασιασμό του σωματικού βάρους. Τα n-3 HUFA αυξάνονται σημαντικά, όμως τα λιπαρά οξέα OA, LA και ALA παραμένουν αυξημένα. Τα προβλήματα που δημιουργούνται αφορούν κυρίως το LA και την αυξημένη αναλογία n-6/n-3.

Το έλαιο που θα προέρχεται από τα υποπροϊόντα του σολομού υδατοκαλλιέργειας αναμένεται να είναι πλούσιο σε μονοακόρεστα και ιδιαίτερα αυτά της μακράς αλύσου C20, C21 (long-chain monounsaturated fatty acids), καθώς και σε n-3 HUFA (Wu and Bechtel 2008). Το λαβράκι, καθώς και άλλα Μεσογειακά είδη ψαριών, έχει χαμηλά ποσοστά των C20, C21 μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, καθώς η φυσική του διατροφή είναι φτωχή σε αυτά τα λιπαρά οξέα. Ο άνθρωπος και τα χερσαία ζώα, έχουν μειωμένη δυνατότητα εκμετάλλευσης των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων C20, C21, όταν δεν προσαρμοστεί στην κατανάλωσή τους (Bremer and Norum 1982; Sargent, Bell et al. 1999; Sargent, Tocher et al. 2002). Ο μεταβολισμός αυτών των λιπαρών οξέων στο λαβράκι δεν έχει μελετηθεί επαρκώς. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η επίδραση της αύξησης της περιεκτικότητας της τροφής σε αυτά τα λιπαρά οξέα, λόγω της προσθήκης ελαίου από σολομό, στην ανάπτυξη και την ποιότητα σάρκας του λαβρακιού.

1.4.2 Λιπαρά οξέα και ποιότητα σάρκας των ψαριών

Οι υδρόβιοι οργανισμοί και τα ψάρια ειδικότερα αποτελούν άριστες πηγές ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Η κατανάλωσή τους από τους ανθρώπους έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει στη βελτίωση νευρολογικών διαταραχών όπως η κατάθλιψη, σχιζοφρένεια και η απόσπαση προσοχής (Small 2002), στην πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων και επιδιώκεται να αυξηθεί η συμμετοχή τους στη διατροφή (Simopoulos 2002; Kris-Etherton, Harris et al. 2003).

Το λίπος, ως συστατικό της σάρκας, επηρεάζεται ποιοτικά και ποσοτικά από τη διατροφή (Izquierdo, Obach et al. 2003), σε αντίθεση με την πρωτεΐνη, η οποία εξαρτάται κυρίως από ενδογενείς παράγοντες όπως το είδος και το μέγεθος του ψαριού (Borresen 1992; Shearer 1994). Η ενσωμάτωση ελαίων φυτικής προέλευσης στα σιτηρέσια των εκτρεφόμενων ψαριών μεταβάλλει την αναλογία των λιπαρών οξέων στο λίπος της σάρκας τους (Periago, Ayala et al. 2005) και είναι πιθανό να επηρεάσει σημαντικά την ποιότητα καθώς και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της (Izquierdo, Montero et al. 2005).

Η ποιότητα των ψαριών έχει οριστεί ως ένας συνδυασμός χαρακτηριστικών όπως η υγιεινότητα, η ακεραιότητα και η φρεσκότητα (Martin 1988). Στο πλαίσιο του προηγούμενου ορισμού η υγιεινότητα αποτελεί την ποιότητα ενός τροφίμου κατάλληλου για κατανάλωση, καθαρού και μη μολυσμένου, το οποίο έχει αποθηκευθεί σε υγιεινό περιβάλλον. Η ακεραιότητα ορίζεται ως η συμφωνία των προδιαγραφών του προϊόντος με εκείνες που έχει προκαθορίσει ο παραγωγός. Τέλος η φρεσκότητα ορίζεται ως η ποιότητα της εμφάνισης, της γεύσης και της υφής (Grigorakis 2007). Οι οργανοληπτικές ιδιότητες και η διατροφική αξία είναι δύο χαρακτηριστικά που μαζί με τη φρεσκότητα, αποτελούν τη ποιότητα που αντιλαμβάνεται ο καταναλωτής (Grigorakis 2007).

Τέτοια χαρακτηριστικά μπορούν να αξιολογηθούν μέσω του προσδιορισμού της χημικής σύστασης της σάρκας των ψαριών (πρωτεΐνη, λίπος, λιπαρά οξέα).

1.5 Stress

Το σύνολο των ποικίλων εσωτερικών και εξωτερικών παραγόντων (στρεσσικών παραγόντων) που μπορούν να προκαλέσουν μεταβολή στην ομοιοστασία ή στην κατάσταση προσαρμογής του οργανισμού μπορεί να χαρακτηριστεί ως stress. Ο όρος αυτός χαρακτηρίζεται από διττή σημασία, η οποία συνιστάται στη συνύπαρξη της δράσης και της αντίδρασης. Ως δράση χαρακτηρίζεται η βλαπτική επίδραση διαφόρων παραγόντων, εσωτερικής και εξωτερικής προέλευσης, το αποτέλεσμα της προκαλούμενης «κινητοποίησης» των διαφόρων νευροορμονικών μηχανισμών των οργανισμών που αποσκοπεί στην αποκατάσταση της διαταραγμένης ομοιοστασίας του οργανισμού (Παπουτσόγλου 1998; Σμοκοβίτης 2007).

Όλες οι περιβαλλοντικές αλλαγές, είτε φυσικές, είτε ανθρωπογενείς, οδηγούν τον οργανισμό σε προσαρμοστικές αλλαγές, με σκοπό την αποκατάσταση της ομοιοστασίας, οι οποίες μπορούν να χαρακτηριστούν ακόμα και επιβλαβείς για τον οργανισμό (Santulli, Modica et al. 1999).

Η αντίδραση σε στρεσσικούς παράγοντες αφορά μεταβολές στη λειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος, του ενδοκρινικού συστήματος και στη συμπεριφορά του οργανισμού. Αυτή η αντίδραση μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τη γονοτυπική σύσταση, την ηλικία, το φύλο, την εμπειρία, τη φυσιολογικά και ψυχολογική κατάσταση του οργανισμού (Σμοκοβίτης 2007).

1.5.1 Γενικό Σύνδρομο Προσαρμογής

Οι διάφορες φυσιολογικές μεταβολές που προκαλούνται από στρεσσογόνους παράγοντες στα ψάρια, θεωρούνται αναμενόμενες και αποτελούν το σύνολο της αντίδρασης τους. Αυτό χαρακτηρίζεται από άμεση αποτελεσματικότητα και ονομάζεται Γενικό Σύνδρομο Προσαρμογής (ΓΣΠ, GAS).

Το ΓΣΠ σε όλους του σπονδυλόζωους οργανισμούς, άρα και στα ψάρια περιλαμβάνει τρεις φάσεις: τη φάση συναγερμού, η οποία περιλαμβάνει το στάδιο της καταπληξίας και το στάδιο της αντικαταπληξίας, τη φάση της αντίστασης και τη φάση της εξάντλησης.

Κατά τη φάση του συναγερμού προκαλείται η πρωτογενής αντίδραση του οργανισμού, δραστηριοποιούνται άμεσα οι νευροορμονικοί άξονες, οπότε είναι άμεση και η σύνθεση και έκκριση των κατεχολαμινών (αδρεναλίνη και νοραδρεναλίνη) και την κορτιζόλης.

Κατά τη φάση της αντίστασης προκαλείται η δευτερογενής αντίδραση, όπου παρατηρούνται απότομες μεταβολές των τιμών διαφόρων βιοχημικών και αιματολογικών παραμέτρων (πχ. γλυκόζη και γλυκογόνο), οι οποίες σχετίζονται με τις διατροφικές συνήθειες των ψαριών (Roncarati, Melotti et al. 2006). Αυτές ακολουθούνται από συμπτώματα όπως ταχυκαρδία, αλλαγή του χρωματισμού και διούρηση. Σε ειδικές περιπτώσεις παρατηρείται μείωση του επιπέδου της βιταμίνης C στα επινεφρίδια, υπερτροφία των επινεφριδίων και μείωση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων και του επιπέδου των πρωτεϊνών στους μύς.

Κατά τη φάση της εξάντλησης προκαλείται η τριτογενής αντίδραση, η οποία προϋποθέτει την συνέχιση των στρεσσογόνων παραγόντων ή και την ανεπιτυχή αντίδραση των ψαριών κατά τις προηγούμενες φάσεις. Σε αυτή τη φάση παρατηρείται μείωση στο ρυθμό ανάπτυξης, διαταραχή στην αναπαραγωγική διαδικασία καθώς και μείωση της ανοσολογικής αντίδρασης του οργανισμού (Παπουτσόγλου 1998).

1.5.3 Οξύ και χρόνιο stress

Τα φαινόμενα της φάσης της εξάντλησης (τριτογενής αντίδραση) εμφανίζονται με διαφορετική ένταση και ταχύτητα. Αυτά, σε συνδυασμό με το είδος και τη φυσιολογική κατάσταση των ψαριών κατά την εφαρμογή των στρεσσογόνων παραγόντων, καθορίζουν τη χρονική διάρκεια της φάσης αυτής. Σε κάποιες περιπτώσεις παρατηρείται γρήγορη εξάντληση και θάνατος, ενώ σε άλλες η εξάντληση επέρχεται αργά, ενώ δε μπορεί να αποκλειστεί η διαβίωση των ψαριών για μεγάλο χρονικό διάστημα. Στην πρώτη περίπτωση το stress ονομάζεται οξύ, ενώ στη δεύτερη χρόνιο (Παπουτσόγλου 1998).

1.5.4 Stress και ελεγχόμενη εκτροπή ψαριών

Κατά τη μαζική εκτροπή των ψαριών οι περιπτώσεις οξέος stress είναι ιδιαίτερα σπάνιες, ενώ αρκετά συνηθισμένες είναι οι περιπτώσεις χρόνιου stress. Οι τελευταίες μάλιστα, ορισμένες φορές προκαλούν και ιδιαίτερα μεγάλες οικονομικές απώλειες. Σημαντικό είναι το γεγονός ότι εάν τα ψάρια εξαναγκασθούν να αντιμετωπίσουν το χρόνιο stress, διάφοροι ενεργειοβόροι βιοχημικοί μηχανισμοί θα ενεργοποιηθούν, γεγονός που συναπάγεται οικονομικό κόστος (Παπουτσόγλου 1998). Αυτό θα επιφέρει

τη μείωση της ανάπτυξης, άρα τελικά την χαμηλή παραγωγικότητα της μονάδας, σε σχέση με άλλη μονάδα της οποίας τα ψάρια δεν έχουν υποστεί την επίδραση στρεσογόνων παραγόντων (Barcellos, Nicolaiewsky et al. 1999).

Κατά την ελεγχόμενη εκτροφή των ψαριών οι πιο κοινές αιτίες που μπορούν να προκαλέσουν stress είναι οι διάφοροι περιβαλλοντικοί παράγοντες (θερμοκρασία, αλατότητα, pH, ατμοσφαιρική πίεση, φωτισμός κλπ), η αυξημένη/μειωμένη πυκνότητα εκτροφής, η υποβαθμισμένη ποιότητα νερού, οι κοινωνικές αλληλεπιδράσεις, η διαθεσιμότητα της τροφής, ο διαθέσιμος χώρος για κάθε ψάρι (Marino, Di et al. 2001; van der Salm, Nolan et al. 2002; Vazzana, Cammarata et al. 2002; Ruane and Komen 2003; Huntingford, Adams et al. 2006; Trenzado, Morales et al. 2006; Adams, Turnbull et al. 2007; Di Marco, Priori et al. 2008; Sammouth, D'Orbecastel et al. 2009), παράγοντες που αφορούν στους χειρισμούς όπως μεταφορές, ζυγίσματα και αιμοληψίες (Marino, Di et al. 2001), αλλά και οι σχέσεις μεταξύ εκτροφέα και πληθυσμού (ακανόνιστη παροχή τροφής κλπ) (Sebert and Barthelemy 1985; Roche and Bogé 1996; Παπουτσόγλου 1998; Vazzana, Cammarata et al. 2002; Varsamos, Flik et al. 2006).

Η ηθολογία διαβίωσης παίζει σημαντικότατο ρόλο στην εκτροφή των ψαριών. Τα ιεραρχικά φαινόμενα και ο κανιβαλισμός προκαλούν ανομοιομορφία στα μεγέθη μέσα στον πληθυσμό, όπως και υψηλή θνησιμότητα. Κάποια είδη ψαριών (πχ. *Salvelinus alpinus*, *Oreochromis niloticus* και *Salmo trutta*) σχηματίζουν ιεραρχικές δομές και διακρίνονται σε υποτακτικά και κυρίαρχα. Τα υποτακτικά άτομα χαρακτηρίζονται από συμπτώματα χρόνιου stress (αυξημένος αναπνευστικός και μεταβολικός ρυθμός, μειωμένη κινητικότητα και μειωμένη ανάπτυξη). Όσον αφορά στα κυρίαρχα ψάρια, υπάρχει stress το οποίο είναι πολύ δύσκολο να ανιχνευθεί καθώς τα ψάρια αυτά είναι ιδιαίτερα κινητικά, επιθετικά και η ανάπτυξή τους είναι υψηλή (Fernandes and Volpato 1993; Höglund, Kolm et al. 2001; Molnár, Hancz et al. 2004).

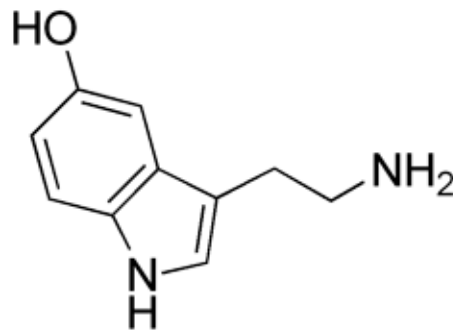
Γενικά μπορούμε να πούμε πως κάθε χειρισμός που προκαλεί μεταβολή των συνθηκών ζωής των ψαριών μπορεί να αποτελέσει παράγοντα stress. Η ένταση της μεταβολής, αλλά και ο χρόνος έκθεσης των ψαριών σε αυτή έχει μεγάλη σημασία (Rotllant, Ruane et al. 2003).

1.6 Νευροδιαβιβαστές

Οι νευροδιαβιβαστές είναι ορμόνες. Οι ορμόνες είναι ουσίες εξειδικευμένης βιολογικής δράσης, που συντίθενται σε κατάλληλα κύτταρα και οι οποίες όταν εκκρίνονται στο αίμα, μεταφέρονται με την κυκλοφορία του στα διάφορα όργανα ή ιστούς, τα κύτταρα των οποίων αποτελούν τους στόχους της δράσης τους. Σήμερα αποτελεί ευρύτατα αποδεκτό γεγονός η συνωνυμία και η ταυτόσημη έννοια των όρων ορμόνη, νευροορμόνη, νευρομεταβιβαστής, χημικός μεταβιβαστής, νευρορυθμιστής, βιομεταβιβαστής, νευροαγγελιαφόρος, χημικός αγγελιαφόρος ή αγγελιαφόρος παρακρινούς ή όχι επίδρασης (Παπουτσόγλου 1998). Οι νευροδιαβιβαστές από άποψη χημικής σύνθεσης μπορεί να είναι αμίνες, αμινοξέα ή πεπτίδια. Ο ρόλος του νευροδιαβιβαστή έχει αποδοθεί σε περισσότερα από 50 πεπτίδια (Σμοκοβίτης 2007).

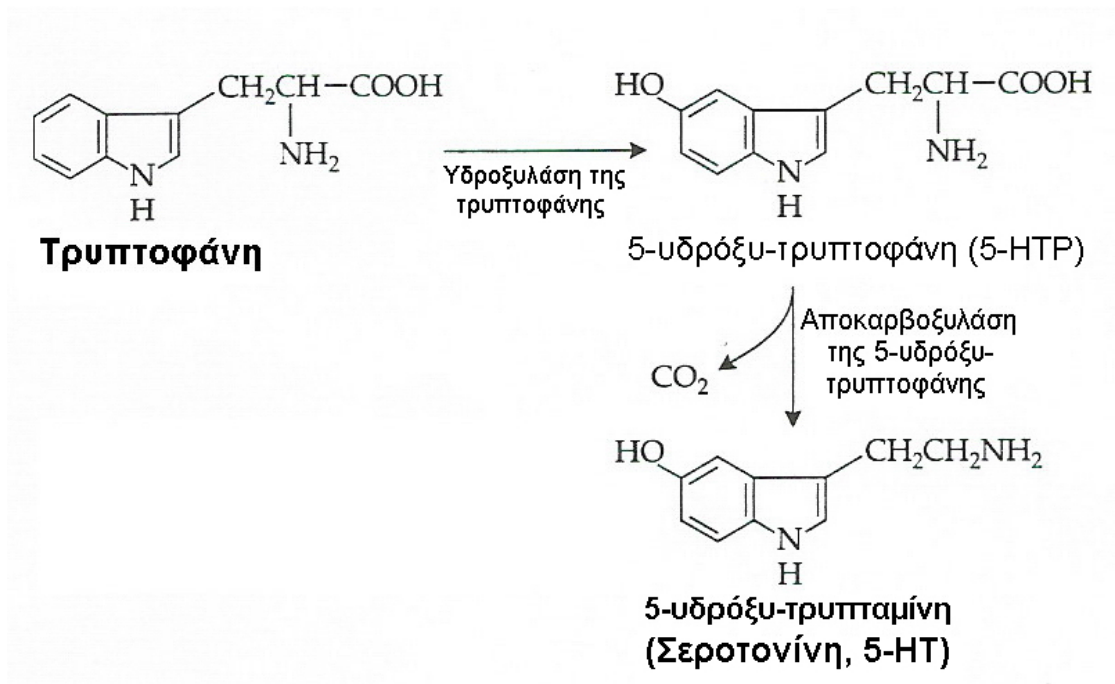
Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκαν συνολικά τέσσερις δειγματοληψίες εγκεφάλου (μετά από κάθε περίοδο της κύριας εκτροφής, αλλά και της περιόδου επανασίτισης). Οι νευροδιαβιβαστές που μελετήθηκαν, είναι η μονοαμίνη σεροτονίνη (5-υδρόξυ-τροπταμίνη, 5-HT), ο μεταβολίτης της 5-HIAA (5-υδρόξυ-ινδολεατικό οξύ) και η κατεχολαμίνη ντοπαμίνη (DA) με τους μεταβολίτες της DOPAC (3,4-δihδρόξυ-φαινυλακετικό οξύ) και HVA (ομοβαλινικό οξύ), σε δείγματα τελεγκεφάλου των ψαριών.

1.6.1 Σεροτονίνη



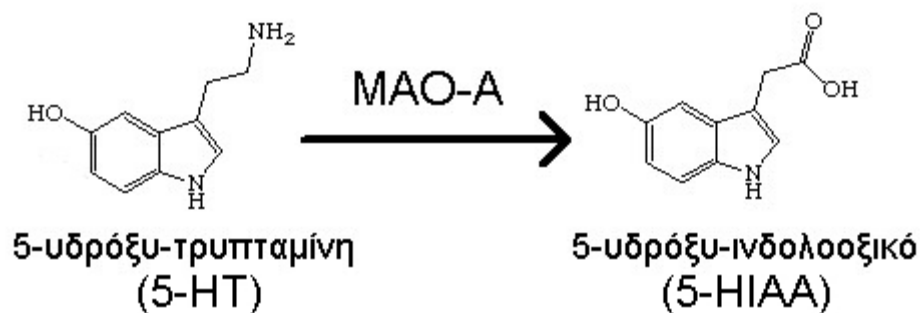
Εικόνα 11: Σεροτονίνη (5-HT), (<http://commons.wikimedia.org>)

Η σεροτονίνη είναι αρωματική μονοαμίνη και συντίθεται από πρόδρομη ουσία το αμινοξύ τρυπτοφάνη. Η τρυπτοφάνη υδρολύεται στη θέση 5 και παράγεται L-υδρόξυ-τροπτοφάνη (5-HTP), η οποία με τη σειρά της αποκαρβοξυλιώνεται, παρουσία αποκαρβοξυλάσης της 5-HTP, προς 5-υδρόξυ-τροπταμίνη (σεροτονίνη).



Εικόνα 12: Σύνθεση Σεροτονίνης, (http://commons.wikimedia.org)

Η 5-HT μεταβολίζεται από τη μονοαμινοοξειδάση-A (MAO-A) σε 5-υδροξυ-ινδολοοξικό οξύ (5-HIAA) ενδο- και εξωκυτταρικά (Εικόνα 13).



Εικόνα 13: Μεταβολισμός Σεροτονίνης, (http://commons.wikimedia.org)

Στα ψάρια, σύμφωνα με τις υπάρχουσες πληροφορίες, η σεροτονίνη περιλαμβάνεται σε ένα σύνολο ουσιών πιθανούς, ασαφούς ή και μη πλήρως γνωστής ορμονικής δράσης.

Η σεροτονίνη αποθηκεύεται προσυναπτικά σε μικρού μεγέθους συναπτικά κυστίδια στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ).

Σε αρκετά είδη, σχεδόν όλων των μεγάλων κατηγοριών των ιχθύων, έχουν εντοπιστεί νευρικές ίνες που νευρώνουν το έντερό τους και οι οποίες περιέχουν σεροτονίνη. Επίσης, παρουσία σεροτονίνης έχει πιστοποιηθεί σε διάφορα άλλα είδη κυττάρων, πολλών τμημάτων του κεντρικού νευρικού συστήματος (παρακρινούς ή ενδοκρινούς επίδρασης, πολύμορφα κοκκώδη, νευροεπιθηλιακά, αιμοπετάλια), διαφόρων ιστών και οργάνων του σώματος των ιχθύων (εγκέφαλος, αμφιβληστροειδής χιτώνας, νεφροί, ήπαρ, μυοκάρδιο, χρωμιόφιλος ιστός, έντερο, σπλήνας, βράγχια, στόμαχος, πλωρικά τυφλά, επίφυση, μύς).

Σημειώνεται ότι τα είδη των ιχθύων, στα οποία παρατηρείται αυξημένη σύνθεση και συσσώρευση σεροτονίνης στα κύτταρα του εντέρου και του χρωμιόφιλου ιστού, χαρακτηρίζονται από μειωμένη παρουσία της στα νευρικά κύτταρα. Αντίθετα, τα είδη στα οποία παρατηρούνται μεγάλες ποσότητες σεροτονίνης στα νευρικά κύτταρα, χαρακτηρίζονται από σχεδόν πλήρη απουσία της στα κύτταρα του εντέρου και του χρωμιόφιλου ιστού.

Γενικά τα επίπεδα της σεροτονίνης στους διαφόρους ιστούς και όργανα των ιχθύων καθορίζονται από πολλούς παράγοντες, από τους οποίους ως πιο σημαντικοί αναφέρονται το είδος, το μέγεθος, η ηλικία, το φύλο, η φυσιολογική κατάσταση, η διατροφική κατάσταση και το είδος της τροφής, η φωτοπερίοδος, το stress καθώς και τα επίπεδα ορισμένων φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού (θερμοκρασία, βάρεια μέταλλα, τοξικές ουσίες, ταχύτητα ρευμάτων κ.λπ.). Από την παρατήρηση αυτή καθίσταται σαφές το ευρύτατο, ετερόκλητο και περίπλοκο φάσμα της συμμετοχής της σεροτονίνης σε πολλούς και ποικίλους βιολογικούς μηχανισμούς, στους οποίους η εμπλοκή της εμφανίζεται κυρίως με την ιδιότητα του νευροδιαβιβαστή.

Το επίπεδο της σεροτονίνης παρουσιάζει διακυμάνσεις στα διάφορα τμήματα του εγκεφάλου τόσο μεταξύ ειδών όσο και μεταξύ φύλων. Στον υποθάλαμο παρουσιάζεται και εποχική διακύμανση, η οποία οφείλεται στη φωτοπερίοδο (χρονική διάρκεια φωτός και σκότους). Γενικά οι περισσότερες αυξημένες ποσότητες παρατηρούνται κατά τη διάρκεια των φωτεινών περιόδων. Παρόλα αυτά, το μέγεθος της αύξησης που παρατηρείται, έχει αποδειχθεί ότι καθορίζεται και από την ώρα του εικοσιτετραώρου κατά την οποία εφαρμόζεται η αυξημένη χρονική διάρκεια του φωτός. Επίσης, η σχέση μεταξύ του επιπέδου της σεροτονίνης στο πλάσμα και στον εγκέφαλο και του κορεσμού ή μη της πείνας των ιχθύων παραμένει μάλλον ασαφής.

Η πλήρης αποσαφήνιση και κατανόηση των μηχανισμών δράσεως και των φυσιολογικών λειτουργιών των ιχθύων στις οποίες εμπλέκεται η σεροτονίνη δεν έχουν επιτευχθεί ακόμη. Ιδιαίτερα σημαντική θα πρέπει να θεωρηθεί η πληρέστερη κατανόηση της εμπλοκής της σεροτονίνης στην καταστολή της επιθετικότητας των ιχθύων, η οποία, έμμεσα ή άμεσα, μπορεί να επηρεάσει και να επηρεαστεί από την ποιοτική και ποσοτική κάλυψη των διατροφικών τους αναγκών και να ρυθμίσει τη γενικότερη κοινωνική τους συμπεριφορά.

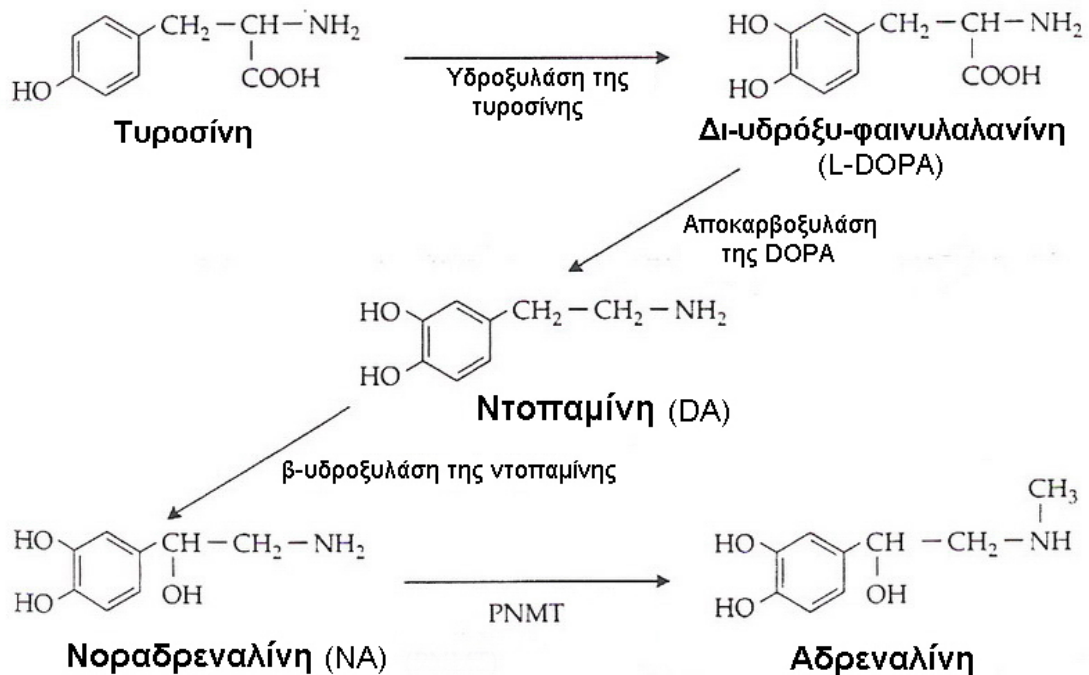
Στους ανθρώπους, μειωμένα επίπεδα σεροτονίνης στον εγκέφαλο έχουν συνδεθεί με σοβαρές παθήσεις όπως ψυχαναγκαστικό σύνδρομο, βουλιμία, αϋπνία, κατάθλιψη, αυτισμός και απώλεια μνήμης. Δεν αποκλείεται η πιστοποίηση της δράσης της σεροτονίνης στους ιχθύς ως καταστολέα σε καταστάσεις stress να επιτρέψει και τη

βαθύτερη κατανόηση της δράσης της και στους ανθρώπους, στους οποίους η ύπαρξη της συνείδησης ενδέχεται να υποβοηθούσε σημαντικά στην αντιμετώπιση των παθήσεων που προαναφέρθηκαν (Παπουτσόγλου, 1998). Επιπλέον, η αύξηση του μεταβολίτη της 5-HIAA, έχει συνδεθεί με την αύξηση της δραστηριότητας του σεροινεργικού συστήματος, που αποτελεί απάντηση σε στρεσογόνα ερεθίσματα (WINBERG, NILSSON et al. 1992; Lepage, Vilchez et al. 2003; Τσοπελάκος 2008).

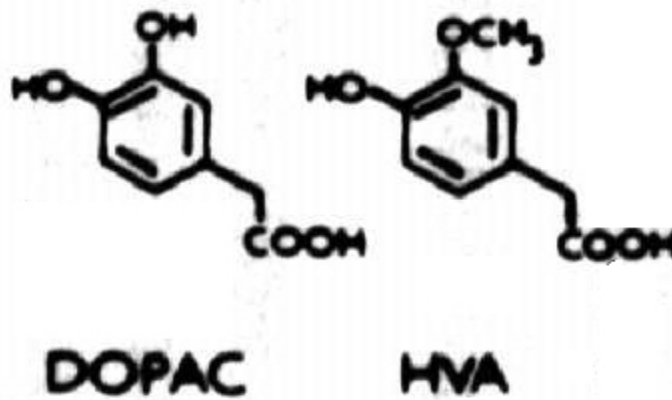
1.6.2 Κατεχολαμίνες

Η πρόδρομος ουσία για τη σύνθεση των κατεχολαμινών είναι το αμινοξύ τυροσίνη το οποίο μετατρέπεται σε L-διυδροξυ-φαινυλαλανίνη (L-DOPA) μέσω του ενζύμου τυροσινο-υδροξυλάση, η διαθεσιμότητα του οποίου ρυθμίζει και τη σύνθεση των κατεχολαμινών (Εικόνα 4). Στη συνέχεια η L-DOPA μετατρέπεται σε DA μέσω του ενζύμου δοπα-αποκαρβοξυλάση και τέλος σε NA μέσω της δοπαμίνo-β-υδροξυλάσης. Στα επινεφρίδια και σε άλλους ιστούς η NA μετατρέπεται σε αδρεναλίνη μέσω της φαινύλ-N-μεθυλτρανσφεράσης.

Η NA καταβολίζεται μέσω της κατεχόλ-O-μεθυλτρανσφεράσης (COMT) και της MAO-A κυρίως σε 3-μεθοξυ-4-υδροξυ-φαινεθυλενογλυκόλη (MHPG), ενώ η DA μέσω της COMT και της MAO-A και MAO-B κυρίως σε 3,4 διυδροξυφαινυλοξικό οξύ (DOPAC) και σε ομοβανιλικό οξύ (HVA) (Εικόνα 15).



Εικόνα 14: Σύνθεση Κατεχολαμινών, (<http://commons.wikimedia.org>)



Εικόνα 15: Μεταβολίτες Ντοπαμίνης, (<http://commons.wikimedia.org>)

Οι κατεχολαμίνες εντοπίζονται σε διάφορους ιστούς, όπως ο εγκεφαλικός ιστός (μόνο η DA και η NA), το πλάσμα, το συμπαθητικό νευρικό σύστημα και η καρδιά.

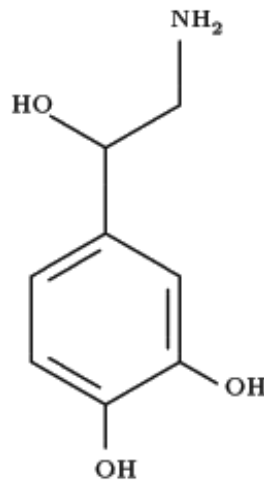
Ειδικά για τους ιχθύς, οι κατεχολαμίνες συντίθενται και στα κύτταρα του άνω-νεφρικού συστήματος. Ο εντοπισμός κυττάρων που παράγουν μόνο αδρεναλίνη ή νοραδρεναλίνη είναι δυσχερές, ενώ σύμφωνα με τις υπάρχουσες πληροφορίες, στους ιχθύς δεν υπάρχουν ειδικά κύτταρα για την παραγωγή ντοπαμίνης στο άνω νεφρικό σύστημα (Παπουτσόγλου 1998; Τσοπελάκος 2008).

Παρουσία κατεχολαμινών πιστοποιήθηκε και σε νευρογλοιακά κύτταρα ορισμένων ειδών ιχθύων. Οι κατεχολαμίνες επεμβαίνουν άμεσα στο κυκλοφορικό και αναπνευστικό σύστημα κατά τη διάρκεια της διατάραξης της κανονικής τους λειτουργίας από παράγοντες stress και η δράση τους συνδέεται με την πτώση της συγκέντρωσης οξυγόνου στο αίμα. Εμπλέκονται ακόμη σε μηχανισμούς οσμωτικής και ιοντικής ρύθμισης. Η εμπλοκή τους δεν είναι σαφής αλλά δείχνει να είναι καθοριστικής σημασίας. Η εμπλοκή τους τέλος στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, μέσω της ενεργοποίηση των μηχανισμών γλυκογονόλυσης και γλυκογονογένεσης μέσω της αναστολής έκκρισης της ινσουλίνης, αποσκοπεί στην αντιμετώπιση των αυξημένων ενεργειακών αναγκών των οργανισμών (Παπουτσόγλου 1998; De Pedro, Delgado et al. 2001; Τσοπελάκος 2008).

1.6.2.1 Νοραδρεναλίνη

Στα θηλαστικά, η NA έχει αποδειχθεί ότι μέσω της ενεργοποίησης των α₂-αδρενεργικών υποδοχέων συμβάλει στην αύξηση της κατανάλωσης της τροφής, ενώ μέσω της ενεργοποίησης των α₁-αδρενεργικών υποδοχέων την καταστέλλει (Wellman, Davies et al. 1993; Τσοπελάκος 2008).

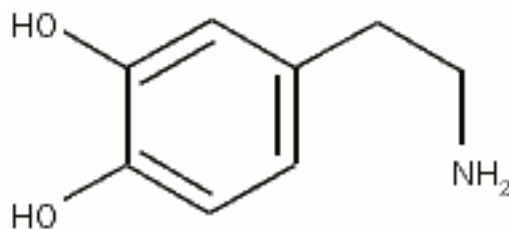
Η νοραδρεναλίνη συμβάλλει ακόμη και στη διασπορά και συγκέντρωση των χρωστικών κοκκίων των επιδερμικών κυττάρων των ιχθύων και κατ' επέκταση στην αλλαγή του χρώματος του δέρματος μέσω της παρουσίας συμπαθητικών ινών στο δέρμα (Παπουτσόγλου 1998).



Εικόνα 16: Νοραδρεναλίνη (NA), (<http://commons.wikimedia.org>)

1.6.2.2 Ντοπαμίνη

Ο ρόλος της DA στην κατανάλωση τροφής έχει περιγραφεί ως αντιφατικός, ανάλογα με την περιοχή του εγκεφάλου που μελετάται. Γενικά η DA δρα παρεμποδιστικά στην κατανάλωση τροφής. Στους ιχθύς, η έγχυση α₁-αδρενεργικών ανταγωνιστών αυξάνει την κατανάλωση, ενώ η έγχυση α₂-αδρενεργικών ανταγωνιστών την μειώνει (De Pedro, Céspedes et al. 1995; Τσοπελάκος 2008).



Εικόνα 17: Ντοπαμίνη (DA), (<http://commons.wikimedia.org>)

1.7 Αιματολογικές Παράμετροι

Ορισμένες αιματολογικές παράμετροι όπως η γλυκόζη, η χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια και ο αιματοκρίτης θεωρούνται αρκετά αξιόπιστοι δείκτες stress (Roche and Bogé 1996; Marino, Di et al. 2001; Vazzana, Cammarata et al. 2002). Για την εκτίμηση της κατάστασης ενός ψαριού όσον αφορά στο stress, ιδανικό θεωρείται το να λαμβάνονται υπόψη αρκετές αιματολογικές παράμετροι (Marino, Di et al. 2001).

Στη συγκεκριμένη εργασία πραγματοποιήθηκαν δύο αιμοληψίες (στο τέλος της θερμής και στο τέλος της ψυχρής περιόδου της κύριας εκτροφής). Για τις αναλύσεις των αιματολογικών παραμέτρων χρησιμοποιήθηκε αίμα από την ουραία φλέβα των ψαριών.

Αιματοκρίτης ονομάζεται η εκατοστιαία αναλογία του όγκου του αίματος που καταλαμβάνεται από τα ερυθροκύτταρα, δηλαδή τα ερυθρά αιμοσφαίρια ανά μονάδα όγκου αίματος. Μπορεί να βρεθεί μετά από φυγοκέντριση δείγματος αίματος, στο οποίο έχει προστεθεί αντιπηκτική ουσία (Σμοκοβίτης 2007). Αποτελεί δείκτη κατάστασης ενυδάτωσης, αναιμίας ή σοβαρής απώλειας αίματος καθώς και ικανότητας μεταφοράς οξυγόνου.

Χοληστερόλη ονομάζεται μια κηρώδης στερόλη που βρίσκεται στη μεμβράνη των κυττάρων όλων των ιστών και στα πλάσμα του αίματος όλων των ζώων. Παίζει καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη των νευρικών συνδέσμων του εγκεφάλου και προστατεύει τους νευρώνες. Σε κάποιες περιπτώσεις χρησιμεύει ως πρώτη ύλη για την παρασκευή της προβιταμίνης D και το σχηματισμό ορμονών. Βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στο συκώτι, τη σπονδυλική στήλη και τον εγκέφαλο. Η χοληστερόλη δεν διαλύεται στο αίμα. Όταν βρίσκεται στο αίμα σε υπερβολικές τιμές αποτελεί κύριο δείκτη κινδύνου καρδιαγγειακών παθήσεων. Σχετίζεται με την κακή διατροφή και την αυξημένη γλυκόζη στο αίμα (Κατινάκης 2004; Σμοκοβίτης 2007).

Τριγλυκερίδια ονομάζονται οι εστέρες της γλυκερόλης με λιπαρά οξέα. Βασική λειτουργία των τριγλυκεριδίων του πλάσματος είναι η μεταφορά των λιπιδίων μεταξύ του ήπατος και των περιφερειακών ιστών. Η αύξηση τους αποτελεί συχνό παθολογικό πρόβλημα. Σχετίζεται με την κακή διατροφή και την αυξημένη γλυκόζη στο αίμα (Σμοκοβίτης 2007).

Γλυκόζη ονομάζεται ένας απλός μονοσακχαρίτης που απορροφάται άμεσα στην κυκλοφορία του αίματος κατά τη διάρκεια της πέψης. Τα κύτταρα την χρησιμοποιούν ως πρωταρχική πηγή ενέργειας και ως μέσο μεταβολισμού. Η αντίδραση της ινσουλίνης ρυθμίζει τη συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα. Αποτελεί σημαντική πηγή ενέργειας για τον εγκέφαλο. Η δοκιμασία της γλυκόζης είναι μια συνηθισμένη αιματολογική εξέταση με σκοπό τον προσδιορισμό της γλυκόζης στο αίμα. Χρησιμοποιείται για τον έλεγχο τυχόν προδιαβήτη ή διαβήτη στον άνθρωπο και στα θηλαστικά (Κατινάκης 2004; Σμοκοβίτης 2007).

1.8 Επανασίτιση

Με τον όρο επανασίτιση αναφερόμαστε στην περίοδο κατά την οποία τα ψάρια των ομάδων 1, 2 και 3 (συγκεκριμένα, αυτά που τράφηκαν κατά τη διάρκεια της κύριας εκτροφής με τροφές εκτός του μάρτυρα, δηλαδή T1, T2 και T3), ξεκίνησαν να τρέφονται πλέον με τροφή-μάρτυρα (χωρίς αντικατάσταση ιχθυελαίου). Αυτό γίνεται σε πειράματα διατροφής με σκοπό την αντιστάθμιση του βάρους των ψαριών και άλλες τυχόν ελλείψεις σε λιπαρά οξέα ή/και άλλα απαραίτητα στοιχεία για την υγεία και την ευζωία τους (Austead, Innis et al. 2000; Fountoulaki, Vasilaki et al. 2009).

Στη συγκεκριμένη εργασία η επανασίτιση διακρίθηκε σε δύο περιόδους. Στο τέλος κάθε περιόδου πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες (λήψη εγκεφάλου, φιλέτου, ήπατος και πεπτικού συστήματος). Τα δείγματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν στις αναλύσεις της χημικής σύστασης και της συγκέντρωσης των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου που παρουσιάζονται στα επόμενα κεφάλαια.

1.9 Σκοπός της εργασίας

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η αντικατάσταση του ιχθυελαίου στις ιχθυοτροφές θα συμβάλει στην αειφορία και στην οικονομική ευρωστία του κλάδου των υδατοκαλλιέργειών. Η διερεύνηση των ποσοστών αντικατάστασης καθώς και των μιγμάτων ελαίων (φυτικά έλαια, ιχθυέλαια υδατοκαλλιέργειας, ιχθυέλαια αλιείας) είναι αναγκαία για την επίτευξη αυτού του στόχου.

Με γνώμονα τα παραπάνω, σκοπός της εργασίας ήταν η μερική αντικατάσταση ιχθυελαίου αλιείας σε τροφές για λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) από ιχθυέλαιο υποπροϊόντων εκτροφής σολομού και έλαιο ελαιοκράμβης και η μελέτη της επίδρασής τους στη χημική σύσταση της σάρκας των ψαριών, σε κάποιες αιματολογικές παραμέτρους και στη σεροτονινεργική και τη ντοπαμινεργική λειτουργία του ΚΝΣ. Ειδικότερα, οι τροφές παρασκευάστηκαν με βάση συγκεκριμένες αναλογίες λιπαρών οξέων, ώστε να υπάρχουν τροφές με παρόμοιο προφίλ, το οποίο ωστόσο να δημιουργείται από διαφορετικές πηγές λίπους. Με αυτό τον τρόπο εξετάστηκε αν οι αυτές διαφορετικές πηγές μπορούν να καλύψουν τις ανάγκες του εκτρεφόμενου οργανισμού, χωρίς ταυτόχρονα να θίγουν την ευζωία του.

Οι ευρύτεροι στόχοι της παρούσας μελέτης είναι:

- Η ανάπτυξη σε συνδυασμό με την αειφορία του κλάδου των υδατοκαλλιέργειών.
- Η βελτίωση της ανταγωνιστικότητας και της βιωσιμότητας των μονάδων υδατοκαλλιέργειας και παρασκευής ιχθυοτροφών.
- Η προστασία του υδάτινου περιβάλλοντος και η σωστή διαχείριση των ιχθυοαποθεμάτων
- Η διατήρηση της υγείας και της ευζωίας των εκτρεφόμενων ψαριών.
- Η βελτιστοποίηση της ποιότητας των ψαριών υδατοκαλλιέργειας για τη σωστή διατροφή του ανθρώπου.
- Η ανάπτυξη σύγχρονων μεθόδων εκτίμησης της ευζωίας των ψαριών.
- Η προώθηση της επιστημονικής γνώσης σχετικά με τη διατροφή και τη φυσιολογία των ψαριών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Πειραματικός σχεδιασμός

Η εκτροφή των ψαριών έγινε σε ημίκλειστα κυκλώματα θαλασσινού νερού. Χρησιμοποιήθηκαν 12 γυάλινες δεξαμενές των 215L και 4 των 171L, σε κάθε μία από τις οποίες τοποθετήθηκαν 12 και 10 άτομα αντίστοιχα. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 184 ψάρια, μέσου αρχικού βάρους (\pm τυπική απόκλιση) 154.89 ± 39.995 g. Ο αρχικός πληθυσμός ελέγχθηκε για κανονική κατανομή, η οποία επιβεβαιώθηκε, τόσο σε επίπεδο πειραματικής μονάδας (δεξαμενή) όσο και σε επίπεδο πειραματικών επεμβάσεων. Η ιχθυοπυκνότητα διατηρήθηκε κάτω από το όριο των 15Kg/m^3 .

Η εκτροφή διήρκεσε 351 ημέρες και διακρίθηκε σε τρεις περιόδους, μία θερμή διάρκειας 131 ημερών ($23.85 \pm 0.43^\circ\text{C}$), μία ψυχρή διάρκειας 120 ημερών ($20.14 \pm 0.88^\circ\text{C}$) και μία περίοδο επανασίτισης, διάρκειας 100 ημερών. Στο τέλος κάθε περιόδου λήφθηκαν 3 άτομα από κάθε δεξαμενή για αναλύσεις.

Η φωτοπερίοδος ήταν 12h φως και 12h σκοτάδι. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού (pH, $\text{O}_2\%$, κορεσμός O_2 , θερμοκρασία, αλατότητα) ελέγχονταν καθημερινά, ενώ η περιεκτικότητα σε νιτρικά και νιτρώδη ιόντα εβδομαδιαίως.

Η χορήγηση της τροφής γινόταν με το χέρι, μέχρι το σημείο κορεσμού, 2 φορές την ημέρα, 5 ημέρες την εβδομάδα.

2.2 Παρασκευή πειραματικών τροφών

Οι τροφές που παράχθηκαν ήταν ισοενεργειακές και ισοπρωτεϊνικές. Η σύσταση και η σύνθεσή τους, φαίνονται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακας 1 και Πίνακας 2).

Πίνακας 1: Σύσταση πειραματικών σιτηρεσίων

Σύσταση πειραματικών σιτηρεσίων	%
Πρωτεΐνη	48
Λίπος	22
Υγρασία	6
Τέφρα	6.5

Πίνακας 2: Σύνθεση πειραματικών σιτηρεσιών

Πρώτες Ύλες	g/100g Τροφής
Ιχθυάλευρο	23.2
Πρωτεΐνη ιχθύων (υδρολυμένη)	5.1
Σόγια (πλακούντας)	10.2
Γλουτένη σίτου	11.3
Ηλιάλευρο (πλακούντας)	15.3
Άλευρο φασολιού γκούαρ	2.6
Σίτος	16.4
Πρόμιγμα βιταμινών και ιχνοστοιχείων	0.7
Μείγμα ελαίων	17.4

Αναλυτικότερα, παρασκευάστηκαν τέσσερις πειραματικές τροφές (T1, T2, T3, M), μέσω προσθήκης διαφορετικών μιγμάτων ελαίων σε βασική τροφή με γνωστή χαμηλότερη λιποπερικτικότητα. Η λιποπερικτικότητα της βασικής τροφής διαμορφώθηκε από το λίπος που εισάγεται μέσω του ιχθυαλεύρου και από την ελάχιστη ποσότητα λίπους που είναι απαραίτητη, ώστε να λειτουργήσει η μηχανή εξώθησης. Η τελική λιποπερικτικότητα διαμορφώθηκε από την ενσωμάτωση τέτοιας ποσότητας μίγματος ελαίων, ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό ποσοστό για τη διατροφή του είδους.

Πίνακας 3: Σύσταση μίγματος λίπους που προστέθηκε στις τροφές, πλήθος και χωρητικότητα δεξαμενών ανά πειραματική επέμβαση

Σύσταση μίγματος λίπους (%)	T1 (2SO:1RO)	T2 (2FO:1RO)	T3 (2SO:1FO)	M (FO)
FO	0	66.66	33.33	100
SO	66.66	0	66.66	0
RO	33.33	33.33	0	0
Δεξαμενές	1x171L 3x215L	1x171L 3x215L	1x171L 3x215L	1x171L 3x215L

FO: ιχθυέλαιο αλιείας, SO: έλαιο υποπροϊόντων εκτροφής σολομού, RO: έλαιο ελαιοκράμβης

Στην πρώτη πειραματική τροφή (T1) προστέθηκε μίγμα ελαίου υποπροϊόντων εκτροφής σολομού και ελαίου ελαιοκράμβης σε αναλογία 2:1. Στη δεύτερη (T2) μίγμα ιχθυελαίου αλιείας και ελαίου ελαιοκράμβης σε αναλογία 2:1. Η τρίτη τροφή (T3)

αποτελούνταν από μίγμα ελαίου υποπροϊόντων εκτροφής σολομού και ιχθυελαίου αλιείας που αποτελεί μια πρακτική που ήδη ακολουθείται από τις εταιρείες παρασκευής ιχθυοτροφών. Ταυτόχρονα αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητά της σε σύγκριση με μία τροφή χωρίς αντικατάσταση ιχθυελαίου (M), που αποτέλεσε μάρτυρα για την παρούσα εργασία.

Για την παρασκευή των πειραματικών τροφών χρησιμοποιήθηκε πρότυπη βασική τροφή για λαβράκι, η οποία παράχθηκε από την Biomar Hellenic ABEEI. Η εταιρεία παρείχε και τα έλαια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των μιγμάτων. Βάσει του πίνακα

3 παρασκευάστηκαν τα μίγματα των ελαίων, που προστέθηκαν (Εργαστήριο Εφηρμοσμένης Υδροβιολογίας) στη βασική τροφή. Η προσθήκη έγινε σε δύο δόσεις και μετά από κάθε προσθήκη ακολουθούσε ανάμιξη της τροφής με το μίγμα και τοποθέτηση σε συνθήκες κενού, ώστε να επιτευχθεί βέλτιστη απορρόφηση του λίπους. Η διάμετρος των κόκκων της τροφής ήταν 4.5mm στα αρχικά στάδια της εκτροφής και αργότερα αυξήθηκε στα 6mm.

Τα επίπεδα αντικατάστασης που επιτεύχθηκαν, ως ποσοστό του ιχθυελαίου αλιείας που αντικαταστάθηκε τόσο από φυτικό έλαιο (ελαιοκράμβη) όσο και από έλαιο υποπροϊόντων εκτροφής σολομού, παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 4: Ποσοστά αντικατάστασης

	T1	T1	T3	M
% Αντικατάστασης από έλαιο ελαιοκράμβης και έλαιο υποπροϊόντων εκτροφής σολομού	97.01	46.93	71.97	21.89
% Αντικατάστασης από έλαιο ελαιοκράμβης	35.02	35.02	9.98	9.98

Κατά την περίοδο επανασίτισης επιδιώχθηκε η αξιολόγηση της δυνατότητας αντιστάθμισης της ανάπτυξης μέσω της χορήγησης τροφής στην οποία δεν έχει γίνει αντικατάσταση του ιχθυελαίου. Στις δεξαμενές που κατά την θερμή και ψυχρή περίοδο χορηγούνταν οι τροφές T1 (2SO:1RO) και T2 (2FO:1RO), χορηγήθηκε πλέον τροφή M (FO).

2.3 Προσδιορισμός λίπους και αναλογίας λιπαρών οξέων στις τροφές και στη σάρκα των ψαριών

Ο προσδιορισμός του λίπους πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Folch (Folch, Lees et al. 1957), με προτεινόμενες προσαρμογές που αφορούσαν στην προσθήκη μεθανόλης

(0.2 του όγκου του δείγματος), ώστε να μειωθεί ειδικό βάρος και να διευκολυνθεί η φυγοκέντριση. Η φυγοκέντριση προτιμάται από τη διήθηση, διότι παρέχει καθαρότερο εκχύλισμα (Folch, Lees et al. 1957). Για την απομόνωση του λίπους, λήφθηκαν 250-300mg τροφής ή σάρκας, τοποθετήθηκαν σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες, όπου προστέθηκαν 5mL διαλύματος χλωροφορμίου:μεθανόλης (2:1, Διάλυμα 1), ομογενοποιήθηκαν με συσκευή υπερήχων και προστέθηκε 1mL μεθανόλης. Οι σωλήνες καλύφθηκαν με εργαστηριακό φιλμ παραφίνης (parafilm) και φυγοκεντρίστηκαν στις 4300 στροφές/min για 10min. Ακολούθησε μετάγγιση του υπερκείμενου υγρού σε αντίστοιχους δοκιμαστικούς σωλήνες και συμπληρωματικά, στο στερεό υπόλειμμα προστέθηκε 1mL διαλύματος 1, πραγματοποιήθηκε ομογενοποίηση και προστέθηκαν 0.2mL μεθανόλης. Οι σωλήνες καλύφθηκαν πάλι με parafilm και φυγοκεντρίστηκαν όπως παραπάνω. Το υπερκείμενο υγρό συμπληρώθηκε στους αντίστοιχους δοκιμαστικούς σωλήνες, στους οποίους έπειτα προστέθηκαν 2.4mL χλωροφορμίου και 2.4mL διαλύματος χλωριούχου καλίου (KCl) 0.05N. Ακολούθησε κάλυψη με parafilm και φυγοκέντριση όπως παραπάνω. Έπειτα, απορρίφθηκε η άνω φάση που σχηματίστηκε κατά τη φυγοκέντριση και προστέθηκε 1.5mL διαλύματος χλωροφορμίου:μεθανόλης:χλωριούχου καλίου 0,1N (8:4:3) και στη συνέχεια έγινε ανάμιξη (vortex) στο σημείο διαχωρισμού των δύο φάσεων. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες καλύφθηκαν πάλι με parafilm και φυγοκεντρίστηκαν όπως παραπάνω. Τέλος, έγινε λήψη της κάτω φάσης, μετάγγιση της σε προζυγισμένους δοκιμαστικούς σωλήνες και ξήρανση σε θερμοκρασία 50°C.

Μετά το τέλος της παραπάνω διαδικασίας, οι δοκιμαστικοί σωλήνες ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας και προσδιορίστηκε η ποσότητα του λίπους που είχε παραμείνει. Η προετοιμασία των μεθυλεστέρων για τον προσδιορισμό της σύστασης σε λιπαρά οξέα ακολούθησε τη μεθοδολογία Christie (Christie 1982; Christie 1993). Για κάθε 50mg λίπους, προστέθηκαν 2mL διαλύματος BHT σε μεθανόλη και 2% πυκνού διαλύματος H₂SO₄. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν σε κλίβανο θερμοκρασίας 50°C για 16h περίπου. Ακολούθως, τα δείγματα διηθήθηκαν μέσα από φίλτρο GF/A, το οποίο περιείχε ποσότητα θειικού νατρίου (Na₂SO₄) και εκπλύθηκε με εξάνιο. Τα διαλύματα εξατμίστηκαν σε ατμόσφαιρα αζώτου.

Πριν την έγχυση σε αέριο χρωματογράφο με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC/FID), το εστεροποιημένο δείγμα αραιώθηκε με ποσότητα εξανίου αντίστοιχη του αρχικού βάρους του λίπους που εξάχθηκε με τη μέθοδο Folch.

Για την ανίχνευση και τον προσδιορισμό των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων, χρησιμοποιήθηκε το Agilent Technologies 6890N GC/FID, με στήλη Supelco OMEGAWAX 320 (L:30m, ID:0.32mm, DF:0.25μm). Το φέρον αέριο ήταν Ήλιο (He) με ροή 2mL/min. Το πρόγραμμα θερμοκρασιών ήταν από τους 130°C ως τους 150°C με ρυθμό 10°C/min και έπειτα ως τους 240°C με ρυθμό 3°C/min. Η αναγνώριση των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων έγινε με βάση γνωστό δείγμα προτύπων στο λογισμικό Chemstation (G1701DA Rev.01.02 SP1).



Εικόνα 18: Agilent Technologies 6890N GC/FID, (<http://www.agilent.com>)

2.4 Σύσταση λιπαρών οξέων ελαίων και τροφών

Οι αναλογίες (%) των λιπαρών οξέων στο λίπος των τροφών που παρασκευάστηκαν, φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 6). Η τροφή T2, στην οποία προστέθηκε μίγμα FO:RO 2:1 παρουσιάζει παρόμοιο προφίλ με την τροφή T3, στην οποία προστέθηκε μίγμα FO:SO 1:2 (Πίνακας 3). Παρουσιάζονται επίσης οι αναλογίες (%) των λιπαρών οξέων στο λίπος της βασικής τροφής (χωρίς προσθήκη μίγματος ελαίων) καθώς και αναλογίες (%) των λιπαρών οξέων στα έλαια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των μιγμάτων (Πίνακας 5).

Πίνακας 5: Αναλογίες (% Ολικών λιπαρών οξέων) λιπαρών οξέων του λίπους της βασικής τροφής που χρησιμοποιήθηκε (T) και των ελαίων που αναμίχθηκαν για την παρασκευή των διαφορετικών μιγμάτων που προστέθηκαν (MA: Μη Ανιχνεύσιμο).

	T	FO	SO	RO
14:0	3.91	7.41	2.91	0.08
16:0	16.12	15.23	9.78	5.17
16:1n7	1.90	6.71	3.62	0.26
17:0	0.40	0.42	0.19	MA
18:0	4.10	2.26	2.55	1.7
18:1n9	21.92	10.19	37.39	58
18:1n7	1.38	2.41	3.14	3.11
18:2n6	0.98	1.57	11.92	20.35
18:3n3	0.23	1.16	4.38	7.77
18:4n3	0.07	2.58	0.71	MA
20:0	0.48	0.32	0.32	0.55
20:1n11+20:1n9	4.59	7.89	4.46	1.3
20:2n6	0.00	0.3	0.89	MA
20:4n6	0.12	0.64	0.32	MA
20:4n3	0.06	0.62	0.76	MA
20:5n3	0.17	8.16	2.84	MA
22:1n11	1.56	12.45	2.95	MA
22:1n9	2.73	MA	0.46	MA
22:5n3	2.25	1.21	1.43	MA
22:6n3	1.01	7.55	3.45	MA
24:1n9	1.24	0.87	0.47	MA
Κορεσμένα	25.02	25.64	15.76	7.5
Μονοακόρεστα	35.33	39.65	52.02	62.68
Σn3	3.80	21.29	13.58	7.77
Σn3 HUFA	3.49	17.55	8.49	0
Σn6	1.10	2.51	13.13	20.35
EPA+DHA	1.18	15.71	6.29	0
SAT/MONO	0.71	0.65	0.30	0.12
Σn-3/Σn-6	3.45	8.48	1.03	0.38

Πίνακας 6: Αναλογίες λιπαρών οξέων του λίπους των πειραματικών τροφών (ΜΑ: Μη Ανιχνεύσιμο).

	% Ολικών Λιπαρών Οξέων				% του σιτηρεσίου			
	T1	T2	T3	M	T1	T2	T3	M
14:0	2.64	4.63	4.19	6.28	0.58	1.02	0.92	1.38
16:0	9.99	12.66	11.97	14.98	2.20	2.79	2.63	3.30
16:1n7	2.66	3.43	3.92	5.01	0.59	0.75	0.86	1.10
17:0	0.23	0.34	0.31	0.43	0.05	0.07	0.07	0.09
18:0	2.68	2.66	2.77	2.80	0.59	0.59	0.61	0.62
18:1n9	36.01	26.28	24.55	14.89	7.92	5.78	5.40	3.28
18:1n7	1.58	1.53	3.48	3.05	0.35	0.34	0.77	0.67
18:2n6	10.45	6.90	8.00	4.82	2.30	1.52	1.76	1.06
18:3n3	2.82	1.74	2.23	1.29	0.62	0.38	0.49	0.28
18:4n3	0.47	0.71	0.77	1.14	0.10	0.16	0.17	0.25
20:0	0.43	0.42	0.33	0.31	0.09	0.09	0.07	0.07
20:1n11+20:1n9	4.05	5.44	4.99	6.32	0.89	1.20	1.10	1.39
20:2n6	0.80	0.50	0.89	0.38	0.18	0.11	0.20	0.08
20:4n6	0.34	0.42	0.43	0.53	0.07	0.09	0.09	0.12
20:4n3	0.44	0.35	0.56	0.49	0.10	0.08	0.12	0.11
20:5n3	2.23	3.28	3.59	5.10	0.49	0.72	0.79	1.12
22:1n11	2.31	5.83	4.71	9.14	0.51	1.28	1.04	2.01
22:1n9	0.58	0.80	0.52	0.12	0.13	0.18	0.11	0.03
22:5n3	1.09	0.91	1.31	1.18	0.24	0.20	0.29	0.26
22:6n3	3.38	4.42	4.81	6.26	0.74	0.97	1.06	1.38
24:1n9	0.65	0.72	0.67	0.83	0.14	0.16	0.15	0.18
Κορεσμένα	15.96	20.70	19.57	24.81	3.51	4.55	4.31	5.46
Μονοακόρεστα	47.83	44.03	42.85	39.37	10.52	9.69	9.43	8.66
Σn3	10.42	11.40	13.26	15.47	2.29	2.51	2.92	3.40
Σn3 HUFA	7.14	8.95	10.27	13.04	1.57	1.97	2.26	2.87
Σn6	11.60	7.82	9.32	5.73	2.55	1.72	2.05	1.26
EPA+DHA	5.61	7.70	8.40	11.36	1.23	1.69	1.85	2.50
SAT/MONO	0.33	0.47	0.46	0.63	0.33	0.47	0.46	0.63
Σn-3/Σn-6	0.90	1.46	1.42	2.70	0.90	1.46	1.42	2.70

2.5 Προσδιορισμός πρωτεΐνης στη σάρκα των ψαριών

Η περιεκτικότητα της σάρκας των ψαριών σε πρωτεΐνη πραγματοποιήθηκε μέσω της διενέργειας ανάλυσης Kjeldahl (1883), για τον προσδιορισμό των αζωτούχων ουσιών. Σε σωλήνα υδρόλυσης τοποθετήθηκαν 1.1g λυοφιλιωμένου δείγματος φιλέτου, 0.4g ένυδρου θειικού χαλκού ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) και 6.5g θειικού καλίου (K_2SO_4). Στο σωλήνα μεταγγίστηκαν 15ml πυκνού θειικού οξέως (H_2SO_4) και ακολούθησε πέψη των

περιεχομένων σε συσκευή Buchi 430. Το θειικό οξύ οξειδώνει την οργανική ουσία, με αποτέλεσμα να απελευθερώνεται άζωτο με μορφή θειικού αμμωνίου. Ο θειικός χαλκός αποτελεί καταλύτη της αντίδρασης, ενώ το θειικό κάλιο αυξάνει το σημείο βρασμού. Οι σωλήνες υδρόλυσης, σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας πέψης ήταν συνδεδεμένοι με συσκευή Buchi 412, η οποία δεσμεύει τους ατμούς του θειικού οξέως. Η ολοκλήρωση της πέψης σηματοδοτείται από την παρουσία πράσινου, διαυγούς διαλύματος μέσα στο σωλήνα υδρόλυσης. Ο σωλήνας τοποθετείται σε συσκευή απόσταξης (Buchi 321), όπου το θειικό αμμώνιο, με αποσταγμένο νερό και μικρή ποσότητα καυστικού νατρίου (32%), μετατρέπεται σε αμμωνία. Η αμμωνία συμπυκνώνεται και δεσμεύεται από διάλυμα βορικού οξέως. Το δοχείο συλλογής του αποστάγματος, εκτός από βορικό οξύ, περιέχει και δείκτη, για να διευκολυνθεί η τιτλοδότηση με διάλυμα HCl 1N, που ακολουθεί. Κατά την τιτλοδότηση, η αμμωνία δεσμεύεται από το χλώριο, ενώ το χρώμα από πράσινο γίνεται άχρωμο και διαυγές.

Ο υπολογισμός του αζώτου πραγματοποιείται μέσω του τύπου:

$$\text{Ολικό Άζωτο (\%)} = \frac{N_{\text{HCl}} \times a \times 1400}{\beta}$$

Όπου: a =ml HCl που χρησιμοποιήθηκαν κατά την τιτλοδότηση
 β =mg δείγματος

Η τελική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\text{Πρωτεΐνη (\%)} = \text{Ολικό Άζωτο (\%)} \times 6,25$$

Όπου 6.25 ο συντελεστής μετατροπής για τη σάρκα των ψαριών.

2.5 Προσδιορισμός της υγρασίας και της τέφρας της σάρκας

Για τον προσδιορισμό της υγρασίας, αρχικά ζυγίζουμε τις πορσελάνινες κάψες. Σε αυτές προσθέτουμε κομμάτι της σάρκας και το ζυγίζουμε. Η επιθυμητή ποσότητα κυμαίνεται από 1 έως 1.5 γραμμάρια. Οι κάψες τοποθετούνται σε φούρνο, στους 110°C. Την επόμενη ημέρα αφαιρούνται από το φούρνο και τοποθετούνται σε ξηραντήρα, ώστε να κρυσώσουν και να είναι κατάλληλες για ζύγισμα. Με τους κατάλληλους υπολογισμούς μπορούμε να προσδιορίσουμε την υγρασία των δειγμάτων σάρκας.

Οι ίδιες κάψες σημαίνονται με μαρκαδόρο και τοποθετούνται σε ειδικό αποτεφρωτή, στους 600°C. Την επόμενη ημέρα αφαιρούνται, τοποθετούνται σε ξηραντήρα και ζυγίζονται. Με τους κατάλληλους υπολογισμούς, προσδιορίζουμε την τέφρα των δειγμάτων σάρκας.

2.6 Προσδιορισμός της γλυκόζης στο αίμα

Για τη μέτρηση της γλυκόζης στο αίμα των ψαριών χρησιμοποιήθηκε το kit της BIOSIS «ΣΑΚΧΑΡΟ GOD/PAP». Το διάλυμα εργασίας (ρυθμιστικό διάλυμα και φιαλίδιο ενζύμων) μαζί με τα δείγματα πλάσματος του αίματος, το τυφλό δείγμα και τα

πρότυπα διαλύματα της γλυκόζης μεταφέρθηκαν σε πλάκα 96 θέσεων, στις κατάλληλες ποσότητες που προέκυψαν μετά από προσαρμογή των όγκων. Ακολούθησε επώαση της πλάκας σε θερμοκρασία 37° C για 15 min, ανάδευση και φωτομέτρηση έναντι τυφλού σε φωτόμετρο τύπου «Stat Fax – 2100», της AWARENESS TECHNOLOGY INC, σε μήκος κύματος 540nm. Για τον τελικό υπολογισμό των τιμών της γλυκόζης χρησιμοποιήθηκε ο τύπος:

$$\text{Γλυκόζη (mg/dl)} = A_d/A_s \times 100$$

2.7 Προσδιορισμός της χοληστερόλης στο αίμα

Για τη μέτρηση της χοληστερόλης στο αίμα των ψαριών χρησιμοποιήθηκε το kit της BIOSIS «ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ ENZYΜΑΤΙΚΗ/PAP». Το διάλυμα εργασίας (ρυθμιστικό διάλυμα και φιαλίδιο ενζύμων) μαζί με τα δείγματα πλάσματος του αίματος, το τυφλό δείγμα και τα πρότυπα διαλύματα της χοληστερόλης μεταφέρθηκαν σε πλάκα 96 θέσεων, στις κατάλληλες ποσότητες που προέκυψαν μετά από προσαρμογή των όγκων. Ακολούθησε επώαση της πλάκας σε θερμοκρασία 37°C για 15min, ανάδευση και φωτομέτρηση έναντι τυφλού σε φωτόμετρο τύπου «Stat Fax – 2100», της AWARENESS TECHNOLOGY INC, σε μήκος κύματος 540nm. Για τον τελικό υπολογισμό των τιμών της χοληστερόλης χρησιμοποιήθηκε ο τύπος:

$$\text{Χοληστερόλη (mg/dl)} = A_d/A_s \times 200$$

2.8 Προσδιορισμός των τριγλυκεριδίων στο αίμα

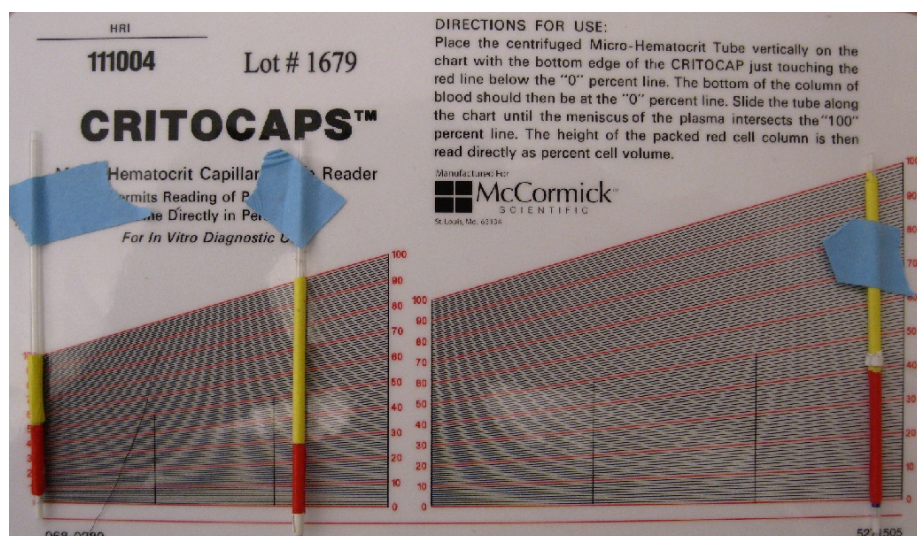
Για τη μέτρηση των τριγλυκεριδίων στο αίμα των ψαριών χρησιμοποιήθηκε το kit της BIOSIS «ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ GPO/PAP». Το διάλυμα εργασίας (ρυθμιστικό διάλυμα και φιαλίδιο ενζύμων) μαζί με τα δείγματα πλάσματος του αίματος, το τυφλό δείγμα και τα πρότυπα διαλύματα των τριγλυκεριδίων μεταφέρθηκαν σε πλάκα 96 θέσεων, στις κατάλληλες ποσότητες που προέκυψαν μετά από προσαρμογή των όγκων. Ακολούθησε επώαση της πλάκας σε θερμοκρασία 37°C για 5min, προσθήκη σταθεροποιητικού διαλύματος σε συγκεκριμένη ποσότητα, ανάδευση και φωτομέτρηση έναντι τυφλού σε φωτόμετρο τύπου «Stat Fax – 2100», της AWARENESS TECHNOLOGY INC, σε μήκος κύματος 540nm. Για τον τελικό υπολογισμό των τριγλυκεριδίων χρησιμοποιήθηκε ο τύπος:

$$\text{Τριγλυκερίδια (mg/dl)} = A_d/A_s \times 200$$

2.9 Προσδιορισμός του αιματοκρίτη του αίματος

Αμέσως μετά από κάθε αιμοληψία πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός του αιματοκρίτη. Το αίμα από την κάθε σύριγγα μεταγγίστηκε σε ηπαρινισμένο erpendorf. Σε κάθε erpendorf τοποθετήθηκε ηπαρινισμένο τριχοειδές σωληνάκι, η μία άκρη του οποίου είχε σφραγιστεί με πλαστελίνη. Τα γεμάτα με αίμα πια τριχοειδή τοποθετήθηκαν σε φυγόκεντρο, στα 12.000rpm για 5min με αποτέλεσμα το διαχωρισμό

του πλάσματος από τα έμμορφα συστατικά του αίματος. Μετά τη φυγοκέντριση το κάθε τριχοειδές τοποθετήθηκε σε ειδική πλάκα ανάγνωσης σύμφωνα με την οποία ερμηνεύτηκαν τα αποτελέσματα του αιματοκρίτη του αίματος των ψαριών.



Εικόνα 19: Ειδική πλάκα ανάγνωσης αιματοκρίτη, (<http://www.highlands.edu>)

2.10 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου

2.10.1 Δειγματοληψία

Η λήψη των εγκεφάλων έγινε κατά στο τέλος της κάθε πειραματικής περιόδου. Όλα τα ψάρια αναισθητοποιήθηκαν με χτύπημα στο κεφάλι, καρατομήθηκαν και αφαιρέθηκε ο εγκέφαλος, ο οποίος διαχωρίστηκε σε 3 τμήματα (τελεγκέφαλο, μεσεγκέφαλο και παρεγκεφαλίδα). Ολόκληρη η διαδικασία δεν είχε μεγαλύτερη διάρκεια από 90 δευτερόλεπτα, για κάθε ψάρι. Οι εγκέφαλοι που απομονώθηκαν ζυγίστηκαν, καταψύχθηκαν σε ξηρό πάγο και αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι την έναρξη των αναλύσεων των νευροδιαβιβαστών (Τσοπελάκος 2005). Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκε μόνο ο τελεγκέφαλος των ψαριών και προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις των 5-HT, 5-HIAA, DA, DOPAC και HVA. Υπολογίστηκαν επίσης η σεροτονινεργική και η ντοπαμινεργική δραστηριότητα, μέσω των λόγων $[5\text{-HIAA}]/[5\text{-HT}]$ και $[\text{DOPAC}]/[\text{DA}]$.

2.10.2 Μέθοδος Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης με Ηλεκτροχημικό Ανιχνευτή (HPLC-ED) για προσδιορισμό μονοαμινών

Στις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν για τους σκοπούς αυτής της εργασίας έγινε χρήση ενός συστήματος HPLC με αντλία LKB και αμπερομετρικό ανιχνευτή

BAS-LC4B. Οι αμπερομετρικοί ανιχνευτές σταθερού δυναμικού βρίσκουν εφαρμογή σε ουσίες που οξειδώνονται ή ανάγονται εύκολα στο ηλεκτρόδιο εργασίας, στην τιμή του δυναμικού που επιλέγεται. Όταν το εφαρμοζόμενο δυναμικό έχει κατάλληλη τιμή, τότε είναι δυνατό να λάβει χώρα μεταφορά ηλεκτρονίων από ή προς τα σωματίδια του διαλύματος, οπότε προκύπτει ηλεκτρικό ρεύμα. Πραγματοποιείται μέτρηση της επαγόμενου ρεύματος, το οποίο είναι ανάλογο προς τη συγκέντρωση της προς ανάλυση ουσίας (Τσοπελάκος 2005).

Ως μη πολική, σταθερή φάση χρησιμοποιήθηκαν χημικά προσδεδεμένα αλκύλια σε πηκτική διοξειδίου του πυριτίου (alkyl-bonded silica) και συγκεκριμένα η στήλη Thermo Hypersil-Keystone, 150X 2.1mm 5μ Hypersil, Elite C18 (Thermo Electron, Cheshire, UK).

Για τον προσδιορισμό των μονοαμινών, στον ηλεκτροχημικό ανιχνευτή βρίσκεται προσαρμοσμένο το ηλεκτρόδιο εργασίας ναλώδους άνθρακα και το ηλεκτρόδιο αναφοράς (Ag/AgCl). Το επιθυμητό δυναμικό του ηλεκτροδίου εργασίας, ως προς το ηλεκτρόδιο αναφοράς έχει ρυθμιστεί στον ανιχνευτή στα +800 mV. Η ροή της αντλίας είναι ρυθμισμένη στα 0,2 mL/min και η κλίμακα ευαισθησίας (Range) ρυθμίζεται στα 50-500 nA, ανάλογα με τις συγκεντρώσεις των ουσιών στα υπό ανάλυση δείγματα (Δάλλα 2005).

Οι μετρήσεις έγιναν σύμφωνα με τη μέθοδο που έχει περιγραφεί από τους Sharp, Zetterström et al. (1987) και Papadopoulou-Daifotis, Antoniou et al. (1995), με κάποιες μικρές τροποποιήσεις. Η μέθοδος είναι ακριβής για τις αναλύσεις και σε ιχθύες, ακριβώς όπως χρησιμοποιείται και για άλλους οργανισμούς (π.χ. μύες).

2.10.3 Προετοιμασία για την παρασκευή των δειγμάτων

Οι εγκέφαλοι αποψύχθηκαν αρχικά από τους -80° C στους -20° C. Η επεξεργασία των δειγμάτων έγινε σε θερμοκρασία δωματίου. Στα δοχεία erpendorf που περιέχονταν οι εγκέφαλοι προς ανάλυση, προστέθηκε διάλυμα HClO₄ 0,2N, που περιείχε 7,9mM Na₂S₂O₅ και 1,3mM Na₂EDTA και ακολούθησε ομογενοποίηση με συσκευή υπερήχων. Η ποσότητα του διαλύτη ήταν ανάλογη με το βάρος των εγκεφάλων και στην προκειμένη περίπτωση οι όγκοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 500 και 1000μl. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φυγόκεντρο, η οποία λειτούργησε στις 14000 στροφές το λεπτό για 30 λεπτά. Με την ολοκλήρωση της διαδικασίας φυγοκέντρωσης έγινε λήψη του υπερκείμενου υγρού και μετάγγισή του σε αντιστοιχισμένα δοχεία erpendorf. Τα δείγματα μετά την επεξεργασία τους αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία -80° C (Τσοπελάκος 2005).

2.10.4 Προετοιμασία HPLC

Για την προετοιμασία της HPLC χρησιμοποιήθηκε αρχικά διάλυμα κινητής φάσης, που αποτελούνταν από ένα ρυθμιστικό διάλυμα (buffer) με ακετονιτρίλιο (ACN) (10%) και 50mM φωσφορικό άλας. Η τιμή του pH του buffer ήταν 3 και περιείχε 300mg/l 5-octylsulfate sodium salt και 20mg/l Na₂EDTA. Μια ποσότητα του διαλύματος χρησιμοποιήθηκε για την εκκαθάριση της στήλης (purge). Έπειτα η

συσκευή αφέθηκε να λειτουργεί με ρυθμό ροής 0,2ml/min για μία ώρα. Ακολούθως έγινε αντικατάσταση της κινητής φάσης με νέο διάλυμα που περιείχε 8,5% ACN σε buffer. Ο ρυθμός ροής παρέμεινε αμετάβλητος.

Αφού τεθεί σε λειτουργία και ο ηλεκτροχημικός ανιχνευτής και παρατηρηθεί ισορροπία στο σύστημα, γίνεται η έγχυση των διαλυμάτων. Η ισορροπία του συστήματος μεταφράζεται σε ευθεία βασική γραμμή (base line), όπως αυτή παρατηρείται στην οθόνη που απεικονίζεται το χρωματογράφημα. Η κλίμακα ευαισθησίας στον ηλεκτροχημικό ανιχνευτή που πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις ήταν 100nA.

2.9.5 Μετρήσεις

Αφού ολοκληρώθηκε η προετοιμασία της συσκευής για τις μετρήσεις άρχισε η διαδικασία των μετρήσεων. Η παρασκευή της κινητής φάσης γινόταν καθημερινά και ακολουθούσε απαέρωση και διήθησή της με τη χρήση αντλίας κενού. Καθημερινή ήταν επίσης και η παρασκευή των διαλυμάτων βαθμονόμησης.

Καθημερινά εγχύνονταν στη βαλβίδα εισαγωγής του συστήματος τουλάχιστον 4 πρότυπα διαλύματα (2 από δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις- 60 μ L από το καθένα), τα οποία έδιναν 4 αντίστοιχα χρωματογραφήματα.

Κάθε ουσία, η οποία περιέχεται στο πρότυπο διάλυμα δίνει μία κορυφή, το εμβαδόν της οποίας χρησιμοποιείται για τη δημιουργία μιας πρότυπης καμπύλης. Η πρότυπη καμπύλη προκύπτει από τη σχέση εμβαδού κάθε κορυφής και συγκέντρωσης της κάθε ουσίας στο πρότυπο διάλυμα.

Στη συνέχεια εγχύνονταν στη βαλβίδα εισαγωγής διαδοχικά 60 μ L από κάθε δείγμα, λαμβάνονταν τα αντίστοιχα χρωματογραφήματα και υπολογιζόταν η ποσότητα της κάθε ουσίας στο δείγμα με βάση το εμβαδόν της. Η ποσότητα της κάθε ουσίας στο δείγμα, η οποία προκύπτει από την ποσοτικοποίηση του χρωματογραφήματος, εκφράζεται σε ng/27 μ L (27 μ L είναι ο όγκος του δείγματος που τελικά εισέρχεται στο βρόγχο του συστήματος, όπου γίνεται η έγχυση). Τελικά, υπολογιζόταν η ποσότητα της κάθε ουσίας σε μ g/g ιστού, από τον οποίο προήλθε το δείγμα. Το όριο ανίχνευσης της ανάλυσης για την κάθε ουσία στο δείγμα είναι 1 pg/27 μ L.

Οι υπολογισμοί των ποσοτήτων των ουσιών προήλθαν από υπολογισμό των εμβαδών των κορυφών του χρωματογραφήματος που προέκυπτε μετά την ανάλυση κάθε δείγματος. Η HPLC ήταν συνδεδεμένη σε υπολογιστή και οι ολοκληρώσεις έγιναν με τη βοήθεια του προγράμματος Chromatography Station for Windows.(Τσοπελάκος 2005).

2.11 Μέτρηση φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού εκτροφής

Η αλατότητα του νερού εκτροφής προσδιορίστηκε με διαθλασίμετρο το οποίο είχε προηγουμένως βαθμονομηθεί με αποσταγμένο νερό, βάσει του οποίου προκύπτει η τιμή 0‰.

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου (mg/L) και του κορεσμού του νερού εκτροφής σε αυτό χρησιμοποιήθηκε φορητή συσκευή με ηλεκτρόδιο (Oxyguard, Denmark), το οποίο είχε βαθμονομηθεί με βάση την αλατότητα του νερού του κυκλώματος. Στο ηλεκτρόδιο αναφοράς υπήρχε και αισθητήρας για τη μέτρηση της θερμοκρασίας του νερού.

Το pH προσδιορίστηκε με φορητή συσκευή (Oxyguard, Denmark), η οποία είχε προηγουμένως βαθμονομηθεί με δύο ρυθμιστικά διαλύματα με pH 7 και 4, σε θερμοκρασία δωματίου. Για τη μέτρηση του pH στο νερό εκτροφής λαμβάνονταν προηγουμένως η θερμοκρασία του νερού και ρυθμιζόταν ανάλογα το όργανο.

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7) παρουσιάζονται οι μετρήσεις (\pm τυπικό σφάλμα) των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού εκτροφής κατά τη θερμή, ψυχρή περίοδο και την επανασίτιση. Οι τιμές ήταν πάνω από τα προτεινόμενα όρια για την εκτροφή του συγκεκριμένου είδους: pH: 6.5-9, O₂: ελάχιστο 70% κορεσμός του νερού σε O₂ και 5ppm, T: μέγιστη 33°C και μέγιστη ημερήσια μεταβολή 3°C (Παπουτσόγλου 1997).

Πίνακας 7: Μετρήσεις (\pm τυπική απόκλιση) επιπέδων διαλυμένου Οξυγόνου (ppm), κορεσμού του νερού εκτροφής σε οξυγόνο (%), pH και θερμοκρασίας (°C)

	O ₂ (ppm)	O ₂ (κορεσμός %)	pH	T°C
Θερμή Περίοδος	6.57 \pm 0.494	93.60 \pm 3.162	7.46 \pm 0.157	23.85 \pm 0.433
Ψυχρή Περίοδος	6.90 \pm 0.228	94.08 \pm 2.036	7.52 \pm 0.176	20.14 \pm 0.885
Επανασίτιση	6.80 \pm 0.147	95.38 \pm 1.269	7.44 \pm 0.075	21.16 \pm 1.778

2.12 Προσδιορισμός Νιτρωδών και Ολικής Αμμωνίας

Εβδομαδιαία και 30min μετά το δεύτερο γεύμα, λαμβάνονταν δείγματα νερού από κάθε δεξαμενή. Τα δείγματα συλλέγονταν μετά από διήθηση σε ηθμό σε φιαλίδια χωρητικότητας των 100mL και αναλύονταν με σκοπό τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των νιτρωδών ιόντων και της ολικής αμμωνίας του νερού.

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των νιτρωδών ιόντων χρησιμοποιήθηκε φωτομετρική μέθοδος που βασίζεται στην αντίδραση των νιτρωδών ιόντων με διαλύματα σουλφαναμιδης και NED, κατά την οποία σχηματίζεται σε pH 2.0-2.5 ερυθροϊώδες χρώμα (APHA 1998). Το απαιτούμενο μήκος κύματος στο φασματοφωτόμετρο (Helios α , Thermo Electron Cooperation) ήταν 540nm.

Για τον προσδιορισμό της ολικής αμμωνίας χρησιμοποιήθηκε φωτομετρική μέθοδος που βασίζεται στην αντίδραση της αμμωνίας με φαινόλη και υποχλωριώδες

διάλυμα, κατά την οποία σχηματίζεται σε αλκαλικό περιβάλλον μπλε χρώμα. Η ένταση χρώματος προσδιορίστηκε με τη χρήση νιτροπρωσσικού νατρίου. Χρησιμοποιήθηκε το ίδιο φασματοφωτόμετρο, σε μήκος κύματος 640nm.

Ο προσδιορισμός της μη ιονισμένης (τοξικής) αμμωνίας πραγματοποιήθηκε μέσω μαθηματικού τύπου:

$$\% \text{ Μη Ιονισμένη Αμμωνία} = \frac{100}{1+10^{pK_a(T)-pH}}$$

όπου:

$$pK_a(T) = pK_a(298^\circ K) + 0.0324 \times (298 - T^\circ K)$$

T: η θερμοκρασία σε °K

$$pK_a(298^\circ K) = 9.35$$

Ακολούθησε αναγωγή στην ποσότητα ολικής αμμωνίας.

Για το λαβράκι οι τιμές στις οποίες παρουσιάζεται θνησιμότητα του 50% του πληθυσμού (LC50) είναι για την ολική αμμωνία 40ppm (μη ιονισμένη 1.7ppm) (Lemarié, Dosdat et al. 2004). Για τα νιτρώδη συνιστάται η συγκέντρωσή τους να είναι <0.55ppm (Παπουτσόγλου 1997). Δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων.

Πίνακας 8: Επίπεδα (ppm ± τυπικό σφάλμα) ολικής αμμωνίας, τοξικής αμμωνίας και νιτρωδών ιόντων, στο νερό εκτροφής

	T1	T2	T3	M	Τυπικό Σφάλμα
(NH ₄ ⁺ +NH ₃)-N	0.28	0.28	0.28	0.29	0.003
NH ₃ -N	0.004	0.003	0.003	0.003	0.0000
NO ₂ -N	0.045	0.045	0.044	0.045	0.0010

(NH₄⁺+NH₃)-N ολική αμμωνία, NH₃-N τοξική αμμωνία (μη ιονισμένη μορφή), NO₂-N τοξική αμμωνία

2.13 Στατιστική Επεξεργασία

Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων που προέκυψαν διενεργήθηκε μονόπλευρη ανάλυση διακύμανσης (one way anova), αφού πρώτα διαπιστώθηκε η ύπαρξη κανονικής κατανομής. Για τις αιματολογικές παραμέτρους και την ανάλυση των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου ελέγχθηκε η πιθανότητα συσχέτισης με το χρόνο δειγματοληψίας. Η ισχύς της ανάλυσης διακύμανσης ήταν μεγαλύτερη από 80%. Το επίπεδο σημαντικότητας ήταν 0.05. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με SAS/STAT (2005) και η ανάλυση ισχύος με G*POWER 3 (Faul, Erdfelder et al. 2007).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Χημική Σύσταση Σάρκας

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζεται η χημική σύσταση (υγρασία, τέφρα, πρωτεΐνη, λίπος) των ψαριών της κάθε διατροφικής επέμβασης, στις τέσσερις περιόδους του πειράματος (θερμή περίοδος, ψυχρή περίοδος, αρχή περιόδου επανασίτισης και τέλος περιόδου επανασίτισης) (Πίνακες 9, 10, 11, 12).

3.1.1 Υγρασία, τέφρα, πρωτεΐνη, λίπος σάρκας

Πίνακας 9: Υγρασία (% ΞΒ) ανά περίοδο εκτροφής

Υγρασία (% ΞΒ)	T1	T2	T3	M	
26-27/11/2012	66.48±0.154	66.35±0.254	66.35±0.249	66.45±0.216	ΜΣ
26-27/03/2013	66.04±0.275	66.05±0.295	65.74±0.281	65.60±0.256	ΜΣ
27/05/2013	66.12±0.336	66.04±0.292	65.74±0.423	65.49±0.386	ΜΣ
03/07/2013	66.49±0.331	66.48±0.222	66.49±0.150	66.01±0.233	ΜΣ

Οι διαφορετικοί εκθέτες στις τιμές μίας σειράς υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (***P< 0.001, **P<0.01, *P<0.05, ΜΣ P>0.05)

Πίνακας 10: Τέφρα (% ΞΒ) ανά περίοδο εκτροφής

Τέφρα (% ΞΒ)	T1	T2	T3	M	
26-27/11/2012	5.46±0.142	5.83±0.036	5.79±0.113	5.72±0.104	ΜΣ
26-27/03/2013	5.82±0.055	5.82±0.067	5.75±0.106	5.65±0.089	ΜΣ
27/05/2013	5.77±0.338	5.99±0.240	5.44±0.159	5.29±0.116	ΜΣ
03/07/2013	5.77±0.338	5.99±0.240	5.44±0.159	5.29±0.116	ΜΣ

Οι διαφορετικοί εκθέτες στις τιμές μίας σειράς υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (***P< 0.001, **P<0.01, *P<0.05, ΜΣ P>0.05)

Πίνακας 11: Πρωτεΐνη (% ΞΟ) ανά περίοδο εκτροφής

Πρωτεΐνη (% ΞΟ)	T1	T2	T3	M	
26-27/11/2012	84.76±0.406	88.02±0.285	85.96±1.186	84.84±1.579	ΜΣ
26-27/03/2013	88.99±0.292 ^b	86.53±1.185 ^a	85.66±0.790 ^a	86.68±0.516 ^a	*
27/05/2013	90.52±0.696 ^b	88.53±0.490 ^{ab}	87.33±0.806 ^a	87.65±0.986 ^a	*
03/07/2013	87.40±1.055 ^a	90.25±0.462 ^b	86.66±0.274 ^a	88.14±0.312 ^a	**

Οι διαφορετικοί εκθέτες στις τιμές μίας σειράς υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (***P< 0.001, **P<0.01, *P<0.05, ΜΣ P>0.05)

Πίνακας 12: Λίπος (% ΞΒ) ανά περίοδο εκτροφής

Λίπος (% ΞΟ)	T1	T2	T3	M	
26-27/11/2012	13.76±0.388 ^b	10.52±0.234 ^a	11.33±0.477 ^{ab}	13.52±1.364 ^b	*
26-27/03/2013	8.51±0.224 ^a	9.99±0.477 ^b	10.09±0.561 ^b	10.79±0.559 ^b	*
27/05/2013	9.05±0.254 ^b	6.91±0.130 ^a	9.16±0.841 ^b	10.40±0.580 ^b	**
03/07/2013	9.04±0.655	9.27±0.161	10.78±0.594	10.58±0.565	ΜΣ

Οι διαφορετικοί εκθέτες στις τιμές μίας σειράς υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (***P< 0.001, **P<0.01, *P<0.05, ΜΣ P>0.05)

3.1.2 Λιπαρά Οξέα σάρκας

Οι αναλογίες (%) των λιπαρών οξέων στο λίπος της σάρκας των ψαριών όλων των διατροφικών χειρισμών, για το τέλος της κύριας εκτροφής και το τέλος της περιόδου επανασίτισης, φαίνονται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακες 13 και 14).

Πίνακας 13: % Ολικών Λιπαρών Οξέων, στο τέλος της κύριας εκτροφής, (\pm τυπικό σφάλμα)

	T1	T2	T3	M	p
14:0	1.4 \pm 0.07 ^a	1.7 \pm 0.13 ^{ab}	1.8 \pm 0.08 ^b	2.4 \pm 0.12 ^c	***
16:0	13.0 \pm 0.43	11.3 \pm 0.43	11.9 \pm 0.39	12.9 \pm 0.66	MΣ
16:1n7	1.7 \pm 0.16 ^a	2.1 \pm 0.14 ^c	2.5 \pm 0.10 ^c	2.9 \pm 0.12 ^c	***
17:0	0.1 \pm 0.02 ^b	0.0 \pm 0.02 ^b	0.1 \pm 0.02 ^b	0.0 \pm 0.00 ^a	*
18:0	3.3 \pm 0.18	3.3 \pm 0.12	3.3 \pm 0.14	3.5 \pm 0.09	MΣ
18:1n9	23.7 \pm 0.27 ^c	16.5 \pm 1.08 ^b	18.4 \pm 0.88 ^b	13.9 \pm 0.86 ^a	***
18:1n7	2.5 \pm 0.10 ^b	1.6 \pm 0.08 ^a	1.9 \pm 0.12 ^a	1.8 \pm 0.15 ^a	***
18:2n6	9.0 \pm 0.16 ^c	7.4 \pm 0.40 ^b	7.8 \pm 0.27 ^b	5.5 \pm 0.15 ^a	***
18:3n3	0.9 \pm 0.23	1.5 \pm 0.09	1.3 \pm 0.23	1.1 \pm 0.03	MΣ
18:4n3	0.2 \pm 0.01 ^a	0.5 \pm 0.03 ^b	0.4 \pm 0.05 ^b	0.7 \pm 0.04 ^c	***
20:0	0.4 \pm 0.04 ^b	0.2 \pm 0.04 ^a	0.2 \pm 0.04 ^a	0.4 \pm 0.04 ^b	***
20:1n11+20:1n9	2.6 \pm 0.16	2.4 \pm 0.23	2.6 \pm 0.16	2.7 \pm 0.17	MΣ
20:2n6	0.9 \pm 0.13 ^b	0.1 \pm 0.03 ^a	0.2 \pm 0.09 ^a	0.3 \pm 0.14 ^a	***
20:4n6	0.5 \pm 0.07 ^c	0.1 \pm 0.04 ^{ab}	0.2 \pm 0.08 ^b	0.0 \pm 0.02 ^a	***
20:4n3	0.2 \pm 0.05	0.1 \pm 0.07	0.2 \pm 0.07	0.0 \pm 0.00	MΣ
20:5n3	1.8 \pm 0.07 ^a	3.7 \pm 0.11 ^b	3.4 \pm 0.13 ^b	4.4 \pm 0.19 ^c	***
22:1n11	1.2 \pm 0.08 ^a	1.6 \pm 0.14 ^b	1.5 \pm 0.09 ^b	2.3 \pm 0.13 ^c	***
22:1n9	0.4 \pm 0.03 ^b	0.3 \pm 0.02 ^a	0.3 \pm 0.01 ^a	0.3 \pm 0.03 ^{ab}	*
22:5n3	1.2 \pm 0.15	1.0 \pm 0.05	1.2 \pm 0.04	1.1 \pm 0.03	MΣ
22:6n3	6.9 \pm 0.24 ^a	10.0 \pm 0.22 ^b	9.9 \pm 0.28 ^b	10.6 \pm 0.36 ^b	***
24:1n9	0.7 \pm 0.03	0.7 \pm 0.03	0.8 \pm 0.07	0.8 \pm 0.04	MΣ
Saturated	18.2 \pm 0.52 ^{ab}	16.5 \pm 0.57 ^a	17.3 \pm 0.44 ^{ab}	19.1 \pm 0.86 ^b	*
Monounsaturated	53.3 \pm 0.67	53.4 \pm 1.78	51.6 \pm 1.12	50.6 \pm 0.98	MΣ
Σn3	11.2 \pm 0.42 ^a	11.0 \pm 2.77 ^a	16.4 \pm 0.69 ^b	17.9 \pm 0.55 ^b	***
Σn3 HUFA	10.1 \pm 0.28 ^a	14.8 \pm 0.36 ^b	14.7 \pm 0.44 ^b	16.1 \pm 0.50 ^c	***
Σn6	10.4 \pm 0.15 ^c	6.6 \pm 1.74 ^{ab}	8.2 \pm 0.31 ^b	5.8 \pm 0.28 ^a	***
EPA+DHA	8.8 \pm 0.31 ^a	13.7 \pm 0.30 ^b	13.3 \pm 0.40 ^b	15.0 \pm 0.52 ^c	***
SAT/MONO	0.3 \pm 0.01	0.3 \pm 0.02	0.3 \pm 0.01	0.4 \pm 0.03	MΣ

Οι διαφορετικοί εκθέτες στις τιμές μίας σειράς υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (***P< 0.001, **P<0.01, *P<0.05, MΣ P>0.05)

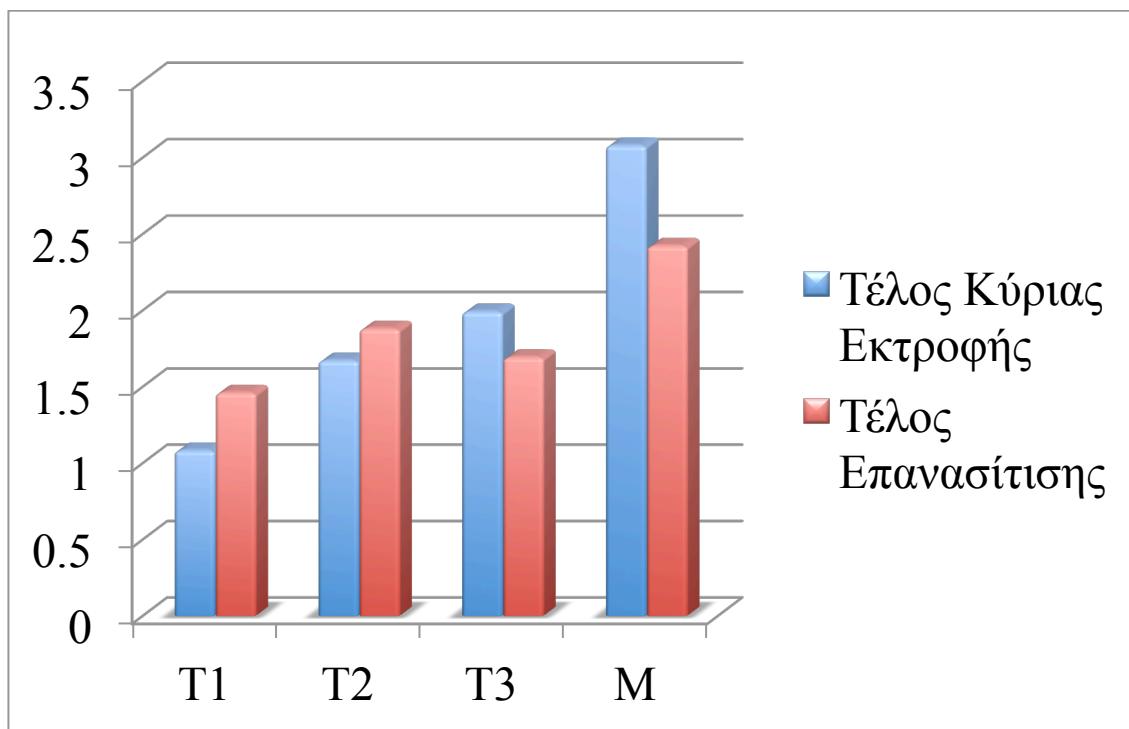
Πίνακας 14: % Ολικών Λιπαρών Οξέων, στο τέλος της περιόδου επανασίτισης, (\pm τυπικό σφάλμα)

	T1	T2	T3	M	<i>p</i>
14:0	2.1 \pm 0.06 ^a	2.3 \pm 0.11 ^a	2.2 \pm 0.06 ^a	3.3 \pm 0.11 ^b	***
16:0	12.8 \pm 0.12 ^a	13.0 \pm 0.45 ^a	12.5 \pm 0.16 ^a	15.3 \pm 0.68 ^b	***
16:1n7	2.6 \pm 0.08 ^a	2.7 \pm 0.10 ^a	2.7 \pm 0.10 ^a	3.6 \pm 0.03 ^b	***
17:0	0.2 \pm 0.00 ^c	0.3 \pm 0.01 ^c	0.1 \pm 0.02 ^a	0.1 \pm 0.01 ^b	***
18:0	3.2 \pm 0.09	3.1 \pm 0.11	2.7 \pm 0.41	2.8 \pm 0.29	ΜΣ
18:1n9	24.1 \pm 0.70 ^b	20.8 \pm 0.70 ^a	23.7 \pm 1.39 ^b	18.8 \pm 0.79 ^a	**
18:1n7	1.0 \pm 0.49	0.5 \pm 0.33	1.3 \pm 0.44	1.4 \pm 0.55	ΜΣ
18:2n6	8.7 \pm 0.37 ^c	7.1 \pm 0.40 ^b	8.6 \pm 0.34 ^c	5.5 \pm 0.43 ^a	***
18:3n3	0.2 \pm 0.02 ^a	0.1 \pm 0.01 ^a	1.0 \pm 0.33 ^b	0.5 \pm 0.12 ^{ab}	*
18:4n3	2.3 \pm 0.10	2.8 \pm 0.35	2.1 \pm 0.75	1.5 \pm 0.48	ΜΣ
20:0	0.4 \pm 0.02	0.4 \pm 0.05	0.3 \pm 0.03	0.2 \pm 0.06	ΜΣ
20:1n11+20:1n9	3.1 \pm 0.09 ^a	3.4 \pm 0.14 ^a	3.2 \pm 0.18 ^a	4.6 \pm 0.27 ^b	***
20:2n6	0.5 \pm 0.02	0.3 \pm 0.06	0.3 \pm 0.09	0.6 \pm 0.22	ΜΣ
20:4n6	0.6 \pm 0.02 ^c	0.4 \pm 0.04 ^b	0.2 \pm 0.07 ^a	0.4 \pm 0.04 ^b	***
20:4n3	0.1 \pm 0.01	0.1 \pm 0.01	0.1 \pm 0.08	0.3 \pm 0.10	ΜΣ
20:5n3	3.3 \pm 0.09 ^a	3.4 \pm 0.10 ^a	3.4 \pm 0.06 ^a	3.9 \pm 0.24 ^b	*
22:1n11+22:1n9	2.2 \pm 0.05 ^a	3.0 \pm 0.17 ^b	2.3 \pm 0.08 ^a	4.1 \pm 0.22 ^c	***
22:5n3	0.9 \pm 0.02 ^{ab}	0.8 \pm 0.05 ^a	1.0 \pm 0.04 ^b	0.9 \pm 0.04 ^{ab}	*
22:6n3	7.7 \pm 0.23 ^a	7.4 \pm 0.31 ^a	8.0 \pm 0.25 ^{ab}	8.7 \pm 0.21 ^b	*
24:1n9	0.7 \pm 0.02 ^a	1.1 \pm 0.04 ^c	0.7 \pm 0.05 ^a	0.9 \pm 0.02 ^b	***
Saturated	18.7 \pm 0.20 ^a	19.0 \pm 0.47 ^a	17.7 \pm 0.51 ^a	21.7 \pm 0.98 ^b	**
Monounsaturated	51.8 \pm 0.49 ^b	52.7 \pm 1.01 ^b	51.0 \pm 0.62 ^b	48.4 \pm 0.64 ^a	**
Σn3	14.5 \pm 0.40	14.8 \pm 0.28	15.6 \pm 0.30	15.8 \pm 0.68	ΜΣ
Σn3 HUFA	12.0 \pm 0.30 ^a	11.8 \pm 0.45 ^a	12.5 \pm 0.30 ^a	13.8 \pm 0.36 ^b	**
Σn6	9.9 \pm 0.37 ^c	7.9 \pm 0.50 ^b	9.2 \pm 0.32 ^c	6.5 \pm 0.17 ^a	***
EPA+DHA	11.0 \pm 0.30 ^a	10.8 \pm 0.41 ^a	11.3 \pm 0.29 ^a	12.6 \pm 0.42 ^b	*
SAT/MONO	0.4 \pm 0.00 ^a	0.4 \pm 0.02 ^a	0.3 \pm 0.01 ^a	0.5 \pm 0.03 ^b	*

Οι διαφορετικοί εκθέτες στις τιμές μίας σειράς υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (***P< 0.001, **P<0.01, *P<0.05, ΜΣ P>0.05)

3.1.3 Λόγος n3/n6

Στο διάγραμμα 1 παρουσιάζεται ο λόγος n3/n6 ΛΟ για τους τέσσερις διατροφικούς χειρισμούς, στο τέλος της κύριας εκτροφής και στο τέλος της περιόδου επανασίτισης.



Διάγραμμα 1: Λόγος ω3/ω6 για τις πειραματικές τροφές στο τέλος της κύριας εκτροφής και στο τέλος της περιόδου επανασίτισης.

Ο λόγος n3/n6 είναι ιδιαίτερα σημαντικός για τη διατροφή και την υγεία του ανθρώπου. Προσπαθούμε να πετύχουμε στη διατροφή μας ένα λόγο που τείνει στη μονάδα, προσπαθώντας να αποφύγουμε λόγους 1/15-1/17 που δείχνουν να κυριαρχούν στη σημερινή δυτική διατροφή. Ο χαμηλός λόγος n3/n6 έχει αποδειχθεί επιστημονικά πως προωθεί την παθογένεση διαφόρων ασθενειών όπως τα καρδιαγγειακά προβλήματα, ο καρκίνος, διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα, ενώ τα αυξημένα επίπεδα των n3 PUFA ασκούν κατασταλτική δράση (Simopoulos 2002). Στην παρούσα μελέτη ο λόγος n3/n6 διατηρήθηκε πάνω από 1.

3.2 Αιματολογικές Παράμετροι

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των αιματολογικών παραμέτρων (αιματοκρίτης, χοληστερόλη, τριγλυκερίδια και γλυκόζη) για του τέσσερις διατροφικούς χειρισμούς, στις δύο περιόδους αιμοληψίας (τέλος θερμής και τέλος ψυχρής περιόδου) (Πίνακες 15, 16, 17 και 18).

Πίνακας 15: Αιματοκρίτης (%) στις δύο περιόδους αιμοληψίας

Αιματοκρίτης (%)	T1	T2	T3	M	p
26-27/11/2012	33.9±1.80	34.4±3.51	31.2±1.75	35.7±1.91	MΣ
26-27/03/2013	29.7±1.10	29.1±1.49	28.3±1.64	30.3±1.70	MΣ

Οι διαφορετικοί εκθέτες στις τιμές μίας σειράς υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (***P< 0.001, **P<0.01, *P<0.05, MΣ P>0.05)

Πίνακας 16: Χοληστερόλη (mg/100ml) στις δύο περιόδους αιμοληψίας

Χοληστερόλη (mg/100ml)	T1	T2	T3	M	p
26-27/11/2012	72.16±5.057	69.72±5.453	85.19±9.541	73.62±5.154	MΣ
26-27/03/2013	60.62±5.093 ^a	79.20±4.208 ^b	61.38±3.677 ^a	74.04±5.698 ^{ab}	*

Οι διαφορετικοί εκθέτες στις τιμές μίας σειράς υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (***P< 0.001, **P<0.01, *P<0.05, MΣ P>0.05)

Πίνακας 17: Τριγλυκερίδια (mg/100ml) στις δύο περιόδους αιμοληψίας

Τριγλυκερίδια (mg/100ml)	T1	T2	T3	M	p
26-27/11/2012	337.39±55.357	452.82±78.326	347.50±45.482	425.53±59.643	MΣ
26-27/03/2013	306.66±29.116	272.68±27.650	284.04±39.770	283.61±19.972	MΣ

Οι διαφορετικοί εκθέτες στις τιμές μίας σειράς υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (***P< 0.001, **P<0.01, *P<0.05, MΣ P>0.05)

Πίνακας 18: Γλυκόζη (mg/100ml) στις δύο περιόδους αιμοληψίας

Γλυκόζη (mg/100ml)	T1	T2	T3	M	p
26-27/11/2012	72.79±6.259	81.37±6.194	72.68±6.479	81.19±6.191	MΣ
26-27/03/2013	100.06±16.363	122.33±17.784	92.13±15.932	94.42±15.476	MΣ

Οι διαφορετικοί εκθέτες στις τιμές μίας σειράς υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (***P< 0.001, **P<0.01, *P<0.05, MΣ P>0.05)

3.3 Νευροδιαβιβαστές

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται η συγκέντρωση των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου των ψαριών, για κάθε διατροφική επέμβαση, στις τέσσερις περιόδους του πειράματος (τέλος θερμής περιόδου, τέλος ψυχρής περιόδου, αρχή περιόδου επανασίτισης και τέλος περιόδου επανασίτισης) (Πίνακας 19).

Πίνακας 19: Συγκέντρωση νευροδιαβιβαστών εγκεφάλου (ng/g ιστού) (\pm τυπικό σφάλμα)

		T1	T2	T3	M	p
26-27/11/2012	DA	0.091 \pm 0.0185	0.086 \pm 0.0063	0.054 \pm 0.0065	0.081 \pm 0.0084	MΣ
	DOPAC	0.016 \pm 0.0032	0.015 \pm 0.0013	0.013 \pm 0.0022	0.017 \pm 0.0022	MΣ
	5-HT	1.075 \pm 0.1678	0.973 \pm 0.0896	0.689 \pm 0.0590	0.991 \pm 0.1098	MΣ
	5-HIAA	0.111 \pm 0.0267	0.114 \pm 0.0293	0.064 \pm 0.0059	0.091 \pm 0.0098	MΣ
	DOPAC/DA	0.183 \pm 0.0230	0.185 \pm 0.0234	0.243 \pm 0.0278	0.210 \pm 0.0233	MΣ
	5-HIAA/5-HT	0.095 \pm 0.0075	0.083 \pm 0.0063	0.097 \pm 0.0073	0.099 \pm 0.0131	MΣ
26-27/03/2014	DA	0.066 \pm 0.0078	0.075 \pm 0.0108	0.079 \pm 0.0061	0.070 \pm 0.0097	MΣ
	DOPAC	0.009 \pm 0.0012	0.012 \pm 0.0018	0.015 \pm 0.0013	0.014 \pm 0.0018	MΣ
	5-HT	0.839 \pm 0.0971	0.856 \pm 0.1033	0.903 \pm 0.0548	0.749 \pm 0.0874	MΣ
	5-HIAA	0.102 \pm 0.0125	0.110 \pm 0.0124	0.116 \pm 0.0093	0.101 \pm 0.0132	MΣ
	DOPAC/DA	0.150 \pm 0.0149	0.183 \pm 0.0296	0.195 \pm 0.0216	0.214 \pm 0.0268	MΣ
	5-HIAA/5-HT	0.125 \pm 0.0096	0.133 \pm 0.0086	0.129 \pm 0.0088	0.142 \pm 0.0175	MΣ
27/5/2013	DA	0.062 \pm 0.0051	0.068 \pm 0.0078	0.074 \pm 0.0136	0.059 \pm 0.0070	MΣ
	DOPAC	0.015 \pm 0.0015 ^b	0.011 \pm 0.0008 ^a	0.011 \pm 0.0014 ^a	0.010 \pm 0.0005 ^a	*
	5-HT	0.657 \pm 0.0581	0.632 \pm 0.1165	0.785 \pm 0.0880	0.600 \pm 0.0572	MΣ
	5-HIAA	0.105 \pm 0.0081	0.110 \pm 0.0077	0.100 \pm 0.0084	0.081 \pm 0.0058	MΣ
	DOPAC/DA	0.248 \pm 0.0265	0.170 \pm 0.0236	0.174 \pm 0.0248	0.178 \pm 0.0171	MΣ
	5-HIAA/5-HT	0.164 \pm 0.0140 ^{ab}	0.196 \pm 0.0270 ^b	0.131 \pm 0.0093 ^a	0.137 \pm 0.0076 ^a	*
3/7/2013	DOPAC	0.064 \pm 0.0116	0.056 \pm 0.0043	0.058 \pm 0.0063	0.063 \pm 0.0035	MΣ
	DA	0.017 \pm 0.0028	0.015 \pm 0.0013	0.012 \pm 0.0024	0.016 \pm 0.0015	MΣ
	5-HT	0.716 \pm 0.0952	0.706 \pm 0.0352	0.587 \pm 0.0644	0.635 \pm 0.0773	MΣ
	5-HIAA	0.098 \pm 0.0184	0.103 \pm 0.0073	0.074 \pm 0.0060	0.097 \pm 0.0065	MΣ
	DOPAC/DA	0.293 \pm 0.0497	0.274 \pm 0.0181	0.224 \pm 0.0521	0.253 \pm 0.0248	MΣ
	5-HIAA/5-HT	0.136 \pm 0.0135	0.146 \pm 0.0073	0.133 \pm 0.0158	0.169 \pm 0.0285	MΣ

Οι διαφορετικοί εκθέτες στις τιμές μίας σειράς υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (***P< 0.001, **P<0.01, *P<0.05, MΣ P>0.05)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Δ

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Χημική Σύσταση Σάρκας

Η αύξηση της ζήτησης ιχθυελαίου από τον κλάδο των υδατοκαλλιεργειών για την κάλυψη των αναγκών της ανθρώπινης κατανάλωσης, σε συνδυασμό με τα περιορισμένα αποθέματα των ειδών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του, επιβάλλουν την ανάγκη ανεύρεσης εναλλακτικών πηγών λίπους (Turchini, Torstensen et al. 2009; FAO 2012; Globefish 2013). Συγκεκριμένα για την Ελλάδα, η οποία αποτελεί και την πρώτη δύναμη παγκοσμίως στην παραγωγή τσιπούρας και λαβρακιού, η αντικατάσταση είναι ζωτικής σημασίας για τη βιωσιμότητα όλων των παραγωγικών κλάδων που σχετίζονται με την υδατοκαλλιέργεια.

Η αντικατάσταση ιχθυελαίου από φυτικά έλαια ή έλαια υποπροϊόντων εκτροφής διαφορετικών ειδών ψαριών, όπως ο σολομός, δοκιμάζονται συνεχώς, ώστε να καθοριστούν τα κατώτερα όρια. Η μερική αντικατάσταση του ιχθυελαίου από φυτικά έλαια δεν μπορεί να υπερβεί ένα όριο, πάνω από το οποίο παρουσιάζονται δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη και την υγεία των ψαριών (Alexis 1997). Το ιχθυέλαιο πρέπει να συμμετέχει στις τροφές προκειμένου να διατηρηθούν τα επίπεδα των n-3 HUFA πάνω από 3%, ώστε να καλυφθούν οι ανάγκες σε απαραίτητα λιπαρά οξέα (Montero, Tort et al. 1996; Lanari, Poli et al. 1999; Izquierdo, Obach et al. 2003). Έχει παρατηρηθεί ότι η παροχή της ελάχιστης απαιτούμενης ποσότητας απαραίτητων λιπαρών οξέων με την τροφή μπορεί να καταστήσει πιθανή την αντικατάσταση ακόμη και του 60% του ιχθυελαίου της τροφής από σογιέλαιο, λινέλαιο και έλαιο ελαιοκράμβης ή από μίγματα αυτών, χωρίς επιπτώσεις στην ανάπτυξη των ψαριών (Izquierdo, Obach et al. 2003). Από την πλευρά των υποπροϊόντων υδατοκαλλιέργειας είναι ανάγκη να διερευνηθούν τα είδη που θα παρέχουν την επιθυμητή σύσταση στα απαραίτητα λιπαρά οξέα, τόσο για την κάλυψη των αναγκών των εκτρεφόμενων οργανισμών όσο και των τελικών καταναλωτών, αφού η σύσταση της σάρκας σε λιπαρά οξέα είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη σύσταση της τροφής (Alexis 1997).

Η ομάδα που είχε διατραφεί με T3 (2SO:1FO) δεν παρουσίασε διαφορές στη χημική σύσταση, σε σχέση με τον μάρτυρα, σε καμία από τις περιόδους εκτροφής. Με δεδομένο ότι δεν υπάρχουν προηγούμενες μελέτες για τη χρήση ελαίου υποπροϊόντων εκτροφής σολομού στις ιχθυοτροφές για λαβράκι, φαίνεται ότι το συγκεκριμένο έλαιο αποτελεί βιώσιμη επιλογή αντικατάστασης ιχθυελαίου συλλεκτικής αλιείας.

Όσον αφορά στην επέμβαση T1 (2SO:1RO), στο τέλος της ψυχρής περιόδου, παρουσίασε σημαντικά αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και μειωμένη περιεκτικότητα σε λίπος, γεγονός που μπορεί να συσχετιστεί με τη βελτίωση της αύξησης του βάρους που είχε παρατηρηθεί τη συγκεκριμένη περίοδο (Ζωγοπούλου

2013). Η επέμβαση T2 (2FO:1RO) στην πρώτη περίοδο επανασίτισης παρουσίασε ανάλογη με την προηγούμενη εικόνα (αυξημένη πρωτεΐνη, μειωμένο λίπος), γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην αντιστάθμιση που επιτεύχθηκε λόγω της χορήγησης τροφής χωρίς αντικατάσταση ιχθυελαίου (M). Ωστόσο οι διαφορές της ποσοστιαίας σύστασης που παρατηρήθηκαν σε κάθε στάδιο εκτροφής μεταξύ των επεμβάσεων, αν και στατιστικά σημαντικές ορισμένες φορές, ήταν σχετικά μικρές.

Από την ανάλυση της σύστασης των λιπαρών οξέων της σάρκας προέκυψε ότι οι διαφορές στην περιεκτικότητα κορεσμένων που παρουσίαζαν οι τροφές δεν εκφράστηκαν και στους ιστούς. Συγκεκριμένα η τροφή M παρουσίαζε τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα και ακολουθούσαν οι T2, T3 και τέλος η T1. Στη λήξη της κύριας εκτροφής, τα δείγματα φιλέτου από την επέμβαση M παρουσίασαν μεγαλύτερη περιεκτικότητα κορεσμένων μόνο από εκείνα της T2, ενώ δεν υπήρξαν διαφορές με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Ανάλογα, στο τέλος της επανασίτισης, μόνο η M διέφερε από τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Οι επεμβάσεις T1, T2 και T3 δεν παρουσίασαν διαφορές στην περιεκτικότητα των κορεσμένων σε καμία φάση της εκτροφής. Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα παρουσίασαν αύξηση της περιεκτικότητάς τους, σε σχέση με εκείνη της τροφής, χωρίς ωστόσο να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στους ιστούς στο τέλος της κύριας εκτροφής. Στο τέλος της επανασίτισης ο μάρτυρας παρουσίασε σημαντικά μειωμένη περιεκτικότητα σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Ωστόσο η τροφή που του χορηγήθηκε σε όλο το διάστημα του πειράματος είχε τη χαμηλότερη περιεκτικότητα μονοακόρεστων λιπαρών οξέων. Όσον αφορά στο λόγο κορεσμένα:μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, στο τέλος της κύριας εκτροφής δεν παρουσίασε διαφορές, ενώ στο τέλος της επανασίτισης παρουσίασε διαφορά ο μάρτυρας. Ειδικά για το τέλος της κύριας εκτροφής, οι διαφορές που παρουσίαζαν τα σιτηρέσια στο συγκεκριμένο λόγο, δεν εκφράστηκε και στη σάρκα, όπου παρατηρήθηκε μια ισορροπία. Η περιεκτικότητα της σάρκας σε ολεϊκό (18:1n-9) στο τέλος της κύριας εκτροφής φαίνεται να ακολουθεί παρόμοια εικόνα με εκείνη των τροφών, ωστόσο οι διαφορές δεν έχουν την ίδια ένταση με εκείνη των τροφών. Στο τέλος της επανασίτισης οι επεμβάσεις T2 και T3 παρουσίασαν αύξηση της περιεκτικότητάς τους στο συγκεκριμένο λιπαρό οξύ. Τα παραπάνω συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες, τόσο σε λαβράκι, όσο και σε άλλα είδη, όπου υψηλά επίπεδα των παραπάνω λιπαρών οξέων των τροφών παρουσιάστηκαν χαμηλότερα στη σάρκα, ως αποτέλεσμα μιας επιλεκτικής χρησιμοποίησης από τους εκτρεφόμενους οργανισμούς (Bell, McEvoy et al. 2001; Caballero, Obach et al. 2002; Bell, Tocher et al. 2003; Regost, Arzel et al. 2003; Bell, Henderson et al. 2004; Mourente and Bell 2006; Fountoulaki, Vasilaki et al. 2009). Στο τέλος της επανασίτισης παρουσιάζεται αύξηση της περιεκτικότητας σε EPA+DHA στην επέμβαση T1, η οποία παρουσίασε στο τέλος της κύριας εκτροφής τη μικρότερη περιεκτικότητα. Όπως και σε προηγούμενες μελέτες (Mourente and Bell 2006), παρατηρήθηκε επιλεκτική κατακράτηση και αποθήκευση DHA (22:6n-3), αφού το επίπεδο του συγκεκριμένου λιπαρού οξέως στη σάρκα ήταν υψηλότερο από εκείνο στην τροφή. Ο πιθανός μηχανισμός που ελέγχει αυτή την εναπόθεση περιλαμβάνει τη υψηλή εξειδίκευση των τρανσφερασών του DHA καθώς και τη σχετική αντοχή του στη β-οξειδωση (Bell, McEvoy et al. 2001; Mourente and Bell 2006)

4.2 Αιματολογικές Παράμετροι

Όσον αφορά στον προσδιορισμό του αιματοκρίτη στο πλάσμα των ψαριών δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των διατροφικών χειρισμών. Ο αιματοκρίτης αναγνωρίζεται σαν ένας αιματολογικός και μεταβολικός δείκτης δευτερογενούς απόκρισης του stress (Winberg, Nilsson et al. 1992; Chalon, Delion-Vancassel et al. 1998; Karakatsouli, Papoutsoglou et al. 2007). Σε προηγούμενη μελέτη, σε άλλο είδος ψαριού ο αιματοκρίτης σε κατάσταση οξέος stress παρουσίαζε αύξηση, ενώ επέστρεφε στα αρχικά του όρια περίπου 2h αργότερα (Papoutsoglou, Karakatsouli et al. 2006). Αντίστοιχο αποτέλεσμα καταγράφηκε σε παλαιότερη εργασία, σε πέστροφα (Johnston, MacDonald et al. 1989). Εργασία πάνω στο λαβράκι επίσης επισημαίνει την αύξηση του αιματοκρίτη σε κατάσταση stress (φυσικό και χημικό stress). Στην ίδια εργασία λαβράκια που τοποθετήθηκαν σε τοξικό περιβάλλον παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές σε σχέση με το μάρτυρα (Roche and Bogé 1996). Βιβλιογραφικά, οι τιμές του αιματοκρίτη σε όλους του χειρισμούς και περιόδους ήταν εντός ορίων (Gonzales, Barrett et al. ; Johnston, MacDonald et al. 1989; Roche and Bogé 1996; Kavadias, Castritsi-Catharios et al. 2004; Papoutsoglou, Karakatsouli et al. 2006; Papoutsoglou, Karakatsouli et al. 2007).

Για τη χοληστερόλη, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των χειρισμών κατά την πρώτη αιμοληψία. Στη περίοδο όμως τα ψάρια που είχαν καταναλώσει τη δεύτερη τροφή (T2) παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερες τιμές χοληστερόλης σε σχέση με αυτά που είχαν καταναλώσει την πρώτη και τη τρίτη τροφή (T1, T3). Όσον αφορά στα τριγλυκερίδια, δεν υπήρξαν διαφοροποιήσεις μεταξύ των ομάδων. Οι τιμές της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων στα εκτρεφόμενα ψάρια αναμένονται σε υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με άγρια ψάρια (De la Presa Owens and Innis 1999; Zimmer, Durand et al. 1999). Σε προηγούμενο διατροφικό πείραμα σε λαβράκι, όπου χρησιμοποιήθηκε ένα σιτηρέσιο χωρίς πολυακόρεστα (χαμηλό DHA) και ένα σιτηρέσιο με περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα (υψηλό DHA), παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων στο πλάσμα των ψαριών που κατανάλωσαν το πρώτο σιτηρέσιο. Τα αυξημένα αυτά επίπεδα οφείλονται στα ότι τα ψάρια δεν κατάφεραν να καλύψουν τις ανάγκες τους με το πρώτο σιτηρέσιο, όμως τα ψάρια που τράφηκαν με πολυακόρεστα ΛΟ μπόρεσαν να αντισταθμίσουν τις φυσιολογικές τιμές που είχαν παρατηρηθεί σε άγριους πληθυσμούς ταχύτερα (Zimmer, Durand et al. 1999). Στη συγκεκριμένη μελέτη η διαφορά που παρουσιάστηκε για τη χοληστερόλη, στο δεύτερο χειρισμό κατά τη δεύτερη περίοδο μπορεί να συνδυαστεί με υψηλό FCR κατά την περίοδο πριν τη συγκεκριμένη αιμοληψία, αλλά και τη μικρότερη αύξηση βάρους που είχε παρατηρηθεί (Ζαρκάδα 2003). Από αυτά μπορούμε να συμπεράνουμε πως δεν έγινε καλή εκμετάλλευση τροφής σε αυτό το διάστημα. Βιβλιογραφικά, οι τιμές και για τις δύο παραμέτρους που αναφέρθηκαν ήταν εντός φυσιολογικών ορίων για όλους τους χειρισμούς, σε όλη τη διάρκεια εκτροφής

(Gonzales, Barrett et al. ; De la Presa Owens and Innis 1999; Zimmer, Durand et al. 1999; Zimmer, Delpal et al. 2000).

Όσον αφορά στη συγκέντρωση της γλυκόζης στο πλάσμα του αίματος των ψαριών, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των χειρισμών, όμως ο χρόνος αποτέλεσε συµμεταβλητή. Η αύξηση της γλυκόζης αναγνωρίζεται σαν ένας από τους σηµαντικότερους αιματολογικούς και µεταβολικούς δείκτες δευτερογενούς απόκρισης του stress (Yin, Lam et al. 1995; Chalon, Delion-Vancassel et al. 1998; Papoutsoglou, Karakatsouli et al. 2006; Bagni, Civitareale et al. 2007; Karakatsouli, Papoutsoglou et al. 2007; Mourente, Good et al. 2007). Παλαιότερα, ερευνητική οµάδα έχει αποδείξει πως ο χρόνος σίτισης µπορεί να επηρεάσει το µέγεθος της κορυφής της γλυκόζης (Sammouth, D'Orbcastel et al. 2009). Η συγκέντρωση της γλυκόζης στα εκτρεφόμενα ψάρια αναµένεται να έχει υψηλότερες τιμές σε σχέση µε του άγριους πληθυσµούς (De la Presa Owens and Innis 1999). Σε παλαιότερες εργασία σε σολοµό, τα ψάρια δεν εμφάνισαν παρατεταµένη αύξηση των επιπέδων της γλυκόζης στο αίµα, σε κατάσταση οξέος stress (Papoutsoglou, Karakatsouli et al. 2006; Valente, Bandarra et al. 2007; Makol, Torrecillas et al. 2009). Προηγούµενη µελέτη έχει αποδείξει, όμως, πως τα λαβράκι σε καταστάσεις stress ανεβάζει τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίµα, γεγονός που δείχνει άµεση απόκριση, η οποία προοδευτικά οδηγεί σε προσαρµογή και αντοχή στη νέα κατάσταση (Papoutsoglou, Karakatsouli et al. 2007; Simitzis, Tsopelakos et al. 2014). Τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης εξηγούνται από τις αυξηµένες απαιτήσεις για ενέργεια σε κατάσταση stress (Papoutsoglou, Karakatsouli et al. 2007). Με αυτά τα δεδοµένα συµφωνούν και άλλες εργασίες σε λαβράκι, όπου υπήρξε έκθεση σε διάφορες συνθήκες stress (περιβαλλοντικοί και χηµικοί παράγοντες) και τελικά παρουσιάστηκε αυξηµένη γλυκαιµία (Roche and Bogé 1996; Vazzana, Cammarata et al. 2002). Βιβλιογραφικά, οι τιμές για τη συγκέντρωση της γλυκόζης στο πλάσμα των ψαριών ήταν εντός φυσιολογικών ορίων για όλους τους χειρισµούς, σε όλη τη διάρκεια εκτροφής (Johnston, MacDonald et al. 1989; Roche and Bogé 1996; Chalon, Delion-Vancassel et al. 1998; De la Presa Owens and Innis 1999; Vazzana, Cammarata et al. 2002; Kudas, Galineau et al. 2004; Papoutsoglou, Karakatsouli et al. 2006; Papoutsoglou, Karakatsouli et al. 2007; Sammouth, D'Orbcastel et al. 2009). Τέλος, έχει παρατηρηθεί συσχέτιση µεταξύ της γλυκόζης, της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων (De la Presa Owens and Innis 1999).

4.3 Νευροδιαβιβαστές

Στην παρούσα εργασία, δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σηµαντικές διαφορές στα επίπεδα των νευροδιαβιβαστών κατά τη διάρκεια της κύριας εκτροφής. Συνεπώς η αντικατάσταση του ιχθυελαίου συλλεκτικής αλιείας, στα συγκεκριµένα επίπεδα (97% για την T1, 47% για την T2 και 72% για την T3), από έλαιο υποπροϊόντων εκτροφής σολοµού και έλαιο δεν φάνηκε να επηρεάζει τη λειτουργία του ΚΝΣ του εκτρεφόμενου λαβρακιού. Για το συγκεκριµένο είδος δεν υπάρχουν µελέτες που να σχετίζουν τη σύσταση των λιπαρών οξέων της τροφής µε την νευροορµονική λειτουργία. Ωστόσο, έχει µελετηθεί η επίδρασή τους σε παραµέτρους ανάπτυξης. Για τα χερσαία είδη, η

έλλειψη ω-3 λιπαρών οξέων έχει συνδεθεί με μείωση των συγκεντρώσεων 5-HT και DA σε χοιρίδια που χορηγήθηκαν τροφές με χαμηλά επίπεδα λινολειακού και α-λινολενικού οξέως (De la Presa Owens and Innis 1999). Ανάλογα αποτελέσματα έχουν παρατηρηθεί και σε επίμυες (Zimmer, Durand et al. 1999; Zimmer, Delpal et al. 2000; Kostas, Galineau et al. 2004). Αντίστροφα, η χορήγηση τροφής με αυξημένο επίπεδο ω-3, προκάλεσε αύξηση των συγκεντρώσεων 5-HT και DA (Chalon, Delion-Vancassel et al. 1998; Austead, Innis et al. 2000). Ανεξάρτητα από τα επίπεδα των νευροδιαβιβαστών, η διατροφή με αυξημένα επίπεδα ω-3 λιπαρών οξέων, φαίνεται να συμβάλλει στην αντιμετώπιση συμπτωμάτων νευροψυχιατρικών διαταραχών, όπως η κατάθλιψη, η υπερκινητικότητα, η σχιζοφρένεια και το Alzheimer (Gonzales, Barrett et al. ; Young and Conquer 2005), αλλά και στην βελτίωση της μαθησιακής απόδοσης (Muldoon, Ryan et al. 2014). Ωστόσο, παρά τις ενδείξεις για τη συμμετοχή των λιπαρών οξέων στη λειτουργία του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος, δεν έχει θεμελιωθεί ακόμη ο μηχανισμός τους (Young and Conquer 2005).

Στο μέσο της περιόδου επανασίτισης, παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση DOPAC στα άτομα που είχε χορηγηθεί τροφή T1 κατά τη διάρκεια της κύριας εκτροφής. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αυξημένη σεροτονινεργική δραστηριότητα, όπως αυτή εκφράστηκε μέσω του λόγου [5-HIAA]/[5-HT], στην ομάδα που είχε διατραφεί με T2, κατά την κύρια εκτροφή. Στο τέλος της επανασίτισης, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στις συγκεντρώσεις των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου, ανάμεσα στους διαφορετικούς διατροφικούς χειρισμούς.

Η αύξηση του μεταβολίτη της ντοπαμίνης, όπως επίσης και ο αυξημένος λόγος [5-HIAA]/[5-HT] έχει συνδεθεί σε προηγούμενες μελέτες με στρεσογόνους καταστάσεις (Papoutsoglou, Karakatsouli et al. 2006; Karakatsouli, Papoutsoglou et al. 2007; Papoutsoglou, Karakatsouli et al. 2007; Papoutsoglou, Karakatsouli et al. 2008). Όσον αφορά στη διατροφή των ψαριών, παράγοντα στρες μπορεί να αποτελέσει η ανεπάρκεια θρεπτικών συστατικών, όπως τα οι βιταμίνες και τα ιχνοστοιχεία αλλά και η στέρηση της τροφής. Στο σολομό (*Salmo salar* L), έλλειψη θειαμίνης προκάλεσε αύξηση της σεροτονινεργικής και της ντοπαμινεργικής δραστηριότητας, καθώς και αύξηση DOPAC (Amcoff, Elofsson et al. 2002). Στην πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), η πενία ασκορβικού οξέως δεν επηρέασε σημαντικά τις συγκεντρώσεις 5-HT, 5-HIAA, DA και NA (Johnston, MacDonald et al. 1989). Στο σολομοειδές *Salvelinus alpinus* η ασιτία δεν φάνηκε να επηρεάζει τους νευροδιαβιβαστές (Winberg, Nilsson et al. 1992). Στον κυπρίνο (*Cyprinus carpio*) ωστόσο, η ασιτία προκάλεσε μείωση της 5-HT, της 5-HIAA καθώς και της ντοπαμινεργικής δραστηριότητας (Ζαρκάδα 2003). Αντίστοιχα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στο είδος *Carassius auratus*, όπου η ασιτία μείωσε τη συγκέντρωση ντοπαμίνης (De Pedro, Delgado et al. 2001). Τέλος, σε κορέγονους (*Coregonus lavaretus*) η μειωμένη ποσότητα τροφής προκάλεσε σημαντική αύξηση του λόγου [5-HIAA]/[5-HT] (Jobling, Koskela et al. 1999). Από τα παραπάνω φαίνεται ότι οι διατροφικοί χειρισμοί δεν σχετίζονται πάντα με τον ίδιο τρόπο με τη μεταβολή των συγκεντρώσεων των νευροδιαβιβαστών του εγκεφάλου. Συνεπώς είναι πιθανό οι διαφορές στη συγκέντρωση του DOPAC και στο ρυθμό επαναπρόσληψης της

σεροτονίνης, που παρατηρήθηκαν στο μέσο της επανασίτισης, να αντιπροσωπεύουν μια μεταβολή που προκλήθηκε από την αλλαγή του σιτηρεσίου.

4.4 Οικονομικά οφέλη

Με βάση τα παραπάνω και ανεξάρτητα από το είδος του ελαίου που θα χρησιμοποιηθεί, γεγονός που εξαρτάται άμεσα από τη διαθεσιμότητα και την τιμή σε συγκεκριμένες χρονικές περιόδους, η αντικατάσταση του ιχθυελαίου συμβάλει στην εξοικονόμηση κεφαλαίων για τη διατροφή των εκτρεφόμενων ψαριών. Ενδεικτικά, μια μονάδα παραγωγικότητας 100 τόνων απαιτεί τη χορήγηση 200 τόνων τροφής, όπου περιέχονται 30 τόνοι μίγματος ελαίων. Με βάση τις μέσες τιμές των ελαίων για το 2013 (B. Καραλάζος, προσωπική επικοινωνία) προκύπτει ο παρακάτω πίνακας

Πίνακας 20: Τιμές πρώτων υλών (έλαια) και οικονομική ωφέλεια από τη χρήση τους

		Ιχθυέλαιο (FO)	Έλαιο υποπροϊόντων ελαιοκράμβης εκτροφής σολομού (SO)	Έλαιο ελαιοκράμβης (RO)	
Μέση (€/τόνο)	τιμή 2012- 2013	1511	1151	1079	
		T1 (2SO:1RO)	T2 (2FO:1RO)	T3 (2SO:1FO)	M (FO)
€/τόνο		1125.54	1365.30	1269.23	1511
Εξοικονόμηση σε σχέση με τη M (για 30 τόνους) (€)		11563.80	4371.00	7253.10	

Είναι φανερή η οικονομική ωφέλεια που μπορεί να προκύψει ανάλογα με την εναλλακτική που θα επιλεγεί για τη παραγωγή της τροφής. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω και παρατηρήθηκε και στην παρούσα μελέτη, η επανασίτιση μπορεί να δράσει αντισταθμιστικά και να επαναφέρει την ανάπτυξη στο τελευταίο στάδιο της εκτροφής, πριν το εμπορεύσιμο μέγεθος τόσο στο λαβράκι όσο και σε άλλα είδη υδατοκαλλιέργειας (Mourente and Bell 2006; Turchini, Francis et al. 2007; Fountoulaki, Vasilaki et al. 2009; Glencross, Turchini et al. 2010). Το σιτηρέσιο με αντικατάσταση λίπους ακόμη και με φυτικά έλαια καθίσταται μια ελκυστική επιλογή για χειμερινή τροφή, όπου η ανάπτυξη είναι μειωμένη λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας. Η μετέπειτα αλλαγή σε σιτηρέσιο χωρίς αντικατάσταση θα οδηγήσει στο επιθυμητό εμπορικό μέγεθος, ενώ το σχετικά μειωμένο σωματικό βάρος

αντισταθμίζεται από την εξοικονόμηση πόρων από τη διατροφή με οικονομικότερο σιτηρέσιο.

Έχει αναφερθεί ότι δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη σύσταση λίπους της σάρκας ή του ήπατος λαβρακιού, στο οποίο χορηγήθηκαν τροφές όπου το ιχθυέλαιο είχε αντικατασταθεί από μίγματα λινελαίου, φοινικελαίου και ελαίου ελαιοκράμβης (Richard, Mourente et al. 2006). Οι αναλύσεις της σάρκας αναμένεται να αποσαφηνίσουν την ενσωμάτωση των απαραίτητων λιπαρών οξέων στη σάρκα των ψαριών, ώστε να εμπλουτιστεί η γνώση για την παραγωγή «προσαρμοσμένων» (tailor-made) προϊόντων υδατοκαλλιέργειας στις ανάγκες και απαιτήσεις του καταναλωτή.

4.4 Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, η αντικατάσταση του ιχθυελαίου από εναλλακτικές πηγές λίπους που διενεργήθηκε με την παρούσα μελέτη δείχνει πως αποτελεί μια μελλοντική επιλογή με πολλαπλές ωφέλειες, τόσο για τις επιχειρήσεις του κλάδου όσο και για την προστασία του περιβάλλοντος και της βιοποικιλότητας.

Όσον αφορά στη χημική σύσταση της σάρκας, ο χειρισμός που κατανάλωσε την T3 (2SO:1FO) δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές με το χειρισμό που κατανάλωσε τροφή-μάρτυρα, σε καμία από τις περιόδους εκτροφής, οπότε επιβεβαιώνεται πλέον και ερευνητικά πως μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλη τη διάρκεια εκτροφής, με ή χωρίς επανασίτιση. Ο χειρισμός 1 (2SO:1RO), παρουσίασε αυξημένη πρωτεΐνη και μειωμένο λίπος, στο τέλος της κύριας περιόδου εκτροφής, γεγονός το οποίο μπορεί να συσχετιστεί με τη βελτίωση αύξησης του βάρους κατά τη χειμερινή περίοδο. Γι' αυτό το λόγο η συγκεκριμένη τροφή προτείνεται και ως χειμερινή τροφή, με επανασίτιση, λόγω πολύ χαμηλού κόστους. Ο δεύτερος χειρισμός (2FO:1RO) παρουσίασε αυξημένο ποσοστό πρωτεΐνης και μειωμένο ποσοστό λίπους λόγω αντιστάθμισης, στην αρχή της περιόδου επανασίτισης, σε σχέση με την κακή χειμερινή εικόνα του. Σε συνδυασμό με τη χαμηλή οικονομική ωφέλεια, η συγκεκριμένη τροφή δε συνιστάται για αντικατάσταση της τροφής-μάρτυρα.

Οι αιματολογικές παράμετροι που εξετάστηκαν δεν παρουσίασαν διαφοροποίηση ανάμεσα στις επεμβάσεις, κατά τη θερμή περίοδο (πρώτη αιμοληψία). Η μόνη διαφορά που παρουσιάστηκε στη χοληστερόλη, κατά τη ψυχρή περίοδο ερμηνεύτηκε και συσχετίστηκε και με τα αποτελέσματα της ανάπτυξης. Επιπροσθέτως, δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα των νευροδιαβιβαστών κατά τη διάρκεια της κύριας εκτροφής. Στο μέσο της περιόδου επανασίτισης, παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση DOPAC στα άτομα που είχε χορηγηθεί τροφή T1 κατά τη διάρκεια της κύριας εκτροφής. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αυξημένη σεροτονινεργική δραστηριότητα, όπως αυτή εκφράστηκε μέσω του λόγου [5-HIAA]/[5-HT], στην ομάδα που είχε διατραφεί με T2, κατά την κύρια εκτροφή. Οι διαφορές αυτές είναι πολύ πιθανό να αντιπροσωπεύουν μια μεταβολή που προκλήθηκε από την αλλαγή του σιτηρεσίου. Στο τέλος του πειράματος οι χειρισμοί δε διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους. Ωστόσο, αναμένονται οι αναλύσεις των υπόλοιπων τμημάτων του εγκεφάλου των ψαριών, ώστε να διατυπωθούν τα τελικά συμπεράσματα.

Η δίμηνη περίοδος επανασίτισης φάνηκε ικανοποιητική, καθώς τα ψάρια των τριών πρώτων χειρισμών, μετά το πέρας της έδειξαν να πλησιάζουν τις αποδόσεις των ψαριών που είχαν εξαρχής τραφεί με τροφή-μάρτυρα.

Σημαντική σημείωση το γεγονός ότι οι λόγοι n3/n6 κρατήθηκαν σε ικανοποιητικά επίπεδα (πάνω από τη μονάδα), σε όλη τη διάρκεια της εκτροφής, για όλους τους πειραματικούς χειρισμούς.

Βιβλιογραφία

(2005). Statistical Analysis Systems User's Guide (Version 9.1.3). Cary, NC, USA, SAS, Institute Inc.

Adams, C. E., J. F. Turnbull, A. Bell, J. E. Bron and F. A. Huntingford (2007). "Multiple determinants of welfare in farmed fish: stocking density, disturbance, and aggression in Atlantic salmon (*Salmo salar*)." Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences **64**(2): 336-344.

Alexis, M. (1997). "Fish meal and fish oil replacers in Mediterranean marine fish diets." Cah. Options Mediterr **22**: 183-204.

Amcoff, P., U. O. E. Elofsson, H. Borjeson, L. Norrgren and G. E. Nilsson (2002). "Alterations of dopaminergic and serotonergic activity in the brain of sea-run Baltic salmon suffering a thiamine deficiency-related disorder." Journal of Fish Biology **60**(6): 1407-1416.

APHA (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. New York, USA, American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation.

Austead, N., S. Innis and S. de la Presa Owens (2000). Auditory evoked response and brain phospholipid fatty acids and monoamines in rats fed formula with and without arachidonic acid (AA) and/or docosahexaenoic acid (DHA). Brain uptake and utilization of fatty acids: applications to peroxisomal biogenesis disorders, Maryland: National Institutes of Health Conference.

Bagni, M., C. Civitareale, A. Priori, A. Ballerini, M. Finoia, G. Brambilla and G. Marino (2007). "Pre-slaughter crowding stress and killing procedures affecting quality and welfare in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*)." Aquaculture **263**(1-4): 52-60.

Barbato, F., A. Fanari, F. Meloni and R. Savarino (1991). "Rearing of sea bass *Dicentrarchus labrax* and sea bream *Sparus aurata* with floating cages in two Sardinian coastal lagoons." Special Publication of the European Aquaculture Society **14**: 20-21.

Barcellos, L. J. G., S. Nicolaiewsky, S. M. G. De Souza and F. Lulhier (1999). "Plasmatic levels of cortisol in the response to acute stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), previously exposed to chronic stress." Aquaculture Research **30**(6): 437-444.

Barnabé, G. (1990). Rearing bass and gilthead bream.

Bell, J., J. McEvoy, D. Tocher, F. McGhee, P. Campbell and J. Sargent (2001). "Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism." Journal of Nutrition **131**(5): 1535.

- Bell, J. G., R. J. Henderson, D. Tocher and J. Sargent (2004). "Replacement of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil: Modification of flesh fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using a fish oil finishing diet." Lipids **39**(3): 223-232.
- Bell, J. G., D. R. Tocher, R. J. Henderson, J. R. Dick and V. O. Crampton (2003). "Altered Fatty Acid Compositions in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Fed Diets Containing Linseed and Rapeseed Oils Can Be Partially Restored by a Subsequent Fish Oil Finishing Diet." The Journal of Nutrition **133**(9): 2793-2801.
- Berg, J. M., J. L. Tymoczko and L. Stryer (2001). Βιοχημεία. Ηράκλειο Κρήτης, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- Berntssen, M., B. Torstensen, K. Julshamn and A. Lundebye (2007). Organochlorine pesticides in farmed Atlantic salmon reared on vegetable oil-or fish oil-based feeds.
- Bhathena, S. J. (2000). "Relationship between fatty acids and the endocrine system." BioFactors **13**(1-4): 35-39.
- Borresen, T. (1992). "Quality aspects of wild and reared fish." Quality assurance in the fish industry: 1-17.
- Bremer, J. and K. R. Norum (1982). "Metabolism of very long-chain monounsaturated fatty acids (22:1) and the adaptation to their presence in the diet." Journal of Lipid Research **23**(2): 243-256.
- Brosowski, J. (1999). "Dicentrarchus labrax." Retrieved August 12, 2013, from http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Dicentrarchus_labrax/
- Caballero, M., A. Obach, G. Rosenlund, D. Montero, M. Gisvold and M. Izquierdo (2002). "Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*." Aquaculture **214**(1-4): 253-271.
- Chalon, S., S. Delion-Vancassel, C. Belzung, D. Guilloteau, A. Leguisquet, J. Besnard and G. Durand (1998). "Dietary fish oil affects monoaminergic neurotransmission and behavior in rats." Journal of Nutrition **128**(12): 2512-2519.
- International Fishmeal & Fish Oil Organization (2011). "Fishmeal and Fish Oil – The Facts, Figures, Trends, and IFFO’s Responsible Supply Standard."
- Chervinski, J. (1974). "Sea bass, *Dicentrarchus labrax*, Linne (Pisces, Serranidae) a police-fish in freshwater ponds and its adaptability to various saline conditions." Bamidgeh **26**(4): 110-113.
- Christie, W. W. (1982). "A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters." Journal of Lipid Research **23**(7): 1072-1075.
- Christie, W. W. (1993). "Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis." Advances in lipid methodology **2**: 69-111.

- Cordier, M., G. r. Brichon, J.-M. Weber and G. Zwingelstein (2002). "Changes in the fatty acid composition of phospholipids in tissues of farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during an annual cycle. Roles of environmental temperature and salinity." Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology **133**(3): 281-288.
- Dalla Via, J., P. Villani, E. Gasteiger and H. Niederst \ddot{u} ttner (1998). "Oxygen consumption in sea bass fingerling *Dicentrarchus labrax* exposed to acute salinity and temperature changes: metabolic basis for maximum stocking density estimations." Aquaculture **169**(3-4): 303-313.
- De la Presa Owens, S. and S. Innis (1999). "Docosahexenoic and arachidonic acid prevent a decrease in dopaminergic and serotonergic neurotransmitters in frontal cortex caused by a linoleic and alpha-linolenic deficient diet in formula-fed piglets." Journal of Nutrition **129**: 2088-2093.
- De Pedro, N., M. V. Céspedes, M. J. Delgado and M. Alonso-Bedate (1995). "The galanin-induced feeding stimulation is mediated via α 2-adrenergic receptors in goldfish." Regulatory Peptides **57**(1): 77-84.
- De Pedro, N., M. J. Delgado and M. Alonso-Bedate (2001). "Fasting and hypothalamic catecholamines in goldfish." Journal of Fish Biology **58**(5): 1404-1413.
- Di Marco, P., A. Priori, M. G. Finoia, A. Massari, A. Mandich and G. Marino (2008). "Physiological responses of European sea bass *Dicentrarchus labrax* to different stocking densities and acute stress challenge." Aquaculture **275**(1-4): 319-328.
- European Commission (2012). "Sea bass (*Dicentrarchus labrax*)." **57**.
- Eroldogan, O. T., M. Kumlu and M. Aktas (2004). "Optimum feeding rates for European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. reared in seawater and freshwater." Aquaculture **231**(1-4): 501-515.
- FAO (2007). "Use of Wild Fish and/or Other Aquatic Species to Feed Cultured Fish and its Implications to Food Security and Poverty Alleviation." Food and Agriculture Organization of the United Nations and Marine Export Development Authority, Government of India.
- Food and Agriculture Organisation of the United Nations (2012). "The state of the world fisheries and aquaculture."
- FAO (2013). "Cultured Aquatic Species Information Programme - *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus,1758)." from http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/en
- FAO (2013). "FAO Reports-Prices." from <http://www.fao.org/economic/est/prices>
- FAO (2013). "National Aquaculture Sector Overview - Greece." from http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_greece/en

Faul, F., E. Erdfelder, A. G. Lang and A. Buchner (2007). "G* Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences." Behavior research methods **39**(2): 175-191.

Fernandes, M. d. O. and G. L. Volpato (1993). "Heterogeneous growth in the Nile tilapia: Social stress and carbohydrate metabolism." Physiology & Behavior **54**(2): 319-323.

FishBase. "Sea Bass." from <http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?ID=63&AT=sea+bass>

Folch, J., M. Lees and G. Sloane-Stanley (1957). "A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues." Journal of Biological Chemistry **226**(1): 497-509.

Fountoulaki, E., M. Alexis, I. Nengas and B. Venou (2003). "Effects of dietary arachidonic acid (20: 4n-6), on growth, body composition, and tissue fatty acid profile of gilthead bream fingerlings (*Sparus aurata* L.)." Aquaculture **225**(1-4): 309-323.

Fountoulaki, E., A. Vasilaki, R. Hurtado, K. Grigorakis, I. Karacostas, I. Nengas, G. Rigos, Y. Kotzamanis, B. Venou and M. N. Alexis (2009). "Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile: Recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures." Aquaculture **289**(3-4): 317-326.

Glencross, B. D., G. M. Turchini, G. Turchini, W. Ng and D. Tocher (2010). "Fish oil replacement in starter, grow-out, and finishing feeds for farmed aquatic animals." Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds: 373-404.

Globefish (2013). "Market Report: Fish Oil - June 2013." from <http://www.globefish.org/fish-oil-june-2013.html>

Gonzales, E., D. W. Barrett, J. Shumake, F. Gonzalez-Lima and M. A. Lane "Omega-3 fatty acids improve behavioral coping to stress in multiparous rats." Behavioural Brain Research(0).

Grigorakis, K. (2007). "Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: A review." Aquaculture **272**(1-4): 55-75.

Hidalgo, F. and E. Alliot (1988). "Influence of water temperature on protein requirement and protein utilization in juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax*." Aquaculture **72**(1-2): 115-129.

Higgs, D. and F. Dong (2000). "Lipids and fatty acids." Encyclopedia of Aquaculture: 476-496.

Höglund, E., N. Kolm and S. Winberg (2001). "Stress-induced changes in brain serotonergic activity, plasma cortisol and aggressive behavior in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) is counteracted by l-DOPA." Physiology & Behavior **74**(3): 381-389.

Huntingford, F. A., C. Adams, V. A. Braithwaite, S. Kadri, T. G. Pottinger, P. Sandøe and J. F. Turnbull (2006). "Current issues in fish welfare." Journal of Fish Biology **68**(2): 332-372.

Izquierdo, M., A. Obach, L. Arantzamendi, D. Montero, L. Robaina and G. Rosenlund (2003). "Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality." Aquaculture Nutrition **9**(6): 397-407.

Izquierdo, M. S., D. Montero, L. Robaina, M. J. Caballero, G. Rosenlund and R. GinÈs (2005). "Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding." Aquaculture **250**(1-2): 431-444.

Jobling, M., J. Koskela and S. Winberg (1999). "Feeding and growth of whitefish fed restricted and abundant rations: influences on growth heterogeneity and brain serotonergic activity." Journal of Fish Biology **54**(2): 437-449.

Johnston, W. L., E. MacDonald and J. W. Hilton (1989). "Relationships between dietary ascorbic acid status and deficiency, weight gain and brain neurotransmitter levels in juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri*." Fish Physiology and Biochemistry **6**(6): 353-365.

Karakatsouli, N., S. E. Papoutsoglou, G. Pizzonia, G. Tsatsos, A. Tsopelakos, S. Chadio, D. Kalogiannis, C. Dalla, A. Pollisidis and Z. Papadopoulou-Daifoti (2007). "Effects of light spectrum on growth and physiological status of gilthead seabream *Sparus aurata* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* reared under recirculation system conditions." Aquacultural Engineering **36**: 302-309.

Kavadias, S., J. Castritsi-Catharios, A. Dessypris and H. Miliou (2004). "Seasonal variation in steroid hormones and blood parameters in cage-farmed European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)." Journal of Applied Ichthyology **20**(1): 58-63.

Kelley, D. (1987). "Food of bass in U. K. waters." Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, Plymouth **67**(2): 275-286.

Kodas, E., L. Galineau, S. Bodard, S. Vancassel, D. Guilloteau, J. Besnard and S. Chalon (2004). "Serotonergic neurotransmission is affected by n-3 polyunsaturated fatty acids in the rat." Journal of Neurochemistry **89**(3): 695-702.

Kris-Etherton, P. M., W. S. Harris and L. J. Appel (2003). "Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease." Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology **23**(2): 20-30.

Lanari, D., B. M. Poli, R. Ballestrazzi, P. Lupi, E. D'Agaro and M. Mecatti (1999). "The effects of dietary fat and NFE levels on growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Growth rate, body and fillet composition, carcass traits and nutrient retention efficiency." Aquaculture **179**(1-4): 351-364.

Lavenant, M. and P. Paquette (1995). Aquaculture en système clos : estimation des coûts de production pour l'élevage du bar et du turbot. Séminaire SELAM, sur les aspects économiques de l'aquaculture en Méditerranée, CIHEAM / IFREMER, Montpellier 17-19 mai 1995.

Leaute, J.-P. (1984). "Approach of the diet of juveniles of sea bass and common dab, in Bay of Somme(France)." Revue des Travaux de l'Institut des Peches Maritimes Nantes **48**(1): 55-63.

Lemarié, G., A. Dosdat, D. Covés, G. Dutto, E. Gasset and J. Person-Le Ruyet (2004). "Effect of chronic ammonia exposure on growth of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles." Aquaculture **229**(1-4): 479-491.

Lepage, O., I. M. Vilchez, T. G. Pottinger and S. Winberg (2003). "Time-course of the effect of dietary l-tryptophan on plasma cortisol levels in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*." Journal of Experimental Biology **206**(20): 3589-3599.

Makol, A., S. Torrecillas, A. Fernández-Vaquero, L. Robaina, D. Montero, M. J. Caballero, L. Tort and M. Izquierdo (2009). "Effect of conjugated linoleic acid on dietary lipids utilization, liver morphology and selected immune parameters in sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*)." Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology **154**(2): 179-187.

Marino, M. Di, Mandich, Finioia and Cataudella (2001). "Changes in serum cortisol, metabolites, osmotic pressure and electrolytes in response to different blood sampling procedures in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)." Journal of Applied Ichthyology **17**(3): 115-120.

Martin, R. (1988). "Contaminants in relation to the quality of seafoods." Food technology **42**.

McMurry, J. (2005). Βιομόρια: Λιπίδια. Οργανική Χημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης. **2**: 1345-1379.

Molnár, T., C. Hancz, M. Bódis, T. Müller, M. Bercsényi and P. Horn (2004). "The Effect of Initial Stocking Density on Growth and Survival of Pike-perch Fingerlings Reared under Intensive Conditions." Aquaculture International **12**(2): 181-189.

Mondal, K., A. Kaviraj and P. Mukhopadhyay (2006). "Fish wastes in urban and suburban markets of Kolkata: Problems and potentials." Aquaculture Asia **11**: 22-25.

Montero, D., V. Grasso, M. S. Izquierdo, R. Ganga, F. Real, L. Tort, M. J. Caballero and F. Acosta (2008). "Total substitution of fish oil by vegetable oils in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: Effects on hepatic Mx expression and some immune parameters." Fish & Shellfish Immunology **24**(2): 147-155.

Montero, D., L. Tort, M. Izquierdo, J. Socorro, L. Robaina, J. Vergara and H. Fernández-Palacios (1996). "Effect of alphanatocopherol and n-3 HUFA deficient diets on blood cells, selected immune parameters and proximate body composition of gilthead sea bream (*Sparus aurata*)." Modulators of Immune Response. The Evolutionary Trail **9**: 251-266.

Mourente, G. and J. G. Bell (2006). "Partial replacement of dietary fish oil with blends of vegetable oils (rapeseed, linseed and palm oils) in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) over a long term growth study: Effects on muscle and liver fatty acid composition and effectiveness of a fish oil finishing diet." Comparative

Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology **145**(3-4): 389-399.

Mourente, G., J. Good, K. Thompson and J. Bell (2007). "Effects of partial substitution of dietary fish oil with blends of vegetable oils, on blood leucocyte fatty acid compositions, immune function and histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)." British Journal of Nutrition **98**(04): 770-779.

MPOB (2005). Malaysian Oil Palm Statistics 2005, Malaysian Palm Oil Board, Selangor.

Muldoon, M. F., C. M. Ryan, J. K. Yao, S. M. Conklin and S. B. Manuck (2014). "Long-Chain Omega-3 Fatty Acids and Optimization of Cognitive Performance." Military Medicine **179**(11S): 95-105.

Myhr, A. I. and R. A. Dalmo (2005). "Introduction of genetic engineering in aquaculture: Ecological and ethical implications for science and governance." Aquaculture **250**(3-4): 542-554.

Naylor, R., R. Goldberg, J. Primavera, N. Kautsky, M. Beveridge, J. Clay, C. Folke, J. Lubchenco, H. Mooney and M. Troell (2000). "Effect of aquaculture on world food supplies." Nature **405**(6790): 1017-1024.

Nehr, O., J.-P. Blancheton and E. Alliot (1996). "Development of an intensive culture system for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae in sea enclosures." Aquaculture **142**(1-2): 43-58.

Papadopoulou-Daifotis, Z., K. Antoniou, A. Vamvakides, I. Kalliteraki and D. D. Varonos (1995). "Neurochemical changes in dopamine and serotonin turnover rate in discrete regions of rat brain after the administration of glycinergic compounds." Acta Therapeutica **21**(1): 5-18.

Papoutsoglou, S., M. J. Costello, E. Stamou and G. Tziha (1996). "Environmental conditions at sea-cages, and ectoparasites on farmed European sea-bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), and gilt-head sea-bream, *Sparus aurata* L., at two farms in Greece." Aquaculture Research **27**(1): 25-34.

Papoutsoglou, S. E., N. Karakatsouli, A. Batzina, E. S. Papoutsoglou and A. Tsopelakos (2008). "Effect of music stimulus on gilthead seabream *Sparus aurata* physiology under different light intensity in a re-circulating water system." Journal of Fish Biology **73**(4): 980-1004.

Papoutsoglou, S. E., N. Karakatsouli, E. Louizos, S. Chadio, D. Kalogiannis, C. Dalla, A. Pollisidis and Z. Papadopoulou-Daifoti (2007). "Effect of Mozart's music (Romanze-Andante of "Eine Kleine Nacht Musik" sol major K525) stimulus on common carp (*Cyprinus carpio* L.) physiology under different light conditions." Aquacultural Engineering **36**: 61-72.

Papoutsoglou, S. E., N. Karakatsouli, G. Pizzonia, C. Dalla, A. Pollisidis and Z. Papadopoulou-Daifoti (2006). "Effects of rearing density on growth, brain neurotransmitters and liver fatty acid composition of juvenile white sea bream *Diplodus sargus* L." Aquaculture Research **37**: 87-95.

- Papoutsoglou, S. E., G. Tziha, X. Vrettos and A. Athanasiou (1998). "Effects of stocking density on behavior and growth rate of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles reared in a closed circulated system." Aquacultural Engineering **18**(2): 135-144.
- Pastoureaud, A. (1991). "Influence of starvation at low temperatures on utilization of energy reserves, appetite recovery and growth character in sea bass, *Dicentrarchus labrax*." Aquaculture **99**(1-2): 167-178.
- Periago, M. J., M. D. Ayala, O. López-Albors, I. Abdel, C. Martínez, A. García-Alcázar, G. Ros and F. Gil (2005). "Muscle cellularity and flesh quality of wild and farmed sea bass, *Dicentrarchus labrax* L." Aquaculture **249**(1-4): 175-188.
- Pickett, G. D. and M. G. Pawson (1994). Sea Bass: Biology, exploitation and conservation, Chapman & Hall.
- Regost, C., J. Arzel, M. Cardinal, G. Rosenlund and S. J. Kaushik (2003). "Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in Turbot (*Psetta maxima*): 2. Flesh quality properties." Aquaculture **220**(1-4): 737-747.
- Richard, N. g., G. Mourente, S. Kaushik and G. v. Corraze (2006). "Replacement of a large portion of fish oil by vegetable oils does not affect lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.)." Aquaculture **261**(3): 1077-1087.
- Roche, H. and G. Bogé (1996). "Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication." Marine Environmental Research **41**(1): 27-43.
- Roncarati, A., P. Melotti, A. Dees, O. Mordenti and L. Angellotti (2006). "Welfare status of cultured seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) and seabream (*Sparus aurata* L.) assessed by blood parameters and tissue characteristics." Journal of Applied Ichthyology **22**(3): 225-234.
- Rotllant, J., N. M. Ruane, M. J. Caballero, D. Montero and L. Tort (2003). "Response to confinement in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) is characterised by an increased biosynthetic capacity of interrenal tissue with no effect on ACTH sensitivity." Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology **136**(3): 613-620.
- Ruane, N. M. and H. Komen (2003). "Measuring cortisol in the water as an indicator of stress caused by increased loading density in common carp (*Cyprinus carpio*)." Aquaculture **218**(1-4): 685-693.
- Sammouth, S., E. R. D'Orbcastel, E. Gasset, G. Lemarié, G. Breuil, G. Marino, J.-L. Coeurdacier, S. Fivelstad and J.-P. Blancheton (2009). "The effect of density on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) performance in a tank-based recirculating system." Aquacultural Engineering **40**(2): 72-78.
- Santulli, A., A. Modica, C. Messina, L. Ceffa, A. Curatolo, G. Rivas, G. Fabi and V. D'Amelio (1999). "Biochemical Responses of European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*

L.) to the Stress Induced by Off Shore Experimental Seismic Prospecting." Marine Pollution Bulletin **38**(12): 1105-1114.

Sargent, J., G. Bell, L. McEvoy, D. Tocher and A. Estevez (1999). "Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish." Aquaculture **177**(1-4): 191-199.

Sargent, J., D. Tocher and J. Bell (2002). The lipids. Fish nutrition. J. Halver and R. Hardy. San Diego, USA, Academic Press: 181-257.

Sebert, P. and L. Barthelemy (1985). "Effects of high hydrostatic pressure per se, 101 atm on eel metabolism." Respiration Physiology **62**(3): 349-357.

Seierstad, S. L., I. Seljeflot, O. Johansen, R. Hansen, M. Haugen, G. Rosenlund, L. Froyland and H. Arnesen (2005). "Dietary intake of differently fed salmon; the influence on markers of human atherosclerosis." European Journal of Clinical Investigation **35**(1): 52-59.

Sharp, T., T. Zetterström, H. G. Series, A. Carlsson, D. G. Grahame-Smith and U. Ungerstedt (1987). "HPLC-EC analysis of catechols and indoles in rat brain dialysates." Life Sciences **41**(7): 869-872.

Shearer, K. D. (1994). "Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids." Aquaculture **119**(1): 63-88.

Simitzis, P. E., A. Tsopekokos, M. A. Charismiadou, A. Batzina, S. G. Deligeorgis and H. Miliou (2014). "Comparison of the effects of six stunning/killing procedures on flesh quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus 1758) and evaluation of clove oil anaesthesia followed by chilling on ice/water slurry for potential implementation in aquaculture." Aquaculture Research **45**(11): 1759-1770.

Simopoulos, A. P. (2002). "The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids." Biomedicine & Pharmacotherapy **56**(8): 365-379.

Sinclair, A., D. Begg, M. Mathai and R. Weisinger (2007). "Omega 3 fatty acids and the brain: review of studies in depression." Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition **16**(Suppl 1): 391-397.

Small, M. F. (2002). "The happy fat." New scientist(2357): 34-37.

Smith, C. (1990). "Moronidae." Check-list of the fishes of the eastern tropical Atlantic (CLOFETA) **2**: 692-694.

Stubhaug, I., O. Lie and B. Torstensen (2007). "Fatty acid productive value and b-oxidation capacity in Atlantic salmon tissues (*Salmo salar* L.) fed on different lipid sources along the whole growth period." Aquaculture Nutrition **13**: 145-155.

Tacon, A., M. Hasan and R. Subasinghe (2006). "Use of fishery resources as feed inputs for aquaculture development: trends and policy implications." FAO Fisheries Circular **1018**: 99.

- Tacon, A. G. J. and M. Metian (2008). "Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects." Aquaculture **285**(1-4): 146-158.
- Tanskanen, A., J. R. Hibbeln, J. Hintikka, K. Haatainen, K. Honkalampi and H. Viinamaki (2001). "Fish consumption, depression, and suicidality in a general population." Archives of General Psychiatry **58**(5): 512-513.
- Tocher, D. (2003). "Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish." Reviews in Fisheries Science **11**(2): 107-184.
- Trenzado, C. E., A. E. Morales and M. de la Higuera (2006). "Physiological effects of crowding in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, selected for low and high stress responsiveness." Aquaculture **258**(1-4): 583-593.
- Tsevis, N., S. Klaoudatos and A. Conides (1992). "Food conversion budget in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, fingerlings under two different feeding frequency patterns." Aquaculture **101**(3-4): 293-304.
- Turchini, G. M., D. S. Francis and S. S. D. Silva (2007). "Finishing diets stimulate compensatory growth: results of a study on Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*." Aquaculture Nutrition **13**(5): 351-360.
- Turchini, G. M., B. E. Torstensen and W. K. Ng (2009). "Fish oil replacement in finfish nutrition." Reviews in Aquaculture **1**(1): 10-57.
- Valente, L. M. P., N. M. Bandarra, A. C. Figueiredo-Silva, A. R. Cordeiro, R. M. Simies and M. L. Nunes (2007). "Influence of conjugated linoleic acid on growth, lipid composition and hepatic lipogenesis in juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)." Aquaculture **267**(1-4): 225-235.
- van der Salm, A. L., D. T. Nolan and S. E. Wendelaar Bonga (2002). "In vitro evidence that cortisol directly modulates stress-related responses in the skin epidermis of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum)." Fish Physiology and Biochemistry **27**(1-2): 9-18.
- Varsamos, S., R. Connes, J. P. Diaz, G. Barnabè and G. Charmantier (2001). "Ontogeny of osmoregulation in the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L." Marine Biology **138**(5): 909-915.
- Varsamos, S., G. Flik, J. F. Pepin, S. E. W. Bonga and G. Breuil (2006). "Husbandry stress during early life stages affects the stress response and health status of juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax*." Fish & Shellfish Immunology **20**(1): 83-96.
- Vazzana, M., M. Cammarata, E. L. Cooper and N. Parrinello (2002). "Confinement stress in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) depresses peritoneal leukocyte cytotoxicity." Aquaculture **210**(1-4): 231-243.
- Vegusdal, A., T. Gjøen, R. Berge, M. Thomassen and B. Ruyter (2005). "Effect of 18 : 1n-9, 20 : 5n-3, and 22 : 6n-3 on lipid accumulation and secretion by atlantic salmon hepatocytes." Lipids **40**(5): 477-486.

- Venturini, G., E. Cataldi, G. Marino, P. Pucci, L. garibaldi, P. Bronzi and S. Cataudella (1992). "Serum ions concentration and atpase activity in gills, kidney and oesophagus of european sea bass (*Dicentrarchus labrax*, pisces, perciformes) during acclimation trials to fresh water." Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology **103**(3): 451-454.
- Wellman, P. J., B. T. Davies, A. Morien and L. McMahon (1993). "Modulation of feeding by hypothalamic paraventricular nucleus α 1- and α 2-adrenergic receptors." Life Sciences **53**(9): 669-679.
- Winberg, S., G. E. Nilsson and H. K. Olsen (1992). "The effect of stress and starvation on brain serotonin utilization in arctic charr (*Salvelinus alpinus*)." Journal of Experimental Biology **165**: 229-239.
- WINBERG, S., G. E. NILSSON and K. H. OLSÉN (1992). "The Effect of Stress and Starvation on Bratn Serotonin Utilization in Arctic Charr (*Salvelinus Alpinus*)." Journal of Experimental Biology **165**(1): 229-239.
- Worm, B., E. B. Barbier, N. Beaumont, J. E. Duffy, C. Folke, B. S. Halpern, J. B. C. Jackson, H. K. Lotze, F. Micheli, S. R. Palumbi, E. Sala, K. A. Selkoe, J. J. Stachowicz and R. Watson (2006). "Impacts of Biodiversity Loss on Ocean Ecosystem Services." Science **314**(5800): 787-790.
- Wright, I. (2004). "Salmon by-products." Aqua Feeds: Formulation & Beyond **1**(1): 10-12.
- Wu, T. and P. Bechtel (2008). "Salmon by-product storage and oil extraction." Food Chemistry **111**(4): 868-871.
- Yin, Z., T. J. Lam and Y. M. Sin (1995). "The effects of crowding stress on the non-specific immuneresponse in fancy carp (*Cyprinus carpio* L.)." Fish & Shellfish Immunology **5**(7): 519-529.
- Young, G. and J. Conquer (2005). "Omega-3 fatty acids and neuropsychiatric disorders." Reproduction Nutrition Development **45**(1): 1-28.
- Zimmer, L., S. Delpal, D. Guilloteau, J. Aioun, G. Durand and S. Chalon (2000). "Chronic n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency alters dopamine vesicle density in the rat frontal cortex." Neuroscience Letters **284**(1-2): 25-28.
- Zimmer, L., G. Durand, D. Guilloteau and S. Chalon (1999). "n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency and dopamine metabolism in the rat frontal cortex." Lipids **34 Suppl**: S251.
- Δάλλα, X. (2005). "Σεροτονίνη-Κατάθλιψη & Σεξουαλικός διμορφισμός", Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. **Διδακτορική Διατριβή**.
- Ζαρκάδα, Α. (2003). Μελέτη της συνδυασμένης επίδρασης φωτοπεριοδισμού και διατροφής στη διαμόρφωση επιπέδων βιοχημικών δεικτών Stress στον κοινό κυπρίνο (*Cyprinus carpio*). Τμήμα Ζωική Παραγωγής. Αθήνα, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο. **Μεταπτυχιακή Διατριβή**.

Ζωγοπούλου, Ε. (2013). Μερική αντικατάσταση ιχθυελαίου αλιείας σε τροφές για λαβράκι (*DICENTRARCHUS LABRAX L.*) από ιχθυέλαιο υποπροϊόντων σολομού εκτροφής και έλαιο ελαιοκράμβης: επίδραση σε παραμέτρους ανάπτυξης και ποιότητας σάρκας. Επιστήμη Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών. Αθήνα, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. **Πτυχιακή Μελέτη**.

Κατινάκης, Π. (2004). Βιοχημεία. Αιγάλεω, ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΕΜΒΡΥΟ.

Παπαναστασίου, Δ. (1990). Αλιεύματα, Ίων.

Παπουτσόγλου, Σ. Ε. (1994). Εκτροφές Υδρόβιων Οργανισμών. Αθήνα, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Παπουτσόγλου, Σ. Ε. (1997). Εισαγωγή στις Υδατοκαλλιέργειες. Αθήνα, Αθ. Σταμούλης.

Παπουτσόγλου, Σ. Ε. (1998). Ενδοκρινολογία Ιχθύων. Αθήνα, Εκδόσεις Αθαν.Σταμούλης.

Σμοκοβίτης (2007). Φυσιολογία. Θεσσαλονίκη, Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη Α.Ε.

Τσοπελάκος, Α. (2005). Προσδιορισμός επιπέδου στρες σε σπονδυλόζωους οργανισμούς με χρήση νευρομεταβιβαστών. Επιστήμη Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών. Αθήνα, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. **Πτυχιακή Μελέτη**.

Τσοπελάκος, Α. (2008). Διερεύνηση της επίδρασης συνθηκών εκτροφής στη διαμόρφωση του επιπέδου των νευρομεταβιβαστών του εγκεφάλου ατόμων εκτρεφόμενων ειδών ιχθύων, με χρήση GC/MS. Επιστήμη Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών. Αθήνα, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. **Μεταπτυχιακή Διατριβή**.