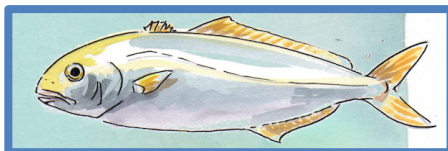


Ειδικές Δράσεις «ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ»

ΜΑΓΙΑΤΙΚΟ Τ6ΥΒΠ-0068



Παραδοτέο

Αριθμός Παραδοτέου:	Π 2.1.1	Μήνας Παράδοσης ΤΠΕ:	12
Τίτλος Παραδοτέου	Χρήση κωπηπόδων στην εκτροφή γόνου μαγιατικού (<i>Seriola dumerili</i>)		
Ενότητα Εργασίας (ΕΕ):	2	Συντονιστής ΕΕ:	ΠΠ
Τίτλος ΕΕ:	Νυμφικές εκτροφές και παραγωγή γόνου		
Αριθμός Εργασίας:	1.1	Υπεύθυνος Παραδοτέου:	ΠΠ
Τίτλος εργασίας:	Χρήση κωπηπόδων τις πρώτες ημέρες εξωγενούς θρέψης		
Εταίροι:	ΙΘΑΒΒΥΚ	ΓΑΛΛΑΞΙΔΙ	ΑΡΓΟ
Κατάσταση:	Ολοκληρωμένο	Μήνας παράδοσης:	12

Υπεύθυνος ερευνητής για το παραδοτέο: Μακρίδης, Π. (Πανεπιστήμιο Πατρών)

Συνεργαζόμενοι ερευνητές από Εταίρους: Παπαδάκης, Ι. (ΙΘΑΒΒΥΚ), Τσακωνίτη, Κ. (ΓΑΛΛΑΞΙΔΙ), Μέγκος, Α. (ΓΑΛΛΑΞΙΔΙ), Λούφη, Α. (Πανεπιστήμιο Πατρών)

Σύντομη περιγραφή (ΤΠΕ):

Η έκθεση περιλαμβάνει την περιγραφή και τα αποτελέσματα των εκτροφών ιχθυονυμφών μαγιατικού που πραγματοποιήθηκαν το 2019 στις εγκαταστάσεις της εταιρείας Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες Α.Ε. και το 2020 στις εγκαταστάσεις του Πανεπιστημίου Πατρών. Και στις δύο εκτροφές χρησιμοποιήθηκαν ως ζωντανή τροφή εκτός από τις κλασικούς οργανισμούς (μικροφύκη, τροχόζωα, Αρτέμια) και ναύπλιοι κωπηπόδων του είδους *Acartia tonsa* που προμηθεύτηκαν από την Νορβηγική εταιρεία C-Feed. Τα κωπήποδα παρουσιάζουν το πλεονέκτημα ότι τα λιπαρά οξέα εικοσιδυοεξανοϊκό οξύ (DHA) και εικοσιπεντενικό οξύ (EPA), που είναι σημαντικά για την σωστή ανάπτυξη της όρασης και του νευρικού συστήματος του ψαριού, βρίσκονται στα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών των κωπηπόδων. Έτσι είναι πιο εύκολη η αφομοίωσή τους από ψάρια σε σχέση με τα λιπαρά οξέα που παρέχονται μέσω της τεχνητής τροφής και της διαδικασίας του εμπλουτισμού (Karlsen et al., 2015). Ένα επιπλέον πλεονέκτημα είναι ότι τα κωπήποδα είναι η φυσική τροφή των ιχθυονυμφών στη θάλασσα, είναι πλούσια σε ελεύθερα αμινοξέα, κάτι που διεγείρει την όσφρηση των ιχθυονυμφών και ενισχύει τη διατροφική συμπεριφορά και την αναζήτηση τροφής όταν προστεθούν τα κωπήποδα στη δεξαμενή εκτροφής (Rønnestad et al., 2013). Το πρόβλημα με τα κωπήποδα μέχρι τώρα ήταν η διαθεσιμότητά τους για το καλλιεργητή όταν τα χρειάζεται και το υψηλό κόστος.



Εισαγωγή

Στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν εκτός από τις κλασικές τροφές (μικροφύκη, τροχόζωα, *Artemia*) χρησιμοποιήθηκαν και ναύπλιοι κωπήποδων του είδους *Acartia tonsa*. Τα κωπήποδα δε χρειάζονται εμπλουτισμό με λιπαρά οξέα, αλλά καλό είναι να ταΐζονται μαζί με ζωντανά μικροφύκη σύμφωνα με τη τεχνική του πράσινου νερού. Το μικρό μέγεθος των ναυπλίων είναι ιδανικό για τη σίτιση μικρών ιχθυονυμφών, όπως είναι οι ιχθυονύμφες του μαγιάτικου. Επιπλέον, αφού δε εμπλουτίζονται, δεν επιβαρύνεται το περιβάλλον της δεξαμενής της νυμφικής εκτροφής με λιπαρά στην επιφάνεια της δεξαμενής (Conceicao et al, 2010). Η κατάποση κύστεων των κωπήποδων δεν δημιουργεί πρόβλημα στις ιχθυονύμφες όπως στην περίπτωση κύστεων της *Artemia* sp.

Χρησιμοποιήσαμε κωπήποδα σε δύο νυμφικές εκτροφές μαγιάτικου. Η πρώτη πραγματοποιήθηκε το 2019 στις εγκαταστάσεις της εταιρείας Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες και η δεύτερη στις εγκαταστάσεις του Πανεπιστημίου Πατρών.

Η έκθεση περιλαμβάνει δύο τμήματα: α) σύγκριση ζωοτεχνικών χαρακτηριστικών (ανάπτυξη και επιβίωση) της εκτροφής με κωπήποδα και αυτής με κλασική τροφική αλυσίδα και β) μικροβιολογίας των ιχθυονυμφών και ζωντανής τροφής σε διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια.

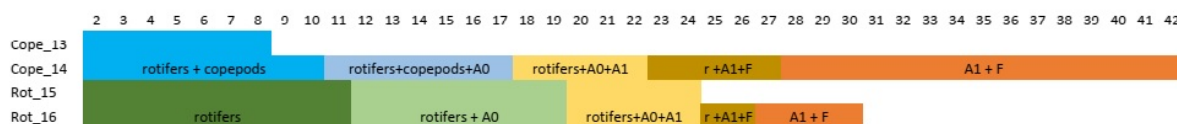
ΤΜΗΜΑ Α. ΕΚΤΡΟΦΕΣ ΜΕ ΚΩΠΗΠΟΔΑ

ΕΚΤΡΟΦΗ 2019

Βασικός στόχος αυτής της εκτροφής ήταν να δοθούν δείγματα στους συνεργάτες του προγράμματος ώστε να προχωρήσει η ανάλυση των δειγμάτων στη Ενότητα Εργασίας 2. Εκτός από αυτό δοκιμάστηκε η χρήση κωπήποδων και έγινε μια εκτίμηση των δυσκολιών στις εκτροφές γόνου μαγιάτικου.

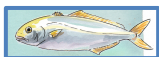
Υλικά και Μέθοδοι

Σε τέσσερις δεξαμενές των 2,8 κυβικών τοποθετήθηκαν 236-270 γραμμάρια αυγών. Το ποσοστό εκκόλαψης ήταν 27-30%. Κατά μέσο όρο τα ζωντανά αυγά ήταν δηλαδή 26 αυγά στο λίτρο ή 70.000 αυγά ανά δεξαμενή. Δύο δεξαμενές (Λ13 και Λ14) ταΐστηκαν με κωπήποδα *Acartia tonsa* και τροχόζωα (*Brachionus* sp.) τις πρώτες ημέρες και οι άλλες δύο (Λ15 και Λ16) μόνο με τροχόζωα τις πρώτες ημέρες (**Εικ. 1**). Στις εκτροφές χρησιμοποιήθηκε συντηρημένο φυτοπλαγκτόν (όχι ζωντανό).



Εικόνα 1: Διατροφικό πρωτόκολλο εκτροφής μαγιάτικου 2019. (A0: μικρή ανεμπλούτιστη *Artemia*, A1: μεγάλη εμπλουτισμένη *Artemia*, F: τεχνητό σιτηρέσιο)

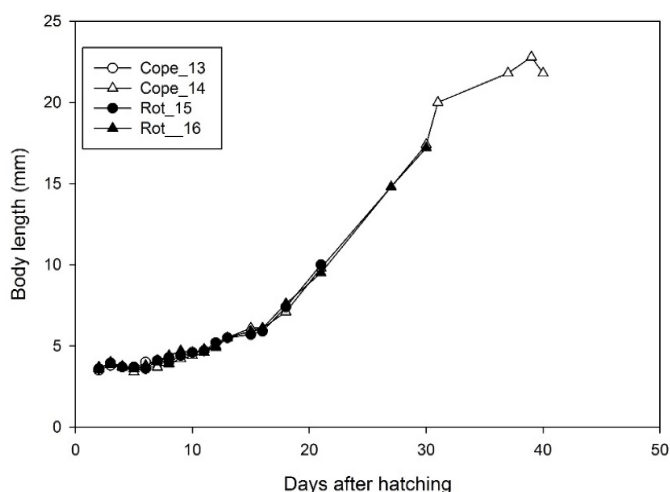
Οι δεξαμενές Λ13 και Λ15 παρουσίασαν μεγάλες θνησιμότητες και ενώθηκαν με τη Λ14 και Λ16, αντίστοιχα.



Αποτελέσματα

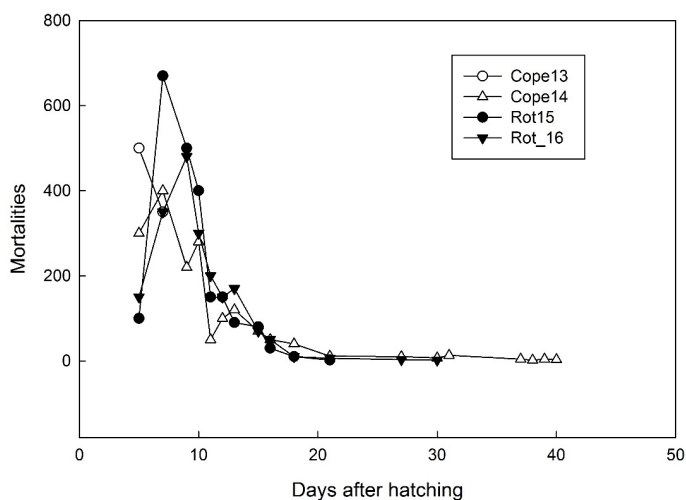
Η ανάπτυξη των ιχθυονυμφών μαγιάτικου υπολογίστηκε με καθημερινή μέτρηση του ολικού μήκους των ψαριών (Εικ. 2).

Η τελική επιβίωση στις δυο εναπομείναντες δεξαμενές ήταν κάτω από 100 άτομα. Λαμβάνοντας υπόψη ότι για τα δείγματα με προορισμό το Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας και Θεσσαλονίκης ελήφθησαν δείγματα από άλλη δεξαμενή και μόνο από ημέρα 0 και 1 και ότι της υπόλοιπες δειγματοληψίες (Παπαδάκης, Σφακιανάκης, Μακρίδης) ελήφθησαν συνολικά περίπου 500 άτομα, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η επιβίωση ήταν 1% ή και χαμηλότερη.

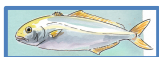


Εικόνα 2: Ανάπτυξη ιχθυονυμφών μαγιάτικου κατά την διάρκεια των εκτροφών 2019

Επιπλέον καθημερινά πραγματοποιούνταν συλλογή των νεκρών ιχθυονυμφών για τον υπολογισμό της θνησιμότητας (Εικ. 3).



Εικόνα 3: Θνησιμότητες στις δεξαμενές εκτροφής μαγιάτικου 2019



Συζήτηση

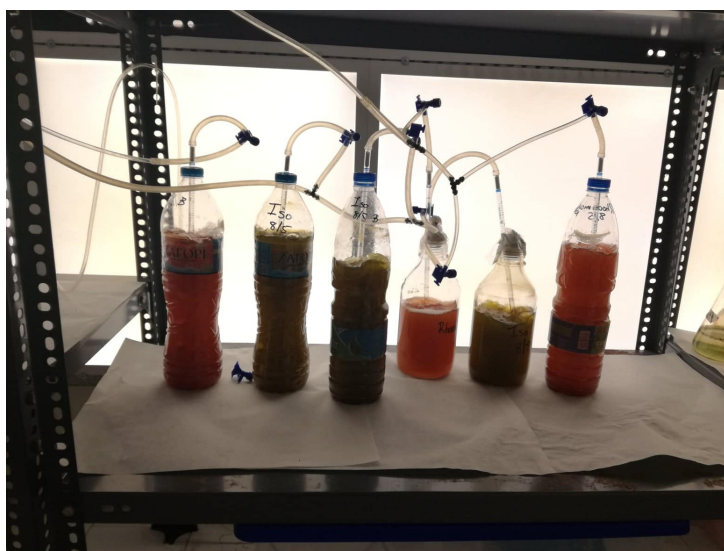
Οι εκτροφές παρουσίασαν κάποια προβλήματα όσον αφορά τα κωπήποδα: (α) το συντηρημένο φυτοπλαγκτόν δεν είναι κατάλληλο για τα κωπήποδα, επιπλέον καλό είναι να τρέφονται έστω για λίγο με *Rhodomonas* sp. Το δεύτερο ζήτημα είναι ότι πρέπει να χρησιμοποιείται πλαγκτονικό φίλτρο 50 μm στο σωλήνα εκροής της δεξαμενής ώστε να μην υπάρχουν απώλειες κωπηπόδων. Αυτό δεν ήταν δυνατόν στο σύστημα εκτροφής που χρησιμοποιήσαμε γιατί το συντηρημένο φυτοπλαγκτόν έφραζε την εκροή του νερού από τις δεξαμενές εκτροφής. Φτιάχτηκαν καλάθια με πλαγκτονικό δίχτυ 50 μm στα οποία συλλέγαμε από την υπερχειλίση τα κωπήποδα που δεν προλάβαν να καταναλωθούν, τα ξεπλέναμε και τα ξαναταίιζαμε. Πέρα από αυτά τα δυο σημεία οι θνησιμότητες ήταν μεγάλες και πρέπει να αναζητηθεί τρόπος βελτίωσης των συνθηκών εκτροφής για τις επόμενες εκτροφές (2020). Η δεξαμενή με τα κωπήποδα παρουσίασε καλύτερα αποτελέσματα, όμως το δείγμα είναι μικρό για να καταλήξουμε ότι είναι απαραίτητα για την καλλιέργεια του μαγιάτικου.

ΕΚΤΡΟΦΗ 2020

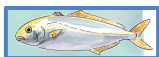
Υλικά και Μέθοδοι

Καλλιέργειες Μικροφυκών

Τα μικροφύκη *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica* και *Rhodomonas baltica* καλλιεργήθηκαν αρχικά σε μικρή κλίμακα, σε κωνικές φυάλες των 500 mL και σε μπουκάλια του ενάμισι λίτρου (Εικ. 4) και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε κυλίνδρους με όγκο 50 λίτρων (Εικ. 5). Τα μικροφύκη *I. galbana* και *R. baltica* χρησιμοποιήθηκαν ως τροφή για τα κωπήποδα ενώ τα *I. galbana* και *T. suecica* χρησιμοποιήθηκαν σαν «πράσινο» νερό για τις ιχθυονύμφες. Πιο συγκεκριμένα η *T. suecica* επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί στις δεξαμενές των ιχθυονυμφών εξαιτίας της αντιμικροβιακής της δράσης.



Εικόνα 4: Καλλιέργειες μικροφυκών



Εικόνα 5: Καλλιέργεια μικροφυκών σε κυλινδρικούς σωλήνες 50 λίτρων

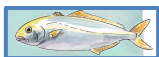
Καλλιέργεια Τροχοζώων

Τα τροχοζώα του γένους *Brachionus* sp. καλλιεργήθηκαν σε σάκους πολυαιθυλενίου και εμπλουτίστηκαν με Easy Selco, ενώ κατά την καλλιέργεια τους τρέφονταν με S. Parkle.

Καλλιέργεια Κωπηπόδων

Τα κωπήποδα που χρησιμοποιήθηκαν προμηθεύτηκαν από τη νορβηγική εταιρεία C-FEED. Παραλήφθηκαν 3 μπουκάλια συνολικού όγκου 2,5 λίτρων τα οποία περιείχαν περίπου 125 εκατομμύρια κύστες κωπηπόδων. Οι κύστες αυτές εκκολάφθηκαν στο εργαστήριο και ως ναύπλιοι χρησιμοποιήθηκαν για τροφή στις ιχθυονύμφες έως 10 dph. Οι κύστες κωπηπόδων (*Acartia tonsa*) αφού έφτασαν σε θερμοκρασία 10°C ξεπλύθηκαν πολύ καλά και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε κωνικές φιάλες για την εκκόλαψη τους (Øie et al., 2017).





Εικόνα 6: Εκκόλαψη των κυστών *Acartia tonsa* σε κωνικές φιάλες

Θαλασσινό νερό 36 ppt σε θερμοκρασία $26 \pm 2^\circ\text{C}$ μεταφέρθηκε σε φιάλες με πολύ έντονος αερισμό έτσι ώστε να περιοριστεί η καθίζηση των κυστών. Είκοσι τέσσερις περίπου ώρες μετά οι κύστες εκκολάφθηκαν. Οι ναύπλιοι των κωπηπόδων (Εικ. 7) χρησιμοποιήθηκαν για τη διατροφή των ιχθυονυμίων στις μισές δεξαμενές του πειράματος. Δύο φορές την ημέρα οι ναύπλιοι των κωπηπόδων ταιΐζονταν με τα μικροφύκη *I. galbana*. Περίπου είκοσι λεπτά πριν την χορήγηση των ναυπλίων στις ιχθυονύμφες ο αερισμός σταματούσε έτσι ώστε οι κύστες που δεν είχαν εκκολαφθεί αλλά και τα νεκρά άτομα να πέσουν στον πυθμένα της φιάλης και να απομακρυνθούν. Τα κωπήποδα ταιΐστηκαν με το μικροφύκος *R. baltica*.

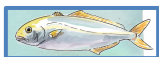


Εικόνα 7: Ναύπλιος *Acartia tonsa*

Ιχθυονύμφες

Το Σάββατο 13 Ιουνίου παραλήφθηκαν τα αυγά του μαγιατικού τα οποία και τοποθετήθηκαν σε 12 κυλινδροκωνικές δεξαμενές των 100 λίτρων (Εικόνα 8). Σε κάθε δεξαμενή προστέθηκαν περίπου 20 ml αυγών. Οι 12 δεξαμενές χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Η πρώτη ομάδα, αποτελούμενη από 6 δεξαμενές ήταν η ομάδα ελέγχου στην οποία θα χρησιμοποιούνταν μικροφύκη και τροχόζωα. Στη δεύτερη ομάδα (επίσης 6 δεξαμενές) θα χρησιμοποιούνταν ως τροφή μικροφύκη, τροχόζωα και κωπήποδα.





Εικόνα 8: Οι δεξαμενές όπου έγινε η εκτροφή των νυμφών μαγιάτικου

Τα αυγά άρχισαν να εκκολάπτονται την επόμενη μέρα (Κυριακή 14 Ιουνίου) και η πρώτη ημέρα μετά την εκκόλαψη (1 dph) θεωρήθηκε η Δευτέρα 15 Ιουνίου. Από την ημέρα 1 και μέχρι το τέλος του πειράματος καταγράφονταν η θερμοκρασία και το οξυγόνο του νερού στις δεξαμενές, ενώ από την ημέρα 2 και κάθε μέρα μέχρι το τέλος του πειράματος καταγράφονταν το μήκος των ιχθυονυμφών (TL, συνολικό μήκος). Από την ημέρα 2 και κάθε μέρα μέχρι και το τέλος του πειράματος, οι δεξαμενές καθαρίζονταν δύο φορές την ημέρα από λίπη για να επιτευχθεί η πλήρωση της νηκτικής κύστης. Το τάισμα ξεκίνησε την ημέρα 3 (Τετάρτη 17 Ιουνίου). Την ημέρα 3, σε δέκα από τις δώδεκα δεξαμενές παρατηρήθηκαν υψηλές θνησιμότητες. Αντιθέτως οι δεξαμενές Δ10 και Δ12 είχαν ικανοποιητικό αριθμό ιχθυονυμφών. Μόνο στη δεξαμενή Δ12 χορηγήθηκαν κωπήποδα, ενώ στην Δεξαμενή 10 και κάποιες δεξαμενές με λίγα άτομα οι ιχθυονύμφες τάιστηκαν με τροχόζωα. Σε όλες τις δεξαμενές προστέθηκαν καθημερινά 1 λίτρο από τα μικροφύκη *I. galbana* και *T. suecica*. Το τάισμα πραγματοποιούνταν 2 φορές την ημέρα (πρωί και απόγευμα). Την ημέρα 4 οι ιχθυονύμφες στη δεξαμενή Δ4 είχαν πεθάνει. Τις ημέρες 5 και 6 ο αριθμός των ιχθυονυμφών σε όλες τις δεξαμενές μειώθηκε σημαντικά. Την ημέρα 10 το πείραμα τελείωσε, καθώς δεν υπήρχαν ζωντανές ιχθυονύμφες σε καμία δεξαμενή.

Κάθε μέρα λαμβάνονταν δείγματα. Από κάθε δεξαμενή λαμβάνονταν 5 ιχθυονύμφες η οποίες παρέμειναν σε συντηρητικό διάλυμα για να μην αλλοιωθούν και θα χρησιμοποιηθούν για τη μελέτη της ιστολογίας.



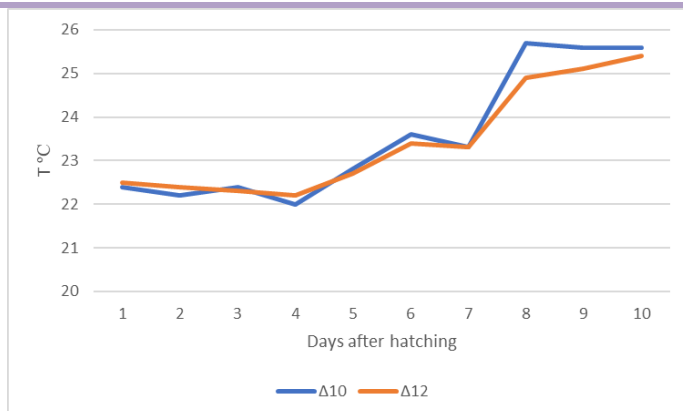
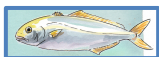
Εικόνα 9: Ιχθυονύμφη μαγιάτικου

Αποτελέσματα

Βασικός στόχος αυτής της εκτροφής ήταν να δοκιμαστεί η χρήση κωπηπόδων και έγινε μια εκτίμηση των δυσκολιών στις εκτροφές γόνου μαγιάτικου.

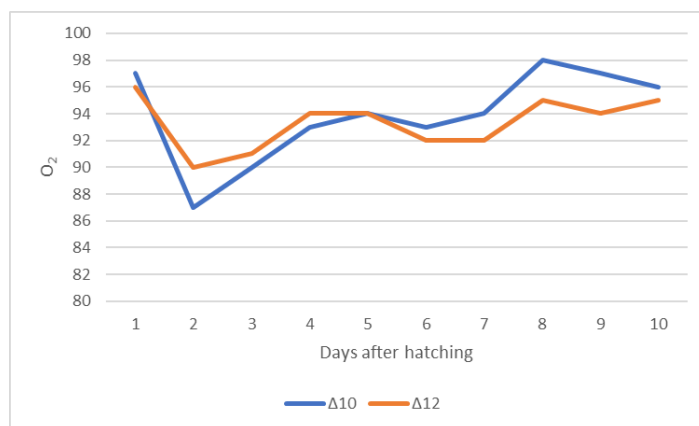
Τα αποτελέσματα βασίστηκαν στις δεξαμενές Δ10 (χρήση μόνο τροχόζωων) και στη Δ12 (χρήση τροχόζωων και κωπηπόδων) καθώς ήταν οι μόνες δύο δεξαμενές που είχαν ζωντανές ιχθυονύμφες μέχρι το τέλος του πειράματος.

Οι τιμές της θερμοκρασίας ήταν σταθερές καθ' όλη τη διάρκεια της εκτροφής με μία μικρή αύξηση μετά την ημέρα 7 που οφείλεται σε προσωρινή βλάβη του συστήματος ψύξης – θέρμανσης του χώρου εκτροφής (**Εικ. 10**).



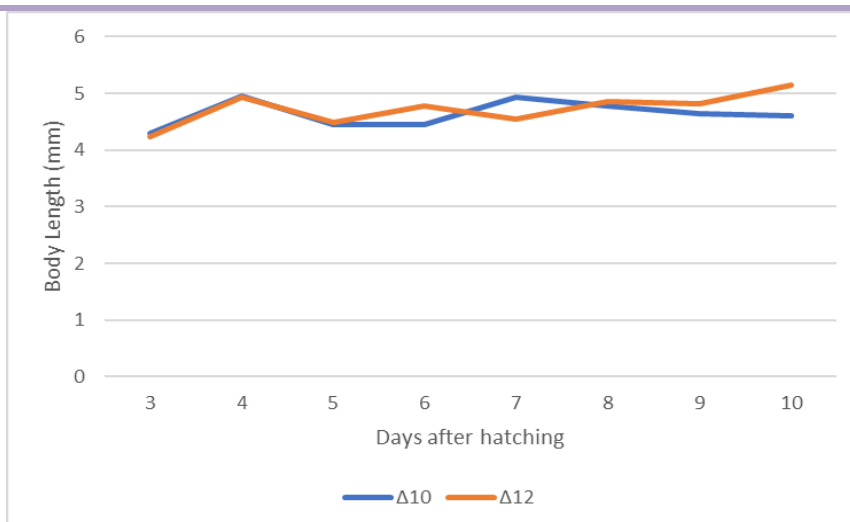
Εικόνα 10. Θερμοκρασία του νερού στις δεξαμενές

Οι τιμές του οξυγόνου παρέμειναν σχετικά σταθερές όλες τις ημέρες εκτροφής (**Εικ. 11**).



Εικόνα 11. Ποσοστό κορεσμού οξυγόνου στο νερό των δεξαμενών

Όσον αφορά την ανάπτυξη του ολικού μήκους σώματος (TL) δεν υπήρξε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο δεξαμενών ($P < 0,05$) 10 ημέρες μετά την εκκόλαψη.



Εικόνα 12. Ανάπτυξη των ιχθυονυμφών μαγιάτικου σε μήκος σώματος (mm)

Το γεγονός αυτό πιθανόν να οφείλεται στο γεγονός ότι οι ιχθυονύμφες στη δεξαμενή 12 τρέφονταν και με κωπήποδα, τα οποία παρουσιάζουν το πλεονέκτημα ότι τα λιπαρά οξέα εικοσιδιεξανοϊκό οξύ (DHA) και εικοσιπεντενοϊκό οξύ (EPA), που είναι σημαντικά για την καλύτερη ανάπτυξη του σκελετού των ψαριών είναι πιο εύκολα αφομοιώσιμα από τις ιχθυονύμφες σε σχέση με άλλες τροφές όπως για παράδειγμα τα τροχόζωα.

Δυστυχώς δεν ήταν δυνατή η καταμέτρηση των νεκρών ιχθυονυμφών έτσι ώστε να υπάρχει υπολογισμός της θνησιμότητάς τους.

Συζήτηση

Κατά τη διάρκεια του πειράματος παρουσιάστηκαν ορισμένα προβλήματα που σχετίζονταν κατά κύριο λόγο με τεχνικά θέματα του χώρου εκτροφής. Πιο συγκεκριμένα παρουσιάστηκε πρόβλημα στο σύστημα ψύξης – θέρμανσης του χώρου το οποίο αποκαταστάθηκε 3 μέρες πριν τη λήξη του πειράματος. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα η θερμοκρασία του νερού στις δεξαμενές να μην είναι σταθερή και μάλιστα να είναι λίγο πιο χαμηλή από την επιθυμητή (τις πρώτες 7 μέρες η θερμοκρασία του νερού κυμαίνονταν στους 22-23°C, ενώ μετά την 7^η ημέρα εκτροφής επιδιορθώθηκε το σύστημα και η θερμοκρασία έφτασε τους 24-25 °C).

Παρόλο που χρησιμοποιήθηκαν ζωντανά μικροφύκη τα κύτταρα των *T. suecica* και *R. baltica* δεν ήταν σε πολύ καλή κατάσταση (εμφάνισαν συσσωματώματα) με αποτέλεσμα τόσο η αντιμικροβιακή δράση της *T. suecica* για της ιχθυονύμφες όσο και η θρεπτική αξία της *R. baltica* για τα κωπήποδα να μην είναι στα επιθυμητά επίπεδα. Τέλος, παρόλο που η επιφάνεια του νερού στις δεξαμενές καθαρίζονταν καθημερινά, η απομάκρυνση των λιπών μόνο 2 φορές την ημέρα πιθανόν να μην ήταν αρκετή για τη σωστή πλήρωση της νηκτικής κύστης.

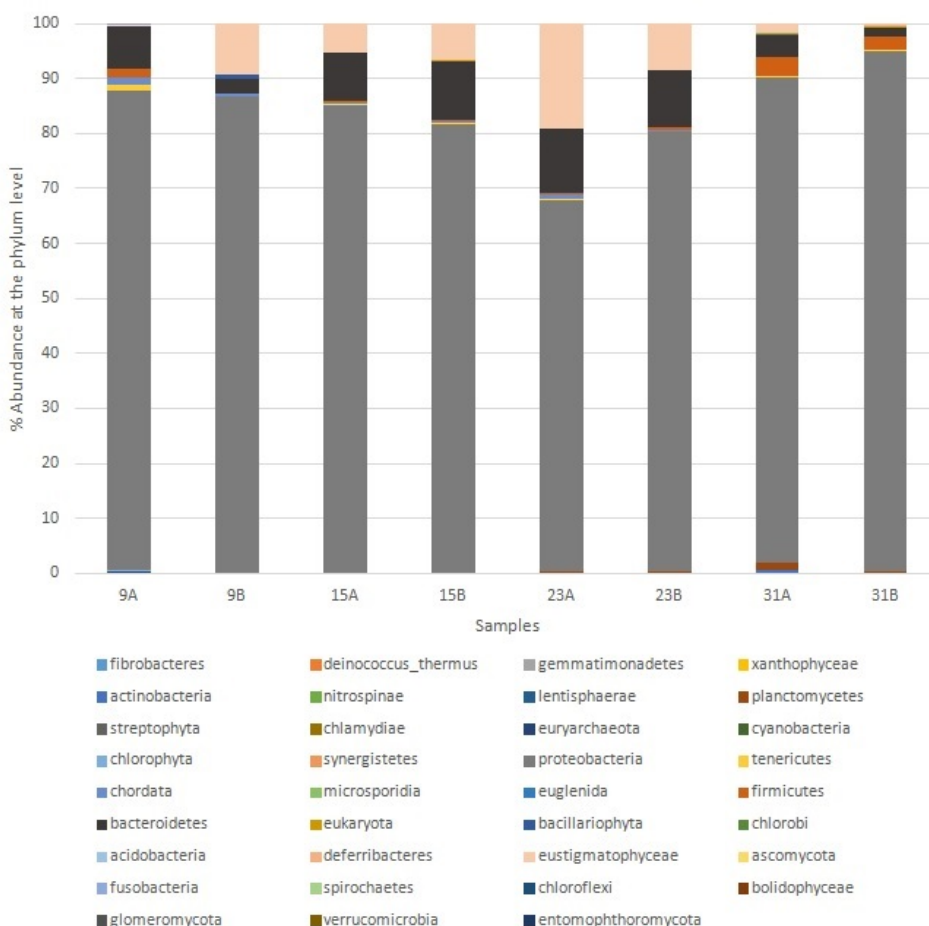


ΤΜΗΜΑ Β. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΙΧΘΥΟΝΥΜΦΩΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΑ ΣΤΑΔΙΑ**Υλικά και Μέθοδοι**

Δύο δείγματα με 5 ιχθυονύμφες το καθένα πάρθηκαν από τις δεξαμενές Λ13 και Λ14 9, 15, 23 και 31 ημέρες μετά την εκκόλαψη στην εκτροφή του 2019 που περιεγράφηκε παραπάνω. Τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν σε γυάλινους ομογενοποιητές και καταψύχθηκαν σε φιάλη υγρού αζώτου μέχρι να μεταφερθούν σε καταψύκτη -80°C. Στη συνέχεια σε κάθε δείγμα το ολικό DNA απομονώθηκε με τη χρήση του κιτ NucleoSpin® Tissue της Macherey-Nagel. Τα δείγματα σταλήθηκαν για ανάλυση Next Generation sequencing (NGS) και έγινε η επεξεργασία των αποτελεσμάτων που ανέδειξε τη ποιοτική σύσταση της μικροχλωρίδας των ιχθυονυμφών σε επίπεδο φύλου, οικογένειας και γένους στους πληθυσμούς που ετράφηκαν με κωπήποδα και κλασική ζωντανή τροφή (μικροφύκη, τροχόζωα, Artemia) και σε ιχθυονύμφες που ετράφηκαν μόνο με κλασική ζωντανή τροφή (Califano et al. 2017). Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε από τη επίκουρη καθηγήτρια Φωτεινή Κοκού του Πανεπιστημίου του Wageningen, Ολλανδία.

Αποτελέσματα

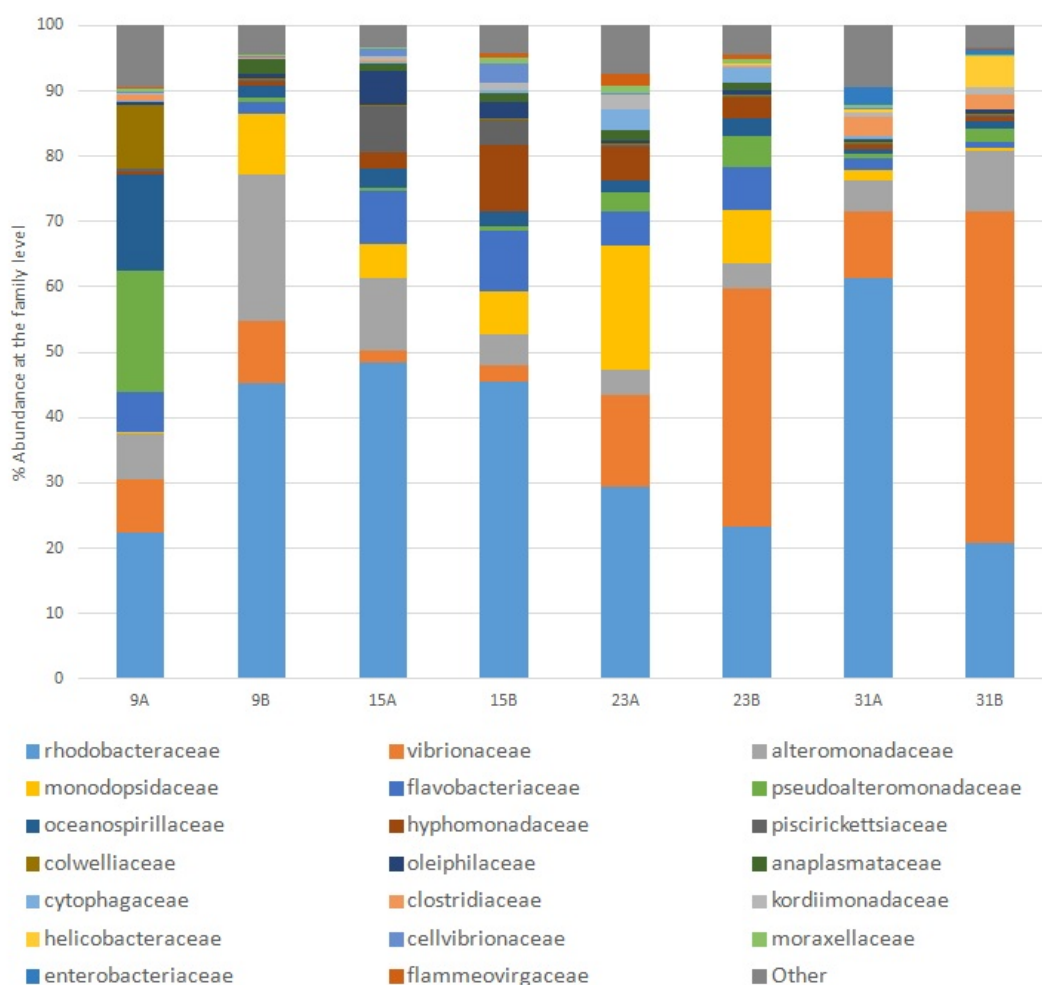
Στο επίπεδο του φύλου της ανάλυσης της μικροχλωρίδας των ιχθυονυμφών με την χρήση NGS, τα αποτελέσματα φαίνονται στην εικόνα 13. Το φύλο που κυριαρχεί σε όλα τα δείγματα σε αριθμό ειδών είναι τα Proteobacteria, με ποσοστό κατά μέσο όρο στο 83% του συνολικού αριθμού των ειδών. Ακολουθούν σε αντιπροσώπευση το φύλο Bacteroidetes με μέσο όρο 6% και το Firmicutes με μέσο όρο 1%. Λογικό είναι επίσης ότι στους ομογενοποιημένους ιστούς ανιχνεύεται DNA από κύτταρα του ζενιστή (Chordata) και DNA των μικροφυκών που προστέθηκαν στις δεξαμενές (Chlorophyta και Eustigmatophyceae). Τα τελευταία έχουν υψηλό ποσοστό και αντιπροσώπευση στο επίπεδο 6% κατά μέσο όρο. Είναι αξιοσημείωτο ότι παρουσιάζουν μια έξαρση μετά την περίοδο του πράσινου νερού και είναι μάλλον άγρια είδη που αναπτύσσονται σε μικρές βιομάζες στις δεξαμενές.



Εικόνα 13. Το ποσοστό DNA που ανήκει στα διαφορετικά φύλα σε δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν σε ιχθυονύμφες που ταΐστηκαν με κωπήποδα (A) και σε ιχθυονύμφες που ταΐστηκαν μόνο με κλασική ζωντανή τροφή (B).

Η ανάλυση της μικροχλωρίδας των ιχθυονυμφών με την χρήση NGS στο επίπεδο της οικογένειας έδειξε σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους δυο χειρισμούς (Εικ. 14). Η οικογένειες που κυριαρχούν ανήκουν όπως είναι αναμενόμενο στα Proteobacteria και είναι Rhodobacteriaceae (37%), Vibrionaceae (16%) και Alteromonadaceae (8%). Κατά την ημέρα 9, οι ιχθυονύμφες που ταΐστηκαν με κωπήποδα παρουσίασαν μεγάλα ποσοστά σε Rhodobacteriaceae (22%) και Pseudoalteromonadaceae (17%), ενώ ιχθυονύμφες που ταΐστηκαν με τροχόζωα περιείχαν κυρίως Rhodobacteriaceae (45%) και Alteromonadaceae (22%). Κατά την ημέρα 15, οι μικροχλωρίδα των δυο πληθυσμών ήταν παρόμοια με τα Rhodobacteriaceae (45%) να κυριαρχούν.

Κατά την ημέρα 23, όταν πια ο γόνος του μαγιάτικου ταΐζονταν με παρόμοια τροφή, ο πληθυσμός που είχε ταϊστεί με κωπήποδα εμφάνισε Rhodobacteriaceae (29%), Vibrionaceae (13%) and Monodopsidaceae (18%), ενώ ο πληθυσμός με την κλασική τροφική αλυσίδα είχε υψηλή αναλογία Vibrionaceae (36%). Τα αποτελέσματα της ανάλυσης κατά την ημέρα 31, έδειξαν ότι οι ιχθυονύμφες που ταΐστηκαν με κωπήποδα είχαν αφθονία σε Rhodobacteriaceae (60%), ενώ ο πληθυσμός με την κλασική τροφική αλυσίδα είχε υψηλή αναλογία (50%) Vibrionaceae.



Εικόνα 14. Το ποσοστό DNA που ανήκει στα διαφορετικές οικογένειες σε δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν σε ιχθυονύμφες που ταΐστηκαν με κωπήποδα (A) και σε ιχθυονύμφες που ταΐστηκαν μόνο με κλασική ζωντανή τροφή (B).

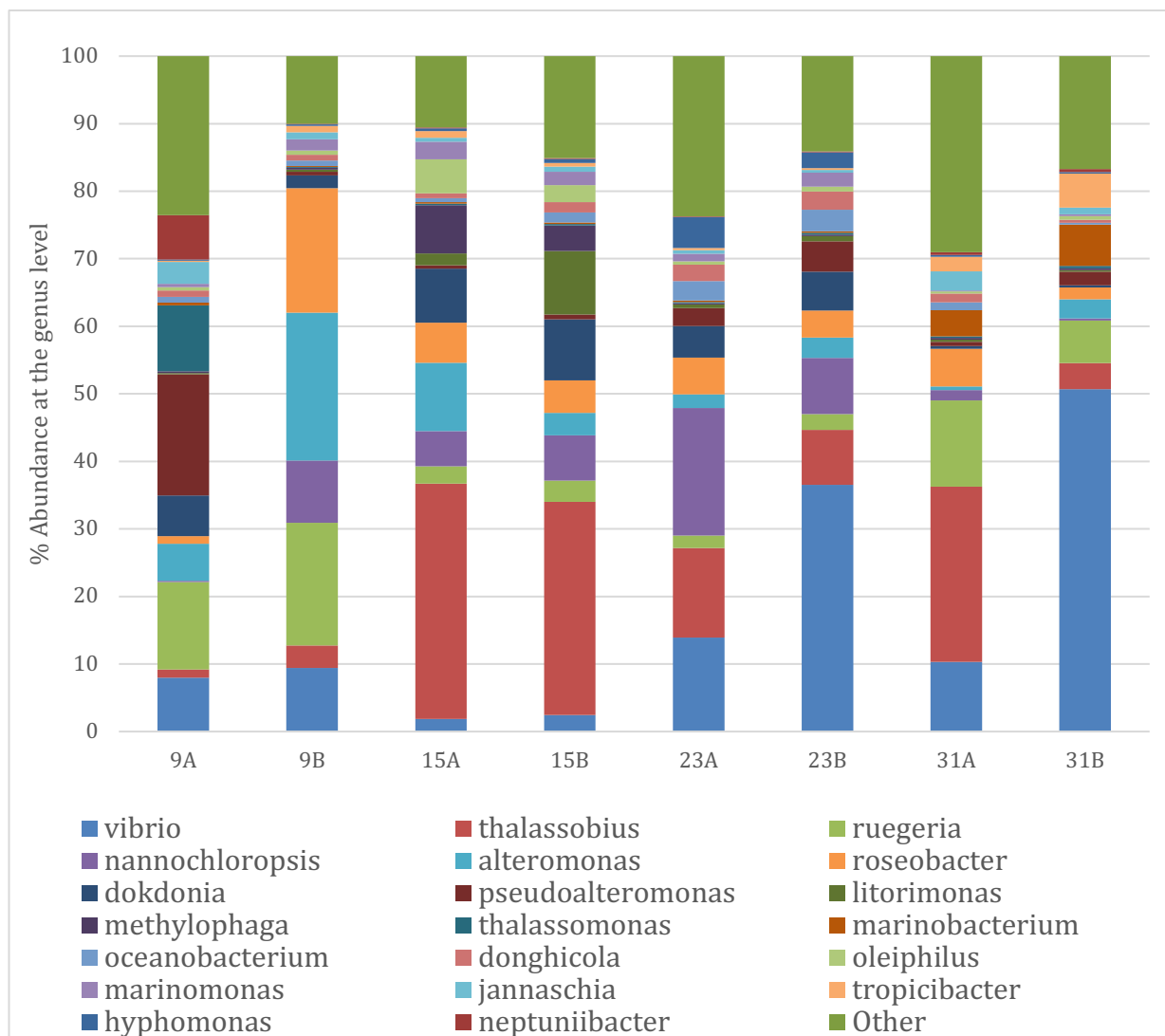
Η ανάλυση της μικρογλωρίδας στο επίπεδο του γένους έδειξε σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους δυο χειρισμούς, όπως φαίνεται στην **Εικ. 15**.

Κατά την ημέρα 9 υπήρχαν για παράδειγμα σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους δυο πληθυσμούς. Οι ιχθυονύμφες που ταΐστηκαν με κωπήποδα είχαν σε αφθονία βακτήρια του γένους *Pseudoalteromonas* (17%), *Ruegeria* (12%) και *Vibrio* (8%), ενώ οι ιχθυονύμφες που ταΐστηκαν με την κλασική τροφική αλυσίδα παρουσίασαν αφθονία σε *Alteromonas* (21%), *Roseobacter* (18%), *Ruegeria* (18%), *Vibrio* (9%) και *Nannochloropsis* (9%).

Κατά την ημέρα 15 οι μικροβιακές κοινότητες ανάμεσα στους δυο χειρισμούς έγιναν παρόμοιες, και παρουσίασαν αφθονία σε *Thalassobius* (γύρω στο 30%) και μικρότερη αντιπροσώπευση του γένους *Vibrio*.

Κατά την ημέρα day 23, ο χειρισμός των κωπήποδων παρουσίασε αφθονία σε *Nannochloropsis* (18%), *Thalassobius* (13%) και *Vibrio* (13%), ενώ ο χειρισμός της κλασικής τροφικής αλυσίδας παρουσίασε αφθονία σε *Vibrio* (36%).

Κατά την ημέρα 31, όταν πλέον η σίτιση με τεχνητό σιτηρέσιο είχε ξεκινήσει, ο χειρισμός των κωπήποδων παρουσίασε αφθονία σε *Thalassobius* and *Ruegeria*. (*Rhodobacteriales*; περίπου 25% and 12% αντίστοιχα) και λιγότερα *Vibrio* (19%), ενώ ο χειρισμός της κλασικής τροφικής αλυσίδας παρουσίασε αφθονία σε *Vibrio* (περίπου 50%).



Εικόνα 15. Το ποσοστό DNA που ανήκει στα διαφορετικά γένη σε δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν σε ιχθυονύμφες που ταιίστηκαν με κωπήποδα (A) και σε ιχθυονύμφες που ταιίστηκαν μόνο με κλασική ζωντανή τροφή (B).

Συζήτηση

Η ανάλυση της μικροχλωρίδας έδειξε ότι υπήρχαν διαφορές μεταξύ του χειρισμού που εκτράφηκε με τη προσθήκη κωπηπόδων και του χειρισμού που εκτράφηκε χωρίς τη προσθήκη κωπηπόδων, ακόμα και αρκετές εβδομάδες μετά το τείσμα των τελευταίων κωπηπόδων υπήρχαν διαφορές ανάμεσα στη μικροχλωρίδα των δυο πληθυσμών (Øie et al., 2017). Στο πληθυσμό που τρέφονταν με τη κλασική τροφική αλυσίδα (τροχόζωα, Artemia) η παρουσία των Vibrio ήταν πιο εμφανής, ενώ στο χειρισμό με τα κωπήποδα άλλες ομάδες βακτηρίων ήταν κυρίαρχες Rhodobacteriaceae. Μάλιστα σύμφωνα με τη βιβλιογραφία τα βακτήρια που ανήκουν στα Rhodobacteriaceae παράγουν ουσίες που εμποδίζουν την ανάπτυξη των Vibrio (Bruhn et al., 2007).

Ένα δεύτερο ενδιαφέρον στοιχείο της ανάλυσης της μικροχλωρίδας είναι η παρουσία μικρών πληθυσμών μικροφυκών που αναπτύσσονται σε μικρές βιομάζες μέσα στην δεξαμενές εκτροφής.



Διαφοροποιήσεις από ΤΠΕ: Καμία διαφοροποίηση

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bruhn, J.B., Gram, L., and Belas, R., 2007. Production of antimicrobial compounds and biofilm formation by *Roseobacter* species are influenced by culture conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 73, 442-450.
- Califano, G., Castanho, S., Soares, F., Ribeiro, L., Cox, C.J., Mata, L., Costa, R., 2017. Molecular taxonomic profiling of bacterial communities in a gilthead seabream (*Sparus aurata*) hatchery. *Frontiers in Microbiology* 8, art. Nr. 204.
- Karlsen, Ø., van der Meeren, T., Rønnestad, I., Mangor-Jensen, Galloway, T.F., Kjørsvik, E., Hamre, K., 2015. Copepods enhance nutritional status, growth and development in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) larvae – can we identify the underlying factors? *PeerJ* 3:e902.
- Rønnestad, I., Yufera, M., Ueberschär, B., Ribeiro, L., Sæle, Ø, Boglione C., 2013. Feeding behavior and digestive physiology in larval fish: current knowledge, and gaps, and bottlenecks in research. *Reviews in Aquaculture* 5(1), 59-98.
- Øie, G., Galloway, T., Sørøy, M., Holmvaag-Hansen, M., Norheim, I.A., Halseth, C.K., Almli, M., Berg, M., Gagnat, M.R., Wold, P., -A., Attramadal, K., Hagemann, A., Evjemo, J.O., and Kjørsvik, E., 2017. Effect of cultivated copepods (*Acartia tonsa*) in first-feeding of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and ballan wrasse (*Labrus bergylta*) larvae. *Aquaculture Nutrition* 23(1), 3-17. doi: 10.1111/anu.12352.



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS



GALAXIDI
Marine Farm S.A.

