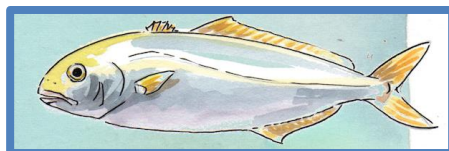


## Ειδικές Δράσεις «ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ»

ΜΑΓΙΑΤΙΚΟ Τ6ΥΒΠ-0068



### Παραδοτέο

<b>Αριθμός Παραδοτέου:</b>	Π2.2.1	<b>Μήνας Παράδοσης ΤΠΕ:</b>	12
<b>Τίτλος Παραδοτέου</b>	Περιγραφή της οντογένεσης του πεπτικού συστήματος και του ματιού στο μαγιάτικο και της διατροφικής προτίμησης, και πρόταση βελτιωμένου πρωτοκόλλου εκτροφής		
<b>Ενότητα Εργασίας (ΕΕ):</b>	2	<b>Συντονιστής ΕΕ:</b>	ΙΘΑΒΒΥΚ
<b>Τίτλος ΕΕ:</b>	Νυμφικές εκτροφές και παραγωγή γόνου		
<b>Αριθμός Εργασίας:</b>	2.2.	<b>Υπεύθυνος Παραδοτέου:</b>	ΙΘΑΒΒΥΚ
<b>Τίτλος εργασίας:</b>	Βελτίωση των υφιστάμενων πρωτοκόλλων νυμφικής εκτροφής με βάση την οντογένεση του πεπτικού συστήματος και της όρασης και της προτίμησης ειδών τροφής		
<b>Εταίροι:</b>	ΙΘΑΒΒΥΚ	ΓΑΛΑΞΙΔΙ	
<b>Κατάσταση:</b>	Ολοκληρωμένο	<b>Μήνας παράδοσης:</b>	12

**Υπεύθυνος ερευνητής για το παραδοτέο:** Παπαδάκης, Ι. (ΙΘΑΒΒΥΚ)

**Συνεργαζόμενοι ερευνητές από Εταίρους:** Μέγκος, Α. (ΓΑΛΑΞΙΔΙ), Τσακωνίτη, Κ. (ΓΑΛΑΞΙΔΙ)

#### Σύντομη περιγραφή (ΤΠΕ):

Η έκθεση περιλαμβάνει α) την περιγραφή της οντογένεσης του πεπτικού συστήματος και του ματιού στο μαγιάτικο, β) τον προσδιορισμό της διατροφικής προτίμησης του μαγιάτικου σε σχέση με το πρωτόκολλο εκτροφής γ) τον εντοπισμό των περιόδων υποσιτισμού και προβληματικής αξιοποίησης των πρωτοκόλλων νυμφικής εκτροφής του μαγιάτικου σε σχέση με το αρχικό διατροφικό πρωτόκολλο, και δ) πρόταση ενός βελτιωμένου πρωτοκόλλου εκτροφής που θα χρησιμοποιηθεί στο επόμενο έτος εκτροφών. Οι εκτροφές και οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε ιχθυογενετικό σταθμό της εταιρίας Ιχθυοκαλλιέργειες Γαλαξίδι Α.Ε.. Η ανάλυση των δειγμάτων βασίστηκε σε ιστολογικές μεθόδους που πραγματοποιήθηκαν στο ΕΛΚΕΘΕ.



## Εισαγωγή

Η γνώση της λειτουργίας του πεπτικού συστήματος και του ματιού είναι σημαντική, διότι με αυτά ο οργανισμός αντιλαμβάνεται και στην συνέχεια συλλαμβάνει και επεξεργάζεται την τροφή του, από την οποία προσλαμβάνει τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για να συντηρηθεί, να αυξηθεί, να αναπαραχθεί και εντέλει να διατηρηθεί στην ζωή. Επιπρόσθετα η παραπάνω γνώση σε νέα υποψήφια είδη για βιομηχανική εκτροφή, όπως το μαγιάτικο (*Seriola dumerili*), βοηθά στην ορθή οργάνωση των πρωτοκόλλων εκτροφής.

Κατά τα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια των νυμφών των ψαριών και συγκεκριμένα από το στάδιο της εκκόλαψης έως και την μεταμόρφωσή τους σε νεαρά ιχθύδια, εμφανίζονται πολυάριθμες μεταβολές που συσχετίζονται με την παρουσία, την μορφολογία αλλά και την λειτουργία των δομών του πεπτικού τους συστήματος (Przybył, *et al.*, 2006). Η εμφάνιση των βασικών δομών του πεπτικού συστήματος δεν πραγματοποιείται ταυτόχρονα. Η οντογένεση κάθε δομής, δηλαδή η δημιουργία της, πραγματοποιείται σε διαφορετικές χρονικές στιγμές κατά την διάρκεια της πρώιμης αναπτυξιακής τους ηλικίας. Εκτός από διαφοροποιήσεις στον χρόνο εμφάνισης της κάθε δομής, παρουσιάζονται και μορφολογικές αλλαγές σε βασικές δομές του πεπτικού συστήματος όπως το έντερο ή το συκώτι. Αυτές οι μορφολογικές διαφορές σχετίζονται με εξωτερικούς παράγοντες όπως το διατροφικό πρωτόκολλο. Αλλαγές στην κατάσταση του συκωτιού των ψαριών και ειδικότερα στην εναπόθεση λίπους σε αυτό μπορεί να συνδέονται τόσο με την ποιοτική όσο και την ποσοτική σύσταση των τροφών που εμπεριέχονται στο διατροφικό πρωτόκολλο των νυμφικών εκτροφών (Papadakis, *et al.*, 2013; Papadakis, *et al.*, 2009). Ο εντοπισμός αυτών των μεταβολών μας υποδεικνύει με μεγάλη ακρίβεια τις περιόδους κατά την διάρκεια της νυμφικής εκτροφής όπου οι νύμφες αντιμετώπισαν διατροφική καταπόνηση (Margulies, 1993; Papadakis, *et al.*, 2013). Το παραπάνω, σε συνδυασμό με την μελέτη της διατροφικής συμπεριφοράς του μαγιάτικου, που εστιάζεται στην ανάλυση των στομαχικών περιεχομένων σε σχέση με τα συστατικά των τροφών που συμπεριλαμβάνονται στο διατροφικό πρωτόκολλο, μπορεί να αναδείξει τις αδυναμίες του διατροφικού πρωτοκόλλου σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές. Βάσει αυτών των δεδομένων στην συνέχεια πραγματοποιούνται με ακρίβεια οι βελτιώσεις στο διατροφικό πρωτόκολλο που εφαρμόζεται κατά την φάση των νυμφικών εκτροφών.

Καθώς οι νύμφες των ψαριών αναπτύσσονται, ένα μεγάλο εύρος των δραστηριοτήτων τους αυξάνει, ενώ οι λειτουργίες των αισθητήριων οργάνων που συσχετίζονται με την θήρευση ή με την αποφυγή των θηρευτών τους συνεχώς βελτιώνονται (Osse, van den Boogaart, 1995). Οι νύμφες των περισσότερων τελεόστων ψαριών είναι οπτικοί θηρευτές. Τα μάτια αποτελούν ένα από τα κυριότερα αισθητήρια όργανα στα ψάρια διότι με αυτά εντοπίζουν φωτεινά σήματα και εικόνες από το περιβάλλον τα οποία στην συνέχεια τα εντυπώνουν και τα επεξεργάζονται στον εγκέφαλό τους (Bond, 1996). Η οπτική ανταπόκριση των νυμφών των ψαριών εξαρτάται κυρίως από το είδος και μεταβάλλεται ανάλογα με την ηλικία ή το αναπτυξιακό στάδιο του ψαριού (Puvanendran, Brown, 1998). Η οπτική ικανότητα κάθε είδους, δηλαδή πόσο μακριά μπορεί να δει, ή τότε μπορεί να δει αντικείμενα κάτω από χαμηλές εντάσεις φωτός, εξαρτάται από τη γενικότερη οργάνωση του ματιού, το αναπτυξιακό στάδιο του ψαριού αλλά και από τις φωτεινές συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον που διαβιεί. Η μελέτη της οντογένεσης των βασικών δομών του ματιού καθώς και των μεταβολών που υπόκεινται σε αυτές τις δομές, συνδέεται άμεσα με την ικανότητα της όρασης που έχει το κάθε εκτρεφόμενο είδος ψαριού κατά τα πρώτα αναπτυξιακά του στάδια.

Στόχος της μελέτης είναι η απόκτηση της απαραίτητης γνώσης για την ανάπτυξη του πεπτικού και του οπτικού συστήματος. Η διασύνδεση της παραπάνω γνώσης με την επίδραση των παραγόντων εκτροφής όπως πρωτόκολλο διατροφής και φωτισμό κατά την φάση της νυμφικής εκτροφής αποσκοπεί στην βελτιστοποίηση των υφιστάμενων βιομηχανικών πρωτοκόλλων.

## Υλικά και Μέθοδοι

### Α) Πρωτόκολλο εκτροφής – δειγματοληψίες

Η εκτροφή και στην συνέχεια η δειγματοληψία των νυμφών του μαγιάτικου πραγματοποιήθηκε στον ιχθυογεννητικό σταθμό της εταιρίας ΓΑΛΑΞΙΔΙ Α.Ε. Το αρχικό πρωτόκολλο εκτροφής που χρησιμοποιήθηκε σε αυτές τις δεξαμενές παρουσιάζεται στην **Εικ. 1**.



Ημέρες	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Φυτοπλαγκτόν																												
Rot																												
AF																												
EG																												
Ξηρή τροφή																												

**Εικόνα 1.** Αρχικό πρωτόκολλο εκτροφής μαγιάτικου. Rot = ρότιφερ, AF = νάυπλιοι αρτέμιας μικρού μεγέθους στους οποίους δεν εφαρμόζεται διαδικασία εμπλουτισμού, EG = νάυπλιοι αρτέμιας μεγάλου μεγέθους στους οποίους εφαρμόζεται διαδικασία εμπλουτισμού.

Τα δείγματα αφού μετρήθηκαν ως προς το συνολικό μήκος τους, συλλέχθηκαν και συντηρήθηκαν σε διάλυμα 4% φορμαλδεΰδης και 1% γλουταραλδεΰδης (McDowell, Trump, 1976) και στην συνέχεια στάλθηκαν στο Ινστιτούτο θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. για την περαιτέρω ανάλυση τους.

## **Β) Ιστολογική ανάλυση**

Τα δείγματα πριν την μονιμοποίηση τους σε πολυμεριζόμενη ρητίνη (methacrylate resin, Technovit 7100®, Heraeus Kulzer, Germany), αφυδατώνονταν σε μια σειρά διαλυμάτων αυξανόμενης συγκέντρωσης αιθανόλης. Οι τομές είχαν πάχος 3-4  $\mu\text{m}$  και έγιναν με μικροτόμο (Reichert Jung, Biocut 2035, Germany). Στην συνέχεια, πραγματοποιήθηκε η διεργασία της χρώσης με Methylene Blue (Sigma, Germany)/Azure II (Sigma, Germany)/Basic Fuchsin (Polysciences, USA) σύμφωνα με το πρωτόκολλο των (Bennett, *et al.*, 1976). Για την περιγραφή της οντογένεσης του πεπτικού συστήματος των νυμφών του μαγιάτικου, όλες οι τομές εξετάστηκαν με την βοήθεια μικροσκοπίου σε διαφορετικές μεγεθύνσεις (Nikon Eclipse 50i, Melville, NY) και στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε φωτογράφησή τους και ανάλυση των στομαχικών περιεχομένων.

Για την μελέτη της οντογένεσης του ματιού των νυμφών του μαγιάτικου αρχικά ο αμφιβληστροειδής φωτογραφήθηκε σε μεγέθυνση 40x. Κάθε δομή του αμφιβληστροειδή όπως τα κωνία και τα ραβδία εντοπίστηκε οπτικά και στην συνέχεια η ποσοτικοποίησή τους έγινε αυτόματα με την χρήση προγράμματος ανάλυσης εικόνας (Image J, NIH, USA). Η διάμετρος του φακού (η οποία μετρήθηκε με πρόγραμμα ανάλυσης εικόνας) και ο αριθμός των κωνίων, χρησιμοποιήθηκαν για να υπολογιστεί η ιστολογική οπτική οξύτητα (Neave, 1984). Τα παραπάνω δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της απόστασης που οι νύμφες θα μπορούσαν να αντιληφθούν αντικείμενα μεγέθους όπως ένα ρότιφερ (0.15 mm) ή όπως η αρτέμια (0.35 mm) (Wanzenböck, Schiemer, 1989).

## **Γ) Μελέτη του ποσοστού κάλυψης του συκωτιού με λίπος και της ανάλυσης των στομαχικών περιεχομένων.**

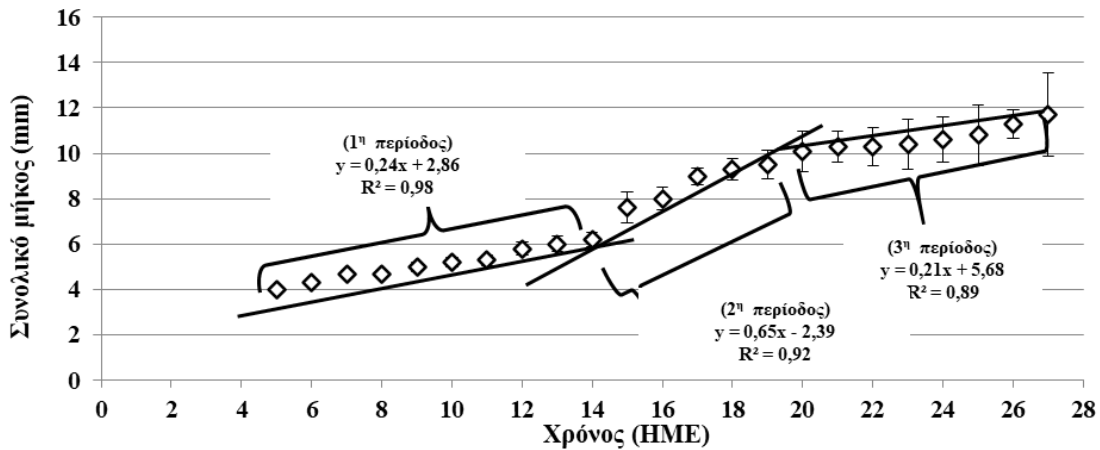
Το λίπος από διαφορετικές περιοχές συκωτιού νυμφών μαγιάτικου από κάθε μέρα δειγματοληψίας εκτιμήθηκε σύμφωνα με την μεθοδολογία που έχει αναπτυχθεί από τους Papadakis *et. al.* (2009, 2013). Πριν την 5<sup>η</sup> ημέρα εκτροφής δεν ήταν δυνατό να μετρηθεί το λίπος στο συκώτι λόγω του υπερβολικά μικρού μεγέθους του. Για κάθε ημέρα δειγματοληψίας από 3 νύμφες πάρθηκαν 6 μικροφωτογραφίες σε μεγέθυνση 100x από διαφορετικές περιοχές του συκωτιού. Η συνολική κάλυψη του συκωτιού με λιπώδη ιστό υπολογίστηκε με πρόγραμμα ανάλυσης εικόνας (Image J, NIH, USA). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως ποσοστό κάλυψης με λίπος σε σχέση με την συνολική επιφάνεια της υπό μελέτης φωτογραφίας του συκωτιού.



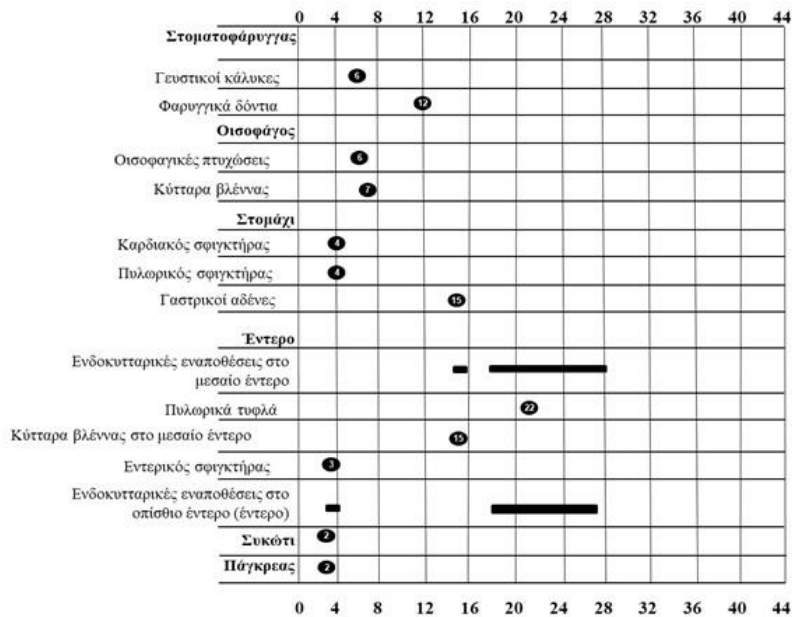
**Αποτελέσματα**

**Α) Ρυθμός αύξησης**

Τα αποτελέσματα της αύξησης του συνολικού μήκους για το μαγιάτικο παρουσιάζεται στην **Εικ. 2**. Στο συνολικό πρότυπο ανάπτυξης που ακολουθεί η καμπύλη εκτροφής, διακρίνονται 3 χαρακτηριστικές περιόδους (**Εικ. 2**). Η πρώτη περίοδος ορίζεται από την αρχή της εκτροφής έως την 14<sup>η</sup> ημέρα μετά την εκκόλαψη (ΗΜΕ). Η δεύτερη περίοδος εκτροφής ορίζεται από το τέλος της πρώτης περιόδου έως την 20<sup>η</sup> ΗΜΕ. Τέλος η τρίτη περίοδος ορίζεται από την 20<sup>η</sup> ημέρα έως το τέλος της εκτροφής. Χαρακτηριστικά μεγαλύτερη ανάπτυξη παρουσιάστηκε στην 2<sup>η</sup> περίοδο μετά την 14<sup>η</sup> ΗΜΕ.



**Εικόνα 2.** Εξέλιξη της αύξησης του μήκους του μαγιάτικου. Οι αγκύλες ορίζουν τις τρεις διαφορετικές περιόδους (1<sup>η</sup>, 2<sup>η</sup>, και 3<sup>η</sup>) για την εκτροφή, όπου για κάθε μια περίοδο παρουσιάζεται και η αντίστοιχη γραμμική εξίσωση αύξησης που την χαρακτηρίζει.

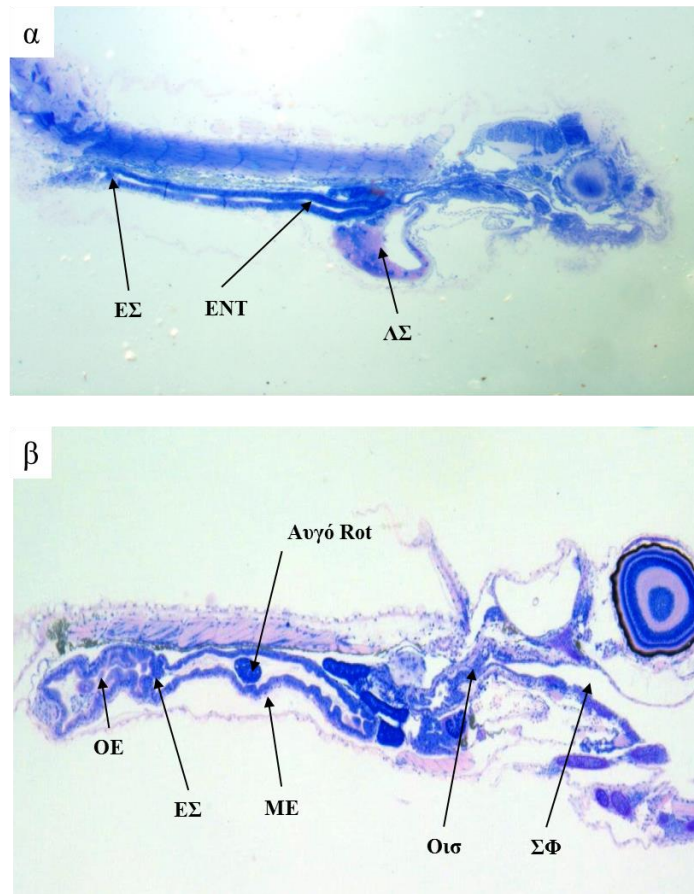


**Εικόνα 3.** Αποτελέσματα οντογένεσης των δομών του πεπτικού συστήματος στο μαγιάτικο. Οι αριθμοί στους μαύρους κύκλους υποδηλώνουν την ημέρα εμφάνισης κάθε δομής.



## Β) Οντογένεση του πεπτικού συστήματος του μαγιάτικου.

Η **Εικ. 3** παρουσιάζει την οντογένεση των βασικών δομών του πεπτικού συστήματος του μαγιάτικου στην πορεία του χρόνου. Αρχικά, από την εκκόλαψη έως την 1<sup>η</sup> ΗΜΕ, το πεπτικό κανάλι εμφανίζεται σαν ένας κλειστός αδιαφοροποίητος σχετικά ευθύς σωλήνας, ο οποίος τοποθετείται πάνω από τον λεκιθικό σάκο (**Εικ. 4α**). Η πρώτη αρχική διαφοροποίηση εμφανίζεται μια μέρα πριν το άνοιγμα του στόματος όπου εστιάζεται στην εμφάνιση του εντερικού σφικτήρα (**Εικ. 4α**), ο οποίος είναι περισσότερο ορατός την 3<sup>η</sup> ΗΜΕ (**Εικ. 4β**). Την 3<sup>η</sup> ΗΜΕ αρχίζουν να παρατηρούνται σημαντικές διαφοροποιήσεις στο πεπτικό σύστημα όπως η δημιουργία των διαφορετικών περιοχών του πεπτικού συστήματος οι οποίες όμως παρουσιάζονται αναλυτικότερα παρακάτω.



**Εικόνα 4.** Τομές από νύμφη μαγιάτικου: α) 1<sup>η</sup> ΗΜΕ πριν το άνοιγμα του στόματος και β) 3<sup>η</sup> ΗΜΕ μετά το άνοιγμα του στόματος. Αυγό Rot = αυγό από Rotifer, ΕΣ = εντερικός σφικτήρας, ENT = έντερο, ΛΣ = λεκιθικός σάκος, ΜΕ = μεσαίο έντερο, ΟΕ = οπίσθιο έντερο, Οισ = οισοφάγος και ΣΦ = στοματοφαρυγγική κοιλότητα.

### Στοματοφαρυγγική κοιλότητα

Οι δομές που προσδιορίστηκαν στην στοματοφαρυγγική κοιλότητα ήταν οι γευστικοί κάλυκες και τα φαρυγγικά δόντια. Οι γευστικοί κάλυκες πρωτοπαρουσιάστηκαν στην περιοχή αυτή κατά την 6<sup>η</sup> ΗΜΕ (**Εικ. 5α**). Οι γευστικοί κάλυκες είναι δομές οι οποίες είναι υπεύθυνες για την σύλληψη και την αναγνώριση των διαφόρων χημικών ερεθισμάτων που απελευθερώνονται ως μικρομόρια από τις διάφορες τροφές.

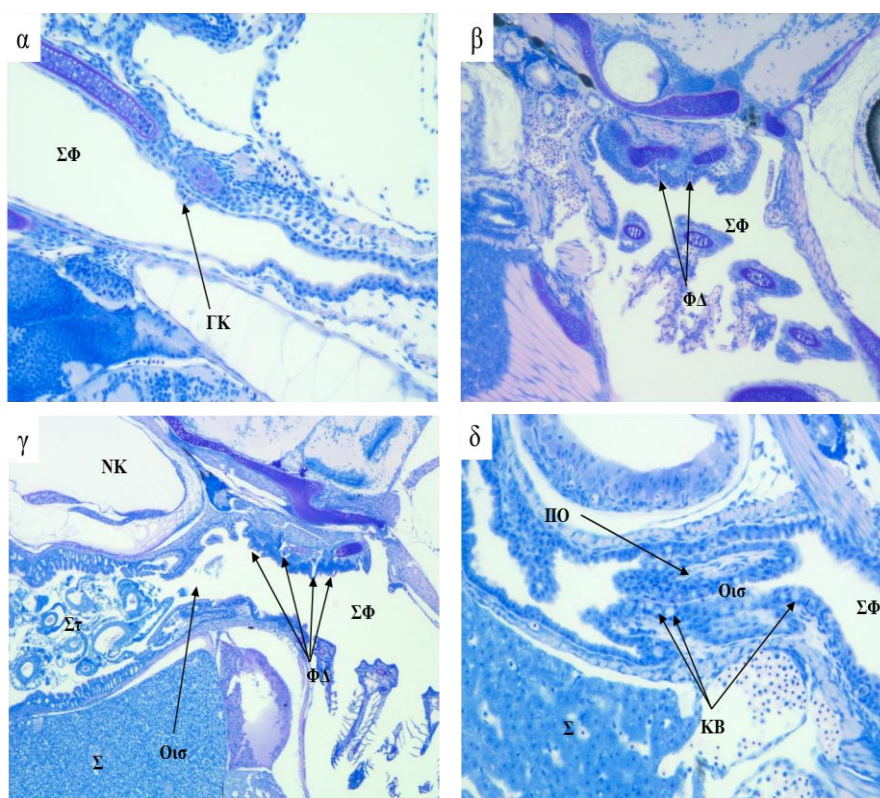




Η δεύτερη σημαντική δομή που μελετήθηκε ως προς τον χρόνο εμφάνισης της ήταν τα φαρυγγικά δόντια (Εικ. 5β,γ). Τα φαρυγγικά δόντια πρωτοεμφανίστηκαν στην στοματική κοιλότητα την 12<sup>η</sup> ΗΜΕ (Εικ. 5β) των οποίων αυξήθηκε τόσο ο αριθμός αλλά όσο και το μέγεθος τους με την πάροδο του χρόνου (Εικ. 5γ).

### Οισοφάγος

Το αμέσως επόμενο τμήμα μετά την στοματοφαρυγγική κοιλότητα είναι ο οισοφάγος. Ο οισοφάγος με την σειρά του αποτελεί τον δεύτερο φραγμό που πρέπει να περάσει η τροφή μετά την στοματική οπή. Οι δομές που μελετήθηκαν στον οισοφάγο ως προς χρόνο εμφάνισης τους είναι, οι πτυχές του οισοφάγου καθώς και η εμφάνιση των κυττάρων παραγωγής βλέννας στην περιοχή του οισοφάγου. Οι πτυχές του οισοφάγου εμφανίστηκαν στο διάστημα της 5<sup>ης</sup> και 6<sup>ης</sup> ΗΜΕ (Εικ. 5δ). Η εμφάνιση των πτυχώσεων του οισοφάγου συνδέεται με την δυνατότητα επιπλέον διαστολής της περιοχής του οισοφάγου, ώστε να βοηθηθεί περαιτέρω το πέρασμα της τροφής στα επόμενα τμήματα του πεπτικού συστήματος. Την 7<sup>η</sup> ΗΜΕ εμφανίστηκαν στον οισοφάγο και τα κύτταρα παραγωγής βλέννας (Εικ. 5δ) των οποίων ο αριθμός αυξήθηκε με την πάροδο του χρόνου.



**Εικόνα 5.** Τομές από νύμφη μαγιάτικου: α) 6<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στους γευστικούς κάλυκες, β) 12<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στα φαρυγγικά δόντια, γ) 18<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στα φαρυγγικά δόντια, δ) 7<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στις πτυχές του οισοφάγου και στα κύτταρα παραγωγής βλέννας. ΓΚ = γευστικός κάλυκας, ΝΚ = νηκτική κύστη, Οισ = οισοφάγος, ΠΟ = πτυχή του οισοφάγου, Σ = συκώτι, Στ = στομάχι, ΣΦ = στοματοφαρυγγική κοιλότητα, ΦΔ = φαρυγγικά δόντια, ΚΒ = κύτταρα παραγωγής βλέννας.

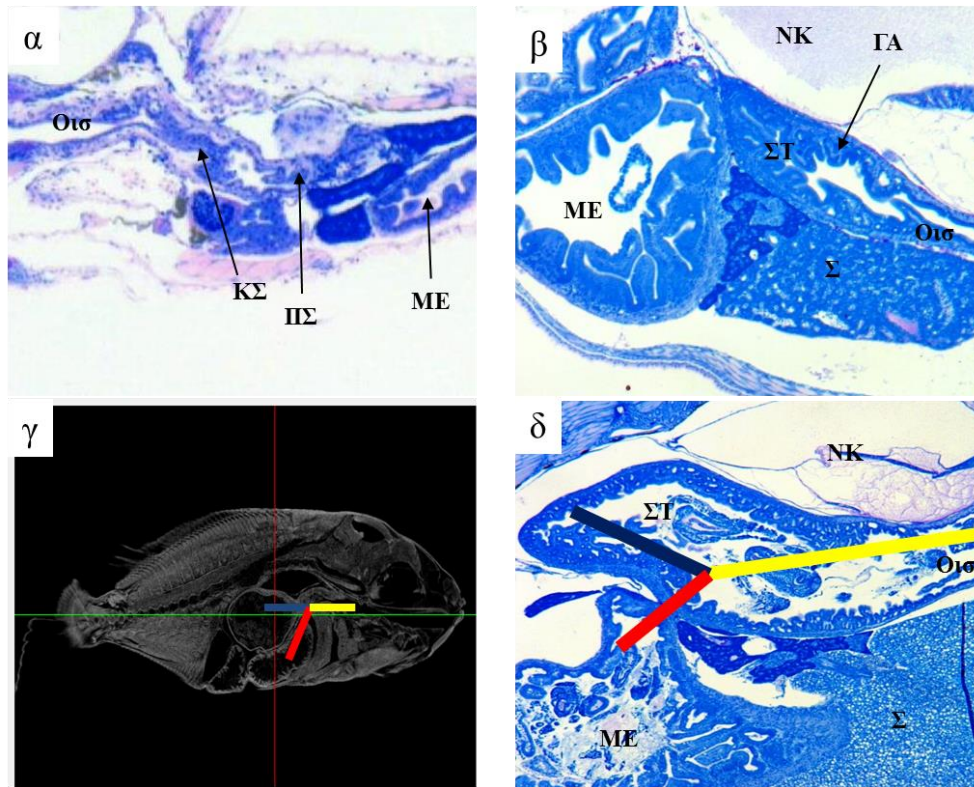
### Στομάχι

Το στομάχι είναι το τρίτο κατά σειρά τμήμα του πεπτικού συστήματος μετά την στοματοφαρυγγική κοιλότητα και τον οισοφάγο. Ο εντοπισμός του καρδιακού και του πυλωρικού σφικτήρα (όπως ακριβώς παρατηρούνται



τοποθετημένα σε σειρά μετά τον οισοφάγο) κατά την 4<sup>η</sup> ΗΜΕ, υποδεικνύει τον χώρο που θα δημιουργηθεί το στομάχι (Εικ. 6α). Η λειτουργικότητα του στομαχιού συνδέεται με την εμφάνιση των γαστρικών αδένων, οι οποίοι στο μαγιάτικο άρχισαν να εμφανίζονται μεταξύ 13<sup>ης</sup> και 15<sup>ης</sup> ΗΜΕ όταν το εύρος του μήκους των νυμφών ήταν από 5,7 έως 6 mm και σε ένα εύρος 320 και 340 βαθμοημερών (Εικ. 6β) αντίστοιχα.

Από μορφολογικής άποψης το στομάχι στις νύμφες του μαγιάτικου (όπως και σε όλες τις νύμφες) αρχικά είναι τοποθετημένο σε ευθεία σε σχέση με το πεπτικό κανάλι - σωλήνα και αποτελεί μια συνέχεια του πεπτικού καναλιού. Μετά την 18<sup>η</sup> ΗΜΕ όμως το στομάχι αλλάζει θέση πάνω στον πεπτικό σωλήνα και λαμβάνει την Υ- σχήματος διαμόρφωση. Αρχικά διογκώνεται και μεγαλώνει ως προς την μια του πλευρά (προς την ουρά της νύμφης) και στο τέλος εμφανίζεται ως ένας «σάκος» ή αλλιώς ως μια μεγάλη απόφυση πάνω στο έντερο (Εικ. 6γ, δ).



**Εικόνα 6.** Τομές από νύμφη μαγιάτικου: α) 4<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στον πυλωρικό και στον καρδιακό σφικτήρα, β) 15<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στους γαστρικούς αδένες, γ) 19<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στην δημιουργία Υ σχήματος στομαχιού (Micro-CT Scan), δ) 19<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στην δημιουργία Υ σχήματος στομαχιού. Στις φωτογραφίες η κίτρινη μπάρα υποδηλώνει την διεύθυνση του οισοφάγου, η μπλε την διεύθυνση του στομαχιού και η κόκκινη την διεύθυνση του μεσαίου εντέρου. ΚΣ = καρδιακός σφικτήρας, ΜΕ = μεσαίο έντερο, ΝΚ = νηκτική κύστη, Οισ = οισοφάγος, ΠΟ = πτυχή του οισοφάγου, πυλωρικός σφικτήρας, Σ = συκώτι, Στ = στομάχι.

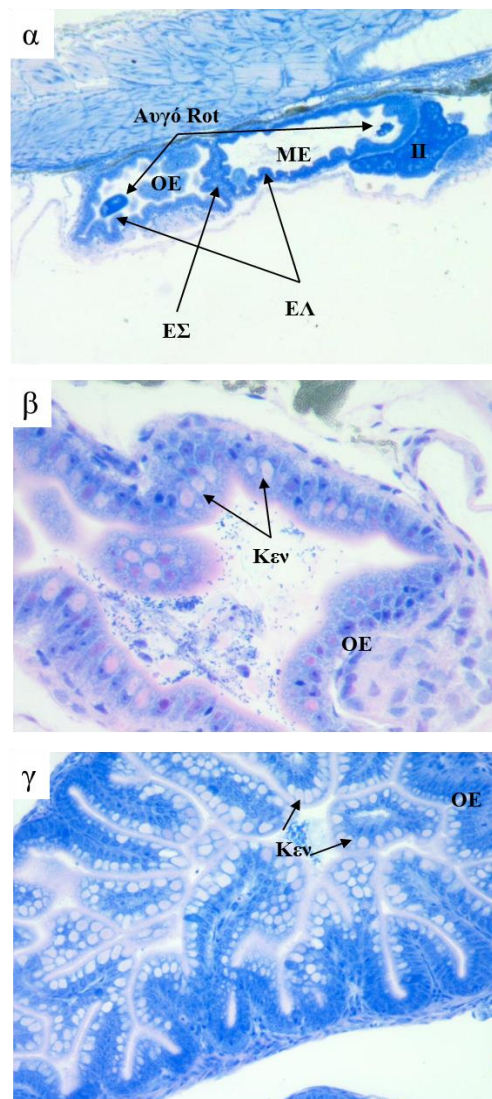
## Έντερο

Η πρώτη διαφοροποίηση του εντέρου παρατηρήθηκε όπως αναφέρθηκε από την 2<sup>η</sup> ΗΜΕ με την παρουσία του εντερικού σφικτήρα, ο οποίος εμφανίστηκε να το διαιρεί σε δυο τμήματα, στο μεσαίο και το οπίσθιο τμήμα. Η παρουσία του εντερικού σφικτήρα μεταξύ του πρόσθιου και οπίσθιου τμήματος του εντέρου, είναι μια ένδειξη ότι στο πεπτικό σύστημα των νυμφών δημιουργούνται οι συνθήκες για να επεξεργαστούν πιο αποτελεσματικά την πρώτη τροφή που θα καταναλώσουν. Η ταχεία αύξηση του μήκους του εντέρου



παρατηρήθηκε στο μαγιάτικο μετά την 4<sup>η</sup> ΗΜΕ με την δημιουργία της πρώτης του περιέλιξης. Η ταχεία αύξηση του μήκους του εντέρου βοηθάει τόσο στην αύξηση του χρόνου της παραμονής της τροφής στο χώρο του εντέρου, όσο και στην βελτίωση των διαδικασιών πέψης και απορρόφησης από αυτό. Ταυτόχρονα όμως η σύγχρονη ανάπτυξη των λαχνών του εντέρου, ιδιαίτερα στο οπίσθιο τμήμα, από την 3<sup>η</sup> με 4<sup>η</sup> ΗΜΕ φανερώνει την αύξηση της απορροφητικής επιφάνειας του εντέρου (**Εικ. 7α**). Η πρώτη περίοδος εμφάνισης των ενδοκυτταρικών εναποθέσεων λίπους στο οπίσθιο τμήμα ήταν στο μαγιάτικο κατά την 3<sup>η</sup> έως την 6<sup>η</sup> ΗΜΕ μετά την έναρξη του ετερότροφου σταδίου (**Εικ. 7β**). Η δεύτερη περίοδος (15<sup>η</sup> ΗΜΕ έως τέλος δειγματοληψιών) εμφάνισης των ενδοκυτταρικών εναποθέσεων λίπους στο μαγιάτικο (**Εικ. 7γ**), συμβαίνει 1 ημέρα μετά από την εμφάνιση των γαστρικών αδένων και συνδέεται επίσης με διαδικασίες πέψης και απορρόφησης της τροφής.

Στο μεσαίο τμήμα του εντέρου τα χρονικά διαστήματα όπου υπήρξε μεταβολή των εναποθέσεων λίπους στο μαγιάτικο παρουσιάζονται στην **Εικ. 3**. Η παρουσία των ενδοκυτταρικών εναποθέσεων λίπους (**Εικ. 8α**) στο μεσαίο έντερο είναι ενδεικτική της θρεπτικής κατάστασης του οργανισμού. Τα πρώτα κύτταρα παραγωγής βλέννας παρατηρούνται την 15<sup>η</sup> ΗΜΕ στο μεσαίο έντερο (**Εικ. 8β**) και στην συνέχεια αυξάνονται σημαντικά σε αριθμό (**Εικ. 8γ**).

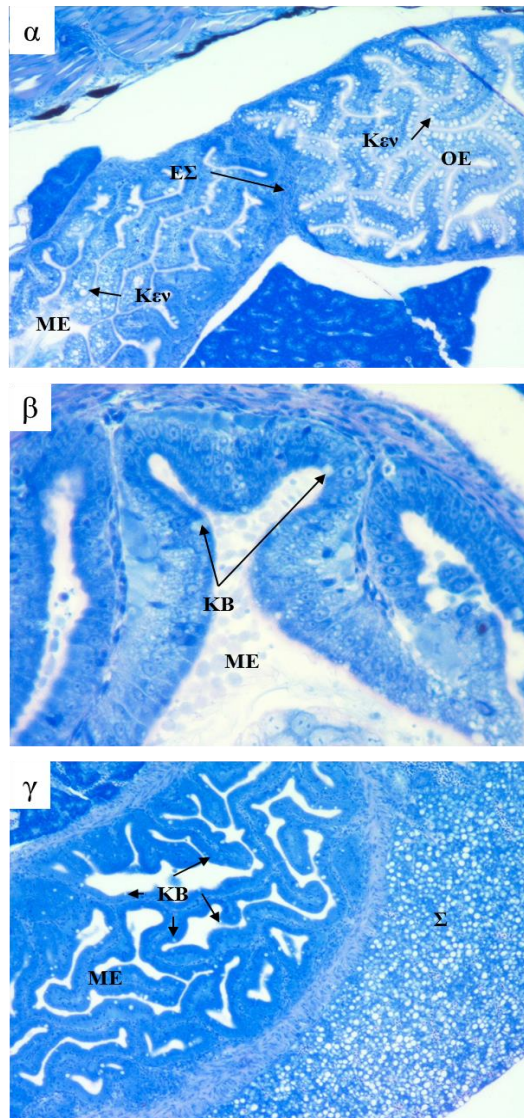


**Εικόνα 7.** Τομές από νύμφη μαγιάτικου: α) 4<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στις λάχνες του εντέρου, β) 4<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στις ενδοκυτταρικές εναποθέσεις στο οπίσθιο έντερο, γ) 18<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στις ενδοκυτταρικές εναποθέσεις στο οπίσθιο έντερο. Αυγό Rot = αυγό από ρότιφερ, Κεν = ενδοκυτταρικές





εναποθέσεις λίπους, ΜΕ = μεσαίο έντερο, ΟΕ = οπίσθιο έντερο, Π = πάγκρεας, ΕΣ = εντερικός σφικτήρας, ΕΛ = λάχνες εντέρου.



**Εικόνα 8.** Τομές από νύμφη μαγιάτικου: α) 18<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στις ενδοκυτταρικές εναποθέσεις στο οπίσθιο τμήμα του μεσαίου εντέρου, β) 15<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στα κύτταρα παραγωγής βλέννας στο μεσαίο έντερο, γ) 18<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στα κύτταρα παραγωγής βλέννας στο πρόσθιο τμήμα του μεσαίου εντέρου. Κεν = ενδοκυτταρικές εναποθέσεις, ΜΕ = μεσαίο έντερο, ΕΣ = εντερικός σφικτήρας, ΟΕ = οπίσθιο έντερο, Π = πάγκρεας, Σ = συκώτι, ΚΒ = κύτταρα παραγωγής βλέννας.

### Πυλωρικά τυφλά

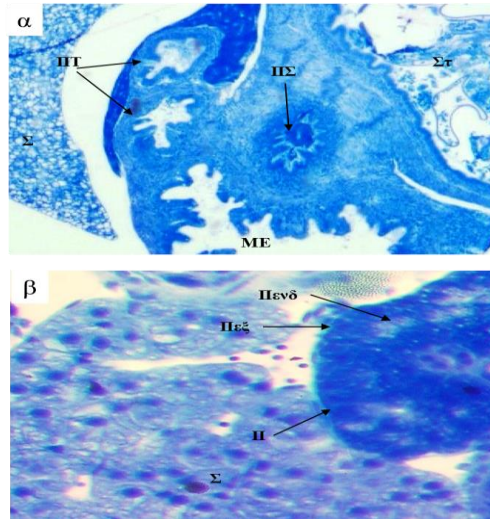
Στο μαγιάτικο τα πυλωρικά τυφλά εμφανίστηκαν την 22<sup>η</sup> ΗΜΕ (Εικ. 9α), αυξάνοντας αναλογικά από αυτό το χρονικό διάστημα κι έπειτα την απορροφητική επιφάνεια του εντέρου.

### Βοηθητικοί αδένες

Η διαφοροποίηση του παγκρέατος στην ενδοκρινή και την εξωκρινή μοίρα την 3<sup>η</sup> ΗΜΕ στο μαγιάτικο σηματοδοτεί την πρώιμη ωρίμανση του παραπάνω ιστού που συνδέεται και με την έναρξη της ενζυμικής



λειτουργίας του (**Εικ. 9β**). Το συκώτι αρχίζει να οργανώνεται από την 2<sup>η</sup> ΗΜΕ στο μαγιάτικο. Αρχικά υπάρχει γλυκογόνο αλλά στην συνέχεια εναποτίθεται λίπος σε αυτό, του οποίου η ποσοτική μεταβολή αναλύεται με λεπτομέρεια παρακάτω.



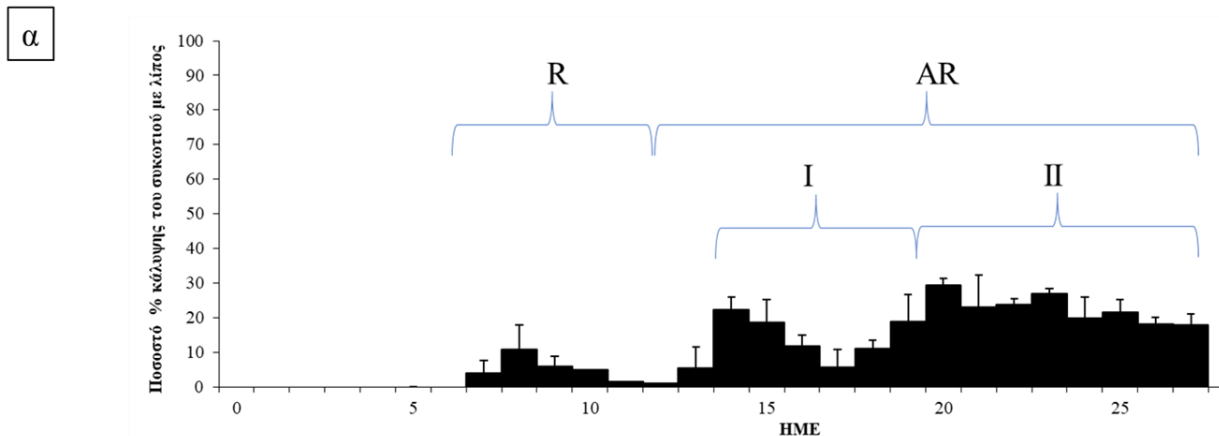
**Εικόνα 9.** Τομές από νύμφες μαγιάτικου: α) 22<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στα πυλωρικά τυφλά, β) 3<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στο συκώτι και το πάγκρεας. ΜΕ = μεσαίο έντερο, Πεξ = εξωκρινή μοίρα του παγκρέατος, Πεν = ενδοκρινής μοίρα του παγκρέατος, Π = πάγκρεας, ΠΣ = πυλωρικός σφικτήρας, ΠΤ = πυλωρικά τυφλά, Σ = συκώτι, Στ = στομάχι.

### Ποσοστό κάλυψης του συκωτιού με λίπος και στομαχικά περιεχόμενα.

Η μελέτη έδειξε ότι το ποσοστό λίπους στο συκώτι των νυμφών του μαγιάτικου μεταβλήθηκε στην πορεία του χρόνου εκτροφής (**Εικ. 10α, β**). Σε γενικές γραμμές το βασικό χαρακτηριστικό ήταν ότι κατά την διάρκεια της χορήγησης των ρότιφερ ως μοναδικό συστατικό του πρωτοκόλλου εκτροφής, το λίπος στο συκώτι παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα κάτω του 10%. Από την στιγμή που έγινε χορήγηση της αρτέμιας το ποσοστό του λίπους αμέσως αυξήθηκε. Βάσει των παραπάνω αποτελεσμάτων ορίζουμε ως περίοδο **R** την περίοδο που έγινε αποκλειστική χορήγηση ρότιφερ διάρκειας 12 ημερών και **AR** την περίοδο όπου συμπεριλήφθηκε και η χορήγηση αρτέμιας στο πρωτόκολλο, η οποία περίοδος διαρκεί από το τέλος της **R** έως το τέλος της εκτροφής. Κατά την περίοδο που διατρεφόταν αποκλειστικά με ρότιφερ (περίοδος **R**) έως και την 12<sup>η</sup> ΗΜΕ στην εκτροφή το συκώτι παρουσίασε χαμηλές τιμές λίπους. Μετά την 13<sup>η</sup> ΗΜΕ παρατηρήθηκε αύξηση της μεταβολής του ποσοστού του λίπους στο συκώτι (**Εικ. 11α**). Την 12<sup>η</sup> ΗΜΕ ημέρα έγινε η αρχική χορήγηση αρτέμιας η οποία εμφανίστηκε αμέσως στα στομαχικά περιεχόμενα μαζί με τα ρότιφερ που εμπειρίεζε το πρωτόκολλο, αλλά επίσης εντοπίστηκαν και αυγά ρότιφερ που είχε καταναλώσει η νύμφη (**Εικ. 11β**). Την δεύτερη ημέρα χορήγησης της αρτέμιας (13<sup>η</sup> ΗΜΕ) το λίπος αυξήθηκε στις νύμφες που είχαν καταναλώσει από την 12<sup>η</sup> ημέρα αρτέμια, ενώ δεν αυξήθηκαν οι τιμές σε εκείνες που συνέχιζαν να καταναλώνουν αποκλειστικά ρότιφερ. Από την 15<sup>η</sup> ΗΜΕ έως και την 20<sup>η</sup> ΗΜΕ παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στις τιμές του λίπους στο συκώτι και για τον λόγο αυτό η περίοδος **AR** υποδιαιρέθηκε σε δυο περιόδους, ώστε να γίνει αναλυτικότερη η παρουσίαση της. Αρχικά από την 15<sup>η</sup> ΗΜΕ έως και την 20<sup>η</sup> ΗΜΕ (περίοδος **I**) παρατηρήθηκε μια απότομη μείωση του λίπους έως και την 17<sup>η</sup> ΗΜΕ και στην συνέχεια μια αύξηση έως την 20<sup>η</sup> ΗΜΕ. Κατά την 15<sup>η</sup> ΗΜΕ το ποσοστό του λίπους ήταν πάνω από 20% (**Εικ. 12α**) και οι νύμφες φάνηκε να καταναλώνουν την αρτέμια (**Εικ. 12β**). Από την 15<sup>η</sup> ΗΜΕ και έως την 17<sup>η</sup> παρατηρήθηκε μια απότομη μείωση του ποσοστού του λίπους (**Εικ. 12γ**), οι νύμφες να είχαν διογκωμένη νηκτική κύστη και μέσα στα στομαχικά τους περιεχόμενα παρατηρήθηκαν είτε μικρού μεγέθους αντικείμενα όπως αυγά ρότιφερ (**Εικ. 12δ**), είτε μικρές ποσότητες αρτέμιας (**Εικ. 12ε, ζ**). Μετά την 17<sup>η</sup> ΗΜΕ το λίπος στο συκώτι αυξήθηκε πάλι



φτάνοντας έως και το 30% την 20<sup>η</sup> ΗΜΕ. Μετά την 21<sup>η</sup> ΗΜΕ οι νύμφες εισήρθαν στην δεύτερη υποπερίοδο (περίοδος II) της περιόδου AR με το λίπος να διατηρείται κοντά στο 20%. Η διατροφική προτίμηση των νυμφών παρέμεινε να είναι αποκλειστικά η αρτέμια και να μην καταναλώνουν βιομηχανική τροφή.



β

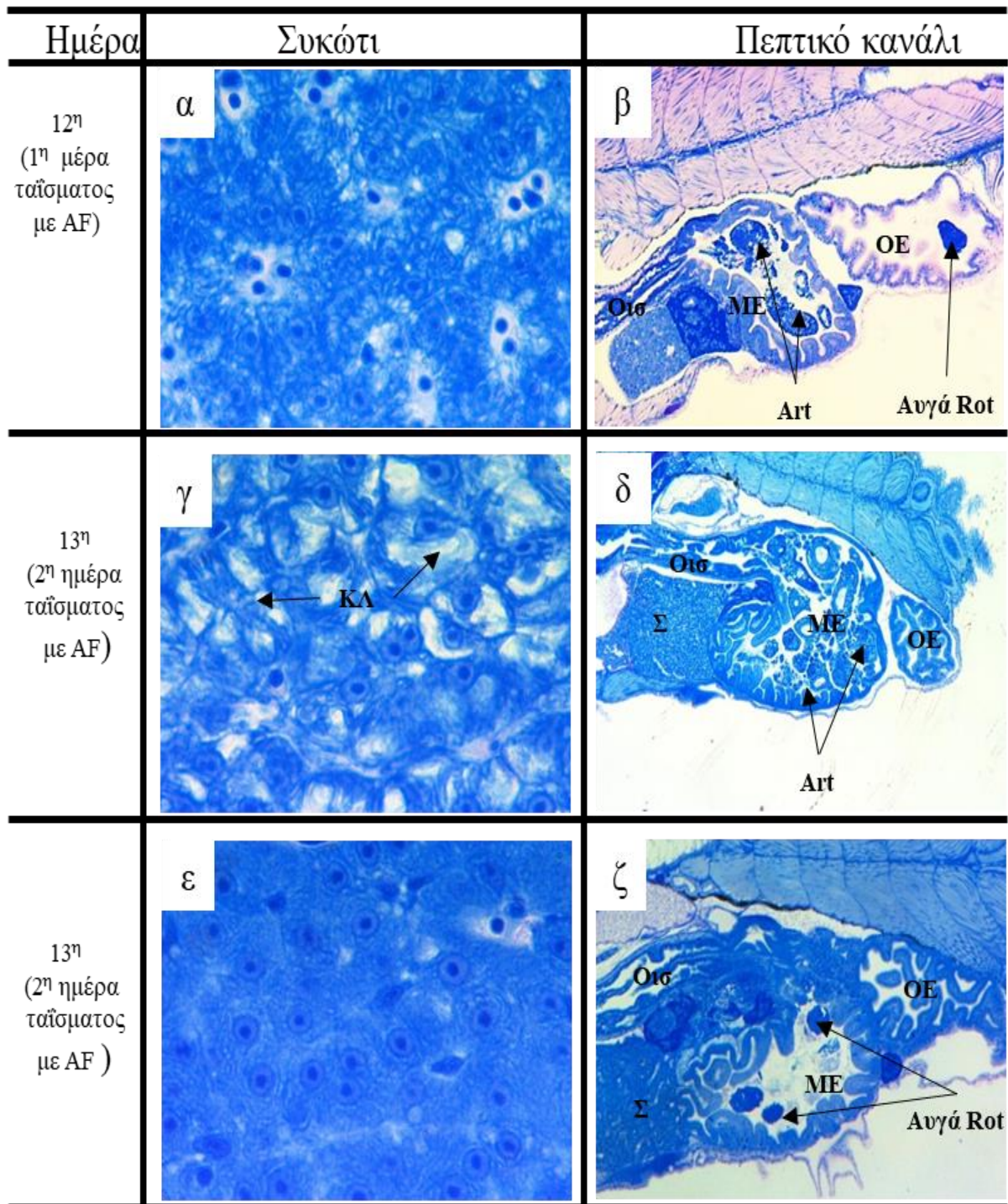
Ημέρες	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Θερμοκρασία	26,0	24,4	24,5	24,2	23,5	24	24,2	24,5	25,0	24,5	25,0	25,0	27,0	25,5	24,0	22,5	24,5	23,0	25,5	26,3	25,6	25,2	20,8	20,6	22,0	23,0	23,0	23,0
Rot								X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
AF														X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
EG																									X	X	X	X
Επρή τροφή																												
Μήκος (mm)						4	4,3	4,7	4,7	5	5,2	5,3	5,8	6	6,2	7,6	8	9	9,3	9,5	10,1	10,3	10,3	10,4	10,6	10,8	11,3	11,7
Βαθμομέρες	26	50,4	74,9	99,1	123	147	171	195	220	245	270	295	322	347	371	394	418	441	467	493	519	544	565	585	607	630	653	676

**Εικόνα 10.** Εξέλιξη της μεταβολής του λίπους στο σπυκτί στην εκτροφή. Επισυνάπτεται ο πίνακας του πρωτοκόλλου εκτροφής και συσχετίζεται με την διατροφική προτίμηση του είδους. Κάθε στοιχείο τροφής που χρησιμοποιήθηκε αναγράφεται και με διαφορετικό χρώμα. Με X επισημαίνεται η ημέρα όπου εντοπίστηκε στο στομαχικό περιεχόμενο το αντίστοιχο στοιχείο από το πρωτόκολλο εκτροφής. Επίσης παρατίθεται για κάθε εκτροφή η εξέλιξη της θερμοκρασίας, το μήκος των νυμφών και οι βαθμομέρες της εκτροφής. Με R ορίζεται η περίοδος που οι νύμφες και στις δύο εκτροφές καταλάωναν ρότιφερ ως μοναδική τροφή και AR η περίοδος που εισέρχεται στο πρωτόκολλο η αρτέμια. Με I ορίζεται ως η πρώτη υποδιαίρεση της AR περιόδου της A3 εκτροφής και II η δεύτερη υποδιαίρεση της ίδια περιόδου.

## Β) Οντογένεση ματιού

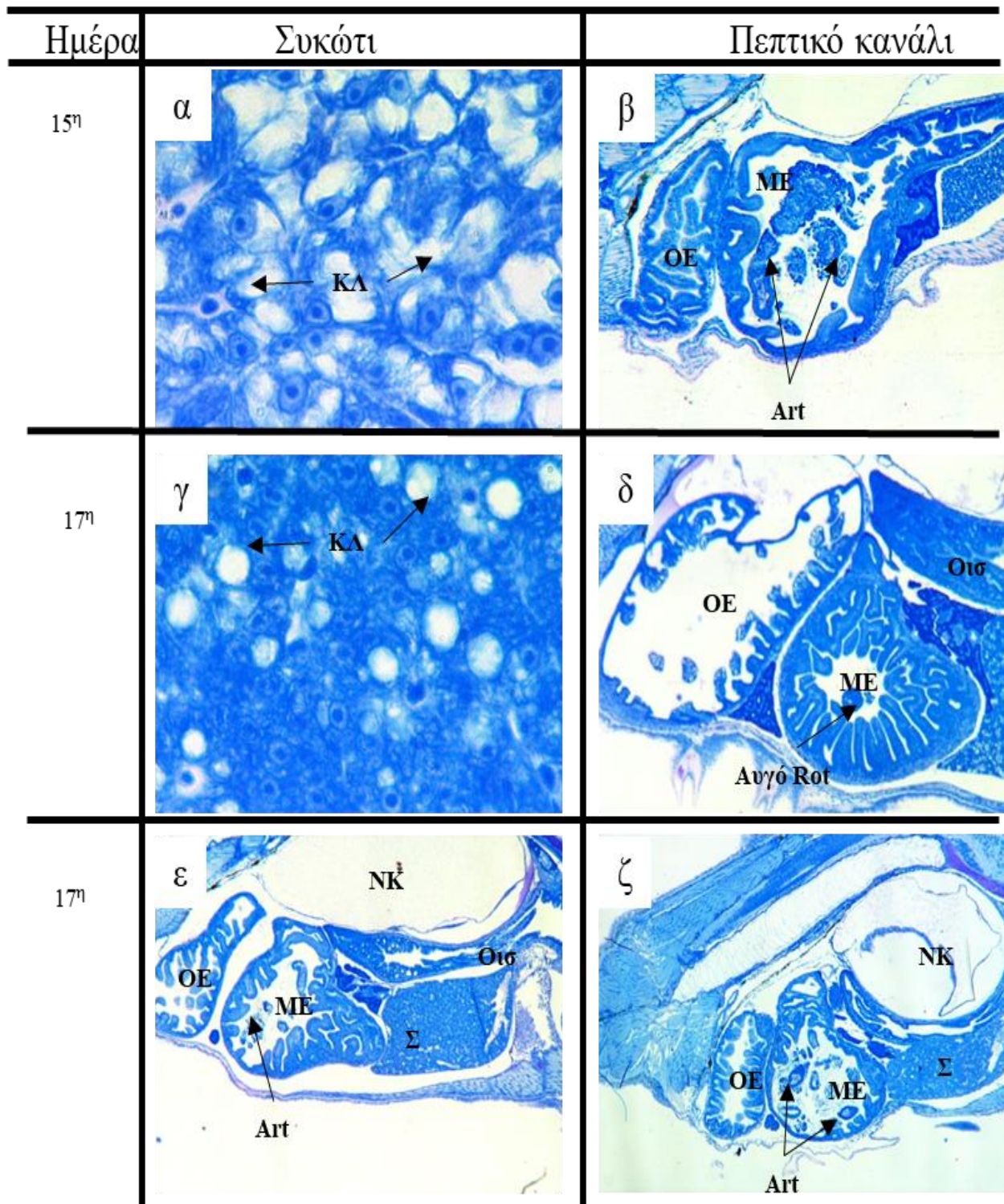
Στο μαγιάτικο την ημέρα της εκκόλασης οι διάφορες δομές του ματιού είναι αδιαμόρφωτες. Η πρώτη διαφοροποίηση είναι ορατή αμέσως μετά την 1<sup>η</sup> ΗΜΕ ημέρα (**Εικ. 13α**) όπου για πρώτη φορά έγινε η εμφάνιση των διαφόρων στοιβάδων του αμφιβληστροειδή. Από την 3<sup>η</sup> ΗΜΕ τα κωνία ήταν πλήρως διακριτά καθώς και οι υπόλοιπες χαρακτηριστικές στοιβάδες που αποτελούν τον αμφιβληστροειδή (**Εικ. 13β**). Τα κωνία είναι υπεύθυνα για την όραση στην περίπτωση που υπάρχει επαρκής φωτισμός. Την ημέρα αυτή εμφανίζεται και το μελάγχρουν επιθήλιο, το οποίο μαζί με τα υπόλοιπα στοιχεία του αμφιβληστροειδή που διαμορφώθηκαν έως αυτήν την ημέρα, σηματοδοτεί την ετοιμότητα του ματιού των νυμφών να διακρίνει αντικείμενα όταν υπάρχει επαρκής φωτισμός στο περιβάλλον εκτροφής. Μεταξύ της 13<sup>ης</sup> και 14<sup>ης</sup> ΗΜΕ ένα δεύτερος πληθυσμός από περισσότερο σκουρόχρωμους πυρήνες, αυτών των πρόδρομων πυρήνων των ραβδίων (**Εικ. 13γ**), γίνεται διακριτός στην εξωτερική κοκκάδη στοιβάδα κάτω από του πυρήνες των κωνίων, οι οποίοι πληθαίνουν με την πάροδο του χρόνου (**Εικ. 13α**). Τα ραβδία είναι υπεύθυνα για την όραση κάτω από χαμηλές εντάσεις φωτός.



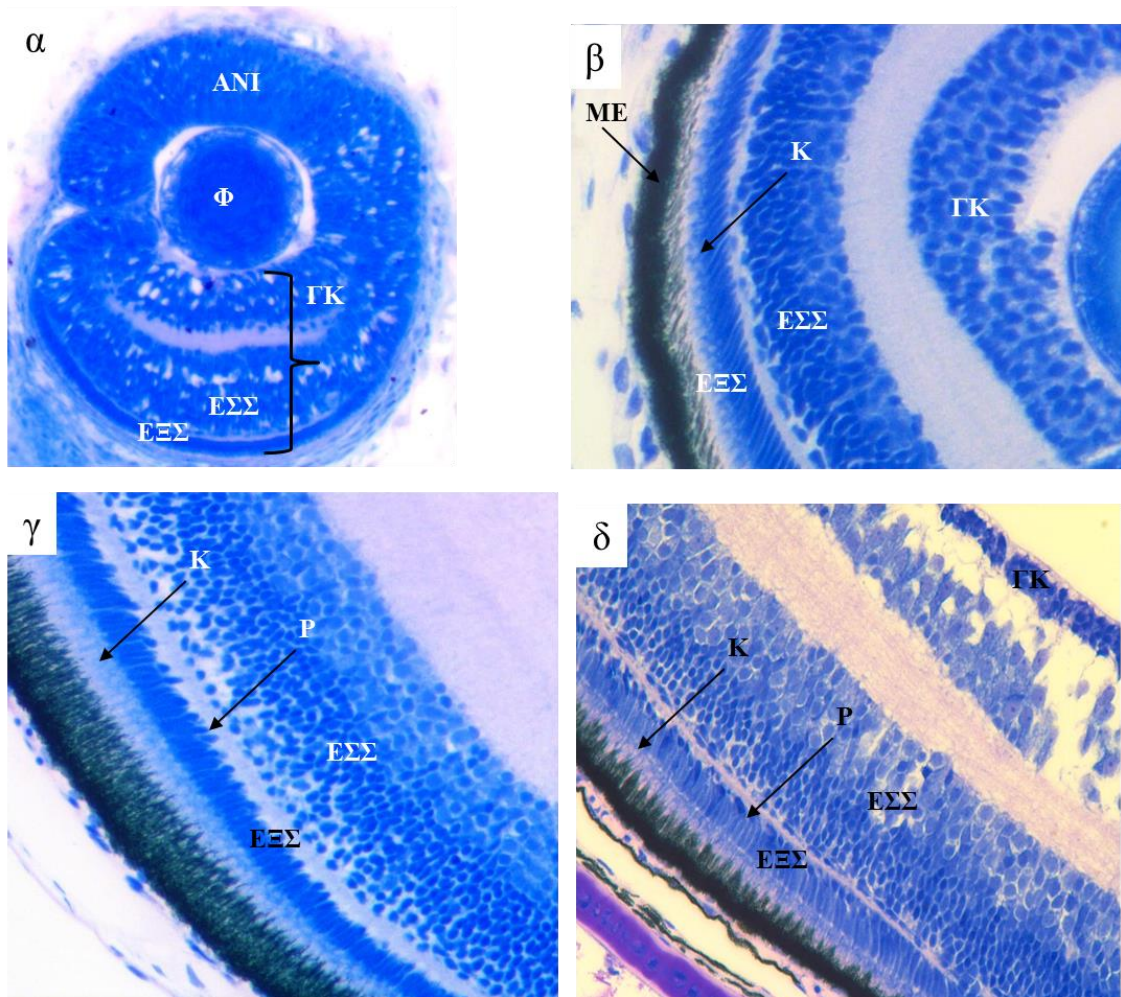


**Εικόνα 11.** Αντιστοίχιση ιστού συκωτιού από ιστολογικές τομές με ευρήματα στο πεπτικό κανάλι νυμφών μαγιάτικου σε επιλεγμένες μέρες εκτροφής για την εκτροφή A3 (12<sup>η</sup> και 13<sup>η</sup>). Αυγά Rot = αυγά ρότιφερ, Art = αρτέμια, ΚΛ = κενοτόπιο λίπους, ME = μεσαίο έντερο, OE = οπίσθιο έντερο, Oισ = οισοφάγος, Σ = συκώτι.





**Εικόνα 12.** Αντιστοίχιση ιστού συκωτιού από ιστολογικές τομές με ευρήματα στο πεπτικό κανάλι νυμφών μαγιάτικου σε επιλεγμένες μέρες εκτροφής για την εκτροφή A3 (15<sup>η</sup> και 17<sup>η</sup>). Αυγά Rot = αυγά ρότιφερ, Art = Αρτέμια, ΚΛ = κενοτόπιο λίπους, ΜΕ = μεσαίο έντερο, ΝΚ = νηκτική κύστη, ΟΕ = οπίσθιο έντερο, Οισ = οισοφάγος, Σ = συκώτι.



**Εικόνα 13.** Εικόνες με τομές από μάτι νυμφών μαγιάτικου: α) 1<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στην παρουσίαση της έναρξης της διαφοροποίησης του αμφιβληστροειδή, β) 3<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στην παρουσίαση της πλήρης διαφοροποίησης του αμφιβληστροειδούς και στην παρουσίαση του μελάγχρου επιθήλιου, γ) 14<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στην παρουσίαση των πρώτων ραβδίων στον αμφιβληστροειδή και δ) 23<sup>η</sup> ΗΜΕ που εστιάζεται στην παρουσίαση της πλήρης διαμόρφωσης του αμφιβληστροειδή. ANI = αδιαφοροποίητος νευρικός ιστός, ΓΚ = γαγγλιακά κύτταρα, ΕΣΣ = εσωτερική κοκκώδης στοιβάδα, ΕΞΣ = εξωτερική κοκκώδης στοιβάδα, Κ = κωνία, ΜΕ = μελάγχρου επιθήλιο, Ρ = ραβδία, Φ = φακός.

### Εξέλιξη του αριθμού των κωνίων και των ραβδίων του αμφιβληστροειδή των νυμφών του μαγιάτικου στην πορεία του χρόνου.

Η εξέλιξη του αριθμού των κωνίων δεν διαφοροποιήθηκε ιδιαίτερα στην πορεία του χρόνου εκτροφής (Εικ. 14α). Αντιθέτως τα ραβδία παρουσίασαν σημαντική αύξηση από την στιγμή της εμφάνισής τους, της τάξεως του 7 με 8% ανά ημέρα εκτροφής (Εικ. 14β).

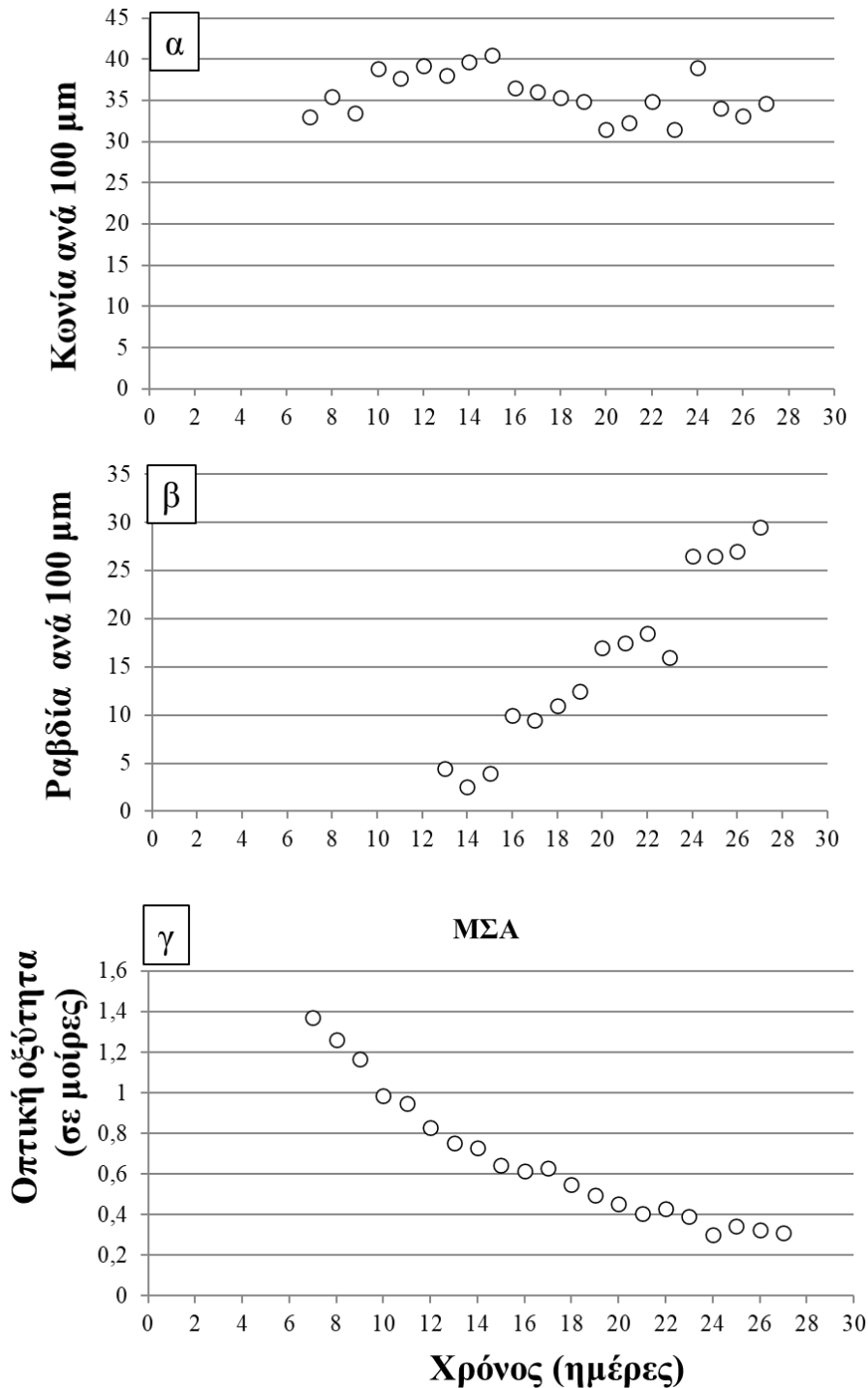
### Εξέλιξη οπτικής οξύτητας και απόστασης διάκρισης αντικειμένων μεγέθους όσο τα ρότιφερ και η αρτέμια.

Τα αποτελέσματα των τιμών της οπτικής οξύτητας στην πορεία του χρόνου έδειξαν ότι η οπτική οξύτητα αυξάνεται στην πορεία του χρόνου αφού οι τιμές της μειώνονται (Εικ. 14γ). Δηλαδή η γωνία με την οποία ένα αντικείμενο προβάλλεται στο μάτι των νυμφών του μαγιάτικου μειώνεται με την πάροδο του χρόνου.

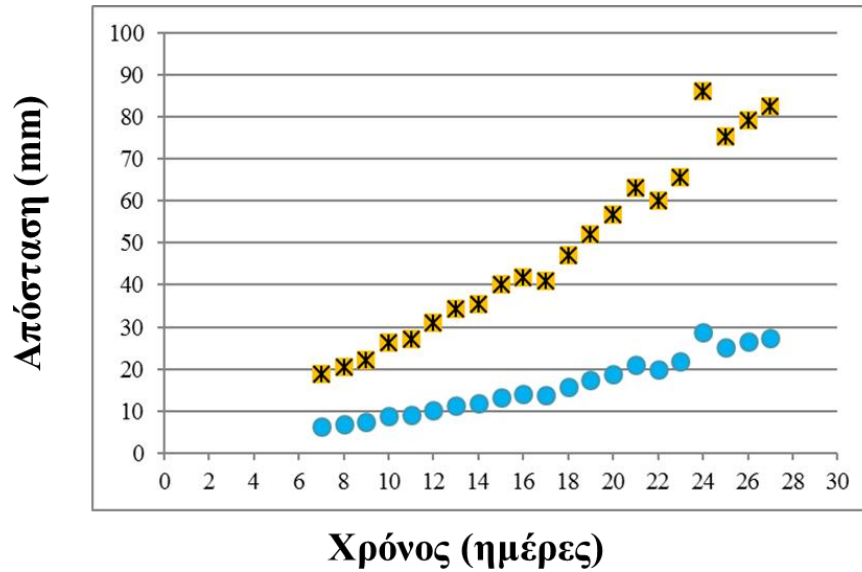




Αυτό είχε ως η εκτιμώμενη απόσταση αντίληψης αντικειμένων μεγέθους όσο είναι το μέγεθος των ρότιφερ και της αρτέμιας να αυξάνεται (Εικ. 15).



**Εικόνα 14.** Εξέλιξη στην πορεία του χρόνου της εκτροφής του αριθμού των α) κωνίων, β) ραβδίων και γ) οπτικής οξύτητας.



**Εικόνα 15.** Εξέλιξη στην πορεία του χρόνου της απόστασης αντίληψης αντικείμενων 150 μm (παρόμοιου μεγέθους όπως το ρότιφερ, μπλε κύκλος) και 450 μm (παρόμοιου μεγέθους όπως η αρτέμια, πορτοκαλί τετράγωνο).

#### Συζήτηση – προτάσεις για την βελτιστοποίηση του πρωτοκόλλου νυμφικής εκτροφής του μαγιάτικου.

Στο διάστημα μεταξύ 25<sup>ης</sup> και 27<sup>ης</sup> ημέρας οι νύμφες έφτασαν σε ένα συνολικό μήκος μεταξύ 11 - 12 mm. Η οντογένεση του πεπτικού συστήματος και του ματιού του μαγιάτικου όπως φάνηκε είναι μια γρήγορη διαδικασία ή οποία ολοκληρώθηκε την 22<sup>η</sup> ΗΜΕ (10 mm) και 13<sup>η</sup> ΗΜΕ (6 mm) αντίστοιχα. Πρέπει να επισημανθεί ότι οι ρυθμοί οντογένεσης είναι γενετικά προγραμματισμένοι να συμβούν (άρα εξαρτάται από το είδος) κάτω από την επίδραση ορισμένης θερμοκρασίας (άρα ο ρυθμός οντογένεσης εξαρτάται και από την θερμοκρασία) και κάθε οντογενετικό γεγονός εμφανίζεται σε συγκεκριμένο μέγεθος νύμφης.

Κατά την περίοδο όπου οι νύμφες διατρέφονταν αποκλειστικά με ρότιφερ φάνηκε ότι τα καταλάωναν με ιδιαίτερο ικανοποιητικό ρυθμό, αφού από την πρώτη κιόλας μέρα χορήγησης τους εντοπιστήκαν στο πεπτικό κανάλι. Το ποσοστό του λίπους στο συκώτι αυτήν την περίοδο δεν αυξήθηκε σημαντικά, αλλά παρέμεινε σε χαμηλά ποσοστά. Το παραπάνω όμως υποδηλώνει ότι οι νύμφες ναι μεν υπέφεραν διατροφικά αυτήν την περίοδο, αλλά όχι σε βαθμό υποσιτισμού ώστε να είναι αιτία θνησιμοτήτων. Αν υπήρχε έντονη διατροφική καταπόνηση και σε άλλες δομές του πεπτικού συστήματος που μεταβάλλονται σε καταστάσεις ασιτίας, όπως οι λάχνες του εντερικού επιθηλίου, που η έντονη διατροφική καταπόνηση προκαλεί μείωση του μεγέθους τους, θα παρατηρούσαν μεταβολές κάτι όμως που δεν παρατηρήθηκε. Επιπρόσθετα μαζί με τα ρότιφερ εντοπίστηκαν και τα αυγά τους μέσα στο πεπτικό κανάλι. Τα αποτελέσματα της όρασης υποδεικνύουν ότι το μαγιάτικο είναι ένα είδος με πολύ ανεπτυγμένη την ημερήσια όραση του κατά τα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια. Παρουσιάζει όπως φάνηκε πολύ καλή οπτική ικανότητα αφού από πολύ νωρίς μπορεί να διακρίνει αντικείμενα μεγέθους όσο ένα ρότιφερ από απόσταση κοντά στα 8 mm. Τα 8 mm του οπτικού πεδίου της νύμφης του μαγιάτικου είναι μεγαλύτερη απόσταση από την ακτίνα του 1 ml νερού εκτροφής που είναι περίπου 6,2 mm. Για τον παραπάνω λόγο, δηλαδή της μεγάλης οπτικής οξύτητας που διαθέτουν οι νύμφες του μαγιάτικου, μπορούσαν και αντιλαμβάνονταν και τα πολύ μικρότερα αντικείμενα όπως τα αυγά των ρότιφερ. Τα αυγά των ρότιφερ λόγω του ότι είναι πιο σκουρόχρωμα από τα ρότιφερ είχαν μεγαλύτερη αντίθεση χρωματισμού σε σχέση με τα ρότιφερ που δεν έφεραν αυγά. Έτσι τα ρότιφερ που έφεραν μαζί τους αυγά ή τα διάσπαρτα ελεύθερα αυγά των ρότιφερ μέσα στο περιβάλλον εκτροφής, προκαλούσαν μια ιδιαίτερη εντύπωση στην νύμφη του ψαριού με αποτέλεσμα να γίνονται οπτικά ελκυστικότερα και οι νύμφες να δείχνουν ιδιαίτερη προτίμηση προς αυτά. Όμως από ένα ρότιφερ που μεταφέρει αυγά ένα πολύ μεγάλο ποσοστό αυτής της τροφής δεν θα αξιοποιηθεί αφού παρατηρήθηκαν να περνούν άπεπτα από το πεπτικό κανάλι. Εκτιμάται ότι περίπου στο 25% αν έχει ένα αυγό ή στο 40% περίπου αν έχει 2 αυγά της συνολικής βιομάζας του ρότιφερ





που καταναλώθηκε δεν θα γίνει πέψη και αυτό διότι σε όλες τις περιπτώσεις τα αυγά παρουσιάστηκαν να περνούν άπεπτα από τον πεπτικό σωλήνα, γεγονός που σημαίνει ότι στο πεπτικό κανάλι γίνεται μόνο αξιοποίηση του σώματος του ρότιφερ και όχι των αυγών που μεταφέρουν. Παρόλα αυτά καλλιέργεια που εμπεριέχει ρότιφερ με αυγά υποδηλώνει μια δυναμική καλλιέργεια και εύρωστα ρότιφερ. Συνεπώς, επειδή δεν μπορεί να απομακρυνθούν τα αυγά των ρότιφερ από την εκτροφή η επέμβαση που προτείνεται στο διατροφικό πρωτόκολλο του μαγιάτικου κατά την περίοδο που διατρέφονται αποκλειστικά με τα ρότιφερ αφορά την διαφοροποίηση της διαχείρισης των ταϊσμάτων και συγκεκριμένα στην αύξηση της συχνότητάς τους ώστε να γίνεται καλύτερη αξιοποίηση των θρεπτικών στοιχείων που μεταφέρονται στις νύμφες.

Η δεύτερη περίοδος όπου παρατηρήθηκε μείωση στο λίπος στο συκώτι των νυμφών του μαγιάτικου εμφανίστηκε μετά την 15<sup>η</sup> ημέρα εκτροφής (περίοδος I) και είχε διάρκεια 2 ημέρες. Ταυτόχρονα παρατηρήθηκε διόγκωση της νηκτικής κύστης στις νύμφες του μαγιάτικου. Το παραπάνω γεγονός συνδέεται άμεσα με την απότομη μείωση της θερμοκρασίας που τυχαία συνέβη στο σύστημα εκτροφής. Δύο είναι τα κύρια συμπεράσματα από το παραπάνω γεγονός. Πρώτον ότι η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε μπορεί με μεγάλη ακρίβεια να υποδείξει καταστάσεις καταπόνησης που προέρχονται και από μεταβολή των περιβαλλοντικών συνθηκών. Η απότομη μεταβολή θερμοκρασίας κατά 1,5 με 2°C φάνηκε ότι δημιούργησε συνθήκες καταπόνησης για τις νύμφες του μαγιάτικου οι οποίες αντέδρασαν με απότομη διόγκωση της νηκτικής κύστης. Δεύτερο σημαντικό συμπέρασμα από το παραπάνω γεγονός είναι ότι απαιτείται σταθερότητα στις συνθήκες εκτροφής και οποιοδήποτε απότομη αλλαγή σε αυτές μπορεί να προκαλέσει καταπόνηση του μαγιάτικου η οποία μπορεί να οδηγήσει σε υψηλές θνησιμότητες.

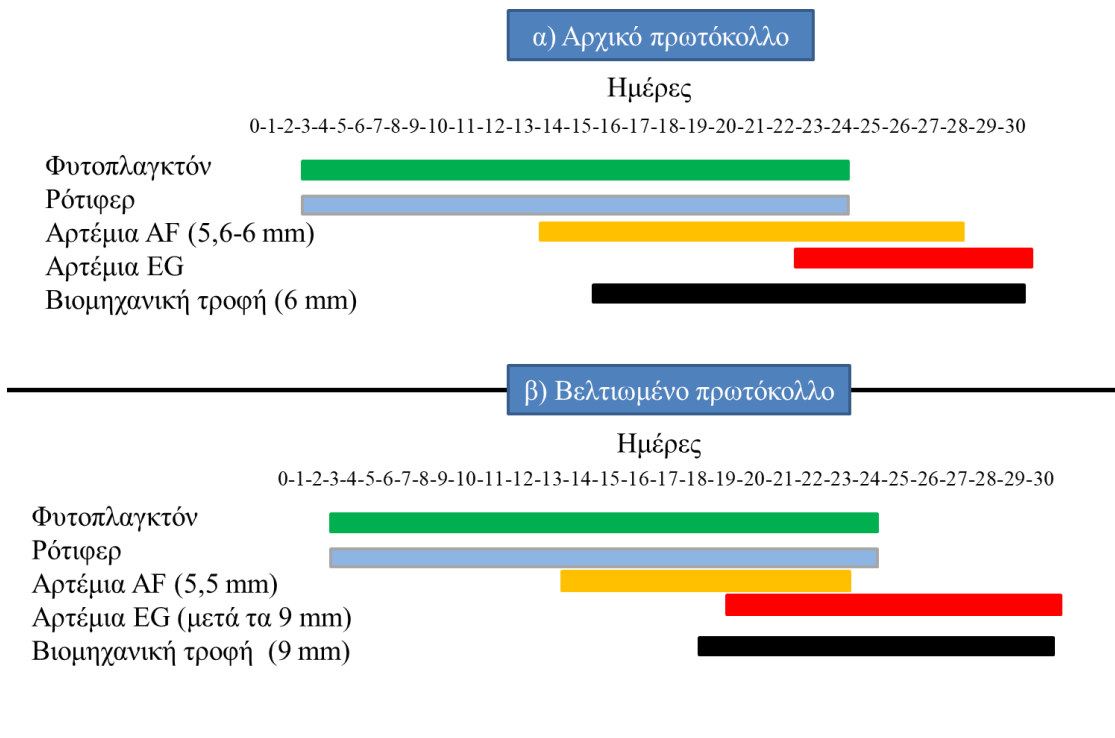
Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το μέγεθος στο οποίο αρχίζουν να δημιουργούνται οι γαστρικοί αδένες είναι μεταξύ του 5,7 και 6,0 mm. Φάνηκε ότι η έναρξη χορήγησης της αρτέμιας AF μπορεί να γίνει με ασφάλεια σε αυτό το μέγεθος. Το παραπάνω αποδεικνύεται από το γεγονός ότι, από την στιγμή που δόθηκε η αρτέμια AF αμέσως καταναλώθηκε και από την επόμενη κιόλας μέρα άρχισε να αξιοποιείται από τον οργανισμό, αφού ξεκάθαρα οι νύμφες οι οποίες κατανάλωσαν αρτέμια AF αύξησαν το ποσοστό του λίπους στο συκώτι τους. Επίσης δεν παρατηρήθηκε σε κανένα δείγμα που μελετήθηκε και σε καμιά μέρα εκτροφής να υπάρχει άπεπτη αρτέμια ή τμήματα αρτέμιας στο τελευταίο τμήμα του πεπτικού καναλιού. Συνεπώς ο συγχρονισμός της χορήγησης της αρτέμιας AF και της εμφάνισης των γαστρικών αδένων φαίνεται να βοηθά στην μέγιστη αξιοποίηση της χορηγούμενης τροφής. Η δημιουργία στο στομάχι των γαστρικών αδένων είναι η πρώτη ένδειξη ότι από μορφολογικής άποψης το στομάχι είναι λειτουργικά έτοιμο ώστε για να συνεισφέρει στην εξωκυτταρική πέψη της τροφής με την έκκριση υδροχλωρικού οξέος και ένζυμων, κυρίως πεψίνης (Zaiss, *et al.*, 2006). Όμως, η εμφάνιση των γαστρικών αδένων πολλές φορές δεν σηματοδοτεί και την έναρξη της λειτουργίας τους, η οποία μπορεί να καθυστερήσει κάποιες ημέρες. Για παράδειγμα, στον σαργό *Diplodus sargus* αν και οι γαστρικοί αδένες εμφανίζονται την 20<sup>η</sup> ημέρα (Cara, *et al.*, 2003) το στομάχι είναι πλήρως λειτουργικό μετά την 30<sup>η</sup> ημέρα (Ortiz-Delgado, *et al.*, 2003). Η χρήση της αρτέμιας AF ως αρχικός τύπος αρτέμιας την χρονική στιγμή που χρησιμοποιήθηκε, έδειξε ικανοποιητικά αποτελέσματα όσον αφορά στην αφομοίωση και στην αξιοποίησή της. Προτείνεται η χρήση αποκλειστικά της AF για 4-5 ημέρες και εν συνεχεία να γίνεται μίξη με EG, η οποία θα πρέπει να εισάγεται σταδιακά έως ότου αντικαταστήσει πλήρως την AF. Αυτός ο συνδυασμός φαίνεται ότι είναι ο καλύτερος για την μετάβαση στην μεγάλη μεγέθους αρτέμια EG.

Το γεγονός ότι δεν παρουσιάστηκε βιομηχανική τροφή στα στομαχικά περιεχόμενα υποδεικνύει την μετάβαση της χορήγησης της σε μετέπειτα στάδιο της εκτροφής. Μπορεί να γίνει έναρξη της χορήγησης της βιομηχανικής τροφής ταυτόχρονα με την χορήγησης της μεγάλης μεγέθους αρτέμιας EG σε μέγεθος 9 mm. Οντογενετικά η έναρξη της χορήγησης της βιομηχανικής τροφής συνδυάζεται με την έναρξη της διαφοροποίησης σχήματος του στομαχιού σε μορφή Y αφού η διαμόρφωση του στομαχιού σε Y-σχήμα και η παρουσία των γαστρικών αδένων, αποτελούν ένα καθοριστικό σημείο μορφολογικής διαφοροποίησης του πεπτικού συστήματος που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για την διαδικασία έναρξης της αποκοπής από την ζωντανή τροφή και την μετάβαση στην ξηρού τύπου τροφή (Segner, *et al.*, 1993; Verreth, *et al.*, 1992).

Οι συνθήκες φωτισμού και η εναρμόνισή τους με τις οπτικές απαιτήσεις του μαγιάτικου, στο περιβάλλον νυμφικής εκτροφής του είναι μια παράμετρος που πραγματικά απαιτεί σημαντική μελέτη. Βάσει των αποτελεσμάτων φάνηκε ότι το μαγιάτικο είναι ένα είδος που αναπτύσσει ιδιαίτερη οπτική οξύτητα κατά τα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια. Συνεπώς η παρουσία φωτισμού κρίνεται απαραίτητη κατά την νυμφική



εκτροφή. Σύμφωνα με την ανάπτυξη του ματιού των νυμφών του μαγιάτικου το μαγιάτικο είναι ένα είδος που παρουσιάζει από νωρίς πολύ καλή οπτική οξύτητα. Άρα η όραση σε αυτό το είδος όπως και στα περισσότερα πελαγικά είδη είναι η βασική αίσθηση για την εξεύρεση της τροφής. Η ποσότητα όμως και η ποιότητα του φωτός είναι όμως ακόμα προς διερεύνηση. Η εμφάνιση των ραβδίων υποδηλώνει την ικανότητα του είδους να μπορεί να διακρίνει κάτω από χαμηλές εντάσεις φωτός. Η αρχική εμφάνιση των ραβδίων πραγματοποιήθηκε όταν οι νύμφες έφτασαν ένα μήκος της τάξεως των 5,5 mm. Προτείνεται έως την ημέρα εμφάνισης των ραβδίων να υπάρχει συνεχής φωτισμός. Στην συνέχεια να υπάρχει φωτοπερίοδος 16 ώρες με φως και 8 ώρες σκοτεινή φάση. Ο ρυθμός της μείωσης του φωτός κατά την σκοτεινή φάση προτείνεται να είναι ανάλογος της αύξησης των ραβδίων δηλαδή 7-8 % ανά ημέρα εκτροφής από την ημέρα εμφάνισης τους. Παρακάτω παρουσιάζεται στην **Εικ. 16** η πρόταση για το βελτιωμένο πρωτόκολλο εκτροφής.

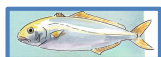


**Εικόνα 16.** Παρουσίαση α) του αρχικού πρωτοκόλλου εκτροφής που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία και β) πρόταση για βελτιωμένο πρωτόκολλο νυμφικής εκτροφής.

**Διαφοροποιήσεις από ΤΠΕ:** Καμία διαφοροποίηση

### Βιβλιογραφία

- Bennett, H.S., Wyrick, A.D., Lee, S.W., McNeil, J.H., 1976. Science and art in preparing tissues embedded in plastic for light microscopy, with special reference to glycol methacrylate, glass knives, and simple stains. *Stain Technology*. 51, 71-94.
- Bond, C.E., 1996. *Biology of Fishes*, 2nd Edition. Saunders College Publishing, Philadelphia, PA.
- Cara, J.B., Moyano, F.J., Cardenas, S., Fernandez-Diaz, C., Yufera, M., 2003. Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream. *J. Fish Biol.* 63, 48-58.
- Margulies, D., 1993. Assessment of the nutritional condition of larval and early juvenile tuna and Spanish mackerel (Pisces: Scombridae) in the Panamá Bight. *Mar. Biol.* 115, 317-330.



- McDowell, E.M., Trump, B.F., 1976. Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. Archives of Pathology and Laboratory Medicine. 100, 405-414.
- Neave, D.A., 1984. The development of visual acuity in larval plaice (*Pleuronectes platessa* L.) and turbot (*Scophthalmus maximus* L.). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 78, 167-175.
- Ortiz-Delgado, J.B., Darias, M.J., Canavate, J.P., Yufera, M., Sarasquete, C., 2003. Organogenesis of the digestive tract in the white seabream, *Diplodus sargus*. Histological and histochemical approaches. Histol Histopathol. 18, 1141-1154.
- Osse, J.W.M., van den Boogaart, J.G.M., 1995. Fish larvae, development, allometric growth, and the aquatic environment. ICES Mar. Sci. Symp, 21-34.
- Papadakis, I.E., Kentouri, M., Divanach, P., Mylonas, C.C., 2013. Ontogeny of the digestive system of meagre *Argyrosomus regius* reared in a mesocosm, and quantitative changes of lipids in the liver from hatching to juvenile. Aquaculture. 388, 76-88.
- Papadakis, I.E., Zaiss, M.M., Kyriakou, Y., Georgiou, G., Divanach, P., Mylonas, C.C., 2009. Histological evaluation of the elimination of *Artemia* nauplii from larval rearing protocols on the digestive system ontogeny of shi drum (*Umbrina cirrosa* L.). Aquaculture. 286, 45-52.
- Przybył, A., Ostaszewska, T., Mazurkiewicz, J., Wegner, A., 2006. The effect of experimental starters on morphological changes in the intestine and liver of common carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae reared under controlled conditions. Arch. Pol. Fish. 14, 67-83.
- Puvanendran, V., Brown, J.A., 1998. Effects of light on the foraging and growth of Atlantic cod larvae: interpopulation differences. Marine Ecology Progress Series. 167, 207-214.
- Segner, H., Rösch, R., Verreth, J., Witt, U., 1993. Larval Nutritional Physiology: Studies with *Clarias gariepinus*, *Coregonus lavaretus* and *Scophthalmus maximus*. J World Aquacult Soc. 24, 121-134.
- Verreth, J.A.J., Torreele, E., Spazier, E., Van der Sluiszen, A., Rombout, J.H.W.M., Booms, R., Segner, H., 1992. The Development of a Functional Digestive System in the African Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). J World Aquacult Soc. 23, 286-298.
- Wanzenböck, J., Schiemer, F., 1989. Prey detection in cyprinids during early development. Can J Fish Aquat Sci. 46, 995-1001.
- Zaiss, M.M., Papadakis, I.E., Maingot, E., Divanach, P., Mylonas, C.C., 2006. Ontogeny of the digestive tract in shi drum (*Umbrina cirrosa* L.) reared using the mesocosm larval rearing system. Aquaculture. 260, 357-368.



ΜΑΓΙΑΤΙΚΟ Τ6ΥΒΠ-0068

