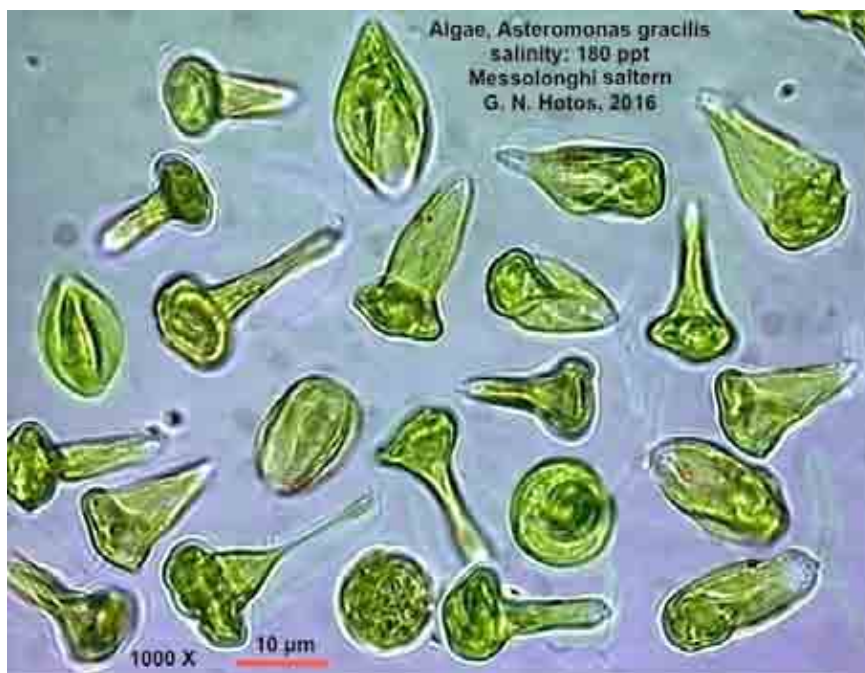




Τ.Ε.Ι. ΔΥΤΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΑΛΙΕΙΑΣ – ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ (ΤΕΧΝ.ΑΛ.ΥΔ.)  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΠΛΑΓΚΤΟΥ  
ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ: ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΧΩΤΟΣ, καθηγητής

Γεωργίου Ν. Χώτου  
"ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΠΛΑΓΚΤΟΥ"  
(Βιολογικά στοιχεία και τεχνικές)



ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 2016

## Αντί προλόγου



Στην εποχή μας γινόμαστε μάρτυρες μιας μεγάλης προσπάθειας της επιστήμης να καταφέρει να δρέψει όσο το δυνατόν μεγαλύτερη ποσότητα ενέργειας από πηγές που άλλες εποχές θα φάνταζαν απίθανες. Η υδρόβια ζωή σε πρωτογενές επίπεδο με τα φύκη προβάλλει σήμερα ως ο ελπιδοφόρος φορέας για να καλύψει διατροφικές ανάγκες και ανάγκες καυσίμων. Οι εξελίξεις είναι ραγδαίες και οι εφαρμογές το ίδιο έστω και αν υπάρχουν ακόμα ανοιχτά θέματα προς επίλυση. Στην πραγματικότητα ο μικροσκοπικός υδάτινος κόσμος τώρα αρχίζει να μας δίνει καρπούς άλλους πέραν των αλιευμάτων. Και θα αποκτήσει ολοένα μεγαλύτερη σημασία και θα

επενδύονται ολοένα και περισσότερα κεφάλαια για έρευνα, όσο τα ορυκτά καύσιμα πλησιάζουν στην εξάντληση, όσο τα αλιεύματα φθάνουν στο όριο της αυτοσυντήρησής των, όσο ο πληθυσμός της Γης δεν τιθασεύεται σε κάποιο σταθερό επίπεδο.

Αφήνοντας όμως για τώρα κατά μέρος το μέγα θέμα των άλλων χρήσεων του πλαγκτού, επικεντρωμένοι στο ειδικό αντικείμενο της υδατοκαλλιέργειας, το θέμα αυτού του συγγράμματος είναι να δώσει τα βασικά κατ' εμένα στοιχεία για να γνωρίσει ο ενδιαφερόμενος τα της χρήσης του πλαγκτού στις υδατοκαλλιέργειες. Από το τεράστιο αυτό θέμα έχει επιλεγεί εκείνος ο τομέας που αφορά τη ζωντανή τροφή στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς των ευρύαλων ψαριών. Δηλαδή των ειδών εκείνων του φυτοπλαγκτού και του ζωοπλαγκτού τα οποία παράγονται μαζικά ως η απαραίτητη πρώτη και αναντικατάστατη τροφή των λαρβών των ψαριών.

Στο σύγγραμμα αυτό προσπάθησα να συμπυκνώσω όλα τα βασικά στοιχεία της παραγωγής φυτοπλαγκτού, τροχοζώων και της αλμυρογαρίδας *Artemia*. Φυσικά θα μπορούσε να γραφτεί και 2πλάσιο ή 3πλάσιο σε έκταση σύγγραμμα με εξαντλητικές πληροφορίες, αλλά νομίζω ότι θα έχανε σε χρηστικότητα. Προσπάθησα να αναφέρω τα βασικά βιολογικά στοιχεία (διότι χωρίς αυτά οποιαδήποτε γνώση τεχνικής είναι κολοβή) κάθε οργανισμού και προσπάθησα να βάλω όσο το δυνατό περισσότερες εικόνες και σχήματα μπορούσαν να χωρέσουν χωρίς το σύγγραμμα να γίνει «άλμπουμ». Πάγιο πιστεύω μου είναι ότι αναφορά, εγχειρίδιο, βιβλίο, κ.λπ. σε ζωντανούς οργανισμούς χωρίς φωτογραφική αποτύπωση είναι προσπάθεια καταδικασμένη σε επιφανειακή αντίληψη. Ειδικά οι φοιτητές του Τμήματός μας αλλά και άλλοι εκτός Ιδρύματος που θα διαβάσουν κάτι παρόμοιο, θα μείνουν με την απορία «για ποιο πλάσμα μιλάμε;» αν δεν το συνοδεύουν εικόνες. Κάθε κριτική με σκοπό τη βελτίωση είναι καλοδεχούμενη

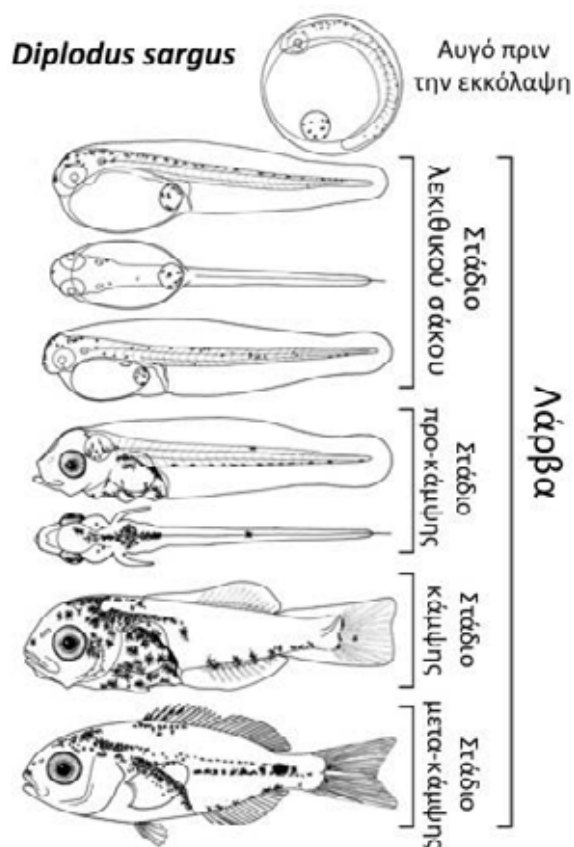
Γιώργος Χώτος  
Μεσολόγγι 2016

## Εισαγωγή στη ζωντανή τροφή (live food) των λαρβών

Ως καλλιέργεια πλαγκτού νοείται η διαδικασία εκείνη η οποία με κατάλληλες ενέργειες του ανθρώπου και χρησιμοποιώντας ποικίλης φύσεως μέσα καταλήγει στην παραγωγή μεγάλης και διαχειρίσιμης μάζας φυτοπλαγκτονικών ή ζωοπλαγκτονικών οργανισμών.

Σε σχέση με την ιχθυοκαλλιέργεια, η πλαγκτονική καλλιέργεια αποτελεί τον πρώτο κρίκο μιας επίπονης διαδικασίας η οποία στοχεύει να παράγει ψάρια εμπορεύσιμου μεγέθους. Και αποτελεί τον πρώτο κρίκο επειδή ακριβώς αποτελεί την πρώτη, απαραίτητη και αναντικατάστατη τροφή των νεοεκκολαφθεισών λαρβών των θαλασσινών ψαριών. Ονομάζεται γενικώς “ζωντανή τροφή” (live food) διότι όπως η λέξη εννοεί, οι παραγόμενοι πλαγκτονικοί οργανισμοί καταναλίσκονται ζωντανοί από τις λάρβες.

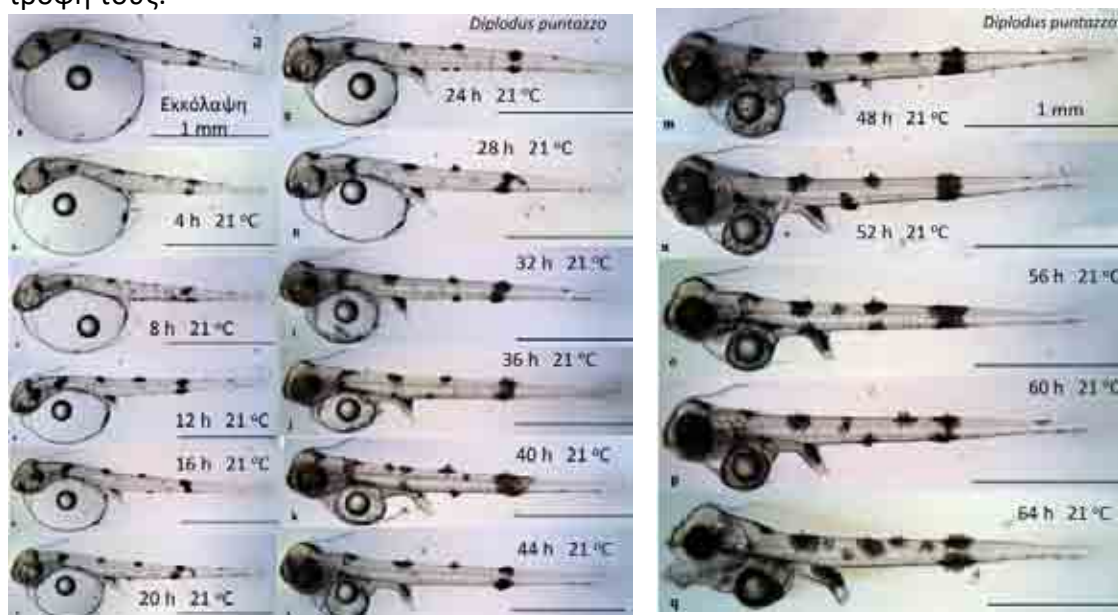
Πριν τη δεκαετία του 1970 η ιχθυοκαλλιέργεια των θαλασσινών ψαριών περιοριζόταν σε σποραδικές εκτροφές ψαριών των οποίων ο γόνος συλλέγονταν αρκετά αναπτυγμένος με δίχτυα από τη θάλασσα. Δεν υπήρχαν ιχθυοεκκολαπτήρια θαλασσινών ειδών, ή όπως τα ονομάζουμε σήμερα ιχθυογεννητικοί σταθμοί. Οποια έρευνα επ’ αυτού διεξάγονταν μόνο σε ερευνητικά κέντρα. Και σε αυτά τα ερευνητικά κέντρα ακριβώς επιχειρούσαν να τυποποιήσουν την ολοκληρωμένη καλλιέργεια (από αυγό σε αυγό) των εμπορικής σημαντικών θαλασσινών ψαριών. Και ενώ η πρόοδος στην ανάπτυξη των γεννητόρων, την απελευθέρωση των γεννητικών τους προϊόντων και την εκκόλαψη των αυγών είχε σχεδόν διαλευκάνει όλα τα σχετικά ζητήματα, παρέμενε ένα μεγάλο εμπόδιο. Αυτό της πρώτης διατροφής των μικροσκοπικών λαρβών που προέκυπταν από την εκκόλαψη των αυγών (Σχήμα 1).



Σχήμα 1. Στάδια ανάπτυξης λάρβας (νύμφης) του θαλασσινού ψαριού *Diplodus sargus* (σαργός) μετά την εκκόλαψη και μέχρι να γίνει αναγνωρίσιμο ιχθύδιο.

Αξιοσημείωτο το γεγονός ότι κατά το λεκιθοφόρο στάδιο έχει αποθέματα θρεπτικών στο λεκιθικό σάκο από τα οποία λαμβάνει τις θρεπτικές του ουσίες καθώς το στόμα του δεν έχει ακόμα ανοίξει. Ζωντανή εξωγενή τροφή μπορεί να λάβει μόνο όταν έχει λειτουργικό στόμα.

Οι λάρβες στο περιβάλλον της αιχμαλωσίας δεν έχουν την ίδια δυνατότητα θρέψης που θα είχαν στο φυσικό περιβάλλον της θάλασσας και ενώ γνωρίζαμε ότι στη φύση δεν μπορεί παρά να τρέφονται με πλαγκτονικούς οργανισμούς (μικροφύκη, πρώτιστα, κωπήποδα, τροχόζωα, κ.ά.), δεν γνωρίζαμε ούτε κάποια πιθανή προτίμησή τους ούτε το αν καταναλώνουν μίγμα από όλα αυτά. Επιπλέον σε συνθήκες παραγωγής απαιτείται η επιβίωση των παραγόμενων λαρβών να είναι μεγάλη ακριβώς για να μπορέσει να έχει νόημα η επιχείρηση της εμπορικής εκμετάλλευσής των. Συνεπώς το τι συνέβαινε στην πραγματικότητα της φύσης όπου ως γνωστόν ένα ποσοστό λιγότερο του 1% των παραγομένων λαρβών επιβιώνει ως την ενηλικίωση, δεν μπορούσε να αποτελέσει οδηγό για την εμπορική εκμετάλλευση. Στον ιχθυογεννητικό σταθμό η επιδίωξη είναι η σταθερά μεγάλη επιβίωση των λαρβών βασισμένη σε μια τυποποιημένη και εύκολα παραγόμενη τροφή τους.



Σχήμα 2. Η οντογένεση της λάρβας του μυτακιού (*Diplodus puntazzo*) από την εκκόλαψη μέχρι την τρίτη ημέρα της ζωής του (64 ώρες από την εκκόλαψη) όταν έχει ανοίξει το στόμα του, (σύνθεση Γ. Χώτου από την πτυχιακή εργασία των Πυρένη Γ. και Τράκου Γ., Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου, Τμ. Υδατοκ/γειών & Αλιευτικής Διαχείρισης, 2010).

Αφού μετά από επίπονες έρευνες αποκλείστηκε πλήρως η δυνατότητα να δίδεται στις λάρβες κατά τις πρώτες ημέρες της ζωής τους οποιασδήποτε σύστασης και μεγέθους τεχνητή τροφή, αναζητείτο η κατάλληλη ζωντανή τροφή. Δοκιμάστηκαν πλήθος πλαγκτονικών οργανισμών όλα με περιορισμένη επιτυχία, ανεπαρκή όμως να στηρίξει την προοπτική μιας βιομηχανίας εκτροφής θαλασσινών ψαριών.

Ο κύριος λόγος για αυτές τις δυσκολίες της πρώτης διατροφής των λαρβών είναι ότι οι αναπτυσσόμενες λάρβες είναι συνήθως πολύ μικρές, εξαιρετικά εύθραυστες και γενικά μη φυσιολογικώς και πλήρως αναπτυγμένες (Σχήμα 2). Το μικρό τους μέγεθος (δηλαδή μικρό στοματικό μέγεθος), η ανολοκλήρωτη ανάπτυξη των αισθητηρίων οργάνων (μάτια, αισθητήρες χημικών ουσιών - chemoreceptors), το ατελές πεπτικό τους σύστημα, όλα αποτελούν περιοριστικούς παράγοντες στην κατάλληλη επιλογή τροφής κατά την διάρκεια της αρχικής περιόδου σίτισης. Επιπλέον, και στα καλλιεργούμενα άλλα είδη πλην των ψαριών, όπως οι γαρίδες,

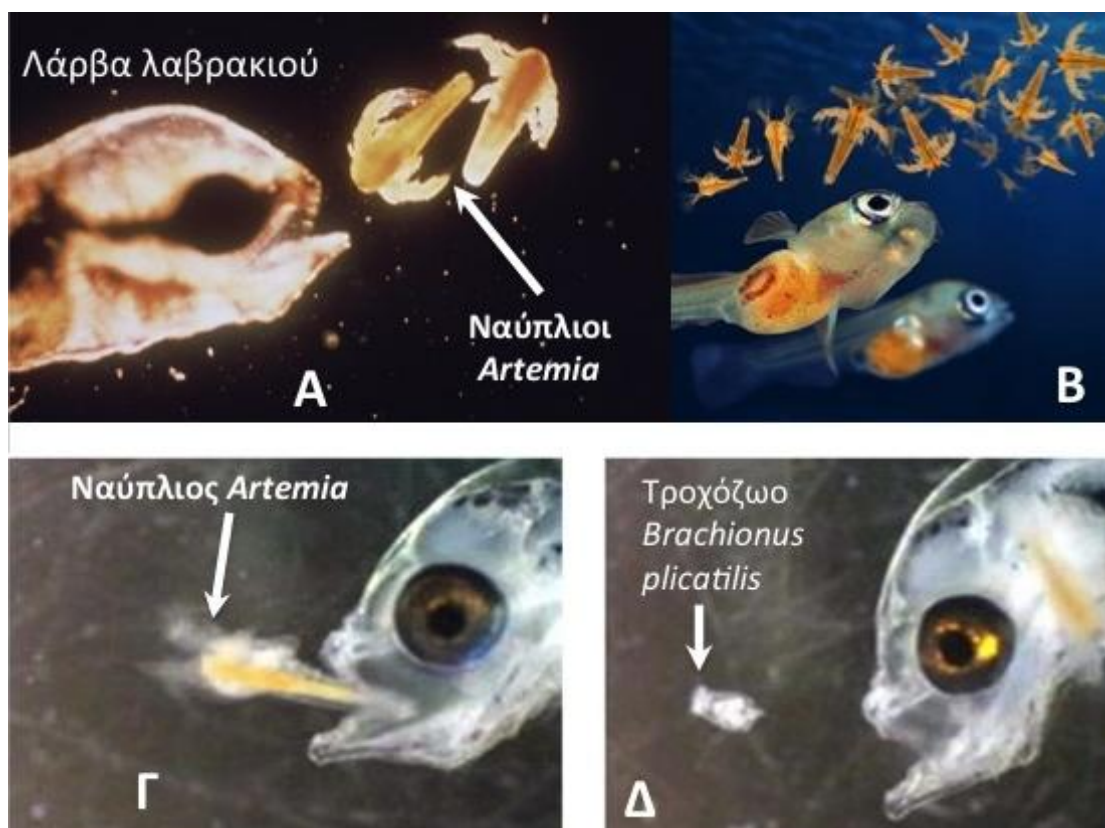


υπάρχουν και διαφορετικής φύσεως προβλήματα δεδομένου ότι οι αναπτυσσόμενες προνύμφες των γαριδών καθώς μεταβαίνουν σε διαφορετικά λαρβικά στάδια, μετατρέπονται από φυτοφάγοι διηθηματικοί οργανισμοί σε σαρκοφάγους θηρευτές.

Εξ' αιτίας των παραπάνω συνοπτικώς αναφερθέντων, προκύπτει ότι η λαρβική διατροφή και ειδικότερα αυτή των ευαίσθητων αρχικώς σιτιζόμενων λαρβών, αποτελεί τον πλέον σημαντικό παράγοντα για την επιτυχή εκτροφή. Σήμερα η όλη διαδικασία έχει τυποποιηθεί για πλήθος θαλασσινών ψαριών (τσιπούρα, λαβράκι, μυτάκι, φαγγρί κ.ά.), αλλά για τα συνεχώς νέα είδη που επιχειρείται να καλλιεργηθούν, εμφανίζονται και νέα προβλήματα τα οποία απαιτούν διαφοροποιήσεις στις καθιερωμένες τεχνικές και ενίοτε καινούργιες προσεγγίσεις για να επιτρέψουν την πλήρη εμπορευματοποίηση των νέων πολλών καλλιεργούμενων ψαριών και οστρακοειδών.

Η ιδιαιτερότητα της λαρβικής διατροφής συγκριτικά με την πολύ απλούστερη διατροφή των νεαρών και των ενήλικων ψαριών οφείλεται:

- στο μέγεθος του στόματος των λαρβών κατά την πρώτη σίτιση,
- στο ατελές πεπτικό τους σύστημα και
- στην μειωμένη κινητικότητά τους.



Σχήμα 3. Φωτογραφικές απεικονίσεις λαρβών ψαριών όπου φαίνεται το μέγεθος του στόματός των και το μέγεθος των θηραμάτων που τους προσφέρονται ως ζωντανή τροφή.

Αναλυτικότερα: Το μικρό στοματικό μέγεθος των αρχικώς σιτιζόμενων λαρβών καθορίζει και περιορίζει το μέγεθος των τροφών που μπορούν να ληφθούν (Σχήμα 3). Γενικώς το στοματικό μέγεθος συσχετίζεται με το μέγεθος του σώματος το οποίο με τη σειρά του επηρεάζεται από τη διάμετρο των αυγών και την περίοδο

της ενδογενούς διατροφής (δηλαδή την περίοδο της κατανάλωσης του λεκιθικού σάκου). Για παράδειγμα, τα αυγά του σολομού του Ατλαντικού είναι περί τις πέντε φορές μεγαλύτερα σε διάμετρο από τα αυγά του λαβρακιού (Σχήμα 4, Πίνακας 1). Έτσι κατά την εκκόλαψη, οι μεγάλες λάρβες του σολομού έχουν τεράστιες προμήθειες λεκιθικού σάκου (δηλ. ικανοποιητικές ενδογενείς εφεδρικές τροφές κατά τις τρεις πρώτες εβδομάδες της ανάπτυξής τους), ενώ οι αρχικώς σιτιζόμενες λάρβες του λαβρακιού είναι πολύ μικρές με περιορισμένες προμήθειες του λεκιθικού σάκου οι οποίες αρκούν για να τραφούν ενδογενώς μόνο για περίπου τρεις ημέρες. Αποτέλεσμα των παραπάνω είναι το ότι όταν τα σαλμονιδή ιχθύδια αρχίζουν να σιτίζονται εξωγενώς (δηλαδή με τροφή άλλη εκτός των λεκιθικών αποθεμάτων), έχουν ήδη μεγαλώσει τόσο που είναι ικανά να καταναλώσουν κόκκους τροφών μεγάλους όσο ένα χιλιοστό (1 mm) συγκριτικά με το μόλις ~0,2 mm που μπορούν να καταπιούν οι αρχικώς σιτιζόμενες λάρβες π.χ. τσιπούρας.



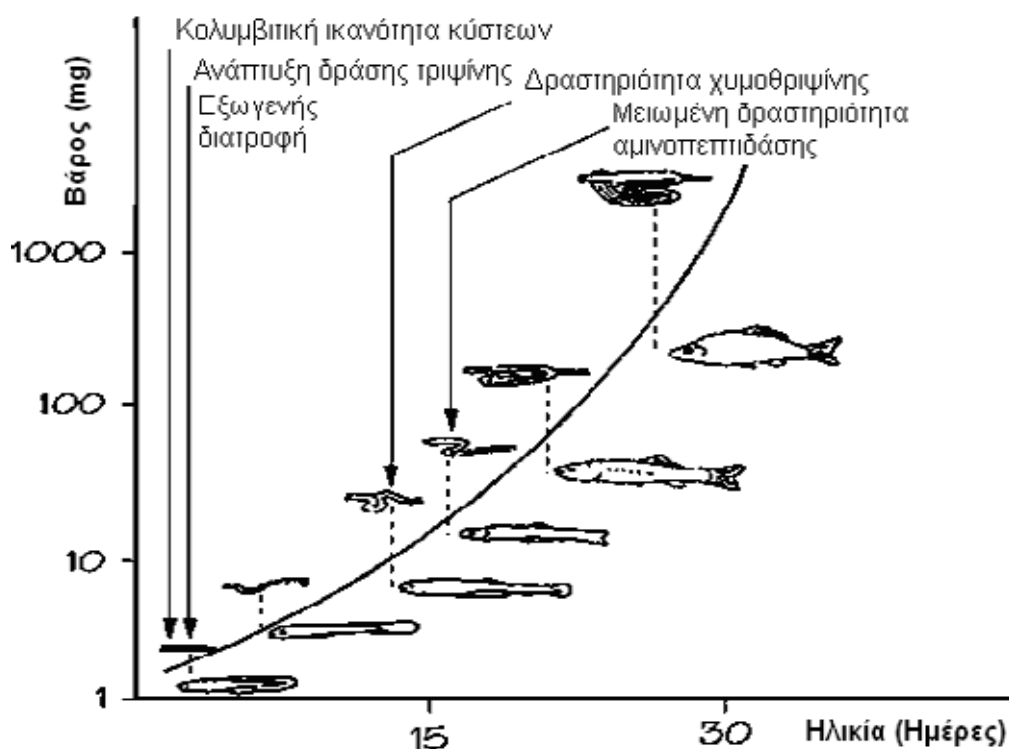
Σχήμα 4. (A): Σύγκριση μεγέθους αυγών σολομού και λαβρακιού και (B). λεκιθοφόρας “λάρβας” σολομού και λαρβών λαβρακιού, τεράστιες οι διαφορές στα μεγέθη μεταξύ των δύο ειδών. (φωτογραφίες: Γ. Χώτος).

Πίνακας 1. Μέγεθος των αυγών και μήκος λαρβών κατά την εκκόλαψη για διάφορα είδη.

Είδη ψαριών	Διάμετρος αυγών (mm)	Μήκος των λαρβών (mm) κατά την εκκόλαψη και κατά τη λήψη εξωγενούς τροφής
Σολομός Ατλαντικού ( <i>Salmo salar</i> )	5,0 - 6,0	15,0 Εκκόλ.– 25,0 Εξωγ. τροφή
Ιριδίζουσα πέστροφα ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	4,0	12,0 Εκκόλ.– 20,0 Εξωγ. τροφή
Κοινός κυπρίνος ( <i>Cyprinus carpio</i> )	0,9 - 1,6	4,8 - 6,2 Εξωγ. τροφή
Λαβράκι ( <i>Dicentrarchus labrax</i> )	1,2 - 1,4	7,0 - 8,0 Εξωγ. τροφή
Τσιπούρα ( <i>Sparus aurata</i> )	0,9 - 1,1	3,5 - 4,0 Εξωγ. τροφή
Καλκάνι ( <i>Scophthalmus maximus</i> )	0,9 - 1,2	2,7 - 3,0 Εκκόλ.
Γλώσσα ( <i>Solea solea</i> )	1,0 - 1,4	3,2 - 3,7 Εκκόλ.
Milkfish ( <i>Chanos chanos</i> )	1,1 - 1,25	3,2 - 3,4 Εκκόλ.
Κέφαλος ( <i>Mugil cephalus</i> )	0,9 - 1,0	1,4 - 2,4 Εκκόλ.
Ροφός ( <i>Epinephelus tauvina</i> )	0,77 - 0,90	1,4 - 2,4 Εκκόλ.
Bream ( <i>Acanthopagrus cuvieri</i> )	0,78 - 0,84	1,8 - 2,0 Εκκόλ.

Η φυσιολογική αναπτυξιακή κατάσταση του πεπτικού συστήματος των αρχικώς σιτιζόμενων λαρβών καθορίζει επίσης την δυνατότητα ή μη, των προνυμφών (λαρβών) να αφομοιώσουν τις καταποθείσες τροφές. Για παράδειγμα, τα αρχικώς σιτιζόμενα νεαρά άτομα των σολομών έχουν ήδη ένα καλά αναπτυγμένο πεπτικό «σωλήνα» όπου με τα λειτουργούντα ενζυμικά συστήματα επιτρέπουν την πέψη των θρυμματισμένων τροφών κατά την πρώτη τους σίτιση. Σε αντίθεση οι λάρβες των τσιπουρών (όπως και οι λάρβες των άλλων θαλασσινών ψαριών αλλά και πολλών ψαριών του γλυκού νερού, Σχήμα 5) δεν έχουν λειτουργικό στομάχι, αλλά μόνο ένα μικρό πεπτικό σωλήνα με μερικά μόνο λειτουργικά ενζυμικά συστήματα κατά την έναρξη της αρχικής τους σίτισης. Συνεπάγεται επομένως ότι αυτές οι προνύμφες ψαριών θα πρέπει να βασιστούν σε μια πηγή τροφής η οποία:

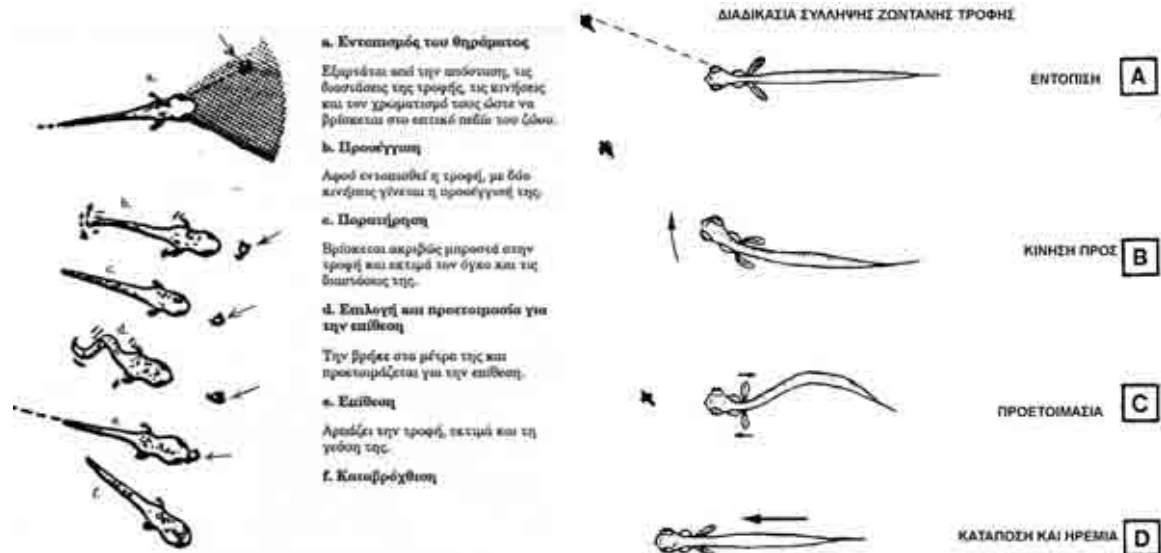
1. Είναι τουλάχιστον μερικώς και εύκολα εύπεπτη (δηλαδή η τροφή πρέπει να περιέχει μεγάλες ποσότητες ελεύθερων αμινοξέων και ολιγοπεπτίδια αντί για δύσπεπτα και πολύπλοκα πρωτεϊνικά μόρια)
2. Περιέχει ενζυμικά συστήματα τα οποία επιτρέπουν την αυτόλυση (αυτοδιάσπαση των τροφικών μορίων) και,
3. Προμηθεύει σε αφθονία όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά που απαιτούνται από τον λαρβικό θηρευτή.



Σχήμα 5. Οντογενετική ανάπτυξη του πεπτικού συστήματος στα κυπρινοειδή ψάρια (από Dabrowski, 1984, τροποποιημένο).

Αν υποθεθεί ότι είναι δυνατόν (που δεν είναι όμως, μέχρι σήμερα τουλάχιστον), οι λάρβες των θαλασσινών ψαριών (όπως η τσιπούρα), να μπορέσουν να καταπιούν αμέσως τεχνητή τροφή με το που θα τελειώσουν τα λεκιθικά τους αποθέματα, πάλι θα υπήρχε πρόβλημα θρέψης. Οι τυποποιημένες τροφές γενικά δεν ικανοποιούν όλες τις παραπάνω απαιτήσεις και συνήθως καταλήγουν σε φτωχή ανάπτυξη και επιβίωση των μικρών προνυμφών όπως αυτή της τσιπούρας. Στον

αντίποδα της τεχνητής τροφής οι ζωντανοί οργανισμοί φαίνεται να πληρούν όλα τα απαραίτητα κριτήρια για τις μικρές λάρβες. Όμως για να ληφθεί η τροφή από την προνύμφη θα πρέπει πρώτα απ' όλα να γίνει αντιληπτή από αυτή. Και αυτή η ικανότητα εξαρτάται από το βαθμό της ανάπτυξης των λειτουργικών και καθοριστικών αισθητήριων οργάνων α) της όρασης (μάτια), β) της όσφρησης-γεύσης (οσφρητικά όργανα, γευστικά όργανα) και γ) της πίεσης (πλευρική γραμμή). Για παράδειγμα, τα μάτια των προνυμφών συνήθως περιέχουν μόνο κωνία (cones) στον αμφιβληστροειδή χιτώνα τα οποία οδηγούν σε ανεπαρκή και φτωχή όραση. Η πλήρης όραση επέρχεται μόνο στο στάδιο των νεαρών ψαριών τα μάτια των οποίων περιέχουν και ραβδία (rods -φωτοευαίσθητο μόριο αμφιβληστροειδούς) με περισσότερες οπτικές χρωστικές ουσίες στον αμφιβληστροειδή χιτώνα. Ενας ακίνητος κόκκος τεχνητής τροφής στη στήλη του νερού δεν θα γίνει αντιληπτός από τη λάρβα. Σε αντίθεση, οι ζωντανοί οργανισμοί-θηράματα με τη διαρκή τους κίνηση μπορούν να γίνουν αντιληπτοί από τις σιτιζόμενες λάρβες (Σχήμα 6). Επιπλέον αυτού, η κολυμβητική δραστηριότητα της ζωντανής τροφής εξασφαλίζει γενικώς μια άρτια κατανομή των θηραμάτων στη στήλη του νερού, κάτι που διευκολύνει τη συχνότερη συνάντηση με τις μικρής κινητικότητας λάρβες.



Σχήμα 6. Η διαδικασία του εντοπισμού του θηράματος από τη λάρβα, η προετοιμασία και η αρπαγή της σε δύο σχηματικές αναπαραστάσεις.

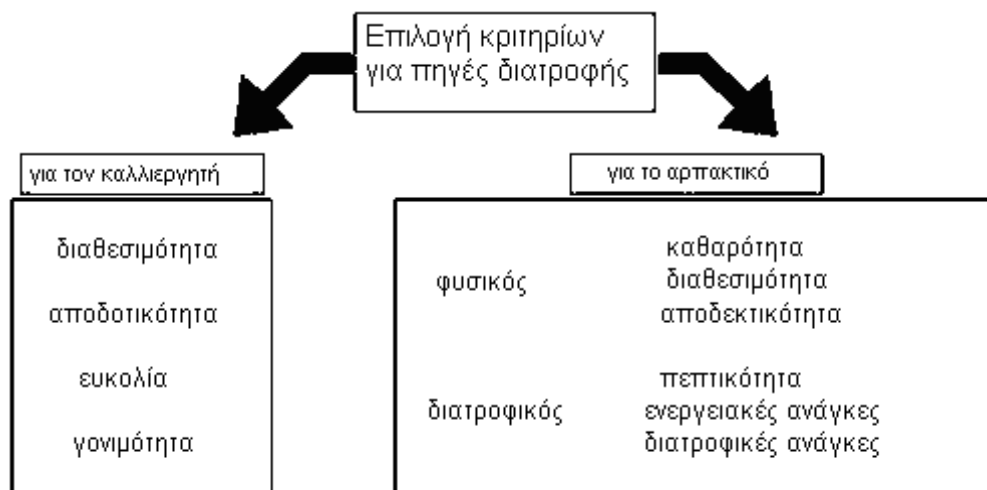
Στους σύγχρονους ιχθυογεννητικούς σταθμούς όλων σχεδόν των ψαριών (πλην των σαλμονιδών) και καρκινοειδών, παράγεται ζωντανή τροφή ως αντιγραφή του «φυσικού μοντέλου» διατροφής των λαρβικών σταδίων των ψαριών (αντιστοίχως και των καρκινοειδών). Στη φύση βέβαια οι λάρβες διατρέφονται με μια μεγάλη ποικιλία από φυτοπλαγκτονικούς (διάτομα, μαστιγιοφόρα κ.ά.) και ζωοπλαγκτονικούς (κωπήποδα, πρωτόζωα, τροχόζωα, προνύμφες καρκινοειδών, κ.ά.) οργανισμούς η οποία θα μπορούσε να μας οδηγήσει στην άποψη ότι αρκεί να συλλέγουμε το φυτο-ζωοπλαγκτόν από τη φύση και κατόπιν δίδοντάς το στις λάρβες έχουμε λύσει το πρόβλημα της θρέψης των. Η κατάσταση όμως δεν είναι τόσο απλή καθώς υπάρχουν πλήθος τεχνικο-βιολογικών προβλημάτων τα οποία ξεπερνιούνται μόνο με την κατάλληλη επιλογή και μαζική καλλιέργεια ορισμένων φυτοπλαγκτονικών και ζωοπλαγκτονικών οργανισμών. Η επιλογή της ζωντανής



τροφής πρέπει να ικανοποιεί τις παραμέτρους που αναφέρονται στο Σχήμα 7, έτσι ώστε και ο καλλιεργητής να μπορεί να την παράγει εύκολα, σταθερά, οικονομικά και σε μεγάλες ποσότητες και οι λάρβες των εκτρεφόμενων ειδών να ωφελούνται τα μέγιστα από αυτή και να μην κινδυνεύει η υγεία τους. Η ζωντανή τροφή ανάλογα με το μέγεθος των οργανισμών και τους θηρευτές για τους οποίους προορίζεται ανήκει στις παρακάτω 3 καθιερωμένες και βασικές κατηγορίες.

- **Μικροφύκη με διάμετρο κυττάρου 2 – 20 μm για να καταναλωθούν από:**
  - Δίθυρα μαλάκια
  - Γαρίδες του γένους *Penaeus*
  - Τροχόζωα (rotifers) *Brachionus plicatilis* (κυρίως)
  - Ποικίλα γένη κωπητόδων (*Calanus*, *Tigriopus*, *Tisbe*, κ.ά.)
  - Λάρβες ορισμένων ειδών ψαριών.
- **Τροχόζωα (rotifers) *Brachionus plicatilis* με μέγεθος 100 – 300 μm για να καταναλωθούν από:**
  - Καρκινοειδή
  - Λάρβες θαλασσινών ειδών ψαριών.
- **Ναύπλιους και μεταναύπλιους της αλμυρογαρίδας του γένους *Artemia* με μέγεθος 400 – 800 μm για να καταναλωθούν από:**
  - Καρκινοειδή
  - Λάρβες κάθε είδους ψαριών.

Εκτός από τους παραπάνω καλλιεργούμενους οργανισμούς υπάρχουν και άλλοι οι οποίοι καλλιεργούνται περιστασιακά και σε περιορισμένη κλίμακα για τη διατροφή λαρβών. Παράγοντας υψίστης οικονομικής σημασίας για την παραγωγή ιδιαίτερα των θαλασσινών ψαριών, είναι η οικονομική παραγωγή της αναγκαίας ποσότητας ζωντανής τροφής, στην βέλτιστη ποιότητα και στο σωστό χρόνο.

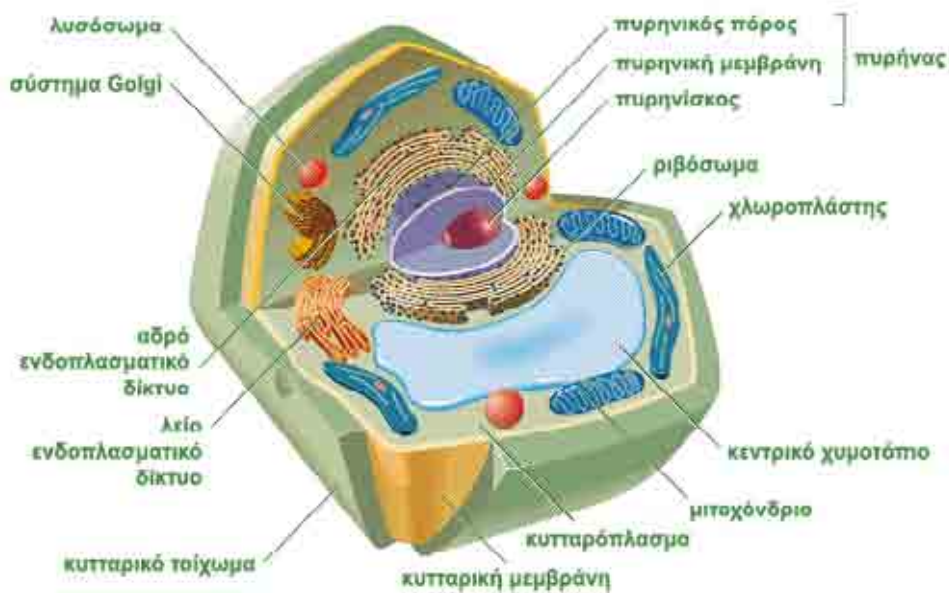


Σχήμα 7. Κριτήρια επιλογής τροφής για τις καλλιεργούμενες λάρβες ψαριών από την πλευρά του καλλιεργητή και του αρπακτικού (λάρβας). Κατά Leger et al. 1987, (τροποποιημένο).

# 1

## ΦΥΚΗ – Βασικά στοιχεία δομής και λειτουργίας φυτικού και φυκικού κυττάρου

Το φυτικό-φυκικό κύτταρο (Σχήμα 8) περιβάλλεται από εύκαμπτη κυτταρική μεμβράνη, στην εξωτερική επιφάνεια της οποίας υπάρχει το κυτταρικό τοίχωμα, μια άκαμπτη δομή που προσδίδει στο κύτταρο σταθερό σχήμα. Βασικό συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος είναι ο πολυσακχαρίτης κυτταρίνη.



Σχήμα 8. Σχηματική απεικόνιση τυπικού φυτικού κυττάρου

Τα τυπικά όργανα ενός φυτικού κυττάρου είναι τα ακόλουθα:

**Πυρήνας.** Φυλάσσει, διπλασιάζει, και συνθέτει το γενετικό υλικό.

**Πυρηνίσκος.** Συνθέτει το rRNA (συστατικό των ριβοσωμάτων).

**Ενδοπλασματικό δίκτυο (Αδρό και Λείο Ε.Δ.).** Μεταφέρει ουσίες και είναι επιφάνεια βιοχημικών αντιδράσεων.

**Σύμπλεγμα Golgi.** Τροποποιεί τις πρωτεΐνες που παράγονται στο αδρό Ε.Δ.

**Μιτοχόνδριο.** Μετατρέπει την ενέργεια σε μορφή που να μπορεί να αξιοποιηθεί.

**Χυμοτόπιο.** Αποθηκεύει θρεπτικές ουσίες και άχρηστα προϊόντα του μεταβολισμού.

**Ριβόσωμα.** Συνθέτει πρωτεΐνες.

**Λυσόσωμα.** Πέπτει μεγαλομοριακές ουσίες και μικροοργανισμούς.

**Χλωροπλάστης.** Οργανίδιο (πλαστίδιο) όπου γίνεται η φωτοσύνθεση (Σχήμα 9).

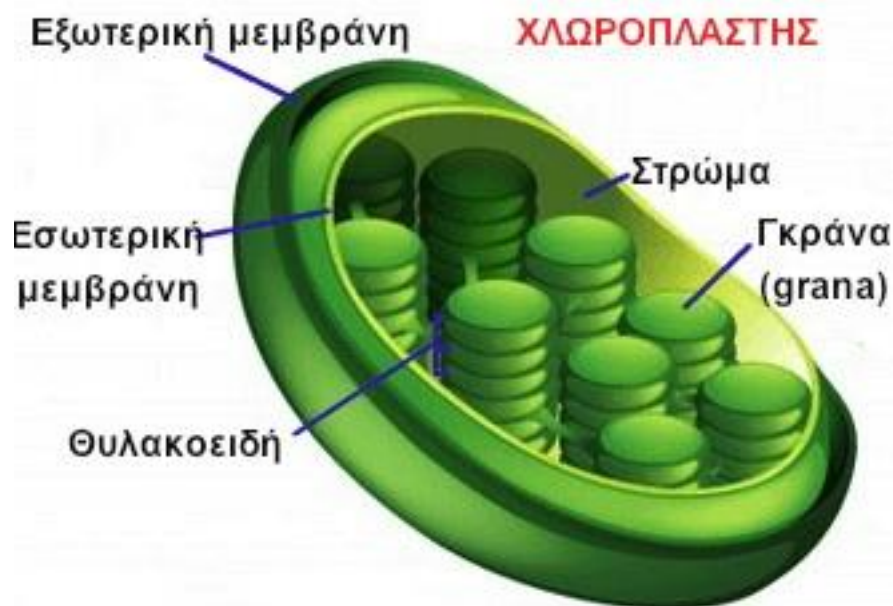
**Κυτταρικό τοίχωμα.** Προστατεύει το φυτικό κύτταρο από διάρρηξη, όταν βρίσκεται σε υποτονικό περιβάλλον, προσδίδοντας ανθεκτικότητα και ελαστικότητα (αποτελείται από διάφορους πολυσακχαρίτες, ο κυριότερος εκ των οποίων είναι η κυτταρίνη).

Στο εσωτερικό των χλωροπλαστών διακρίνεται η θεμελιώδης ουσία, το **στρώμα** και πολυάριθμες μεμβρανικές δομές, τα **θυλακοειδή** που ομαδοποιούνται σχηματίζοντας τα **grana**.

Τα θυλακοειδή των grana είναι επίπεδοι στρογγυλεμένοι σχηματισμοί και ο αριθμός τους σε ένα granum κυμαίνεται από 2 έως 100, ενώ ένας χλωροπλάστης μπορεί να περιέχει 40-60 grana.

Η **χλωροφύλλη** φέρεται στοιβαγμένη σε μορφή κόκκων, τα λεγόμενα **κβαντοσώματα** που βρίσκονται στα τοιχώματα των θυλακοειδών.

Οι **αντιδράσεις φωτός** της φωτοσύνθεσης (**φωτεινή φάση**) γίνονται μέσα σε αυτά τα κβαντοσώματα, ενώ ο **κύκλος του Κάλβιν** ή άλλως λεγόμενες «**σκοτεινές αντιδράσεις – σκοτεινή φάση**» (αυθαίρετος όρος διότι απλώς δηλώνει ότι οι αντιδράσεις αυτές δεν απαιτούν φως, ενώ στην πραγματικότητα το φως δεν τις αναστέλλει) στην υδατώδη μήτρα (στρώμα) που περιβάλλει τα ελάσματα των χλωροπλαστών.



Σχήμα 9. Διαγραμματική απεικόνιση χλωροπλάστη.

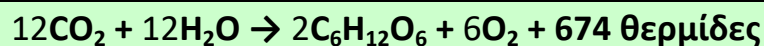
Οι χλωροπλάστες παράγουν υδατάνθρακες πλούσιους σε ενέργεια. Οι υδατάνθρακες αυτοί διασπώνται στα μιτοχόνδρια και η ενέργεια που απελευθερώνεται χρησιμοποιείται για το σχηματισμό του ATP (η πηγή ενέργειας των κυττάρων) το οποίο θα χρησιμοποιηθεί σε όλες τις μεταβολικές οδούς με τις βιοχημικές αντιδράσεις τους που θα γίνουν στο κύτταρο (καταβολισμός – αναβολισμός) για να παραχθεί νέος ιστός, να ωσμωρυθμίσει κ.λπ. (Σχήμα 10).



Σχήμα 10. Σχηματική απεικόνιση παραγωγής ενέργειας στο φυτικό κύτταρο.

### Μηχανισμός φωτοσύνθεσης

Η χημική αντίδραση της φωτοσύνθεσης, λεγόμενη και αντίδραση φωτοσύνθεσης είναι σε γενική συνοπτική μορφή είναι:



Στην πραγματικότητα όμως η φωτοσύνθεση γίνεται σε στάδια και με μια σειρά από πολύπλοκες χημικές αντιδράσεις. Το σημείο του κυττάρου, στο οποίο γίνονται οι αντιδράσεις αυτές, είναι οι χλωροπλάστες όπου ένα μόριο χλωροφύλλης που υπάρχει στο «ενεργειακό κέντρο» με τη βοήθεια και άλλων φωτοευαίσθητων χρωστικών συγκεντρώνει και δεσμεύει την ενέργεια του ηλιακού φωτός παράγοντας ενεργειακά φορτισμένα μόρια-ένζυμα ATP και NADPH από τις ενεργειακά αφόρτιστες μορφές τους ADP και NADP<sup>+</sup> αντίστοιχα. Αυτή η αρχική φάση (**φωτοφωσφορυλίωση**) είναι ακριβώς η λεγόμενη φωτεινή φάση. Τα ATP και NADPH που παρήχθησαν θα χρησιμοποιηθούν ως δότες ενέργειας για να μπορέσει να ολοκληρωθεί η παραγωγή σακχάρου (γλυκόζης) κατά τον κύκλο του Κάλβιν.

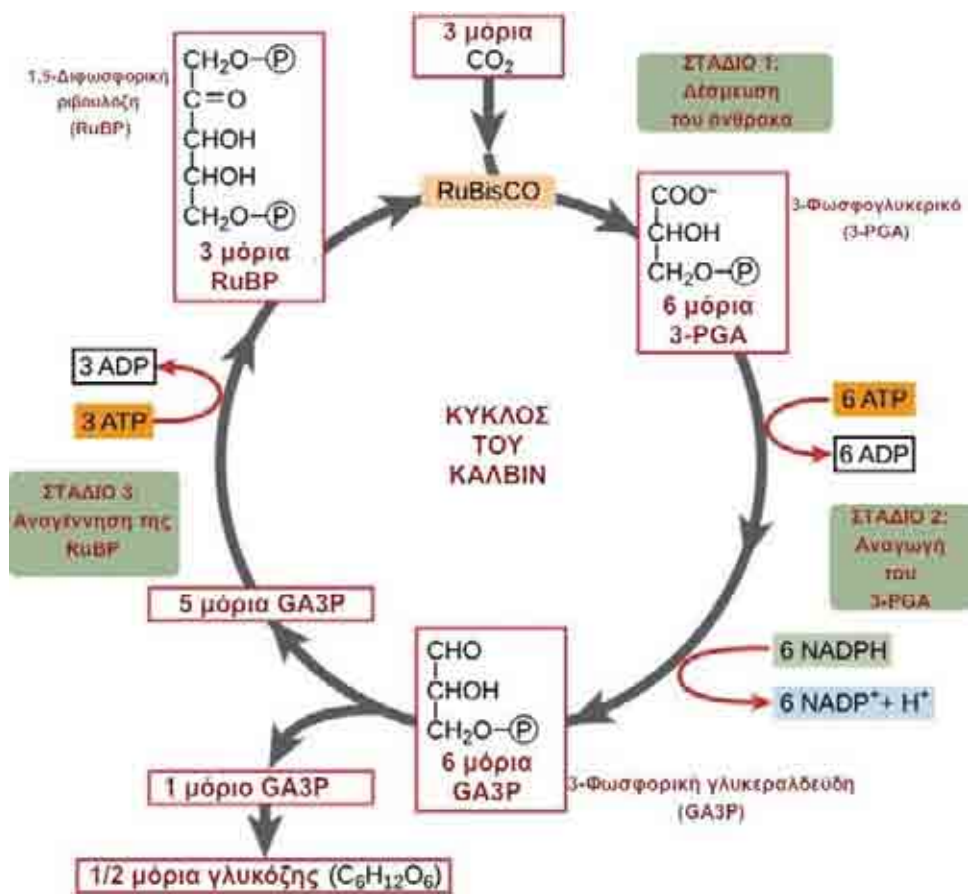
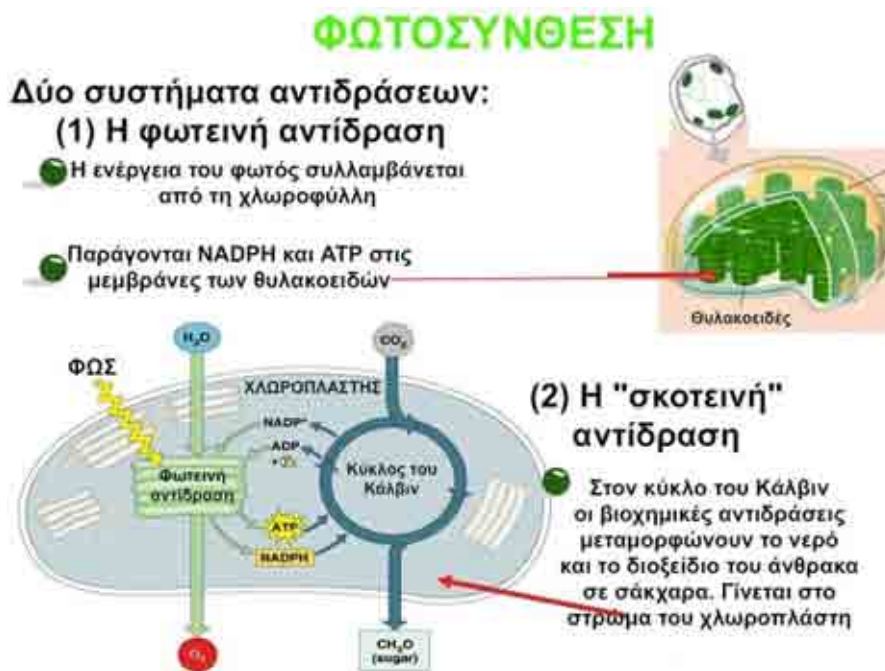
Αναλυτικά, η φωτοσύνθεση ακολουθεί συνοπτικώς την εξής οδό:

- ✗ Το **νερό** αποτελεί το υλικό που θα δώσει μέσω των αντιδράσεων, ηλεκτρόνια, πρωτόνια υδρογόνου και οξυγόνο και στο νερό διαλύεται και το **διοξείδιο του άνθρακα** για να χρησιμοποιηθεί στους **χλωροπλάστες**.
- ✗ Με την **ενέργεια του φωτός (hv)** που απορροφά η **χλωροφύλλη** (Σχήμα 11), διασπάται το νερό (**φωτόλυση**):
- ✗  $\text{NADP}^+ + \text{H}^+ \rightarrow \text{NADPH}$
- ✗  $\text{ADP} + \text{P} \rightarrow \text{ATP}$
- ✗  $\text{H}_2\text{O} + \text{hv} \rightarrow \text{H}^+ + 1/2 \text{O}_2$  (το άλλο πρωτόνιο H<sup>+</sup> έχει δεσμευτεί στο NADPH)
- ✗ Το **οξυγόνο** απελευθερώνεται στο περιβάλλον, ενώ το **ατομικό υδρογόνο** δεσμεύεται από διάφορα ένζυμα (NADP<sup>+</sup>)
- ✗ Με τη βοήθεια αυτών των ενζύμων το υδρογόνο οδηγείται στις **αντιδράσεις με το διοξείδιο του άνθρακα** (κύκλος Κάλβιν):





ακολουθήσει η μεταβολική οδός της γλυκόζης, ενώ τα υπόλοιπα πέντε μόρια PGAL παραμένουν στον κύκλο. Συνεπώς σε **κάθε 6 ολοκληρώσεις του κύκλου** παράγονται επαρκείς ποσότητες PGAL προκειμένου να παραχθεί **ένα μόριο γλυκόζης** (Σχήμα 12).

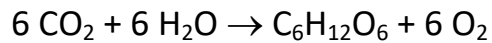


Σχήμα 12.

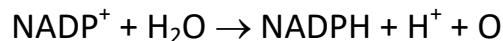
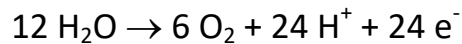
Σχηματική συνοπτική απεικόνιση των φωτεινών και «σκοτεινών» αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης (άνω σχήμα) και ο κύκλος του Κάλβιν (κάτω σχήμα).

**Συνοψίζοντας όλα τα παραπάνω σε στοιχειομετρικές αντιδράσεις έχουμε:**

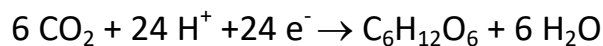
**Γενική αντίδραση φωτοσύνθεσης (φωτοφωσφορυλίωση + κύκλος Κάλβιν):**



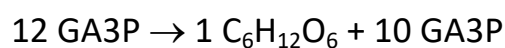
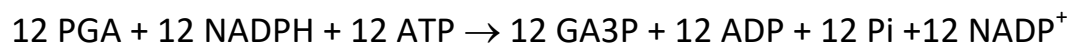
**Φωτεινή φάση (φωτοφωσφορυλίωση):**



**Κύκλος του Κάλβιν:**



**Και πιο ειδικά στον κύκλο του Κάλβιν η γενική στοιχειομετρία είναι:**



## Προϋποθέσεις Φωτοσύνθεσης

### Διοξείδιο του άνθρακα $\text{CO}_2$

Είναι ο παράγοντας η έλλειψη του οποίου επηρεάζει (επιβραδύνει) περισσότερο την φωτοσύνθεση από οποιονδήποτε άλλον και χαρακτηρίζεται ως καθοριστικός. Το  $\text{CO}_2$  προσφέρει τον άνθρακα για την σύνθεση των οργανικών ενώσεων.

### Νερό

Προσφέρει το υδρογόνο που χρησιμεύει για την αναγωγή του  $\text{CO}_2$  σε οργανικές ενώσεις και το οξυγόνο που εκλύεται στο περιβάλλον ως παραπροϊόν της φωτοσύνθεσης

### Φως

Από το φως που πέφτει σε ένα φυτό ή φύκος μόνο το 1% δεσμεύεται και χρησιμοποιείται στη φωτοσύνθεση. Προσφέρει την ενέργεια για την σύνθεση οργανικών ουσιών από το  $\text{CO}_2$

### Χλωροφύλλη

Είναι η απαραίτητη χημική ουσία για την επίτευξη της φωτοσύνθεσης.

### Θερμοκρασία

Η φωτοσύνθεση είναι μια χημική ενζυμική διεργασία. Γι' αυτό υπάρχει μια ιδανική θερμοκρασία για να λάβει χώρα, περίπου 30 βαθμοί Κελσίου. Το πρώτο στάδιο της φωτοσύνθεσης δεν επηρεάζεται από τις αλλαγές της θερμοκρασίας για αυτό και σε χαμηλές εντάσεις φωτός η θερμοκρασία δεν είναι περιοριστικός παράγοντας.

### Ένζυμα

Όλα τα βήματα της φωτοσύνθεσης καταλύονται από ένζυμα.

## Εξάσκηση φοιτητών

Θεωρητική εξοικείωση με τις αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης.

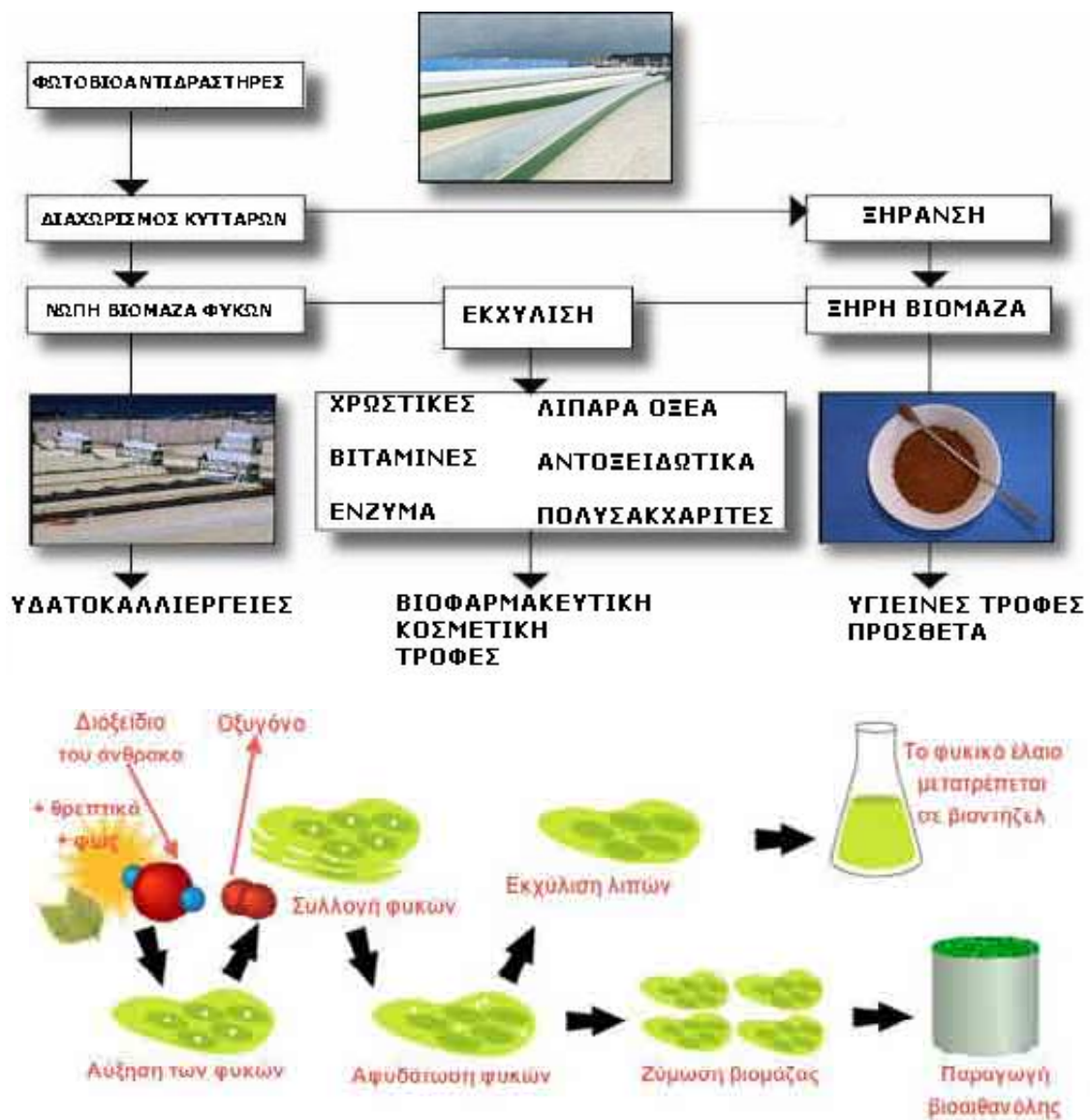
Χειρισμός οργάνων μέτρησης θερμοκρασίας,  $\text{CO}_2$ , pH, έντασης φωτός.

## 2 Χρήσεις των φυκών

### Τομείς και χρήσεις καλλιεργούμενων φυκών

Η καλλιέργεια φυκών (algal culture) εμπλέκεται στις υδατοκαλλιέργειες. Η πλειονότητα των φυκών αυτών ανήκει στην κατηγορία των μικροφυκών (ή φυτοπλαγκτόν ή μικροφύκη, ή πλαγκτονικά φύκη).

Εκτός από τις υδατοκαλλιέργειες έχουν εκτεταμένη χρήση στη διατροφή, την ιατρική, την κοσμετολογία, την παραγωγή ενέργειας, τον έλεγχο της ρύπανσης, κ.ά. (Σχήμα 13).



Σχήμα 13, Κύριες χρήσεις καλλιεργούμενων φυκών.

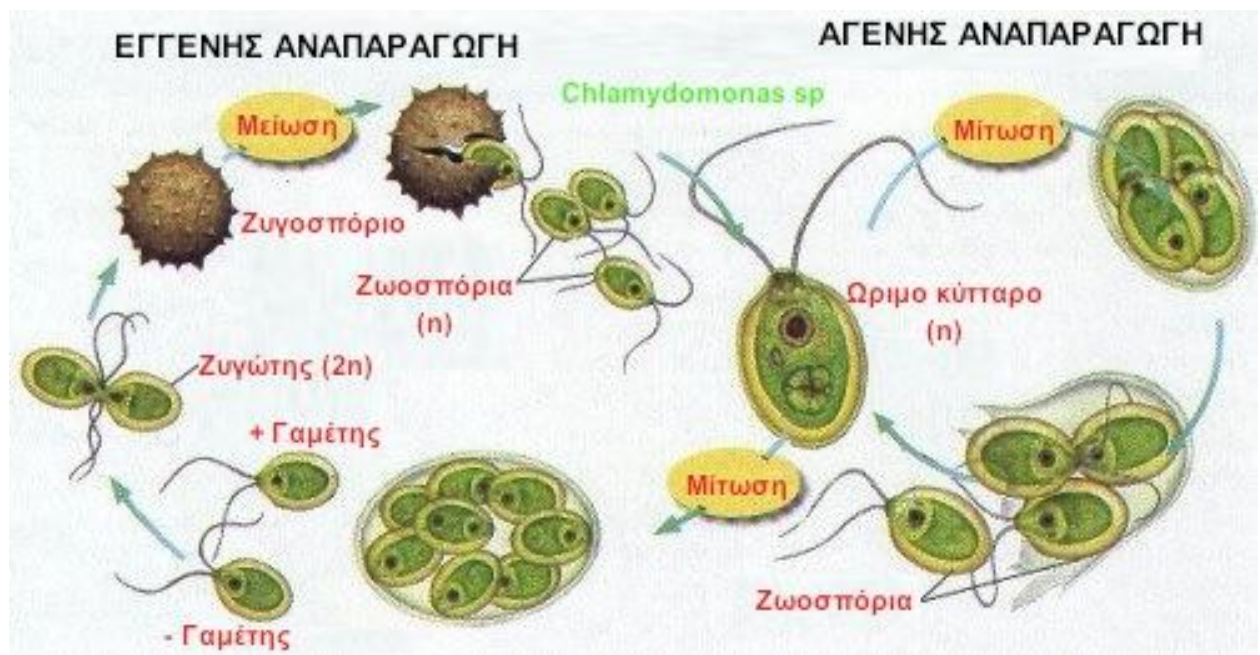
## Φύκη και υδατοκαλλιέργειες

Τα **φύκη** (και όχι φύκια), (ενικός = το φύκος, algae, πληθυντικός = τα φύκη, algae), είναι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί που δεν έχουν βλαστούς, φύλλα, ρίζες, δεν σχηματίζουν σπέρματα, άνθη ή καρπούς, όπως τα ανώτερα φυτά.

Έχουν πρωτόγονη οργάνωση, πολύ απλή στις κατώτερες ταξινομικά ομάδες, πιο πολύπλοκη στις ανώτερες.

Διαφέρουν πολύ από τα Σπερματοφύτα, τόσο από τα χερσαία όσο και από τα θαλάσσια, αυτά, που οι περισσότεροι από άγνοια, τα αποκαλούν «φύκια». Και βέβαια στα ελληνικά πρέπει να «ενθαρρύνεται» η ονομασία τους ως «φύκη» και όχι «άλγες» όπως συχνά αναφέρονται.

Αναπαράγονται με απλή κυτταρική διαίρεση ή και με πιο πολύπλοκο τρόπο είτε αγενώς (ασεξουαλικά) με ζωοσπόρια προκύπτοντα από μίτωση του απλοειδούς μητρικού κυττάρου, είτε εγγενώς (σεξουαλικά) με παραγωγή γαμετών η σύζευξη των οποίων θα δώσει διπλοειδή ζυγώτη ( $2n$ ) ο οποίος κατόπιν με μείωση θα ξαναδώσει απλοειδή ζωοσπόρια καθένα από τα οποία θα γίνει ώριμο κύτταρο (Σχήμα 14). Ορισμένα έχουν πολύπλοκους βιολογικούς κύκλους (κύκλους ζωής).



Σχήμα 14. Σχηματική απεικόνιση αναπαραγωγικού κύκλου μικροφύκους του γένους *Chlamydomonas*.



## ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΑ ΦΥΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΑ ΩΣ ΤΡΟΦΗ ΖΩΝΤΑΝΩΝ ΘΗΡΑΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΛΑΡΒΩΝ ΣΤΑ ΙΧΘΥΟΕΚΚΟΛΑΠΤΗΡΙΑ ΘΑΛΑΣΣΗΣ



### *Nannochloropsis oculata*

Συστηματική κατάταξη:

Υπερβασίλειο: Ευκαρυωτικά

Βασίλειο: Πρώτιστα

Φύλο: Chlorophyta

Ομοταξία: Chrysophyceae

Τάξη: Eustigmatales

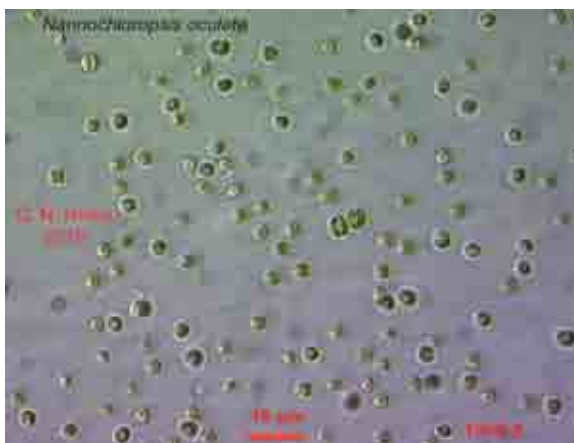
Οικογένεια: Monodopsidaceae

Γένος: *Nannochloropsis*

Είδος: *Nannochloropsis oculata*

Μέγεθος: 2-4  $\mu\text{m}$ , πράσινου χρώματος, χωρίς μαστίγια.

Χρησιμοποιείται ευρέως στις υδατοκαλλιέργειες λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα – PUFA. Μη κινητικό είδος με κύτταρα ελεύθερα, σφαιρικού σχήματος. Παρουσιάζει ανθεκτικότητα σε μεγάλο εύρος αλατοτήτων και θερμοκρασιών και αυξάνεται γρήγορα σε καλλιέργειες με επαρκή θρεπτικά. Σε συνθήκες με επαρκή φωτισμό (> 5000 lux) φθάνει πυκνότητες και άνω των 80.000.000 κυτ./ml. Μοιάζει πολύ τόσο μορφολογικά όσο και στα χαρακτηριστικά της καλλιέργειας με την *Chlorella*. Μετά την εκρηκτική αύξηση του πληθυσμού του η οποία συμβαίνει και κορυφώνεται σε 3-4 ημέρες, η καλλιέργεια αν αφεθεί χωρίς ανανέωση (αραιώση, θρεπτικά), καταρρέει πολύ γρήγορα.





### ***Isochrysis galbana***

Μέγεθος: κυττάρου, 5-7 μm. Ελεύθερα κύτταρα (δεν σχηματίζουν αποικίες), με δύο ισομεγέθη μαστίγια. Πολύ συχνά και ιδιαίτερα όταν τα θρεπτικά στοιχεία στο νερό εξαντλούνται, τα κύτταρα παρουσιάζονται σφαιρικά. Αυτό το χρυσοκαφετί φύκος χρησιμοποιείται ευρέως στις υδατοκαλλιέργειες λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα – PUFA και ιδιαίτερα σε εικοσιδυοεξαενοϊκό οξύ 22:6ω-3 (DHA). Τα πολυακόρεστα και ιδιαίτερα το DHA είναι απαραίτητα για την επιβίωση, την αντοχή στο στρες και την καλή ανάπτυξη του εγκεφάλου και των ματιών των εκτρεφόμενων νυμφών των ψαριών στα ιχθυοεκκολαπτήρια. Οι νύμφες τρέφονται με τροχόζωα και τα τροχόζωα τρεφόμενα με *Isochrysis* εμπλουτίζονται με DHA.

Συστηματική κατάταξη:

Υπερβασίλειο: Ευκαρυωτικά  
 Βασίλειο: Πρώτιστα  
 Φύλο: Chrysophyta  
 Ομοταξία: Haptophyceae  
 Τάξη: Isochrysidales  
 Οικογένεια: Isochrysidaceae  
 Γένος: *Isochrysis*  
 Είδος: *Isochrysis galbana*



### ***Rhodomonas salina***

Συστηματική κατάταξη:

Υπερβασίλειο: Ευκαρυωτικά  
 Βασίλειο: Πρώτιστα  
 Φύλο: Cryptophyta  
 Ομοταξία: Cryptophyceae  
 Τάξη: Pyrenomonadales  
 Οικογένεια: Pyrenomonadaceae  
 Γένος: *Rhodomonas*  
 Είδος: *Rhodomonas salina*

Ελεύθερα ωοειδή κύτταρα μεγέθους 5 – 13 μm και πάχους 6 – 8 μm, πεπλατυσμένα με μία πρόσθια αύλακα με δύο ελαφρώς άνισα μαστίγια. Τα μαστίγια του προσφέρουν κινητική ικανότητα. Το χρώμα τους ποικίλλει από σκούρο κόκκινο έως κοκκινο-καφέ. Υπάρχουν εξειδικευμένα κενοτόπια τα οποία αδειάζοντας απότομα το περιεχόμενό τους, αν το κύτταρο διαταραχθεί από μηχανικό ή χημικό στρες, προωθούν το κύτταρο μακριά από τη διαταραχή. Αλλα είδη του γένους *Rhodomonas* απαντώνται και σε γλυκά νερά. Το *Rhodomonas salina* επιβιώνει σε υφάλμυρα και αλμυρά νερά με βέλτιστο αλατότητας περί τα 20 ppt, θερμοκρασίας 20 °C, pH 8 – 8,2 και φωτισμό συνεχή, εντάσεως 1000-7500 lux (άλλες μονάδες και σχέσεις μετατροπής:  $1 \text{Wm}^{-2} = 5 \mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1} = 250 \text{ lux}$ ). Για την επιτυχή του μαζική καλλιέργεια η οποία μπορεί να φτάσει και τα 1.500.000 κύτ./ml σε 4 ημέρες (ξεκινώντας με 50.000 κύτ./ml), πιο κρίσιμοι παράγοντες είναι η θερμοκρασία και η αλατότητα οι οποίοι πρέπει να είναι βέλτιστοι (20 °C, 20 ppt) ενώ το φως μπορεί να κυμαίνεται σε μεγάλο εύρος έντασης. Εξυπακούεται ότι θα υπάρχει επάρκεια θρεπτικών. Οι καλλιέργειες σε φάση εκθετικής αύξησης έχουν λαμπερό κόκκινο χρώμα ενώ η φθίνουσα καλλιέργεια αποκτά σκούρο κοκκινο-καφέ χρωματισμό και κατόπιν πράσινο.



### ***Tetraselmis suecica***

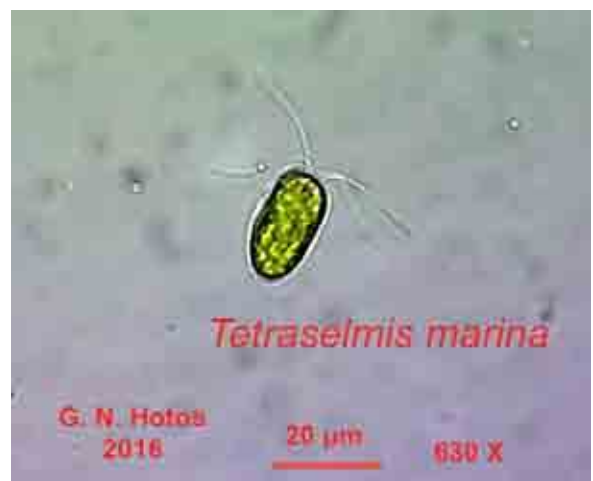
Συστηματική κατάταξη:

Υπερβασίλειο: Ευκαρυωτικά  
 Βασίλειο: Πρώτιστα  
 Φύλο: Chlorophyta  
 Ομοταξία: Chlorophyceae  
 Τάξη: Volvocales  
 Οικογένεια: Chlamydomonadaceae  
 Γένος: *Tetraselmis*  
 Είδος: *Tetraselmis suecica*

Μονοκύτταρο πράσινο θαλάσσιο είδος φύκους, χωρίς κυτταρικό τοίχωμα, με 4 ισομεγέθη μαστίγια τα οποία του προσδίδουν γρήγορη κίνηση. Μέγεθος 7 – 10 μm με κύτταρα ωοειδο-κυλινδρικά με χαρακτηριστικό βαθούλωμα στο εμπρόσθιο μέρος όπου εκφύονται τα μαστίγια. Η καλλιέργειά του είναι εύκολη και μπορεί να φτάσει σε πυκνότητες 1.500.000 κύτ./ml ή και μεγαλύτερες μέσα σε 4 ημέρες σε βέλτιστη αλατότητα 25 ppt, pH 7 - 8, θερμοκρασία 18 – 22 °C και φωτισμό 5000 – 10.000 lux.

Είναι εξαιρετική τροφή για τα τροχόζωα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια και βιταμίνη C. Επίσης αποτελεί εξαιρετική τροφή για τις προνύμφες και τα ενήλικα άτομα των μαλακίων καθώς και για τα καρκινοειδή (*Artemia*, κωπήποδα, γαρίδες) και τα κοράλλια.

Σε κακές συνθήκες καλλιέργειας (έλλειψη θρεπτικών, υπερβολική αλατότητα κ.ά.) τα κύτταρά του χάνοντας τα μαστίγια περιβάλλονται από μια διάφανη κύστη και παραμένουν σε διάπαυση για πολύ καιρό μέχρι οι συνθήκες να καλυτερέψουν. Το στάδιο αυτό λέγεται παλμελλοειδές (palmella stage) και ενίοτε μέσα στην κύστη αυτή παρατηρούνται κυτταρικές διαιρέσεις. Το συγγενές του είδος *Tetraselmis marina* είναι πολύ μεγαλύτερου μεγέθους (~23 μm), απαντάται σε πολύ αλμυρά νερά (80 – 150 ppt) και παρουσιάζει έντονη παλμελλοποίηση.



## ***Chlorella* sp.**

Συστηματική κατάταξη:

Υπερβασίλειο: Ευκαρυωτικά

Βασίλειο: Πρώτιστα

Φύλο: Chlorophyta

Ομοταξία: Trebuxiophyceae

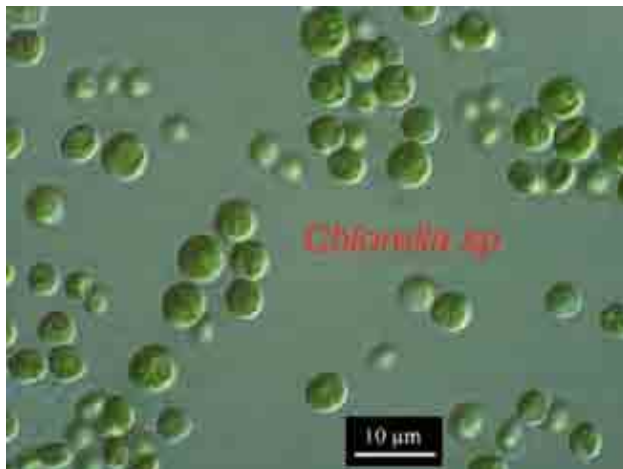
Τάξη: Chlorellales

Οικογένεια: Chlorellorphyceae

Γένος: *Chlorella*

Είδος: π.χ. *Chlorella pyrenoidosa*

Πρόκειται για ένα πολύ μικρό (2-5 μm) μονοκύτταρο και χωρίς μαστίγια χλωροφύκος με μέγεθος που προσιδιάζει στα ευμεγέθη βακτήρια και με κυτταρικό τοίχωμα. Απαντάται σε γλυκά και αλμυρά νερά καθώς και στο έδαφος. Εκτός από μαστίγια δεν έχει επίσης φωτοευαίσθητη κηλίδα, ούτε κενοτόπια. Ο πυρήνας του είναι πολύ μικρός. Είναι ικανό να αυξάνεται εκτός από αυτότροφα και **ετερότροφα** ανάλογα με τις συνθήκες της καλλιέργειας. Δηλαδή αν του παρασχεθεί οργανική πηγή άνθρακα π.χ. σάκχαρα, θα τα χρησιμοποιήσει ετεροτροφικώς χωρίς να χρειάζεται την αυτοτροφία της φωτοσύνθεσης. Σε καλές συνθήκες αναπαράγεται ταχύτατα με κυτταρική διαίρεση. Δεν αναπαράγεται εγγενώς.





## *Dunaliella salina*

Συστηματική κατάταξη:

Υπερβασίλειο: Ευκαρυωτικά

Βασίλειο: Πρώτιστα

Φύλο: Chlorophyta

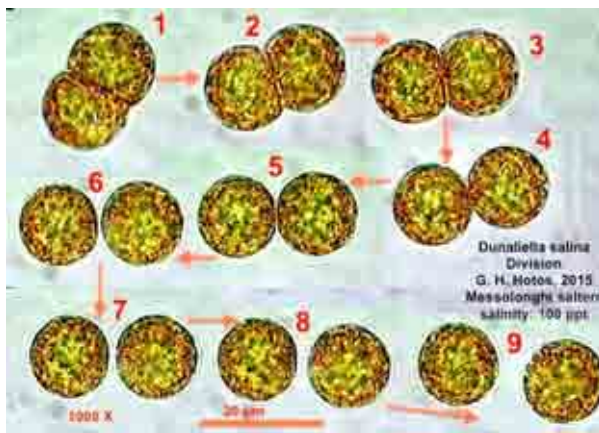
Ομοταξία: Chlorophyceae

Τάξη: Chlamydomonadales

Οικογένεια: Dunaliellaceae

Γένος: *Dunaliella*

Είδος: *Dunaliella salina*



Στις παραπάνω εικόνες (Φωτογρ.: Γ. Χώτος): *Dunaliella salina* σε διάφορα στάδια και μορφές. Επάνω αριστερά: πράσινα κύτταρα με ποικιλία μεγεθών και σε κυτταρική διαίρεση. Επάνω δεξιά: πράσινα κύτταρα και μία κύστη έχοντας αποκτήσει πορτοκαλί απόχρωση λόγω συσσώρευσης καροτινοειδών χρωστικών. Κάτω αριστερά: κυτταρική διαίρεση σε στάδια (κολάζ). Κάτω δεξιά: *D. salina* σε πολύ υψηλή αλατότητα με κύτταρα γεμάτα με β-καροτίνη.

Είναι μονοκύτταρο είδος με δύο ισομεγέθη μεγάλα μαστίγια. Δεν διαθέτει κυτταρικό τοίχωμα. Το γένος *Dunaliella* περιλαμβάνει 29 είδη και επιπροσθέτως πολλές ποικιλίες (τοπικές ή μη, υπό διερεύνηση) και πολλές μορφές κυττάρων (υπό διφορούμενο πολλές φορές καθεστώς ταυτοποίησης). Το είδος *Dunaliella salina* όπως και πολλά από τα συγγενικά του, είναι θαλάσσιο και ειδικά αυτό αντέχει σε εξαιρετικά μεγάλες αλατότητες μέχρι επιπέδου άλμης ~ 310 ppt, διαθέτοντας μια



θαυμαστή ωσμωρυθμιστική ικανότητα από τις ικανότερες μεταξύ των ευκαρυωτικών οργανισμών. Παρουσιάζει αντοχή και στο pH ανεχόμενο ακόμα και τιμή 11. Το ίδιο και για τη θερμοκρασία όπου μπορεί να επιβιώσει σε εύρος  $< 0^{\circ}\text{C}$  έως  $> 38^{\circ}\text{C}$ . Λόγω αυτών των ιδιοτήτων του ενδημεί σε όλες τις αλμυρές λίμνες του κόσμου καθώς και στις λεκάνες των αλυκών όπου κατά τα τελικά στάδια της συμπύκνωσης του νερού στα κρυσταλλοπήγια, χρωματίζει το νερό πορτοκαλοκόκκινο μια και μόνο αυτή κατακλύζει τις δεξαμενές με τα κύτταρά της να έχουν συσσωρεύσει μεγάλες ποσότητες της χρωστικής β-καροτίνη. Η β-καροτίνη είναι πολύτιμο προϊόν για τον άνθρωπο και ως εκ τούτου η *D. salina* καλλιεργείται εντατικά σε πολλά μέρη του κόσμου σε υπεράλμυρες λεκάνες για την παραγωγή αυτής της φυσικής χρωστικής.

Αν και το γενικό υπό την «κλασική» έννοια περιγραφής σχήμα του κυττάρου της είναι αχλαδοειδές, υπάρχει μεγάλη ποικιλία ως προς το μέγεθος (8 – 22  $\mu\text{m}$ ), ως προς το σχήμα (ενίοτε οβάλ, ή σφαιρικό) και το χρώμα (πράσινο, πορτοκαλοπράσινο, πορτοκαλί, κόκκινο) ανάμεσα στα είδη ή και ανάμεσα στο ίδιο είδος. Είναι εξαιρετική τροφή για τα τροχόζωα στις υδατοκαλλιέργειες καθώς έχει ικανοποιητική περιεκτικότητα και σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.

Αναπαράγεται κυρίως αγενώς με απλή κυτταρική διαίρεση αλλά και εγγενώς με ένωση δύο κυττάρων συμπεριφερόμενων ως γαμέτες. Το προϊόν της ένωσής των είναι ένας ευμεγέθης διπλοειδής ζυγώτης, πολύ ανθεκτικός ακόμα και στο γλυκό νερό ή και στην ξηρότητα. Όταν οι συνθήκες ξαναγίνουν καλές ο ζυγώτης που έχει υποστεί μείωση και κατόπιν διαδοχικές μιτώσεις απελευθερώνει μέχρι και 32 απλοειδή θυγατρικά κύτταρα.

### ***Asteromonas gracilis***

Συστηματική κατάταξη:

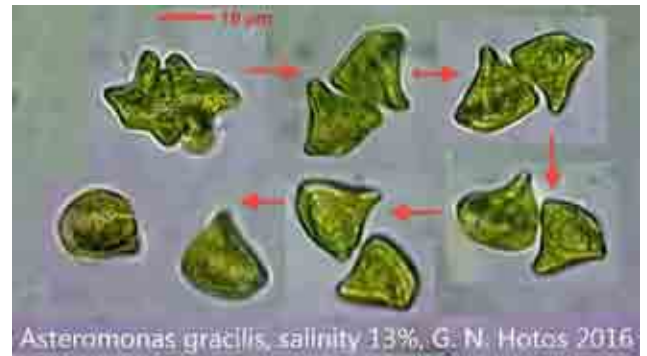
Υπερβασίλειο: Ευκαρυωτικά  
 Βασίλειο: Πρώτιστα  
 Φύλο: Chlorophyta  
 Ομοταξία: Chlorophyceae  
 Τάξη: Chlamydomonadales  
 Οικογένεια: Asteromonadaceae  
 Γένος: *Asteromonas*  
 Είδος: *Asteromonas gracilis*

Πράσινο χλωροφύκος με ελεύθερα κύτταρα χωρίς κυτταρικό τοίχωμα, μεγάλου μεγέθους (18 – 25 μm), με δύο μεγάλα μαστίγια που του προσδίδουν έντονη κινητικότητα η οποία χαρακτηρίζεται από αργή στροβιλοτρεμώδη κίνηση με εύκολα παρακολουθήσιμη στο μικροσκόπιο πορεία προς τα εμπρός ή με στρίψιμο προς άλλη κατεύθυνση. Η εμφάνισή του είναι επιμήκους σχήματος με 6 κατασκευές εν είδη «καρίνας» να διατρέχουν κατά τον επιμήκη άξονα το κύτταρο. Αυτή του η κατασκευή και κατά τις διάφορες θέσεις που παίρνει το κύτταρο κατά τον στροβιλισμό, του προσδίδουν ενίοτε και αστεροειδή μορφή. Επίσης παρουσιάζει και άλλες μορφές ανάλογα με την αλατότητα (σφαιρική, πεπλατυσμένη, καρφοειδή κ.λπ.). Το χρώμα του κυττάρου είναι έντονα πράσινο και διακρίνονται εύκολα ο μεγάλος χλωροπλάστης, ο πυρήνας και η πορτοκαλόχροη φωτοευαίσθητη κηλίδα (στίγμα).

Η *Asteromonas* όπως και η *D. salina* παρουσιάζει θαυμαστή ωσμωρυθμιστική ικανότητα (και τα δύο είδη για να αντέξουν την ωσμωτική διαφορά στην υψηλή αλατότητα παράγουν ενδοκυτταρικός γλυκερίνη), αντέχοντας ένα μεγάλο εύρος αλατότητας από θαλασσινό (35 ppt) έως υπεράλμυρο νερό επιπέδου άλμης (> 300 ppt). Όταν οι συνθήκες χειροτερεύουν (έλλειψη θρεπτικών, κ.ά.) τα κύτταρα μεταμορφώνονται σε κύστες με παχύ μεμβρανικό τοίχωμα και μπορούν να παραμείνουν σε διάπαυση για μήνες ή και χρόνια ακόμα και σε αλάτι και να ξαναμεταμορφωθούν σε κινητικά κύτταρα όταν οι συνθήκες ξαναγίνουν ευνοϊκές. Αυτή της η ιδιότητα σε συνδυασμό με την εύκολη προσαρμογή της σε μεγάλο εύρος αλατότητας, θερμοκρασίας, έντασης φωτός, pH και την μη ανάγκη της για βιταμίνες στο θρεπτικό μέσο, την κάνουν πολύ πρακτικό είδος για καλλιέργεια η οποία μάλιστα δεν καταρρέει εύκολα και αν αυτό γίνει μετά από πολύ καιρό, οι δημιουργηθείσες εν τω μεταξύ κύστες της μπορούν να ξαναδώσουν νέα βιώσιμη καλλιέργεια.

Είναι ιδανική τροφή για τροχόζωα, πρωτόζωα, κωπήποδα και την *Artemia*. Αναπαράγεται με απλή κυτταρική διαίρεση.

Αποτελεί στόχο έρευνας τελευταίως για μαζική καλλιέργεια σε υψηλή αλατότητα με σκοπό την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων όπως β-καροτένιο και βιοκαύσιμα.



Στις παραπάνω εικόνες (φωτογρ.: Γ. Χώτος): *Asteromonas gracilis*. Επάνω αριστερά: Ποικίλες μορφές. Επάνω δεξιά: Στάδια κυτταρικής διαίρεσης (κολάζ). Κάτω αριστερά: Καρφοειδής μορφή. Κάτω δεξιά: Κύστεις.

---

## Εξάσκηση φοιτητών

Μικροσκοπική παρατήρηση και καταγραφή διαφόρων ειδών μικροφυκών.  
Έμφαση στην μορφολογική αναγνώριση των ειδών.

### 3 Καλλιέργεια μικροφυκών (algal culture)

#### Κριτήρια επιλογής ενός είδους μικροφύκου για καλλιέργεια

Το φυτοπλαγκτόν στις σύγχρονες υδατοκαλλιέργειες καλλιεργείται και παράγεται εντατικά με ποικίλες μεθόδους, καθώς αποτελεί τη βάση της τροφικής αλυσίδας που γενικά και απλοποιημένα είναι η παρακάτω:

**Φυτοπλαγκτόν → Ζωοπλαγκτόν → Λάρβες (νύμφες) ψαριών ή μαλακίων**

Σήμερα περισσότερα από σαράντα διαφορετικά φυτοπλαγκτονικά είδη έχουν χρησιμοποιηθεί ως ζωντανή τροφή υδρόβιων ασπόνδυλων και σπονδυλωτών.

Η θρεπτική αξία των ειδών αυτών έχει διαπιστωθεί κυρίως μέσω δοκιμών σε είδη με σπουδαία εμπορική αξία, όπως τα στρείδια, οι γαρίδες, τα ψάρια και το ζωοπλαγκτόν.

Μέχρι σήμερα ο ακριβής λόγος, για τον οποίο ένα φυτοπλαγκτονικό είδος θεωρείται καλή τροφή και κάποιο άλλο λιγότερο ή καθόλου, δεν έχει εξακριβωθεί και πολλές αντικρουόμενες απόψεις πάνω σε αυτό το θέμα συναντώνται στη διεθνή βιβλιογραφία.

Υπάρχουν κάποια βασικά και απαραίτητα κριτήρια, που θα πρέπει να πληροί ένα είδος φυτοπλαγκτού, για να μπορεί να χορηγηθεί ως τροφή στους καλλιεργούμενους οργανισμούς. Πιο συγκεκριμένα θα πρέπει:

- α) να μην είναι τοξικό,
- β) να έχει μέγεθος κατάλληλο,
- γ) να διαθέτει λεπτό (ή καθόλου) κυτταρικό τοίχωμα ώστε να είναι εύπεπτο και,
- δ) να έχει την απαιτούμενη βιοχημική σύσταση.

Τα δίθυρα μαλάκια για παράδειγμα δε μπορούν να πέψουν κύτταρα με χοντρό κυτταρικό τοίχωμα, ενώ τα τροχόζωα το μπορούν με τη βοήθεια του φαρυγγικού τους οργάνου-mastax. Γι' αυτό ακριβώς το λόγο το γένος *Chlorella* είναι κατάλληλο στην καλλιέργεια των τροχοζώων, αλλά όχι στην καλλιέργεια στρειδιών. Ωστόσο, με θραύση του κυτταρικού τοιχώματος (π.χ. με θερμικό σοκ) χλωροφύκη σαν την *Chlorella* μπορούν να γίνουν εύπεπτα.

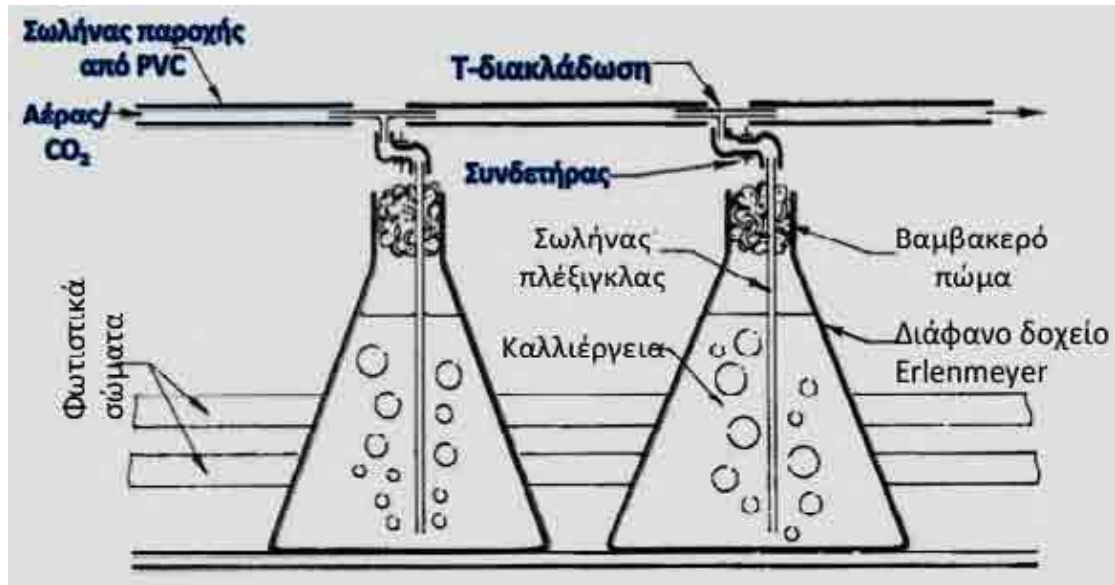
Επιπλέον μερικά είδη συχνά και απρόβλεπτα γίνονται τοξικά για τις λάρβες των ψαριών και των στρειδιών. Οι λόγοι εμφάνισης αυτού του φαινομένου δεν έχουν ακόμα εξακριβωθεί, παρ' όλα αυτά η ηλικία της καλλιέργειας των φυτοπλαγκτονικών ειδών, όταν αυτά χορηγούνται ως τροφή, ίσως να έχει κάποια σημασία.

Στην περίπτωση που κάποιο είδος πληροί τις παραπάνω προϋποθέσεις, τότε για να μπορεί να καλλιεργηθεί μαζικά, θα πρέπει να ερευνηθούν οι βέλτιστες συνθήκες καλλιέργειας του, όπως π.χ. η θερμοκρασία, η αλατότητα, ο φωτισμός, το pH, το οξυγόνο, το CO<sub>2</sub>, κ.λπ.

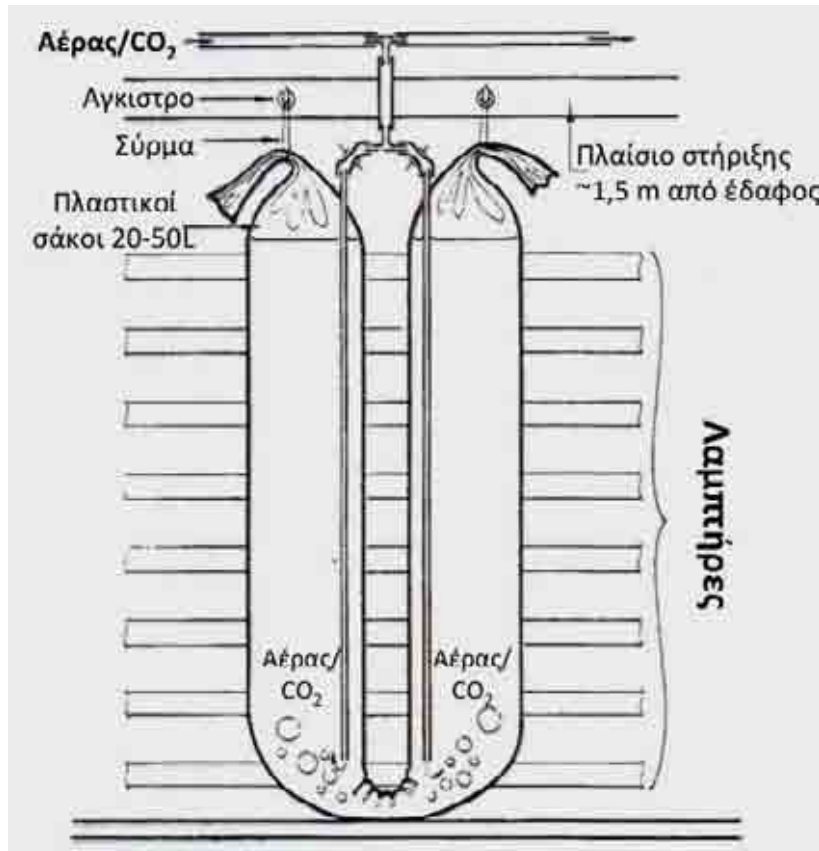
#### Μαζική καλλιέργεια των μικροφυκών

Τα μικροφύκη καλλιεργούνται είτε σε εσωτερικούς είτε σε εξωτερικούς χώρους. Η καλλιέργειά τους σε εσωτερικό χώρο αποτελεί τον κανόνα όταν πρόκειται για οργανωμένη επιχείρηση καλλιέργειας, δεδομένου ότι μόνο έτσι μπορούν να ελεγχθούν στο μέγιστο δυνατό βαθμό οι επιθυμητές περιβαλλοντικές

συνθήκες (κυρίως θερμοκρασία και φως). Τα δοχεία καλλιέργειας είναι φυσικά διαφανή κυρίως γυάλινα όταν έχουν χωρητικότητα μέχρι 5 L (Σχήμα 15) και πλαστικά για μεγαλύτερες χωρητικότητες (συμπαγή δοχεία μέχρι 12 L και συνήθως πλαστικοί σάκοι μέχρι 200 L – Σχήμα 16). Απαραίτητη προϋπόθεση για την αύξηση της καλλιέργειας είναι η παροχή αέρα (και ή δυνατόν εμπλουτισμένο με 2% CO<sub>2</sub>) και ο επαρκής φωτισμός (> 2000 lux).



Σχήμα 15. Δοχεία καλλιέργειας φυτοπλαγκτού κυλινδροκωνικά τύπου Erlenmeyer με παροχή αέρα και λαμπτήρες.

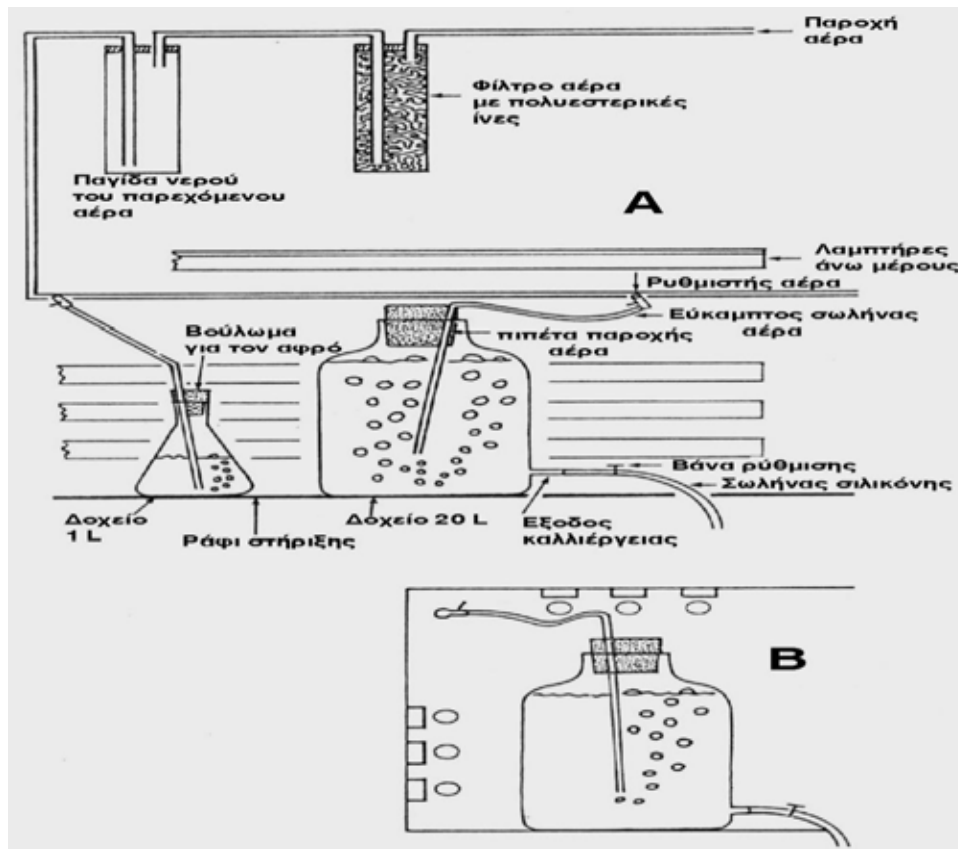


Σχήμα 16. Πλαστικός διαφανής σάκος καλλιέργειας φυτοπλαγκτού κατάλληλα κρεμασμένος και φωτιζόμενος καθ' όλο το μήκος του. Παρέχεται αέρας που προμηθεύει τα φύκη με το απαραίτητο CO<sub>2</sub> και συνάμα τα αναδεύει.

Ο αέρας που παρέχεται στο όλο συγκρότημα της καλλιέργειας φιλτράρεται περνώντας μέσα από



ένα ειδικό θάλαμο-φίλτρο για να συγκρατηθεί εκεί κάθε ξένο σώμα (βιοτικό ή αβιοτικό) που θα μπορούσε να μολύνει την καλλιέργεια. Επίσης η γραμμή του αέρα βρίσκεται πάντοτε πάνω από το υψηλότερο δοχείο καλλιέργειας για να αποφευχθεί τυχόν σιφωνισμός και είσοδος νερού αν συμβεί διακοπή του αερισμού. Υπάρχει επίσης σε κάποιο σημείο της γραμμής και ένα κλειστό δοχείο το οποίο λειτουργεί ως συμπυκνωτής υδρατμών («παγίδα νερού») (Σχήμα 17).

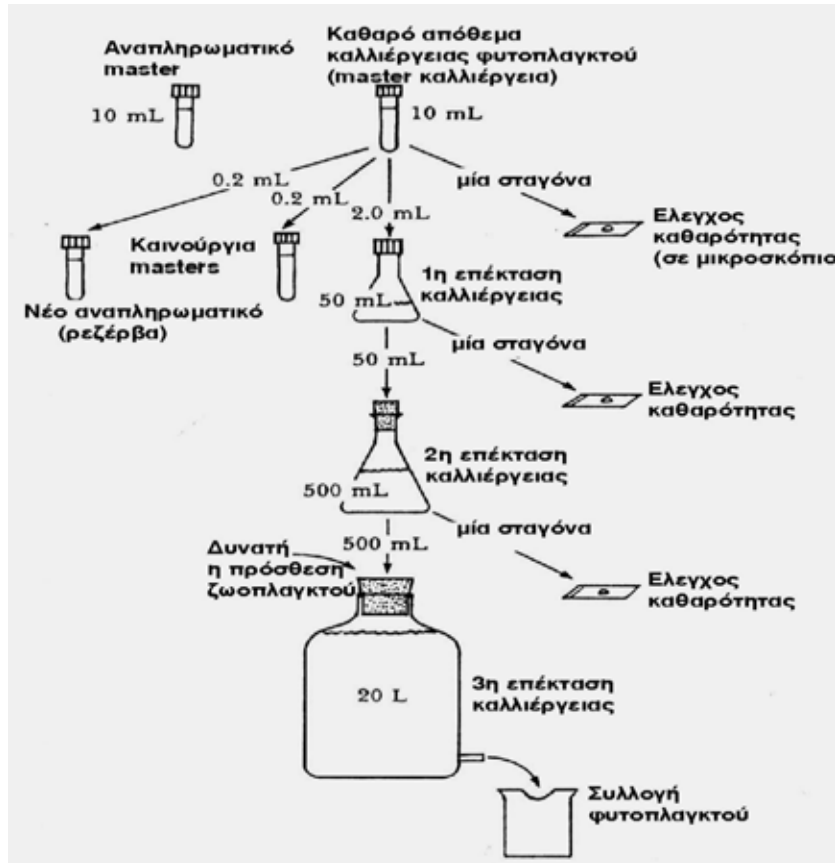


Σχήμα 17. Γενική σχεδιαγραμματική απεικόνιση της παροχής του αέρα και των φωτιστικών σωμάτων στα δοχεία καλλιέργειας φυτοπλαγκτού.

Η μαζική καλλιέργεια των μικροφυκών σε εντατικές συνθήκες στηρίζεται στην τεχνική της διαδοχικής ωρίμανσης και επέκτασης από μικρότερους σε μεγαλύτερους όγκους (Σχήματα 18 & 19). Είναι πρακτικά αδύνατον να υπάρξει μαζική παραγωγή μικροφυκών μεγάλων όγκων της τάξεως των πολλών  $m^3$  απλώς εμβολιάζοντας μεγάλα δοχεία. Η αύξηση δεν θα είναι ελεγχόμενη, δεν θα γνωρίζουμε πότε θα ωριμάσουν και το πιθανότερον, οι καλλιέργειες των επιθυμητών ειδών θα επιμολυνθούν με ανεπιθύμητα είδη.

Στις υδατοκαλλιέργειες αλλά και στις άλλες επιχειρήσεις που καλλιεργούν επιλεγμένα είδη φυτοπλαγκτού για διάφορες βιομηχανικές χρήσεις (φαρμακευτική, πρόσθετα τροφίμων, βιοκαύσιμα κ.ά.), στόχος είναι η μέγιστη αύξηση ενός (ή κάποιων) ειδών που έχουν τα κατάλληλα βιοχημικά χαρακτηριστικά. Εάν λοιπόν επικρατήσει στην καλλιέργεια κάποιο άλλο είδος τότε ούτε ο στόχος του επιθυμητού είδους θα επιτευχθεί και ούτε η ενέργεια που επενδύθηκε για αυτό θα αξιοποιηθεί.

Συνεπώς η όλη διαδικασία γίνεται σταδιακά κατά την οποία αρχίζοντας από καθαρά αποθέματα προχωρούμε σε ολοένα και μεγαλύτερα δοχεία έχοντας έτσι το μέγιστο δυνατό έλεγχο στην κατάσταση της καλλιέργειας. Επιπλέον μπορούμε να σχεδιάσουμε και χρονικά την τελική συλλογή της καλλιέργειας από τα τελικά μεγάλα δοχεία (Σχήμα 19).



Σχήμα 18. Σχηματική παράσταση της επέκτασης της καλλιέργειας.



Σχήμα 19. Αναλυτικότερη σχηματική παράσταση της επέκτασης της καλλιέργειας.

## Απαραίτητος εξοπλισμός παραγωγής φυτοπλαγκτού

- **Αυτόκαυστο:** Αποστειρωτής με τη χρήση ατμού. Το μέγεθος του αποστειρωτή εξαρτάται από το συνολικό όγκο των προς αποστείρωση καλλιιεργειών, σύμφωνα με τις απαιτήσεις του προγράμματος παραγωγής.



**Ψυγείο**

- **Αποστακτήρας νερού**
- **Θερμοσίφωνα**
- **Νεροχύτης και πάγκος εργασίας** για τους εμβολιασμούς στους μικρούς όγκους
- **Φίλτρα**



**Λυχνία Bunsen**

- **Ρολό πλαστικών σάκων** κατάλληλου πλάτους και πάχους τοιχώματος
- **Θερμοκολλητικό μηχάνημα** για τη συρραφή των πλαστικών σάκων



**Ζυγαριά ακριβείας**

- **Μικροσκόπιο**



**Μαγνητικός αναδευτήρας**

- **Θερμαινόμενη πλάκα**
- **Δοκιμαστικοί σωλήνες** και υποστηρίγματα δοκιμαστικών σωλήνων
- **Γυάλινες φιάλες** Erlenmeyer ή στρόγγυλες (με κοντό λαιμό) από 250 ml έως 10 L
- **Αναδευτήρας** δοκιμαστικού σωλήνα
- **Υδρόφοβο βαμβάκι και γάζες**



**Φορητό pH-μετρο με ένδειξη θερμοκρασίας**

- **Αιμοκυττόμετρο** για τη μέτρηση της πυκνότητας των μικροφυκών
- **Μανόμετρο** CO<sub>2</sub>
- **Θερμόμετρο** αίθουσας (μεγίστου-ελαχίστου)
- **Άλλα υλικά εργαστηρίου**

## Φυσικοχημικές παράμετροι καλλιέργειας μικροφυκών

### Φως (lighting)

Όπως όλα τα φυτά έτσι και όλα τα μικροφύκη φωτοσυνθέτουν, δηλαδή αφομοιώνουν τον ανόργανο άνθρακα και τον μετατρέπουν σε οργανική ύλη. Το φως είναι η πηγή ενέργειας για αυτή την μετατροπή η οποία εξαρτάται από την ένταση, τη φασματική ποιότητα και την φωτοπερίοδο του φωτισμού. Η ένταση του φωτός έχει τη μεγαλύτερη επίδραση αλλά οι απαιτήσεις ποικίλουν πολύ με το βάθος της καλλιέργειας και την πυκνότητα της καλλιέργειας των φυκών: σε μεγάλα βάθη και σε υψηλές συγκεντρώσεις κυττάρων, η ένταση του φωτός πρέπει να αυξηθεί για να διαπεράσει την καλλιέργεια (π.χ. 1000 lux κατ' ελάχιστον είναι κατάλληλη για φιάλες Erlenmeyer, 5000-10.000 lux απαιτούνται για μεγαλύτερους όγκους).

Το φως μπορεί να είναι φυσικό ή να παρέχεται από σωλήνες φθορισμού. Πολύ μεγάλη ένταση φωτός (π.χ. άμεσο ηλιακό φως, μικρό δοχείο κοντά στο τεχνητό φως) μπορεί να οδηγήσει στην φωτοαναστολή. Επίσης η υπερθέρμανση εξαιτίας του φυσικού και του τεχνητού φωτισμού πρέπει να αποφεύγεται. Οι σωλήνες φθορισμού που εκπέμπουν είτε σε μπλε είτε σε κόκκινο φάσμα φωτός πρέπει να προτιμώνται καθώς είναι τα πιο ενεργά τμήματα του φωτεινού φάσματος, για την φωτοσύνθεση. Η διάρκεια του τεχνητού φωτισμού πρέπει να είναι το ελάχιστο 18 ώρες φωτός /24ωρο, αν και το καλλιεργούμενο φυτοπλαγκτόν αναπτύσσεται κανονικά υπό σταθερό φωτισμό.

### Θερμοκρασία (temperature)

Η βέλτιστη θερμοκρασία για φυτοπλαγκτονικές καλλιέργειες είναι μεταξύ 20 και 24 °C αν και αυτό μπορεί να ποικίλει με την σύνθεση του μέσου καλλιέργειας, τα είδη των φυκών και τον τύπο της καλλιέργειας. Τα πιο κοινά καλλιεργούμενα είδη μικροφυκών ανέχονται θερμοκρασίες μεταξύ 16-27 °C. Θερμοκρασίες μικρότερες από 16 °C θα επιβραδύνουν την αύξηση, ενώ υψηλότερες από 35 °C είναι θανατηφόρες για ένα αριθμό ειδών. Εάν είναι απαραίτητο οι καλλιέργειες των φυκών μπορούν να δροσιστούν με μια ροή κρύου νερού γύρω από την επιφάνεια του δοχείου της καλλιέργειας ή με τον έλεγχο της θερμοκρασίας του αέρα με ψυκτικές μονάδες κλιματισμού.

Ενδεικτικές τιμές βέλτιστης θερμοκρασίας καλλιέργειας:

20-23°C (*Nannochloropsis oculata*, *Dunaliella salina*, *Chlorella* sp, *Asteromonas gracilis*). 18- 20°C (*Isochrysis* sp., *Tetraselmis suecica*, *Rhodomonas salina*).

### pH

Το εύρος του pH για τα περισσότερα καλλιεργούμενα είδη μικροφυκών κυμαίνεται σε 7,0 – 9,0 ενώ το βέλτιστο εύρος είναι 8,2 – 8,7 (για τα θαλασσινά είδη), 7,0 - 8,0 (για τα του γλυκού νερού). Η πλήρης αποτυχία της καλλιέργειας εξαιτίας της διακοπής πολλών κυτταρικών λειτουργιών, μπορεί να προκύψει από αποτυχία διατήρησης ενός αποδεκτού pH. Κάτι τέτοιο μπορεί να αποφευχθεί με τον αερισμό της καλλιέργειας (βλέπε παρακάτω).

Στην περίπτωση της υψηλής πυκνότητας καλλιέργειας μικροφυκών, και επειδή η φωτοσύνθεση κάνει το pH αλκαλικό, προσθήκη διοξειδίου του άνθρακα επιτρέπει

να διορθωθεί (χαμηλώσει) το αυξανόμενο pH το οποίο μπορεί να φθάσει οριακές τιμές μέχρι και pH = 9,0 κατά την φυκική αύξηση.

### **Αλατότητα (salinity)**

Το θαλάσσιο φυτοπλαγκτόν είναι εξαιρετικά ανεκτικό στις αλλαγές της αλατότητας. Τα περισσότερα είδη αναπτύσσονται καλύτερα σε μία αλατότητα η οποία είναι ελαφρώς χαμηλότερη από αυτή του εγγενούς βιοτόπου, η οποία επιτυγχάνεται με την αραιώση του θαλασσινού νερού με νερό βρύσης. Αλατότητες των 20-25 g/L (20-25 ppt ή ‰) έχουν βρεθεί να είναι βέλτιστες. Γενικώς συνιστάται 20-30 ‰ για τα περισσότερα θαλασσινά είδη.

### **Αερισμός (aeration)**

Η ανάδευση-ανάμιξη του νερού είναι απαραίτητη για να αποτρέψει την ιζηματοποίηση των φυκών, να διασφαλίσει ότι όλα τα κύτταρα του πληθυσμού εκτίθενται εξίσου στο φως και στα θρεπτικά συστατικά, να αποφύγει θερμική στρωματοποίηση (π.χ. σε υπαίθριες καλλιέργειες) και να βελτιώσει την ανταλλαγή των αερίων μεταξύ της καλλιέργειας και του αέρα. Το τελευταίο είναι υψίστης σπουδαιότητας δεδομένου ότι ο αέρας περιέχει την πηγή άνθρακα για την φωτοσύνθεση υπό την μορφή του διοξειδίου του άνθρακα. Για τις πολύ πυκνές καλλιέργειες το CO<sub>2</sub> προέρχεται από τον αέρα (περιέχει 0,04 % CO<sub>2</sub>) των φυσαλίδων του παρεχομένου αέρα. Για καλύτερη ανάπτυξη μπορεί να προστεθεί καθαρό CO<sub>2</sub> στην παροχή του αέρα (π.χ. σε ένα ποσοστό 1% του όγκου του αέρα). Η προσθήκη του CO<sub>2</sub> επιπλέον εξουδετερώνει-εξισορροπεί (buffering) το νερό απέναντι στις αλλαγές του pH που συμβαίνουν λόγω της αλκαλοποίησης κατά τη φωτοσύνθεση, σαν αποτέλεσμα της ισορροπίας του CO<sub>2</sub> με το ανθρακικό οξύ/CO<sub>2</sub>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Ανάλογα με την κλίμακα του συστήματος καλλιέργειας, η μίξη επιτυγχάνεται με την καθημερινή ανάδευση με το χέρι (δοκιμαστικοί σωλήνες, μικρά δοχεία Erlenmeyer), με τον αερισμό (μεγάλα δοχεία Erlenmeyer, δοχεία nalgene, διάφανοι σάκοι, δεξαμενές) ή με την χρήση αναδευτήρων (raddle wheels) και υδροεκτοξευτήρων τύπου Jetrimps (υδατοδεξαμενές), ωστόσο πρέπει να σημειωθεί ότι δεν μπορούν όλα τα είδη των φυκών να ανεχτούν την έντονη μίξη.

### **Θρεπτικά συστατικά**

Διάλυμα μεταλλικών αλάτων, ιχνοστοιχείων και βιταμινών (βλέπε στα επόμενα).

### **Τεχνική παραγωγής των μικροφυκών**

Η έναρξη της καλλιέργειας πραγματοποιείται από στελέχη φυκών τα οποία έχουν υποστεί συντονισμένο και ακριβές πρόγραμμα απομόνωσης (isolation) σε εξουσιοδοτημένα εργαστήρια.

Η αρχική καλλιέργεια ονομάζεται **master** (Σχ. 20-A). Πάντα θα φυλάσσονται μικρές ποσότητες (τράπεζα) των ειδών algae που παράγουμε σε θαλάμους με χαμηλή θερμοκρασία (Σχ. 20-Δ).

Το κάθε master θα εμβολιάσει δοκιμαστικούς σωλήνες (**test tubes**) (Σχ. 20-B). Από τους δοκιμαστικούς σωλήνες θα εμβολιαστούν φιάλες (flasks) ή δοχεία **Erlenmeyer** χωρητικότητας από 250 ml έως 5 L (Σχ. 20-Γ & Ε).

Από τις φιάλες (flasks) ή τα δοχεία Erlenmeyer θα περάσουμε στα δοχεία Nalgene (διάφανα αντέχουν στο αυτόκαυστο) των 12 L (Σχήμα 21). Ακολουθεί ο



εμβολιασμός διάφανων πλαστικών σάκων (bags) ή πλαστικών σωλήνων (tubes) (30-200 L) (Σχήμα 22) ή άλλων διαμορφώσεων (Σχήματα 23 και 24).



Σχήμα 20. Φωτογραφίες από τα δοχεία που χρησιμοποιούνται για την επέκταση της φυτοπλαγκτονικής καλλιέργειας. **A**-καθαρή καλλιέργεια έναρξης-master. **B**-δοκιμαστικοί σωλήνες. **Γ**-Δοχεία Erlenmeyer 250 ml. **Δ**-Θάλαμος σταθερών συνθηκών διατήρησης καθαρών καλλιεργειών. **E**-επέκταση της καλλιέργειας σε δοχεία Erlenmeyer 5 L και δοχεία naigene 12 L. **ΣΤ**-Τελική φάση καλλιέργειας σε πλαστικούς σωλήνες 200 L τύπου "Fytoplan".



Σχήμα 21. Φάση ενδιάμεσων καλλιεργειών φυτοπλαγκτού σε δοχεία Erlenmeyer 1 και 2 L (άνω φωτογραφία) και δοχεία naigene των 12 L (κάτω φωτογραφία). Χαρακτηριστικό γνώρισμα και των δύο καλλιεργειών η μεγάλη ένταση του τεχνητού φωτισμού. Επίσης στην κάτω φωτογραφία το κόκκινο χρώμα οφείλεται στην καλλιέργεια του μικροφύκου *Rhodomonas salina* (φωτ. Γ. Χώτος).



Σχήμα 22. Τελικοί όγκοι καλλιέργειας φυτοπλαγκτού σε κατάλληλα διαμορφωμένα κυλινδρικά δοχεία από πλαστικούς σάκους (50 - 200 L) που έχουν πάρει κυλινδρικό σχήμα τοποθετημένοι σε κατάλληλα διαμορφωμένο πλέγμα-σκελετό. Στη φωτογραφία κάτω δεξιά τα διαφανή δοχεία είναι κατασκευασμένα από πλέξιγκλάς.



Σχήμα 23. Ειδικές κατασκευές τύπου «φωτοβιοαντιδραστήρες» (photobioreactors-PBR) για την τελική ανάπτυξη της φυτοπλαγκτονικής καλλιέργειας. Στους βιοαντιδραστήρες η καλλιέργεια κυκλοφορεί συνεχώς σε κλειστό κύκλωμα μέσα στους μικρής διαμέτρου σωλήνες οι οποίοι προσφέρουν πολύ μεγάλη επιφάνεια έκθεσης στο φως για καλύτερη φωτοσύνθεση. Αριστερά: βιοαντιδραστήρες τύπου σωλήνα. Δεξιά: βιοαντιδραστήρες τύπου πεπλατυσμένων δοχείων. Ο φωτισμός μπορεί να είναι και φυσικός.





Σχήμα 24. Μεγάλες τεχνητές εξωτερικές δεξαμενές 100 – 2000 m<sup>3</sup> για παραγωγή φυτοπλαγκτού σε μεγάλες ποσότητες. Ο φωτισμός είναι φυσικός και οι καλλιέργειες πρέπει να αναδεύονται-αερίζονται καλά για να φωτοσυνθέσει όλη η καλλιεργούμενη φυτοπλαγκτονική μάζα. Το βάθος των δεξαμενών δεν είναι μεγάλο και κυμαίνεται στα 30 – 50 cm. Το σχήμα των δεξαμενών είναι ορθογώνιο με αποστρογγυλεμένες γωνίες και ονομάζεται τύπου-U. Στις επάνω φωτογραφίες και στην κάτω αριστερά διακρίνονται οι αναμοχλευτές του νερού που το αναδεύουν και το διατηρούν σε μια κυκλική κίνηση καθ' όλο τον επιμήκη άξονα. Το διάφραγμα στο μέσο της δεξαμενής βοηθά στην ομοιόμορφη κυκλοφορία του νερού. Στη φωτογραφία κάτω δεξιά φαίνονται πλαστικές διαφανείς δεξαμενές από ακρυλικό υλικό χωρητικότητας 500 – 1000 L για εσωτερική χρήση.

**Σύνοψη:** Η όλη επιχείρηση διαδοχικών επεκτάσεων από μικρότερους σε μεγαλύτερους (τελικούς) όγκους αποτυπώνεται στο Σχήμα 25.



Σχήμα 25. Από τα master, στις ενδιάμεσες και στις τελικές καλλιέργειες

## Εξάσκηση φοιτητών

Εξοκίωση με τον εξοπλισμό στον εργαστηριακό χώρο καλλιέργειας μικροφυκών.  
Χειρισμός διαδικασιών αποστείρωσης και απολύμανσης.  
Εμβολιασμός καλλιεργειών.

# 4 Ποσοτικός υπολογισμός φυτοπλαγκτονικού πληθυσμού

## Πρότυπο αύξησης φυτοπλαγκτονικής καλλιέργειας

Η αύξηση ενός πληθυσμού μικροφυκών χαρακτηρίζεται από πέντε φάσεις (Σχήμα 26):



Σχήμα 26. Τυπική καμπύλη αύξησης φυτοπλαγκτονικής καλλιέργειας.

### Φάση καθυστέρησης (1)

Η αδρανοποίηση κάποιων ενζύμων, ο μειωμένος μεταβολισμός, η απουσία κυτταρικών διαιρέσεων, αποτελούν βασικούς λόγους της καθυστέρησης αύξησης του φυτοπλαγκτονικού πληθυσμού.

### Φάση εκθετικού ρυθμού αύξησης (2)

Η φάση αυτή χαρακτηρίζεται από ένα σταθερό και ταχύ ρυθμό κυτταρικών διαιρέσεων. Κατά τη διάρκεια της 2<sup>ης</sup> φάσης η πυκνότητα των κυττάρων αυξάνεται με τον χρόνο  $t$  σύμφωνα με τη λογαριθμική εξίσωση  $C_t = C_0 e^{\mu t}$  με  $C_t$  και  $C_0$  να είναι συγκεντρώσεις κυττάρων σε χρόνο  $t$  και μηδέν (0) αντίστοιχα και  $(\mu)$  ο ειδικός ρυθμός αύξησης. Ο εκάστοτε ρυθμός αύξησης είναι κυρίως εξαρτώμενος από τα είδη των μικροφυκών, την ένταση του φωτός και τη θερμοκρασία.

### Φάση πτωτικής τάσης ρυθμού αύξησης (3)

Η εξάντληση θρεπτικών συστατικών, η μειωμένη διαθεσιμότητα  $CO_2$ , η αλλαγή του pH, η μείωση της διαπερατότητας του φωτός, η παραγωγή τοξικών ουσιών, αποτελούν πιθανές αιτίες αναστολής των κυτταρικών διαιρέσεων.

#### Στατική φάση (4)

Στη φάση αυτή ο φυτοπλαγκτονικός πληθυσμός βρίσκεται σε κατάσταση ισορροπίας μεταξύ του ρυθμού αύξησης και των συσσωρευμένων περιοριστικών παραγόντων.

#### Φάση κατάρρευσης (5)

Η αλλιώς, «φάση θανάτου», που επέρχεται με πολύ γρήγορο ρυθμό καθώς η ποιότητα του νερού έχει μειωθεί και τα θρεπτικά συστατικά έχουν εξαντληθεί. Οι κυτταρικές διαιρέσεις έχουν σταματήσει και τελικώς η καλλιέργεια καταρρέει παρουσιάζοντας την εικόνα είτε ενός θολού είτε ενός διαυγούς νερού με ένα στρώμα ιζήματος νεκρών φυκών στον πυθμένα του δοχείου.

Στην πράξη, η κατάρρευση της καλλιέργειας μπορεί να προκληθεί από ποικίλους λόγους, συμπεριλαμβανομένου της μείωσης ενός θρεπτικού συστατικού, της ανεπάρκειας διοξειδίου του άνθρακα, της υπερθέρμανσης, της διαταραχής του pH, ή της επιμόλυνσης από πρωτόζωα. Το κλειδί για την επιτυχία μιας μικροφυκικής παραγωγής είναι να διατηρεί όλες τις καλλιέργειες στη φάση εκθετικής αύξησης. Επιπλέον, η θρεπτική αξία των παραγόμενων φυκών είναι κατώτερη όταν η καλλιέργεια έχει ξεπεράσει την φάση 3 εξαιτίας της παρατηρούμενης συχνά μειωμένης πεπτικότητάς των από τα τροχόζωα (ιδίως), της ανεπαρκούς σύνθεσης και της πιθανής παραγωγής τοξικών μεταβολιτών.

#### Στη Φάση εκθετικού ρυθμού αύξησης υπολογίζονται:

1. Ο ειδικός ρυθμός αύξησης ( $\mu$ ) του φυτοπλαγκτονικού πληθυσμού:

$$\mu = (\ln x_2 - \ln x_1) / (t_2 - t_1)$$

όπου:

$\mu$  : ειδικός ρυθμός αύξησης

$x_2$  και  $x_1$  : μετρηθείσες πυκνότητες φυτοπλαγκτού (κύτταρα/ml)

$t_2$  και  $t_1$  : χρόνοι μέτρησης των  $x_2$  και  $x_1$

2. Ο χρόνος γενεάς,  $t_g$  (ο χρόνος σε ημέρες που απαιτείται για να διπλασιασθεί ο πληθυσμός):

$$t_g = 0,6931 / \mu$$

όπου:

$t_g$  : χρόνος γενεάς (σε 24ωρα)

$\mu$  : ειδικός ρυθμός αύξησης

#### Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων

Η καταμέτρηση των κυττάρων σε καλλιεργούμενους φυτοπλαγκτονικούς πληθυσμούς πραγματοποιείται με την χρήση **αιμοκυτταρόμετρου** (ή αιμοκυττόμετρου) τύπου Burkler, τύπου Fuchs-Rosenthal ή τύπου Neubauer, με συνηθέστερο και πρακτικότερο αυτό των Fuchs-Rosenthal (Σχήμα 27). Αυτή η μέθοδος είναι απλή και επιτρέπει να καταμετρηθούν μικροφύκη με κυτταρική διάμετρο 2 έως 30  $\mu\text{m}$  και μέχρι περίπου  $50 \times 10^6$  κύτταρα / ml σε πυκνότητα.





Σχήμα 27. Φωτογραφικές απεικονίσεις αιμοκυττομέτρου τύπου Fuchs-Rosenthal.

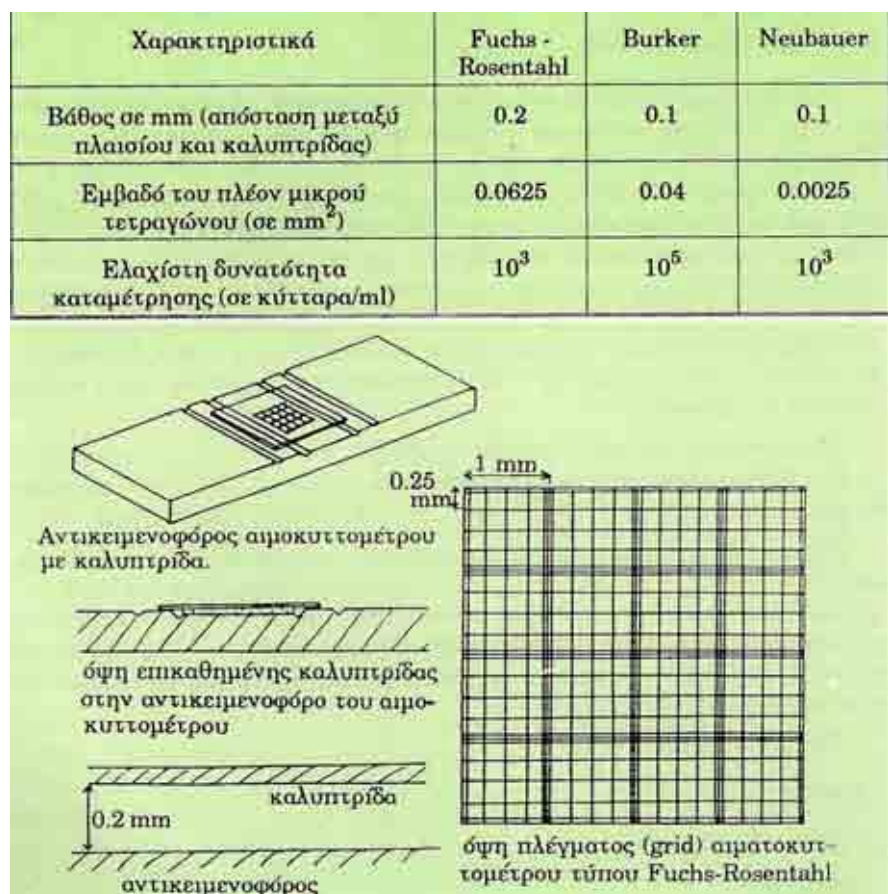
Το αιμοκυττόμετρο τύπου Fuchs-Rosenthal διαθέτει δύο χαραγμένα **τετράγωνα πλαίσια** (grid) (Σχήματα 28 & 29). Κάθε πλαίσιο διαιρείται σε 16 **ενδιάμεσα** τετράγωνα το καθένα από τα οποία διαιρείται σε 16 **ελάχιστα** τετραγωνάκια. Τα 16 ενδιάμεσα τετράγωνα είναι 1 mm σε μήκος το καθένα. Το όλο πλαίσιο είναι εμβαδού 16 mm<sup>2</sup>. Επειδή το βάθος του Fuchs-Rosenthal είναι 0,2 mm, ο όγκος του δείγματος που καλύπτει το όλο πλαίσιο (και τα 16 ενδιάμεσα τετράγωνα του πλαισίου) είναι 0,0032 ml.

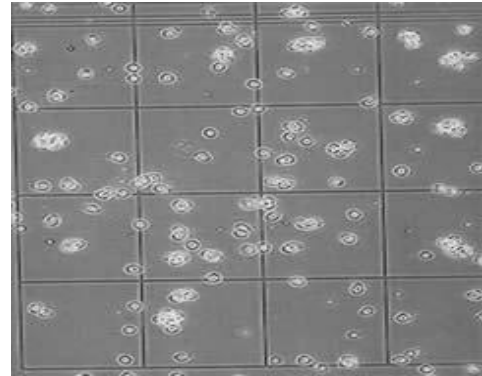
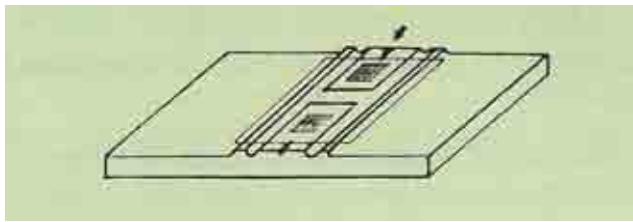
Αναλυτικότερα:

$$16 \text{ mm}^2 \times 0,2 \text{ mm} = 3,2 \text{ mm}^3, \quad 1 \text{ cm}^3 (\text{ml}) = 1000 \text{ mm}^3 \text{ συνεπώς:}$$

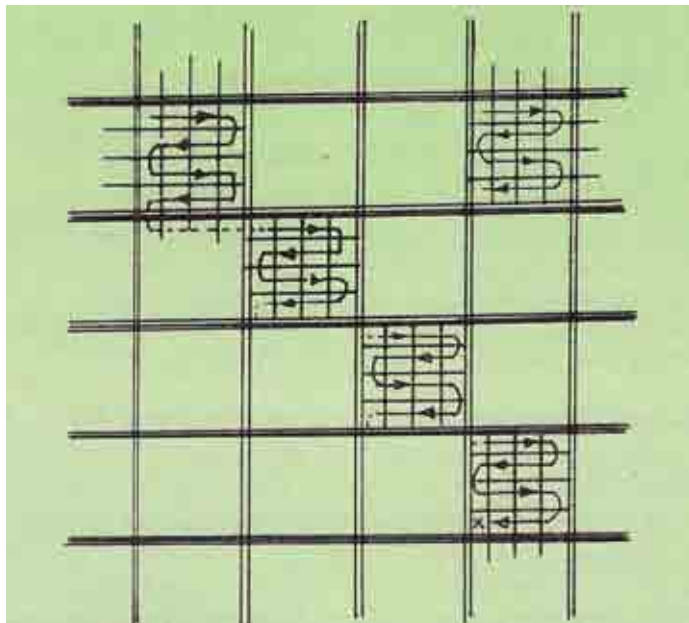
$$(3,2 \text{ mm}^3 \times 1 \text{ cm}^3) / 1000 \text{ mm}^3 = 0.0032 \text{ cm}^3 = 0,0032 \text{ ml.}$$

Σχήμα 28. Σχηματική όψη πλέγματος (grid) αιμοκυττόμετρου τύπου Fuchs-Rosenthal με τις χαρακτηριστικές διαστάσεις του και γενικά στοιχεία για τους 3 τύπους χρησιμοποιούμενων αιμοκυττομέτρων.





Σχήμα 29. Φωτογραφική απεικόνιση όψης πλέγματος αιμοκυττόμετρου Fuchs-Rosenthal (δεξιά), με φυτικά κύτταρα προς καταμέτρηση. Αριστερά ο τρόπος εισαγωγής του προς εξέταση δείγματος νερού στην πλάκα αφού πρώτα έχουμε τοποθετήσει και την καλυπτρίδα.



Σχήμα 30. Με τα βέλη δείχνεται η πορεία που πρέπει να ακολουθεί το μάτι του παρατηρητή κατά την καταμέτρηση των 5 επιλεγμένων ενδιάμεσων τετραγώνων του πλαισίου. Δηλαδή 4 διαγώνια τετράγωνα και ένα γωνιακό. Σύνολο 80 ελάχιστα τετραγωνάκια.

Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του φυτοπλαγκτονικού πληθυσμού (αριθμός κυττάρων στη μονάδα όγκου ή κύτταρα/ml) καταμετρώνται τα κύτταρα που βρίσκονται και στα 80 ελάχιστα τετραγωνίδια των 4 διαγωνίως επιλεγμένων ενδιάμεσων τετραγώνων και ενός γωνιακού (Σχήμα 30). Εφόσον καταγραφεί το συνολικό νούμερο, χρησιμοποιείται ο τύπος:

$$\text{Αριθμός κυττάρων/ml} = (n_1 + n_2 / 2) \times 1000 \times d$$

Όπου:

$n_1$ : αριθμός κυττάρων και στα 80 ελάχιστα τετραγωνίδια του άνω πλαισίου

$n_2$ : αριθμός κυττάρων και στα 80 ελάχιστα τετραγωνίδια του κάτω πλαισίου

$d$ : συντελεστής αραιώσης του δείγματος

Ο αριθμός 1000 στον παραπάνω τύπο προκύπτει από τον παρακάτω συλλογισμό:

- Το κάθε πλαίσιο έχει πλευρά μήκους 4 mm και αποτελείται από 256 ελάχιστα τετραγωνίδια.
- Εάν το πλαίσιο αποκτούσε πλευρά (θεωρητικός υπολογισμός) 10 mm = 1 cm, τότε θα αποτελέιτο από 1600 ελάχιστα τετραγωνίδια και θα καταλάμβανε έκταση 1 cm<sup>2</sup>.
- Συνεπώς τα 80 ελάχιστα τετραγωνίδια που καταμετρήθηκαν καταλαμβάνουν έκταση 0,05 cm<sup>2</sup>.
- Για να γίνουν οι λογικές επαγωγικές σκέψεις και να καταλήξουμε σε μονάδα υπολογισμού το 1 cm<sup>3</sup> = 1 ml (διότι μην ξεχνάμε ότι υπολογίζουμε κύτ./ml), σκεφτόμαστε ως εξής:
- Πολλαπλασιάζουμε το 0,05 cm<sup>2</sup> **επί 20** για να γίνει 1 cm<sup>2</sup>.
- Επειδή η απόσταση από την πλάκα του Fuchs-Rosenthal μέχρι την καλυπτρίδα είναι όπως προαναφέρθηκε 0,2 mm, για να πάμε στα 10 mm = 1 cm πρέπει να πολλαπλασιάσουμε **επί 50**, ήτοι: 0,2 mm x 50 = 10 mm = 1 cm.
- Συνεπώς, **για να αναγάγουμε την μετρηθείσα έκταση των 80 ελάχιστων τετραγωνιδίων** (και τον όγκο που αυτά καταλαμβάνουν συνολικά μεταξύ αντικειμενοφόρου και καλυπτρίδας, 0,25mm x 0.25mm x 0.2 mm x 80 = 1mm<sup>3</sup>), **σε 1 cm<sup>3</sup>, πολλαπλασιάζουμε επί 1000 (20 x 50).**

---

## Εξάσκηση φοιτητών

Εμβολιασμός ατομικών καλλιέργειών σε δοκιμαστικό σωλήνα.

Καταμέτρηση συγκέντρωσης.

Τοποθέτηση καλλιέργειας κοντά σε φωτεινή πηγή για 7 ημέρες.

Επανάληψη καταμέτρησης νέας συγκέντρωσης την 7<sup>η</sup> ημέρα.

Υπολογισμός ειδικού ρυθμού αύξησης ( $\mu$ ) και χρόνου γενεάς ( $tg$ ).

## 5 Άσκηση διαχείρισης φυτοπλαγκτονικού πληθυσμού

Παράγουμε φυτοπλαγκτόν (π.χ. *Tetraselmis suecica*).

Κατά τη 2<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας μετρήθηκε πυκνότητα 400.000 κύτταρα/ml. Κατά την 6<sup>η</sup> ημέρα επαναλήφθηκε η μέτρηση και η πυκνότητα ήταν 2.500.000 κύτταρα/ml. Ζητούνται τα παρακάτω :

α) να υπολογισθεί ο ρυθμός αύξησης της καλλιέργειας ( $\mu$ )

β) να υπολογισθεί ο χρόνος γενεάς της καλλιέργειας ( $tg$ )

γ) να βρεθεί πότε ο πληθυσμός της καλλιέργειας θα φτάσει περί τα **4.000.000 κύτταρα/ml**, σύμφωνα με τον παραπάνω υπολογισθέντα ρυθμό αύξησης.

### ΕΠΙΛΥΣΗ

#### A.

Δεδομένα :

$t_1 = 2^{\text{η}}$  ημέρα

$t_2 = 6^{\text{η}}$  ημέρα

$x_1 = 400.000$  κύτταρα/ml

$x_2 = 2.500.000$  κύτταρα/ml

Ζητούμενα :

$\mu = ;$

$$\mu = \frac{\ln x_2 - \ln x_1}{t_2 - t_1} = \frac{\ln 2.500.000 - \ln 400.000}{6 - 2} = \frac{14,73 - 12,89}{4} \Rightarrow \mu = 0,46$$

#### B.

Δεδομένα :

$\mu = 0,46$

Ζητούμενα :

$tg = ;$

$$tg = \frac{0,6931}{\mu} = \frac{0,6931}{0,46} \Rightarrow tg \approx 1,5 \text{ ημέρες}$$

#### Γ.

Δεδομένα :

$t_1 = 2^{\text{η}}$  ημέρα

$x_1 = 400.000$  κύτταρα/ml

$x_2 = 4.000.000$  κύτταρα/ml

$\mu = 0,46$

Ζητούμενα :

$t_2 = ;$

Έχουμε:

$\mu = 0,46$ , συνεπώς:

$$\mu = \frac{\ln x_2 - \ln x_1}{t_2 - t_1} \Rightarrow t_2 = \frac{\ln x_2 - \ln x_1}{\mu} + t_1$$

$$t_2 = \frac{\ln 4.000.000 - \ln 400.000}{0,46} + 2 = 7,02$$

Άρα, την **7<sup>η</sup> ημέρα** (περίπου) η καλλιέργεια μας θα έχει πυκνότητα 4.000.000 κύτταρα/ml.

# 6 Αναλυτικότερα στοιχεία καλλιέργειας φυτοπλαγκτού

## 6. ΜΟΝΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΕ ΜΙΚΡΟΥΣ ΟΓΚΟΥΣ ΝΕΡΟΥ

Η μονοκαλλιέργεια φυτοπλαγκτού σε μικρούς όγκους χρησιμοποιείται και στη διαδικασία εντατικής εκτροφής λαρβών ασπονδύλων και θαλάσσιων σπονδυλωτών (εκτός από τις καλλιέργειες μικροφυκών που γίνονται για άλλους σκοπούς π.χ. χημικές ουσίες, θρεπτικές ουσίες, βιοκαύσιμα, κ.ά.

Σκοπός της μεθόδου είναι η επίτευξη υψηλής παραγωγής σε περιορισμένο χώρο και απαιτεί πολύ λεπτομερή και ακριβή προγραμματισμό.

### 6.1. ΚΤΙΡΙΑ - ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

Οι καλλιέργειες φυτοπλαγκτού πραγματοποιούνται σε εργαστήρια ή κατάλληλα εξοπλισμένους χώρους που διαθέτουν σύστημα κλιματισμού το οποίο διατηρεί σταθερή τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος.

#### Περιγραφή των χώρων:

##### A. Χώρος αποθεματικών καλλιεργειών STOCK ή MASTER

Είναι ο χώρος στον οποίο διατηρούνται τα καθαρά αποθέματα (masters ή stocks) και στον οποίο επικρατούν υγιεινές συνθήκες, που εμποδίζουν την ανάπτυξη μικροβιακών πληθυσμών. Συνήθως αποτελείται από δωμάτια 3-5 m<sup>2</sup> που διαθέτουν λαμπτήρες υπεριώδους ακτινοβολίας.

##### B. Εργαστήριο

Ο χώρος στον οποίο πραγματοποιείται ο ποιοτικός και ποσοτικός έλεγχος των καλλιεργειών και για το λόγο αυτό πρέπει να διαθέτει:

- \* - Μικροσκόπιο.
- \* - Αυτόκαυστο για την αποστείρωση των γυάλινων σκευών.

##### Γ. Αίθουσα καλλιεργειών

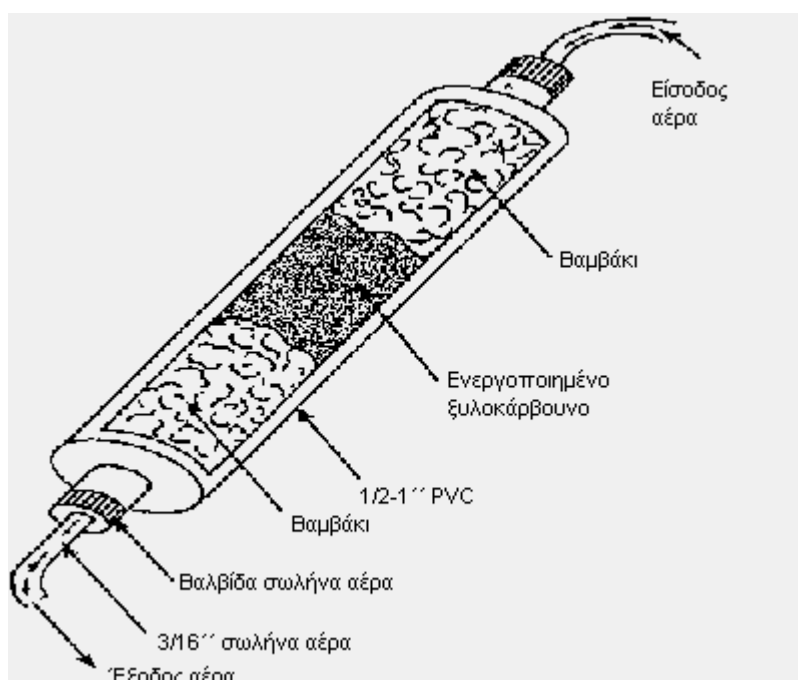
Ο χώρος όπου βρίσκονται οι μεγάλοι όγκοι καλλιεργειών, το μέγεθος του οποίου καθορίζεται με βάση την επιδιωκόμενη παραγωγή, και όπως έχει ήδη αναφερθεί πρέπει να διαθέτει σύστημα κλιματισμού έτσι ώστε η θερμοκρασία να διατηρείται σταθερή στους 20-22 °C.

Είναι επίσης απαραίτητο να διαθέτει ράφια στα οποία θα τοποθετούνται τα δοχεία (π.χ. δοχεία Erlenmeyer, άλλα δοχεία), τα οποία περιέχουν τις καθαρές (μονοειδικές) καλλιέργειες και θα φωτίζονται με λάμπες νέον με τέτοιο τρόπο, ώστε να δέχονται φωτισμό εντάσεως 3000-10.000 lux περίπου. Από λάμπες νέον φωτίζονται και οι ώριμες καλλιέργειες οι οποίες βρίσκονται μέσα σε πλαστικούς σάκους και κρέμονται από ειδικές υποδοχές.

Στο χώρο αυτό πρέπει επίσης να υπάρχει σύστημα παροχής νερού και διοξειδίου του άνθρακα (CO<sub>2</sub>). Το θαλασσινό νερό πριν διοχετευθεί στις καλλιέργειες, φιλτράρεται και αποστειρώνεται με υπεριώδη ακτινοβολία. Μερικές φορές είναι αναγκαία η τοποθέτηση αντλίας για αύξηση της πίεσης του κυκλοφορούντος νερού.



Ο αέρας που διοχετεύεται στις καλλιέργειες εμπλουτίζεται με CO<sub>2</sub> (0,2 - 2% περίπου) με σκοπό να υποβοηθήσει τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα του φυτοπλαγκτού. Η παροχή αέρα στις καλλιέργειες γίνεται μέσω λεπτών πλαστικών σωλήνων (φ 5-6 mm). Επειδή στους σωλήνες του αέρα μπορεί να συμπυκνωθούν υδατμοί, το περιβάλλον να γίνει υγρό και να αναπτυχθούν βλεφαριδοφόρα πρωτόζωα τα οποία κατόπιν θα μολύνουν της καλλιέργειες, απαιτείται ο αέρας να διέρχεται μέσα από φίλτρο (Σχήμα 31) με βαμβάκι και ενεργό άνθρακα (ειδικά κατεργασμένο ξυλοκάρβουνο).



Σχήμα 31. Φίλτρο γραμμής παροχής αέρα.

## 6.2. ΜΕΣΟΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Η παραγωγή του φυτοπλαγκτού βασίζεται στην τεχνητή δημιουργία ευτροφικών συνθηκών που οδηγούν στην ταχεία ανάπτυξη του φυτοπλαγκτονικού πληθυσμού.

Το μέσον καλλιέργειας αποτελείται από θαλασσινό νερό ειδικά εμπλουτισμένο (λιπασμένο με ένα μείγμα μεταλλικών αλάτων, ιχνοστοιχείων και βιταμινών).

Η διαδικασία παρασκευής του μέσου καλλιέργειας του παρόντος κατά τροποποίηση της συνταγής Walne 1966, περιλαμβάνει δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο ετοιμάζουμε τα βασικά διαλύματα, από τα οποία στη συνέχεια θα πάρουμε τις απαιτούμενες αναλογίες για να φτιάξουμε τα τελικά διαλύματα, τα οποία θα χρησιμοποιούμε απ' ευθείας στην εκάστοτε καλλιέργεια.

### ΜΕΤΑΛΛΙΚΑ ΑΛΑΤΑ

NaNO<sub>3</sub> : 300 g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 30 g

NH<sub>4</sub>Cl : 20 g

Διαλύονται σε 1 L αποσταγμένου νερού

Τοποθετείται για 30 λεπτά σε αυτόκαυστο στους 120 °C.

Το διάλυμα διατηρείται στη θερμοκρασία περιβάλλοντος, και είναι το πρώτο διάλυμα που χρησιμοποιούμε για τη λίπανση του νερού.

**ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ**

Βασικά διαλύματα:

**Διάλυμα Α**

ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O : 30 g

CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O: 25 g Διαλύονται σε 1 L αποσταγμένου νερού.

CoSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O: 30 g

MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O : 20 g

**Διάλυμα Β** FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O : 50 g Διάλυση σε 1 L αποσταγμένου νερού.

**Διάλυμα Γ** Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O : 25 g Διάλυση σε 1 L αποσταγμένου νερού.

**Διάλυμα Δ** Na<sub>2</sub>EDTA·2H<sub>2</sub>O : 50 g Διάλυση σε 1 L αποσταγμένου νερού.

Τοποθετούνται για 30 λεπτά σε αυτόκαυστο στους 120 °C.

Διατηρούνται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

**Τελικό διάλυμα**

Διάλυμα Δ : 100 ml από το βασικό διάλυμα

Διάλυμα Α : 10 ml " " " "

Διάλυμα Β : 10 ml " " " "

Διάλυμα Γ : 10 ml " " " "

Προσθήκη 800 ml αποσταγμένου νερού.

Τοποθετούνται σε αυτόκαυστο για 30 λεπτά στους 120 °C.

Διατηρείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος

Αυτό είναι το δεύτερο διάλυμα που χρησιμοποιούμε για τη λίπανση του νερού.

**ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ**

Βασικά διαλύματα:

B<sub>12</sub> : 100 mg σε 1 L αποσταγμένου νερού

Βιοτίνη : 100 mg σε 1 L αποσταγμένου νερού

Θειαμίνη : 10 mg σε 1 L αποσταγμένου νερού

Τα διαλύματα των βιταμινών δεν τοποθετούνται σε αυτόκαυστο διότι καταστρέφονται. Επίσης επειδή είναι φωτοευαίσθητα τοποθετούνται σε σκουρόχρωμες φιάλες. Διατηρούνται σε ψυγείο.

**Τελικό διάλυμα**

B<sub>12</sub> : 10 ml από το βασικό διάλυμα

Βιοτίνη : 10 ml από το βασικό διάλυμα

Θειαμίνη: 10 ml από το βασικό διάλυμα

Διαλύονται σε 1 L αποσταγμένου νερού

Διατηρείται σε ψυγείο, και είναι το τρίτο διάλυμα που χρησιμοποιούμε για τη λίπανση του νερού.

**Για τη λίπανση του θαλασσινού νερού προσθέτουμε 1 ml από κάθε ένα από τα τρία διαλύματα για κάθε 1 L θαλασσινού νερού.**

**6.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ**

Η μονοκαλλιέργεια του φυτοπλαγκτού μπορεί να χωριστεί σε δύο φάσεις.

**Α' ΠΟΙΟΤΙΚΗ**

Χρησιμοποιούνται δοκιμαστικοί σωλήνες και μέσου μεγέθους δοχεία Erlenmeyer. Σκοπός είναι η διατήρηση αποθεμάτων καθαρών (axenic) καλλιιεργειών και η εξασφάλιση της συνεχούς διαθεσιμότητάς τους.

## Β' ΠΟΣΟΤΙΚΗ

Χρησιμοποιούνται δοχεία μεγαλύτερου μεγέθους (2-20-60 L). Στη φάση αυτή πραγματοποιούνται διαδοχικές αραιώσεις της καλλιέργειας από το αρχικό stock σε συνεχώς μεγαλύτερους όγκους, επιτυγχάνοντας έτσι την προοδευτική αύξηση της καλλιέργειας ενώ ταυτόχρονα ελαχιστοποιούνται οι πιθανότητες μόλυνσης ή εξάπλωσης της μόλυνσης στις καλλιέργειές μας.

### Απόθεματικές καλλιέργειες ή master καλλιέργειες

Η προμήθεια καθαρών καλλιιεργειών φυτοπλαγκτού δεν αποτελεί ιδιαίτερο πρόβλημα μια που μπορούμε εύκολα να προμηθευτούμε καθαρές καλλιέργειες είτε από Ινστιτούτα είτε από ιχθυογεννητικούς σταθμούς.

#### **6.3.1 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ**

Σκοπός των καλλιιεργειών σε δοκιμαστικούς σωλήνες είναι η διατήρηση του αποθέματος και όχι η επιτάχυνση της ανάπτυξής των.

Η θερμοκρασία πρέπει να διατηρείται γύρω στους 20 °C και ο φωτισμός σε 500-1000 lux.

Η δημιουργία νέων καλλιιεργειών από τα stocks πραγματοποιείται κάθε 20-30 ημέρες λαμβάνοντας πάντα υπ' όψη το βαθμό ωριμότητάς των.

Για να διατηρείται χαμηλή η συγκέντρωση του φυτοπλαγκτού, ο εμβολιασμός γίνεται σε μικρές ποσότητες. Για παράδειγμα:

- 1 σταγόνα από δοκιμαστικό σωλήνα σε δοκιμαστικό σωλήνα,
- ή 1 ml από δοκιμαστικό σωλήνα σε δοχείο Erlenmeyer.

#### **6.3.2 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ**

Ο εμβολιασμός πραγματοποιείται σε αποστειρωμένο χώρο.

Απαιτούνται:

- Δοκιμαστικοί σωλήνες, δοχεία Erlenmeyer τα οποία έχουμε ήδη γεμίσει με θαλασσινό νερό, τα έχουμε τοποθετήσει σε αυτόκαυστο και στη συνέχεια, για να κρυώσουν, σε θερμοκρασία δωματίου.
- \* Αποστειρωμένες πιπέτες και βαμβάκι.
- \* Στο πάγκο εργασίας υπάρχουν τα διαλύματα για τη λίπανση του νερού, λύχνος Bunsen, αλουμινόχαρτο κ.λπ.

#### **6.3.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**

1- Απομακρύνουμε χωρίς να αφαιρέσουμε εντελώς το αλουμινόχαρτο από τους δύο δοκιμαστικούς σωλήνες εκ των οποίων ο ένας περιέχει το φυτοπλαγκτόν και ο άλλος το θαλασσινό νερό.

2- Πλησιάζουμε το στόμιο των δύο σωλήνων πάνω από τη φλόγα έτσι ώστε να στεγνώσει τυχόν νερό που έχει απομείνει και για να αποστειρωθούν.

3- Καλύπτουμε με αλουμινόχαρτο και τους αφήνουμε να κρυώσουν.

4- Προσθέτουμε 1 σταγόνα από κάθε διάλυμα που έχουμε ετοιμάσει για τη λίπανση του θαλασσινού νερού.

5- Εμβολιάζουμε προσθέτοντας:

1 σταγόνα καλλιέργειας από δοκιμαστικό σωλήνα σε δοκιμαστικό σωλήνα.

1 ml καλλιέργειας από δοκιμαστικό σωλήνα σε δοχείο Erlenmeyer.

6- Ξαναπλησιάζουμε το στόμιο πάνω από τη φλόγα.

7- Καλύπτουμε με βαμβάκι και σκεπάζουμε με αλουμινόχαρτο.

8- Σημειώνουμε την ημερομηνία και το είδος.

- \* - Είμαστε ιδιαίτερα προσεκτικοί για να αποφύγουμε την περίπτωση μόλυνσης της καλλιέργειας.

- \* - Ανακινούμε τακτικά το περιεχόμενο των δοκιμαστικών σωλήνων ή των δοχείων Erlenmeyer.

#### Παρατήρηση:

Φροντίζουμε ώστε να διατηρούμε 3 δείγματα από κάθε είδος με την ίδια ημερομηνία ώστε να αποφύγουμε την απώλεια κάποιου stock από τυχόν ατύχημα.

Μετά την αραιώση διατηρούμε έναν τουλάχιστον από τους "μητρικούς" δοκιμαστικούς σωλήνες μέχρι να βεβαιωθούμε ότι η νέα καλλιέργεια έχει πετύχει (δεν έχει μολυνθεί, έχει την επιθυμητή συγκέντρωση).

### **6.3.4 ΕΝΤΑΤΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ**

Γενικά για την καλλιέργεια φυτοπλαγκτού χρησιμοποιούνται δοχεία των 2 έως 5 L και σάκοι πολυαιθυλενίου των 20-60 L.

Γίνονται διαδοχικές αραιώσεις για να επιτύχουμε την προοδευτική αύξηση του όγκου της καλλιέργειας.

Η θερμοκρασία διατηρείται σταθερή στους 20 °C ενώ η ένταση του φωτισμού κυμαίνεται σε 3000-6000 lux για τα δοχεία των 2-5 L και σε 6000-10.000 lux για τους σάκους των 20-60 L. Η παροχή αέρα-CO<sub>2</sub> είναι σταθερή.

Η ταχύτητα ανάπτυξης της καλλιέργειας δεν εξαρτάται μόνο από το είδος του φυτοπλαγκτού αλλά και από το πόσο κατάλληλες είναι οι συνθήκες καλλιέργειας.

Η πυκνότητα του φυτοπλαγκτού υπολογίζεται με τη χρήση αιμοκυττομέτρου. Μετά από εξάσκηση ο παρατηρητής μπορεί να προσδιορίσει τότε μια καλλιέργεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί (είναι ώριμη) από την ένταση του χρώματός της.

Τα δοχεία των 5 L χρησιμοποιούνται για τον εμβολιασμό του όγκου των 20-60 L καθώς και σαν θρεπτικό υπόστρωμα για την καλλιέργεια των rotifers.

Από τον όγκο των 5 L και μετά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν δύο διαφορετικές μέθοδοι. Η **διακοπτόμενη** και η **ημισυνεχής**.

Διακοπτόμενη καλλιέργεια: Η τεχνική αυτή είναι απλή και σίγουρη αλλά απαιτεί χρόνο. Χρησιμοποιείται ολόκληρος ο όγκος της καλλιέργειας μόλις αυτός αποκτήσει την απαιτούμενη συγκέντρωση (πυκνότητα πληθυσμού).

Ημισυνεχής καλλιέργεια: Στην περίπτωση αυτή προσπαθούμε να διατηρήσουμε την καλλιέργεια για όσο το δυνατόν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, παίρνοντας τακτικά την ποσότητα που μας χρειάζεται και συμπληρώνοντας την ίδια ποσότητα με νερό το οποίο προηγουμένως έχει λιπανθεί.

### **6.3.5 ΛΙΠΑΝΣΗ ΚΑΙ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΔΟΧΕΙΩΝ**

- \* - Ο εμβολιασμός γίνεται σε αποστειρωμένο χώρο.
- \* - Γεμίζουμε τα δοχεία με θαλασσινό νερό, τα τοποθετούμε σε αυτόκαυστο και μετά, για να κρυώσουν, σε θερμοκρασία δωματίου.
- \* - Στον πάγκο εργασίας υπάρχουν οι πιπέτες και το βαμβάκι, τα οποία έχουμε προηγουμένως αποστειρώσει, ο λύχνος Bunsen, τα διαλύματα για τη λίπανση και αλουμινόχαρτο.

#### **ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**

- 1- Απομακρύνουμε το αλουμινόχαρτο και το βαμβάκι από το στόμιο των δοχείων.
- 2- Αποστειρώνουμε το στόμιο πλησιάζοντάς το πάνω από φλόγα.
- 3- Πωματίζουμε καλύπτοντας με αλουμινόχαρτο και τα αφήνουμε να κρυώσουν.

- 4- Λιπαίνουμε το νερό των δοχείων προσθέτοντας 1 ml από κάθε διάλυμα για κάθε 1 L νερού.
- 5- Προσθέτουμε την καλλιέργεια.
- 6- Ξανααποστειρώνουμε πάνω από τη φλόγα το στόμιο των δοχείων.
- 7- Καλύπτουμε με βαμβάκι και αλουμινόχαρτο.
- 8- Σημειώνουμε την ημερομηνία και το είδος.
- 9- Μεταφέρουμε τα δοχεία στο χώρο των καλλιεργειών, τα τοποθετούμε σε πάγκους που φωτίζονται κατάλληλα και συνδέουμε την παροχή αέρα-CO<sub>2</sub>.

### 6.3.6 ΛΙΠΑΝΣΗ ΚΑΙ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΑΚΩΝ

- \* - Στην περίπτωση αυτή οι σάκοι πολυαιθυλενίου δεν τοποθετούνται σε αυτόκαυστο λόγω του μεγάλου όγκου νερού που περιέχουν και γι' αυτό η αποστείρωση του νερού γίνεται με υπεριώδη ακτινοβολία (U.V.).
- \* - Γεμίζουμε τους σάκους με αποστειρωμένο νερό μερικές ώρες πριν το χρησιμοποιήσουμε, έτσι ώστε να αποκτήσει τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος.
- \* - Λιπαίνουμε χρησιμοποιώντας 1 ml από το κάθε διάλυμα για κάθε ένα λίτρο θαλασσινού νερού.
- \* - Εμβολιάζουμε με το περιεχόμενο των δοχείων.
- \* - Σημειώνουμε την ημερομηνία και το είδος.
- \* - Τοποθετούμε το σύστημα παροχής αέρα και CO<sub>2</sub>.

### 6.3.7 ΛΙΠΑΝΣΗ ΜΕΓΑΛΩΝ ΟΓΚΩΝ ΝΕΡΟΥ (ΣΤΗΝ ΥΠΑΙΘΡΟ)

Για κάθε 10 m<sup>3</sup> νερό προσθέτουμε:

NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	:	700 g
Γεωργικό λίπασμα N-P-K 10/20/20:		350 g
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	:	70 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	:	70 g
Σιδηρούχο EDTA	:	10 g

- \* - Διαλύουμε σε γλυκό νερό και οξονοποιούμε προσθέτοντας HCl για να διευκολύνουμε τη διάλυση.
- \* - Το γεωργικό λίπασμα διαλύεται χωριστά.
- \* - Αν χρησιμοποιήσουμε μόνο γεωργικό λίπασμα: Διαλύουμε σε γλυκό νερό 100 g/m<sup>3</sup> N και 15 g/m<sup>3</sup> P  
Και στις δύο περιπτώσεις μετά από μία περίοδο μερικών ημερών (ανάλογα με τη θερμοκρασία και την ηλιοφάνεια) γίνεται εμφανής η "άνθιση" του φυτοπλαγκτού.

Αμέσως μετά γίνεται εμβολιασμός των δεξαμενών με rotifers. Οι πυκνότητες κυμαίνονται από 10 έως 20 rotifers/ml

### 6.4 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΕΙΔΩΝ ΦΥΤΟΠΛΑΓΚΤΟΥ

Απομόνωση με διαδοχικές αραιώσεις σε διαφορετικές συνθήκες (Σχήμα 32)

Διαδικασία:

- 1- Δοκιμαστικοί σωλήνες και δοχεία Erlenmeyer γεμίζονται με φιλτραρισμένο θαλασσινό νερό και κλείνονται ερμητικά.
- 2- Τοποθετούνται στο αυτόκαυστο.



3- Προσδιορισμός του αριθμού των διαφορετικών ειδών με τη χρησιμοποίηση αιμοκυττομέτρου και μικροσκοπίου. Για απλοποίηση της διαδικασίας το δείγμα προηγουμένως φυγοκεντρείται.

Οι παρακάτω διαδικασίες εκτελούνται σε αποστειρωμένο δωμάτιο:

4- Ετοιμάζουμε μια σειρά από διαφορετικά υποστρώματα ως προς:

- \* την αλατότητα.
- \* την ποσότητα και το είδος των βιταμινών.
- \* τα ιχνοστοιχεία.

5- Βεβαιωνόμαστε ότι τα θρεπτικά υποστρώματα έχουν την ίδια θερμοκρασία με αυτή του νερού.

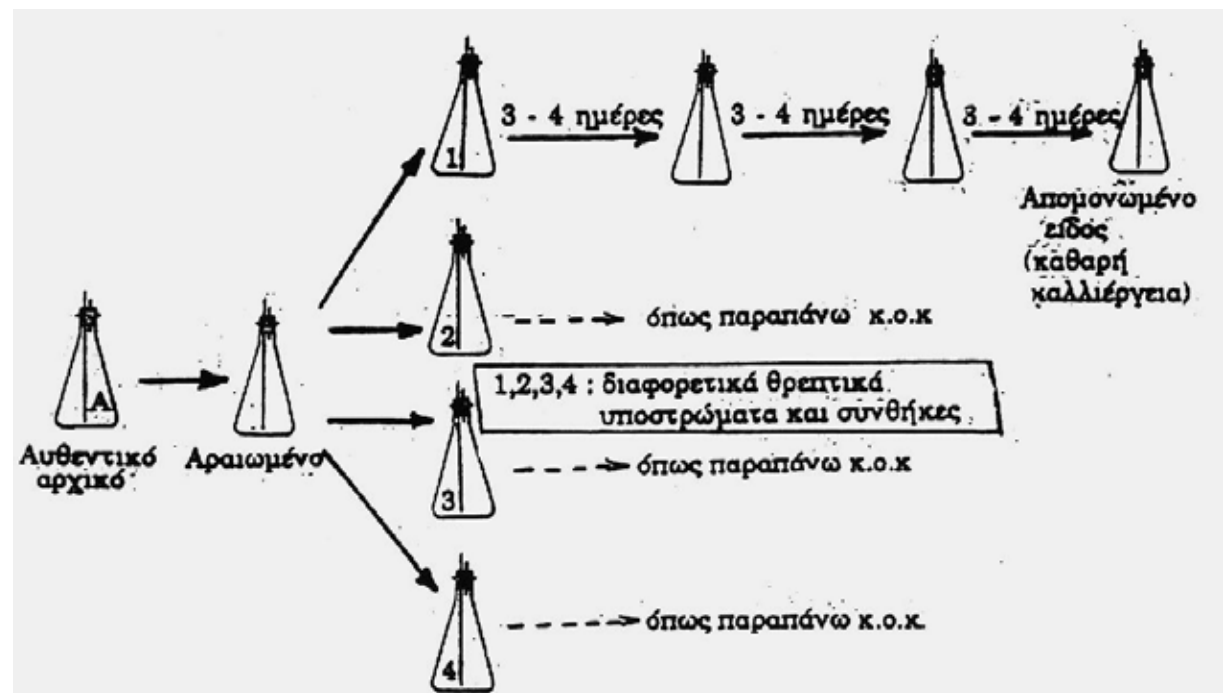
6- Εμβολιάζουμε με φυτοπλαγκτόν τα διάφορα δοχεία (δοκιμαστικοί σωλήνες ή Erlenmeyer χωρητικότητας μέχρι 250 ml) με τα διαφορετικά υποστρώματα.

7- Αφήνουμε τα δοχεία Erlenmeyer σε διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας και φωτισμού.

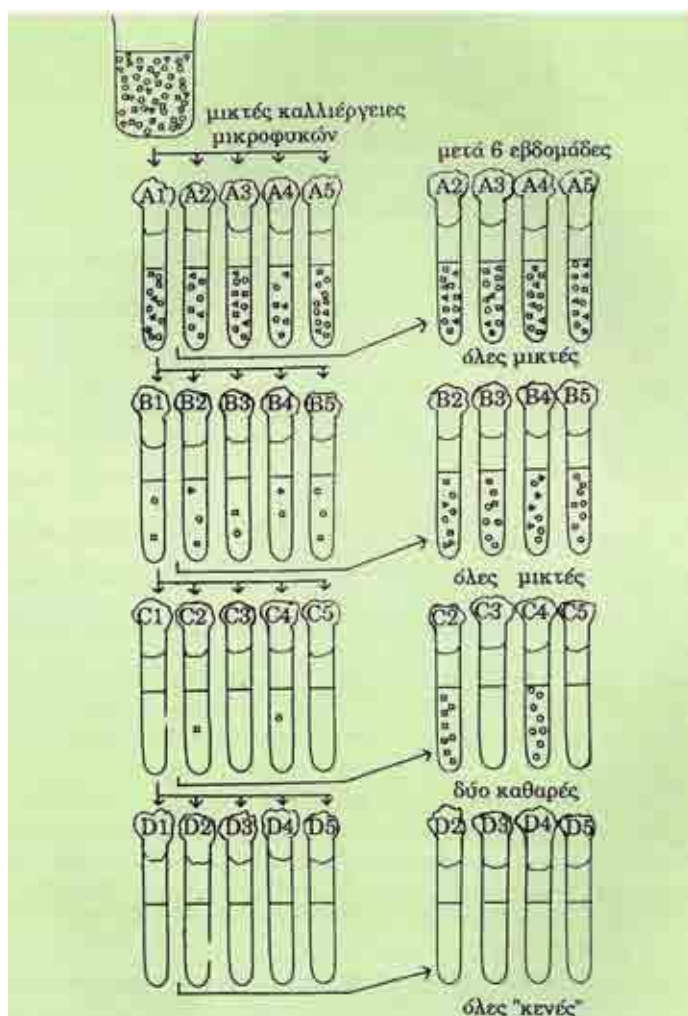
\* Μετά την ωρίμανση σε κάθε δοχείο Erlenmeyer θα εμφανισθεί ένα **κυρίαρχο** είδος (Σχήμα 32).

8- Παίρνουμε 1 σταγόνα από αυτό το διάλυμα και την εμβολιάζουμε σε ίδιο θρεπτικό υπόστρωμα έτσι ώστε προοδευτικά να γίνει αποχωρισμός των κυρίαρχων ειδών φυτοπλαγκτού.

9- Η διαδικασία επαναλαμβάνεται 3-4 φορές έως ότου τελικά να πάρουμε καθαρό απόθεμα φυτοπλαγκτού.



Σχήμα 32. Διαδικασία απομόνωσης μονοειδικής καλλιέργειας φυτοπλαγκτονικού είδους με διαφορετικές συνθήκες και αραιώσεις.



Σχήμα 33. Διαδικασία απομόνωσης μικροφυκών (φυτοπλαγκτού) με τη μέθοδο των διαδοχικών αραιώσεων.

Τα σχήματα (στρογγυλά, τετράγωνα, κύκλοι) αντιπροσωπεύουν διαφορετικά είδη.

Οι αραιώσεις γίνονται μία φορά μόνο στην αρχή και μόνο μια σταγόνα μπαίνει στην επόμενη σειρά των δοκιμαστικών σωλήνων (περιέχουν λιπασμένο νερό), δηλαδή από τους 5 δοκιμαστικούς του αρχικού δείγματος οι 4 (A2, A3, A4 & A5) αφήνονται να ωριμάσουν και ο A1 εμβολιάζει τη σειρά B. Οι 4 της B αφήνονται να ωριμάσουν ενώ ο B1 εμβολιάζει τη σειρά Γ, κ.ο.κ. Μετά από καιρό εξετάζουμε για τη σύνθεση των ειδών στα ωριμασμένα δείγματα.

#### Απομόνωση με διαδοχικές αραιώσεις μόνο (Σχήμα 33)

Η μέθοδος αυτή μοιάζει με την προηγούμενη κατά το ότι γίνονται διαδοχικές αραιώσεις με τη διαφορά ότι οι αραιώσεις γίνονται εξ' αρχής και άπαξ. Κατόπιν τα δείγματα που δημιουργήθηκαν (όσο πιο πολλές αραιώσεις τόσο το καλύτερο) αφήνονται να ωριμάσουν και εξετάζονται για να διαπιστωθεί η στατιστικώς αναμενόμενη δημιουργία μονοειδικής (ή μονοειδικών) καλλιέργειας. Αν η εξέταση δείξει ότι δεν υπάρχει ένα μόνο είδος αλλά μίγμα ειδών, τότε με το συγκεκριμένο εξετασθέντα δοκιμαστικό σωλήνα ξεκινάμε μια νέα σειρά αραιώσεων κ.ο.κ.

#### **6.5 ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΣΗ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ**

Η μαζική παραγωγή οργανισμών όπως το φυτοπλαγκτόν, τα rotifers κ.λπ. απαιτεί μεγάλη φροντίδα για την υγιεινή και την καθαριότητα του τμήματος παραγωγής. Οι κυριότερες ενέργειες για τη διατήρηση ιδανικών συνθηκών παραγωγής είναι:

- \* Πλύσιμο των γυάλινων σκευών.
- \* Μετά από κάθε χρήση ξεπλένουμε με ζεστό νερό.
- \* Τα αφήνουμε σε διάλυμα NaClO (500 ppm).
- \* Ξεπλένουμε με άφθονο νερό.
- \* " " " με απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό.

\* Τα στεγνώνουμε σε θερμοθάλαμο.

### 6.5.1 ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗ - ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΣΗ

Σκοπός της απολύμανσης είναι ο περιορισμός του αριθμού των βακτηριδίων, ιών, κ.λπ. στα επιτρεπτά όρια.

Με την αποστείρωση επιτυγχάνουμε την πλήρη αδρανοποίηση όλων των μικροοργανισμών.

Για απολύμανση χρησιμοποιούμε:

α) NaClO (Σκουριάζει τα μέταλλα και όταν εκτεθεί σε υπεριώδη ακτινοβολία ελευθερώνει αέριο χλώριο το οποίο είναι πολύ τοξικό).

β) Αιθυλική αλκοόλη (Για απολύμανση ευαίσθητων επιφανειών όπως τα χέρια).

Για αποστείρωση χρησιμοποιούμε:

α) Αυτόκαυστο. Αποστείρωση υπό πίεση σε ατμό στους 100-120 °C για 30 min.

β) Θερμοθάλαμο. Η ξηρή αποστείρωση απαιτεί υψηλότερη θερμοκρασία (160 °C) και μεγαλύτερη παραμονή (2-3 ώρες).

γ) Λύχνο Bunsen.

δ) Υπεριώδη ακτινοβολία (U.V.). Χρησιμοποιείται για την αποστείρωση μεγάλων όγκων θαλασσινού νερού ή των χώρων εργασίας. Το δωμάτιο παραγωγής εκτίθεται σε υπεριώδη ακτινοβολία μερικές ώρες πριν το χρησιμοποιήσουμε.

### Εξάσκηση φοιτητών

Δημιουργία θρεπτικών διαλυμάτων

Αποστείρωση σε αυτόκαυστο

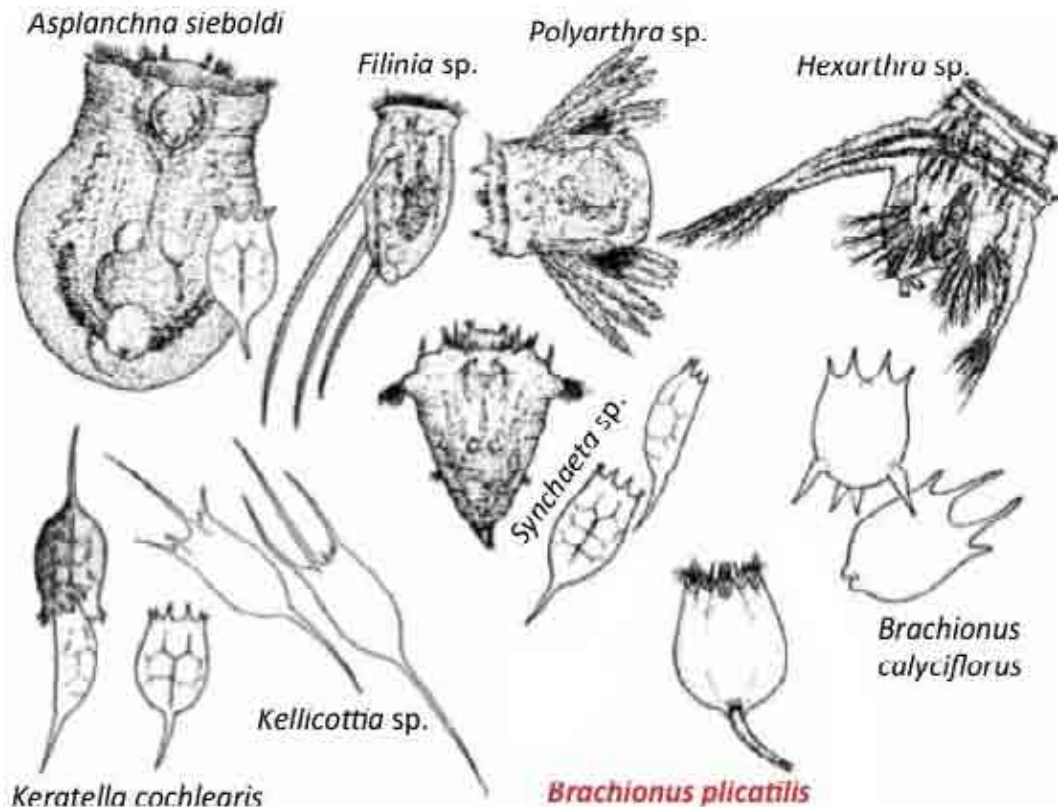
Φυγοκέντρηση

Πειραματισμοί στην απομόνωση καθαρών καλλιεργειών

Καθαρισμός σκευών καλλιέργειας

## 7 Τροχοζώα (Rotifers). Βασικά στοιχεία βιολογίας

Η ονομασία των **τροχοζώων** οφείλεται στη χαρακτηριστική κίνηση της βλεφαριδωτής άνω («κεφαλικής») περιοχής του σώματός των, η οποία με τη γρήγορη κίνηση των βλεφαρίδων θυμίζει «τροχό σε κίνηση». Η συνομοταξία των τροχοζώων (Σχήμα 34) είναι μια σχετικά μικρή ομάδα μικροσκοπικών υδρόβιων ή ημιυδρόβιων ασπονδύλων, που περιλαμβάνει 3 τάξεις, 120 γένη και περίπου 2000 είδη μη-μεταμερών, αμφιπλευροσυμμετρικών ψευδοκυλιωματικών οργανισμών.



Σχήμα 34. Διάφορα είδη τροχοζώων. Χαρακτηριστική η μεγάλη διαφοροποίηση του σωματικού μορφολογικού τύπου.

Τα τροχοζώα είναι μικροσκοπικοί υδρόβιοι οργανισμοί απαντώμενοι κυρίως στα υδάτινα οικοσυστήματα των εσωτερικών υδάτων. Αν και δεν είναι συνηθισμένα μέλη της θαλάσσιας ζωοπλαγκτονικής κοινότητας και δεν συμμετέχουν σημαντικά στο διαιτολόγιο των νυμφών των θαλασσιών ψαριών, αποτελούν τα πιο κοινά καλλιεργούμενα ζωοπλαγκτονικά είδη για να θρέψουν τις νύμφες καλλιεργούμενων ιχθύων. Στη θάλασσα υπάρχουν μόνο λίγα γένη τροχοζώων ενώ τα περισσότερα απαντώνται σε λιμνοθάλασσες, σε ηπειρωτικούς υγρότοπους και σε εκβολές ποταμών. Η οικολογική τους σημασία είναι πάρα πολύ μεγάλη. Λόγω των υψηλών αναπαραγωγικών ρυθμών τους συγκριτικά με κάθε άλλο μετάζωο, φθάνουν να αποτελούν ακόμα και το 30% ή και περισσότερο της ζωοπλαγκτονικής παραγωγής. Αποικούν λοιπόν γρήγορα κενούς οικολογικούς θώκους και μετατρέπουν την πρωτογενή παραγωγή σε μορφή εύκολα καταναλώσιμη από νύμφες (λάρβες) ψαριών και άλλων υδρόβιων ζώων. Εξαιτίας του ομορτουμιστικού χαρακτήρα και

της μεγάλης ικανότητας προσαρμογής των, είναι ευρέως κατανεμημένα σε φυσικά περιβάλλοντα με γλυκό νερό σε πυκνότητες έως και 1000 άτομα ανά λίτρο. Μπορούν περιστασιακά να αυξηθούν πολύ περισσότερο αν υπάρχει αρκετή τροφή και να φτάσουν πληθυσμιακές πυκνότητες άνω των 5000 ατόμων ανά λίτρο. Σε ειδικά υδρόβια περιβάλλοντα μπορούν να αναπτυχθούν πολύ μεγαλύτεροι πληθυσμοί, π.χ. σε περιοχές απόρριψης αστικών αποβλήτων βρέθηκαν πυκνότητες μεγαλύτερες από 12.000 άτομα ανά λίτρο και μερικές φορές πυκνότητες άνω των 100.000 ατόμων ανά λίτρο έχουν βρεθεί (σε Αφρικανικές θειούχες λίμνες). Όμως όσον αφορά τις πληθυσμιακές πυκνότητες, το ρεκόρ κρατούν πληθυσμοί σε υδατοκαλλιεργητικά συστήματα που συνήθως επιτυγχάνουν επίπεδα των 50.000 έως 500.000 ατόμων ανά λίτρο. Σε τέτοιες περιπτώσεις βλέπουμε πληθυσμιακή έκρηξη ενός ή δύο ειδών, επειδή οι συνθήκες είναι τόσο ειδικευμένες.

Στην Ιαπωνία, πριν το 1950 και για πάνω από 100 χρόνια τα θεωρούσαν επιβλαβή. Από τις πρώτες επιτυχημένες μορφές υδατοκαλλιέργειας στην Ιαπωνία ήταν η εκτροφή χελιού, αλλά ένα φαινόμενο ξαφνικού θανάτου φυτοπλαγκτού κατά τη θερινή περίοδο ονομαζόμενο «mizukawari», αποτελούσε μεγάλη απειλή. Και αυτό διότι το mizukawari προκαλούσε μείωση των φυτοπλαγκτονικών πληθυσμών, η οποία κατ' επέκταση διατάρασσε την οικολογική ισορροπία των υδατοσυλλογών εκτροφής χελιών, με συνέπεια τη μεγάλη υποβάθμιση της ποιότητας του νερού εκτροφής. Κατά τη διάρκεια του mizukawari η περιεκτικότητα του νερού της υδατοσυλλογής σε οξυγόνο μειώνονταν σε λιγότερο από 1,0 mg/L (ppm), προκαλώντας το θάνατο των εκτρεφόμενων χελιών λόγω ασφυξίας. Στις αρχές της δεκαετίας του '50 και ενώ οι εκτροφείς χελιού έχουν πληγεί πολύ από αυτό το φαινόμενο, διενεργείται μια επιστημονική έρευνα που αναζητά τα αίτια του mizukawari. Το 1955, ο Dr. Takashi Ito μαζί με τους συνεργάτες του δημοσιεύουν μια σειρά 9 επιστημονικών άρθρων που περιγράφουν εκτενώς το φαινόμενο και παραθέτουν πιθανούς τρόπους αντιμετώπισής του. Από τη μελέτη τους προέκυψε ότι το mizukawari το προκαλούσαν μεγάλοι πληθυσμοί ηθμοφάγων τροχοζώων, τα οποία κατανάλωναν σχεδόν όλο το φυτοπλαγκτόν των υδατοσυλλογών. Αυτά τα αχόρταγα πλαγκτονικά ζώα θεωρήθηκαν φοβερά επιβλαβή για τη βιωσιμότητα των εκτροφών των χελιών. Συγκεκριμένα, στο πρώτο άρθρο του Ito υπήρχαν οδηγίες θανάτωσης των τροχοζώων στις υδατοσυλλογές. Ξεκινώντας η εντατική εκτροφή άλλων ειδών εκτός των χελιών, η παραγωγή και επιβίωση νεαρών ατόμων ιχθυδίων φάνηκε να είναι περιοριστικός παράγοντας για πολλά είδη ιχθύων, καβουριών και γαρίδας. Τότε ο Ito και οι συνεργάτες του μετέτρεψαν το πρόβλημα με τα τροχόζωα σε λύση, προτείνοντας τη συλλογή των τροχοζώων από τις υδατοσυλλογές εκτροφής χελιών και τη χορήγησή τους ως τροφή σε νεαρά ιχθύδια του είδους *Plecoglossus altivelis*. Αυτό το πείραμα είχε απίστευτη επιτυχία εφόσον τα τροχόζωα αποδείχτηκαν ως η καλύτερη τροφή για τις λάρβες πολλών ειδών ιχθύων και οστρακοειδών, όπως η γαρίδα *Penaeus japonicus* και το καβούρι *Portunus trituberculatus*. Ξαφνικά άρχισε να υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για τη δημιουργία καλλιέργειας τροχοζώων, παύοντας έτσι η προηγούμενη τάση που υπήρχε, για τη θανάτωσή τους. Το 1960, ο Ito έγραψε ένα άρθρο το οποίο αποτέλεσε τον «θεμέλιο λίθο» για τη μαζική καλλιέργεια τροχοζώων. Τα τελευταία 50 χρόνια έχει γίνει πλήθος μελετών για τα τροχόζωα και την εφαρμογή τους στις υδατοκαλλιέργειες. Σήμερα είναι παραδεκτό ότι η παραγωγή και εκτροφή γόνου πολλών ειδών ιχθύων εξαρτάται από την παραγωγή τροχοζώων. Πάνω από 70 είδη θαλάσσιων ιχθύων και



18 είδη οστρακοειδών εκτρέφονται με ζωντανά τροχόζωα. Αυτό έχει ως συνέπεια, τη δημιουργία υψηλού ενδιαφέροντος για τη βιολογία των τροχοζώων και τη χρήση τους στην υδατοκαλλιέργεια.

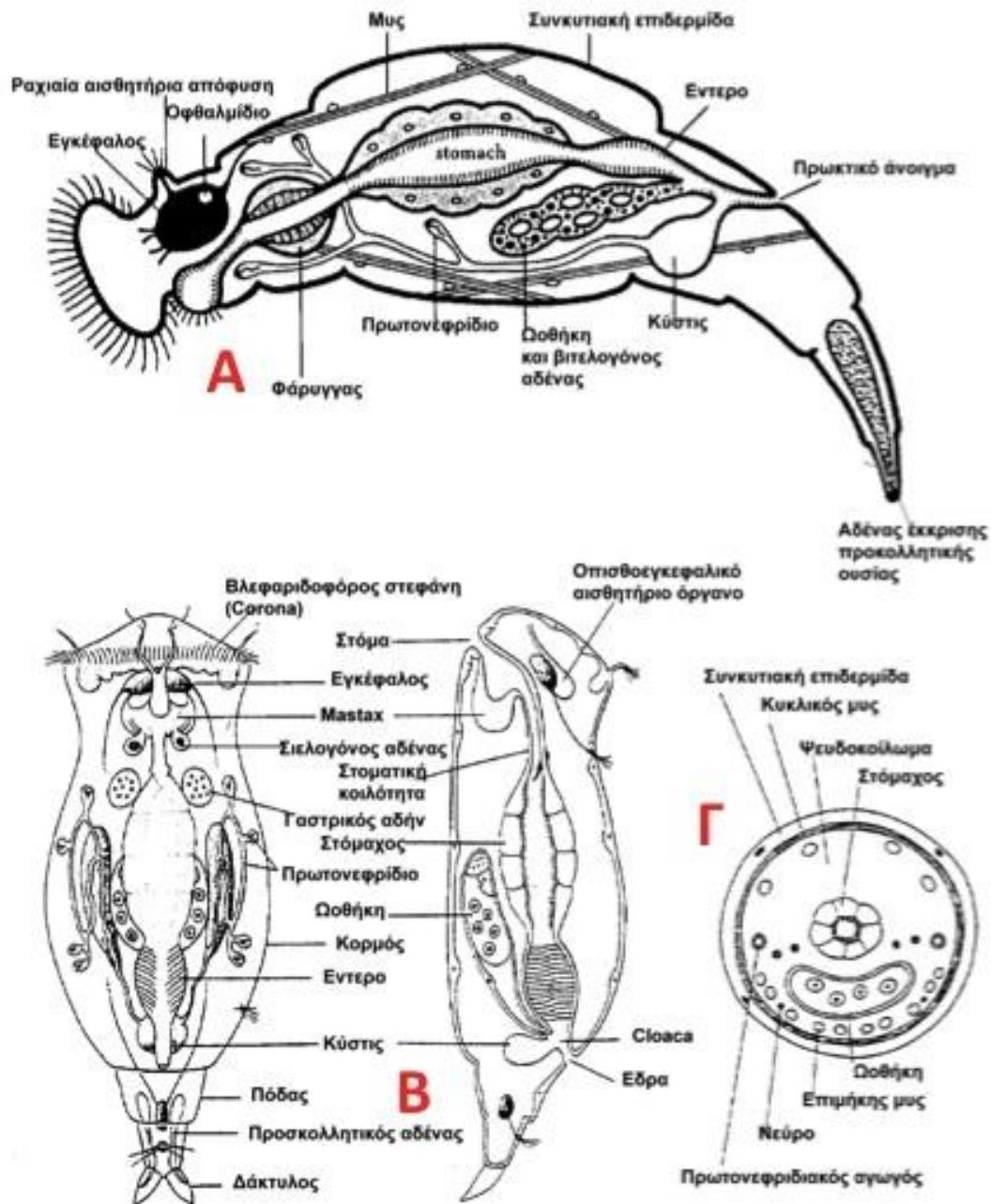
Η πλειονότητα των τροχοζώων ζουν σε γλυκά νερά, αλλά ορισμένα είδη επίσης εμφανίζονται σε υφάλμυρα και θαλάσσια περιβάλλοντα. Για παράδειγμα, γύρω στα 20 από τα 32 είδη που αποτελούν το γένος *Synchaeta* περιγράφονται σαν θαλάσσια. Μόνο μια τάξη (*Seisonidea*, που περιλαμβάνει μόνο ένα γένος) και περίπου 50 είδη τροχοζώων είναι αποκλειστικά θαλάσσια (μόνο δύο είδη συναντώνται στο πλαγκτόν του ανοικτού Ατλαντικού Ωκεανού). Τα τροχόζωα δεν είναι τόσο ποικίλα ή άφθονα σε θαλάσσια περιβάλλοντα όσο τα μικροκαρκινοειδή, αλλά είναι κοινά σε πολλές παράκτιες και παλιρροιακές θαλάσσιες βιοκοινωνίες, όπου κατά καιρούς αποτελούν το κύριο μέρος της βιομάζας. Μία ειδικευμένη τάξη τροχοζώων, τα βδελλοειδή, μπορούν να ζουν στην επιφάνεια του νερού που καλύπτει υγρά βρύα και λειχήνες. Συχνά βρίσκονται άφθονα στο νερό ρωγμών του εδάφους, όπου οι πυκνότητες τους ποικίλουν από 32.000 έως πάνω από 2.000.000 άτομα ανά m<sup>2</sup>, ανάλογα με το επίπεδο υγρασίας του εδάφους. Εξαιτίας των διατροφικών συνηθειών τους και του γεγονότος ότι μερικές φορές είναι περισσότερα σε πληθυσμό από τους νηματώδεις σκώληκες, τα τροχόζωα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανακύκλωση των θρεπτικών ουσιών του εδάφους. Τα βδελλοειδή τροχόζωα βρίσκονται άφθονα σε βιολογικούς καθαρισμούς, όπου τρέφονται από την τεράστια βιομάζα βακτηρίων και από μικρομαστιγοφόρα.

Τα τροχόζωα γενικά κατέχουν δύο ξεχωριστά χαρακτηριστικά (Σχήμα 35). Στην κορυφή τους (κεφάλι) υπάρχει μια βλεφαροειδής περιοχή («τροχοφόρο όργανο») αποκαλούμενη **στεφάνη (corona-κορόνα)** που χρησιμοποιείται στην μετακίνηση και τη συγκέντρωση τροφής. Στα ενήλικα κάποιων οικογενειών η περιοχή μικραίνει και αντικαθίσταται από μια χοάνη ή μια δομή σε σχήμα κυπέλλου που στο βάθος του βρίσκεται το στόμα. Κατά μήκος του άκρου του στα περισσότερα είδη υπάρχει μια σειρά από μακριές τρίχες. Το άλλο κοινό χαρακτηριστικό των τροχοζώων είναι ένας μύδης φάρυγγας, ο **μάστακας (mastax)**, που διαθέτει μία περίπλοκη σειρά από σκληρές δομές που ονομάζονται **φαρυγγικά δόντια**.

Το πρόσθιο άκρο των περισσότερων τροχοζώων δημιουργεί την ψευδαίσθηση ενός τροχού που γυρίζει. Αυτό οφείλεται στον ετεροχρονισμένο ρυθμό κίνησης των βλεφαρίδων στην στεφάνη (κορόνα), μια δομή συνήθως αποτελούμενη από δύο συγκεντρωτικές δομές βλεφαρίδων αποκαλούμενες **τροχούς**. Αυτή η ψευδαίσθηση του περιστρεφόμενου τροχού έδωσε στους πρώτους χρήστες μικροσκοπίων την ονομασία αυτή της συνομοταξίας: «φορείς τροχού – rotifera-rotifers». Παρόλο που τα τροχόζωα μπορεί να μπερδευτούν με τα βλεφαριδοφόρα πρωτόζωα και τις τροχοφόρες προνύμφες μαλακίων από μη ειδικούς, αυτοί οι οργανισμοί δεν έχουν φαρυγγικά δόντια και οι βλεφαρίδες τους δεν κατανέμονται όπως στα τροχόζωα. Κατά κανόνα τα τροχόζωα είναι μικρά, με μήκη από 100-1000 μm, παρόλο που τα μεγαλύτερα είδη μπορεί να ξεπεράσουν τα 2000 μm. Πολύ λίγα τροχόζωα είναι παρασιτικά, σχεδόν όλα διαβιούν ελεύθερα και τρέφονται με ηθμοφαγία, ενώ την τροφή τους αποτελούν μικροφύκη, βακτήρια ή νεκρή οργανική ύλη. Μερικά από αυτά είναι υποχρεωτικοί ή περιστασιακοί ενεργητικοί θηρευτές. Τα περισσότερα τροχόζωα κινούνται ελεύθερα κολυμπώντας



ή έρποντας, αλλά πολλά είδη ζουν μόνιμα προσκολλημένα σε φυτά γλυκού νερού (*sessile rotifers*). Στη μεγάλη πλειονότητά τους τα τροχοζώα ζουν μοναχικά αλλά λίγα (περίπου 25 είδη) σχηματίζουν αποικίες ποικίλων μεγεθών. Όλα τα τροχοζώα του γλυκού νερού είναι είτε καθαρά παρθενογενετικά, ή παράγουν αρσενικά άτομα για μικρή χρονική περίοδο, μερικές φορές μόνο για μερικές μέρες κάθε χρόνο ή κάθε εποχή. Έτσι, εκτός κι αν λαμβάνονται δείγματα πολύ συχνά, αρσενικά τροχοζώα μπορεί να μην εντοπιστούν ποτέ.



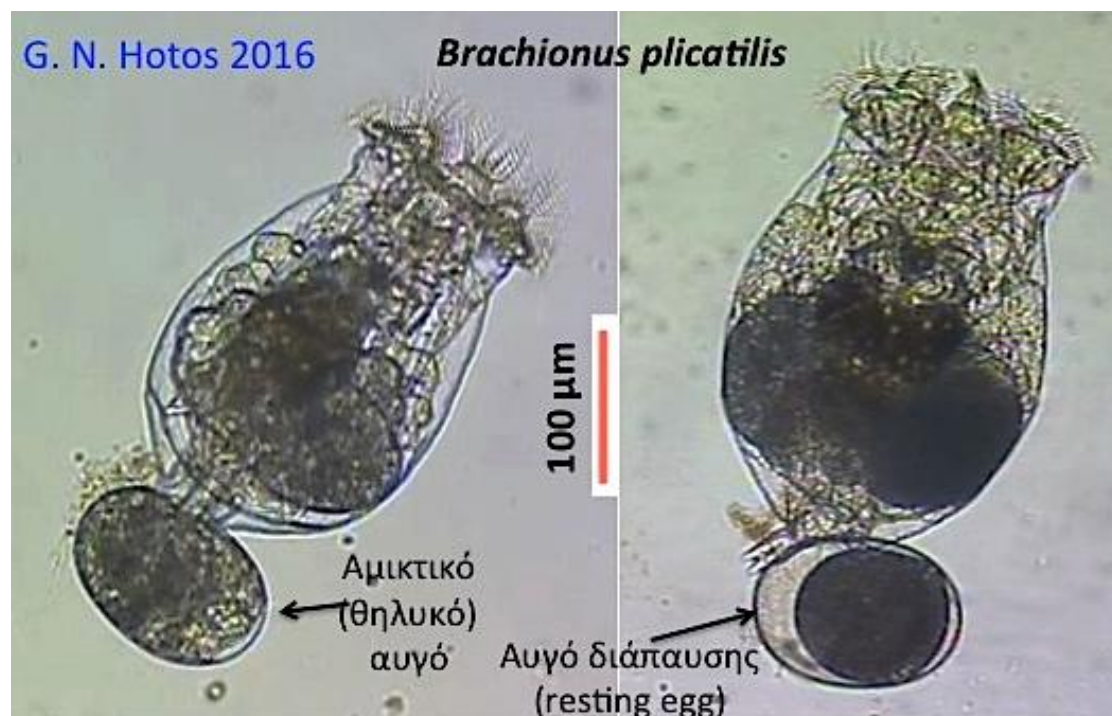
Σχήμα 35. **A:** Επιμήκης σχηματική τομή τυπικού τροχοζώου. **B:** Δύο όψεις σχηματικής επιμήκους τομής τυπικού τροχοζώου. **Γ:** Εγκάρσια σχηματική τομή τυπικού τροχοζώου. Σε όλα τα σχήματα υποδεικνύονται οι βασικές σωματικές δομές.

Τα τροχόζωα αποτελούνται από 1000 περίπου κύτταρα συνκυτιακής οργάνωσης και διηθούν (φιλτράρουν) τα μικροσκοπικά σωματίδια της τροφής τους από το νερό με τη βοήθεια της βλεφαριδωτής στεφάνης στο εμπρόσθιο μέρος του σώματος. Αν και αυτή η βλεφαριδωτή στεφάνη (corona) μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για κίνηση του ζώου, τα περισσότερα είδη τροχοζώων περνούν το μεγαλύτερο μέρος της ζωής των προσκολλημένα σε κάποιο υπόστρωμα. Το είδος ***Brachionus plicatilis*** που είναι το σπουδαιότερο από άποψη εφαρμογής στις υδατοκαλλιέργειες, είναι πλαγκτονικό και σπάνια προσκολλάται. Ανάλογα με διάφορους γεωγραφικούς τύπους το μέγεθος του ζώου αυτού σε μήκος ποικίλλει στο εύρος των 125 - 350  $\mu\text{m}$ .

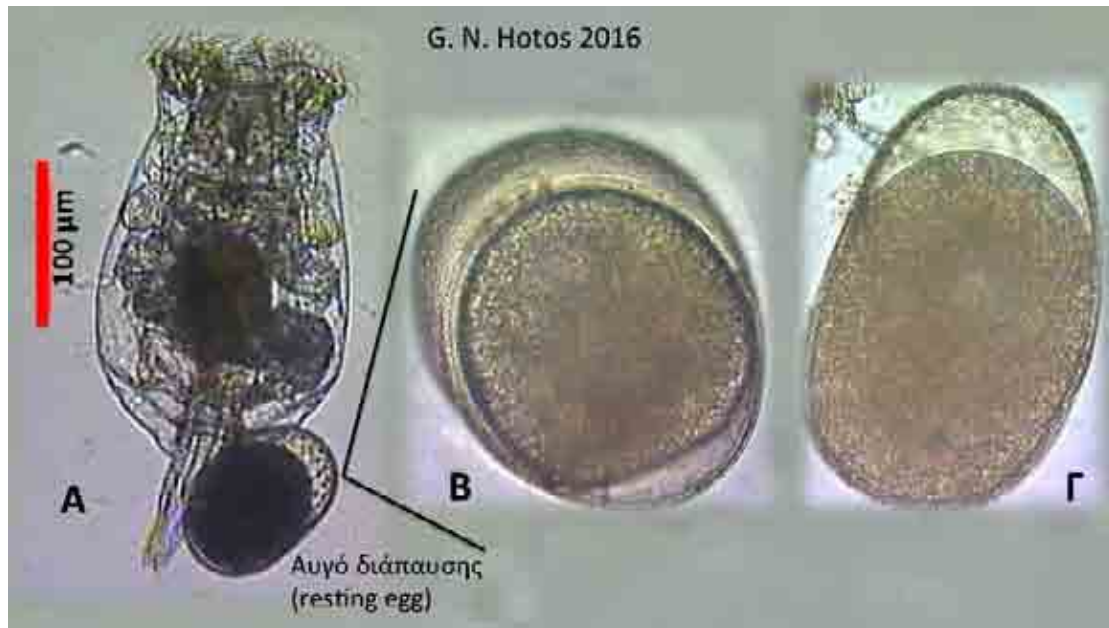
Συστηματική κατάταξη του τροχοζώου *Brachionus plicatilis*

<b>Βασίλειο:</b>	Ζώα (Animalia)
<b>Φύλο (Συνομοταξία):</b>	Τροχόζωα (Rotifera)
<b>Ομοταξία:</b>	Monogononta
<b>Τάξη:</b>	Ploimida
<b>Οικογένεια:</b>	Brachionidae
<b>Γένος:</b>	<i>Brachionus</i>
<b>Είδος:</b>	<i>Brachionus plicatilis</i>

Το *Brachionus plicatilis* αναπαράγεται κυρίως παρθενογενετικώς (αμικτική αναπαραγωγή) ή μετά από την επίδραση ορισμένων παραγόντων και αμφιγονικώς (μικτική αναπαραγωγή). Κατά την παρθενογένεση το θηλυκό παράγει ακριβή γενετικά αντίγραφα του εαυτού του, δηλαδή κλώνους. Αν όμως υπάρξουν έντονες δραματικές αλλαγές στο περιβάλλον διαβίωσης π.χ. απότομη μεταβολή αλατότητας ή θερμοκρασίας, τότε προκαλείται η μικτική αναπαραγωγή με αποτέλεσμα την εμφάνιση μικροσκοπικών (σε σύγκριση με τα θηλυκά) αρσενικών και μετά τη γονιμοποίηση, παραγωγή ειδικών “**αδρανών αβγών διάπαυσης**” (Σχήματα 36 & 37), βιολογικών οντοτήτων ανάλογων των κύστεων της *Artemia*.



Σχήμα 36. Αριστερά: θηλυκό με αμικτικό αβγό. Δεξιά: με αβγό διάπαυσης (resting).



Σχήμα 37. Μικτικό θηλυκό *B. plicatilis* με αυγό διάπαυσης (αριστερά) και σε μεγέθυνση (δεξιά) δύο όψεις του αυγού διάπαυσης (resting egg) (Φωτογρ. 36 & 37, Γ. Χώτος).

Από υδατοκαλλιεργητική και πρακτική άποψη επιδιώκεται να συμβαίνει η αμικτική αναπαραγωγή επειδή:

- Ο ρυθμός της αμικτικής αναπαραγωγής είναι κατά πολύ ταχύτερος της μικτικής,
- τα αρσενικά που παράγονται κατά τον μικτικό τρόπο είναι κατώτερα σε διατροφική αξία λόγω της έλλειψης λειτουργικού πεπτικού συστήματος και,
- η έναρξη του μικτικού τρόπου προκαλεί συνήθως κατάρρευση των καλλιεργειών των τροχοζώων.

Ένα θηλυκό άτομο *B. plicatilis* ανάλογα με τις συνθήκες διατήρησής του μπορεί να παράγει μέχρι και 20 αυγά (απογόνους) κατά τη διάρκεια των 10 περίπου ημερών που διαρκεί η ζωή του. Τα αυγά που παράγει κάθε φορά (1-8) βρίσκονται προσκολλημένα στο οπίσθιο μέρος του σώματός του μέχρι την εκκόλαψή των. Η αναπαραγωγική ικανότητα του ζώου αυτού έχει απασχολήσει αρκετούς ερευνητές και έχουν συλλεχθεί αρκετά στοιχεία για εφαρμογή στην καλλιέργειά του. Για παράδειγμα, ανάλογα με το είδος του φύκου διατροφής η υψηλότερη γονιμότητα παρατηρήθηκε όταν τα ζώα διετράφησαν με το φύκος *Isochrysis galbana* στους 20-22 °C. Παρατηρήθηκε παραγωγή 21 απογόνων / θηλυκό, διάρκεια αναπαραγωγικής περιόδου 6,7 ημερών, διάρκεια ζωής 10,5 ημερών και μέσο μήκος ενήλικου ατόμου (*B. plicatilis*) 234 µm.

Μιλώντας για μεγέθη τροχοζώων ακόμη και για ένα και το αυτό είδος που μας ενδιαφέρει περισσότερο (*B. plicatilis*) θα πρέπει να αναφερθούν ορισμένα βασικής σημασίας θέματα. Στα τροχοζώα παρατηρείται το φαινόμενο του πολυμορφισμού στο ίδιο και το αυτό είδος ανάλογα με τις συνθήκες του περιβάλλοντος όπου ζει. Ο πολυμορφισμός αντανακλά διαφορές στους διάφορους τύπους ενός είδους τόσο ως προς τη γενική μορφολογία του ατόμου όσο (και κυρίως) στο μέγεθος γενικά. Ειδικότερα, ως προς το μέγεθος, το γεγονός αυτό είναι υψίστης σημασίας για τις υδατοκαλλιέργειες, δεδομένου ότι συνδέεται άμεσα με

την ικανότητα κατάποσής των από τις μικροσκοπικές νύμφες των ψαριών. Επιπλέον ο κάθε τύπος έχει τις δικές του ιδιαίτερες απαιτήσεις και ικανότητες προσαρμογής σε διαφορετικές συνθήκες του περιβάλλοντος καλλιέργειας (θερμοκρασία, αλατότητα, είδος τροφής κ.ά.) καθώς και στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της βιολογικής του οντότητας (ρυθμός αναπαραγωγής, αύξησης κ.ά.). Σύμφωνα με διάφορους ερευνητές, οι ποικιλίες μεγέθους και μορφής των τροχοζώων είναι χαρακτηριστικά που αντιστοιχούν σε γενετικά απομονωμένους πληθυσμούς και ως εξ' αυτού ακολουθούνται και από οικολογικές φυσιολογικές προσαρμογές, δηλαδή διαφορετικούς τύπους ζώων. Στην Ιαπωνία όπου το φαινόμενο έχει μελετηθεί και αξιοποιηθεί πολύ, διατηρούν και αναπαράγουν δύο τύπους του *B. plicatilis* (Σχήμα 40). Ενας τύπος είναι ο **Small** ή **S-τύπος** με μέγεθος 120-180 μm και ο άλλος ο **Large** ή **L-τύπος** με μέγεθος 250-350 μm. Ο S-τύπος διακρίνεται από τη στρογγυλότερη στεφάνη (corona) με τις πιο οξύληκτες «άκανθές» της και είναι γενικά θερμοφίλος με βέλτιστα χαρακτηριστικά ανάπτυξης σε θερμοκρασίες άνω των 20 °C. Ο L-τύπος διακρίνεται για την πιο επιμηκυμένη του στεφάνη στην οποία οι «άκανθές» της είναι πιο αμβλείες απ' ό,τι στον S-τύπο. Ο L-τύπος έχει μεγαλύτερη αντοχή στις χαμηλότερες των 20 °C θερμοκρασίες και μπορεί εξ' αυτού να θεωρηθεί καλύτερο θήραμα για τις νύμφες των ψαριών που ζουν σε ψυχρότερα νερά.

Είναι γενικά παραδεκτό ότι τα S-τύπου τροχοζώα (του *B. plicatilis*) είναι χρησιμότερα για θρέψη των νυμφών μια και λόγω του μικρού τους μεγέθους (120-160 μm) προσλαμβάνονται πιο εύκολα από αυτές. Όμως η παραγωγή αυτού του τύπου τροχοζώων δημιουργεί ορισμένες δυσκολίες λόγω του μικρού μεγέθους των σωματιδίων τροφής που απαιτείται να τους δοθούν. Από πειράματα του συγγραφέα (Hotos, 2003) ο S-τύπος βρέθηκε ότι μπορεί να αυξάνεται και να διηθεί ικανοποιητικά και τα ευμεγέθη, άνω του μέσου όρου (>20 μm) κύτταρα του αλοανθεκτικού μικροφύκου *Asteromonas gracilis*, το οποίο έκτοτε αποδεικνύεται ως ένα καλό υπόστρωμα για καλλιέργεια τροχοζώων.

Η παραγωγή των νυμφικών σταδίων πολλών ειδών ψαριών εξαρτάται άμεσα από τη μαζική παραγωγή τροχοζώων του είδους *Brachionus plicatilis*. Σήμερα η μαζική παραγωγή του στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς αποτελεί μια αναγκαία δραστηριότητα, χωρίς την οποία καθίσταται αδύνατη η παραγωγή των νυμφικών σταδίων των καλλιεργουμένων ψαριών. Ενδεικτικά η Lubzens (1987) αναφέρει ότι “η παραγωγή επαρκούς αριθμού τροχοζώων σε κρίσιμες παραγωγικές περιόδους, αποτελεί το κύριο πρόβλημα στους περισσότερους ιχθυογεννητικούς σταθμούς”, ενώ οι Kafuku & Ikenoue (1983) επισημαίνουν ότι: “το αποτέλεσμα της τεχνητής παραγωγής γόνου ψαριών είναι άμεσα συναρτημένο με την επιτυχή μαζική παραγωγή τροχοζώων”. Εκτός όμως από τα ψάρια τα τροχοζώα αποτελούν μια εξαιρετική ή και απαραίτητη «ζωντανή τροφή» και για τα νυμφικά στάδια των καλλιεργουμένων καρκινοειδών όπως γαρίδες, караβίδες και καβούρια. Η εξαιρετικότητα του *Brachionus plicatilis* ως η αποκλειστική πρώτη τροφή για τα νυμφικά στάδια των καλλιεργουμένων ευρύαλων ψαριών απορρέει από τα εξής χαρακτηριστικά του:

1. Το μικρό του μέγεθος (<400 μm αρκετά μικρότερο από τους ναύπλιους της *Artemia*), προσιτό για καταβρόχθιση από τις νύμφες των ψαριών με το μικρό στόμα.



2. Μικρή κολυμβητική ταχύτητα και αιώρηση στη στήλη του νερού με αποτέλεσμα να είναι διαθέσιμο στις κινούμενες αργά στη στήλη του νερού στην αρχή νύμφες των ψαριών .
3. Τη μεγάλη του αναπαραγωγική ικανότητα.
4. Την ικανότητά του να αντέχει σε μεγάλες πυκνότητες καλλιέργειας (π.χ. ακόμα και 2000 άτομα /ml).

Επιπλέον η διατροφική του αξία μπορεί να βελτιώνεται και ενισχύεται μέσω διαφόρων “προσθέτων” τα οποία διηθώντας τα από το νερό τα “ενσωματώνει” και ακολούθως καταναλισκόμενο από τις νύμφες τους τα μεταβιβάζει. Τέτοιες ουσίες “πρόσθετα” μπορεί να είναι, είτε π.χ. αντιβιοτικά είτε απαραίτητα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (HUFAs) των σειρών 20:5ω3 (EPA) ή 22:6ω3 (DHA) τα οποία είναι άκρως απαραίτητα για τη σωστή ανάπτυξη και επιβίωση των καλλιεργούμενων νυμφών ψαριών, μια και τα περισσότερα είδη αδυνατούν να τα συνθέσουν εξαρτώμενα αποκλειστικά για αυτά από την περιεκτικότητά τους στην τροφή που θα καταναλώσουν.

Η περιεκτικότητα των τροχοζώων σε τέτοιες ενώσεις είναι αντανάκλαση της περιεκτικότητας των φυκών με τα οποία τρέφεται. Τα διαθέσιμα για θρέψη των τροχοζώων φύκη είναι σήμερα αρκετά, με πιο κοινά αυτά των *Chlorella* sp., *Tetraselmis* sp., *Isochrysis galbana*, *Dunaliella* sp. κ.ά. Η παραγωγή αυτών των φυκών πρέπει να γίνει με πολύ μεγάλη ένταση για να καλύψει τις ανάγκες παραγωγής σε τροχόζωα.

Οι ανάγκες γενικά σε τροχόζωα των νυμφών για τις πρώτες 30 ημέρες της ζωής των είναι περίπου 40.000 - 173.000 τροχόζωα/νύμφη συνολικά ανάλογα με το είδος του καλλιεργούμενου ψαριού, το μέγεθος (ή τύπο) των χρησιμοποιούμενων τροχοζώων και το πρόγραμμα διατροφής που ακολουθείται. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι για την παραγωγή 1.000.000 νυμφών της Ιαπωνικής τσιπούρας *Pagrus major* (σχεδόν παρόμοια σε μεθοδολογία νυμφικής παραγωγής και εκτροφής με τη μεσογειακή τσιπούρα), απαιτούνται κατά μέσο όρο 20.000.000.000 τροχόζωα συνολικά. Αν υποθεθεί ότι για την παραγωγή των τροχοζώων χρησιμοποιούνται δεξαμενές των 500 L με τελική πυκνότητα 100-200 άτομα /ml μπορούμε να αναμένουμε απόδοση 50-100 x 10<sup>6</sup> ατόμων /δεξαμενή. Η κάλυψη των διατροφικών αναγκών των τροχοζώων σε μία μόνο τέτοια δεξαμενή απαιτεί 5-10 φορές τον όγκο της δηλαδή 2500 - 5000 L για την παραγωγή των κατάλληλων μικροφυκών.

Η απαιτούμενη εντατική παραγωγή μικροφυκών για να καλύψει τις ανάγκες παραγωγής σε τροχόζωα αναγνωρίζεται σήμερα ως “αναγκαίο κακό” καταναλώνοντας υπερβολικά μεγάλα ποσά εργατικής έντασης, ενέργειας, χρόνου και χώρου. Παρ’ όλα αυτά όμως, πολλές φορές απαιτείται και εμπλουτισμός των τροχοζώων τα οποία παρήχθησαν τρεφόμενα με φύκη, με πρόσθετα εμπλουτιστικά διαλύματα τα οποία θα συμπληρώσουν σε HUFAs τα τροχόζωα, αν τα χρησιμοποιούμενα φύκη κριθούν ότι δεν είναι ικανοποιητικής περιεκτικότητας σε τέτοια πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.

Μια και τα τροχόζωα είναι έντονοι διηθητές των αιωρούμενων οργανικών σωματιδίων στο νερό, μπορούν να προσλάβουν ότι εμείς επιθυμούμε με σχετική ευκολία. Η κυρίως θρεπτική αξία των τροχοζώων απορρέει από το τι υπάρχει στο πεπτικό τους σύστημα δηλαδή τα περιεχόμενά του, (μερικώς πεπθθέν και συμπυκνωμένο φυτοπλαγκτόν, μύκητες, βακτηρίδια κ.ά.), παρά από τους ιστούς

τους αυτούς καθ' αυτούς. Ακριβώς για αυτό το λόγο αν τα τροχοζώα στερηθούν την τροφή τους πριν τη συλλογή τους για να δοθούν στις νύμφες, η διατροφική τους αξία θα είναι φτωχή. Γίνεται εξ' αυτού του γεγονότος κατανοητή η ιδιαίτερη σημασία της εξέτασης τόσο των χαρακτηριστικών της βιολογίας αύξησης του πληθυσμού των τροχοζώων σε συνθήκες καλλιέργειας, όσο και της διερεύνησης της καταλληλότητας των διαφόρων διαθέσιμων φυκών αλλά και του εμπλουτισμού της υπάρχουσας γκάμας με νέα είδη.

Στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς η αύξηση των καλλιεργούμενων πληθυσμών αυτών των μικροσκοπικών ζώων είναι γρήγορη μόνο αν οι συνθήκες είναι βέλτιστες. Σαν τέτοιες συνθήκες αναγνωρίζονται κυρίως η αλατότητα, η θερμοκρασία, το pH, το οξυγόνο, το φως, η αμμωνία και η τροφή. Η τροφή των τροχοζώων συνίσταται σε μικροσκοπικού μεγέθους αιωρούμενη "σωματιδιακή" ύλη. Η ύλη αυτή είναι κυρίως (όπως παραπάνω αναφέρθηκε) μικροσκοπικά μονοκύτταρα φύκη κατάλληλου μεγέθους, πλευστότητας και σύνθεσης.

### Μορφολογικό πρότυπο

Τα τροχοζώα (Rotifera) ανήκουν στα μικρότερα μετάζωα, εκ των οποίων έχουν περιγραφεί περισσότερα από 1000 είδη, 90% των οποίων κατοικούν στα γλυκά νερά. Βάσει του τύπου διατροφής τους χαρακτηρίζονται ως ηθμοφάγοι οργανισμοί, δηλαδή μικροσωματίδια τροφής (μικροσκοπικά μονοκύτταρα φύκη κατάλληλου μεγέθους, πλευστικότητας και σύνθεσης) από το νερό). Είναι διαφανή, στερούνται χρωματοφόρων και η εμφάνισή τους είναι απόχρωσης του κίτρινου, του καφέ ή του λευκού.

Το μήκος του σώματος τους αν και ενίοτε φτάνει μέχρι και τα 2mm, σπάνια ξεπερνά τα 0,5 mm. Συγκεκριμένα το *Brachionus plicatilis* έχει μήκος 150-350 μm. Τα αρσενικά άτομα παρουσιάζουν μικρότερα μεγέθη και είναι λιγότερο ανεπτυγμένα από τα θηλυκά (κάποια αρσενικά εμφανίζουν μήκος μόλις 60 μm.).

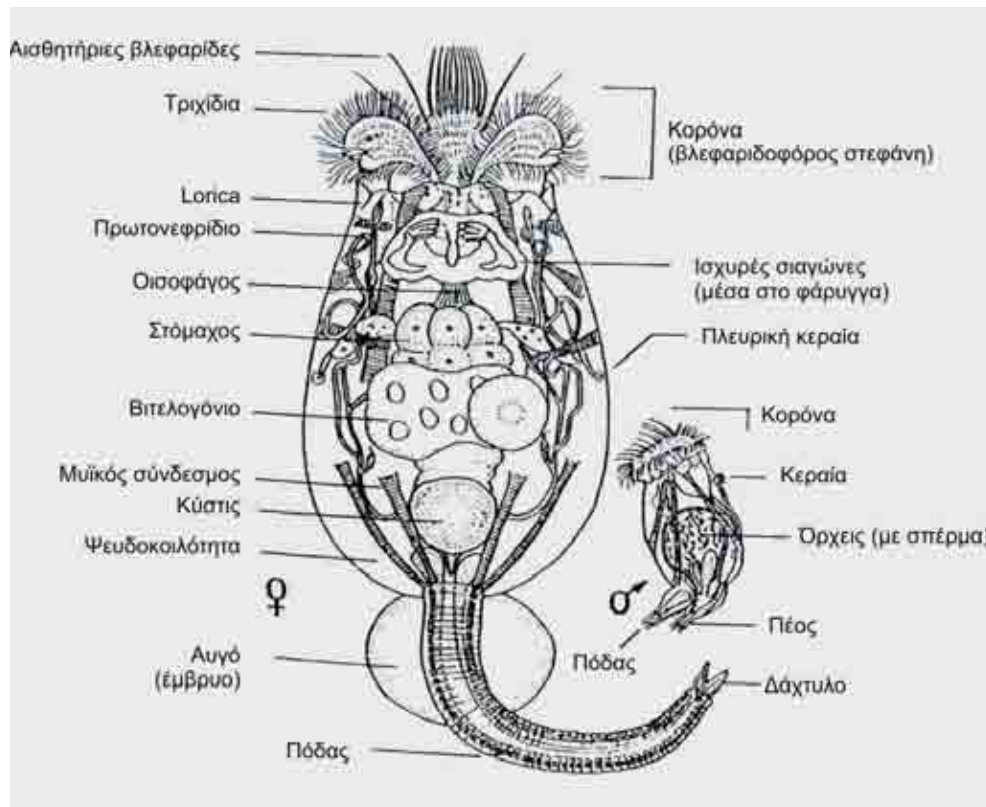
Το σώμα όλων των ειδών παρουσιάζει αμφίπλευρη συμμετρία. Η δομή του χαρακτηρίζεται ως ευτελική και συνκυτιακή, δηλαδή αποτελείται από ένα σταθερό αριθμό κυττάρων. Συγκεκριμένα στα είδη του γένους *Brachionus* τα κύτταρα είναι περίπου 1000 και μάλιστα θα λέγαμε ότι αυτά δεν αποτελούν το καθένα μια ξεχωριστή οντότητα, αλλά μάλλον σχηματίζουν όλα μαζί μια πλασματική περιοχή. Στην πραγματικότητα τα κύτταρα αυτά είναι πολλοί πυρήνες μέσα σε ένα μεγάλο κοινό πρωτόπλασμα.

Το σώμα των τροχοζώων διαιρείται σε τρία ευδιάκριτα μέρη (Σχήμα 38), που είναι:

- α. η κεφαλική περιοχή
- β. ο κορμός
- γ. ο πόδας.

Η κεφαλική περιοχή φέρει στο ανώτερο τμήμα της μία βλεφαριδοφόρο στεφάνη, που ονομάζεται **corona**, της οποίας η εμφάνιση με τη γρήγορη κίνηση των βλεφαρίδων θυμίζει «τροχό σε κίνηση». Από το χαρακτηριστικό αυτό προέρχεται η λατινική ονομασία των Rotifera (rota=τροχός, ferre=φέρω). Η ύπαρξη της corona διασφαλίζει τη μετακίνηση και την περιστροφική κίνηση στο νερό, που διευκολύνει τη πρόσληψη μικρών θρεπτικών αιωρούμενων στο νερό μικροσωματιδίων (κυρίως φύκη).





Σχήμα 38. Τα βασικά μορφολογικά γνωρίσματα και σύγκριση μεγεθών και βασικής σωματικής κατασκευής μεταξύ θηλυκού και αρσενικού ατόμου ενός τυπικού τροχοζώου σε σχηματική αποτύπωση.

Τα είδη που ανήκουν στην οικογένεια Brachionidae διαθέτουν ένα εξωτερικό, διαφανές στρώμα (επιδερμίδα) από σκληροπρωτεΐνες, το οποίο καλύπτει σαν θήκη τον κορμό τους και ονομάζεται **lorica**.

Ο κορμός περιλαμβάνει τον πεπτικό σωλήνα, τα όργανα αναπαραγωγής και το απεκκριτικό σύστημα. Ο πεπτικός σωλήνας ξεκινά από το μικροσκοπικό στόμα, στη συνέχεια πλαταίνει δημιουργώντας ένα δυνατό φαρυγγικό όργανο και καταλήγει στον στομάχο. Το φαρυγγικό όργανο ονομάζεται **mastax** και είναι μία ασβεστοποιημένη κατασκευή, που συμβάλλει αποτελεσματικά στο άλεσμα των σωματιδίων της τροφής. Περιλαμβάνει ένα ζεύγος σκληρών σιαγόνων, που ονομάζονται **trophi**. Απαντάται σε όλα σχεδόν τα τροχοζώα και είναι χαρακτηριστικό όργανο της συνομοταξίας *Rotifera*.

Ακριβώς κάτω από τον στομάχο διακρίνεται η **ωοθήκη** (στα θηλυκά άτομα), που καλύπτεται από βιτελλογόνιο. Πρόκειται για ένα μεγάλο εμφανή σχηματισμό, που στο εσωτερικό του διακρίνονται ώριμα ή ανώριμα ωά (Σχήμα 43). Τα ώριμα ωά που κάποια στιγμή εξωθούνται να βγουν από το σώμα (Σχήμα 42), διακρίνονται προσκολλημένα στο εξωτερικό του σώματος του θηλυκού ατόμου στη βάση του πόδα. Ενίοτε αποκολλώνται και ελεύθερα συνεχίζουν την εμβρυακή ανάπτυξη.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, τα αρσενικά άτομα παρουσιάζονται κατά κανόνα πολύ μικρότερα από τα θηλυκά (Σχήμα 38) και φέρουν ατροφικά όργανα, με εξαίρεση τους υπερμεγέθεις όρχεις και το πέος, που βρίσκεται δίπλα στον πόδα (Σχήμα 39). Το φαινόμενο αυτό που καλείται «νανισμός», θεωρείται φυλετικός διμορφισμός και είναι εντονότερος στα πελαγικά είδη (όπως το *Brachionus*

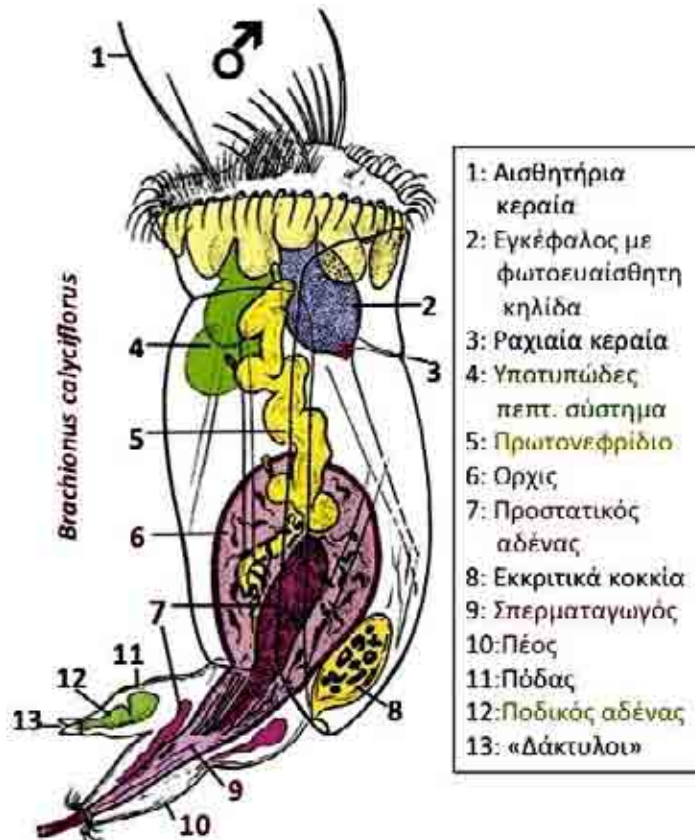
*plicatilis*). Εξαιτίας αυτού του χαρακτηριστικού τους τα αρσενικά άτομα έχουν παρομοιαστεί με «κολυμβητικά δοχεία σπέρματος» (Kolisko, 1974, αναφέρεται από Χώτος & Ρογδάκης, 1992).

Το απεκκριτικό σύστημα περιλαμβάνει την **στρογγυλή κύστη (bladder)**, που αποτελεί απεκκριτικό συλλεκτικό όργανο.

Τα τροχόζωα διαθέτουν μυϊκό σύστημα, που αποτελείται από γραμμωτούς και λείους μύες, οι οποίοι εξυπηρετούν πολλούς σκοπούς (π.χ. λειτουργία του στομάχου και του φαρυγγικού οργάνου *mastax*). Το αναπνευστικό και το κυκλοφορικό σύστημα απουσιάζουν.

Ο πόδας είναι ένας επιμήκης, συσταλτός, εύκαμπτος σχηματισμός, που καταλήγει σε δύο συνήθως μικροσκοπικούς δακτύλους, που χρησιμεύουν στη μόνιμη ή περιστασιακή προσκόλληση σε σταθερό υπόστρωμα ή στην αποφυγή των θηρευτών. Στη βάση του πόδα διακρίνεται αδένας (**foot gland**), ο οποίος εκκρίνει κολλώδη ουσία με την οποία επιτυγχάνεται η προσκόλληση (Σχήμα 39).

Τα τροχόζωα σταματούν την περιστροφική τους κίνηση και προσκολλώνται σε σταθερό υπόστρωμα, όταν στο περιβάλλον τους υπάρχει αφθονία τροφής.



- 1: Αισθητήρια κεραία
- 2: Εγκέφαλος με φωτοευαίσθητη κηλίδα
- 3: Ραχιαία κεραία
- 4: Υπατυπώδες πεπτ. σύστημα
- 5: Πρωτονεφρίδιο
- 6: Ορχις
- 7: Προστατικός αδένας
- 8: Εκκριτικά κοκκία
- 9: Σπερματογωγός
- 10: Πέος
- 11: Πόδας
- 12: Ποδικός αδένας
- 13: «Δάκτυλοι»

Σχήμα 39. Σχηματική απεικόνιση αρσενικού ατόμου του τροχόζωου *Brachionus calyciflorus*. Υποδεικνύονται τα διάφορα όργανα.

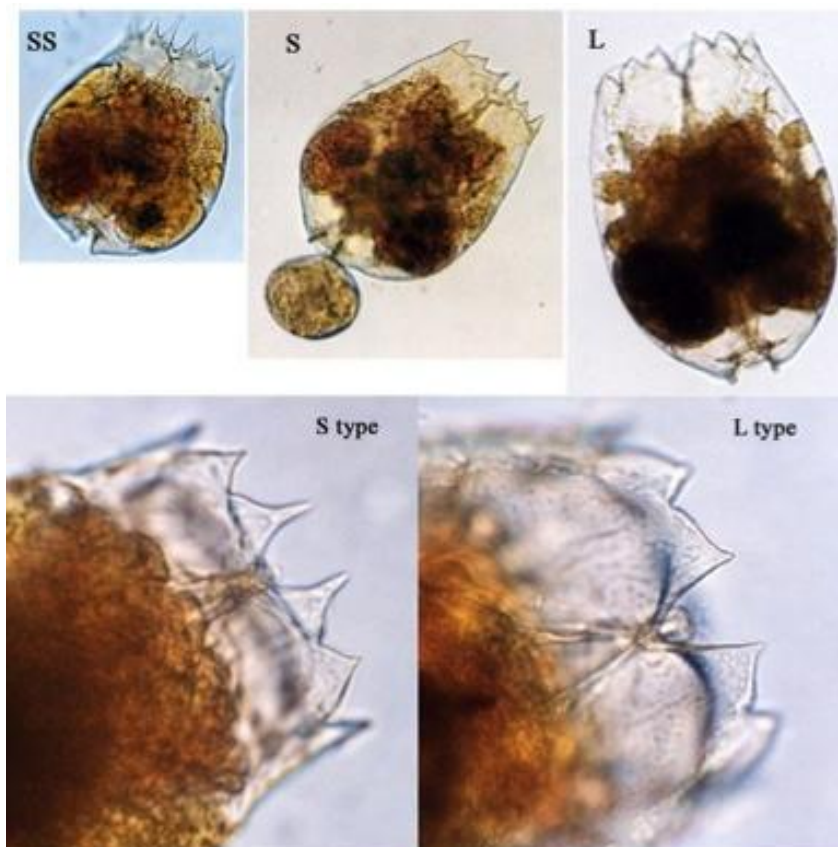
Σχετικά με τα μεγέθη των τροχόζωων ακόμη και για ένα και το αυτό είδος που μας ενδιαφέρει περισσότερο (*B. plicatilis*), θα πρέπει να αναφερθούν και τα εξής. Στα τροχόζωα παρατηρείται το φαινόμενο του πολυμορφισμού στο ίδιο και το αυτό είδος ανάλογα με τις συνθήκες του περιβάλλοντος όπου ζει. Ο πολυμορφισμός αντανακλά διαφορές στους διάφορους τύπους ενός είδους τόσο ως προς τη γενική μορφολογία του ατόμου όσο (και κυρίως) στο μέγεθος γενικά. Ειδικότερα, ως προς το μέγεθος, το γεγονός αυτό είναι υψίστης σημασίας για τις υδατοκαλλιέργειες, δεδομένου ότι συνδέεται κρίσιμα με την ικανότητα κατάποσής

των από τις μικροσκοπικές νύμφες των παραγομένων νυμφών ψαριών. Επιπλέον ο κάθε τύπος έχει τις δικές του ιδιαίτερες απαιτήσεις και ικανότητες προσαρμογής σε διαφορετικές συνθήκες του περιβάλλοντος καλλιέργειας (θερμοκρασία, αλατότητα, είδος τροφής, κ.ά.) καθώς και στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της βιολογικής του οντότητας (ρυθμός αναπαραγωγής, αύξησης κ.ά.). Σύμφωνα με διάφορους ερευνητές, οι ποικιλίες μεγέθους και μορφής των τροχοζώων είναι χαρακτηριστικά που αρμόζουν σε γενετικά απομονωμένους πληθυσμούς και ως εξ' αυτού ακολουθούνται και από οικολογικές φυσιολογικές προσαρμογές, δηλαδή διαφορετικούς τύπους ζώων. Στην Ιαπωνία όπου το φαινόμενο έχει μελετηθεί και αξιοποιηθεί πολύ, διατηρούν και αναπαράγουν δύο τύπους του *B. plicatilis*. Ένας τύπος είναι ο **Small** ή **S-τύπος** με μέσο μέγεθος 180 μm και ο άλλος ο **Large** ή **L-τύπος** με μέσο μέγεθος 250 μm. Οι δύο τύποι αναγνωρίζονταν ως δύο διαφορετικά υποείδη, δηλαδή:

α) *B. plicatilis rotundiformis* ή Μικρό rotifer (**S-τύπος**)

β) *B. plicatilis hepatomus* ή Μεγάλο rotifer (**L-τύπος**)

Σήμερα στους δύο παραπάνω τύπους έχει προστεθεί και ο υπέρ-μικρός τύπος (SS-type) και η ταξινομική κατάσταση του *B. plicatilis* έχει μάλλον περιπλακεί. Ως *Brachionus plicatilis* ορίζεται ο L-τύπος και ως *Brachionus rotundiformis* οι SS- και S-τύποι. Οι διαφορές ανάμεσα στους τύπους διακρίνονται εύκολα στα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά (Σχήμα 40) και δίδονται στον παρακάτω Πίνακα 2.:



Σχήμα 40. Οι διάφοροι τύποι του τροχοζώου *Brachionus plicatilis*.

Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά των τριών τύπων *Brachionus plicatilis*.

	L-τύπος	S-τύπος	SS-τύπος
<b>Σχήμα lorica</b>	Επιμήκης με πιο αμβλείες «άκανθες» στην κορόνα	«στρογγυλεμένη» με μυτερές «άκανθες»	Πιο «στρογγυλεμένη» με μυτερές «άκανθες»
<b>Μήκος lorica (εύρος)</b>	130-340 μm (κατά μέσο όρο 250 μm)	100-210 μm (κατά μέσο όρο 180 μm)	100-180 μm (κατά μέσο όρο 170 μm)
<b>Βάρος (ξηρό / νωπό), μg</b>	0,4 / -	0,2 / 0,7	- / 0,5
<b>Βέλτιστη αλατότητα (ppt)</b>	15	15	15
<b>Βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης</b>	πιο ανεκτικός σε χαμηλές θερμοκρασίες (20-25 °C)	θερμόφιλος (28-35 °C)	πολύ θερμόφιλος (30-35 °C)
<b>Βέλτιστη πυκνότητα φύκους (<i>Chlorella</i>, 26°C, 27 ppt) σε 10<sup>3</sup> κύτταρα/ml</b>	1000 - 5000	1000 - 5000	1000 - 3000
<b>Κατανάλωση <i>Chlorella</i> σε 10<sup>3</sup> κύτ./άτομο/ημέρα σε (26°C, 27 ppt) και <i>Nannochloropsis</i> sp.</b>	100 - 250  200-500	50-150  90-300	
<b>Αντοχή σε μεταβολές</b>	±5°C, 26-34 ppt	±5°C, 26-34 ppt	±5°C, 26-34 ppt

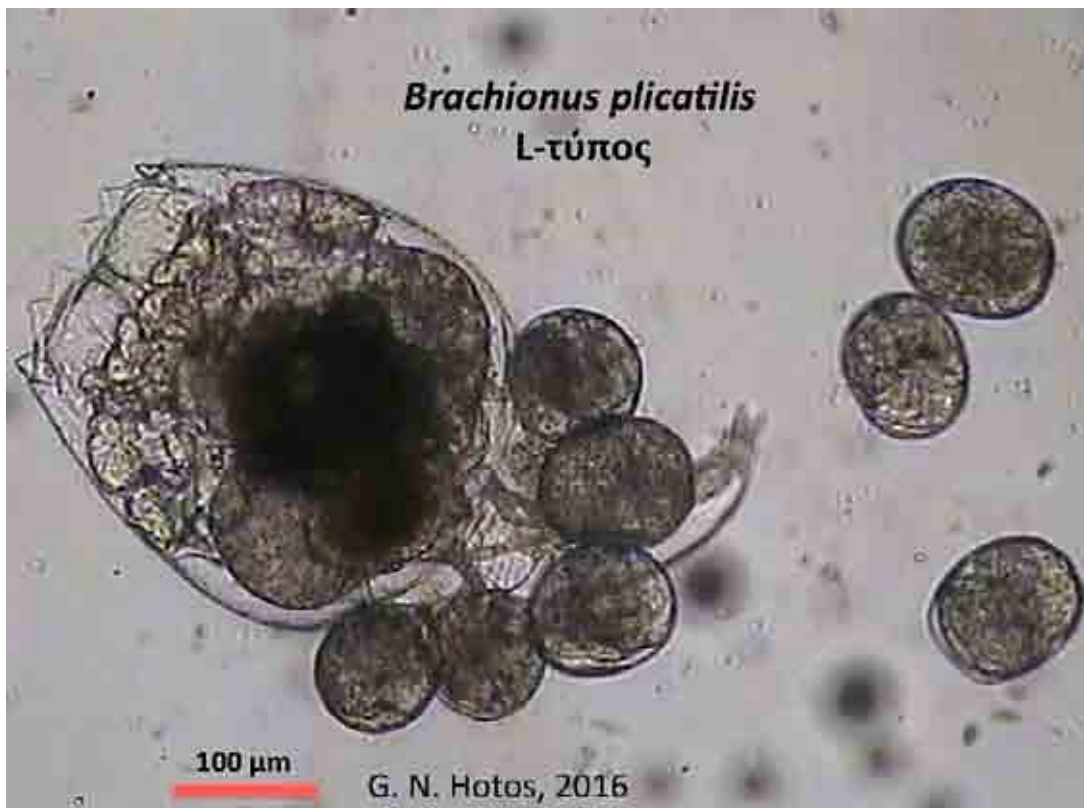
Επειδή συχνά στις καλλιέργειες εμφανίζονται και οι δύο τύποι, η αύξηση ή μείωση της θερμοκρασίας της καλλιέργειας, οδηγεί στη λήψη καθαρών καλλιερειών με τον επιθυμητό τύπο.

#### Κύκλος ζωής του *Brachionus plicatilis*.

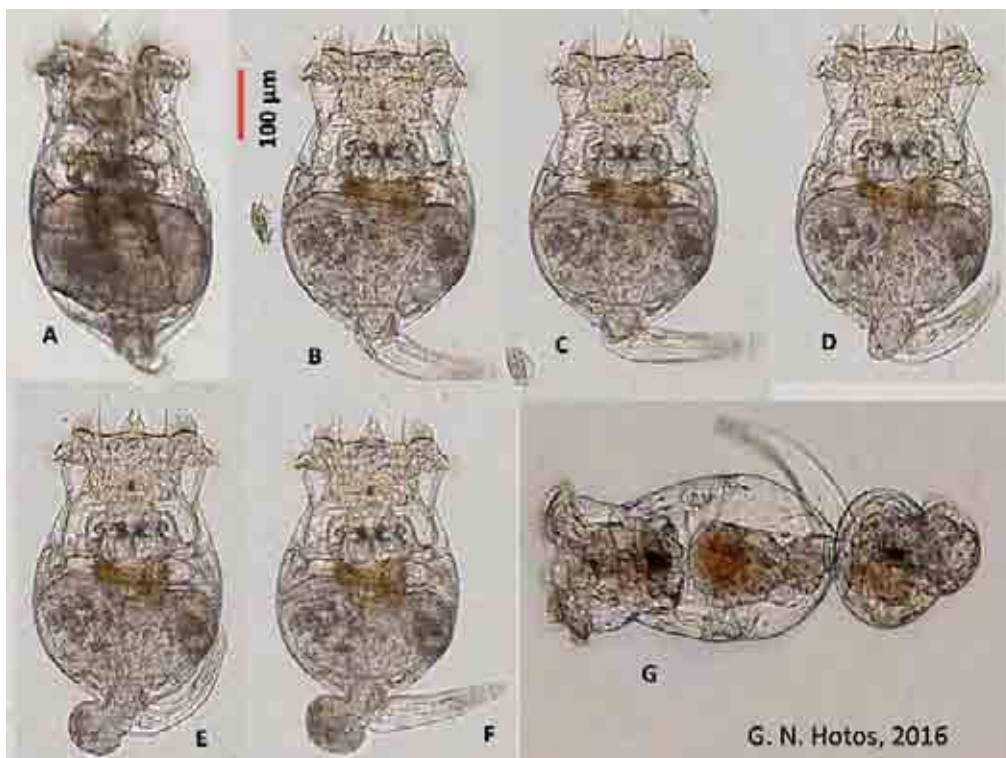
Στους 25 °C η διάρκεια ζωής των τροχοζώων έχει εκτιμηθεί ότι κυμαίνεται από 5 έως 10 ημέρες. Γενικά ισχύει ότι η λάρβα τους μετατρέπεται σε ενήλικο άτομο μετά από 0,5 έως 1,5 ημέρες. Από τη στιγμή αυτή και μετά τα θηλυκά αρχίζουν να γεννούν τα αυγά τους περίπου κάθε 5 ώρες αν υπάρχουν καλές συνθήκες και άφθονη τροφή. Πιστεύεται ότι τα θηλυκά μπορούν και παράγουν δέκα γενιές απογόνων πριν τελικά πεθάνουν. Η αναπαραγωγική δραστηριότητα των ατόμων του γένους *Brachionus* εξαρτάται από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος, την αφθονία και την ποιότητα της τροφής. Ενα θηλυκό άτομο *B. plicatilis* ανάλογα με τις συνθήκες διατήρησής του μπορεί να παράγει και περισσότερα από 20 αυγά (απογόνους) κατά τη διάρκεια των 10 περίπου ημερών της ζωής του. Τα αυγά που παράγει κάθε φορά (1 ή περισσότερα) βρίσκονται προσκολλημένα στο οπίσθιο μέρος του σώματός του μέχρι την εκκόλαψή των (Σχήματα 41, 45 & 46).

Ο κύκλος ζωής του *Brachionus plicatilis* περιορίζεται σε δύο μορφές-τύπους αναπαραγωγής (Σχήματα 47 & 48). Κατά την **παρθενογένεση** τα αμικτικά θηλυκά άτομα παράγουν αμικτικά αυγά (διπλοειδή, 2n χρωμοσώματα). Τα άτομα αυτά δεν γονιμοποιούνται και η παρθενογενετική παραγωγή αμικτικών αυγών τελικώς παράγει αμικτικά θηλυκά άτομα, δηλαδή ακριβή γενετικά αντίγραφα του εαυτού τους (κλώνοι).

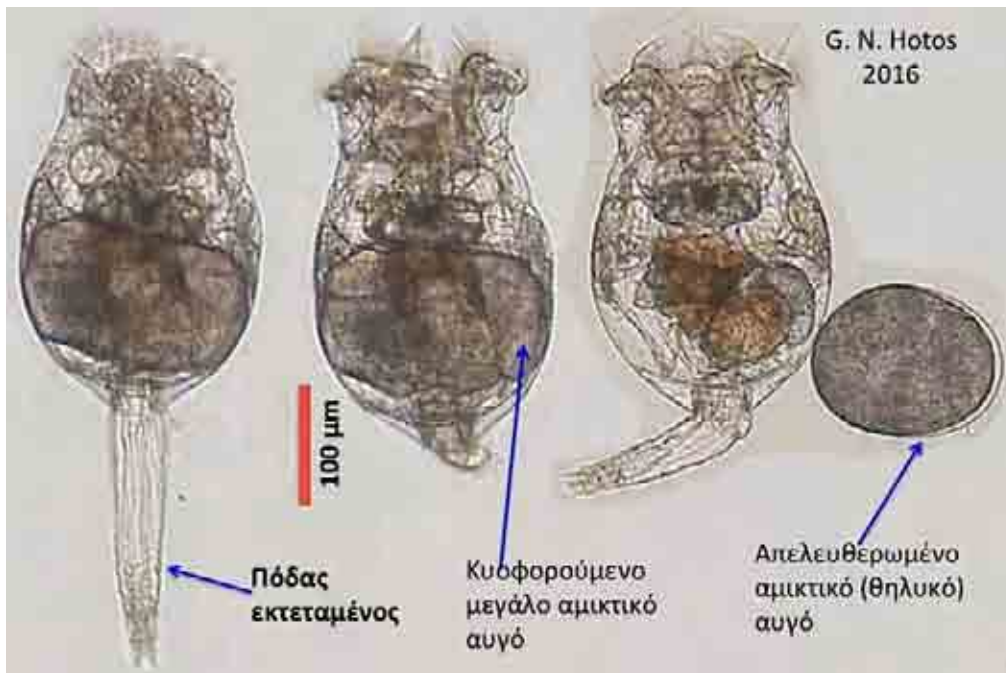




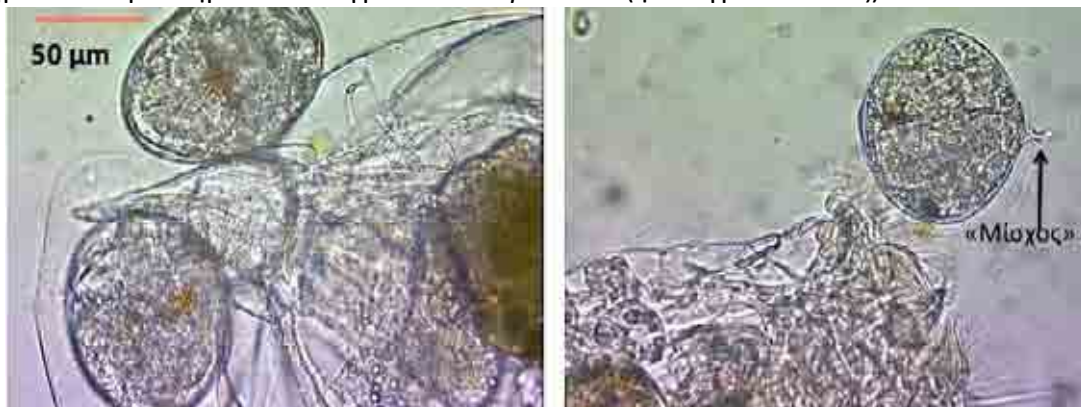
Σχήμα 41. Αμικτικό θηλυκό *B. plicatilis* φέρων 5 αμικτικά ωά έχοντας απελευθερώσει ήδη 3. Άλλα έμβρυα αναπτύσσονται και εκκολάπτονται από προσκολλημένα στο θηλυκό αβγά και άλλα από ελεύθερα αβγά. Δεν υπάρχει διαφορά. (Φωτ.: Γ. Χώτος).



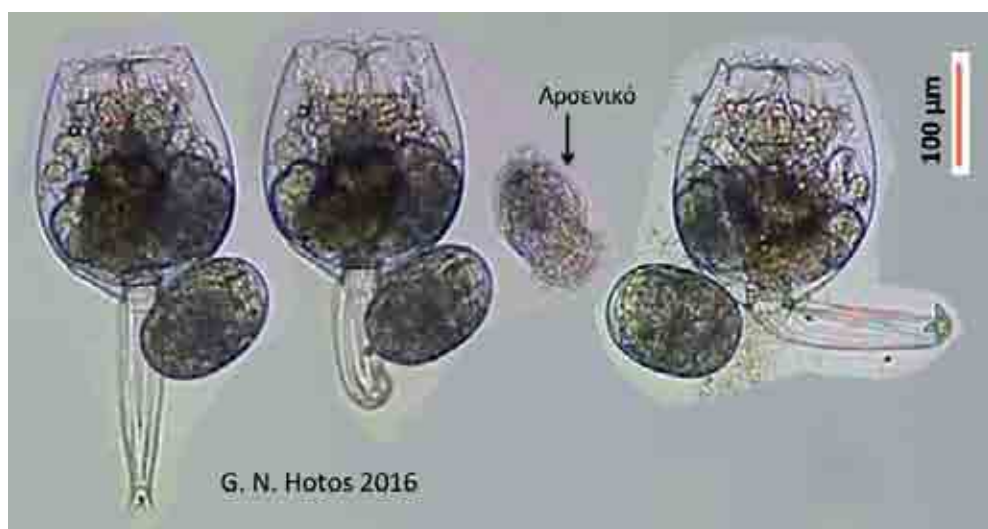
Σχήμα 42. Αποτύπωση των φάσεων εξόδου ενός αβγού από το εσωτερικό του σώματος του θηλυκού *B. plicatilis* (φωτογρ.: Γ. Χώτος).



Σχήμα 43. Χαρακτηριστικά στιγμιότυπα *B. plicatilis* (φωτογρ.: Γ. Χώτος).



Σχήμα 44. 2 αυγά με αρσενικά έμβρυα (αριστ.) και απελευθερωμένο αυγό (δεξιά) με εμφανή τον μίσχο που τον συγκρατούσε στο μητρικό σώμα (φωτογρ.: Γ. Χώτος).



Σχήμα 45. Σύγκριση αβγωμένου θηλυκού και αρσενικού *B. plicatilis* (φωτ.: Γ. Χώτος).



Κάτω από συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες τα θηλυκά εμφανίζουν μία άλλη πολύπλοκη αναπαραγωγική συμπεριφορά, η οποία οδηγεί στη δημιουργία αμικτικών και μικτικών θηλυκών ατόμων.

Παρά το ότι αυτά είναι μορφολογικώς δυσδιάκριτα, τα μικτικά θηλυκά παράγουν απλοειδή αυγά (με  $n$  χρωμοσώματα). Τα άτομα που εκκολάπτονται από αυτά τα στείρα μικτικά αυγά αναπτύσσονται σε απλοειδή αρσενικά άτομα. Τα αρσενικά αυτά έχουν μέγεθος ίσο περίπου με το ένα τέταρτο του μεγέθους του θηλυκού ατόμου. Δεν φέρουν πεπτικό σωλήνα και ουροδόχο κύστη, αλλά έχουν έναν αναλογικά μεγάλο μονό όρχι, ο οποίος είναι γεμάτος με σπέρμα.

Τα μικτικά στείρα αυγά, που παράγονται με **παρθενογένεση** και εκκολάπτονται σε αρσενικά απλοειδή ( $n$  χρωμοσώματα) άτομα, είναι σημαντικά μικρότερα σε μέγεθος. Αντίθετα τα μικτικά γόνιμα αυγά, που παράγονται με **αμφιγονία**, δηλαδή γονιμοποίηση των μικτικών θηλυκών ατόμων με τα αρσενικά απλοειδή άτομα, είναι διπλοειδή ( $2n$  χρωμοσώματα), μεγαλύτερα και έχουν ένα λεπτό, εξωτερικό κοκκοειδές κέλυφος. Αυτά είναι τα **αυγά διάπαυσης** (resting eggs) (Σχήματα 36, 37 & 48), τα οποία θα αναπτυχθούν και θα εκκολαφθούν αποκλειστικά και μόνο σε αμικτικά θηλυκά άτομα, ύστερα από την έκθεσή τους σε συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες, με αποτέλεσμα ο κύκλος να επαναλαμβάνεται.

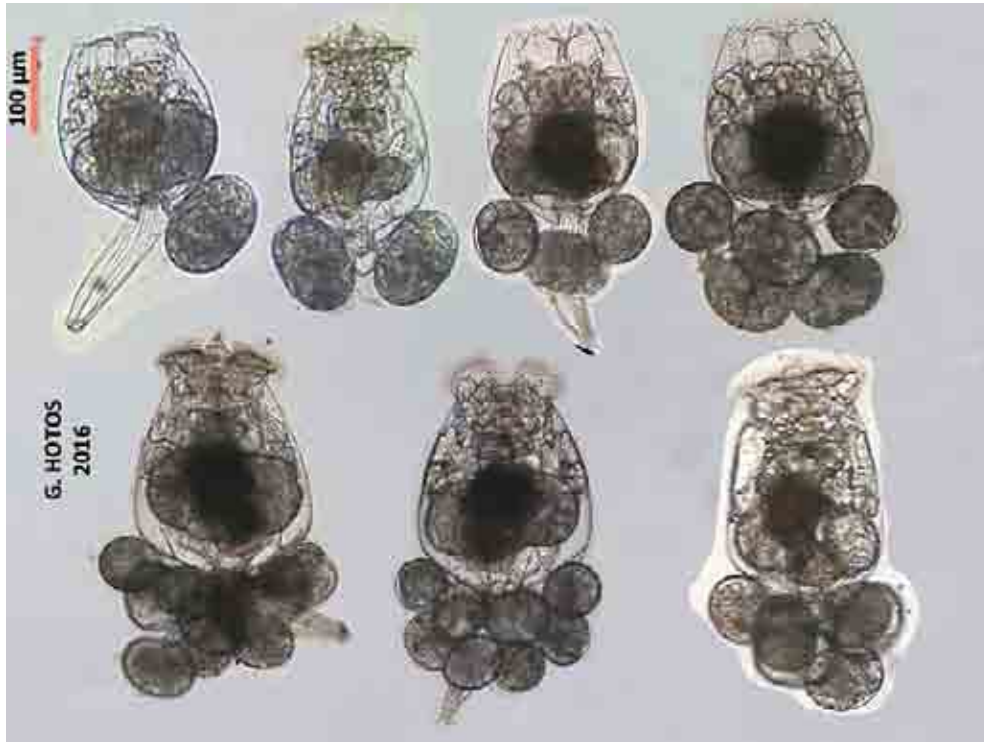
Η αμφιγονική αναπαραγωγή των τροχοζώων επηρεάζεται τόσο από ενδογενείς (π.χ. ηλικία) όσο και από εξωγενείς (π.χ. θερμοκρασία, τροφή, πυκνότητα πληθυσμού) παράγοντες. Παρ' όλο που ο μηχανισμός δεν είναι απόλυτα κατανοητός, είναι γενικά αποδεκτό ότι η παραγωγή αυγών διάπαυσης είναι ο δρόμος για την επιβίωση του πληθυσμού υπό δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως η ξηρασία ή το κρύο. Κάτω από αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες, τα τροχοζώα υφίστανται αμφιγονική αναπαραγωγή και άρα η εμφάνιση αρσενικών τροχοζώων υποδηλώνει ότι το μέσο καλλιέργειας χειροτέρευσε και πρέπει να αλλάξει.

Εξαιτίας του ό,τι τα αυγά διάπαυσης παρουσιάζουν υψηλή συγκέντρωση αποθεματικών θρεπτικών ουσιών, η γονιμότητα του μικτικού γονιμοποιημένου ατόμου (3-7 αυγά) είναι πολύ κατώτερη από αυτή του μη γονιμοποιημένου (20 αυγά). Είναι φανερό λοιπόν ότι στις υδατοκαλλιέργειες η αμφιγονική αναπαραγωγή θα πρέπει να αποφεύγεται, καθώς είναι αργή και έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία αυγών διάπαυσης, που χρειάζεται να εκκολαφθούν, ενώ τα μικτικά θηλυκά κατά κανόνα πεθαίνουν, επιφέροντας μία ξαφνική κατάρρευση της καλλιέργειας.

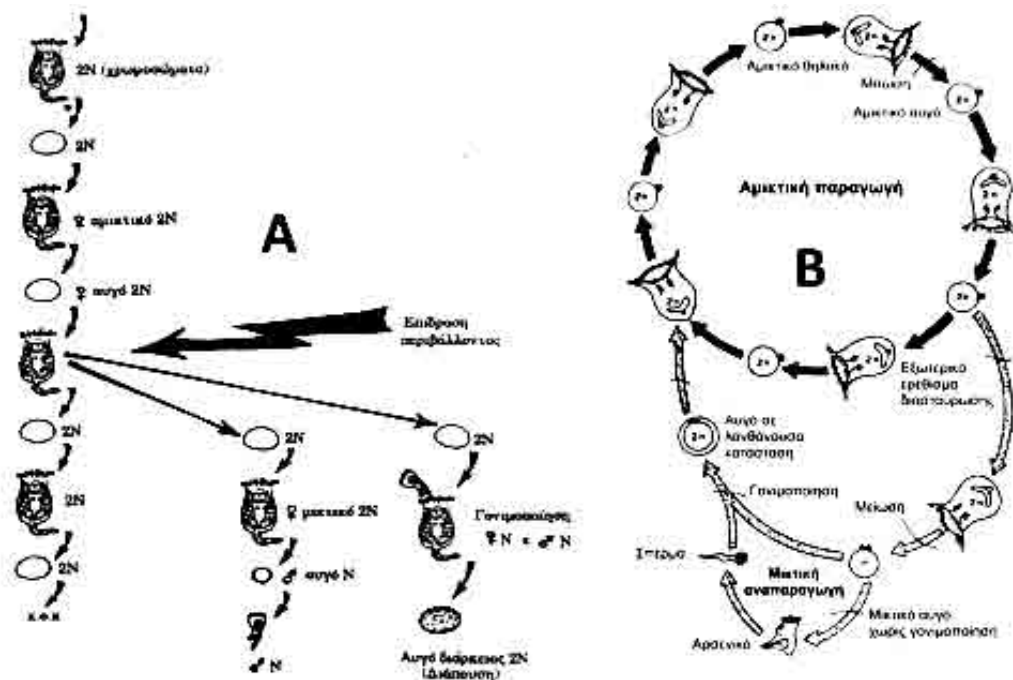
Το *Brachionus plicatilis* αναπαράγεται κυρίως παρθενογενετικώς (αμικτική αναπαραγωγή) ή μετά από την επίδραση ορισμένων παραγόντων και αμφιγονικώς (μικτική αναπαραγωγή). Κατά την παρθενογένεση το θηλυκό παράγει ακριβή γενετικά αντίγραφα του εαυτού του, δηλαδή κλώνους. Αν όμως υπάρξουν έντονες δραματικές αλλαγές στο περιβάλλον διαβίωσης π.χ. απότομη μεταβολή αλατότητας ή θερμοκρασίας, τότε προκαλείται η μικτική αναπαραγωγή με αποτέλεσμα την εμφάνιση μικροσκοπικών (σε σύγκριση με τα θηλυκά) αρσενικών και μετά τη γονιμοποίηση την παραγωγή ειδικών "αδρανών αυγών", βιολογικών οντοτήτων ανάλογων των κύστεων της *Artemia*. Από υδατοκαλλιεργητική και πρακτική άποψη επιδιώκεται να συμβαίνει η αμικτική αναπαραγωγή επειδή:

- Ο ρυθμός της αμικτικής αναπαραγωγής είναι κατά πολύ ταχύτερος της μικτικής,

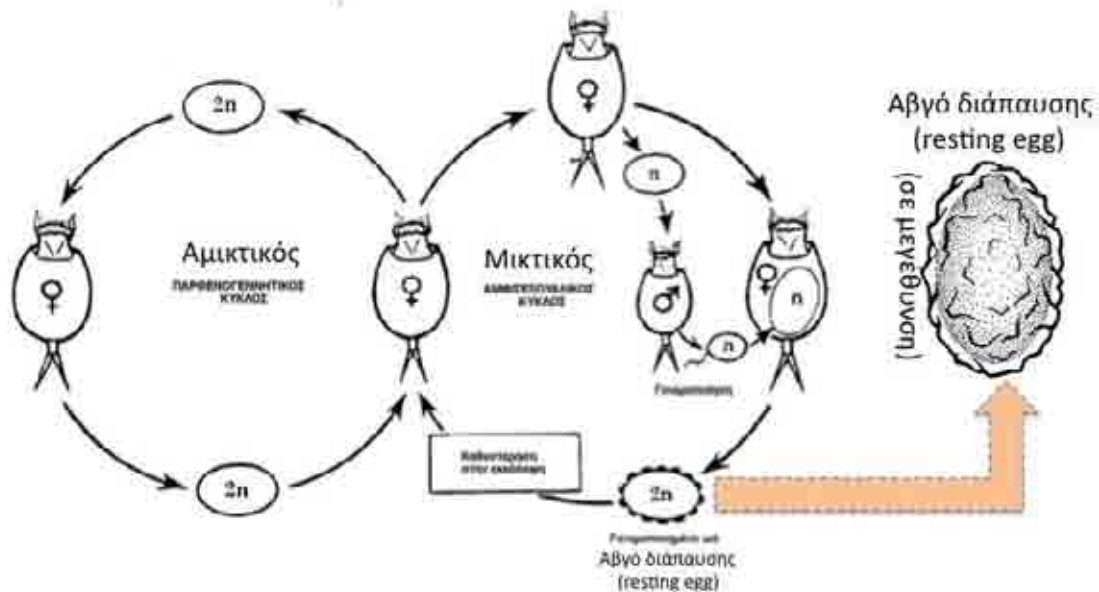
- Τα αρσενικά που παράγονται κατά το μικτικό τρόπο είναι κατώτερα σε διατροφική αξία λόγω της έλλειψης λειτουργικού πεπτικού συστήματος και,
- Η έναρξη του μικτικού τρόπου προκαλεί συνήθως κατάρρευση των καλλιέργειών των τροχοζώων.



Σχήμα 46. Αμικτικά τροχοζώα *Brachionis plicatilis* με ποικίλο αριθμό αμικτικών αυγών προσκολλημένων στο μητρικό άτομο. Διακρίνονται 1, 2, 3, 5, 6, 8 και 10 αυγά συγκρατημένα κατά ομάδες στο οπίσθιο μέρος του σώματος (φωτογρ.: Γ. Χώτος).



Σχήμα 47. Σχηματική παράσταση της αναπαραγωγής του *Brachionus plicatilis*.

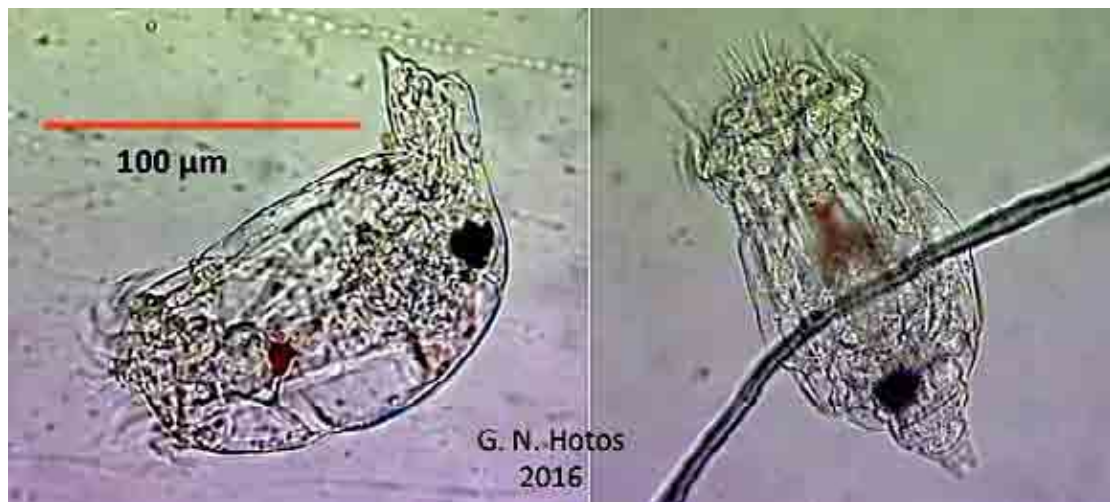


Σχήμα 48. Σχηματική αναπαράσταση του αμικτικού και μικτικού αναπαραγωγικού κύκλου του *B. plicatilis* και σε μεγέθυνση η ανάγλυφη εμφάνιση ενός αβγού διάπαυσης (resting egg).

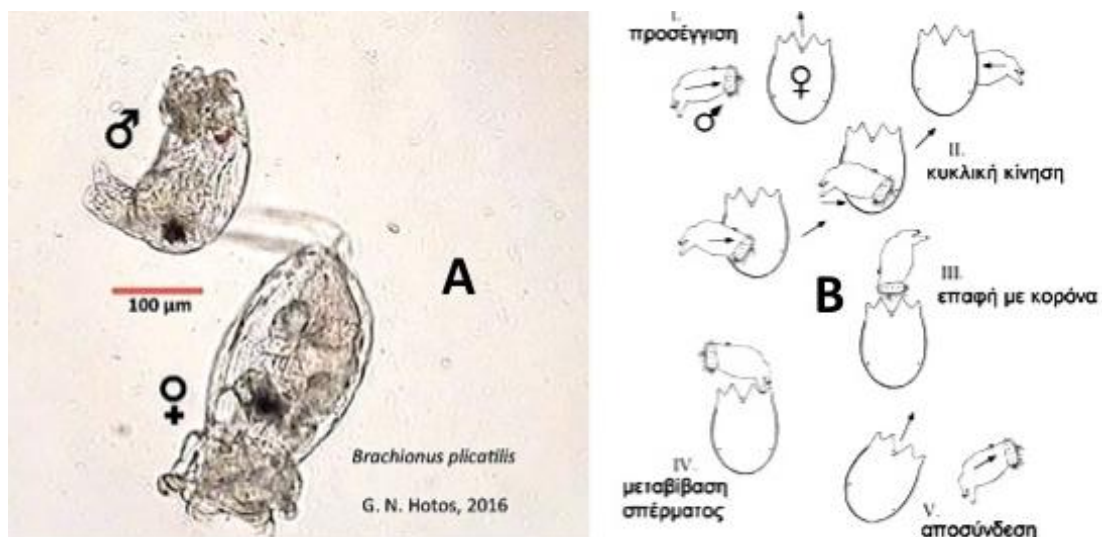
#### Ανακεφαλαιώνοντας την αναπαραγωγή:

- Η αναπαραγωγή πραγματοποιείται με δύο τρόπους: Α. Αμικτικός τρόπος ή παρθενογένεση, Β. Μικτικός τρόπος ή αμφιγονικός
- Κατά τον αμικτικό τρόπο δεν υπάρχει γονιμοποίηση. Τα αυγά παράγονται με παρθενογένεση, τα οποία δίνουν αμικτικά θηλυκά.
- Ορισμένα θηλυκά που γίνονται «μικτικά» παράγουν ειδικά μικρά αυγά από τα οποία θα προκύψουν αρσενικά άτομα (Σχήματα 44 & 52).
- Τα μικτικά θηλυκά γονιμοποιούνται από τα προκύψαντα αρσενικά (Σχήματα 50 & 51) και παράγουν αδρανή αυγά (ή αυγά διάρκειας). Μετά την εκκόλαψη όλα δίνουν αμικτικά άτομα.
- Η αμικτική αναπαραγωγή είναι πιο γρήγορη άρα και ταχύτερη η αύξηση του πληθυσμού, πράγμα απαραίτητο για την εντατική καλλιέργεια rotifers.
- Όταν οι συνθήκες στις οποίες ζουν τα rotifers είναι ακατάλληλες τότε χρησιμοποιούν τη μικτική αναπαραγωγή. Έτσι καταφέρνουν τα αδρανή αυγά να αντεπεξέλθουν στις δυσμενείς αυτές συνθήκες.
- Η παραγωγή των μικτικών θηλυκών εξαρτάται κυρίως από τρεις παράγοντες που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους: α) αλατότητα, β) πυκνότητα του πληθυσμού, γ) ποιότητα και ποσότητα της τροφής τους.
- Η αμικτική αναπαραγωγή μπορεί να διακοπεί και να αντικατασταθεί από φάσεις αμφιγονικής αναπαραγωγής (μικτική αναπαραγωγή), η οποία προκαλείται είτε από εξωγενείς παράγοντες – σινιάλα (χαμηλή θερμοκρασία και αλατότητα, ελάττωση της ποιότητας και ποσότητας της τροφής, αύξηση της πυκνότητας του πληθυσμού, κ.α.) που χαρακτηρίζουν χειροτέρευση του περιβάλλοντος, είτε από ενδογενείς (ηλικία).

- Κατά το μικτικό τρόπο τα μικτικά θηλυκά γονιμοποιούνται από τα μικτικά αρσενικά και παράγονται αυγά διάρκειας ή διάπαυσης με υποχρεωτικό λανθάνοντα χρόνο τουλάχιστον ενός μηνός.
- Ο προτιμότερος τρόπος αναπαραγωγής είναι ο αμικτικός για τους εξής λόγους:
  - Είναι ταχύτερος
  - Ο μικτικός τρόπος προκαλεί κατάρρευση της καλλιέργειας
  - Τα αρσενικά (Σχήματα 38, 39, 49 & 50) που παράγονται κατά τον μικτικό τρόπο έχουν χαμηλότερη θρεπτική αξία λόγω έλλειψης πεπτικού συστήματος.

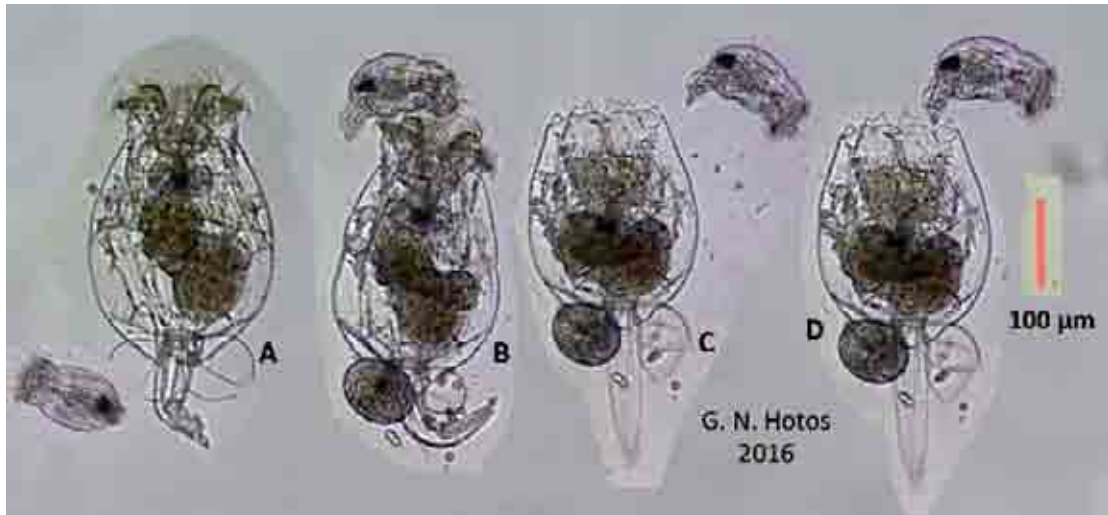


Σχήμα 49. Αρσενικό άτομο *Brachionus plicatilis* σε δύο όψεις (φωτογρ.: Γ. Χώτος).

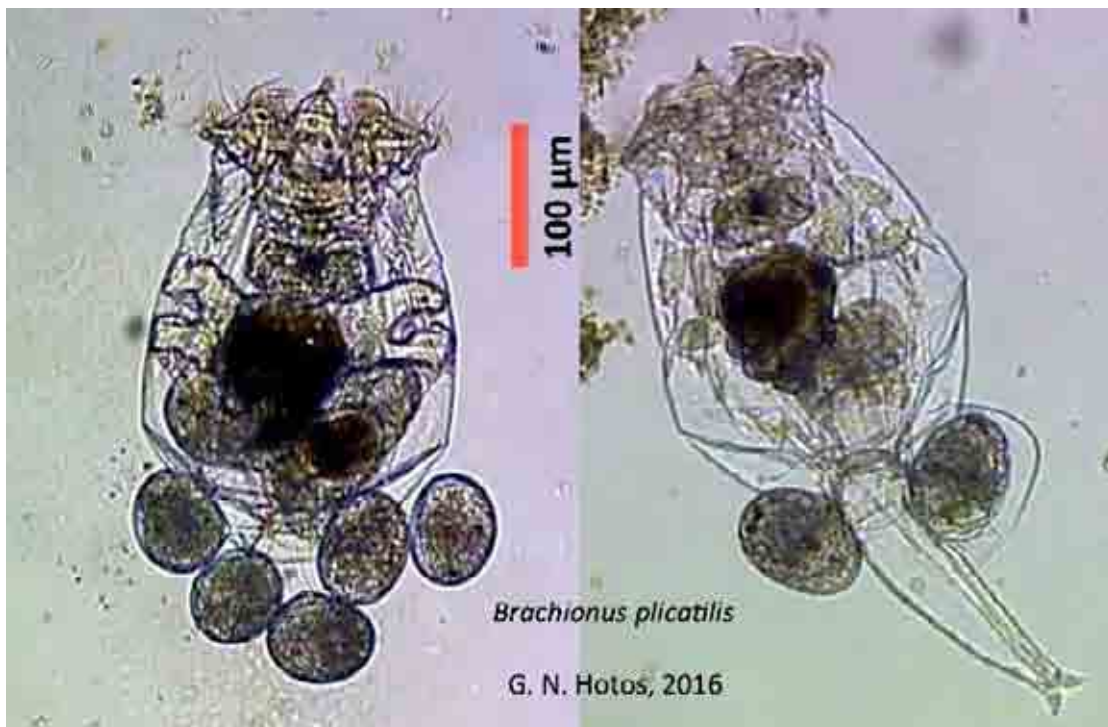


Σχήμα 50. Αριστερά: Αρσενικό και νεαρό θηλυκό άτομο *B. plicatilis*. Δεξιά: Σχηματική αναπαράσταση του “τελετουργικού” της γονιμοποίησης (φωτογρ.: Γ. Χώτος).





Σχήμα 51. Φωτογραφικό κολάζ της διαδικασίας της γονιμοποίησης στο *B. plicatilis*. **A:** προσέγγιση, **B:** ανίχνευση δεκτικότητας, **C:** προετοιμασία, **D:** γονιμοποίηση. Αξιοσημείωτο γεγονός το ότι η γονιμοποίηση γίνεται και σε φέροντα ήδη αρσενικά αυγά μικτικά θηλυκά. Φωτογραφία-σύνθεση, Γ. Χώτος.



Σχήμα 52. Θηλυκά μικτικά άτομα *B. plicatilis* με 5 και 2 αυγά που θα δώσουν αρσενικά άτομα (φωτογρ. Γ. Χώτος).

## Εξάσκηση φοιτητών

Μικροσκοπική παρατήρηση του τροχοζώου *Brachionus plicatilis*.

Έμφαση στο μορφολογικό του πρότυπο.

Παρακολούθηση του τρόπου κίνησής του.



## 8 Καλλιέργεια τροχοζώων

### Εισαγωγή:

Η επιλογή της τροφής για τα πρώτα νυμφικά (λαρβικά) στάδια των διαφόρων ειδών εκτρεφόμενων ψαριών δεν εξαρτάται μόνο από τη θρεπτική της αξία αλλά και από το μέγεθός της, την κίνηση και την ανθεκτικότητά της.

Για τους παραπάνω λόγους από όλα τα ζωοπλαγκτονικά είδη εκείνα που χρησιμοποιούνται κυρίως είναι τα **τροχοζωα** ή **rotifers** (όπως συχνά αναφέρονται) και ειδικά το είδος ***Brachionus plicatilis***. Έχει μέγεθος (100-350 μm), το χρώμα του είναι σκούρο και διακρίνεται στο νερό και σε συνδυασμό με την αργή γραμμική του κίνηση επιτρέπει στις νύμφες (λάρβες) των ψαριών να μπορούν εύκολα να το συλλάβουν. Επειδή τρέφεται διηθώντας την τροφή του (filter feeder), η ποιότητά του μπορεί να βελτιωθεί προσθέτοντας διάφορα εμπλουτιστικά στοιχεία στο μέσο καλλιέργειάς του.

Για τους παραπάνω λόγους τα rotifers είναι εκείνα που χρησιμοποιούνται κυρίως για την πρώτη διατροφή των διαφόρων εκτρεφόμενων ειδών ψαριών, παρ' όλο που στο φυσικό τους περιβάλλον σπάνια συμπεριλαμβάνονται στο διαιτολόγιό τους.

Ένας άλλος λόγος για τον οποίο προτιμώνται τα rotifers είναι ότι μπορούμε να τα βρούμε σχεδόν παντού και να τα συλλέξουμε εύκολα.

Προσαρμόζονται εύκολα σε διάφορες συνθήκες καλλιέργειας (σε εξωτερικές δεξαμενές αρκετών εκατοντάδων κυβικών μέτρων ή σε μικρότερους όγκους και περισσότερο ελεγχόμενες συνθήκες).

Επίσης η χρησιμοποίηση ζύμης (πρόκειται για τον μύκητα *Saccharomyces cerevisiae*) για την καλλιέργεια των rotifers (από το να χρησιμοποιούμε αποκλειστικά φυτοπλαγκτόν) αποτελεί ένα ακόμα πλεονέκτημα τόσο οικονομικό όσο και τεχνικό.

### **Λόγοι Επιλογής του *Brachionus plicatilis***

- Διαθέτει μικρό μέγεθος (100-350 μm).
- Η χημική του σύσταση ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις των νυμφών μετά από βελτίωση μέσω του εμπλουτισμού.
- Ο βαθμός κινητικότητάς του είναι μικρός και το χρώμα του ευδιάκριτο.
- Αναπαράγεται γρήγορα και εύκολα σε συνθήκες καλλιέργειας.
- Τρέφεται με μεγάλο αριθμό φυτοπλαγκτονικών ειδών (Σχήμα 53) και μύκητες και προσαρμόζεται σε ποικίλα θρεπτικά υποστρώματα.
- Βρίσκεται παντού και συλλέγεται εύκολα.

### **Μαζική καλλιέργεια του *Brachionus plicatilis***

Η μαζική καλλιέργεια του *Brachionus plicatilis* σε εντατικές συνθήκες στηρίζεται στην τεχνική των διαδοχικών αραιώσεων, όπως και η καλλιέργεια των μικροφυκών.



Σχήμα 53. Μεγάθυνη της εμπρόσθιας περιοχής (κορόνα) ενός τροχοζώου *Brachionus plicatilis* που μόλις έχει «καταπιεί» ένα μεγάλο πράσινο κύτταρο του μικροφύκου *Asteromonas gracilis*. Το κύτταρο αυτό θα «πολτοποιηθεί» στο μασητικό όργανο (μάστακας) κατά πως συνέβη και σε άλλα παρόμοια κύτταρα (η πράσινη περιοχή στη φωτογραφία). Κατόπιν η φυκική μάζα θα προωθηθεί στον στόμαχο (κιτρινοπράσινο χρώμα στο άκρο αριστερά). (Φωτογραφία: Γ. Χώτος).

### **Μέθοδοι παραγωγής τροχοζώων (rotifers)**

Τα στάδια της εντατικής καλλιέργειας των rotifers είναι τα παρακάτω:

#### **A. ΑΠΟΘΕΜΑΤΑ**

Είναι απαραίτητο να διατηρούμε απόθεμα καθαρών καλλιεργειών η προμήθεια των οποίων μπορεί να γίνει είτε από ειδικά Ινστιτούτα είτε από ιχθυογεννητικούς σταθμούς.

Τα αποθέματα διατηρούνται σε δοκιμαστικούς σωλήνες και η καλλιέργειά τους αποτελείται από φυτοπλαγκτόν σε πλήρη ανάπτυξη το οποίο εξακολουθεί να έχει μικρή συγκέντρωση και δεν παρουσιάζει καθίζηση.

Ο εμβολιασμός των rotifers γίνεται σε πυκνότητες των 1-2 ατόμων/ml και η θερμοκρασία διατηρείται σταθερή στους 20 °C περίπου.

Για την ανανέωση των αποθεμάτων χρησιμοποιείται η ίδια μέθοδος όπως και για το φυτοπλαγκτόν σε δοκιμαστικούς σωλήνες με τη μόνη διαφορά ότι αυτοί περιέχουν φυτοπλαγκτόν σε πλήρη ανάπτυξη που δεν παρουσιάζει καθίζηση. Επίσης η θερμοκρασία και οι συνθήκες φωτισμού είναι ίδιες με της αντίστοιχης φάσης καλλιέργειας του φυτοπλαγκτού.

## B. ΕΝΔΙΑΜΕΣΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Οι ενδιάμεσες καλλιέργειες γίνονται σε δοχεία των 2-5 L και σε σάκους πολυαιθυλενίου των 20-60 L. Σκοπός είναι η προσδευτική αύξηση του όγκου της καλλιέργειας, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τον εμβολιασμό μεγαλύτερων όγκων (200 έως 1500 L). Είναι σχεδόν αδύνατο να αρχίσουμε από μεγάλους όγκους όπως αυτός των 500 L διότι το μέσον καλλιέργειας θα έχει αλλοιωθεί προτού επιτευχθεί η απαιτούμενη ανάπτυξη του πληθυσμού.

Με τη **διακοπτόμενη μέθοδο** επιδιώκουμε την επίτευξη μιας βέλτιστης συγκέντρωσης την οποία θα χρησιμοποιήσουμε για τον εμβολιασμό μεγαλύτερων όγκων. Όταν η καλλιέργεια αποκτήσει αυτή τη συγκέντρωση τότε χρησιμοποιείται ολόκληρος ο όγκος της.

Με την **ημισυνεχή μέθοδο** λαμβάνεται καθημερινά η αναγκαία ποσότητα ενώ η υπόλοιπη καλλιέργεια διατηρείται ενεργή για μεγάλο χρονικό διάστημα. Με τον τρόπο αυτό, έχουμε εξοικονόμηση τόσο χρόνου εργασίας όσο και ενέργειας.

## Γ. ΕΝΤΑΤΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΕ ΜΕΓΑΛΟΥΣ ΟΓΚΟΥΣ ΝΕΡΟΥ

Τελικός σκοπός των καλλιεργειών τόσο φυτοπλαγκτού όσο και rotifers είναι η παραγωγή μεγάλων όγκων για την εκτροφή των νυμφών.

Λέγοντας μεγάλους όγκους σημαίνει ότι μπορεί να αρχίζουν από 200 L μέχρι ακόμα και 100-200 m<sup>3</sup>.

Συνοπτικά τα διάφορα στάδια καλλιέργειας είναι:

1. Γεμίζουμε τις δεξαμενές με θαλασσινό νερό αλατότητας 20-25 ppt ή κανονικής αλατότητας (35 ppt), το θερμαίνουμε στους 20-25 °C και το αποστειρώνουμε με υπεριώδη ακτινοβολία.
2. Εμβολιάζουμε με χαμηλή συγκέντρωση rotifers (10-20 άτομα/ml).
3. Προσθέτουμε φυτοπλαγκτόν ή μαγιά (ζύμη) για τη διατροφή τους.
4. Όταν η καλλιέργεια αποκτήσει την επιθυμητή συγκέντρωση των 100-250 rotifers/ml, τότε είτε χρησιμοποιούμε ολόκληρο τον όγκο είτε παίρνουμε σε τακτά χρονικά διαστήματα την ποσότητα που χρησιμοποιείται για το επόμενο στάδιο και συμπληρώνουμε την καλλιέργεια με ίδιο όγκο θαλασσινού νερού.

## **Προγραμματισμός παραγωγής**

Ο προγραμματισμός της εντατικής παραγωγής rotifers γίνεται με βάση το μέγεθος της προβλεπόμενης παραγωγής και εκτροφής νυμφών. Η ποσότητα των rotifers που καταναλώνεται μπορεί να υπολογισθεί από τη μέση ημερήσια κατανάλωση ανά νύμφη. Αυτό όμως που γίνεται στην πράξη και είναι πιο εύκολο, είναι ο υπολογισμός της κατανάλωσης ως rotifers/δεξαμενή εκτροφής/ημέρα.

Η έναρξη της παροχής rotifers στις δεξαμενές εκτροφής νυμφών γίνεται σταδιακά και με τρόπο ώστε να υπάρχουν νύμφες διαφορετικής ηλικίας και κατά συνέπεια η κατανάλωση rotifers να είναι όσο το δυνατόν πιο σταθερή. Με αυτό τον τρόπο τόσο η διαχείριση των δεξαμενών όσο και τα αποτελέσματα είναι πολύ καλύτερα.

Ας πάρουμε σαν παράδειγμα μια μονάδα εκτροφής λαβρακιού που αποτελείται από 20 δεξαμενές εκτροφής (πρώτης ανάπτυξης). Ξεκινάμε την παροχή rotifers σε 5 δεξαμενές κάθε εβδομάδα έτσι ώστε να έχουμε 5 δεξαμενές που να

"τρέφονται" με rotifers ενώ οι υπόλοιπες (έχοντας αρχίσει ενωρίτερα) περιέχουν νύμφες που τρέφονται με *Artemia* (Πίνακες 3 και 4). Αυτό είναι δυνατό μόνο μετά από προσεκτικό προγραμματισμό του αποθέματος των εκκολαφθέντων αυγών. Δηλαδή συλλογή και επώαση των αυγών από μία εκτεταμένη χρονική περίοδο ωοτοκίας, είτε από φυσικές γέννες είτε από πρόκληση της ωορρηξίας με ορμόνες.

Ημέρες	0	7	14	21
E	5	5	5	5
R		5	5	5
A			5	10

Πίνακας 3. Συνοπτικό πρόγραμμα διαχείρισης 20 δεξαμενών νυμφικής καλλιέργειας με δημιουργία 4 κύκλων παραγωγής. Έναρξη χρησιμοποίησης 5 δεξαμενών κάθε 7 ημέρες.

- \* E: Αριθμός των δεξαμενών κατά την εκκόλαψη των λαβρών (νυμφών)
- \* R: " " " που τρέφονται με rotifers
- \* A: " " " " " " *Artemia*

Κάθε εκτρεφόμενο είδος παρουσιάζει ξεχωριστό ρυθμό κατανάλωσης rotifers. Στον Πίνακα 4 που ακολουθεί φαίνεται η κατανάλωση rotifers από το λαβράκι και την τσιπούρα. Για την τσιπούρα επειδή είναι λιγότερο κινητικό είδος απ' ότι το λαβράκι απαιτείται χορήγηση μεγαλύτερης ποσότητας rotifers ανεξάρτητα από την πραγματική κατανάλωση ανά νύμφη.

Ημέρες	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Λαβράκι				4	6	8	10	10	8	4			
Τσιπούρα				10	10	6	6	6	6	6	4	4	4

Πίνακας 4. Καθημερινή κατανάλωση rotifers ( $\times 10^6$ ) για το λαβράκι και την τσιπούρα στις δεξαμενές εκτροφής νυμφών. Τα νούμερα αντιστοιχούν στην απαίτηση για κατανάλωση κάθε δεξαμενής, ο όγκος της οποίας είναι  $2 \text{ m}^3$ . Πυκνότητα νυμφών:  $40.000 \text{ νύμφες / m}^3$  κατά την ημέρα 0 (ημέρα εκκόλαψης).

(θερμοκρασία:  $20^\circ \text{C}$  για το λαβράκι

" "  $22^\circ \text{C}$  για τη τσιπούρα)

Σημείωση: Η μείωση στην κατανάλωση rotifers οφείλεται στην προσθήκη *Artemia* για θρέψη.

## Υπολογισμός του μεγέθους του τμήματος παραγωγής rotifers

### Υπολογισμός της μέγιστης κατανάλωσης

Ο υπολογισμός της παραγωγής φυτο-ζωοπλαγκτού γίνεται με βάση τη μέγιστη προβλεπόμενη κατανάλωση κατά τη διάρκεια εκτροφής των νυμφών.

Στο παράδειγμα του Πίνακα 5 η μέγιστη κατανάλωση προβλέπεται ότι θα είναι  $50 \times 10^6$  rot/ημέρα (5 δεξαμενές  $\times$  ( $10 \times 10^6$ ) rot/ημέρα).

Στον Πίνακα 5 που ακολουθεί φαίνεται η μέγιστη αναμενόμενη κατανάλωση ( $50 \times 10^6$  rot) για τις δεξαμενές εκτροφής νυμφών λαβρακιού (20 δεξαμενές συνολικά  $2 \text{ m}^3$  η κάθε μία, σε θερμοκρασία  $20^\circ \text{C}$ ).

Ημέρες	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Αριθ. δεξ.	<b>5E</b>	5	5	5	5	5	5	5	5	5						
" "								<b>5E</b>	5	5	5	5	5	5	5	5
" "															<b>5E</b>	5
<b>Κ.Α.Δ.</b>				4	6	8	10	10	8	4	4	6	8	10	10	8
<b>Σ.Α.Κ.</b>				20	30	40	50	50	40	20	20	30	40	50	50	40

Πίνακας 5. Συνδυασμός των προηγούμενων Πινάκων 3 και 4 έτσι ώστε να φανεί η κατανάλωση rotifers ανά δεξαμενή νυμφικής καλλιέργειας λαβρακιού καθώς και ανά ομάδα δεξαμενών (5). **E**: Εναρξη λειτουργίας της κάθε σειράς 5 δεξαμενών.

\* **Κ.Α.Δ.**: Κατανάλωση rotifers Ανά Δεξαμενή ( $\times 10^6$ ).

\* **Σ.Α.Δ.**: Σύνολο Αναμενόμενης Κατανάλωσης rotifers ( $\times 10^6$ ).

Σημείωση: Χάριν απλότητας ο πίνακας δεν επεκτείνεται πέραν των 15 ημερών.

### Υπολογισμός των απαιτούμενων όγκων

Για να υπολογίσουμε τον αριθμό των rotifers που απαιτείται για τους όγκους της καλλιέργειας, πρέπει εκ των προτέρων να γνωρίζουμε τη συγκέντρωση που θα χρησιμοποιήσουμε. Ένας υπολογισμός για παράδειγμα  $100 \text{ rot/ml}$ , περιορίζει την αβεβαιότητα και τα λάθη σε ότι αφορά την παραγωγή του απαιτούμενου αριθμού rotifers.

Παραγωγή λοιπόν  $50 \times 10^6$  rotifers επιτυγχάνεται σε όγκο 500 L καλλιέργειας και με πυκνότητα  $100 \text{ rot/ml}$ .

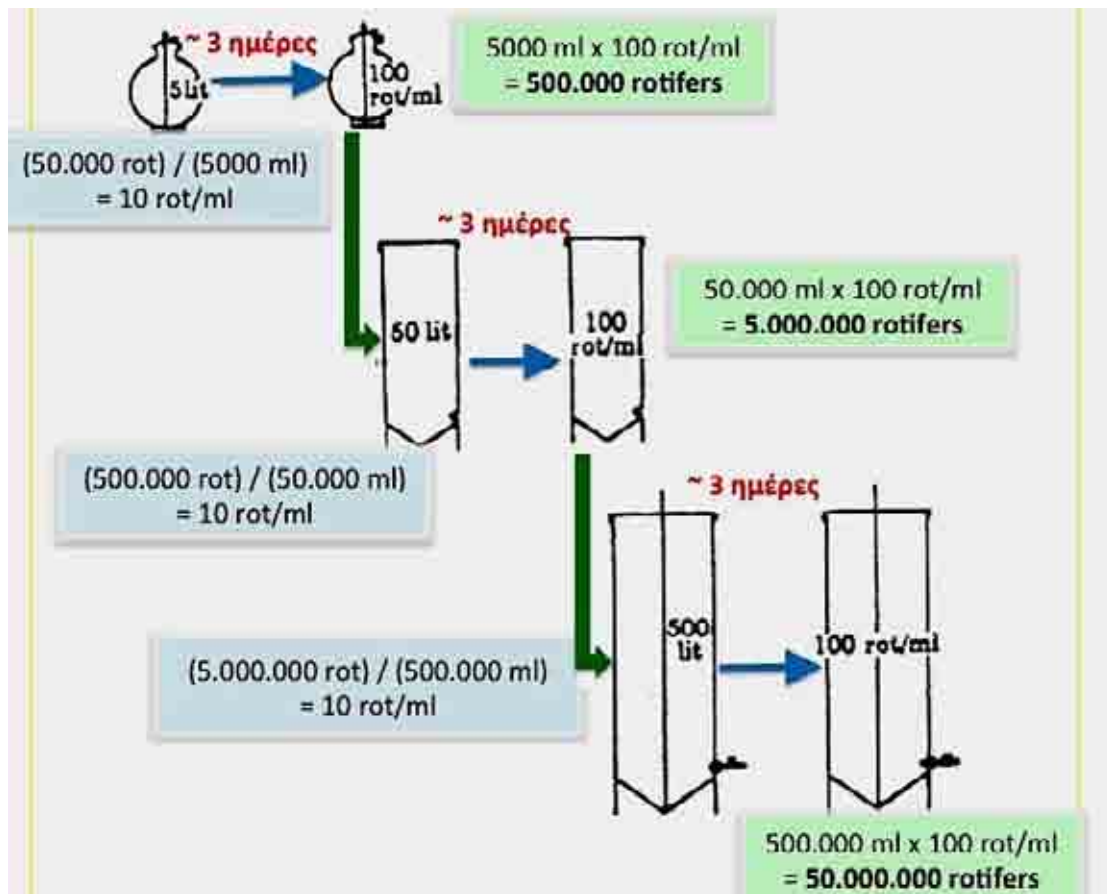
Για να δημιουργήσουμε μια παραγωγική αλυσίδα πρέπει να υπολογίσουμε τον όγκο της καλλιέργειας rotifers που θα χρησιμοποιηθεί για τον εμβολιασμό 500 L. Θα χρησιμοποιήσουμε τη διακοπτόμενη μέθοδο καλλιέργειας.

Η συγκέντρωση των rotifers κατά τον εμβολιασμό θα είναι  $10 \text{ rot/ml}$ . Με αυτή τη συγκέντρωση θα γίνεται ο εμβολιασμός των 500 L, άρα χρειαζόμαστε  $500.000 \text{ ml} \times 10 \text{ rot/ml} = 5 \times 10^6$  rotifers

Κατά τον ίδιο τρόπο η τελική συγκέντρωση του όγκου που θα χρησιμοποιηθεί για τον εμβολιασμό των 500 L είναι  $100 \text{ rot/ml}$ . Δηλαδή ο προηγούμενος όγκος θα είναι 50 L (π.χ. σάκοι πολυαιθυλενίου). Στη συνέχεια υπολογίζουμε τον όγκο που απαιτείται για τον εμβολιασμό των 50 L. Εμβολιάζουμε  $10 \text{ rot/ml}$  και κατά συνέπεια χρειαζόμαστε  $50.000 \text{ ml} \times 10 \text{ rot/ml} = 500.000$  rotifers, τα οποία παράγονται (Σχήμα 54) με τελική πυκνότητα  $100 \text{ rot/ml}$  από όγκο καλλιέργειας 5 L ( $5000 \text{ ml} \times 100 \text{ rot/ml}$ ).



Με βάση την παραπάνω διαδικασία μπορούμε να δημιουργήσουμε το πρόγραμμα παραγωγής των rotifers (Σχήμα 54) τέτοιο που να επιτρέπει την καθημερινή παραγωγή ενός όγκου των 500 L με τελική συγκομιδή 50.000.000 rotifers.



Σχήμα 54. Σχηματοποιημένη αποτύπωση της όλης οργανωμένης και σταδιακής διαδικασίας επέκτασης της καλλιέργειας τροχοζώων (rotifers) από τον αρχικό όγκο των 5 L έως τον τελικό όγκο των 500 L.

### Προγραμματισμός παραγωγής φυτοπλαγκτού και rotifers

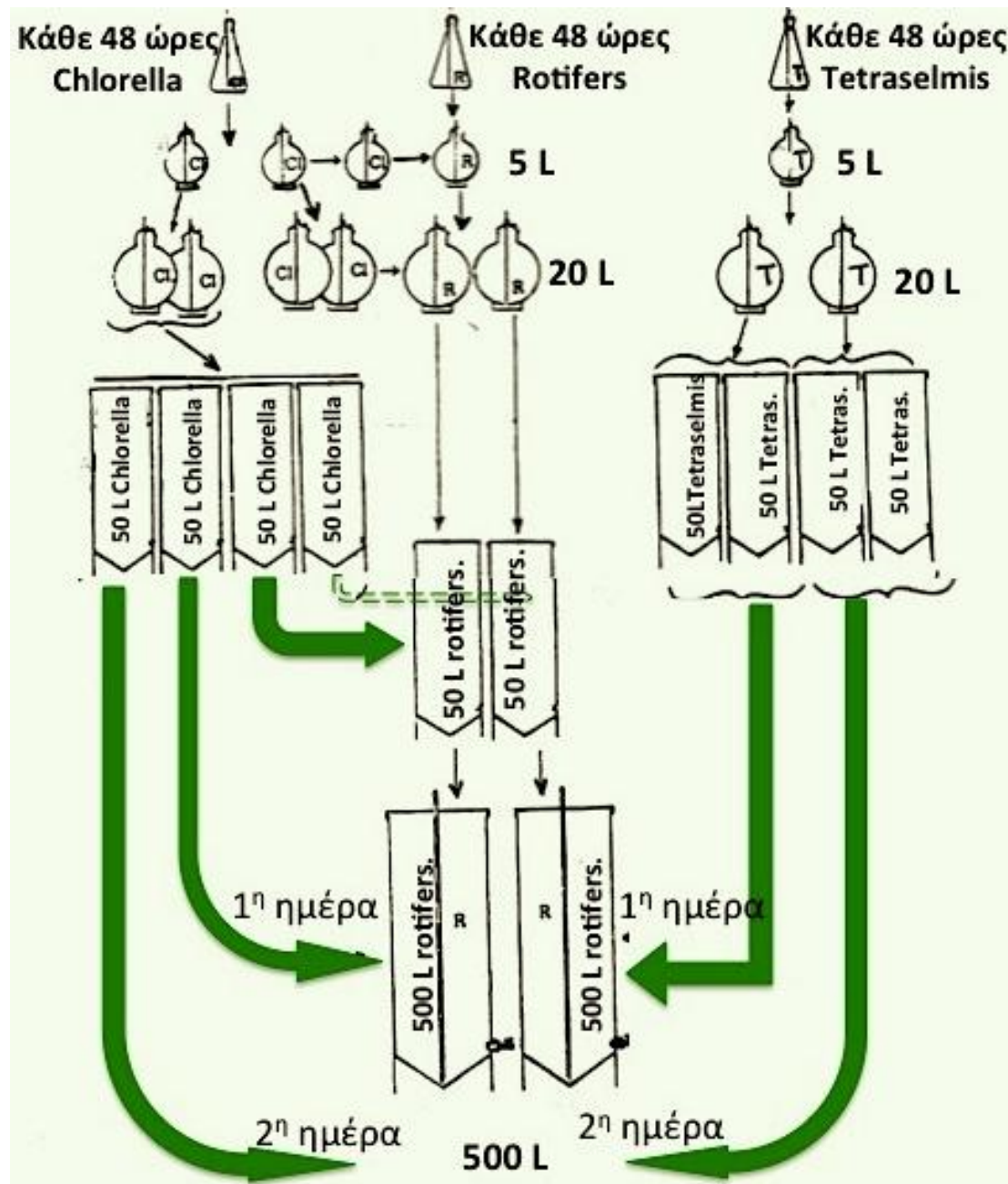
Ο προγραμματισμός της παραγωγής πρέπει απαραίτητα να περιλαμβάνει τον υπολογισμό της απαιτούμενης ποσότητας φυτοπλαγκτού η οποία πρόκειται να χρησιμοποιηθεί τόσο σαν τροφή για τους μεγάλους σάκους καλλιέργειας, όσο και σαν υπόστρωμα για τους ενδιάμεσους όγκους.

Με σκοπό να επιτύχουμε ένα ρυθμό παραγωγής που στην περίπτωση μας είναι  $50 \times 10^6$  rot/ημέρα, με την προϋπόθεση ότι ο εμβολιασμός των μικρών όγκων γίνεται στο σωστό χρόνο, ακολουθούμε το παρακάτω πρόγραμμα σύμφωνα με το οποίο εμβολιάζοντας 2 δοχεία του 1 L κάθε 48 ώρες επιτυγχάνουμε (στο εγγύς μέλλον) την παραγωγή 50 L *Chlorella*, 100 L *Tetraselmis* και 500 L rotifers καθημερινώς (Σχήμα 55).

Η *Chlorella* που παράγεται χρησιμοποιείται ως τροφή (των τροχοζώων) για τους μεγάλους όγκους της καλλιέργειας και ως υπόστρωμα για τους ενδιάμεσους, ενώ τα *Tetraselmis* χρησιμοποιούνται μόνο ως τροφή για τους μεγάλους όγκους.

Ο διπλασιασμός των όγκων στα διάφορα στάδια της παραγωγής, επιτρέπει τον εμβολιασμό νέων καλλιέργειών κάθε 48 ώρες και την καθημερινή παραγωγή 500 L rotifers.

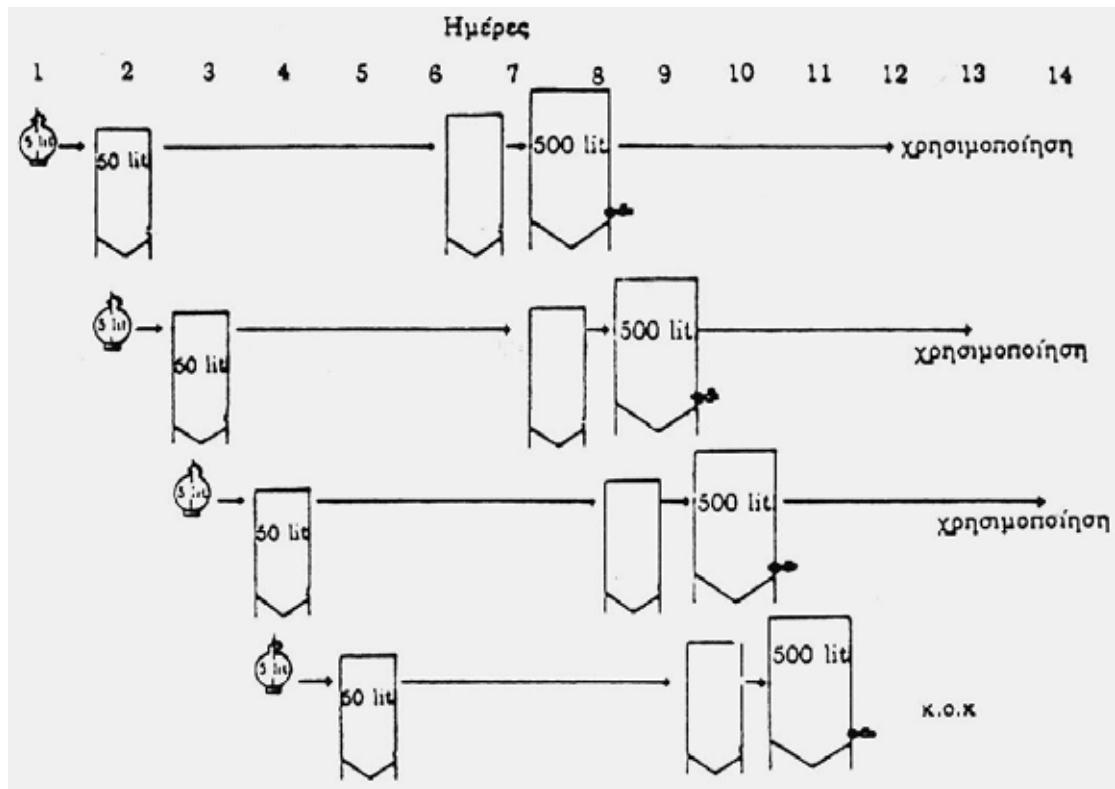
Αυτό έχει σκοπό τη μείωση του χρόνου εργασίας και την απλοποίηση της διαχείρισης της παραγωγής.



Σχήμα 55. Διαγραμματική αποτύπωση της τροφοδοσίας με φυτοπλαγκτόν που παράγεται οργανωμένα, των διαφόρων δοχείων καλλιέργειας rotifers (αυτών που φαίνονται και στο Σχήμα 54) με σκοπό την τροφοδοσία των τελικών δοχείων (σάκων) των 500 L.

Ανασκοπώντας και συγκεράζοντας τις παραπάνω οργανωμένες διαδικασίες μεθοδικής παραγωγής τροχοζών (rotifers) για τις ανάγκες των λαρβών (νυμφών) ενός ιχθυοεκκολαπτηρίου ευρύαλων ψαριών, καταλήγουμε στο προτεινόμενο σχήμα παραγωγής (Σχήμα 56).

Βάσει αυτού του σχεδίου, με μια χρονική απόσταση 4 ημερών κάθε φορά από ένα μικρότερο σε ένα μεγαλύτερο δοχείο καλλιέργειας, μπορούμε να διασφαλίζουμε την καθημερινή παραγωγή 50.000.000 τροχοζών από ένα τελικό όγκο 500 L ανά ημέρα.



Σχήμα 56. Σχηματοποιημένη διαδικασία παραγωγής ενός τελικού όγκου των 500 L καλλιέργειας rotifers καθημερινώς με παραγωγή 50.000.000 rot. ανά όγκο.

## Φυσικοχημικές παράμετροι καλλιέργειας του *B. plicatilis*

### Θερμοκρασία

Ο ρυθμός αναπνοής βελτιστοποιείται σε θερμοκρασίες 15-28 °C, ώστε να διατηρείται σταθερός ο μεταβολικός ρυθμός. Έχει παρατηρηθεί θερμικό σοκ κατά την έκθεση στους 39-42 °C. Τα αμικτικά θηλυκά έχουν διαφορετικές θερμοκρασίες ανοχής σε σχέση με τα μικτικά και αναπαράγονται στους 20-40 °C.

### Αλατότητα

Το *B. plicatilis* χαρακτηρίζεται σαν μικτόαλο. Τα αμικτικά θηλυκά αντέχουν σε μεγάλο εύρος αλατότητας (βέλτιστη 20-30 ppt).

### pH

Το pH επιδρά στην ανάπτυξη του πληθυσμού και κυμαίνεται από 6,5 έως 8,5, με βέλτιστο το εύρος των 7,5 - 8,0. Το πολύ αλκαλικό pH προκαλεί μεγαλύτερη μείωση στην κολυμβητική δραστηριότητα σε σχέση με τις ανοξικές συνθήκες.

**Διαλυμένο οξυγόνο.** Παρέχεται μέσω του δικτύου αερισμού και είναι απαραίτητο λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων των καλλιεργούμενων πληθυσμών. Είναι ασφαλές το διαλυμένο οξυγόνο να βρίσκεται κοντά στα επίπεδα κορεσμού.

#### **Ποιότητα νερού**

Η υποβάθμιση της ποιότητας νερού εκδηλώνεται ως αύξηση της συγκέντρωσης των αζωτούχων ενώσεων (αμμωνία- $\text{NH}_3$ , νιτρώδη- $\text{NO}_2^-$ , νιτρικά- $\text{NO}_3^-$ ), αύξηση  $\text{CO}_2$  και αιωρούμενων σωματιδίων και αύξηση του BOD για την οξείδωση οργανικών ουσιών του νερού.

#### **Αερισμός**

Διατηρεί τα τροχόζωα σε αιώρηση και ταυτόχρονα επιτρέπει την ανάμιξη νερού και συστατικών των δεξαμενών.

#### **Διατροφή του τροχοζώου *B. plicatilis***

Το *B. plicatilis* είναι ευρυφάγος, ηθμοφάγος οργανισμός. Το μέγεθος της στοματικής χοάνης, που καθορίζει και το μέγιστο μέγεθος του σωματιδίου τροφής που μπορεί να καταπωθεί, εξαρτάται από το μέγεθος των τροχοζώων.

Κατά τη μαζική παραγωγή του τρέφεται με:

- Μικροφύκη



- Μαγιά αρτοποιίας και μικροφύκη



- Γαλακτώματα (selco) του εμπορίου

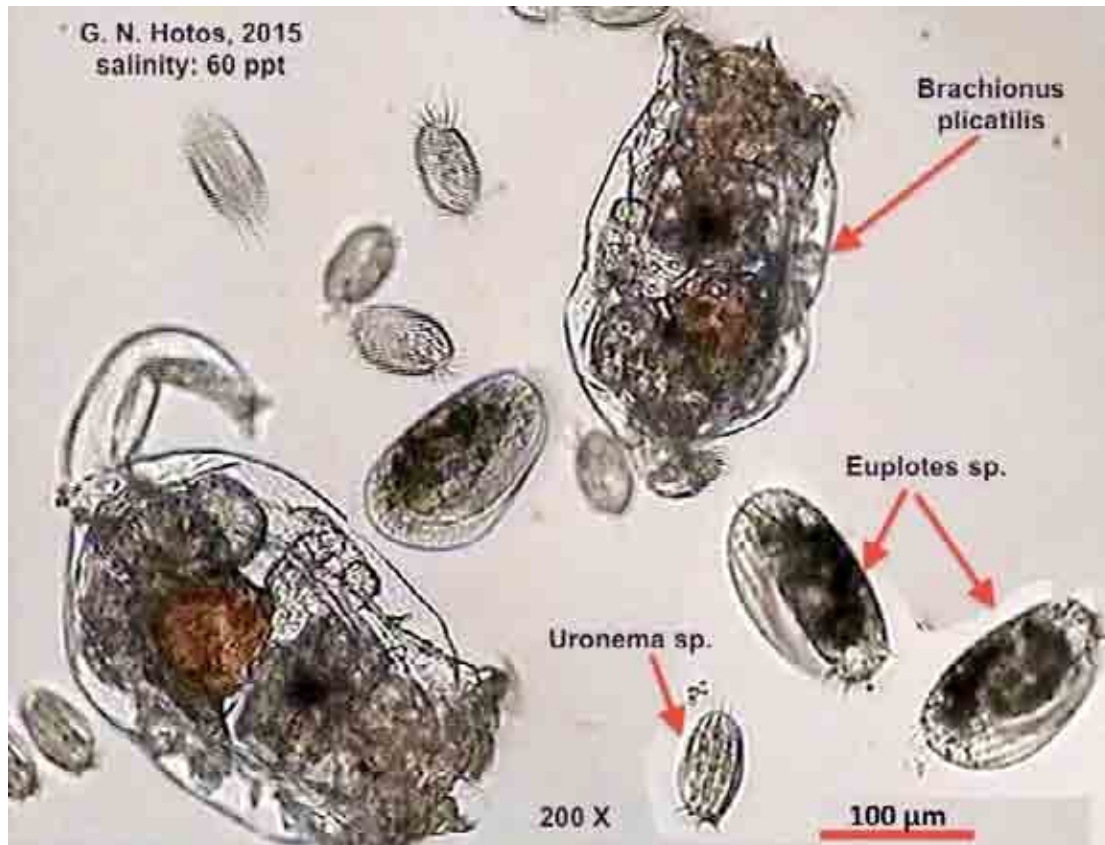
Μια μαζική καλλιέργεια τροχοζώων κινδυνεύει κυρίως από την κακή ποιότητα του νερού.

Τα βλεφαριδοφόρα ή βλεφαριδωτά (ciliates) (Σχήμα 57) είναι μονοκύτταρα πρωτόζωα και απαντώνται σε νερά με μεγάλο βακτηριακό φορτίο. Αναπαράγονται παρθενογενετικώς με απλή διαίρεση. Πρακτικώς δεν υπάρχει καλλιέργεια τροχοζώων χωρίς να παρουσιάζονται και βλεφαριδωτά. Το ζητούμενο είναι να διατηρείται χαμηλά ο αριθμός τους διότι αν υπάρξει πληθυσμιακή τους “έκρηξη” τότε θα επηρεαστεί αρνητικά η αύξηση του πληθυσμού των τροχοζώων.

Σε κάθε περίπτωση πάντως, κατά τα αρχικά στάδια της επέκτασης των καλλιεργειών των τροχοζώων (καθαρά αποθέματα, μικροί όγκοι), λαμβάνονται όλα τα απαραίτητα μέτρα για να αποκλειστεί η παρουσία των βλεφαριδωτών (“μόλυνση”). Κάτι τέτοιο μπορεί να γίνει φιλτράροντας το νερό που περιέχει τροχόζωα και βλεφαριδωτά μέσω ενός πλαγκτονικού δίχτυου με μάτι διαμέτρου 50-60  $\mu\text{m}$  οπότε τα μεν βλεφαριδωτά θα περάσουν από τα ανοίγματα ενώ τα τροχόζωα θα συγκρατηθούν στο δίχτυ. Κατόπιν ξεπλένοντας κατάλληλα το δίχτυ αποκτάμε τροχόζωα απαλλαγμένα από βλεφαριδωτά.

Για την αποφυγή μολύνσεων απαιτείται προσοχή στα ακόλουθα:

- Η θερμοκρασία της καλλιέργειας φυτοπλαγκτού να διατηρείται σταθερή.
- Να γίνεται απολύμανση για την αναστολή αύξησης μικροοργανισμών.
- Να γίνεται μηχανικό φιλτράρισμα για την κατακράτηση των βλεφαριδωτών.



Σχήμα 57. Χαρακτηριστικά είδη βλεφαριδωτών πρωτοζώων (Protozoa-ciliates, *Euplotes* sp. και *Uronema* sp.) δίπλα σε τροχόζωα *Brachionus plicatilis*. Εμφανής η διαφορά μεγέθους (φωτογρ. Γ. Χώτος).

### Ανασκόπηση μαζικής παραγωγής του *B. plicatilis*

- Ο κύκλος παραγωγής των rotifers από την καθαρή καλλιέργεια (απόθεμα) γίνεται με την βοήθεια ενδιάμεσων καλλιεργειών και φτάνει στην εντατική καλλιέργεια σε μεγάλους όγκους που ξεκινούν από 200 L ως και 1-5 m<sup>3</sup>.
- Σκοπός είναι η διατήρηση της καλλιέργειας σε καθαρή κατάσταση.
- Η έναρξη της καλλιέργειας πραγματοποιείται από άτομα τα οποία έχουν υποστεί συντονισμένο και ακριβές πρόγραμμα απομόνωσης (isolating) σε εξουσιοδοτημένα εργαστήρια (όμοια με τα μικροφύκη).
- Η αρχική καλλιέργεια ονομάζεται **master**.
- Το κάθε master θα εμβολιάσει δοκιμαστικούς σωλήνες (**test tubes**) φιάλες (flasks) ή **Erlenmeyer flasks** χωρητικότητας από 250 ml έως 5 L.
- Ακολουθεί ο εμβολιασμός μικρών σάκων (bags) (30-50 L), και κατόπιν μεγαλύτερων σάκων (50-500 L) ή σωλήνων (tubes) (50-200 L).
- Μέχρι τους παραπάνω όγκους η διατροφή των τροχοζώων στηρίζεται σε καθαρές καλλιέργειες μικροφυκών. Η διατροφή αλλάζει στις δεξαμενές, όπου μπορεί να προστεθεί μαγιά ή γαλακτώματα.
- Τέλος ο πληθυσμός των σάκων θα εμβολιάσει εσωτερικές κυλινδρικές δεξαμενές (indoor tanks) (1-5 m<sup>3</sup>), εφοδιασμένες με παροχές αερισμού και οξυγόνου (Σχήμα 58).



- Υπάρχουν δύο μέθοδοι καλλιέργειας, α) η διακοπτόμενη και β) η ημισυνεχής.



Σχήμα 58. Συστοιχία δεξαμενών μαζικής παραγωγής και εμπλουτισμού τροχοζώων.

### **Εμπλουτισμός των τροχοζώων**

Τα rotifers από μόνα τους έχουν περιορισμένη θρεπτική αξία για τις νύμφες των ψαριών. Για το λόγο αυτό ενισχύεται η θρεπτική τους αξία με μια διαδικασία γνωστή ως εμπλουτισμός. Κατά τη διαδικασία του εμπλουτισμού, τα τροχόζωα μένουν για κάποιες ώρες σε περιβάλλον με φύκη, με τεχνητή τροφή ενισχυμένου selco, βιταμίνες κυρίως C και E.

#### **Προϋποθέσεις επιτυχούς εμπλουτισμού:**

- Η αποθήκευση να μην ξεπερνά τις 14 h.
- Η θερμοκρασία να διατηρείται σταθερή  $T=15-18\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Η πυκνότητα να είναι περίπου 2500-3000 άτομα/ml.
- Το οξυγόνο να μην πέφτει κάτω από τα 5 mg/L.
- Ο αερισμός να είναι ήπιος.

---

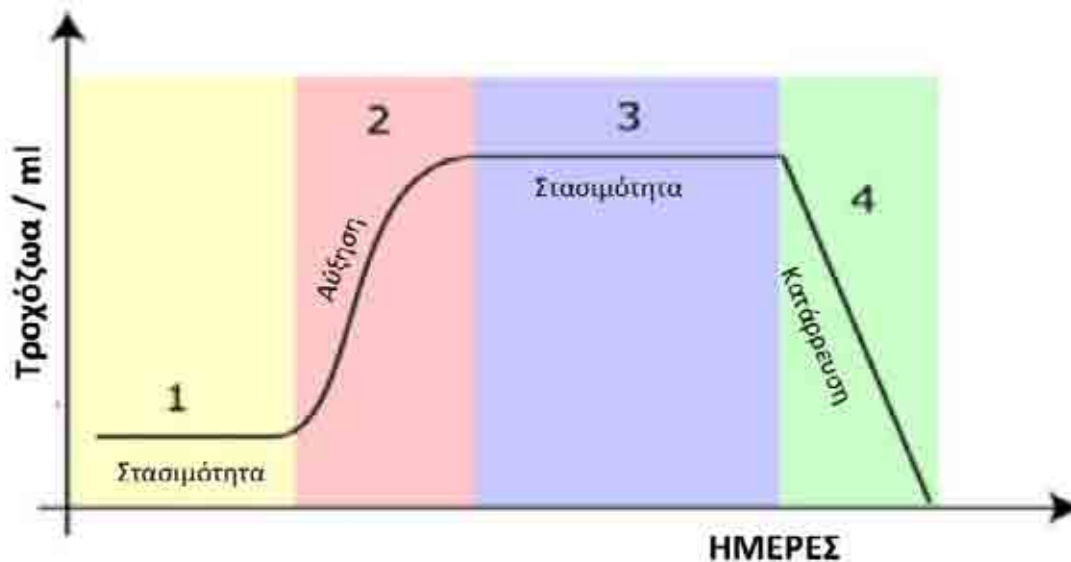
### **Εξάσκηση φοιτητών**

Εξοικίωση με τον εξοπλισμό στον εργαστηριακό χώρο καλλιέργειας τροχοζώων.  
Εμβολιασμός καλλιεργειών τροχοζώων.

## 9 Ποσοτικός υπολογισμός πληθυσμού τροχοζώων

### Πρότυπο αύξησης καλλιέργειας τροχοζώων

Η αύξηση ενός πληθυσμού τροχοζώων χαρακτηρίζεται από πέντε φάσεις (Σχήμα 59 όμοια με φυτοπλαγκτονική καλλιέργεια Σχήματος 26):



Σχήμα 59. Τυπική καμπύλη αύξησης καλλιέργειας τροχοζώων.

Στη φάση 2 του εκθετικού ρυθμού αύξησης του Σχήματος 59 υπολογίζονται:

1. Ο **ενδογενής ρυθμός αύξησης** του πληθυσμού τροχοζώων:

$$r = (\ln x_2 - \ln x_1) / (t_2 - t_1)$$

όπου,

$r$  : ειδικός ρυθμός αύξησης

$x_2$  και  $x_1$  : μετρηθείσες συγκεντρώσεις πληθυσμού

$t_2$  και  $t_1$  : χρόνοι μέτρησης των  $x_2$  και  $x_1$

2. Ο **χρόνος γενεάς- $t_g$**  (ο χρόνος σε ημέρες που απαιτείται για να διπλασιαστεί ο πληθυσμός):

$$t_g = 0,6931 / r$$

όπου,

$t_D$  : χρόνος διπλασιασμού

$r$  : ενδογενής ρυθμός αύξησης

### Καταμέτρηση του αριθμού των τροχοζώων

Η καταμέτρηση των τροχοζώων μιας μαζικής καλλιέργειας πραγματοποιείται με την με τη βοήθεια γυάλινης πιπέτας του 1 ml με **πούαπ** (**squeezer, pipette filler** η ελαστική φούσκα, αχλαδόσχημη αρχικά, γι' αυτό και η ονομασία από το *poire*, που είναι το αχλάδι στα γαλλικά), η οποία προσαρμόζεται σε σιφώνια, πιπέτες, σταγονόμετρα και άλλα όργανα και λειτουργεί ως αντλία (Σχήμα 60).

Από την προς μέτρηση καλλιέργεια και κατόπιν αραιώσης, θα καταγραφεί ο πληθυσμός δειγματοληπτικά.

Το δείγμα του πληθυσμού των τροχοζώων αφού αντληθεί με την πιπέτα του 1 ml, τοποθετείται κάτω από στερεοσκόπιο (Σχήμα 61) για την καταμέτρησή του.

Για τον υπολογισμό των τροχοζώων στη μονάδα όγκου (rots/ml) χρησιμοποιείται ο τύπος:

$$\text{Αριθμός rotifers/ml} = (n_1 + n_2 / 2) \times d$$

Όπου:

$n_1$ : αριθμός τροχοζώων 1<sup>ου</sup> δείγματος

$n_2$ : αριθμός τροχοζώων 2<sup>ου</sup> δείγματος

$d$ : συντελεστής αραίωσης του δείγματος



Σχήμα 60. Φωτογραφική απεικόνιση πιπέτας του 1ml (αριστερά) και πουάρ (δεξιά).



Σχήμα 61. Φωτογραφική απεικόνιση στερεοσκοπίου αριστερά και δείγματος τροχοζώων που παρατηρούμε με αυτό (δεξιά).

### Εξάσκηση φοιτητών

Εμβολιασμός ατομικών καλλιέργειών σε δοκιμαστικό σωλήνα με μικροφύκη.

Καταμέτρηση συγκέντρωσης.

Τοποθέτηση καλλιέργειας κοντά σε φωτεινή πηγή για 7 ημέρες.

Επανάληψη καταμέτρησης νέας συγκέντρωσης την 7<sup>η</sup> ημέρα.

Υπολογισμός ενδογενούς ρυθμού αύξησης ( $r$ ) και χρόνου διπλασιασμού ( $t_D$ ).

# 10 Άσκηση διαχείρισης πληθυσμού τροχοζώων

## ΑΣΚΗΣΗ Ν° 1

Σε ένα ιχθυογεννητικό σταθμό ευρύαλων ψαριών ανά κύκλο παραγωγής χρησιμοποιούνται 10 δεξαμενές νυμφικής καλλιέργειας των 4 m<sup>3</sup> η κάθε μια με ιχθυονύμφες λαβρακιού και περιεκτικότητα 40.000 νεοεκκολαφθείσες νύμφες ανά κυβικό μέτρο. Ακολουθείται η παραδοσιακή μέθοδος διατροφής με τροχόζωα (rotifers). Να υπολογισθούν τα παρακάτω για ένα κύκλο παραγωγής:

- Πόσα rotifers συνολικά δίνονται καθημερινά και στις 10 δεξαμενές;
- πόσοι τελικοί όγκοι καλλιέργειας rotifers των 500 L με πυκνότητα περί τα 100 rot/ml απαιτούνται να παραχθούν ημερησίως κατά τη διάρκεια του κύκλου;
- κατά την 6<sup>η</sup> ημέρα από την εκκόλαψη της νυμφικής καλλιέργειας, πόσοι τελικοί όγκοι καλλιέργειας των rotifers βρίσκονται σε φάση ωρίμανσης για τις επόμενες ημέρες του κύκλου συνολικά;

Δίδεται ο πίνακας ημερήσιας κατανάλωσης rotifers ανά δεξαμενή πρώτης ανάπτυξης νυμφών λαβρακιού, για χωρητικότητα δεξαμενής 2 m<sup>3</sup> και θερμοκρασία νερού 20 °C.

Ημέρες από την εκκόλαψη	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Rotifers (x 10 <sup>6</sup> ) για λαβράκι	-	-	-	4	6	8	10	10	8	4	-	-	-	-	-

### ΛΥΣΗ:

#### A.

	Δεξαμενή 2m <sup>3</sup>	Δεξαμενή 4m <sup>3</sup>	10 Δεξαμενές 4m <sup>3</sup>
3 <sup>η</sup> ημέρα	4 x 10 <sup>6</sup> rotifers	8 x 10 <sup>6</sup> rotifers	80 x 10 <sup>6</sup> rotifers
4 <sup>η</sup> ημέρα	6 x 10 <sup>6</sup> rotifers	12 x 10 <sup>6</sup> rotifers	120 x 10 <sup>6</sup> rotifers
5 <sup>η</sup> ημέρα	8 x 10 <sup>6</sup> rotifers	16 x 10 <sup>6</sup> rotifers	160 x 10 <sup>6</sup> rotifers
6 <sup>η</sup> ημέρα	10 x 10 <sup>6</sup> rotifers	20 x 10 <sup>6</sup> rotifers	200 x 10 <sup>6</sup> rotifers
7 <sup>η</sup> ημέρα	10 x 10 <sup>6</sup> rotifers	20 x 10 <sup>6</sup> rotifers	200 x 10 <sup>6</sup> rotifers
8 <sup>η</sup> ημέρα	8 x 10 <sup>6</sup> rotifers	16 x 10 <sup>6</sup> rotifers	160 x 10 <sup>6</sup> rotifers
9 <sup>η</sup> ημέρα	4 x 10 <sup>6</sup> rotifers	8 x 10 <sup>6</sup> rotifers	80 x 10 <sup>6</sup> rotifers

#### B.

$$500 \text{ L} = 500.000 \text{ ml} \times 100 \text{ rot/ml} = 50 \times 10^6 \text{ rotifers}$$

- την 3<sup>η</sup> ημέρα η απαιτούμενη ποσότητα είναι 80 x 10<sup>6</sup> rotifers, άρα  $80 \times 10^6 / 50 \times 10^6 = 1,6$  περίπου 2 δεξαμενές των 500 L
- την 4<sup>η</sup> ημέρα η απαιτούμενη ποσότητα είναι 120 x 10<sup>6</sup> rotifers, άρα  $120 \times 10^6 / 50 \times 10^6 = 2,4$  περίπου 3 δεξαμενές των 500 L
- την 5<sup>η</sup> ημέρα η απαιτούμενη ποσότητα είναι 160 x 10<sup>6</sup> rotifers, άρα  $160 \times 10^6 / 50 \times 10^6 = 3,2$  περίπου 4 δεξαμενές των 500 L

- την 6<sup>η</sup> ημέρα η απαιτούμενη ποσότητα είναι  $200 \times 10^6$  rotifers, άρα  $200 \times 10^6 / 50 \times 10^6 = 4$  δεξαμενές των 500 L
- την 7<sup>η</sup> ημέρα η απαιτούμενη ποσότητα είναι  $200 \times 10^6$  rotifers, άρα  $200 \times 10^6 / 50 \times 10^6 = 4$  δεξαμενές των 500 L
- την 8<sup>η</sup> ημέρα η απαιτούμενη ποσότητα είναι  $160 \times 10^6$  rotifers, άρα  $160 \times 10^6 / 50 \times 10^6 = 3,2$  περίπου 4 δεξαμενές των 500 L
- την 9<sup>η</sup> ημέρα η απαιτούμενη ποσότητα είναι  $80 \times 10^6$  rotifers, άρα  $80 \times 10^6 / 50 \times 10^6 = 1,6$  περίπου 2 δεξαμενές των 500 L

Γ.

την 7<sup>η</sup> ημέρα απαιτούνται 4 δεξαμενές (όγκοι)

την 8<sup>η</sup> ημέρα απαιτούνται 4 δεξαμενές (όγκοι) και

την 9<sup>η</sup> ημέρα απαιτούνται 2 δεξαμενές (όγκοι), άρα:

συνολικά βρίσκονται σε ωρίμανση 10 όγκοι δηλαδή **10 δεξαμενές των 500 L**.

## ΑΣΚΗΣΗ Ν° 2

Σε μια καλλιέργεια rotifers (σε δοχείο – δεξαμενή τελικού όγκου 500 L) ενός ιχθυογεννητικού σταθμού τη 2<sup>η</sup> ημέρα καλλιέργειας μετρήθηκε πυκνότητα 12 rotifers/ml και την 4<sup>η</sup> ημέρα η πυκνότητα ήταν 32 rotifers/ml. Ζητούνται τα παρακάτω:

α) να υπολογισθεί ο ενδογενής ρυθμός αύξησης της καλλιέργειας ( $r$ ),

β) να υπολογισθεί ο χρόνος διπλασιασμού του πληθυσμού της καλλιέργειας ( $t_g$ ),

γ) να βρεθεί πότε ο πληθυσμός των rotifers θα φτάσει τα **50.000.000** συνολικά, σύμφωνα με τον παραπάνω υπολογισθέντα ρυθμό αύξησης.

δ) ποια θα είναι η πυκνότητα των τροχοζώων την **7<sup>η</sup> ημέρα** καλλιέργειας;

## ΛΥΣΗ

A.

Δεδομένα :

$t_0 = 2^{\text{η}}$  ημέρα

$t = 4^{\text{η}}$  ημέρα

$N_{t_0} = 12$  rotifers /ml

$N_t = 32$  rotifers/ml

Ζητούμενα :

$r = ;$

$$r = \frac{\ln N_t - \ln N_{t_0}}{t - t_0} = \frac{\ln 32 - \ln 12}{4 - 2} = \frac{3,46 - 2,48}{2} \Rightarrow r = 0,49$$

B.

Δεδομένα :

$r = 0,49$

Ζητούμενα :

$t_g = ;$

$$t_g = \frac{0,6931}{r} = \frac{0,6931}{0,49} \Rightarrow t_g = 1,4 \text{ δηλαδή περίπου } 1,5 \text{ ημέρες}$$



Γ.

Δεδομένα : $t_0 = 2^{\text{η}}$  ημέρα $N_{t_0} = 12$  rotifers/ml $N_t = 100$  rotifers/ml (απαιτούμενη τελική πυκνότητα για να δώσει συνολική παραγωγή 50.000.000 rotifers). $r = 0,46$ Ζητούμενα : $t = ;$ 

$$r = \frac{\ln N_t - \ln N_{t_0}}{t - t_0} \quad \Rightarrow$$

$$t = \frac{\ln N_t - \ln N_{t_0}}{r} + t_0 \quad \Rightarrow$$

$$t = \frac{\ln 100 - \ln 12}{0,49} + 2 = \frac{4,6 - 2,48}{0,49} + 2 = \mathbf{6,32}$$

Άρα περίπου την **6,3<sup>η</sup> ημέρα** η καλλιέργεια μας που θα έχει πυκνότητα 100 rotifers/ml θα μας δώσει συνολικά 50.000.000 rotifers από τα 500 L του δοχείου καλλιέργειας.

Δ.

Δεδομένα : $t_0 = 2^{\text{η}}$  ημέρα $t = 7^{\text{η}}$  ημέρα $N_{t_0} = 12$  rotifers/ml $r = 0,46$ Ζητούμενα : $N_t' = ;$ 

$$N_t' = N_0 \times e^{r \cdot t'}$$

$$e = 2,71 \text{ και,}$$

$$t' = t - t_0 = 7 - 2 = 5 \text{ ημέρες}$$

$$N_t' = 12 \times 2,71^{0,49 \cdot 5}$$

$$N_t' = 12 \times 11,5 = 138,96$$

Άρα την **7<sup>η</sup> ημέρα** καλλιέργειας η πυκνότητα των τροχοζώων θα είναι περίπου 140 rotifers/ml.

# 11 Βιολογία της *Artemia* sp.

## **Artemia-Γενικά Στοιχεία**

Αν και η **αλμυρογαρίδα** *Artemia* (Σχήματα 62 & 63) είναι γνωστή στον άνθρωπο για αιώνες, η χρήση της ως τροφή για τις καλλιέργειες των λαρβικών σταδίων των ψαριών άρχισε στην δεκαετία του '30 όταν διάφοροι ερευνητές ανακάλυψαν ότι είναι εξαιρετική τροφή για τις νεοεκκολαφθείσες λάρβες. Κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του '40 οι πιο εμπορικώς διαθέσιμες κύστες *Artemia* προέρχονταν από φυσικές αλμυρές λίμνες και παράκτιες αλυκές. Με το αυξανόμενο ενδιαφέρον για τροπικά ψάρια ενυδρείων στα τέλη της δεκαετίας του '40, η εμπορική τους αξία συναρτήθηκε με τη διαθεσιμότητα των κύστεων της *Artemia* δημιουργώντας έτσι μια καινούργια εμπορική δραστηριότητα. Οι πρωτοπόροι εκμεταλλεύτηκαν το 1951 την παραγωγή κύστεων *Artemia* στην αλμυρή λίμνη της Utah (U.S.A.). Στα μέσα της δεκαετίας του '50 η εμπορική προσοχή για τις *Artemia* στράφηκε στην περιοχή του κόλπου του San Francisco. Στη δεκαετία του '60 οι εμπορικές ποσότητες προήρχοντο από τις λίγες πηγές συλλογής της στη Βόρειο Αμερική και φάνηκαν να είναι απεριόριστες. Ωστόσο με την επέκταση της παραγωγής υδατοκαλλιεργειών τη δεκαετία του '70, η απαίτηση για κύστες *Artemia* είχε σύντομα υπερβεί την προσφορά και οι τιμές αυξήθηκαν εκθετικά καθιστώντας δυσχερή την επαρκή προμήθεια *Artemia* για τις υδατοκαλλιέργειες των θαλασσινών ψαριών και των καρκινοειδών.

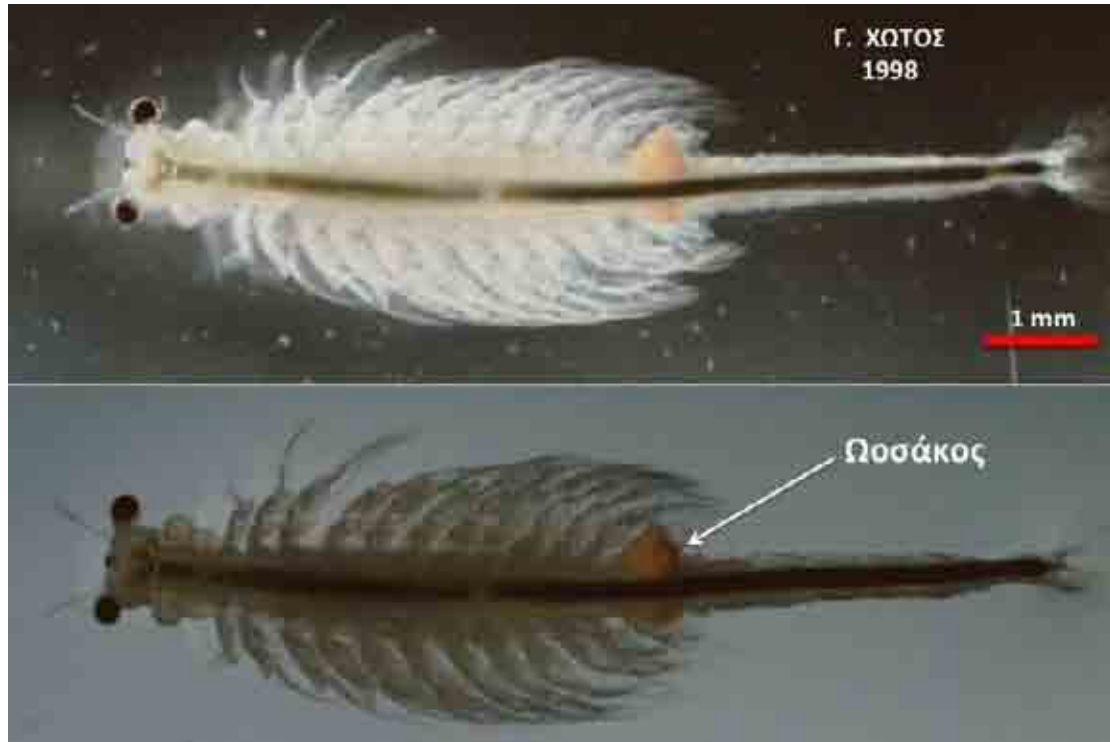
Προς το παρόν η *Artemia* παράγεται και είναι εκμεταλλεύσιμη και στις 5 ηπείρους. Ανεξάρτητα από αυτό, ένα μεγάλο μέρος της αγοράς κύστεων εφοδιάζεται ακόμη με συγκομιδές από μια μόνο τοποθεσία, αυτή των Μεγάλων Αλμυρών Λιμνών (Great Salt Lake) των Η.Π.Α.. Αυτή η κατάσταση καθιστά την αγορά ιδιαίτερα ευάλωτη στις κλιματολογικές συνθήκες και τις οικολογικές αλλαγές σε αυτό το βιότοπο, η οποία έχει κατά καιρούς εμφανίζει ασυνήθιστα χαμηλές συγκομιδές κύστεων (π.χ. την περίοδο '93-'94 και '94-'95).

Ήδη προς το τέλος της δεκαετίας του '70 φάνηκε ότι η θρεπτική αξία της *Artemia* ειδικά για τους θαλάσσιους οργανισμούς δεν ήταν σταθερή αλλά ποικίλει μεταξύ των στελεχών και ανάμεσα στις παρτίδες κάθε στελέχους προκαλώντας αναξιόπιστα αποτελέσματα στη θαλάσσια λαρβοκαλλιέργεια.

Η διεπιστημονική μελέτη στη δεκαετία του '80 μαζί με τις αιτίες για τη θρεπτική μεταβλητότητα της *Artemia* προσδιόρισε και τις μεθόδους για τη βελτίωση της ποιότητάς της. Η διακύμανση του γενότυπου και του φαινότυπου καθορίζει εάν ένα συγκεκριμένο προϊόν κύστεων είναι κατάλληλο για χρήση στο εκκολαπτήριο και για συγκεκριμένα ψάρια ή είδη γαρίδων.

Με τον βιοεγκλεισμό σε πέψιμες μικροσκοπικές κάψες συγκεκριμένων ποσών μοριακών ή γαλακτοποιημένων προϊόντων πλούσιων σε υψηλά ακόρεστα λιπαρά οξέα, μπορεί να προσαρμοστεί η θρεπτική ποιότητα των μεταναυπλίων (*Instar 2*) της *Artemia* για να ικανοποιήσει τις τροφικές απαιτήσεις των θηρευτών τους (λάρβες ψαριών). Η εφαρμογή αυτής της μεθόδου έχει ασκήσει σημαντική επίδραση στις βελτιωμένες παραγωγές λαρβοκαλλιέργειας όχι μόνο από την άποψη της επιβίωσης, αύξησης και επιτυχίας της μεταμόρφωσης πολλών ειδών ψαριών και καρκινοειδών, αλλά και στην ποιότητά τους. Η ίδια μέθοδος βιοεγκλεισμού τώρα χρησιμοποιείται και για χορήγηση βιταμινών, χημειοθεραπευτικών και εμβολίων.

Επιπλέον η καλύτερη γνώση της βιολογίας της *Artemia* συνέβαλε στην αύξηση των προϊόντων της, όπως απολυμασμένες και αποκελυφοποιημένες κύστεις, καθώς και σε διάφορες τεχνικές στο χειρισμό των κύστεων (π.χ. διαχωρισμός κελυφών κύστεων από εκκολαφθέντες ναυπλίους με χρήση μαγνητικώς ελκομένων μικρορινισμάτων σιδήρου) που πλέον εφαρμόζονται στα ιχθυοεκκολαπτήρια.



Σχήμα 62. Δύο φωτογραφικές απεικονίσεις ενήλικης *Artemia* από την αλυκή του Μεσολογίου (φωτογραφίες: Γ. Χώτος).



Σχήμα 63. Κολάζ φωτογραφιών (όχι υπό κλίμακα) διαδοχικών σταδίων ανάπτυξης της *Artemia* από κύστη σε ναύπλιο-σε μεταναύπλιο-σε ενήλικο (φωτ.: Γ. Χώτος).

#### Συστηματική κατάταξη, βιολογία, οικολογία και κύκλος ζωής της *Artemia*

**Βασίλειο:** Ζώα (Animalia)

**Συνομοταξία:** Αρθρόποδα (Arthropoda)

**Ομοταξία:** Καρκινοειδή (Crustacea)

**Υφομοταξία:** Βραγχιόποδα (Branchiopoda)

**Τάξη:** Ανόστρακα (Anostraca)

**Οικογένεια:** Αρτεμίδες (Artemiidae)

**Γένος:** *Artemia*, Leach (1819), κοινώς αλμυρογαρίδα ή γαρίδα της άλμης (brine shrimp).

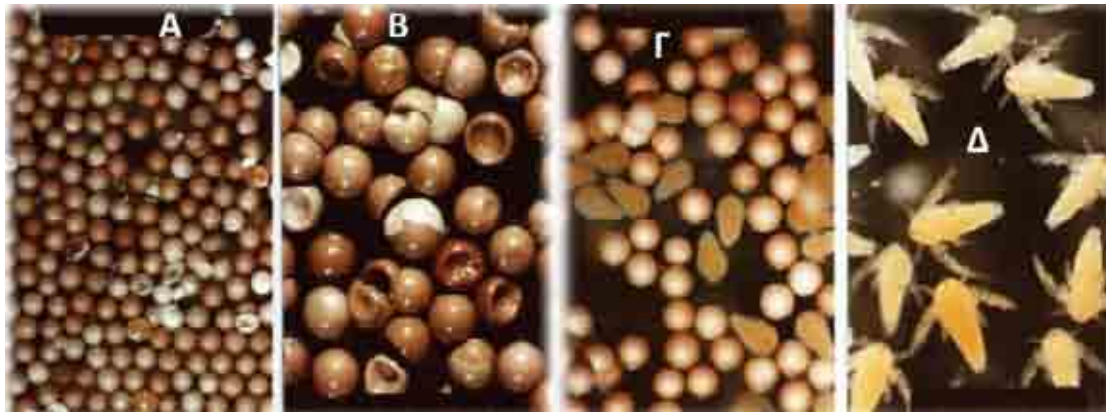
**Είδη:** *Artemia salina*, *Artemia persimilis*, *Artemia tunisiana*, *Artemia franciscana*, *Artemia urmiana*, *Artemia monica*

Η μέχρι το πρόσφατο παρελθόν γνωστή ονομασία *Artemia salina* (Linnaeus, 1758), δεν θεωρείται πλέον έγκυρη διότι έχει εντοπισθεί γενετική απομόνωση των διαφόρων ομάδων πληθυσμών, γεγονός που οδηγεί στην αναγνώριση γενετικώς διαφορετικών αλλά μορφολογικώς πανομοιότυπων ειδών *Artemia* (*Artemia* sp). Συγκεκριμένα, το όνομα *Artemia salina* αναφερόταν σε πληθυσμούς *Artemia* οι οποίοι ζούσαν στις λίμνες του Lymington της Αγγλίας. Οι λίμνες αυτές έχουν πλέον εξαφανιστεί και κατά συνέπεια το όνομα αυτό δεν πρέπει να χρησιμοποιείται με την αυστηρή έννοια του είδους.

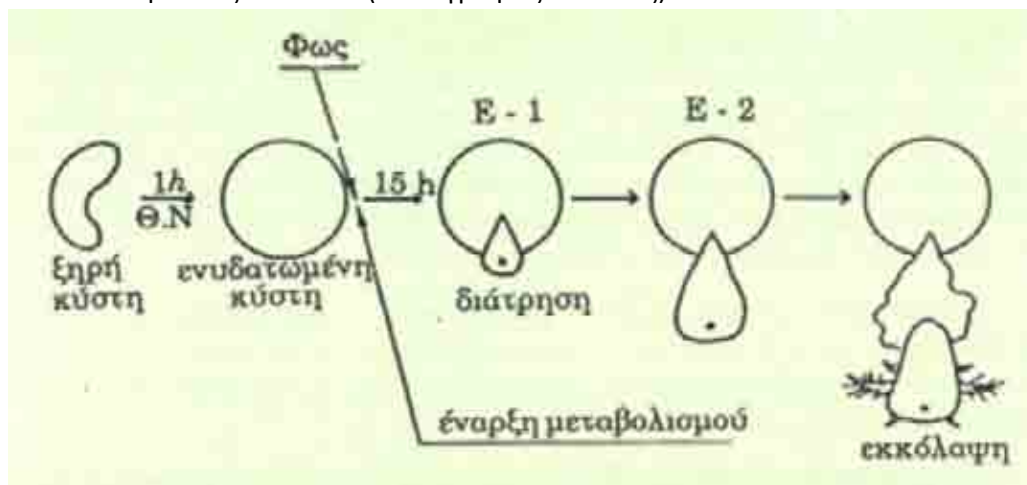
Στο φυσικό υπεράλμυρο περιβάλλον, σε ορισμένες εποχές του έτους, η *Artemia* παράγει κύστεις, οι οποίες λόγω της υψηλής αλατότητας είναι αφυδατωμένες, επιπλέουν στην επιφάνεια του νερού και συσσωρεύονται στις όχθες από τον αέρα και τα κύματα (Σχήμα 64). Αυτές οι κύστεις είναι μεταβολικά ανενεργές και δεν αναπτύσσονται περισσότερο εφόσον διατηρούνται ξηρές. Κατά την βύθιση σε κανονικής αλατότητας θαλασσινό νερό (ή και υφάλμυρο), οι αμφίκυβες (biconcave – shaped) ένυδρες κύστεις, ενυδατώνονται, γίνονται σφαιρικές και μέσα από το κέλυφός τους το έμβρυο επαναλαμβάνει το διακοπέντα μεταβολισμό του. Μετά από περίπου 20 ώρες η εξωτερική μεμβράνη των κύστεων διαρρηγνύεται (σπάει) και το έμβρυο εμφανίζεται, περικλεισμένο από μια εσωτερική εμβρυακή μεμβράνη. Ενώ το έμβρυο κρέμεται κάτω από το άδειο κέλυφος (στάδιο ομπρέλας) η εξέλιξη του ναυπλίου ολοκληρώνεται και μέσα σε μικρή χρονική περίοδο η εμβρυακή μεμβράνη διαρρηγνύεται (εκκόλαψη) και οι κολυμβητικοί ναύπλιοι γεννιούνται (Σχήματα 65 & 66).



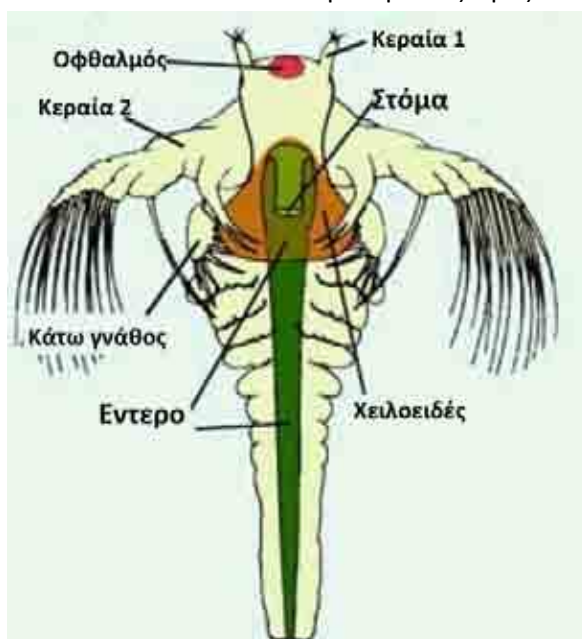
Σχήμα 64. **A** και **B**: Συγκέντρωση μαζών κύστεων της *Artemia* στην ακτή των αλμυρών λιμνών. Χαρακτηριστικό το καφετί χρώμα των κυστικών μαζών. **Γ**: Συλλογή των κύστεων για εμπορική εκμετάλλευση.



Σχήμα 65. **A:** Αφυδατωμένες κύστεις της *Artemia*. **B:** Μεγέθυνση αφυδατωμένων κύστεων με χαρακτηριστική τη «ζουληγμένη» εμφάνιση. **Γ:** Ενυδατωμένες σφαιρικές κύστεις με ορισμένες από αυτές να έχουν εκκολαφθεί μετά από 24ωρη περίπου επώαση. **Δ:** Νεοεκκολαφθέντες ναύπλιοι. (Φωτογραφίες: Γ. Χώτος).



Σχήμα 66. Διαγραμματική απεικόνιση των σταδίων από αφυδατωμένη κύστη μέχρι την εκκόλαψη. Για να προκύψουν ναύπλιοι οι κύστεις πρέπει πρώτα να ενυδατωθούν-διογκωθούν, να φωτιστούν με φως έντασης τουλάχιστον 2000 lux για 2 τουλάχιστον ώρες και κατόπιν να επωαστούν για αρκετές ώρες.



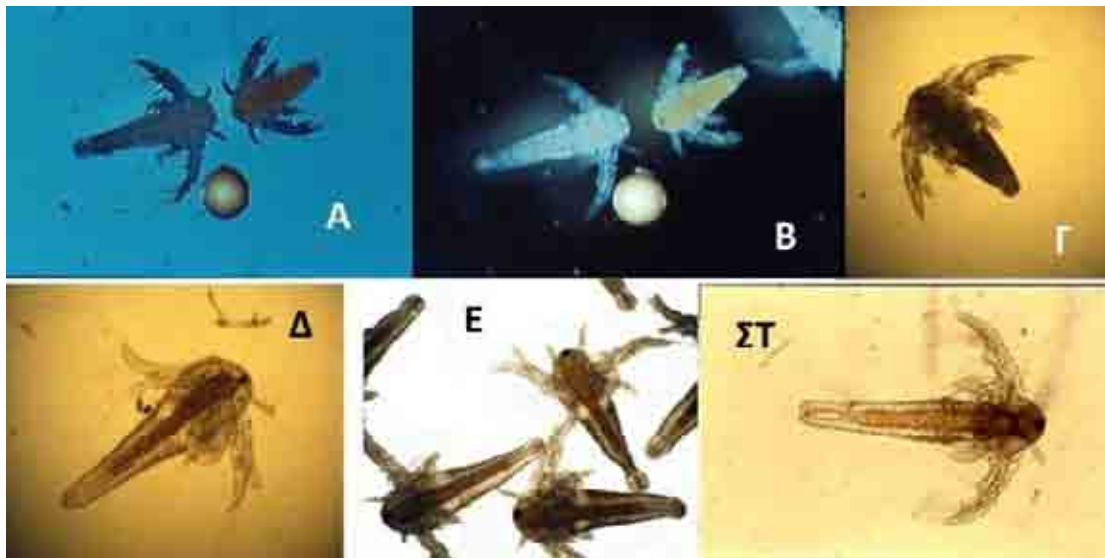
Σχήμα 67. Διαγραμματική απεικόνιση νεοεκκολαφθέντος ναυπλίου της *Artemia*. Το ζώο είναι ατελές με τρία μόνο ζεύγη εξαρτημάτων, κεραία 1=αισθητήρια, κεραία 2 = κίνηση και φίλτραση σωματιδίων τροφής, κεραία 3 = γνάθος. Θα αρχίσει να τρέφεται και να αναπτύσσεται μετά από 8 περίπου ώρες.



Το πρώτο ναυπλιακό στάδιο (Instar I, 400 έως 500  $\mu\text{m}$  σε μήκος) έχει ένα καφετί – πορτοκαλί χρώμα, ένα κόκκινο μάτι στην περιοχή της κεφαλής και τρία ζεύγη εξαρτημάτων (Σχήμα 67), δηλαδή το πρώτο κεραία με αισθητήρια λειτουργία, το δεύτερο κεραία με κινητήρια – διηθηματοφάγο λειτουργία / λειτουργία φιλτραρίσματος και το τρίτο οι κάτω γνάθοι (λειτουργία λήψης τροφής). Κατά το αρχικό στάδιο δεν λαμβάνει τροφή καθώς το πεπτικό σύστημα δεν είναι λειτουργικό ακόμη και αναπτύσσεται μόνο από τα αποθέματα της λεκίθου.

Μετά από περίπου 8 ώρες τα εκδυμένα ζώα μπαίνουν στο 2<sup>ο</sup> ναυπλιακό στάδιο (προνομφικό στάδιο Instar II). Μικρά μόρια τροφίμων (π.χ. κύτταρα φυκών, βακτήρια, τρίμματα) που κυμαίνονται σε μέγεθος από 1 έως 50  $\mu\text{m}$  φιλτράρονται από τη δεύτερη κεραία και γίνεται η πέψη από την λειτουργική πεπτική οδό.

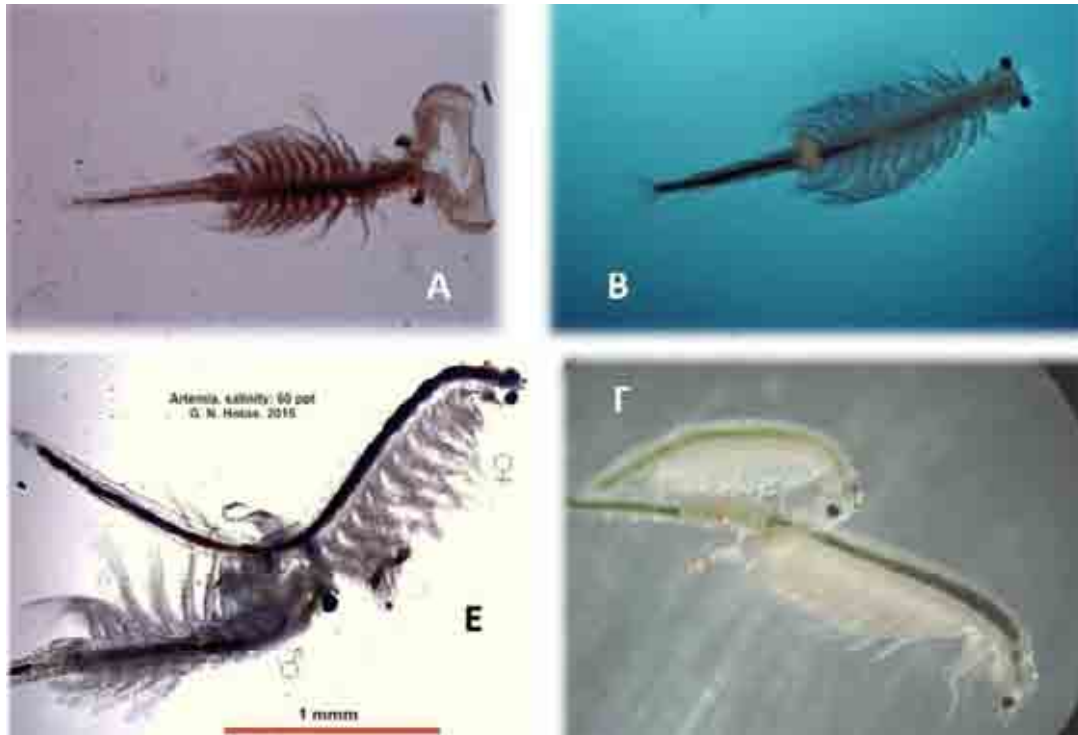
Ο ναύπλιος αυξάνεται και διαφοροποιείται μέσω περίπου 15 εκδύσεων (Σχήμα 68). Νέα ζεύγη προσαρτημάτων (lobular) εμφανίζονται στην περιοχή του κορμού και διαφοροποιούνται στα θωρακοπόδια. Και στις δύο πλευρές του ναυπλίου τα πλευρικά σύνθετα μάτια αναπτύσσονται. Από το δέκατο στάδιο ανάπτυξης (μύσιδες), γίνονται σημαντικές μορφολογικές όπως και οι λειτουργικές αλλαγές, δηλαδή οι κεραίες χάνουν την κινητική τους λειτουργία και υποβάλλονται σε σεξουαλική διαφοροποίηση. Στα αρσενικά αναπτύσσονται σε αγκιστρωτούς συλληπτήρες, ενώ στα θηλυκά οι κεραίες εκφυλίζονται σε αισθητήρια προσαρτήματα (Σχήμα 69). Τα θωρακοπόδια τώρα διαφοροποιούνται σε τρία λειτουργικά μέρη δηλαδή τελεοπόδια, ενδοπόδια (κίνηση και διήθηση) και τα μεμβρανοειδή εξωπόδια (βράγχια).



Σχήμα 68. Διάφορα στάδια ανάπτυξης των ναυπλίων της *Artemia*. **A & B**: Σύγκριση μεγέθους κύστης, νεοεκκολαφθέντος ναυπλίου Instar I (άνω δεξιά) και Instar II (αριστερά). **Γ**: Μεγέθυνση ναυπλίου σταδίου Instar I. **Δ & Ε**: Ναύπλιοι σταδίων Instar III & IV. **ΣΤ**: Ναύπλιος σταδίου Instar IV.

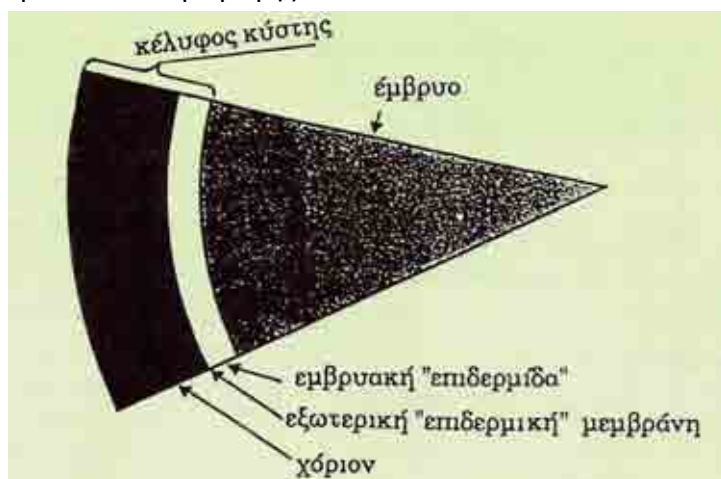
Η ενήλικη *Artemia* ( $\pm 1\text{cm}$  μήκος) έχει ένα επίμηκες σώμα με δύο καταδυόμενα σύνθετα μάτια, μια ευθεία πεπτική οδό, αισθητήριες κεραίες και 11 ζευγάρια λειτουργικών θωρακοποδίων. Το αρσενικό έχει ένα ζεύγος γεννητικών οργάνων στο κεντρικό μέρος της περιοχής του κορμού. Η θηλυκή *Artemia* μπορεί εύκολα να αναγνωριστεί από τον νεανικό σάκο ή τη μήτρα που τοποθετείται ακριβώς πίσω από το 11<sup>ο</sup> ζεύγος των θωρακοποδίων. Τα αυγά αναπτύσσονται σε δύο

σωληνοειδείς ωθήκες στην κοιλιακή χώρα. Μόλις ωριμάσουν γίνονται σφαιρικά και μεταναστεύουν μέσω δύο ωαγωγών στην μήτρα.

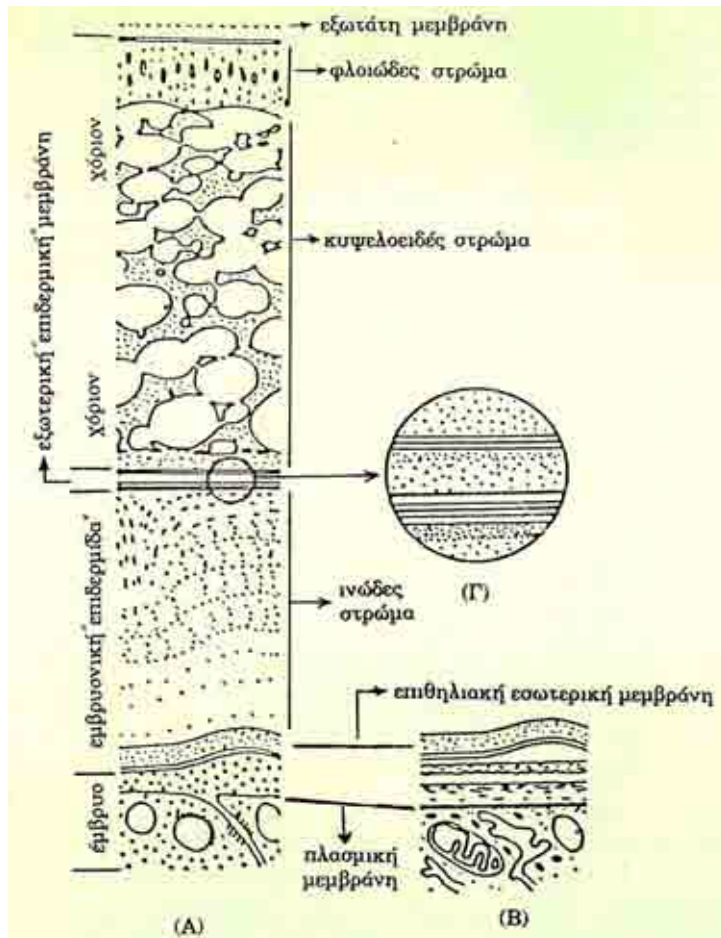


Σχήμα 69. **A:** Ενήλικο αρσενικό της *Artemia*, χαρακτηριστικές οι «δαγκάνες-κεραίες» στην κεφαλή. **B:** Ενήλικο θηλυκό. **Γ & Ε:** Ζεύγος *Artemia* σε φάση γονιμοποίησης, το αρσενικό συγκρατεί το θηλυκό με τις δαγκάνες-κεραίες του (φωτογρ.: Γ. Χώτος).

Τα αυγά αναπτύσσονται κανονικά σε ναυπλίους οι οποίοι ελευθερώνονται από την μητέρα και κολυμπούν ελεύθερα (ωζωοτόκος αναπαραγωγή). Σε ακραίες συνθήκες (π.χ. υψηλή αλατότητα, χαμηλά επίπεδα οξυγόνου) τα έμβρυα, αναπτύσσονται μόνο μέχρι το στάδιο του γαστριδίου. Σε αυτό το στάδιο περιβάλλονται από ένα κέλυφος (που εκκρίνεται από ειδικούς καφέ αδένες που βρίσκονται στη μήτρα), το «**χόριον**» (Σχήμα 70), εισέρχονται σε μια κατάσταση μεταβολικής διάπαυσης και ελευθερώνονται από το θηλυκό (ωοτοκική αναπαραγωγή) ως αυγά διάπαυσης-κύστες. Σε γενικές γραμμές τόσο η ωοτοκία όσο και η ζωοτοκία παρατηρούνται σε όλα τα στελέχη *Artemia* και τα θηλυκά μπορούν να μεταπηδήσουν μεταξύ δύο αναπαραγωγικών κύκλων από τον ένα τρόπο αναπαραγωγής στον άλλο.



Σχήμα 70.  
Τομή κύστεως *Artemia* όπου αποτυπώνεται το παχύ προστατευτικό κέλυφος που προστατεύει το έμβρυο.



Σχήμα 71.

Διαγραμματική απεικόνιση τομής κύστεως της *Artemia*. **A:** Στην τομή διακρίνονται το εξώτερο στρώμα του χορίου με τις κυψελίδες του αέρα μέσα του, η παχιά εμβρυονική επιδερμίδα και το έμβρυο. **B:** Μεγέθυνση της επιθηλιακής εσωτερικής μεμβράνης που περιβάλλει το έμβρυο.

**Γ.** Μεγέθυνση της εξωτερικής εμβρυονικής μεμβράνης η οποία διαχωρίζει την εμβρυακή δομή από το εξωτερικό προστατευτικό στρώμα του χορίου.

Οι κύστες υποβοηθούμενες και από τις κυψελίδες αέρα που υπάρχουν στο στρώμα του κελύφους-χορίου (Σχήμα 71), επιπλέον σε νερά με υψηλά επίπεδα αλατότητας και μεταφέρονται στη ξηρά από τον αέρα, όπου συσσωρεύονται και αφυδατώνονται-ξηραίνονται. Οι κύστες είναι τώρα σε μια κατάσταση ηρεμίας, ακινησίας και μπορούν να επαναλάβουν την περαιτέρω εμβρυακή ανάπτυξη όταν ενυδατωθούν στις βέλτιστες συνθήκες εκκόλαψης (όχι υπεραλατότητα, αλλά κανονική χαμηλή αλατότητα). Υπό τις βέλτιστες συνθήκες οι γαρίδες άλμης μπορούν να ζήσουν για αρκετούς μήνες, ενώ αναπτύσσονται από ναυπλίους σε ενήλικα άτομα σε μόνο 8 ημέρες και αναπαράγονται απελευθερώνοντας πάνω από 300 ναυπλίους ή κύστες κάθε 4 ημέρες.

Η κατανομή της *Artemia* είναι ασυνεχής, δηλαδή δεν έχουν αποικίες της *Artemia* όλοι οι υψηλοί σε αλατότητα βιότοποι της Γης. Αν και οι γαρίδες άλμης ευημερούν πολύ καλά στο φυσικό θαλασσινό νερό, δεν μπορούν να μεταναστεύσουν από έναν αλμυρό βιότοπο σε άλλο διαμέσου θάλασσας, καθώς είναι πλαγκτονικής διαβίωσης οργανισμοί και θα εξολοθρευτούν από διάφορους θηρευτές (ψάρια, μεγάλες γαρίδες, καβούρια). Δηλαδή διαβιούν μόνο στις υψηλές αλατότητες όπου δεν μπορούν να ζήσουν οι θηρευτές της. Μπορούν μόνο αυτές να ζήσουν στους υπεράλμυρους βιότοπους επειδή:

- Διαθέτουν ένα πολύ αποδοτικό ωσμωρυθμιστικό σύστημα (ίσως το πιο ικανό στο ζωικό Βασίλειο).
- Διαθέτουν ικανότητα να συνθέσουν πολύ αποδοτικές αναπνευστικές χρωστικές για να αντιμετωπίσουν τα χαμηλά επίπεδα οξυγόνου στις υψηλές αλατότητες.



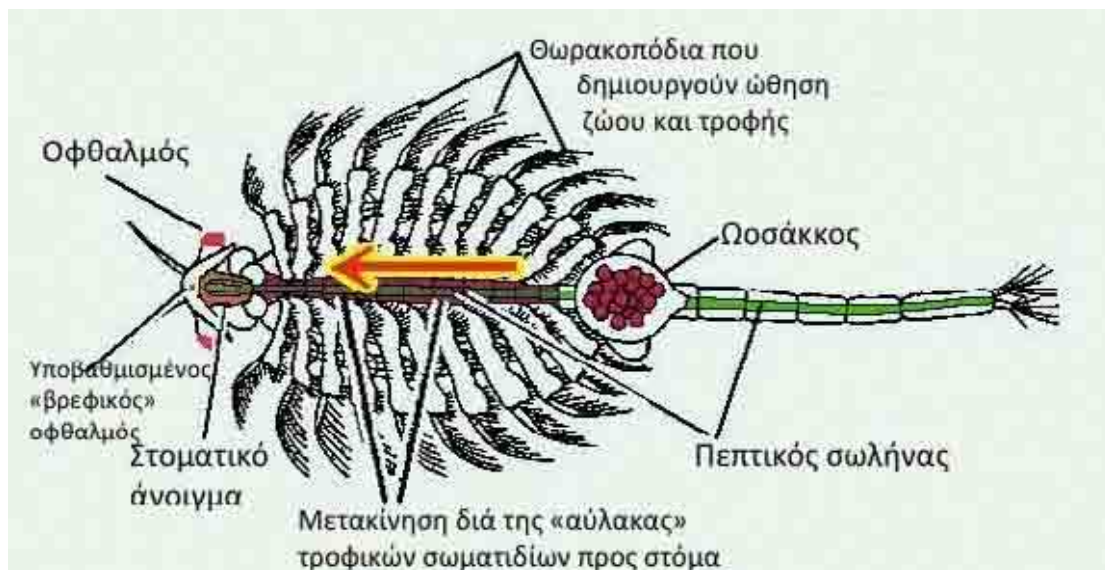
- Διαθέτουν δυνατότητα να παράγουν ανενεργές κύστεις όταν οι ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες απειλούν την επιβίωση του πληθυσμού.

Η *Artemia* επομένως βρίσκεται μόνο σε αλατότητες όπου οι θηρευτές δεν μπορούν να επιβιώσουν (>70 g/L αλάτι). Ως αποτελέσματα του ακραίου φυσιολογικού στρες και της τοξικότητας του νερού, όσον αφορά τα άτομα της *Artemia*, πεθαίνουν σταδιακά σε αλατότητες κοντά στον κορεσμό του χλωριούχου νατρίου (NaCl), δηλαδή 250 g/L αλάτι και περισσότερο.

Τα διαφορετικά γεωγραφικά στελέχη έχουν προσαρμοστεί στις ευρέως κυμαινόμενες συνθήκες όσον αφορά την θερμοκρασία (6-35 °C), την αλατότητα και την ιοντική σύνθεση του νερού του βιοτόπου.

Τα υπεράλμυρα νερά είναι θαλασσινά νερά με υψηλή συγκέντρωση κυρίως αλάτων NaCl. Αποτελούν τα περισσότερα, εάν όχι όλα, τους παράκτιους βιοτόπους της *Artemia*, όπου οι άλμες διαμορφώνονται από την εξάτμιση του νερού στα αλμυρά αλατοπήγια. Άλλοι θαλασσοάλμυροι βιότοποι βρίσκονται εσωτερικά, όπως οι Great Salt Lake στην Utah, USA. Οι μη θαλασσοάλμυροι βιότοποι της *Artemia* βρίσκονται εσωτερικά και έχουν ιοντική σύνθεση, η οποία διαφέρει σημαντικά από αυτή των θαλασσινών νερών. Υπάρχουν νερά θεικού άλατος (π.χ. Λίμνες Charlin, Saskatchewan, Canada), νερά ανθρακικού άλατος (π.χ. Λίμνη Mono, California, USA), και πλούσια σε κάλιο νερά (π.χ. αρκετές λίμνες στην Nebraska, USA).

Η *Artemia* είναι ένας μη επιλεκτικός διηθηματοφάγος οργανισμός των οργανικών τριμμάτων, των μικροσκοπικών φυκών καθώς επίσης των βακτηρίων (Σχήμα 72). Οι βιότοποι της *Artemia* παρουσιάζουν χαρακτηριστικά μια πολύ απλή τροφική δομή με χαμηλή ποικιλομορφία ειδών (η απουσία των θηρευτών και ανταγωνιστικών τροφών επιτρέπει στη γαρίδα άλμης να αναπτυχθεί σαν σε μονοκαλλιέργεια). Καθώς η υψηλή αλατότητα είναι το κοινό χαρακτηριστικό γνώρισμα που καθορίζει την παρουσία της *Artemia*, ο αντίκτυπος των άλλων παραμέτρων (θερμοκρασία, φυσική παραγωγή τροφών κ.λπ.) μπορεί να έχει μεγάλη επίδραση στην αφθονία του πληθυσμού και σε απουσία τροφής μπορεί να προκαλέσει προσωρινή απουσία των ατόμων της.



Σχήμα 72. Διαγραμματική απεικόνιση του μηχανισμού πρόσληψης τροφής από την *Artemia*. Η συνεχής κίνηση των θωρακοποδίων δημιουργεί συνεχές ρεύμα νερού που παρασύρει τα σωματίδια τροφής (κατά τη φορά του βέλους) στο στόμα.

Καθώς η *Artemia* είναι ανίκανη να μεταναστεύει, ο αέρας και τα υδρόβια πουλιά (ειδικά τα φοινικόπτερα-φλαμίνγκο) είναι οι σημαντικότεροι φυσικοί φορείς διασποράς. Κύστεις προσκολλώνται στα πόδια και τα φτερά των πουλιών και ακόμα και όταν τρώγονται παραμένουν άθικτες για τουλάχιστον μερικές ημέρες στον πεπτικό σωλήνα των πουλιών. Συνεπώς η απουσία των αποδημητικών πουλιών είναι πιθανώς ο λόγος για τον οποίο ορισμένες περιοχές (π.χ. κατά μήκος της βορειοανατολικής ακτής της Βραζιλίας) δεν αποικίζονται φυσικά από την *Artemia*. Πληθυσμοί της *Artemia* απαντώνται σε αλμυρές λίμνες και δεξαμενές άλμης (αλυκές) σε ολόκληρο τον κόσμο (Σχήμα 73). Κοντά στην φυσική διασπορά των κύστεων, ο σκόπιμος εμβολιασμός με *Artemia* των αλυκών από τον άνθρωπο ήταν μια κοινή πρακτική στο παρελθόν. Από την δεκαετία του '70, ο άνθρωπος είναι υπεύθυνος για διάφορες εισαγωγές *Artemia* στη Νότια Αμερική και στην Αυστραλία, είτε για τη βελτίωση της παραγωγής αλατιού, είτε για λόγους υδατοκαλλιέργειας. Επιπλέον, προσωρινοί πληθυσμοί της *Artemia* βρίσκονται σε τροπικές περιοχές σε μια ευδιάκριτη υγρή και ξηρή ζώνη (κλίμα μουσώνα) προερχόμενες από εμβολιασμό, ή κατά τις εποχιακές διαδικασίες αφαλάτωσης (π.χ. Κεντρική Αμερική, Νοτιοανατολική Ασία). Σε ορισμένες εποχές του έτους παρατηρούνται στην επιφάνεια του νερού, μαζικές συναθροίσεις μικροσκοπικών καφετί σωματιδίων (διαμέτρου 200-300 μm). Αυτή η φαινομενικά αδρανής «σκόνη» αποτελείται στην πραγματικότητα από ανενεργές ξηρές (αφυδατωμένες) κύστεις (αβγά) *Artemia*, αμφίκιουλου σχήματος. Η συλλογή πραγματοποιείται με τη χρήση πλαγκτονικών διχτυών.



Σχήμα 73. Γεωγραφική κατανομή (Ευρώπη & παγκοσμίως) ειδών του γένους *Artemia*.

### Θρεπτικές Ιδιότητες της καλλιεργούμενης *Artemia*

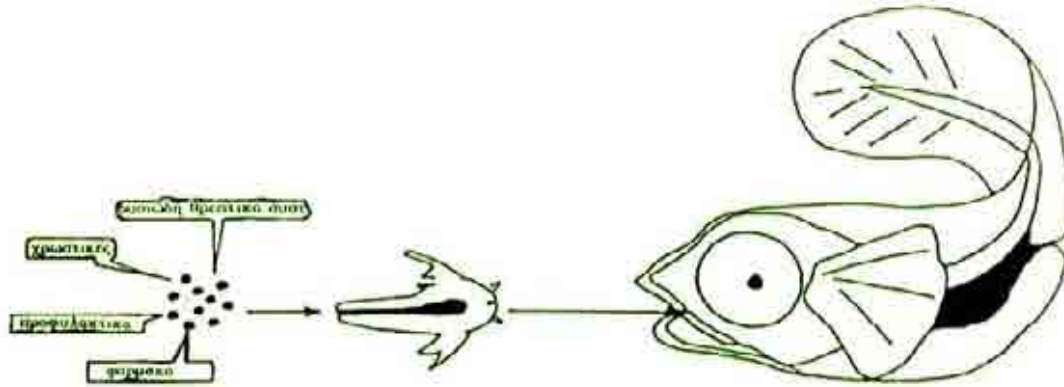
Η θρεπτική ποιότητα της βιομάζας της *Artemia* που παράγεται στα ημι-εντατικά ή τα υπέρ-εντατικά συστήματα είναι ανάλογη με τη φυσικώς παραχθείσα *Artemia* εκτός από την περιεκτικότητα σε λιπίδια. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη της καλλιεργούμενης *Artemia*, ανεξάρτητα από τις συνθήκες ή τα συστατικά διατροφής της, είναι αρκετά υψηλότερη και είναι πλουσιότερη στα ουσιώδη αμινοξέα.

Το προφίλ λιπιδίων, ποσοτικά καθώς επίσης και ποιοτικά, είναι μεταβλητό μια και αντανακλά το είδος της τροφής που προσφέρεται στις καλλιέργειες *Artemia*. Υψηλά επίπεδα απαραίτητων, για την ανάπτυξη λιπαρών οξέων μπορούν εύκολα και πολύ γρήγορα να ενσωματωθούν στη βιομάζα της *Artemia* με την εφαρμογή του απλού βιοεγκλεισμού. Σε λιγότερο από μια ώρα η πεπτική συσκευή των



αλμυρογαρίδων μπορεί να γεμίσει με το εμπλουτιστικό των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (HUFA), ανεβάζοντας το περιεχόμενο n-3-HUFA από ένα χαμηλό επίπεδο  $3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  ξηρού βάρους (DW) μέχρι πάνω από τα επίπεδα των  $50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  DW.

Με τη μέθοδο του βιοεγκλεισμού στους ναύπλιους της *Artemia* μπορούν επίσης να «μεταφερθούν» στις λάρβες των ψαριών και μεγάλη ποικιλία ουσιών όπως θεραπευτικά, προφυλακτικά, φυσικές χρωστικές (Σχήμα 74).



Σχήμα 74. Διαγραμματική απεικόνιση της μεταφοράς ουσιών στη λάρβα μέσω του ναυπλίου της *Artemia*.

Οι νεαρές και ενήλικες *Artemia* χρησιμοποιούνται ως διατροφή λαρβών ψαριών (Σχήμα 75) σε ιχθυογεννητικούς σταθμούς όχι μόνο για τη βέλτιστη θρεπτική αξία τους αλλά και για τα ενεργητικά τους πλεονεκτήματα. Παραδείγματος χάριν, όταν προσφέρεται μεγάλη σε μέγεθος *Artemia* αντί πρόσφατα εκκολαφθέντων ναυπλίων, οι αρπακτικές λάρβες (ή και ιχθύδια) των θηρευτών-ψαριών κυνηγούν λιγότερο ανά μονάδα χρόνου, καταβροχθίζοντας λιγότερα μεν αλλά μεγαλύτερα θηράματα για να καλυφθούν οι απαιτήσεις της διατροφής των. Αυτή η βελτιωμένη ενεργειακή πρακτική μπορεί να οδηγήσει σε μια καλύτερη αύξηση, ένα γρηγορότερο αναπτυξιακό τάχος, ή/και μια βελτιωμένη φυσιολογία όπως έχει αποδειχθεί σε καλλιέργειες αστακών ή γαριδών. Με αυτή την πρακτική μπορεί να επιτευχθεί σημαντική αποταμίευση των κύστεων της *Artemia* μέχρι και 60% και συνεπώς μια σημαντική μείωση του συνολικού λαρβικού κόστους τροφών.



Σχήμα 75. Φωτογραφία λάρβας λαβρακιού έτοιμης να καταπιεί ναύπλιο της *Artemia*. Απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχία του εγχειρήματος είναι η ανάπτυξη του στόματος να το επιτρέπει.

Οι τεχνολογίες που αναπτύσσονται για την καθιέρωση της εντατικής καλλιέργειας και των υπέρ-εντατικών συστημάτων παραγωγής των αλμυρογαρίδων

σε ή κοντά στο σημείο ιχθυοκαλλιέργειας/γαριδοκαλλιέργειας, έχουν οδηγήσει στο αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη βιομάζα της *Artemia*. Στην Κίνα, αρκετές χιλιάδες τόνοι βιομάζας της *Artemia* έχουν συλλεχθεί από τις αλμυρές λίμνες του Bohai Bai και έχουν χρησιμοποιηθεί στα τοπικά εκκολαπτήρια και τις εγκαταστάσεις εκτροφής για τις κινέζικες λευκές γαρίδες, *Penaeus chinensis*. Επιπλέον, η βιομηχανία καταστημάτων κατοικίδιων ζώων-ενυδρείων προσφέρει καλές ευκαιρίες μάρκετινγκ για τη ζωντανή βιομάζα *Artemia* που παράγεται στα περιφερειακά συστήματα καλλιέργειας. Σήμερα, πάνω από 95% των περισσότερων από τους 3000 μετρικούς τόνους της βιομάζας *Artemia* που πωλούνται σε αυτόν τον τομέα, διατίθενται παγωμένοι δεδομένου ότι συλλέγονται από έναν περιορισμένο αριθμό φυσικών πηγών και η ζωντανή μεταφορά σε άλλες ηπείρους θεωρείται απαγορευμένη. Κατά καιρούς σε διάφορα μέρη (π.χ. Σιγκαπούρη), παρουσιάζονται δυσχέρειες επειδή η τοπική τροπική βιομηχανία ενυδρείων απειλείται από την έλλειψη ζωντανών τροφών.

### Επιλογή μιας Κατάλληλης Διατροφής

Η *Artemia* μπορεί να λάβει και να αφομοιώσει εξωγενή μικροχλωρίδα ως τμήμα της διατροφής της. Τα βακτήρια και πρωτόζωα, που αναπτύσσονται εύκολα στις καλλιέργειες *Artemia* είναι ικανά να βιοσυνθέσουν απαραίτητες θρεπτικές ουσίες δεδομένου ότι αναπτύσσονται αποσυνθέτοντας οργανικό υπόστρωμα και κατ' αυτό τον τρόπο αντισταθμίζουν οποιοσδήποτε πιθανές ανεπάρκειες στη σύνθεση της παρεχομένης τροφής στην *Artemia*.

Σημαντικά κριτήρια για την επιλογή μιας κατάλληλης διατροφής είναι:

- ✓ Διαθεσιμότητα και κόστος
- ✓ Σύνθεση μεγέθους μορίων (κατά προτίμηση < 50 μm)
- ✓ Πεπτικότητα
- ✓ Σταθερότητα στη βιοχημική τους σύνθεση μεταξύ των διαφορετικών παρτίδων
- ✓ Διαλυτότητα (ελάχιστη)
- ✓ Αποδοτικότητα μετατρεψιμότητας τροφής (FCE)
- ✓ Πλευστότητα

Οι συνήθως χρησιμοποιούμενες πηγές τροφών της *Artemia* περιλαμβάνουν:

**Μικροφύκη:** Αναμφισβήτητα έχουν την καλύτερη απόδοση στην παραγωγή της καλλιεργούμενης *Artemia* αλλά πρέπει να διατίθενται σε ικανοποιητικά ποσά με λογικό κόστος. Για να είναι οικονομικά ρεαλιστική η χρήση τους πρέπει η πρωτογενής παραγωγή των φυκών να αποτελεί μέρος της κύριας δραστηριότητας του ιχθυογεννητικού σταθμού.

**Ξηρά φύκη:** Στις περισσότερες περιπτώσεις τα γεύματα φυκών δίνουν ικανοποιητική απόδοση αύξησης, ειδικά όταν παραμένουν βέλτιστες οι συνθήκες ποιότητας νερού. Τα μειονεκτήματα στη χρήση αυτών των τροφών είναι το υψηλό κόστος τους, καθώς επίσης και το υψηλό μέρος υδατοδιαλυτών συστατικών τους που δεν μπορούν να ληφθούν από τις αλμυρογαρίδες αλλά που υποβαθμίζουν την ποιότητα του νερού του μέσου καλλιέργειας.

**Βακτήρια και ζύμες:** Οι μύκητες (μαγιές-ζύμες) έχουν διάφορα χαρακτηριστικά που τις κάνουν μια ενδιαφέρουσα εναλλακτική λύση αντί των μικροφυκών:

- ✓ Η διάμετρος κυττάρων είναι συνήθως μικρότερη από 20 μm
- ✓ Η θρεπτική σύνθεση είναι αρκετά πλήρης
- ✓ Τα άκαμπτα κυτταρικά τοιχώματα αποτρέπουν τη διαρροή των υδατοδιαλυτών θρεπτικών ουσιών στο μέσο καλλιέργειας

✓ Είναι εμπορικά διαθέσιμα με αποδεκτό κόστος

**Προϊόντα αποβλήτων από τη βιομηχανία τροφίμων:** Τα διαλυτά προϊόντα αποβλήτων από τις γεωργικές συγκομιδές ή από τη βιομηχανία παραγωγής τροφίμων (π.χ. πίτουρο ρυζιού, πίτουρο καλαμποκιού, σβόλοι σόγιας, γαλακτοορρός) φαίνεται να είναι μια κατάλληλη πηγή τροφών για την υψηλής πυκνότητας καλλιέργεια της *Artemia*. Τα κύρια πλεονεκτήματα αυτών των προϊόντων είναι το χαμηλότερο κόστος και η καθολική παγκόσμια διαθεσιμότητά τους. Εξίσου σημαντικός παράγοντας στην αξιολόγηση των ξηρών τροφών είναι η συνέπεια της ποιότητας τροφίμων και του ανεφοδιασμού, καθώς και η δυνατότητα αποθήκευσης χωρίς απώλεια ποιότητας.

## Μορφολογικό πρότυπο

### 1. Κύστεις

Οι κύστεις (200-300  $\mu\text{m}$ ) είναι αφυδατωμένα αδρανή αυγά *Artemia* (Σχήμα 65). Έχουν χρώμα καφέ και συνήθως επιπλέουν σε αλατώδεις λίμνες. Αντέχουν για μεγάλα χρονικά διαστήματα (συχνά μερικά χρόνια) αν φυλαχτούν σε ξηρές συνθήκες. Όταν τοποθετηθούν στο νερό το έμβρυο επαναδραστηριοποιείται, σπάει τη χιτινώδη επιφάνεια και ελευθερώνεται.

### 2. Ναύπλιοι (Σχήμα 76).

Όταν εκκολαφθούν τα αυγά εμφανίζεται ο ναύπλιος (μεγέθους περίπου 0,4 mm). Έχει χρώμα πορτοκαλί και παρουσιάζει τρία εξαρτήματα.

### 3. Νεανικό στάδιο (Σχήμα 76).

Υπάρχουν 15 υποστάδια για αυτό το στάδιο (Instar 1-15). Σιγά-σιγά το σώμα επιμηκύνεται και αρχίζει να εμφανίζεται το πεπτικό σύστημα. Αρχίζει η ανάπτυξη των δύο σύνθετων πλαγίων οφθαλμών.

### 4. Ενήλικα (Σχήμα 77).

Κατά το τελευταίο νεανικό στάδιο συμβαίνουν σημαντικές αλλαγές οπότε τελικά εμφανίζεται η ενήλικη *Artemia*. Τα θωρακοπόδια διακρίνονται ως προς τη λειτουργία σε τρία τμήματα. Το πρώτο χρησιμεύει για το φιλτράρισμα, το δεύτερο για τη κίνηση και το τρίτο για την αναπνοή.

Η ενήλικη *Artemia* μεγέθους 8-10 mm χαρακτηρίζεται από τους μισχωτούς της οφθαλμούς, από αισθητήρες κεραίες, έντεκα ζευγάρια θωρακοποδίων και το γραμμωτό πεπτικό σωλήνα. Στα αρσενικά στο τελευταίο τμήμα του σώματος εμφανίζεται το γεννητικό όργανο. Οι κεραίες τους μετατρέπονται σε "δαγκάνες" σαν λαβίδες (Σχήματα 69, 78 & 81). Οι κεραίες του θηλυκού μετατρέπονται σε αισθητήρια όργανα και αρχίζουν να εμφανίζονται οι ωοθήκες εκατέρωθεν του πεπτικού συστήματος.



Σχήμα 76. Στάδια ανάπτυξης της *Artemia* ανάλογα με την ημέρα από την εκκόλαψη. Φωτογραφικό κολάζ από Γ. Χώτο από την πτυχιακή εργασία υπό την εποπτεία Γ. Χώτου των Μαναριώτη Θ., Φερδεριγίου Ε. & Λυράκου Α. 2007. Τμ.ΙΧΘΑΛ/ΤΕΙ Μεσολ.



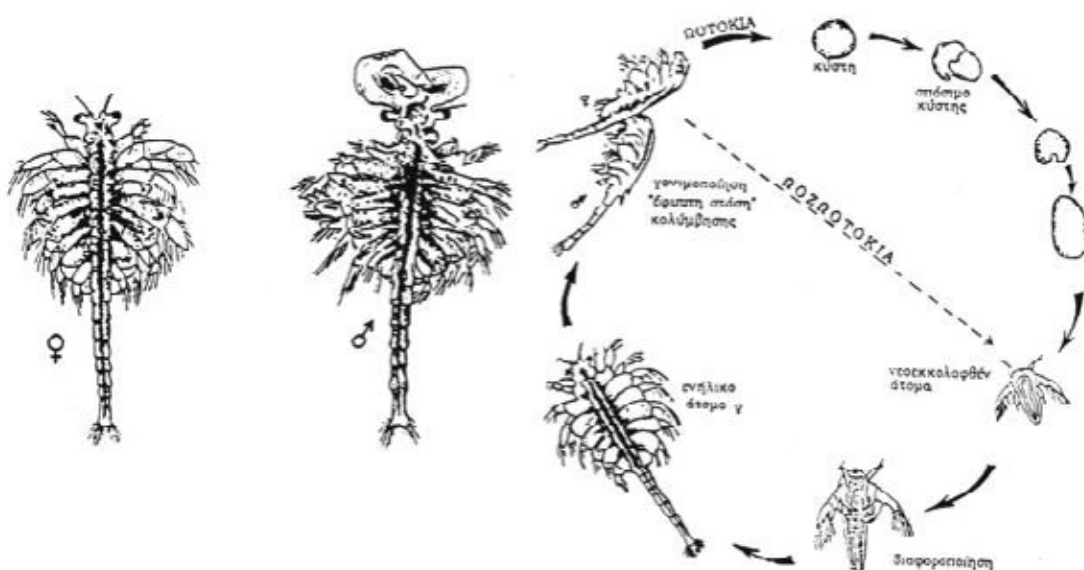
Σχήμα 77. Φωτογραφικό κολάζ ενήλικων *Artemia* από Γ. Χώτο από την πτυχιακή εργασία υπό την εποπτεία Γ. Χώτου των Μαναριώτη Θ., Φερδεριγίου Ε. & Λυράκου Α. 2007. Τμήμα Ιχθυοκομίας-Αλιείας, Τ.Ε.Ι. Μεσολογίου.

### Αναπαραγωγή της *Artemia*

Τα άτομα *Artemia* αναπαράγονται με παρθενογένεση αλλά και με αμφιγονία (Σχήματα 78 & 79). Κατά την παρθενογένεση η **ωοτοκία** ή η **ωοζωοτοκία** θα συμβούν χωρίς να έχει προηγηθεί γονιμοποίηση. Τα αυγά (αλλά και οι κύστεις μόλις εμβλαπτιστούν στο νερό), αναπτύσσονται σε ναύπλιους (οι οποίοι θα υποστούν 15 διαδοχικές εκδύσεις). Το πρώτο στάδιο ονομάζεται Instar I (δεν διαθέτει πεπτικό σύστημα), ενώ μετά από 8-12 ώρες μεταμορφώνεται σε Instar II. Σε ιδανικές συνθήκες η *Artemia* μπορεί να ζήσει αρκετούς μήνες. Το σύνολο των εκδύσεων πραγματοποιείται σε 10 με 14 ημέρες και αναπαράγεται με ρυθμό 100-300 ναύπλιοι (ή κύστεις) κάθε 4 με 5 ημέρες.

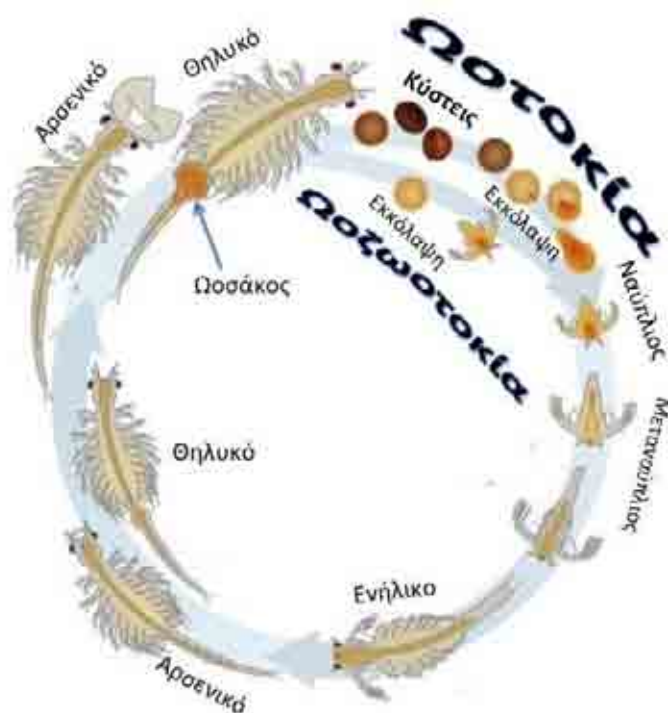
Η σύζευξη-γονιμοποίηση επιτυγχάνεται κατά τη διάρκεια που τα αρσενικά και θηλυκά άτομα κολυμπούν μαζί για αρκετές ημέρες (riding pair) με το αρσενικό να συγκρατεί το θηλυκό με τις «δαγκάνες-κεραίες» του. Τα γονιμοποιημένα αυγά εξελίσσονται και ελευθερώνουν τους ναύπλιους που είναι ικανοί να κολυπήσουν. Εναλλακτικώς, όταν οι συνθήκες γίνουν δυσμενείς, π.χ. υψηλή αλατότητα 150-200 ppt, χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου, τα αυγά εξελίσσονται μέχρι το στάδιο του γαστριδίου, κατόπιν εμφανίζεται η μεμβράνη χιτίνης η οποία τα καλύπτει. Ένα θηλυκό μπορεί να παράγει 100-300 κύστεις.

Η αναπαραγωγή μπορεί επίσης να επιτευχθεί με παρθενογένεση χωρίς την παρουσία αρσενικού και το έμβρυο αναπτύσσεται από τα αγονιμοποιημένα αυγά του θηλυκού (Σχήμα 79). Τα αυγά της *Artemia* αναπτύσσονται σε δύο κυλινδρικού σχήματος ωοθήκες, όπισθεν των θωρακοποδίων (Σχήμα 80). Σε δυσμενείς ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες (υψηλή αλατότητα, ανοξικές συνθήκες, κ.ά.), ειδικοί αδένες («καφέ αδένες» που εντοπίζονται στους ωοσάκκους, Σχήμα 81), ενεργοποιούνται και συσσωρεύουν αιματίνη (καφετί εκκριτικό υλικό), γύρω από το αυγό που περιέχει το έμβρυο, η ανάπτυξη του οποίου έχει σταματήσει στο στάδιο του γαστριδίου. Δημιουργείται έτσι ένα παχύ και σκληρό κέλυφος που ονομάζεται χόριο γύρω από το αυγό. Τα αυγά ή κύστεις κατόπιν αποβάλλονται στο περιβάλλον σε κατάσταση κρυπτοδιαβίωσης ή διάπαυσης, για όσο χρόνο διατηρούνται σε αυτές τις συνθήκες.



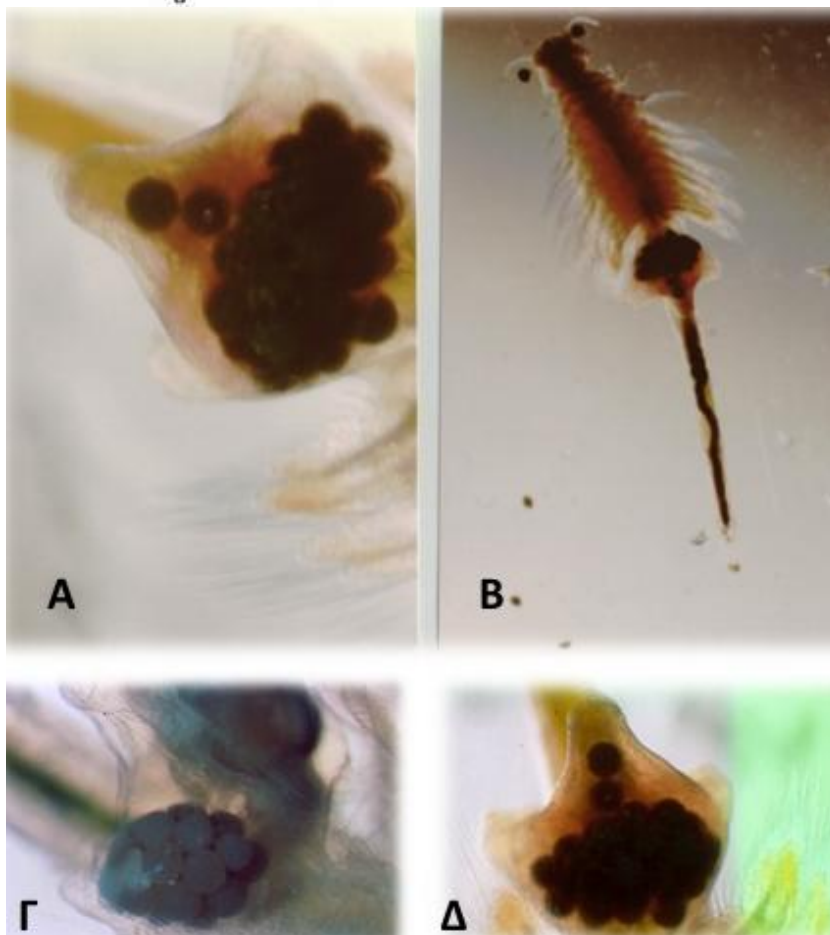
Σχήμα 78. Ενήλικα άτομα *Artemia* και σχηματοποιημένος αναπαραγωγικός κύκλος.





Σχήμα 79.

Ο κύκλος ζωής της *Artemia* με συμμετοχή και των δύο φύλων (αμφιγονία) και με παραγωγή είτε κύστεων (ωοτοκία) είτε ναυπλίων (ωοζωοτοκία). Ωοτοκία και ωοζωοτοκία μπορεί να συμβαίνει και χωρίς παρουσία αρσενικών (παρθενογένεση).



Σχήμα 80. Α, Γ & Δ: Ωοσάκος με αυγά σε διάφορες απεικονίσεις θηλυκού ατόμου *Artemia*. Β: Εικόνα ολόκληρου θηλυκού με τη θέση του ωοσάκου.



Σχήμα 81. Ενήλικα άτομα *Artemia* και των δύο φύλων και ζεύγος σε αναπαραγωγική φάση (άνω σειρά) και ωοσάκκος με το ζεύγος του «καφέ αδένα» ο οποίος εκκρίνει τις ουσίες που θα μετατρέψουν τα αυγά σε κύστες (κάτω σειρά). Φωτογραφίες από την πτυχιακή εργασία υπό την εποπτεία Γ. Χώτου των Μαναριώτη Θ., Φερδεριγίου Ε. & Λυράκου Α. 2007. Τμήμα Ιχθυοκομίας-Αλιείας, Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου. Σύνθεση Γ. Χώτος.

## Εξάσκηση φοιτητών

Μικροσκοπική παρατήρηση της *Artemia*.  
Έμφαση στο μορφολογικό του πρότυπο (ενήλικη μορφή και ναύπλιο).  
Παρακολούθηση του τρόπου κίνησής του.

# 12 Διαχείριση της *Artemia*

## Εισαγωγή

Οι ναύπλιοι της *Artemia* χρησιμοποιούνται στα περισσότερα συστήματα εκτροφής λαρβών. Μετά την εκκόλαψη έχουν μέγεθος <500 μm γεγονός που τους καθιστά ιδανική τροφή πριν τον "απογαλακτισμό" ή "αποκοπή" ή "πέρασμα στην αδρανή τροφή" (weaning) των λαρβών (νυμφών), για να αναφέρουμε όλους τους όρους που χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν αυτή τη φάση. Η καθιέρωση της χρησιμοποίησης της *Artemia* οφείλεται στο ότι παράγει κύστεις οι οποίες εύκολα διατηρούνται και διατίθενται στο εμπόριο (Σχήμα 82). Γενικά οι κύστεις πωλούνται συσκευασμένες σε κενό αέρα. Είναι πολύ σημαντικό να διατηρούνται σε μέρος δροσερό και να μην υφίστανται έντονες θερμοκρασιακές μεταβολές.

Επίσης τα προβλήματα προμήθειας και προγραμματισμού περιορίζονται μια που μπορούν πολύ εύκολα να αποθεματοποιηθούν. Με δεδομένο ότι οι κύστεις της *Artemia* κοστίζουν ακριβά, φροντίζουμε να είμαστε σίγουροι ότι θα χρησιμοποιηθούν σωστά και οι απώλειες θα είναι ελάχιστες. Υπολογίζουμε πάντα την ποιότητα και την ποσότητα των κύστεων που έχουν καταναλωθεί και μειώνουμε την κατανάλωση αποφεύγοντας την καθυστέρηση στην παροχή τεχνητής τροφής που θα ακολουθήσει το στάδιο της ζωντανής τροφής.

## Λόγοι Επιλογής της *Artemia*

- Διατίθεται στο εμπόριο με τη μορφή κύστεων
- Αποτελεί λόγω μεγέθους (400-500 μm) την ιδανική 2<sup>η</sup> χρονολογικά τροφή των ιχθυονυμφών μετά την περίοδο παροχής των τροχοζώων (rotifers) που είχαν μέγεθος 200-300 μm.
- Η χημική της σύσταση ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις των νυμφών μετά από βελτίωση μέσω του εμπλουτισμού.
- Ο βαθμός κινητικότητάς του ναυπλίου είναι μικρός.
- Αν απαιτηθεί να δοθεί ως τροφή και σε στάδια μεγαλύτερα του ναυπλίου, τότε μπορεί να τραφεί με μεγάλο αριθμό φυτοπλαγκτονικών ειδών, μύκητες και προσαρμόζεται σε ποικίλα θρεπτικά υποστρώματα.

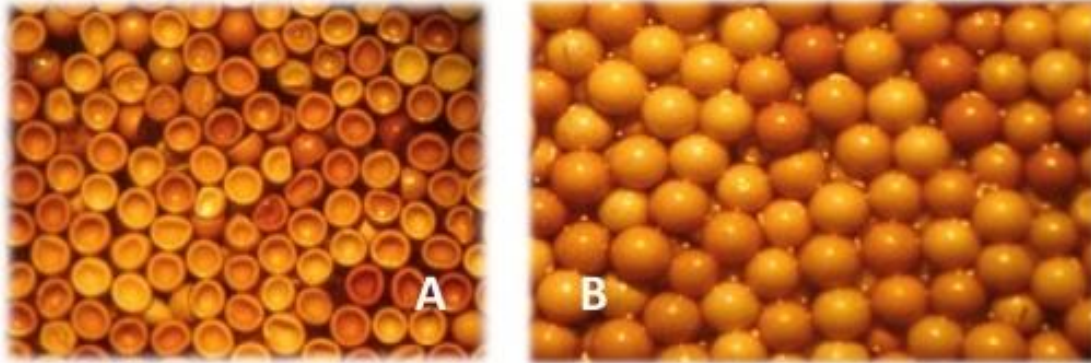


Σχήμα 82. **A:** Κουτιά εμπορικής συσκευασίας κύστεων της *Artemia*. **B:** Αφυδατωμένες κύστεις *Artemia* όπως βγαίνουν από την ειδική σφραγισμένη συσκευασία τους. **Γ:** Κύστεις που ενυδατώνονται σε δοχείο με νερό.

## Χρήση των κύστεων της *Artemia* (σύνοψη)

Μόλις οι αφυδατωμένες κύστεις *Artemia* εμβαπτισθούν σε νερό γίνονται σφαιρικές (Σχήμα 83) και ενεργοποιείται ο ανασταλμένος μεταβολισμός των εμβρύων τους. Στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς οι κύστεις *Artemia*

ενυδατώνονται σε συγκέντρωση 1 Kg/10 L για 1-2 ώρες. Ακολουθεί η τοποθέτηση των ενυδατωμένων κύστεων στις δεξαμενές εκκόλαψης και 24 περίπου ώρες αργότερα οι εξωτερικές μεμβράνες θραύονται και εξέρχεται ο ναύπλιος ο οποίος περιβάλλεται από τη διαφανή μεμβράνη εκκόλαψης η οποία με τη σειρά της θα διαρρηχθεί και θα απελευθερωθεί ο κολυμβητικός ναύπλιος.



Σχήμα 83. **A:** Αφυδατωμένες (ξηρές) κύστες *Artemia* και **B:** Οι κύστες διογκωμένες μετά από ενυδάτωση 1 περίπου ώρας.

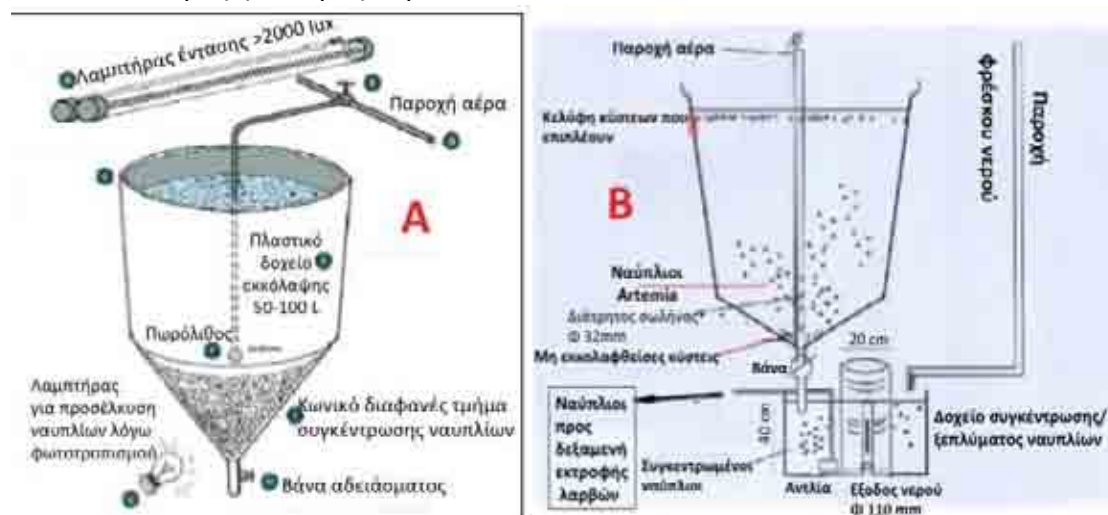
### Εκκόλαψη των κύστεων της *Artemia*

Ο χρόνος που απαιτείται για την εκκόλαψη των κύστεων κυμαίνεται σε 20-24 ώρες και εξαρτάται από το stock και τη μέθοδο εκκόλαψης που χρησιμοποιείται.

#### ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Εξοπλισμός:

- \* Δεξαμενές διαφόρων μεγεθών (100-1000 L) κυλινδροκωνικού σχήματος (Σχήμα 84) ή πλαστικοί σάκοι.
- \* Χώρος με θερμορύθμιση 25-27 °C.
- \* Θαλασσινό νερό που έχει από πριν θερμανθεί στους 25-27 °C.
- \* Σταθερός φωτισμός περίπου 2000 lux.



Σχήμα 84. **A:** Κυλινδροκωνικό δοχείο εκκόλαψης κύστεων *Artemia* με τα δομικά του μέρη και χαρακτηριστική τοποθέτηση της πηγής φωτός που θα προσελκύσει τους εκκολαφθέντες ναυπλίους (λόγω του θετικού φωτοτακτισμού τους) να συγκεντρωθούν στο κάτω μέρος. **B:** Κατάσταση μετά την εκκόλαψη.



### Μεθοδολογία

Προκειμένου να εξασφαλισθεί ένας ικανοποιητικός βαθμός εκκολαψιμότητας οι κύριες παράμετροι που πρέπει να ελέγχονται είναι:

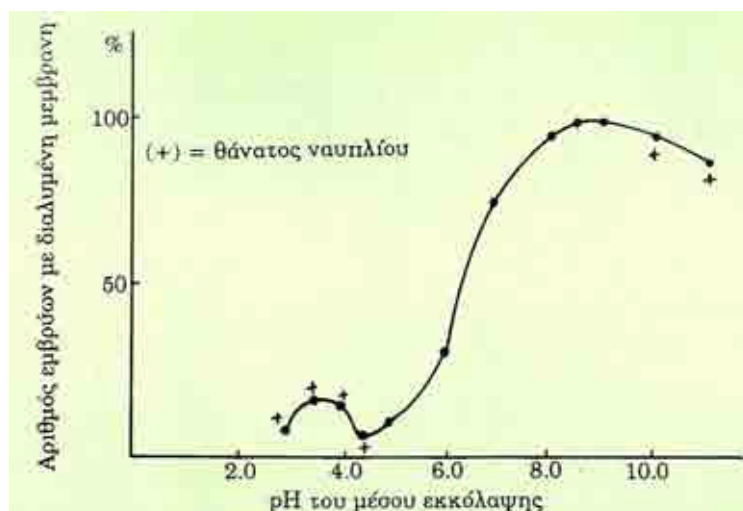
- 1) Φωτισμός
- 2) pH
- 3) Αερισμός
- 4) Θερμοκρασία

Η ένταση του φωτισμού είναι ένας παράγοντας που καθορίζει τα πρώτα στάδια της επώασης και ιδιαίτερα τις πρώτες 4-5 ώρες. Συνιστάται η ένταση του φωτισμού να είναι περί τα 2000 lux καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας.

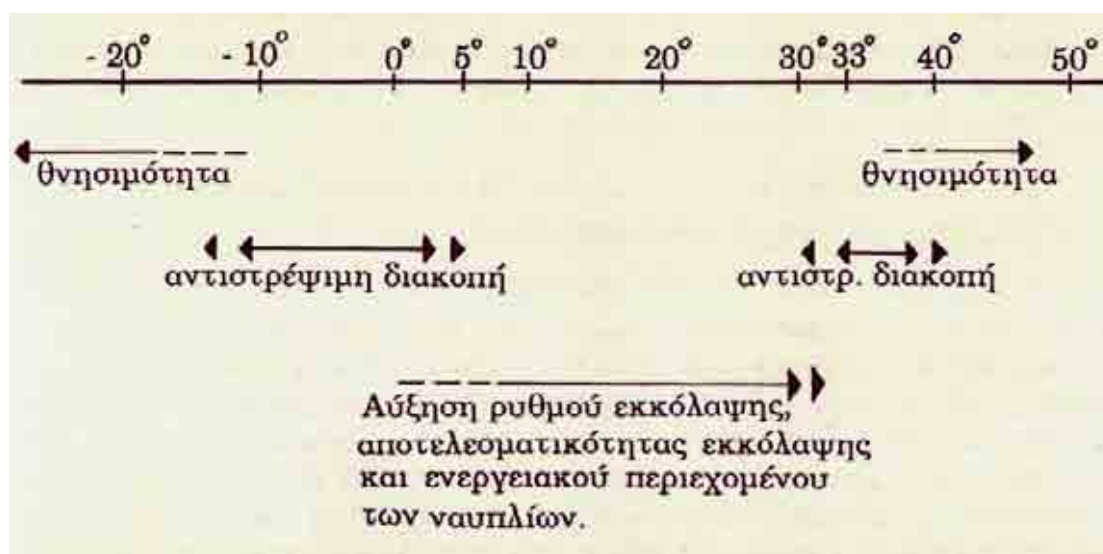
Το pH πρέπει να διατηρείται πάνω από 8,5 (Σχήμα 85). Τα μεταβολικά προϊόντα των κύστεων μειώνουν το pH στο νερό και αυτό προκαλεί μείωση του βαθμού εκκολαψιμότητας κατά 20-25 %.

Ο αερισμός πρέπει να είναι δυνατός και επαρκής για να αναδεύονται καλά οι κύστες και να εκτίθενται όλες στο φως.

Η θερμοκρασία (Σχήμα 86) πρέπει να διατηρείται σε υψηλό επίπεδο (25-27 °C) με χρήση θερμαντικού σώματος με θερμοστάτη.



Σχήμα 85.  
Η επίδραση του pH στη «διάλυση» της μεμβράνης των κύστεων για να μπορέσουν να εκκολαφθούν.



Σχήμα 86. Η επίδραση της θερμοκρασίας στην εκκολαψιμότητα των κύστεων.

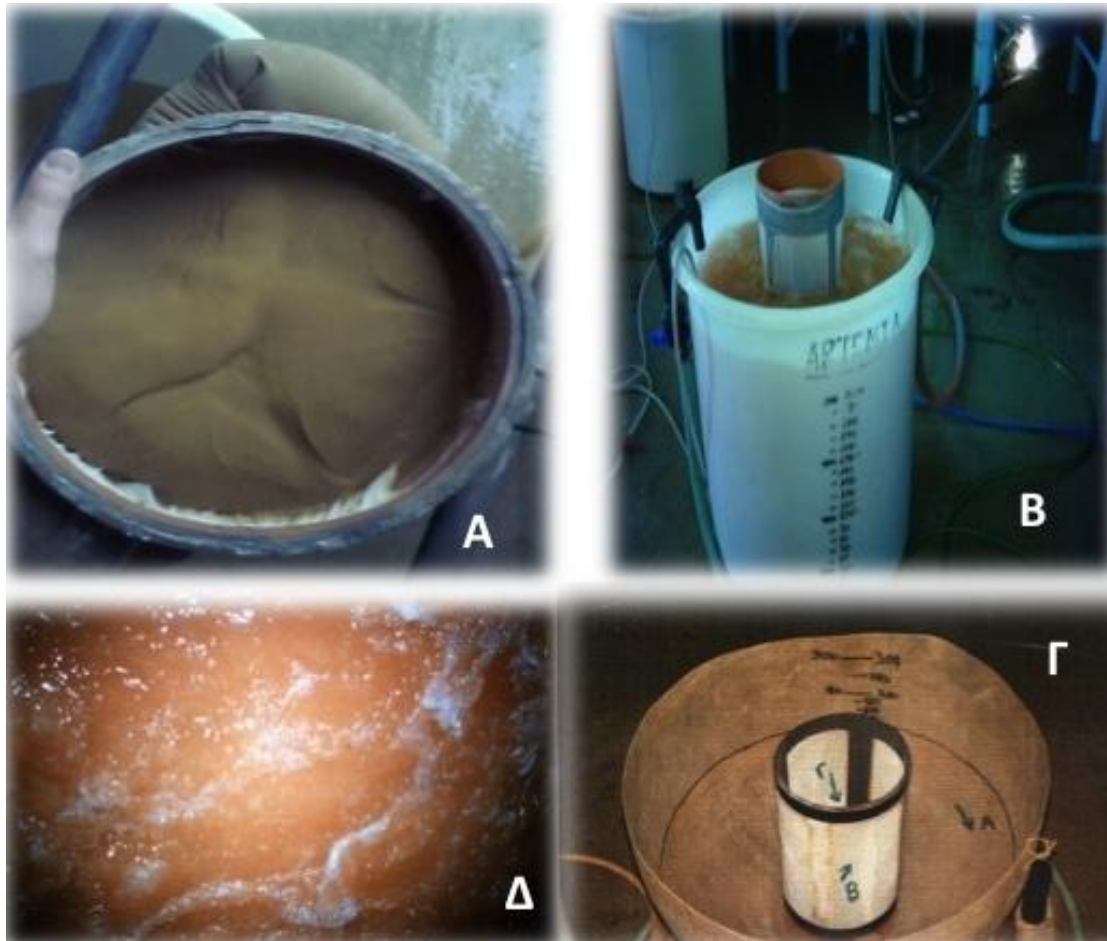


Σημαντικές ενέργειες που απαιτείται να γίνουν

- Μετά τη ζύγιση της αναγκαίας ποσότητας κύστεων αυτές ενυδατώνονται για 1 ώρα στους 20 °C με ταυτόχρονη παροχή αέρα.
- Στη συνέχεια τοποθετούνται σε δεξαμενές. Η πυκνότητα ποικίλλει από 1-5 g/L.
- Αφήνουμε τις κύστες να επωασθούν για 20-24 ώρες.
- Για τη συλλογή της *Artemia* εκμεταλλευόμαστε το φαινόμενο του θετικού φωτοτροπισμού. Φωτίζουμε τον πυθμένα της δεξαμενής οπότε έχουμε συνάθροιση της *Artemia* στο μέρος αυτό και έτσι η συλλογή τους είναι πολύ εύκολη. Επίσης με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνουμε την απομόνωση των άδειων κύστεων (επιπλέουν στην επιφάνεια του νερού) από τους ναυπλίους.

Είναι σημαντικό να τις απομονώσουμε διότι οι μη εκκολαφθίσεις κύστες (ή τα κελύφη τους) δεν πέπτονται στον εντερικό σωλήνα των λαρβών που τυχόν τις κατανάλωσαν, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει το θάνατο των λαρβών.

Οι εκκολαφθέντες ναύπλιοι συγκεντρώνονται-συμπυκνώνονται (και συνάμα ξεπλένονται) σε ειδικά κατασκευασμένο δοχείο όπου υπάρχει κεντρικός σωλήνας αποχέτευσης επενδυμένος με πλαγκτονικό δίχτυ-σίτα που επιτρέπει μόνο στο νερό να περνά και όχι στους ναύπλιους. Αποτέλεσμα αυτού η συγκέντρωση των ναυπλίων στο χώρο πέριξ του σωλήνα σε μεγάλες πυκνότητες (Σχήματα 87 & 88).



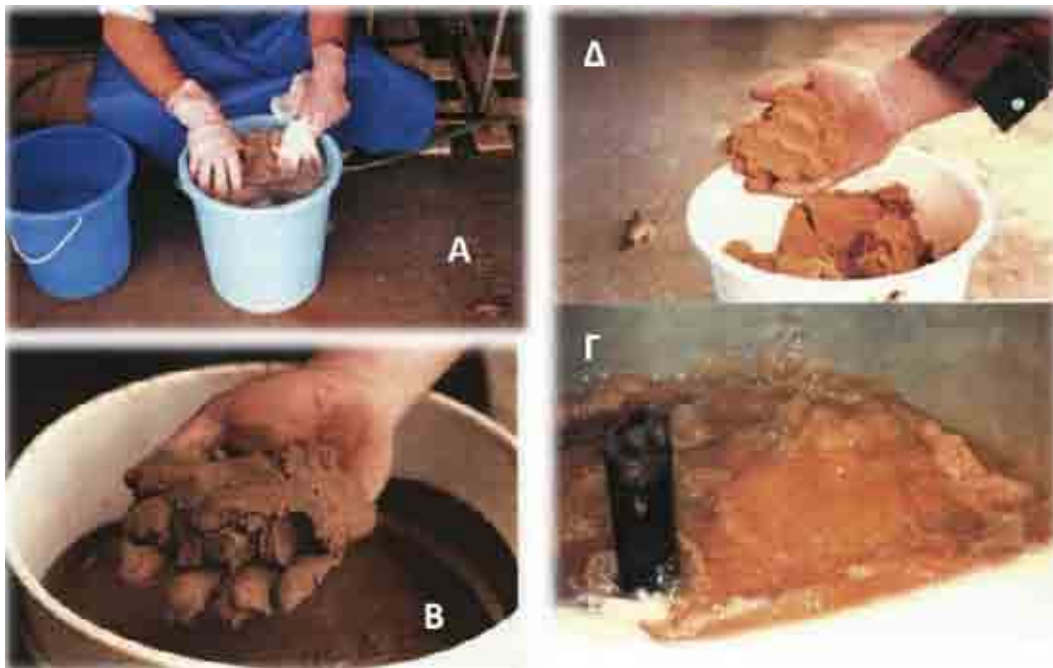
Σχήμα 87. **A:** Μάζα κύστεων της *Artemia* (μη αποκελυφοποιημένες). **B & Γ:** Δοχεία συγκέντρωσης (concentrators) εκκολαφθέντων ναυπλίων, **B:** κατά τη διάρκεια της συγκέντρωσης, **Γ:** κάτοψη της όλης κατασκευής. **Δ:** Συγκεντρωμένοι ναύπλιοι στο δοχείο.



Σχήμα 88. Δύο άλλοι τύποι συγκεντρωτήρα (concentrator) για τους εκκολαφθέντες ναυπλίους της *Artemia*. Αριστερά: εσωτερικά τοποθετημένο κυβικού σχήματος πλαγκτονικό δοχείο που θα συγκρατήσει μέσα του τη μάζα των ναυπλίων ενώ το νερό θα περνά έξω από αυτό. Δεξιά: Συγκεντρωτήρας με κεντρικό σωλήνα όπως του Σχήματος 87.

#### Αποκελυφοποίηση των κύστεων της *Artemia*

Ως αποκελυφοποίηση των κύστεων ορίζεται η διάλυση του εξωτερικού κελύφους της κύστης με τη δράση του υποχλωριδίου του νατρίου. Η όλη διαδικασία διαρκεί περί τα 30 min. Κατά την αποκελυφοποίηση οι κύστεις εμβαπτίζονται σε ισχυρό διάλυμα υποχλωρίτη (NaOCl) και γλυκού νερού. Απαιτείται ισχυρός αερισμός. Αποτέλεσμα της εμβάπτισης στο παραπάνω διάλυμα είναι να διαλυθεί το χόριο των κύστεων. Στην πράξη το γεγονός αυτό διαπιστώνεται με τα εξής: α) αλλαγή του χρώματος (από καφέ-γκρι γίνεται πορτοκαλί), (Σχήμα 89) και β) βύθιση των αυγών (έχασαν το στρώμα του χορίου που είχε κυψελίδες αέρα).



Σχήμα 89. Α & Β: Κύστεις της *Artemia* με το φυσικό τους καφετί χρώμα. Γ & Δ: Κύστεις που μόλις έχουν αποκελυφοποιηθεί (Γ) και μάζα αποκελυφοποιημένων κύστεων (Δ). Χαρακτηριστικό το πορτοκαλί τους χρώμα.

Αμέσως μετά την αποκελυφοποίηση απαιτείται καλό ξέπλυμα με γλυκό νερό.

Οι αποκελυφοποιημένες κύστεις μπορούν πλέον να επωαστούν σε βέλτιστες συνθήκες (25-27 °C, με έντονο αερισμό και φωτισμό, σε συγκέντρωση 4 Kg/m<sup>3</sup>) για να παραχθούν οι ναύπλιοι. Η εκκόλαψη στις συνθήκες αυτές θα πραγματοποιηθεί σε 18-24 ώρες.

Κατόπιν εμπλουτίζονται με ειδικά γαλακτώματα για τη βελτίωση της θρεπτικής τους αξίας, σε θαλασσινό νερό σε θερμοκρασία 25 °C, ελαφρύ αερισμό, παρουσία οξυγόνου και φωτός, σε συγκέντρωση 500.00 ναύπλιοι/m<sup>3</sup> για 24 ώρες.

#### **Πλεονεκτήματα της αποκελυφοποίησης των κύστεων**

Η αποκελυφοποίηση των κύστεων δεν λύνει μόνο το πρόβλημα του διαχωρισμού των ναυπλίων από τα χόρια, αλλά προσφέρει και άλλα πλεονεκτήματα:

- 1- Οι κύστεις με τη δράση του υποχλωριδίου απολυμαίνονται.
- 2- Δεν υπάρχει απώλεια ενέργειας για το σπάσιμο της κύστης από το ναύπλιο και έτσι προκύπτουν ναύπλιοι με υψηλότερο ενεργειακό φορτίο.
- 3- Επιτυγχάνεται ικανοποιητικός διαχωρισμός των μη εκκολαφθέντων κύστεων.
- 4- Τα αποκελυφοποιημένα αυγά μπορούν να χρησιμοποιηθούν άμεσα ως τροφή εάν αυτό κριθεί αναγκαίο, χωρίς κίνδυνο για τις λάρβες των ψαριών που θα τις καταναλώσουν.

#### Εξοπλισμός:

Ο βασικός εξοπλισμός είναι αυτός που χρησιμοποιείται για τη φυσική εκκόλαψη εκτός από το υποχλωρίδιο του νατρίου και επιπλέον NaOH και HCl. Ένα δοχείο με πλαγκτονικό δίκτυο 150 μm και ένα θερμόμετρο.

#### Μεθοδολογία :

1- Ζύγισμα και ενυδάτωση.

2- Χρησιμοποιούμε για 1 g κύστεων:

0,5 g ελευθέρου χλωρίου

0,33 ml NaOH (40%)

Το υποχλωρίδιο του νατρίου έχει συνήθως ένα δείκτη ο οποίος εκφράζει τον αριθμό των χλωρομετρικών βαθμών.

(1 χλωρομετρικός βαθμός = 3,17 g ελεύθερου χλωρίου ανά Kg προϊόντος)

- 3- Τοποθετούμε τις κύστεις μέσα στο διάλυμα. Το δοχείο πρέπει να αερίζεται καλά.
- 4- Ελέγχουμε τη θερμοκρασία που δεν πρέπει να υπερβαίνει τους 30 °C. Η αντίδραση του υποχλωριδίου του νατρίου στις κύστεις, προκαλεί την έκλυση θερμότητας γι' αυτό προκειμένου η θερμοκρασία του δοχείου να διατηρείται στα επιθυμητά επίπεδα, είναι απαραίτητο γύρω από το δοχείο να γίνεται ανακύκλωση κρύου νερού.
- 5- Η αποκελυφοποίηση ολοκληρώνεται όταν τα αυγά αλλάζουν χρώμα και από καφέ γίνονται πορτοκαλί.
- 6- Συλλογή με το πλαγκτονικό δίκτυο 120 μm.
- 7- Ξεπλένουμε με HCl 0,1 N για να σταματήσει η δράση του χλωρίου.
- 8- Ξεπλένουμε καλά σε καθαρό νερό.
- 9- Αφήνουμε να εκκολαφθούν στη συνήθη διαδικασία (βλέπε παραπάνω).

Η ημερήσια δόση ναυπλίων *Artemia* για τροφή των ιχθυοφυκών στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς κρατείται σε μονωμένη δεξαμενή με χαμηλή θερμοκρασία (3-5 °C), οξυγόνωση και αερισμό και συγκέντρωση περίπου 5x10<sup>6</sup> ναυπλίων *Artemia* / L.

### Αξιολόγηση της εκκολαψιμότητας των κύστεων

Η εκκολαψιμότητα των κύστεων *Artemia* ποικίλλει. Γι' αυτό σε κάθε παρτίδα που αγοράζουμε κάνουμε μια εκτίμηση της ποιότητάς του και σημειώνουμε τους κωδικούς που αναγράφονται στη συσκευασία ούτως ώστε να εξασφαλίσουμε ξανά καλής ποιότητας απόθεμα. Για την εκτίμηση της ποιότητας των κύστεων ως προς τα χαρακτηριστικά της εκκόλαψης χρησιμοποιούνται διάφορα κριτήρια, με σημαντικότερο αυτό του ποσοστού εκκόλαψης ή βαθμού εκκολαψιμότητας (**B.E.** %) (ο αριθμός των ναυπλίων που εκκολάπτονται από το συνολικό αριθμό των κύστεων που χρησιμοποιήθηκαν). Κύστεις καλής ποιότητας έχουν βαθμό εκκολαψιμότητας 75-80 %.

Έτσι γίνεται η κατάταξη των stocks σε κατηγορίες όπως:

- Πολύ καλής ποιότητας Βαθμός εκκολαψιμότητα > 75%
- Καλής " " > 60-75%
- Μέτριας " " > 50-60%
- Κακής " " < 50%

### Μέθοδος προσδιορισμού του βαθμού εκκολαψιμότητας των κύστεων

Εξοπλισμός:

- - Ζυγός ευαισθησίας τουλάχιστον 0,01 g
- - Στερεοσκόπιο
- - Σύστημα αερισμού με ρύθμιση παροχής
- - 3 δοχεία του 1 L
- - Πιπέτα του 1 ml
- - Τριβλία Petri
- - Πλαστικοί και γυάλινοι σωλήνες

#### ΜΕΘΟΔΟΣ

- 1- Ζυγίζουμε προσεκτικά 3 δείγματα κύστεων του 1 g.
- 2- Τοποθετούμε τα δείγματα σε 3 δοχεία του 1 L και τα σημειώνουμε Α, Β, Γ. Ξεπλένουμε καλά το δοχείο που χρησιμοποιήσαμε στο ζύγισμα ώστε όλες οι κύστεις να μεταφερθούν στο δοχείο του 1 L.
- 3- Γεμίζουμε το δοχείο μέχρι τη μέση με θαλασσινό νερό και αφήνουμε τις κύστεις να ενυδατωθούν για μία ώρα.
- 4- Γεμίζουμε με θαλασσινό νερό όλο το δοχείο και το τοποθετούμε για επώαση στους 25-27 °C. Ο χώρος πρέπει να διαθέτει καλό σύστημα αερισμού και φωτισμού (τουλάχιστον 2000 lux).
- 5- Κατά την έναρξη της επώασης παίρνουμε 3 δείγματα του 1 ml (με πιπέτα) και μετράμε τον αριθμό των κύστεων.
- 6- Αφήνουμε να επωασθούν για 24-48 ώρες.
- 7- Μετά τη λήξη της εκκόλαψης παίρνουμε 3 δείγματα του 1 ml και μετράμε τον αριθμό των ναυπλίων. Για να απλοποιήσουμε τη διαδικασία σταθεροποιούμε με 0,1 ml φορμόλης 10 % ή με 0,1 ml Iugol.
- 8- Υπολογίζουμε το βαθμό εκκολαψιμότητας με βάση τον αριθμό των κύστεων στην αρχή της εκκόλαψης.
- 9- Ο μέσος όρος των 3 δειγμάτων εκφράζει το βαθμό εκκολαψιμότητας και μας επιτρέπει να κατατάξουμε το stock σε μια από τις κατηγορίες που έχουμε αναφέρει.

### Οργάνωση της προμήθειας κύστεων *Artemia* και υπολογισμός κατανάλωσης

Για να καλύψουμε τις ανάγκες ολόκληρης της παραγωγικής περιόδου και μια που οι κύστει μπορούν να διατηρηθούν για μεγάλο χρονικό διάστημα (2-3 χρόνια σε συνθήκες κενού) εξασφαλίζουμε εξαρχής μεγάλες ποσότητες.

Αυτό επιτρέπει τη συνεχή διαθεσιμότητα κύστεων και την εξοικονόμηση χρόνου καθ' ότι πολλές φορές η παράδοση καθυστερεί.

Πριν προβούμε στην αγορά των κύστεων απαιτείται προσεκτικός υπολογισμός της ποσότητας που θα καταναλωθεί. Με τον ίδιο τρόπο όπως και για τα rotifers υπολογίζουμε την ημερήσια κατανάλωση με βάση τη μέση κατανάλωση ανά δεξαμενή και όχι την ποσότητα που καταναλίσκεται από κάθε λάρβα επειδή είναι αρκετά δύσκολο να κάνουμε ένα ακριβή υπολογισμό του αριθμού των λαρβών σε κάθε δεξαμενή.

Η καθημερινή κατανάλωση πρέπει να αναγράφεται σε πίνακα, έτσι ώστε να υπολογίσουμε σωστά τη μέση ημερήσια κατανάλωση.

Καθώς οι λάρβες αναπτύσσονται παρατηρείται μια σταδιακή αύξηση της κατανάλωσης ανά λάρβα ενώ ταυτόχρονα η συνολική κατανάλωση μειώνεται διότι μειώνεται ο αριθμός των λαρβών (αναμενόμενη θνησιμότητα). Με τον τρόπο αυτό κατασκευάστηκε ο Πίνακας 6 που δείχνει τη μέση κατανάλωση σε συνάρτηση με την επιβίωση των λαρβών.

Ηλικία (ημ.)	10	15	20	25	30	35	40	45
Αρ.Λαρβών	60.000	50.000	45.000	40.000	35.000	30.000	25.000	22.000
Λάρβες/L	30	25	22,5	20	17,5	15	12,5	11
Σ. Α. Δ.	4	8	8	10	10	8	6	4
Σ. Α. Λ.	65	160	180	250	290	360	240	180

Πίνακας 6. Υπολογισμός της μέσης κατανάλωσης *Artemia* σε συνάρτηση με την επιβίωση των λαρβών.

- (Λάρβες λαβρακιού σε δεξαμενές των 2m<sup>3</sup> και σε θερμοκρασία 20 °C).
- Σ.Α.Δ. : Σύνολο ημερήσιας κατανάλωσης *Artemia* /δεξαμενή (x 10<sup>6</sup>).
- Σ.Α.Λ. : Σύνολο κατανάλωσης *Artemia*/ λάρβα (x 10<sup>6</sup>).

Στηριζόμενοι στον πίνακα υπολογίζουμε στη συνέχεια τη μέση κατανάλωση/δεξαμενή/ημέρα (10-45<sup>η</sup> ημέρα).

Λαμβάνοντας υπόψη το παράδειγμά μας η μέση κατανάλωση/δεξαμενή είναι 8 x 10<sup>6</sup> Art/ημέρα.

Πολλαπλασιάζουμε με τον αριθμό των δεξαμενών και στη συνέχεια με τον αριθμό των ημερών.

Όταν είναι γνωστός ο αριθμός των *Artemia* που χρειάζονται για μια περίοδο παραγωγής μπορούμε να υπολογίσουμε τον αριθμό των κύστεων που πρέπει να αγοράσουμε.

Ας υποθέσουμε ότι ο βαθμός εκκόλαψης είναι ίσος με 50%. Στο νούμερο αυτό δεν περιέχονται μόνο οι μη εκκολαφθείσες κύστει αλλά και ο αριθμός των ναυπλίων που χάθηκαν στις διάφορες φάσεις των χειρισμών τους.

Το βάρος των αναγκαίων κύστεων υπολογίζεται ως εξής:  
1 g κύστεων = 250.000 κύστεις περίπου.



ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ

Για ένα εκκολαπτήριο 10 δεξαμενών των 2m<sup>3</sup> η κάθε μία, και με τρεις κύκλους παραγωγής.

(Αριθμός των ναυπλίων που καταναλώθηκαν ανά δεξαμενή/ημέρα) x (αριθμό των ημερών) = αριθμός ναυπλίων που καταναλώνονται ανά δεξαμενή ανά κύκλο.

(Αριθμός ναυπλίων που καταναλώνονται/δεξαμενή/κύκλο) x (αριθμό των δεξαμενών) = συνολικός αριθμός ναυπλίων που καταναλώνονται ανά δεξαμενή ανά κύκλο.

(Αριθμός ναυπλίων που καταναλώνονται/κύκλο) x (αριθμό των κύκλων) = αριθμός των ναυπλίων που καταναλώνονται ανά περίοδο.

(Συνολικός αριθμός ναυπλίων που καταναλώνονται ανά περίοδο) x 2 (50%) = Συνολικός αριθμός κύστεων που καταναλώνονται ανά περίοδο.

(Συνολικός αριθμός κύστεων που καταναλώνονται ανά περίοδο): (250.000) = **Η αναγκαία ποσότητα κύστεων σε g ανά περίοδο.**

Συνοπτικά:

- $8 \times 10^6 \times 35 = 280 \times 10^6$
- $280 \times 10^6 \times 10 = 280 \times 10^7$
- $280 \times 10^6 \times 3 = 840 \times 10^7$
- $840 \times 10^7 \times 2 = 168 \times 10^8$
- $168 \times 10^8 : 250.000 = 67.200 \text{ g κύστεων}$

Συμπεραίνουμε ότι πρέπει να γίνει παραγγελία περίπου 70 Kg κύστεων.

Κατά την εκτροφή των λαρβών με *Artemia* μπορούμε να ελέγξουμε τη λήψη και κατανάλωση της τροφής ως εξής;

Όσον αφορά τις λάρβες της τσιπούρας που τρώνε πολύ γρήγορα η μόνη παράμετρος για έλεγχο είναι το περιεχόμενό τους. Παίρνουμε μερικά δείγματα λαρβών και ελέγχουμε το περιεχόμενο του πεπτικού τους σωλήνα (η *Artemia* τους προσδίδει κόκκινο χρώμα).

Αν δούμε ότι δεν υπάρχει περιεχόμενο προσθέτουμε την αναγκαία ποσότητα *Artemia*.

Στην περίπτωση του λαβρακιού επειδή αυτό τρέφεται πιο αργά, ο έλεγχος γίνεται με βάση τον αριθμό ναυπλίων/δεξαμενή.

**Εξάσκηση φοιτητών**

Εξοικίωση με τον εξοπλισμό στον εργαστηριακό χώρο διαχείρισης της *Artemia*.  
Επεξεργασία πρώτων σταδίων διαχείρισης (ενυδάτωση και αποκελυφοποίηση).

### Άσκηση διαχείρισης πληθυσμού *Artemia*

Σε έναν ιχθυογεννητικό σταθμό παράγεται γόνος λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Σας ζητείτε να υπολογίσετε την απαιτούμενη ποσότητα σε κύστες *Artemia* sp., την οποία χρειάζεται ο ιχθυογεννητικός σταθμός για να καλύψει τις ανάγκες του επόμενου χρόνου. Τα δεδομένα που έχετε για να υπολογίσετε την προς παραγγελία ποσότητα είναι :

- α. τρεις περίοδοι παραγωγής (δύο το χειμώνα και μία το καλοκαίρι μέσω φωτοπεριόδου)
- β. τρεις κύκλοι ανά περίοδο
- γ. 35 ημέρες θρέψης με *Artemia* ανά κύκλο
- δ. 30 δεξαμενές νυμφικής καλλιέργειας, όγκου 3m<sup>3</sup> η κάθε μια, χρησιμοποιούνται ανά κύκλο
- ε. εκκολαψιμότητα των κύστεων 85% (τελική)

Με βάση τα παραπάνω να υπολογίσετε πόσα **κιλά κύστεων *Artemia* sp.** θα παραγγείλετε για να αγοράσετε.

#### ΛΥΣΗ

Γνωρίζουμε ότι 1 δεξαμενή 2m<sup>3</sup> έχει μέση κατανάλωση 8 x 10<sup>6</sup> *Artemia* /ημέρα, άρα κάθε δεξαμενή 3m<sup>3</sup> έχει κατανάλωση:

$$8 \times 10^6 \times \frac{3}{2} = 12 \times 10^6 \text{ Artemia/ημέρα/δεξαμενή}$$

Για 35 ημέρες ανά κύκλο:

$$12 \times 10^6 \text{ Artemia/ημέρα/δεξ.} \times 35 \text{ ημέρες} = 420 \times 10^6 \text{ Artemia/κύκλο/δεξαμενή}$$

Για 30 δεξαμενές:

$$30 \times 420 \times 10^6 = 1260 \times 10^7 \text{ Artemia για 1 κύκλο συνολικώς}$$

Αφού για κάθε κύκλο παραγωγής απαιτούνται 1260 x 10<sup>7</sup> *Artemia*, στους 3 κύκλους παραγωγής που έχει η κάθε περίοδος θα απαιτούνται:

$$1260 \times 10^7 \times 3 = 3780 \times 10^7 \text{ Artemia / περίοδο}$$

Ετησίως οι περίοδοι παραγωγής είναι τρεις, άρα η συνολική απαιτούμενη ποσότητα είναι:

$$3780 \times 10^7 \times 3 = 1134 \times 10^8 \text{ Artemia για 3 περιόδους}$$

Με δεδομένο ότι η εκκολαψιμότητα είναι 85%, για να έχουμε 1134 x 10<sup>8</sup> *Artemia*, απαιτούνται :

$$(100 \times 1134 \times 10^8) / 85 = 1334,1 \times 10^8 \text{ κύστες}$$

Σε 1g κύστεων περιέχονται 250.000 κύστες, άρα οι 1334,1 x 10<sup>8</sup> κύστες θα ζυγίζουν:

$$1334,1 \times 10^8 / 250.000 = 533,64 \times 10^3 \text{ g (533.640 g) δηλαδή πρέπει να προμηθευτούμε 533,64 kg κύστεων.}$$

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anderson R. A., 1996. In: Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry. Chapter 3, Algae. J.H. Cevera and A. BeL (Eds), Academic Press, p. 29-64.
- Conceicao, L., Yufera, M., Makridis, P., Morais, S. & M. T. Dinis, 2010. Review Article. Live Feeds for Early Stages of Fish Rearing. *Aquaculture Research*, 41, 613-640.
- Creswell, L., 2010. Phytoplankton Culture for Aquaculture Feed. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC), USA.
- Fielder, D. S., G. J. Purser and S. C. Battaglione, 2000. Effect of rapid changes in temperature and salinity on availability of the rotifers *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 189: 85-99.
- Fulks, W. and K.L. Main (Eds.), 1991. Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proceedings of a U.S. - Asia Workshop. Honolulu, Hawaii, January 28-31, 1991, Argent Laboratories, Redmond, Washington.
- Hoff, H, F. & T. W. Snell, 2004. Plankton Culture Manual. Florida Aqua Farms Inc.
- Hotos, G.N., 2002. Selectivity of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed mixtures of algal species with various cell volumes and cell densities. *Aquaculture Research* 33 (12), 949-957.
- Hotos, G.N., 2003) Growth, filtration and ingestion rate of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed with large (*Asteromonas gracilis*) and small (*Chlorella* sp.) celled algal species. *Aquaculture Research*, 34 (10), 793-802.
- Hotos, G., 2016. The halotolerant green alga *Asteromonas gracilis*, an ideal tool for research, education and mass culture. A preliminary report. 2<sup>nd</sup> Intern. Congress on Appl. Ichthyology & Aquatic Environment. 10-12 Nov. 2016. Messolonghi Greece.
- Ito, T., 1955. Studies on Mizokawari in eel-culture ponds. 1. Feeding activity of *Brachionus plicatilis* on phytonannoplankton. Report of the Faculty of Fisheries (In Japanese). Prefectural University of Mie, 2: 162-276.
- Ito, T., 1960. On the culture of mixohaline rotifer *Brachionus plicatilis* O.F Muller in the sea water (in Japanese). *Rep. Fac. Fish. Prefect. Univ. Mie* 3: 708-740.
- Kafuku, T. & H. Ikenoue (Eds.), 1983. *Modern Methods of Aquaculture in Japan*. Elsevier and Kodansha Ltd, Tokyo.
- Kolkovski, S., J. Curnow and J. King, 2004. Intensive rearing system for fish larvae research II: *Artemia* hatching and enriching system. *Aquac. Eng.*, 31: 309-317.
- Koste, W., 1980. *Brachionus plicatilis*, ein Salzwasserradertiere. *Mikrokosmos*, 5: 148-155.
- Kyungmin H., I. Geurden and P. Sorgeloos, 2000. Enrichment strategies for *Artemia* using emulsions providing different levels of *n*-3 highly unsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 183: 335-347.
- Laing, I., 1991. Cultivation of marine, unicellular algae. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Directorate of Fisheries Research. Lowestoft, UK.

- Lavens P and P. Sorgeloos, 1996. Manual on production and use of live food for aquaculture. Lavens P and P. Sorgeloos (Eds), FAO Fisheries Technical paper, Rome.
- Lubzens, E., 1987. Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia*. 147: 245-255.
- Lubzens, E., A. Tandler and G. Minkoff, 1989. Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiologia*. 186/187: 387-400.
- Μαναριώτη Θ., Φερδερίγου Ε. & Λυράκου Α., 2007. Πειράματα στην αύξηση της *Artemia* με χρήση διαφορετικών ειδών μικροφυκών (*Asteromonas gracilis*, *Chlorella* sp., *Dunaliella* sp.). Πτυχιακή εργασία (εισηγητής: Γ. Χώτος), Τμήμα Ιχθυοκομίας-Αλιείας, Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου.
- Mata, T. M., A. A. Martins and N. S. Caetano, 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Ren. Sust. En. Rev.*, 14: 217-232.
- Moretti, A., Fernandez-Criado, P. M., Cittolin, G. & R. Guidastri, 1999. Manual on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream, FAO-1999.
- Πυρένης Γ. και Τράκος Γ., 2010. Μελέτη της οντογένεσης στο κοινό μυτάκι *Diplodus puntazzo* και επίδραση της θερμοκρασίας-Β μέρος: Λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο. Πτυχιακή εργασία (εισηγήτρια: Αικ. Κλημογιάννη), Τμήμα Υδατοκαλλιέργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης, Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου.
- Sorgeloos, P., P. Dhert and P. Candreva, 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in: Marine fish larviculture. *Aquaculture*, 200: 147-159.
- Tamaru, C. S., R. Murashige, C.S. Lee, H. Ako and V. Sato, 1993. Rotifers fed various diets of baker's yeast and/or *Nannochloropsis oculata* and their effect on the growth and survival of striped mullet (*Mugil cephalus*) and milkfish (*Chanos chanos*) larvae. *Aquaculture*, 110: 361-372.
- Χώτος Γ. και Ι. Ρογδάκης, 1992. Υδατοκαλλιέργειες ευρύαλων ψαριών. Εκδόσεις Ίων, Αθήνα.
- Χώτος, Γ. & Δ. Αβραμίδου, 1995. Μελέτη της αύξησης του μονοκύτταρου αλόφιλου φύκου *Asteromonas gracilis* (Chlorophyta) σε συνθήκες μαζικής καλλιέργειας με τη χρήση διαφορετικών αλατοτήτων, φωτοπεριόδου και έλλειψης πρόσθετων βιταμινών. *Γεωτεχνικά Επιστημονικά Θέματα*. τόμ. 6, τεύχ. 2, 37-45.
- Yoshinaga, T., A. Hagiwara and K. Tsukamoto, 2000. Effect of periodical starvation on the life history of *Brachionus plicatilis* O.F. Müller (Rotifera): a possible strategy for population stability. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 253: 253-360.