

ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΑΝΑΓΕΙΕΣ ΤΩΝ ΜΙΣΗ ΠΙΤΑ Ε

Αρ 616 161

ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ

Δρ. ΛΕΟΝΑΡΔΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ

ΣΠΟΥΔΑΣΤΗΣ

ΑΚΡΙΒΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

1. Γενικά.
2. Εργαστηριακές αναλύσεις
 - 2.1. Υλικά και μέθοδοι
 - 2.2. Αποτελέσματα (κατανομή)
 - 2.3. Διατροφικές συνήθειες
 - 2.4. Μήκος - βάρος και αναλογία σε ότι αφορά το φύλο
 - 2.5. Αναπαραγωγή
 - 2.6. Χαρακτηριστικά των αυγών του *Joturus*
 - 2.7. Γονιμότητα
 - 2.8. Παράσιτα
3. Σχολιασμός

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

1. Γενικά
2. Εργαστηριακές αναλύσεις
 - 2.1. Η κατασκευή του πλασμιδίου
 - 2.2. Τύποι και συνθήκες καλλιέργειας
 - 2.3. Προετοιμασία ζυμομύκητων ως πρόσθετα τροφών
 - 2.4. Τα ψάρια και η χορήγηση από το στόμα
 - 2.5. Στατιστικές αναλύσεις
3. Σχολιασμός - αποτελέσματα

ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ

1. Εισαγωγή
 - 1.1. Γενικά
2. Εργαστηριακές αναλύσεις
 - 2.1. Υλικά και μέθοδοι (Συλλογή και διατήρηση των αυγών)
 - 2.2. Εργαστηριακός σχηματισμός θαλάσσιας σκόνης
 - 2.3. Πειράματα επιλογής τροφών
 - 2.4. Παράγοντες μετατροπής
 - 2.5. Πειράματα ανάπτυξης
 - 2.6. Πειράματα απορρόφησης στο εργαστήριο
 - 2.7. Συγκρίσεις

3. Αποτελέσματα
- 3.1. Πειράματα επιλογής τροφών
- 3.2. Πειράματα για την ανάπτυξη
- 3.3. Εργαστηριακά πειράματα απορρόφησης
- 3.4. Συγκρίσεις
4. Σχολιασμός

ΜΕΡΟΣ ΤΕΤΑΡΤΟ

1. Εισαγωγή
- 1.1. Γενικά
2. Εργαστηριακές αναλύσεις
- 2.1. Υλικά και μέθοδοι (ψάρι και αυγοτάραχο)
- 2.2. Οι πλησιέστερες αναλύσεις
- 2.3. Ανάλυση των αμινοξέων
3. Σχολιασμός και αποτελέσματα
4. Περιεκτικότητα σε αμινοξέα και ποιότητα πρωτεϊνών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Gustavo Adolfo gruz (1987). REPRODUCTIVE BIOLOGY AND FEDDING HABITS OF CUYAMEL JOTURUS PICHARDI AND TEREMECHIN AGO NOSTOMUS MONTICOLA (PISCES; MUGILIDAE) FROM RIO PLATANO MOSQUITA HONDURAS.
- Earl T. Larson, Alan L. Shanks (1996). Consumption of marine snow by two species of Juneville mullet and its contribution to their growth.
- HVAI - JEN TSAI, JEN - CHIEN KUO, SHOW - WAN LOU, TSONG - TEH KVO (1994). Growth Enhancement of Juneville Striped Mullet by Feeding Recombinant Yeasts Containing Fish Growth Hormone.
- MARIKO IWASAKI and ROKURO HAKADA (1985). Proximate and Amino Acid Composition of the Roe and Muscle of Selected Marine Species.

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ ΤΟΥ CUYSMEL, JOTURUS RICHARDI and TEREMECHIN AGONOSTOMUS MONTICOLA (PISCES MUGILIDAE) ΑΠΟ ΤΟΝ ΠΟΤΑΜΟ ΠΛΑΤΑΝΟ, MOSQUITIA, ΣΤΗΝ ΟΝΔΟΥΡΑ.

1. ΓΕΝΙΚΑ.

Αυτά τα mugilidae περνούν το μεγαλύτερο μέρος της ζωής τους στα ανώτερα στρώματα της ευθείας των ποταμών που χαρακτηρίζονται από ισχυρά ρεύματα, σε κοίτες ποταμών με μεγάλους βράχους γρανιτικού τύπου και σε κρυστάλλινα καθαρά νερά. Δείγματα του *Joturus richardi* (85) και του *Agonostomus Monticola* (435) περισυλλεγήσαν στον ποταμό Platano, και υποβλήθηκαν σε ανάλογη για τη σχέση μήκους - βάρους, το περιεχόμενο του στομάχου, την κατάσταση αναπαραγωγής και τη συνήθεια διαίρεσης. Εμμεση ένδειξη παρουσιάζεται προς υποστήριξη της αναπαραγωγικής μετανάστευσης του *Joturus richardi* από το ανώτερο μέρος του ποταμού κατά τους μήνες των έντονων βροχοπτώσεων (Οκτώβριος, Νοέμβριος, Δεκέμβριος), χρησιμοποιώντας το υψηλότερο επίπεδο του νερού της εποχής των βροχών για να βγει στη μεταβατική ζώνη θάλασσας - ποταμού με σκοπό να γεννήσει και κατόπιν να επιστρέψει αμέσως στον ποταμό. Στο *A. Monticola* δε βρέθηκε αναμφισβήτητη μαρτυρία μιάς παρόμοιας αναπαραγωγικής μετανάστευσης, παρόλο που ο Ιανουάριος φαίνεται ότι είναι ο μήνας που οι προέφηβοι εισέρχονται και κινούνται ανηφορικά στο ποτάμι για να μπουν σε μέσου μεγέθους παραπόταμους. Προέφηβοι του *J. Richardi* μικρότεροι των 59 mm SL δεν περισυλλεγήσαν ούτε παρατηρήθηκαν στην εκβολή του ποταμού ή στους παραπόταμους.

Πιστεύω ότι κινούνται σε μικρούς αριθμούς στο μέσον του ποταμού μάλλον παρά κατά μήκος της όχθης προς τους ανώτερους παραπόταμους, όπου το ρεύμα είναι ισχυρό και ο πυθμένας έχει μεγάλους βράχους. Τα αρσενικά και τα θηλυκά και των δύο ειδών αποκτούν παρόμοιο μέγεθος και βάρος παρ' όλα αυτά, τα μεγαλύτερα δείγματα που περισυλλεγήσαν ήταν θηλυκά.

Η ανάλυση του περιεχομένου του στομάχου αποκάλυψε διάφορες διατροφικές προτιμήσεις. Το *J. Richardi* είναι κυρίως χορτοφάγο, ενώ το *A. Monticola* είναι βασικά σαρκοφάγο. Οι προέφηβοι του *J. richardi* διακρίνονται εύκολα από τις μαύρες ρίγες στο δεύτερο ραχιαίο, στα εδρικά και ουραία πτερύγια, οι οποίες (ρίγες) δεν υπάρχουν στους προέφηβους του *A. Monticola*. Τα αυγά του *J. richardi* είναι πελάγια, ενώ του *A. Monticola* δεν έτυχαν επιστημονικής παρακολούθησης.

Τα *Joturus richardi* και *Agonostomus monticola*, τα οποία είναι γνωστά στην περιοχή σαν *cuyamel* και *teremechin* αντίστοιχα, είναι τα ψάρια του γλυκού νερού με τη μεγαλύτερη ζήτηση σαν τροφή στην Ονδούρα.

Και τα δύο είναι τα μόνα mugilids που έχουν την ικανότητα να ανεβαίνουν τα ορμητικά νερά του ποταμού μέσα στα βουνά, όπου περνούν το μεγαλύτερο μέρος της ζωής τους. Το *A. Monticola* προσαρμόζεται και μπορεί να ζήσει και σε στροβιλώδη νερά. Δε φθάνει όμως το εντυπωσιακό μέγεθος (600 mm TL) του *Joturus* (Hildebrand, 1935 Carr και Giannoli, 1950). Το *joturus* είναι δεινός κολυμβητής και είναι πολύ δύσκολο να το ψαρέψει κανείς χρησιμοποιώντας τις συνηθισμένες μεθόδους.

Η χρήση εκρηκτικών υλών αποτελεί σήμερα μια συνηθισμένη και παράνομη πρακτική για το ψάρεμα αυτού του είδους ψαριού. Ο δυναμίτης, η μόλυνση του ποταμού και η καταστροφή του υδροκρίτη (συλλεκτήρια λεκάνη) θέτουν σε κίνδυνο το μέλλον αυτού του είδους.

Στη βιβλιογραφία έχει γίνει συνοπτική αναφορά στη φυσική τους ιστορία (Lin, 1954, Hildebrand, 1935, Gilbert & Kelso, 1971 Anderson, 1957β) και ο έμπειρος ψαράς γνωρίζει κάποια γεγονότα γύρω από τις συνήθειές τους, ιδιαίτερα, σχετικά με την αναπαραγωγική τους μετανάστευση. Το κείμενο αυτό παρουσιάζει έμμεση απόδειξη μίας ετήσιας μετανάστευσης των ώριμων (ενηλίκων) *J. richardi*, με σκοπό να γεννήσουν στην εκβολή του ποταμού, καθώς και της άμεσης επιστροφής τους ενάντια προς το ρεύμα, στον ποταμό Platano, Mosquitia, της Ονδούρας.

Ο ποταμός Platano έχει μήκος περίπου 100 χλμ. με μέσο πλάτος 30μ και μέγιστο βάθος 10μ. την εποχή της ξηρασίας. Η περιοχή όπου βρίσκεται η λεκάνη απορροής του ποταμού έκτασης 265.250 εκταρίων περιλαμβάνει ένα τροπικό δάσος της βροχής (Holdridge, 1962) (Σχήμα 1), με μέση ετήσια βροχόπτωση 3.070 mm.

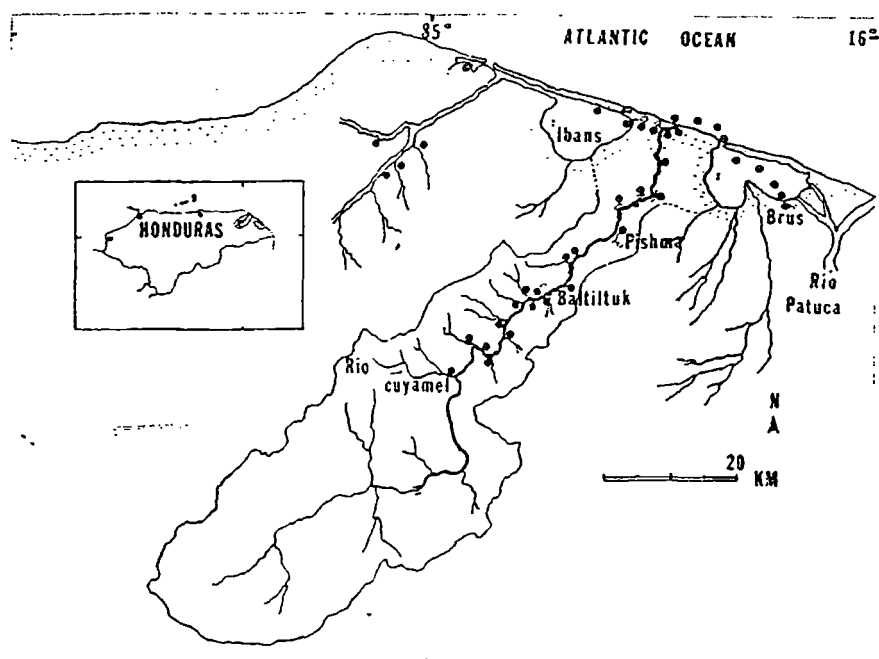


Figure 1.

Η περίοδος της ξηρασίας ξεκινά το Φεβρουάριο και φθάνει μέχρι το Μάιο, με μία μικρή περίοδο ξηρασίας τον Αύγουστο ή το Σεπτέμβριο. Η μέση ετήσια θερμοκρασία είναι 26°C. Η θερμοκρασία του νερού το Νοέμβριο 1983 ήταν 25,5°C στην εκβολή του ποταμού και 24°C στο Baltituk (βλέπε Σχήμα 1) (Cruz et al, 1977). Η γεωλογία και η τοπογραφία της περιοχής συζητήθηκαν λεπτομερώς από τον Helbig (1965). Τα πεδινά τμήματα της περιοχής βρίσκονται κάτω από την πόλη του Baltituk, 29 χλμ. από τη θάλασσα και περιλαμβάνουν διάφορες μικρές λιμνοθάλασσες και πολλά κανάλια και πλημμυρισμένα έλη.

Σ' αυτή τη ζώνη δεν υπάρχουν παραπόταμοι. Δύο μεγάλες παράκτιες λιμνοθάλασσες συνδέονται με τον ποταμό κυρίως κατά την περίοδο των βροχών.

Η λιμνοθάλασσα Brus, η οποία έχει έκταση 120 Km² και μέγιστο βάθος 10 m, περιβάλλεται από ριζοφόρους και έχει βαθμό αλμυρότητας από γλυκό νερό μπροστά στην πόλη Brus έως 20 - 25ο/οο στις εκβολές του ποταμού.

Ένα μέρος των νερών του ποταμού Petuca χύνεται στη Λιμνοθάλασσα Brus. Η Λιμνοθάλασσα Ibans έχει έκταση 63 Km και μέγιστο βάθος 10m. Και αυτή περιβάλλεται από ριζοφόρους (*Rhizophora*) και αποτελείται ολόκληρη από γλυκό νερό. Από το Baltituk και αντίθετα προς το ρεύμα του ποταμού, η τοπογραφία και η γεωλογία αλλάζουν απότομα, με πολλούς παραπόταμους και ορμητικά ρεύματα και καθαρά νερά που κυλούν ανάμεσα από πολλούς βράχους από γρανίτη.

2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ.

2.1. Υλικά και Μέθοδοι.

Κατά τη διάρκεια των 105 ημερών της επιτόπιας επιστημονικής παρατήρησης περισυνελέγησαν 85 δείγματα του *J. richardi* και 435 του *A. Monticola* στον ποταμό Platano, στο χρονικό διάστημα μεταξύ Δεκεμβρίου 1981 και Ιανουαρίου 1984. Όλα τα δείγματα βρίσκονται στο μουσείο του Πανεπιστημίου της Κόστα Ρίκα. Για το ψάρεμα του *J. richardi* χρησιμοποιήθηκαν καμάκια και καμάκια αλιείας φαλαινών, ενώ για το *A. Monticola* χρησιμοποιήθηκε κάθετο δίχτυ με φοξίνους (1 X 2 X 1μ) και πεζόβολος (με διάμετρο 1,5 και 3 μ. και άνοιγμα πλέγματος 10mm). Επίσης περισυνελέγησαν άλλα 106 δείγματα από τους ποταμούς μεταξύ Trujillo και του ποταμού Motagua, στην περιοχή Cortes, στο Copan και στα νησιά του Roeten και Guanaja.

Όλα τα δείγματα ψαριών διατηρήθηκαν μέσα σε υδατικό διάλυμα φορμαλδεΐδης σε αναλογία 10%. Οι αναλύσεις της τροφής έγιναν στο εργαστήριο αφαιρώντας το πεπτικό σύστημα και ταξινομώντας το περιεχόμενο

χρησιμοποιώντας διοπτρικό στερεοσκόπιο. Οι σχέσεις μεταξύ μήκους και βάρους και ο Σωματικός Γεννητικός Κώδικας (S.G.I.) καθορίστηκαν βάσει των σύγχρονων μεθόδων.

2.2 Αποτελέσματα (Κατανουμή).

Κατανουμή: Από πλευράς βιομάζας, το *J. richardi* είναι το επικρατέστερο ψάρι του ποταμού. Ζεί στο κύριο κανάλι και προτιμά τα στροβιλώδη νερά. Δε βρέθηκε κανένα *J. richardi* σε δευτερεύοντες παραπόταμους πλάτους μικρότερου των 8-10 μ. ή βάθους 1 μ.

Κατά την περίοδο της ξηρασίας τα κρυστάλλινα καθαρά νερά δίνουν τη δυνατότητα να γίνουν παρατηρήσεις σε αγέλες έως και 50 ώριμων ψαριών τα οποία κολυμπούν γρήγορα στο ισχυρό ρεύμα. Ούτε ο συγγραφέας του κειμένου ούτε οι ντόπιοι κάτοικοι έχουν δει κανένα *J. richardi* κάτω από το Baltituk κατά την περίοδο της ξηρασίας.

Κατά την εποχή των βροχών, όταν το νερό είναι θολό και το ύψος του ανεβαίνει έως και 5 μ., πιστεύεται ότι παραμένουν σ' αυτό το σημείο επειδή, κατά την περίοδο της ξηρασίας, μπορεί κανείς να παρατηρήσει ίχνη τροφής πάνω στους καλυμμένους από φύκια βράχους, οι οποίοι, λόγω της ξηρασίας, έχουν αποκαλυφθεί. Κρίνοντας από το μέγεθος των ιχνών αυτών υποθέτουμε ότι έγιναν από ενήλικα *J. richardi*.

Κανένα *J. richardi* δεν έχει περισυλλεγεί ή θεαθεί στους παραπόταμους του ποταμού Platano. Όλα τα δείγματα που ανήκουν σε ενήλικα ψάρια έχουν περισυλλεγεί ή θεαθεί στο κύριο κανάλι. Οι Ινδιάνοι Paya του Baltituk λένε ότι ποτέ δεν έχουν δει κάποιο *J. richardi* μικρότερο από 150 mm SL και κατά τη διάρκεια αυτής της μελέτης, ο ερευνητής δεν είδε ποτέ ούτε περισυνέλεξε κάποιο δείγμα μικρότερο από 59mm SL. Τα μόνα ανήλικα *J. richardi* (59, 61, 72, 73 & 74 mm SL) περισυνελέγησαν από τον ποταμό Cristales, Truzillo, τον Ιούλιο 1983 μέσα σε 3,5 ώρες χρησιμοποιώντας πεζόβολο (1,5m διάμετρος και 10 mm διάκενο δικτύου), ενώ κατά τον ίδιο χρόνο περισυνελέγησαν 106 *A. Monticola* (40 έως 180 mm SL).

Τα κύρια χαρακτηριστικά του ποταμού Cristales είναι οι μεγάλες πέτρες από γρανίτη κατά μήκος της απόκρημνης κοίτης του που βρίσκεται πολύ κοντά στη θάλασσα, τα καθαρά κρυστάλλινα νερά του και η σχεδόν απείραχτη λεκάνη απορροής. Αυτά είναι τα χαρακτηριστικά ορισμένων βασικών παραποτάμων των ποταμών Platano & Cuyamel (Σχ. 1), όπου υποθέτουμε ότι ζούν τα νεαρά *J. richardi*. Σ' ένα μικρό ρυάκι στο νησί Guapaza και σε πολλά άλλα στην περιοχή Omoa βρέθηκαν πολλά *A. Monticola* διαφόρων μεγεθών, δε βρέθηκε όμως κανένα *J. richardi*. Τα ρυάκια αυτά βρίσκονται κοντά στη θάλασσα, έχουν βραχώδες υπόστρωμα αλλά δεν έχουν καθαρό παραποτάμιο δάσος. Επίσης στο Coran, σ' έναν ποταμό παρόμοιο με τον ποταμό Cristales, βρέθηκε μόνο ένα ενήλικο *A. Monticola*, ενώ δεν βρέθηκε κανένα *J. richardi*.

Κατά την εποχή της ξηρασίας βρέθηκαν ενήλικα *A. Monticola* στα ίδια στροβιλώδη νερά που βρέθηκε και το *J. richardi*, αλλά λιγότερο συχνά απ' ό τι στους παραπόταμους όπου τα βρίσκει κανείς σε όλα τα μεγέθη. Πολλές φορές, κατά μήκος του κύριου ποταμού περισυνελέγησαν *A. Monticola* στο προεφηβικό στάδιο, η εμφάνισή τους όμως εκεί ήταν εποχιακή, πράγμα το οποίο σημαίνει τη μετανάστευσή τους αντίθετα προς το ρεύμα του ποταμού.

Στις 15 Ιανουαρίου 1983, κατά τη διάρκεια της ημέρας, περισυνελέξαμε 103 *A. Monticola* στο προεφηβικό στάδιο, στις εκβολές του ποταμού Platano. Στις 17 Ιανουαρίου πιάσαμε 76 και στις 12 Φεβρουαρίου μόνο ένα όλα περισυνελέγησαν στο ίδιο μέρος και χρησιμοποιήθηκε το ίδιο κάθετο δίκτυο.

Στις 17 Ιανουαρίου συγκεντρώσαμε 76 *A. Monticola* (25 έως 50 mm SL) μεταξύ 0900 και 1200, με κάθετο δίκτυο με φοξίνους στις εκβολές του ποταμού Platano και μόνο 3 (30 mm SL) το απόγευμα της ίδιας ημέρας, μεταξύ 1800 και 2000, χρησιμοποιώντας το ίδιο δίκτυο.

	January		April	
	(No./h)	(mm SL)	(No./h)	(mm SL)
Rio Plátano mouth	2.0	19-37	0.0	—
Coastal channels	0.0	—	0.0	—
Pishma	41	20-35	0.0	—
Baltituk	1.9	21-33	0.0	—
Baltituk tributaries	0.33	23-28	0.9	30-203
Rio Cuyamel	—	—	14.1	27-134

Στον Πίνακα 1, το πιάσιμο των ψαριών ανά ώρα δείχνει ότι τον Ιανουάριο 1983 οι προέφηβοι *A. Monticola* ευρίσκοντο καθ' οδόν από τις εκβολές προς τους βασικούς παραπόταμους γύρω από το Baltituk, και τον Απρίλιο δεν ψαρέψαμε κανένα στην περιοχή ανάμεσα στις εκβολές και το Baltituk, παρά μόνο αντίθετα προς το ρεύμα του ποταμού.

2.3. Διατροφικές συνήθειες.

Το *J. richardi* είναι χορτοφάγο και διατρέφεται κυρίως με cyanophyte algae *Phormidium* spp, το οποίο αναπτύσσεται στην επιφάνεια των υποστρωμάτων του βυθού. Υπάρχει μικρή διαφορά σε ότι αφορά στην διατροφή μεταξύ των διαφόρων μεγεθών του *J. richardi*

(Σχ. 2). Εκτός από τις φυτικές ουσίες οι προέφηβοι *J. richardi* καταβροχθίζουν (ή καταναλώνουν περιστασιακά) Chironomids 2%, Hemiptera (λάρβη) 0,5%, Hymenoptera (λάρβη) 1% και άλλες ζωϊκές ουσίες 27%. Οι υποενήλικες καταναλώνουν ζωϊκές ουσίες σε ποσοστό 3% και οι ενήλικες 27%, μεγάλο μέρος του οποίου καλύπτεται από γαρίδες *Atya* του γλυκού νερού.

Το *A. Monticola* είναι εντομοφάγο και διατρέφεται κυρίως με υδρόβια έντομα. Φαίνεται ότι δεν υπάρχουν διατροφικές διαφορές μεταξύ των 3 ειδών *A. Monticola* ανάλογα με το μέγεθός τους (Σχ. 3). Στους προέφηβους, το Odonata αποτελεί το 25% της διατροφής, τα Hymenoptera το 14% η γαρίδα του γλυκού νερού το 8,9% και άλλα είδη σε μικρότερες ποσότητες. Στους έφηβους, το Odonata αποτελεί το 33% της διατροφής, άγνωστης ταυτότητας ζωϊκές ουσίες το 16%, *Atya* 6,4%, ενώ στους ενήλικες, οι άγνωστης ταυτότητας ζωϊκές ουσίες αποτελούν το 20,5%, το *Atya* 19%, το Odonata 16,6% και οι Characidae 17,8%.

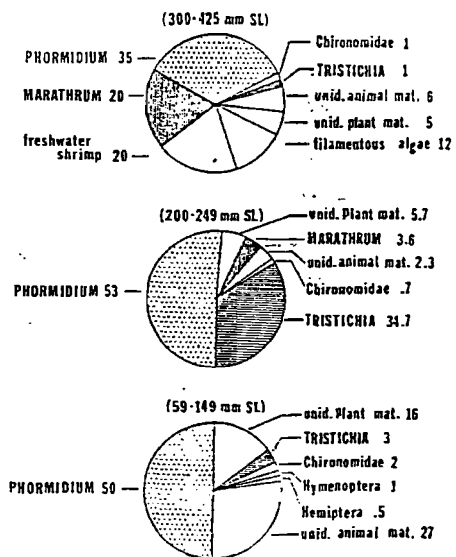


Figure 2. Composition in percent of food volume by three size groups of *Joturus richardi*.

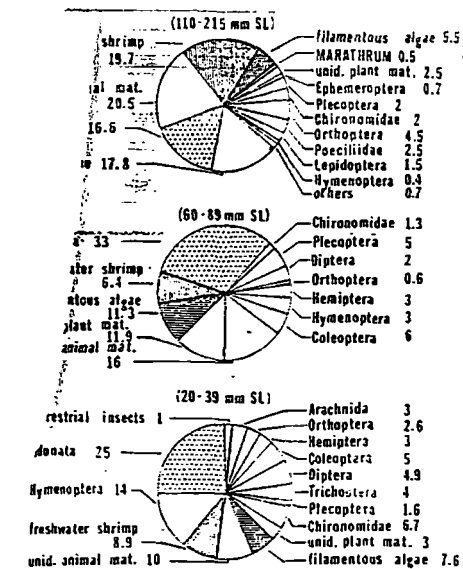


Figure 3. Composition in percent of food volume by three size groups of *Argoostomus monticola*.

2.4. Μήκος - βάρος και η Αναλογία σε ότι αφορά το Φύλο

Το γράφημα στο Σχήμα 4 είναι παρόμοιο και για τα δύο φύλα του *J. richardi*. Το μεγαλύτερο δείγμα που πιάσαμε κατά τη διάρκεια της μελέτης ήταν ένα θηλυκό *J. richardi* 460 mm SL και 2,111g, και το μικρότερο θηλυκό που προσδιορίσαμε ήταν 195 mm SL και 191 g. Το μεγαλύτερο αρσενικό *J. richardi* που πιάσαμε ήταν 400 mm SL και 1.304 g και το μικρότερο ήταν 100 mm SL και 26,5 g. Από τα 85 *J. richardi*, τα αρσενικά μέχρι 249 mm SL έδωσαν μια αναλογία της τάξης του 2,5 : 1 έναντι των θηλυκών, και στα αρσενικά που είναι μεγαλύτερα από 250 mm SL η αναλογία ήταν 2,6 : 1 υπέρ των θηλυκών. Η σχέση μήκους - βάρους για το *A. Monticola* (Σχ. 5) είναι παρόμοια για τα δύο φύλα. Το μεγαλύτερο δείγμα που πιάσαμε ήταν ένα θηλυκό 215 mm SL και 222 g. και είναι αρσενικό 125 mm SL και 47 g. Το μικρότερο θηλυκό που προσδιορίσαμε ήταν 41 mm SL και 1,7 g και το μικρότερο αρσενικό ήταν 50 mm SL και 3,2 g. Υπερτερούν ελαφρά σε συχνότητα τα θηλυκά έναντι των αρσενικών που είναι μεγαλύτερα από 100 mm SL.

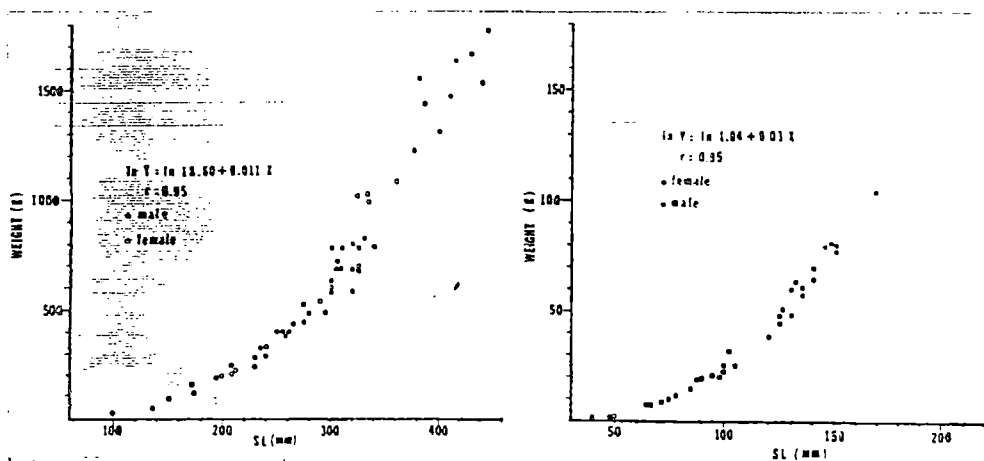


Figure 4. (Left) Length-weight relationship in *Joturus picnara*.

Figure 5. (Right) Length-weight relationship in *Agonostomus monticola*.

2.5. Αναπαραγωγή.

Το Νοέμβριο 1983, πιάστηκαν 17 *J. richardi* προς τα ανάντη του ποταμού Platano, από τα οποία τα 10 ήταν θηλυκά, τα 4 αρσενικά και τα υπόλοιπα 3 (350, 350, και 335 mm SL) χωρίς γενετική ανάπτυξη, έτσι ήταν αγνώστου φύλου. Από τα 10 θηλυκά, τα 5 έχουν SGI (Σωματικός Γεννητικός Κώδικας) 1,2, 1,6, 1,0, 1,5 και 1,0 με 415, 440, 430, 430 και 385 mm SL, αντίστοιχα, τα οποία ήταν στο στάδιο αμέσως μετά την ωοτοκία, με χαλαρούς γεννητικούς αδένες. Τα υπόλοιπα 5 θηλυκά, ίδιου περίπου μεγέθους, ήταν πλήρως ανεπτυγμένα με SGI 12,6, μόνο ένα όμως βρισκόταν σε κατάσταση διαρκούς ωριμότητας. Και τα 4 αρσενικά ήταν πλήρως ανεπτυγμένα, αλλά μόνο το ένα ήταν σε κατάσταση διαρκούς ωριμότητας.

Ο Σωματικός γεννητικός Κώδικας (SGI) του *J. richardi* φθάνει στη μέγιστη τιμή του το Νοέμβριο και για τα θηλυκά και για τα αρσενικά (Σχ. 6). Στο γράφημα γίνεται σύγκριση της εξέλιξης του κώδικα με τους όμβρους. Ατυχήσαμε στην προσπάθειά μας να πιάσουμε *J. richardi* στο ποτάμι χρησιμοποιώντας κάθετο δίχτυ μεγαλύτερο από εκείνο που χρησιμοποίησε με επιτυχία ο ντόπιος ψαράς από το Brus Lagoon κατά τους μήνες Νοέμβριο, Δεκέμβριο και Ιανουάριο του 1981 και του 1982. Την ίδια περίοδο είδαμε πολλά *J. richardi*, τα οποία είχε πιάσει και ξεράνει στον ήλιο ο ντόπιος ψαράς στο Brus Lagoon. Ο Σωματικός Γεννητικός Κώδικας (SGI) του *A. Monticola* (Σχ. 7) δείχνει ότι και το είδος αυτό έχει μεγάλη γενετική ανάπτυξη το Νοέμβριο στον ποταμό Platano. Όμως, το *A. Monticola* που πιάστηκε στον ποταμό Muchilena, στην περιοχή Omo, στις 16 Μαρτίου 1984, παρουσίασε υψηλότερο SGI απ' ό,τι τα *A. Monticola* που πιάστηκαν τον Απρίλιο του 1983 στον ποταμό Platano, ή τον Μάρτιο του 1984 στο Guanaza (ένα αρσενικό με SGI 9,5 και ένα θηλυκό με SGI 12,5 αποτελούν τους υψηλότερους δείκτες για το *A. Monticola* σ' αυτό το κείμενο).

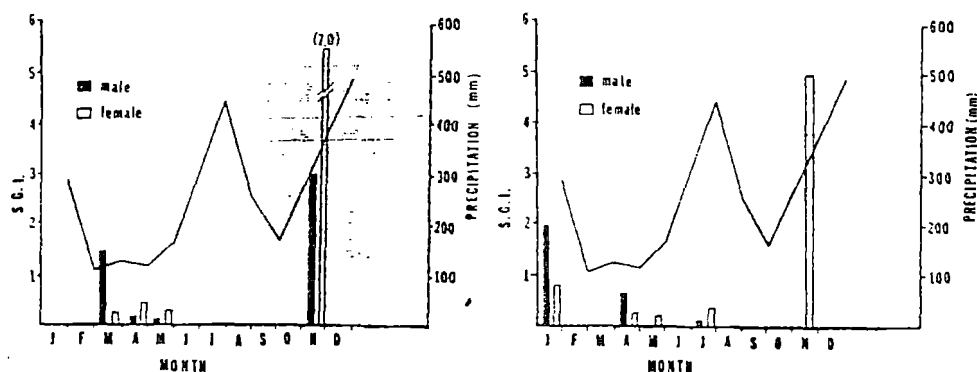


Figure 6. (Left) Monthly variation of the Somatic Gonadal Index (S.G.I.) in *Joturus richardi* related to the mean monthly rainfall.

Figure 7. (Right) Monthly variation of the Somatic Gonadal Index (S.G.I.) in *Agonostomus monticola*, related to the mean monthly rainfall.

2.6. Χαρακτηριστικά των αυγών του *Joturus*

Ωάρια και σπέρμα του *J. richardi* αναμείχθηκαν σε τρεις διαφορετικούς βαθμούς αλμυρότητας (30‰, 10‰ και 0 ‰) κάτω από ανεξέλεγκτες περιβαλλοντικές συνθήκες επί 48 ώρες σε θερμοκρασία που κυμαινόταν από 26°C μέχρι 31°C.

Το γονιμοποιημένο και ενυδατωμένο σφαιρικό αυγό με διάμετρο 0,6 mm έχει λείο χόριον χωρίς διακόσμηση αλλά τέλεια διαμορφωμένο, με λεία εσωτερική μεμβράνη και με τον κρόκο του αυγού χωρίς αυλακώσεις. Αυτό που βασικά χαρακτηρίζει τα αυγά του *J. richardi* είναι η παρουσία 50 - 100 άχρωμων λιποσφαιρίων, τα οποία συγκεντρώνονται στον άφυλο πόλο κατά το πρώιμο στάδιο της κατάτμησης. Τα λιποσφαίρια αυτά ποικίλουν σε μέγεθος και αριθμό ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης στο οποίο ευρίσκονται. Στο στάδιο της διαίρεσης του γονιμοποιημένου ωαρίου, τα λιποσφαίρια συγκεντρώνονται απέναντι από το μορίδιο και σμικρύνονται σε πολλά σταγονίδια. Τα μη γονιμοποιημένα και μη ενυδατωμένα αυγά του *J. richardi* δεν είναι τελειώς σφαιρικά, έχουν διάμετρο 0,3 mm, δεν έχουν περιλεκιθικό χώρο και τα λιποσφαίρια είναι κίτρινα και καταλαμβάνουν σχεδόν όλο το χώρο του κρόκου.

Κατά τη διάρκεια των πρώτων 20 ωρών, τα αυγά στους τρεις διαφορετικούς βαθμούς αλμυρότητας αυξήθηκαν σε όγκο και έφθασαν σε διάμετρο από 0,3 έως 0,6mm, ενώ παράλληλα, μεταβλήθηκαν από ακανόνιστη σε σχεδόν τέλεια σφαίρα. Μετά από 27 ώρες στο διάλυμα με 30‰ αλμυρότητα εμφανίστηκε πρόωρη ανάπτυξη, πράγμα το οποίο παρατηρήθηκε και στο διάστημα 10‰ αλμυρότητα μετά από 24 ώρες και στο νερό με 0‰ αλμυρότητα μετά από 18 ώρες (Σχ. 8). Η κατάτμηση του αυγού έφθασε στο στάδιο του μοριδίου μόνο στο νερό με 0‰ αλμυρότητα και η ανάπτυξη ήταν μεροβλαστικού τύπου. Κάναμε 22 στάσεις μεταξύ των εκβολών του ποταμού Platano και του Brus Lagoon τους μήνες Νοέμβριο και Δεκέμβριο του 1983 προς αναζήτηση αυγών του *J. richardi*, αλλά χωρίς επιτυχία. Στις εκβολές του Brus Lagoon εμφανίστηκαν τα περισσότερα αυγά και η λάρβη διαφόρων ειδών ψαριών, συμπεριλαμβανομένων 17 αυγών με έμβρυα που είχαν χαρακτηριστικά παρόμοια με εκείνα των αυγών του *J. richardi*, αλλά όμως τα έμβρυα είχαν περισσότερα μυσόμια απ' ό,τι ο αριθμός των σπονδύλων του *J. richardi*.

2.7. Γονιμότητα.

Τα μεγαλύτερα ώριμα θήλεα του *J. richardi* (460 mm SL) είχαν 5.100.000 αυγά σε 425 g γεννητικού βάρους άλλα θήλεα είχαν μεταξύ 1.400.000 αυγών σε 140 g γεννητικού βάρους. Το ώριμο θήλυ του *A. Monticola* είχε 300.000 αυγά σε 75 g γεννητικού βάρους.

2.8. Παράσιτα.

Δύο παράσιτα βρέθηκαν στο έντερο του ενήλικου *J. richardi*, από τα οποία το ένα, ένας νηματώδης σκώληκας, εμφανίζεται συχνά, ενώ το άλλο, ένας τρηματώδης σκώληκας, εμφανίζεται σπανιότερα. Οι νηματώδεις σκώληκες του *A. Monticola* δεν εμφανίζονταν συχνά. Στον ποταμό Platano, τα νεαρά *A. Monticola* μεταξύ 20 και 50 mm SL ήταν οι μόνοι κέφαλοι που πιάστηκαν και είχαν μολυνθεί από ένα ανεξακρίβωτο εξωτερικό παράσιτο με συχνότητα 1 προς 20 ψάρια που ψαρεύτηκαν τον Ιανουάριο και τον Απρίλιο. Αυτό το εξωτερικό παράσιτο δεν παρατηρήθηκε στα ενήλικα ψάρια.

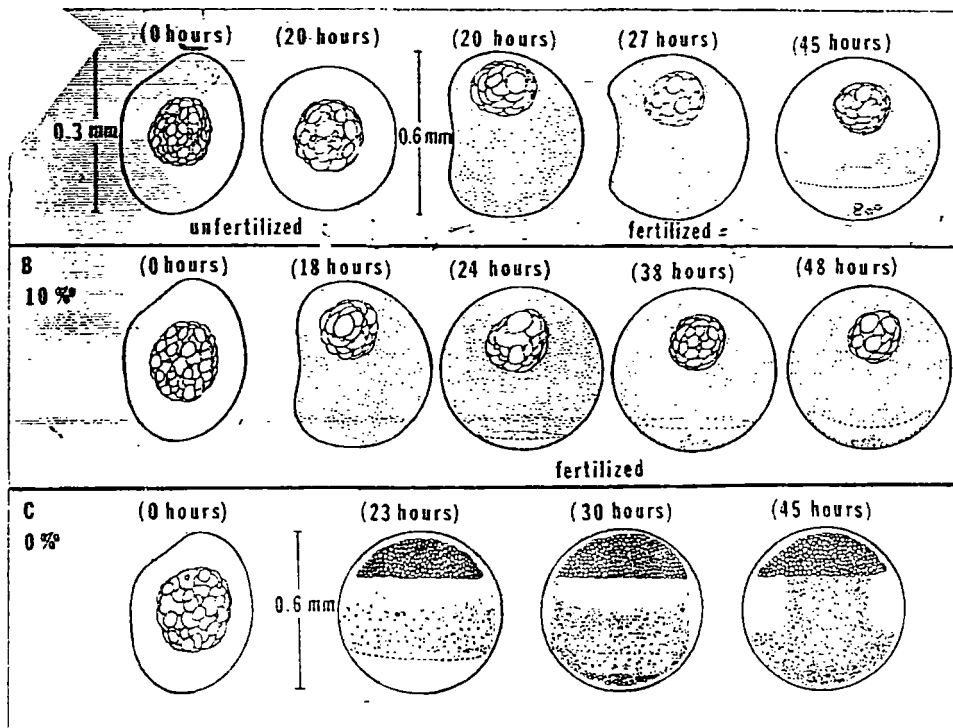


Figure 8. Development under artificial conditions of *Joturus richardi* eggs in three different salinities. A, at 30‰ an early egg development occurred too late. In unfertilized eggs the one cluster of big oil globules occupies almost all the yolk space. B, at 10‰ the early development appeared around 24 h. C, at 0‰ (freshwater) the morula stage was reached before 23 h, and the cluster of oil globules is reduced in size and number and is spread at the opposite morula pole.

3. ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ.

Υπάρχει ένας σαφής διαχωρισμός μεταξύ του *J. richardi* και του *A. Monticola* σχετικά με το φυσικό τους περιβάλλον. Η απουσία του φυκιού *Phormidium* spp ή του υποστρώματος για την ανάπτυξή τους στους μικρούς παραπτόταμους ίσως είναι ο περιοριστικός παράγοντας ύπαρξης εκεί του *J. richardi*.

Η προτίμηση του *A. Monticola* ως προς τους παραπτόταμους περισσότερο παρά ως προς τον κύριο ποταμό μπορεί να οφείλεται στην ύπαρξη εκεί χερσαίων εντόμων καθώς και στη δυνατότητα να τα πιάσει σε λιγότερο ταραχώδεις συνθήκες.

Το *J. richardi* θεωρείτο επί μακρό χρονικό διάστημα ότι αποτελούσε είδος *catadromous* (Lin, 1954), ακόμη και τότε που δεν υπήρχε λάρβη στη θάλασσα.

Ο Anderson (1957β) ανέφερε την ύπαρξη προεφήβων *A. Monticola* που περισυνελέγησαν από το ανοικτό πέλαγος. Σύμφωνα με τους ντόπιους ψαράδες και τις προσωπικές παρατηρήσεις, μόνο κατά τους μήνες Νοέμβριο και Δεκέμβριο πιάνεται το *J. richardi* σε κάθετα δίχτυα που τοποθετούνται στο Brus Lagoon. Οι ψαράδες αυτοί αναφέρουν ότι το *J. richardi* που πιάνεται μ' αυτόν τον τρόπο βρίσκεται στην μετά την ωοτοκία φάση. Δεν έχει δει κανείς ένα *J. richardi* να κολυμπά ελεύθερο στο Brus Lagoon, στη θάλασσα ή κατά την ωοτοκία, όπως περιγράφουν το *Mugil cephalus* ο Breder (1940) και οι Arnold και Thompson (1958), ή για το *M. Curema* ο Anderson (1957^α) και οι Caldwell και Anderson (1959). Τα κάθετα δίχτυα που προαναφέρθηκαν, ορισμένα από τα οποία έχουν μήκος 500 m και βάθος 2 m, μπορούν να πιάσουν μερικά *J. richardi* επί 2 ή 4 ημέρες όταν η στάθμη του νερού του ποταμού φθάσει στο υψηλότερο σημείο, μετά από τις ισχυρές βροχές του Νοεμβρίου και του Δεκεμβρίου. Κανένας ψαράς δεν έχει αναφέρει ότι έπιασε *J. richardi* κάποιο άλλο μήνα εκτός από το Νοέμβριο ή ότι έπιασε το Δεκέμβριο στο Brus Lagoon. Ορισμένοι ισχυρίζονται ότι έπιασαν *A. Monticola* αυτή την περίοδο, όμως εγώ δεν είδα κανένα τέτοιο ψάρι ανάμεσα σ' εκείνα που είχαν παστώσει και ξεράνει στον ήλιο.

Ο ερευνητής ρώτησε τα πληρώματα πολλών αλιευτικών γαριδάς στο Bay Island εάν είχαν συναντήσει *J. richardi* και *A. Monticola* ενώ φάρευαν με τράτα κατά μήκος της ακτής Mosquito J ποσοστό 5% απάντησε ότι το *J. richardi* ψαρεύεται μόνο όταν αυτοί ψαρεύουν με την τράτα, πολύ κοντά στην ακτή (500 μ. περίπου) και κανένας δεν ανέφερε με ακρίβεια ποια εποχή του χρόνου συμβαίνει αυτό, όλοι δεν επισήμαναν τη σπανιότητά του.

Λαμβάνοντας υπόψη όλες αυτές τις έμμεσες μαρτυρίες κρίνω ότι η εποχή ωοτοκίας του *J. richardi* είναι οι μήνες Νοέμβριος - Δεκέμβριος σε συσχετισμό με την υψηλή βροχόπτωση της εποχής των βροχών και ότι η έναρξή της οφείλεται σ' ένα άγνωστο ερέθισμα που προκαλείται από την ξαφνική άνοδο της στάθμης του νερού του ποταμού. Ορισμένα ώριμα ενήλικα *J. richardi* μεταναστεύουν για να γεννήσουν στον αφρό του γλυκού νερού που εισέρχεται στη θάλασσα και αμέσως επιστρέφουν στα ανώτερα ευθέα τμήματα του ποταμού. Έτσι, σε μια περίοδο ωοτοκίας διάρκειας 2 μηνών, μπορεί να υπάρχουν ομάδες από *J. richardi* που μεταναστεύουν για να γεννήσουν τα αυγά τους σε διάφορα ρεύματα του ποταμού.

Επίσης υπάρχει η ένδειξη ότι ορισμένα *J. richardi* έχουν μεν το μέγεθος των ενηλίκων, δεν είναι όμως σεξουαλικά ώριμα. Τα χαρακτηριστικά των αυγών του *J. richardi* είναι πελαγικού τύπου και πιστεύεται ότι το έμβρυο, μόλις φθάσει στο προεφηβικό στάδιο μέσα στη θάλασσα, κινείται προς την ακτή αναζητώντας την είσοδο προς το γλυκό νερό.

Το *A. Monticola* ακολουθεί βασικά την ίδια τακτική, και ο Δεκέμβριος και ο Ιανουάριος φαίνεται ότι είναι οι μήνες που επιστρέφει στο γλυκό νερό. Μέχρι τότε οι προέφηβοι έχουν αποκτήσει μέγεθος τουλάχιστον 20 mm SL.

Κατά τη διάρκεια της μετανάστευσής τους προς την ανάντη του ποταμού συνοδεύονται από λάρβη ψαριών και γαρίδας την οποία μπορεί να διακρίνει κανείς εύκολα σαν σύννεφα κατά μήκος των οχθών του ποταμού, και η οποία είναι παρόμοια, αλλά όχι τόσο συμπαγής, με την «Tismiche» που περιγράφεται από τους Gilbert και Kelso (1971).

Η εποχή και το μέγεθος του *J. richardi*, όταν αυτά φθάνουν στο γλυκό νερό, είναι άγνωστα. Το μέγεθος του έφηβου *J. richardi* που πιάστηκε στον ποταμό Cristales τον Ιούλιο μας κάνει να πιστεύουμε ότι η είσοδός τους ίσως έχει γίνει γύρω στον Ιανουάριο ή λίγο αργότερα.

Το γεγονός ότι δεν μπορέσαμε να συναντήσουμε προέφηβους του *J. richardi* στις εκβολές του ποταμού Platano κατά τους μήνες Νοέμβριο, Δεκέμβριο, Ιανουάριο και Φεβρουάριο σε μία περίοδο 3 ετών υποδηλώνει ότι ήταν ήδη δεινοί κολυμβητές την εποχή της άφιξής τους στο γλυκό νερό και ότι ανηφορίζουν στο ποτάμι όχι κοντά στις όχθες αλλά από το κέντρο του.

Μία παρόμοια αλλά καθημερινή μετακίνηση τις βραδυνές ώρες από το κέντρο προς τις όχθες όπου τα νερά είναι πιο ρηχά είναι γνωστή από το νεαρό *Mugil cephalus* (De Silva & Silva, 1979). Το γεγονός ότι σπάνια περισυλλέγονται προέφηβοι (μικρότεροι από 100 mm SL) *J. richardi* μπορεί να οφείλεται στο μεγάλο ποσοστό θνησιμότητάς τους ενώ αναζητούν έναν κατάλληλο παραπόταμο. Οι ποταμοί μπορεί να προσφέρουν διάφορες ευκαιρίες επιβίωσης επειδή στον ποταμό Cristales, για παράδειγμα, οι έφηβοι *J. richardi* επιβιώνουν, όμως το μικρό μέγεθος του ποταμού δεν μπορεί να συντηρήσει έναν ενήλικα πληθυσμό *Joturus*.

Στην προσπάθεια να γονιμοποιηθούν τεχνητά τα αυγά και το σπέρμα του *J. richardi* η ανάπτυξη απέτυχε κυρίως επειδή τα γενετικά πριόντα δεν είχαν πλήρως ενυδατωθεί. Το γεγονός αυτό εξηγεί τη σχετικά προχωρημένη ανάπτυξη που παρατηρείται στο γλυκό νερό μάλλον παρά στο αλμυρό ή στο υφάλμυρο νερό. Σ' ένα παρόμοιο πείραμα με *Mugil cephalus* που έκαναν οι Arnold και Thompson (1958) και με *M. Curema* που έκανε ο Anderson (1957^a) το μέγεθος του δοχείου ήταν ο βασικός ανασταλτικός παράγοντας.

Δεν υπάρχουν αρκετές πληροφορίες που να στηρίξουν την εναλλακτική πρόταση των Gilbert και Kelso (1971) σχετικά με την ωτοκία του *A. Monticola* στο γλυκό νερό και κατόπιν τη μεταφορά των αυγών στη θάλασσα.

Στην Ονδούρα, τουλάχιστον τρεις ποταμοί και μεγάλοι παραπόταμοι έχουν πάρει το όνομά τους από το όνομα «*cuyamei*» που χρησιμοποιούν οι ντόπιοι κάτοικοι για το *J. richardi*, επειδή μέσα σ' αυτούς κατοικούν μεγάλοι πληθυσμοί του *Joturus*. Οι γεωλογικοί και τοπογραφικοί χαρακτήρες αυτών των ποταμών μοιάζουν πολύ μεταξύ τους.

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

- ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΕ ΔΙΑΤΡΟΦΗ, ΝΕΟΓΝΩΝ ΚΕΦΑΛΩΝ ΜΕ ΡΑΒΔΩΣΕΙΣ.
- ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΟΙ ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΕΣ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΟΡΜΟΝΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ.

1. ΓΕΝΙΚΑ.

Ένα επισωματικό πλασμίδιο, το PYERT των 7,2 ζευγαριών κιλοβάσης, υπό τον έλεγχο του γλυκαλδεΰδη - 3 - φώσφορος αφυδρογονάση προαγωγέα, κατασκευάστηκε για ενδοκυτταρική έκφραση της ορμόνης ανάπτυξης CDNA (συμπληρωματικό DNA) της πολύχρωμης πέστροφας, στο ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae*.

Επίσης εξετάστηκε η πιθανότητα να χρησιμοποιηθούν ανασυνδυασμένοι ζυμομύκητες που περιέχουν PYERT σαν συντηρητικό τροφών για να βελτιωθεί η ανάπτυξη νεογνών κεφάλων με ραβδώσεις (*Mugil cephalus*).

Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι, τα ψάρια που τρέφονταν μία φορά ημερησίως με ένα γεύμα - βάση που περιείχε ανασυνδυασμένους ζυμομύκητες με ορμόνες ανάπτυξης (vGH) αναπτύχθηκαν γρηγορότερα απ' ό,τι τα ψάρια που τρέφονταν με δίαιτες που περιείχαν ζυμομύκητες χωρίς vGH και τα ψάρια σε μία ομάδα ελέγχου που δεν παρακολουθούνταν.

Οι κέφαλοι με ραβδώσεις που τράφηκαν με βάση δίαιτες με 2% vGH ζυμομύκητες, καλυμμένους με νάτριο και ζελατίνη, παρουσίασαν τις πιο σημαντικές διαφορές ($P < 0,01$) σε συνολικό βάρος, συγκεκριμένο ρυθμό ανάπτυξης και διατροφική επάρκεια σε σχέση με τις μη παρακολουθούμενες ομάδες ελέγχου μετά από 4 εβδομάδες. Επιπροσθέτως, η ανάπτυξη των ψαριών που τράφηκαν με δίαιτες με καλυμμένους ανασυνδυασμένους ζυμομύκητες ήταν καλύτερη από αυτή των ψαριών που έλαβαν την ίδια δόση αλλά από μη καλυμμένους ζυμομύκητες.

Τα αποτελέσματα από αυτή την έρευνα υποδεικνύουν ότι η χορήγηση vGH ζυμομυκήτων στην διατροφή, είναι ο πιο απλός τρόπος να γίνει οικονομικά εφικτή η χρήση vGH στις υδατοκαλλιέργειες.

Η ορμόνη ανάπτυξης (GH) είναι μία πολυπεπτιδική ορμόνη που παράγεται στα πρόσθια υποφυσικά κύτταρα για να ρυθμίσει την ανάπτυξη και το μεταβολισμό των σπονδυλωτών (Ganong 1983). Αυτή η ορμόνη βελτιώνει την όρεξη, τη διατροφική επάρκεια και τον ρυθμό ανάπτυξης των ψαριών.

Οι Donaldson (1979) και Zohar (1989) δήλωσαν ότι το GH ίσως είναι ο περισσότερο υποσχόμενος παράγοντας για την προώθηση της ανάπτυξης στις υδατοκαλλιέργειες.

Παρ' όλα αυτά η διαθεσιμότητα του φυσικού GH είναι εξαιρετικά περιορισμένη, επειδή η παρασκευή του από τις υποφύσεις των ψαριών είναι οικονομικά ασύμφορη.

Το συμπληρωματικό DNA (cDNA) το οποίο κωδικοποιεί το GH των ψαριών και η ανασυνδυασμένη ορμόνη, ανάπτυξη (vGH) είναι δυνατόν να βελτιώσουν το ρυθμό ανάπτυξης των ψαριών όταν δίνονται με ένεση (Sekine et al 1985: Agellon et al 1988: Sato et al 1988) ή όταν τα ψάρια βυθίζονται σε αυτά (Agellon et al 1988).

Επιπροσθέτως, το vGH των θηλαστικών επιτυγχάνει την ανάπτυξη διαφόρων ειδών ψαριών (Down et al 1988: Schulte et al 1989: Mc Lean et al 1990: Hertz et al 1991). Αυτά τα ευρήματα καθιστούν πρακτική τη χρήση του GH στις υδατοκαλλιέργειες.

Παρ' αυτά, προηγούμενες έρευνες έχουν επικεντρωθεί κυρίως σε τεχνικές χορήγησης GH όπως ένεση βύθιση ή εμφύτευση με οσμωτική αντλία (Higgs et al 1975, 1976, 1978: Gill et al 1985, Sekine et al 1985: Agellon et al 1988 : Down et al 1988: Sato et al 1988: Schulte et al 1989: Mc Lean et al 1990, Hertz et al 1991).

Προφανώς, η χορήγηση εξωγενούς GH στα ψάρια, μέσω αυτών των διαδικασιών δεν είναι απολύτως πρακτική στις υδατοκαλλιέργειες. Επιπροσθέτως, το περισσότερο εξεταζόμενο GH cDNA εκφράσθηκε με *Escherichia coli* κύτταρα (Sekine et al 1985 : Agellon & Chen 1986 : Saito et al 1988 : Rentier - Delrue et al 1989 : Sato et al 1989: Tsai et al 1993).

Παρ' αυτά το vGH που παράγεται από κύτταρα *E. Coli* έχει ένα μεγάλο μειονέκτημα: Το vGH συσσωρεύεται στο περικλειόμενο σώμα με μία μετουσιωμένη μορφή. Σαν αποτέλεσμα το vGH πρέπει να υποβληθεί σε επεξεργασία με έναν πολύπλοκο και οικονομικά ασύμφορο τρόπο για να επαναδιαταραχθεί ως φυσική μορφή πριν τη χρήση.

Ο « *Saccharomyces cerevisiae* », ένας ζυμομύκητας, θεωρείται πιο φιλόξενο κύτταρο για να επιτευχθεί η έκφραση του GH cDNA, όχι μόνο γιατί είναι ένα ευκαρυωτικό σύστημα το οποίο μπορεί να επεξεργαστεί το προϊόν του γονιδίου στη φυσική μορφή (Schuber et al 1986), αλλά επίσης γιατί είναι ένας ασφαλής οργανισμός. Έχει χρησιμοποιηθεί ως συστατικό της διατροφής των ψαριών και άλλων ζώων.

Ο προαγωγέας του γονιδίου γλυκαλδεΐδη - 3 - φώσφορος, αφυδρογονάση (GAPDH), το οποίο κωδικοποιεί ένα γλυκολικό ένζυμο, είναι ένας προαγωγέας υψηλής επάρκειας (Bitter & Egan, 1984), γιατί το GAPDH μπορεί να παράσχει το 5% του βάρους των ζυμομυκήτων που χρησιμοποιούνται στην αρτοποιεία (Krebs, 1953).

Το γονίδιο GAPDH έχει κλωνοποιηθεί και επεξεργαστεί (Holland & Holland 1979).

Ενας επισωματικός φορέας άμεσης έκφρασης, Ορ ΥΕ8, έχει κατασκευαστεί (Schaber et al 1986) και το GH cDNA της πολύχρωμης πέστροφας (Oncorhynchus mykiss) ήταν γενετικά οργανωμένο σ' αυτόν τον φορέα.

Ο φορέας μεταφέρει το cDNA στον ζυμομύκητα και οι μετατροπείς του ζυμομύκητα που τρέφουν το πλασμίδιο που έχει προκύψει, το ΡΥΕΤ βιοσυνθέτουν το νGH ενδοκυτταρικά, (Tsai et al 1993).

Ετσι, φαίνεται ότι η πλέον επιθυμητή και πρακτική προσέγγιση για τη μεταφορά του νGH στα ψάρια είναι η πρόσληψη από το στόμα ζυμομυκήτων που περιέχουν νGH που έχει κατασκευασθεί από προαγωγή GAPDH.

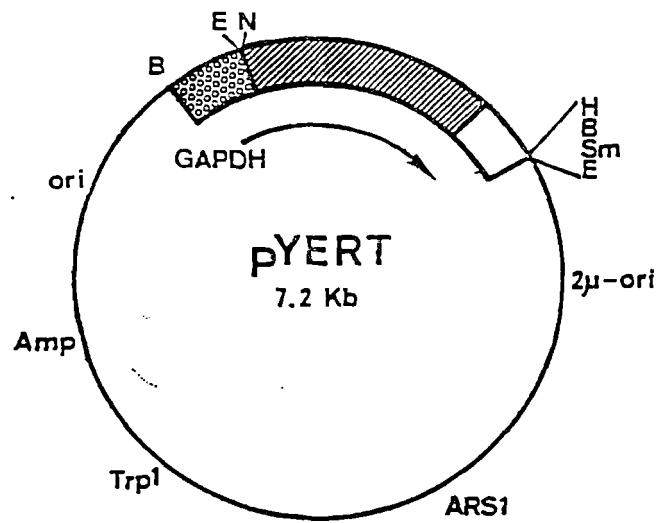
Παρ' όλα αυτά, δεν είχε υπάρξει απ' ότι γνωρίζουμε, ειδικευμένη εξέταση για την επήρεια της συμπερίληψης στην διατροφή, ζυμομυκήτων που περιέχουν νGH. Η μελέτη που αναφέρουμε εδώ αποτέλεσε μια τέτοια προσπάθεια. Το είδος ψαριού που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα ήταν ο κέφαλος με ραβδώσεις (*Mugil cephalus*).

2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ.

2.1. Η κατασκευή του πλασμιδίου

Η κωδικοποίηση του GH cDNA για το GH πολυπεπτίδιο της πολύχρωμης πέστροφας, ανακτήθηκε με πέψη του πλασμιδίου pAF 51 (Agellon & Chen, 1986) με Ecor 1.

Μετά, το GH cDNA της πολύχρωμης πέστροφας ενώθηκε στην περιοχή Ecor 1 του PYE8, το οποίο ελεγχόταν από τον προαγωγέα GAPDH. Το πλασμίδιο που προέκυψε, το PYERT έχει μοριακό βάρος 7,2 ζευγάρια κιλοβάσης και φαίνεται στο σχήμα 1.



ΣΧΗΜΑ 1.

Σχήμα για την κατασκευή του πλασμιδίου PYERT. Ο γονιδιακός προαγωγέας (GAPDH) του γλυκαλδεϋδη -3- φώσφορος είναι το τμήμα με τις κουκίδες το rGH cDNA είναι το γραμμωμένο κουτί και το GH είναι στην 3^η μη-κωδικοποιημένη περιοχή (κενό τμήμα): Το «ori» είναι η προέλευση του αντιγράφου του E. Coli πλασμιδιακού συστήματος.

«Amp» είναι το γονίδιο - αντοχής της αμπικιλίνης (σύμβολο επιλογής για τα κύτταρα E. Coli). «Trp 1» είναι το «5 - phosphoribosylanthranilate» ισομερές γονίδιο (σύμβολο επιλογής για τα κύτταρα των ζυμομυκήτων).

Το ARS σημειώνει τις επιπτώσεις της αυτόνομης αντιγραφής του πλασμιδίου των ζυμομυκήτων: το 2μ - ori η αρχική περιοχή αντιγραφής του 2-μμ κυκλικού πλασμιδίου του ζυμομύκητα. Το βέλος υποδεικνύει την διεύθυνση της μεταγραφής. Οι ενδονουκλεάσεις είναι : B, Bam H I, E, Ecor I, H, Hind III, N Nde I, & Sm, Sma I.

2.2. Τύποι και συνθήκες καλλιέργειας.

Saccharomyces cerevisiae 20B12 (MAT - α, *pep 4 - 3 trp 1* : Jones, 1976) χρησιμοποιήθηκε για τη μετατροπή, με τη μέθοδο του λίθιου (Ausubel et al 1989). Οι μετατροπείς των ζυμομυκήτων που τρέφουν το PYE ή PYERT μπορούν να αναπτυχθούν κατά YM μέσο (0,17% ζυμομύκητας βάσης αζώτου χωρίς αμινοξέα, 0,5% αμμωνιακό σουλφίδιο και 2% δεξτρόση, σε 30°C για 3-5 d.

Το YM είναι ένα ελάχιστο μέσο που χρησιμοποιείται για να επιλέξει τους ζυμομύκητες που είναι *trp*, συμπληρωμένοι με επισωματικό φορέα.

Οι αναπτυγμένες αποικίες καλλιεργήθηκαν σε YPD μέσο (1% λήμμα ζυμομύκητα, 2% «peptone» και 2% δεξτρόση), ένα αθλούσιο μέσο ούτως ώστε να επιτευχθεί υψηλότερη πυκνότητα των κυττάρων.

Οι μετατροπείς επεξεργάστηκαν περαιτέρω με ανάλυση των περιεχομένων τους, σε πλασμίδια και αφού τα πλασμίδια έχουν απομονωθεί από τους ζυμομύκητες και μετατραπεί σε *E. Coli* (Ausubel et al 1989).

Ο τύπος Y-105, ένας ανασυνδυασμένος ζυμομύκητας που τρέφει το PYERT, παράγαγε το *vGH* πολυλεπτιδίο: ο τύπος C ήταν ο μετατροπέας του ζυμομύκητα που περιείχε τον PYE8 φορέα χωρίς την προσθήκη.

2.3. Προετοιμασία ζυμομυκήτων ως πρόσθετα τροφών.

Οι τύποι C και Y-105 καλλιεργήθηκαν χωριστά σε YM μέσο ώσπου η γλυκόζη εξαντλήθηκε: ακολούθως, μεταφέρθηκαν σε συγκεντρωμένο σε YPD μέσο (12,5% λήμματα από ζυμομύκητες, 7,5% «peptone» και 31,3% δεξτρόση, όλα χρησιμοποιούμενα για να διατηρήσουν το αναπνευστικό πηλίκιο μεταξύ 0,8 και 1,05) ώσπου η «οπτική» πυκνότητα στα 660 nm έφτασε 150 - 160. Τα κύτταρα ήταν φυγόκεντρα σε 7.000 X έλξη για 10 λεπτά στους 4°C. Οι σφαίρες πλύθηκαν με 0,1M ρυθμιστικό διάλυμα φωσφόρου (pH 7) και επανήρθαν σε συγκέντρωση $4,8 \times 10^8$ κύτταρα/ ml. Ορισμένα δείγματα ζυμομυκήτων επεξεργάστηκαν περαιτέρω με καλυμμένα κύτταρα βάσει της μεθόδου που περιγράφηκε από τον Cho et al (1985), με κάποιες μετατροπές. Αυτά τα κύτταρα αναμείχθηκαν με 1,6% (βάρους : όγκος, w/v) φθωριούχο «alginate» και 0,5% (w/v) ζελατίνη και ακολούθως φτιάχτηκαν με ένα διάλυμα $CaCl_2$.

Οι ψυχρώς - ξηροποιημένοι, καλυμμένοι ή ακάλυπτοι ζυμομύκητες, σύντομα μετατράπηκαν σε μία σκόνη που περιείχε στοιχεία που ποίκιλλαν μεταξύ 20 και 50 μm σε διάμετρο.

Η σκόνη βασικού γεύματος (44% ανεπεξέργαστες πρωτεΐνες, 3% ανεπεξέργαστα λίπη, 13% υγρασία και 16,5% στάχτη) επαναρτήθηκαν με 70% νερό και αναμείχθηκαν με τη σκόνη επεξεργασμένων ζυμομυκήτων στις επιθυμητές αναλογίες που δίδονται παρακάτω.

Οι σφαίρες των τροφών με μία διάμετρο 2 mm και μήκη 5 - 7 mm κατασκευάστηκαν με διαμορφωτή σφαίρας (Brabantia, The Netherlands). Μετά οι σφαίρες ξηροποιήθηκαν με ρεύμα αέρα στους 35 C για 12 ώρες και αποθηκεύτηκαν στους -20 C.

2.4. Τα ψάρια και η χορήγηση από το στόμα.

Τετρακόσιοι οκτώ (408) νεογνοί κέφαλοι με ραβδώσεις χωρίστηκαν τυχαία σε 24 ομάδες των 20 (αρχικό μέσο συνολικό βάρος 42,6 g \pm 0,2 g SE).

Κάθε ομάδα ψαριών τοποθετήθηκε σε ξεχωριστό ενυδρείο (120 X 60 X 65 cm) κατασκευασμένο με αδιαφανή υλικά. Διατηρήθηκαν σε φυκική φωτοπερίοδο στους 19 - 21^o C για 4 εβδομάδες πριν να ξεκινήσει η μελέτη. Οι πειραματικές αντιμετωπίσεις ονομάστηκαν ως ακολούθως: (1) YEC, όπου τα ψάρια τρέφονταν με το βασικό γεύμα αναμεμιγμένο με τον καλυμμένο τύπο ζυμομύκητα Y - 105 : (2) YOC, όπου τα ψάρια τρέφονταν με το βασικό γεύμα αναμεμιγμένο με τον καλυμμένο τύπο C (3) YG, όπου τα ψάρια τρέφονταν με το βασικό γεύμα αναμεμιγμένο με τον ακάλυπτο τύπο Y-105: (4) YO, όπου τα ψάρια τρέφονταν με το βασικό γεύμα αναμεμιγμένο με ακάλυπτο τύπο C: και (5) η ομάδα όπου τα ψάρια τρέφονταν μόνο με το βασικό γεύμα.

Τρεις δόσεις ζυμομυκήτων, 0,5, 2 και 8% του συνολικού βάρους της διατροφής δοκιμάστηκαν στις ομάδες YGC, YOC & YG: ενώ 2 μόνο δόσεις, 2 και 8%, δοκιμάστηκαν στην ομάδα YO.

Κάθε πείραμα αντιγράφηκε. Τα ψάρια τρέφονταν μόνο με τις προαναφερθείσες δόσεις μία φορά ημερησίως με το ποσό του 7% του συνολικού βάρους για διάστημα ενός μήνα.

Η μέτρηση του συνολικού υγρού βάρους των ψαριών σε κάθε ομάδα γίνονταν 2 φορές την εβδομάδα. Οι συγκεκριμένοι ρυθμοί ανάπτυξης, η επάρκεια των τροφών και οι παράγοντες των συνθηκών εκτιμήθηκαν με βάση την φόρμουλα που περιγράφηκε από τον Takeuchi (1988). Ο συγκεκριμένος ρυθμός ανάπτυξης επί τοις εκατό ανά μέρα είναι $100 [\log_e (WT) - \log_e (Wt)] / (T-t)$, όπου WT και Wt είναι βάρη (g) στις τελικές (T) και στις αρχικές (t) μέρες.

Η επάρκεια σε τροφή είναι $[\text{κερδισμένο υγρό βάρος (g)}] / [\text{ξηρά τροφή προς κατανάλωση (g)}]$. Ο παράγοντας των συνθηκών είναι $1.000 W/L^3$, όπου L είναι το μήκος του πηρουινιού (cm).

2.5. Στατιστικές αναλύσεις.

Οι στατιστικές αναλύσεις των συνολικών υγρών βαρών, των εκατοστιαίων κερδών σε βάρος σε σχέση με τα αρχικά βάρη, οι συγκεκριμένοι ρυθμοί ανάπτυξης και η επάρκεια των τροφών συγκρίθηκαν με μονόδρομη ανάλυση των αντιθέσεων (Statgraphics έκδοση 4) Για να προσδιοριστούν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων έγινε χρήση του τεστ πολλαπλού φάσματος του Duncan. Χρησιμοποιήθηκε το 99% επίπεδο πεπτοίησης ($P < 0,001$) εκτός κι αν αναφέρεται κάτι το διαφορετικό.

3. ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.

Οι επιρροές της χρήσης του vGH ζυμομύκητα ως πρόσθετο διατροφής, στην ανάπτυξη των νεογνών κεφάλων με ραβδώσεις, κατά την διάρκεια της πειραματικής περιόδου των 4 εβδομάδων, απεικονίζονται στους πίνακες (1) και (2).

Σημαντικές διαφορές ($P < 0,01$) στο μέσο συνολικό υγρό βάρος, παρατηρήθηκαν μεταξύ των πειραματικών ομάδων και της ομάδας με την οποία δεν πειραματιστήκαμε, την 2^η εβδομάδα (πίνακας 1).

Οι ομάδες που τράφηκαν με δίαιτες των 0,5% και 2% καλυμμένων vGH ζυμομυκήτων (YGC - 0,5 & 2) ήταν πολύ διαφορετικές από την ομάδα που δεν πειραματιστήκαμε, την ομάδα «ελέγχου». Η σύγκριση των συνολικών υγρών βαρών, των συγκεκριμένων ρυθμών ανάπτυξης και της επάρκειας των τροφών των υπολοίπων ομάδων ψαριών σε σχέση με την ομάδα «ελέγχου» απεκάλυψε διάφορες στατιστικά σημαντικές διαφορές την 4^η εβδομάδα (Πίνακας 2).

Οι ομάδες που προσελάμβαναν τους vGH ζυμομύκητες (YGC-0,5, 2 και 8: YG - 0,5 , 2 και 8) αναπτύχθηκαν καλύτερα απ' ότι οι ομάδες που τρέφονταν με μη ανασυνδυασμένους ζυμομύκητες (YOC - 0,5, 2 και 8 : YO 2 και 8) και την ομάδα «ελέγχου».

Γι' αυτό το λόγο, τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι η προώθηση της ανάπτυξης των νεογνών κεφάλων με ραβδώσεις, μπορεί να είναι αποτέλεσμα της αντίληψης της φυσιολογικά ενεργής ανέπαφης μορφής ή τμήμα αυτής, του Gh πολυπεπτιδίου που παράγεται ενδοκυτταρικά από τα κύτταρα ζυμομυκήτων. Συνεπώς τα αποτελέσματά μας, υποστηρίζουν αυτά άλλων μελετών που έχουν δείξει επιταχυνόμενη ανάπτυξη των νεογνών χελιών από την Αμερική (*Anguilla rostrata*) που ακολούθησαν χορήγηση στην διατροφή φυσικού ζωϊκού GH (Dagani & Gallagher, 1985) και του σολωμού (*Oncorhynchus kisutch*) για τον οποίο ακολουθήθηκε πρόσληψη από το στόμα ανασυνδυασμένων ζωϊκού GH (Mc Lean et al 1990).

Έχει δειχθεί ότι γίνεται απορρόφηση ανέπαφων πρωτεϊνών από το έντερο της πολύχρωμης πέστροφας η οποία έχει όξινη πέψη (Georgorouliou et al 1986) και επίσης έχει δειχθεί η εμφάνιση GH στην ροή του αίματος της πολύχρωμης πέστροφας αφού έχει ακολουθηθεί πρωκτική χορήγηση ή χορήγηση από το στόμα (Moriyama et al 1989; Hertz et al 1991). Παρ' όλα αυτά, είναι πιθανό ότι μεγαλύτερες ποσότητες του vGH επιβιώνουν, μετά την πρόσληψη από τα ψάρια χωρίς όξινη πέψη, όπως ο κέφαλος με ραβδώσεις και συνεπώς απορροφάται περισσότερη ορμόνη κατά μήκος των εντερικών κυττάρων του κέφαλου σε σχέση με τα ψάρια με όξινη πέψη, όπως η πολύχρωμη πέστροφα.

Η σύγκριση μεταξύ των ομάδων στις οποίες χορηγήθηκαν vGH ζυμομύκητες την 4^η εβδομάδα (Πίνακας 2) απεκάλυψε ότι η μέση ανταπόκριση ως προς την ανάπτυξη της ομάδας YGC-2 ήταν η υψηλότερη στο επί % κέρδος σε σχέση με το αρχικό βάρος (98+- 1,48%) συγκεκριμένο ρυθμό ανάπτυξης (2,44 +- 0,03%/d) και επάρκεια σε τροφή (0,47 +-0,005).

Τα ψάρια της ομάδας YGC-2 παρουσίασαν σημαντικά καλύτερη απόδοση ($P<0,01$) απ' ότι αυτά της ομάδας ελέγχου, επειδή το εκατοστιαίο κέρδος σε σχέση με το αρχικό βάρος, ο συγκεκριμένος ρυθμός ανάπτυξης και η επάρκεια σε τροφή ήταν 76,7+-1,00%, 2,04 +- 0,002%/d και 0,38+- 0,004, αντιστοίχως. Ο ρυθμός ανάπτυξης των ψαριών της ομάδας YGC-2 ήταν περίπου 22% γρηγορότερος από αυτόν των ψαριών της ομάδας ελέγχου. Τα στοιχεία μας υποδεικνύουν ότι η προσθήκη 2% vGH ζυμομυκήτων στο γεύμα - βάση παρείχε την πιο αποτελεσματική δόση για την προώθηση της ανάπτυξης σε αυτά τα πειράματα.

Τα αποτελέσματα έδειξαν σαφώς ότι οι νεογνοί κέφαλοι με ραβδώσεις που προσλαμβάνουν 2% καλυμμένους vGH ζυμομύκητες (YGC-2) αναπτύσσονται γρηγορότερα απ' ότι αυτοί που προσλαμβάνουν 0,5% καλυμμένους vGH ζυμομύκητες.

Παρομοίως, τα ψάρια που προσλαμβάνουν 0,5% μη καλυμμένους (YG-0,5). Παρ' όλα αυτά, το ανέπαφο vGH στους ζυμομύκητες, που απορροφήθηκε από τους κέφαλους με ραβδώσεις, μέσω χορήγησης από το στόμα, δεν εξαρτήθηκε απόλυτα από την δόση.

Οι ομάδες στις οποίες χορηγήθηκε 8% vGH ζυμομύκητας, είτε σε καλυμμένη (YGC - 8) είτε σε μη καλυμμένη μορφή (YG - 8), δεν αναπτύχθηκαν καλύτερα από εκείνες τις ομάδες, στις οποίες χορηγήθηκαν 0,5% δόσεις (YGC-0,5 και YG - 0,5) ή 2% δόσεις (YGC - 2 και YG - 2).

Γίνεται κατανοητό ότι η δόση 8% ήταν υπερβολική για την ανάπτυξη του κέφαλου με ραβδώσεις.

Το συμπέρασμα αυτό είναι συνεπές προς εκείνο στο οποίο φτάσαμε, ακολουθώντας χορήγηση vGH, αποκτηθέντος από E. Coli, στην πολύχρωμη πέστροφα (Agellon et al 1988).

Η ανταπόκριση στην ανάπτυξη που παρατηρήθηκε στα ψάρια που προσέλαβαν 2% καλυμμένους vGH ζυμομύκητες (YGC - 2) ήταν ανώτερη από εκείνη των ψαριών που προσέλαβαν την ίδια δόση αλλά μη καλυμμένων vGH ζυμομυκήτων (YG-2). Μια παρόμοια τάση διαπιστώσαμε στις ομάδες που προσέλαβαν 0,5%καλυμμένων έναντι μη καλυμμένων vGH ζυμομυκήτων (YGC - 0,5 έναντι VG-0,5).

Ετσι, αποδείχθηκε ότι η κάλυψη ανασυνδυασμένων ζυμομυκήτων με φθοριούχο «alginate» και ζελατίνη, ήταν αποτελεσματική. Υποστηρίζουμε ότι το vGH στα καλυμμένα κύτταρα. Είναι πιθανό ότι η κάλυψη αυτή καθ'αυτή προώθησε την ανάπτυξη.

Ο Mc Lean et al (1990) ανέφερε ότι μεγαλύτερες ποσότητες ανασυνδυασμένων ζωϊκών σωματοτρόπων (vbst) έφθασαν σε επίπεδα εντερικής απορρόφησης όταν το vbst χορηγήθηκε μαζί με αντιόξινη ουσία. Εάν και κατά πόσο η διαδικασία της κάλυψης είναι εξίσου χρήσιμη για ψάρια που έχουν όξινη πέψη, είναι κάτι που πρέπει να διερευνηθεί.

Η επάρκεια σε τροφή των ομάδων που προσέλαβαν vGH ζυμομύκητες (ομάδες YGC & YG) ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη των ομάδων που δεν προσέλαβαν vGH ζυμομύκητες (ομάδες YOC και YO) και της ομάδας ελέγχου.

Υποστηρίζουμε ότι η βελτίωση της επάρκειας σε τροφή ήταν ένας σημαντικός λόγος για τον βελτιωμένο ρυθμό ανάπτυξης στις ομάδες, στις οποίες χορηγήθηκαν vGH ζυμομύκητες.

Οι παράγοντες των συνθηκών μειώθηκαν από 0,8 σε 0,4 για όλες τις ομάδες κατά την διάρκεια των πειραμάτων και δεν υπήρξαν διαφορές μεταξύ της ομάδας ελέγχου και των υπολοίπων ομάδων.

Γι'αυτό, η χορήγηση vGH ζυμομυκήτων στους νεογνούς κέφαλους με ραβδώσεις παρείχε μία σημαντική αύξηση τόσο στο βάρος τους όσο και στο μήκος τους. Αυτό το αποτέλεσμα δεν έχει παρατηρηθεί κατά την χορήγηση GH στον ωκεάνιο σολωμό (Higgs et al 1975: Gill et al 1985).

Οι παράγοντες που ρυθμίζουν τις συνθήκες στα ψάρια ελλατώθηκαν και προέκυψε το συμπέρασμα ότι στα ψάρια που χορηγήθηκε GH παρουσιάστηκε γρηγορότερη ανάπτυξη σε μήκος απ' ότι σε βάρος σε σχέση με τα ψάρια της ομάδας ελέγχου.

Εναντιθέτως, η χορήγηση vGH, παραγόμενου από E. Coli, στις πολύχρωμες πέστροφες και σε δόσεις των 0,2 και 1 mg/gr ψαριού προκάλεσε την αύξηση των παραγόντων των συνθηκών (Agellon et al 1988).

Οι πολύχρωμες πέστροφες στις οποίες χορηγήθηκε GH εμφανίστηκαν να έχουν περισσότερο σημαντική αύξηση σε βάρος απ' ό,τι σε μήκος και οδηγηθήκαμε στο συμπέρασμα ότι αυτό πιθανώς οφειλόταν σε κάποιες μετατροπές των δραστηριοτήτων του vGH. Παρ' όλα αυτά, αυτό το φαινόμενο δεν παρατηρήθηκε στο παρόν πείραμα. Αυτό το αμφιλεγόμενο αποτέλεσμα, μπορεί να οφείλεται στην διαδικασία χορήγησης vGH, στα είδη και στην φυσιολογική κατάσταση των εξεταζόμενων ψαριών, καθώς και στην εποχή. Επιπροσθέτως, παραμένει ακόμη το ερώτημα εάν και κατά πόσο η βιολογική δραστηριότητα του vGH που προέρχεται από διάφορες πηγές, επηρεάζει τους παράγοντες των συνθηκών.

Τα ψάρια που προσέλαβαν ζυμομύκητες χωρίς vGH (YOC - -0,5,2 και 8: YO-2 και 8) αναπτύχθηκαν γρηγορότερα απ' ό,τι αυτά της ομάδας ελέγχου τα οποία τρέφονταν μ' ένα γεύμα - βάση χωρίς ζυμομύκητες (Πίνακας 2). Γι' αυτόν τον λόγο πιθανώς, οι ζυμομύκητες βελτίωσαν την συνολική θρεπτική αξία της διατροφής. Παρ' όλα αυτά, οι αυξήσεις σε βάρος, των ψαριών που προσέλαβαν ζυμομύκητες που δεν περιείχαν vGH, ήταν χαμηλότερες απ' ό,τι εκείνες των ψαριών που τους χορηγήθηκαν vGH ζυμομύκητες.

Σχετικά με την χρονοβόρα και περίτεχνη διαδικασία της χορήγησης με ένεση (Sekine et al 1985: Agellon et al 1988: Sato et al 1988), απορρόφηση (Agellon et al 1988: Schulte et al 1989), εμφύτευση (Down et al 1988) και πρόσληψη από το στόμα (Moriyama et al 1989: Mc Lean et al 1990: Hertz et al 1991), η άμεση διατροφή των ψαριών με δίαιτες που περιέχουν μία βιολογική ενεργή μορφή vGH φαίνεται ότι είναι ο απλούστερος τρόπος για οικονομική χορήγηση vGH σε καλλιεργούμενα ψάρια. Επιπροσθέτως, αυτή η προσέγγιση δεν απαιτεί καμιά πολύπλοκη διαδικασία για απομόνωση των συνυπολογιζόμενων σωμάτων, επαναδιάταξη του vGH ή καμιά περεταίρω επεξεργασία του vGH και δεν προκαλεί καμιά πίεση στα ψάρια όσο αυτά αποτελούν τα αντικείμενα των πειραμάτων.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1

Οι συνέπειες της χορήγησης στην διατροφή των ψαριών, ανασυνδυασμένων ζυμομυκήτων με αναπτυξιακή ορμόνη, σε σχέση με το συνολικό υγρό βάρος των νεογνών κεφάλων με ραβδώσεις, σε κάθε ομάδα κατά την διάρκεια της περιόδου των 4 εβδομάδων.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2

Οι συνέπειες της χορήγησης από το στόμα ανασυνδυασμένων ζυμομυκήτων με αναπτυξιακή ορμόνη, σε σχέση με τον συγκεκριμένο ρυθμό ανάπτυξης και την επάρκεια σε τροφή των νεογνών με ραβδώσεις, σε κάθε ομάδα κατά την διάρκεια της περιόδου των 4 εβδομάδων.

TABLE 1.—Effects of recombinant growth hormone yeasts administered in the diet on the total wet weight of juvenile striped mullet in each group over a 4-week period.^a

Group	Weight (g) at week:		
	0	2	4
Control	42.7 ± 0.3 z	60.8 ± 0.2 w	75.5 ± 0.1 t
YGC-0.5	42.8 ± 0.1 z	61.6 ± 0.1 y	79.6 ± 0.3 x
YGC-2	43.0 ± 0.2 z	62.3 ± 0.2 z	85.1 ± 0.2 z
YGC-8	42.7 ± 0.1 z	61.4 ± 0.1 xy	78.3 ± 0.3 w
YOC-0.5	42.5 ± 0.2 z	61.1 ± 0.1 wxy	75.8 ± 0.1 t
YOC-2	42.5 ± 0.3 z	61.0 ± 0.1 wx	77.0 ± 0.1 uv
YOC-8	42.5 ± 0.1 z	60.9 ± 0.1 wx	76.9 ± 0.1 uv
YG-0.5	42.6 ± 0.2 z	61.3 ± 0.1 wxy	78.2 ± 0.1 w
YG-2	42.7 ± 0.1 z	61.4 ± 0.1 xy	80.2 ± 0.1 y
YG-8	42.6 ± 0.2 z	61.2 ± 0.3 wxy	78.4 ± 0.0 w
YO-2	42.5 ± 0.2 z	60.9 ± 0.1 wx	76.8 ± 0.1 u
YO-8	42.6 ± 0.1 z	60.8 ± 0.1 wx	77.4 ± 0.1 v

TABLE 2.—Effects of oral administration of recombinant growth hormone yeasts on specific growth rate and feed efficiency of juvenile striped mullet in each treatment over a 4-week period.^a

Group	Specific growth rate (%/d)	Feed efficiency (g gained/ g fed)
Control	2.04 ± 0.02 s	0.38 ± 0.004 t
YGC-0.5	2.22 ± 0.03 xy	0.42 ± 0.006 xy
YGC-2	2.44 ± 0.03 z	0.47 ± 0.005 z
YGC-8	2.16 ± 0.00 vw _x	0.41 ± 0.002 uv _w
YOC-0.5	2.07 ± 0.01 st	0.38 ± 0.002 t
YOC-2	2.12 ± 0.03 tuv	0.40 ± 0.005 uv
YOC-8	2.12 ± 0.02 tuv	0.40 ± 0.003 uv
YG-0.5	2.17 ± 0.01 vw _x	0.41 ± 0.002 vw _x
YG-2	2.26 ± 0.01 y	0.43 ± 0.003 y
YG-8	2.19 ± 0.02 wx	0.41 ± 0.005 wx
YO-2	2.10 ± 0.01 stu	0.40 ± 0.002 u
YO-8	2.14 ± 0.01 uv _w	0.40 ± 0.001 uv _w

ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ

ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΣΚΟΝΗΣ ΑΠΟ ΔΥΟ ΕΙΔΗ ΝΕΟΓΝΩΝ ΚΕΦΑΛΩΝ ΚΑΙ Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΣΚΟΝΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥΣ.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.

Νεογνοί άσπροι κέφαλοι (*Mugil curema*) και νεογνοί κέφαλοι με ραβδώσεις (*Mugil cephalus*) ενεργά προσέλαβαν θαλάσσια σκόνη στο εργαστήριο. Αυτή είναι η πρώτη πειραματική επιβεβαίωση της κατανάλωσης θαλάσσιας σκόνης από ένα σπονδυλωτό.

Τα περιεχόμενα του στομαχιού των ψαριών που τράφηκαν με θαλάσσια σκόνη στο εργαστήριο, συγκρίθηκαν με αυτά των ψαριών που συλλέξαμε από την εκβολή του ποταμού Charleston Harbor που βρίσκεται στην Νότια Καρολίνα, στις ΗΠΑ και αυτά των ψαριών που συλλέξαμε από τις ακτές του Ατλαντικού ωκεανού.

Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι οι νεογνοί κέφαλοι καταναλώνουν θαλάσσια σκόνη στο φυσικό περιβάλλον.

Στα πειράματα επιλογής φαγητού, στα οποία δόθηκε στους κέφαλους η δυνατότητα επιλογής μεταξύ θαλάσσιας σκόνης και ζωοπλαγκτόν, η κατανάλωση της θαλάσσιας σκόνης ήταν αντιστρόφως ανάλογη προς τις συγκεντρώσεις του ζωοπλαγκτόν.

Οι κέφαλοι απορρόφησαν οργανικές ύλες και αμινοξέα από τη θαλάσσια σκόνη, σε επίπεδα του 49,2 και 55,8% αντιστοίχως. Αυτά τα επίπεδα είναι συγκρίσιμα με εκείνα των ψαριών που τρέφονται με βενδικά τρίμματα.

Η Συμβολή της θαλάσσιας σκόνης στην ανάπτυξη των νεογνών κεφάλων ερευνήθηκε με πειράματα - για την ανάπτυξη- κατά τα οποία οι κέφαλοι τράφηκαν με διαφορετικούς συνδυασμούς θαλάσσιας σκόνης και ζωοπλαγκτόν (*Artemia* sp). Οι κέφαλοι δεν παρουσίασαν θετική ανάπτυξη ως προς την δαίαιτα με θαλάσσια σκόνη (συγκεκριμένος ρυθμός ανάπτυξης = - 1,34 d⁻¹) Η θαλάσσια σκόνη συνέβαλε στην δαίαιτα των κεφάλων ελαττώνοντας την απώλεια βάρους (κατά 50%), ιδιαίτερα όταν συμπληρώθηκε ζωοπλαγκτόν (ένα συμπληρωματικό 50%).

1.1. ΓΕΝΙΚΑ.

Η θαλάσσια σκόνη, που φυσικά, παρατηρείται μακροσκοπικά ως σκόνη αιωρούμενων τμημάτων, είναι ένα σχεδόν παγκόσμιο συστατικό των αιωρούμενων υλικών στους ωκεανούς (Trent et al 1978, Alldredge & Silver 1988).

Στις εκβολές ποταμών και στα νερά πλησίον ακτών, η θαλάσσια σκόνη αποτελείται από τρίμματα, κόκκους άμμου, φυτοπλαγκτόν και μικροοργανισμούς, δεμένους χαλαρά σε ένα βλεννώδες καλούπι (Eisma 1986, Shanks & Edmondson 1990). Οι μακρόκοκκοι άμμου της θαλάσσιας σκόνης, ποικίλλουν σε μέγεθος από 0,5 mm έως μερικά εκατοστά σε διάμετρο (Alldredge & Silver 1988).

Η Θαλάσσια σκόνη είναι σχεδόν πάντα παρούσα σε περιβάλλοντα ακτών ή εκβολών ποταμών με συγκεντρώσεις που αγγίζουν εκατοντάδες κόκκους άμμου ανά λίτρο (Shanks & Edmondson 1990). Παρ' ότι οι ερευνητές έχουν υποθέσει ότι η θαλάσσια πανίδα μπορεί να καταναλώνει θαλάσσια σκόνη (Silver et al 1978, Alldredge & Silver 1988, Banse 1990), έχει γίνει μικρή άμεση έρευνα για την κατανάλωση της θαλάσσιας σκόνης και καμία έρευνα δεν έχει γίνει για να μελετήσει την κατανάλωση θαλάσσιας σκόνης από τα ψάρια.

Επειδή περίπου το 83% από τα νηματώδη στην στήλη νερού ήταν πάνω στην θαλάσσια σκόνη, οι Shanks & Edmondson (1990) υπέδειξαν ότι τα νηματώδη θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιολογικοί ανιχνευτές της θαλάσσιας σκόνης στην δίαιτα ενός οργανισμού.

Οι Lewis & Peters (1984) βρήκαν ότι η συχνότητα του ολοπλαγκτονικού ζωοπλαγκτόν και των νηματωδών στην δίαιτα του είδους νεογνών «menhaden» ήταν η ίδια, παρ' αυτά το ζωοπλαγκτόν ήταν πολύ πιο άφθονο απ' ότι τα νηματώδη στην στήλη νερού (Shanks & Edmondson 1990). Αυτή η παρατήρηση συνδυασμένη με τις συγκεντρώσεις, των νηματωδών στη θαλάσσια σκόνη, υποδεικνύουν ότι οι νεογνοί του είδους «menhaden» μπορεί να τρέφονται με θαλάσσια σκόνη.

Η μετατροπή μικροσωμάτων σε μακρόκοκκους άμμου θα μπορούσε να αυξήσει την πιθανή κατανάλωση αυτού του υλικού από μία ευρύτερη κλίμακα οργανισμών. Προηγούμενες μελέτες σχετικές με την διατροφή των ψαριών με φίλτρο έχουν δείξει ότι καθώς αυξάνεται το μέγεθος του τμήματος της τροφής, αυξάνεται και η επάρκεια της διατροφής (Wright et al 1983, Friedland et al 1984). Ο McIntyre (1983) βρήκε ότι ο πρόβαλος των μεγάλων ψαριών *Donosoma cepedianum* συγκέντρωσε 24 φορές περισσότερο φαγητό από τις δεξαμενές στις οποίες η μετατροπή γινόταν με πρόσθεση τμημάτων αργίλου στο νερό, σε σύγκριση με τις δεξαμενές στις οποίες δεν γινόταν μετατροπή.

Γι' αυτόν τον λόγο, οι κόκκοι άμμου των κομματιών μπορούν να αυξήσουν την επάρκεια σε τροφή, των ψαριών που τρέφονται με φίλτρο.

Ο σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να εξεταστεί η κατανάλωση θαλάσσιας σκόνης από νεογνούς 2 ειδών τελεόστεων, τον άσπρο κέφαλο *Mugil curema* και τον κέφαλο *Mugil cephalus*. Οι κέφαλοι είναι πολύ ευέλικτοι στις διατροφικές τους συνήθειες με πιθανές οντογενετικές αλλαγές στην διαίτα, που συμβαίνουν με την μετατροπή απ' το στάδιο της νύμφης στην ενηλικίωση: έχει διαπιστωθεί η συχνότητα της διατροφής με τρίμματα στους ενήλικους κέφαλους (Thomson 1954, Odum 1968a, Moriarity 1976). Μικρή ομοφωνία υπάρχει σε σχέση με την τροφή των νεογνών κεφάλων. Έχει αναφερθεί ότι τρέφονται με τρίμματα (Thomson 1954, Ching 1977), με φύκη (Odum 1968b, De Lilva & Wijeyaratne 1977) και ζωοπλαγκτόν (Lasiak & McLachlan 1987, Pisarevskaya & Aksenona 1991). Διάφοροι συγγραφείς αναφέρουν ότι οι νεαροί κέφαλοι τρέφονται με πλαγκτόν και αλλάζουν μετά σε τροφή με τρίμματα καθώς αυξάνονται σε μέγεθος (De Silva & Wijeyaratne 1977, Romer & McLachlan 1986, Pisarevskaya & Aksenona 1991). Εξαιτίας της ευέλικτης φύσης της διαίτας τους και του γεγονότος ότι οι νεογνοί θα συναντήσουν θαλάσσια σκόνη στη φύση, οι κέφαλοι, επιλέχθηκαν για να ερευνηθεί το ενδεχόμενο της χρησιμοποίησης της θαλάσσιας σκόνης ως τροφή για τα ψάρια της θάλασσας και των ποταμών.

Προηγούμενα παραδείγματα με παμφάγα ψάρια, άλλα από τον κέφαλο, έχουν δείξει ότι τα ασπόνδυλα προτιμούν τα τρίμματα (Ahlgren 1990a). Οι παράγοντες αυτοί μας προέτρεψαν να συμπεριλάβουμε το ζωοπλαγκτόν σαν παράγοντα σ' αυτήν την μελέτη. Οι πρωταρχικοί στόχοι αυτής της έρευνας ήταν:

- 1) να προσδιορίσουμε αν οι νεογνοί κέφαλοι καταναλώνουν θαλάσσια σκόνη
- 2) να προσδιορίσουμε αν οι νεογνοί κέφαλοι προτιμούν τη θαλάσσια σκόνη από το ζωοπλαγκτόν
- 3) να προσδιορίσουμε την ικανότητα της θαλάσσιας σκόνης να προωθήσει την ανάπτυξη των νεογνών κεφάλων και
- 4) να προσδιορίσουμε την ικανότητα των νεογνών κεφάλων να προσλάβουν θρεπτικά συστατικά από τη θαλάσσια σκόνη.

2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ.

2.1. Υλικά και Μέθοδοι (Συλλογή και διατήρηση ψαριών).

Οι νεογνοί άσπροι κέφαλοι *Mugil curema* (25 έως 40 mm βασικό μήκος, SL) συγκεντρώθηκαν μεταξύ Μαΐου και Ιουλίου του 1992 ψαρεύοντας με τράτα σ' έναν ορμίσκο στο νησί Bull, στη Νότια Καρολίνα στις ΗΠΑ. Τα ψάρια μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο βιολογίας Grice Marine (GMBL) και διατηρήθηκαν σε ένα σύστημα ανακυκλωμένου θαλάσσιου νερού όπου και συντηρήθηκαν με αναμειγμένη δίαιτα από *Artemia* προνύμφες και φαγητό του εμπορίου που είχε αλεστεί με κόπανο. Τα ψάρια κρατήθηκαν για 3 έως 14 μέρες πριν χρησιμοποιηθούν στα πειράματα.

Οι νεογνοί κέφαλοι με ραβδώσεις *Mugil cephalus* (20 - 40 mm SL) αποκτήθηκαν τον Οκτώβριο του 1992 από το Ωκεάνιο Ινστιτούτο, Χονολουλού, Χαβάη, ΗΠΑ. Προήρθαν από αναπαραγωγή ενήλικων κεφάλων που πιάστηκαν στην προκουμαία Kaneohe, HI. Διατηρήθηκαν με τρόπο παρόμοιο με αυτόν που περιγράφηκε για τον άσπρο κέφαλο.

2.2. Εργαστηριακός σχηματισμός θαλάσσιας σκόνης.

Η εργαστηριακά κατασκευασμένη τεχνητή θαλάσσια σκόνη παρήχθη με βάση τις μεθόδους των Shanks & Edmondson (1989). Κυλινδρικές δεξαμενές (20 cm διάμετρος X 10 cm βάθος X 3l όγκο) μη φιλτραρισμένου θαλάσσιου νερού από την εκβολή του ποταμού Charleston Harbor, Νότια Καρολίνα, ΗΠΑ, περιστράφηκαν σε ένα κυλιόμενο τραπέζι ώσπου τα σωματίδια του θαλάσσιου νερού σχημάτισαν κόκκους. Μια προηγούμενη έρευνα κατέδειξε ότι αυτοί οι τεχνητοί κόκκοι έχουν την ίδια σύνθεση με την φυσική θαλάσσια σκόνη (Shanks & Edmondson 1989).

Για να επιβεβαιώσουμε την κατανάλωση θαλάσσιας σκόνης από τον κέφαλο, ένας ανιχνευτής [1mm διάμετρος, μικροσφαιρών, φθοριούχου υγρού (Polysciences, Inc. Warrington, PA) συγχωνεύθηκε στην εργαστηριακά κατασκευασμένη θαλάσσια σκόνη. Οι κόκκοι ήταν καλυμμένοι με πρωτεΐνη (διάλυμα γάλακτος σε σκόνη, 3% w/v), η οποία μεγιστοποίησε τη συγχώνευση. Οι κόκκοι ήταν διαλυμένοι: $1:1 \times 10^6$ με μη φιλτραρισμένο θαλάσσιο νερό. Επίσης, έλαβαν χώρα προκαταρκτικά πειράματα για να ερευνηθεί αν είναι εφικτή η χρήση αυτών των μικροσφαιρών ως ανιχνευτών της θαλάσσιας σκόνης. Σ' αυτή τη διάλυση, το 96% των κόκκων συγχωνεύθηκαν με τη θαλάσσια σκόνη ($\eta = 4$, SE = 1,2%).

2.3. Πειράματα επιλογής τροφών.

Σαν πειραματικοί κατασκευαστές ζωοπλαγκτόν, χρησιμοποιήθηκαν οι προνύμφες Artemia. Έγινε η υπόθεση ότι η κατανάλωση των Artemia θα συνδεόταν άμεσα με την συγκέντρωση Artemia και ότι η κατανάλωση της θαλάσσιας σκόνης θα ήταν αντιστρόφως ανάλογη προς την συγκέντρωση Artemia. Τα Artemia καλλιεργήθηκαν από αυγά, για 96 ώρες στους 21°C. Τα μη εκκολαπτόμενα αυγά διαχωρίστηκαν από τα Artemia με ξέπλυμα με θαλάσσιο νερό μέσω ενός κόσκινου 300µm. Η θαλάσσια σκόνη παρασκευάστηκε όπως περιγράφηκε προηγουμένως, και τα Artemia προστέθηκαν στις δεξαμενές πριν το σχηματισμό της θαλάσσιας σκόνης.

Τα αρχικά πειράματα διεξήχθησαν για να προσδιοριστεί αν τα Artemia συνδέθηκαν με την θαλάσσια σκόνη. Μόνο το 0,8% των Artemia συνδέθηκαν με την θαλάσσια σκόνη (n=4, SE=0,3%). Οι δεξαμενές γεμίστηκαν με μη φιλτραρισμένο θαλάσσιο νερό, φθοριούχες μικροσφαίρες και μία από τις ακόλουθες συγκεντρώσεις των Artemia, 120, 60, 30 και ΟΓ.

Για να επιτρέψουν τον σωστό σχηματισμό θαλάσσιας σκόνης, οι δεξαμενές κυλίστηκαν για 6 ώρες, ένα ψάρι τοποθετήθηκε στην κάθε δεξαμενή και στην συνέχεια αυτές επανατοποθετήθηκαν στο κυλιόμενο τραπέζι. Οι δεξαμενές περιείχαν περισσότερη θαλάσσια σκόνη απ' αυτή που θα μπορούσε να καταναλωθεί στην πειραματική περίοδο διατροφής. Οι κέφαλοι παρατηρούνταν ενώ τρέφονταν στις δεξαμενές και οι συμπεριφορές τους περιγράφηκαν ποιοτικά, χρησιμοποιώντας προηγούμενες δημοσιευμένες μελέτες για τις διατροφικές συμπεριφορές (Leong & O'Connell 1969, Johnson & Vinyard 1987). Στα ψάρια επιτρεπόταν η πρόσληψη τροφής για 1 ώρα και στο τέλος αυτής της περιόδου διατροφής, αναισθητοποιούνταν με MS222.

Τα υπογάστρια σχίζονταν από την καλύπτρα ως τον πρωκτό και τα ψάρια τοποθετούνταν σε 10% διάλυμα φορμαλδεΰδης. Οι αναλύσεις των εντερικών περιεχομένων διεξήχθησαν με ανατομή των στομαχιών των ψαριών και ταξινόμηση των περιεχομένων. Τα Artemia διαχωρίστηκαν από την θαλάσσια σκόνη και μετρήθηκαν. Η θαλάσσια σκόνη τοποθετήθηκε σ' ένα μικροκεντρομόλο δωλήνα και αιωρήθηκε σε 1ml αποσταγένου νερού. Ακολούθως, το δείγμα στροβιλίστηκε, ανακινήθηκε. Μία ποσότητα 20 ml αφαιρέθηκε από το κέντρο του σωλήνα, τοποθετήθηκε σε μία γυάλινη επιφάνεια και εξετάστηκε στο μικροσκόπιο με την χρήση επιφθορισμού. Μετρήθηκε ο αριθμός των φθοριούχων μικροσφαιρών στο δείγμα και χρησιμοποιήθηκε για να προσδιοριστεί το ποσό της θαλάσσιας σκόνης, που καταναλώθηκε με βάση τους παράγοντες μετατροπής που περιγράφονται παρακάτω.

2.4. Παράγοντες μετατροπής.

Για να μετατρέψουμε τα αποτελέσματα της ανάλυσης του περιεχομένου των στομαχιών, σε μονάδες που θα μπορούσαν να συγκριθούν η μία με την άλλη, προσδιορίστηκαν οι χωρίς στάχτη - ξηρή - μάζα [ash - free dry mass - AFDM] παράγοντες μετατροπής. Δέκα αντίγραφα δειγμάτων των 100 *Artemia* και πέντε αντίγραφα δειγμάτων των 100 κόκκων, συγκεντρώθηκαν από τις κυλιόμενες δεξαμενές χρησιμοποιώντας μία σύραγγα (Shanks & Edmondson 1989) και ξηράθηκαν στην διάρκεια μιάς νύχτας στους 105°C σε σκεύη αλουμινίου. Τα αντίγραφα τα πήραμε σε διαφορετικές μέρες, για να εξηγήσουμε τις αλλαγές στην θαλάσσια σκόνη μέρα με τη μέρα (Shanks & Edmondson 1989). Τα δείγματα ψυχράθηκαν σε έναν ξηραντή, ζυγίστηκαν στο πλησιέστερο 0,01mg και ψήθηκαν σ' έναν φούρνο για 1 ώρα στους 550 C, ψυχράθηκαν και ξαναζυγίστηκαν. Για να υπολογιστεί ο μέσος αριθμός κόκκων σε κάθε σύνολο από κόκκους, 15 συμπληρωματικά σύνολα από κόκκους, αφαιρέθηκαν από τις ίδιες δεξαμενές, καθώς τα 100 σύνολα κόκκων που χρησιμοποιήθηκαν για να υπολογιστεί η ξηρή μάζα και οι παράγοντες AFDM και οι κόκκοι μετρήθηκαν όπως περιγράφηκε προηγουμένως. Ο αριθμός και το μέγεθος των συνόλων των κόκκων, προσδιορίστηκε με την προβολή μεγενθυμένων φωτογραφιών στις κυλιόμενες δεξαμενές, πάνω σε ένα ψηφιακό σημειωματάριο (Shanks & Edmondson, 1989). Οι AFDM ως εκατοστιαίο ποσοστό της ξηρής μάζας ήταν 93% (n=10, SE=1,47%) για τα *Artemia* και 30% (n=5, SE=2,03%) για την θαλάσσια σκόνη. Αυτό, μας έδωσε παράγοντες μετατροπής 4,53mg AFDM ανά *Artemia* και 8,74 mg AFDM ανά σύνολο κόκκων. Η μέση συγκέντρωση των κόκκων ανά δεξαμενή ήταν 292 (n=12, SE=40,3). Η μέση διάμετρος των θαλάσσιας σκόνης ήταν 3,38mm (n=12, SE=0,25). Το μέσο μήκος των *Artemia* ήταν 0,9 mm (n=5, SE=0,16).

2.5. Πειράματα ανάπτυξης.

Τα πειράματα διατροφής διεξήχθησαν για να προσδιοριστεί η ικανότητα της θαλάσσιας σκονης και άλλων τροφών να συμβάλλουν στην ανάπτυξη των κεφάλων. Πέντε (5) διαφορετικές ομάδες έγιναν:

- 1) απεριόριστο ζωοπλαγκτόν (3000 ως 5000 *Artemia* 1)
- 2) απεριόριστη θαλάσσια σκόνη και περιορισμένο ζωοπλαγκτόν (60 *Artemia* 1²).
- 3) περιορισμένο ζωοπλαγκτόν (60 *Artemia* 1²)
- 4) απεριόριστη θαλάσσια σκόνη και
- 5) χρήση κανενός από τα παραπάνω.

«Απεριόριστη προσδιορίζεται η ομάδα στην οποία η περιεκτικότητα σε *Artemia* ή θαλάσσια σκόνη ήταν περισσότερη από αυτή που θα μπορούσε ένα ψάρι να καταναλώσει στην διάρκεια μιάς περιόδου 24 ωρών.

Η συγκέντρωση των Artemia που χρησιμοποιήθηκε στο περιορισμένο ζωοπλαγκτόν ήταν παρόμοια με τις μέσες συγκεντρώσεις στα νερά των νοτιοανατολικών ποταμών (Fulton 1984).

Δύο ομάδες (2 & 4) είχαν θαλάσσια σκόνη κατασκευασμένη από μη φιλτραρισμένο θαλάσσιο νερό. Για να εμποδίσουμε τον σχηματισμό θαλάσσιας σκόνης στις ομάδες που δεν την περιείχαν (1,3 και 5), το θαλάσσιο νερό φιλτραρίστηκε σε σακούλες - φίλτρα των 25mm και του 1mm, προτού τοποθετηθούν οι ομάδες για καλλιέργεια στις κυλιόμενες δεξαμενές. Αυτό, αφαιρέσε τα σωματίδια και έτσι δεν σχηματίστηκε θαλάσσια σκόνη όταν οι δεξαμενές κυλίστηκαν.

Υποτέθηκε ότι τα ψάρια θα παρουσίαζαν τη μέγιστη ανάπτυξη με τη δίαιτα των απεριόριστων Artemia. Αυτή η δίαιτα δεν αντανάκλα το φυσικό περιβάλλον. Υποτέθηκε επίσης ότι η επόμενη καλύτερη ανάπτυξη θα παρατηρούνταν με μία περισσότερο φυσική μικτή δίαιτα απεριόριστης θαλάσσιας σκόνης και περιορισμένων Artemia.

Τα ψάρια διατηρήθηκαν σε φώς δεκατεσσάρων ωρών: Δέκα ώρες σκοτεινή φωτοπερίοδος και θερμοκρασία νερού διατηρημένη στους $21^{\circ}\text{C} + 2^{\circ}\text{C}$ για τον άσπρο κέφαλο και $24^{\circ}\text{C} + 2^{\circ}\text{C}$ για τον κέφαλο με ραβδώσεις. Μία φορά την ημέρα, το νερό αναρροφούνταν προσεκτικά και αντικαθίστατο με φρέσκο φιλτραρισμένο ή μη θαλάσσιο νερό με βάση την ομάδα. Συγχρόνως προσθέτονταν νέα Artemia. Οι περιεκτικότητες σε αλάτι παρέμειναν μεταξύ 28 και 32 PSU (πρακτικές μονάδες περιεκτικότητας σε αλάτι). Οι συγκεντρώσεις σε οξυγόνο, σε αυτές τις δεξαμενές δεν έπεσαν κάτω από το φυσιολογικό φάσμα των νερών των ποταμών.

Τα ψάρια ζυγίστηκαν την 1^η και την 14^η ημέρα. Ορισμένα απ' αυτά κρατούνταν σε ένα δίχτυ για 10 δευτερόλεπτα για να απομακρυνθεί το νερό και μετά τοποθετούνταν σε ένα γυάλινο κύπελλο που περιείχε 100 ml θαλάσσιου νερού, με απόβαρο που έτεινε προς το 0 και σε κορυφαία ισορροπία φόρτωσης. Το βάρος διαβάστηκε προς το πλησιέστερο 0,01g. Διεξήχθησαν προκαταρκτικά πειράματα για να διασφαλιστεί η υψηλή ικανότητα επανάληψης αυτής της μεθόδου ($n=10$, $SE=0,02g$).

Μετά από 14 ημέρες το πείραμα τερματίστηκε. Ο συγκεκριμένος ρυθμός ανάπτυξης (SGR) υπολογίστηκε με βάση την ακόλουθη εξίσωση (Ricker 1979).

$$\text{SGR} (\% \text{ d}^{-1}) = 100 \times (\ln W2 - \ln W1) / t$$

όπου $W1$ είναι το αρχικό βάρος, $W2$ είναι το τελικό βάρος και t είναι ο αριθμός των ημερών των πειραμάτων.

2.6. Πειράματα απορρόφησης στο εργαστήριο.

Η επάρκεια σε απορρόφηση του κεφάλου με ραβδώσεις, που τράφηκε με θαλάσσια σκόνη, κατασκευασμένη στο εργαστήριο, προσδιορίστηκε σ' αυτό το σημείο. Πέντε αντίγραφα ομάδων των 40 ψαριών τοποθετήθηκαν 2 ανά δεξαμενή και κυλίστηκαν στο κυλιόμενο τραπέζι.

Τα ψάρια σ' αυτές τις δεξαμενές εγκλιματίστηκαν στη διατροφή με θαλάσσια σκόνη για 24 ώρες. Τα ψάρια απομακρύνονταν για 6 ώρες ενώ το νερό αντικαθίστατο με φρέσκο, μη φιλτραρισμένο, θαλάσσιο νερό και σχηματίζονταν νέα θαλάσσια σκόνη. Μετά το σχηματισμό νέας θαλάσσιας σκόνης, τα ψάρια επέστρεφαν στις δεξαμενές και τους επιτρεπόταν να τραφούν για 3-4 ώρες και μετά αναισθητοποιούνταν. Στη συνέχεια αποκοπτόταν το πεπτικό σύστημα και διαχωρίζονταν το πρόσθιο από το οπίσθιο έντερο.

Το πρόσθιο έντερο, προσδιορίστηκε ως το πρόσθιο 1/7 του εντέρου, συμπεριλαμβανομένου του στομαχιού και του οισοφάγου. Ως οπίσθιο έντερο ορίστηκε το οπίσθιο 1/4 του εντέρου. Για να έχουμε αρκετό υλικό, για τις χημικές αναλύσεις, τα περιεχόμενα των πρόσθιων και οπίσθιων εντέρων από κάθε ομάδα 40 ψαριών τοποθετήθηκαν σε ζυγισμένα σκεύη.

Τα δείγματα ξηράνθηκαν κατά τη διάρκεια μιάς νύκτας στους 110°C.

Το οργανικό περιεχόμενο των δειγμάτων του πρόσθιου και οπίσθιου εντέρου, προσδιορίστηκε με καύση της οργανικής ύλης στους 550 C , για 1 ώρα ώστε να αποκτήσουμε AFDM. Η οργανική ύλη που ανθίστανται στην υδρόλυση (HPOM) πρωταρχικά κυτταρίνη και χιτίνη, μετρήθηκε με βάση τη μέθοδο του Buddington (1980).

Η επάρκεια σε απορρόφηση (επί τις 100AE = το ποσό των θρεπτικών συστατικών που αφαιρέθηκε από το πεπτικό σύστημα, εκφραζόμενο ως ένα εκατοστιαίο ποσοστό του ποσού που προσελήφθη).

Υπολογίστηκε με βάση την τεχνική ιθαγενοús διατροφικού δείκτη του (Onover 1966). HROM χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης ιθαγενοús μη χωνεμένης τροφής.

Η απορρόφηση υπολογίστηκε με σύγκριση του οργανικού (θρεπτικού) και HROM (Δείκτη δυσπεψίας) περιεχομένου του πρόσθιου εντέρου προς το οργανικό και HROM περιεχόμενο του οπίσθιου εντέρου κάνοντας χρήση της ακόλουθης εξίσωσης (προσαρμοσμένης από τον (Onover 1966):

$$\% AE = [(Nf/Mf - Nh/Mh / (Nf/Mf))] \times 100$$

όπου Nf και Nh είναι οι συγκεντρώσεις των θρεπτικών συστατικών στο πρόσθιο και στο οπίσθιο έντερο αντίστοιχα και Mf και Mh είναι οι συγκεντρώσεις του δείκτη δυσπεψίας στο πρόσθιο και στο οπίσθιο έντερο, αντίστοιχα.

Η απορρόφηση αμινοξέων επίσης προσδιορίστηκε. Η συνολική συγκέντρωση σε αμινοξέα στο πρόσθιο και στο οπίσθιο έντερο, προσδιορίστηκε μέσω πεπτιδικής ανίχνευσης (Allen 1981). Για να δοθεί αλλαγή χρώματος, χρησιμοποιήθηκε Ninyhydrin και οι απορροφητικότητες διαβάστηκαν σε ένα σπεκτροφωτόμετρο στα 570nm χρησιμοποιώντας μία κυτταρική δίοδο μήκους 1cm. Για να εκτιμηθεί το συνολικό περιεχόμενο σε αμινοξέα αποκτήθηκε μια δεδομένη καμπύλη, κάνοντας χρήση ζωϊκού ορού αλβουμίνης έναντι του οποίου συγκρίθηκαν τα δείγματα.

Η επάρκεια σε απορρόφηση για τα συνολικά αμινοξέα, υπολογίστηκε με βάση την προαναφερθείσα εξίσωση, με τα αμινοξέα ως τα θρεπτικά συστατικά και το HROM ως το δείκτη δυσπεψίας.

2.7. Συγκρίσεις.

Για να προσδιορίσουμε αν και κατά πόσον ο κέφαλος καταναλώνει θαλάσσια σκόνη στο φυσικό του περιβάλλον, τα περιεχόμενα του στομαχιού των ψαριών που τράφηκαν με θαλάσσια σκόνη στο εργαστήριο, συγκρίθηκαν με τα περιεχόμενα του στομαχιού ψαριών που πιάστηκαν στο φυσικό τους περιβάλλον. Τα δείγματα αποκτήθηκαν από τις συλλογές Wildlife της N. Καρολίνα και το Marine Resource Division (Wenner et al 1979, Wenner et al 1982) . Εξετάσθηκε κάθε μία από τις 3 ομάδες των 10 ψαριών.

- 1) Mugil curema από παράκτια νερά
- 2) M. cephalus από παράκτια νερά
- 3) M. cephalus από τις εκβολές του ποταμού Charleston Harbor.

Όλα τα είδη διατηρήθηκαν σε 10% διάλυμα φορμαλδεΐδης. Τα δείγματα που προήλθαν από παράκτια νερά συγκεντρώθηκαν με δίχτυ και αυτά από τις εκβολές ποταμού με ψάρεμα, με τράτα. Τα περιεχόμενα του στομαχιού αφαιρέθηκαν και τοποθετήθηκαν πάνω σε μία Sedgewick Rafter πλάκα. Στη συνέχεια εξετάστηκαν ποιοτικά με ένα σύνθετο μικροσκόπιο.

Τα στομάχια των κεφάλων που τράφηκαν με θαλάσσια σκόνη στο εργαστήριο, χρησιμοποιήθηκαν για σύγκριση.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.

3.1. Πειράματα επιλογής τροφών.

Το ποσό της θαλάσσιας σκόνης που καταναλώθηκε και από τα δύο είδη κεφάλων ήταν αντιστρόφως ανάλογο προς τις συγκεντρώσεις των Artemia (σχήματα 1 και 2), ενώ το ποσό των Artemia που καταναλώθηκε και από τα δύο είδη ήταν ανάλογο προς τις συγκεντρώσεις των Artemia (Σχήματα 3 και 4). Ακόμα και στην υψηλότερη συγκέντρωση σε Artemia οι νεογνοί κέφαλοι συνέχισαν να καταναλώνουν θαλάσσια σκόνη (6,1 και 3,4h για τους νεογνούς άσπρους και ραβδωτούς κέφαλους, αντίστοιχα: (Πίνακας 1).

Στις δεξαμενές χωρίς Artemia και τα δύο είδη κεφάλων κατανάλωσαν περισσότερα από 20 σύνολα κόκκων h (Πίνακας 1).

Οι κέφαλοι παρατηρήθηκαν να προσλαμβάνουν και θαλάσσια σκόνη και Artemia . Οι κέφαλοι τράφηκαν με 2 διαφορετικές μεθόδους, με δάγκωμα και φιλτράρισμα με αντλία. Οι νεογνοί κέφαλοι εμφανίστηκαν να χρησιμοποιούν το φιλτράρισμα με αντλία όταν τρέφονταν με θαλάσσια σκόνη. Ένα ξέσπασμα χτυπημάτων της ουράς (περίπου 4 έως 6) ακολουθήθηκε από ένα σύντομο γλίστρημα. Κατά τη συνολική διάρκεια της κίνησης, τα ψάρια αντλούσαν νερό με τα σαγόνια τους και τη στοματική κοιλότητα. Αυτή η ενέργεια συνήθως συνέβαινε καθώς τα ψάρια κολυμπούσαν σε ένα τμήμα θαλάσσιας σκόνης και τα σύνολα κόκκων τα ρουφούσαν με το στόμα.

Όταν τρέφονταν με Artemia οι κέφαλοι δάγκωναν. Κατά τη διάρκεια του δαγκώματος, τα ψάρια είχαν ένα συντομώτερο ξέσπασμα κολύμβησης (Συνήθως 2 ή 3 χτυπήματα της ουράς) ακολουθούμενο από ένα πολύ σύντομο γλίστρημα κατά το οποίο ο κέφαλος άνοιγε και έκλεινε γρήγορα το στόμα του, αφού δάγκωνε μία μπουκιά από τη λεία του.

Εάν υπήρχαν πολλοί σχηματιστές ζωοπλαγκτόν παρόντες, αυτό ακολουθούνταν γρήγορα από ένα άλλο ξέσπασμα φαγητού.

Η μέθοδος του φιλτραρίσματος ήταν πολύ ρυθμική και κανονική από το δάγκωμα, το οποίο φαινόταν ακανόνιστο. Κατά τη διάρκεια του δαγκώματος, τα ψάρια στρέφονταν πολύ πιο συχνά για να επιτεθούν στη λεία τους. Κατά τη διάρκεια του φιλτραρίσματος τα ψάρια κολυμπούσαν πιο αργά και στρέφονταν λιγότερο συχνά. Τα ψάρια γενικά τρέφονταν στο μέσο του νερού αλλά παρατηρήθηκε περιστασιακά να τρέφονται και στον πυθμένα και στις πλευρές της δεξαμενής.

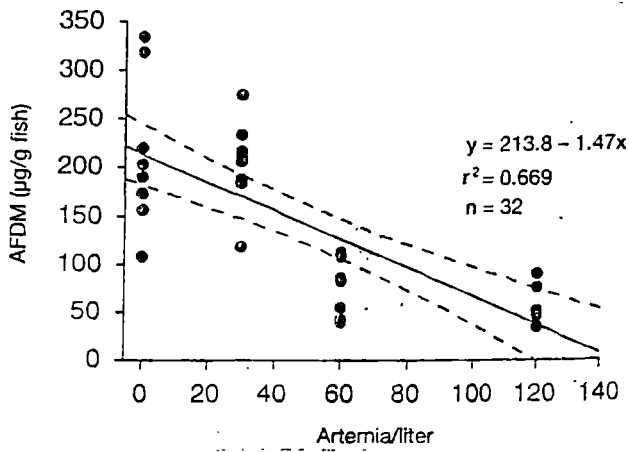


Fig. 1. *Mugil curema*.

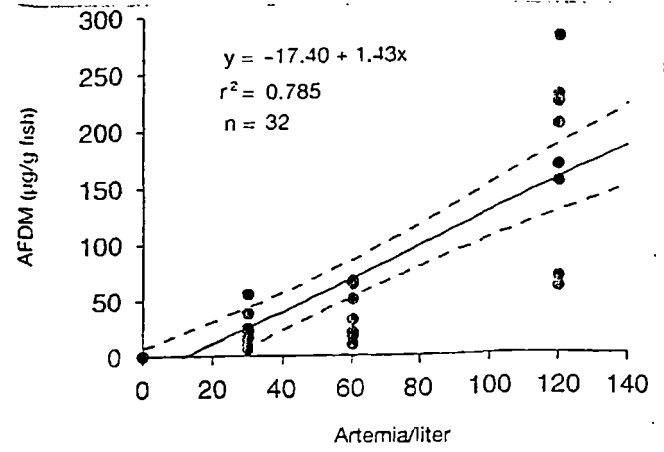


Fig. 3. *Mugil curema*.

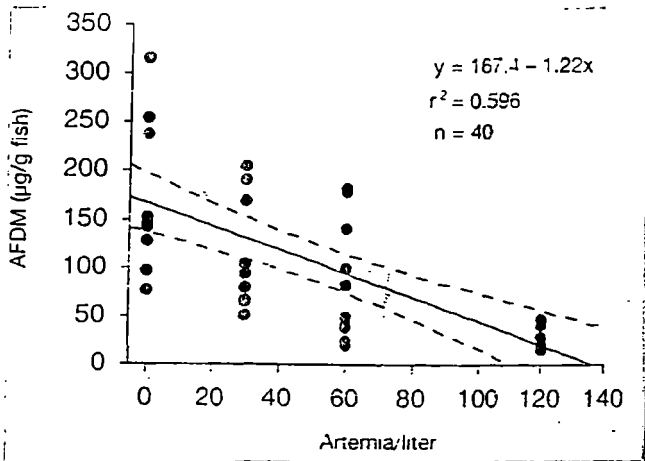
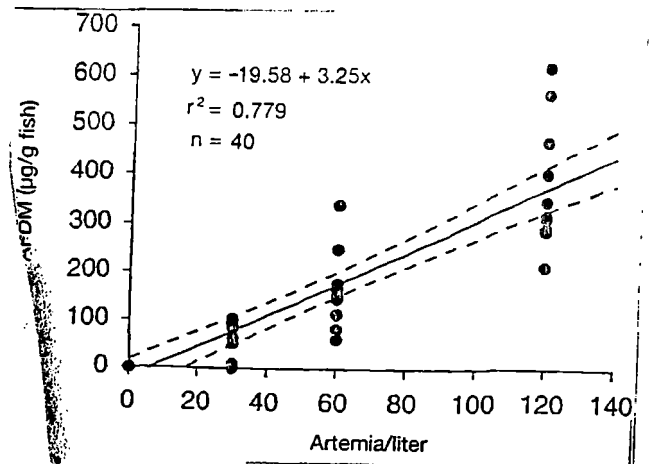


Fig. 2. *Mugil cephalus*.



A. *Mugil cephalus*.

	Number available	Artemia		Marine snow		Total
		Number consumed	µg AFDM consumed	Number consumed	µg AFDM consumed	µg AFDM consumed
<i>Mugil curema</i>	120.0	37.8 (5.73)	171.1 (32.11)	6.1 (0.78)	53.7 (6.80)	224.8 (29.85)
	60.0	4.0 (2.41)	36.4 (7.52)	6.7 (1.13)	76.0 (9.84)	112.5 (10.69)
	30.0	5.5 (1.17)	23.8 (5.60)	23.3 (1.81)	203.6 (15.84)	227.4 (19.26)
	0.0	0.0 (0.00)	0.0 (0.00)	24.4 (2.65)	213.2 (23.13)	213.2 (23.13)
<i>Mugil cephalus</i>	120.0	83.9 (7.41)	380.2 (37.06)	3.4 (0.46)	29.9 (4.03)	410.1 (37.29)
	60.0	36.5 (5.25)	161.5 (23.76)	9.9 (2.30)	86.2 (20.09)	251.7 (33.99)
	30.0	12.9 (2.71)	58.4 (12.38)	12.7 (2.06)	110.7 (18.02)	169.3 (18.53)
	0.0	0.0 (0.00)	0.0 (0.00)	21.3 (4.04)	186.5 (28.71)	186.5 (28.71)

Table 1. *Mugil curema* and *M. cephalus*

3.2. Πειράματα για την Ανάπτυξη.

Οι 5 διαφορετικές πειραματικές διατροφές παρήγαγαν σημαντικά διαφορετική ανάπτυξη στους νεογνούς άσπρους κέφαλους (Kruskal Wallis test, $p < 0,0005$). Ο συνδυασμός των περιορισμένων *Artemia* και απεριόριστης θαλάσσιας σκόνης, είχε ως αποτέλεσμα την απώλεια βάρους, περίπου στο μισό του ρυθμού των ψαριών που δεν προσέλαβαν καμία από τις παραπάνω ουσίες (Πίνακας 2).

Όπως αναμενόταν, τα ψάρια που τράφηκαν με απεριόριστα *Artemia* κέρδισαν βάρος και τα ψάρια που δεν τράφηκαν με τις παραπάνω ουσίες παρουσίασαν σημαντική απώλεια βάρους (Πίνακας 2). Η διαφορά στην ανάπτυξη μεταξύ των 5 ομάδων των κεφάλων με ραβδώσεις ήταν πολύ σημαντική (ANOVA, $p < 0,0001$).

Με την έρευνα των Newman - Keuls, τα ψάρια που δεν τράφηκαν με καμιά από τις παραπάνω ουσίες και αυτά που προσέλαβαν απεριόριστα ασπόνδυλα, ήταν σημαντικά διαφορετικά από τις 3 άλλες ομάδες: θαλάσσια σκόνη: περιορισμένα *Artemia* και θαλάσσια σκόνη και *Artemia*.

Αυτές οι 3 ομάδες δεν παρήγαγαν θετική ανάπτυξη. Ο συνδυασμός των περιορισμένων *Artemia* και απεριόριστης θαλάσσιας σκόνης, παρήγαγε απώλεια βάρους, περίπου στο μισό του ρυθμού των ψαριών που προσέλαβαν μόνο *Artemia* ή μόνο θαλάσσια σκόνη. Τα ψάρια και στις 2 αυτές ομάδες έχασαν βάρος στο μισό του ρυθμού των ψαριών που δεν προσέλαβαν καμιά από τις παραπάνω τροφές.

Diet	W ₁ (g)	W ₂ (g)	SGR (% d ⁻¹)	Mortality	Mean life (d)
<i>Mugil curema</i>					
Unlimited <i>Artemia</i>	0.53 (0.03)	0.64 (0.03)	1.65 (0.16)	2	13 (0.88)
Unlimited marine snow + limited <i>Artemia</i>	0.48 (0.06)	0.45 (0.06)	-0.89 (0.35)	3	11 (1.23)
Limited <i>Artemia</i>	0.58 (0.17)	0.50 (0.15)	-1.62 (0.74)	6	8 (0.52)
Unlimited marine snow	0.54 (0.13)	0.45 (0.10)	-1.82 (0.44)	6	9 (1.05)
Unfed	0.53 (0.15)	0.41 (0.12)	-3.57 (0.45)	6	8 (0.34)
<i>Mugil cephalus</i>					
Unlimited <i>Artemia</i>	0.19 (0.05)	0.27 (0.01)	2.59 (0.57) a	0	14 (0.00)
Unlimited marine snow + limited <i>Artemia</i>	0.32 (0.01)	0.29 (0.02)	-0.89 (0.40) b	2	13 (0.40)
Limited <i>Artemia</i>	0.22 (0.02)	0.17 (0.01)	-1.89 (0.85) b	3	13 (0.24)
Unlimited marine snow	0.23 (0.03)	0.19 (0.04)	-1.34 (0.40) b	4	13 (0.51)
Unfed	0.30 (0.02)	0.19 (0.01)	-3.68 (0.26) c	2	13 (0.73)

3.3. Εργαστηριακά πειράματα απορρόφησης.

Οι νεογνοί κέφαλοι με ραβδώσεις απορρόφησαν 49,2% (SE = 14,2% n=5). Της οργανικής ύλης που υπήρχε στη θαλάσσια σκόνη. Τα ολικά αμινοξέα απορροφήθηκαν από τους νεογνούς κέφαλους με ραβδώσεις με μια επάρκεια της τάξης του 55,8% (SE = 11,6% n=5). Η χρήση θαλάσσιας σκόνης από τα περιεχόμενα του πρόσθιου εντέρου έδειξε ότι η θαλάσσια σκόνη που

κατασκευάστηκε στο εργαστήριο και καταναλώθηκε από αυτά τα ψάρια, εμφανίστηκε να περιέχει κατά προσέγγιση 33,7% (SE = 9,9%, n=5) οργανική ύλη 4,2% (SE = 0,6%, n = 5) αμινοξέα και 2,5% (SE = 0,6%, n=5) HROM.

3.4. Συγκρίσεις

Τα περιεχόμενα του στομαχιού ενός κέφαλου που τράφηκε με θαλάσσια σκόνη στο εργαστήριο εμφανίστηκαν εκ πρώτης να περιέχουν μία ομογενή μάζα άμορφων υλικών. Μετά από προσεκτικότερη θεώρηση, τα συστατικά μπορούν να προσδιοριστούν ως:

Τμήματα τριμμάτων, κόκκοι άμμου φυτοπλαγκτόν, τμήματα εξωσκελετών καρκινοειδών και μερικές φορές ολόκληρα ασπόνδυλα. Τα ίδια συστατικά μπορούν να αναγνωριστούν στα περιεχόμενα των στομαχιών των κεφάλων που περισυλλέγησαν από το φυσικό τους περιβάλλον.

Από τους άσπρους κέφαλους (Μέσο SL 20,5mm, n=10) που συγκεντρώθηκαν από παράκτια δείγματα 5 έντερα περιείχαν τμήματα εξωσκελετών, 4 περιείχαν τμήματα εξωσκελετών και άμορφη ύλη η οποία μπορεί να είναι θαλάσσια σκόνη και 1 έντερο ήταν άδειο.

Ένα από τα έντερα που περιείχε τμήματα εξωσκελετών περιείχε επίσης 1 ανέπφασο κωπήποδο και μία νύμφη πολύχαιτου.

Οι νεογνοί κέφαλοι με ραβδώσεις (Μέσο SL = 18,1mm n=10) που συγκεντρώθηκαν από παράκτιες περιοχές, απέδωσαν παρόμοια αποτελέσματα. Οκτώ στομάχια περιείχαν τμήματα εξωσκελετών και άμορφη ύλη που φαίνεται ότι προέρχεται από τρίμματα και δύο από τα στομάχια περιείχαν μόνο άμορφη ύλη από τρίμματα.

Τα στομάχια των νεογνών κεφάλων με ραβδώσεις, οι οποίοι συγκεντρώθηκαν από το ποτάμι Charleston, Harbor (SL 23,1mm, n=10), περιείχαν υλικό από τρίμματα και μερικό ζωοπλαγκτόν.

Τα 10 στομάχια περιείχαν 59 κωπήποδα, 2 προνύμφες πολύχαιτων και 1 νηματώδες. Επίσης, είδαμε πολλά τμήματα εξωσκελετών και όγκος των τριμμάτων ήταν μόλις και μετά βίας ίσος προς τον όγκο των ασπόνδυλων.

4. ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Αυτή η μελέτη είναι η πρώτη που επεξεργάστηκε πειραματικά την κατανάλωση θαλάσσιας σκόνης από τα ψάρια. Οι νεογνοί κέφαλοι κατανάλωσαν μεταξύ 3 και 24 συνόλων κόκκων h^{-1} (Πίνακας 1) .

Στα παράκτια νερά, υποθέτοντας ότι υπάρχει μεγάλη αφθονία -σε σύνολα κόκκων - της τάξης του $20 l^{-1}$ (Trent et al 1978), οι νεογνοί κέφαλοι θα μπορούσαν να καταναλώσουν όλη τη θαλάσσια σκόνη μέσα 1 λίτρο μέσα σε 1 έως 6 ώρες. Μέσα σε ένα ποτάμι, όπου οι συγκεντρώσεις σε σύνολα κόκκων είναι συχνά γύρω στους $100 l^{-1}$, οι νεογνοί κέφαλοι θα μπορούσαν να καταναλώσουν όλη τη θαλάσσια σκόνη σε 1 λίτρο μέσα σε περίπου 5 έως 30 ώρες.

Υπάρχουν λίγες δημοσιευμένες αποδείξεις για την κατανάλωση θαλάσσιας σκόνης από τα μετάζωα. Ο Alldredge (1976) παρουσίασε παρατηρήσεις για τον τύπο *Abudofduf saxatilis*, οι οποίες υπέδειξαν ότι αυτός ο τύπος ψαριών μπορεί να τρεφόταν με προνύμφες, μία πηγή θαλάσσιας σκόνης. Οι Gerber & Marshall (1974) παρείχαν αποδείξεις, από τα περιεχόμενα των στομαχιών των κωπηπόδων, για την κατανάλωση συνόλων κόκκων που προέρχονται από ύφαλους. Ο Suh et al (1991) υπέδειξε από την εξέταση των περιεχομένων του εντέρου, ότι οι προνύμφες κατανάλωναν σύνολα κόκκων.

Bohdansky & Herndl (1992), δοκίμασαν πειραματικά την κατανάλωση θαλάσσιας σκόνης από πλακτωνικά καρκινοειδή. Χρησιμοποίησαν μεθόδους παρόμοιες με εκείνες που χρησιμοποιήθηκαν σ' αυτή τη μελέτη για να παρουσιάσουν την κατανάλωση της θαλάσσιας σκόνης από τα κωπήποδα.

Οι μέθοδοί τους διαφέρουν από εκείνες που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτήν την μελέτη σε 3 τρόπους:

1. Στα κωπήποδα προσφέρθηκε κανονική θαλάσσια σκόνη κατασκευασμένη στο εργαστήριο καθώς και φυτοπλαγκτόν.
2. Η κατανάλωση δεν μετρήθηκε ποσοτικά με τη χρήση κάποιου δείκτη, αλλά μάλλον με μέτρηση των συγκεντρώσεων της φυτικής χρωστικής από τα περιεχόμενα του εντέρου &
3. οι δεξαμενές κυλίστηκαν για 3 μέρες προτού τα κωπήποδα εισαχθούν σ' αυτές.

Υπάρχουν 2 προβλήματα με αυτές τις μεθόδους:

1. Οι φυτικές χρωστικές ουσίες δεν αποτελούν αξιόπιστο τρόπο για τον ποσοτικό προσδιορισμό της κατανάλωσης θαλάσσιας σκόνης επειδή αυτές οι χρωστικές συμβάλλουν πολύ λίγο στο συνολικό ποσό των υλικών της θαλάσσιας σκόνης και επίσης βρίσκονται στα περιβάλλοντα νερά (Shanks & Edmondson 1989) : και
2. επειδή δεν είναι ακόμα γνωστό πως η ωραία γεύση της θαλάσσιας σκόνης αλλάζει με το χρόνο.

Τα ψάρια θα πρέπει να εισάγονται στις δεξαμενές αμέσως αφού έχει γίνει ο σχηματισμός της θαλάσσιας σκόνης. Η περίοδος των 3 ημερών είναι πιθανώς πολύ μεγαλύτερη και μπορεί να ελαττώσει την νοστιμιά της θαλάσσιας σκόνης.

Το γεγονός ότι μερικά είδη ψαριών μπορούν να καταναλώσουν θαλάσσια σκόνη μπορεί να οδηγήσει σε διάφορες αλλαγές στον τρόπο που θεωρούμε τις θαλάσσιες τροφικές σχέσεις.

Τα ψάρια που καταναλώνουν θαλάσσια σκόνη τρέφονται με παραγωγούς και τρίμματα. Με τη θρέψη τους σε ένα χαμηλότερο τροφικό επίπεδο, οι κέφαλοι μπορεί να είναι περισσότερο ικανοί για τη μεταφορά ενέργειας και υλικών προς τα άνω της τροφικής κλίμακας. Εξαιτίας της θρέψης τους με σύνολα κόκκων, οι νεογνοί κέφαλοι μπορούν να τραφούν με εξαιρετικά μικρά σωματίδια (π.χ. βακτήρια κολλημένα σε σωματίδια).

Υπάρχει ένα σωματίδιο ελάχιστου μεγέθους που μπορεί να διατηρηθεί στα βράγχια ενός είδους (Wright et al 1983). Γι' αυτό, υπάρχουν τάξεις μεγέθους πλαγκτόν που θα ήταν πολύ μικρές για κατανάλωση από συγκεκριμένα είδη ψαριών. Η θαλάσσια σκόνη συνδυάζει σωματίδια (ιδιαίτερα μικρότερα) διαφόρων μεγεθών σε μεγαλύτερα σύνολα κόκκων. Οι νεογνοί κέφαλοι τρέφονται με σωματίδια που ήταν πολύ μικρότερα τόσο από τα μοντέλα φαγητού βασικού μεγέθους όσο και απ' ότι θα μπορούσε να προβλεφθεί με βάση το ελάχιστο μέγεθος του σωματίου που μπορεί να συγκρατηθεί από τα βράγχια ενός κέφαλου (Odum 1968a, Marais 1980).

Οι νεογνοί κέφαλοι μπορούσαν να καταναλώσουν τάξεις σωματίων μικρότερου από του προβλεπόμενου μεγέθους και να εκμεταλλευτούν μία θρεπτική πηγή που θεωρούνταν πρωτίτερα μη διαθέσιμη.

Και τα δύο είδη των κεφάλων προσέλαβαν θαλάσσια σκόνη σε εργαστηριακά πειράματα και η κατανάλωση θαλάσσιας σκόνης ήταν αντιστρόφως ανάλογη προς τις συγκεντρώσεις των *Artemia*. Παρ' ότι η κατανάλωση θαλάσσιας σκόνης από τα ψάρια δεν έχει αναφερθεί πρωτίτερα, έχουν γίνει εργατηριακές έρευνες πρόμοιες με αυτήν που μελέτησαν την κατανάλωση τριμμάτων από τα ψάρια.

Ο Ahlgren (1990α) ανακάλυψε ότι η κατανάλωση τριμμάτων από τους άσπρους χάνους ήταν αντιστρόφως ανάλογη προς την συγκέντρωση των Artemia.

Οι μελέτες σχετικά με τις δίαιτες των ψαριών στο φυσικό τους περιβάλλον, όπου οι συγκεντρώσεις σε ασπόνδυλα ποικίλλουν αναλόγως με την εποχή, έχουν δείξει ότι όταν τα ασπόνδυλα ήταν ποσοτικά διαθέσιμα αποτελούσαν το πρωταρχικό διατροφικό συστατικό.

Σε καιρούς μικρότερης αφθονίας σε ασπόνδυλα, ένα μεγάλο τμήμα της διαίτας αποτελούσαν τα τρίμματα (Lowe - Mc Connell 1964, Prejs & Prejs 1987, Ahlgren 1990α).

Οι κέφαλοι με ραβδώσεις κατανάλωσαν συνολικά πολύ περισσότερο υλικό όταν οι συγκεντρώσεις των Artemia ήταν υψηλές (Πίνακας 1). Γι' αυτό εμφανίστηκαν να τρέφονται πολύ περισσότερο με Artemia απ' ότι με θαλάσσια σκόνη. Θα μπορούσαν να υπάρξουν διάφορες εξηγήσεις γι' αυτή τη συμπεριφορά. Είναι γνωστό ότι συγκεκριμένα αμινοξέα προκαλούν τη διατροφική συμπεριφορά στα ψάρια (Carr 1976, Goh & Tamura 1980). Τα τρίμματα συνήθως περιέχουν αμινοξέα σε χαμηλό επίπεδο (Bowen 1987) και όπως άλλα τρίμματα, η θαλάσσια σκόνη είχε επίσης χαμηλή περιεκτικότητα σε αμινοξέα. Τα Artemia μπορεί να προκαλούν μια εντονότερη διατροφική αντίδραση εξαιτίας της υψηλότερης περιεκτικότητάς τους σε αμινοξέα.

Τα οπτικά ερεθίσματα μπορεί να είναι σημαντικά ως πρόκληση για την τροφή. Οι νεογνοί κέφαλοι με ραβδώσεις εμφανίζονται να δαγκώνουν Artemia και να φιλτράρουν την θαλάσσια σκόνη. Σε προηγούμενες έρευνες που έχουν συγκρίνει τη σχέση μεταξύ αυτών των δύο τρόπων διατροφής (Johnson & Vinyard 1987, Ehlinger 1989), προέκυψε ότι το δάγκωμα είναι αποτέλεσμα μιάς ενεργής οπτικής επιλογής ενώ το φιλτράρισμα όχι.

Εάν οι κέφαλοι ψάχνουν για τροφή πρωταρχικά βασιζόμενοι στα οπτικά ερεθίσματα, το ζωοπλαγκτόν που κινείται με γρήγορες κινήσεις θα παράγει περισσότερα οπτικά ερεθίσματα από τη θαλάσσια σκόνη και θα μπορούσε να προκαλέσει αύξηση στη διατροφή.

Παρ' ότι η κατανάλωση θαλάσσιας σκόνης δεν παρήγαγε θετική ανάπτυξη στον κέφαλο με ραβδώσεις, συνέβαλε στη διαίτά του μειώνοντας την απώλεια βάρους, ιδιαίτερα όταν συμπληρώθηκε από Artemia.

Άλλες μελέτες, έδειξαν ότι τα τρίμματα από μόνα τους δεν θα παράγουν θετική ανάπτυξη στα παμφάγα ψάρια (Prinslow et al 1974, Mundahl & Wissing 1987, Ahlgren 1990b) και η θρεπτική τους συμβολή είναι αμφίβολη.

Το γεγονός ότι τα τρίμματα δεν παράγουν θετική ανάπτυξη, στα παμφάγα ψάρια έχει συχνά ερμηνευτεί ως μικρή θρεπτική αξία των τριμμάτων (Ahlgren 1990b). Αυτή η άποψη υποθέτει ότι όλες οι τροφές είναι ποιοτικά παρόμοιες.

Μία εναλλακτική ερμηνεία θα ήταν ότι τα τρίμματα έχουν έλλειψη σε μερικά απαραίτητα συστατικά που χρειάζονται για την ανάπτυξη. Μερικές από αυτές τις θρεπτικές ανεπάρκειες θα μπορούσαν να αντιμετωπιστούν εάν τα ψάρια κατανάλωναν συμπληρωματικά φαγητά, όπως ασπόνδυλα. Τα τρίμματα έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε αμινοξέα, που είναι γενικά σημαντικά για την ανάπτυξη (Bowen 1987, Ahlgren 1990b).

Η μικτή δίαιτα των περιορισμένων *Artemia* και απεριόριστης θαλάσσιας σκόνης σχεδιάστηκε για να λειτουργήσει ως αντανάκλαση, των φυσικών συνθηκών, αλλά τα ψάρια δεν μπόρεσαν να παρουσιάσουν θετική ανάπτυξη με αυτή τη δίαιτα (Πίνακας 2). Εάν οι φυσικές συνθήκες αναπαράγονταν θα ήταν αναμενόμενο να δούμε ρυθμούς ανάπτυξης παρόμοιους με εκείνους των κέφαλων στη φύση, περίπου $2\% d^{-1}$ (υπολογισμένο από τον Thomson το 1963).

Υπάρχουν διάφορες πιθανές εξηγήσεις γι' αυτή την ασυμφωνία. Πρώτον, τα *Artemia*, μπορεί να μην είναι θρεπτικά ισοδύναμα με τα κωπήποδα, τα πιο συνηθισμένα ασπόνδυλα για τροφή για τους νεογνούς κέφαλους (Pisarevskaya & Aksenova 1991). Μία ιδιαίτερη πιθανή εξήγηση είναι ότι οι πειραματικές καταστάσεις δεν ήταν αντιπροσωπευτικές του φυσικού περιβάλλοντος. Οι συγκεντρώσεις σε *Artemia* ήταν ίσες προς τις μέσες συγκεντρώσεις των κωπήποδων στα παράκτια νερά (Fulton 1984). Αυτά τα νούμερα υποθέτουν ότι τα κωπήποδα είναι ενιαία κατανεμημένα στα παράκτια νερά.

Το ζωοπλαγκτόν είναι συχνά ανομοιόμορφα κατανεμημένο (Wiebe 1970, Levin & Segel 1976, Riley 1976) και αυτή η ανομοιομορφία μπορεί να επηρεάζει τη διατροφική επιτυχία των ψαριών (Goponi et al 1985). Επειδή η θαλάσσια σκόνη είναι πανταχού παρούσα στις παραθαλάσσιες περιοχές (Allredge & Silver 1988), οι νεογνοί κέφαλοι θα μπορούσαν να τη χρησιμοποιήσουν για να μειώσουν την απώλεια βάρους όταν βρίσκονται μεταξύ κομματιών ζωοπλαγκτόν.

Μια Τρίτη πιθανή εξήγηση για τη φτωχή ανάπτυξη των κεφάλων που τράφηκαν με θαλάσσια σκόνη στη μικτή δίαιτα, είναι ότι η απεριόριστη θαλάσσια σκόνη μπορεί να μην ήταν απεριόριστη με την αληθινή σημασία της λέξεως. Υπήρχε ένας μέσος όρος 292 συνόλων κόκκων ανά δεξαμενή. Εάν ένα ψάρι κατανάλωσε κατά μέσο όρο τα σύνολα κόκκων h^{-1} και όλα κατανάλωσαν με τον ίδιο ρυθμό (παρ' ότι αυτό είναι απίθανο), κατά τη διάρκεια μιάς περιόδου 24 ωρών στο πείραμα ανάπτυξης, ένα ψάρι θα κατανάλωνε σχεδόν όλα τα σύνολα κόκκων σε μία δεξαμενή.

Εάν η ποιότητα της τροφής της θαλάσσιας σκόνης ποικίλλει από το ένα στο άλλο σύνολο κόκκων, και οι κέφαλοι μπορούν να διαισθανθούν αυτές τις διαφορές, τότε η θαλάσσια σκόνη που απέμενε στο τέλος των 24 ωρών, της διατροφικής περιόδου μπορεί να είχε άσχημη γεύση για τους κέφαλους. Τα τρίμματα μπορούν να περιέχουν υψηλές ποσότητες φαινολικών οξέων, τα οποία αυξάνουν σε συγκέντρωση με την ηλικία των τριμμάτων και μπορούν να ελαττώσουν την νοστιμιά των τριμμάτων (Valiela & Reitsma 1984).

Ο Ahlgren (1990b), βρήκε ότι οι άσπροι χάνοι έχουν την ικανότητα να εκτιμούν την ποιότητα των τριμμάτων και να επιλέγουν για κατανάλωση τα σωματίδια υψηλότερης ποιότητας.

Οι κέφαλοι κατέχουν διακριτές γεύσεις στο φαρυγγικό τους σύστημα (Hossler & Merchant 1983), οι οποίοι θα μπορούσαν να χρησιμοποιούνται για να επιλέγονται για κατανάλωση τριμματος υψηλότερης ποιότητας. Εάν η ποιότητα της θαλάσσιας σκόνης, πραγματικά διαφέρει από το ένα στο άλλο σύνολο κόκκων και οι κέφαλοι είναι ικανοί, πιθανότατα θα σταματούσαν να τρώνε, όταν όλα τα νόστιμα σύνολα κόκκων θα είχαν καταναλωθεί και γι' αυτό το λόγο ίσως να μην κατανάλωναν θαλάσσια σκόνη έως το σημείο χορτασμού.

Η φτωχή ανάπτυξη των κέφαλων που τράφηκαν με θαλάσσια σκόνη στα πειράματα ανάπτυξης μπορεί να οφείλεται στο άγχος. Υπήρχε υψηλή θνησιμότητα άσπρων κέφαλων σε διατροφικές δοκιμές (Πίνακας 2). Οι πειραματικές συνθήκες του να είναι κλεισμένοι σε μία 3 X 1 Plexiglas δεξαμενή για 24 ώρες τη φορά ίσως να αύξησε το άγχος, σε επίπεδο που δεν επέτρεπε σε μερικά από τα ψάρια να επιβιώσουν στις 14 μέρες του πειράματος. Ενώ δεν υπήρχε αξιοσημείωτη έλλειψη οξυγόνου στις δεξαμενές κατά τη διάρκεια μίας 24ωρης περιόδου, άλλοι παράγοντες άγχους όπως η αύξηση σε συγκεντρώσεις διαλυμένου αζώτου δεν είχαν παρακολουθηθεί.

Ο Ahlgren ανακάλυψε ότι οι άσπροι χάνοι αγχώονταν μετά από πειράματα ανάπτυξης 21 ημερών. Παρ' όλα αυτά, οι χάνοι δεν ήταν κλεισμένοι στις πειραματικές δεξαμενές. Είναι λογικό να υποθεθεί τότε ότι οι άσπροι κέφαλοι θα αγχώονταν μετά από 14 μέρες που ήταν εντελώς κλεισμένοι στην πειραματική δεξαμενή για 24 ώρες τη φορά..

Οι δεξαμενές που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή τη μελέτη ήταν 3 X 1 σε μέγεθος. Το μικρό μέγεθος των πειραματικών δεξαμενών θα μπορούσε να έχει μειώσει τη διατροφή. Ενώ ο κέφαλοι εμφανίστηκαν να τρέφονται σε ένα λογικό επίπεδο, ίσως να μην τράφηκαν όπως θα τρέφονταν στη φύση. Εάν αυτό ήταν ορθό, θα είχαμε ως αποτέλεσμα ένα μικρότερο SGR.

Ο Blaxter (1980), υπέδειξε ότι η ανάπτυξη των ψαριών στο εργαστήριο βασίζεται στο διαθέσιμο χώρο. Τα ψάρια σε μικρότερες δεξαμενές ίσως αναπτύσσονται πιο αργά και λιγότερο υγιεινά (Theilacker 1980).

Η εργαστηριακή θρέψη έχει δείξει ότι παράγει αργότερους ρυθμούς ανάπτυξης απ' ό,τι αυτούς που αναφέρονταν στη φύση (Bailey & Stehr 1986). Αυτές οι επιρροές μπορεί επίσης να είναι μία σημαντική εξήγηση για τους χαμηλούς ρυθμούς ανάπτυξης σε αυτή τη μελέτη.

Ο κέφαλος μπορεί να μην είναι τόσο ικανός όσο άλλα παμφάγα στο να χωνεύει αμινοξέα που προέρχονται από τρίμματα. Η επάρκεια σε απορρόφηση της τάξης του 49,2% για οργανική ύλη θαλάσσιας σκόνης, είναι μέσα στο φάσμα των % ΑΕ υπολογισμών (20 ως 75%) για ψάρια που τρέφονται με τρίμματα στο φυσικό τους περιβάλλον (Ahlgren 1989). Η απορρόφηση των αμινοξέων θαλάσσιας σκόνης από τον κέφαλο (55,7%), ήταν χαμηλότερη από τους υπολογισμούς για το είδος *Tilapia* (72%) και για τον άσπρο χάνο (68,9%) που τρέφονται με τρίμματα. Οι άσπροι χάνοι (Ahlgren 1990b) . Επίσης παρουσίασαν καλύτερη ανάπτυξη τρεφόμενοι με τρίμματα (-0,66% d^{-1}) απ' ό,τι παρουσίασαν οι νεογνοί κέφαλοι με ραβδώσεις τρεφόμενοι με θαλάσσια σκόνη (-1,34% d^{-1}), το οποίο ίσως υποδεικνύει ότι οι κέφαλοι επεξεργάζονται τα αμινοξέα των τριμμάτων λιγότερο ικανοποιητικά απ' ό,τι οι χάνοι.

Οι νεογνοί κέφαλοι με ραβδώσεις επίσης επεξεργάτηκαν την οργανική ύλη (10%) λιγότερο ικανοποιητικά απ' ό,τι οι νεογνοί άσπροι χάνοι. Αλλά τα αμινοξέα είναι περισσότερο σημαντικά για την ανάπτυξη απ' ό,τι είναι η οργανική ύλη (Bowen 1987).

Τα φυτοφάγα ζώα είναι ικανά να αλλάζουν την ικανότητά τους να απορροφούν διαφορετικά υλικά ούτως ώστε να αποζημιώνονται για τις αλλαγές στη διαίτά τους (Prosser & De Villez 1991). Τα ψάρια σε αυτή τη μελέτη διατηρήθηκαν σε δεξαμενές για 3 έως 14 ημέρες πριν από τα πειράματα. Επειδή συντηρούνταν με μία διαίτα με φυτικά φαγητά μπορεί να εκτέθηκαν σε υψηλότερα επίπεδα αμινοξέων από αυτά που θα συναντούσαν στη φύση.

Οι κέφαλοι μπορεί να δοκίμασαν αλλαγές στην πεπτική φυσιολογία κατά τη διάρκεια της περιόδου που κρατούνταν στο εργαστήριο πριν από την αρχή των πειραμάτων, γεγονός που θα μπορούσε να οδηγήσει σε ελαττωμένη ικανότητα απορρόφησης και ελαττωμένη ανάπτυξη στη διαίτα με θαλάσσια σκόνη.

Τα περιεχόμενα των στομαχιών των νεογνών κεφάλων με ραβδώσεις που συγκεντρώθηκαν από το ποτάμι Charleston Harbor φαίνονταν περίπου πανομοιότυπα με τα περιεχόμενα των στομαχιών των κεφάλων που τράφηκαν με θαλάσσια σκόνη στο εργαστήριο. Αυτό υποδεικνύει ότι οι κέφαλοι με ραβδώσεις από το Charleston Harbor τρέφονταν με θαλάσσια σκόνη.

Το υλικό από τρίμματα από το στομάχι των νεογνών κεφάλων με ραβδώσεις που περισυνελέγησαν από παράκτια νερά έδειχνε παρόμοιο με το υλικό από τα στομάχια των ψαριών που τράφηκαν με θαλάσσια σκόνη στο εργαστήριο και γι' αυτό το λόγο ίσως να τρέφονταν και αυτά με θαλάσσια σκόνη.

Τα ασπόνδυλα που βρέθηκαν στα έντερα αυτών των κεφάλων (κωπήποδα, πολύχαιτα και νηματώδη) συγκεντρώνονται στη θαλάσσια σκόνη (Shanks & Edmondson 1990). Επειδή ένα τέτοιο υψηλό εκατοστιαίο ποσοστό νηματωδών στη στήλη νερού υπάρχει στη θαλάσσια σκόνη, είναι απίθανο ένα ψάρι να μπορεί να προσλάβει ένα νηματώδες χωρίς να προσλάβει ενεργά και θαλάσσια σκόνη (Shanks & Edmondson 1990). Οι Shanks & Edmondson (1990) παρατήρησαν ότι στο περιβάλλον ενός ποταμού το 80% όλων των νηματωδών και των πολύχαιτων στη στήλη του νερού ήταν στη θαλάσσια σκόνη. Επειδή ο όγκος των τριμμάτων και του ζωοπλαγκτόν ήταν σχεδόν ίσος στα στομάχια των συγκεντρωμένων και πειραματικών νεογνών κεφάλων με ραβδώσεις, φαίνεται ότι έχουν καταναλώσει θαλάσσια σκόνη και ασπόνδυλα σε παρόμοιους ρυθμούς.

Αυτή η μελέτη έδειξε ότι οι νεογνοί κέφαλοι προσλαμβάνουν ενεργά θαλάσσια σκόνη στο εργαστήριο. Καμία προηγούμενη μελέτη δεν έχει επιβεβαιώσει την κατανάλωση θαλάσσιας σκόνης από τα ψάρια. Οι αναλύσεις των περιεχομένων των εντέρων των συγκεντρωμένων και πειραματικών νεογνών κεφάλων υποδεικνύουν ότι αυτά τα εργαστηριακά πειράματα έχουν σχέση με το φυσικό περιβάλλον.

Η κατανάλωση θαλάσσιας σκόνης μπορεί να εμποδίσει την απώλεια βάρους στους νεογνούς κέφαλους. Ιδιαίτερα όταν συμπληρώνεται με ζωοπλαγκτόν.

Οι ικανότητες απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών από τη θαλάσσια σκόνη, που καταναλώθηκε από τους νεογνούς κέφαλους ήταν συγκρίσιμες με εκείνες που βρέθηκαν για άλλα ψάρια που τρέφονται με τρίμματα.

ΜΕΡΟΣ ΤΕΤΑΡΤΟ

Η ΠΛΗΣΙΕΣΤΕΡΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ Η ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΕ ΑΜΙΝΟΞΕΑ ΤΟΥ ΑΥΓΟΤΑΡΑΧΟΥ ΚΑΙ ΤΩΝ ΜΥΩΝ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΕΙΔΩΝ.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.

Η σύνθεση του αυγοτάραχου σε ανεπεξέργαστες πρωτεΐνες, συνολικά λιπίδια, νερό, χοληστερόλη και αμινοξέα δεκαοκτώ θαλάσσιων ειδών, προσδιορίστηκαν και συγκρίθηκαν με εκείνα των μυών από τα ίδια θαλάσσια είδη.

Οι ανεπεξέργαστες πρωτεΐνες και τα συνολικά λιπίδια ήταν υψηλότερα στο αυγοτάραχο απ' ότι στους μύες, ενώ το νερό ήταν λιγότερο. Η χοληστερόλη στο αυγοτάραχο ήταν γενικά δέκα φορές υψηλότερη απ' ότι στους μύες αλλά μόνο γύρω από το ένα τέταρτο του κρόκου ενός αυγού κότας.

Το γλουταμινικό οξύ, η λευκίνη και το ασπαρτικό οξύ βρέθηκε ότι αποτελούν τα κύρια συστατικά του αυγοτάραχου. Η περιεκτικότητα σε λευκίνη και προλίνη ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στο αυγοτάραχο απ' ότι στους μύες. Συνολικά, το αυγοτάραχο είχε καλή ισορροπία ως προς τα απαραίτητα αμινοξέα και είχε μία καλή E.NE αναλογία και μπορεί να θεωρηθεί μία θρεπτική πηγή με υψηλής ποιότητας πρωτεΐνες.

1.1. ΓΕΝΙΚΑ.

Τα τελευταία χρόνια, η χρησιμοποίηση θαλάσσιων πηγών για ανθρώπινη κατανάλωση έχει αυξηθεί παγκοσμίως. Αυτό οφείλεται κυρίως σε μία κλιμακούμενη συνειδητοποίηση της σημασίας της υγείας καθώς και σε ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον για την διατροφή.

Στις ΗΠΑ, καθίσταται όλο και περισσότερο σημαντική η διερεύνηση των αποκαλούμενων υποχρησιμοποιούμενων ειδών ψαριών και οστρακοειδών.

Στην Ιαπωνία εν αντιθέσει, οι θαλάσσιες πηγές χρησιμοποιούνται συστηματικά και σε ευρεία κλίμακα. Επιπροσθέτως, οι Γιαπωνέζοι δεν τρέφονται μόνο με μύες ψαριών αλλά και με αυγοτάραχο εξαιτίας της επιθυμητής γεύσης του δεύτερου.

Το αυγοτάραχο είναι ένα από τα πλέον πολύτιμα τρόφιμα που προέρχονται από το ψάρεμα. Σε μερικά ψάρια όπως ο κολιός, ο κάβουρας και λοιπά, το βραστό και ψημένο αυγοτάραχο μπορεί να φαγωθεί μαζί με την σάρκα. Σε μερικά ψάρια το αυγοτάραχο αφαιρείται και πωλείται ως λιχουδιά.

Στην Ιαπωνία το ξεχωριστό αυγοτάραχο του κέφαλου είναι γνωστό ως «Karasumi», του σολωμού ως «suiko» ή «ikura», της ρέγγας ως «Kazunoko», του βακαλάου ως «tavako» και του αχινού ως «uni».

Το «Karasumi» και το «uni» θεωρούνται ως ακριβές λιχουδιές. Το διαχωρισμένο αυγοτάραχο μπορεί να αλατισθεί και να ψηθεί στην σχάρα για φαγητό. Εξαιτίας της ανάγκης για θρεπτικά στοιχεία, των φαγητών που προέρχονται από τη θάλασσα, είναι τώρα διαθέσιμα τα στοιχεία της σύνθεσης χίλιων ειδών ψαριών (Kritchovski, 1967: Sidwell, Sweeney & Weihrauch, 1976).

Παρ' ότι δεν υπάρχουν πολλές πληροφορίες σχετικά με το αυγοτάραχο Iu (1979) και ο Kaitaranta (1980) παρουσίασαν πρόσφατα τη χημική και θρεπτική σύνθεση του αυγοτάραχου του αλατισμένου κέφαλου, της Βαλτικής ρέγγας και της πολύχρωμης πέστροφας. Οι σκοποί της παρούσας έρευνας ήταν:

- 1) Να προσδιορίσει την πλησιέστερη σύνθεση και την σύνθεση σε χοληστερόλη και αμινοξέα του αυγοτάραχου και των μυών δεκαοκτώ θαλάσσιων ειδών και
- 2) Να προσδιορίσει αν και κατά πόσο υπάρχουν σημαντικές χημικές και θρεπτικές διαφορές μεταξύ του αυγοτάραχου και των μυών αντιστοίχων θαλάσσιων ειδών.

2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ.

2.1. Υλικά και Μέθοδοι (ψάρι και αυγοτάραχο).

Μεταξύ του Νοεμβρίου 1984 και του Φεβρουαρίου του 1985 αγοράστηκαν από τις τοπικές αγορές δεκαοκτώ θαλάσσια είδη μαζί με το αυγοτάραχό τους: κολιός (*Scomber japonictus*), κέφαλος (*Mugil cephalus*), σαρδέλλα (*Sardinops melanosticta*), ρέγγα (*clupea pallast*), σολωμός (*Oncorhynchus keta*) *Spirinchus lanceelatus*, βακαλάος (*Cradus morhua macrocephalus*) απλός βακαλάος (*Theragra Chalcogramma*), ψάρια με επίπεδο σώμα (*Limanda herzensteini*) *Microstomus Achne*, καλαμάρια (*Doryteuthis Bleekeri*) *Octopus Ocellatus*, κάβουρας (*Portunus trituberculatus*) και θαλάσσιος αχινός (*Hemicentrotus Pulcherrinus*). Για όλες τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκαν ωμά και μη επεξεργασμένα αυγοτάραχα και μύς.

2.2. Οι πλησιέστερες αναλύσεις.

Πρωταρχικά στις αναλύσεις, το αυγοτάραχο και οι μύς βρέθηκε ότι υπόκεινται σε μία καλή και ομογενή σταθερότητα και κάθε είδος αναλύθηκε εις τριπλούν. Το νερό προσδιορίστηκε με ξηροποίηση με ψύξη, η ανεπεξέργαστη πρωτεΐνη ($N \times 6.25$) με την μέθοδο *Microkjeldahl* AOAC (1980). Τα συνολικά λιπίδια προσδιορίστηκαν με διαλυτική απόσπασση (Bligh & Dyer 1959). Η χοληστερόλη αναλύθηκε με την χρωματογραφική μέθοδο αερίου βασισμένη σε μία μονταρισμένη διαδικασία του Kovacs (1977).

2.3. Ανάλυση των αμινοξέων.

Τα καλώς ομογενοποιημένα, ξηραμένα με ψύξη αυγοτάραχα ή μύς, υδρολύθηκαν σε 6N υδροχλωρίου (HCl) το οποίο περιείχε 1% θειογλυκολλικό οξύ υπό κενό στους 110 C για 24 ώρες.

Το διάλυμα της υδρόλυσης τοποθετήθηκε με ένεση σε έναν αυτόματο αναλυτή αμινοξέων Hitachi 835, εξοπλισμένο με μία αριθμομηχανή που εκτελεί ολοκληρώσεις.

3. ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.

Η πλησιέστερη σύνθεση του αυγοτάραχου και των μυών διαφόρων ειδών απεικονίζεται στον Πίνακα (1). Οι πρωτεΐνες του αυγοτάραχου του κάβουρα (30,2%) ήταν οι υψηλότερες μεταξύ των αυγοτάραχων των εξεταζόμενων ειδών. Οι πρωτεΐνες στο αυγοτάραχο ήταν γενικά υψηλότερες από αυτές των αντίστοιχων μυών.

Τα λιπίδια στο αυγοτάραχο ήταν επίσης γενικά υψηλότερα από αυτά στους αντίστοιχους μύς. Η περιεκτικότητα σε λιπίδια ποίκιλλε από μία ελάχιστη τιμή 3% στο αυγοτάραχο της ρέγγας, σε μία μέγιστη τιμή 19,8% στο αυγοτάραχο του κέφαλου.

Η περιεκτικότητα σε χοληστερόλη στο αυγοτάραχο των θαλάσσιων ειδών, επίσης απεικονίζεται στον Πίνακα (1).

Τα επίπεδα χοληστερόλης στο αυγοτάραχο δεκατεσσάρων ειδών ψαριών με πτερύγια ήταν σχεδόν δεκαπλάσια από εκείνα των αντίστοιχων μυών. Παρ' όλα αυτά στα οστρακοειδή και στα μαλάκια, η χοληστερόλη ήταν σε σχετικά υψηλότερα επίπεδα στο αυγοτάραχο απ' ότι στους μύς, αλλά η διαφορά δεν ήταν μεγάλη (Sweeney & Weihrauch, 1976). Το περιεχόμενο σε χοληστερόλη του αυγοτάραχου των θαλάσσιων ειδών ήταν περίπου το ένα τέταρτο (1/4) του κρόκου ενός αυγού κότας το οποίο είναι γνωστό ότι είναι περίπου 1000 - 1500 mg/100g (Sikka & Johari, 1979).

Table 1—Proximate composition of the roe and muscle of marine species.

	Water g/100g		Protein g 100g				Lipid g 100g				Cholesterol mg 100g					
	R ^a	Mu	R		Mu		R		Mu		R		Mu			
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD		
Bluefish	70.1	± 0.9	76.9	± 1.0	19.2	± 0.3	18.9	± 0.5	9.3	± 0.8	2.9	± 0.5	348	± 12.5	34	± 2.9
Sea bream	73.4	± 0.7	75.9	± 1.4	20.3	± 0.4	19.2	± 0.9	4.9	± 0.5	3.6	± 0.6	366	± 14.6	35	± 3.0
Mackerel	66.6	± 1.0	71.5	± 0.7	25.3	± 0.7	21.5	± 0.3	6.8	± 0.7	5.1	± 0.6	416	± 7.1	53	± 2.4
Mullet	50.4	± 0.9	69.9	± 1.2	28.7	± 1.0	18.8	± 0.4	19.8	± 0.8	9.4	± 1.1	486	± 6.8	47	± 1.8
Sardine	68.7	± 0.3	78.0	± 0.2	24.4	± 0.6	16.9	± 0.6	6.0	± 0.5	3.8	± 0.5	395	± 6.1	39	± 1.4
Herring	77.0	± 0.7	77.4	± 0.8	18.7	± 0.4	18.4	± 0.6	3.0	± 0.6	2.8	± 0.5	305	± 5.8	32	± 0.4
Salmon, chum	57.6	± 1.1	75.7	± 1.3	27.0	± 0.3	18.9	± 0.6	14.1	± 0.6	4.1	± 0.5	450	± 8.6	40	± 1.3
Smelt, shishamo	61.4	± 0.3	79.6	± 0.4	24.1	± 0.6	13.4	± 0.5	13.2	± 0.7	5.8	± 0.6	556	± 16.3	68	± 4.0
Cod, Pacific	67.9	± 0.4	80.3	± 0.3	26.5	± 0.5	17.3	± 0.3	4.3	± 0.3	1.2	± 0.1	304	± 5.9	30	± 0.8
Cod, sketo	67.4	± 0.8	80.0	± 0.6	25.8	± 0.9	17.8	± 0.3	5.2	± 0.4	1.0	± 0.1	315	± 4.1	37	± 0.9
Anglerfish	82.1	± 0.8	83.2	± 1.2	11.5	± 0.2	13.1	± 0.8	5.3	± 0.4	2.5	± 0.6	312	± 11.8	32	± 2.2
Flounder, Pacific	70.2	± 0.7	77.2	± 0.6	21.2	± 0.8	19.9	± 0.7	7.3	± 0.5	1.6	± 0.2	543	± 9.4	43	± 0.2
Flatfish, Pacific	68.4	± 0.3	80.4	± 0.5	27.2	± 0.1	16.1	± 0.3	3.3	± 0.2	2.4	± 0.2	414	± 7.8	48	± 0.4
Flatfish, nameta	68.3	± 0.6	79.0	± 0.6	27.1	± 0.1	17.9	± 0.7	3.5	± 0.4	2.1	± 0.3	424	± 9.8	41	± 0.8
Squid	70.0	± 0.4	81.0	± 0.2	23.4	± 0.7	16.6	± 0.5	5.1	± 0.6	1.1	± 0.1	374	± 4.7	252	± 5.8
Small poulp	77.1	± 0.3	82.2	± 0.7	17.3	± 0.1	14.8	± 0.3	4.4	± 0.3	2.4	± 0.4	186	± 8.6	87	± 2.4
Crab	65.4	± 0.6	76.7	± 1.1	30.2	± 0.5	18.2	± 0.7	13.0	± 0.8	3.9	± 1.2	494	± 13.0	88	± 1.8
Sea urchin	74.1	± 1.1			16.3	± 0.5			8.4	± 0.7			310	± 6.7		

^a R = Roe; Mu = Muscle; M = Mean; SD = Standard deviation.

4. ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΑΜΙΝΟΞΕΑ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ.

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων των αμινοξέων των διαφόρων αυγοτάραχων και μυών απεικονίζονται στους πίνακες (2) και (3). Το αμινοξύ που βρέθηκε σε μεγαλύτερη αφθονία, το γλουταμινικό, βρέθηκε ότι κατά μέσο όρο ήταν 13,46g N στο αυγοτάραχο, δεκατεσσάρων ειδών ψαριών με πτερύγια, ακολουθούμενο από τη λευκίνη ή το ασπαρτικό οξύ.

Η μεθειονίνη και η ιστιδίνη εμφανίστηκαν σε μικρές συγκεντρώσεις στα ψάρια με πτερύγια. Το αμινοξύ, το μεγαλύτερο σε αφθονία στους μύς των ψαριών με πτερύγια ήταν επίσης το γλουταμινικό οξύ, ακολουθούμενο ως συνήθως κατά φθίνουσα σειρά από το ασπαρτικό οξύ και τη λυσίνη.

Η λευκίνη, η προλίνη, η τυροσίνη, η βαλίνη, η αλανίνη και η σερίνη (ιδιαίτερα η λευκίνη και η προλίνη βρέθηκαν ότι υπήρχαν σε σχετικά μεγαλύτερη συγκέντρωση στο αυγοτάραχο απ' ότι στους μύς ενώ το γλουταμινικό οξύ, η λυσίνη και το ασπαρτικό οξύ ήταν σε μικρότερη συγκέντρωση στο αυγοτάραχο απ' ότι στους μύς. Στο αυγοτάραχο από τα οστρακοειδή και τα μαλάκια το γλουταμινικό οξύ ήταν επίσης το κυρίαρχο αμινοξύ μαζί με τη λευκίνη, το ασπαρτικό οξύ και τη λυσίνη.

Η λευκίνη ήταν σε σχετικά υψηλότερη συγκέντρωση στο αυγοτάραχο από μαλάκια απ' ότι σ' αυτό των ψαριών με πτερύγια.

Η γλυκίνη βρέθηκε σε εξαιρετικά υψηλό επίπεδο (9,29g/16g N) στο αυγοτάραχο του θαλάσσιου αχινού σε σύγκριση με τα αυγοτάραχα των άλλων ειδών που εξετάστηκαν (2,2 - 4,9g/16g N). Τα ευρήματά μας σε προλίνη στο αυγοτάραχο μη επεξεργασμένου κέφαλου (8,34 g / 16 g N), ήταν δυνατό να συγκριθεί με την προλίνη σε ποσοστό 10,39% του αυγοτάραχου ενός αλατισμένου ατλαντικού κέφαλου όπως αναφέρει ο Lu et al (1979).

Η αναλογία των απαραίτητων και μη απαραίτητων αμινοξέων στις πρωτεΐνες των αυγοτάραχων απεικονίζεται στους Πίνακες (2) και (3).

Η αναλογία E/NE στο αυγοτάραχο δεκατεσσάρων ειδών ψαριών με πτερύγια βρέθηκε ότι κατά μέσο όρο ήταν 0,74 και ήταν παρόμοια με εκείνη των αντίστοιχων φυτών των ίδιων ψαριών.

Παρ' όλα αυτά, η αναλογία E/NE στις πρωτεΐνες του αυγοτάραχου των μαλακίων (ca 0,9) ήταν υψηλότερη από εκείνη στις πρωτεΐνες των μυών των αντίστοιχων ειδών (ea 0,6).

Από τα στοιχεία που προέκυψαν, καθίσταται προφανές ότι σε γενικές γραμμές, το αυγοτάραχο είναι καλά ισορροπημένο σε σχέση με τα απαραίτητα αμινοξέα, έχει προτιμότερη E/NE αναλογία και μπορεί να θεωρηθεί ως μία θρεπτική πηγή με πρωτεΐνες υψηλής ποιότητας.

Table 2-2—Amino acid composition of the roe and muscle of finfish (g 16 g N)

	Smelt, shishamo		Cod, Pacific		Cod, sketo		Anglerfish		Flounder, Pacific		Flatfish, Pacific		Flatfish, nameta	
	R ^a	Mu	R	Mu	R	Mu	R	Mu	R	Mu	R	Mu	R	Mu
Asp.	9.69	11.60	8.50	10.78	9.57	11.82	10.18	10.89	9.51	11.72	10.14	11.71	8.39	10.79
Thr.	5.24	4.64	4.62	4.32	4.86	4.34	3.61	4.04	4.57	4.67	5.03	4.62	4.05	4.46
Ser.	6.02	3.50	4.46	3.51	4.87	3.16	2.16	2.34	4.22	3.18	4.43	3.57	5.08	4.04
Glu.	12.22	16.92	14.23	16.60	14.04	16.79	13.62	16.76	13.75	16.61	14.31	16.64	14.65	16.54
Gly.	3.03	3.95	3.11	3.89	3.04	3.93	4.85	4.28	3.89	3.82	3.23	4.44	3.08	3.92
Ala.	7.24	6.10	7.48	5.91	7.44	6.12	5.90	5.51	6.55	5.92	6.98	5.89	7.14	5.79
Val.	6.39	5.28	6.47	5.21	6.37	5.19	6.05	5.20	6.15	5.22	6.50	5.21	6.11	5.67
Met.	3.08	3.56	2.80	3.46	2.70	3.53	3.40	3.71	2.72	3.42	2.33	3.42	2.36	3.49
Ileu.	5.59	4.74	6.07	4.78	5.94	4.80	5.09	4.94	5.07	4.92	6.02	4.82	5.82	5.12
Leu.	8.72	8.75	10.09	8.41	10.05	8.45	9.01	8.70	9.17	8.58	10.16	8.40	9.86	8.76
Tyr.	3.95	3.95	5.23	4.01	5.04	3.95	4.76	4.16	4.66	3.94	4.68	3.99	4.84	4.08
Phe.	4.08	4.42	4.45	4.27	4.43	4.47	5.19	4.37	4.55	4.39	4.64	4.33	4.63	4.50
Lys.	7.81	9.91	8.66	10.08	8.33	10.01	8.58	10.65	8.56	10.08	7.92	9.81	8.53	10.34
His.	3.11	2.42	2.63	2.53	2.47	2.52	2.73	2.38	2.64	2.61	2.52	2.32	2.78	2.66
Arg.	6.37	6.34	5.66	6.72	5.63	6.56	7.15	6.87	6.61	6.56	6.05	6.51	5.37	5.81
Pro.	4.90	3.12	5.42	2.86	5.91	2.94	4.38	2.95	4.99	3.10	5.55	3.11	7.08	2.69
E NE	0.72	0.71	0.76	0.71	0.74	0.71	0.73	0.74	0.72	0.72	0.74	0.70	0.71	0.75

^a R = Roe; Mu = Muscle.

Table 2-1—Amino acid composition of the roe and muscle of finfish (g 16 g N)

	Bluefish		Sea bream		Mackerel		Mullet		Sardine		Herring		Salmon, chum	
	R ^a	Mu	R	Mu	R	Mu	R	Mu	R	Mu	R	Mu	R	Mu
Asp.	8.75	11.78	9.55	10.87	8.53	9.45	7.42	9.98	7.91	10.34	8.41	10.72	9.26	10.60
Thr.	4.87	4.58	4.67	4.42	4.29	4.14	4.39	4.15	5.05	4.35	5.55	4.35	4.31	4.58
Ser.	4.59	3.24	3.21	2.88	5.47	3.17	4.19	3.24	4.93	3.03	4.37	3.50	3.54	3.38
Glu.	13.25	16.53	13.82	15.57	12.38	13.77	13.53	14.64	13.23	16.10	12.97	16.71	12.46	16.04
Gly.	3.31	3.75	4.61	4.15	4.12	3.73	3.24	5.16	3.31	4.03	3.46	4.14	2.34	4.24
Ala.	7.03	5.77	6.13	6.10	7.31	5.49	7.29	5.94	7.66	5.76	8.11	6.36	7.74	6.34
Val.	6.26	5.21	6.04	5.76	5.82	5.37	6.29	5.10	6.87	5.48	7.17	5.49	7.37	5.83
Met.	3.20	3.51	2.82	3.43	2.77	3.07	2.53	2.99	2.96	3.33	2.90	3.58	3.28	3.65
Ileu.	5.28	4.86	4.87	5.24	5.00	4.73	5.25	4.58	6.03	4.89	6.19	4.82	6.15	5.16
Leu.	8.81	8.50	8.68	8.64	8.32	7.83	8.77	8.09	10.18	8.47	10.73	8.78	10.05	8.85
Tyr.	4.79	3.88	5.16	4.12	5.37	3.79	5.37	3.73	4.27	4.00	5.00	3.88	4.78	4.18
Phe.	4.80	4.49	4.96	4.59	4.74	4.15	4.90	4.17	4.23	4.41	4.53	4.60	5.61	4.66
Lys.	8.27	10.11	7.49	10.45	8.11	9.33	7.22	10.10	8.65	10.62	8.10	10.53	8.59	10.46
His.	2.87	2.76	2.57	3.08	3.53	7.67	2.68	2.81	3.01	4.15	2.57	2.51	3.19	2.22
Arg.	6.46	6.45	7.33	5.71	6.26	5.15	6.72	6.85	5.67	5.67	5.03	5.74	5.45	5.91
Pro.	5.78	3.12	5.64	2.97	4.31	2.50	8.34	4.11	4.36	2.89	5.42	2.70	6.10	3.13
E NE	0.73	0.72	0.68	0.77	0.68	0.71	0.67	0.69	0.80	0.74	0.81	0.75	0.82	0.77

^a R = Roe; Mu = Muscle.

Table 3—Amino acid composition of the roe and muscle of molluscs, crustacean, and echinoderm (g 16g N)

	Squid		Small poulpe		Crab		Sea urchin
	R ^a	Mu	R	Mu	R	Mu	R
Asp.	10.38	9.80	9.44	10.88	8.89	9.37	9.98
Thr.	6.04	3.96	5.65	4.34	4.89	3.84	3.95
Ser.	4.33	3.45	4.40	4.14	3.11	3.24	1.50
Glu.	13.53	15.59	16.29	17.00	14.59	14.76	11.63
Gly.	2.31	3.89	2.21	4.41	4.10	5.95	9.29
Ala.	4.03	6.15	3.23	5.48	4.75	6.39	4.56
Val.	7.35	4.29	7.03	4.60	6.81	4.56	5.52
Met.	2.93	3.16	2.82	3.20	3.33	2.80	2.94
Ileu.	8.27	4.63	7.10	5.00	5.78	4.35	4.42
Leu.	11.57	8.25	11.93	8.86	9.70	7.35	7.06
Tyr.	4.41	3.56	5.71	3.91	5.59	3.96	4.72
Phe.	3.65	4.07	3.85	4.38	4.65	4.18	4.63
Lys.	9.24	8.69	9.79	9.05	7.46	7.87	7.87
His.	2.35	2.05	2.86	2.42	3.24	2.47	2.60
Arg.	6.28	7.75	6.23	7.20	6.85	8.45	7.91
Pro.	4.42	7.29	3.76	2.80	4.80	4.56	4.08
E NE	0.93	0.62	0.89	0.68	0.76	0.59	0.65

^a R: Roe, Mu: Muscle