

Τ.Ε.Ι ΜΕΣΣΟΛΟΓΓΙΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΧΘΥΟΚΟΜΙΑΣ-ΑΛΙΕΙΑΣ



Πτυχιακή εργασία

ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΙΚΟΝΕΣ ΤΟΥ ΨΑΡΙΟΥ

Puntazzo puntazzo

ΔΙΑΤΡΕΦΟΜΕΝΟΥ ΜΕ ΣΙΤΗΡΕΣΙΑ
ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗΣ ΚΑΙ
ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ

Κουτσοδήμου Μαρία
Α.Μ 4129

Υπεύθυνος:
Άλκηστις Παρπούρα

Μεσολόγγι 1997

Τ.Ε.Ι ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΧΘΥΟΚΟΜΙΑΣ-ΑΛΙΕΙΑΣ



Πτυχιακή εργασία

ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΙΚΟΝΕΣ ΤΟΥ ΨΑΡΙΟΥ

Puntazzo puntazzo

ΔΙΑΤΡΕΦΟΜΕΝΟΥ ΜΕ ΣΙΤΗΡΕΣΙΑ
ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗΣ ΚΑΙ
ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ

Κουτσοδήμου Μαρία
Α.Μ 4129

Υπεύθυνος:
Άλκηστις Παρπούρα

Εγκρίνεται

ΑΛΚΗΣΤΙΣ ΠΑΡΠΟΥΡΑ

Μεσολόγγι 1997

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για να ολοκληρωθεί αυτή η εργασία συνεισέφεραν πολλά άτομα. Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιστημονική συνεργάτιδα του τμήματος Ιχθυοκομίας - αλιείας κ. Αλκηστη Παρπούρα, η οποία μου ανέθεσε το θέμα της εργασίας και με καθοδήγησε στη διεκπεραίωση της.

Ο καθήγητής του τμήματος, ιχθυοπαθολόγος κ. Θεοφάνης Βορεινάκης, όχι μόνο προσέφερε τη βοήθειά του στη διάγνωση των παθολογικών φαινομένων, που είναι το βασικότερο τμήμα του πειραματικού μέρους, αλλά με τις κριτικές του παρατηρήσεις βοήθησε στην αρτιότερη εμφάνιση της εργασίας αυτής.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κ. Μαρία Αλέξη, προϊσταμένη του εργαστηρίου Διατροφής και Ιχθυοπαθολογίας του Εθνικού Κέντρου Θαλασσίων Ερευνών για την παραχώρηση των εγκαταστάσεων του εργαστηρίου Ιστολογίας, όπου παρασκευάστηκαν οι ιστολογικές τομές, την κ. Μαρία Γιαγνίση και την κ. Αργυρώ Ανδριοπούλου για τη βοήθειά τους στην παρασκευή των ιστολογικών τομών. Τον ιχθυοπαθολόγο κ. Παναγιώτη Χριστοφιλογιάννη για τη συμβολή του στη διάγνωση των παθολογικών φαινομένων. Τον κ. Διονύση Χριστοφιλογιάννη για τη βοήθειά του στη μορφοποίηση του κειμένου και τον κ. Δημήτρη Φαρμάκη από τον Υδροβιολογικό Σταθμό Ρόδου για την παραχώρηση των μηχανημάτων στα οποία έγινε η ηλεκτρονική επεξεργασία των φωτογραφιών.

Περιεχόμενα

σελ.

1.Εισαγωγή	1
1.1 Διατροφική παθολογία	2
1.1.1 Ιοί	3
1.1.2 Βακτήρια	4
1.1.3 Μύκητες	5
1.1.4 Παράσιτα	6
1.2 Θρεπτικά συστατικά της τροφής	7
1.2.1 Πρωτεΐνες	7
1.2.1.1 Μέγεθος και ηλικία	8
1.2.1.2 Θερμοκρασία νερού	8
1.2.2 Εξοικονόμηση ενέργειας	9
1.2.3 Λίπη	9
1.2.3.1 Απορρόφηση και αποθήκευση	10
1.2.3.2 Μεταβολισμός των λιπαρών οξέων	10
1.2.3.3 Απαραίτητα λιπαρά οξέα	11
1.2.4 Υδατάνθρακες	12
1.2.5 Βιταμίνες	12
1.2.5.1 Υδατοδιαλυτές βιταμίνες	12
1.2.5.1.1 Θειαμίνη	12
1.2.5.1.2 Ριβοφλαβίνη	13
1.2.5.1.3 Πυριδοξίνη	13
1.2.5.1.4 Παντοθενικό οξύ	14
1.2.5.1.5 Νιασίνη	14
1.2.5.1.6 Βιοτίνη	15
1.2.5.1.7 Φολικό οξύ	15
1.2.5.1.8 Βιταμίνη B ₁₂	15
1.2.5.1.9 Ασκορβικό οξύ	16
1.2.5.1.10 Ινοσιτόλη	16
1.2.5.1.11 Χολίνη	16
1.2.5.2 Λιποδιαλυτές βιταμίνες	17
1.2.5.2.1 Βιταμίνη A	17
1.2.5.2.2 Βιταμίνη D	17
1.2.5.2.3 Βιταμίνη E	18
1.2.5.2.4 Βιταμίνη K	18
1.2.6 Ανόργανα συστατικά	21
1.2.6.1 Απαραίτητα ιχνοστοιχεία	21
1.2.6.1.1 Ασβέστιο	22
1.2.6.1.2 Φωσφόρος	22

1.2.6.1.3 Μαγνήσιο	23
1.2.6.1.4 Νάτριο - Κάλιο - Χλώριο	23
1.2.6.1.5 Σίδηρος	23
1.2.6.1.6 Χαλκός	24
1.2.6.1.7 Μαγγάνιο	24
1.2.6.1.8 Ψευδάργυρος	25
1.2.6.1.9 Ιώδιο	25
1.2.6.1.10 Σελήνιο	26
1.2.6.1.11 Άλλα ιχνοστοιχεία	26
2 Πειραματικό μέρος	28
2.1 Υλικά και μέθοδοι	29
2.1.1 Γενικά χαρακτηριστικά του είδους <i>Puntazzo puntazzo</i>	29
2.1.2 Εμβιο υλικό - τα ψάρια	30
2.1.3 Μονιμοποίηση των ιστών	30
2.1.3.1 Πρώτο πείραμα (<i>Punt1</i>)	30
2.1.3.2 Δεύτερο πείραμα (<i>Punt2</i>)	31
2.1.3.3 Τρίτο πείραμα (<i>Punt3</i>)	32
2.1.4 Παρασκευή των ιστολογικών τομών	33
2.1.4.1 Εγκλειση των ιστών	34
2.1.4.2 Κοπή των ιστολογικών τομών	35
2.1.4.3 Βαφή των ιστολογικών τομών	36
3 Αποτελέσματα	37
- Πρώτο πείραμα, καλοκαιρινή περίοδος	38
- Πρώτο πείραμα, χειμερινή περίοδος	50
- Δεύτερο πείραμα	60
- Τρίτο πείραμα, καλοκαιρινή περίοδος	68
- Τρίτο πείραμα, χειμερινή περίοδος	75
4 Συζήτηση	83
4.1 Συκώτι	83
4.2 Βράγχια	86
4.3 Καρδιά	88
4.4 Νεφρός	89
4.5 Σπλήνας	90
Βιβλιογραφία	92

1. Εισαγωγή

Στην εργασία αυτή περιλαμβάνεται μια γενική προσέγγιση της διατροφής σε σχέση με τις ενεργειακές απαιτήσεις των ψαριών καθώς και με την ιχθυοπαθολογία (διατροφική παθολογία).

Ακόμα, αναφέρονται τα βασικά θρεπτικά συστατικά που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή των τεχνητών ιχθυοτροφών (πρωτεΐνες, λίπη, υδατάνθρακες, βιταμίνες, ιχνοστοιχεία) και η σημασία τους για την ικανοποίηση των ενεργειακών αναγκών και τη διατήρηση της υγείας των οργανισμών.

Τέλος, στο πειραματικό μέρος, δίνονται κάποια στοιχεία της πειραματικής εκτροφής όσον αφορά τη διατροφή, που είναι ο βασικός άξονας του πειράματος, περιγράφεται η διαδικασία παρασκευής των ιστολογικών τομών και παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης των ιστολογικών τομών.

Πρόλογος

Είναι γνωστό ότι η διατροφή έχει άμεση σχέση με την ανάπτυξη των ψαριών. Από τα πρώτα στάδια ζωής, το γονιμοποιημένο αυγό προκειμένου να επιβιώσει είναι ανάγκη να διαθέτει σε ικανοποιητικές ποσότητες τα θρεπτικά συστατικά που περιέχονται στη λέκιθο. Αυτά τα θρεπτικά συστατικά αποτελούν τα δομικά στοιχεία για τη δημιουργία και την ανάπτυξη των επιμέρους ιστών και των ζωτικών οργάνων. Αρα λοιπόν, οι ιστοί είναι κατα κάποιον τρόπο ο “καθρέφτης” της διατροφικής κατάστασης του οργανισμού. Με την έννοια αυτή, οι οποιοσδήποτε διαταραχές στη διατροφή καταλήγουν στην εμφάνιση μιας διαφορετικής από τη φυσιολογική εικόνας των ψαριών γεγονός που σε πολλές περιπτώσεις είναι παθολογικό φαινόμενο.

Η μέθοδος της ιστολογίας, είναι ένας από τους τρόπους με τους οποίους μπορούμε να εξετάσουμε τη μορφή των ιστών. Συγκεκριμένα, η εξέταση ιστολογικών τομών από διάφορα όργανα με το μικροσκόπιο μας δίνει τη δυνατότητα να καταλάβουμε αν οι ιστοί εμφανίζουν ή όχι παθολογικές καταστάσεις. Σκοπός του πειράματος που έγινε στα πλαίσια αυτής της πτυχιακής εργασίας ήταν να γίνει καταγραφή της μορφής ιστών που προέρχονταν από καλλιεργημένα ψάρια του είδους *Puntazzo puntazzo* (μυτάκι). Μάλιστα, ο κύριος στόχος ήταν να καταγραφεί η εικόνα των ιστών από ψάρια που είχαν τραφεί με δίαιτες διαφορετικής σύστασης σε επίπεδο ποσοστού λίπους - πρωτεΐνης αλλά και με ποιοτικές διαφορές (κατεργασμένο - ακατέργαστο άμυλο). Όπως προαναφέρθηκε, η ιστολογία μπορεί πολλές φορές να μας αποκαλύψει παθολογικές καταστάσεις των ψαριών. Αυτό το γεγονός έχει μεγάλη σημασία για τα καλλιεργούμενα είδη ψαριών, αφού οι όποιες παθολογικές καταστάσεις επηρεάζουν αρνητικά την ποιότητα του τελικού προϊόντος που σε ορισμένες περιπτώσεις είναι ακατάλληλο για κατανάλωση. Στο σημείο αυτό θα έπρεπε να αναφέρουμε ότι αυτό που τελικά ενδιαφέρει είναι ο τελικός αποδέκτης δηλαδή ο καταναλωτής. Συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί ότι στο διαιτολόγιό μας θα πρέπει απαραίτητα να περιλαμβάνονται πολλά ψάρια λόγω του ότι στη σάρκα τους περιέχονται ακόρεστα λιπαρά οξέα, χημικές ουσίες που εμποδίζουν τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων (θρόμβωση), άρα μειώνουν την πιθανότητα εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου και άλλων σοβαρών καρδιαγγειακών παθήσεων ενώ παράλληλα μειώνουν τα ποσοστά χοληστερόλης στο αίμα.

1.1 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ

Τα ψάρια χρειάζονται μια συνεχή παροχή ενέργειας για να διατηρηθούν στη ζωή. Σε ομαλές συνθήκες αυτή η ενέργεια προέρχεται από την τροφή, ενώ σε περιπτώσεις έλλειψης τροφής, η ενέργεια αυτή είναι αποθηκευμένη με διάφορες μορφές στους ιστούς.

Η ενέργεια είναι δεσμευμένη στις χημικές ενώσεις της τροφής και ελευθερώνεται όταν αυτοί οι δεσμοί σπάσουν, μέσω οξειδωτικών διαδικασιών. Οι ενεργειακές απαιτήσεις των ψαριών ικανοποιούνται από σάκχαρα τα οποία προέρχονται είτε από αμινοξέα είτε από υδατάνθρακες. Αναλυτικότερα, η πλήρης οξείδωση ενός mole γλυκόζης σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό ελευθερώνει 686 Kcal (Smith, 1989). Μέρος αυτής της ενέργειας δεσμεύεται από τα μόρια της τριφωσφορικής αδενοσύνης (ATP, μόριο με δεσμούς υψηλής ενέργειας) και το υπόλοιπο χάνεται στο περιβάλλον με τη μορφή θερμότητας. Στη συνέχεια, η υδρόλυση του ATP σε ADP (διφωσφορική αδενοσύνη) και φωσφορικό οξύ, ελευθερώνει ενέργεια που είναι άμεσα διαθέσιμη στους οργανισμούς.

Τα ψάρια έχουν μεγάλη ικανότητα μετατροπής της τροφής τους σε σωματικό ιστό. Για παράδειγμα, έχει υπολογιστεί στην ιριδίζουσα πέστροφα η καταναλώση 1 Kgr τροφής αποδίδει 1.5 Kgr σωματικού βάρους (Smith, 1989). Τα ψάρια, σε σχέση με τα άλλα ζώα έχουν χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις. Συγκεκριμένα, η πέστροφα διαθέτει το 85% της ενέργειάς της για ανάπτυξη (NRC, 1981). Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι α) Δεν χρειάζεται μεγάλη δαπάνη ενέργειας για τη μετακίνησή τους, αφού το σώμα τους έχει την υποστήριξη του νερού και επιπλέον έχουν υδροδυναμικό σχήμα., β) είναι ποικιλόθερμοι οργανισμοί και γ) η αποβολή του αζώτου γίνεται με πολύ χαμηλό ενεργειακό κόστος, σχετικά με τα άλλα ζώα, γιατί περίπου το 85% του τοξικού αζώτου δεν μετατρέπεται σε ουρία αλλά σε αμμωνία και αποβάλλεται μέσω των βραγχίων.

Έχει παρατηρηθεί ότι πολλές παθολογικές καταστάσεις των καλλιεργούμενων ψαριών έχουν άμεση σχέση με τη διατροφή. Από αυτές ξεχωρίζουν οι ασθένειες που οφείλονται σε μη ισορροπημένη διαίτα, γεγονός που έχει μεγάλη σημασία για τις ιχθυοκαλλιέργειες εντατικής μορφής όπου τα ψάρια τρέφονται με ξηρά σύμπληκτα.

Η μη σωστή διατροφή είναι η αιτία πολλών μεταδοτικών και μή ασθeneιών. Έχει παρατηρηθεί ότι πολλές από αυτές μπορούν να προληφθούν απλά, με τη βελτίωση της ισορροπίας θρεπτικών συστατικών και τον εμπλουτισμό της δίαιτας με βιταμίνες. Αυτές οι αναφορές δε μπορούν να αποδειχθούν επιστημονικά, όμως υπάρχουν επιστημονικά δεδομένα που αποδεικνύουν ότι οι βελτιωμένες δίαιτες μπορούν να αυξήσουν την αντίσταση των ψαριών σε συγκεκριμένες επιθέσεις παθογόνων μικροοργανισμών. Πάντως αυτό που σίγουρα δεν μπορεί να αμφισβητηθεί είναι η επίδραση της σωστής δίαιτας στην εξάλειψη των συμπτωμάτων της έλλειψης θρεπτικών συστατικών και η βελτίωση της γενικής εικόνας των ψαριών. Εκτός από τις ασθένειες αυτής της μορφής, η κακή διατροφή ίσως είναι αιτία προσβολής από ιούς, βακτήρια, μύκητες και παράσιτα. Αναλυτικότερα, αναφέρουμε :

1.1.1 IOI

Υπάρχουν υπόνοιες ότι οι πιο γνωστοί ιοί που προσβάλλουν τα καλλιεργούμενα ψάρια σχετίζονται με τη διατροφική κατάσταση του ζώου. Δεν έχει αποδειχθεί ότι οι ιοί μεταδίδονται μέσω της τροφής (Μάλιστα, σύμφωνα με τον Ghittino, ο γαστρεντερικός σωλήνας των ψαριών είναι πολύ όξινος και οι ιοί δεν επιβιώνουν εκεί) αλλά μέσω των βραγχίων και του δέρματος. Έχει παρατηρηθεί όμως ότι η εφαρμογή σωστής δίαιτας σε συνδυασμό με καλές συνθήκες εκτροφής καθαρό περιβάλλον και αποφυγή χειρισμών που μπορεί να προκαλέσουν stress στα ψάρια, αυξάνουν την αντίσταση των ψαριών σε ιογενείς ασθένειες (Ghittino, 1989).

Στους κυπρίνους, βρέθηκε ότι η ιογενής αναιμία SVC (Carp Spring Viremia) που οφείλεται στον ιό *Rhabdovirus carpio*, εξελίσσεται ταχύτερα και έχει πιο έντονα συμπτώματα όταν η διαίτα που εφαρμόζεται πριν τη χειμερινή περίοδο είναι φτωχή σε θρεπτικά συστατικά (Ghittino, 1989). Ακόμα, έχει παρατηρηθεί ότι η ασθένεια Stomatopapillomatosis που προσβάλλει το ευρωπαϊκό χέλι *Anguilla anguilla* προκαλώντας αναιμία και καχεξία μπορεί να εξαλειφθεί αν βελτιωθεί η διατροφή. Η ιογενής ασθένεια herpesvirosis στο καλκάνι *Scoptophthalmus maximus* μειώθηκε σημαντικά όταν χρησιμοποιήθηκαν τροφές που περιείχαν συστατικά όμοια μ' εκείνα που τρώνε τα άγρια ψάρια στο φυσικό τους περιβάλλον (Richards & Buchanan, 1978). Τέλος, για τον ιό λεμφοκύστη που προσβάλλει τα θαλασσινά ψάρια, έχει καταγραφεί μείωση στην πρόσληψη τροφής και μεγάλη καθυστέρηση της

ανάπτυξης με ταυτόχρονη προσβολή από άλλους παθογόνους οργανισμούς αλλά δεν γνωρίζουμε εάν εμπλέκονται άμεσα στην εμφάνιση και εξέλιξη της ασθένειας διατροφικοί παράγοντες (Wolf, 1966 Mann, 1970 Van Duijin, 1973).

1.1.2 ΒΑΚΤΗΡΙΑ

Έχει αποδειχθεί ότι τα βακτήρια μεταδίδονται πολύ γρήγορα και εύκολα μέσω της τροφής. Υπάρχουν συγκεκριμένες αναφορές για το βακτήριο *Aeromonas salmonicida*, που προκαλεί την ασθένεια furunculosis (δοθηνίωση), το *Vibrio anguillarum* που προκαλεί μεγάλες θνησιμότητες στα θαλασσινά ψάρια, καθώς και για την *Yersinia ruckeri* (Ghittino, 1989).

Σύμφωνα με τον Ghittino (1989), η μικροβιακές ασθένειες που προσβάλλουν τον καλλιεργούμενο σολωμό μπορούν να εξαλειφθούν αν τα νεκρά ψάρια αφαιρούνται αμέσως έτσι ώστε να μη μολυνθεί και ο υπόλοιπος υγιής πληθυσμός και αν χρησιμοποιηθούν για τη διατροφή σύμπηκτα που έχουν παρασκευαστεί από πρώτες ύλες παστεριωμένες και σωστά συντηρημένες. Εκτός όμως από τα βακτήρια που ζουν στο υδάτινο περιβάλλον και είναι φυσιολογικό να προσβάλλουν τα ψάρια, υπάρχουν και άλλα που μολύνουν τις ιχθυοτροφές, όταν δεν συντηρούνται σωστά, και έτσι περνούν στους εκτρεφόμενους οργανισμούς προκαλώντας μεγάλες θνησιμότητες. Τέτοια περίπτωση έχει παρουσιαστεί σε πεστροφοκαλλιέργεια, όπου το βακτήριο *Clostridium botulinum* (και μάλιστα ο ιδιαίτερα τοξικός ορότυπος E που είναι επικίνδυνος και για τον άνθρωπο) μόλυνε κακοσυντηρημένες τροφές. Το αποτέλεσμα ήταν να υπάξει μαζική θνησιμότητα και συνεχείς επιμολύνσεις λόγω της συγκέντρωσης νεκρών και αποσυντετημένων ψαριών στον πυθμένα (Huss & Eskildsen, 1974).

Έχει αναφερθεί ότι το stress που σε πολλές περιπτώσεις οφείλεται σε κακή διατροφή, μπορεί να αποτελέσει το ξεκίνημα βακτηριακών ασθενειών. Ιδιαίτερα τα βακτήρια που είναι “δυναμικά” παθογόνα, όπως τα *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum*, *Flexibacter columnaris* πολλαπλασιάζονται γρήγορα και εμφανίζουν επιδημικά συμπτώματα κυρίως σε συνθήκες stress που σε πολλές περιπτώσεις έχει σχέση με κακή διατροφή. Επιπλέον, η διατροφική κατάσταση των ψαριών θεωρείται υπεύθυνη για τη σοβαρότητα και την ένταση των συμπτωμάτων αρκετών βακτηριακών ασθενειών. Ο Wedemeyer έδειξε ότι τα ψάρια που τρέφονται με παράγωγα καλαμποκιού εμφανίζουν εντονότερα σηψαιμικά συμπτώματα όταν

προσβληθούν από το βακτήριο *Yersinia ruckeri* (Wedemeyer & Ross, 1973). Σύμφωνα με τον Klontz, όταν η διαίτα είναι ισορροπημένη και περιέχει σε ικανοποιητικές ποσότητες ιώδιο και φθόριο τα ψάρια γίνονται πιο ανθεκτικά σε μικροβιακές ασθένειες που επηρεάζουν το νεφρό, γιατί το ιώδιο και το φθόριο υποβοηθούν την ωσμωρυθμιστική λειτουργία των νεφρικών σωληναρίων (Klontz, 1982).

Ακόμα, η τροφή μπορεί να είναι υπεύθυνη για ορισμένες μικροβιακές ασθένειες που προσβάλλουν τα βράγχια. Σε αυτές τις περιπτώσεις, η παρουσία σκόνης, λάσπης ή μικρών σωματιδίων, προκαλεί μηχανικές βλάβες στα βράγχια παρεμποδίζοντας την ομαλή λειτουργία της αναπνοής και αυξάνοντας την ευαισθησία των ψαριών στην προσβολή από βακτήρια.

Πάντως όπως προαναφέρθηκε, τις περισσότερες φορές οι σηψαιμίες στα ψάρια προκαλούνται από βακτήρια που γίνονται παθογόνα μόνο σε συνθήκες stress. Έχει παρατηρηθεί ότι οι δίαιτες που είναι φτωχές σε παντοθενικό οξύ αυξάνουν την ένταση των συμπτωμάτων της ασθένειας ενώ η κατάσταση των ψαριών βελτιώνεται όταν χρησιμοποιηθεί τροφή καλύτερης ποιότητας, εμπλουτισμένη με θρεπτικά συστατικά και βιταμίνες. Η βελτιωμένη διαίτα μπορεί να έχει προληπτική δράση αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να δράσει και θεραπευτικά. Τα βακτήρια αυτής της κατηγορίας είναι τα: *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum*, *Edwardsiella tarda*, *Pasteurella piscicida*, *Pseudomonas anguilliseptica*, καθώς και βακτήρια του γένους *Mycobacterium*, αλλά και μυξοβακτήρια (Ghittino, 1985).

1.1.3 ΜΥΚΗΤΕΣ

Μεταξύ των κυριότερων μυκητογενών παθολογικών καταστάσεων ξεχωρίζει η ασθένεια που προκαλείται από τον φυκομύκητα *Ichthyophonus hoferi*. Η ασθένεια αυτή πρωτοεμφανίστηκε όταν χρησιμοποιήθηκαν νωπά θαλασσινά ψάρια, με μεγάλο μικροβιακό φορτίο, για τροφή σε καλλιεργούμενες πέστροφες (Ghittino, 1989). Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν κοκκιώματα διασκορπισμένα σε όλους τους ιστούς και τα όργανα, και καταλήγει σε μειωμένη ανάπτυξη και εκτεταμένη θνησιμότητα.

Επιπλέον, μία άλλη ασθένεια των ψαριών που ζουν κυρίως σε θερμά νερά προκαλείται από τον μύκητα *Saprolegnia*. Ο μύκητας αυτός προκαλεί έλκη στο δέρμα και τα βράγχια κι έχει παρατηρηθεί ότι η διατροφική κατάσταση των ψαριών

παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόληψη των εκτεταμένων απωλειών του ιχθυοπληθυσμού.

Η συσσώρευση υπολλειμάτων τροφής επηρεάζει άμεσα την ανάπτυξη των μυκήτων (Sindermann, 1977). Γι'αυτό το λόγο κρίνεται απαραίτητος ο συχνός καθαρισμός και όπου είναι δυνατόν, η απολύμανση των εγκαταστάσεων που χρησιμοποιούνται για την εκτροφή ψαριών.

1.1.4 ΠΑΡΑΣΙΤΑ

Η προσβολή από παράσιτα συνήθως δεν έχει σοβαρές θνησιμότητες όταν όμως συνυπάρχουν κακές διατροφικές συνθήκες είναι πιθανόν να δημιουργηθούν σοβαρά προβλήματα όπως βλάβες ή και καταστροφή των βραγχίων, έλκη στο δέρμα κ.α. Ακόμα υπάρχουν υπόνοιες ότι η φτωχή σε θρεπτικά συστατικά τροφή είναι υπεύθυνη για την προσβολή από εξωτερικά παράσιτα των ψαριών όπως τα *Ichthyophthirius multifiliis* *Trichodina* spp., *Dactylogyrus* spp. και *Gyrodactylus* spp. (Bauer et al., 1973 , Reichenbach-Klinke, 1980).

1.2 ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΗΣ ΤΡΟΦΗΣ

Τα ψάρια που ζούν στο ελεύθερο περιβάλλον μπορούν, σε κανονικές συνθήκες, να επιλέξουν την τροφή τους μέσα από μια μεγάλη ποικιλία διαφορετικών επιλογών π.χ μικρότερα ψάρια, οστρακοειδή, φυτά κ.λ.π. Ομως σε συνθήκες αιχμαλωσίας αυτού του είδους οι επιλογές φυσικά δεν υπάρχουν. Έτσι είναι ανάγκη οι τεχνητές δίαιτες να περιέχουν όλα τα απαραίτητα συστατικά για μια φυσιολογική ανάπτυξη. Χρειάστηκαν πολλά χρόνια μελέτης για να καθοριστούν για ορισμένο αριθμό ψαριών τα συστατικά και η σωστή αναλογία με την οποία θα πρέπει να συμμετέχουν αυτά στην τροφή. Τα συστατικά αυτά είναι οι Βιταμίνες, οι Πρωτεΐνες, τα Λίπη και τα Μέταλλα (ιχνοστοιχεία). Αναλυτικότερα, αναφέρουμε.

1.2.1 ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

Οι πρωτεΐνες είναι το κύριο οργανικό υλικό των ιστών και αποτελεί το 65 - 75% του συνολικού ξηρού βάρους των ψαριών. Τα ψάρια καταναλώνουν πρωτεΐνη προκειμένου να αποκτήσουν αμινοξέα. Συγκεκριμένα η πρωτεΐνη πέπτεται και υδρολύεται ελευθερώνοντας αμινοξέα, που είναι τα δομικά της συστατικά. Στη συνέχεια, τα αμινοξέα αυτά απορροφώνται από τον εντερικό σωλήνα και διαμοιράζονται μέσω του αίματος σε όλους τους ιστούς και τα όργανα. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιούνται από τους διάφορους ιστούς για την κατασκευή νέων πρωτεϊνών (ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και της αναπαραγωγής) ή για την αντικατάσταση των ήδη υπαρχόντων (συντήρηση). Όταν η πρωτεΐνη στη δίαιτα δεν βρίσκεται σε ικανοποιητικές ποσότητες, το αποτέλεσμα είναι η μείωση του ρυθμού αύξησης ή, σε παρατεταμένη έλλειψη, το “πάγωμα” της ανάπτυξης. Παράλληλα, χάνεται βάρος καθώς ο οργανισμός αντλεί πρωτεΐνη από ιστούς μικρότερης σημασίας για να διατηρηθούν οι λειτουργίες των περισσότερο ζωτικών ιστών. Τα ψάρια έχουν ανάγκη από ένα ισορροπημένο μίγμα απαραίτητων και μη απαραίτητων αμινοξέων. Μάλιστα η διατροφική αξία της πρωτεΐνης έχει άμεση σχέση με τα αμινοξέα από τα οποία αποτελείται. Έτσι για παράδειγμα μία μη ισορροπημένη πρωτεΐνη θα είχε χαμηλή διατροφική αξία ενώ μια ισορροπημένη πρωτεΐνη θα είχε υψηλή διατροφική αξία.

Για την παρασκευή τεχνητής τροφής, αρχικά πρέπει να γίνεται υπολογισμός του ποσοστού πρωτεΐνης που θα χρησιμοποιηθεί, ανάλογα με το είδος του ψαριού για το οποίο προορίζεται η διαίτα. Στη συνέχεια πρέπει να υπολογιστούν οι πρώτες ύλες που θα χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή της διαίτας λαμβάνοντας υπ' όψη ότι δεν περιέχονται πάντα σε ένα υλικό όλα τα απαραίτητα αμινοξέα. Π.χ η καζεΐνη περιέχει σε ικανοποιητικές ποσότητες όλα τα απαραίτητα αμινοξέα εκτός από αργινίνη. Αντίθετα η ζελατίνη περιέχει σε μεγάλο ποσοστό αργινίνη, διαθέτει όμως σε ελάχιστες μόνο ποσότητες όλα τα υπόλοιπα αμινοξέα.

Τα απαραίτητα αμινοξέα είναι : 1) αργινίνη 2) ιστιδίνη 3) ισολευκίνη 4) λευκίνη 5) βαλίνη 6) λυσίνη 7) φαινυλαλανίνη 8) τυροσίνη 9) μεθιονίνη 10) κυστίνη 11) θρεονίνη και 12) τρυπτοφάνη. Δεν είναι όλα τα αμινοξέα απαραίτητα στην ίδια ποσότητα για όλα τα ψάρια, κάθε είδος έχει τις δικές του ξεχωριστές απαιτήσεις. Όμως η έλλειψη ορισμένων από αυτά (όπως π.χ η τρυπτοφάνη) καταλήγει εκτός από μειωμένη ανάπτυξη, σε ανατομικές δυσμορφίες, καταρράκτη και θάνατο. Παρακάτω αναφέρονται οι παράγοντες που επηρεάζουν τις διατροφικές απαιτήσεις των ψαριών σε πρωτεΐνη.

1.2.1.1 Μέγεθος και ηλικία

Γενικά, οι ανάγκες των ψαριών σε πρωτεΐνη μειώνονται με την αύξηση της ηλικίας και του μεγέθους. Για παράδειγμα, το ιδανικό ποσοστό πρωτεΐνης για το γόνο σολωμού φτάνει το 45 - 50% της διαίτας ενώ τα νεαρά άτομα χρειάζονται 40% και τα ψάρια ενός έτους μόλις 35% πρωτεΐνης στην τροφή (Hilton & Slinger, 1981). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί για το γατόψαρο (*Ictalurus punctatus*) και για τον κυπρίνο (*Cyprinus carpio*) από τους, Page & Andrews, 1973 και Balarin & Haller, 1982 αντίστοιχα.

1.2.1.2 Θερμοκρασία νερού

Έχει αποδειχθεί ότι σε ορισμένα είδη ψαριών οι μεταβολές στη θερμοκρασία επηρεάζουν τις διατροφικές απαιτήσεις σε πρωτεΐνη. Για παράδειγμα, ο σολωμός (*Oncorhynchus tshawytscha*) χρειάζεται τροφή με 40% πρωτεΐνης στους 8° C και 55% στους 15 ° C (DeLong et al., 1958). Ακόμα, το Stiped bass (*Morone saxatilis*) απαιτεί 47% πρωτεΐνης στους 20° C και 55% στους 24° C (Millikin, 1982, 1983). Όμως αυτό δεν ισχύει για όλα τα ψάρια. Πειράματα που έγιναν

από το NCR (National Research Council, 1981) έδειξαν ότι οι πέστροφες που μεγάλωναν σε δεξαμενές με διαφορετική θερμοκρασία (9 - 18° C) δεν εμφάνισαν διαφορές στις διατροφικές απαιτήσεις τους σε πρωτεΐνη.

1.2.2 Εξοικονόμηση ενέργειας (Sparing effect)

Όπως προαναφέρθηκε, οι πρωτεΐνες αποτελούν το κύριο μέσο πρόσληψης αμινοξέων και χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη και την ικανοποίηση των μεταβολικών αναγκών των ψαριών. Όμως, είναι γνωστό ότι η πρωτεΐνη είναι το ακριβότερο συστατικό των ιχθυοτροφών. Γι' αυτό το λόγο έχει μελετηθεί η δυνατότητα άλλων πηγών ενέργειας, όπως τα λίπη και οι υδατάνθρακες, να αξιοποιούνται από τους οργανισμούς για την ικανοποίηση των ενεργειακών τους αναγκών (κίνηση, ομοίωση) έτσι ώστε η πρωτεΐνη να χρησιμοποιείται εξολοκλήρου στην ανάπτυξη (αύξηση μυϊκού ιστού). Το φαινόμενο λοιπόν της αντικατάστασης μέρους της πρωτεΐνης από άλλες διαιτητικές πηγές ενέργειας, χωρίς να εμφανίζονται αλλοιώσεις και χωρίς να μειώνεται ο ρυθμός ανάπτυξης, είναι επιδίωξη πολλών ερευνητών.

Όσον αφορά τα λίπη, έχει αποδειχτεί ότι όταν βρίσκονται στη διαίτα σε ποσοστά 10 - 20%, δίνουν τη δυνατότητα στα ψάρια να αξιοποιούν πλήρως την πρωτεΐνη για αύξηση ενώ παράλληλα καλύπτονται όλες οι υπόλοιπες ενεργειακές τους ανάγκες (Cowey & Sargent, 1979).

Οι υδατάνθρακες που δεν έχουν υποστεί κάποια ιδιαίτερη επεξεργασία (π.χ ακατέργαστο άμυλο) είναι ελάχιστα αξιοποιήσιμοι από αρκετά ψάρια (Bergot & Breque, 1983). Όμως εξακολουθεί να είναι αντικείμενο μελέτης η δυνατότητα αξιοποίησης των επεξεργασμένων (extruded, gelatinized) υδατανθράκων από διάφορα είδη ψαριών.

1.2.3 ΛΙΠΗ

Τα λιπαρά οξέα είναι παράγωγα της γλυκερίνης που περιέχουν 16 - 20 άτομα C. Τα φυσικά λιπαρά οξέα περιέχουν πάντα άρτιο αριθμό ατόμων C (συνήθως 16 - 18) και επειδή συνήθως έχουν περισσότερους από έναν διπλούς δεσμούς ονομάζονται πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PolyUnsaturated Fatty Acids, PUFA). Η κύρια σημασία των λιπών, σε βιολογικό επίπεδο είναι ότι χρησιμεύουν ως εφεδρικές πηγές ενέργειας που αξιοποιούνται σε συνθήκες έλλειψης τροφής. Επίσης

χρησιμεύουν σαν δομικά στοιχεία στις βιομεμβράνες και σαν πρόδρομα άλλων ουσιών όπως οι προσταγλαδίνες. Η ενέργεια που είναι αποθηκευμένη στα λιπαρά οξέα ελευθερώνεται όταν χρειάζεται, μέσω της οξείδωσης. Έχει αποδειχθεί ότι ο καρδιακός και οι ερυθροί μύες (κατά μήκος της πλευρικής γραμμής) που εκτελούν συνεχείς ρυθμικές συσπάσεις παίρνουν το μεγαλύτερο ποσοστό της ενέργειας από την οξείδωση των λιπαρών οξέων.

1.2.3.1 Απορρόφηση και αποθήκευση

Έχει αποδειχθεί ότι τα λίπη απορροφώνται κατά μήκος του εντερικού σωλήνα και μάλιστα κυρίως στο πάνω μέρος του. Τα προϊόντα του καταβολισμού των λιπών περνούν αργά (σε 10 ώρες περίπου) στο εντερικό επιθήλιο με τη μορφή χολικών αλάτων (Bergot, 1981). Στη συνέχεια ακολουθείται μια πορεία αλληπάλληλων εστεροποιήσεων και οξειδώσεων στα βλεννώδη κύτταρα του εντερικού σωλήνα σχηματίζοντας φωσφολιπίδια (Sire et al., 1981). Τα φωσφολιπίδια μαζί με άλλα προϊόντα που παράγονται από αυτή τη διαδικασία, καταλήγουν τελικά στο συκώτι όπου και αποθηκεύονται με τη μορφή συμπλεγμάτων λιποπρωτεϊνών. Η μεταφορά αυτή γίνεται μέσω του αίματος ή της λέμφου (Bergot, 1981). Μόνο ένα μικρό ποσοστό λίπους αποθηκεύεται με μορφή σταγονιδίων στο εντερικό επιθήλιο, ενώ το μεγαλύτερο μέρος συγκεντρώνεται στο συκώτι. Από εκεί, μεταφέρεται στους υπόλοιπους ιστούς με τη μορφή συμπλεγμάτων λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα..

1.2.3.2 Μεταβολισμός των λιπαρών οξέων

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα λίπη χρησιμεύουν σε περιπτώσεις έλλειψης τροφής για να καλύψουν τις ενεργειακές ανάγκες των οργανισμών. Ακόμα, αξιοποιούνται σε μεγάλο ποσοστό για την ωρίμανση των γονάδων και για τη συντήρηση των ψαριών που μεταναστεύουν, χωρίς να τρέφονται κατά τη διάρκεια του ταξιδιού. Μάλιστα έχει αποδειχθεί ότι τα ψάρια καταναλώνουν μεγαλύτερες ποσότητες λιπαρών κατά την περίοδο πριν από την αναπαραγωγική ωριμότητα (Smith et al., 1979). Η οξείδωση των λιπών γίνεται από δύο ενδοκυτταρικά συστήματα, στα μιτοχόνδρια και τα υπεροξυσώματα με τη βοήθεια ενζύμων όπως η καρνιτίνη. Τα λίπη πρέπει να περιέχονται στη διαίτα των ψαριών σε ποσοστό 10 - 20%, έτσι ώστε να χρησιμοποιούνται για την αύξηση οι πρωτεΐνες και να μην εμφανίζονται ανεπιθύμητες αλλοιώσεις στα όργανα και στους ιστούς των ψαριών.

Εκτός από παροχή ενέργειας, τα λίπη χρησιμεύουν στο σχηματισμό των βιομεμβρανών. Οι βιομεμβράνες είναι ζωτικής σημασίας για τους οργανισμούς γιατί στηρίζουν όλες τις ενδοκυτταρικές και εξωκυτταρικές τους λειτουργίες. Περιέχουν περίπου 25% λιπίδια, ανάλογα με τον τύπο της (μιτοχονδριακή, ενδοπλασματικού δικτύου) και τον ιστό στον οποίο βρίσκεται. Η διπλή στοιβάδα των βιομεμβρανών αποτελείται από συνδυασμό κορεσμένων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων έτσι ώστε να διασφαλίζεται η ελαστικότητα και η καλή λειτουργικότητα της μεμβράνης.

1.2.3.3 Απαραίτητα λιπαρά οξέα

Απαραίτητα λιπαρά οξέα (Essential Fatty Acids, EFA) είναι τα λιπαρά οξέα τα οποία δεν μπορούν να συνθέσουν τα ψάρια μόνα τους και λόγω του ότι είναι αναγκαία για τη σωστή τους ανάπτυξη, τα παίρνουν μέσω της τροφής τους. Τα θαλασσινά ψάρια χρειάζονται αποκλειστικά λιπαρά οξέα με 20 και 22 άτομα άνθρακα της σειράς ω-3 (20:5ω3 και 22:6ω3) σε ποσοστό που κυμαίνεται από 0.6% μέχρι 1.3%. Υπάρχουν ενδείξεις ότι χρειάζονται και λιπαρά οξέα της σειράς ω-6, αλλά σε μικρότερες ποσότητες. Το μειονέκτημα των EFA για τα ψάρια είναι ότι οξειδώνονται πολύ εύκολα παρουσία ατμοσφαιρικού αέρα παράγοντας τοξικά προϊόντα και καταστρέφοντας και άλλα συστατικά της τροφής. Γι' αυτό το λόγο είναι απαραίτητο να χρησιμοποιούνται αντιοξειδωτικές ουσίες όπως BHT ή βιταμίνη E στη διαίτα.

1.2.3.4 Συμπτώματα έλλειψης

Η έλλειψη των απαραίτητων λιπαρών οξέων από τη διατροφή εμφανίζει κοινά σε όλα τα είδη ψαριών συμπτώματα, όπως κακή μετατρεψιμότητα της τροφής και χαμηλός ρυθμός ανάπτυξης. Επιπλέον, σύμφωνα με τους Castell et al., (1972) αν η ιριδίζουσα πέστροφα στερηθεί για ορισμένους μήνες τα απαραίτητα λιπαρά οξέα, χάνει τις αισθήσεις της και τελικά πεθαίνει. Ακόμα ένα κοινό παθολογικό φαινόμενο είναι η διάβρωση των πτερυγίων που όπως είναι γνωστό συγκρατούνται κυρίως από λιπώδη ιστό. Ειδικότερα, έχει αποδειχθεί ότι η έλλειψη λιπαρών οξέων της σειράς ω-3 επιδρά στα μιτοχόνδρια του συκωτιού της πέστροφας κάνοντάς τα εύθραυστα. Στο καλκάνι, εμφανίζονται σημαντικές βλάβες και αιμορραγίες στα βράγχια. Ακόμα, η έλλειψη λίπους στη διαίτα των γεννητόρων επηρεάζει τα αυγά και το γόνο προκαλώντας ανωμαλίες στην εκκόλαψη και ανάπτυξη και θνησιμότητες.

1.2.4 ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ

Οι υδατάνθρακες αποτελούν μια μεγάλη τάξη φυσικών ουσιών που συχνά αποτελούνται από απλά σάκχαρα όπως η γλυκόζη, η φρουκτόζη, η γαλακτόζη και η μαννόζη. Οι υδατάνθρακες σύμφωνα με τις παρατηρήσεις ερευνητών, τα ψάρια δεν έχουν μεγάλη ικανότητα να μεταβολίζουν μεγάλα ποσοστά διαιτητικών υδατανθράκων. Συγκεκριμένα, οι μεγάλες ποσότητες υδατανθράκων σε δίαιτες πέστροφας είχαν σαν αποτέλεσμα χαμηλή πεπτικότητα. (Inaba et al.,1963). Η ανικανότητα των ψαριών να χρησιμοποιήσουν διαιτητικούς υδατάνθρακες έχει επιπλέον τεκμηριωθεί με πειράματα αντοχής στη γλυκόζη σε διάφορα ψάρια όπως κυπρίνος, χέλι, ιαπωνική τσιπούρα και ιαπωνικό μαγιάτικο. Τα ψάρια δεν έδειξαν προσαρμογή στην αυξημένη παροχή γλυκόζης ενώ ο συντελεστής μετατρεψιμότητας ήταν ικανοποιητικός όταν τα ποσοστά υδατανθράκων στη δίαιτα ήταν περίπου 30% της δίαιτας για τον κυπρίνο, 20% για την ιαπωνική τσιπούρα και 10% για το ιαπωνικό μαγιάτικο (Yone, 1980).

1.2.5 ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ

Παρόλο που στις σύγχρονες ιχθυοτροφές (πειραματικές και εκτροφής) η αναλογία και ποσότητα των βιταμινών που προστίθεται συνήθως, καλύπτει τις ανάγκες των ψαριών σ' αυτές, οι συνθήκες και ο χρόνος συντήρησης των τροφών μπορεί να οδηγήσει στην καταστροφή τους. Για το λόγο αυτό παραθέτουμε κάποια χαρακτηριστικά και κλινικά συμπτώματα έλλειψης βιταμινών στα ψάρια γενικά.

1.2.5.1 Υδατοδιαλυτές βιταμίνες

Οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες παίζουν σπουδαίο ρόλο στην ανάπτυξη, φυσιολογία και μεταβολισμό των ψαριών. Μάλιστα, οι βιταμίνες χολίνη, ινοσιτόλη και ασκορβικό οξύ χρειάζονται σε αρκετά μεγάλες ποσότητες στη δίαιτα και γι' αυτό αναφέρονται συνήθως ως απαραίτητα για τη σωστή ανάπτυξη θρεπτικά συστατικά (Essential Nutrients). Οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες είναι:

1.2.5.1.1 Θειαμίνη

Η θειαμίνη χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στα ψάρια σε ιριδίζουσα πέστροφα, αποδεικνύοντας ότι μπορεί να θεραπεύσει τη λεγόμενη "διατροφική ασθένεια" (Schneberger1941). Ο εμπειρικός τύπος της είναι $C_{12}H_{18}ON_4SCl_2$ και

θεωρείται αρκετά σταθερή από χημική άποψη. Η θειαμίνη είναι απαραίτητη γιατί βοηθά στην πεπτικότητα, αυξάνει την όρεξη για τροφή, βελτιώνει τους ρυθμούς ανάπτυξης, αυξάνει τη γονιμότητα και υποστηρίζει τη σωστή λειτουργία του νευρικού συστήματος (Jansen, 1954 , Krampitz, 1969). Βρίσκεται σε σπόρους, στα δημητριακά και στην ξηρή μαγιά, άρα είναι εύκολα διαθέσιμη για προσθήκη σε τεχνητές τροφές (Deutsch & Ott, 1942) Έχει αποδειχθεί ότι η υγρασία στην τροφή επιταχύνει τις χημικές διεργασίες προκαλώντας βιολογική υδρόλυση και κατά συνέπεια καταστροφή της θειαμίνης, ενώ αντίθετα στην ξηρή τροφή (pellets) διατηρείται και φτάνει στα ψάρια αναλλοίωτη (New, 1987).

1.2.5.1.2 Ριβοφλαβίνη

Το σύνδρομο έλλειψης ριβοφλαβίνης περιγράφηκε για πρώτη φορά σε πέστροφα (McLagen,1947). Βρίσκεται σε κρυσταλλική μορφή και είναι κίτρινη χρωστική με εμπειρικό τύπο $C_{17}H_{20}N_4O_6$. Είναι σταθερή όταν βρίσκεται σε ξηρή μορφή, δεν επηρεάζεται από οξειδωτικούς παράγοντες αλλά διασπάται όταν εκτεθεί σε ορατό φως ή υπεριώδη ακτινοβολία (Halver, 1989). Έχει σχέση με την ανταλλαγή αερίων σε ιστούς που δεν αιματώνονται, όπως ο κερατοειδής χιτώνας του ματιού (με μετατροπή της τρυπτοφάνης σε νικοτινικό οξύ) και η έλλειψή της προκαλεί βλάβες στην όραση καθώς και φωτοφοβία. Σε παρατεταμένη έλλειψη εμφανίζεται καταρράκτης, αιμορραγίες στα μάτια, αναιμία και θάνατος από αστία (λόγω τύφλωσης) (Halver, 1953). Όταν αποκατασταθεί στη διαίτα όλα τα συμπτώματα, εκτός από τον καταρράκτη, υποχωρούν (Halver, 1957). Η ριβοφλαβίνη βρίσκεται στα φυτά και στους αδένες. Ακόμα βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στο συκώτι, στην καρδιά, στο γάλα και τα αυγά (Halver, 1959).

1.2.5.1.3 Πυριδοξίνη

Ο εμπειρικός τύπος της πυριδοξίνης είναι $C_8H_{11}O_3N_7HCl$. Είναι ευδιάλυτη στο νερό και δεν επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, αλλά είναι ευαίσθητη στην υπεριώδη ακτινοβολία (Chow, 1964). Η πυριδοξίνη σχετίζεται με τον μεταβολισμό των λιπών ειδικά των απαραίτητων λιπαρών οξέων. Ακόμα παίρνει μέρος στη σύνθεση του αγγελιοφόρου RNA (messenger RNA) και στο μεταβολισμό των πρωτεϊνών (Montjar et al., 1965), γι' αυτό τα αποθέματα της πυριδοξίνης που βρίσκονται στους ιστούς των ψαριών εξαντλούνται πολύ γρήγορα (Hardy et al., 1979). Η έλλειψη αυτής της βιταμίνης από τον οργανισμό έχει σαν συνέπεια την

εμφάνιση νευρικών συμπτωμάτων, γρήγορη αναπνοή και οίδημα στην περιτοναϊκή κοιλότητα (Halver, 1957). Τα συμπτώματα αυτά σταματούν αμέσως με την προσθήκη πυριδοξίνης στην τροφή και ο οργανισμός επανέρχεται στη φυσιολογική του κατάσταση μέσα σε μία ή δύο μέρες. Η πυριδοξίνη βρίσκεται στη μαγιά, στο αυγό, στο συκώτι και στους αδένες (Halver, 1989).

1.2.5.1.4 Παντοθενικό οξύ

Το 1945 ο Phillips παρατήρησε ότι οι πέστροφες που είχαν τραφεί με δίαιτα φτωχή σε παντοθενικό οξύ παρουσίαζαν βλάβες στα βράγχια. Σε ελεύθερη μορφή είναι κίτρινο ελαιώδες και γι' αυτό χρησιμοποιείται στις τεχνητές δίαιτες με τη μορφή ευδιάλυτου άλατος του ασβεστίου. Ο χημικός του τύπος είναι $C_9H_{12}O_5N$, είναι σταθερό σε συνθήκες υγρασίας και υψηλής θερμοκρασίας αλλά ευαίσθητο στην ξηρή θερμότητα (Stiller et al., 1940). Το παντοθενικό οξύ συνδέεται με τη λειτουργία της αδρεναλίνης και την παραγωγή χοληστερόλης και έχει μεγάλη σημασία για τη φυσιολογία και το μεταβολισμό των ψαριών που βρίσκονται σε φάση ανάπτυξης (Chow, 1964). Η έλλειψη παντοθενικού οξέος προκαλεί εκφύλιση των βραγχίων με συνένωση των δευτερογενών και πρωτογενών βραγχιακών νηματίων (Phillips et al., 1945). Η μακρόχρονη έλλειψη συνήθως προκαλεί αναιμία (Halver, 1957). Αν όμως χορηγηθεί παντοθενικό οξύ, τα ψάρια που ακόμα τρώνε, αναρρώνουν μέσα σε περίπου τέσσερις εβδομάδες (Halver, 1989). Πηγές παντοθενικού οξέος είναι ο βασιλικός πολτός, τα δημητριακά, η μαγιά, το συκώτι αλλά και η σάρκα των ψαριών (Halver, 1989).

1.2.5.1.5 Νιασίνη

Η νιασίνη ή νικοτινικό οξύ έχει χημικό τύπο $C_6H_5O_2N$ και είναι αρκετά σταθερή ένωση. Συνδέεται με το μεταβολισμό των λιπών και των πρωτεϊνών (Goldsmith, 1964). Οι συνέπειες της έλλειψης νιασίνης είναι αρχικά μειωμένη όρεξη και κακή μετατρεψιμότητα τροφής ενώ στη συνέχεια εμφανίζονται έλκη στο έντερο και στο στομάχι και μυικοί σπασμοί (McLaren et al., 1947, Wolf, 1951). Πηγές νιασίνης είναι η μαγιά, οι ζωικοί ιστοί το σιτάρι και τα λαχανικά. Ακριβώς επειδή είναι σταθερή ένωση, παραμένει αναλλοίωτη κατά τη διαδικασία παραγωγής της τροφής και φτάνει ανέπαφη στα ψάρια (Halver, 1989).

1.2.5.1.6 Βιοτίνη

Απομονώθηκε το 1936 ενώ τα συμπτώματα της έλλειψής της σε πέστροφα, αναφέρθηκαν για πρώτη φορά το 1945 (Phillips et al., 1945). Ο χημικός της τύπος είναι $C_{10}H_{16}O_3N_2S$ και είναι σταθερή σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας, διασπάται όμως σε όξινο περιβάλλον. Σχετίζεται με τη σύνθεση των λιπών στα ψάρια και τη μετατροπή των ακόρεστων λιπαρών οξέων στη μορφή cis για τη σύνθεση των βιολογικά ενεργών λιπαρών οξέων (Waite & Wakil, 1966). Τα ψάρια που δεν παίρνουν αρκετή βιοτίνη εμφανίζουν δερματικές παθήσεις, μυική ατροφία, εντερίτιδες, σπασμούς και αιμόλυση (Phillips et al., 1949). Για τα είδη του γλυκού νερού ένα κοινό σύμπτωμα είναι η φτωχή ανάπτυξη και η ανορεξία (Wolf, 1951). Η βιοτίνη βρίσκεται στο συκώτι, στη μαγιά και στο αυγό αλλά θα πρέπει να προστατεύεται από τους οξειδωτικούς παράγοντες στους οποίους είναι ευαίσθητη (Halver, 1989).

1.2.5.1.7 Φολικό οξύ

Το φολικό οξύ έχει εμπειρικό τύπο $C_{19}H_{19}N_7O_6$ και είναι ευαίσθητο στις μεγάλες θερμοκρασίες και στο ηλιακό φως. Έχει μεγάλη σημασία γιατί βοηθά στο σχηματισμό των βάσεων που αποτελούν τα δομικά κομμάτια του DNA και RNA και στη ρύθμιση της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο αίμα (Hartman & Buchanan, 1959). Ακόμα βελτιώνει τη λειτουργικότητα των κυτταρικών μεμβρανών και αυξάνει την εκκολαψιμότητα των αυγών (Halver, 1989). Τα συμπτώματα έλλειψης φολικού οξέος είναι ανορεξία, μειωμένη ανάπτυξη, αναιμία και ρήξη σπλήνας ενώ είναι πιθανό να εμφανιστεί σκούρος χρωματισμός και ευαισθησία στα πτερύγια (Arai et al., 1972, John & Mahajan, 1979). Πηγές φολικού οξέος είναι η μαγιά, οι ιστοί των ψαριών και τα λαχανικά. (Kashiwada et al., 1971)

1.2.5.1.8 Βιταμίνη B₁₂

Διάφορα πειράματα, έδειξαν ότι η βιταμίνη B₁₂ ($C_{63}H_{88}O_{14}PCO$) μπορεί να θεραπεύσει την αναιμία σε σολωμό, μέσα σε λίγες μέρες (Halver & Horris 1949). Είναι ευαίσθητη στη θέρμανση και στο ηλιακό φως και καταστρέφεται όταν βρεθεί σε αλκαλικό περιβάλλον (Halver, 1989). Η βιταμίνη B₁₂ είναι απαραίτητος παράγοντας ανάπτυξης για τα ψάρια, συνδέεται με το μεταβολισμό της χοληστερόλης, τη σύνθεση της πουρίνης και της πυριμιδίνης και με το μεταβολισμό των λιπών (NCR, 1983). Η έλλειψη αυτής της βιταμίνης από τη διαίτα οδηγεί σε

αναιμία, φτωχή ανάπτυξη και εμφάνιση σκούρου χρωματισμού (West et al, 1966). Η βιταμίνη αποθηκεύεται στους ιστούς των ψαριών γι' αυτό τα ιχθυάλευρα, που είναι βασικό συστατικό των ιχθυοτροφών, αποτελούν πηγή βιταμίνης B₁₂ για τα ψάρια (Halver, 1989).

1.2.5.1.9 Ασκορβικό οξύ

Ο εμπειρικός τύπος του ασκορβικού οξέος ή βιταμίνης C είναι C₆H₈O₆ και στην ενεργή του μορφή είναι λευκή, άοσμη κρυσταλλική ουσία, ευδιάλυτη στο νερό. Είναι πολύ ευαίσθητη στον ατμοσφαιρικό αέρα και γενικά σε οξειδωτικό περιβάλλον (Halver, 1989). Η βιταμίνη C έχει σχέση με την ωρίμανση των ερυθρών αιμοσφαιρίων και τη διατήρηση της σωστής σύστασης του αίματος, το σχηματισμό των οστών και την επούλωση των τραυμάτων (Knox & Goswami, 1961). Όταν η τροφή είναι φτωχή σε ασκορβικό οξύ, τα ψάρια προσβάλλονται από αναιμία και οίδημα (Who, 1970). Στη συνέχεια εμφανίζονται σκελετικές ανωμαλίες όπως σκολίωση, λόρδωση, εσωτερική αιμορραγία και υπερπλασία στις γνάθους (Halver et al., 1969). Το ασκορβικό οξύ βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στα φρούτα, τα λαχανικά και το συκώτι (Halver et al., 1989).

1.2.5.1.10 Ινοσιτόλη

Η ινοσιτόλη είναι συστατικό του μυϊκού ιστού των ψαριών και σχετίζεται με το μεταβολισμό των λιπών (West et al., 1966). Ο χημικός της τύπος είναι C₆H₁₂O₆ και είναι κρυσταλλική ουσία ευδιάλυτη στο νερό. Η έλλειψή της προκαλεί οίδημα, σκούρο χρωματισμό, δυσκολία στην πέψη, διεσταλμένο στομάχι και γενικά φτωχή ανάπτυξη (Halver et al, 1989)

1.2.5.1.11 Χολίνη

Η χολίνη είναι μια πολύ ισχυρή οργανική βάση με εμπειρικό τύπο C₅H₁₅NO₂ που συνδέεται με τη μεταβίβαση των νευρικών παλμών τη σύνθεση των φωσφολιπιδίων και τη μεταφορά των λιπών (Griffith & Nye, 1954). Είναι σταθερή στη θερμότητα και τα όξινα διαλύματα αλλά διασπάται σε αλκαλικό περιβάλλον. Η έλλειψη της χολίνης έχει σαν αποτέλεσμα εσωτερικές αιμορραγίες κακή μετατρεψιμότητα της τροφής και φτωχή ανάπτυξη (McLaren et al., 1947). Η χολίνη αποθηκεύεται στον εγκέφαλο και την καρδιά καθώς επίσης και σε σπόρους όπως η σόγια (Halver, 1989).

1.2.5.2 Λιποδιαλυτές βιταμίνες

Οι λιποδιαλυτές βιταμίνες A, D, E και K, διαφέρουν από τις υδατοδιαλυτές βιταμίνες στο ότι είναι αδιάλυτες στους υδατικούς διαλύτες αλλά και στο ότι εμφανίζουν συγκεντρωτική συμπεριφορά (βιοσυσσώρευση). Έτσι ενώ η υπερβιταμίνωση είναι σπάνια στις υδατοδιαλυτές βιταμίνες, επειδή μεταβολίζονται πολύ γρήγορα από τον οργανισμό, είναι πολύ συχνό φαινόμενο στις λιποδιαλυτές βιταμίνες. Συγκεκριμένα, έχουν αναφερθεί φαινόμενα υπερβολικής συγκέντρωσης λιποδιαλυτών βιταμινών σε ψάρια που τράφηκαν με δίαιτες πλούσιες σε ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια (Halver, 1989).

1.2.5.2.1 Βιταμίνη A

Η έλλειψη της βιταμίνης A αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον Halver (1958) ο οποίος παρατήρησε ξηροφθαλμία, αιμορραγίες στα μάτια και στη βάση των πτερυγίων και καταρράκτη στα ψάρια. Οι Nagashi et al., (1960) ανέφερε ότι η βιταμίνη A είναι παράγοντας αύξησης μεγέθους στα χέλια και τέλος ο Burrows (Burrows et al., 1952) ανέφερε φαινόμενα υπερβιταμίνωσης σε πέστροφα. Ο εμπειρικός τύπος της βιταμίνης A (ρετινόλη) είναι $C_{20}H_{29}OH$ και είναι αδιάλυτη στο νερό αλλά ευδιάλυτη στα λίπη και τους οργανικούς διαλύτες. Η βιταμίνη A είναι πολύ σημαντική για τη συγκράτηση των επιθηλιακών κυττάρων και γενικά για την προστασία του οργανισμού από τις μολύνσεις ενώ παράλληλα θεωρείται ότι είναι διεγερτικός παράγοντας για την κυτταρική ανάπτυξη (Wolbach & Bessey, 1942) Η υπερβιταμίνωση A χαρακτηρίζεται από βλάβες στην όραση, σκλήρυνση του επιθηλιακού ιστού αιμορραγίες στο μάτι και στη βάση των πτερυγίων και ανωμαλίες στο σχηματισμό των οστών (Dam & Sonengarard, 1964). Ακόμα έχει αναφερθεί υπερπλασία του σπλήνα και του συκωτιού και δερματικές παθήσεις. Πάντως τα φαινόμενα αυτά υποχωρούν όταν αφαιρεθεί η περιρρίσεια της βιταμίνης A από τη διαίτα. Αποθηκεύεται κυρίως και κατ' εξοχήν στο συκώτι των ψαριών και ιδιαίτερα στον μπακαλιάρο (Halver, 1989).

1.2.5.2.2 Βιταμίνη D

Η βιταμίνη D είναι λευκή κρυσταλλική ουσία με εμπειρικό τύπο $C_{28}H_{44}O$, ευδιάλυτη στα λίπη και στους οργανικούς διαλύτες, σταθερή στη θερμότητα και σε αραιά διαλύματα οξέων ή βάσεων. Είναι πολύ σημαντική γιατί βοηθά στη διατήρηση του ασβεστίου και του φωσφόρου σε σωστά επίπεδα γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό για

τα ψάρια που ζούν σε περιβάλλον φτωχό σε ασβέστιο (Dam & Sonengarard, 1964). Η έλλειψη αυτής της βιταμίνης μπορεί να προκαλέσει ανωμαλίες στο σχηματισμό των οστών και καταστροφή των μυικών ινών (George et al., 1979). Η υπερβιταμίνωση D έχει εξίσου κακές συνέπειες για τους οργανισμούς καθώς προκαλεί λήθαργο, σκούρο χρωματισμό και μειωμένη ανάπτυξη. Ακόμα, η υπερβολική πρόσληψη της βιταμίνης έχει σαν αποτέλεσμα τη σταδιακή απασβέστωση του οργανισμού και ιδιαίτερα των οστών, που γίνονται ιδιαίτερα εύθραυστα (West et al., 1966). Όπως οι περισσότερες λιποδιαλυτές βιταμίνες, αποθηκεύεται κυρίως στο ήπαρ του σκωτιού (West et al., 1966).

1.2.5.2.3 Βιταμίνη E (τοκοφερόλη)

Ο χημικός τύπος της βιταμίνης E είναι $C_{23}H_{50}O_2$, έχουν όμως απομονωθεί οκτώ παράγωγά της που ονομάζονται τοκοφερόλες (με ονόματα α , β , γ , δ , ϵ , ζ_1 , ζ_2 , και η) (Dam & Sonengarard, 1964). Οι ουσίες αυτές είναι αρκετά σταθερές σε διάφορους φυσικοχημικούς παράγοντες (π.χ θερμότητα, αραιά διαλύματα οξέων), αλλά είναι πολύ ευαίσθητες στο οξυγόνο παρουσία του οποίου οξειδώνονται αμέσως. Συνδέεται με τη γονιμότητα και την εκκολαψιμότητα των αυγών (Hashimoto et al., 1966) Τα πρώτα συμπτώματα της έλλειψης βιταμίνης E από την τροφή είναι αναιμία, ασκίτης, ξηροφθαλμία και μειωμένη ανάπτυξη. Στη συνέχεια εμφανίζονται κηροειδείς αποθέσεις στο σπλήνα και το συκώτι, επικαρδίτιδα και καταστροφή των ερυθροκυττάρων (Sacaguchi & Hamaguchi, 1969 - Hashimoto et al., 1966). Η υπερβιταμίνωση E προκαλεί διάφορες μορφές κυτταρικής εκφύλισης ενώ σε προχωρημένα στάδια εμφανίζονται τοξικά φαινόμενα, κυρίως στο συκώτι, και θάνατος (Watanabe et al., 1970 - Poston, 1971). Πλούσιες πηγές τοκοφερόλης αποτελεί το λάδι σόγιας και κάλαμποκιού. Σημειώνουμε όμως ότι είναι πολύ σημαντική η προσεκτική συντήρηση των πρώτων υλών αλλά και του τελικού προϊόντος ιδιαίτερα όσον αφορά την προστασία από οξειδωτικούς παράγοντες στους οποίους όλες οι λιποδιαλυτές βιταμίνες είναι ευαίσθητες (Sinnuber, 1969, Stansby, 1967).

1.2.5.2.4 Βιταμίνη K

Η βιταμίνη K έχει εμπειρικό τύπο $C_{31}H_{46}O_2$ και είναι, όπως οι προηγούμενες, σταθερή στη θερμότητα αλλά διασπάται όταν έρθει σε επαφή με το οξυγόνο ή

εκτεθεί σε υπεριώδη ακτινοβολία. Έχει αποδειχθεί ότι συνδέεται με τη σύνθεση του αγγελιοφόρου RNA και της προθρομβίνης που βοηθά την πήξη του αίματος (Halver, 1989), μία λειτουργία ζωτικής σημασίας για τα ψάρια. Ακόμα, θεωρείται ότι η βιταμίνη K έχει έντονη βακτηριοστατική δράση αποτελώντας εναλλακτικό αμυντικό μηχανισμό προστασίας από τις μολύνσεις. Η έλλειψη της βιταμίνης K έχει αναφερθεί σε σολωμό με συμπτώματα όπως αναιμία, εμφάνιση αιμορραγικών περιοχών στα βράγχια και τα μάτια καθώς και καθυστέρηση της πήξης του αίματος που σε πολλές περιπτώσεις οδηγεί σε θάνατο των τραυματισμένων ψαριών (Dupree, 1966 , Poston, 1964). Από την άλλη πλευρά, η υπερδοσολογία έχει τοξική επίδραση και καταλήγει επίσης σε θάνατο. Η βιταμίνη K βρίσκεται σε μικρές συγκεντρώσεις στο συκώτι ενώ κύριες πηγές της είναι τα πράσινα λαχανικά και ιδιαίτερα τα φύλλα τους (Isler & Wiss, 1959).

Στον πίνακα 1 δίνονται συγκεντρωτικά τα συμπτώματα έλλειψης των βιταμινών σε συγκεκριμένα είδη ψαριών.

Βιταμίνη	Συμπτώματα έλλειψης
Θειαμίνη	Μυική ατροφία, απώλεια ισορροπίας, οίδημα, κακή ανάπτυξη.
Ριβοφλαβίνη	Μειωμένη όραση, θάμπωμα / αιμορραγίες στα μάτια, αναιμία.
Πυριδοξίνη	Νευρικά συμπτώματα, αναιμία, οίδημα στην περιτοναϊκή κοιλότητα.
Παντοθενικό	Συνένωση / νέκρωση των βραγχιακών νηματίων, κακή ανάπτυξη.
Ινοσιτόλη	Κακή ανάπτυξη, δισταλμένο στομάχι, έλκη στο δέρμα.
Βιοτίνη	Απώλεια όρεξης, έλκη στο έντερο, μυική ατροφία, θραύση ερυθρών αιμ.
Φολικό οξύ	Ευθραυστα πτερύγια, σκούρος χρωματισμός, αναιμία.
Χολίνη	Κακή ανάπτυξη, αιμορραγίες στο νεφρό και το έντερο.
Νιασίνη	Αδυναμία, οίδημα σε στομάχι / έντερο, μυική ατροφία, σπασμοί.
B ₁₂	Αναιμία, χαμηλή αιμογλοβίνη, καταστροφή ερυθροκυττάρων.
Ασκορβικό	Σκολίωση, λόρδωση, αιμορραγίες σε όλους τους ιστούς, εξόφθαλμος.
A	Εξόφθαλμος, μετατόπιση του φακού, αποχρωματισμός, ασκίτης.
D	Κακή ανάπτυξη, μείωση της συγκέντρωσης ασβεστίου, βλάβη στα οστά.
E	Αναιμία, ασκίτης, καταστροφή ερυθροκυττάρων μυϊκή δυστροφία.
K	Καθυστερήση στη πήξη του αίματος, αναιμία, μειωμένος αιματοκρίτης.

Πίνακας 1. Τα συμπτώματα της έλλειψης βιταμινών σε Cyprinidae, Ictaluridae, Salmonidae κ.λ.π (Halver, 1989)

1.2.6 ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Όλοι οι υδρόβιοι οργανισμοί έχουν ανάγκη από ανόργανα συστατικά για να διατηρήσουν τις φυσιολογικές τους λειτουργίες σε ικανοποιητικό επίπεδο. Ορισμένα ανόργανα στοιχεία είναι απαραίτητα σε αρκετά μεγάλες ποσότητες (gr/Kgr) και άλλα σε πολύ μικρές ποσότητες (mgr ή mgr/Kgr) γι' αυτό και ονομάζονται ιχνοστοιχεία. Τα ψάρια έχουν την ικανότητα να απορροφούν μέταλλα από το εξωτερικό περιβάλλον και να συμπληρώνουν έτσι τις ελλείψεις τους από την τροφή. Όμως στις τεχνητές δίαιτες είναι ανάγκη να υπάρχει συμπλήρωμα ανόργανων συστατικών γιατί έχει αποδειχτεί ότι τα καλλιεργούμενα ψάρια σε πολλές περιπτώσεις δεν παίρνουν τα απαραίτητα στοιχεία όχι τόσο γιατί αυτά δεν υπάρχουν σε ικανοποιητικές ποσότητες αλλά λόγω μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας. Η μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα μπορεί να οφείλεται στο ότι το στοιχείο βρίσκεται σε ακατάλληλη μορφή (π.χ με τη μορφή συμπλόκου) ή σε αλληλεπίδραση με άλλα συστατικά της διαίτας όπως βιταμίνες και ίνες (Tacon & DeSilva, 1983). Πάντως όποια και να είναι η αιτία, το αποτέλεσμα είναι η έλλειψη αυτών των στοιχείων από τον οργανισμό και η εμφάνιση παθολογικών καταστάσεων. Τα συνήθη συμπτώματα είναι μειωμένη όρεξη για τροφή, κακή ανάπτυξη, υποχρωμική αναιμία και κρανιακές δυσμορφίες (Nose, 1972 Ogino & Kamizono, 1975). Επιπλέον, ο Takeuchi (Takeuchi et al., 1981) έδειξε ότι η έλλειψη ιχνοστοιχείων έχει συνέπειες στην ποιότητα των αυγών της ιριδίζουσας πέστροφας. Καταγράφηκε μείωση στον αριθμό των αυγών, στο ποσοστό εκκολαψιμότητας και στο περιεχόμενο των αυγών σε Μαγνήσιο που είναι απαραίτητα για τη βιωσιμότητα των προνυμφών. Τα συμπτώματα αυτά σταμάτησαν όταν αποκαταστάθηκε η ισορροπία στη διαίτα ενώ παράλληλα βελτιώθηκε ο ρυθμός ανάπτυξης και μειώθηκε η θνησιμότητα.

1.2.6.1 Απαραίτητα ιχνοστοιχεία

Με τον όρο “απαραίτητα” χαρακτηρίζουμε τα ιχνοστοιχεία εκείνα που είναι απαραίτητα για τη διατήρηση στη ζωή και η έλλειψή τους οδηγεί αργά ή γρήγορα στο θάνατο. Τα απαραίτητα ιχνοστοιχεία συμμετέχουν στο σχηματισμό του σκελετού και στην ωσμωρρύθμιση. Ακόμα, είναι συστατικά των ορμονών και των ενζύμων ή δρουν ως ενεργοποιητές ενζύμων. Παρακάτω αναφέρουμε αναλυτικά τα απαραίτητα ανόργανα ιχνοστοιχεία των οποίων η χρησιμότητα έχει μελετηθεί στα ψάρια.

1.2.6.1.1 Ασβέστιο (Ca)

Το ασβέστιο σχετίζεται με το σχηματισμό των οστέινων κατασκευών (σκελετού και λεπιών). Τα ιόντα ασβεστίου υπάρχουν και σε πολλούς ιστούς όπως ο λευκός και καρδιακός μυς, όπου βοηθούν στη σύσπαση των ινών. Επιπλέον σχετίζεται με το σχηματισμό θρόμβων στο αίμα και στη μετάδοση των νευρικών ώσεων. Ακόμα συμμετέχουν στο σχηματισμό της κυτταρικής μεμβράνης και ευθύνονται για την ενεργοποίηση ορισμένων ενζύμων. Το ασβέστιο αποθηκεύεται στα οστά, στα λέπια και στο δέρμα. Οι εμπορικές και οι πειραματικές δίαιτες περιέχουν αρκετή ποσότητα ασβεστίου στα συστατικά τους (ιχθυάλευρα). Έτσι καλύπτονται οι ανάγκες των περισσότερων ψαριών, όμως ακόμα κι' όταν αυτή δεν είναι αρκετή τα ψάρια παίρνουν ασβέστιο από ιό νερό μέσω των βραγχίων και των πτερυγίων. Έχει υπολογιστεί ότι σε καθημερινή βάση τα ψάρια χρειάζονται σχετικά χαμηλή συγκέντρωση ασβεστίου, περίπου 0.34% της διαίτας (Lovell, 1978) ποσοστό που ποικίλλει ανάλογα με το είδος του ψαριού και την ποιότητα του νερού (γλυκό - θαλασσινό). Μέχρι σήμερα δεν έχουν ανιχνευθεί παθολογικές καταστάσεις από έλλειψη ασβεστίου στα ψάρια του γλυκού νερού. Πάντως για τα θαλασσινά ψάρια (π.χ. κόκκινη τσιπούρα) είναι καλό να περιλαμβάνεται ένα ποσοστό ασβεστίου για να υπάρχει άριστη ανάπτυξη.

1.2.6.1.2 Φώσφορος (P)

Εκτός από βασικό στοιχείο των δομικών κατασκευών του σκελετικού ιστού, ο φώσφορος βρίσκεται σε κάθε σωματικό κύτταρο γιατί είναι συστατικό των νουκλεϊνικών οξέων και των κυτταρικών μεμβρανών και συνδέεται άμεσα με τις αντιδράσεις παραγωγής ενέργειας. Παιίζει σπουδαίο ρόλο στο μεταβολισμό των λιπών, των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων. Αντίθετα με το ασβέστιο, ο φώσφορος υπάρχει σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις τόσο στο γλυκό όσο και στο θαλασσινό νερό (περίπου 0.02mg/l). Έτσι η τροφή θεωρείται η κύρια πηγή φωσφόρου, που είναι απαραίτητος για τη διατήρηση όλων των μεταβολικών λειτουργιών. Τα ψάρια που δεν παίρνουν αρκετό φώσφορο εμφανίζουν φτωχή ανάπτυξη, σκελετικές ανωμαλίες (π.χ. κρανιακές δυσμορφίες) ενώ για το γατόψαρο έχει αναφερθεί μείωση του αιματοκρίτη (Andrews et al., 1973). Σύμφωνα με τους Andrews (1973) και Lall (1977) το ποσοστό φωσφόρου στη διαίτα κυμαίνεται μεταξύ 0.6 και 0.8%. Πάντως υπάρχουν ενδείξεις ότι είναι σημαντική η διατήρηση της

ισορροπίας μεταξύ ασβεστίου και φωσφόρου γιατί όταν το ένα βρίσκεται σε περίσσεια, επηρεάζει αρνητικά την απορρόφηση του άλλου από τον οργανισμό.

1.2.6.1.3 Μαγνήσιο (Mg)

Το μαγνήσιο είναι ένα πολύ βασικό ιόν που εμπλέκεται σε βασικές λειτουργίες του μεταβολισμού συμμετέχοντας στη σύνθεση βασικών ενζύμων όπως η φωσφοκινάση και το ακετυλ-συνένζυμο Α. Τα ένζυμα αυτά ενεργοποιούν τη σύνθεση λιπαρών οξέων και τη σύνθεση των αμινοξέων. Επιπλέον το μαγνήσιο σχετίζεται με τη μεταφορά των νευρομυϊκών ώσεων και τη διατήρηση του σκελετού όπου και αποθηκεύεται. Τα ψάρια, σε φυσιολογικές συνθήκες απορροφούν μαγνήσιο εν μέρει από το περιβάλλον αλλά κυρίως παίρνουν την ποσότητα που χρειάζονται μέσω της τροφής (ιχθυάλευρα). Σε αντίθετη περίπτωση εμφανίζουν ανορεξία, μειωμένη ανάπτυξη, δυσμορφίες των οστών, νωθρότητα, σπασμούς, εκφύλιση των μυϊκών ινών και των βραγχιακών νηματίων, καταρράκτη και υψηλή θνησιμότητα (Ogino 1976, Gatlin et al. 1982, Nose 1976, Knox et al. 1983). Όμως τα συμπτώματα αυτά έχουν καταγραφεί για τα ψάρια του γλυκού νερού (χέλι, κυπρίνος, γατόψαρο, πέστροφα) ενώ δεν υπάρχουν αντίστοιχες ενδείξεις για τα θαλασσινά ψάρια όπως η κόκκινη τσιπούρα επειδή η συγκέντρωση μαγνησίου στη θάλασσα είναι πολύ μεγαλύτερη απ' ότι στα γλυκά νερά. Έτσι σύμφωνα με τους Lall & Bishop (1977) δεν κρίνεται απαραίτητη η επιπλέον χορήγηση μαγνησίου, για τα θαλασσινά ψάρια.

1.2.6.1.4 Νάτριο (Na), Κάλιο (K), Χλώριο (Cl)

Τα στοιχεία αυτά είναι τα κύρια συστατικά των ηλεκτρολυτών που υπάρχουν στο σώμα των ψαριών. Έχουν άμεση σχέση με την ωσμωρρύθμιση και τη διατήρηση της ισορροπίας οξέων - βάσεων στον οργανισμό. Η είσοδος και η έξοδος τους γίνεται μέσω των μεμβρανών του πλάσματος που λειτουργεί σαν αντλία ιόντων ενώ τα κύρια όργανα απορρόφησης είναι τα βράγχια, το έντερο και το νεφρό. Το χλώριο είναι επιπλέον το βασικό ιόν των γαστρικών εκκρίσεων, με τη μορφή HCl. Τα ιόντα αυτά υπάρχουν σε απεριόριστες ποσότητες στο υδάτινο περιβάλλον απ' όπου τα ψάρια μπορούν να τα απορροφούν, κι' έτσι δεν έχουν αναφερθεί συμπτώματα έλλειψης.

1.2.6.1.5 Σίδηρος (Fe)

Ο σίδηρος συμμετέχει σε πολύ σημαντικές μεταβολικές λειτουργίες όπως η κυτταρική αναπνοή και γενικά η οξειδοαναγωγική δραστηριότητα. Είναι συστατικό πρωτεϊνών του αίματος όπως η αιμογλοβίνη και η μυογλοβίνη αλλά βρίσκεται και σε ένζυμα εκτός αίματος. Ο σίδηρος απορροφάται κυρίως στο έντερο και, εκτός από το αίμα, αποθηκεύεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο συκώτι, στο σπλήνα και στον άνω νεφρό (Walker & Fromm, 1976). Έχει αποδειχτεί ότι η απορρόφηση του σιδήρου είναι αυξημένη όταν στη διαίτα υπάρχουν αναγωγικές ουσίες όπως το ασκορβικό οξύ (Benal, 1976). Τα ψάρια παίρνουν σίδηρο μέσω της τροφής τους και οι ανάγκες κυμαίνονται ανάλογα με το είδος από 30 μέχρι 170 mgf Fe/ Kgr. Σε περίπτωση έλλειψης εμφανίζεται χαρακτηριστική μακροκυττική αναιμία ενώ στον κυπρίνο το συκώτι χάνει το φυσιολογικό του χρώμα και γίνεται υποκίτρινο προς λευκό (Sakamoto & Yone, 1976). Από την άλλη μεριά έχουν καταγραφεί παθολογικά φαινόμενα σε περιπτώσεις όπου η χορήγηση σιδήρου ξεπέρασε τα 1380 mgf/Kgr. Συγκεκριμένα εμφανίστηκε διάρροια, άρνηση για τροφή, αυξημένη θνησιμότητα και όπως έδειξαν οι ιστοπαθολογικές εξετάσεις, καταστροφή των ηπατικών κυττάρων.

1.2.6.1.6 Χαλκός (Cu)

Ο χαλκός θεωρείται απαραίτητο στοιχείο για όλα τα ζωικά είδη και φυσικά για τα ψάρια. Είναι βασικό συστατικό συγκεκριμένων ενζύμων, όπως η δισμουτάση και επιπλέον είναι συστατικό του πλάσματος και του εντερικού υγρού. Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις χαλκού συναντώνται στον εγκέφαλο, στην καρδιά, στο συκώτι και τα μάτια, ιδιαίτερα στην ίριδα και στο χοριοειδή χιτώνα. Ακόμα συναντάται στο πλάσμα σαν πρωτεϊνικό συστατικό. Δεν έχουν αναφερθεί κλινικά συμπτώματα από έλλειψη χαλκού για τα περισσότερα ψάρια γιατί το στοιχείο αυτό υπάρχει σε μεγάλες συγκεντρώσεις τόσο στα συστατικά των περισσότερων ιχθυοτροφών όσο και στο περιβάλλον. Πάντως αποδείχτηκε ότι αν χορηγηθεί για μεγάλο διάστημα διαίτα φτωχή σε χαλκό, ο κυπρίνος εμφανίζει μειωμένη ανάπτυξη και καταρράκτη (Sato et al., 1983). Συνήθως εμφανίζονται προβλήματα από την υπερβολική συγκέντρωση χαλκού στα ψάρια. Συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 700 mgf Cu/Kgr είναι τοξικές και εμφανίζουν παθολογίες όπως καταστροφή των βραγχίων και νεκρωτικές περιοχές στο συκώτι και το νεφρό (Knox et al., 1982).

1.2.6.1.7 Μαγγάνιο (Mn)

Το μαγγάνιο βρίσκεται σχεδόν σε όλους τους ιστούς των ψαριών κυρίως όμως συναντάται στα οστά, το συκώτι, το μύ, τις γονάδες, το νεφρό και το δέρμα. Ενδοκυτταρικά συγκεντρώνεται κυρίως στα μιτοχόνδρια. Είναι συστατικό ορισμένων μεταλλοενζύμων (π.χ. κινάση, τρανσφεράση, υδρολάση και αποκαρβοξυλάση. Επιπλέον έχει αποδειχτεί ότι η ενζυματική δράση συνδέεται με το μεταβολισμό των λιπών και των υδατανθράκων αλλά και με την εγκεφαλική λειτουργία (Keen et al.,1984) Τα ψάρια έχουν τη δυνατότητα να παίρνουν το μαγγάνιο από το περιβάλλον όμως απορροφάται πολύ πιο αποτελεσματικά όταν περιέχεται στην τροφή και μάλιστα όταν δεν συνυπάρχουν σε μεγάλες συγκεντρώσεις στοιχεία ανταγωνιστικά του μαγγανίου όπως το ασβέστιο και ο φώσφορος.

Η έλλειψη μαγγανίου προκαλεί βασικά μείωση της δραστηριότητας ορισμένων ενζύμων, μειωμένη ανάπτυξη, σκελετικές ανωμαλίες και μείωση της εκκολαψιμότητας των αυγών σε πέστροφα, κυπρίνο και τιλάπια (Ogino & Yang, 1980, Takeuchi et al.,1981). Τα περισσότερα ψάρια χρειάζονται περίπου 13-20 mg Mn /Kgr βάρους, όμως για τους γεννήτορες το ποσοστό αυτό είναι πολύ αυξημένο (ποσότητα μεγαλύτερη από 50 mg Mn /Kgr). Αναμφίβολα για την εκτροφή γεννητόρων είναι απαραίτητη η επιπλέον χορήγηση Mn εφόσον αυτό που περιέχεται στην τροφή δεν είναι αρκετό.

1.2.6.1.8 Ψευδάργυρος (Zn)

Η κύρια λειτουργία του ψευδαργύρου στους ζωντανούς οργανισμούς βασίζεται στο ρόλο του ως κύριο συστατικό ενός μεγάλου αριθμού μεταλλοενζύμων ενώ συμμετέχει και στη σύνθεση των νουκλεοπρωτεϊνών. Ο ψευδάργυρος αξιοποιείται πιο αποδοτικά όταν περιέχεται στην τροφή, όμως τα ψάρια έχουν τη δυνατότητα να τον απορροφούν και από το περιβάλλον, έτσι σπάνια έχουν αναφερθεί συμπτώματα από την έλλειψή του. Πάντως σε περιπτώσεις που δόθηκαν σε πέστροφα δίαιτες φτωχές σε ψευδάργυρο εμφανίστηκε καταρράκτης, διάβρωση των πτερυγίων, μείωση των ρυθμών ανάπτυξης και υψηλή θνησιμότητα, (Ogino & Yang, 1979).

1.2.6.1.9 Ιώδιο (I)

Το ιώδιο είναι απαραίτητο για τη σύνθεση των ορμονών του θυρεοειδή αδένου που ελέγχουν την κυτταρική αναπνοή, επηρεάζουν διάφορες νευρομυικές λειτουργίες και γενικά την ανάπτυξη. Τα ψάρια παίρνουν ιώδιο μέσω των βραγχίων

(Leloup, 1979) αλλά και μέσω της τροφής. Συγκεκριμένα για την ιριδίζουσα πέστροφα το 80% του ιωδίου προέρχεται από το νερό, το 19% από την τροφή και λιγότερο από 1%, προέρχεται από ανακύκλωση ιωδίου με την εκφύλιση ορμονών του θυρεοειδή. Η έλλειψη ιωδίου προκαλεί υπερπλασία του θυρεοειδή, υποθυρεοειδισμό και μειωμένη ανάπτυξη (Marine, 1914 Higgs & Eales, 1978) Δεν περιέχουν όλες οι τροφές την ίδια ποσότητα ιωδίου γιατί τα ψάρια που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ιχθυαλεύρων δεν έχουν όλα την ίδια χημική σύσταση. Πάντως είναι καλό να υπολογίζεται το ποσοστό ιωδίου στην τροφή με βάση την παρατήρηση ότι για τον σολωμό είναι απαραίτητη μια ποσότητα 4.5 mgr I /Kgr και λαμβάνοντας υπόψη ότι γενικά τα νεαρά ψάρια έχουν αυξημένες ανάγκες σε ιώδιο (Woodal & LaRoche, 1964)

1.2.6.1.10 Σελήνιο (Se)

Η αναγκαιότητα της ύπαρξης σεληνίου στην τροφή οφείλεται στην ικανότητά του να προστατεύει τα κύτταρα και τις μεμβράνες των ιστών από την οξειδωση και από την τοξικότητα βαρέων μετάλλων όπως το κάδμιο και ο υδράργυρος (Shamberger, 1984). Η έλλειψη αυτού του στοιχείου προκαλεί μείωση των ρυθμών ανάπτυξης στην ιριδίζουσα πέστροφα, στον κυπρίνο και στο γατόψαρο, όμως δεν έχουν αναφερθεί άλλα παθολογικά συμπτώματα που να αποδίδονται με σιγουριά στην έλλειψη σεληνίου. Σε μεγάλες συγκεντρώσεις (13 -15 mgr /Kgr) το σελήνιο είναι τοξικό για τα ψάρια προκαλώντας μειωμένη ανάπτυξη, κακή μετατρεψιμότητα της τροφής και υψηλή θνησιμότητα (Hilton et al., 1980 Gatlin & Wilson, 1984). Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι το σελήνιο είναι μεν απαραίτητο αλλά σε μικρή συγκέντρωση που για την πέστροφα έχει υπολογιστεί 0.15-0.38 mgr /Kgr και για το γατόψαρο 0.25 mgr /Kgr.

1.2.6.1.11 Άλλα ιχνοστοιχεία

Δεν υπάρχουν πολλές πληροφορίες για τη δράση διαφόρων άλλων ιχνοστοιχείων όπως το κοβάλτιο, το χρώμιο, ο μόλυβδος κ.α. καθώς και για τις συνέπειες που θα είχε η έλλειψή τους στην ανάπτυξη των ψαριών. Όμως έχει παρατηρηθεί ότι έχουν θετική επίδραση στο μεταβολισμό των περισσότερων ψαριών. Το κοβάλτιο βοηθά στην αύξηση του μεγέθους και στο σχηματισμό αιμογλοβίνης (Castell et al., 1986).

Το χρώμιο απαιτείται για το φυσιολογικό μεταβολισμό των λιπών και των υδατανθράκων. Γενικά τα ιχνοστοιχεία θεωρούνται απαραίτητα για βασικές λειτουργίες του μεταβολικού συστήματος των ψαριών και γι' αυτό κρίνεται αναγκαία η χρήση τους στις τροφές τους.

Παρόλ' αυτά, θα πρέπει να αναφέρουμε ότι σε ορισμένες περιπτώσεις είναι πιθανό να εμφανιστούν παθολογικές καταστάσεις που οφείλονται στην τοξικότητα κάποιων ιχνοστοιχείων. Στοιχεία όπως ο χαλκός και βαρέα μέταλλα όπως ο ψευδάργυρος, το κάδμιο και ο μόλυβδος, όταν ξεπεράσουν κάποια ορισμένη συγκέντρωση, επιδρούν αρνητικά στην ανάπτυξη και συχνά προκαλούν θνησιμότητα. Οι τροφές που δεν συντηρούνται σωστά και αποθηκεύονται σε μεταλλικά δοχεία τα οποία λόγω διάβρωσης τις επιμολύνουν με ποσότητες μετάλλων, είναι φυσικά επικίνδυνες για τα ψάρια. Ακόμα, ο Tacon (1983) κατέγραψε επιμόλυνση ιχθυοτροφής από χαλκό.

Η επιμόλυνση οφειλόταν στο γεγονός ότι στις πρώτες ύλες περιλαμβάνονταν υποπροϊόντα ζυθοποιείων. Άρα λοιπόν θα πρέπει να γίνεται πολύ προσεκτικά τόσο η ετοιμασία όσο και η φύλαξη των τροφών. Πάντως τα φαινόμενα τοξικότητας δεν είναι ιδιαίτερα συχνά με τις σύγχρονες μεθόδους παρασκευής και φύλαξης των τροφών. Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται τα παθολογικά συμπτώματα που οφείλονται στην έλλειψη ορισμένων ιχνοστοιχείων από τον οργανισμό .

Στον πίνακα 2 αναφέρουμε τα συμπτώματα έλλειψης των κυριότερων ιχνοστοιχείων για ορισμένα είδη ψαριών που καλλιεργούνται εντατικά.

Ιχνοστοιχείο	Συμπτώματα έλλειψης
Ασβέστιο Ca	Μειωμένη ανάπτυξη, κακή μετατρεψιμότητα της τροφής, μειωμένη τέφρα των οστών (πέστροφα, σολωμός, χέλι, ιαπωνική τσιπούρα, τιλάπια)
Φώσφορος P	Μειωμένη ανάπτυξη, κακή μετατρεψιμότητα τροφής, σκελετικές δυσμορφίες, οστεοπόρωση (σολωμός, γατόψαρο, ιαπωνική τσιπούρα, χέλι).
Μαγνήσιο Mg	Μειωμένη ανάπτυξη, καταρράκτης, εκφύλιση μυϊκών ινών & βραγχίων, σκελετικές δυσμορφίες, θνησιμότητα (σολωμός γατόψαρο, χέλι, κυπρίνος).
Σίδηρος Fe	Κακή ανάπτυξη, υποχρωμική μικροκυττική αναιμία, χαμηλός αιματοκρίτης (πέστροφα, γατόψαρο, σολωμός, χέλι, ιαπωνική τσιπούρα).
Ψευδάργυρος Zn	Κακή ανάπτυξη, ανορεξία, νανισμός, καταρράκτης, διάβρωση των πτερυγίων, θνησιμότητα (πέστροφα, σολωμός γατόψαρο, κυπρίνος).
Μαγγάνιο Mn	Κακή ανάπτυξη, απώλεια ισορροπίας, μειωμένη εκκολαψιμότητα, καταρράκτης, θνησιμότητα (πέστροφα, κυπρίνος, σολωμός, τιλάπια)
Σελήνιο Se	Κακή ανάπτυξη, αναιμία, καταρράκτης, μυϊκή δυστροφία. (πέστροφα, σολωμός, γατόψαρο, κυπρίνος)
Ιώδιο I	Υπερπλασία του θυρεοειδή αδένος. (σολωμός, πέστροφα)
Χαλκός Cu	Κακή ανάπτυξη, καταρράκτης (κυπρίνος, σολωμός, γατόψαρο)

Πίνακας 2. Συμπτώματα έλλειψης ιχνοστοιχείων σε συγκεκριμένα είδη ψαριών (S. P. Lall, 1989)

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Γενικά και Μέθοδοι

Κατά την περίοδο Ιουνίου - Σεπτεμβρίου 1995, πραγματοποιήθηκε το πειραματικό μέρος της πτυχιακής εργασίας στις εγκαταστάσεις του Εθνικού Κέντρου Θαλασσίων Ερευνών, στον Άγιο Κοσμά Ελληνικού (Ε.Κ.Θ.Ε), στο εργαστήριο πειραματικής διατροφής. Συγκεκριμένα παρασκευάστηκαν ιστολογικές τομές από ιστούς ψαριών του είδους *Puntazzo puntazzo* (μυτάκι).

2.1.1 Γενικά χαρακτηριστικά του είδους *Puntazzo puntazzo* (μυτάκι)

Το μυτάκι είναι οστεϊχθύς και ανήκει στην οικογένεια Sparidae. Όπως συμβαίνει και με τα περισσότερα μέλη αυτής της οικογένειας, το μυτάκι είναι ευρύαλο είδος. Μορφολογικά, έχει ατρακτοειδές σχήμα, πλευρικά πεπιεσμένο. Το ρύγχος του προεξέχει και έχει σκληρά και λεπτά χείλη. Έχει ασημί χρώμα με 6 ή 7 κατακόρυφες σκούρες ραβδώσεις που εναλλάσσονται με 6 ή 7 ανοιχτόχρωμες ραβδώσεις. Στον κορμό της ουράς υπάρχει μια φαρδιά δακτυλοειδής λωρίδα, ιδιαίτερα έντονη στα νεαρά άτομα. Τα πτερύγια είναι γκριζα με το τελικό τους τμήμα πιο σκούρο. Το μυτάκι ζει στα παράκτια νερά μέχρι βάθος 150 m αλλά συνήθως βρίσκεται στα 60 m. και στο φυσικό του περιβάλλον τρέφεται με φύκη, σκώληκες, διάτομα, καρκινοειδή και μαλάκια. (FAO, 1987)

Οι προσπάθειες για την καλλιέργειά του βρίσκονται ακόμα σε αρχικό στάδιο, καθώς δεν θεωρείται ιδιαίτερα διαδεδομένο στην ελληνική αγορά. Όμως ήδη γίνονται επιτυχημένες απόπειρες αναπαραγωγής και εκτροφής σε περιβάλλον αιχμαλωσίας από μεγάλους ιχθυογεννητικούς σταθμούς και μονάδες πάχυνσης. Πάντως, όπως συμβαίνει με όλα τα εκτρεφόμενα είδη, γίνεται μελέτη για τις διάφορες παραμέτρους της εκτροφής όπως η δυνατότητα συνύπαρξης με άλλα άτομα του ίδιου είδους σε περιορισμένο χώρο (συμπεριφορά), οι παθολογικές καταστάσεις που παρουσιάζει και η προσαρμοστικότητά του στις τεχνητές τροφές.

Αυτή την παράμετρο προσπαθήσαμε να προσεγγίσουμε μέσω της μελέτης ιστολογικών τομών που προέρχονται από ένα αρκετά μεγάλο δείγμα αντιπροσωπευτικών ιστών (συκώτι, βράγχια, νεφρός, καρδιά, σπλήνα).

2.1.2 Εμβιο Υλικό - τα ψάρια

Τα ψάρια προέρχονταν από πειραματική εκτροφή σε μονάδα της περιοχής Αστακού Αιτωλοακαρνανίας. Η πειραματική εκτροφή ολοκληρώθηκε σε τρεις περιόδους που στη συνέχεια αναφέρονται με τον κωδικό Punt1a, Punt1b, Punt2, Punt3a και Punt3b. Οι ονομασίες **a** και **b** δηλώνουν ότι η δειγματοληψία των ιστών έγινε την καλοκαιρινή και τη χειμερινή περίοδο αντίστοιχα. Παρακάτω αναφέρουμε αναλυτικά για κάθε πείραμα ξεχωριστά, τα χαρακτηριστικά στοιχεία των τροφών που χρησιμοποιήθηκαν για την πειραματική εκτροφή των ψαριών.

2.1.3 Μονιμοποίηση των ιστών

Η παρασκευή των ιστολογικών τομών έγινε από ιστούς ψαριών οι οποίοι ήταν διατηρημένοι σε εξουδετερωμένη φορμόλη 10% και αναλογία (v/v) ιστών στο διάλυμα σε κάθε φιαλίδιο δειγματοληψίας, 20 : 80. Το διάλυμα εξουδετερωμένης φορμόλης παρασκευάστηκε με την παρακάτω αναλογία συστατικών στο λίτρο : 100ml φορμαλδεύδη 40%, 900ml απιονισμένο νερό, 4gr ένυδρο δισόξινο ορθοφωσφορικό νάτριο ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 6gr άνυδρο δισόξινο ορθοφωσφορικό νάτριο (NaH_2PO_4).

2.1.3.1 Πρώτο πείραμα (Punt1)

Το αρχικό βάρος των ψαριών ήταν 53gr περίπου και τοποθετήθηκαν σε ιχθυοκλωβούς πάχυνσης στις αρχές Αυγούστου 1992. Οι τροφές που χρησιμοποιήθηκαν είχαν μεταβλητή σύνθεση όσον αφορά το ποσοστό των πρωτεϊνών και των λιπών. Εγιναν δύο δειγματοληψίες, μία το καλοκαίρι του 1993, όταν τα ψάρια είχαν φτάσει τα 150 gr και μία το χειμώνα του 1993, όπου τα ψάρια δεν είχαν πάρει επιπλέον βάρος. Χρησιμοποιήθηκαν 9 διαφορετικές πειραματικές τροφές με κωδικούς **a1**, **a2**, **a3**, **b1**, **b2**, **b3**, **γ1**, **γ2**, **γ3** όπου **a**, **β** και **γ** το ποσοστό πρωτεΐνης και **1**, **2** και **3** το ποσοστό λίπους. Οι τροφές περιείχαν ιχθυάλευρο, ιχθυέλαιο, άμυλο, βιταμίνες, ανόργανα συστατικά (ιχνοστοιχεία) και φωσφορικό ασβέστιο (DCP), προκειμένου να έχουν όλες οι δίαιτες το ίδιο ποσοστό τέφρας.

Σύνθεση διαίτας	α1	α2	α3	β1	β2	β3	γ1	γ2	γ3
Ιχθυέλαιο	45.6	46.6	46.7	63.4	63.4	63.5	79.9	79.9	80.0
Ιχθυάλευρο	4.3	8.3	11.8	2.5	6.3	10.1	0.9	4.6	8.4
Αμυλο	40.7	36.8	32.7	27.8	23.9	20.7	14.2	10.3	6.5
DCP	4.3	4.3	9.8	2.1	2.1	9.7	0.9	0.9	0.9
Βιταμίνες Ιχνοστοιχεία	4.3	4.3	4.2	4.2	4.2	4.2	4.1	4.1	4.1

Πίνακας 3. Σύνθεση τροφών του Punt1 από πρώτες ύλες σε ποσοστά (%)

Τύπος διαίτας	α1	α2	α3	β1	β2	β3	γ1	γ2	γ3
Πρωτεΐνες	35	35	35	48	48	48	61	61	61
Λίπη	9	13	17	9	13	17	9	13	17
Μη πρωτεϊνούχες ενώσεις	41.7	37.7	33.7	28.7	24.7	20.7	15.7	11.7	7.7
Τέφρα	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Ενέργεια Kcal/100gr τροφής	447.8	469.8	491.8	469.9	491.9	513.9	492	514	536
Πεπτή πρωτεΐνη	25.5	27.5	29.6	40.8	40.8	40.8	52.9	52.7	52.6
Πεπτή ενέργεια Kcal/100gr τροφής	362.2	403.1	444.8	414.1	437.3	460.0	435.4	458.3	480.7

Πίνακας 4. Ποσοστιαία ανάλυση (%) των τροφών του Punt1 επί ξηρού βάρους.

2.1.3.2 Δεύτερο πείραμα (Punt2)

Στο πείραμα αυτό, τα ψάρια με μέσο βάρος περίπου 3.8gr τοποθετήθηκαν σε κλωβούς πάχυνσης. Η πειραματική εκτροφή ολοκληρώθηκε σε τρεις μήνες (Ιουνιος - Αύγουστος). Οι υψηλές θερμοκρασίες που επικρατούσαν αυτή την εποχή (18 - 25° C) ευνόησαν τη γρήγορη ανάπτυξη των ψαριών που είχαν μέσο τελικό βάρος 40gr.

Για τις τροφές χρησιμοποιήθηκε ιχθυάλευρο επεξεργασμένο σε χαμηλή θερμοκρασία (Low Temperature, LT), προκειμένου να αφομοιώνεται όσο το δυνατόν καλύτερα από τα νεαρά ψάρια. Ακόμα χρησιμοποιήθηκαν πρώτες ύλες όπως κυτταρίνη, δεξτρίνη και καζεΐνη, βιταμίνες και ιχνοστοιχεία καθώς και DCP. Οι βασικές διαφορές μεταξύ των τροφών, που διατηρούν τους ίδιους κωδικούς

ονομασίας (α_1 , α_2 , α_3 , β_1 , β_2 , β_3 , γ_1 , γ_2 , γ_3), αφορούν στο ποσοστό των πρωτεϊνών και των λιπών.

Σύνθεση διαίτας	α_1	α_2	α_3	β_1	β_2	β_3	γ_1	γ_2	γ_3
Καζεΐνη	10.7	10.7	10.7	13.2	13.2	13.2	15.6	15.6	15.6
Ιχθυάλευρο LT	33	33	33	40.1	40.1	40.1	47.6	47.6	47.6
Ιχθυέλαιο	3.9	7.9	11.9	3.5	7.5	11.5	2.6	6.6	10.6
DCP	5.14	5.14	5.14	4.03	4.03	4.03	2.9	2.9	2.9
Κυτταρίνη	32	28	24	24	20	16	16	12	11
Δεξτρίνη	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1
Βιταμίνες Ιχνοστοιχεία	4	4	4	4	4	4	4	4	4

Πίνακας 5. Σύνθεση των τροφών του Punt2 από πρώτες ύλες σε ποσοστά %.

Τύπος διαίτας	α_1	α_2	α_3	β_1	β_2	β_3	γ_1	γ_2	γ_3
Πρωτεΐνες	35	35	35	43	43	43	51	51	51
Λίπη	8	12	16	8	12	16	8	12	16
Μη πρωτεϊνούχες ενώσεις	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1	11.1
Τέφρα	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Ενέργεια Kcal/100gr τροφής	319.9	357.9	395.9	365.5	403.5	441.5	411.1	449.1	487.1
Ινώδεις ύλες	35.9	31.9	27.9	27.9	23.9	19.9	19.9	15.9	14.9

Πίνακας 6. Ανάλυση σε ποσοστά % των τροφών του Punt2.

2.1.3.3 Τρίτο πείραμα (Punt3)

Τα ψάρια που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτό το πείραμα είχαν μέσο αρχικό βάρος 57gr και στο τέλος της περιόδου εκτροφής (Σεπτέμβριος - Ιανουάριος) είχαν φτάσει σε βάρος τα 150gr.

Ο βασικός στόχος ήταν να διερευνηθεί η δυνατότητα των θαλασσινών ψαριών, όπως το μυτάκι, να εκμεταλλεύονται τους διαιτητικούς υδατάνθρακες και τα λίπη ως πηγές ενέργειας. Χρησιμοποιήθηκαν 6 διαφορετικές τροφές (με κωδικούς 1,2,3,4,5,6) οι οποίες είχαν μεταβλητή σύνθεση υδατανθράκων και λιπών τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά. Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν

ήταν Ιχθυάλευρο και Ιχθυέλαιο, άμυλο ακατέργαστο, άμυλο κατεργασμένο, βιταμίνες, ιχνοστοιχεία, κυτταρίνη και DCP. Χρήση ακατέργαστου αμύλου (R), έγινε στις δίαιτες 1 και 4 ενώ χρήση κατεργασμένου αμύλου (G) έγινε στις δίαιτες 2, 3, 5 και 6.

Σύνθεση διαίτας	1 (R)	2 (G)	3 (G)	4 (R)	5 (G)	6 (G)
Ιχθυάλευρο	53.37	53.37	53.37	64.05	64.05	64.05
Ιχθυέλαιο	9.28	9.28	4.28	6.14	6.14	2.14
Άμυλο ακατέργαστο	25	-	-	19	-	-
Άμυλο κατεργασμένο	-	25	36	-	19	29
Κυτταρίνη	6.1	6.1	0.1	6.1	6.1	0.1
DCP	22.42	22.42	22.42	0.71	0.71	0.71
Βιταμίνες Ιχνοστοιχεία	4	4	4	4	4	4

Πίνακας 7. Σύνθεση διαίτας του Punt3 από πρώτες ύλες σε ποσοστά %

Τύπος διαίτας	1 (R)	2 (G)	3 (G)	4 (R)	5 (G)	6 (G)
Πρωτεΐνες	40	40	40	48	48	48
Λίπη	15	15	10	13	13	9
Μη πρωτεϊνούχες ενώσεις	25	25	36	19	19	29
Φυτικές ίνες	10	10	4	10	10	4
Τέφρα	10	10	10	10	10	10
Ενέργεια Kcal/100gr τροφής	470.5	470.5	467	473.1	473.1	475.1
Πεπτή ενέργεια Kcal/100gr τροφής	435	438.2	429.1	430.4	433.5	431

Πίνακας 8. Ποσοστιαία (%) ανάλυση των τροφών του Punt3

2.1.4 Παρασκευή των Ιστολογικών Τομών

Όπως προαναφέρθηκε, η παρασκευή των ιστολογικών τομών άρχισε τον Ιούνιο του 1995. Η διαδικασία αυτή ολοκληρώνεται σε 3 στάδια, που είναι η έγκλειση, η κοπή των blocks και η βαφή των τομών.

2.1.4.1 Εγκλειση των ιστών

Οι συντηρημένοι στο διάλυμα φορμόλης ιστοί, (καρδιά, συκώτι, βράγχια, νεφρό, σπλήνα) κόβονται σε μικρά κομμάτια και τοποθετούνται στις ειδικές πλαστικές κασσετίνες για την ιστοκινέττα. Σε κάθε κασσετίνα τοποθετούνταν μέχρι 6 όμοιοι ιστοί της ίδιας διαίτας. Στη συνέχεια οι κασσετίνες περνούσαν από τον κύκλο της ιστοκινέττας, όπου γινόταν αυτόματα η διαδοχική εμβάπτισή τους σε διάφορα διαλύματα για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Συνολικά υπάρχουν 11 δοχεία μέσα στα οποία βυθίζεται το καλάθι με τους ιστούς. Τα υγρά που χρησιμοποιούνται είναι Μεθανόλη, Αιθανόλη, Χλωροφόρμιο και υγρή παραφίνη που όμως δεν ξεπερνά τους 60°C επειδή σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες υπάρχει πιθανότητα να καταστραφεί η δομή των ιστών. Η ιστοκινέττα που χρησιμοποιήθηκε ήταν ανοικτού τύπου, μοντέλο Reichert - jung 2000 και ο κύκλος της διαρκεί 20 ώρες. Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται ο χρόνος παραμονής, σε ώρες, των ιστών σε κάθε υγρό της ιστοκινέττας.

Ωρες	Διάλυμα
1	Μεθανόλη 50 %
2	Μεθανόλη 80 %
2	Μεθανόλη 100%
2	Μεθανόλη 100 %
2	Μεθανόλη 100 %
2	Αιθανόλη 100%
2	Αιθανόλη 100%
2	Χλωροφόρμιο
1	Χλωροφόρμιο
2	Παραφίνη (60°C)
2	Παραφίνη (60°C)

Πίνακας 9. Χρόνος παραμονής των ιστών στα υγρά της ιστοκινέττας

Μετά το τέλος του κύκλου της ιστοκινέττας, οι κασσετίνες ανοίγονται και οι ιστοί τοποθετούνται προσεκτικά με λεπτή λαβίδα σε ειδικά “ταψάκια” (φόρμες) από αλουμίνιο με διαστάσεις 4x1.5x3 cm. Που γεμίζονται με υγρή παραφίνη (60°C) επάνω σε θερμή πλάκα τύπου SHANDON WD4. Στην επάνω ανοιχτή επιφάνεια του κάθε καλουπιού εφαρμόζουμε ένα πλαστικό πλέγμα στην άκρη του οποίου είναι γραμμένος ο κωδικός των ιστών που περιέχονται σε αυτό. Ο κωδικός αυτός αποτελείται από 3 τμήματα. Στο πρώτο, γράφουμε το πείραμα εκτροφής,

στο δεύτερο τον ιχθυοκλωβό από από τον οποίο προέρχονται τα συγκεκριμένα ψάρια και στο τρίτο τον ιστό. Έτσι για παράδειγμα ο κωδικός *P3bB6B* σημαίνει ότι σε αυτή τη φόρμα περιέχονται βράγχια από ψάρια που προέρχονται από τον κλωβό B6 (γνωρίζουμε σε ποιά δίαιτα αντιστοιχεί αυτός ο κλωβός) της χειμερινής περιόδου του τρίτου πειράματος. Στη συνέχεια παίρνουμε πολύ προσεκτικά τα ταψάκια με τους ιστούς, τα τοποθετούμε επάνω στην κρύα πλάκα τύπου SHANDON CP4 (μεταλλική επιφάνεια με θερμοστάτη που είναι ρυθμισμένος στους -20°C) και τα αφήνουμε εκεί μέχρι να στερεοποιηθεί η παραφίνη. Όταν αφαιρέσουμε τη μεταλλική φόρμα, παίρνουμε έναν “κύβο” παραφίνης (block) ο οποίος περιέχει τους ιστούς.

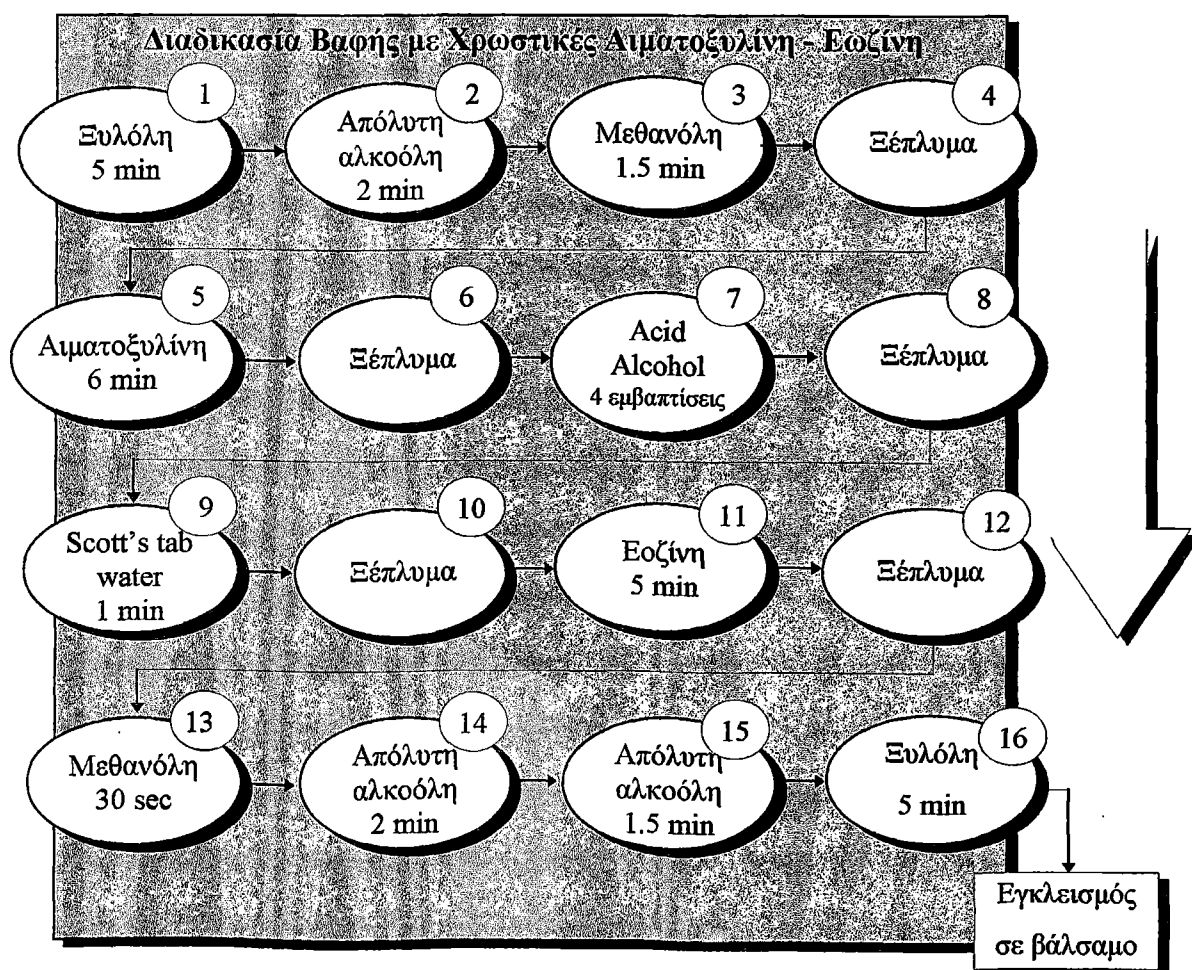
2.1.4.2 Κοπή των ιστολογικών τομών

Το block εφαρμόζεται στη ειδική υποδοχή του μικροτόμου. Ο μικτοτόμος που χρησιμοποιήθηκε ήταν μοντέλο SHANDON M1R. Αρχικά κόβουμε αρκετές τομές έχοντας ρυθμίσει το πάχος τομής στα 10 μ , μέχρι να αποκαλυφθούν οι ιστοί. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται *trimming*. Όταν έχουν αποκαλυφθεί όλοι οι ιστοί, ρυθμίζουμε το πάχος τομής στα 5 μ και παίρνουμε μία τομή με κάθε πλήρη κύκλο του μοχλού του μικροτόμου. Επιλέγουμε δύο τουλάχιστον καλές τομές από κάθε block τις οποίες παίρνουμε πολύ προσεκτικά με τη βοήθεια λαβίδας και ανατομικής βελόνας και τις απλώνουμε στην επιφάνεια ζεστού απιονισμένου νερού, σε υδατόλουτρο με θερμοστάτη (Parafin section mounting bath, ELECTROTHERMAL χωρητικότητας 3.4 lt). Αφήνουμε τις τομές εκεί για λίγα λεπτά μέχρι να ισιώσουν και στη συνέχεια βυθίζουμε με πολύ προσοχή μέχρι τη μέση (πλάγια) μια αντικειμενοφόρο πλάκα κάτω από την τομή και την ανεβάζουμε απότομα. Με αυτό τον τρόπο η τομή μένει επάνω στην αντικειμενοφόρο. Φροντίζουμε η θερμοκρασία να μην ξεπερνά τους 35°C γιατί σε αντίθετη περίπτωση η παραφίνη λιώνει μέσα στο νερό και οι τομές καταστρέφονται. Οι πλάκες τοποθετούνται για μισή ώρα περίπου σε ζεστή μεταλλική επιφάνεια ρυθμιζόμενης θερμοκρασίας, (περίπου 60°C), τύπου SHANDON HP3 για να στεγνώσουν, αφού βεβαίως έχουμε φροντίσει να γράψουμε επάνω σε κάθε αντικειμενοφόρο τον κωδικό του block από το οποίο προέρχεται η τομή. Αφού στεγνώσουν, τις βάζουμε σε οριζόντια θέση σε κλειστό φούρνο (μοντέλο U10 memmert EDELSTHAL) στους 60°C όπου παραμένουν για 20 ώρες

περίπου (overnight). Η διαδικασία αυτή ακολουθείται για να λειώσει το φιλμ της παραφίνης που περιβάλλει τους ιστούς και για να σταθεροποιηθούν οι ιστοί επάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα.

2.1.4.3 Βαφή των ιστολογικών τομών

Οι αντικειμενοφόρες πλάκες με τις ιστολογικές τομές μετά την ολοκλήρωση της παραπάνω διαδικασίας είναι έτοιμες να βαφούν. Χρησιμοποιήθηκε χρώση αιματοξυλίνης - εοζίνης, που περιλαμβάνει διαδοχικές εμβαπτίσεις των αντικειμενοφόρων σε ξυλόλη (για την απομάκρυνση των τυχόν υπολοιμάτων παραφίνης), αλκοόλες, αιματοξυλίνη (κόκκινη χρωστική), οξινισμένη αλκοόλη, Scott's tab water (για σταθεροποίηση της χρωστικής), και εοζίνη (μπλέ χρωστική). Ενδιάμεσα γίνεται ξέπλυμα των αντικειμενοφόρων με νερό. Μετά το τέλος της διαδικασίας, βάζουμε επάνω στην τομή μια σταγόνα συγκολλητικής ουσίας (βάλσαμο του Καναδά) και καλύπτουμε με καλυπτρίδα.



Διάγραμμα 1. Διαδικασία χρώσης αιματοξυλίνης - εοζίνης

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

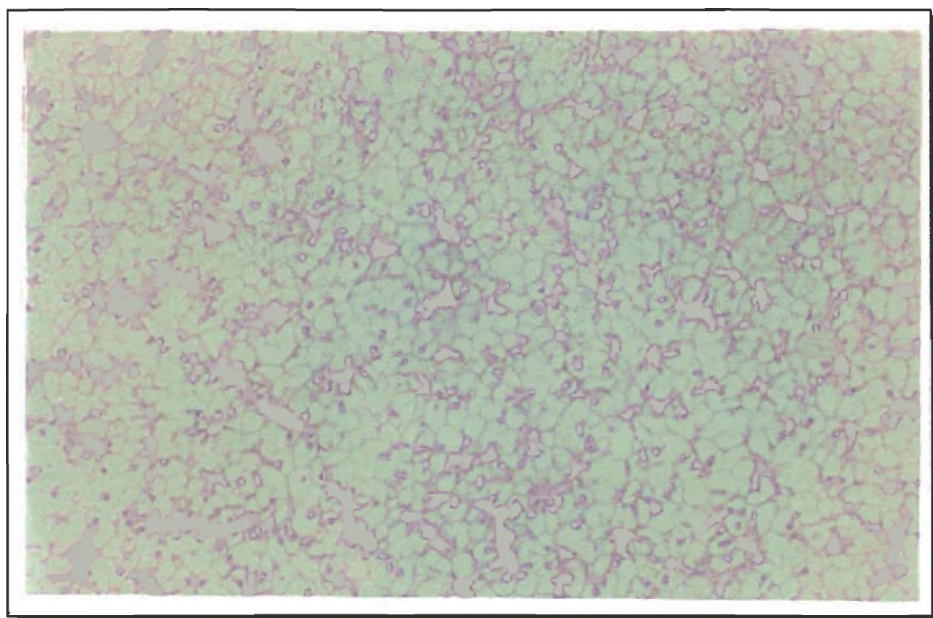
Η παρουσίαση των ιστολογικών τομών γίνεται διαδοχικά ανά πείραμα και εποχή (Punt1a, Punt1b, Punt2, Punt3a, Punt3b) και ανά ιστό (συκώτι, βράγχια, νεφρό, καρδιά, σπλήνα). Κάτω από κάθε φωτογραφία, σημειώνουμε το πείραμα στο οποίο αναφερόμαστε (P1a, P1b, P2, P3a, P3b), τον ιστό, τη μεγένθυση στην οποία έγινε η φωτογράφιση και τη δίαιτα που χρησιμοποιήθηκε.

Πρώτο πείραμα (Punt1a, Punt1b)

Καλοκαιρινή περίοδος (Punt1a)

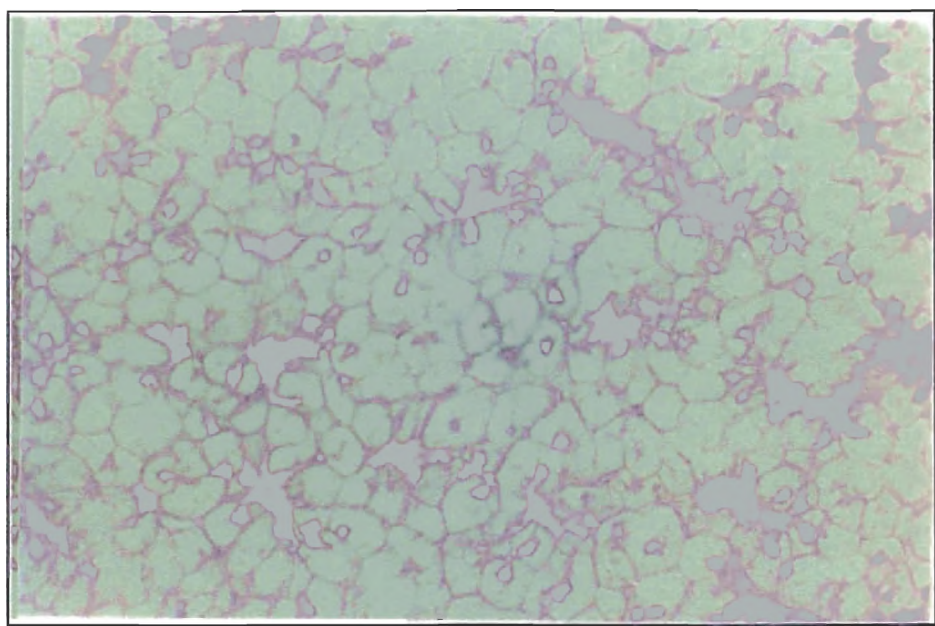
3.3 Ηπατοπάγκρεας

Στο πρώτο πείραμα (Punt1a), παρατηρούμε ότι υπάρχει μια σημαντική απόθεση λίπους στο ηπατοπάγκρεας που φαίνεται έντονα ακόμα και στους ιστούς των ψαριών που είχαν τραφεί με διαίτα χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος ($\alpha 1$) (εικ. 1)



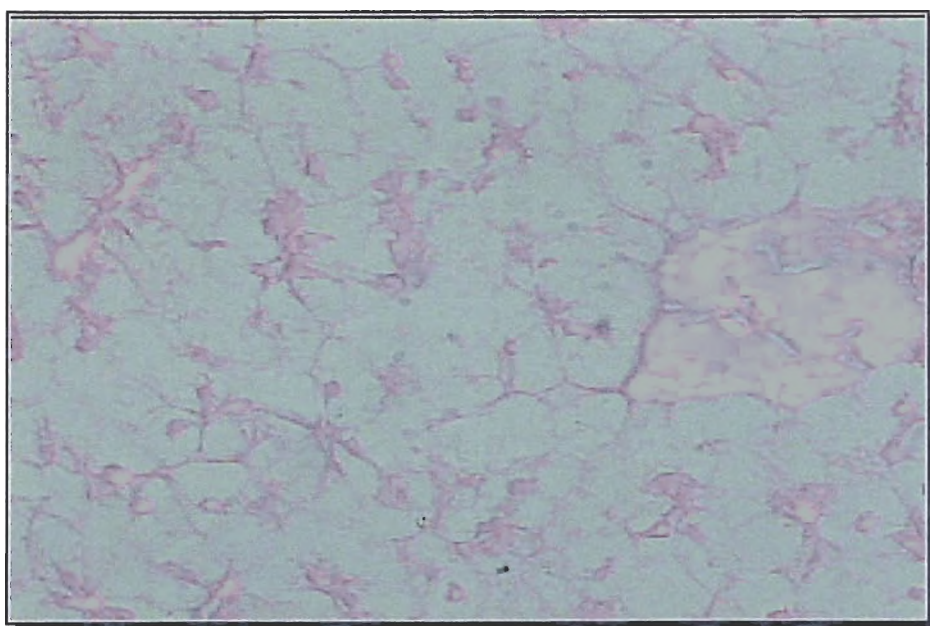
Εικόνα1. P1a,Συγκώτι (x20) Συγκεντρώσεις λιποκυττάρων μεταξύ των ηπατοκυττάρων (a1)

Σε αυτά τα δείγματα ο ιστός μοιάζει να χάνει τη φυσιολογική του δομή και σε ορισμένες περιοχές οι πυρήνες των ηπατοκυττάρων φαίνονται να είναι διασκορπισμένοι. Μάλιστα θα μπορούσαμε να θεωρήσουμε ότι ο ιστός βρίσκεται στα όρια αποθήκευσης λιποκυττάρων με αποτέλεσμα να εμφανίζονται περιοχές όπου οι μεμβράνες αρχίζουν να σπάζουν (πρώτο στάδιο λιπώδους διήθησης). Στην εικ.2, διακρίνονται ορισμένες τέτοιες περιοχές.



Εικόνα2. P1a Σοκώτι (x40) Συγκεντρώσεις λιποκυττάρων μεταξύ των ηπατοκυττάρων(a1)

Η δίαιτα α3 (υψηλό ποσοστό λίπους - χαμηλή πρωτεΐνη) έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση λίπους και ελαφρά διογκωμένων ηπατοκυττάρων με ταυτόχρονη διάχυση άμορφου υλικού στη γύρω περιοχή (εικ.3)

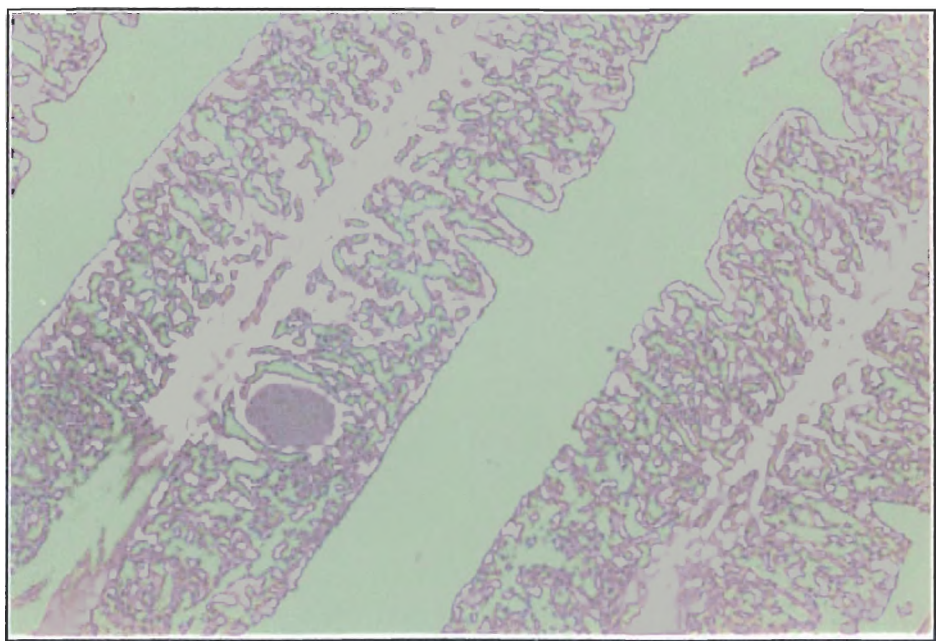


Εικόνα3. P1a Σοκώτι (x33) Διογκωμένα ηπατοτοκύτταρα (α3)

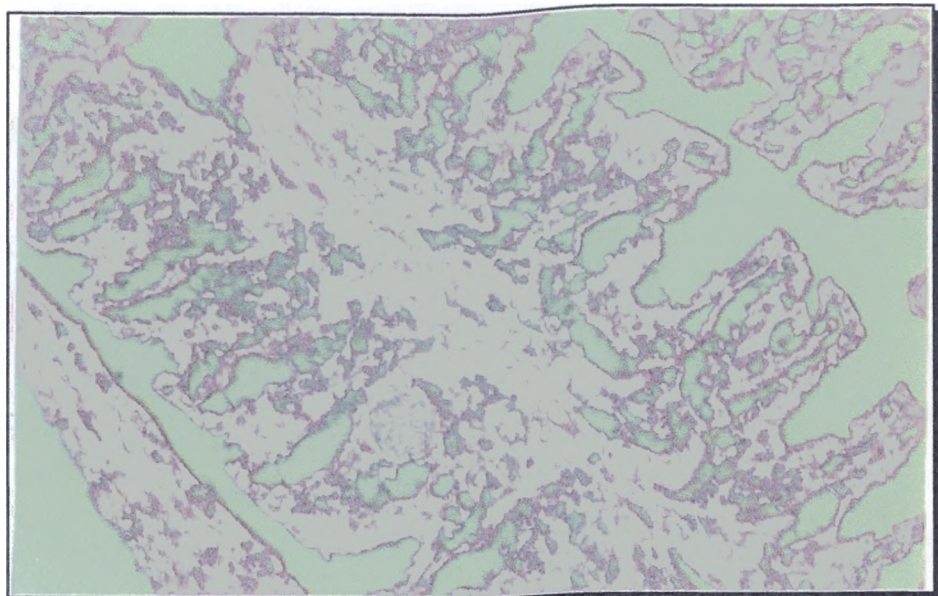
Πάντως γενικά, ακόμα και όταν οι δεν βρίσκονται στην καλύτερη κατάσταση, οι ιστοί δεν εμφανίζουν νεκρωτικές περιοχές και το λίπος αν και σε κάποιες περιπτώσεις βρίσκεται σε μεγάλο ποσοστό, δεν φαίνεται να έχει προκαλέσει τη διάρρηξη των κυτταρικών μεμβρανών.

3.4 Βράγχια

Στα βράγχια αυτής της περιόδου εμφανίζεται μόλυνση από χλαμύδια (επιθηλιοκύστη) και μάλλον μονογενή παράσιτα. Χωρίς να ξέρουμε αν το φαινόμενο θα έπρεπε να αποδοθεί στη σύσταση της τροφής, παρατηρούμε ότι στα βράγχια των ψαριών που είχαν τραφεί με τη διαίτα χαμηλής ενέργειας α1, υπάρχουν λίγες επιθηλιοκύστεις που εμφανίζονται σποραδικά και έντονη υπερπλασία (εικ.4) (εικ.5).

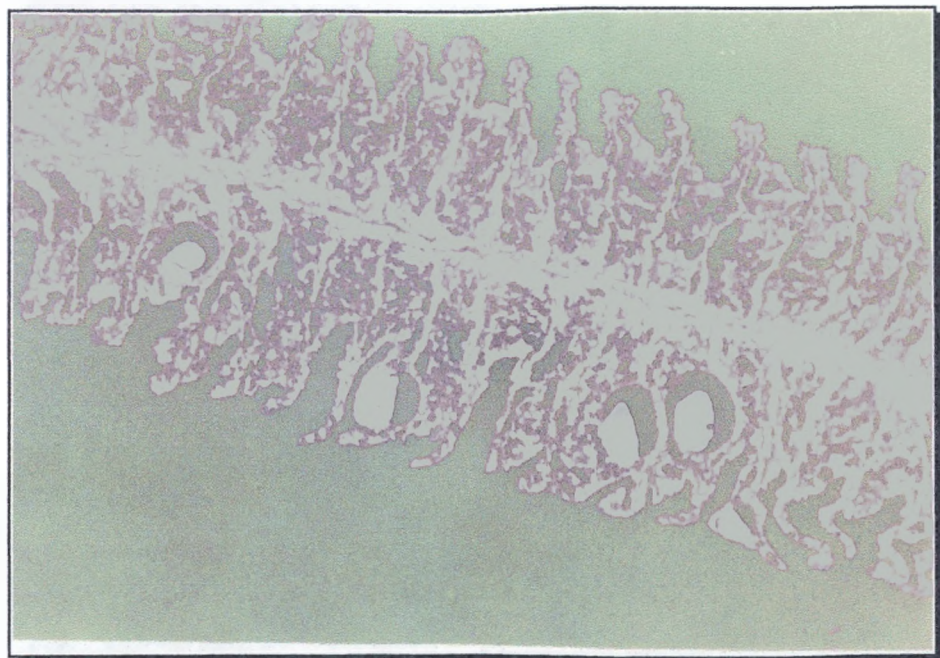


Εικόνα 4. Ρ1α Βράγχια (x20) Υπερπλασία και επιθηλιοκύστη (α1)



Εικόνα5. Punt 1a Βράγχια (x40) Επιθηλιοκύστη και υπερπλασία (α1)

Τα βράγχια των ψαριών της υψηλής σε λίπος και πρωτεΐνες διαίτας (γ3) έχουν προσβληθεί σε πολύ μεγαλύτερο βαθμό από επιθηλιοκύστες και εμφανίζουν έντονη υπερπλασία (εικ.6)



Εικόνα 6. P1a Βράγχια (x20) Έντονη προσβολή από επιθηλιοκύστη και υπερπλασία (γ3)

Στη διαίτα υψηλής πρωτεΐνης (γ1) παρατηρούμε ότι υπάρχουν προσκολλημένα παράσιτα σε μεγάλο αριθμό (μάλλον μονογενή) και μικρής έκτασης υπερπλασία (εικ.7).

Στη διαίτα α3 (πολύ λίπος) η γενική εικόνα των βραγχίων δεν είναι καθόλου καλή, καθώς οι ιστοί συγκεντρώνουν όλα τα αρνητικά χαρακτηριστικά που εμφανίζονται στις υπόλοιπες τρεις δίαιτες, δηλαδή έντονη υπερπλασία, προσβολή από παράσιτα και επιθηλιοκύστη (μικτή μόλυνση) (εικ. 8).



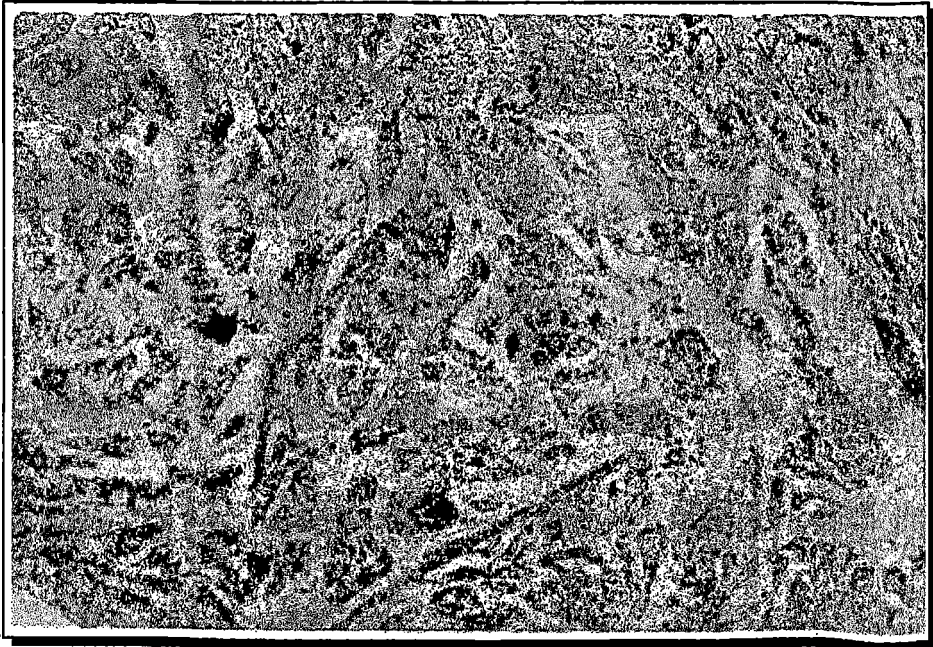
Εικόνα 7. P1a Βράγχια (x40) Προσκολλημένο μονογενές παράσιτο (γ1)



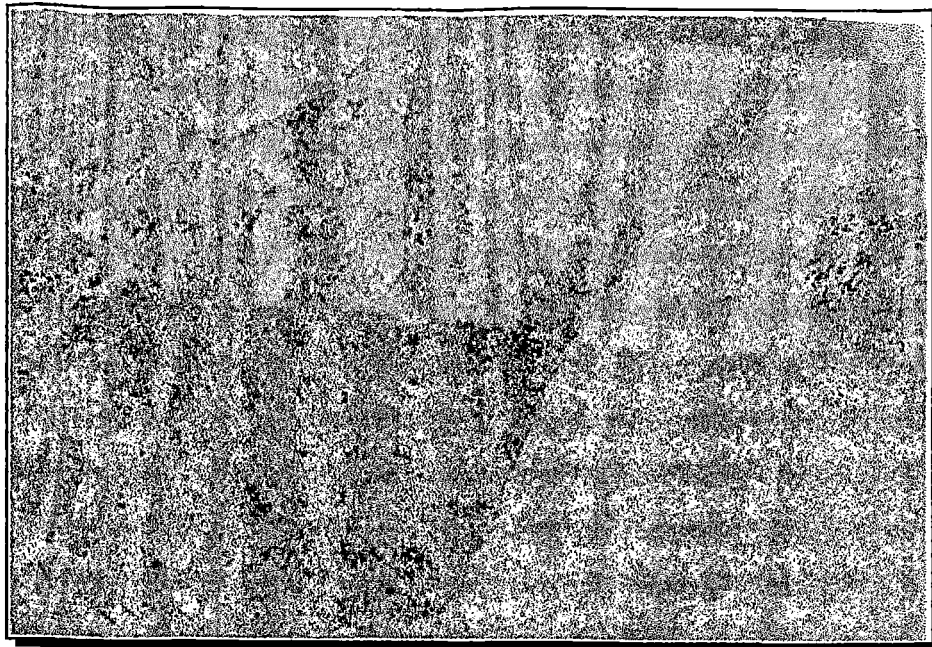
Εικόνα 8. P1a Βράγχια (x40) Μικτή μόλυνση (α3)

3.5 Καρδιά

Οι καρδιές δεν παρουσιάζουν βλάβες στη διαίτα α1 (εικ.9) όπου οι μυικές ίνες έχουν κανονική μορφή και υπάρχει η φυσιολογική συγκέντρωση ερυθρών αιμοσφαιρίων. Ανάμεσα στις γραμμωτές μυικές ίνες υπάρχουν μακροφάγα κύτταρα που εκτελούν φαγοκυττάρωση, αλλά σε μικρό αριθμό και σποραδικά. Αντίθετα οι καρδιές της διαίτας α3 σε ορισμένες περιοχές περιφερειακά εμφανίζουν κενοτόπια (εικ.10).

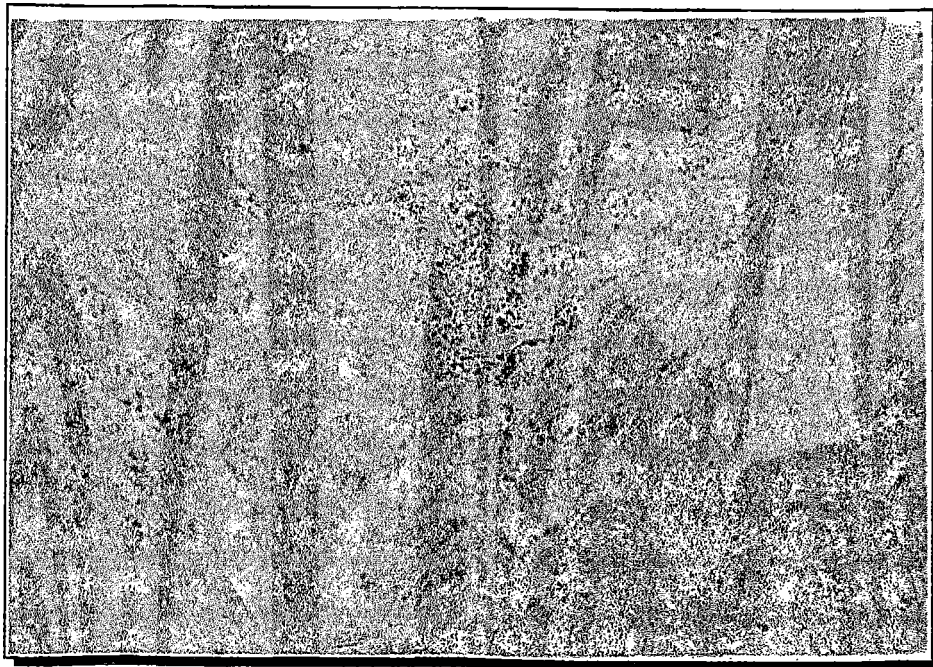


Εικόνα.9. P1a Καρδιά (x20) Φυσιολογική μορφή (α1)



Εικόνα 10. P1a Καρδιά (x20) Περιφεριακή κενотоπίωση (a3)

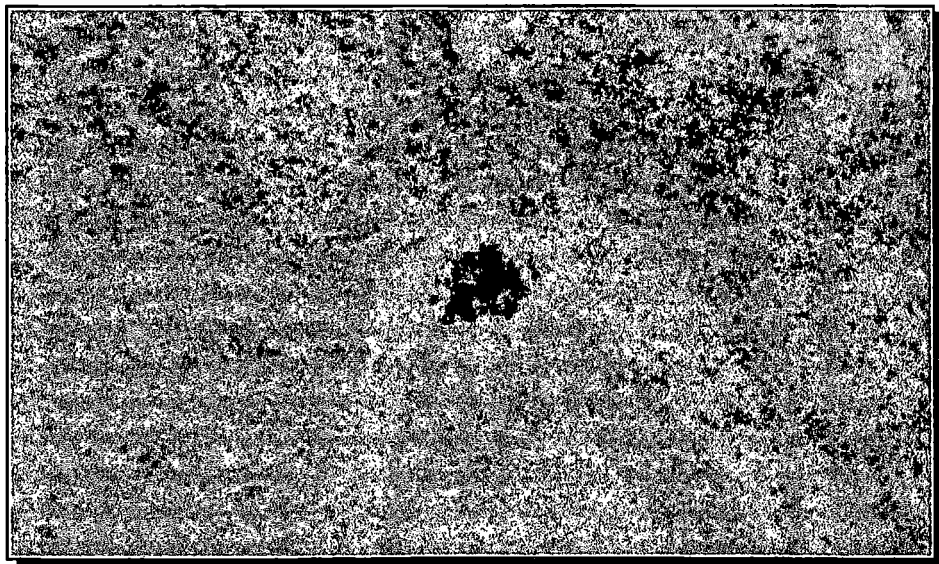
Σε αυτή τη δίαιτα εμφανίζεται αποδιοργάνωση του καρδιακού μυ συνοδευόμενη από εστιακή συγκέντρωση λεμφοκυττάρων, που ίσως είναι παθολογικό φαινόμενο (εικ.11)



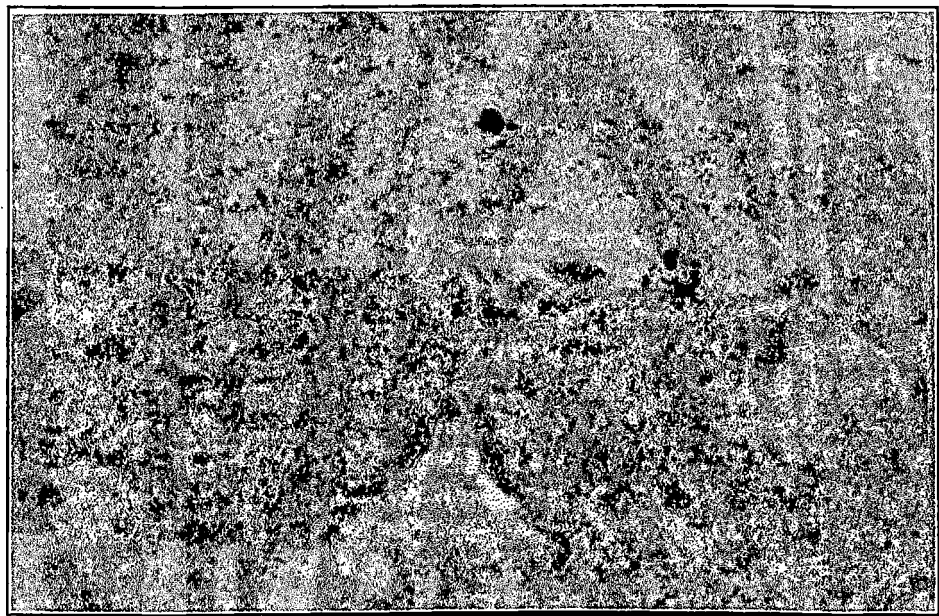
Εικόνα 11. P1a Καρδιά (x20) Εστιακή συγκέντρωση λεμφοκυττάρων (a3)

3.6 Σπλήνας

Στο σπλήνα παρατηρούμε ότι η μορφή των ιστών είναι φυσιολογική για τα ψάρια που είχαν τραφεί με με δίαιτες χαμηλών λιπαρών (α1, γ1) και τα μελανομακροφάγα κέντρα έχουν μεγάλες αποθέσεις χρωστικής (εικ.12, 13)

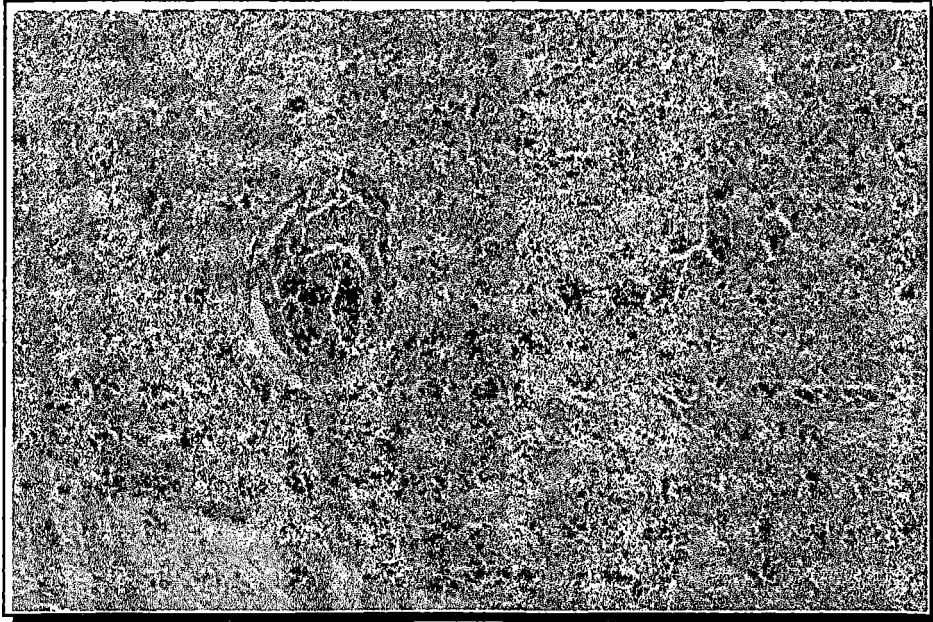


Εικόνα 12. Ρ1α Σπλήνας (x20) Μελανομακροφάγο κέντρο (α1)

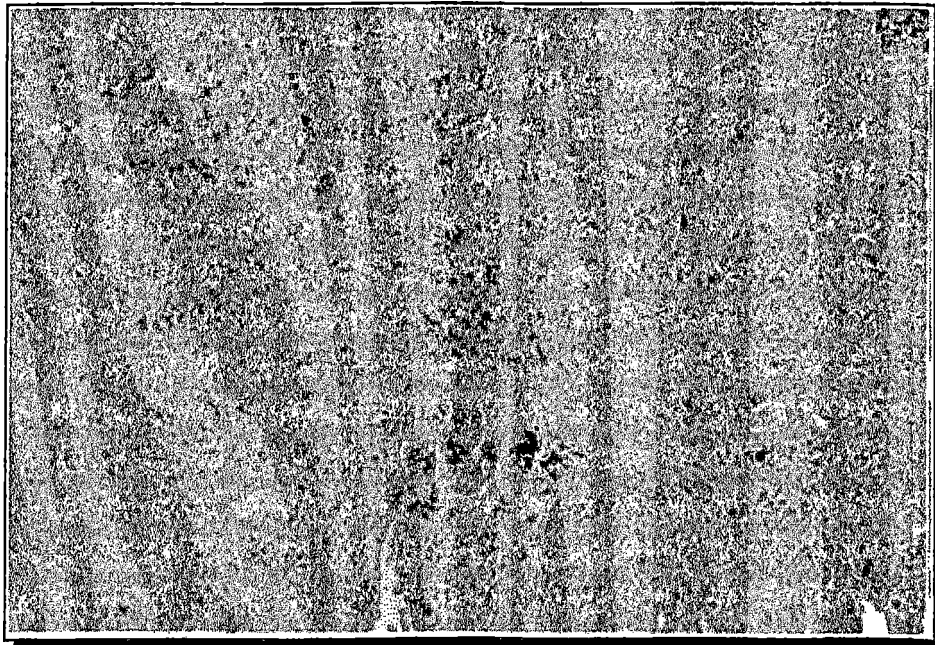


Εικόνα 13. Ρ1α Σπλήνας (x20) Μελανομακροφάγα κέντρα (α1)

Στις δίαιτες υψηλού ποσοστού λίπους, οι ιστοί παρουσιάζουν αρκετά μεγάλη συγκέντρωση μελανομακροφάγων κέντρων με έντονη τάση διάχυσης στη γύρω περιοχή και σε μεγάλο ποσοστό αποχρωματισμένα στη δίαιτα γ3 (εικ.14) αλλά και στη δίαιτα α3 (εικ.15)



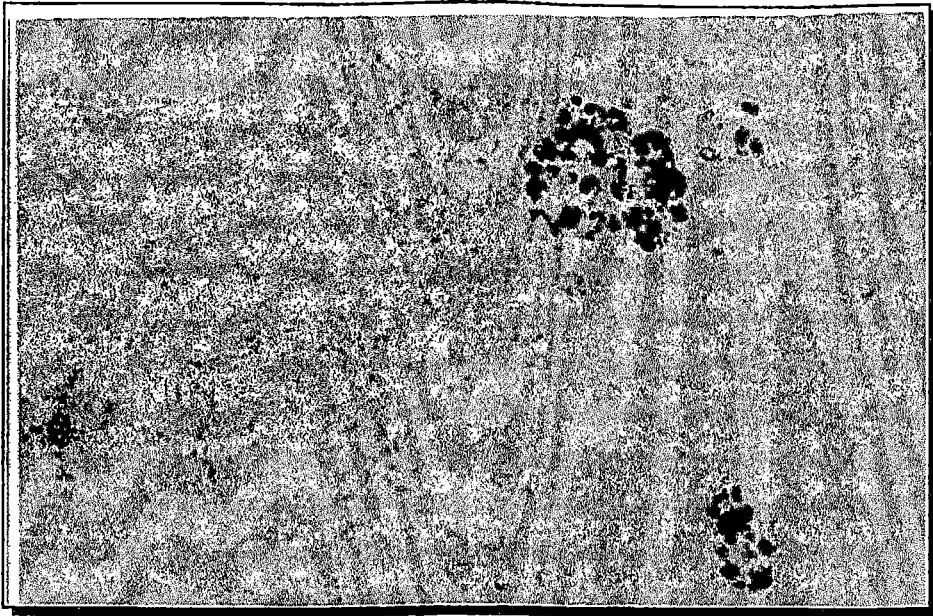
Εικόνα 14. P1a Σπλήνας (x20) Μελανομακροφάγα κέντρα σε διάχυση (γ3)



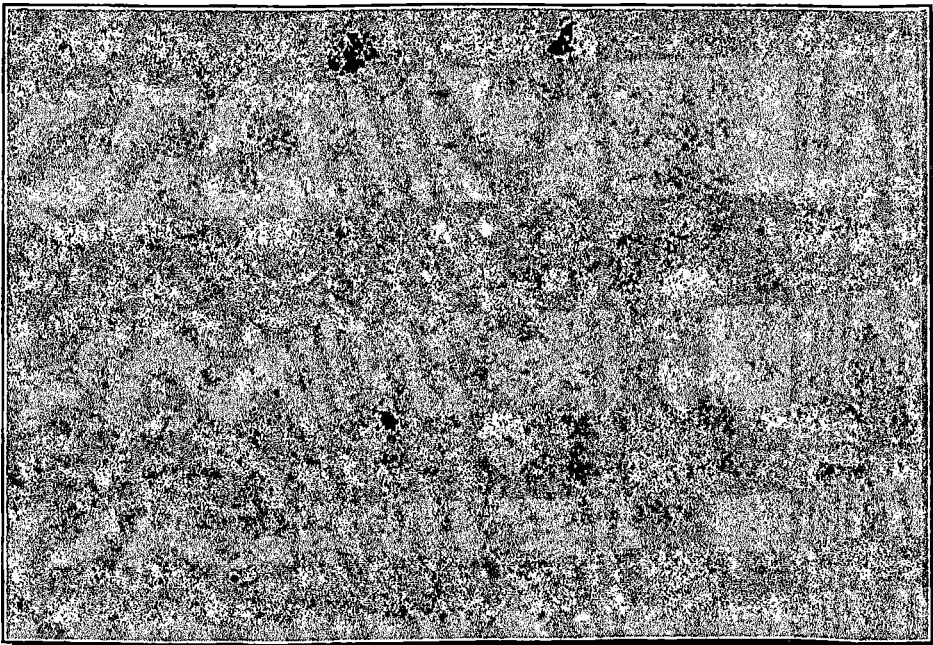
Εικόνα 15. P1a Σπλήνας (x20) Μελανομακροφάγα κέντρα σε διάχυση (α3)

3.7 Νεφρός

Στους νεφρούς αυτής της περιόδου υπάρχουν κάποιοι ιστοί με φυσιολογική δομή από τη δίαιτα α3 (εικ.16, 17)

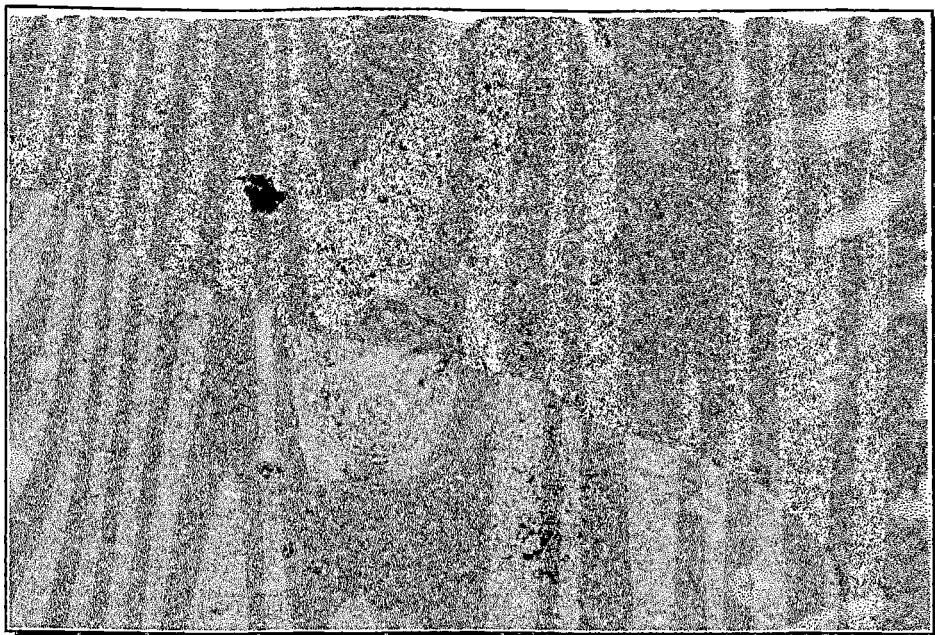


Εικόνα 16. P1a Νεφρός (x40) Φυσιολογική μορφή (α3)



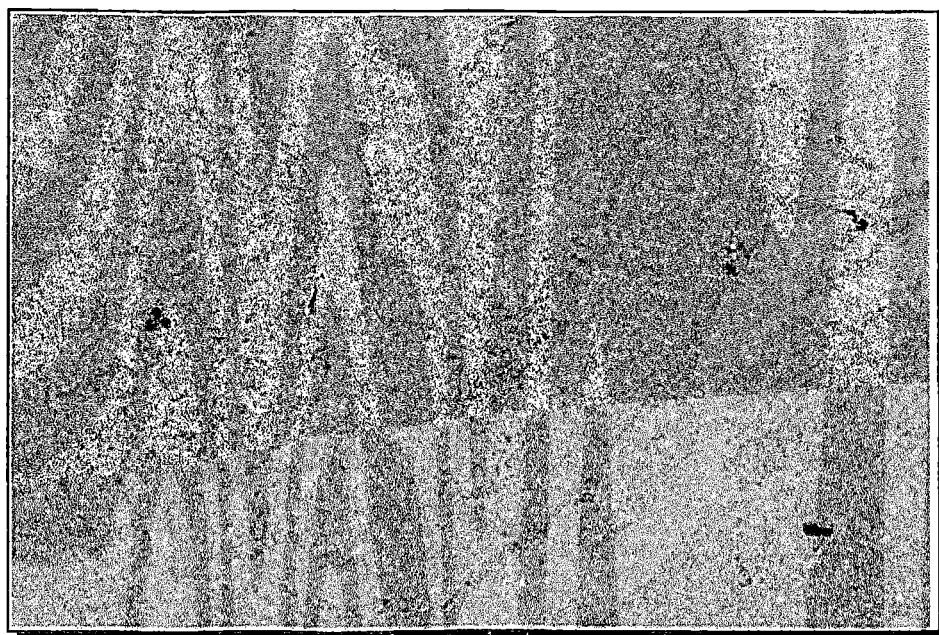
Εικόνα 17. P1a Νεφρός (x20) φυσιολογική μορφή (α3)

Όμως σε δείγμα της ίδιας διαίτας υπάρχει διήθηση κυττάρων με εοσινοφιικά κοκκία (granulocells) που εκτελούν φαγοκυττάρωση γύρω από ουροφόρα σωληνάρια και εμφανίζεται σχηματισμός που ίσως είναι κοκκίωμα (εικ. 18).



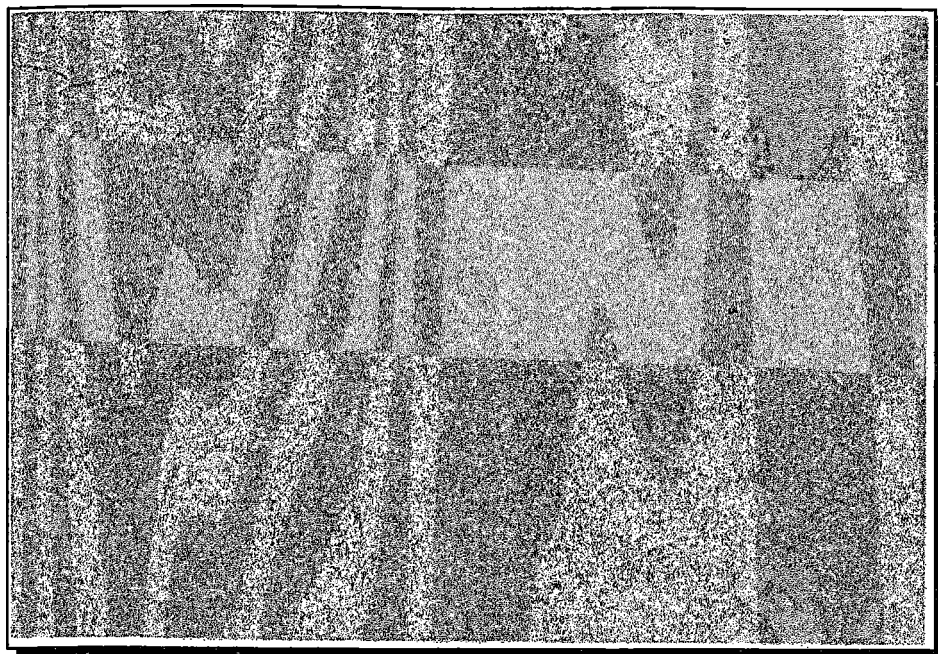
Εικόνα 18. P1a Νεφρό (x40) Εοσινόφιλα κύτταρα γύρω από ουροφόρα σωληνάρια (α3)

Επίσης σε πολλά δείγματα από τη διαίτα γ3 εμφανίζεται υαλώδης εκφύλιση σε αρκετά μεγάλη ακτίνα γύρω από τα ουροφόρα σωληνάρια (εικ. 19).



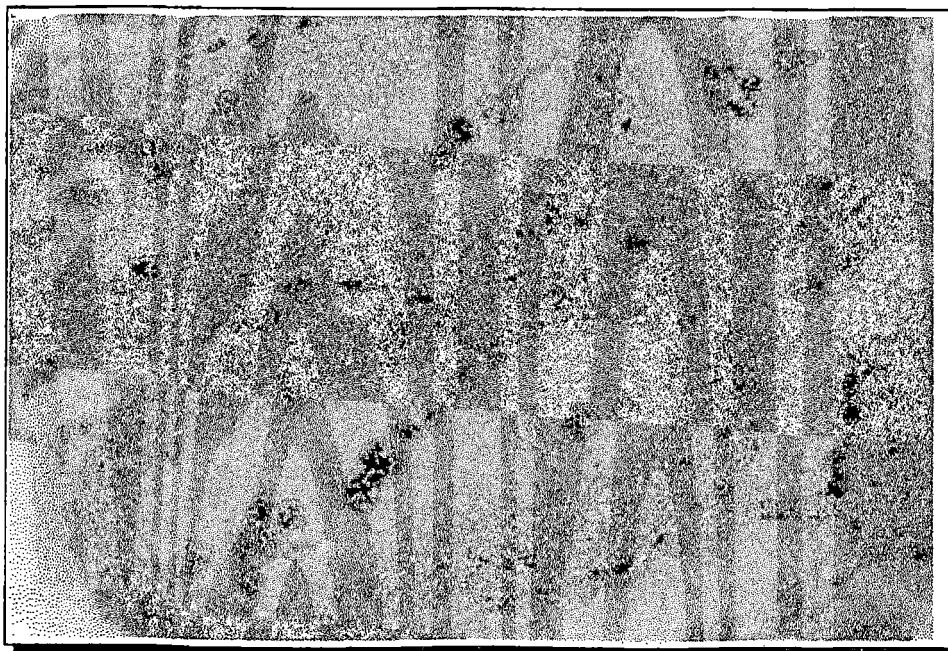
Εικόνα 19. P1a Νεφρός (x20) Υαλώδης ιστός γύρω από ουροφόρο σωληνάριο (γ3)

Στην εικ.20 φαίνονται ινώδη κύτταρα γύρω από ουροφόρα σωληνάρια σε νεφρό από τη δίαιτα γ3. Το φαινόμενο αυτό είναι μάλλον παθολογικό κα ίσως είναι χρόνιο σύμπτωμα.



Εικόνα 20. P1a N(x10) Ινώση γύρω από ουροφόρα σωληνάρια (γ3)

Στη δίαιτα γ1 (υψηλή πρωτεΐνη - χαμηλά λιπαρά) βρέθηκαν σχηματισμοί μέσα σε ουροφόρα σωληνάρια που ίσως είναι παράσιτα (*Sphaerospora* spp.) (εικ.21)

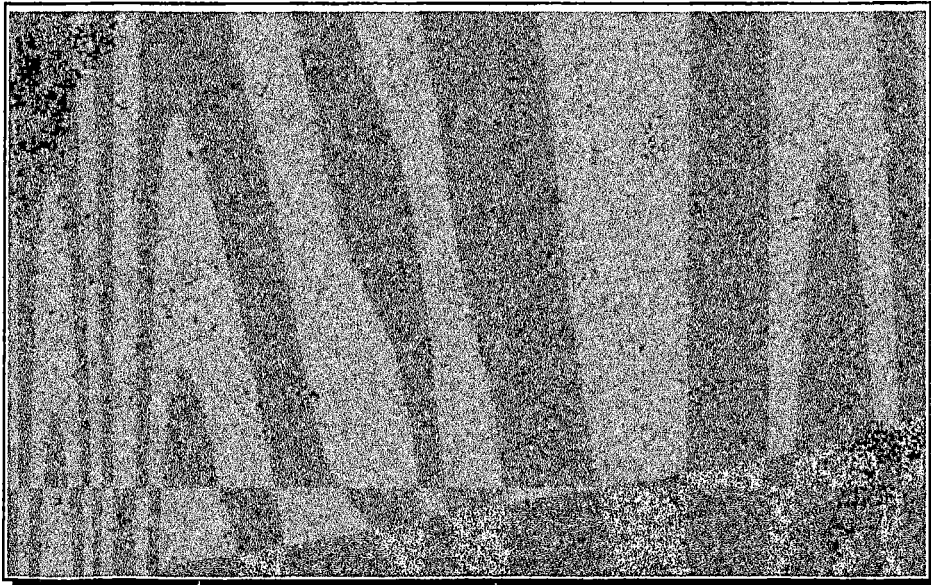


Εικόνα 21. P1a Νεφρός (x20) Παράσιτα στο εσωτερικό ουροφόρων σωληναρίων (γ1)

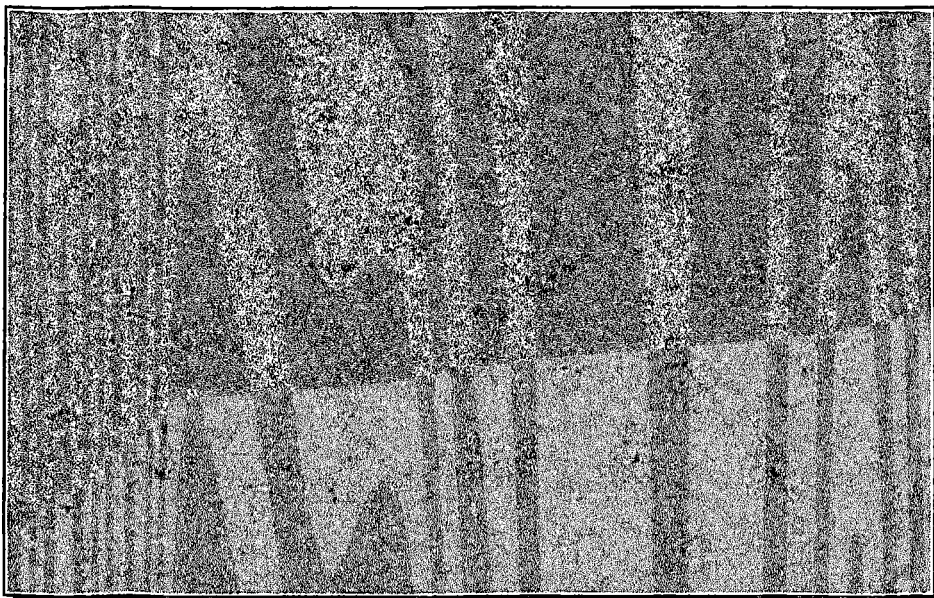
Χειμερινή περίοδος (*Punt1b*)

3.8 Ηπατοπάγκρεας

Κατά τη χειμερινή περίοδο του πρώτου πειράματος (*Punt1b*) η γενική εικόνα των ψαριών εμφανίζεται βελτιωμένη. Συγκεκριμένα, στο ηπατοπάγκρεας και ειδικά στη δίαιτα χαμηλού ποσοστού λιπαρών παρατηρούμε ότι οι ιστοί έχουν φυσιολογική δομή με σωστή διατήρηση της αναλογίας μεταξύ των ηπατικών κυττάρων και των λιποκυττάρων (εικ.22, 23).

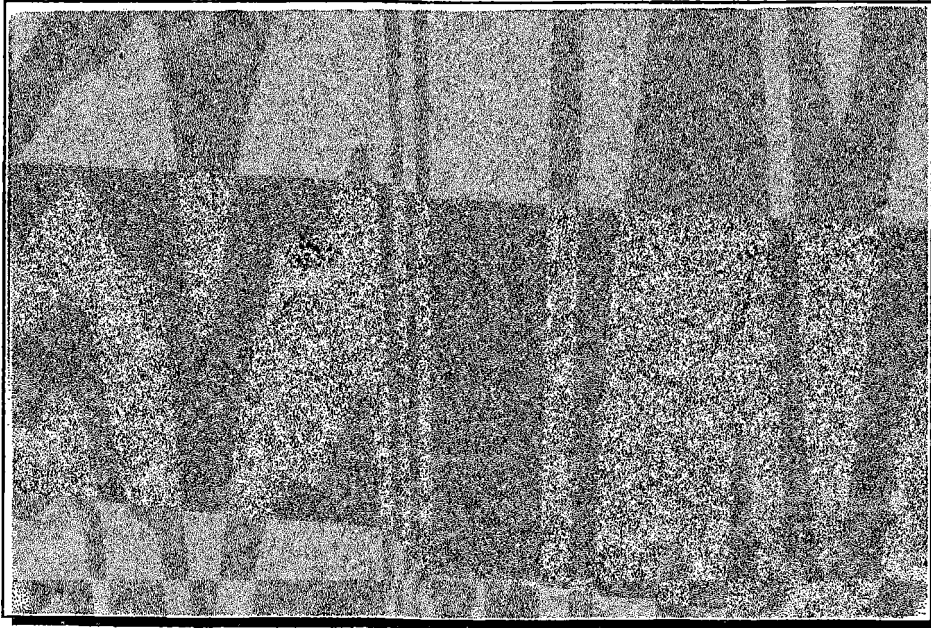


Εικόνα 22. P1b Σοκότι (x20) Φυσιολογική μορφή (α1)

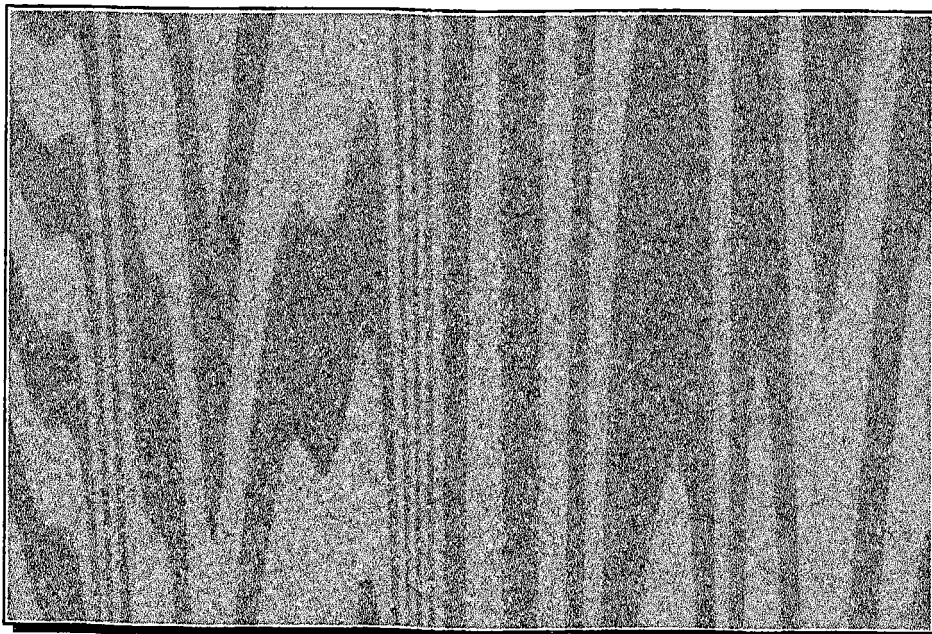


Εικόνα 23. P1b Σοκότι (x40) Φυσιολογική μορφή (α1)

Στις δίαιτες υψηλής πρωτεΐνης ($\gamma 1, \gamma 3$) οι εικόνες των ιστών είναι ανάλογες με την περιεκτικότητα των τροφών σε λίπος. Έτσι, χωρίς να υπάρχουν σημαντικές διαφορές, τα ψάρια που είχαν τραφεί με πλουσιότερη σε λίπος διαίτα ($\gamma 3$) εμφανίζουν μεγαλύτερη απόθεση λίπους στο συκώτι (εικ.24) σε σχέση μ' εκείνα που είχαν τραφεί με διαίτα χαμηλών λιπαρών ($\gamma 1$) (εικ. 25).



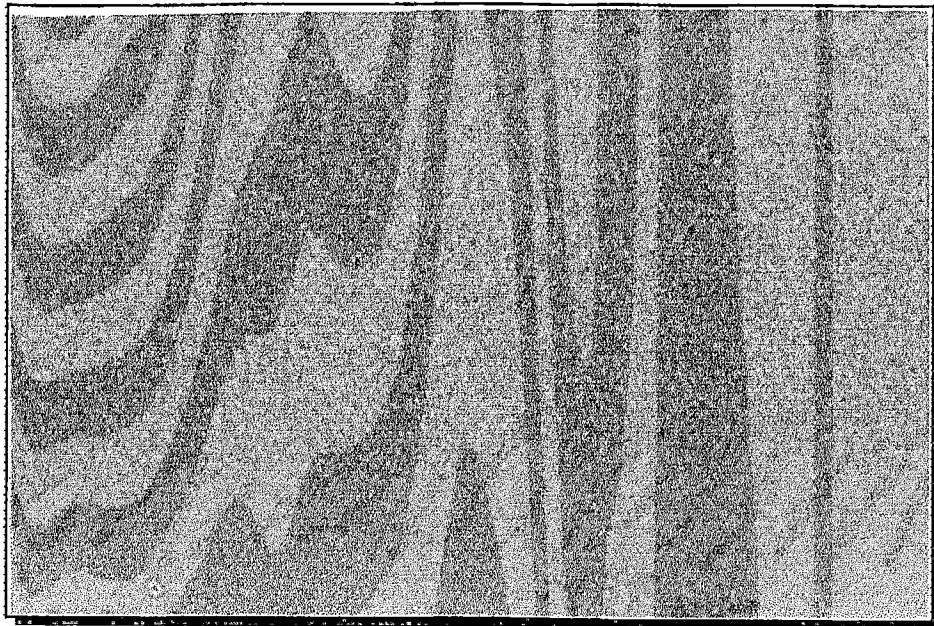
Εικόνα 24. P1b Συκώτι (x40) Φυσιολογική συγκέντρωση λιποκυττάρων ($\gamma 3$)



Εικόνα 25. P1b Συκώτι (x40) Χαμηλή συγκέντρωση λιποκυττάρων ($\gamma 1$)

3.9 Βράγχια

Στα βράγχια ψαριών που είχαν τραφεί με διαίτα χαμηλής πρωτεΐνης και υψηλών λιπαρών (α3) υπάρχουν επιθηλιοκύστες και υπερπλασία σε μεγάλο βαθμό (εικ.26)

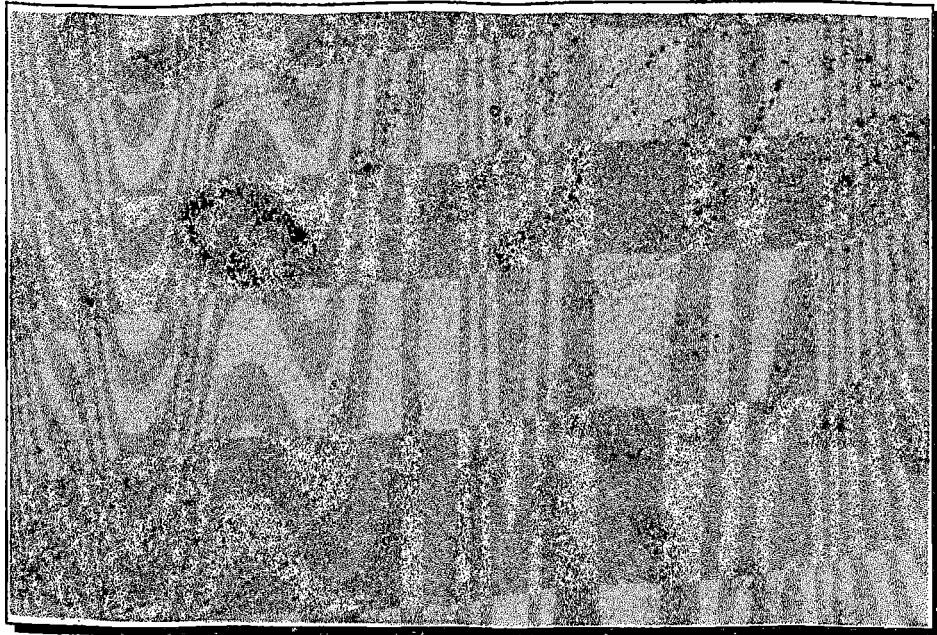


Εικόνα 26. P1b Βράγχια (x20) Υπερπλασία βραγχιακών νηματίων (α3)

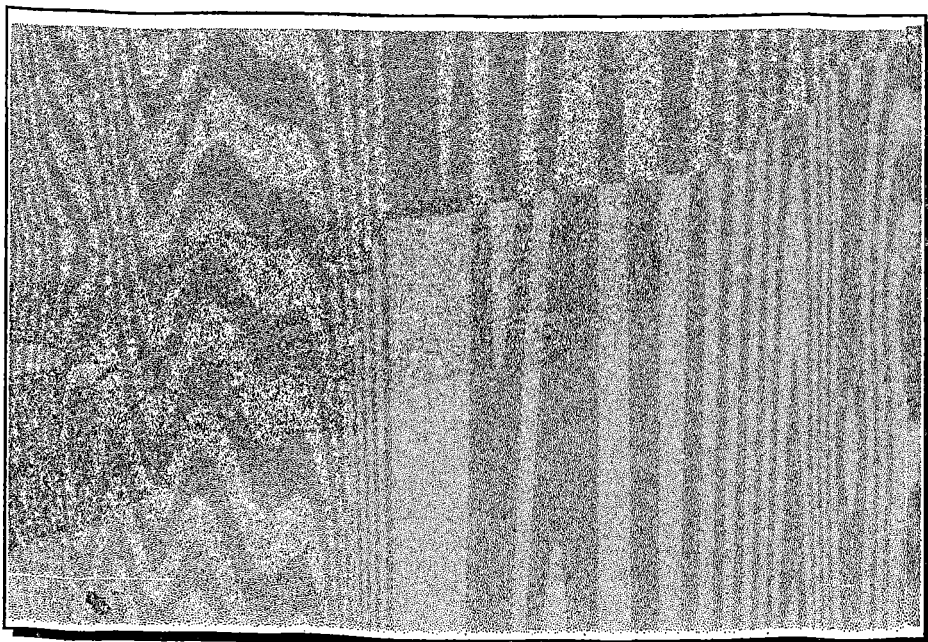
ενώ στις δίαιτες υψηλής πρωτεΐνης (γ1,γ3) είναι έντονη η παρουσία μονογενών παρασίτων (εικ. 27, 28) και επιθηλιοκύστης (εικ. 29)



Εικόνα 27. P1b Βράγχια (x20) Μονογενές παράσιτο (γ3)



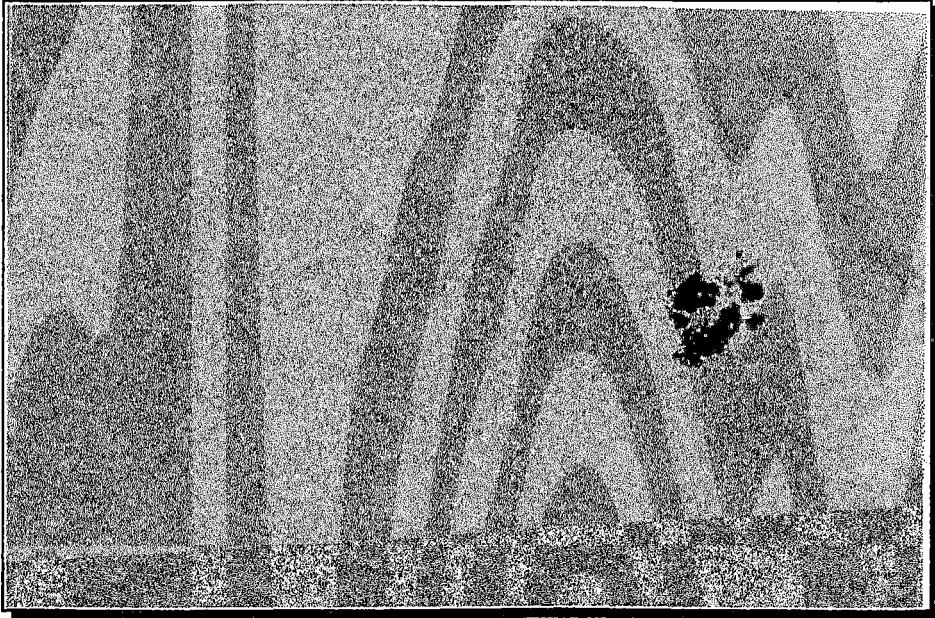
Εικόνα 28. P1b Βράγγια (x20) Μονογενές παράσιτο (γ1)



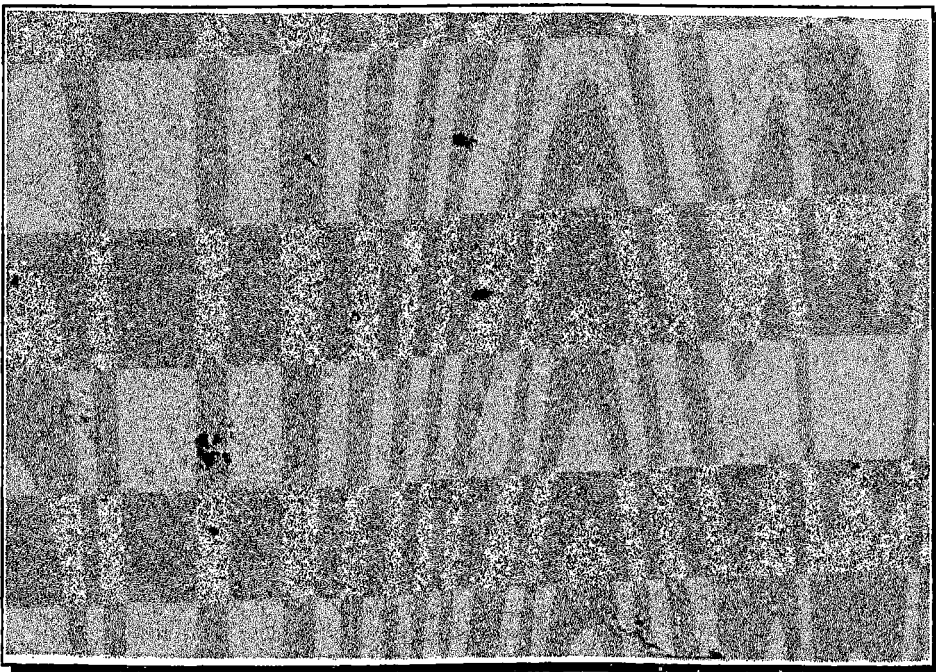
Εικόνα 29. P1b Βράγγια (x20) Επιθηλιοκύστη (γ3)

3.10 Νεφρός

Τα νεφρά των ψαριών της πλούσιας σε λιπαρά και πρωτεΐνες διαίτας (γ3) είναι σε καλή κατάσταση. Ο ιστός είναι συμπαγής και τα ουροφόρα σωληνάρια είναι καλά σχηματισμένα. Τα μελανομακροφάγα κέντρα έχουν φυσιολογική δομή και έντονο χρωματισμό (εικ. 30). Στην εικ. 31 φαίνεται σχηματισμός ανάμεσα στα ουροφόρα σωληνάρια που ίσως είναι κοκκίωμα.

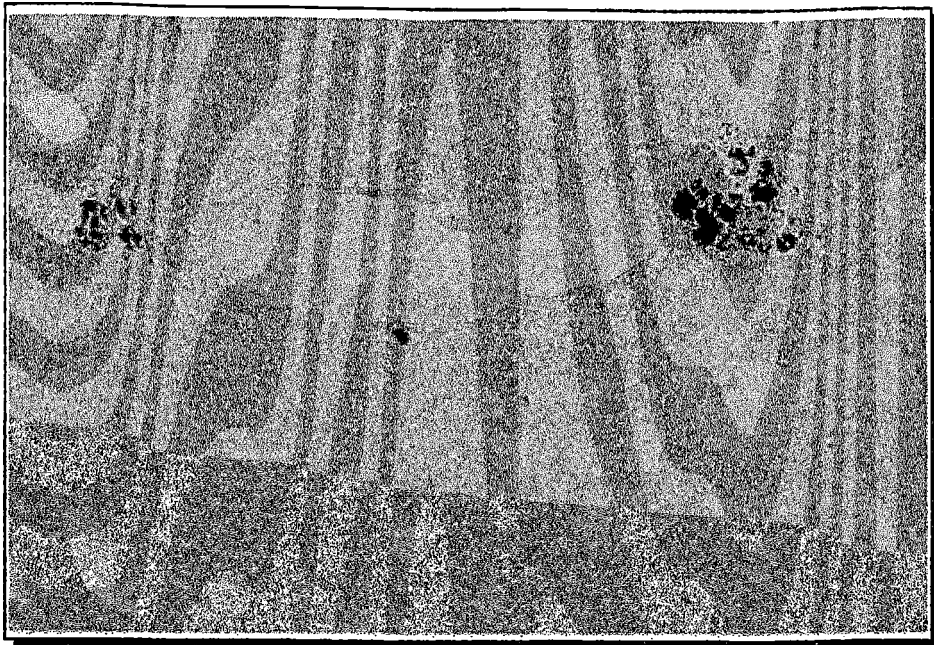


Εικόνα 30. P1b Νεφρός (x20) Φυσιολογική δομή (γ3)



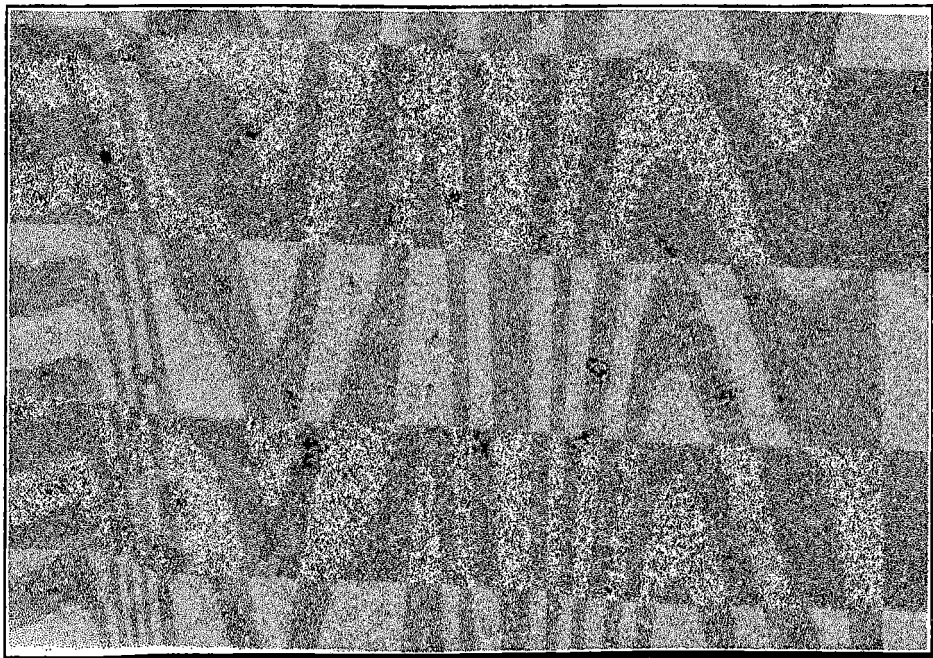
Εικόνα 31. P1b Νεφρός (x20) Φυσιολογική δομή (γ3)

Οι ιστοί της δίαιτας α1 φαίνεται να βρίσκονται σε καλή κατάσταση (εικ.32)



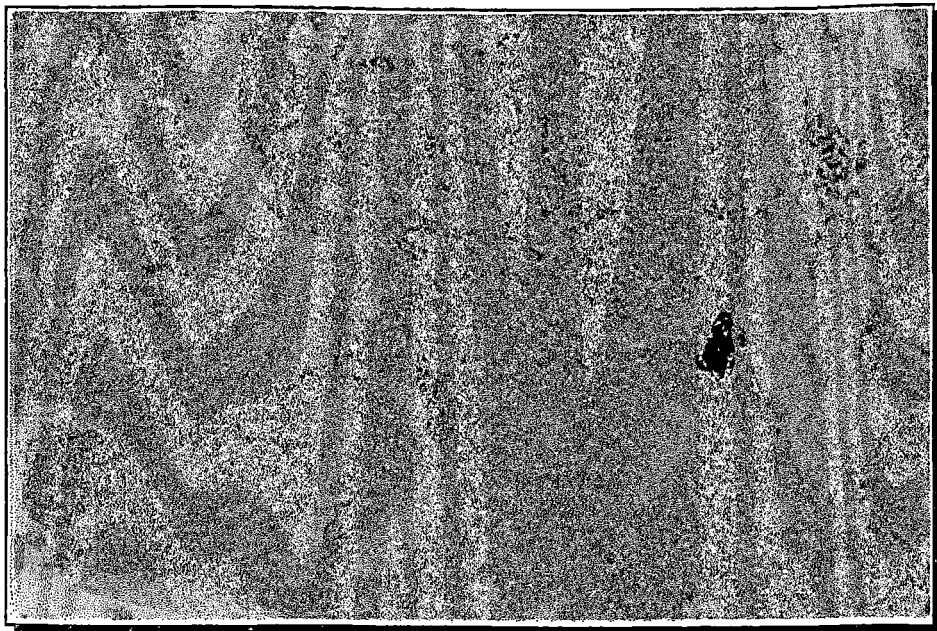
Εικόνα 32. P1b Νεφρός (x40) Φυσιολογική δομή (α1)

Στη δίαιτα α3 (χαμηλή πρωτεΐνη - υψηλά λιπαρά) η εικόνα των ψαριών δεν διαφέρει σε σχέση με τις άλλες δίαιτες, αξίζει όμως να σημειώσουμε ότι σε ορισμένες περιπτώσεις βρέθηκαν σχηματισμοί στο εσωτερικό των νεφρικών σωληναρίων που μοιάζουν με παράσιτα (εικ.33)



Εικόνα 33. P1b Νεφρός (x100) Παράσιτα στο εσωτερικό συροφόρων σωληναρίων (α3)

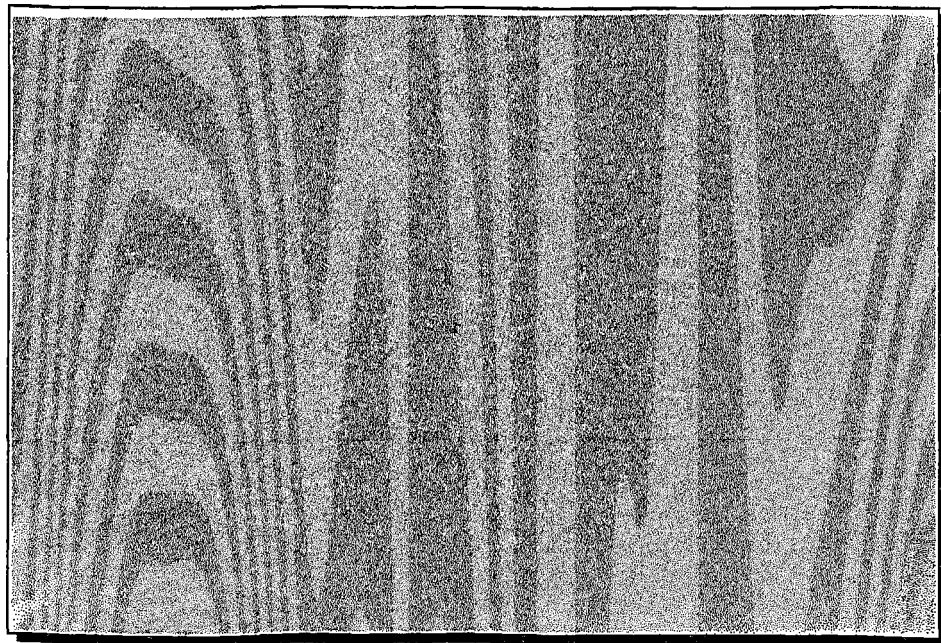
Τέλος στην εικ. 34 φαίνονται οι κάψες του Bowman που υποστηρίζουν τις νεφρικές λειτουργίες, ανάμεσα στα νεφρικά, συροφόρα σωληνάρια.



Εικόνα 34. P1b Νεφρός (x40) Ελοτρα Bowman (a3)

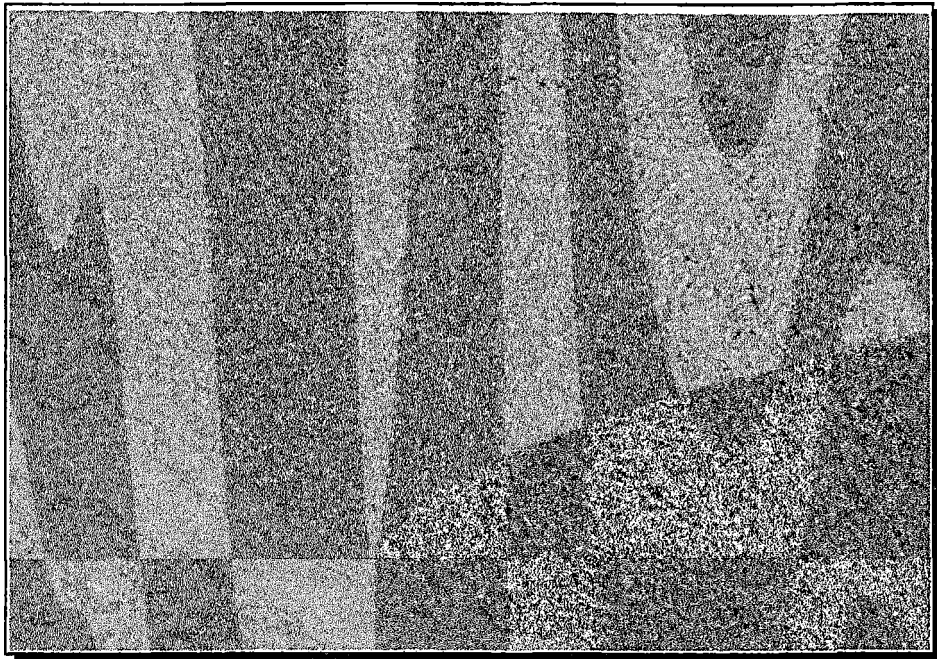
3.11 Καρδιά

Ο καρδιακός ιστός, ξεκινώντας από τη φτωχότερη σε θρεπτική αξία δίαιτα (a1) εμφανίζει εκφύλιση του μυοκαρδίου που συνοδεύεται από κενотоπίωση, κυρίως στην περιφέρεια (εικ.35)



Εικόνα 35. P1b Καρδιά (x20) Περιφεριακή κενотоπίωση και εκφύλιση μυοκαρδίου (a3)

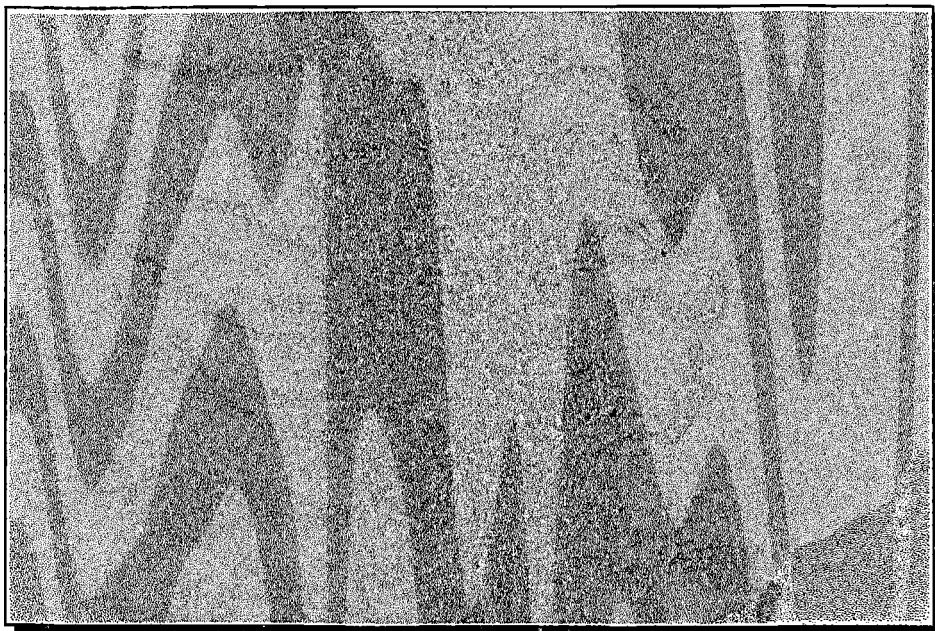
Αντίθετα στη δίαιτα υψηλής πρωτεΐνης ($\gamma 1$) η γενική εικόνα είναι πολύ καλύτερη άν και υπάρχει ελαφράς μορφής κενοτοπία σε μερικά σημεία, καθώς επίσης και εστιακή συγκέντρωση λεμφοκυττάρων (εικ. 36)



Εικόνα 36. P1b Καρδιά (x10) Κενοτόπια στην περιφέρεια ($\gamma 1$)

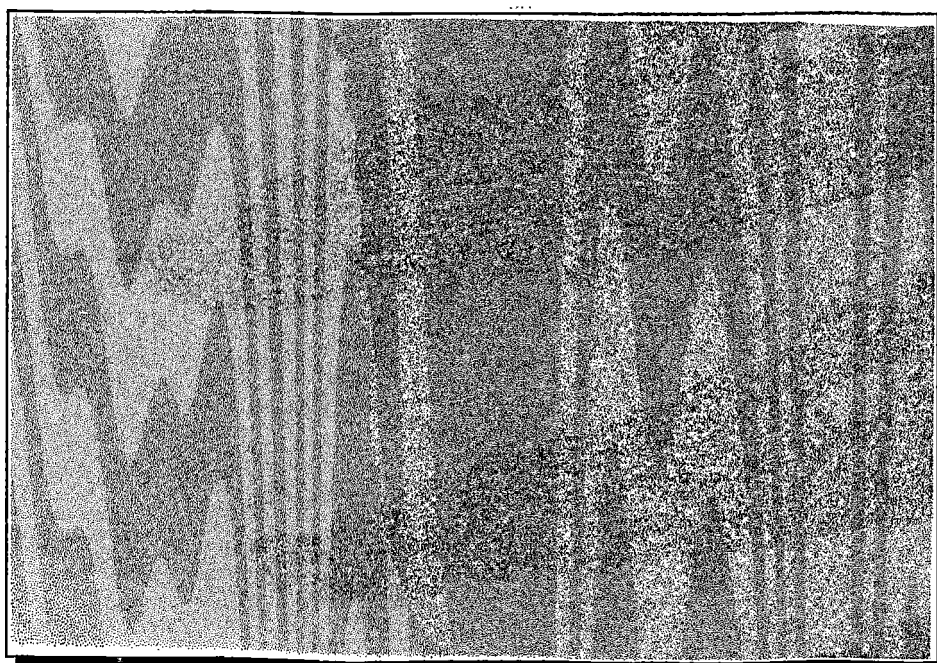
Σε δείγματα καρδιακού μυ από τη δίαιτα $\gamma 3$ εμφανίζονται σε μεγάλο βαθμό συγκεντρώσεις λεμφοκυττάρων στο ενδοκάρδιο, γεγονός που ίσως προδίδει την ύπαρξη φλεγμονής και πιο συγκεκριμένα, το αρχικό στάδιο εστιακής ενδοκαρδίτιδας (εικ. 37)

Φαίνεται ότι η χορήγηση τροφής με υψηλό ποσοστό πρωτεϊνών δεν μεταβάλλει την εικόνα των των ιστών, οι οποίοι έχουν επίσης προσβληθεί από γλαμύδια σε πολύ μεγάλο βαθμό (εικ. 46)



Εικόνα 46. P2 Βράγχια (x40) Υπερπλασία και επιθηλιοκύστη (α1)

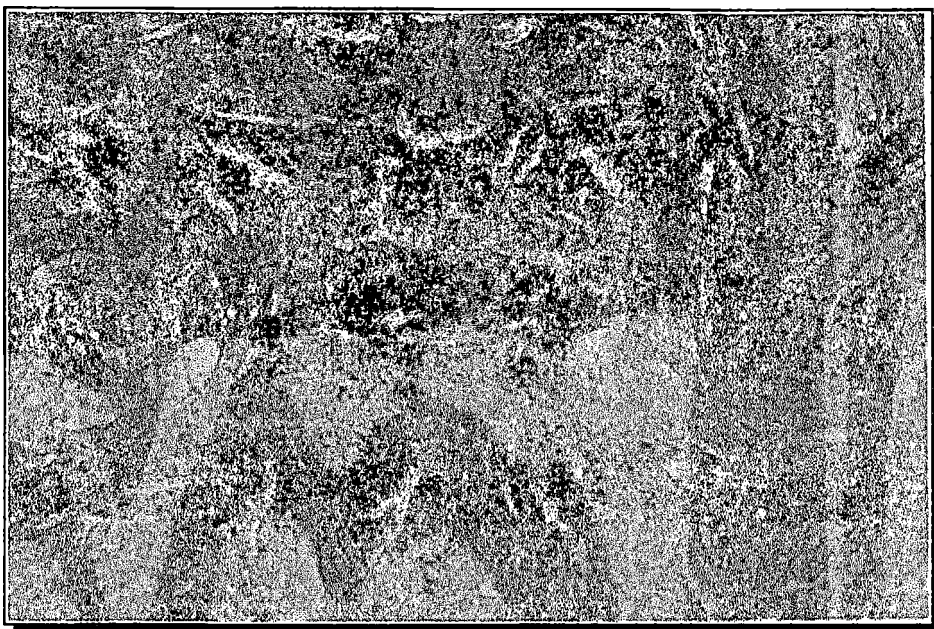
Τα δείγματα ιστών από τη δίαιτα γ1, εμφανίζουν σε πολλές περιοχές έντονη προσβολή από γλαμύδια (επιθηλιοκύστη) (εικ. 47).



Εικόνα 47. P2 Βράγχια (x20) Προσβολή από επιθηλιοκύστη (α1)

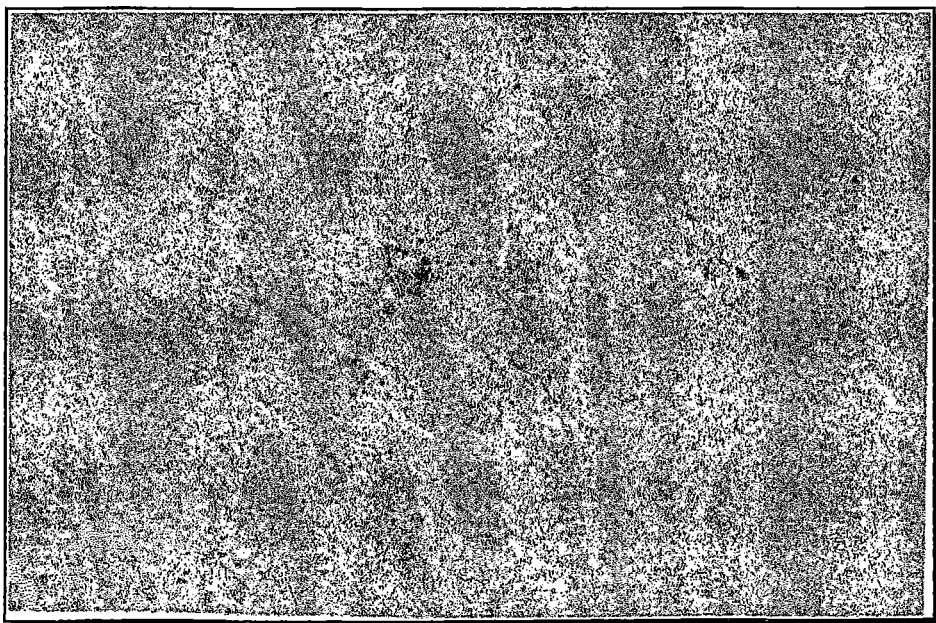
3.15 Καρδιά

Οι ιστολογικές τομές από καρδιά δεν φαίνεται να παρουσιάζουν παθολογικά χαρακτηριστικά. Ο καρδιακός μυς των ψαριών της διαίτας γ3, είναι συμπαγής, με φυσιολογική υφή και την αναμενόμενη συγκέντρωση ερυθρών αιμοσφαιρίων (εικ. 48)



Εικόνα 48. P2 Καρδιά (x20) Φυσιολογική μορφή (γ3)

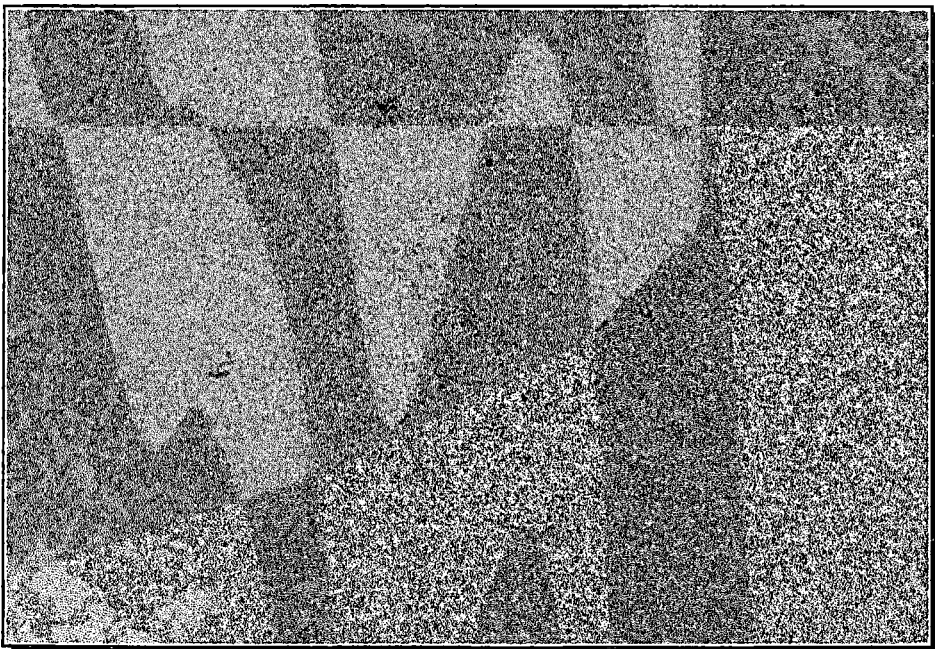
Οι εικόνες από την α1, που έχει τα εντελώς αντίθετα χαρακτηριστικά, είναι δηλαδή φτωχή σε θρεπτικά συστατικά, δεν φαίνεται να έχει μεγάλη διαφορά από τις προηγούμενες, ενώ οι ιστοί μοιάζουν να είναι υγιείς (εικ. 49).



Εικόνα 49. P2 Καρδιά (x20) Φυσιολογική μορφή (α1)

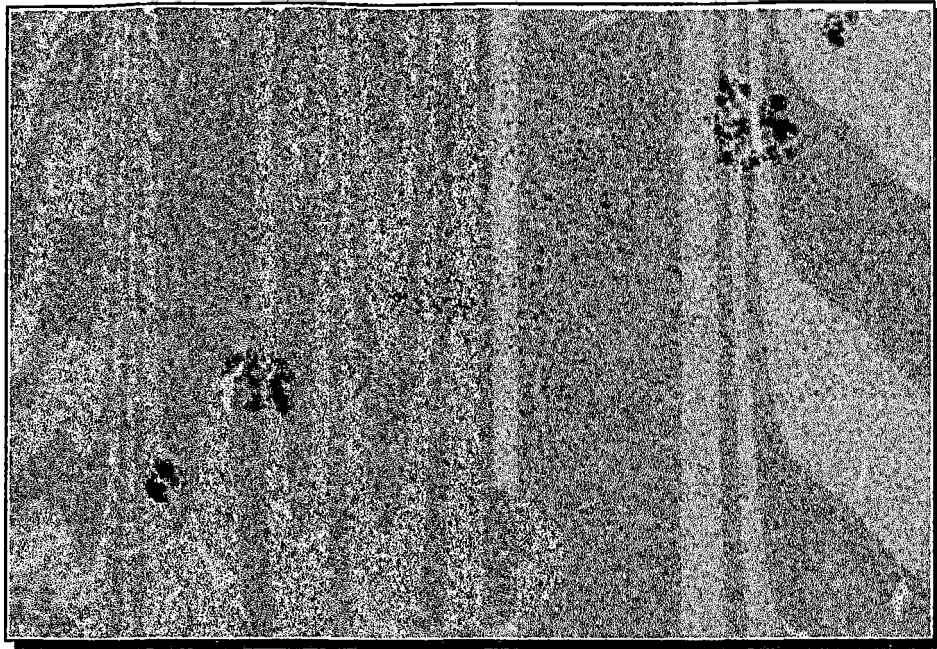
3.16 Σπλήνας

Στο σπλήνα παρατηρούμε ότι, σε όλες τις δίαιτες, εμφανίζονται στις ιστολογικές τομές μπλέ περιοχές που ίσως είναι συγκεντρώσεις λεμφοκυττάρων. Συγκεκριμένα στην δίαιτα α1 οι περιοχές αυτές συνοδεύονται από μικροσκοπικά αλλά έντονα χρωματισμένα μελανομακροφάγα κέντρα που ίσως είναι τμήματα φυσιολογικών μελανομακροφάγων κέντρων που διαπάστηκαν και διασκορπίστηκαν στον ιστό (εικ.50)



Εικόνα 50. P2 Σπλήνας (x20) Μικρά μελανομακροφάγα κέντρα (α1)

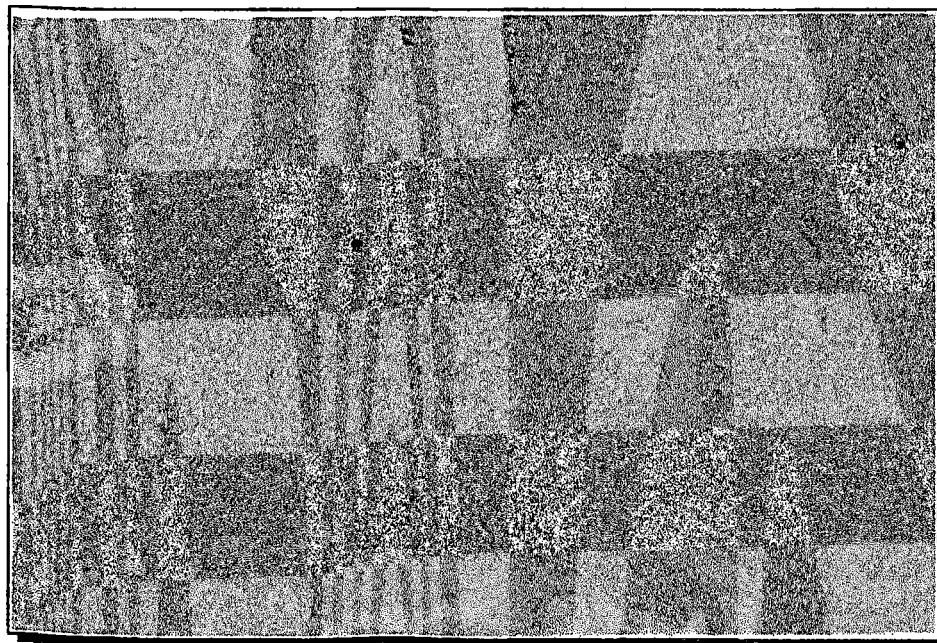
Οι σπλήνες ψαριών της διαίτας γ3 έχουν μεγαλύτερα μελανομακροφάγα κέντρα τα οποία επίσης εντοπίζονται κοντά στις μπλέ περιοχές. Σε αρκετές περιπτώσεις είναι φανερή η τάση διάσπασής τους σε μικρότερα τμήματα (εικ. 51)



Εικόνα 51. P2 Σπλήνας (x40) Φυσιολογική μορφή (γ3)

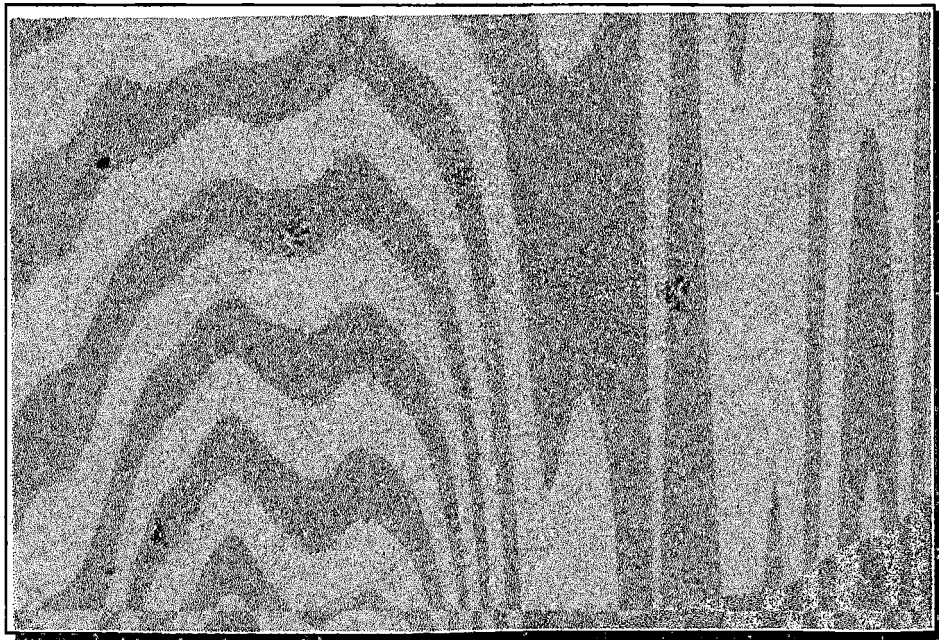
3.16 Νεφρός

Στο νεφρό, δεν φαίνεται να υπάρχουν παθολογικές αλλοιώσεις. Τα νεφρικά σωληνάκια περιέχουν σε ορισμένες περιπτώσεις άμορφο υλικό. Όπως φαίνεται σε δείγμα της διαίτας γ3 (υψηλής θρεπτικής αξίας) (εικ. 52) υπάρχει αιμοποιητικός ιστός ανάμεσα στα ουροφόρα σωληνάκια, τα οποία έχουν φυσιολογικό επιθήλιο (δεν υπάρχουν φλεγμονές). Το γεγονός αυτό ίσως οφείλεται στο ότι η εικόνα προέρχεται από μεσόνεφρο όπου συνυπάρχει η αιμοποιητική με την απεκκριτική λειτουργία.



Εικόνα 52. P2 Νεφρός (x20) Πολλά κοκκώδη κύτταρα(γ3)

Σε δείγμα της διαίτας γ1 (χαμηλό ποσοστό λίπους), η μορφή του νεφρού είναι σχεδόν παρόμοια (εικ. 53). Διακρίνεται αγωγός με ερυθρά αιμοσφαίρια, αιμοποιητικός ιστός αλλά και κάποιες μπλέ περιοχές που ίσως αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις λεμφοκυττάρων.



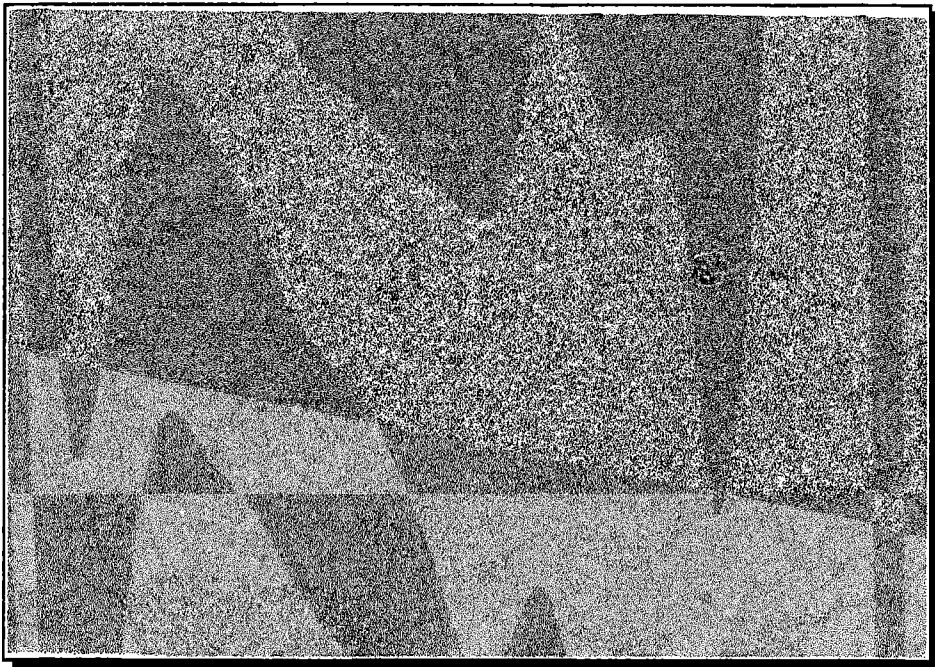
Εικόνα 53. P2 Νεφρός (x20) Φυσιολογική εικόνα (γ3)

Τρίτο Πείραμα (Punt3a, Punt3b)

Καλοκαιρινή Περίοδος (Punt3a)

3.17 Ηπατοπάγκρεας

Στην καλοκαιρινή περίοδο του τρίτου πειράματος είναι σημαντική η παρουσία λίπους στο ηπατοπάγκρεας σε όλες τις δίαιτες. Έτσι στις εικ.54 και 55 που προέρχονται από ψάρια της διαίτας 1 και 2 αντίστοιχα, φαίνεται η έντονη απόθεση λίπους στους ιστούς.



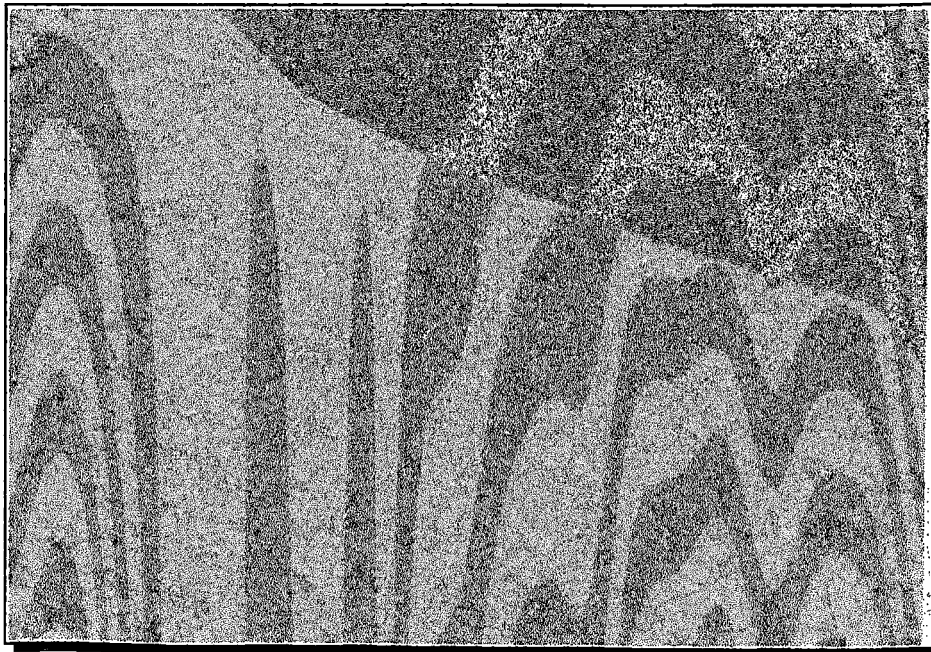
Εικόνα 54. P3a Σοκώτι (x40) Μεγάλη συγκέντρωση λιποκυττάρων (1)

Παρατηρούμε όμως ότι ενώ στην εικ.54 έχει διατηρηθεί η μορφή του ιστού, στην εικ.55 οι πυρήνες των κυττάρων είναι διασκορπισμένοι και δείχνουν να έχουν εκτοπιστεί από το λίπος. Θα μπορούσαμε να πούμε ότι πρόκειται για διαφορετικά στάδια λιπώδους διήθησης στο σοκώτι των ψαριών.



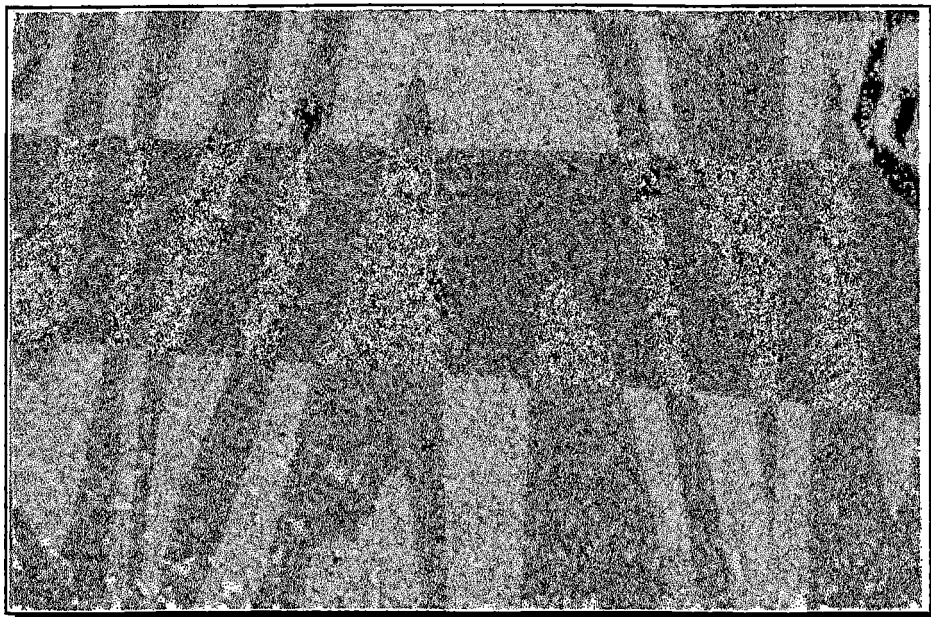
Εικόνα 55. P3a Σοκώτι (x40) Μεγάλη συγκέντρωση λιποκοττάρων (2)

Στη δίαιτα 3 (εικ.56) υπάρχει μεν πολύ λίπος όμως ο ιστός φαίνεται να διατηρεί ακόμα τη φυσιολογική του δομή.



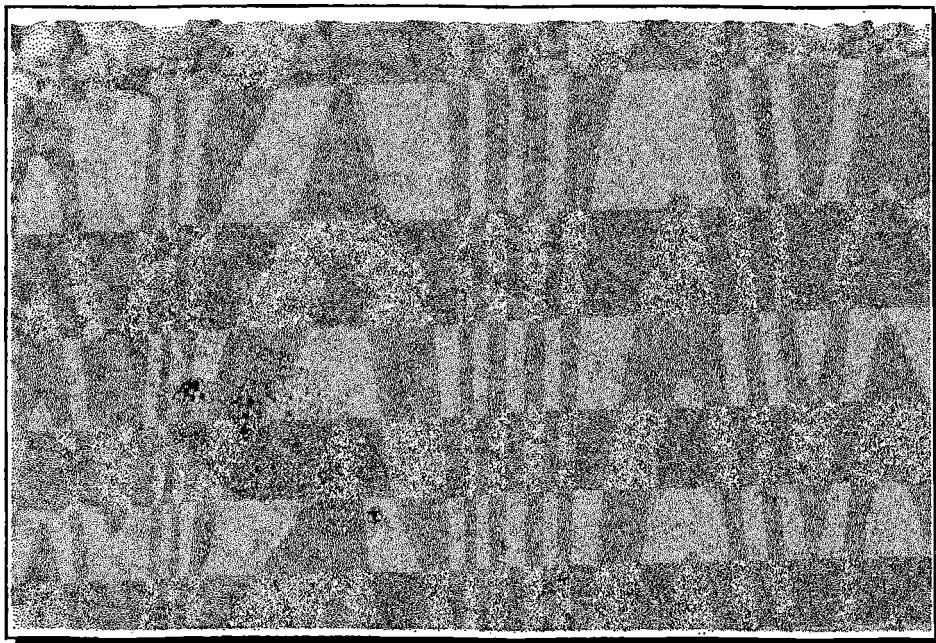
Εικόνα 56. P3a Σοκώτι (x20) Φυσιολογική δομή ιστού - πολύ λίπος (3)

Στη διαίτα 4, το συκώτι δεν έχει την ίδια μορφή σε όλες τις περιοχές του. Έτσι όπως φαίνεται στην εικ.57 δεν υπάρχει πολύ λίπος ενώ υπερτερούν τα αιμοφόρα αγγεία.



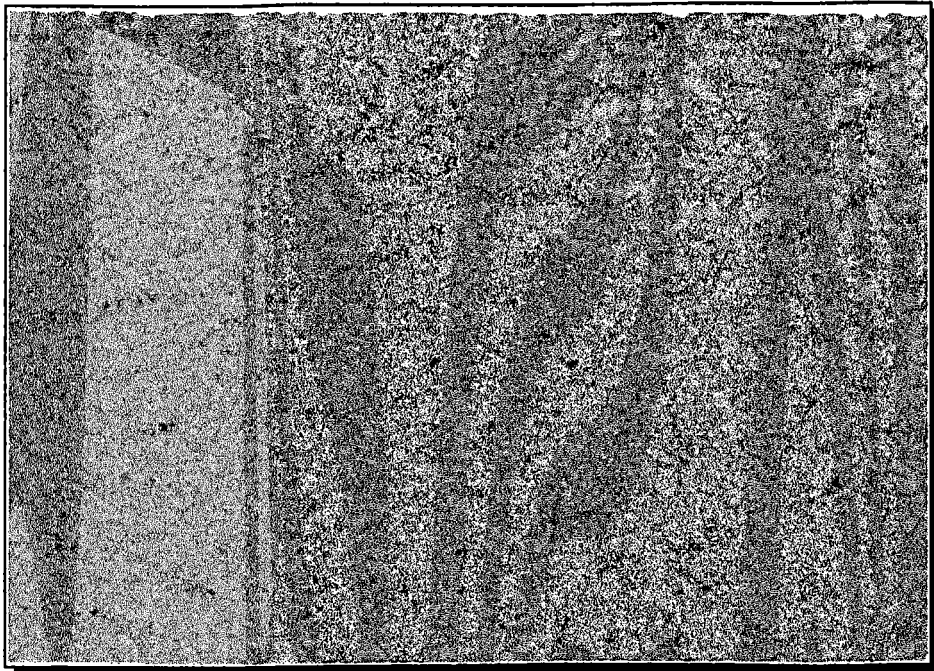
Εικόνα 57. P3a Συκώτι (x20) Απουσία λιποκυττάρων (4)

Αντίθετα στην εικ. 58 υπάρχει μεγάλη απόθεση λίπους που έχει οδηγήσει στην διόγκωση των κυττάρων με εκτόπιση του κυτταροπλάσματος των ηπατοκυττάρων.



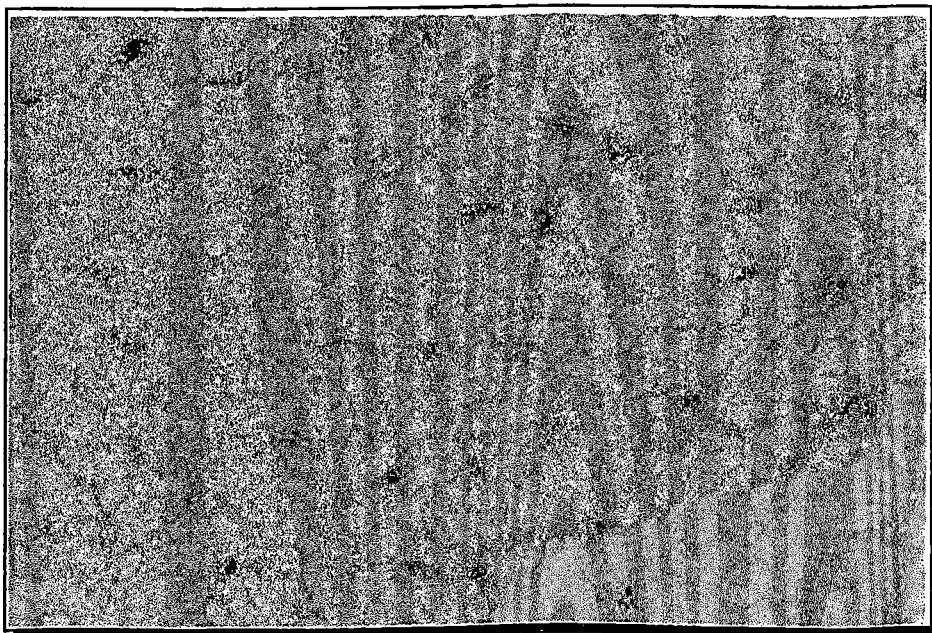
Εικόνα 58. P3a Συκώτι (x20) Πολύ λίπος (4)

Στη διαίτα 5 υπάρχει αρκετό λίπος αλλά η μορφή του ιστού είναι κανονική (εικ.59).



Εικόνα 59. P3a Σοκώτι (x20) Φυσιολογική δομή (5)

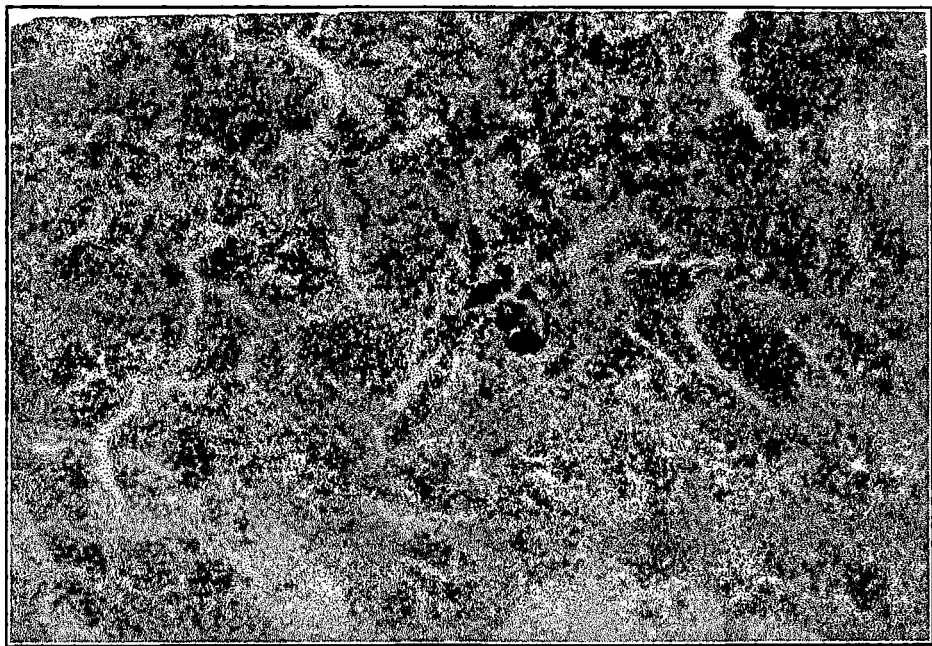
Όπως φαίνεται στην εικ. 60, στο σοκώτι ψαριών από τη διαίτα 6 υπάρχει μεγάλη απόθεση λίπους.



Εικόνα 60. P3a Σοκώτι (x20) Μεγάλη συγκέντρωση λιποκοντάρων (6)

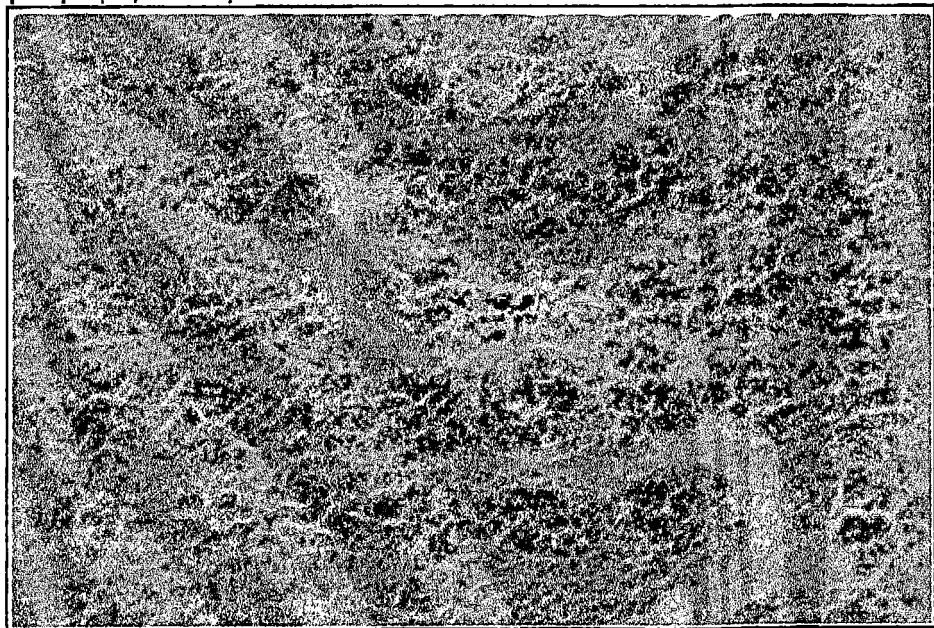
3.18 Σπλήνας

Ο σπλήνας, στην δίαιτα 2, εμφανίζει συγκεντρώσεις βασεοφιλικών κυττάρων (basophil cells). Παρατηρούμε ότι υπάρχει εστιακή συγκέντρωση φλεγμονωδών κυττάρων γύρω από τα μελανομακροφάγα κέντρα (εικ. 61)



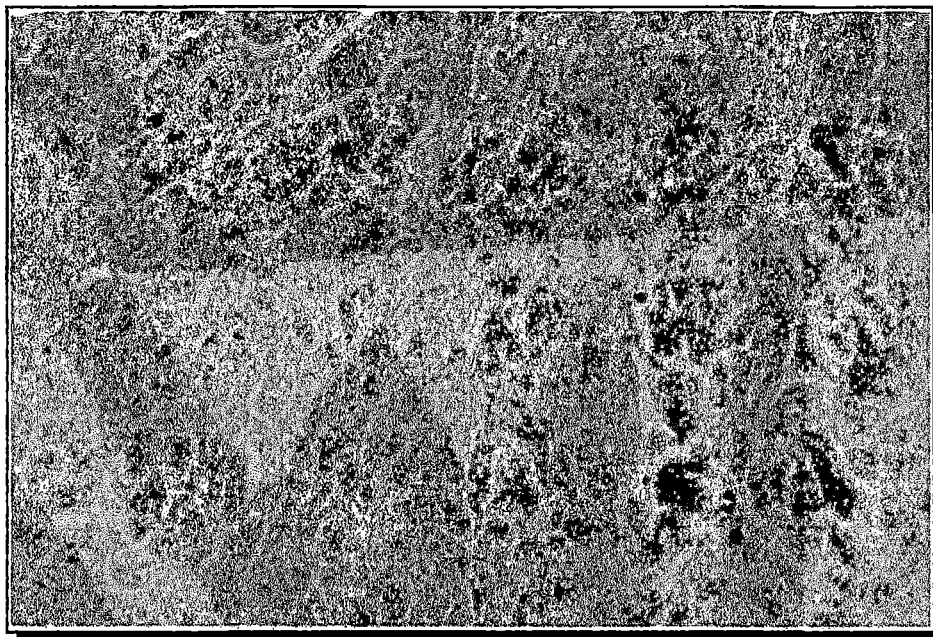
Εικόνα 61. P3a Σπλήνας (x20) Συγκέντρωση λεμφοκυττάρων γύρω από ΜΜΦΚ (2)

Στην εικ. 62 από τη δίαιτα 3, φαίνονται τα τοιχώματα αγγείων και μελανομακροφάγα κέντρα.

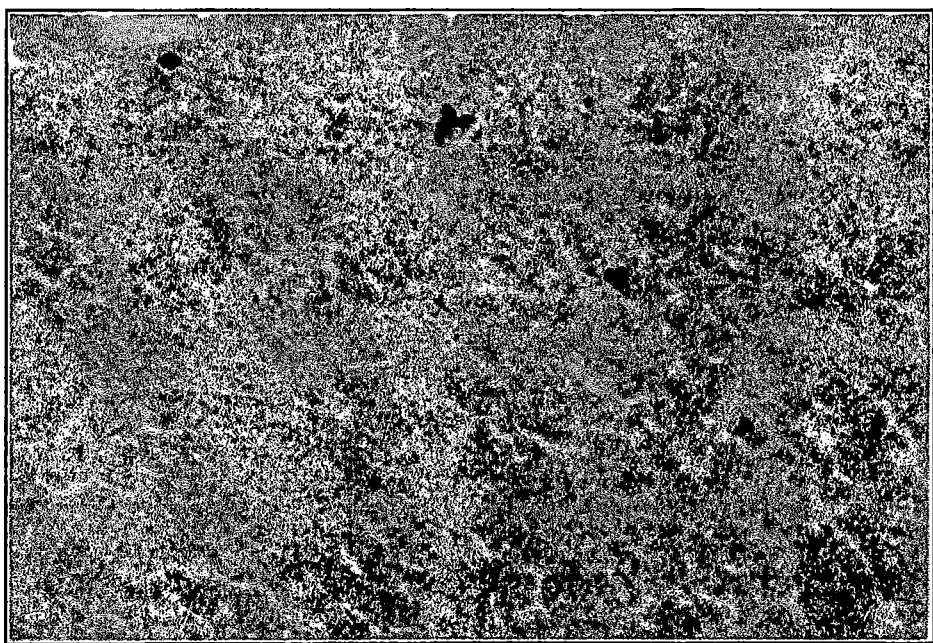


Εικόνα 62. P3a Σπλήνας (x20) Μελανομακροφάγο κέντρο (3)

Στην δίαιτα 5 η εικόνα είναι μάλλον φυσιολογική με τα μελανομακροφάγα κέντρα καλά σχηματισμένα και χρωματισμένα. Οι ιστοί της δίαιτας 6 έχουν κανονική δομή όμως παρατηρούμε ότι τα μελενομακροφάγα κέντρα έχουν μικρό μέγεθος (εικ.63, 64) και υπάρχει τάση για περεταίρω διάσπαση.



Εικόνα 63. Σπλήνας (x20) Μικρά μελανομακροφάγα κέντρα (6)



Εικόνα 64. Σπλήνας (x20) Μικρά μελανομακροφάγα κέντρα (6)

3.19 Καρδιά

Η καρδιά, εμφανίζει τυπική μορφή φλεγμονής. Φαίνονται συγκεντρώσεις βασεοφιλικών κυττάρων που μάλλον είναι το αρχικό στάδιο ενδοκαρδίτιδας. Στην

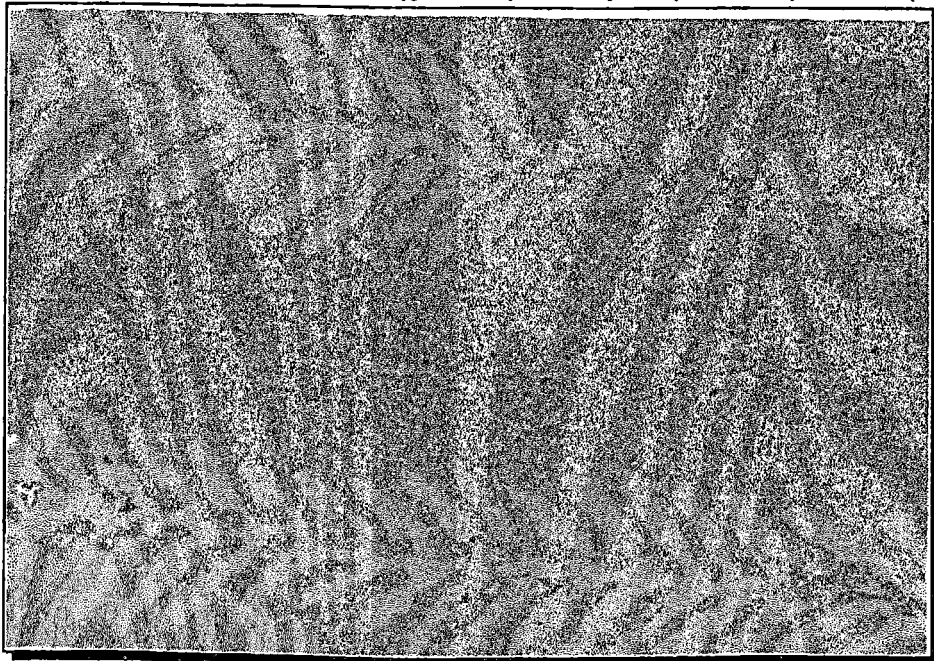
εικ.65, που αντιστοιχεί σε ιστό της δίαιτας 5, παρατηρούμε ότι υπάρχει εστιακή συγκέντρωση βασοφιλικών κυττάρων, περιφεριακή κενοτοπίωση, επικαρίτιδα και ύπαρξη φλεγμονής, ίσως αρχικό στάδιο ενδοκαρδίτιδας ή και μυοκαρδίτιδας (τα φλεγμονώδη κύτταρα έχουν αρχίσει να διεισδύουν στον καρδιακό μυ).



Εικόνα 65. Καρδιά (x40) Ενδοκαρδίτιδα (5)

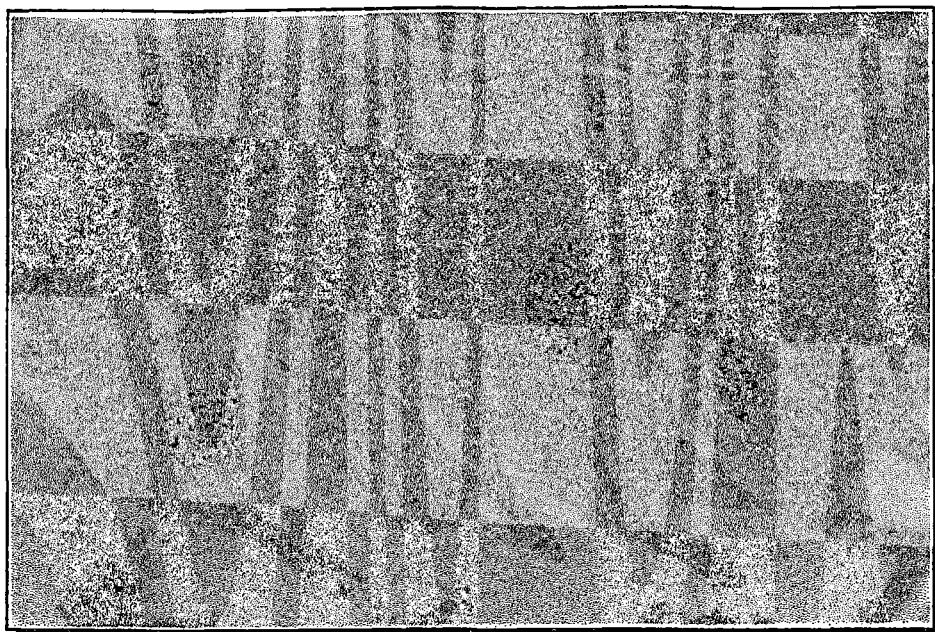
3.20 Βράγχια

Στα βράγχια, στην τροφή 1 παρατηρούμε ότι υπάρχει έντονη υπερπλασία των πρωτογενών βραγχιακών νηματίων και μερική υπερπλασία των δευτερογενών βραγχιακών νηματίων καθώς επίσης και παρουσία μονογενών παρασίτων (εικ. 66).



Εικόνα 66. Βράγχια (x20) Υπερπλασία βραγχιακών νηματίων (1)

Σε άλλα δείγματα της ίδιας διαίτας παρουσιάζεται έντονα το φαινόμενο προσβολής από επιθηλιοκύστη (εικ. 67).

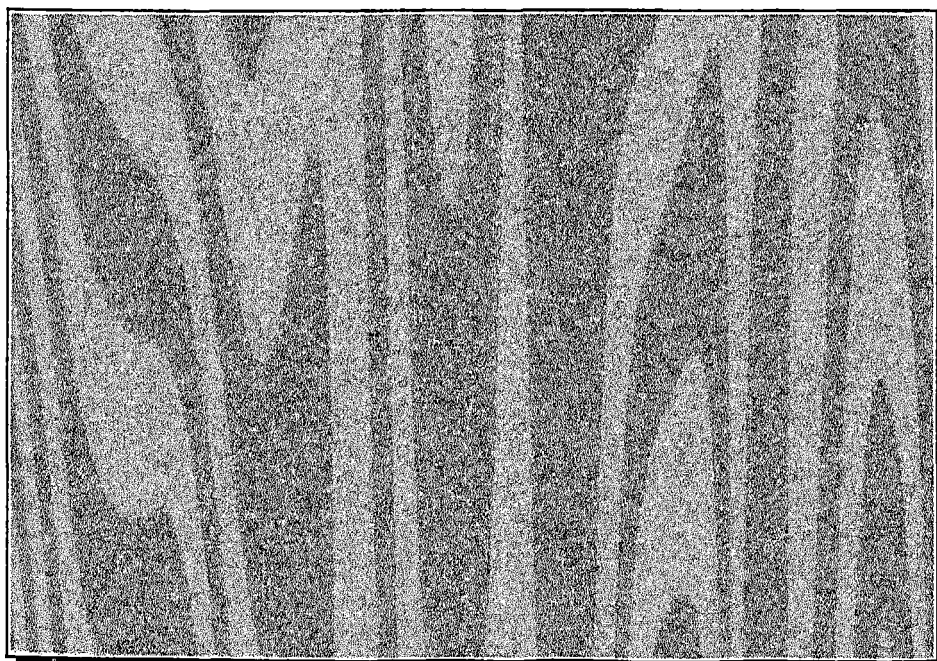


Εικόνα 67. Βράγχια (x40) Επιθηλιοκύστη (1)

Χειμερινή περίοδος (Punt3b)

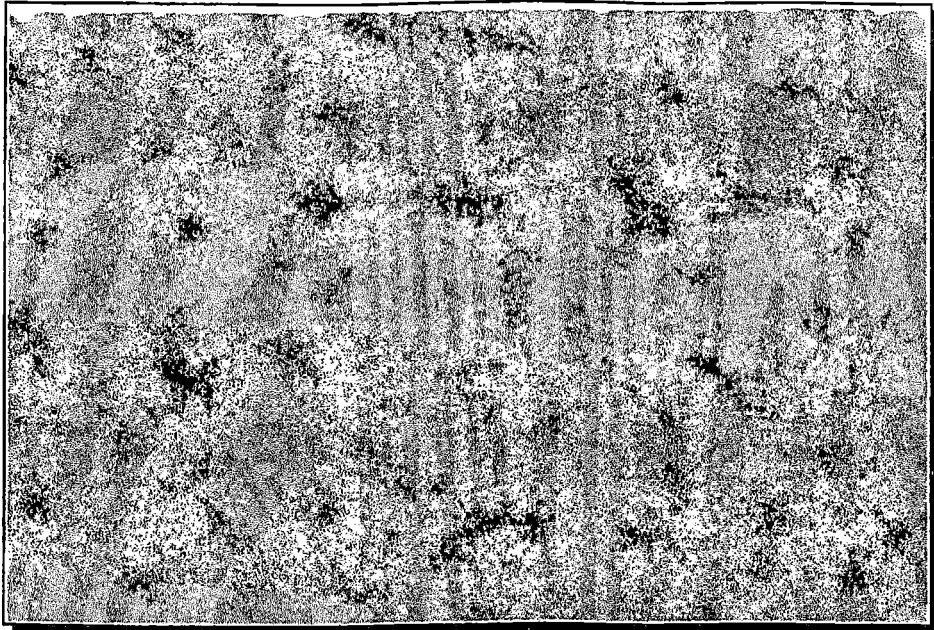
3.21 Ηπαταπάγκρεας

Στη χειμερινή περίοδο του τρίτου πειράματος (Punt3b), για το σκώτι, παρατηρούμε ότι στη διαίτα 1, η μορφή του ιστού είναι μάλλον φυσιολογική.

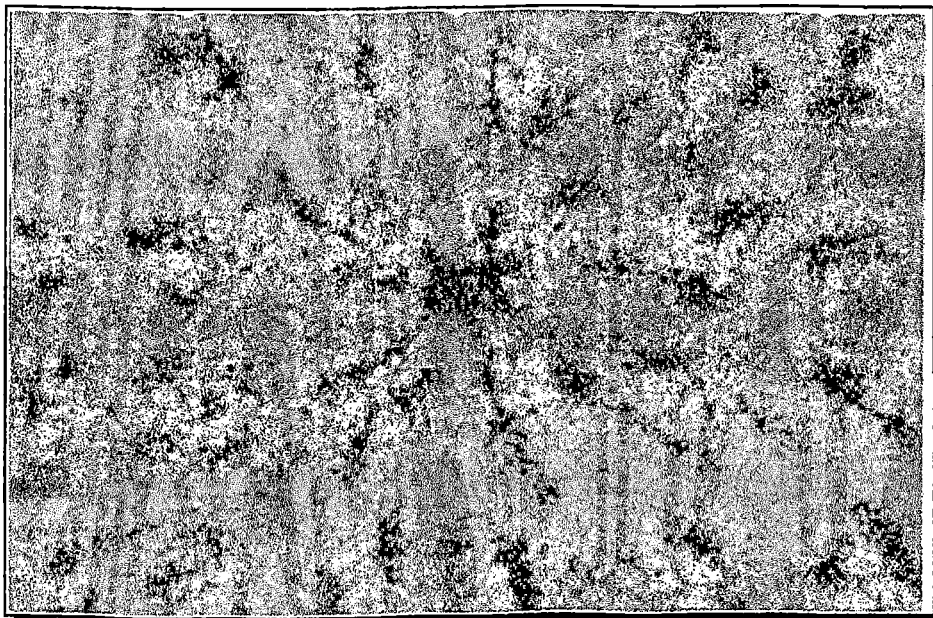


Εικόνα 68. P3b Σκώτι (x40) Φυσιολογική μορφή (1)

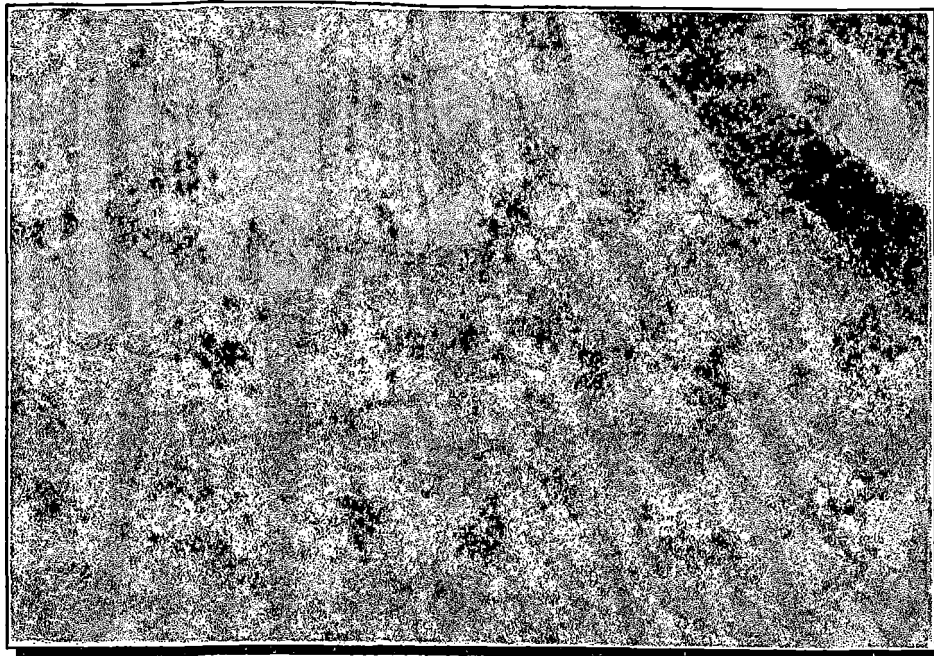
Οι ιστοί της δίαιτας 2 βρίσκονται σε καλή κατάσταση. Φαίνεται η χαρακτηριστική μορφή των ηπατοκυττάρων που είναι πλαισιωμένα από κύτταρα λίπους, σε σωστή όμως αναλογία (εικ. 69, 70, 71).



Εικόνα 67. P3b Σνκώτι (x20) Φυσιολογική μορφή (2)

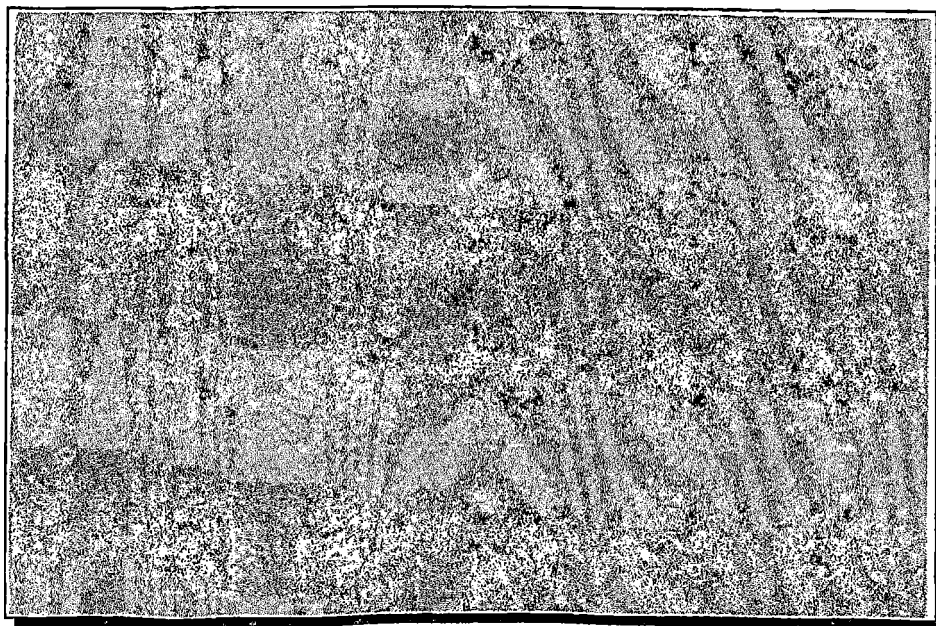


Εικόνα 70. P3b Σνκώτι (x20) Φυσιολογική μορφή (2)



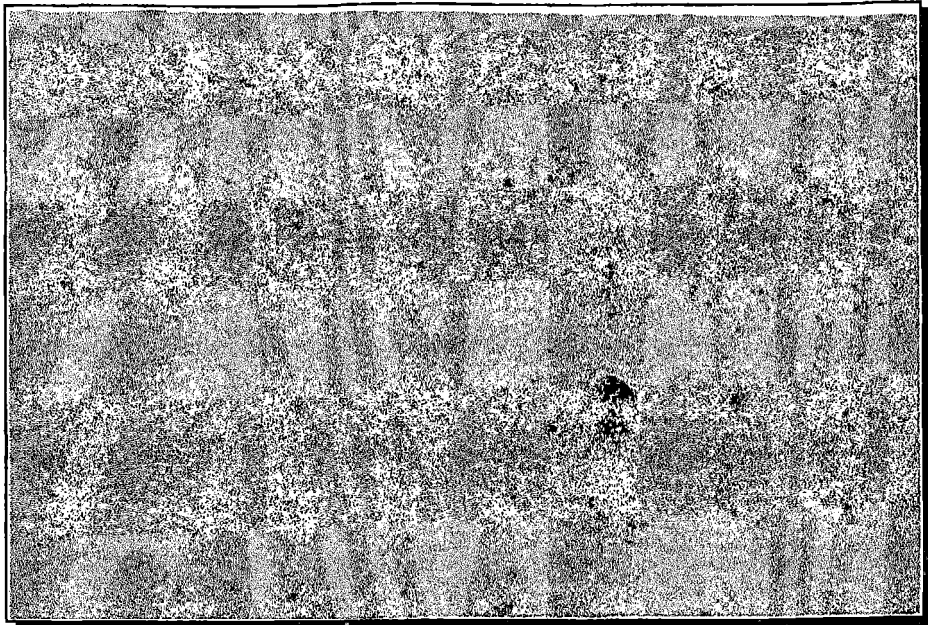
Εικόνα 71. P3a Σνκότι (x40) Φυσιολογική μορφή (2)

Στη δίαιτα 4 φαίνεται να υπάρχει αρκετό λίπος που μοιάζει να έχει εκτοπίσει τα ηπατοκύτταρα δημιουργώντας κενोटόπια (εικ. 72).

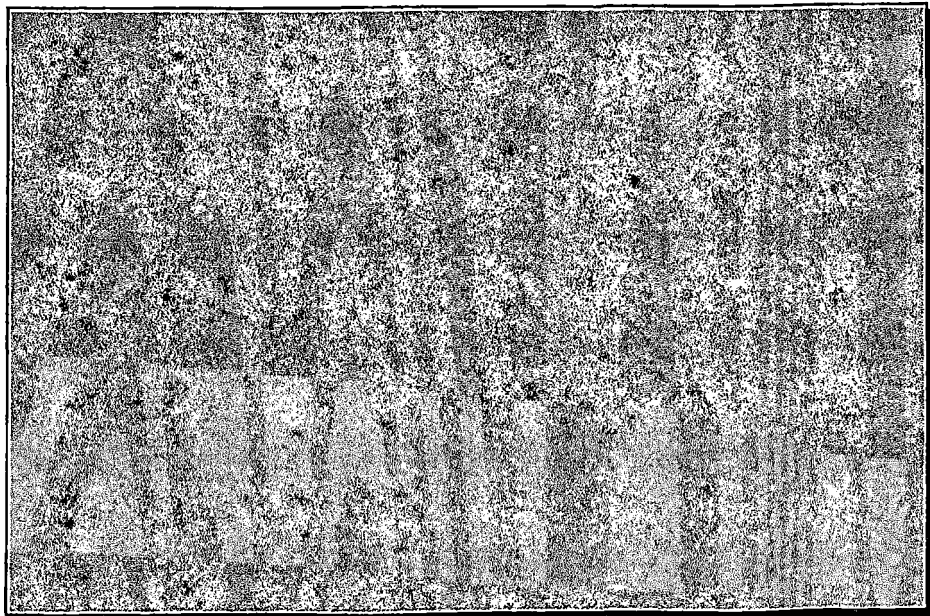


Εικόνα 72. P3a Σνκότι (x40) Κενοτόπια (4)

Στη διαίτα 6 η μορφή των ιστών δεν είναι όμοια σε όλα τα δείγματα. Στην εικ.73 υπάρχει αυξημένο ποσοστό λίπους ενώ στην εικ.74 φαίνεται να υπάρχει αναλογικά λιγότερο λίπος.



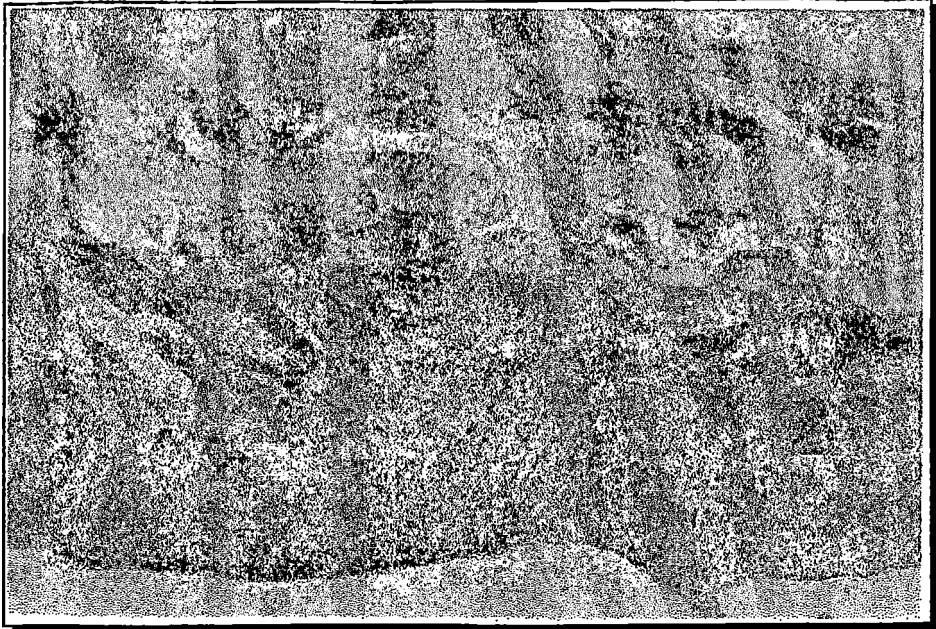
Εικόνα 73. P3b Σοκότι (x20) Συγκεντρώσεις λιποκυττάρων (6)



Εικόνα 74. P3b Σοκότι (x20) Συγκεντρώσεις λιποκυττάρων (6)

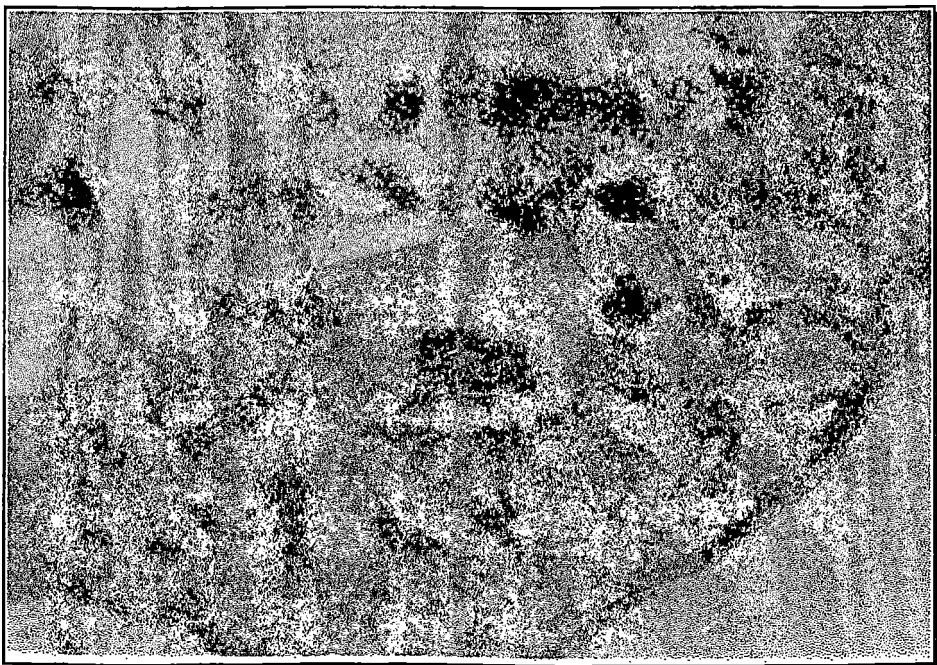
3.22 Καρδιά

Ο καρδιακός ιστός δεν είναι φυσιολογικός σε καμμία διαίτα, με μοναδική ίσως εξαίρεση, ένα δείγμα της διαίτας 5 (εικ.75)



Εικόνα 75. P3b Καρδιά (x20) Φυσιολογική μορφή (5)

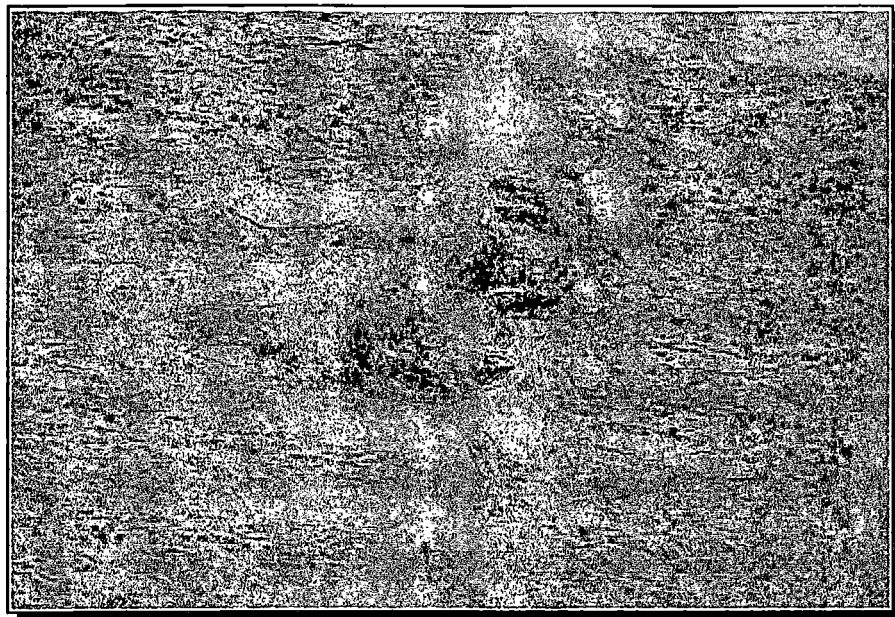
Στις υπόλοιπες δίαιτες εμφανίζονται εστιακές αλλά και εκτεταμένες φλεγμονές στους ιστούς, με αυξημένη συγκέντρωση βασεοφιλικών κυττάρων και κενотоπίωση (εικ. 76).



Εικόνα 76. P3b Καρδιά (x20) Φλεγμονή (6)

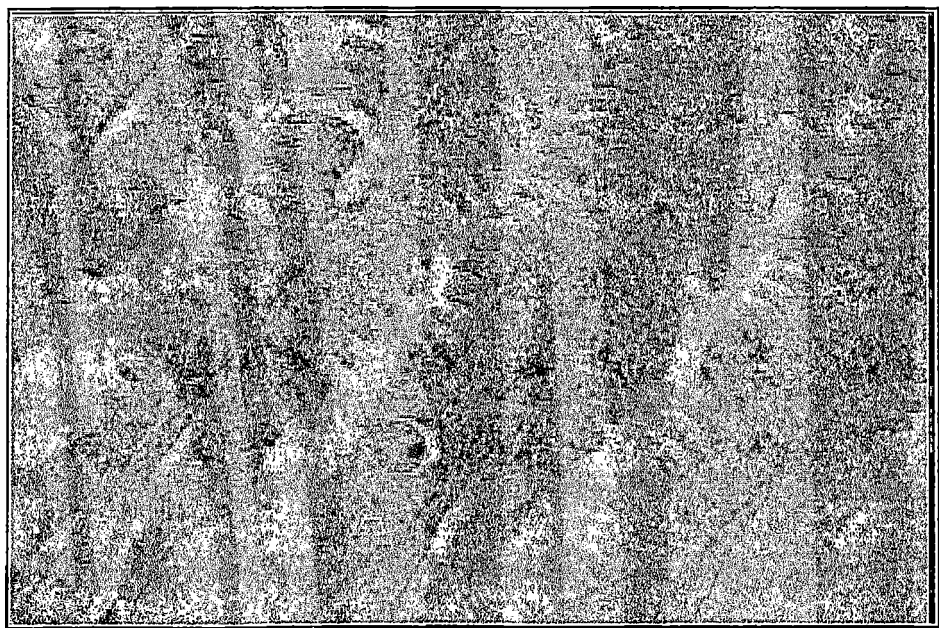
3.23 Βράγγια

Στα βράγγια παρατηρούμε ότι στη δίαιτα 1 υπάρχει έντονη προσβολή από παράσιτα. Ακόμα παρατηρούμε ότι εμφανίζονται δυσμορφίες στην κυτταρική δομή (εικ.77)

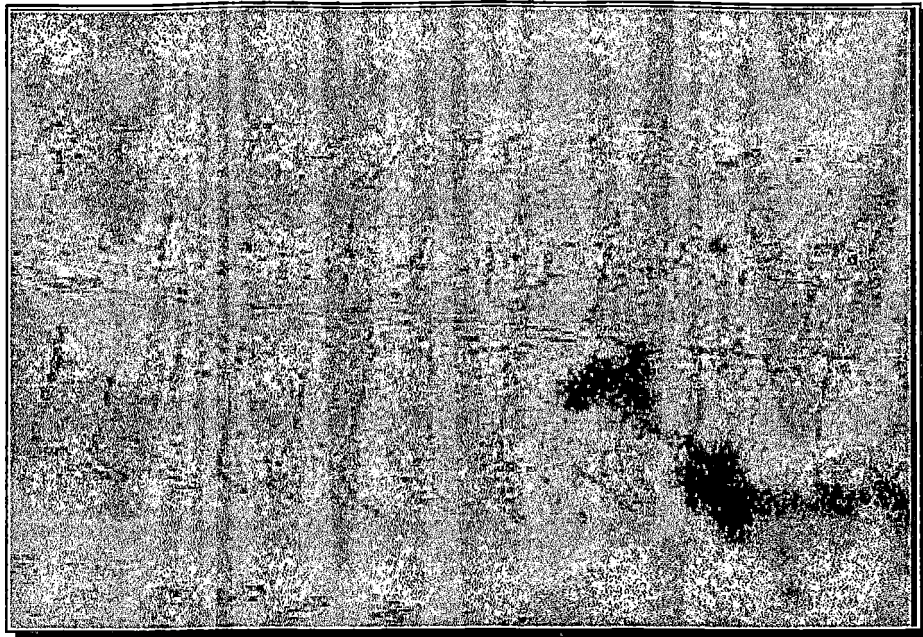


Εικόνα 77. Runt3b Βράγγια (x66) Μονογενές παράσιτο, υπερπλασία (1)

Τα βράγγια της δίαιτας 4 εμφανίζουν βραγχιακή υπερπλασία και έντονη προσβολή από επιθηλιοκύστη (εικ.78).



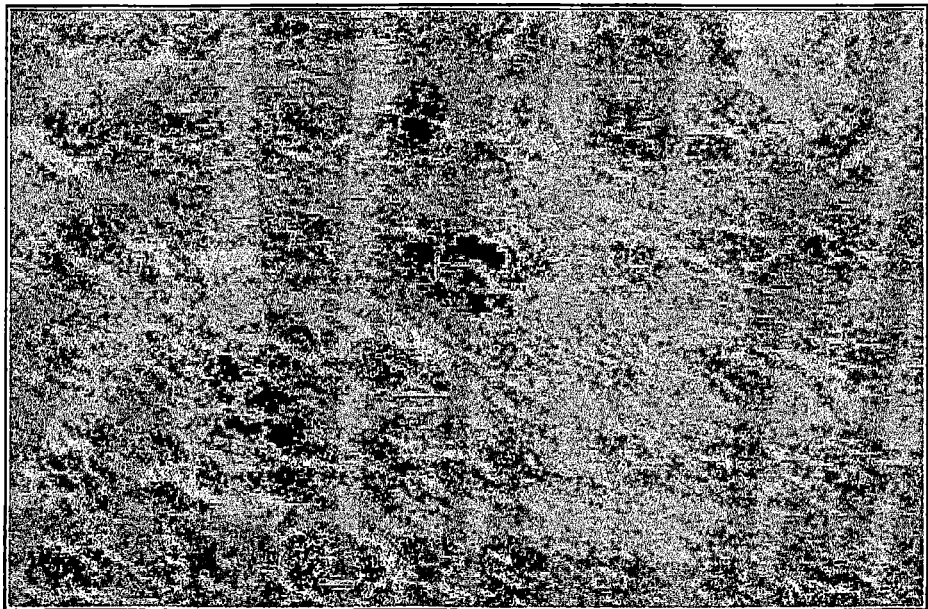
Εικόνα 78. Runt3b Βράγγια (x13) Επιθηλιοκύστη, υπερπλασία (4)



Εικόνα 79. Punt3b Βράγχια (x66) Υπερπλασία, Φλεγμονή (4)

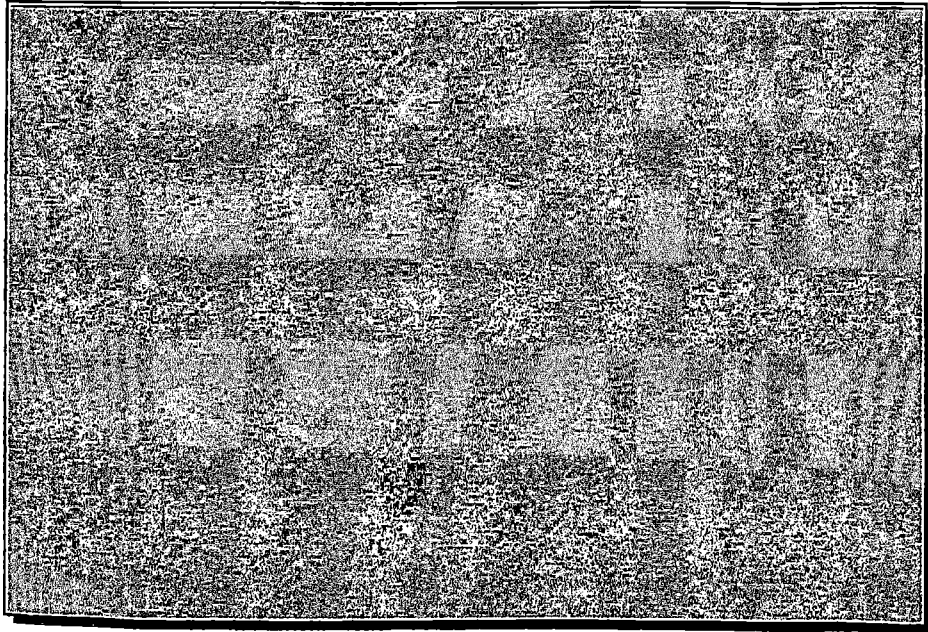
3.24 Σπλήνας

Ο σπλήνας εμφανίζει μελανομακροφάγα κέντρα μεγάλα και έντονα χρωματισμένα, στη δίαιτα 1 (εικ.80).



Εικόνα 80. Punt3b Σπλήνας (x33) Μεγάλα μελανομακροφάγα κέντρα (4)

Όμως, στη δίαιτα 2, υπάρχουν πολλά αποδιοργανωμένα μελανομακροφάγα κέντρα και αρκετές περιοχές με εστιακή συγκέντρωση λεμφοκυττάρων. (εικ. 81).



Εικόνα 81. Punt3b Σπλήνας (x33) Χαλαρός ιστός (2)

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Συκώτι

Στο μυτάκι όπως και στα περισσότερα εκτρεφόμενα θαλασσινά ψάρια, ο παγκρεατικός ιστός βρίσκεται διάχυτος μέσα στο ηπατικό παρέγχυμα σχηματίζοντας το ηπατοπάγκρεας. Το συκώτι έχει κόκκινο χρώμα και αρκετά σταθερό σχήμα, αν και είναι μαλακός ιστός. Βασικές μεταβολικές λειτουργίες όπως η μετατροπή των υδατανθράκων σε απλά σάκχαρα και η σύνθεση γλυκογόνου, γίνονται στο συκώτι. Το ηπατοπάγκρεας θεωρείται ότι αποτελεί το στήριγμα για ένα δίκτυο αρτηριών και αγγείων που μεταφέρουν αίμα από και προς την καρδιά. Συγκεκριμένα, υπάρχουν αγγεία που μεταφέρουν “καθαρό” οξυγονωμένο αίμα στον οργανισμό και φλέβες που ξεκινούν από τα τοιχώματα του εντερικού σωλήνα μεταφέροντας διάφορες ουσίες, προϊόντα της πέψης της τροφής. Το συκώτι λειτουργεί σαν φίλτρο, παρακρατώντας τα επικίνδυνα ή τοξικά για τον οργανισμό συστατικά. Παράλληλα αποθηκεύει τα αξιοποιήσιμα θρεπτικά συστατικά και το λίπος που αποτελεί μια βασική πηγή ενέργειας. Στο συκώτι, τα τελικά προϊόντα του μεταβολισμού των πρωτεϊνών μετατρέπονται σε ουρία που διοχετεύεται στο περιβάλλον μέσω των βραγχίων και του νεφρού. Ο παγκρεατικός ιστός είναι υπεύθυνος για την παραγωγή πεπτικών ενζύμων που εκκρίνονται στον πεπτικό σωλήνα, αλλά και για ορμόνες όπως η ινσουλίνη και η γλουκάνη, που ρυθμίζουν την περιεκτικότητα του αίματος σε υδατάνθρακες.

Οι κυριότερες παθολογικές καταστάσεις του συκωτιού σχετίζονται με την αυξημένη συγκέντρωση λιποσφαιρίων στον ηπατικό ιστό. Τα ψάρια που παίρνουν αυξημένα λιπαρά με την τροφή, χρησιμοποιούν ένα μέρος για εξοικονόμηση ενέργειας ενώ αποθηκεύουν την υπόλοιπη ποσότητα στο συκώτι με τη μορφή λιποσφαιρίων προκειμένου να έχει αποθέματα σε περίπτωση νηστείας. Όμως όταν η παροχή τροφής είναι έντονη και για μεγάλο χρονικό διάστημα, αρχίζουν να εξανλούνται οι δυνατότητες αποθήκευσης λίπους, με αποτέλεσμα σε ορισμένες περιπτώσεις την εμφάνιση παθολογικών φαινομένων που περιγράφονται με τον όρο λιπώδης διήθηση ή, σε προχωρημένο στάδιο, λιπώδης εκφύλιση. Η ασθένεια αυτή που θεωρείται κοινή για τα καλλιεργούμενα ψάρια, επιφάνειες, ιστολογικά εμφανίζει συγκεντρώσεις λιποσφαιρίων που φαίνεται να εκτοπίζουν τα ηπατοκύτταρα.

Εμφανίζονται συγκεντρώσεις λίπους στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων και σε προχωρημένο στάδιο, η κυτταρική μεμβράνη σπάζει (R.J. Roberts, 1989). Η λιπώδης εκφύλιση θεωρείται ότι είναι αποτέλεσμα διατροφής με δίαιτα αυξημένων λιπαρών (R. J. Roberts 1989) όμως έχει αναφερθεί και σε περιπτώσεις όπου τα λιπαρά της τροφής είχαν υποστεί ποιοτικές αλλοιώσεις λόγω κακής συντήρησης των τροφών (αυτοοξειδωση).

Μια παρόμοια με τη λιπώδη εκφύλιση παθολογική κατάσταση είναι η εμφάνιση σφαιρικών κενοτοπίων μεταξύ των ηπατοκυττάρων σε συνδυασμό με αποδιοργάνωση της φυσιολογικής δομής του συκωτιού.

Στα δείγματα που εξετάστηκαν, βρέθηκαν ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις και των δύο τύπων. Συγκεκριμένα, στις εικ. 54, 55 που προέρχονται από ψάρια τα οποία είχαν τραφεί με δίαιτα υψηλών λιπαρών παρουσιάζονται τα δυσπτώματα λιπώδους εκφύλισης (διασκορπισμένοι πυρήνες, διογκωμένα ηπατοκύτταρα). Αυξημένα ποσοστά λίπους φαίνεται να υπάρχουν και σε ιστούς ψαριών που είχαν τραφεί με δίαιτες χαμηλών λιπαρών (εικ. 3, 56, 58, 60). Η συγκέντρωση λιποσφαιρίων δεν φαίνεται να οφείζεται με τη χρήση κατεργασμένου ή ακατέργαστου αμύλου στη δίαιτα. Σημειώνουμε όμως ότι η λιπώδης εκφύλιση είναι περισσότερο κοινή στα μεγαλύτερα ψάρια και μάλιστα κατά την καλοκαιρινή περίοδο (Punt3a). Αυτό ίσως συμβαίνει διότι το καλοκαίρι λόγω των υψηλών θερμοκρασιών τα ψάρια καταναλώνουν αυξημένες ποσότητες τροφής με αποτέλεσμα να καταλήγει περισσότερο λίπος στο συκώτι τους.

Αναφορές λιπώδους εκφύλισης υπάρχουν για την ιριδιζουσα πέστροφα (*Salmo gairdneri*) που τρεφόταν με ξηρά σύμπηκτα (pellets) που είχαν εκτεθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα στον ατμοσφαιρικό αέρα (A.M. Bullock 1989). Επιπλέον, έχουν αναφερθεί συμπτώματα λιπώδους διήθησης σε συνδυασμό με φτωχή ανάπτυξη για ορισμένα είδη σολωμού (*Oncorhynchus kisutch*, *O. mykiss*, *O. keta*), κυπρίνο (*Cyprinus carpio*) και κόκκινη τσιπούρα (*Pagrus major*) που τρέφονταν με δίαιτες φτωχές σε απαραίτητα λιπαρά οξέα (E.F.A.) (A.G. Tacon 1990). Πάντως από τα δικά μας στοιχεία δεν προκύπτει ότι η ανάπτυξη των ψαριών ήταν μειωμένη.

Σε ορισμένες περιπτώσεις βρέθηκαν περιοχές με “κενοτόπια” δηλαδή συνενώσεις λιποσφαιρίων που στις ιστολογικές τομές μοιάζουν με κενά (vacuoles) ανάμεσα στα ηπατοκύτταρα. Στις εικ.25 και 72 που προέρχονται από τις χαμηλών

λιπαρών δίαιτες γ1 και 4 του πρώτου και τρίτου πειράματος αντίστοιχα. Στην εικ. 43 από τη δίαιτα υψηλής ενέργειας γ3 του δεύτερου πειράματος φαίνεται ότι ο ιστός είναι χαλαρός και έχει χάσει τη φυσιολογική του δομή.

Η ύπαρξη κενοδοπιών σε συνδυασμό με υπερτροφία των ηπατοκυττάρων και αποδιοργάνωση της φυσιολογικής δομής έχει αναφερθεί από τους Takeuchi & Watanabe (1989) στο συκώτι κορέγονου (*Coregonus lavaretus*) που είχε τραφεί με δίαιτα η οποία περιείχε 5% λιπαρά αποκλειστικά από τη σειρά ω-9. Παρατηρήθηκε υπερτροφία των ηπατοκυττάρων και αποδιοργάνωση της φυσιολογικής δομής καθώς και εμφάνιση κενοδοπιών μεταξύ των ηπατοκυττάρων.

Διαμετρικά αντίθετη εικόνα εμφανίζεται στις εικ. 41, 42 και 57 όπου παρατηρούμε την απουσία, σχεδόν, λιποσφαιρίων σε πολλές περιοχές. Οι εικ. 41 και 42 προέρχονται από ιστούς της δίαιτας χαμηλών λιπαρών και χαμηλής πρωτεΐνης και από μικρά ψάρια του δεύτερου πειράματος ενώ η εικ. 57 από ιστό της δίαιτας 4 της καλοκαιρινής περιόδου του τρίτου πειράματος. Η δίαιτα αυτή είναι αρκετά υψηλής ενέργειας συγκρινόμενη με τις υπόλοιπες, όμως τα λιπαρά που περιέχονται σε αυτήν προέρχονται κυρίως από ιχθυάλευρο και από ιχθυέλαιο.

Πάντως στις περισσότερες εικόνες παρατηρούμε μια μέση κατάσταση που φαίνεται να είναι και η φυσιολογική μορφή του ηπατικού ιστού για το μυτάκι. Αντιπροσωπευτικά αναφέρουμε τις εικ. 1, 2 και 22 από το πρώτο πείραμα και κυρίως από τη χειμερινή περίοδο.

Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε ότι δεν εμφανίζονται πολύ έντονα φαινόμενα λιπώδους εκφύλισης και η εκδήλωση των παθολογικών φαινομένων είναι μόλις ήπια. Δεν εμφανίστηκαν αιμορραγίες, δεν παρουσιάστηκε θνησιμότητα και η ανάπτυξη των ψαριών ήταν καλή. Ακόμα, υπογραμμίζουμε ότι στην πλειοψηφία τους οι ιστοί παρουσιάζουν ανάκαμψη κατά τη χειμερινή περίοδο άρα επιβεβαιώνεται το γεγονός ότι το συκώτι έχει μεγάλη αναγεννητική ικανότητα.

Η δίαιτες που φαίνεται να είναι καλύτερες για τα περισσότερα ψάρια, είναι οι α1 και κατά δεύτερο λόγο η α3, δηλαδή οι τροφές με χαμηλό ποσοστό πρωτεΐνης.

4.2 Βράγχια

Τα Βράγχια είναι το βασικό όργανο του αναπνευστικού συστήματος για τα ψάρια και η λειτουργία τους στηρίζεται στην ανταλλαγή αερίων μεταξύ του αίματος

και του νερού. Το αίμα παίρνει O₂ από το νερό και αποδίδει το προϊόν της κυτταρικής αναπνοής, CO₂. Ανατομικά, τα βράγχια περιλαμβάνουν δύο ομάδες ολοβραγχίων, συμμετρικά τοποθετημένες στα πλάγια του κεφαλιού, καθεμιά από τις οποίες αποτελείται από τέσσερα βραγχιακά τόξα. Από κάθε βραγχιακό τόξο ξεκινούν δύο σειρές πρωτογενών νηματίων και από κάθε πρωτογενές βραγχιακό νημάτιο, ξεκινούν δύο σειρές δευτερογενών βραγχιακών νηματίων. Τα βραγχιακά νημάτια καλύπτονται από επιθηλιακά κύτταρα και κύτταρα που παράγουν βλέννα. Το νερό έρχεται από τη στοματική κοιλότητα και πριν βγει από το άνοιγμα του βραγχιακού επικαλύμματος περνάει μέσα από το δίκτυο των δευτερογενών βραγχιακών νηματίων όπου έρχεται σχεδόν σε επαφή με το αίμα, με την παρεμβολή των επιθηλιακών κυττάρων (Roberts, 1989, Harder, 1975, Βορεινάκης, 1993).

Οι παθολογικές καταστάσεις στα βράγχια οφείλονται κυρίως σε μηχανικές βλάβες που προκαλούνται από την είσοδο διαφόρων σωματιδίων μαζί με το νερό. Τα σωματίδια αυτά εισχωρούν ανάμεσα στα δευτερογενή βραγχιακά νημάτια παρεμποδίζοντας την ομαλή ανταλλαγή των αερίων και προκαλώντας τον ερεθισμό των επιθηλιακών κυττάρων. Ο οργανισμός καλύπτει το ξένο σώμα με επιθηλιακά κύτταρα με αποτέλεσμα να παρατηρείται πάχυνση ή υπερπλασία στη βάση των δευτερογενών βραγχιακών νηματίων (Roberts, 1989).

Τα βράγχια λόγω του ότι είναι σχεδόν εκτεθημένα στο εξωτερικό περιβάλλον, είναι ευαίσθητα στην προσβολή από παράσιτα. Κάποια υποχρεωτικά ενδοκυτταρικά παράσιτα που μοιάζουν με χλαμύδια (κοκκοειδείς μικροοργανισμοί διαμέτρου 0.2 - 1.5 μm) προκαλούν την υπερβολική διόγκωση επιθηλιακών κυττάρων (επιθηλιοκύστη) τα οποία φτάνουν σε διάμετρο τα 0.8mm (Roberts, 1989).

Τα δείγματα βραγχίων που εξετάστηκαν εμφανίζουν σε μεγάλο βαθμό διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Στις εικ. 66 και 79 από την καλοκαιρινή και χειμερινή περίοδο του τρίτου πειράματος φαίνεται η τυπική μορφή υπερπλασίας, με συγκεντρώσεις επιθηλιακών κυττάρων που ξεκινούν από τα σημεία ένωσης των δευτερογενών βραγχιακών νηματίων με τα πρωτογενή βραγχιακά νημάτια και σε προχωρημένο στάδιο καλύπτουν τον ενδιάμεσο κενό χώρο μεταξύ των δευτερογενών βραγχιακών νηματίων. Υπερπλασία έχει αναφερθεί από τους Leino & Mc Cormic (1984) στα βράγχια του είδους *Pimiphales promelas* και αποδίδεται στην παρουσία ιζημάτων αργιλίου στο νερό. Ακόμα, οι Fowler & Banks (1969) αναφέρουν ότι η

κατανάλωση τροφών στις οποίες το ιχθυέλαιο έχει υποστεί οξείδωση, προκαλεί υπερπλασία βραγχιακών νηματίων σε σολωμό (*Oncorhynchus tsawytscha*).

Στις εικ. 29 και 46 φαίνεται προσβολή των βραγχιακών νηματίων από επιθηλιοκύστη, σε μεγάλο βαθμό. Υπάρχουν πολλές αναφορές για μαζικές θνησιμότητες νεαρών, κυρίως, καλλιεργούμενων ψαριών όπως η τσιπούρα, ο κέφαλος και ο κυπρίνος, από επιθηλιοκύστη (Parerna & Sanbai, 1980).

Πάντως στα περισσότερα δείγματα που εξετάστηκαν, τα βράγγια πάσχουν τόσο από υπερπλασία όσο και από επιθηλιοκύστη. Το φαινόμενο αυτό είναι ιδιαίτερα έντονο κατά την καλοκαιρινή περίοδο (εικ. 4, 5, 6, 46, 47) οπότε οι θερμοκρασίες είναι σχετικά υψηλές. Εμφανίζεται όμως, αν και πιο αραιά, και κατά την χειμερινή περίοδο (εικ. 26, 78). Το είδος της διαίτας δεν φαίνεται να επηρεάζει την εικόνα των ιστών αφού ο βαθμός προσβολής δεν διαφέρει σημαντικά σε όλες τις δίαιτες που εξετάστηκαν.

Επιπλέον, σε άλλα δείγματα, φαίνονται προσκολλημένα (μονογενή) παράσιτα (εικ. 7, 27, 43, 44, 76). Οι εικόνες αυτές προέρχονται από δείγματα τόσο της καλοκαιρινής όσο και της χειμερινής περιόδου και όλες (εκτός από την εικ. 76) προέρχονται από δίαιτες χαμηλών λιπαρών.

Τέλος, στην καλοκαιρινή περίοδο που όπως προαναφέραμε εμφανίζει τα πιο έντονα συμπτώματα, παρουσιάστηκε μικτή μόλυνση (προσβολή από επιθηλιοκύστη και μονογενή παράσιτα). Στην εικ.8, φαίνεται τμήμα βραγχιακού νηματίου στο οποίο έχει προσκολληθεί μονογενές παράσιτο ενώ υπάρχει ταυτόχρονη προσβολή από επιθηλιοκύστη καθώς επίσης και υπερπλασία. Το φαινόμενο αυτό θεωρήθηκε υπεύθυνο για μαζικές θνησιμότητες σε νεαρά άτομα (0^+) καλλιεργούμενης τσιπούρας (*Sparus aurata*) στην Ισπανία (F. Padros, S. Crespo, 1985). Η ταυτόχρονη από ενδοκυτταρικά (επιθηλιοκύστη) και εξωτερικά παράσιτα σε συνδυασμό με υπερπλασία προκαλεί τη νέκρωση των βραγχιών.

Όμως δεν παρατηρήθηκε θνησιμότητα σε κανένα πείραμα. Αρα, το μυτάκι αντέχει σε μεγάλο βαθμό παρασίτωσης, ή η έκταση της μόλυνσης δεν επηρέασε τη λειτουργία των βραγχιών σε τέτοιο βαθμό που να δημιουργεί προβλήματα αναπνοής και ωσμωρύθμισης στο ψάρι.

4.3 Καρδιά

Η καρδιά, το βασικό όργανο του κυκλοφορικού συστήματος στα ψάρια, είναι δίχωρη, δηλαδή περιλαμβάνει έναν κόλπο και μία κοιλία. Το φλεβικό αίμα ρέει στον κόλπο. Μέσω μίας ειδικής βαλβίδας (κολποκοιλιακή βαλβίδα) μεταφέρεται στην κοιλία και αφού περάσει από τον αρτηριακό κώνο κατευθύνεται στα βράγχια. Στην καρδιά διακρίνουμε τρεις μυϊκές στοιβάδες: Το Ενδοκάρδιο (αποτελείται από συνδετικό ιστό), το Μυοκάρδιο (αποτελείται από γραμμωτές μυϊκές ίνες) και το Περικάρδιο (Harder, 1975 Βορεινάκης 1993).

Στα δείγματα που εξετάστηκαν, βρέθηκαν αρκετές ενδείξεις παθολογικών αλλοιώσεων. Στην εικ. 75 φαίνονται συγκεντρώσεις λεμφοκυττάρων σε ιστό από τη χειμερινή περίοδο του τρίτου πειράματος και της διαίτας υψηλού ποσοστού πρωτεΐνης (6). Παρόμοιες συγκεντρώσεις λεμφοκυττάρων φαίνονται και στις εικ. 11 και 36 από την καλοκαιρινή και τη χειμερινή περίοδο του τρίτου πειράματος αντίστοιχα. Ο ιστός στην εικ. 36 προέρχεται επίσης από δίαιτα υψηλής ενέργειας αντίθετα με τον ιστό της εικ. 11 (δίαιτα χαμηλής ενέργειας). Οι εστιακές συγκεντρώσεις λεμφοκυττάρων συνήθως μαρτυρούν την ύπαρξη φλεγμονής (Roberts, 1989).

Επιπλέον, σε κάποια άλλα δείγματα του πρώτου πειράματος παρατηρούμε περιφερειακή κενотоπίωση. Οι εικ. 10, 34 και 35 προέρχονται από δίαιτες που ανήκουν στο ίδιο ενεργειακό επίπεδο. Η περιφερειακή κενотоπίωση στον καρδιακό ιστό είναι μία παθολογική κατάσταση που έχει συσχετισθεί με διατροφικούς παράγοντες. Η έλλειψη βιταμίνης E μπορεί να προκαλέσει εστιακή φλεγμονή στο μυοκάρδιο με αποδιοργάνωση των γραμμωτών μυών (Ferguson et al., 1986). Ακόμα, έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί επικαρδίτιδα στα Salmonidae (Woodal et al., 1964). Σχετικά με τη σύσταση της τροφής σε λιπαρά, υπάρχουν ενδείξεις ότι οι ιχθυοτροφές που περιέχουν υψηλά ποσοστά λιπαρών τα οποία προέρχονται από ηλιέλαιο (Sunflower oil) προκαλούν σοβαρές βλάβες στον καρδιακό ιστό, συγκεκριμένα κενотоπίωση και νέκρωση του μυοκαρδίου σε σολωμό (*Salmo salar*) (J.G. Bell et al., 1990)

Πάντως μεταξύ των δειγμάτων υπάρχουν και κάποιες φυσιολογικές εικόνες ιστών από ψάρια της καλοκαιρινής κυρίως περιόδου (P1a, P2) (εικ. 9, 48, 49, 75).

Τα προβλήματα εντοπίζονται κυρίως στα δείγματα της χειμερινής περιόδου και μπορεί να οφείλονται σε περιορισμένη λήψη τροφής κατά την περίοδο αυτή

4.4 Νεφρός

Ο νεφρός στους τελεόστεους οστεϊχθύες αποτελείται από δύο τμήματα που βρίσκονται κατά μήκος του σώματος, μεταξύ της νηκτικής κύστης και της σπονδυλικής στήλης. Σε αυτό το όργανο επιτελούνται τρεις διαφορετικές λειτουργίες και διακρίνονται α) το αιμοποιητικό τμήμα στο οποίο παράγονται πρόδρομες μορφές ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων καθώς και μελανομακροφάγα κέντρα (ομάδες φαγοκυττάρων με αποθέσεις μελανίνης) β) το ενδοκρινικό τμήμα, που είναι υπεύθυνο για την παραγωγή και έκκριση ορμονών ανάλογα με τις ανάγκες του οργανισμού. γ) το εκκριτικό τμήμα το οποίο αποτελείται από ένα δίκτυο πολυάριθμων νεφρικών σωληναρίων μέσω των οποίων τα άχρηστα προϊόντα του μεταβολισμού αποβάλλονται με τη μορφή ούρων. Ο νεφρός είναι όργανο ζωτικής σημασίας για τα ψάρια γιατί ρυθμίζει ποιοτικά και ποσοτικά τη σύσταση των σωματικών υγρών. Υπάρχουν όμως πολλές παθολογικές καταστάσεις που μπορούν να το επηρεάσουν. Στις εικ. 19 και 20 από τη δίαιτα υψηλής ενέργειας γ3 της καλοκαιρινής περιόδου του πρώτου πειράματος φαίνεται υαλώδης ιστός γύρω από ουροφόρα σωληνάκια. Το φαινόμενο αυτό έχει αναφερθεί από τους Harrison & Richards (1979) σε σολωμό του Ατλαντικού χωρίς ωστόσο να υπάρχουν ενδείξεις για την αιτία που το προκάλεσε.

Σε άλλα δείγματα επίσης από την καλοκαιρινή περίοδο, βρέθηκαν συγκεντρώσεις εοσινοφιλικών κυττάρων (εικ. 18, 51) που ίσως μαρτυρούν την ύπαρξη φλεγμονής αφού σύμφωνα με τον Roberts τέτοιες συγκεντρώσεις αποτελούν σύμπτωμα παθολογικού φαινομένου. Δεν γνωρίζουμε εάν η διατροφή σχετίζεται με κάποιο τρόπο με την εμφάνισή τους, πάντως και οι δύο εικόνες προέρχονται από δίαιτες υψηλών λιπαρών (α3, γ3). Σημειώνουμε ότι κατά τη χειμερινή περίοδο οι σχηματισμοί αυτοί δεν παρατηρούνται.

Σε ιστούς του πρώτου πειράματος βρέθηκαν σχηματισμοί στο εσωτερικό ουροφόρων σωληναρίων, που πιθανότατα είναι παράσιτα του γένους *Sphaerospora*. Τέτοια παράσιτα έχουν βρεθεί και στο εσωτερικό νεφρικών σωληναρίων κυπρίνου

(Molnar, 1980) αλλά και του είδους *Puntazzo puntazzo*. (Χριστοφίλογιάννης 1997, προσ. επικοιν.) (εικ. 21, 33)

4.5 Σπλήνας

Ο σπλήνας είναι μαζί με το νεφρό, τα κύρια αιμοποιητικά όργανα στα ψάρια. Έχει σκούρο κόκκινο χρώμα και σταθερό ελλειψοειδές σχήμα. Ο ιστός αποτελείται από ινώδη πολφό και περιέχει μεγάλη ποσότητα λέμφου καθώς επίσης και μελανομακροφάγα κέντρα.

Σε πολλά δείγματα, κυρίως από το πρώτο πείραμα, παρατηρούμε διάχυση των μελανομακροφάγων κέντρων στη γύρω περιοχή (εικ. 14, 15, 38, 39, 40). Οι ιστοί αυτοί προέρχονται από δίαιτες χαμηλής (α1) αλλά και υψηλής ενέργειας (γ3). Σύμφωνα με τον Roberts (1989), τα διασκορπισμένα μελανομακροφάγα κέντρα μαρτυρούν την ύπαρξη φλεγμονής.

Επίσης γνωρίζουμε ότι σε κατάσταση νηστείας τα μελανομακροφάγα κέντρα διογκώνονται (Roberts, 1989) λόγω του καταβολισμού σωματικών ιστών. Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε σε ιστούς του τρίτου πειράματος (στο οποίο μελετήθηκαν μεγάλα, σχετικά, ψάρια, με αυξημένες μεταβολικές ανάγκες) και μάλιστα από τη χειμερινή περίοδο, όπου ο ρυθμός πρόσληψης τροφής είναι μειωμένος. (εικ. 80)

Στις εικ. 50, 63 και 64 που προέρχονται από ιστούς ψαριών της καλοκαιρινής περιόδου και από δίαιτες χαμηλών λιπαρών, τα μελανομακροφάγα κέντρα είναι μικρά σε μέγεθος, αλλά έχουν σημαντικές αποθέσεις χρωστικής. Στην εικ. 81 από τη χειμερινή περίοδο του τρίτου πειράματος και από τη δίαιτα υψηλής ενέργειας, φαίνεται ότι ο ιστός δεν είναι αρκετά συνεκτικός αλλά εμφανίζει μάλλον χαλαρή δομή.

Τέλος, στις εικ. 12, 13, 51, και 62, ο ιστός φαίνεται να έχει φυσιολογική δομή.

Συμπερασματικά, θα λέγαμε ότι κάποιες ιστολογικές εικόνες αντανακλούν τον τρόπο διατροφής (π.χ. κορεσμός - νηστεία) αλλά και την ποιότητα της τροφής (π.χ. υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά). Πρέπει πάντως να τονιστεί ότι η θνησιμότητα σε όλες τις περιπτώσεις ήταν μηδενική. Αυτό ίσως δηλώνει ότι το μυτάκι είναι αρκετά ανθεκτικό σε κάποιες μάλλον ακραίες δίαιτες γεγονός ιδιαίτερα θετικό για έναν εκτρεφόμενο οργανισμό. Βεβαίως είναι απαραίτητο να μελετηθεί η επίδραση της τεχνητής τροφής σε βάθος και από άλλες παραμέτρους προκειμένου να καθοριστεί η δίαιτα που είναι κατάλληλη για το συγκεκριμένο είδος ψαριού.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Andrews (1973) J. Nutrition 103. 766 - 771 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Aoe et al. (1972) Bull. Freshwater Fish Res. Lab., Tokyo 22, 69-83 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Arai et al., (1972) Bull. Freshwater Res. Lab., Tokyo 22, 69 - 83 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Balarin & Haller (1982) Recent Advances in Aquaculture (Muir eds.) pp.265-356 London
- Bauer (1973) Isr. Prog. Sci. Jerusalem (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Bell J.G. (1990) American Institute of Nutrition pp. 1163-1172
- Βορεινάκης (1993) Σημειώσεις Ιστολογίας Οστειχθυσών, Μεσολόγγι 1993
- Bergot (1981) 'Nutrition des poissons' ed. Fontaine, Paris. Pp.123-129
- Bergot & Breque (1983) Aquaculture 34, 203
- Bullock (1989) Nutritional Pathology (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Burrows et al. (1952) Fish. Wildl. Serv. Spec. Sci. Rep. 86, 1 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Castell et al. (1972) J. Nutr. 102, 77 - 86 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Chow (1964) Nutrition Vol. II pp.208,219,241,242. Academic press, New York (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Cowey & Sargent (1979) Adv. Mar. Biol. 10, 383 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Dam & Sonengarard (1964) Nutrition Vol. II pp. 1, 60. Academic press, New York (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- DeLong et al. (1958) J. Nutr. 63, 589 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Deutsch & Ott (1942) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 51, 119-122 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Dupree (1966) Science 96, 455 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- FAO (1987) Indetification des especes pour les besoins de la peche Mediterranee et Mer Noire Vol II Rome 1987, p. 1361
- Ferguson et al. (1986) J. Fish Dis. 9, 95-98
- Fowler & Banks (1969) Tech. Pap. U.S. Bur. Sport Fish. Wildl. 26,3-19 (in Fish Pathology, Roberts 1989)
- George et al. (1979) J. Nutr. 109 (abstract)
- Ghittino (1985) Tecnologia e patologia in Aquacoltura, Vol. 2
- Ghittino (1989) Nutrition and Fish Diseases (in Fish Pathology, Roberts 1989)
- Goldsmith (1964) Nutrition Vol II p.p. 109 Academic press New York, (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Griffith & Nye (1954) 'The Vitamins' Academic press, New York (in Fish Pathology, Roberts 1989)
- Halver (1953) Ph.D thesis, Univ. Washington, Seattle, Washington (in Fish Nutrition, Halver, 1989)

- Halver (1957) *J. Nutr.* 62, 225 (As seen in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Halver et al. (1969) 'Fish in Research' Academic press, New York (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Halver (1989) 'Fish Nutrition' School of Fisheries University of Washington pp.2-27, 32-100, 112-144, 154-185, 220-229, 423-457, 682-698
- Harder (1975) 'Anatomy of fishes' Stuttgart, 1975 pp.159-162, 287-302
- Hardy et al. (1979) *Finfish Nutrition and Fish feed Technology* 1, 253-260 Heeneman, Berlin.
- Hartman & Buchanan, (1959) *Annu. Rev. Biochem.* 28, 365 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Harrison & Richards (1979) *J. Fish Dis.* 2, 1-12
- Hashimoto et al. (1966) *Bull. Jpn. Soc. Biol.* 32, 64-69 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Higgs & Eales (1978) *Can. J. Zool.* 56, 80-85
- Hilton et al. (1980) *J. Nutr.* 110, 2527-2535
- Hilton & Slinger (1981) *Can. Srec. Publ. Fish Aquat. Sci.* 55, p.15
- Huss & Eskildsen (1974) *Nord. Vet. Med.* 26, 733-738 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Inaba et al. (1963) *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 29, 242 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Isler & Wiss (1959) *Vitam. Horm.* 17, 53 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Jansen (1954) 'The Vitamins' pp 425 Academic press New York (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Kashiwada et al. (1971) *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ.* 20, 185-189 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Keen et al. (1984) *Biochemistry of the essential ultratrace elements* pp. 89-132 Plenum New York
- Klontz (1982) *Int Symp. Talloires Antigens Fish Pathol.* M. Merieux
- Knox & Goswami (1961) *Adv. Clin. Chem.* 4, 122 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Knox et al. (1982) *Aquaculture* 27, 111-119
- Knox et al. (1983) *J. Nutr.* 50, 121-127
- Krampiz (1969) *Annu. Rev. Biochem.* 38, 213 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Lall (1977) *Fish. Mar. Serv. Tech. Rep.* 688 1-16 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Leino & McCormic (1984) *Cell. Tiss. Res.* 36, 121-128
- Leloup (1970) *Mem. Mus. Nat. His. Nat. Serv. A. Zool.* 62, 1-108 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Lovell (1978) *Trans. Annu. Fish. Soc.* 107, 617-621 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Marine (1914) *J. Exp. Med.* 19, 70-75 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- McLaren (1947) *Arch. Biochem. Biophys* 15, 169 (in *Fish Nutrition*, Halver, 1989)
- Millikin (1982) *Am. Fish. Soc.* 111, 373
- Molnar, (1980) *J. Fish. Dis.* 3, 11-20

- Nose (1972) *Aquaculture* 20, 289-300 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- NRC (1981) 'Nutrient Requirements of Coldwater Fishes' National Academy Press, Washington DC
- NRC (1983) 'Nutrient Requirements of Warmwater Fishes & Shellfishes' NAS/NRC
- Ogino & Kamizono (1975) *Bull. Jpn. Soc. Sci.* 42, 71-75 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Ogino (1976) *Bull. Jpn. Soc. Sci.* 42, 793-799 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Ogino & Yang (1979) *Bull. Jpn. Soc. Sci.* 45, 967-969
- Ogino & Yang (1980) *Bull. Jpn. Soc. Sci.* 46, 455-458
- Padros & Crespo (1985) *Bull. Eyr. Ass. Fish. Pathol.* 15(2),44
- Page & Andrews (1973) *J. Nutr.*, 103,1339 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Paperna & Sabnai (1980) 'Fish Diseases' ed. W. Ahne pp. 212-217
- Phillips et al (1945) *Fish. Res. Bull.* (8), 1 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Phillips et al (1949) *Fish. Res. Bull.* (13), 1 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Poston (1964) *N.Y. State Dept. Fish. Res. Bull.* 28,6-9 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Poston (1971) *Fish. Res. Bull.* (33),9 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Reichenbach - Klinke (1980) G. Fischer, Stuttgart
- Roberts (1989) 'Fish Pathology' 2nd ed., Bailliere Tindall, London
- Richards & Buchanan (1978) *J. Fish. Dis.* 1, 251-258(in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Sacaguchi & Hamaguchi (1969) *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 35, 1201-1206 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Sakamoto & Yone (1976) *Rep. Fish. Res. Lab. Kyushu Univ.* 3, 53-58(in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Schneberger (1941) *Prog. Fish. Cult.* 56,14(in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Shamberger (1984) *Biochemistry of the Essential Ultratrace Elements* pp. 201-237 Plenum, New York
- Sindermann (1977) *Science* Vol. 6 New York
- Sinnuber (1969) 'Fish in Research' p.245 Academic press, N.Y. (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Sire et al. (1981)*Biol. Cell.* 40, 47-62
- Smith et al. (1979) *Prog. Fish. Cult.* 41, 185-188
- Smith R. (1989) *Nutritional Energetics* (in Fish Nutrition, Halver, 1989) pp. 2-28
- Stansby (1967) 'Fish Oils' Avi. Westport, Connecticut (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Stiller et al. (1940) *J. Am. Chem. Soc.* 62, 1785 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Taceuchi & Watanabe (1981) *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 47, 645-654
- Taceuchi & Watanabe (1989) *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 55 (11), 1977-1982
- Tacon & DeSilva (1983) *Aquaculture* 31, 11-20
- Tacon A.G (1992) 'Nutritional Fish Pathology' FAO Fisheries dept.

- Waite & Wakil (1966) J. Biol. Chem. 241, 1909 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Walker & Fromm (1976) Comp. Biochem. Physiol. 55A, 311-318
- Watanabe et al. (1970) Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 36, 972
- West et al (1966) 'Textbook of Biochemistry' pp.437-749 Mcmillan N.Y
- Who (1970) Tech. Rep. Serv. 452, 25
- Wolbach & Bessey (1942) Physiol. Rev. 22, 233
- Wolf (1951) Proc. Fish. Cult. 13, 17,25 (As seen in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Wolf (1966) Adv. Virus. Res. 12, 36-98 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Woodal & LaRoche (1964) J. Nutr. 82, 475-482 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)
- Woodal et al. (1964) J. Nutr. 54, 125-135 (in Fish Nutrition, Halver, 1989)