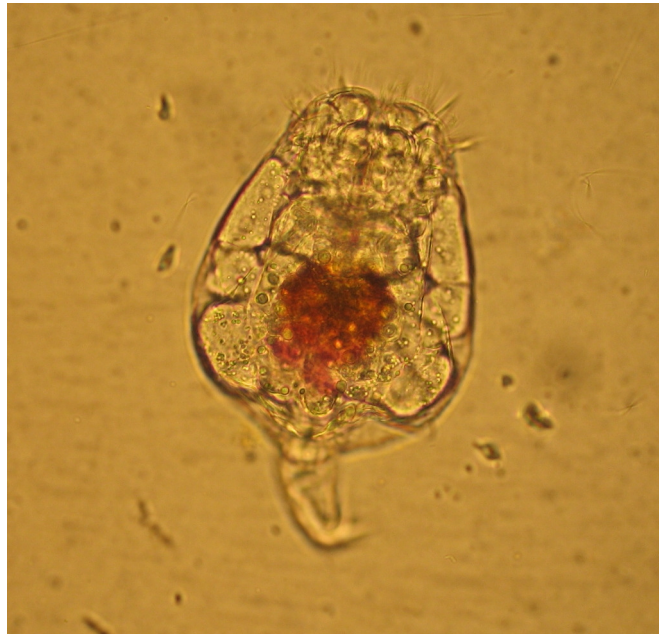


**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΔΥΤΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΑΛΙΕΙΑΣ -
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ**

Παραγωγή Τροχόζων στο Εργαστήριο Θαλασσοκαλλιιεργειών του ΤΕΙ
Ηπείρου: Εμπειρική Προσέγγιση και Καθορισμός του Πρότυπου
Λειτουργίας της Μονάδας



Πτυχιακή Εργασία
του
Παναγιώτη Φούγια
Επιβλέπων Δεσδρινός Παναγάγγελος
2014

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της εργασίας μας ήταν ο καθορισμός του πρότυπου λειτουργίας της μονάδας παραγωγής τροχοζώων στο Εργαστήριο Θαλασσοκαλλιέργειών του ΤΕΙ Ηπείρου (Τμήμα Ιχθυοκομίας και Αλιείας). Ειδικότερα, θελήσαμε να διερευνήσουμε κατά πόσο η παραγωγή επαρκούς αριθμού τροχοζώων ήταν εφικτή και αξιόπιστη με τη χρησιμοποίηση φυτοπλακτονικών οργανισμών παραγόμενων στις εγκαταστάσεις μας, που ανήκουν στα είδη *Nannochloropsis oculata* και *Tetraselmis suecica*. Οι αποδόσεις των καλλιεργειών με αυτά τα είδη συγκρίθηκαν με εκείνες των καλλιεργειών, στις οποίες χρησιμοποιήθηκε ως τροφή ένα εμπορικό προϊόν συμπυκνωμένης *Chorella*, μία πρακτική που έχει υιοθετηθεί τα τελευταία χρόνια από τους ιχθυογεννητικούς σταθμούς της χώρας. Διαπιστώσαμε ότι, στις συνθήκες του εργαστηρίου μας, σε συνθήκες ημισυνεχούς καλλιέργειας, το είδος της φυτοπλακτονικής τροφής, είτε ζωντανή είτε με τη μορφή της πάστας, δεν επηρέασε την παραγωγή των τροχοζώων. Με την εφαρμογή της μεθόδου ημισυνεχούς καλλιέργειας, ο μέσος πληθυσμός τροχοζώων ανά δεξαμενή ωφέλιμου όγκου 10 L κυμαινόταν στα $2,94 \pm 0,65$ εκατομμύρια άτομα και η ημερήσια παραγωγή ανά δεξαμενή ήταν 746 ± 169 χιλιάδες άτομα. Αυτό σημαίνει ότι στις εγκαταστάσεις μας μπορούμε να παράγουμε καθημερινά 6 εκατομμύρια τροχοζώων περίπου. Αυτή η ημερήσια παραγωγή μπορεί να καλύψει τη μέγιστη κατανάλωση τροχοζώων 350 περίπου λίτρων εκτροφών ιχθυονυμφών τσιπούρας (35.000 περίπου νυμφών από 20^η έως 23^η ημέρα από την εκκόλαση), ικανοποιώντας πλήρως τις ανάγκες των σχετικών εγκαταστάσεων του Εργαστηρίου Θαλασσοκαλλιέργειών του ΤΕΙ Ηπείρου.

ABSTRACT

The purpose of this thesis was to determine a successful prototype for the function of the Aquaculture Laboratory of the Technological Institute of Epirus (Department of Fisheries). Specifically, we wanted to investigate how much the production of an adequate amount of rotifers was possible and reliable with the use of phytoplankton organisms (*Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis suecica*) produced in the facilities of our lab. The culture performance of the rotifers fed on these phytoplankton species were compared to that of rotifers fed on condensed Chlorella, an industrial product, a practice which has been adopted during the last few years by aquaculture farms in Greece. We confirmed that, under our laboratory conditions, with semi-continuous culture, the species of the phytoplanktonic feed either alive or as paste (industrial product) did not affect the production of rotifers. With the application of the method of semi- continuous culture, the available amount of the rotifer population in each 10-litre tank averaged $2,94 \pm 0,65$ million individuals, and its daily production 746 ± 169 thousand individuals. This means that our facilities are able to produce around 6 million rotifers per day. This daily production can cover the maximum consumption of rotifers, around 350 L, by fish larvae (35.000 individuals from 20nd to 23rd day from hatching), fully satisfying the needs of Aquaculture Laboratory of the Technological Institute of Epirus.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	2
ABSTRACT	3
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ.....	4-5
1 ΠΡΟΛΟΓΟΣ	6
2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
2.1 Τα τροχόζωα και ο ρόλος τους στις υδατοκαλλιέργειες.....	7-8
2.2 Η βιολογία της αναπαραγωγής τους	8-9
2.3 Είδη και τύποι τροχοζώων	10-15
2.4 Διατροφή και εμπλουτισμός τροχοζώων	15
2.5 Η μαζική παραγωγή των τροχοζώων.....	16
2.5.1 Ημισυνεχείς καλλιέργειες	16
2.5.2 Καλλιέργειες σε παρτίδες	17
3 ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ.....	18
3.1.Υλικά.....	18
3.1.1 Εργαστηριακός εξοπλισμός	18
3.1.2 Μέσο καλλιέργειας	18
3.1.3 Διατροφή.....	18
3.2 Προέλευση ζώων και συντήρηση στελεχών	19
3.3 Πρότυπα παραγωγής και ιστορικό καλλιέργειών	19-20
3.4 Παρακολούθηση φυσικοχημικών παραμέτρων	20-22
3.5 Καθαρισμοί και μεταφορές τροχοζώων.....	23
3.6 Μαζικές καλλιέργειες	23-24
3.7 Λειτουργία δεξαμενής καλλιέργειας με την ημισυνεχή μέθοδο	25
4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	26-30

4.1 Επίδραση της διατροφής και του φωτισμού του χώρου στις μαζικές καλλιέργειες τροχοζώων_	26-27
4.2 Διαχείριση καλλιεργειών παραγωγής τροχοζώων	27-30
6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	31
7 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	32-34
8 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	35-48

1 ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στην παρούσα μελέτη εφαρμόσθηκε η μέθοδος της ημισυνεχούς καλλιέργειας ζωοπλακτονικών οργανισμών, και συγκεκριμένα τροχοζώων, σε σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας, φωτισμού, αλατότητας και αερισμού. Σε ημερήσια βάση γινόταν εκτίμηση των παρακάτω παραμέτρων:

1. συνολικός αριθμός ατόμων ανά δεξαμενή,
2. παραγωγή τροχοζώων ανά δεξαμενή.

Δοκιμάστηκαν 3 διατροφολόγια, και συγκεκριμένα δύο είδη φυτοπλαγκτού (καλλιέργεια) και μία τροφή εμπορικής προέλευσης (πάστα). Σκοπός ήταν η διερεύνηση της επίδρασης του τύπου της τροφής στην πυκνότητα του πληθυσμού των τροχοζώων και τελικά η εκτίμηση της δυνατότητας παραγωγής τροχοζώων στις εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Θαλασσοκαλλιιεργειών (ΤΕΙ Ηπείρου) ικανής για την κάλυψη των διατροφικών αναγκών συγκεκριμένων νυμφικών σταδίων των ψαριών.

2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

2.1 Τα τροχόζωα και ο ρόλος τους στις υδατοκαλλιέργειες

Η μαζική εκτροφή των τροχοζώων αποτελεί ένα από σημαντικότερα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας στις υδατοκαλλιέργειες. Τα τροχόζωα εκτρέφονται στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς, με σκοπό να δοθούν ως τροφή στα ιχθύδια των εκτρεφόμενων ειδών. Το οικονομικό ενδιαφέρον που συνδέεται με τέτοιου είδους παραγωγικές διαδικασίες έχουν οδηγήσει στην εκτενή μελέτη αυτών των οργανισμών. Τα τελευταία είκοσι χρόνια παρατηρείται μια σημαντική ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών στη χώρα μας και ειδικά στον τομέα των θαλάσσιων ιχθυοκαλλιεργειών. Μέχρι το 2005, λειτουργούσαν 39 ιχθυογεννητικοί σταθμοί με συνολική ετήσια παραγωγή άνω των 300 εκατομμυρίων ιχθυδίων (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων). Το πρώτο στάδιο της παραγωγής γίνεται στις χερσαίες εγκαταστάσεις του ιχθυογεννητικού σταθμού, όπου πραγματοποιείται η γονιμοποίηση των αυγών και η ανάπτυξη των ιχθυδίων μέχρι να φτάσουν τα 1 με 2 γραμμάρια. Στη συνέχεια, τα νεαρά ιχθύδια μεταφέρονται σε κλωβούς στη θάλασσα, όπου λαμβάνει χώρα η κύρια εκτροφή. Τα περισσότερα προβλήματα παρουσιάζονται κατά την αρχική ανάπτυξη των ιχθυδίων. Εξαιρετικά σημαντική είναι η φάση που ακολουθεί την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου, γιατί το ιχθύδιο αρχίζει να τρέφεται εξωγενώς. Στο στάδιο αυτό, η ιχθυονύμφη διαθέτει στοματικά εξαρτήματα, αλλά έχει περιορισμένες δυνατότητες κίνησης και θήρευσης, μικρό άνοιγμα στόματος και συγκεκριμένες ανάγκες ως προς την αναλογία και την ποιότητα των θρεπτικών ουσιών που λαμβάνει μέσω της εξωγενούς τροφής. Για κάποια είδη ιχθύων, λόγω της έλλειψης κατάλληλου νωπού, κατεψυγμένου ή τεχνητού σιτηρεσίου για την ηλικία αυτή, η ζωντανή τροφή αποτελεί τη μοναδική λύση (Moretti *et al.*, 1999). Η επιλογή του κατάλληλου ζωοπλαγκτονικού οργανισμού (Κωστοπούλου, 2007) πρέπει να ικανοποιεί μια σειρά από προϋποθέσεις:

- μέγεθος μικρότερο από 400 μm , το οποίο να ανταποκρίνεται στο μέγεθος του στόματος των ιχθυδίων αυτής της ηλικίας,
- ικανοποιητική πλευστότητα και κολυμβητική συμπεριφορά, ώστε να είναι δυνατή η σύλληψη και η καταβρόχθιση από τα ιχθύδια,

- υψηλό ρυθμό αύξησης, ευκολία στην μαζική εκτροφή σε υψηλές πυκνότητες και συλλογή σε τεχνητό περιβάλλον (δεξαμενές), ώστε να είναι διαθέσιμο αν πάσα στιγμή σε ικανοποιητικές ποσότητες χωρίς μεγάλη κατανάλωση χώρου,
- δυνατότητα εκτροφής με ποικιλία ειδών τροφής, ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν σε κάθε σταθμό, αλλά και την ικανότητα μεταφοράς στα ιχθύδια συγκεκριμένων ουσιών, που απαιτούνται για την ανάπτυξη τους,
- ευπεπτότητα και ευκολότερη απορρόφηση από τα ιχθύδια.

Τα τροχόζωα επιλέγονται γιατί πληρούν όλες τις παραπάνω προϋποθέσεις (Lubzens 1981, 1989) παρόλο που δεν αποτελούν σημαντικό μέρος της συνήθους διατροφής των ψαριών στο φυσικό περιβάλλον. Τα τροχόζωα συνήθως αποτελούν την πρώτη εξωγενή τροφή κατά την εντατική εκτροφή των περισσότερων υδρόβιων ζωικών οργανισμών.

2.2 Βιολογία της αναπαραγωγής τους

Η αναπαραγωγή των τροχοζώων έχει δυο μορφές της αμφιγονίας και της παρθενογένεσης. Στην παρθενογένεση, που καταλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος του αναπαραγωγικού κύκλου, παρθενογενετικά (αμικτικά) θηλυκά δίνουν με μίτωση αυγά διπλοειδή, τα οποία με τη σειρά τους αναπτύσσονται σε αμικτικά θηλυκά. Η αμφιγονική (μικτική) αναπαραγωγή ξεκινά με μικτικά θηλυκά, τα οποία παράγουν με μείωση απλοειδή αυγά. Προκύπτουν αρσενικά άτομα που γονιμοποιούν τα μικτικά θηλυκά, με επακόλουθο τη δημιουργία αυγών διάπαυσης, που είναι ανθεκτικά σε αντίξοες συνθήκες. Η εμφάνιση αυγών διάπαυσης δηλώνει το τέλος της αμφιγονίας. Μετά από ένα εύλογο χρονικό διάστημα και αφού δοθεί το κατάλληλο ερέθισμα, τα αυγά διάπαυσης εκκολάπτονται και προκύπτουν παρθενογενετικά θηλυκά (αμικτικά), με τα οποία ξεκινά η περίοδος της παρθενογένεσης. Τα αυγά διάπαυσης, δεν συνεισφέρουν στην ανάπτυξη του πληθυσμού, αφού δεν εκκολάπτονται άμεσα και η μίξη δεν είναι πάντα ο επιθυμητός τρόπος αναπαραγωγής στα τροχόζωα (Κωστοπούλου, 2007). Υπάρχουν περιπτώσεις που προτιμάται η παρθενογένεση, λόγω της γρήγορης πληθυσμιακής αύξησης.

Ένα τέτοιο παράδειγμα αποτελούν οι ιχθυογεννητικοί σταθμοί, όπου η μαζική εκτροφή των τροχοζώων χρησιμεύει στην παραγωγή τροφής για ιχθύδια. Τυχόν

επεισόδια μίξης με συνακόλουθη δημιουργία αυγών διάπαυσης είναι ανεπιθύμητα γεγονότα στην παραγωγική διαδικασία και μάλιστα, είναι χαρακτηριστικό ότι στους σταθμούς αναφέρονται ως «καταρρεύσεις». Η μετάβαση από την παρθενογένεση στη μίξη παρουσιάζει επομένως θεωρητικό και πρακτικό ενδιαφέρον. Αρκετοί είναι οι παράγοντες που έχουν συνδεθεί με την παρουσία της μίξης (Κωστοπούλου, 2007), όπως: 1) η μείωση της θερμοκρασίας ή της αλατότητας και 2) η αλλαγή στην ποσότητα και την ποιότητα της προσφερόμενης τροφής. Οι παραπάνω παράγοντες ευνοούν τη μίξη, χωρίς να σημαίνει ότι την προκαλούν κιόλας. Το ερέθισμα, που είναι υπεύθυνο για την πρόκληση της μίξης, έχει βρεθεί ότι είναι η υψηλή πυκνότητα του πληθυσμού. Ο συσχετισμός αυτός στηρίζεται στην άποψη ότι η μίξη χρειάζεται ιδανικές περιβαλλοντικές συνθήκες για να ολοκληρωθεί (Κωστοπούλου, 2007). Ως παράγοντας, η υψηλή πυκνότητα προϋποθέτει την ύπαρξη ενός γρήγορα αναπτυσσόμενου πληθυσμού, ο οποίος βρίσκεται σε ευνοϊκές συνθήκες.

Έχει υπολογιστεί ότι 40.000 με 100.000 τροχοζώα απαιτούνται για την διατροφή ενός ιχθυδίου, από την μέρα που θα αρχίσει να τρέφεται, μέχρι την ημέρα που θα αρχίσει να καταναλώνει άλλου είδους τροφή (Lubzens, 1989). Επομένως, η παραγωγή εκατομμυρίων ιχθυδίων απαιτεί την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων τροχοζώων, που πρέπει να μεταφέρουν στα ιχθύδια την απαραίτητη ποσότητα και ποιότητα θρεπτικών συστατικών.

2.3 Είδη και τύποι τροχοζώων

Η ευρέως αποδεκτή (Barnes 1987) ταξινομική των Τροχοζώων βασίζεται στο σύστημα του Koste (1978), το οποίο έχει τροποποιηθεί από τον Pennak (1989) και τους Wallace & Snell (1991). Με βάση την παραπάνω ταξινόμηση, τα Τροχοζώα αποτελούν ξεχωριστό φύλο και η ομαδοποίηση σε ομοταξίες βασίζεται στον αριθμό των ωοθηκών (γονάδων) - δύο στα Διγόναδα και μία στα Μονογόναδα. Η ομοταξία των Μονογόναδων είναι η μεγαλύτερη και περιέχει περίπου 95 γένη και 1.600 είδη βενθικών, πλαγκτονικών και εδραίων μορφών (Nogrady *et al.*, 1993). Η ταξινόμηση γίνεται με βάση το σχήμα της θήκης, τον αριθμό και τη μορφολογία των βλεφαρίδων, των ακάνθων, των τροφών του φάρυγγα, του ποδιού καθώς και τη θέση από όπου εξέρχεται το πόδι (Ruttner-Koslisko 1974; Walker 1981). Σε ορισμένες εργασίες τα Τροχοζώα ταξινομούνται ως ομοταξία του φύλου των Ασκέλμινθων (Nogrady *et al.*, 1993). Οι Ασκέλμινθες περιλαμβάνουν μια σειρά από οργανισμούς, όπως τους Νηματώδεις, τα Τροχοζώα, τα Γαστερότριχα και τα Κινόρυγα, οι οποίοι έχουν κοινά χαρακτηριστικά. Τα κυριότερα από αυτά είναι το ψευδόκοιλο, το μικρό μέγεθος, το σκωληκόμορφο σώμα, οι εξωτερικές βλεφαρίδες, τα πρωτονεφρίδια, η απουσία αναπνευστικού και κυκλοφορικού συστήματος και η κυτταρική σταθερότητα (Κωστοπούλου, 2007). Τα Τροχοζώα βρίσκονται πιο κοντά στα Γαστερότριχα από τους υπόλοιπους οργανισμούς του φύλου (Ruttner-Kolisko, 1974).

Τα Τροχοζώα έχουν κατά καιρούς συνδεθεί με διάφορες ομάδες Ασπόνδυλων: με τα Αρθρόποδα, με τους θαλάσσιους Δακτυλιοσκόληκες και τα Μαλάκια, επειδή μοιάζουν με τις βλεφαριδοφόρες τροχοφόρες προνύμφες αυτών των οργανισμών (Ruttner-Kolisko, 1974). Σύμφωνα με την πιο αποδεκτή θεωρία, τα Τροχοζώα προήλθαν από επίπεδους, έρποντες, ακοιλωματικούς σκωληκόμορφους οργανισμούς, με ομοιόμορφη κατανομή βλεφαρίδων τόσο κοιλιακά, όσο και ραχιαία, όπως οι πρωτόγονοι Στροβιλιστικοί, οι οποίοι ανήκουν στο φύλο των Πλατυέλμινθων (Ruttner-Kolisko, 1974; Nogrady *et al.*, 1993).

Παρακάτω δίνεται η σύγχρονη και ευρέως αποδεκτή ταξινόμηση των Τροχοζώων (Nogrady *et al.*, 1993) με έμφαση στο *Brachionus plicatilis*, που χρησιμοποιείται στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς:

Φύλο: **Τροχόζωα (Rotifera)**

Ομοταξία: Διγόνναδα (Digononta)

Τάξη: Seisonidae

Bdelloidae

Ομοταξία: **Μονογόνναδα (Monogononta)**

Τάξη: Collothecacea

Οικογένεια: Atrochidae

Collothecidae

Τάξη: Flosculariacea

Οικογένεια: Conochilidae

Filiniidae

Flosculariidae

Hexarthridae

Testudinellidae

Trochosphaeridae

Τάξη: Ploimida

Οικογένεια: Asplanchnidae

Birgeidae

Clariidae

Colurellidae

Dicranophoridae

Epiphanidae

Euchlanidae

Gastropodidae

Lecanidae

Lindiidae

Microcodonidae

Mytilinidae

Notommatidae

Proalidae

Synchaetidae

Trichocercidae

Trichotriidae

Brachionidae

Γένος: *Brachionus*

Είδος: *Brachionus plicatilis*

Το τροχόζωο *Brachionus plicatilis* περιγράφηκε από τον O.F. Müller το 1786. Ακολούθησαν και άλλες περιγραφές - *B. mülleri* το 1833 από τον Ehrenberg, *B. hepatotomus* το 1851 από τον Gosse -, οι οποίες αναφέρονταν σε παρεμφερείς μορφές, που τελικά ενσωματώθηκαν στην αρχική περιγραφή του *B. plicatilis*. Το 1921, ο Tschugunoff βρήκε άτομα μικρότερα σε μέγεθος από το *B. plicatilis*, σε δείγματα από τη βόρεια Κασπία Θάλασσα, τα οποία και πήραν την ονομασία *B. plicatilis* var. *rotundiformis* (Sudzuki, 1996). Ο Tschugunoff ήταν ο πρώτος που υποστήριξε ότι υπάρχουν τουλάχιστον δύο μορφότυποι στο *B. plicatilis* (Sudzuki, 1995). Έκτοτε, έγιναν αρκετές αναφορές στο είδος, μέχρι που το 1940, ο Ahlstrom δημοσίευσε μία αναθεωρημένη μελέτη για το *B. plicatilis*. Σύμφωνα με τη μελέτη αυτή, το τροχόζωο *B. plicatilis* διαθέτει ωοειδή θήκη, ελαφρά συμπιεσμένη νωτιοκοιλιακά, με έξι πρόσθιες ραχιαίες ακάνθες και κοιλιακή οπή, απ' όπου εξέρχεται το πόδι. Οι σημαντικότερες μορφολογικές διαφορές μεταξύ των μορφότυπων εστιάζονται στο μέγεθος και το σχήμα του τροχοζώου, καθώς και στο σχήμα των ραχιαίων ακάνθων (Sudzuki 1996).

Το 1991 ο Fu και οι συνεργάτες του δημοσίευσαν δύο μελέτες (1991a, b) με τις οποίες προσδιόρισαν τις διαφορές μεταξύ των μορφότυπων, βασιζόμενοι σε 67 στελέχη από όλο τον κόσμο. Ως προς τη μορφολογία, διαφορές βρέθηκαν στα χαρακτηριστικά εκείνα που είχε αναφερθεί ο Ahlstrom, εκ των οποίων σημαντικότερο θεωρήθηκε το σχήμα των ραχιαίων ακάνθων (Fu *et al.*, 1991a). Οι

δύο μορφότυποι πήραν την ονομασία 'μικρός' (small, S-type) και 'μεγάλος' (large, L-type). Ο μικρός μορφότυπος είχε οξύληκτες άκανθες, μικρότερο μέγεθος (μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση: $212 \pm 20 \mu\text{m}$) και στρογγυλό σχήμα. Ο μεγάλος μορφότυπος είχε άκανθες με αμβλύ άκρο, μεγαλύτερο μέγεθος (μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση: $275 \pm 24 \mu\text{m}$) και απιοειδές σχήμα.

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της μορφολογίας, η γενετική απόκλιση των δύο μορφότυπων διαπιστώθηκε και με αλλοενζυμική ηλεκτροφόρηση (allozyme electrophoresis) (Fu *et al.*, 1991b). Περαιτέρω μελέτες επιβεβαίωσαν το γενετικό χαρακτήρα της διαφοροποίησης και οδήγησαν στο διαχωρισμό του *B. plicatilis* σε δύο είδη (Segers, 1995). Ο μεγάλος μορφότυπος (L-type) διατήρησε την αρχική ονομασία του είδους, *B. plicatilis* O.F. Müller, 1786, ενώ ο μικρός μορφότυπος (S-type) υιοθέτησε την περιγραφή που έδωσε ο Tschugunoff και ονομάστηκε *B. rotundiformis* Tschugunoff, 1921. Μια σειρά μελετών, που άντλησαν υλικό από μία λιμνοθάλασσα της ιβηρικής χερσονήσου, αποκάλυψαν επιπλέον γενετική ποικιλότητα (Κωστοπούλου, 2007). Το είδος *B. rotundiformis* χωρίστηκε σε δύο μορφότυπους, μεσαίου (SM) και μικρού (SS) μεγέθους, με διαφορετικά γνωρίσματα ως προς τη μορφολογία, την οικολογία και την αναπαραγωγή (Gómez & Serra 1995; Gómez *et al.* 1995, 1997; Serra *et al.* 1998). Επομένως, το αρχικά αναφερόμενο τροχόζωο *B. plicatilis*, αναφέρεται πρόσφατα ως *B. plicatilis sensu lato* (s.l.) όπου δεν διευκρινίζεται το είδος και είναι στην πραγματικότητα ένα σύμπλεγμα από πολλά είδη, που δεν έχουν περιγραφεί όλα ακόμα. Σε μια λεπτομερή συγκριτική μελέτη της μορφολογίας των δύο ειδών και των επιμέρους μορφότυπων (Ciros-Perez *et al.* 2001), προέκυψε ότι οι εν λόγω μορφότυποι πρέπει να αποτελέσουν ξεχωριστά είδη. Έτσι, πέραν του μεγάλου μορφότυπου (L-type), που αντιπροσωπεύει το *B. plicatilis sensu stricto* (s.s.), ο μεσαίος μορφότυπος (SM-type) πήρε την ονομασία *B. ibericus* (Ciros-Perez *et al.*, 2001), ενώ ο μικρός μορφότυπος (SS-type) διατήρησε την ονομασία *B. rotundiformis* Tschugunoff, 1921.

Από την πρώτη περιγραφή του τροχοζώου *B. plicatilis s.l.* το 1786, πέρασαν πάνω από 200 χρόνια, για να αρχίσει να ξεκαθαρίζει η γενετική ποικιλότητα του είδους. Το μεγάλο χρονικό διάστημα που μεσολάβησε, αποδόθηκε στην απουσία ευδιάκριτων μορφολογικών χαρακτηριστικών, που να βοηθούν στο διαχωρισμό των ειδών, γεγονός που μπορεί να συσχετισθεί με τον κρυπτικό χαρακτήρα της ειδογένεσης (Serra *et al.*, 1997).

Επομένως, η διάκριση των ειδών με βάση ορισμένα εξωτερικά, μορφολογικά χαρακτηριστικά, δεν αποτελεί την πιο ολοκληρωμένη μέθοδο ταξινόμησης, όσον αφορά στο συγκεκριμένο σύμπλεγμα (Κωστοπούλου, 2007). Περαιτέρω διαλεύκανση της ποικιλότητας μπόρεσε να επιτευχθεί με μεθόδους ικανές να εξετάσουν σταθερούς χαρακτήρες πέραν των εξωτερικών μορφολογικών γνωρισμάτων. Από τις πρώτες μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η αλλοενζυμική ηλεκτροφόρηση. Αν και η μέθοδος αυτή βοηθά στην ανίχνευση αναπαραγωγικά απομονωμένων πληθυσμών (Serra *et al.* 1997), δεν μπορεί να ανιχνεύσει τη γενετική ποικιλότητα που τυχόν να υπάρχει μέσα στον ίδιο τον πληθυσμό (Gómez *et al.*, 1995; Ortells *et al.*, 2000). Επιπλέον, το μικρό μέγεθος των τροχοζώων δυσχεραίνει την εφαρμογή της μεθόδου, η οποία προϋποθέτει μεγάλες ποσότητες υλικού. Το αποτέλεσμα είναι, οι περισσότερες αναλύσεις αλλοενζυμικής ηλεκτροφόρησης, να βασίζονται σε μικρότερο αριθμό ατόμων και σε λιγότερους γενετικούς τόπους (loci), από τους επιθυμητούς (King & Schonfeld, 2001).

Οι πιο σύγχρονοι μέθοδοι βασίστηκαν στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction) από το DNA μεμονωμένων οργανισμών (Κωστοπούλου, 2007). Με αυτόν τον τρόπο, είναι δυνατόν να μελετηθούν όχι μόνο άτομα, αλλά και αυγά διάπαυσης και έτσι να αναλυθεί η γενετική σύσταση σε βάθος χρόνου. Η εν λόγω διαδικασία προϋποθέτει την ύπαρξη δεικτών, που να οριοθετούν τις περιοχές ενδιαφέροντος του γενετικού υλικού. Το ρόλο αυτό μπορεί να παίζει ένα ζεύγος εκκινητών παρόμοιας αλληλουχίας, το οποίο πρέπει να πλαισιώνει αμφίπλευρα την υπό μελέτη περιοχή του DNA (Gómez, 2005). Τέτοιες σειρές εκκινητών έχουν βρεθεί στο μιτοχονδριακό και το πυρηνικό DNA (mtDNA και nDNA αντίστοιχα). Στην περίπτωση του mtDNA, έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι τώρα η κυτοχρωμική οξειδάση c I και τα ριβοσωμικά γονίδια 16S, ενώ για το nDNA, ο ριβοσωμικός εσωτερικός μεταγραφόμενος διαχωριστής 1 (Gómez *et al.*, 2002). Η μέθοδος αυτή κατέδειξε την ύπαρξη άλλων έξι γενετικά αποκλινόντων φυλογενετικών βιότυπων στο *B. plicatilis* s.l., οι οποίοι είναι πιθανό να αποτελούν ξεχωριστά είδη. Τρία από αυτά (*B.* 'Nevada', *B.* 'Austria', *B.* 'Manjavacas') ομαδοποιήθηκαν με το μεγάλο μορφότυπο (*B. plicatilis* s.s.), ενώ τα υπόλοιπα (*B.* 'Cayman', *B.* 'Tiscar', *B.* 'Almenara') ομαδοποιήθηκαν με το μεσαίο μορφότυπο. Η παραπάνω διαίρεση σε είδη και βιότυπους πρέπει να συνέβη πριν από 19 με 20 εκατομμύρια χρόνια. Μέσα σε αυτό το χρονικό διάστημα, τα εν λόγω είδη/ βιότυποι

ακολούθησαν ανεξάρτητες εξελικτικές πορείες, οι οποίες μπορούν, γενετικά, να συγκριθούν με τη διαφοροποίηση στο επίπεδο του είδους (Κωστοπούλου, 2007). Σύμφωνα με την καινούργια συστηματική του συμπλέγματος, φαίνεται ότι ο προσδιορισμός των στελεχών που εκτρέφονται δεν ανταποκρίνεται στην πραγματικότητα. Στους περισσότερους ιχθυογεννητικούς σταθμούς της Ευρώπης ανιχνεύτηκε ο βιότυπος *B. 'Cayman'* και υπάρχει μόνο μία αναφορά σχετικά με στοιχεία παραγωγής του (Kostopoulou & Vadstein, 2007).

2.4 Διατροφή και εμπλουτισμός τροχοζώων

Στη φύση, τα τροχοζώα τρέφονται κυρίως με φυτοπλαγκτόν. Η παραγωγή φυτοπλαγκτού στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς αποτελεί μια δαπανηρή διαδικασία, που απαιτεί απασχόληση προσωπικού, καθώς και ύπαρξη ειδικών χώρων και εγκαταστάσεων για τη μαζική καλλιέργεια του (Κωστοπούλου, 2007). Για να μειωθεί η συνολική ποσότητα - άρα και το κόστος - χρησιμοποιείται είτε φυτοπλαγκτόν σε συμπυκνωμένη μορφή (πάστα), είτε άλλα συμπληρώματα διατροφής σε συνδυασμό με το φυτοπλαγκτόν, τα οποία είναι σχετικά φθηνότερα και δεν απαιτούν ιδιαίτερη προετοιμασία και απασχόληση προσωπικού, καθώς και διαθεσιμότητα ειδικών εγκαταστάσεων ή χώρων ειδικών προδιαγραφών. Τέτοια είναι η κοινή μαγιά αρτοποιίας (*Saccharomyces cerevisiae*) και τα συνθετικά λιπαρά πρόσθετα. Οι τροφές αυτές συνήθως δεν χρησιμοποιούνται μόνες τους, είτε γιατί υποβαθμίζουν την ποιότητα του μέσου εκτροφής (εμπλουτιστικά έλαια – Coutteau & Sorgeloos 1997) είτε γιατί η πεπτικότητα τους είναι μειωμένη όταν χορηγούνται μεμονωμένα (μαγιά – Hirata, 1980). Η επίδραση διατροφολογίου που να αποτελείται μόνο από πάστα είναι υπό διερεύνηση.

2.5 Η μαζική παραγωγή των τροχοζώων

2.5.1 Ημισυνεχείς καλλιέργειες

Το ημισυνεχές (semi continuous) σύστημα βασίζεται στην περιοδική (συνήθως καθημερινή) αφαίρεση ενός ποσοστού τροχοζώων από τη δεξαμενή, για να χορηγηθεί ως τροφή. Ο όγκος που αφαιρείται συμπληρώνεται από ισάριθμη ποσότητα μέσου εκτροφής, που περιέχει την παρεχόμενη τροφή (Κωστοπούλου, 2007). Συνήθως, για τις εκτροφές αυτές χρησιμοποιούνται δεξαμενές μεγάλου όγκου (3.000 – 300.000L). Μπορεί να εφαρμοστεί για 7-14 ημέρες, χωρίς να χρειαστεί ανανέωση του μέσου εκτροφής, καθώς η ποιότητα του νερού παραμένει ικανοποιητική για αυτό το χρονικό διάστημα. Όμως, η πυκνότητα των τροχοζώων είναι σε γενικές γραμμές χαμηλή (Dhert *et al.* 2001; Lubzens *et al.* 2001). Η χορήγηση τροφής με σύστημα αυτόματης παροχής της τροφής σε μικρές ποσότητες και τακτικά χρονικά διαστήματα (ανά 10 λεπτά) συνέβαλε στη διατήρηση της ποιότητας του μέσου εκτροφής σε ημισυνεχείς καλλιέργειες (αφαίρεση 25% του μέσου εκτροφής ημερησίως) μέχρι 38 ημέρες, καθώς και στη σταθεροποίηση της ημερήσιας παραγωγής (Κωστοπούλου και συνεργάτες, 2010).

Για να παραταθεί η διάρκεια του ημισυνεχούς συστήματος μέσω της βελτίωσης του μέσου εκτροφής, αναπτύχθηκε το σύστημα ανάδρασης (feedback system), σύμφωνα με το οποίο τα προϊόντα του μεταβολισμού αφαιρούνται από τις δεξαμενές και μπορούν να μεταφερθούν σε δεξαμενές αποσύνθεσης (Κωστοπούλου, 2007). Επίσης, μετά από επεξεργασία, τα παραπάνω προϊόντα μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως λιπάσματα στις δεξαμενές καλλιέργειας του φυτοπλακτού. Αν και με αυτόν τον τρόπο η εκτροφή μπορεί να υπερβεί τον ένα μήνα και να φτάσει υψηλότερες πυκνότητες, επιμόλυνση με άλλους οργανισμούς (βλεφαριδοφόρα, ιοί, βακτήρια κ.α.) μειώνει την αποδοτικότητα και εγκυμονεί κινδύνους για τα ιχθύδια. Για να αποφευχθούν κίνδυνοι επιμόλυνσης, έχει προταθεί η εκτροφή των τροχοζώων με ελεγχμένα στελέχη βακτηρίων, που επιδρούν θετικά στην αύξηση των τροχοζώων. Τα εν λόγω βακτήρια ονομάζονται προβιοτικά (probiotic) και εμποδίζουν την ανάπτυξη άλλων, ανεπιθύμητων στελεχών βακτηρίων, ενώ ταυτόχρονα συμβάλουν στη διατήρηση της ποιότητας του μέσου εκτροφής (Lubzens *et al.*, 2001).

2.5.2 Καλλιέργειες σε παρτίδες

Στο ασυνεχές ή διακοπτόμενο (batch) σύστημα, τα τροχοζώα τοποθετούνται στις δεξαμενές μαζικής καλλιέργειας, όπου αναπτύσσονται για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, που συνήθως δεν υπερβαίνει τις 6 ημέρες (Κωστοπούλου, 2007). Στη συνέχεια, συλλέγονται προκειμένου να χρησιμοποιηθούν ως τροφή. Υπάρχουν δύο τύποι ασυνεχούς καλλιέργειας. Στην πρώτη, προστίθεται καθημερινά τροφή στη δεξαμενή με επακόλουθη αύξηση του όγκου και διατήρηση της πυκνότητας των τροχοζώων στα ίδια επίπεδα. Στη δεύτερη, αυξάνεται η πυκνότητα των τροχοζώων χωρίς να αυξάνεται ο όγκος. Αυτό επιτυγχάνεται με την προσθήκη περίσσειας τροφής στο ξεκίνημα της εκτροφής (Lubzens *et al.* 1997). Ενδεικτικά, τα τροχοζώα ξεκινούν με πυκνότητα 200 άτομα ανά ml και φτάνουν τα 600 άτομα ανά ml μετά από 4 ημέρες (Lubzens *et al.*, 2001). Το διακοπτόμενο σύστημα είναι απλό, όμως οι συνθήκες που επικρατούν κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις. Επιπλέον, η παραγωγικότητα του είναι χαμηλή, σε σχέση με τα υπόλοιπα συστήματα εκτροφής (Dhert *et al.*, 2001).

3 ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Υλικά

3.1.1 Εργαστηριακός εξοπλισμός

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι: φιάλες περιεκτικότητας 500ml, 5L, 10L, κυλινδροκωνική δεξαμενή των 12L (ωφέλιμου όγκου 10L), κανάτες των 3L, φίλτρα με διάμετρο 52 μm – 155 μm , αντλία παροχής αερισμού, αερόπετρες, σωληνάκια αερισμού, βακτηριοστατικές παγίδες, δοχεία 5L, καθώς και φίλτρο αέρος που περνούσε ο αερισμός των δεξαμενών πριν καταλήξει σε αυτές.

3.1.2 Μέσο καλλιέργειας

Το νερό που χρησιμοποιούταν στις καλλιέργειες περιείχε φιλτραρισμένο θαλασσινό νερό και φιλτραρισμένο γλυκό νερό σε κατάλληλες ποσότητες, ώστε να είναι εφικτή η επίτευξη αλατότητας 20‰ στις καλλιέργειες. Η θερμοκρασία στις καλλιέργειες βρισκόταν στους 28 °C με τη βοήθεια του θερμοστάτη. Η αλατότητα στις καλλιέργειες ήταν 20‰ και ρυθμιζόταν με την προσθήκη ποσοτήτων θαλασσινού ή γλυκού ανάλογα με τις εκάστοτε συνθήκες.

3.1.3 Διατροφή

Στη διατροφή των καλλιερειών των τροχοζώων χρησιμοποιήθηκαν δύο φυτοπλαγκτονικά είδη, *Nannochloropsis occulata* και *Tetraselmis suecica*, ή μεμονωμένα το καθένα είτε σε συνδυασμό. Η χορήγηση της απαραίτητης ποσότητας γινόταν μια φορά την ημέρα. Επίσης, χρησιμοποιήθηκε συγκριτικά και συμπυκνωμένη *Chorella* (πάστα). Η χορήγηση της απαραίτητης ποσότητας γίνονταν σε δυο ισόποσες δόσεις μια το πρωί και μια το απόγευμα, έτσι ώστε να είναι καλύτερη διασπορά της τροφής, καθώς και να είναι μικρότερο το χρονικό διάστημα που οι καλλιέργειες μένουν χωρίς τροφή.

3.2 Προέλευση ζώων και συντήρηση στελεχών

Τα τροχοζώα που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονταν από αρχικές καλλιέργειες που υπήρχαν στο εργαστήριο, αφού αυτές έφταναν στο κατάλληλο πληθυσμιακό επίπεδο, ώστε να ξεκινήσει η καλλιέργεια σε μαζικό επίπεδο, με σκοπό αυτές να καλύψουν τις ανάγκες της εκτροφής των ιχθυδίων που γινόταν στο εργαστήριο.

3.3 Πρότυπα παραγωγής και ιστορικό καλλιεργειών

Η λειτουργία του χώρου παραγωγής τροχοζώων στο Εργαστήριο θαλασσοκαλλιεργειών του Τμήματός μας ήταν συνεχής από 26/2/2010 έως 19/5/2010 με μόνη εξαίρεση το διάστημα 26/3/2010 έως 12/4/2010, που αντιστοιχεί στις διακοπές του Πάσχα. Βέβαια στο μεγαλύτερο διάστημα λειτουργίας του χώρου παρουσιάστηκαν σημαντικά προβλήματα διαχείρισης των καλλιεργειών και του χώρου, τα οποία δεν μας επέτρεψαν την απρόσκοπτη μαζική παραγωγή των τροχοζώων.

Το ιστορικό της λειτουργίας της μονάδας μπορεί να διακριθεί σε τρεις περιόδους:

- Περίοδος 0 (ή προκαταρκτική φάση). Το διάστημα από 26/2/2010 έως 26/3/2010 κάποιο τρόπο αποτέλεσε μία περίοδο εκμάθησης της συγκεκριμένης παραγωγικής διαδικασίας. Η μέθοδος μαζικής παραγωγής σε παρτίδες που επιλέχτηκε να ακολουθηθεί δεν απέδωσε, καθώς οι προβλέψεις της πορείας των καλλιεργειών, πάνω στις οποίες στηρίζεται η λειτουργία αυτού του πρότυπου παραγωγής, δεν επαληθεύονταν.
- Η Περίοδος 1 ξεκίνησε με την επαναλειτουργία της αίθουσας μετά τις διακοπές του Πάσχα και διήρκεσε είκοσι περίπου ημέρες. Συνεχίστηκε η λειτουργία του ίδιου μοντέλου παραγωγής με καλλιέργειες διατρεφόμενες με τα μικροφύκη *N. occulata* και *T. suescica*, τα οποία παράγονταν στο εργαστήριο και συμπυκνωμένη *Chorella* του εμπορίου σε παράλληλες καλλιέργειες. Όμως η εφαρμογή του πρότυπου παραγωγής τροχοζώων σε παρτίδες εξακολουθούσε να είναι ιδιαίτερα προβληματική. Επιχειρήθηκε λοιπόν μία αλλαγή της μεθόδου, υιοθετώντας ένα διαφορετικό μοντέλο ημισυνεχούς παραγωγής τροχοζώων.

- Κατά την Περίοδο 2, το ¼ του όγκου όλων των καλλιεργειών συλλεγόταν καθημερινά και μετά τον καθαρισμό του (φιλτράρισμα), συνιστούσε την ημερήσια παραγωγή της κάθε δεξαμενής. Στη δεξαμενή προσθετόταν ίσος όγκος καλλιέργειας μικροφυκών ή διαλύματος συμπυκνωμένης *Chorella*, ανάλογα με τη διατροφή της. Στη διάρκεια αυτής της περιόδου συγκρίναμε τις αποδόσεις των καλλιεργειών των τροχοζώων ανάλογα με τα προσφερόμενα διατροφολόγια.

3.4 Παρακολούθηση Φυσικοχημικών Παραμέτρων

Σε καθημερινή βάση γινόταν έλεγχος και καταγραφή των βασικών φυσικοχημικών παραμέτρων στο μέσο της καλλιέργειας και συγκεκριμένα του οξυγόνου (O_2 , ppm) της αλατότητας (S, ‰) της θερμοκρασίας (T, °C) και pH. Για τις μετρήσεις των παραπάνω παραμέτρων του νερού των καλλιεργειών χρησιμοποιήθηκε ο ακόλουθος εξοπλισμός (Εικόνα 1):

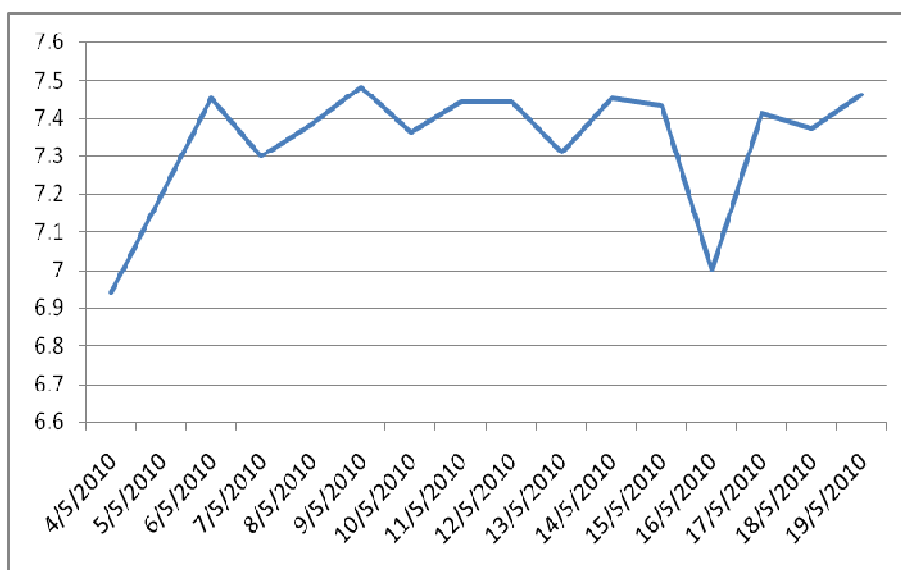
- Για τον έλεγχο της θερμοκρασίας, θερμόμετρο ακριβείας 0,5 °C.
- Για τον έλεγχο του pH, φορητό pH-μετρο (Russel, Type No.RLS010, SER. No. R-9450/1, Εικόνα 1).
- Για τον έλεγχο της περιεκτικότητας του νερού σε O_2 , φορητό οξυγονόμετρο (Τύπου Oxygard, Handy Alpha, Εικόνα 1).
- Για τον έλεγχο της αλατότητας, φορητό διαθλασίμετρο (Atago hand refractometer, S/Mill-E, Salinity 0-100‰, Εικόνα 1)



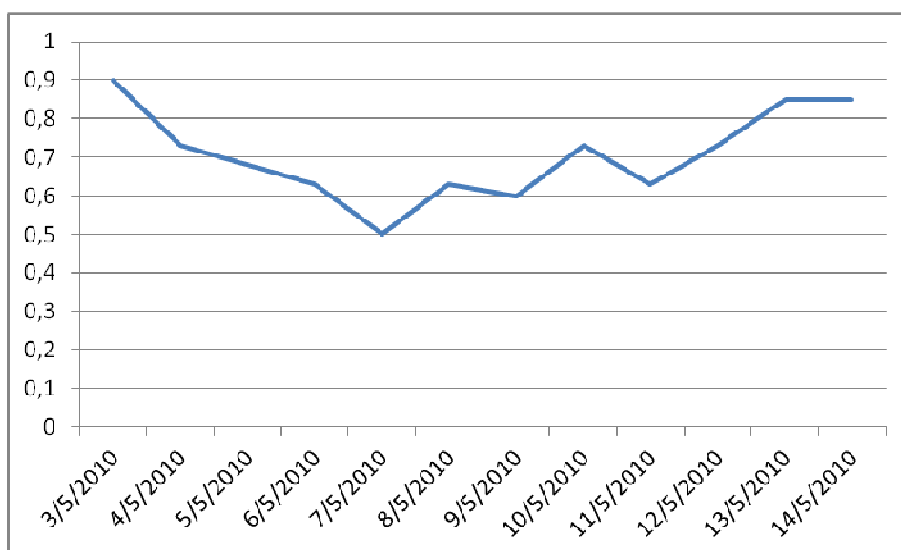
Εικόνα 1. Από αριστερά: οξυγονόμετρο , pH-μετρο και διαθλασίμετρο.

Επίσης μια φορά την εβδομάδα γίνονταν μετρήσεις αμμωνίας, νιτρικών και νιτρωδών με την χρήση ειδικών tests του εμπορίου. Οι μετρήσεις αυτών των παραμέτρων γίνονταν σε καθημερινή βάση κατά την περίοδο της καλλιέργειας με την ημισυνεχή μέθοδο (Περίοδος 2).

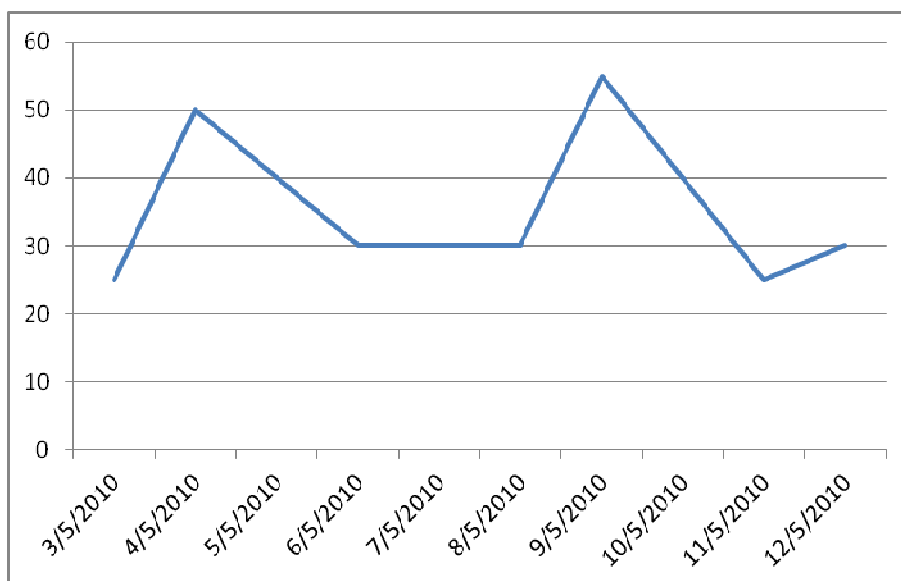
Στα παρακάτω σχήματα (Εικόνες 2, 3, 4, 5) φαίνεται πως κυμάνθηκαν κατά τον χρόνο της εκτροφής με την ημισυνεχή μέθοδο οι τιμές κάποιων βασικών παραμέτρων στις καλλιέργειες των τροχοζώων.



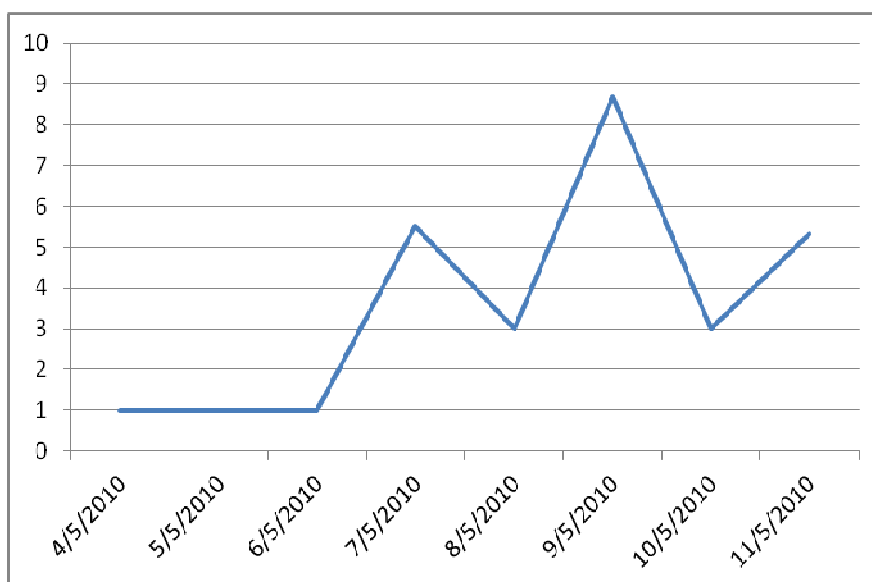
Εικόνα 2. Διάγραμμα των τιμών pH (ppm).



Εικόνα 3. Διάγραμμα των τιμών αμμωνίας (ppm).



Εικόνα 4. Διάγραμμα των τιμών νιτρικών (ppm).



Εικόνα 5. Διάγραμμα των τιμών νιτρικών (ppm).

3.5 Καθαρισμοί και μεταφορές τροχοζώων

Ο καθαρισμός των καλλιέργειών γινόταν σε καθημερινή βάση στις δεξαμενές των 10L με την διαδικασία του flashing πριν από οποιοδήποτε χειρισμό, ενώ στις καλλιέργειες όγκου 5L και κάτω γινόταν καθαρισμός και φιλτράρισμα όταν αυτές άλλαζαν όγκους από 5 σε 10 L.

Οι μεταφορές των τροχοζώων ακολουθούσαν την παρακάτω διαδικασία: όταν η καλλιέργεια έφτανε σε έναν επιθυμητό όγκο μεταφέρονταν σε δοχείο μεγαλύτερου όγκου, αφού πρώτα φιλτραριζόταν σε ειδικά φίλτρα, ώστε να κατακρατηθούν όλα έκτος από τα τροχοζώα, τα οποία και μεταφέρονταν στην επόμενη καλλιέργεια. Πριν τη μεταφορά ακολουθούσε η εξής διαδικασία: πέντε λεπτά πριν τον σιφωνισμό, ο αερισμός της καλλιέργειας σταματούσε, επιτυγχάνοντας μέσω της ηρεμίας, την καθίζηση των αποβλήτων, τα οποία και απομακρύνονταν από το κάτω μέρος της δεξαμενής μετά το άνοιγμα ειδικής βάνας.

3.6 Μαζικές καλλιέργειες

Αναδημιουργία starter τροχοζώων στο εργαστήριο με τοποθέτηση σε φιάλη 500ml αρχικά 150-200 τροχοζώων (100 ml) μετά από φιλτράρισμα (155μ) και 100 ml φυτοπλακτού. Ημερήσιο τάισμα καλλιέργειας με 100 ml φυτοπλακτονικού είδους (*T. suesica*). Η διάρκεια παραμονής της καλλιέργειας ήταν τρεις ημέρες με αερισμό. Την τρίτη ημέρα γίνονταν ανανέωση καλλιέργειας μετά από φιλτράρισμα (155μ και 52μ) και εισαγόταν σε φιάλη των 5L και συγκεκριμένα τοποθετούταν ποσότητα 1L τροχοζώων και 1L φυτοπλακτονικών οργανισμών *T.suesica*. Ημερήσιο τάισμα καλλιέργειας με 1L φυτοπλακτονικού είδους (*T. suesica*). Η περίοδος που παρέμενε η καλλιέργεια στην φιάλη των 5L ήταν 3 ημέρες (από το μεσημέρι της πρώτης ημέρας μέχρι το μεσημέρι της τέταρτης ημέρας μετά από τάισμα) και μετά γινόταν φιλτράρισμα (155μ και 52μ). Στη συνέχεια γινόταν εισαγωγή των τροχοζώων σε φιάλη 10L με αερισμό. Ο αρχικός όγκος ήταν 1L μετά από το φιλτράρισμα. Στη συνέχεια, ημερησίως γινόταν προσθήκη 1,5-2L φυτοπλακτού και η καλλιέργεια διαρκούσε τρεις ημέρες. Η παραπάνω περιγραφόμενη μέθοδος παραγωγής τροχοζώων σε παρτίδες εφαρμόστηκε κατά τη διαδικασία ανεβάσματος των καλλιέργειών (Περίοδοι 0 και 1).

Στη συνέχεια (Περίοδος 2) εφαρμόστηκε η ημισυνεχής μέθοδος καλλιέργειας των τροχοζώων. Οι καλλιέργειες των φιαλών των 10L φιλτράρονταν σε φίλτρα διαμέτρου 195-55μ. Η φιλτραρισμένη ποσότητα τροχοζώων τοποθετούνταν σε δεξαμενές των 12L. Η διαδικασία που προηγείτο πριν την τοποθέτηση της φιλτραρισμένης ποσότητας τροχοζώων ήταν η εξής: τοποθετούνταν η ποσότητα της τροφής ή του μίγματος της τροφής, καθώς και κατάλληλη ποσότητα νερού, εισαγόταν ο θερμοστάτης (αφού είχε ρυθμιστεί έτσι ώστε η δεξαμενή να έχει θερμοκρασία στους 28⁰C) καθώς και ο αερισμός. Εισάγονταν τα τροχοζώα αφού είχε προηγηθεί η καταμέτρηση του πληθυσμού του δείγματος, ώστε να γίνει η παρακολούθηση της ανάπτυξης των τροχοζώων με βάση την πληθυσμιακή αύξηση σε ημερήσιο επίπεδο. Ο τελικός όγκος ήταν 10L. Τις επόμενες ημέρες αφαιρούταν ένας όγκος νερού με τροχοζώα (με φιλτράρισμα) καθώς και ένας όγκος νερού με κατάλοιπα (από το κάτω μέρος της δεξαμενής) και γινόταν πλήρωση του όγκου μέχρι τα 10L με καλλιέργεια φυτοπλαγκτού κάθε πρωί (το αργότερο μέχρι τις 12:00). Στις δεξαμενές που χορηγήθηκε πάστα (Chlorella) ως τροφή εισάγονταν 5-7L νερού αλατότητας 20‰ και χορηγούνταν η ημερήσια ποσότητα τροφής σε μορφή πάστας, τοποθετούνταν ο αερισμός και ο θερμοστάτης και τέλος εισάγονταν τα φιλτραρισμένα τροχοζώα στη δεξαμενή και γινόταν η πλήρωση της μέχρι τον όγκο των 10L. Τις επόμενες ημέρες γινόταν χορήγηση της τροφής σε μορφή πάστας (περίπου 4ml) το πρωί και προσθήκη νερού για την αντιστάθμιση του όγκου της καλλιέργειας που απομακρυνόταν ημερησίως. Ο τύπος της καλλιέργειας ήταν ημισυνεχής που προαπαιτεί την πλήρωση του τελικού όγκου στα 10L και την κατάλληλη πληθυσμιακή αύξηση ώστε να μπορεί να εφαρμοστεί αυτός ο τύπος καλλιέργειας. Σε όλες τις καλλιέργειες των τροχοζώων γινόταν κάθε απόγευμα προσθήκη 2ml πάστας ανεξαρτήτως του διατροφολογίου.

Συνοπτικά αναφέρεται ότι οι όγκοι των καλλιεργειών ξεκινούσαν από τα 500ml > 1000ml > 5000ml > 10000ml (μέθοδος σε παρτίδες) μετέπειτα μεταφερόντουσαν στις τελικές δεξαμενές 12L (ωφέλιμου όγκου 10L), όπου και γινόταν η τελική εκτροφή τους (ημισυνεχής μέθοδος).

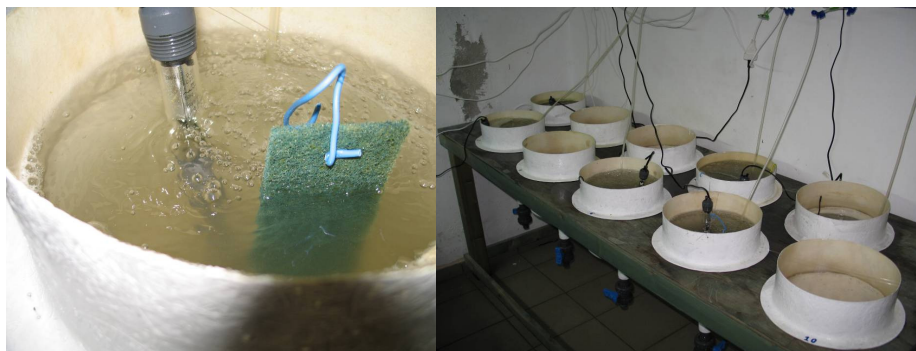
3.7 Λειτουργία δεξαμενής καλλιέργειας τροχοζώων με την ημισυνεχή μέθοδο

Στις τελικές δεξαμενές 12L (ωφέλιμου όγκου 10L) γίνονταν έλεγχος του πληθυσμού και καταμέτρηση του σε καθημερινή βάση.

Λαμβάνονταν το ¼ του όγκου των δεξαμενών φιλτράρονταν τα τροχοζώα και συμπληρωνόταν η απαραίτητη ποσότητα τροφής σε κάθε δεξαμενή (φυτοπλαγκτό ή πάστα Chlorella). Η συνολική ποσότητα των φιλτραρισμένων τροχοζώων τοποθετούνταν σε καινούργια δεξαμενή με τροφή εμπλουτισμού προκειμένου να αποτελέσουν την τροφή των ιχθυδίων. Οι μετρήσεις φυσικοχημικών παραμέτρων και η διαδικασία παραγωγής έχουν περιγραφεί παραπάνω. Μετά την πάροδο κάποιων ημερών, αν οι αποδόσεις δεν ήταν ικανοποιητικές οι καλλιέργειες απομακρύνονταν και αντικαθίσταντο με καινούργιες.

Ο τύπος της ημισυνεχούς μεθόδου καλλιέργειας που εφαρμόστηκε προσαρμόστηκε ανάλογα με τις δυνατότητες του συστήματος μας. Το ποσοστό ημερήσιας ανανέωσης ήταν το 25% του όγκου των δεξαμενών μας (2,5 L ημερησίως). Μετά την απομάκρυνση του 25% γίνονταν πλήρωση του όγκου των δεξαμενών με την ανάλογη ποσότητα τροφής.

Ο εξοπλισμός της δεξαμενής αποτελούταν από: θερμοστάτη, σωληνάκι αερισμού που κατέληγε σε πέτρα αερισμού καθώς επίσης και βακτηριοστατικές παγίδες.



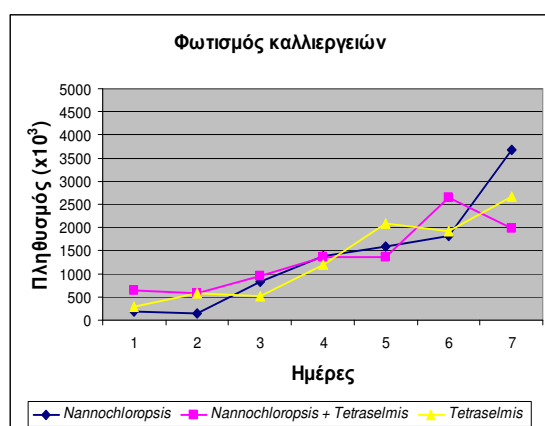
Εικόνα 6. Δεξαμενές καλλιέργειας τροχοζώων με την ημισυνεχή μέθοδο.

4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

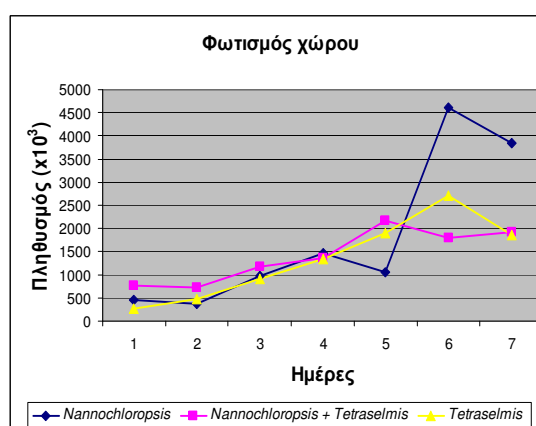
4.1 Επίδραση της διατροφής και του φωτισμού του χώρου στις μαζικές καλλιέργειες τροχοζώων

Στα γραφήματα 7(1) και 7(2) παρουσιάζεται η εξέλιξη του πληθυσμού (αριθμός ατόμων) στις καλλιέργειες των τροχοζώων σε παρτίδες σε φιάλες 10 L (ωφέλιμος όγκος 9 L), στις οποίες δοκιμάστηκαν τρία διαφορετικά διατροφολόγια σε συνθήκες άμεσου και έμμεσου φωτισμού.

(1)



(2)



Εικόνα 7. Γραφήματα της εξέλιξης του πληθυσμού των τροχοζώων κατά τη διάρκεια 7 ημερών καλλιέργειας σε φιάλες 10L με χρήση τριών διαφορετικών διατροφολογίων: *N. occulata*, $\frac{1}{2}$ *N. occulata* και $\frac{1}{2}$ *T. suescica* και *T. suescica*. (1) Αριστερά, συστοιχία φιαλών τοποθετημένων σε ράφια εφοδιασμένα με λαμπτήρες φθορισμού. (2) Δεξιά, συστοιχία φιαλών, τοποθετημένων στην αίθουσα, χωρίς άμεσο φωτισμό.

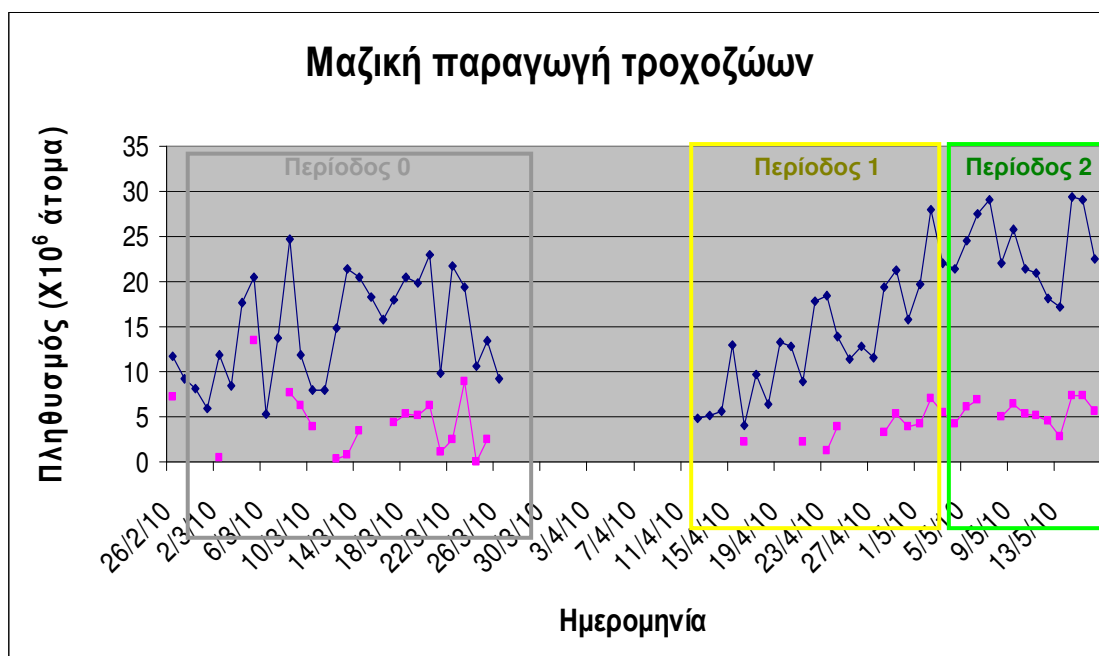
Από την ανάγνωση των γραφημάτων διαπιστώνεται ότι, στις συνθήκες του εργαστηρίου μας, κανένας συνδυασμός φωτισμού - διατροφής δεν παρουσιάζει κάποιο σαφές πλεονέκτημα, ώστε να προκρίνεται ως διαχειριστική επιλογή κατά τις διαδικασίες ανεβάσματος καλλιεργείων τροχοζώων. Εξαιρουμένης της φιάλης που διατρέφονταν με *Nannochloropsis occulata* σε συνθήκες έμμεσου φωτισμού, της μοναδικής που έφθασε σε τελικό πληθυσμό τα 4,6 εκατομμύρια άτομα (τελική πυκνότητα 512 τροχοζώων ανά ml), όλες οι υπόλοιπες καλλιέργειες έφθασαν σε τελικούς πληθυσμούς της τάξης των 1,5 έως 2,5 εκατομμυρίων τροχοζώων, που αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις της τάξης των 170 έως 280 τροχοζώων ανά ml.

Όσο χρήσιμη και να είναι αυτή η διαπίστωση, για την εκπλήρωση του σκοπού για τον οποίο έγινε η συγκεκριμένη δοκιμή, γεγονός είναι ότι τα συμπεράσματά μας δεν προσφέρονται για παραπέρα ανάλυση, καθώς:

- Οι αρχικές πυκνότητες τροχοζώων διέφεραν από φιάλη σε φιάλη (59 έως 258 τροχοζώα ανά ml),
- αν και κλιματιζόμενος ο χώρος που αναπτύχθηκαν οι καλλιέργειες, εκείνες με τον άμεσο φωτισμό εξελίχτηκαν κάτω από ελαφρά μεγαλύτερες θερμοκρασίες από τις αντίστοιχες σε φωτισμό χώρου και τέλος,
- ο σχεδιασμός του πειράματος δεν περιλάμβανε καμία επανάληψη.

4.2 Διαχείριση καλλιεργειών παραγωγής τροχοζώων

Η λειτουργία του χώρου μαζικής παραγωγής των τροχοζώων στη διάρκεια των περιόδων 0, 1 και 2 συνοψίζεται στην Εικόνα 8, όπου παρουσιάζεται η εξέλιξη του συνολικού πληθυσμού των τροχοζώων και της αντίστοιχης ημερήσιας παραγωγής της αίθουσας.



Εικόνα 8. Εξέλιξη του συνολικού πληθυσμού των τροχοζώων (μπλε σημεία) και της αντίστοιχης παραγωγής (ρόζ σημεία) στο χώρο μαζικής τους καλλιέργειας κατά τη διάρκεια της παρούσας εργασίας (περίοδοι 0, 1 και 2, βλ. 3.3).

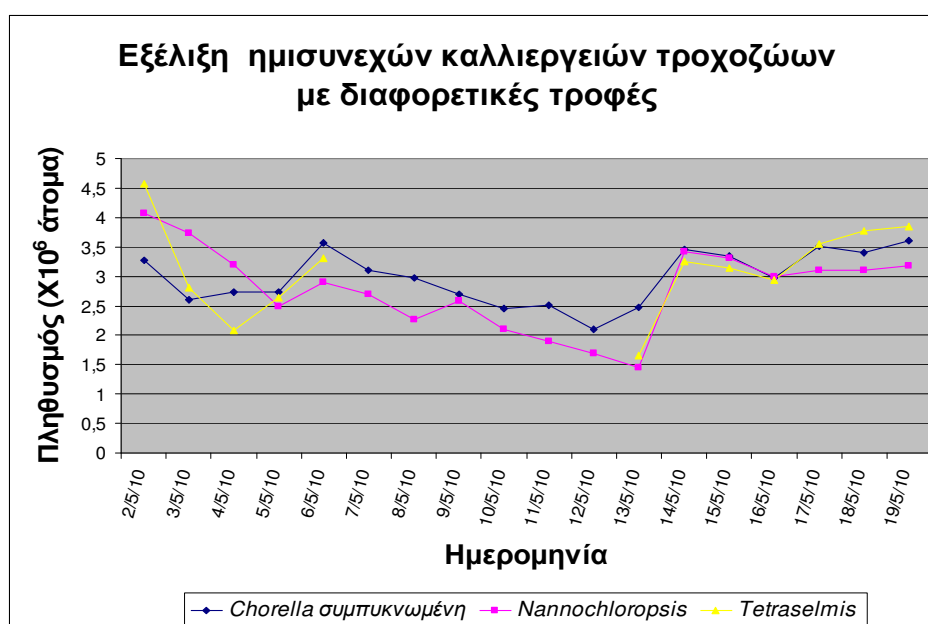
- Κατά την περίοδο 0 (26/2/2010 έως 26/3/2010) υπήρξαν έντονες διακυμάνσεις του συνολικού πληθυσμού και της παραγωγής τροχοζώων. Η μέθοδος μαζικής παραγωγής σε παρτίδες που επιλέχτηκε να ακολουθηθεί δεν απέδωσε, καθώς οι προβλέψεις της πορείας των καλλιεργειών, πάνω στις οποίες στηρίζεται η λειτουργία αυτού του πρότυπου παραγωγής, δεν επαληθεύονταν. Διαπιστώθηκαν προβλήματα θερμοκρασίας του χώρου λόγω των έντονων διακυμάνσεων της θερμοκρασίας της ατμόσφαιρας σε αυτή την περίοδο του τέλους του χειμώνα, καθώς και δικά μας προβλήματα δειγματοληψίας και σωστής εκτίμησης των συγκεντρώσεων των καλλιεργειών.
- Κατά την Περίοδο 1 οι κλιματικές συνθήκες που επικράτησαν ήταν καλές και σχετικά, σταθερές και δεν παρουσιάστηκαν προβλήματα στις θερμοκρασίες των καλλιεργειών. Παράλληλα, η εμπειρία που αποκτήθηκε, οδήγησε σε καλύτερη διαχείριση συνολικά, γεγονός που βοήθησε στην ανοδική πορεία του συνολικού πληθυσμού της αΐθουσας καλλιέργειας (Εικόνα 8)¹. Σε αυτή την περίοδο όμως, παρουσιάστηκαν σοβαρά προβλήματα στην παραγωγή των μικροφυκών, κάτι που δεν επέτρεψε τη συλλογή επαρκών στοιχείων για συγκρίσεις μεταξύ των διαφόρων διατροφολογίων. Επίσης, οι διακυμάνσεις των πληθυσμών εξακολούθησαν να είναι ιδιαίτερα έντονες και απρόβλεπτες, με αποτέλεσμα η εφαρμογή του πρότυπου παραγωγής τροχοζώων σε παρτίδες να είναι ιδιαίτερα προβληματική.
- Όπως προαναφέραμε, κατά την περίοδο 2, το ¼ του όγκου όλων των καλλιεργειών αντικαθιστούνταν με ίσο όγκο καλλιέργειας μικροφυκών ή διαλύματος συμπυκνωμένης *Chlorella*, ανάλογα με τη διατροφή. Αυτό γινόταν ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση των τροχοζώων της καλλιέργειας και έτσι η διαχείριση δεν επηρεάζονταν πλέον από πιθανές αστοχίες στην εκτίμηση των πληθυσμών. Στο διάστημα 7 έως 12/5/2010, παρουσιάστηκαν προβλήματα στην παραγωγή της *T. suescica*. Πάντως, στη διάρκεια των 17 αυτών ημερών οι πληθυσμοί σταθεροποιήθηκαν σε υψηλά επίπεδα και έτσι μπορέσαμε πράγματι να καταλήξουμε σε μία ευχερή διαχείριση των καλλιεργειών και σε μία αξιόπιστη μέθοδο παραγωγής, ώστε να εκτιμήσουμε τις δυνατότητες του χώρου και να συγκρίνουμε τα διατροφολόγια.

¹ Καθώς και στην εξασφάλιση των απαιτήσεων σε τροχοζώα των εκτροφών ιχθυονυμφών, οι οποίες διεξάχθηκαν παράλληλα σε άλλο χώρο του εργαστηρίου.

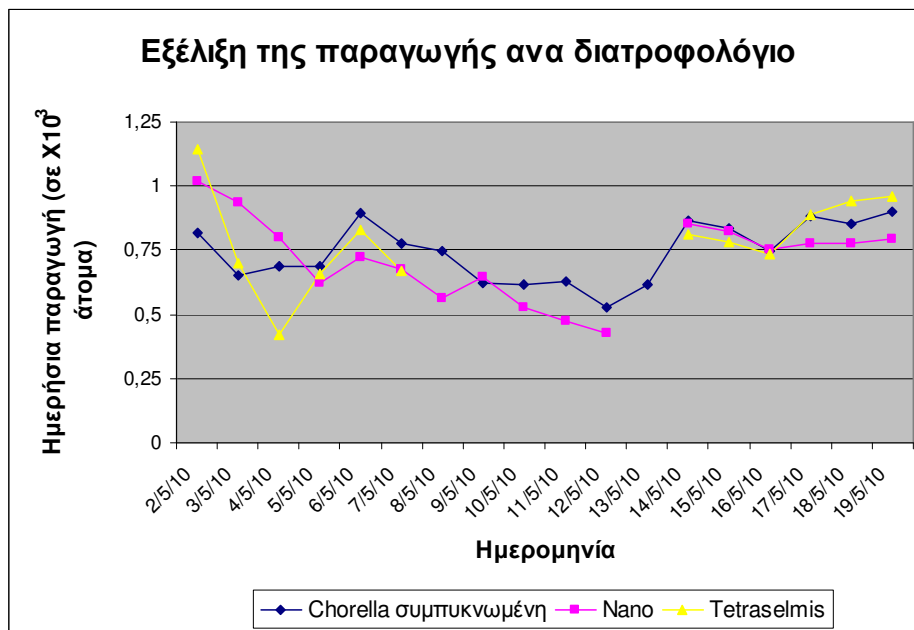
Η σύγκριση αυτή φαίνεται στην Εικόνα 9 που παρουσιάζει την εξέλιξη του μέσου ημερήσιου πληθυσμού τροχοζώων ανά διατροφολόγιο και ανά δεξαμενή καλλιέργειας κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου. Η Εικόνα, 10 που παρουσιάζει την εξέλιξη της μέσης ημερήσιας παραγωγής τροχοζώων ανά διατροφολόγιο και ανά δεξαμενή καλλιέργειας κατά τη διάρκεια της ίδιας περιόδου, ουσιαστικά δεν δίνει διαφορετική πληροφορία καθώς η ημερήσια παραγωγή αντιστοιχεί στο ¼ του συνολικού πληθυσμού των καλλιεργειών.

Από την ανάγνωση των αποτελεσμάτων είναι φανερό πώς το είδος της τροφής δεν επηρέασε την απόδοση των καλλιεργειών. Μπορούμε λοιπόν να συμπεράνουμε ότι, με την εφαρμογή αυτής της μεθόδου, ο μέσος πληθυσμός της κάθε δεξαμενής κυμαίνεται στα $2,94 \pm 0,65$ εκατομμύρια άτομα, ενώ η ημερήσια παραγωγή της στα 746 ± 169 χιλιάδες άτομα.

Αυτό σημαίνει ότι στις 8 δεξαμενές ωφέλιμης χωρητικότητας 10 L, μπορούμε, με αυτή τη μέθοδο, να καλλιεργούμε $23,5 \pm 5,2$ εκατομμύρια άτομα, τα οποία μας αποδίδουν καθημερινά $5,9 \pm 1,4$ εκατομμύρια άτομα. Αυτή η ημερήσια παραγωγή, μετά τον καθαρισμό της μπορεί να στοκαριστεί προς εμπλουτισμό σε δύο ίδιες δεξαμενές, σε συγκεντρώσεις της τάξης των 300 τροχοζώων ανά ml, κάτι που θεωρείται ασφαλές καθώς η επιβίωσή τους δεν απαιτεί κάτι παραπάνω από το συνήθη αερισμό του μέσου.



Εικόνα 9. Εξέλιξη του μέσου ημερήσιου πληθυσμού τροχοζώων σε καλλιέργεια με ημισυνεχή μέθοδο ανά διατροφολόγιο κατά τη διάρκεια της Περιόδου 2.



Εικόνα 10. Εξέλιξη της μέσης ημερήσιας παραγωγής τροχοζώων σε καλλιέργεια με ημισυνεχή μέθοδο ανά διατροφολόγιο κατά τη διάρκεια της περιόδου 2.

Με αυτά τα τροχόζωα μπορούμε να εξασφαλίσουμε τη μέγιστη κατανάλωση² εκτροφών ιχθυονυμφών τσιπούρας, συνολικού όγκου 350 περίπου λίτρων ή 35000 περίπου νυμφών από 20^η έως 23^η ημέρα από την εκκόλαψη. Αυτές οι εκτιμήσεις ικανοποιούν πλήρως τις ανάγκες των σχετικών εγκαταστάσεων του Εργαστηρίου Θαλασσοκαλιεργειών του ΤΕΙ Ηπείρου.

² 17 εκατομμύρια άτομα ανά m³, από 20^η έως 23^η ημέρα από την εκκόλαψη (πρωτόκολλο INVE S.A.).

6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Στις συνθήκες του εργαστηρίου μας, κανένας συνδυασμός έμμεσου ή άμεσου φωτισμού και διατροφής δεν παρουσιάζει κάποια σαφή διαφορά στην απόδοση των καλλιεργειών των τροχοζώων κατά τη φάση του ανεβάσματός τους (μέθοδος καλλιέργειας σε παρτίδες).
2. Το είδος της μικροφυτοπλαγκτικής τροφής, σε συνθήκες ημισυνεχούς καλλιέργειας δεν επηρεάζει την παραγωγή των δεξαμενών των τροχοζώων.
3. Στις εγκαταστάσεις μας, με την εφαρμογή της μεθόδου ημισυνεχούς καλλιέργειας, ο μέσος πληθυσμός τροχοζώων της κάθε δεξαμενής ωφέλιμου όγκου 10 L κυμαίνεται στα $2,94 \pm 0,65$ εκατομμύρια άτομα και η ημερήσια παραγωγή της στα 746 ± 169 χιλιάδες άτομα. Έτσι, στις 8 δεξαμενές ωφέλιμης χωρητικότητας 10L, μπορούμε, με τη μέθοδο της ημισυνεχούς καλλιέργειας, να καλλιεργούμε $23,5 \pm 5,2$ εκατομμύρια άτομα, τα οποία μας αποδίδουν καθημερινά $5,9 \pm 1,4$ εκατομμύρια άτομα.
4. Η ημερήσια παραγωγή, μετά τον καθαρισμό της μπορεί να στοκαριστεί προς εμπλουτισμό σε συγκεντρώσεις της τάξης των 300 τροχοζώων ανά ml.
5. Με την ημερήσια παραγωγή της αίθουσας, καλύπτονται οι μέγιστες ανάγκες εκτροφής 35000 περίπου νυμφών τσιπούρας (από 20^η έως 23^η ημέρα από την εκκόλαψη).

7 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Barnes R.D. (1987). Invertebrate Zoology, 5th edition. Saunders College Publishing, USA, 893pp.
- Goutteau P. & Sorgeloos P. (1997). Manipulation of dietary lipids, fatty acids and vitamins in zooplankton cultures. *Freshwater Biol.* 38:501-512.
- Ciros-Perez J., Gómez A. & Serra M. (2001). On the taxonomy of three sympatric sibling species of the *Brachionus plicatilis*. (Rotifera) complex from Spain, with the description of *B. ibericus* n. sp. *J. Plankton Res.* 23:1311-1328.
- Dhert P., Rombaut G., Suantika G. & Sorgeloos P. (2001). Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture* 200: 129-146.
- Fu Y., Hirayama & Natsuraki Y. (1991a). Morphological differences between two types of the rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Müller. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 151:29-41.
- Fu Y., Hirayama & Natsuraki Y. (1991b). Genetic divergence between S and L type strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. O.F. Müller. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 151:43-56.
- Gómez A. (2005). Molecular ecology of rotifer: from population differentiation to speciation. *Hydrobiologia* 546:83-99.
- Gómez A. & Serra M. (1995). Behavioral reproductive isolation among sympatric strains of *Brachionus plicatilis*. Müller 1786: insights into the status of this taxonomic species. *Hydrobiologia* 313/314:111-119.
- Gómez A., Temprano M. & Serra M. (1995). Ecological genetics of a cyclical parthenogen in temporary habitats. *J. Evol. Biol.* 8: 601-622.
- Gómez A., Carmora M.J. & Serra M. (1997). Ecological factors affecting gene flow in the *Brachionus plicatilis* complex (Rotifera). *Oecologia* 111: 350-356.
- Gómez A., Serra M., Carvalho G.R. & Lunt D.H. (2002). Speciation in ancient cryptic species complexes: evidence from the molecular phylogeny of *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Evolution* 56:1431-1444.
- Hirata H. (1980). Culture methods of the marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Min. Res. Data File Fish. Res.* 1:27-46.

- Koste W. (1978). Rotaria. Die Rädertiere Mitteleuropas. 2 vols, Gebrüder borntraeger, Berlin, Stuttgart, West Germany, 670+235 pp.
- King C.E. & Schonfeld J. (2001). The approach to equilibrium of multilocus genotype diversity under clonal selection and cyclical parthenogenesis. *Hydrobiologia* 446/447:323-331.
- Kostopoulou V. & Vadstein O. (2007). Growth performance of the rotifers *Brachionus plicatilis*, *B. 'Nevada'* and *B. 'Cayman'* under different food concentrations. *Aquaculture* 273:449-458.
- Κοστοπούλου Β., Βασιλάκης Μ., Divanach P. (2010). Μαζική παραγωγή τροχοζώων με τη χρήση ημισυνεχούς συστήματος και αυτόματη χορήγηση τροφής. Πρακτικά 14^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Ιχθυολόγων.
- Κοστοπούλου Β. (2007). Δυναμική πληθυσμών και στρατηγική αναπαραγωγής του Τροχοφόρου *Brachionus* βιότυπου 'Nevada' σε σχέση με την τροφή. Διδακτορική Διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 192 σελ.
- Lubzens E. (1981). Rotifer resting eggs and their application to marine aquaculture. *Eur. Maricult. Soc.* 6: 163-179.
- Lubzens E. (1989). Possible use of rotifer resting eggs and preserved live rotifers (*Brachionus plicatilis*) in aquaculture. In: De Pauw N., Jaspers E., Ackefors H.& Wilikins N.(Eds), *Aquaculture-A biotechnology in progress*. *Eur. Aquacult. Soc.*, Bredene, Belgium, pp. 741-750.
- Lubzens E., Zmora O. & Barr Y. (2001). Biotechnology and aquaculture. *Hydrobiologia* 186/187:387-400.
- Lubzens E., Minkoff G., Barr Y. & Zmora O. (1997). Mariculture in Israel-past achievements and future directions in raising rotifers as food marine fish larvae. *Hydrobiologia* 358:13-20.
- Moretti A., Pedini Fernandez-Criado M., Cittolin G.& Guidastrì R. (1999). Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream, Vol. 1. FAO, Rome, 194 pp.
- Müller O.F. (1786). *Animalcula infusoria fluviatilia et marina, qua defix, systematice descripsit et ad vivum delineari curavit ... sistit opus hoc posthumum quod cum*

tabulis aeneis L. in lucern tradit vidua ejus nobilissima, cura Othonis Fabricii. Haunia; I-LVI +1-367.

Nogrady T., Wallace R.L. & Snell T.W. (1993). Rotifera, Volume 1: Biology, Ecology and Systematics. In: Dumont H. J.F (Co-ordinating Ed), Guides to the identification of microinvertebrates of continental waters of the world. Vol.4 SPB Academic Publishing, The Netherlands, 142pp.

Ortells R., Snell T.W., Gómez A. & Serra M. (2000). Patterns of genetic differentiation in resting egg banks of a rotifer species complex in Spain. Arch. Hydrobiol. 149:529- 551.

Pennak R.W. (1989). Freshwater invertebrates of the United States, 3rd ed., John Wiley and Sons. New York, USA, 656pp.

Runttner-Kolisko A. (1974). Plankton rotifers: biology and taxonomy. Die Binnengewasser Vol.XXVI/1. Stuttgart, 146pp.

Segers H. (1995). Nomenclatural consequences of some recent studies on *Brachionus plicatilis* (Rotifera, Brachionidae). Hydrobiologia 313/314:121-122.

Serra M., Galiana A. & Gomez A. (1997). Speciation in monogonont rotifers. Hydrobiologia 358:63-70.

Serra M., Gomez A & Carmona M.J. (1998). Ecological genetics of *Brachionus* sympatric sibling species. Hydrobiologia 387/388:373-384.

Sudzuki M. (1995). Taxonomy of *Brachionus plicatilis* and its related groups. I Discussion and considerations on the papers before 1925. Obun Ronso 40:1-21.

Sudzuki M. (1996). Taxonomy of *Brachionus plicatilis* and its related groups. II. Discussion and considerations on the papers during 1926-1952. Obun Ronso 42: 1-22.

Walker K.F. (1981). A synopsis of ecological information on the saline lake rotifer *Brachionus plicatilis* Müller 1786. Hydrobiologia 81:159-167.

Wallace R.L & Snell T.W. (1991). Rotifera. In: Thorpe J.H. & Covich A.P. (Eds), Ecology and classification of North American freshwater invertebrates. Academic Press, New York, pp.187-248.

Μετασχηματισμός	Δείκτης	Μήνισ	ημέρα κύκλου	όγκος	rot/ml	αυτά (%)	πυκνότητα	χλωρίδα	τροφή	Ποσότητα	Παραγωγή	Αύξηση (%)	Άλλη Παράδοση	Παρατηρήσεις	επίπεδο μολύνσεων	επίπεδο μολύνσεων	Μ/Μ	pH
03/03/2010	R8	10	2	5	210	10	0	1,05	Tetrazelimis	5,0								
03/03/2010	R9	3	1	5			0	0,78	Ουράλια υάκια	6								
03/03/2010	R10	10	2	5	196	20	0	1,82	Tetrazelimis	5,0					8,37	0,00		8,37
04/03/2010	R1	2	2	5	364	5,0	0	0,82	Tetrazelimis	4,5								
04/03/2010	R2	11	1	5			0	2,94	Ουράλια υάκια	4								
04/03/2010	R3	11	1	5			0	2,88	Ουράλια υάκια	4								
04/03/2010	R4	11	1	5			0	3,03	Ουράλια υάκια	2								
04/03/2010	R5	5	2	5	606	30	0	4,55	Tetrazelimis	4,5								
04/03/2010	R6	5	2	5	910	30	0	2,94	Tetrazelimis	4,5								
04/03/2010	R7	4	2	5	174	0	0	2,88	Tetrazelimis	4,5								
04/03/2010	R8	11	3	10	294	0	0	1,64	Tetrazelimis	4,5								
04/03/2010	R9	4	2	5	576	50	0	4,26	Tetrazelimis	4,5								
04/03/2010	R10	11	3	10	164	10	0	2,97	Ουράλια υάκια	4					17,73	0,00		17,73
05/03/2010	R1	3	3	10	426	60	0	0,61	Ουράλια υάκια	5,0								
05/03/2010	R2	12	2	5	594	20	0	0,85	Ουράλια υάκια	4								
05/03/2010	R3	12	2	5	122	0	0	2,72	Tetrazelimis	4,5								
05/03/2010	R4	12	2	5	170	0	0	2,36	Ουράλια υάκια	4,5								
05/03/2010	R5	6	3	10	272	40	0	3,48	Ουράλια υάκια	4,5								
05/03/2010	R6	6	3	10	236	40	0	0,63	Ουράλια υάκια	4,5								
05/03/2010	R7	5	3	10	348	0	0	2,66	Ουράλια υάκια	4,5								
05/03/2010	R8	1	1	5	126	0	0	2,66	Ουράλια υάκια	4,5								
05/03/2010	R9	5	3	10	266	50	0	2,66	Ουράλια υάκια	4,5								
05/03/2010	R10						0	2,84	Ουράλια υάκια	4								
06/03/2010	R1						0	2,97	Ουράλια υάκια	4								
06/03/2010	R2	4	2	10	216	40	0	0,61	Ουράλια υάκια	4								
06/03/2010	R3	7	2	10	172	20	0	0,85	Ουράλια υάκια	4								
06/03/2010	R4	6	2	5	146	10	0	2,72	Tetrazelimis	4,5								
06/03/2010	R5						0	2,36	Ουράλια υάκια	4,5								
06/03/2010	R6						0	3,48	Ουράλια υάκια	4,5								
06/03/2010	R7						0	1,16	Ουράλια υάκια	4,5								
06/03/2010	R8	2	2	5	136	0	0	2,66	Ουράλια υάκια	4,5								
06/03/2010	R9						0	2,66	Ουράλια υάκια	4,5								
06/03/2010	R10						0	2,66	Ουράλια υάκια	4,5								
07/03/2010	R1	5	1				0	4,32	Ουράλια υάκια	4								
07/03/2010	R2	5	3	10	432	0	0	4,32	Ουράλια υάκια	4								
07/03/2010	R3	5	3	10	437	40	0	4,37	Ουράλια υάκια	4								
07/03/2010	R4	7	3	8	344	40	0	2,75	Tetrazelimis	4,5								
07/03/2010	R5	5	1				0	2,75	Ουράλια υάκια	4								
07/03/2010	R6	5	1				0	2,75	Ουράλια υάκια	4								
07/03/2010	R7	5	1				0	2,30	Ουράλια υάκια	4								
07/03/2010	R8	3	3	8	268	40	0	2,30	Tetrazelimis	4,5								
07/03/2010	R9	7	3	8			0	2,30	Tetrazelimis	6								
07/03/2010	R10						0	2,30	Tetrazelimis	6								
08/03/2010	R1	6	2	5	234	50	0	1,17	Tetrazelimis	5								
08/03/2010	R2	6	4	10	200	20	0	2,00	Tetrazelimis	5								
08/03/2010	R3	9	4	10	520	50	0	5,20	Tetrazelimis	5								
08/03/2010	R4	8	4	10	42	0	0	0,42	Tetrazelimis	5								
08/03/2010	R5	6	2	5	154	10	0	0,77	Tetrazelimis	5								
08/03/2010	R6	6	2	5	174	5	0	0,87	Tetrazelimis	5								
08/03/2010	R7	6	2	5	178	5	0	0,89	Tetrazelimis	5								

Μεταγεννησία	Δεξαμενή	Μόλδα	Πυρήνα κλασίου	όγκος	rot/ml	συνήθ (%)	πυρήν (%)	κλιμακωτός	Τροφή	Ποσότητα	Παραγωγή	Αύξηση (%)	Άλλη Παρέμβαση	Παρατηρήσεις	αριθ. ελαφ. μερμεριών	τακτικός καθαρισμός	NH4	pH
23/03/2010	R8	3	3	10	288	17,36	0	2,88		3 Nano+ 2 liso				R8				
23/03/2010	R9						0							24oC				
23/03/2010	R10			8	348		0											
24/03/2010	R1	24	3	5	542	9,22	0	2,71	Tetraselmis	5					19,4	9,0	10,4	
24/03/2010	R2	7	3	10	284	10,56	0	2,84					Φαλτάρωμα	R3				
24/03/2010	R3	7	1	10			0		Ορεόλι σκωο	4								
24/03/2010	R4						0											
24/03/2010	R5	8	2	5	232	0	0	1,16	Tetraselmis	5								
24/03/2010	R6	4	2	10	396	7,57	0	3,96	Ορεόλι σκωο	6				24oC				
24/03/2010	R7						0			3 Nano+ 2 liso				24oC				
24/03/2010	R8						0			3 Nano+ 2 liso								
24/03/2010	R9						0											
24/03/2010	R10						0											
25/03/2010	R1	25	4	10	498	9,22	0	4,98	Tetraselmis	5		2,49					10,7	
25/03/2010	R2	9	1	5	800/444		0		Tetraselmis	3								
25/03/2010	R3	8	2	10	390	2,77	0	3,60	Ορεόλι σκωο	6								
25/03/2010	R4	5	1	10	800/266		0		Ορεόλι σκωο	4								
25/03/2010	R5	9	3	10	222	4,5	0	2,22	Tetraselmis	5			Φαλτάρωμα	R2				
25/03/2010	R6	5	3	10	266	0	0	2,66	Ορεόλι σκωο	6			Φαλτάρωμα	R4				
25/03/2010	R7			5	268	3,47	0			3 Nano+ 2 liso								
25/03/2010	R8			5	410	7,31	0			3 Nano+ 2 liso								
25/03/2010	R9						0			3 Nano+ 2 liso								
25/03/2010	R10						0											
26/03/2010	R1						0											
26/03/2010	R2	10	2	10	178	33,7	0	1,78	Ορεόλι σκωο	4								
26/03/2010	R3	9	3	10	262	0	0	2,62										
26/03/2010	R4	6	2	10	334	0	0	3,34	Ορεόλι σκωο	6								
26/03/2010	R5						0											
26/03/2010	R6	4	2	10	152	6,57	0	1,52	Ορεόλι σκωο	6								
26/03/2010	R7			5	168	0	0			3 Nano+ 2 liso								
26/03/2010	R8			5	200	10	0			3 Nano+ 2 liso								
26/03/2010	R9			10	296	20,27	0			3 Nano+ 2 liso								
26/03/2010	R10						0											
12/04/2010	R1	1	1	10	352	20	1	3,52	Ορεόλι σκωο	4					9,3	0,0	9,3	
12/04/2010	R2	1	1	5	276	40	1	1,38	Tetraselmis	3								
12/04/2010	R3						1											
12/04/2010	R4						1											
12/04/2010	R5						1											
12/04/2010	R6						1											
12/04/2010	R7						1											
12/04/2010	R8						1											
12/04/2010	R9						1											
12/04/2010	R10						1											
13/04/2010	R1	2	2	10	268	70	1	2,68	Ορεόλι σκωο	4								
13/04/2010	R2	2	2	5	198	10	1	0,99	Tetraselmis	3								
13/04/2010	R3	1	1	10	110	5	1	1,10	Ορεόλι σκωο	4								
13/04/2010	R4	1	1	5	90	20	1	0,45	Tetraselmis	3								
13/04/2010	R5						1											
13/04/2010	R6						1											
13/04/2010	R7						1											

Μπαρμπαρμίνια	Δεξαμενή	Μέγιστο	Πίεση	Απόκλιση	rot/m	αποστ.	πρόσθ.	αποστ.	Τροπή	Ποσότητα	Παραγωγή	Αύξηση (%)	Άλλη Παράβλεψη	Παρατηρήσεις	αποστ.	αποστ.	NH4	pH	
						(%)	ως	ως				(%)			μετρημένη	αποστ.			
13004/2010	R8						1												
13004/2010	R9						1												
13004/2010	R10						1												
14004/2010	R1	3	3	10	268	70	1	2,08	Ομοιά σπο	4			Συμπόσωση	1/2 R5 + 1/2 R6	5,2	0,0	5,2		
14004/2010	R2	3	3	10	198	10	1	1,98	Tetrazelimis	3			Συμπόσωση	R7					
14004/2010	R3	2	2	10	110	5	1	1,10	Ομοιά σπο	4									
14004/2010	R4	2	2	5	90	20	1	0,45	Tetrazelimis	3				-18% στο φιλτράρισμα					
14004/2010	R5	3	3	10	136	10	1	1,36	Tetrazelimis	3									
14004/2010	R6	3	3	5	166	10	1	0,63	Ομοιά σπο	4				4,2% στο φιλτράρισμα	0,586659				
14004/2010	R7	3	3	10	116	0	1	1,16	Ομοιά σπο	4									
14004/2010	R8						1												
14004/2010	R9						1												
14004/2010	R10	1	1	10	118	5	1	1,18	Ομοιά σπο	4									
15004/2010	R1	2	2	10	250	12	1	2,50	Ομοιά σπο	6					10,7	0,0	10,7		
15004/2010	R2	4	4	1	5		1		Tetrazelimis	4									
15004/2010	R3	3	3	10	198	2,5	1	1,98	Ομοιά σπο	6			Συμπόσωση	R8					
15004/2010	R4	3	3	10	208	30,3	1	2,08	Ομοιά σπο	6									
15004/2010	R5	4	2	10	418	4,78	1	4,18	Ομοιά σπο	6									
15004/2010	R6	4	2	5	140	0	1	0,70	Tetrazelimis	5									
15004/2010	R7	4	2	10	160	0	1	1,60											
15004/2010	R8	3	1	10	198	2,5	1		Ομοιά σπο	4									
15004/2010	R9						1												
15004/2010	R10						1												
16004/2010	R1	3	3	10	136	0	1	1,36			1,316		μέτωση		13,0	0,0	13,0		
16004/2010	R2	5	2	5	166	50	1	0,63	Ομοιά σπο	4									
16004/2010	R3	4	1	5	142*2	28,2	1		Tetrazelimis	3									
16004/2010	R4	4	4	10	142	28,2	1	1,42	Ομοιά σπο	6			Συμπόσωση	R3					
16004/2010	R5	5	3	10	162	22	1	1,62	Ομοιά σπο	6			Συμπόσωση	R7					
16004/2010	R6	5	3	10	84	11,9	1	0,84	Ομοιά σπο	6		0,64	μέτωση						
16004/2010	R7	5	3	10	162	22	1		Ομοιά σπο	4				0					
16004/2010	R8	4	2	10	162	22	1	1,62	Ομοιά σπο	4									
16004/2010	R9						1												
16004/2010	R10						1												
17004/2010	R1	6	1	10	250		1		Ομοιά σπο	4									
17004/2010	R2	6	3	10	250	19,4	1	2,50					Συμπόσωση	R1					
17004/2010	R3	5	2	5	416	2,4	1	2,08	Tetrazelimis	5									
17004/2010	R4	6	1	10	222		1		Tetrazelimis	5									
17004/2010	R5	5	1	10	294		1		Ομοιά σπο	4									
17004/2010	R6	1	1	5	231		1		Tetrazelimis	3									
17004/2010	R7	6	4	10	222	4,5	1	2,22					Συμπόσωση	R4					
17004/2010	R8	5	3	10	294	4,67	1	2,94					Συμπόσωση	R5					
17004/2010	R9						1												
17004/2010	R10						1												
18004/2010	R1	7	2	10	154	64,9	1	1,54	Ομοιά σπο	4									
18004/2010	R2	6	1	10	296		1		Tetrazelimis	8									
18004/2010	R3	6	3	10	148		1						Συμπόσωση	R2					
18004/2010	R4	7	2	10	134	89,6	1	1,34	Ομοιά σπο	5									
18004/2010	R5	6	2	10	192	62,5	1	1,92	Ομοιά σπο	5									
18004/2010	R6	1	1	5	324	0	1	1,62	Tetrazelimis	5									
18004/2010	R7						1												

Μεταρρύθμιση	Διεύθυνση	Ηλικία	Αριθμός παιδιών	Όγκος	rot/ml	συνολική τιμή (%)	πρόσθετο οξύ	χλωρίδα	Γραμμή	Ποσότητα	Παραγωγή	Απόδοση (%)	Άλλη Παράμετρος	Παρατηρήσεις	Εκτός εύρους	συνολική παραγωγή	πυκνότητα	NH4	pH			
18/04/2010	R8						1															
18/04/2010	R9						1															
18/04/2010	R10						1															
19/04/2010	R1	8	3	10	366	1.4	1	3.56					Φαλτάρια	23 R8 + 1/2 R7	6.4	0.0		6.4				
19/04/2010	R2	7	2	10	294	10.2	1	2.94	Ορεκία σταυ	5												
19/04/2010	R3	8	1	10	237		1		Ορεκία σταυ	5												
19/04/2010	R4	8	3	10	226	4.4	1	2.26					Φαλτάρια	R8								
19/04/2010	R5	7	3	10	206	14.6	1	2.06					Φαλτάρια	R9								
19/04/2010	R6	2	2	10	262	19.8	1	2.62	Ορεκία σταυ	5												
19/04/2010	R7	8	1	5	237		1		Tetraselmis	3												
19/04/2010	R8	8	1	10	226		1		Tetraselmis	8												
19/04/2010	R9	7	1	10	206		1		Ορεκία σταυ	5					13.3	0.0		13.3				
19/04/2010	R10						1															
20/04/2010	R1	8	1	10	262		1		Tetraselmis	8												
20/04/2010	R2	8	3	10	262	7.1	1	2.62					Φαλτάρια	R1								
20/04/2010	R3	9	2	10	162	0	1	1.62	Ορεκία σταυ	4												
20/04/2010	R4	3	1	10	221		1		Ορεκία σταυ	4												
20/04/2010	R5	3	1	10	221		1		Ορεκία σταυ	4												
20/04/2010	R6	3	3	10	442	6.78	1	4.42					Φαλτάρια	1/2 R4 + 1/2 R5								
20/04/2010	R7	9	2	5	112	8.9	1	0.56	Tetraselmis	5												
20/04/2010	R8	9	2	10	168	17.9	1	1.68	Ορεκία σταυ	4												
20/04/2010	R9	8	2	10	168	17.9	1	1.68	Ορεκία σταυ	4												
20/04/2010	R10						1								12.8	0.0		12.8				
21/04/2010	R1	9	2	10	62	12.1	1	0.62	Ορεκία σταυ	4												
21/04/2010	R2	9	1	10	186		1															
21/04/2010	R3	10	3	10	186	5.31	1	1.86					Φαλτάρια	R2								
21/04/2010	R4	4	3	10	136	7.4	1	1.36	Ορεκία σταυ	4												
21/04/2010	R5	4	2	10	216	27.8	1	2.16	Ορεκία σταυ	4												
21/04/2010	R6	1	1	10	54		1	0.54	Tetraselmis	5												
21/04/2010	R7	10	3	10	68	0	1	0.68			0.88		Πίττα									
21/04/2010	R8	10	3	10	64	0	1	0.64			0.64		Πίττα									
21/04/2010	R9	9	3	10	62	0	1	0.62			0.62		Πίττα									
21/04/2010	R10	1	1	10	103		1								8.9	2.1		6.8				
22/04/2010	R1	10	3	10	232	25.8	1	2.32	Ορεκία σταυ	4												
22/04/2010	R2	10	2	10	196	5.1	1	1.96	Ορεκία σταυ	4												
22/04/2010	R3	5	1	10	248		1		Ορεκία σταυ	6												
22/04/2010	R4	5	3	10	372	2.68	1	3.72					Φαλτάρια	R3								
22/04/2010	R5	5	3	10	248	0	1	2.48					Φαλτάρια	R8								
22/04/2010	R6	2	2	10	268	22.4	1	2.68	Ορεκία σταυ	4												
22/04/2010	R7	2	2	10	236	0	1	2.36					Φαλτάρια	R9, μέτρ 1,12								
22/04/2010	R8	2	1	10	236		1		Tetraselmis	8												
22/04/2010	R9	5	1	10	248		1		Tetraselmis	8												
22/04/2010	R10	2	2	10	234	4.27	1	2.34							17.9	0.0		17.9				
23/04/2010	R1	11	4	10	410	12.19	1	4.10	Ορεκία σταυ	4												
23/04/2010	R2	11	3	10	130	0	1	1.30			1.30		Φαλτάρια	1/2 R6 + 1/2 R7								
23/04/2010	R3	6	2	10	218	0	1	2.18	Ορεκία σταυ	6												
23/04/2010	R4	3	1	10	183		1	1.83	Ορεκία σταυ	4												
23/04/2010	R5	3	1	10	183		1	1.83	Ορεκία σταυ	5												
23/04/2010	R6	11	1	10	206		1		Ορεκία σταυ													
23/04/2010	R7	11	1	10	206		1		Ορεκία σταυ													

Μετασχηματισμός	Δείκτης	Μηνιαία	Ημέρα κατάλυση	όγκος	rat/ml	αυτά (%)	πριμοδός	αποδόση	Ποσότητα	Παραγωγή	Αόξηση (%)	Άλλη Παράγωγα	Παρατηρήσεις	αποδόση	αποδόση	αποδόση	pH
23/04/2010	R8	3	2	10	152	6,57	1	1,52	Ορεκία σάκχα	4							
23/04/2010	R9	6	2	10	166	36,1	1	1,66	Ορεκία σάκχα	4							
23/04/2010	R10	3	3	10	394	12,7	1	3,94	Ορεκία σάκχα	4					18,4	1,3	17,1
24/04/2010	R1	1	1	10	215				Tetraselmis	5							
24/04/2010	R2	1	1	10	198				Tetraselmis	5							
24/04/2010	R3	7	3	10	132	0	1	1,32	Tetraselmis	6	1,32						
24/04/2010	R3	4	1	10	148				Tetraselmis	8							
24/04/2010	R4	4	2	10	180	0	1	1,80	Ορεκία σάκχα	4							
24/04/2010	R5	4	2	10	256	0	1	2,56	Ορεκία σάκχα	4							
24/04/2010	R6	11	2	10	146	0	1	1,46	Ορεκία σάκχα	6	1,46						
24/04/2010	R7	11	2	10	110	9,1	1	1,10	Ορεκία σάκχα	5	1,10						
24/04/2010	R8	4	3	10	148	6,8	1	1,48									
24/04/2010	R9	7	3	10	202	0	1	2,02									
24/04/2010	R10	4	4	10	214	4,7	1	2,14									
25/04/2010	R1	2	2	10	126	39,1	1	1,26	Ορεκία σάκχα	4							
25/04/2010	R2	2	2	10	258	0	1	2,58	Ορεκία σάκχα	4							
25/04/2010	R3	5	2	10	64	0	1	0,64									
25/04/2010	R4	5	3	10	124	0	1	1,24									
25/04/2010	R5	5	3	10	202	0	1	2,02	Ορεκία σάκχα	4							
25/04/2010	R6	5	2	10	186	0	1	1,86	Ορεκία σάκχα	4							
25/04/2010	R7	5	2	10	182	5,5	1	1,82	Ορεκία σάκχα	4							
25/04/2010	R8	5	1	10	188				Tetraselmis	5							
25/04/2010	R9	5	1	10	202				Ορεκία σάκχα	4							
25/04/2010	R10																
26/04/2010	R1																
26/04/2010	R2	3	3	10	266												
26/04/2010	R3	1	1	10	198	0	1	1,98	Ορεκία σάκχα	4							
26/04/2010	R4	3	1	10	164	0	1	1,64	Ορεκία σάκχα	5							
26/04/2010	R5	6	1	10	330				Ορεκία σάκχα	5							
26/04/2010	R6	6	3	10	226	0	1	2,26									
26/04/2010	R7	6	3	10	112	0	1	1,12									
26/04/2010	R8	6	2	10	192	6,4	1	1,92	Ορεκία σάκχα	4							
26/04/2010	R9	6	2	10	130	15,4	1	1,30	Ορεκία σάκχα	4							
26/04/2010	R10	3	1	10	266				Tetraselmis	6							
27/04/2010	R1																
27/04/2010	R2																
27/04/2010	R3	2	2	10	160	12,5	1	1,60	Ορεκία σάκχα	4							
27/04/2010	R4	4	2	10	244	4,1	1	2,44	Ορεκία σάκχα	4							
27/04/2010	R5	7	2	10	210	9,5	1	2,10	Ορεκία σάκχα	4							
27/04/2010	R6																
27/04/2010	R7																
27/04/2010	R8	7	3	10	218	9,2	1	2,18	Ορεκία σάκχα	4							
27/04/2010	R9	7	3	10	118	59,3	1	1,18	Ορεκία σάκχα	4							
27/04/2010	R10	7	2	10	206	2,4	1	2,06	Ορεκία σάκχα	4							
28/04/2010	R1	8	1	10	(218)				Ναιτο	3							
28/04/2010	R2	8	1	10	(436)												
28/04/2010	R3	3	3	10	258	3,9	1	2,58	Ορεκία σάκχα	4							
28/04/2010	R4	5	3	10	314	19,1	1	3,14	Ορεκία σάκχα	4							
28/04/2010	R5	8	3	10	288	6,9	1	2,88	Ορεκία σάκχα	4							
28/04/2010	R6	8	1	10	(288)												
28/04/2010	R7	8	2	10	314	9,6	1	3,14	Ορεκία σάκχα	4							

Ημερομηνία	Δεξαμενή	Μήκω	Πλάτος	Έγκαιος	rot/mf	αποθ (%)	Προβ. δ%	Τροφή	Ποσότητα	Παρατηρή	Αύξηση (%)	Άλλη Παράβλωση	Παρατηρήσεις	αποθ. νερό	αποθ. αλάτι	pH
28/04/2010	R8	8	4	10	436	6,88	1									
28/04/2010	R9	8	4	10	436	6,88	1									
28/04/2010	R10	8	3	10	326	0	1				3,26	Φυλάττοια	1/2 R1 + 1/2 R2	19,4	3,3	16,1
29/04/2010	R1	9	2	10	216	0	1									
29/04/2010	R2	9	2	10	130	0	1									
29/04/2010	R3	4	4	10	534	5,05	1				5,34	Φυλάττοια	R10			
29/04/2010	R4	6	4	10	144	19,9	1									
29/04/2010	R5						1									
29/04/2010	R6	9	2	10	220	0	1									
29/04/2010	R7	9	2	10	186	26,9	1									
29/04/2010	R8						1									
29/04/2010	R9	E	1	10	534		1									
29/04/2010	R10	E	1	3,5	460		1									
30/04/2010	R1	11	3	10	390	10,3	1				0,98	+1/4	1/4 R10		5,3	15,9
30/04/2010	R2	10	3	10	184	31,3	1				0,46	+1/4	1/4 R10			
30/04/2010	R3						1									
30/04/2010	R4	7	5	10	360	14,3	1				0,90	+1/4	1/4 R10			
30/04/2010	R5	1	1	10	690		1						από Τρίτωνα			
30/04/2010	R6	10	3	10	275	9,7	1				0,69	+1/4	1/4 R10			
30/04/2010	R7	10	3	10	375	9,1	1				0,94	+1/4	1/4 R10			
30/04/2010	R8	1	1	10	650		1						από Τρίτωνα			
30/04/2010	R9	E	2	10	306		1									
30/04/2010	R10	E	2		386		1									
01/05/2010	R1	12	4	10	495	2,02	1				1,24	+1/4	1/4 R9		4,0	11,9
01/05/2010	R2	11	4	10	308	6,49	1				0,77	+1/4	1/4 R9			
01/05/2010	R3	1	1	10			1									
01/05/2010	R4	8	6	10	548	5,47	1				1,37	+1/4	1/4 R9			
01/05/2010	R5	1	1	10			1									
01/05/2010	R6	11	4	10	364	13,73	1				0,91	+1/4	1/4 R9			
01/05/2010	R7	11	4	10	250	9,1	1						R8			
01/05/2010	R8	11	1	10	(250)		1									
01/05/2010	R9	E	3		(430)		1									
01/05/2010	R10	E	3	5	578	8,65	1									
02/05/2010	R1	13	5	10	357	5,5	2				0,89	+1/4	1/4 R10		4,3	15,4
02/05/2010	R2	12	5	10	450	0	2				1,13	+1/4	1/4 R10			
02/05/2010	R3	2	2	10	415	0	2				1,04	+1/4	1/4 R10			
02/05/2010	R4	9	7	10	390	0	2				0,88	+1/4	1/4 R10			
02/05/2010	R5	2	2	10	306	5,71	2				0,77	+1/4	1/4 R10			
02/05/2010	R6	12	4	10	330	6,01	2				0,83	+1/4	1/4 R10			
02/05/2010	R7						2									
02/05/2010	R8	12	2	10	586	8,53	2				1,47	+1/4	1/4 R10			
02/05/2010	R9	E	4		566		2						γλυκός βαρυστάτη			
02/05/2010	R10	E	4	5	578	8,65	2									
03/05/2010	R1	14	6	10	342	5,84	2				0,86	+1/4	1/4 R7		7,0	21,0
03/05/2010	R2	13	6	10	434	4,6	2				1,09	+1/4	1/4 R7			0,7
03/05/2010	R3	3	3	10	344	2,9	2				0,86	+1/4	1/4 R7			1
03/05/2010	R4	10	8	10	269	18,98	2				0,67	+1/4	1/4 R7			2
03/05/2010	R5	3	3	10	250	8	2				0,63	+1/4	1/4 R7			2
03/05/2010	R6	13	5	10	260	7,69	2				0,65	+1/4	1/4 R7			2
03/05/2010	R7	E	2		(650)		2						γλυκός βαρυστάτη			

Μετασχηματισμένη Δεξαμενή	Μέγεθος	Πυρήν κλάσας	ήμερα κύκλου	όγκος	συντ. (g/l)	πυρήν οξ.	τύπος	Ποσότητα	Παραγωγή	Αύξηση (%)	Μολ. Παράγοντες	Παραγωγή	συντ. οξ.	συντ. οξ.	Μέγεθος	ΜΗΑ	pH
130/5/2010 R8						2											
130/5/2010 R9						2											
130/5/2010 R10	E	5	10	310	3,22	2	3NJano+2bio	2,5L	0,775	42,53		14R8	17,125	2,735	14,39	1	7,4
140/5/2010 R1	3	3	10	300	3,33	2	Nano	2,5L	0,75	144,90		14R10				1	7,31
140/5/2010 R2	3	3	10	384	2,6	2	Nano	2,5L	0,96	129,94		14R10				1	7,45
140/5/2010 R3	7	7	10	390	2,66	2	Chorals+2bio	4ml	0,975	213,25		14R10				1	7,35
140/5/2010 R4	3	3	10	354	2,82	2	Tetrase+2bio	2,5L	0,885	100,00		14R10				1	7,35
140/5/2010 R5	3	3	10	295	3,38	2	Tetrase+2bio	2,5L	0,7375	94,08		14R10				1	7,5
140/5/2010 R6	7	7	10	300	3,33	2	Chorals+2bio	4ml	0,75	21,95		14R10				1	7,4
140/5/2010 R7	E	3	10	395	2,52	2	3NJano+2bio	2,5L	0,95	82,07		14R10				0,7	7,48
140/5/2010 R8	E	2	10	236	4,23	2	3NJano+2bio	2,5L	0,59			14R10				0,7	7,54
140/5/2010 R9						2											
140/5/2010 R10	E	6	10	290	3,44	2	3NJano+2bio	2,5L	0,725	24,73	πικτασία		29,45	7,3625	22,0875	0,7	7,58
150/5/2010 R1	4	4	10	290	3,44	2	Nano	2,5L	0,725	28,89	πικτασία						7,3
150/5/2010 R2	4	4	10	370	2,7	2	Nano	2,5L	0,925	28,47		14R9					7,58
150/5/2010 R3	4	4	10	380	2,63	2	Chorals+2bio	4ml	0,95	29,91		14R9					7,33
150/5/2010 R4	4	4	10	347	2,88	2	Tetrase+2bio	2,5L	0,8675	30,70		14R9					7,58
150/5/2010 R5	4	4	10	280	3,57	2	Tetrase+2bio	2,5L	0,7	26,55		14R9					7,49
150/5/2010 R6	8	8	10	290	3,44	2	Chorals+2bio	4ml	0,725	28,89	πικτασία						7,5
150/5/2010 R7	E	4	10	385	2,59	2	3NJano+2bio	4,3	0,965	29,97	πικτασία						7,38
150/5/2010 R8	E	3	10	270	3,7	2	3NJano+2bio	2,5L	0,675	52,54		14R9					7,38
150/5/2010 R9						2											
150/5/2010 R10	E	5	10	300	3,33	2	3NJano+2bio	2,5L	0,75	37,93	πικτασία						7,58
160/5/2010 R1	5	5	10	250	4	2	Nano	2,5L	0,625	14,94		14R7		29,13	7,2625	21,8475	7,58
160/5/2010 R2	5	5	10	350	2,85	2	Nano	2,5L	0,875	26,13		14R7					5,97
160/5/2010 R3	5	5	10	345	2,89	2	Chorals+2bio	4ml	0,8625	21,05		14R7					7,29
160/5/2010 R4	5	5	10	330	3,03	2	Tetrase+2bio	2,5L	0,825	26,80		14R7					7,3
160/5/2010 R5	5	5	10	258	3,87	2	Tetrase+2bio	2,5L	0,645	22,86		14R7					7,51
160/5/2010 R6	9	9	10	250	4	2	Chorals+2bio	4ml	0,625	14,94		14R7					7,61
160/5/2010 R7						2											
160/5/2010 R8	E	4	10	260	5	2	3NJano+2bio	2,5L	0,65	26,40							7,54
160/5/2010 R9						2											
160/5/2010 R10	E	2	10	200	5	2	3NJano+2bio	2,5L	0,5	-11,11			22,43	5,6075	16,8225		7,63
170/5/2010 R1	3	3	10	320	3,12	2	Nano	2,5L	0,8	70,67		14R7					7,48
170/5/2010 R2	6	6	10	300	3,33	2	Nano	2,5L	0,75	14,29		14R7					7,5
170/5/2010 R3	6	6	10	394	2,53	2	Chorals+2bio	4ml	0,985	52,27		14R7					7,24
170/5/2010 R4	6	6	10	360	0	2	Tetrase+2bio	2,5L	0,9	45,45		14R7					7,25
170/5/2010 R5	6	6	10	349	2,86	2	Tetrase+2bio	2,5L	0,8725	80,36		14R7					7,48
170/5/2010 R6	3	3	10	310	3,22	2	Chorals+2bio	4ml	0,775	65,33		14R7					7,6
170/5/2010 R7						2											
170/5/2010 R8	E	5	10	230	4,34	2	3NJano+2bio	2,5L	0,575	17,95		14R7					7,48
170/5/2010 R9						2											
170/5/2010 R10	E	3	10	365	2,73	2	3NJano+2bio	2,5L	0,915	144,00		14R7		26,29	6,5725	19,7175	7,5
180/5/2010 R1	4	4	10	328	3,06	2	Nano	2,5L	0,815	35,83							7,5
180/5/2010 R2	7	7	10	295	3,38	2	Nano	2,5L	0,7375	31,11							7,6
180/5/2010 R3	7	7	10	330	3,03	2	Chorals+2bio	4ml	0,825	11,68							7,16
180/5/2010 R4	4	4	10	374	2,67	2	Tetrase+2bio	2,5L	0,935	38,52							7,2
180/5/2010 R5	7	7	10	380	2,63	2	Tetrase+2bio	2,5L	0,95	45,18							7,5
180/5/2010 R6	4	4	10	352	2,84	2	Chorals+2bio	4ml	0,86	51,40							7,6
180/5/2010 R7	E	2	10	300	3,33	2	3NJano+2bio	2,5L	0,75								7,4

Ημερομηνία	Δείγμα	Ηλικία	Πύρα	όγκος	rot/ml	συνά	πριλοδ	κίτωση	Γροφή	Ποσότητα	Παραγωγή	Αύξηση (%)	Μέση Παράδοση	Παρατηρήσεις	ελάχιστη	ελάχιστη	ελάχιστη	ΜΗΜ	pH
18/05/2010	R8						2												
18/05/2010	R9						2												7,5
18/05/2010	R10	E	4	10	330	3,03	2	3,3	3Nano+2iso	2,5L	0,825	20,22							
19/05/2010	R1	5	5	10	310	3,22	2	3,1	Nano	2,5L	0,775	26,79		14R9	26,87	6,7175	20,1525		
19/05/2010	R2	8	8	10	328	3,06	2	3,26	Nano	2,5L	0,815	47,34		14R9				7,58	
19/05/2010	R3	8	8	10	328	3,06	2	3,26	Chorella zoae	4ml	0,815	31,72		14R9				7,19	
19/05/2010	R4	8	8	10	390	2,56	2	3,9	TetraseImis	2,5L	0,975	39,04		14R9				7,29	
19/05/2010	R5	8	8	10	380	2,63	2	3,8	TetraseImis	2,5L	0,95	33,33		14R9				7,48	
19/05/2010	R6	5	5	10	396	2,52	2	3,96	Chorella zoae	4ml	0,99	50,00		14R9				7,6	
19/05/2010	R7	E	3	10	367	2,51	2	3,97	3Nano+2iso	2,5L	0,9925	76,44		14R9				7,4	
19/05/2010	R8						2												
19/05/2010	R9						2												
19/05/2010	R10	E	5	10	300	3,33	2	3	3Nano+2iso	2,5L	0,75	21,21		14R9	28,25	7,0625	21,1875		7,45