

αφ. 86. 540

ΤΕΙ ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ

ΣΧΟΛΗ ΣΤΕΓ

Τμήμα Ιχθυοκομίας Αλιείας

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

ΣΤΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ

Υπεύθυνη Καθηγήτρια:

Π. Μαρκουλή

Εγκρίνεται



Γεράσιμος Κονδυλάτος

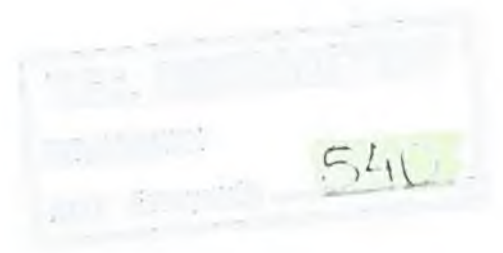
Ελευθέριος Καμπούρης



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αρχικά πρώτου ξεκινήσουμε αυτήν την εργασία θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε την κυρία Παναγιώτα Μαρκουλή που μας βοήθησε στην εκπόνηση αυτής της εργασίας όπως και στην επιλογή του θέματος και της βιβλιογραφίας.

Η εργασία αυτή ασχολείται με τις πρωτεΐνες των ιχθυοτροφών, που είναι το κύριο συστατικό αυτών και ένας σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την ανάπτυξη των ψαριών και την δυνατότητα αντικατάστασης αυτών από εναλλακτικές πηγές. Ακόμη γίνεται μια προσπάθεια αξιολόγησης της ποιότητας των εναλλακτικών πηγών πρωτεϊνών όπως και αναφορά στα αποτελέσματα σημαντικών ερευνητικών προσπαθειών που στοχεύαν στην αξιολόγηση εναλλακτικών πηγών πρωτεϊνών. Τέλος γίνεται μια οικονομική σύγκριση για την ανάπτυξη των τροφών για υδατοκαλλιέργειες.



Π Ε Ρ Ι Ε Χ Ο Μ Ε Ν Α

Κεφάλαιο 1 Αμινοξέα και πρωτεΐνες	σελ. 1
1.1. Εισαγωγή	σελ. 2
1.2. Απαιτήσεις σε πρωτεΐνη	σελ. 4
1.2.1. Ολικές απαιτήσεις σε πρωτεΐνη	σελ. 4
1.2.1.1. Οστεϊχθύς	σελ. 4
1.2.1.2. Καρκινοειδή	σελ. 7
1.3. Παράγοντες που επηρεάζουν τις απαιτήσεις	σελ. 8
1.3.1. Μέγεθος και ηλικία	σελ. 8
1.3.2. Θερμοκρασία νερού	σελ. 9
1.3.3. Απαιτήσεις σε διατροφή	σελ. 9
1.3.4. Μεθοδολογία	σελ. 10
1.3.5. Υπολογισμένες απαιτήσεις για διατήρηση	σελ. 11
1.4. Ποιοτικές απαιτήσεις σε αμινοξέα	σελ. 12
1.4.1. Μεθοδολογία	σελ. 12
1.4.1.1. Μελέτες αύξησης	σελ. 14
1.4.1.2. Μελέτες τιτλοδότησης	σελ. 15
1.4.2. Ποσοτικές απαιτήσεις	σελ. 15
1.5. Ποσοτικές απαιτήσεις σε αμινοξέα (Π.Α.Α.)	σελ. 16
1.5.1. Μεθοδολογία	σελ. 16
1.5.1.1. Πειραματικές τροφές αμινοξέων (Λ.Τ.Α.)	σελ. 16
1.5.1.2. Μελέτες επάνω στην ανάπτυξη	σελ. 18
1.5.1.3. Μελέτες επάνω στα αμινοξέα του ορού ή του	

ιστού	σελ. 20
1.5.1.4. Μελέτες επάνω στην οξειδωση των αμινοξέων	σελ. 21
1.5.2. Απαιτήσεις σε Αργινίνη (Α. Αρ.)	σελ. 22
1.5.3. Απαιτήσεις σε Ιστιδίνη (Α.Ι.)	σελ. 24
1.5.4. Απαιτήσεις σε άλλα αμινοξέα	σελ. 25
1.5.4.1. Απαιτήσεις σε Ισολευκίνη (Α. 160)	σελ. 25
1.5.4.2. Απαιτήσεις σε Λευκίνη (Α. Λε)	σελ. 26
1.5.4.3. Απαιτήσεις σε Βαλίνη (Α. Βα)	σελ. 27
1.5.4.4. Παρεμβολές - Αλλιεπιδράσεις	σελ. 27
1.5.5. Απαιτήσεις σε Λυσίνη (Α. Λυσ.)	σελ. 28
1.5.5.1. Αλληλεπιδράσεις μεταξύ Αργινίνης - Λυσίνης	σελ. 29
1.5.6. Απαιτήσεις σε αρωματικά αμινοξέα	σελ. 30
1.5.6.1. Απαιτήσεις σε φαινυλαλανίνη (ΑΦ)	σελ. 30
1.5.6.2. Ποσοστό αντικατάστασης από Τυροσίνη	σελ. 31
1.5.7. Απαιτήσεις σε θειούχα αμινοξέα (Α.Θ.Α.).	σελ. 31
1.5.7.1. Απαιτήσεις σε Μεθειονίνη (ΑΜ)	σελ. 32
1.5.7.2. Ποσοστό αντικατάστασης από Κυστεΐνη	σελ. 33
1.5.7.3. Χρήση άλλων πηγών θείου	σελ. 33
1.5.8. Απαιτήσεις σε θρεονίνη (Α.Θ.)	σελ. 34
15.9. Απαιτήσεις σε Τρυπτοφάνη (Α.Τρ.0	σελ. 34
1.6. Χρησιμοποίηση των συνθετικών Αμινοξέων	σελ. 36
1.6.1. Αγνές τροφές (Purified diet)	σελ. 36
1.6.2. Εμπειρικές τροφές (Practical diet)	σελ. 40
1.7. Η θρεπτική αξία των πρωτεϊνών	σελ. 41

1.7.1. Ο λόγος πρωτεϊνικής Απόδοσης (Protein Efficiency Ratio)	σελ. 42
1.7.2. Καθαρή χρησιμοποίηση πρωτεΐνης (Net Protein Utilization)	σελ. 43
1.7.3. Δείκτης των απαραίτητων αμινοξέων	σελ. 44
1.8. Βιολογική διαθεσιμότητα	σελ. 45
1.8.1. Πρωτεϊνική πεψιμότητα (Protein Digestibility)	σελ. 46
1.8.2. Διαθεσιμότητα των αμινοξέων (Δ.Α) (Amino acid Availability)	σελ. 46
1.9. Άλλοι μέθοδοι εκτίμησης των απαιτήσεως σε αμινοξύ	σελ. 47
1.9.1. Η σύνθεση σε αμινοξέα του σώματος των φαριών και των αυγών τους	σελ. 47
1.9.2. Οι σχέσεις μεταξύ των δεδομένων και σύστασης και των δεδομένων για την απαίτηση	σελ. 48
1.9.3. Η χρήση των δεδομένων σύστασης στον σχεδιασμό πειραματικών τροφών	σελ. 49
Πινακές 1 κεφαλαίου	
Κεφάλαιο 2° Μεταβολισμός των αμινοξέων	σελ. 58
2. Μεταβολισμός των αμινοξέων	σελ. 59
2.1. Πηγές των αμινοξέων για τους ιστούς	σελ. 60
2.1.1. Τροφή	σελ. 60
2.1.2. Καταβολισμός των σωματικών πρωτεϊνών	σελ. 60
2.1.3. Σύνθεση των μη απαραίτητων αμινοξέων	σελ. 63

2.1.4. Αμινοξέα των ιστών	σελ. 64
2.2. Τελικά προϊόντα του μεταβολισμού των αμινοξέων	σελ. 67
2.2.1. Αποβολή αζώτου	σελ. 67
2.2.2. Απαμίνωση των αμινοξέων - προέλευση της αποβαλλόμενης NH ₃	σελ. 70
2.2.3. Σχηματισμός ουρίας	σελ. 76
2.3. Καταβολισμός των αμινοξέων	σελ. 76
2.4. Επίδραση της διατροφής στο μεταβολισμό των αμινοξέων	σελ. 87
2.4.1. Επίπεδο των πρωτεϊνών στη τροφή	σελ. 87
2.4.2. Επίπεδα αμινοξέων στη τροφή	σελ. 89
2.4.3. Αποτελέσματα Ασιτίας	σελ. 92
2.5. Εναπόθεση πρωτεϊνών	σελ. 95
2.5.1. Μέθοδοι	σελ. 96
2.5.2. Αποτελέσματα	σελ. 99
Πίνακες - Σχήματα 2 κεφαλαίου	σελ. 101
Κεφάλαιο 3° Διατροφική παθολογία	σελ. 107
3.1. Εισαγωγή	σελ. 108
3.2. Ασθένειες Ανεπάρκειας ή μη ισορροπίας	σελ. 110
3.2.1. Πρωτεΐνες	σελ. 110
3.2.2. Μυκοτοξίνες (mycotoxins)	σελ. 112
3.2.3. Gossypol	σελ. 113
3.2.4. Αναστολέας της τρυψίνης (Saybean Trypsin Inhibitor)	σελ. 115

3.2.5. Φυτικό Οξύ (Phytic acid)	σελ. 117
3.2.6. Glycosinolates	σελ. 119
Εικόνες 3 κεφαλαίου	σελ. 121
Κεφάλαιο 4° Βιολογικές και χημικές μέθοδοι για την αξιολόγηση εναλλακτικών πρωτεϊνικών πηγών στις ιχθυοτροφίες	σελ. 123
4.1. Τεχνικές για την αξιολόγηση της ποιότητας της διατροφής πρωτεΐνης για την ιριδίζουσα πέστροφα	σελ. 124
4.2. Αξιολόγηση της ποιότητας της πρωτεΐνης στα ιχθυάλευρα με χημικές και βιολογικές μεθόδους	σελ. 150
Κεφάλαιο 5°	
Αναφορά στα αποτελέσματα σημαντικών ερευνητικών προσπαθειών που στόχο είχαν τη χρησιμοποίηση και αξιολόγηση εναλλακτικών πρωτεϊνικών πηγών στις ιχθυοτροφίες	σελ. 178
5.1. Αντικατάσταση του ιχθυάλευρου από εναλλακτικές πηγές πρωτεϊνών σε δίαιτες ιριδίζουσας πέστροφας	σελ. 179
5.2. Αντικατάσταση του ιχθυάλευρου και του σογιάλευρου με ηλιοσποράλευρο σε τροφές ιριδίζουσας	σελ. 192
5.3. Χρησιμοποίηση ηλιοσποράλευρου (SOLVENT EXTRACTED SUNFLOWER MEAL) σε ολοκληρωμένη τροφή της ιριδίζουσας πέστροφας (SALMO	

GAIRDNERI)

σελ. 205

5.4. Χρησιμοποίηση σογιάλευρου σαν πηγή πρωτεϊνών
στη τροφή ιριδίζουσας πέστροφας

σελ. 214

5.5. Χρησιμοποίηση πτηνάλευρου (Feather meal)
σαν πηγή πρωτεϊνών στη τροφή της γιαπωνέζικης
γλώσσας

σελ. 228

Κεφάλαιο 6°

Μία μέθοδος οικονομικής σύγκρισης για την ανάπτυξη
τροφών για υδατοκαλλιέργειες

σελ. 239

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΑΜΙΝΟΞΕΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

1. ΑΜΙΝΟΞΕΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρωτεΐνες αποτελούν το κύριο συστατικό ιστού των ψαριών, αποτελώντας το 65 με 75% του ξηρού βάρους. Τα ψάρια καταναλώνουν πρωτεΐνες για να προσλάβουν αμινοξέα. Η πρωτεΐνη πέπτεται ή υδρολύεται και απελευθερώνει αμινοξέα, τα οποία απορροφούνται μέσω της πεπτικής οδού και διανέμονται έτσι με το αίμα στα διάφορα όργανα και τους ιστούς. Αυτά τα αμινοξέα, χρησιμοποιούνται από τους διάφορους ιστούς στην σύνθεση πρωτεϊνών. Απαιτείται συστηματική και μόνιμη λήψη πρωτεΐνης ή αμινοξέων, διότι τα τελευταία χρησιμοποιούνται συνεχώς από το ψάρι είτε για την σύνθεση νέων πρωτεϊνών (για αύξηση και αναπαραγωγή) ή για την αντικατάσταση της υπάρχουσας πρωτεΐνης (συντήρηση). Ανεπαρκής ποσότητα πρωτεΐνης στην τροφή καταλήγει στην αναστολή της αύξησης ή στην μείωση, όπως επίσης και σε απώλεια βάρους λόγω της απομάκρυνσης πρωτεΐνης από τους λιγότερο ζωτικούς ιστούς για την διατήρηση των λειτουργιών των πιο ζωτικών ιστών. Από την άλλη μεριά, εάν χορηγηθεί πολύ περισσότερη πρωτεΐνη στην τροφή, μόνο μέρος αυτής θα χρησιμοποιηθεί για την σύνθεση πρωτεϊνών από το ψάρι, ενώ η υπολειπόμενη θα μετατραπεί σε ενέργεια.

Οι πρώτες καθοριστικές μελέτες επάνω στην διατροφή των ψαριών για τις πρωτεΐνες και τα αμινοξέα διεξήχθησαν από τον Halver και τους συνεργάτες του στα τέλη της δεκαετίας του '50 και στις αρχές του '60, με πειραματόζωο τον σολωμό Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*). Οι αρχικές τροφές αμινοξέων παρασκευάστηκαν με βάση τη σύσταση των αμινοξέα των πρωτεϊνών του αυγού της κότας, του αυγού του Chinook σολωμού και των πρωτεϊνών του λεκιθικού σάκου των ιχθυδίων του Chinook σολωμού (Halver, 1957). Η τροφή αμινοξέων που παρασκευάστηκε με βάση τη σύσταση των αμινοξέων των πρωτεϊνών του αυγού της κότας έδωσε την καλύτερη ανάπτυξη και μετατρεψιμότητα της τροφής οπότε και ορίστηκε σαν η τροφή αμινοξέων αναφοράς. Αυτή η τροφή χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των ποιοτικών απαιτήσεων σε αμινοξέα του Chinook σολωμού (Halver και άλλοι, 1958). Χρησιμοποιήθηκαν, στην συνέχεια πειραματικές τροφές που περιείχαν ένα μίγμα καζεΐνης, ζελατίνης και κρυσταλλικών αμινοξέων (για να προσομοιάζουν με την σύσταση του αυγού της κότας) έτσι ώστε να προσδιοριστούν οι απαιτήσεις σε ολική πρωτεΐνη του Chinook σολωμού (DeLong και άλλοι, 1958). Διεξήχθησαν, στην συνέχεια, πειράματα με τροφές πειραματικές οι οποίες περιείχαν ένα μίγμα καζεΐνης, ζελατίνης και κρυσταλλικών αμινοξέων, για να επιτευχθεί με αυτόν τον τρόπο η αμινοξική συνθεση του 40% πρωτεΐνης αυγού. Οι τροφές αυτές χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των ποσοτικών απαιτήσεων των 10 απαραίτητων αμινοξέων του Chinook σολωμού (Halver και άλλοι, 1958, DeLong και άλλοι, 1962, Chance και άλλοι 1964, Halver 1965). Αυτές οι πρώτες, καθοδηγητικές μελέτες, του Halver και των συναδέλφων

του αποτέλεσαν το βασικό μοντέλο για πολλές μετέπειτα μελέτες επάνω στην διατροφή σε αμινοξέα και πρωτεΐνες διαφόρων ειδών ψαριών.

1.2. ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΣΕ ΠΡΩΤΕΙΝΗ

1.2.1. Ολικές απαιτήσεις σε λίπος

1.2.1.1. Οστειχθύες

Τα ψάρια, όπως και τα άλλα ζώα, δεν έχουν μία συγκεκριμένη απαίτηση σε πρωτεΐνη, αλλά έχουν απαίτηση για ένα καλώς ισοροπημένο μείγμα απαραίτητων και μη απαραίτητων αμινοξέων. Πολλές έρευνες έχουν χρησιμοποιήσει διάφορες ημι-αγνές και αγνές τροφές (Purified diets) για να υπολογίσουν τις απαιτήσεις σε των ψαριών πρωτεΐνη. Αυτές για διάφορα είδη ψαριών συνοψίζονται στον πίνακα 1.1. Οι περισσότερες από αυτές τις τιμές έχουν υπολογιστεί μέσω καμπυλών δόσης-απόκρισης, δίνοντάς μας το μικρότερο ποσό της πρωτεΐνης που μας παρέχει την μέγιστη ανάπτυξη. Μερικές από αυτές τις τιμές φαίνεται ότι είχαν υπερεκτιμηθεί λόγω μη επαρκούς συνυπολογισμού ενός ή περισσότερων από τους ακόλουθους διατροφικούς παράγοντες:

α) το ενεργειακό περιεχόμενο, της τροφής β) η σύσταση των αμινοξέων της πρωτεΐνης και γ) η πεψιμότητα της πρωτεΐνης.

Το βέλτιστο επίπεδο πρωτεΐνης για το ψάρι, όπως και τα άλλα ζώα, επηρεάζεται από τη βέλτιστη ισορροπία μεταξύ πρωτεΐνης και ενέργειας την σύσταση των αμινοξέων και την πεψιμότητα της(των) προς εξέταση

πρωτεΐνης(-ων), καθώς και από την ποσότητα των μη πρωτεϊνικών πηγών ενέργειας στην πειραματική τροφή. Η περίσσεια ενέργειας στην τροφή, μπορεί να μειώσει την κατανάλωση, μιας και έχει προταθεί ότι τα ψάρια, όπως και τα άλλα ζώα, τρώνε για να καλύψουν τις απαιτήσεις τους σε ενέργεια (Lee και Putnam, 1973, Page και Andrews, 1973). Στις περισσότερες έρευνες, έχουν χρησιμοποιηθεί ισοενεργειακές τροφές για τον υπολογισμό των απαιτήσεων σε πρωτεΐνη, ωστόσο, καθώς η μεταβολίσιμη ενέργεια των διαφόρων συστατικών δεν έχει υπολογιστεί για τα περισσότερα ψάρια, αυτοί οι ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει διάφορες τιμές ενεργειακής απόδοσης για να εκφράσουν τις απαιτήσεις σε πρωτεΐνη σε σχέση με το ενεργειακό επίπεδο της τροφής. Για παράδειγμα, οι φυσιολογικές τιμές ενεργειακής απόδοσης 4,8 και 1.6 kcal/gr για πρωτεΐνη, λίπος και υδατανθράκες, αντίστοιχα, έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για τα σαλμονοειδή (Phillips, 1969), ενώ διάφορες άλλες τιμές, όπως αυτές των 3.5, 8.1, 2.5 (NRC, 1977) και των 4,9, 4 kcal/gr (Garling και Wilson, 1976) έχουν χρησιμοποιηθεί για το γατόψαρο (*Ictalurus punctatus*), 4,8, 2 kcal/gr (Ogino και άλλοι, 1976) και 4, 9,4 kcal/gr (Zeitun και άλλοι, 1973) για την ιριδίζουσα πέστροφα, (*Salmo gairdneri*), 4.5, 9.0, 4.0 (Mazid και άλλοι, 1979) και 4.5, 8.5, 3.5 kcal/gr (Jauncey, 1982) για την *Tilapia zillii* και *T. mossambica*, αντίστοιχα, και 5.7, 9.5, 4 kcal/gr (Cowey και άλλοι, 1972) για την γλώσσα (*Pleuronectes platessa*). Το ότι οι μεταβολές του λόγου της πρωτεΐνης προς ενέργεια, επιδρούν επάνω στην αύξηση και την χρησιμοποίηση της πρωτεΐνης έχει παρατηρηθεί σε διάφορα είδη ψαριών, π.χ. ιριδίζουσα πέστροφα (Lee και Putnam, 1973, Takeuchi και άλλοι,

1978b), μαγιάτικο (*Seriola quinqueradiata*) (Takeda και άλλοι, 1975, Shimeno και άλλοι, 1980), κοινός κυπρίνος (*Cyprinus carpio*) (Takeuchi και άλλοι, 1979), *Tilapia aurea* και *T. mossambica* (Winfree και Stickney, 1981, Jaun-cey, 1982) και η *Epinephelus salmoides* (Teng και άλλοι, 1978). Με τη βοήθεια αυτών των μελετών, πολλοί ερευνητές έχουν επιβεβαιώσει το σημαντικό όφελος από τις μη-πρωτεϊνικών πηγών ενέργειας επάνω στην χρησιμοποίηση (από τα ψάρια) της πρωτεΐνης. Αν και η χρησιμοποίηση (από τα ψάρια) των υδατανθράκων είναι γνωστό ότι ποικίλει μεταξύ των ειδών, αυτοί έχει αποδειχτεί ότι βοηθούν στην εξοικονόμηση της πρωτεΐνης στα σαλμονοειδή (Buhler και Halver, 1961, Ringrose, 1971, Lee και Putnam, 1973, Bergot, 1979, Piepper και Pfeffer, 1979), την γλώσσα (Cowey και άλλοι, 1975), στο κακλάνι (*Scophthalmus maximus*) (Adron και άλλοι, 1976), στο γατόψαρο (Garling και Wilson, 1976, 1977), στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) (Alliot και άλλοι, 1979), και στη κόκκινη τσιπούρα (*Chrysophrys major*) (Furuichi και Yone, 1971). Τα λίπη, επίσης, έχει αποδειχτεί ότι εξοικονομούν πρωτεΐνη και επιπλέον επιταχύνουν την χρησιμοποίηση της πρωτεΐνης στα σαλμονοειδή (Ringrose, 1971, Lee και Putnam, 1973, Ya και άλλοι, 1977, Reinitz και άλλοι, 1978, Takeuchi και άλλοι 1978α,β, Yu και Sinchiker, 1981), στον κοινό κυπρίνο (Sin, 1973α,β, Viola και Rappaport, 1979), στο γατόψαρο (Stickney και Andrews, 1972, Page και Andrews, 1973, Garling και Wilson, 1976, 1977, Murray και άλλοι, 1977), στο κακλάνι (Adron και άλλοι, 1976), στο ραβδωτό λαβράκι (*Morone saxatilis*) (Millikin, 1983) και στην *Tilapia aurea* (Wintree Stickney, 1981).

Η ποιότητα της πρωτεΐνης που χρησιμοποιείται στις πειραματικές τροφές για τον προσδιορισμό των απαιτήσεων σε πρωτεΐνες, θα επηρεάσει επίσης και την τιμή της απαίτησης. Για παράδειγμα, η καζεΐνη είναι γνωστό ότι είναι ανεπαρκής σε αργινίνη, για τα περισσότερα ψάρια.

1.2.1.2. Καρκινοειδή

Όπως οι τελεόστοι, έτσι και τα περισσότερα καρκινοειδή που μελετήθηκαν έχουν μεγάλες απαιτήσεις σε πρωτεΐνη, οι οποίες κυμαίνονται από 30 σε 60% της ξηρής τροφής (πίνακας 1.2). Εδώ και πάλι, μερικές από αυτές τις τιμές εμφανίζονται υπερεκτιμημένες, εξαιτίας μερικών από τους ίδιους λόγους που ισχύουν και για τα ψάρια. Επιπλέον οι διατροφικές μελέτες στα καρκινοειδή είναι περίπλοκες, λόγω της δυσκολίας παρασκευής τεχνητών υδατο-σταθερών τροφών, οι οποίες να μην διαλύονται λόγω της καθυστερημένης κατανάλωσής τους από τους υπό εξέταση οργανισμούς. Μερικοί οργανισμοί τεμαχίζουν την τροφή τους πριν την καταποσή της, πράγμα το οποίο ευνοεί την διαλυσή της και να κάνει τον υπολογισμό της κατανάλωσης τροφής πολύ δύσκολο. Για παράδειγμα, οι Bages και Sloane (1981) παρατήρησαν μία μέγιστη ανάπτυξη στις νεαρές προνύμφες της *Penaeus monodon*, όταν αυτές τρέφονταν με τροφή 55% σε πρωτεΐνη. Αυτή η τιμή ήταν πιο υψηλή από την προηγούμενη, που είχε καταγραφεί, του 46% (Lee, 1971). Ωστόσο, αυτοί οι ερευνητές βρήκαν ότι το επίπεδο της πρωτεΐνης στην τροφή με 55% πρωτεΐνη, μειωνόταν σε 45% την ώρα της θρέψης, σαν αποτέλεσμα της διάλυσης της τροφής. Ο New (1976) έχει παρουσιάσει μία πολύ λεπτομερή ανασκόπηση των περισσότερων διατροφικών μελετών επάνω

στα καρκινοειδή και είχε σχολιάσει πολλά από τα προβλήματα που έχουν να κάνουν με τη διεξαγωγή βασικών μελετών για τις απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικών των καρκινοειδή.

1.3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ

1.3.1 Μέγεθος και ηλικία

Γενικά, οι απαιτήσεις των ψαριών σε πρωτεΐνη μειώνονται με την αύξηση του μεγέθους και της ηλικίας. Για παράδειγμα, το βέλτιστο επίπεδο πρωτεΐνης της τροφής για τα πολύ νεαρά σαλμονοειδή είναι το 45 με 50%, ενώ για τα νεαρά άτομα απαιτούν ένα 40% και τα ενήλικα ένα 35% πρωτεΐνης (Hilton και Slinger, 1981, NRC, 1981). Ομοίως, τα ιχθύδια του γατόψαρου απαιτούν τροφή 40% σε πρωτεΐνη, ενώ τα νεαρά άτομα 30 με 35% σε πρωτεΐνη στη τροφή, και τα μεγαλύτερα ψάρια (>110gr) απαιτούν τροφή 25 με 35% σε πρωτεΐνη (Page και Andrews, 1973, NRC, 1977). Τα επίπεδα της πρωτεΐνης έχουν προσδιοριστεί και για τον κυπρίνο διαφόρων μεγεθών (NRC, 1977). Για τα ιχθύδια προτάθηκε το ποσοστό του 43 ως 47%, για τα νεαρά και ανήλικα άτομα το επίπεδο του 37 ως 42% και για τα ενήλικα άτομα του 28 ως 32%. Οι Balagin και Haller, (1982) εξετάζοντας διάφορες μελέτες που έγιναν για την τιλάπια, συμπέραναν ότι τα ψάρια τα μικρότερα του ενός gr απαιτούν 35 με 50% πρωτεΐνη, τα ψάρια από 1 ως 5 gr απαιτούν 30 με 40% πρωτεΐνη και τα ψάρια από 5 έως 25 απαιτούν 25 με 30%, ενώ η τιλάπια που ζυγίζει πάνω από 25 gr απαιτούν 20 με 25% πρωτεΐνη.

1.3.2. Θερμοκρασία νερού

Οι αλλαγές στην θερμοκρασία του νερού έχουν δείξει ότι μεταβάλλουν τις απαιτήσεις σε πρωτεΐνη μερικών ψαριών, αλλά όχι όλων. Για παράδειγμα, ο chinook σολωμός βρέθηκε ότι απαιτεί τροφή 40% σε πρωτεΐνη στους 8°C και 55% σε 15°C (DeLong και άλλοι, 1958). Ομοίως το ραβδωτό λαβράκι βρέθηκε ότι απαιτεί τροφή 47% σε πρωτεΐνη στους 20 C και 55% στους 14°C (Millikin, 1982, 1983). Ωστόσο, όταν η ιριδίζουσα πέστροφα τράφηκε με εμπορικές τροφές 35, 40 και 48% σε πρωτεΐνη σε θερμοκρασίες που κυμαίνονταν από 9° έως 18°C δεν εντοπίστηκαν κάποιες διαφοροποιήσεις σε απαιτήσεις σε πρωτεΐνη (NRC, 1981).

1.3.3 Απαιτήσεις σε διατροφή

Η ανάγκη σε πρωτεΐνη για τη συντήρηση ενός ζώου, ορίζεται σαν η απαραίτητη ποσότητα πρωτεΐνης που πρέπει να καταναλωθεί από αυτό ώστε να διατηρήσει σταθερό το ισοζύγιο του αζώτου. Ένα ζώο είναι σε ισορροπία αζώτου όταν το εισερχόμενο άζωτο ισούται με το εξερχόμενο και δεν παρατηρείται καμία αλλαγή στο βάρος του σώματος. Τα ζωικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από την σταθερή δυναμική τους θέση όσο αναφορά τα διαφορά τους συστατικά τα οποία υπόκεινται συνεχώς σε αποσύνθεση και επανασύνθεση. Για το λόγο αυτό πρέπει να χορηγούνται

επαρκή αμινοξέα για να διατηρηθεί η σύνθεση του σώματος. Τα αμινοξέα προσλαμβάνονται από τα αποθέματα του σώματος για την σύνθεση πρωτεϊνών, νουκλειικών οξέων και άλλων συστατικών των κυττάρων και απομακρύνονται με υποβάθμιση μέσω οξειδωτικών οδών. Η αντικατάσταση αυτής της προμήθειας αμινοξέων αντιπροσωπεύει επομένως, την απόλυτη ελάχιστη απαίτηση, σε αμινοξέα της τροφής ή την απαίτηση σε πρωτεΐνη για συντήρηση.

1.3.4. Μεθοδολογία

Η μεθοδολογία που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της αποβολής του ενδογενούς αζώτου των ψαριών έχει πρόσφατα αναθεωρηθεί από τους Luquet και Kaushik (1981). Δύο είδη μεθόδων έχουν χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό των απωλειών αζώτου: (1) η άμεση μέθοδος, η οποία υπολογίζει τη συνολική απώλεια μέσω των περιττωμάτων, των ούρων και των απωλειών από τα βράγχια, και (2) η έμμεση μέθοδος, η οποία βασίζεται στην ανάλυση του σώματος. Τα ψάρια λαμβάνονται, για τις μετρήσεις, είτε εφόσον δεν τους έχει χορηγηθεί τροφή ή εφόσον έχουν τραφεί με τροφές που δεν περιέχουν πρωτεΐνη ή με τροφές που περιέχουν μικρές ποσότητες πρωτεΐνης.

Η 2η μέθοδος, είναι η πιο βολική προς εφαρμογή για τα ψάρια. Σε αυτή την περίπτωση η κατακράτηση αζώτου μπορεί να καταμετρηθεί μέσω της διαφοράς ανάμεσα στο άζωτο που καταναλώθηκε και το άζωτο που κατακρατήθηκε από το ψάρι στο τέλος της πειραματικής περιόδου. Αυτά τα δεδομένα μπορεί επίσης να συνδιαστούν με δεδομένα αύξησης

(growth), τα οποία λήφθηκαν με την χορήγηση τροφής σε αυξανόμενες δόσεις, ούτως ώστε το εισερχόμενο άζωτο ή η προσλαμβανομένη πρωτεΐνη να έδινε μηδενική αύξηση.

Οι Luquet και Kaushik (1981) έχουν συγκεντρώσει τις διάφορες τιμές αποβολής ενδογενούς αζώτου για διάφορα είδη ψαριών. Αυτοί οι ερευνητές αναφέρουν διάφορους παράγοντες οι οποίοι φαίνεται να επηρεάζουν αυτές τις μετρήσεις. Η απαίτηση σε πρωτεΐνη για διατήρηση μπορεί να υπολογιστεί, μέσω των στοιχείων για την αποβολή ενδογενούς αζώτου, εφόσον ληφθεί υπόψη η πεψιμότητα και η βιολογική αξία της προς εξέταση πρωτεΐνης.

1.3.4. Υπολογισμένες απαιτήσεις για διατήρηση (maintenance)

Αν και πολλές, πολύ λίγες έρευνες επάνω στις απώλειες ενδογενούς αζώτου έχουν πειραματικά προσδιορίσει τις απαιτήσεις σε πρωτεΐνη για διατήρηση, με την χρήση αγνών (Purified diets) ή ημιαγνών τροφών. Οι Orilo και Chen (1973) υπολόγισαν μία τιμή της τάξης του 0.95gr πρωτεΐνης / kg βάρους σώματος / ημέρα για την απαίτηση για διατήρηση του κυπρίνου, που τρεφόταν με τροφή της οποίας η μόνη πηγή πρωτεΐνης ήταν η καζεΐνη. Ο Kaushik και άλλοι (1981) υπολόγισε ότι η απαίτηση για διατήρηση της ιριδίζουσας πέστροφας είναι 1.6 gr πρωτεΐνης / kg βάρους σώματος / ημέρα, με βάση στοιχεία που λήφθηκαν με την χορήγηση τροφής της οποίας το ιχθυάλευρο ήταν η μόνη πηγή πρωτεΐνης. Η απαίτηση αυτή για το γατόψαρο έφτανε τα 1,3 gr πρωτεΐνης / kg βάρους σώματος / ημέρα, με βάση τους ρυθμούς ανάπτυξης των ψαριών που τρέφονταν με ημερήσια δοσολογία από 0-5% του σωματικού του βάρους

με τροφές που περιείχαν 25 ή 35% σε πρωτεΐνη (ένα μίγμα καζεΐνης-ζελατίνης) (Gatlin και άλλοι, 1986). Η τιμή της απαίτησης βρέθηκε ότι ήταν περίπου 1,0 gr πρωτεΐνη / kg βάρους σώματος / ημέρα βάση τα δεδομένα εναπόθεσης πρωτεΐνης, για τις παραπάνω μελέτες αύξησης.

1.4. ΠΟΙΟΤΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΣΕ ΑΜΙΝΟΞΕΑ

1.4.1. Μεθοδολογία

1.4.1.1. Μελέτες Αύξησης

Η πρώτη επιτυχημένη πειραματική τροφή αμινοξέων για ψάρια δημιουργήθηκε από τον Halver το 1957. Δημιούργησε την αρχική του πειραματική τροφή βασισμένος σε προηγούμενες πειραματικές τροφές αμινοξέων που χρησιμοποιήθηκαν από τον Rose και συναδέλφους του για τον προσδιορισμό των απαιτήσεων σε αμινοξέα των νεαρών albino ποντικιών (Mertz, 1972). Ο Halver σύγκρινε τις πειραματικές τροφές που περιείχαν 70% (επί του ξηρού βάρους) κρυσταλλικά L-αμινοξέα, και οι οποίες δημιουργήθηκαν με βάση την σύνθεση σε αμινοξέα των πρωτεϊνών του αυγού της κότας, του αυγού του chinook σολωμού και του λεκιθικού σάκου των ιχθυδίων του chinook σολωμού. Η τροφή που έγινε με βάση την πρωτεϊνική σύνθεση του αυγού της κότας έδωσε την καλύτερη ανάπτυξη των ψαριών και αποδοτικότητα της τροφής (Feed Efficiency) όταν χορηγήθηκε στον chinook σολωμό για μία περίοδο 12 εβδομάδων. Για το λόγο αυτό, αυτή η πειραματική τροφή χρησιμοποιήθηκε για τον

προσδιορισμό των ποσοτικών απαιτήσεων σε αμινοξέα του chinook σολωμού (Halver και άλλοι, 1957). Αυτοί οι ερευνητές προσδιόρισαν την αναγκαιότητα 18 κοινών στις πρωτεΐνες, αμινοξέων συγκρίνοντας τους σχετικούς ρυθμούς αύξησης των ψαριών που τρέφονταν με την βασική τροφή και την τροφή που περιείχε το κάθε ειδικό αμινοξύ σε ανεπάρκεια (amino acid deficient diet) για μία περίοδο 10 ημερών. Για κάθε κατηγορία που τρεφόταν με ένα από τα 10 απαραίτητα αμινοξέα, σε ανεπάρκεια τα ψάρια χωρίζονταν σε ομάδες μετά από 6 εβδομάδες, μία ομάδα συνέχιζε με την ανεπαρκή τροφή και οι άλλες με την βασική τροφή. Τα ψάρια κάθε ομάδας που άλλαζε σε βασική τροφή σημείωναν μία άμεση και σημαντική αύξηση.

Διάφοροι άλλοι ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει πειραματικές τροφές αμινοξέων παρόμοιες με αυτές που αναπτύχθηκαν από τον Halver (1957), για να μελετήσουν την αναγκαιότητα των διαφόρων αμινοξέων και στα άλλα είδη. Αρχικές μελέτες επάνω στον κοινό κυπρίνο με την χρήση της τροφής του Halver κ.α. (1957), υπήρξαν ανεπιτυχείς γιατί αν και τα ιχθύδια κατανάλωναν τις πειραματικές τροφές, είχε παρατηρηθεί μία σημαντική μείωση στον ρυθμό ανάπτυξης η οποία σχετιζόταν άμεσα με τη ποσότητα των αμινοξέων στις πειραματικές τροφές (Aoe και άλλοι, 1970). Οι Dupree και Halver (1970) και ο Nose και άλλοι (1974) διαπίστωσαν ότι οι πειραματικές τροφές αμινοξέων πρέπει να ουδετεροποιηθούν με τη χρήση μιας βάσης, όπως το υδροξείδιο του Νατρίου, πριν την χορηγησή τους στα γατόψαρα και τον κοινό κυπρίνο, αντίστοιχα.

Διαιτολόγοι καρκινοειδών απέτυχαν στην χρήση πειραματικών τροφών με κρυσταλλικά αμινοξέα για να μελετήσουν τις διατροφές

ανάγκες σε αμινοξέα. Οι Deshimaru και Kuroki (1975) παρασκεύασαν μία πειραματική τροφή αμινοξέων για την μελέτη των ποσοτικών απαιτήσεων της *P. japonicus*, και βρήκαν ότι η τροφή ήταν ακατάλληλη για να στηρίξει την αύξηση και την επιβίωση.

1.4.1.2. Μελέτες τιτλοδότησης

Διάφοροι ερευνητές απέτυχαν να δημιουργήσουν πειραματικές τροφές αμινοξέων οι οποίες να μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μελέτες αύξησης ορισμένων ψαριών και των καρκινοειδών. Γι'αυτό, αυτοί οι ερευνητές χρησιμοποίησαν ραδιενεργό ^{14}C για την διεξαγωγή μελετών με στοχο τον προσδιορισμό των ποιοτικών απαιτήσεων σε αμινοξέα αυτών των οργανισμών. Το βασικό σκεπτικό ήταν ότι αν κατάλληλο υπόστρωμα, μαρκαρισμένο με ^{14}C , όπως η γλυκόζη ή η ακετόνη, σημαντική ποσότητα του ^{14}C θα ενσωματωθεί σε συστατικά, τα οποία συνθέτει ο οργανισμός. Με τον τρόπο αυτό τα αμινοξέα που θα απομωνοθούν από τον οργανισμό, μετά την χορήγηση του υποστρώματος με τον ^{14}C θα χαρακτηριστούν ως μη απαραίτητα, ενώ αυτά που δεν θα έχουν ραδιενέργεια ως απαραίτητα.

Ο Cowey και άλλοι (1970) χρησιμοποίησαν αυτή την τεχνική για να προσδιορίσουν τις ποιοτικές απαιτήσεις σε αμινοξέα της γλώσσας. Σε μερικά ψάρια (2-3 gr) έγινε ενδοπεριτοναϊκή ένεση με [U - ^{14}C] γλυκόζη και για 6 ημέρες τράφηκαν με μία φυσική τροφή, στη συνέχεια θανατώθηκαν και αφού ομογενοποιήθηκαν, απομονώθηκε η πρωτεΐνη. Ένα δείγμα της πρωτεΐνης υδρολύθηκε και τα αμινοξέα διαχωρήστηκαν με

χρωματογραφία και μετρήθηκε η ραδιενέργεια τους. Η τελευταία ήταν υψηλή μόνο για τα μη απαραίτητα αμινοξέα. Παρόμοιες μελέτες διεξήχθησαν με το λαβράκι (*Dicentrarcus labrax*) (Metallier και άλλοι, 1973).

Διάφοροι ερευνητές χρησιμοποίησαν [U - 14C] γλυκόζη, [3 - 14C] πυρουβικό ή [14C] - η [3H] ακετόνη, επιτυχώς για την μελέτη των ποιοτικών απαιτήσεων σε αμινοξέα των καρκινοειδών. Για παράδειγμα οι Cowey και Forster (1971) χρησιμοποίησαν [U - 14C] ακετόνη για τον προσδιορισμό των ποιοτικών απαιτήσεων του την *Palaemon setratus*. Σε άτομα (4 gr) έγινε ενδοφλέβια ένεση μαρκαρισμένης ακετόνης και για 6 ημέρες διατηρήθηκαν σε ελεγχόμενες συνθήκες, και στη συνέχεια μέρος της πρωτεΐνης του σώματος απομονώθηκε. Δείγμα αυτής υδρολύθηκε και τα περιεχόμενα αμινοξέα διαχωρήθηκαν και μετρήθηκε η ραδιενέργεια τους. Αυτή βρέθηκε να έχει ενσωματωθεί στα μη απαραίτητα αμινοξέα και όχι στα απαραίτητα αμινοξέα.

1.4.2. Ποσοτικές απαιτήσεις

Όλοι οι Οστειχθύες που έχουν μελετηθεί ως τώρα φαίνεται ότι απαιτούν όλοι τα ίδια 10 αμινοξέα, τα οποία θεωρούνται απαραίτητα για τα περισσότερα ζώα (πίνακας 1.3). Σε αυτά περιλαμβάνονται: η Αργινίνη, η Ιστιδίνη, η Λευκίνη, η Ισολευκίνη, η Λυσίνη, η Μεθειονίνη, η Φαινυλαλανίνη, η Θρεονίνη, η Τρυπτοφάνη και η βαλίνη.

Οι ποιοτικές απαιτήσεις σε αμινοξέα έχουν μελετηθεί για πολλά είδη γαρίδων, караβίδων και δύο ειδών καβουριών (πίνακας 1.4). Τα αποτελέσματα, συμφωνούν με αυτά για τα άλλα ζώα, δείχνοντας ότι τα 10 αμινοξέα που θεωρούνται απαραίτητα για τα άλλα ζώα είναι απαραίτητα προφανώς και για αυτά τα είδη (New, 1976, Biddle, 1977). Έχουν αναφερθεί μερικές διαφορές για ορισμένα είδη. Ο Watanabe (1975) παρατήρησε την ενσωμάτωση ραδιενέργειας στη Λυσίνη στην *Macrobranchium rosenbergii*, πράγμα το οποίο έδειχνε ότι η Λυσίνη δεν ήταν απαραίτητο αμινοξύ γι'αυτά τα είδη. Αυτό το συμπέρασμα αποδόθηκε στις πιθανές δυσκολίες των αναλύσεων (New, 1976). Οι Van Marrewijk και Zandee (1975) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η Ασπαραγίνη είναι απαραίτητο αμινοξύ για την караβίδα (*Astacus leptodactylus*). Αυτή η παρατήρηση είναι σημαντική, διότι η Ασπαραγίνη έχει επίσης αποδειχθεί ότι είναι απαραίτητη για ορισμένα έντομα (Dadd, 1983).

1.5. ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΣΕ ΑΜΙΝΟΞΕΑ (Π.Α.Α)

1.5.1. Μεθοδολογία

1.5.1.1. Πειραματικές τροφές αμινοξέων (Π.Τ.Α)

Οι περισσότεροι ερευνητές χρησιμοποίησαν τη βασική μέθοδο που αναπτύχθηκε από τον Halver και τους συνεργάτες του (Mertz, 1972) για τον προσδιορισμό των Π.Α.Α των ψαριών. Αυτή η μέθοδος περιλαμβάνει

την χορήγηση τροφών με σταδιακά αυξανόμενες ποσότητες ενός αμινοξέος, οι οποίες περιείχαν είτε μόνο κρυσταλλικά αμινοξέα ή μείγμα καζεΐνης, ζελατίνης, και κρυσταλλικών αμινοξέων, συνδιασμένα με τέτοιο τρόπο ώστε το προφίλ τους σε αμινοξέα να είναι ίδιο με αυτό της πρωτεΐνης των αυγών της κότας πλην του αμινοξέος που μελετούσαν. Οι τροφές παρασκευάζονται έτσι ώστε να περιέχουν πρωτεΐνη σε επίπεδο ίδιο ή ελαφρά μικρότερο του απαιτούμενου από τα ψάρια, για να εξασφαλιστεί έτσι η μέγιστη χρησιμοποίηση του περιοριστικού αμινοξέως. Αυτή η διαδικασία έχει επιτυχώς εφαρμοστεί σε διάφορα είδη σολωμού (chinook, coho και sockeye), το ιαπωνικό χέλι και την ιριδίζουσα πέστροφα. Ωστόσο, οι πειραματικές τροφές αμινοξέων πρέπει να ουδετεροποιηθούν πριν την χορηγησή τους στον κοινό κυπρίνο (Nae κ.α., 1974) και το γατόψαρο (Wilson κ.α., 1977), με κάποια βάση όπως το υδροξείδιο του Νατρίου. Μερικοί ερευνητές έχουν επίσης ουδετεροποιήσει τις πειραματικές τροφές και για άλλα είδη, π.χ. την ιριδίζουσα πέστροφα και τον chum σολωμό (*Oncorhynchus keta*) (Akiyama και άλλοι, 1985α).

Άλλοι ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει ημιαγνές (semipurified) και πρακτικές τροφές για να προσδιορίσουν τις Π.Α.Α. για τα ψάρια, με σχετική επιτυχία. Γενικά έχουν χρησιμοποιηθεί δύο είδη πειραματικών τροφών. Ο ημιαγνός τύπος τροφής που περιλαμβάνει την προσθήκη μη ισιρροπημένων πρωτεϊνών σαν την κύρια πηγή αμινοξέων, όπως το καλαμποκάλευρο (Halver και άλλοι, 1958, Ketola, 1983) η οποία παρουσιάζει ανεπάρκεια σε ορισμένα αμινοξέα. Η πρακτική τροφή συμπεριλαμβάνει την χρήση φυσικών συστατικών για να καλυφθεί η

ποικιλία των αμινοξέων στην τροφή. Αυτά τα συστατικά μπορεί να συνδιάζονται ώστε να αποκτούν ένα σταθερό ποσοστό πρωτεΐνης και το υπόλοιπο να συμπληρώνεται με κρυσταλλικά αμινοξέα ή να συνθέτονται έτσι ώστε μόνο το υπό μελέτη αμινοξύ να βρίσκεται σε ανεπάρκεια (Luquet & Sabaut, 1974, Jackson & Capper, 1982, Hughes και άλλοι, 1983, Thebault και άλλοι, 1985, Walton και άλλοι, 1984, α,β). Ο Wilson (1985) έχει επισημάνει μερικά από τα πιθανά προβλήματα τα οποία να εμπερικλείει η χρήση αυτών των τύπων τροφής, όσο αναφορά την εκτίμηση των Π.Α.Α. των ψαριών.

1.5.1.2. Μελέτες επάνω στην ανάπτυξη

Οι περισσότερες τιμές των Π.Α.Α. οι οποίες έχουν καταγραφεί έως σήμερα, έχουν υπολογιστεί με βάση τις καμπύλες αύξησης ή τα διαγράμματα Alimquist. Πολλαπλές ομάδες ψαριών τρέφονται με τροφές που περιέχουν σταδιακά αυξανόμενα επίπεδα του υπό μελέτη αμινοξέος έως ότου εμφανιστούν σημαντικές διαφορές στην αύξηση των ψαριών. Μία γραμμική αύξηση στον ρυθμό ανάπτυξης παρατηρείται όσο αυξάνεται η πρόσληψη του αμινοξέως έως ενός σημείου ισορροπίας, το οποίο αντιστοιχεί στη απαίτηση του ψαριού για αυτό το αμινοξύ.

Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες μέθοδοι για τον υπολογισμό ή την εκτίμηση του σημείου ισορροπίας, το οποίο αντιστοιχεί στις τιμές απαίτησης με βάση τα δεδομένα αύξησης (growth). Μερικοί ερευνητές έχουν προσδιορίσει τις τιμές απαίτησης με την χρήση των διαγραμμάτων Alimquist, χωρίς κάποια στατιστική ανάλυση (DeLong και άλλοι, 1962),

ενώ άλλοι έχουν χρησιμοποιήσει την ανάλυση συσχέτισης (Akiyama κ.α., 1985α). Ο Wilson και άλλοι (1980) χρησιμοποίησε το μοντέλο της συνεχούς διακοπτόμενης γραμμής, όπως το διατύπωσε ο Robbins και άλλοι (1979). Ο Santiago (1985) χρησιμοποίησε και τις δύο μεθόδους για την ανάλυση των δεδομένων αύξησης της *T.nilotica*. Το μοντέλο που έδωσε το μικρότερο σφάλμα χρησιμοποιήθηκε τελικά για τους υπολογισμούς. Για τα επτά των αμινοξέων (Αργινίνη, Ιστιδίνη, Λευκίνη, Βαλίνη, Λυσίνη, Φαινυλαλανίνη, και Τρυπτοφάνη) η ανάλυση συσχέτισης χρησιμοποιούμενο έδωσε τις ελάχιστες και τις μέγιστες τιμές απαιτήσεων. Για τα υπόλοιπα τρία αμινοξέα, το μοντέλο της διακεκομένης γραμμής χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της βέλτιστης τιμής απαίτησης.

Οι Cowey και Tacon (1983) και Cowey και Luquet (1983) αξιολόγησαν τα διάφορα προβλήματα στον ακριβή προσδιορισμό των απαιτήσεων σε αμινοξέα των ψαριών, με βάση τις μελέτες αύξησης. Μερικά από αυτά τα προβλήματα αφορούν π.χ. τον προσδιορισμό του σημείου ισορροπίας, το οποίο είναι συχνά υποκειμενικό, τους ρυθμούς αύξησης που παρατηρούνται με τις Πειραματικές Τροφές αμινοξέων, οι οποίοι είναι μικρότεροι αυτών που παρατηρούνται με τις φυσικές πρωτεϊνούχες τροφές, επίσης υπάρχει πάντα η πιθανότητα ότι ποσότητες των κρυσταλλικών αμινοξέων που περιέχονται στην τροφή να διαφεύγει κατά τη διάρκεια χορήγησης της τροφής.

1.5.1.3. ΜΕΛΕΤΕΣ ΕΠΆΝΩ ΣΤΑ ΑΜΙΝΟΞΈΑ ΤΟΥ ΟΡΟΥ Η ΤΟΥ ΙΣΤΟΥ

Λίγοι ερευνητές βρήκαν ότι υπάρχει μεγάλος βαθμός συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων ελευθερών αμινοξέων είτε του ορού είτε του αίματος και των μυών και της πρόσληψης αμινοξέων από τα ψάρια. Η κύρια υπόθεση είναι ότι η συγκέντρωση ενός αμινοξέος στον όρο ή παραμένει σε χαμηλά επίπεδα έως ότου ικανοποιηθεί η απαίτηση για το δεδομένο αμινοξύ, και μετά να αυξάνεται σε μέγιστα επίπεδα όταν χορηγηθεί σε περίσσεια αυτό το αμινοξύ. Αυτή η τεχνική έχει αποδειχτεί χρήσιμη για την επιβεβαίωση των απαιτήσεων σε αμινοξέα, μόνο σε λίγες περιπτώσεις. Για παράδειγμα, από τις μελέτες για απαίτηση των 10 βασικών αμινοξέων στο γατόψαρο, μόνο η Λυσίνη (Wilson και άλλοι, 1977), η θρεονίνη (Wilson και άλλοι, 1978), η Ιστιδίνη (1980), και η Μεθειονίνη (Harding και άλλοι, 1977) του ορού έδωσαν δεδομένα για την επιβεβαίωση των τιμών των απαιτήσεων για αυτά τα αμινοξέα. Η ποσότητα της ελεύθερης Μεθειονίνης του πλάσματος του ορού και του αίματος αποδείχθηκε χρήσιμη στον υπολογισμό των ποσοτικών απαιτήσεων του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*), (Thebault, 1985, Thebault και άλλοι, 1985). Ο Kaushik (1979) προσδιόρισε την ποσότητα της ελεύθερης Αργινίνης στους ιστούς, και το αίμα της ιριδίζουσας πέστροφας που τρέφονταν με αυξανόμενα επίπεδα Αργινίνης. Αν και παρατηρούσε μία σταδιακή αύξηση της ελεύθερης Αργινίνης στους ιστούς, δεν μπόρεσε να επιβεβαιώσει την απαίτηση, όπως αυτή προσδιορίστηκε με τους ρυθμούς αύξησης. Παρόμοιες παρατηρήσεις αναφέρθηκαν και για το γατόψαρο (Robinson και άλλοι, 1981), που τρέφονταν με αυξανόμενα

επίπεδα Αργινίνης. Επιπλέον, ο Walton και άλλοι (1984b), δεν κατάφεραν να επιβεβαιώσουν την απαίτηση σε Τρυπτοφάνη της ιριδίζουσας πέστροφας, μέσω της ποσότητας της Τρυπτοφάνης στο αίμα, όπως αυτή υπολογίστηκε με τις καμπύλες αύξησης. Η ελεύθερη Λυσίνη, Θρεονίνη και Ισολευκίνη των μυών υπήρξαν χρήσιμες στην επιβεβαίωση των απαιτήσεων αυτών των αμινοξέων βάση της αύξησης της *T. nilotica*, ωστόσο, για τα άλλα αμινοξέα, η ποσότητα των αμινοξέων στους μύες αυξήθηκε με την εισαγωγή του προς εξέταση αμινοξέος (Santiago, 1985).

1.5.1.4. Μελέτες επάνω στην οξειδωση των αμινοξέων

Αυτή η τεχνική πρωτοχρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό των απαιτήσεων σε Λυσίνη του ποντικίου (Brookes και άλλοι, 1972). Αυτή η τεχνική βασίζεται στη γενική υπόθεση ότι όταν ένα αμινοξύ είναι περιορισμένο ή ανεπαρκές σε μία τροφή, η μεγαλύτερη ποσότητα αυτού θα χρησιμοποιηθεί για την πρωτεϊνική σύνθεση και μικρή ποσότητα θα συσσωρευτεί στο πλάσμα ή θα οξειδωθεί σε διοξείδιο του άνθρακα, ενώ όταν η ποσότητα του αμινοξέος είναι μεγάλη σε περίσσεια και δεν αποτελεί περιοριστικό παράγοντα της πρωτεϊνικής σύνθεσης, τα επίπεδά του στο πλάσμα θα αυξηθούν και μεγαλύτερη ποσότητα θα είναι διαθέσιμη για οξειδωση. Η προσλαμβανομένη ποσότητα, η οποία προκαλεί αύξηση της οξειδωσης των αμινοξέων, θα πρέπει επομένως να αποτελεί έναν άμεσο δείκτη των απαιτήσεων σε αυτό το συγκεκριμένο αμινοξύ.

Αυτή η συγκεκριμένη τεχνική έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τον προσδιορισμό των απαιτήσεων σε Λυσίνη της ιριδίζουσας πέστροφας (Walton και άλλοι, 1984α). Αυτοί οι ερευνητές χορήγησαν στην πέστροφα πειραματικές τροφές που περιείχαν διαβαθμιζόμενες ποσότητες Λυσίνης, για 12 εβδομάδες. Σε τρία ψάρια από κάθε διατροφική αγωγή έγινε ενδοπεριτοναϊκή ένεση με μικρή δόση [U - 14C] Λυσίνης και το αποβαλλόμενο CO₂ συλλεγόταν επί 20 ώρες. Η ποσότητα του [14C] CO₂ που παραγόταν χρησιμοποιήθηκε σαν άμεσος δείκτης του ρυθμού οξείδωσης της Λυσίνης στο ψάρι. Το επίπεδο της παρατηρούμενης οξείδωσης ήταν μικρό στα ψάρια που τρέφονταν με την τροφή την φτωχή σε Λυσίνη, κάπως μεγαλύτερο για τα ενδιάμεσα και πολύ μεγαλύτερο για τα υψηλότερα επίπεδα Λυσίνης στην τροφή. Το σημείο καμπής (breakpoint) της καμπύλης δόσης-απόκρισης έδειξε απαίτηση 20 gr Λυσίνης / kgg τροφής, η οποία ήταν κοντά σε αυτή των 19 gr Λυσίνης / kgg τροφής που λήφθηκε με δεδομένα αύξησης. Οι ίδιοι ερευνητές έχουν επίσης χρησιμοποιήσει αυτή τη μέθοδο και για τον υπολογισμό των απαιτήσεων σε Τρυπτοφάνη της ιριδίζουσας πέστροφας (Walton και άλλοι, 1984). Σε αυτή την περίπτωση η τιμή της απαίτησης ήταν μικρότερη, 2,0 2.5 gr / kgg τροφής, όταν προσδιοριζόταν μέσω της οξείδωσης της τρυπτοφάνης από ότι με δεδομένα αύξησης.

1.5.2. Απαιτήσεις σε Αργινίνη (A.Αρ.)

Οι τιμές των Α. Αρ. παρατίθενται στον πίνακα 1.5. Ο σολωμός έχει την μεγαλύτερη τιμή, περίπου 6% της προσλαμβανομένης πρωτεΐνης,

ενώ άλλα είδη φτάνουν το 4 με 5% της πρωτεΐνης. Υπάρχει ακόμα κάποια σύγχυση όσο αναφορά τις A-Ar της ιριδίζουσας πέστροφας. Η πρόσφατη τιμή που προσδιορίστηκε από τους Cho και Woodward (1985) φαίνεται να επαληθεύεται από τα πειραματικά τους δεδομένα. Αυτοί οι ερευνητές κατάφεραν ίδιους ρυθμούς ανάπτυξης των ψαριών που τρέφονταν με τις πειραματικές τροφές αμινοξέων με αυτές των ψαριών που τρέφονταν με τις τροφές με φυσική πρωτεΐνη. Χρησιμοποίησαν άγαρ για το δέσιμο ή την επικάλυψη των αμινοξέων πριν την εισαγωγή του στην πειραματική τροφή. Αυτή η διαδικασία μπορεί να μείωσε το ποσό των ελεύθερων αμινοξέων που χανόταν λόγω της διάλυσης της τροφής, οπότε και αυτό είχε σαν αποτέλεσμα την καλύτερη ανάπτυξη των ψαριών που τρέφονταν με τις πειρ. τροφές αμινοξέων. Επίσης παρατήρησαν μία αύξηση της ποσότητας της ουρίας στον ορό, πράγμα το οποίο βοήθησε στην επιβεβαίωση της τιμής απαίτησης που βασιζόταν σε δεδομένα αύξησης.

Οι A-Ar της ιριδίζουσας πέστροφας επηρεάζονται, όπως έχει αναφερθεί, από την αλατότητα (Kaushik, 1979). Ο Kaushik υπολόγισε ότι η απαίτηση έφτανε το 3.3% της πρωτεΐνης στα γλυκά νερά, και εάν η αλατότητα αυξανόταν στα 20 ppt η απαίτηση μειωνόταν στο 2.8% και έφτανε στο 2.2% της πρωτεΐνης σε θαλασσινό νερο. Αυτά τα δεδομένα δείχνουν, ότι οι απαιτήσεις σε πρωτεΐνη πρέπει να μειώνονται καθώς η αλατότητα αυξάνει. Ωστόσο, οι Zeitoun και άλλοι (1973) ανέφεραν ότι τα νερά άτομα της ιριδίζουσας πέστροφας απαιτούν τροφή 40% σε πρωτεΐνη για βέλτιστη ανάπτυξη, σε αλατότητα 10 ppt και 45% σε

πρωτεΐνη, σε αλατότητα 20 ppt. Αυτό δείχνει ότι απαιτούνται και άλλες μελέτες για να επιβεβαιωθούν αυτές οι παρατηρήσεις.

1.5.3. Απαιτήσεις σε Ιστιδίνη (A.I.)

Οι A.I. των ψαριών παρουσιάζονται στον πίνακα 1.6. Έχει παρατηρηθεί άριστη συμφωνία μεταξύ των ειδών που έχουν μελετηθεί, αφού σε όλα κυριαρχεί το ποσοστό του 1,5 ως 2,1% της πρωτεΐνης. Οι Wilson και άλλοι (1980) βρήκαν ότι στο γατόψαρο η ποσότητα της ελεύθερης Ιστιδίνης στον ορό, αυξανόταν όσο αυξανόταν η ποσότητα της προσλαμβανομένης Ιστιδίνης από τη τροφή (προσδιορίστηκε με βάση τα δεδομένα ανάπτυξης) και στην συνέχεια παρέμενε σταθερή για ψηλότερα επίπεδα πρόσληψης.

Η συγκέντρωση της καρνοσίνης (carnosine) των μυών έχει αποδειχτεί ότι μεταβάλλεται με την χορήγηση Ιστιδίνης στα κοτόπουλα (Robins και άλλοι, 1977) και στον chinook σολωμό (Lukton, 1958). Και στις δύο περιπτώσεις, η καρνοσίνη των μυών μειωνόταν στο ελάχιστο με τη χορήγηση τροφής ανεπαρκούς σε Ιστιδίνη. Στα κοτόπουλα, όταν η Ιστιδίνη αυξανόταν σε επίπεδα μεγαλύτερα των απαιτήσεων, το επίπεδο της καρνοσίνης πλησίαζε το φυσιολογικό. Σε αντίθεση με τα παραπάνω, η καρνοσίνη δεν μπορούσε να ανιχνευτεί στον ιστό των μυών του γατόψαρου ασχέτως του επιπέδου της Ιστιδίνης στη τροφή (Wilson κ.ά., 1980). Αυτό μπορεί ωστόσο, να αποτελεί έναν άλλο πιθανό δείκτη του επιπέδου της Ιστιδίνης σε άλλα ψάρια.

1.5.4. Απαιτήσεις σε άλλα αμινοξέα

1.5.4.1. Απαιτήσεις σε ισολευκίνη (Α.Ισο.)

Οι Α.Ισο. παρουσιάζονται στον πίνακα 1.7. Η απαίτηση αυτή φαίνεται ότι κυμαίνεται από το 2.0 έως το 2.6% της πρωτεΐνης για αυτά τα είδη που μελετήθηκαν, εκτός του Ιαπωνικού χελιού, για το οποίο οι τιμές είναι υψηλότερες. Η τιμή που αναφέρθηκε αρχικά για την πέστροφα (lake trout) (*Salvelinus namaycush*) ήταν χαμηλότερη (1.54 ως 2.06%) από αυτές που παρατηρήθηκαν σε άλλα ψάρια, (Hugher και άλλοι, 1983). Αυτοί οι ερευνητές ισχυρίζονται ότι οι πειραματικές τροφές σχεδιάστηκαν έτσι ώστε να πληρούν τις απαιτήσεις σε αμινοξέα σε τροφές που περιείχαν 35% πρωτεΐνη, αλλά όταν ο υπολογισμός της ολικής πρωτεΐνης γινόταν με βάση το περιεχόμενο, άζωτο των πειραματικών τροφών η τιμή για το επίπεδο πρωτεΐνης ήταν χαμηλότερη. Όταν οι μετρήσεις γίνονται με βάση τον προηγούμενο τρόπο η τιμή της Α.Ισο. βρισκόταν εντός του εύρους που αναφέρθηκε για τα άλλα είδη.

Οι Wilson και άλλοι (1980) προσδιόρισαν τις επιδράσεις της διαθέσιμης ισολευκίνης επάνω στη ελεύθερη Ισολευκίνη, λευκίνη και βαλίνη του ορού, για το γατόψαρο. Αν και η ισολευκίνη του ορού αυξανόταν κάπως με την αύξηση της χορήγησης ισολευκίνης, αυτά τα δεδομένα δεν επιβεβαιώνουν τις τιμές των Α.Ισο., οι οποίες προσδιορίστηκαν με βάση δεδομένα ανάπτυξης. Οι τιμές της ελεύθερης Λευκίνης και Βαλίνης στον ορό ήταν ανάλογες των συγκεντρώσεων της

ισολευκίνης στον ορρό. Αυτοί οι ερευνητές επίσης παρατήρησαν μία μεγαλύτερη της αναμενόμενης θνησιμότητα, στα ψάρια που τρέφονταν με τροφή ανεπαρκή σε ισολευκίνη.

1.5.4.2. Απαιτήσεις σε Λευκίνη (Α.Λ.)

Οι Α.Λ. των ψαριών φαινονται στον πίνακα 1.8. Η απαίτηση φαίνεται ότι κυμαίνεται από το 3.3 έως το 4.0% της πρωτεΐνης, για τα ψάρια που μελετήθηκαν, εκτός του χελιού, για το οποίο ισχύουν πολύ υψηλότερες τιμές. Η τιμή για την πέστροφα (lake trout) (Hughes και άλλοι, 1985) ήταν χαμηλότερη (2.7 ως 3.6%) αλλά, μετά από επαναπροσδιορισμό των τιμών φαίνεται ότι αυτή συμφωνεί με αυτές που αναφέρθηκαν προηγουμένως για τα άλλα είδη.

Οι Wilson και άλλοι (1980) ανέφεραν ότι το επίπεδο της ελεύθερης λευκίνης στον ορρό του γατόψαρου, παρέμενε σταθερό, ανεξάρτητα από την ποσότητα της προσλαμβανομένης Λευκίνης. Υπήρξε, ωστόσο, μία αξιοσημείωτη επίδραση της ποσότητας προσλαμβανομένης Λευκίνης επάνω στην Ισολευκίνη και την Βαλίνη. Σημειώθηκε μία 6πλάσια αύξηση της ελεύθερης Ισολευκίνης στον ορρό και της Βαλίνης, όταν το ποσοστό της προσλαμβανομένης Λευκίνης έφτανε το 0,7%, σε σχέση με το 0,6%. Αυτά τα αυξημένα επίπεδα ισολευκίνης και βαλίνης δεν πλησίασαν στο βασικό, παραμόνο όταν το επίπεδο έφτασε το 1.2% ή μεταλύτερο. Αυτή η παρατήρηση έγινε για να δείξουμε ότι η Λευκίνη διευκολύνει την πρόσληψη των διακλαδισμένων αμινοξέων από τους ιστούς και/ή τον ενδοκυτταρικό τους μεταβολισμό.

1.5.4.3. Απαιτήσεις σε Βαλίνη (A.B.)

Οι Α.Β. των ψαριών φαίνονται στον πίνακα 1.9. Υπάρχει συμφωνία μεταξύ των τιμών που αναφέρθηκαν για τα ψάρια που μελετήθηκαν, και ότι οι Α.Β. κυμαίνονται μεταξύ του 3 και του 4% της πρωτεΐνης. Αρχικά παρατηρήθηκε χαμηλότερη τιμή για την πέστροφα (lake trout) (1,8 ως 2,2%) (Hughes και άλλοι, 1983), αλλά με την επαλήθευση των δεδομένων, η νέα τιμή συμφωνούσε με τις υπόλοιπες.

Οι μελέτες για την επίδραση της καταναλισκόμενης βαλίνης επάνω στην βαλίνη με ορό του γατόψαρου έδωσαν αποτελέσματα παρόμοια με αυτά που περιγράφησαν για την ισολευκίνη (Wilson και άλλοι, 1980).

1.5.4.4. Αλληλεπιδράσεις

Φαίνεται να υπάρχουν κάποιες διαφορές σ'ότι αφορά τις αλληλεπιδράσεις των Ισολευκίνη-Λευκίνη-Βαλίνη, για τα διάφορα ψάρια. Ο Chance και άλλοι (1964) ανέφεραν ότι η Α.Ισο. του chinook σολωμού αυξήθηκε ελαφρώς όταν αυξάνονταν τα επίπεδα της Λευκίνης στη τροφή. Αυτό το γεγονός δεν παρατηρήθηκε στον κοινό κυπρίνο (Nose, 1979), και στο γατόψαρο (Robinson και άλλοι, 1984). Ο Nose (1979), ωστόσο κατέγραψε μειωμένους ρυθμούς ανάπτυξης στον κυπρίνο που τρεφόταν με υψηλές ποσότητες ισολευκίνης κατά την μελέτη του επάνω στις Α.Λ. Αυτή η χαμηλότερη ανάπτυξη δεν παρατηρήθηκε όταν η μελέτη επάνω

στην Α.Λ. επαναλήφθηκε με μικρότερα ποσοστά ισολευκίνης. Ο Hughes και άλλοι (1983) παρατήρησαν μία διαφοροποίηση στο πρότυπο των ελεύθερω branched-chain αμινοξέων του πλάσματος, στη πέστροφα (lake trout), η οποία τρεφόταν με αυξανόμενα ποσοστά Βαλίνης, σε σχέση με το τι προηγούμενα παρατηρήθηκε στο γατόψαρο (Wilson και άλλοι, 1980). Δεν παρατηρήθηκε καμία αξιοσημείωτη αλλαγή των συγκεντρώσεων της ελεύθερης Βαλίνης στο πλάσμα έως ότου ικανοποιήθηκαν οι Α.Β. και μετά να αυξηθούν κατά 2-5 φορές περίπου. Η ελεύθερη ισολευκίνη και λευκίνη στο πλάσμα αυξήθηκαν στα ψάρια σε ανεπάρκεια Βαλίνης και μετά μειώθηκαν καθώς η προσλαμβανομένη Βαλίνη αυξανόταν.

Οι Robinson και άλλοι (1984) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι υπάρχει μία διατροφική συσχέτιση μεταξύ των branched-chain αμινοξέων στο γατόψαρο, αλλά αυτή η αλληλεπίδραση δεν φαίνεται να είναι έντονη όσο σε άλλα ζώα. Αυτοί οι ερευνητές επίσης, υποστηρίζουν ότι η Λευκίνη μπορεί να ελέγχει είτε την πρόσληψη από τους ιστούς ή τον καταβολισμό της Βαλίνης και της Ισολευκίνης στο γατόψαρο.

1.5.5. Απαιτήσεις σε Λυσίνη (Α.Λυσ.)

Οι τιμές των Α.Λυσ. παρουσιάζονται στον πίνακα 1.10. Παρόμοιες τιμές έχουν καταγραφεί και για τον χίποσκ σολωμό, το Ιαπωνικό χέλι, το γατόψαρο και την τσιπούρα. Ελαφρώς μεγαλύτερη τιμή παρατηρήθηκε για τον κυπρίνο. Η χαμηλότερη τιμή που εμφανίζει η τιλάπια, μπορεί να οφείλεται στους μικρούς ρυθμούς ανάπτυξης, και/ή στον τύπο της

πειραματικής τροφής που χρησιμοποιήθηκε. Η απαίτηση σε Λυσίνη για την ιριδίζουσα πέστροφα είναι κάπως μικρότερη από αυτή των άλλων ειδών. Ο Walton και άλλοι (1984α) παρατήρησαν ότι υπάρχει άριστη συμφωνία μεταξύ των τιμών των Α.Λυσ. που καταγράφησαν μέσω των μελετών ανάπτυξης ή των μελετών επάνω στην οξειδωση των αμινοξέων, της ιριδίζουσας πέστροφας. Η πιο υψηλή τιμή καταγράφηκε από τον Ketola (1983), και φαίνεται να είναι σε πλήρη ασυμφωνία με τις άλλες. Ο Ketola (1983) παρατήρησε πολύ υψηλή θνησιμότητα καθώς επίσης και παραμόρφωση του εδρικού πτερυγίου στα ψάρια που τράφηκαν με τροφές ανεπαρκείς σε Λυσίνη. Επειδή η παραμόρφωση του εδρικού πτερυγίου δεν παρατηρήθηκε στα ψάρια που με τροφές ανεπαρκείς σε Αργινίνη, ο συγγραφέας απέδωσε το φαινόμενο αυτό αποκλειστικά στην ανεπάρκεια Λυσίνης. Ωστόσο μία πιο πρόσφατη αναφορά από το ίδιο εργαστήριο ανέφερε την ύπαρξη του ίδιου φαινομένου και σε πέστροφα με ανεπάρκεια σε Τρυπτοφάνη (Poston & Rumsey, 1983). Αυτό δείχνει ότι το παθολογικό αυτό φαινόμενο μπορεί να μην οφείλεται στην έλλειψη ενός συγκεκριμένου αμινοξέως αλλά μάλλον στο διατροφικό στρες ή στην γενετικά οφειλόμενη ευαισθησία της ιριδίζουσας πέστροφας που χρησιμοποιήθηκε σε αυτό το εργαστήριο μιας και αυτό το παθολογικό φαινόμενο δεν έχει καταγραφεί από άλλους ερευνητές.

1.5.5.1. Αλληλεπιδράσεις μεταξύ Αργινίνης - Λυσίνης

Αλληλεπίδραση, μεταξύ της Αργινίνης και της Λυσίνης έχει σαφώς παρατηρηθεί σε ορισμένα ζώα, και είναι γνωστή σαν ανταγωνισμός

Λυσίνης-Αργινίνης. Ο Robinson και άλλοι (1981) δεν κατάφερε να αποδείξει αυτή την αλληλεπίδραση στο γατόψαρο, όταν σ' αυτό χορηγήσε τροφή με περίσσεια Λυσίνης και κανονική ή οριακή ποσότητα Αργινίνης ή σε περίσσεια Αργινίνης και ελάχιστη κανονική ή οριακή ποσότητα Λυσίνης. Η χορήγηση περίσσεια Λυσίνης στην ιριδίζουσα πέστροφα δεν προκάλεσε κάποια αλλαγή στον ρυθμό ανάπτυξης όταν η ποσότητα της Αργινίνης ήταν πολύ μικρή (Kim και άλλοι, 1983). Οι Kaushik και Fauconneau (1984) έχουν παρουσιάσει κάποιες ενδείξεις, βιοχημικές, οι οποίες υποδεικνύουν την ύπαρξη ανταγωνισμού, όσο αναφορά το μεταβολισμό Λυσίνης και Αργινίνης στην ιριδίζουσα πέστροφα. Αυτοί οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η αύξηση της παρεχόμενης Λυσίνης επηρέαζε την ποσότητα Αργινίνης του πλάσματος, την ποσότητα της ουρίας και την αποβολή αμμωνίας. Αυτές οι αλλαγές βρέθηκε ότι οφείλονταν στην μείωση του σχετικού ρυθμού αποικοδόμησης της Αργινίνης όταν η ποσότητα της Λυσίνης στην τροφή αυξανόταν.

1.5.6. Απαιτήσεις σε αρωματικά αμινοξέα

1.5.6.1. Απαιτήσεις σε φαινυλαλανίνη (Α.Φ.)

Η φαινυλαλανίνη και η τυροσίνη ανήκουν στα αρωματικά αμινοξέα, κατάλληλες ποσότητες και των δύο χρειάζονται για την σωστή πρωτεϊνοσύνθεση, και τις άλλες φυσιολογικές λειτουργίες του ψαριού. Τα ψάρια μπορούν απ'ευθείας να μετατρέψουν την Φαινυλαλανίνη σε Τυροσίνη ή να χρησιμοποιήσουν την Τυροσίνη της τροφής για να

καλύψουν τις ανάγκες τους για αυτό το αμινοξύ. Για τον προσδιορισμό των ολικών Α.Α.Α. (Φαινυλ.+Τυρ.). Οι Α.Φ. προσδιορίζονται είτε απουσία Τυροσίνης ή με πειραματικές τροφές που περιέχουν πολύ μικρές ποσότητες Τυροσίνης.

Οι Α.Φ. ή οι ολικές Α.Α.Α. φαίνονται στον πίνακα 1.11. Παρόμοιες τιμές έχουν αναφερθεί και για τον χίποοκ σολωμό και το γατόψαρο, αλλά για το Ιαπωνικό χέλι και τον κοινό κυπρίνο οι τιμές ήταν λίγο μεγαλύτερες.

1.5.6.1. Ποσοστό αντικατάστασης από Τυροσίνη.

Προκειμένου το ψάρι να καλύψει τις μεταβολικές του ανάγκες τόσο για Φαινυλαλανίνη και Τυροσίνη, και εφόσον μόνο μία ορισμένη ποσότητα φαινυλαλανίνης μπορεί να μετατραπεί σε τυροσίνη, είναι σημαντικός ο προσδιορισμός των απαιτήσεων σε ολικά Α.Α.Α. που μπορούν να καλυφθούν από την Τυροσίνη. Μελέτες Αύξησης υποδεικνύουν ότι η τυροσίνη μπορεί να αντικαταστήσει ή να διαθέσει το 60% των Α.Φ. στον κοινό κυπρίνο (Nose, 1979) και το 50% στο γατόψαρο (Robinson και άλλοι, 1980α).

1.5.7. Απαιτήσεις σε θειούχα αμινοξέα (Α.Θ.Α.)

Μία σχέση παρόμοια με αυτή της Φαινυλαλανίνης και Τυροσίνης υπάρχει και ανάμεσα στην Μεθειονίνη και στην Κυστεΐνη, τα δύο σημαντικά θειούχα αμινοξέα. Η κυστεΐνη θεωρείται σαν μη απαραίτητη

διότι μπορεί να συνθεθεί από το ψάρι με την χρήση της Μεθειονίνης. Εάν η Μεθειονίνη χορηγηθεί χωρίς Κυστεΐνη, μέρος της πρώτης θα χρησιμοποιηθεί για την πρωτεινοσύνθεση και το υπόλοιπο θα μετατραπεί σε κυστεΐνη για να μετάσχει στην πρωτεινοσύνθεση σαν κυστεΐνη. Εάν η τελευταία συμπεριλαμβάνεται στην τροφή, αυτή μειώνει την ποσότητα της Μεθειονίνης που είναι απαραίτητη στην τροφή. Εξ' αιτίας αυτής της σχέσης το ψάρι παρουσιάζει μία ολική Α.Α.Θ. και όχι ειδική απαίτηση σε Μεθειονίνη.

1.5.7.1. Απαιτήσεις σε Μεθειονίνη (Α.Μ.)

Οι τιμές του Α.Μ. η Α.Θ.Α. συνοψίζονται στον πίνακα 1.12. Όπως φαίνεται υπάρχουν κάποιες διαφορές μεταξύ των ειδών. Στον chipook σολωμό και τη τσιπούρα οι Α.Μ. φτάνουν το 4% της πρωτεΐνης, στο γατόψαρο φτάνουν το 2.3% της πρωτεΐνης και στα άλλα είδη το 3. 0%.

Η ιριδίζουσα πέστροφα παρουσιάζει μια ιδιαιτερότητα όσο αναφορά τις επιπτώσεις από την έλλειψη Μεθειονίνης, η οποία οδηγεί σε αμφίπλευρο καταρράχτη (Poston και άλλοι, 1977). Αυτοί οι ερευνητές παρατήρησαν την εκδήλωση καταρράχτη στην ιριδίζουσα πέστροφας που τρέφονταν με τροφή που περιείχε πρωτεΐνη σόγιας. Ο καταρράχτης προλαμβάνονταν με τον εμπλουτισμό της τροφής με Μεθειονίνη. Καταρράχτης έχει επίσης παρατηρηθεί σε πέστροφα λόγω ανεπάρκειας Μεθειονίνης και από τον Walton και άλλους (1982) και τον Rumsey και άλλους (1983). Ωστόσο η εκδήλωση καταρράχτη δεν έχει αναφερθεί για κάποιο άλλο είδος ψαριού.

1.5.7.2. Ποσοστό Αντικατάστασης από Κυστεΐνη.

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η παρουσία Κυστεΐνης στη τροφή μειώνει την ποσότητα της Μεθειονίνης, την απαραίτητη για μέγιστη ανάπτυξη. Η τιμή αντικατάστασης της Μεθειονίνης από Κυστεΐνη έχει υπολογιστεί ότι φτάνει το 60% για το γατόφαρο (Harding και άλλοι, 1977) και το 42% για την ιριδίζουσα πέστροφα (Kim και άλλοι, 1984).

1.5.7.3. Χρήση άλλων πηγών θείου

Ο Robinson και άλλοι (1978) μελέτησαν τη χρήση διαφόρων άλλων πιθανών ενώσεων του θείου σαν διατροφικά συστατικά, στο γατόφαρο. Τα δεδομένα αύξησης και αποδοσης της τροφής (Feed Efficiency) έδειξαν ότι η DL-Μεθειονίνη μπορούσε να χρησιμοποιηθεί το ίδιο αποδοτικά όπως και η L-μεθειονίνη. Η υδροξυ-Μεθειονίνη έφτανε το 26% της αποδοσης της L-μεθειονίνης στην αύξηση του ψαριού. Δεν σημειώθηκε κάποια σημαντική επίδραση στην αύξηση με την εισαγωγή Ταυρίνης ή ανόργανων θειικών αλάτων στην βασική τροφή. Ο Page και άλλοι (1978) δεν κατάφεραν να επιβεβαιώσουν την χρησιμοποίηση της Ταυρίνης και των ανόργανων αλάτων του θείου σαν πηγή θείου, στην ιριδίζουσα πέστροφα. Η D-μεθειονίνη έχει αποδειχτεί ότι αντικαθιστά την L-μεθειονίνη, σε ίσες ποσότητες, στην ιριδίζουσα πέστροφα (Kim και άλλοι, 1984).

1.5.8. Απαιτήσεις σε θρεονίνη (Α.Θ.)

Οι τιμές των απαιτήσεων σε θρεονίνη παρουσιάζονται στον πίνακα 1.13. Το Ιαπωνικό χέλι και ο κοινός κυπρίνος φαίνεται ότι έχουν μεγαλύτερες απαιτήσεις από τον chinook σολωμό και το γατόψαρο. Ο DeLong και άλλοι (1962) ανακάλυψαν ότι οι Α.Θ. των νεαρών ατόμων του chinook σολωμού είναι ίδιες, όταν σε θερμοκρασίες εκτροφής των 8 και 15°C.

Αυτά τα στοιχεία δεν ήταν αναμενόμενα αφού οι ίδιοι ερευνητές είχαν προηγουμένως αναφέρει ότι η απαίτηση σε πρωτεΐνη αυξάνει από 40% στους 8°C στο 55% στους 15°C (DeLong και άλλοι, 1958). Τα δεδομένα επάνω στις Α.Θ. δείχνουν ότι η πραγματική απαίτηση σε πρωτεΐνη για βέλτιστη πρωτεινοσύνθεση δεν αλλάζει με την αύξηση της θερμοκρασίας. Ίσως η επιπλέον πρωτεΐνη χρησιμοποιήθηκε σαν ενεργειακή πηγή, στην υψηλότερη θερμοκρασία της προηγούμενης μελέτης.

1.5.9. Απαιτήσεις σε Τρυπτοφάνη (Α.Τρ.)

Οι τιμές των Α.Τρ. παρουσιάζονται στον πίνακα 1.14. Η τιμή του 0.5% της πρωτεΐνης φαίνεται να αντιπροσωπεύει περισσότερα ψάρια, με εξαίρεση το Ιαπωνικό χέλι και τον κοινό κυπρίνο. Η τιμή του 0,3% της πρωτεΐνης που καταγράφηκε από τον Dabrowski (1981) για τον κοινό κυπρίνο φαίνεται να είναι μικρή και ίσως να οφείλεται στις πειραματικές συνθήκες που χρησιμοποίησαν. Η σαφώς μεγαλύτερη τιμή που ανέφεραν

ο Poston και άλλοι (1983) για την ιριδίζουσα πέστροφα, δεν συγκλίνει προς τις άλλες τιμές που καταγράφηκαν για αυτό το είδος.

Η ανεπάρκεια, της Τρυπτοφανη οδηγεί σε διάφορες ανατομικές παραμορφώσεις σε ορισμένα είδη σαλμονιδών, αλλά όχι σε άλλα ψάρια. Οι Halver και Shanks (1960) παρατήρησαν σκολίωση και λόρδωση στον sockeye σολωμό αλλά όχι στον chinook, όταν τράφηκαν με τροφές ανεπαρκείς σε Τρυπτοφάνη. Η σκολίωση και η λόρδωση έχουν παρατηρηθεί και στην ιριδίζουσα πέστροφα (Shanks και άλλοι, 1962, Kloppel και Post, 1975, Poston και Rumsey, 1983, Walton και άλλοι, 1984b), και τον chum σολωμό (Akiyama και άλλοι, 1985). Αυτές οι παραμορφώσεις ήταν ανατρέψιμες για την ιριδίζουσα πέστροφα, όταν σε αυτή χορηγήθηκε η κατάλληλη ποσότητα Τρυπτοφανης (Shanks και άλλοι, 1962, Kloppel και Post, 1975) και φαίνεται να σχετίζεται με την εξάντληση της 5_ ύδροξυτρυπτοφανης στο σώμα ή τον εγκέφαλο (Akiyama και άλλοι, 1986). Άλλες ενδείξεις της ανεπάρκειας Τρυπτοφανης στην πέστροφα είναι η νεφρική σκλήρυνση (ασβεστοποίηση) (Kloppel και Post, 1975), η διάβρωση του εδρικού πτερυγίου, ο καταράχτης, και τα κοντά βραγχιακά επικαλύματα (Poston και Rumsey, 1983), καθώς και η αύξηση του ασβεστίου του μαγνησίου, του νατρίου και του καλίου στο ήπαρ και τα νεφρά, (Walton και άλλοι, 1984b).

1.6. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

1.6.1. Αγνές τροφές (Purified diets)

Όπως έγινε κατανοητό από τα προηγούμενα η χρησιμοποίηση των αγνών πειραματικών τροφών αμινοξέων (Α.Π.Τ.Α.), από τα ψάρια, διαφέρει από είδος σε είδος. Οι Π.Τ.Α. πρέπει να ουδετεροποιηθούν πριν την χορήγησή τους στον κοινό κυπρίνο (Nose και άλλοι, 1974) και το γατόψαρο (Dupree και Halver, 1970, Wilson και άλλοι, 1977) με NaOH, αλλά όχι για τα άλλα ψάρια. Επιπλέον η χορήγηση Α.Π.Τ.Α. έχει σαν αποτέλεσμα μειωμένους ρυθμούς ανάπτυξης και μειωμένη αποδοτικότητα της τροφής σε σχέση με τροφές αναφοράς που περιέχουν φυσικές πρωτεΐνες.

Ο Nose και άλλοι (1974) κατέληξαν ότι η ρύθμιση του pH των Π.Τ.Α. για τον κυπρίνο μπορεί να είναι απαραίτητη, διότι ο κυπρίνος δεν έχει όξινο περιβάλλον στο στομάχι του και η διαδικασία της πέψης γίνεται σε ουδέτερο ή ελαφρώς αλκαλικό περιβάλλον. Επιπλέον, η κατανάλωση μιας όξινης Π.Τ.Α. με ισχυρή ρυθμιστική δράση (στο pH) μπορεί, να διαταράξει την φυσιολογική διάθεση των προσλαμβανομένων αμινοξέων. Αυτή η πρόταση μπορεί να φαίνεται λογική για τον κυπρίνο, αλλά όμως δεν φαίνεται να εξηγεί την αναγκαιότητα ουδετεροποίησης των πειραματικών τροφών για το γατόψαρο, το οποίο έχει όξινο στομάχι (Page και άλλοι, 1976). Ο Ball και άλλοι (1984) αναφέρουν ότι η ουδετεροποίηση των υγρών Π.Τ.Α. βελτίωσε αξιοσημείωτα την

χρησιμοποίηση τους από πολύ νεαρά γουρούνια. Αυτοί οι ερευνητές εξηγούν το γεγονός σαν αποτέλεσμα καλύτερης δεκτικότητας της τροφής (γεύσης). Ίσως η ανάγκη ρύθμισης του pH των Π.Τ.Α. για τον κυπρίνο και τον γατόψαρο να σχετίζεται με την γεύση των πειραματικών τροφών.

Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί για την κατανόηση της χαμηλής αξιοποίησης των Π.Τ.Α. από τον κοινό κυπρίνο. Η ποσότητα και η συχνότητα των γευμάτων φαίνεται να επηρεάζουν την αξιοποίηση της. Ο Aoe και άλλοι (1974) δεν κατάφεραν να επιτύχουν σωστή ανάπτυξη του κοινού κυπρίνου όταν αυτός τρεφόταν με ουδετεροποιημένες Π.Τ.Α. Αυτοί οι ερευνητές χορηγούσαν την τροφή σε αναλογία 3% του σωματικού βάρους, διανεμημένη σε 4 γεύματα την ημέρα. Ο Nose και άλλοι (1974) πέτυχαν την βελτίωση της αξιοποίησης της, με την χορήγηση μιας παρόμοιας πειραματικής τροφής, μέχρι κορεσμό (satiation), 6 φορές την ημέρα. Ο Yamada και άλλοι (1981) πέτυχαν τους ίδιους ρυθμούς ανάπτυξης, με χρήση Π.Τ.Α. και μιας τροφής αναφοράς (control) για τα ιχθύδια του κυπρίνου (περίπου 1.0 gr) όταν η ποσότητα της τροφής αυξήθηκε στο 10% του σωματικού βάρους, με συχνότητα γευμάτων 18 την ημέρα. Αυτοί οι ερευνητές είχαν αποδείξει προηγουμένως ότι τα αμινοξέα των Π.Τ.Α. απορροφόνταν πολύ πιο γρήγορα μέσω της πεπτικής οδού (έντερο) από τον κυπρίνο, από ότι τα αμινοξέα μιας τροφής με καζεΐνη (Plakas και Katayama, 1981). Είχαν επίσης αποδείξει ότι τα αμινοξέα απομακρύνονται από τον πλάσμα με πιο γρήγορο ρυθμό μετά την χορήγηση των Π.Τ.Α. από ότι με τροφή με κασεΐνη (Plakas και άλλοι, 1980). Έτσι, η αυξημένη συχνότητα χορήγησης τροφής βελτιώνει την

ανάπτυξη λόγω της συνεχούς παροχής των απαραίτητων αμινοξέων στους ιστούς για πρωτεϊνοσύνθεση.

Ο Murai και άλλοι (1981) πέτυχαν παρόμοια ανάπτυξη με ιχθύδια κυπρίνου που τρέφονταν με μία τροφή ζελατινής, στην οποία έχει γίνει προσθήκη απαραίτητων αμινοξέων, επικαλυμμένων με καζεΐνη και με μία τροφή αναφοράς, καζεΐνης-ζελατίνης. Στα ψάρια που τράφησαν Π.Τ.Α. που περιείχε επικαλυμμένα αμινοξέα παρατηρήθηκε 4πλάσιος ρυθμός ανάπτυξης και διπλάσια αποδοχή της τροφής, από ότι στα ψάρια που τρέφονταν με τροφή ζελατινής στην οποία έχει γίνει προσθήκη ίδιας ποσότητας μη επικαλυμμένων αμινοξέων. Αυτοί οι ερευνητές πρότειναν ότι η βελτίωση της ανάπτυξης μπορεί να οφειλόταν στο ότι τα επικαλυμμένα με καζεΐνη αμινοξέα ελαχιστοποιούσαν τις διαφορές στον ρυθμό απορρόφησης του κάθε αμινοξέως, με την μείωση της απορρόφησης ορισμένων άλλων αμινοξέων, η οποία βοηθούσε στην ταυτόχρονη παρουσία των απαραίτητων αμινοξέων στους ιστούς, για βέλτιστη πρωτεϊνοσύνθεση.

Επιπλέον απόδειξη για ενίσχυση της υπόθεσης αυτής αποτελεί η παρατήρηση των αλλαγών στα ελεύθερα αμινοξέα του πλάσματος μετά την χορήγηση πειραματικών τροφών που περιείχαν επικαλυμμένα με καζεΐνη, και μη επικαλυμμένα αμινοξέα (Murai και άλλοι, 1982b). Τα αποτελέσματα ενισχύουν την υποθεσή ότι επικαλύπτοντας τα αμινοξέα με καζεΐνη, βελτιώθηκε η ισοροπία των αμινοξέων του πλάσματος μέσω της μεταβολής των χρόνων απορρόφησης και κατακράτησης της τρυπτοφάνης και της Λευκίνης.

Σύγχρονοι ερευνητές αναφέρουν ότι η ισορροπία των ηλεκτρολυτών της τροφής μπορεί να επηρεάσει την χρησιμοποίηση των Π.Τ.Α. από τα ψάρια (Poston και Rumsey, 1983, Chiu και άλλοι, 1984). Αυτή η άποψη αρχικώς βασιζόταν στην διαπίστωση ότι η ισορροπία κατιόντων και ανιόντων είναι καθοριστικής σημασίας για τη βέλτιστη ανάπτυξη και για την ισορροπία βάσεων-οξέων στα πουλερικά. Ο Mugaí και άλλοι (1983) ερεύνησαν τις επιδράσεις του pH και της προσθήκης ηλεκτρολυτών στην χρησιμοποίηση των κρυσταλλικών αμινοξέων από τον κυπρίνο, χρησιμοποιώντας οξικό οξύ για τη ρύθμιση του pH και οξικό νάτριο ή κάλιο σαν συμπληρωματικούς ηλεκτρολύτες. Τα αποτελεσματα τους σαφώς έδειξαν ότι το pH και η ποσότητα των ηλεκτρολυτών ή ενός συνδιασμού και των δύο παραγόντων έπαιζαν σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό των αμινοξέων από τον κυπρίνο. Ωστόσο, αυτοί οι ερευνητές συμπέραναν ότι οι επιδράσεις που παρατηρήθηκαν δεν δικαιολογούσαν την μικρή χρησιμοποίηση των κρυσταλλικών αμινοξέων από τον κυπρίνο.

Ο Mugaí και άλλοι (1984) έχουν επίσης προτείνει ότι η πολύ περιορισμένη χρησιμοποίηση των αμινοξέων από τον κυπρίνο μπορεί να οφείλεται στην αποβολή αμινοξέων, και επομένως στην μείωση της χρησιμοποίησης τους για ανάπτυξη. Αυτοί οι ερευνητές χορηγήσαν διάφορες πειραματικές τροφές και καταμέτρησαν (ποσοτικά) τις Αζωτούχες ουσίες που απέβαλλαν τα ψάρια μέσω των βραγχίων και των νεφρών 24 ώρες μετά το τάϊσμα. Διαπίστωσαν ότι το 36% των ελεύθερων αμινοξέων αποβαλόταν στο περιβάλλον νερό κατά την διάρκεια των 24 ωρών μετά την χορήγηση της τροφής με τα κρυσταλλικά αμινοξέα. Το

36% γινόταν 12,8% όταν η τροφή περιείχε ένα μίγμα κρυσταλλικών αμινοξέων και καζεΐνης, ενώ μόνο το 1% του ολικού αζώτου ανακτόταν μετά την χορήγηση τροφής ζελατίνης-καζεΐνης. Φαίνεται λογικό να πούμε ότι οι παραπάνω παρατηρήσεις μπορούσαν να εξηγηθούν με την πιθανή διαφυγή (leaching) των κρυσταλλικών αμινοξέων από τις πειραματικές τροφές στο νερό. Α δημοσίευτα δεδομένα των Wilson & Roe, δείχνουν ότι μία σημαντική ποσότητα των κρυσταλλικών αμινοξέων διέφυγαν από τις Π.Τ.Α. που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των Α.Α. στο γατόψαρο. Αυτή η παρατήρηση θα μπορούσε να εξηγήσει το γιατί οι ρυθμοί ανάπτυξης είναι μικρότεροι όταν χορηγούμε τις Π.Τ.Α. Εάν πράγματι κάποια διαφυγή έλαβε χώρα σε μελέτες, αυτό θα σήμαινει ότι οι τιμές σε απαιτήσεις που καταγράφησαν ήταν ελαφρώς υπερεκτιμημένες. Αυτό μπορεί επίσης να εξηγήσει το γιατί ο Murai και άλλοι (1981) έλαβαν αυξημένους ρυθμούς ανάπτυξης με την χορήγηση τροφής που περιείχε αμινοξέα επικαλυμμένα με καζεΐνη, σε κυπρίνους, καθώς και το γιατί οι Cho και Woodward (1985) κατέγραψαν διαφορετική ανάπτυξη για την πέστροφα που τρεφόταν με πειραματικές τροφές που περιείχαν αμινοξέα επικαλυμμένα με άγαρ.

1.6.2. Εμπειρικές τροφές (practical diets)

Πολλοί ερευνητές απέδειξαν την δυνατότητα χρησιμοποίησης Κρυσταλλικών αμινοξέων για βελτίωση της σύστασης των πρωτεϊνών που παρουσιάζουν ανεπάρκεια σε ορισμένα από αυτά στις εμπειρικές τροφές για τα ψάρια. Οι Rumsey και Ketola (1975) ανακάλυψαν ότι ο

εμπλουτισμός μιας τροφής που περιέχει σογιάλευρο σαν την μόνη πηγή πρωτεΐνης με αμινοξέα, για εξομοίωση της συγκέντρωσης τους με αυτή στα αυγά της πέστροφας και στον ιστο του ψαριού, βελτίωνε την ανάπτυξη της ιριδίζουσας πέστροφας. Η προσθήκη Μεθειονίνης, Λυσίνης, Ιστιδίνης, και Λευκίνης, ξεχωριστά ή με διαφόρους συνδιασμούς, δεν έφερε αποτέλεσμα. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στον σολωμό (*Salmo salar*) (Ketola, 1982). Άλλοι ερευνητές έχουν αναφέρει βελτιωμένη ανάπτυξη της ιριδίζουσας πέστροφας που τρεφόταν με τροφές εμπλουτισμένες με αμινοξέα (Tiews και άλλοι, 1976, Dabrowska και Wojno, 1977) καθώς και του κοινού κυπρίνου (Murai και άλλοι, 1982a, Viola και άλλοι, 1982).

Κάποιες αρχικές μελέτες δεν έδειξαν τη χρησιμοποίηση των συμπληρωματικών αμινοξέων, από το γατόψαρο (Andrews και Page, 1974, Andrews και άλλοι, 1977). Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες απέδειξαν την χρησιμοποίηση της συμπληρωματικής Λυσίνης, σε τροφές με βάση το φυσικάλευρο (Peanut - meal) (Robinson και άλλοι, 1980b) και της συμπληρωματικής Μεθειονίνης, σε τροφές με βάση το σογιάλευρο (Murai και άλλοι, 1982a).

1.7. Η ΘΡΕΠΤΙΚΉ ΑΞΙΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ

Η σημαντικότερη λειτουργία των πρωτεϊνών είναι η τροφοδότηση του ψαριού με τα απαιτούμενα αμινοξέα, για να διατηρηθεί αυτό στη ζωή, να αναπτυχθεί ή να αναπαραχθεί. Για το λόγο αυτό η θρεπτική αξία μιας πρωτεΐνης συνδέεται απ'ευθείας με την σύσταση της σε αμινοξέα. Για

παράδειγμα, μία μη ισορροπημένη σε αμινοξέα πρωτεΐνη θα έχει μικρή θρεπτική αξία, ενώ μία ισορροπημένη θα έχει υψηλή θρεπτική αξία. Η θρεπτική αξία μιας πρωτεΐνης μπορεί να διαφέρει ελάχιστα από είδος σε είδος και αυτό εξαρτάται από τις απαιτήσεις σε αμινοξέα των διαφόρων ψαριών, ωστόσο, αυτές οι διαφορές αναμένεται να είναι πολύ μικρές.

Διάφορες πειραματικές μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί στη διατροφή των ζώων, για να προσδιοριστεί η θρεπτική αξία των πρωτεϊνών. Από αυτές οι τρεις ακόλουθες τεχνικές είναι οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες για μελέτες διατροφής στα ψάρια: 1) Ο λόγος πρωτεϊνικής απόδοσης, 2) Η χρησιμοποίηση καθαρής πρωτεΐνης και 3) Ο δείκτης απαραίτητων αμινοξέων.

1.7.1. Ο Λόγος Πρωτεϊνικής Απόδοσης (Protein Efficiency Ratio)

Ο λόγος πρωτεϊνικής απόδοσης (PER), ο οποίος ορίζεται σαν τα γραμμάρια βάρους που αποκτούνται ανά γραμμάριο καταναλισκόμενης πρωτεΐνης, είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος εκτίμησης της ποιότητας της πρωτεΐνης στα ψάρια.

$$\text{PER} = \frac{\text{gr υγρού αποκτηθέντος βάρους}}{\text{gr ολικής πρωτεΐνης που χορηγήθηκε}}$$

Η χρησιμότητα και οι περιορισμοί αυτής της μεθόδου έχουν αναλυθεί από τους Cowey και Sargent (1972) και τον Pfeffer (1982). Αυτή η μέθοδος έχει δεχτεί κριτικές διότι στηρίζεται στην παραδοχή ότι όλη η πρωτεΐνη χρησιμοποιείται για ανάπτυξη, και καμία ποσότητα δεν καταναλώνεται για

συντήρηση και γιατί διάφοροι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων του μεγέθους και της ηλικίας του ψαριού, της χρονικής διάρκειας της μελέτης και της σύνθεσης της πειραματικής τροφής, μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα. Παρόλα'αυτά, η μέθοδος αυτή συνεχίζει να χρησιμοποιείται ευρέως.

1.7.2. Καθαρή χρησιμοποίηση πρωτεΐνης (Net Protein Utilization)

Η καθαρή χρησιμοποίηση πρωτεΐνης (NPU) είναι ένας πιο ακριβής δείκτης της ποσότητας της πρωτεΐνης που χρησιμοποιείται ή κατακρατείται από το ψάρι. Η NPU συνδιάζει, εντός ενός και μόνου δείκτη, και την βιολογική αξία και την πεπτικότητα μιας πρωτεΐνης, $NPU = \text{βιολογική αξία} \times \text{πεπτικότητα}$). Επειδή υπάρχουν πολλές τεχνικές δυσκολίες, τόσο στον προσδιορισμό της πεπτικότητας, όσο και της βιολογικής αξίας, αυτή η μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για τον υπολογισμό της NPU από το ψάρι. Ο Cowey και άλλοι (1974) χρησιμοποίησαν την ακόλουθη μέθοδο για τον υπολογισμό των τιμών της NPU για τα ψάρια:

$$NPU = \frac{B - (B_k - I_k)}{I}$$

όπου B είναι το ολικό άζωτο του σώματος των ψαριών στα οποία χορηγήθηκε η πειραματική τροφή και B_k το ολικό άζωτο του σώματος των ψαριών της τροφής με ελάχιστη πρωτεΐνη, και I και I_k είναι οι προσληφθήσες ποσότητες αζώτου από τις 2 τροφές αντίστοιχα. Ο ιδανικός τρόπος προσδιορισμού της NPU είναι μέσω της σύγκρισης της

κατακράτησης αζώτου ανάμεσα σε ψάρια που τρέφονται με την πρωτεϊνούχα πειραματική τροφή και σε ψάρια που τρέφονται με τροφή χωρίς άζωτο, ωστόσο αυτό είναι πολύ δύσκολο και μερικές φορές αδύνατο ορισμένα ψάρια να καταναλώσουν τις μη πρωτεϊνούχες τροφές.

Μία παραλλαγή αυτής της τεχνικής, ορισμένη ως το ποσοστό της πρωτεΐνης που εναποτίθεται, έχει επίσης χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε διατροφικές μελέτες για ψάρια. Αυτή η παραλλαγή υπολογίζεται ως:

$$\% \text{ Πρωτεΐνη που εναποτίθεται} = \frac{\text{τελική πρωτεΐνη σώματος} - \text{αρχική πρωτεΐνη σώματος} \times 100}{\text{Ολική πρωτεΐνη που χορηγήθηκε}}$$

Αυτές οι μέθοδοι βασίζονται στην ανάλυση του σώματος των ψαριών και είναι λιγότερο χρονοβόρες από τις μελέτες προσδιορισμού της ισορροπίας Αζώτου. Η εφαρμογή και χρήση της NPU στις μελέτες για ψάρια έχουν σχολιαστεί από τον Cowey (1975,1980) και τους Cowey και Sargent (1979).

1.7.3. Δείκτης των Απαραίτητων Αμινοξέων

Εάν για κάποια είδη είναι γνωστές οι τιμές των Α.Α., η θρεπτική αξία μιας πρωτεΐνης μπορεί να προσδιοριστεί άμεσα μέσω της σύγκρισης της ποσότητας των απαραίτητων αμινοξέων με τις τιμές των απαιτήσεων. Αυτή η τεχνική είναι χρήσιμη για τον προσδιορισμό των περιοριστικών αμινοξέων μιας πρωτεϊνικής πηγής. Ένα παράδειγμα της εφαρμογής αυτής της τεχνικής παρατίθεται στον πίνακα 1.15. Σε αυτό το

παράδειγμα, μόνο η πρωτεΐνη του αυγού περιέχει τις αναγκαίες ποσότητες κάθε αμινοξέος, για να καλυφθούν οι απαιτήσεις του γατόψαρου, γι'αυτό το λόγο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν μοναδική πρωτεϊνική πηγή για τις πειραματικές τροφές. Η καζεΐνη περιέχει τις αναγκαίες ποσότητες όλων των απαραίτητων αμινοξέων εκτός της Αργινίνης. Η ζελατίνη δεν έχει τις αναγκαίες ποσότητες κάθε αμινοξέως, εκτός της Αργινίνης.

1.8. ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

Μία ικανοποιητική ποσότητα και ισορροπία αμινοξέων σε μία τροφή δεν εξασφαλίζει το ότι η πέψη της τροφής θα ικανοποιήσει τις Α.Α. του ψαριού. Εάν η πρωτεΐνη πεπτεί ατελώς ή εάν ορισμένα αμινοξέα δεν είναι διαθέσιμα στο ψάρι, τότε αυτό δεν θα αναπτυχθεί κανονικά, μολονότι η τροφή περιέχει τις αναγκαίες ποσότητες αμινοξέων. Γι'αυτό, είναι σημαντικό η πεπτικότητα των διαφόρων πρωτεϊνών που χρησιμοποιούνται να προσδιορίζεται. Πιο ακριβή δεδομένα μπορεί να ληφθούν μέσω των μετρήσεων της διαθεσιμότητας των αμινοξέων. Διάφορα πειράματα επάνω στην πεπτικότητα στα ψαρια, παρουσιάζουν μία δυσκολία, διότι τα περιττώματα και τα άλλα μεταβολικά απόβλητα εκκρίνονται μέσα σε ένα μεγάλο όγκο νερού. Οι διάφορες μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τους προσδιορισμούς της πεπτικότητας και οι περιορισμοί αναλύονται στο (NRC, 1981, Pfeffer, 1982).

1.8.1. Πρωτεϊνική πεψιμότητα (Protein Digestibility)

Οι συντελεστές πεπτικότητας της πρωτεΐνης χρησιμοποιούνται εκτενώς στην σύνθεση ιχθυοτροφών. Η χρήση αυτών των τιμών προϋποθέτει ότι όλα τα απαραίτητα αμινοξέα είναι εξίσου διαθέσιμα στα ψάρια, πράγμα το οποίο μπορεί να μην ισχύει πάντα, όπως αποδεικνύεται στην συνέχεια. Διάφοροι ερευνητές έχουν προσδιορίσει τους συντελεστές πέψης για μία ποικιλία πρωτεϊνικών πηγών για διάφορα είδη ψαριών. Αυτές οι τιμές αναλύονται στο (NRC, 1977, 1981, Smith και άλλοι, 1980, Cho και άλλοι, 1982, Pfeffer, 1982, Robinson και Wilson, 1985).

1.8.2. Διαθεσιμότητα των αμινοξέων (Δ.Α.) (Amino Acid Availability)

Τα δεδομένα για την Δ.Α. για διάφορες πρωτεΐνες, μας παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τη διαθεσιμότητα καθενός από τα απαραίτητα αμινοξέα, για την συγκεκριμένη κάθε φορά πρωτεϊνική πηγή που εξετάζεται. Ορισμένα αμινοξέα μπορεί να μην είναι διαθέσιμα στο ψάρι εξ'αιτίας της ατελούς πέψης των πρωτεϊνών, ή εξ'αιτίας ορισμένων μη πρωτεϊνικών συστατικών που συνδέονται με τα αμινοξέα. Για παράδειγμα, όταν μερικές πρωτεΐνες υπερθερμαίνονται παρουσία ορισμένων υδατανθράκων, τα τελευταία μπορεί να αντιδράσουν με την ε-αμινομάδα της Λυσίνης, με την αντίδραση Maillard, καθιστώντας έτσι την Λυσίνη βιολογικά μη διαθέσιμη. Η Λυσίνη μπορεί επίσης να αντιδράσει με το gossipol (ουσία τοξική για τα ψάρια), μειώνοντας τη διαθεσιμότητά της από το βαμβακοσποράλευρο (cottonseed meal). Ο Wilson και άλλοι

(1981) έχουν αναφέρει τη σχετική και πραγματική διαθεσιμότητα των αμινοξέων, από διάφορες πρωτεϊνικές πηγές για το γατόψαρο.

1.9. ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΩΝ ΑΠΑΙΤΗΣΕΩΝ ΣΕ ΑΜΙΝΟΞΕΑ

Διάφοροι ερευνητές διαπίστωσαν βελτίωση στην ανάπτυξη και την απόδοση της τροφής, όταν πειραματικές τροφές για σαλμονοειδή εμπλουτίστηκαν με απαραίτητα αμινοξέα εξομοιώνοντας τη σύσταση τους με αυτή των αυγών των ιστών του σώματος ή μεμονομένων πρωτεϊνών, στα είδη που μελετήθηκαν (Rumsey και Ketola, 1975, Arai, 1981, Ketola, 1982, Ogata και άλλοι, 1983). Οι απαιτήσεις για τα απαραίτητα αμινοξέα ορισμένων ψαριών έχουν επίσης αποδειχτεί ότι προσομοιάζουν σε μεγάλο βαθμό με την σύνθεση σε αμινοξέα του σώματος του ψαριού (Cowey και Tacon, 1983, Wilson και Poe, 1985). Αυτές οι πληροφορίες είναι χρήσιμες για την σχεδίαση (σύνθεση) πειραματικών τροφών για τα ψάρια, όταν οι Α.Α. δεν έχουν προσδιοριστεί.

1.9.1. Η σύνθεση σε αμινοξέα του σώματος των ψαριών και των αυγών τους

Η σύσταση σε αμινοξέα του σώματος ορισμένων ψαριών παρουσιάζεται στον πίνακα 1.16. Η σύσταση σε αμινοξέα αυτών των 5 διαφορετικών ειδών ψαριών είναι παρόμοια. Από όλα τα απαραίτητα αμινοξέα, μόνο μικρές διαφορές φαίνεται να υπάρχουν στην Μεθειονίνη και πιθανά στην ποσότητα της Τρυπτοφάνης. Από αυτό προκύπτει ότι οι

ανάγκες σε αμινοξέα αυτών των διαφορετικών ειδών πρέπει να είναι κατά πολύ παρόμοιες.

Η σύσταση σε αμινοξέα των αυγών διαφόρων ψαριών, έχει συνοψιστεί από τον Ketola (1982). Γενικά η σύσταση σε αμινοξέα των αυγών φαίνεται να ποικίλει πιο πολύ από ότι του σώματος όπως αυτή παρουσιάζεται στον πίνακα 1.16. Ο Ketola (1982) υποδεικνύει ότι αν και οι ποσότητες των αμινοξέων των αυγών των ψαριών φαίνεται να είναι διαφορετικές από τις κατεγραμμένες απαιτήσεις των ψαριών, η σύνθεση των αυγών έχει δώσει χρήσιμες πληροφορίες επάνω στην σύνθεση των πειραματικών τροφών για τον Ατλαντικό σολωμό και την ιριδίζουσα πέστροφα.

1.9.2. Οι σχέσεις μεταξύ των δεδομένων σύστασης και των δεδομένων για την απαίτηση

Με βάση τις παρατηρήσεις για άλλα ζώα, οι Cowey και Tacon (1983) πρότειναν ότι οι Α.Α.Α. ενός ψαριού θα πρέπει να συνδέονται ή ακόμα και να επηρεάζονται, από την σύνθεση σε αμινοξέα των μυικών ιστών. Απόδειξαν ότι υπάρχει μεγάλος συσχετισμός μεταξύ του προτύπου που καθορίστηκε μέσα από διατροφικά πειράματα για τα 10 απαραίτητα αμινοξέα, επάνω στον κυπρίνο (Nose, 1979) (με την χορήγηση πειραματικών τροφών αμινοξέων) και του προτύπου των ίδιων αμινοξέων στον σωματικό ιστό των αναπτυσσόμενων κυπρίνων.

1.93. Η χρήση των δεδομένων σύστασης στον σχεδιασμό πειραματικών τροφών

Ο Arai (1981) χρησιμοποίησε τους λόγους A/E [(περιεχόμενο απαραίτητων αμινοξέων / υλικό περιεχόμενο σε αμινοξέα, συμπεριλαμβανομένων της κυστεΐνης και της τυροσίνης) $\times 1000$] του σώματος ιχθυδίων coho σολωμού, για να συνθέσει π.τροφές για αυτό το ψάρι. Τα ψάρια που τράφησαν με τροφές καζεΐνης, εμπλουτισμένες με αμινοξέα, για να επιτευχθούν οι κατάλληλοι λόγοι A/E, παρουσίασαν πιο μεγάλη ανάπτυξη και απόδοση τροφής. Ο Ogata και άλλοι (1983) χρησιμοποίησαν λόγους A/E βασισμένοι στα δεδομένα σύνθεσης των αμινοξέων του cherry σολωμού (*Oncorhynchus masou*) για να συνθέσει πειραματικές τροφές για τα ιχθύδια των cherry και amago σολωμών (*Oncorhynchus rhodurus*). Μία τροφή καζεΐνης εμπλουτισμένη με αμινοξέα, για προσομείωση των λόγων A/E στον coho σολωμό, έδωσε καλύτερη ανάπτυξη και στα δύο είδη, από ότι οι τροφές που περιείχαν μόνο καζεΐνη, καζεΐνη συν αμινοξέα, με λόγους A/E ιδίους με αυτούς των αυγών στο στάδιο του ματιού του cherry σολωμού, του λευκού ιχθυάλευρου.

Όπως επισημάνθηκε και προηγουμένως, η σύνθεση σε αμινοξέα του αυγού της κοτας χρησιμοποιήθηκε σαν βάση για την παρασκευή Πειρ. Τροφών Αμινοξέων για τον προσδιορισμό των A.A. των ψαριών. Αν και αυτές οι π.τροφές έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για ορισμένα ψάρια, γενικά δίνουν μία πιο φτωχή ανάπτυξη από τις τροφές που περιέχουν

φυσική πρωτεΐνη. Ίσως οι Π.Τ.Α. μπορεί να βελτιωθούν όταν σχεδιαστούν έτσι ώστε να έχουν το ίδιο πρότυπο αμινοξέων με αυτό του σώματος των ψαριών που μελετούνται.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.1.

Estimated Protein Requirements of Juvenile Fish

Species	Protein sources(s)	Estimated Requirements (%)	Reference
Channel catfish <i>Ictalurus punctatus</i>	Whole egg protein	32-36	Garling and Wilson (1976)
Chinook salmon <i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	Casein, gelatin, and amino acids	40	DeLong <i>et al.</i> (1958)
Coho salmon <i>Oncorhynchus kisutch</i>	Casein	40	Zeitoun <i>et al.</i> (1974)
Common carp <i>Cyprinus carpio</i>	Casein	35 31	Ogino and Saito (1970) Takeuchi <i>et al.</i> (1979)
Estuary grouper <i>Epinephelus salmoides</i>	Tuna muscle meal	40-50	Teng <i>et al.</i> (1978)
Gilthead bream <i>Chrysophrys aurata</i>	Casein, FRC,* and amino acids	40	Sabaut and Luquet (1973)
Grass carp <i>Ctenopharyngodon idella</i>	Casein	41-43	Dabrowski (1977)
Japanese eel <i>Anguilla japonica</i>	Casein and amino acids	44.5	Nose and Arai (1972)
Largemouth bass <i>Micropterus salmoides</i>	Casein and FPC	40	Anderson <i>et al.</i> (1981)
Milkfish (fry) <i>Chanos chanos</i>	Casein	40	Lim <i>et al.</i> (1979)
Plaice <i>Pleuronectes platessa</i>	Cod muscle	50	Cowey <i>et al.</i> (1972)
Puffer fish <i>Fugu rubripes</i>	Casein	50	Kanazawa <i>et al.</i> (1980)
Rainbow trout <i>Salmo gairdneri</i>	Fish meal	40	Satia (1974)
	Casein and gelatin	40	Zeitoun <i>et al.</i> (1973)
	Casein, gelatin, and amino acids	45	Halver <i>et al.</i> (1964)
Red sea bream <i>Chrysophrys major</i>	Casein	55	Yone (1976)
Smallmouth bass <i>Micropterus dolomieu</i>	Casein and FPC	45	Anderson <i>et al.</i> (1981)
Snakehead <i>Channa micropeltes</i>	Fish meal	52	Wee and Tacon (1982)
Sockeye salmon <i>Oncorhynchus nerka</i>	Casein, gelatin, and amino acids	45	Halver <i>et al.</i> (1964)
Striped bass <i>Morone saxatilis</i>	Fish meal and SP [†]	47	Millikin (1983)
Tilapia <i>Tilapia aurea</i> (fry)	Casein and egg albumin	56	Winfrey and Stickney (1981)
<i>Tilapia aurea</i>	Casein and egg albumin	34	Winfrey and Stickney (1981)
<i>Tilapia mossambica</i>	White fish meal	40	Jauncey (1982)
<i>Tilapia nilotica</i>	Casein	30	Wang <i>et al.</i> (1985)
<i>Tilapia zillii</i>	Casein	35	Mazid <i>et al.</i> (1979)
Yellowtail <i>Seriola quinqueradiata</i>	Sand eel and fish meal	55	Takeda <i>et al.</i> (1975)

* Fish protein concentrate.

† Soy proteinate.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.2.

Optimum Dietary Protein Levels for Crustacea

Species	Protein source(s)	Optimum level (%)	Reference
<i>Homarus americanus</i>	Casein, gluten, and shrimp meal	31	D'Abramo <i>et al.</i> (1981)
<i>Homarus gammarus</i>	Fish and crustacean meals	35	Lucien-Brun <i>et al.</i> (1985)
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Soybean, tuna, and shrimp meal	> 35	Balazs and Ross (1976)
<i>Metapenaeus monoceros</i>	Casein	55	Kanazawa <i>et al.</i> (1981)
<i>Palaemon serratus</i>	Fish meal and shrimp meal	40	Forster and Beard (1973)
<i>Penaeus durarum</i>	Soybean meal	28-30	Sick and Andrews (1973)
<i>Penaeus indicus</i>	Prawn meal	42.8	Colvin (1976)
<i>Penaeus japonicus</i>	Shrimp meal	40	Balazs <i>et al.</i> (1973)
	Casein and egg albumin	54	Deshimaru and Kuroki (1974)
	Squid meal	60	Deshimaru and Shigeno (1972)
	Casein and egg albumin	52-57	Deshimaru and Yone (1978)
<i>Penaeus merguensis</i>	<i>Mytilus edulis</i> meal	34-42	Sedgwick (1979)
<i>Penaeus monodon</i>	Casein and fish meal	46	Lee (1971)
<i>Penaeus setiferus</i>	Fish meal	28-32	Andrews <i>et al.</i> (1972)

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.3.

Finfish Known to Require the Same Ten Essential Amino Acids

Species	Method	Reference
Channel catfish (<i>Ictalurus punctatus</i>)	Growth studies	Dupree and Hålvær (1970)
Chinook salmon (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>)	Growth studies	Halver <i>et al.</i> (1957)
Common carp (<i>Cyprinus carpio</i>)	Growth studies	Nose <i>et al.</i> (1974)
European eel (<i>Anguilla anguilla</i>)	Growth studies	Arai <i>et al.</i> (1972)
Japanese eel (<i>Anguilla japonica</i>)	Growth studies	Arai <i>et al.</i> (1972)
Plaice (<i>Pleuronectes platessa</i>)	¹⁴ C labeling studies	Cowey <i>et al.</i> (1970)
Rainbow trout (<i>Salmo gairdneri</i>)	Growth studies	Shanks <i>et al.</i> (1962)
Red sea bream (<i>Chrysophrys major</i>)	Growth studies	Yone (1976)
Sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	¹⁴ C labeling studies	Metailler <i>et al.</i> (1973)
Sockeye salmon (<i>Oncorhynchus nerka</i>)	Growth studies	Halver and Shanks (1960)

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.4.

Crustacea Suggested to Require the Same Ten Essential Amino Acids

Species	Reference
<i>Astacus astacus</i>	Zandee (1966)
<i>Astacus leptodactylus</i> ^a	Van Marrewijk and Zandee (1975)
<i>Cancer magister</i>	Lasser and Allen (1976)
<i>Homarus americanus</i>	Gallagher and Brown (1975)
<i>Macrobrachium ohione</i>	Miyajima <i>et al.</i> (1975)
<i>Macrobrachium rosenbergii</i> ^b	Watanabe (1975)
<i>Palaemon serratus</i>	Cowey and Forster (1971)
<i>Penaeus aztecus</i>	Shewbart <i>et al.</i> (1972)
<i>Penaeus japonicus</i>	Kanazawa and Teshima (1981)
<i>Uca pugilator</i>	Claybrook (1976)

^a Asparagine was also found to be essential.

^b Lysine was not shown to be essential and the essentiality of threonine and tryptophan was not determined.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.5.

Arginine Requirements^a

Fish	Requirement	Type of diet	Reference
Chinook salmon	6.0 (2.4/40)	Purified ^b	Klein and Halver (1970)
Coho salmon	5.8 (2.3/40)	Purified	Klein and Halver (1970)
Common carp	4.3 (1.6/38.5)	Purified	Nose (1979)
Japanese eel	4.5 (1.7/37.7)	Purified	Arai (Nose, 1979)
Channel catfish	4.3 (1.0/24)	Purified	Robinson <i>et al.</i> (1981)
Rainbow trout	3.3 (1.2/36)	Semipurified ^c	Kaushik (1979)
	3.5-4.0		
	(1.6-1.8/45)	Semipurified ^d	Walton <i>et al.</i> (1982) ^e
	4.0 (1.4/35)	Purified	Kim <i>et al.</i> (1983)
	4.7 (1.6/33)	Semipurified ^f	Cho and Woodward (1985)
	<5.9 (2.8/47)	Semipurified ^g	Ketola (1983)
Gilthead bream	5.0 (1.7/34)	Semipurified ^h	Luquet and Sabaut (1974)
Tilapia			
<i>T. mossambica</i>	<4.01 (1.6/40)	Practical ⁱ	Jackson and Capper (1982)
<i>T. nilotica</i>	3.5-4.4		
	(1.0-1.2/28)	Purified	Santiago (1985)

^a Requirements are expressed as percentage of protein. In parentheses, the numerators are requirements as percentage of diet and the denominators are percentage total protein in diet. Adapted from Wilson (1985).

^b Contained either amino acids or casein, gelatin, and amino acids.

^c Contained zein, fish meal, and amino acids.

^d Contained white fish meal, zein, and amino acids.

^e Unpublished data.

^f Contained skim milk, corn gluten meal, and amino acids.

^g Contained corn gluten meal and amino acids.

^h Contained CPSP 80 and amino acids.

ⁱ Contained fish meal, soya meal, groundnut, and amino acids.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.6.

Histidine Requirements^a

Fish	Requirement	Type of diet	Reference
Chinook salmon	1.8 (0.7/40)	Purified ^b	Klein and Halver (1970)
Chum salmon	1.6 (0.7/40)	Purified	Akiyama <i>et al.</i> (1985a)
Coho salmon	1.8 (0.7/40)	Purified	Klein and Halver (1970)
Common carp	2.1 (0.8/38)	Purified	Nose (1979)
Japanese eel	2.1 (0.8/38)	Purified	Arai (Nose, 1979)
Channel catfish	1.5 (0.4/24)	Purified	Wilson <i>et al.</i> (1980)
<i>Tilapia nilotica</i>	1.3-1.9		
	(0.4-0.5/28)	Purified	Santiago (1985)

^a Requirements are expressed as percentage of protein. In parentheses, the numerators are requirements as percentage of diet and the denominators are percentage total protein in diet. Adapted from Wilson (1985).

^b Contained either amino acids or casein, gelatin, and amino acids.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.7.

Isoleucine Requirements^a

Fish	Requirement	Type of diet	Reference
Chinook salmon	2.2 (0.9/41)	Purified ^b	Chance <i>et al.</i> (1964)
Common carp	2.5 (0.9/38)	Purified	Nose (1979)
Japanese eel	4.0 (1.5/38)	Purified	Arai (Nose, 1979)
Channel catfish	2.6 (0.6/24)	Purified	Wilson <i>et al.</i> (1980)
Lake trout	2.0-2.6 ^c	Practical ^d	Hughes <i>et al.</i> (1983)
	(0.5-0.7/27)		
<i>Tilapia nilotica</i>	3.2 (0.9/28)	Purified	Santiago (1985)

^a Requirements are expressed as percentage of protein. In parentheses, the numerators are requirements as percentage of diet and the denominators are percentage total protein in diet. Adapted from Wilson (1985).

^b Contained either amino acids or casein, gelatin, and amino acids.

^c These values are recalculated based on the calculated nitrogen content of

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.8.

Leucine Requirements^a

Fish	Requirement	Type of diet	References
Chinook Salmon	3.9 (1.6/41)	Purified ^b	Chance <i>et al.</i> (1964)
Common carp	3.3 (1.3/38.5)	Purified	Nose (1979)
Japanese eel	5.3 (2.0/37.7)	Purified	Arai (Nose, 1979)
Channel catfish	3.5 (0.8/24)	Purified	Wilson <i>et al.</i> (1980)
Lake trout	3.5-4.6 ^c (1.0-1.3/27)	Practical ^d	Hughes <i>et al.</i> (1983)
<i>Tilapia nilotica</i>	2.8-3.6 (0.8-1.0/28)	Purified	Santiago (1985)

^a Requirements are expressed as percentage of protein. In parentheses, the numerators are requirements as percentage of diet and the denominators are percentage total protein in diet. Adapted from Wilson (1985).

^b Contained either amino acids or casein, gelatin, and amino acids.

^c These values are recalculated based on the calculated nitrogen content of the test diets.

^d Contained fish meal, blood meal, cottonseed meal, wheat middlings, and amino acids.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.9.

Valine Requirements^a

Fish	Requirement	Type of diet	Reference
Chinook salmon	3.2 (1.3/40)	Purified ^b	Chance <i>et al.</i> (1964)
Common carp	3.6 (1.4/38.5)	Purified	Nose (1979)
Japanese eel	4.0 (1.5/37.7)	Purified	Arai (Nose, 1979)
Channel catfish	3.0 (0.71/24)	Purified	Wilson <i>et al.</i> (1980)
Lake trout	2.6-3.3 ^c (0.6-0.8/24)	Semipurified ^d	Hughes <i>et al.</i> (1983)
<i>Tilapia nilotica</i>	2.3-3.0 (0.6-0.8/28)	Purified	Santiago (1985)

^a Requirements are expressed as percentage of protein. In parentheses, the numerators are requirements as percentage of diet and the denominators are percentage total protein in diet. Adapted from Wilson (1985).

^b Contained either amino acids or casein, gelatin, and amino acids.

^c These values are recalculated based on the calculated nitrogen content of the test diets.

^d Contained fish meal and amino acids.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.10.

Lysine Requirements^a

Fish	Requirement	Type of diet	Reference
Chinook salmon	5.0 (2.0/40)	Semipurified ^b	Halver <i>et al.</i> (1958)
Chum salmon	4.8 (1.9/40)	Purified ^c	Akiyama <i>et al.</i> (1985a)
Common carp	5.7 (2.2/38.5)	Purified	Nose (1979)
Japanese eel	5.3 (2.0/37.7)	Purified	Arai (Nose, 1979)
Channel catfish	5.1 (1.2/24)	Purified	Wilson <i>et al.</i> (1977)
	5.0 (1.5/30)	Purified	Robinson <i>et al.</i> (1980b)
Rainbow trout	3.7 (1.3/35)	Purified	Kim and Kayes (1982)
	4.2 (1.9/45)	Semipurified ^d	Walton <i>et al.</i> (1984a)
	6.1 (2.9/47)	Semipurified ^d	Ketola (1983)
Gilthead bream	5.0 (1.7/34)	Semipurified ^d	Luquet and Sabaut (1974)
<i>Tilapia</i>			
<i>T. mossambica</i>	4.1 (1.6/40)	Practical ^e	Jackson and Capper (1982)
<i>T. nilotica</i>	4.6-5.6 (1.3-1.6/28)	Purified	Santiago (1985)

^a Requirements are expressed as percentage of protein. In parentheses, the numerators are requirements as percentage of diet and the denominators are percentage total protein in diet. Adapted from Wilson (1985).

^b Contained corn gluten meal and amino acids.

^c Contained either amino acids or casein, gelatin, and amino acids.

^d Contained white fish meal, gluten, and amino acids.

^e Contained white fish meal, gluten, and amino acids.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.11

Phenylalanine or Total Aromatic Amino Requirements^a

Fish	Requirement	Type of diet	Reference
Chinook salmon	5.1 (2.1/41) ^b Tyr = 0.4% in diet	Purified ^c	Chance <i>et al.</i> (1964)
Common carp	6.5 (2.5/38) Tyr = 0% in diet	Purified	Nose (1979)
Japanese eel	3.4 (1.3/38) Tyr = 1% in diet	Purified	Arai (Nose, 1979)
	5.8 (2.2/38) Tyr = 0% in diet		
Channel catfish	3.2 (1.2/38) Tyr = 2% in diet	Purified	Robinson <i>et al.</i> (1980a)
	5.0 (1.2/24) ^b Tyr = 0.3% in diet		
	2.0 (0.5/24) Tyr = 0.6% in diet		
<i>Tilapia nilotica</i>	5.0-6.1 (1.4-1.7/28)	Purified	Santiago (1985)

^a Requirements are expressed as percentage of protein. In parentheses, the numerators are requirements as percentage of diet and the denominators are percentage total protein in diet. Adapted from Wilson (1985).

^b Calculated to be the total aromatic amino acid requirements based on the phenylalanine plus tyrosine content of the test diets.

^c Contained either amino acids or casein, gelatin, and amino acids.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.12.

Methionine or Total Sulfur Amino Acid Requirements^a

Fish	Requirement	Type of diet	Reference
Chinook salmon	4.0 (1.6/40) Cys = 1% in diet	Purified ^b	Halver <i>et al.</i> (1959)
Common carp	3.1 (1.2/38) Cys = 0% in diet	Purified	Nose (1979)
Japanese eel	3.2 (1.2/38) Cys = 0% in diet	Purified	Arai (Nose, 1979)
Channel catfish	2.3 (0.6/24) Cys = 0% in diet	Purified	Harding <i>et al.</i> (1977)
Rainbow trout	2.2 (1.0/46.4) Cys = 0% in diet	Purified	Walton <i>et al.</i> (1982)
	3.0 (1.1/35) Cys = 0.3% in diet	Purified	Rumsey <i>et al.</i> (1983)
	2.9 (1.0/35) Cys = 0.5% in diet	Purified	Kim <i>et al.</i> (1984)
	3.0 (1.0/33) Cys = 0.3% in diet	Practical ^c	Cho ^d
Gilthead bream	4.0 (1.4/34) Cys = not stated	Semipurified ^e	Luquet and Sabaut (1974)
Tilapia			
<i>T. mossambica</i>	3.2 (1.3/40) Cys = 0.7% in diet	Practical ^f	Jackson and Capper (1982)
<i>T. nilotica</i>	3.2 (0.9/28) Cys = not stated	Purified	Santiago (1985)
Sea bass	2.0 (1.0/50) Cys = 1.0% in diet	Practical ^g	Thebault <i>et al.</i> (1985)

^a Requirements are expressed as percentage of protein. In parentheses, the numerators are requirements as percentage of diet and the denominators are percentage total protein in diet. Adapted from Wilson (1985).

^b Contained either amino acids or casein, gelatin, and amino acids.

^c Contained fish meal, gelatin, wheat middlings, and amino acids.

^d Unpublished data.

^e Contained CPSP 80 and amino acids.

^f Contained fish meal, soya meal, groundnut, and amino acids.

^g Contained fish meal, soya meal, brewer's yeast, and methionine.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.13.

Threonine Requirements*

Fish	Requirement	Type of diet	References
Chinook salmon	2.2 (0.9/40)	Purified ^b	DeLong <i>et al.</i> (1962)
Chum salmon	3.0 (1.2/40)	Purified	Akiyama <i>et al.</i> (1985a)
Common carp	3.9 (1.5/38)	Purified	Nose (1979)
Japanese eel	4.0 (1.5/38)	Purified	Arai (Nose, 1979)
Channel catfish	2.0 (0.5/24)	Purified	Wilson <i>et al.</i> (1978)
<i>Tilapia nilotica</i>	3.6 (1.0/28)	Purified	Santiago (1985)

* Requirements are expressed as percentage of protein. In parentheses, the numerators are requirements as percentage of diet and the denominators are percentage total protein in diet. Adapted from Wilson (1985).

^b Contained either amino acids or casein, gelatin, and amino acids.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.14

Tryptophan Requirements*

Fish	Requirement	Type of diet	Reference
Chinook salmon	0.5 (0.2/40)	Purified ^b	Halver (1965)
Chum salmon	0.7 (0.3/40)	Purified	Akiyama <i>et al.</i> (1985b)
Coho salmon	0.5 (0.2/40)	Purified	Halver (1965)
Sockeye salmon	0.5 (0.2/40)	Purified	Halver (1965)
Common carp	0.8 (0.3/38)	Purified	Nose (1979)
	0.3 (0.1/42)	Semipurified ^c	Dabrowski (1981)
Japanese eel	1.1 (0.4/38)	Purified	Arai (Nose, 1979)
Channel catfish	0.5 (0.12/24)	Purified	Wilson <i>et al.</i> (1978)
Rainbow trout	0.5 (0.3/55)	Semipurified ^d	Walton <i>et al.</i> (1984b)
	0.6 (0.2/35)	Purified	Kim <i>et al.</i> ^e
	1.4 (0.6/42)	Purified	Poston and Rumsey (1983)
Gilthead bream	0.6 (0.2/34)	Semipurified ^f	Luquet and Sabaut (1974)
<i>Tilapia nilotica</i>	0.7-1.3 (0.2-0.4/28)	Purified	Santiago (1985)

* Requirements are expressed as percentage of protein. In parentheses, the numerators are requirements as percentage of diet and the denominators are percentage total protein in diet. Adapted from Wilson (1985).

^b Contained either amino acids or casein, gelatin, and amino acids.

^c Contained zein and amino acids.

^d Contained white fish meal, gelatin, and amino acids.

^e Unpublished data.

^f Contained CPSP 80 and amino acids.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.15

Essential Amino Acid Index of Selected Proteins for Channel Catfish*

Amino acid	Requirement value	Whole egg protein	Casein	Gelatin
Arginine	4.3	6.5	4.0 ^b	8.0
Cystine ^c		0.5	0.4	0.0
Histidine	1.5	2.6	3.2	0.8
Isoleucine	2.6	5.5	5.5	1.3
Leucine	3.5	9.1	9.7	2.9
Lysine	5.1	6.9	8.8	3.8
Methionine ^c	2.3	3.4	3.1	0.9
Phenylalanine ^c	5.0	5.8	5.6	2.1
Threonine	2.3	5.2	4.6	1.8
Tryptophan	0.5	1.4	1.2	0.0
Tyrosine ^c		4.6	6.4	0.6
Valine	3.0	6.7	6.9	2.4

* Expressed as percentage of crude protein. Adapted from Wilson and Robinson (1982).

^b Values underlined indicate limiting amino acids.

^c The methionine or total sulfur amino acid requirement can be met by the sum of the methionine plus cystine content.

^d The phenylalanine or total aromatic amino acid requirement

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.16

Amino Acid Composition of Whole Body Tissue of Certain Fishes^a

Amino acid	Rainbow trout ^b	Atlantic salmon ^b	Coho salmon ^c	Cherry salmon ^d	Channel catfish ^e
Ala	6.37	6.52	6.08	6.35	6.31
Arg	6.41	6.61	5.99	6.23	6.67
Asp	9.94	9.92	9.96	9.93	9.74
Cys	0.80	0.95	1.23	1.34	0.86
Glu	14.22	14.31	15.25	15.39	14.39
Gly	7.76	7.41	7.31	7.62	8.14
His	2.96	3.02	2.99	2.39	2.17
Ile	4.34	4.41	3.70	3.96	4.29
Leu	7.59	7.72	7.49	7.54	7.40
Lys	8.49	9.28	8.64	8.81	8.51
Met	2.88	1.83	3.53	3.14	2.92
Phe	4.38	4.36	4.14	4.63	4.14
Pro	4.89	4.64	4.76	4.33	6.02
Ser	4.66	4.61	4.67	4.48	4.89
Thr	4.76	4.95	5.11	4.63	4.41
Trp	0.93	0.93	1.40	0.83	0.78
Tyr	3.38	3.50	3.44	3.58	3.28
Val	5.09	5.09	4.32	4.85	5.15

^a Expressed as g/100 g amino acids.

^b Data from Wilson and Cowey (1985).

^c Data from Arai (1981).

^d Data from Ogata *et al.* (1983).

^e Data from Wilson and Poe (1985).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

2. ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

Μέσα στο σώμα τα περισσότερα αμινοξέα υπάρχουν σαν συστατικά των πρωτεϊνών. Η ποσότητα των ελευθέρων αμινοξέων είναι σχετικά μικρή και προέρχεται από δύο κύριες πηγές που είναι η τροφή και ο καταβολισμός των πρωτεϊνών του σώματος (Σχ. 2.1). Ο καταβολισμός των πρωτεϊνών των ιστών προμηθεύει το 70-80% των αμινοξέων στα ποντίκια (Millward et al., 1976) ενώ λιγότερο από το 50% στα ψάρια (Cowey και Luquet 1983). Έτσι φαίνεται ότι τα ψάρια είναι περισσότερο εξαρτημένα από διατροφικές πηγές σε σύγκριση με τα άλλα παμφάγα θηλαστικά. Η σύνθεση των μη απαραίτητων αμινοξέων μπορεί να γίνει με μεταφορά των αμινοομάδων σε σκελετούς ανθρακα που προήλθαν από τον ενδιάμεσο μεταβολισμό.

Η πρωταρχική απαίτηση για τα αμινοξέα είναι για τη σύνθεση των πρωτεϊνών και σε μικρότερο βαθμό για τη σύνθεση πολλών άλλων ενώσεων βιοχημικής σημασίας όπως ορμόνες, πουρίνες, νευροδιαβιβαστών κλπ. Στα ψάρια η κύρια πορεία των αμινοξέων μετά την κάλυψη των απαιτήσεως για σύνθεση των πρωτεϊνών είναι για τη παραγωγή ενέργειας. Τα αμινοξέα έχουν αποδειχθεί ότι είναι πιο σημαντική πηγή ενέργειας από ότι οι υδατάνθρακες. Αμέσως μετά τη χορήγηση τροφής η παροχή των αμινοξέων στους ιστούς συχνά ξεπερνούν την ικανότητα να συνθέτουν πρωτεΐνες και το πλεόνασμα καταβολίζεται. Ο καταβολισμός των αμινοξέων γίνεται κυρίως στο συκώτι και αυτή η διαδικασία αφορά στη μετακίνηση των αμινοομάδων (η οποία

στα τελεοστέα ψαρια, τελικά αποβάλλεται σαν αμμωνία) και το σχηματισμό των α-κετοοξέων. Τα α-κετοοξέα σε μερικές περιπτώσεις μετατρέπονται σε γλυκογόνο ή τριγλυκερίδια αποτελώντας έτσι αποθήκες λιπών και υδατάνθρακων. Αν και εκεί δεν υπάρχει αντίστοιχη ένωση αποθήκευσης αμινοξέων, η μεγάλη μυϊκή μάζα δρα σαν απόθεσμα αυτών και η παρουσία ειδικών πρωτεϊνών «αποθήκευσης» έχει προταθεί (από Driedzic και Hochachka, 1979). Η κύρια τύχη των κετοοξέων είναι η οξείδωση τους σε CO_2 και H_2O μέσω του κύκλου του τρικαρβοξυλικού οξέος (TCA), ο οποίος παράγει ενέργεια. Το κάθε κύριο μονοπάτι του μεταβολισμού των αμινοξέων απαιτεί πιο λεπτομερή ανάλυση.

2.1. Πηγές των αμινοξέων για τους ιστούς.

2.1.1. Τροφή

Η πέψη των πρωτεϊνών στους γαστροεντερικούς σωλήνες η κατά μήκος απορρόφησή τους, και η εμφάνιση των αμινοξέων στο αίμα, αναλύεται στο κεφάλαιο 1 από τον Wilson.

Μια λεπτομερή επεξήγηση αυτού του θέματος είναι επίσης διαθέσιμη σε μια εργασία του Ash (1985).

2.1.2. Καταβολισμός των σωματικών πρωτεϊνών.

Πραγματοποιείται συνεχής σύνθεση και αποικοδόμηση των σωματικών πρωτεϊνών με αποτέλεσμα τη συνεχή αντικατάστασή τους. Για ορισμένες πρωτεΐνες ο ρυθμός αντικατάστασης είναι σχετικά γρήγορος, όπως για παράδειγμα, αυτών του συκωτιού των ποντικών με χρόνο ημιζωής 5-6 μέρες, ενώ πρωτεΐνες άλλων ιστών (και κυρίως

πρωτεΐνες όπως το γλυκογόνο) έχουν μεγάλο χρόνο ημιζωής μερικών μηνών ή και παραπάνω. Η φυσιολογική σημασία αυτής της λειτουργίας η οποία φαίνεται να είναι ενεργειακά πολυδάπανη παραμένει ασαφής. Μια χρήσιμη ακόμη λειτουργία θα μπορούσε να είναι η εξάλειψη των μη φυσιολογικών πρωτεϊνών οι οποίες προέρχονται από λάθη κατά τη σύνθεση ή από άλλους λόγους (Goldberg et.al. 1974). Μπορεί επίσης να επιτρέπει την πιο γρήγορη προσαρμογή σε περιβαλλοντικές και διατροφικές αλλαγές από ότι με την ενεργοποίηση η αναστολή ενζυματικών μηχανισμών. Ο ρυθμός αντικατάστασης μπορεί να μειωθεί είτε από την αύξηση του ρυθμού σύνθεσης είτε από μείωση του ρυθμού αποικοδόμησης. Οι αντίστροφες αλλαγές μπορεί να προκαλέσουν μια αύξηση του ρυθμού αντικατάστασης. Για την ισορροπία του αζώτου οι ρυθμοί σύνθεσης και αποικοδόμησης είναι ισοδύναμοι. Η διαφορά των ρυθμών αυτών οδηγεί σε απώλεια ή αύξηση των σωματικών πρωτεϊνών.

Αξιόπιστες τεχνικές για τη μέτρηση της αποικοδόμησης των πρωτεϊνών στα ψάρια δεν είναι ακόμα γνωστές. Όμως ένας κατά προσέγγιση υπολογισμός μπορεί να γίνει από τη διαφορά μεταξύ του ρυθμού σύνθεσης και ανάπτυξης (αποθήκευσης) και αυτή είναι η μόνη μέθοδος ικανοποιητικά εφαρμόσιμη στα ψάρια. Σε μερικά θηλαστικά είναι δυνατή η μέτρηση της αποικοδόμησης Μυολιδιακών Πρωτεϊνών μετρώντας το ρυθμό απέκκρισης της 3-μεθυλ-ιστιδίνης, η οποία είναι κύριο συστατικό αυτών των πρωτεϊνών (Munro, 1976). Αυτή η μέθοδος είναι αναξιόπιστη για μελέτες με ψάρια, επειδή η μεθυλ-ιστιδίνη αποβάλλεται πιο γρήγορα και όχι αναλογικά καθώς επίσης υπάρχουν ενδείξεις ότι περαιτέρω μεταβολίζεται (Faucouneau 1985). Μελέτη του

ρυθμού αποικοδόμησης των σωματικών πρωτεϊνών πραγματοποιείται με χορήγηση ραδιενεργού ^{14}C σε προδρομα μόρια, παρόλα αυτά η μέθοδος αυτή έχει περιορισμένη επιτυχία λόγω της πολυπλοκότητας που παρουσιάζει η ανάλυση δεδομένων από ετερογενείς πρωτεΐνες και λόγω της επαναχρησιμοποίησης των ραδιενεργά μαρκαρισμένων μορίων. (Faucouneau, 1985).

Ένας αριθμός ενζύμων, που βρίσκονται μέσα στα λυσοσώματα, μπορεί να καταβολίσει τις πρωτεΐνες των ιστών. Μερικά από τα πιο κυριότερα λυσοσωματικά ένζυμα είναι καθεψίνες (cathepsins), A, B, C και D και οι οξίνες ουδέτερες και αλκαλικές πρωτεάσες. Αυτά τα ένζυμα προσδιορίστηκαν στους ιστούς των ψαριών (Creach 1972, Makinodan 1983, et. al. Bonete et. al. 1984). Η μεγαλύτερη δραστηριότητα των καθεψίνων παρατηρήθηκε στο συκώτι, στα νεφρά και σπλήνα σε σύγκριση με λευκούς ή κόκκινους μυς (Creach 1972). Παρ'όλα αυτά ο μηχανισμός ελέγχου της αποικοδόμησης πρωτεϊνών είναι λιγότερο σαφής. Ο Somero και ο Doyle (1972) αναφέρουν ότι η δράση των πρωτεολυτικών ενζύμων στους ιστούς λειτουργεί ικανοποιητικά σε χαμηλότερα επίπεδα της μέγιστης δραστηριότητας και χωρίς περιορισμό στο ρυθμό καταβολισμού. Ακόμη αναφέρουν ότι ο ρυθμός καταβολισμού των πρωτεϊνών εξαρτάται από το ρυθμό (in situ) στο οποίο η πρωτεΐνη αποδεικνύεται δεκτική στη ευαίσθητη δράση των ενζύμων. Έτσι αλλαγή του pH, του ιονικού περιβάλλοντος και η απουσία ή παρουσία υποστρωμάτων ή διαφόρων παραγόντων μπορεί να αλλάξει την τριτοταγή ή τεταρτοταγή δομή της πρωτεΐνης και να την κάνει περισσότερο ή λιγότερο ευαίσθητη στη δράση της πρωτεάσης. Ο Ando et

ai (1985) βρήκε στοιχεία που δείχνουν ότι η πρωτεόλυση ελέγχεται από την απουσία ή παρουσία αναστολέων της δράσης των πρωτεασών που βρίσκονται στο αίμα. Τα ανδρογόνα αδρανοποιούν τους αναστολείς αυτούς και οδηγούν σε υψηλούς ρυθμούς τη δραστηριότητα των πρωτεασών.

2.1.3. Σύνθεση των μη απαραίτητων αμινοξέων

Τα μη απαραίτητα αμινοξέα (NEAA) μπορούν να συντεθούν με τη μεταφορά αμινοομάδων σε α-κετοοξέα που προέρχονται από τον ενδιάμεσο μεταβολισμό. Στη πραγματικότητα η ανικανότητα ενός οργανισμού να συνθέσει τα απαιτούμενα α-κετοοξέα έχει σαν αποτέλεσμα ένα αμινοξύ να τοξινομηθεί σαν απαραίτητο. (EAA).

Διατροφικές μελέτες δίνουν έμμεσα στοιχεία για την σύνθεση των NEAA, ενώ βιοχημικές μελέτες δίνουν πιο άμεσα στοιχεία για την σύνθεση των NEAA. Ο Cowey (1970) εμβολίασε γλώσσες *Pleuronectes platessa* και *Solea Solea* με ($U-^{14}C$) γλυκόζη και τις άφησε για μερικές μέρες πριν τη δειγματοληψία. Ύστερα από υδρόλυση των σωματικών πρωτεϊνών τα αμινοξέα διαχωρίστηκαν χρωματογραφία λοντοανταλλαγής και ύστερα εξετάστηκαν για ραδιενέργεια. Υψηλά επίπεδα ραδιενέργειας βρέθηκαν στα αμινοξέα Ala, Asp, Gly, G14 και Ser. Χαμηλότερα άλλα επίσης σημαντικά επίπεδα βρέθηκαν στο αμινοξύ Pro και καθόλου ή πολύ χαμηλά επίπεδα βρέθηκαν στα απαραίτητα αμινοξέα ή Tn Tyr. Ομοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί για το κυπρίνο (Creach et. al. 1973) και το λαβράκι (metailier et. al. 1973). Τρία αμινοξέα Trp, Asn

και Glu καταστρέφονται στο στάδιο της όξινης υδρόλυσης και δεν καταγράφουν από την τεχνική αυτή. Τα ένζυμα που απαιτούνται για τη σύνθεση των Asp και Glu αντίστοιχα έχουν ανιχνευθεί στους ιστούς των ψαριών, αλλά δεν είναι γνωστό αν αυτή η δράση αυτών των ενζύμων είναι επαρκής να ικανοποιήσει όλες τις φυσιολογικές απαιτήσεις των ψαριών. Ποντίκια που τράφηκαν με τροφή που περιείχε καθαρά αμινοξέα φάνηκε ότι το Asp είναι απαραίτητο μέγιστη αύξηση και ανάπτυξη εγκεφάλου. (Newburgh, 1983).

2.1.4. Αμινοξέα των Ιστών.

Η πλειοψηφία των αμινοξέων που υπάρχουν στα ψάρια αποτελούν συστατικά των πρωτεϊνών. Πολύ μικρές διαφορές έχουν παρατηρηθεί στη σύσταση των αμινοξέων των πρωτεϊνών του σώματος μεταξύ διαφορετικών ειδών ή ακόμα και σε διαφορετικά μέρη του ίδιου ψαριού (Connell και Howgate 1959, Njaa και Utne 1982). Σε αντιθεση οι συγκεντρώσεις των ελευθέρων αμινοξέων στο αίμα και στους ιστούς παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές. Αυτές οι συγκεντρώσεις εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες όπως το είδος, τη διατροφική ιστορία, ο χρόνος και η θέση δειγματοληψίας μετά τη χορήγηση τροφής. Υπάρχουν πολλές αναφορές για τις συγκεντρώσεις αμινοξέων στο πλάσμα ή και στους λευκούς μυς αλλά σχετικά λίγες για τους άλλους ιστούς. Τα ότι αφορά τη μέτρηση των συγκεντρώσεων των αμινοξέων στο αίμα, οι περισσότεροι ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει ή πλάσμα ή ορό θαταν όμως προτιμότερο να γίνεται δειγματοληψία όλου του αίματος επειδή σε

πολλά θηλαστικά έχει αποδειχθεί ότι τα ερυθρά αιμοσφαίρια παίζουν σημαντικό ρόλο στη μεταφορά μερικών αμινοξέων (Felig 1975). Τρεις τρόποι μεταφοράς ελευθέρων αμινοξέων έχουν αναφερθεί για το κυπρίνο (Ogata 1985). Ο πρώτος τρόπος οφείλεται κυρίως στο πλάσμα (για Arg, Lysm και Met), ο δεύτερος στο πλάσμα και τα ερυθροκύτταρα (για Tyr, Phe και Trp) και ο τρίτος στα ερυθροκύτταρα (για Asp, Glu και Tau). Παρ'όλα αυτά λίγα ποσοτικά δεδομένα είναι διαθέσιμα για να δείξουν τη σημασία της μεταφοράς από τα ερυθροκύτταρα. Αίμα από ιριδίζουσα πέστροφα αναλύθηκε ύστερα από τη χορήγηση τροφής που περιείχε ^{14}C - μαρκαρισμένα αμινοξέα. Όταν η ραδιενέργεια στο αίμα έφτασε στο μέγιστο (6-8 ώρες μετά το τάϊσμα) γύρω στο 10-20% από αυτό προερχόταν από τα ερυθροκύτταρα (αδημοσίευτα στοιχεία των Cowey και Walton).

Η πιο ολοκληρωμένη αναφορά για την κατανομή των αμινοξέων για ένα μόνο είδος είναι αυτή των Wilson και Roe (1974,) οι οποίοι μέτρησαν τις συγκεντρώσεις στον ορό, συκώτι, νεφρό, μυς, εγκέφαλο, καρδιά, σπλήνα και εντερικούς σωλήνες του γατόψαρου. Στην ιριδίζουσα πέστροφα οι συγκεντρώσεις αμινοξέων αναφέρονται στο πλάσμα, ερυθροκύτταρα συκώτι, νεφρό, εγκέφαλο, επιδερμίδα, καρδιά, μυς (πίνακας 2.1.) (Walton και Cowey 1982, Gras et. al. 1978 και 1982: Shirai 1983, Ogata και Arai 1985, Walton και Wilson 1986). Γενικά τα νεφρά και το συκώτι περιέχουν τις υψηλότερες ολικές συγκεντρώσεις όταν εκφράζονται σε $\mu\text{mol/g}$ ιστού αλλά σαν ποσοστό της συνολικής ποσότητας σωματικών αμινοξέων οι σκελετικοί μυς περιέχουν μεγαλύτερα ποσοστά. Ο λόγος των συγκεντρώσεων στους ιστούς προς

αυτών στο πλάσμα είναι περίπου 1:1 για πολλά αμινοξέα αλλά μπορεί να είναι πιο πολύ από 10:1 για τα Glu, Asp και Gly στο συκώτι και τα νεφρά. Τα επίπεδα της Gly είναι συνήθως υψηλά στους μυς όπου συνεισφέρουν πάνω από 50% στην ολική συγκέντρωση. Στους μυς των ψαριών με σκούρα σάρκα, όπως ο κολιός, σκουμπρί, τα επίπεδα της Ιστιδίνης είναι υψηλά και οδηγούν σε έντονο σχηματισμό της ισταμίνης στο πρόσφατο - σκοτωμένο ψάρι.

Οι συγκεντρώσεις των ΕΑΑ στο πλάσμα και στους μυς όχι όμως στο συκώτι δείχνουν ότι συσχετίζονται με τις διατροφικές συγκεντρώσεις (Nose 1972, Plakas et. al. 1980, Wilson et. al. 1985, Walton και Wilson 1986). Οι συγκεντρώσεις των ΝΕΑΑ στο πλάσμα όμως δεν δείχνουν καμία συσχέτιση, ίσως λόγω των εκτεταμένων αλλαγών στις οποίες υπόκεινται και του μεταβολισμού μέσα στο σώμα. Σε μερικές περιπτώσεις προσδιορίστηκαν οι διατροφικές απαιτήσεις σε ένα ΕΑΑ, από τη μέτρηση των συγκεντρώσεων στο πλάσμα ή στους μυς ύστερα από χορήγηση τροφής που περιείχε διαφορετικά ποσοστά του αμινοξέος αυτού.

Ο Carrillo (1980) ερεύνησε τις ημερήσιες συγκεντρώσεις αμινοξέων στο πλάσμα του χρυσόψαρου. Όλα τα αμινοξέα εκτός της Val, Lys και Tyr είχαν ποικίλες συγκεντρώσεις κατά τη διάρκεια της μέρας. Οι συγκεντρώσεις των Ser, Arg, Asp, Met, Glu, Leu, Ie και His. Εξαρτόνταν από την φωτοπερίοδο, οι υψηλότερες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκαν κατά την έναρξη της σκοτεινής φάσης.

Στο πλάσμα των θηλαστικών, η Tyr είναι η μοναδική μεταξύ των αμινοξέων η οποία κατά 70% μεταφέρεται από πρωτεϊνικούς μεταφορείς

(Badawy και Evans 1976). Στην ιριδίζουσα πέστροφα η μεταφορά της Τηρ στο πλάσμα μ' αυτό το τρόπο είναι αμελητέα (Walton 1984). Παρόμοια απουσία αυτού του μηχανισμού έχει αναφερθεί για άλλα είδη, π.χ. το βάτραχο (Fuller και Roush 1972).

2.2. ΤΕΛΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

2.2.1. Αποβολή αζώτου.

Αρκετές μελέτες υπάρχουν για την αποβολή αζώτου στα ψάρια (Watts και Watts 1974, Brett και Groves 1979, Van Waarde 1983). Τα τελεοστέα ψάρια είναι αμμωνιοτελικά δηλαδή το τελικό προϊόν της αποικοδόμησης των αμινοξέων είναι η αμμωνία. Η αμμωνία σαν NH_3 (μη ιονισμένη) είναι πολύ τοξική, αλλά σε φυσιολογικό ΡΗ, το 99% αυτής μπορεί να αντιπροσωπεύεται από μια λιγότερη τοξική ιονική μορφή NH_4^+ . Οι βιοχημικοί μηχανισμοί της τοξικής της δράσης είναι ασαφής. Η αμμωνία μπορεί να απεκριθεί από τα ψάρια στο νερό, ενώ στα ζώα της ξηράς πρέπει πρώτα να μετατραπεί σε λιγότερο τοξική μορφή όπως ουρία και ουρικό οξύ πριν την απέκκριση.

Αν και όλα τα ένζυμα του κύκλου της ουρίας έχουν ανιχνευθεί στους ιστούς των τελεοστών (Huggins 1969 Depeche, 1979) μόνο η αργινάση απαντάται σε σημαντική ποσότητα. Γι' αυτό το λόγο, πιστεύεται ότι ο κύκλος της ουρίας δεν λειτουργεί έντονα στα τελεόστα ψάρια. (Forster

και Goldstein 1969, , Wilson 1973, Goldstein και Forster 1965, Vellas και Serfaty 1974, Vellas 1979). Τα επίπεδα των ενζύμων του κύκλου της ουρίας είναι πολύ υψηλότερα στα ελασματοβράγχια ψάρια και κατά συνέπεια πιστεύεται ότι λειτουργεί σε αυτά (Schooler 1966). Ο σχηματισμός της ουρίας σε αυτά τα ψάρια, τα οποία έχουν υψηλά ποσά ουρίας στο αίμα και στους ιστούς, συνδέεται κυρίως με τον μηχανισμό της ωσμωρρύθμισης παρά της απέκκρισης (Watts και Watts 1964) τα ελασματοβράγχια απεκρίνουν σημαντικές ποσότητες αμμωνίας. Η ουρία είναι γνωστός αποσταθεροποιητής της δομής των πρωτεϊνών και για τον λόγο αυτό ίσως επεμβαίνει στις ενζυματικές λειτουργίες. Όμως η επίδραση αυτή περιορίζεται σημαντικά από την παρουσία του οξειδίου της τριμεθυλαμίνης (TMAO) (Yancey 1984). Από πειράματα αποδείχθηκε ότι η καλύτερη προστασία επιτυγχάνεται όταν η αναλογία ουρίας προς TMAO είναι 2:1. Στα ελασματοβράγχια η αναλογία ουρίας προς TMAO επίσης βρέθηκε να είναι 2:1.

Από την ολική απέκκριση αζώτου, το μεγαλύτερο ποσοστό (60-90%) αποβάλλεται μέσω των βραγχίων και το υπόλοιπο από περιττώματα και ουρία από το δέρμα (Smith 1929, Wood 1958 Fromm 1963). Το αποβαλλόμενο άζωτο κατά 60-90% είναι σε μορφή αμμωνίας και το υπόλοιπο με τη μορφή ουρίας, ουρικού οξέος, αμινοξέων, τριμεθυλαμίνης (TMA), οξειδία τριμεθυλαμίνης (TMAO), κρεατίνη και κρεατινίνης. Παρότι τα βράγχια είναι ο κύριος ιστός αποβολής αμμωνίας εντούτοις δεν φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό της (Pequin 1962, Pequin και Serfaty 1963, Fromm 1963, Goldstein 1964, Payan και Pic 1977, Mommsen 1984) αντιθέτως αποσπούν προσχηματισμένη αμμωνία

από το αίμα. Ο Goldsten (1964) μέτρησε τη ροή του αίματος στα βράγχια του *Myoxocephalus Scorpius* στα 1146 ml/kg σωματικού βάρους / ώρα και μείωση του επιπέδου αμμωνίας κατά μήκος των βραγχίων από 0,23 (από 0,31 έως 0,08) $\mu\text{mole/ml}$, έτσι από τα βράγχια απεκρίνονται 264 $\mu\text{mole/kg/h}$, το οποίο αποτελεί το 75% της ολικής αποβολής αμμωνίας. Ο Mommsen (1984) υπολόγισε μια μείωση 0,28 $\mu\text{mole/ml}$ πλάσματος στα βράγχια της πέστροφας αλλά δεν βρήκε αλλαγές στις συγκεντρώσεις των Ala, Clu, Asp, Glu, Ser και His.

Η απέκριση αμμωνίας από τα βράγχια γίνεται από ένα ή περισσότερους από τρεις μηχανισμούς: τη μη ιονική διάχυση της NH_3 , ιονική διάχυση του NH_4^+ και ανταλλαγή $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ (Evans 1984). Υπάρχουν φυσικά διαφορές ανάμεσα στα είδη και ανάμεσα στα ψάρια του θαλασσινού και του γλυκού νερού. Κάποτε ο μηχανισμός ανταλλαγής ήταν υπεύθυνος για το μεγαλύτερο ποσό απεκρινόμενης αμμωνίας. Όμως βρέθηκε ότι σε μερικά είδη η αποβαλλόμενη αμμωνία δεν επηρεάζεται από τις εξωτερικές συγκεντρώσεις Na (Evans 1984) και σε άλλα λιγότερο από το 50% της αποβαλλομένης αμμωνίας επηρεάζεται (Evans 1977 και 1982, Payan 1978) Πιθανόν ότι ο κύριος μηχανισμός στα περισσότερα είδη είναι μη - ιονική διάχυση της αμμωνίας. Ο Evans (1984) απέδειξε ότι τα επιθηλιακά κύτταρα των βραγχίων επιτρέπουν το πέρασμα σε NH_4^+ και NH_3 αλλά δεν παρατηρήθηκε ανταλλαγή $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$. Έχει υπολογιστεί ότι η απέκριση αμμωνίας από το αίμα, κατά 75% γίνεται με μη-ιονική διάχυση και 25% με ιονική διάχυση.

Σε αναλύσεις αίματος από διαφορετικά σημεία κυπρίνων ο Pequín και ο Serfaty (1963) κατέληξαν ότι το 60-70% από την ολική παραγωγή

αμμωνίας πραγματοποιείται στο συκώτι και το υπόλοιπο στους νεφρούς και στους μυες. Μετά από ηπατεκτομή τα χέλια συνεχίζουν να αποβάλουν αμμωνία σε υψηλά επίπεδα, αποδεικνύοντας ότι άλλοι ιστοί εκτός του συκωτιού συνεισφέρουν στη παραγωγή αμμωνίας (Kenyon 1967). Όμως αυτά τα ψάρια έχουν την μειωμένη ικανότητα απαμίνωσης περισσεύας αμινοξέων όπως συμβαίνει μετά το τσίσμα. Ο Brett και ο Zala (1975) τσίσαν σολωμό με μια τροφή εμπορίου και παρατήρησαν αύξηση της αποβαλλόμενης αμμωνίας ύστερα από 4 ώρες από το τσίσμα (από 8 με μέγιστο τα 35 mgN/kg σωματικού βάρους /h) αλλά δεν είδαν αλλαγή στην αποβολή ουρίας (2mg/kg/h). Αυτό δείχνει ότι η αποβολή αμμωνίας συσχετίζεται με το καταβολισμό των πρωτεϊνών και ότι τα αμινοξέα της τροφής καταβολίζονται γρήγορα μετά το τσίσμα. Ο Beamish και ο Thomas (1984) βρήκαν ότι το ποσοστό της αμμωνίας που αποβάλλεται ως προς το άζωτο που προσλαμβάνεται αυξάνεται όταν το ποσοστό πρωτεΐνης της τροφής αυξάνεται. Η συνολική αποβολή αζώτου από βράγχια και τα ουρα για την ιριδίζουσα πέστροφα συσχετίζεται με την πρόσληψη αζώτου (0,38). Όμως δεν υπάρχει τόσο μεγάλη συσχέτιση ανάμεσα στην αποβολή ουρίας και την πρόσληψη αζώτου (Brett και Zala 1975, Kaushik 1984, Beamish και Thomaw 1984).

2.2.2. Απαμίνωση των αμινοξέων - προέλευση της αποβαλλόμενης NH₃

Οι αμινοομάδες των αμινοξέων είναι η κυριώτερη πηγή της αποβαλλόμενης αμμωνίας. Μικρότερα ποσά παράγονται από το καταβολισμό άλλων αμινων, εξολαμίνες και νουκλεοσίδια. Γενικά για κάθε

αμινοξύ υπάρχει ένα ένζυμο υπεύθυνο για τον καταβολισμό του. Έτσι η παραγωγή αμμωνίας από τα αμινοξέα πραγματοποιείται από ένα αριθμό ενζυμικών μηχανισμών, οι οποίοι μπορούν να χωριστούν σε δυο τύπους 1) Άμεση απαμίνωση και 2) τη μεταφορά μιας αμινοομάδας σε ένα δέκτη, που μετά θα απαμινωθεί. Αρκετά ένζυμα ικανά για τη πραγματοποίηση αυτών των αντιδράσεων έχουν ανιχνευθεί στους ιστούς των ψαριών αλλά δεν έχει ξεκαθαριστεί ποια αντίδραση είναι ποσοτικά πιο σημαντική στη παραγωγή αμμωνίας.

Η Άμεση απαμίνωση μπορεί να καταλυθεί από ένζυμα όπως οξειδάσεις αμινοξέων, Απαμίνωση της σερίνης, ιστιδάση, γλουταμιναση, γλουταμική υδρογονάση. Εντός από την γλουταμική υδρογονάση, η δράση και η παρουσία αυτών των ενζύμων, στους ιστούς των ψαριών είναι ανεπαρκείς για να θεωρηθούν οι κύριοι παραγωγοί αμμωνίας (Van Waarde 1983). Η γλουταμική υδρογονάση θεωρείται ότι παίζει ένα σημαντικό ρόλο μέσω της συνεισφοράς στην μετααπαμίνωτική διάταξη που περιγράφεται παρακάτω.

Δύο πιθανές διατάξεις (Σχημ. 2.2) έχουν προταθεί για τη μεταφορά των αμινοομάδων σε ένα κοινό δέκτη 1) η μετααπαμίνωτική διάταξη του Braunstein (1957) και 2) ο κύκλος του πουρινικού νουκλεοτιδίου του Lowenstein (1972). Οι δύο αυτές διατάξεις ξεκινούν από το αμινομεταφορικό ένζυμο, το οποίο μεταφέρει στην αμινοομάδα του αμινοξέος σε ένα α-κετο οξύ (συχνά α-κετογλουταρικό) δέκτη που έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός άλλου α-κετο οξέος και ενός αμινοξέος (Glu εάν ο δέκτης είναι α-κετογλουταρικό). Στη διάταξη του Braunstein το Glu που προκύπτει με τη βοήθεια γλουταμική υδρογονάση

οδηγεί στο σχηματισμό αμμωνίας και α-κεταγλουταρικού διαθέσιμο για περαιτέρω τρανσαπαμίνωση. Στη διαταξη του Lowenstein η Glu με τη βοήθεια της Ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης οδηγεί στο σχηματισμό του Asp, που μπαίνει στο κύκλο του πουρινικού νουκλεοτιδίου και αντιδρά με το IMP και δίνει adenylysuccinate. Αυτή μετά σχηματίζει AMP με τη ταυτόχρονη απελευθέρωση φουμαρικού, το οποίο μπορεί να μετατραπεί σε οξαλοξικό μέσω του κύκλου του TCA. Η AMP αντιδρά με AMP διαμιναση (AMP αμινοϋδρολάση EC 3.5.4.6.) προκαλώντας τον σχηματισμό του IMP και την απελευθέρωση αμμωνίας. Ο κύκλος του πουρινικού νουκλεοτιδίου παίζει ένα ρόλο στον έλεγχο της παροχής ενέργειας στο κυττάρο, διαμέσου του ελέγχου του επιπέδου του AMP.

Τα υπεύθυνα ένζυμα για το σχηματισμό αμμωνίας για την τρανσαπαμίνωση και για το κύκλο του πουρινικού νουκλεοτιδίου είναι η γλουταμική υδρογονάση και AMP διαμιναση αντίστοιχα. Οι ιδιότητες της γλουταμικής υδρογονάσης που απομονώθηκε από ψάρια περιγράφονται σε επόμενη παράγραφο. Η AMP διαμιναση έχει απομονωθεί από διαφορετικά είδη ψαριών και έχει ιδιότητες ίδιες με αυτές των ενζύμων των θηλαστικών. Το ένζυμο από μυς τουρνας είναι ένα τετραμερές με MW (μοριακό βάρος) 262.000-287.000 αναλογα τη μέθοδο που χρησιμοποιείται (Stankiewicz και Szychala 1979, 1981). Η αμινοξική της σύνθεση είναι παρόμοια με αυτή των ενζύμων στους μυς των ποντικών, κουνελιών, κοτοπούλων και βατράχων. Ενεργοποιείται από την παρουσία Na^+ και K^+ και έχουν ένα Km 10 mM για το AMP, το οποίο είναι κάπως υψηλότερο από το 2.4mM για το ένζυμο ποντικού (Stankiewicz 1979). Η AMP διαμιναση έχει επίσης απομονωθεί από ερυθροκύτταρα σκυλόψαρου

και από βράγχια πεστροφας και κεφαλου (Raffin 1983, 1984) και σε αυτές τις περιπτώσεις το Km για το AMP είναι 03-05mM. Η δράση του ενζύμου αναστέλλεται από φυσιολογικές συγκεντρώσεις P_i και στην περίπτωση του συκωτιού του ποντικού η αναστολή μπορεί να είναι μεγαλύτερη του 90%.

Η AMP διαμινάση βρίσκεται σε πολλούς ιστούς αλλά τα υψηλότερα ποσοστά γενικά βρίσκονται στους λευκούς μυς, αν και ερυθροκύτταρα προερχόμενα από σκυλόψαρα έχουν υψηλά επίπεδα (Raffin 1983). Στο συκώτι μερικών ψαριών παρατηρήθηκαν χαμηλά επίπεδα AMP διαμινάσης αλλά αυτά είναι μερικές φορές ισοδύναμα με τα επίπεδα Glu υδρογονάσης (υπολογισμένη από την οδό της Glu απαμίνωσης). Μόνο μικρά επίπεδα Glu υδρογονάσης βρίσκονται στους λευκούς μυς των ψαριών. Μέσα στο κύτταρο τα δύο ενζυμα έχουν διαφορετική θέση, η Glu υδρογονάση βρίσκεται στα μιτοχόνδρια και η AMP διαμινάση στο κυτταρόπλασμα.

Η σχετική συνεισφορά αυτών των δύο διατάξεων στην παραγωγή αμμωνίας έχει μελετηθεί για μερικά είδη ψαριών (Walton και Cowey 1977, Van Waarde 1981, 1983, Casey 1983, Campbell 1983). Τα κύρια συμπεράσματα από αυτές τις έρευνες είναι ότι η τρανσαπαμινωτική διάταξη είναι η κύρια πηγή παραγωγής αμμωνίας στο συκώτι των ψαριών. Ο κύκλος του πουρινικού νουκλεοτιδίου είναι απίθανο να παίζει σημαντικό ρόλο στο συκώτι αλλά μπορεί να είναι σημαντικός στου μυες όπου η παραγωγή αμμωνίας είναι ανάλογη της δραστηριότητας τους. (van Waarde 1983). Η απόδειξη των παραπάνω προέρχεται από σειρά πειραμάτων. Πρώτον από τη μέτρηση της δραστηριότητας των ενζύμων

κλειδιών σε διαφορετικούς ιστούς απέδειξε ότι η ικανότητα του συκωτιού να παράγει αμμωνία από τη τρανσαπαμινωτική διάταξη είναι πιο μεγάλη από αυτή του κύκλου του πουρινικού νουκλεοτιδίου. Τα αποτελέσματα του van Waarde 1983 φαίνονται στο πίνακα 2.2 αλλά παρόμοια αποτελέσματα έχουν διατυπωθεί και από άλλες ομάδες Ερευνητών επιπλέον θεωρητικά η διάταξη της τρανσαπαμίνωσης. Είναι επαρκής πειραματικά προσδιορισμένη παραγωγή αμμωνίας του συκωτιού του ψαριού. Ο Casey (1983) επώασε ηπατοκύτταρο από γατόψαρο με 10mM (^{15}N) αλανίνη και μέτρησε την ενσωμάτωση της στην αμμωνία, AMP και 6-αμινοαδενίνη. Υστερα από 30 λεπτά, το 80% της NH_3 που σχηματίζεται περιέχει το δείκτη με ^{15}N . Εάν ο κύκλος του πουρινικού νουκλεοτιδίου λειτουργεί τότε η ροή του αμινοαζώτου της Ala μέσω του 6-αμινοαζώτου του AMP πρέπει να έχει επίπεδα ίσα με αυτά της σχηματιζόμενης αμμωνίας. Όταν υψηλά επίπεδα της αδενλικής κινάσης εμφανίζονται στο συκώτι τότε το AMP πρέπει να εξισσοροπηθεί με τα αποθέματα νουκλεοτιδίου αδενίνης, έχοντας σαν αποτέλεσμα μια σημαντική ενσωμάτωση (εάν ο κύκλος είναι λειτουργικός) του ^{15}N στο 6-αμινόαζωτο της αδενίνης, αλλά αυτό δεν έχει αποδειχθεί.

Πιο πολλές αποδείξεις έρχονται από τη μελέτη της παραγόμενης αμμωνίας στα Ηπατοκύτταρα ή τα μιτοχόνδρια του συκωτιού (Walton και Cowey 1977, Campbell 1983). Ο ρυθμός απαμίνωσης του Glu από τα μιτοχόνδρια είναι περισσότερο από επαρκής, για να ληφθεί υπόψη στο ρυθμό αποβολής της αμμωνίας. Σε μιτοχόνδρια ποντικού επωασμένα με Glu σημαντική παραγωγή αμμωνίας συνέβη μόνο κατά τα πρώτα λεπτά, με αποτέλεσμα το 90% του Glu μετατράπηκε σε Asp (Quaglariello 1965,

Je Haan 1967). Όμως στα μιτοχόνδρια της πέστροφας (Walton και Cowey 1977) γατόψαρου (Cambell 1983) και του χρυσόψαρου (van Waarde και Henegouwen 1982) το Glu χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή αμμωνίας, η οποία παρέμεινε για τουλάχιστον 1 ώρα και το 0-40% μετατρέπεται σε Asp. Στο συκώτι των θηλαστικών το Asp που προέρχεται από τα μιτοχόνδρια μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη σύνθεση της ουρίας.

Τα αμινομεταφορικά ένζυμα παίζουν σημαντικό ρόλο και στις δύο πορείες. Η ικανότητα του συκωτιού και των μυϊκών ιστών του χρυσόψαρου να μετααπαμινωθούν με α-κεταγλουταρικό έχει ερευνηθεί από τον van Waarde (1981). Στους λευκούς μυς μόνο η Asp απαμινώθηκε έντονα, ενώ στους κόκκινους μυς οι Asp, Leu, Ie και Val είχαν μετααπαμινωθεί σημαντικά. Στο συκώτι τα Asp, Ala, Tyr, His, Leu, Ile και Val υφίστανται μετααπαμινωτικές αντιδράσεις. Τα άλλα αμινοξέα ή δεν έχουν καθόλου ή έχουν μικρή συμμετοχή στις αντιδράσεις τρανσαπαμινωσης και αυτό μπορεί να οφείλεται στην Asp αμινομεταφοράση, η οποία έχει μεγάλη εξειδίκευση. Έτσι όλα τα αμινοξέα δεν υπόκεινται σε τρανσαπαμίνωση στον ίδιο βαθμό και για μερικά άλλες οδοί καταβολισμού είναι πιο σημαντικοί. Τα ποσοτικά πιο σημαντικά αμινομεταφορικά ένζυμα στο συκώτι του ψαριού είναι η Asp αμινομεταφοράση και η αλανίνη αμινομεταφοράση.

2.2.3. Σχηματισμός ουρίας.

Αφού ο κύκλος ορνιθίνης - ουρίας φαίνεται δεν είναι λειτουργικός στα τελεοστεα ψάρια, η ουρία που αποβάλλεται από αυτά πρέπει να προέρχεται από άλλες οδούς. Οι δύο πιθανές οδοί είναι ο καταβολισμός της Arg και των πουρινών. Υψηλα ποσά αργινασης υπάρχουν στο συκώτι και το νεφρό των ψαριών. Ομως η συγκέντρωση των ιστών σε αργινάσης είναι συνήθως χαμηλότερη της Km της αργινασης, οδηγώντας την ενζυματική δραστηριότητα σε επίπεδα χαμηλότερα από τη πιθανή μέγιστη δραστηριότητα. Η κύρια πηγή αποβολής της ουρίας για το λόγο αυτό οφείλεται στο καταβολισμό των πουρινών (Σχ. 2.3). Στα θηλαστικά το τελικό προϊόν του καταβολισμού των πουρινων είναι το ουρικό οξύ αλλά τα ψάρια έχουν τα απαραίτητα ένζυμα ουρικήση (EC 1.7.3.3.) αλλάντοιναση (EC 3.5.2.5) και αλλανοικαση (EC 3.5.3.4.) για τη μετατροπή του ουρικού οξέος σε ουρία (Cvancağa 1969, Vellas και Serfaty 1974, Vellas 1979). Αυτά τα ένζυμα έχουν ανιχνευθεί στο συκώτι αλλά όχι στο νεφρό, στη σπλήνα, στο εγκέφαλο, τους μυς ή τα βράγχια.

2.3. ΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΙΜΟΞΕΩΝ

Ο βαθμός στον οποίο κάθε αμινοξύ συμμετέχει στο μεταβολισμό διαφόρων ιστών στα ζώα δεν είναι πλήρως κατανοητό. Στα θηλαστικά υπάρχει μια εσωτερική μεταφορά των ελευθέρων αμινοξέων (Bergmann και Heitmann 1980, Christensen 1983). Ελάχιστες πληροφορίες είναι διαθέσιμες για αυτό το θέμα.

Ο καταβολισμός των αμινοξέων συμβαίνει σε δύο κύρια στάδια, το πρώτο είναι η μετακίνηση των αμινοομάδων και ο σχηματισμός ενός ενδιάμεσου μορίου που θα μπορεί να μπει στο κύκλο του TCA, και το δεύτερο είναι η οξείδωση του σε CO₂ και του H₂O. Οι αμινοομάδες που παράγονται στο πρώτο στάδιο μπορούν να χρησιμοποιηθούν μερικώς για συνθετικές αντιδράσεις αλλά κυρίως αποβάλλονται σαν αμμωνία.

Αυτή η παράγραφος ασχολείται με το κάθε αμινοξύ εστιάζεται στα ένζυμα που εμπλέκονται στο καταβολισμό, καθ' ενός από αυτά τα οποία έχουν ανιχνευθεί ή ερευνηθεί στους ιστούς των ψαριών. Μερικά από αυτά τα ένζυμα έχουν μελετηθεί λεπτομερώς. Οι αντιδράσεις περιγράφονται στο πίνακα 2.3 και δεδομένο της κινητικής των αντιδράσεων δίνονται στο πίνακα 2.4.

Αλανίνη. (Ala) Η αλανίνη αμινομεταφεράση (EC 2.6.1.2.) έχει μελετηθεί αρκετά στους ιστούς των ψαριών (Bell 1968, Jurss 1978 και 1981, Jurss 1983). Απαιτείται πυριδοξίνη σαν συνένζυμο και έχει ανιχνευθεί σε πολλούς ιστούς αν και τείνει να συγκεντρώνεται στο συκώτι και να έχει σχετικά μικρή δράση στους άλλους ιστούς. Στο συκώτι της πέστροφας του γατόψαρου και της γλώσσας το ένζυμο έχει ανιχνευθεί στο κυτταρόπλασμα και τα μιτοχόνδρια (Walton και Corney 1979, Moon και Johnston 1981, Casey 1983).

Αργινίνη. (Arg) Η αργινάση (EC 3.5.3.1.) έχει ανιχνευθεί στη καρδιά, σπλήνα, βραγχία, γεννητικά όργανα, μυς, συκώτι και νεφρό σε κάποια είδη ψαριών (Cvancara 1969, Portugal και Aksnes 1983, Onishi και Murayama 1969, 1970). Υψηλά επίπεδα δράσης διαπιστώθηκαν στο συκώτι και στο νεφρό, και τα ελασματοβράγχια έχουν σε υψηλότερα

επίπεδα από τα τελεοστέα ψάρια, όπως συμβαίνει στα σαρκοφάγα είδη όταν συγκρίνονται με φυτοφάγα. Στο συκώτι και το νεφρό της πεστροφας (Walton 1986) και το συκώτι του σκυλόψαρου (Casey και Anderson 1985) το ένζυμο βρίσκεται στα μιτοχόνδρια. Είναι ενδιαφέρον να συγκριθεί η κατανομή του ενζύμου σε διαφορετικά είδη σε θηλαστικά που αποβάλλουν ουρία η αργινάση βρίσκεται στο συκώτι και ειδικά στο κυτταρόπλασμα ενώ σε πουλιά που αποβάλλουν ουρικό οξύ βρίσκεται στο νεφρό όπου έχει μιτοχονδριακή τοποθέτηση (Kadowaki 1976). Η ορνιθίνη παράγεται από την αντίδραση αργινάσης μπορεί να μεταβολιστεί περαιτέρω από αμινοτρανσφεράση της ορνιθίνης (EC 2.6.13), που βρίσκεται μέσα στα μιτοχόνδρια του συκωτιού των ψαριών (Wekell και Bronn 1973).

Ασπαραγίνη. (Asn) Η ασπαραγινάση (EC 3.5.1.1.) έχει μετρηθεί και χαμηλές δραστηριότητες έχουν ανιχνευθεί στο συκώτι και τα βράγχια του χρυσόψαρου αλλά όχι στο νεφρό και στους σκελετικούς μυς (van Waarde και Kesbeke 1982). Στο συκώτι του γατόψαρου το ένζυμο έχει κυρίως θέση (76-90%) στα μιτοχόνδρια (Casey 1983, Campbell 1983).

Ασπαρτικό οξύ (Asp). Η ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (EC 2.6.1.1.) έχει μελετηθεί ευρέως και έχει ανιχνευθεί στους περισσότερους ιστούς, με τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις να βρίσκονται στην καρδιά, τους κόκκινους μυς και το συκώτι (Bell 1968, Jurss 1978, 1981, Jures κ.α. 1985). Φαίνεται να υπάρχει μια σχέση ανάμεσα στην ικανότητα οξειδωσης του ιστού και τη παρουσία του ενζύμου. Απαιτεί πυριδοξίνη σαν συνένζυμο και στην πέστροφα γατόψαρο και γλώσσα βρίσκεται τόσο

στα μιτοχόνδρια όσο και στο κυτταρόπλασμα του συκωτιού τους (Moon και Johnston 1981, Walton και Cowey 1979, Casey 1983).

Η ασπαραγινική συνθεταση (EC 6.3.1.1.) μετατρέπει το Asp σε Asn και έχει ανιχνευθεί στο συκώτι, νεφρό, βράγχια και τους μυς του χρυσόφαρου (van Waarde και Kasboke 1982).

Κυστεϊνη: (Cys) Υπάρχουν δύο κύριοι οδοί καταβολισμού της Cys, ο ένας οδηγεί σε μορφες πυρουβικών και ο άλλος σε ταυρινη. Η πρώτη οδός καταλύεται από κυστεϊνική δισουλφιδραση (κυσταθιοναση) (EC4.4.1.1.) η οποία έχει μελετηθεί για το Labrax Lupus (Barboza 1973). Η οδός της ταυρινης που ξεκινά από την οξειδάση της κυστεϊνης δεν έχει μελετηθεί στα ψάρια. Ο King (1980) απέτυχε να διαπιστώσει οποιαδήποτε ενσωμάτωση της [^{14}C] Cys σε ταυρινη σε συκώτι, εγκέφαλο ή καρδιά από σαλάχι. Αυτό βέβαια δεν αποδεικνύει ότι τα ψάρια δεν μπορούν να συνθέσουν ταυρίνη.

Γλουταμινικό οξύ (Glu). Η αφυδρογονάση του γλουταμινικού (EC 1.4.1.2.) βρίσκεται κυρίως στο συκώτι και σε μικρότερα ποσά στο νεφρό και στα βράγχια και σε ελάχιστα επίπεδα στους σκελετικούς μυς (McBean 1966, Walton και Cowey 1977). Οι ιδιότητες του ενζύμου έχουν ερευνηθεί στο συκώτι του σκυλόφαρου (Corman 1967, Electricwala και Dickinson 1979) της ιριδίζουσας πέστροφας (Walton και Cowey 1977), του τόννου (Veronese 1976) του Αμερικανικού χελιού (McBean 1966) του κυπρίνου (Pequin 1979) μερικών ειδών του Αμαζονίου (Storey 1978) και Γιαπωνέζικου χελιού (Hayashi 1982). Σε όλα τα είδη το ένζυμο βρέθηκε να είναι πιο ενεργό με το συνένζυμο NAD από ότι με το NADP. Το ένζυμο έχει θέση στα μιτοχόνδρια και ενεργοποιείται έντονα (20-40

φορές) με τη παρουσία ADP (Casey 1983, Walton 1986). Το ένζυμο στο τοννο, γιαπωνέζικο χέλι και σκυλόψαρο έχει μοριακό βάρος γύρω στα 320,000 και αποτελείται από 6 μονάδες.

Η συνθεταση του γλουταμινικού (EC 6.3.1.2.) βρίσκεται στον εγκέφαλο των τελεοστεών όπου και εξετάζεται (Wilson και Fowlkes 1975, Vellas και Serfatty 1974, Webb και Brown 1976, 1980, Van Waarde και Kesbeke 1982). Πιθανόν να έχει προστατευτικό ρόλο στον έλεγχο της συγκέντρωσης της τοξικής NH_3 . Πολύ μικρότερη δραστηριότητα σε σχέση με τον εγκέφαλο έχει βρεθεί στο συκώτι, νεφρό, βράγχια και μυς των τελεοστών, αλλά όχι των ελασματοβραγχίων. Σε μελέτες 18 ειδων η σχέση μεταξύ της δραστηριότητας εγκεφάλου συκωτιού, και νεφρών ήταν 0,65 : 0,01:0,02 για είδη που δεν κατακρατούν ουρία αλλά 0,27: 0,41: 0,40 για είδη που κατακρατούν ουρία (ελασματοβράγχια) (Webb και Brown 1980). Ετσι φαίνεται να υπάρχει μεγάλη συσχέτιση ανάμεσα στη δραστηριότητα του ενζύμου στο νεφρικό ιστο και την οσμορρυθμιστική προσαρμογή (μέσω ουρίας) του είδους. Έχει διαπιστωθεί, τουλάχιστον για το κυπρίνο, ότι η συνθετάση του γλουταμινικού στους ιστούς πιθανόν να ελέγχει τη ρυθμιση των επιπέδων αμμωνίας και του ρυθμού απέκκρισης (Vellas 1979). Το ένζυμο μπορεί να δεσμεύσει αμμωνία προερχόμενη από καταβολισμό αμινοξέων και να μεταφέρει Glu (γλουταμίνη) στο συκώτι όπου μπορεί να γίνει η απομίνωση.

Γλουταμίνη (GLn). Η γλουταμινάση I (EC 3.5.1.2.) είναι εξαρτόμενη των φωσφορικών ενώ η γλουταμινάση II (EC 2.6.1.15) είναι ανεξάρτητη αυτών και είναι ένζυμο τρανσαμίνωσης. Η κατανομή της

γλουταμινασης I είναι στο συκώτι > νεφρό > βράγχια στο κυπρίνο (Makerewicz και Zydowo 1962) στην ιριδίζουσα πέστροφα (Walton και Cowey 1977) και στο συκώτι έχει θέση στα μιτοχόνδρια. Στα γατόψαρα ανιχνεύθηκε συγκέντρωση 86 μg της γλουταμινασης I και 17 μg γλουταμινασης II (Casey 1983).

Γλυκίνη (GLy). Ο καταβολισμός της γλυκίνης έχει τύχει μικρής προσοχής στα ψάρια. Υπάρχουν αρκετές γνωστές οδοί στους ιστούς των θηλαστικών αν και η ποσοτική σημασία της κάθε μίας είναι αβέβαιη. Η Gly αποτελεί φτωχό υπόστρωμα για τις οξειδάσες αμινοξέων και η γλυκίνη - αμινομεταφοράση (EC 2.6.1.4) δρα κυρίως για τη σύνθεση γλυκίνης. Η οξειδωση της Γλυκίνης (EC 1.4.10) δρα απευθείας στη Gly για το σχηματισμό γλυοξυλικού και αμμωνίας. Πιθανόν η κύρια οδός του καταβολισμού της Gly είναι από χωριστό σύστημα, το οποίο απαιτεί φωσφορική πυριδοξάλη, τετραυδροφολικό οξύ και NAD⁺ η Gly υφίσταται μία άμεση αποβολή της καρβοξυλικής ομάδας σε CO₂ και το υπόλοιπο του μορίου ενώνεται με μια άλλη Gly και δίνει Ser. Αυτό το μονοπάτι έχει αποδειχθεί για πολλά ζώα περιλαμβανομένου και τον κυπρίνο (Yoshida και Kikuchi 1970).

Ιστιδίνη (His). Η ιστοδάση (EC 4.3.1.3.) βρίσκεται στο συκώτι και νεφρό της πέστροφας, κυπρίνου και του χρυσόψαρου (Sakaguchi Kawai 1970, van Waarde 1983, Allen 1983) και ελάχιστα ποσοστά έχουν ανιχνευθεί στον εγκέφαλο και στους σκελετικούς μυς. Αντίθετα υψηλά επίπεδα αυτού του ενζύμου έχουν βρεθεί στους μυς του κοιλίου και το μυϊκό ένζυμο έχει τη μεγαλύτερη συγγένεια (χαμηλότερο Km) με την Ιστιδίνη από ότι το ένζυμον του συκωτιού (Sakaguchi και Kawai 1970,

Sakaguchi 1970). Ιστιδαση έχει απομονωθεί από συκώτι ιριδίζουσας πέστροφας (Fowler 1979). Τα ιστοιδινικό αμινομεταφορικό ένζυμο χρησιμοποιεί πυρουβικό σαν δεκτή και έχει ανιχνευθεί στο συκώτι του ποντικού (Noguchi 1976) αλλά ο Cowey (1981) απέτυχε στην ανίχνευση του ενζύμου αυτού στο συκώτι της πέστροφας, ενώ ο Chiu (1984) τα κατάφερε.

Ισολευκίνη (Ile). Δες λευκίνη.

Λευκίνη. Διακλαδισμένη αμινομεταφεραση (EC 2.6.1.6.) έχει ανιχνευθεί στους ιστούς του κυπρίνου (Zebian και Creach 1979) της ιριδίζουσας πέστροφας (Cornish 1978, Teigland και Klungsayr 1983) της πέστροφας γλυκού νερού (Hughes 1983, 1984) γλώσσας (Moon και Johnston 1981) και στο χέλι (Moon 1983). Η Ειδική δραστηριότητα ήταν μέγιστη στα νεφρά και μειούμενη κατά σειρά τους λευκούς μυς, βράγχια και συκώτι για τη πέστροφα του γλυκού νερού. Στο κυπρίνο η δραστηριότητα ήταν μεγαλύτερη κόκκινους μυς > συκώτι > άσπρους μυς. Στη γλώσσα το ένζυμο βρισκόταν κυρίως στα μιτοχόνδρια παρά στο κυτταρόπλασμα. Οι μυϊκοί ιστοί πρέπει να είναι πιο σημαντικές περιοχές του καταβολισμού των διακλαδιζόμενων αλυσίδων αμινοξέων από ότι το συκώτι.

Λυσίνη (Lys). α- κετογλουταρική ρεδουκτάση της Λυσίνης (EC 1.5.1.8.) έχει ανιχνευθεί στα μιτοχόνδρια του συκωτιού της πέστροφας .

Μεθειονίνη. Τα ένζυμα του μεταβολισμού Met δεν έχουν μελετηθεί στους ιστούς των ψαριών. Στα θηλαστικά η μεθυλ-ομάδα της Met χρησιμοποιείται σε αρκετές αντιδράσεις μεθυλιωσης. Δύο οδοί μεταβολισμού της Met στα θηλαστικά έχουν αναφερθεί (Harper 1983). Το

πρωτο είναι η αντίδραση Met με ATP που δίνει S-αδενοσυλ-met, η οποία μεταφέροντας την μεθυλ-ομάδα της σε κατάλληλο δέκτη τελικά διασπάται σε Cys. Η δεύτερη οδός είναι μια τραναμινωτική αντίδραση. Μερικές αποδείξεις για τη πρώτη οδό έχουν προκύψει από ενσωμάτωση [$1-^{14}\text{O}$] και [^{14}C] H₃ -μαρκαρισμένης Met (Walton 1982).

Φαινυλαλανίνη (Phe). Η υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης (EC 1.14.16.1) λύει τη Phe σε Tyr και απαιτεί ένα συνένζυμο πτεριδίνης. Έχει βρεθεί στο συκώτι 8 ειδών ψαριών (Voss και Waisman 1966, Hsieh και Berry 1979). Καμία δραστηριότητα του ενζύμου δεν έχει παρατηρηθεί στο νεφρό του γατόψαρου (Hsieh και Berry 1979).

Προλίνη (Pro). Το ένζυμο Pro δεν έχει μελετηθεί στα ψάρια. Το Γλυκογόνο που βρίσκεται στους συνδετικούς ιστούς, περιέχει μεγάλα ποσά υδροξυλοπρολίνης. Αυτό το αμινοξύ ενσωματώνεται σε πρωτεΐνες με τη δράση της προλυλοδροξυλάσης στη Pro. Απαιτεί Fe⁺⁺, ακετογλουταρικό και βιταμίνη C για να δράσει και έχει ανιχνευτεί στο δέρμα, και στα βραγχία της ιριδίζουσας πέστροφας Sato Et. al. 1984 (EC 2.1.2.1.),

Σερίνη (Ser). Πιθανότατα η κυριώτερη οδός καταβολισμού της Ser στα ψάρια και τα θηλαστικά είναι μέσω της Υδροξυλ-μεθυλτρανσφεράσης της σερίνης η οποία έχει ανιχνευθεί σε αρκετούς ιστούς αυτών (Whitely 1960, Grillo 1966, Yoshida και Kikuchi 1970, Walton και Cowey 1981). Στα σαρκοφάγα και φυτοφάγα θηλαστικά μεγάλα ποσά Ser καταβολίζονται με απαμίνωση από την Αφυδρογονάση της σερίνης (EC 4.2.1.13). Όμως μικρά ποσά αυτής έχουν ανιχνευθεί στο συκώτι της πέστροφας (Walton και Cowey 1979, 1981) και στο χρυσόψαρο (Rowell

1979). Σε αυτά τα είδη όπως στα σαρκοφάγα θηλαστικά, υπάρχουν πολύ μεγαλύτερες ποσότητες σερίνης πυρουβικής τρανσαμινάσης από ότι την Αφυδρογονάση (σχ. 2.4). Η τρανσαμινάση βρίσκεται στα μιτοχόνδρια ενώ η αφυδρογονάση στο κυτταρόπλασμα (Youhgson 1982). Η αντίδραση καταλύεται από τη τρανσαμινάση και είναι πιθανόν να παίζει ρόλο κατά τη γλυκονεογένεση από Ser. Τα ένζυμα που απαιτούνται για τη μετατροπή του υδροξυπυρουβικού σε 2 φωσφογλυκερινικό είναι επίσης στα μιτοχόνδρια (CoweY και Walton 1979). Αυτό έρχεται σε αντίθεση με αυτό που συμβαίνει στο συκώτι του ποντικίου όπου η αφυδρογονάση του γλυκερινικού είναι κυτταροπλασματικό ένζυμο (Kitagawa και Sugimoto 1979).

Θρεονίνη (Thr). Στα θηλαστικά τρία ένζυμα έχουν αναφερθεί ως ικανά να καταβολίσουν τη Thr. Σε κανονικά τρεφόμενα ποντίκια αλδολαση της θρεονίνης (EC 4.2.1.5.), η διαμινάση της θρεονίνης (EC 4.2.1.16) και η αφυδρογονάση της θρεονίνης (EC 1.1.1.103) έχουν αντίστοιχα 3,10 και 87% ευθύνη του ολικού καταβολισμού της Thr (Bird και Nunn 1983). Έτσι κυρίως αυτός γίνεται μέσω ενζύμων αφυδρογονωσης. Όταν όμως τα ποντίκια δεν τρέφονται ή τρέφονται με γεύματα που έχουν πολλές πρωτεΐνες, τότε ενισχύεται η γλυκονεογένεση και η δραστηριότητα της διαμινάσης αυξάνεται και μπορεί να φτάσει πάνω από το 80% της συνολικής δραστηριότητας. Τόσο η αφυδρογονάση όσο και η διαμινάση έχουν βρεθεί σε χαμηλά επίπεδα στο συκώτι της πέστροφας (Walton και Cowey 1982). Η διαμινάση βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα ενώ η αφυδρογονάση στα μιτοχόνδρια. Δεν είναι γνωστό ποια είναι η κύρια οδός για το

καταβολισμό της Thr στα ψάρια. Όμως η θρεονίνη αλδολάση δεν έχει βρεθεί σε ιστούς αυτών (Masuda 1982).

Τρυπτοφάνη (Trp). Το Trp μπορεί να καταβολίζεται από διαφορετικές οδούς στα θηλαστικά, από τις οποίες αυτή που ξεκινά με τη πυρολάση της τρυπτοφάνης (EC 1.13.11.11.) είναι πιθανόν η πιο σημαντική. Μελέτες από τους Badawy και Evans (1976) έδειξαν ότι σε μερικά είδη όπως γουρούνι, ποντίκι και κοτόπουλο, το ένζυμο υπάρχει σε ολοενζυμική και αποενζυμική μορφή ενώ σε άλλα είδη όπως γάτα, πρόβατο και κουνέλι η αποενζυματική μορφή απουσιάζει. Σε αυτά τα είδη όπου η αποενζυματική μορφή απουσιάζει, δεν υπάρχει αρμονική ενεργοποίηση της δραστηριότητας του ενζύμου και τα ζώα είναι πιο ευαίσθητα στη τοξικότητα της Trp. Το αποένζυμο απουσιάζει εντελώς από το συκώτι της πέστροφας και του γατόψαρου (Walton 1984, Brown και Dodgen 1968). Το ένζυμο βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα.

Τυροσίνη (Tyr). Η αμινομεταφορά της Τυροσίνη (EC 2.6.1.5.) έχει ανιχνευθεί σε πολλούς ιστούς του κυπρίνου (Creach 1967), σολομού (Bell 1968) και χρυσόψαρου (van Waarde 1981) και στο συκώτι της ιριδίζουσας πέστροφας (Whiting και Wiggs 1977, 1978, Fellman 1971, Nemeth και Juranι 1974) και του λαβρακιού (Chan και Cohen 1964). Η τυροσιναση (EC 1.14.18.1) μετατρέπει την Tyr σε DOPA που είναι πρωταρχικό μόριο της χρωστικής μελανίνης. Έχει ανιχνευθεί στο δέρμα του χρυσόψαρου (Abramowitz και Chavin 1978, Chen και Chavin 1966, Obika και Negish 1970). Η υδροξυλάση της Tyr (EC 1.14.16.2) μετατρέπει την Tyr σε DOPA, το οποίο απαιτείται για τη σύνθεση

κατεχολαμίνης. Έχει ανιχνευθεί στους νευρικούς ιστούς του μπακαλιάρου (Johnson και Nilsson 1983).

Βαλίνη (Val). Δες λευκίνη.

D- αμινοξέα. Η οδειξάση των D-αμινοξυ (EC 1.4.3.3.) είναι η ριβοφλαβίνη (σαν FAD ή FMN) και έχει ανιχνευθεί σε σημαντικές ποσότητες στο συκώτι κάποιων τελεοστέων όπως και στο νεφρό και τα πυλωρικά τυφλά της πέστροφας (Fickeisen και Brown 1977, Konno 1982 Woodward 1983). Καμιά δραστηριότητα δεν έχει ανιχνευθεί στους μυς βράγχια, σπλήνα ή καρδιά (Fickeisen και Brown 1977). Ο ρόλος αυτού του ενζύμου είναι αβέβαιος. Τα D- αμινοξέα υπάρχουν στα βακτηρια και σε μερικά έντομα. Εφόσον η D-σερινη είναι τόσο τοξική, αυτό το ένζυμο παίζει μάλλον προστατευτικό ρόλο. Επίσης μπορεί να δρα στην μετατροπή D-σε L-αμινοξέα σε συνδιασμό με μια τρανσαμιναση έτσι ώστε:



Άλλες ενώσεις προερχόμενες από αμινοξέα. Μερικές από τις πιο σημαντικές βιοχημικές ενώσεις που προέρχονται από τα αμινοξέα φαίνονται στο πίνακα 2.5. Μερικές από αυτές τις οδούς, έχουν εκτενώς μελετηθεί στα ψάρια [$U\text{-}^{14}\text{C}$] γλυκόζη ενσωματώνεται σε πουρίνες και πυριμιδίνες της γλώσσας (Cowey 1970), αλλά ο Dabrowski και ο Kaushik (1982) υποθέτουν ότι η συνθεση πυριμιδών πρέπει να είναι ανεπαρκής στις λάβρες των ψαριών γιατί περιέχουν χαμηλά επίπεδα του ενζύμου καρβομοιλ- φωσφορο συνθεταση.

2.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΣΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΤΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

2.4.1. Επίπεδο των πρωτεϊνών στη τροφή.

Οι κύριες επιδράσεις της πρόσληψης τροφής με υψηλό ποσοστό πρωτεΐνης συγκρινόμενη με την πρόσληψη τροφής με χαμηλό ποσοστό πρωτεΐνης είναι η αύξηση 1) της συγκέντρωσης των σωματικών αμινοξέων, 2) της απέκκρισης αμμωνίας, 3) της σύνθεσης πρωτεϊνών, 4) της δράσης των γλυκονεογενετικών ενζύμων και μείωση της δράσης των γλυκολυτικών ενζύμων. Μικρή είναι η επίδραση στην δράση των ενζύμων που καταβολίζουν τα αμινοξέα.

Ο Cowey (1977) βρήκε ότι 10,2mM συνολικών αμινοξέων στο πλάσμα της πέστροφας εκτρεφόμενη με τροφή που περιείχε 60% πρωτεΐνη σε σύγκριση με 3,05mM σε ψάρια συνολ. αμινοξέων πλάσματος που τρέφονταν με τροφή που περιείχε 10% πρωτεΐνη. Η αναλογία των EAA/NEAA στο πλάσμα ήταν 1.71 και 0,79 υψηλής και χαμηλής συγκέντρωσης πρωτεΐνης αντιστοίχα, γεγονός που δείχνει μερική διατήρηση των EAA στη δεύτερη ομάδα. Σε γιαπωνέζικα χέλια τρεφόμενα για 6 βδομάδες με τροφή που περιείχε από 0,3 σε 65% συγκέντρωση πρωτεϊνών, τα επίπεδα των ελευθέρων EAA σε όλο το σώμα συσχετιζόνταν με τα επίπεδα της πρωτεΐνης στη τροφή και της πρόσληψης πρωτεΐνης (Ogata 1985); τα επίπεδα των NEAA στο πλάσμα ήταν πιο στενά συσχετισμένα με τα επίπεδα της αποικοδόμησης των πρωτεϊνών από ότι με αυτά της συγκέντρωσης πρωτεΐνης στη τροφή της πρόσληψης πρωτεΐνης.

Το επίπεδο της απέκρισης αμμωνίας είναι άμεσα συσχετισμένο με το επίπεδο κατανάλωσης πρωτεϊνών (Rychly 1980, Paulson 1980, Beamish και Thomas 1984). Στη πέστροφα, η κατανάλωση αζώτου θεωρείται ότι είναι πιο σημαντικός παράγοντας επηρεασμού της απέκρισης αμμωνίας (Paulson 1980). Όπως συζητήθηκε σε προηγούμενη παράγραφο δεν έχει βρεθεί σχέση μεταξύ της απέκρισης ουρίας και εισαγωγής αζώτου.

Ο Lied και ο Braaten (1984) δίνοντας σε μπακαλιάρο τροφή που περιείχε από 10 σε 70% της υπολογισμένης ενέργειας μεταβολισμού (M.E.) σαν πρωτεΐνη. Ο ρυθμός της πρωτεϊνικής σύνθεσης στους λευκούς μυς αυξάνοταν όσο η πρωτεΐνη που περιείχε τη τροφή αυξάνοταν από 10 σε 48% της ME. Πάνω από αυτό το επίπεδο, το οποίο είναι η τροφική απαίτηση σε πρωτεΐνες του μπακαλιάρου, καμιά παραπάνω αύξηση στο επίπεδο της σύνθεσης πρωτεϊνών δεν παρατηρήθηκε.

Ο πίνακας 2.6. δείχνει τις επιδράσεις του επιπέδου πρωτεΐνης στη τροφή σε ένα αριθμό ενζύμων που σχετίζονται με το μεταβολισμό των αμινοξέων και τον ενδιάμεσο μεταβολισμό των ψαριών. Το κύριο συμπέρασμα από αυτές τις έρευνες είναι ότι όταν τα ψάρια τρέφονται με υψηλής - πρωτεΐνης/χαμηλών υδατανθράκων (HP/LC) τροφές συγκρινόμενες με χαμηλής πρωτεΐνης / υψηλών υδατανθράκων τροφές (LP/HC) τότε τα ηπατικά επίπεδα των γλυκολυτικών ενζύμων (φωσφοφρουκτοκινάση, πυρουβική κινάση και λακτικής αφυδρογονάση) μειώνονται, ενώ αυτά των γλυκονεογενετικών ενζύμων (PEP καρβοξυκινάση και διφωσφορική φρουκτόζη) αυξάνονται. Η χορήγηση

τροφών με χαμηλό ποσοστό υδατανθράκων αυξάνει η γλυκονεογενετική ικανότητα από τα αμινοξέα.

Υπάρχει μικρή επίδραση στα ένζυμα του κύκλου του κιτρικού οξέος και σε αυτά που είναι υπεύθυνα για τον καταβολισμό των αμινοξέων. Ακόμα και όταν μια επίδραση παρατηρηθεί η αλλαγή είναι συνήθως μικρότερη από το διπλάσιο. Αυτή η κατάσταση διαφοροποιείται πολύ ανάμεσα στα σαρκοφάγα και φυτοφάγα ψάρια, στα οποία ίδιες αλλαγές στα επίπεδα των τροφικών πρωτεϊνών προκαλούν αλλαγές μεγαλύτερες από το δεκαπλάσιο στην λειτουργικότητα του κάθε ενζύμου καταβολισμού αμινοξέων (Krebs 1972, Aeb και Berger 1980).

Ο Rumsey προτείνει ότι η έλλειψη προσαρμογής είναι ένας από τους κύριους λόγους που τα ψάρια απαιτούν υψηλά ποσά πρωτεϊνών στη τροφή. Επειδή τα επίπεδα των ενζύμων καταβολισμού των αμινοξέων δεν μειώνονται σημαντικά όταν χορηγούνται τροφές χαμηλής - πρωτεΐνης, τότε σε αυτές τις περιπτώσεις γίνεται μικρή μετατροπή των ΕΑΑ για την αντιστάθμιση της μείωσης των προσλαμβανομένων. Άλλοι παράγοντες μπορούν επίσης να παίξουν ρόλο στον έλεγχο του καταβολισμού όπως η Km και η παρουσία χαμηλότερων επιπέδων υποστρώματος όταν χορηγούνται τροφές χαμηλής - πρωτεΐνης.

2.4.2. Επίπεδα αμινοξέων στη τροφή.

Εαν στα ψάρια χορηγηθεί μια σειρά από τροφές, διατροφικά πλήρεις εκτός από ένα ΕΑΑ που το περιέχουν σε διαβαθμισμένα επίπεδα, τότε θα παρατηρηθούν διαφορετικές βιοχημικές επιδράσεις. Μερικές από αυτές για παράδειγμα, σ'ότι αφορά το επίπεδο των

αμινοξέων στο αίμα, έχουν σε μερικές περιπτώσεις φανεί χρήσιμες για το προσδιορισμό των διατροφικών απαιτήσεων των ΕΑΑ.

Έχουν γίνει μερικές μελέτες, για τα αποτελέσματα των διαφορετικών επιπέδων αμινοξέων στη τροφή, πάνω στην δραστηριότητα των ενζύμων του συκωτιού, τα οποία ξεκινούν το καταβολισμό των αμινοξέων. Στην ιριδίζουσα πέστροφα, ποικιλία στα διατροφικά επίπεδα των Trp, Lys και Arg δεν έχουν δείξει σημαντικό επηρεασμό στη λειτουργία των πυρολαση, της τρυπτοφανης, α-κεταγλουταρική ρεδοκτάση της λυσινης και αργινασης αντίστοιχα (Walton 1984, 1986). Αντίθετα αυτά τα ένζυμα έδειξαν αυξημένη δραστηριότητα στο συκώτι του σελαχιού όταν τα διατροφικά επίπεδα αυξήθηκαν (Muramatsu 1984). Έτσι στα ψάρια, η έλλειψη επιπτώσεων στη δραστηριότητα των ενζύμων λόγω διαφορετικών συγκεντρώσεων ΕΑΑ είναι ανάλογη σύγκριση με την έλλειψη επιπτώσεων λόγω διαφορετικών συγκεντρώσεων πρωτεΐνης στη τροφή. Είναι επίσης σημαντικό ότι ο Brown και ο Dodgen (1968) απέτυχαν να προκαλέσουν αύξηση της δραστηριότητας της πυρολασης τρυπτοφανης ύστερα από την επαναλαμβανόμενη χορήγηση Trp σε γατόψαρα.

Παρά την έλλειψη επιπτώσεων στη ενζυματική δραστηριότητα η παραγωγή του $[^{14}\text{C}]\text{O}_2$ ύστερα από χορήγηση δόση ^{14}C - μαρκαρισμένου αμινοξέος τείνει να παραμένει χαμηλή εάν στα ψάρια χορηγείται τροφή με χαμηλά επίπεδα ΕΑΑ και να αυξάνεται όταν οι απαιτήσεις για αυτά τα ΕΑΑ υπερκαλύπτονται. Αυτό έχει αποδειχθεί για τις Trp, Lys και Arg στην ιριδίζουσα πέστροφα (Walton 1985, 1986). Οι τιμές των διατροφικών απαιτήσεων που προέκυψαν από αυτές τις μελέτες είναι χρήσιμες στην

υποστήριξη αυτώ που προέκυψαν από μελετες ανάπτυξης, αλλά δεν είναι αρκετά ακριβείς για να χρησιμοποιηθούν μόνες τους.

Διατροφική ανεπάρκεια σε Tgr οδηγεί σε δυσπλασίες (σκολίωση) στα σαλμονοειδή (mertz 1972, Kloppel και Post 1975) αλλά όχι στα γατόψαρα (Wilson 1978). Από ιστολογικές μελετες ο Kloppel και ο Post (1975) παρατήρησαν συσσωματώματα ασβεστίου στους νεφρούς πέστροφας που στην οποία χορηγήθηκε τροφή ανεπαρκής σε Tgr. Ο Walton (1984) εξέτασε περισσότερη αυτή την παρατήρηση μετρώντας τη συγκέντρωση του καθε μετάλλου στο συκώτι και στο νεφρό της ιριδίζουσας πέστροφας στην οποία χορηγήθηκε τροφή με διαφορετική συγκέντρωση Tgr κάθε φορά. Συγκρίνοντας τα επαρκώς τρεφόμενα σε Tgr ψάρια με αυτά που τρέφονταν ανεπαρκώς, στο νεφρό των δευτερων βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα Ca (64 έναντι 15 $\mu\text{mole/g}$ ξηρού βάρους), Na (950 έναντι 360 $\mu\text{mole/g}$) και K (450 έναντι 320 $\mu\text{mole/g}$). Μικρες αλλαγές παρατηρήθηκαν στις συγκεντρώσεις των P, Mg και Zn. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στο συκώτι. Ακόμη δεν είναι δυνατόν να δοθεί μια ικανοποιητική εξήγηση για αυτο, αλλά είναι πιθανό ότι μεταβολητές της Tgr (όπως σεροτονίνη) μπορούν να ασκούν επίδραση στο μεταβολισμό των μετάλλων.

Ο Todd (1967) εξέτασε τα αποτελέσματα της χορήγησης τροφής που περιείχε σε περίσσεια Gly στην ιριδίζουσα πέστροφα. Συγκρινοντας τα ψάρια στα οποία δόθηκε κανονική τροφή, με αυτά τα ψάρια που τους δόθηκε 10% Gly στη τροφή τα δεύτερα είχαν αυξημένο Ηπατοσωματικό δείκτη και ποσοστό γλυκογόνου στο συκώτι. Άλλες έρευνες (Walton 1982, 1984) έχουν αποδείξει αύξηση του γλυκογόνου του συκωτιού

ύστερα από τη χορήγηση τροφής που περιείχε σημαντικές ποσότητες συνθετικών αμινοξέων. Για αυτούς του λόγους ο μεταβολισμός των αμινοξέων φαίνεται να επηρεάζεται από τη μορφή που έχουν στη τροφή, το οποίο πιθανόν σχετίζεται με τη διαφορετική απορρόφησή τους από τα έντερα. Στο γατόψαρο τροφή με περισσειά Leu περιόρισε την αύξηση των ψαριών όταν τους χορηγήθηκε τροφή ανεπαρκής ή Val σε σύγκριση με ψαρια που έπαιρναν αυτό το αμινοξύ στις κατάλληλες ποσότητες (Robinson 1984). Περιορισμός της αύξησης έχει επίσης παρατηρηθεί σε ψάρια που τρέφονταν με περίσσεια Ile αλλά όχι Val σε τροφές ανεπαρκείς σε Leu. Φαίνεται ότι η Leu ελέγχει την πρόσληψη από τους ιστούς ή τον καταβολισμό της Val και Ile.

2.4.3. Αποτελέσματα Ασιτίας.

Αρκετά είδη ψαριών μπορούν να επιβιώσουν σε μεγάλες περιόδους ασιτίας. Τα αποτελέσματα της ασιτίας και της χρησιμοποίησης ενεργειακών αποθεμάτων, εξαρτάται από το είδος του ψαριού και από τη διάρκεια περιόδου ασιτίας.

Κατά την αρχική περίοδο της ασιτίας χρησιμοποιούνται τα αποθέματα λιπών, πρώτα του συκωτιού και μετά των μυών. Αυτό έχει αποδειχθεί για το χέλι (Inui και Oshima 1966, Larsson και Lewander 1973, Dave 1975) την ιριδίζουσα πέστροφα (Robinson και Mead 1973) και τη γλώσσα (Jobling 1980, Moon και Johnston 1980). Τα κύρια αποτελέσματα της μεγάλης περιόδου ασιτίας είναι η αύξηση της μυϊκής πρωτεολυτικής δραστηριότητας και η μεταφορά των αμινοξέων τα οποία προέρχονται από μυϊκές πρωτεΐνες για χρησιμοποίησή τους από πιο

ζωτικούς ιστούς. Στο κυπρίνο και στο κολιό έχει παρατηρηθεί αύξηση του εξωκυτταρικού χώρου στους μύες (Creach και Gas 1971, Love 1968) καθώς επίσης και πύκνωση των μυοσωμάτων (Love 1976).

Κατά τη διάρκεια μικρών περιόδων ασιτίας (<15 μέρες) ή συγκέντρωση των αμινοξέων του πλάσματος στον κυπρίνο μειώθηκε κατά τις πρώτες μέρες και μετά σταθεροποιείται (Creach και Serfaty 1974). Μικρές μόνο αλλαγές παρατηρήθηκαν στις συγκεντρώσεις των αμινοξέων στους μύες και στο συκώτι, αν και η αναλογία EAA/NEAA μειώνεται. Απώλεια αζώτου ήταν μεγαλύτερη από τα έντερα > νεφρό > συκώτι > σπλήνα < μύες. Υστερα από μια μεγάλη περίοδο ασιτίας (8 μήνες) η απώλεια αζώτου ήταν μεγαλύτερη στους μύες > σπλήνα > νεφρό > συκώτι > έντερα. Οι συγκεντρώσεις αμινοξέων στο συκώτι, σπλήνα και νεφρό μεταβλήθηκαν ελάχιστα αλλά μειώθηκαν κατά 10 φορές στους μύες και στο μισό στα έντερα σε σύγκριση με τις αρχικές συγκεντρώσεις. Κατά τη διάρκεια μεγάλης διάρκειας ασιτίας ενεργοποιείται ο καταβολισμός των μυϊκών πρωτεϊνών και τα προερχόμενα αμινοξέα, αποτελούν την κύρια πηγή ενέργειας για τα ψάρια. Ομοιες αναφορές έχουν γίνει για το χέλι (Dave 1975), το αμερικάνικο χέλι (Moon 1983), τη γλώσσα (Moon και Johnston 1980, 1981) και για τη κόκκινη τσιπούρα (Woo και Fung 1981). Οι λευκοί μύες επιστρατεύονται πριν από τους κόκκινους μύες (Johnston και Goldspink 1973).

Κατά τη μετανάστευση (για αναπαραγωγή) του σολομού ο καταβολισμός των μυϊκών πρωτεϊνών προηγείται, με 3 έως 7 φορές αύξηση της μυϊκής δραστηριότητας των πρωτεολυτικών ενζύμων

καθεψίνη D και καρβοξυπεπτιδάση A (Mommssen 1980). Όσο η πρωτεόλυση προχωρά, μια αλλαγή παρατηρείται στην ολική σύνθεση των μυϊκών πρωτεϊνών. Αυτές οι πρωτεΐνες εμπλουτίζονται σε Gly και υδροξυπρολίνη αλλά μειώνεται η συγκέντρωση Cys και Met. Αυτό συμβαίνει γιατί οι συσταλτικές πρωτεΐνες μεταφέρονται γρηγορότερα από ότι οι συνδετικές ίνες οι οποίες είναι πλούσιες σε κολαγόνο (Covey 1962, Creach 1972). Όλα τα αμινοξέα μπορούν να παραχθούν από την καταβολική δράση, αλλά από μελέτες σε μυες σκυλόψαρου, μόνο η αλανίνη ελευθερώθηκε σε σημαντικά μεγάλες ποσότητες κατά την αστία (Leech 1979). Επίσης κατά την μετανάστευση του σολωμού, ο Mommssen (1980) βρήκε ότι η αλανίνη είναι το κύριο αμινοξύ που ελευθερώνεται από τους λευκούς μυς για να μεταφερθεί σε άλλους ιστούς.

Τα αποτελέσματα της αστίας στην δραστηριότητα της των ενζύμων των ιστών είναι ποικίλα. Αύξηση της δραστηριότητας της αμινοτρανσφερασης της Ala και Asparto σукώτι έχει αναφερθεί για τη κόκκινη τσιπούρα (Woo και Fung 1981) το κυπρίνο (Creach και Serfaty 1974) το χέλι (Larsson και Lewander 1973) και τη γλώσσα (Moon και Johnston 1981). Όμως μικρές μόνο αλλαγές έχουν αναφερθεί για τη δραστηριότητα αυτών των ενζύμων κατά τη διάρκεια αστίας στο σολωμό (Morata 1981), το αμερικανικό χέλι (Moon 1983) και σε σολωμό (Mommssen 1980). Αύξηση της ηπατικής δραστηριότητας των γλυκονεογενετικών ενζύμων γλυκοζη - 6- φωσφατάση και φρουκτόζη διφωσφατάση έχει διαπιστωθεί στο γατόψαρο (Shaffi 1979) και τη πέστροφα (Morata 1981) αλλά όχι στη κόκκινη τσιπούρα (Woo και Fung 1981) το αμερικανικό χέλι (Moon 1983) και τη γλώσσα (Moon και

Johnston 1980, 1981) ύστερα από παρατεταμένη περίοδο ασιτίας. Αυξημένα επίπεδα της διαλυμένης φωσφοενολπυρουβική καρβοξυκίναση, όμως, έχει ανιχνευθεί στο συκώτι της γλώσσας. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι μειώνονται τα επίπεδα ενζύμων και ο μεταβολισμός των ιστών στους σκελετικούς μύες κατά τη ασιτία, αλλά ο μεταβολισμός του συκωτιού να διατηρείται σταθερός (Μοση και Johnston 1980, 1981).

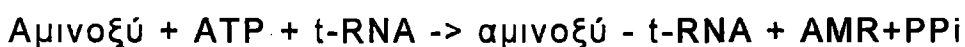
Στους σκελετικούς μύες υπάρχει άμεση σχέση ανάμεσα στο ρυθμό χορήγησης της τροφής και το ρυθμό σύνθεσης πρωτεϊνών. Παρατηρείται μια μείωση της μυϊκής πρωτεϊνικής σύνθεσης κατά την ασιτία (Smith και Haschemeyer 1980, Haschemeyer 1983, Ροσηϊκ 1983, Rosen-lund 1984, Fauconneau 1985). Ακόμη στην ιριδίζουσα πέστροφα παρατηρείται μια αύξηση της αποικοδόμησης των μυϊκών πρωτεϊνών (Smith 1981). Η διακοπή στη χορήγηση τροφής έχει μικρή επίδραση στο επίπεδο σύνθεσης πρωτεϊνών στο συκώτι και στα βράγχια (Smith και Haschemeyer 1980, Smith 1981, Ροσηϊκ 1983). Παρ'όλα αυτά η αποικοδόμηση των πρωτεϊνών στο συκώτι τείνει να αυξηθεί κατά την ασιτία (Bouche 1975).

2.5. ΕΝΑΠΟΘΕΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Όπως και οι άλλες κύριες κυτταρικές ενώσεις, οι πρωτεΐνες υπόκεινται σε μεταβολικούς μετασχηματισμούς μέσα από μια συνεχή διαδικασία σύνθεσης και αποικοδόμησης. Το καθαρό αποτέλεσμα του μετασχηματισμού των πρωτεϊνών, δεδομένου ότι ο οργανισμός βρίσκεται ισορροπία ως προς το άζωτο και την ενέργεια, είναι η εναπόθεση των πρωτεϊνών. Το ενεργειακό κόστος του μετασχηματισμού αποτελεί

σημαντικό μέρος του ενεργειακού προϋπολογισμού στα θηλαστικά (περίπου το 15% της δαπανούμενης ενέργειας και είναι περίπου ίδιο για ένα αριθμό ειδών που εξετάστηκαν, αποδεικνύοντας τη σταθερή συνεισφορά της πρωτεϊνικής σύνθεσης στη παραγωγή θερμότητας (Reeds και Lobley 1980). Το ενεργειακό κόστος του μετασχηματισμού των πρωτεϊνών στα ψάρια παραμένει απροσδιόριστο.

Οι μηχανισμοί σύνθεσης πρωτεϊνών στα ψάρια φαίνονται να είναι ίδιοι με αυτούς που περιγράφηκαν για τα θηλαστικά. Όλα τα αμινοξέα πρέπει να βρίσκονται ταυτόχρονα στη περιοχή της σύνθεσης. Το πρώτο στάδιο, είναι η ενεργοποίηση του αμινοξέος με ATP και η προσκόληση σε ένα ειδικό μεταφορικό RNA με τη δράση ενός ενζύμου της ακυλ t-RNA συνθετασης.



Η πρωτεϊνική σύνθεση πραγματοποιείται στα ριβοσώματα που προσκολλόνται σε ένα μόριο M-RNA, (αγγελιοφόρο RNA) το οποίο μεταφέρει το κώδικα σύνθεσης της πρωτεΐνης που θα παραχθεί. Τα διάφορα στάδια της σύνθεσης περιλαμβάνουν (ξεκίνημα, επιμήκυνση και τερματισμό) αφορούν τη μετάφραση του κάθε μορίου m-RNA, και κάθε μόριο του mRNA μπορεί να μεταφράζεται συγχρόνως από διαφορετικά ριβοσώματα (αναφερόμενα σε μας σαν πολυριβόσωμα ή πολύσωμα).

2.5.1. Μέθοδοι

Η πρωτεϊνική σύνθεση στα ψάρια υπολογίζεται από εφαρμοσμένες μεθόδους ισοτόπων που αναπτύχθηκαν αρχικά στα θηλαστικά. Μια από

τις πρακτικές δυσκολίες του υπολογισμού είναι η εκτίμηση της ειδικής ενεργητικότητας του πρόδρομου αμινοξέος στη θέση της πρωτεϊνικής σύνθεσης.

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται, στηρίζονται κυρίως σε αρκετά απλοποιημένο μοντέλο μεταβολισμού των αμινοξέων δύο διαμερισμάτων πρόδρομου / προϊόντος. Το ένα διαμέρισμα είναι ένα απόθεμα από όπου τα ελεύθερα αμινοξέα τα οποία χρησιμοποιούνται για πρωτεϊνική σύνθεση και το άλλο είναι ένα απόθεμα πρωτεϊνών. Ο άμεσος πρόδρομος της πρωτεϊνικής σύνθεσης είναι η αμινοακυλ-tRNA, αλλά υπολογισμοί της ειδικής λειτουργικότητας σε αυτό το απόθεμα είναι πολύ δύσκολοι. Ενας αριθμός παραδοχών έχουν γίνει σε αυτό το μοντέλο, όπως ότι κατά τις μετρήσεις, τα ισότοπα μπαίνουν στα αποθέματα ελευθέρων αμινοξέων μόνο από τη δόση που χορηγείται, και άρα η επαναχρησιμοποίηση μαρκαρισμένων αμινοξέων που προέρχονται από την αποκοδόμηση των μαρκαρισμένων πρωτεϊνών είναι αμελητέα.

Μερικά ποσοτικά δεδομένα έχουν παρατηρηθεί σε ψάρια από τη χρήση των παρακάτω τεχνικών.

1) Ενσωμάτωση ενός μονού ενός « ^{14}C μαρκαρισμένου αμινοξέος σε πολύ μικρές ποσότητες και μετά υπολογισμός της κινητικότητας της ραδιενέργειας στα ελεύθερα αποθέματα και της ενσωμάτωσης της στις πρωτεΐνες. Επειδή η ειδική ενεργητικότητα του μαρκαρισμένου αμινοξέος μπορεί να αλλάξει γρήγορα μέσα στους ιστούς, αυτή η μέθοδος απαιτεί τη χρησιμοποίηση πολλών πειραματοζώων τα οποία θανατώνονται σε συγκεκριμένα διαστήματα μετά την ένεση.

2) Εκχυση ενός [^{14}C] - μαρκαρισμένου αμινοξέους με σταθερό ρυθμό. Αυτό οδηγεί, ύστερα από κάποιο χρόνο, σε σταθεροποίηση της τιμής της ειδικής ενεργητικότητας του αμινοξέος που χορηγήθηκε στο αίμα και στους ιστούς. Αυτή η τιμή μετά παίρνεται σαν η ειδική ενεργητικότητα στη θέση της πρωτεϊνικής σύνθεσης. Στη φάση σταθεροποίησης η ειδική ενεργητικότητα του αμινοξέος στους ιστούς δεν είναι απαραίτητα ίδια με αυτή στο αίμα (πιθανόν εξαιτίας της αραίωσης του μαρκαρισμένου με αμινοξέα που προέρχονται από τη αποικοδόμηση ή άλλες πηγές). Επίσης η σχέση μεταξύ της ειδικής ενεργητικότητας του αμινοξέος στο αίμα και στους ιστούς μπορεί να διαφέρει για διαφορετικά αμινοξέα και ακόμη μπορεί να αλλάζει από τις διατροφικές ή φυσιολογικές συνθήκες.

3) Ενσωμάτωση ενός μαρκαρισμένου αμινοξέος σε πολύ μεγάλη δόση. Έτσι όλα τα αποθέματα προδρόμων είναι πλήρη και συνεπώς έχουν σχεδόν την ίδια ειδική ενεργητικότητα, η οποία κρατείται σχεδόν σταθερή κατά τη περίοδο της ενσωμάτωσης σε πρωτεΐνη (Garlick 1980). Αυτή η μέθοδος έχει το πλεονέκτημα ότι χρειάζονται σχετικά λίγα περιστατόζωα και ότι η διάρκεια της ειδικής ενεργητικότητας (σε ποντίκια) είναι γραμμική και μπορεί να προσδιοριστεί από δυο μετρήσεις μόνο (Garlick 1980). Είναι απαραίτητο να σιγουρέψουμε ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις των αμινοξέων που χρησιμοποιούνται δε επηρεάζουν την πρωτεϊνική σύνθεση στους ιστούς. Ο Garlick (1980) υπολόγισε την ενσωμάτωση σε πρωτεΐνες πολύ μικρών ανιχνεύσιμων δόσεων αμινοξέων παρουσία ή απουσία μιας μεγάλης δόσης φαινυλαλανίνης. Τα δύο αμινοξέα, που χρησιμοποιήθηκαν λυσίνη και θρεονίνη, πιστεύεται ότι

χρησιμοποιούν διαφορετικούς μεταφορείς από τη φαινυλαλανίνη. Υπάρχουν μερικές ενδείξεις ότι και για τα δύο αυτά αμινοξέα, υπάρχει παρέμβαση κατά τη μεταφορά τους, αλλά σε κανένα ιστό και σε κανένα από τα δύο αμινοξέα η επίδραση δεν ήταν σημαντική.

Συστήματα ελευθέρων κυττάρων έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για να μελετηθεί η πρωτεϊνική σύνθεση. Ο ρυθμός της πρωτεϊνικής σύνθεσης που υπολογίστηκε ήταν πολύ χαμηλότερος από αυτό που παρατηρήθηκε *in vivo*. Το σύστημα δεν πραγματοποιεί την έναρξη αλλά μετράει μόνο την επιμήκυνση και τον τερματισμό της πρωτεϊνοσύνθεσης (Rosen 1967, Lied και Rosenlund 1984). Η μέθοδος είναι χρήσιμη για συγκριτικές μελέτες που εξετάζουν το αποτέλεσμα της διαφορετικής διατροφικής μεταχείρισης στην πρωτεϊνο σύνθεση.

2.5.2. Αποτελέσματα.

Ο Reed και ο Loble (1980), εξετάζοντας τη πρωτεϊνική σύνθεση στα θηλαστικά, κατέληξαν στο γενικό συμπέρασμα ότι ο ρυθμός (πρωτεϊνική σύνθεση/g ιστού πρωτεΐνης/μέρα) στους σπλαχνικούς ιστούς είναι αρκετά μεγαλύτερος από αυτό στους σκελετικούς μύες, για τους οποίους αναφέρονται χαμηλοί ρυθμοί. Αυτό παρατηρείται και στα ψάρια (Πίνακας 6.9.) όπου ο ρυθμός σύνθεσης στο συκώτι και τους άλλους σπλαχνικούς ιστούς είναι πάνω από 20 φορές μεγαλύτερος από ότι στους μύες. Πρόσφατες όμως μελέτες έδειξαν ότι ο ρυθμός σύνθεσης των μυϊκών πρωτεϊνών στη πέστροφα διαφέρει αρκετά από ότι στα θηλαστικά, που μεγαλώνουν με τον ίδιο ρυθμό. Ο Smith (1981) βρήκε ότι η πέστροφα που μεγαλώνει 0,25% /μέρα έχει ρυθμός μυϊκής

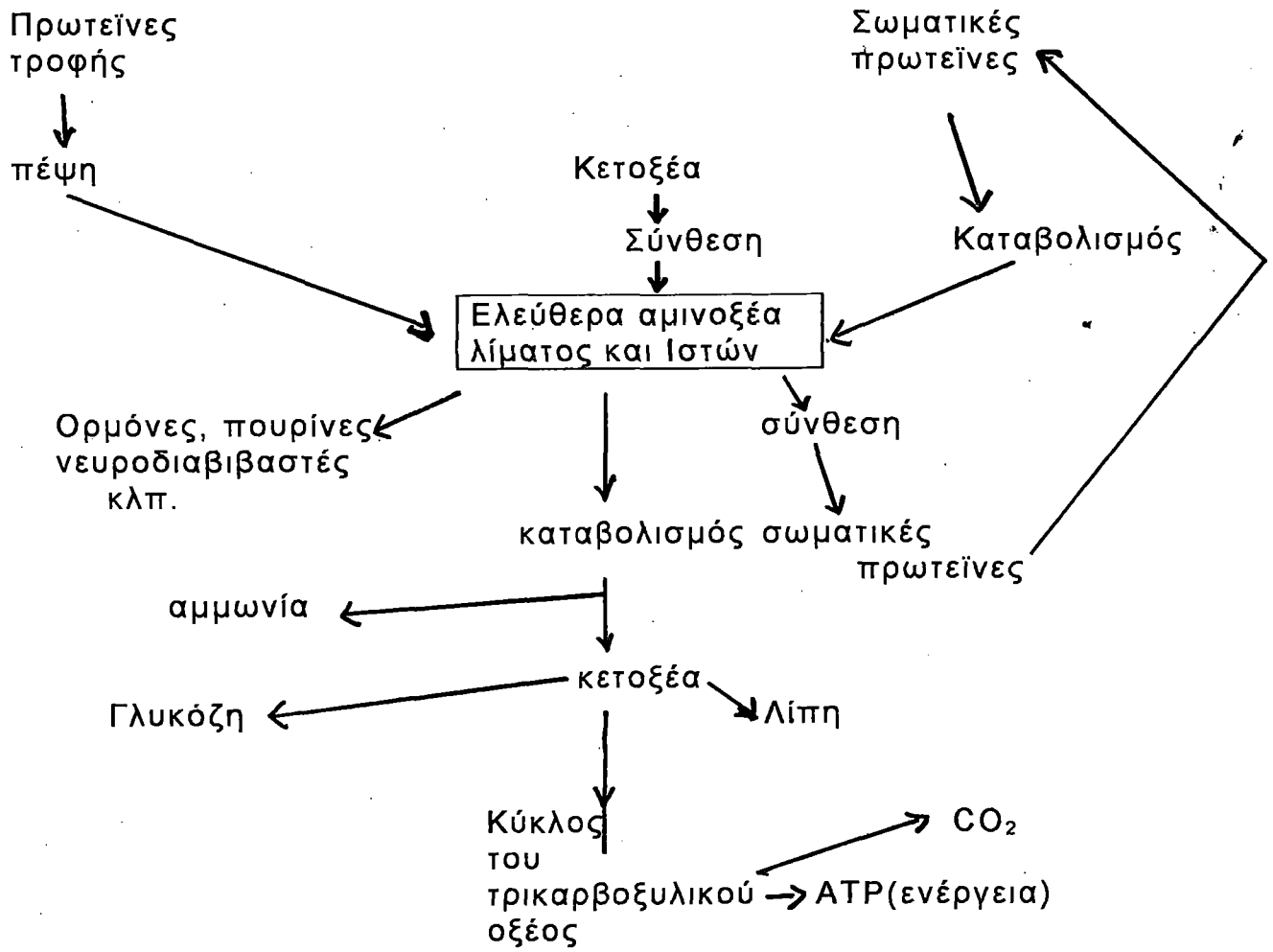
πρωτεϊνικής σύνθεσης 0,38/μερα και δραστηριότητα RNA 0,72g πρωτεΐνης/g RNA ανά ημέρα. Η αντίστοιχη τιμή ποντικιών που αναπτύσσονται 0,29%/μερα ήταν 4,9%/μερα και 11,5g πρωτεΐνης/g RNA ανά ημέρα (Millwood 1976). Από αυτή τη σύγκριση (Smith 1981) προκύπτει ότι πολύ περισσότερη από τη μυϊκή πρωτεΐνη, που συντίθεται από τους εραχιαί μυες του ψαριού, εναποτίθεται από ότι στη περίπτωση το γαστροκνημίου του ποντικιού.

Ενα όμοιο συμπέρασμα διατυπώθηκε από τον Fauconneau (1985) από την ανάλυση της πρωτεϊνικής σύνθεσης σε όλο το ψάρι. Αυτός κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η ολική πρωτεϊνική σύνθεση από τους σπλαχνικούς μυς είναι διπλάσια από ότι αυτή των μυών. Αφού σκελετικοί μυς αποτελούν γύρω στο 50% του ζώντος βάρους, αυτό δείχνει ότι οι πρωτεΐνες από την τροφή χρησιμοποιούνται κυρίως στη συντήρηση του πρωτεϊνικού μετασχηματισμού στους σπλαχνικούς μυες. Οι σκελετικοί μυες από την άλλη μεριά, με το πολύ μικρό βαθμό μετασχηματισμού σε σχέση με τους άλλους ιστούς, είναι ο κύριως χώρος εναπόθεσης πρωτεϊνών στο σώμα.

Μελέτες για τη σχέση ανάμεσα στη πρωτεϊνική σύνθεση και τη χορηγούμενη τροφή στα ψάρια είναι σε αρχικό σταδιο, αλλά υπάρχουν μερικές ενδείξεις που δείχνουν ότι η σύνθεση των μυϊκών πρωτεϊνών επηρεάζεται τη ποιότητα των πρωτεϊνών της τροφής. Ο Fauconneau (1985) προκάλεσε την ανεπάρκεια της λυσίνης σε ιριδιζουσα πέστροφα χορηγώντας τροφή που περιείχε υψηλές συγκεντρώσεις αργινίνης, και αυτο οδήγησε σε μειωμένο βαθμό σύνθεσης μυϊκών πρωτεϊνών.

Ο ρυθμός επανήλθε με την αύξηση της λυσίνης στη τροφή.

ΣΧΗΜΑ 2.1.



ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1.

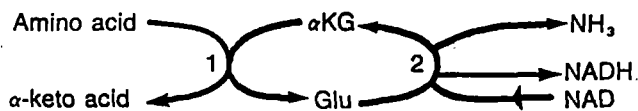
Free Amino Acid Content in Plasma (nM) and Tissues (nmole/g) of Rainbow Trout

Amino acid	Plasma ^a	RBC ^b	Liver ^c	Muscle ^c	Skin ^c	Heart ^b	Gills ^b	Kidney ^d
Ala	866	990	6,757	3,860	590	2,170	1,600	2,040
Arg	28	tr	151	200	160	tr	140	160
Asn	202	240 ^e	397	840 ^e	350 ^e	560 ^e	760 ^e	380
Asp	73	220	1,062	230	340	620	520	2,610
Cys-Cys	55	—	72	—	—	—	—	30
Gln	173	240 ^e	9,882	840 ^e	350 ^e	560 ^e	760 ^e	910
Glu	179	980	6,090	850	1,060	2,180	3,480	6,890
Gly	835	1,970	1,720	11,000	680	1,410	1,980	3,140
His	200	120	1,111	1,250	tr	840	190	300
Ile	156	160	236	290	150	220	190	690
Leu	346	270	384	360	250	350	340	1,560
Lys	229	200	536	650	420	460	410	1,650
Met	91	tr	322	100	tr	tr	tr	190
Phe	93	130	106	170	170	tr	200	1,280
Pro	467	tr	1,131	390	tr	tr	tr	480
Ser	125	220	520	710	440	410	710	960
Thr	129	270	975	490	270	330	420	1,040
Tyr	64	90	76	130	120	tr	120	320
Val	453	380	485	520	370	500	450	1,260
Taurine	1,220	23,810	34,836	6,640	12,940	48,740	35,170	—

^a From Walton and Wilson (1986).^b From Gras *et al.* (1982).^c From Gras *et al.* (1978).^d From Walton and Cowey (1982).^e Values are combined values of Gln + Asn.

ΣΧΗΜΑ 2.2.

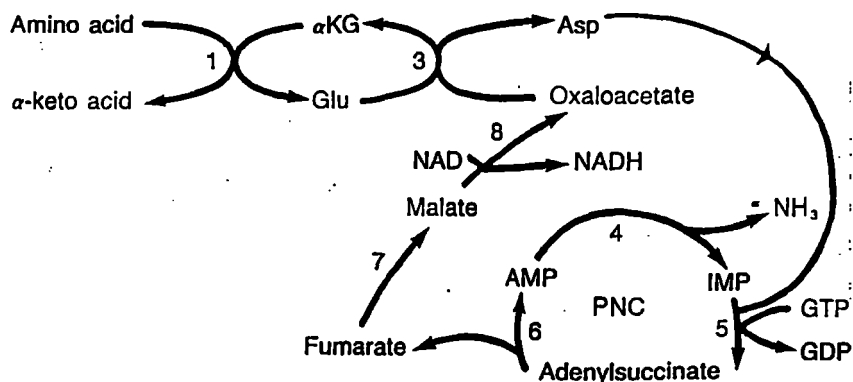
(A) Transdeamination



Net reaction:



(B) Purine nucleotide cycle (PNC)

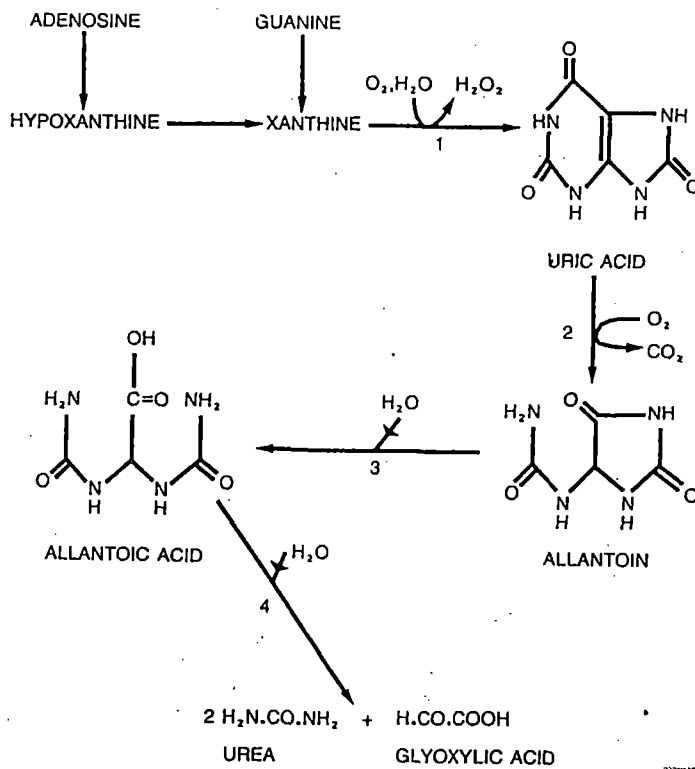


Net reaction:



Production of ammonia from amino acids by transdeamination and by the purine nucleotide cycle. Reactions are catalyzed by the following enzymes: (1) amino acid aminotransferase; (2) Glu dehydrogenase; (3) Asp aminotransferase; (4) AMP deaminase; (5) adenylosuccinate synthetase; (6) adenylosuccinase; (7) fumarate...

ΣΧΗΜΑ 2.3.



Catabolism of purines and urea production. Reactions are catalyzed by the following enzymes: (1) xanthine oxidase; (2) uricase; (3) allantoinase; (4) allantoicase.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.2.

Enzyme Activities and Capacities for Ammonia Production by the Purine Nucleotide Cycle and by Glutamate Dehydrogenase of Liver and Muscle of Goldfish*

	Liver	Red muscle	White muscle
Activity ($\mu\text{mole}/\text{min}/\text{g}$ at 25°C)			
Asp aminotransferase	16	46.7	10.6
Glu dehydrogenase	2.3	0.3	0.1
AMP deaminase	2.2	30.4	225.9
IMP reamination	<0.02	0.2	0.1
Ammonia-producing capacity ($\mu\text{mole}/\text{hr}/100$ g fish)			
Purine nucleotide cycle	4	36	84
Glu dehydrogenase	414	93	108

* From van Waarde (1981).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.3.

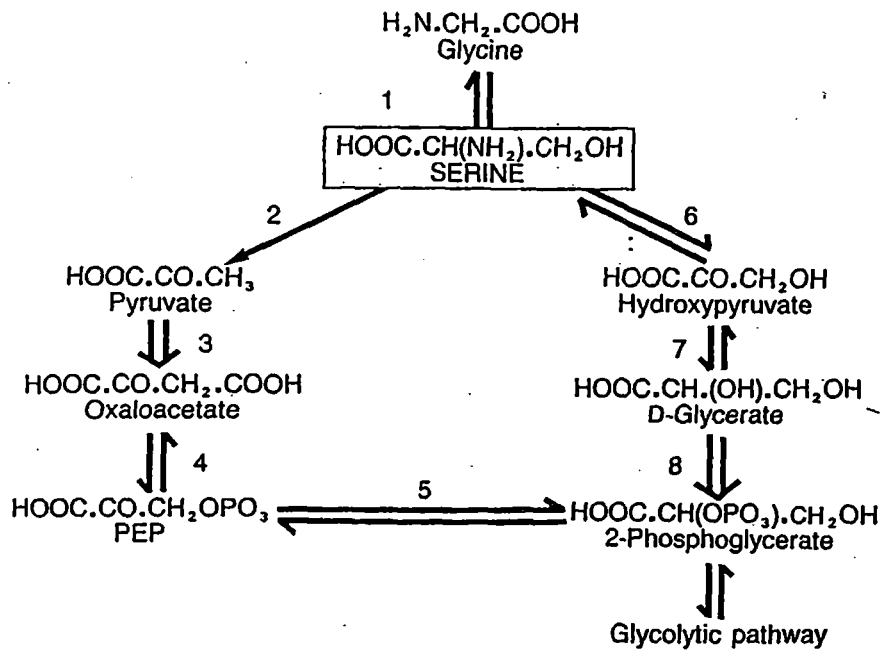
Reactions Catalyzed by Amino Acid-Metabolizing Enzymes Referred to in Text*

Enzyme	Reaction ^b
alanine aminotransferase	$\text{Ala} + \alpha\text{-KG} \rightleftharpoons \text{pyruvate} + \text{Glu}$
amino acid oxidase	$\text{Amino acid} + \text{O}_2 \rightarrow \alpha\text{-keto acid} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$
arginase	$\text{Arg} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ornithine} + \text{urea}$
asparaginase	$\text{Asn} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Asp} + \text{NH}_3$
asparagine synthetase	$\text{Asp} + \text{NH}_3 + \text{ATP} \rightarrow \text{Asn} + \text{ADP} + \text{P}_i$
aspartate aminotransferase	$\text{Asp} + \alpha\text{-KG} \rightleftharpoons \text{oxaloacetate} + \text{Glu}$
branched-chain aminotransferase	$\text{Ile} + \alpha\text{-KG} \rightleftharpoons \alpha\text{-keto-}\beta\text{-Me-valerate} + \text{Glu}$ $\text{Leu} + \alpha\text{-KG} \rightleftharpoons \alpha\text{-ketoisocaproate} + \text{Glu}$ $\text{Val} + \alpha\text{-KG} \rightleftharpoons \alpha\text{-ketoisovalerate} + \text{Glu}$
cysteine desulfhydrase	$\text{Cys} \rightarrow \text{pyruvate} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{S}$
glutamate dehydrogenase	$\text{Glu} + \text{NAD} \rightarrow \alpha\text{-KG} + \text{NH}_3 + \text{NADH}$
glutaminase I	$\text{Gln} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Glu} + \text{NH}_3$
glutaminase II	$\text{GLN} + \alpha\text{-KG} \rightleftharpoons \alpha\text{-ketoglutaramate} + \text{Glu}$
glutamine synthetase	$\text{Glu} + \text{NH}_3 + \text{ATP} \rightarrow \text{Gln} + \text{ADP} + \text{P}_i$
glycine aminotransferase	$\text{Gly} + \alpha\text{-KG} \rightleftharpoons \text{glyoxylate} + \text{Glu}$
glycine cleavage system	$\text{Gly} + \text{FH}_4 + \text{NAD} \rightarrow \text{MeFH}_4 + \text{CO}_2 + \text{NH}_3 + \text{NADH}$
glycine oxidase	$\text{Gly} \rightarrow \text{glyoxylate} + \text{NH}_3$
histidase	$\text{His} \rightarrow \text{urocanate} + \text{NH}_3$
histidine aminotransferase	$\text{His} + \text{Pyr} \rightleftharpoons \text{imidazole pyruvate} + \text{Ala}$
lysine α -KG reductase	$\text{Lys} + \alpha\text{-KG} + \text{NADPH} \rightleftharpoons \text{saccharopine} + \text{NADP}$
methionine aminotransferase	$\text{Met} + \text{Pyr} \rightleftharpoons 4\text{-methylbutyrate} + \text{Ala}$
methionine adenosyltransferase	$\text{Met} + \text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SAM} + \text{P}_i + \text{PP}_i$
phenylalanine hydroxylase	$\text{Phe} + \text{O}_2 + \text{THP} \rightarrow \text{Tyr} + \text{DHP} + \text{H}_2\text{O}$
proline hydroxylase	$\text{Pro} + \alpha\text{-KG} + \text{O}_2 \rightarrow \text{OH-Pro} + \text{succinate} + \text{CO}_2$
serine deaminase	$\text{Ser} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{pyruvate} + \text{NH}_3$
serine hydroxymethyl transferase	$\text{Ser} + \text{FH}_4 \rightarrow \text{Gly} + \text{MeFH}_4$
serine pyruvate aminotransferase	$\text{Ser} + \text{Pyr} \rightleftharpoons \text{hydroxypyruvate} + \text{Ala}$
threonine aldolase	$\text{Thr} \rightarrow \text{Gly} + \text{acetaldehyde}$
threonine deaminase	$\text{Thr} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \alpha\text{-ketobutyrate} + \text{NH}_3$
threonine dehydrogenase	$\text{Thr} + \text{NAD} \rightarrow \text{aminoacetone} + \text{NADH} + \text{CO}_2$
tryptophan pyrrolase	$\text{Trp} + \text{O}_2 \rightarrow \text{N-formylkynurenine}$
tyrosine	$\text{Tyr} + \text{O}_2 \rightarrow \text{DOPA} + \text{H}_2\text{O}$
tyrosine aminotransferase	$\text{Tyr} + \alpha\text{-KG} \rightleftharpoons \text{p-hydroxyphenylpyruvate} + \text{Glu}$
tyrosine hydroxylase	$\text{Tyr} + \text{O}_2 + \text{THP} \rightarrow \text{DOPA} + \text{DHP}$

* See Section 6,3,3.

^b Abbreviations: DOPA, dihydroxyphenylalanine; DHP, dihydropteridine; FH₄, tetrahydrofolic acid; KG, ketoglutarate; MeFH₄, N⁵,N¹⁰-methylene tetrahydrofolic acid; Pyr, pyruvate; SAM, S-adenosylmethionine; THP, tetrahydropteridine.

ΣΧΗΜΑ 2.4.



Alternative pathways of serine catabolism. Reactions are catalyzed by the following enzymes: (1) Ser hydroxymethyl transferase; (2) Ser deaminase; (3) pyruvate carboxylase; (4) PEP carboxykinase; (5) enolase; (6) Ser pyruvate transaminase; (7) D-glycerate dehydrogenase; (8) D-glycerate kinase.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.4.

Reported K_m Values of Amino Acid-Metabolizing Enzymes from Fish

Enzyme ^a	Fish	Tissue	Substrate	K_m (mM)	Reference ^b	
Ala AT	Trout	Liver	Ala	2.2	1	
Arginase	Trout	Liver	Arg	4.9	2	
		Kidney	Arg	4.7	2	
	Catfish	Liver	Arg	8.0	3	
		Kidney	Arg	11.1	3	
Cys desulphydrase	Labrax	Liver	Cys	0.28	4	
Glutaminase I	Trout	Liver	Gln	3.3	1	
Gln synthetase	Catfish	Brain	Glu	3.9	5	
Glu DH	Trout	Liver	Glu	3.7	1	
		Eel	Liver	Glu	15.5	6
				Glu	3.7	7
		Tuna	Liver	Glu	1.4	8
Histidase	Trout	Liver	His	0.28	9	
		Kidney	His	0.2	10	
	Mackerel	Liver	His	0.8	11	
		Muscle	His	0.03	11	
Lys KG reductase	Trout	Liver	Lys	7.3	2	
Ser deaminase	Trout	Liver	Ser	44	1	
Ser HMT	Trout	Liver	Ser	0.12	1	
			Gly	2.2	1	
Ser pyruvate AT	Trout	Liver	Ser	8.1	1	
Thr deaminase	Trout	Liver	Thr	26	1	
Thr DH	Trout	Liver	Thr	7.8	1	
Tyr AT	Trout	Liver	Tyr	3.2	12	
Trp pyrrolase	Trout	Liver	Trp	0.2	1	

^a AT, aminotransferase; DH, dehydrogenase; HMT, hydroxymethyl transferase; KG, ketoglutarate.

^b (1) Walton and Cowey (1982); (2) Walton (1985a); (3) Wilson (1973); (4) Barboza *et al.* (1973); (5) Wilson and Fowlkes (1976); (6) McBean *et al.* (1966); (7) Hayashi *et al.* (1982a); (8) Veronese *et al.* (1976); (9) Fowler *et al.* (1979); (10) Allen *et al.* (1983); (11) Sakaguchi *et al.* (1970); (12) Whiting and Wiggs (1977).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.5.

Some Compounds Other Than Amino Acids
Derived from Amino Acids

Compound(s)	Amino acid(s)
Purines	Asp, Gln, Gly
Pyrimidines	Asp
Glutathione	Cys, Glu, Gly
Melanin	Tyr
Carnitine	Lys
Taurine	Cys
Ethanolamine	Ser
Histamine	His
Neurotransmitters	
Serotonin	Trp
γ -Glutamate	Glu
Hormones	
Thyroxine	Tyr
Adrenaline	Tyr

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.6.

Effects of Feeding a High-Protein/Low-Carbohydrate Diet as Compared to a Low-Protein/High-Carbohydrate Diet on Some Hepatic Enzyme Activities in Fish

Enzyme ^a	Effect on enzyme activity ^b		
	None	Increase	Decrease
nino acid enzymes			
Ala AT	Plaice (1), trout (2)	Carp (4), trout (2, 3)	
Arginase	Salmon (5), trout (6)	Carp (4)	
Asp AT	Plaice (1), trout (2, 6)	Trout (2)	
Glu DH	Plaice (1), salmon (5), trout (3)	Trout (3)	
Histidase	Trout (3, 6)	Mackerel (7)	
Leu AT	Salmon (5), carp (8), trout (3)		
Ser AT	Trout (3)	Trout (6)	
Thr DH		Trout (3)	
Trp pyrrolase	Trout (3)		
Tyr AT		Trout (9)	
(Urocanase)	Trout (6)		
ycolytic			
Phosphorylase	Yellowtail (10)		
Hexokinase	Trout (2, 11)		Trout (2, 12)
Phosphofructokinase			Trout (3, 12), yellowtail (10)
Pyruvate kinase	Trout (12)		Trout (2, 3, 6, 11, 13)
Lactate DH			Trout (3)
luconeogenic			
Glucose-6-phosphatase	Plaice (1)	Carp (4), yellowtail (10)	
Fructose bisphosphatase		Yellowtail (10), trout (3, 6, 11, 13)	
PEP carboxykinase		Trout (2, 3, 11, 13)	
ntose phosphate			
Glucose-6-P DH			Carp (4), trout (2, 13)
6-P-gluconate DH	Trout (2)		Carp (4), trout (2, 13)
CA cycle			
Citrate synthetase	Trout (3)		
Isocitrate DH (NADP)	Trout (2, 3)		
α -KG DH			Trout (3)
Malate DH	Trout (3)		
(Malic enzyme)	Trout (2, 3)		Carp (4), trout (2)

^a AT, aminotransferase; DH, dehydrogenase; KG, ketoglutarate; PEP, phosphoenolpyruvate.^b (1) Cowey *et al.* (1974); (2) Abel *et al.* (1978); (3) Walton (1986); (4) Shimeno *et al.* (1981); (5) Rumsey (1981); (6) Cowey *et al.* (1981); (7) Sakaguchi and Kawai (1970); (8) Zébian and Créach (1979); (9) Whiting and Wiggs (1977); (10) Shimeno (1974); (11) Cowey *et al.* (1981); (12) Whiting and Wiggs (1977); (13) Whiting and Wiggs (1977).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ

3. ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ

3.1. Εισαγωγή.

Για τους περισσότερους οι διατροφικές ασθένειες είναι ακόμα άγνωστες. Η ξηρασία ή η ρύπανση μπορεί να περιορίσουν την διάθεσιμότητα της τροφής, και φαινόμενα, όπως ο περιορισμός των ωκεάνειων ρευμάτων μπορεί, σε μερικές περιπτώσεις, να οδηγήσουν στην επικίνδυνη μείωση της ανάπτυξης του πλαγκτού κατά συνέπεια στην ασιτία των καταναλωτών αυτού. Γενικά όμως τα «άγρια» ψάρια έχουν αρκετές δυνατότητες, στο φυσικό τους περιβάλλον, να αποκτήσουν τα απαραίτητα ποσά τροφής για να επιβιώσουν. Αυτό δεν σημαίνει ότι στο κανονικό κύκλο της ζωής του ζώου, ειδικότερα στις εύκρατες ζώνες, οι εποχιακές θερμοκρασιακές διακυμάνσεις επηρεασμοί και οι κυκλικές αλλαγές που σχετίζονται με την αναπαραγωγή, δεν προκαλούν δευτερογενή κλινικά και ιστοπαθολογικά συμπτώματα ανεπάρκειας ή ασιτίας. Η ανεπάρκεια στο σολομο του Ατλαντικού το χειμώνα μετά την αναπαραγωγή, είναι ένα παράδειγμα των επιπτώσεων της ορμονικά προκαλούμενης ασιτίας.

Η χορηγούμενη τροφή στα εκτρεφόμενα ψάρια πρέπει να είναι μια ολοκληρωμένη τροφή, που να καλύπτει όλες τις τροφικές απαιτήσεις και μάλιστα στα κατάλληλα επίπεδα για το κάθε συστατικό. Εναλλακτικά στην περίπτωση των ψαριών σε μεγάλες χωμάτινες δεξαμενές (εκτατική καλλιέργεια), η χορήγηση συμπληρωματικής τροφής βελτιώνει το ρυθμό ανάπτυξης των ψαριών τα οποία αναμένεται να πάρουν ένα μικρό μέρος από τα θρεπτικά που

χρειάζονται από τη φυσική παραγωγή της δεξαμενής. Αυτές οι δεξαμενές-λίμνες μπορούν να λιπανθούν για να αυξηθεί η πρωτογενής παραγωγή τους.

Συνήθως είναι δύσκολο κάτω από συνθήκες καλλιέργειας, να προσδιορίσεις τις διατροφικές ασθένειες με απόλυτο τρόπο, γιατί είναι σπάνια η ανεπάρκεια ενός μόνο απαραίτητου θρεπτικού συστατικού. Οι συνθετικές όχι απόλυτα ολοκληρωμένες τροφές συνήθως καθιστούν τα ψάρια πιο ευαίσθητα σε μολύνσεις οι οποίες είναι κλινικά πιο φανερές αλλά είναι πολύ δύσκολο να προσδιοριστεί η διατροφική τους προέλευση. Φυσικά η ανεπάρκεια ενός μόνο απαραίτητου συστατικού είναι μόνο μια αιτία διατροφικών ασθενειών, οι οποίες χαρακτηρίζονται σαν ανεπάρκεια, περίσσεια, η μη ισορροπία των συστατικών στη τροφή του ψαριού (Shiesrko 1972). Ο σωστότερος ορισμός πρέπει επίσης να περικλείει τη παρουσία επιβλαβών ή τοξικών ουσιών μέσα στη τροφή, ένα πρόβλημα που έχει γίνει σημαντικό στις εντατικές υδατοκαλλιέργειες.

Αν και οι περισσότερες ασθένειες ανεπάρκειας σχετίζονται με μια πολυπλοκότητα οριακής ή απόλυτης ανεπάρκειας μόνο από λεπτομερή πειράματα για κάθε είδος και κάτω από συνθήκες ανεπάρκειας ενός μόνο παράγοντα η αντίληψη της διατροφικής παθολογίας του ψαριού μπορεί να επιτευχθεί. Σε πειράματα ανεπάρκειας ενός μόνο παράγοντα από τον Halver (1972) και των συνεργατών του ένας μεγάλος αριθμός ειδικών παθογνωμικών συμπτωμάτων έχει αποδειχθεί. Στη κλινική κατάσταση πιο γενικά

σύνδρομα όπως η ανορεξία, το πιο σκούρο δέρμα και η φτωχή ανάπτυξη είναι τα μοναδικά φανερά κλινικά χαρακτηριστικά.

Οι Τεχνητές τροφές θεωρούνται σαν ολοκληρωμένες πηγές θρεπτικών όταν παράγονται από υλικά υψηλής ποιότητας. Στην ερασιτεχνική παρασκευή νοπών τροφών ή τροφών με χαμηλής αξίας ψάρια οι πιθανότητες εμφάνισης συμπτωμάτων ανισορροπιών ή ανεπαρκειών είναι μεγάλες. Επίσης η αποθήκευση κάτω από τις κατάλληλες θερμοκρασίες και ποσοστά υγρασίας είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την καταλληλότητα της τροφής και την αποφυγή οποιουδήποτε συμπτωμάτων διατροφικής προέλευσης.

3.2. Ασθένειες Ανεπαρκείας ή μη Ισορροπίας.

Ασθένειες Ανεπάρκειας. Είναι δύο Τύπων. Ανεπάρκεια ή μη ισορροπία των κυρίως συστατικών όπως πρωτεϊνών, υδατανθρακών, λιπών και ανεπάρκεια των συστατικών που βρίσκονται σε πολύ μικρές ποσότητες όπως βιταμίνες και μέταλλα.

3.2.1. Πρωτεΐνες.

Όλα τα είδη ψαριών απαιτούν σχετικά μεγάλες ποσότητες πρωτεΐνης σαν πηγή αμινοξέων για την Πρωτεϊνοσύνθεση και τη γλυκονεογένεση. Για το λόγο αυτό οι τροφές για τα ψάρια πρέπει να περιέχουν μεγάλα ποσοστά πρωτεΐνης υψηλής αξίας. Επειδή η πρωτεΐνη είναι το πιο ακριβό συστατικό των ιχθυοτροφών οι προσπάθειες τόσο των κατασκευαστών όσο και των ερευνητικών επικεντρώνονται στην μείωση του κόστους με ταυτόχρονη διατήρηση της πρωτεΐνης στα απαιτούμενα επίπεδα. Τα βασικά κριτήρια για την

αξιολόγηση της ποιότητας μιας πρωτεΐνης είναι η σύσταση της σε Απαραίτητα Αμινοξέα και η διαθεσιμότητά τους. Κυριώτερο χαρακτηριστικό της ανεπάρκειας σε απαραίτητα αμινοξέα είναι η μειωμένη ανάπτυξη. Έχουν διαπιστωθεί συγκεκριμένα συμπτώματα ανεπάρκειας κάτω από εργαστηριακές συνθήκες. Αυτά περιλαμβάνουν την παραμόρφωση (διάβρωση) του Εδρικού πτερυγίου η οποία οφείλεται στην ανεπάρκεια της Λυσίνης, σκελετικές ανωμαλίες που συνδέονται με την ανεπάρκεια Τρυπτοφάνης, Λευκίνης, Λυσίνης, Αργινίνης ή Ιστιδίνης και καταρράκτης που συνδέεται με την ανεπάρκεια Μεθειονίνης και Τρυπτοφάνης (walton και άλλοι 1984, ketola 1983, Mazid και άλλοι 1978, Walton και άλλοι 1982, Halver και Shanks 1960).

Κάτω από κανονικές συνθήκες καλλιέργειας είναι ασυνήθιστο να διαπιστωθεί ανεπάρκεια που να οφείλεται σε συγκεκριμένο αμινοξύ και το άρρωστο ψάρι παρουσιάζει διάφορα κλινικά συμπτώματα όπως μικρή ανάπτυξη, σκούρο χρώμα δέρματος κλπ. Συνθήκες ανεπάρκειας μπορεί να προκληθούν από κακό σχεδιασμό τροφής η από χρησιμοποίηση πρώτων υλών με ανεπάρκεια σε συγκεκριμένο αμινοξύ ή μη ισορροπημένη αναλογία αμινοξέων. Μπορούν επίσης να προκληθούν από μη σωστή διαδικασία παρασκευής της τροφής, ή γενικά από υπερβολική θέρμανση ή χημική επεξεργασία κατά την διαδικασία παρασκευής.

3.2.2. Μυκοτοξίνες (mycotoxins)

Ο κυριώτερος ίσως μολυσματικός παράγοντας είναι οι μυκοτοξίνες, που είναι προϊόντα μεταβολισμού των μυκητιακής φύσεως μολυντών των συστατικών της τροφής. Ο πιο σημαντικός από τους τοξικούς αυτούς μεταβολίτες στις Ιχθυοτροφές είναι οι Αφλατοξίνες (Aflatoxins) που παράγονται από τοξικά μεταλλαγμένα στελέχη του κυανομύκητα *Aspergillus flavus*, τον πιο συχνό μολυντή των ελαιούχων σπόρων όπως του βαμβακιού και του φυσικιού. Η τοξικότητα των Αφλατοξινών μελετήθηκε αρχικά από τους Ashley (1964) και Halver (1965). Διαπίστωσαν ότι οι Αφλατοξίνες είναι ισχυρά καρκινογόνες και ευθύνονται για την εμφάνιση καρκίνου, στο συκώτι των καλλιεργούμενων πεστρόφων Εικόνα 3.1. Ο καρκίνος του συκωτιού φτάνει στο κλινικό στάδιο 4-6- μήνες μετά τη χορήγηση της μολυσμένης τροφής. Η ποσότητα του μολυντή μπορεί να είναι πολύ πειραματική χορήγηση της τοξίνης σε ψηλές δόσεις όπως 80ppb ή περισσότερο προκάλεσε οξύ τοξικό σύνδρομο, έντονη ακόμα και ολική νέκρωση του συκωτιού, βραγχιακό οίδημα, καθώς επίσης και διάχυτη αιμορραγία ιστολογικά, η φυσικά προκαλούμενες κακώσεις (βλάβες) είναι διασπάρτα κακοήθη καρκινώματα του συκωτιού, Ευδιάκριτα στις τομές ακόμα και στα πρώτα στάδια λόγω του σκουρότερου χρωματισμού των περιοχών της κακοήθειας. (Εικόνα 3.2).

Η Αφλατοξίνωση αρχικά αποτελούσε πρόβλημα για τη πέστροφα η οποία φαινόταν ως πιο ευαίσθητη στην τοξίνη με έντονες οικονομικές συνέπειες στους καλλιεργητές κατά τη δεκαετία του '60. Αν και

σήμερα στις ανεπτυγμένες χώρες έπαψε να αποτελεί πρόβλημα λόγω του αυστηρού ελέγχου και της επιλογής των ελαιούχων σπόρων. Παρ' όλα αυτά στις αναπτυσσόμενες χώρες εξακολουθεί να είναι πρόβλημα λόγω της δυσκολίας αποθήκευσης στα υγρά τροπικά κλίματα. Στην καλλιέργεια τιλάπια ένας αριθμός νεοπλαστών έχει συνδεθεί με τα ψηλά επίπεδα Αφλατοξίνης (Haller and Roberts, 1980) περιλαμβανομένου του καρκινώματος, των νεφρικών σωλήνων (Εικόνα 3.3.) και το λύμφωμα.

3.2.3. Gossypol

Ο βαμβακόσπορος είναι μια από τις υψηλής ποιότητας φυτικές πρωτεΐνες της οποίας η χρήση στις τροφές των ζώων ψαριών και του ανθρώπου είναι περιορισμένη λόγω της ύπαρξης τοξινών. Η γνωστότερη από αυτές τις τοξίνες είναι η κίτρινη φαινολική χρωστική το gossypol. Υπάρχει φυσικά στα χρωματοφόρα κύτταρα του βαμβακόσπορου.

Η βιομηχανική κατεργασία του βαμβακόσπορου περιλαμβάνει θέρμανση, ύγρανση διαδικασίες που προκαλούν την μετατροπή του ελευθέρου gossypol σε σύνθετες μορφές που δεν είναι τοξικές στα ζώα. Οι σύγχρονες τεχνικές παραγωγής του βαμβακοσποράλευρου επιτυγχάνουν απομάκρυνση, καταστροφή ή δεσμευση του 80-90% του gossypol καθιστώντας, το βαμβακοσποράλευρο αποδεκτό συστατικό στις τροφές των ζώων εκτός των πολύ ευαίσθητων όπως του γουρουνιού (Singleton & Kratzer 1973). Τεχνικές γενετικής επιλογής έχουν επίσης αναπτυχθεί με στοχο την παραγωγή βαμβακόσπορου απαλλαγμένου από gossypol. Ο hermanm (1970) δοκίμασε την

επίδραση του gossypol από διάφορα είδη βαμβακόσπορου ακατέργαστα και μετά από κατεργασία στην ιριδίζουσα πέστροφα. Μείωση της ανάπτυξης διαπιστώθηκε από τροφές που περιείχαν 290 ppm ή περισσότερο ελεύθερο gossypol. Ψάρια στα οποία χορηγήθηκαν 53 /ppm ελεύθερου gossypol παρουσίασαν έντονα μειωμένο Αιματοκρίτη, Αιμοσφαιρίνη και πρωτεΐνη στο πλάσμα συν μειωμένη ανάπτυξη.

Εχουν παρατηρηθεί Ιστολογικές αλλαγές σε ψάρια που δεχτηκαν 95ppm ή περισσότερο gossypol. Κυριώτερες αυτών η νέκρωση του συκωτιού, ή κήρωση του συκωτιού, του σπλήνα και του νεφρού. Ο Fowler (1980) αναφέρει ότι ο σολομός chinook αναπτυσσόταν κανονικά με τροφή που περιείχε 34% (glanded Cottonseed meal) ενώ ο coho σολομός ανεχόταν τροφές μέχρι 22% (glanded cottonseed meal) χωρίς επίδραση στην ανάπτυξη του.

Ο Dorsa και άλλοι (1982) δοκίμασαν διάφορα επίπεδα βαμβακοσποράλευρου και gossypol σε τροφές για το γατόψαρο και διαπίστωσαν μείωση της ανάπτυξης για επίπεδα μεγαλύτερα του 17% βαμβακοσποράλευρου. Κατέληξαν ότι όταν το ποσοστό του gossypol στην τροφή δεν ήταν περισσότερο από 0.09% η τροφή ήταν ανεκτή από το γατόψαρο εφόσον το ποσοστό της Λυσίνης στην τροφή ήταν 1,6%. Η Λυσίνη είναι περιοριστικό αμινοξύ στο βαμβακοσποράλευρο διότι το gossypol δεσμεύεται σ'αυτή. Οι Robinson και Rawles (1983) δοκίμασαν το glandless cottonseed meal στο γατόψαρο και βρήκαν ότι αυτό μπορεί να αντικαταστήσει το σογιάλευρο μέχρι 50% στη τροφή χωρίς επίδραση στην ανάπτυξη του ψαριού. Στην τιλάπια

(T.aurea) επίπεδα gossyrol έως 0,18% στην τροφή δεν προκαλούν μείωση της ανάπτυξης παρ'όλα αυτό το βαμβακοσποράλευρο αποδείχθηκε χαμηλότερης θρεπτικής αξίας απ'ότι το σογιάλευρο ή το φυσικάλευρο.

Η επίδραση του gossyrol σε άλλα είδη ψαριών δεν είναι ακόμη γνωστή. Είναι ανεκτό σε διαφορετικά επίπεδα για τα σαλμονοειδή, γατόψαρο και τιλάπια, σε ψηλότερα όμως επίπεδα αναστέλλει την ανάπτυξη και προκαλεί ιστοπαθολογικές βλάβες.

3.2.4. Αναστολέας της Τρυψίνης (Soybean Trypsin Inhibitor).

Η σόγια αποτελεί μια από τις κυριώτερες πηγές πρωτεΐνης που χρησιμοποιούνται στις Ιχθυοτροφές, όπως της πέστροφας του γατόψαρου και άλλες. Η χρησιμοποίηση της όμως είναι περιορισμένη λόγω της παρουσίας διαφόρων αντιμεταβολιτών ο κυριώτερος των οποίων είναι ο αναστολέας της τρυψίνης. Είναι μια κρυσταλλική σφαιρική πρωτεΐνη με M.B. 21.500 (Liener και Kkade 1980). Αποδείχθηκε ότι προκαλεί αναστολή της ανάπτυξης στα κοτόπουλα ποντίκια, πέστροφα, γατόψαρο, κυπρίνο και άλλα είδη ψαριών καθώς επίσης και υπερτροφία του παγκρέατος στα κοτόπουλα και τα ποντίκια λόγω της αυξημένης τους ανάγκης για ένζυμα της τρυψίνης (Sandholm και άλλοι 1976).

Ο Robinson και άλλοι (1981) εξέτασε τον παγκρεατικό ιστό του γατόψαρου μετά τη χορήγηση σογιάλευρου με διάφορα επίπεδα του αναστολέα αλλά δεν παρατήρησε καμία επίδραση. Υπάρχουν ενδείξεις ότι ο μηχανισμός με τον οποίο το σογιάλευρο μειώνει τον αυξητικό

ρυθμό είναι πιο πολύπλοκος από ότι μια απλή παρεμπόδιση της πέψης της πρωτεΐνης. Η κυριώτερη μέθοδος αδρανοποίησης του αναστολέα αυτού είναι η θέρμανση της σόγιας σε κατάλληλη θερμοκρασία. Είναι καθοριστικής σημασίας βέβαια ο προσδιορισμός της κατάλληλης θερμοκρασίας και χρόνος ώστε να μην μειωθεί λόγω υπερθερμανσης η θρεπτική αξία της σόγιας.

Ανεπαρκής θέρμανση για την αδρανοποίηση του αναστολέα περιορίζει την πέψη της πρωτεΐνης (Dabrowski και Kozak 1979) αλλά υπερθέρμανση προκαλεί μειωμένη διαθεσιμότητα αμινοξέων (Sandholm 1976) και ειδικότερα της Λυσίνης (Riesen 1947, Evans και Butts 1951). Διάφορες μελέτες έχουν γίνει για αντικατάσταση του ιχθυάλευρου από σογιάλευρο για διάφορα είδη ψαριών.

Ο Viola και άλλοι (1982) συνιστούν μόνο μερική αντικατάσταση του Ιχθυάλευρου στον κυπρίνο διότι διαπίστωσαν ότι το σογιάλευρο περιέχει 10-15% λιγότερη διαθέσιμη ενέργεια και Λυσίνη από την ποσότητα που είναι αναγκαία.

Πλήρης αντικατάσταση του ιχθυάλευρου από Σογιάλευρο προϋποθέτει συμπληρωματική χορήγηση συνθετικών αμινοξέων που είναι πολύ ακριβά και ψηλότερα ποσοστά λιπών. Οι Andrews και Page (1974) διαπίστωσαν ότι αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από σογιάλευρο με ίσα επίπεδα Αζώτου προκάλεσε σημαντική μείωση στην ανάπτυξη του γατόψαρου και στην αποδοχή της τροφής. Οι Dabrowska και Wohno (1977) βρήκαν ότι η πέστροφα μπορεί να χρησιμοποιήσει σογιάλευρο εμπλουτισμένο με κυστεΐνη (1%) και τρυπτοφάνη (0,5%) το ίδιο καλά όπως το ιχθυάλευρο. Οι Rumsey και

Ketola (1975) εμπλούτισαν τροφές με σογιάλευρο (80%) για πέστροφα με διάφορα μεμονωμένα ή σε συνδιασμούς αμινοξέα. Η ανάπτυξη με σογιάλευρο ήταν μικρή, όμως η προσθήκη Μεθειονίνης, Λευκίνης, Λυσίνης, Βαλίνης και Θρεονίνης ή Μεθειονίνης Λευκίνης, Λυσίνης, Βαλίνης, Θρεονίνης, Ιστιδίνης, Τρυπτοφάνης και Τυροσίνης εξομοιώνοντας τη σύσταση τους με αυτή του ιχθυάλευρου βελτίωσε την ανάπτυξη.

Μια σύνοψη αυτών και πολλών άλλων μελετών περιλαμβάνει τα παρακάτω συμπεράσματα:

1) Ανάμεσα στα διάφορα είδη ψαριών έχουν διαπιστωθεί διαφορετικοί αριθμοί ευαισθησίας στον Αναστολέα της Τρυψίνης.

Η ιριδίζουσα πέστροφα φαίνεται πιο ευαίσθητη, το γατόψαρο πιο ανθεκτικό και ο κυπρίνος κάπου ενδιάμεσα.

2) Η θερμική επεξεργασία του σογιαλεύρου δεν είναι στανταρισμένη μέθοδος γι' αυτό τα επίπεδα του Αναστολέα μετά από αυτή ποικίλουν.

3) Εμπλουτισμός με αμινοξέα και μέταλλα δίνει ποικίλα αποτελέσματα πιθανόν εξαιτίας των διαφορών ανάμεσα στα είδη ψαριών και την προέλευση και ποιότητα του σογιαλευρου.

4) Λίγα συμπεράσματα έχουν εξαχθεί για την επίδραση του Αναστολέα της Τρυψίνης στη λειτουργία του Παγκρέατος.

3.2.5. Φυτικό Οξύ (Phytic Acid)

Το φυτικό οξύ ή εξαφωσφορική Μυο/νοσιτόλη περιέχεται στα δημητριακά του ελαιούχους σπόρουςόπως Σογια, Reaped and Cottonseed, τα οποία χρησιμοποιούνται σε διάφορες Ιχθυοτροφές.

(Jones 1979, Richardson και άλλοι 1985). Στα ποντίκια προκαλεί σοβαρές συνέπειες στην Ανάπτυξη, ειδικότερα παρουσία ψηλών επιπέδων ασβεστίου (Morris και Ellis 1980). Δεσμεύει έντονα το Ασβέστιο, Μαγνήσιο, Ψευδάργυρο και τα Φωσφορικά με αποτέλεσμα μεγάλο ποσοστό του ασβεστίου, Μαγνησίου και Ψευδαργύρου να μην είναι διαθέσιμο στα ζώα (Smith 1977).

Αυτό εξηγεί εν μέρει την ενεργητική δράση του εμπλουτισμού των τροφών που περιέχουν σόγια με μέταλλα (Ketola 1975).

Μελέτες της Ketola 1979, Watanabe 1980 και Satoh 1983 έδειξαν τον σημαντικό ρόλο που παίζει η αναλογία του Ασβεστίου και Ψευδαργύρου στο σχηματισμό του καταρράκτη στα σαλμονοειδή. Ο Richardson και άλλοι (1985) διαπίστωσαν, ότι ψηλά επίπεδα φυτικού οξέος αναστέλλουν την ανάπτυξη, την μετατρεψιμότητα της τροφής και της πρωτεΐνης, την λειτουργία του θυροειδή, αυξημένη θνησιμότητα, καταρρακτη όταν η ποσότητα του ψευδαργύρου είναι χαμηλή. Ο Spinelli και άλλοι 1983 πραγματοποίησε πειράματα πάνω στη συνδιασμένη επίδραση των Ασβεστίου - Μαγνησίου και φυτικού οξέως στην ανάπτυξη της πέστροφας. Βρήκαν ότι το φυτικό οξύ μειώνει την ανάπτυξη αλλά αυξημένα επίπεδα Ασβεστίου και Μαγνησίου δεν επηρεάζουν την ανάπτυξη. Ψηλά επίπεδα ασβεστίου επίσης μειώνουν τον αυξητικό ρυθμό. Απέδειξαν ότι το φυτικό οξύ δεσμεύεται με την πρωτεΐνη στο έντερο και δημιουργεί λιγώτερο ευπεπτα συμπλέγματα. Κατέληξαν ότι η περιορισμένη ανάπτυξη των ψαριών οφειλόταν στον περιορισμό της διαθεσιμότητας της πρωτεΐνης

παρά στη μειωμένη διαθεσιμότητα του ψευδάργυρου, σιδήρου και χαλκού.

3.2.6. Glucosinolates

Οι Glucosinolates υπάρχουν φυσικά στο λάχανο, μπρόκολο, κουνουπίδι, ελαιούχους σπόρους όπως το Rapeseed. Δεν είναι ιδιαίτερα επιβλαβής αυτές καθ'αυτές αλλά μέσω της υδρόλυσης από το συνυπάρχον ένζυμο Μυροσινάση (Myrosinase) τα προϊόντα που προκύπτουν επηρεάζουν τη λειτουργία του θυροειδή και προκαλούν και άλλες σοβαρές βλάβες (Tookey 1980, VanEtten και Tookey 1983).

Ο glucosinolates είναι σημαντικά στη διατροφή των ψαριών λόγω του αυξανόμενου ενδιαφέροντος για το Rapessed που είναι πολύ φθηνή πηγή πρωτεΐνης για τις τροφές των σαλμονιδών. Ο Yurkowski 1978 διαπίστωσε ότι οι glucosinolates από το Rapeseed προκαλούν υπερπλασία του θυροειδή και μειώνει τη θυροξίνη στο πλάσμα στη ιριδίζουσα πέστροφα

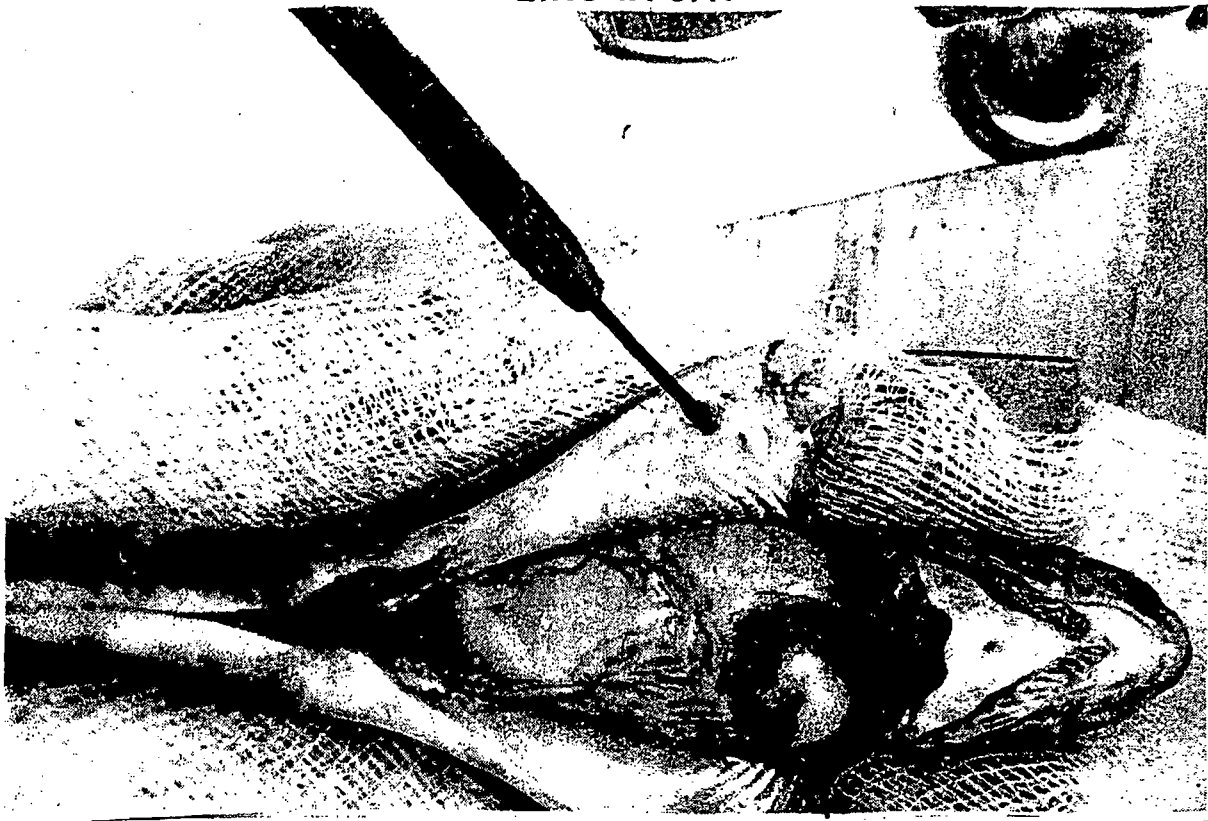
Το αποτέλεσμα ακατέργαστου και μετά από κατεργασία μελετήθηκαν και τα συμπεράσματα που προέκυψαν είναι τα εξής:

Τροφές που περιείχαν ακατέργαστο Rapessed meal προκάλεσαν σε πολύ μεγάλο βαθμό υπερπλασία του θυροειδή, μείωση της θυροξίνης και πολύ μικρή ανάπτυξη. Κατεργασία με εκχύλιση (water extraction) κατά την παρασκευή συμπυκνώματος πρωτεΐνης από Rapeseed βοήθησε στην απομάκρυνση του 90% των glucosinolates καθιστώντας την πολύ λιγότερο τοξική και πολύ πιο χρήσιμη πρωτεΐνη (Yurkowski

1978, Jones 1979). Παρόλα αυτά σαν αποκλειστική πηγή πρωτεΐνη για τη πέστροφα οδηγεί σε πολύ μικρή ανάπτυξη και εξακολουθεί να έχει αντιθυροειδική δράση. Η θερμική κατεργασία του Rapeseed meal αδρανοποιεί το ένζυμο Μυροσινάση και μειώνει την αντιθυροειδική δράση παρόλα αυτά διατηρεί το περιεχόμενο σε glucosinolates (Yorkowski 1978) το κλάσμα των glucosinolates στο Rapeseed meal κυμαίνεται από 3-8%. Οι γενετιστές ανέπτυξαν ποικιλίες Rapeseed με χαμηλό ποσοστό glucosinolates (<0.2 mg/g) με στοχο το μηδέν στο εγγύς μέλλον. Τα άλευρα αυτά με χαμηλό περιεχόμενο glucosinolates αναφέρονται ως Canola meals (Higgs 1982, Hardy και Sullivan 1983). Οι Hardy και Sullivan (1983) διαπίστωσαν ότι μέχρι 20% canola meal στην τροφή δεν επηρεάζει τον αυξητικό ρυθμό αλλά προκαλεί υπερπλασία του θυροειδούς και επηρεάζει τα επίπεδα θυροξίνης στη Ιριδίζουσα πέστροφα.

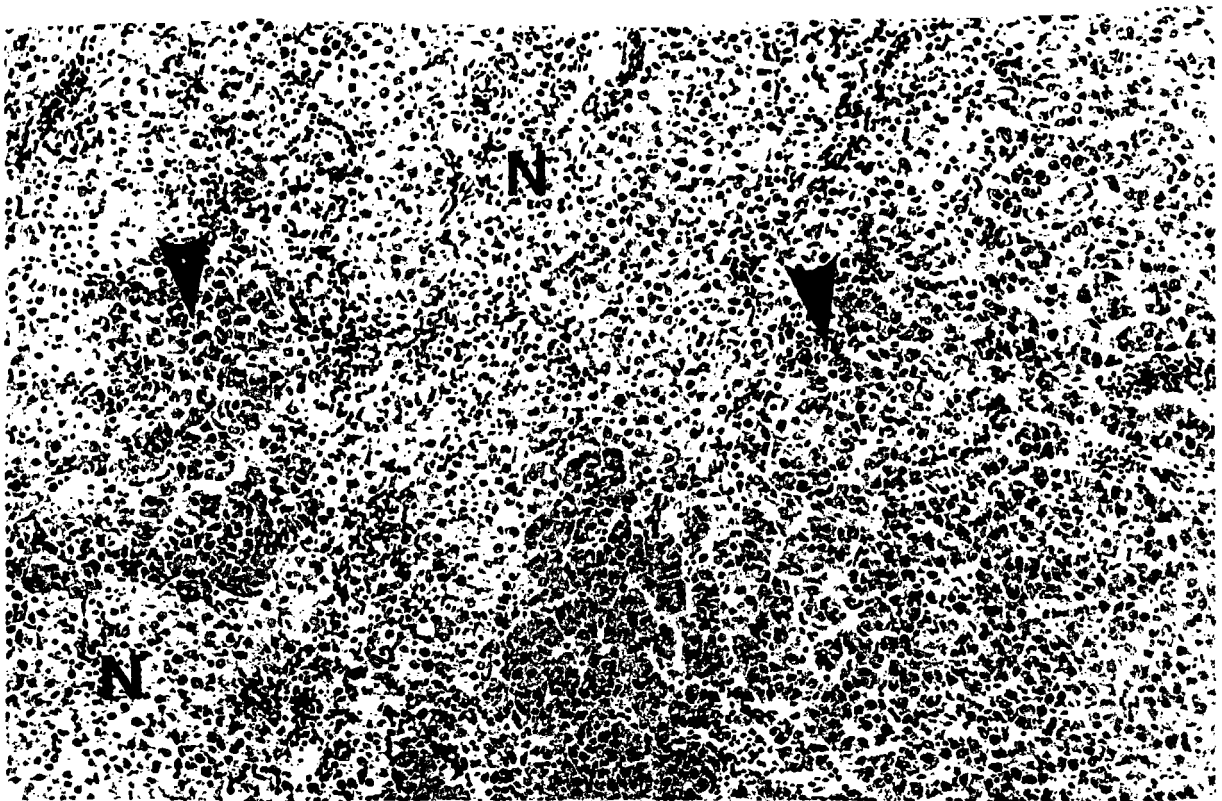
Το γενικό συμπέρασμα των μελετών που έχουν γίνει πάνω σ' αυτή την πηγή πρωτεΐνης είναι ότι αποτελεί υψηλής ποιότητας πρωτεΐνη για τις τροφές των σαλμονιδών αν ελαχιστοποιηθούν οι επιπτώσεις από τη δράση των glucosinolates και των άλλων αντιμεταβολικών που περιέχει. Η δημιουργία ποικιλιών που θα επιτρέψει την παραγωγή αλευρών με μικρότερο 0,2 mg/g ποσοστό glucosinolates σε συνδυασμό με κατάλληλη θερμική κατεργασία θα εξαλήψει τους περιορισμούς στη χρήση του Rapeseed meal τις Ιχθυοτροφές.

EIKONA 3.1.



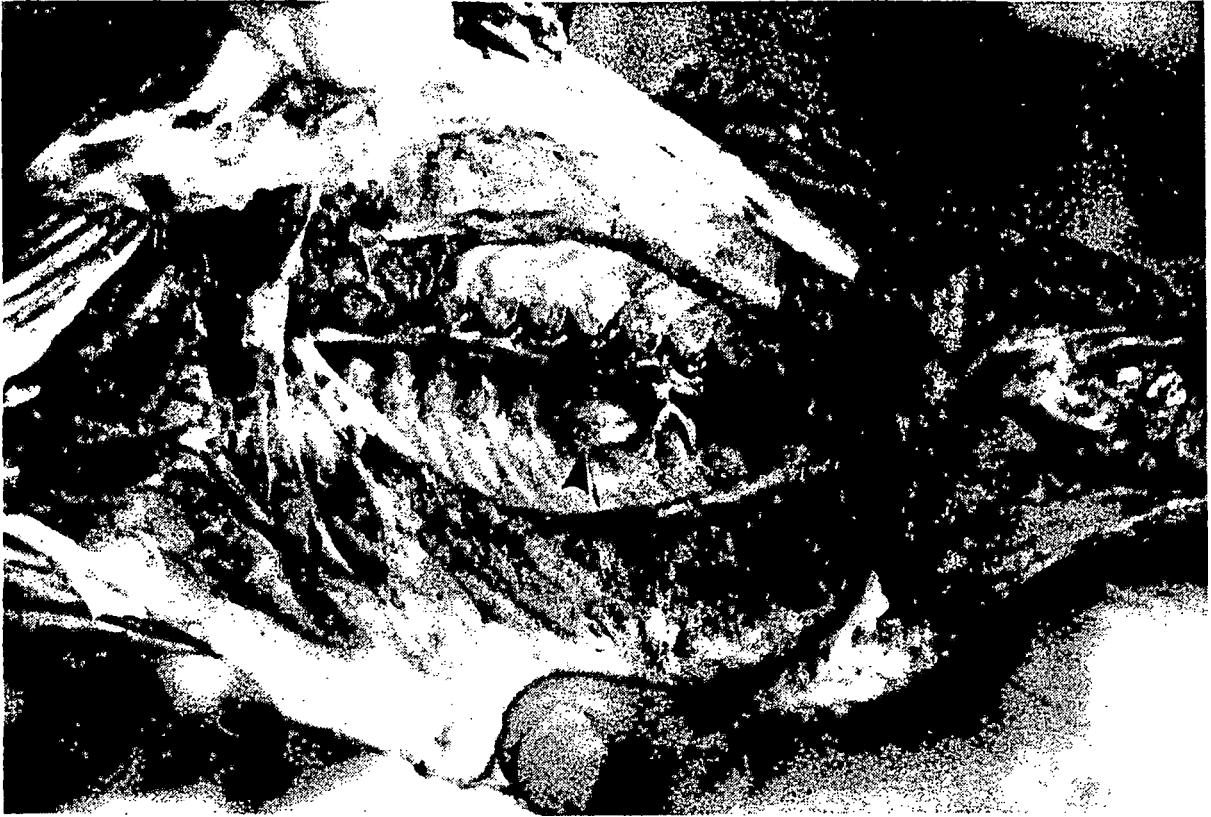
Acute aflatoxicosis in rainbow trout liver showing necrotic area (white), other pallid areas near the margin and several dark hemorrhagic areas. (From Halver, 1972, Fig. 34, p. 501.)

EIKONA 3.2.



Focal neoplastic tissue (arrowed) within liver of trout with aflatoxicosis. The normal tissue (N) is paler staining and has a marked inflammatory infiltrate. H & E, $\times 100$

EIKONA 3.3.



Renal tubular carcinoma in tilapia fed on a moldy diet.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο

**ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ
ΠΗΓΩΝ ΣΤΙΣ ΙΧΘΥΟΤΡΟΦΕΣ**

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.1.

**ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ
ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΙΡΙΔΙΖΟΥΣΑ
ΠΕΣΤΡΟΦΑ (*Salmo gairdneri*).**

B.E. March, Carol Macmillan και F. W. Ming

Aquaculture, 47 (1985), pp 275-292

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αυξανόμενη παραγωγή τροφών για την καλλιέργεια ψαριών ψυχρών υδάτων απαιτεί την εξασφάλιση υψηλής θρεπτικής αξίας πρωτεϊνών από διάφορες πηγές. Υπάρχει ένα πλήθος διαδικασιών που ακολουθούνται γενικά για ομοιοθερμα ζώα της ξηράς, σ'ότι αφορά στην εκτίμηση της θρεπτικής αξίας των πρωτεϊνικών πηγών. Η υιοθέτηση αυτών των διαδικασιών και για τα ψάρια εμφανίζει κάποια προβλήματα: (1) η σχετικά αργή αύξηση του ψαριού, η οποία συνδέεται με τον χαμηλό μεταβολικό ρυθμό στις χαμηλές θερμοκρασίες, αντιτίθεται στην χρήση βραχυχρόνιων τεστ για τον έλεγχο της ποιότητας (2) οι μηχανισμοί με τους οποίους το ψάρι χρησιμοποιεί την πρωτεΐνη σαν μία πηγή ενέργειας, και (3) η γενικά φτωχή χρησιμοποίηση και εκμετάλλευση από το ψάρι, των υδατανθράκων οι οποίοι υπάρχουν στα συμπληρώματα και τα συμπυκνώματα φυτικών πρωτεϊνών.

Τα ακόλουθα πειράματα σύγκριναν τεχνικές με τις οποίες η ποιότητα της πρωτεΐνης μπορεί να εκτιμηθεί με βραχυχρόνιες βιολογικές μεθόδους. Μελετήθηκαν οι κατάλληλες ποσότητες πρωτεΐνης, στην τροφή τα επίπεδα θρέψης, καθώς και τα κριτήρια βιολογικής απόκρισης για την εκτίμηση της ποιότητας της πρωτεΐνης.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τρία πειράματα διεξήχθησαν, το καθένα με ένα συγκεκριμένο σκοπό. Σε όλα χρησιμοποιήθηκε ιριδίζουσα πέστροφα, σε θερμοκρασία νερού $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$, φωτισμός με λάμπες φθορίου 40W, σύμφωνα με την φυσική φωτοπερίοδο. Σε κάθε πείραμα κάθε αγωγή εφαρμόστηκε σε μία δεξαμενή. Ωστόσο σε κάθε πείραμα ο σχεδιασμός συμπεριλάμβανε κρυφό αντίγραφο έτσι ώστε τα αποτελέσματα να μπορούν να εκτιμηθούν στατιστικά.

Πείραμα 1

Πρωταρχικός σκοπός η εξέταση της καταλληλότητας της χρήσης ψαριών που επιλέγονται, εντός ενός στενού εύρους βάρους, σαν πειραματόζωα.

Συγκρίθηκαν δύο πρωτεϊνικές πηγές. Η πρώτη ήταν ένα παρασκευασμένο στο εργαστήριο άλευρο από φιλέτα rollock, μαγειρευμένα σε αυτόκαυστο στους 127°C για 25 λεπτά τα οποία λυοφυλίστηκαν και αλέστηκαν έτσι ώστε να αποκτήσουν μέσο μέγεθος κόκκου μικρότερο του ενός mm. Η δεύτερη ήταν ένα δείγμα της προηγούμενης το οποίο είχε θερμανθεί σε αυτόκαυστο για 3.5 ώρες στους 127°C και ξηρανθεί στον αέρα. Και τα δύο άλευρα περιείχαν 95% πρωτεΐνη, 1% νερό, και περίπου 1% λίπη εκχυλισίμα με αιθέρα. Τα δύο ιχθυάλευρα συγκρίθηκαν με βιολογικά τεστ για δύο επίπεδα συμμετοχής τους στην πειραματική τροφή (πίνακας 1). Οι τροφές πελλετοποιήθηκαν και στη συνέχεια θρυμματίστηκαν.

Το πείραμα διεξήχθη από Νοέμβρη έως Δεκέμβρη. Αριθμός ψαριών: 6.000; Μέσο βάρος σώματος : 0,84 gr; Περίοδος εγκλιματισμού: 1 εβδομάδα, παρεχόμενη αρχική τροφή: μία εμπορική τροφή; Ακολούθησε 24ωρη διακοπή τροφής, αναισθητοποίηση με 2 φαινοξυαιθανόλη (0.5 ml/lit) και κατά άτομο ζύγιση. Αφού έγινε επιλογή ενός πληθυσμού ψαριών από 0,8 έως 0,9gr (Μέσο βάρος 0,84 gr.) διαμοιράστηκαν τυχαία στις δεξαμενές. Αριθμός δεξαμενών: 17 (50 ψάρια /δεξαμενή μέσου βάρους 0.84 gr. Επιλέχθηκε μία επιπλέον δεξαμενή με ψάρια μέσου βάρους το 1.1gr, ενώ μια τρίτη ομάδα ψαριών θανατώθηκε και καταψύχθηκε για μελλοντική ανάλυση. Κάθε μία από τις 4 πειραματικές τροφές χορηγήθηκε σε 4 επίπεδα: κορεσμού, 75%, 50% και 25% κορεσμού. Ο κορεσμός υπολογίστηκε με βάση τη τροφή που κατανάλισκαν τα ψάρια στο μικρότερο βαθμό. Δηλ. από τα ψάρια που τρέφονταν με την τροφή (20% σε πρωτεΐνη). Κάθε μία από τις 16 αγωγές εφαρμόστηκε σε μια δεξαμενή με ψάρια (μέσο βάρος 0.84 gr). Τα ψάρια στις δύο πρόσθετες δεξαμενές δεν πήραν καθόλου τροφή σ'όλη τη διάρκεια του πειράματος, και τα δεδομένα που πάρθηκαν για τα ψάρια αυτά χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση των μεταβολικών απωλειών κατά την περίοδο του πειράματος.

Τα ψάρια τρέφονταν 4 φορές την ημέρα για 21 ημέρες. Ακολούθησε διακοπή της τροφής για 24 ώρες, θανάτωση των ψαριών, ατομικό ζύγισμα, λυοφιλισμός και επαναζύγιση. Αφού διαμοιράστηκαν σε δείγματα, των 16-17 ψαριών ακολούθησε ανάλυση για ολική πρωτεΐνη, λίπη (εκχυλιση με διεθυλαιθέρα, τέφρα και ολική ενέργεια.

Πείραμα 2

Μία προσέγγιση για την εκτίμηση της ποιότητας της πρωτεΐνης είναι η μέτρηση της απόκρισης των ψαριών σε ένα εύρος συγκεντρώσεων της υπό εξέταση πρωτεΐνης, και η σύγκριση με αυτή που παίρνουμε από ένα εύρος συγκεντρώσεων μίας πρωτεΐνης - αναφοράς ο κορεσμός υπολογίστηκε με βάση τη τροφή που καταναλίσκουν τα ψάρια στο μικρότερο βαθμό. Δηλ. από τα ψάρια που τρέφονταν με την τροφή (20% σε πρωτεΐνη). (Hegsted και Chang, 1965). Το πείραμα 2 σχεδιάστηκε για να μελετήσει τις αποκρίσεις της ιριδίζουσας πέστροφας με αυτή τη μέθοδο αξιολόγησης της ποιότητας της πρωτεΐνης.

Το ιχθυάλευρο αναφοράς παρασκευάστηκε όπως στο πείραμα 1, αλλά εδώ χρησιμοποιήθηκε μπακαλιάρος. Όμοια και το άλευρο με υπερθέρμανση. Σχεδιάστηκαν 2 σειρές τροφής έτσι ώστε να περιέχουν διαφορετικά ποσοστά πρωτεΐνης, όπου τα αντίστοιχα άλευρα συμπεριλήφθησαν σε ποσοστά 17,28, 39 και 50% (πιν. 2). Οι τροφές πελλετοποιήθηκαν και στη συνέχεια θρυμματίστηκαν.

Το πείραμα διεξήχθη από Ιανουάριο έως Φεβρουάριο. Αριθμός ψαριών 800 (με βάρη από 1.3 έως 1.4gr) μέσο βάρος 1.34gr. Διαχωρίστηκαν τυχαία σε 16 ομάδες των 30 ψαριών. Τα ψάρια της μίας ομάδας θανατώθηκαν και καταψύχθηκαν για μελλοντική ανάλυση. Στις 15 δεξαμενές προστέθηκε μία ακόμα με 30 ψάρια με μέσο βάρος 1.62 gr. Τα τελευταία ψάρια, καθώς και αυτά μίας δεξαμενής από τις 15 έμειναν ατάιστα, για να προσδιοριστούν οι μεταβολικές απώλειες. Διάρκεια πειράματος: 19 ημέρες.

Κάθε πειραματική τροφή του πίνακα 2 χορηγήθηκε σε επίπεδο κορεσμού σε μια και μόνο ομάδα ψαριών. Η χορήγηση των τροφών έγινε έτσι ώστε η ποσότητα προσλαμβανομένης πρωτεΐνης από την τροφή να είναι η ίδια για όλες τις ομάδες. Η ημερήσια δόση τροφής δινόταν σε 4 ίσα γεύματα ανά διαστήματα 2ωρών.

Ακολούθησε διακοπή της τροφής για 24 ώρες, θανάτωση των ψαριών, ατομικό ζύγισμα, Λυοφυλισμός και επαναζύγιση. Τα ψάρια κάθε ομάδας χωρίστηκαν σε 3 δείγματα των 10. Ομογενοποιήθηκαν αναλύθηκαν για ολική πρωτεΐνη λίπη (εκχειλιζόμενα με αιθέρα), τέφρα, και ενεργειακό περιεχόμενο. Με τον ίδιο τρόπο έγινε ανάλυση στα δείγματα των πειραματικών τροφών.

Πείραμα 3

Αυτό το πείραμα σχεδιάστηκε για να εξετάσει την εφαρμοσιμότητα των τεχνικών που χρησιμοποιήθηκαν στα 2 προηγούμενα πειράματα για την αξιολόγηση συμπυκνωμάτων πρωτεϊνών φυτικής και ζωϊκής προέλευσης.

Ένα δείγμα εργαστηριακά παρασκευασμένου αλεύρου από μπακαλιάρο χρησιμοποιήθηκε σαν πηγή πρωτεΐνης αναφοράς. Αυτό το ιχθυάλευρο παρασκευάστηκε όπως στο πείραμα 1. Το άλευρο σολομού ήταν ένα εμπορικό υπό-προϊόν κονσερβοποιίας, όπως εμπορικά ήταν τα άλευρα σόγιας και Canola. Τα τρία αυτά άλευρα συμπεριλήφθησαν στις τροφές που παρουσιάζονται στον πίνακα 3. Κάθε πηγή πρωτεΐνης χρησιμοποιήθηκε σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης.

Το πείραμα διεξήχθη Ιανουάριο και Φεβρουάριο. Αριθμός ψαριών: 1800 Μέσο βάρος 0.45gr (εύρος 0.4 - 0.6 gr). Αριθμός δεξαμενών: 33 (35 ψάρια/δεξαμενή). Σε 4 δεξαμενές χορηγήθηκε σε κάθε μία από τις 4 πειραματικές τροφές μέχρι κορεσμού για 5 ημέρες. Σε μία δεξαμενή χορηγήθηκε εμπορική τροφή μέχρι κορεσμού. Μετρήθηκε η κατανάλωση τροφής ανά δεξαμενή. Μετά από 5 ημέρες έγινε ομαδική ζύγιση, σε κάθε δεξαμενή και άρχισε η πειραματική περίοδος έχοντας τα ψάρια εγκλιματισμένα στις διαφορετικές τροφές. Με βάση τη ποσότητα της καταναλωθείσας τροφής τις 5 προηγούμενες ημέρες στα ψάρια στις 4 δεξαμενές, κάθε μία από τις τροφές, χορηγήθηκε σε ένα από τα ακόλουθα επίπεδα θρέψης: (1) κορεσμός, (2) 75% (3) 50%, (4) 25% κορεσμού. Διάρκεια πειράματος 21 ημέρες; Συχνότητα χορήγησης τροφής 3 φορές /ημέρα. Κατά τις 21 αυτές ημέρες τα ψάρια που τράφηκαν με την εμπορική τροφή κατά την περίοδο εγκλιματισμού, δεν τρέφονταν για να καθοριστούν οι απώλειες λόγω μεταβολισμού. Ακολούθησε θανάτωση, ομαδικό ζύγισμα, διαχωρισμός σε δείγματα 17-18 ψαριών, για κάθε αγωγή, κατάψυξη, αναλύσεις.

Οι πειραματικές τροφές και τα ψάρια αναλύθηκαν για πρωτεΐνη, λίπη (εκχυλιζόμενα με αιθέρα), τέφρα και ενέργεια.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στους πίνακες 1-3 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις πρωτεΐνης, λίπους, τέφρας και ενέργειας. Κάθε τροφή που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε πείραμα. Στους πίνακες 4-6 παρουσιάζεται η αύξηση του σωματικού βάρους, του ενεργειακού και πρωτεϊνικού περιεχόμενου των

φαριών. Η αύξηση σε ενέργεια των φαριών, των πειραμάτων 1 και 2 παρουσιάζεται όπως αυτή υπολογίστηκε από τον προσδιορισμό της ενέργειας του σώματος με θερμιδομετρητή (bomb Calorimetry) και από εκτιμήσεις με βάση τις αυξήσεις σε πρωτεϊνικό και ενεργειακό περιεχόμενο. Οι τιμές που υπολογίστηκαν ήταν ελαφρώς υψηλότερες πιθανότατα εξ αιτίας του γλυκογόνου το οποίο δεν λήφθηκε υπόψιν στις εκτιμήσεις και διότι το λίπος δεν μπορεί να εκχειλιστεί 100% με τη χρήση διαιθυλαιθέρα.

Οι απώλειες λόγω μεταβολισμού των φαριών που παρέμειναν χωρίς τροφή σε κάθε πείραμα, χρησιμοποιήθηκαν για την διαμόρφωση εξισώσεων πρόβλεψης για τον προσδιορισμό των απαιτήσεων για διατήρηση (M) (σε πρωτεΐνη και ενέργεια), των φαριών των τριών πειραμάτων. Αδημοσίευτα δεδομένα από άλλο πείραμα στο οποίο η τροφή διακόπηκε σε πέστροφα με μέσο βάρος τα 2.72 gr, που προερχόταν από τον ίδιο αρχικό πληθυσμό όπως και τα προηγούμενα, και διατηρήθηκε στις ίδιες εγκαταστάσεις κάτω από παρόμοιες συνθήκες, χρησιμοποιήθηκαν για να επεκταθεί το εύρος των τιμών του βάρους για τις εξισώσεις προβλέψεων.

Η εξίσωση που προβλέπει τις ενεργειακές απώλειες εντός της περιόδου των 21 ημερών (least - Squares Curve Fitting) (Miller, 1981) είναι η :

$$y = 27.0 + 263.8.X + 30.7 . X^2$$

όπου: x = αρχικό βάρος του φαριού σε gr, y =ενεργειακές απώλειες σε cal και $r=0.9936$.

Οι ενεργειακές απώλειες της πέστροφας κατά τις 21 ημέρες επηρεάστηκαν από το ποσοστό του λίπους στο σώμα, όπως επίσης και από το ποσοστό της πρωτεΐνης που υπήρχε κατά την στιγμή της διακοπής της τροφής. Η λύση του συστήματος των δύο εξισώσεων αυτής με την αρχική περιεχόμενη πρωτεΐνη και λίπος και αυτής με τις υπολογισμένες απώλειες λίπους και πρωτεΐνης, κατά την περίοδο της ασιτίας μας έδωσαν την ακόλουθη γραμμική εξίσωση:

$$\text{Απώλεια πρωτεΐνης (gr)} = 1.15 X - 2.75y - 7.27$$

όπου: y = αρχικό βάρος σε gr της πρωτεΐνης του σώματος, y = αρχικό βάρος σε gr του λίπους του σώματος και r = η συσχέτιση μεταξύ των προβλεπόμενων και των υπολογισμένων τιμών για απώλεια σε πρωτεΐνη = 0.9999.

Οι εκτιμώμενες απαιτήσεις για διατήρηση (M) σε πρωτεΐνη και ενέργεια υπολογίσθηκαν για τα ψάρια από κάθε μία αγωγή με τη χρήση του:

$$\frac{\text{BWT1} + \text{BWT2}}{2} = \text{Εκτιμώμενο μέσο βάρος σώματος κατά τα μέσα του πειράματος}$$

όπου: BWT1 και BWT2 είναι το μέσο αρχικό και τελικό βάρος σώματος, αντίστοιχα.

Οι εκτιμώμενες μεταβολικές απαιτήσεις σε ενέργεια και πρωτεΐνη από τα ψάρια, σε κάθε διατροφική αγωγή, χρησιμοποιήθηκαν για να διορθώσουν τις τιμές απόδοσης της ενέργειας και της πρωτεΐνης, έτσι ώστε στις τελευταίες να συμπεριλαμβάνεται η ενέργεια και πρωτεΐνη, που καταναλώνεται τόσο για την διατήρηση όσο και για την αύξηση (του

σώματος). Καθένας από τους πίνακες IV, V, VI το G αναφέρεται στην αύξηση ενέργειας (ή πρωτεΐνης).

Οι ενεργειακές και πρωτεϊνικές απώλειες των ψαριών όταν δεν τους χορηγείται τροφή ή όταν του χορηγείται τροφή που δεν περιέχει πρωτεΐνες υποεκτιμούν τις απαιτήσεις για διατήρηση M του ψαριού, διότι οι ρυθμοί απώλειας μειώνονται καθώς το ψάρι χάνει βάρος και διότι μπορεί να υπάρξει μία μείωση του ρυθμού μεταβολισμού. Ο Sockeye σολομός έχει αναφερθεί από τους Brett και Zala (1975) ότι παρουσιάζει μια σταθερή μείωση του ρυθμού μεταβολισμού κατά την διάρκεια ασιτίας 21 ημερών όπως επίσης μείωση του βάρους του σώματος. Οι απαιτήσεις για διατήρηση M, οι οποίες προέρχονται από τις εξισώσεις πρόβλεψης που περιγράφηκαν πιο πάνω, συνυπολογίζουν την αύξηση της καθημερινής απαίτησης διατήρησης με βάση το αυξανόμενο μέγεθος του ψαριού. Το πηλίκο $G+M/T$ (πίνακας 4) μπορεί, επομένως, να είναι η καλύτερη εκτίμηση της απόδοσης της διατροφικής πρωτεΐνης και ενέργειας από το ψάρι.

Πρέπει να τονιστεί το γεγονός ότι σε αυτά τα πειράματα για την μέτρηση των μεταβολικών απωλειών χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της μη χορήγησης τροφής παρά της χορήγησης τροφής χωρίς πρωτεΐνη, οπότε οι εξισώσεις πρόβλεψης είναι πιο χρήσιμες για τον υπολογισμό της ενέργειας διατήρησης από ότι της πρωτεΐνης διατήρησης. Αυτή η τεχνική υιοθετήθηκε γιατί η τάση του ψαριού να μην δέχεται τροφές χωρίς πρωτεΐνη θα οδηγούσε επίσης σε σφάλμα, το οποίο θα ήταν πιο δύσκολο να ξεπεραστεί. Οι Cowey και άλλοι (1974) κατά τον υπολογισμό του NPU σε γλώσσα, χρησιμοποίησαν μία τροφή με μικρή ποσότητα

πρωτεΐνης (7,5% πρωτεΐνη και 5% γαριδάλευρο) για να εξασφαλίσουν την πρόσληψη της τροφής από το ψάρι.

Και αυτή η διαδικασία προκαλεί δυσκολίες στην εκτίμηση των αποτελεσμάτων.

Στο διάγραμμα 1 βλέπουμε την αύξηση του βάρους σε σχέση με την καταναλισκόμενη πρωτεΐνη από τροφές που περιέχουν διαφορετική πηγή πρωτεΐνης. Επειδή παρατηρείται απώλεια τροφής στις ομάδες που τρέφονται μέχρι κορεσμού, έτσι αυτές οι τιμές έχουν παραληφθεί. Οι ευθείες παλινδρόμησης (για τις τροφές που περιέχουν άλευρο μπλκαλιάρου, σολωμού, σόγιας και Candd, αντίστοιχα), έχουν σαν τιμές r : 0,9924, 0,9946, 0,9906 και 0,9965 και κλίση: 4,06, 3,72, 4,16 και 3,34 αντίστοιχα.

ΘΕΜΑΤΑ ΓΙΑ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.

Το επίπεδο θρέψης σαν ένας παράγοντας που επηρεάζει την επίδραση της ποιότητας της πρωτεΐνης.

Η στατιστική ανάλυση της αύξησης του σωματικού βάρους στο πείραμα 1 μας δείχνει την ευαισθησία των βραχυχρόνιων πειραμάτων σε επιλεγμένους πληθυσμούς ψαριών, για την αξιολογή ποιότητας της πρωτεΐνης. Το πλεονέκτημα της χρήσης των 4ων επιπέδων θρέψης έναντι των πολλαπλών (replicates) επαναλήψεων της αγωγής σε ένα μόνο επίπεδο θρέψης είναι ότι αυτή επιτρέπει την σύγκριση μεταξύ των 2 πρωτεϊνικών πηγών σε διαφορετικά επίπεδα λήψης, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 2. Σε κάθε πρωτεϊνική πηγή, η αύξηση βάρους ανά μονάδα πρωτεΐνης που καταναλωνόταν (PER) ήταν παρόμοια για 20%

και 30% πρωτεΐνης. Η ευθεία παλινδρόμησης υπολογιζόμενη από συνδιασμένα δεδομένα του αλεύρου αναφοράς είχε κλίση 3.37 και r 0.0923. Παρόμοια, τα δεδομένα των τροφών που περιείχαν το άλευρο μετά από υπερθέρμανση έδωσαν μια ευθεία με κλίση 2.83 και r 0.9904.

Η συγκέντρωση της πρωτεΐνης στην τροφή σαν ένας παράγοντας που επηρεάζει την επίδραση της ποιότητας της πρωτεΐνης.

Στο πείραμα 2 οι συγκεντρώσεις σε πρωτεΐνη των τροφών που παρασκευάστηκαν με το ιχθυάλευρο αναφοράς και το μετά από υπερθέρμανση άλευρο είχαν ποσοστά πρωτεΐνης 20,30,40 και 50%. Όλες οι τροφές περιείχαν 300gr wheat Middlings ανά kg, το οποίο συνίσφερε το 4.5% πρωτεΐνης σε κάθε τροφή. Το προφίλ σε διατροφικά αμινοξέα επομένως θα άλλαζε σε σχέση με αυτό του ιχθυαλεύρου σε συνάρτηση με το συνολικό ποσό της πρωτεΐνης στην τροφή.

Από το διάγραμμα 3 μπορεί κανείς να δει ότι με 20% πρωτεΐνη υπήρχε μικρή μόνο διαφορά στα αποτελέσματα από δύο άλευρα... Ανάμεσα στο 30 και 45% πρωτεΐνης η αύξηση από το μετά από υπερθέρμανση άλευρο ήταν σταθερή στο 82-84% αυτής που επετεύχθει από το ιχθυάλευρο αναφοράς. Στην περίπτωση του κυπρίνου όπως έχει διατυπωθεί από τον Ogino και Chen (1973) οι τιμές των Βιολογικών Παραμέτρων των 4 πρωτεϊνών ήταν ανάλογες για εύρος συγκεντρώσεων πρωτεΐνης από 11 έως 43%. Ανάλογα η γλώσσα παρουσίασε σημαντικές διαφορές στην αύξηση για διαφορετικές πηγές πρωτεΐνης ακόμη και για 50% πρωτεΐνη (Coweay 1974).

Το πείραμα 2 συμπεριλάμβανε αγωγές στις οποίες τα ψάρια που τρέφονταν με τροφές με υψηλά ποσοστά πρωτεΐνης περιορίζονταν σε

καθημερινή ποσότητα προσλαμβανομένης πρωτεΐνης ίσης με αυτή που κατανάλωναν τα ψάρια που τρέφονταν με τροφές πτωχές σε πρωτεΐνες. Αυτή η διαδικασία μείωνε την ποσότητα προσλαμβανομένης ενέργεια όσο η συγκέντρωση της πρωτεΐνης στη τροφή αυξανόταν. Η αύξηση του σωματικού βάρους, ωστόσο, ήταν μεγαλύτερη στα ψάρια που τους χορηγούνταν περιορισμένες ποσότητες των τροφών με ενδιάμεσα ποσοστά πρωτεΐνης. Με τις τροφές του 48 και 45% σε πρωτεΐνή το σωματικό βάρος των ψαριών ήταν χαμηλότερο από αυτό των τροφών του 20% πρωτεΐνης.

Οι Υδατάνθρακες των φυτικών πηγών πρωτεΐνης σαν ένας παράγοντας που επηρεάζει την επίδραση της ποιότητας της πρωτεΐνης.

Στο πείραμα 3 η Δεξτρίνη ήταν ο καθαρός υδατάνθρακας που χρησιμοποιήθηκε στο σχεδιασμό των τροφών. Οι τροφές, ανεξάρτητα από την πρωτεϊνική πηγή σχεδιάστηκαν έτσι ώστε να περιέχουν ίσες ποσότητες πρωτεΐνης, λίπους και εκχυλίσματος ελευθέρου από άζωτο. Η συγκέντρωση των μετάλλων στις τροφές 3 και 4 ήταν πολύ ψηλότερη από ότι στην τροφή 1 σαν αποτέλεσμα του ψηλού περιεχομένου οστών στο άλευρο του σολωμού. Το ποσοστό φυτικών ινών στις τροφές 5-8- ήταν πολύ ψηλότερο από ότι στην τροφή 1 λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες του αλευρου της σόγιας και της Canola. Αυτοί οι παράμετροι δεν λήφθηκαν υπόψη δεδομένου ότι θα οδηγούσαν σε λιγότερο εσφαλμένα συμπεράσματα από ότι αν γινόταν προσπάθεια εμπλουτισμού των τροφών με τα αντίστοιχα συστατικά.

Παράμετροι απόκρισης για την εκτίμηση της ποιότητας της πρωτεΐνης.

Παρόλη την έρευνα που έχει γίνει μένει αναπάντητο το ερώτημα της βιολογικής εκτίμησης, της ποιότητας της πρωτεΐνης (Bender, 1982). Στην πράξη σπάνια μεμονωμένα υλικά αποτελούν τη μοναδική πηγή πρωτεΐνης σε μία τροφή. Πολλές παράμετροι της ποιότητας της πρωτεΐνης είναι ευαίσθητες στην συγκέντρωση της πρωτεΐνης και στο λόγο πρωτεΐνης προς ενέργεια. Επομένως, δεν μπορεί να προσδιοριστεί καμία απόλυτη τιμή, μέσω βιολογικής μεθόδου, για την θρεπτική αξία μίας πρωτεϊνικής πηγής, η οποία θα ήταν εφαρμόσιμη κάτω από όλες τις συνθήκες.

Οι τεχνικές που περιγράφηκαν μπορεί να εφαρμοστούν για την πρακτική αξιολόγηση των πρωτεϊνικών πηγών, οι οποίες προορίζονται για τις τροφές της πέστροφας. Ο αριθμός των ψαριών και η διάρκεια του πειράματος μπορεί να μειωθούν με τη χρήση ψαριών επιλεγμένων με ομοιόμορφο βάρος βελτιώνοντας έτσι την ευαισθησία της μεθόδου με αποτέλεσμα την ευκολότερη διαπίστωση και αξιολόγηση των διαφορών στην απόκριση. Η ανάγκη ανάλυσης του σώματος των ψαριών είναι προφανής για τον υπολογισμό της PER (αύξηση υγρού βάρους σαν αποτέλεσμα της προσλαμβανομένης πρωτεΐνης). Η PER (Protein Efficiency Ratio) ήταν πολύ υπήρξε ευαίσθητη σε σχέση με την ποιότητα της πρωτεΐνης για ένα μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων πρωτεΐνης (πίνακας 5). Αν και η PER έχει το μειονέκτημα του ότι είναι ευαίσθητη στην συγκέντρωση της πρωτεΐνης, η γραμμική απόκριση της αύξησης του βάρους σε διαβαθμισμένα επιπέδα πρωτεΐνης, που επετεύχθη με

ελεγχόμενη θρέψη, αποτελεί μία χρήσιμη τεχνική, για την σύγκριση των πρωτεϊνικών πηγών.

Η χορήγηση πειραματικών τροφών που περιέχουν διαβαθμιζόμενες συγκεντρώσεις μίας πρωτεϊνικής πηγής μπορεί να μας δώσει επιπλέον, πληροφορίες, πέρα από αυτές που αναφέρονται ειδικά στην ποιότητα της πρωτεϊνικής πηγής. Για παράδειγμα, στο πείραμα 3 οι τροφές που περιείχαν άλευρο από Canola έδωσαν φτωχότερη ανάπτυξη από αυτές που περιείχαν άλευρο μπακαλιάρου. Η ανάπτυξη (αύξηση βάρους) των ψαριών που τρέφονταν με Canola meal μέχρι κορεσμού ήταν 69% και 75% αυτής των ψαριών που τρέφονταν με αλευρομπακαλιάρου για ίδιο επίπεδο πρωτεΐνης (πίνακας 6). Οι αντίστοιχες τιμές της σχετικής αποδοσης των πρωτεϊνών, και $(G+M)/I$, ήταν 93% και 81% αντίστοιχα και η σχετική απόδοση ενέργειας, $(G+M)/I$ ήταν 86% και 73% αντίστοιχα. Οι τιμές αποδοσης συμφωνούν περισσότερο με την τιμή 82.3, που υπολογίστηκε από την κλίση της γραμμής ανάπτυξης με χρήση αλεύρου Canola σε σχέση με αυτή με χρήση αλεύρου μπακαλιάρου, για ένα εύρος ποσοτήτων λαμβανομένης πρωτεΐνης. Αυτό υπονοεί ότι μερικοί παράγοντες στα άλευρα από Canola μείωσαν την όρεξη αλλά δεν περιόρισαν την διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων.

Πιο θεωρητική εξέταση των παραγόντων διακύμανσης και ποικιλομορφίας στην απόκριση της ιριδίζουσας πέστροφας στις τροφές που συνθέτονται από διαφορετικά συστατικά, μπορεί μέσω παραμέτρων, όπως π.χ. στις τιμές αποδοσης, από την εκμετάλλευση του διατροφικού αζώτου και ενέργειας. Στο διάγραμμα 4 απεικονίζεται πως στο πείραμα 1 υπήρχε μεγαλύτερη μείωση της απόδοσης της πρωτεΐνης όσο αναφορά

την αύξηση και την διατήρηση από ότι της αποδοσης της ενέργειας για αύξηση και διατήρηση, καθώς το επίπεδο θρέψης αυξανόταν από το 25% κορεσμού στο 100% κορεσμό. Καθώς η πρόσληψη τροφής πλησίαζε το επίπεδο κορεσμού (100%), όλο και μεγαλύτερο ποσοστό της πρωτεΐνης που πέπτοταν χρησιμοποιούταν για τη κάλυψη ενεργειακών αναγκών, μολονότι οι συγκεντρώσεις πρωτεΐνης στις πειραματικές τροφές ήταν κάτω των συγκεντρώσεων για μέγιστη ανάπτυξη της πέστροφας αυτού του μεγέθους.

Ο πίνακας 5 μας δείχνει ότι η απόδοση της ενέργειας αυξανόταν καθώς η διατροφική πρωτεΐνη αυξανόταν, τόσο με την χρήση του ιχθυάλευρου αναφοράς όσο και με του υπερθερμασμένου αλεύρου για τα ψάρια που τρέφονταν είτε σε επίπεδα κορεσμού ή σε ελεγχόμενα επίπεδα προσλαμβανομένης πρωτεΐνης. Η εναπόθεση ενέργειας από ίδιες ποσότητες προσλαμβανομένης πρωτεΐνης ήταν πιο αποτελεσματική στις τροφές υψηλού περιεχομένου σε πρωτεΐνη. Αυτό το γεγονός υπονοεί ότι τα αμινοξέα που δεν χρησιμοποιούνταν στην σύνθεση σωματικής πρωτεΐνης χρησιμοποιούταν πιο αποδοτικά σαν πηγή ενέργειας από ότι η γλυκόζη (την οποία η πρωτεΐνη αντικαθιστούσε καθώς οι πρωτεϊνικές συγκεντρώσεις των τροφών αυξανόνταν). Οι Hilton και Atkinson (1982) παρουσίασαν στοιχεία για το ότι αν και η ιριδίζουσα πέστροφα μπορεί να εξοικιωθεί με αυξανόμενα ποσοστά υδατανθράκων στη τροφή, εάν η συγκέντρωση αυτών ξεπεράσει το 14% η ανάπτυξη περιορίζεται. Η γλυκόζη χρησιμοποιήθηκε στις τροφές αυτού του πειράματος γιατί είναι σχεδόν ολικά απορροφήσιμη από την ιριδίζουσα πέστροφα, για εύρος συγκεντρώσεων της σε τροφές (Singh και Nose, 1971). Επομένως είναι

πιο εύκολο να διαγνωσθούν οι συνέπειες της αντικατάστασης της από πρωτεΐνη, από ότι εάν είχε χρησιμοποιηθεί ένας πιο σύνθετος υδατάνθρακας, αμφιβόλου πεψιμότητας.

Τα δεδομένα απόκρισης των ψαριών του πειράματος 2, για διαφορετικές συγκεντρώσεις διατροφικής πρωτεΐνης, όταν οι τροφές χορηγούνταν σε επίπεδα κορεσμού παρουσιάζονται γραφικώς στο διάγραμμα 5. Για τις τροφές που συγκρίθηκαν στο πείραμα 2, η απόδοση της πρωτεΐνης ήταν γενικά μέγιστη όταν η τροφή περιείχε περίπου 30% πρωτεΐνη. Η απόδοση ενέργειας έδειξε ένα μεγαλύτερο εύρος και ήταν υψηλότερη για τις τροφές με 45-48% σε πρωτεΐνη. Οι υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης στις τροφές με μικρά ποσοστά πρωτεΐνης πιθανότατα μείωναν την πρόσληψη τροφής και την αποδοχή της.

Μια αρνητική επίδραση της γλυκόζης μπορεί να εξηγήσει το γιατί ο ρυθμός αύξησης αυξανόταν ακόμα στις υψηλών συγκεντρώσεων πρωτεΐνης, τροφών. Ένας επιπλέον παράγοντας που σχετίζεται με τις πρωτεϊνικές πηγές είναι τα λίπη τα οποία συχνά περιέχουν αυτές. Το ποσό των λιπών που υπάρχουν στα ιχθυάλευρα του πειράματος 2 υποτιμήθηκε κατά το σχεδιάσιμο των τροφών. Τα συμπληρώματικά λίπη στις τροφές με υψηλότερο πρωτεϊνικό περιεχόμενο αναμφίβολα συνεισέφεραν στις υψηλές τιμές αποδοχής, όσο αναφορά την χρησιμοποίηση της ενέργειας αυτών των τροφών.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.1.1.

Composition (air-dry basis) and chemical analysis (dry-weight basis) of diets used in Experiment 1

	Diets (g/kg)			
	1	2	3	4
Wheat middlings	400	400	400	400
Reference pollock meal	140	—	240	—
Overheated pollock meal	—	140	—	240
Dextrin	150	150	150	150
Glucose	150	150	50	50
Herring oil	120	120	120	120
Carboxymethyl cellulose	20	20	20	20
Sodium chloride, iodized	5	5	5	5
Bonemeal	5	5	5	5
Premix*	10	10	10	10
Crude protein (%)	21.4	20.9	31.4	29.7
Ether-extractable lipid (%)	15.4	14.8	14.5	14.7
Ash (%)	3.5	3.5	3.9	3.9
Gross energy (cal/g)	5030	5005	5150	5165

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.1.2.

Composition (air-dry basis) and chemical analysis (dry-weight basis) of diets in Experiment 2

	Diets (g/kg)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Wheat middlings	300	300	300	300	300	300	300	300
Reference cod meal	170	280	390	500	—	—	—	—
Overheated cod meal	—	—	—	—	170	280	390	500
Glucose	370	260	150	40	370	260	150	40
Herring oil	120	120	120	120	120	120	120	120
Sodium chloride, iodized	5	5	5	5	5	5	5	5
Bonemeal	5	5	5	5	5	5	5	5
Carboxymethyl cellulose	20	20	20	20	20	20	20	20
Premix*	10	10	10	10	10	10	10	10
Crude protein (%)	20.4	28.4	38.0	47.7	18.8	26.9	36.7	45.3
Ether-extractable lipid (%)	14.0	15.0	16.8	17.5	14.1	16.0	17.3	19.1
Ash (%)	3.1	3.5	3.8	4.1	3.1	3.4	3.9	4.2
Gross energy (cal/g)	4910	5170	5505	5660	4884	5155	5390	5700

*To supply 60 mg riboflavin, 164 mg calcium pantothenate, 300 mg niacin, 36 mg pyridoxine HCl, 10 mg folacin, 34 mg thiamin HCl, 3 mg biotin, 0.06 mg vitamin B₁₂, 80 mg menadione, 1728 mg choline chloride, 1200 mg ascorbic acid, 400 mg inositol, 600 IU vitamin E, 10 000 IU vitamin A, 200 IU vitamin D₃.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.1.3.

Composition (air-dry basis) and chemical analysis (dry-weight basis) of diets in Experiment 3

	Diets (g/kg)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Ground wheat	200.0	200.0	200.0	200.0	200.0	200.0	200.0	200.0
Cod meal	215.25	338.25	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0
Salmon meal	—	—	83.5	241.0	—	—	—	—
Soybean meal	—	—	—	—	110.6	319.2	—	—
Canola meal	—	—	—	—	—	—	147.6	425.7
Dextrin	438.95	327.76	437.5	323.7	399.4	213.5	383.4	177.8
Salmon oil	105.8	97.68	101.5	85.3	109.0	106.9	104.2	84.9
Bonemeal	5.0	1.31	—	—	5.0	5.0	5.0	5.0
Sodium chloride, iodized	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Carboxymethyl cellulose	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Premix*	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
	1000.0	1000.0	1007.5	1035.0	1009.0	1029.6	1025.2	1076.4
Crude protein	2.13	32.1	22.2	35.5	21.8	31.6	21.5	29.5
Ether-extractable lipid (%)	11.1	12.7	12.6	12.5	12.5	12.9	12.3	13.1
Ash (%)	3.2	3.0	3.6	5.3	3.5	4.9	4.1	5.7
Gross energy (cal/g)	5045	5430	5120	5220	5055	5610	5150	5135

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.1.4.

Average body weight, protein, lipid, ash, and energy gains by fish on different dietary regimes for 21 days (Experiment 1)

Diet	Feeding level	Gain/fish				Energy efficiency		Protein efficiency		
		Wet wt (mg)	Protein (mg)	Gross energy		G/I (%)	(G + M)/I* (%)	PER (%)	G/I (%)	(G + M)/I* (%)
				Determined (cal)	Estimated** (cal)					
Control fishmeal	Satiation	632 ^d	80.5	1109	1068	26.1	35.2	3.65	46.4	63.3
19.2% dietary protein	75% satiation	498 ^h	61.8	840	833	27.1	38.5	3.83	47.5	68.4
	50% satiation	326 ^{cd}	44.3	522	479	23.4	39.1	3.75	51.0	79.0
	25% satiation	149 ^b	19.6	176	156	15.2	43.8	3.43	45.2	94.7
Heat-damaged fishmeal	Satiation	480 ^{gh}	54.1	824	796	19.6	28.1	2.83	31.9	47.7
19.7% dietary protein	75% satiation	402 ^{ef}	45.7	662	633	20.8	31.7	3.16	35.9	56.0
	50% satiation	283 ^c	33.7	450	424	20.8	36.3	3.33	39.7	67.5
	25% satiation	90 ^a	11.1	91	83	8.2	36.1	2.12	26.1	74.4
Control fishmeal	Satiation	850 ^j	109.8	1344	1309	30.9	40.6	3.30	42.6	55.4
27.6% dietary protein	75% satiation	671 ⁱ	89.9	1049	1008	31.8	43.7	3.17	46.5	62.0
	50% satiation	429 ^{fg}	56.4	630	599	28.3	44.2	3.32	43.7	63.9
	25% satiation	197 ^b	29.5	214	217	20.5	48.9	3.06	45.7	80.3
Heat-damaged fishmeal	Satiation	674 ⁱ	79.0	1116	1068	25.3	34.2	2.76	32.4	44.7
29.2% dietary protein	75% satiation	521 ^h	62.1	828	820	25.9	37.0	2.85	34.0	49.0
	50% satiation	357 ^{de}	43.2	532	504	23.8	39.3	2.92	35.4	55.7
	25% satiation	156 ^b	20.2	172	152	14.4	42.2	2.56	33.1	68.5
Fasted (initial wet wt 840 mg)		-133	-18.4	-295	-292					

*G = gain, I = intake, M = estimated maintenance requirement for energy or protein.

**Estimated on the basis of carcass gains in protein and lipid using caloric values of 5.7 and 9.5 kcal/g, respectively.

Analysis of variance

Source of variation	df	Mean square
Diet	3	1.69 P < 0.01
Feeding level	3	8.10 P < 0.01
Interaction	9	0.689 P < 0.01
Error	784	0.0085

Values bearing the same superscript are not significantly different P < 0.01

Average body weight, protein, lipid, ash, and energy gains by fish on different dietary regimes for 19 days (Experiment 2)

Diet	Feeding level	Gain/fish				Energy efficiency		Protein efficiency		
		Wet wt (mg)	Protein	Gross Energy		G/I (%)	(G + M)/I† (%)	PER	G/I (%)	(G + M)/I† (%)
				Determined (cal)	Estimated*** (cal)					
1 Control	Satiation	646 ^{cd} ††	84.9	1238	1174	18.8	26.7	2.49	32.8	42.0
2 fishmeal	Satiation	1026	132.2	1888	1799	27.3	35.8	2.83	36.4	44.0
3	Satiation	1200	157.3	2348	2192	31.0	39.4	2.46	32.2	38.2
4	Satiation	1336	189.8	2673	2604	35.7	44.2	2.18	31.0	35.9
2	Restricted*	780 ^e	103.0	1481	1370	31.1	42.9	3.22	42.6	52.9
3	Restricted*	694 ^{de}	103.2	1368	1274	36.1	50.5	2.85	42.3	52.2
4	Restricted*	574 ^{bc}	95.8	1150	1104	37.8	54.5	2.33	39.0	48.4
5 Heat-	Satiation	512 ^{ab}	63.3	1120	1014	16.3	24.0	2.14	26.4	35.9
6 damaged	Satiation	792	99.5	1603	1504	22.9	30.9	2.32	29.3	36.6
7 fishmeal	Satiation	966	129.7	1945	1849	28.5	37.1	2.19	29.5	35.5
8	Satiation	1106	157.6	2254	2215	30.3	38.2	1.90	27.2	32.0
6	Restricted**	555 ^{bc}	76.4	1204	1105	25.2	36.3	2.43	33.3	43.4
7	Restricted**	549 ^b	78.4	1122	1016	29.4	43.4	2.33	34.2	42.9
8	Restricted**	432 ^a	74.6	898	866	29.5	45.4	1.86	32.2	41.6
Fasted (initial wet wt 1340 mg)		-244	-18.0	-340	-346					
Fasted (initial wet wt 1620 mg)		-326	-25.0	-402	-414					

*Restricted to the amount of feed required to supply the amount of protein ingested by fish on dietary treatment 1.

**Restricted to the amount of feed required to supply the amount of protein ingested by fish on dietary treatment 5.

***Estimated on the basis of carcass gains in protein and lipid using caloric values of 5.7 and 9.5 kcal/g, respectively.

†G = gain, I = intake, M = estimated maintenance requirement for energy or protein.

††Values with the same superscript are not significantly different, $P < 0.01$. Values with no superscript were not included in the statistical analysis.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.1.6.

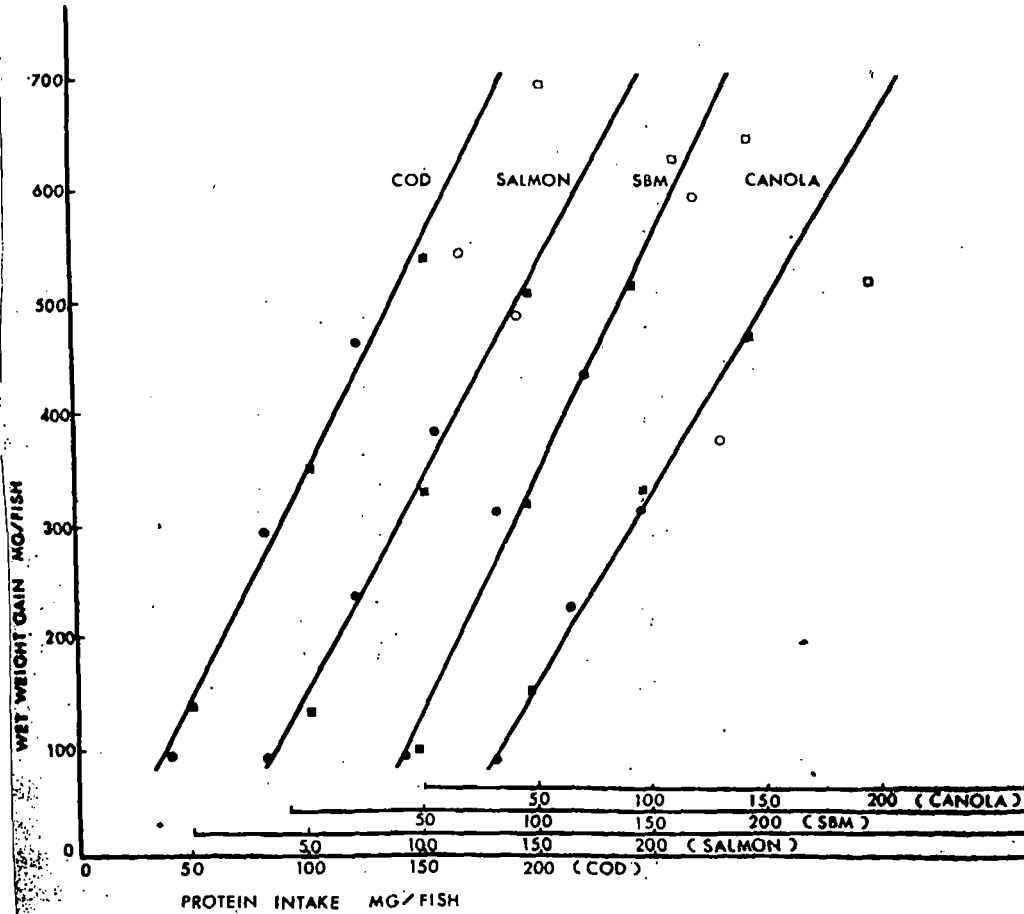
Average body weight, protein, lipid, ash, and energy gains by fish on different dietary regimes for 21 days (Experiment 3)

Diet	Feeding level	Gain/fish			Energy efficiency		Protein efficiency		
		Wet wt (mg)	Protein (mg)	Gross energy* (cal)	G/I (%)	(G + M)/I** (%)	PER	G/I (%)	(G + M)/I** (%)
1 Cod meal	Satiation	540	58.8	749	18.8	25.6	3.20	34.3	52.8
	20% dietary	462	49.4	660	22.9	31.8	3.79	40.5	63.4
	protein	293	31.9	420	21.8	33.4	3.60	39.2	67.6
	25% satiation	94	8.9	145	14.7	35.2	2.24	21.3	69.3
2 Cod meal	Satiation	690	80.1	977	28.2	37.8	3.36	39.0	55.2
	30% dietary	534	64.0	764	29.6	40.7	3.49	41.9	62.6
	protein	349	40.2	475	27.6	42.6	3.42	39.4	66.9
	25% satiation	138	14.5	156	18.1	44.0	2.71	28.5	73.3
3 Salmon meal	Satiation	487	52.3	581	17.4	24.8	3.36	36.2	54.5
	20% dietary	380	38.5	469	19.2	28.8	3.59	36.4	59.6
	protein	236	23.2	286	17.5	30.9	3.34	32.9	64.2
	25% satiation	92	7.6	91	11.7	36.7	2.73	22.6	78.8
4 Salmon meal	Satiation	624	66.4	754	20.6	28.4	2.92	31.1	45.8
	30% dietary	505	53.6	630	24.8	34.9	3.40	36.0	54.7
	protein	328	34.4	400	23.1	37.1	3.25	34.1	59.3
	25% satiation	132	14.3	137	15.7	39.3	2.59	28.0	68.1
5 Soybean meal	Satiation	590	66.4	834	21.2	28.4	3.46	38.9	57.0
	20% dietary	433	47.9	598	20.9	29.6	3.50	38.7	60.3
	protein	310	34.0	424	22.1	34.2	3.76	41.2	70.2
	25% satiation	96	8.7	119	12.4	33.3	2.33	21.0	68.3
6 Soybean meal	Satiation	641	78.0	953	27.5	35.8	3.30	40.1	56.3
	30% dietary	512	60.5	729	28.5	39.2	3.56	42.0	62.9
	protein	319	36.0	433	25.4	39.3	3.32	37.4	63.6
	25% satiation	98	11.0	117	13.6	38.3	2.02	22.7	67.0
7 Canola meal	Satiation	373	39.5	459	14.5	22.1	2.83	29.2	49.0
	20% dietary	314	35.2	391	15.9	26.2	3.21	36.1	59.3
	protein	227	24.1	262	16.8	30.3	3.47	36.9	69.5
	25% satiation	91	9.5	101	12.9	37.4	2.80	29.0	85.1
8 Canola meal	Satiation	519	60.9	689	20.1	27.5	2.63	30.9	44.7
	30% dietary	468	53.6	595	23.6	33.5	3.22	37.0	55.5
	protein	332	36.9	393	23.3	36.6	3.43	38.2	61.8
	25% satiation	149	16.4	189	16.5	40.2	3.09	31.9	71.9
Fasted (initial wet wt 607 mg)		-137	-19.8	-249					

*Estimated on the basis of carcass gains in protein and lipid using caloric values of 5.7 and 9.5 kcal/g, respectively.

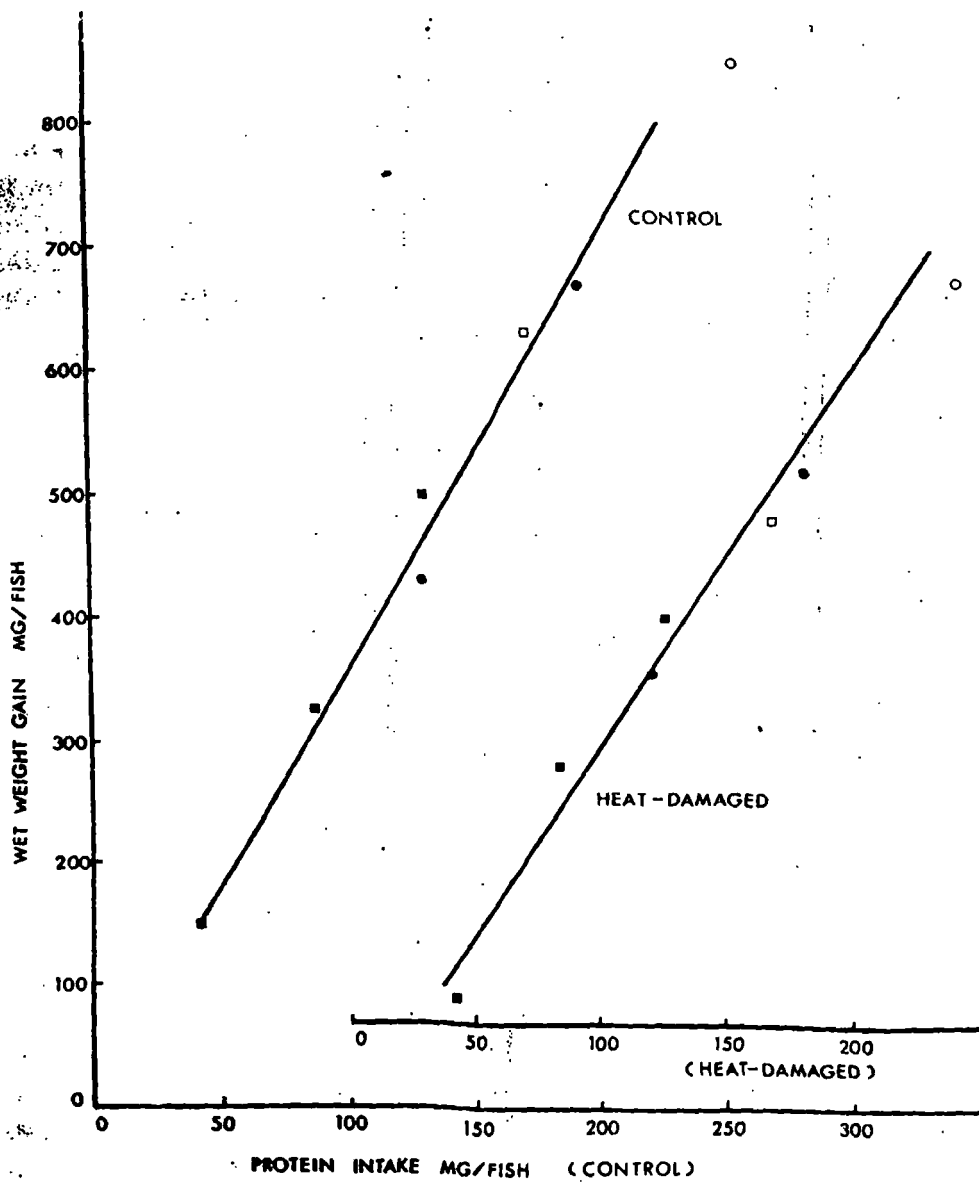
**G = gain, I = intake, M = estimated maintenance requirement for energy or protein.

ΣΧΗΜΑ 4.1.1.



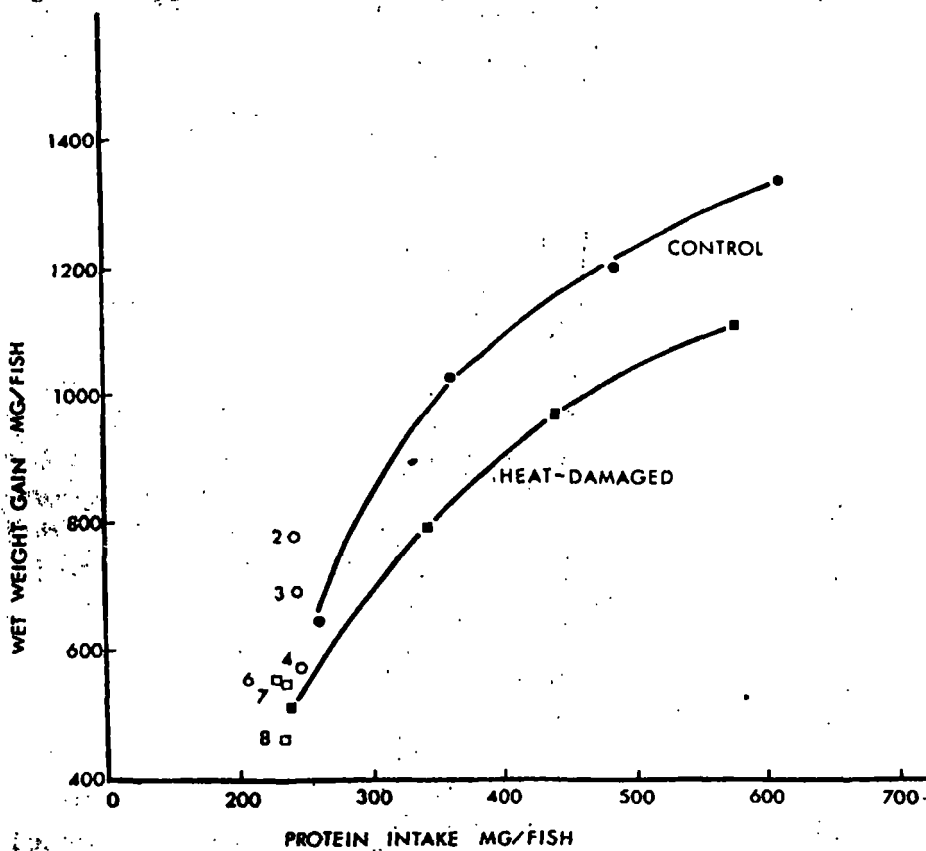
Body weight gains relative to protein intake for rainbow trout fed diets containing different protein sources to supply approximately 20% protein ●—● or 30% protein ■—■. Feeding was restricted to 25, 50, or 75% of that consumed by the fish fed each of the respective diets to satiation. ○ and □ represent the responses at satiation feeding and were not included in calculating the regression lines (Experiment 3).

ΣXHMA 4.1.2.



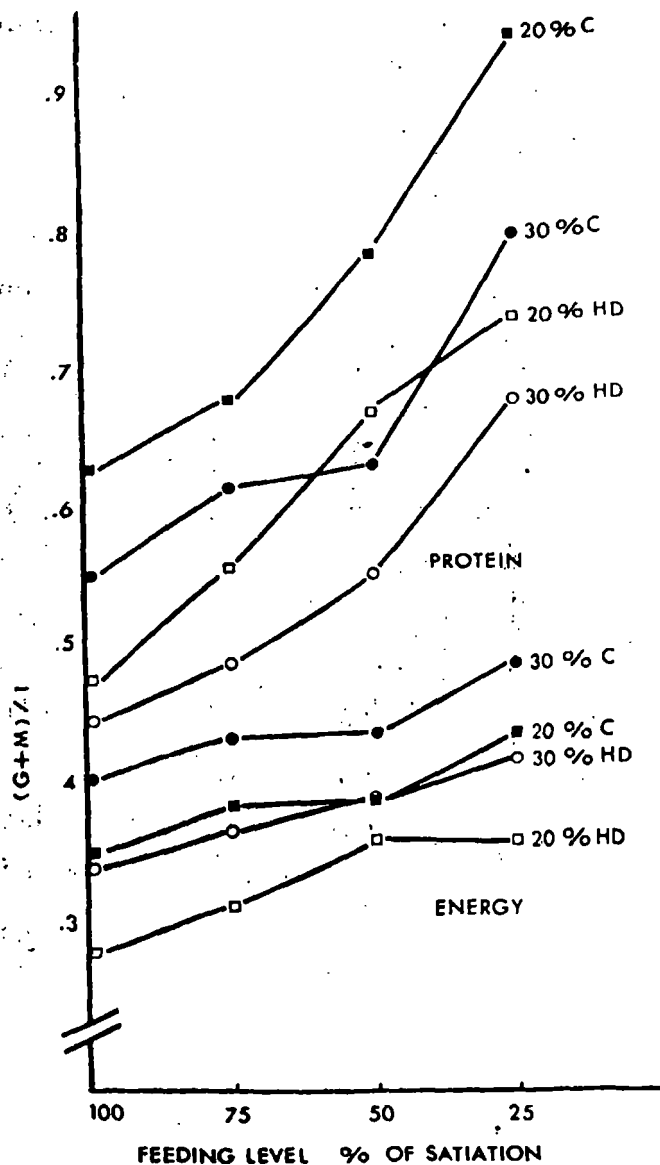
Body weight gains relative to protein intake for rainbow trout fed diets of different protein concentration and containing either a control fishmeal or a heat-damaged fishmeal. Dietary intake was controlled to 25, 50, 75 or 100% of that consumed to satiation by the fish fed the lower protein diet containing the heat-damaged fishmeal. • 20% (approx.) protein diets; • 30% (approx.) protein diets; □ and ○ represent the responses at satiation feeding and were not employed in calculating the regression lines (Experiment 1).

ΣXHMA 4.1.3.



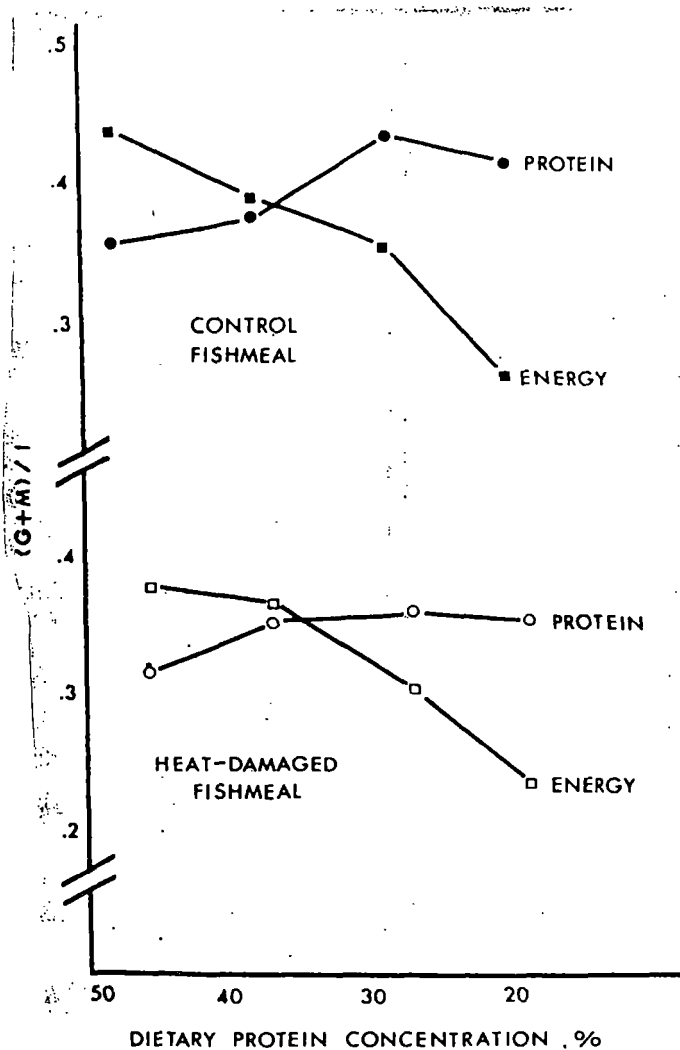
Body weight gains relative to protein intake for rainbow trout fed to satiation, diets containing a control fishmeal (●) or a heat-damaged fishmeal (■) to supply different concentrations of dietary protein. Weight gains denoted ○ and ◻ are for fish fed the respective diets indicated at levels to supply the amount of protein ingested by the fish receiving the corresponding fishmeal in the 20% protein diet but fed to satiation (Experiment 2).

ΣΧΗΜΑ 4.1.4.



Efficiency of protein and energy conversion of diets containing control and heat-damaged fishmeal fed to rainbow trout in Experiment 1. ■—■ 20% protein diet, control fishmeal; □—□ 20% protein diets, heat-damaged fishmeal; ●—● 30% protein diet, control fishmeal; ○—○ 30% protein diet, heat-damaged fishmeal (Experiment 1).

ΣΧΗΜΑ 4.1.5.



Efficiency of protein and energy conversion of diets containing control and heat-damaged fishmeal fed to rainbow trout in Experiment 2.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.2

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ
ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΣΤΑ ΙΧΘΥΑΛΕΥΡΑ ΜΕ ΧΗΜΙΚΕΣ
ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ**

**J. S. Anderson, S. P. Lall, Derck M. Anderson και M.A.
Mc Niver**

Aquaculture, 115 (1993), pp, 305-325

Περίληψη

Τα εμπορικώς διαθέσιμα ιχθυάλευρα (ρέγγας, αντζούγιας και Menhaden) στον Καναδά καθώς και ένα Νορβηγικό ιχθυάλευρο (Norse LT 94) αξιολογήθηκαν όσον αφορά την ποιότητα της πρωτεΐνης τους μέσω εργαστηριακών πειραμάτων (in vitro) και μελετών αύξησης του σολομού (*salmo salar*). Για τον προσδιορισμό της ποιότητας της πρωτεΐνης χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι πέψης με πεψίνη και με πολυενζύμα. Μέθοδοι για το ολικό πτητικό άζωτο, την διαθέσιμη Λυσίνη, τις σουλφυδρυλομάδες και τους δισουλφιδικούς δεσμούς, ιδίως όταν χρησιμοποιούνται μεμονομένα, είναι περιορισμένης αξίας. Τα ιχθύδια του Ατλαντικού σολομού (αρχικό βάρος = 7.64 ± 0.14 gr) που τράφηκαν με τροφές που περιείχαν δύο άλευρα ρέγγας και το Norse - LT94 για 70 ημέρες εκτιμήθηκαν όσο αφορά την αύξηση βάρους τη PER, NPR, NPU και γραφικές μεθόδους. Τα ψάρια τα οποία τράφηκαν με Norse - LT 94 κέρδισαν 11-60% περισσότερο βάρος από ότι τα ψαριά που τράφηκαν με Καναδικά άλευρα. Η ποιότητα της πρωτεΐνης των Καναδικών ιχθυάλευρων ήταν λιγότερο καλή από αυτή της Norse - LT 94. Η πεψη με πεψίνη κατέταξε τα ιχθυάλευρα στην ίδια σειρά με αυτή των βιολογικών tests, τα οποία συνίστανται σαν τελική μέθοδος σύγκρισης, για τον καθορισμό της ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ της πρωτεΐνης. Η πιο προτιμώμενη μέθοδος καταμέτρησης της ολικής ποιότητας μίας τροφής είναι η βιολογική μιας και τα (in vitro) tests συνήθως ταξινομούν λάθος την ποιότητα ορισμένων συστατικών της τροφής.

Εισαγωγή

Η αύξηση της παραγωγής του καλλιεργούμενου σολομού και της πέστροφας στον Καναδά δημιούργησε την ανάγκη ιχθυαλεύρου υψηλής ποιότητας για την παρασκευή ιχθυοτροφών. Καθώς η τροφή αντιπροσωπεύει το μεγαλύτερο τμήμα των εξόδων (40-50%) μίας ιχθυοκαλλιέργειας, είναι σημαντικό να μειωθεί το κόστος της τροφής και να βελτιωθεί η αποδοση των υπάρχοντων τροφών για σαλμονοειδή. Τα ψάρια απαιτούν υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης (25-55%) στην τροφή τους (Nilson και Halver, 1986) και το ιχθυάλευρο αποτελεί την κύρια πηγή πρωτεΐνης και είναι το πιο ακριβό συστατικό του (Crampton 1985). Οι προσπάθειες αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου από συστατικά φυτικής ή ζωϊκής προέλευσης δεν υπήρξαν επιτυχείς (Higgs και άλλοι, 1988).

Τα ιχθυάλευρα ποικίλουν όσο αναφορά την ποιότητα της πρωτεΐνης και την σύνθεση τους σε θρεπτικά, η οποία εξαρτάται από πόσο φρέσκια είναι η ακατέργαστη πρώτη ύλη από την διαδικασία ξήρανσης και την θερμοκρασία, και το αν το άλευρο παρασκευάστηκε από ολόκληρο το ψάρι ή από υπολείμματα επεξεργασίας (Tagg και Biely, 1972). Την ποιότητα μπορεί επίσης να επηρεάσουν οι συνθήκες και ο χρόνος αποθήκευσης. Τα τελευταία χρόνια έχει βελτιωθεί η ποιότητα των καναδικών ιχθυαλευρών αλλά δεν έχει γίνει κάποια συστηματική μελέτη για την εκτίμηση της ποιότητας της πρωτεΐνης τους σε σχέση με την πολύ καλή ποιότητα του Νορβηγικού ιχθυαλεύρου. Το Norse-LT 94 είναι ένα ιχθυάλευρο άριστης ποιότητας που παρασκευάζεται βάση των αυστηρών προδιαγραφών του Ινστιτούτου Ελαίου και Αλεύρου Ρέγγας της Νορβηγίας για χρήση του στην υδατοκαλλιέργεια (αναθεώρηση των

Pine και άλλων, 1990). Οι τροφές που παρασκευάστηκαν με το Norse - LT 94 έδωσαν ρυθμούς αύξησης 15% υψηλότερους, στον Ατλαντικό σολομό, από ότι τροφές με άλευρο ξηραμένο στον ατμό (Pine και άλλοι, 1990). Στον Καναδά έχουν προταθεί όχι υποχρεωτικές αλλά εθελοντικές προδιαγραφές για την ποιότητα του ιχθυάλευρου από την Καναδική Ομάδα (Canadian Working group For FinFish Nutrition) για την θρέψη των Τελεόστεων σε συνεργασία με τους κατασκευαστές τροφών του Καναδά.

Η ποιότητα της πρωτεΐνης των ιχθυάλευρων (Olley και Pirie, 1966 HSU και άλλοι, 1977, Satterlee και άλλοι 1977, AOAC 1984) μπορεί να καθοριστεί *in vitro* με την χρήση διάφορων πρωτεολυτικών ενζύμων ή ενός συνδυασμού αυτών (HSU και άλλοι 1977, Pedersen και Eggum, 1983) και συνίσταται στην εκτίμηση του βαθμού της πρωτεόλυσης. Γενικά, η μέθοδος διεξάγεται σε ένα κλειστό σύστημα, όπου η πεψιμότητα της πρωτεΐνης προσδιορίζεται από την ανάλυση του αζώτου, ή αμινοξέων των διαφορετικών κλασμάτων πεψης. Αρα, το τμήμα της πρωτεόλυσης που καταμετρείται ποικίλει ανάλογα με την χρησιμοποιούμενη διαδικασία. Η χρήση ενός κλειστού συστήματος μπορεί να αναστήλει την αντίδραση λόγω της συσσωρεύσης των προϊόντων της πέψης ή της μείωσης του PH, η οποία λαμβάνει χώρα με την πρωτεόλυση. Η ενζυματική πέψη σε σταθερό PH φαίνεται να προσφέρει κάποια πλεονεκτήματα, μιας και δεν υπάρχει ανάγκη διαχωρισμού των κλασμάτων της πέψης ή χωριστής ανάλυσης τους. Η βέλτιστη ενεργότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων που χρησιμοποιούνται

εξαρτάται από το ΡΗ, οπότε διατηρώντας το ΡΗ σταθερό έχουμε καλύτερα αποτελέσματα (Pedersen και Eggum, 1983).

Η παραδοχή που έγινε είναι ότι η υπερθέρμανση κατά την ξήρανση του ιχθυάλευρου μπορούσε να προκαλέσει επιπλοκές σε ορισμένα αμινοξέα και να υποβιβάσει την ποιότητα της πρωτεΐνης. Καθώς η Λυσίνη είναι ένα περιοριστικό αμινοξύ σε πολλές πρωτεΐνες, και εμπλέκεται στην αντίδραση Maillard, έχουν μελετηθεί εκτενώς τα αποτελέσματα της θέρμανσης επάνω στην διαθεσιμότητά του αμινοξέος αυτού (Carpenter, 1973). Η θέρμανση μπορεί επίσης να επηρεάσει και την κατάσταση της κυστεΐνης / υπολειμμάτων κυστεΐνης στις τροφές με αποτέλεσμα τον περιορισμό της χρησιμοποίησης της πρωτεΐνης από τα κατοικίδια ζώα (Waibel και άλλοι, 1977) και τα ψάρια (Opstedt και άλλοι, 1984).

Οι παραγωγοί ιχθυαλεύρων έχουν ανάγκη μεθόδων και τεχνικών που θα τους βοηθήσουν στην παρασκευή αλεύρων σταθερής ποιότητας. Αυτές οι τεχνικές θα πρέπει να είναι γρήγορες, ακριβείς και να γίνονται επί τόπου. Οι βιολογικές μέθοδοι που απαιτούν την χρησιμοποίηση ζωντανών ψαριών είναι χρονοβόρες, αν και μας δίνουν τη καλύτερη εκτίμηση της ποιότητας των τροφών.

Οι στόχοι αυτής της μελέτης ήταν: να συγκρίνει την *in vitro* μέθοδο σαν μέθοδο προσδιορισμού της ποιότητας της πρωτεΐνης των ιχθυαλεύρων που διατίθενται στον Καναδά, να συγκρίνει την αύξηση του Ατλαντικού σολομού με τροφές που περιείχαν ρεγγάλευρα εμπορικώς διαθέσιμα στον Ατλ. Καναδά και με Norse - LT 94, και να συγκρίνει την

ταξινόμηση των αλεύρων όπως αυτά εκτιμήθηκαν μέσω in vitro και in vivo αναλύσεων.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Πηγές και παρασκευή των ιχθυάλευρων

Πάρθηκαν δείγματα αλεύρων ρέγγας (IFN = 5-02 - 000), menhaden (IFN= 5-02-009), και αλεύρων αντζούγιας (IFN 5-01-985) - (IFN: International Feed Number) από εμπορικές πηγές στον Ατλαντικό Καναδά. Τα άλευρα ρέγγας κατασκευάστηκαν από ολόκληρες ρέγγες και υπολείμματα και υδατοδιαλυτά στοιχεία, τον Σεπτέμβριο του 1990. Όλα τα ιχθυάλευρα (ρέγγας, menhaden και αντζούγιας) και το Norse - LT 94 είχαν ξηρανθεί σε ατμό, εκτός του αλεύρου ρέγγας 6 (HM 6), το οποίο είχε ξηρανθεί με απλή θέρμανση. Περίπου 40 kg φρέσκιας ρέγγας (γεννητικά ώριμα αρσενικά, υπολείμματα από την βιομηχανία αυγοτάραχου ρέγγας) λήφθηκαν και ξηράθηκαν σε ψύξη (Freeze-dried) για να γίνει η σύγκριση με τα εμπορικά άλευρα. Την ίδια περίοδο λήφθηκαν και τα δείγματα αλεύρων αντζούγιας και menhaden. Επίσης λήφθηκαν 20kg αλεύρου Norse-LT 94 το οποίο παρασκευάζεται από την Norsemeal Ltd. Όλα τα εμπορικά άλευρα περιείχαν 200mg/kg αντιοξειδωτικού (εθοξυκουΐνη) εκτός του τελευταίου το οποίο περιείχε 400mg/kg. Όλα τα δείγματα διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία -30°C.

In vitro μέθοδος για την ποιότητα της πρωτεΐνης.

Διεξήχθησαν 6 τεστ ποιότητας πρωτεΐνης εις διπλούν για κάθε δείγμα ιχθυάλευρου. Η διαθέσιμη Λυσίνη προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Carpenter (1960) όπως βελτιώθηκε από τον Booth

(1971); Σουλφυδρυλομάδες (SH) και οι δισουλφίδικοι (S-S) δεσμοί προσδιορίστηκαν με την μέθοδο του Sedlak και Lindsay (1968) βελτιωμένη από τον Orstvedt και άλλους (1984), η πεψιμότητα της πρωτεΐνης, με πεψίνη, προσδιορίστηκε με την μέθοδο AOAC (AOAC, 1984, μέθοδος 7.053) με την χρήση διαλύματος πεψίνης 0.2%. Δεν έγινε κονιορτοποίηση και αφαίρεση του λίπους των δειγμάτων διότι όλα τους λήφθησαν σε μορφή λεπτοκονιορτοποιημένη και για να αποφευχθεί αφαίρεση της πρωτεΐνης κατά την διαδικασία εκχύλισης του λίπους. Η πεψιμότητα της πρωτεΐνης με πεψίνη επίσης προσδιορίστηκε με την μέθοδο Torry (Olley και Pirie, 1966) χρησιμοποιώντας ένα διάλυμα πεψίνης 0.0002% και συνθήκες ίδιες με αυτές της μεθόδου AOAC και χωρίς κονιορτοποίηση και αφαίρεση του λίπους των δειγμάτων. Το ολικό πτητικό άζωτο (TVBN) προσδιορίστηκε με τη μέθοδο του Noyewoda και άλλων (1986). Τα υλικά εκχυλίστηκαν με ένα διάλυμα 60% (m/v) θειικού μαγνησίου. Η πεψη με πολυενζύμα σε σταθερό PH προσδιορίστηκε με τη μέθοδο των Pedersen και Eggum (1983) χρησιμοποιώντας την εξίσωση παλλινδρόμησης, για να υπολογιστεί η πεψιμότητα:

$$\% \text{ πραγματική πεψιμότητα (TD)} = 76.14 + 47.77 \cdot X$$

όπου : X = τα ml του NaOH (01,N) που προστέθηκαν στο διάλυμα πρωτεΐνης και ενζύμου.

Σύνθεση τροφής.

Η επιλογή των αλεύρων ρέγγας 1 (MM1) και 5(HM5) για την in vivo εκτίμηση βασίστηκε στα αποτελέσματα των in vitro. Εννιά τροφές παρασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας Norse-LT 94, HM1 ή HM5 (πίνακας 1) σε επίπεδα απαραίτητα για να επιτευχθούν συγκεντρώσεις σε

πρωτεΐνη, 16,28 ή 40%. Δεν προστέθηκαν άλλη πρωτεΐνη. Όλες οι τροφές περιείχαν 15.1 MJ (3600 Kcal/ kgρ πεπτόμενη ενέργεια (DE) χρησιμοποιώντας τιμές για την ντεξτρίνη τα 16.7 MJ/kgρ, για το προζελατινοποιημένο άμυλο τα 13.3 MJ/kgρ και τα 8.6 για το άμυλο του καλαμποκιού (cho και Kaushik, 1990). Η DE της πρωτεΐνης υπολογίστηκε σαν το 87% της ολικής ενέργειας της πρωτεΐνης (23.6 MJ/kgρ). Η DE των λιπών υπολογίστηκε ως το 85% της ολικής ενέργειας (39.5 MJ/kgρ). Οι συντελεστές πεψης της Πρωτεΐνης και του λίπους ήταν αυτοί που προσδιορίστηκαν, κάτω από παρόμοιες συνθήκες, για τον Ατλαντικό σολομό από τον Dr S.P. Lall, Department of Fisheries and Oceans, Halifax, Nova Scotia. Μια τροφή χωρίς πρωτεΐνη χρησιμοποιήθηκε για να εκτιμηθεί η ενδογενής απώλεια πρωτεΐνης.

Διαχείριση ψαριών και πειραματικές διαδικασίες.

Τα ιχθύδια του Ατλαντικού σολομού από τα εκκολαπτήρια του Cobequid (Department of Fisheries and Oceans Collingwood, Nova Scotia), εγκλιματίστηκαν για 2 βδομάδες σε κυκλικές δεξαμενές των 100lt από Fibreglass, στις εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Halifax Fisheries Research Laboratory, Dept. of Fisheries and Oceans, Nova Scotia). Όλο αυτό το διάστημα τα ψάρια τρέφονταν μέχρι κορεσμού 2 φορές την ημέρα, με μία εμπορική τροφή.

Επιλέχθηκαν 3 σειρές, 9 δεξαμενών η κάθε μία, και σε κάθε σειρά χορηγήθηκαν οι 9 τροφές σε τυχαία σειρά. Τα ψάρια 2 επιπλέον δεξαμενών τρέφονταν με τροφή που δεν περιείχε πρωτεΐνη. Συνολικό αριθμός ψαριών : 1363, αρχικό μέσο μέγεθος: 7.65 + 0.14 gr, (Standard deviation) αριθμός δεξαμενών: 29 (47 ψάρια / δεξ.). Ρυθμός ανανέωσης

νερού 2 lt/min. Το νερό αεριζόταν συνεχώς και η θερμοκρασία παρέμενε σταθερή στους $15.4 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ (SD). Η φωτοπερίοδος ήταν 12h φως / 12 h σκοτάδι.

Τα ψάρια τρέφονταν δια χειρός μέχρι κορεσμού 3 φορές την ημέρα (εργάσιμες ημέρες) και μία φορά την ημέρα τα Σαββατοκύριακα, για 70 ημέρες. Καταγράφονταν η εβδομαδιαία κατανάλωση τροφής και η ημερήσια θνησιμότητα. Τις ημέρες 0, 28, 56 και 70, μετά από 24ωρη νηστεία, προσδιορίζονταν το μέσο βάρος με ομαδική ζύγιση / δεξαμενή. Την ημέρα 0, πριν την τοποθέτηση των ψαριών στις δεξαμενές, 10 από αυτά θανατώθηκαν και καταψύχθηκαν στους -40°C για ανάλυση. Την ημέρα 70, πάρθηκαν 5 ψάρια από κάθε δεξαμενή, θανατώθηκαν και καταψύχθηκαν στους -40°C , για ανάλυση.

Vivo Μέθοδος για την ποιότητα της πρωτεΐνης

Οι ειδικοί ρυθμοί αύξησης (SGR) υπολογίσθηκαν με τον τύπο του Walton και άλλων (1984). Η αποδοση της τροφής (FE) υπολογίστηκε σαν η αύξηση σε υγρό βάρος (gr) διαιρούμενη με την καταναλωθείσα τροφή (gr). Ο δείκτης αποδοσης της πρωτεΐνης (PER) Protein Efficiency ratio υπολογίστηκε σαν η αύξηση βάρους (gr) διαιρούμενη με την προσληφθείσα πρωτεΐνη (gr). Ο δείκτης καθαρής πρωτεΐνης (NPR) υπολογίστηκε σαν:

Αύξηση βάρους (g) της πειραματικής ομάδας - Απώλεια βάρους (g) της ομάδας χωρίς πρωτεΐνη.

Βάρος της πρωτεΐνης που καταναλώθηκε από την πειραματική ομάδα (g).

Η καθαρή χρήση πρωτεΐνης (NPU) υπολογίστηκε σαν :

Αζωτο σώματος ψαριών πειράματος (g) - Αζωτοσώματος ψαριών που τρέφονταν με τροφή χωρίς πρωτεΐνη (g)

Αζώτο που καταναλώθηκε (gr) από τα ψάρια του πειράματος

Τα ψάρια καταψύχθηκαν στους -30°C μέχρι χρήσης.

Αναλυτικές διαδικασίες

Διπλά δείγματα των ιχθυάλευρων, και των παρασκευασμένων τροφών αναλύθηκαν χημικά. Το ξηρό περιεχόμενο προσδιορίστηκε μέσω της απώλειας βάρους μετά από ξήρανση στους 105°C για 24 ώρες (AOACM, 1984) η Τέφρα προσδιορίστηκε μετά από πύρωση στους 650°C για 12 ώρες (AOAC, 1984), η ολική πρωτεΐνη (% N X 6.25) προσδιορίστηκε με τη μέθοδο του Dumas (Ebeling, 1968) με τη χρήση ενός Leco Nitrogen Determinator (μοντέλο FP-228, Leco Corp, St. Joseph, MI), τα λίπη προσδιορίστηκαν με την μέθοδο των Bligh και Dyer (1959). Η ολική ενέργεια προσδιορίστηκε με την χρήση θερμιδομετρητή

αδιαβατών τοιχωμάτων adiabatic bomb calorimeter (Parr Instrument Co, Moline, IL).

Τα κατεψυγμένα ψάρια ημι-αποψύχθηκαν και αλέσθηκαν σε μύλο Hobart, ξανακαταψύχθηκαν, ξηράθηκαν εν ψυχρώ και ξανααλέσθηκαν έτσι ώστε να περνούν μέσα από κόσκινο του 1mm. Οι αναλύσεις για πρωτεΐνη, λίπη και τέφρα, διεξήχθησαν με χρήση των ήδη αναφερομένων μεθόδων. Το ξηρό περιεχόμενο προσδιορίστηκε με σύγκριση του βάρους πριν και μετά την ξήρανση εν ψυχρώ και ακόλουθη διόρθωση των απωλειών του βάρους μετά την ξήρανση στους 105°C για 24 ώρες.

Δείγματα όλων των αλεύρων και των ξηραμένων εν ψυχρώ ρεγγών αναλύθηκαν και για Ασβέστιο (Ca) Φώσφορο (P), Μαγνήσιο (Mg), Κάλιο (K), Νάτριο (Na), χαλκό (Cu), σιδηρο (Fe), Μαγγάνιο (Mn), και ψευδάργυρο (Zn) με την χρήση φασματοφωτομέτρου ατομικής απορρόφησης (Jarell - Ash μοντέλο 9000, Franklin, MA). Η περιεχόμενη ποσότητα αμινοξέων στα ιχθυάλευρα προσδιορίστηκε με τον Αναλυτή Αμινοξέων του Beckman, System 6300 High Performance Amino Acid Analyzer. Το δείγμα υδρολήθηκε με χρήση οξέος, με εφαρμογή της μεθόδου του Gehrke και άλλων (1985). Η κυστεΐνη και η κυστίνη προσδιορίστηκαν σαν κυστεϊκό οξύ μετά από οξειδωση του δείγματος (AOAC 1985). Η τρυπτοφάνη προσδιορίστηκε μέσω αλκαλικής υδρόλυσης (AOAC, 1984).

Στατικές Μέθοδοι.

Τα στοιχεία τροποποιήθηκαν σε 10^0 Subscript ή τοξο ημιτόνου Y ($0 \leq Y \leq 1$) πριν την στατιστική ανάλυση, λόγω των απαιτήσεων για ίσες

διακυμάνσεις. Για τα *in vitro* τεστ της ποιότητας της πρωτεΐνης χρησιμοποιήθηκε η μονόδρομη ανάλυση διακύμανσης. Οι διαφορές ανάμεσα στις διάφορες αγωγές επεξεργάστηκαν με την χρήση της διαδικασίας πολλαπλής σύγκρισης του Student Neuman - Keuls (Steel και Torrie, 1960) με επίπεδο πιθανότητας σφάλματος το 5%. Υπολογίστηκαν οι συντελεστές συσχέτισης μεταξύ των διαφόρων *in vitro* τεστ για την πρωτεϊνική ποιότητα. Όλοι οι μέσοι όροι και τα τυπικά σφάλματα παρουσιάζονται αμετασχημάτιστα.

Οι διαφορές μεταξύ των μέσων όρων των παραμέτρων αύξησης επεξεργάστηκαν με την χρήση της ANOVA δίπλης κατεύθυνσης. Τα κύρια επιδρόντα στοιχεία στην ANOVA, ήταν το ιχθυάλευρο και το επίπεδο της πρωτεΐνης, (πιθανότητα 5%).

Με παλινδρόμηση μεταξύ της αύξησης της πρωτεΐνης του σώματος ή της αύξησης βάρους και της προσληφθήσας πρωτεΐνης, προσδιορίστηκαν οι καμπύλες (Hegsted και Chang, 1965 March, 1985, McCallum και Higgs, 1989). Οι στατιστικές διαφορές των καμπύλων αναλύθηκαν με την πολλαπλής σύγκρισης μέθοδο του Scheffe με επίπεδο πιθανότητας σφάλματος το 5%, (Steel και Torrie, 1960). Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος Systat (Systat, Inc., 1800 Sherman Ave, Eranston, IL).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Υπήρχαν σημαντικές διαφορές όσο αναφορά τη σύνθεση των ιχθυάλευρων (πίνακας 2). Το ποσοστό υγρασίας των ιχθυάλευρων κυμαίνονταν από 2.0 έως 10.4%. Το περιεχόμενο των αλεύρων ρέγγας εκτός του HM1, και του Norse - LT 94, σε πρωτεΐνη ήταν περίπου 78.5%. Όταν εκφραζόταν με βάση το ξηρό βάρος και αφαιρόντας το λίπος, το περιεχόμενο σε πρωτεΐνη κυμαινόταν από 86% έως 92%. Με τον δεύτερο τρόπο τα άλευρα αντζούγιας και menhaden είχαν περίπου 75% πρωτεΐνη, χαμηλότερο των προηγούμενων λόγω του ψηλού ποσοστού τέφρας. Το υψηλό περιεχόμενο σε τέφρα των HM2 και HM6 μπορεί να οφείλεται στην προσθήκη άλατος όπως προκύπτει από το υψηλό ποσοστό σε Νάτριο (πίνακας 2). Η υψηλή τιμή σε τέφρα του HM4 δείχνει ότι το άλευρο αυτό παρασκευάστηκε από φιλέτα ψαριών, καθώς οι ποσότητες του Ca, P και Mg ήταν υψηλότερες από ότι σε άλλα άλευρα. Αυτό ενισχύεται από το μικρό περιεχόμενο σε πρωτεΐνη του αλεύρου (86,3%) συγκρινόμενο με το μέσο ποσοστό του 88% που ισχύει για τα άλλα άλευρα ρέγγας σε ξηρο βάρος και με αφαίρεση του λίπους. Οι διαφορές στην κατά προσέγγιση σύνθεση των διάφορων ιχθυάλευρων οφείλονται στο ποσοστό κατακράτησης λίπους και υγρασίας από αυτά, αν και μέρος των διάφορων μπορεί να αποδοθεί στα είδη των ψαριών (ρέγγας / menhaden/αντζούγια).

Υπήρχαν σημαντικές διαφορές στην σύνθεση των αμινοξέων των διάφορων ιχθυάλευρων (πίνακας 3). Τα HM1, HM3 και το άλευρο αντζούγιας είχαν σαφώς λιγότερη κυστεΐνη. Τα άλευρα από αντζούγια και menhaden είχαν λιγότερη Τρυπτοφάνη. Τα HM2, HM6, και τα αλευρά από αντζούγια και menhaden είχαν λιγότερη Λυσίνη από τα άλλα.

Ο χημικός προσδιορισμός του ποσοστού πρωτεΐνης και της σύνθεσης σε αμινοξέα εμπειρικλείει αντιδράσεις οι οποίες είναι πιο δύσκολες από αυτές που λαμβάνουν χώρα κατά την φυσική διεξαγωγή της πέψης από το ψάρι, και απελευθερώνει θρεπτικά που είναι μη διαθέσιμα στο ζώο.

In vitro Μέθοδοι

Η μετά την πέψη με πεψίνη πρωτεΐνη (πίνακας 4), όπως υπολογίστηκε με την μέθοδο AOAC, γενικά απέτυχε στο να δείξει τις διαφορές στην ποιότητα της πρωτεΐνης των ιχθυάλευρων. Η μέθοδος Torry κατέταξε τα άλευρα από αντιζούγιες και menhaden σε χαμηλότερη θέση από την μέθοδο AOAC. Το μεγαλύτερο τμήμα του ενδιαφέροντος στρεφόταν στην δύναμη του διαλύματος πεψίνης, που χρησιμοποιούταν στην έρευνα της πεψίνης (Lovern et al, 1964, March και Biely, 1967). Οι μέθοδοι AOAC και Torry είναι όμοιες με την διαφορά ότι η τελευταία χρησιμοποιεί ένα διάλυμα πεψίνης 0.0002% και η πρώτη διάλυμα 0.2%. Η μέθοδος Torry μας παρέχει ένα μεγαλύτερο εύρος τιμών δράσης της πεψίνης από ότι η AOAC, άρα μικρές διαφορές στην ποιότητα του αλεύρου ανιχνευόταν εύκολα.

Οι τιμές του TVBN έδειξαν μεγάλες διαφορές στις μικρού μοριακού βάρους ενώσεις πεπτικού αζώτου (27.8 - 155.6mg/100 gr. δείγματος) μεταξύ των δειγμάτων ιχθυάλευρου (πίνακας 4). Αυτό το τεστ είναι πιο κατάλληλο για τον καθορισμό της φρεσκότητας της πρώτης ύλης των ιχθυάλευρων. Η βακτηριακή διάβρωση του ψαριού έχει σαν αποτελέσματα την αυξημένη παραγωγή πτητικών ενώσεων και αμυνών.

Μια μεγάλη ποσότητα TVBM στο ιχθυάλευρο δεν είναι επιθυμητή, διότι αυτό αντιπροσωπεύει ένα μη πρωτεϊνικό κλάσμα αζώτου, το οποίο αυξάνει την παραγωγή αμμωνίας και την έκκριση της από το ψάρι. Εάν τέτοιες πτητικές ενώσεις απομακρυνθούν κατά την ξήρανση, ή αντιδράσουν με προϊόντα οξειδωσης, η τιμή του TVBN θα είναι εσφαλμένα πάρα πολύ μικρή. Αυτό παρατηρήθηκε, πιθανά με το HM1 το οποίο, ενώ κατατάχθηκε σε χαμηλή θέση όσο αναφορά την ποιότητά του με τα τεστ πεψίνης, είχε μικρή τιμή TVBN (64.8 mg/100 gr sample).

Η διαθέσιμη Λυσίνη (πίνακας 5), η οποία αντανακλά την ποσότητα των ελεύθερων αμινοομάδων στο τελικό άκρο της Λυσίνης, παρουσιάζεται τόσο σαν συγκέντρωση όσο και σαν ποσοστό της ολικής Λυσίνης στο ιχθυάλευρο. Τα άλευρα δεν παρουσίαζαν αξιοσημείωτες διαφορές όσον αφορά την ολική Λυσίνη, εκτός του αλεύρου ρέγγας που ξηράνθηκε εν ψυχρώ, και το οποίο παρουσίαζε μια υψηλότερη συγκέντρωση από όλα τα άλλα. Το HM1 (7.13gr/16grN) και το HM5 (9.00 gr/16grN) είχαν αξιοσημείωτα διαφορετικές ποσότητες διαθέσιμης Λυσίνης. Το σημαντικό χαμηλό ποσοστό Λυσίνης, διαθέσιμη στο άλευρο ρέγγας ξηραμένο εν ψυχρώ (70.3%) οφείλεται πιθανά στο γεγονός ότι το λίπος δεν αφαιρέθηκε και δεν προστέθηκαν αντιοξειδωτικά σε αυτό. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα τον σχηματισμό δεσμών μεταξύ των προϊόντων της οξειδωσης των λιπών και των ελεύθερων Ε ομάδων Λυσίνης (Davidek et al, 1990). Η ποσότητα της διαθέσιμης Λυσίνης στα ιχθυάλευρα ξεπερνούσε τις τιμές του 3.7-6.1% σε διατροφική πρωτεΐνη, για να καλυφθούν οι απαιτήσεις σε Λυσίνη της ιριδίζουσας πέστροφας (Kim και Kayes, 1982, Ketola, 1983).

Η ποσότητα των ομάδων SH και των δεσμών S-S προσδιορίστηκε και αυτή για τα άλευρα (πίνακας 6). Ο opstredt και άλλοι (1984) εργαζόμενοι επάνω σε ιχθυάλευρα από σκουμπρί και rollock απέδειξαν ότι καθώς η θερμοκρασία ξήρανσης αυξανόταν από 40°C σε 115°C ο αριθμός των ομάδων SH μειωνόταν και ο αριθμός των δεσμών S-S αυξανόταν. Όταν δείγματα υποβλήθηκαν στους 115°C για 20 λεπτά σημειώθηκε καθαρή απώλεια σε SH. Επιπλέον, έδειξαν ότι καθώς ο αριθμός των δεσμών S-S αυξανόταν, η πεπτικότητα της πρωτεΐνης από την ιριδίζουσα πέστροφα μειωνόταν. Η πεπτικότητα των αμινοξέων σε δείγματα ξηραμένα σε τύμπανο, ήταν αξιοσημείωτα πιο μικρή (0.25-0.5%) απ'ότι σε δείγματα ξηραμένα εν ψυχρώ. Η πεπτικότητα κυστεΐνη /κυστίνη μειωνόταν περίπου κατά 10% όταν χρησιμοποιούταν η ξήρανση σε τύμπανο. Δεν ήταν δυνατόν να εξακριβωθεί αν η μικρή αύξηση σχηματισμού S-S, στα ιχθυάλευρα που μελετήθηκαν, μπορούσε να επιδράσει καθοριστικά επάνω στην πέψη της πρωτεΐνης.

Η πεψη με πεψίνη με την μέθοδο AOAC δεν συσχετιζονταν σημαντικά ($p > 0.05$) με άλλα τεστ ποιότητας πρωτεΐνης (πίνακας 7). Η πεψη με πεψίνη με την μέθοδο Torry έδειξε αξιοσημείωτη θετική συσχέτιση με την πεψη με πολυ-ενζύμα και την συγκέντρωση του ολικού SH και των δεσμών S-S. Η πεψη με πολυ-ενζύμα συσχετιζόταν αξιοσημείωτα με το ολικό SHSS και τους δεσμούς S-S. Το TVBN έδειξε ότι υπάρχει μία ισχυρή και αρνητική συσχέτιση με την ολική Λυσίνη και την διαθέσιμη Λυσίνη ($r=0.64$ και -0.53 , αντίστοιχα), όταν το TVBN μειωνόταν, η ολική και η διαθέσιμη Λυσίνη αυξανόταν, πράγμα το οποίο υποδεικνύει ότι η Λυσίνη καταστράφηκε λόγω βακτηριακής δράσης. Άρα

αυτός ο τύπος ιχθυάλευρου μπορούσε να έχει υψηλό TVBN και λίγη διαθέσιμη λυσίνη. Τα ιχθυάλευρα που παρασκευάστηκαν από φρέσκο ψάρι και ξηράθηκαν σε χαμηλές θερμοκρασίες αναμένονται να έχουν μεσαίες τιμές σε TVBN και υψηλό περιεχόμενο σε ολική και διαθέσιμη λυσίνη. Τα άλευρα φτωχής ποιότητας αναμένονται να έχουν μικρές τιμές σε TVBN και σε διαθέσιμη λυσίνη, όπως παρατηρήθηκε με το HM1.

Τα τεστ AOAC και Torry (Μέθοδος πέψης με πεψίνη), κατέταξαν τα ιχθυάλευρα ανάλογα με την ποιότητα ως εξής: καλύτερο το Norse, LT 94 ενδιάμεσο το HM 5 και φτωχότερο το HM1. Η πέψη με πολυενζυμα και η διαθέσιμη λυσίνη ως εξής: καλύτερο το HM5, ενδιάμεσο το Norse - LT 94 και φτωχότερο το HM1.

In Vivo μέθοδοι

Τα ιχθύδια του Ατλαντικού σολομού αυξανόταν πιο πολύ όταν τρέφονταν με τροφές που περιείχαν υψηλές συγκεντρώσεις πρωτεΐνης (πίνακας 8, Διαγρ. 1). Όλες οι ομάδες που λάμβαναν τροφή 40% σε πρωτεΐνη σημείωσαν διαφορετικούς ($P < 0.05$) ρυθμούς αύξησης μεταξύ τους, τα ψάρια που τρέφονταν με Norse -LT 94 κέρδισαν περίπου 10% και 18% περισσότερο βάρος από τα ψάρια που τρέφονταν με τροφές που στηρίζονταν στα άλευρα HM5 και HM1, αντίστοιχα. Τα ψάρια που τρέφονταν με Norse - LT 94 σε ποσοστό 28% της τροφής κέρδισαν περίπου 28% και 38% περισσότερο βάρος από ψάρια που τρέφονταν με τροφές άλλες ίδιου ποσοστού σε άλευρο (28%). Το Norse - LT 94 έδωσε υψηλότερες τιμές PER, NPR και NPU στο 16% και ακόμα υψηλότερες

τιμές για 28% πρωτεΐνη από άλλες τροφές που περιείχαν την ίδια συγκέντρωση πρωτεΐνης.

Οι κλίσεις των γραμ. παραστάσεων αύξησης του σωματικού βάρους εναντί της καταναλωθείσης πρωτεΐνης ήταν διαφορετικές για τα ιχθυάλευρα, (πίνακας 9), πράγμα που έδειξε ότι οι διαφορετικές αυξήσεις οφείλονταν στην πρωτεϊνική πηγή (το ιχθυάλευρο). Το Norse - LT 94 είχε μία σημαντική ($P < 0.05$) αρνητική συσχέτιση ($r = -0.96$) για PER, για το εύρος του επιπέδου πρωτεΐνης που χρησιμοποιήθηκε. Η σχέση μεταξύ PER και συγκέντρωσης διατροφικής πρωτεΐνης για τα HM1 και HM5 δεν απέδειξε να υπάρχει κάποια σχέση δόσης απόκρισης (πίνακας 8, Διαγρ. 2), σε αντίθεση με πειράματα με ποντίκια (Hegsted και Chang, 1965) και Chinook σολομό (McCallum και Higgs, 1989). Ένας λόγος για αυτό μπορεί να είναι το εύρος της πρωτεϊνικής συγκέντρωσης, που χρησιμοποιήθηκε για αυτά τα άλευρα. Τα ψάρια που τράφηκαν με Norse - LT 94 με 40% σε πρωτεΐνη έδειξαν μία απόκλιση από την γραμμικότητα, ακολουθώντας την διαδικασία μέσω της μελέτης των κλίσεων (Hegsted et al, 1968). Για αυτό το λόγο η πρωτεΐνη του σώματος και η αύξηση αυτού για την συγκεκριμένη ομάδα ψαριών αφαιρέθηκαν από την ανάλυση συσχέτισης. Αυτή η απόκλιση από την γραμμικότητα μπορεί να οφείλεται στην αξιοσημείωτα ($p < 0.05$) μεγάλη μείωση της αποδοσης, της πρωτεΐνης σαν αποτέλεσμα των αυξανόμενων επιπέδων πρωτεΐνης, στις τροφές που περιείχαν Norse - LT 94. Αυτή η μείωση της πρωτεϊνικής αποδοσης μπορεί να οφείλεται στο σχετικά μεγαλύτερο ποσό πρωτεΐνης που χρησιμοποιήθηκε για διατήρηση και καταβολίστηκε για ενέργεια αντί για την σύνθεση πρωτεΐνης. Η γραμμική σχέση μεταξύ

της προσλαμβανομένης πρωτεΐνης και της αύξησης του ποσοστού πρωτεΐνης του σώματος έχει αποδειχθεί και σε προηγούμενες μελέτες σε ψάρια (Nose, 1963, Iwata, 1970, Gerking, 1971, Rychly, 1980, McCallum και Higgs, 1989). Η μελέτη της κλίσης των ευθειών της γρ. παράστασης των αυξήσεων του ποσοστού πρωτεΐνη του σώματος έναντι της προσληφθήςας πρωτεΐνης ήταν ένας καλύτερος τρόπος εκτίμησης της πρωτεϊνικής ποιότητας από ότι ήταν η μελέτη των ευθειών της γρ. παράστασης των αυξήσεων του βάρους έναντι της προσληφθήςας πρωτεΐνης (McCallum και Higgs, 1989). Παρ'όλο που η ανάλυση κλίσης των ευθειών χρησιμοποιώντας την αύξηση βάρους έδωσε την ίδια σειρά κατάταξης με αυτή της αύξησης του ποσοστού πρωτεΐνης στο σώμα σ ότι αφορά την ποιότητα των ιχθυαλεύρων, δεν υπήρξαν διαφορές στις καμπύλες αύξησης βάρους έναντι προσληφθήςας πρωτεΐνης γεγονός που δείχνει ότι δεν υπάρχει διαφορά στην ποιότητα της πρωτεΐνης ανάμεσα στα ήδη ιχθυαλεύρων που εξετάστηκαν. Ακολουθώντας την μελέτη των κλίσεων των ευθειών προέκυψε η ακόλουθη σειρά, για την ποιότητα της πρωτεΐνης: Norse - LT 94 > HM5>HM1.

Το επίπεδο της πρωτεΐνης στην τροφή είχε μία σημαντική επίδραση ($p < 0.05$) στην σύνθεση της σάρκας (πίνακας 10). Για υψηλότερες συγκεντρώσεις σε πρωτεΐνη στην τροφή τα ψάρια, παρουσίαζαν ανάλογη αύξηση του πρωτεϊνικού τους περιεχομένου. Ενώ το αντίστροφο παρατηρήθηκε στην εναπόθεση λίπους στο σώμα: καθώς το επίπεδο της διατροφικής πρωτεΐνης αυξανόταν, το επίπεδο του λίπους στο σώμα μειωνόταν. Αυτό αποδεικνύει ότι όταν ο λόγος πρωτεΐνη / ενέργεια αυξανόταν, περισσότερη ενέργεια χρησιμοποιούταν για την προσαύξηση

της πρωτεΐνης και λιγότερη για την σύνθεση λίπους. Αυτό επίσης έχει αποδειχθεί να συμβαίνει στην ιριδίζουσα πέστροφα (Lee και Putnam, 1973) και στο γατόψαρο (Page και Andrews, 1973). Ούτα τα επίπεδα της διατροφικής πρωτεΐνης ούτε η πηγή αυτής επηρέασαν τα επίπεδα υγρασίας και τέφρας. Η θνησιμότητα κατά το πείραμα δεν ξεπέρασε το 1% του συνολικού πληθυσμού των ψαριών.

Οι συγκεντρώσεις των αμινοξέων στο HM5 ήταν υψηλότερες από ότι στο Norse - LT 94 (πίνακας 3), και όμως τα ψάρια που τράφηκαν με HM5 σημείωσαν πολύ μικρότερη αύξηση, πράγμα το οποίο αποδεικνύει ότι τα αμινοξέα μπορεί να ήταν λιγότερο διαθέσιμα. Ο Cowey - Setal(1972) παρατήρησε ότι τα άλευρα μπακαλιάρου ξηραμένα εν ψυχρώ και ξηραμένα σε χαμηλές θερμοκρασίες (30°C) ήταν περίπου όμοια, όσο αναφορά το περιεχόμενό τους σε απαραίτητα αμινοξέα και παρόλα αυτά έδιναν διαφορετικούς ρυθμούς αύξησης στη γλώσσα. Η καταστροφή των απαραίτητων αμινοξέων μπορεί να προκύψει από τον σχηματισμό συμπλεγμάτων τα οποία δεν μπορούν να διασπασθούν με πεπτικά ένζυμα (Bender, 1972), την οξειδωση των αμινοξέων, ιδίως της μεθειονίνης, κυστεΐνης και της τρυπτοφάνης (Davidek et al. 1990), ή από την αντίδραση των προϊόντων της οξειδωσης λιπών με αμινοξέα (Gardner, 1979; Nielsen 1985, Davidek, 1990). Οι McCallum και Higgs (1989) βρήκαν ότι ο σολομός Chinook που τρέφονταν με ξηραμένο εν ψυχρώ rollock και μείγμα ευφασιοειδών σημείωσε καλύτερη αύξηση από ότι όταν τρέφονταν με ρέγγα ξηραμένη εν ψυχρώ. Σκέφτηκαν ότι, επειδή χρησιμοποιήθηκαν ολόκληρες ρέγγες, μερικές από τις πρωτεΐνες του δέρματος μπορεί να μην είχαν αφομοιωθεί εντελώς. Αυτό δεν μπορεί να

αποτελέσει τον λόγο για τις διαφορές στους ρυθμούς αύξησης σε αυτήν την μελέτη μιας και ολόκληρα ψάρια χρησιμοποιούνται για την παραγωγή όλων των ιχθυάλευρων.

Είναι πλέον αποδεκτό ότι όσο μεγαλύτερη η θερμοκρασία ξήρανσης τόσο μπορεί να αλλάξει η ποιότητα της πρωτεΐνης (March , 1966, Soares , 1971, Tarr και Biely 1972, March και Hickling, 1982). Το Norse - LT 94 κατασκευάζεται από φρέσκα υλικά και ξηραίνεται σε λιγότερο από 80°C. Τα δύο αλευρά ρέγγας που χρησιμοποιήθηκαν ξηράθηκαν στον ατμό και οι θερμοκρασίες μπορεί να έφταναν και στους 100°C. Αυτή η ζημιά ήταν επίσης αναγνωρίσιμη και με μερικά χημικά τεστ που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της ποιότητας σε πρωτεΐνη αυτών των ιχθυάλευρων.

Τα χημικά τεστ δεν κατέταξαν στην ίδια σειρά ποιότητας τα ιχθυάλευρα όπως τα βιολογικά ενώ η χρήση μόνο τριών ιχθυάλευρων περιόρισε τα συμπεράσματα. Βεβαίως δεν αναμενόταν ολική συμφωνία στην κατάταξη των ιχθυάλευρων μέσω των διαφόρων τεστ. Τα διάφορα χημικά τεστ εκτίμησαν διαφορετικά στοιχεία της ποιότητας της πρωτεΐνης στα ιχθυάλευρα. Οι *in vitro* πεψεις (πεψίνη και πολυένζυμα) προσδιόρισαν την συνολική διαθεσιμότητα των αμινοξέων. Το τεστ για την διαθέσιμη Λυσίνη είναι χρήσιμο για την αξιολόγηση της ποιότητας της πρωτεΐνης μόνο όταν η Λυσίνη είναι το πρώτο περιοριστικό αμινοξύ στην πρωτεΐνη ή την τελική τροφή (Bender, 1982). Η θρεονίνη υπολογίστηκε σαν το πρώτο περιοριστικό αμινοξύ στα άλευρα ρέγγας με τη χρησιμοποίηση δεικτών όπως το *chemical score* και ο Δείκτης Απαραίτητων αμινοξέων. (Tacon και Jackson, 1985, Hepher, 1988).

Είναι σημαντικό να λαμβάνουμε υπόψιν τις οργανοληπτικές ιδιότητες ενός ιχθυάλευρου. Το γαστρικό σύστημα των ψαριών είναι ευαίσθητο σε μία ποικιλία χημικών ουσιών, οι οποίες είτε διεγείρουν είτε αναστέλλουν την όρεξη (Fukuda, 1989, Jones, 1990, Hughes, 1991). Αν και αυτό δεν μελετήθηκε εδώ παρατηρήθηκαν διαφορές στην πρόσληψη τροφής των διαφόρων τροφών (πίνακας 8), και αυτο μπορεί να συσχετίζεται με τη φρεσκότητα της πρώτης ύλης των ιχθυάλευρων.

Συνοψίζοντας, (1) η διαδικασία του AOAC πέψης με πεψίνη δεν είναι ένας καλός δείκτης της ποιότητας του ιχθυάλευρου μιας και δεν ξεχωρίζει τα οριακής - ποιότητας αλευρά και δεν συσχετίστηκε με κανένα από τα άλλα τεστ που διεξήχθησαν (2) Το TVBN είναι περιορισμένης χρήσης τρόπος προσδιορισμού της ποιότητας της πρωτεΐνης, εκτός και εάν χρησιμοποιηθεί με άλλα τεστ. (3) Οι μέθοδοι για τις SH ομάδες και τους δεσμούς S-S δείχνουν περιορισμένη χρησιμότητα για την αξιολόγηση της ποιότητας της πρωτεΐνης. (4) Οι μέθοδοι του Torry της πέψης με πεψίνη και πολυενζύμα, είναι καλές για τον *in vitro* προσδιορισμό της πρωτεϊνικής ποιότητας. (5). Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι η ποιότητα της πρωτεΐνης των Καναδικών ιχθυάλευρων που ελέχθηκαν δεν είναι ισάξια αυτής του Norge - LT 94. (6) Οι μέθοδοι του Torry (πέψη με πεψίνη ή και πολυένζυμα) συνιστούνται για την γρήγορη εκτίμηση της ποιότητας της πρωτεΐνης των ιχθυάλευρων. Αν και μερικές από τις *in vitro* μεθόδους κατέταξαν τα ιχθυάλευρα στην ίδια σειρά ποιότητας όπως και τα βιολογικά τεστ, τα τελευταία συνίστωνα σαν τελική μέθοδος σύγκρισης.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2.1.

Formulation and proximate analysis of experimental diets used in vivo determination of protein quality in various fish meals

	Calculated dietary protein level (as fed-basis)									Protein-free
	16.0			28.0			40.0			
<i>Ingredients^a</i>										
Norse-LT94 [®]	21.7	0.0	0.0	38.0	0.0	0.0	54.2	0.0	0.0	0.0
Herring meal 1	0.0	19.7	0.0	0.0	34.4	0.0	0.0	49.1	0.0	0.0
Herring meal 5	0.0	0.0	20.9	0.0	0.0	36.5	0.0	0.0	52.2	0.0
Herring oil	14.1	14.7	14.5	12.3	13.4	12.9	10.5	12.0	11.4	18.0
Dextrin	25.0	25.0	25.0	10.0	10.0	10.0	0.0	0.0	0.0	40.0
Pre-gelatinized starch	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	0.0
Corn starch	12.9	15.1	13.4	13.5	17.3	14.3	4.0	9.6	5.3	18.4
Cellufil ^b	13.2	12.4	13.2	13.9	12.6	13.9	19.7	17.7	19.7	15.5
Vitamin Premix ^c	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Mineral Premix ^d	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Monocalcium phosphate	1.6	1.6	1.6	0.8	0.8	0.8	0.0	0.0	0.0	1.6
Choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
<i>Proximate analysis^a</i>										
Protein (%)	16.3	16.3	16.3	29.9	28.0	29.2	41.2	40.1	40.9	1.2
Lipid (%)	15.0	15.4	15.7	15.8	15.7	15.5	15.6	16.2	15.9	17.8
Ash (%)	5.1	4.7	4.9	6.4	5.5	5.9	7.7	6.4	6.9	2.7
Moisture (%)	7.0	6.7	6.3	6.4	6.4	6.7	6.2	5.9	5.6	6.0
Gross energy (MJ·kg ⁻¹)	19.4	19.9	19.9	20.2	20.7	20.5	20.6	21.2	21.1	19.7

^aExpressed as a percentage of the diet (as-fed basis).

^bAlpha-cellulose (US Biochemical Corporation, Cleveland, Ohio).

^cVitamin premix supplied (mg or IU·kg⁻¹ diet): vitamin A, 8000 IU; vitamin D₃, 4000 IU; vitamin E, 300 IU; vitamin K (menadione sodium bisulphite), 40; thiamin, 50; riboflavin, 70; pantothenate, 200; biotin, 1.5; folic acid, 20; vitamin B₁₂, 0.15; niacin, 300; pyridoxine, 20; ascorbic acid, 1200; inositol, 400; butylated hydroxytoluene, 15; butylated hydroxyanisole, 15.

^dMineral premix supplied (mg·kg⁻¹ diet): MnSO₄·H₂O, 153.9; FeSO₄·7H₂O, 497.5; CuSO₄·5H₂O, 59.1; ZnSO₄·7H₂O, 440.5; MgSO₄·7H₂O, 2525.3; KI, 6.5; Na₂SeO₃, 2.2; CoCl₂·6H₂O, 60.5; NaCl, 2500; NaF, 10.0; CaH₄(PO₄)·H₂O, 12195.1.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2.2.

Proximate and mineral analysis of various fish meals

	Herring meal						Herring ^a	Menhaden meal	Anchovy meal	Norse-LT94 [®]
	1	2	3	4	5	6				
<i>Proximate analysis</i>										
Dry matter (%) ^b	97.3	93.9	93.4	96.3	96.4	95.4	98.0	96.2	89.6	91.6
Protein (%) ^c	83.7	78.5	78.6	78.4	79.5	77.8	58.8	67.7	70.4	80.6
Lipid (%) ^c	9.4	11.5	14.3	9.6	10.2	15.0	33.3	10.7	11.4	12.0
Ash (%) ^c	11.0	14.6	12.8	14.0	11.6	13.1	9.3	21.5	17.5	13.1
Gross energy (MJ·kg ⁻¹) ^c	22.9	21.4	22.4	21.7	22.4	22.5	26.8	20.2	21.3	21.9
<i>Mineral analysis^d</i>										
Ca (%)	2.79	2.81	3.01	3.94	2.52	2.16	1.42	6.89	4.13	2.39
P (%)	2.06	2.17	2.19	2.44	1.80	1.69	1.35	3.65	2.60	2.07
Mg (%)	0.23	0.26	0.20	0.30	0.20	0.20	0.14	0.27	0.28	0.19
K (%)	0.76	1.05	0.96	0.43	0.70	0.97	1.09	0.54	0.79	1.64
Na (%)	0.46	1.57	0.71	0.69	0.73	1.18	0.67	0.67	1.07	0.83
Cu (mg·kg ⁻¹)	5.7	5.8	6.5	4.9	4.7	3.2	5.9	7.6	4.4	7.5
Fe (mg·kg ⁻¹)	76	168	181	220	116	153	73	249	300	263
Mn (mg·kg ⁻¹)	9	7	15	16	10	10	7	27	16	9
Zn (mg·kg ⁻¹)	120	79	86	107	88	78	58	122	69	108

^aFreeze-dried fish, consisting mostly of sexually mature males.

^bExpressed as a percentage of the fish meal (as-received).

^cExpressed as a percentage of the dry matter.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2.3.

Amino acid composition of fish meals

Amino acid ^b	Herring meal						Herring ^a	Menhaden meal	Anchovy meal	Norse-LT94 [®]
	1	2	3	4	5	6				
Ala	5.26	4.54	4.68	5.17	5.32	4.74	3.78	4.11	4.88	5.00
Arg	6.23	5.75	6.17	6.55	6.16	5.03	5.05	4.99	4.56	5.55
Asp	8.98	8.43	9.40	9.12	10.23	8.01	8.20	8.50	8.40	9.10
Cys	0.21	0.66	0.26	0.81	0.51	0.47	ND ^c	0.63	0.12	0.50
Glu	9.97	8.66	8.98	10.18	10.32	8.63	7.54	7.52	8.29	9.39
Gly	5.10	6.18	5.52	5.32	5.43	5.06	4.43	5.49	4.91	5.57
His	1.86	1.42	1.68	1.88	1.92	1.55	1.57	1.46	1.86	1.74
Ile	4.13	3.42	4.06	4.27	4.41	3.51	3.63	3.62	3.95	4.04
Leu	7.30	5.52	6.36	7.26	7.33	6.04	5.15	5.61	6.28	6.68
Lys	6.42	6.34	7.45	7.27	7.66	5.81	6.94	6.12	6.15	6.94
Met	2.65	2.00	2.18	2.67	2.57	2.14	1.70	2.35	2.13	2.43
Phe	3.61	2.91	3.28	3.63	3.72	3.03	2.72	2.93	3.35	3.42
Pro	4.00	4.08	4.22	4.28	4.66	4.41	3.54	4.45	3.67	4.02
Ser	3.49	3.58	3.42	3.49	3.33	3.16	2.64	3.19	2.67	3.14
Thr	3.00	2.89	2.82	3.14	3.28	2.87	1.73	3.20	2.78	2.65
Trp	0.79	ND	ND	ND	0.80	1.18	ND	0.43	0.26	0.75
Tyr	2.94	2.31	2.64	3.02	3.11	2.38	2.10	2.44	2.46	2.52
Val	4.80	3.75	4.26	4.90	4.85	3.99	3.66	4.25	4.11	4.38

^aFreeze-dried fish, consisting mostly of sexually mature males.^bExpressed as a percentage of the fish meal (dry matter basis).^cND (not determined).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2.4.

Protein quality evaluation of various fish meals by in vitro assays

Fish meals	Acid-corrected pepsin-digestible protein ¹		Multienzyme pH-stat digestibility ² (%)	Total volatile basic nitrogen ^a (mg·100 g ⁻¹)
	AOAC (%)	Torry (%)		
Herring meal 1	91.3±0.5 ^a	81.9±0.7 ^c	80.3±0.6 ^d	64.8±0.0 ^a
Herring meal 2	96.5±0.6 ^b	93.6±0.7 ^{ab}	88.1±0.0 ^a	123.2±4.8 ^c
Herring meal 3	96.4±0.7 ^b	93.0±0.3 ^{ab}	88.0±1.0 ^a	67.5±0.0 ^a
Herring meal 4	96.7±0.5 ^b	89.2±0.5 ^{ab}	81.9±0.03 ^d	81.8±1.3 ^{ab}
Herring meal 5	98.1±0.4 ^b	93.5±0.3 ^{ab}	86.0±0.1 ^b	45.5±1.1 ^a
Herring meal 6	96.7±1.0 ^b	91.9±0.7 ^{ab}	86.0±0.2 ^b	155.5±12.5 ^c
Herring ^b	94.1±0.5 ^c	95.9±3.4 ^a	87.9±0.2 ^a	27.8±0.0 ^a
Menhaden meal	97.7±0.6 ^b	84.0±1.2 ^{bc}	81.7±0.0 ^d	99.5±4.7 ^b
Anchovy meal	96.8±0.5 ^b	87.4±0.02 ^{bc}	84.0±0.3 ^c	55.6±7.4 ^c
Norse-LT94 [®]	98.5±0.2 ^b	96.8±0.01 ^a	85.2±0.2 ^{bc}	98.1±0.0 ^b

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2.5.

Total lysine and available lysine content of fish meals

Fish meals	Total lysine ¹ (g·16 g ⁻¹ N)	Available lysine ²	
		(g·16 g ⁻¹ N)	(%)
Herring meal 1	7.67±0.09 ^a	7.13±0.20 ^a	92.9±2.7 ^a
Herring meal 2	8.07±0.06 ^a	7.54±0.16 ^{ab}	93.4±2.0 ^a
Herring meal 3	9.48±1.07 ^a	8.80±0.18 ^{ab}	92.9±1.9 ^a
Herring meal 4	9.28±0.91 ^a	8.39±0.43 ^{ab}	90.4±4.6 ^a
Herring meal 5	9.63±0.01 ^a	9.00±0.50 ^b	93.5±5.1 ^a
Herring meal 6	7.46±0.06 ^a	7.45±0.50 ^{ab}	96.6±3.4 ^a
Herring ²	11.81±0.42 ^b	8.30±0.16 ^{ab}	70.3±1.4 ^b
Menhaden meal	9.05±0.19 ^a	7.42±0.12 ^{ab}	82.0±1.3 ^a
Anchovy meal	8.73±0.35 ^a	7.68±0.08 ^{ab}	88.0±0.9 ^a
Norse-LT94 [®]	8.62±0.62 ^a	7.82±0.11 ^{ab}	90.4±0.9 ^a

¹Mean and s.e.m. (n=2).²Freeze-dried fish, consisting mostly of sexually mature males.

a-b: Numbers, within the same column, not sharing the same superscript are significantly different

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2.6.

Sulphydryl groups, disulphide bonds, and cysteine content of fish meals

Fish meals	Sulphydryl ¹ SH	Sulphydryl and (Disulphide*2) ^{1,2} SH+S-S	(Disulphide*2) ^{1,2,3} S-S	Cysteine ⁴
Herring meal 1	1.23 ± 0.02 ^a	1.86 ± 0.02 ^a	0.63 ± 0.01 ^a	1.98 ± 0.58 ^a
Herring meal 2	4.19 ± 0.06 ^b	5.62 ± 0.21 ^{ab}	1.43 ± 0.15 ^a	6.93 ± 0.58 ^b
Herring meal 3	0.48 ± 0.02 ^c	2.10 ± 0.09 ^a	1.62 ± 0.11 ^a	2.72 ± 0.25 ^a
Herring meal 4	1.86 ± 0.06 ^{de}	3.61 ± 0.61 ^{ab}	1.75 ± 0.67 ^a	8.58 ± 0.50 ^b
Herring meal 5	1.44 ± 0.08 ^{de}	4.34 ± 0.75 ^{ab}	2.90 ± 0.82 ^a	5.28 ± 0.33 ^c
Herring meal 6	2.14 ± 0.06 ^{df}	5.48 ± 0.67 ^{ab}	3.34 ± 0.61 ^a	5.03 ± 0.41 ^c
Herring ⁵	2.37 ± 0.30 ^f	8.43 ± 3.05 ^b	6.06 ± 2.75 ^a	ND ⁶
Menhaden meal	1.21 ± 0.04 ^a	3.11 ± 1.01 ^{ab}	1.90 ± 0.97 ^a	7.67 ± 0.41 ^b
Anchovy meal	1.33 ± 0.10 ^a	1.87 ± 0.12 ^a	0.54 ± 0.22 ^a	1.40 ± 0.17 ^a
Norse-LT94 ^g	1.83 ± 0.09 ^{de}	2.85 ± 0.76 ^{ab}	1.02 ± 0.67 ^a	5.20 ± 0.33 ^c

¹Expressed as mM · 16 g⁻¹ N.²Disulphide bonds were determined as sulphydryl groups.³Determined by difference.⁴Determined by amino acid analysis.⁵Freeze-dried fish, consisting mostly of sexually mature males.⁶ND (not determined).

a-f: Mean and s.e.m. (n=2), within the same column, not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2.7.

Pearson correlation coefficients between tests used to measure protein quality in fish meals

Quality tests ^a	(AOAC)	(TORRY)	(MULTIENZ)	(TVBN)	(T-LYS)	(A-LYS)	(%A-LYS)	(SH)	(SHSS)	(SS)
(TORRY)	0.332									
	0.153 ^b									
(MULTIENZ)	0.174	0.743								
	0.463	0.000								
(TVBN)	0.293	-0.226	-0.085							
	0.207	0.339	0.721							
(T-LYS)	0.025	0.441	0.350	-0.635						
	0.916	0.051	0.130	0.003						
(A-LYS)	0.238	0.394	0.428	-0.529	0.476					
	0.313	0.085	0.060	0.017	0.034					
(%A-LYS)	0.167	-0.189	-0.059	0.389	-0.730	0.096				
	0.482	0.425	0.805	0.090	0.000	0.686				
(SH)	-0.001	0.379	0.387	0.224	-0.077	-0.256	-0.038			
	0.996	0.099	0.092	0.342	0.747	0.275	0.874			
(SHSS)	0.027	0.567	0.495	-0.159	0.294	0.180	-0.256	0.657		
	0.911	0.009	0.027	0.504	0.208	0.446	0.277	0.002		
(SS)	-0.008	0.431	0.446	-0.338	0.359	0.407	-0.240	0.213	0.851	
	0.975	0.058	0.049	0.145	0.120	0.075	0.309	0.367	0.000	
(CYS) ^c	0.427	0.163	-0.043	-0.070	0.203	0.074	-0.190	0.458	0.618	0.439
	0.077	0.519	0.866	0.783	0.419	0.771	0.450	0.056	0.006	0.069

^a(AOAC), AOAC pepsin digestibility; (TORRY), dilute pepsin digestibility; (MULTIENZ), multienzyme digestibility; (TVBN), total volatile basic nitrogen; (T-LYS), total lysine; (A-LYS), available lysine; (%A-LYS), percent of the total lysine available; (SH), sulphydryl groups; (SHSS), sulphydryl groups and disulphide bonds; (SS), disulphide bonds; (CYS), cysteine.^bThe probability that r=0 (n=20).^cFor cysteine n=18.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2.8.

Weight gain and protein utilization of Atlantic salmon fed diets containing fish meals as sole protein sources at different dietary protein levels for 70 days

	Protein-free	Norse-LT94 [®]			Herring meal 1			Herring meal 5			Pooled s.d. ²
		16	28	40	16	28	40	16	28	40	
Initial weight ^a	7.51	7.86	7.41	7.56	7.63	7.70	7.60	7.67	7.82	7.58	
Weight gain ^a	-0.80	9.04 ^d	16.16 ^{ab}	17.53 ^a	4.76 ^a	9.95 ^d	14.43 ^b	5.38 ^c	11.69 ^c	15.69 ^b	0.88
SGR (%·day ⁻¹)	-0.16	1.09 ^e	1.65 ^{ab}	1.72 ^a	0.69 ^f	1.18 ^e	1.52 ^e	0.76 ^f	1.31 ^d	1.60 ^{bc}	0.83
Feed consumption ¹	7.59	13.82 ^{ab}	15.07 ^a	15.02 ^a	12.17 ^{bc}	12.98 ^{abc}	11.92 ^{bc}	11.14 ^c	13.15 ^{abc}	13.03 ^{abc}	0.05
Feed efficiency	-0.12	0.65 ^c	1.07 ^a	1.17 ^a	0.39 ^d	0.77 ^{bc}	1.23 ^a	0.48 ^d	0.89 ^b	1.20 ^a	0.09
PER	-	4.00 ^a	3.59 ^a	2.83 ^b	2.39 ^b	2.74 ^b	2.99 ^b	2.95 ^b	3.05 ^b	2.94 ^b	0.26
NPR	-	4.37 ^a	3.77 ^b	2.96 ^c	2.81 ^c	2.96 ^c	3.15 ^c	3.40 ^{bc}	3.27 ^{bc}	3.09 ^c	0.26
NPU	-	68.77 ^a	62.01 ^{ab}	55.64 ^{bc}	47.24 ^c	50.82 ^c	57.13 ^{bc}	55.58 ^{bc}	55.22 ^{bc}	57.45 ^{bc}	3.93
Protein consumption ¹	0.00	2.26 ^f	4.51 ^c	6.19 ^a	1.98 ^a	3.64 ^c	4.90 ^c	1.82 ^a	3.84 ^d	5.33 ^b	0.33
Protein gain ¹	-0.24	1.30 ^f	2.54 ^c	3.19 ^a	0.68 ^f	1.59 ^c	2.51 ^{bc}	0.76 ^f	1.86 ^e	2.80 ^b	0.14

¹g·fish⁻¹.

²Overall variation within the group (square root of the appropriate mean square error from the analysis of variance).

a-g: Numbers, within a row, not sharing the same superscript are significantly different ($P < 0.05$).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2.9

Slope ratios of gains in body protein or weight against protein intake for groups of Atlantic salmon fed various fish meals at different protein levels

Protein source		Slope ¹ of body protein	Slope ¹ of body weight
Norse-LT94 [®]	Slope	0.612 ^{aa}	3.721 ^{aa}
	s.e. of slope	0.019	0.156
	Intercept	-0.177	-0.194
	Correlation coefficient	0.997	0.995
	Relative slope	(100)	(100)
	Ranking	1	1
	Herring meal 1	Slope	0.516 ^b
s.e. of slope		0.014	0.084
Intercept		-0.289	-0.781
Correlation coefficient		0.997	0.997
Relative slope		(84)	(77)
Ranking		3	3
Herring meal 5		Slope	0.569 ^a
	s.e. of slope	0.018	0.107
	Intercept	-0.272	-0.482
	Correlation coefficient	0.995	0.996
	Relative slope	(93)	(83)
	Ranking	2	2

¹The slopes were calculated including points obtained from groups of fish fed a protein-free diet.

^aData from the fish fed Norse-LT94[®] at 40% dietary protein were omitted from the regression analysis to meet the requirements of linearity for the slope assay.

a-b: Slopes, within the same column, not sharing the same superscript are significantly different ($P < 0.05$; Scheffé's test).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2.10.

Body composition of Atlantic salmon fed diets containing various fish meals at different dietary protein levels

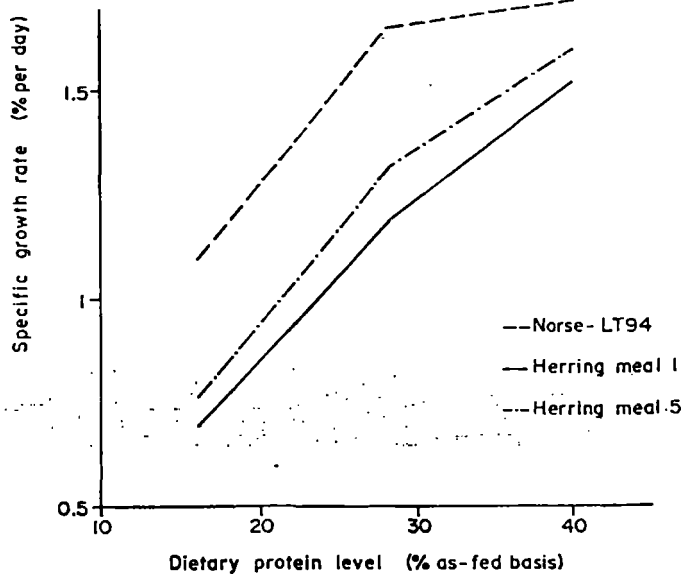
Protein source	Protein level (%)	Moisture ¹ (%)	Protein ¹ (%)	Lipid ¹ (%)	Ash ¹ (%)
Norse-LT94 [®]	16	72.6 ^a	14.8 ^d	9.8 ^a	2.4 ^a
	28	72.7 ^a	15.9 ^c	9.0 ^{abc}	2.3 ^a
	40	73.4 ^a	17.5 ^a	7.5 ^c	2.4 ^a
Herring meal 1	16	72.2 ^a	15.3 ^d	9.9 ^a	2.4 ^a
	28	73.0 ^a	15.8 ^c	8.8 ^{abc}	2.4 ^a
	40	73.1 ^a	16.9 ^b	8.2 ^{bc}	2.4 ^a
Herring meal 5	16	72.5 ^a	15.1 ^d	9.8 ^a	2.4 ^a
	28	72.4 ^a	15.7 ^c	9.3 ^{ab}	2.3 ^a
	40	73.1 ^a	17.3 ^a	8.0 ^{bc}	2.4 ^a
Protein free	0	77.0 ^b	14.2 ^c	6.1 ^d	2.8 ^b
Pooled s.d. ²		0.5	0.2	0.6	0.04

¹Expressed as a percentage of the sample (as-is basis).

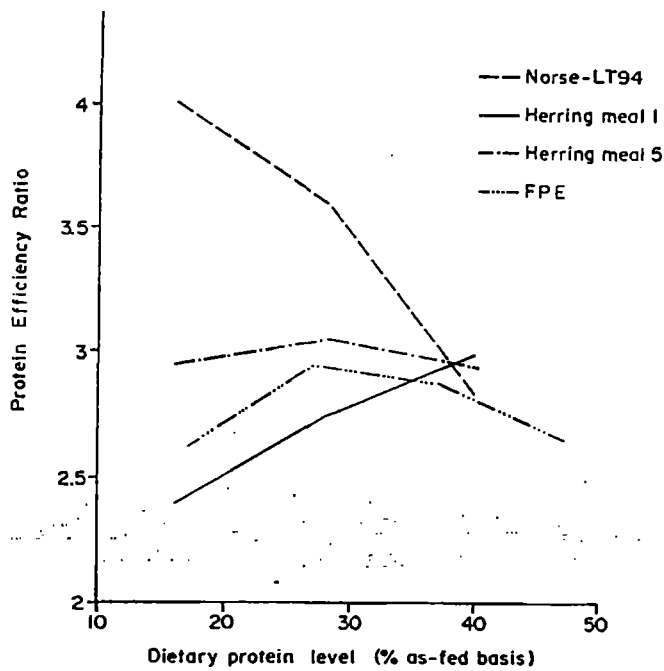
²Overall variation within the group (square root of the mean square error from the analysis of variance).

Body composition (as-is basis) at the beginning of the experiment was: moisture, 75.7%; protein, 15.9%; lipid, 6.1%; ash, 2.4%.

a-e: Means ($n=3$), within the same column, not sharing the same superscript are significantly different ($P<0.05$).

ΣXHMA 4.2.1.

Specific growth rates of Atlantic salmon fed fish meals at different dietary protein concentrations.

ΣXHMA 4.2.2.

Effect of dietary protein level on protein efficiency ratio of Atlantic salmon fed different fish meals (this study) and chinook salmon fry fed freeze-dried pollock and euphausiid (FPE) (McCallum and Higgs, 1989).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο

**ΑΝΑΦΟΡΑ ΣΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΩΝ
ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΩΝ ΠΟΥ ΣΤΟΧΟ ΕΙΧΑΝ ΤΗ
ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΩΝ
ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΠΗΓΩΝ ΣΤΙΣ ΙΧΘΥΟΤΡΟΦΙΕΣ**

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.1.

**ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΙΧΘΥΑΛΕΥΡΟΥ ΑΠΟ
ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕΤΡΟΦΕΣ
ΤΗΣ ΙΡΙΔΙΖΟΥΣΑΣ ΠΕΣΤΡΟΦΑΣ.**

T. Watanabe, J. Pongmaneerat, S. Satoh και T. Takeuchi,
Nippon Suisan Gakkaishi 59 (9), pp 1573-1579, 1993

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μελέτη αυτή αφορά τη χρησιμοποίηση εναλλακτικών πηγών πρωτεϊνών όπως το απολιπομένο σογιάλευρο (defatted SBM), η Γλουτεΐνη καλαμποκιού (CGM) και κρεατάλευρο (MM) για την αντικατάσταση του ιχθυάλευρου σε τροφές ιριδίζουσας πεστρόφας μέσους βάρους 3 gr. Ο συνδυασμός αυτών των πηγών πρωτεϊνών έγινε με στοχο την αντικατάσταση του 55,64, 73,82 και 21% του ιχθυάλευρου σε τροφή που περιείχε 42% πρωτεΐνη. Χρησιμοποιήθηκαν διπλές δεξαμενές και τα ψάρια τράφηκαν για 13 βδομάδες σε θερμοκρασία 15°C.

Όλες οι τροφές έδωσαν ικανοποιητικά αποτελέσματα αύξησης ψαριών και απόδοση τροφής σε σύγκριση με την τροφή αναφοράς. Αν και η τιμή της PER των πειραματικών τροφών που περιείχαν εναλλακτικές πρωτεΐνες ήταν μικρότερη από αυτή της τροφής αναφοράς δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές στην εναπόθεση πρωτεΐνης και ενέργειας εκτός από την τροφή στην οποία το 91% του ιχθυάλευρου είχε αντικατασταθεί. Παρ'όλα αυτά η τροφή αυτή έχει το πλεονέκτημα του πολύ φτηνότερου κόστους παραγωγής. Όλες οι τροφές είχαν καλή πεπτικότητα και αφομοίωση κατά 91 με 93%. Ο ηπατοσωματικός δείκτης και η σύσταση του σώματος δεν διεφέρε από την ομάδα αναφοράς.

Το σογιάλευρο είναι το πιο υποσχόμενο υποκατάστατο του ιχθυάλευρου, όμως η αντικατάσταση μεγάλου μέρους ιχθυάλευρου με αυτό μειώνει τη απόδοση της τροφής και δίνει μικρότερη αύξηση. Το σογιάλευρο περιέχει μεγάλο ποσοστό πολύπλοκων υδατάνθρακων που

δεν πέπτονται εύκολα από την ιριδίζουσα πέστροφα έτσι την μείωση του ποσοστού αφομοιώσιμης ενέργειας (DE) της τροφής. Αυτή η πρωτεΐνη δεν έχει τόσο καλή ισορροπία σε ΕΑΑ όπως το ιχθυάλευρο και παρουσιάζει ανεπάρκεια σε ορισμένα αμινοξέα όπως η Μεθειονίνη. Έχουν γίνει μελέτες για τον συνδυασμό εναλλακτικών πηγών πρωτεϊνών έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η σωστή ισορροπία των ΕΑΑ. Ο συνδυασμός σογιάλευρου με καλαμποκάλευρο χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία για την αντικατάστασή του 63% του ιχθυάλευρου σε τροφές της ιριδίζουσας πέστροφας. Αυτό μας δείχνει ότι συνδυασμός εναλλακτικών πρωτεϊνών μπορεί να δώσει πολύ θετικά αποτελέσματα.

Υλικά και Μέθοδοι

Πειραματικές τροφές

Το καφέ ιχθυάλευρο, το MM και τα CGM πάρθηκαν από τη Nippon Nosan kogyo Co ενώ το SBM από τη Sakamoto Fish Feed Co. Η σύνθεση των αμινοξέων σ'αυτές τις πρωτεΐνες φαίνεται στο πιν. 1. Η σύνθεση των θρεπτικών στοιχείων στις πειραματικές τροφές φαίνεται στο πιν. 2. Η SBM συνδυάστηκε με CGM και MM για την αντικατάσταση του ιχθυάλευρου. Η τροφή 1 είναι η τροφή αναφοράς και περιέχει 56% ιχθυάλευρο σαν μοναδική πηγή πρωτεϊνών. Ο συνδυασμός αυτών των πρωτεϊνικών αλεύρων χρησιμοποιήθηκε για να αντικαταστήσει το 55, 64, 73, 82 και 91% του ιχθυάλευρου στις τροφές 2-6 αντίστοιχα. Οι τροφές σχεδιάστηκαν ώστε να έχουν το ίδιο ποσό πρωτεΐνης αλλά με ελαφρά μεγαλύτερη ενέργεια στις τροφές με το μεγαλύτερο ποσοστό αντικατάστασης ιχθυάλευρου για να αντισταθμιστεί η μη πέψη των

υδατανθράκων των φυτικών συστατικών. Στο πίνακα 3 φαίνεται ο δείκτης των ΕΑΑ και η σύνθεση των αμινοξέων. Όλες οι τροφές φαίνονται να περιέχουν ικανοποιητικές ποσότητες ΕΑΑ για την κάλυψη των αναγκών του ψαριού. Εκτός από τη Λυσίνη και τη Μεθειονίνη τα άλλα αμινοξέα βρίσκονται στα επίπεδα της τροφής αναφοράς. Παρόλα αυτά το ποσοστό της Λυσίνης στις τροφές αυτές βρίσκεται πάνω από το επίπεδο που απαιτείται από την ιριδίζουσα Πέστροφα (1,88% της ξηρής τροφής) όπως και η Μεθειονίνη που πρέπει να είναι σε επίπεδο 0,64 (της ξηρής τροφής) όταν η κυστεΐνη βρίσκεται σε 0.32% σ' αυτή ή 1% όταν λείπει η κυστεΐνη. Έτσι όλες οι τροφές περιέχουν ικανοποιητικές ποσότητες ΕΑΑ και ο δείκτης αυτών βρίσκεται μεταξύ 74 και 79, με τη μεγαλύτερη τιμή για τη τροφή αναφοράς, όταν υπολογίζεται με βάση τη σύνθεση των ΕΑΑ της πρωτεΐνης του αυγού.

Τα διάφορα συστατικά αναμιγνύονται ενώ σταδιακά προστίθεται λάδι και νερό. Στη συνέχεια αφού το μείγμα περάσει μέσα από κόφτη κιμά παίρνει τη μορφή μακαρονιού και μετά κόβεται σε πολύ μικρά κομμάτια. Μετά του Pellets καταλλήλου μεγέθους και αφού ξηραθούν στους 20°C σε κενό αέρος για 18-24h τα τοποθετούμε στα ψυγεία (3°C) ώσπου να χρησιμοποιηθούν.

Ψάρια και ο τρόπος χορήγησης τροφής.

Στο αρχικό stock των ψαριών χορηγήθηκε μια τροφή του εμπορίου για 4 βδομάδες. Στη συνέχεια έγινε επιλογή των ψαριών με μέσο βάρος 3gr και τοποθετήθηκαν τυχαία ανά 30 άτομα στη κάθε δεξαμενή (45 lt). Η θερμοκρασία του νερού διατηρήθηκε σταθερή στους 15±1°C και η ροή

νερού στα 0,6-1,0lt/mim. Η χορήγηση της κάθε τροφής γίνονταν σε 2 ημερήσια γεύματα για 13 βδομάδες σε διπλές δεξαμενές. Κατά αυτήν την περίοδο κάθε 4 βδομάδες τα ψάρια ζυγίζονται για να υπολογιστεί ο ρυθμός ανάπτυξής τους.

Αναλυτικοί μέθοδοι

Σε δείγματα των τροφών έγινε ανάλυση για ολική πρωτεΐνη, ολικό λίπος, άμυλο, τέφρα, υγρασία και ενέργεια. Σε δείγματα περιττωμάτων έγινε ανάλυση οξειδίου του χρωμίου, ολική πρωτεΐνη, άμυλο και ενέργεια. Η σύνθεση των αμινοξέων των πειραματικών τροφών έγινε από το Japan Food Research Laboratories ενώ η πεπτικότητα (Digestibility) των τροφών έγινε με τη μέθοδο του οξειδίου του χρωμίου.

Δείγματα από πενήντα ψάρια αρχικά και 15 από κάθε δεξαμενή τελικά μετά από ομογενοποίηση χρησιμοποιήθηκαν για ανάλυση της σύστασης του σώματος.

Στατιστικές αναλύσεις

Η ANOVA (Analysis of Variance) και το Duncans Multiple range test χρησιμοποιήθηκε για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων για επίπεδο σημαντικότητας 0.05.

Αποτελέσματα και συζήτηση.

Αύξηση - Απόδοση τροφής

Στο πίνακα 4 δίνονται οι τιμές αύξησης και απόδοσης της τροφής. Στο διάγραμμα 1 φαίνεται το μέσο βάρος των ψαριών που τράφηκαν με

τις διάφορες πειραματικές τροφές κατά τη διάρκεια του πειράματος. Η τροφή που περιείχε 25% SBM, 15% CGM και αντικατάστησε το 55% του ιχθυάλευρου έδωσε τον καλύτερο ρυθμό ανάπτυξης των ψαριών. Η αντικατάσταση του ιχθυάλευρου μέχρι 82% με διάφορους συνδυασμούς των SBM, CGM, και MM, έδωσε ελαφρώς καλύτερη ανάπτυξη από την τροφή αναφοράς. Η ανάπτυξη μειώθηκε ελαφρά όταν αντικαταστάθηκε το 91% του ιχθυάλευρου με 30% SBM, 15% CGM και 15% MM χωρίς όμως το τελικό βάρος των ψαριών και το ποσοστό αύξησης του βάρους να διαφέρει σημαντικά από τη τροφή αναφοράς. Η απόδοση της τροφής (Feed Efficiency) ήταν μεταξύ 1.1 και 1.2 με το χαμηλότερο στη τροφή όπου το ιχθυάλευρο αντικαταστάθηκε κατά 91%. Το PER όλων των τροφών ήταν ψηλό από 2.5-2.8) οι τιμές αυτές παρουσίαζαν πτωτική τάση όσο αυξανόταν το ποσοστό αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου. Η χαμηλότερη απόδοση της τροφής και της πρωτεΐνης στη τροφή με 91% αντικατάσταση πιθανόν να οφείλεται στη χαμηλότερη απορρόφηση των αμινοξέων. Την ίδια διαπίστωση έκανε ο Wilson σε μελέτες του ο οποίος παρατήρησε ότι υπάρχουν διαφορές στη διαθεσιμότητα του καθενός από τα αμινοξέα σε μια τροφή παρόλο που υπάρχει συμφωνία ανάμεσα στις τιμές πεπτικότητας της πρωτεΐνης και μέσης διαθεσιμότητας των αμινοξέων. Επίσης ότι η τιμή διαθεσιμότητας της Λυσίνης 90,9% είναι πιο υψηλή από το 80.4 της Μεθειονίνης που αναφέρεται για τη χορήγηση σογιάλευρου στο γατόψαρο. Ο Dabrowski βρήκε ότι η απορρόφηση των αμινοξέων μειώνεται ακόμη και όταν το 25% του ιχθυάλευρου αντικαθίσταται με σογιάλευρο (13% σογιάλευρο στη τροφή) και μειώνεται ακόμα περισσότερο σε 50% ή πλήρη αντικατάσταση

ιδιαίτερα για τα αμινοξέα Μεθειονίνη, Λευκίνη και Θρεονίνη. Ο ίδιος επίσης βρήκε ότι η μέση απορρόφηση ΕΑΑ μειώνεται κατά 9.9% όταν δίνεται τροφή που περιέχει 25% σογιάλευρο (81.3% απορρόφηση ΕΑΑ) αντί για ιχθυάλευρο όπου η απορρόφηση των ΕΑΑ είναι 91.2%.

Στο πίνακα 5 φαίνεται η κατανάλωση της τροφής και η εναπόθεση της πρωτεΐνης και της ενέργειας. Τα ψάρια έδειξαν καλούς ρυθμούς κατανάλωσης για όλες τις τροφές οι οποίες είχαν επίσης μεγάλη αποδοχή από αυτά. Η καθημερινή κατανάλωση τροφής δεν διάφερε μεταξύ των τροφών και ήταν περίπου 1,7g/100g βάρους/ημέρα. Αυτό δείχνει ότι ο συνδυασμός SBM CGM και MM με αντικατάσταση του 91% του ιχθυάλευρου μπορεί να δώσει μια τροφή η οποία να είναι συγκρισιμα αποδεκτή από τα ψάρια με αυτή που περιέχει μόνο ιχθυάλευρο. Όλα τα ψάρια είχαν καλή υγεία και δεν παρατηρήθηκαν θνησιμότητες. Ο Lovell αναφέρει ότι το SBM μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν κύρια πηγή πρωτεϊνών για την ιριδίζουσα πέστροφα και να δώσει καλούς ρυθμούς ανάπτυξης αλλά αν το ιχθυάλευρο μειωθεί κάτω από 18% στη τροφή η γευστικότητα της τροφής μειώνεται. Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι 5% ιχθυάλευρο μπορεί να δώσει μια γευστική τροφή όταν το 91% του ιχθυάλευρου αντικατασταθεί από 30% SBM, 15% CGM και 15% MM.

Η εναπόθεση της πρωτεΐνης και ενέργειας στα ψάρια δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές όταν το ιχθυάλευρο αντικαθίσταται μέχρι 82% σε σύγκριση με τη τροφή που περιείχε μόνο ιχθυάλευρο όμως αυτοί οι παράμετροι μειώνονται όταν αντικαθίσταται το 91%. Οι τιμές της εναπόθεσης πρωτεΐνης και ενέργειας κυμάνθηκαν από 38.4 έως 45% και από 41.6 έως 48.1 αντίστοιχα. Όλοι οι παράμετροι χρησιμοποίησης

θρεπτικών μας έδωσαν γενικά καλά αποτελέσματα μέχρι 82%. Η αντικατάσταση του ιχθυάλευρου συγκρίσιμο με αυτά της τροφής ιχθυαλεύρου.

Αν και αυτοί οι παράμετροι των ψαριών στα οποία χορηγήθηκε τροφή με αντικατάσταση του 91% του ιχθυάλευρου με 30% SBM, 15% CGM και 15% MM είναι πιο χαμηλοί το οικονομικό κόστος παραγωγής αυτής της τροφής είναι πολύ πιο φτηνό, σε σύγκριση με τη τροφή που περιέχει αποκλειστικό ιχθυάλευρο καθιστώντας πιο συμφέρουσα την χρησιμοποίηση της.

Πεπτικότητα

Στο πίνακα 6 φαίνεται η πεπτικότητα των θρεπτικών. Η πεπτικότητα της πρωτεΐνης σε όλες τις πειραματικές τροφές ήταν μεγάλη 91 με 93% και δεν επηρεάστηκε σημαντικά από το ποσοστό χρησιμοποίησης των εναλλακτικών πρωτεϊνών. Η πεπτικότητα του αμύλου κυμάνθηκε 76 έως 79% χωρίς σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις διάφορες τροφές εκτός της τροφής αναφοράς που είναι 83%. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι ίδια ποσά φυτικών πρωτεϊνών (25-30% SBM και 15% CGM) και μη πεψίμων υδατανθράκων περιέχονται σε όλες τις τροφές 55-91% αντικατάστασης ιχθυαλεύρου και ότι το α-αμυλο, που έχει μεγάλη πεπτικότητα περιέχεται στη τροφή αναφοράς. Η τιμή της πεπτικότητας της ενέργειας είναι σε όλες τις τροφές υψηλή 88 με 89% και δεν επηρεάζεται από τη πεπτικότητα του αμύλου γιατί αυτό βρίσκεται σε μικρά ποσά.

Σύσταση του σώματος.

Στο πίνακα 7 φαίνεται η σύσταση του σώματος και ο Ηπατοσωματικός δείκτης (HSI). Οι σωματικές πρωτεΐνες δεν διαφέρουν σημαντικά από τη τροφή αναφοράς εκτός από το όταν το 91% του ιχθυάλευρου αντικαθίσταται όπου είναι λίγο πιο χαμηλές. Οι ποσότητες των πρωτεϊνών και των λιπών στην αρχή του πειράματος είναι χαμηλότερες από το ότι στο τέλος αυτού. Η υγρασία είναι υψηλότερη στην αρχή από ότι στο τέλος. Το σωματικό λίπος, η τέφρα και η υγρασία είναι ίδια με όλες τις τροφές, όπως και ο HSI (0,95-1,05). Ο HSI δείχνει την καλή κατάσταση των ψαριών. Οι Satomi και Tanaka (1973) απέδειξαν ότι δεν υπάρχει άμεση σχέση ανάμεσα στο βάρος του συκωτιού πεστρόφας που τράφηκε με σόγια και σε αυτή που τράφηκε με τροφή του εμπορίου.

Τελική διαπίστωση είναι ότι ο συνδυασμός 30% SBM, 15% CGS και 15% MM σαν υποκατάστατα του 90% του ιχθυάλευρου σε τροφή πέστροφας μας δίνει περίπου ίδιο ρυθμό αύξησης με το ιχθυάλευρο, σε τροφές που περιέχουν 44% πρωτεΐνη. Η απόδοσης αυτής της τροφής και της πρωτεΐνης είναι κάπως χαμηλότερη σε σύγκριση με το ιχθυάλευρο αλλά παραμένει οικονομικά πιο συμφέρουσα.

Ο συνδυασμός αυτών των πρωτεϊνικών πηγών μπορεί να βελτιώσει τη σύνθεση των αμινοξέων και να βελτιώσει έτσι και την απόδοση της τροφής.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.1.

Amino acid and proximate composition of various protein meals

Amino acid (g/100 g protein)	Fish meal	Soybean meal	Corn gluten meal	Meat meal
Arginine	5.35	7.04	3.03	6.45
Lysine	7.63	5.88	1.62	5.07
Histidine	2.90	2.58	1.81	1.93
Phenylalanine	3.80	4.83	6.19	3.24
Tyrosine	3.01	2.96	4.72	2.21
Leucine	7.05	7.31	15.95	5.75
Isoleucine	3.90	4.35	3.89	2.81
Methionine	2.63	1.32	2.37	1.39
Cystine	0.86	1.41	1.72	0.74
Valine	4.91	4.52	4.31	4.31
Alanine	5.93	4.12	8.30	7.81
Glycine	5.99	4.07	2.50	12.40
Proline	4.11	5.04	9.82	7.97
Glutamic acid	11.56	16.72	21.27	10.87
Serine	3.74	4.72	4.94	3.43
Threonine	3.99	3.70	3.28	3.09
Aspartic acid	8.69	10.99	6.07	7.12
Tryptophan	1.03	1.28	0.42	0.65
Proximate composition (%)				
Crude protein	67.64	47.46	63.95	79.65
Crude lipid	9.45	1.97	3.17	11.82
Crude ash	15.14	5.59	1.54	4.38
Moisture	8.16	12.13	10.62	4.30

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.2.

Composition and nutrient analysis of the experimental diets containing alternative protein sources for rainbow trout

Replacement of fish meal (%)	0	55	64	73	82	91
Ingredient (%)	Diet no.					
	1	2	3	4	5	6
Brown fish meal	56	25	20	15	10	5
Meat meal	—	—	5	10	15	15
Corn gluten meal	—	15*	15*	15*	15*	15*
Soybean meal	—	25*	25*	25*	25*	30*
Feed oil* ¹	15	15	15	15	15	15
α -Starch	15*	12*	12*	12*	12*	12*
Cellulose	6	—	—	—	—	—
Mineral mixture* ²	5	5	5	5	5	5
Vitamin mixture* ²	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Vitamin E (50% purity)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Chromic oxide* ³	1	1	1	1	1	1
<i>Nutrient content (% on dry matter basis)</i>						
Moisture	4.1	5.0	4.5	6.3	7.5	7.9
Crude protein	41.6	43.1	43.4	44.0	44.7	43.5
Crude lipid	22.8	21.3	21.4	22.1	21.7	20.6
Crude ash	13.1	10.0	9.4	8.9	8.5	7.9
Crude starch	14.2*	17.7*	20.3*	21.7*	22.7*	23.7*
Gross energy* ⁴	545.8	564.3	565.6	572.2	580.7	582.5
Digestible energy* ⁴	478.0	486.7	499.8	499.6	508.9	519.6
Protein cost ($\frac{\%}{\text{kg}}$ protein)	192.2	137.5	129.6	121.9	114.4	106.5
Protein cost/weight gain ($\frac{\%}{\text{kg}}$ protein cost/kg gain)	68.4	49.6	46.9	44.8	43.1	42.6

*¹ A mixture of pollack liver oil: soybean oil (2:3).*² The composition was the same as reported previously.⁵¹

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.3.

Amino acid composition of the experimental diets containing alternative protein sources for rainbow trout

Amino acid (g/100 g dry diet)	Diet no.						Requirement* ¹ (g/100 g protein)
	1	2	3	4	5	6	
Arginine	2.21	2.25	2.36	2.38	2.43	2.45	3.1 (1.34/40)
Lysine	3.14	2.39	2.38	2.25	2.19	2.10	4.7 (1.88/40)
Histidine	1.17	1.10	1.11	1.07	1.04	1.03	1.4 (0.46/40)
Phenylalanine	1.60	2.08	2.11	2.06	2.05	2.09	2.8 (1.12/40)
Tyrosine	1.12	1.44	1.44	1.39	1.38	1.38	1.9 (0.76/40)
Leucine	2.93	4.14	4.18	4.08	4.06	4.10	3.9 (1.56/40)
Isoleucine	1.69	1.79	1.81	1.74	1.72	1.71	2.1 (0.84/40)
Methionine	1.13	0.97	0.93	0.89	0.91	0.81	1.6 (0.64/40)
Cystine	0.37	0.55	0.55	0.54	0.58	0.56	0.8 (0.31/40)
Valine	2.08	2.06	2.10	2.06	2.06	2.04	2.8 (1.12/40)
Alanine	2.42	2.59	2.74	2.77	2.87	2.79	
Glycine	2.52	1.99	2.37	2.66	2.99	2.86	
Proline	1.68	2.43	2.64	2.78	2.95	2.99	
Glutamic acid	4.81	6.69	6.85	6.77	6.77	7.02	
Serine	1.52	1.86	1.90	1.84	1.86	1.88	
Threonine	1.64	1.59	1.62	1.54	1.53	1.51	3.0 (1.20/40)
Aspartic acid	3.63	3.77	3.84	3.72	3.69	3.72	
Tryptophan	0.49	0.42	0.42	0.40	0.38	0.38	0.4 (0.16/40)
EAAI**	79.07	77.76	77.71	74.92	73.89	74.90	

*¹ In parentheses, the numerators are requirements as percent of diet and the denominators are percent total protein in diet.²⁾

** Essential amino acid index.

ΠΙΝΑΚΑΣ. 5.1.4.

Growth, feed efficiency, and PER of rainbow trout fed diets containing alternative protein sources

Diet no.	Replacement of fishmeal (%)	Av. body wt. (g)±SD		Weight gain (%)	Feed efficiency	PER
		Initial	Final			
1	0	3.0±0.4	37.5±13.5** ¹	1166.8 ^a	1.17	2.81
2	55	2.9±0.4	42.3±14.1 ^a	1355.3 ^a	1.19	2.77
3	64	2.9±0.3	41.1±12.1 ^a	1314.7 ^a	1.20	2.76
4	73	2.9±0.3	39.9±10.1 ^a	1287.4 ^a	1.20	2.72
5	82	2.9±0.3	37.9±12.1 ^a	1226.6 ^a	1.19	2.66
6	91	3.0±0.4	35.3±9.7 ^a	1093.3 ^a	1.10	2.50

*¹ Values with the same superscript within columns are not significantly different at $P > 0.05$.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.5.

Feed consumption and retention of protein and energy in rainbow trout fed diets with alternative protein sources

Diet no.	Replacement of fishmeal (%)	Feeding rate (%)	Daily intake per fish			Retention (%)	
			Feed (mg)	Protein (mg)	DE* ¹ (cal)	Protein	Energy
1	0	1.70	344.5	142.9	1674	44.6	47.4
2	55	1.70	384.0	165.2	1930	45.1	48.1
3	64	1.68	369.8	160.5	1878	44.2	47.0
4	73	1.67	358.0	158.3	1830	42.7	45.6
5	82	1.68	342.3	153.6	1769	41.5	44.6
6	91	1.79	342.0	150.5	1782	38.4	41.6

*¹ Digestible energy.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.6.

Apparent digestibility of nutrients in diets with various alternative protein sources in rainbow trout

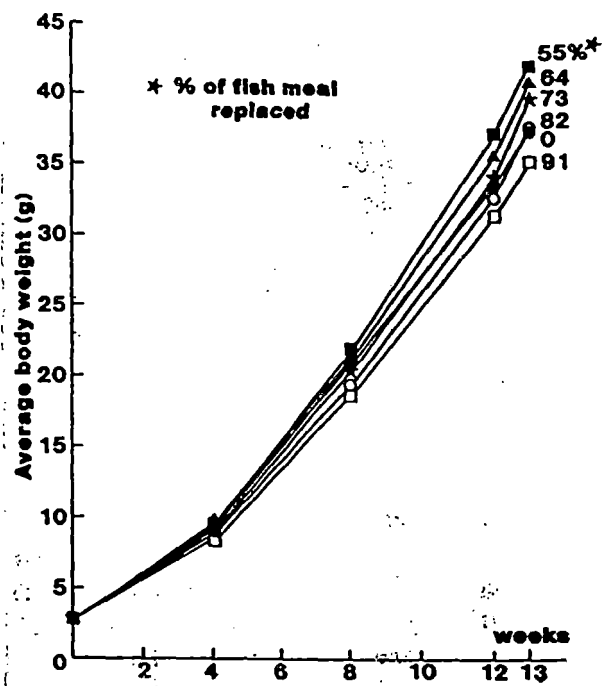
Diet no.	Replacement of fishmeal (%)	Apparent degestibility (%)		
		Protein	Starch	Energy
1	0	91.2	82.9	87.7
2	55	90.9	77.9	87.7
3	64	91.8	79.3	88.7
4	73	92.3	76.7	88.2
5	82	92.7	78.5	88.6
6	91	93.5	79.1	89.1

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.7.

Carcass composition of the experimental fish fed diets with various alternative protein sources

Diet no.	Replacement of fishmeal (%)	Crude protein	Crude lipid	Moisture	Crude ash	Hepato-somatic index
Initial fish		14.68	5.62	78.36	2.29	
1	0	15.77	14.25	68.74	2.03	1.05
2	55	16.15	14.63	67.90	1.99	0.95
3	64	15.89	14.14	68.65	1.97	1.05
4	73	15.64	13.82	69.16	1.93	1.05
5	82	15.55	13.69	68.78	1.99	1.03
6	91	15.31	14.08	68.51	1.98	1.00

ΣXHMA 5.1.1.



Growth of rainbow trout fed diets containing soybean meal, corn gluten meal, and meat meal as a substitute for fish meal.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.2.

**ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΙΧΘΥΑΛΕΥΡΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ
ΣΟΓΙΑΛΕΥΡΟΥ ΑΠΟ ΗΛΙΟΣΠΟΡΑΛΕΥΡΟ ΣΕ ΤΡΟΦΕΣ
ΤΗΣ ΙΡΙΔΙΖΟΥΣΑΣ ΠΕΣΤΡΟΦΑΣ.**

An Inst Ciene del Mar y Limnal Unir Natl Anton. Mexico.

13(2): pp 345-352 (1986)

Περίληψη

Ένα πείραμα 49 ημερών πραγματοποιήθηκε με ιριδίζουσα πέστροφα για να διαπιστωθεί η θρεπτική αξία του ηλιοσποραλεύρου για την αντικατάσταση του σογιάλευρου (Solvent extracted) και καφέ ιχθυάλευρου σε τροφές της πεστρόφας. Σχεδιάστηκαν πέντε τροφές, μια τροφή αναφοράς όπου το καφέ ιχθυάλευρο ήταν η κύρια πηγή πρωτεϊνών (40% ιχθυάλευρο) και 15% σογιάλευρο, δύο τροφές στις οποίες το ηλιοσποράλευρο αντικαταστήσε το 50 και 100% του σογιάλευρου (11 και 22% ηλιοσποράλευρο); δύο τροφές στις οποίες το ηλιοσποράλευρο αυξήθηκε σε 37.5 και 37.3% αντικαταστώντας το σογιάλευρο και μειώνοντας το ιχθυάλευρο από 40 σε 35%, και στις οποίες έγινε προσθήκη L-Μεθειονίνης. Η ανάπτυξη αξιολογήθηκε με βάση το τελικό σωματικό βάρος, το ποσοστό αύξησης βάρους, τον ειδικό αυξητικό ρυθμό, το δείκτη μετατρεψιμότητας την απόδοση της πρωτεΐνης, την καθαρή πεψιμότητα των πρωτεϊνών, την καθαρή πεπτικότητα των θρεπτικών και τη σύσταση του σώματος. Η ανάπτυξη των ψαριών βελτιώθηκε σημαντικά ($p < 0.05$) με βάση τις προηγούμενες παραμέτρους. Η μείωση του καφέ ιχθυάλευρου και η αύξηση του ηλιοσποράλευρου δεν προκάλεσε μείωση της αύξησης και της μετατρεψιμότητας της τροφής. Έτσι το ηλιοσποράλευρο ηλιοσπορων είναι ένας καλός αντικαταστάτης του σογιάλευρου (Solvent extracted) της πέστροφας.

Εισαγωγή.

Το ιχθυάλευρο μέχρι τώρα αποτελούσε την κυρία πηγή πρωτεΐνης στις ιχθυοτροφές εξαιτίας όμως της ψηλής του τιμής και της ανεπαρκούς διάθεσης του στην διεθνή αγορά γίνονται συνεχώς προσπάθειες για αντικατάσταση του από άλλες πρωτεϊνικές πηγές. Το σογιάλευρο μπορεί να αντικαταστήσει το 50% του ιχθυάλευρου με τη ταυτόχρονη προσθήκη κρυσταλλικών αμινοξέων για την κάλυψη ανεπαρκειών του σογιάλευρου για ορισμένα αμινοξέα (Reichle και Wunder 1974, Rumsey και Ketola 1975, Dabrowska και Wońo 1977).

Όπως άλλοι φυτικοί ελαιούχοι σπόροι, έτσι και η σόγια περιέχει μια σειρά αντιθρεπτικών παραγόντων που πρέπει να απομονωθούν ή να απενεργοποιηθούν πριν χρησιμοποιηθεί σε ζώο - ή ιχθυοτροφές (Smith 1977). Τα Σαλμονοειδή έχει βρεθεί ότι είναι πολύ ευαίσθητα σε αυτούς τους παράγοντες (Sandholm 1976) και το ίδιο ισχύει για τα κυπρινοειδή (Dabrowski και Kozak 1979). Ο Smith (1977) και οι Fowler και Banks (1976) βρήκαν ότι η συμμετοχή 20% απολιπομένου σογιάλευρου του εμπορίου σε τροφές ψαριών έδωσε χαμηλή ανάπτυξη και μεγάλη θνησιμότητα. Αντίθετα σε μελέτες των Reinitz (1978) και Tacon (1983) με πέστροφα αποδείχθηκε ότι το σογιάλευρο μπορεί να αντικαταστήσει μέχρι 75% του ιχθυάλευρου χωρίς μείωση της ανάπτυξης και του δείκτη μετατρεψιμότητας. Η αντίθεση αυτή μπορεί να οφείλεται στην ανεπαρκή θερμική επεξεργασία του σογιάλευρου, και τη μη καταστροφή των αντιθρεπτικών παραγόντων (Tacon 1983). Ακόμη το σογιάλευρο δεν παρέχει ικανοποιητικά ποσά διαθέσιμης ενέργειας και παρουσιάζει ανεπάρκεια για ορισμένα απαραίτητα αμινοξέα όπως η Μεθειονίνη

Λυσίνη, Ιστιδίνη, Λευκίνη και Κυστεϊνη (Rumsey και ketola 1975 Fowler 1980, Smith 1977 Viola 1982, Tacon 1983). Κλείνοντας το σογιάλευρο περιέχει δυσανάλογα ποσά αμινοξέων, που μπορούν να μειώσουν την ανάπτυξη εκτός αν προστεθούν τα σωστά ποσά εξωγενών αμινοξέων στη τροφή (Harper 1970). Οι Dabrowska και Wojno (1977) απέδειξαν ότι η χρησιμοποίηση εμπλουτισμένου σογιάλεου με κυστεΐνη (1%) και τρυπτοφάνη (0.5%) είναι ισάξιο του ιχθυάλεου σαν πηγή πρωτεΐνης για τη πέστροφα. Άλλοι παράγοντες όπως η συμπληρωματική προσθήκη μετάλλων επηρεάζουν την θρεπτική αξία του σογιάλεου (Dabrowski και Kozak 1979, Tacon 1983).

Το ηλιοσποράλευρο περιέχει 32.2% ολική πρωτεΐνη (Jackson 1982) και παρά τη μεγάλη ποσότητα φυτικών ινών, έχει καλή σύνθεση αμινοξέων και δεν περιέχει γνωστά τοξικά ή αντιθρεπτικά συστατικά (Daghir 1979, Jackson 1982). Επίσης είναι πλούσια πηγή λαδιού (14-25%) καλής θρεπτικής ποιότητας (Daghir 1979).

Δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για τη χρήση του ηλιοσποραλεύρου σαν συστατικού της τροφής των ψαριών εκτός από αυτά του Jackson (1982), ο οποίος μελέτησε τη χρησιμοποίησή του σε σχέση με άλλες φυτικές πρωτεΐνες στη τιλάπια (*Sarotherodon mossambicus*)

Ο στόχος αυτής της έρευνας είναι να συγκρίνει την θρεπτική αξία του ηλιοσποραλεύρου (extracted) σε πέντε τροφές, αντικαθιστώντας το σογιάλευρο ή το ιχθυάλευρο χωρίς ή με τη προσθήκη εξωγενών αμινοξέων, σε ιχθύδια πεστροφάς (*Salmo gairdneri*).

Υλικά και μέθοδοι

Πειραματικές τροφές.

Σχεδιάστηκα πέντε ισοθερμιδικές και ισοαζωτούχες τροφές με διαφορετικές αναλογίες καφέ ιχθυάλευρου, extracted σογιάλευρου, ηλιοσποράλευρου και σιτάλευρου (πίνακας 1). Η σύσταση των τροφών φαίνεται στο πίνακα 1. Η τροφή αναφοράς περιέχει 40% καφέ ιχθυάλευρο και 15% σογιάλευρο. Δύο τροφές όπου το ηλιοσποράλευρο αντικαθιστά το 50% και το 100% του σογιάλευρου (11% και 22% ηλιοσποράλευρο) δύο τροφές όπου το ποσοστό ηλιοσποράλευρου αυξάνεται σε 37.5% και 37.3% αντικαθιστώντας το σογιάλευρο και μειώνοντας το ιχθυάλευρο από 40 σε 35% μόνο του και με προσθήκη L-Μεθειονίνης. Για το προσδιορισμό του συντελεστή καθαρής πεπτικότητας προστίθεται οξειδίο του χρωμίου σε όλες τις τροφές σε ποσοστό (0.5%). Όλες οι τροφές περιείχαν 44% ολική πρωτεΐνη και 14% ολικό λίπος. Μετά την παρασκευή των pellets, ξηράνθηκαν στους 35°C και αποθηκεύτηκαν σε αεροστεγείς σάκους σε θερμοκρασία δωματίου.

Αρχικά τα ψάρια τοποθετήθηκαν σε 15 εξωτερικές κυκλικές δεξαμενές των 40lt. Η κάθε δεξαμενή αεριζόταν τεχνητά και η παροχή νερού ήταν 2 l/min. Κατά τη διάρκεια του πειράματος η θερμοκρασία κυμαινόταν από 4.3 έως 6.3°C και εφαρμόστηκε φυσική φωτοπερίοδος.

Ιχθύδια πέστροφας (*Salmo gairdneri*) με μέσο βάρος 5.75g πάρθηκαν από το Howietown Fisheriers, Bannockburn, Scotland. Τα ψάρια τοποθετήθηκαν 20 ανά δεξαμενή, τρεις δεξαμενές για κάθε πειραματική τροφή. Κατά την έναρξη του πειράματος 20 ψάρια θανατώθηκαν με δόση βενζοκαΐνης (1:5000) και τοποθετήθηκαν στους -15°C μέχρι να

αναλυθούν. Η ημερήσια ποσότητα χορηγούμενης τροφής ήταν ίση με το 3% του σωματικού τους βάρους διαιρεμένη, σε δύο γεύματα για τις δύο πρώτες βδομάδες. Εξαιτίας όμως της χαμηλής θερμοκρασίας του νερού κατά τη διάρκεια εκείνης της περιόδου και της μειωμένης πρόσληψης τροφής από τα ψάρια, το επίπεδο χορήγησης τροφής μειώθηκε στο 2% του σωματικού βάρους για τις υπόλοιπες 7 βδομάδες του πειράματος.

Τα ψάρια ζυγίζονταν ομαδικά και τυχόν θνησιμότητες καταγράφονταν καθημερινά. Δείγματα περιττωμάτων συλλέγονταν από το πάτο της δεξαμενής κατά τις τρεις τελευταίες βδομάδες με πιπέτες. Αυτά αφού συγκεντρώθηκαν ανά τροφή, ξηράθηκαν στους 105°C (για 24h και αναλύθηκαν για ολική πρωτεΐνη και οξείδιο του χρωμίου).

Η ολική πρωτεΐνη των τροφών και των περιττωμάτων των ψαριών προσδιορίστηκαν με το Macrokjeldhal Tecator/Kjeltec System 1003 ενώ τα λίπη με τη μέθοδο Soxhlet. Η τέφρα προσδιορίστηκε με θέρμανση προζυγισμένου δείγματος και τη τοποθέτηση του σε φούρνο στους 450°C για 12h. Οι ολικές ίνες προσδιορίστηκαν με την μέθοδο της πέψης με H₂SO₄ (0.225N) και NaOH (0.313N), (ADAC 1980) η υγρασία με τη τοποθέτηση ενός προζυγισμένου υγρού δείγματος σε κλίβανο στους 105°C και 24°C και το οξείδιο του χρωμίου με την μέθοδο των Furukawa και Tsukahara (1966).

Στατιστικοί Μέθοδοι.

Τα δεδομένα αναλύθηκαν με την ανάλυση της διακύμανσης (Hicks 1973, Parker 1980) και η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με το test του Duncan (Duncan 1955).

Αποτελέσματα

Η αποδοχή της τροφής στην αρχή του πειράματος ήταν χαμηλότερη από αυτή που παρατηρήθηκε κατά το τέλος. Αυτό πιστεύεται ότι οφείλεται στην αρχικά χαμηλή θερμοκρασία του νερού (4.5°C) και την ελαφρή αύξηση της στους 6.3°C) κατά το τέλος. Η τροφή 1 (που περιείχε 15% σογιάλευρο) είχε τη μικρότερη αποδοχή και ρυθμό πρόσληψης από τα ψάρια σε σύγκριση με τις υπόλοιπες τροφές.

Η ανάπτυξη και βδομαδιαία αύξηση του βάρους των ψαριών φαίνεται στο διάγραμμα 1 και τον πίνακα 2. Τα καλύτερα αποτελέσματα έδωσαν οι τροφές 3,4 και 5 (μεγαλύτερα ποσά ηλιοσποράλευρου). Πρέπει να σημειωθεί ότι και οι 3 δεξαμενές για κάθε τροφή είχαν παρόμοια αύξηση (Σχημ.1). Η τροφή 1 έδωσε σημαντικά μικρότερη αύξηση (μέσο τελικό βάρος) ($p < 0,05$) σε σύγκριση με τις άλλες (τελικό βάρος και ποσοστό αύξησης βάρους). Ειδικό αυξητικό ρυθμό (πίνακας 2) Η τροφή 5 (37,3 ηλιοσποραλευρο με 0,2 L-Μεθειονίνης) έδωσε την καλύτερη αύξηση (τελικό βάρος, ποσοστό αύξησης βάρους, ημερήσια αύξησης βάρους, ημερήσιος ειδικός αυξητικός ρυθμός) σε σύγκριση με τη τροφή 1 (15% σογιάλευρο, 0% ηλιοσποράλευρο) που έδωσε σημαντικά μικρότερη αύξηση ($p < 0.05$) με βάση όμως τις παραμέτρους αύξησης που προσδιορίστηκαν.

Ο δείκτης μετατρεψιμότητας (FCR) για όλες τις τροφές μειώνεται (αρχή του πειράματος) από 2.5 με 3.5 σε 1.2 και 1.8 στο τέλος αυτού. Αν και δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις τροφές

σ'ότι αφορά το μέσο εβδομαδιαίο FCR τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκαν οι τροφές 3 και 5 έδωσαν συνολικά το καλύτερο FCR.

Όπως με το FCR, τα ψάρια που τράφηκαν με τις τροφές 3 και 5 έδωσαν το καλύτερο (PER) για όλη τη περίοδο του πειράματος και ήταν στατιστικά μεγαλύτερες από αυτού της τροφής 1 (πίνακας 2).

Όπως με το PER έτσι και με το (NPU) οι τροφές 3 και 5 έδωσαν τα καλύτερα αποτελέσματα.

Ο συντελεστής καθαρής πεπτικότητας υπολογίστηκε από την εξίσωση Maynard και Loosi (1969) και φαίνεται στο πίνακα 2. Με βάση την καθαρή πεπτικότητα (ξηρό βάρος) και την καθαρή πεπτικότητα του αζώτου η τροφή 3 έδωσε τους ψηλότερους συντελεστές πεπτικότητας απ'ότι οι άλλες τροφές. Οι υπόλοιπες τροφές είχαν παρόμοιους συντελεστές πεπτικότητας.

Η σύσταση του σώματος του ψαριού στην αρχή και το τέλος του πειράματος φαίνεται στο πίνακα 2. Με την πιθανή εξαίρεση την αυξημένη υγρασία στα ψάρια που δόθηκε η τροφή 3 και η ελαφρώς μικρότερη ποσότητα ολικής σωματικής πρωτεΐνης στα ψάρια που δόθηκε η τροφή 5, η χημική σύσταση των ψαριών για όλες τις τροφές παρέμεινε σταθερή.

Συζήτηση

Η μειωμένη ανάπτυξη και ο χαμηλός δείκτης μετατρεψιμότητας των ψαριών που τράφηκαν με τροφές που περιείχαν μεγάλα ποσά σογιαλευρου μπορεί να οφείλεται στην ανεπαρκή θερμική κατεργασία κατά τη παρασκευή του αλευρου με αποτέλεσμα να μην έχουν εξουδετερωθεί οι αντιθρεπτικοί παράγοντες που περιείχε (Nose 1971,

Smith 1977, Cowey 1971, Dabrowski και Kozak 1979, Lovell 1980, Viola 1982, Fowler και Banks 1976, Jackson 1982).

Σε αυτήν την έρευνα παρατηρήθηκε μείωση κατά 20,4% και 11,3% στην ανάπτυξη των ψαριών που τράφηκαν με 15% και 8% σογιάλευρο αντίστοιχα, σε σύγκριση με τα ψάρια που τράφηκαν με τη τροφή που περιείχε το ψηλότερο ποσοστό ηλιοσποράλευρου (37.5%).

Πολλοί μελετητές έχουν αναφέρει την καλύτερη ανάπτυξη των ψαριών, ανάμεσα σε αυτά και η πέστροφα, όταν στο σογιάλευρο γινόταν συμπληρωματικά προσθήκη αμινοξέων όπως η Μεθειονίνη και η Λυσίνη. Αφού αυτά τα EAA κανονικά είναι περιορισμένα στο σογιάλευρο αυτός ίσως είναι ο λόγος του χαμηλού PER και ποσοστού εναπόθεσης αζώτου των ψαριών της τροφής 1. Η αύξηση της ανάπτυξης με τη τροφή 2 πιθανόν να οφείλεται στα μεγαλύτερα ποσά Μεθειονίνης που περιέχονται ηλιοσποράλευρο και την απουσία γνωστών αντιθρεπτικών παραγόντων (Jackson 1982).

Ο Jackson (1982) έχει αναφέρει την καλή ανάπτυξη της Τιλάπιας με τροφή που περιείχε 35.2% ηλιοσποραλευρο το οποίο είχε αντικαταστήσει το 50% του ιχθυάλευρου. Σε αυτή την μελέτη οι τροφές 3 και 5 έδωσαν την καλύτερη PER, εναπόθεση πρωτεϊνών και αύξηση βάρους ανά ημέρα. Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ανάπτυξη και μετατρεψιμότητα ανάμεσα στις τροφές 3 και 5. Η τροφή 4 έδωσε σημαντικά μικρότερη PER σε σχέση με τη τροφή 3.0 Poston (1977) έχει αναφέρει τη σημασία της προσθήκης Μεθειονίνης στις φυτικές πρωτεΐνες και τα ευεργετικά αποτελέσματα αυτής της ενέργειας στην ανάπτυξη των Σαλμονιδών. Παρά την απουσία γνωστών

αντιθρεπτικών παραγόντων στο ηλιοσποράλευρο, αυτό περιέχει μεγάλο ποσοστό φυτικών ινών (24%). Το ποσοστό αυτών στις τροφές κυμαίνονταν από 1.52% (τροφή 1) έως 10.03 (τροφή 4). Σχετικά λίγες μελέτες έχουν γίνει για την διατροφική αξία των φυτικών ινών στα ψάρια. Ο Eastwood (1973) παρατήρησε σε κοτόπουλα ότι τα φυσικά χαρακτηριστικά των ινών η παρουσία τους στις τροφές μπορεί να αλλάξει την λειτουργία των εντέρων. Οι Buhler και Halver (1961) αναφέρουν μια αύξηση της ανάπτυξης του σολομού *Oncorhynchus tshawytscha* και του επιπέδου χρησιμοποίησης των πρωτεϊνών μετά την προσθήκη μικρών ποσοτήτων (<10%) καθαρής κυτταρίνης. Το ίδιο παρατήρησαν και ο Dupree με τον Sneed (1966) σε γατόψαρο. Δεν διαπιστώθηκε καμία επίδραση του ποσοστού των ινών στην ανάπτυξη και τη χρησιμοποίηση των θρεπτικών με τις τροφές που περιείχαν υψηλά ποσά ηλιοσποράλευρου (τροφή 4, 37.5 ηλιοσποραυλερο, 10.03 % φυτικές ίνες). Από τα παραπάνω βγαίνει το συμπέρασμα ότι το ηλιοσποραυλερο είναι ένας καλός αντικαταστάτης του σογιάλευρου στις τροφές της πέστροφας. Το ηλιοσποράλευρο έχει ισορροπημένη σύνθεση σε αμινοξέα και δεν περιέχει γνωστούς αντιθρεπτικούς παράγοντες. Ακόμη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μερική αντικατάσταση του καφέ ιχθυάλευρου, όμως όταν περιέχεται σε ποσοστό 37% παρουσιάζει ανεπάρκεια Μεθειονίνης και έτσι απαιτείται προσθήκη εξωγενών αμινοξέων. Τελικά τα υψηλά ποσά φυτικών ινών του ηλιοσποράλευρου μπορεί να περιορίζουν το ποσοστό χρησιμοποίησης του στις ιχθυοτροφές δημιουργώντας πιθανόν μια μείωση της ανάπτυξης αν και αυτό πρέπει να μελετηθεί περισσότερο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.2.1.

FORMULATION AND PROXIMATE ANALYSIS OF THE EXPERIMENTAL DIETS

Ingredients (%)	1	2	3	4	5
Brown fish meal*	40	40	40	35	35
Meat and bone meal	10	10	10	10	10
Soybean meal	15	8	-	-	-
Sunflower meal	-	11	22	37.5	37.3
Blood meal	4	4	4	4	4
Fish oil	5	5	5	5	5
Soybean oil	5	5	5	5	5
Wheat meal	16.5	12.5	9.5	-	-
Vitamin mix ¹	2	2	2	2	2
Mineral mix ²	1	1	1	1	1
Cr ₂ O ₃	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Alginate binder**	1	1	1	1	1
L-methionine***	-	-	-	-	0.2
Nutrient content (%)					
Moisture	8.04	4.81	4.34	4.71	5.10
Crude protein	44.08	45.65	44.43	43.90	44.18
Lipid	14.19	14.67	14.80	12.68	12.35
Ash	12.31	12.72	12.68	12.97	12.86
Crude fibre	1.52	3.82	6.32	10.03	9.23
N. Free extract	19.4	17.85	16.99	15.25	15.83
Cr ₂ O ₃	0.46	0.48	0.44	0.46	0.45

¹ Supplying per Kg of diet: thiamine HCl 50 mg; Riboflavin 50 mg; Calcium pantothenate 100 mg; Niacin 200 mg; Pyridoxine HCl 40 mg; Folic acid 15 mg; Cyanocobalamin 0.1 mg; Inositol 1000 mg; Ascorbic acid 1000 mg; Choline chloride 4000 mg; Manadione 40 mg; Alpha tocopherol acetate 400 mg; Para amino benzoic acid 50 mg; Vitamin A acetate 2000 IU; Vitamin D₃ 1000 mg.

² Supplying per Kg of diet; MgSO₄·5.10 g; KCl 2.0 g; NaCl 2.40 g; FeSO₄·7H₂O 1.0 mg; ZnSO₄·7H₂O 0.22 mg; CuSO₄·5H₂O 0.0314 g; MnSO₄·7H₂O 0.22 g; CoSO₄·4H₂O 0.0191 g; Ca(IO₃)₂·6H₂O 0.0118g; CrCl₃·6H₂O 0.0051 g.

* Fish meal: Made from whole sand eels.

** Binder: Protanal AG-67, Protan A/5 ~~3000~~ Drammen, Norway.

*** L-Methionine: Sigma Chemicals.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.2.2.

MEAN GROWTH PERFORMANCE, FEED UTILIZATION EFFICIENCY AND CARCASS COMPOSITION OF TROUT FED THE EXPERIMENTAL DIETS FOR 7 WEEKS

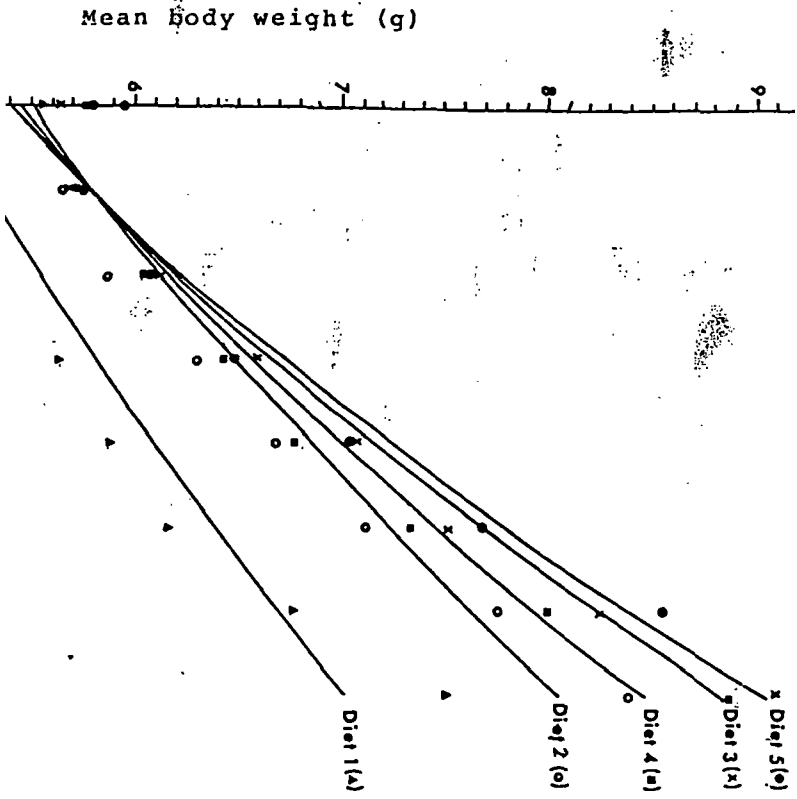
Parameter	Diet No. 1	2	3	4	5	± SE
Mean initial weight (g)	5.576 ^a	5.971 ^a	5.640 ^a	5.791 ^a	5.773 ^a	0.212
Mean final weight (g)	7.539 ^a	8.405 ^{ab}	9.106 ^{bc}	8.872 ^{bc}	9.475 ^c	0.311
Weight gain (%)	36.06 ^a	40.79 ^{ab}	61.65 ^c	53.01 ^{cb}	64.09 ^c	4.564
Specific growth rate (%/day)	0.649 ^a	0.711 ^{ab}	0.999 ^c	1.38 ^a	1.027 ^c	0.060
Food intake (mg/day)	123 ^a	136 ^a	136 ^a	61 ^a	143 ^a	0.005
Protein intake (mg/day)	54 ^a	62 ^a	60 ^a	59 ^{bc}	63 ^a	0.002
Weight gain (mg/day)	36 ^a	50 ^b	72 ^c	2.47 ^a	68 ^c	0.004
Food conversion ratio 3	3.42	2.71 ^a	1.89 ^a	0.96 ^{cb}	2.11 ^a	0.005
Protein efficiency ratio 4	0.67 ^a	0.81 ^{ab}	1.19 ^d	9.74 ^a	1.07 ^{cd}	0.064
Nitrogen intake (mg/day)	8.72 ^a	9.97 ^a	9.69 ^a	1.91 ^{bc}	10.15 ^a	0.335
Nitrogen deposition (mg/day)	1.43 ^a	1.63 ^{ab}	2.24 ^c	19.63 ^{ab}	2.26 ^c	0.134
Apparent nitrogen utilization (%)	16.38 ^a	16.38 ^a	23.16 ^b	40.42	22.23 ^b	1.233
Dry Matter digestibility 6	45.10	42.22	47.10		43.90	

Carcass composition (% net weight)

	Initial	After 7 weeks				
		1	2	3	4	5
Moisture	78.13	78.51	78.85	77.72	79.29	78.69
Crude Protein	14.26	16.22	15.97	16.23	15.78	15.34
Lipid	2.62	3.12	2.78	3.34	3.21	2.96
Ash	2.55	2.49	2.45	2.42	2.37	2.38

1. Standard error, calculated from residual mean square in the analysis of variance.
 2. Specific growth rate = $(\log_e \text{ final body wt.} - \log_e \text{ initial body wt.}) / \text{time (days)} \times 100$.
 3. Food conversion ratio = Food fed/weight gain.
 4. Protein efficiency ratio = Weight gain/protein fed.
 5. Apparent nitrogen utilization = Nitrogen deposition/Nit. fed $\times 100$.
 6. Determined on faeces collected by manual stripping.
- abcd Mean values for components with the same superscripts are not significantly different ($p < 0.05$).

EXHMA 5.2.1.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.3.

**ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΗΛΙΟΣΠΟΡΑΛΕΥΡΟΥ (SOLVENT
EXTRACTED SUNFLOWER MEAL) ΣΕ ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ
ΤΡΟΦΗ ΤΗΣ ΙΡΙΔΙΖΟΥΣΑΣ ΠΕΣΤΡΟΦΑΣ (SALMO
GAIRDNERI).**

A.G.J. Tacon, J.L. Webster και C.A. Martinez

Aquaculture, 43 (1984) pp 381-389

Περίληψη

Πραγματοποιήθηκε ένα προκαταρκτικό πείραμα διατροφής διάρκειας 150 ημερών με ιριδίζουσα πέστροφα για να διαπιστωθεί η θρεπτική αξία του ηλιοσποράλευρου για την αντικατάσταση του σογιάλευρου και του σιτάλευρου (1.75-2.14:1) σε πρακτική τροφή της πέστροφας. Το ποσοστό σογιάλευρου και του σιτάλευρου μειώθηκε από 15% και 16.5% σε 0% και 9.5% αντίστοιχα και το ποσοστό του ηλιοσποράλευρου αυξήθηκε από 0% σε 22% χωρίς να επηρεάσει το ρυθμό ανάπτυξης και το δείκτη μετατρεψιμότητας της τροφής. Αν και η ανάπτυξη στο ψηλότερο ποσοστό ηλιοσποράλευρου (36.5%) ήταν ίδια με αυτήν των ψαριών που τράφηκαν με τη τροφή αναφοράς εμπλουτισμός της τροφής αυτής με 0.2% L-Μεθειονίνη δεν βελτίωσε περαιτέρω την ανάπτυξη των ψαριών και την μετατρεψιμότητα της τροφής.

Εισαγωγή.

Οι φυτικοί ελαιούχοι σπόροι έχουν χρησιμοποιηθεί με σχετική επιτυχία για την αντικατάσταση του ιχθυάλευρου σε σιτηρέσια ψαριών (Higgs 1979, Fowler 1980 Koops 1982, Jackson 1982). Τα διαφορετικά αποτελέσματα που προέκυψαν οφείλονται σε μεγάλο βαθμό στην επεξεργασία των ελαιούχων σπόρων και στη καταστροφή ή απενεργοποίηση ενός πλήθους αντιθρεπτικών παραγόντων που υπάρχουν φυσικά σ'αυτούς (Liener 1980, National Research Council 1983).

Για την ώρα η παραγωγή ηλιοσπόρων στηρίζεται στην καλή ποιότητα του εξαγόμενου λαδιού και ότι το κατάλοιπο μετά την εξαγωγή του λαδιού χρησιμοποιείται σαν συμπλήρωμα πρωτεΐνης σε πουλερικά και βοοειδή (Daghir 1980 Uwayjan 1983). Οι ηλιόσποροι όπως και οι άλλοι ελαιούχοι σπόροι περιέχουν μια σειρά ενδογενών αντιθρεπτικών παραγόντων όπως ο αναστολέας της πρωτεάσης, της Αργινάσης και πιθανόν μολυντες μυκοτοξίνης και το πολυφαινολικό ταννικό χλωρογενές οξύ (Liener 1980). Αν και ο ακριβής τρόπος δράσης του χλωρογενούς οξέους δεν είναι γνωστός διαπιστώθηκε ότι μια συγκέντρωση 3% σε αυτό (οι ηλιόσποροι περιέχουν 1-3%) μειώνει την αύξηση του βάρους και το δείκτη μετατρεψιμότητας σε ποντίκια (Liener 1980). Παρόλα αυτά μελέτες σε τιλάπια (*Oreochromis mossambicus*) έδειξαν ότι το ηλιόσποραλευρο μπορεί να αντικαταστήσει μέχρι 75% την πρωτεΐνη του ιχθυάλευρου (69.7% ηλιόσποραλευρο) σε ημισύνθετική τροφή χωρίς μείωση της ανάπτυξης και του δείκτη μετατρεψιμότητας (Jackson 1982).

Στο πείραμα αυτό μελετήθηκε η δυνατότητα αντικατάστασης του σογιάλευρου και του σιταλευρου με ηλιοσποράλευρο σε πρακτική τροφή πέστροφας.

Μέθοδοι και υλικά.

Αναλυτικές μέθοδοι.

Εγινε ανάλυση του συνολικού άζωτου (ολική πρωτεΐνη = NX6,25), του λίπους υγρασίας, τέφρας και φυτικών ινών στα αρχικά υλικά τις τροφές στο σώμα των ψαριών και στα περιττώματα. Τα απαραίτητα

αμινοξέα μετρήθηκαν μικροβιολογικά (Barton - Wright 1972), και η δράση του αναστολέα της τρυψίνης του σογιάλευρου αναλύθηκε με τη μέθοδο του kakade 1974. Το οξειδίο του χρωμίου στις τροφές και τα περιττώματα μετρήθηκε με τη μέθοδο του Farukawa και Tsukahara (1966).

Τροφές

Η χημική σύσταση και η σύνθεση των ΕΑΑ του κάθε υλικού που χρησιμοποιήθηκε στη σύνθεση των τροφών φαίνεται στο πίνακα I.

Σχεδιάστηκαν πέντε πρακτικές τροφές (πίνακας II) όπου το καφέ ιχθυάλευρο (παρασκευασμένο από χέλια *Ammodytes Tobianns*) χρησιμοποιήθηκε σαν η κύρια πηγή πρωτεΐνης, τρεις τροφές που περιείχαν 0%, 11% και 22% ηλιοσποράλευρο αντικαθιστώντας το σογιάλευρο και το σιτάλευρο, και δύο τροφές όπου η συγκέντρωση του ηλιοσποράλευρου αυξήθηκε σε 36.5% και 36.3% με ή χωρίς προσθήκη 0.2% L-Μεθειονίνης αντικαθιστώντας πλήρως το σογιάλευρο και το σιτάλευρο και ταυτόχρονη μείωση του ιχθυάλευρου από 40% σε 35% και στις δύο περιπτώσεις. Για τον υπολογισμό της καθαρής πεπτικότητας των θρεπτικών προστέθηκε σε όλες τις τροφές οξειδίο του χρωμίου 0.5%. Όλες οι τροφές περιείχαν 40-45% ολική πρωτεΐνη, 13-15% λίπη και έχουν παραχθεί όπως περιγράφτηκε από (Tacon και Cooke 1980).

Πειραματική Διαδικασία.

Ιριδίζουσα πέστροφα με μέσο βάρος 5.8gr πάρθηκε από το Howietoun Fisheries, Bannockburn, Scotland.

Τα ψάρια τοποθετήθηκαν τυχαία ανά 20 σε κάθε δεξαμενή. Χρησιμοποιήθηκαν 10 κυκλικές δεξαμενές. Τα πέντε σιτηρέσια χορηγήθηκαν σε διπλές ομάδες ψαριών. Κάθε δεξαμενή έχει χωρητικότητα 40l και αερίζεται συνεχώς. Η παροχή του νερού είναι 2l/min. Κατά τη διάρκεια του πειράματος που κράτησε 21 βδομάδες (150 μέρες Μαρτίο - Αύγουστο) η θερμοκρασία αυξήθηκε σταδιακά από 4.3°C σε 16.2°C και χρησιμοποιήθηκε φυσική φωτοπερίοδος.

Στην αρχή του πειράματος 10 ψάρια θανατώθηκαν και τοποθετήθηκαν στους -20°C για μεταγενέστερη χημική ανάλυση. Όλα τα ψάρια τράφηκαν με σταθερό σιτηρέσιο 2-3% του σωματικού του βάρους ημερησίως σε δύο γεύματα καθημερινά εκτός των Κυριακών. Δείγματα περιττωμάτων συλλέχτηκαν από κάθε ψάρι (αφαίρεση με το χέρι) κατά τη τελευταία βδομάδα του πειράματος, συσσωρεύτηκαν, αποξηράχθηκαν στους 105°C για 24h και τοποθετήθηκαν σε αεροστεγείς σακκούλες για ανάλυση ολικού Αζώτου, τέφρα και οξειδίο του χρωμίου. Στο τέλος όλα τα ψάρια θανατώθηκαν για μελλοντικές χημικές αναλύσεις.

Στατιστικές μέθοδοι

Χρησιμοποιήθηκε το Duncans Multiple Range Test ($P < 0,05$). Τα τυπικά σφάλματα (ISE) επίσης υπολογίστηκαν για τον καθορισμό του εύρους των μέσων τιμών.

Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα ανάπτυξης των ψαριών φαίνονται στο διάγραμμα 1 και το πίνακα III. Αν και δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές

στο τελικό βάρος των ψαριών σε αυξανόμενα ποσοστά του ηλιοσποράλευρου τα ψάρια στα οποία δόθηκε η τροφή 5 (36.3 % ηλιοσποράλευρου + 0.2 % L-Μεθειονίνη) εμφάνισαν μικρότερο τελικό βάρος σώματος, αύξηση βάρους, ειδικό αυξητικό ρυθμό (Loge τελικού βάρους σώματος - Loge αρχικού βάρους σώματος) \times 100 χρόνος (ημέρες).

Το ίδιο παρατηρείται και με το δείκτη μετατρέψιμότητας (χορηγηθήσα τροφή (ξηρό βάρος) προς αύξηση υγρού βάρους σώματος) το PER (Αύξηση βάρους/ολική προσλήφθησα πρωτεΐνη) τη εναπόθεση Αζώτου και τη καθαρή εναπόθεση N (πίνακας III).

Με βάση τους συντελεστές καθαρής πεπτικότητας των θρεπτικών που προσδιορίστηκαν τη τελευταία βδομάδα του πειράματος παρατηρήθηκε μια μείωση της καθαρής πεπτικότητας με την αύξηση της συγκέντρωσης του ηλιοσποράλευρου. Αυτό ήταν αναμενόμενο αν σκεφτεί κανείς τη μεγάλη ποσότητα φυτικών ινών του ηλιοσποράλευρου (24.7% πίνακας I). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στη σύσταση του σώματος, με μια μικρή εξαίρεση την αυξημένη υγρασία και τη μείωση του λιπών στα ψάρια που τράφηκαν με τη τροφή 5 (Πίνακας III).

Συζήτηση

Σύμφωνα με αυτή την έρευνα το ηλιοσποράλευρο αντικατέστησε επιτυχώς το σογιάλευρο: Σιτάλευρο (1.75-2.14:1) και σογιάλευρο: σιτάλευρο: ιχθυάλευρον (3:3:3:1) κατά βάρος, φτάνοντας μια συγκέντρωση 36,5% χωρίς μείωση της ανάπτυξης και της

μετατρεψιμότητας. Αυτό υποστηρίζει τα αποτελέσματα των Jackson (1982) με τιλαπια και του Danghir (1980) με πουλερικά.

Η προσθήκη στη τροφή με 36.5% ηλιοσποράλευρο 0.2 L-Μεθειονίνης δεν βελτίωσε την ανάπτυξη και την μετατρεψιμότητα. Αυτό δεν ήταν αναμενόμενο γιατί τα ενδεχόμενα τοξικά αποτελέσματα του χλωρογενούς οξέος βρέθηκε ότι εξουδετερώνονται από την προσθήκη υλικών με δότες μεθυλ-ομάδων (όπως η Μεθειονίνη και η Χολίνη) (Liener 1980).

Παρά τα ικανοποιητικά αποτελέσματα της μελέτης αυτής το υψηλό ποσοστό φυτικών ινών του ηλιοσποράλευρου (25%) θα περιορίσει τη χρησιμοποίησή τους σαν κύρια πηγή πρωτεΐνης σε εμπορικές τροφές. Εκτός από το ότι οι φυτικές ίνες δεν έχουν γνωστή θρεπτική αξία και γι' αυτό το λόγο μειώνουν τη πυκνότητα πεψίμων θρεπτικών (Hilton 1983) επίσης μειώνουν την ικανότητα πελετοποίησης λόγω της υψής τους και της μη ικανότητας απορρόφησης ατμού. Στο μέλλον καλό θα ήταν να εξεταστεί η δυνατότητα αποφλοιωμένου ηλιοσποράλευρου που περιέχει λίγες ίνες και όλα τα λιπαρά συστατικά του σαν εναλλακτική πηγή πρωτεΐνης.

Κλείνοντας αν και δεν διαπιστώθηκε καμία τοξικότητα ή συνέπεια από τη χρησιμοποίηση του ηλιοσποράλευρου πολλές μελέτες ανάπτυξης και τοξικολογίας απαιτούνται ακόμα πριν αυτό χρησιμοποιηθεί σε εμπορικές τροφές για τα Σαλμονοειδή.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.3.3.

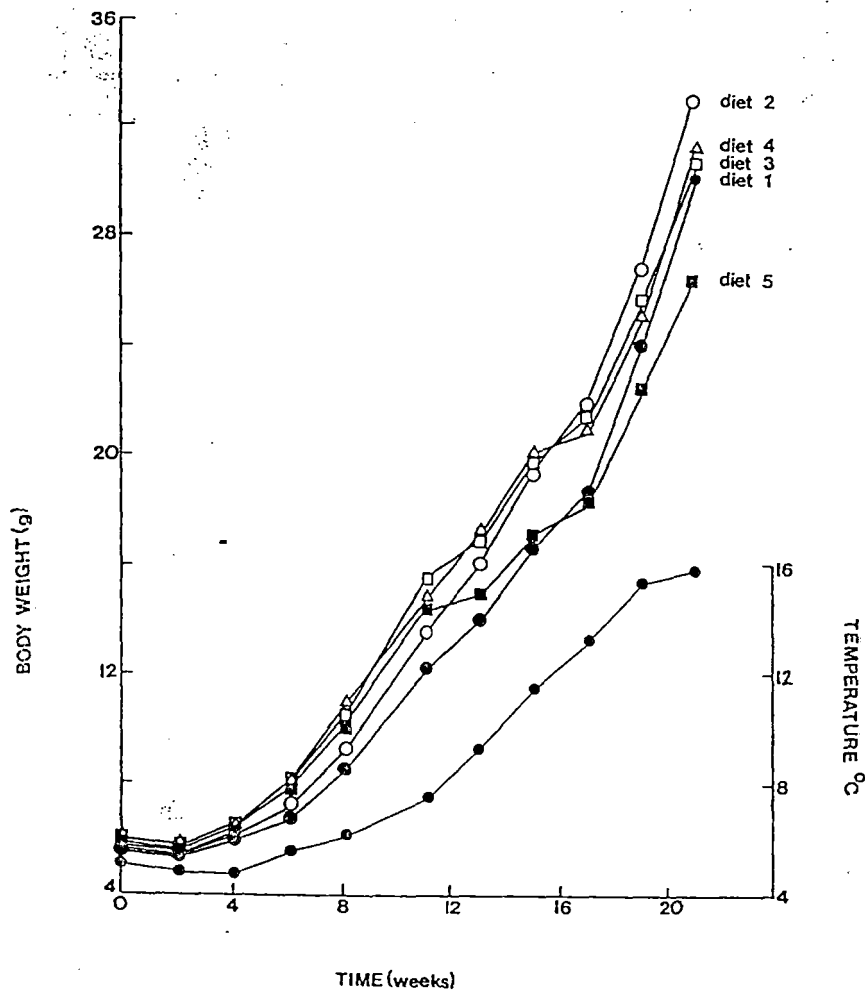
Mean growth, feed utilisation and carcass composition of rainbow trout (20 fish, initial weight circa 5-6 g, in duplicate) fed the experimental diets for 150 days at 4.3°C-16.2°C (mean 8.84°C)

Mean values	Diet number					± SE ¹
	1	2	3	4	5	
Initial body weight (g)	5.7	5.9	5.8	5.9	5.8	0.212
Final body weight (g)	30.0	32.9	30.4	30.9	26.4	2.265
Weight gain (%)	425	458	420	421	354	
Specific growth rate (%/day)	1.1	1.1	1.1	1.1	1.0	
Food intake (mg/day)	252	255	250	251	237	
Weight gain (mg/day)	162	180	164	166	137	
Food conversion ratio	1.6	1.4	1.5	1.5	1.7	
Protein efficiency ratio	1.4	1.5	1.5	1.5	1.3	
Nitrogen intake (mg/day)	17.8	18.6	17.8	17.7	16.8	
Carcass nitrogen deposition (mg/day)	4.5	4.8	4.3	4.5	3.7	
Apparent nitrogen utilisation (%)	25.6	25.9	24.2	25.2	21.8	
App. dry matter digestibility (%) ²	62.2	53.1	54.2	42.9	47.9	
App. organic matter digestibility (%) ²	67.8	58.1	58.6	47.8	52.5	
App. nitrogen digestibility (%) ²	84.7	82.2	82.2	79.2	79.4	
Carcass composition (% wet weight)						
	Initial					
Moisture	78.1	73.9	74.5	75.0	74.9	75.6
Crude protein	14.3	17.0	16.3	16.1	16.2	16.2
Lipid	2.6	6.5	6.5	6.3	6.3	5.6
Ash	2.5	2.5	2.6	2.6	2.5	2.6

¹Standard error, calculated from residual mean square in the analysis of variance.

²Calculated using the formula of Maynard and Loosli (1956).

ΣΧΗΜΑ 5.3.1.



Water temperature and mean growth response of rainbow trout fed the experimental diets over the 150-day test period.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.3.1.

Proximate composition, anti-trypsin activity, and essential amino acid (EAA) composition of the major protein feed stuffs tested

	Brown fish meal	Soybean meal (solvent extracted)	Sunflower meal (solvent extracted)	Blood meal (spray dried)	Meat and bone meal	Wheat meal				
Moisture (%)	9.9	13.2	11.2	12.5	8.6	12.8				
Crude protein (%)	68.0	41.9	30.1	83.4	50.0	13.5				
Lipid (%)	7.6	2.3	2.9	0.2	2.5	1.5				
Crude fibre (%)	0.1	5.6	24.7	0.1	3.2	2.7				
Ash (%)	13.2	6.4	6.5	5.1	33.2	3.7				
Trypsin inhibitor activity ¹	0	3.0	0	0	0	0				
Essential amino acid	%Meal	%EAA	%Meal	%EAA	%Meal	%EAA	%Meal	%EAA	%Meal	%EAA
Arginine	5.2	16.4	4.0	20.6	2.6	24.1	4.0	8.9	4.1	23.6
Histidine	2.1	6.5	1.2	6.4	0.9	8.5	5.8	13.0	1.0	5.7
Isoleucine	2.8	8.9	1.9	9.8	1.0	9.2	0.8	1.9	1.3	7.4
Leucine	4.4	13.9	2.7	14.2	1.2	11.1	9.8	22.0	2.4	14.0
Lysine	5.9	18.4	2.7	14.2	1.1	10.4	7.6	17.1	2.8	16.0
Methionine	2.0	6.1	0.6	3.0	0.5	4.8	0.6	1.4	0.6	3.4
Phenylalanine	2.3	7.2	1.7	9.0	1.0	9.1	4.8	10.7	1.4	7.8
Threonine	2.9	9.2	1.5	7.9	0.9	8.5	3.2	7.3	1.5	8.4
Tryptophan	0.5	1.7	0.5	2.8	0.2	2.0	0.8	1.7	0.3	1.7
Valine	3.7	11.5	2.4	12.4	1.3	12.2	7.0	15.8	2.1	11.9

¹ Expressed as mg trypsin inhibited per g sample.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.3.2.

Formulation and proximate analysis of the experimental diets

Ingredients (%)	Diet number				
	1	2	3	4	5
Sunflower meal	0	11	22	36.5	36.3
Soybean meal	15	8	0	0	0
Wheat meal	16.5	12.5	9.5	0	0
Brown fish meal	40	40	40	35	35
Meat and bone meal	10	10	10	10	10
Blood meal	4	4	4	4	4
Fish liver oil	5	5	5	5	5
Soybean oil	5	5	5	5	5
Binder ¹	1	1	1	1	1
L-methionine	0	0	0	0	0.2
Vitamin premix ²	2	2	2	2	2
Mineral premix ³	1	1	1	1	1
Indicator (Cr ₂ O ₃)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Nutrient content (%)					
Moisture	8.0	4.8	4.3	4.7	5.1
Crude protein (N × 6.25)	44.1	45.6	44.4	43.9	44.2
Lipid	14.2	14.7	14.8	12.7	12.3
Crude fibre	1.5	3.8	6.3	10.0	9.2
Ash	12.3	12.7	12.7	13.0	12.9

¹ Protanal AG67 (Protan A/S, Drammen, Norway).

² Tacon et al. (1983a).

³ Supplying per kg diet: MgSO₄ · 7H₂O, 5.10 g; NaCl, 2.40 g; KCl, 2.00 g; FeSO₄ · 7H₂O, 1.00 g; ZnSO₄ · 7H₂O, 0.22 g; CuSO₄ · 5H₂O, 0.0314 g; MnSO₄ · 4H₂O, 0.1015 g; CoSO₄ · 7H₂O, 0.0191 g; CaIO₃ · 6H₂O, 0.0118 g; CrCl₃ · 6H₂O, 0.0051 g.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.4.

**ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΣΟΓΙΑΛΕΥΡΟΥ ΣΑΝ ΠΗΓΗ
ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΗ ΤΡΟΦΗ ΙΡΙΔΙΖΟΥΣΑΣ ΠΕΣΤΡΟΦΑΣ.**

J.Pongmaneeish και T. Watanabe

Nippon Suisan Gakkaish 58 (10) pp 1983-1990 (1992)

Η παρούσα μελέτη αφορά τη χρησιμοποίηση του απολιπομένου σογιάλεου (defatted SBM) και του extruded αλεύρου σόγιας (ExSBM) σαν αντικαταστάστες του λευκού ιχθυάλευρου (WFM) σε επίπεδο 30,40 και 50% στη τροφή. Επίσης ο συνδυασμός 25% SBM και 15% Γλουτεΐνης καλαμποκιού (CGM) χρησιμοποιήθηκε για την αντικατάσταση WFM κατά 40%. Κάθε τροφή δόθηκε σε Διπλές ομάδες πέστροφας *Oncorhynchus mykiss* (12,1 gr μέσο βάρος) για 7 εβδομάδες στους $12 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Η τροφή SBM-CGM έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα. Η ανάπτυξη των ψαριών με τις άλλες τροφές ήταν σχεδόν αντίστροφη με τα επίπεδα SBM ή ExSBM. Αυτό ίσως να οφείλεται στη μικρότερη πρόσληψη πρωτεΐνης και ενέργειας. Όμως ο ρυθμός ανάπτυξης με βάση την πρόσληψη πρωτεΐνης σε αυτές τις ομάδες είναι σχεδόν ίδιος με αυτόν της ομάδας αναφοράς. Δεν εμφανίστηκαν διαφορές στην ανάπτυξη και την απόδοση της τροφής ανάμεσα στις ομάδες SBM και στα ExSBM εκτός της ομάδας του 50% όπου παρουσίασε μεγαλύτερη ανάπτυξη λόγω μεγαλύτερης πρόσληψης του ExSBM. Η Καθαρή πεπτικότητα της πρωτεΐνης σε όλες τις περιπτώσεις ήταν 90-94% ανεξάρτητα από τη ποσότητα SBM ή ExSBM αλλά η τιμή για το άμυλο μειωνόταν σε σχέση τα δύο συστατικά οδηγώντας σε χαμηλότερη πεπτικότητα της ενέργειας.

Για αυτούς τους λόγους βρέθηκε ότι για την καλύτερη χρησιμοποίηση του SBM είναι προτιμότερο να συνδιάζεται με CGM μειώνοντας το WFM κατά 40% στη τροφή (Αντικατάσταση του 63% του WFM).

Η κύρια πηγή πρωτεϊνών στη τροφή των ψαριών είναι το ιχθυάλευρο. Όμως η υψηλή τιμή του και η αβέβαιη διαθεσιμότητα καλής ποιότητας ιχθυαλεύρου κάνουν επιτακτική την αντικατάστασή του με άλλες φτηνές φυτικές πρωτεΐνες. Η χρησιμοποίηση σογιάλευρου σαν αντικαταστάτης του ιχθυάλευρου έχει μελετηθεί για πολλά χρόνια. Οι περισσότερες μελέτες έδειξαν ότι αυτή η αντικατάσταση μειώνει την αύξηση και την απόδοση της τροφής. Οι κύριοι περιορισμοί στη χρήση του σογιάλευρου είναι η χαμηλή ποσότητα των θεουχων αμινοξέων και η παρουσία αναστολέων ανάπτυξης σ' αυτό. Άλλες όμως μελέτες αναφέρουν ότι το σογιάλευρο μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν υποκατάστατο του ιχθυάλευρου σε τροφές για πέστροφα και άλλα είδη.

Από την άλλη μεριά έχει αναφερθεί ότι η θερμική επεξεργασία του σογιάλευρου δίνει καλύτερα αποτελέσματα. Κατά τη θερμική επεξεργασία οι κόκκοι αμύλου διαλύγονται και το άμυλο ζελοτινιοποιείται.

Αυτή η ζελατινοποίηση όχι μόνο βελτιώνει την ικανότητα του αμύλου να απορροφάει νερό, αλλά επίσης αυξάνει την βιοδιαθεσιμότητα των υδατανθράκων της τροφής.

Αυτή η μελέτη εξετάζει τη δυνατότητα αντικατάστασης του WFM με SBM και ExSBM σε τροφές πέστροφας καθώς το συνδυασμό SBM με CGM.

Μέθοδοι και υλικά

Πειραματικές τροφές.

Το WFM (εμπορίου) και το CGM πάρθηκαν από την Nippon Nosan Kogyo Co, το SBM και ExSBM από την Sakamoto Feed Co. Στο πίνακα

1 φαίνεται η σύσταση της σύνθεσης των αμινοξέων των πρωτεϊνικών πηγών. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη των WFM, SBM, ExSBM και CGM βρέθηκε ότι είναι 67.3, 47.5, 46.8 και 64.0 αντίστοιχα. Το SBM και ExSBM έχουν περίπου την ίδια σύνθεση αμινοξέων, άρα η διαδικασία extrusion δεν αλλοιώνει τη σύνθεση των αμινοξέων. Η σύνθεση των Αμινοξέων του SBM είναι καλύτερη από αυτή του CGM. Όμως η σύσταση των αμινοξέων του SBM και CGM δεν είναι πολύ ισορροπημένη εάν συγκριθεί με το WFM, αφού παρουσιάζουν ανεπάρκεια σε Μεθειονίνη και Λυσίνη αντίστοιχα. Αυτά τα αμινοξέα έχουν ήδη αναφερθεί σαν περιοριστικά αμινοξέα σε αυτά τα άλευρα.

Οι τροφές έχουν σχεδιαστεί για να περιέχουν διαφορετικά ποσοστά SBM ή ExSBM για την αντικατάσταση του ιχθυάλευρου. Περιέχονται σε ποσοστά 30,40 και 50% αντίστοιχα, αντικαταστάοντας 47,63 και 78% του WFM στη τροφή αναφορά, που περιέχει 64% WFM σαν μοναδική πηγή πρωτεΐνης. Επίσης ο συνδιασμός 25% SBM με 15% CGM δοκιμάστηκε για αντικατάσταση του 40% του WFM. Η σύνθεση και η σύσταση των θρεπτικών των πειραματικών τροφών φαίνεται στο πίνακα 2. Οι τροφές δεν σχεδιάστηκαν έτσι ώστε να περιέχουν ίδια ποσοστά αζώτου και για το λόγο αυτό το ποσοστό πρωτεΐνης μειώνεται όσο αυξάνει το SBM στη τροφή.

Στο πίνακα 3 υπολογίζεται η σύνθεση των αμινοξέων στις πειρ. τροφές με βάση τη σύσταση αυτών στα WFM, SBM ExSBM και CGM. Σε σύγκριση με τη τροφή αναφοράς η σύσταση των υπόλοιπων τροφών είναι γενικά χαμηλότερη. Όλες όμως περιέχουν επαρκείς ποσότητες EAA για να ικανοποιηθούν οι απαιτήσεις της πέστροφας.

Όλα τα αρχικά συστατικά αλέστηκαν και κοσκινίστηκαν (0,5m διάμετρος κοσκίνου). Μετά έγινε η ανάμιξη αυτών των ξηρών υλικών με λάδι και νερό και η κοπή του σε pellets κατάλληλου μεγέθους. Η ξήρανση έγινε στους 20° C σε κενό αέρος για 18-24h και μετά αποθηκεύτηκαν σε πλαστικές σακούλες στο ψυγείο.

Πειραματική διαδικασία.

Οι πέστροφες τράφηκαν με τροφή του εμπορίου για 4 βδομάδες πριν την αρχή του πειράματος. Στη συνέχεια έγινε επιλογή ψαριών ένα μέσο βάρος 12,2g και μεταφέρθηκαν σε διπλές δεξαμενές με πυκνότητα 20 ατόμων ανά δεξαμενή. Η ροή του νερού ήταν 0,6-1l/min και η θερμοκρασία 12+2°C κατά τη διάρκεια του πειράματος. Κατά την έναρξη του πειράματος πάρθηκε δείγμα 20 ατόμων και αποθηκεύτηκε στους -20°C για μελλοντική ανάλυση. Οι τροφές χορηγούνταν δύο φορές την ημέρα μέχρι κορεσμού για 7 βδομάδες. Κάθε ομάδα ψαριών ζυγιζόταν κάθε 2 βδομάδες. Στο τέλος του πειράματος τα ψάρια θανατώθηκαν με μεγάλη δόση βενζοκαΐνης και ζυγίστηκαν το καθένα χωριστά. Δείγμα 10 ψαριών χρησιμοποιήθηκε για ανάλυση της σύστασης του σώματος.

Η απόδοση των τροφών αξιολογήθηκε με τον υπολογισμό του ρυθμού ανάπτυξης, της απόδοσης τροφής (Feed Efficiency) και της πρωτεΐνης (PER), της εναπόθεσης πρωτεΐνης και ενέργειας και της καθαρής πεπτικότητας των θρεπτικών.

Η πεπτικότητα της πρωτεΐνης, της ενέργειας και του αμύλου προσδιορίστηκε με τη μέθοδο του οξειδίου του χρωμίου υπολογίστηκε η

καθαρή πέπτικότητα της ολικής πρωτεΐνης, του αμύλου καθώς και της ολικής ενέργειας.

Αναλυτικές Μέθοδοι.

Η υγρασία και η τέφρα προσδιορίζονται όπως περιγράφηκε στο Fish Nutrition and Mariculture p.p. 179-228, 1988. Η ολική πρωτεΐνη προσδιορίστηκε με Kjelchecker (Yamato - Anritsu, KC-42). Η ανάλυση για τη σύσταση των αμινοξέων των πρωτεΐνων έγινε από το Japan Research Laboratories. Η ολική ενέργεια μετρήθηκε με αυτόματο θερμιδομετρή (Shimadzu CA-4P). Το οξείδιο του χρωμίου προσδιορίστηκε με τη μέθοδο του Furukawa και Tsukahara (1966). Το ολικό λίπος και το άμυλο με τη μέθοδο του Folch και Somogyi-Nelson αντίστοιχα.

Στατιστικοί μεθόδοι

Εφαρμόστηκαν τα τεστ του Duncan για επίπεδο σημαντικότητας $P < 0,05$ και η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA).

Αποτελέσματα και συζήτηση.

Ανάπτυξη και Απόδοσης της τροφής.

Τα δεδομένα της αύξησης και της απόδοσης της τροφής φαίνονται στο πίνακα 4. Στο διάγραμμα 1 φαίνεται η αύξηση του βάρους κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Τα ψάρια που πήραν τη τροφή που περιείχε 25% SBM με 15% CGM έδωσαν τα καλύτερα αποτελέσματα αύξησης, χωρίς όμως το τελικό

βάρος των ψαριών αυτών να διαφέρει σημαντικά από αυτά που πήραν τη τροφή αναφοράς. Αυτό μας δείχνει ότι ο συνδυασμός SBM με CGM είναι καλύτερος για την αντικατάσταση του ιχθυάλευρου από ότι το SBM μόνο του. Η μελέτη έδειξε ότι το 40% του ιχθυάλευρου της τροφής μπορεί να αντικατασταθεί με ένα μίγμα 25% SBM και 15% CGM χωρίς επιπτώσεις στο ρυθμό αύξησης. Ο Tacon επίσης κατέληξε στο ίδιο αποτέλεσμα με εμπορικό SBM εκχυλισμένα με εξάνη (26% στη τροφή) με ιριδίζουσα πέστροφα. Η χρήση του CGM σαν πηγή πρωτεΐνης στα ψάρια δεν είναι τόσο διαδομένη όσο τα πουλερικά, στα οποία συνδυασμός SBM - CGM έχει δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα. Έχει αναφερθεί ότι τα CGM είναι μια καλή πηγή πρωτεΐνης για τα ψάρια και μπορεί να συμπεριληφθεί στη τροφή τους σε επίπεδο 12-20% Alexis και άλλοι 1985, Fauconneau 1988, ενώ μικρή αύξηση παρατηρήθηκε σε ιχθύδια milkfish που τράφηκαν με τροφή που περιείχε CGM σαν μοναδική πηγή πρωτεϊνών (seneriches και chiu, 1988).

Αυξανόμενα ποσά SBM και ExSBM στις τροφές (30-50%) οδήγησαν σε μειωμένο ρυθμό αύξησης και απόδοσης της τροφής. Αυτό μπορεί να σχετίζεται με χαμηλότερη πεπτομενη ενέργεια (DE) και μερικώς στη μικρότερη κατανάλωση πρωτεΐνης. Δηλαδή όταν ιχθυάλευρο της τροφής αντικαθίσταται από SBM ή EXSBM, οδηγούμαστε σε μείωση του ποσοστού πρωτεΐνης όσο το ποσό του SBM αυξάνει. Η μειωμένη ανάπτυξη των ψαριών και απόδοση της τροφής έχουν αναφερθεί και σε άλλες μελέτες με πέστροφες και άλλα είδη. (Dabrowski και άλλοι 1989, Fowler 1980, Andrews και page 1974).

Δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στην αύξηση και την απόδοση της τροφής ανάμεσα στις ομάδες SBM και ExSBM του ίδιου επιπέδου πρωτεΐνης, εκτός του 50% όπου έχουμε καλύτερη αύξηση, του EXSBM. Η καλύτερη απόδοση της τροφής έδωσε η τροφή αναφοράς (1.32) που είναι όμως συγκρίσιμη με το 25% SBM και 15% CGM τροφή (1.26). Αυτή η τιμή μειώνεται ελαφρά 1,11-0,97 όσο πιο μεγάλα ποσά SBM χρησιμοποιούνται.

Η χρησιμοποίηση της τροφής (Feed Utilization) αντικατροπίζεται στην τιμή του PER και την τιμή της εναπόθεσης πρωτεΐνης και ενέργειας. Την υψηλότερη PER δίνει η 25% SBM και 15% CGM τροφή 3.01 ενώ η τροφή αναφοράς 2.8. Η PER των SBM και ExSBM τροφών είναι 2.55 και 2.8 σχεδόν ίδια με τη τροφή αναφοράς. Αυτό μας δείχνει ότι το SBM μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν εναλλακτική πηγή πρωτεΐνης στις τροφές της πέστροφας. Όμως όσο μεγαλύτερα ποσά SBM χρησιμοποιούνται τόσο πιο πολύ το ποσοστό των διαθέσιμων θειούχων αμινοξέων πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν, όπως ήδη αναφέρθηκε. Ο Viola αναφέρει ότι το κανονικό SBM είναι ανεπάρκες σε Λυσίνη, και Μεθειονίνη στις τροφές κυπρίνου όταν χρησιμοποιείται για αντικατάσταση του ιχθυάλευρου.

Η εναπόθεση της πρωτεΐνης (Protein Retention) και της ενέργειας φαίνεται να ακολουθεί τη τάση του PER. Η εναπόθεση πρωτεΐνης και ενέργειας της 25% SBM και 15% CGM τροφής είναι 47.5 και 49.9%, ίδια με αυτή της τροφής αναφοράς 46.1 και 50.4% αντίστοιχα. Αυτές οι τιμές μειώνονται λίγο με το 30% SBM, αλλά όχι περισσότερο με το 50% SBM. Δεν παρουσιάζονται διαφορές ανάμεσα στις SBM και ExSBM τροφές σε αυτούς τους δείκτες.

Τα ψάρια που τρέφονται με SBM και 25% SBM συνδυασμένο με το 15% CGM δείχνουν μια μεγαλύτερη όρεξη και κατανάλωση τροφής απ'ότι με τη τροφή αναφοράς. Η αύξηση του SBM μέχρι 50% δεν οδηγεί σε μείωση του ρυθμού θρέψης, αλλά φαίνεται μια πτωτική τάση στη πρόσληψη DE, η οποία αντικατοπτρίζεται από το μη πεψιμο ποσοστό SBM που οδηγεί σε χαμηλότερο ρυθμό αύξησης. Ακόμη η πρόσληψη τροφής είναι μεγαλύτερη για τις τροφές με ExSBM από ότι με SBM με το ίδιο ποσοστό αντικατάστασης. Η δεκτικότητα του SBM ποικίλει από είδος σε είδος, όμως από αυτή τη μελέτη φαίνεται ότι εξαιρετικά αποδεκτό από τη πέστροφα. Αυτό συμφωνεί με τις αναφορές του Reinitz και Tacon. Επίσης το SBM χρησιμοποιείται στις τροφές του γατόψαρου Wilson και Poe 1985, Akiyama 1988 και του μαγιάτικου. Ο Watanabe και άλλοι έδειξαν ότι η πρόσληψη της τροφής και η δεκτικότητα του SBM από το μαγιάτικο όταν αυτό συμπεριλαμβανόταν μέχρι 30% μέσα στην τροφή δεν επηρεαζόταν. Τέλος φαίνεται να γίνεται περισσότερο αποδεκτό από τον Coho salmon απ'ότι από το chinook salmon (Fowler, 1980).

Πεπτικότητα

Στο πίνακα 5 φαίνεται η καθαρή πεπτικότητα της πρωτεΐνης της ενέργεια και του άμυλου των πειραματικών τροφών.

Η πεπτικότητα της πρωτεΐνης του WFM της τροφής αναφοράς είναι 92%. Έτσι η πεπτικότητα της πρωτεΐνης σε όλες τις τροφές ήταν ψηλή από 90.0 έως 94.3%, ανεξάρτητα από το ποσοστό SBM ή Ex SBM, δείχνοντας ότι η πρωτεΐνη της σόγιας πέπτεται ικανοποιητικά σε σύγκριση με το ιχθυάλευρο. Όμοια ο Sandholm έχει αναφέρει ότι η

πεπτικότητα της πρωτεΐνης της Σόγιας ήταν 80% ενώ ο Grabner και Hofeg ανέφεραν την υψηλή τιμή του 93% για πέστροφα. Υψηλές τιμές πεπτικότητας όπως 89.9% για θαλάσσιες γαρίδες, 77% για γατόψαρο, 93% για κυπρίνους και 91% για τιλάπια, έχουν αναφερθεί από άλλους ερευνητές. Από την άλλη μεριά πεπτικότητα 85% έχει παρατηρηθεί ανεξάρτητα από τη παρουσία SBM για το μαγιάτικο. Η πεπτικότητα των της πρωτεΐνης σόγιας εξαρτάται άμεσα από την επεξεργασία της. Ακατέργαστο SBM έχει δείξει ότι περιέχει αναστολείς της πρωτεάσης που μειώνουν τη πεπτικότητα της πρωτεΐνης. Έτσι το SBM και το ExSBM που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτήν την έρευνα δεν πρέπει να περιέχουν καθόλου αναστολείς της πρωτεάσης εάν κρίνει κανείς από τη μεγάλη πεπτικότητα της πρωτεΐνης και τη καλή υγεία των ψαριών.

Η πεπτικότητα του αμύλου των τροφών ποικίλει από 70,1 έως 91.6% και της ενέργειας από 83 έως 93%. Η καθαρή πεπτικότητα του αμύλου και της ενέργειας των SBM και ExSBM τροφών είναι μικρότερη από τη τροφή αναφοράς, που περιέχει μόνο α-άμυλο σαν πηγή υδατανθράκων. Αυτές οι τιμές μειώνονται όσο μεγαλύτερα ποσά SBM και ExSBM χρησιμοποιούνται, πιθανών εξαιτίας των μη πέψιμων υδατανθράκων του SBM. Η διαδικασία extrusion δεν βελτιώνει τη πεπτικότητα του αμύλου στις SBM τροφές. Η πεπτικότητα της ενέργειας του SBM και του ExSBM για τη πέστροφα βρέθηκε να είναι 3.47 και 3.65 kcal/gr (αδημοσίεута δεδομένα), δείχνοντας ότι χρησιμοποιούν καλά τη ενέργεια του SBM και του ExSBM.

Σύσταση του σώματος

Στο πίνακα 6 φαίνεται η σύσταση του σώματος και οι Ηπατοσωματικοί δείκτες των πειραματικών ψαριών. Η πρωτεΐνη του σώματος δεν διαφέρει σε καμία ομάδα ψαριών, ενώ το λίπος των ψαριών που παίρνουν SBM, ExSBM και SBM με CGM είναι ελαφρώς υψηλότερο. Δεν υπάρχει διαφορά στο ποσοστό του λίπους ανάμεσα στα ψάρια που πήραν τροφές που περιείχαν SBM και ExSBM σε οποιοδήποτε ποσοστό. Η υγρασία και η τέφρα επίσης δεν επηρεάζεται από το ποσοστό SBM.

Ο Ηπατοσωματικός δείκτης των ψαριών που τρέφονται με SBM δεν διαφέρει από αυτόν της ομάδας αναφοράς, εκτός από το όταν χρησιμοποιείται 50% SBM όπου είναι μικρότερος. Κυμαίνεται από 1.08 έως 1.59 % και συμφωνεί με άλλες μελέτες, και δείχνει τη καλή φυσιολογική κατάσταση των ψαριών.

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι το SBM μπορεί να χρησιμοποιηθεί επιτυχώς στη πέστροφα ειδικά εάν συνδυαστεί με CGM. Μερική αντικατάσταση του ιχθυάλευρου με ένα μίγμα 25% SBM και 15% CGM (έως και 63% του ιχθυάλευρου) μας δίνει καλή ανάπτυξη και απόδοση της τροφής συγκρίσιμη με τη τροφή του ιχθυάλευρου. Δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των SBM και EXSBM σ' ότι αφορά τη θρεπτική του αξία, αλλά η αντικατάσταση 50% με ExSBM αυξάνει ελαφρώς την πρόσληψη τροφής δίνοντας καλύτερη αύξηση.

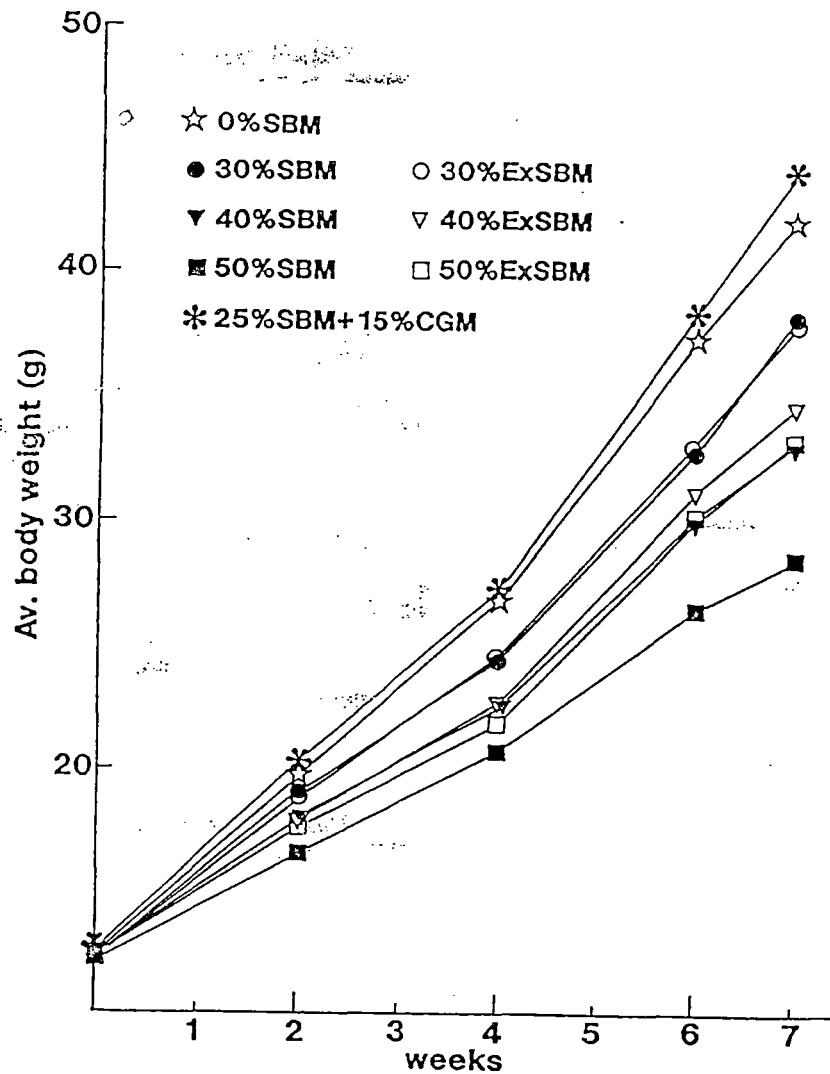
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.5.6.

Carcass composition and hepatosomatic index (HSI) of the experimental fish (%)^{*1}

Diet no.	Soybean meal in diet (%)	Composition				HSI ^{*2}
		Protein	Lipid	Moisture	Ash	
Initial fish		15.34	3.73	78.80	2.71	—
1	0	16.14	8.88	72.38	2.34	1.41±0.18
2	30	15.65	11.27	70.91	2.64	1.59±0.19
3	40	15.73	11.40	71.35	2.77	1.36±0.23
4	50	15.59	10.78	72.24	2.55	1.08±0.13
5	30 ^{*3}	15.86	11.63	70.80	2.57	1.54±0.22
6	40 ^{*3}	15.51	11.11	71.24	2.62	1.54±0.21
7	50 ^{*3}	15.58	11.65	70.47	2.47	1.51±0.25
8	25 ^{*4}	15.67	11.83	70.58	2.27	1.42±0.19

^{*1} Average of duplicate pooled samples in each group.^{*2} Mean±SD, n=28, to two decimal places.^{*3} Extruded soybean meal (ExSBM).^{*4} Combination of 25%SBM and 15%CGM.

ΣΧΗΜΑ 5.4.1.



Growth of rainbow trout fed on diets containing 0, 30, 40, and 50% ordinary or extruded SBM and a diet with 25% SBM+15% CGM.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.4.3.

Amino acids	Diet no.								Req.*
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Arginine	2.80	2.52	2.45	2.39	2.48	2.41	2.31	2.25	1.24
Lysine	3.77	2.86	2.58	2.32	2.92	2.67	2.39	2.33	1.88
Histidine	0.92	0.87	0.86	0.85	0.85	0.84	0.83	0.85	0.56
Phenylalanine	1.79	1.66	1.63	1.61	1.65	1.63	1.58	1.91	1.12
Tyrosine	1.54	1.25	1.17	1.09	1.26	1.18	1.09	1.43	0.76
Leucine	3.40	2.88	2.73	2.59	2.90	2.77	2.61	3.81	1.56
Isoleucine	1.91	1.65	1.58	1.52	1.66	1.60	1.51	1.66	0.84
Methionine	1.32	0.89	0.76	0.63	0.93	0.80	0.67	0.91	0.64
Cystine	0.47	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.53	0.32
Valine	2.27	1.86	1.75	1.64	1.91	1.81	1.69	1.86	1.12
Alanine	2.78	2.08	1.86	1.65	2.12	1.92	1.70	2.14	
Glycine	2.88	2.12	1.89	1.66	2.17	1.96	1.73	1.85	
Proline	1.90	1.75	1.71	1.69	1.75	1.72	1.68	2.34	
Glutamic acid	6.13	5.71	5.62	5.57	5.74	5.69	5.58	6.56	
Serine	1.99	1.74	1.69	1.63	1.78	1.73	1.66	1.85	
Threonine	1.93	1.56	1.46	1.36	1.60	1.51	1.40	1.53	1.20
Aspartic acid	4.27	3.88	3.78	3.71	3.87	3.79	3.67	3.61	
Tryptophan	0.45	0.42	0.42	0.42	0.43	0.43	0.43	0.37	0.16

* Requirement: see Ogino²⁰ for reference.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.4.4.

Diet no.	SBM in diet (%)	Av. body wt. \pm SD (g) ^{*1}		Gain (%)	Feed efficiency	PER	Retention (%)		Daily intake		
		Initial	Final				Protein	Energy	Feed (%)	CP** (mg)	DE** (kcal)
1	0	12.3 \pm 0.7	41.9 \pm 4.0 ^{**3}	240.3 ^a	1.32 ^a	2.80 ^b	46.1 ^{cd}	50.4 ^b	2.02	258.0	2.71
2	30	12.3 \pm 0.7	38.1 \pm 4.7 ^b	209.8 ^b	1.11 ^d	2.71 ^{ab}	42.8 ^{ab}	45.4 ^{ab}	2.25	231.7	2.70
3	40	12.3 \pm 0.8	33.1 \pm 5.9 ^c	169.1 ^c	1.03 ^{bc}	2.64 ^{ab}	42.1 ^{ab}	43.9 ^a	2.17	191.9	2.36
4	50	12.1 \pm 0.5	28.4 \pm 3.7 ^d	135.3 ^d	0.97 ^b	2.61 ^a	41.1 ^{ab}	41.2 ^a	2.02	152.7	1.87
5	30 ^{*4}	12.0 \pm 0.8	37.7 \pm 5.8 ^b	212.4 ^b	1.06 ^{cd}	2.62 ^a	42.1 ^{ab}	44.2 ^a	2.38	238.5	2.85
6	40 ^{*4}	12.1 \pm 0.6	34.5 \pm 4.9 ^{ab}	186.3 ^c	0.98 ^b	2.55 ^a	39.8 ^a	40.1 ^a	2.39	214.6	2.67
7	50 ^{*4}	12.2 \pm 0.6	33.2 \pm 5.4 ^{ab}	173.0 ^c	1.03 ^{bc}	2.80 ^b	44.1 ^{bc}	43.7 ^a	2.20	182.7	2.36
8	25 ^{*5}	12.1 \pm 0.5	43.8 \pm 4.6 ^a	262.2 ^a	1.26 ^a	3.01 ^c	47.6 ^d	49.9 ^b	2.20	256.8	3.02

*¹ Number of initial fish per tank = 20.

*² Units/fish (dry basis).

*³ Means with the same superscript within columns are not significantly different at $p > 0.05$ by multiple comparison analysis (DMRT).

*⁴ Extruded soybean meal (ExSBM).

*⁵ Combination of 25% soybean meal and 15% corn gluten meal.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.4.5.

Diet no.	Soybean meal in diet (%)	Apparent digestibility		
		Protein	Energy	Starch
1	0	92.6	92.8	91.6
2	30	90.4	88.0	82.0
3	40	92.0	87.7	81.3
4	50	93.0	83.1	70.1
5	30 ^{*2}	91.0	88.5	81.9
6	40 ^{*2}	92.1	87.6	80.8
7	50 ^{*2}	94.3	85.9	73.8
8	25 ^{*3}	90.0	87.4	76.7

*¹ Average of duplicate pooled samples, two determinations for each sample.

*² Extruded soybean meal.

*³ Combination of 25% SBM and 15% CGM.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.4.1.

Amino acid and proximate compositions of the different protein sources used

(g/16 g N)

Amino acids	White fish meal	Soybean meal	Extruded soybean meal	Corn gluten meal
Arginine	6.26	7.04	6.70	3.03
Lysine	8.43	5.88	6.15	1.62
Histidine	2.05	2.58	2.48	1.81
Phenylalanine	4.01	4.83	4.72	6.19
Tyrosine	3.45	2.96	2.97	4.72
Leucine	7.61	7.31	7.39	15.95
Isoleucine	4.28	4.35	4.33	3.89
Methionine	2.96	1.32	1.49	2.37
Cystine	1.05	1.41	1.41	1.72
Valine	5.07	4.52	4.74	4.31
Alanine	6.21	4.12	4.29	8.30
Glycine	6.43	4.07	4.33	2.50
Proline	4.25	5.04	4.99	9.82
Glutamic acid	13.72	16.72	16.78	21.27
Serine	4.46	4.72	4.85	4.94
Threonine	4.31	3.70	3.86	3.28
Aspartic acid	9.54	10.99	10.84	6.07
Tryptophan	1.00	1.28	1.30	0.42
<i>Proximate composition (%)</i>				
Crude protein	67.26	47.46	46.84	63.95
Crude lipid	6.33	1.97	1.68	3.17
Crude ash	18.33	5.59	6.59	1.54
Moisture	7.92	12.13	8.29	10.62

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.4.2.

Composition of the experimental diets containing different levels of ordinary defatted soybean meal

(%)

Ingredients	Diet no.							
	1	2	3	4	5	6	7	8
White fish meal	64	34	24	14	34	24	14	24
SBM (Non-extruded)	—	30	40	50	—	—	—	25
ExSBM (Extruded)*1	—	—	—	—	30	40	50	—
Corn gluten meal	—	—	—	—	—	—	—	15
Fish oil	12	15	15	15	15	15	15	15
α-Starch	10	13	13	13	13	13	13	13
Dextrin	6	—	—	—	—	—	—	—
Vitamin mix.*2	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Choline-Cl	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Mineral mix.*2	5	5	5	5	5	5	5	5
Chromic oxide*3	1	1	1	1	1	1	1	1
Vitamin E	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>Nutrient content (%)</i>								
Crude protein	45.2	39.5	37.4	35.3	38.6	36.2	34.3	39.8
Crude lipid	18.3	19.3	19.3	18.2	18.7	19.2	18.7	20.8
Crude ash	15.8	12.2	10.9	9.6	12.3	10.9	9.8	10.1
Moisture	3.7	3.2	4.0	5.3	4.3	5.8	6.3	4.9
Crude starch	15.9	17.8	19.1	21.4	19.6	22.3	22.9	18.5
GE (kcal/100 g)	512	524	524	519	522	515	516	535
DE (kcal/100 g)	475	461	460	432	461	451	443	468

*1 Extrusion condition of soybean meal:

Screw speed 201 rpm.

Feed rate 160 kg/h.

Cutter speed 1210 rpm.

Material temp. 124°C.

*2 The composition was the same as reported previously.*3

*3 Chromic oxide: cellulose = 1:1.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.5.

**ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΠΤΗΝΑΛΕΥΡΟΥ (Feather Meal) ΣΑΝ ΠΗΓΗ
ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΗ ΤΡΟΦΗ ΤΗΣ ΓΙΑΠΩΝΕΖΙΚΗΣ ΓΛΩΣΣΑΣ**

K. Kikuchi, T. Furuta και H. Honda

Fisheries Science 60 (2), pp 203-206 (1994)

Το πείραμα έγινε στους 20°C με τροφές που περιείχαν 0,12,25,37 και 50% πτηναλεύρου (Από πούπουλα) και εξετάστηκε η δυνατότητα αυτού να αντικαταστήσει το ιχθυάλευρο σε τροφές της Γιαπωνέζικης Γλώσσας. Νεαρά άτομα 3gr αρχικού βάρους τράφηκαν με κάθε τροφή δύο φορές την ημέρα μέχρι κορεσμού 6 ημέρες την εβδομάδα και για 8 εβδομάδες.

Η αύξηση του βάρους των ψαριών που τράφηκαν με τις τροφές που περιείχαν 12% και 25% πτηναλεύρου δεν διεφέρει από αυτών που τράφηκαν με τη τροφή περιείχε 80% άσπρου ιχθυάλευρου, όμως οι τροφές που περιείχαν 37 και 50% πτηνάλευρου οδήγησαν σε μικρότερη αύξηση του βάρους. Ο δείκτης μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) και το PER των ψαριών στα οποία χορηγήθηκε η τροφή που περιείχε 12% πτηναλεύρου ήταν ίδια με την ομάδα αναφοράς αλλά οι δείκτες αυτοί μειώθηκαν όσο αύξανε η ποσότητα του πτηναλεύρου από 25, 37 στο 50%. Η προσθήκη κρυσταλλικών αμινοξέων βελτίωσε ελαφρά τη θρεπτική αξία του πτηναλεύρου. Πολύ μικρές διαφορές παρατηρήθηκαν ανάμεσα στη σύσταση του σώματος, των αιματολογικών και αιματοχημικών παραμέτρων ανάμεσα στις διαφορετικές ομάδες ψαριών.

Αυτή η μελέτη έδειξε ότι 12 ως 25% πτηνάλευρου μπορεί να αντικαταστήσει το ιχθυάλευρο στη τροφή της νεαρής Γιαπωνέζικης Γλώσσας.

Οι περισσότερες συνταγές ιχθυοτροφών περιέχουν ιχθυάλευρο σαν πηγή πρωτεϊνών λόγω της υψηλής θρεπτικής του αξία και της αποδοχής του από τα ψάρια. Στην Ιαπωνία εναλλακτικές πηγές πρωτεϊνών έχουν κινήσει το ενδιαφέρον εξαιτίας της μείωσης της αλιευμένης σαρδέλας, που είναι το κύριο συστατικό των ιχθυάλευρων. Πολλές μελέτες έχουν γίνει πάνω στο θέμα κυρίως το Κυπρίνο, Τιλάπια, Πέστροφα και Γατόψαρο, ελάχιστες όμως για την Γλώσσα. Η Γλώσσα είναι ένα από τα πιο σημαντικά καλλιεργούμενα είδη στην Ιαπωνία έχοντας την τέταρτη θέση ανάμεσα στα θαλασσινά καλλιεργούμενα είδη. (Coweay και άλλοι 1971, 1974) με στοιχεία του 1991. Αυτό το είδος *Paralichthys Olivaceus* είναι σαρκοφάγο και απαιτεί μεγάλα ποσά πρωτεϊνών για να αναπτυχθεί. Έχει αποδειχθεί ότι καθαρό σογιάλευρο μπορεί να αντικαταστήσει ένα μεγάλο μέρος του ιχθυάλευρου στη τροφή του, όμως η χρήση μόνο πτηναλεύρου σαν πηγή πρωτεΐνης οδηγεί σε πολύ μικρή ανάπτυξη (Kikuchi και άλλοι, 1993).

Υλικά και μέθοδοι

Πειραματικές τροφές

Η σύσταση της κάθε τροφής φαίνεται στον πίνακα 1. Η τροφή 1 (τροφή αναφοράς) περιέχει 80% ιχθυάλευρο ενώ οι 2-5 περιέχουν 12,25,37 και 50% πτηνάλευρο αντικαθιστώντας το ιχθυάλευρο με αναλογία πρωτεΐνης από ιχθυάλευρο προς πρωτεΐνη από πτηνάλευρο 4:1, 3:2, 2:3, και 1:4 αντίστοιχα. Οι τροφές

σχεδιάστηκαν ώστε να έχουν την ίδια ποσότητα N για να εξακριβωθεί η επίδραση του ποσοστού πτηνάλευρου στην αύξηση της Γλώσσας. Στις τροφές 2-5 έγινε προσθήκη των Απαραίτητων Αμινοξέων τα οποία θεωρείται ότι βρίσκονται σε πολύ μικρές ποσότητες στο Πτηνάλευρο (Τρυπτοφάνη, Μεθειονίνη, Λυσίνη και Ιστιδίνη) σε κατάλληλες ποσότητες σε κάθε τροφή με βάση τις διαφορές στη σύνθεση των αμινοξέων ανάμεσα στο Ιχθυάλευρο και το Πτηνάλευρο. Τα συστατικά της τροφής 6 είναι τα ίδια με αυτά της 4 μόνο που δεν περιέχει συμπληρωματικά αμινοξέα. Οι τροφές 4 και 6 σχεδιάστηκαν για να διαπιστωθεί η διαθεσιμότητα των κρυσταλλικών αμινοξέων στη τροφή. Το πτηνάλευρο παρασκευάστηκε από τη Gunma-Ken Kasei Sangyo, Maebashi. Ακατέργαστα πούπουλα υδρολύονται στα 4kg/cm^2 στους $125\text{-}130^\circ\text{C}$ για 60 min. Ύστερα ξηραίνονται σε έναν θερμοθάλαμο στους 200°C . Το πτηνάλευρο που χρησιμοποιήθηκε σ' αυτή τη μελέτη περιείχε 8% υγρασία, 85% ολική πρωτεΐνη 5% ολικά λίπη και 2% τέφρα. Ισες ποσότητες Μεταλλων και βιταμίνων προστέθηκαν σ' όλες τις τροφές. Η προσθήκη του λαδιού (rollack liver oil) έγινε με βάση το περιεχόμενο σε λίπος της κάθε πρωτεΐνης. Το μίγμα ανακατεύτηκε πριν μορφοποιηθεί σε πολύ μικρές σφαίρες διαμέτρου 2mm και 4mm. Αφού ξηράθηκαν, σε ξηραντήρα, στους 20°C αποθηκεύτηκαν στους -35°C . Οι τροφές δεν σχεδιάστηκαν να έχουν αυστηρώς ίδια θερμιδική αξία.

Από τον πίνακα 1 φαίνεται ότι η ποσότητα της ολικής πρωτεΐνης είναι ίδια ενώ το ολικό λίπος στις τροφές 4,5 και 6

είναι λιγότερο. Από τον πίνακα 2 φαίνεται ότι η σύνθεση των απαραίτητων αμινοξέων είναι η ίδια εκτός από τη Λυσίνη στις τροφές 2 έως 5. Η ποσότητα της λυσίνης μειώνεται όσο αυξάνει το ποσοστό πτηναλεύρου παρά τη συμπληρωματική προσθήκη Λυσίνης -HCL. Το ποσοστό της Κυστεΐνης, Προλίνης και Σερίνης αυξάνεται ενώ το γλουταμινικό και ασπαρτικό οξύ μειώνεται όσο αυξάνει το ποσοστό του πτηναλεύρου.

Πειραματική διαδικασία.

Τον Ιανουάριο του 1993 νεαρές Γλώσσες του 1gr μεταφέρθηκαν από το Mie Prefecture (εκκολαπτήρια) στο εργαστήριο. Τα ψάρια μεγάλωσαν σε ενυδρεία 2000lt με τη χορήγηση τροφής του εμπορίου στους 20°C. Το πείραμα διατροφής έγινε από το Φεβρουάριο έως το Μάρτιο σε κλειστό σύστημα ενυδρείων χωρητικότητας 2000lt θαλασσινού νερού. Στα ενυδρεία η θερμοκρασία είχε διατηρηθεί στους 20+1°C και ο φωτισμός ήταν φυσικός. Κατά την έναρξη του πειράματος τα ψάρια μεταφέρθηκαν σε κλωβούς (30X45X20cm W X LXH) 25 άτομα ανά κλωβό. Γινόταν χορήγηση τροφής 2 φορές την ημέρα και μέχρι κορεσμού και για 6 ημέρες την εβδομάδα με της μικρής διαμέτρου τροφή τις πρώτες 4 εβδομάδες ενώ τις επόμενες 4 εβδομάδες γινόταν χορήγηση της διαμέτρου των 4mm. Το αρχικό βάρος των ψαριών είχε καταγραφεί και μετά μετριόταν κάθε 4 εβδομάδες αφού σταματούσε η χορήγηση τροφής για 36-48h. Στο τέλος του πειράματος 12 ψάρια από κάθε ομάδα

αναισθητοποιήθηκαν με 0.2g/lit MS222 προκειμένου να γίνει αιμοληψία μέσα σε 2 hr από την αιμοληψία μετρήθηκε ο αιματοκρίτης, η αιμοσφαιρίνη και ο αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Το υπόλοιπο αίμα φυγοκεντρήθηκε για 5min στις 4000rpm για να διαχωριστεί το πλάσμα, και τα δείγματα πλάσματος αποθηκεύτηκαν στους -30°C ώσπου να χρησιμοποιηθούν. Επίσης αναλύθηκε η σύσταση του σώματος.

Ανάλυση

Η εκατοστιαία σύσταση και η σύνθεση των αμινοξέων των τροφών η σύσταση και του σώματος των ψαριών μετρήθηκαν με τις μεθόδους που περιγραφτήκαν από (Kikuchi, 1992).

Ο αιματοκρίτης προσδιορίστηκε με τη βοήθεια των αιματοκριτικών σωλήνων κλειστού του ενός άκρου και φυγοκεντρήθηκαν για 5m στις 12000rpm. Η σύνθεση της αιμοσφαιρίνης προσδιορίστηκε με την μέθοδο κυανομεθεμοσφαιρινης. Ο αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων μετρήθηκε με αιμοκυττόμετρο του Thomas. Τα αιματοχημικά συστατικά αναλύθηκαν με kit του εμπορίου (Wako Pure Chemical Industries ltd), ως ακολούθως μέθοδος Διουρίας για τη πρωτεΐνη του πλάσματος, Μέθοδος της Οξειδάσης της Γλυκόζης για την γλυκόζη, η μέθοδος GPO- ρ-χλωροφαινόλης για τα τριγλυκερίδια η μέθοδος MXB για το ασβέστιο και η Μέθοδος ρ-Μεθυλαμινοφαινόλη για το φώσφορο.

Αποτελέσματα και συζήτηση

Ανάπτυξη

Τα αποτελέσματα του πειράματος φαίνονται στο πίνακα 3. Όλες οι ομάδες ψαριών αναπτύχθηκαν ικανοποιητικά. Η αύξηση του βάρους κατά τις 4 αρχικές βδομάδες ήταν μεγαλύτερη στα ψάρια της τροφής αναφοράς (1) και της τροφής 2 με 12% πτηνάλευρο και μειωνόταν όσο αυξάνονται τα ποσά πτηνάλευρου (τροφές 3-5). Τις επόμενες 4 βδομάδες η αύξηση του βάρους ήταν μεγαλύτερη με τις τροφές 2 και 3. Το τελικό βάρος των ψαριών που τράφηκαν με τις τροφές 1,2 και 3 ήταν περίπου το ίδιο και σημαντικά υψηλότερο από ότι αυτό που έδωσαν οι τροφές 4,5 και 6 ($p < 0,05$). Η ίδια τάση παρατηρήθηκε και κατά το τέλος των 4 πρώτων εβδομάδων. Ο δείκτης μετατρεψιμότητας (Feed Conversion Efficiency) και το PER (Protein Efficiency ratio) ήταν υψηλότερα στις τροφές 1 και 2 και μειωνόνταν όσο η αναλογία του πτηνάλευρου αυξάνοταν. Η τροφή που περιείχε κρυστάλλικα αμινοξέα (4) έδωσε ελαφρά καλύτερη ανάπτυξη από αυτήν που δεν περιείχε (6).

Από μελέτες πάνω σε πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) στις οποίες χρησιμοποιήθηκε πτηνάλευρο στη σύνθεση της τροφής αναφέρεται ότι τα ψάρια στο οποίο χορηγήθηκαν τροφές που περιείχαν πτηνάλευρο και Blood meal σαν συμπληρωματικές πρωτεΐνες αντί ιχθυαλεύρου είχαν μικρότερο ρυθμό ανάπτυξης και η τροφή χαμηλότερη μετατρεψιμότητα από ότι με ιχθυάλευρο ή εμπορική τροφή. Επίσης η προσθήκη κρυσταλλικών EAA (L-

Τρυπτοφάνης, L-Μεθειονίνης και L Λυσίνης) έδωσε καλύτερο ρυθμό ανάπτυξης όπως φάνηκε και σε αυτή τη μελέτη. Από την άλλη μεριά στο Σολομό *Oncorhynchus tshawytscha* ο ρυθμός ανάπτυξης και η μετατρεψιμότητα δεν διεφερε σε τροφές που περιείχαν 5 και 15% πτηνάλευρου από τη τροφή που περιείχε ιχθυάλευρο (0% πτηνάλευρο).

Σύσταση του σώματος.

Η σύσταση του σώματος φαίνεται στο πίνακα 4. Δεν φαίνονται διαφορές στην υγρασία, στις πρωτεΐνες και στη τέφρα ανάμεσα στις διάφορες ομάδες. Όμως το λίπος μειώνονταν όσο το πτηνάλευρο αυξάνονταν. Η τροφή 5 έδωσε σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με τη τροφή αναφοράς στο ποσοστό υγρασίας, πρωτεΐνης, λίπους.

Αιματολογικά και αιματοχημικά χαρακτηριστικά.

Τα αιματολογικά χαρακτηριστικά και τα συστατικά του πλάσματος φαίνονται στον πίνακα 5. Η αιμοσφαιρίνη και ο αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων παρουσίασε μείωση όσο αυξάνονταν η ποσότητα του πτηνάλευρου. Δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στον αριθμό των ερυθρών αιμοσφαιρίων, αλλά η ποσότητα της αιμοσφαιρίνης μειώθηκε σημαντικά με τις τροφές 2-5 σε σύγκριση με τη τροφή αναφοράς. Ο αιματοκρίτης δεν παρουσίασε διαφορές στις τροφές 1-5 αλλά ήταν σημαντικά ψηλότερος απ'ότι στη τροφή 6. Στο πλάσμα, οι πρωτεΐνες και το

ποσό φωσφόρου φαίνονται να μειώνονται όσο αυξάνει η ποσότητα του πτηνάλευρου. Τα τριγλυκερίδια, η γλυκόζη και το ασβέστιο διαφέρουν αλλά δεν οφείλονται οι διαφορές αυτές στο ποσοστό πτηναλεύρου.

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι μια αντικατάσταση του ιχθυάλευρου σε ποσοστό 12% έως 25% από πτηνάλευρο στη τροφή νεαρών Γλωσσών είναι δυνατή. Αυτό το ποσοστό αντικατάστασης είναι μικρότερο από του σογιαλευρου στις τροφές του Μαγιατικού (Shimeno 1992, Watanbe 1992, Viyakarn 1992, Shimeno 1993 και της πέστροφας Pongmaneeerat 1993) Επίσης η πεπτικότητα της πρωτεΐνης του πτηναλεύρου από τη Γιαπωνέζικη Γλώσσα είναι μικρότερη από αυτή του ιχθυάλευρου ή σογιαλέυρου. Η χαμηλή πεπτικότητα του πτηναλεύρου είναι ίσως ο λόγος για τον οποίο δεν χρησιμοποιείται ευρέως στις Ιχθυοτροφές.

Χαμηλή πεπτικότητα της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου έχει επίσης διαπιστωθεί και στον chinook Σολομό (Hajen και άλλοι 1993).

Στο παρελθόν οι μέθοδοι επεξεργασίας του σογιαλέυρου όπως θερμική κατεργασία, έκπλυση με οξέα ή αλκοόλες, βελτίωσε τη θρεπτική του αξία. Γι' αυτό το λόγο είναι πιθανόν βελτιώνοντας τις μεθόδους επεξεργασίας του πτηνάλευρου να επιτρέψει τη χρήση του σε μεγαλύτερο ποσοστό στις τροφές της Γλώσσας.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5.1.

Composition of six experimental diets for Japanese flounder

(%)

Ingredient	Diet					
	1	2	3	4	5	6
White fish meal	80	65	48	32	16	32
Feather meal* ¹	0	12	25	37	50	37
Potato starch	7	8.8	11.4	14.4	16	17.5
Pollack liver oil* ²	4	4	4.5	4.5	5	4.5
Mineral mixture* ³	5	5	5	5	5	5
Vitamin mixture* ⁴	4	4	4	4	4	4
Amino acid supplement* ⁵	0	1.2	2.1	3.1	4	0
Proximate analysis						
Moisture	6.7	9.0	9.9	12.5	13.2	12.5
Crude protein	55.5	53.2	55.6	54.3	55.2	52.6
Carbohydrate	11.3	14.1	13.9	16.2	17.0	18.3
Crude lipid	12.4	11.7	10.5	9.1	8.5	8.3
Crude ash	14.1	12.0	10.1	7.9	6.1	8.3

*¹: Gunma-ken Kasei Sangyo.*²: Riken Vitamin Co., Ltd. (Feed oil Ω).*³: Wolf (1951).*⁴: ZEN-NOH.*⁵: To 100 g of each diet, 0.2 g of L-tryptophan (Trp), 0.3 g of DL-methionine (Met), 0.5 g of lysine-HCl (Lys), and 0.2 g of histidine-HCl (His) were added to diet 2, 0.3 g of Trp, 0.5 g of Met, 1.0 g of Lys, and 0.3 g of His were added to diet 3, 0.4 g of Trp, 0.8 g of Met, 1.5 g of Lys, and 0.4 g of His were added to diet 4, and 0.5 g of Trp, 1.0 g of Met, 2.0 g of Lys, and 0.5 g of His were added to diet 5.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5.2.

Amino acids composition of six experimental diets for Japanese flounder

(mg/g diet)

Amino acid	Diet					
	1	2	3	4	5	6
Arginine	34.1	34.4	34.1	33.3	33.7	33.6
Lysine	40.6	39.6	37.2	34.8	32.8	24.6
Histidine	11.5	11.8	11.6	10.9	10.5	8.4
Phenylalanine	22.2	23.1	23.9	24.3	25.5	24.4
Tyrosine	18.8	18.2	18.4	20.1	18.1	16.0
Leucine	41.6	42.7	43.3	43.4	45.0	43.7
Isoleucine	22.5	22.9	22.9	22.7	23.2	23.0
Methionine	15.9	16.5	15.5	15.2	14.1	8.7
Cystine	3.6	5.7	7.8	9.4	11.1	9.5
Valine	26.9	29.3	31.9	33.8	36.8	34.4
Alanine	32.2	31.0	29.6	27.7	26.9	28.0
Glycine	37.4	38.1	38.7	38.3	39.3	38.8
Proline	20.7	26.8	30.4	36.2	40.4	37.4
Glutamic acid	71.9	68.3	64.3	59.6	56.7	59.9
Serine	25.9	32.0	38.3	43.5	50.5	44.4
Threonine	24.4	24.5	24.3	23.8	24.0	23.8
Aspartic acid	51.5	48.8	45.5	41.8	39.3	41.7
Tryptophan	6.2	7.3	7.5	7.5	8.0	4.4

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5.3.

Table 3. Growth data on Japanese flounder fed on the experimental diets for eight weeks

Rearing period	Diet	Av. body wt. \pm SD (g)		Weight gain (%)	FCE* ¹	PER* ²	DFC* ³	Survival (%)
		Initial	Final					
Initial 4 weeks	1	3.1 \pm 0.4	11.5 \pm 2.3** ⁴	272	179	3.2	2.8	100
	2	2.7 \pm 0.4	10.3 \pm 2.3 ^a	278	177	3.3	2.9	100
	3	2.9 \pm 0.4	10.2 \pm 2.5 ^a	245	155	2.8	3.1	100
	4	2.8 \pm 0.3	8.2 \pm 1.4 ^b	191	130	2.4	3.3	100
	5	2.9 \pm 0.4	6.9 \pm 1.5 ^c	139	101	1.8	3.5	100
	6	2.9 \pm 0.4	8.0 \pm 1.7 ^b	176	112	2.1	3.6	100
Following 4 weeks	1	11.5 \pm 2.3	25.8 \pm 8.1 ^d	123	153	2.8	2.2	100
	2	10.3 \pm 2.3	25.5 \pm 7.0 ^d	147	152	2.8	2.4	100
	3	10.2 \pm 2.5	24.9 \pm 7.1 ^d	146	133	2.4	2.8	100
	4	8.2 \pm 1.4	18.8 \pm 5.0 ^e	128	108	2.0	3.2	100
	5	6.9 \pm 1.5	13.5 \pm 3.3 ^f	96	85	1.5	3.3	100
	6	8.0 \pm 1.7	16.1 \pm 4.1 ^e	101	94	1.8	3.1	100
All the period (8 weeks)	1	3.1 \pm 0.4	25.8 \pm 8.1	731	162	2.9	2.1	100
	2	2.7 \pm 0.4	25.5 \pm 7.0	833	159	3.0	2.2	100
	3	2.9 \pm 0.4	24.9 \pm 7.1	748	139	2.5	2.5	100
	4	2.8 \pm 0.3	18.8 \pm 5.0	564	114	2.1	2.8	100
	5	2.9 \pm 0.4	13.5 \pm 3.3	367	90	1.6	3.1	100
	6	2.9 \pm 0.4	16.1 \pm 4.1	455	100	1.9	3.0	100

*¹: Feed conversion efficiency (%; weight gain/feed intake).*²: Protein efficiency ratio (weight gain/dietary protein intake).*³: Daily feed consumption (%).*⁴: Values in the same column having the same superscript are not significantly different ($p > 0.05$).

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5.4.

Proximate composition of the whole body of Japanese flounder fed on the experimental diets for eight weeks

Diet	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Crude ash
1	74.6 \pm 1.6** ^a	17.3 \pm 0.5 ^{ab}	4.4 \pm 0.3 ^a	3.6 \pm 0.1 ^{ac}
2	74.4 \pm 0.2 ^a	17.5 \pm 0.3 ^a	3.8 \pm 0.7 ^{ad}	3.4 \pm 0.1 ^{ab}
3	74.1 \pm 1.0 ^{af}	17.2 \pm 0.3 ^{ab}	4.0 \pm 0.3 ^a	3.7 \pm 0.1 ^c
4	75.8 \pm 0.4 ^{ac}	16.7 \pm 0.4 ^{bc}	3.3 \pm 0.6 ^{ac}	3.6 \pm 0.2 ^{ac}
5	76.6 \pm 0.3 ^b	16.7 \pm 0.2 ^c	2.2 \pm 0.3 ^b	3.7 \pm 0.1 ^c
6	75.8 \pm 0.6 ^{cef}	16.6 \pm 0.8 ^{ac}	3.3 \pm 0.3 ^{cd}	3.9 \pm 0.1 ^d

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5.5.

Hematological characteristics and contents of some plasma constituents of Japanese flounder fed on the experimental diets for eight weeks

Diet	Hemoglobin (g/100 ml)	Hematocrit (%)	Red blood cell ($\times 10^9$ /ml)	Protein (g/100 ml)	Triglyceride (mg/100 ml)	Glucose (mg/100 ml)	Phosphate (mg/100 ml)	Calcium (mg/100 ml)
1	5.3 \pm 0.4**	26.1 \pm 6.1 ^a	3.0 \pm 0.6	3.9 \pm 0.2 ^a	160 \pm 62	61.2 \pm 10.0 ^a	8.2 \pm 0.3 ^a	9.0 \pm 1.7
2	4.7 \pm 0.2 ^b	24.9 \pm 5.9 ^{abc}	2.9 \pm 0.5	3.7 \pm 0.1 ^{ab}	188 \pm 85	34.8 \pm 11.4 ^b	7.0 \pm 0.7 ^{bc}	10.1 \pm 1.1
3	4.4 \pm 0.5 ^{bc}	18.9 \pm 1.3 ^{ab}	2.2 \pm 0.3	3.6 \pm 0.0 ^b	188 \pm 32	62.6 \pm 30.1 ^{abc}	7.7 \pm 0.7 ^{ac}	6.6 \pm 1.9
4	4.0 \pm 0.4 ^c	17.0 \pm 2.4 ^{abc}	2.2 \pm 0.2	3.4 \pm 0.3 ^b	271 \pm 72	42.6 \pm 9.4 ^b	6.7 \pm 1.4 ^{abc}	8.3 \pm 1.3
5	3.6 \pm 0.4 ^c	19.6 \pm 6.0 ^{abc}	1.8 \pm 0.6	3.3 \pm 0.6 ^{ab}	171 \pm 89	60.8 \pm 26.4 ^{bc}	6.0 \pm 1.3 ^{bc}	8.6 \pm 1.3
6	4.2 \pm 0.3 ^c	15.2 \pm 1.3 ^c	2.3 \pm 0.3	3.6 \pm 0.3 ^{ab}	269 \pm 82	82.9 \pm 7.6 ^c	6.4 \pm 0.7 ^b	7.5 \pm 0.8

*: See the footnote of Table 4.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6ο

**ΜΙΑ ΜΕΘΟΔΟΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗΣ ΣΥΓΚΡΙΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΡΟΦΩΝ ΓΙΑ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ.**

E.R. Urban Jr. και G.D. Pruder,

Aquaculture 99, pp 127-142, 1991

ΓΕΝΙΚΑ

Στα πλεονεκτήματα, από την αντικατάσταση των ζωντανών τροφών από μη ζωντανές τροφές για την διατροφή των υδροβίων ζώων, συμπεριλαμβάνονται η αυξημένη αξιοπιστία της διαθεσιμότητας της τροφής η πρόβλεψη της σύνθεσης της τροφής και το μειωμένο κόστος. Πειραματικές τροφές ή τα συμπληρωματικά μείγματα χρησιμοποιούνται για την εμπορική παραγωγή των υδρόβιων οργανισμών μόνο εάν αναμένεται από αυτές αυξημένο κέρδος. Πολλές πειραματικές τροφές δεν προωθούνται σε εμπορική χρήση, γιατί δεν υπάρχει κάποια σταθερή μέθοδος για τους διατροφολόγους των υδατοκαλλιεργειών για την αξιολόγηση του οφέλους από τις νέες τροφές. Αναπτύχθηκε ένα μοντέλο αξιολόγησης των οφελών των πειραματικών τροφών, βασισμένο σε οικονομικές εξισώσεις και πειραματικώς προσδιορισμένες τιμές για το κόστος διατροφής, το ρυθμό αύξησης, την αποδοτικότητα αύξησης και την θνησιμότητα. Το μοντέλο αυτό δοκιμάστηκε για την αξιολόγηση του οικονομικού οφέλους από την αντικατάσταση του φυτοπλαγκτού από μαγιά στις τροφές του δίθυρου μαλάκιου *Mercenaria mercenaria* (L) και στην αξιολόγηση των υπάρχοντων δεδομένων από μελέτες διατροφής του κυπρίνου *Cyprinus carpio* L.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι τεχνικές γραμμικού προγραμματισμού χρησιμοποιούνται για καθοδήγηση στο σχεδιασμό τροφών για είδη που ζουν στην ξηρά και που έχουν εξακριβωμένες απαιτήσεις (Waldroup, 1984). Ο γραμμικός

προγραμματισμός δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των βέλτιστων τροφών για υδατοκαλλιέργειες, για τα περισσότερα υδρόβια είδη, λόγω των ειδικών διατροφικών τους απαιτήσεων οι οποίες δεν είναι ακόμη γνωστές. Αντί της χρήσης μαθηματικών μεθόδων οι διατροφολόγοι ψαριών συχνά βασίζονται στην επιλογή μετά από δοκιμή διαφόρων συνδυασμών τροφών και βασικών θρεπτικών. Το κόστος θρέψης και οι απορρέοντες ρυθμοί ανάπτυξης αποδοτικότητας αύξησης και θνησιμότητας ποικίλουν ανάλογα την τροφή και αυτές οι διακυμάνσεις υπολογίζονται με μελέτες διατροφής.

Το πιο σημαντικό βήμα στην βελτίωση των τροφών για τα εμπορικώς καλλιεργούμενα είδη είναι η αντικατάσταση των - ζωντανών τροφών από μη ζωντανές τροφές. Όταν δεν υπάρχουν σε διαθεσιμότητα κατάλληλες μη-ζωντανές τροφές, οι καλλιεργητές πρέπει να παράγουν ζωντανή τροφή ή να διαλέξουν περιοχή με άφθονη φυσική τροφή. Δυστυχώς, αυτό μπορεί να οδηγήσει σε μια ακριβή, περιορισμένη και μη προβλέψιμη προμήθεια τροφής. Οι περισσότεροι καλλιεργητές διθήρων μαλακίων βασίζονται στην ωκεανεία ή των εκβολών ποταμών παραγωγή φυτοπλαγκτού για την θρέψη νεαρών ατομών και ενήλικων διθύρων. Αυτή η κατάσταση έχει δημιουργήσει την ανάγκη για φθηνές μη-ζωντανές τροφές δια δίθουρα, αλλά έως τώρα έχει επιτευχθεί σε μικρό βαθμό (Haven, 1965, Castell και Trider, 1974, Gabbott και άλλοι, 1976).

Μελέτες για μη-ζωντανές τροφές για δίθουρα έχουν παραβλέψει κατά πολύ το οικονομικό κόστος. Όταν αυτός ο παράγοντας ληφθεί υπ'όψιν τότε γίνεται επιλογή τροφών που ελαχιστοποιούν το κόστος τροφής ή που μεγιστοποιούν τα οφέλη (De Pauw, 1983, Urban και

Langdon, 1984). Αντί αυτού το πρωταρχικό οικονομικό κριτήριο επιλογής της τροφής πρέπει να είναι η μεγιστοποίηση του κέρδους, διότι η μείωση του κόστους τροφής μπορεί να μειώσει και την μετατρεψιμότητα, ή τον ρυθμό αύξησης ή να αυξήσει την θνησιμότητα οπότε να έχουμε μείωση του κέρδους. Η προσαύξηση του κόστους τροφής μπορεί να υπερκαλύψει τα αποτελέσματα της αύξησης και επομένως να μειώσει τα έσοδα. Τα μοντέλα επιλογής τροφής πρέπει να λαμβάνουν υπόψη όλους τους παράγοντες που επηρεάζουν, το όφελος χρησιμοποίησης της.

Ένα οικονομικό μοντέλο εκτίμησης των τροφών για υδατοκαλλιέργειες πρέπει να βασιστεί σε οικονομικούς ορους. Για παράδειγμα, κέρδος είναι η διαφορά μεταξύ των συνολικών εσόδων και (R_t) του ολικού κόστους (C_t) (εξίσωση 1). Τα ολικά έσοδα ισούται με τα έσοδα ανά μονάδα (R) πολλαπλασιαζόμενα με τον αριθμό των παραγόμενων μονάδων (Q) (εξίσωση 2). Το ολικό κόστος ισούται με το σταθερό κόστος (FC) συν τη διακύμανση του κόστους ανά μονάδα (VC) πολλαπλασιασμένο επί τον αριθμό των παραγόμενων μονάδων (εξίσωση 3).

$$P = R_t - C_t \quad (1)$$

$$R_t = R \cdot Q \quad (2)$$

$$C_t = FC + VC \cdot Q \quad (3)$$

Αντικαθιστώντας την 2 και 3 στην εξίσωση 1 παίρνουμε την

$$(4)$$

$$P = (R - VC) \cdot Q - FC \quad (4)$$

Όταν η εξίσωση 4 εφαρμόζεται σε συνθήκες καλλιέργειας υπάρχουν 4 παράγοντες που καθορίζουν το όφελος της χρήσης μιας

συγκεκριμένης τροφής: τα έσοδα, το μεταβλητό κόστος, η ποσότητα των παραγόμενων ζώων, και το σταθερό κόστος (εικ. 1). Καθένας από αυτούς ορίζεται στην συνέχεια.

Έσοδα είναι η τιμή πωλησης ανά ζώο. Σε εμπορικές συνθήκες θα υπάρχει μία μεταβλητή τιμολόγηση, εξαρτώμενη από το μέγεθος των ζώων που πωλούνται. Το ολικό μεταβλητό κόστος είναι συνάρτηση του αριθμού των παραγόμενων ζώων, και άρα αυξάνεται από το μηδέν (= δεν υπάρχει παραγωγή ζώων) σε υψηλότερες τιμές καθώς η παραγωγή αυξάνει. Πρακτικά, η μονάδα του μεταβλητού κόστους συνήθως υπολογίζεται με διαίρεση του ολικού μεταβλητού κόστους με τον αριθμό των παραγόμενων μονάδων παρά με τον προσδιορισμό του συνολικού κόστους για κάθε μία μονάδα. Οι καμπύλες του γραμμικά μεταβλητού κόστους που παρουσιάζονται στο διάγραμμα 1 υποδεικνύουν ότι δεν υπάρχουν πλεονεκτήματα ή μειονεκτήματα για το κόστος, που να εμφανίζονται καθώς η παραγωγή αυξάνεται. Οι μη - γραμμικότητες στις καμπύλες κόστους μπορεί να παραβλεφθούν καθώς τυπικά χρησιμοποιούνται για αναλύσεις καταμετρήσεων, (Hogngren, 1982).

Για μελέτες διατροφής, είναι απαραίτητος ο διαχωρισμός του μεταβλητού κόστους σε αυτό που συσχετίζεται με την χορήγηση των διαφόρων τροφών (κόστος διατροφής και κόστος θνησιμότητας) και αυτού που δεν σχετίζεται με την διατροφή (μη διατροφικό μεταβλητό κόστος, NFVC). Το κόστος διατροφής είναι ένα από τα κύρια συστατικά του μεταβλητού κόστους και είναι συνάρτηση (1) της τιμής και της ποσότητας των συστατικών της τροφής (κόστος τροφής), (2) του ποσού της τροφής που απαιτείται ανά ζώο, (3) του κόστους εργασίας για την

χορήγηση της τροφής και (4) όλων των άλλων κόστων απαραίτητων για την παραγωγή ή την παροχή της τροφής, συμπεριλαμβανομένων του κόστους διατήρησης και του κόστους για απόσβεση κεφαλαίων για τα συστήματα διατροφής. Το ποσό της απαιτούμενης τροφής εξαρτάται από την αποτελεσματικότητα της στην αύξηση (GGE Gross Growth Efficiency), η οποία μπορεί να οριστεί σαν η αύξηση ζώντος βάρους που παράγεται ανά ξηρό βάρος παρεχόμενης τροφής.

Αναφορές τροφών χαμηλού κόστους τροφής μπορεί να μην ανταποκρίνονται σε μικρό κόστος διατροφής, εάν κάποιος από τους παράγοντες κόστους διατροφής παραβλεφθεί. Για παράδειγμα ο DaPauw και άλλοι (1983) ανέφεραν μικρό κόστος τροφής, αλλά δεν συνυπολόγησαν τις GGEs ή το κόστος κεφαλαίου. Το κόστος διατροφής είναι ένα σημαντικό στοιχείο του κόστους παραγωγής στις υδατοκαλλιέργειες, καθώς αποτελεί το 20-40% του ολικού κόστους για την παραγωγή γαρίδας (Adams και άλλοι, 1980) καραβίδας (Shang και Fujimura, 1977) και σολομού (Fralik, 1980). Ο Bolton (1982) ανέφερε ότι το κόστος τροφής αποτελεί το 15-85% του κόστους παραγωγής γόνου στρειδιού. Κατά τη διάρκεια της παραγωγής υφίσταται ένα συγκεκριμένο κόστος λόγω της τροφής καθώς και άλλο κόστος το οποίο οφείλεται στα ζώα που πεθαίνουν πριν την πώληση, αυτό μπορεί να οριστεί σαν «κόστος θνησιμότητας».

Το μη διατροφικό μεταβλητό κόστος (NFVC) συμπεριλαμβάνει το κόστος εργασίας για χειρισμούς, άντληση, θέρμανση και αερισμό του νερού και το κόστος του γόνου. Το σταθερό κόστος είναι ανεξάρτητο του επιπέδου παραγωγής και συμπεριλαμβάνει το ενοίκιο, τους τόκους των

δανείων, την ασφάλεια τους φόρους, την υποτίμηση, και μέρος του ηλεκτρικού καθώς και τμήμα της διατήρησης, της διαχείρισης, κλπ. Η ποσότητα των παραγόμενων ζώων σε μία δεδομένη περίοδο εξαρτάται από τον αριθμό του γόνου που εισάγεται στο σύστημα, την επακόλουθη θνησιμότητα και τον χρόνο παραγωγής. Καθώς ο χρόνος παραγωγής αυξάνει λιγότερο ζώα ενός δεδομένου μεγέθους μπορεί να παραχθούν.

Ένα μοντέλο κερδών κατασκευάστηκε και εφαρμόστηκε χρησιμοποιώντας πληροφορίες και στοιχεία από ένα πείραμα στο οποίο το φυτοπλαγκτόν αντικαταστάθηκε από μαγιά σε τροφές για δίθυρα μαλάκια (*Mercenaria mercenaria* (L)). Η μαγιά επιλέχθηκε σαν συμπληρωματική τροφή διότι είναι πιο φθηνή από το φυτοπλαγκτόν, και επιπλέον έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς στην αντικατάσταση μέρους του φυτοπλαγκτού σε πειραματικές μελέτες με *M Mercenaria* (Epifanio, 1979). Θα επιδείξουμε ότι η τροφή επιλογής (δηλ. η τροφή που έχει το μεγαλύτερο προβλεπόμενο κέρδος, με αυτό το μοντέλο) διαφέρει κάτω από διαφορετικές παραδοχές για το κόστος του φυτοπλαγκτού, της προμήθειας του και του κόστους της δομής της εταιρίας. Πειραματικά στοιχεία για την καλλιέργεια κυπρίνου ελήφθησαν από την υπάρχουσα βιβλιογραφία (Ocrady και Spillet, 1987) και αξιολογήθηκαν με το μοντέλο κέρδους για ένα δεύτερο έλεγχο της αξιοπιστίας του.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ανάπτυξη μοντέλου

Οι παράγοντες που επηρεάζουν το κέρδος συμμετέχουν σ'ένα μοντέλου πρόβλεψης του κέρδους (εξίσωση 5). Το μοντέλο

κατασκευάστηκε σε φύλλο εργασίας Lotus 1-2-3 έτσι ώστε να μπορεί να γίνει εύκολα η εφαρμογή του σε έναν μικροϋπολογιστή και να μπορεί να εφαρμοστεί στις περισσότερες εργαστηριακές και έμπορικές περιπτώσεις.

Μία τροφή αναφοράς πρέπει να καθοριστεί και να συγκριθεί με όλες τις πειραματικές τροφές και θα πρέπει αυτή να είναι η τροφή που χρησιμοποιείται επί του παρόντος. Για την καλλιέργεια μάλακίων, η κλασική τροφή είναι μία τροφή από αλγη, όπως περιγράφεται στην συνέχεια. Τα έσοδα ανά ζώο υπολογίστηκαν με την προϋπόθεση ότι πωλείται μόνο ένα μέγεθος ζώου. Αυτό επέτρεψε την χρήση του παράγοντα: χρόνος παραγωγής, για να καθοριστεί η ποσότητα των παραγόμενων ζώων, αντί της χρησιμοποίησης ενός σταθερού χρόνου παραγωγής και μίας μεταβλητής τιμολόγησης. Η αναμενόμενη ποσότητα προϊόντος (Q) με την χρήση της κλασικής τροφής υπολογίστηκε από τον χρόνο παραγωγής που καθορίστηκε για τις τροφές τις πειραματικές (Pt_e) σε σχέση με τον χρόνο παραγωγής με τη κλασική τροφή (PT_s). Αυτός ο παράγοντας του χρόνου παραγωγής είναι ένα κύριο χαρακτηριστικό διάκρισης του μοντέλου μας από άλλες τεχνικές εκτίμησης τροφής.

Ενας συγκεκριμένος αριθμός ζώων μπορεί να πεθάνει πριν την συγκομιδή, το κόστος της τροφής τους και διατήρησής τους πρέπει να αφαιρεθεί σαν κόστος θνησιμότητας (Cm). Η ρύθμιση του κέρδους για την θνησιμότητα είναι ένα δεύτερο κύριο χαρακτηριστικό διάκρισης του μοντέλου μας.

$$\text{Κέρδος} = (R - NF \cdot C - \text{κόστος Διατροφής}) / \text{ζώο} \cdot Q \cdot \frac{PT_s \cdot (1 - M) - FC - Cm}{Pt_e} \quad (5)$$

όπου R = έσοδα

NFVC = μη Διατροφικό μεταβλητό κόστος
κόστος Διατροφής - δεξ εξίσωση 6

Q = ετήσια παραγωγή (ποσότητας) με τη κλασσική τροφή.

PT_s = χρόνος παραγωγής με την κλασσική τροφή.

PT_e = χρόνος παραγωγής έως το επιθυμητό μεγεθος με
την πειραματική τροφη, όπως απορρέει από την
καμπύλη της πειραματικής αύξησης.

= (ln (αρ. επιζήσαντων . (απαιτούμενη αύξηση
βαρους + Wi)) - γ. τομή της εξίσωσης αύξησης)
/ κλήση της εξίσωσης αύξησης.

M = το ποσοστό των ζων που πεθαναν.

FC= Σταθερό κόστος

Cm= κόστος θνησιμότητας (εξίσωση 8).

Το κόστος διατροφής ανά ζώο υπολογίζεται από την εξίσωση:

Κόστος διατροφής ανά ζώο=(Wh-Wi).1/GGE.κόστος τροφής /g+C1 (6)

όπου : Wh = βάρος κατά την συγκομιδή (gr)

Wi = αρχικό βάρος (gr)

GGE= αποτελεσματικότητα του λίπους στην αύξηση
κόστος τροφής /gr - δεξ εξίσωση 7

C1 = κόστος εργασίας για την διατροφή / ζώο.

Εάν τα ζώα πουλούνται βάση του μήκους τους, είναι απαραίτητο να προσδιορίσουμε τα βαρη που αντιστοιχούν στο αρχικό και το κατά τη συγκομιδή μήκος.

Το κόστος τροφής ανά gr των τροφών προσδιορίστηκε με την εξίσωση.

$$\text{Κόστος τροφής /gr} = (P_1C_1 + \dots + P_nC_n)$$

όπου P_1 = το κλάσμα του 1ου συστατικού της τροφής

C_1 = κόστος /gr του 1ου συστατικού

P_n = το κλάσμα του νιοστού συστατικού της τροφής

C_n = κόστος /gr του νιοστού συστατικού.

Το κόστος θνησιμότητας ισούται με τον αριθμό των ζώων που πέθαναν επί το μέσο κόστος παραγωγής τους. Ο μέσος χρόνος θνησιμότητας θεωρείται ότι είναι ο μισός του χρόνου της παραγωγής. Οι εξισώσεις παλλινδρόμησης υπολογίστηκαν μέσω των εβδομαδιαίων ομαδικών ζυγίσεων των διθύρων μαλακίων κατά το πείραμα των 4αρων εβδομάδων (πίνακας 1). Οι y - τομές και κλίσεις των εξισώσεων αύξησης χρησιμοποιήθηκαν στην εξίσωση 8.

$$\text{Κόστος Θνησιμότητας (Cm)} = (Q \cdot \frac{PT_s}{PT_e} \cdot \text{κλάσμα θνησιμότητας})$$

$$\frac{(W_d - W_c) (\text{κόστος Διατροφής} + NFVC) / \text{ζώο}}{(W_h - W_i)} \quad (8)$$

$$W_d = \text{μέσο βαρος κατά τον θάνατο} = \exp(y - \text{int} + \text{slope} \cdot \frac{PT_e}{2}) / \text{αρ. επιζησάντων.}$$

Η ανάλωση κεφαλαίου είναι σταθερή σε αυτή την ανάλυση, καθώς υποθέσαμε ότι η αλλαγή τροφών δεν θα άλλαζε την ανάλωση κεφαλαίου για μία υπάρχουσα εγκατάσταση. Οι αναλύσεις της βέλτιστης ανάλωσης κεφαλαίων πρέπει να χρησιμοποιούν μία μακροπρόθεσμη προσέγγιση (Johns et al, 1981, α,β).

Στοιχεία πειραματικά που χρησιμοποιήθηκαν σ' αυτό το μοντέλο.

Το κόστος διατροφής ανά ζώο, η αποδοτικότητα στην αύξηση, ο ρυθμός θνησιμότητας και οι χρόνοι παραγωγής προσδιορίστηκαν με την χρήση των αποτελεσμάτων των πειραμάτων αύξησης επάνω στο δίθυρο μαλάκιο *M. mercenaria* (L). Το μαλάκιο αυτό τράφηκε με άλγη και τροφές με άλγη + συμπληρώματα μαγιάς. Το σταθερό σιτηρέσιο των 5.2mg αλγη ανά 500 mg ζωντανού βάρους ενά ημέρα (1%) έδωσε γρήγορη αύξηση. Στο περιγραφόμενο πείραμα, ο συντελεστής συσχέτισης (r^2) ισούται με 0.999 για την αύξηση, έναντι του σιτηρεσίου των αλγών (πίνακας 2), οπότε ήταν και κατάλληλο το 1%.

Το κλάσμα των τροφών που αποτελείτο τα άλγη περιλάμβανε : 50% *Thalassiosira pseudonana* (κλώνος 3H) 50% Tahitian *Isahrysis* aff. *galbana* (κλώνος T-ISO), βάση του ξηρού βάρους. Η μέθοδος καλλιέργειάς τους ήταν αυτή του Bolton (1982). Για την πρώτη βδομάδα του πειράματος, ομάδες μαλακίων τρέφονταν με ποσότητες: 5.2, 3.9, 2.6 ή 1.3 mg του ξηρού βάρους αλγη ανά ημέρα, και τα τελευταία 3 επίπεδα δίδονταν με ή χωρίς μαγιά (Torula Dried Yeast, Boise Cascade co, \$ 1.37/kg ξηρού βάρους), της οποίας η προσθήκη γινόταν για να καταλήξουμε στον ολικό λόγο του 5.2mg/ημέρα. Μία ομάδα που δεν τράφηκε και μία ομάδα που τρεφόταν με το λόγο 5,2mg μαγιάς/ημέρα επίσης συμπεριλήφθησαν στο πείραμα. Οι αναλογίες (ποσοστά) που παρατίθενται σε αυτό το φυλλάδιο αναφέρονται στην πρώτη βδομάδα. Κάθε ομάδα αποτελείτο από 20 άτομα καλλιεργούμενα για 4 βδομάδες σε

4 lt θαλασσινού νερού, αλατότητας 30 ppt και θερμοκρασίας 25°C. Το νερό φιλτραριζόταν με άμμο για να μειωθούν οι φυσικές πηγές τροφής.

Μετρήθηκαν τα ατομικά βάρη πριν το κάθε πείραμα. Ομαδικά ζυγίσματα πραγματοποιούνταν κάθε εβδομάδα και η αναλογία της τροφής αυξάνονταν ανάλογα με τις εβδομαδιαίες αυξήσεις σε μέγεθος. (Urban et al, 1983). Τα ατομικά βάρη, ξαναμετρήθηκαν στο τέλος του πειράματος. Όλα τα βάρη υπολογίστηκαν ως προς την αύξηση βάρους βάση των ατάϊστων ζωνών.

Παραδοχές του μοντέλου και Συνθήκες

Η επιθυμητή αύξηση βάρους είχε θεωρηθεί ίση με τη μέση αύξηση των μαλακίων που τρέφονταν με την κλασσική τροφή (0.195 gr πίνακας 2). Ο σταθερός χρόνος παραγωγής ήταν ο χρόνος που χρειάστηκαν τα δίθυρα να αποκτήσουν το επιθυμητό βάρος, με τη κλασσική τροφή και ίσος με 3.95 εβδομάδες.

Αυτή η περίοδος είναι πιο μικρή από την απαιτούμενη για την εμπορική παραγωγή, έτσι οι απόλυτες τιμές κέρδους που δίνονται εδώ δεν έχουν αξία.

Οι σχετικές κατατάξεις των κερδών δεν πρέπει να αλλάξουν καθώς αλλάζει ο θεωρητικός σταθερός χρόνος παραγωγής.

Ο ολικός αριθμός ζώων που παράγονται με την κλασσική τροφή θεωρήθηκε ότι είναι 10 εκατομμύρια. Έτσι υπολογίστηκε και το κόστος εργασίας, θεωρώντας ότι 10 εκατ. νεαρά άτομα διθύρων θα απαιτούσαν 100 raceways 1X10 (m), κατά τον χρόνο συγκομιδής (J.D Monte, Mercenaria manufacturing, προσωπική επικοινωνία, 1989), και ότι ο

χρόνος που απαιτείται για την παροχή των συμπληρωμάτων (τροφής) θα είναι 11.25 λεπτά ανά raceway ανά ημέρα. (E.R. Urbam, Jr. ανέκδοτα στοιχεία, 1986). Θεωρήθηκε επίσης ο μισθός των \$5 ανά ώρα. Σε αυτήν την ανάλυση, το κόστος εργασίας για την διατροφή αναφερόταν μονο στις τροφές που εμπλουτίστηκαν με μαγιά, διότι είχε υποτεθεί ότι οι τροφές με άλγη ήταν στο αντλούμενο φυσικό θαλασσινό νερό.

Στοιχεία από αυτά τα πειράματα αναλύθηκαν με τρεις τρόπους: (1) διακύμανση του θεωρητικού κόστους των αλγών, (2), Διακυμάνση των θεωρητικών τιμών του σταθερού και του μη-Διατροφικού μεταβλητού κόστους, και (3) τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν θεωρώντας μία περιορισμένη έναντι μίας μη περιορισμένης παροχής αλγών. Χρησιμοποιήθηκε κόστος παραγωγής αλγών των \$0, \$150 και \$300 ανά kgρ υγρού βάρους, έτσι ώστε να συμπεριληφθεί το εύρος των εκτιμήσεων του κόστους των αλγών στην βιβλιογραφία (Wain, 1976, Bolton 1982, De Pawn και άλλοι, 1983). Η μονάδα του μεταβλητού κόστους όπως αναφέρθηκε από τον Brown και άλλους (1983) για τον πρώτο χρόνο παραγωγής ήταν \$0.0258/δίθυρο. Ο Brown και άλλοι (1983) περίμεναν ότι αυτό το κόστος θα μειωνόταν στα \$0.0107/δίθυρο μέσα στο 3ο έτος της παραγωγής.

Το άθροισμα του σταθερού κόστους και του NFVC υπολογίστηκε στα \$140.000 για την κλασσική τροφή. Αυτοί οι δύο παράγοντες περιλαμβάνουν μεγαλύτερο μέρος του κόστους και δεν διαφέρουν ανάλογα με την τροφή. Αυτό το άθροισμα διαχωρίστηκε σε σταθερό και σε NFVC, παρουσιάζοντας έτσι δύο άκρα στην δομή του κόστους της εταιρίας, στην οποία είτε το NFVC ή το σταθερό κόστος καταλάμβαναν

ένα μεγάλο τμήμα των \$140.000 (εκτός του κόστους τροφής). Οι δύο συνδιασμοί που δοκιμάστηκαν ήταν \$120.000/χρόνο για το σταθερό κόστος και \$0.002/3000 για το NFVC (το συνολικό είναι ίσο με \$20.000 για μία σταθερή παραγωγή 10 εκατ. διθύρων) ή \$20.000/έτος για το σταθερό κόστος και \$0.012/ζώο για το NFVC (το συνολικό είναι ίσο με \$120.000 για μία σταθερή παραγωγή 10 εκατ. διθύρων). Κάτω από σταθερές συνθήκες επιτυγχάνεται κέρδος: \$60.000.

Το μοντέλο χρησιμοποιήθηκε επίσης για την εκτίμηση ορισμένων από τα αποτελέσματα των O'Grady και Spillet (1987) για να αποδειχθεί η εφαρμοσιμότητα του και σε άλλα είδη. Αυτή η δημοσίευση επιλέχθηκε σαν ένα παράδειγμα των τρεχόντων τεχνικών και γιατί παρουσιάζει πληρότητα στα στοιχεία που παρουσιάζονται σ'αυτό. Τα έσοδα των \$0.10 ανά ψάρι και η παραγωγή των 10.000 ψαριών ήταν υποθετικά. Το σταθερό κόστος και το NFVC θεωρήθηκαν 0 για να απλοποιηθεί η ανάλυση, ενώ έγινε η υπόθεση ότι ο χρόνος παραγωγής ήταν 9 βδομάδες (ο χρόνος διεξαγωγής των πειραμάτων τους). Οι εξισώσεις παλλινδρόμησης της αύξησης έναντι του χρόνου καθορίστηκαν με τον υπολογισμό των συντεταγμένων των δεδομένων σημείων από τις καμπύλες αύξησης των O'Grady και Spillet.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ανάπτυξη

Ο GGE ο χρόνος παραγωγής και η θνησιμότητα των διθύρων διέφερε καθώς αυτά αποτελούσαν συνάρτηση της τροφής (πίνακας 1).

Η GGE των διθύρων μειωνόταν καθώς αύξανε η αντικατάσταση των αλγών από μαγιά, αλλά οι τροφές από αλγη / μαγιά σημείωναν ένα χαμηλότερο κόστος θρέψης ανά δίθυρο (εξίσωση 6), από τις τροφές που περιείχαν το ίδιο ποσό αλγών χωρίς μαγιά. Ο χρόνος παραγωγής αυξανόταν καθώς το ποσοστό των αλγών της τροφής αυξανόταν. Ο χρόνος παραγωγής ήταν μικρότερος όταν γινόταν προσθήκη μαγιάς στα αλγη, σε σχέση με τον χρόνο παραγωγής των διθύρων που τρέφονταν με παρόμοια επίπεδα αλγών. Πραγματι, η τροφή που περιείχε 50% αλγη και 50% μαγιά έδινε ανάπτυξη ίσης με 83% όσης έδινε η τροφή που περιείχε 100% αλγη.

Η απόδοση του μοντέλου

Καθώς το κόστος των αλγών αυξήθηκε, το μέγιστο κέρδος προερχόταν από τις τροφές που περιείχαν αλγη και μαγιά και όχι από αυτές που περιείχαν μόνο αλγη (Διαγράμματα 2B,D). Αυτά τα αποτελέσματα θεωρούν ότι είναι διαθέσιμη αρκετή ποσότητα, αλγών με το παρόν κόστος, έτσι ώστε να διατηρηθεί το μέγιστο επίπεδο παραγωγής. Τα κέρδη των - \$ 120.000 και - \$20.000 χωρίς τροφή, αντιστοιχούν στο σταθερό κόστος, κατω από αυτές τις συνθήκες, διότι δεν θα παράγονταν καθόλου ζώα.

Οι χειρισμοί στις υδατοκαλλιέργειες, που βασίζονται σε ζωντανή τροφή, όπως το εκκολαπτήριο μυδιών, συνήθως έχουν περιοσμένη και μη προβλέψιμη προμήθεια σε αλγη. Αυτή η κατάσταση μπορεί να αναπαρασταθεί από μαλάια που μεγαλώνουν με λιγότερο του μεγίστου ποσού αλγη, (Διαγράμματα 2 A,C) Η χρησιμότητα της μαγιάς σαν

συμπληρωματικό κάτω από συνθήκες περιορισμένης προμήθειας άλγων μπορεί να αξιολογηθεί συγκρινοντας τον προϋπολογισμό των κερδών με την χρήση τροφών με ή χωρίς μαγιά. Όταν το σταθερό κόστος είναι μεγάλο σε σχέση με το μεταβλητό, η προσθήκη μαγιάς στις τροφές πάντα αυξάνει το κέρδος. Για παράδειγμα με ένα ρυθμό χορήγησης αλγών 1.3mg/ημέρα με κόστος \$300/kg, η προσθήκη μαγιάς θα αυξήσει το κέρδος κατά \$45.000 (Διαγράμματα 2 A,B).

Οι εκτιμήσεις των κερδών διαφέρουν εάν οι εγκαταστάσεις παραγωγής έχουν μικρό σταθερό κόστος, και μεγάλο μεταβλητό (Διαγράμματα 2C,D), όπως το εκκολαπτήριο μυδιών κατά Brown και άλλων (1983). Σε αυτή την περίπτωση, η αύξηση του κόστους των αλγών και παλι καθιστά συμφέρουσα την τροφή (μεγιστο κέρδος), μέσω της προσθήκης μαγιάς στις τροφές για μαλάκια, είναι μικρότερες, ωστόσο, από αυτές που σημειώνονται όταν το σταθερό κόστος κυριαρχεί. Για παράδειγμα, με έναν ρυθμό καταναλωσης αλγών 1.3mg/ημέρα, με κόστος \$300/kg αλγη, η προσθήκη μαγιάς αυξάνει το κέρδος κατά \$17.800. Η ποσότητα των εμπορεύσιμων ζώων στο τέλος της περιόδου παραγωγής κυμαίνονταν από 4.6 έως 10 εκατομμύρια (πίνακας 1). Το κόστος που υπολογίστηκε σύμφωνα με το μοντέλο μας ήταν \$0.014 έως \$0.019 ανά μαλάκιο, ανάλογα με τον συνδιασμό των υποθέσεων που καναμε, ενώ το κόστος διατροφής δεν ξεπερασε ποτέ το 30% του κόστους παραγωγής.

Πολλές από τις μεταβλητές εξετάστηκαν ως προς την ευαισθησία τους στις μεταβολές των υποθέσεων. Μία αλλαγή κατά \$0.01 του NFVC προκάλούσε μεταβολή των κερδών η οποία κυμαινόταν από \$5.624 σε 10.000, με τις διάφορες τροφές. Μία μεταβολή κατά 50% στο κόστος

εργασίας της διατροφής προκαλούσε μία μεταβολή στα κέρδη των \$737 έως \$1.262. Μία μεταβολή κατά 1% στον ρυθμό θνησιμότητας μεταβάλλει το κέρδος κατά \$27 έως \$516. Όταν τα πειραματικά δείγματα είναι μικρά, ο θάνατος κάθε ζώου μπορεί να έχει σημαντικό αντίκτυπο επάνω στο προϋπολογισμένο κέρδος. Για παράδειγμα, κάθε ζωο στο πειραμά μας αντιπροσώπευε το 5% του πληθυσμού κάθε δεδομένης μεταχείρισης.

Το κέρδος εδώ υπολογιζόταν, επίσης, χωρίς ρυθμίσεις την θνησιμότητας, του χρόνου παραγωγής, ή και των δύο (διαγράμμα 3). Οι τρεις γρ. παραστάσεις της εικόνας 3 είναι συγκρίσιμες με αυτές της εικόνας 2, εκτός στο ότι τα υπολογισμένα σημεία του \$120.000 και \$20.000 δεν απεικονίστηκαν για οικονομία χώρου. Οι τροφές που περιείχαν μαγιά δίνουν ένα ελαφρό πλεονέκτημα κέρδους όταν η θνησιμότητα δεν λαμβανεται υπ' όψιν, σε σύγκριση με το κέρδος που πέρναμε όταν συμπεριλαμβάνεται η θνησιμότητα. Χωρίς την ρύθμιση του χρόνου παραγωγής στην ποσότητα, οι τροφές που περιέχουν μαγιά εμφανίζουν ένα πλεονέκτημα όσο αναφορά το κέρδος. Φυσικά, με την αφαίρεση του παράγοντα χρόνος παραγωγής δεν έχουμε αξιόλογα αποτελέσματα εάν δεν προσθέσουμε και το κόστος το εξαρτώμενο από το μέγεθος και τις καμπύλες εσόδων. Τέλος, με την αφαίρεση των ρυθμίσεων του χρόνου παραγωγής και της θνησιμότητας εξαλείφονται και οι διαφορές μεταξύ των δύο συνθηκών του χαρακτήρα του κόστους.

Το μοντέλο κέρδους χρησιμοποιήθηκε για να αξιολογήσει τα δεδομένα των O Grady και Spillett (19870, οι οποίοι διεξείγαγαν μελέτες ανάπτυξης επάνω στον κυπρίνο. Οι τροφές που επιλέχθηκαν με το μοντέλο αυτό συγκρίθηκαν με τις εκτιμήσεις τους βάση του κόστους

θρέψης. Εκτιμήσαμε τα στοιχεία από τα 3 πειράματα των O Grady και Spillet, στα οποία 5 διαφορετικές τροφές χορηγούνταν σε διαφορετικές αναλογίες όσο αναφορά το βάρος σώματος (πίνακας 3). Οι εξισώσεις ανάπτυξης προσδιορίστηκαν μέσω σημείων από τις καμπύλες ανάπτυξής τους (πίνακας 4). Όλες οι εξισώσεις αύξησης είχαν τιμές σε r^2 μεγαλύτερες του 0.8 και στο πείραμα 3 των O Grady και Sillett μεγαλύτερες του 0,98. Το κόστος διατροφής /kg ψαριού υπολογίστηκε με την μέθοδό τους και μετατράπηκε σε κόστος διατροφής / ψαρι για το μοντέλο κέρδους. Όσον αναφορά την ποιότητα τα αποτελέσματα από τις μεθόδους του κόστους διατροφής και του κέρδους συμφώνησαν, για τα πειράματα 1 και 2, όπου η τροφή 2 είχε λιγότερο κόστος διατροφής και περισσότερο κέρδος από τις τροφές 1 και 4. Στο Πείραμα 3, με τη μεθοδος κόστους διατροφής υπολογίστηκε ότι ο λόγος 5% της τροφής 1, είχε το μικρότερο κόστος, εκεί όπου με τη μέθοδο κέρδους υπολογίστηκε ότι ο λόγος 7% θα έδινε το μεγαλύτερο κέρδος. Η μέθοδος κέρδους επίσης διαφέρει στο ότι η τροφή 5 μας δίνει ένα μεγαλύτερο κέρδος από το λόγο 3% της τροφής 1, αν και το κόστος θρέψης ήταν μεγαλύτερο για τη δίαιτα 5.

ΘΕΜΑ ΓΙΑ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το μοντέλο που περιγράφηκε εδώ σχεδιάστηκε για να βοηθήσει τους διατροφολόγους των υδατοκαλλιεργειών στο να επιλέξουν τις πιο πολλά υποσχόμενες τροφές, για περαιτέρω ανάπτυξη και στο να καταστήσουν καινούργιες τροφές εμπορικά διαθέσιμες. Επιδείξαμε ότι μία εμπλουτισμένη τροφή μπορεί να αποδώσει μικρότερη αύξηση στα

δίθυρα μαλάκια από ότι μία τροφή με αλγή, και επιπλέον να είναι και η τροφή που αποδίδει το μέγιστο κέρδος, ανάλογα με τις υποθέσεις που χρησιμοποιούνται. Το μοντέλο κέρδους πρόβλεψε διάφορες καταστάσεις στις οποίες η μαγιά μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να βελτιώσει την απόδοση κερδών της παραγωγής γόνου διθύρων. Η μεγαλύτερη πρόβλεψη ήταν ότι θα είχαμε μεγάλο πλεονέκτημα με την χρήση μαγιάς σαν συμπληρωματικό σε ανοιχτά συστήματα. Η μικρή συγκέντρωση της διαθέσιμης τροφής στα καλλιεργούμενα νερά συνήθως περιορίζει την αύξηση των μαλακίων σε συνθήκες εντατικής καλλιέργειας. Η ποσότητα της συμπληρωματικής τροφής, η οποία μπορεί να ληφθεί με την αύξηση της ροής εντός του συστήματος είναι περιορισμένη λόγω του αυξημένου κόστους άντλησης και του μειωμένου χρόνου διατήρησης της τροφής στο σύστημα. Η συμπληρωματική θρέψη είναι πιο ελκυστική λόγω του ότι μπορεί να παρέχει περισσότερη τροφή χωρίς την αύξηση του ρυθμού ροής.

Για το τυπικό εκκολαπτήριο διθύρων, με περιοσμένη προμήθεια σε άλγη και μικρο σταθερό κόστος, μπορεί να αποδειχθεί ευεργετική η χρήση συμπληρωματικών τροφών, όπως φαίνεται και στις εικόνες 2C,D. Η περιορισμένη προμήθεια σε άλγη μπορεί να έχει προσωρινό ή μόνιμο χαρακτήρα. Εάν τα άλγη είναι μόνο προσωρινά μη διαθέσιμα, η μαγιά μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν μία εν - αναμονή τροφή. Επιπλέον το πλεονέκτημα της χρήσης μαγιάς εξαρτάται και από το κόστος των άλγων και την δομή του κόστους της εταιρίας. το μοντέλο προέβλεψε ότι η χορήγηση μαγιάς στα μαλάκια θα πρέπει να σημειώσει μεγάλη αύξηση των κερδών όταν τα άλγη είναι ακριβά.

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δεν αποδεικνύουν ότι η μαγιά μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν μία οικονομική συμπληρωματική τροφή ή εν - αναμονή τροφή για την παραγωγή διθύρων, εμπορικά, αλλά απλά μας παρέχουν προβλεψεις των καλύτερων τροφών μέσω σύγκρισής τους σε εμπορική κλίμακα, ανάμεσα από κάποιες από τις πειραματικές τροφές. Η ικανότητα αντικατάστασης μέρους των αλγών, στις τροφές για μαλάκια, από μαγιά αποδεικνύει το βάσιμο των αποτελεσμάτων του Eripanio (1979). Αυτή η μελέτη χρησιμοποίησε συνθήκες μικρής - κλίμακας με μικρές πυκνότητες εκτροφής (<1gr/lt) οπότε τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ένα επόμενο βήμα: ότι η προσθήκη μαγιάς πρέπει να δοκιμαστεί σε εμπορικής κλίμακας πειράματα, για να καθοριστεί το εάν βελτιώνεται η απόδοση ή όχι. Τα βελτιωμένα προϊόντα μαγιάς τα οποία καλλιεργήθηκαν σε συνθήκες μεγιστοποίησης των απαραίτητων λιπαρών οξέων και / ή αύξησης της πεψιμότητας των κυτταρικών τοιχωμάτων μπορεί να αποδειχθούν ακόμα πιο χρήσιμα για την καλλιέργεια διθύρων (P Sorgeloos, Πανεπιστήμιο του Ghent, Belgium).

Η σπουδαιότητα της συμπερίληψης του χρόνου παραγωγής και της θνησιμότητας αποδεικνύεται μέσω των διαφορετικών αποτελεσμάτων που λαμβάνονται με την ανάλυση των πληροφοριών των O Grady και Spillett (1987) με τις μεθόδους κόστους και κέρδους. Η μέθοδος του κόστους διατροφής δεν λαμβάνει υπ' όψιν της τις διαφορές μεταξύ των τροφών στην θνησιμότητα και το χρόνο παραγωγής, έτσι που η τροφή με το μικρότερο κόστος μπορεί να έχει ένα μέτριο συντελεστή μετατρεψιμότητας αλλά ακόμη να προσδίδει μία αργή αύξηση, με ή

χωρίς αυξημένη θνησιμότητα. Η μέθοδος αυτή είναι μία βελτίωση στον τομέα παροχής μη οικονομικής ανάλυσης ή εξέτασης μόνο του κόστους τροφής, αλλά ωστόσο είναι ακόμη ατελής.

Η μέθοδος κέρδους λαμβάνει υπ' όψιν το κόστος της χαμένης παραγωγής για τροφές που παράγουν αργή ανάπτυξη. Καμία μέθοδος δεν λαμβάνει υπ' όψιν την αυξημένη πιθανότητα καταστροφής της σοδιάς λόγω του αυξημένου χρόνου παραγωγής. Οι παράγοντες κινδύνου είναι δύσκολο να βρεθούν χωρίς επαναλαμβανόμενο έλεγχο των ιδίων τροφών. Αν και οι Urban και Langdon (1984) επίσης λανθασμένα αξιολόγησαν τις τροφές τους με βάση το κόστος διατροφής, τα αποτελέσματά τους έχουν αξία, διότι η μικρού κόστους τροφή τους παρείχε την ταχύτερη ανάπτυξη, χωρίς αυξημένη θνησιμότητα.

Προηγούμενη δουλειά από τους Askew (1978) Botsford και Gossard 1978, Reinitz (1983), και Myers και Boisvert (1990), εξέτασε την επίδραση του ενός ή διαφόρων παραγόντων που καθόρισαν το κέρδος. Ο σκοπός της μελέτης μας ήταν να αναπτύξουμε μία μέθοδο εκτίμησης της τροφής η οποία θα συμπεριλάμβανε όλους τους σημαντικούς παράγοντες. Οπότε σχεδιάζεται μία σειρά από πειράματα ανάπτυξης, πρέπει να λαμβάνεται μία απόφαση μετά από κάθε πείραμα για τα ποιά στις τροφές πρέπει να επιλεχθούν για το επόμενο στάδιο του πειράματος.

Μόνο λίγες τροφές μεγίστου κέρδους από κάθε πείραμα διατροφής μπορεί να επιλεχθούν για περαιτέρω επεξεργασία. Για τα αποτελέσματα της έρευνας επάνω στα δίθυρα μαλάκια, η τροφή που αποτελούταν από 50% άγλη και 50% μαγιά έδινε ίσο ή μεγαλύτερο κέρδος από την τροφή

100% σε άλγη, κάτω από πολλούς συνδιασμούς υποθέσεως. Αλλα συμπληρωματικά μπορεί να προστεθούν σε αυτή την τροφή στο επόμενο πείραμα.

Οι αναλύσεις ευαισθησίας, όπως απεικονίζονται στην εικ.3, δείχνουν την αναγκαιότητα του συνυπολογισμού της θνησιμότητας και του χρόνου παραγωγής. Χωρίς αυτούς τους παράγοντες, η χρήση μαγιάς εμφανίζεται να προσδίδει είναι μεγαλύτερο πλεονέκτημα κέρδους από ότι όταν αυτοί οι παράγοντες συμπεριλαμβάνονται. Ο χρόνος παραγωγής μπορεί να αντικατασταθεί από μία μεταβλητή δομή εσόδων και κόστους, ανάλογα με το μέγεθος του ζώου, αλλά αυτό απαιτούσε ένα πιο πολύπλοκο μοντέλο.

Τα αποτελέσματα, που παρουσιάζονται εδώ, δείχνουν ότι οι τροφές δεν μπορούν να επιλεγθούν με βάση το κόστος και μόνο, αλλά πρέπει επίσης να εκτιμούν τα αποτελέσματα ανάπτυξης για κάθε δομή τροφής και κόστους για κάθε εγκατάσταση παραγωγής (FC και NFVC). Αυτές οι μέθοδοι δεν είναι χρήσιμοι μόνο για τα δίθυρα μαλάκια, αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθούν για κάθε εμπορικό είδος, για την επιλογή των τροφών μεγίστου κέρδους, με βάση εργαστηριακής ή εμπορικής κλίμακας πειράματα.,

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1

Experimental data for the feeding of algal diets, with or without yeast, to clams (*Mercenaria mercenaria*). For an algal ration of 0–1% without yeast, the growth response was related to ration with an r^2 of 0.999

Algae – (mg/day) →	Yeast	Mean live ^b wt. gain (mg)	GGE ^c	Estimated production time (weeks) ^d	M^e (%)	y -int	Slope	Estimated quantity (millions)
0 ^a	0	0	—	—	—	—	—	—
1.3	0	31.4	12.4	8.22	5	–0.686	0.222	4.6
2.6	0	65.5	10.3	5.58	0	–0.686	0.336	7.1
3.9	0	102.0	9.4	4.54	0	–0.701	0.417	8.7
5.2	0	139.5	8.5	3.95	0	–0.696	0.478	10.0
3.9	1.3	124.4	7.7	4.10	0	–0.671	0.454	9.6
2.6	2.6	115.2	7.1	4.21	5	–0.674	0.431	8.9
1.3	3.9	80.7	5.5	5.00	10	–0.686	0.354	7.1
0	5.2	39.8	3.4	7.13	5	–0.650	0.251	5.3

^aRation size during the first week of the experiment.

^bWeight gained by starved clams was subtracted to obtain these numbers (29.6 mg/clam). There were initially 20 clams per group.

^cGGE = Live weight increase/dry weight of food presented.

^dTo estimate the number of weeks required to attain the desired size, the weights uncorrected for the starved control were used.

^eMortality.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.2

Variable values assumed for the analysis of clam diet profitability

Revenue/animal (R)	\$ 0.02
NFVC/animal	\$ 0.002 or \$ 0.012
Labor cost of feeding/animal	\$ 0.000262
Food cost/animal	Varied with diet
Number of animals produced on standard diet (Q)	10 million
Production time on standard diet (PT_s)	3.95 weeks
Production time for experimental diet (PT_e)	Varied with diet
Initial weight (W_i)	0.0249 g
Required weight increase ($W_h - W_i$)	0.1395 g
Mortality (M)	Varied with diet
Fixed cost (FC)	\$ 120 000 or \$ 20 000

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.3.

Application of the profit model to data from O'Grady and Spillet (1987)

Diet	Weight gain (g)	FCR ^a	Food cost ^b (£/kg)	Feeding cost		Profit
				(£/fish)	(£/kg fish)	
Experiment 1						
2	65.3 ^c	2.43	0.405	0.0643	0.98#	£ 330#
3	27.9	7.90	0.140	0.0309	1.11	£ 327
Experiment 2						
2	11.2 ^c	1.83	0.405	0.0083	0.74#	£ 917#
4 (5%)	1.3	8.10	0.200	0.0021	1.62	£ 420
4 (12.5%)	2.9	9.10	0.200	0.0053	1.83	£ 122
Experiment 3						
5	9.5	2.59	0.427	0.0105	1.11	£ 568
1 (3%)	6.2	2.00	0.312	0.0039	0.63	£ 444
1 (5%)	13.7	1.99	0.312	0.0085	0.62#	£ 724
1 (7%)	19.1 ^c	2.30	0.312	0.0137	0.72	£ 863#
1 (10%)	17.1	3.50	0.312	0.0187	1.09	£ 773

^aFCR = 1/GGE = kg feed/kg fish produced.^bThe 1982 cost of diet 1 (£ 0.312/kg) was assumed.^cStandard weight gain was determined separately for each experiment and was taken as the maximum weight gain for an experiment.

Indicates the diet chosen by each method.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.4.

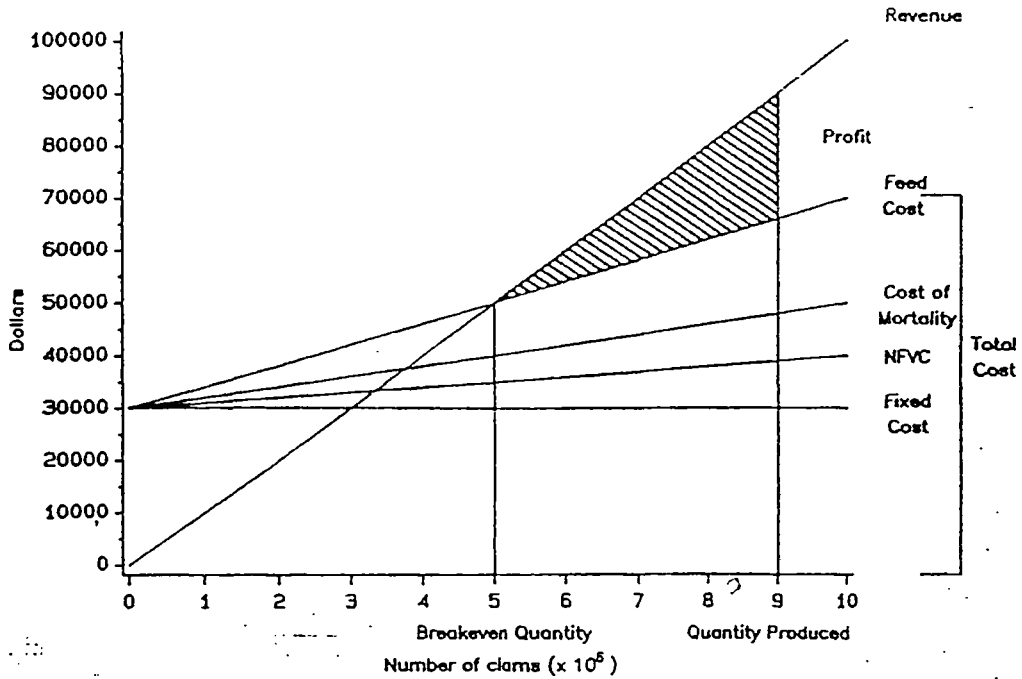
Growth equations calculated from data obtained from graphs of O'Grady and Spillet (1987)

ln W (g) = y-intercept + slope * weeks

Expt.	Diet	Mortality	y-int	Slope	r ²
1	2	4.2%	4.56	0.540	0.95
1	3	0.0%	4.55	0.260	0.87
2	2	0.0%	1.54	0.094	0.99
2	4 (3%) ^a	0.0%	1.20	0.075	0.96
2	4 (12.5%)	0.0%	1.30	0.021	0.82
3	5	0.0%	1.98	0.094	0.99
3	1 (3%)	0.0%	1.97	0.069	0.99
3	1 (5%)	0.0%	1.95	0.120	0.99
3	1 (7%)	0.0%	1.99	0.147	0.99
3	1 (10%)	0.0%	1.95	0.144	0.98

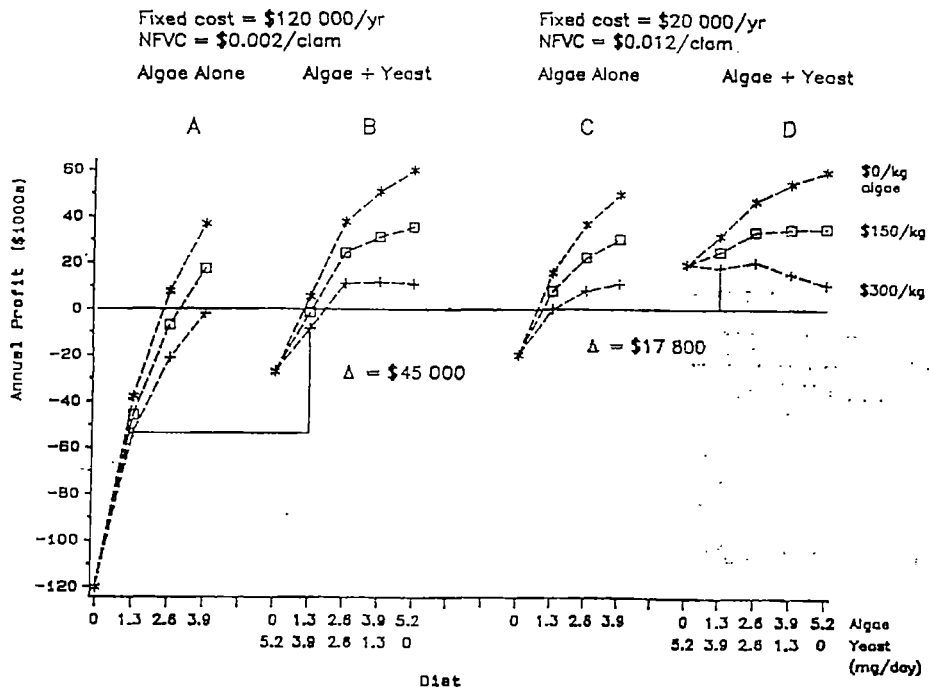
^aDifferent ration levels of diets presented, in relation to live weight.

ΣΧΗΜΑ 6.1.



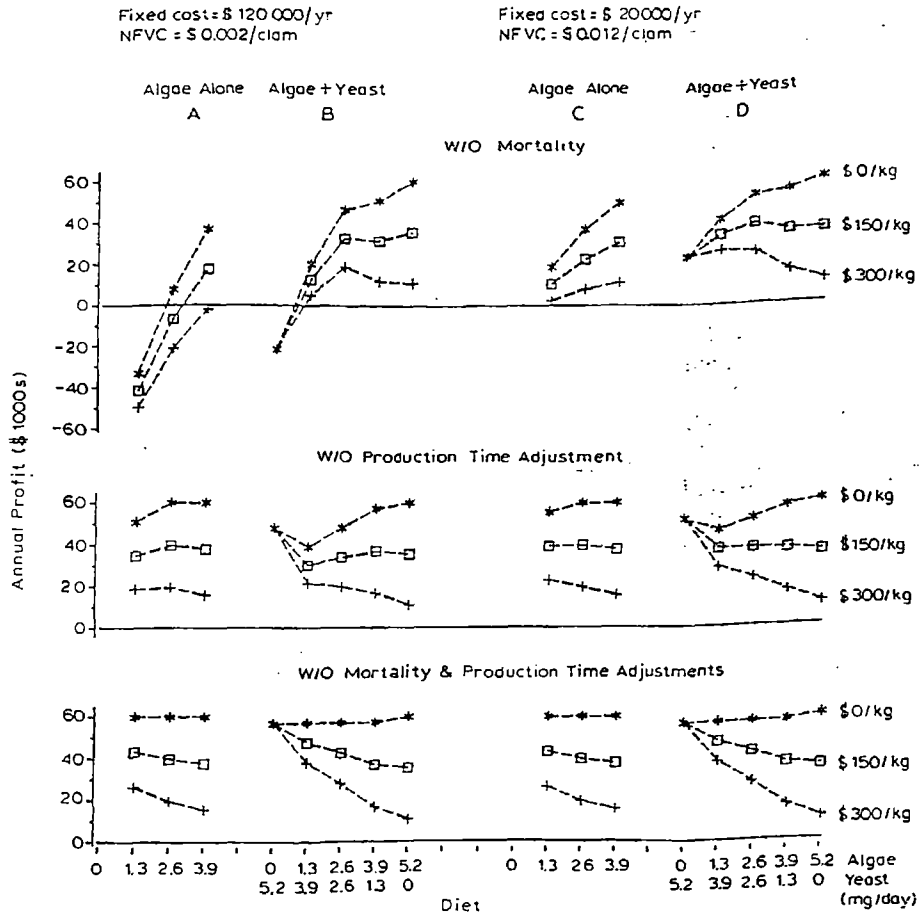
Break-even charts illustrate how profit can vary as a function of diet. Fixed cost is plotted as a horizontal line, because it is incurred regardless of the actual production level. The total-cost line is obtained by stacking the NFVC, food-cost and cost-of-mortality curves upon the fixed-cost curve. Cumulative revenue has its origin at \$ 0.

ΣΧΗΜΑ 6.2.



Application of the profit model to experimental data from a clam culture experiment. Only the profit values are shown, as a function of algal cost, diet and company cost structure. Each profit curve corresponds to one assumed cost of algae. With a 2.6 mg/day level of algae, the profit increases due to added...

ΣΗΜΑ 6.3.



Graphical illustrations of the effects of mortality and production time components of the model. See Fig. 2 for comparison with the complete model. The top panel shows the effect of assuming zero mortality. The middle panel shows the effect of removing production time components. The bottom panel shows the effect of removing both model features.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Fish Nutrition, John Halver, 2nd Edition, Academic press
Inc. 1989

Fish Bioenergetics, Malcolm Jabling, Chapman and Hall, 1994

Amino Acid Metabolism David A. Bender 2nd Edition, John
Wiley & Sons, 1985

- Techniques for evaluation of dietary protein quality
for the rainbow trout
B.E. March, X. Macmillan και F. W. Ming Aquaculture
47 (1985) pp 275-292
- Evaluation of protein quality in fish meals by chemical
and biological assays.
S.S. Anfercon, S.P. Lall, D. M. Anderson και M.A. Mc
Niven Aquaculture 115 (1993) pp. 305-325
- Replacement of Fish meal by alternative protein sources
in Rainbow Trout Diets
T. Watamibe, S Pongmaneerat, S. Sata και T. Takeuchi
Nippon Suisan Gakkaishi 59 (9), pp 1573-1579 (1993)
- Advances in the substitution of fish meal and Soybean
meal by sunflower meal in diets of Rainbow Trout.
Carlos A. Martinez.
An lust Cienc del Mar y Limnal. Unir. Nal, Anton. Mexico,
13 92): pp 345-352 (1986).
- Use of solvent extracted sunflower seed meal in complete
diet for Fingerling Trout.
A.G.J. Tacon, L.S. Webster και C.A. Martinez
Aquaculture, 43 (1984) pp 381-389).

- Utilization of soybean meal as protein source in diets for Rainbow, Trout.

J. Pongmannerat and T. Watanabe

Nippon Suisan Gakkaishi, 58 (10), pp 1983-1990 (1992)

- Utilization of Feather meal as a protein source in the diet of Juvenile Japanese Flounder.

K. Kikuchi, T. Furuta and H Honda

Fisheries Science 60 (2), pp 203-206 (1994)

- A method of economic comparisons for aquaculture diet development

E.R. Urban Jr and G.D. Pruder

Aquaculture, 99 (1991) pp 127-142.

Utilization of Malt protein. Flour in Fingerling Rainbow trout diets, T. Yamamoto, P.A. Marcouli, T. Unuma, T. Akiyama, Fisheries Science Vol 60 (4), 1994.

- Combinational use of Malt Protein Flour and Soybean meal as alternative protein sources of fish meal in Fingerling Rainbow trout diets,

T. Akiyama, T. Unuma, T. Yamamoto, P.A. Marcouli, S. Kishi, Fisheries Science Vol 61 (5), 1995.

- Nutritional Evaluation of Soybean meal for Rainbow trout and carp. Pongmaneerat and T. Watanabe Nippon Suisan Gakkaishi 59 (1) pp 157-163 (1993).

- Quality Evaluation of Same Animal Protein Sources for Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*

T. Watanabe and J. Pongmannerat

Nippon Suisan Gakkaishi 57 (3) , pp 495-501 (1991).

- A Preliminary investigation of the nutritive value of three terrestrial lumbricid worms for Rainbow Trout

A.C.J. Tacon, E.A. Stafford and C.A. EDWARDS

Aquaculture, 35 (1983), pp 187-199.

- Potential of Freeze - dried worm meal as a replacement For Fish meal in trout diet Formulations

J.W. Hilton

Aquaculture, 32 (1983) pp. 277-283

- Formulation of practical diets of Rainbow Trout made by partial or complete substitution of fish meal by poultry by - products and certain plant by-products

M. N. Alexis, E. Papaparaskera - Papoutsoglou και

Y. Theochari.

Aquaculture, 50 (1985) pp 16-73

- Effects of dietary incorporation of a co-extruded plant protein (rapeseed and peas) on growth, nutrient utilization and muscle fatty acid composition of Rainbow trout.

E. F. Games, G. Corraze και S. Kaushik

Aquaculture, 113 (1993) pp 339-353

B I B Λ Ι Ο Γ Ρ Α Φ Ι Α

Fish Nutrition, John Halver, 2nd Edition, Academic press
Inc. 1989

Fish Bioenergetics, Malcolm Jabling, Chapman and Hall, 1994

Amino Acid Metabolism David A. Bender 2nd Edition, John
Wiley & Sons, 1985

- Techniques for evaluation of dietary protein quality
for the rainbow trout
B.E. March, X. Macmillan και F. W. Ming Aquaculture
47 (1985) pp 275-292
- Evaluation of protein quality in fish meals by chemical
and biological assays.
S.S. Anfercon, S.P. Lall, D. M. Anderson και M.A. Mc
Niven Aquaculture 115 (1993) pr. 305-325
- Replacement of Fish meal by alternative protein sources
in Rainbow Trout Diets
T. Watamibe, S Pongmaneerat, S. Sata Koll T. Takeuchi
Nippon Suisan Gakkaishi 59 (9), pp 1573-1579 (1993)
- Advances in the substitution of fish meal and Soybean
meal by sunflower meal in diets of Rainbow Trout.
Carlos A. martinez.
An lust Cienc del Mar y Limnal. Unir. Nal, Anton. Mexico,
13 92): pp 345-352 (1986).
- Use of solvent extracted sunflower seed meal in complete
diet for Fingerling Trout.
A.G.J. Tacon, L.S. Webster και C.A. Martinez
Aquaculture, 43 (1984) pp 381-389).

- Utilization of soybean meal as protein source in diets for Rainbow, Trout.

J. Pongmannerat and T. Watanabe

Nippon Suisan Gakkaishi, 58 (10), pp 1983-1990 (1992)

- Utilization of Feather meal as a protein source in the diet of Juvenile Japanese Flounder.

K. Kikuchi, T. Furuta and H. Honda

Fisheries Science 60 (2), pp 203-206 (1994)

- A method of economic comparisons for aquaculture diet development

E.R. Urban Jr and G.D. Pruder

Aquaculture, 99 (1991) pp 127-142.

Utilization of Malt protein. Flour in Fingerling Rainbow trout diets, T. Yamamoto, P.A. Marcouli, T. Unuma, T. Akiyama, Fisheries Science Vol 60 (4), 1994.

- Combinational use of Malt Protein Flour and Soybean meal as alternative protein sources of fish meal in Fingerling Rainbow trout diets,

T. Akiyama, T. Unuma, T. Yamamoto, P.A. Marcouli, S. Kishi, Fisheries Science Vol 61 (5), 1995.

- Nutritional Evaluation of Soybean meal for Rainbow trout and carp. Pongmannerat and T. Watanabe Nippon Suisan Gakkaishi 59 (1) pp 157-163 (1993).

- Quality Evaluation of Some Animal Protein Sources for Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*

T. Watanabe and J. Pongmannerat

Nippon Suisan Gakkaishi 57 (3) , pp 495-501 (1991).

- A Preliminary investigation of the nutritive value of three terrestrial lumbricid worms for Rainbow Trout

A.C.J. Tacon, E.A. Stafford and C.A. EDWARDS

Aquaculture, 35 (1983), pp 187-199.

- Potential of Freeze - dried worm meal as a replacement For Fish meal in trout diet Formulations

J.W. Hilton

Aquaculture, 32 (1983) pp. 277-283

- Formulation of practical diets of Rainbow Trout made by partial or complete substitution of fish meal by poultry by - products and certain plant by-products

M. N. Alexis, E. Papaparaskera - Papoutsoglou και Y. Theochari.

Aquaculture, 50 (1985) pp 16-73

- Effects of dietary incorporation of a co-extruded plant protein (rapeseed and peas) on growth, nutrient utilization and muscle fatty acid composition of Rainbow trout.

E. F. Games, G. Corraze και S. Kaushik

Aquaculture, 113 (1993) pp 339-353