

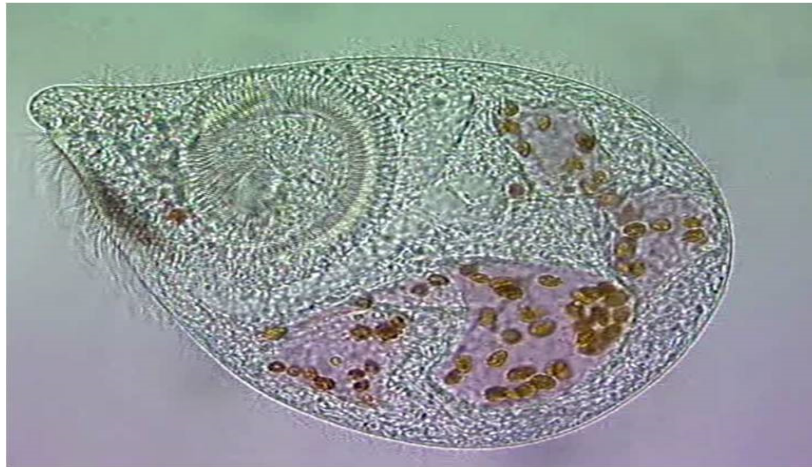


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS

**Τμήμα Ζωικής Παραγωγής, Αλιείας και
Υδατοκαλλιεργειών**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Πειράματα στην επίδραση της αλατότητας και της θρέψης με
διαφορετικά μικροφύκη στο βλεφαριδωτό πρωτόζωο *Fabrea
salina***



ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: ΧΩΤΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ (καθηγητής)

ΦΟΙΤΗΤΕΣ: ΛΑΖΑΡΙΔΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΠΑΝΤΕΛΙΔΗΣ ΜΙΧΑΛΗΣ

ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 2021

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τον καθηγητή μας Δρ. Χώτο Γεώργιο για την στήριξη, την υπομονή, την επιμονή, την πολύτιμη βοήθεια του στην συγγραφή, στο φωτογραφικό υλικό όπου μας έδωσε και την εμπιστοσύνη που μας έδειξε σε όλη την πορεία της πτυχιακής εργασίας. Επίσης θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε την κ. Αβραμίδου για την πολύτιμη βοήθεια της όσο αφορά τις νέες καλλιέργειες φυτοπλαγκτού.

Η παρούσα εργασία διεξήχθη στο εργαστήριο καλλιέργειας πλαγκτού το οποίο διευθύνει ο κ.

Χώτος και στο οποίο βρέθηκαν όλοι οι απαραίτητοι οργανισμοί με τους οποίους έγιναν τα πειράματα, από τις ακμαίες καλλιέργειες που επί πολλά χρόνια συντηρεί και πειραματίζεται το προσωπικό του εργαστηρίου. Επίσης θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τους γονείς μας που ήταν δίπλα μας πάντα κάθε στιγμή και μας στάθηκαν στην διάρκεια της φοιτητικής μας πορείας, προσωπικά εγώ ο Νίκος Λαζαρίδης θα ήθελα να ευχαριστήσω όσους μου στάθηκαν και με βοήθησαν στη συγγραφή και στη ψυχολογική υποστήριξη.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ^ο	1
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1. Πρωτόζωα.....	1
1.2. Τι είναι η <i>Fabrea</i>	3
1.3. Αναπαραγωγή	6
1.4. Ενδιαίτημα- Διατροφή	7
1.5. Γενικά περί φυκών	10
1.6. Σκοπός της εργασίας.....	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ^ο	12
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	12
2.1. Προέλευση του δείγματος	12
2.2. Είδη μικροφυκών	13
2.3. Υλικά και συσκευές	13
2.4. Η διαδικασία των πειραματισμών στην αύξηση της <i>Fabrea salina</i>	14
2.5. Περιγραφή των πειραμάτων.....	15
ΠΕΙΡΑΜΑ 1 ^ο : <i>Fabrea salina</i> σε αλατότητες 40ppt, 60ppt & 90ppt.....	15
ΠΕΙΡΑΜΑ 2 ^ο : <i>Fabrea salina</i> σε ακραίες αλατότητες 20ppt & 120ppt	15
ΠΕΙΡΑΜΑ 3 ^ο : <i>Fabrea salina</i> σε αλατότητες 60ppt & 90ppt- επίδραση του φωτισμού	15
ΠΕΙΡΑΜΑ 4 ^ο : <i>Fabrea salina</i> σε αλατότητα 35ppt- επίδραση διαφορετικών ειδών μικροφυκών ως τροφή	16
ΠΕΙΡΑΜΑ 5 ^ο : <i>Fabrea salina</i> σε αλατότητες 30ppt, 60ppt & 90ppt- επίδραση διαφορετικών ειδών μικροφυκών ως τροφή σε μικρότερο όγκο.....	16
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ^ο	18
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	18
ΠΕΙΡΑΜΑ 1 ^ο : <i>Fabrea salina</i> σε αλατότητες 90ppt, 60ppt & 40ppt.....	18
ΠΕΙΡΑΜΑ 2 ^ο : <i>Fabrea salina</i> σε ακραίες αλατότητες 20ppt & 120ppt.....	20
ΠΕΙΡΑΜΑ 3 ^ο : <i>Fabrea salina</i> σε αλατότητες 60 ppt & 90 ppt – επίδραση του φωτισμού	22
ΠΕΙΡΑΜΑ 4 ^ο : <i>Fabrea salina</i> σε αλατότητα 35ppt – επίδραση διαφορετικών ειδών μικροφυκών ως τροφή	26

ΠΕΙΡΑΜΑ 5 ^ο : <i>Fabrea salina</i> σε αλατότητες 30ppt, 60ppt & 90ppt- επίδραση διαφορετικών ειδών μικροφυκών ως τροφή σε μικρότερο όγκο.....	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ^ο	33
4.1 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	33
4.2 ΣΥΖΗΤΗΣΗ	36
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	38

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα έρευνα αφορά το βλεφαριδωτό πρωτόζωο ονομαστί *Fabrea salina* στην οποία, έλαβε μέρος μία σειρά 5 πειραμάτων έτσι ώστε να παρατηρηθούν οι αντιδράσεις της σε διαφορετικές αλατότητες και με διαφορετικά μικροφύκη ως τροφή διαπιστώνοντας την κατάλληλη αλατότητα με το ιδανικό μικροφύκος ως τροφή, για την βιωσιμότητα της αλλά και την αύξηση της. Επιπλέον, εξετάστηκε το ενδεχόμενο αν η *Fabrea* μπορεί να επιζήσει και να αυξηθεί στα 35ppt (αλατότητα θάλασσας) έτσι ώστε, να μπορεί χορηγηθεί σαν ζωντανή τροφή σε ιχθυογεννητικό σταθμό στην πρώτη φάση εκτροφής των λαρβών.

Στα 5 αυτά πειράματα υπήρξε ένα εύρος αλατοτήτων (20, 30, 35, 40, 60, 90 και 120ppt) και 7 μικροφύκη σε φυγοκεντριμένη μορφή ως τροφή (*Asteromonas gracilis*, *Isochrysis galbana*, *Rhodomonas salina*, *Tetraselmis suecica*, *Chlorella sp.*, *Dunaliella salina* και *Nannochloropsis oculata*). Επίσης, μεταξύ των πειραμάτων υπήρξαν διαφορετικές συνθήκες ως προς το περιβάλλον καλλιέργειας της (φώς και σκοτάδι) αλλά και ως προς τον όγκο (μικρότερα δοχεία Erlenmeyer και πολυθάλαμα τρυβλία).

ABSTRACT

The present study concerns the ciliated protozoan named *Fabrea salina*, in which it took part in a series of 5 experiments in order to observe its reactions in different salinities and with different microalgae as food, finding the appropriate salinity with the ideal microalgae as food, for its viability but also its increase. In addition, it was considered whether *Fabrea* can survive and increase to 35ppt (sea salinity) so that it can be fed as live feed to a fish hatchery in the first phase of larval rearing.

In these 5 experiments there was a range of salinity (20, 30, 35, 40, 60, 90 and 120ppt) and 7 microalgae in centrifugal form as food (*Asteromonas gracilis*, *Isochrysis galbana*, *Rhodomonas salina*, *Tetraselmis suecica*, *Chlorella sp.*, *Dunaliella salina* and *Nannochloropsis oculata*). Also, between the experiments there were different conditions in terms of its culture medium (light and dark) but also in terms of volume (smaller Erlenmeyer containers and multi-chamber plates).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Πρωτόζωα

Τα πρωτόζωα είναι υποσύνολο των μονοκύτταρων ευκαρυωτικών οργανισμών, πολλά από τα οποία είναι κινητικά. Αρχικά τα πρωτόζωα ταξινομήθηκαν ως μονοκύτταρα πρώτιστα με ζωική συμπεριφορά, π.χ. αυτόβουλη κίνηση. Τα πρωτόζωα αποτελούν ένα συμπληρωματικό υποσύνολο πρώτιστων με τα πρωτόφυτα, που είναι αντίστοιχα μονοκύτταρα πρώτιστα με φυτική συμπεριφορά, π.χ. φωτοσύνθεση.

Σε αριθμούς ατόμων αμιλλώνται με τα βακτήρια και είναι «πανταχού παρόντα», ιδίως σε υγρά περιβάλλοντα, μοναχικά ή σε αποικίες. Πολλά έχουν την ικανότητα κίνησης μέσω διαφόρων μορφολογικών χαρακτηριστικών που έχουν. Τα πρωτόζωα είναι συνήθως παράσιτα φυτικά ή ζωικά, που ζουν κυρίως στο εσωτερικό και όχι στην επιφάνεια του ξενιστή. Το μέγεθός τους παρουσιάζει μεγάλο εύρος και κυμαίνεται από λίγα μικρόμετρα (μm) έως 3 χιλιοστόμετρα (mm).

Η λέξη πρωτόζωα είναι σύνθετη και προέρχεται από τις ελληνικές λέξεις πρώτον + ζών. Γενικά, τα πρωτόζωα αναφέρονται ως ζωόμορφα πρώτιστα, χαρακτηριζόμενα κυρίως από την αυτόβουλη κινητικότητά τους. Ο όρος θεωρείται πλέον απαρχαιωμένος για την ταξινόμηση ειδών.

Αν και δεν υπάρχει απόλυτα ακριβής ορισμός για τον όρο, τα πρωτόζωα συχνά αναφέρονται ως μονοκύτταρα ετερότροφα πρώτιστα, όπως η αμοιβάδα και τα βλεφαριδοφόρα. Ο όρος πρωτόφυτα, αντίστοιχα, χρησιμοποιείται για να ορίσει πρώτιστα που έχουν την ικανότητα της φωτοσύνθεσης. Ωστόσο, ο διαχωρισμός ανάμεσα στα πρωτόζωα και τα πρωτόφυτα είναι συχνά αμφίβολος. Για παράδειγμα, το δινόβρυο (*Dinobryon*) έχει χλωροπλάστες για φωτοσύνθεση, όπως τα πρωτόφυτα, αλλά μπορεί επίσης να προσλάβει οργανική ύλη και κινείται αυτόβουλα, όπως τα πρωτόζωα.

Τα πρωτόζωα μερικές φορές αναφέρθηκαν ως υποβασιλείο, αλλά πιο παραδοσιακά θεωρήθηκαν ως συνομοταξία του βασιλείου των ζώων, σε αντιδιαστολή με τα μετάζωα, που ορίζονται ως πολυκύτταρα ζώα. Σήμερα κατατάσσονται στο Βασίλειο Πρώτιστα μαζί με τα φύκη (μικροφύκη και μακροφύκη).

Τα πρωτόζωα έχουν συνήθως μεγέθη που κυμαίνονται από 10 έως 52 μm , οπότε γίνονται εύκολα ορατά με τη χρήση μικροσκοπίου, αλλά μπορούν να μεγαλώσουν μέχρι και το ένα χιλιοστόμετρο. Τα μεγαλύτερα γνωστά πρωτόζωα είναι τα ξενοφυοφόρα, που μπορούν να φθάσουν σε διάμετρο ως και τα 20 cm και ζουν σε βαθιές θάλασσες. Τα πρωτόζωα ζουν σε υδάτινα περιβάλλοντα και εδάφη, ακόμη και ως ξενιστές (παράσιτα) άλλων ζώων, ακόμη και ανθρώπων. Μερικά από τα τελευταία είναι παθογόνα και προκαλούν ασθένειες όπως π.χ. η ελονοσία, η δυσεντερία. Δεν έχουν, όπως είναι φυσικό ιστούς και όργανα. Όλες οι λειτουργίες της ζωής εμφανίζονται στο μοναδικό κύτταρο. Έχουν πυρήνα στο εσωτερικό του κυττάρου. Το κύτταρο περιβάλλεται από μια ελαστική μεμβράνη, η οποία επιτρέπει την εκλεκτική διέλευση ουσιών, βοηθώντας στις ανταλλαγές με το περιβάλλον.

Η (αυτόβουλη) κίνηση κάποιων από τα πρωτόζωα θεωρείται σαν αντίδραση σε εξωτερικά ερεθίσματα (θερμότητα, φως, χημικές ουσίες). Γίνεται με διάφορους τρόπους:

1. Με μαστίγια (χαρακτηριστικό γνώρισμα των μαστιγοφόρων). Μετακινούνται με μαστιγόμορφες ελαστικές ουρές, τα «μυονήματα».

2. Με βλεφαρίδες (χαρακτηριστικό γνώρισμα των βλεφαριδοφόρων). Μετακινούνται με τριχόμορφες δομές, τις «βλεφαρίδες».
3. Με ψευδοπόδια (χαρακτηριστικό γνώρισμα των ριζοπόδων). -Μετακινούνται με προσωρινές δομές που ονομάζονται «ψευδοπόδια»-. Η μετακίνηση αυτή λέγεται «αμοιβαδοειδής», γιατί είναι χαρακτηριστική των αμοιβάδων. Μέσα στο κυτταρόπλασμα μερικών ριζοπόδων δημιουργούνται φυσαλίδες αέρα. Τότε μεταβάλλεται το ειδικό βάρος του κυττάρου και το πρωτόζωο ανεβοκατεβαίνει κατά βούληση.

Άλλα πρωτόζωα δεν κινούνται καθόλου αυτόβουλα. Τα πρωτόζωα μπορούν να απορροφούν την τροφή τους απευθείας από τις κυτταρικές μεμβράνες τους. Μερικά άλλα, όπως οι αμοιβάδες, περικυκλώνουν πρώτα την τροφή τους με τα ψευδοπόδια τους και έπειτα την ενσωματώνουν. Τελικά, άλλα χρησιμοποιούν προσωρινά ανοίγματα, τους «στοματικούς πόρους», μέσα από τα οποία καταπίνουν και ενσωματώνουν την τροφή τους, διαδικασία που ονομάστηκε φαγοκυττάρωση. Όλα τα πρωτόζωα τελικά πέπτουν τη τροφή τους σε ειδικά κυτταρικά διαμερίσματα που ονομάζονται χυμοτόπια και έχουν το ρόλο του στομάχου των πολυκύτταρων οργανισμών.

Το περικυτταρικό υμένιο είναι ένα επιπλέον λεπτό στρώμα που υποστηρίζει τη λειτουργία των κυτταρικών μεμβρανών σε διάφορα πρωτόζωα, προστατεύοντάς τα και επιτρέποντας να κρατούν το λειτουργικό τους σχήμα, ιδιαίτερα όταν μετακινούνται, εξασφαλίζοντας ότι οι οργανισμοί αυτοί είναι πιο υδροδυναμικοί. Τα περικυτταρικά υμένια ποικίλουν από εύκαμπτα και ελαστικά ως άκαμπτα. Αν και γενικά το περικυτταρικό υμένιο είναι κάπως δύσκαμπτο, είναι ωστόσο αρκετά εύκαμπτο ώστε να επιτρέπει στα πρώτιστα να προσαρμόζονται (όταν χρειάζεται) σε πιο στενούς χώρους. Παραδείγματα πρώτιστων με περικυτταρικό υμένιο είναι τα ευγληνοειδή και το παραμήκιο, ένα βλεφαριδοφόρο. Στα βλεφαριδοφόρα και στα αποικόπλεξα (*apicomplexa*) σχηματίζονται από τοποθετημένα κοντά το ένα στο άλλο κυστίδια που ονομάζονται «κυψελίδες». Στα ευγληνοειδή, το περικυτταρικό υμένιο σχηματίζεται από φύλλα πρωτεΐνης που περικλείει σπειροειδώς κατά μήκος το κυρίως σώμα του πρώτιστου. Το περικυτταρικό υμένιο μπορεί να αποτελείται από πολλά βακτήρια που προσκολλώνται στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης με ειδικά ινίδια σύνδεσης. Έτσι, τα προσκολλητικά τριχίδια επιτρέπουν οι οργανισμοί να παραμείνουν εντός του ζωμού, από το οποίο λαμβάνουν τα θρεπτικά συστατικά, ενώ συναθροίζονται κοντά τους φυσαλίδες αέρα, όπου η συγκέντρωση του οξυγόνου είναι μεγαλύτερη.

Ως μέλη της μικροπανίδας και της μειοπανίδας, τα πρωτόζωα είναι μια σημαντική πηγή τροφής για αντίστοιχους μικροθηρευτές. Ως θηρευτές βασίζονται σε μονοκύτταρα ή νηματοειδή φύκη, βακτήρια και μικρομύκητες. Έτσι, ο οικολογικός ρόλος των πρωτοζώων είναι σημαντικός στο να μεταφέρουν την παραγωγή τροφής από τα βακτήρια και τα φύκη στα επόμενα επίπεδα της τροφικής αλυσίδας. Τα πρωτόζωα είναι ταυτόχρονα και φυτοφάγα και καταναλωτές των αποσυνθετών της τροφικής αλυσίδας. Επίσης ελέγχουν τους πληθυσμούς των βακτηρίων και της βιομάζας σε κάποια έκταση. Πολλά παράσιτα πρωτόζωα (αμοιβάδες, μαστιγοφόρα, σπορόζωα, βλεφαριδοφόρα) προκαλούν επικίνδυνες αρρώστιες στον άνθρωπο και στα κατοικίδια (μεταξύ άλλων) ζώα. Στην ιστολυτική αμοιβάδα οφείλεται η αμοιβαδική δυσεντερία, στο μαστιγοφόρο τρυπανόσωμα οφείλεται η τρυπανοσωμίαση («ασθένεια του ύπνου» στην Αφρική, «ασθένεια Χάγκας» στη Βραζιλία). Τέλος η ελονοσία που μεταδίδεται με το τσίμπημα των κουνουπιών οφείλεται στο πλασμώδιο, το οποίο προσβάλλει κυρίως κύτταρα του συκωτιού. Υπάρχει ακόμη η λεισμάνια.

Κάποια από τα πρωτόζωα έχουν στάδια ζωής που αλλάζουν μεταξύ ενεργών και γόνιμων (τροφοζώιτες, *trophozoites*) και αδρανών κύστεων. Ως κύστες, τα πρωτόζωα μπορούν να επιζήσουν υπό σκληρές συνθήκες, όπως έκθεση σε ακραίες θερμοκρασίες και σε βλαβερά χημικά, ή και μακρές

χρονικές περιόδους χωρίς πρόσβαση σε τροφή, νερό ή οξυγόνο. Επίσης, η κατάσταση κύστης επιτρέπει στα παρασιτικά πρωτόζωα να επιβιώνουν και έξω από το σώμα του ξενιστή τους, γεγονός που επιτρέπει τη μεταφορά τους από έναν ξενιστή σε κάποιον άλλο. Όταν τα πρωτόζωα αυτά ζουν στη μορφή των τροφοζωιτών (η λέξη προέρχεται από τις ελληνικές «τροφή» + «ζωή») τρέφονται ενεργά. Η μετάβαση από τη μορφή του τροφοζωίτη στη μορφή της αδρανούς κύστης είναι γνωστή ως «κυστοποίηση» και η αντίστροφη, δηλαδή η μετάβαση από τη μορφή της αδρανούς κύστης στη μορφή του τροφοζωίτη, είναι γνωστή ως «αποκυστοποίηση». Τα πρωτόζωα μπορούν να αναπαραχθούν με απλή διχοτόμηση ή με πολλαπλή διχοτόμηση. Κάποια πρωτόζωα αναπαράγονται με χρήση διαφορετικών φύλων (σεξουαλική αναπαραγωγή), κάποια άλλα χωρίς (μη σεξουαλική αναπαραγωγή) και τα υπόλοιπα με κάποιο συνδυασμό και των δυο μορφών αναπαραγωγής (π.χ. τα κοκκίδια). Ένα ανεξάρτητο πρωτόζωο είναι ερμαφρόδιτο.

Επειδή το βασίλειο των Πρωτίστων δεν ήταν ευρέως αποδεκτό κυρίως από ζωολόγους, τα Πρωτόζωα ως συνομοταξία υπαγόταν στο βασίλειο των Ζώων μέχρι και τα μέσα του 20^{ου} αιώνα. Η συνομοταξία των Πρωτοζώων κατά τον Honigberg (1964) διαιρείτο, με βάση τον τρόπο της παρατηρούμενης κίνησής των, στις τέσσερις παρακάτω υποσυνομοταξίες:

1. Σαρκομαστιγοφόρα (*Sarcomastigophora*), που διακρίνονται σε επιμέρους υπερομοταξίες:
 1. Σαρκώδη (*Sarcodina*)
 2. Μαστιγοφόρα (*Mastigophora*)
 3. Οπαλίνες (*Opalinata*)
2. Σπορόζωα (*Sporozoa*)
3. Κνιδόσπορα (*Cnidospora*)
4. Βλεφαριδοφόρα (*Ciliophora*)

Ο Thomas Cavallier-Smith (1998) χώρισε τα Πρώτιστα σε δύο βασίλεια: στα Χρώμιστα (που συμπεριλαμβάνουν τα περισσότερα φύκη) και στα Πρωτόζωα που μοιάζουν με ζώα, αναβαθμίζοντας τα τελευταία στη βαθμίδα του βασιλείου. Σήμερα ακολουθείται η κατάταξη κατά Whittaker (1969) που περιλαμβάνει τα πρωτόζωα στο Βασίλειο Πρώτιστα.

1.2. Τι είναι η *Fabrea*

ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ

ΒΑΣΙΛΕΙΟ (KINGDOM): ΠΡΩΤΙΣΤΑ (Protista)

ΦΥΛΟ (PHYLUM): ΒΛΕΦΑΡΙΔΟΦΟΡΑ (Ciliophora)

ΥΠΟΦΥΛΟ (SUBPHYLUM): ΟΠΙΣΘΟΒΛΕΦΑΡΙΔΕΣΜΑΤΟΦΟΡΑ (Postciliodesmatophora)

ΟΜΟΤΑΞΙΑ (CLASS): ΕΤΕΡΟΤΡΙΧΑ (Heterotrichea)

ΤΑΞΗ (ORDER): ΕΤΕΡΟΤΡΙΧΙΔΙΑ Heterotrichida

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ (FAMILY): Climacostomidae

ΓΕΝΟΣ (GENUS): *Fabrea*

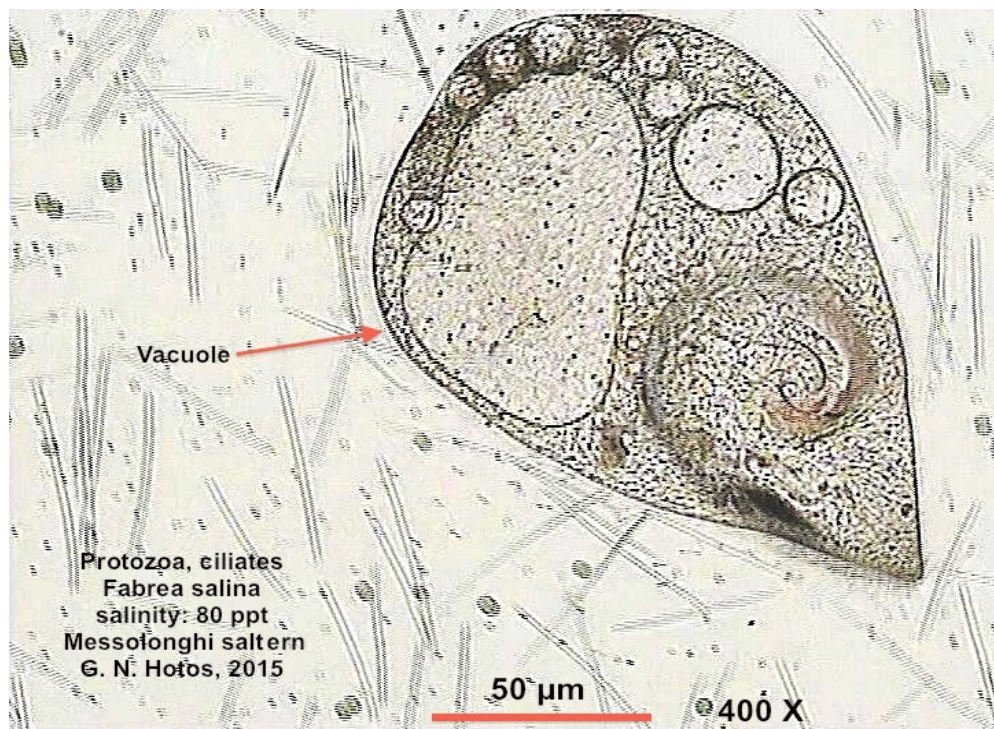
ΕΙΔΟΣ (SPECIES): *Fabrea salina* (βάσει του ονόματος του ανακαλύψαντος, *Fabrea* Henneguy το 1890)

Η *Fabrea salina* είναι ένα είδος πρωτόζωου του Βασιλείου των Πρωτίστων. Το κύτταρό της είναι αρκετά μεγάλο παρουσιάζοντας μεγάλη ποικιλία μεγεθών (150-350 μm κατά τον μεγάλο άξονα) και σε γενικές γραμμές μεγαλύτερο από άλλα βλεφαριδωτά πρωτόζωα. Το σχήμα του κυττάρου παρουσιάζει ποικιλομορφία καθώς αποτελείται από ένα ογκώδες σφαιρικό κατά κάποιο τρόπο κυρίως "σώμα" και μια προεξέχουσα δομή σαν ρύγχος το οποίο συμβάλλει πολύ στην ποικιλομορφία καθώς το μήκος του ποικίλλει. Γενικώς σφαιρικό και ρυγχοειδές τμήμα δημιουργούν μια εμφάνιση σφηνοειδή. Η ρυγχοειδής περιοχή (snout) αποτελεί το 25 με 35% του κυτταρικού μήκους. Το ρύγχος λεπταίνει προοδευτικά και θυμίζει προβοσκίδα.



Σχήμα 1. Διαφορετικά ποικιλόμορφα κύτταρα *Fabrea salina* σε αλατότητα 100ppt.

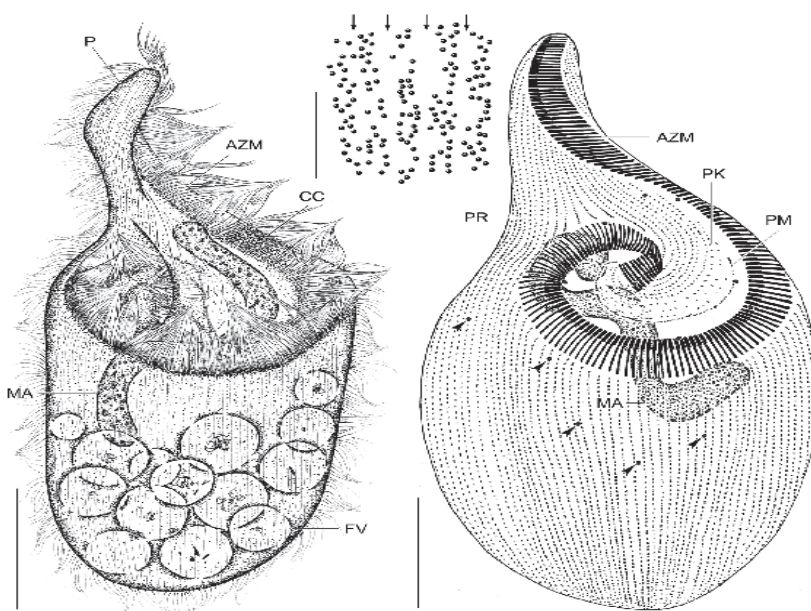
Ο χρωματισμός του κυττάρου είναι καφετί αλλά μπορεί να γίνεται πολύ σκούρος ενίοτε πλησιάζοντας το μαύρο ιδιαίτερα όταν το πρωτόζωο έχει τραφεί μέχρι κορεσμού, κατάσταση που εμφανίζεται ως κυτταρόπλασμα γεμάτο με πλήρη κυττάρων τροφής κενοτόπια. Ενίοτε αν τα κενοτόπια είναι γεμάτα με χλωροφύκη η εμφάνιση του κυττάρου γίνεται πρασινωπή. Ενίοτε επίσης η εμφάνιση (προφανώς λόγω της θρέψης) γίνεται κιτρινο-γκρίζα. Αν το κύτταρο έχει στερηθεί για καιρό της τροφής η εμφάνιση του πρωτοπλάσματος είναι ημι-διαφανής και τότε μπορούν να διακριθούν διάφορα ποικίλου μεγέθους κοκκία τα οποία σε μεγάλη μεγέθυνση μικροσκοπίου παρουσιάζουν κινητικότητα "ανακατάματος" εντός του κυττάρου.



Σχήμα2. Στο παραπάνω σχήμα απεικονίζεται ένα κύτταρο *Fabrea salina* σε αλατότητα 80pp τόπου το βελάκι μας δείχνει ένα άδειο κενοτόπιο.

Ο μακροπυρήνας με προσεκτική παρατήρηση διακρίνεται ως μια ζωνώδης περιοχή συνεστραμμένη σε σχήμα "Σ". Συχνά όμως ο μακροπυρήνας είναι δύσκολο να διακριθεί καθώς το κυτταρόπλασμα είναι γεμάτο από κενοτόπια. Οι μικροπυρήνες είναι πολλοί διασκορπισμένοι στο κυτταρόπλασμα και είναι πολύ δύσκολο να διακριθούν. Κατά μήκος του κυττάρου υπάρχουν δυσδιάκριτες έως αφανείς περί τις 150 συνωστισμένες γραμμές μικροκινετιδών.

Στη βάση "έκφυσης" του ρύγχους σχηματίζεται μια μεγάλη χοανοειδής κοιλότητα σαν στόμα που οδηγεί στο εσωτερικό του κυττάρου μέσω του κυτταροφάρυγγα. Η χοανοειδής περιοχή έχει καθ' όλη την περιφέρειά της μακριές βλεφαρίδες τις μεμβρανέλλες (περί τις 200) οι οποίες παλλόμενες συνεχώς δημιουργούν στροβιλισμό που παρασύρει στη χοάνη μικροσωματίδια τροφής.



Σχήμα 3. *Fabrea salina*. Τοπικό σχήμα κυττάρου (αριστερά), διάταξη και πρότυπο των επιφανειακών κοκκίων με τα βέλη να δείχνουν την κάθε σειρά των κινετίδων (κέντρο). Στα δεξιά απεικονίζεται μια λεπτομερέστερη Σχήμα του εξωτερικού του κυττάρου με εμφανείς τις σειρές των πολλών κινετίδων κατά μήκος της επιφάνειας. Τα βέλη δείχνουν τους μικροπυρήνες, **CC**, μέρος των συμπυκνωμένων επιφανειακών κοκκίων: **FV**, τροφικό κενοτόπιο: **AZM**, ζώνη μεμβρανελών: **MA**, μακροπυρήνας; **P**, προβοσκίδα: **PK**, περιστοματικές κινετίδες: **PM**, παραστοματική μεμβράνη: **PR**, προστοματικές κινετίδες. Γραμμές κλίμακας: αριστερά και δεξιά=50 μm, κέντρο =5 μm (κατά τους: Ji Hye Kim & Mann Kyoon Shin, 2015).

Σε όλη την επιφάνεια του κυττάρου υπάρχουν βλεφαρίδες που πάλλονται. Η κίνηση των βλεφαρίδων δίδει στο κύτταρο κίνηση η οποία συνήθως είναι γραμμική, ομαλή, ράθυμη ή κατά διαστήματα λίγο γρήγορη χωρίς όμως τινάγματα ή αστραπιαίες μετατοπίσεις. Ενίοτε το κύτταρο στροβιλίζεται χαλαρά ενώ κινείται και κατά διαστήματα σταματά και δίδει την εντύπωση αιώρησης στο νερό. Σύμφωνα με μελέτες, οι βλεφαρίδες χρησιμοποιούνται επίσης για να σέρνονται κατά το μήκος των επιφανειών, καθώς και για την προσκόλληση και την αίσθηση. Επομένως, εκτός από το να βοηθήσουν τον οργανισμό να μετακινηθεί από μια περιοχή στην άλλη, επιτρέπουν στην *Fabrea salina* να αισθανθεί οποιοσδήποτε αλλαγές στο περιβάλλον της και ως εκ τούτου να είναι σε θέση να ανταποκριθεί αποτελεσματικά. Σε σύγκριση με τα μαστίγια που υπάρχουν σε άλλους μονοκύτταρους οργανισμούς, οι βλεφαρίδες είναι πιο πολυάριθμες και μικρές και μπορεί να καλύπτουν ολόκληρη την επιφάνεια του οργανισμού. Μέσω της συντονισμένης κίνησης τους, είναι σε θέση να μετακινούνται ταχύτερα.

1.3. Αναπαραγωγή

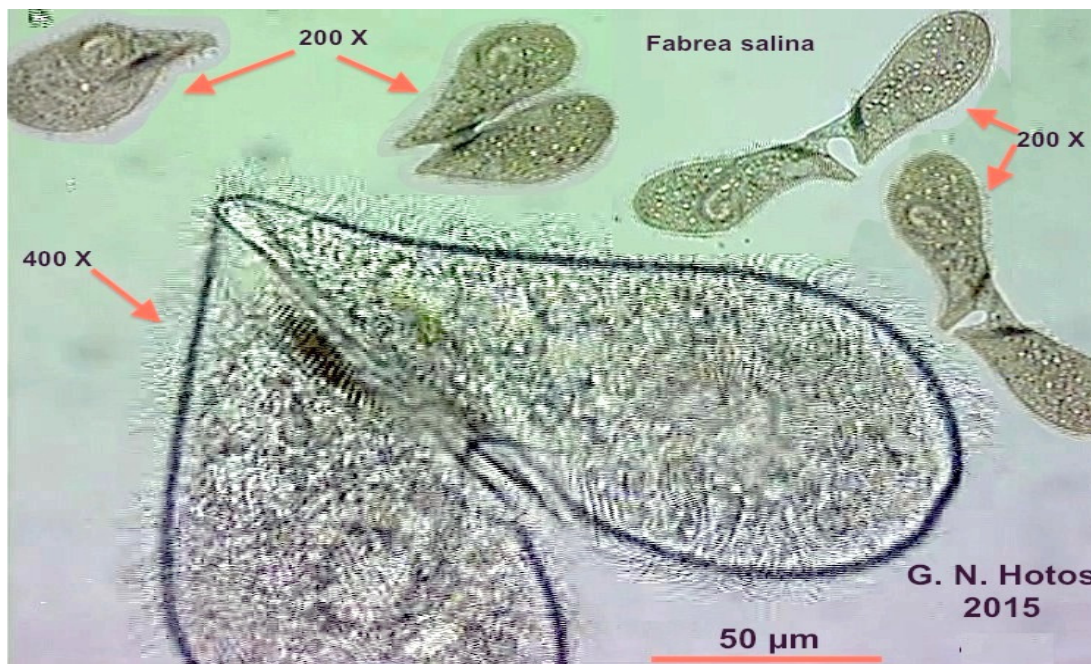
Η *Fabrea salina* μπορεί να αναπαραχθεί αγενώς με απλή κυτταρική διαίρεση και με τον ιδιόμορφο τρόπο της σύζευξης (conjugation) δύο ατόμων (κατά κάποιο τρόπο σεξουαλικά) που ανταλλάσσουν γενετικό υλικό.

Κατά την διάρκεια της σύζευξης, δύο άτομα *Fabrea salina* έρχονται σε επαφή μεταξύ τους σχηματίζοντας κυτταροπλασματική γέφυρα μεταξύ τους. Αυτό ακολουθείται από μια διαδικασία γνωστή ως μείωση των μικροπυρήνων των κυττάρων για την παραγωγή απλοειδών μικροπυρήνων.

Μερικοί από τους απλοειδείς πυρήνες υφίστανται διάλυση ενώ οι υπόλοιποι διαιρούνται σε δύο μέσω μίας διαδικασίας γνωστή ως μίτωση και στα δύο κύτταρα.

Ένας από τους δύο πυρήνες τότε μετακινείται προς το άλλο κύτταρο μέσω της κυτταροπλασματικής γέφυρας όπου έρχεται σε επαφή με τους μικροπυρήνες του άλλου κυττάρου για να σχηματίσει ένα διπλοειδές πυρήνα που τελικά σχηματίζει έναν μακροπυρήνα μόλις τα κύτταρα διαχωριστούν. Αυτό ακολουθείται από τη επαφή του κυττάρου (ενώ ο μακροπυρήνας διαιρείται σε δύο) για να σχηματίσει δύο θυγατρικά κύτταρα. Κάθε ένα από τα θυγατρικά κύτταρα θα έχει έναν μακροπυρήνα και έναν μικροπυρήνα.

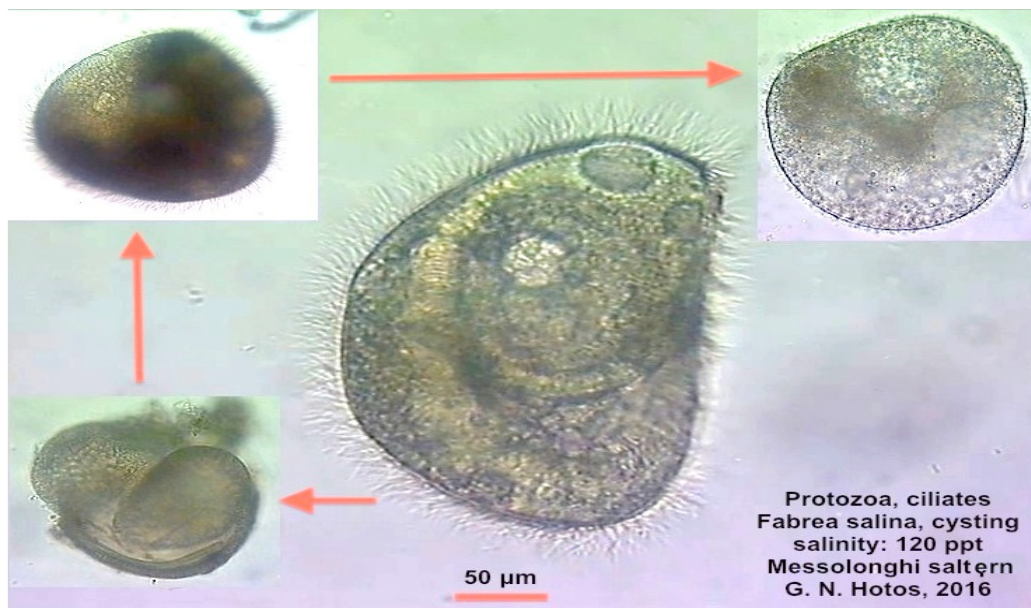
Κατά τη φάση της επαφής της αναπαραγωγής, ο μικροπυρήνας του κυττάρου περνάει από τη μίτωση (δύο διπλοειδείς μικροπυρήνες) ενώ ο μακροπυρηνικός διαιρείται σε δύο. Το κύτταρο στη συνέχεια χωρίζεται σε δύο (διαιώνοντας σε δύο θυγατρικά κύτταρα) με ένα από κάθε μακροπυρήνα και μικροπυρήνα σε κάθε ένα από τα νέα κύτταρα.



Σχήμα 4. Η διαδικασία της απλής διχοτόμησης δύο κυττάρων *Fabrea salina*. Μία λεπτή μεμβράνη τα ενώνει και με διάφορες κινήσεις μετά από προσπάθεια διαχωρίζονται.

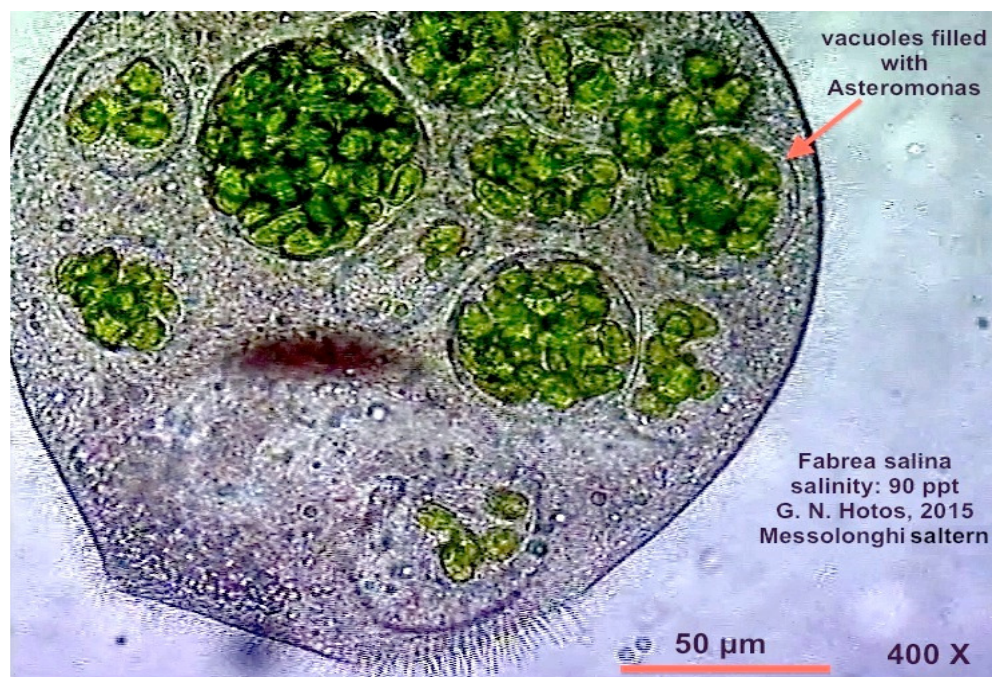
1.4. Ενδιαίτημα- Διατροφή

Η *Fabrea salina* είναι πρωτόζωο αποκλειστικώς των αλμυρών νερών, μονήρες, πελαγικό-πλαγκτονικό, δεν σχηματίζει αποικίες και ακμάζει σε λεκάνες υψηλής αλατότητας. Η αντοχή της στην αλατότητα είναι εκπληκτική προφανώς λόγω ιδιαίτερης ωσμωρυθμιστικής ικανότητας και παρόλο που το ανώτατο όριο αντοχής της δεν έχει επαρκώς μελετηθεί, υπάρχουν ευρήματα τόσο στη φύση όσο και στο εργαστήριο που δείχνουν ότι αντέχει και σε 200 ppt. Αντίθετα η αντοχή της σε νερό χαμηλής αλατότητας δεν είναι το ίδιο μεγάλη και παρόλο που και το όριο της ελάχιστης αλατότητας δεν έχει και αυτό επαρκώς μελετηθεί φαίνεται ότι είναι κάπου μεταξύ 20 και 30 ppt.



Σχήμα 5. Τα στάδια δημιουργίας κύστης ενός κυττάρου *Fabrea salina* σε αλατότητα 120ppt.

Στις υπεράλμυρες λεκάνες των αλυκών η *Fabrea* ενίοτε αποτελεί το κυρίαρχο πρωτόζωο προφανώς λόγω της υπεροχής της σε αντοχή της υπεραλατότητας έναντι των άλλων ειδών. Τρέφεται διηθώντας το νερό και κατακρατά μεγάλες ποσότητες από το κυρίαρχο μικροφύκος *Dunaliella salina* που επίσης αναπτύσσεται μαζί στην υπεραλατότητα. Όμως καθώς έχει αποδειχθεί πειραματικώς ότι η *Fabrea* μπορεί να τραφεί και με ποικίλα άλλα πλαγκτονικά μικροφύκη εικάζεται ότι διηθεί και καταναλώνει και άλλα μικροφύκη όπως το αλοανθεκτικό χλωροφύκος *Asteromonas gracilis* καθώς και ποικίλα κυανοβακτήρια ή άλλα βακτήρια. Στα καλώς διατραφέντα άτομα υπάρχουν πολλά κενοτόπια γεμάτα με τα καταποθέντα φύκη και σε άλλα κενοτόπια η πέψη φαίνεται να έχει προχωρήσει ενώ σε άλλα τα μικροφυκικά κύτταρα φαίνονται ανέπαφα.



Σχήμα 6. Κύτταρο *Fabrea salina* σε αλατότητα 90ppt με γεμάτα τα κενοτόπια με κύτταρα του μικροφύκου *Asteromonas gracilis*.



Σχήμα 7. Κύτταρο *Fabrea salina* με δύο μεγάλα και 2 μικρά κενοτόπια γεμάτα με κύτταρα του μικροφύκου *Rhodomonas salina* (φωτογρ. Γ. Χώτος).

Ενδέχεται να είναι μια μορφή συμβίωσης κατά την οποία η μεν *Fabrea* ωφελείται από την πλεονάζουσα φωτοσυνθετική παραγωγή των μικροφυκών ενώ το φύκος είναι άγνωστο τι είδους

ωφέλεια αποκομίζει. Ενίοτε επίσης τα κενοτόπια αυτά αδειάζουν το περιεχόμενό τους στο νερό και τότε παρατηρείται ότι τα ελευθερωμένα μικροφύκη επανακτούν την κινητικότητά τους. Η σημασία αυτού του φαινομένου παραμένει άγνωστη. Πάντως δεν έχει παρατηρηθεί να καταναλώνει η *Fabrea* άλλα πρωτόζωα μικρότερα από αυτή.

1.5. Γενικά περί φυκών

Τα φύκη είναι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί που δεν έχουν βλαστούς, φύλλα, ρίζες, δεν σχηματίζουν σπέρματα, άνθη ή καρπούς, όπως τα ανώτερα φυτά. Έχουν πρωτόγονη οργάνωση, πολύ απλή στις κατώτερες ταξινομικά ομάδες, πιο πολύπλοκη στις ανώτερες. Διαφέρουν πολύ από τα Σπερματόφυτα, τόσο από τα χερσαία όσο και από τα θαλάσσια, αυτά, που οι περισσότεροι από άγνοια, τα αποκαλούν «φύκια». Και βέβαια στα ελληνικά πρέπει να «ενθαρρύνεται» η ονομασία τους ως «φύκη» και όχι «άλγες» όπως συχνά αναφέρονται. Αναπαράγονται με απλή κυτταρική διαίρεση ή και με πιο πολύπλοκο τρόπο είτε αγενώς (ασεξουαλικά) με ζωοσπόρια προκύπτοντα από μίτωση του απλοειδούς μητρικού κυττάρου, είτε εγγενώς (σεξουαλικά) με παραγωγή γαμετών η σύζευξη των οποίων θα δώσει διπλοειδή ζυμωτή (2n) ο οποίος κατόπιν με μείωση θα ξαναδώσει απλοειδή ζωοσπόρια καθένα από τα οποία θα γίνει ώριμο κύτταρο. Ορισμένα έχουν πολύπλοκους βιολογικούς κύκλους (κύκλους ζωής).

1.6. Σκοπός της εργασίας

Η *Fabrea salina* έχει προσελκύσει το ερευνητικό ενδιαφέρον στις υδατοκαλλιέργειες επειδή προσφέρει δυνητικώς πολλά πλεονεκτήματα ως ζωντανή τροφή των λαρβών των θαλασσιών ψαριών. Σήμερα η καθιερωμένη ζωντανή τροφή στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς είναι το τροχόζωο *Brachionus plicatilis* στο οποίο βασίζεται η πρώτη διατροφή όλων των λαρβών που καλλιεργούνται. Όμως με την επέκταση της παραγωγής γόνου και σε καινούργια είδη ψαριών που προσελκύουν το ενδιαφέρον για τεχνική αναπαραγωγή τους προκύπτουν και προβλήματα που έχουν να κάνουν με την εύρεση κατάλληλου μεγέθους ζωντανή τροφή για τα πρώτα λαρβικά τους στάδια καθώς τα τροχόζωα είναι πολύ μεγάλα για τις λάρβες αυτές. Τέτοια ψάρια είναι η σαρδέλα, διάφορα πλατύψαρα, κ.ά. Απαιτείται λοιπόν να βρεθεί μια κατάλληλη ζωντανή τροφή όσο πρέπει σε μικρό μέγεθος για να μπορεί να καταποθεί από τις πολύ μικρές λάρβες.

Τέτοια ζωντανή τροφή μπορεί να είναι η *Fabrea salina* για τους παρακάτω λόγους:

1. Το μέγεθός της είναι μικρότερο όσο πρέπει από αυτό του *B. plicatilis*.
2. Έχει τα ίδια κινητικά χαρακτηριστικά με το τροχόζωο αυτό καθώς η κίνησή της είναι σχετικά αργή, ευθύγραμμη, ομαλή.
3. Παρουσιάζει χρωματισμό σκούρο και μπορεί να διακριθεί από τις έχουσες ασθενή όραση λάρβες.
4. Κατανέμεται στη στήλη του νερού και είναι διαθέσιμη στις πελαγικές λάρβες.
5. Τρέφεται εύκολα με τα συνήθη μικροφύκη που καλλιεργούνται στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς.
6. Αναπαράγεται γρήγορα με απλή κυτταρική διαίρεση και μπορεί να φτάσει σε πυκνότητες ανώτερες των 100 ατόμων/mL.

7. Η χημική της σύσταση είναι ικανοποιητική σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.

8. Δεν έχει σκληρό μεμβρανικό κάλυμμα οπότε το κύτταρό της εύκολα αφομοιώνεται.

Όμως υπάρχουν και ορισμένα μειονεκτήματα τα οποία πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά τη μαζική της καλλιέργεια.

1. Σε αντίθεση με το *B. plicatilis* δεν επιβιώνει σε αλατότητες κάτω από 30 ppt και συνεπώς υποχρεωτικά το μέσον καλλιέργειάς της πρέπει να έχει αλατότητα τουλάχιστον 35-40 ppt.

2. Για να συλλεχθεί από το δοχείο καλλιέργειας απαιτείται η χρησιμοποίηση πλαγκτονικού δίχτυου με μάτι μικρότερο από 40 μm επειδή σε δίχτυ με μεγαλύτερο άνοιγμα το κύτταρό της (ασχέτως αν είναι ακόμα και μεγέθους πάνω από 150 μm) λόγω της μαλακής και εύπλαστης φύσης του περνά από τα ανοίγματα.

3. Κατά τη συλλογή με το πλαγκτονικό δίχτυ δεν πρέπει να δημιουργείται μεγάλη μάζα από *Fabrea* επειδή η ντελικάτη φύση των κυττάρων της θα οδηγήσει λόγω συμπίεσης στο θάνατο πολλά από αυτά.

Στο εργαστήριο καλλιέργειας πλαγκτού διατηρούνται πληθυσμοί *Fabrea salina* από άτομα που συλλέχθηκαν από την αλυκή Μεσολογίου και εγκλιματίστηκαν σε εργαστηριακές συνθήκες. Με τους πληθυσμούς αυτούς διεξάγονται πειράματα που αποσκοπούν στο να συσσωρευθεί γνώση σχετική με την αντίδραση αυτού του πρωτοζώου σε ποικίλα περιβάλλοντα καλλιέργειας. Απώτερος σκοπός είναι να δημιουργηθεί ένα κατάλληλο περιβάλλον για τη μαζική καλλιέργεια της *Fabrea salina* προκειμένου να χρησιμοποιηθεί ως ζωντανή τροφή.

Κυρίαρχη θέση στις εξεταζόμενες περιβαλλοντικές παραμέτρους της καλλιέργειας κατέχουν η αλατότητα και το είδος της τροφής. Στην παρούσα εργασία εξετάζονται αυτές οι παράμετροι με κατάλληλα σχεδιασμένα πειράματα προκειμένου να ευρεθούν οι βέλτιστες τιμές.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Προέλευση του δείγματος

Το δείγμα προήλθε προηγούμενες συλλογές μικροοργανισμών του κ. Χώτου από τις αλυκές του Μεσολογγίου διότι η αλατότητα εκεί βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα, πράγμα που καθιστά το συγκεκριμένο περιβάλλον κατάλληλο για την ύπαρξη της *Fabrea salina*.



Σχήμα 8. Αεροφωτογραφία αλυκές Τουρλίδας. (Google chrome-MESOLOGGIBEE)

Επιλέχθηκε ο συγκεκριμένος μονοκύτταρος μικροοργανισμός *Fabrea salina* για τον οποίο δεν έχουν διεξαχθεί παρόμοιες έρευνες, έτσι ώστε να διαπιστωθεί αν η βιωσιμότητα του σε ένα εύρος από αλατότητες 20ppt-120ppt είναι αξιοποιήσιμη και εκμεταλλεύσιμη στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς. Η έρευνα αυτή πραγματοποιήθηκε εργαστήριο καλλιέργειας πλαγκτού του Τμήματος Τεχνολογίας Αλιείας, Υδατοκαλλιέργειών του τ. Τ.Ε.Ι. Δυτικής Ελλάδος στο Μεσολόγγι και ο χρόνος που απαιτήθηκε για να τελεστούν τα πειράματα και να ολοκληρωθεί η έρευνα ήταν περίπου 5 με 6 μήνες από 1 Νοεμβρίου του 2017 έως 31 Μαΐου του 2018. Οι μετρήσεις του κάθε πειράματος ήταν εβδομαδιαίες και το κάθε πείραμα κρατούσε περίπου ένα μήνα.

2.2. Είδη μικροφυκών

Τα είδη των μικροφυκών που καλλιεργήθηκαν στο εργαστήριο και χρησιμοποιήθηκαν για να βγει το πείραμα εις πέρας ήταν τα εξής (Χώτος, 2016) :

1. *Nannochloropsis oculata*: Μέγεθος 2-4 μm, πράσινου χρώματος, χωρίς μαστίγια, Μη κινητικό είδος με κύτταρα ελεύθερα, σφαιρικού σχήματος. Παρουσιάζει ανθεκτικότητα σε μεγάλο εύρος αλατοτήτων και θερμοκρασιών και αυξάνεται γρήγορα σε καλλιέργειες με επαρκή θρεπτικά.
2. *Isochrysis galbana*: Μέγεθος κυττάρου 5-7 μm, ελεύθερα κύτταρα με δύο ισομεγέθη μαστίγια, όταν τα θρεπτικά στοιχεία στο νερό εξαντλούνται, τα κύτταρα παρουσιάζονται σφαιρικά, χρώματος καφέ-χρυσό.
3. *Rhodomonas salina*: Ελεύθερα ωοειδή κύτταρα μεγέθους 5 – 13 μm και πάχους 6 – 8 μm, πεπλατυσμένα με μία πρόσθια αύλακα με δύο ελαφρώς άνισα μαστίγια. Τα μαστίγια του προσφέρουν κινητική ικανότητα. Το χρώμα τους ποικίλλει από σκούρο κόκκινο έως κοκκινο-καφέ.
4. *Tetraselmis suecica*: Μονοκύτταρο πράσινο θαλάσσιο είδος φύκους, χωρίς κυτταρικό τοίχωμα, με 4 ισομεγέθη μαστίγια τα οποία του προσδίδουν γρήγορη κίνηση. Μέγεθος 7 – 10 μm με κύτταρα ωοειδο-κυλινδρικά με χαρακτηριστικό βαθούλωμα στο εμπρόσθιο μέρος όπου εκφύονται τα μαστίγια.
5. *Chlorella sp.*: Πολύ μικρό (2-5 μm) μονοκύτταρο και χωρίς μαστίγια χλωροφύκος με μέγεθος που προσιδιάζει στα ευμεγέθη βακτήρια, με κυτταρικό τοίχωμα και χρώματος πράσινο.
6. *Dunaliella salina*: Είναι μονοκύτταρο είδος με δύο ισομεγέθη μεγάλα μαστίγια. Δεν διαθέτει κυτταρικό τοίχωμα, μέγεθος (8 – 22 μm) και ανοιχτό πράσινο.
7. *Asteromonas gracilis*: Πράσινο χλωροφύκος με ελεύθερα κύτταρα χωρίς κυτταρικό τοίχωμα, μεγάλου μεγέθους (18 – 25 μm), με δύο μεγάλα μαστίγια.

2.3. Υλικά και συσκευές

- Δοχεία Erlenmeyer (500ml, 100ml, 50ml)
- Γυάλινες πιπέτες Pasteur
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Τρυβλία Petri
- Πλαστικές πιπέτες
- Χρώση Iugol
- Πολυθάλαμα τρυβλία καλλιέργειας
- Κυλινδρικά πλαστικά δοχεία με καπάκι 50ml
- Φυγόκεντρος μηχανή
- Ψυγείο
- Παροχή αέρα
 - Ειδικοί λαμπτήρες
 - Στερεοσκόπιο
 - Μικροσκόπιο

- Πουάρ
- Επικαλυπτρίδες
- Αντικειμενοφόρες πλάκες
- Αιμοκυττόμετρο Fuchs-Rosenthal
- Καταμετρητής χειρός
- Αυτόκαυστο
- Παροχή οξυγόνου

2.4. Η διαδικασία των πειραματισμών στην αύξηση της *Fabrea salina*

Πραγματοποιήθηκε μια σειρά 5 πειραμάτων τα οποία είχαν ως βάση 2 παράγοντες την αλατότητα και την τροφή. Ο πρώτος παράγοντας που έπρεπε να εξεταστεί ως προς το εύρος του ήταν η αλατότητα. Ξεκινώντας από τα 120ppt του βασικού αποθέματος παρασκευάστηκαν διάφορες αλατότητες για την εκτέλεση των πειραμάτων. Αυτό γινόταν με την χρήση θαλασσινού νερού 35ppt το οποίο αποστειρωνόταν σε ειδικό αυτόκαυστο και στη συνέχεια με συγκεκριμένες ποσότητες άλατος και πολύ καλή ανάμιξη παρασκευάζονταν οι επιθυμητές αλατότητες. Για την αλατότητα των 20ppt που χρησιμοποιήθηκε γινόταν η κατάλληλη αραίωση με αποστειρωμένο αποσταγμένο νερό.

Η εκτέλεση των πειραμάτων γινόταν σε γυάλινα δοχεία *Erlenmeyer* των 50mL πωματισμένα με βαμβάκι για την αποφυγή επιμολύνσεων της καλλιέργειας. Καθημερινώς για τουλάχιστον 5 ημέρες, γινόταν καταμέτρηση των ατόμων της *Fabrea salina* στο στερεοσκόπιο με μία γυάλινη πιπέτα Pasteur με πουάρ όπου και είχαν αναρροφηθεί 10mL από την αντίστοιχη καλλιέργεια, για την διαπίστωση αύξησης ή μείωσης του πληθυσμού. Η τροφή που χορηγήθηκε στις καλλιέργειες ήταν διάφορα είδη μικροφυκών σε φυγοκεντρίμενη μορφή. Η ποσότητα τροφής για το τάισμα σε κάθε καλλιέργεια ήταν 2-3 σταγόνες φυγοκεντρίμενου μικροφύκου. Όλα τα πειράματα είχαν διάρκεια 3-7 ημέρες. Η θερμοκρασία σε όλα τα πειράματα ήταν σταθερή στους 19-21° C. Η καταμέτρηση των κυττάρων κάθε μικροφύκου γινόταν ως εξής: με μια πλαστική πιπέτα, γινόταν αναρρόφηση μιας τυχαίας μικροποσότητας από το κάθε μικροφύκος και στη συνέχεια εμβολιαζόταν σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα, όπου είχε τοποθετηθεί Iugol για την ακινητοποίηση των κυττάρων. Κατόπιν μια μικροποσότητα από το υπάρχον διάλυμα τοποθετούνταν σε πλάκα αιμοκυττόμετρου τύπου Fuchs-Rosenthal καλυπτόμενο με μία επικαλυπτρίδα και εξετάζονταν στο μικροσκόπιο. Τα κύτταρα που είχαν καταμετρηθεί ομοιόμορφα στο ειδικό πλέγμα του αιμοκυττομέτρου καταμετρούνταν σε μεγέθυνση 200 - 400 X και βάσει αλγορίθμου η καταμέτρηση μεταφράζονταν σε κύτταρα/mL.

Ο υπολογισμός της αύξησης των πρωτοζώων σε κάθε πείραμα γίνονταν και εκφράζονταν βάσει του υπολογισμού του ειδικού ρυθμού αύξησης (r) και του χρόνου γενεάς (tg), παράμετροι οι οποίοι υπολογίζονταν βάσει των παρακάτω τύπων:

$$r = \frac{\ln N_t - \ln N_{t_0}}{t - t_0} \text{ και}$$

$$tg = \frac{0,6931}{r} \text{ όπου:}$$

N_{t_0} = αριθμός ατόμων την αρχική ημέρα

N_t = αριθμός ατόμων την τελευταία ημέρα

$t-t_0$ = αριθμός παρεμβολομένων ημερών

tg = διάστημα (σε 24ωρη βάση) που απαιτείται για να διπλασιαστεί ο πληθυσμός

2.5. Περιγραφή των πειραμάτων

ΠΕΙΡΑΜΑ 1^ο: *Fabrea salina* σε αλατότητες 40ppt, 60ppt & 90ppt

Παρασκευάστηκαν αλατότητες, 90ppt, 60ppt και 40ppt οι οποίες κατανεμήθηκαν σε 3 διαφορετικά δοχεία *Erlenmeyer* των 500mL. Κατόπιν, από το βασικό απόθεμα των 90ppt της καλλιέργειας της *Fabrea* εμβολιάστηκαν από 3mL στα δοχεία με αλατότητες 90ppt, 60ppt και 40ppt. Η τροφή που χρησιμοποιήθηκε για το τάισμα ήταν το μικροφύκος *Asteromonas gracilis* σε φυγοκεντρίμενη μορφή. Το παρόν πείραμα πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη δημιουργία αποθεμάτων σε τρεις διαφορετικές αλατότητες για επερχόμενα πειράματα και την αλλαγή συμπεριφοράς της *Fabrea* όσον αφορά την πυκνότητα.

ΠΕΙΡΑΜΑ 2^ο : *Fabrea salina* σε ακραίες αλατότητες 20ppt & 120ppt

Σε 1 δοχείο *Erlenmeyer* των 50mL παρασκευάστηκε αλατότητα 20ppt όγκου 50mL από αποστειρωμένο θαλασσινό νερό και σε ένα άλλο δοχείο *Erlenmeyer* των 50mL παρασκευάστηκε αλατότητα 120ppt ίδιου όγκου. Στο δοχείο με τα 20ppt εμβολιάστηκε 1mL *Fabrea salina* από απόθεμα καλλιέργειας 40ppt, όπου είχαν καταμετρηθεί 20άτομα/mL *Fabrea*. Η τροφή που χρησιμοποιήθηκε ήταν το μικροφύκος *Chorella sp.* Στο άλλο δοχείο με τα 120ppt από το απόθεμα καλλιέργειας των 90ppt που είχε ήδη παρασκευαστεί αντλήθηκε 1mL, όπου καταμετρήθηκαν 58άτομα/mL *Fabrea*. Η τροφή που χορηγήθηκε ήταν το μικροφύκος *Dunaliella salina* σε φυγοκεντρίμενη μορφή. Ο λόγος που στα 20 ppt χρησιμοποιήθηκε ως τροφή ο μικροφύκος *Chorella sp.* και όχι το *Dunaliella salina* είχε να κάνει με το ότι στη χαμηλή αλατότητα των 20 ppt δεν αντέχει το *Dunaliella salina* το οποίο όμως αντέχει και αυξάνεται καλά στην υψηλή αλατότητα των 120 ppt. Σκοπός του πειράματος αυτού ήταν η παρατήρηση της *Fabrea* σε δύο ακραίες αλατότητες.

ΠΕΙΡΑΜΑ 3^ο: *Fabrea salina* σε αλατότητες 60ppt & 90ppt- επίδραση του φωτισμού

Χρησιμοποιήθηκαν 12 δοχεία *Erlenmeyer* των 100 mL με αλατότητα 90ppt και άλλα 12 δοχεία των 100mL με αλατότητα 60ppt. Τα δοχεία αυτά τοποθετήθηκαν αντιστοίχως: 6 σε συνθήκες φωτός και 6 σε συνθήκες σκοταδιού. Τα μικροφύκη που χρησιμοποιήθηκαν για το τάισμα ήταν σε φυγοκεντρίμενη μορφή και ήταν τα εξής: *Asteromonas gracilis*, *Chorella sp*, *Dunaliella salina*. Η ποσότητα *Fabrea* που εμβολιάστηκε σε κάθε δοχείο ξεχωριστά ήταν 2mL από απόθεμα καλλιέργειας 90ppt στα οποία είχαν καταμετρηθεί 56 άτομα/mL: ήτοι 2mL x 56 άτομα = 112 άτομα *Fabrea*. Τα 112 άτομα *Fabrea* στα 100mL των δοχείων έδωσαν αρχική πυκνότητα *Fabrea*

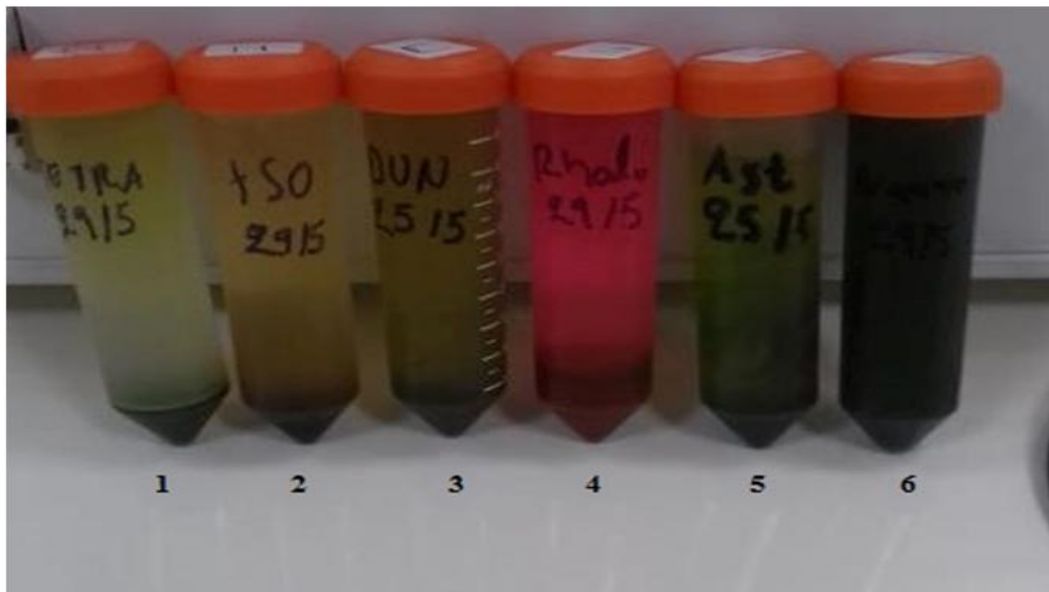
= 1,12 άτομα/mL. Σκοπός ήταν η παρατήρηση της *Fabrea* όσον αφορά την αυξομείωση της πυκνότητας σε δύο διαφορετικές συνθήκες. Για το κάθε μικροφύκος χρησιμοποιήθηκαν 2 αντίγραφα με δοχεία *Erlenmeyer* των 100mL γεμισμένα με 100 mL νερό.

ΠΕΙΡΑΜΑ 4^ο: *Fabrea salina* σε αλατότητα 35ppt- επίδραση διαφορετικών ειδών μικροφυκών ως τροφή

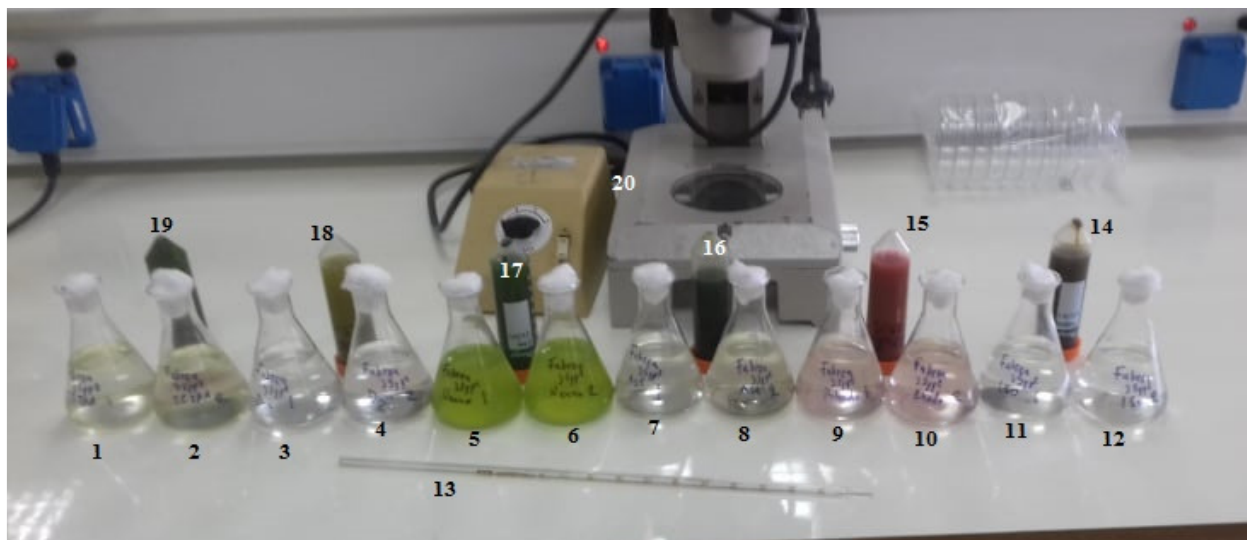
Από υπάρχουσα καλλιέργεια *Fabrea salina* στα 120ppt, εμβολιάστηκαν σε 12 δοχεία *Erlenmeyer* των 100ml με αλατότητα 35ppt, 50 άτομα *Fabrea salina*/mL. Η τροφή που χορηγήθηκε ήταν τα εξής μικροφύκη σε φυγοκεντρίμενη μορφή: *Nannachloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Rhodomonas salina*, *Tetraselmis suecica*, *Dunaliella salina* και *Asteromonas gracilis*. Για το κάθε μικροφύκος χρησιμοποιήθηκαν 2 αντίγραφα με δοχεία *Erlenmeyer* των 100mL γεμισμένα με 100mL νερό. Σκοπός ήταν η παρατήρηση της *Fabrea* σε μία τυπική σταθερή αλατότητα και η επίδραση της αυξομείωσης της πυκνότητας με διάφορα είδη μικροφυκών ως τροφή.

ΠΕΙΡΑΜΑ 5^ο : *Fabrea salina* σε αλατότητες 30ppt, 60ppt & 90ppt- επίδραση διαφορετικών ειδών μικροφυκών ως τροφή σε μικρότερο όγκο

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε πολυθάλαμα τρυβλία τετράγωνου σχήματος με 5 κάθετα διαχωριστικά διαφράγματα και 5 οριζόντια, δημιουργώντας 25 τετράγωνα μικροθαλάμους 2x2x2cm. Οι αλατότητες που επιλέχθηκαν ήταν τα 30ppt, 60ppt, 90ppt. Σε κάθε κατάλληλα σημαδεμένο ως προς τους μικροθαλάμους του τρυβλίου τοποθετήθηκαν 3 αλατότητες δηλαδή: 30ppt-60ppt-90ppt. Η *Fabrea* που εμβολιάστηκε σε κάθε θάλαμο του κάθε τρυβλίου προήλθε από στοκ καλλιέργειας του εργαστηρίου από αποθεματική καλλιέργεια αλατότητας 90ppt. Στον κάθε θάλαμο του κάθε τρυβλίου τοποθετήθηκαν 2 άτομα *Fabrea*. Στον κάθε θάλαμο με ειδική πιπέτα, εμβολιάστηκε νερό 3 ml αντίστοιχης αλατότητας. Ως τροφή χορηγήθηκαν τα παρακάτω μικροφύκη σε φυγοκεντρίμενη μορφή: *Tetraselmis suecica*, *Isochrysis galbana*, *Rhodomonas salina*, *Nannachloropsis oculata*, *Chlorella* sp.. Το τάισμα γινόταν με μία πλαστική πιπέτα των 5ml και ήταν 1-5 σταγόνες από το κάθε φύκος κατά περίπτωση. Το παρόν πείραμα στόχευε στην παρατήρηση της μεταβολής της πυκνότητας της *Fabrea*, η οποία επηρεαζόταν από μικρότερο όγκο καλλιέργειας, διαφορετικά είδη μικροφυκών και διαφορετικές αλατότητες.



Σχήμα 9. Φυγοκεντρίμενα μικροφύκη. 1.*Tetraselmis suecica*, 2.*Isochrysis galbana*, 3.*Dunaliella salina*, 4.*Rhodomonas salina*, 5.*Asteromonas gracilis*, 6.*Nannochloropsis oculata* (Εργαστήριο καλλιέργειας πλαγκτού).



Σχήμα 10. *Fabrea salina* σε αλατότητα 30 ppt και φυγοκεντρίμενα φύκη. 1-2. *Fabrea salina* με φύκος *Tetraselmis suecica*, 3-4. *Fabrea salina* με φύκος *Dunaliella salina*, 5-6. *Fabrea salina* με φύκος *Nannochloropsis oculata*, 7-8. *Fabrea salina* με φύκος *Asteromonas gracilis*, 9-10. *Fabrea salina* με φύκος *Rhodomonas salina*, 11-12. *Fabrea salina* με φύκος *Isochrysis galbana*. (Εργαστήριο καλλιέργειας πλαγκτού).

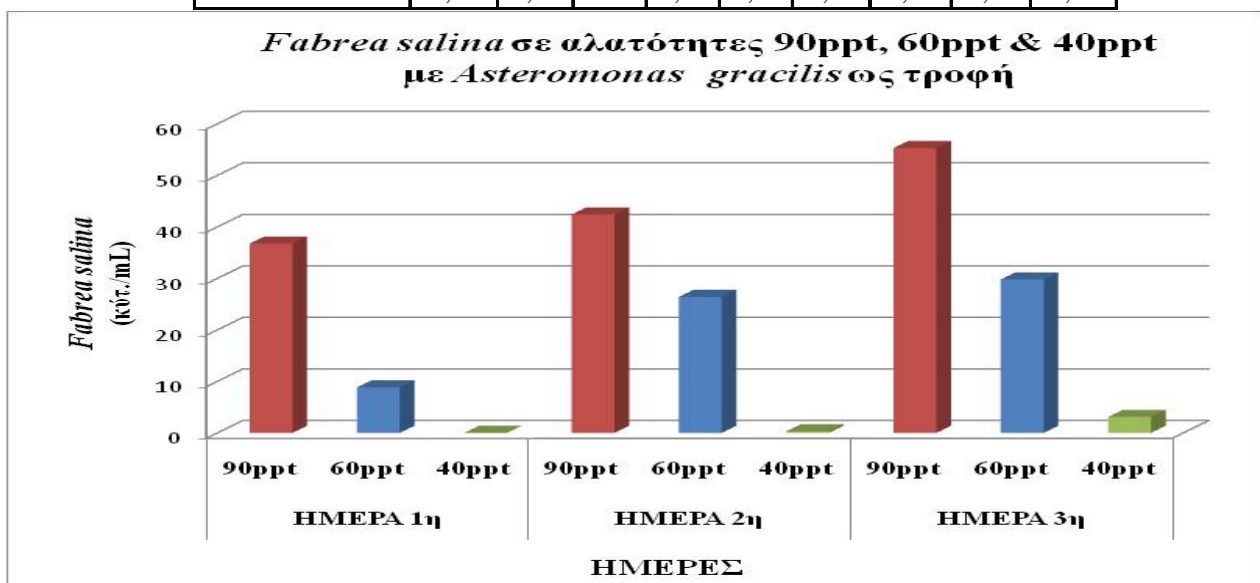
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΠΕΙΡΑΜΑ 1^ο: *Fabrea salina* σε αλατότητες 90ppt, 60ppt & 40ppt

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Συγκεντρωτικός πίνακας της πυκνότητας της *Fabrea salina* (κύτταρα/mL) για κάθε ημέρα σε αλατότητες 90-60-40 ppt με τις εξής στατιστικές παραμέτρους: **M.O.** μέσος όρος, **S.D.** τυπική απόκλιση, **MIN & MAX** ελάχιστο & μέγιστο και **C.V.** συντελεστής ποικιλότητας. Αρχική πυκνότητα κυττάρων *Asteromonas gracilis* στα 90 ppt 135.000 κύτταρα/mL, στα 60 ppt 330.750 κύτταρα/mL και στα 40 ppt 767.250 κύτταρα/mL. Τελικές πυκνότητες κυττάρων *Asteromonas gracilis* στα 90 ppt, 45.600 κύτταρα/mL στα 60 ppt 360.900 κύτταρα/mL και στα 40 ppt 138.600 κύτταρα/mL.

<i>Fabrea salina</i> (κύτ./mL) με <i>Asteromonas</i> ως τροφή									
ΗΜΕΡΕΣ	1η			2η			3η		
ΑΛΑΤΟΤΗΤΕΣ	90ppt	60ppt	40ppt	90ppt	60ppt	40ppt	90ppt	60ppt	40ppt
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	12	10	10	12	10	10	12	10	10
M.O.	36,75	8,83	0	42,4	26,4	0,3	55,3	29,8	3,1
S.D.	5,91	2,37	0	7,82	3,27	0,67	17,4	5,07	1,85
MIN	28	6	0	34	21	0	36	20	1
MAX	47	14	0	58	32	2	97	40	7
C.V.	0,16	0,27	0	0,18	0,12	2,25	0,31	0,17	0,59



Σχήμα 11. Πυκνότητες *Fabrea salina* ανά ημέρα σε αλατότητες 90-60-40 ppt.

Στην αλατότητα των 40 ppt παρουσιάστηκε το φαινόμενο κατά την 1^η ημέρα τα άτομα της *Fabrea* να βρίσκονται στη μορφή των κύστεων στον πάτο του δοχείου. Για αυτό το λόγο κατά την καταμέτρησή τους με λήψη δείγματος από τη στήλη του νερού δεν ανευρέθησαν. Εξ' ου και η τιμή "0" στον Πίνακα 1.

Μετά το πέρας όμως της πρώτης ημέρας οι κύστεις άρχισαν να εκκολάπτονται και εμφανίστηκαν τα πλαγκτονικά άτομα της *Fabrea* και καταγράφηκαν. Από τον Πίνακα 1 και το σχήμα 11 προκύπτει ότι η μεγαλύτερη αύξηση (33%) μεταξύ των ημερών 1 και 3 παρουσιάστηκε στην αλατότητα των 90 ppt και ακολουθήθηκε από αυτή των 60ppt (237%). Η υπολογιζόμενη αύξηση στα 40 ppt δεν λαμβάνεται υπόψη λόγω της προαναφερθείσας παρατήρησης επειδή τα παρατηρηθέντα άτομα αποτέλεσαν μέρος μόνο των ατόμων που προέκυψαν από τις κύστεις πολλές από τις οποίες ακόμα και κατά την τρίτη ημέρα παρέμεναν ως τέτοιες στον πυθμένα του δοχείου.

Τα αποτελέσματα αυτού του πειράματος δείχνουν πως η *Fabrea* μπορεί να παρουσιάσει γρήγορη ανάπτυξη του πληθυσμού της σε αλατότητες αρκετά πάνω από αυτές του τυπικού θαλασσινού νερού.

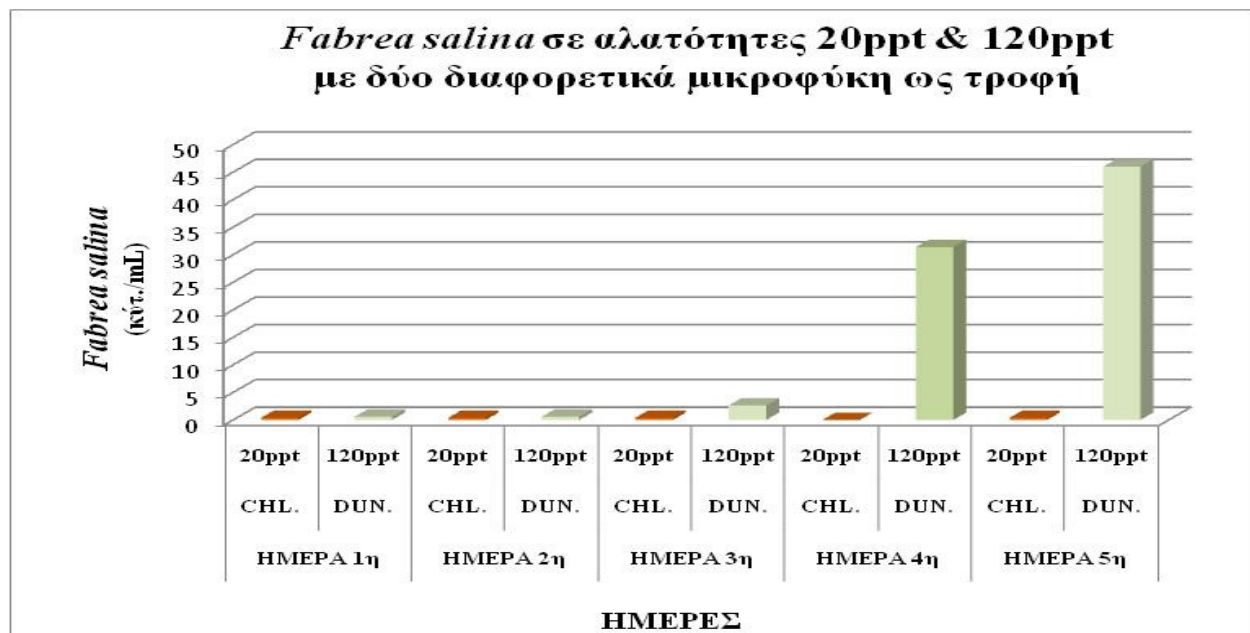
Πίνακας 2. Καταγραφή υπολογισθέντων ρυθμών αύξησης (**r**) και χρόνου γενεάς (**tg**) του πρωτοζώου *Fabrea salina* σε δύο υψηλές αλατότητες (60ppt & 90ppt) με το μικροφύκος *Asteromonas gracilis* (AST) χρησιμοποιούμενο ως τροφή. Το (1^η-3^η) υποδηλώνει το διάστημα των ημερών όπου υπήρξε αύξηση στην πυκνότητα της *Fabrea salina*.

<i>Fabrea salina</i> σε 60ppt & 90 ppt		
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΗΜΕΡΕΣ	
-	1η - 3η	1η - 3η
-	<i>Asteromonas</i>	
-	60ppt	90ppt
r	0,6	0,2
tg	1,15	3,46

ΠΕΙΡΑΜΑ 2^ο: *Fabrea salina* σε ακραίες αλατότητες 20ppt & 120ppt

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Συγκεντρωτικός στατιστικός πίνακας της πυκνότητας της *Fabrea salina* (κύτταρα/mL) για κάθε ημέρα σε ακραίες αλατότητες 20 και 120 ppt. Αρχική πυκνότητα κυττάρων *Chlorella* sp. στα 20 ppt 6.750.000 κύτταρα/mL και *Dunaliella salina* στα 120 ppt 71.250 κύτταρα/mL. Τελικές πυκνότητες *Chlorella* sp. 2.160.000 κύτταρα/mL και *Dunaliella salina* 35.500 κύτταρα/mL.

<i>Fabrea salina</i> (κύτ./mL) με <i>Chlorella</i> & <i>Dunaliella</i> ως τροφή										
ΗΜΕΡΕΣ	1η		2η		3η		4η		5η	
ΑΛΑΤΟΤΗΤΕΣ	20ppt	120ppt	20ppt	120ppt	20ppt	120ppt	20ppt	120ppt	20ppt	120ppt
ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ	CHL	DUN	CHL	DUN	CHL	DUN	CHL	DUN	CHL	DUN
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
M.O.	0,4	0,6	0,4	0,6	0,4	2,6	0	31,4	0,4	46
S.D.	0,54	0,55	0,54	0,89	0,55	0,89	0	4,22	0,55	6,63
MIN	0	0	0	0	0	2	0	25	0	36
MAX	1	1	1	2	1	4	0	36	1	52
C.V.	1,35	0,92	1,35	1,48	1,38	0,4	0	0,13	1,38	0,14



Σχήμα 12. Πυκνότητα *Fabrea salina* ανά ημέρα σε αλατότητες 20 ppt με μικροφύκος *Chlorella* sp. και σε 120 ppt με μικροφύκος *Dunaliella salina*.

Από τον Πίνακα 3 και το Σχήμα 12 προκύπτει εμφανώς το συμπέρασμα ότι στην αλατότητα των 20 ppt η *Fabrea* δεν αυξάνεται καθόλου και μόνο επιβιώνει μάλλον υποφέροντας καθώς αυτό παρατηρήθηκε μικροσκοπικώς στα νωθρά κινούμενα άτομα των δοχείων αυτής της αλατότητας. Η μείωση της πυκνότητας του μικροφύκου *Chlorella* που δόθηκε ως τροφή σε αυτή την αλατότητα πρέπει μάλλον να αποδοθεί και στην παρόμοια στρεσογόνα ως προς την αλατότητα επίδραση που είχε η χαμηλή αλατότητα στο φύκος αυτό (πρόκειται για *Chlorella* θαλασσινής αλατότητας) παρά στην κατανάλωσή του από τη *Fabrea*.

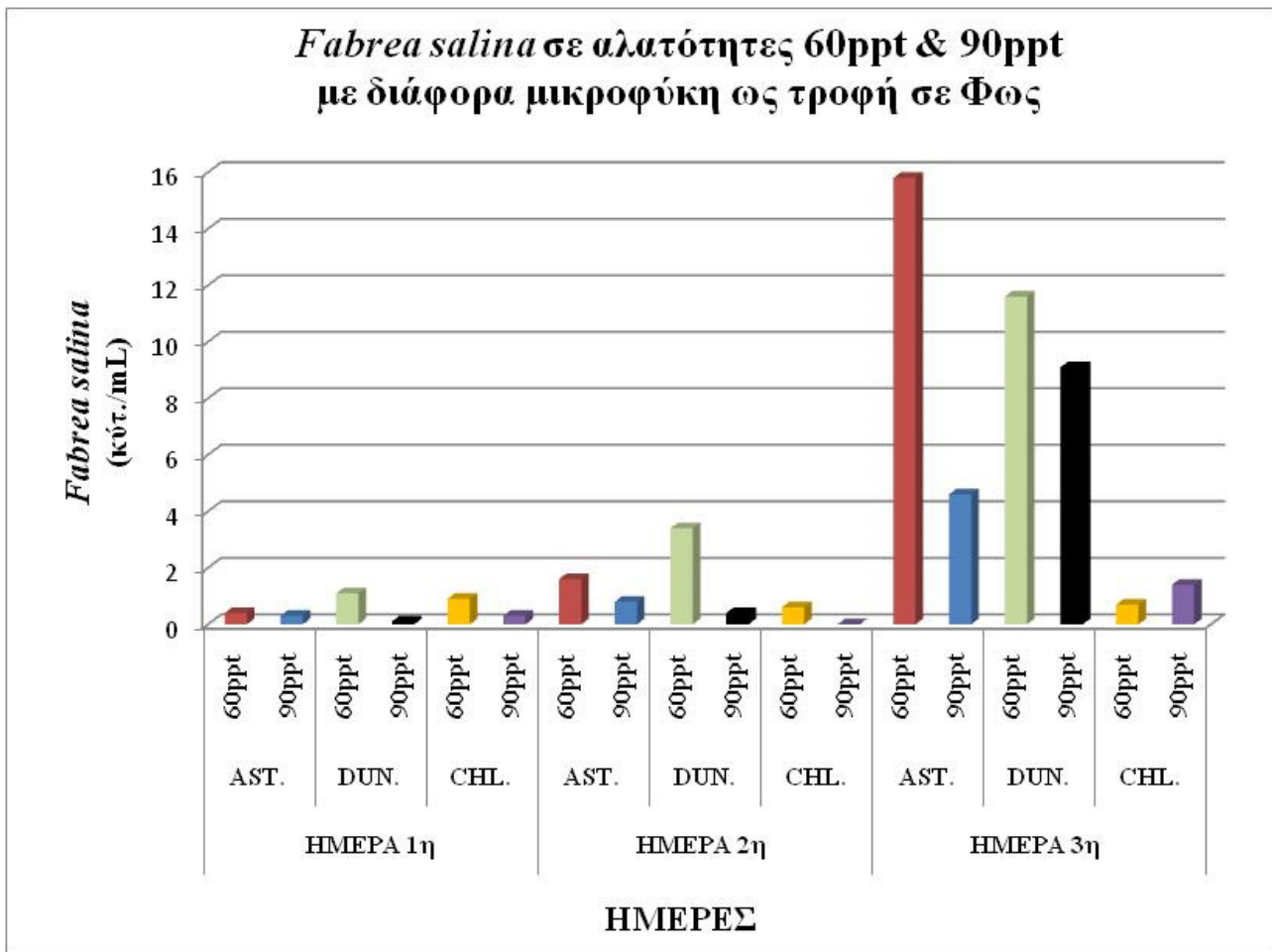
Αντίθετα με την πολύ χαμηλή αλατότητα των 20 ppt η πολύ υψηλή αλατότητα των 120 ppt έδρασε ευεργετικά στην αύξηση της πυκνότητας της *Fabrea* για ένα διάστημα 5 ημερών. Η αύξηση της πυκνότητας μεταξύ των ημερών 1 και 5 ήταν 98% με την εντονότερη αύξηση μεταξύ των ημερών 3 και 5 (94%). Κατά τις 2 πρώτες ημέρες η αύξηση ήταν ανεπαίσθητη και αυτό προφανώς οφείλεται στην περίοδο προσαρμογής που απαιτήθηκε μέχρι να προσαρμοστούν τα πρωτόζωα στην πολύ υψηλή αλατότητα. Η καλή φυσιολογική τους κατάσταση αποδεικνύεται επίσης και από τη σημαντική μείωση των κυττάρων της *Dunaliella salina* (από 71.250 σε 35.500 κύτ./mL) που τους παρασχέθηκε ως τροφή και η οποία ως φύκος που αντέχει επίσης σε πολύ υψηλές αλατότητες ήταν κατάλληλη για αυτές τις συνθήκες. Ειδικός ρυθμός αύξησης για τα 120ppt: $r = 1,08$ και χρόνος γενεάς $tg = 0,64$ ημέρες.

ΠΕΙΡΑΜΑ 3^ο: *Fabrea salina* σε αλατότητες 60 ppt & 90 ppt - επίδραση του φωτισμού

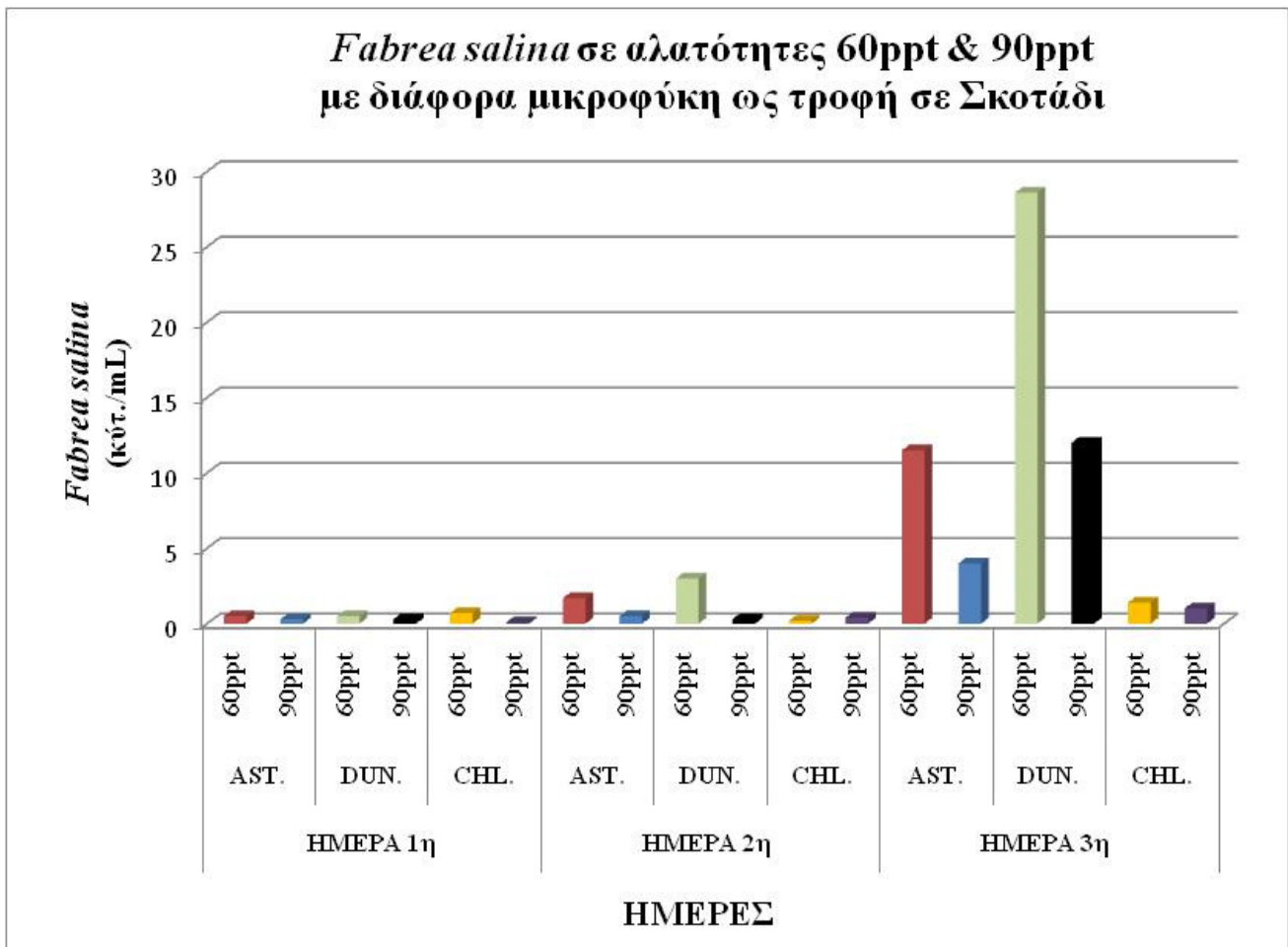
ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Συγκεντρωτικός στατιστικός πίνακας της πυκνότητας της *Fabrea salina* (κύτταρα/mL) για κάθε ημέρα σε αλατότητες 60ppt και 90ppt σε δύο διαφορετικές συνθήκες (φως, σκοτάδι) και με τρία διαφορετικά μικροφύκη: *Chlorella sp.*(CHL), *Dunaliella salina* (DUN), *Asteromonas gracilis* (AST), ως τροφή σε φυγοκεντρημένη μορφή.

<i>Fabrea salina</i> (κύτ./mL) σε Φως με <i>Asteromonas</i> , <i>Dunaliella</i> & <i>Chlorella</i> ως τροφή																		
ΗΜΕΡΕΣ	1η						2η						3η					
ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ	AST		DUN		CHL		AST		DUN		CHL		AST		DUN		CHL	
ΑΛΑΤΟΤΗΤΕΣ	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
M.O.	0,4	0,3	1,1	0,1	0,9	0,3	1,6	0,8	3,4	0,4	0,6	0	15,8	4,6	11,6	9,1	0,7	1,4
S.D.	0,52	0,48	1,37	0,31	1,2	0,48	1,35	0,79	2,27	0,7	0,52	0	3,79	1,78	2,67	3,11	0,95	1,58
MIN	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	11	2	8	5	0	0
MAX	1	1	3	1	3	1	4	2	7	2	1	0	20	7	17	14	3	5
C.V.	1,29	1,61	1,25	3,16	1,33	1,61	0,84	0,99	0,67	1,75	0,86	0	0,24	0,39	0,23	0,34	1,36	1,13

<i>Fabrea salina</i> (κύτ./mL) σε Σκοτάδι με <i>Asteromonas</i> , <i>Dunaliella</i> & <i>Chlorella</i> ως τροφή																		
ΗΜΕΡΕΣ	1η						2η						3η					
ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ	AST		DUN		CHL		AST		DUN		CHL		AST		DUN		CHL	
ΑΛΑΤΟΤΗΤΕΣ	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
M.O.	0,5	0,3	0,5	0,3	0,7	0,1	1,7	0,5	3	0,3	0,2	0,4	11,5	4	28,6	12	1,4	1
S.D.	0,97	0,48	0,71	0,67	0,48	0,32	1,25	0,71	1,49	0,48	0,42	0,7	3,1	2,16	4,58	8	1,43	1,41
MIN	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	7	2	22	3	0	0
MAX	3	1	2	2	1	1	4	2	6	1	1	2	16	9	37	32	5	4
C.V.	1,94	1,61	1,41	2,25	0,69	3,16	0,74	1,41	0,5	1,61	2,11	1,75	0,27	0,54	0,16	0,67	1,02	1,41



ΣΧΗΜΑ 13. Πυκνότητα *Fabrea salina* ανά ημέρα σε δύο αλατότητες 60ppt και 90ppt με τρία διαφορετικά μικροφύκη (*Chlorella* sp., *Dunaliella salina*, *Asteromonas gracilis*) σε συνθήκη φωτός.



ΣΧΗΜΑ 14. Πυκνότητα *Fabrea salina* ανά ημέρα σε δύο αλατότητες 60ppt και 90ppt με τρία διαφορετικά μικροφύκη (*Chlorella* sp., *Dunaliella salina*, *Asteromonas gracilis*) σε συνθήκη σκότους.

Από την εξέταση των στοιχείων του Πίνακα 4 και των Σχημάτων 13 & 14 προκύπτει εμφανώς ότι η *Fabrea* αναπτύχθηκε καλύτερα σε συνθήκες σκότους (Σχήμα 14) συγκριτικά με το φως (Σχήμα 13). Αυτό ήταν ιδιαίτερα εμφανές στην περίπτωση του μικροφύκου *Dunaliella salina* όπου η αύξηση μεταξύ των ημερών 1 και 3 ήταν 98% στο σκοτάδι συγκριτικά με το φως (90%) ιδιαίτερα στην αλατότητα των 60 ppt η οποία ήταν ανώτερη από την αντίστοιχή της στα 90 ppt (97% στο σκοτάδι έναντι 98% στο φως). Γενικώς σε μια συνολική αρχική θεώρηση το μικροφύκος *Dunaliella* έδωσε την υψηλότερη αύξηση μεταξύ των 3 δοκιμασθέντων μικροφυκών.

Η αμέσως καλύτερη ανάπτυξη παρουσιάστηκε στη θρέψη με το επίσης αλοανθεκτικό φύκος *Asteromonas gracilis* το οποίο παρουσίασε σχεδόν παρόμοιο πρότυπο αύξησης τόσο στο φως (97%) όσο και στο σκοτάδι (95%) στην αλατότητα των 60 ppt και με ανεπαίσθητα μικρότερη αύξηση στα 90 ppt (93% στο φως, 92% στο σκοτάδι).

Το μικροφύκος *Chlorella sp.* παρουσίασε τη μικρότερη αύξηση μεταξύ των 3 μικροφυκών σε όλες τις αλατότητες με 50% στο σκοτάδι στα 60 ppt και με 78% στο φως και 90% στο σκοτάδι στα 90 ppt, με εξαίρεση τα 60ppt στο φως όπου ξεκίνησε να εμφανίζεται μείωση από την 2^η ημέρα. Από την εξέταση των ρυθμών αύξησης (r) και χρόνων γενεάς (tg) του Πίνακα 5 προκύπτει ότι τον μεγαλύτερο ρυθμό αύξησης (και αντίστοιχα τον μικρότερο χρόνο γενεάς) σε μια πρώτη θεώρηση έδωσε το φύκος *Dunaliella* τόσο σε συνθήκες φωτός όσο και σε συνθήκες σκότους με τη μεγαλύτερη τιμή του $r=2,25$ στα 90 ppt και στο φως. Ακολούθησε το φύκος *Asteromonas* με τιμή $r=1,83$ στα 60 ppt στο φως. Η χαμηλότερη τιμή (1,15) από αυτές της βέλτιστης απόδοσης μεταξύ των φυκών παρουσιάστηκε στο φύκος *Chlorella* στα 90 ppt και στο σκοτάδι. Εικάζεται βάσει των παραπάνω ευρημάτων ότι την καλύτερη ανάπτυξη στο πρωτόζωο αυτό προσφέρουν τα μεγαλύτερα της *Chlorella* σε κυτταρικό όγκο είδη των *Asteromonas* & *Dunaliella* τα οποία επιπλέον είναι και κινητικά ενώ η *Chlorella* μη κινητική στερούμενη μαστιγίων. Ενδεχομένως επιπλέον των παραπάνω στην καλύτερη επίδραση στην αύξηση της *Fabrea* που προσέδωσαν τα *Asteromonas* & *Dunaliella* να συνέβαλλε και το γεγονός ότι και αυτά όπως και η *Fabrea* είναι πολύ αλοανθεκτικά (Χώτος & Αβραμίδου, 1995) αποτελούντα προφανώς είδη που απαντώνται στην υπεραλατότητα, ενδιαίτημα στο οποίο ακμάζει η *Fabrea* και αποτελούν ως εκ τούτου και σημαντικό μέρος του διαιτητικού της φάσματος.

Πίνακας 5. Καταγραφή υπολογισθέντων ρυθμών αύξησης (r) και χρόνου γενεάς (tg) του πρωτοζώου *Fabrea salina* στις διάφορες συνθήκες του πειραματισμού χρησιμοποιώντας ως τροφή τα μικροφύκη *Chlorella sp.*, *Dunaliella salina*, *Asteromonas gracilis* το καθένα σε δύο υψηλές αλατότητες 60 & 90 ppt και επιπροσθέτως σε συνθήκη περιβάλλοντος φωτισμού και απόλυτου σκότους.

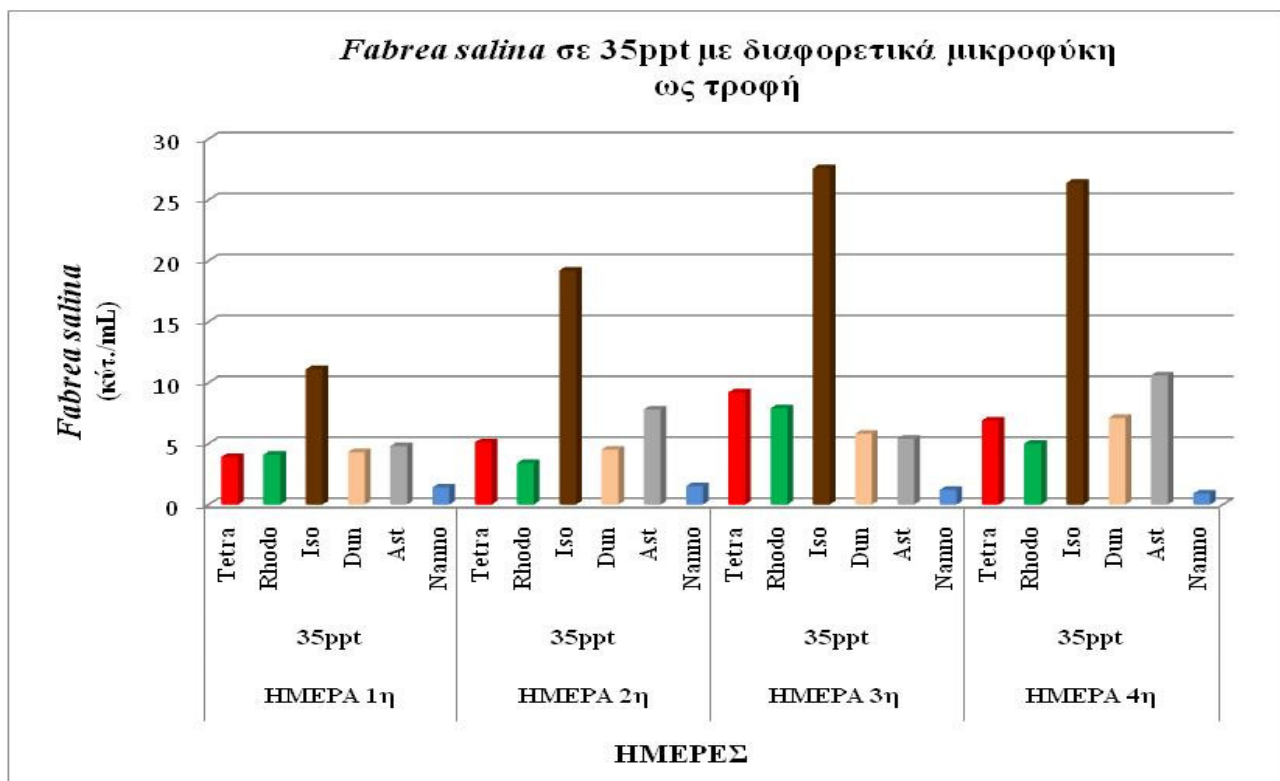
<i>Fabrea salina</i> σε 60ppt & 90 ppt (ΦΩΣ-ΣΚΟΤΑΔΙ)												
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΗΜΕΡΕΣ											
-	1η - 3η		1η - 3η		1η - 3η		1η - 3η		1η - 3η		1η - 3η	
-	ΦΩΣ		ΣΚΟΤΑΔΙ		ΦΩΣ		ΣΚΟΤΑΔΙ		ΦΩΣ		ΣΚΟΤΑΔΙ	
-	<i>Dunaliella</i>				<i>Asteromonas</i>				<i>Chlorella</i>			
-	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	90ppt	60ppt	90ppt	
r	1,17	2,25	2,02	1,84	1,83	1,36	1,56	1,29	0,77	0,34	1,15	
tg	0,59	0,3	0,34	0,37	0,37	0,5	0,44	0,53	0,9	2,03	0,6	

ΠΕΙΡΑΜΑ 4^ο: *Fabrea salina* σε αλατότητα 35ppt - επίδραση διαφορετικών ειδών μικροφυκών ως τροφή

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Συγκεντρωτικός στατιστικός πίνακας της πυκνότητας της *Fabrea salina* (κύτταρα/mL) για κάθε ημέρα σε αλατότητα 35 ppt με διάφορα μικροφύκη *Asteromonas gracilis* (A), *Nannochloropsis oculata* (N), *Isochrysis galbana* (I), *Rhodomonas salina* (R), *Tetraselmis suecica* (T), ως τροφή σε φυγοκεντρίμενη μορφή.

<i>Fabrea salina</i> (κύτ./mL) σε 35ppt με διάφορα μικροφύκη ως τροφή												
ΗΜΕΡΕΣ	1η						2η					
ΜΙΚΟΦΥΚΗ	T	R	I	D	A	N	T	R	I	D	A	N
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
M.O.	3,9	4,1	11,1	4,3	4,8	1,4	5,1	3,4	19,2	4,5	7,8	1,5
S.D.	2,07	1,66	3,33	1,41	1,98	0,96	2,05	1,71	6,21	2,01	2,39	1,43
MIN	1	2	6	2	2	0	2	1	9	1	4	0
MAX	8	7	16	7	7	3	9	7	27	7	12	4
C.V.	0,53	0,4	0,3	0,32	0,41	0,68	0,4	0,5	0,32	0,45	0,31	0,95

<i>Fabrea salina</i> (κύτ./mL) σε 35ppt με διάφορα μικροφύκη ως τροφή												
ΗΜΕΡΕΣ	3η						4η					
ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ	T	R	I	D	A	N	T	R	I	D	A	N
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
M.O.	9,2	7,9	27,6	5,8	5,4	1,2	6,9	5	26,4	7,1	10,6	0,9
S.D.	1,98	4,17	3,89	2,86	3,34	0,91	2,92	2,3	7,91	3,07	3,72	1,19
MIN	7	2	20	3	0	0	4	2	16	3	5	0
MAX	12	13	32	13	13	3	14	10	42	14	17	3
C.V.	0,21	0,52	0,14	0,49	0,61	0,76	0,42	0,46	0,3	0,43	0,35	1,33



ΣΧΗΜΑ 15. Πυκνότητα *Fabrea salina* ανά ημέρα σε 35ppt αλατότητα με διάφορα μικροφύκη (*Asteromonas gracilis*, *Rhodomonas salina*, *Isochrysis galbana*, *Dunaliella salina*, *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis suecica*).

Όπως παρατηρήθηκε στο παραπάνω πείραμα του Πίνακα 6 & Σχήματος 15 με την βασική αλατότητα 35ppt, όπου ήταν ο κύριος στόχος έτσι ώστε να διαπιστωθεί το ιδανικό μικροφύκος ως τροφή για την αύξηση της πυκνότητας της *Fabrea*, ήταν η *Isochrysis galbana*, όπου μεταξύ των ημερών 1 και 3 η αύξησή της ήταν 59% με μία μικρή μείωση την 4^η ημέρα. Το φαινόμενο αυτό της αύξησης της πυκνότητας της *Fabrea* με το μικροφύκος *Isochrysis galbana* ως τροφή πιθανότατα να οφείλεται στις υψηλές συγκεντρώσεις σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα-PUFA και ιδιαίτερα σε εικοσιδυοεξαενοϊκό οξύ 22:6ω-3 (DHA) (καλλιέργειες πλαγκτού-Γεωργίου Ν. Χώτου, 2016).

Το μικροφύκος το οποίο εμφάνισε την μικρότερη αύξηση στην καλλιέργεια της *Fabrea* και από την 4^η ημέρα άρχισε να εξασθενεί σε πυκνότητα όπως φαίνεται στον Πίνακα 6 & Σχήμα 15 ήταν η *Nannochloropsis oculata*. Αυτό ίσως οφείλεται στο γεγονός ότι υστερεί σε κινητικότητα λόγω έλλειψης μαστιγίων συγκριτικά με το μικροφύκος *Isochrysis galbana* (φέρει δύο μαστίγια) και ίσως στο φαινόμενο που παρουσιάζει, της μεγάλης αύξησης της πυκνότητάς της με επαρκή φωτισμό (>5.000 lux) στα 80.000.000 κ.τ./mL και την απότομη μείωση της καλλιέργειας μετά την 3^η-4^η ημέρα (καλλιέργειες πλαγκτού-Γεωργίου Ν. Χώτου), ωθώντας υποθετικά στην δημιουργία ενός αποπνικτικού περιβάλλοντος καλλιέργειας της *Fabrea*.

Όσον αφορά τα υπόλοιπα τέσσερα μικροφύκη (*Tetraselmis suecica*, *Rhodomonas salina*, *Dunaliella salina* και *Asteromonas gracilis*) στο Σχήμα 15 παρατηρείται πώς η *Tetraselmis suecica* εμφάνισε μια αύξηση μεταξύ των ημερών 1-3 (57%) και μία μικρή πτώση μεταξύ της 3^{ης} και 4^{ης} ημέρας. Η *Rhodomonas salina* παρουσίασε μια πτώση στην καλλιέργεια την 2^η ημέρα, όμως μεταξύ των ημερών

1-3 εμφανίστηκε μία αύξηση στην πυκνότητα της *Fabrea* που ήταν 48%. Αυτό πιθανώς οφείλεται στην ευαισθησία της καλλιέργειάς της από πιθανές μολύνσεις.

Από την άλλη, οι καλλιέργειες με τα μικροφύκη *Dunaliella salina* και *Asteromonas gracilis* δεν είχαν την ίδια πορεία αύξησης-μείωσης συγκριτικά με αυτές όπου είχαν ως τροφή τα μικροφύκη *Tetraselmis suecica* και *Rhodomonas salina* δηλαδή, στο διάστημα των ημερών 1 και 4 η *Dunaliella salina* εμφάνισε μία σχετικά μικρή αύξηση στην πυκνότητα της *Fabrea* της τάξεως του 39% ενώ η *Asteromonas gracilis* έδειξε μία πολύ καλή αύξηση στον πληθυσμό μεταξύ των ημερών 1 και 4 (54%) με την μόνη διαφορά, να εμφανίσει μια πτώση την 3^η μέρα.

Συγκρίνοντας τους ρυθμούς αύξησης (r) και χρόνους γενεάς (tg) σε αυτό το πείραμα (Πίνακας 7) με την αλατότητα στα 35 ppt η οποία θεωρείται μια τυπική αλατότητα θάλασσας για χρήση στην παραγωγή ζωντανής τροφής σε ιχθυογεννητικούς σταθμούς, παρατηρούμε ότι τις καλύτερες τιμές έδωσε το φύκος *Isochrysis* (0,45 και 1,54 ημέρες) ακολουθούμενο από το *Tetraselmis* (0,42 και 1,65 ημέρες) και το *Rhodomonas* (0,32 και 2,16 ημέρες). Τα φύκη *Dunaliella* και *Asteromonas* σε αυτή τη χαμηλή για αυτά αλατότητα έδωσαν πολύ πιο μέτριες τιμές απόδοσης (0,16 - 4,33 ημέρες και 0,26 - 2,66 ημέρες, αντίστοιχα).

Πίνακας 7. Καταγραφή υπολογισθέντων ρυθμών αύξησης (r) και χρόνου γενεάς (tg) του πρωτοζώου *Fabrea salina* σε αλατότητα 35ppt με τα εξής μικροφύκη ως τροφή (*Asteromonas gracilis*, *Rhodomonas salina*, *Isochrysis galbana*, *Dunaliella salina* και *Tetraselmis suecica*).

<i>Fabrea salina</i> σε 35ppt					
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΗΜΕΡΕΣ				
-	1η - 3η	1η - 3η	1η - 3η	1η - 4η	1η - 4η
-	<i>Isochrycis</i>	<i>Tetraselmis</i>	<i>Rhodomonas</i>	<i>Dunaliella</i>	<i>Asteromonas</i>
r	0,45	0,42	0,32	0,16	0,26
tg	1,54	1,65	2,16	4,33	2,66

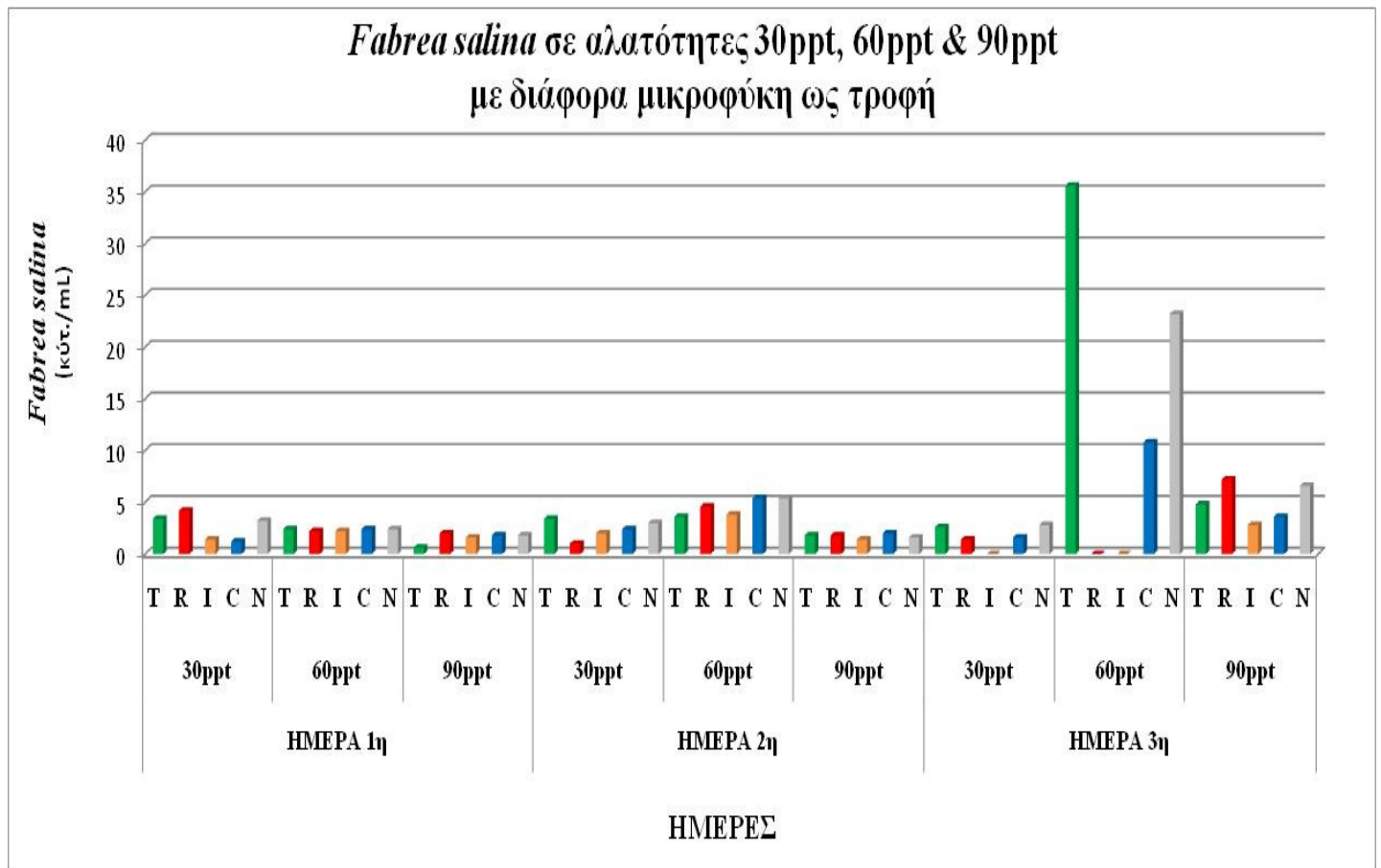
ΠΕΙΡΑΜΑ 5^ο: *Fabrea salina* σε αλατότητες 30ppt, 60ppt & 90ppt- επίδραση διαφορετικών ειδών μικροφυκών ως τροφή σε μικρότερο όγκο

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Στατιστικός πίνακας της πυκνότητας της *Fabrea salina* σε πολυθάλαμα τρυβλία (κύτταρα/θάλαμο), για κάθε ημέρα σε αλατότητες 30 ppt, 60 ppt και 90 ppt με διάφορα μικροφύκη [*Nannochloropsis oculata* (N), *Isochrysis galbana* (I), *Rhodomonas salina* (R), *Chlorella* sp. (C), *Tetraselmis suecica* (T)], ως τροφή σε φυγοκεντρίμενη μορφή.

<i>Fabrea salina</i> σε 30ppt με διάφορα μικροφύκη ως τροφή															
ΗΜΕΡΕΣ	1η					2η					3η				
ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ	T	R	I	C	N	T	R	I	C	N	T	R	I	C	N
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
M.O.	3,4	4,2	1,4	1,2	3,2	3,8	1	2	2,4	3	2,6	1,4	0	1,6	2,8
S.D.	1,14	2,49	0,54	0,83	2,68	1,79	2,23	1,22	2,3	4,12	1,92	0	1,51	2,88	2,6
MIN	2	0	1	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0
MAX	5	5	2	2	7	6	5	3	6	8	5	0	3	7	6
C.V.	0,33	0,6	0,4	0,7	0,83	0,47	2,23	0,61	0,96	1,37	0,73	0	0	1,8	0,92

<i>Fabrea salina</i> σε 60ppt με διάφορα μικροφύκη ως τροφή															
ΗΜΕΡΕΣ	1η					2η					3η				
ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ	T	R	I	C	N	T	R	I	C	N	T	R	I	C	N
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
M.O.	2,4	2,2	2,2	2,4	2,4	3,6	4,6	3,8	5,4	5,4	35,6	0	0	10,8	23,2
S.D.	0,55	0,45	0,45	1,14	0,55	1,34	1,52	0,84	1,95	1,67	25	0	0	9,44	9,73
MIN	2	2	2	1	2	2	3	3	4	4	8	0	0	4	16
MAX	3	3	3	4	3	5	7	5	8	8	60	0	0	27	40
C.V.	0,23	0,2	0,2	0,48	0,23	0,37	0,33	0,22	0,36	0,31	0,7	0	0	0,87	0,42

<i>Fabrea salina</i> σε 90ppt με διάφορα μικροφύκη ως τροφή															
ΗΜΕΡΕΣ	1η					2η					3η				
ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ	T	R	I	C	N	T	R	I	C	N	T	R	I	C	N
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
M.O.	0,6	2	1,6	1,8	1,8	1,8	1,8	1,4	2	1,6	4,8	7,2	2,8	3,6	6,6
S.D.	0,89	0	0,5	1,1	1,1	0,45	0,45	0,55	0,71	1,34	2,05	7,01	4,09	1,82	6,91
MIN	0	2	1	0	1	1	1	1	1	0	3	0	0	1	1
MAX	2	2	2	3	3	2	2	2	3	3	8	18	10	6	16
C.V.	1,48	0	0,3	0,61	0,6	0,25	0,25	0,39	0,36	0,84	0,43	0,97	1,46	0,51	1,05



ΣΧΗΜΑ 16. Πυκνότητα *Fabrea salina* ανά ημέρα σε τρεις αλατότητες 30ppt, 60ppt και 90ppt με διάφορα μικροφύκη (*Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Rhodomonas salina*, *Chlorella* sp, *Tetraselmis suecica*).

Το 5ο πείραμα εξετάστηκε σε πολυθάλαμα τρυβλία, καθένα εκ των οποίων αντιστοιχούσε σε μία αλατότητα. Κάθε τρυβλίο είχε 5X5 θαλάμους σύνολο 25 έκαστο διαστάσεων 2x2x2cm θαλάμου αντιστοίχως. Κάθε μικροφύκος τοποθετούνταν σε 5 θαλάμους (1 σειρά) και κάθε θάλαμος είχε 2 άτομα *Fabrea salina*.

Σύμφωνα με τον Πίνακα 8 & το Σχήμα 16 στην αλατότητα των 30ppt παρουσιάζεται μια σταθερή πορεία της πυκνότητας της *Fabrea* με το μικροφύκος *Tetraselmis suecica* ως τροφή με μια ελάχιστη μείωση την 3η ημέρα συγκριτικά με την 1η. Όσον αφορά τα υπόλοιπα τέσσερα μικροφύκη (*Rhodomonas salina*, *Isochrysis galbana*, *Chlorella* sp. και *Nannochloropsis oculata*), η *Rhodomonas salina* τη 2η ημέρα παρουσίασε μια μείωση στην πυκνότητας της *Fabrea* συγκριτικά με την 1η και την 3^η ημέρα αυξήθηκε απειροελάχιστα, δηλαδή μερικά από τα κύτταρα της *Fabrea* που υπήρχαν μεταμορφώθηκαν σε ακίνητα προσκολλημένα ελαφρώς στον πάτο κύστεις. Οι καλλιέργειες με τα μικροφύκη *Nannochloropsis oculata* και *Chlorella* sp. εμφάνισαν

μια σταθερή πορεία στην πυκνότητα με την μόνη διαφορά στην 1η ημέρα. Αυτό που έκανε τη διαφορά ήταν το μικροφύκος *Isochrysis galbana* με το οποίο αυξήθηκε ελάχιστα η πυκνότητα της *Fabrea* την 2η ημέρα συγκριτικά με την 1^η και την 3^η ημέρα εμφανίστηκε το φαινόμενο των σφαιρικών κύστεων, δηλαδή τα κύτταρα της *Fabrea* που υπήρχαν μεταμορφώθηκαν σε ακίνητα προσκολλημένα ελαφρώς στον πάτο σφαιρίδια.

Στα 60ppt αλλάζει εντελώς η αύξηση στην πυκνότητας της *Fabrea* σε όλα τα μικροφύκη που χορηγήθηκαν ως τροφή. Μεταξύ των ημερών 1 και 2 η αύξηση που παρατηρήθηκε στην πυκνότητα της *Fabrea* (Πίνακας 8 & Σχήμα 16) με τα μικροφύκη *Rhodomonas salina* και *Isochrysis galbana* ως τροφή ήταν η εξής 52% και 42%. Τα τρία μικροφύκη *Tetraselmis suecica*, *Chlorella* sp και *Nannochloropsis oculata* όπου χορηγήθηκαν ως τροφή έδωσαν την μεγαλύτερη αύξηση στην πυκνότητας της *Fabrea* στο διάστημα των ημερών 1-3 όπου ήταν αντιστοίχως *Tetraselmis suecica* 93%, η *Chlorella* sp 77% και η *Nannochloropsis oculata* 89%. Τα μικροφύκη *Isochrysis galbana* και *Rhodomonas salina* επηρέασαν την πυκνότητα της *Fabrea* εμφανίζοντας και εδώ για άλλη μια φορά το φαινόμενο των σφαιρικών κύστεων.

Στα 90ppt το μικροφύκος *Tetraselmis suecica*, το οποίο χορηγήθηκε ως τροφή την 1^η ημέρα εμφάνισε τον μικρότερο πληθυσμό της *Fabrea* συγκριτικά με τα άλλα 4 μικροφύκη (*Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Rhodomonas salina* και *Chlorella* sp) (βλ. Πίνακα 5). Στο διάστημα των ημερών 1-3 και τα 5 μικροφύκη εμφάνισαν αισθητά μεγάλη αύξηση στην πυκνότητα *Fabrea* (Πίνακας 8 & Σχήμα 16) αντιστοίχως: *Tetraselmis suecica* (87%), *Rhodomonas salina* (72%), *Isochrysis galbana* (42%), *Chlorella* sp. (50%) και *Nannochloropsis oculata* (72%) με μεταξύ τους διαφορές.

Εν κατακλείδι, στην αλατότητα των 30ppt η καλλιέργεια της *Fabrea* δεν έδειξε και τόσο καλά αποτελέσματα διότι δεν υπήρχε μία ικανοποιητική αύξηση της πυκνότητας. Στα 60ppt η καλλιέργεια παρουσίασε καλή πορεία με επικρατέστερα φύκη τα *Tetraselmis suecica* *Chlorella* sp. και *Nannochloropsis oculata* με την μεγαλύτερη αύξηση στην πυκνότητας της *Fabrea*, ενώ στα 90ppt η πορεία της καλλιέργειας ήταν πιο ομαλή με μια σχετικά καλή αύξηση της πυκνότητας κατά την τελευταία ημέρα.

Πίνακας 9. Καταγραφή υπολογισθέντων ρυθμών αύξησης (**r**) και χρόνου γενεάς (**tg**) του πρωτοζώου *Fabrea salina* σε 2 υψηλές αλατότητες (60ppt & 90ppt) με τα μικροφύκη (*Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Rhodomonas salina*, *Chlorella* sp, *Tetraselmis suecica*) χορηγούμενα ως τροφή.

<i>Fabrea salina</i> σε 60ppt & 90ppt										
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΗΜΕΡΕΣ									
-	1η-3η	1η-3η	1η-2η	1η-3η	1η-2η	1η-3η	1η-3η	1η-3η	1η-3η	1η-3η
-	<i>Tetraselmis</i>		<i>Rhodomonas</i>		<i>Isochrysis</i>		<i>Chlorella</i>		<i>Nannochloropsis</i>	
-	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt	60ppt	90ppt
r	1,34	1,03	0,73	0,64	0,54	0,27	0,75	0,34	1,13	0,64
tg	0,51	0,67	0,94	1,08	1,28	2,56	0,92	2,03	0,61	1,08

ΠΙΝΑΚΑΣ 10. Συγκεντρωτικός πίνακας των βέλτιστων πυκνοτήτων της *Fabrea salina* από όλα τα πειράματα στις ακόλουθες αλατότητες 35ppt, 60ppt σε συνθήκη σκότους, 60ppt σε συνθήκη φωτός, 60ppt σε πολυθάλαμο τρυβλίο, 90ppt και 120ppt με τα αντίστοιχα μικροφύκη ως τροφή: *Isochrysis galbana*, *Dunaliella salina*, *Asteromonas gracilis*, *Tetraselmis suecica*, *Asteromonas gracilis* και *Dunaliella salina* με τις εξής παραμέτρους: **Συνολικός Μ.Ο.** (μέσος όρος) των μέσων όρων όπου εμφανίστηκε η αύξηση, **Αύξηση (%)** για τις ημέρες όπου υπήρξε αύξηση %, ρυθμός αύξησης (**r**) και χρόνος γενεάς (**tg**). Οι παράμετροι αυτοί αφορούν τα διάστημα των ημερών όπου εμφανίστηκαν οι μεγαλύτεροι πληθυσμοί στην κάθε αλατότητα με το αντίστοιχο μικροφύκος και συνθήκη.

Μέγιστες αυξήσεις της <i>Fabrea salina</i> σε ποικίλες αλατότητες με τα αντίστοιχα μικροφύκη και συνθήκες						
ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ	1ο	2ο	3ο		4ο	5ο
ΗΜΕΡΕΣ ΑΥΞΗΣΗΣ	1η-3η	1η-5η	1η-3η	1η-3η	1η-3η	1η-3η
ΑΛΑΤΟΤΗΤΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	90ppt	120ppt	60ppt Σκοτάδι	60ppt Φως	35ppt	60ppt Πολυθάλαμο Τρυβλίο
ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ	AST	DUN	DUN	AST	ISO	TETRA
Μέσος Όρος ατόμων <i>Fabrea</i>	44,81/mL	16,24/mL	10,7/mL	5,93/mL	19,3/mL	13,86/θάλαμο
ΑΥΞΗΣΗ (%)	33%	98%	98%	97%	59%	93%
r	0,2	1,08	2,02	1,83	0,45	1,34
tg	3,46	0,64	0,34	0,37	1,54	0,51

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

4.1 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Πείραμα 1^ο

Το πείραμα αυτό είχε να κάνει με την καλλιέργεια της *Fabrea salina* σε 3 αλατότητες 40, 60 και 90ppt και ως τροφή χρησιμοποιήθηκε το μικροφύκος *Asteromonas gracilis*. Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 11 στα 40ppt δεν εμφανίστηκε αύξηση διότι τα άτομα της *Fabrea* υπέστησαν σοκ λόγω της μεγάλης πτώσης της αλατότητας. Αυτό το γεγονός οδήγησε τα εξασθενημένα άτομα της *Fabrea* να πάρουν την μορφή κύστεων (στρογγυλών σφαιριδίων προσκολλημένα ελαφρώς στον πάτο του δοχείου με ένα παχύ τοίχωμα για την αποφυγή της διάλυσης της πλασματικής τους μεμβράνης), μηχανισμός επιβίωσής της σε ακραίες συνθήκες. Στα 60ppt εμφανίστηκε αύξηση της τάξης του 237% (Πίνακας 1) η οποία ήταν απότομη από την 2^η ημέρα έως την 3^η αλλά η αλατότητα η οποία έδωσε την μεγαλύτερη αύξηση ήταν τα 90ppt με 33% (Πίνακας 10) στο διάστημα των ημερών 1-3 (Σχήμα 11). Σαν πρώτη εικόνα αυτό έγινε διότι τα άτομα της *Fabrea* στα 90ppt προήλθαν από master καλλιέργεια των 90ppt με το ίδιο μικροφύκος.

Πείραμα 2^ο

Με τη δημιουργία δύο νέων ακραίων αλατοτήτων 20 και 120ppt προσπαθώντας να διαπιστωθεί ένα εύρος διαβίωσης ή ακόμα και αύξησης της *Fabrea* με τα αντίστοιχα μικροφύκη σαν τροφή *Chlorella* sp. και *Dunaliella salina*, παρατηρήθηκε πως στα 20ppt όπου προήλθαν από στοκ καλλιέργεια 40ppt, η *Fabrea* όχι απλώς δεν αυξήθηκε αντιθέτως αρκετά άτομα διαλύθηκαν λόγω της πολύ χαμηλής αλατότητας και τα υπόλοιπα έγιναν κύστες (Σχήμα 12). Αυτό το αποτέλεσμα οδηγεί σε 2 υποθέσεις: η 1^η πως στην αλατότητα αυτή η καλλιέργεια δεν μπορεί να διατηρηθεί και η 2^η πως με ένα άλλο μικροφύκος ως τροφή ίσως δημιουργηθούν κατάλληλες συνθήκες έστω για τη συντήρησή της. Αντιθέτως στα 120ppt όπου προήλθαν από στοκ καλλιέργειας 90ppt, στο διάστημα των ημερών 1-5 η αύξηση της καλλιέργειας ήταν 98% (Πίνακας 10) με το βέλτιστο την 5^η ημέρα (Σχήμα 12). Αυτό συνέβη διότι τα άτομα της *Fabrea* βρέθηκαν σε περιβάλλον με υψηλή αλατότητα και υπέστησαν σοκ εμφανίζοντας και εδώ το φαινόμενο των σφαιρικών κύστεων. Αυτός ήταν και ο λόγος που η καλλιέργεια άργησε να αυξηθεί.

Πείραμα 3^ο

Σε δύο διαφορετικές συνθήκες (φως και σκοτάδι) και με δύο αλατότητες 60 και 90ppt οι οποίες έδωσαν αρκετά καλή αύξηση σε προηγούμενο πείραμα, με τρία διαφορετικά μικροφύκη ως τροφή *Chlorella* sp., *Dunaliella salina* και *Asteromonas gracilis*, παρατηρήθηκε πως οι καλλιέργειες στα 60ppt στη συνθήκη σκότους και στη συνθήκη φωτός με τα αντίστοιχα μικροφύκη *Dunaliella* και *Asteromonas*, έδωσαν τις καλύτερες αυξήσεις της τάξεως 98% και 97% (Πίνακας 10) μεταξύ των

ημερών 1-3 (Σχήμα 13 και Σχήμα 14) ομοίως για κάθε συνθήκη. Στην συνθήκη σκότους στα 60prrt η *Dunaliella* παρότι δεν υπήρχε κανένα ίχνος φωτός για την αύξηση της πυκνότητας της μέσω της φωτοσύνθεσης, ήταν το μόνο μικροφύκος το οποίο βοήθησε με την ύπαρξη του στην αύξηση της *Fabrea*. Αυτό βασίζεται στο γεγονός ότι και στα 90prrt εμφανίστηκε μια αρκετά καλή αύξηση της *Fabrea* και στις δύο συνθήκες (σκοτάδι και φώς) με την *Dunaliella* ως τροφή (Σχήμα 13 και Σχήμα 14). Οι δύο αυτές αλατότητες 60 και 90prrt προήλθαν από master καλλιέργειες *Fabrea* αντίστοιχων αλατοτήτων.

Πείραμα 4^ο

Σ' αυτό το πείραμα με μία σταθερή για τις ιχθυοκαλλιέργειες αλατότητα της τάξεως των 35prrt (αλατότητα θάλασσας) με τα εξής μικροφύκη ως τροφή: *Asteromonas gracilis*, *Rhodomonas salina*, *Isochrysis galbana*, *Dunaliella salina*, *Nannochloropsis oculata* και *Tetraselmis suecica*, αναζητήθηκε με ποιο μικροφύκος η καλλιέργεια της *Fabrea* θα έδινε την καλύτερη αύξηση. Η καλλιέργεια με το μικροφύκος *Isochrysis* ως τροφή έδωσε την καλύτερη αύξηση στην πυκνότητας της καλλιέργειας της τάξεως του 59% (Πίνακας 10) στο διάστημα των ημερών 1-3 με μία μικρή πτώση την 4^η μέρα (Σχήμα 15). Η καλλιέργεια με το μικροφύκος *Nannochloropsis* δεν έδωσε καθόλου αύξηση αντιθέτως και εδώ για ακόμα μία φορά τα άτομα της *Fabrea* πήραν την μορφή κύστεων και μερικά από αυτά πάλευαν για την επιβίωση. Τα υπόλοιπα μικροφύκη έδωσαν κάποιες αυξομειώσεις στις καλλιέργειες αντίστοιχα (Πίνακας 6 και Σχήμα 15), πιο αναλυτικά: στην καλλιέργεια με το μικροφύκος *Rhodomonas* με πτώση στην πυκνότητα την 2^η και την 4^η μέρα η αύξηση ήταν 48% μεταξύ 1^{ης} και 4^{ης} μέρας ενώ στην καλλιέργεια με το μικροφύκος *Asteromonas* εμφανίστηκε αύξηση μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} ημέρας την 3^η ημέρα μειώθηκε αλλά την 4^η ημέρα άρχισε να ανακάμπτει, στην καλλιέργεια με το μικροφύκος *Tetraselmis* ως τροφή στο διάστημα των ημερών 1-3 η καλλιέργεια αυξανόταν αρκετά καλά (57%) αλλά την 4^η ημέρα εμφανίστηκε μείωση και τέλος στην καλλιέργεια με το μικροφύκος *Dunaliella* η *Fabrea* έδωσε μία σταθερή αλλά μικρή αύξηση (39%). Η προέλευση των ατόμων της *Fabrea* προήλθε από στοκ καλλιέργεια 120prrt γεγονός που εξηγεί το φαινόμενο σφαιρικών κύστεων στην καλλιέργεια με το μικροφύκος *Nannochloropsis*.

Πείραμα 5^ο

Το 5^ο πείραμα έλαβε μέρος σε 3 πολυθάλαμα τρυβλία (διαστάσεων θαλάμου 2x2x2cm αντιστοίχως) τα οποία είχαν 25 θαλάμους το καθένα, μία αλατότητα ξεχωριστά 30, 60 και 90prrt και κάθε σειρά (5 θάλαμοι) από ένα μικροφύκος αντίστοιχα: *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Rhodomonas salina*, *Chlorella* sp, *Tetraselmis suecica*. Στα 30prrt σε κανένα μικροφύκος δεν εμφανίστηκε αύξηση λόγω της χαμηλής αλατότητας (Σχήμα 16). Στα 60prrt στο διάστημα των ημερών 1-2 όλα τα μικροφύκη έδωσαν καλή αύξηση στην πυκνότητα της *Fabrea* (Σχήμα 16) αλλά την 3^η ημέρα επικράτησαν τα εξής: *Chlorella*, *Nannochloropsis* και *Tetraselmis* με την βέλτιστη αύξηση στην καλλιέργεια με το μικροφύκος *Tetraselmis* ως τροφή της τάξεως του 93% (Πίνακας 10). Οι καλλιέργειες με τα μικροφύκη *Isochrysis* και *Rhodomonas* την 3^η ημέρα χάθηκαν εντελώς (Σχήμα 16) με ελάχιστα άτομα σε μορφή κύστεων. Στα 90prrt όλα τα μικροφύκη εμφάνισαν

αυξήσεις στις καλλιέργειες με τη μόνη διάφορα πως οι καλλιέργειες με *Isochrysis* και *Rhodomonas* ως τροφή εμφάνισαν μείωση (Σχήμα 16).

4.2 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Μετά το πέρας των 5 πειραμάτων και παρατηρώντας τον Πίνακα 10 (Συγκεντρωτικός πίνακας) βγαίνει το εξής συμπέρασμα: οι τιμές που έδωσαν οι καλλιέργειες *Fabrea* στα 90ppt, 60ppt (σε σκοτάδι & σε φως), 60ppt σε πολυθάλαμο τρυβλίο, 35ppt και 120ppt ήταν οι καλύτερες από πλευράς αύξησης της καλλιέργειας συγκριτικά, με τις υπόλοιπες αλατότητες όπου χρησιμοποιήθηκαν στο κάθε πείραμα αντίστοιχα, οι οποίες μετά βίας τα κύτταρα της *Fabrea* επέζησαν ή αυτά που κατάφεραν να επιβιώσουν διατηρήθηκαν ως έχει και μερικά από αυτά μετατράπηκαν σε κύστες (μηχανισμός άμυνας της *Fabrea* σε υψηλές ή χαμηλές αλατότητες). Όσον αφορά τα πειράματα, μπορεί να βρεθεί στη θέση κάποιος να παρατηρήσει και να συμπεράνει πως το καθένα ξεχωριστά έδωσε (κατά κάποιο βαθμό) πληροφορίες χρήσιμες, οι οποίες χρειάζονται επανεξέταση για να μπορεί να εξακριβωθεί η κατάλληλη αλατότητα με το κατάλληλο μικροφύκος ως τροφή, το συγκεκριμένο χρονικό διάστημα και ο συγκεκριμένος όγκος νερού έτσι ώστε να μπορεί να επιτευχθεί μια ικανοποιητική πυκνότητα *Fabrea*. Ακόμα, χρειάζεται να εξεταστούν περαιτέρω παράμετροι όπως: κάποιοι φυσικοχημικές παράμετροι (νιτρικά NO_3^- , νιτρώδη NO_2^- και pH), η επίδραση της παροχής οξυγόνου στις καλλιέργειες της *Fabrea*, το πόσο διατροφικά καλή είναι για τις νεαρές λάρβες, το πόσο καλά καταβροχθίζεται από αυτές και αν είναι εύπεπτη σαν ζωντανή τροφή.

Όπως εξετάστηκε στο 4^ο πείραμα (Πίνακας 6 & Σχήμα 15) όπου αφορούσε την καλλιέργεια της *Fabrea* στα 35ppt (αν μπορεί να επιβιώσει, αν μπορεί να αυξηθεί και πόσο) για την χορήγηση της σε ιχθυογεννητικό σταθμό σαν ζωντανή τροφή στα πρώτα στάδια ζωής των νεαρών λαρβών, παρατηρήθηκε πως είναι εφικτή η βιωσιμότητα αλλά και η αύξησή της με το φύκος *Isochrysis galbana* όπου έδωσε την καλύτερη αύξηση της καλλιέργειας όπως απεικονίζεται στον Πίνακα 10 με αύξηση 59% στο διάστημα των ημερών 1-3 με ειδικό ρυθμό αύξησης $r = 0,45$ και χρόνο γενεάς $tg = 1,54$. Αυτό γεννά το ερώτημα και την περιέργεια της επανεξέτασης του πειράματος αυτού για να αποδειχθεί αν αληθεύει αυτό το γεγονός. Στο 5^ο πείραμα το οποίο διέφερε από τα υπόλοιπα ως προς τον όγκο (χωρητικότητα) καλλιέργειας έλαβαν μέρος 3 καλλιέργειες *Fabrea* με τις εξής αλατότητες (30-60-90ppt) και αυτή την φορά αντί για Erlenmeyer δοχεία (όπως στα άλλα 4 πειράματα) χρησιμοποιήθηκαν πολυθάλαμα τρυβλία δηλαδή σε πάρα πολύ μικρότερους όγκους, γεγονός που στρεσάρει την καλλιέργεια από άποψη χώρου και ελευθερίας κινητικότητας και την πιθανώς δημιουργία ενός αποπνικτικού περιβάλλοντος από μία απρόσμενη αύξηση κάποιου φύκου που θα χορηγηθεί σαν τροφή. Δηλαδή όπως πιθανώς συνέβη στα 30ppt με το φύκος *Isochrysis galbana* και στα 60ppt με τα φύκη *Rhodomonas salina* & *Isochrysis galbana* την 3^η μέρα (Σχήμα 16). Η αλατότητα όπου σε αυτή την δοκιμασία μικρότερου όγκου βγήκε πρώτη ήταν τα 60ppt με το φύκος *Tetraselmis suecica* και έδωσε τα εξής αποτελέσματα (Πίνακας 10) για το διάστημα των ημερών 1-3: αύξηση 93% για το διάστημα αυτό με ειδικό ρυθμό αύξησης $r = 1,34$ και χρόνο γενεάς $tg = 0,51$. Προχωρώντας στο 3^ο πείραμα το οποίο ήταν ξεχωριστό με 2 αλατότητες (60-90ppt) σε δύο διαφορετικές συνθήκες (φως και σκοτάδι) παρατηρήθηκε ένα απρόσμενο γεγονός με τα 60ppt με *Dunaliella* ως τροφή σε συνθήκη σκότους να δίνουν την

καλύτερη αύξηση (98%) στο διάστημα των ημερών 1-3 (Πίνακας) συγκριτικά με τα 90ppr όπου με κανένα από τα 3 φύκη (*Dunaliella*, *Chlorella* και *Asteromonas*) ως τροφή δεν μπόρεσε να πλησιάσει αυτήν την αύξηση (Σχήμα 14), γεγονός που αφήνει ανοιχτές πτυχές σε ένα νέο ερευνητικό κομμάτι βασισμένο στην καλλιέργεια της *Fabrea* στο σκοτάδι ή ακόμα και άλλων οργανισμών σε συνδυασμό φυκοκαλλιέργειας. Όσο για την συνθήκη φωτός και εδώ η καλλιέργεια με τα 60ppr ήταν πρώτη με *Asteromonas* ως τροφή με αύξηση (97%) στο διάστημα των ημερών 1-3 (Πίνακας 10). Αναφερόμενοι στα 2 εναπομείναντα πειράματα (Πείραμα 1 40-60-90ppr & Πείραμα 2 20-120ppr) επικυρώνεται για μία ακόμα φορά το γεγονός πως η *Fabrea* αγαπά τις υψηλές και ακραίες αλατότητες (90-120ppr), όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 11 & Σχήμα 12. Αυτές οι δύο αλατότητες ήταν οι καλύτερες συγκριτικά με τις αντίστοιχες αλατότητες κατά πείραμα και έδωσαν τα εξής αποτελέσματα: στα 90ppr με *Asteromonas* ως τροφή (33% αύξηση, $r = 0,2$ και $t_g = 3,46$ στο διάστημα των ημερών 1-3) και στα 120ppr με *Dunaliella* ως τροφή (98% αύξηση, $r = 1,08$ και $t_g = 0,64$ στο διάστημα των ημερών 1-5) (Πίνακας 10). Η μόνη διευκρίνιση όπου μπορεί να πάρει μέρος εδώ είναι πως, αν εμβολιαστεί μια τυχαία ποσότητα *Fabrea* από master καλλιέργεια με αλατότητα τέτοιου επιπέδου σε χαμηλότερη αλατότητα (80-60-40) δύο είναι τα τινά: τα άτομα της *Fabrea* είτε θα πάρουν την μορφή κύστεων, είτε θα παραμείνουν ίδια σε πυκνότητα και μετά βίας θα επιβιώνουν. Ο μόνος τρόπος (κατά κάποιο ποσοστό) όταν επιθυμείτε η μεταφορά μιας καλλιέργειας από μία αλατότητα της τάξης του 100ppr σε μία πολύ χαμηλότερη παραδείγματος χάρη στα 60ppr, είναι να γίνει σταδιακή πτώση της αλατότητας δηλαδή η πορεία της *Fabrea* από τα 100ppr να μεταφέρεται σε αλατότητες κατά 10ppr λιγότερο της αρχικής, μέχρι να φτάσει στην επιθυμητή αλατότητα. Είναι μία πιθανή μέθοδος αλλά χρειάζεται περεταίρω έρευνα για να εξακριβωθεί.

Φτάνοντας στο τέλος της παρούσας έρευνας και παρατηρώντας τον Πίνακα 10 τα συμπεράσματα είναι τα εξής: οι πιθανότητες για καλλιέργεια της *Fabrea* σε αλατότητα θάλασσας (35ppr) και κατ' επέκταση η χρησιμοποίησή της σε ιχθυογεννητικό σταθμό αυξάνονται διότι φάνηκε όχι μόνο να αντέχει αλλά και να δίνει μία ικανοποιητική αύξηση, στο σκοτάδι στα 60ppr να υπάρχει διατήρηση και αύξηση του πληθυσμού (και συγκριτικά με τα 90ppr καλύτερη) γεγονός που μας παραπέμπει πως το συγκεκριμένο φύκος (*Dunaliella*) υπήρχε και πιθανώς αυξήθηκε, για να υπάρξει κατ' επέκταση αύξηση στην πυκνότητα της *Fabrea*, η επικύρωση της ιδιαιτερότητας του προτίμησής της *Fabrea* στις ακραίες αλατότητες (120ppr) και ο θετικός εγκλιματισμός της (βιωσιμότητα-αύξηση) σε περιορισμένο χώρο (πολυθάλαμα τρυβλία) στα 60ppr. Τα κενά τα οποία παραμένουν ανοιχτά στην γενικότερη έρευνα της ζωής της *Fabrea* και ειδικότερα στα πειράματα που ακολούθησαν είναι τα εξής: χρειάζεται απαραίτητως επανεξέταση όλων των πειραμάτων, στην ακραία αλατότητα των 120ppr χρειάζεται να δοκιμαστούν και άλλα φύκη ως τροφή, στη συνθήκη σκότους πρέπει να δοκιμαστούν τα 60ppr όπου έδωσαν πολύ καλή αύξηση και με άλλα φύκη ως τροφή, άλλες αλατότητες με αντίστοιχα μικροφύκη στο σκοτάδι, η πορεία της καλλιέργειας των μικροφυκών στο σκοτάδι και πως αυτό επιδρά στην καλλιέργεια της *Fabrea*, στα πολυθάλαμα τρυβλία να ερευνηθεί ένα μεγαλύτερο εύρος αλατοτήτων διότι ανακαλύφθηκε επιβίωση και αύξηση (60ppr), να μετρηθούν και να καταγραφούν (όπως προαναφέρθηκαν οι φυσικοχημικές παράμετροι όπως νιτρικά NO_3^- , νιτρώδη NO_2^- και pH) και τέλος η επίδραση της παροχής οξυγόνου στις καλλιέργειες της *Fabrea* σε μεγαλύτερους όγκους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Augustin, H. & Foissner, W, 1992. Morphologie und Ökologie einiger Ciliaten (Protozoa: Ciliophora) aus dem Belebtschlamm. Archiv für Protistenkunde, 141:243-283. [http://dx. doi.org/10.1016/S0003-9365\(11\)80057-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-9365(11)80057-6)
- Das, P., Mandai, S. C., Bhagabati, S. K., Akhtar, M. S. and S. K. Singh (2012).

Important live food organisms and their role in aquaculture. *Frontiers in Aquaculture*, 69-86. Narendra Publ. House Henneguy, L., F., 1890. Sur un Infusoire hétérotriche *Fabrea salina* nov. sp. *Annales de Micrographie*, 3:118-135.

- Guermazi, W., Elloumi, J., Ayadi, H., Bouain, A. & L. Aleya (2008). Rearing of *Fabrea salina* Henneguy (Ciliophora, Heterotrichida) with three unicellular feeds. *C. R. Biologies* 331, Elsevier, 56-65. doi:10.1016/j.crvi.2007.10.006.
- Hotos, G., 2018. Protists, Cyanobacteria, Rotifers and Crustacea from the hypersaline lakes of Messolonghi saltworks (W. Greece). 10th World Salt Symposium, 2018, Park city, Utah, U.S.A. 19-21 Jun 2018.
- Hotos, G., 2018. Feeding with various microalgae the salt “loving” ciliate *Fabrea salina* in normal salinity 35 ppt. *HydroMedit* 2018, 3rd Intern. Cong. on Appl. Ichth. & Aquatic Envir, Volos (Greece), 8-11 Nov. 2018.
- **HOTOS, G.** (2019). A short review on the halotolerant green microalga *Asteromonas gracilis* Artari with emphasis on its uses. *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research*, 4(3): 1-8. DOI: 10.9734/ajfar/2019/v4i330054..
- Hotos, G., (2019). Feeding with various microalgae the salt “loving” ciliate *Fabrea salina* in normal salinity 35 ppt. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 3(3):150-152. DOI: 10.26855/ijfsa.2019.07.00.
- Hotos, G., (2019). *Fabrea salina* Henneguy, 1890. A heterotrichous ciliate thriving in hypersalinity. Research Gate. DOI: 10.13140/RG.2.2.33424.87041.
- Ji Hye Kim & Mann Kyoon Shin, 2015. Novel discovery of two heterotrichid ciliates, *Climacostomum virens* and *Fabrea salina* (Ciliophora: Heterotrichea: Heterotrichida) in Korea. *Anim. Syst. Evol. Divers.* 31(3): 182-190.
- Korovesis, A. K., Hotos, G. & G. Zalidis, 2018. The role of the ciliate protozoan *Fabrea salina* in solar salt production. 10th World Salt Symposium, 2018, Park city, Utah, U.S.A., 19-21 Jun 2018.
- Lynn, D., 2008. The ciliated protozoa. Characterization, classification, and guide to the literature. 3rd ed. Springer, Dordrecht, pp. 1-605.
- Pandey, D., B., Yeragi, G., S., Reddy, K., A. & Atsushi Hagiwara, 2008. Life strategies and aquacultural usability of a hypersaline ciliate, *Fabrea salina*. *Current Science*, 94(3), 307-309.
- Rhodes, A. M. & R. P. Phelps (2006). Ciliated protozoans as alternative live food for first feeding red snapper, *Lutjanus campechanus*, larvae. *GCFI:57*, 57th Gulf and Caribbean Fisheries Institute, pp. 963-973.
- Salvatore Moscatello and Genuario Belmonte, (2009). Saline Systems Research Egg banks in hypersaline lakes of the South-East Europe. *Saline Systems*, 5:3 doi:10.1186/1746-1448-5-3.
- **ΧΩΤΟΣ, Γ. & Δ.**, ΑΒΡΑΜΙΔΟΥ (1995). Μελέτη της αύξησης του μονοκύτταρου αλλόφυλου φύκου *Asteromonas gracilis* (Chlorophyta) σε συνθήκες μαζικής καλλιέργειας με τη χρήση διαφορετικών αλατοτήτων, φωτοπεριόδου και έλλειψης πρόσθετων βιταμινών. *Γεωτεχνικά Επιστημονικά Θέματα (Geotechnical Scientific Issues)*. 6(2): 37-45.
- Χώτος, Γ., (Hotos, G.) 2016. Καλλιέργειες Πλαγκτού (ζωντανή τροφή σε ιχθυοεκκολαπτήρια). Research Gate. DOI: 10.13140/RG.2.2.24664.03849. Available from:
https://www.researchgate.net/publication/338103351_Kalliergeies_Planktou_zontane_trophe_se_ichthyoekkolapteria

