

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
Δ.Π.Μ.Σ.**

«ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«ΟΙ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥ Cd ΣΤΗΝ ΒΙΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ
Carassius auratus
ΚΑΙ ΤΗΣ *Atyaephyra desmaresti*»**

ΞΗΡΟΠΟΤΑΜΟΣ Ν. ΣΩΤΗΡΗΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2005



ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ

Καλφακάκου Βασιλική
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας
Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων
Υπεύθυνη Μονάδας Περιβαλλοντικής Φυσιολογίας

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Καλφακάκου Βασιλική, Επιβλέπουσα
Αν. Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής

Αλμπάνης Τριαντάφυλλος, Μέλος
Καθηγητής Τμήματος Χημείας

Λεονάρδος Ιωάννης, Μέλος
Επ. Καθηγητής Τμήματος Βιολ. Εφ. και Τεχνολογιών.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	4
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
1. ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΑ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ	6
1.1 Πηγές ρύπανσης	6
1.2 Είδη (Species) μετάλλων	7
1.3 Βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων	8
1.4 Βιοσυσσώρευση και παράγων μεταφοράς	10
2. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΟΥΣ ΥΔΡΟΒΙΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ .	12
2.1 Γενικά	12
2.2 Μηχανισμοί τοξικότητας μετάλλων	14
2.3 Επιδράσεις του καδμίου	15
2.4 Κάδμιο και ουρογεννητικό σύστημα	19
3. ΒΙΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ <i>Carassius auratus</i>	22
3.1 Μορφογενετικά χαρακτηριστικά	22
3.2 Οικο-Φυσιολογία	23
4. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΙΧΘΥΩΝ	24
4.1 Γενικά	24
4.2 Όρχεις.....	26
4.3 Ωοθήκες	27
4.4 Περιβαλλοντικοί παράγοντες και αναπαραγωγή	30
5. ΟΡΜΟΝΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΙΧΘΥΩΝ	33
5.1 Γενικά	33
5.2 Μοριακή δομή των ορμονών του φύλου	33
5.3 Υποθάλαμο-υπόφυσι-γονάδο-ηπατικός άξονας	36
5.4 Σύνθεση και έκκριση της 17-β οιστραδιόλης	38
5.5 Περιβαλλοντικά οιστρογόνα	43
5.6 Μηχανισμοί διάρρηξης κύκλου από τα μέταλλα	47
6. ΒΙΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ <i>Atyaephyra desmaresti</i>	49
6.1 Ταξινόμηση-Ενδιαιτήματα	49
6.2 Μορφολογία	50
6.3 Αναπαραγωγή	51
6.4 Διατροφή- Θρέψη	52
6.5 Οικολογική σημασία	54



6.6. Βαρέα μέταλλα και γαρίδες	55
II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	58
1.ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	58
1.1 Υλικό	58
1.2 Μέθοδοι	60
III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	63
IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	77
V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	80
VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	81
VII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	87



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η μελέτη της σχέσης των ρυπαντών-μετάλλων με τις τροφικές αλυσίδες και την αναπαραγωγική λειτουργία των υδρόβιων οργανισμών αποτελεί σήμερα ένα θέμα αιχμής της περιβαλλοντικής φυσιολογίας. Τα μέταλλα βιοσυσσωρεύονται και βιομεγενθύνονται μέσα από τις τροφικές αλυσίδες των οικοσυστημάτων που βασίζονται στα γλυκά νερά με ιδιαίτερα αυξημένους ρυθμούς.

Ο παράγων μεταφοράς των μετάλλων από το ένα τροφικό επίπεδο στο άλλο αποτελεί ένα εξαιρετικά αξιόπιστο δείκτη της προσβολής ενός οικοσυστήματος από τα μέταλλα και συγχρόνως ένα μέσο παρακολούθησης της συνολικής εξέλιξης του φαινομένου. Η είσοδος των μετάλλων στις υδρόβιες βιοκοινότητες μέσω της διατροφής οδηγεί σε διαταραχή κατ' αρχήν της φυσιολογίας των πληθυσμών, πριν οι συγκεντρώσεις των ρυπαντών ξεπεράσουν τα όρια ανοχής και καταστούν τοξικές για τους οργανισμούς. Οι φυσιολογικές λειτουργίες που διαταράσσονται είναι αρχικά η αναπνευστική και αμέσως μετά η αναπαραγωγική. Η διαταραχή της αναπαραγωγικής λειτουργίας αποτελεί επίσης ένα υψηλού κινδύνου δείκτη επειδή οδηγεί σε μακροπρόθεσμη μείωση των πληθυσμών και της βιοποικιλότητας και είναι διαδικασία με περιορισμένη δυνατότητα αναστροφής.

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε με αυτή την προοπτική στο Εργαστήριο Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής, υπό την επίβλεψη της κ. Β. Καλφακάκου, Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Φυσιολογίας και την συμβουλευτική καθοδήγηση των άλλων μελών της τριμελούς μου επιτροπής τον κ. Τρ. Αλμπάνη, Καθηγητή του Τμήματος Χημείας και τον κ. Ι. Λεονάρδο, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών. Η διπλωματική αυτή με εισήγαγε σε εξαιρετικά ενδιαφέροντες επιστημονικούς ορίζοντες και γνώσεις, πρακτικές και θεωρητικές, για τις οποίες ευχαριστώ ιδιαίτερα την επιβλέπουσα καθηγήτρια και τα άλλα μέλη της συμβουλευτικής μου επιτροπής. Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω προς την κ. Φ. Μανέ, βιολόγο, Msc, υποψήφια διδάκτορα και επιστημονικό συνεργάτη και την κ. Χ. Αναστασιάδη υποψήφια διδάκτορα του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών. Υποστήριξη στην μεταπτυχιακή εργασία μου προσέφεραν επίσης και τους ευχαριστώ πολύ οι κ. κ. Α. Νάτσης, βιολόγος, π. Διευθυντής της Δ.Ε.Λ.Ι., Α. Φωτόπουλος, Επίκουρος Καθηγητής Πυρηνικής Ιατρικής, Π. Βεζυράκη, Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογίας Ιατρικής, Ι. Κάγκαλου, Καθηγήτρια των Τ.Ε.Ι. Ιχθυοκομίας Ηγουμενίτσας, Δ. Φίλιου,



χημικός, υποψήφια διδάκτορας του Εργαστηρίου Φυσιολογίας όπως και τα άλλα μέλη του Εργαστηρίου Φυσιολογίας που διέθεσαν με ενδιαφέρον και φιλικότητα την βοήθειά τους.



I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΑ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

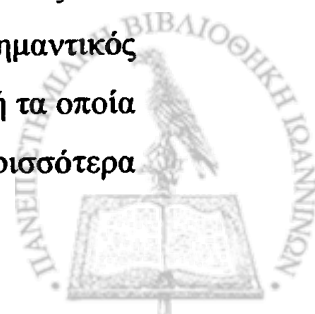
1.1 Πηγές ρύπανσης

Η ρύπανση που προκαλείται από βαρέα μέταλλα είναι σήμερα παγκόσμιο φαινόμενο. Μεταξύ των βαρέων μετάλλων, ο μόλυβδος (Pb), ο υδράργυρος (Hg), το κάδμιο (Cd), το αρσενικό (As), το χρώμιο (Cr), ο ψευδάργυρος (Zn) και ο χαλκός (Cu) έχουν το μεγαλύτερο ενδιαφέρον. Τα τρία τελευταία μέταλλα είναι επίσης απαραίτητα θρεπτικά συστατικά της διατροφής ζώων και ανθρώπων. Τα μέταλλα αυτά χρησιμοποιούνται ευρέως στην βιομηχανία, ιδιαίτερα στην επεξεργασία μετάλλων ή την επιμετάλλωση, σε προϊόντα όπως οι μπαταρίες και τα ηλεκτρονικά.

Επίσης χρησιμοποιούνται στην παρασκευή κοσμημάτων, χρωμάτων, στίλβωση κεραμικών, μελανών, χρωστικών, ελαστικών, πλαστικών, εντομοκτόνων και φαρμάκων. Τα μέταλλα μετά την χρήση τους απορρίπτονται στο περιβάλλον και τελικά εισέρχονται στις τροφικές αλυσίδες. Τα βαρέα μέταλλα είναι πολύ τοξικά, επειδή σαν ιόντα ή ενώσεις, είναι διαλυτά στο νερό και εύκολα μπορούν να απορροφηθούν από ζώντες οργανισμούς. Μετά την απορρόφηση, τα μέταλλα μπορούν να συνδεθούν με ζωτικά κυτταρικά στοιχεία όπως δομικές πρωτεΐνες, ένζυμα, και νουκλεϊνικά οξέα, και να επηρεάσουν την λειτουργία τους.

Η μεταφορά βαρέων μετάλλων από χώρους αποθήκευσης απορριμμάτων, μαζί με τις αποστραγγίσεις από γεωργικές περιοχές αποτελούν σημαντικές πηγές μη σημειακής ρύπανσης που οδηγούν σε ρύπανση των υδατικών συστημάτων. Επίσης η απορροή των νερών της βροχής στις αστικές περιοχές περιέχει μέταλλα λόγω της έκπλυσης της πόλης (έκπλυση δρόμων, κτιρίων). Οι αστικές εκροές αποτελούνται κυρίως από ανθρώπινα λύματα που μεταφέρονται μέσω υπονόμων στους τελικούς αποδέκτες (θάλασσα, ποτάμια, λίμνες). Στην ροή των λυμάτων αυτών πολλές φορές εισέρχονται και άλλα λύματα τα οποία προέρχονται από απόβλητα βιοτεχνιών και αυξάνουν την ολική συγκέντρωση των μετάλλων.

Τα αστικά λύματα, κατά την διάθεση τους στον υδάτινο αποδέκτη έχει βρεθεί ότι περιέχουν μεγάλες ποσότητες Cu, Pb, Zn, Cd, και As γεγονός που οφείλεται (σε μεγάλο ποσοστό) στη διάβρωση του δικτύου ύδρευσης. Σημαντικός εμπλουτισμός προέρχεται από τα μέταλλα που βρίσκονται σε διαλυτή μορφή τα οποία οφείλονται στην παρουσία απορρυπαντικών και καθαριστικών. Τα περισσότερα

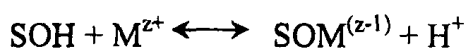


ενζυμικά καθαριστικά περιέχουν ίχνη των στοιχείων Pb, Cr, Co, Zn, Sr και B. Σε θαλάσσια ιζήματα που βρίσκονται κοντά σε αγωγούς αστικών λυμάτων έχουν αναφερθεί συγκεντρώσεις ιχνοστοιχείων μέχρι και 200 φορές υψηλότερες από τις φυσιολογικές.

Η διάθεση των αστικών λυμάτων και βιομηχανικών αποβλήτων που γίνεται σε υδάτινες μάζες (λίμνες, ποτάμια, θάλασσες) προκαλεί διαταραχές στα αντίστοιχα οικοσυστήματα και πολλές φορές έχει σημαντική επίδραση στις βιοκοινότητες. Μια τέτοια περίπτωση αποτελεί η επιβάρυνση των υδάτινων αποδεκτών με σημαντικές ποσότητες μετάλλων, τα οποία είναι σε θέση κάτω από κατάλληλες συνθήκες να εισέλθουν στην τροφική αλυσίδα των υδρόβιων οργανισμών και στη συνέχεια να προσβάλλουν τον άνθρωπο.

1.2 Μορφές (species) μετάλλων

Σε πολλά υδάτινα περιβάλλοντα η τύχη των μεταλλικών ιόντων ρυθμίζεται από τις αντιδράσεις προσρόφησης και επαναπορρόφησης που λαμβάνουν χώρα μεταξύ των υδάτινων διαλυμάτων των υλικών όπως οξειδίων Fe/Al και των υδροξειδίων. Το θεωρητικό μοντέλο προσρόφησης των μετάλλων είναι:



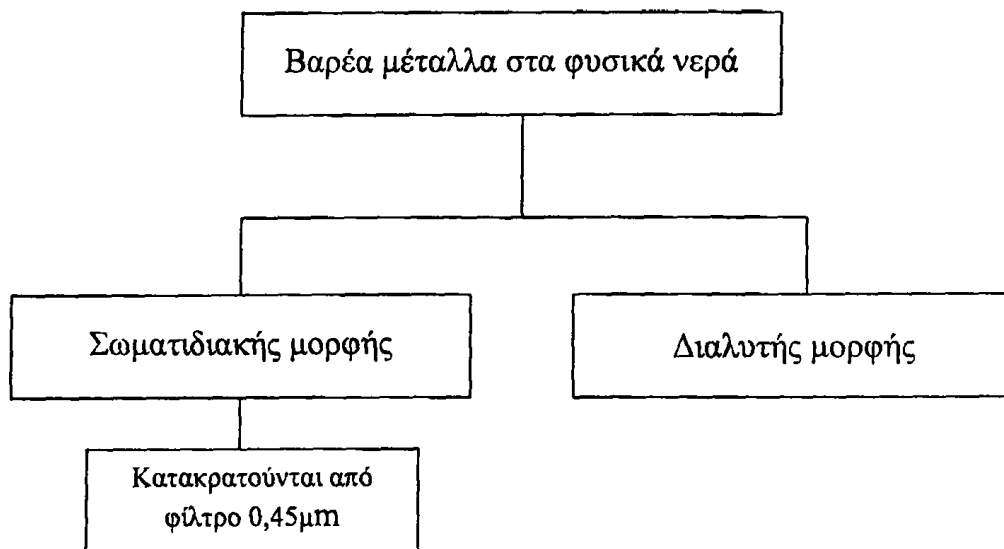
SOH: περιοχή οξειδίου με ελαφρά επικράτηση των πρωτονίων

M :κατιονική προσροφημένη ουσία και

z :σθένος

Από την παραπάνω αντίδραση φαίνεται καθαρά ο ρόλος του pH όπου με αύξησή του ή με αύξηση της συγκέντρωσης SOH αυξάνεται η προσρόφηση των κατιόντων. Σε αυξημένο pH έχουμε σημαντική καθίζηση των υδροξειδίων των μετάλλων, ενώ σε χαμηλό pH έχουμε μεγαλύτερη αλληλεπίδραση μεταξύ μετάλλων και οργανικών (Cheng MH. et al., 1975).





Τα μέταλλα στα φυσικά νερά υπάρχουν ως ελεύθερα ιόντα, ανόργανα σύμπλοκα, οργανικά σύμπλοκα (λόγω σχηματισμού χηλικών ενώσεων), ενωμένα με υψηλού μοριακού βάρους οργανικό υλικό, υψηλά διασπαρμένα κολλοειδή, προσροφημένα σε κολλοειδή και καθιζάνοντα σε οργανικά μέρη. Η βιολογική διαθεσιμότητα και οι διάλυση των μετάλλων στο νερό σχετίζονται με τη χημική τους μορφή (πιν. 12) (Harrison R. et al., 1980, Stumm W. et al., 1973).

Πιν. I-2: Μορφές βαρέων μετάλλων στα νερά σύμφωνα με το μέγεθος (Harrison R.M. et al., 1980)

Μέγεθος (m)	1		10		10		100
	Διαλυτά		Κολλοειδή		Σωματιδιακά		
Μορφές	ελεύθερα μεταλλικά ιόντα	ανόργανα ιονικά ζεύγη οργανικοί χηλιοποιητές	οργανικά σύμπλοκα	μέταλλα ενωμένα με μεγάλου οργ. υλικά	μέταλλα προσροφημένα σε κολλοειδή	μέταλλα ενωμένα με οργανικά υλικά που παραμένουν σε ζώντες οργανισμού	ορυκτά μέταλλα προσροφημένα σε στερεά καθιζάνοντα συνκαθίζονται
Παραδείγματα	Pb ⁺²	PbHCO ₃ ⁺ Pb-EDTA	Pb-φουλβικά οξέα	Pb-χουμικά οξέα	Pb-Fe (OH) ₃ Pb-MnO ₂	Pb-οργ. Στερεά	Pb-άργιλος PbCO ₃ (s)

1.3 Βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων

Η μεταφορά και οι μετασχηματισμοί των ιχνοστοιχείων και των ενώσεων τους στο φυσικό περιβάλλον περιγράφονται από βιοχημικούς κύκλους. Η συμπεριφορά των ιχνοστοιχείων στο υδάτινο περιβάλλον, καθορίζεται από μια σειρά δυναμικών φυσικοχημικών ισορροπιών και αλληλεπιδράσεων. Οι συγκεντρώσεις των



ιχνοστοιχείων στο θαλάσσιο νερό είναι πολύ χαμηλότερες από τις αναμενόμενες βάσει των γινομένων διαλυτότητας ακόμη και των λιγότερο διαλυτών ενώσεών τους (κυρίως Cl^- , OH^- , CO_3^{2-}). Συμπερασματικά φαίνεται ότι υπάρχουν μηχανισμοί που απομακρύνουν τα ιχνοστοιχεία από το διάλυμα.

Τα μέταλλα μπορούν και διακινούνται υπό διάφορες μορφές στα υδάτινα οικοσυστήματα: ελεύθερα ιόντα, ζεύγη, ανόργανα ή οργανικά σύμπλοκα, ενωμένα με μεγαλομοριακές οργανικές ενώσεις, υπό κολλοειδή μορφή προσροφημένα σε κολλοειδή σωματίδια, ενσωματωμένα στο σώμα των υδρόβιων οργανισμών και των προϊόντων αποσύνδεσής τους κλπ. Η διαλυτή φάση των μετάλλων είναι σημαντική γιατί είναι στην πιο κατάλληλη μορφή για να εισέλθει στους υδρόβιους οργανισμούς, (π.χ τα μέταλλα που βρίσκονται σε διαλυτή μορφή μπορούν να εισέλθουν στα κύτταρα των μικροοργανισμών, αλλά και τα αιωρούμενα κολλοειδή περνούν μέσω των βραγχίων στον οργανισμό των ψαριών (Kalfakakou V. et al,1987,1987,1991, Kagalou I.et al,1989,1990)

Ειδικότερα, στους υδρόβιους οργανισμούς τα μέταλλα εισέρχονται με τρεις τρόπους: με παθητική διάχυση λόγω κλίσης συγκέντρωσης, μέσω της τροφής όπου είναι προσροφημένα ή παρόντα και μέσω της αναπνοής (βράγχια). Η είσοδός τους στους οργανισμούς επηρεάζεται από τη φυσιολογική κατάσταση του ζώου (στάδιο ζωής, αναπαραγωγική κατάσταση, μέγεθος, φύλο κ.α) περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η αλατότητα, (που επηρεάζουν τη φυσιολογία του οργανισμού και πιθανώς τη μορφή του μετάλλου στο νερό (ανόργανη –οργανική, διαλυτή –σωματιδιακή κλπ) καθώς και από την παρουσία άλλων μετάλλων (φαινόμενα συνέργιας ή ανταγωνισμού) (Roberts et al 1976, Rainbow 1985).

Αποτελέσματα από πρόσφατες έρευνες που έγιναν στη Μεσόγειο, έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στην ανοιχτή θάλασσα, βρίσκονται σε ελαφρώς υψηλά επίπεδα, σε σύγκριση με εκείνες του Ατλαντικού ωκεανού. Όσον αφορά τις παράκτιες περιοχές, η ρύπανση από βαρέα μέταλλα αποδίδεται κυρίως στις μεγάλες ποσότητες αστικών και βιομηχανικών αποβλήτων και στην ουσιαστική έλλειψη ελέγχου της ρύπανσης από τοξικές ουσίες.



	Επιβάρυνση από παράκτιες περιοχές		Επιβάρυνση από ποταμούς που εκβάλουν στην μεσόγειο	
	Αστικά λύματα	Βιομηχανικά απόβλητα	Ρυπασμένες περιοχές	Φυσικές συγκεντρώσεις
Hg	0.8	7	90	30
Pb	200	1400	2200	1000
Cr	250	950	1200	400
Zn	1900	5000	14000	4000

Πίνακας I 1: Υπολογισμός της ετήσιας επιβάρυνσης της Μεσογείου από βαρέα μέταλλα (tn/έτος) χερσαίων πηγών.

1.4 Βιοσυσώρευση και παράγων μεταφοράς

Τα τροφικά επίπεδα που συγκροτούνται με βάση το νερό και τους οργανισμούς των υδρο-οικοσυστημάτων βασίζονται κατ' αρχήν στους οργανισμούς που αποδομούν την καθιζάνουσα οργανική ύλη στον πυθμένα και το φυτοπλαγκτόν. Το αμέσως επόμενο τροφικό επίπεδο συγκροτούν συνήθως το ζωοπλαγκτόν και προνύμφες υδρόβιων εντόμων. Βενθόβιοι και νηχόμενοι οργανισμοί όπως τα μαλάκια αποτελούν τους καταναλωτές 3^{ου} επιπέδου, όπως και μικρού μεγέθους πλαγκτονοφάγα ψάρια. Τετάρτου επιπέδου οργανισμούς αποτελούν τα σαρκοφάγα ψάρια και τα υδρόβια πτηνά και τρέφονται με υδρόβιους οργανισμούς. Καταναλωτής 5^{ου} επιπέδου θεωρείται ο άνθρωπος.

Τα μέταλλα προσβάλλουν μέσα από φυσικές ή ανθρωπογενείς δραστηριότητες τα οικοσυστήματα των άναλων νερών, με πολλές μορφές όπως ήδη αναφέρθηκε και εμφανίζονται στους οργανισμούς όλων των τροφικών επιπέδων. **Βιοσυσώρευση** ενός μετάλλου συμβαίνει όταν το μέταλλο εμφανίζεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στους οργανισμούς τροφικού επιπέδου X από ότι στους οργανισμούς τροφικού επιπέδου X-1. Το πηλίκο αυτής της σχέσης συγκεντρώσεων του μετάλλου, αποτελεί τον **παράγοντα μεταφοράς (TF)**, από το ένα τροφικό επίπεδο στο άλλο. Όταν ο TF είναι σταθερά μεγαλύτερος της μονάδας (1) από την βάση προς την κορυφή της τροφικής πυραμίδας, μεταξύ των συνεχόμενων τροφικών επιπέδων, τότε συμβαίνει **βιομεγέθυνση** του μετάλλου μέσα από την τροφική αλυσίδα. Σε κάθε τροφικό επίπεδο ορισμένοι οργανισμοί αποτελούν βιοδείκτες. Τα μύδια επί παραδείγματι αποτελούν βιοδείκτες της βιοσυσώρευσης ως διηθούντες το νερό οργανισμοί και καταναλωτές που βασίζονται για την διατροφή τους στο ζώο και φυτοπλαγκτόν. Τα κρουστοφόρα αποτελούν επίσης βιοδείκτες ως νηχόμενοι αλλά



κυρίως βενθόβιοι οργανισμοί οι οποίοι αποτελούν δείκτη της επιβάρυνσης από μέταλλο των ιζημάτων και της περιοχής κοντά στον πυθμένα της υδατοσυλλογής. Οι μέθοδοι της παρουσίασης του μετάλλου στον υπό έλεγχο οργανισμό ποικίλουν ευρέως. Το ερώτημα πόσο καλά μία μέθοδος απεικονίζει τη δυναμική πρόσληψης /αποκάθαρσης τίθεται συνεχώς.

Οι δύο κύριοι οδοί εισόδου των μετάλλων στους υδρόβιους οργανισμούς είναι είτε μέσω της υδατικής μάζας που τους περιβάλλει ή μέσω της τροφής. Επειδή δε οι συγκεντρώσεις των μετάλλων ποικίλουν στα υδάτινα οικοσυστήματα η οδός μέσω της τροφής είναι πιο αποδεκτή γιατί αφ' ενός απηχεί καλλίτερα την σχέση συσσώρευσης/αποκάθαρσης του μετάλλου, αφ' ετέρου παρέχει περισσότερες πληροφορίες για την πιθανότητα βιομεγέθυνσης από το ένα τροφικό επίπεδο στο άλλο.

Επίσης οι οργανισμοί και τα μικρο-οικοσυστήματα όπου αυτοί διαβιούν, όπως και τα υπό εξέταση μέταλλα και τα όργανα στόχοι των μετάλλων πρέπει να συνεκτιμούνται. Επί παραδείγματι τα επίπεδα μετάλλων Cu και Zn ήταν υψηλότερα στους ιστούς καβουριών και οστράκων από περιοχές κοντά στην πηγή οικιστικής ή βιομηχανικής ρύπανσης (Sanders M, 1984). Αντίθετα βρέθηκε ότι τα κρουστοφόρα ομοιοστατούν τα απαραίτητα μέταλλα Cu, Mn, Zn. Παρατηρήθηκε επίσης δυναμική βιομεγέθυνση του Cd από το μύδι, στο ηπατοπάγκρεας του καβουριού *P. pelagicus*, αποδιδόμενη στην σχέση θηράματος-θηρευτή που συνδέει τους 2 οργανισμούς (Mc Pherson R, 2001).

Πολλές προσεγγίσεις έχουν γίνει επίσης για την εκτίμηση της συμμετοχής των διαλυτών ή συμπαγών πηγών μετάλλων στην βιοσυσσώρευση που συμβαίνει στους υδρόβιους οργανισμούς. Η κατανομή των μετάλλων στους ιστούς είναι επί παραδείγματι ενδεικτική της κύριας οδού εισόδου στον οργανισμό. Αν δηλ. το μέταλλο είναι συσσωρευμένο στα βράγχια υποσημαίνεται ότι το μέταλλο προσλαμβάνεται από το νερό. Αν είναι συσσωρευμένο στο έντερο, προσλαμβάνεται από την τροφή (Luoma S.N., 1983)

Οι Eimers et al, 2001 έδειξαν ότι το νερό είναι σημαντικός φορέας της συσσώρευσης του Cd στο ισόποδο *Asellus racovitzai* και παράγοντες που μειώνουν τις συγκεντρώσεις του Cd στα διαλύματα (π.χ. αυξημένο οργανικό περιεχόμενο των ιζημάτων) μειώνουν την βιοσυσσώρευση του Cd.



2. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΟΥΣ ΥΔΡΟΒΙΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ

2.1 Γενικά

Η έκθεση σε τοξικές ουσίες γενικά προκαλεί βιοσυσσώρευση των ουσιών αυτών αύξηση του stress και αύξηση της θνησιμότητας. Οι δείκτες που μετρούν αυτή την κατάσταση είναι εξαιρετικά ευαίσθητοι και ειδικοί και μπορούν να αποτελέσουν ένα σύστημα πρώιμης προειδοποίησης ρύπανσης (Langston 1990, Viarengo 1991).

Τα μύδια (*Mytilus edulis* και *Mytilus galloprovincialis*) π.χ. αποκρίνονται στις συγκεντρώσεις μετάλλων στο περιβάλλον, αλλά και στους ίδιους τους ιστούς τους,

α) απεκκρίνοντας μέταλλα ανάλογα με το σωματικό τους φορτίο,

β) αποτοξικοποιώντας και αποθηκεύοντας τα μέταλλα και

γ) αυξάνοντας τελικώς την απεκκριτική τους ικανότητα ως προς τα μέταλλα. Η ικανότητα των μυδιών να ρυθμίζουν ή όχι τη βιοσυσσώρευση ποικίλει από όργανο σε όργανο (Μανέ Φ1996, Amiard –Triquet, 1986) Επίσης εξαρτάται από την παρουσία άλλων μετάλλων, συγκεκριμένα η συσσώρευση του Cu ευνοείται από την παρουσία Zn, Cd, Pb, Ag στο νερό (Elliot, 1986). Η βιοσυσσώρευση των μετάλλων επηρεάζει μέσω των τροφικών αλυσίδων και οργανισμούς όπως τα πτηνά των υδροβιοτόπων που βασίζουν την διατροφή τους σε αυτές τις αλυσίδες και αποτελούν μέρος των υδρο- βιοκοινοτήτων (Goutner, 2001)

Οι επιδράσεις των βαρέων μετάλλων μπορούν να μελετηθούν σε διαφορετικά επίπεδα (κύτταρο, οργανισμός, βιοκοινότητα):

1. Βιοχημικές αποκρίσεις σε κυτταρικό επίπεδο

a) Επαγωγή μεταλλοθειονίνων (MTs). Οι μεταλλοθειονίνες αποτελούν διαλυτές θερμοσταθερές, χαμηλού μοριακού βάρους πρωτεΐνες, με υψηλή συγγένεια για κατιόντα βαρέων μετάλλων όπως Ag, Hg, Cd, Zn. Οι μεταλλοθειονίνες προστατεύουν τις κυτταρικές δομές από μη ειδική αλληλεπίδραση των κατιόντων με βιολογικά μόρια (π.χ: μέταλλο-ένζυμα), δεσμεύοντάς τα σε μη τοξική μορφή κι έτσι αποτοξικοποιούν την περίσσια μέταλλου, που εισέρχεται στο κύτταρο (Viarengo 1984, 1990, 1991, Rainbow 1985, Langston 1990). Όταν κορεστεί η δεσμευτική ικανότητα των μεταλλοθειονίων (είτε γιατί η σύνθεση πέραν μιας ποσότητας περιορίζεται γενετικά είτε γιατί η αυξημένη συγκέντρωση μετάλλου παρεμβαίνει στη σύνθεσή τους) παρουσιάζονται τοξικά φαινόμενα.

b) Αλλαγές στη λυσοσωμική μορφή και δραστηριότητα, που αποτελούν άλλη μια ένδειξη προσπάθειας αποτοξικοποίησης. Ακόμα τα μέταλλα καταλύοντας την

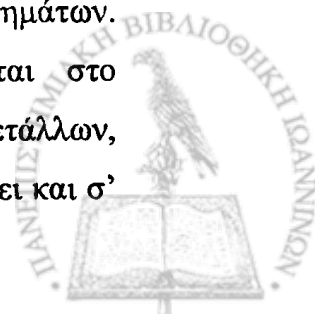


υπεροξειδωση των λιπιδίων της μεμβράνης των λυσοσωμάτων κι έτσι προκαλώντας την *in vivo* αποσύνθεσή τους, οδηγούν στην υπερπαραγωγή της λιποφουσκίνης, μιας αδιάλυτης, φθορίζουσας, λιποπρωτεϊνικής χρωστικής που δεσμεύει τα μέταλλα (Lowe 1988, Viarengo 1990).

2. Αποκρίσεις ολόκληρου του οργανισμού

- a) **Αύξηση.** Ένας άλλος δείκτης που χρησιμοποιείται ευρέως για τον καθορισμό της ανάπτυξης και δείχνει τη φυσιολογική κατάσταση είναι το **όριο αύξησης** (score for growth). Το όριο αύξησης ορίζεται ως η ενέργεια που είναι διαθέσιμη για αύξηση και αναπαραγωγή και υπολογίζεται από τη διαφορά μεταξύ της ενέργειας που προσλαμβάνεται μέσω της τροφής και της ενέργειας που χάνεται λόγω της αναπνοής ή της απέκκρισης. Ο δείκτης αυτός μειώνεται καθώς αυξάνεται το σωματικό φορτίο σε μέταλλα (όπως Cu, Cr) δηλαδή κατά τη διαβάθμιση ρύπανσης (Langston 1990)
- b) **Μορφολογία.** Σε προνυμφιακά και εμβρυακά στάδια μυδιών παρατηρήθηκαν μορφολογικές και ιστοπαθολογικές ανωμαλίες μετά από έκθεση σε μέταλλα (τουλάχιστον όσον αφορά τους Cu, Hg, και Cd και λιγότερο για το Cr και Pb). (Langston 1990). Επίσης παρατηρούνται και ιστολογικές αλλαγές στα ενδοθηλιακά κύτταρα των βραγχίων παρεμποδίζοντας έτσι την αναπνοή και τις ανταλλαγές των ηλεκτρολυτών και ιόντων (Paquin et al ,2002)
- Συνήθης είναι κι ο διαχωρισμός επιθηλιακών κυττάρων κι η κυτταρική νέκρωση σε βράγχια (Spicer 1991).
- c) **Αναπαραγωγή.** Η παρουσία μετάλλων προκαλεί μείωση της ανάπτυξης του αναπαραγωγικού συστήματος των ψαριών και μείωση της γονιμότητας με εκφυλισμό των γαμετών (ατρησία) ή με μείωση της κινητικότητας του σπέρματος ή με καταστολή της ανάπτυξης ωοκυττάρων Έτσι μακροπρόθεσμα παρεμποδίζονται η γαμετογένεση ,η εμβρυογένεση και η ωοτοκία (Langston 1990, Adukwe A,2001).

3. Αποκρίσεις κοινότητας. Είναι σίγουρα σημαντικότερες από αυτές που συμβαίνουν σε ένα μόνο είδος. Τα μέταλλα μειώνουν την ανταγωνιστικότητα των πιο ευαίσθητων οργανισμών εκτοπίζοντάς τους, οπότε κυριαρχούν τα πιο ανθεκτικά είδη εις βάρος των άλλων, με αποτέλεσμα τη δημιουργία πιο απλοποιημένων οικοσυστημάτων. Μάλιστα θεωρείται ότι οι αλλαγές ποικιλότητας που παρατηρούνται στο φυτοπλαγκτόν δεν προκύπτουν απαραίτητα από άμεση τοξικότητα των μετάλλων, αλλά ίσως λόγω μειωμένης θηρευτικής πίεσης. Αυτό αναμένεται να επηρεάσει και σ'



ανώτερα τροφικά επίπεδα καθώς μειώνεται η επιλογή κι η αφθονία της προτιμώμενης λείας λόγω αλλαγής του κυρίαρχου είδους (Langston 1990, Paquin P. et al, 2002).

2.2 Μηχανισμοί τοξικότητας μετάλλων

Η περίσσεια ενός ελεύθερου μετάλλου μπορεί να προκαλέσει τοξικά συμπτώματα αντιδρώντας κατά μη εξειδικευμένο τρόπο με πρωτεΐνες ή βιομόρια διαταράσσοντας το φυσιολογικό μεταβολισμό άλλων μετάλλων (Van Rig AM. et al., 1990).

Οι μοριακοί μηχανισμοί τοξικότητας των μετάλλων ασκούνται ως εξής:

- Αντικαθιστούν και εκτοπίζουν τα απαραίτητα μεταλλικά ιόντα από τα βιομόρια καθώς και από άλλες βιολογικές μονάδες δράσεως.
- Αποκλείουν απαραίτητες δραστικές ομάδες των βιομορίων συμπεριλαμβανομένων των ενζύμων και πολυνουκλεοτιδίων.
- Τροποποιούν την ενεργό συναρμολόγηση – προσαρμοστικότητα των βιομορίων ιδιαίτερα των ενζύμων και των πολυνουκλεοτιδίων.
- Καταστρέφουν, διαταράσσουν την ακεραιότητα των βιομορίων.
- Τροποποιούν κάποια άλλη βιολογικά ενεργό ουσία- παράγοντα.

Οι 3 πρώτοι παράγοντες οφείλονται στην ικανότητα των μετάλλων να δεσμεύουν ισχυρά το οξυγόνο, το άζωτο και τα άτομα θείου. Αυτά τα άτομα είναι άφθονα στα βιολογικά συστήματα και μπορούν να υποκατασταθούν από τα μεταλλικά ιόντα. Σε πολλές περιπτώσεις το μεταλλικό ιόν μιας ενεργής θέσης μπορεί να εκτοπισθεί από ένα άλλο διαφορετικό ιόν σχηματίζοντας ένα παράγωγο με διαφορετική ή καθόλου βιολογική δραστηριότητα. Επιπλέον τα τοξικά μεταλλικά ιόντα μπορούν να συνδυαστούν με τις δραστικές ομάδες των πρωτεϊνών και να μετατρέψουν την πρωτεΐνη σε ανενεργή (αυτό γίνεται ιδιαίτερα με τον Hg^{+2} ο οποίος έχει μεγάλη τάση σύνδεσης με τα άτομα του θείου ($k=1 \cdot 10^{24}$). Είναι γνωστό δε ότι τα πολυπεπίδια που δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα στα ζώα και τα φυτά, έχουν υψηλή συγκέντρωση κυστεΐνης, που είναι πλούσια σε σουλφυδρικές ομάδες (Fergusson J., 1990, Hay R., 1987, Song MK. et al., 1985).



Η τοξικότητα και η βιολογική διαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων εξαρτάται από τη φυσικοχημική τους κατάσταση. Μία από τις πιο σημαντικές περιβαλλοντικές παραμέτρους είναι το pH. Σε οξειδωτικές συνθήκες τα μέταλλα τείνουν να υπάρχουν ως ελεύθερα τοξικά ενυδατωμένα ιόντα, ενώ σε αλκαλικά περιβάλλοντα (όπως θαλασσινό νερό) μπορούν να καθιζάνουν ως αδιάλυτα σύμπλοκα. Έτσι η αύξηση του pH (αλκαλοποίηση) μπορεί να μειώσει την τοξικότητα των βαρέων μετάλλων. Επιπλέον τα ιόντα H^+ μπορούν να είναι ανταγωνιστικά με τα ελεύθερα ιόντα μετάλλων και έτσι η μείωση του pH μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της τοξικότητας του μετάλλου. (Παπαγιάννης Ι., 2000) .Επίσης η τοξικότητα των Pb, Cu, Zn, Cd, Hg μπορεί να μειωθεί με την παρουσία αλάτων Ca, Mg κυρίως λόγω της συγκαταβύθισης και έτσι μπορεί να εξηγηθεί κατά ένα μέρος η μειωμένη τοξικότητα που σχετίζεται με την αύξηση της σκληρότητας στα γλυκά νερά. Επίσης ο απ' ευθείας ανταγωνισμός Ca^{+2} , Mg^{+2} και μετάλλων μπορεί να μειώσει την τοξικότητα αυτών (Bertini I. et al., 1992, Fergusson JE., 1990).

Τα θρεπτικά άλατα επίσης επηρεάζουν την τοξικότητα. Ο φώσφορος (ως φωσφορικό άλας) μειώνει την τοξικότητα των μετάλλων προκαλώντας καθίζηση. Η παρουσία οργανικών ουσιών εξάλλου που προέρχονται από φύκη μπορεί να μειώσει την τοξικότητα των βαρέων μετάλλων καθώς και η πυκνότητα των φυκών είναι αρνητικά συσχετιζόμενη με την τοξικότητα εξαιτίας των αυξημένων θέσεων δέσμευσης των μετάλλων που διαθέτουν (Fergusson JE., 1990).

2.3 Επιδράσεις του καδμίου

Το κάδμιο(Cd) είναι μέταλλο μετάπτωσης της ομάδας 5 ΙΙb μαζί με τον Zn και Hg. Συχνά συνοδεύεται από τον Zn. Οι ΗΠΑ είναι ο μεγαλύτερος παραγωγός καδμίου, με μια ετήσια παροχή περίπου 5.000 τόνων. Το Μεξικό είναι ένας σημαντικός παραγωγός σκόνης και αιθάλης που περιέχουν - Cd, όμως οι περισσότερες από αυτές παράγονται στα χυτήρια των ΗΠΑ.

Ιδιότητες και Χρήσεις

Το κάδμιο είναι αργυρό-λευκό μέταλλο με ατομικό βάρος 112.4 και χαμηλό σημείο τήξης στους $321^{\circ} C$. Είναι μαλακό και μπορεί να περιτυλιχθεί σε φύλλα. Το μέταλλο ενώνεται με την πλειονότητα των βαρέων μετάλλων για τον σχηματισμό κραμάτων. Εύκολα οξειδώνεται στην +2 οξειδωτική κατάσταση, δίνοντας το άχρωμο



Cd²⁺ ιόν. Το κάδμιο παραμένει σταθερό στο περιβάλλον και ο βιολογικός χρόνος ημισείας – ζωής είναι 10 ως 15 χρόνια.

Περίπου τα 2/3 όλου του παραγομένου Cd χρησιμοποιείται στην επικάλυψη χάλυβα, Fe, Cu, ορείχαλκου, και άλλων κραμάτων για την προστασία τους από την διάβρωση. Άλλες χρήσεις συμπεριλαμβάνουν ηλεκτροσυγκολλήσεις, χρωστικές, πλαστικά, ελαστικά, εντομοκτόνα, γαλβανισμένο σίδηρο, κτλ. Ειδικές χρήσεις βρίσκει το Cd στην βιομηχανία αεροσκαφών και στους ημιαγωγούς. Επειδή το Cd απορροφά δραστικά νετρόνια, χρησιμοποιείται επίσης στον έλεγχο ράβδων ατομικών αντιδραστήρων. Ιδιαίτερη σημασία έχει η χρήση του Cd σαν σταθεροποιητή των πλαστικών που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή σωλήνων ύδρευσης, άρδευσης και γενικά αγωγών ύδατος για διάφορες χρήσεις.

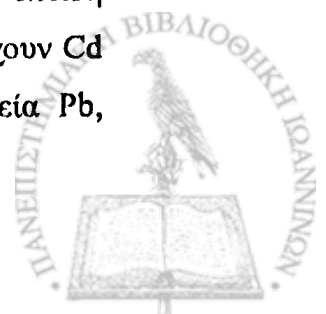
Οδοί εισόδου

Οδούς εισόδου του Cd αποτελούν ο αέρας, το νερό και οι τροφές. Ατμοσφαιρικές εκπομπές Cd μπορεί να προκαλέσουν δραστηριότητες όπως: εξόρυξη και μεταλλουργικές επεξεργασίες, καύση φυσικών καυσίμων, εκτύπωση υφαντών, εφαρμογή γονιμοποιητικών και μυκητοκτόνων, ανακύκλωση υπολειμμάτων σιδήρου και λαδιών μηχανών, διάθεση και αποτέφρωση προϊόντων που περιέχουν Cd (πχ πλαστικών), και το κάπνισμα.

Η μεγαλύτερη μη επαγγελματική οδός έκθεσης σε Cd είναι δια της κατάποσης και εισπνοής. Σχεδόν όλο το Cd του αέρα προέρχεται από την ανθρώπινη δραστηριότητα, έτσι η μεγαλύτερη συγκέντρωση ανευρίσκεται σε βιομηχανικές πόλεις και στην γειτονία διεργασιών καθαρισμού (Fleischer 1974). Οι αεροφόροι οδοί έκθεσης, ωστόσο, δεν είναι τόσο σημαντικοί όσο οι οδοί από το έδαφος και το νερό.

Ο καπνός σε όλα του τις μορφές περιέχει σημαντικές ποσότητες Cd, και το κάπνισμα είναι από τις μεγαλύτερες απλές πηγές έκθεσης ανθρώπων σε Cd. Επειδή η απορροφητικότητα του Cd από τους πνεύμονες είναι πολύ μεγαλύτερη από την του γαστρεντερικού σωλήνα, ο καπνός συμβάλλει σημαντικά στην ολική σωματική επιβάρυνση. Κάθε τσιγάρο κατά μέσο όρο περιέχει περίπου 1.5 ως 2 mg Cd, από το οποίο το 70% περνά στον καπνό.

Το περιεχόμενο στο νερό Cd πιθανώς είναι το μεγαλύτερο πρόβλημα επειδή το Cd είναι πολύ κοινό στο υδάτινο περιβάλλον. Πολλά απόβλητα που περιέχουν Cd καταλήγουν σε λίμνες και το νερό των θαλασσών. Απόβλητα από ορυχεία Pb,



διάφορες χημικές βιομηχανίες, λάδια μηχανών, και ελαστικά αυτοκινήτων είναι μερικά παραδείγματα.

Η ρύπανση του εδάφους από Cd μπορεί να προέλθει από αρκετές πηγές, η μεγαλύτερη των οποίων είναι η απόθεση των οικιστικών λυμάτων στα αγροτικά εδάφη. Άλλες πηγές ρύπανσης του εδάφους με Cd είναι μέσω της βροχόπτωσης και της ξηρής ιζηματοποίησης του Cd, καθώς και με τα φωσφορικά λιπάσματα.

Η κατανάλωση τροφών θεωρείται μια από τις μεγαλύτερες οδούς εισόδου του Cd στα ζώα και τον άνθρωπο κυρίως λόγω της ικανότητας των φυτών να βιοσυσσωρεύουν το μέταλλο με μεγάλη ταχύτητα. Επιπρόσθετα, οι υδρόβιοι οργανισμοί δυνητικά μπορούν να συσσωρεύσουν μεγάλες ποσότητες καδμίου.

Βιοχημική επίδραση

Έχει αποδειχθεί ότι το κάδμιο επιδεινώνει πολλές φυτικές κυτταρικές λειτουργίες όπως φωσφορυλίωση, ηλεκτρική οξείδωση, σύνθεση ATP, μιτοχονδριακή NADH οξείδωση, και μεταφορά ηλεκτρονίων. Το κάδμιο είναι ένας δυνητικός αναστολέας ενζύμων, που επηρεάζουν αρκετές λειτουργίες, όπως η PEP καρβοξυλάση, λιπάση, ινβερτάση (Yu 1991), και άλλα. Υπάρχουν εκτεταμένες αναφορές όσον αφορά την Cd-εξαρτώμενη αναστολή ενζύμων στα ζώα και τους ανθρώπους. Παραδείγματα είναι η αλκαλική φωσφατάση, ATPσες της μυοσίνης και τα μακροφάγα κύτταρα των κυψελίδων.

Δυο μηχανισμοί φαίνεται ότι ενοχοποιούνται για την αναστολή των ενζύμων. Ο ένας είναι μέσω σύνδεσης με τις SH ομάδες στο μόριο των ενζύμων, και ο άλλος μέσω ανταγωνισμού με τον Zn που τον εκτοπίζει από μεταλλοένζυμα. Στην φύση, το Cd μπορεί επίσης να συνδεθεί με SH- των δεσμών της μεμβράνης και άλλα κυτταρικά συστατικά, προκαλώντας δομικές και λειτουργικές διαταραχές. Για παράδειγμα, προκαλώντας βλάβη των μιτοχονδρίων, το Cd μπορεί να αποσυνδέσει την οξειδωτική φωσφορυλίωση και να διαταράξει τον ενεργειακό κυτταρικό μεταβολισμό. Σε μέτρια επίπεδα, η Cd- τοξικότητα αποδίδεται στις αντιμεταβολικές του δραστηριότητες έναντι απαραίτητων μετάλλων όπως Zn, Cu, Se και Fe. Επιπρόσθετα, έχει αποδειχθεί ότι οι διαιτητικές πρωτεΐνες σχετίζονται με την τοξικότητα του καταποθέντος Cd. Δίαιτα πτωχή σε πρωτεΐνη, έχει σαν αποτέλεσμα την αυξημένη απορρόφηση του Cd και έτσι αυξημένη τοξικότητα. Cd



Τοξικότητα καδμίου

ι) επίδραση στα φυτά

Το κάδμιο συσσωρεύεται από όλα τα φυτά. Όμως η έκταση της συσσώρευσης διαφέρει πολύ στα είδη και τις ποικιλίες. Το pH του εδάφους είναι ο σημαντικότερος παράγοντας ρύθμισης της πρόσληψης του Cd από τα φυτά, με το χαμηλό pH να ευνοεί την πρόσληψη. Έχει αποδειχθεί ότι οι φυτείες καπνού απορροφούν υψηλά επίπεδα Cd, από το έδαφος (Bache 1985). Η φυτοτοξικότητα του καδμίου εκδηλώνεται με διαταραχή ανάπτυξης, χλώρωση, ελάττωση του ρυθμού φωτοσύνθεσης, μαρασμό και νέκρωση. Όπως ο μόλυβδος, το κάδμιο αναστέλλει την βλάστηση σε πειραματικές συνθήκες (Koeperle 1977, Yu 1991, Fargasova 1994). Μικρά δενδρύλλια φυτωρίων που εκτέθηκαν σε άλατα καδμίου εμφάνισαν μειωμένη επιμήκυνση ριζών και ανάπτυξης.

ιι) επίδραση στα ζώα/ανθρώπους

Το κάδμιο είναι τοξικό ακόμη και σε μικρές ποσότητες. Από όλες τις πηγές έκθεσης σε Cd που αναφέρθηκαν παραπάνω, η έκθεση μέσω του αέρα είναι ελάχιστη στον γενικό πληθυσμό, με εξαίρεση τους καπνιστές. Το κάδμιο στο πόσιμο νερό με αυξάνοντες ρυθμούς αρχίζει να καθίσταται σοβαρό πρόβλημα. Κατά μέσο όρο τα πόσιμα νερά περιέχουν περίπου 10 ppb Cd. Αυτό ισοδυναμεί με μια πρόσληψη περίπου 20 με 30 μg /ημέρα, βασισμένη σε ημερήσια κατανάλωση νερού 2 ως 3 L (Friberg 1974). Η ημερήσια πρόσληψη καδμίου από τις τροφές υπολογίζεται περίπου στα 35 ως 90 μg . Όταν η διαιτητική πρόσληψη φθάσει σε κρίσιμα επίπεδα, υπολογίζεται ότι είναι περίπου τα 250 ως 300 μg /ημέρα, τότε εκδηλώνονται συμπτώματα τοξικότητας. Η πρόσληψη καδμίου σε Ιάπωνες αγρότες που προσβλήθηκαν από την ευρύτατα γνωστή νόσο "itai-itai" έχει αναφερθεί ότι ήταν της τάξης των 600 ως 1000 μg /ημέρα. Η νόσος προκαλείται από κατάποση ρυζιού ρυπασμένου με υψηλή περιεκτικότητα Cd. Τα φυτά ρυζιού προσλάμβαναν νερό που αποβαλλόταν από ορυχεία Zn. Λόγω της νόσου πολλά από τα θύματα κατέληξαν.

Όταν απορροφηθεί, το κάδμιο εύκολα εμφανίζεται στο πλάσμα του αίματος αφού συνδέεται με την λευκωματίνη (Landis & Ming-Ho Yu, 2004). Το συνδεδεμένο Cd προσλαμβάνεται ταχέως από του ιστούς και ιδιαίτερα από το ήπαρ. Το Cd στο ήπαρ φαινομενικά ανακυκλώνεται, συνδέεται με τις μεταλλοθειονίνες (MT), δια μέσω του αίματος, νεφρών, και σε μικρότερη έκταση με τα οστά, και τον μυϊκό ιστό.

Η απέκκριση του Cd φαίνεται ελάχιστη σε φυσιολογικές συνθήκες. Η απώλεια δια των νεφρών αποτελεί μείζονα οδό απέκκρισης, ενώ ελάχιστες ποσότητες



απεκκρίνονται με τα κόπρανα. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το απορροφούμενο Cd παραμένει στους ιστούς του σώματος. Ο μακρορυθμός απέκκρισης του Cd είναι μόνο 0.005% την ημέρα αρχίζοντας περίπου μετά την ηλικία των 50 ετών (Friberg 1974).

Αν και η διαιτητική πρόσληψη είναι το μέσο από το οποίο οι άνθρωποι εκτίθενται περισσότερο στο Cd, η εισροφή (εισπνοή) του Cd είναι περισσότερο επικίνδυνη παρά η κατάποση. Αυτό γίνεται επειδή δια της εισπνοής τα όργανα του σώματος εκτίθενται άμεσα και πολύ στενά στο μέταλλο. Επιπρόσθετα, 25 ως 40% του εισπνεομένου Cd από τον αέρα κατακρατείται ενώ μόνο 5-10% του καταποθέντος Cd απορροφάται. Το εισπνεόμενο Cd μπορεί να προκαλέσει εμφύσημα και πνευμονίτιδα, ενώ το καταποθέν Cd μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα σε διαταραχές του γαστρεντερικού σωλήνα, εμετό, πρωτεϊνουρία, οστεομαλακία, δυσλειτουργία ήπατος, βλάβη νεφρών που εκδηλώνεται με αναιμία, και υπέρταση. Επίσης είναι γνωστό ότι το κάδμιο είναι εμβρυοτοξικό.

2.4 Κάδμιο και ουρογεννητικό σύστημα

Ένας αριθμός βαρέων μετάλλων είναι τοξικός λόγω αλληλεπιδράσεων με βιοχημικές ενώσεις που περιέχουν θείο όπως τα ένζυμα και οι πρωτεΐνες. Μερικά από αυτά τα μέταλλα είναι ασθενή οξέα που αντιδρούν ισχυρά με ασθενείς βάσεις όπως αυτές του θείου (S). Είναι γνωστό ότι οι νεφροί αποτελούν όργανο-στόχο των ιόντων Cd^{+2} και Hg^{+2} , ενώ ο εγκέφαλος είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος στον μεθυλιούχο Hg (CH_3Hg^+). Το αιμοποιητικό σύστημα και ο εγκέφαλος προσβάλλονται εκλεκτικά από τον Pd, ενώ το As προσβάλλει πολλά όργανα (Πιν. I-3)



Πίνακας Ι3: Ιστοί – όργανα που επηρεάζονται από τα βαρέα μέταλλα (Fergusson J.E., 1990).

Όργανο / περιοχή	Στοιχείο	Επιδράσεις
Κ.Ν.Σ.	CH ₃ Hg ⁺ , Hg Pb ⁺² Pb	εγκεφαλικές βλάβες μειωμένη νευροφυσιολογική λειτουργία όγκοι εγκεφάλου
Π.Ν.Σ.	CH ₃ Hg ⁺ , Hg Pb ⁺² As	αταξία και παθολογικά αντανακλαστικά περιφερικές νευρολογικές επιδράσεις περιφερική νευροπάθεια
Νεφρικό σύστημα	Cd Hg ⁺² As	σωληναριακές και σπειραματικές βλάβες, πρωτεинуρία σωληναριακή νέκρωση σωληναριακή δυσλειτουργία
Ήπαρ	As	κίρρωση
Αιμοποιητικό σύστημα	Pb Cd As	αναστολή βιοσύνθεσης της αίμης αναμία αναιμία
Ρινική / στοματική κοιλότητα	Hg ⁺²	στοματίτιδα
Στόμαχος	As	έλκος
Τρίχες	Pb	τριχόπτωση
Αναπνευστικό σύστημα	Cd As Hg Se	εμφύσημα εμφύσημα και ίνωση βρογχική αντίδραση φλεγμονή
Σκελετικό σύστημα	Cd Se	οστεομαλακία οδοντική δυσπλασία
Καρδιαγγειακό σύστημα	Cd As	
Αναπαραγωγικό σύστημα	CH ₃ Hg ⁺ , Hg As	αποβολές εμβρύων
Τερατογένεση	CH ₃ Hg ⁺ Pb	παραμορφώσεις εγκεφάλου και σώματος παραμορφώσεις εμβρύων
Καρκίνος	Cd As	προστατικός αδένας, πνεύμονες δέρμα, πνεύμονες
Χρωμοσωμικές αλλοιώσεις	Cd As	

Η έκθεση σε Cd έχει συσχετισθεί με την εμφάνιση καρκίνου του προστατικού αδένου στον άνθρωπο. Διάφορες μελέτες χρόνιας χορήγησης Cd σε επίμυες απέδειξαν μια θετική συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης σε Cd και των εμφανιζόμενων όγκων του προστατικού αδένου, κυρίως μέσω της από του στόματος λήψης του Cd. Αρκετές μελέτες δείχνουν ότι η πρόκληση καρκίνου του προστάτη λόγω Cd είναι ορμονικά εξαρτώμενη ενώ in vitro έρευνες έχουν δείξει κακοήγη μεταλλαγή των προστατικών επιθηλιακών κυττάρων κατά την έκθεση σε Cd. Ακόμη υποστηρίζεται ότι το κύριο βιολογικό σύστημα αντιμετώπισης της τοξικότητας του Cd (τα γονίδια μεταλλοθειονίνης) δεν είναι πλήρως ενεργά στις ειδικές θέσεις του προστατικού αδένου των επίμυων με αποτέλεσμα το Cd να προκαλεί όγκους. Σε ένα ποσοστό 60%



ασθενών με καρκίνωμα της ουροδόχου κύστεως παρατηρήθηκε ότι το περιεχόμενο Cd ήταν σε αυξημένα επίπεδα (Waalkes MP. et al., 1994, Darewicz G. et al., 1998).

Πολλές μελέτες έγιναν με ενδοπεριτοναϊκή έγχυση στους επίμυες διαφόρων δόσεων CdCl₂ και παρατηρήθηκαν επιπτώσεις σε επιμέρους όργανα. Σε μια τέτοια έρευνα εξετάστηκαν οι επιπτώσεις της έγχυσης στα όργανα αναπαραγωγής και παρατηρήθηκε μείωση του βάρους των όρχεων κατά 40-50% καθώς και των σπερματοδόχων κύστεων και της επιδιδυμίδας. Επίσης τη μεγαλύτερη ευαισθησία στην έκθεση σε Cd φάνηκε να την έχει η τεστοστερόνη του ορού η οποία μειώνεται με μεγαλύτερους ρυθμούς (Laskey JW et al., 1984). Άλλοι ερευνητές παρατήρησαν ότι η χορήγηση Cd στους όρχεις προκαλεί απόπτωση των κυττάρων των όρχεων, ρήξεις του DNA και άλλες εμφανείς ιστοπαθολογικές αλλαγές. Αποπτωτικές βλάβες παρουσιάστηκαν στο νεφρό, τον προστάτη, τις σπερματοδόχους κύστεις και την επιδιδυμίδα. Επίσης βρέθηκε μείωση της δράσης της αφυδρογονάσης του γαλακτικού οξέος (LDH) των όρχεων η οποία αποτελεί βιολογικό δείκτη της βλάβης αυτών (Yan H. et al., 1997, Agarwal A et al., 1997).

Η χορήγηση CdCl₂ αναστέλλει τη δράση (περίπου κατά 90%) της μικροσωμικής Na⁺, K⁺, -ATPάσης των όρχεων τόσο in vitro όσο και in vivo. Η χορήγηση αυτή προκαλεί μείωση της ανηγμένης και της ολικής γλουταθειόνης. Είναι δυνατό το CdCl₂ να προκαλέσει τοξικότητα στους όρχεις των επίμυων, αυξάνοντας το σχηματισμό ελευθέρων ριζών OH και προκαλώντας μείωση της περιεχόμενης γλουταθειόνης και της δράσης της Na⁺, K⁺, -ATPάσης (Shen Y. et al., 1995).

Οι όρχεις των επίμυων είναι περισσότερο ευάλωτοι στην τοξικότητα του Cd από το ήπαρ. Το Cd είναι ικανό να προκαλέσει όγκους στα διάμεσα κύτταρα των όρχεων (Leydig) (McKenna IM. et al., 1996).

Η λήψη Cd μέσω πόσιμου νερού στους επίμυες προκαλεί μεγαλύτερη (κατά 4 φορές) επαγωγή μεταλλοθειονίνης του Cd στους όρχεις σε σχέση με τη χορήγηση Cd μέσω έγχυσης. Το Cd μπορεί να προκαλέσει, μείωση του μεγέθους και του βάρους του προστάτη με ατροφία και μεταπλασίες καθώς επίσης και σχηματισμό λίθων στο νεφρό και την ουροδόχο κύστη (Ohta H. et al., 1997, Khare N. et al., 1978).

Η συνδυασμένη χορήγηση Pb και Cd μέσω του πόσιμου νερού σε επίμυες προκαλεί σημαντικές βλάβες στο σύστημα αναπαραγωγής. Η συνδυασμένη δράση μειώνει το βάρος και το περιεχόμενο DNA των γονάδων. Στους όρχεις το Cd προκαλεί μείωση στη διάμετρο των σπερματοφόρων σωληναρίων ενώ ο Pb μειώνει τον αριθμό των σπερματογονίων (Corpas I. et al., 1998).



3. ΒΙΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ *Carassius auratus*

3.1 Μορφογενετικά χαρακτηριστικά

Ο πρόγονος του *C. auratus* (χρυσόψαρο-gold fish) σύμφωνα με καρυοτυπικές και γενετικές μελέτες φαίνεται ότι είναι υποείδος του *crusian carp* (*Carassius auratus auratus*) από την Κίνα. Οι πρώτες αναφορές εντοπίζονται πολύ πριν το 1300 μ.Χ και πιθανόν την περίοδο 200-300 π.Χ. Το χρυσό-ψάρι αποτέλεσε για την Κίνα και την Ιαπωνία ένα κοινό και ιδιαίτερα «φιλικό» ψάρι και η ονομασία από κοκκινόψαρο-redfish επεκράτησε ως χρυσόψαρο.

Το *C. auratus* έχει παρόμοια μορφολογία και καρυοτυπικό πρότυπο με αυτά του *Cyprinus carpio* (λείπουν οι μύστακες) με τη διαφορά ότι η αναλογία μήκους-ύψους σώματος είναι μικρότερη και το μέγιστο βάρος δεν ξεπερνά τα 2 kgf. Οι φαινότυποι πάντως οι οποίοι έχουν παρατηρηθεί στο χρυσόψαρο είτε εξαιτίας μεταλλάξεων ή εξαιτίας συνεχούς επιλογής και διασταυρώσεων δημιούργησαν πληθώρα «μορφών» οι οποίες απομακρύνονται πολύ από την αρχική «άγρια» μορφή (αναλογία μήκους ύψους 1:10, μάτια τηλεσκοπικά, τριπλή ουρά, υποτυπώδες ραχιαίο ή θωρακικά πτερύγια, κ.λ.π.)

Το μεγάλο εμπορικό ενδιαφέρον του χρυσόψαρου, η δυνατότητα χειρισμού και η σχετικά μικρής διάρκειας γενετική ωριμότητα επέτρεψαν τη διεξαγωγή πολλών ερευνών για την γενετική και τον τρόπο έκφρασης και κληρονομικότητας πολλών χαρακτηριστικών. Περισσότερες από δέκα επτά διακεκριμένες ομάδες χρυσόψαρου έχουν παραχθεί με κοινά ή «παράξενα» χαρακτηριστικά.

Η παρουσία του μπλε χρώματος και του καφέ χρώματος ερμηνεύονται ως δράση υποτελών γονιδίων (ένα για το μπλε – τέσσερα για το καφέ). Η διαφάνεια του σώματος, οφείλεται στην συνδυαστική δράση δύο ζευγών γονιδίων. Το σχήμα, οφείλεται στη δράση δύο ή τριών ζευγών γονιδίων. Οι τηλεσκοπικοί οφθαλμοί οφείλονται, στη δράση ενός υποτελούς μεταλλαγμένου γονιδίου. Γίνεται φανερό ότι μεγάλη ποικιλία χαρακτηριστικών μπορεί να επιτευχθεί και να «σταθεροποιηθεί» σύμφωνα με τις νέες τεχνικές της μηχανικής γενετικής, δημιουργώντας ένα ευρύ φάσμα φαινοτύπων (Φώτο I-1).





Φωτ. I-1: Carassius Auratus

3.2.Οικο-Φυσιολογία

Το χρυσόψαρο από την Κίνα και Ιαπωνία διαδόθηκε μετά το 1900 σταδιακά σε όλον τον κόσμο και αποτελεί ένα από τα τυπικά, παραδοσιακά διακοσμητικά ψάρια. Το χρυσόψαρο ζει σε συνθήκες παρόμοιες με αυτές του κυπρίνου. Αν και αντέχει σε οριακές θερμοκρασίες (4-30°C) παρουσιάζει σχετική ευαισθησία στις χαμηλές θερμοκρασίες τις μικρότερες από 9°C και στις υψηλές θερμοκρασίες τις υψηλότερες από 25°C. Λόγω του ότι τα χρυσόψαρα ζουν σε ενυδρεία ή σε ελεγχόμενους χώρους οι φυσικοχημικοί παράμετροι ρυθμίζονται με τεχνητούς τρόπους (αερισμό, φιλτράρισμα, ειδικά χημικά σκευάσματα κ.λ.π.). Στην φύση ιδιαίτερα στην Κεντρική και Δ. Ευρώπη είναι δύσκολο να αντέξουν τις ακραίες συνθήκες της χειμερινής περιόδου ενώ στην Ν. Ευρώπη αν και προσαρμόζονται ευκολότερα στο φυσικό περιβάλλον, αποτελούν μόνιμο στόχο για άλλα ψάρια και δύσκολα επιβιώνουν.

Αναπαράγονται τους μήνες της Άνοιξης όταν η θερμοκρασία φθάνει στους 15-16°C. Τα θηλυκά ψάρια απελευθερώνουν 2-4000 ωάρια τα οποία φέρουν κολλώδη ουσία. Στη φύση είναι δυνατή η αναπαραγωγή τους αλλά λόγω του πολύ μικρού αριθμού ωαρίων και των πολλών εχθρών η εκκολαψιμότητα είναι πολύ μικρή. Συνήθως τα χρυσόψαρα αναπαράγονται με τεχνητό τρόπο σε ελεγχόμενες δεξαμενές με μεταβολή της θερμοκρασίας και συνεχή ανανέωση του νερού ή με «ορμονική θεραπεία» παρόμοια με αυτή των άλλων κυπρινοειδών, με τα οποία έχουν την ίδια συμπεριφορά. Τα χρυσόψαρα είναι ευαίσθητα σε ασθένειες και στο stress που προκαλείται από τους χειρισμούς. Σημαντικές ασθένειες οφείλονται σε παράσιτα όπως *Trihondina*, *Costria* κ.λ.π., σε Τρηματώδεις όπως *Gyrodactylous* και



Dactylogyrus, σε βακτήρια με συνεθέστερο την Aeromonas hydrophila και το Flexibacter coummaris.

Ζει σε ποταμούς, λιμνες και αυλάκια με στάσιμα ή αργά ρέοντα νερά. Τρέφεται με μια ευρεία ποικιλία οργανισμών που περιλαμβάνει φυτά μικρά αστακοειδή, έντομα και συγκρίμματα οργανισμών. Αναπτύσσονται καλλίτερα σε κρύα νερά. Αφήνουν τα αυγά τους σε βυθισμένα υδρόβια φυτά. Ανέχονται για μεγάλο διάστημα την αιχμαλωσία.

Η μέγιστη καταγραμμένη αλατότητα που έχει γίνει ανεκτή είναι τα 17 ppt, αλλά παρόλα αυτά δεν αντέχουν παρατεταμένη έκθεση πάνω από τα 15 ppt

Το είδος Carassius auratus gibelio είναι ένα τριπλοειδές γυνογενετικό είδος που παρέχει ένα μοναδικό μοντέλο κατανόησης της εξελικτικής γενετικής και των ρυθμιστικών μηχανισμών αναπαραγωγής των σπονδυλοζώων. (Yang ZA, et al 1999,)

Στις υδατοκαλλιέργειες σημαντικές διαφορές φαινοτύπων και ανάπτυξης έχουν παρατηρηθεί μεταξύ των καλλιεργούμενων πληθυσμών ή ατόμων. Τέσσερις διαφορετικοί γυνογενετικοί κλώνοι (A, B, C, D) έχουν ταυτοποιηθεί με ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών ορού, γενετική καταγραφή μεταμοσχευμένων ιστών σε φυσικούς πληθυσμούς, και συγκριτικές αναλύσεις μιτοχονδριακού DNA. (Zhou L, et al 2001).

4. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΙΧΘΥΩΝ

4.1. Γενικά

Οι ιχθύες, ως αυτοτελής κατηγορία σπονδυλοζώων οργανισμών, παρουσιάζουν εντονότατη παραλλακτικότητα της σεξουαλικής συμπεριφοράς και της αναπαραγωγικής τους διαδικασίας.

Γενικά, στους τελεόστεους ιχθύες, οι κύριοι τύποι αναπαραγωγής είναι δύο. Στον έναν ανήκουν τα γονοχωριστικά ή διφυλετικά ή δίοικα είδη (αρσενικά ή θηλυκά), τα οποία αποτελούν τη συντριπτική πλειοψηφία των ιχθύων. Στον τύπο αυτό διακρίνεται α) η κατηγορία των κατ'αρχήν αδιαφοροποίητων και στη συνέχεια διαφοροποιούμενων (50% αρσενικά, 50% θηλυκά άτομα) και β) η κατηγορία των εξ αρχής διαφοροποιημένων. Στον άλλο τύπο ανήκουν τα ερμαφρόδιτα είδη, τα οποία διακρίνονται σε σύγχρονα και σε ασύγχρονα (σχεδόν συνεχής ύπαρξη ανατομικής και λειτουργικής αμφισεξουαλικότητας).



Στα σύγχρονα ερμαφρόδιτα το γεννητικό υλικό των γονάδων τους (σπέρμα και αυγά) ωριμάζει συνήθως ταυτόχρονα. Ορισμένα απ' αυτά έχουν την ικανότητα και της αυτογονιμοποιήσεως (*Rivulus marmoratus*). Σε ορισμένα, επίσης, είδη της κατηγορίας αυτής (*Seranus subligerious*) παρατηρείται και το φαινόμενο της «συνειδητής» επιλογής συντρόφου σε πληθυσμούς μόνο δύο και τριών ατόμων.

Στα ασύγχρονα είδη γενικά παρατηρείται το φαινόμενο της κατ' αρχήν ωρίμανσης είτε μόνο των αρσενικών γονάδων, οπότε όλα τα άτομα του ίδιου είδους είναι αρσενικά για κάποιο μεγάλο ή μικρό χρονικό διάστημα της ζωής τους και στη συνέχεια, αλλάζοντας φύλο, μετατρέπονται όλα σε θηλυκά (πρώτανδρα είδη), είτε μόνο των θηλυκών τους γονάδων, οπότε είναι όλα θηλυκά, τα οποία, ωστόσο ύστερα από κάποιο χρονικό διάστημα, αλλάζοντας φύλο μετατρέπονται όλα σε αρσενικά (πρωτόγυνα είδη).

Γενικά, η εξέλιξη της σεξουαλικής συμπεριφοράς των ειδών της κατηγορίας αυτής μπορεί να συνοψισθεί ως εξής: Ανώριμα → ερμαφρόδιτα → ώριμα θηλυκά → ώριμα αμφισεξουαλικά → ώριμα αρσενικά άτομα.

Ως τρίτος τύπος αναπαραγωγής στους ιχθύες, με ελάχιστες ωστόσο γνωστές περιπτώσεις θα μπορούσε να αναφερθεί η περίπτωση των μονοφυλετικών ειδών ιχθύων. Πρόκειται για το φαινόμενο εκείνο κατά το οποίο προκύπτουν πληθυσμοί μόνο θηλυκών ατόμων και το οποίο είναι αποτέλεσμα είτε γυνογενέσεως είτε υβριδισμού.

Οι παράγοντες από τους οποίους καθορίζεται η ηλικία της γεννητικής ωρίμανσεως των ιχθύων είναι το είδος (κληρονομικότητα), η ηλικία, το μέγεθος, η φυσιολογική κατάσταση του ατόμου, το περιβάλλον (φωτοπερίοδος, θερμοκρασία, υδάτινα ρεύματα, παρουσία ατόμου του άλλου φύλου, στάδιο σελήνης, παλίρροια, παρουσία εξειδικευμένων κατασκευών κ.λ.π.). Γενικά, είδη μικρού τελικού μεγέθους και μικρής διάρκειας ζωής ωριμάζουν σε μικρότερη ηλικία από εκείνα που χαρακτηρίζονται από μεγάλο τελικό μέγεθος και μεγάλη διάρκεια ζωής.

Οι εκδηλώσεις της γονικής συμπεριφοράς στην αναπαραγωγική διαδικασία των ιχθύων περιλαμβάνει τρεις τύπους.

Κατά τον πρώτο το γεννητικό υλικό (αυγά και σπέρμα) δεν φυλάσσεται από τους γεννήτορες και είτε αποβάλλεται σε ανοικτές υδάτινες επιφάνειες ή περιοχές του πυθμένα, είτε διαφόρου είδους κρησφύγετα (αδιάφορος συμπεριφορά).



Κατά τον δεύτερο, το γεννητικό υλικό φυλάσσεται από τους γεννήτορες είτε σε φυσικές κατασκευές είτε σε κατασκευασμένες από τους γεννήτορες (φωλεές).

Κατά τον τρίτο τύπο το γεννητικό υλικό μεταφέρεται από τους γεννήτορες είτε σε τμήματα της εξωτερικής επιφάνειας του σώματός τους (περύγια, θύλακες, βραγχικά επικαλύμματα, στόμα), είτε μέσα στην κοιλιακή κοιλότητα του σώματός τους.

Στις περισσότερες περιπτώσεις των ιχθύων, οι γεννητικοί αδένες είναι δύο και η διαδικασία της αρχικής μορφοποίησης τους αποτελεί μέρος εκείνης η οποία τελικά καταλήγει στην ανατομική διαμόρφωση τους ουρογεννητικού τους συστήματος. Βρίσκονται στην κοιλιακή κοιλότητα και η ανάπτυξή τους πραγματοποιείται σχεδόν παράλληλα με εκείνη των νεφρών. Η κατά τα εμβρυϊκά στάδια αρχική μορφοποίηση δύο γονάδων, σε αρκετές περιπτώσεις ιχθύων, καταλήγει στην πλήρη τελειοποίηση μόνο της μίας.

4.2. Όρχεις

Οι όρχεις στις περισσότερες περιπτώσεις των τελεόστεων ιχθύων είναι δύο και εμφανίζουν γενικά επίμηκες σχήμα ωοειδούς ή τριγωνικής διατομής. Το μέγεθός τους ποικίλει ανάλογα με το στάδιο της ωριμότητάς τους. Βρίσκονται στη ραχιαία πλευρά της κοιλιακής κοιλότητας και κατά την πλήρη ωριμότητά τους αποκτούν του μεγαλύτερό τους μέγεθος, το οποίο τελικά προσαρμόζεται μέσα στην κοιλιακή κοιλότητα ανάλογα με τον χώρο που τους διατίθεται από τα υπόλοιπα όργανα (πεπτικός σωλήνας, ήπαρ, νεφροί, νηκτική κύστη). Στις περισσότερες περιπτώσεις οι δύο όρχεις διαφέρουν μεταξύ τους σε μέγεθος και σε βάρος.

Από ιστολογική άποψη οι όρχεις των τελεόστεων ιχθύων διακρίνονται σε δύο τύπους. Στους λοβώδεις (lobular) και στους σωληνοειδείς (tubular)

Η ετήσια παραγωγή σπερματοζωαρίων ποικίλει στα διάφορα είδη τελεόστεων ιχθύων, εξαρτώμενη από πολλούς και ποικίλους παράγοντες. Ο αριθμός των παραγόμενων σπερματοζωαρίων κατά την πρώτη αναπαραγωγική περίοδο είναι μικρότερος από εκείνον των επόμενων αναπαραγωγικών κύκλων. Χαρακτηρίζεται, όμως, από πολύ αυξημένο ποσοστό απελευθερωνώμενων σπερματοζωαρίων (48%).

Οι όρχεις των ιχθύων χαρακτηρίζονται από πυκνό κυκλοφορικό σύστημα του οποίου τα κεντρικά αγγεία (αρτηρία και φλέβες) είναι εμφανή κατά μήκος της εσωτερικής τους πλευράς και κυρίως στο μέσο τμήμα τους (μεσόρχεο). Υπερμικροσκοπικές παρατηρήσεις απέδειξαν την παρουσία τριχοειδών ακόμη και



στα τοιχώματα των σπερματοκύστεων και των λοβών μεταξύ των σπερματικών κυττάρων και των κυττάρων του Sertoli και του Leydig.

Γενικά στους ιχθύς οι κεντρικοί σπερματικοί αγωγοί αναπτύσσονται σχεδόν συγχρόνως με τους νεφρικούς (ουρητήρες). Είναι πιθανόν οι σπερματικοί αγωγοί να προέρχονται από εμβρυϊκούς νεφρικούς σωληνίσκους από την περιοχή του μεσόνεφρου.

Γενικά, η εκσπερμάτωση στους ιχθύς πραγματοποιείται με τη μεσολάβηση του νωτιαίου μυελού και του κεντρικού νευρικού συστήματος. Σε ορισμένα είδη τελεόστεων καθώς επίσης και σχεδόν σε όλα τα είδη των ελασμοβράγχιων ιχθύων, η εκσπερμάτωση πραγματοποιείται με τη βοήθεια ειδικά διαμορφωθέντων μορφωμάτων (όργανα συνουσίας) με τα οποία επιτυγχάνεται η είσοδος του σπέρματος εντός του γεννητικού πόρου των θηλυκών ατόμων.

Οι κυριότερες κατηγορίες ουσιών που περιλαμβάνονται στο σπερματικό υγρό των ιχθύων ανήκουν στις κατηγορίες των πρωτεϊνών, των λιπών, των υδατανθράκων και των ενζύμων.

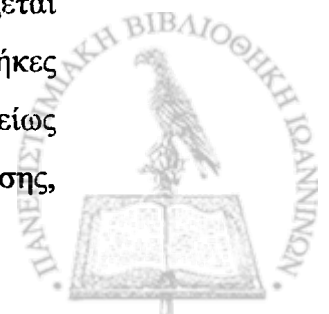
Μία από τις σημαντικότερες φάσεις της σεξουαλικής ωρίμανσης των αρσενικών ατόμων των ιχθύων είναι η διαδικασία της **σπερματογένεσης** (spermatogenesis), η οποία περιλαμβάνει τη μετατροπή των σπερματίδων σε σπερματοζωάρια, την απελευθέρωση των σπερματοζωαρίων στα σπερματικά σωληνάκια και αγωγούς, καθώς και την παραγωγή του σπερματικού υγρού.

4.3.Ωοθήκες

Σε όλες τις κατηγορίες των ιχθύων οι ωοθήκες αποτελούν συνήθως ζεύγος οργάνων των οποίων το μέγεθος (μήκος και διάμετρος) ποικίλλει ανάλογα με το στάδιο της εκάστοτε αναπαραγωγικής περιόδου. Σε ορισμένες περιπτώσεις η μία από τις δύο ωοθήκες υποπλάσσεται ή παραμένει λειτουργικά αδρανής.

Σε όλες τις περιπτώσεις των ιχθύων οι ωοθήκες συνδέονται ανατομικά με το ραχιαίο τοίχωμα της κοιλιακής κοιλότητας συγκρατούμενες απ' αυτό με τμήμα του μεσεντερίου ιστού, το οποίο είναι γνωστό ως **μεσοβάριο** (mesovarium).

Η εντονότερη μορφολογική διαφοροποίηση των ωοθηκών παρουσιάζεται στην κατηγορία των τελεόστεων ιχθύων. Γενικά, στην περίπτωση αυτή οι ωοθήκες μπορεί να αναπτύσσονται είτε ενωμένες, ως ενιαίο όργανο, είτε τελειώς μεμονωμένες, είτε ακόμη να χαρακτηρίζονται από μόνο αρχικό ενιαίο τμήμα. Επίσης,



οι ωοθήκες των τελεόστεων ιχθύων μπορεί να είναι ένα ή δύο κοίλα (**κυστοβάρια** – *cystovaria*) ή συμπαγή όργανα σακοειδούς μορφής, τα οποία, στις περισσότερες περιπτώσεις, αρχίζουν την ανάπτυξή τους από το πρόσθιο τμήμα της κοιλιακής κοιλότητας.

Στα περισσότερα είδη ο γεννητικός πόρος των θηλυκών ατόμων βρίσκεται ανάμεσα στην έδρα και στον ουρικό πόρο. Σε ορισμένες περιπτώσεις (*Poeciliidae*) ο γεννητικός πόρος εκβάλλει στον ουρικό πόρο, μορφώνοντας τον ουρογεννητικό κόλπο (πόρο), ενώ σε άλλα (*Salmonidae*) ο γεννητικός και ουρικός πόρος, βρισκόμενοι πλησιέστατα τόσο μεταξύ τους όσο και με την έδρα, μορφώνουν την ουρογεννητική θηλή.

Κύρια διαφορά μεταξύ των ζωοτόκων ειδών των ελασμοβράγχιων και τελεόστεων ιχθύων είναι το γεγονός ότι η ανάπτυξη των νεαρών ατόμων στους τελεόστεους, στους οποίους δεν υπάρχει αγωγός του Muller, πραγματοποιείται στις ωοθήκες.

Στα περισσότερα είδη εμβρυογένεση πραγματοποιείται μέσα στις ωοθήκες μετά από τη γονιμοποίηση των αυγών η οποία επιτελείται είτε μέσα είτε έξω από το ωοθυλάκιο (**ωοθηκική εμβρυογένεση**).

Στις περιπτώσεις της κλασσικής ζωοτοκίας (*Heterandria formosa*, *Aulophallus elongatus*) η ποσότητα της λεκίθου των αυγών είναι εξαιρετικά μικρή και η ανάπτυξη του εμβρύου τόσο με την έννοια της παροχής θρεπτικών υλικών όσο και με την έννοια της καλύψεως των αναπνευστικών αλλά και μεταβολικών του αναγκών, εξασφαλίζονται από τη μητέρα.

Από την άποψη της εσωτερικής τους δομής, οι ωοθήκες όλων των κατηγοριών των ιχθύων διακρίνονται σε δύο τύπους: στις **συμπαγείς** (*A. anguilla* – χέλι) και στις **κοίλες** (*Essox lucius* – τούρνα).

Από την άποψη της ανατομικής οργανώσεώς τους οι κοίλες ωοθήκες αποτελούνται από το **επιθήλιο**, το **στρώμα** και τα **ωοθυλάκια**.

Το **επιθήλιο** προέρχεται από τμήμα του περιτόναιου (μεσοβάριο) και καλύπτει την ωοθήκη.

Το **στρώμα** αποτελείται από συνδετικό ιστό με έντονη παρουσία αιμοφόρων αγγείων και βρίσκεται, κατά διαστήματα, σε άμεση επαφή με την εσωτερική επιφάνεια του επιθηλίου.

Η διαδικασία παραγωγής των αυγών στους ιχθύς ξεκινά από το στάδιο των **αρχέγονων** ή μητρικών κυττάρων τα οποία προέρχονται από το βλαστικό επιθήλιο.



Από τα αρχέγονα κύτταρα, ύστερα από διαδοχικές μιτωτικές τους διαιρέσεις, προκύπτουν τα **ωογόνια**, τα οποία, αφού υποστούν μιτωτική διαίρεση, εξελίσσονται σε **πρωτογενή ωοκύτταρα** (ωοκύτταρα Α τάξεως)

Τα **ωοθυλάκια** των ιχθύων αποτελούνται (από μέσα προς τα έξω) από ένα ωοκύτταρο (όπως προαναφέρθηκε πρόκειται για πρωτογενή ωοκύτταρα) από τη **διαφανή ζώνη** (zona radiata ή pellucida), από την **κοκκιώδη στιβάδα** (ωοθυλακικά επιθηλιακά κύτταρα- granulosa-layer), από τη **βασική μεμβράνη** (basement membrane), καθώς και από ένα ή δύο στρώματα κυττάρων τα οποία είναι γνωστά ως **θήκες** (εσωτερική ή και εξωτερική θήκη αντίστοιχα, όταν υπάρχουν δύο).

Η **διαφανής ζώνη** αποτελεί ένα μεμβρανώδους (υμενώδους) μορφής μεσοδιάστημα μεταξύ του ωοκυττάρου και της κοκκιώδους στιβάδος και χαρακτηρίζεται από μεγάλο αριθμό μικρού μεγέθους λαχνών οι οποίες αναπτύσσονται τόσο από την επιφάνεια των κυττάρων και της κοκκιώδους στιβάδος, από την εσωτερική επιφάνεια των οποίων περιβάλλεται το ωοκύτταρο κατά τα πρώτα στάδια αναπτύξεως του ωοθυλακίου.

Η **βασική μεμβράνη**, η οποία περιβάλλει την κοκκιώδη στιβάδα, χαρακτηρίζεται από την παρουσία πλουσιότατου δικτύου τριχοειδών αγγείων, το οποίο υποστηρίζεται από ποικίλου πάχους και λεπιοειδούς (φυλλοειδούς) δομής υλικό στο οποίο έχει πιστοποιηθεί η ύπαρξη υδατανθράκων, πρωτεϊνών και ινών κολλαγόνου.

Η **θήκη**, η οποία περιβάλλει τη βασική μεμβράνη, αποτελείται από συνδετικό ιστό του οποίου τα κύτταρα είναι πεπλατυσμένα. Όπως προαναφέρθηκε, η θήκη συνήθως περιλαμβάνει μία σειρά κυττάρων. Δεν αποκλείεται, ωστόσο, κατά την ωρίμανση – ανάπτυξη του ωοθυλακίου και του ωαρίου να αναπτυχθούν δύο στρώματα κυττάρων, μορφώνοντας έτσι την εσωτερική και την εξωτερική θήκη. Τα κύτταρα της θήκης χαρακτηρίζονται από έντονη παρουσία οργανυλλίων, τα οποία, όπως έχει αποδειχθεί, περιέχουν ένζυμα (3β-υδροστεροει-διυδρογενάση, γλυκόζη, 6-φωσφατάση διυδρογενάση) που μετέχουν στην παραγωγή στεροειδικών ορμονών.

Ο αριθμός των αυγών που παράγονται κατά την διάρκεια μιας αναπαραγωγικής περιόδου, από ένα θηλυκό άτομο ποικίλου βάρους, κοινών ειδών ιχθύων, είναι της τάξεως των 2.000 ανά άτομο βάρους περίπου 600-1000g (*Onchorhynchus mykiss* –πέστροφα), 200-2.000, ανά άτομο βάρους περίπου 75-500g (*Oreochromis aureus*), 1-2.000.000 ανά άτομο βάρους 1Kg (τσιπούρα), 1.000.000 ανά άτομο βάρους 1Kg (λαβράκι). Ο μικρότερος αριθμός παραγόμενων αυγών



παρατηρείται στους ελασμοβραγχιόμορφους ζωοτόκους ιχθύς (6-14 ή και 40-50, με περίοδο πλήρους αναπτύξεως των εμβρύων 9-12 μήνες).

Από την άποψη του ρυθμού αναπτύξεως –ωριμάνσεως των αυγών τους οι τελεόστεοι ιχθύες, γενικά, διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες.

Η πρώτη περιλαμβάνει εκείνα τα είδη στα οποία παρατηρείται ταυτόχρονη ωρίμανση όλων των ωοκυττάρων και απελευθέρωση όλων των παραγόμενων αυγών κατά την διάρκεια μίας ωοτοκίας. Η κατηγορία αυτή χαρακτηρίζει, σχεδόν αποκλειστικά, εκείνα τα είδη στα οποία παρατηρείται μόνο μία αναπαραγωγική διαδικασία (ωοτοκία), μετά από την οποία ακολουθεί ο θάνατός τους (*Petromyzon planeri*, *Oncorhynchus masou* – σολομός, *A. anguilla*-χέλι, κ.α.)

Η δεύτερη περιλαμβάνει τα είδη στα οποία παρατηρείται παρουσία δύο ομάδων ωοκυττάρων, οι οποίες διαφοροποιούνται μεταξύ τους από τον βαθμό ωριμότητάς τους. Η μία περιλαμβάνει μόνο ώριμα ωοκύτταρα τα οποία, ως αυγά, απελευθερώνονται κατά τη διάρκεια μίας ωοτοκίας. Η άλλη ομάδα περιλαμβάνει μικρού μεγέθους ωοκύτταρα στα οποία δεν έχει αρχίσει η διεργασία της συνθέσης της λεκίθου και τα οποία, ουσιαστικά, αποτελούν τα ωοκύτταρα εκείνα των οποίων η πλήρης ωρίμανση προβλέπεται να ολοκληρωθεί κατά την επομένη αναπαραγωγική περίοδο. Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει είδη (*Liospetta obscura*, *Salvelinus fortinalis*, ρέγγα κ.α.) τα οποία χαρακτηρίζονται από ετήσια ή αναπαραγωγική περίοδο μικρής χρονικής διάρκειας.

Η Τρίτη κατηγορία περιλαμβάνει εκείνα τα είδη στις ωοθήκες των οποίων παρατηρείται ταυτόχρονη παρουσία των ωοκυττάρων ποικίλου βαθμού ωριμάσεως. Η ασύγχρονη ωρίμανση των ωοκυττάρων τους που χαρακτηρίζει τα είδη αυτά, συνδέεται με παρατεταμένη περίοδο ωοτοκίας (*Scomber scomber* –σκουμπρί, *Sardina pilchardus sardina*-σαρδέλα κ.α.).

4.4. Περιβαλλοντικοί παράγοντες και αναπαραγωγή

Η επίδραση των εξωγενών παραγόντων στην αναπαραγωγική διαδικασία των ιχθύων εκδηλώνεται κυρίως με τη συνδυασμένη δράση της φωτοπεριόδου (εποχική αυξομείωση και εναλλαγή των ωρών ημέρας-φωτός και νυκτός-σκότους) και της αυξομείωσης της θερμοκρασίας του νερού και αφορά τους ιχθύες των εύκρατων περιοχών στους οποίους εμφανίζεται συγκεκριμένη ετήσια αναπαραγωγική περίοδος.



Αντίθετα, στα είδη των τροπικών περιοχών, ενδέχεται η εκδήλωση της αναπαραγωγικής διαδικασίας να επηρεασθεί από αυξομειώσεις της έντασης των βροχοπτώσεων, οι οποίες μπορεί να εκληφθούν ως εποχικά μεταβαλλόμενος περιβαλλοντικός παράγοντας.

Παρόμοιας δράσεως, κυρίως στα είδη των τροπικών περιοχών, θεωρούνται και οι φάσεις της σελήνης (ιδιαίτερα οι περίοδοι νέας σελήνης ή πανσέληνου), καθώς (για πολλά είδη ανεξάρτητα από το γεωγραφικό πλάτος διαβιώσεώς τους) και η ένταση, η περιοδικότητα κινήσεως και η αλατότητα των νερών και η παρουσία υδρόβιας ή και υδροχαρούς βλαστήσεως.

Αξιόλογες, επίσης, είναι και οι περιπτώσεις κατά τις οποίες έχει πειραματικά αποδειχθεί ή ύπαρξη έντονης διαφοροποίησης της ευαισθησίας στο φως ακόμη και στο ίδιο άτομο. Το γεγονός αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι αποτελεσματική δράση της φωτοπερίοδου στην αναπαραγωγική διαδικασία των ιχθύων πρέπει να αναμένεται κατά την περίοδο της μεγίστης φωτο-ευαισθησίας των ιχθύων σε συνδυασμό, όμως, με την κατάλληλη ένταση και συχνότητα του φωτός

Η επίδραση της θερμοκρασίας στην αναπαραγωγική διαδικασία των ιχθύων πραγματοποιείται μέσω του κεντρικού νευρικού συστήματος. Ο μηχανισμός, ωστόσο, της επεμβάσεως αυτής και ιδιαίτερα ο τρόπος με τον οποίο καθίσταται γνωστή και αποδεκτή η κατάλληλη θερμοκρασία για την κινητοποίηση του κεντρικού νευρικού συστήματος, είναι σχεδόν άγνωστος

Από τα προαναφερθέντα καθίσταται σαφές ότι είναι εξαιρετικά δυσχερές ο ακριβής προσδιορισμός του μηχανισμού της επεμβάσεως των μεταβολών των περιβαλλοντικών συνθηκών στην αναπαραγωγική διαδικασία των ιχθύων κατά τη φυσική τους διαβίωση.

Αντίθετα ο καθοριστικός ρόλος των ενδογενών παραγόντων κατά την ενεργοποίηση των μηχανισμών πρόκλησης και έναρξης της αναπαραγωγικής διαδικασίας, τουλάχιστον στους τελεόστεους ιχθύς, αποτελεί τον κύριο άξονα ερμηνείας του φαινομένου αυτού.

Από τους παράγοντες αυτούς ως πιο σημαντικός θεωρείται η κληρονομικότητα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα σχετικών ερευνών, η ηλικία της σεξουαλικής ωριμότητας ρυθμίζεται από ένα γονίδιο του φύλου το οποίο καθορίζει την ηλικία κατά την οποία ενεργοποιούνται τα γονίδια τα οποία ελέγχουν την ανάπτυξη των γοναδοτρόπων κυττάρων της υποφύσεως με αποτέλεσμα την ανάπτυξη και δραστηριοποίηση του άξονα: εγκέφαλος→υποθάλαμος→υπόφυση→γονάδες, από



τον οποίο καθορίζεται η επίτευξη της σεξουαλικής ωριμότητας αρσενικών και θηλυκών ατόμων κάθε είδους, σε συγκεκριμένη χρονική περίοδο και σε συνδυασμό με συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες.

Οι οποιεσδήποτε επιτυχίες επεμβάσεις, εξωγενούς προελεύσεως (κυρίως εφαρμογή συγκεκριμένης φωτοπεριόδου ή και θερμοκρασίας σε συνδυασμό ή όχι με τη χρήση ορμονούχων σκευασμάτων), έχουν αναφερθεί, αποτελούν επεμβάσεις ενεργοποίησης τμημάτων του προαναφερθέντος άξονα αυτού μετά από την οριστικοποίηση των αποτελεσμάτων του κληρονομικού προκαθορισμού της διαδικασίας της γεννητικής ωριμότητας.

Ωστόσο, η ολοένα αυξανόμενη γνώση των μηχανισμών που εμπλέκονται στο σύνθετο φαινόμενο της αναπαραγωγής των ιχθύων έχει σήμερα επιτρέψει, σε αρκετές περιπτώσεις τελεόστεων ιχθύων, την ελεγχόμενη πρόκληση της γεννητικής τους ωριμότητας, με σοβαρά μειωμένης εντάσεως επεμβάσεις εξωγενούς προελεύσεως και ιδιαίτερα εκείνων που συνδέονται με τη χρήση συνθετικών ή όχι ορμονούχων σκευασμάτων. Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα της τσιπούρας και του λαβρακιού, των οποίων ο έλεγχος της αναπαραγωγικής διαδικασίας τώρα δεν απαιτεί τίποτε άλλο από τη συνύπαρξη στον ίδιο χώρο αρσενικών και θηλυκών ατόμων, σε κατάλληλες όμως περιβαλλοντικές συνθήκες (φωτοπεριόδου, θερμοκρασίας, αλατότητας και κινήσεων του νερού, και διατροφής). Επίσης, άξια ιδιαίτερης αναφοράς είναι η περίπτωση των κυπρίνων (κοινού και ασιατικών ειδών) στους οποίους οι σύγχρονες εξωγενούς προελεύσεως επεμβάσεις χαρακτηρίζονται κυρίως από τη χρήση νερών κατάλληλης θερμοκρασίας και λιγότερο από τη χρήση ορμονούχων σκευασμάτων.

Η γενική εικόνα των σύγχρονων και άμεσα μελλοντικών ερευνητικών προσπαθειών που αφορούν στις ορμόνες των γονάδων των ιχθύων συνδέονται κυρίως με την πληρέστερη κατανόηση των μηχανισμών συνθέσεως, εκκρίσεως και δράσεώς τους, με την πληρέστερη κατανόηση των μηχανισμών εμπλοκής, κατά τη σύνθεση και την εκδήλωση της δράσεώς τους, του νευρικού συστήματος και άλλων ορμονών (αυξητική, κορτικοστεροειδή, μελατονίνη, θυροξίνη, τριωδοθυρονίνη, κ.α.), καθώς και με την αποσαφήνιση της γενετικής κωδικοποίησης της συνθέσεως και της δράσεώς τους.



5. ΟΡΜΟΝΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΙΧΘΥΩΝ

5.1 Γενικά

Η αναπαραγωγική ενδοκρινολογία των ψαριών, κατευθύνεται από μια σύνθετη σειρά ενδογενών οδών που απαιτούν επικοινωνία και αλληλεπίδραση, κατά μήκος συστηματικών αξόνων. Έτσι δεν αποτελεί έκπληξη, το ότι ορμόνες και άλλα φυσιολογικά συστήματα που τυπικά δεν συνδέονται με την αναπαραγωγή, μπορεί να παίζουν ένα ρόλο στην εξασφάλιση, της εμφάνισης της αναπαραγωγής σε μια περίοδο του έτους άριστη για την επιβίωση των απογόνων (Atukwe A, 2001).

Στις εύκρατες περιοχές, η αναπαραγωγική εποχιακή περιοδικότητα και η φωτοκία είναι σημαντικό να συμπίπτουν με συμβατές περιβαντολλογικές συνθήκες με θρεπτικές παροχές ικανοποιητικές για την επιβίωση και ανάπτυξη του γόνου. Κατά την σεξουαλική ωρίμανση, οι εσωτερικές αποκρίσεις που συγχρονίζονται από εξωτερικά σήματα, εξαρτώνται από μερικούς γενετικά καθορισμένους ουδούς απόδοσης. Οι διαδικασίες ωρίμανσης θα συνεχιστούν αν οι ουδοί υπερβληθούν κατά την κρίσιμη περίοδο του χειμώνα ή της άνοιξης (Thorpe, 1994).

5.2.Μοριακή δομή των ορμονών του φύλου

Από άποψη δομής του μορίου τους οι ορμόνες κατατάσσονται σε τρεις κυρίως ομάδες: α. τις αμινικές, β. τις πρωτεϊνικές και γλυκοπρωτεϊδικές και γ. τις στεροειδικές.

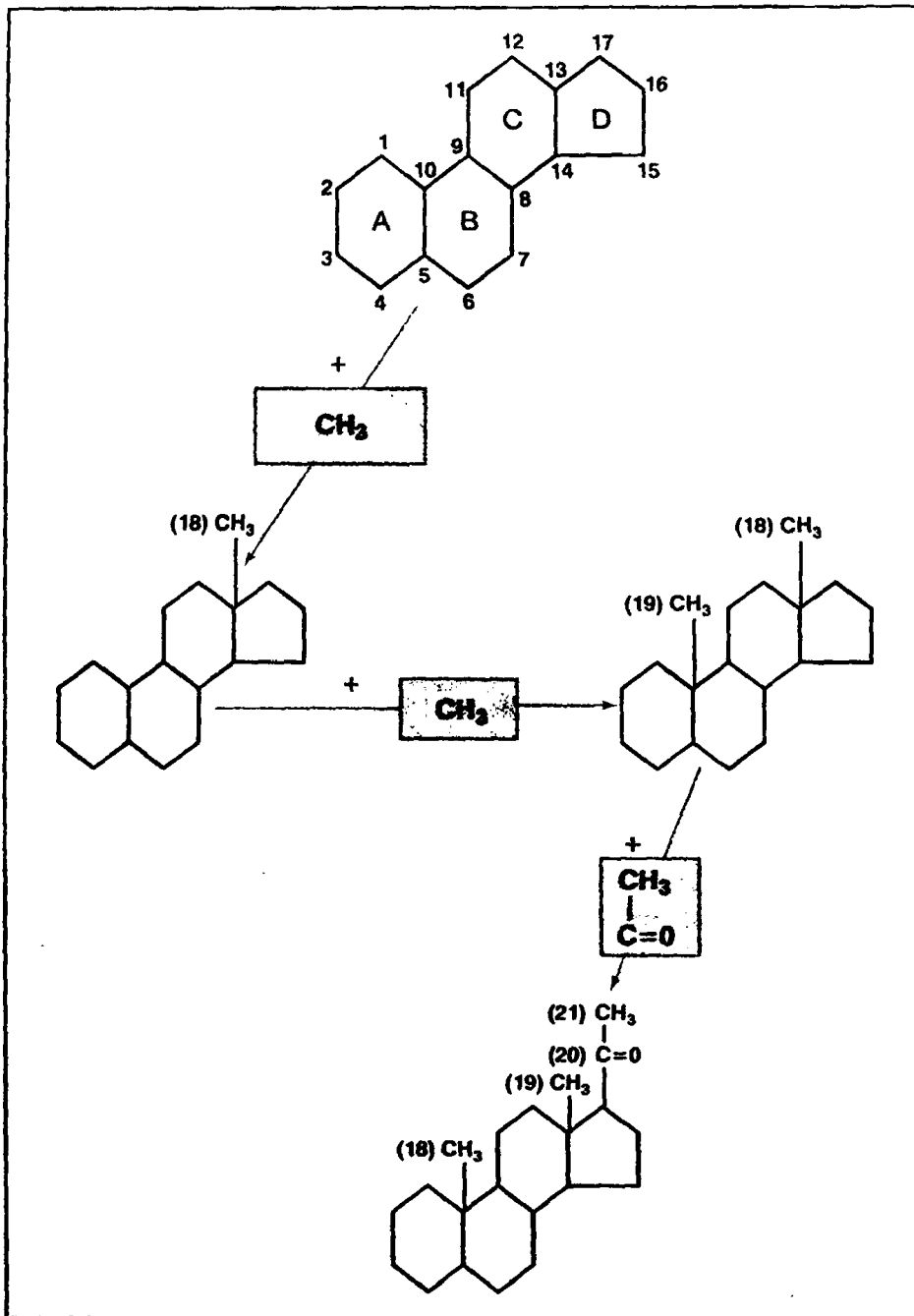
Οι πρόδρομες ουσίες των αμινικών ορμονών είναι τα δυο κυκλικά αμινοξέα τυροσίνη, από την οποία προκύπτουν οι θυροειδικές ορμόνες και οι ορμόνες του νεφρικού συστήματος των ιχθύων.

Στις πρωτεϊνικές περιλαμβάνονται μικρομοριακές και μεγαλομοριακές ορμόνες. ενώ η μοριακή δομή των γλυκοπρωτεϊδικών ορμονών χαρακτηρίζεται από την παρουσία δυο πολυπεπτιδικών τμημάτων και ενός υδατάνθρακος.

Η δομή του μορίου όλων των στεροειδικών ορμονών αποτελείται από το σύστημα των τεσσάρων δακτυλίων του μορίου του κυκλοπεντανοπερυδροφαινανθρενίου, με 17 άτομα άνθρακα. Από την προσθήκη ενός μεθυλίου (CH₃) στον άνθρακα 13 του μορίου αυτού προκύπτει η ουσία οιστράνιο της οποίας τα παράγωγα ονομάζονται οιστρογόνα (C₁₈ –στεροειδή). Από την προσθήκη ακόμη ενός μεθυλίου στον άνθρακα 10 προκύπτει η ουσία ανδροστάνιο της οποίας τα παράγωγα



ονομάζονται ανδρογόνα (C19-στεροειδή), ενώ η επιπλέον προσθήκη στον άνθρακα 17 δύο συνεχόμενων ατόμων άνθρακα, οδηγεί στην σύνθεση της ουσίας πρεγνάνιο, της οποίας τα παράγωγα είναι γνωστά ως C21-στεροειδή (εικ. I-1)

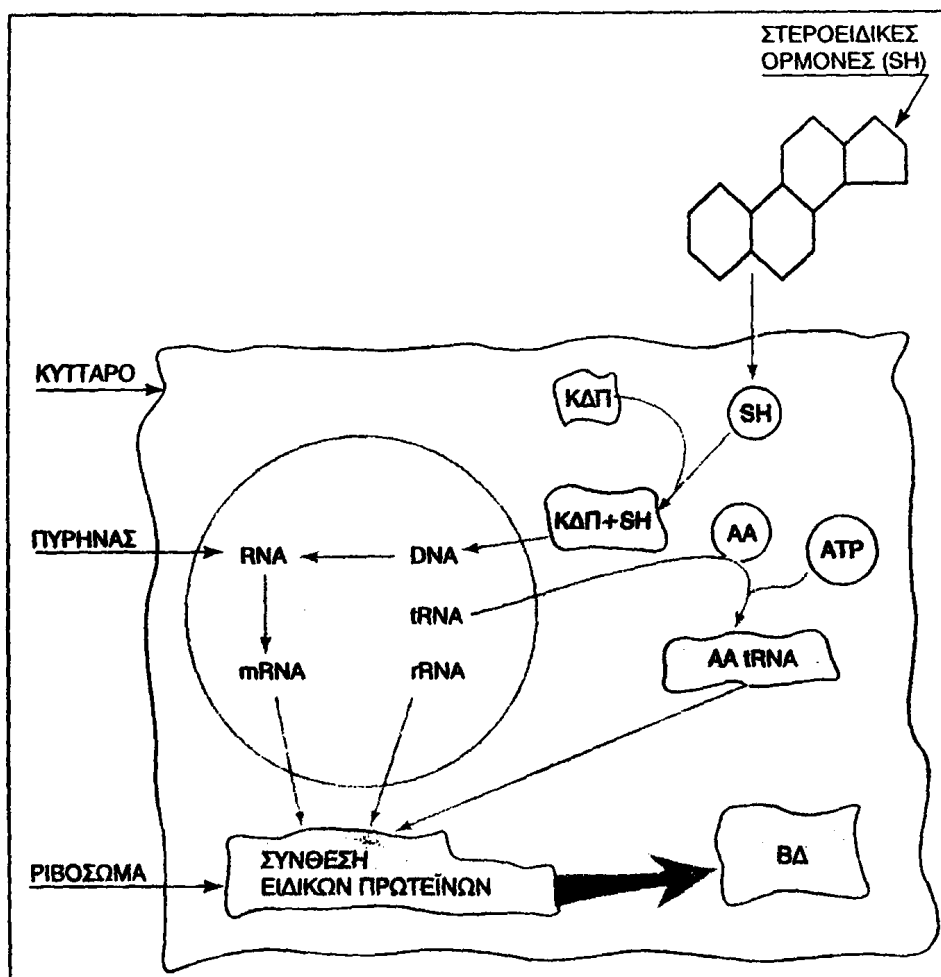


Εικ. I-1: Σχηματική παράσταση σύνθεσως των στεροειδικών ορμονών (Παπουτσόγλου 1998)

Οι στεροειδικές και οι θυρεοειδικές ορμόνες μετά την εξωκυττάρωσή τους κυκλοφορούν στο αίμα δεσμευμένες από εξειδικευμένες πρωτεΐνες που συντίθενται στο ήπαρ. Η δέσμευση αυτή αφορά το 90 % της συνολικής ποσότητας των ορμονών. Η βιολογική δράση των ορμονών αυτών επιτελείται από τη μη δεσμευμένη τους

ποσότητα (ελεύθερη) λόγω της εύκολης εισόδου της μέσω των κυτταρικών μεμβρανών. Η αναγκαία ποσότητα ελεύθερης ορμόνης, αποδεσμεύεται από την κυκλοφορούσα στο αίμα μορφή.

Οι στεροειδικές ορμόνες και η καλσιτριόλη (D3) διέρχονται από την κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου-στόχου δίχως την βοήθεια υποδοχέων. Οι ορμόνες αυτές μετά την είσοδο τους στο κυτταρόπλασμα συνδέονται με ειδικές για κάθε ορμόνη πρωτείνες-υποδοχείς (κυτταροπλασματική δεσμευτική πρωτεΐνη, με τις οποίες μετακινούνται και εισέρχονται στον πυρήνα των κυττάρων (εικ. I-2).



Εικ. I-2: Σχηματική παράσταση διεργασιών εισόδου και δράσεως στεροειδικών ορμονών

(ΚΔΠ= κυτταροπλασματική δεσμευτική πρωτεΐνη, AA=αμινοξέα, ΒΔ=βιολογικές δράσεις). (Παπουτσόγλου 1998)

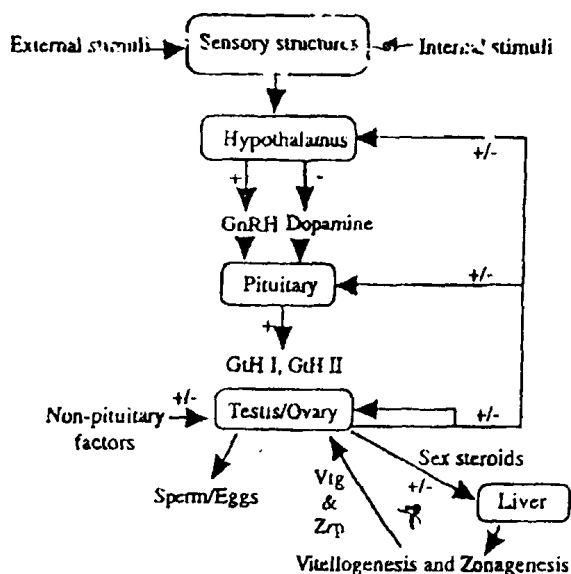
Η κύρια αποστολή των ορμονών αυτών, μέσω ενεργοποίησης των μηχανισμών σύνθεσης RNA από το DNA του πυρήνα, είναι η σύνθεση και η αύξηση παραγωγής πρωτεϊνών (ένζυμα, δομικές πρωτεΐνες, εκκρινόμενες πρωτεΐνες). Η διεργασία αυτή πραγματοποιείται με την προσκόλληση του συμπλόκου στεροειδική



ορμόνη υποδοχέας στη χρωματίνη του πυρήνα (DNA), από την οποία προκαλείται η σύνθεση του RNA. Το παραγόμενο RNA ως αγγελιοφόρο (m RNA) το οποίο χαρακτηρίζεται από την εντολή της ορμονικής δράσεως, εξέρχεται από τον πυρήνα και μετακινείται στα ριβοσώματα, όπου συντελείται η διεργασία συνθέσεως- παραγωγής πρωτεϊνών με τη βοήθεια ATP, ριβοσωματικού (r RNA) και μεταφορικού (t RNA) RNA (το οποίο είναι υπεύθυνο για την κινητοποίηση των απαραίτητων αμινοξέων).

5.3.Υποθάλαμο-υπόφυσι-γονάδο-ηπατικός άξονας

Ο υποθάλαμος δια μέσου της επίδρασης περιβαλλοντικών σημάτων (φωτοπερίοδος, θερμοκρασία, θρεπτικοί και κοινωνικοί παράγοντες), ρυθμίζει την σύνθεση και απελευθέρωση των ορμονών και χημικών διαβιβαστών που προέρχονται από την διέγερση του κεντρικού νευρικού συστήματος. (εικ. I-3)



Εικ. I-3: Σχηματικά οι οδοί ωρίμανσης/αναπαραγωγής, διέγερση (+) και αναστολή (-), αποτελούμενοι από παράγοντες και ουσίες οι οποίες ρυθμίζουν δομές και συμπεριφορές των ενηλίκων τελεόστων ιχθύων.

GnRH= ορμόνη απελευθέρωσης της γοναδοτροπίνης

GtH= γοναδοτροπίνη I και II

Vtg και Zp= βιτελογενίνη και zt-πρωτεΐνη αντίστοιχα

(Arukwe 2001)

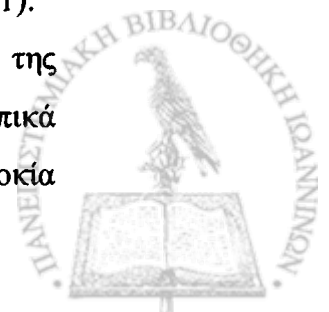
Η ορμόνη έκλυσης της γοναδοτροπίνης (GnRH), απελευθερώνεται από τον υποθάλαμο και διεγείρει την έκλυση γοναδοτροπινών (GtH), από την υπόφυση. Δυο μορφές γοναδοτροπινών (GtH), έχουν απομονωθεί στα ψάρια οι GtH I και II είναι



ανάλογες της θυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) και της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) των θηλαστικών αντίστοιχα (Redding and Patino 1993). Η GtH I συμμετέχει στην γαμετογένεση και στεροειδογένεση, ενώ η GtH II συμμετέχει στα τελικά στάδια ωρίμανσης της γαμετογένεσης. Γενικά, οι γοναδοτροπίνες είναι υπεύθυνες για την διέγερση της σύνθεσης των στεροειδών του φύλου (ανδρογόνα, οιστρογόνα, και προγεσταγόνα), τα οποία με τη σειρά τους επιδρούν σε ιστούς στόχους για την ρύθμιση της γαμετογένεσης, της αναπαραγωγής του φυλετικού φαινοτύπου και των συμπεριφορικών χαρακτηριστικών (Arukwe A, 2001).

Στις περισσότερες μελέτες ψαριών, η ανάπτυξη της ωογέννησης ρυθμίζεται από την GtH I. Η κυκλοφορούσα GtH I αυξάνεται κατά τη διάρκεια της πρώιμης ωοκυτταρικής ανάπτυξης και δεσμεύεται σε υποδοχείς των κυτταρικών στοιβάδων (κοκκιώδους και θηκικής) του ωοθυλακίου. Τα κύτταρα της θήκης συνθέτουν τεστοστερόνη, και επιτρέπουν την αρωματοποίηση με αποτέλεσμα το σχηματισμό οιστραδιόλης στην κοκκιώδη στοιβάδα πριν από την απελευθέρωση στο πλάσμα. (Cyr and Eales, 1996). Στη συνέχεια, η οιστραδιόλη πλάσματος θα δεσμευτεί στους υποδοχείς οιστραδιόλης (ER) και θα πυροδοτήσει σειρά βημάτων με αποτέλεσμα την παραγωγή βιτελογενίνης (Vtg) και πρωτεϊνών της ακτινωτής ζώνης (*Zona radiata-Zr*) στο ήπαρ. Οι Vtg και Zr-πρωτεΐνες απελευθερώνονται από το ήπαρ στο αίμα και ενσωματώνονται στο ωοκύτταρο, με μεσολαβούμενη από υποδοχέα ενδοκύττωση. Καθώς το ωοκύτταρο συνεχίζει να αναπτύσσεται, τα επίπεδα της GtH I αρχίζουν να μειώνονται και αντικαθίστανται από αυξανόμενα επίπεδα της GtH II. Η αντίδραση του άξονα καταρράκτη που οδηγεί στην παραγωγή των πρωτεϊνών ωρίμανσης είναι κοινά γνωστή ως υποθάλαμο-υπόφυσι-γόναδο-ηπατικός άξονας (HPGL-axis). Αυτός ο άξονας ελέγχεται τελικά από συστήματα παλίνδρομης ρύθμισης. Για παράδειγμα, τα οιστρογόνα που παράγονται στην ωοθήκη μπορούν να ασκήσουν θετική ή αρνητική επίδραση στον υποθάλαμο, την υπόφυση ή τις ίδιες τις γονάδες, γεγονός που εξαρτάται από την συγκέντρωση της ορμόνης που την δεδομένη περίοδο απαιτείται για να ικανοποιήσει τις φυσιολογικές και αναπαραγωγικές ανάγκες του ψαριού. Μεταβολές στην παραγωγή των στεροειδών ορμονών μπορούν τελικά να επηρεάζουν τις οδούς παλίνδρομης ρύθμισης ή αντιθέτως γεγονός που θα μπορούσε να οδηγήσει στην ανεπάρκεια των αναπαραγωγικών διαδικασιών (Arukwe A, 2001).

Στα αρσενικά ψάρια, η GtH I τυπικά είναι αυξημένη σε όλη τη διάρκεια της σπερματογένεσης και μειώνεται κατά το χρόνο της ωοτοκίας, ενώ η GtH II τυπικά είναι χαμηλή κατά τη διαδικασία ανάπτυξης και είναι αυξημένη κατά τη ωοτοκία



(spawning). Οι γοναδοτροπίνες διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των σπερματογόνιων καθώς και τη σύνθεση των ανδρογόνων που απαιτούνται για την γαμετογένεση και την ανάπτυξη των δευτερογενών χαρακτηριστικών φύλου. Η σύνθεση των ανδρογόνων τυπικά λαμβάνει μέρος στα κύτταρα του Leydig. Ο τύπος του ανδρογόνου που συντίθεται εξαρτάται από τα είδη και το στάδιο ανάπτυξης, όμως μπορεί να περιλαμβάνει τεστοστερόνη, 11-κετοτεστοστερόνη και/ή ανδροστενδιόνη. (Redding and Patino, 1993). Μια μείωση των επιπέδων των ανδρογόνων και μια απότομη αύξηση των προγεσταγόνων κατά τη διάρκεια της ωοτοκίας (spawning) πρωταρχικά αποδίδεται στα αυξημένα επίπεδα της GtH II (Nagahama, 1994, Jobling 1995, Yamashita and Nagahama, 1997).

5.4. Σύνθεση και έκκριση της 17-β-οιστραδιόλης

Η ενδοκρινής δραστηριότητα των ωοθηκών των ιχθύων εκπροσωπείται αποκλειστικά από εκείνη των ωοθυλακικών κυττάρων και πιο συγκεκριμένα από τα κύτταρα της θήκης και της κοκκιώδους στιβάδος.

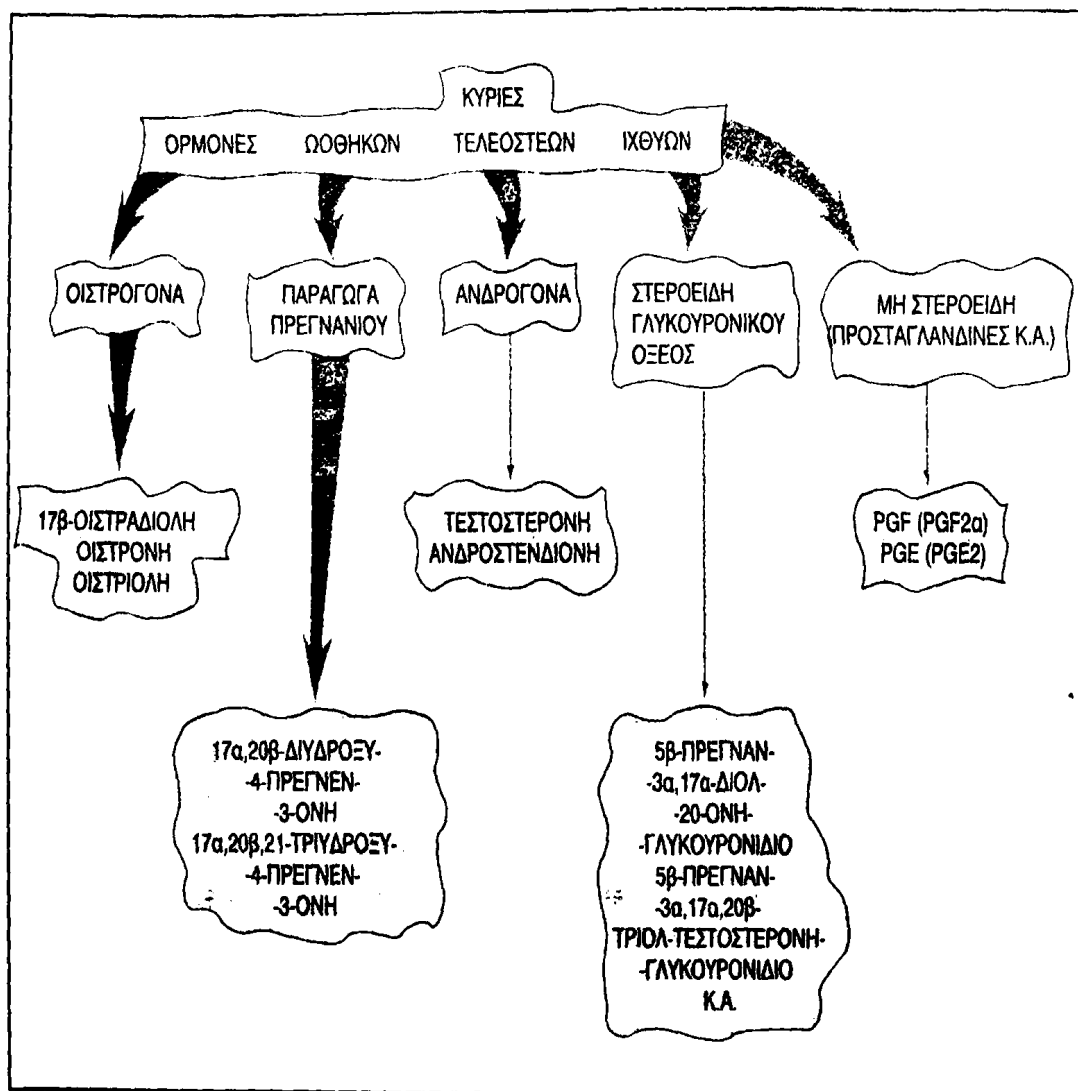
Οι ορμόνες που συντίθενται στα κύτταρα αυτά είναι κυρίως οιστρογόνα, καθώς και μικρές ποσότητες ανδρογόνων, παραγώγων του πρεγνανίου, στεροειδή ενωμένα με γλυκουρονικό οξύ, καθώς και προσταγλανδίνες.

Το είδος και η ποσότητα και, επομένως και η ένταση της βιολογικής δράσεως των διαφόρων ορμονών που συντίθενται στα ωοθυλάκια των ιχθύων εξαρτώνται κυρίως από το είδος του ιχθύος και το στάδιο αναπτύξεως των ωοθυλακίων του.

Τα οιστρογόνα που παράγονται είναι η 17β-οιστραδιόλη και η οιστρόνη και σε ορισμένες περιπτώσεις η οιστριόλη, ενώ από την κατηγορία των ανδρογόνων κυρίως η τεστοστερόνη. Η κατηγορία των παραγώγων του πρεγνανίου εκπροσωπείται κυρίως από την 17α, 20β-διυδροόξυ-4-πρεγνεν-3-όνη, καθώς και από συναφούς δομής ορμόνες όπως η 17α, 20β, 21-τριυδροόξυ-4-πρεγνεν-3-όνη. (εικ. I-4)

Όπως έχει προαναφερθεί, τα οιστρογόνα είναι στεροειδή με 18 άτομα άνθρακος. Η 17β-οιστραδιόλη είναι η πρώτη ορμόνη που εντοπίστηκε κατά το 1961 σε ωοθήκες ιχθύος (*Ssalmo irideus*-πέστροφα, *Cyprinus carpio*- κοινός κυπρίνος). Θεωρείται ως η πιο σημαντική από την κατηγορία των οιστρογόνων τόσο από την άποψη της ποσοτικής παρουσίας όσο και από την άποψη της βιολογικής της δράσεως, κατά την περίοδο συνθέσεως της βιτελλογενίνης.





Εικ. I-4: Κύριες ορμόνες που συντίθενται στις ωοθήκες τελεόστεων ιχθύων (Παπουτσόγλου 1998)

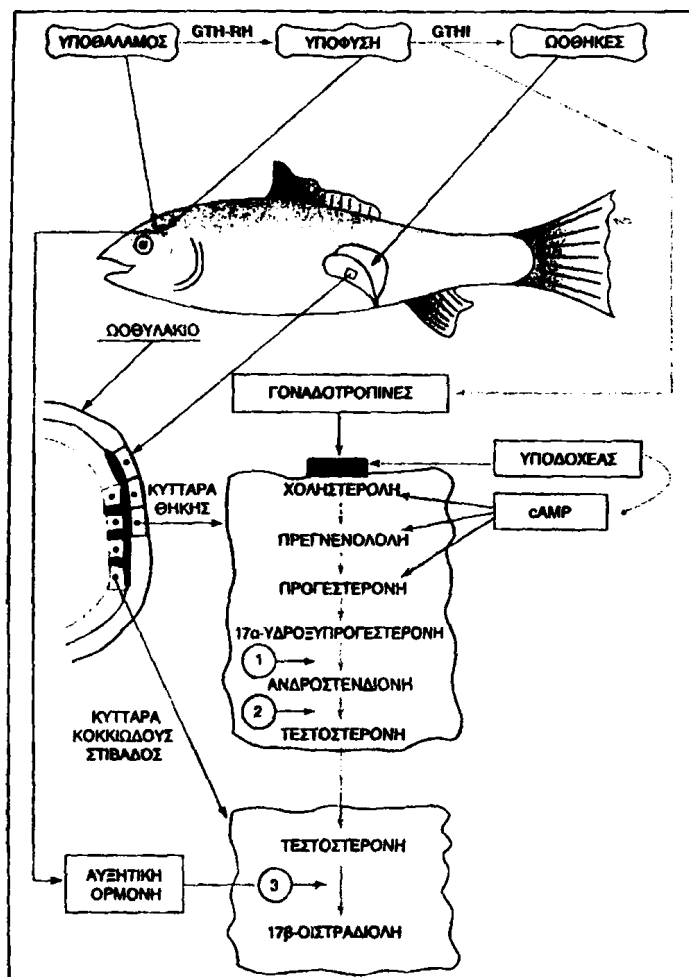
Η διεργασία της συνθέσεως της ορμόνης αυτής ξεκινά από τα κύτταρα της θήκης τα οποία έχουν την ικανότητα συνθέσεως της τεστοστερόνης με πρόδρομο (μητρική) ουσία τη χοληστερόλη. Από τα κύτταρα της θήκης η τεστοστερόνη εισέρχεται στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδος, τα οποία έχουν την ικανότητα συνθέσεως του ενζύμου αρωματάση, με τη δράση του οποίου η τεστοστερόνη μετατρέπεται σε 17β-οιστραδιόλη. Η σύνθεση της χοληστερόλης στα κύτταρα της θήκης ελέγχεται από τη δράση των γοναδοτροπινών, ενώ η σύνθεση της αρωματάσης στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδος από την αυξητική ορμόνη (εικ. I-5).

Σύμφωνα με τις υπάρχουσες πληροφορίες, η είσοδος της βιτελλογενίνης μέσα στα ωοθυλάκια πραγματοποιείται από τους ενδιάμεσους, μεταξύ των κυττάρων της θήκης και της κοκκιώδους στιβάδος, χώρους. Η περαιτέρω διείσδυση της βιτελλογενίνης στο ωοκύτταρο περιλαμβάνει τη διόδό της μέσα από πόρους της



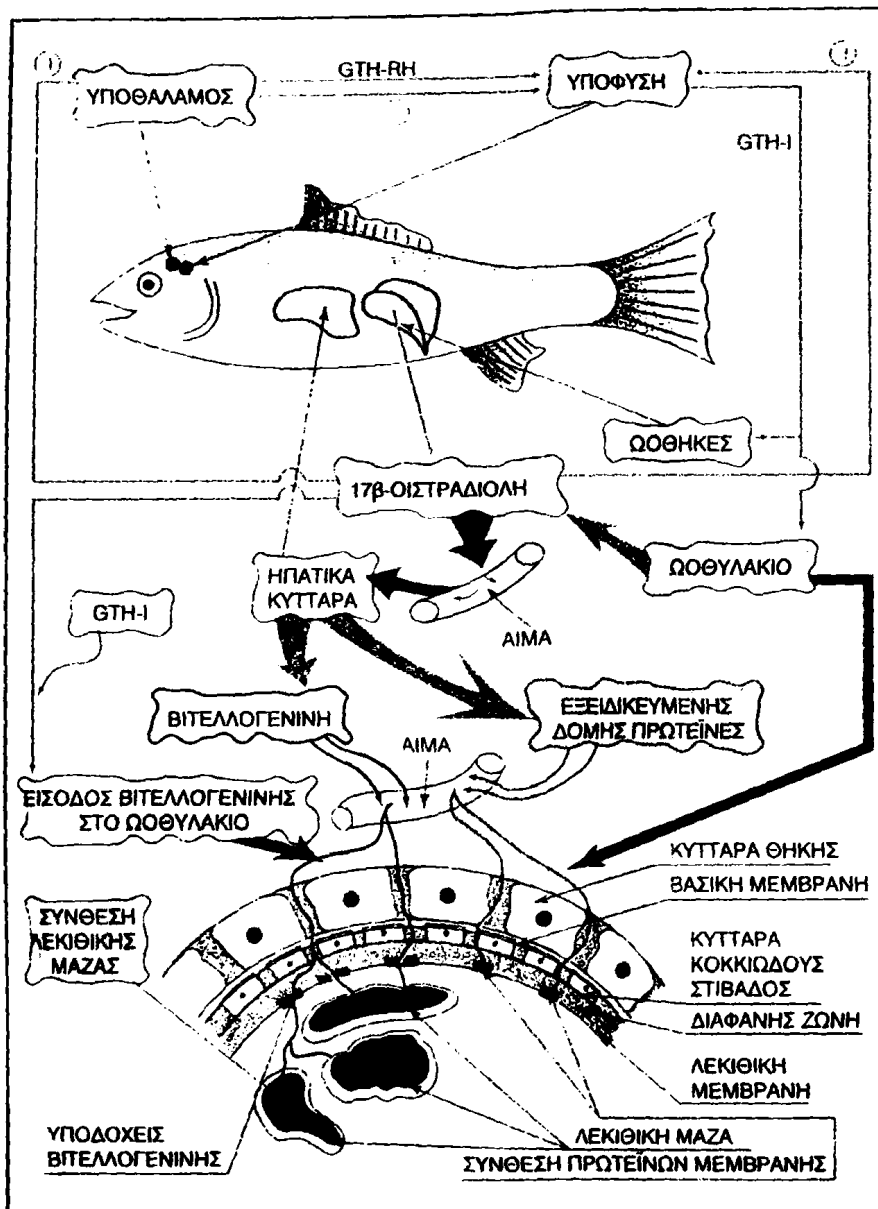
διαφανούς ζώνης και τέλος την ένωσή της με ειδικούς υποδοχείς της μεμβράνης του ωοκυττάρου. Η συνεχής μετατροπή της βιτελλογενίνης σε πρωτεΐνες της λεκίθου έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της λεκιθικής μάζας, γεγονός το οποίο, όπως έχει προαναφερθεί, προκαλεί τη μετακίνηση του ωοφόρου δίσκου του ωοκυττάρου από το κέντρο προς την περιφέρειά του. Εξαιτίας της προαναφερθείσης δράσεώς τους τα οιστρογόνα των ιχθύων, και κυρίως η 17β-οιστραδιόλη, θεωρούνται ως οι κατ' εξοχήν ορμόνες από τη δράση των οποίων καθορίζεται αποφασιστικά ο ρυθμός και η πλήρης περάτωση της συνθέσεως και της αυξήσεως της λεκιθικής μάζας του ωοκυττάρου (εικ. I-6)

Η βιολογική δράση της 17α, 20β-διυδροξύ-4-πρεγνε-3-όνης συνίσταται στην αποφασιστική συμμετοχή της στην ωρίμαση των ωοκυττάρων και στην ωοθυλακιορρηξία. Τονίζεται ότι εκτός από την ορμόνη αυτή, όπως έχει προαναφερθεί, σε διάφορα είδη ιχθύων έχουν βρεθεί και άλλες ορμόνες παρεμφερούς δομής (π.χ. 17α, 20β, 21-τριυδροξύ-4-πρεγνε-3-όνη) και ίδιας βιολογικής δράσεως.



Εικ. I-5: Μηχανισμοί συνθέσεως της 17β-οιστραδιόλης στα ωοθηλάκια τελεόστεων ιχθύων (Παπουτσόγλου 1998)





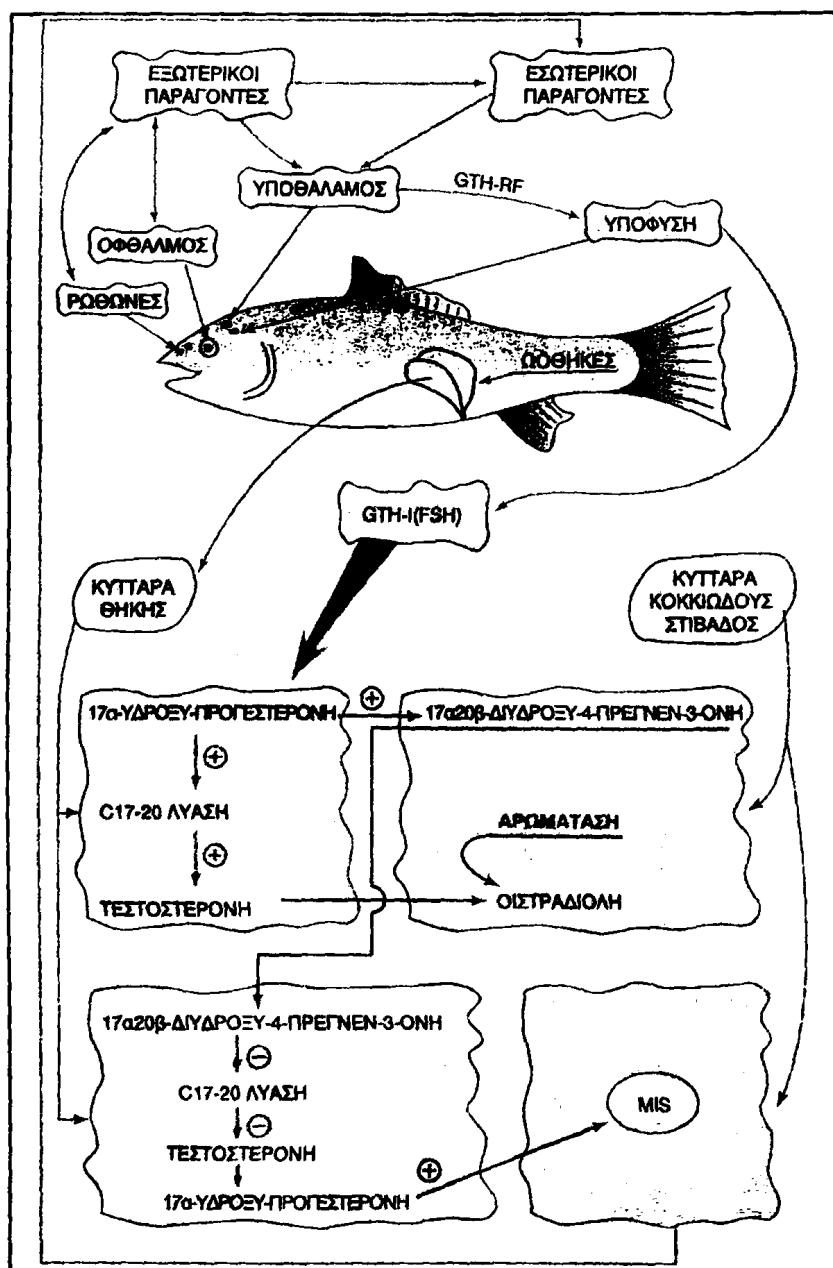
Εικ. I-6: Απλοποιημένη σχηματική παράσταση των μηχανισμών συνθέσεως της λεκιθικής μάζας στα ωοθυλάκια (ωοκύτταρα) των ιχθύων (Παπουτσόγλου 1998)

Γενικά οι στεροειδείς αυτές ορμόνες από τις οποίες καθορίζεται η ωρίμαση των ωοκυττάρων των ιχθύων είναι γνωστές ως MIS παράγοντες (Maturation inducing substances). Οι ορμόνες αυτές (MIS παράγοντες) μετά τη σύνθεσή τους στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας, εξωκυτταρούνται και ύστερα από διάχυσή τους μέσα στη διαφανή ζώνη προσεγγίζουν τη μεμβράνη του ωοκυττάρου.(εικ.I-7)

Στα θηλυκά άτομα η σύνθεση και η έκκριση των ορμονών που ενεργοποιούν τους μηχανισμούς ενάρξεως και περατώσεως της διεργασίας της βιτελλογενέσεως (17β-οιστραδιόλη κ.ά.), ελέγχεται με παλίνδρομο ρύθμιση από τη γοναδοτροπίνη GTH-II (FSH). Η σύνθεση και η έκκριση των ορμονών που προάγουν τις διεργασίες της τελικής ωρίμασεως των ωοκυττάρων και της ωοθυλακιωρηξίας (MIS



παράγοντες), ελέγχονται από τη γοναδοτροπίνη GTH-II (LH). Η αύξηση του επιπέδου της FSH στο αίμα πραγματοποιείται παράλληλα με την αύξηση του ρυθμού βιτελλογενέσεως και την αύξηση του επιπέδου της 17 α -οιστραδιόλης. Αμέσως μετά το τέλος της βιτελλογενέσεως παρατηρείται παράλληλη πτώση των επιπέδων των προαναφερθεισών ορμονών και απότομη αύξηση εκείνων της LH και των MIS παραγόντων των οποίων τα επίπεδα καθ' όλη τη διάρκεια της βιτελλογενέσεως ήσαν πολύ χαμηλότερα.



Εικ. I-7: Απλοποιημένη σχηματική απεικόνιση των ορμονικών μηχανισμών που εμπλέκονται στη σύνθεση και την έκλυση οιστρογόνων (κυρίως οιστραδιόλης) και MIS παραγόντων κατά την ωρίμανση των ωοκυττάρων και την ωοθυλακιορρηξία τελεόστων ιχθύων (Παπουτσόγλου 1998)



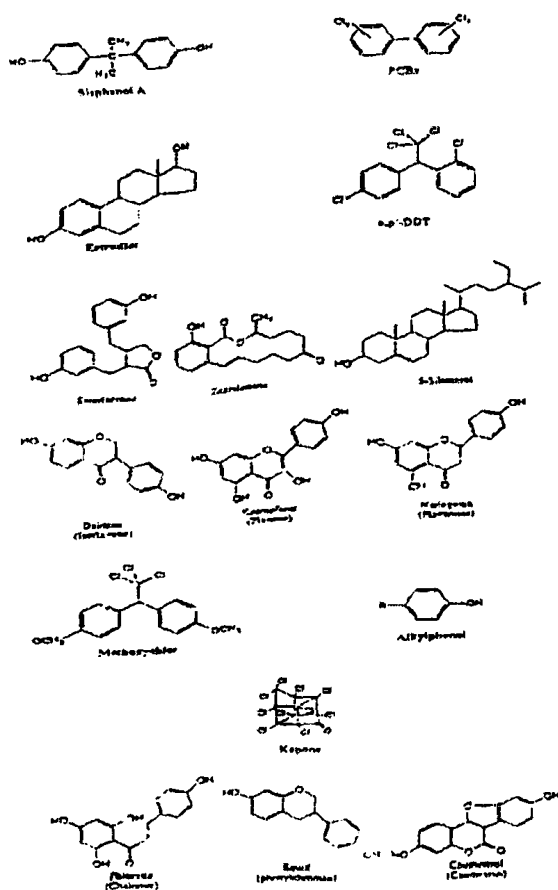
Από τα προαναφερθέντα προκύπτει το συμπέρασμα ότι η επιτυχής πραγματοποίηση της βιτελλογενέσεως και της πλήρους ωριμότητας των ωοκυττάρων και της ωοθυλακιορρηξίας ελέγχεται από μία περίπλοκη διεργασία η οποία καθορίζεται από μηχανισμούς παλίνδρομης ρυθμίσεως, συνθέσεως και εκκρίσεως οιστρογόνων (κυρίως 17-οιστραδιόλης) και στεροειδών παραγώγων του πρεγνανίου (MIS παραγόντων).

5.5 Περιβαλλοντικά οιστρογόνα

Μαζί με το νευρικό σύστημα, το ενδοκρινικό σύστημα, το οποίο αποτελείται από αδένες οι οποίοι εκκρίνουν χημικούς μεσολαβητές, συνθέτουν ένα σύστημα επικοινωνίας το οποίο ρυθμίζει όλες τις αντιδράσεις και λειτουργίες του σώματος.. Αντίθετα προς το νευρικό σύστημα, το οποίο στέλνει ταχέως διαχεόμενα σήματα μέσω ηλεκτροχημικής διαβίβασης κατά μήκος νευρικών αξόνων στον εγκέφαλο όπου αποκρυπτογραφούνται και αναμεταδίδονται στα κατάλληλα τμήματα του σώματος για την έκλυση στιγμιαίων αντιδράσεων, το ενδοκρινικό σύστημα παρέχει κυτταρικές οδηγίες (εντολές) με περισσότερη λεπτότητα και βραδύτητα μέσω χημικών μεταβιβαστών. Ορμόνες που παράγονται στους ενδοκρινείς αδένες σε ένα σημείο του σώματος οδεύουν δια της κυκλοφορίας μέχρι να συναντήσουν τους ειδικούς υποδοχείς με τους οποίους αλληλεπιδρούν για την έναρξη σημαντικών βιολογικών αντιδράσεων σε ειδικούς ιστούς στόχους (Bolander, 1994).

Πολλά περιβαλλοντολογικά χημικά εμφανίζουν οιστρογονική ή ανδρογόνο δραστηριότητα (εικ. I-8).





Εικ. I-8: Δομές διαφόρων φυσικά απαντώμενων και βιομηχανικών οιστρογόνων (Arukwe 2001)

Μερικά από τα χημικά αυτά εμφανίζονται φυσικά σε φυτά και μύκητες, άλλα κατασκευάζονται από τον άνθρωπο με προϊόντα τα οποία ανευρίσκονται σε αγροτικά και βιομηχανικά χημικά.

Ενδοκρινικές-modulating ενώσεις, τόσο περιβαλλοντολογικές όσο και ενδογενείς, μπορούν να αντιδράσουν με τις στεροειδείς ορμόνες και τους υποδοχείς τους, ή άλλες ορμόνες και αντιγραφικούς παράγοντες στην βιοχημική οδό της ορμονικής δραστηριότητας.

Ρυπαντές

Από την δεκαετία του 1930 ήταν γνωστό (Bitman and Cecil,1970, Dodds and Lawson,1936) ότι ξеноβιοτικά δρουν με παρόμοιο τρόπο όπως οι ορμόνες, με αποτέλεσμα την ικανότητα να επηρεάζουν τις ενδοκρινείς λειτουργίες. Για παράδειγμα, εκτός από τα φυτικά συστατικά (φυτοοιστρογόνα), συνθετικές ενώσεις όπως η μεθοξυχλωρίνη, DDT και πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs), μπορεί να αναπτύξουν οιστρογονικές δραστηριότητες σε ζώα εργαστηρίου (εικ. I-8). Τελευταία, το αυξημένο ενδιαφέρον για το πρόβλημα των περιβαλλοντικών οιστρογόνων μπορεί



να ερμηνευθεί από: (1) τα πρόσφατα ευρήματα στην διαφοροποίηση φύλου και τη αναπαραγωγική βιολογία άγριων πληθυσμών συμπεριλαμβανομένων πχ των ψαριών, ερπετών και πουλιών (Colborn and Clement, 1992, Arukwe and Goskoyt, 1998), (2) τα πειραματικά αποτελέσματα με ψάρια ως βιοδείκτες σε αύλακες απορροής εργοστασίων επεξεργασίας λυμάτων της Βρετανίας (Purdon et al, 1994; Jobling and Sumpter, 1993) και (3) τις πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες στην ανάπτυξη και λειτουργία των ανθρώπινων γεννητικών οργάνων, ιδιαίτερα των αρρένων (Sharpe and Skakkebaek, 1993; Kavlock et al, 1996).

Πολλοί οιστρογονικοί ρυπαντές παράγονται για ειδικούς σκοπούς και χρησιμοποιούνται σε εντομοκτόνα, πλαστικά, ηλεκτρικούς μετασχηματιστές και άλλα προϊόντα (Ahlborg et al., 1995; Caldwell, 1985) (Πίν. I-4).

Πίν. I-4: Κλάσεις περιβαλλοντικών οιστρογόνων (Arukwe 2001)

Natural products	Environmental pollutants	Industrial chemicals	Pharmaceutical chemicals	Complex mixtures
Genistein	DDT	BFRs	Ethinyl estradiol	Sewage effluents
Naringenin	Dioxins	Bisphenol A	Diethylstilbestrol	Industrial effluents
Coumestrol	Keponc	Nonionic surfactants	Norgestrel	Air particulates
Zearalenone	PCBs	Endosulfan	Gestodene	Sediment extracts
Equol	PAHs	Phthalate esters	Contraceptives	Tissue extracts
Flavonin		Insecticides		
Enterolactone		Parabens		
β -sitosterol				
Daidzen				
Kaempferol				

Άλλες ουσίες παράγονται ως υποπροϊόντα στην βιομηχανία ή είναι παράγωγα διάσπασης άλλων χημικών, και μερικά είναι, όπως η 17 β -αιθινυλοιστραδιόλη και διεθυλστυλβεστρόλη (DES). Ωστόσο, φυσικές ενώσεις ικανές να προκαλέσουν οιστρογονικές αντιδράσεις, όπως τα φυτοοιστρογόνα και μυκοοιστρογόνα που εμφανίζονται σε διάφορα φυτά και μύκητες, επίσης έχουν μελετηθεί στα ψάρια (Pellisero et al., 1993; Celius et al., 1999, Arukwe et al., 1999). Ανεξάρτητα από την πηγή ή αρχική πρόθεση χρησιμότητας, σημαντικές ποσότητες από τα χημικά αυτά καταλήγουν στο υδάτινο περιβάλλον λόγω φυσικο-χημικών, υδρολογικών και ατμοσφαιρικών διεργασιών (Guardans and Gimeno, 1994; Ayotte et al., 1995; Bjerregaard, 1996).

Η βιοσυσσώρευση των μετάλλων στις τροφικές αλυσίδες των υδάτινων οικοσυστημάτων οδηγεί κατ'αρχήν στην αύξηση της συγκέντρωσης των μετάλλων στο φύτο- και ζώοπλαγκτόν και στην συνέχεια στους ιστούς των ψαριών. Η αύξηση της



συγκέντρωσης των μετάλων είναι χαρακτηριστική στα αυγά των ψαριών και συνήθως επηρεάζει αρνητικά τον αριθμό τους (Kalfakakou et al, 1987, Kagalou et al 1990). Ο μηχανισμός μέσω του οποίου εκδηλώνεται η τοξικότητα του μετάλου στην παραγωγή του γεννητικού υλικού οφείλεται στις μεταβολές της βιτελογένεσης. Η διαταραχή της βιτελογένεσης ξεκινά από τις ατροφικές ωοθήκες και την αδυναμία παραγωγής λιποβιτελίνης της κύριας πρωτεΐνης της λεκίθου.

Πολλές από τις αναφερόμενες τροποποιητικές ενδοκρινικές δράσεις (πχ, οιστρογονικές και αντι-οιστρογονικές) των περιβαλλοντικών ρυπαντών ασκούνται μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων θηλαστικών. Άλλες δράσεις των ρυπαντών αφορούν τις Vtg και Zr πρωτεΐνες, όπως έχει βρεθεί, σε *in vitro* ελέγχους, στα ηπατοκύτταρα ψαριών (White et al., 1994; Celius et al., 1999). Και στις δύο περιπτώσεις χρειάζεται προσοχή στην εξαγωγή συμπερασμάτων στα ψάρια *in vivo*, επειδή, μπορεί να υπάρχουν ακόμη σημαντικές διαφορές μεταξύ των ειδών στην δομή και λειτουργία των στεροειδικών ορμονών, αν και είναι γνωστό ότι έχουν διατηρηθεί εξαιρετικά κατά την εξέλιξη των σπονδυλωτών. Επιπλέον οι δοκιμασίες *in vitro* στερούνται της σημαντικής μεταβολικής ικανότητας του ζωντανού ψαριού και έτσι παραβλέπονται ενδοκρινικές επιδράσεις που προκαλούνται από μεταβολίτες ή τροποποιήσεις του μεταβολισμού των στεροειδών. Τελικά, οι διάφορες ενδοκρινικές οδοί σε άθικτα ζώα είναι άκρως σύνθετες και αλληλοεξαρτώμενες και συνεπώς επιδράσεις που ανιχνεύονται *in vitro* δεν επαναλαμβάνονται πάντα *in vivo* (Cyr and Eales, 1996).

Επιδράσεις σε επίπεδο πληθυσμού και κοινότητας (Μακροπρόθεσμες)

Οι βραχυπρόθεσμες συνέπειες της έκθεσης ψαριών στα οιστρογόνα (και πιθανώς επίσης στα ανδρογόνα) κατά την διάρκεια της ευαίσθητης περιόδου της ανάπτυξης είναι ότι τα γονοτυπικά αρρενα άτομα μπορεί να θηλεοποιηθούν πλήρως, να αναπτύξουν φυσιολογικές ωοθήκες και ωαγωγούς και να αναπαραχθούν φυσιολογικά ως ενήλικα. Η τεκμηριωμένη θηλεοποίηση που προκαλείται από οιστρογονική έκθεση του γόνου είναι αδύνατο να ανιχνευθεί χωρίς πολύπλοκη γενετική ανάλυση, αλλά αυτό συνεπάγεται ότι, η αναλογία φύλου των ενήλικων πληθυσμών μπορεί να εκτρέπεται (τουλάχιστον βραχυπρόθεσμα) προς τα θήλεα (Larsson et al., 1996b).



Οι επιπτώσεις της εκτροπής της φυλετικής αναλογίας για τις αναπαραγωγικές ικανότητες ενός πληθυσμού ψαριών μπορεί να είναι έκδηλες. Όμως, τέτοιες επιδράσεις σπάνια έχουν παρατηρηθεί στους άγριους πληθυσμούς, πραγματικά, το καλύτερο παράδειγμα αφορά κλίση σχέσης φύλου προς τα αρρενα, προκαλούμενη από φυτικές στερόλες (Larsson et al., 1996b) και είναι δύσκολο να διαχωριστούν από επιδράσεις προκαλούμενες από διακυμάνσεις φυσικών στρεσογόνων, συμπεριλαμβανομένων του κλίματος και της εντατικής αλιείας των ψαριών (Lang et al., 1995). Παραμένει προς διερεύνηση το αν οι επιδράσεις των οιστρογονικών ουσιών στην σχέση φύλου των ψαριών είναι περισσότερο εκτεταμένες.

Η αμφιφυλία είναι περισσότερο κοινή κατάσταση και προκαλείται από έκθεση του γόνου ψαριών σε οιστρογονικές ουσίες. Η αμφιφυλική κατάσταση σε αρρενα συνήθως λαμβάνει την μορφή ωόρχι. Τα αντικείμενο έχει ανασκοπηθεί από τους Bortone and Davis (1994), ιδιαίτερα από την άποψη της αρρενοποίησης των θηλέων η οποία προκαλείται από απορροές μύλων χαρτοπολτού. Ο ωόρχις είναι μια μερική θηλεοποίηση στην οποία τα ωοκύτταρα (ωάρια) μπορούν να εμφανιστούν σε καθόλα φυσιολογικούς όρχεις. Λίγα είναι γνωστά σχετικά με τις επιπτώσεις της κατάστασης αυτής στην αναπαραγωγική λειτουργικότητα. Ο ωόρχις μπορεί να προκληθεί στο εργαστήριο δια εκθέσεως του γόνου ψαριών σε ασθενή οιστρογόνα όπως η nonylphenol (Gray and Metcalfe, 1997, Gimeno et al., 1996) και επίσης έχει παρατηρηθεί κατ'επικράτηση που κυμαίνεται από 2% στο 100% σε άγριους πληθυσμούς ψαριών μετά από έκθεση σε οιστρογονικές απορροές (Jobbling et al., 1998).

5.6.Μηχανισμοί διάρρηξης κύκλου από τα μέταλλα

Οι αλληλεπιδράσεις οιστρογόνων, τα οποία ελέγχουν την παραγωγή της βιτελλογενίνης και μετάλων έχουν τεκμηριωθεί σε ψάρια και άνθρωπους (Thompson et al, 2001, Tsanadis et al, 2003). Φαίνεται δε ότι οι αλληλεπιδράσεις αυτές ασκούνται και με την διαμεσολάβηση των μεταλοθειονινών των οποίων τόσο η συγκέντρωση όσο και η κατανομή στους ιστούς εμφανίζει μεταβολές αντίστοιχες μετάλων όπως: Zn, Cd, Hg, Ag .(Thompson et al, 2001, Hook and Fisher, 2001).

Η κρίσιμη σχέση αναπαραγωγικής ικανότητας και μετάλων στους υδρόβιους οργανισμούς εκφράζεται από το μοντέλο του βιοτικού δεσμού ικανού να περιγράψει ή να προβλέψει τις αλληλεπιδράσεις τους.(Paquin et al, 2002)



Οι επιπτώσεις της εκτροπής της φυλετικής αναλογίας για τις αναπαραγωγικές ικανότητες ενός πληθυσμού ψαριών μπορεί να είναι έκδηλες. Όμως, τέτοιες επιδράσεις σπάνια έχουν παρατηρηθεί στους άγριους πληθυσμούς, πραγματικά, το καλύτερο παράδειγμα αφορά κλίση σχέσης φύλου προς τα αρρενα, προκαλούμενη από φυτικές στερόλες (Larsson et al., 1996b) και είναι δύσκολο να διαχωριστούν από επιδράσεις προκαλούμενες από διακυμάνσεις φυσικών στρεσογόνων, συμπεριλαμβανομένων του κλίματος και της εντατικής αλιείας των ψαριών (Lang et al., 1995). Παραμένει προς διερεύνηση το αν οι επιδράσεις αν οι επιδράσεις των οιστρογονικών ουσιών στην σχέση φύλου των ψαριών είναι περισσότερο εκτεταμένες.

Η αμφιφυλία είναι περισσότερο κοινή κατάσταση και προκαλείται από έκθεση του γόνου ψαριών σε οιστρογονικές ουσίες. Η αμφιφυλική κατάσταση σε αρρενα συνήθως λαμβάνει την μορφή ωοόρχι. Τα αντικείμενο έχει ανασκοπηθεί από τους Bortone and Davis (1994), ιδιαίτερα από την άποψη της αρρενοποίησης των θηλέων η οποία προκαλείται από απορροές μύλων χαρτοπολτού. Ο ωοόρχις είναι μια μερική θηλεοποίηση στην οποία τα ωοκύτταρα (ωάρια) μπορούν να εμφανιστούν σε καθόλα φυσιολογικούς όρχις. Λίγα είναι γνωστά σχετικά με τις επιπτώσεις της κατάστασης αυτής στην αναπαραγωγική λειτουργικότητα. Ο ωοόρχις μπορεί να προκληθεί στο εργαστήριο δια εκθέσεως του γόνου ψαριών σε ασθενή οιστρογόνα όπως η nonylphenol (Gray and Metcalfe, 1997, Gimeno et al., 1996) και επίσης έχει παρατηρηθεί κατ'επικράτηση που κυμαίνεται από 2% στο 100% σε άγριους πληθυσμούς ψαριών μετά από έκθεση σε οιστρογονικές απορροές (Jobbling et al., 1998).

5.6. Μηχανισμοί διάρρηξης κύκλου από τα μέταλλα

Οι αλληλεπιδράσεις οιστρογόνων, τα οποία ελέγχουν την παραγωγή της βιτελλογενίνης και μετάλων έχουν τεκμηριωθεί σε ψάρια και άνθρωπους (Thompson et al, 2001, Tsanadis et al, 2003). Φαίνεται δε ότι οι αλληλεπιδράσεις αυτές ασκούνται και με την διαμεσολάβηση των μεταλοθειονινών των οποίων τόσο η συγκέντρωση όσο και η κατανομή στους ιστούς εμφανίζει μεταβολές αντίστοιχες μετάλων όπως: Zn, Cd, Hg, Ag. (Thompson et al, 2001, Hook and Fisher, 2001).

Η κρίσιμη σχέση αναπαραγωγικής ικανότητας και μετάλων στους υδρόβιους οργανισμούς εκφράζεται από το μοντέλο του βιοτικού δεσμού ικανού να περιγράψει ή να προβλέψει τις αλληλεπιδράσεις τους. (Paquin et al, 2002)



Παρά την απουσία της τεκμηριωμένης απόδειξης της αιτιολογικής συσχέτισης μεταξύ τοξικολογικών επιδράσεων σε άτομα και των απαντήσεων των πληθυσμών, υπάρχει ευρεία απόδειξη της μείωσης άγριων πληθυσμών που προκαλείται από την ρύπανση. Τέτοιες επιδράσεις έχουν παρατηρηθεί, για παράδειγμα, σε καφέ πέστροφα (*Salmo trutta*, Kubecka and Matena, 1991) και τσίμες (*Phoxinus phoxinus*, Bagge and Hakkarı, 1992), σολομούς (*Hesthagen et al*, 1995), και ολόκληροι πληθυσμοί ψαριών έχουν υποφέρει από τις επιδράσεις της ρύπανσης (Lyons et al., 1998). Μειώσεις των πληθυσμών σε περισσότερο ευαίσθητα είδη έχουν χρησιμοποιηθεί σαν δείκτες βιοποικιλίας των ειδών για την εκτίμηση της επίδρασης της ρύπανσης σε πληθυσμούς ψαριών (Paller et al., 1996). Έτσι ούτε η επίδραση της ρύπανσης σε κάθε ψάρι ξεχωριστά, ούτε οι συνέπειες για ολόκληρους πληθυσμούς ή κοινότητες χρειάζονται διερεύνηση, αλλά η σχέση μεταξύ των δύο, που πιθανώς αποτελεί βιοδείκτη επικείμενης πληθυσμιακής κατάρρευσης.

Η επίδραση της ρύπανσης σε επίπεδο πληθυσμού είναι συγκρίσιμη σε μέγεθος με τις επιδράσεις της υπεραλίευσης ψαριών (Landahl et al., 1997), και έχει γίνει αξιοσημείωτη έρευνα στην προσπάθεια της εφαρμογής σε πολύ καλά ανεπτυγμένα μοντέλα αλιείας προς απόδειξη των πληθυσμιακών επιδράσεων της ρύπανσης (Griswold, 1997).

Τα κριτήρια ποιότητας νερού για δυνητικά τοξικές ουσίες τεκμηριώνονται εν μέρει, με την εφαρμογή δοκιμασιών τοξικότητας, οι οποίες μετρούν τυπικά την θνητότητα του είδους που ελέγχεται, ακολουθώντας μια περίοδο έκθεσης στον διαλελυμένο ρυπαντή. Τυποποιημένα πρωτόκολλα δοκιμασιών εστιάζονται γενικά σε λίγους οργανισμούς και μετρούν την θανατηφόρο τοξικότητα, όμως δεν λαμβάνουν υπόψη την πρόσληψη του ρυπαντή από την τροφή την βιοδιαθεσιμότητα του και συνήθως αγνοούν υποθανατηφόρες τοξικές επιδράσεις. (Luoma, 1995, Wood et al, 1997). Ενώ αυτές οι δοκιμασίες μπορούν να δώσουν χρήσιμες πληροφορίες στην εκτίμηση της δυνητικής τοξικότητας του ρυπαντή, δεν προβλέπουν με ακρίβεια την τοξικότητα όπως αυτή συμβαίνει στα φυσικά συστήματα.

Αν και οι ρυπαντές, είναι τοξικοί μόνο εάν ενσωματωθούν εντός των ιστών ενός οργανισμού, οι συγκεντρώσεις τους στους ιστούς (σώματικό φορτίο) σπάνια μετρώνται κατά τη διάρκεια των δοκιμασιών τοξικότητας. Αντίθετα οι περισσότερες μελέτες εκφράζουν τις τοξικές επιδράσεις σαν μια συνάρτηση των συγκεντρώσεων του ρυπαντή στο περιβάλλον, παρά σαν συνάρτηση της συγκέντρωσης του στους ιστούς. Υπάρχουν χημικοί και βιολογικοί παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη



του μετάλλου, και έτσι επηρεάζουν την τοξικότητα του, περιπλέκοντας τη σχέση της περιβαλλοντικής συγκέντρωσης και των τοξικών αντιδράσεων. Για παράδειγμα, η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων τυπικά ελατώνεται όταν αυξάνεται ο διελυμένος οργανικός άνθρακας- DOC, η αλμυρότητα και η σκληρότητα. (Campbell, 1995; Sunda and Huntsman, 1998). Ιδιαίτερα, οι αλληλεπιδράσεις διαλυμένου οργανικού άνθρακα DOC-και μετάλλων μπορεί να είναι σύνθετες και να επηρεάζονται από την σύσταση του DOC. Βιολογικοί παράγοντες, όπως η ηλικία, μέγεθος και φύλο μπορούν επίσης να τροποποιήσουν την πρόσληψη και απομάκρυνση των μετάλλων. (Roditi et al, 2000)

Λίγες σχετικά μελέτες έχουν εκτιμήσει τις τοξικές επιδράσεις των ρυπαντών, ιδιαίτερα των μετάλλων, στο θαλάσσιο ζωοπλαγκτόν, παρά το γεγονός ότι οι οργανισμοί αυτοί είναι οι κύριοι grazers καθώς και σημαντικές πηγές τροφής στα θαλάσσια τροφικά δίκτυα. Επιπρόσθετα, διάφορα ζωοπλαγκτόν μπορούν να επηρεάσουν πάρα πολύ την βιολογική ανακύκλωση των μετάλλων εντός των επιφανειακών νερών και την απομάκρυνση τους από τα επιφανειακά νερά. Για παράδειγμα, στοιχεία τα οποία αφομοιώνονται από τα κωπήποδα μπορούν να περάσουν σε υψηλότερα τροφικά επίπεδα, ενώ αυτά τα οποία δεν αφομοιώνονται και αποβάλλονται με τα κόπρανα, βυθίζονται γρήγορα κάτω από τα επιφανειακά νερά εντός ημερών. (Reinfelder et al, 1998)

Τα κωπήποδα-(ζωοπλαγκτόν) συσσωρεύουν μέταλλα με αφομοίωση από τις τροφές ή με απορρόφηση τους από το νερό, η σχετική σημασία μιας δεδομένης οδού πρόσληψης διαφέρει αξιοσημείωτα μεταξύ των μετάλλων. Η οδός πρόσληψης ενός μετάλλου μπορεί να καθορίσει την ενδογενή κατανομή του και έτσι αποτιμάται η τοξικότητα ενός στοιχείου που λαμβάνεται κυρίως με την τροφή ενώ η χρησιμοποίηση μιας δοκιμασίας τοξικότητας στην οποία τα ζώα εκτίθενται μόνο σε μια διαλελυμένη μορφή, θα μπορούσε να είναι ελλειπής. Πολύ λίγες μελέτες έχουν διερευνήσει τις τοξικές επιδράσεις των μετάλλων που λαμβάνονται με την τροφή στο ζωοπλαγκτόν που αποτελεί βασικό κρίκο της υδρόβιας τροφικής αλυσίδας (Wang and Fisher, 1998).



6. ΒΙΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ *Atyaephyra desmaresti*

6.1. Ταξινόμηση- Ενδιατήματα

Τα κρουστοφόρα περιλαμβάνουν 42.000 περίπου περιγραμμένα είδη καβουριών, γαρίδων, караβίδων και αστακών. Τα Crustacea, ιδιαιτέρως τα μικρά, κατέχουν μια κεντρική θέση στη οικολογία του πλανήτη ως ο πρωτεύων σύνδεσμος ανάμεσα στους πρωτογενείς παραγωγούς (φυτοπλαγκτό) και στους υψηλότερου επιπέδου καταναλωτές (ψάρια) (Ruppert & Barnes, 1996)

Τα δεκάποδα περιλαμβάνουν τις γαρίδες, τις караβίδες, τους αστακούς και τα καβούρια και είναι σίγουρα τα πιο γνωστά κρουστοφόρα. Τα περισσότερα δεκάποδα είναι μεγάλα και πολλά είναι εδώδιμα και στηρίζουν μεγάλα αλιευτικά πεδία. Τα 10.000 περιγραμμένα είδη αντιπροσωπεύουν περίπου το ένα τέταρτο των γνωστών κρουστοφόρων. Εξαιτίας του μεγάλου μεγέθους, της αφθονίας και της οικολογικής και οικονομικής σημασίας, τα δεκάποδα είναι τα πιο προσεκτικά μελετημένα. Τα περισσότερα είναι θαλάσσια και βενθικά, αλλά οι караβίδες και μερικές γαρίδες και καβούρια έχουν εισβάλει στα άναλα ύδατα.

Οι γαρίδες ανήκουν στα κολυμβητικά δεκάποδα (Natantia Decapoda) και απαντώνται σε όλα τα υδάτινα οικοσυστήματα, όπως για παράδειγμα στα εσωτερικά ύδατα (λίμνες και ποτάμια), στις υπόγειες υδατοσυλλογές (τρογλόβια είδη), σε εκβολικά συστήματα και σε θαλάσσια περιβάλλοντα.

Οι γαρίδες των άναλων υδάτων ανήκουν στις οικογένες Atyidae και Palaemonidae (Baranescu, 1990). Στην πρώτη οικογένεια ανήκει το γένος *Atyaephyra* με διανομή στην Ευρώπη, στις παραμεσόγειες χώρες και στην Ελλάδα. Πρόκειται για ένα μονοτυπικό γένος που αντιπροσωπεύεται από το είδος *Atyaephyra desmarestii* (Ruppert & Barnes, 1996). Στην οικογένεια Atyidae περιλαμβάνονται είδη, τα οποία είναι διηθηματοφάγοι οργανισμοί που ενδιαίτουν σε χείμαρρους, λίμνες και υπόγεια ύδατα, κυρίως σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές.

Στην οικογένεια Palaemonidae ανήκουν τα γένη *Palaemonetes* και *Macrobrachium* που απαντώνται στα εύκρατα και τροπικά εσωτερικά ύδατα και αντιπροσωπεύονται από πολλά είδη.

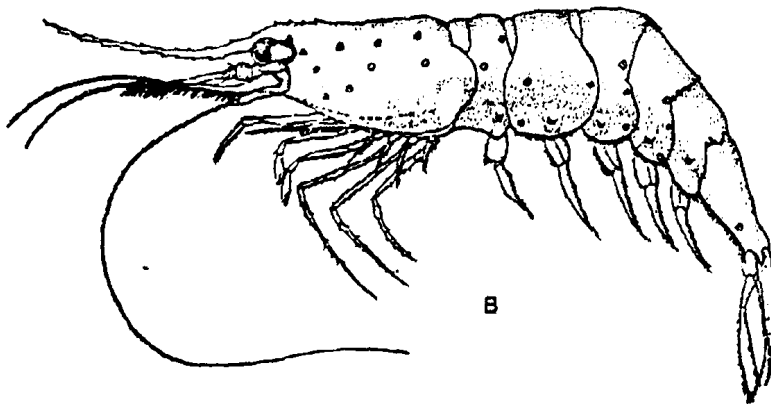
6.2. Μορφολογία

Το σώμα των γαρίδων τείνει να γίνει κυλινδρικό ή πλευρικά συμπιεσμένο με μια καλά αναπτυγμένη μυώδη κοιλιά. Ο κεφαλοθώρακας συχνά φέρει ένα



ασπίδιο(εικ. I-9). Τα πόδια είναι συνήθως λεπτά και τα χηλοπόδια μπορεί να υπάρχουν ή να απουσιάζουν. Ο εξωσκελετός είναι συνήθως λεπτός, ελαστικός και μη ασβεστοποιημένος. Τα πλεοπόδια που είναι μεγάλα, είναι τα κύρια κολυμβητικά όργανα.

Οι περισσότερες γαρίδες διαβιούν στον πυθμένα όπου και χρησιμοποιούν τα βαδιστικά πόδια τους για βάδιση. Ζουν ανάμεσα σε φύκη και θαλάσσια φανερόγαμα, κάτω από πέτρες και όστρακα, και μέσα σε τρύπες και σχισμές σε κοράλλια και βράχους. Τα είδη των άναλων υδάτων διαβιούν ανάμεσα σε φανερόγαμα εσωτερικών υδάτων. Τα πρότυπα της δραστηριότητας τους μπορεί να σχετίζονται με τη φωτοπερίοδο ή τους παλιρροιακούς κύκλους.



Αντιπροσωπευτική μορφολογία κρουστοφόρου (γαρίδας)

Εικ. I-9.

6.3.Αναπαραγωγή

Τα περισσότερα δεκάποδα είναι γονοχωριστικά, παρόλο που μερικά είναι ερμαφρόδιτα. Στα δεκάποδα η μεταφορά σπέρματος είναι έμμεση με τα σπερματοφόρα και συνήθως με σύζευξη. Η γονιμοποίηση μπορεί να είναι εσωτερική ή εξωτερική.

Γενικά, τα αρσενικά δεκάποδα έχουν ένα ζευγάρι όρχεων που είναι συνδεδεμένοι με ένα ζευγάρι σπερματικών αγωγών στους αρσενικούς γονοπόρους πάνω στο 8^ο θωρακικό μεταμερές (στα γόνατα των πέμπτων ποδιών). Οι όρχεις είναι τοποθετημένοι νωτιαία στο θώρακα και /η στην κοιλιά και η μορφολογία τους ποικίλλει. Ο βαθμός ανάπτυξης του σπερματογωγού ποικίλλει και εξαρτάται από την έκταση της μορφοποίησης του σπερματοφόρου, αλλά συνήθως υπάρχει μια κοντινή στο σώμα εκκριτική κοκκώδης περιοχή και μια μυώδης, απομακρυσμένη εκσπερματική περιοχή. Τα σπερματοφόρα, που σχηματίζονται στην εκκριτική περιοχή, θεωρούνται ότι παρέχουν υποστήριξη και προστασία για το σπέρμα κατά τη



διάρκεια της μεταφοράς και της αποθήκευσης. Το σπέρμα δεν έχει ούτε μέσο τμήμα ούτε μαστίγιο και έχει σχήμα καρφιού ή αστεριού. Τα πέη μπορεί να υπάρχουν αλλά δεν χρησιμοποιούνται για διείσδυση. Αντ' αυτού, τα πρόσθια πλεοπόδια, γνωστά ως γονοπόδια, έχουν τροποποιηθεί για να χρησιμεύουν ως όργανα διείσδυσης για την έμμεση μεταφορά των σπερματοφόρων στο θηλυκό. Τα πέη με τους γονοπόρους και τις απολήξεις τους συνήθως μεταφέρουν σπέρμα από τους όρχεις στα γονοπόδια, ή σπάνια, κατευθείαν στο θηλυκό.

Τα θηλυκά έχουν συνήθως ένα ζευγάρι ωοθηκών που είναι τοποθετημένες ωτιαία στο θώρακα και την κοιλιά και είναι συνδεδεμένοι με το εξωτερικό με ένα ζευγάρι ωαγωγών. Οι ωαγωγοί ανοίγουν κοιλιακά στο έκτο θωρακικό μεταμερές στη βάση των τρίτων βαδιστικών ποδιών. Στους πρωτόγονους αντιπροσώπους, τα σπερματοφόρα ήταν προσκολλημένα απλά στους στερνίτες του θηλυκού, αλλά στα περισσότερα αρτίγονα δεκάποδα έχουν εισαχθεί σε ένα εσωτερικό ή εξωτερικό γενετικό υποδοχέα, όπου είναι αποθηκευμένα μερικές φορές για αρκετά χρόνια, πριν τη γονιμοποίηση. Οι γενετικοί υποδοχείς μπορεί να είναι εγκολλώσεις του εξωσκελετού (εξωτερικά) ή μια διαστολή του ωαγωγού (εσωτερικά). Στα δεκάποδα με εσωτερική γονιμοποίηση (βραχύουρα), τα σπερματοφόρα έχουν αποτεθεί κατευθείαν στο εσωτερικό γενετικό υποδοχέα. Σε αυτά με εξωτερική γονιμοποίηση (περισσότερα δεκάποδα), τα σπερματοφόρα είναι τοποθετημένα στην κοιλιακή επιφάνεια του θηλυκού ή σε έναν εξωτερικό υποδοχέα και η γονιμοποίηση συμβαίνει καθώς τα ωάρια βγαίνουν από τους γονοπόρους.

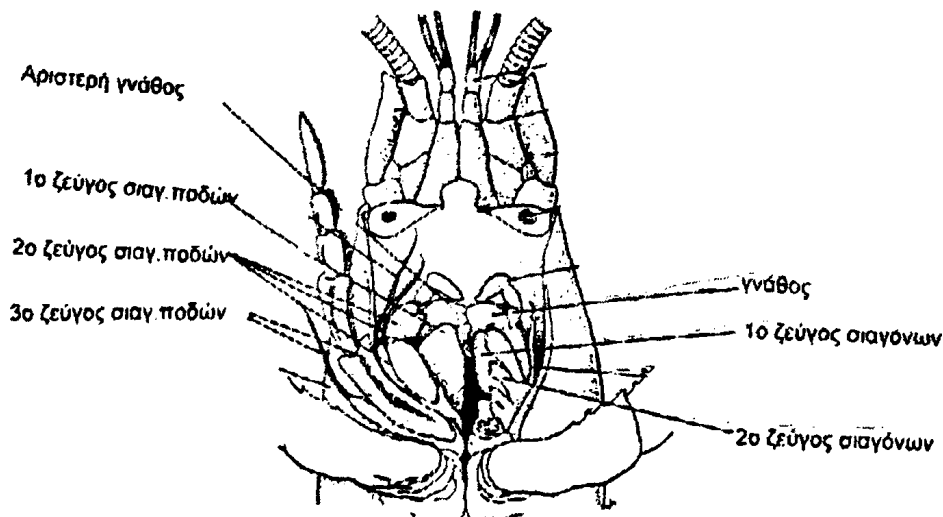
Τα υδρόβια δεκάποδα, έλκονται το ένα από το άλλο από οσφρητικά (φερορμονικά) και απτικά μηνύματα, ενώ τα χερσαία είδη χρησιμοποιούν οπτικά και ακουστικά σήματα. Η προσυζευτική τελετουργία της ερωτοτροπίας είναι κοινή. Σε πολλά δεκάποδα η προσπέλαση του αρσενικού στο εσωτερικό του γενετικού υποδοχέα είναι δυνατή μόνο κατά τη διάρκεια μιας σύντομης περιόδου που ακολουθεί αμέσως μετά από την έκδυση του θηλυκού, όταν η εφυμενίδα είναι μαλακή. Σε πολλά βραχύουρα το αρσενικό κουβαλά το θηλυκό κάτω από το στέρνο του ενώ περιμένει την επικείμενη έκδυση της. Την απελευθερώνει ενώ αυτή εκδύεται και έπειτα συμβαίνει η σύζευξη.



6.4.Διατροφή-Θρέψη

Τροφοληψία

Το στόμα των δεκαπόδων βρίσκεται στην κοιλιακή επιφάνεια της κεφαλής περιτριγυρισμένο και καλυμμένο από πολλαπλά στοματικά μέρη. Η περιοχή γύρω από το στόμα, συμπεριλαμβανομένων και των στοματικών μερών είναι το **στοματικό έρκος** (bold). Πρόσθια και οπίσθια προστατεύεται από προεκτάσεις του σωματικού τοιχώματος, οι οποίες δεν είναι εξαρτήματα. Από αυτές, το χείλος, ή πάνω χείλος είναι πρόσθια του στόματος και η παραγνάθος ή κάτω χείλος είναι πίσω από αυτό. Έξι μέλη εξαρτημάτων σχετίζονται με το στόμα των δεκαπόδων. Οι γνάθοι το κλείνουν ενώ δύο ζευγάρια σιαγόνων και τρία ζευγάρια σιαγονικών ποδιών όλα προσκολλημένα οπισθίως αλλά κατευθυνόμενα προς τα εμπρός για να σχηματίσουν μια ομάδα πέντε ζευγαριών εξαρτημάτων που καλύπτουν τις γνάθους και το στόμα (Εικ. I-10). Τα πιο μεγάλα, βαριά και εξωτερικά όλων αυτών είναι τα τρίτα σιαγονικά πόδια που καθορίζουν το στοματικό πλαίσιο και καλύπτουν και προστατεύουν τα εναπομείναντα και πιο λεπτεπίλεπτα εξαρτήματα.



Εικ.: I-10

Τα δεκάποδα εμφανίζουν ένα ευρύ φάσμα τροφοληπτικών συνηθειών και διαίτας αλλά τα περισσότερα είδη συνδυάζουν τη θήρευση με την πτωματοφαγία. Πολλά δεκάποδα είναι φυτοφάγα, παμφάγα και θρυμματοφάγα και τρέφονται με μεγάλα μερίδια τροφής. Η τροφή συλλαμβάνεται ή αρπάζεται με τα χηληπόδια και περνά στα τρίτα σιαγονικά πόδια όπου ωθείται ανάμεσα στα άλλα στοματικά μέρη.

Καθώς οι γνάθοι συγκρατούν την τροφή κομμάτια πετιούνται μακριά από τις σιαγόνες και τα σιαγονικά πόδια και μεταφέρονται στο στόμα.

Τα χηλοπόδια είναι προσαρμοσμένα στις τροφικές συνήθειες και στις τροφικές προτιμήσεις καθενός είδους. Αυτά που αποξέουν τα φύκη από τους βράχους ή τρέφονται με θρύμματα από την επιφάνεια της άμμου και της λάσπης έχουν συνήθως χηλοπόδια με δάκτυλους σχήματος κουταλιού. Αυτά που τρέφονται με μαλάκια έχουν διμορφικά χηλοπόδια. Το βαρύ θραυστικό στέλεχος της χηλής έχει στοματώμενα, γομφιόμορφα δόντια και είναι προσαρμοσμένο για θραύση οστράκων ενώ το κοπτικό στέλεχος είναι ελαφρύτερο και προσαρμοσμένο για να κόβει τη σάρκα. (Ruppert & Barnes, 1996). Συγκεκριμένα για την οικογένεια Atyidae, τα είδη χαρακτηρίζονται από βαδιστικά πόδια (1^ο και 2^ο ζευγάρι), τα οποία φέρουν χηλές που καταλήγουν σε πυκνό θύσανο από σμήριγγες. Στις σμήριγγες αυτές προσκολλούνται μερίδια τροφής (θρυμματοφάγα είδη) τα οποία στη συνέχεια μεταφέρονται στο στόμα.

Πέψη

Το έντερο των δεκαπόδων αποτελείται από ένα περίτεχνο εφυμενιδοποιημένο προέντερο, ένα ενδοδερμικό μεσέντερο με εκτατά πεπτικά τυφλά και ένα εφυμενιδοποιημένο οπισθέντερο. Ο ρόλος του προέντερου είναι η λειοτριβήση, η υδρόλυση και ο διαχωρισμός των μικρών εύπεπτων υλικών από τα μεγάλα άπεπτα μερίδια. Τα λεπτά μερίδια και οι διαλυτές ουσίες κατευθύνονται στα πεπτικά τυφλά, όπου τα τραχιά υλικά είτε εμέσσονται από το στόμα, είτε στέλνονται στο έντερο, σχηματιζόμενα σε σβώλους περιττωμάτων και απορρίπτονται από την έδρα.

Πολλά δεκάποδα είναι διθηματοφάγοι οργανισμοί που περνούν ένα ρεύμα ύδατος διαμέσου ηθμού και συγκομίζουν το φορτίο των αιωρούμενων οργανικών μεριδίων. Το κρουστοφόρο μπορεί να αναγεννήσει το τροφοληπτικό ρεύμα μόνο του ή να εκμεταλλευτεί ένα υπάρχον ρεύμα. (Ruppert & Barnes, 1996)

6.5.Οικολογική σημασία

Η οικολογία και η βιολογία των γαρίδων των άναλων υδάτων στην Ελλάδα είναι πολύ λίγο μελετημένες. Όσον αφορά την οικολογία τους, είναι γνωστό ότι εμφανίζουν μια ευρεία διανομή εξαιτίας της αντοχής τους, σε μεταβολές των τιμών των φυσικοχημικών παραμέτρων του ύδατος (θερμοκρασία, αλατότητα κ.α.), αλλά



και ότι εμφανίζουν μεγάλη προσαρμοστικότητα ως προς την εποίκιση νέων περιβαλλόντων (Fidalgo, 1989· Van den Brink & Van der Velde, 1986- Gottstein Matocec & Kerovec, 2002).

Το γένος *Atyaephyra desmaresti* παίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στα περιβάλλοντα των εσωτερικών και παράκτιων υδάτων όσον αφορά τη μεταφορά ενέργειας από τη υδρόβια βλάστηση στα σαρκοφάγα ψάρια κυρίως (ως λεία φυσικών πληθυσμών διάφορων ειδών ψαριών (Meurisse-Genin et al., 1985). Για το λόγο αυτό προτείνεται ως τροφή εκτρεφόμενων πληθυσμών ψαριών (Fidalgo, 1989).

Στην Ελλάδα, το είδος αυτό, παλιότερα αλιεύονταν και αποτελούσε σημαντικό τροφικό πόρο για τους κατοίκους παραλίμνιων και παραποτάμιων περιοχών της Δυτικής Ελλάδας. Επίσης χρησιμοποιούνταν ως δόλωμα για την αλιεία σαρκοφάγων ειδών ψαριών (π.χ. *Anguilla anguilla*, *Salmotruta*, *Silurus glanis*, *Silurus aristotelis*).

6.6. ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ ΚΑΙ ΓΑΡΙΔΕΣ

Οι τάξεις των γαριδόμορφων δεκαπόδων διαφέρουν ως προς την μορφή συσσώρευσης ιχνοστοιχείων που επάγουν (Rainbow & White, 1989, Rainbow 1998) Τα δεκάποδα συνήθως ρυθμίζουν την συγκέντρωση των απαραίτητων στοιχείων Zn, Cu, και Fe του σώματος τους, σε περίπου σταθερά επίπεδα (Rainbow, 1998, Rainbow & White, 1989), ενώ είναι καθαροί συσσωρευτές των μη απαραίτητων στοιχείων Cd και Pb (Rainbow, 1998). Από την άλλη πλευρά τα αμφίποδα και τα οστρακόδερμα είναι καθαροί συσσωρευτές (μολονότι σε διαφορετικό βαθμό) (Rainbow & White, 1989, Phillips & Rainbow 1993, Rainbow 1998). Συγκεντρώσεις μετάλλων σε ένα πληθυσμό γαριδόμορφων δεκαπόδων οι οποίες είναι υψηλές, σε σχέση με τις συγκεντρώσεις σε άλλους τοπικούς πληθυσμούς ίδιων ειδών, είναι πιθανό να είναι το αποτέλεσμα υψηλότερων ρυθμών πρόσληψης των μετάλλων στον πρώτο πληθυσμό, ιδιαίτερα αν τα δεκάμορφα δεκάποδα είναι καθαροί συσσωρευτές του μετάλλου αυτού. Υψηλότεροι ρυθμοί πρόσληψης είναι συνήθως αποτέλεσμα της υψηλότερης τοπικής βιοδιαθεσιμότητας του μετάλλου. (Phillips & Rainbow, 1993).

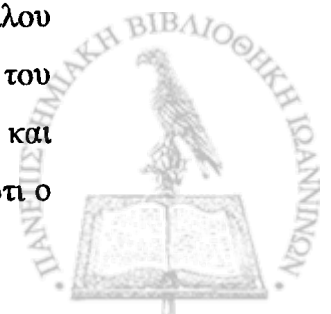
Από τον Rowe 1998 μελετήθηκε πειραματικά σε γαρίδες γλυκού νερού (*Palaemonetes paladosuus*), αν ο μέσος σταθερός μεταβολικός ρυθμός (standard metabolic rate-SMR) μπορούσε να επηρεασθεί μετά από έκθεση σε περιοχή με υπόλειμμα καύσης άνθρακα εμπλουτισμένο με ιχνοστοιχεία As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, και Se (στάχτη κάρβουνου) σε σύγκριση με την έκθεση σε μη ρυπασμένη από



μέταλλα περιοχή . Μετά 8 μήνες στις περιοχές μελέτης, παρατηρήθηκε ότι οι γαρίδες στην μολυσμένη περιοχή συσσωρεύσαν As, Cd και Se από το φυσικό περιβάλλον, δεν υπήρχαν όμως διαφορές στην επιβίωση μεταξύ των μελετηθέντων περιοχών. Όμως, ο μέσος SMR της γαρίδας (ως κατανάλωση O₂ σε ηρεμία) που βρισκόταν στην μολυσμένη περιοχή ήταν 51% μεγαλύτερος από τον μέσο SMR των γαρίδων που βρισκόταν στις συνθήκες αναφοράς. Η αύξηση του SMR δείχνει ότι το ενεργειακό κόστος είναι μεγαλύτερο για τις γαρίδες που χρονίως είχαν εκτεθεί σε μολυσμένο περιβάλλον . Έτσι είναι πιθανό, ότι άλλες φυσιολογικές ή συμπεριφορικές διεργασίες μπορεί να τροποποιηθούν σε άτομα που εκτίθενται σε ρύπανση προς αντιρρόπηση για τις αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις. Σε πρόσφατες μελέτες έχουν αναφερθεί όμοιες αυξήσεις του SMR στα αμφίβια και ερπετά που εκτέθηκαν χρονίως σε στάχτη άνθρακα. Ανάλογες φυσιολογικές απαντήσεις σε διαφορετικής τάξης ζώα (crustacean, αμφίβια, και ερπετά) δείχνουν ότι ο αυξημένος SMR μπορεί να είναι μια γενική αντίδραση από πολλούς τύπους οργανισμών που εκτίθενται σε μίγματα ιχνοστοιχείων χαρακτηριστικών της στάχτης άνθρακα.

Σε μελέτη από τους McPherson και Brown 2001, διαπιστώθηκε ότι το καβούρι Blue Swimmer Crab (*Portunus pelagicus*) συσσωρεύει μόνο κάδμιο στο ηπατοπάγκρεας μετά την έκθεση σε αυξημένα επίπεδα μετάλλων όπως τα: Cd, Cu, Zn, As, Fe, και Al, με τροφική πηγή το μύδι *Trichomya hirsute*. Για τον καθορισμό της συσσωρεύσης των μετάλλων τα καβούρια σιτίστηκαν με ελεγχόμενη διαίτα, για διάστημα 8 εβδομάδων. Διαπιστώθηκε σημαντική (P=0.05) συσσωρεύση Cd μετά διατροφή 4 εβδομάδων. Τα μύδια διατροφής συλλέχτηκαν είτε από «μολυσμένες» ή «αμόλυντες» περιοχές. Τα μύδια από αμόλυντες περιοχές είχαν μια μέση συγκέντρωση Cd της τάξης 0.07 μg/g καθαρού βάρους και τα μολυσμένα μύδια είχαν μέση συγκέντρωση της τάξης 5,2 μg/g καθαρού βάρους. Η χρησιμότητα των παρουσιασθέντων μετάλλων με τον τρόπο αυτό προς εκτίμηση δυνητικών βιοσυσσωρευτών διερευνάται έναντι άλλων εμφανιζομένων μεθόδων

Η παρουσία ή απουσία 100μg L⁻¹ του ενός μετάλλου (1.53 μM/l Zn, 0.89 μM/l Cd) είχε αντιφατική επίδραση στον ρυθμό πρόσληψης στο άλλο μέταλλο από τον *O. Gammarellus*. Η παρουσία ή απουσία των 50 μg /l είτε του ψευδαργύρου (0.76 μM/l) ή του καδμίου (0.45 μM/l) δεν είχε επίδραση στον ρυθμό πρόσληψης του άλλου μετάλλου από *C. maenas* (από το Millport της Σκωτίας). Ο ρυθμός πρόσληψης του ψευδαργύρου και του καδμίου συσχετιζόταν σε καθένα ξεχωριστά αμφίποδο και καβούρι και των δύο ειδών από τα πέντε σημεία. Οι συσχετισμοί αυτοί δείχνουν ότι ο



ψευδάργυρος και το κάδμιο μπορεί να μοιράζονται κοινές οδούς πρόσληψης από διαλύματα στα κρουστοφόρα, αλλά τα μέταλλα δεν αλληλεπιδρούν σταθερά ανταγωνιστικά ή συνεργιστικά στις συγκεντρώσεις έκθεσης που ερευνήθηκαν. Regression coefficients της συνάφειας μεταξύ του ψευδαργύρου και του καδμίου στον ρυθμό πρόσληψης από αμφίποδα και καβούρια μερικές φορές έδειξαν, όχι όμως σταθερά, διαφορές μεταξύ θέσεων και συναρτήσεως του χρόνου. Και τα τρία crustaceans προσλαμβάνουν ψευδάργυρο από διάλυμα σε υψηλότερο ρυθμό από ότι το κάδμιο από την ίδια συνολικά διαλυμένη πυκνότητα μοριακού διαλύματος, αλλά σε χαμηλότερο ρυθμό από ότι το κάδμιο ανά ελεύθερη μοριακή συγκέντρωση μεταλλικού ιόντος.

Η ρύπανση των υδάτων από μεταλλικά ιχνοστοιχεία είναι ένα σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα, δεδομένης της ικανότητας τους για ανακατανομή και χημική τροποποίηση (μεταλλαγή) στο περιβάλλον, ειδικότερα όταν αυτή επηρεάζει την αναλογία των ιχνοστοιχείων που είναι παρόντα σαν ελεύθερα ιόντα και η οποία θεωρείται ως η πλέον βιοδιαθέσιμη μορφή για πρόσληψη από υδάτινους οργανισμούς (Rainbow, 1997). Υψηλές βιοδιαθεσιμότητες των ιχνοστοιχείων μπορεί να προκαλούν ρύπανση από μέταλλα όχι μόνο των τοπικών υδρόβιων προϊόντων αλλά σε ακραίες περιπτώσεις να έχουν άμεση τοξική επίδραση στην ανάπτυξη και επιβίωση πολλών οργανισμών επηρεάζοντας την κοινωνική υποδομή και παραγωγή.



II ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1.1Υλικό

Πειραματόζωα

Carassius auratus: Εβδομήντα έξη (76) χρυσόψαρα του είδους *Carassius auratus* (44Θ, 32Α), ηλικίας μικρότερης του ενός (1) έτους εκτέθηκαν σε διάφορες συγκεντρώσεις Cd, σε ενυδρεία της Δημοσιας Επιχείρησης Λίμνης Ιωαννίνων (ΔΕΛΙ) ως εξής:

Ομάδα I.18 (14Θ, 4Α) ιχθύες σε νερό λίμνης (με φυσική συγκέντρωση) : 0.05 μg Cd/l

Ομάδα II. 14 (8Θ, 6Α) ιχθύες σε νερό βρύσης: 0.10 μg Cd/l

Ομάδα III. 16 (8 Θ, 8 Α) ιχθύες σε νερό βρύσης : 1 μg Cd/l

Ομάδα IV. 28 (14 Θ, 14 Α) ιχθύες σε νερό βρύσης : 5 μg Cd/l

Θ = Θήλεα, Α = Αρρενα

Η θερμοκρασία στα ενυδρεία II,III και IV κυμάνθηκε μεταξύ 9-11 °C τους μήνες Ιαν-14 Μαρ και 6-9 °C στο I.Τους επόμενους μήνες ,15 Μαρ-Μάιος, οι μεταβολές ήταν σε όλα τα ενυδρεία ίδιες.Την ίδια περίοδο το pH στα ενυδρεία II,III και IV κυμάνθηκε μεταξύ 7,33-7,48 και 7,28-8,36 στο I.

Atyaephyra desmaresti: Εκατόν οκτώ (108) γαρίδες του είδους *Atyaephyra desmaresti*, των δύο φύλων, συλλεχθηκαν τον Μάιο, από τις χωμάτινες δεξαμενές της ΔΕΛΙ, οι οποίες αποτελούν ένα τεχνητό βιότοπο σε επικοινωνία με τη λίμνη μέσω επιφανειακών ή υπόγειων διόδων.Το βάθος από το οποίο συλλέχθηκαν τα άτομα (φυτόφιλο είδος) ήταν 0-2 μ, το υπόστρωμα ιλυώδες με λίγα χαλίκια και βλάστηση από τα χαρακτηριστικά υδρόβια μακρόφυτα *Myriophyllum spicatum* και *Phragmites australis* σε πυκνούς σχηματισμούς στο παράλιο όριο με την ξηρά.

Δειγματοληψία –Αιμοληψία *Carassius auratus*

Εγιναν συνολικά πέντε δειγματοληψίες ως εξής: Ανά 14 ημέρες, την 15^η, 30^η, 45^η, 60^η και 120^η, από τα τέσσερα ενυδρεία-ομαδες I, II, III, IV, με τις παραπάνω συγκεντρώσεις Cd, συλλαμβάνονταν 2-3 ψάρια των οποίων οι γονάδες συνενώνονταν (pooling) λόγω του μικρού μεγέθους των ψαριών και αποτελούσαν το προς εξέταση δείγμα.Η επιλογή των ατόμων από κάθε ομάδα και σε κάθε δειγματοληψία έγινε τυχαία με μικρή απόχη. Στο εργαστήριο οι γονάδες των ψαριών απομονώθηκαν εκπλύθηκαν με phosphate buffer saline PBS και τοποθετήθηκαν στους -20 °C μέχρι να πραγματοποιηθεί η μέτρηση του περιεχομένου μετάλλου -Cd.



Η αιμοληψία για τον προσδιορισμό της 17-βοιστραδιόλης γινόταν με βελόνες ινσουλίνης (1ml) από την ουραία φλέβα του ψαριού. Το αίμα τοποθετούνταν σε πάγο μέχρι την φυγοκέντρηση η οποία γινόταν στο εργαστήριο για 10 min στις 2500 rpm. Ο ορός απομακρυνόταν και τοποθετούνταν σε σωληνάρια Eppendorf στα οποία προστίθεντο αναστολείς πρωτεασών (PMSF, EDTA) για να αποφευχθεί η πρωτεόλυση. Τα δείγματα τοποθετούνταν στους 70 °C μέχρι την μέτρηση με RIA (Radioimmunoassay).

Τα δείγματα μυϊκού ιστού, μεγέθους 0.5×0.5 cm, λαμβανόταν από την ραχιαία θωρακική περιοχή του ψαριού, εκπλυνόταν με buffer saline PBS τοποθετούνταν στους -20 °C μέχρι την ανάλυση τους.

Δειγματοληψία *Atyaephyra desmaresti*: Τα άτομα συλλέχθηκαν με την χρήση ειδικά κατασκευασμένης απόχης, με τετράγωνο πλαίσιο 50×30 cm. και δίχτυ με διάμετρο ανοίγματος 2mm έτσι ώστε να λαμβάνονται όλες οι ηλικιακές κλάσεις του πληθυσμού της γαρίδας. Η συλλογή έγινε σε διάφορες θέσεις των δεξαμενών ώστε να περιλαμβάνεται όλο το εύρος των βαθών και των ενδαιτημάτων. Το δείγμα αποθηκεύτηκε σε δοχείο με νερό ενδαιτήματος και καταψύχθηκε στους -20 °C.

Δειγματοληψία ιχθυοτροφών

Έγιναν 32 δειγματοληψίες ιχθυοτροφής (για πέστροφα No304 -μίγμα προπάχυνσης), τύπου pellets διαμέτρου 1,8 mm, με ένδειξη για ψάρια βάρους 10-20 g, η οποία χορηγείτο 3 φορές την ημέρα στις πειραματικές ιχθυοκαλλιέργειες. Οι δειγματοληψίες έγιναν τυχαία κατά την χρονική περίοδο που διήρκησε η πειραματική εκτροφή. Τα δείγματα διατηρήθηκαν στους -20 °C μέχρι την ανάλυση τους για προσδιορισμό του Cd. Η σύσταση της ιχθυοτροφής φαίνεται στον πίνακα

Χημική ανάλυση %

Υγρασία	10,0 μέγιστη	Τέφρα	10,8 μέγιστη
Πρωτείνες	50,7 ελάχιστη	Κυτταρίνες	2,2 μέγιστη
Λίπη	11,8 ελάχιστη	Υδατάνθρακες	14,5



Προσθήκες / kg

Βιταμίνη A	25000 IU	Βιταμίνη C	1000 mg
Βιταμίνη D3	20000 IU	Χολίνη	2000 mg
Βιταμίνη E	200 mg	Ινοσιτόλη	200 mg
Βιταμίνη K	20 mg	Αντιοξειδωτικό	100 mg
Βιταμίνη B1	25 mg	Σίδηρος	50 mg
Βιταμίνη B2	45 mg	Ψευδάργυρος	55 mg
Βιταμίνη B6	20 mg	Χαλκός	8 mg
Βιταμίνη B12	0,1 mg	Μαγγάνιο	60 mg
Νιασίνη	250 mg	Κοβάλτιο	1,5 mg
Παντοθέν. Ca	100 mg	Ιώδιο	1,5 mg
Φολικό οξύ	8 mg	Σελήνιο	0,1 mg
Βιοτίνη	1 mg	Μαγνήσιο	50 mg

1.2.Μέθοδοι

Φασματοφωτομετρία Ατομικής Απορρόφησης

Για την μέτρηση του Cd εφαρμόστηκε φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης (atomic absorption spectrophotometry-AAS) σε φασματοφωτόμετρο Perkin-Elmer- 560 με φούρνο γραφίτη HGA-400 και διορθωτή υποστρώματος (background correction).

Τυφλά διαλύματα HNO_3 -Suprapur Merck καθώς και πρότυπα διαλύματα καδμίου (νιτρική μορφή) Spectrosol BDH Chemicals Ltd Poole-England χρησιμοποιήθηκαν για τη βαθμονόμηση του φωτομέτρου. Για τα δείγματα των γονάδων των ιχθύων χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα συγκεντρώσεων 2.5 και 5 $\mu\text{g/l}$ Cd.Υλικό αναφοράς αποτέλεσε ιστός μυδιού BCR278R Mussel tissue του IRMM.(Institute for Reference Materials and Measurements, JRC-EC) Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων υπολογίζονται από την εξίσωση:

$$\text{Συγκέντρωση } (\mu\text{g/g}) = \text{Απορρόφηση} \times \text{Αραίωση} / \text{Βάρος δειγματος.}$$



Προετοιμασία δειγμάτων -Όξινη πέψη

Τα δείγματα των γονάδων, του μυϊκού ιστού, των γαρίδων και της ιχθυοτροφής, προ της μέτρησης αποψύχονταν και 0.2 g του δείγματος ζυγίζονταν και τοποθετούνταν σε οβίδες Teflon-PFA των 60 ml.

Η όξινη πέψη γινόταν με προσθήκη 3ml HNO_3 65% Suprapur Merck και τα δείγματα μετά 5-10 λεπτά παραμονής σε θερμοκρασία δωματίου σφραγιζόνταν και τοποθετούνταν σε φούρνο μικροκυμάτων Panasonic ισχύος περίπου 400W για 15 λεπτά. Μετά την πέψη τα δείγματα και αφού αποκτούσαν την θερμοκρασία του δωματίου αραιώνονταν με δις απεσταγμένο νερό ως τα 10 ml. Στη συνέχεια γινόταν οι μετρήσεις μετά τον έλεγχο των τυφλών διαλυμάτων και των υλικών αναφοράς.

Ραδιοανοσομετρικός προσδιορισμός της 17-β οιστραδιόλης (E2)

Γενικά

Η E₂ είναι μια στεροειδής ορμόνη με μοριακή μάζα 272,3 daltons, η οποία κυκλοφορεί κυρίως συνδεδεμένη με πρωτεΐνες. Εκτός από την οιστραδιόλη άλλα φυσικά στεροειδικά οιστρογόνα είναι τα: οιστρόνη, οιστριόλη και τα συμπλοκά τους. Τα φυσικά οιστρογόνα είναι ορμόνες εκκρινόμενες κύρια από τα ωοθηλάκια καθώς και από τα επινεφρίδια, το ωχρό σωματίο, (τον πλακούντα), και στους άρρενες από τους όρχεις. Τα εξωγενή οιστρογόνα (φυσικά ή συνθετικά) σε ποικίλοντα βαθμό εκλύουν όλες τις φαρμακολογικές απαντήσεις που συνήθως παράγονται από τα ενδογενή οιστρογόνα. Οι οιστρογονικές ορμόνες εκκρίνονται με διαφορετικούς ρυθμούς κατά την περίοδο της ωοθηκικής δραστηριότητας.

Οι γοναδοτροπίνες του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης ρυθμίζουν την έκκριση των ωοθηκικών ορμονών της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης. Υποθαλαμική ρύθμιση της παραγωγής των υποφυσιακών γοναδοτροπινών γίνεται (με την σειρά της) μέσω των οιστρογόνων και της προγεστερόνης του πλάσματος.

Από το σύνθετο σύστημα ανάδρασης έχει σαν αποτέλεσμα το κυκλικό φαινόμενο της παραγωγής των ωαρίων και του αντίστοιχου κύκλου.

Ο προσδιορισμός της οιστραδιόλης έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμος για την αξιολόγηση της λειτουργίας του αναπαραγωγικού κύκλου.



Αρχή λειτουργίας

Χρησιμοποιήθηκε Coat-A count οιστραδιόλη στερεά φάσης με ραδιοαναοσσήμανση ^{125}I , της DPS-USA σχεδιασμένης για την ποσοτική ανίχνευση οιστραδιόλης στον ορό και μόνο για in vitro διάγνωση.

Η μέθοδος της Coat-A count οιστραδιόλης βρίσκεται σε σωλήνες επενδεδυμένους με αντίσωμα. Η σημασμένη με ^{125}I οιστραδιόλη ανταγωνίζεται την οιστραδιόλη που περιέχεται στο προς εξέταση δείγμα για σύνδεση με τις θέσεις αντισώματος. Μετά την επώαση η συνδεθείσα ορμόνη ξεχωρίζεται από την ελεύθερη με απομάκρυνση του υγρού.

Στη συνέχεια ο σωλήνας μετρείται σε γ-counter τύπου Packard Crystal II, Multidetector RIA System όπου οι κρούσεις είναι αντιστρόφως ανάλογες του ποσού της παρούσας οιστραδιόλης στο δείγμα. Η ποσότητα της οιστραδιόλης στο δείγμα καθορίζεται συγκρίνοντας τις κρούσεις με την καμπύλη βαθμονόμησης

Πίνακας III
Τιμές αναφοράς της 17-β οιστραδιόλης για ενήλικες

Ομάδα	90% Range (pg/mL)		n
Ενήλικοι άρρενες		ND – 44	57
Θήλεις με ωορρηξία: ημέρες του κύκλου σε σχέση με την μέγιστη τιμή της LH			30
Ωοθυλακική φάση	-12	10-50	
	-4	60-200	
Ωορρηξία	-1	120-375	
Ωχρινοποιητική φάση	-2	50-155	
	+6	60-260	
	+12	15-115	

Στατιστική επεξεργασία των μετρήσεων έγινε με πρόγραμμα Excell



III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι μεταβολές του Cd στις γονάδες και της 17-β οιστραδιόλης στον ορό ψαριών του είδους *C. auratus* που εκτέθηκαν σε διάφορες συγκεντρώσεις Cd, φαίνεται να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

Από τους πίνακες III1 και III2 και το γράφημα III1, φαίνεται ότι οι συγκεντρώσεις του Cd στις γονάδες των θηλυκών *C. auratus* αυξάνουν καθώς αυξάνει η συγκέντρωση του Cd στο νερό των ενυδρείων όπου παρέμειναν για 5 μήνες περίπου από το Ιανουάριο έως και τον Μαΐο του 2003. Στο ενυδρείο I τα θηλυκά ψάρια τοποθετήθηκαν σε νερό λίμνης με φυσική συγκέντρωση 0,05 $\mu\text{g Cd/l}$ και στο II σε νερό βρύσης με φυσική συγκέντρωση διπλάσια του νερού λίμνης 0,10 $\mu\text{gCd/l}$. Στο ενυδρείο III με νερό βρύσης και συγκέντρωση Cd 1 $\mu\text{gCd/l}$, δηλαδή 10 πλάσια της προηγούμενης, η μέση συγκέντρωση του μετάλλου στις γονάδες 2 πλασιάστηκε περίπου στο τέλος της περιόδου έκθεσης.

Στο ενυδρείο IV η συγκέντρωση 5 $\mu\text{gCd/l}$ σε νερό βρύσης δηλ. 5πλάσια της προηγούμενης, είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση του μετάλλου στις γονάδες κατά 29 % περίπου.

Στα αρσενικά αντίθετα η συγκέντρωση Cd βαίνει μειούμενη στις γονάδες καθώς αυξάνει το μέταλλο στο νερό από τα ενυδρεία I – III, στο ενυδρείο IV όμως όπου η συγκέντρωση του μετάλλου είναι 100 πλάσια αυτής του ενυδρείου I, το Cd εμφανίζει υψηλή συγκ. $9,41 \pm 14,20$ (Πιν. III2). Λόγω του μικρού σχετικά αριθμού των ζώων και της μεγάλης απόκλισης η στατιστική διαφορά μεταξύ αρρένων και θηλέων δεν διακρίνεται όσον αφορά το Cd (Πιν. III 4), είναι όμως εμφανής στο γράφημα III 1.

Οι μεταβολές της οιστραδιόλης στον ορό των ψαριών φαίνονται στους Πίνακες III 1 & III 2 και στο γράφημα III 2. Οι μεγαλύτερες τιμές 17 -β-οιστραδιόλης εμφανίζονται στα θηλυκά στο ενυδρείο II=0,1 $\mu\text{gCd/l}$, σε νερό βρύσης, και στα αρσενικά στο ενυδρείο III= 1 $\mu\text{gCd/l}$ σε νερό βρύσης. Ωστόσο η συσχέτιση Cd και 17-β-οιστραδιόλης στους 2 πληθυσμούς, αρσενικά & θηλυκά, φαίνεται αντίθετη.

Στον Πιν. III 3 φαίνεται ότι στα αρσενικά ο r = συντελεστής συσχέτισης είναι σημαντικά αρνητικός στα ενυδρεία I, II & III και σημαντικά θετικός στο IV. Αντίθετα στα θηλυκά είναι σημαντικά θετικός στα II και III και οριακά στο I και αρνητικός στο IV. Υποσημαίνεται δηλαδή ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του Cd προκαλεί αύξηση



της 17-β οιστραδιόλης στα θηλυκά και μείωση στα αρσενικά, τουλάχιστον ως την συγκέντρωση 1μCd/l (Πιν. III 1, 2, 3, γράφημα III 2).

Φαίνεται επίσης στον Πίν. III 4 ότι στατιστικά σημαντική διαφορά στις συγκεντρώσεις της 17-β-οιστραδιόλης μεταξύ αρσενικών και θηλυκών εμφανίζεται στα ενυδρεία III και IV, σε συγκεντρώσεις δηλ. Cd 1 και 5 μg/l αντίστοιχα.

Οι μεταβολές του Cd στις γονάδες και της 17-β οιστραδιόλης στον ορό των ψαριών συναρτήσει του χρόνου έκθεσης στις διάφορες συγκεντρώσεις Cd φαίνονται στον Πίν. III 5, στα γραφήματα III 3 – III 6 για τα θηλυκά και στα γραφήματα III 7 – III 10 για τα αρσενικά.

Οι συσχετίσεις Cd και 17-β οιστραδιόλης του Πιν. III 3 διαφαίνονται καθαρά και στα γραφήματα III 3 – III 10, συναρτήσει του χρόνου έκθεσης των ψαριών στο μέταλλο και κυρίως η θετική σχέση μετάλλου – ορμόνης στα θηλυκά (Γραφ. III 3 – III 6) και η αρνητική στα αρσενικά (Γραφ. III 7 – III 10).

Οι συγκεντρώσεις του Cd στους μύες του *C. auratus* εμφανίζουν διαφορές μεταξύ αρσενικών και θηλυκών. Από τον Πίν. III 6 και το γράφημα III 11 φαίνεται ότι στα ενυδρεία I-III οι συγκεντρώσεις του Cd στους μύες των θηλυκών είναι μεγαλύτερες από των αρσενικών καθώς όμως η συγκέντρωση του Cd αυξάνει τα θηλυκά τείνουν να συσσωρεύουν λιγότερο Cd στους μύες και περισσότερο στις γονάδες.

Τα αρσενικά εμφανίζουν την τάση να μειώνουν την συσσώρευση του Cd στις γονάδες όσο αυξάνει η συγκέντρωσή του στο νερό και να την αυξάνουν στους μύες (Γραφ. III 1, και III 11).

Πηγή του Cd εκτός από την έκθεση στο νερό αποτέλεσε και η ιχθυοτροφή που χορηγούνταν στα ψάρια. Όπως διαπιστώθηκε η συγκέντρωση του Cd σε αυτή ήταν της τάξης του $49,53 \pm 3,98$ μg/kg. Συγκριτικά αναλύθηκαν δείγματα *Atyaephyra desmaresti* από την λίμνη των Ιωαννίνων, που θεωρητικά αποτελούν θήραμα του *C. auratus*, όταν τα άτομα αναπτύσσονται ελεύθερα στο λιμναίο περιβάλλον. Η συγκέντρωση του Cd στην *Atyaephyra desmaresti* ήταν της τάξης των $30,49 \pm 9,97$ Cdμg/kg, δηλαδή σημαντικά μικρότερη της προσφερόμενης ιχθυοτροφής (Πίν. III 7).

Οι παράγοντες μεταφοράς του Cd από την ιχθυοτροφή προς τις γονάδες και τους μύες, τόσο στα θηλυκά όσο και στα αρσενικά δεν ξεπερνούν την μονάδα σε κανέναν από τα ενυδρεία. (Πίν III 8) Το εύρημα αυτό σημαίνει ότι οι συγκεντρώσεις 0,05-5 μgCd/l στο νερό που αναπτύσσονται τα *C. auratus* για 5 τουλάχιστον μήνες, δεν προκαλούν βιοσυσσώρευση Cd στα ψάρια. Στον Πιν. III 9 φαίνεται επίσης ότι ο



συντελεστής συσχέτισης των παραγόντων μεταφοράς του Cd προς τις γονάδες και προς τους μύες είναι θετικός στο ενυδρείο II και αρνητικός στο III για τα θηλυκά.

Στα αρσενικά ισχυρή θετική συσχέτιση των ως άνω παραγόντων μεταφοράς εμφανίζεται στο ενυδρείο I και αρνητική στο II. Στα Γραφ. III12 και III13 απεικονίζονται οι παράγοντες μεταφοράς του Cd σαν μέτρο των τάσεων που εμφανίζει το μέταλλο για συσσώρευση.

Αναλυτικά η προτίμηση του μετάλλου για εναπόθεση στους 2 ιστούς εμφανίζεται στα γραφήματα III14-III21. Γενικά ο παράγων μεταφοράς του Cd προς τους μύες είναι μικρότερος από ότι προς τις γονάδες και εμφανίζει μάλλον τάση παράλληλης μεταβολής στους δυο ιστούς στα θηλυκά και αντίθετης στα αρσενικά.

ΕΝΥΔΡΕΙΑ	Cd	Estradiol
I	2,57±1,42	61,05±43,65
II	2,57±1,16	206,09±280,84
III	6,70±3,72	25,06±11,48
IV	8,65±14,62	67,08±48,91

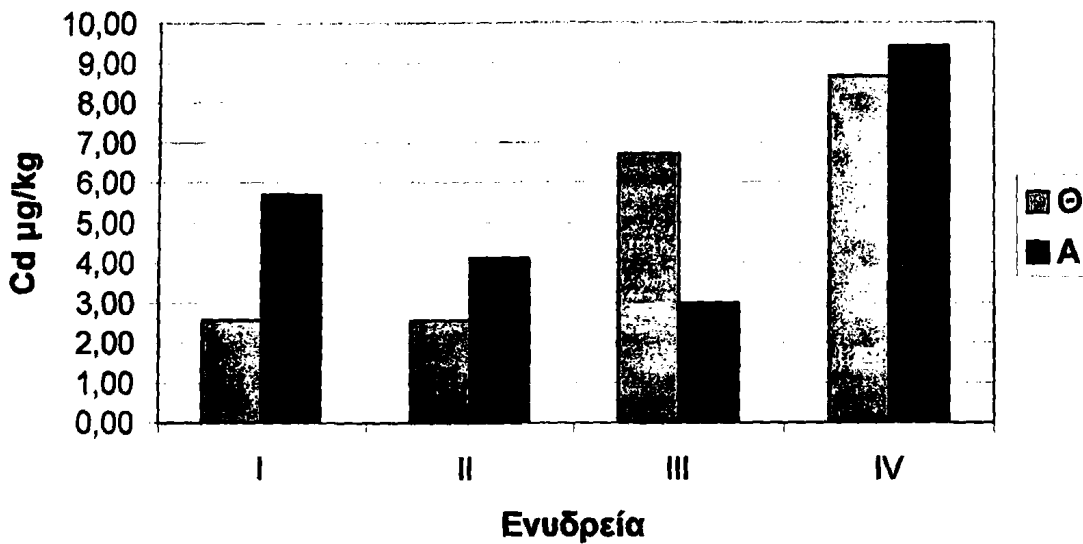
Πίνακας III 1: Μέσες τιμές Cd (μg/kg) και 17-β Οιστραδιόλης(pg/ml) στα θηλυκά *Carassius auratus*

ΕΝΥΔΡΕΙΑ	Cd	Estradiol
I	5,69±3,73	33,93±22,17
II	4,12±2,79	30,89±21,08
III	2,98±2,46	34,63±14,84
IV	9,41±14,20	29,49±25,75

Πίνακας III 2: Μέσες τιμές Cd(μg/kg) γονάδων και 17-β Οιστραδιόλης(pg/ml) ορού στα αρσενικά *Carassius auratus*

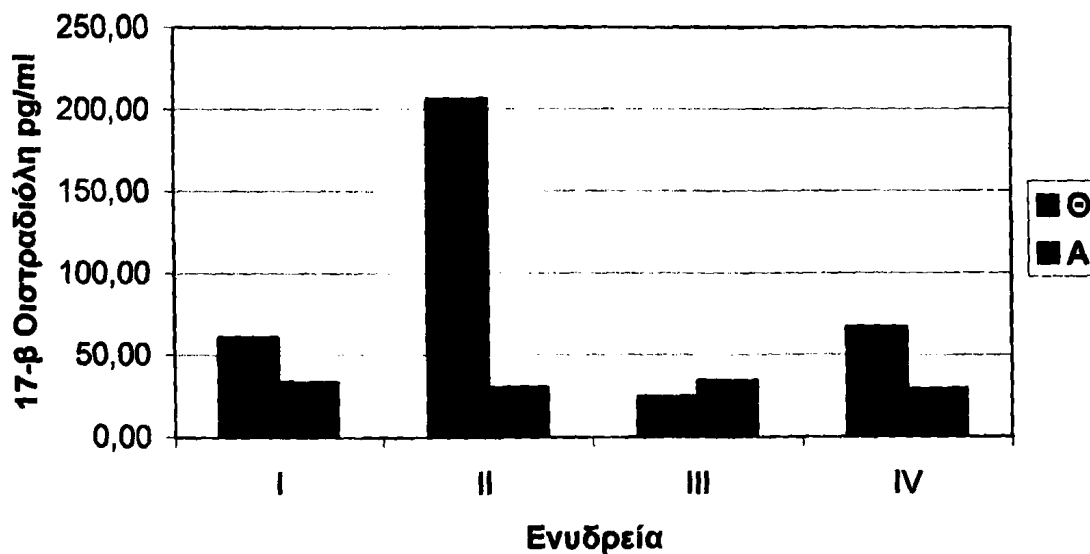


Συγκέντρωση Cd στις γονάδες του *Carassius auratus*



Γράφημα III 1: Συγκέντρωση Cd στις γονάδες του *Carassius auratus*

Συγκέντρωση 17-β Οιστραδιόλης ορού του *Carassius auratus*



Γράφημα III 2: Συγκέντρωση 17-β Οιστραδιόλης ορού του *Carassius auratus*



ΕΝΥΔΡΕΙΑ	A	Θ
I	-1,00	0,44
II	-0,91	0,81
III	-0,86	0,72
IV	0,81	-0,26

Πίνακας III 3: Συντελεστής συσχέτισης (r) Cd γονάδων και 17-β Οιστραδιόλης ορού στα αρσενικά (A) και στα θηλυκά (Θ) *Carassius auratus*

ΕΝΥΔΡΕΙΑ	Cd	17-β Οιστραδιόλη
I	0,22	0,54
II	0,29	0,32
III	0,20	0,05
IV	0,93	0,03

Πίνακας III 4: Έλεγχος Student (t-test) ανά ζεύγη Cd και 17-β Οιστραδιόλης στα αρσενικά και στα θηλυκά *Carassius auratus*

Θ I				
d	14	30	60	120
Cd	0,53	2,85	3,66	1,82
Estr	45,489	87,204	86,883	16,991

Θ II		
d	60	120
Cd	3,23	1,25
Estr	273,149	4,924

Θ III		
d	45	120
Cd	7,50	5,90
Estr	33,548	16,572

Θ IV					
d	14	30	45	60	120
Cd	2,35	2,59	3,55	3,38	41,76
Estr	49,914	5,868	55,272	133,515	36,174



A I		
d	14	60
Cd	3,06	8,33
Estr	49,607	18,253

A II		
d	60	120
Cd	5,61	1,14
Estr	18,730	55,209

A III		
d	45	60
Cd	0,98	4,99
Estr	46,303	22,951

A IV					
d	14	30	45	60	120
Cd	1,43	1,11	12,92	2,79	22,44
Estr	10,102	15,797	14,756	17,524	65,350

Πίνακας III 5. Μέση συγκέντρωση καδμίου (μg/kg) γονάδων και 17-β οιστραδιόλης pg/ml ορού κατά τις δειγματοληψίες των 14,30,45,60,120 ημερών ιχθύων *Carassius auratus*

Θ = θηλυκά

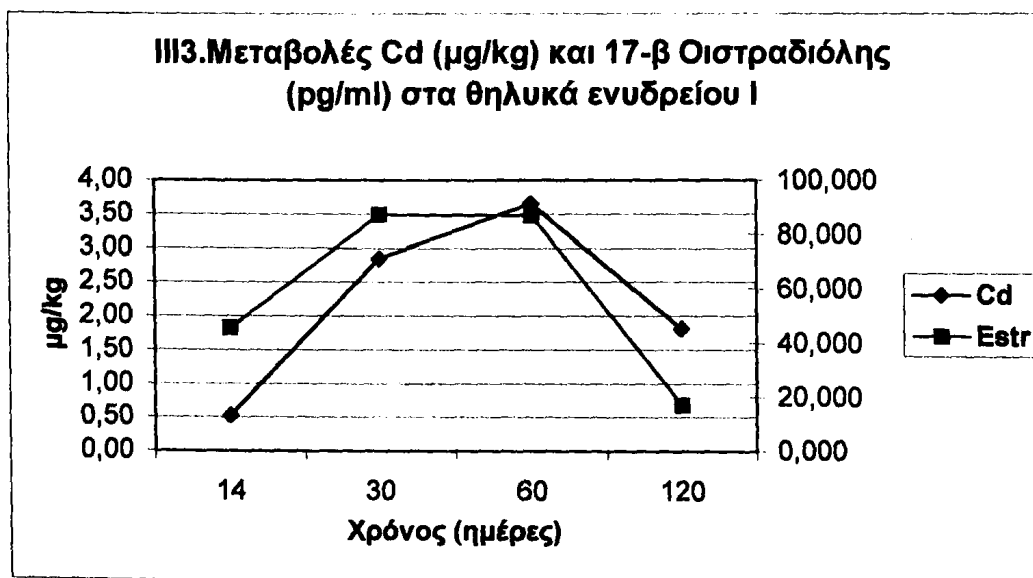
d = ημέρες δειγματοληψίας

A = αρσενικά

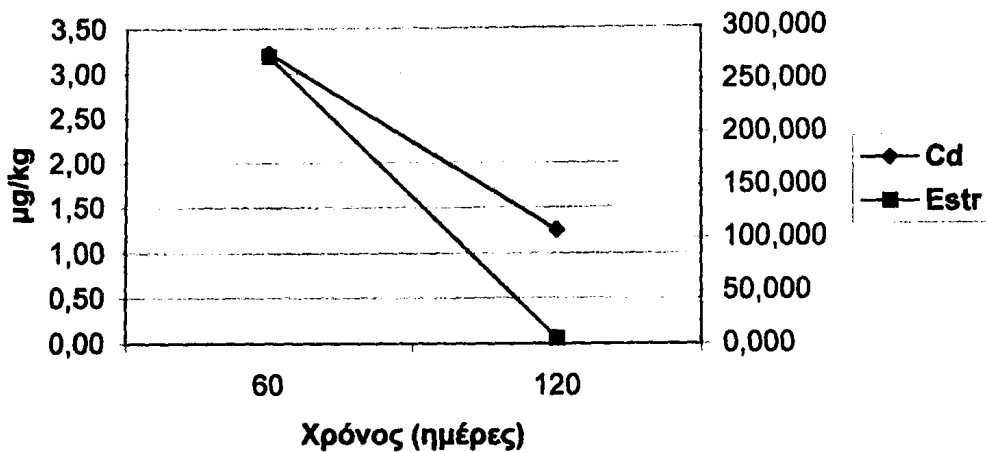
Cd = κάδμιο μg/kg

I, II, III, IV= ενυδρεία (πειρ.ομάδες)

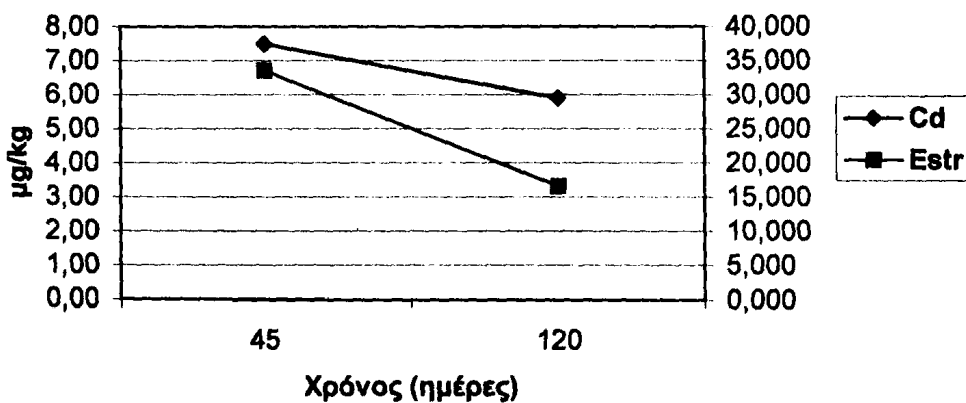
Estr = 17-β οιστραδιόλη pg/ml



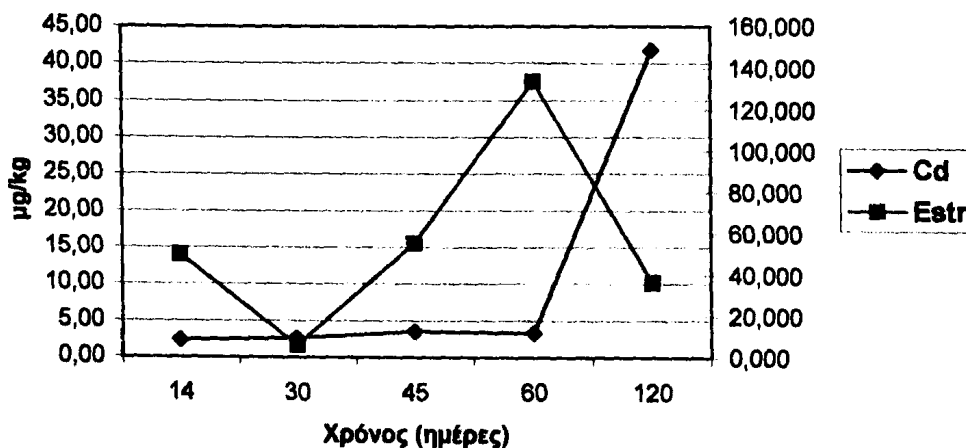
III4. Μεταβολές Cd(μg/kg) και 17-β Οιστραδιόλης (pg/ml) στα θηλυκά ενυδρείου II



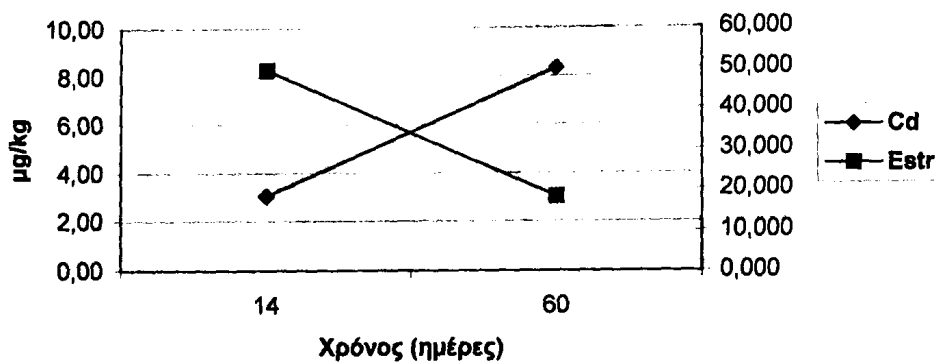
III5. Μεταβολές Cd (μg/kg) και 17-β Οιστραδιόλης (pg/ml) στα θηλυκά ενυδρείου III



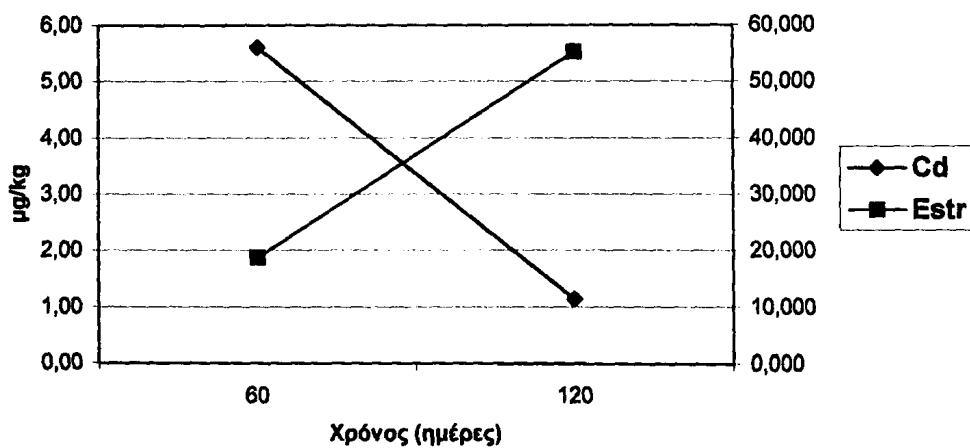
III6. Μεταβολές (μg/kg) Cd και 17-β Οιστραδιόλης (pg/ml) στα θηλυκά ενυδρείου IV



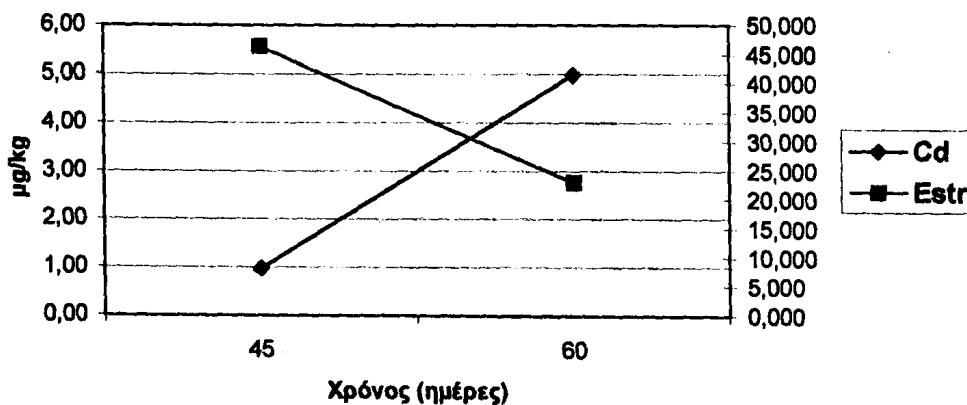
III7. Μεταβολές Cd(μg/kg) και 17-β Οιστραδιόλης(pg/ml) στα αρσενικά ενυδρείου I



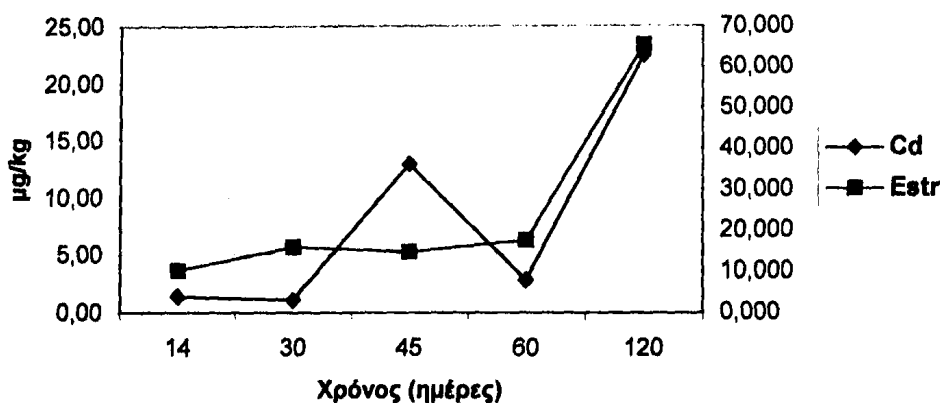
III8 Μεταβολές(μg/kg) Cd και 17-β Οιστραδιόλης(pg/ml) στα αρσενικά ενυδρείου II



III9. Μεταβολές Cd (μg/kg) και 17-β Οιστραδιόλης(pg/kg) στα αρσενικά ενυδρείου III



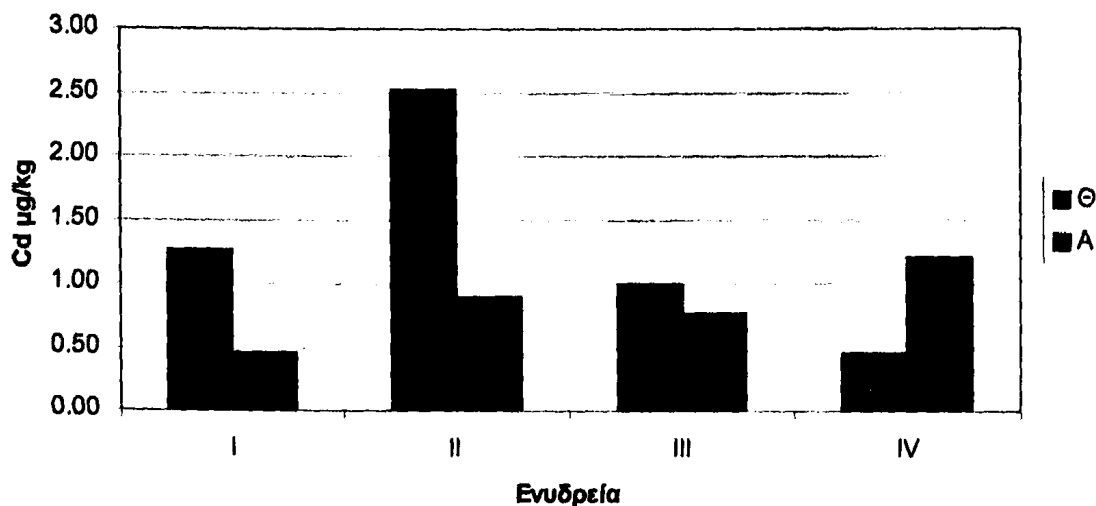
III 10. Μεταβολές Cd(μg/kg) και 17-β Οιστραδιόλης(pg/kg) στα αρσενικά ενυδρείου IV



ΕΝΥΔΡΕΙΑ	A	Θ
I	0,74±0,48	1,26±1,39
II	0,90±0,61	2,53±1,31
III	0,77±0,97	1,00±1,15
IV	1,21±1,28	0,45±1,04

Πίνακας III 6: Μέσες τιμές Cd στους μύες αρσενικών και θηλυκών *C. auratus*

Συγκέντρωση Cd στους μύες του *Carassius auratus*



Γράφημα III 11: Συγκέντρωση Cd στους μύες του *Carassius auratus*

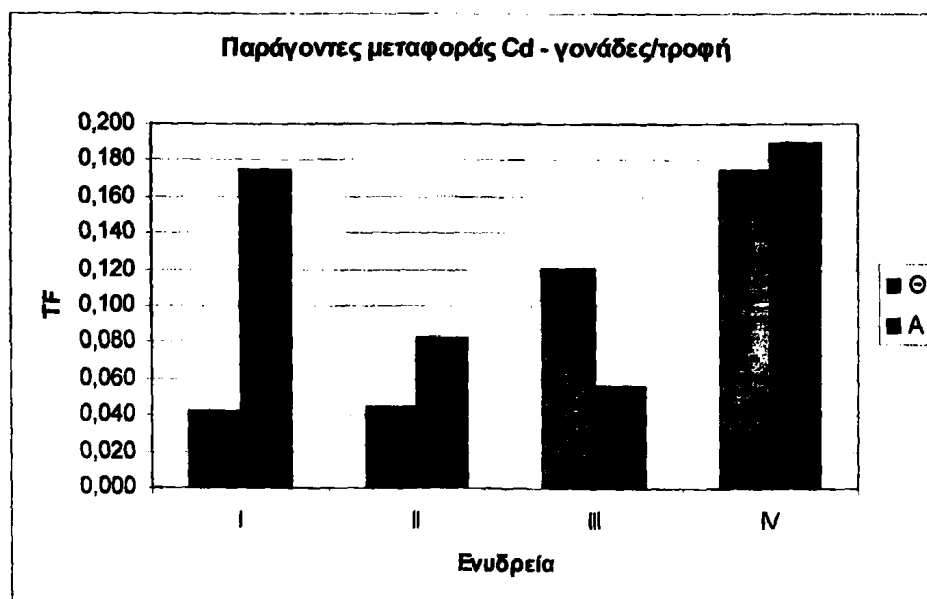


	Ιχθυοτροφή	A.desmaresti
Αριθμός δειγμάτων	6	32
Cd µg/kg	49,53±3,98	30,40±9,97

Πίνακας III 7. Μέση συγκέντρωση Cd (µg/kg) στην ιχθυοτροφή και στην *Atyaephyra desmaresti*

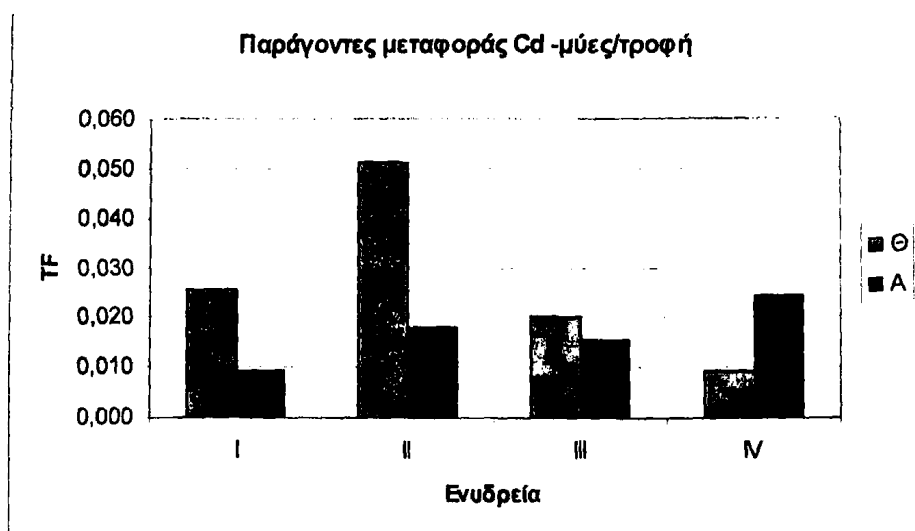
	A	A	Θ	Θ
Ενδρεία	TF γονάδες	TF μύες	TF γονάδες	TF μύες
I	0,174±0,295	0,009±0,021	0,043±0,020	0,026±0,028
II	0,083±0,056	0,018±0,012	0,045±0,018	0,051±0,026
III	0,056±0,043	0,016±0,020	0,121±0,051	0,020±0,023
IV	0,190±0,287	0,025±0,026	0,174±0,295	0,009±0,021

Πίνακας III 8. Παράγων μεταφοράς (TF) του Cd μεταξύ γονάδων, μύων και χορηγούμενης ιχθυοτροφής, αρσενικών (A) και θηλυκών (Θ) *Carassius auratus*.



Γράφημα III 12: Παράγοντες μεταφοράς Cd - γονάδες/τροφή





Γράφημα III 13: Παράγοντες μεταφοράς Cd - μύες/τροφή

	Θ	A
	r- TF	r- TF
I	0,16	1,00
II	0,90	-0,99
III	-0,96	-0,33
IV	0,01	0,36

Πίνακας III 9: Συντελεστής συσχέτισης (r) των παραγόντων μεταφοράς (TF) μεταξύ γονάδων και μυών στα θηλυκά και αρσενικά *C. auratus*

Θ	I				II			
Ημέρες	14	30	60	120	Ημέρες	60	120	
Cd-Γονάδες	0.88	2.85	2.81	1.31	Cd-Γονάδες	2.74	1.25	
Cd-Μύες	0.00	3.77	0.61	1.62	Cd-Μύες	2.91	1.36	
TF-γονάδων	0.018	0.057	0.057	0.027	TF-γονάδων	0.000	0.055	
TF-μυών	0.000	0.076	0.012	0.033	TF-γονάδων	0.059	0.028	

TFμυών								
	III		IV					
Ημέρες	45	120	Ημέρες	14	30	45	60	120
Cd-Γονάδες	6.08	5.90	Cd-Γονάδες	2.35	2.59	3.48	3.38	41.76
Cd-Μύες	1.04	0.95	Cd-Μύες	0.00	0.00	1.39	0.00	0.38
TF-γονάδων	0.123	0.119	TF-γονάδων	0.047	0.052	0.070	0.068	0.843
TF-μυών	0.021	0.019	TF-μυών	0.000	0.000	0.028	0.000	0.008

Πίνακας III 10. Συγκεντρώσεις Cd (μg/kg) στις γονάδες και τους μύες και παράγοντες μεταφοράς αντίστοιχα σε διάφορους χρόνους έκθεσης θηλυκών *C. auratus*

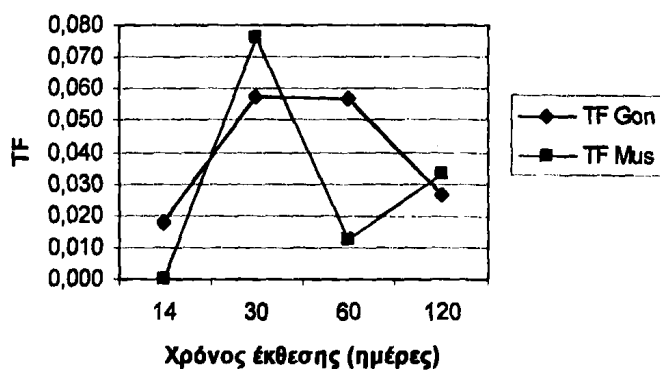


A			II		
Ημέρες	14	60	Ημέρες	60	120
Cd-Γονάδες	3.06	8.33	Cd-Γονάδες	5.61	1.14
Cd-Μύες	0.40	1.08	Cd-Μύες	0.56	1.58
TF-γονάδων	0.062	0.168	TF-γονάδων	0.113	0.023
TF-μυών	0.008	0.022	TF-μυών	0.011	0.032

III			IV					
Ημέρες	45	60	Ημέρες	14	30	45	60	120
Cd-Γονάδες	1.02	4.57	Cd-Γονάδες	1.43	1.11	12.92	2.79	22.44
Cd-Μύες	1.17	0.38	Cd-Μύες	0.58	0.22	0.49	1.71	1.89
TF-γονάδων	0.021	0.092	TF-γονάδων	0.000	0.000	0.000	0.056	0.453
TF-μυών	0.024	0.008	TF-μυών	0.012	0.004	0.010	0.035	0.038

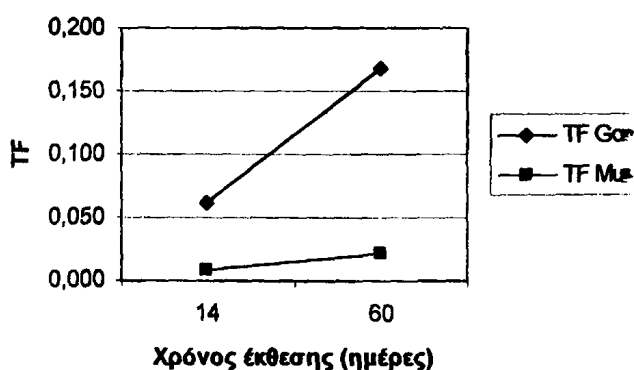
Πίνακας III 11. Συγκεντρώσεις Cd (μg/kg) στις γονάδες και τους μύες και παράγοντες μεταφοράς αντίστοιχα σε διάφορους χρόνους έκθεσης αρσενικών *C. auratus*

Παράγοντες μεταφοράς στα θηλυκά ενυδρείου I



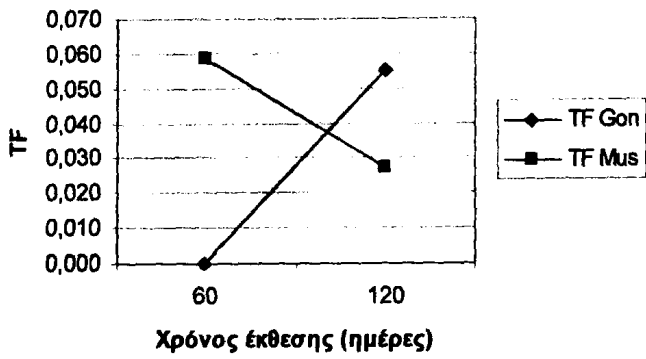
Γράφημα III 14
Παράγοντες μεταφοράς στα θηλυκά ενυδρείου I

Παράγοντες μεταφοράς στα αρσενικά ενυδρείου I



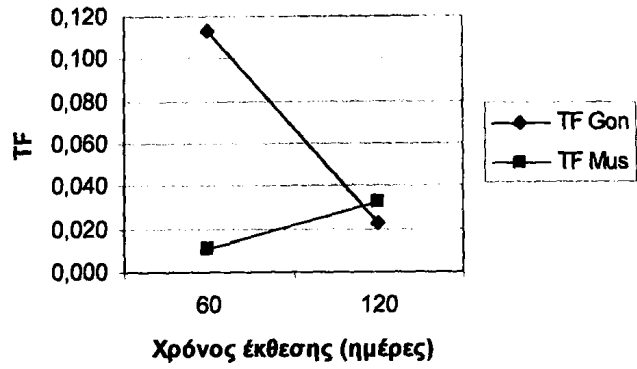
Γράφημα III 15
Παράγοντες μεταφοράς στα αρσενικά ενυδρείου I

Παράγοντες μεταφοράς στα θηλυκά ενυδρείου II



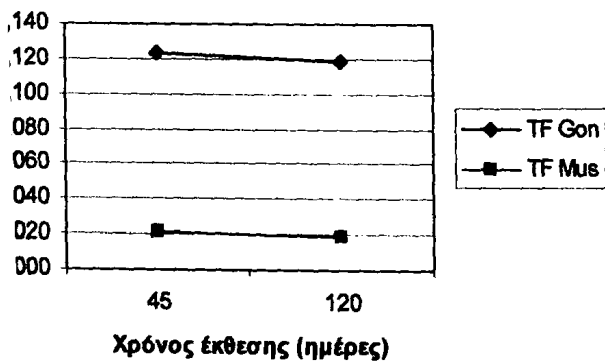
Γράφημα III 16
Παράγοντες μεταφοράς
στα θηλυκά ενυδρείου II

Παράγοντες μεταφοράς στα αρσενικά ενυδρείου II



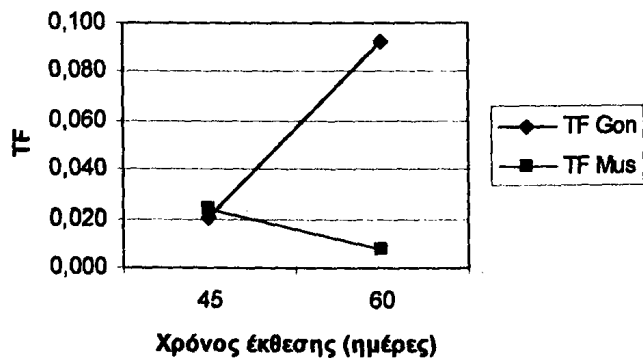
Γράφημα III 17
Παράγοντες μεταφοράς
στα αρσενικά ενυδρείου II

Παράγοντες μεταφοράς στα θηλυκά ενυδρείου III



Γράφημα III 18
Παράγοντες μεταφοράς
στα θηλυκά ενυδρείου III

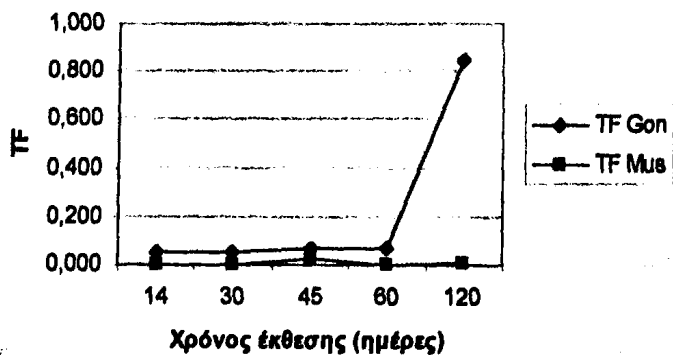
Παράγοντες μεταφοράς στα αρσενικά ενυδρείου III



Γράφημα III 19
Παράγοντες μεταφοράς
στα αρσενικά ενυδρείου III

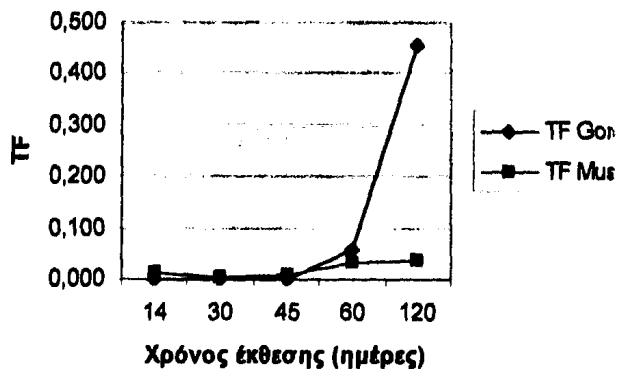


Παράγοντες μεταφοράς στα θηλυκά ενυδρείου IV



Γράφημα III 20
Παράγοντες μεταφοράς
στα θηλυκά ενυδρείου IV

Παράγοντες μεταφοράς στα αρσενικά ενυδρείου IV



Γράφημα III 21
Παράγοντες μεταφοράς
στα αρσενικά ενυδρείου IV



IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο ορμονικός κύκλος των στεροειδών των γονάδων των ανθρώπων όπως και του *Carassius*, είναι η βάση της σεξουαλικής συμπεριφοράς και της αναπαραγωγικής τους διαδικασίας. Οι ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες που επηρεάζουν αυτόν τον κύκλο μεταβάλλουν το αναπαραγωγικό πρότυπο του *Carassius*. Οι γοναδοτροπίνες αποτελούν το ορμονικό προϊόν του υποθαλάμου και τη βάση του υποθάλαμο-υπόφυσι-γοναδο-ηπατικού άξονα, με προϊόν των γονάδων την οιστραδιόλη η οποία με την σειρά της πυροδοτεί την παραγωγή βιτελογεννίνης (Vtg) και πρωτεϊνών της ακτινωτής ζώνης (Zr-πρωτεΐνες) από το ήπαρ. (Redding and Patino, 1993, Cyr. and Eales, 1996, Arukwe, 2001).

Ξενοβιοτικά όπως τα φυτοοιστρογόνα και μέταλλα ασκούν ή επηρεάζουν την ορμονική δραστηριότητα με επιπτώσεις στη διαφοροποίηση του φύλου και την αναπαραγωγική βιολογία (Arukwe and Goskoyr, 1998, Purdon et al, 1994).

Τα θηλυκά *Carassius* της πειραματικής μας διάταξης εμφανίζουν μεταβολές της 17-β οιστραδιόλης κατά τη διάρκεια των 120 ημερών που εκτέθηκαν σε διάφορες συγκεντρώσεις Cd ανάλογες των μεταβολών του Cd (Γραφ. III 5) εμφανίζουν δηλ. θετική συσχέτιση με το Cd. (Πίν III 3). Στο ενυδρείο I (νερό λίμνης με Cd: 0.05 μg/l, φυσική συγκέντρωση) η μέγιστη τιμή της 17-β οιστραδιόλης εμφανίζεται μεταξύ 30ης και 60ης ημέρας επώασης των ιχθύων (87,20 και 86,88 pg/ml αντίστοιχα) ενώ στο ενυδρείο, IV (νερό βρύσης με 5 μg Cd /l= πειραματική συγκέντρωση) βρίσκεται την 60η μέρα (133.51 pg/ml). Οι τιμές του ενυδρείου I αντιστοιχούν σε ωοθυλακική φάση (60-200 pg/ml). Οι τιμές του ενυδρείου IV αντιστοιχούν σε μεταβατική μεταξύ της ωοθυλακικής και ωορρηκτικής φάσης (60-200 και 120-375 pg/ml αντίστοιχα). Μεγαλύτερος πληθυσμός πειραματοζώων ίσως θα διευκρίνιζε κατά πόσο η αυξημένη συγκέντρωση Cd πράγματι προκαλεί μια πρωϊμότερη ωρίμανση των θηλυκών.

Η μελέτη της αλληλεπίδρασης 17-β-οιστραδιόλης (E2) και Zn ,ενός μετάλλου, ιδιαίτερα συγγενικού προς το Cd ως προς τους μηχανισμούς πρόσληψης, διακίνησης και δράσεων, έδειξε ότι E2 αυξάνει τη συγκέντρωση του Zn στο κλάσμα και μάλιστα ανάλογα προς την αύξηση συγκεντρώσεων της Vtg. Επίσης η E2 προκαλεί αναδιανομή του ηπατικού Zn προς τις ωοθήκες των θήλεων *squirtelfish* (Thompson, 2001). Πιθανά ο ανταγωνισμός Cd και Zn κυρίως στις μεταλλοθειονίνες (MTs) του ήπατος αποτελεί τη βάση της ορμονικής διαταραχής που παρατηρείται.



Στα άρρενα ψάρια *Carassius* η σχέση E2 και Cd είναι αρνητική στα ενυδρεία I-III δηλ. έως συγκέντρωση Cd 1 μg/l. Στο ενυδρείο IV (5 μg Cd/l) η σχέση ορμόνης-μετάλλου μεταβάλλεται, γίνεται θετική ($r = 0.81$) και την 120η ημέρα που η συγκέντρωση του Cd στις γονάδες φθάνει τα 22,44 μg/Kg, η E2 φθάνει τα 65,35 Pg/ML (Φ.Τ για άρρενες ενήλικες: E2=ND-44), ενώ τα θηλυκά της ίδιας ηλικίας, την 120η ημέρα βρίσκονται ήδη σε ωχρινοποιητική φάση, δηλ. στο τέλος του κύκλου τους.

Τα πειραματόζωα δεν παρουσίασαν ωστόσο, πλήρη αναπαραγωγικό κύκλο με ωοτοκία και παραγωγή γόνου σε όλα τα πειραματικά ενυδρεία, I-IV.

Οι Hook και Fisher, 2001 αναφέρουν ότι στα κωπήποδα ο ρυθμοί εκκόλαψης και η παραγωγή αυγών μειώθηκαν έως και 50% όταν οι οργανισμοί εκτέθηκαν σε Cd, ιδιαίτερα όταν η έκθεση γίνονταν μέσω της τροφής τους και όχι του διαλελυμένου Cd στο νερό διαβίωσης. Φαίνεται δε ότι το Cd σε συγκέντρωση 1-2 nM μειώνει 15-20% στο ρυθμό εκκόλαψης, αυξάνει όμως 5-15% την παραγωγή αυγών. Σε μικρότερες δε συγκεντρώσεις 0.25-0.5 nM αυξάνει έως και 25% την παραγωγή των αυγών.

Η διατροφή των πειραματόζωων (*C. auratus*) βασίστηκε στην τύπου 304 ιχθυοτροφή, για πέστροφες, στην οποία η συγκέντρωση Cd βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη από την συγκέντρωση του Cd στην *Atyaephyra desmaresti*, βασικό μέλος της βιοκοινότητας των crustacea που αποτελούν την διατροφική βάση πολλών ειδών ψαριών των γλυκών νερών.

Από τα αποτελέσματα μας φαίνεται ότι ο παράγων μεταφοράς (TF) Cd από την τροφή στις γονάδες και στους μύες των πειραματόζωων εμφανίζει διαφορές. Φαίνεται κατ' αρχήν ότι το Cd εκλεκτικά μετακινείται προς τις γονάδες κυρίως και λιγότερο προς τον μυϊκό ιστό των ψαριών και των δύο φύλων (Πιν. III8, Γραφ. III1, III11).

Φαίνεται επίσης από την σύγκριση των παραγόντων μεταφοράς του Cd προς τους δύο ιστούς ότι τα δύο φύλα εμφανίζουν αντίθετες τάσεις συσσώρευσης του Cd (Πιν. III9, Γραφ. III12, III13).

Τα αρσενικά ψάρια στο ενυδρείο I (Cd = 0.05 μg/l) εμφανίζουν θετική συσχέτιση των TF γονάδων-μύων ($\tau\text{-TF} = 1,00$) στις μεγαλύτερες όμως συγκεντρώσεις Cd, εμφανίζουν αρνητική συσχέτιση. (Πιν. III9).

Τα θηλυκά ψάρια στο ενυδρείο II (Cd = 0.1 μg/l) εμφανίζουν θετική συσχέτιση των TF γονάδων-μύων ($\tau\text{-TF} = 0,90$) όσο όμως αυξάνει η συγκέντρωση του Cd στο νερό η σχέση αυτή γίνεται αρνητική. (Πιν. III9).



Οι μελέτες κινητικής πρόσληψης των μετάλλων αναφέρουν ότι σε πλαγκτονικά είδη όπως η *Daphnia magna* το Cd συγκεντρώνεται γραμμικά 12 μόλις ώρες μετά την έκθεση σε Cd < 180 μM σε όλους τους ιστούς. Φαίνεται δε ότι για το Cd και το Se η διαιτητική έκθεση είναι ο παράγων που επικρατεί για την μεταφορά του Cd στην *Daphnia* και όχι η διαλελυμένη μορφή του μετάλλου, η οποία αντίθετα είναι ο κύριος παράγων μεταφοράς για τον Zn (> 50%). (Yu, R.Q. 2002)

Η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων και η απορρόφησή τους από τους υδρόβιους οργανισμούς σήμερα εκτιμάται με βάση στον βιοτικό σύνδεσμο (biotic ligand) ο οποίος συγκαθορίζεται από την φυσιολογία του είδους, και το περιβάλλον του.

Οι Liu, X.J. et al, 2002, αναφέρουν επίσης ότι το ποσοστό του Cd και Zn που εμφανίζεται με ραδιοσήμανση στους μαλακούς ιστούς της *D. Magna* μέσω διατροφικής επιβάρυνσης με μέταλλα, είναι πολύ υψηλότερο από ότι μέσω του νερού.

Γίνεται φανερό ότι οι δράσεις των περιβαλλοντικών ρυπαντών που προκαλούν διαταραχές του φύλου και διάρρηξη των αναπαραγωγικών κύκλων σε όλα τα περιβάλλοντα και στους υδρόβιους και μη οργανισμούς συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου, εμφανίζουν ένα εύρος δράσεων, που μπορεί να είναι ανταγωνιστικές ή και συνεργικές.

Κατ' αρχήν μία μεταβολή του χρονικού προτύπου ενός ορμονικού φαινομένου προκαλεί ασυγχρονότητα και αποσυντονισμό των λειτουργιών που απαιτούν, σε γονοχωριστικά είδη όπως αρκετοί τελεόστοι, οι αναπαραγωγικοί βιορυθμοί αρρένων και θηλέων να είναι παράλληλοι. Περισσότερο τοξικές δράσεις όπως αυτές των μετάλλων πιθανά να προκαλούν μακροπρόθεσμες μεταβολές που αλλάζουν το γονοτυπικό πρότυπο και επηρεάζουν τον οργανισμό, που εκτίθεται στη δράση τους, σε επίπεδο είδους, ιδιαίτερα στα υδρόβια οικοσυστήματα όπου η βιοσυσσώρευση των μετάλλων είναι ευκολότερη και ταχύτερη μέσω των τροφικών αλυσίδων. (Kalfakakou et al 1990)

Κατά συνέπεια μελέτες που χαρακτηρίζονται από τον έλεγχο χρόνιων επιπτώσεων, με δεδομένα από όλους τους ιστούς και τις λειτουργίες των υδρόβιων οργανισμών αποτελούν ένα αξιόπιστο μοντέλο αξιολόγησης των κινδύνων και της αντιμετώπισης συνάμα των φαινομένων της ορμονικής διάρρηξης και βιοσυσσώρευσης.



V.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η αύξηση της συγκέντρωσης του Cd προκαλεί στατιστικά σημαντική αύξηση της 17-β οιστραδιόλης στα θηλυκά και μείωση στα αρσενικά, τουλάχιστον ως την συγκέντρωση 1μCd/l.

Στατιστικά σημαντική διαφορά στις συγκεντρώσεις της 17-β-οιστραδιόλης μεταξύ αρσενικών και θηλυκών εμφανίζεται στα ενυδρεία III και IV, σε συγκεντρώσεις δηλ. Cd 1 και 5 μg/l αντίστοιχα.

Τα πειραματόζωα δεν παρουσίασαν πλήρη αναπαραγωγικό κύκλο με ωοτοκία και παραγωγή γόνου σε όλα τα πειραματικά ενυδρεία, I-IV.

Η συγκέντρωση του Cd στην ιχθυοτροφή του εμπορίου ήταν της τάξης των $49,53 \pm 3,9$ μg/kg, ενώ στην γαρίδα *Atyaephyra desmaresti* της λίμνης Ιωαννίνων, που αποτελεί την φυσική διατροφική βάση πολλών ειδών στον άναλων νερών, ήταν της τάξης των $30,40 \pm 9,97$ μg/kg.

Ο παράγοντας μεταφοράς (TF) του Cd προς τις γονάδες και τους μύες, μετά από 5μηνο έκθεσης σε 0,05, 010, 1,00, και 5,00 μgCd/l και διατροφή περιεκτικότητας $49,53 \pm 3,9$ μgCd/kg ήταν σταθερά <1 και για τα δύο φύλλα.

Τα θηλυκά *C. auratus* εμφανίζουν κατά μέσον όρο μεγαλύτερες συγκεντρώσεις Cd στους μύες και μικρότερες στις γονάδες από ότι τα αρσενικά.

Η συσσώρευση του Cd στις γονάδες ήταν σημαντικά υψηλότερη από ό,τι στους μύες και στα δύο φύλα, ένδειξη εκλεκτικής συγκέντρωσης του μετάλλου στον αναπαραγωγικό ιστό.



VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η επιβάρυνση των υδάτινων αποδεκτών με σημαντικές ποσότητες ξενοβιοτικών όπως τα μέταλλα, έχει σαν αποτέλεσμα την προσβολή των υδρόβιων οργανισμών και των τροφικών αλυσίδων. Η είσοδος των μετάλλων επηρεάζεται από τη φυσιολογική κατάσταση του ζώου, περιβαλλοντικούς παράγοντες, και πιθανώς τη μορφή του μετάλλου στο νερό, οι δράσεις τους δε ασκούνται σε διάφορα επίπεδα (κύτταρο, οργανισμός, βιοκοινότητα).

Ο υποθάλαμος δια μέσου της επίδρασης περιβαλλοντικών σημάτων εκκλύει την γοναδοτροπίνη (GnRH), και διεγείρει την έκλυση γοναδοτροπινών (GtH), από την υπόφυση. Δυο μορφές γοναδοτροπινών (GtH), έχουν απομονωθεί στα ψάρια οι GtH I και II είναι ανάλογες της θυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) και της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) των θηλαστικών αντίστοιχα. Γενικά, οι γοναδοτροπίνες είναι υπεύθυνες για την διέγερση της σύνθεσης των στεροειδών του φύλου (ανδρογόνα, οιστρογόνα, και προγεσταγόνα), τα οποία με τη σειρά τους επιδρούν σε ιστούς στόχους για την ρύθμιση της γαμετογένεσης, της αναπαραγωγής του φυλετικού φαινοτύπου και των συμπεριφορικών χαρακτηριστικών.

Στις περισσότερες μελέτες ψαριών, η ανάπτυξη της ωογένεσης ρυθμίζεται από την GtH I υπό την επίδραση της οποίας τα κύτταρα της θήκης συνθέτουν τεστοστερόνη, και επιτρέπουν την αρωματοποίηση με αποτέλεσμα το σχηματισμό οιστραδιόλης (ER). Στη συνέχεια, η (ER) πυροδοτεί σειρά βημάτων με αποτέλεσμα την παραγωγή βιτελογενίνης (Vtg) και πρωτεϊνών της ακτινωτής ζώνης (*Zona radiata-Zr*) στο ήπαρ. Οι Vtg και Zr-πρωτεΐνες απελευθερώνονται από το ήπαρ στο αίμα και ενσωματώνονται στο ωοκύτταρο.

Πολλά περιβαλλοντολογικά χημικά εμφανίζουν οιστρογονική ή ανδρογόνο δραστηριότητα. Άλλες δράσεις των ρυπαντών αφορούν τις Vtg και Zr πρωτεΐνες, όπως έχει βρεθεί, σε *in vitro* ελέγχους, στα ηπατοκύτταρα ψαριών.

Οι βραχυπρόθεσμες συνέπειες της έκθεσης ψαριών στα οιστρογόνα (και πιθανώς επίσης στα ανδρογόνα) κατά την διάρκεια της ευαίσθητης περιόδου της ανάπτυξης είναι ότι τα γονοτυπικά άρρενα άτομα μπορεί να θηλεοποιηθούν πλήρως, να αναπτύξουν φυσιολογικές ωοθήκες και ωαγωγούς και να αναπαραχθούν φυσιολογικά ως ενήλικα αλλά αυτό συνεπάγεται ότι, η αναλογία φύλου των ενήλικων πληθυσμών μπορεί να εκτρέπεται (τουλάχιστον βραχυπρόθεσμα) προς τα θήλεα.



Η αμφιφυλία είναι περισσότερο κοινή κατάσταση και προκαλείται από έκθεση του γόνου ψαριών σε οιστρογονικές ουσίες. Η αμφιφυλική κατάσταση σε άρρενα συνήθως λαμβάνει την μορφή ωοόρχι δηλ. μια μερική θηλεοποίηση στην οποία τα ωοκύτταρα (ωάρια) μπορούν να εμφανιστούν σε καθόλα φυσιολογικούς όρχεις. Ο ωοόρχις μπορεί να προκληθεί στο εργαστήριο δια εκθέσεως του γόνου ψαριών σε ασθενή οιστρογόνα και επίσης έχει παρατηρηθεί σε άγριους πληθυσμούς ψαριών μετά από έκθεση σε οιστρογονικές απορροές. Τα μέταλλα προσβάλουν μέσα από φυσικές ή ανθρωπογενείς δραστηριότητες τα οικοσυστήματα των άναλων νερών, με πολλές μορφές και εμφανίζονται στους οργανισμούς όλων των τροφικών επιπέδων. **Βιοσυσώρευση** ενός μέταλλου συμβαίνει όταν το μέταλλο εμφανίζεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στους οργανισμούς τροφικού επιπέδου X από ότι στους οργανισμούς τροφικού επιπέδου X-1. Το πηλίκο αυτής της σχέσης συγκεντρώσεων του μέταλλου, αποτελεί τον **παράγοντα μεταφορά (TF)**, από το ένα τροφικό επίπεδο στο άλλο. Όταν ο TF είναι σταθερά μεγαλύτερος της μονάδας (1) από την βάση προς την κορυφή της τροφικής πυραμίδας, μεταξύ των συνεχόμενων τροφικών επιπέδων, τότε συμβαίνει **βιομεγέθυνση** του μέταλλου μέσα από την τροφική αλυσίδα. Σε κάθε τροφικό επίπεδο ορισμένοι οργανισμοί αποτελούν βιοδείκτες. Τα κρουστοφόρα αποτελούν επίσης βιοδείκτες ως νηχόμενοι αλλά κυρίως βενθόβιοι οργανισμοί οι οποίοι αποτελούν δείκτη της επιβάρυνσης από μέταλλο των ιζημάτων και της περιοχής κοντά στον πυθμένα της υδατοσυλλογής..

Οι δύο κύριοι οδοί εισόδου των μετάλλων στους υδρόβιους οργανισμούς είναι είτε μέσω της υδατικής μάζας που τους περιβάλλει ή μέσω της τροφής. Επειδή δε οι συγκεντρώσεις των μετάλλων ποικίλουν στα υδάτινα οικοσυστήματα η οδός μέσω της τροφής είναι πιο αποδεκτή γιατί αφ' ενός απηχεί καλλίτερα την σχέση συσώρευσης/αποκάθαρσης του μέταλλου, αφ' ετέρου παρέχει περισσότερες πληροφορίες για την πιθανότητα βιομεγέθυνσης από το ένα τροφικό επίπεδο στο άλλο.

Σκοπός της διπλωματικής είναι η μελέτη των επιδράσεων του Cd στην βιοφυσιολογία του χρυσόψαρου- *Carassius auratus* με δείκτες τις μεταβολές της 17-β οιστραδιόλης και του παράγοντα μεταφοράς των μετάλλων προς τις γονάδες και τους μύες του ψαριού και προς την γαρίδα *Atyaephyra desmaresti* που αποτελεί την διατροφική του βάση.



Εβδομήντα έξη (76) χρυσόψαρα του είδους *Carassius auratus* (44Θ, 32A), ηλικίας μικρότερης του ενός (1) έτους εκτέθηκαν σε διάφορες συγκεντρώσεις Cd ως εξής:

Ομάδα I.18 (14Θ, 4A) ιχθύες σε νερό λίμνης (με φυσική συγκέντρωση) : 0.05 $\mu\text{g Cd/l}$

Ομάδα II. 14 (8Θ, 6A) ιχθύες σε νερό βρύσης: 0.10 $\mu\text{g Cd/l}$

Ομάδα III. 16 (8 Θ, 8 A) ιχθύες σε νερό βρύσης : 1 $\mu\text{g Cd/l}$

Ομάδα IV. 28 (14 Θ, 14 A) ιχθύες σε νερό βρύσης: 5 $\mu\text{g Cd/l}$, Θ=Θήλεα, A=Αρρενα

Η θερμοκρασία στα ενυδρεία II,III και IV κυμάνθηκε μεταξύ 9-11 °C τους μήνες Ιαν-14 Μαρ και 6-9 °C στο I.Τους επόμενους μήνες,15 Μαρ-Μάιος, οι μεταβολές ήταν σε όλα τα ενυδρεία ίδιες.Την ίδια περίοδο το pH στα ενυδρεία II,III και IV κυμάνθηκε μεταξύ 7,33-7,48 και 7,28-8,36 στο I.

Έγιναν συνολικά πέντε δειγματοληψίες ως εξής: Ανά 14 ημέρες, την 15^η, 30^η, 45^η, 60^η και 120^η, από τα τέσσερα ενυδρεία-ομαδες I, II, III, IV, με τις παραπάνω συγκεντρώσεις Cd ,συλλαμβάνονταν 2-3 ψάρια των οποίων οι γονάδες συνενώνονταν (pooling) λόγω του μικρού μεγέθους των ψαριών και αποτελούσαν το προς εξέταση δείγμα.Αντίστοιχα λαμβανόταν δείγματα μυϊκού ιστού βάρους περίπου 0,2gr.

Συλλέχθηκαν επίσης 108 γαρίδες *Atyaephyra desmaresti*, από το φυσικό περιβάλλον της λίμνης Ιωαννίνων, οι οποίες συνενώνονταν ανά 3-4 και αποτελούσαν το προς εξέταση δείγμα.

Τέλος από την ιχθυοτροφή Νο 304 για πέστροφα, έγιναν 6 τυχαίες δειγματοληψίες από τις δυο παρτίδες που χρησιμοποιήθηκαν κατά το 5 μηνο εκτροφής των χρυσόψαρων.

Για την μέτρηση του Cd των γονάδων, μυών, ιχθυοτροφής και γαρίδων εφαρμόστηκε φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης (atomic absorption spectrophotometry-AAS) σε φασματοφωτόμετρο Perkin-Elmer- 560 με φούρνο γραφίτη HGA-400 και διορθωτή υποστρώματος (background correction).

Για την μέτρηση της E2 χρησιμοποιήθηκε Coat-A. count οιστραδιόλη στερεά φάσης με ραδιοαναοσσήμανση ¹²⁵I, της DPS-USA σχεδιασμένη για την ποσοτική ανίχνευση οιστραδιόλης στον ορό και μόνο για in vitro διάγνωση ,σε γ-counter τύπου Packard, Crystal II, Multidetector-RIA-System.

Οι συγκεντρώσεις του Cd στις γονάδες των θηλυκών *Carassius* αυξάνουν καθώς αυξάνει η συγκέντρωση του Cd στο νερό των ενυδρείων όπου παράμειναν για 5 μήνες περίπου από το Ιανουάριο έως και τον Μαΐο του 2003. Στο ενυδρείο I τα θηλυκά ψάρια τοποθετήθηκαν σε νερό λίμνης με φυσική συγκέντρωση 0,05 $\mu\text{g Cd/l}$



και στο II σε νερό βρύσης με φυσική συγκέντρωση διπλάσια του νερού λίμνης 0,10 $\mu\text{gCd/l}$. Στο ενυδρείο III με νερό βρύσης και συγκέντρωση Cd $1\mu\text{gCd/l}$ δηλαδή 10 πλάσια της προηγούμενης η μέση συγκέντρωση του μετάλλου στις γονάδες 2 πλαισιάστηκε περίπου στο τέλος της περιόδου έκθεσης. Στο ενυδρείο IV η συγκέντρωση του Cd= $5\mu\text{gCd/l}$ σε νερό βρύσης δηλ. 5πλάσια της προηγούμενης, είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση του μετάλλου στις γονάδες κατά 29 % περίπου.

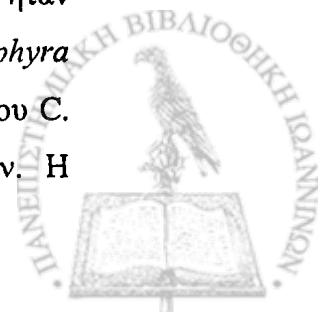
Στα αρσενικά αντίθετα η συγκέντρωση Cd βαίνει μειούμενη στις γονάδες καθώς αυξάνει το μέταλλο στο νερό από τα ενυδρεία I – III, στο ενυδρείο IV όμως όπου η συγκέντρωση του μετάλλου είναι 100 πλάσια αυτής του ενυδρείου I, το Cd εμφανίζει υψηλή.

Οι μεγαλύτερες τιμές 17- β -οιστραδιόλης εμφανίζονται στα θηλυκά στο ενυδρείο II= $0,1\mu\text{gCd/l}$, σε νερό βρύσης, και στα αρσενικά στο ενυδρείο III= $1\mu\text{gCd/l}$ σε νερό βρύσης. Ωστόσο η συσχέτιση Cd και 17- β -οιστραδιόλης στους 2 πληθυσμούς, αρσενικά & θηλυκά, φαίνεται αντίθετη. Στα αρσενικά ο $r =$ συντελεστής συσχέτισης είναι σημαντικά αρνητικός στα ενυδρεία I, II & III και σημαντικά θετικός στο IV. Αντίθετα στα θηλυκά είναι σημαντικά θετικός στα II και III και οριακά στο I και αρνητικός στο IV. Υποσημαίνεται δηλαδή ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του Cd προκαλεί αύξηση της 17- β οιστραδιόλης στα θηλυκά και μείωση στα αρσενικά, τουλάχιστον ως την συγκέντρωση $1\mu\text{Cd/l}$. Φαίνεται επίσης ότι στατιστικά σημαντική διαφορά στις συγκεντρώσεις της 17- β -οιστραδιόλης μεταξύ αρσενικών και θηλυκών εμφανίζεται στα ενυδρεία III και IV, σε συγκεντρώσεις δηλ. Cd 1 και 5 $\mu\text{g/l}$ αντίστοιχα.

Οι συγκεντρώσεις του Cd στους μύες του *C. auratus* εμφανίζουν διαφορές μεταξύ αρσενικών και θηλυκών. Στα ενυδρεία I-III οι συγκεντρώσεις του Cd στους μύες των θηλυκών είναι μεγαλύτερες από των αρσενικών καθώς όμως η συγκέντρωση του Cd αυξάνει τα θηλυκά τείνουν να συσσωρεύουν λιγότερο Cd στους μύες και περισσότερο στις γονάδες.

Τα αρσενικά εμφανίζουν την τάση να μειώνουν την συσσώρευση του Cd στις γονάδες όσο αυξάνει η συγκέντρωσή του στο νερό και να την αυξάνουν στους μύες.

Πηγή του Cd εκτός από την έκθεση στο νερό αποτέλεσε και η ιχθυοτροφή που χορηγούνταν στα ψάρια. Όπως διαπιστώθηκε η συγκέντρωση του Cd σε αυτή ήταν της τάξης του $49,53 \pm 3,98 \mu\text{g/kg}$. Συγκριτικά αναλύθηκαν δείγματα *Atyaephyra desmaresti* από την λίμνη των Ιωαννίνων, που θεωρητικά αποτελούν θήραμα του *C. auratus*, όταν τα άτομα αναπτύσσονται ελεύθερα στο λιμνιαίο περιβάλλον. Η



συγκέντρωση του Cd στην *Atyaephyra desmarsti* ήταν της τάξης των $30,49 \pm 9,97$ Cdμg/kg, δηλαδή σημαντικά μικρότερη της προσφερόμενης ιχθυοτροφής.

Οι παράγοντες μεταφοράς του Cd από την ιχθυοτροφή προς τις γονάδες και τους μύες, τόσο στα θηλυκά όσο και στα αρσενικά δεν ξεπερνούν την μονάδα σε κανέναν από τα ενυδρεία. Το εύρημα αυτό σημαίνει ότι οι συγκεντρώσεις 0,05-5 μgCd/l στο νερό που αναπτύσσονται τα *C. auratus* για 5 τουλάχιστον μήνες, δεν προκαλούν βιοσυσσώρευση Cd στα ψάρια. Φαίνεται επίσης ότι ο συντελεστής συσχέτισης των παραγόντων μεταφοράς του Cd προς τις γονάδες και προς τους μύες είναι θετικός στο ενυδρείο II και αρνητικός στο III για τα θηλυκά.

Στα αρσενικά ισχυρή θετική συσχέτιση των ως άνω παραγόντων μεταφοράς εμφανίζεται στο ενυδρείο I και αρνητική στο II. Γενικά ο παράγων μεταφοράς του Cd προς τους μύες είναι μικρότερος από ότι προς τις γονάδες και εμφανίζει μάλλον τάση παράλληλης μεταβολής στους δυο ιστούς στα θηλυκά και αντίθετης στα αρσενικά.

Συμπεραίνεται ότι :

Η αύξηση της συγκέντρωσης του Cd προκαλεί στατιστικά σημαντική αύξηση της 17-β οιστραδιόλης στα θηλυκά και μείωση στα αρσενικά , τουλάχιστον ως την συγκέντρωση 1μCd/l .

Στατιστικά σημαντική διαφορά στις συγκεντρώσεις της 17-β οιστραδιόλης μεταξύ αρσενικών και θηλυκών εμφανίζεται στα ενυδρεία III και IV, σε συγκεντρώσεις δηλ. Cd 1 και 5 μg/l αντίστοιχα.

Τα πειραματόζωα δεν παρουσίασαν πλήρη αναπαραγωγικό κύκλο με ωοτοκία και παραγωγή γόνου σε όλα τα πειραματικά ενυδρεία, I-IV.

Η συγκέντρωση του Cd στην ιχθυοτροφή του εμπορίου ήταν της τάξης των $49,53 \pm 3,9$ μg/kg, ενώ στην γαρίδα *Atyaephyra desmaresti* της λίμνης Ιωαννίνων, που αποτελεί την φυσική διατροφική βάση πολλών ειδών στων άναλων νερών, ήταν της τάξης των $30,40 \pm 9,97$ μg/kg.



Ο παράγοντας μεταφοράς (TF) του Cd προς τις γονάδες και τους μύες, μετά από 5μηνο έκθεσης σε 0,05, 010, 1,00, και 5,00 $\mu\text{gCd/l}$ και διατροφή περιεκτικότητας $49,53 \pm 3,9 \mu\text{gCd/kg}$ ήταν σταθερά <1 και για τα δύο φύλλα.

Τα θηλυκά *C. auratus* εμφανίζουν κατά μέσον όρο μεγαλύτερες συγκεντρώσεις Cd στους μύες και μικρότερες στις γονάδες από ότι τα αρσενικά.

Η συσσώρευση του Cd στις γονάδες ήταν σημαντικά υψηλότερη από ό,τι στους μύες και στα δύο φύλα, ένδειξη εκλεκτικής συγκέντρωσης του μετάλλου στον αναπαραγωγικό ιστό.



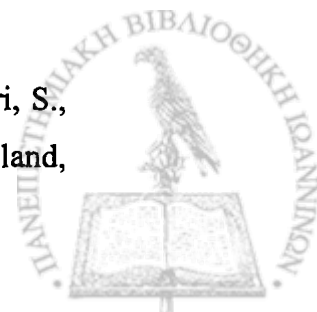
- Bitman J, Cecil HC, (1970). Estrogenic activity of DDT analogs and polychlorinated biphenyls. *Journal of Agriculture and food Chemistry*, **18**, 1108-1112.
- Bjerregaard, P. (1996) Cardiovascular disease and environmental pollutants: the Arctic aspect *Arctic Medicine Researches* (suppl.1), 25-31.
- Bolander, F. F. (1994) *Molecular Endocrinology*, 2nd ed. Academic Press, London, p. 601.
- Bortone, S. A., Davis, W. B. and Bundrick, C. M. (1989) morphological and behavioral characters in mosquito fish as potential bioindication of exposure to Kraft Mill effluent *Bulletin of the Environmental Contamination Toxicology* **43**, 370-377
- Caldwell, J, (1985) Conjugation mechanisms of xenobiotic metabolism: mammalian aspects. Paper presented at the Xenobiotic Conjugation Chemistry, Miami Beach, FL.
- Campbell PGC (1995): A critique of the free-ion activity model> In: Tessier A, Turner DR (eds). *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*. Wiley, Chichester, pp 45-102
- Cellius, T., Haugen, T. B., Grotmol, T. and Walther, B. T. (1999) A sensitive zogenetic assay for rapid in vitro assessment of estrogenic potency of xenobiotics and mycotoxins. *Environmental Health and perspective* **107**, 63-68.
- Cheng MH, Patterson JW and Minear RA, (1975). Heavy metals uptake by activated sludge. *Journal Wat. Pollut. Contr. Fed.* **47**:362-376.
- Colborn, T. and Clement, C. (Eds.) (1992) *Chemically Induced Alterations in Sexual and Functional Development: The wildlife Human Connection*. Princeton Scientific Publishing, Princeton, NJ.
- Corpas I, Antonio MT, (1998). Study of alterations produced by cadmium and cadmium/lead administration during gestational and early lactation periods in the reproductive organs of the rat. *Ecotoxicol Environ Saf*, **41**, 180-188
- Cyr, D.G. and Eales, J. G. (1996) Interrelationships between thyroidal and reproductive endocrine systems in fish. *Review of Fish Biology and Fisheries* **6**, 165-200.
- Darewicz G, Malczyk E, Darewicz J, (1998). Investigations of urinary cadmium content in patients with urinary bladder carcinoma. *Int Urol Nephrol*, **30**, 137-139.



- Dodds, EC and Lawson, W (1936): Synthetic estrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature*, **137**, 996
- Eimers MC, Evans RD, Welbourn PM, (2001). Cadmium accumulation in the fresh water isopod *Accelus racovitzai*: the relative importance of solute and particulate sources at trace concs. *Environ. Poll.*, **111**, 247-253.
- Elliot NG, Swain R, Ritz DA, (1986). Metal interaction during accumulation by the mussel *Mytilus edulis planulatus* . *Marine Biology*, **93**, 395-399.
- Fargasova A, (1994). Effect of Pb, Cd, Hg, As, and Cr on germination and root growth of *Sinapis alba* seeds. *Bull Environ Contam Toxicol*, **52**, 452-456
- Fergusson J E, (1990). The heavy elements: Chemistry, Environmental impact and health effects. Pergamon Press.
- Fidalgo MI, (1989). Biology of the fresh water shrimp *Atyaephyra desmaresti* MILLET (Decapoda Natantia) in the River Dauro, Portugal. I. Life Cycle and individual growth. *Arch Hydrobiol* **116**;97-106
- Fleicher, (1974). Environmental impact of cadmium: A review by the panel of hazardous trace substances. *Environ Health Perspect* , **7**, 253
- Friberg L, (1974). Cadmium, in environment: CRC Press, Cleveland, OH, 248
- Gimeno S, Gerristen A, Bowmer T, and Komen H (1996): Femilization of male carp. *Nature*, **384**, 221-222
- Gottstein Matocec, S & M. Kerovec, (2002). *Atyaephyra desmaresti* and *Palaemonetes antennarius* (Crustacea: Decapoda, Caridea) in the delta of the Neretva river (Croatia). *Biologia, Bratislava*, **57** (2), 181-189
- Goutner V, Papagiannis I, Kalfakakou V, (2001). Lead and cadmium in eggs of colonially nesting water birds of different position in the food chain of Greek wetlands of international importance, *STOTEN*, **267**, 169-176.
- Gray, M. A. And Metcalfe, C. D. (1997) Induction of testis-ova in japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to p-nonylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry* **16**,1082-1086.
- Griswold, B. (1997) Fisheries and pollution. *Transactions of the American Fisheries Society* **126**, 504-505.
- Guardans, R. and Gimeno, B. S. (1994) Long distance transportation of atmospheric pollutants and its effects on ecosystems. *Microbiology* **10**,145-158.
- Harrison R M, Laxen DPH, (1980). Metal in the environment I-chemistry. *Chem Br*, **16**, 316-320



- Hay RW, (1987). Βιο-ανόργανη χημεία, μετάφραση-επιμέλεια Ε.Μάνεση-Ζούπα, Δ Ράπτης, εκδόσεις Παπαζήση.
- Hesthagen T, Berger H., Larsen BM, Saksgard R, (1995). Monitoring fish stocks in relation to acidification in Norwegian watersheds. *Water Soil Pollution* **85**, 641-646.
- Hook SE, Fisher NS (2001): Sublethal effects of silver in zooplankton: importance of exposure pathways and implications for toxicity testing. *Environ Toxicol Chem*, **20**, 568-574
- Irato P, Sturniolo GC, Giacon G, Magro A, D'Inca R, Albergoni V, (1996). Effect of zinc supplementation on Metallothionein, Copper and zinc concentration in various tissues of Copper-Loaded rats. *Biological Trace Research*, **51**, 87-96
- Jobling, S. and Sumpter, J. P. (1993) Detergent components in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish: an in vitro study using rainbow trout hepatocytes. *Aquatic Toxicology* **27**, 361-372.
- Jobling, M. (1995) *Environmental Biology of Fishers*. Chapman & Hall, London.
- Jobling, S., Tyler, C. R., Nolan, M. and Sumpter, J. P. (1998) *The Identification of Oestrogenic Effects in Wild Fish*. UK Environment Agency, R&D Technical Report W119.
- Kagalou I, Kalfakakou V, Kallistratos G, (1990). Heavy metals in the Environ. **2**,489-492. *Int.Conf. on Environ.Contam.*,596-598.
- Kagalou I, Kalfakakou V, Kallistratos G, Katsougiannopoulos V, (1989).The effects of heavy metals on the BOD estimations of fresh water.*Int.Conf.Heavy Metals in the Environ*,**2**,489-492.
- Kalfakakou V, Akrida-Demertzi K, (1987).Transfer factors of heavy metals in aquatic organisms of different trophic levels. *Int Conf in Biopol.and Bioenviron*,218-227.
- Kalfakakou V, Kagalou I, Maipa V, Kallistratos G, (1991). Zinc ,copper and pH interaction consequences on Enterobacteria growth. *Int.Conf . on Heavy Metals In The Environ.*,208-221.
- Kalfakakou V, Kallistratos G, (1987). Accumulation of toxic metals in the trophic chain of Ioannina lake in N.W. Greece.*Int.Conf.on Heavy Metals in the Environ.***2**,137-139.
- Kavlock R. J., Daston, G. P., DeRosa, C., Fenner-Crisp, P., Gray, L. E., Kaattari, S., Lucier, G., Luster, M., Mac, M. J., Maczka, C., Miller, R., Moore, J., Rolland,



- R., Scott, G., Sheehan, D. M., Sinks, T. and Tilson, H. A. (1996) Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the US EPA-sponsored workshop. *Environmental Health and Perspective* **104** (Suppl. 4) 715-740.
- Khare N, Der R, Rss G, Fahim M (1978). Prostatic cellular changes after injection of cadmium and lead into rat prostate. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, **20**, 351-365
- Koeppel DE, (1977). The uptake, distribution, and effect of cadmium and lead in plants. *Sci Total Environ*, **7**, 197-206
- Kubecka, J. and Matena, J. (1991) Downstream regeneration of the fish populations of 3 polluted trout streams in southern Bohemia. *Ekologia CSFR* **10**, 389-404.
- Landahl, J. T., Johnson, L., Stein, J. E. Collier, T. K. and Varanasi, U. (1997) Marine pollution and fish population parameters: English sole (*Pleuronectes vetulus*) in Puget Sound, WA. *Transactions of the American Fisheries Society* **126**, 519-535.
- Landis WG, Yu Ming-Ho (Eds) (2004). *Environmental Toxicology, Impacts of Chemicals Upon Ecological Systems*. Third edition, Luis Publishers
- Lang, T., Damm, U. and Dethlefsen, V. (1995) Changes in the sex ratio of North Sea dab (*Limanda limanda*) in the period 1981-1995. ICES CM 1995/G: 25 Ref E. International Council for the Exploration of the Sea, Copenhagen, 11pp.
- Langston WJ, (1990). Toxic effects of metals and the incidence of metal pollution in marine ecosystems. In: *Heavy metal in the marine environment* (ed. R.W. Furness & P.S Rainbow), 102-119. CRC Press, Inc.
- Larsson, D. G. J., Hallman, H., Hyllner, S.-J. and Forlin I. (1999b). More male embryos near a pulp mill. In Poster presentation at the Sixth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Bergen, Norway, 4-9 July 1999.
- Laskey JW, Rehnberg GL, Laws SC, et al (1984). Reproductive effects of low acute doses of cadmium chloride in adult male rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, **73**, 250-255
- Liu XJ, Ni IH, Wang WX, (2002). Trophic transfer of heavy metals from fresh water zooplankton *Daphnia magna* to Zebra fish *Danio rerio*. *Water Res.*, **36**, **18**, 4563-4569.



- Lowe DM, (1988). Alteration in cellular structure of *Mytilus edulis* resulting from exposure to environmental contaminants under field and experimental condition. *Marine Ecology Progress Series*, **46**, 91-101.
- Luoma SN (1995): Predictions of metal toxicity in nature from bioassays: limitations and research needs. In: Tessier A, Turner DR (eds) *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*. Wiley, Chichester, pp 609-659
- Luoma SN, (1983). Bioavailability of trace metals to aquatic organisms - a review. *STOTEN*, **28**, 1-22.
- Lyons, J., Gonzalez Hernandez, G., SotoGalera, E. and GuzmanArroyo, M. (1998) Decline of freshwater fishes and fisheries in selected drainages of west-central Mexico. *Fisheries* **23**, 10-18.
- McKenna IM, Bare RM, Waalkes MP, (1996). Metallothionein gene expression in testicular interstitial cells and liver of rats treated with cadmium. *Toxicology*, **107**, 121-130
- McPherson R, Brown K, (2001). The bioaccumulation of cadmium by the Blue Swimmer Crab *Portunus pelagicus* L. *Sci Total Environ*, **279**, 223-23.
- Meurise-Genin, Reydamas – Detollenaere, MA, Donatti O, and Micha JC, (1985). Caracteristiques biologiques de la crevette d' eau douce *Atyaphyra desmaresti* Millet dans la Meuse. *Ann Limmol*, **21**, 127-140
- Μανέ Φ.(1996). Συμβολή στην μελέτη του λιμένα Ηρακλείου. Ανίχνευση βαρέων μετάλλων στο νερό και στο είδος *Mytilus galloprovincialis*. Παν/ιο Κρήτης.
- Nagahama, Y. (1994) Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *International Journal of Developmental Biology* **38**, 217-229.
- Ohta H., Nakakita M, Tanaka H, et al (1997). Induction of metallothionein-like cadmium-binding protein in the testis by oral cadmium administration in rats. *Ind, Health*, **35**, 96-103
- Paller M, Richert M and Dean JM (1996): Use of fish communities to assess environmental impacts in South Carolina coastal plain streams. *Transactions of the American Fisheries Society*, **125**, 633-644
- Paquin PR, et al., (2002). The Biotic Ligand Model: a historical overview. *Comp.Biochem.Physiol C:Toxicology and Pharmacology*, **133**, 1-2, 3-35
- Paquin PR, V, Zoltay, R.P, Winfield, et al, (2002). Extension of the biotic ligand model of acute toxicity to a physiologically based model of survival time of



rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to silver. *Comp. Cell. Biochem. Physiol. C*, **133**,305-343.

Παπαγιάννης Ι.2000.Βιοφυσιολογικές επιπτώσεις της χορήγησης ως πόσιμου νερού του προϊόντος εκροής Β'βάθμιου βιολογικού καθαρισμού σε επίμυες με έμφαση στις επιδράσεις των μετάλλων.Διδ.ΔιατριβήΠεριβαλλ.Φυσιολογία. Ιατρική Σχολή.Ιωάννινα.

Παπουτσόγλου ΣΕ: Ενδοκρινολογία ιχθύων. Γονάδες (ορμονικά συστήματα ιχθύων) κεφάλαιο 6, σελ.225-338, Εκδ. Α Σταμούλης, 1998.

Pelissero, C., Flouriot, G., Foucher, J. L., Bennetau, B., Dunogues, J., Gac, F, L. and Sumpter, J. P. (1993) Vitellogenin synthesis in cultured Hepatocytes: an in vitro test for the estrogenic potency of chemicals. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **44**, 263-272.

Phillips DJH, Rainbow PS (1993). *Biomonitoring of TRACE Aquatic Contaminants*. London: Elsevier Applied Science.

Purdom, C. E., Hardiman, P. A., Bye, V. J., Eno, N. C., Tyler, C. P., and Sumpter, J.P. (1994) Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chemical and Ecology* **8**, 275-285.

Rainbow PS, (1985).The biology of metals in the sea. *Intern J. Enviromental Studies*, **25**, pp. 195-211.

Rainbow PS, (1997). Trace metal accumulation in marine invetebrates: marine biology or marine chemistry? *J Mar Biol Ass UK*, **77**, 195-210

Rainbow PS, (1998). Phylogeny of trace metal accumulation in crustaceans. In Langston WJ & MJ Bebianno (Eds), *Metal Metabolism in Aquatic Enviroments*. Chapman and Hall, London: 285-319.

Rainbow PS, Amiard-Triquet C, Amiard JC, Smith BD, Langston WJ, (2000). Observations on the interaction of Zinc and cadmium uptake rates in crustaceans (amphipods and crabs) from coastal sites in UK and France differentially enriched with trace metals. *Aquat. Toxicol.*, **50**, 189-204.

Rainbow PS, White SL, (1989). Comparative strategies of heavy metal accumulation by crustaceans: Zinc, copper, and cadmium in a decapod,,an amphipod and a balance. *Hydrobiologia*, **174**, 245-262.

Redding, J.M. and Patino, R.(1993) Reproductive physiology. In *The Physiology of Fishes*, ed. D. H. Evans, pp. 503-534. CRC Press, Boca Raton, FL.



- Reinfelder JR, Fisher NS, Luoma SN, Nichols JW, Wang W-X (1998): Trace element trophic transfer in aquatic organisms: a critique of the kinetic model approach. *Sci Total Environ*, **219**, 117-135
- Roberts P, Hegi HR, Weber A, Krabenbuhl, (1976). Metals in municipal wastewater and their elimination in sewage treatment. *Prog. Wat. Tech.*, **8**,301-306.
- Roditi HA, Fisher NS, Sanudo-Wilhelmy SA (2000): Uptake of dissolved organic carbon and trace elements by zebra mussels. *Nature*, **407**, 78-80
- Rowe CL, (1998). Elevated standard metabolic rate in a freshwater shrimp (*Palaemonete paludosus*) exposed to trace element-rich coal combustion waste. *Comp Biochem Physiol . Part A*, **121**, 299-30
- Ruppert EE, Barnes RD, (Eds) (1996). *Invertebrate Zoology, Sixth Edition* Saunders College Publishing Chapter 14, Crustaceans, 678-690.
- Sanders M, (1984). Metals in crabs oyster and sediment in two South Carolina estuaries. *Mar Poll Bull C*, **15**, 159-161
- Sharpe, R.M. and Skakkeback, N. E. (1993) Are estrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive-tract? *Lancet* **341**, 1392-1395.
- Shen Y, Sangiah S, (1995). Na⁺, K⁽⁺⁾-ATPase, glutathionine and hydroxyl free radicals in cadmium chlorine-induced testicular toxicity in mice. *Arch Environ Contam Toxicol*, **29**, 174-179
- Song MK, Adham NF, (1985). Metabolic influences on intestinal zinc uptake in rats. *Bioche Arch*, **1**, 75-83
- Spicer JI, Weber RE, (1991). Respiratory impairment in crustaceans and molluscs due to exposure to heavy metals. *Copm. Biochem. Physiol*, **100C**,3, 339-342.
- Stumm W, Bilinski A, (1973). Trace metals in natural waters: difficulties in interpretation arising from our ignorance on their speciation. *Proceedings of 6th Int. Conf. In Adv. In Wat Pollut Res*, 39-49
- Sunda WG, and Huntsman S (1998): Processes regulating cellular metal accumulation and physiological effects: phytoplankton as medel systems. *Sci Total Environ*, **219**, 165-181
- Thompson ED, Olsson P-E, Mayer GD, Haux C, Walsh PJ, Burge E, and Hogstrand C, (2001).Effects of 17b-estradiol on levels and distribution of metallothionein and zinc in squirrelfish. *Am J Physiol Regulatory Intergrative Comp Physiol*. **280**, R527-R535



- Thorpe, J. E. (1994) Reproductive strategies in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture and Fisheries Management* **25**, 77-87.
- Tsanadis G, Sotiriades A, Vezyraki P, Zikopoulos K, Dalkalitstis N, Evangelou A, Stefos T (2003): FSH, TSH, T3 and T4 changes in relation to plasma copper and zinc alterations during D-penicillamine administration in female Wistar rats. *Nutrition Research*, **23**, 111-116
- Van Den Brink FWB, Van Der Velde G, (1986). Observations on the seasonal and yearly occurrence and the distribution of *Atyaephyra desmaresti* (Milliet, 1831) (Crustacea, Decapoda, Natantia) in the Netherlands. *Hydrobiological Bulletin*, **19**, 193-198.
- Van Rigg AM, Pories WJ, (1990). Zinc and tumor growth. In : Metal ions in biological systems, **10**, 208-241
- Viarengo A, Canesi L, (1991). Mussels as biological indicators of pollution. *Aquaculture*, **94**, 225-243.
- Viarengo A, Canesi L, Pertica M, Poli G, Moore M, Orunesu M., (1990). Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis*. *Lam. Comp. Biochem. Physiol.* **97 C(1)**, 37-42.
- Viarengo A, Pertica M, Mancinelli G, Orunesu M, Zanicchi G, Moore MN, Pipe RK, (1984). Possible role of lysosomes in the detoxication of copper in the digestive gland cells of metals -exposed mussels. *Marine Environmental Research*, **14**, 469-470.
- Waalkes MP, Rehm S (1994). Cadmium and prostate cancer. *J Toxicol Environ Health*, **43**, 251-269.
- Wang W-X, Fisher NS (1998): Accumulation of trace elements in a marine copepod. *Limnol Oceanogr*, **43**, 273-283.
- White, R., Jobling, S., Hoare, S. A., Sumpter, J. P. and Parker, M. G. (1994) Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology* **36**, 175-182.
- Wood CM, Adams WJ, Ankley GT, DiBona DR, Luoma SN, Playle RC, Stubblefield WA, Berman HL, Erickson RJ, Mattice JS, Schiekat CE (1997): Environmental toxicology of metals. In: Bergman H, Dorward-King E (eds). Reassessment of metals criteria for aquatic life protection: priorities for research and implementation. SETAC Press, Pensacola, pp31-56



- Yamashita, M. and Nagahama, Y. (1997) Regulatory mechanisms of gametogenesis and gamete maturation in fish. *SEIKAGAK* **69**, 1246-1260.
- Yan H, Carter CE, Xu C, et al (1997). Cadmium –induced apoptosis in urogenital organs of the male rat and its suppression by chelation. *J Toxocol Environ Health*, **52**, 149-168.
- Yang ZA, Li QH, Wang YF, Gui JF (1999): Comparative investigation on spindle behavior and MPF activity changes during oocyte maturation between gynogenetic and amphimictic crucian carp. *Cell Res*, **9**, 145-154
- Yu MH, (1991). Effects of lead, copper, zinc, and cadmium on growth and soluble sugars in germinating mung bean seeds. Abstracts of the 12th Annual Meeting of the society of Envirimental Toxicology and Chemistry. Seattle, WA, p.169
- Yu RQ, Wang WX, (2002). Kinetic uptake by bioavailable cadmium, selenium and zinc by *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.*, **21** (11), 2348-2355.
- Zhou L, Wang Y, Gui JF (2001). Molecular analysis as silver crucian carp (*carassius auratus gibelio* Block clones by SCAR markers). *Aquaculture*, **201**, 219-225.

