

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ**

**ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ**

**Επίδραση των γεννητόρων στα
χαρακτηριστικά των απογόνων του
γυνογενετικού είδους *Carassius gibelio***

ΣΤΑΥΡΟΥ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2009



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ**

**ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ**

Θέμα

**Επίδραση των γεννητόρων στα χαρακτηριστικά των
απογόνων του γυνογενετικού είδους *Carassius gibelio***

ΣΤΑΥΡΟΥ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΜΕΛΟΣ ΔΕΠ : ΙΩΑΝΝΗΣ ΛΕΟΝΑΡΔΟΣ

ΛΟΙΠΑ ΜΕΛΗ ΔΕΠ : ΙΦΙΓΕΝΕΙΑ ΚΑΓΚΑΛΟΥ

ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ ΟΙΚΟΝΟΜΟΥ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2009



Πρόλογος

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος Αγροχημεία και Βιολογικές Καλλιέργειες ως διπλωματική διατριβή. Το θέμα ανατέθηκε και πραγματοποιήθηκε κάτω από την καθοδήγηση του Επίκουρου καθηγητή κ. Ιωάννη Λεονάρδο, τον οποίο και ευχαριστώ θερμά αφενός που μου εμπιστεύτηκε τη μελέτη του θέματος και αφετέρου για την καθοδήγησή του σε όλη την διάρκεια της πειραματικής και συγγραφικής δουλειάς.

Παράλληλα θα ήθελα να ευχαριστήσω ορισμένους ανθρώπους που η συμβολή τους ήταν καθοριστική για να φτάσει η παρούσα μελέτη στην τελική της μορφή.

Τον Ρωμάν Λιάσκο, επιστημονικό συνεργάτη στο Εργαστήριο Ζωολογίας και Υδατοκαλλιεργειών, για την επίβλεψη του πειράματος, τις χρήσιμες υποδείξεις του και την βοήθειά του στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Την Δρ. Αγγελική Τατσιοπούλου Γεωπόνο, για τις συμβουλές της και την παρότρυνσή της.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συναδέλφους μου στο Εργαστήριο Ζωολογίας για την συνεργασία και το ευχάριστο και φιλικό κλίμα που υπήρχε.



Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή	1
2. Περιγραφή του πεδίου	4
2.1 Χαρακτηριστικά της λίμνης Παμβώτιδας	4
2.2 Ζώα της Λίμνης	5
3. Βιολογία των χρησιμοποιούμενων ειδών	7
3.1 Βιολογία του <i>Carassius gibelio</i>	7
3.2 Το <i>Carassius gibelio</i> στην Ελλάδα	9
3.3 Βιολογία συγγενικών αρσενικών ατόμων	11
3.3.1 Βιολογία του <i>Carassius auratus</i>	12
3.3.2 Βιολογία του <i>Cyprinus carpio</i>	13
3.3.3 Βιολογία του <i>Rutilus pannosi</i>	15
4. Γυνογένεση	17
4.1 Φυσική γυνογένεση	17
4.2 Τεχνητή γυνογένεση	19
4.3 Αλλογυνογένεση	22
5. Αναπαραγωγική στρατηγική του <i>Carassius gibelio</i>	23
5.1 Γυνογενετικό είδος	23
6. Εξέλιξη του <i>Carassius gibelio</i>	25
7. Διάμετρος αβγών	27
7.1 Παράγοντες που επιδρούν στην διάμετρο των αβγών σε άτομα του ίδιου είδους	28
8. Μέγεθος λαρβών	31
9. Δυσμορφίες λαρβών	33



10. Υλικά και Μέθοδοι	36
10.1 Αλίσευση γεννητόρων	36
10.2 Γεννήτορες στο εργαστήριο	37
10.3 Τεχνητή γονιμοποίηση – Επώαση	38
10.3.1 Τεχνητή γονιμοποίηση	38
10.3.2 Ακτινοβολία σπέρματος με υπεριώδη ακτινοβολία	38
10.3.3 Επώαση	39
10.4 Μέτρηση ηλικίας γεννητόρων	42
10.5 Μέτρηση σταθερού μήκους (Standard Length - Stl)	42
10.6 Μέτρηση διαμέτρου αβγών	43
10.7 Έλεγχος του ποσοστού γονιμότητας	44
10.8 Μέτρηση εμβαδού τμημάτων του σώματος των λαρβών	45
10.9 Μέτρηση αριθμού λαρβών που εκκολάπτονταν ανά ώρα	46
10.10 Έλεγχος παραμορφώσεων στις λάρβες πρώτης ημέρας	46
11. Αποτελέσματα	49
11.1 Μέτρηση ηλικίας γεννητόρων	49
11.1.α. Θηλυκά <i>Carassius gibelio</i>	49
11.1.β. Αρσενικά <i>Carassius gibelio</i>	49
11.1.γ. Αρσενικά <i>Carassius auratus</i>	50
11.2 Μέτρηση σταθερού μήκους (StL)	51
11.3 Διάμετρος αβγών	51
11.4 Ποσοστό γονιμότητας	53
11.5 Ρυθμός εκκόλαψης	55
11.6 Δυσμορφίες λαρβών	57
11.7 Εμβαδό σώματος	62
11.8 Χρήση ακτινοβολίας UV	64
11.9 Γοναδοσωματικός δείκτης (GSI)	64
12. Συζήτηση	66
Περίληψη	71
Abstract	73
Βιβλιογραφία	75



1. Εισαγωγή

Τα κυπρινοειδή είναι μια οικογένεια ψαριών από τις πιο διαδομένες και γνωστές στα ψάρια των γλυκών νερών. Η σημασία τους είναι μεγάλη τόσο ως αλιευτικός στόχος όσο και ως καλλιεργούμενο είδος στις ιχθυοκαλλιέργειες.

Σήμερα έχουν εισαχθεί σε περισσότερες από 81 χώρες. Στην χώρα μας μάλλον προέρχονται από τον Ευρωπαϊκό πρόγονο της Κασπίας θάλασσας και κανείς δεν μπορεί με σιγουριά να βεβαιώσει ότι η "άγρια" μορφή στον Ελληνικό χώρο προέκυψε από φυσική διασπορά ή εισαγωγή του είδους ακόμη από τους αρχαίους χρόνους. Η προσαρμογή τους ήταν επιτυχημένη σε όλες σχεδόν τις λίμνες και συμβάλουν ουσιαστικά στη "σταθεροποίηση" των οικοσυστημάτων και στη διατροφή του πληθυσμού (Πάσχος, 2002).

Ένα είδος που ανήκει στην οικογένεια των κυπρινοειδών είναι το *Carassius gibelio* (Bloch, 1782). Η κοινή του ονομασία στην Ελλάδα είναι πεταλούδα ή αγριοκυπρίνος. Σαν είδος έχει γίνει αντικείμενο μελέτης από πολλούς επιστήμονες εστιάζοντας κυρίως στην φυλλογενητική εξέλιξη του είδους και στον αριθμό χρωμοσωμάτων του.

Στην Ελλάδα με την πεταλούδα ασχολείται τα τελευταία χρόνια το εργαστήριο ζωολογίας του τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών στο πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, είτε με διπλωματικές εργασίες φοιτητών, είτε ως μέρος ερευνητικών προγραμμάτων.

Σαν είδος παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον για μελέτη αφού συγκεντρώνει κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά.

Γενικά έχει την δυνατότητα προσαρμογής σε ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών παραμέτρων και μια εξαιρετική αντοχή σε χαμηλές συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου. Αυτό σε συνδυασμό με την γρήγορη αύξηση του πληθυσμού συμβάλουν ώστε να γίνει γρήγορα κυρίαρχο είδος σε ένα οικοσύστημα (Πάσχος *et al.*, 2001). Αν τελικά γίνει κυρίαρχο είδος κάποιες έρευνες υποστηρίζουν ότι τότε επηρεάζει το οικοσύστημα αρνητικά, προκαλώντας σημαντική αύξηση της θολερότητας των νερών και δημιουργώντας επιζήμια επίδραση στα ενδημικά είδη που ζουν εκεί (Crivelli, 1995).

Αυτό όμως που κάνει το *C. gibelio* ξεχωριστό είναι ο τρόπος αναπαραγωγής του. Πρόκειται για ένα ψάρι που το μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού του



αποτελείται από θηλυκά άτομα. Είναι λοιπόν ένα γυνογενετικό ψάρι όπου τα θηλυκά άτομα για την γονιμοποίησή τους χρησιμοποιούν σπέρμα άλλων συγγενών ειδών ώστε να φτάσει στο στάδιο της εμβρυακής ανάπτυξης. Αυτός ο «αναπαραγωγικός παρασιτισμός» που παρουσιάζει οδηγεί σε μια σειρά ιδιαίτερα επιτυχημένων διασταυρώσεων με διαφορετικά χαρακτηριστικά των απογόνων. Όταν το σπέρμα συμβάλλει στον φαινότυπο των απογόνων τότε έχουμε το φαινόμενο της αλλογυνογένεσης (Jiang *et al.*, 1983).

Πρόσφατα όμως διαπιστώθηκε και η ύπαρξη αρσενικών ατόμων. Έτσι το συναντάμε και ως αμφίφυλο πληθυσμό με περισσότερα θηλυκά, με μια αναλογία, θηλυκά : αρσενικά 80:20 στους φυσικούς βιοτόπους του (Jiang *et al.*, 1983).

Η παρούσα εργασία έγινε στο εργαστήριο της Ζωολογίας του τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών ως διπλωματική εργασία. Βασικός στόχος είναι η διερεύνηση και μελέτη εκείνων των χαρακτηριστικών των γεννητόρων που οδηγούν στους καλύτερους δυνατούς απογόνους, γονιμοποιώντας τεχνητά, θηλυκά άτομα πεταλούδας *Carassius gibelio* με αρσενικά άτομα από τέσσερα διαφορετικά συγγενικά είδη. Πρόκειται για ένα αντικείμενο αρκετά δύσκολο αφού είναι πολλοί οι παράγοντες που παίζουν ρόλο. Η μητρική και η πατρική επίδραση δεν είναι άμεσα εμφανής.

Μετά την λήψη των γεννητικών τους προϊόντων (αβγά και σπέρμα) και την τεχνητή τους γονιμοποίηση εξετάστηκαν οι παρακάτω παράμετροι:

- Η διάμετρος των αβγών και η σχέση τους με τους θηλυκούς γεννήτορες.
- Το ποσοστό επιβίωσης των εμβρύων κατά την εκκόλαψη.
- Το ποσοστό γονιμοποίησης.
- Ο ρυθμός εκκόλαψης των γονιμοποιημένων αβγών.
- Το μέγεθος των παραγόμενων λαβρών της πρώτης μέρας.
- Το ποσοστό των λαβρών με δυσμορφίες στο σώμα τους και το είδος δυσμορφίας που παρουσίαζαν.

Οι γεννήτορες συλλέχθηκαν από την λίμνη Παμβώτιδα των Ιωαννίνων με την μέθοδο της ηλεκτραλιείας την άνοιξη του 2007. Στη λίμνη Παμβώτιδα έχουν καταγραφεί θηλυκά και αρσενικά άτομα του *Carassius gibelio* τα οποία αναπαράγονται γυνογενετικά και φυλετικά. Από κάθε άτομο πραγματοποιήθηκε λήψη φωτογραφιών για υπολογισμό του μήκους τους και συλλογή λεπιών για τον προσδιορισμό της ηλικίας τους. Τα αβγά από τα θηλυκά άτομα και ποσοστό από τις

παραγόμενες λάρβες φωτογραφήθηκαν για περαιτέρω επεξεργασία των φωτογραφιών μέσω των προγραμμάτων Photoshop και ImagePro. Κατά την διάρκεια της επώασης των αυγών γινόταν λήψη φωτογραφιών για υπολογισμό του ποσοστού γονιμότητας, ενώ κατά την διάρκεια της εκκόλαψης μετρήθηκε ο ρυθμός εκκόλαψης. Τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (ver. 14.0).

2. Περιγραφή του πεδίου

2.1 Χαρακτηριστικά της λίμνης Παμβώτιδας

Η λίμνη Παμβώτιδα (Εικόνα 1) βρίσκεται στο βορειοδυτικό μέρος της Ελλάδας (39 40'N, 20 53'E) και είναι μια ρηχή, αστική λίμνη. Το μέσο βάθος της είναι 4,3 μ., ενώ έχει μέγιστο βάθος 7,5 μ. Η έκτασή της είναι 22,8 τετραγωνικά χιλιόμετρα και βρίσκεται σε υψόμετρο 470μ. από την επιφάνεια της θάλασσας.



Εικόνα 1 - Λίμνη Παμβώτιδα (Πηγή Δ1)

Ανήκει στις ευτροφικές φυσικές λίμνες με βλάστηση τύπου Magnopotamion ή Hydrocharition. Στην υδάτινη μάζα της λίμνης απαντάται επιπλέουσα βλάστηση υδροχαρών φυτών, όπως *Lemna* sp., *Potamogeton* sp., *Nymphaea alba* (νούφαρα), *Iris pseudacorus* (ίριδες) κ.α.

Η λίμνη Παμβώτιδα έχει υποστεί και εξακολουθεί να υφίσταται πλήθος παρεμβάσεων που υποβάθμισαν την οικολογική της αξία. Οι κυριότεροι παράγοντες που οδήγησαν σε σοβαρή διαταραχή του οικοσυστήματος της λίμνης και σε απώλεια της ισορροπίας του είναι:

1. η αποξήρανσης της λίμνης Λαψίστας,
2. η οργανική ρύπανση της Παμβώτιδας από την εισροή αστικών λυμάτων και γεωργοκτηνοτροφικών αποβλήτων,
3. η αποκοπή των πηγών του Μιτσικελίου προς τη λίμνη μέσω της δημιουργίας τεχνητού αναχώματος,
4. η κατασκευή υδροφράγματος για τη χρήση του νερού της λίμνης για άρδευση της γεωργικής γης,
5. η αύξηση των απαιτήσεων για ύδρευση,
6. οι οικιστικές πιέσεις εις βάρος της λίμνης και των παραλίμνιων εκτάσεών της, και
7. η εισαγωγή ξενικών ειδών ψαριών.

Ως συνέπεια των άνωθι αναφερθέντων παραγόντων η λίμνη Παμβώτιδα σήμερα, έχει συρρικνωθεί σε μέγεθος, έχει γίνει πιο αβαθής και διανύει μακρά περίοδο ευτροφισμού, ή υπερτροφισμού κατά την κρίσιμη θερινή περίοδο. Η υποβάθμιση της λίμνης έχει σοβαρές επιπτώσεις τόσο στη χλωρίδα, όσο και στην πανίδα του οικοσυστήματος αλλά και στις σχετικές οικονομικές δραστηριότητες (π.χ. μείωση αλιευτικής παραγωγής). Ένα από τα πιο ανεπιθύμητα αποτελέσματα του ευτροφισμού που έχει παρατηρηθεί τα τελευταία χρόνια στο οικοσύστημα της λίμνης, είναι η αλλαγή της σύνθεσης των φυκών και των ψαριών. Έχει παρατηρηθεί ότι τα διάτομα και τα χλωροφύκη αντικαθίστανται από τα κυανοφύκη, τα πλαγκτονικά καρκινοειδή από τα τροχόζωα, τα μακρόφυτα από τα πλαγκτονικά φύκη και οι προνύμφες των χειρονόμων από τους ολιγόχαιτους (Δ1).

2.2 Ζώα της Λίμνης

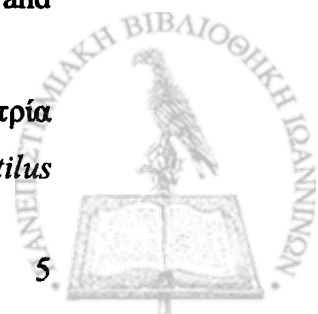
Χάρη στα μορφολογικά και κλιματολογικά της χαρακτηριστικά η λίμνη Παμβώτιδα είναι ένα κατάλληλο ενδιαίτημα για ποικιλία ειδών, ιδιαίτερα για ψάρια τόσο οικολογικής όσο και εμπορικής αξίας.

Εκτός από τα αυτόχθονα είδη, από το 1920 έχει γίνει σταδιακός εμπλουτισμός της λίμνης με νέα ετερόχθονα είδη όπως ο κυπρίνος, το γλανάδι, ο κέφαλος και άλλα. Πιο αναλυτικά τα αυτόχθονα και ετερόχθονα είδη της λίμνης όπως έχουν καταγραφεί από τον Economidis *et al.*, (2000) είναι:

Τα αυτόχθονα είδη της λίμνης είναι τα εξής: *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758), *Leuciscus cephalus* (Linnaeus, 1758), *Tinca tinca* (Linnaeus, 1758), *Pseudophoxinus stymphalicus* (Valenciennes, 1844), *Phoxinellus epiruticus* (Steindachner, 1895), *Economidichthys pygmaeus* (Holly, 1929), *Gobitis hellenica* (Economidis, 1991), *Rutilus pannosi* (Stephanidis, 1939) και *Barbus albanicus* (Steindachner, 1870).

Τα αλλόχθονα είδη είναι τα εξής : *Carassius gibelio* (Bloch, 1783), *Carassius auratus* (Bloch, 1783), *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758), *Silurus aristotelis* (Agassiz, 1856), *Silurus glanis* (Linnaeus, 1758), *Gambusia affinis* (Baird and Girard, 1854), *Hypophthalmichthys molitrix* (Val, 1844), *Ctenopharyngodon idella* (Cuvier and Valenciennes, 1844) και *Aristichthys nobilis* (Richardson, 1845).

Από το σύνολο των ειδών που υπάρχουν στο οικοσύστημα της λίμνης τρία είδη ψαριών, προστατεύονται από την Οδηγία 92/43/EEC: *Barbus albanicus*, *Rutilus*

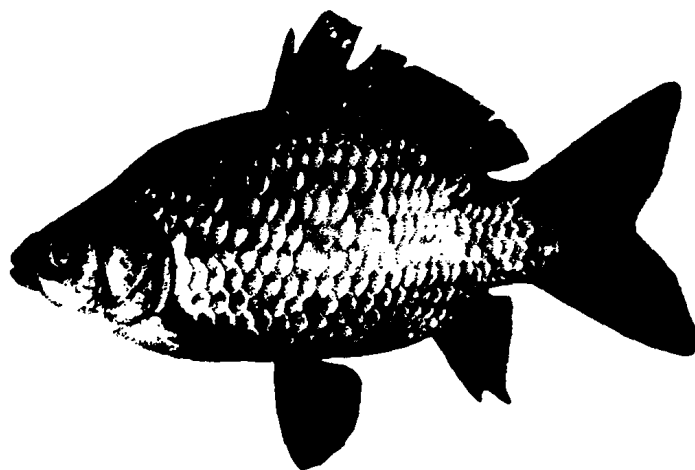


pannosi και *Phoxinellus epiroticus*. Από τα τρία αυτά προστατευόμενα είδη, τα τελευταία χρόνια παρατηρήθηκε μείωση του πληθυσμού του *Phoxinellus epiroticus*. Ως πιθανές αιτίες αυτής της μείωσης μπορούν να θεωρηθούν οι χαμηλοί δείκτες της ποιότητας του νερού της λίμνης, η υποβάθμιση των φυσικών πεδίων αναπαραγωγής του και ανταγωνισμός του με άλλα είδη ψαριών.

3. Βιολογία των χρησιμοποιούμενων ειδών

3.1 Βιολογία του *Carassius gibelio*

Το *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) είναι γνωστό είδος στην Ελλάδα με το κοινό όνομα πεταλούδα ή αγριοκυπρίνος και ανήκει στην οικογένεια των Cyprinidae (Εικόνα 2). Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται με το κοινό όνομα prussian carp, silver crucian carp και gibel. Πρόκειται για είδος ψαριού που συναντάται στα περισσότερα υδάτινα οικοσυστήματα και μπορεί να ζήσει τόσο σε στάσιμα νερά όσο και σε νερά με ομαλή ροή όπου υπάρχει πυκνή υδρόβια βλάστηση και μαλακός λασπώδης πυθμένας.



Εικόνα 2 – Θηλυκή πεταλούδα του είδους *Carassius gibelio*

Η συστηματική κατάταξη του *Carassius gibelio* (Bloch, 1782), είναι η εξής:

Βασίλειο:	Animalia
Φύλο :	Chordata
Υποφύλο:	Vertebrata
Υπερκλάση:	Gnathostomata
Κλάση:	Osteichthyes
Υποκλάση:	Actinopterygii
Υπέρταξη:	Teleostei
Τάξη:	Cypriniformes
Οικογένεια:	Cyprinidae
Γένος:	Carassius
Είδος:	<i>Carassius gibelio</i> (Bloch, 1782)

Όσον αφορά την καταγωγή του, το είδος *Carassius gibelio* θεωρείται ότι προέρχεται από την Ανατολική Ασία και ότι είναι αυτόχθον είδος του ποταμού Danube, αν και κάτι τέτοιο δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί. Πιθανότερη αιτία εξάπλωσής του στην Ευρώπη θεωρήθηκε η μετανάστευσή του από την Ασία μέσω των λεκανών των ποταμών μεταξύ Ασίας και Ευρώπης, ενώ σε αυτό επίσης συνετέλεσε και η μεγάλη αντοχή του σε δύσκολες περιβαλλοντικές συνθήκες (Toth *et al.*, 2005). Σύμφωνα με τους Zou *et al.*, (2001), το *Carassius gibelio* είναι ένα υποείδος του χρυσόψαρου *Carassius auratus* και πληθυσμοί του συναντώνται κυρίως στην Ρωσία, την Ευρώπη, την Κορέα και στην βορειανατολική Κίνα.

Είναι είδος που μπορεί να επιβιώσει σε νερά με πολύ χαμηλά επίπεδα συγκέντρωσης διαλυμένου οξυγόνου εξαιτίας των πολύ υψηλών αποθεμάτων γλυκογόνου στο συκώτι του σε σχέση με τα υπόλοιπα σπονδυλωτά. Η μεγάλη προσαρμοστική του ικανότητα σε συνθήκες που δύσκολα ζουν και αναπαράγονται άλλα είδη ψαριών, είχε ως αποτέλεσμα την εξάπλωση του σε πολλές λίμνες. Έτσι παρουσιάζει μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση από την Ευρώπη (εισήχθη από την Ασία τον 17^ο αιώνα), μέχρι τη Σιβηρία (Tsoumani *et al.*, 2006, Kottelat, 1997).

Είναι είδος χωρίς μεγάλη εμπορική αξία. Το κρέας του δεν είναι πολύ νόστιμο και έχει άφθονα αγκάθια. Δεν αποτελεί αλιευτικό στόχο και θεωρείται από τους αλιείς «ανεπιθύμητο» είδος. Γενικότερα, είναι γνωστό σαν ένα από τα πιο καταστροφικά είδη ψαριών για τις ενδημικές κοινωνίες ψαριών (Crivelli, 1995) αφού εύκολα μετατρέπεται σε ένα από τα κυρίαρχα είδη σε στάσιμα και μικρής ροής νερά, ενώ μπορεί επίσης να μεταβάλλει την ροή των θρεπτικών ουσιών σε όλο το οικοσύστημα (Tsoumani *et al.*, 2006, Paulovits *et al.*, 1998). Αντιθέτως στην Κίνα, τα τελευταία 30 χρόνια, αποτελεί ένα από τα βασικά καλλιεργήσιμα είδη αφού οι απόγονοι της πεταλούδας και του αρσενικού κυπρίνου έχουν 30-40% μεγαλύτερους ρυθμούς αύξησης σε σχέση με τους γονείς τους και 2-3 φορές μεγαλύτερη αύξηση από άλλα είδη κυπρινοειδών (Zou, 2001). Η παραγωγή πεταλούδας στην Κίνα φτάνει τα 2 τρισεκατομμύρια κιλά το χρόνο (Geng, *et al.*, 2005).

Το μέσο μέγεθος της πεταλούδας είναι 25 εκ. με μέγιστο μήκος τα 45 εκ. και μέγιστο βάρος 3 κιλά. Το σώμα του είναι πλευρικά πεπιεσμένο και χοντρό με στρογγυλή κοιλιακή περιοχή, μικρό και κοντό κεφάλι, κοντό ρύγχος, τελικό στόμα και καμπύλο σχήμα, με την κάτω σιαγόνα με κλίση ελαφρός προς τα πάνω (Δ3, Παπαναστασίου, 1976).

Η αναπαραγωγική του δραστηριότητα ξεκινά το Μάρτιο και διαρκεί μέχρι τα τέλη Απριλίου. Κατά την περίοδο της αναπαραγωγής τα αρσενικά άτομα εμφανίζουν φυμάτια στο βραγχιακό επικάλυμμα που απουσιάζουν από το θηλυκό. Είναι ωτόκο είδος το οποίο δεν προστατεύει τα αυγά του, αλλά τα διασκορπίζει σε ανοιχτό νερό.

Συχνά συγχέεται με τον κυπρίνο, διαφέρει όμως από αυτόν κυρίως σε δύο μορφολογικά χαρακτηριστικά. Πρώτον ως προς τα λέπια (σχήμα, αριθμός, κάλυψη σώματος) και δεύτερον από την απουσία μυστάκων τα οποία φέρει ο κυπρίνος (Παπαναστασίου, 1976).

Γενετική ανάλυση σε γυνογενετικούς πληθυσμούς στην Κίνα (Zhou *et al.*, 2000), στην Αγγλία, στην Ιταλία και στην Γερμανία απέδειξε την ύπαρξη διαφορετικών κλώνων ανάμεσα στα άτομα του κάθε πληθυσμού. Έχουν βρεθεί περισσότεροι από έξι κλώνοι, στη φύση αλλά και τεχνητοί σε εργαστήρια (Zhou *et al.*, 2000). Τα άτομα των κλώνων αυτών παρουσιάζουν διαφορές όσον αφορά στη μορφολογία, στο ρυθμό αύξησης, στον χρόνο αναπαραγωγής, στον καρυότυπο και σε άλλα βιολογικά χαρακτηριστικά τους (Zhou *et al.*, 2000). Στην Κίνα ο Ζου (2001) αναφέρει την ύπαρξη στην φύση τεσσάρων γενετικά διαφορετικών κλώνων που τους ονομάζει κλώνους A, B, C και D. Ένα παράδειγμα βασικής διαφοράς μεταξύ των κλώνων αυτών είναι ότι ο κλώνος D έχει αριθμό χρωμοσωμάτων 162 ενώ στους υπόλοιπους 3 κλώνους είναι 156. Επίσης ο ρυθμός αύξησης του κλώνου D είναι μεγαλύτερος από τους άλλους κλώνους.

3.2 Το *Carassius gibelio* στην Ελλάδα

Στην Ελλάδα το *C. gibelio* έχει μελετηθεί ελάχιστα και υπάρχουν λίγες επιστημονικές αναφορές για το συγκεκριμένο είδος. Στα περισσότερα υδάτινα οικοσυστήματα της Ελλάδας εισήχθη στο τέλος της δεκαετίας του 1970, κυρίως με εμπλουτισμούς, έχει εξαπλωθεί και βρίσκεται σε αφθονία στις περισσότερες φυσικές και τεχνητές λίμνες καθώς και στα ποτάμια της Κεντρικής, Δυτικής και Νότιας Ελλάδας (Papagiannis *et al.*, 2004, Paschos, 2001). Σύμφωνα με τον Οικονομίδη (1991), πληθυσμοί του *C. gibelio* έχουν καταμετρηθεί στα εξής υδάτινα οικοσυστήματα της Ελλάδας:

- Ποταμοί: Αχελώος (Νομός Αιτωλοακαρνανίας), Αλφειός (Πύργος), Αξιός (Θεσσαλονίκη και Νομός Κιλκίς), Ερυθροπόταμος (Διδυμότειχο), Καλαμάς (Ιωάννινα), Κηφισός (Λιβαδειά), Νέστος (Καβάλα), Στρυμόνας (Καβάλα)
- Λίμνες: Τριχωνίδα- Λυσιμαχία (Νομός Αιτωλοακαρνανίας), Παμβώτιδα (Νομός Ιωαννίνων), Μικρή και Μεγάλη Πρέσπα (Νομός Φλώρινας), Καστοριά (Νομός Καστοριάς), Βεγορίτιδα (Νομός Φλώρινας), Χειμαδίτιδα (Νομός Φλώρινας), Δοϊράνη (Νομός Κιλκίς), Κερκίνη (Νομός Σερρών), Βόλβη – Κορώνεια (Νομός Θεσσαλονίκης), Οζερού (Νομός Αιτωλοακαρνανίας), Βιστωνίδα (Νομός Ξάνθης), (Οικονομίδης, 1991).

Στις περισσότερες λίμνες, οι πληθυσμοί του αποτελούνται αποκλειστικά από θηλυκά άτομα με εξαίρεση στις λίμνες Παμβώτιδα, Δοϊράνη και Κορώνεια όπου έχουν βρεθεί ότι υπάρχουν και αρσενικά άτομα (Tsoumani *et al.*, 2006). Πρόσφατες μελέτες στον γυνογενετικό πληθυσμό των πεταλούδων της λίμνης Παμβώτιδας έδειξαν την ύπαρξη τριών κλώνων του είδους (Λιούσια, 2005).

Σήμερα το *C. gibelio* ενοχοποιείται για αρκετά προβλήματα που παρουσιάζονται στα υδάτινα οικοσυστήματα, καθώς οι επιτυχημένες βιολογικές στρατηγικές που εμφανίζει, η αντοχή του σε χαμηλές συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου, ο «αναπαραγωγικός παρασιτισμός» που παρουσιάζει, η έντονη αναπαραγωγική του δραστηριότητα και η χαμηλή εμπορική του αξία συντελούν στην δημιουργία μεγάλων πληθυσμών σε αυτά (Πάσχος *et al.*, 2001). Στα ελληνικά νερά το *C. gibelio* είναι ύποπτο σαν δυνατός ανταγωνιστής για απειλούμενα είδη όπως το *Phoxinellus epiroticus*, *Phoxinellus pleurobipunctatus*, *Pseudiphoxinus boeticus*, *Pseudiphoxinus stymphalicus*, *Alosa caspia vistonica*, *Carassius carassius*, *Barbus prespensis*, *Economidichthys pygmaeus*.

Σύμφωνα με τον Crivelli (1995), η πεταλούδα είναι γνωστή σαν ένα από τα πιο καταστροφικά είδη ψαριών για τις ιθαγενείς κοινωνίες ψαριών. Παρατήρησε τον πληθυσμό του ψαριού όταν εισήχθη στην λίμνη Μικρή Πρέσπα και συμπέρανε ότι η εισαγωγή της πεταλούδας στην λίμνη επηρέασε το οικοσύστημα της, προκαλώντας σημαντική αύξηση της θολερότητας των νερών. Στη Μικρή Πρέσπα το *C. gibelio* εισήχθη στα τέλη της δεκαετίας του 1970 με σκοπό τη βελτίωση της αλιείας της περιοχής. Το 1984 ο αριθμός των ψαριών αυτών στην λίμνη αυξήθηκε πάρα πολύ, αποτελώντας το 3,1% των συνολικά αλιευόμενων ψαριών. Αυτό το ποσοστό αυξήθηκε το 1990 στο 32,6%. Όμως ταυτόχρονα παρατηρήθηκε μια σημαντική αύξηση της θολερότητας των νερών. Ο Crivelli (1995) λοιπόν, θεωρεί ότι η αύξηση



της θολερότητας της λίμνης μπορεί να έχει επιζήμια επίδραση στα ενδημικά είδη που ζουν στην λίμνη. Επίσης θεωρεί ότι μπορεί να επηρεάσει την χρήση της λίμνης από τα πουλιά που τρέφονται με ψάρια, τα οποία είναι πάρα πολλά σε αυτή την περιοχή (Crivelli, 1995).

Στη λίμνη Παμβώτιδα, η πεταλούδα εμφανίστηκε περίπου το 1980 μετά από συνεχείς εμπλουτισμούς. Από τότε ο πληθυσμός της αυξήθηκε σημαντικά και πλέον είναι από τα κυρίαρχα είδη του οικοσυστήματος, ενώ παράλληλα πληθυσμοί άλλων ειδών, όπως του είδους *Cyprinus carpio* και του ενδημικού είδους *Phoxinellus epiruticus* μειώθηκαν σημαντικά (Paschos *et al.*, 2005). Σήμερα το είδος *C. gibelio* έχει τη μεγαλύτερη παραγωγή στη λίμνη με επικράτηση των θηλυκών ατόμων του είδους. Το 2004 διαπιστώθηκε η παρουσία μικρού σχετικά ποσοστού (2-3%) αρσενικών ατόμων (Paschos *et al.*, 2004), γεγονός που συχνά οφείλεται σε ύπαρξη μικτών διπλο- και τριπλοειδών πληθυσμών (Fan and Shen, 1990). Τα τελευταία χρόνια ο αριθμός των αρσενικών ατόμων στη λίμνη φαίνεται ότι αυξάνεται. Στον Πίνακα 1 που ακολουθεί φαίνεται ο αριθμός των αρσενικών ατόμων που βρέθηκε σε τυχαίο δείγμα που αλιεύθηκε από την λίμνη για τα έτη 2005, 2006 και 2007.

Πίνακας 1 – Αριθμός αρσενικών ατόμων *C. gibelio* που αλιεύθηκαν στη λίμνη Παμβώτιδα τα έτη 2005 έως 2007 (μη δημοσιευμένα στοιχεία)

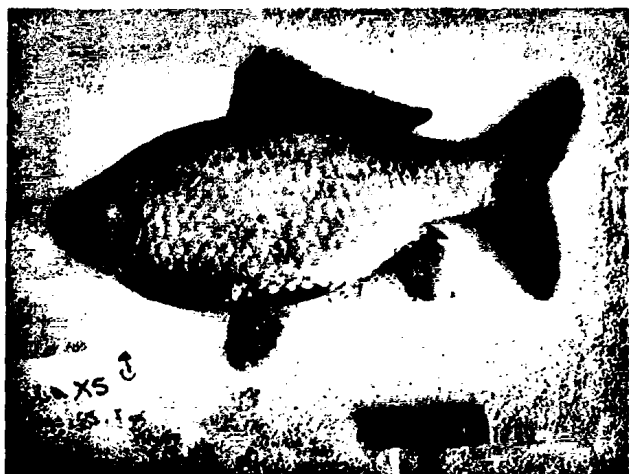
Έτος	Αριθμός αρσενικών ατόμων <i>C. gibelio</i>
2005	3
2006	10
2007	18

3.3 Βιολογία συγγενικών αρσενικών ατόμων

Τα αυγά του είδους *Carassius gibelio* γονιμοποιούνται από μια μεγάλη ποικιλία αρσενικών ατόμων, ειδών που ανήκουν και σε οικογένειες πέρα από την οικογένεια των Cyprinidae, αντίθετα με τα περισσότερα γυνογενετικά ψάρια που αναπαράγονται μόνο με πολύ συγγενικά είδη (Chen *et al.*, 1994, Tcherfas, 1968).

3.3.1 Βιολογία του *Carassius auratus*

Το *Carassius auratus* είναι γνωστό στην Ελλάδα με το κοινό όνομα χρυσόψαρο και ανήκει στην οικογένεια των Cyprinidae (Εικόνα 3). Είναι ένα από τα πιο γνωστά διακοσμητικά ψάρια και έχει κρατηθεί σε συνθήκες αιχμαλωσίας περισσότερο από κάθε άλλο ψάρι. Αυτό το οφείλει στο μικρό του μέγεθος, στους ωραίους χρωματισμούς του και στη μικρή εμπορική του αξία.



Εικόνα 3 – Άρσενικό χρυσόψαρο του είδους *Carassius auratus*

Η συστηματική κατάταξη του *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) είναι η εξής:

Βασίλειο:	Animalia
Φύλο :	Chordata
Υποφύλο:	Vertebrata
Υπερκλάση:	Gnathostomata
Κλάση:	Osteichthyes
Υποκλάση:	Actinopterygii
Υπέρταξη:	Teleostei
Τάξη:	Cypriniformes
Οικογένεια:	Cyprinidae
Γένος:	Carassius
Είδος:	<i>Carassius auratus</i> (Linnaeus, 1758)

Το *C. auratus* θεωρείται ότι είναι αυτόχθονο είδος της ανατολικής και κεντρικής Ασίας συμπεριλαμβανομένου της Κίνας, της Κορέας, της Ρωσίας και πιθανότατα της Ιαπωνίας και της Ταϊβάν. Ίσως να είναι γηγενή και σε κάποιες

περιοχές της ανατολικής Ευρώπης. Ωστόσο η ευρεία μεταφορά του μέσα στους αιώνες έχουν κάνει τη φυσική του καταγωγή αδιευκρίνιστη.

Πρόκειται για ένα ψάρι με βαθύ σώμα και στρογγυλεμένη διατομή. Το κεφάλι του και τα μάτια του είναι μεγάλα ενώ το στόμα του είναι μικρό. Η ουρά έχει πολύ έντονη διχάλα. Το χρώμα του κυμαίνεται από πρασινοχάλκινο έως βαθιά χρυσό. Ζει σε θερμά, στάσιμα νερά ποταμών και λιμνών με πλούσια υδρόβια βλάστηση. Είναι ανθεκτικό σε διακυμάνσεις της αλατότητας, της θερμοκρασίας και μπορεί να αντέξει πολύ χαμηλά επίπεδα του οξυγόνου. Συνήθως ζει για έξι έως επτά χρόνια, ενώ έχει καταγραφεί ένα χρυσόψαρο που έζησε 30 χρόνια σε συνθήκες αιχμαλωσίας (Παπαναστασίου, 1976).

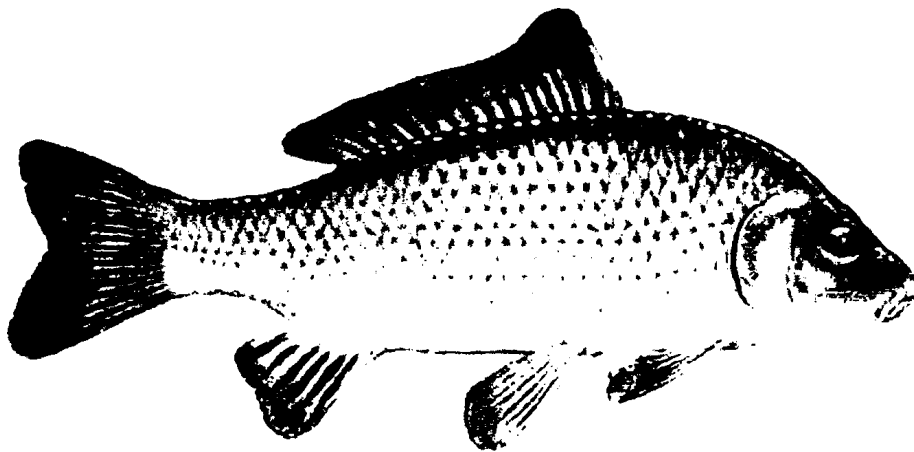
Υπολογίζεται ότι υπάρχουν 125 ποικιλίες χρυσόψαρων στον κόσμο. Αυτό οφείλεται άλλοτε στην τεχνητή αναπαραγωγή και άλλοτε σε φυσικές αλλαγές που σχετίζονται με το περιβάλλον, το μέγεθος και την ηλικία.

Συνήθως χρησιμοποιούνται ως διακοσμητικά ψάρια ενυδρείων. Όμως σε κάποιες περιοχές τα συναντάμε και ως ρυθμιστές του φυτοπλαγκτόν σε υπερτροφικές μικρές λίμνες, μέσω της άμεσης κατανάλωσής του ή σε εργαστήρια για επιστημονική έρευνα (Δ2).

Η αναπαραγωγή του ξεκινά την άνοιξη, όταν η θερμοκρασία υπερβεί τους 16°C και προτιμά ρηχά νερά με πλούσια βλάστηση για την εναπόθεση των αβγών του, τα οποία προσκολλούνται στα φυτά. Έχει μια παρατεταμένη περίοδο ωοτοκίας ξεκινώντας από την άνοιξη και φτάνοντας έως τις αρχές του καλοκαιριού, εφ' όσον η θερμοκρασία του νερού είναι γύρω στους 16°C. Το ίδιο ψάρι μπορεί να ωοτοκήσει από 3 έως 10 φορές. Η εκκόλαψη των γονιμοποιημένων αβγών εξαρτάται από τη θερμοκρασία και διαρκεί από 3 έως 7 ημέρες (Δ2).

3.3.2 Βιολογία του *Cyprinus carpio*

Το *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758), είναι γνωστό στην Ελλάδα με το κοινό όνομα κυπρίνος ή γριβάδι και ανήκει στην οικογένεια των Cyprinidae (Εικόνα 4). Αποτελεί το κυρίαρχο είδος ψαριού στα εσωτερικά νερά και το μόνιμο αλιευτικό στόχο στα εσωτερικά νερά ενώ χρησιμοποιείται και σε υδατοκαλλιέργειες.



Εικόνα 4 – Κυπρίνος του είδους *Cyprinus carpio* (Δ2)

Η συστηματική κατάταξη του *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) είναι η εξής:

Βασίλειο:	Animalia
Φύλο :	Chordata
Υποφύλο:	Vertebrata
Υπερκλάση:	Gnathostomata
Κλάση:	Osteichthyes
Υποκλάση:	Actinopterygii
Υπέρταξη:	Teleostei
Τάξη:	Cypriniformes
Οικογένεια:	Cyprinidae
Γένος:	Cyprinus
Είδος:	<i>Cyprinus carpio</i> (Linnaeus, 1758)

Διαφέρει από τα άλλα κυπρινοειδή για τα μεγάλα και ισχυρά οδοντωτά αγκάθια του στο μπροστινό μέρος του πρόσθιου ραχιαίου και εδρικού του πτερυγίου και για τα σχετικά μεγάλα μουστάκια της άνω γνάθου.

Στην χώρα μας ο κυπρίνος προέρχεται μάλλον από τον ευρωπαϊκό πρόγονο της Κασπίας θάλασσας. Η εκτροφή του είδους δεν έχει προχωρήσει ιδιαίτερα λόγω του ανταγωνισμού του με άλλα είδη αλλά και λόγω των περιορισμένων διαθέσιμων εκτάσεων που υπάρχουν στην Ελλάδα.



Τρέφεται με βενθικούς μικροοργανισμούς και είναι ψάρι που προτιμά τα στάσιμα και με χαμηλή ροή ύδατα και εμφανίζει ομαδικές νυχτερινές μεταναστεύσεις.

Εμφανίζει τέσσερις ποικιλίες: α) την λεπιδωτή με λέπια διασκορπισμένα σε όλο το σώμα, β) την καθρεπτοειδή με λέπια μεγάλα και ακανόνιστα, γ) την γραμμική με μικρά λέπια στην ράχη και κατά μήκος της πλευρικής γραμμής και δ) την γυμνή ποικιλία. Οι φαινοτυπικές αυτές διαφορές προκύπτουν από τη δράση δύο αυτοσωμικών γονιδίων. Μέσω προγραμμάτων γενετικής επιλογής έχουν προκύψει πολλές ενδιάμεσες ποικιλίες του κοινού κυπρίνου.

Γεννάει συνήθως στα τέλη της άνοιξης, όταν η θερμοκρασία του νερού υπερβεί τους 17°C σε ρηχά και καθαρά νερά της λίμνης, ανάμεσα σε υδρόβια φυτά. Τα θηλυκά μπορούν να παράγουν έως και 300.000 αβγά τα οποία διασκορπίζονται και προσκολλούνται πάνω σε μακροφύκη. Η εκκόλαψη πραγματοποιείται τρεις μέρες μετά τη γονιμοποίηση και η ταχύτητά της εξαρτάται από τη θερμοκρασία (Δ2).

3.3.3 Βιολογία του *Rutilus pannosi*

Το *Rutilus pannosi* (Economidis, 1991), είναι γνωστό στην Ελλάδα με το κοινό όνομα δρομίτσα και ανήκει στην οικογένεια των Cyprinidae (Εικόνα 5).



Εικόνα 5 – Δρομίτσα του είδους *Rutilus pannosi* (Δ2)

Η συστηματική κατάταξη του *Rutilus pannosi*, (Economidis, 1991) είναι η εξής:

Βασίλειο:	Animalia
Φύλο :	Chordata
Κλάση:	Actinopterygii
Τάξη:	Cypriniformes
Οικογένεια:	Cyprinidae
Γένος :	Rutilus
Είδος :	Rutilus pannosi

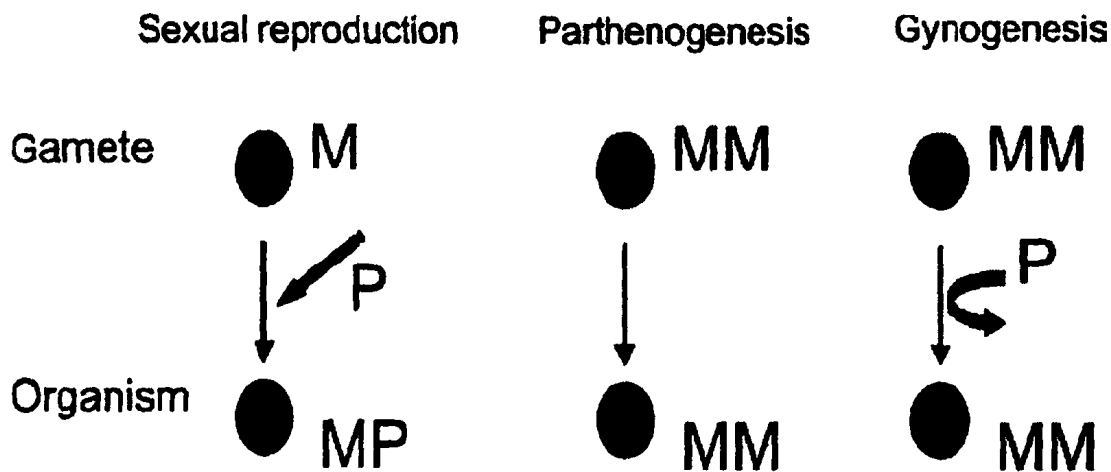
Είναι βενθοπελαγικό είδος, γηγενές σε διάφορες λίμνες της Ελλάδας και τρέφεται με πλαγκτονικούς μικροοργανισμούς.

Το συναντάμε σε στάσιμα νερά με βάθος δύο έως τρία μέτρα, με πυκνή βλάστηση, ενώ μετακινείται σε ομάδες. Η αναπαραγωγή του ξεκινά από τον Απρίλιο μέχρι τον Ιούλιο, όταν η θερμοκρασία του νερού είναι τουλάχιστον 12 °C. Τα θηλυκά αφήνουν από 50.000 έως και 100.000 αβγά.

Το *R. pannosi* το συναντάμε στην κόκκινη λίστα με το χαρακτηρισμό DD (Data Deficient). Δεν αποτελεί απειλούμενο είδος, αλλά θεωρείται αναγκαία η περαιτέρω έρευνα πάνω στην φυσιολογία και στους πληθυσμούς του είδους, έτσι ώστε να προκύψει μια σωστή εκτίμηση για το αν αποτελεί απειλούμενο είδος ή όχι (Δ2).

4. Γυνογένεση

Στο ζωικό βασίλειο υπάρχουν δύο βασικές μορφές αναπαραγωγής: η φυλετική και η μη φυλετική αναπαραγωγή. Στην φυλετική αναπαραγωγή η μείωση δίνει δύο τύπους απλοειδών γαμετών, σπέρμα στα αρσενικά άτομα και αβγά στα θηλυκά. Γονιμοποίηση των αβγών από το σπέρμα οδηγεί στο σχηματισμό ενός διπλοειδούς ζυγωτού, το οποίο και αναπτύσσεται σε θηλυκό ή αρσενικό άτομο της επόμενης γενεάς. Την μη φυλετική αναπαραγωγική διαδικασία την συναντάμε σε πληθυσμούς που αποτελούνται μόνο από θηλυκά άτομα και είναι πιο σπάνια στα σπονδυλωτά. Υπάρχουν περίπου 50 είδη που αποτελούνται από ολοθηλυκούς πληθυσμούς. Αυτά τα είδη αναπαράγονται με γυνογένεση, παρθενογένεση και υβριδογένεση, και αποτελούν χαρακτηριστικά παραδείγματα στην εξελικτική γενετική (Εικόνα 6).



Εικόνα 6 – Σχηματική παράσταση της φυλετικής αναπαραγωγής, της παρθενογένεσης και της γυνογένεσης. Ως M είναι το μητρικό γενετικό υλικό και P το πατρικό (Schlupp, 2005)

4.1 Φυσική γυνογένεση

Γυνογένεση, σημαίνει παραγωγή από θηλυκό και αποτελείται από τις ελληνικές λέξεις gyno = γυναίκα και genesis = γέννα, (Πάσχος, 2002).

Πρόκειται για μια ειδική μορφή σεξουαλικής αναπαραγωγής στην οποία η γονιμοποίηση είναι απαραίτητη, αλλά το σπέρμα είναι διαπεραστικό μέσα στο ωάριο και δεν παίρνει μέρος στην όλη διαδικασία. Το έμβρυο αναπτύσσεται στηριζόμενο



στον πυρήνα του θηλυκού ατόμου μόνο, με αποτέλεσμα οι γυνογενετικοί απόγονοι να είναι όλα θηλυκά άτομα όμοια με την μητέρα τους. Τέτοιου είδους αναπαραγωγή συμβαίνει όταν γυνογενετικά θηλυκά άτομα διασταυρώνονται με αρσενικά του ίδιου ή συγγενικού είδους με αυτά.

Η γυνογένεση δεν μπορεί να συσχετισθεί με την κανονική αναπαραγωγή, ούτε είναι όμοια με την παρθενογένεση, παρότι είναι πολύ κοντά σε αυτή. Ο Brachet (1971), θεώρησε ότι το φαινόμενο της γυνογένεσης είναι η γέφυρα που δημιουργήσε η φύση για να ενώσει την γονιμοποίηση με την φυσική παρθενογένεση. Σε πειράματα που διεξήχθησαν για να διαπιστωθεί ο έλεγχος παρθενογένεσης σε αβγά θηλυκών γυνογενετικών ειδών, τα αποτελέσματα ήταν αρνητικά. Πιο συγκεκριμένα, όταν αγονιμοποιήτα αβγά βυθίστηκαν στο νερό ξεκίνησε ένας άτακτος διαχωρισμός τους και σύντομα απεβίωσαν. Διαπιστώθηκε ότι για να αναπτυχθούν κανονικά θα πρέπει σίγουρα να προηγηθεί γονιμοποίηση τους με σπέρμα αρσενικού ατόμου συγγενικού είδους (Brachet, 1971).

Το φαινόμενο της γυνογένεσης βρέθηκε πρώτα σε μερικά είδη νηματοειδών. Σήμερα γνωρίζουμε ότι σαν τρόπος αναπαραγωγής υπάρχει σε μερικά είδη σκουληκιών, εντομών, ψαριών και αμφιβίων. Ελάχιστες περιπτώσεις φυσικής γυνογένεσης είναι γνωστές σε ψάρια, όπως του *Carassius gibelio* (Cyprinidae) και του *Poesilia formosa* (Cyprinodontidae).

Η γυνογενετική αναπαραγωγή προσφέρει πολύ σημαντικά οφέλη στον οργανισμό του ψαριού καθώς τα θηλυκά άτομα αφοσιώνονται αποκλειστικά και μόνο στην παραγωγή των αβγών τους (Paschos *et al.*, 2004).

Ένας άλλος πολύ σημαντικός παράγοντας στην γυνογενετική αναπαραγωγή είναι ο ρόλος των αρσενικών ατόμων του κάθε είδους. Ο αριθμός των αρσενικών ατόμων θα πρέπει να είναι ικανοποιητικός, αφού αυτός είναι που καθορίζει την αριθμητική ισχύ των γυνογενετικών πληθυσμών. Μελέτες φυσικής αναπαραγωγής έδειξαν ότι η αναπαραγωγή των γυνογενετικών θηλυκών εξαρτάται κυρίως από την παρουσία στην περιοχή των αρσενικών του ίδιου ή συγγενικών ειδών. Στην περίπτωση των θηλυκών ατόμων των ειδών *C. gibelio* και *M. Formosa* τα αποτελέσματα από διασταυρώσεις έδειξαν την ικανότητα τους να πολλαπλασιάζονται και να δίνουν βιώσιμους απογόνους με πολλά διαφορετικά αρσενικά άτομα συγγενικών ειδών. Επιπλέον αιφνίδια μείωση του αριθμού του πληθυσμού του *C. gibelio* αναφέρθηκε όταν παρουσιάστηκε μείωση των αρσενικών ατόμων σε αυτή την περιοχή (Fan and Shen, 1990, Tcherfas, 1968).



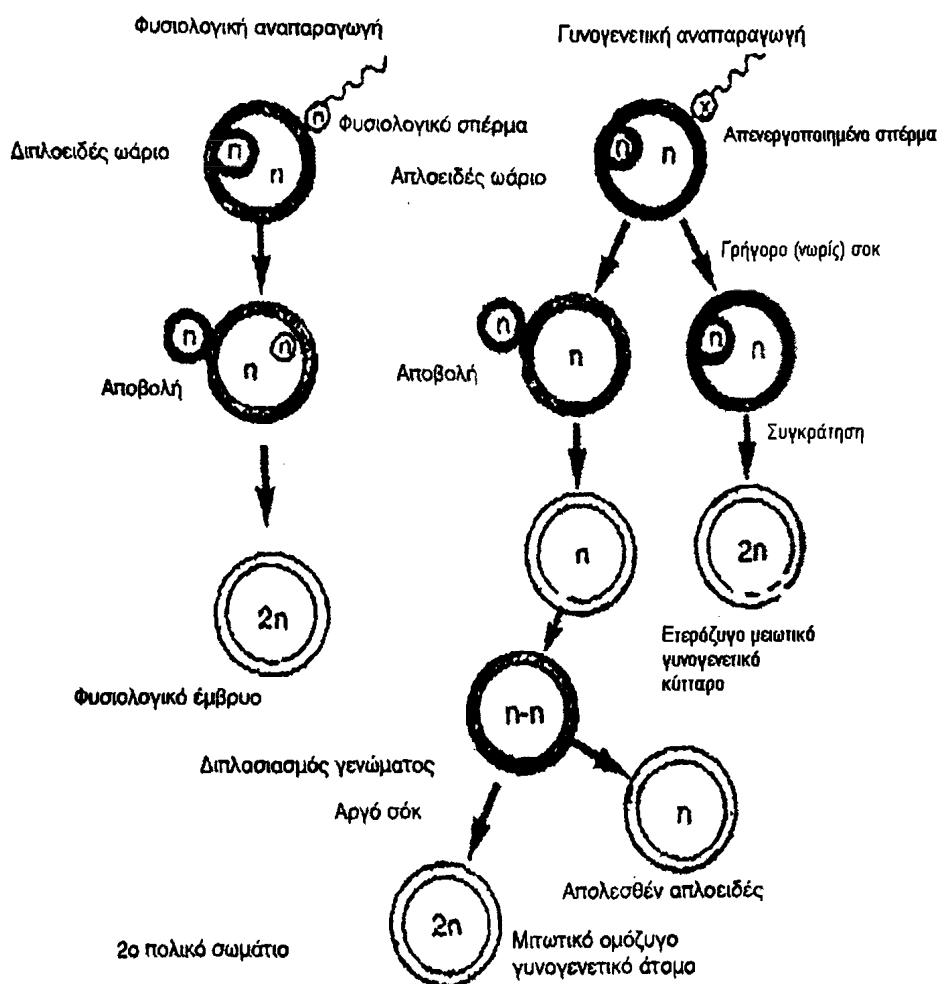
Κατά την γυνογενετική αναπαραγωγή δεν υπάρχει σαφής καθορισμός τόσο της πορείας του σπέρματος όσο και του αποκλεισμού του πυρήνα του αρσενικού. Σε κυτολογικές αναλύσεις που έγιναν από την Golovinskaya (1954), παρατηρήθηκε ότι το κεντρόσωμα μεταφερόταν διπλασιασμένο μέσα στο ωάριο με το σπέρμα και κάθε ένα από τα δύο κεντροσώματα δημιουργούσε ένα πόλο στην άτρακτο κατά την πρώτη διαίρεση. Ωστόσο καθόλη τη διάρκεια της πρώτης διαίρεσης, παρατηρήθηκε ότι ο πυρήνας του αρσενικού έμενε ως ένας παχύς σχηματισμός και δεν μετασχηματιζόταν σε προπυρήνα όπως γίνεται στην κανονική γονιμοποίηση. Στα πρώτα λεπτά έπειτα από την γονιμοποίηση, το σπέρμα εισχωρούσε μέσα στο πλάσμα και σταδιακά πήγαινε πιο κοντά στο προπυρήνα του θηλυκού. Έπειτα εντοπιζόταν στην ζώνη των πόλων της ατράκτου και μετά μέσα σε ένα από τα βραστομερίδια, όπου προφανώς αφομοιώνεται από το πλάσμα του ωαρίου (Golovinskaya, 1954).

4.2 Τεχνητή γυνογένεση

Εκτός από την φυσική γυνογένεση, μπορεί να προκληθεί και τεχνητή γυνογένεση στο εργαστήριο, κατά την οποία η γενετική πληροφορία, που μεταφέρεται από το σπέρμα γίνεται ανενεργή, μετά από έκθεση του σπέρματος σε ακτίνες γ, ακτίνες X ή υπεριώδη ακτινοβολία (UV) (Εικόνα 7).

Οι απαιτούμενες δόσεις ραδιενέργειας πρέπει να είναι πολύ υψηλές και για μικρό χρονικό διάστημα. Πιο αποδοτική μέθοδος αποδεικνύεται η χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) για την απενεργοποίηση του σπέρματος. Η δόση της ακτινοβολίας θα πρέπει να είναι λίγο μικρότερη από αυτή που οδηγεί στο θάνατο τα σπερματοζωάρια αλλά διατηρεί την κινητικότητά τους.

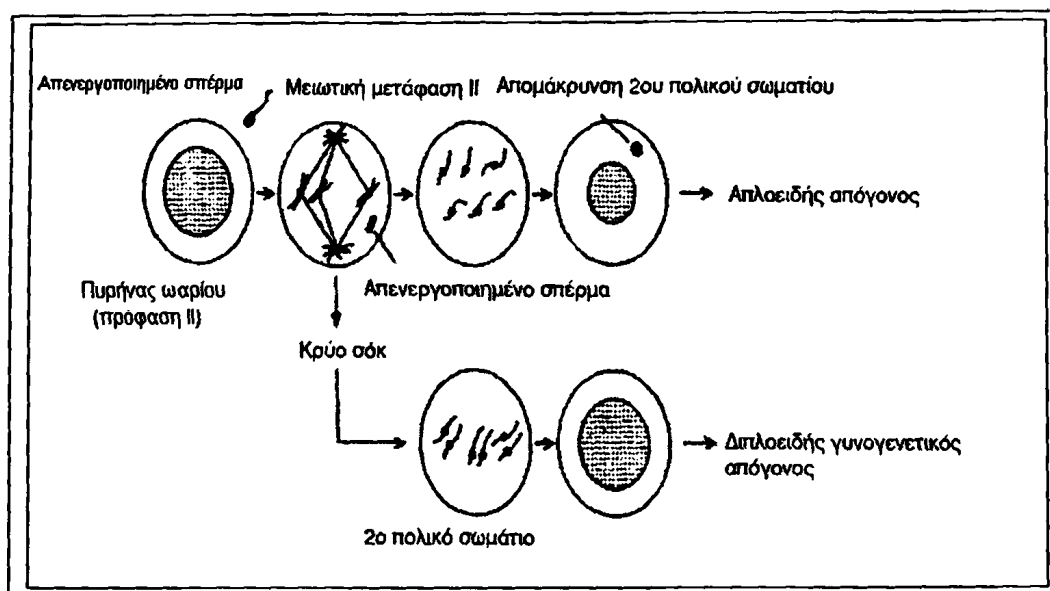
Το σπέρμα που εκτέθηκε σε συγκεκριμένες δόσεις ακτινοβολίας διατηρεί την κινητικότητά του, αλλά η γενετική πληροφορία, που μεταφέρει στα χρωμοσώματά του έχει καταστραφεί. Τα γενετικά ανενεργά αλλά κινητικά σπερματοζωάρια, έχουν τη δυνατότητα να διαπερνούν τα ωάρια και να προκαλούν την εξέλιξη της εμβρυογένεσης, χωρίς να λαμβάνουν μέρος στη διαδικασία κληρονομικότητας από το αρσενικό γεννήτορα προς το ζυγωτό.



Εικόνα 7 – Τρόποι παραγωγής γυνογενετικών ατόμων. (Rothbard, 1995)

Εάν δε υπάρξει καμία εξωτερική επέμβαση, το γυνογενετικό έμβρυο εξελίσσεται ως απλοειδές και δεν επιβιώνει πέραν του σταδίου του λεκιθικού σάκου. Κατάλληλη επέμβαση (UV ακτινοβολία) μπορεί να προκαλέσει διπλοειδία και το γυνογενετικό έμβρυο να αναπτυχθεί ως ομοζυγωτό άτομο.

Ο βαθμός ομοζυγωτίας, εξαρτάται από το χρόνο που επιλέχθηκε να προκληθεί η διπλοειδία, το δε νέο άτομο, ανεξάρτητα του χρόνου πρόκλησης της διπλοειδίας, θα φέρει την γενετική πληροφορία αποκλειστικά του θηλυκού γεννήτορα (Purdom, 1995). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι τα γυνογενετικά άτομα που θα προκύψουν θα είναι όλα θηλυκά (XX).



Εικόνα 8 – Διπλοειδής μειωτική γυνογένεση σε συνδυασμό με ψυχρό σοκ. (Purdom, 1995)

Το κρίσιμο σημείο στη γυνογένεση είναι ο τρόπος μέσω του οποίου θα προκύψει ο διπλοειδής χαρακτήρας αντί του απλοειδούς χαρακτήρα των ωαρίων. Το ψυχρό σοκ είναι ο παραδοσιακός τρόπος για να επιτευχθεί διπλοειδής γυνογένεση και εφαρμόζεται με επιτυχία στα κυπρινοειδή (Εικόνα 8). Επίσης άλλοι τρόποι πρόκλησης σοκ είναι το θερμό σοκ και η εφαρμογή υδροστατικής πίεσης (Πάσχος, 2002, Rothbard *et al.*, 1995)

Έχει παρατηρηθεί ότι υπάρχει σημαντική κυτολογική διαφορά μεταξύ φυσικής και τεχνητής γυνογένεσης στα ψάρια. Στην φυσική γυνογένεση ο αρχικός αριθμός χρωμοσωμάτων μένει ο ίδιος εξαιτίας της μη εξαίρεσης στην πρώτη μειωτική διαίρεση. Αυτό οδηγεί σε αναπαραγωγή του μητρικού γενοτύπου σε μια δίχως όριο διαδοχή των γενεών και αυξάνει την ετεροζυγωτία των απογόνων σε κάθε πιθανή επίδραση για μετάλλαξη. Από την άλλη πλευρά, στην τεχνητή γυνογένεση, ο αρχικός αριθμός των χρωμοσωμάτων να μεν παραμένει ο ίδιος, αλλά αυτό συμβαίνει εξαιτίας της εξαίρεσης της δεύτερης μειωτικής διαίρεσης η οποία καταλήγει σε διαχωρισμό και έτσι οι απόγονοι δεν είναι γενετικά όμοιοι με το μητρικό γενότυπο κάτι που χαρακτηρίζεται από υψηλή ομοζυγωτία (Cherfas, 1966).

4.3 Αλλογυνογένεση

Τα τελευταία 20 χρόνια αρκετή εργασία έγινε πάνω στη γενετική, στις μεθόδους αναπαραγωγής, στην κυτταρολογία και στους αναπαραγωγικούς μηχανισμούς για την εξέλιξη του *C. gibelio*. Παρότι αληθινή μείωση δεν γινόταν και τα χρωμοσώματα του σπέρματος δεν εμφανιζόταν μέσα στα αβγά κάτω από μικροσκοπική παρακολούθηση, οι επιστήμονες παρατήρησαν ότι οι απόγονοι είχαν κάποια χαρακτηριστικά των πατεράδων τους στην μορφή και στην ανάπτυξη (Zou *et al.*, 2001, Ding *et al.*, 1992). Δηλαδή το σπέρμα εκτός από την ενεργοποίηση της ανάπτυξης του ωαρίου, είχε την δυνατότητα να συμβάλλει στον φαινότυπο των γυνογενετικών απογόνων. Αυτή η «ειδική γυνογένεση» ονομάστηκε αλλογυνογένεση. Σε αυτή την περίπτωση δε συμβαίνει πραγματική μείωση και τα πατρικά χρωμοσώματα δεν είναι εμφανή στο γονιδίωμα του εμβρύου κάτω από το οπτικό μικροσκόπιο (Ding *et al.*, 1992), αλλά το ετερόλογο σπέρμα από τους διάφορους δότες φαίνεται να έχει βιολογικές επιδράσεις στην μορφολογία και στην ανάπτυξη των απογόνων (Zhou *et al.*, 2000).

Αβγά του *C. gibelio* που χρησιμοποιούσαν σπέρμα κόκκινου κοινού κυπρίνου (red common carp) σαν ενεργοποιητή για την ανάπτυξη των αβγών, έδωσαν απογόνους οι οποίοι είχαν υψηλότερα ποσοστά ανάπτυξης. Οι απόγονοι αυτοί ονομάστηκαν «αλλογυνογενετικοί gibelio» (Zou *et al.*, 2001, Ding *et al.*, 1993, Jiang *et al.*, 1983). Σήμερα όμως αυτό το «αλλογυνογενετικό gibelio», έχει εξελιχθεί στο χρυσόψαρο (*Carassius auratus*) το οποίο αποτελεί το πιο σημαντικό καλλιεργήσιμο είδος στην Κίνα (Zou *et al.*, 2001).

5. Αναπαραγωγική στρατηγική του *Carassius gibelio*

5.1 Γυνογενετικό είδος

Το *Carassius gibelio* είναι το μόνο είδος στο οποίο έχει παρατηρηθεί η κοινή παρουσία φυλετικής και μη φυλετικής αναπαραγωγής. Λόγω αυτού του τρόπου αναπαραγωγής του, το *C. gibelio* κατατάσσεται σε ένα ενδιάμεσο εξελικτικό σύστημα στα σπονδυλωτά ανάμεσα στην μονοφυλετική και την διφυλογενετική αναπαραγωγή (Zhou *et al.*, 2000).

Ο Cherfas (1966), στην Σοβιετική Ένωση αναφέρει ότι το *C. gibelio* είναι μονογενές, γυνογενετικό ψάρι. Όμως στην βορειοανατολική Κίνα αναφέρθηκε η ύπαρξη αρσενικών ατόμων, στους φυσικούς πληθυσμούς, σε ποσοστό περίπου 25% (Jiang *et al.*, 1983). Έτσι το *C. gibelio* θεωρείται ένα αμφιγεννητικό είδος που αναπαράγεται με γυνογένεση (Zou *et al.*, 2001, Fan and Shen, 1990). Ενώ λοιπόν, συγκαταλέγεται μεταξύ των πενήντα περίπου ειδών του ζωικού βασιλείου που αναπαράγονται με γυνογένεση, είναι το μοναδικό είδος με πληθυσμούς διαφορετικής πολυπλοειδίας που είναι ικανό ταυτόχρονα και για φυλετική αναπαραγωγή (Zhou *et al.*, 2000).

Οι διαφορετικές στρατηγικές αναπαραγωγής σχετίζονται και με διαφορές στην πολυπλοειδία ανάμεσα στους γυνογενετικούς και διαφυλετικούς πληθυσμούς. Οι πληθυσμοί του διαφοροποιούνται σε δύο διακριτούς τύπους:

- _ διπλοειδείς με δυο φύλα και
- _ τριπλοειδείς, όπου επικρατούν γυνογενετικά θηλυκά άτομα.

Τα αρσενικά άτομα στους τριπλοειδείς πληθυσμούς είναι εξαιρετικά σπάνια και απαντώνται σε μικρά ποσοστά (5%-20%), με εξαίρεση την Βορειοδυτική Κίνα (Fan and Shen, 1990). Ένα χαρακτηριστικό των τριπλοειδών γυνογενετικών θηλυκών του *C. gibelio* είναι ο αριθμός των χρωμοσωμάτων που είναι περίπου γύρω στα 150 και των διπλοειδών θηλυκών και αρσενικών με 100 περίπου χρωμοσώματα τα οποία αναπαράγονται φυλετικά (Li *et al.*, 2001, Zhou *et al.*, 2000). Συγκριτικά τα τριπλοειδή είναι πολύ περισσότερα από τα διπλοειδή άτομα που υπάρχουν (Tsoumani *et al.*, 2006).

Επίσης ενώ τα περισσότερα γυνογενετικά ψάρια αναπαράγονται μόνο με πολύ συγγενικά είδη, τα αυγά του είδους *Carassius gibelio* γονιμοποιούνται από μια

μεγάλη ποικιλία αρσενικών ατόμων ειδών που ανήκουν και σε οικογένειες πέρα από την οικογένεια των Cyprinidae (Zhou *et al.*, 1998, Tcherfas 1968).

Κατά την γυνογενετική αναπαραγωγή συμβαίνει το εξής. Τα θηλυκά άτομα για τη γονιμοποίησή τους χρησιμοποιούν σπέρμα των ίδιων ή άλλων συγγενών ειδών ώστε να ενεργοποιηθεί το ωάριο και η διαδικασία της εμβρυακής ανάπτυξης (Paschos *et al.*, 2004, Zou *et al.*, 2001). Οι απόγονοι, είτε προέρχονται από σπέρμα αρσενικών πεταλούδων είτε από σπέρμα άλλων συγγενικών ειδών, είναι βιώσιμοι. Αν η γονιμοποίηση γίνει με σπέρμα από συγγενικά είδη όπως χρυσόψαρο ή κυπρίνος τότε όλοι οι απόγονοι είναι θηλυκά άτομα. Στην αντίθετη περίπτωση εάν τα αβγά γονιμοποιηθούν με σπέρμα αρσενικών *C. gibelio* τότε οι απόγονοι θα έχουν και ένα μικρό ποσοστό αρσενικών τις τάξεως του 5-25% (Zou *et al.*, 2001, Jiang *et al.*, 1983, Shen *et al.*, 1983).

Σε πειράματα που έγιναν και διασταυρώθηκαν αρσενικά άτομα του *C. gibelio* με θηλυκά του είδους *C. carpio* διαπιστώθηκε η ανεπάρκεια των αρσενικών αυτών ατόμων να δώσουν βιώσιμους απογόνους. Παρότι τα αβγά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν υψηλής ποιότητας (αυτό διαπιστώθηκε από τον μάρτυρα του πειράματος), όλα τα έμβρυα που προέκυψαν απεβίωσαν, φανερώνοντας την γενετική ανεπάρκεια των αρσενικών ατόμων πεταλούδας. Γενικότερα τα αρσενικά του *C. gibelio* χαρακτηρίζονται από σπέρμα χαμηλής γονιμότητας και γενετικής στειρότητας ενώ δίνουν ένα σχετικά μικρό αριθμό απογόνων μόνο αν διασταυρωθούν με θηλυκά όμοιου είδους με αυτά (Golovinskaya, 1965). Στην Κίνα έγινε σύγκριση σπέρματος πεταλούδας και κυπρίνου. Διαπιστώθηκε ότι τα σπερματοζώαρια του *C. gibelio* είχαν μεγαλύτερο κεφάλι με διάμετρο 2,81μm, ενώ το κεφάλι του σπερματοζωαρίου του κυπρίνου είχε 2,34μm διάμετρο. Εκτός από αυτή τη διαφορά δεν βρέθηκε καμία άλλη διαφορά όσον αφορά το σχήμα και την κινητική ικανότητα (Fan and Shen, 1990).

6. Εξέλιξη του *Carassius gibelio*

Η πολυπλοειδία θεωρείται ότι παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη των σπονδυλωτών. Αρκετά είδη ψαριών, όπως τα κυπρινοειδή είναι πολυπλοειδή. Το *C. gibelio* αποτελεί ένα μοναδικό πρότυπο σύστημα για την εξελικτική γενετική και παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον η διευκρίνιση των ρυθμιστικών τρόπων αναπαραγωγής του με γυνογένεση και αμφιφυλετικά (Zhou *et al.*, 2000, Zhu *et al.*, 1993). Πολλοί επιστήμονες έχουν ασχοληθεί με αυτό και έχουν προσπαθήσει να εξηγήσουν την αναπαραγωγική συμπεριφορά του *C. gibelio*.

Οι Fan and Shen (1990), προσπάθησαν να κάνουν μια ακολουθία της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς της πεταλούδας από το παρελθόν, στο παρόν και μια υπόθεση για το τι θα γίνει στο μέλλον. Αναφέρουν ότι ίσως προέρχεται από το χρυσόψαρο ως τριπλοειδές άτομο. Ακολούθησε μια πολύ μακρά μεταβατική περίοδος. Στην αρχή αυτής της μεταβατικής περιόδου, η κυρίαρχη μορφή αναπαραγωγής ήταν η γυνογένεση με τον πληθυσμό να έχει μόνο ένα μικρό ποσοστό αρσενικών. Στο τέλος της μεταβατικής αυτής περιόδου, η αμφιφυλετική αναπαραγωγή έγινε η κύρια μορφή αναπαραγωγής. Έτσι σήμερα, συναντάμε ένα γυνογενετικά μεν πληθυσμό με ένα όμως ποσοστό αρσενικών ατόμων που συνεχώς αυξάνεται ο αριθμός τους. Η γυνογένεση μπορεί να είναι η κύρια μορφή αναπαραγωγής όμως είναι λιγότερο σημαντική από την αμφιφυλετική αναπαραγωγή. Αργότερα στο μέλλον, έπειτα από μια μακρά περίοδο εξέλιξης, η πεταλούδα ίσως να αναπαράγεται μόνο αμφιφυλετικά (Fan and Shen, 1990).

Αυτή η μεταβατική περίοδος αλλαγής της πολυπλοειδίας του *C. gibelio*, αλλά και άλλων ειδών ψαριών, εντοπίζεται σε περιόδους με αλλαγές των περιβαλλοντικών συνθηκών εξαιτίας ανθρώπινων επεμβάσεων, όπως για παράδειγμα η αύξηση της θερμοκρασίας του νερού κοντά σε βιομηχανικές εγκαταστάσεις. Όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 5.2 στην τεχνητή γυνογένεση για την επίτευξη της διπλοειδίας εφαρμόζονται θερμά ή ψυχρά σοκ στα γονιμοποιημένα αβγά. Αυτό αποδεικνύει ότι εξωτερικές επεμβάσεις επηρεάζουν την ανάπτυξη των παραγόμενων απογόνων. Επομένως, δεν μπορεί να αποκλειστεί ότι ένα θερμό ή κρύο σοκ οφειλόμενο στην φύση, να αποτέλεσε μια μεταβατική περίοδο αλλαγής της πολυπλοειδίας των ψαριών. Πιο πιθανή απάντηση στην εξελικτική διαδικασία αυτού του είδους να είναι η επίδραση ενός θερμού σοκ κυρίως σε μικρά τεχνητά ρυάκια τα οποία κατασκευάστηκαν για αποχέτευση βιομηχανικών αποβλήτων. Λαμβάνοντας αυτά



υπόψη, η εξέλιξη του *C. gibelio* στο μέλλον θα επηρεαστεί σίγουρα από την διαχείριση των υδάτων από τους ανθρώπους (Toth *et al.*, 2005).

Παρόμοια άποψη έχει και ο Cherfas (1966), ο οποίος θεωρεί ότι αρχικά οι πεταλούδες ήταν διπλοειδή άτομα ενώ έγιναν τριπλοειδή αργότερα, δίνοντας μια τελείως διαφορετική εξήγηση για την αλλαγή αυτή. Θεωρεί ότι είναι αποτέλεσμα της διασταύρωσης θηλυκών διπλοειδών, γυνογενετικών ατόμων τα οποία είχαν μη διαιρεμένους γαμέτες και διασταυρώθηκαν με αμφιφυλετικά αρσενικά άτομα του ίδιου ή συγγενικού είδους με αποτέλεσμα τη δημιουργία τριπλοειδών θηλυκών ατόμων. Αυτή τη θεωρία την στηρίζει σε πειράματα παρόμοιας περίπτωσης που έγιναν σε μεταξοσκώληκες.

Όσον αφορά την ύπαρξη αρσενικών ατόμων στον γυνογενετικό πληθυσμό των *C. gibelio*, υπάρχουν διάφορες θεωρίες που έχουν δημοσιευτεί. Μια από αυτές είναι από τους Fan and Shen (1990), σύμφωνα με την οποία τα θηλυκά άτομα του *C. gibelio* παράγουν δύο τύπους αβγών. Έναν «Γ» (gynogenesis) τύπο, ο οποίος δεν μπορεί να συμπληρώσει την μειωτική διαίρεση και παράγει γυνογενετικούς, ολοθηλυκούς απογόνους και ένα «Β» (bisexual) τύπο αβγών ο οποίος συμπληρώνει την μειωτική διαίρεση και αναπαράγεται κανονικά, δίνοντας θηλυκούς και αρσενικούς απογόνους.

Ο «Γ» τύπος αβγών αποτελεί περίπου το 50-90% των παραγόμενων αβγών ενός θηλυκού και ο «Β» τύπος αβγών αποτελεί το 10-50%. Τα αβγά τύπου «Γ» δίνουν μόνο θηλυκούς απογόνους όταν αυτά γονιμοποιηθούν με ομόλογο ή ετερόλογο σπέρμα καθώς δεν ολοκληρώνουν την δεύτερη μειωτική διαίρεση. Τα παραγόμενα άτομα αυτού του τύπου δεν παίρνουν γενετικά χαρακτηριστικά από τα αρσενικά. Αντίθετα τα αβγά τύπου «Β» υποβάλλονται σε όλη την διαδικασία της μείωσης και αναπαράγονται κανονικά, όμως το φύλο των απογόνων εξαρτάται από το σπέρμα. Εάν το σπέρμα είναι από αρσενικό *C. gibelio* τότε οι απόγονοι είναι οι μισοί αρσενικοί και οι υπόλοιποι μισοί θηλυκοί. Εάν όμως το σπέρμα είναι από συγγενικό είδος τότε τα αβγά αναπαράγονται γυνογενετικά, και είναι όλα θηλυκά άτομα. Το ποσοστό των «Γ» ή «Β» τύπου αβγών που παράγει κάθε θηλυκό άτομο εξαρτάται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος όπως η θερμοκρασία, η υδροστατική πίεση ή άλλοι παράγοντες όπως η ηλικία του θηλυκού και η κατάσταση της υγείας του. Ωστόσο αυτή η υπόθεση δεν είναι πλήρως αποδεκτή, καθώς έχει βρεθεί ποσότητα πατρικού γονιδιώματος και στους απογόνους από τους πληθυσμούς που αναπαράγονται γυνογενετικά, αλλά και από τους πληθυσμούς που αναπαράγονται φυλετικά.



7. Διάμετρος αβγών

Πάρα πολλές μελέτες με θέμα την αναπαραγωγή διαφόρων ειδών ψαριών, έχουν ασχοληθεί με το μέγεθος των αβγών. Οι διαφορές μεταξύ των αβγών από διάφορα είδη, από άποψη μεγέθους είναι τεράστιες και συνήθως σχετίζονται με την εποχή της ωοτοκίας, το μέγεθος του θηλυκού ατόμου, την γονική προστασία στις λάρβες και φυσικά με την γονιμότητα.

Η απόφαση ενός θηλυκού να παράγει μικρό αριθμό αβγών μεγαλύτερης διαμέτρου ή να παράγει πολλά μικρά αβγά εξαρτάται από τις συνθήκες του βιοτόπου στις οποίες διαμένει, από τις δικές του πηγές ενέργειας που μπορεί να διαθέσει, καθώς επίσης και από τον ανταγωνισμό μεταξύ των απογόνων (Jonsson and Jonsson, 1999, Thorpe *et al.*, 1984).

Γενικότερα είχε κυριαρχήσει η αντίληψη ότι τα μεγαλύτερου μεγέθους αβγά είναι και τα καλύτερα. Κάτι τέτοιο όμως δεν έχει αποδειχθεί ότι ισχύει παρόλο που υπάρχουν επιστήμονες που υποστηρίζουν αυτή την άποψη. Θεωρούν ότι αφού τα αβγά μεγαλύτερου μεγέθους παράγουν λάρβες μεγαλύτερου μεγέθους, λόγω της ποσότητας του λεκιθικού τους σάκου, τις πρώτες μέρες της ζωής τους δεν αντιμετωπίζουν αμέσως το πρόβλημα εύρεσης τροφής, έχουν μεγαλύτερους ρυθμούς ανάπτυξης, μπορούν να αντιμετωπίσουν τους θηρευτές τους πιο αποτελεσματικά και μπορούν να τραφούν από περισσότερες διαθέσιμες τροφές. Άλλοι επιστήμονες ωστόσο διαφωνούν και θεωρούν ότι οι μεγαλύτερες λάρβες που παράγονται από μεγαλύτερα αβγά, είναι και περισσότερο αξιοπρόσεκτες ως θηράματα. Επιπλέον ισχυρίζονται ότι τα μικρότερα αβγά εκκολάπτονται γρηγορότερα σε σχέση με τα μεγαλύτερα (Brooks *et al.*, 1997).

Ο Bromage *et al.*, (1992) σε πειράματά του με καλλιεργούμενες πέστροφες, απέδειξε ότι το μέγεθος των αβγών δεν παίζει κανένα ρόλο στην ποιότητα των παραγόμενων λαρβών. Ενώ τα μεγαλύτερα αβγά έδωσαν μεγαλύτερου μεγέθους λάρβες, σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα αυτό δεν ίσχυε, αφού καλύφθηκε από άλλους καθοριστικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες αύξησης. Την ίδια άποψη εκφράζει και η Kamler (2005), η οποία αναφέρει ότι για κάθε είδος ψαριού φαινοτυπικά υπάρχει ένα βέλτιστο μέγεθος αβγών που έχει την καλύτερη αναπαραγωγική ικανότητα και αυτό δεν είναι πάντα το μεγαλύτερο μέγεθος αβγών.

7.1 Παράγοντες που επιδρούν στην διάμετρο των αβγών σε άτομα του ίδιου είδους

7.1.1 Η διατροφή του θηλυκού ατόμου

Είναι ένας από τους βασικότερους παράγοντες που επηρεάζει το μέγεθος του λεκιθικού αποθέματος. Θα πρέπει να είναι αρκετή έτσι ώστε να συμπληρώνει τις θρεπτικές ουσίες που θα εναποτεθούν στα ωοκύτταρα (Bonislawska *et al.*, 2001). Επίσης θα πρέπει να είναι πλούσια σε πολικά και μη πολικά λιπίδια, σε λιπαρά οξέα, σε πρωτεΐνες και σε ασκορβικό οξύ καθώς αυτά επηρεάζουν όχι μόνο την ποσότητα της περιεχόμενης λεκίθου, αλλά και την επιβίωση των λαμβών αργότερα (Brooks *et al.*, 1997).

7.1.2 Γενετική επίδραση

Οι γνώσεις μας για την γενετική επίδραση στην ποιότητα των αβγών είναι περιορισμένες. Γνωρίζουμε ότι τα γονίδια του θηλυκού ατόμου επηρεάζουν την γονιμότητα και την ποιότητα των αβγών αλλά δεν ξέρουμε σχεδόν τίποτα σχετικά με την γονιδιακή έκφραση και την μετάφραση του mRNA στα ωοκύτταρα ή στα έμβρυα (Brooks *et al.*, 1997).

7.1.3 Περιβάλλον όπου ζει ο θηλυκός γεννήτορας.

Σε σύγκρισή που έγινε μεταξύ θηλυκών ατόμων σολομού *Salmo salar* που ζούσαν ελεύθεροι και σε άτομα ιχθυοτροφείου βρέθηκε σημαντική διαφορά στο μέγεθος των αβγών τους. Τα αβγά των σολομών που ζούσαν στην θάλασσα ήταν πολύ μεγαλύτερα σε μέγεθος και έδωσαν 25% περισσότερο βιώσιμους απογόνους (Brooks *et al.*, 1997).

7.1.4 Μέγεθος σώματος θηλυκού ατόμου

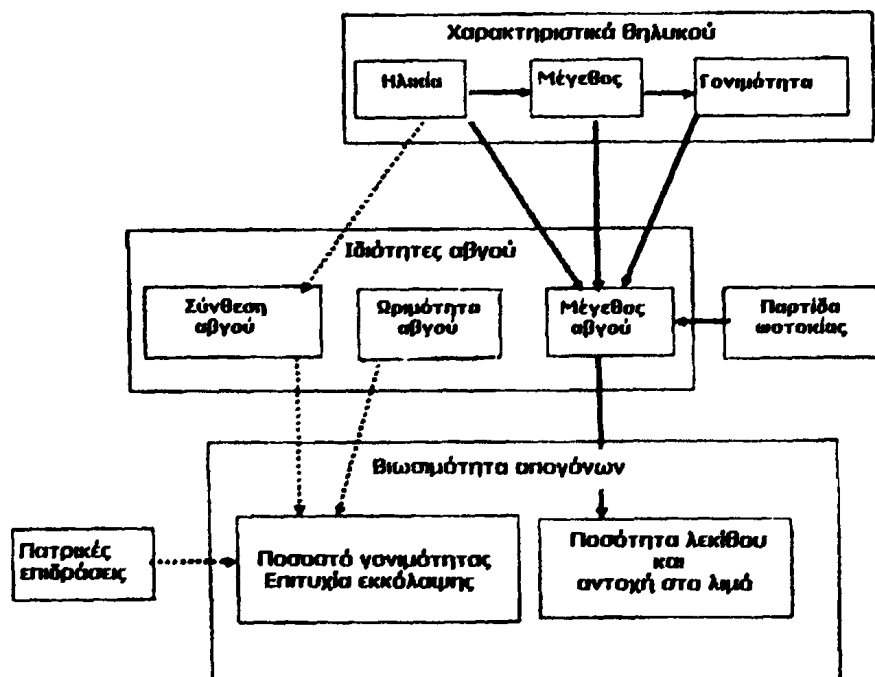
Ορισμένες μελέτες αναφέρουν ότι δεν υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους του θηλυκού ατόμου και των παραγόμενων αβγών. Άλλες ωστόσο οι οποίες αναφέρονται και στον κυπρίνο *C. carpio* υποστηρίζουν ότι υπάρχει θετική σχέση (Marteinsdottir and Steinarsson, 1998).

Αναφέρουν ότι γενικά όσο το μέγεθος του ψαριού αυξάνει, τόσο η διάμετρος των αβγών μεγαλώνει (Brooks *et al.*, 1997), επειδή αυξάνεται το ποσό της ενέργειας που

μπορεί να διαθέσει το ψάρι στην παραγωγή των αβγών. Επίσης αυξάνεται και η γονιμότητα επειδή προσαρμόζεται στη μεγαλύτερη μάζα του σώματος. Όμως θα πρέπει να σημειωθεί ότι ψάρια μεγαλύτερης ηλικίας έδωσαν αβγά καλύτερης ποιότητας σε σύγκριση με αβγά ψαριών ίδιου μεγέθους που ήταν μικρής ηλικίας (Jonsson and Jonsson, 1999).

7.1.5 Ηλικία θηλυκού γεννήτορα

Η ηλικία του θηλυκού γεννήτορα επηρεάζει την διάμετρο των αβγών (Εικόνα 9). Τα ψάρια που ωστοκούν για πρώτη φορά έχουν μικρότερα αβγά σε σχέση με ψάρια μεγαλύτερης ηλικίας. Αυτή η σχέση επιβεβαιώνεται και για τον κυπρίνο από τον Johnston (1997). Τα αβγά από θηλυκά άτομα ενός χρόνου, είναι αισθητά μικρότερα από αυτά ενός ψαριού που αναπαράγεται για δεύτερη φορά (Δ5). Έπειτα όμως στις επόμενες ωστοκίες δεν παρατηρείται σημαντική διαφορά στο μέγεθος των αβγών. Η ηλικία του θηλυκού ατόμου επηρεάζει επίσης και την σύσταση της λεκίδου. Σε αβγά κυπρίνων έχει αποδειχθεί ότι η περιεκτικότητα σε πρωτεϊνικά αμινοξέα, σε φωσφωλιπίδια και χοληστερόλη εξαρτάται από την ηλικία του θηλυκού γεννήτορα (Kamler, 2005).



Εικόνα 9 - Πως τα χαρακτηριστικά του θηλυκού ατόμου επηρεάζουν την βιωσιμότητα των απογόνων. Το βέλος με τις τελείες δείχνει τους παράγοντες που επηρεάζουν κατά την διάρκεια της εμβρυογένεσης. Το συμπαγές βέλος δείχνει τους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της λάρβας αργότερα (Kamler, 2005)



7.1.6 Παρτίδα ωοτοκίας

Σε μια περίοδο ωοτοκίας το μέγεθος των αβγών των τελευταίων παρτίδων ωοτοκίας είναι γενικότερα μικρότερο και αυτό συνδέεται με την μείωση των θρεπτικών πόρων του θηλυκού ατόμου που μπορεί να διαθέσει στο σχηματισμό των αβγών του (Jonsson and Jonsson, 1999, Marteinsdottir and Steinarsson, 1998).

7.1.7 περιβαλλοντικοί παράγοντες (θερμοκρασία)

Η θερμοκρασία του νερού την εποχή της ωοτοκίας, μπορεί να επηρεάσει έμμεσα την διάμετρο των αβγών επηρεάζοντας τον μεταβολισμό του θηλυκού ατόμου, τις ορμόνες του και την δραστηριότητά του (Brooks *et al.*, 1997). Επίσης είναι ένας από τους βασικούς παράγοντες που επηρεάζει την γονιμότητα ενός θηλυκού ατόμου (Kamler, 2005).

7.1.8 Γεωγραφικό πλάτος

Κάποια είδη ψαριών, όπως ο σολομός *Oncorhynchus kisutch*, που ζουν σε μεγαλύτερο γεωγραφικό πλάτος στην Νορβηγία δίνουν αβγά μεγαλύτερης μάζας σε σύγκριση με άτομα που ζουν νοτιότερα. Αυτό ίσως να σχετίζεται με την θερμοκρασία των νερών (Jonsson and Jonsson, 1999).

8. Μέγεθος λαρβών

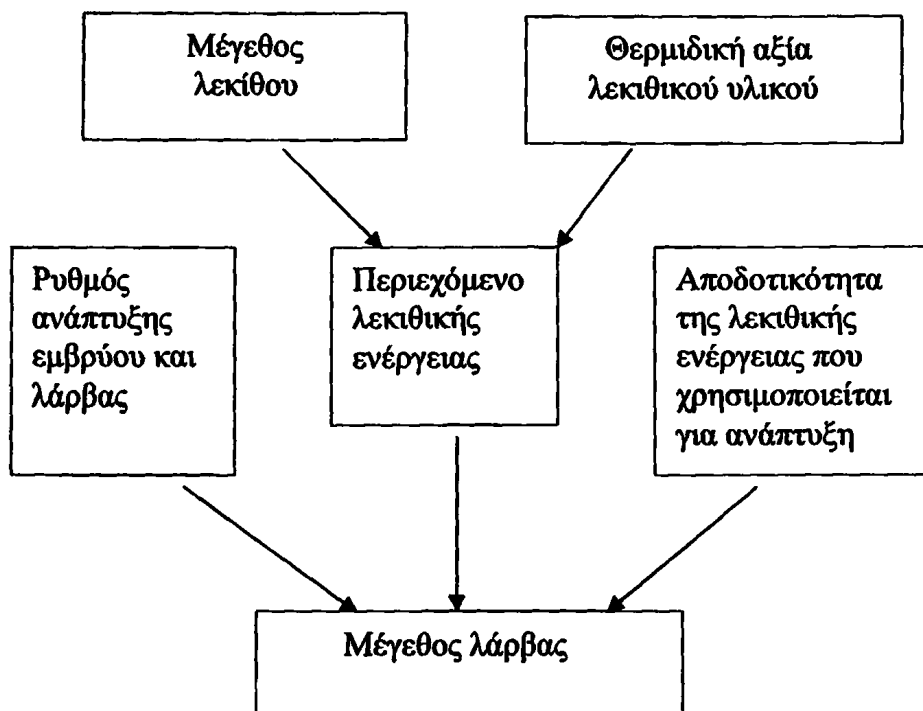
Η καλή κατάσταση των λαρβών αποτελεί αντικείμενο πολλών μελετών που έχουν γίνει σε διάφορα είδη ψαριών, αφού αυτός είναι και ο στόχος μιας μονάδας παραγωγής ψαριών. Πολλοί βιολόγοι έχουν ασχοληθεί και έχουν προσπαθήσει να καθορίσουν εκείνα τα χαρακτηριστικά των γονέων που δίνουν τους πιο βιώσιμους και μεγαλύτερου μεγέθους απογόνους. Πρόκειται για ένα αντικείμενο αρκετά δύσκολο αφού είναι πολλοί οι παράγοντες που παίζουν ρόλο. Η μητρική και η πατρική επίδραση δεν είναι άμεσα εμφανής.

Οι ιδιότητες μιας λάρβας είναι αποτέλεσμα τόσο της μητρικής όσο και της πατρικής επίδρασης. Επιπρόσθετα πολύ σημαντικό ρόλο παίζουν και εξωγενής παράγοντες του περιβάλλοντος, που επικρατούν κατά την εκκόλαψη των λαρβών. Έτσι είναι πολύ δύσκολο να καθοριστούν ακριβώς οι σχέσεις μεταξύ γονέων και παραγόμενων λαρβών. Και οι δύο, οι πατρικοί και μητρικοί παράγοντες συμβάλλουν στην βιωσιμότητα της παραγόμενης λάρβας αλλά λειτουργούν σε διαφορετικό χρόνο και με διαφορετικό τρόπο (Kamler, 2005). Γενικά η πατρική επίδραση στην ωογονία γίνεται πολύ νωρίς, στα αρχικά στάδια, ενώ η μητρική αργότερα, συμβάλλοντας έτσι στον σχηματισμό του εμβρύου.

Η ποιότητα του σπέρματος είναι αποφασιστική για την επιτυχία της γονιμοποίησης και την επιτυχία της εκκόλαψης των αβγών. Καθοριστικοί παράγοντες επίσης είναι η πυκνότητα του σπέρματος και η κινητικότητά του. Ο αριθμός των σπερματοζωαρίων ανά αβγό είναι ανάλογος της επιτυχίας μιας γονιμοποίησης, ενώ η ταχύτητα του σπέρματος θεωρείται το κλειδί για μια επιτυχημένη γονιμοποίηση. Αποδείχθηκε ότι η ποιότητα του σπέρματος δεν είχε καμία επίδραση στο μέγεθος των παραγόμενων λαρβών σε μια γονιμοποίηση (Kamler, 2005).

Αντίθετα η ποιότητα των αβγών είναι περισσότερο σημαντική για το σχηματισμό του εμβρύου (Kjorsvik *et al.*, 2002), το μέγεθός του και την βιωσιμότητά του τις πρώτες μέρες της ζωής του (Εικόνα 10). Η καλή ποιότητα ενός αβγού συνδέεται με την ωριμότητα του αβγού και κατ' επέκταση με την ηλικία του θηλυκού ατόμου. Όμως σε ορισμένα είδη ψαριών όπως τα κυπρινοειδή έχει βρεθεί ότι η σύσταση του αβγού μπορεί να συμβάλει στο ποσοστό γονιμοποίησης. Για παράδειγμα η περιεκτικότητα του αβγού σε ολικά πρωτεϊνικά αμινοξέα και η

συγκέντρωση σουλφωδρικών ομάδων οδηγούν σε καλύτερα ποσοστά γονιμοποίησης (Kamler, 2005).



Εικόνα 10 - Παράγοντες που συνεισφέρουν στο μέγεθος της λάρβας τις πρώτες μέρες της ζωής της (Kamler, 2005)

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι το μέγεθος των αρσενικών ατόμων και η ποιότητα του σπέρματός τους δεν παίζει κανένα ρόλο στο μέγεθος των παραγόμενων λαρβών. Καθοριστική σημασία τόσο στο μέγεθος όσο και στην βιωσιμότητα των λαρβών παίζει η ωριμότητα των αβγών του θηλυκού ατόμου, μέσω της σύνθεσής τους. Υπάρχει λοιπόν μια θετική συσχέτιση μεταξύ μεγέθους θηλυκού ατόμου, μεγέθους αβγών και μεγέθους των παραγόμενων λαρβών (Sehgal and Toor, 1991). Η εξέλιξη των λαρβών αργότερα και ο ρυθμός ανάπτυξής τους είναι αποτέλεσμα πλήθους παραγόντων με κυριότερους τους διατροφικούς και τους περιβαλλοντικούς.

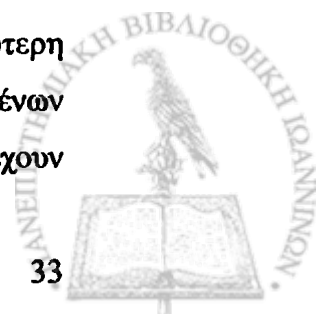
9. Δυσμορφίες λαρβών

Οι δυσμορφίες στα ψάρια είναι ένα αντικείμενο με ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Ένα ψάρι θεωρείται ανώμαλο εάν παρουσιάζει οποιοδήποτε μορφολογικό ή χρωμοσωμικό χαρακτηριστικό το οποίο το διαφοροποιεί από την κανονική ανάπτυξη (Bunn *et al.*, 2000). Συνήθως συνδέονται με τα υψηλά επίπεδα θνησιμότητας, ενώ αποτελούν δείκτη της κατάστασης της υγείας ενός ιχθυοπληθυσμού σε μία περιοχή (Villeneuve *et al.*, 2005). Σε ορισμένες δε περιπτώσεις, οι δυσμορφίες χρησιμοποιούνται ως κριτήριο για την αξιολόγηση της ρύπανσης σε μια περιοχή (Westernhagen *et al.*, 1997).

Στις νεοεκκολαφθήσες λάρβες πάντοτε, συναντάμε κάποια ποσοστά ανωμαλιών, ακόμη και αν οι συνθήκες είναι βέλτιστες. Συνήθως αυτό το ποσοστό είναι μικρό. Ωστόσο διάφοροι εξωτερικοί παράγοντες μπορούν να προκαλέσουν μια αύξηση στην συχνότητά τους. Γενικότερα οι παράγοντες που προκαλούν ανωμαλίες στα ψάρια δεν μπορούν να προσδιοριστούν με ακρίβεια. Συνήθως οφείλονται σε:

1. Γενετικές αιτίες
2. Αιμομικτικές διασταυρώσεις έχουν παρατηρηθεί ότι παράγουν απογόνους με δυσμορφίες
3. Περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η μείωση του διαλυμένου οξυγόνου, η ένταση του φωτός, το pH, η αλατότητα και η παρουσία μόλυνσης στο νερό (τοξικά φυτοφάρμακα, βαρέα μέταλλα, χημικοί ή οργανικοί ρύποι)
4. Διατροφή των γεννητόρων. Η έλλειψη στη διατροφή των γεννητόρων σε βασικά θρεπτικά συστατικά όπως βιταμίνη D, φωσφωλιπίδια, τρυπτοφάνη ή ασκορβικό οξύ συνδέονται κυρίως με σκελετικές ανωμαλίες στους απογόνους
5. Σύσταση της λεκίθου
6. Η παρουσία παρασίτων στα νερά, προκαλούν κυρίως μεταγεννητικές σκελετικές ανωμαλίες στα ψάρια
7. Εξωτερικοί παράγοντες όπως η ακτινοβολήση με ακτίνες γ σε αβγά ψαριών.

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες είναι αυτοί που έχουν και την μεγαλύτερη ευθύνη. Έχουν καταγραφεί περιπτώσεις όπου χημικές ουσίες συμπεριλαμβανομένων και των βαρέων μετάλλων όπως ο μόλυβδος και τα φωσφορικά φυτοφάρμακα έχουν



προκαλέσει νευρομυϊκή ζημιά στα ψάρια που τελικά οδηγούν σε σκελετικές παραμορφώσεις (Lugowska *et al.*, 2004). Οι χημικές ουσίες μπορούν επίσης να προκαλέσουν σκελετικές παραμορφώσεις με την εξασθένιση των διαδικασιών σχηματισμού του κόκαλου. Τέτοιες ουσίες είναι ενώσεις όπως 2,3,7,8-tetrachlorodibenzop-dioxin, πολυχλωριωμένα διφαινύλια και το κάδμιο (Villeneuve *et al.*, 2005). Παράλληλα τα προβλήματα ποιότητας νερού συμβάλλουν πολύ στις ανωμαλίες των ψαριών. Αρκετά σημαντική είναι η θερμοκρασία. Σε πειράματα με λάρβες κυρπινοειδών η Jezierska (2000) παρατήρησε ότι η πολύ υψηλή θερμοκρασία ή πολύ χαμηλή ευθύνεται για παραμορφώσεις.

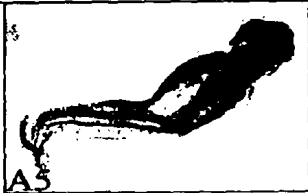
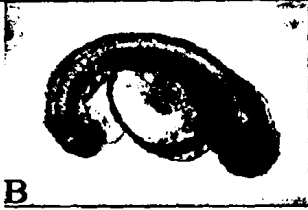
Στις νεοεκκολαφθείσες λάρβες με το πέρασμα των ημερών το ποσοστό των ανώμαλων λαρβών μειώνεται αισθητά. Αυτό οφείλεται σε δύο κυρίως λόγους:

1. Στην θνησιμότητα των ανώμαλων λαρβών, όπως είναι αναμενόμενο
2. Στην επιβίωση των ανώμαλων λαρβών που η ανωμαλία τους δεν παρεμποδίζει συνολικά την κολύμβηση και την διατροφή τους. Αυτές οι λάρβες εάν καταφέρουν και επιβιώσουν τελικά "αναρρώνουν" και μπορούν να αναπτυχθούν κανονικά. Αυτό περισσότερο σχετίζεται με τον τύπο της ανωμαλίας. Μερικά έντονα παραμορφωμένα ψάρια πιθανώς να εμφανίζουν και προβλήματα στα εσωτερικά τους όργανα φτάνοντας έτσι στον γρήγορο θάνατο. Όμως κάποιες ανωμαλίες όπως είναι για παράδειγμα οι σκελετικές είναι αντιστρέψιμες και η αποκατάσταση είναι δυνατή (Andrades *et al.*, 1996).

Έχουν γίνει πολλές εργασίες σχετικά με παραμορφώσεις ψαριών. Οι περισσότεροι ερευνητές προσπαθούν να κατηγοριοποιήσουν τις παραμορφώσεις ως προς αυτές που παρατηρούν και ως προς τα όργανα ή μέρη του σώματος που οι δυσμορφίες αυτές επηρεάζουν. Συνήθως αναφέρονται σε καρδιαγγειακά προβλήματα, σε παραμορφώσεις κρανίου και λεκιθικού σάκου καθώς επίσης και σε οίδημα και αιμορραγίες. Πρώτος όμως ο Munkittrick (1989) προσπάθησε να περιγράψει τους πιο κοινούς τύπους ανωμαλιών που παρατήρησε σε λάρβες του είδους *Catostomus commers* και τις χώρισε στις κατηγορίες, L-shaped, C-shaped, λεκιθικού σάκου, δύο κεφάλια και κοντό σώμα (Jezierska, 2000, Munkittrick *et al.*, 1989).

Για τις νεοεκκολαφθείσες λάρβες του κυπρίνου η Jezierska (2000) πρότεινε και παρουσίασε ένα σύστημα ταξινόμησης των διαφόρων παραμορφώσεων του σώματος.

Διακρίνει τους εξής κύριους τύπους:

Τύπος ανωμαλίας	Φωτογραφία
1. σκελετικές ανωμαλίες	
2. σχήμα σώματος C	
3. παραμόρφωση κρανίου	
4. παραμόρφωση ματιών	
5. δυσμορφία λεκιθικού σάκου	
6. καρδιακό σίδημα	
7. κοντό σώμα	
8. δίδυμοι μορφή	

10. Υλικά και Μέθοδοι

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται λεπτομερής ανάλυση των υλικών και μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα της έρευνας. Τα πειράματα διεξήχθησαν στο Εργαστήριο Ζωολογίας του τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

10.1 Αλίευση γεννητόρων

Η αλίευση των γεννητόρων, θηλυκών και αρσενικών, έγινε από την λίμνη Παμβώτιδα την άνοιξη του 2007, όταν δηλαδή πλησίαζαν για την γονιμοποίηση και την ενεργοποίηση των αβγών τους. Η αλίευσή τους έγινε με την μέθοδο της ηλεκτραλιείας.

Τα θηλυκά άτομα που αλιεύθηκαν ήταν όλα *C. gibelio*. Έγινε προσπάθεια, όσο αυτό ήταν δυνατό, να αλιευθούν κάθε φορά άτομα διαφορετικού βάρους και διαφορετικής ηλικίας έτσι ώστε τα αβγά που θα παρθούν να είναι διαφορετικών μεγεθών.

Τα αρσενικά άτομα που αλιεύθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν ως δότες σπέρματος στις αναπαραγωγικές διαδικασίες, ανήκαν σε 4 διαφορετικά είδη της οικογένειας των Cyprinadae. Το είδος και ο αριθμός τους εξαρτιόταν κάθε φορά από το πόσο αυτά ήταν διαθέσιμα στα αλιευτικά πεδία την ημέρα της αλίευσης. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν τα εξής αρσενικά άτομα:

1. *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) (χρυσόψαρο)
2. *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) (κυπρίνος)
3. *Rutilus pannosi* (Economidis, 1991) (δρομίτσα)
4. *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) (αρσενική πεταλούδα)

Στις πέντε διαφορετικές ημερομηνίες μέσα στον Μάρτιο και τον Απρίλιο που έγινε προσπάθεια αλίευσης γεννητόρων, αλιεύθηκαν συνολικά:

- ο 21 άτομα θηλυκά άτομα *Carassius gibelio*,
- ο 18 άτομα αρσενικών *Carassius gibelio*,
- ο 1 αρσενικό άτομο *Cyprinus carpio*,
- ο 6 αρσενικά άτομα *Carassius auratus* και
- ο 2 αρσενικά άτομα *Rutilus pannosi*.

10.2 Γεννήτορες στο εργαστήριο

Οι γεννήτορες μετά την αλίευση μεταφερόταν στο εργαστήριο Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για να γίνει η διαδικασία της τεχνητής αναπαραγωγής. Μόλις ερχόταν στο εργαστήριο σε κάθε γεννήτορα δινόταν ένας διαφορετικός κωδικός που αποτελούταν από ένα γράμμα και ένα αριθμό. Το γράμμα χαρακτηρίζει το είδος ψαριού που άνηκε ο εκάστοτε γεννήτορας και ο αριθμός τη σειρά με την οποία εισήλθε στο εργαστήριο (1,2,3 κλπ). Έτσι:

- ο Τα θηλυκά άτομα του *C. gibelio* είχαν ως αρχικό γράμμα το G
- ο Τα αρσενικά άτομα του *C. gibelio*, το γράμμα A
- ο Τα αρσενικά άτομα του *C. carpio*, το γράμμα K
- ο Τα αρσενικά άτομα του *C. auratus* το γράμμα X
- ο Αρσενικά άτομα του *R. pannosi*, το γράμμα R

Για παράδειγμα ο γεννήτορας G1 ήταν το πρώτο θηλυκό άτομο *C. gibelio* που ήρθε στο εργαστήριο.

Κατά την έλευση τους στο εργαστήριο λαμβάνονταν οι εξής μετρήσεις και στοιχεία:

- ο Το βάρος κάθε γεννήτορα με ψηφιακό ζυγό.
- ο Για τον υπολογισμό του σταθερού μήκους γινόταν φωτογράφιση κάθε ψαριού σε λευκό φόντο με απλωμένα πτερύγια, με φωτογραφική μηχανή Sony. Σε κάθε φωτογράφιση υπήρχε χάρακας καθώς και το όνομα του ψαριού, το βάρος του και η ημερομηνία αλίευσής του.
- ο Για τον υπολογισμό της ηλικίας λαμβανόταν 5 λέπια από κάθε ψάρι. Σε κάθε φάκελο που τοποθετούνταν τα λέπια, γραφόταν το όνομα του γεννήτορα, το φύλλο του και η ημερομηνία αλίευσής του.
- ο Από τους αρσενικούς γεννήτορες η λήψη του σπέρματος γινόταν με αφαίρεση της γονάδας τους και έκθλιψή της μέσα από γάζα, σε ποτήρι ζέσεως. Το σπέρμα αραιωνόταν με κρύο διάλυμα Hanks σε αναλογία 3:1 (σπέρμα: Hanks). Το ποτήρι ζέσεως βρισκόταν καθ' όλη την διαδικασία μέσα σε πάγο.
- ο Από τους θηλυκούς γεννήτορες γινόταν λήψη των αβγών τους με ελαφρά πίεση στην κοιλιά, με κατεύθυνση από την κοιλιά προς τον γεννητικό πόρο, σε τριβλίο Petri προσέχοντας πάντα να μην πέσει καθόλου ποσότητα νερού μέσα στο τριβλίο από το σώμα του ψαριού. Το τριβλίο αναδευόταν απαλά έτσι ώστε τα αβγά να σχηματίσουν ένα μονό ομοιογενές στρώμα μέσα σε



αυτό. Από ορισμένα θηλυκά άτομα, αφαιρούταν η γονάδα τους και ζυγιζόταν στον ψυφιακό ζυγό, για τον υπολογισμό του γοναδοσωματικού δείκτη.

10.3 Τεχνητή γονιμοποίηση – Επώαση

10.3.1 Τεχνητή γονιμοποίηση

Σε κάθε ξεχωριστό τρυβλίο, μετά τη διαδικασία λήψης των ωαρίων από τα θηλυκά άτομα, εισάγαμε μέσω σύριγγας 1ml σπέρματος και μικρής ποσότητας νερού. Πριν την εισαγωγή του σπέρματος γινόταν θέρμανση του και έλεγχος της κινητικότητας του με παρατήρηση της άτακτης κίνησης των σπερματοζωαρίων σε μικροσκόπιο. Για καλύτερη ανάμειξη του γενετικού υλικού στο τριβλίο έγινε απαλή ανάδευση 1 λεπτό. Στη συνέχεια η περίσσεια νερού απορροφούνταν χωρίς όμως να κουνηθούν καθόλου τα αβγά. Επειδή τα αβγά της πεταλούδας είναι κολλώδη προσκολλούνταν πάνω στο τριβλίο.

Σε κάθε αναπαραγωγική διαδικασία γινόταν διασταυρώσεις μεταξύ όλων των πιθανών συνδυασμών θηλυκών και αρσενικών ατόμων που υπήρχαν διαθέσιμοι στο εργαστήριο και έδιναν γεννητικά προϊόντα.

10.3.2 Ακτινοβολία σπέρματος με υπεριώδη ακτινοβολία

Σε κάποιες από τις διασταυρώσεις το σπέρμα ακτινοβολήθηκε με υπεριώδη ακτινοβολία UV. Αυτό έγινε γιατί η χρήση ακτινοβολίας UV είναι μια μέθοδος απενεργοποίησης της γενετικής πληροφορίας, που μεταφέρεται από το σπέρμα, κάνοντας έτσι το σπέρμα ανενεργό κατά την γονιμοποίηση (Πάσχος, 2002).

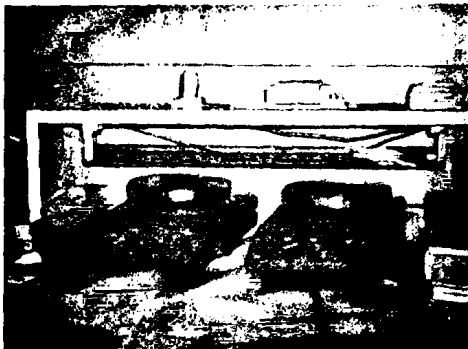
Πιο συγκεκριμένα, ένα λεπτό στρώμα σπέρματος τοποθετήθηκε κάτω από λάμπα UV (G15T8, Philips) με δόση 70 J/cm^2 , για χρονικό διάστημα 20 λεπτών. Το δοχείο με το σπέρμα βρισκόταν σε απόσταση 2.5 εκατοστά από την λάμπα UV και κάτω από το δοχείο υπήρχε πάγος, για να αντιμετωπισθεί η υψηλή θερμοκρασία που παραγόταν κατά την διάρκεια της έκθεσης. Σε όλη την διάρκεια της ακτινοβολήσης, το δοχείο με το σπέρμα αναδευόταν με ηλεκτρονικό αναδευτήρα (Εικόνα 11).

Η δόση και η διάρκεια έκθεσης των σπερματοζωαρίων στην ακτινοβολία έχει υπολογιστεί εμπειρικά από παρόμοια πειράματα που έχουν γίνει με το ίδιο είδος ψαριού, στο χώρο του εργαστηρίου της Ζωολογίας, τα προηγούμενα έτη.



Μεγαλύτερες τιμές θανάτωναν τα σπερματοζώαρια και μείωναν την κινητικότητα του σπέρματος.

Έπειτα για την γονιμοποίηση με το ακτινοβολημένο πια σπέρμα, ακολουθούταν η ίδια διαδικασία γονιμοποίησης που περιγράφεται στην ενότητα 10.3.1.



Εικόνα 11 - Η λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας UV, στον χώρο του εργαστηρίου

10.3.3 Επώαση

Για να επωαστούν τα αβγά, τα τριβλία τοποθετούνταν, με κάθετη φορά, μέσα σε πλαστικά δοχεία γεμάτα με αποχλωριωμένο νερό και παροχή οξυγόνου. Κάθε διασταύρωση τοποθετούταν και σε διαφορετικό δοχείο (Εικόνα 12). Στην επιφάνεια του δοχείου γραφόταν οι γεννήτορες των γονιμοποιημένων αβγών καθώς επίσης και αν το σπέρμα είχε ακτινοβοληθεί ή όχι με υπεριώδη ακτινοβολία UV.



Εικόνα 12 - Τα πλαστικά δοχεία που χρησιμοποιούταν για την επώαση των αβγών. Οι σωλήνες στο επάνω μέρος είναι η σωλήνες παροχής οξυγόνου

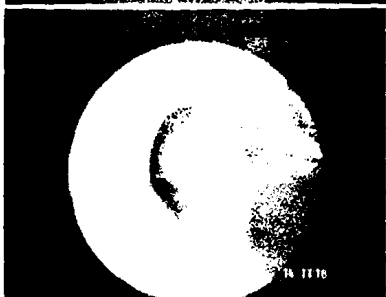
Σε όλη την διάρκεια της επώασης των αβγών μέχρι την εκκόλαψή τους γινόταν συνεχείς αλλαγές στο νερό των δοχείων, με καθαρό αποχλωριωμένο νερό. Επιπλέον γινόταν συνεχής έλεγχος για προσβολές από μύκητες ή ύπαρξη τροχόζων και μέχρι το τέλος των πειραμάτων κανένα πρόβλημα δεν αναφέρθηκε. Η θερμοκρασία του δωματίου παρέμενε σταθερή στους 25° C, με τη βοήθεια

κλιματιστικών μηχανημάτων, με κύριο σκοπό την επίτευξη της καλύτερης θερμοκρασίας νερού για την επώαση των αυγών. Επίσης γινόταν παρακολούθηση της εμβρυογένεσης κάτω από ηλεκτρονικό στερεοσκόπιο. Από το στερεοσκόπιο φαινόταν καθαρά ο σχηματισμός της λάρβας μέσα στο αυγό με το πέρασμα του χρόνου (Εικόνα 13). Τακτικός έλεγχος γίνονταν για την ζωτικότητα της λάρβας, λαμβάνοντας υπόψη τους εξής παράγοντες: 1) την κίνηση της λάρβας μέσα στο αυγό, 2) την ροή του αίματος μέσα στο σώμα της λάρβας και 3) τον χτύπο της καρδιάς της λάρβας.



Εικόνα 13

24 ώρες μετά την γονιμοποίηση. Ήδη έχει αρχίσει και σχηματίζεται η κυτταρική διαίρεση.



44 ώρες μετά την γονιμοποίηση. Το σώμα της λάρβας έχει σχηματιστεί και το μάτι της διακρίνεται καθαρά.

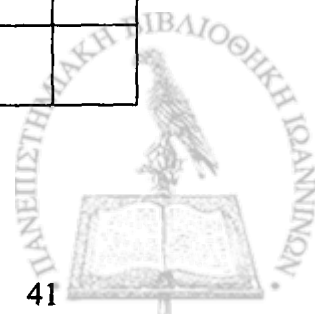


60 ώρες μετά την γονιμοποίηση. Η λάρβα έχει σχηματιστεί κανονικά και το αυγό είναι έτοιμο να εκκολαφθεί.

Στον Πίνακα 3 που ακολουθεί έχουν καταγραφεί όλες οι διασταυρώσεις που έγιναν μεταξύ θηλυκών και αρσενικών ατόμων, με χρήση ή όχι της ακτινοβολίας UV. Με μπλε χρώμα φαίνονται οι διασταυρώσεις που έδωσαν βιώσιμους απογόνους. Με πορτοκαλί χρώμα φαίνονται οι διασταυρώσεις που είτε έδωσαν πολύ μικρό αριθμό βιώσιμων απογόνων, είτε δεν έγινε καθόλου παρακολούθησή τους. Η ονομασία των γεννητόρων έχει αναλυθεί παραπάνω.

Πίνακας 3 - Διασταυρώσεις που έγιναν στο εργαστήριο, με χρήση ή όχι ακτινοβολίας UV.

♀ / ♂	X1	X2	X3	X4	X5	X6	A1	A2	A13	A15	R1	R2	K1
G1	UV- UV+						UV-						
G2	UV- UV+												
G3	UV- UV+												
G4		UV- UV+						UV- UV+			UV-		
G5		UV- UV+						UV- UV+			UV-		
G6		UV- UV+						UV- UV+			UV-		
G7			UV+									UV-	
G8			UV- UV+									UV- UV+	
G9			UV- UV+									UV- UV+	
G10				UV- UV+									
G11				UV- UV+									
G12				UV- UV+									
G13				UV- UV+									
G14					UV-				UV-				UV-
G15					UV- UV+								UV- UV+
G16					UV- UV+								UV- UV+
G17										UV- UV+			
G18						UV-							
G19						UV-							
G20						UV-							
G21						UV-							

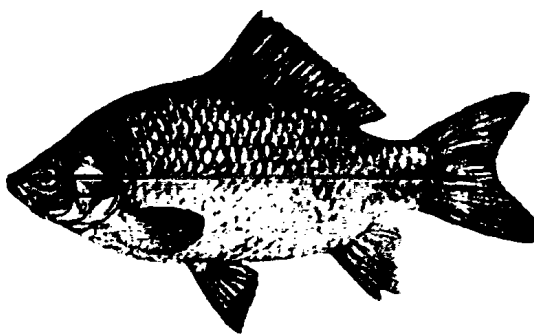


10.4 Μέτρηση ηλικίας γεννητόρων

Για τον προσδιορισμό της ηλικίας των γεννητόρων, χρησιμοποιήθηκαν λέπια, τα οποία λαμβανόταν από το πρόσθιο τμήμα του σώματος του εκάστοτε γεννήτορα, στην περιοχή που ορίζεται από την πλευρική γραμμή και το πρόσθιο άκρο του ραχιαίου πτερυγίου. Από κάθε άτομο λαμβάνονταν πέντε λέπια, τα οποία αφού καθαριζόταν, στη συνέχεια ξεπλενόταν με άφθονο νερό και τοποθετούνταν ανάμεσα σε δύο αντικειμενοφόρους πλάκες οι οποίες στερεώνονταν με ταινία στα άκρα τους. Η ανάγνωση της ηλικίας στηρίζεται στην ύπαρξη διαδοχικών ζωνών που σχηματίζονται κατά τις περιόδους ταχείας και βραδείας ανάπτυξης του ψαριού. Για την παρατήρησή τους χρησιμοποιήθηκε στερεοσκόπιο διατηρώντας σταθερή την μεγέθυνση. Σε κάθε λέπι μετρήθηκε η ο αριθμός των ετήσιων δακτυλίων και μέσω αυτού προσδιορίστηκε η ηλικία του κάθε ατόμου. Το κάθε λέπι παρατηρήθηκε δύο φορές. Έπειτα τα αποτελέσματα του υπολογισμού της ηλικίας συγκρίθηκαν με τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του ψαριού όπως μήκος, βάρος, φύλο για να ελεγχθεί εάν υπάρχει κάποια αντίθεση μεταξύ αυτών.

10.5 Μέτρηση σταθερού μήκους (Standard Length - Stl)

Ως σταθερό μήκος του ψαριού λαμβανόταν η απόσταση μεταξύ του πρόσθιου μέρους της κεφαλής με το ρύγχος κλειστό και της αρχής του ουραίου πτερυγίου (Εικόνα 14). Οι γεννήτορες φωτογραφήθηκαν σε λευκό φόντο με απλωμένα πτερύγια, με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή Sony. Σε κάθε φωτογράφιση υπήρχε χάρακας που χρησιμοποιήθηκε ως κλίμακα για το καλιμπράρισμα των μετρήσεων. Η μέτρηση του σταθερού μήκους έγινε με την επεξεργασία των φωτογραφιών, μέσω του υπολογιστικού προγράμματος Image pro plus 4.5.



Εικόνα 14 – Μέτρηση σταθερού μήκους

Χρησιμοποιήθηκε αυτός ο τρόπος για να έχουμε αποτελέσματα με μεγαλύτερη ακρίβεια σε σχέση με αυτές της άμεσης μέτρησης με χάρακα.

10.6 Μέτρηση διαμέτρου αβγών

Η μέτρηση της διαμέτρου των αβγών έγινε με τη χρήση φωτογραφικής μηχανής. Τα αβγά φωτογραφήθηκαν την στιγμή που αυτά λήφθηκαν από τον θηλυκό γεννήτορα λίγο πριν γονιμοποιηθούν με το σπέρμα του αρσενικού ψαριού. Την στιγμή της φωτογράφισης βρισκόταν μέσα σε τριβλίο Petri σχηματίζοντας ένα μονό ομοιογενές στρώμα. Κατά την λήψη των αβγών από το σώμα του γεννήτορα, δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή να μην πέσει καθόλου ποσότητα νερού μέσα στο τριβλίο με τα αβγά, από το σώμα του ψαριού, για να μην επηρεάσει το μέγεθος των αβγών. Η φωτογράφιση έγινε με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή Sony, σε σκούρο φόντο για καλύτερη ευκρίνεια. Σε κάθε φωτογράφιση υπήρχε χάρακας που χρησιμοποιήθηκε ως κλίμακα για το καλιμπράρισμα των μετρήσεων, καθώς επίσης και τα ονόματα του θηλυκού γεννήτορα από τον οποίο προερχόταν τα αβγά αλλά και του αρσενικού γεννήτορα, το σπέρμα του οποίου θα γονιμοποιούσε έπειτα τα αβγά (Εικόνα 15).



Εικόνα 15 - Αγονιμοποίητα αβγά θηλυκής πεταλούδας που φωτογραφήθηκαν για μέτρηση της διαμέτρου τους

Η μέτρηση της διαμέτρου κάθε αβγού έγινε με επεξεργασία των φωτογραφιών, μέσω του υπολογιστικού προγράμματος Image pro plus 4.5. Από κάθε φωτογραφία μετρήθηκαν οι διάμετροι 80 αβγών, επιλέγοντας όσο το δυνατόν πιο αντιπροσωπευτικό δείγμα. Συνολικά μετρήθηκε η διάμετρος από 4014 αβγά.

Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (ver. 14.0).

10.6 Μέτρηση διαμέτρου αβγών

Η μέτρηση της διαμέτρου των αβγών έγινε με τη χρήση φωτογραφικής μηχανής. Τα αβγά φωτογραφήθηκαν την στιγμή που αυτά λήφθηκαν από τον θηλυκό γεννήτορα λίγο πριν γονιμοποιηθούν με το σπέρμα του αρσενικού ψαριού. Την στιγμή της φωτογράφισης βρισκόταν μέσα σε τριβλίο Petri σχηματίζοντας ένα μονό ομοιογενές στρώμα. Κατά την λήψη των αβγών από το σώμα του γεννήτορα, δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή να μην πέσει καθόλου ποσότητα νερού μέσα στο τριβλίο με τα αβγά, από το σώμα του ψαριού, για να μην επηρεάσει το μέγεθος των αβγών. Η φωτογράφιση έγινε με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή Sony, σε σκούρο φόντο για καλύτερη ευκρίνεια. Σε κάθε φωτογράφιση υπήρχε χάρακας που χρησιμοποιήθηκε ως κλίμακα για το καλιμπράρισμα των μετρήσεων, καθώς επίσης και τα ονόματα του θηλυκού γεννήτορα από τον οποίο προερχόταν τα αβγά αλλά και του αρσενικού γεννήτορα, το σπέρμα του οποίου θα γονιμοποιούσε έπειτα τα αβγά (Εικόνα 15).



Εικόνα 15 - Αγονιμοποίητα αβγά θηλυκής πεταλούδας που φωτογραφήθηκαν για μέτρηση της διαμέτρου τους

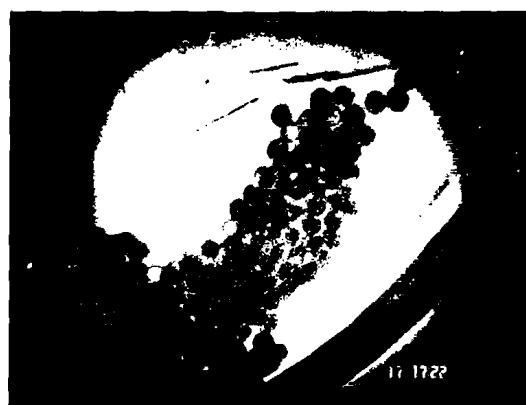
Η μέτρηση της διαμέτρου κάθε αβγού έγινε με επεξεργασία των φωτογραφιών, μέσω του υπολογιστικού προγράμματος Image pro plus 4.5. Από κάθε φωτογραφία μετρήθηκαν οι διάμετροι 80 αβγών, επιλέγοντας όσο το δυνατόν πιο αντιπροσωπευτικό δείγμα. Συνολικά μετρήθηκε η διάμετρος από 4014 αβγά.

Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (ver. 14.0).

10.7 Έλεγχος του ποσοστού επιβίωσης των εμβρύων

Κατά την διάρκεια της επώασης των αβγών γινόταν περιοδική φωτογράφιση επιλεγμένης περιοχής των επωαζόμενων αβγών, η οποία επιλέχθηκε τυχαία. φωτογράφιση γινόταν κάθε 24 ώρες. Στόχος ήταν η καταμέτρηση του αριθμού τα ζωντανών και νεκρών αβγών στην ίδια περιοχή, ως προς το πέρασμα του χρόνου. Επειδή το μέγεθος των αβγών της πεταλούδας είναι πολύ μικρό η φωτογράφιση έγινε με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή η οποία είχε συνδεθεί με ηλεκτρονικό στερεοσκόπιο. Στην Εικόνα 16 που ακολουθεί φαίνεται η διαδοχική φωτογράφιση της ίδιας περιοχής των εκκολαπτόμενων αβγών.



24 ώρες



48 ώρες



72 ώρες

Εικόνα 16 - Διαδοχική φωτογράφιση των αβγών κατά την διάρκεια της επώασής τους

Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και ο υπολογισμός των ποσοστών γονιμότητας έγινε μέσω το υπολογιστικού προγράμματος Excel.



10.8 Μέτρηση εμβαδού τμημάτων του σώματος των λαρβών

Σε όλες τις φωτογραφίες των λαρβών της πρώτης μέρας έγιν εμβαδού του σώματος τους καθώς και κάποιων οργάνων τους (Ει συγκεκριμένα μετρήθηκε το εμβαδό: του λεκιθικού σάκου, του ραχι του κοιλιακού πτερυγίου, του ματιού και του σώματος της λάρβας.



Εικόνα 17 - Το σώμα της λάρβας είναι χρωματισμένο με διαφορετικά χρώμα περιοχή που μετρήθηκε το εμβαδόν κάθε οργάνου της λάρβας. Με κίτρινο χρώμα του λεκιθικού σάκου, με κόκκινο τα πτερύγια, με μπλε το σώμα της λάρβας και μ της.

Η μέτρηση του εμβαδού έγινε με τη βοήθεια των προγραμμάτων P ImagePro.

Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τ πρόγραμμα SPSS (ver. 14.0).

10.9 Μέτρηση αριθμού λαρβών που εκκολάπτονταν ανά ώρα

Από την στιγμή της εκκόλαψης της πρώτης λάρβας έως και το τέλος της εκκόλαψης, γινόταν συνεχής καταμέτρηση του αριθμού των εκκολαπτόμενων λαρβών. Κάθε μια ώρα μετριόταν ο αριθμός των λαρβών που είχαν εκκολαφθεί και μεταφερόταν σε διαφορετικά πλαστικά δοχεία με παροχή οξυγόνου όπου και παρέμεναν για εκτροφή. Το 30% των λαρβών που εκκολαπτόταν κάθε ώρα δεν πήγαινε στα δοχεία εκτροφής αλλά φωτογραφιζόταν για έλεγχο ανωμαλιών.

Στατιστική επεξεργασία

Ο αριθμός των λαρβών που εκκολάπτονταν καταγραφόταν σε πίνακα με δύο στήλες. Στην πρώτη στήλη υπήρχε ο αριθμός των ωρών που είχαν περάσει από την ώρα της γονιμοποίησης και στην δεύτερη στήλη ο αριθμός των λαρβών που εκκολάπτονταν την αντίστοιχη ώρα. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (ver. 14.0).

10.10 Έλεγχος παραμορφώσεων στις λάρβες πρώτης ημέρας

Όπως προαναφέρθηκε στην ενότητα 10.9, το 30% των λαρβών που εκκολαπτόταν κάθε ώρα δεν πήγαινε στα δοχεία εκτροφής αλλά φωτογραφιζόταν για έλεγχο ανωμαλιών. Η φωτογράφιση έγινε με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή Sony η οποία είχε συνδεθεί με ηλεκτρονικό στερεοσκόπιο. Η ακινητοποίηση των λαρβών τη στιγμή της φωτογράφισης επιτεύχθηκε με χρήση φορμόλης 4%.

Οι ανώμαλες λάρβες διακρίθηκαν χρησιμοποιώντας ως πρότυπο την τροποποιημένη μέθοδο της Jezierska (2000), η οποία έκανε μια παρόμοια εργασία ελέγχοντας ανωμαλίες σε λάρβες κυπρίνου. Σε λίστα σημειώθηκε η απουσία ή η παρουσία ανωμαλίας ανά άτομο, από 4 διαφορετικές κατηγορίες σκελετικών παραμορφώσεων. Σε κάθε κατηγορία υπήρχαν υποκατηγορίες οι οποίες αναφέρονται παρακάτω. Συνολικά εξετάστηκαν 2621 φωτογραφίες λαρβών.

Κατηγορίες παραμορφώσεων

- Δυσμορφίες λεκιθικού σάκου
 - _ μικρός λεκιθικός σάκος
 - _ μεγάλος λεκιθικός σάκος

- Δυσμορφίες αναλογιών σώματος
 - _ λάρβα με κοντό σώμα
 - _ σώμα με μορφή σχήματος C (c-shapred)

- Δυσμορφίες σπονδυλικής στήλης
 - _ λόρδωση
 - _ κύφωση
 - _ σκολίωση
 - _ ανωμαλίες ουράς

- Δυσμορφίες ματιών
 - _ θολά μάτια
 - _ αποχρωματισμένα μάτια

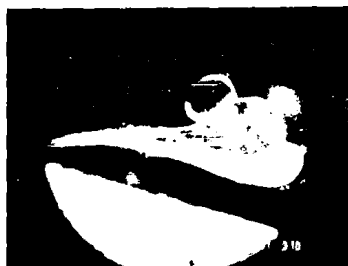
Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (ver. 14.0).

Δυσμορφίες λεκιθικού σάκου



Μικρός λεκιθικός σάκος

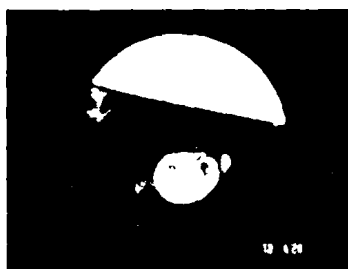


Σχήμα λεκιθικού σάκου

Δυσμορφίες αναλογιών σώματος



Λάρβα με κοντό σώμα



Σχήμα σώματος C (c-shaped)

Δυσμορφίες σπονδυλικής στήλης



Λόρδωση



Κύφωση



Σκολίωση

Δυσμορφίες ματιών



Θολά μάτια



Αποχρωματισμένα μάτια

11. Αποτελέσματα

11.1 Μέτρηση ηλικίας γεννητόρων

Η γνώση της ηλικίας των γεννητόρων είναι απαραίτητη για να ελεγχθεί κατά πόσο κάθε ηλικιακή ομάδα επηρεάζει το μέγεθος των αβγών και τις παραγόμενες λάρβες. Κατά τη διάρκεια της παρατήρησης του καθ' ενός λεπιού βρέθηκαν αρκετά λέπια από αναγέννηση. Σε αυτά, οι ετήσιοι δακτύλιοι δεν αναγνωριζόταν και έτσι δεν χρησιμοποιήθηκαν στον προσδιορισμό της ηλικίας. Στα περισσότερα λέπια υπήρχαν επίσης ψευδοδακτύλιοι, αλλά ήταν εύκολος ο διαχωρισμός τους από τους κανονικούς ετήσιους δακτυλίους του λεπιού και δεν λήφθηκαν υπόψη κατά την μέτρηση της ηλικίας κάθε γεννήτορα. Όσον αφορά την ηλικία των ειδών που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα αυτό, τα αποτελέσματα ήταν τα εξής:

11.1.α. Θηλυκά *Carassius gibelio*

Τα θηλυκά άτομα του *Carassius gibelio* που αλιεύθηκαν ανήκαν σε ηλικίες από 1 έως 6 ετών (Πίνακα 4). Η μέση ηλικία των θηλυκών γεννητόρων ήταν 3 ετών. Δεν υπήρξε συσχετισμός των ηλικιών των ψαριών με το μήνα που έγινε η κάθε αλίευση.

Πίνακας 4 - Ανάλυση των θηλυκών ατόμων του *C. gibelio* ανά ηλικία

Ηλικία (έτος)	Αριθμός ατόμων
1	1
2	3
3	10
4	1
5	1
6	3

11.1.β. Αρσενικά *Carassius gibelio*

Τα αρσενικά άτομα του *Carassius gibelio* που αλιεύθηκαν ανήκαν σε δύο ηλικιακές ομάδες των τριών και πέντε ετών. Πιο συγκεκριμένα, αλιεύθηκαν 16 άτομα ηλικίας τριών (-3-) ετών και 2 άτομα ηλικίας πέντε (-5-) ετών. Από τα 18 αρσενικά



που χρησιμοποιήθηκαν στις αναπαραγωγικές διαδικασίες, μόλις δύο από αυτά ήταν γόνιμα και έδωσαν απογόνους και άνηκαν στην ηλικιακή ομάδα των 3 ετών.

Εδώ θα ήταν χρήσιμο να αναφέρουμε δύο βασικές παρατηρήσεις όσον αφορά τα αρσενικά άτομα του *Carassius gibelio*:

1. Ο αριθμός τους στην λίμνη Παμβώτιδα φαίνεται ότι τα τελευταία χρόνια αρχίζει και αυξάνεται. Στον Πίνακα 5 που ακολουθεί, φαίνεται ο αριθμός των αρσενικών ατόμων που βρέθηκε σε τυχαίο δείγμα που αλιεύθηκε από την λίμνη, για τα έτη 2005, 2006, 2007 (μη δημοσιευμένα στοιχεία).
2. Παρατηρήθηκε ότι όλα τα άτομα παρουσίαζαν μειωμένη ή σε πολλές περιπτώσεις καθόλου, κινητικότητα σπέρματος.

Πίνακας 5 - Αριθμός αρσενικών ατόμων *C. gibelio* που αλιεύθηκαν στην λίμνη Παμβώτιδα τα τρία τελευταία έτη (μη δημοσιευμένα στοιχεία).

Έτος	Αριθμός αρσενικών ατόμων <i>C. gibelio</i>
2005	3
2006	10
2007	18

11.1.γ. Αρσενικά *Carassius auratus*

Τα αρσενικά χρυσόψαρα *Carassius auratus* ανήκαν σε τρεις ηλικιακές ομάδες των δύο (-2-), τριών (-3-) και τεσσάρων (-4-) ετών (Πίνακα 6). Όλα τους ήταν γόνιμα και έδωσαν ικανοποιητικά ποσοστά γονιμότητας.

Πίνακας 6 - Ανάλυση των αρσενικών ατόμων του *C. auratus* ανά ηλικία

Ηλικία (έτος)	Αριθμός ατόμων
2	1
3	4
4	1

Η ηλικία των άλλων αρσενικών ατόμων του κυπρίνου και των *Rutilus pannosi*, δεν υπολογίστηκε, λόγω δυσκολίας προσδιορισμού της ηλικίας τους από τα λέπια.

11.2 Μέτρηση σταθερού μήκους (StL)

Στην παγκόσμια βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η αύξηση ενός ψαριού επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως είναι: η θερμοκρασία, η τροφή, η φωτοπερίοδος και γενικά οι περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν τη συγκεκριμένη χρονιά, ενώ η ηλικία δεν αντικατοπτρίζει με ακρίβεια το μέγεθος ενός ψαριού (Collum *et al.*, 2005). Βασιζόμενοι στις αναφορές αυτές κρίθηκε απαραίτητο να γίνει και υπολογισμός του σταθερού μήκους του κάθε γεννήτορα.

Το σταθερό μήκος των θηλυκών γεννητόρων του *C. gibelio* κυμαίνεται από 21,32 cm (2 ετών) έως 33,78 cm (6 ετών) (Δ4).

Οι αρσενικές πεταλούδες είχαν μικρότερο εύρος τιμών σταθερού μήκους, κάτι που ήταν λογικό αφού στην πλειοψηφία τους ήταν άτομα τριών (-3-) ετών. Το μικρότερο άτομο είχε σταθερό μήκος 20,87 cm (3 ετών) ενώ το μεγαλύτερο 27.73 cm και ήταν πέντε (- 5-) ετών.

Τα αρσενικά χρυσόψαρα τέλος έδειξαν μια εικόνα σταθερού μήκους μεταξύ 20,1 cm (2 ετών) έως 22,75 (3 ετών).

11.3 Διάμετρος αβγών

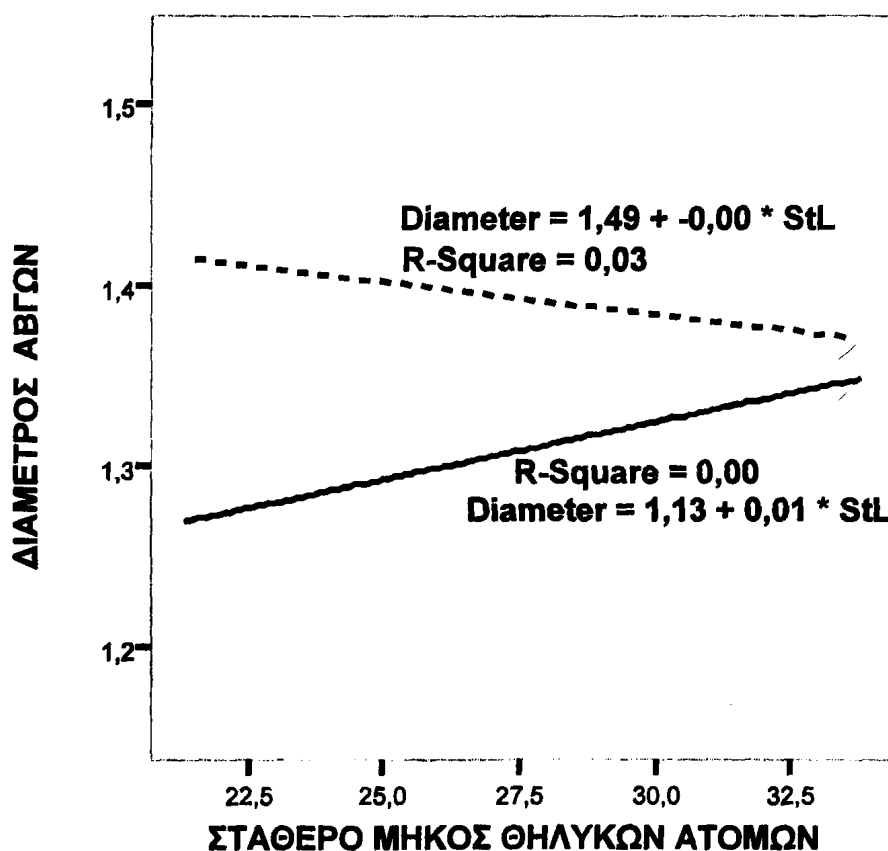
Πολλές μελέτες αναφέρουν ότι γενικά όσο το μέγεθος του ψαριού αυξάνει, τόσο η διάμετρος των αβγών μεγαλώνει. Αυτό το φαινόμενο έχει διαπιστωθεί και στον κοινό κυπρίνο (Brooks *et al.*, 1997).

Από τα δεδομένα του πειράματος, η διάμετρος των αβγών συγκρίθηκε με το σταθερό μήκος (StL) των θηλυκών γεννητόρων. Φάνηκε να μην υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0.001$) αυτών των δύο παραγόντων. Όταν όμως διαχωρίστηκαν ως προς τον μήνα τον οποίο αυτοί αλιεύθηκαν (Μάρτιος- Απρίλιος), διαπιστώθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($p > 0,001$) με τη διάμετρο των θηλυκών ατόμων που αλιεύθηκαν τον Μάρτιο, να είναι σημαντικά μεγαλύτερη αυτής του Απριλίου (Πίνακα 7- Διάγραμμα 1).

Πίνακας 7 – Ανάλυση διακύμανσης ANOVA, της διαμέτρου των αβγών με το σταθερό μήκος των θηλυκών γεννητόρων για τους μήνες Μάρτιο και Απρίλιο

ANOVA(b)							
Μήνας	Model		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Μάρτιος	1	Παλινδρόμηση	,006	1	,006	,253	,615(a)
		Residual	52,176	2310	,023		
		Ολικό	52,182	2311			
Απρίλιος	1	Παλινδρόμηση	1,087	1	1,087	47,574	,000(a)
		Residual	33,384	1461	,023		
		Ολικό	34,471	1462			
A Predictors: (Σταθερή), StL							
B Εξαρτώμενη μεταβλητή: Διάμετρος							

Στο διάγραμμα 1 που ακολουθεί φαίνονται οι καμπύλες για κάθε μήνα ξεχωριστά



Διακεκομμένη γραμμή : μετρήσεις του Μαρτίου.

Συνεχόμενη γραμμή : μετρήσεις του Απριλίου

Διάγραμμα 1 - Οι καμπύλες του σταθερού μήκους των θηλυκών γεννητόρων ως προς τα παραγόμενα αβγά τους, διαχωρισμένες για τους μήνες Μάρτιο και Απρίλιο

Παρατηρήθηκαν τα κάτωθι:.

- Τα θηλυκά άτομα που αλιεύθηκαν και αναπαράχθηκαν τον μήνα Μάρτιο παρουσίασαν σταθερές τιμές στις διαμέτρους των αβγών τους, ανεξάρτητα από το μήκος τους.
- Αντιθέτως τα θηλυκά άτομα που αλιεύθηκαν τον μήνα Απρίλιο παρουσίασαν μια τελείως διαφορετική εικόνα. Οι διάμετροι των αβγών τους μεταβλήθηκαν ανάλογα με το μήκος τους. Τα μικρότερα ψάρια έδωσαν αβγά μικρών διαμέτρων και τα μεγαλύτερα σε μήκος ψάρια έδωσαν αβγά μεγαλύτερης διαμέτρου, με όμοιες τιμές με τις διαμέτρους των αβγών του Μαρτίου.

Επιπλέον έγινε έλεγχος της συσχέτισης της ηλικίας των θηλυκών γεννητόρων με το μέγεθος των αβγών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0.001$) μεταξύ της ηλικίας και της διαμέτρου των αβγών.

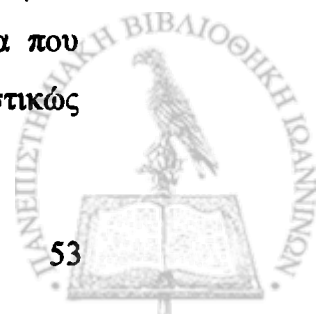
Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν το μέγεθος των αβγών ενός ψαριού όπως η διατροφή του θηλυκού ατόμου, το περιβάλλον όπου ζει ο θηλυκός γεννήτορας, η θερμοκρασία που επικρατεί, και το γεωγραφικό πλάτος είναι παρόμοιοι για όλους τους γεννήτορες του πειράματος οπότε δεν εξετάστηκαν.

11.4 Ποσοστό επιβίωσης των εμβρύων

Η μέτρηση του ποσοστού επιβίωσης των εμβρύων μέσα στο αβγό έγινε με τη διαδοχική φωτογράφιση τυχαία επιλεγμένης περιοχής των επωαζόμενων αβγών, κάθε 24 ώρες, με στόχο την καταμέτρηση του αριθμού των ζωντανών και νεκρών αβγών στην ίδια περιοχή, ως προς το πέρασμα του χρόνου.

Μετά τις πρώτες 24 ώρες από την γονιμοποίηση, μπορούσαν εύκολα να διακριθούν, από την αλλαγή στο χρώμα τους τα γονιμοποιημένα αβγά και η κυτταρική τους διαίρεση και τα μη γονιμοποιημένα αβγά που είχαν πεθάνει. Μετρώντας τον αριθμό τους, υπολογίστηκε το ποσοστό επιβίωσης για κάθε διασταύρωση.

Εξετάζοντας τα ποσοστά επιβίωσης 24 ώρες μετά τη γονιμοποίηση, στις αναπαραγωγές με τους τέσσερις διαφορετικούς τύπους αρσενικών γεννητόρων φάνηκε ότι υπάρχει εξάρτηση ως προς τον τύπο του αρσενικού γεννήτορα που χρησιμοποιήθηκε ως δότης σπέρματος (Πίνακα 8). Δεν υπήρξε στατιστικώς

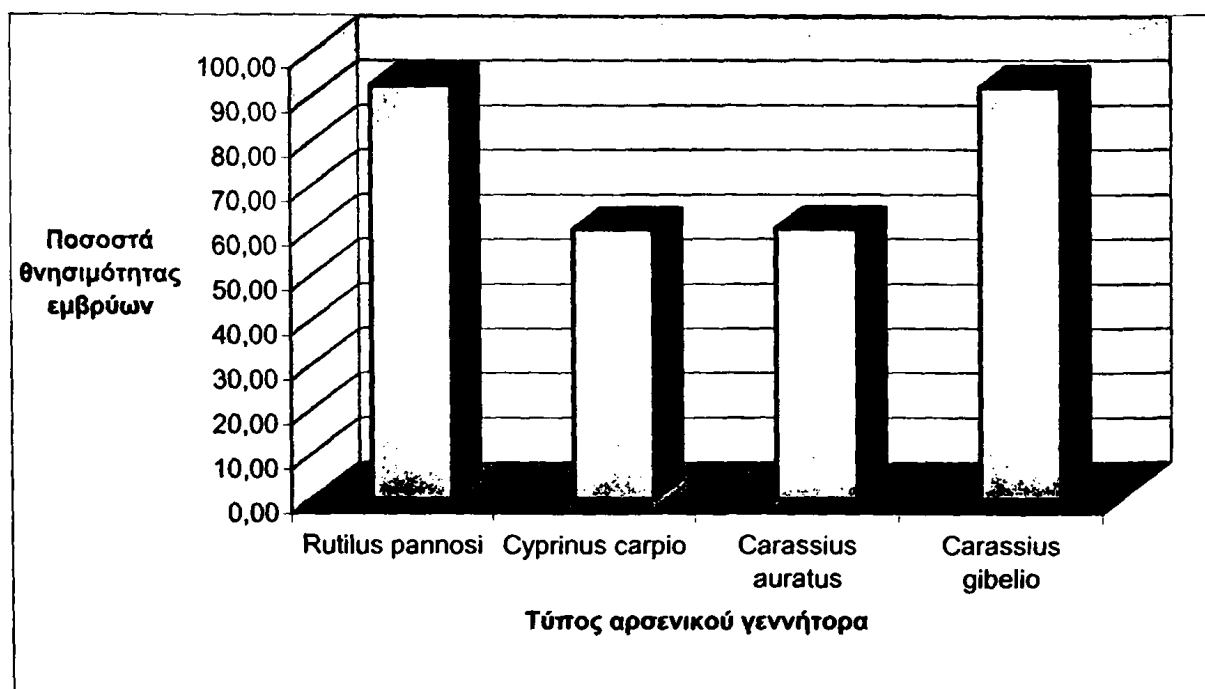


σημαντική διαφορά ($p>0.001$) μεταξύ του ποσοστού επιβίωσης του *Rutilus pannosi* από αυτό του *Carassius gibelio*. Παρομοίως, το ποσοστό επιβίωσης του *Cyprinus carpio* δε διέφερε στατιστικά ($p>0.001$) με αυτό του *Carassius auratus*.

Πίνακας 8 - Το ποσοστό της θνησιμότητας των εμβρύων μετά τις πρώτες 24 και 48 ώρες από την γονιμοποίηση

Αρσενικός γεννήτορας	24h	48h
<i>Rutilus pannosi</i>	92.78%	92.81%
<i>Cyprinus carpio</i>	60,48%	62,53%
<i>Carassius auratus</i>	60.68%	65.83%
<i>Carassius gibelio</i>	92.27%	92.59%

Όπως διαφαίνεται από τον πίνακα 8 αλλά και το διάγραμμα 2 οι αρσενικοί γεννήτορες *Rutilus pannosi* και *Carassius gibelio* έδωσαν πολύ χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης σε σχέση με τους άλλους αρσενικούς γεννήτορες. Σημαντικά μεγαλύτερα ποσοστά γονιμοποίησης εμφανίστηκαν όταν χρησιμοποιήθηκαν ως δότες σπέρματος το *Carassius auratus* και ο *Cyprinus carpio*.



Διάγραμμα 2 – Τα ποσοστά θνησιμότητας των εμβρύων τις πρώτες 24 ώρες μετά την γονιμοποίηση, χρησιμοποιώντας διαφορετικούς αρσενικούς γεννήτορες

Όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 11.1.β τα αρσενικά άτομα του *Carassius gibelio* είτε είχαν ελάχιστη ποσότητα σπέρματος στη γονάδα τους, είτε το σπέρμα τους δεν παρουσίαζε καμία κινητικότητα, και είχαν ως αποτέλεσμα και τα χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης του είδους. Από τα 18 αρσενικά του *C. gibelio* μόλις τα δύο από αυτά χρησιμοποιήθηκαν ως δότες σπέρματος έδωσαν απογόνους.

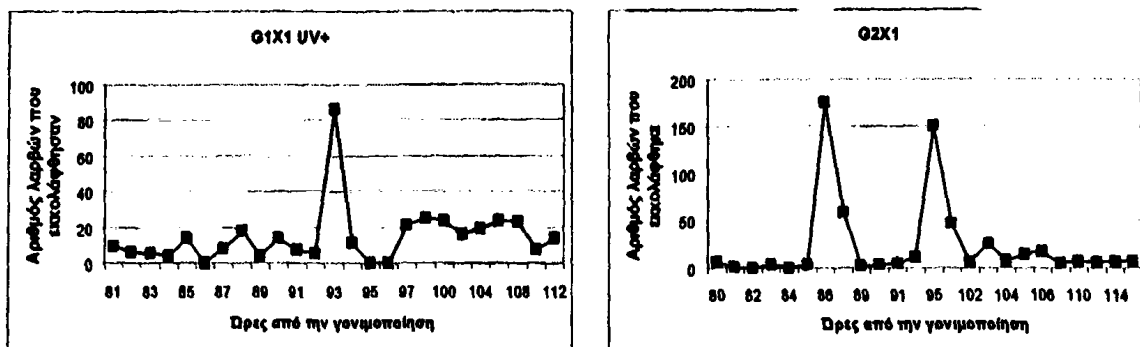
Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά το ποσοστό θνησιμότητας των εμβρύων μεταξύ των διαφόρων διασταυρώσεων στις τρεις διαφορετικές μετρήσεις που έγιναν στις διαδοχικές φωτογραφίες. Μετά τις πρώτες 24 ώρες, η θνησιμότητα των εμβρύων ήταν πολύ μικρή και δεν παρουσίαζε σημαντικές αποκλίσεις. Στις 48 και 72 ώρες μετά την γονιμοποίηση που ξαναμετρήθηκε το ποσοστό γονιμότητας, διαπιστώθηκε μια μικρή μείωση σε σχέση με το αρχικό ποσοστό σε όλες τις αναπαραγωγές. Επιπλέον, μη στατιστικά σημαντικές διαφορές βρέθηκαν στο συσχετισμό μεταξύ των θηλυκών γεννητόρων και του ποσοστού γονιμότητας. Επομένως, το ποσοστό γονιμότητας εξαρτάται μόνο από τους αρσενικούς δότες σπέρματος και από τους χειρισμούς της αναπαραγωγής.

11.5 Ρυθμός εκκόλαψης

Στο στάδιο της εκκόλαψης ο αυξημένος πλέον μεταβολισμός του εμβρύου, ενεργοποιεί ειδικά ένζυμα, τα οποία επιδρούν στο εσωτερικό του κελύφους του αβγού, το οποίο αδυνατίζει και διαρρηγνύεται, ώστε να απελευθερωθεί (Kimmel, 1995).

Κατά τη διάρκεια της επώασης προβλήματα με μυκητιάσεις ή με ύπαρξη τροχόζων δεν υπήρξαν, οπότε δεν έγινε χρήση κάποιου απολυμαντικού για να επιδράσει αρνητικά ή θετικά στην εκκόλαψη των αβγών. Επίσης επειδή ο χρόνος εκκόλαψης εξαρτάται από τη θερμοκρασία, η θερμοκρασία του δωματίου παρέμενε σταθερή στους 25° C, με τη βοήθεια κλιματιστικών μηχανημάτων, έχοντας ίδιες συνθήκες επώασης σε όλα τα αβγά του πειράματος.

Ο αριθμός των λαρβών που εκκολαπτόταν κάθε ώρα ακολουθούσε τον ρυθμό που φαίνεται στο διάγραμμα 3 που παρουσιάζουν το ρυθμό εκκόλαψης δύο τυχαίων διασταυρώσεων (μία με την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας).



Διάγραμμα 3 - Ρυθμός εκκόλαψης δύο τυχαίων διασταυρώσεων

Ως δείκτης του χρόνου εκκόλαψης χρησιμοποιήθηκε το T_{50} , που εκφράζει το χρόνο που εκκολάφθηκε το 50% των συνολικών λαβρών. Αποτελεί σημαντικό παράγοντα της εμβρυϊκής ανάπτυξης και είναι χαρακτηριστικός για κάθε είδος καθώς εκφράζει το χρόνο ωρίμανσης των εμβρύων.

Εξετάζοντας κατά πόσο το T_{50} εξαρτάται από το τύπο του δότη σπέρματος, βρέθηκε ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των δύο αυτών παραγόντων (Διάγραμμα 4). Μικρότερος χρόνος εκκόλαψης χρειάστηκε με δότη σπέρματος το *Rutilus pannosi*, ακολουθώντας με σημαντική διαφορά το *Cyprinus carpio*, έπειτα το *Carassius auratus* ενώ το μεγαλύτερο T_{50} παρουσιάστηκε όταν ως δότης σπέρματος χρησιμοποιήθηκε το *Carassius gibelio* (Διάγραμμα 3). Η διαφορά μεταξύ των μέσων ορών T_{50} από όλους του τύπους δοτών φάνηκε να είναι στατιστικά σημαντική ($p < 0.001$ - Πίνακα 9).

Πίνακας 9 - Στατιστική ανάλυση της σχέσης μεταξύ τύπου δότη σπέρματος και T_{50} ανά εποχή

Parameter Estimates

Month	Male	Parameter	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
March	C. auratus	b	,137	,001	,134	,140
		T	91,079	,049	90,983	91,176
	R. pannosi	b	,026	,003	,020	,031
		T	69,339	2,138	65,143	73,535
	C. gibelio	b	,475	,005	,464	,485
		T	93,479	,014	93,451	93,508
April	C. auratus	b	,210	,002	,206	,213
		T	75,839	,030	75,780	75,897
	C. carpio	b	,112	,002	,108	,115
		T	76,330	,089	76,155	76,505
	C. gibelio	b	,136	,006	,122	,149
		T	80,591	,316	79,949	81,234

Όσον αφορά το συσχετισμό μεταξύ του παράγοντα T_{50} με κάποια παράμετρο του θηλυκού γεννήτορα όπως η ηλικία ή το σταθερό μήκος, ήταν μη στατιστικά σημαντικός. Λαμβάνοντας ως παράμετρο την εποχή αλίσευσης των γεννητόρων, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 4, οι εκκολάψεις τον μήνα Απρίλιο έγιναν σε πολύ μικρότερο χρονικό διάστημα σε σχέση με τον Μάρτιο. Αυτό ήταν ένα αποτέλεσμα αναμενόμενο, αφού οι θερμοκρασίες του περιβάλλοντος τον μήνα Απρίλιο είναι αρκετά μεγαλύτερες από τον μήνα Μάρτιο.

11.6 Δυσμορφίες λαρβών

Στις νεοεκκολαφθήσες λάρβες πάντοτε, συναντάμε ένα μικρό ποσοστό δυσμορφιών ακόμη και αν οι συνθήκες είναι βέλτιστες. Έχουν γίνει πολλές εργασίες με παραμορφώσεις ψαριών στις οποίες έχουν κατηγοριοποιηθεί σε αυτές που είναι εμφανείς προς παρατήρηση και σε αυτές που επηρεάζουν συγκεκριμένα όργανα ή μέρη του σώματος των ψαριών.

Στην παρούσα εργασία για την παρατήρηση των δυσμορφιών στις λάρβες, χρησιμοποιήθηκε η τροποποιημένη μέθοδος της B. Jezierska (2000), η οποία ξεχωρίζει τις δυσμορφίες των λαρβών σε τέσσερις βασικές κατηγορίες, δυσμορφίες λεκιθικού σάκου, αναλογιών σώματος, ματιών και σπονδυλικής στήλης.

Η εξέταση έδειξε ότι στο συγκεκριμένο πείραμα υπερίσχυσαν τα άτομα με ανωμαλίες της σπονδυλικής στήλης δηλαδή κύφωση, λόρδωση και σκολίωση. Ακολουθούν οι ανωμαλίες του λεκιθικού σάκου και αυτές με κοντό σώμα ή σχήμα σώματος τύπου c. Οι λάρβες με προβλήματα στα μάτια τους ήταν ελάχιστες. Όμως ο διαχωρισμός στον τύπο ανωμαλίας δεν ήταν πάντα τόσο ξεκάθαρος. Οι περισσότερες λάρβες είχαν περισσότερες από μια δυσμορφίες στο σώμα τους (Πίνακα 10).

Επειδή οι περιβαλλοντικές συνθήκες επώασης (θερμοκρασία νερού, παροχή νερού, παροχή οξυγόνου) ήταν όμοιες και σταθερές για όλες τις διασταυρώσεις, ο παράγων περιβάλλον δεν είναι το κύριο αίτιο για την εμφάνιση των ανωμαλιών. Ως κύριος παράγοντας θεωρούμε ότι είναι περισσότερο ο πατρικός παράγοντας.

**Πίνακας 10 - Σύνολο ανωμαλιών που παρατηρούνται σε τυχαίο δείγμα
φωτογραφημένων λαρβών**

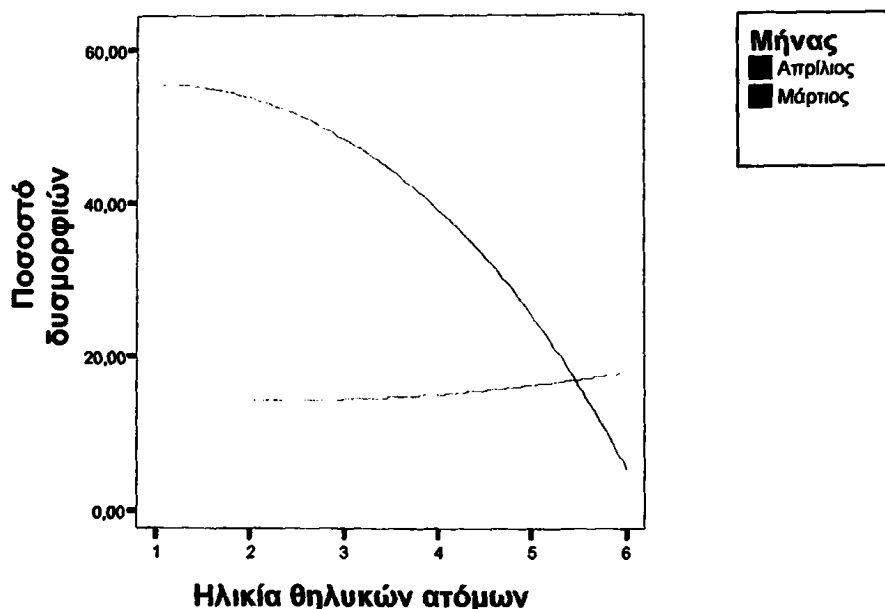
Μηνία αγωγής	Γεννήτορες	Σύνολο λαρβών που ελέγχθηκαν	Κανονικές λάρβες	Λάρβες με ανωμαλίες	Ανωμαλίες λεκιθικού σάκου	Ανωμαλίες αναλογιών σώματος	Προβλήματα σπονδυλικής στήλης	Ανωμαλίες ματιών	Λάρβες με περισσότερες από μία ανωμαλίες	Ανώμαλες λάρβες %
7 αυγ 07	G1X1	63	24	39	12	0	5	1	21	61,90
	G1X1 UV+	98	37	61	6	0	21	5	29	62,24
	G2X1	201	118	83	9	0	38	3	33	41,29
	G2X1 UV+	259	132	127	18	1	47	3	58	49,03
	G3X1	197	104	93	5	2	34	0	52	47,21
	G3X1 UV+	105	28	77	7	0	18	0	52	73,33
3 αυγ 07	G4A2 UV+	8	5	3	0	0	1	0	2	37,50
	G4R	40	32	8	4	1	1	0	2	20,00
	G4X2	173	101	72	18	2	22	0	30	41,62
	G4X2 UV+	118	27	91	5	3	6	0	77	77,12
	G5R	59	33	26	3	1	11	0	11	44,07
	G5X2	131	53	78	5	2	18	1	52	59,54
	G5X2 UV+	18	14	4	0	1	1	0	2	22,22
	G6R	55	24	31	0	0	13	0	18	56,36
	G6A2 sperm	146	101	45	5	0	18	0	22	30,82
	G6A2	6	4	2	0	1	0	0	1	33,33
	G6X2	238	158	80	15	1	32	0	32	33,61
	G6X2 UV+	107	78	29	3	0	10	0	16	27,10
3 αυγ 07	G7X3	35	17	18	3	0	2	0	13	51,43
	G8X3	7	4	3	3	0	0	0	0	42,86
	G8X3 UV+	36	23	13	4	0	5	0	4	36,11
	G9X3	3	3	0	0	0	0	0	0	0,00
	G9X3 UV+	19	12	7	1	0	1	0	5	36,84
7 αυγ 07	G14A13	22	8	14	2	2	0	2	8	63,64
	G14X5 a	34	25	9	4	0	1	2	2	26,47
	G14X5 b	10	10	0	0	0	0	0	0	0,00
	G14K1 a	77	61	16	3	1	4	1	7	20,78
	G14K1 β	113	87	26	5	1	8	2	10	23,01
	G15K1	52	39	13	2	1	2	0	8	25,00
	G15K1 UV+	20	16	4	2	1	0	0	1	20,00
	G15X5	4	4	0	0	0	0	0	0	0,00
	G15X5 UV+	9	5	4	1	0	1	1	1	44,44
	G16K1	34	24	10	3	0	1	0	6	29,41
	G16K1 UV+	82	45	37	12	0	7	4	14	45,12
	G16X5	24	18	6	1	0	2	0	3	25,00
	G16X5 UV+	16	11	5	3	0	0	0	2	31,25

Ένας άλλος παράγοντας που εξετάστηκε αν παίζει ρόλο στις παραγόμενες λάρβες με δυσμορφία ήταν η ηλικία του θηλυκού γεννήτορα (Πίνακα 11). Έγινε ανάλυση διακύμανσης ANOVA και βρέθηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.001$), όταν οι λάρβες με ανωμαλίες διαχωρίστηκαν ως προς την εποχή την οποία γεννήθηκαν, δηλαδή τις λάρβες του Μαρτίου και τις λάρβες του Απριλίου.

Πίνακας 11 - Ποσοστό λαρβών με δυσμορφίες ως προς την ηλικία των θηλυκών γεννητόρων και τον μήνα ωοτοκίας

Μήνας			Δυσμορφίες		Συνολικά
			Κανονικές λάρβες	Με δυσμορφίες	
Μάρτιος	Ηλικία	1	48,6%	51,4	100,0%
		2	38,1%	61,9	100,0%
		3	53,9%	46,1	100,0%
		4	52,8%	47,2	100,0%
		5	66,4%	33,6	100,0%
		6	100,0%	,0	100,0%
	Συνολικά		55,5%	44,5	100,0%
Απρίλιος	Ηλικία	2	75,0%	25,0	100,0%
		3	100,0%	,0	100,0%
		6	79,5%	20,5	100,0%
	Συνολικά		79,2%	20,8	100,0%

Αυτό που φαίνεται και στο διάγραμμα 5 είναι ότι οι θηλυκοί γεννήτορες με μικρή ηλικία δίνουν περισσότερες λάρβες με δυσμορφίες τον μήνα Μάρτιο. Το θηλυκά άτομα μικρής ηλικίας που λήφθηκαν τον Απρίλιο έδωσαν μεγαλύτερα ποσοστά υγιών λαρβών.



Διάγραμμα 5 - Ποσοστό λαρβών με δυσμορφίες ως προς την ηλικία των θηλυκών γεννητόρων και τον μήνα ωοτοκίας

Αυτό το φαινόμενο που παρατηρείται, ίσως να έχει σχέση, όπως και στις διαμέτρους των αβγών, με τις παρτίδες ωοτοκίας:

- Οι νεαρές πεταλούδες στην αρχή της ωοτοκίας δεν έχουν και τόσο καλής ποιότητας αβγά που οδηγούν σε λάρβες με δυσμορφίες.
- Οι μεγαλύτερης ηλικίας θηλυκοί γεννήτορες ανεξάρτητα από την εποχή και την παρτίδα που γεννούν τα αβγά τους δίνουν πολύ μικρότερα ποσοστά λαρβών με ανωμαλίες.

Μια άλλη παράμετρος που ελέγχθηκε ήταν κατά πόσο ο τύπος του αρσενικού γεννήτορα επηρεάζει το ποσοστό των ανώμαλων λαρβών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους και ότι αυτό είναι ανεξάρτητο των δοτών σπέρματος (Πίνακα 12). Μόνο ο κυπρίνος έδωσε πολύ μεγαλύτερο ποσοστό υγιών λαρβών σε σχέση με τους υπόλοιπους αρσενικούς γεννήτορες.

Πίνακας 12 - Το ποσοστό των κανονικών λαρβών και αυτών με δυσμορφίες διαχωρισμένες ως προς τον αρσενικό γεννήτορα

Τύπος αρσενικού		Συχνότητα	Ποσοστό	Cumulative Percent
<i>C. gibelio</i>	Κανονικές	17	47,2	47,2
	Με δυσμορφία	19	52,8	100
	Συνολικά	36	100	
<i>C. carpio</i>	Κανονικές	272	72	72
	Με δυσμορφία	106	28	100
	Συνολικά	378	100	
<i>R. pannosi</i>	Κανονικές	89	57,8	57,8
	Με δυσμορφία	65	42,2	100
	Συνολικά	154	100	
<i>C. auratus</i>	Κανονικές	1006	52,8	52,8
	Με δυσμορφία	899	47,2	100
	Συνολικά	1905	100	

Επίσης εξετάστηκε εάν ο τύπος της ανωμαλίας των παραγόμενων λαρβών εξαρτάται από κάποιον παράγοντα όπως η ηλικία και το σταθερό μήκος του θηλυκού γεννήτορα, ο τύπος του αρσενικού γεννήτορα, η εποχή ωοτοκίας. Όμως δεν βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ τους.

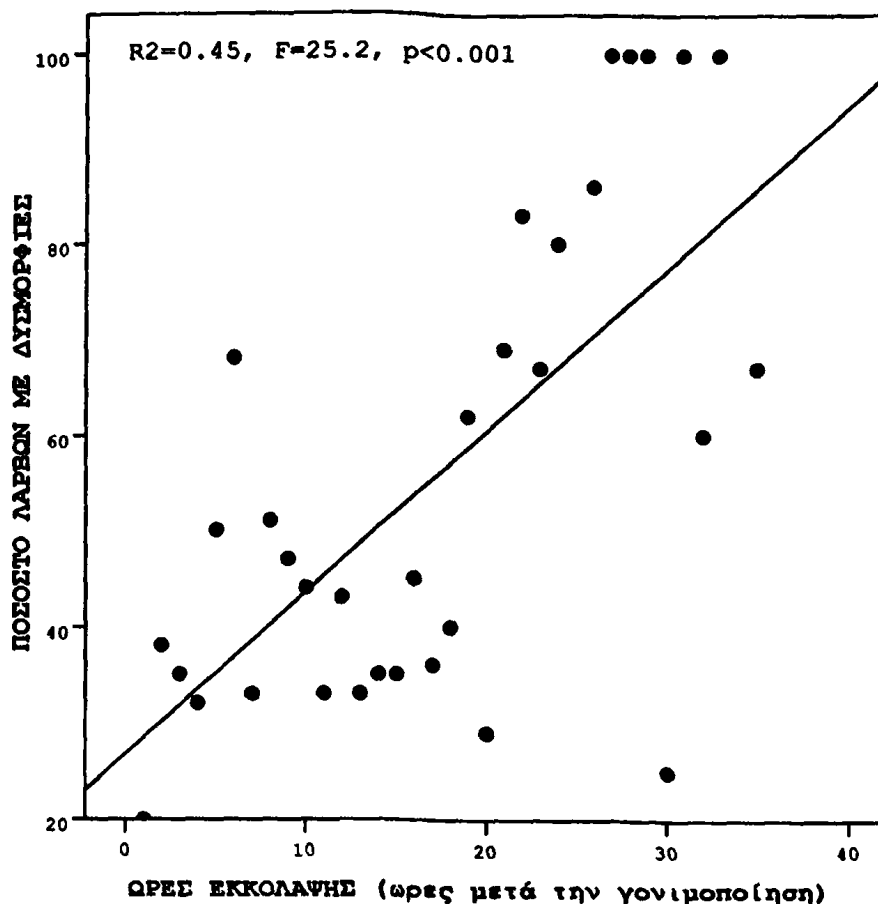
Τέλος εξετάστηκε το ποσοστό των κανονικών και των ανώμαλων λαρβών ως προς την ώρα της εκκόλαψής τους. Καθώς γινόταν η μέτρηση του ρυθμού της εκκόλαψης, με την καταμέτρηση κάθε μια ώρα του αριθμού των εκκολαπτόμενων λαρβών, ελέγχθηκε σε δείγμα από αυτές, πόσες ήταν υγιείς και πόσες είχαν δυσμορφίες. Αυτό που παρατηρήθηκε είναι ότι στην αρχή της εκκόλαψης οι περισσότερες λάβρες ήταν υγιείς. Τα ποσοστά των ανωμαλιών αυξήθηκαν καθώς προχωρούσε η εκκόλαψη (Διάγραμμα 6). Οι λάβρες που εκκολαπτόταν τελευταίες ήταν αυτές και με τις περισσότερες δυσμορφίες. Αυτές, ίσως λόγω των ανωμαλιών που είχαν στο σώμα τους, δεν μπορούσαν να εκκολαφθούν εύκολα και να βγουν από το αβγό τους, γι αυτό καθυστερούσαν και την διαδικασία της εκκόλαψης.

Πίνακας 12 - Το ποσοστό των κανονικών λαρβών και αυτών με δυσμορφίες διαχωρισμένες ως προς τον αρσενικό γεννήτορα

Τύπος αρσενικού		Συχνότητα	Ποσοστό	Cumulative Percent
C. gibello	Κανονικές	17	47,2	47,2
	Με δυσμορφία	19	52,8	100
	Συνολικά	36	100	
C. carpio	Κανονικές	272	72	72
	Με δυσμορφία	106	28	100
	Συνολικά	378	100	
R. pannosi	Κανονικές	89	57,8	57,8
	Με δυσμορφία	65	42,2	100
	Συνολικά	154	100	
C. auratus	Κανονικές	1006	52,8	52,8
	Με δυσμορφία	899	47,2	100
	Συνολικά	1905	100	

Επίσης εξετάστηκε εάν ο τύπος της ανωμαλίας των παραγόμενων λαρβών εξαρτάται από κάποιον παράγοντα όπως η ηλικία και το σταθερό μήκος του θηλυκού γεννήτορα, ο τύπος του αρσενικού γεννήτορα, η εποχή ωοτοκίας. Όμως δεν βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ τους.

Τέλος εξετάστηκε το ποσοστό των κανονικών και των ανώμαλων λαρβών ως προς την ώρα της εκκόλαψής τους. Καθώς γινόταν η μέτρηση του ρυθμού της εκκόλαψης, με την καταμέτρηση κάθε μια ώρα του αριθμού των εκκολαπτόμενων λαρβών, ελέγχθηκε σε δείγμα από αυτές, πόσες ήταν υγιείς και πόσες είχαν δυσμορφίες. Αυτό που παρατηρήθηκε είναι ότι στην αρχή της εκκόλαψης οι περισσότερες λάβρες ήταν υγιείς. Τα ποσοστά των ανωμαλιών αυξήθηκαν καθώς προχωρούσε η εκκόλαψη (Διάγραμμα 6). Οι λάβρες που εκκολαπτόταν τελευταίες ήταν αυτές και με τις περισσότερες δυσμορφίες. Αυτές, ίσως λόγω των ανωμαλιών που είχαν στο σώμα τους, δεν μπορούσαν να εκκολαφθούν εύκολα και να βγουν από το αβγό τους, γι αυτό καθυστερούσαν και την διαδικασία της εκκόλαψης.

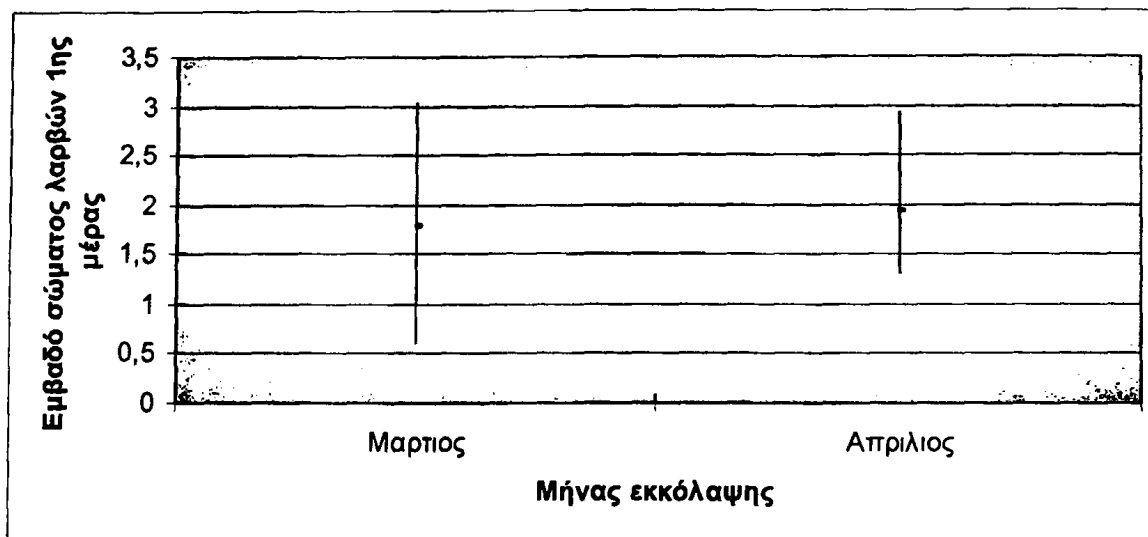


Διάγραμμα 6 – Ποσοστό λαρβών με δυσμορφίες ως προς την ώρα εκκόλαψης

11.7 Εμβαδό σώματος

Το μέγεθος μιας λάρβας εξαρτάται περισσότερο από το μέγεθος και την ποιότητα των αβγών του θηλυκού ατόμου (Sehgal and Toor, 1991). Ο ρόλος του σπέρματος του αρσενικού γεννήτορα είναι περισσότερο αποφασιστικός για την επιτυχία της γονιμοποίησης και την επιτυχία της εκκόλαψης των αβγών (Kamler, 2005).

Στην παρούσα εργασία έγινε μέτρηση του εμβαδού του σώματος των λαρβών την πρώτη μέρα της εκκόλαψης (Διάγραμμα 7). Μελετώντας το εμβαδό του σώματος των λαρβών σε σχέση με τον μήνα ωοτοκίας, βρέθηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p<0.001$) μεταξύ του Μαρτίου και του Απριλίου.

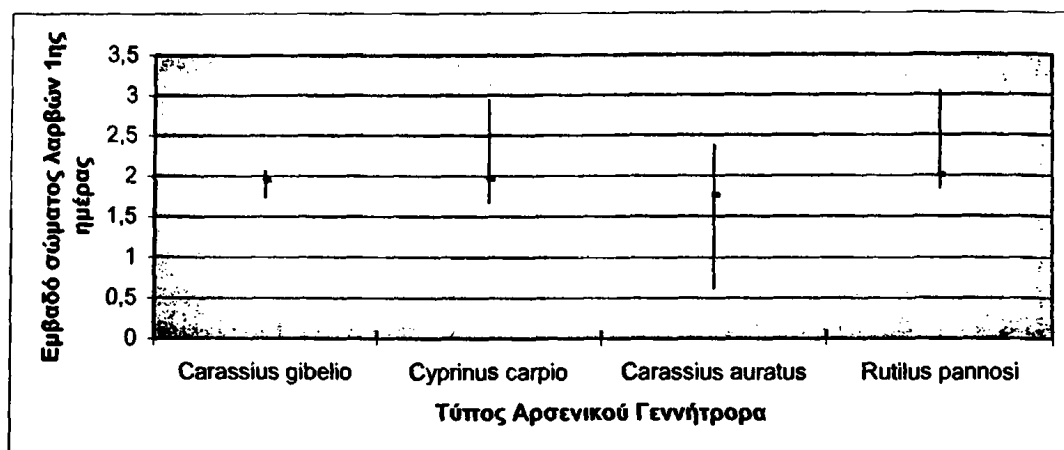


Διάγραμμα 7 – Σχέση του εμβαδού σώματος των λαρβών της πρώτης μέρας ως προς τον μήνα εκκόλαψης

Διαπιστώθηκε ότι στην αρχή της ωοτοκίας, τον μήνα Μάρτιο οι λάρβες είχαν μικρότερο εμβαδό σώματος σε σχέση με τον τέλος της ωοτοκίας. Αυτά τα αποτελέσματα έρχονται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της μέτρησης των διαμέτρων των αβγών. Μεγαλύτερου μεγέθους αβγά τον μήνα Μάρτιο έδωσαν μικρότερου μεγέθους λάρβες και τα μικρότερα αβγά του Απριλίου έδωσαν μεγαλύτερου μεγέθους λάρβες. Έτσι φαίνεται ότι δεν ισχύει ο κανόνας ότι μεγάλα αυγά οδηγούν σε μεγάλους απογόνους.

Το εμβαδό του σώματος των λαρβών δεν φάνηκε να εξαρτάται από την ηλικία και το σταθερό μήκος των θηλυκών γεννητόρων, αφού δεν έδωσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Επίσης ελέγχθηκαν και τα υπόλοιπα τμήματα του σώματος που μετρήθηκε το εμβαδό τους (λεκιτικός σάκος, πτερύγια, μάτι) αλλά δεν υπήρχε καμία συσχέτιση αυτών με κάποιον παράγοντα.

Τέλος εξετάστηκε ένα υπάρχει σχέση μεταξύ του εμβαδού σώματος των λαρβών, με τον τύπο του αρσενικού που χρησιμοποιήθηκε ως δότης σπέρματος (Διάγραμμα 8). Φάνηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση ($p < 0.001$) μεταξύ αυτών. Αυτό που φαίνεται στο διάγραμμα είναι ότι ο κυπρίνος και η δρομίτσα δίνουν λάρβες μεγαλύτερου μεγέθους σε σχέση με τις λάρβες που έχουν ως γονέα το χρυσόψαρο ή την αρσενική πεταλούδα.



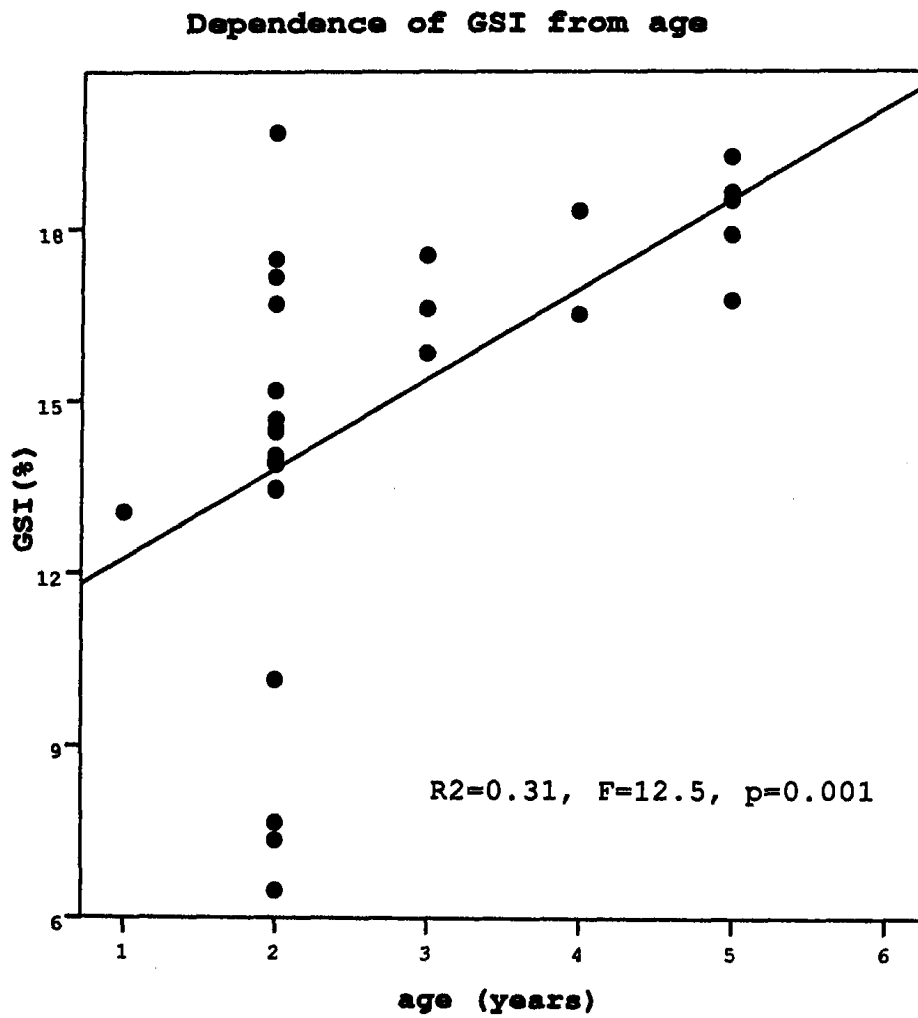
Διάγραμμα 8 – Σχέση του εμβαδού σώματος των λαρβών της πρώτης μέρας ως προς τον τύπο του αρσενικού γεννήτορα που χρησιμοποιήθηκε

11.8 Χρήση ακτινοβολίας UV

Στις γονιμοποιήσεις στις οποίες το σπέρμα είχε ακτινοβοληθεί με UV, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τις υπόλοιπες. Η πεταλούδα λοιπόν είναι ένα είδος που αναπαράγεται γυνογενετικά με φυσικό τρόπο, και κάθε ενέργεια να απενεργοποίησης της γενετικής πληροφορίας είναι περιττή.

11.9 Γοναδοσωματικός δείκτης (GSI)

Ο γοναδοσωματικός δείκτης χρησιμοποιείται ως μέτρο της γονιμότητας ενός ψαριού. Στα θηλυκά άτομα του *C. gibelio* μετρήθηκε ο γοναδοσωματικός δείκτης τους και εξετάσθηκε κατά πόσο αυτός εξαρτάται από την ηλικία τους. Βρέθηκε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση ($p < 0.001$) μεταξύ αυτών των δύο παραμέτρων. Στο Διάγραμμα 9 που ακολουθεί φαίνεται ξεκάθαρα ότι όσο μεγαλύτερης ηλικίας είναι μια θηλυκή πεταλούδα, τόσο μεγαλύτερος είναι και ο αριθμός των αβγών της μέσα στην γονάδα της.



Διάγραμμα 9 – Γοναδοσωματικός δείκτης ως προς την ηλικία των θηλυκών γεννητόρων

12. Συζήτηση

Τα δεδομένα που εξήχθησαν από την πραγματοποίηση αυτού του πειράματος, παρουσιάζουν εξαιρετικό ενδιαφέρον όσον αφορά εκείνα τα χαρακτηριστικά των θηλυκών γεννητόρων του είδους *Carassius gibelio* που οδηγούν στην λήψη των καλύτερων δυνατών απογόνων. Χρησιμοποιώντας ως δότες σπέρματος τα είδη *Rutilus pannosi*, *Cyprinus carpio*, *Carassius auratus* και *Carassius gibelio* μπορέσαμε να βγάλουμε χρήσιμα συμπεράσματα ως προς την επίδρασή τους στους παραγόμενους απογόνους και στα ποσοστά επιβίωσης των λαρβών.

Αρχικά μελετώντας την διάμετρο των αβγών φάνηκε αυτή να εξαρτάται από το σταθερό μήκος των θηλυκών ατόμων και την εποχή ωοτοκίας (later batches). Πολλές μελέτες αναφέρουν ότι γενικά όσο το μέγεθος του ψαριού αυξάνει, τόσο η διάμετρος των αβγών μεγαλώνει (S. Brooks *et al.*, 1997). Αυτό το φαινόμενο έχει διαπιστωθεί και στον κοινό κυπρίνο (Marteinsdottir and Steinarsson, 1998). Όμως για τα αβγά του *C. gibelio* η παραπάνω παρατήρηση επιβεβαιώθηκε μόνο για τα θηλυκά άτομα που αναπαράχθηκαν στο τέλος της ωοτοκίας. Παρατηρήθηκε ότι τα θηλυκά άτομα που αλιεύθηκαν και αναπαράχθηκαν τον μήνα Μάρτιο παρουσίασαν σταθερές τιμές στις διαμέτρους των αβγών τους, ανεξάρτητα από το μήκος τους. Αντίθετα, από τα θηλυκά άτομα που αλιεύθηκαν τον μήνα Απρίλιο, τα μικρότερα ψάρια έδωσαν αβγά μικρών διαμέτρων και τα μεγαλύτερα σε μήκος ψάρια έδωσαν αβγά μεγαλύτερης διαμέτρου.

Αυτά τα αποτελέσματα σχετίζονται με τις παρτίδες ωοτοκίας των θηλυκών ατόμων. Το μέγεθος των αβγών των τελευταίων παρτίδων ωοτοκίας του Απριλίου είναι γενικότερα μικρότερο και αυτό συνδέεται με την μείωση των θρεπτικών πόρων του θηλυκού ατόμου που μπορεί να διαθέσει στο σχηματισμό των αβγών του. Τον Μάρτιο, στην αρχή της αναπαραγωγικής περιόδου όπου τα ψάρια διατρέφονταν κανονικά, είχαν διαθέσιμες όλες τις απαραίτητες θρεπτικές ουσίες για τον σχηματισμό της λεκίθου των αβγών τους.

Τον Απρίλιο, στο τέλος της αναπαραγωγικής περιόδου όπου έχει περάσει ένα μακρύ διάστημα στο οποίο τα ψάρια δεν τρέφονται για αρκετό καιρό, συμβαίνει το εξής. Στα ψάρια μικρού μεγέθους, το μέγεθος των αβγών των τελευταίων παρτίδων ωοτοκίας είναι γενικότερα μικρότερο και αυτό συνδέεται με την μείωση των πόρων του θηλυκού ατόμου που μπορεί να διαθέσει στο σχηματισμό των αβγών του. Ενώ τα ψάρια μεγάλου μεγέθους λόγω του μεγάλου σωματικού τους βάρους έχουν



περισσότερα αποθέματα για να διαθέσουν στο σχηματισμό των αβγών τους και έτσι δεν παρατηρείται αισθητή μείωση στο μέγεθος των αβγών τους σε όλη την αναπαραγωγική περίοδο (Marteinsdottir and Steinarsson, 1998, Brooks *et al.*, 1997, Jonsson & Jonsson 1997).

Επομένως το μέγεθος των αβγών της πεταλούδας:

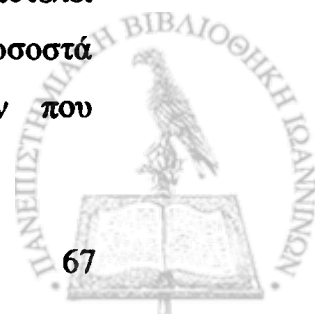
- Στην αρχή της ωοτοκίας δεν εξαρτάται από το μέγεθος των θηλυκών ατόμων
- Στις τελευταίες παρτίδες ωοτοκίας εξαρτάται από το μέγεθος των θηλυκών ατόμων, με τα μικρότερα σε μέγεθος ψάρια να δίνουν μικρότερα σε διάμετρο αβγά.

Όσον αφορά την ποσότητα των αβγών σε κάθε άτομο, ο γοναδοσωματικός δείκτης παρουσίασε μια γραμμική αύξηση με την ηλικία των θηλυκών ατόμων. Όσο μεγαλύτερης ηλικίας είναι μια θηλυκή πεταλούδα, τόσο μεγαλύτερος είναι και ο αριθμός των αβγών της μέσα στην γονάδα της. Μελετήθηκε τέλος αν η διάμετρος των αβγών έχει κάποια σχέση με την ηλικία των θηλυκών πεταλούδων. Παρότι ο Johnston (1997) αναφέρει ότι η ηλικία των θηλυκών κυπρίνων επηρεάζει την διάμετρο των αβγών, από τα δεδομένα της παρούσας εργασίας αυτό δεν επιβεβαιώνεται.

Το ποσοστό επιβίωσης των εμβρύων φάνηκε να μην εξαρτάται από κανέναν παράγοντα. Η καταμέτρηση του αριθμού των ζωντανών και νεκρών εμβρύων μέσα στο αβγό, στην ίδια περιοχή, ως προς το πέρασμα του χρόνου, έδειξε πολύ μικρές διαφορές σε όλες τις διασταυρώσεις που έγιναν στο πείραμα. Υποθέτουμε ότι είναι αποτέλεσμα μόνο των χειρισμών της τεχνητής αναπαραγωγής και όχι των γεννητόρων. Εξάλλου η γονιμοποίηση των αβγών είναι μια πολύπλοκη και πολυσύνθετη διαδικασία και εξαρτάται από την εμπλοκή πολλών παραγόντων και τη λειτουργία ποικίλων μηχανισμών (Πιάσχος, 2002).

Από τα ποσοστά γονιμοποίησης φάνηκε ότι οι γεννήτορες *Rutilus rannosi* και *Carassius gibelio* έδωσαν πολύ χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης. Σημαντικά μεγαλύτερα ποσοστά εμφανίστηκαν όταν χρησιμοποιήθηκαν ως δότες σπέρματος το *Carassius auratus* και ο *Cyprinus carpio*. Ο ρόλος του σπέρματος του αρσενικού γεννήτορα είναι αποφασιστικός για την επιτυχία της γονιμοποίησης και την επιτυχία της εκκόλαψης των αβγών (Kamler, 2005).

Από τα αποτελέσματα διαφάνηκε ότι η αρσενική πεταλούδα δεν αποτελεί καλό υποψήφιο δότη σπέρματος. Εκτός από τα πολύ χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης, το μεγαλύτερο ποσοστό των αρσενικών πεταλούδων που



χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα ήταν στείρα ενώ όσα είχαν σπέρμα, παρουσίαζαν μειωμένη ή σε πολλές περιπτώσεις καθόλου, κινητικότητα σπέρματος. Αυτό σε συνδυασμό με τον συνεχώς αυξανόμενο αριθμό των αρσενικών ατόμων στην λίμνη Παμβώτιδα θα μπορούσαμε να πούμε ότι συμφωνεί με την θεωρία περί εξέλιξης των Fan and Shen (1990). Σύμφωνα με αυτή, σήμερα βρισκόμαστε σε ένα γυνογενετικά μεν πληθυσμό με ένα όμως ποσοστό αρσενικών ατόμων που συνεχώς αυξάνεται ο αριθμός τους. Αυτά τα αρσενικά έχουν κακής ποιότητας σπέρμα αρχικά αφού βρίσκονται στα πρώτα στάδια εμφάνισής τους, που μετά από χρόνια μπορεί να βελτιωθεί. Αργότερα στο μέλλον, έπειτα από μια μακρά περίοδο εξέλιξης η πεταλούδα ίσως να αναπαράγεται μόνο αμφιφυλετικά (Fan and Shen 1990). Η άποψη αυτή ενισχύεται και από τις εξωτερικές παρεμβάσεις που συμβαίνουν στην φύση τα τελευταία χρόνια και επηρεάζουν την ανάπτυξη των παραγόμενων απογόνων. Κρύα ή θερμά σοκ οφειλόμενα στην φύση (κυρίως σε μικρά τεχνητά ρυάκια τα οποία κατασκευάστηκαν για αποχέτευση βιομηχανικών αποβλήτων), μπορεί να συντέλεσαν στην μεταβατική περίοδο αλλαγής της πολυπλοειδίας των ψαριών.

Σημαντικές διαφορές ως προς τους αρσενικούς δότες σπέρματος φάνηκαν ομοίως και στον ρυθμό εκκόλαψη T_{50} . Μικρότερο ήταν με δότη σπέρματος το *Rutilus raphnos*, ακολουθώντας με σημαντική διαφορά το *Cyprinus carpio*, έπειτα το *Carassius auratus* ενώ το μεγαλύτερο T_{50} παρουσιάστηκε όταν ως δότης σπέρματος χρησιμοποιήθηκε το *Carassius gibelio*.

Αλλά και το εμβადό του σώματος των λαρβών της πρώτης μέρας συνδέεται με τον τύπο του αρσενικού γεννήτορα καθώς ότι ο κυπρίνος και η δρομίτσα δίνουν λάρβες μεγαλύτερου μεγέθους σε σχέση με τις λάρβες που έχουν ως γονέα το χρυσόψαρο ή την αρσενική πεταλούδα.

Μελετώντας τις δυσμορφίες των λαρβών της πρώτης μέρας αρχικά παρατηρήθηκε ότι τα ποσοστά των ανώμαλων λαρβών αυξάνονται καθώς προχωρά η εκκόλαψη. Δηλαδή οι υγιής λάρβες ήταν και αυτές που εκκολαπτόταν πρώτες. Έπειτα καταγράφοντας τον τύπο της ανωμαλίας κάθε λάρβας φάνηκε να υπερισχύουν τα άτομα με ανωμαλίες της σπονδυλικής στήλης δηλαδή κύφωση, λόρδωση και σκολίωση. Ακολουθούν οι ανωμαλίες του λεκιθικού σάκου και αυτές με κοντό σώμα ή σχήμα σώματος τύπου c. Οι λάρβες με προβλήματα στα μάτια τους ήταν ελάχιστες. Όμως ο τύπος της ανωμαλίας δεν βρέθηκε να εξαρτάται από την ηλικία ούτε από κάποιον άλλο παράγοντα. Το μόνο που παρατηρήθηκε είναι ότι τα άτομα ηλικίας 6 ετών παρουσιάζουν μια σημαντική αύξηση στις ανωμαλίες ματιών.

Ωστόσο το ποσοστό των ανώμαλων λαρβών φάνηκε να εξαρτάται από την ηλικία και την εποχή ωοτοκίας. Οι θηλυκοί γεννήτορες με μικρή ηλικία δίνουν περισσότερες λάρβες με δυσμορφίες την μήνα Μάρτιο. Το θηλυκά άτομα μικρής ηλικίας που λήφθηκαν τον Απρίλιο έδωσαν μεγαλύτερα ποσοστά υγιών λαρβών. Οι νεαρές πεταλούδες στην αρχή της ωοτοκίας δεν έχουν και τόσο καλής ποιότητας αβγά που οδηγούν σε λάρβες με δυσμορφίες. Οι μεγαλύτερης ηλικίας θηλυκοί γεννήτορες ανεξάρτητα από την εποχή και την παρτίδα που γεννούν τα αβγά τους δίνουν πολύ μικρότερα ποσοστά λαρβών με ανωμαλίες. Η ηλικία του θηλυκού γεννήτορα μπορεί να επιδράσει την χημική σύσταση των αυγών του, όσον αφορά τις συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών, των λιπιδίων, τις συγκεντρώσεις του νερού και της χοληστερόλης (Kamler, 2005).

Επομένως όσον αφορά τα αβγά και την σχέση τους από τους θηλυκούς γεννήτορες του *C.gibelio* θα μπορούσαμε να πούμε ότι, ενώ η διάμετρος των αβγών εξαρτάται από το μήκος των γεννητόρων και είναι αδιάφορο της ηλικίας, οι ανωμαλίες εξαρτώνται από την ηλικία των γεννητόρων και είναι αδιάφορη του μήκους τους. Άρα:

- Η ποιότητα του αβγού είναι συνάρτηση της ηλικίας του γεννήτορα
- Το μέγεθος του αβγού είναι συνάρτηση του μεγέθους του θηλυκού ατόμου.

Καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε στις γονιμοποιήσεις στις οποίες το σπέρμα είχε ακτινοβοληθεί με UV. Η πεταλούδα είναι ένα είδος που αναπαράγεται γυνογενετικά με φυσικό τρόπο, και κάθε ενέργεια να απενεργοποίησης της γενετικής πληροφορίας είναι περιττή.

Τέλος το εμβαδό του σώματος των λαρβών της πρώτης μέρας εκκόλαψης, εξαρτάται από την εποχή ωοτοκίας. Φαίνεται ότι είναι μεγαλύτερο τον Απρίλιο, κάτι που έρχεται σε αντίθεση με το μέγεθος των αβγών. Ενώ τον Απρίλιο οι διάμετροι των αβγών ήταν μικρότεροι, τότε είχαμε τις μεγαλύτερου μεγέθους λάρβες. Γενικά το μέγεθος μιας λάρβας εξαρτάται περισσότερο από το μέγεθος και την ποιότητα των αβγών του θηλυκού ατόμου. Ο ρόλος του σπέρματος του αρσενικού γεννήτορα είναι περισσότερο αποφασιστικός για την επιτυχία της γονιμοποίησης και την επιτυχία της εκκόλαψης των αβγών (Kamler, 2005). Έτσι στην παρούσα εργασία φαίνεται ότι δεν ισχύει ο κανόνας ότι μεγάλα αυγά οδηγούν σε μεγάλους απογόνους.

Δεδομένου ότι το *C. gibelio* είναι γυνογενετικό είδος, περιμέναμε όσον αφορά τον ρυθμό εκκόλαψης και το εμβαδό σώματος των απογόνων, οι αρσενικοί



γεννήτορας να μην επιδρούν καθόλου. Ωστόσο αυτοί οι παράγοντες εξαρτιόταν μόνο από τον τύπο του αρσενικού γεννήτορα και δεν έδειξαν κανένα στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα ως προς τα θηλυκά άτομα.

Συμπερασματικά θα μπορούσαμε να πούμε ότι μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης, καλύτερους ρυθμούς εκκόλαψης, και μεγαλύτερα ποσοστά υγιών λαρβών έχουμε στον συνδυασμό των παρακάτω παραγόντων:

1. **Θηλυκά άτομα:** μεγαλύτερης ηλικίας και μεγαλύτερου μήκους και σωματικού βάρους.
2. **Εποχή αναπαραγωγής:** η αρχή της αναπαραγωγικής περιόδου έδωσε τα καλύτερης ποιότητας και μεγαλύτερου μεγέθους αυγά (μήνας Μάρτιος συνήθως)
3. **Αρσενικά άτομα:** Εάν θα θέλαμε να ορίσουμε τον πιο κατάλληλο αρσενικό δότη σπέρματος από τους τέσσερις που χρησιμοποιήσαμε στο πείραμα, θα μπορούσαμε να πούμε ότι ο καλύτερος δότης είναι το ο κυπρίνος, έπειτα το χρυσόψαρο, η δρομίτσα και τέλος η αρσενική πεταλούδα.

Περίληψη

Το *Carassius gibelio* είναι γνωστό στην Ελλάδα με το κοινό όνομα πεταλούδα. Παρότι δεν είναι εμπορικό είδος παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον για μελέτη αφού είναι το μόνο είδος ικανό ταυτόχρονα για γυνογενετική και αμφιφυλετική αναπαραγωγή. Στην Ελλάδα εισήχθη με εμπλουτισμούς και από τότε έχει εξαπλωθεί και το συναντάμε σε αφθονία στις περισσότερες φυσικές και τεχνητές λίμνες καθώς και στα ποτάμια της Κεντρικής, Δυτικής και Νότιας Ελλάδας.

Γονιμοποιώντας τεχνητά, θηλυκά άτομα πεταλούδας *Carassius gibelio* με αρσενικά άτομα από τέσσερα διαφορετικά συγγενικά είδη, κυπρίνο (*Cyprinus carpio*), δρομίτσα (*Rutilus rannosi*), χρυσόψαρο (*Carassius auratus*) και αρσενική πεταλούδα (*Carassius gibelio*), μελετήθηκαν εκείνα τα χαρακτηριστικά των γεννητόρων που οδηγούν στους καλύτερους δυνατούς απογόνους.

Μετά την λήψη των γεννητικών τους προϊόντων (αβγά και σπέρμα) και την τεχνητή τους γονιμοποίηση εξετάστηκαν οι παρακάτω παράμετροι:

- Η διάμετρος των αβγών και η σχέση τους με τους θηλυκούς γεννήτορες.
- Το ποσοστό επιβίωσης των εμβρύων κατά την εκκόλαψη.
- Το ποσοστό γονιμοποίησης.
- Ο ρυθμός εκκόλαψης των γονιμοποιημένων αβγών.
- Το μέγεθος των παραγόμενων λαβρών της πρώτης μέρας.
- Το ποσοστό των λαβρών με δυσμορφίες στο σώμα τους και το είδος δυσμορφίας που παρουσίαζαν.

Έγιναν τέσσερις αναπαραγωγικές διαδικασίες σε διαφορετικές ημερομηνίες, στην αρχή της ωοτοκίας, τον μήνα Μάρτιο και στο τέλος της ωοτοκίας (later batches), τον μήνα Απρίλιο. Η μέτρηση στο μέγεθος των αβγών και στις δυσμορφίες και στο μέγεθος των λαβρών έγινε έπειτα από φωτογράφησή τους κάτω από στερεοσκόπιο και επεξεργασία των εικόνων σε ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Από την πειραματική διαδικασία προέκυψαν συγκεκριμένα συμπεράσματα, τα οποία είναι:

- Οι θηλυκοί γεννήτορες επιδρούν στο μέγεθος των αβγών που γεννούν και στην ποιότητα των παραγόμενων λαβρών, όσον αφορά τις δυσμορφίες. Πιο συγκεκριμένα φάνηκε ότι το μέγεθος των θηλυκών ατόμων επιδρά στο



μέγεθος των αβγών του ενώ η ηλικία του θηλυκού γεννήτορα είναι αυτή που επηρεάζει την ποιότητα του αβγού.

- Η εποχή ωοτοκίας φάνηκε να παίζει καθοριστικό ρόλο κυρίως στα θηλυκά άτομα μικρών ηλικιών. Παρατηρήθηκε ότι στην αρχή της ωοτοκίας τα μικρής ηλικίας θηλυκά δίνουν μεγάλα ποσοστά λαρβών με δυσμορφίες ενώ στο τέλος της ωοτοκίας δίνουν αβγά μικρών διαμέτρων. Επίσης επηρεάζει και το μέγεθος των παραγόμενων λαρβών αφού στην αρχή της ωοτοκίας έχουμε μεγαλύτερου μεγέθους λάρβες.
- Ο τύπος του αρσενικού γεννήτορα σχετίζεται με τον ρυθμό εκκόλαψης, τα ποσοστά γονιμοποίησης και το μέγεθος των παραγόμενων λαρβών. Οι γεννήτορες *Rutilus rannosi* και *Carassius gibelio* έδωσαν πολύ χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης, ενώ ο ρυθμός εκκόλαψης T_{50} , ήταν μικρότερος με δότη σπέρματος το *Rutilus rannosi* και αισθητά μεγαλύτερος όταν ως δότης σπέρματος χρησιμοποιήθηκε το *Carassius gibelio*. Τέλος παρατηρήθηκε ότι το *Rutilus rannosi* και το *Cyprinus caprio* δίνουν τις μεγαλύτερου μεγέθους λάρβες.
- Γενικότερα φαίνεται πως η αρσενική πεταλούδα δεν αποτελεί καλό υποψήφιο δότη σπέρματος. Εκτός από τα πολύ χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης, το μεγαλύτερο ποσοστό των αρσενικών πεταλούδων που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα ήταν στείρα. Εάν θα θέλαμε να ορίσουμε τον πιο κατάλληλο αρσενικό δότη σπέρματος από τους τέσσερις που χρησιμοποιήσαμε στο πείραμα, θα μπορούσαμε να πούμε ότι ο καλύτερος δότης είναι ο κυπρίνος, έπειτα το χρυσόψαρο, η δρομίτσα και τέλος η αρσενική πεταλούδα.

μέγεθος των αβγών του ενώ η ηλικία του θηλυκού γεννήτορα είναι αυτή που επηρεάζει την ποιότητα του αβγού.

- Η εποχή ωοτοκίας φάνηκε να παίζει καθοριστικό ρόλο κυρίως στα θηλυκά άτομα μικρών ηλικιών. Παρατηρήθηκε ότι στην αρχή της ωοτοκίας τα μικρής ηλικίας θηλυκά δίνουν μεγάλα ποσοστά λαρβών με δυσμορφίες ενώ στο τέλος της ωοτοκίας δίνουν αβγά μικρών διαμέτρων. Επίσης επηρεάζει και το μέγεθος των παραγόμενων λαρβών αφού στην αρχή της ωοτοκίας έχουμε μεγαλύτερου μεγέθους λάρβες.
- Ο τύπος του αρσενικού γεννήτορα σχετίζεται με τον ρυθμό εκκόλαψης, τα ποσοστά γονιμοποίησης και το μέγεθος των παραγόμενων λαρβών. Οι γεννήτορες *Rutilus rannosi* και *Carassius gibelio* έδωσαν πολύ χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης, ενώ ο ρυθμός εκκόλαψης T_{50} , ήταν μικρότερος με δότη σπέρματος το *Rutilus rannosi* και αισθητά μεγαλύτερος όταν ως δότης σπέρματος χρησιμοποιήθηκε το *Carassius gibelio*. Τέλος παρατηρήθηκε ότι το *Rutilus rannosi* και το *Cyprinus caprio* δίνουν τις μεγαλύτερου μεγέθους λάρβες.
- Γενικότερα φαίνεται πως η αρσενική πεταλούδα δεν αποτελεί καλό υποψήφιο δότη σπέρματος. Εκτός από τα πολύ χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης, το μεγαλύτερο ποσοστό των αρσενικών πεταλούδων που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα ήταν στείρα. Εάν θα θέλαμε να ορίσουμε τον πιο κατάλληλο αρσενικό δότη σπέρματος από τους τέσσερις που χρησιμοποιήσαμε στο πείραμα, θα μπορούσαμε να πούμε ότι ο καλύτερος δότης είναι ο κυπρίνος, έπειτα το χρυσόψαρο, η δρομίτσα και τέλος η αρσενική πεταλούδα.

Abstract

The species *Carassius gibelio* is known in Greece with the common name "butterfly". Although as a species has no commercial interest, presents an exceptional interest for research studies since it is the only species that is reproduced both with gynogenesis and amphi gender. In Greece has been initially introduced through lake enrichments. Since then the species has been spread and is met in abundance in most natural and man-made lakes and in the rivers of Central, Western and Southern Greece.

The main aim of this thesis was the examination and study of those characteristics of progenitors of *Carassius gibelio* which will produce the best possible offspring, after the artificial insemination.. The male progenitors used in this study belonged to four different related species: *Cyprinus carpio*, *Rutilus pannosi*, *Carassius auratus* and the male *Carassius gibelio*.

After receiving the genetical products from both male and female progenitors (eggs and semen) and after the artificial insemination occurred the following parameters were examined:

- Egg's diameter and its relation to female progenitors
- Survival rate of embryos during hatching
- Germination rate
- Hatching rate of germinated eggs
- Size of produced lavres after the first day from hatching
- Malformation percentage of produced larvae and the kind of malformation appeared

In total four reproductive procedures occurred at four consecutive dates, initiating and beginning of hatching (March) and concluding at the end of egg-laying (later batches- April).

The experimental procedure led to the following conclusions::

- Female progenitors affect the size of eggs and larvae deformations. More specifically, the size of female members affects the size of their eggs, whilst the age of the female progenitor affects the quality of produced larvae. Egg-laying season seems to play a decisive role mainly in the reproduction of young female members. It was observed that in the beginning of egg-laying

the young females give bigger percentages of deformed larvae, whilst towards the end of the season they produced eggs of smaller diameter. Male progenitors were found to be related to the hatching, germination rate and the size of larvae .

- From the results it was concluded that male *Carassius gibelio* are not suitable donors of semen for the female members of this species. Besides the very low rates of germination they gave, it was further observed that the largest percentage of these males were sterile. From the 4 male species, which were used as semen donors in this experiment, the most suitable was found to be *Cyprinus carpio* followed by the *Rutilus pannosi*, the *Carassius auratus* and finally the male *Carassius gibelio*.

Βιβλιογραφία

- Andrades, J.A., Becerra J., Ferrhdez-Llebrez P., 1996. Skeletal deformities in larval, juvenile and adultstages of cultured gilthead sea bream (*Sparu saurata* L.). *Aquaculture* 141 (1996) 1-1 1.
- Bunn, N.A., Fox C.J. and Webb T., 2000. A literature review of studies on fish egg mortality: implications for the estimation of spawning stock biomass by the annual egg production method. Science series technical report. Number 111, page 18.
- Brachet, A., 1917. L'oeuf et les facteurs de l'ontogenese. O. Doin, Paris : 349.
- Brooks, Suzanne, Tyler R., Charles and Sumpter P. John, 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg?. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 7, 387-416.
- Bonislawska, Malgorzata, Formicki Krzysztof, Korzelecka-Orkisz Agata, Winnicki Aleksander, 2001. Fish egg size variability: Biological significance. *Electronic journal of Polish Agricultural Universities*, Volume 4, Issue 2.
- Bromage, Niall, Jones John, Randall Clive, Thrush Mark, Davies Briony, Springate John, Duston Jim and Barker Gavin, 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, Volume 100, Issues 1-3, 1 January 1992, Pages 141-166.
- Crivelli, A.J., 1995. Are fish introductions a threat to endemic freshwater fishes in the northern Mediterranean region?. *Biological Conservation* 72: 311-319.
- Cherfas, N. B., 1966. Natural triploid in females of the unisexual form of silver carp (*Carassius auratus gibelio*). *Genetika* 5: 16-24.
- Chen, H., Yang Q., Xue G., Zhu L., 1994. RAPD analysis on the, gynogenetic offsprings stimulated by heterologous sperm in silver, crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Chinese Sci. Bull.* 39 (7), 661-663.
- Collum, A., Geubtner, J., and Hunt von Herbing I., 2005. Determining factors for Optimizing growth in developing fishes. *Gadus morhua*. *ICES Journal of Marine Science* 63:335-339.

- Ding, J., Shan S., Ge W., Jiang Y., 1992. Study on the mode of primary control in the egg of gynogenetic crucian carp for inhibiting the development of two types of sperm nuclei. *Sci. China (Series B)* 35 (7): 802-810.
- Ding, J., Xie Y., Jiang Y., Shan S., 1993. The analysis of heterologous, genetic materials in allogynogenetic crucian carp and its artificial hybrids. *Acta Hydrobiol. Sinica* 17 (1), 22-26.
- Economidis, P.S., Dimitriou E., Pagoni R., Michaloudi E. & Natsis, 2000. Introduced and translocated fish species in the inland waters of L. Greece. *Fisheries Management and Ecology* 7: 239-250.
- Economidis, P.S. 1991, Check list of freshwater fishes of Greece (recent status of threats and protection). Hellenic Society for the Protection of Nature, Special publication, 48 p.
- Fan, Z., Shen J., 1990. Studies on the evolution of bisexual reproduction in crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch). *Aquaculture* 84: 235-244.
- Geng, F-S., Zhou L. and Gui J.-F., 2005. Construction and characterization of a BAC library for *Carassius auratus gibelio*, a gynogenetic polyploid fish doi: 10.1111/j. 01379 x : 1365-2052.
- Golovinskaya, K.A., 1954. Reproduction and heredity of the Crucian carp. *Trud. Vniorkh*, 7:34-57.
- Golovinskaya, K.A., 1965. Natural and artificial gynogenesis of fish. *Sborn. Teoreticheskije osnovy rybovodstva*, Izd Nauka, M:106-8.
- Jiang, Y., Liang S., Chen B., Yu H., Shan S., Yang D., Lin S., Shen G., 1983. Biological effects of heterozygous sperm on gynogenetic offspring in *Carassius auratus gibelio*. *Acta Hydrobiol Sinica* 8 (1): 1-13.
- Jezierska, Barbara, Lugowska Katarzyna, Witeska Malgorzata, Sarnowski Piotr, 2000. Malformations of newly hatched common carp larvae. *Electronic journal of Polish agricultural universities*, Volume 3, Issue 2.
- Johnston T. A., Mathias J. A., 1997, Gut evacuation and absorption efficiency of walleye larvae, *Journal of Fish Biology*, 49(3): 375-389
- Jonsson, N. and Jonsson B., 1999. Trade-off between egg mass and egg number in brown trout. *Journal of Fish Biology* 55, 767-783.
- Kjorsvika E., K. Hoehne-Reitana, K.I. Reitan, 2002, Egg and larval quality criteria as Predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.), *Aquaculture* 227 (2003) 9 -20

- Kimmel C. Ballard W., Kimmel S., Ullmann B., Schilling T., 1995, Stages of embryonic development of the zebrafish. *Developmental dynamics* 203:253-310
- Kottelat, M., 1997. European freshwater fishes. A heuristic checklist of the freshwater fishes of Europe (exclusive of former USSR), with an introduction for non-systematists and comments on the nomenclature and conservation. Section zoology. *Biologia, Bratislava*, vol. 52/Suppl.5 : 1-271.
- Kamler, Ewa, 2005. Parent – egg – progeny relationships in teleost fishes: an energetics perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 15: 399–421.
- Λιούσια, Βαρβάρα, 2005. Πτυχιακή εργασία του τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών. Θέμα εργασίας «Μορφομετρική ανάλυση του γυνογενετικού πληθυσμού του *Carassius gibelio* της λίμνης Παμβώτιδας σε σχέση με την γενετική ποικιλομορφία και τα βιολογικά χαρακτηριστικά του».
- Ługowska, Katarzyna, Małgorzata Witeska, 2004: The effect of copper exposure during embryonic development on deformations of newly hatched common carp larvae, and further consequences. *Electronic journal of Polish Agricultural Universities. Volume 7, Issue 2.*
- Marteinsdottir, G. and A. Steinarsson, 1998, Maternal influence on the size and viability of Iceland cod *Gadus morhua* eggs and larvae, *Journal of Fish Biology* (1998) 52: 1241–1258.
- Munkittrick K. R., Dixon D. G., 1989, Effects of natural exposure to copper and zinc on egg size and larval copper tolerance in white sucker (*Catostomus commersoni*). *Ecotoxicol. Environ. Safety* 18: 15-26.
- Papagiannis, I., I. Kagalou, J. Leonardos, D. Petridis, V. Kalfakakou, 2004. Copper and zinc in four freshwater fish species from Lake Pamvotis (Greece). *Environment International* 30: 357– 362.
- Παπαναστασίου Δημήτριος. 1976, Βιβλίο Αλιεύματα .Τόμος Β' : σελ 655.
- Paulovits, G., Tatray, I., Matyas, K., Korponai, J., Kovats, N., 1998. Role of Prussian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) in the nutrient cycle of the Kis-Balaton Reservoir. *Int. Revue Hydrobiol.* 83 (Suppl.): 467–470.
- Πάσχος, Ι., Καγκαλού Ι. και Νατσης Α. 1995. Διαχειριστική Μελέτη Λίμνης Παμβώτιδας Ιωαννίνων. Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Ιωαννίνων- Δημοτική Επιχείρηση Λίμνης Ιωαννίνων.



- Paschos, Ioannis, Nathanailides Cosmas, Tsoumani Miranta, Perdikaris Costas, Gouva Evangelia, Leonardos Ioannis, 2004. Intra and inter-specific mating options for gynogenetic reproduction of *Carassius gibelio* (Bloch, 1783) in Lake Pamvotis (NW Greece). *Belgian journal of zoology* 134: 55-60.
- Paschos, I, L. Natsis, C. Nathanailides, I. Kagalou and E. Kolettas, 2001. Induction of Gynogenesis and Androgenesis in Goldfish *Carassius auratus* (var. oranda). *Reprod Dom Anim* 36: 195-198.
- Πάσχος, Ι. 2002. Βιβλίο Ιχθυοκαλλιέργειας Εσωτερικών Υδάτων. ISBN. σελ. 293
- Purdom, CE., 1995. *Genetics and Fish Breeding*. Fish and Fisheries Series, No 8, Chapman and Hall, p.275 .
- Rothbard S, Wohlfarth G., 1995. Methods for improvement of Japanese ornamental (koi) carp. *Tropical Fish Hobbist*. Vol. XLIII No.7.pp.224-242.
- Schartl, M., Nando I., Schlupp I., Wiide B., Epplen J. T., Schmid M., Parzefall J., 1995, Incorporation of subgenomic amounts of DNA as compensation for mutational load in a gynogenetic fish. *Nature* 373, 68-71.
- Schlupp Ingo, 2005, The evolutionary ecology of gynogenesis. *Annual Reviews Ecol. Evol. Syst.* 36:399-417
- Sehgal H.S. and Toor H.S., 1991, Offspring fitness and fecundity of and Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham.), in relation to egg size, *Aquaculture*, 97 (1991), 269-279.
- Shen, J., Fan, Z., Wang, G., 1983. Karyotype studies of male triploid crucian carp (Fangzheng crucian carp) in Heilongjiang. *Acta Genet. Sinica* 10 (2): 133-136.
- Thorpe J.E., M.S. Miles and D.S. Keay, 1984, Developmental rate, fecundity and egg size in Atlantic Salmon *Salmo Salar*, *Aquaculture*, 43 (1984) 289-305
- Tsoumani, M., R. Liasko, P. Moutsaki, I. Kagalou and I. Leonardos, 2006. Length-weight relationships of an invasive cyprinid fish (*Carassius gibelio*) from 12 Greek lakes in relation to their trophic states. *J. Appl. Ichthyol.* 22: 281-284.
- Toth, B., E. Varkonyi, A. Hidas, E. Edvine Meleg, L. Varadi, 2005. Genetic analysis of offspring from intra- and inerspecific crosses of *Carassius auratus gibelio* by chromosome and RAPD analysis. *Journal of Fish Biology* 66: 784-797.
- Tcherfas, N.B. Natural and artificial gynogenesis of fish, 1968. Lectures of a seminar on Fisheries department in Moscow. USSR.

- Villeneuve, L. Daniel, Curtis R. Lawrence, Jenkins J. Jeffrey, Warner E. Kara, Tilton Fred, Kent L. Michael, Watral G. Virginia, Cunningham E. Michael, Markle F. Douglas, Sethajintanin Doolalai, Krissanakriangkrai Oraphin, Johnson R. Eugene, Grove Robert and. Anderson A. Kim, 2005. Environmental Stresses and Skeletal Deformities in Fish from the Willamette River, Oregon. Environ. Sci. Technol., 39, 3495-3506.
- Zou, Z., Y. Cui, J. Gui and Y. Yang, 2001. Growth and feed utilization in two strains of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*: paternal effects in a gynogenetic fish. J. Appl. Ichthyol. 17: 54-58.
- Zhou, L., Wang, Y., Gui, J.-F., 2000. Genetic evidence for gonochoristic reproduction in gynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) as revealed by RAPD assays. J. Mol. Evol. 51: 498–506.
- Zhu, L., Jiang YG., 1993. A comparative study of the biological characters of gynogenetic clones of silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Acta Hydrobiol Sinica 17(2): 112–120.
- Li, Zhou, Yang Wang, Jian-Fang Gui, 2001. Molecular analysis of silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) clones by SCAR markers. Aquaculture 201: 219–228.
- Zhou, L., Fan L., Gui J., 1998. RAPD analysis of incorporation of heterologous genetic materials in multiple species of silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio*. Acta Hydrobiol. Sinica 22 (4), 301-306.
- Westernhagen, H. von. & V. Dethlefsen, 1997. The use of malformations in pelagic fish embryos for pollution assessment, Hydrobiologia 352: 241–250.

Διαδικτυακές Πηγές

- Δ1 : <http://www.lakepamvotis.gr>
- Δ2 : <http://www.fishbase.org>
- Δ3 : <http://www.wikipedia.org>
- Δ4 : <http://www.fao.org>
- Δ5 : <http://arjournals.annualreviews.org>