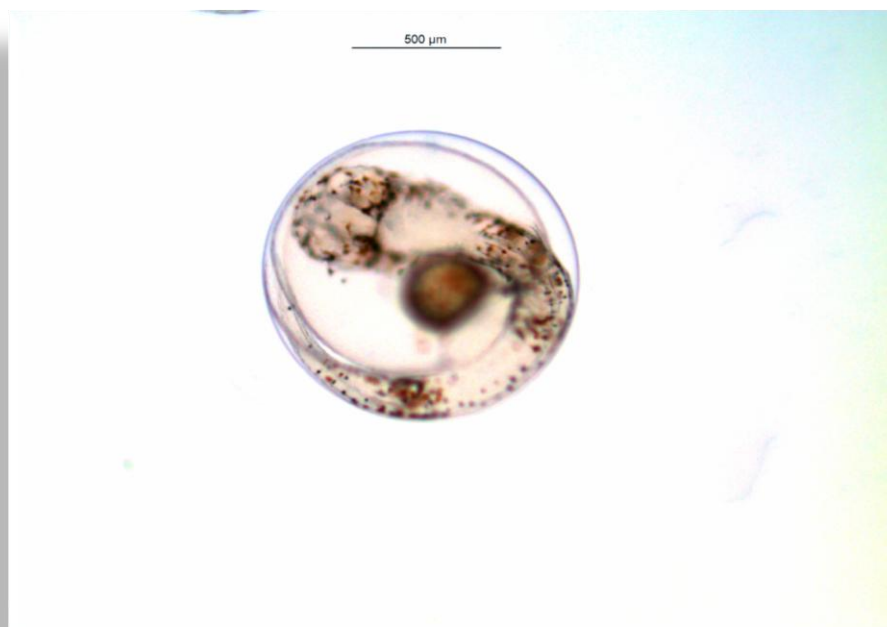


ΤΕΙ ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ & ΑΛΙΕΥΤΙΚΗΣ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Μελέτη των πρώιμων αναπτυξιακών σταδίων του κοινού είδους Κρασιού *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) σε ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες, και μελέτη της ικανότητας σίτισης και επιβίωσης κατά την διάρκεια της τροφικής πενίας κατά την πρώτη σίτιση



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ:

ΠΑΓΟΥΛΑΤΟΥ ΜΑΡΙΑ, ΤΡΑΓΓΕΛΗ ΜΑΡΙΑ

ΕΙΣΗΓΗΤΕΣ: Δρ ΚΛΗΜΟΓΙΑΝΝΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ,

Δρ ΧΩΤΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ, ΜΑΡΤΙΟΣ 2012

Αφιερώνεται
στις οικογένειες μας,
Στους καθηγητές μας κα. Κλημογιάννη, κο .Χώτο,
Στους φίλους μας,
Στο τμήμα Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε τον Μαΐο του 2011 στο τμήμα Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης. Η επιλογή του θέματος έγινε αφενός για την κάλυψη του γενικότερου βιολογικού ενδιαφέροντος και αφετέρου για την σωστότερη διαχείριση των πρώιμων αναπτυξιακών σταδίων του κρανιού κατά τη μαζική εκτροφή του.

Με το τέλος της πτυχιακής μας εργασίας, σηματοδοτείται το τέλος μιας πορείας τεσσάρων και πλέον ετών, όντας φοιτήτριες στο ΤΕΙ Μεσολογγίου. Φθάνοντας λοιπόν στο τέλος της φοίτησής μας, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε ορισμένα πρόσωπα των οποίων η βοήθεια συντέλεσε στην περάτωση των σπουδών μας, στην διερεύνηση των γνώσεων και των οριζόντων μας.

Αρχικά, στην επιβλέπουσα καθηγήτρια μας Δρ. Κλημογιάννη, της οποίας το ερευνητικό και επιστημονικό ενδιαφέρον αποτέλεσαν την κινητήρια δύναμη πραγμάτωσης της εργασίας αυτής. Την ευχαριστούμε για όλα όσα μας δίδαξε, μας προσέφερε, τις συμβουλές της και τις πολλές ώρες που μας αφιέρωσε. Η συμβολή της στην ανάλυση και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων ήταν ουσιαστική. Την ευχαριστούμε θερμά.

Επίσης, τον καθηγητή Χώτο για τις χρήσιμες παρατηρήσεις και συμβουλές του κατά την διάρκεια της συγγραφής αυτής της εργασίας. Τον καθηγητή Βιδάλη, καθώς και τους καθηγητές και ερευνητές του τμήματος για την προσφορά του εργαστηριακού εξοπλισμού.

Ευχαριστίες στον ιχθυογεννητικό σταθμό της εταιρείας Νηρέα, στην κοινότητα Μανάγουλη του νομού Φωκίδας, για την προσφορά των αυγών κρανιού.

Σεβασμό και ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλουμε στους προϊσταμένους των τμημάτων που εργαζόμαστε κ. Αρειστίδου και κ. Β. Πεσλή. Για την απεριόριστη κατανόηση και διευκόλυνση για την ολοκλήρωση της εργασίας αυτής.

Σημαντική βοήθεια και συμπαράσταση στην προσπάθειά μας αυτή είχαμε απ' την φίλη μας και συμφοιτήτριά μας Κ. Ζουλιώτη.

Τέλος, οφείλουμε ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μας Σπύρο & Αγγελική, Γιώργο & Φιλισία καθώς και στα αδέρφια μας, που με την υπομονή και επιμονή όλα αυτά τα χρόνια ήταν σημαντικοί αρωγοί στην προσπάθειά μας να εκπληρώσουμε τις φοιτητικές μας υποχρεώσεις με αξιοπρέπεια.

Ευχαριστούμε.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΑΓΟΡΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΩΝ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΕΙΔΩΝ	2
1.2 ΑΓΟΡΑ ΤΟΥ ΚΟΙΝΟΥ ΚΡΑΝΙΟΥ	4
1.3 ΚΡΑΝΙΟΣ Ή <i>Argyrosomus regius</i> (Asso, 1801)	8
1.4 ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΡΟΗΜΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΩΝ ΣΤΑΔΙΩΝ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ	12
1.5 ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	16

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	18
2.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	19
2.2.1 ΑΠΟΘΕΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΞΑΜΕΝΩΝ	20
2.3 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΗΚΑΝ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΘΗΚΑΝ	22
2.3.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΥΓΟΥ	22
2.3.2 ΕΜΒΡΥΑΚΟ ΣΤΑΔΙΟ	23
2.3.3 ΛΕΚΙΘΟΦΟΡΟ ΝΥΜΦΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ	25
2.3.4 ΝΥΜΦΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ	29

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΥΓΟΥ	33
3.2 ΕΜΒΡΥΑΚΟ ΣΤΑΔΙΟ	36
3.2.1. ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ ΚΑΙ ΧΡΟΝΟΙ	36
3.2.2. ΕΠΙΒΙΩΣΗ (ΠΟΣΟΣΤΑ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΕΚΚΟΛΑΨΗΣ)	40
3.2.3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ	40
3.3 ΛΕΚΙΘΟΦΟΡΟ ΝΥΜΦΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ	41
3.3.1. ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ ΚΑΙ ΧΡΟΝΟΙ	41
3.3.2. ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ	42
3.3.3. ΕΠΙΒΙΩΣΗ (ΠΟΣΟΣΤΑ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΕΚΚΟΛΑΨΗΣ)	47
3.3.4. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ	48
3.3.5. ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ	48

3.4 ΝΥΜΦΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ	49
3.4.1. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ – ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΩΝ ΑΠΟΘΕΜΑΤΩΝ	49
3.4.2. ΤΡΟΦΙΚΗ ΠΕΝΙΑ (STARVATION) – ΣΗΜΕΙΟ ΧΩΡΙΣ ΕΠΙΣΤΡΟΦΗ (POINT OF NO RETURN ή PNR)	51
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ	
4.1 Οντογένεση	55
4.2 Από την έρευνα στην εφαρμογή	59
ABSTRACT/ ΠΕΡΙΛΗΨΗ	61
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	64

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο κοινός κρانيός (*Argyrosomus regius*), εκτρέφεται στην Ευρώπη από τα τέλη της δεκαετίας του 1990. Η δραστηριότητα αυτή ξεκίνησε κυρίως στη Γαλλία και την Ιταλία, ακολούθησε η Ισπανία το 2004, ενώ το 2007 έφτασε στην Ελλάδα και την Τουρκία. Η συνολική ιχθυοκαλλιεργητική παραγωγή ανήλθε από μερικούς τόνους το 2000 σε περίπου 4000 τόνους το 2008 και πάνω από 100000 τόνους στις αρχές του 2010, υποσκελίζοντας την παραγωγή πολλών από τα υπό δοκιμή νέα ως προς την καλλιέργεια είδη (FAO, 2010a).

Το είδος αυτό αποτελεί ένα από τα πολλά υποσχόμενα ως προς την καλλιέργεια νέα είδη. Η ζήτηση των νεαρών ιχθυδίων είναι μεγάλη και η παραγωγή ατόμων στο εμπορικό τους μέγεθος αναμένεται να αυξηθεί ταχύτατα σε σύντομο χρονικό διάστημα. Το 2008, 8 με 10 εκατομμύρια ιχθύδια διακινήθηκαν σε Ευρωπαϊκές μονάδες εκτροφής. Με ένα μέσο όρο περίπου τα 2 Kg στα δυο χρόνια εκτροφής και με απώλειες της τάξης του 10%, οι παραγωγές έφτασαν στο τέλος του 2010 τους 16000 τόνους (Monfort, 2010).

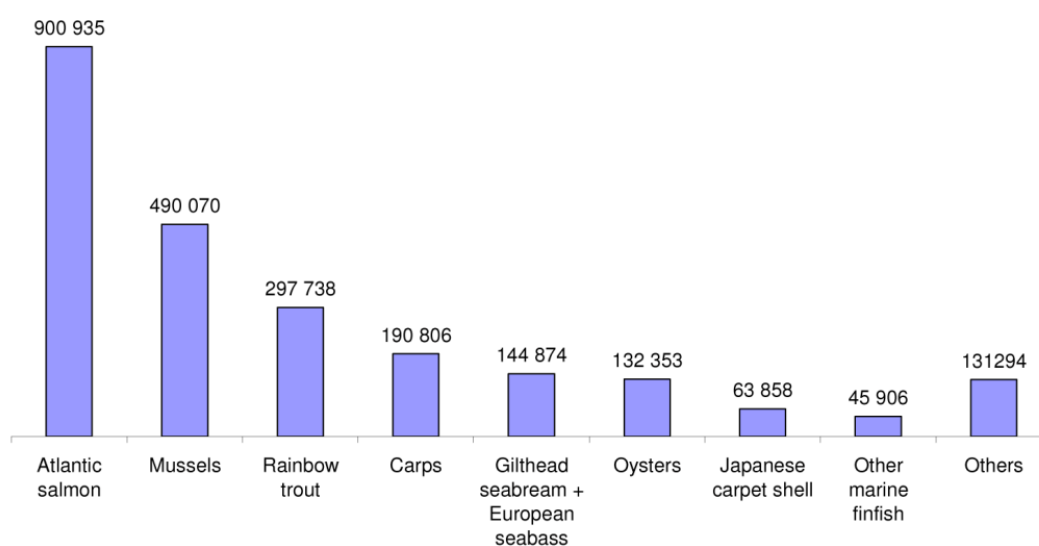
1.1 ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΑΓΟΡΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΩΝ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΕΙΔΩΝ

Η κατανάλωση θαλασσίων ειδών στην Ευρωπαϊκή Ένωση (EU 25) άγγιξε τους 13.3 εκατομμύρια τόνους το 2007, σε ισοδύναμο βάρος ζωντανών αλιευμάτων, όπου οι 10.5 εκατ. τόνοι προήλθαν από την αλιεία και οι 2.8 εκατ. τόνοι από τις υδατοκαλλιέργειες (Monfort, 2010). Η κατανάλωση των υδατοκαλλιεργητικών ειδών αφορά 1.5 εκατ. τόνους ψάρια και 1.3 εκατ. τόνους οστρακόδερμα.

Οι εισαγωγές των καλλιεργούμενων ψαριών στην Ευρώπη έχουν διπλασιαστεί, από το 7% του συνόλου των θαλασσίων ειδών στις αρχές της δεκαετίας του '90, στο 15% το 2007. Ο σολομός του Ατλαντικού είναι εκείνος που κυρίως οφείλεται για την παραπάνω αύξηση κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του '90, ενώ κατά τα πρόσφατα χρόνια, το μερίδιο της αύξησης καταλαμβάνεται κυρίως από τα φιλετοποιημένα ψάρια του γλυκού νερού (FAO, 2010a).

Η κατανάλωση των καλλιεργούμενων ψαριών παρουσιάζεται σε παρόμοια επίπεδα μεταξύ των Ευρωπαϊκών χωρών, με τη μέση κατά κεφαλήν κατανάλωση να κυμαίνεται από 2 έως 3 Kg, ενώ η κατανάλωση των οστρακόδερμων εμφανίζει μεγάλη ποικιλία (Paquotte, 2007). Στην Μεγάλη Βρετανία και τη Γερμανία οι καταναλωτές δείχνουν να προτιμούν τα καλλιεργούμενα είδη, ενώ στη Γαλλία, Ιταλία και Ισπανία δεν εμπιστεύονται το ίδιο τα προϊόντα εκτροφής.

Το μερίδιο αγοράς μεταξύ υδατοκαλλιεργειών και αλιείας συνεχίζει να είναι χαμηλό, αλλά παρουσιάζει αυξητικές τάσεις. Το 2007, στην Ευρώπη, τα καλλιεργούμενα θαλάσσια είδη βρέθηκαν στην πέμπτη θέση του συνόλου των θαλάσσιων τροφίμων (Εικόνα 1.1). Ανά χώρα, ποικίλουν από μικρά ποσοστά (Ολλανδία, Ιρλανδία), έως το μέσο όρο (Γαλλία: 27%, Γερμανία: 19%, Ιταλία: 24%, Ισπανία: 22%).



Εικόνα 1.1 Ευρωπαϊκή παραγωγή ειδών θαλασσοκαλλιεργειών το 2007 (σε τόνους) (FAO, 2009).

Η κατανάλωση των ειδών θαλασσοκαλλιεργειών έχει δραματικά αυξηθεί τα τελευταία χρόνια με το σολομό και τις γαρίδες να είναι οι κύριοι υπαίτιοι αυτής της τάσης. Το Ευρωπαϊκό λαβράκι και η τσιπούρα είναι δυο άλλα είδη τα όποια έχουν καταλάβει σημαντικό μερίδιο στην Ευρωπαϊκή αγορά. Τα είδη θαλασσοκαλλιεργειών έχουν επίσης γίνει εξαιρετικό ακατέργαστο υλικό για τον κλάδο της μεταποίησης, εξαιτίας της ετήσιας διαθεσιμότητας τους κατά τη διάρκεια ολόκληρης της χρονιάς, της σταθερής και σχετικά χαμηλής τιμής τους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο σολομό και οι γαρίδες και πρόσφατα και το γατόψαρο (*rangasius*), τα οποία κυρίως υπόκεινται μεταποίηση λόγω του μεγάλου μεγέθους του τελικού προϊόντος τους ([Monfort, 2010](#)).

1.2 ΑΓΟΡΑ ΤΟΥ ΚΟΙΝΟΥ ΚΡΑΝΙΟΥ

Ο κοινός κρانيός παρουσιάζει γεωγραφική κατανομή στις ανατολικές ακτές του Ατλαντικού, από την Μαυριτανία μέχρι τη Νορβηγία και στη Μεσόγειο θάλασσα. Η ετήσια παγκόσμια αλιευτική παραγωγή κυμαίνεται από τους 5000 έως τους 10000 τόνους. Η Ευρωπαϊκή αλιευτική παραγωγή είναι χαμηλή, από μερικές εκατοντάδες έως 1500 τόνους, στις διάφορες χώρες ([Πίνακας 1.1](#)). Η Ευρωπαϊκή αγορά κυρίως εφοδιάζεται από το Μαρόκο. Παρόλα αυτά, ο "άγριος" κρانيός είναι κοινός σε δυο κυρίως περιοχές της δυτικής Ευρώπης: στη νότια Ισπανία και Πορτογαλία, καθώς και στη δυτική Γαλλία. Και στις δυο αυτές περιοχές τα άτομα που συλλέγονται διαθέτουν συνήθως μεγάλο μέγεθος (πάνω από 5 Kg) ([FAO, 2010a](#)).

Πίνακας 1.1 Παραγωγή του κοινού κρانيού από αλιευτικές συλλήψεις (τόνοι) ([FAO, 2010a](#)).

	1980	1990	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Total world ^d	3 207	5 261	4 108	4 046	5 926	6 340	8 941	9 337	8 250	4 840	5 724
Egypt	269	113	776	1 038	1 372	1 414	2 411	1 232	2 107	1 602	1 202
France		179	189	162	156	101	525	1 263	1 356	1 204	13
Ghana										233	2 042
Guinea-Bissau			394	372	730	337	310	277	260	240	240
Israel	10	67	288	223	273	249	144	6	2	22	22
Mauritania		2 000	600	600	600	950	1 200	1 500	900	1 320	1 230
Morocco*	1 160	2 544	1 755	1 534	2 047	3 102	4 160	4 722	3 387	**	**
Portugal	937		4	6	36	40	46	172	154	143	159
Spain	816	94									
Turkey	15	193	70	50	63	75	62	96		60	56

Όπως έχει προηγουμένως αναφερθεί, ο κοινός κраниός άρχισε να καλλιεργείται στα τέλη του '90, κατόπιν συνεργασίας Ιταλών και Γάλλων παραγωγών, με την πρώτη εμπορική παραγωγή να πραγματοποιείται στη Γαλλία το 1997. Τα ιχθύδια που παρήχθησαν στην Sete (Γαλλία) εκτράφηκαν στη συνέχεια σε μια μονάδα κοντά στη λίμνη Orbetello, στην Τοσκάνη. Η παραγωγή αυτή κατόπιν διανεμήθηκε σε άλλες Μεσογειακές χώρες, με την παραγωγή του είδους να αυξάνεται ταχύτατα (Πίνακας 1.2) (FAO, 2010b). Η παγκόσμια παραγωγή το 2008 στις βόρειες ακτές της Μεσογείου υπολογίστηκε στους 2500 με 3000 τόνους, ενώ την ίδια χρονιά παράχθηκαν 8 με 10 εκατομμύρια νεαρά ιχθύδια.

Σύμφωνα με επίσημα δεδομένα από το εκάστοτε Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης, η παραγωγή στη Γαλλία το 2008 έφτασε τους 380 τόνους, στην Ιταλία τους 350 τόνους το 2009, στην Ισπανία τους 1500 τόνους, την Ελλάδα τους 500 τόνους το 2009, και στην Τουρκία τους 512 τόνους το 2008 (Monfort, 2010). Ο κοινός κраниός εκτρέφεται επίσης αλλά σε μικρότερη κλίμακα στη Μάλτα (12 τόνοι το 2008) και την Κροατία.

Πίνακας 1.2 Παραγωγή του κοινού κраниού από εκτροφές 1997-2008 (τόνοι) (FAO, 2010b).

	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
France	30	30	30	33	35	165	100	147	267	282	282	300
Italy						131		696	186	172	192	300
Spain							3	16	347	489	251	1 374
Portugal									47	47	25	15
Greece												*240
Turkey												**512
Malta										#28	#12	#12
Egypt												2 031

Στην Αίγυπτο, οι (Sadek *et al.* 2009, in Monfort, 2010) εκτίμησαν ότι ετησίως περί τα 420 εκτάρια των ανατολικών λιμνών της Dibah Triangle ζώνης χρησιμοποιούνται για εκτροφή κρانيού (Εικόνα 1.2), με παραγωγή που φτάνει τους 3000 τόνους/έτος, με μια μέση παραγωγικότητα της τάξης των 5-7 τόνοι/εκτάριο/έτος. Η εκτροφή αυτή βασίζεται σε συλλογή άγριου γόνου κατά μήκος του δέλτα του ποταμού Νείλου, το οποίο αντιπροσωπεύει την περιοχή αναπαραγωγής και ανάπτυξης των νεαρών σταδίων των ψαριών της ανατολικής και νοτίου Μεσογείου (El-Hehyawi, 1974). Συγκεκριμένα, μεταξύ 2 και 5 εκατομμύρια είναι τα νεαρά ιχθύδια που συλλέγονται ετησίως από το δέλτα αυτό (Sadek *et al.*, 2009, in Monfort, 2010).

Ο κοινός κρانيός είναι ένα είδος γνωστό σε μερικές και περιορισμένες περιοχές. Στις περισσότερες χώρες διαθέτει αρκετές τοπικές ονομασίες:

Γαλλία: maigre (η πιο κοινή ονομασία), courbine, aigle ή grogneur

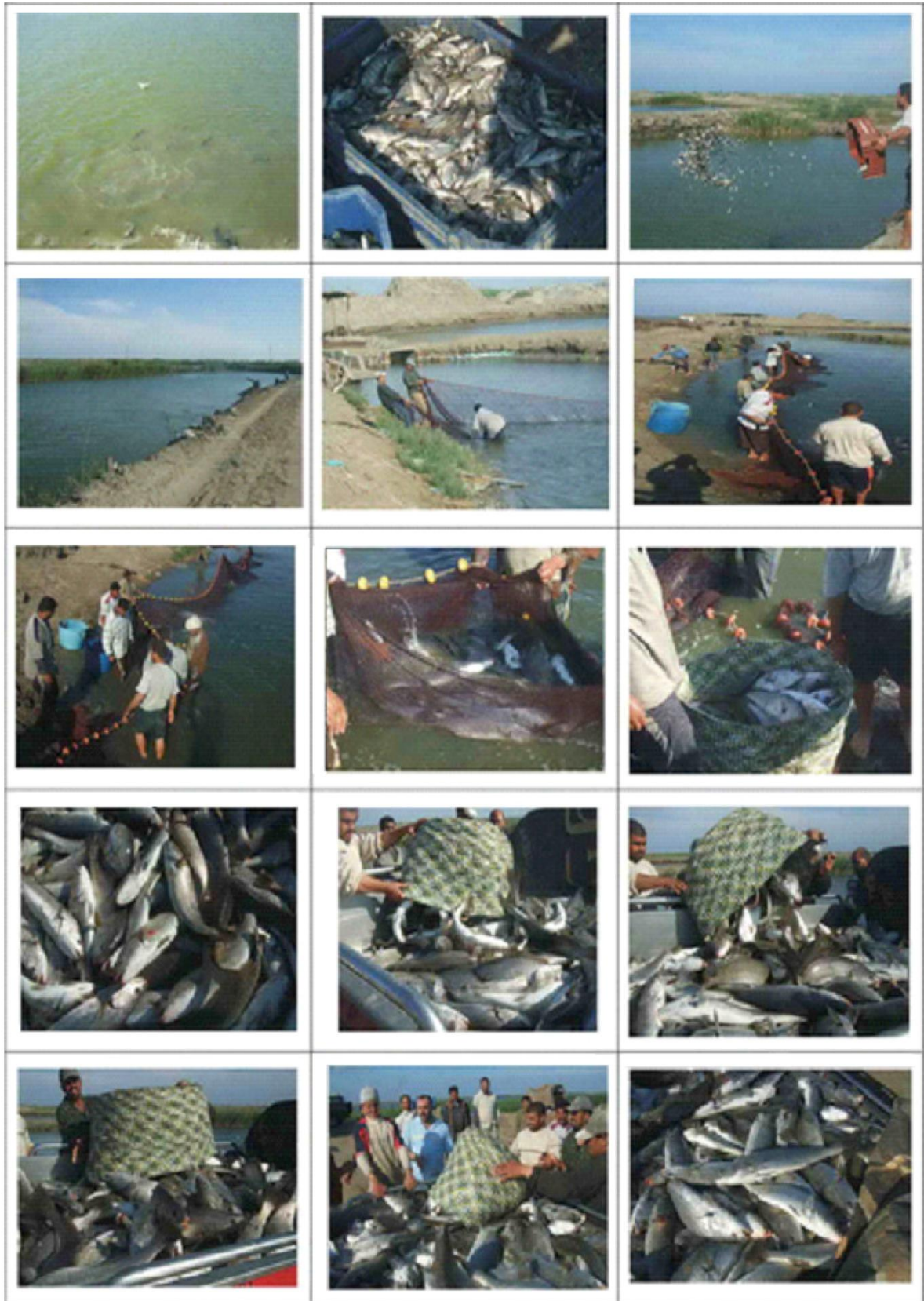
Ισπανία: corvina, ενώ με την ίδια ονομασία αναφέρονται και άλλα Sciaenidae είδη

Πορτογαλία: corvina

Μεγάλη Βρετανία: meagre, drum, jewfish, craoker, sea-sheep και salmon-bass

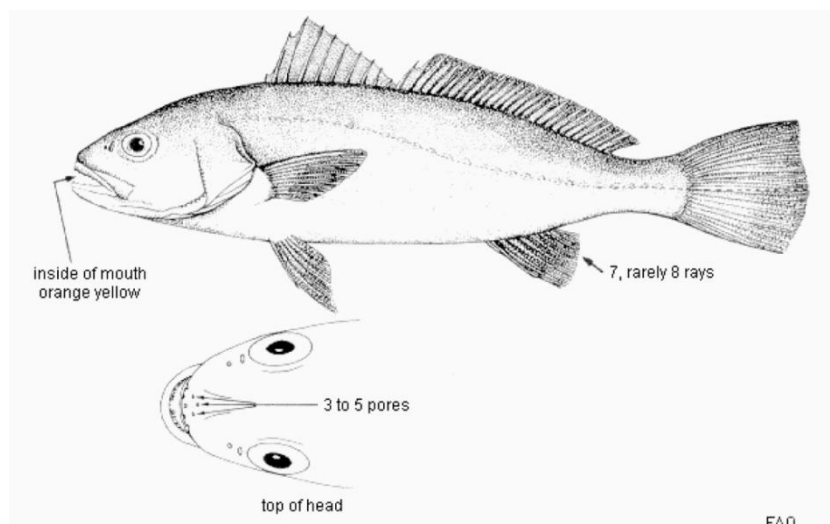
Ιταλία: ombrina bocca d'oro, figao, figou, figaro

Τουρκία: sariagiz (=yellow mouth)



Εικόνα 1.2 Εκτροφή του κοινού κρانيού σε λίμνες στην Αίγυπτο (Sadek *et al.*, 2009, in Monfort, 2010).

1.3 ΚΡΑΝΙΟΣΉ *Argyrosomus regius* (Asso, 1801)



Συστηματική κατάταξη:

Βασίλειο: Ζώα (Animalia)
Φύλο: Χορδωτά (Chordata)
Κλάση: Οστεϊχθύες (Osteichthy)
Υποκλάση: Ακτινοπτερύγιοι (Actinopterygii)
Τάξη: Περκόμορφα (Perciformes)
Οικογένεια: Σκιαινίδες (Sciaenidae)
Γένος: *Argyrosomus*
Είδος: *Argyrosomus regius*

Ο κοινός κρانيός λέγεται και καλαφάτης. Συγγενεύει με το μυλοκόπι και το σικυό, ενώ η εξωτερική του μορφολογία πλησιάζει αυτή του λαβρακιού (Roo *et al.*, 2010). Ανήκει στην οικογένεια των Sciaenidae, ενώ το γένος *Argyrosomus* εκπροσωπείται από οκτώ είδη. Πρόκειται για ένα είδος που στη φύση διατρέφεται σε νεαρές ηλικίες (νεαρά ιχθύδια) με ιχθυοπλαγκτόν και καρκινοειδή (μύσιδες και γαρίδες), ενώ όταν φτάνει τα 30-40 cm ολικό σωματικό μήκος, τρέφεται κυρίως με πελαγικά ψάρια και κεφαλόποδα (Pasquaud *et al.*, 2008, 2010).

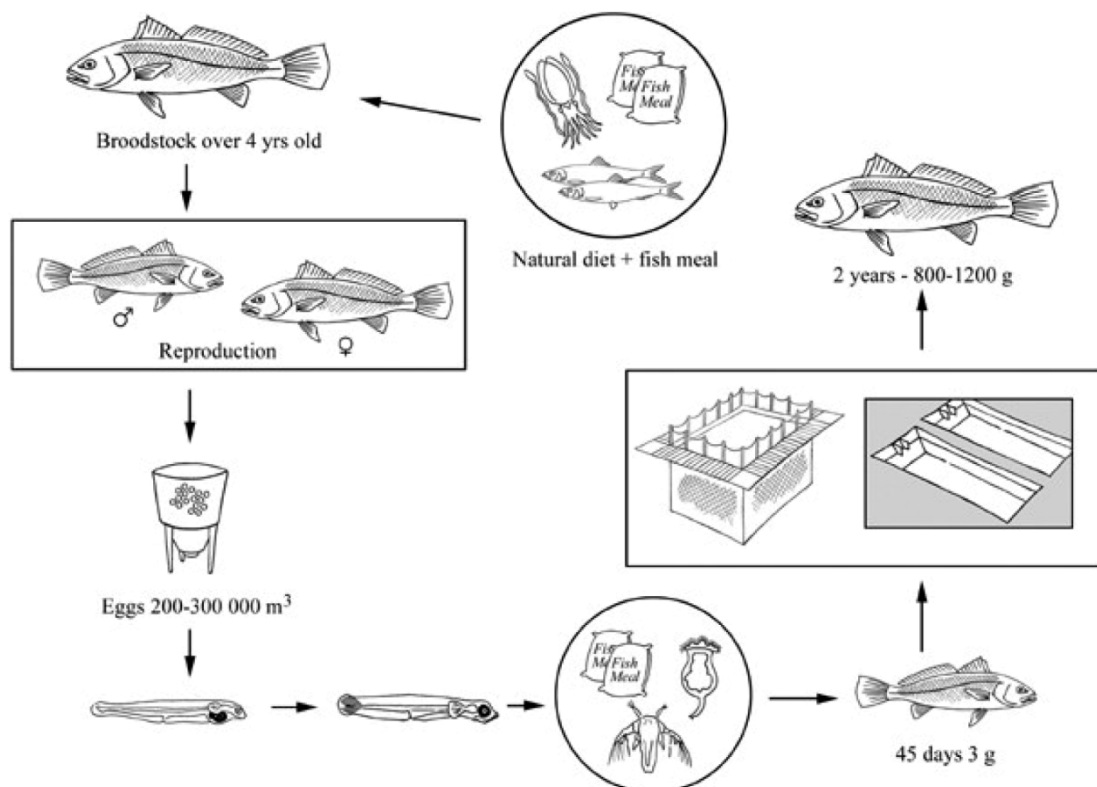
Το είδος αυτό κατοικεί σε βάθη που κυμαίνονταν από 15 έως 200 m με διασπορά κατά μήκος της ανατολικής ακτής του Ατλαντικού Ωκεανού, από τη Νορβηγία έως το Γιβραλτάρ και το Κονγκό, συμπεριλαμβανομένης της Μεσογείου (αν και δεν είναι πολύ κοινό στην Ιταλία και την Ελλάδα) και της Μαύρης Θάλασσας, ενώ μεταναστεύει στην Ερυθρά Θάλασσα μέσω της διώρυγας του Σουέζ ([Chao 1986](#); [Griffiths and Heemstra, 1995](#)). Τα μεγαλύτερα ψάρια βρίσκονται κατά μήκος των ακτών της Δυτικής Αφρικής. Στη Σενεγάλη, στον όρμο του Ντακάρ φαίνεται να είναι το νότιο όριο του είδους.

Το μεγαλύτερο βάρος που έχει καταγραφεί είναι τα 103 Kg, ενώ μπορεί να φθάσει τα 230 cm σε μήκος ([Quero and Vayne, 1987](#)). Η ανάπτυξη επιτυγχάνεται κυρίως κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού. Ο ρυθμός τροφοληψίας μειώνεται σημαντικά όταν η θερμοκρασία της θάλασσας πέσει κάτω από τους 13-15°C.

Ο κρανιός φέρει σχετικά κεφαλή μεγάλου μήκους και επίμηκες σώμα με ευδιάκριτη πλευρική γραμμή, η οποία επεκτείνεται μέχρι τη βάση του ουραίου πτερυγίου. Τα μάτια του έχουν μικρή διάμετρο σε σχέση με το μήκος του, σε αντίθεση με τους ωτόλιθους οι οποίοι είναι ευμεγέθεις. Διαθέτει σώμα χρώματος ασημί-γκρι, ενώ τα πτερύγια στη βάση τους είναι κοκκινωπά και η στοματική κοιλότητα έχει χρώμα κίτρινο-χρυσάφι. Το στόμα βρίσκεται τοποθετημένο στην πρόσθια κοιλιακή περιοχή του σώματος. Πρόκειται για γονοχωριστικό είδος το οποίο δεν παρουσιάζει φυλετικό διμορφισμό μέχρι τον ένατο μήνα της ηλικίας του, όπου μετά από έξι μήνες παρατηρείται διαφοροποίηση με ιστολογικές αναλύσεις, με τις θηλυκές γονάδες να διαφοροποιούνται νωρίτερα από τις αρσενικές ([Schiavone et al., 2008](#)). Η γενετική ωρίμανση ολοκληρώνεται στο δεύτερο έτος της ηλικίας τους (αρσενικά) ή στο τρίτο (θηλυκά). Η περίοδος ωοτοκίας του εκτείνεται από τον Μάιο μέχρι τον Ιούλιο, σε θερμοκρασιακό εύρος από 17 έως 22°C ([FAO, 2005](#)). Στη φύση, στα μέσα Απριλίου τα ώριμα άτομα προσεγγίζουν τις ακτές, όπου στη συνέχεια (τέλη Μαΐου) από τις εκβολές εισχωρούν στους ποταμούς προκειμένου να αναπαραχθούν (ανάδρομη μετανάστευση). Κατά την περίοδο ωοτοκίας, τα αρσενικά παράγουν ένα χαρακτηριστικό βαθύ ήχο, πιέζοντας τους κοιλιακούς μυς στην ουροδόχο κύστη ([Lagardere and Mariani, 2006](#)). Τα νεαρά ιχθύδια που θα παραχθούν θα μεταναστεύσουν στις εκβολές για ανεύρεση τροφής, όπου θα παραμείνουν όλο το καλοκαίρι, για να μεταφερθούν το φθινόπωρο και στη συνέχεια το χειμώνα, σε

βαθύτερα νερά (20-40 m). Συνοψίζοντας, η θερμοκρασία και η αναπαραγωγή είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες που καθορίζουν τις μεταναστεύσεις του είδους αυτού. Έτσι, τόσο η άφιξη των ενηλίκων όσο και η αναχώρηση των νεαρών ιχθυδίων από τις εκβολές, παρατηρούνται το Μάιο και τον Οκτώβριο, όταν η θερμοκρασία του νερού είναι 13-14°C.

Από καλλιεργητικής άποψης, αποτελεί ένα είδος χωρίς ιδιαίτερες δυσκολίες κατά την εκτροφή του (Stergiou *et al.*, 2008), με τη βέλτιστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη των ιχθυδίων να κυμαίνεται από 17 έως 21°C (Roo *et al.*, 2010) (Εικόνα 1.3). Από βιβλιογραφικές πηγές φαίνεται ότι το είδος αυτό δεν αναπαράγεται αυθόρμητα σε συνθήκες αιχμαλωσίας, καθιστώντας απαραίτητη την ανάπτυξη πρωτόκολλων επαγωγής της ωοτοκίας (Duncan *et al.*, 2008; Μητριζάκης και Μυλώνας, 2010). Συγκεκριμένα, η δυσλειτουργία εστιάζεται στην αποτυχία ωρίμανσης των ωοκυττάρων, δυσλειτουργία που είναι κοινή σε θηλυκά ψάρια εκτροφής (Mylonas and Zohar 2001). Σε αυτές τις περιπτώσεις η επαγωγή της γαμετογένεσης μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση εξωγενών ορμονών.



Εικόνα 1.3 Παραγωγικός κύκλος εκτροφής του κοινού είδους κρانيού (FAO, 2005).

Εν κατακλείδι, ο κοινός κρυνιός έχει προταθεί σαν ένα από τα ποιο θετικά υποσχόμενα είδη για τη διαφοροποίηση της εμπορικής Ευρωπαϊκής ιχθυοκαλλιέργειας (Stergiou *et al.*, 2008; Le Francois *et al.*, 2010), κατατάσσοντάς το στην όγδοη θέση της λίστας των 27 υποψήφιων νέων ειδών προς εκτροφή (Quemener, 2002) κυρίως λόγω, της ευκολίας καλλιέργειάς του (El-Shebly *et al.*, 2007; Roo *et al.*, 2010), του υψηλού ρυθμού αύξησης και μετατρεψιμότητας της τροφής (Jimenez *et al.*, 2005), της μειωμένης συχνότητας εμφάνισης ασθενειών (Ternengo *et al.*, 2010) και της εκλεπτυσμένης ποιότητας της ωμής και φιλετοποιημένης σάρκας του (Poli *et al.*, 2003; Hernandez *et al.*, 2009). Συγκεντρωτικά, ως σημαντικότερα πλεονεκτήματα της εκτροφής του κοινού κρυνιού μπορούν να αναφερθούν τα εξής:

- Ο κοινός κρυνιός είναι ένα είδος με ταχύτατο ρυθμό αύξησης, όπου ιχθύδιο λίγων μόνο γραμμαρίων φτάνει τα 700 gr μετά τη διέλευση μόνο 12 μηνών και τα 2-2.5 Kg μετά από 24 μήνες. Η αύξηση μπορεί να είναι ταχύτερη στις περιοχές με υψηλότερη θερμοκρασία (νότια Ισπανία, Κανάριοι νήσοι, νότια Μεσόγειος).
- Το είδος αυτό χαρακτηρίζεται από υψηλό ρυθμό μετατρεψιμότητας τροφής (0.9-1.2 εξαρτώμενο από το είδος τροφής).
- Ο κοινός κρυνιός διαθέτει μεγάλη προσαρμοστικότητα σε συνθήκες αιχμαλωσίας και υψηλή ανθεκτικότητα σε παράγοντες στρες.
- Εξαιτίας του ότι, το παραπάνω είδος είναι γνωστό σε ένα μικρό τμήμα των Ευρωπαίων καταναλωτών, μέχρι στιγμής, για τους γνώστες το ψάρι αυτό
- απολαμβάνει πολύ θετική εικόνα. Σύμφωνα με τους Γάλλους, Ισπανούς και Ιταλούς καλλιεργητές, δοκιμές στις αγορές (με σεφ ή νοικοκυρές, οι περισσότεροι των οποίων δεν γνώριζαν το προϊόν) έδωσαν πολύ θετικά αποτελέσματα. Το ψάρι είναι εφοδιασμένο με μυϊκή μάζα εξαιρετικής γεύσης, η οποία παραμένει και μετά το μαγείρεμα, ενώ μπορεί να

- μαγειρευτεί με πολλούς διαφορετικούς τρόπους. Το είδος αυτό διαθέτει επίσης ωραίο σχήμα, κοντά σε εκείνο του κοινού λαβρακιού. Επιπλέον, είναι ένα λιπαρά ψάρι πλούσιο σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.
- Μέχρι ώρας, η περιορισμένη παραγωγή του βελτιώνει τη θέση του στην αγορά, όπου μπορεί και πιάνει υψηλές τιμές. Παραδείγματα τιμών καλλιεργούμενων κρانيών από παραγωγούς κυμαίνονται από 6 έως 10 €/Kg (νωπό ψάρι).
- Το ψάρι αυτό με το μεγάλο μέγεθος προσφέρει μεγάλες δυνατότητες μεταποίησης, με ποσοστά εκμετάλλευσης του σώματός τους που φτάνουν τα 42 με 45% (του ολικού μεγέθους τους). Ο κοινός κρانيός είναι γευστικότερος καπνιστός ή για χρήση του σε sushi.

1.4 ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΡΟΗΜΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΩΝ ΣΤΑΔΙΩΝ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ

Οντογενετική προσέγγιση των ψαριών

Η αναπτυξιακή και αυξητική πορεία ενός οργανισμού από το γονιμοποιημένο ωάριο μέχρι και το θάνατό του είναι γνωστή ως οντογένεση. Πλήθος ερευνητικών εργασιών έχουν πραγματοποιηθεί πάνω στην "ανάγνωση" της αύξησης και ανάπτυξης διαφόρων ειδών ψαριών, προσφέροντας πλήθος πληροφοριών σχετικών με οικολογικές προτιμήσεις και ενδιαιτήματα (Holmes and McCormick, 2010), κολυμβητικές συμπεριφορές (Utne-palm and Stiansen, 2002; Georgalas et al., 2007), φυσιολογία (Zapata et al., 2006; Mazon et al., 2007), διατροφικές συνήθειες (Zouten et al., 2008; Ruibin et al., 2010), ενώ η μορφολογική περιγραφή προσφέρει ταξινομικά κριτήρια συστηματικής αναγνώρισης σε ιχθυοπλαγκτονικές μελέτες (Kimura et al., 2004; Turan et al., 2006). Η ανάλυση της οντογένεσης προσφέρει την δυνατότητα εντοπισμού-καθορισμού των κρίσιμων αναπτυξιακών σημείων ή σταδίων ενώ ταυτόχρονα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εργαλείο του αναπτυξιακού καθορισμού των μορφο-ανατομικών παραμορφώσεων (Koumoundouros et al.,

2002; Esteveao *et al.*, 2005). Οι παραπάνω αναφερόμενοι παράμετροι είναι σε θέση να προσφέρουν σημαντικές πληροφορίες σχετικές με τη βελτίωση καλλιεργητικών χειρισμών, την εξεύρεση λύσεων σε πιθανές παραγωγικές δυστοκίες, προάγοντας τελικά της ποιότητα των προϊόντων των ιχθυοκαλλιεργειών.

Από την άλλη, οι μορφο-ανατομικές παραμορφώσεις (=μη αντιστρέψιμες αποκλίσεις από το φυσικό μορφολογικό πρότυπο), που έχουν παρατηρηθεί στην πλειοψηφία των ιχθυογεννητικών σταθμών, αποτελούν έναν από τους βασικότερους αρνητικούς ποιοτικούς παράγοντες της θαλάσσιας ιχθυοκαλλιέργειας (Divanach *et al.*, 1996). Η πλειοψηφία των μορφο-ανατομικών παραμορφώσεων που παρατηρείται στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς οδηγούν στο θάνατο πριν την τεσσαρακοστή ηλικιακή ημέρα, ενώ από την άλλη εντοπίζονται και παραμορφώσεις που δεν σχετίζονται με θνησιμότητες. Οι μη θανατηφόρες παραμορφώσεις αποτελούν και το μεγαλύτερο πρόβλημα στις μαζικές εκτροφές, λόγω υποβιβασμού της ποιότητας των τελικών προϊόντων. Η επώαση των αυγών κάτω από υψηλές συγκεντρώσεις ή κάτω από μηχανικό στρες, η επίδραση ρυπαντών, η διατροφή, αβιοτικές συνθήκες, γενετικοί και γενεαλογικοί παράμετροι προβάλλουν σαν ισχυροί παράγοντες δημιουργίας διαφόρων μορφο-ανατομικών παραμορφώσεων (Watanabe, 1986).

Βιολογική διαχείριση ενδο-εξωγενούς θρέψης

Μετά την απορρόφηση των λεκιθικών αποθεμάτων, τα εναπομένοντα λιπιδικά αποθέματα υποστηρίζουν θρεπτικά τις νύμφες των ψαριών για ένα περιορισμένο χρονικό περιθώριο (Parra and Yufera, 2000), το οποίο κυρίως εξαρτάται από το είδος, την ποιότητα της επώασης, τις διαστάσεις των αυγών και των νυμφών, και τη θερμοκρασία (Miller *et al.*, 1988; Klimogianni *et al.*, 2004). Η έναρξη της εξωγενούς θρέψης είναι ένα πολύ κρίσιμο γεγονός που καθορίζει κατά πολύ την ανάπτυξη των ψαριών (Yufera and Darias, 2007), μιας και μετά την πλήρη απορρόφηση των λεκιθικών αποθεμάτων, η καθυστέρηση ή αναβολή της σίτισης έχει συνδεθεί με μαζικές θνησιμότητες στη θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια (Yin and Blaxter, 1987; Gisbert *et al.*, 2004). Οι Blaxter και Hempel 1963) προσδιόρισαν το "σημείο χωρίς επιστροφή" ή point of no return (PNR) (το οποίο καλείται και "μη αναστρέψιμη

τροφική πενία" ή "irreversible starvation"), το οποίο υποδηλώνει τις ημέρες μετά την εκκόλαψη όπου το ποσοστό ταϊσμένων ατόμων πέφτει στο μισό της μέγιστης τιμής ή το 50% του μέγιστου ρυθμού ταΐσματος κατά τη διάρκεια προοδευτικής τροφικής πενίας ή ασιτίας.

Αρκετοί πειραματισμοί έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με την ικανότητα τροφοληψίας και την επιβίωση σε σχέση με το PNR, καθώς επίσης στην προσπάθεια εξέτασης των επιπτώσεων της τροφικής πενίας στις νύμφες των ψαριών (Yin and Blaxter, 1987; Oozeki *et al.*, 1989; Yufera *et al.*, 1993). Ουσιαστικά, σχετικά με τη τροφική πενία ή starvation, πρόκειται για μια μορφή καθολικής διακοπής της τροφοληψίας (Bilton and Robins, 1973). Κατά την τροφική πενία πραγματοποιείται αυστηρή μείωση των βιταμινών, των θρεπτικών ουσιών, και ενέργειας, και επομένως είναι μια ακραία μορφή υποσιτισμού. Η τροφική πενία ως υποσιτισμός είναι απειλητική για τη ζωή, αυξάνοντας τα επίπεδα θνησιμότητας. Με άλλα λόγια, είναι η φυσική και βιολογική κατάσταση που περιγράφει την έλλειψη σίτισης, η οποία όταν εφαρμόζεται για μεγάλο χρονικό διάστημα μπορεί να οδηγήσει και στο θάνατο.

Γενικά η ασιτία όταν εφαρμόζεται στα ψάρια προκαλεί τις εξής οργανικές δυσλειτουργίες (Patterson and Goldspink, 1973; Kjørsvik *et al.*, 1991):

- Το στομάχι και το έντερο εκκενώνονται. Ο αριθμός των βακτηριδίων στο πεπτικό σύστημα μειώνεται δραστικά, και έτσι μειώνεται ο κίνδυνος μόλυνσης της σάρκας.
- Η δραστηριότητα των ενζύμων στα έντερα και στα κύτταρα των ψαριών μειώνεται αρκετά.
- Με την ασιτία, οι δεσμοί στη σάρκα γίνονται ισχυρότεροι και έτσι τα ιχθυοκαλλιεργητικά προϊόντα μπορούν να αυξήσουν κατά συνέπεια την ποιότητά τους.
- Κατά τη διάρκεια μιας ασιτίας το ψάρι κάνει καύση των λιπών του και έτσι η περιεκτικότητα σε λίπος είναι μειωμένη. Το ψάρι κατά μέσο όρο χάνει 0.2-0.6% του βάρους του κάθε ημέρα, αφότου έχει εκκενωθεί το έντερο. Η

απώλεια βάρους είναι περισσότερη κατά τη διάρκεια των πρώτων ημερών. Η μείωση του ενδομυϊκού λίπους είναι αργή.

Η διάρκεια της τροφικής πενίας ποικίλλει ανάλογα με:

A. Είδος ψαριού.

Η σωματική σύσταση λίπος θα καθορίσει τη διάρκεια της τροφικής πενίας, καθώς επίσης στα μεγάλα ψάρια ο χρόνος αντοχής στην τροφική πενία είναι πιο μεγάλος από τα μικρότερα ψάρια.

B. Θερμοκρασία του νερού.

Μεγαλύτερη αντοχή στην τροφική πενία παρατηρείται στις χαμηλότερες θερμοκρασίες.

Γ. Σύνθεση προηγούμενης τροφής.

Τα ψάρια που ταΐστηκαν με ξηρή τροφή χρειάζονται περισσότερο χρόνο από αυτά που ταΐστηκαν με υγρή τροφή. Η περιεκτικότητα σε λίπος της τροφής μπορεί επίσης να έχει επιπτώσεις στο χρόνο της τροφικής πενίας που απαιτείται.

Εν κατακλείδι, μελέτες των επιδράσεων της τροφικής πενίας και της εξεύρεσης του PNR στα ψάρια και ειδικότερα κατά τα πρώιμα αναπτυξιακά τους στάδια, έχουν προσφέρει σημαντικές γνώσεις για τη λειτουργία του πεπτικού συστήματός τους, τις διατροφικές συμπεριφορές τους, τις φυσικο-ανατομικές αντοχές τους, προάγοντας την ορθολογικότερη διαχείριση των ειδών κάτω από συνθήκες μαζικής παραγωγής τους.

Επιβίωση των πρώιμων αναπτυξιακών σταδίων

Κατά τη διάρκεια των αρχικών ή πρώιμων αναπτυξιακών σταδίων (κυρίως τις πρώτες 10-15 ημέρες, στις περιόδους αντικατάστασης της τροφής, και στη μεταμόρφωση) ([Bagarinao, 1986](#)), παρατηρείται θνησιμότητα κάτω από την επίδραση πλήθους αιτιών (βιοτικοί και αβιοτικοί παράγοντες). Η επιτυχής έκβαση της νυμφικής εκτροφής ενός είδους απαιτεί υψηλά ποσοστά επιβίωσης, γεγονός καθοριστικό για την επιλογή ειδών προς μαζικές καλλιέργειες. Πλήθος βιολογικών παραγόντων, όπως η ηλικία και η προέλευση των γεννητόρων, ο τύπος γενετικής ωρίμανσης και ωτοκίας, δύναται να επηρεάζουν την ποιότητα των αυγών και τη μετέπειτα αναπτυξιακή πορεία των νυμφών αναφορικά με τα ποσοστά επιβίωσης. Η σημασία της επιβίωσης καταδεικνύεται και από τον ορισμό ο οποίος έχει καθιερωθεί στην απόδοση του όρου "ποιότητα αυγών" σύμφωνα με τον οποίο, "η δυναμική των αυγών να παράγουν βιώσιμους γόνους ορίζεται ως ποιότητα αυγών".

1.5 ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η αποθεματοποίηση αυγών του κοινού είδους κρανιού σε εργαστηριακές δεξαμενές-ενυδρεία εστιάζοντας κυρίως στην προσπάθεια καταγραφής ή μελέτης:

- των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών του αυγού του κρανιού
- της ανάπτυξης και αύξησης του είδους από το εμβρυακό υπο-στάδιο του γαστριδίου έως και τις πρώτες ημέρες του νυμφικού, με ιδιαίτερη έμφαση στην απορρόφηση των λεκιθικών και λιπιδικών αποθεμάτων
- των μορφο-ανατομικών παραμορφώσεων
- των ποσοστών επιβίωσης
- της επίδραση της προοδευτικής καθυστέρησης της τροφής ή αλλιώς της τροφικής πενίας στην αρχή του νυμφικού και η εύρεση του PNR

Στόχος της συγκεκριμένης μελέτης ήταν οι παραπάνω καταγραφές να αποτελέσουν χρήσιμο εργαλείο για ορθολογικότερη διαχείριση των πρώιμων αναπτυξιακών σταδίων του κοινού κρανιού κατά τη μαζική εκτροφή του.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Το παρόν πείραμα πραγματοποιήθηκε στο ΤΕΙ Μεσολογγίου, σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, στο τμήμα Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης, στο εργαστήριο Υδατοκαλλιεργειών, στη Μονάδα Καλλιέργειας Πλαγκτού, και αφορούσε τη μελέτη των πρώιμων αναπτυξιακών σταδίων (από το στάδιο του γαστριδίου έως τις πρώτες ημέρες του νυμφικού, καθορισμένες από εφαρμοσμένη τροφική πενία ή starvation) του κοινού είδους κρانيός.

Η συγκεκριμένη μελέτη διεξήχθη τον Μάιο του 2010, όταν η φυσική θερμοκρασία του θαλασσινού νερού ήταν 17.5°C. Η συγκεκριμένη χρονική περίοδο καθορίστηκε από την περίοδο ωτοκίας του είδους κάτω από φυσικές συνθήκες φωτο και θερμοπεριόδου. Τα αυγά προήλθαν από γεννήτορες του ιχθυογεννητικού σταθμού Νηρέυς Α.Ε, ο οποίος εδρεύει στην περιοχή της Χιλιαδούς (δημοτικό διαμέρισμα Μανάγουλης), του δήμου Δωριέων, στο νομό Φωκίδας.

Το πειραματικό σύστημα αποτελούταν από 2 δεξαμενές-ενυδρεία των 35 L ωφέλιμου όγκου η καθεμιά, και οι οποίες υποστηρίχτηκαν από δίκτυο παροχής αέρα, ενώ ο χώρος διέθετε κλιματισμό για τη διατήρηση σταθερών θερμοκρασιακών συνθηκών. Τόσο οι δεξαμενές όσο και τα διάφορα βοηθητικά εξαρτήματα που χρησιμοποιήθηκαν απολυμάνθηκαν πριν την έναρξη του πειράματος.

2.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΚΑΙ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η παρούσα μελέτη στηρίχτηκε σε αυγά που προσφέρθηκαν από τον ιχθυογεννητικό σταθμό της εταιρείας Νηρέυς Α.Ε. στη Χιλιαδού Μανάγουλης Φωκίδας, προερχόμενα από απόθεμα γεννητόρων F_1 εκτρεφόμενης γενιάς. Τα αυγά που χρησιμοποιήθηκαν για το σχηματισμό των συγκεκριμένων πειραματικών πληθυσμών προήλθαν από μια ωτοκία η οποία έγινε αυθόρμητα υπό φυσικές συνθήκες φωτοπεριόδου και θερμοκρασίας.

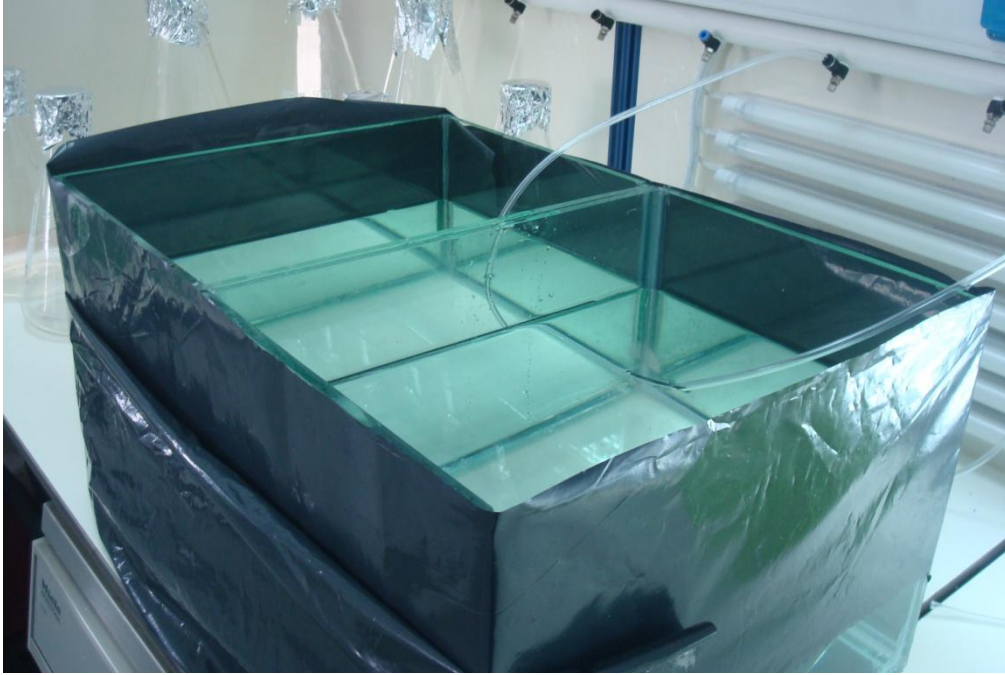
Το παρεχόμενο φιλτραρισμένο και αποστειρωμένο (UV) θαλασσινό νερό (αλατότητας 38‰), υποστήριζε τη δεξαμενή των γεννητόρων (κυλινδροκωνική δεξαμενή χωρητικότητας 45 m³), με ένα ρυθμό ανανέωσης περίπου 5 m³/h. Η διατροφή των γεννητόρων ακολουθούσε περιοδικό εβδομαδιαίο πρόγραμμα και απαρτιζόταν από καλαμάρι, ψάρια και συνθετική τροφή ή pellets.

Για τον ακριβή προσδιορισμό του χρόνου ωτοκίας και γονιμοποίησης, προηγήθηκε μια περίοδος (μια εβδομάδα) δειγματοληπτικού ελέγχου και διερεύνησης του νερού της δεξαμενής γεννητόρων. Για τη δεδομένη δεξαμενή γεννητόρων και τη δεδομένη χρονική στιγμή, η γονιμοποίηση πραγματοποιήθηκε βραδινές ώρες (9.00 μμ). Για την αποφυγή καταστάσεων στρες στο απόθεμα γεννητόρων (από την ανάγκη χρήσης φωτός για τη συλλογή των αυγών το βράδυ) η συλλογή των αυγών πραγματοποιήθηκε τις πρώτες πρωινές ώρες (7:00 π.μ.). Δεδομένου ότι τα γονιμοποιημένα αυγά του κρانيού επιπλέουν, αυτά συλλέχθηκαν μέσω της υπερχείλισης σε μικρή κυλινδροκωνική δεξαμενή χωρητικότητας 400 L, εφοδιασμένης με πλαγκτονικό δίκτυο 400 μm ανοίγματος ματιού.

2.2.1 ΑΠΟΘΕΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΞΑΜΕΝΩΝ

Η μελέτη των πρώιμων αναπτυξιακών σταδίων (από το στάδιο της έναρξης του γαστριδίου έως τις πρώτες ημέρες του νυμφικού) του κраниού πραγματοποιήθηκε κάτω από συνθήκες θερμοκρασίας και αλατότητας $19.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ και 35‰, αντίστοιχα. Ο έλεγχος και η σταθεροποίηση της θερμοκρασίας επιτεύχθηκε με τον κλιματισμό του εργαστηριακού χώρου, ενώ διάλυμα γλυκού νερού βρύσης και κατάλληλης ποσότητας συνθετικού αλατιού εφαρμόστηκαν στην προσπάθεια εξομίωσης των χαρακτηριστικών του πειραματικού μέσου καλλιέργειας με τις φυσικές θαλασσινές συνθήκες.

Το πειραματικό σύστημα αποτελούταν από δύο (2) δεξαμενές-ενυδρεία των 35 L όγκου νερού η καθεμία, μέσα στις οποίες εναποτέθηκαν τα αυγά στο στάδιο του γαστριδίου. Χρησιμοποιήθηκαν γυάλινα, ορθογώνια ενυδρεία (διαστάσεων $40 \times 35 \times 30$ cm) όπου στα εξωτερικά τους τοιχώματα είχαν τοποθετηθεί μαύρες σακούλες για την εμπόδιση της διέλευσης του φωτός (**Εικόνα 2.1**). Με τη χρήση εργαστηριακού θερμομέτρου χειρός γινόταν έλεγχος της θερμοκρασίας (κάθε 1 ώρα) καθ' όλη τη διάρκεια του εικοσιτετραώρου. Το νερό ανανεωνόταν χειροκίνητα κατά 80% του όγκου της δεξαμενής, ο φωτισμός ήταν φυσικός και εφαρμόστηκε έντονος αερισμός (σωλήνας μικρού διαμετρήματος, από το δίκτυο του εργαστηρίου, με πέτρα αέρα) κατά το εμβρυακό στάδιο, ελαφρύς αερισμός στο λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο, ενώ στο νυμφικό στάδιο δεν εφαρμόστηκε αερισμός. Επιπλέον, για τα επίπεδα κορεσμού του διαλυμένου οξυγόνου γινόταν καθημερινός έλεγχος. Η τιμή στην οποία κυμάνθηκε το διαλυμένο οξυγόνο ήταν 100%.



Εικόνα 2.1 Φωτογραφική απεικόνιση των πειραματικών δεξαμενών-ενυδρείων.

Ο αριθμός των αυγών που τοποθετήθηκε σε κάθε δεξαμενή ήταν περίπου 5.250 (τελικής συγκέντρωσης 150 αυγά l^{-1}). Ακολούθησε μία περίοδος περίπου 3 ωρών όπου βαθμιαία πραγματοποιήθηκε αλλαγή της θερμοκρασίας από τους 17.5°C στους 19°C. Η περίοδος προσαρμογής στη νέα θερμοκρασία ή ο εγκλιματισμός, πραγματοποιήθηκε με ιδιαίτερη προσοχή μιας και η ένταση αλλαγών των περιβαλλοντικών παραγόντων καθορίζουν κατά πολύ την τύχη της καλλιέργειας.

2.3 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΗΚΑΝ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΘΗΚΑΝ

2.3.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΥΓΟΥ

Στην αρχή του πειράματος μετρήθηκαν τρία βασικά χαρακτηριστικά του αυγού του κρانيού:

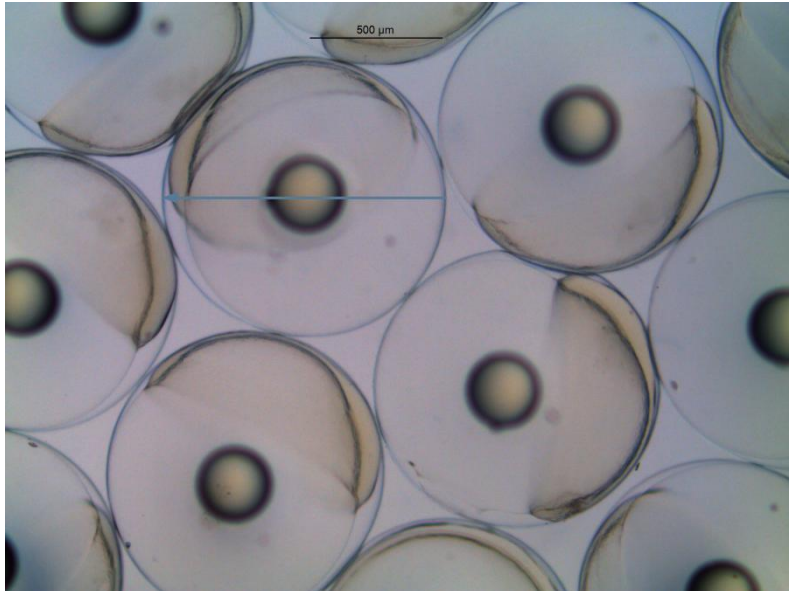
- A. διάμετρος του αυγού ή $D_{\text{αυγού}}$ (mm)
- B. διάμετρος της σταγόνας λιπιδίων ή $D_{\text{σταγόνας}}$ (mm),
- C. νωπό βάρος του αυγού του είδους ή $W_{\text{αυγού}}$ (mg).

Σε δείγμα 150 αυγών πραγματοποιήθηκε "μικροσκοπική" μέτρηση τόσο για τη διάμετρο του αυγού όσο και τη διάμετρο της σταγόνας λιπιδίων. Συγκεκριμένα, το δείγμα φωτογραφήθηκε με τη χρήση ψηφιακής κάμερας (Leica DM 100) προσαρμοσμένης σε μικροσκόπιο (Leica ICCA) (Εικόνα 2.2), ενώ με το πρόγραμμα ImageJ (Εικόνα 2.3) πραγματοποιήθηκε η μέτρηση των παραπάνω διαμέτρων, μιας και το μικροσκόπιο με τη κάμερα ήταν συνδεδεμένα με κεντρική μονάδα Η/Υ. Από τις διαμέτρους υπολογίστηκαν οι όγκοι τόσο του αυγού ($V_{\text{αυγού}}$) (mm^3) όσο και της σταγόνας λιπιδίων ($V_{\text{σταγόνας}}$) (mm^3) μέσω της εξίσωσης της σφαίρας: $V = (4/3) \times \pi \times (LD/2)^3$.

Για τον ακριβή προσδιορισμό του νωπού βάρους ($W_{\text{αυγού}}$) του αυγού του κρانيού πάρθηκαν 7 δείγματα από 75 έως 412 mg. Τα δείγματα ζυγίστηκαν με τη βοήθεια αναλυτικού ζυγού ακρίβειας 0,0001 g (OHAUS GA 110) ενώ συνολικά καταμετρήθηκαν 2.125 αυγά.



Εικόνα 2.2 Σύστημα ψηφιακής κάμερας προσαρμοσμένης σε μικροσκόπιο και



συνδεδεμένα με κεντρική μονάδα Η/Υ.

Εικόνα 2.3 Φωτογραφική απεικόνιση της μορφομετρίας αυγών με το ImageJ.

2.3.2 ΕΜΒΡΥΑΚΟ ΣΤΑΔΙΟ

Η μελέτη του εμβρυακού σταδίου εστιάστηκε κυρίως στην παρατήρηση και καταγραφή των εξής παραμέτρων:

- αναπτυξιακά γεγονότα

- αναπτυξιακοί χρόνοι
- μορφολογικές ανωμαλίες
- επιβίωση (ποσοστά γονιμοποίησης και εκκόλαψης)

Αναπτυξιακά γεγονότα

Η ανάπτυξη του εμβρυακού σταδίου στο κρανίο μελετήθηκε επισταμένα από το στάδιο του γαστριδίου ως και την εκκόλαψη. Η παρατήρηση πραγματοποιήθηκε *in vivo* με τη χρήση του οπτικού μικροσκοπίου, ενώ πραγματοποιήθηκε και φωτογράφιση με τη χρήση της ψηφιακής κάμερας. Συγκεκριμένα, κάθε 30 min λαμβανόταν δείγμα των 20 ατόμων, από το στάδιο του γαστριδίου μέχρι και την εκκόλαψη.

Ο προσδιορισμός των εμβρυακών αναπτυξιακών σταδίων του κρανιού, πραγματοποιούταν βάσει της πλειοψηφίας των ατόμων κάθε δείγματος. Γενικά, φάνηκε ότι η εμβρυακή ανάπτυξη των ατόμων κάθε δείγματος ήταν σχεδόν σύγχρονη, επιτρέποντας έτσι τον ακριβή προσδιορισμό των σταδίων κάθε φορά.

Αναπτυξιακοί χρόνοι

Οι χρόνοι εκδήλωσης των παρατηρούμενων εμβρυακών αναπτυξιακών γεγονότων (από το γαστρίδιο μέχρι την εκκόλαψη) του κρανιού εκφράστηκαν ως απόλυτες ώρες με αφετηρία τη στιγμή της γονιμοποίησης που καταγράφηκε στη δεξαμενή γεννητόρων (9.00 μ.μ.).

Το τέλος του σταδίου και επομένως η αρχή του λεκιθοφόρου σταδίου, ορίστηκε στο χρονικό σημείο όπου το 50% των αυγών του πληθυσμού είχε εκκολαφθεί ([Kendall et al., 1984](#)).

Μορφολογικές ανωμαλίες

Κατά τη διάρκεια του εμβρυακού σταδίου πραγματοποιήθηκε προσπάθεια καταγραφής αναπτυξιακών δυσπλασιών στα αυγά του κρανιού με μικροσκοπική *in vivo* παρατήρηση. Η εξέταση γινόταν στα δείγματα (κάθε 30 min λαμβανόταν δείγμα των 20 ατόμων) που πάρθηκαν για την παρατήρηση των αναπτυξιακών γεγονότων.

Επιβίωση (ποσοστά γονιμοποίησης και εκκόλαψης)

Κατά το εμβρυακό στάδιο υπολογίσθηκε τόσο το ποσοστό γονιμοποίησης, όσο και το ποσοστό εκκόλαψης των αυγών στον κρانيό. Για τον προσδιορισμό του ποσοστού γονιμοποίησης, τα αυγά πριν την εναπόθεσή τους στις δεξαμενές, τοποθετήθηκαν σε δοχείο 5 L με θαλασσινό νερό αλατότητας 38‰ και αφέθηκαν σε ηρεμία για περίπου 10 λεπτά. Σε αυτές τις συνθήκες τα γονιμοποιημένα αυγά επιπλέουν, ενώ αντίθετα τα μη γονιμοποιημένα καθιζάνουν. Με ζύγιση των επιπλεόντων και των καθιζανόντων αυγών υπολογίστηκε το ποσοστό γονιμοποίησης.

Για να υπολογιστεί το ποσοστό εκκόλαψης, πραγματοποιήθηκε ζύγιση των νεκρών αυγών, ενώ τα ποσοστά που προέκυψαν επιβεβαιώθηκαν με δειγματοληπτικές καταμετρήσεις των νέο εκκολαπτόμενων νυμφών στις δεξαμενές-ενυδρεία.

2.3.3 ΛΕΚΙΘΟΦΟΡΟ ΝΥΜΦΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ

Η μελέτη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου εστιάστηκε κυρίως στην παρατήρηση και στον προσδιορισμό των εξής παραγόντων:

- αναπτυξιακοί χρόνοι
- μορφολογική ανάπτυξη
- μορφομετρική ανάπτυξη
- επιβίωση
- μορφολογικές ανωμαλίες
- συμπεριφορά

Αναπτυξιακοί χρόνοι

Στο λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο οι χρόνοι εκφράστηκαν τόσο ως απόλυτες (ώρες) όσο και ως σχετικές (%) τιμές. Οι σχετικές τιμές ορίζονται από την εξίσωση (Divanach, 1985):

$$RT_i = t_i / T_{sd} \times 100$$

όπου

RT_i : σχετικός χρόνος (Relative Time) του i αναπτυξιακού γεγονότος (απόλυτη τιμή)

t_i : το χρονικό διάστημα από το t_0 μέχρι το i αναπτυξιακό γεγονός (ώρες)

T_{sd} : η συνολική διάρκεια του σταδίου (ώρες).

Το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο οριοθετήθηκε από το σημείο όπου το 50% των αυγών του πληθυσμού έχει εκκολαφθεί (έναρξη του σταδίου) ως το σημείο όπου τα λεκιθικά αποθέματα έχουν πλήρως απορροφηθεί (τέλος του σταδίου) (Kendall *et al.*, 1984).

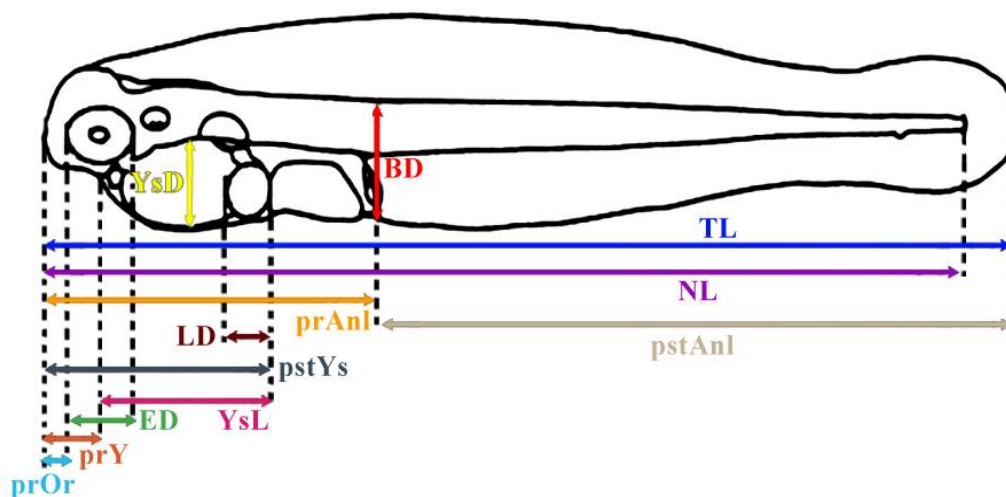
Μορφολογική ανάπτυξη

Με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου (Leica ICCA), και της ψηφιακής κάμερας (βλ. 2.3.2) προσαρμοσμένης στο μικροσκόπιο έγινε παρατήρηση *in vivo* της μορφολογικής ανάπτυξης κάθε δείγματος στο λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο σε όλη τη διάρκειά του σε θερμοκρασία $19.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$.

Για την *in vivo* παρατήρηση της λεκιθοφόρας νυμφικής ανάπτυξης, πάρθηκαν δείγματα 15 ατόμων ανά 12 ώρες και μελετήθηκαν με τη βοήθεια του μικροσκοπίου, μέχρι το τέλος του σταδίου. Βάσει των παρατηρήσεων των ατόμων κάθε δείγματος, προσδιορίστηκαν τα αναπτυξιακά στάδια του κranιού. Από την παρατήρηση των δειγμάτων φάνηκε ότι η λεκιθοφόρα ανάπτυξη των ατόμων κάθε δείγματος ήταν σχεδόν σύγχρονη, επιτρέποντας έτσι τον ακριβή προσδιορισμό των σταδίων κάθε φορά.

Μορφομετρική ανάπτυξη

Με τη βοήθεια του προγράμματος ImageJ στο φωτογραφικό υλικό που συλλέχθηκε από το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο εξετάστηκε η εξέλιξη των μετρικών χαρακτηριστικών των ατόμων του κranιού. Συγκεκριμένα μετρήθηκαν οι εξής χαρακτήρες (Εικόνα 2.4):



Εικόνα 2.4 Μορφομετρικοί χαρακτήρες που εξετάστηκαν κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο στο κranιό. Οι αποδόσεις των συντομογραφιών των χαρακτήρων παραθέτονται παρακάτω (Κλημογιάννη, 2004).

Ολικό Μήκος ή TL: από το ρύγχος ως το τέλος του σώματος

Μήκος Νωτοχορδής ή NL: από το ρύγχος ως το τέλος της νωτοχορδής

Ύψος σώματος ή BD: από το κατώτερο άκρο του εντέρου ως το ανώτερο σημείο του κορμού του σώματος

Προεδρικό Μήκος ή prAnl: από το ρύγχος ως το σημείο τομής του εντέρου με την πρωτογενή περιφερειακή πτερυγιοπτυχή

Μεταεδρικό Μήκος ή pstAnl: από το σημείο τομής του εντέρου με την πρωτογενή πτερυγιοπτυχή ως το τέλος του σώματος

Πρόσθιο Άκρο Λεκιθικού Σάκου ή prYs: από το ρύγχος ως το πρόσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου

Οπίσθιο Άκρο Λεκιθικού Σάκου ή pstYs: από το ρύγχος ως το οπίσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου

Μήκος Λεκιθικού Σάκου ή YsL: από το πρόσθιο ως το οπίσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου

Ύψος Λεκιθικού Σάκου ή YsD: το μέγιστο ύψος του λεκιθικού σάκου

Διάμετρος Σταγόνας Λιπιδίων ή LD: η μέση διάμετρος

Προκογχικό Μήκος ή prOr: από το ρύγχος ως το πρόσθιο άκρο του οφθαλμού

Διάμετρος Οφθαλμού ή ED: η μέση διάμετρος

Όλα τα μήκη μετρήθηκαν παράλληλα με τον νοητό επιμήκη άξονα του σώματος, ενώ όλα τα ύψη κάθετα στον ίδιο άξονα.

Κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο λαμβάνουν χώρα μια σειρά από μορφολογικές αλλαγές που κύριο στόχο έχουν την προετοιμασία των ατόμων για την έναρξη της εξωγενούς θρέψης. Για την *in vivo* παρατήρηση της απορρόφησης των λεκιθικών και λιπιδικών αποθεμάτων πάρθηκαν δείγματα 15 ατόμων ανά 4 ώρες και μελετήθηκαν με την βοήθεια μικροσκοπίου, μέχρι το τέλος του σταδίου. Έτσι, ο όγκος του λεκιθικού σάκου και της σταγόνας λιπιδίων μελετήθηκε πιο επισταμένα.

Για τον όγκο του λεκιθικού σάκου χρησιμοποιήθηκε ο τύπος κατά [Blaxter and Hempel \(1963\)](#):

$$YsV = (\pi/6) \times YsL \times YsD^2$$

Ο όγκος της σταγόνας λιπιδίων υπολογίσθηκε από τον τύπο του όγκου της σφαίρας, ο οποίος δίνεται από την εξίσωση:

$$LV = (4/3) \times \pi \times (LD/2)^3$$

Επιβίωση

Τα ποσοστά επιβίωσης των δεξαμενών υπολογίζονταν κατά τη διάρκεια του πειράματος σε καθημερινή βάση, με ατομικές (κάθε δεξαμενή χωριστά) δειγματοληπτικές καταμετρήσεις. Συγκεκριμένα, πιπέτα των 20 ml βυθιζόταν στην δεξαμενή παίρνοντας δείγμα από όλη την κολώνα του νερού. Σε κάθε δεξαμενή πραγματοποιούταν πέντε δειγματοληψίες (από πέντε διαφορετικά σημεία κάθε φορά), και η τελική ημερήσια επιβίωση αφορούσε το μέσο όρο των δειγματοληψιών.

Μορφολογικές ανωμαλίες

Όπως στο εμβρυακό στάδιο έτσι και στο λεκιθοφόρο πραγματοποιήθηκε προσπάθεια καταγραφής πιθανών αναπτυξιακών δυσπλασιών με μικροσκοπική *in vivo* παρατήρηση. Η εξέταση γινόταν στα δείγματα που είχαν ήδη παρθεί (μορφολογική και μορφομετρική παρατήρηση).

Συμπεριφορά

Η συμπεριφορά των ατόμων του κρανίου μελετήθηκε από την εκκόλαψη μέχρι και την ολοκλήρωση του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε η κατανομή των λεκιθοφόρων νυμφών στη στήλη του νερού, καθώς και η αντίδρασή τους σε μηχανικά ερεθίσματα.

2.3.4 ΝΥΜΦΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ

Στο στάδιο αυτό μελετήθηκαν και παρατηρήθηκαν τα εξής:

- μορφολογική ανάπτυξη
- τροφική πενία (starvation)
- σημείο χωρίς επιστροφή ή Point of No Return (P

Μορφολογική ανάπτυξη

Η μορφολογική ανάπτυξη στο νυμφικό στάδιο μελετήθηκε από την αρχή του νυμφικού μέχρι τον χρόνο που μας καθόρισε η τροφική πενία ή starvation (100% θνησιμότητα) σε θερμοκρασία $19.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$. Για τον σκοπό αυτό η παρατήρηση έγινε

in vivo με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου (Leica ICCA), ενώ επίσης κάθε δείγμα φωτογραφήθηκε με τη χρήση της ψηφιακής κάμερας (Leica DM 100) προσαρμοσμένης στο μικροσκόπιο.

Από την αρχή του νυμφικού σταδίου μέχρι το τέλος που μας καθόρισε το starvation λαμβάνονταν και μελετήθηκαν δείγματα των 20 ατόμων ανά 12 ώρες.

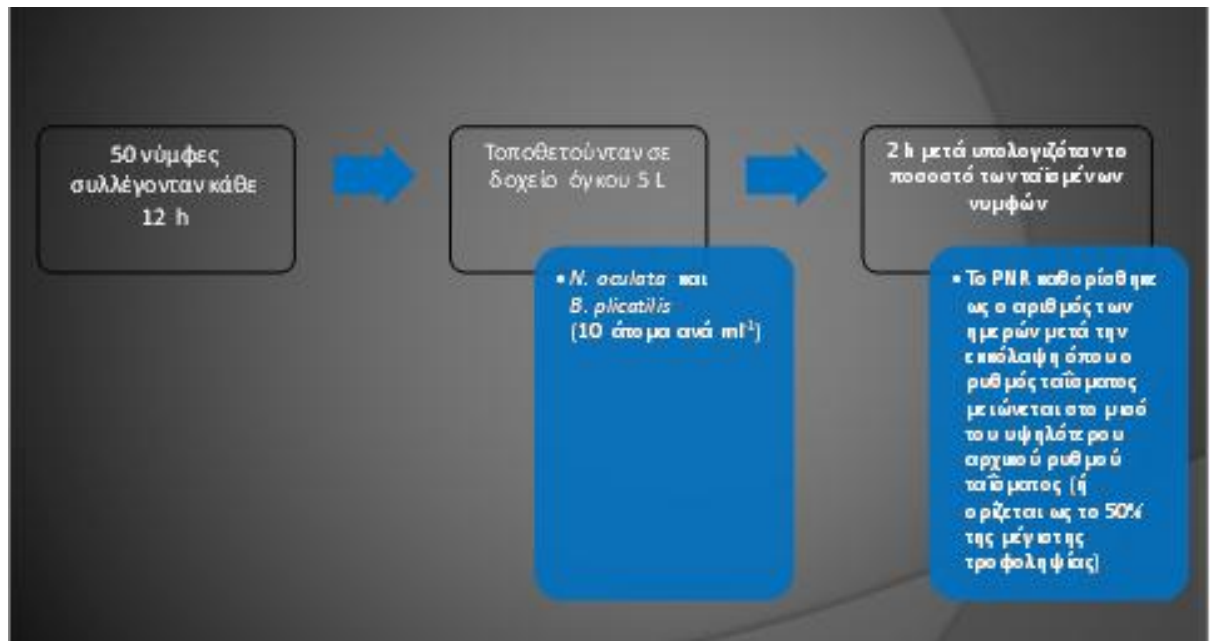
Τροφική πενία (starvation)

Από την έναρξη του νυμφικού σταδίου και αφού είχαν απορροφηθεί όλα τα λεκιθικά αποθέματα εφαρμόστηκε πρόγραμμα τροφικής πενίας (starvation), δηλαδή μη χορήγηση εξωγενούς προέλευσης τροφής. Σε ημερήσια βάση πραγματοποιούταν καταγραφή της θνησιμότητας, με δειγματοληπτικές μετρήσεις των ζωντανών νυμφών (βλ. 2.3.3). Το πρόγραμμα αυτό τερματίστηκε μέχρι την ολική θνησιμότητα του πληθυσμού των νυμφών του κρانيού.

Σημείο χωρίς επιστροφή ή Point of No Return (PNR)

Κατά τη διάρκεια της τροφικής πενίας, έγινε προσπάθεια υπολογισμού του σημείου χωρίς επιστροφή ή Point of No Return (PNR) κατά [Blaxter and Hempel \(1963\)](#). Το σημείο αυτό προσδιορίζεται ως, ο αριθμός των ημερών μετά την εκκόλαψη όπου ο ρυθμός ταΐσματος πέφτει στο μισό του υψηλότερου ρυθμού ταΐσματος κατά τη διάρκεια προοδευτικής ασιτίας.

Για το σκοπό αυτό κάθε 12 ώρες, 50 νύμφες συλλέγονταν από τις δεξαμενές εκτροφής του κρانيού και τοποθετούνταν σ' ένα δοχείο χωρητικότητας 5 L όπου περιείχε θαλασσινό νερό, φύκη (*Nannochloropsis oculata*), καθώς και τροχόζωα (*Brachionus plicatilis*) σε συγκέντρωση 10 ατόμων ανά ml. Λόγω της χαμηλής περιεκτικότητάς τους σε πρωτεΐνες και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, συστατικών απαραίτητων για την ομαλή αύξηση των νυμφών, τα τροχόζωα πριν από την χορήγησή τους στις νύμφες εμπλουτίζονταν με φύκι (*Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*). Μετά τη διέλευση 2 ωρών συλλέγονταν και οι 50 νύμφες και εξετάζονταν *in vivo* τα στομαχικά τους περιεχόμενα. Με την εξέταση αυτή υπολογιζόταν το ποσοστό των ταϊσμένων νυμφών ([Εικόνα 2.5](#)). Η παραπάνω εξέταση ολοκληρώθηκε με την παρατήρηση του 100% άδειων στομάχων.



Εικόνα 2.5 Σχηματική απεικόνιση για τον υπολογισμό του point of no return (PNR).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΥΓΟΥ

Στη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία διαπιστώθηκε ότι τα αυγά του κοινού κρανιού παρουσιάζουν επιφανειακή κατανομή ή αλλιώς επιπλέουν (είναι επομένως υπονευστονικά) σε συνθήκες αλατότητας 35‰. Το σχήμα τους είναι σφαιρικό και ως προς το χρωματισμό τους, είναι άχρωμα και διαφανή. Εσωτερικά πληρούνται με λέκιθο ομοιογενή η οποία επίσης είναι διαφανή, ενώ στην περιφέρειά τους εντοπίζεται άχρωμη και σφαιρική σταγόνα λιπιδίων. Η ανάπτυξη του εμβρύου έλαβε χώρα στον ζωικό πόλο του αυγού αντί διαμετρικά από τη σταγόνα λιπιδίων (=τελολεκιθικά).

Η περούσα μελέτη έδειξε ότι τα αυγά του κρανιού παρουσιάζουν διάμετρο που κυμαίνεται από 1.040 έως 1.081 mm (μέση τιμή 1.056 ± 0.010 mm), όγκο από 0.589 έως 0.661 mm^3 (μέση τιμή $0.616 \pm 0.017 \text{ mm}^3$) και νωπό βάρος από 0.678 έως 0.767 mg (μέση τιμή 0.718 ± 0.033 mg). Αναφορικά με τη σταγόνα λιπιδίων, εμφανίζεται με διάμετρο που κυμαίνεται από 0.255 έως 0.271 (μέση τιμή 0.265 ± 0.005 mm) και όγκο από 0.009 έως 0.011 mm^3 (μέση τιμή $0.010 \pm 0.001 \text{ mm}^3$) (Πίνακας 3.1).

Πίνακας 3.1 Χαρακτηριστικές διαστάσεις των αυγών του *A. regius* (Aver. ή μέση τιμή, SD ή τυπική απόκλιση, Max. ή μέγιστη τιμή, Min. ή ελάχιστη τιμή και n ή μέγεθος δείγματος).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΥΓΟΥ	Aver.	S.D.	Max.	Min.	n
Διάμετρος αυγού ή $D_{\text{αυγού}}$ (mm)	1.056	0.010	1.081	1.040	150
Όγκος αυγού ή $V_{\text{αυγού}}$ (mm^3)	0.616	0.017	0.661	0.589	150
Διάμετρος σταγόνας λιπιδίων ή $D_{\text{σταγ.}}$ (mm)	0.265	0.005	0.271	0.255	150
Όγκος σταγ. λιπιδίων ή $V_{\text{σταγ.}}$ (mm^3)	0.010	0.001	0.011	0.009	150
Νωπό βάρος $W_{\text{αυγού}}$ (mg)	0.718	0.033	0.767	0.678	2125

Το δείγμα των 150 αυγών (Πίνακας 3.2) που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη για την καταγραφή των διαμέτρων και των όγκων τόσο του αυγού όσο και της σταγόνας λιπιδίων φάνηκε να είναι σχετικά ομοιογενές, χωρίς μεγάλες τις αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις. Από την άλλη, η τυπική απόκλιση μεταξύ των 7 δειγμάτων (Πίνακας 3.3) του νωπού βάρους εμφανίστηκε ελαφρώς αυξημένη ίσως λόγω της μη ομοιόμορφης απορρόφησης του νερού από τα δείγματα.

Πίνακας 3.2 Δείγμα 150 αυγών του *A. regius*, για υπολογισμό των διαστάσεων του αυγού (διάμετρος αυγού ή $D_{\text{αυγού}}$ και σταγόνας λιπιδίων ή $D_{\text{σταγόνας}}$ σε mm) και (όγκος αυγού ή $V_{\text{αυγού}}$ και όγκος σταγόνας λιπιδίων $V_{\text{σταγόνας}}$ σε mm^3).

A/A	$D_{\text{αυγού}}$	$D_{\text{σταγ.}}$	$V_{\text{αυγού}}$	$V_{\text{σταγ.}}$	A/A	$D_{\text{αυγού}}$	$D_{\text{σταγ.}}$	$V_{\text{αυγού}}$	$V_{\text{σταγ.}}$	A/A	$D_{\text{αυγού}}$	$D_{\text{σταγ.}}$	$V_{\text{αυγού}}$	$V_{\text{σταγ.}}$
1	1.070	0.264	0.641	0.010	51	1.044	0.279	0.595	0.011	101	1.051	0.271	0.608	0.010
2	1.065	0.271	0.632	0.010	52	1.048	0.269	0.602	0.010	102	1.046	0.268	0.599	0.010
3	1.044	0.260	0.595	0.009	53	1.067	0.273	0.636	0.011	103	1.068	0.270	0.638	0.010
4	1.049	0.259	0.604	0.009	54	1.051	0.268	0.608	0.010	104	1.047	0.259	0.601	0.009
5	1.074	0.259	0.648	0.009	55	1.045	0.269	0.597	0.010	105	1.043	0.267	0.594	0.010
6	1.050	0.258	0.606	0.009	56	1.058	0.263	0.620	0.010	106	1.054	0.261	0.613	0.009
7	1.044	0.266	0.595	0.010	57	1.052	0.261	0.609	0.009	107	1.049	0.263	0.604	0.010
8	1.044	0.262	0.595	0.009	58	1.048	0.265	0.602	0.010	108	1.042	0.260	0.592	0.009
9	1.055	0.267	0.615	0.010	59	1.057	0.271	0.618	0.010	109	1.062	0.269	0.627	0.010
10	1.059	0.277	0.622	0.011	60	1.053	0.263	0.611	0.010	110	1.066	0.261	0.634	0.009
11	1.050	0.269	0.606	0.010	61	1.045	0.270	0.597	0.010	111	1.050	0.265	0.606	0.010
12	1.048	0.266	0.602	0.010	62	1.041	0.258	0.590	0.009	112	1.059	0.268	0.622	0.010
13	1.053	0.269	0.611	0.010	63	1.075	0.260	0.650	0.009	113	1.048	0.266	0.602	0.010
14	1.040	0.269	0.589	0.010	64	1.060	0.259	0.623	0.009	114	1.056	0.261	0.616	0.009
15	1.061	0.261	0.625	0.009	65	1.067	0.264	0.636	0.010	115	1.051	0.259	0.608	0.009
16	1.050	0.268	0.606	0.010	66	1.081	0.261	0.661	0.009	116	1.055	0.267	0.615	0.010
17	1.051	0.262	0.608	0.009	67	1.061	0.258	0.625	0.009	117	1.052	0.259	0.609	0.009
18	1.067	0.266	0.636	0.010	68	1.058	0.270	0.620	0.010	118	1.049	0.263	0.604	0.010
19	1.046	0.263	0.599	0.010	69	1.066	0.255	0.634	0.009	119	1.040	0.261	0.589	0.009
20	1.060	0.276	0.623	0.011	70	1.044	0.260	0.595	0.009	120	1.055	0.264	0.615	0.010
21	1.049	0.269	0.604	0.010	71	1.076	0.262	0.652	0.009	121	1.048	0.259	0.602	0.009
22	1.047	0.270	0.601	0.010	72	1.058	0.263	0.620	0.010	122	1.050	0.264	0.606	0.010
23	1.057	0.265	0.618	0.010	73	1.061	0.270	0.625	0.010	123	1.049	0.265	0.604	0.010
24	1.052	0.261	0.609	0.009	74	1.045	0.266	0.597	0.010	124	1.047	0.261	0.601	0.009
25	1.057	0.265	0.618	0.010	75	1.062	0.263	0.627	0.010	125	1.072	0.267	0.645	0.010
26	1.055	0.269	0.615	0.010	76	1.075	0.272	0.650	0.011	126	1.061	0.269	0.625	0.010
27	1.052	0.269	0.609	0.010	77	1.062	0.269	0.627	0.010	127	1.053	0.259	0.611	0.009
28	1.052	0.263	0.609	0.010	78	1.065	0.269	0.632	0.010	128	1.051	0.261	0.608	0.009
29	1.050	0.261	0.606	0.009	79	1.067	0.271	0.636	0.010	129	1.065	0.262	0.632	0.009
30	1.040	0.261	0.589	0.009	80	1.053	0.270	0.611	0.010	130	1.048	0.265	0.602	0.010
31	1.040	0.261	0.589	0.009	81	1.062	0.266	0.627	0.010	131	1.052	0.266	0.609	0.010
32	1.053	0.260	0.611	0.009	82	1.045	0.263	0.597	0.010	132	1.048	0.273	0.602	0.011
33	1.049	0.263	0.604	0.010	83	1.058	0.271	0.620	0.010	133	1.074	0.267	0.648	0.010
34	1.058	0.287	0.620	0.012	84	1.062	0.264	0.627	0.010	134	1.043	0.268	0.594	0.010
35	1.048	0.263	0.602	0.010	85	1.045	0.262	0.597	0.009	135	1.066	0.267	0.634	0.010
36	1.050	0.263	0.606	0.010	86	1.077	0.270	0.654	0.010	136	1.050	0.271	0.606	0.010
37	1.066	0.260	0.634	0.009	87	1.059	0.266	0.622	0.010	137	1.056	0.259	0.616	0.009
38	1.047	0.266	0.601	0.010	88	1.067	0.279	0.636	0.011	138	1.051	0.262	0.608	0.009
39	1.070	0.260	0.641	0.009	89	1.079	0.259	0.657	0.009	139	1.055	0.270	0.615	0.010
40	1.050	0.255	0.606	0.009	90	1.062	0.262	0.627	0.009	140	1.051	0.268	0.608	0.010
41	1.060	0.261	0.623	0.009	91	1.061	0.264	0.625	0.010	141	1.061	0.264	0.625	0.010
42	1.051	0.268	0.608	0.010	92	1.068	0.269	0.638	0.010	142	1.043	0.259	0.594	0.009
43	1.041	0.267	0.590	0.010	93	1.042	0.261	0.592	0.009	143	1.055	0.268	0.615	0.010
44	1.050	0.263	0.606	0.010	94	1.075	0.271	0.650	0.010	144	1.060	0.262	0.623	0.009
45	1.067	0.271	0.636	0.010	95	1.054	0.269	0.613	0.010	145	1.042	0.261	0.592	0.009
46	1.065	0.268	0.632	0.010	96	1.046	0.263	0.599	0.010	146	1.064	0.277	0.630	0.011

47	1.054	0.266	0.613	0.010	97	1.048	0.270	0.602	0.010	147	1.079	0.263	0.657	0.010
48	1.050	0.268	0.606	0.010	98	1.057	0.266	0.618	0.010	148	1.067	0.259	0.636	0.009
49	1.063	0.263	0.629	0.010	99	1.045	0.262	0.597	0.009	149	1.054	0.288	0.613	0.013
50	1.077	0.260	0.654	0.009	100	1.052	0.263	0.609	0.010	150	1.047	0.270	0.601	0.010

Πίνακας 3.3 Δείγμα 2125 αυγών του *A. regius*, για τον υπολογισμό του μέσου νωπού βάρους ή $W_{\text{αυγού}}$ (mg).

ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΒΑΡΟΣ (gr)	ΑΡ. ΑΥΓΩΝ	ΑΥΓΑ ΑΝΑ gr	$W_{\text{αυγού}}$ (mg)
1	0.172	224	1305	0.767
2	0.412	593	1439	0.695
3	0.252	363	1440	0.694
4	0.330	436	1322	0.756
5	0.075	110	1475	0.678
6	0.185	259	1400	0.714
7	0.101	140	1385	0.722
ΣΥΝΟΛΑ	1.526	2125		

3.2 ΕΜΒΡΥΑΚΟ ΣΤΑΔΙΟ

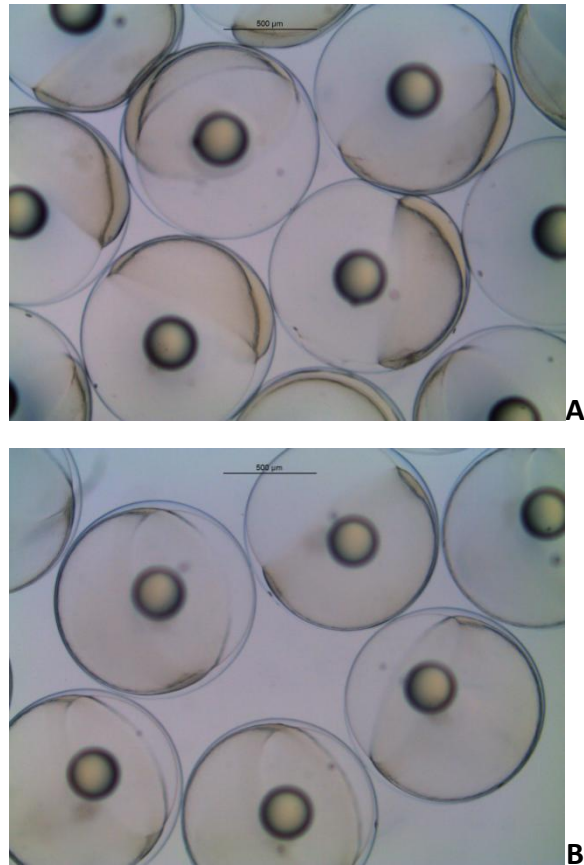
3.2.1. ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ ΚΑΙ ΧΡΟΝΟΙ

Στο παρόν πείραμα, η μελέτη της εμβρυακής ανάπτυξης του κρανιού ξεκινάει από το στάδιο του πρώιμου γαστριδίου, όπως έχει ήδη προαναφερθεί, μέχρι την ολοκλήρωση της εκκόλαψης.

Γαστρίδιο

Το στάδιο αυτό χαρακτηρίστηκε από κατευθυνόμενες μετακινήσεις κυττάρων. Τα κύτταρα του βλαστοδέρματος κινήθηκαν και εξαπλώθηκαν (επιβολή) πάνω και εξωτερικά της λεκίθου από το ζωικό πόλο προς το φυτικό, όπου εκεί δημιουργήθηκε ο βλαστοπόρος (**Εικόνα 3.1**). Εκτός από τα κύτταρα που κινήθηκαν προς το φυτικό πόλο, εντοπίστηκαν και αυτά που μετανάστευσαν προς το ζωικό πόλο δημιουργώντας μια κοιλότητα, το αρχέντερο. Αποτέλεσμα αυτών των μετακινήσεων ήταν η αναδιοργάνωση του εμβρύου και ο σχηματισμός των τριών βλαστικών στοιβάδων (εξώδερμα-μεσόδερμα-ενδόδερμα), γεγονός πολύ σημαντικό για τη μετέπειτα πορεία της εμβρυογένεσης. Οι μετακινήσεις των κυττάρων κατά την επιβολή, περιγράφονται σύμφωνα με το ποσοστό κάλυψης (σε κλάσματα) της επιφάνειας της λεκίθου από τα κύτταρα του εμβρύου.

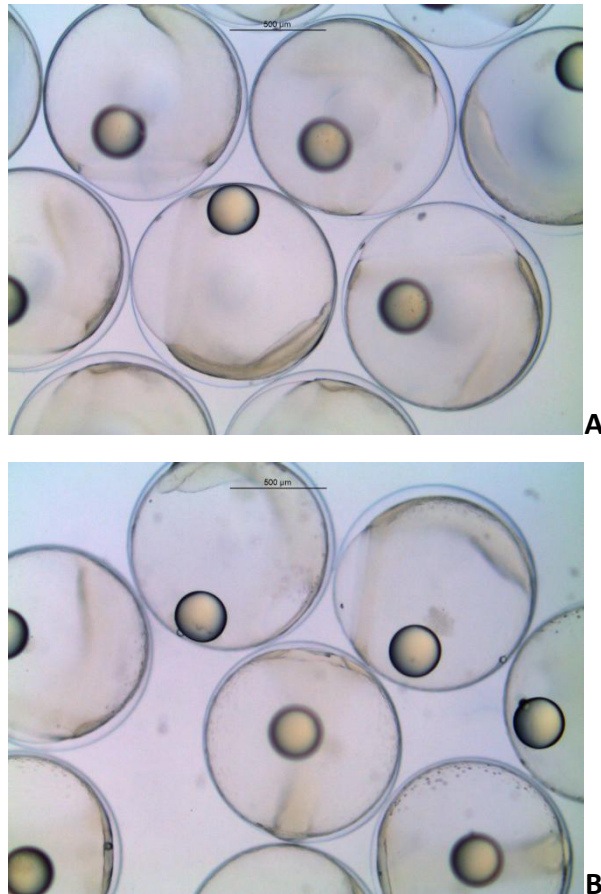
Το στάδιο της γαστριδίωσης (gastrula) στον κρανιό παρατηρήθηκε 11 ώρες μετά τη γονιμοποίηση, και διήρκησε 12 h.



Εικόνα 3.1 Φωτογραφική απεικόνιση αυγών του *A. regius*, κατά τη γαστριδίωση (επιβολή $\frac{1}{4}$ και $\frac{3}{4}$ A και B, αντίστοιχα).

Νευρίδιο

Η εμφάνιση της νευρικής πλάκας που οδηγεί στη νευρική χορδή σηματοδοτεί την έναρξη της νευριδίωσης (**Εικόνα 3.2A**). Η νευρική πλάκα εμφανίσθηκε πεπλατυσμένη προσθίως, θέση στην οποία θα σχηματισθεί ο εγκέφαλος, και στενότερη οπισθίως όπου θα δομηθεί ο νωτιαίος μυελός. Κατόπιν, τα άκρα της νευρικής πλάκας ανασηκώθηκαν σχηματίζοντας τις νευρικές πτυχές (**Εικόνα 3.2B**). Η συνολική διάρκεια του σταδίου της νευριδίωσης καταγράφηκε στις 3 h.

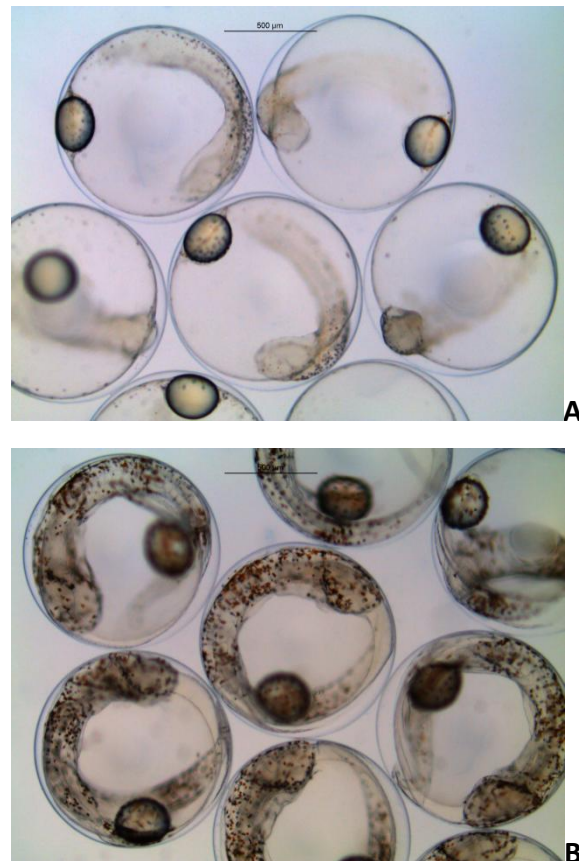


Εικόνα 3.2 Φωτογραφική απεικόνιση αυγών του *A. regius*, κατά τη πρώιμη (A) και ύστερη φάση της νευριδίωσης.

Οργανογένεση

Κατά την οργανογένεση πραγματοποιήθηκε ο σχηματισμός δομών και οργάνων που οδήγησαν στην τελική μορφοποίηση του εμβρύου. Σημαντική βοήθεια για τον χαρακτηρισμό του σταδίου, προσφέρουν οι σωμίτες οι οποίοι αυξάνονται καθώς και ο σχηματισμός της καρδιάς χωρίς ακόμα όμως να είναι λειτουργική. Οι πρώτοι σωμίτες παρατηρήθηκαν αμέσως μετά το κλείσιμο του βλαστοπόρου, ενώ ο τελικός τους αριθμός ανήλθε στους 25-28. Ταυτόχρονα το μήκος του εμβρύου διαρκώς μεγάλωνε. Σε όλο το στάδιο της οργανογένεσης τα χρωματοφόρα κύτταρα στον

κρανιό εντοπίσθηκαν στο οπίσθιο τμήμα του κορμού, ενώ στην πρόσθια περιοχή και στην οπίσθια των οφθαλμών καταγράφηκε συγκέντρωση χρωματοφόρων. Στο τέλος του σταδίου παρατηρήθηκε και η αποκόλληση του ουραίου πτερυγίου από τη λέκιθο, η μείωση του όγκου της λεκίθου καθώς και η λειτουργία της καρδιάς. Όταν η κίνηση του εμβρύου έγινε έντονη τότε η οργανογένεση είχε ολοκληρωθεί (27 h μετά την έναρξη του σταδίου).



Εικόνα 3.3 Φωτογραφική απεικόνιση αυγών του *A. regius*, κατά την έναρξη (A) και τη λήξη (B) του σταδίου της οργανογένεσης του εμβρύου.

Εκκόλαψη

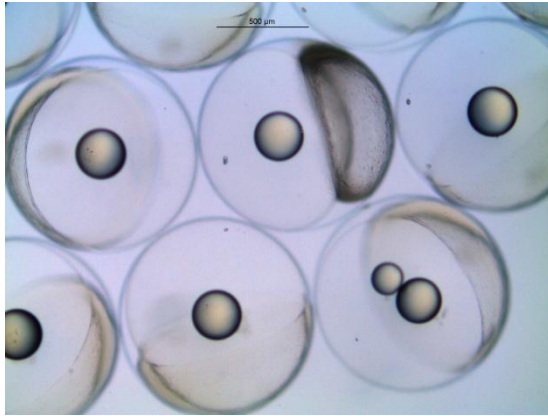
Η εκκόλαψη των πρώτων αυγών του κρανίου παρατηρήθηκε 33h ΜΓ σε θερμοκρασία 20°C. Το έμβρυο εξήρθε του αυγού με την δράση ειδικών αδενικών κυττάρων, τα οποία βρίσκονται στην κεφαλή του και εκκρίνουν πρωτεολυτικά ένζυμα. Αυτά συντελούν στην τοπική διάλυση του χορίου, και με παλλόμενες κινήσεις της κεφαλής άνοιξε η έξοδος από την οποία ελευθερώθηκε η λεκιθοφόρα νύμφη. Από την έναρξη της εκκόλαψης, μετά από 1h είχε εκκολαφθεί το 50% του συνόλου των αυγών, ενώ χρειάστηκε άλλη 1 h για να εκκολαφθεί το σύνολο των νυμφών.

3.2.2. ΕΠΙΒΙΩΣΗ (ΠΟΣΟΣΤΑ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΕΚΚΟΛΑΨΗΣ)

Τόσο τα ποσοστά γονιμοποίησης όσο και εκκόλαψης του κοινού κρανίου στην παρούσα μελέτη κυμάνθηκαν και πολύ υψηλά επίπεδα. Συγκεκριμένα, αναφορικά με τη γονιμοποίηση το ποσοστό έφτασε το 99%, ενώ το ποσοστό εκκόλαψης έφτασε τα 98% και στις δυο πειραματικές δεξαμενές-ενυδρεία.

3.2.3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Στην συντριπτική τους πλειοψηφία, τα αυγά του κοινού κρανίου εξελίχθηκαν ομαλά, με μικρή εξαίρεση λίγα αυγά που εντοπίστηκαν με μορφολογικές ανωμαλίες σε τέτοια συχνότητα η οποία τις καθιστά μη στατιστικά μετρήσιμες. Συγκεκριμένα, σχεδόν το σύνολο των αυγών με μορφολογική ανωμαλία παρουσίασε αντι για μια σταγόνα λιπιδίων δυο (**Εικόνα 3.4**), ενώ ελάχιστα αυγά στο στάδιο του γαστριδίου διέθεταν λέκιθο που σε ορισμένα σημεία δεν ήταν πολύ διαφανής.

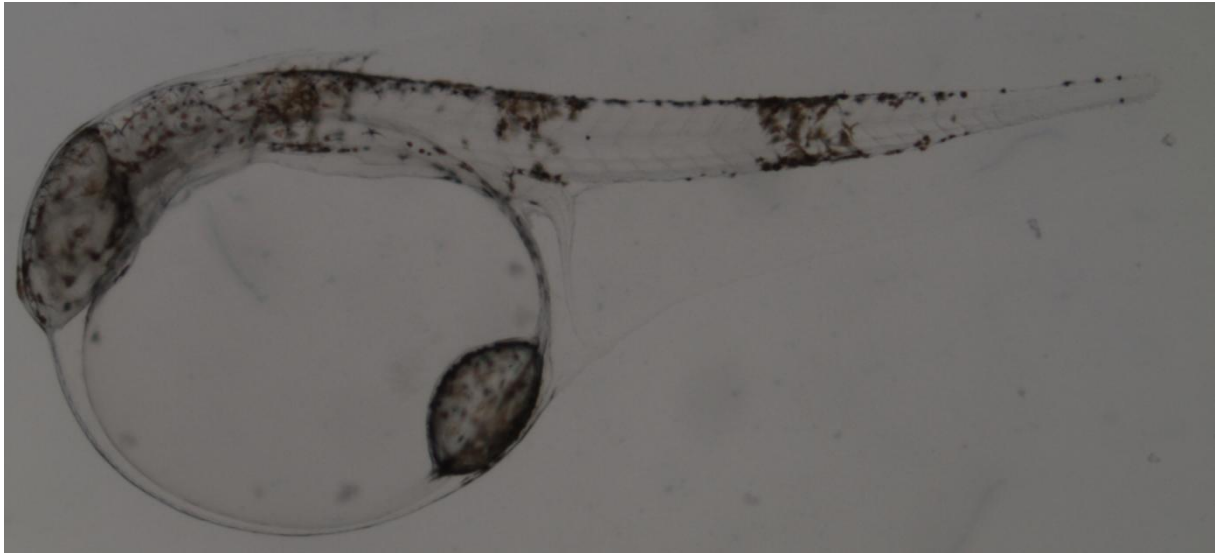


Εικόνα 3.4 Φωτογραφική απεικόνιση αυγών του *A. regius* όπου, δεξιά διακρίνεται αυγό με διπλή σταγόνα λιπιδίων.

3.3 ΛΕΚΙΘΟΦΟΡΟ ΝΥΜΦΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ

3.3.1. ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ ΚΑΙ ΧΡΟΝΟΙ

Το μορφολογικό μοντέλο των ατόμων του κοινού κρανιού κατά την έναρξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου δεν διαφέρει από το εμβρυακό λίγο πριν την εκκόλαψη. Οι νύμφες του κρανιού διαθέτουν ένα μεγάλο άχρωμο λεκιθικό σάκο, ωοειδούς σχήματος, ο οποίος εκτείνεται από την άκρη του ρύγχους της κεφαλής ως το μέσον του σώματος παραπλεύρως της έδρας, με τη σταγόνα λιπιδίων τοποθετημένη στο οπίσθιο άκρο του. Ο λεκιθικός σάκος καταλαμβάνει το μισό του ολικού μήκους της λεκιθοφόρας νύμφης, ενώ το ύψος είναι σχεδόν διπλάσιο από το σωματικό ύψος της νύμφης (**Εικόνα 3.5**).



Εικόνα 3.5 Φωτογραφική απεικόνιση της λεκιθοφόρας νύμφης του *A. regius* αμέσως μετά την εκκόλαψη.

Η πρωτογενής περιφερειακή πτερυγιοπτυχή είναι άχρωμη και λεπτή, ενώ περιβάλλει το σώμα της νύμφης, απ' την κορυφή της κεφαλής μέχρι το ουραίο τμήμα και κοιλιακός του κορμού μέχρι το οπίσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου. Η κεφαλή λόγω της στενής επαφής με το λεκιθικό σάκο είναι κυρτή, ενώ οι οφθαλμοί είναι άχρωμοι. Στο κέντρο των οφθαλμών διακρίνονται οι διαμορφωμένοι φακοί κρυσταλλίνης.

Το πρότυπο χρωματισμού περιλαμβάνονται από μια μεγάλη μάζα χρωματοφόρων ραχιαία ιδιαίτερα στην περιοχή της κεφαλής, με χαρακτηριστικά μικρά "χρωματικά σημάδια" στο ύψος του 1-3^{ου} σωμίτη, του 9-10^{ου} σωμίτη και στο ύψος του 18-20^{ου} σωμίτη.

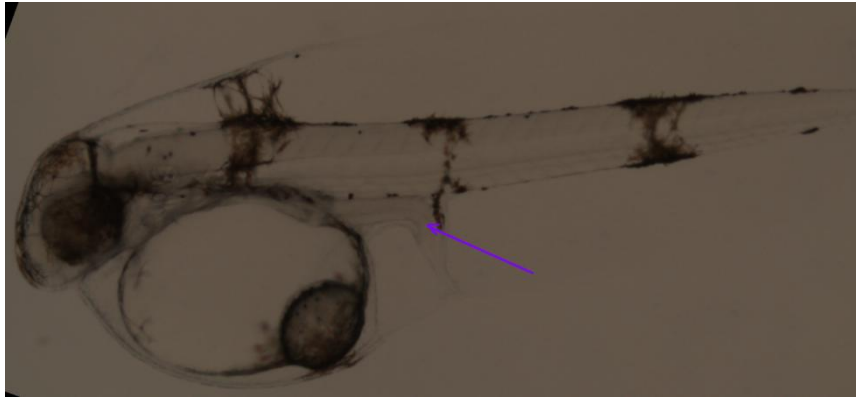
Το πεπτικό σύστημα της νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης αποτελείται από κλειστή στοματική κοιλότητα υπό κατασκευή και αδιαμόρφωτο γαστρικό σωλήνα ο οποίος καταλήγει σε κλειστή επίσης έδρα. Η καρδιά είναι λειτουργική και βρίσκεται πρόσθια και ραχιαία του λεκιθικού σάκου. Η αναπνοή, στο στάδιο αυτό, είναι δερμική και πραγματοποιείται με τη βοήθεια της πρωτογενούς περιφερειακής πτερυγιοπτυχής. Από την αρχή του σταδίου είναι σχηματισμένες οι οσφρητικές ή ρινικές κοιλότητες. Τέλος, κανένα πτερύγιο της νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης του κοινού κρανίου δεν είναι σχηματισμένο.

Κατά τη διάρκεια του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου του κοινού κρανιού (που στην παρούσα μελέτη διήρκησε 60 h), κυρίως το πεπτικό σύστημα υπέστη μία σειρά από μορφολογικές αλλαγές και λειτουργικές αναβαθμίσεις, ακολουθώντας το μοντέλο των υπόλοιπων ειδών της οικογένειας Sparidae, χωρίς όμως ποτέ η σταγόνα λιπιδίων να ενωθεί στον κορμό της νύμφης.

Πίνακας 3.4 Στάδια ανάπτυξης του *A.regius* κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο. Οι χρόνοι εκφράζονται ως απόλυτες (h μετά την εκκόλαψη) και σχετικές (% ποσοστό RT_i) τιμές.

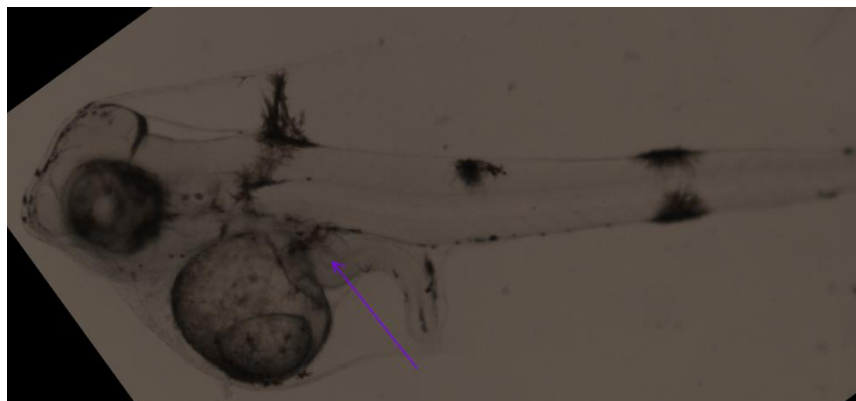
ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ	ΧΡΟΝΟΣ (h)	RT_i (%)
Εκκόλαψη	0.00'	0.00
Έναρξη χρωματισμού των οφθαλμών	5.00'	8.33
Εντερικός αυλός	12.00'	20.00
Ουρητήρας	24.00'	40.00
Σχηματισμός θωρακικών πτερυγίων	31.50'	52.50
Εντερικός βρόγχος	31.50'	52.50
Σχηματισμός κάτω σιαγώνας	36.00'	60.00
Ελευθέρωση κεφαλής από λεκιθικό σάκο	39.50'	65.83
Έναρξη σχηματισμού ήπατος	44.50'	74.16
Σχηματισμός στοματικής κοιλότητας	48.50'	80.83
Σχηματισμός στομάχου	48.50'	80.83
Άνοιγμα στόματος	52.50'	87.50
Άνοιγμα έδρας	56.00'	93.33
Μαύρισμα οφθαλμών	60.00'	100.00
Απορρόφηση λεκιθικών αποθεμάτων	60.00'	100.00
Τέλος σταδίου	60.00'	100.00

Σε χρόνο 5 h μετά την εκκόλαψη (Μ.Ε) ή 8.33% σχετικό χρόνο (RT_i) και με θερμοκρασία σταθερή σε όλη τη διάρκεια του σταδίου, κάνουν την εμφάνισή τους τα πρώτα χρωματοφόρα κύτταρα στην επιφάνεια των οφθαλμών του κοινού κρανιού (**Πίνακας 3.4**). Με την εξέλιξη του σταδίου ο αριθμός τους θα αυξάνεται μέχρι που θα καταλάβουν ολόκληρη την επιφάνεια τους (στο τέλος του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου).



Εικόνα 3.6 Φωτογραφική απεικόνιση της λεκιθοφόρας νύμφης του *A. regius* όπου φαίνεται ο εντερικός αυλός αμέσως (12 h M.E ή 20% RT_i).

Ο γαστρικός σωλήνας ξεκίνησε να διαφοροποιείται με την διόγκωση του εντέρου και το σχηματισμό του εντερικού αυλού (12 h M.E ή 20% RT_i) (**Εικόνα 3.6**), ενώ 24 h M.E ή 40% RT_i έγινε ορατός ο ουρητήρας που εντοπίστηκε σε μικρή απόσταση από το έντερο. Η έναρξη του σχηματισμού των θωρακικών πτερυγίων παρατηρήθηκε 31.5 h M.E ή 52.5% RT_i, ενώ ταυτόχρονα σχηματίστηκε και ο εντερικός βρόγχος (**Εικόνα 3.7**). Λίγο αργότερα (36 h M.E ή 60% RT_i), ξεκίνησε και ο σχηματισμός της κάτω σιαγώνας.



Εικόνα 3.7 Φωτογραφική απεικόνιση της λεκιθοφόρας νύμφης του *A. regius* όπου φαίνεται ο εντερικός βρόγχος (31.5 h M.E ή 52.5% RT_i).

Η ελευθέρωση της κεφαλής από το λεκιθικό σάκο έγινε τις επόμενες ώρες (39.5h M.E ή 65.83% RT_i), και ο σχηματισμός του ήπατος μπροστά και σε μικρή απόσταση από τη σταγόνα λιπιδίων, μέσα στο λεκιθικό σάκο, πραγματοποιήθηκε 44.5 h M.E ή 74.16% RT_i. Σε εξέλιξη της διαφοροποίησης του πεπτικού συστήματος παρατηρήθηκε και ο σχηματισμός της στοματικής κοιλότητας και του στομάχου ταυτόχρονα, σε χρόνο 48.5 h M.E ή 80.83% RT_i. Τέλος, το άνοιγμα του στόματος ολοκληρώθηκε 52.5 h M.E ή 80.83% RT_i, και το άνοιγμα της έδρας 56 h M.E ή 93.33% RT_i. Σε χρόνο 60 h M.E ή 100% RT_i, η επιφάνεια των οφθαλμών είχε καλυφθεί πλήρως με μελανοφόρα.

Η λήξη του σταδίου σηματοδοτείται με την πλήρη απορρόφηση των λεκιθικών αποθεμάτων (60 h M.E ή 100% RT_i) και όπως έχει ήδη αναφερθεί, η σταγόνα λιπιδίων δεν προσκολλήθηκε ποτέ στον κορμό.

3.3.2. ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ

Οι νύμφες του κοινού κranιού αμέσως μετά την εκκόλαψη, έχουν μέσο ολικό μήκος (TL) 2.621 ± 0.037 mm (1.211 ± 0.055 mm και 1.409 ± 0.059 προεδρικό ή prAnI και μεταεδρικό ή pstAnI, αντίστοιχα). Μέσα στις πρώτες 24 ώρες ο παραπάνω μορφομετρικός χαρακτήρας παρουσίασε ταχύτερη αύξηση (περίπου το 88% της συνολικής αύξησης του σταδίου), για να ακολουθήσει μια σαφώς πιο αργή αύξηση το δεύτερο 24ωρο, ενώ στη συνέχεια διατηρήθηκε σταθερή η τιμή του έως το τέλος του σταδίου (**Πίνακας 3.5**), (**Εικόνα 3.7**).

Το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ολοκληρώθηκε 60 ώρες μετά την εκκόλαψη, σε σταθερή θερμοκρασία $19 \pm 0.2^\circ\text{C}$, με τα λεκιθικά αποθέματα να έχουν πλήρως καταναλωθεί, αντίθετα με τη σταγόνα λιπιδίων η οποία απορροφήθηκε πλήρως στις αρχές του νυμφικού σταδίου.

Στο τέλος του αυτότροφου σταδίου το ολικό μήκος των λεκιθοφόρων νυμφών του κοινού κranιού μετρήθηκε 3.492 ± 0.051 mm.

Σχετικά με τους υπόλοιπους μορφομετρικούς χαρακτήρες, οι μεταβολές του προεδρικού και μεταεδρικού τμήματος του σώματος (**Πίνακας 3.5**), φανερώνουν ότι η αύξηση του TL κατά την εξέλιξη του χρόνου εκδηλώνεται κυρίως στο μεταεδρικό τμήμα. Το προεδρικό φάνηκε να αυξάνεται λίγο στην αρχή του σταδίου (το πρώτο 24ωρο) κυρίως λόγω του σχηματισμού του εντέρου.

Από την άλλη, το πρότυπο εξέλιξης του TL που περιγράφηκε πιο πάνω παρουσιάζεται επίσης στη μήκος της νωτοχορδής (NL).

Όπως και στο προεδρικό μήκος, όμοια παρατηρήθηκε τόσο στο ύψος σώματος (BD) όσο και στο προκογχικό μήκος (prOr) αύξηση κατά το πρώτο 24ωρο του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου του κοινού κраниού.

Τέλος, η διάμετρος οφθαλμού (ED) αυξάνεται γραμμικά σε σχέση με το χρόνο, αλλά προς το τέλος του σταδίου (80% RT_i) η τιμή της παραμένει σταθερή.

Πίνακας 3.5 Εξέλιξη των μορφομετρικών χαρακτήρων (μέση τιμή ή aver. και τυπική απόκλιση ή S.D.) του *A. regius* κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο. Οι χρόνοι εκφράζονται ως απόλυτες (h μετά την εκκόλαψη) και σχετικές (% ποσοστό RT_i) τιμές.

ΧΡΟΝΟΣ (h)	0		12		24	
RT_i (%)	0		20		40	
ΜΟΡΦ. ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ	Aver.	S.D.	Aver.	S.D.	Aver.	S.D.
TL	2.621	0.037	3.152	0.055	3.383	0,039
NL	5.516	0.043	3.037	0.045	3.258	0.038
BD	0.493	0.045	0.538	0.031	0.563	0.015
ED	0.219	0.015	0.242	0.009	0.263	0.012
prOr	0.052	0.016	0.098	0.009	0.125	0.008
prYs	0.048	0.016	0.273	0.032	0.441	0.030
pstYs	1.176	0.057	1.138	0.040	1.115	0.034
prAnL	1.211	0.055	1.254	0.030	1.263	0.026
pstAnL	1.409	0.059	1.898	0.064	2.120	0.045
n	15		15		15	

ΧΡΟΝΟΣ (h)						
RT_i (%)	60		80		100	
ΜΟΡΦ. ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ	Aver.	S.D.	Aver.	S.D.	Aver.	S.D.
TL	3.427	0.054	3.471	0.050	3.492	0.051
NL	3.298	0.056	3.305	0.046	3.314	0.046
BD	0.565	0.012	0.564	0.018	0.590	0.020
ED	0.273	0.007	0.282	0.012	0.281	0.008
prOr	0.122	0.011	0.134	0.008	0.135	0.010
prYs	0.511	0.026	0.549	0.029	0.568	0.028
pstYs	1.021	0.027	0.978	0.051	0.920	0.053
prAnL	1.265	0.035	1.262	0.030	1.262	0.040
pstAnL	2.162	0.049	2.209	0.048	2.230	0.060
n	15		15		15	

3.3.3. ΕΠΙΒΙΩΣΗ (ΠΟΣΟΣΤΑ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΕΚΚΟΛΑΨΗΣ)

Όπως στο εμβρυακό έτσι και στο λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο τα ποσοστά επιβίωσης του κοινού κρανίου στην παρούσα μελέτη κυμάνθηκαν και πολύ υψηλά επίπεδα. Συγκεκριμένα, οι καθημερινές δειγματοληψίες με την πιπέτα των 20 ml από τα πέντε διαφορετικά σημεία της κάθε δεξαμενής δεν κατέγραψαν καμία θνησιμότητα, φτάνοντας τα ποσοστά επιβίωσης στο υψηλότερο ποσοστό, δηλ. 100% επιβίωση κατά το λεκιθοφόρο στάδιο.

3.3.4. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Από τα δείγματα που ήδη είχαν παρθεί για μικροσκοπική μορφολογική και μορφομετρική παρατήρηση και στα οποία πραγματοποιήθηκε επιπλέον *in vivo* παρατήρηση, δεν καταγράφηκε καμία σημαντική μορφολογική απόκλιση από το σύνολο των δειγμάτων. Τόσο το σχήμα, το πάχος και η διαφάνεια της πρωτογενούς περιφερειακής πτερυγιοπτυχής, όσο και ο κορμός των λεκιθοφόρων νυμφών ακολούθησαν τη γενική εικόνα του συνόλου των ατόμων που εξετάστηκαν.

3.3.5. ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ

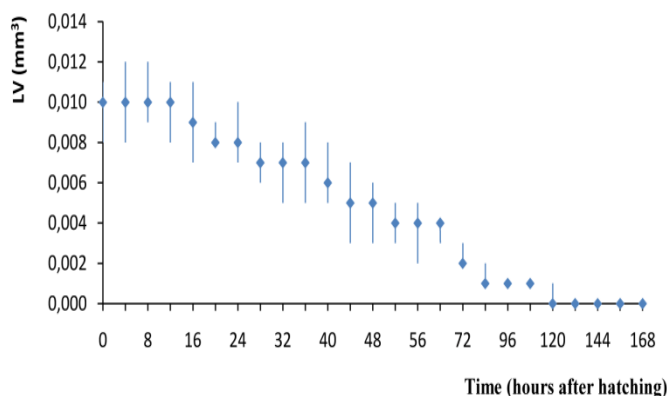
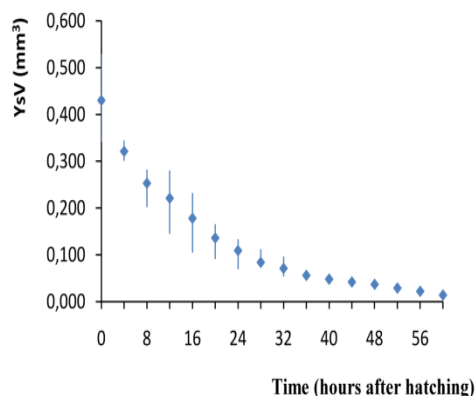
Αμέσως μετά την εκκόλαψη οι νύμφες του κοινού κρανιού εμφάνισαν ομοιόμορφη κατανομή σε όλη την κατακόρυφη στήλη του νερού των δεξαμενών. Η διασπορά τους αυτή κρατήθηκε καθ' όλη τη διάρκεια του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου, και μόνο κατά το τέλος του οι νύμφες άρχισαν να συσσωρεύονται με μεγαλύτερη συχνότητα κοντά στην επιφάνεια του νερού. Αναφορικά με την αντίδραση τους στα διάφορα μηχανικά ερεθίσματα (π.χ. πρόκληση ελαφρού κυματισμού), εμφάνισαν ελάχιστες αντανάκλαστικές κινήσεις στην αρχή του σταδίου, ενώ όσο προχωρούσε το στάδιο οι παραπάνω αντιδράσεις αυξάνονταν με εκθετικούς ρυθμούς. Στο τέλος του σταδίου, όλες οι νύμφες εμφάνισαν άριστη ανταπόκριση στα μηχανικά ερεθίσματα.

3.4 ΝΥΜΦΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ

3.4.1. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ – ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΩΝ ΑΠΟΘΕΜΑΤΩΝ

Τα άτομα του κοινού κρανίου στην αρχή του νυμφικού σταδίου δεν διαφέρουν μορφολογικά από αυτά του τελικού λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου. Συγκεκριμένα, οι οφθαλμοί είναι πλήρως καλυμμένοι με μελλανοφόρα κύτταρα, οι σιαγώνες πλήρως σχηματισμένοι και με δυνατότητα έντονης κινητικότητας, το τελικό σημείο της έδρας ανοικτό, το πεπτικό σύστημα καλώς σχηματισμένο. Τα λεκιθικά αποθέματα πλέον, όπως και στην πλειοψηφία των μελετημένων καλλιεργούμενων ειδών ψαριών, έχουν πλήρως απορροφηθεί, ενώ οι σταγόνα λιπιδίων δεν έχει απορροφηθεί πλήρως ακόμη.

Γενικά, ξεκινώντας από την αρχή της εκκόλαψης, ενώ η απορρόφηση των λεκιθικών αποθεμάτων πραγματοποιήθηκε μέσα σε 60 ώρες (χρόνος ίσος με τη συνολική διάρκεια του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου του κοινού κρανίου κάτω από συνθήκες θερμοκρασίας και αλατότητας $19.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ και 35‰, αντίστοιχα), η σταγόνα λιπιδίων στήριξε διατροφικά τη νύμφη του κρανίου για 168 ώρες ή 7 ημέρες από την εκκόλαψη (108 ώρες ή 4 ημέρες από την έναρξη του νυμφικού σταδίου) (Εικόνα 3.8) (Πίνακας 3.6).



Εικόνα 3.8 Σχηματική απεικόνιση της διακύμανσης του λεκιθικού και λιπιδικού όγκου (YsV και LV, αντίστοιχα) του κοινού κраниού (*A. regius*) σε σχέση με το χρόνο (ώρες μετά την εκκόλαψη).

Πίνακας 3.6 Η κατανάλωση των λεκιθικών και λιπιδικών αποθεμάτων κατά τη διάρκεια των πρώιμων αναπτυξιακών σταδίων (λεκιθοφόρου και νυμφικού) του κοινού κраниού (*A. regius*). Οι χρόνοι δίνονται ως ημέρες και ώρες μετά την εκκόλαψη.

Developmental stage	Days after hatch.	Hours after hatch.	YsL (mm)		YsD (mm)		YsV (mm ³)		LD (mm)		LV (mm ³)		
			Aver.	S.D.	Aver.	S.D.	Aver.	S.D.	Aver.	S.D.	Aver.	S.D.	
pre-larvae	0	0	1.127	0.057	0.852	0.040	0.430	0.054	0.264	0.010	0.010	0.001	
		4	0.955	0.022	0.801	0.014	0.321	0.018	0.264	0.016	0.010	0.002	
		8	0.913	0.031	0.726	0.037	0.253	0.032	0.266	0.009	0.010	0.001	
		12	0.865	0.051	0.696	0.046	0.221	0.038	0.264	0.010	0.010	0.001	
		16	0.808	0.030	0.644	0.064	0.178	0.038	0.254	0.012	0.009	0.001	
		20	0.751	0.029	0.586	0.036	0.136	0.019	0.253	0.005	0.008	0.001	
		1	24	0.675	0.040	0.553	0.033	0.109	0.017	0.253	0.011	0.008	0.001
			28	0.601	0.019	0.516	0.035	0.084	0.012	0.241	0.007	0.007	0.001
			32	0.574	0.042	0.484	0.033	0.071	0.011	0.236	0.010	0.007	0.001
			36	0.510	0.026	0.458	0.025	0.056	0.007	0.233	0.012	0.007	0.001
			40	0.462	0.017	0.445	0.021	0.048	0.006	0.223	0.010	0.006	0.001
			44	0.445	0.017	0.425	0.030	0.042	0.006	0.213	0.015	0.005	0.001
		2	48	0.429	0.029	0.404	0.021	0.037	0.005	0.208	0.013	0.005	0.001
			52	0.392	0.014	0.378	0.027	0.029	0.005	0.197	0.014	0.004	0.001
			56	0.374	0.024	0.334	0.024	0.022	0.003	0.189	0.014	0.004	0.001
			60	0.352	0.042	0.280	0.015	0.014	0.002	0.189	0.008	0.004	0.000
		larvae	3	72						0.162	0.008	0.002	0.000
				84						0.141	0.011	0.001	0.000
96								0.121	0.008	0.001	0.000		
108								0.111	0.006	0.001	0.000		
5	120								0.087	0.015	0.000	0.000	
	132								0.054	0.012	0.000	0.000	
6	144								0.053	0.018	0.000	0.000	
	156								0.045	0.016	0.000	0.000	
7	168								0.039	0.006	0.000	0.000	

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω (**Εικόνα 3.8**) (**Πίνακας 3.6**) και συγκρίνοντας με την **Εικόνα 3.7**), η κατανάλωση των λεκιθικών αποθεμάτων ακολούθησε όμοιο πρότυπο με την αύξηση του ολικού μήκους (TL). Συγκεκριμένα, τις πρώτες 24 λεκιθοφόρες νυμφικές ώρες ο όγκος του λεκιθικού σάκου (YsV) εμφάνισε ταχύτατη μείωση (περίπου 75% της ολικής κατανάλωσης του σταδίου), ενώ ακολούθως ο ρυθμός κατανάλωσης μειώθηκε αισθητά.

Από την άλλη, η απορρόφηση των λιπιδικών αποθεμάτων ξεκίνησε 16 ώρες μετά την εκκόλαψη, ακολουθώντας σταθερό ρυθμό μείωσης κατά τη διάρκεια του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου. Έτσι, η διάμετρος της σταγόνας λιπιδίων (LD)

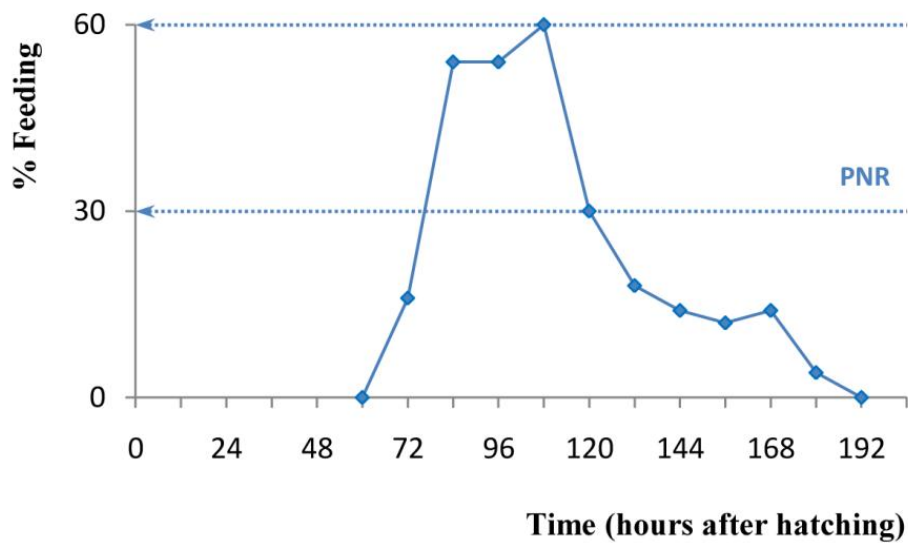
μειώθηκε κατά τη διάρκεια του αναπτυξιακού αυτού σταδίου κατά 60% και ο όγκος της σταγόνας (LV) υπολογίσθηκε να μειώθηκε από 0.010 mm³ στην αρχή του σταδίου στα 0.004 mm³ στο τέλος. Αυτό το μοντέλο κατανάλωσης των λιπιδικών αποθεμάτων φάνηκε να διαφοροποιείται κατά το νυμφικό στάδιο. Συγκεκριμένα, τις πρώτες 12 ώρες του νυμφικού σταδίου, καταναλώθηκε το 50% των νυμφικών λιπιδικών αποθεμάτων (ο LV από 0.004 mm³ μειώθηκε στα 0.002 mm³), μετά από 24 ώρες καταναλώθηκε το 75%, ενώ πλήρης κατανάλωση σημειώθηκε την 4^η νυμφική ημέρα (ή 7^η μετά την εκκόλαψη).

Ένα άλλο αναπτυξιακό γεγονός που χαρακτηρίζει την ποιότητα των παραγόμενων νυμφών των ψαριών είναι η πρωτογενής διόγκωση της νηκτικής κύστης. Στην παρούσα μελέτη, η παραπάνω διόγκωση ξεκίνησε μόλις 24 ώρες μετά την έναρξη του νυμφικού σταδίου (όπου το ποσοστό των παρατηρούμενων ατόμων με διογκωμένη νηκτική κύστη ήταν 10%, περίπου), και μέσα σε 36 ώρες η διόγκωση ολοκληρώθηκε με ποσοστό επιτυχίας 100%.

3.4.2. ΤΡΟΦΙΚΗ ΠΕΝΙΑ (STARVATION) – ΣΗΜΕΙΟ ΧΩΡΙΣ ΕΠΙΣΤΡΟΦΗ (POINT OF NO RETURN ή PNR)

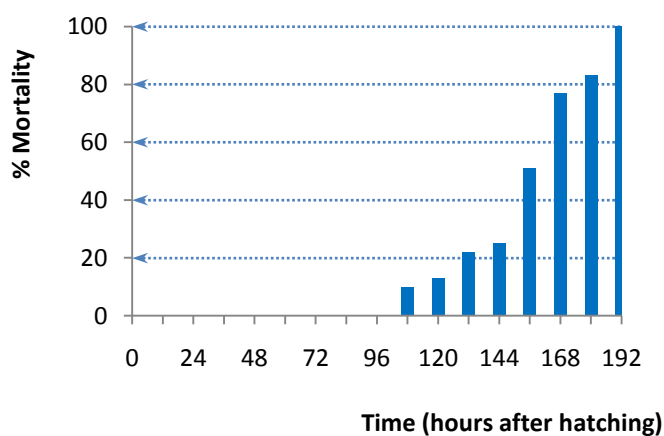
Το πρόγραμμα τροφικής πενίας (ή starvation) που εφαρμόστηκε στην παρούσα ερευνητική μελέτη εφαρμόστηκε από την έναρξη του νυμφικού σταδίου μέχρι την ολική θνησιμότητα του πληθυσμού των νυμφών του κρανιού.

Η δυνατότητα σύλληψης και κατάποσης εξωγενούς προέλευσης τροφής φάνηκε να επηρεάζεται από τη χρονική περίοδο που οι νύμφες του *A. regius* κρατήθηκαν χωρίς τροφή (Εικόνα 3.9).



Εικόνα 3.9 Ποσοστό ταϊσμένων νυμφών (νύμφες με υπολείμματα τροφής στο πεπτικό τους σύστημα) του κοινού κраниού σε σχέση με το χρόνο (ώρες μετά την εκκόλαψη). Ως PNR ή point of no return, αναφέρεται το σημείο χωρίς επιστροφή. Οι παρούσες νύμφες άρχισαν να προσλαμβάνουν εξωγενούς προέλευσης τροφή (το ποσοστό των ταϊσμένων νυμφών καταγράφηκε στο 16%) 72 ώρες μετά την εκκόλαψη (12 ώρες ή ½ ημέρα μετά την έναρξη του νυμφικού σταδίου) και όχι από την αρχή του σταδίου, παρότι το πεπτικό τους σύστημα ήταν δομημένο. Το υψηλότερο ποσοστό ταϊσμένων νυμφών (60%) παρατηρήθηκε 108 ώρες μετά την εκκόλαψη (48 ώρες ή 2 ημέρες μετά την έναρξη του νυμφικού σταδίου). 12 ώρες μετά από την παραπάνω καταγραφή το ποσοστό των νυμφών που διέθεταν την ικανότητα σύλληψης και κατάποσης της τροφής έπεσε μόλις στο 30% (πτώση από το μέγιστο καταγεγραμμένο ποσοστό κατά 50%). Έτσι, 120 ώρες ή 5 ημέρες μετά την εκκόλαψη (60 ώρες ή 2 ½ ημέρες μετά την έναρξη του νυμφικού σταδίου), οι νύμφες του συγκεκριμένου πειραματικού πληθυσμού του κοινού κраниού έφτασαν στην κατάσταση μη αναστρέψιμης τροφικής πενίας ή αλλιώς σημείο χωρίς επιστροφή (point of no return ή PNR). Όλες οι μη ταϊσμένες νύμφες πέθαναν 192 ώρες ή 8 ημέρες μετά την εκκόλαψη (144 ώρες ή 6 ημέρες μετά την έναρξη του

νυμφικού σταδίου), ενώ η πρώτη θνησιμότητα παρατηρήθηκε τη στιγμή του υψηλότερου ποσοστού ταϊσμένων νυμφών (Εικόνα 3.10).



Time (days after hatching)	Time (hours after hatching)	Developmental events
0	0	Hatching
	12	
1	24	
	36	
2	48	
	60	Yolk absorption
3	72	
	84	
4	96	
	108	
5	120	PNR
	132	
6	144	
	156	
7	168	Lipid absorption
	180	
8	192	100% mortality

Εικόνα 3.10 Εξέλιξη της θνησιμότητας του κοινού κρانيού σε σχέση με το χρόνο (ώρες ή ημέρες μετά την εκκόλαψη), συγκρινόμενη και με τα σημαντικότερα αναπτυξιακά γεγονότα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

4.1 Οντογένεση

Στην παρούσα εργασία, μελετήσαμε τα αναπτυξιακά στάδια του κοινού είδους *Argyrosomus regius* (Asso, 1801), όπως επίσης την διατροφή και την ικανότητα επιβίωσης κατά την διάρκεια της τροφικής πενίας (starvation), κατά την πρώτη θρέψη σε εργαστηριακές συνθήκες. Τα αυγά του κρανιού φέρουν χαρακτηριστικά (υπονευστονικά, τελολεκιθικά, διαφανή και με σφαιρικό σχήμα) όμοια με τα περισσότερα είδη. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης απέδειξε ότι τα αυγά του κρανιού ήταν σαφώς μεγαλύτερα και η σταγόνα λιπιδίων σε σύγκριση με τα κοινά είδη που παράγονται στις υδατοκαλλιέργειες της Μεσογείου (Jug-Dujakovic *et al.*, 1995; Mihelakakis *et al.*, 2001; Klimogianni *et al.*, 2004), φάνηκε να ακολουθεί το ίδιο οντογενετικό μοτίβο με τα παραπάνω είδη. Γενικά η διάμετρος των αυγών, το σχήμα τους, η κατασκευή και ο χρωματισμός της λεκίθου, ο αριθμός και το μέγεθος των σταγόνων λιπιδίων παίζουν σημαντικό ρόλο στην ταξινόμηση τους (Hempel, 1984). Επειδή όμως το μέγεθος του αυγού μπορεί να επηρεαστεί από βιολογικούς (ηλικία και μέγεθος γεννητόρων, ιστορικό γεννητόρων, συγκέντρωση εκκόλαψης, εποχικότητα), χωροταξικούς (γεωγραφική κατανομή), περιβαλλοντικούς (θερμοκρασία, αλατότητα, οξυγόνο, ρύπανση) και γενετικούς παραμέτρους (κληρονομικότητα) (Chambers and Trippel, 1997), δύσκολα προσδίδεται στο χαρακτήρα αυτό υψηλή συστηματική αξία. Μόνο όταν η επίδραση των παραπάνω παραγόντων είναι διακριτή το μέγεθος των αυγών αποκτά συστηματική αξία (Blaxter and Hempel, 1963- Chambers *et al.*, 1989). Έχει προταθεί από αρκετούς ερευνητές ότι το μέγεθος του αυγού είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την επιβίωση των πρώτων σταδίων της ζωής των ψαριών δηλαδή το μέγεθος των προνυμφών, το ρυθμό ανάπτυξης και το χρονικό διάστημα από την ώρα της εκκόλαψης μέχρι την διατροφή (Hinckley 1990; Ojanguren *et al.*, 1996). Τα μεγαλύτερα αυγά παρέχουν περισσότερη ενέργεια για την αύξηση και την ανάπτυξη τους, ενώ παράγουν πολύ μεγαλύτερες προνύμφες που μπορούν να αποφύγουν τους θηρευτές πιο αποτελεσματικά, έχουν μεγαλύτερη επιβίωση κάτω από συνθήκες λιμού και τέλος είναι σε θέση να εκμεταλλευτούν μεγαλύτερο όγκο νερού για την αναζήτηση θηράματος (Hinckley 1990). Αν ο ρυθμός ανάπτυξης συνδέεται θετικά με το αρχικό μέγεθος του σώματος, οι μεγαλύτερες νύμφες θα ξοδεύουν λιγότερο χρόνο στο μικρότερο μέγεθος (Miller *et al.*, 1988). Από την άλλη πλευρά, τα μεγαλύτερα αυγά απαιτούν περισσότερο χρόνο για την επώαση τους (Wootton 1994; Huang *et al.*, 1999). Ωστόσο τα αυγά με μεγάλη διάμετρο οδηγούνται σε νέο εκκολλαπτόμενες νύμφες αλλά και νύμφες κατά την αρχή της εξωγενούς θρέψης τους με μεγάλο συνολικό μήκος.

Δεδομένου ότι το ολικό μήκος είναι άμεσα συνδεδεμένο με το άνοιγμα του στόματος και το μέγεθος του θηράματος που οι νύμφες είναι σε θέση να καταναλώσουν (Miller *et al.*, 1995; Roo *et al.*, 2010), η αύξηση του μεγέθους κατά την πρώτη θρέψη του κranιού βελτίωσε τις τεχνικές εκτροφής με επιτυχία σε αυτό το είδος. Κατά την μελέτη του εμβρυακού σταδίου του κranιού, δεν εμφανίζονται αυγά με την μορφολογία τους να διαφέρει από αυτή του συνόλου των δειγμάτων. Η έλλειψη μορφολογικών αποκλίσεων (ή μορφολογικές ανωμαλίες) στην συγκεκριμένη εργασία μπορεί να είναι και τυχαίο γεγονός λόγω της θνησιμότητας των αυγών αυτών και της απομάκρυνση τους από το σύνολο των υγείων αυγών (δεν υπάρχει εξέλιξη σε όλη την διάρκεια του εμβρυακού σταδίου στα αυγά με μορφολογικές ανωμαλίες διότι πεθαίνουν γρήγορα και απομακρύνονται από τα υπόλοιπα μιας και χάνουν την πλευστότητα τους). Γενικά έχουν γίνει εκτεταμένες έρευνες για την καταγραφή μορφολογικών ανωμαλιών και προσπάθεια προσέγγισης των γενεσιουργών παραγόντων, ειδικότερα στο εμβρυακό στάδιο. Η έλλειψη διαφάνειας της λεκίθου (Dinis, 1982), η αυξημένη παρουσία μελανοφόρων (Craik, 1985), η ασυμμετρία των πρώτων εμβρυακών κυττάρων ή πρώιμων βλαστομερών (Devauchelle *et al.*, 1998), το μεγαλύτερο μέγεθος του περιλεκιθικού χώρου και οι αλλαγές της διαμέτρου των αυγών μετά την γονιμοποίηση (Kjorsvik *et al.*, 1984 – Sakai *et al.*, 1985) έχουν παρατηρηθεί σε πολλά είδη ψαριών. Έχει παρατηρηθεί ότι όσο πιο πρώιμη χρονικά είναι η έκθεση κάτω από συγκεκριμένο ανασταλτικό παράγοντα τόσο πιο καθοριστική εμφανίζεται η επίδραση του στην μετέπειτα ανάπτυξη του εμβρύου (Kjorsvik *et al.*, 1990). Επίσης μπορούν να εξαχθούν χρήσιμες πληροφορίες για την ποιότητα των αυγών (Kjorsvik *et al.*, 1990), χωρίς αυτό να σημαίνει ότι η καλή ποιότητα συνδέεται πάντα και με τα ποσοστά επιβίωσης στα επόμενα αναπτυξιακά στάδια. Η Νέο εκκολαπτόμενη νύμφη του κranιού φέρει μια ογκώδη ομογενή και άχρωμο λεκιθικό σάκο, ο οποίος καταλαμβάνει σχεδόν το πρόσθιο μισό του σώματος ξεκινώντας από το ρύγχος της κεφαλής μέχρι την έδρα, με μια σταγόνα λιπιδίων σχεδόν στο μέσον του σάκου. Έχει παρατηρηθεί ότι το μέγεθος του λεκιθικού σάκου εξαρτάται κυρίως από τις διαστάσεις του αυγού και από την ποσότητα της λεκίθου η οποία έχει καταναλωθεί από το έμβρυο πριν την εκκόλαψη, καθιστώντας έτσι τον συγκεκριμένο χαρακτήρα χωρίς ιδιαίτερη συστηματική αξία. Αυτό όμως δεν αφορά την σταγόνα των λιπιδίων που εκτός από ταξινομική παρατηρείται ότι έχει και καλλιεργητική σημασία χωρίς όμως η συγκεκριμένη θεωρία να έχει τεκμηριωθεί πλήρως. Το γεγονός ότι το ήπαρ ξεκινά να δομείται μέσα στον λεκιθικό σάκο, αλλά και η στενή σύνδεση του με την

σταγόνα λιπιδίων, μπορούν να θέσουν βάσιμες υποψίες για την υπόθεση της εμφάνισης ανωμαλιών στην ανάπτυξη λόγω απομάκρυνσης της σταγόνας λιπιδίων από την φυσιολογική της θέση, επιδρώντας στον ρυθμό απορρόφησης της. Στην συγκεκριμένη μελέτη η πλειοψηφία των νέο-εκκολαπτόμενων νυμφών του κρανιού φέρει σταγόνα λιπιδίων απομακρυσμένη από τη θέση των υπολοίπων μελετημένων ειδών της Μεσογείου (οπίσθιο όριο λεκιθικού σάκου). Επίσης η προσκόλληση της σταγόνας λιπιδίων στον κορμό της νύμφης δεν πραγματοποιήθηκε ποτέ στο λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο.

Η μελέτη της μορφολογικής ανάπτυξης των λεκιθοφόρων νυμφών του κρανιού αποδεικνύει τη στενή σχέση μεταξύ της μορφολογικής και λειτουργικής οντογένεσης. Συγκεκριμένα, το πεπτικό αποτελεί το σύστημα που ξεκινάει πρώτο τη διαφοροποίηση στα επιμέρους τμήματα και όργανα του (εντερικός σωλήνας, στομάχι, έδρα, ουρητήρες, σιαγόνες, ήπαρ), ενώ ο σχηματισμός των θωρακικών πτερυγίων που συμβάλει στην αύξηση της κολυμβητικής ικανότητας των ατόμων διαφοροποιείται δευτερευόντως. Ταυτόχρονα, στα πλαίσια προετοιμασίας των λεκιθοφόρων νυμφών για την εξωγενή θρέψη, σχηματίζονται δομές αντίληψης των περιβαλλοντικών ερεθισμάτων (οφθαλμοί, οσφρητικά κυστίδια, νευρομαστοί). Η λειτουργία της αναπνοής σταματάει να επιτελείται από την πρωτογενή περιφερειακή πτερυγιοπτυχή προς το τέλος του αυτότροφου σταδίου με τις αρχές του νυμφικού σταδίου, όπου και αρχίζει η ανάπτυξη των τελικών αναπνευστικών δομών (βραγχιακά τόξα). Η ανάπτυξη του λεκιθικού σάκου των προνυμφών του κοινού είδους κρανιού είναι παρόμοια με αυτή που περιγράφεται και στα άλλα είδη που παράγονται στις υδατοκαλλιέργειες της Μεσογείου, με έναν ρυθμό απορρόφησης της λεκίθου παρόμοια με τις άλλες νύμφες που περιέχουν ορατά σταγόνα λιπιδίων (Williams et al. 2004; Bustos et al., 2007). Λόγω της ταχύτατης αύξησης του ολικού μήκους (TL) κατά την έναρξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου του κοινού είδους, η κατανάλωση των λεκιθικών αποθεμάτων ήταν υψηλότερη κατά την ίδια περίοδο, ενώ τα λιπιδικά αποθέματα παρουσίασαν σταθερή τιμή κατανάλωσης κατά το στάδιο αυτό. Διαφορετικός ρυθμός κατανάλωσης των λεκιθικών και λιπιδικών αποθεμάτων κατά την διάρκεια του αυτότροφου σταδίου έχει παρατηρηθεί και σε άλλα είδη ψαριών (Ronnestad et al., 1994). Η ικανοποίηση των θρεπτικών αναγκών κατά την οντογένεση πραγματοποιείται από διαφορετικές κάθε φορά πηγές ενέργειας, αρχικά κατά το εμβρυακό στάδιο από τα ελεύθερα αμινοξέα και στη συνέχεια κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο κυρίως από τις πρωτεΐνες και δεύτερον από τα λιπαρά οξέα (Ronnestad et al., 1994, 1998). Στο μεταβατικό στάδιο αλλαγής της ενδογενούς με

την εξωγενή θρέψη τα λεκιθικά αποθέματα εξαντλούνται πλήρως ενώ τα λιπιδικά αποθέματα είναι εκείνα που θα στηρίξουν ενεργειακά τις νύμφες στις πρώτες μέρες του νυμφικού σταδίου και στηρίζεται στην πρωτογενή πηγή ενέργειας κατά την έναρξη της εξωγενούς θρέψης (Ronnestad *et al.*, 1994; Parra and Yufera 2000). Επιπλέον η μεταβατική περίοδος της θρέψης των νυμφών ορίζεται ως ένα διάστημα στο οποίο έχει αναπτυχθεί η ικανότητα της θρέψης και επίσης έχει αρχίσει να τρέφεται με ορισμένα λιπιδικά αποθέματα να συνεχίζουν να υφίστανται όπου περιέχουν ενέργεια και βοηθούν στις απαιτήσεις για την σύλληψη του θηράματος (Moteki *et al.*, 2001). Η χρονική περίοδος όπου η νύμφη πρέπει να βρει την τροφή της συνδέεται άμεσα με το μεταβατικό στάδιο της θρέψης. Σε σύγκριση με τις μελέτες άλλων καλλιεργούμενων ειδών (Koumoundouros *et al.*, 1998; Klimogianni *et al.*, 2004; Bustos *et al.*, 2007), η σταγόνα λιπιδίων όπως προαναφέραμε δεν προσκολλάται ποτέ στο σώμα, χωρίς αυτό να αποτελεί πρόβλημα στην επιβίωση και την ανάπτυξη του κρανίου (Williams *et al.*, 2004), όπως επίσης η σημασία της θέσης όπου προσκολλάται η σταγόνα λιπιδίων αλλά η παντελής έλλειψη προσκόλλησης μπορεί να είναι χαρακτηριστικό του συγκεκριμένου είδους. Έχει βρεθεί ότι, τα εμβρυακής προέλευσης λιπιδικά αποθέματα μπορούν να στηρίξουν ενεργειακά μέχρι και τις πρώτες 5-6 ημέρες του νυμφικού σταδίου στην τσιπούρα (Diaz *et al.*, 1997), και μέχρι τις πρώτες 7-8 ημέρες στο λαβράκι (Koumoundouros *et al.*, 2001a). Στην παρούσα εργασία το αντίστοιχο χρονικό διάστημα έφθασε μέχρι την τέταρτη ημέρα. Για τον κρανιό η συνολική απορρόφηση των λεκιθικών αποθεμάτων συνέβη στις 2 ½ ημέρες ή 60 ώρες μετά την εκκόλαψη με κατά συνέπεια να οδηγεί την νύμφη από την ενδογενή στην εξωγενή θρέψη λόγω του ενστίκτου για επιβίωση. Στη φύση υπάρχει μία περίοδος τροφικής πείνας μέχρι την έναρξη της εξωγενούς θρέψης. Αρκετές μελέτες έδειξαν ότι τα διαφορετικά είδη ψαριών διαφέρουν ως προς την ικανότητα τους να αντέχουν την καθυστέρηση του πρώτου ταΐσματος και την γενικότερη στέρηση της τροφής (Dou *et al.*, 2002), επιπλέον η γονική φροντίδα επηρεάζει τα ιστορικά χαρακτηριστικά της πρόωρης ζωής των ειδών. Οι Chambers *et al.*, 1989) απέδειξαν ότι η αύξηση του όγκου της σταγόνας λιπιδίων μετά την εκκόλαψη παρατείνει το χρόνο για επιβίωση κάτω από συνθήκες τροφικής πείνας κατά την έναρξη του νυμφικού σταδίου, όπως επίσης, τα λιπίδια αποθηκεύονται γύρω από τα όργανα, αυτό είναι μια σημαντική συμβολή στην αντοχή της τροφικής πείνας, γιατί η υψηλή αναλογία βάρους οφείλεται κυρίως στην αύξηση της περιεκτικότητας σε λιπιδικό ιστό γύρω από το έντερο (Huang *et al.*, 1999). Ο κρανιός καθυστέρησε 12 ώρες για να ξεκινήσει την εξωγενή θρέψη, ενώ τα δεδομένα του σημείου μη επιστροφής (PNR) επιτεύχθηκαν 5 ημέρες μετά την εκκόλαψη και 12

ώρες μετά το σημείο με το υψηλότερο ποσοστό ταϊσμένων νυμφών. Κατά συνέπεια οι νύμφες είχαν ξεκινήσει την θρέψη μόλις 2,5 ημέρες. Το σημείο μη επιστροφής (PNR) επετεύχθη στην συγκεκριμένη μελέτη (7,5 έως 8 ημέρες μετά την γονιμοποίηση των ωαρίων, συμφωνεί σχεδόν με την αναφορά που κάνει ο [McGurk \(1984\)](#), όπου αναφέρει ότι 8,8 ημέρες αναμένονται από το σημείο μη επιστροφής (PNR) κατά την θερμοκρασία των ψαριών της θάλασσας. Από την άλλη πλευρά, το μικρό χρονικό διάστημα μεταξύ του υψηλότερου ποσοστού των ταϊσμένων νυμφών και η αμετάκλητη χρονική στιγμή της τροφικής πενίας, δείχνει το υψηλό ποσοστό ζήτησης της τροφής σε μαζική καλλιέργεια του κοινού είδους.

4.2 Από την έρευνα στην εφαρμογή

Η παρούσα μελέτη δείχνει την ανάγκη να βελτιωθούν οι γνώσεις για την βιολογία του νέου αυτού καλλιεργούμενου είδους. Η κατανόηση του προτύπου της κατανάλωσης των ενδογενών αποθεμάτων ενέργειας στις νύμφες των ψαριών, ιδιαίτερα στα νέα καλλιεργούμενα είδη, βοηθά τους υδατοκαλλιεργητές για την διαχείριση και την κατασκευή κατάλληλης τεχνικής, για την μέγιστη επιτυχία στην εκτροφή νυμφών σε ογκώδη συστήματα καλλιέργειας. Η μελέτη της προσρόφησης της σταγόνας λιπιδίων στην επιβίωση των νυμφών και την αντίσταση κατά την τροφική πενία, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μία πρώτη ένδειξη για την ποιότητα του συνόλου.

ABSTRACT/ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

The development of *Argyrosomus regius* early life stages (embryonic, yolk sac and newly larval) was studied, with emphasis on yolk and lipid absorption. The effect of a progressively delayed initial feeding on the feeding ability and survival of this species was also examined. The number of days from hatching after which the feeding rate dropped to half the initial highest feeding rate or the point of no return (PNR), was determined.

In May of 2010, the experimental eggs were obtained by natural spawning from captive broodstock (F₁ generation cultured specimens). The embryo, yolk sac and larvae stages of meagre were reared in laboratory conditions on temperature of 19°C and 35 ppt salinity. Eggs present a diameter of 1.056±0.010 mm, a volume of 0.616 mm³ and a wet weight of 0.718±0.033 mg, while contain one lipid globule of 0.265±0.005 mm diameter and 0.010 mm³ volume. The total length of meagre larvae after hatching and at the onset of exogenous feeding was measured 2.621±0.037 mm and 3.492±0.051 mm, respectively. The yolk sac reserves were consumed 60 h after hatching, while the reserves of oil globule exhausted 156 h after hatching. The percentage of larvae with visible gut contents was maximal 108 h after hatching and decreased to half (PNR) just 12 h after this point or 120 h after hatching.

Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε τα αναπτυξιακά στάδια του *Argyrosomus regius* (εμβρυακό, λεκιθοφόρο νυμφικό και νυμφικό στάδιο), με έμφαση στην απορρόφηση των λεκιθικών και λιπιδικών αποθεμάτων. Επίσης εξετάστηκε η διατροφή και η ικανότητα επιβίωσης του συγκεκριμένου είδους κατά τη στέρηση της τροφής. Μετά την εκκόλαψη ο αριθμός των ημερών μειώνεται στο μισό καθώς ο ρυθμός της σίτισης του μειώνεται και αυτός στο μισό από το αρχικό ποσοστό διατροφής όπου ήταν υψηλό. Το φαινόμενο αυτό ορίζεται ως σημείο μη επιστροφής (PNR).

Τον Μάιο του 2010, τα αυγά που ελήφθησαν για το συγκεκριμένο πείραμα είχαν αναπαραχθεί φυσικά κάτω από συνθήκες αιχμαλωσίας και γεννήτορες F1 εκτρεφόμενης γενιάς. Το εμβρυακό, λεκιθοφόρο νυμφικό και νυμφικό στάδιο του κοινού είδους εκτράφηκε σε εργαστηριακές συνθήκες με θερμοκρασία 19° C και 35 ppt αλατότητα. Τα αυγά παρουσιάζουν διάμετρο $1,056 \pm 0,010$ χιλιοστά, $0,616 \text{ m}^3$ ο όγκος τους και νωπό βάρος $0.718 \pm 0.033 \text{ mg}$, ενώ η σταγόνα λιπιδίων που περιεχόταν είχε διάμετρο 0.265 ± 0.005 και όγκο 0.010 m^3 . Το συνολικό μήκος των νυμφών του κρανιού μετά την εκκόλαψη και κατά την έναρξη της εξωγενούς θρέψης μετρήθηκε $2.621 \pm 0.037 \text{ mm}$ και $3.492 \pm 0.051 \text{ mm}$, αντίστοιχα. Τα λεκιθικά αποθέματα καταναλώθηκαν σε 60 ώρες μετά την εκκόλαψη, ενώ τα λιπιδικά αποθέματα καταναλώθηκαν σε 156 ώρες μετά την εκκόλαψη. Το ποσοστό των νυμφών με εμφανή το εντερικό τους περιεχόμενο ήταν το μέγιστο σε 108 ώρες μετά την εκκόλαψη και μειώθηκε στο μισό (PNR) σε μόλις 12 ώρες μετά από το σημείο αυτό δηλαδή της μη επιστροφής ή σε 120 ώρες μετά την εκκόλαψη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bagarinao T. 1986. Yolk resorption, onset of feeding and survival potential of larvae of three tropical marine fish species rearing in the hatchery. *Mar. Biol.* 91:449-459.
- Bilton and Robins. 1973. The effects of feeding regime on proximate body composition and patterns of energy deposition in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Journal of Fish Biology*. 1:1-11.
- Blaxter JHS, Hempel G. 1963. The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus*). *ICES J. Mar. Sci.* 28: 211-240.
- Bustos CA, Landaeta MF, Schmith EB, Lewis R, Moraga X. 2007. Effects of temperature and lipid droplet adherence on mortality of hatchery-reared southern hake *Merluccius australis* larvae. *Aquaculture* 270: 535-540.
- Chambers R.C, Trippel E.A. 1997. In *Early Life History and Recruitment in Fish Populations* (Chambers RC, Trippel EA, eds), pp. 225-245. Fish and Fisheries Series 21, Chapman and Hall, UK.
- Chambers RC, Leggett WC, Brown JA. 1989. Egg size, female effects, and the correlations between early life history traits of capelin, *Mallotus villosus*: an appraisal at the individual level. *Fish. Bull. U.S.* 87: 515-523.
- Chao L.N. (1986). *Sciaenidae*. In: *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*, Vol. 2 (eds P.J.P. Whitehead, M.L. Bauchot, J.C. Hureau, J. Nielsen & E. Tortonese), pp. 515-1007. UNESCO, Paris.
- Craik J.C.A. 1985. Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes. *Aquaculture* 47, 61-88.
- Devauchelle N, Alexandre J.C, Corre n.L, Letty Y. 1998. Spawning of turbot (*Scophthalmus maximus*) in captivity. *Aquaculture* 69: 159-184.
- Dinis M.T. 1982. Methods of incubating Dover sole (*Solea solea* L.) eggs. *Rel. Act. Aq. Vasco Gama* 12: 8-9.
- Divanach P. 1985. Contribution de la biologie et de l'élevage de 6 sparides méditerranéens: *Sparus aurata*, *Diplodus sargus*, *Diplodus vulgaris*, *Diplodus annularis*, *Lithognathus mormyrus*, *Puntazzo puntazzo* (poissons téléostéens). Ph.D. Thesis, Université des Sciences et Techniques, Languedoc.
- Dou SR, Masuda R, Tanaka M, Tsukamoto K. 2004. Feeding resumption morphological changes and mortality during starvation in Japanese flounder larvae. *J. Fish Biol.* 60: 1363-1380.
- Duncan N, Estevez A, Pardos F, Aguilera C, Montero F.E, Norambuena F, Carazo I, Carbo R, Mylonas C. 2008. Acclimation to captivity and GnRH α -induced spawning of meager (*Argyrosomus regius*). *Cybium*, 32: 332-333.

El-Hehyewi M.L.E. 1974. Changes in salinity and landings of six fish species in the shelf north to the Delta. Bull. Inst. Ocean. & Fish. 4: 436–458.

El-Shebly A.A, El-Kady M.A.H, Hussin A.B. & Hossain M.Y. 2007. Preliminary observations on the pond culture of meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) (Sciaenidae) in Egypt. Journal of Fisheries and Aquatic Science, 2: 345-352.

Estevao M.D, Redruello B, Canario A.V.M. & Power D.M. 2005. Ontogeny of osteonectin expression in embryos and larvae of sea bream (*Sparus auratus*). Generation Comput. End, 142: 155-162.

FAO 2010 Cultured Aquatic Species Information Programme: *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). Available in:

http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Argyrosomus_regius/en

FAO. (2009) Aquaculture Production 1950–2007

FAO. (2010)a Capture Production 1950–2008

FAO. (2010)b Aquaculture Production 1950–2008

Georgalas V, Malavasi S, Franzoi P, & Torricelli P. 2007. Swimming activity and feeding behaviour of larval European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): Effects of ontogeny and increasing food density. Aquaculture, 264: 418-427.

Gisbert E, Conklin DB, Piedrahita RH. 2004. Effects of delayed first feeding on the nutritional condition and mortality of California halibut larvae. J. Fish Biol. 64: 116-132.

Griffiths, M.H. & Heemstra P.C. (1995). A contribution to the taxonomy of the marine fish genus *Argyrosomus* (*Perciformes: Sciaenidae*), with description of two new species from South Africa. Ichthyological Bulletin. 65: 1-40.

Hempel G, 1984. In Early Life History of Marine Fish: The Egg Stage (Hempel G.ed). Washington SeaGrant, USA.

Hernandez MD, Lopez MB, Alvarez A, Ferrandini E, Garcia-Garcia B, Garrido MD. 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. Food Chem. 114: 237-245.

Hinckley S. 1990. Variation of egg size of walleye pollock *Theragra chalcogramma* with a preliminary examination of effect of egg size and larval size. Fish. Bull. U.S. 88: 471-483.

Holmes T, Mc Cormick MI. 2010. How selective are reef fish predators for prey size. Marine Ecology Progress , 399:273-283.

Huang WB, Chiu TS, Shih CT. 1999. Effects of maternal conditions on early life history traits of black porgy *Acanthopagrus schlegeli*. J. Appl. Ichthyol. 15: 87-92.

- Jimenez M.T, Pastor E, Grau A, Alconchel J.I, Sanchez R. & Cardenas S. (2005). Revision del cultivo de esciendidos en el mundo, con especial atencion a la corvina *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). Boletin Instituto Espanol de Oceanografia. 21: 169-175.
- Jug-Dujakovic J, Dulcic J, Katavic I. 1995. Embryonic and yolk-sac larval development of the sparid *Dentex (Dentex) dentex* (Linnaeus, 1758). Fish. Res. 24: 91-97.
- Kendal A.W, Alhstrom E.H, Moser H.G. 1984. Early life history stages of fishes and their characters. In: Ontogeny and systematic of Fish (Moser HG, Richards WJ, Cohen DM, Fahay MP, Kendall AW, Richardsons SL, eds), pp. 11-22. Spec. Publ. No 1, American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Allen Press, Lawrence.
- Kimura Y, Ishikawa S, Tokai T, Nishida M, & Tsukamoto K. 2004. Early life history characteristics and genetic homogeneity of *Conger myriaster* leptocephali along the east coast of central Japan. Fish. Res., 70: 61-69.
- Kjorsvic E, Mangor-Jensen A, Holmefjord I. 1990. Egg Quality in Fish. Adv. Mar. Biol. 26: 71-113.
- Kjorsvic E, Stene A, Lonning S. 1984. Morphological, physiological and genetical studies of egg quality in cod (*Gadus morhua* L.). In: The propagation of Cod *Gadus morhua* L. (Dahl E, Danielssen DS, Moksness E, Solemdal P, eds), pp. 67-86. Flodevigen rapportserie No 1.
- Klimogianni A, Koumoundouros G, Kaspiris P, Kentouri M. 2004. Effect of temperature on the egg and yolk-sac larval development of common pandora, *Pagellus erythrinus*. Mar. Biol. 145: 1015-1022.
- Koumoundouros G, Divanach P, Kentouri M. 1998. Embryonic and yolk-sac larval development of *Dentex dentex* (Linnaeus, 1758) (Osteichthyes, Sparidae). Mar. Life 6: 41-50.
- Lagardere J.P. & Mariani A. 2006. Spawning sounds in meager *Argyrosomus regius* recorded in the Gironde estuary, France. Journal of Fish Biology. 69: 1697-1708.
- Le Francois N, Jobling M, Carter C, Blier P. 2010. Meagre, *Argyrosomus regius*. In: Finfish aquaculture diversification (ed. By N. Le Francois, M. Jobling, C. Carter and P. Blier), pp. 405-412. CABI publishing, UK.
- Mazon A.F, Huising M.O, Taverne-Thiele A.J, Bastiaans J, & Kemenade B.M.L.V. 2007. The first appearance of rodlet cells in carp (*Cyprinus carpio* L.) ontogeny and their possible roles during stress and parasite infection. Fish Shellfish Immunol., 22: 27-37.

McGurk MD. 1984. Effects of delayed feeding and temperature on the age of irreversible starvation and on growth and mortality of Pacific herring larvae. *Mar. Biol.* 84: 13-26.

Mihelakakis A, Yoshimatsu T, Tsolkas C. 2001. Spawning in captivity and early life history of cultured red porgy, *Pagrus pagrus*. *Aquaculture*. 199: 333-352.

Miller TJ, Crowder LB, Rice JA, Marshall EA. 1988. Larval size and recruitment mechanisms in fishes: toward a conceptual framework. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45: 1657-1668.

Miller TJ, Herra T, Leggett WC. 1995. An individual-based analysis of the variability of eggs and their newly-hatched larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*) on the Scotian Shelf. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52: 1083-1093.

Monfort M.C. 2010. Global trends in seafood and sustainability: market movements and trends, Seafood Choice Alliance Conference, Barcelona, Spain, 2010.

Moteki M, Yoseda K, Sahin T, Ustundag C, Kohno H. 2001. Transition from endogenous to exogenous nutritional sources in larval Black Sea turbot *Psetta maxima*. *Fish. Sci.* 67: 571-578.

Mylonas C. & Zohar, 2001. Use of GnRH α -delivery systems for the control of reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 10: 463-491.

Ojanguren AF, Reyes-Gavilan FG, Brana F. 1996. Effects of egg size on offspring development and fitness in brown trout, *Salmo trutta* L. *Aquaculture*. 147: 9-20.

Oozeki Y, Ishii T, Hirano R. 1989. Histological study of the effects of starvation on reared and wild-caught larval stone flounder, *Kareius bicoloratus*. *Mar. Biol.* 100: 269-275.

Paquette P. 2007. Perspectives économiques et aspects commerciaux pour le secteur du poisson d'élevage. Conférence aquaculture Commission Union Européenne, Bruxelles, Belgium, 18.

Parra G, Yufera M. 2000. Feeding, physiology and growth responses in first-feeding gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae in relation to prey density. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 243: 1-15.

Pasquod S, Pillet M, David V, Sautour B, Elie P. 2008, 2010. Determination of fish trophic levels in an estuarine system. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 86: 237-246.

Patterson S. and Goldspink G. 1973. The effect of starvation on the ultrastructure of the red and white myotomal muscles of the crucian carp (*Carassius carassius*). *Cell and Tissue Research.*, 3: 375-384.

Poli B.M, Parisi G, Mecatti M, Lupi P, Iurzan, F, Zampacavallo G. & Gilmozzi M. 2003. The meagre (*Argyrosomus regius*), a new species for Mediterranean

- aquaculture. 1. Morphological, merchantable and nutritional traits in a commercial wide size-range. European Aquaculture Society Special Publication. 29: 209–210.
- Quéméner L. 2002. Le maigre commun (*Argyrosomus regius*): biologie, pêche, marché et potentiel aquacole. Editions Ifremer, Plouzané, France. 31p.
- Quero J.C. & Vayne J.J. 1987. Le maigre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) (Pisces, *Perciformes*, *Sciaenidae*) du Golfe de Gascogne et des eaux plus septentrionales. Revue des Travaux des Pêches Maritimes. 49: 35-66.
- Ronnestad I, Koven WM, Tandler A, Harel M. 1994. Energy metabolism during development of eggs and larvae of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Mar. Biol. 120: 187-196.
- Roo J, Hernandez-Cruz C.M, Borrero C, Schuchardt D. & Fernandez-Palacios H. 2010. Effect of larval density and feeding sequence on meagre (*Argyrosomus regius*; Asso, 1801) larval rearing. Aquaculture, 302: 82-88.
- Sadek S. S, Sabry A. M, Asfoor S. M. 2009. Meagre: a new candidate for Egyptian aquaculture in Egypt. Aquaculture Europe. 34: 13–17.
- Sakai k, Nomura M, Takashima F, 1985. Characteristics of naturally spawned eggs of red sea bream. Bull. Jap. Soc. Scien. Fish. 51: 1395-1399.
- Schiavone R, Zilli L & Vilella S. 2008. Sex differentiation and serum levels of sex steroids in meagre (*Argyrosomus regius*). In: 25th Congress of the new European Society of Comparative Biochemistry and Physiology. Ravenna, Italy, September 7-11, 2008.
- Stergiou KI, Tsikliras AC, Pauly D. 2008. Farming up Mediterranean food webs. Cons. Biol. 23: 230-232.
- Ternengo S, Agostini S, Quilichini Y, Euzet L, Marchand B. 2010. Intensive infestations of *Sciaenocotyle pancerii* (Monogenea, Microcotylidae) on *Argyrosomus regius* (Asso) under fish-farming conditions. Journal of Fish Diseases. 33:89-92.
- Utne-Palm & Stiansen J.E. 2002. Effect of larval ontogeny, turbulence and light on prey attack rate and swimming activity of Atlantic herring larvae. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology. 268:147-170.
- Watanabe, T, 1986. Importance of the Study of Broodstock Nutrition for Further Development of Aquaculture. In: Nutrition and Feeding in Fish, Cowey, C.B., A.M. Mackie and J.G. Bell (Eds.). Academic Press, London.

Williams K, Papanikos N, Phelps RP, Shardo JD. 2004. Development, growth, and yolk utilization of hatchery-reared red snapper *Lutjanus camperechanus* larvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 275: 231-239.

Wootton RJ. 1994. Life histories as sampling devices: Optimum egg size in pelagic fishes. *J. Fish. Biol.* 45: 1067-1077.

Yin MC, Blaxter JHS. 1987. Feeding ability and survival during starvation of marine fish larvae reared in the laboratory. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 105: 73-83.

Yufero M, Darias MJ. 2007. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture* 268: 53-63.

Yufero M, Pascual E, Polo A, Sarasquete MC. 1993. Effect of starvation on the feeding ability on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae at first feeding. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 169: 259-272.

Zapata A, Diez B, Cejalvo T, Gutierrez-de Frias C, & Cortes A. 2006. Ontogeny of the immune system of fish. *Fish. Shellfish Immunol.*, 20: 126-136.

Zouiten D, Khemis I.B, Besbes R. & Cahu C. 2008. Ontogeny of the digestive tract of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) larvae reared in mesocosms. *Aquaculture*, 279: 166-172.

Κλημογιάννη Α. 2004. Μελέτη της οντογένεσης του λιθρινιού (*Pagellus erythrinus* L. 1758) και η επίδραση στα επιμέρους αναπτυξιακά στάδια σε συνθήκες εντατικής εκτροφής. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών.

Μητριζάκης Ν, Μυλωνάς Κ. 2010. Μελέτη του αναπαραγωγικού κύκλου του κρانيού, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) και ορμονική πρόκληση της αναπαραγωγής του με χρήση εμφυτευμάτων GnRHα. Library & information Center, University of Crete.