

**Τ.Ε.Ι. ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ**  
**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ ΑΛΙΕΥΤΙΚΗΣ**  
**ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ - ΜΟΝΑΔΑ ΕΝΥΔΡΕΙΩΝ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Επίδραση της θερμοκρασίας στη μορφομετρική εξέλιξη του  
λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κηλιδοζέμπρας *Archocentrus*  
*nigrofasciatus*»**

**Μιχάλης Βασιλόπουλος**  
**Σωτηρία Λύρα**

**ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 2012**

**Τ.Ε.Ι. ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ**  
**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ ΑΛΙΕΥΤΙΚΗΣ**  
**ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ - ΜΟΝΑΔΑ ΕΝΥΔΡΕΙΩΝ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Επίδραση της θερμοκρασίας στη μορφομετρική εξέλιξη του  
λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κηγλιδοζέμπρας *Archocentrus*  
*nigrofasciatus*»**

**Μιχάλης Βασιλόπουλος**  
**Σωτηρία Λύρα**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ**  
**Δρ Γεώργιος Χώτος**  
**Καθηγητής**

**ΣΥΝΕΠΙΒΛΕΠΩΝ**  
**Νικόλαος Βλάχος**  
**Ιχθυολόγος Τ.Ε.-MSc**  
**Υποψήφιος Διδάκτορας**

**ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 2012**

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:**

- 1) **Γεώργιος Χώτος**, Καθηγητής, Δρ Βιολόγος-Ιχθυολόγος, Τμήμα Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης, Σχολή Τεχνολόγων Γεωπονίας, Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου, **Επιβλέπων**
- 2) **Βιδάλης Κοσμάς**, Καθηγητής, Δρ Βιολόγος Ιχθυολόγος, Τμήμα Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης, Σχολή Τεχνολόγων Γεωπονίας, Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου, **Μέλος**
- 3) **Κωνσταντίνος Μπαταργιάς** Επίκουρος Καθηγητής, Δρ Βιολόγος-Ιχθυολόγος, Τμήμα Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης, Σχολή Τεχνολόγων Γεωπονίας, Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου, **Μέλος**.

**Συνεπιβλέπων**

- 4) **Νικόλαος Βλάχος**, Εργαστηριακός Συνεργάτης (Ιχθυολόγος Τ.Ε-ΜSc, Υποψήφιος Διδάκτορας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας). Τμήμα Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης, Σχολή Τεχνολόγων Γεωπονίας, Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου, **Συνεπιβλέπων**

*Αφιερώνεται  
στους γονείς μας  
Δημήτριος και Ιφιγένεια Βασιλοπούλου  
&  
Νικόλαος και Ευθυμία Λύρα*

## **Ευχαριστίες**

Μέσα από την παρούσα εργασία θέλουμε να εκφράσουμε τις ευχαριστίες μας στον Δρ Γεώργιο Χώτο, για τις χρήσιμες πληροφορίες και παρατηρήσεις του κατά τη συγγραφή της εργασίας.

Επίσης, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε εγκάρδια τον συν-επιβλέπων της εργασίας Νικόλαο Βλάχο, Ιχθυολόγο T.E, MSc, Υποψήφιο Διδάκτορα του τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και Ε.Τ.Π του τμήματος Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης του T.E.I. Μεσολογγίου, για την αμέριστη και διαρκεί συμπαράστασή του, την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή του και την άμεση βοήθεια που μας παρείχε στην προμήθεια εργαστηριακού υλικού καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής της πειραματικής διαδικασίας καθώς και στη συγγραφή της εργασίας.

Επίσης ευχαριστούμε τα μέλη της επιτροπής Κοσμά Βιδάλη και Κωνσταντίνο Μπαταργιά για τις χρήσιμες συμβουλές και παρατηρήσεις τους.

Τέλος, θα θέλαμε να εκφράσουμε τις εγκάρδιες ευχαριστίες μας στις οικογένειες μας, στους φίλους μας, για την υλική και ψυχολογική υποστήριξη που μας παρείχαν καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μας και υλοποίησης των στόχων μας.

## Περίληψη

Στη παρούσα εργασία περιγράφεται η ανάπτυξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της τροπικής κηχλιδόζεμπρας, *Archocentrus nigrofasciatus* σε δυο θερμοκρασίες εκκόλαψης (23°C και 27°C) αντίστοιχα. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι δυνατότητα αναγνώρισης των κρίσιμων αναπτυξιακών σταδίων επιδιώκοντας την εύρεση της βέλτιστης θερμοκρασίας ανάπτυξης του είδους. Το *Archocentrus nigrofasciatus* παρουσιάζει υψηλή εμπορική αξία, ενώ οι νεοεκκολαπτόμενες νύμφες προέρχονταν από γεννήτορες οι οποίοι διατηρούνταν σε συνθήκες αιχμαλωσίας. Η ανάπτυξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου έγινε in vivo Κάθε 4 ώρες για διάστημα 100 ωρών (4 ημέρες) μετά την εκκόλαψη, λαμβάνονταν δείγμα 60 ατόμων (30 άτομα από κάθε ενυδρείο).

Ως σημείο έναρξης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου θεωρήθηκε ο χρόνος όπου το 50% των αυγών εκκολάφθηκε, ενώ το τέλος του σταδίου καθορίστηκε ως το χρονικό σημείο όπου τα λεκιθικά αποθέματα εξαντλήθηκαν πλήρως και κυμαίνεται από 3 έως 4 ημέρες. Τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης έδειξαν ότι το ολικό μήκος (TL) στα οντογενετικά στάδια της παρούσας μελέτης κυμαίνεται από 3.73-5.78 mm και 4,16-5,19 mm για τους για τους 27°C και 23°C, παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά με την ηλικία (t test ;  $p < 0.05$ ), και είναι ανεξάρτητη από την θερμοκρασία εκκόλαψης. Σε θερμοκρασία εκκόλαψης 27°C οι έντονες μεταβολές λαμβάνουν χώρα από ηλικία των 32 ωρών μέχρι των 56 ωρών ενώ αντίστοιχα σε θερμοκρασία εκκόλαψης 23°C λαμβάνουν χώρα από ηλικία των 56 ωρών μέχρι των 72 ωρών. Τέλος τα αποτελέσματα μας έδειξαν πως η θερμοκρασία επηρεάζει τον πραγματικό χρόνο που λαμβάνει χώρα ένα αναπτυξιακό γεγονός, ενώ η εξέλιξη του σταδίου (από την έναρξη έως την ολοκλήρωση του σταδίου) δεν επηρεάζεται από τη θερμοκρασία.

**Λέξεις Κλειδιά:** Λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο, Οντογένεση, *Archocentrus nigrofasciatus*.

## Αντί προλόγου...

Η παρούσα πειραματική πτυχιακή εργασία, εκπονήθηκε στο εργαστήριο των ενυδρείων του τμήματος Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης του Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου για το χρονικό διάστημα Δεκέμβριος 2010 έως Ιανουάριος 2011 υπό την επίβλεψη του εργαστηριακού Συνεργάτη και Ε.Τ.Π, Νικόλαου Βλάχου, MSc και αφορά την επίδραση της θερμοκρασίας στη μορφομετρική εξέλιξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κηχλιδοζέμπρας, *Archocentrus nigrofasciatus*.

Οι λόγοι που αποτέλεσαν το εφαλτήριο έναυσμα για την επιλογή και μελέτη της παρούσης πτυχιακής εργασίας ήταν:

- 1) Το εμπορικό ενδιαφέρον που παρουσιάζει η κηχλιδοζέμπρα από ερασιτέχνες και επαγγελματίες ενυδρειολόγους και η εξέχουσα θέση που κατέχει στο παγκόσμιο εμπόριο των ενυδρείων.
- 2) Το μάθημα, Καλλιέργειες Διακοσμητικών Ψαριών, η ερευνητική εμπειρία και ενασχόληση του κ Βλάχου σε θέματα αναπαραγωγής των διακοσμητικών ψαριών.
- 3) Το βιβλιογραφικό κενό που υπάρχει στη μελέτη των οντογενετικών σταδίων ανάπτυξης της κηχλιδοζέμπρας.

Η ενασχόληση με το εν λόγω θέμα, έγινε μετά από ανάθεση, σύμφωνα με την αριθμ. 5/9-12-2010, απόφαση Συνέλευσης του τομέα Β με εισηγητή τον Εργαστηριακό Συνεργάτη Νικόλαο Βλάχο. Σύμφωνα με την αριθμ. 4/12-10-2011 απόφαση Συνέλευσης του τομέα Β και επειδή δεν προσλήφθηκαν εργαστηριακοί συνεργάτες για το Ακαδημαϊκό έτος 2011-2012, σύμφωνα με απόφαση του Υπουργείου Παιδείας και Δια Βίου Μάθησης, ορίστηκε εκ νέου εισηγητής ο Δρ Γεώργιος Χώτος, προκειμένου να περατωθεί η εξέταση και παρουσίαση της παρούσης εργασίας.

## Περιεχόμενα

Ευχαριστίες .....	5
Περίληψη .....	6
Αντί προλόγου... ..	7
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ</b> .....	10
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	10
1.1 Γενικές Πληροφορίες .....	11
1.2 Βιολογία, Αναπαραγωγή και διατροφικά χαρακτηριστικά του <i>Archocentrus nigrofasciatus</i> . .....	12
1.3 Σπουδαιότητα εκτροφής του είδους σε ενυδρεία .....	14
1.4 Ανασκόπηση βιβλιογραφίας για τη μελέτη του λέκιθοφόρου νυμφικού σταδίου.....	15
1.5 Σκοπός εργασίας .....	17
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ</b> .....	18
<b>ΥΛΙΚΑ &amp; ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΡΕΥΝΑΣ</b> .....	18
2.1 Εισαγωγικά στοιχεία .....	19
2.2 Πειραματικός σχεδιασμός.....	19
2.2.1 Στάδια οντογένεσης .....	19
2.2.2 Προετοιμασία πειραματικών ενυδρείων .....	20
2.2.3 Επιλογή γεννητόρων .....	21
2.3 Παράμετροι υπολογισμού .....	22
2.3.1 Παράμετροι υπολογισμοί του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου .....	22
2.4 Μετρήσεις - Αναλύσεις.....	25
2.4.1 Μέτρηση αζωτούχων προϊόντων .....	25
2.4.2 Μέτρηση pH και θερμοκρασίας.....	26
2.5 Παράμετροι υπολογισμού .....	27



2.5.1 Υπολογισμός της συγκέντρωσης της ιονισμένης και μη – ιονισμένης .....	27
2.5.2 Υπολογισμός Ταχύτητας Φιλτραρίσματος .....	27
2.6 Διαχείριση ενυδρείων .....	28
2.7 Διατροφή γεννητόρων.....	28
2.8 Στατιστική Ανάλυση.....	30
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ.....</b>	<b>31</b>
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>31</b>
3.1 Μορφολογική ανάπτυξη των λεκιθοφόρων νυμφών του <i>A.nigrofasciatus</i> .....	32
3.2 Μορφομετρική ανάπτυξη των λεκιθοφόρων νυμφών του <i>A.nigrofasciatus</i> . .....	46
3.2 Ποσοστά εκκόλαψης και επιβίωσης .....	51
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ.....</b>	<b>52</b>
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>52</b>
4.1 Συζήτηση.....	53
4.2 Συμπεράσματα .....	57
Abstract.....	58
Βιβλιογραφικές Αναφορές.....	59

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ**

### **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

## 1.1 Γενικές Πληροφορίες

Οι οικογένεια Cichlidae αποτελείται από ενδημικά είδη γλυκού και υφάλμυρου νερού τα οποία γεωγραφικά απαντώνται κυρίως στην Κεντρική και Νότια Αμερική, στην Αφρική στη Μαδαγασκάρη, στις Δυτικές Ινδίες, στο Ισραήλ, στις ακτές της Συρίας και στην Σρι Λάνκα (See-hausen 1996 ; Turner et al., 2001; Lehtonen & Lindstrom, 2008). Στην οικογένεια Cichlidae περιλαμβάνονται περίπου 105 γένη και 1300 είδη, κάνοντάς την, τη δεύτερη μεγαλύτερη οικογένεια των Perciformes (Nelson, 1994).

Ο Nelson (2006), προσδιόρισε εκ νέου τον αριθμό των ειδών σε 1350 είδη ανά τον κόσμο, ενώ πολλά είδη τα οποία απαντώνται κυρίως στην Αφρική δεν έχουν ακόμη εξερευνηθεί (Turner et al., 2001). Τα μέλη της οικογένειας Cichlidae παρουσιάζουν έντονες διαφοροποιήσεις στην ποικιλία, στους μορφολογικούς τους χαρακτήρες, στην συμπεριφορά, στην οικολογία ενώ εκδηλώνουν μεγάλη προσαρμοστικότητα (Fryer & Lies 1972), ενώ ο Kocher (2004), τονίζει ότι οι κηλίδες που προέρχονται από τις λίμνες Malawi και Victoria της κεντρικής Αφρικής αναπτύσσονται σε μικρό χρονικό διάστημα με αποτέλεσμα να αποτελούν αντικείμενο μελέτης της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς.

Τα μέλη της οικογένειας, οργανώνουν την αναπαραγωγική συμπεριφορά τους, τη στρατηγική επώασης και τις ενέργειες που ακολουθούν κατά τη διάρκεια της γονικής φροντίδας.

Λαμβάνοντας υπόψη τον αριθμό των ψαριών και την ευρεία γεωγραφική κατανομή τους, αποτελεί έκπληξη το κενό των περιγραφικών πληροφοριών για τη μελέτη των οντογενετικών σταδίων των ειδών της οικογένειας Cichlidae (Baerends & Baerends van Roon, 1950 ; Fryer & Iles, 1972; Barlow, 1991; Keenleyside, 1991).

Τα άτομα της οικογένειας των Cichlidae χαρακτηρίζονται από δυο τύπους γονικής φροντίδας. Ο πρώτος τύπος γονικής φροντίδας είναι η στοματική επώαση, και ανήκουν κυρίως πολυγαμικά είδη που εκκολάπτουν τα γονιμοποιημένα αυγά στην ειδικά διαμορφωμένη στοματική τους κοιλότητα (Meijidae & Guerrero, 2000).

Ο δεύτερος τύπος γονικής φροντίδας, περιλαμβάνει είδη ψαριών που εναποθέτουν τα αυγά σε υπόστρωμα, επιτηρώντας τη φωλιά τους και είναι μονογαμικά (Baerends & Baerends van Roon, 1950; Fryer & Iles, 1972; Barlow, 1991; Keenleyside, 1991; Nelson, 1994; Meijidae & Guerrero, 2000).

Η κηχλιδοζέμπρα, *A.nigrofasciatus*, ανήκει στα είδη που εναποθέτουν τα αυγά, σε υπόστρωμα, επιτηρώντας τη φωλιά τους, ενώ τα θηλυκά άτομα, εμφανίζουν αυξημένη γονική φροντίδα, σε σχέση με τα αρσενικά άτομα (Vlachos et al., 2008 ; Βλάχος, 2008).

## **1.2 Βιολογία, Αναπαραγωγή και διατροφικά χαρακτηριστικά του *Archocentrus nigrofasciatus*.**

Το *Archocentrus nigrofasciatus* με κοινή ονομασία convict cichlid, ή κηχλιδόζεβρα, είναι γνωστό με τα επιστημονικά ονόματα *Cryptoheros nigrofasciatus* και *Cichlasoma nigrofasciatus* απαντάται στις νότιες περιοχές της Κεντρικής Αμερικής, όπως στη Κόστα Ρίκα, το Ελ Σαλβαδόρ, τη Γουατεμάλα, την Ονδούρα, τη Νικαράγουα και τον Παναμά. Ζει σε ρυάκια ή περιοχές με βράχια. Ο αριθμός των ακάνθων του ραχιαίου και εδρικού πτερυγίου διαφέρει από τις υπόλοιπες κηχλίδες της Κεντρικής Αμερικής.

Το pH κυμαίνεται από 6.5 έως 8.5 και η θερμοκρασία από 18°C έως 30°C (Harrington, 2012). Φθάνουν σε ολικό μήκος τα 15 cm, ενώ τα θηλυκά είναι μικρότερα (Harrington, 2012). Η διατροφή της κηχλιδοζέμπρας στο φυσικό περιβάλλον, αποτελείται από ασπόνδυλα, προνύμφες εντόμων και φύκη. Σε συνθήκες εκτροφής σε ενυδρεία, τρέφεται με υψηλής ποιότητας σύμπληκτα, νιφάδες, μύσις γαρίδας, artemia και krill. Είναι αδηφάγα, οπότε απαιτείται προσοχή στην ποσότητα τροφής που χορηγείται στο ενυδρείο καθώς επίσης και στη συχνότητα της τροφής (Harrington, 2012).

Στο φυσικό περιβάλλον η ωοτοκία του *A. nigrofasciatus*, πραγματοποιείται σε περιοχές που σκάβονται κάτω απ' την άμμο, ή μεταξύ των βράχων διαμέτρου περίπου 30cm στο φυσικό τους περιβάλλον. Στο ενυδρείο, δεν παρουσιάζει ιδιαιτερότητες ως προς τις περιοχές ωοτοκίας, αν και είναι γνωστό από ερασιτέχνες ενυδρείων ότι εναποθέτει τα αυγά του σε πήλινα δοχεία, πλαστικές επιφάνειες από PVC, βράχους αλλά και υάλινες επιφάνειες (Harrington, 2012).

Αναπαράγεται καθ' όλη τη διάρκεια του έτους σε αντίθεση με άλλες κηχλίδες, δεν εμφανίζουν δυσκολία την περίοδο του ζευγαρώματος. Αναπαράγονται κάθε μήνα, ενώ ο αριθμός των αυγών κυμαίνεται από 40 έως 150 αυγά. Τα νεώτερα και μικρότερα ψάρια σε μέγεθος ψάρια παράγουν μικρότερο αριθμό αυγών, αλλά με την ωρίμανση του ψαριού ο αριθμός αυξάνεται. Τα αυγά εκκολάπτονται 3 με 4 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση, ενώ οι νεοεκκολαπτόμενες προνύμφες κινούνται προς ένα

μικρό κοίλωμα, ή άλλες περιοχές που έχουν δημιουργηθεί για τα νεογνά από τους γονείς, ώστε να προστατευθούν. Πολλές φορές οι γεννήτορες μετακινούν τα λεκιθοφόρα ιχθύδια από ένα κοίλωμα στο άλλο, για λόγους ασφαλείας των ιχθυδίων (Vlachos et al., 2008).

Οι προνύμφες απορροφούν το λεκιθικό σάκο στις επόμενες πέντε με έξι ημέρες, όπου τα ψάρια κολυμπούν ελεύθερα και αρχίζουν να τρέφονται εξωγενώς. Η αύξηση και η υγιεινή των νεαρών ψαριών προωθούνται με τη χορήγηση κατάλληλης τροφής, που περιλαμβάνει ναύπλιους *Artemia*, κατεψυγμένη *Artemia* και *Cyclops*. Η σωστή διατροφή, ωστόσο, μπορεί να περιέχει και θρυμματισμένες νιφάδες ή σύμπηκτα (Βλάχος, 2008).

Οι μεταλεκιθοφόρες νύμφες του τροπικού αγγελόψαρου (*Chaetodontoplus septentrionalis*) τρέφονται με συνδυασμό τροφών σε ποσοστό 50% κωπήποδα και 50% τροχόζωα, που οδηγεί σε υψηλά ποσοστά επιβίωσης για το συγκεκριμένο είδος ψαριού (Ming-Yih Leu et al., 2010).

### 1.3 Σπουδαιότητα εκτροφής του είδους σε ενυδρεία.

Η οργάνωση μιας καλλιέργειας διακοσμητικών ψαριών στηρίζεται σε τεχνικές και πρακτικές που εφαρμόζονται κυρίως από ερασιτέχνες ενυδρείων. Ανάμεσα στα πιο δημοφιλή είδη της παγκόσμιας βιομηχανίας των διακοσμητικών ψαριών σε ενυδρεία, η κηχλιδοζέμπρα *A. nigrofasciatus* (κν. convict cichlid, zebra cichlid), κατέχει την πρώτη θέση, στις προτιμήσεις των ενυδρειόφιλων καταναλωτών.

Η εμπορικότητά της, οφείλεται κυρίως στο σχήμα της, στο χρωματισμό και στην αυξημένη εμπορική της αξία. Το κόστος αγοράς του ψαριού εξαρτάται από τη διαθεσιμότητά του, η οποία καθορίζει και την τελική τιμή.

Το συγκεκριμένο είδος ψαριού, λόγω της αλλεπάλληλης αναπαραγωγικής ικανότητας που φέρει σε ελεγχόμενες συνθήκες, της αυξημένης προσαρμοστικότητας, της πολυγαμίας και της γονικής φροντίδας, του διατροφικού χαρακτήρα, της ομαλής διατήρησης σε ενυδρεία, της εμπορικής αξίας, της ποιότητας νερού πληρεί τις προϋποθέσεις για εκτροφή σε ενυδρεία τόσο σε επαγγελματικό όσο και σε ερασιτεχνικό επίπεδο (Lavery & Keenleyside, 1990).

#### 1.4 Ανασκόπηση βιβλιογραφίας για τη μελέτη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου.

Η πρώιμη ανάπτυξη αφορά κυρίως τη μελέτη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου και έχει μελετηθεί στο *Fundulus heteroclitus* (Armstrong & Child, 1965 ; Trinkaus, 1984, 1992), στην πέστροφα, *Salmo gairdneri* (Ballard, 1973a, b, c) και στη ζέμπρα *Danio rerio* (Warga & Kimmel, 1990 ; Kimmel et al., 1995).

Η μελέτη των οντογενετικών σταδίων, στα είδη της οικογένειας Cichlidae δεν έχει μελετηθεί εκτενώς και οι μελέτες αφορούν στο μεγαλύτερο μέρος τους Αφρικανικά είδη (Fryer & Pes, 1972; Balon, 1977; Kuwamura & Mihigo, 1988 ; Galman & Avtalion, 1989 ; Holden & Bruton, 1992, 1994), σε σχέση με τα Νεοτροπικά είδη (Balon, 1960; Jones, 1972; Martoanez & Murillo, 1987; Cabrera, Murillo & Mora, 1988; Contreras & Doaz, 1990).

Τα είδη που εναποθέτουν τα αυγά τους σε υπόστρωμα είναι σφαιρικά όπως: *Chaetodontoplus septentrionalis* και *Centropyge flavissimus* ή ελλειπτικά (*Cichlasoma dimerus*) και προσκολλώνται στο υπόστρωμα, με μια κολλώδης ουσία ή νημάτια τα οποία καλύπτουν περιφερειακά το χόριο. Το μέγεθος και το χρώμα του αυγού ποικίλει (Meijidae & Guerrero, 2000 ; Ming-Yih Leu et al., 2010). Η ολοκληρωμένη απορρόφηση του λεκιθικού σάκου πραγματοποιείται στις 3 ημέρες για το *Chaetodontoplus septentrionalis* (Ming-Yih Leu et al., 2010) και στις 3 – 4 ημέρες για το *Cichlasoma nigrofasciatus* σε θερμοκρασία 28° C (Robert et al., 1990).

Οι νύμφες πολλών ειδών είναι προσκολλημένες στο υπόστρωμα, αποτελούνται από δυναμωμένους αδένες στην περιοχή της κεφαλής πάλλοντας ελαφρώς το ουραίο πτερύγιο. Άλλα είδη τα οποία χτίζουν φωλιές σε τρεχούμενα νερά, διαθέτουν ειδικά αναπτυγμένα εμβρυακά αναπνευστικά όργανα, σε σχέση με άλλα είδη τα οποία κατασκευάζουν φωλιές σε στάσιμα νερά και εμφανίζουν ανεπτυγμένο λεκιθικό σάκο (Balon, 1975).

Οι νέο-εκκολαπτόμενες νύμφες του *Chaetodontoplus septentrionalis*, φθάνουν σε μήκος 1,60 ± 0.07 με 27 μιομερή (Ming-Yih Leu et al., 2010). Οι Zapata et al (2006), αναφέρουν ότι σε θερμοκρασία 28° C η ζέμπρα (*Danio rerio*), μεταξύ των 24 με 30 h μετά την γονιμοποίηση, εμφανίζει μυελοβλαστίδια και μυελοκύτταρα ανάμεσα στο λεκιθικό σάκο και στα τοιχώματα του σώματος. Οι Olivotto et al (2006), στην ερευνά τους, αναφέρουν ότι το τροπικό αγγελόψαρο θαλασσινού νερού σε θερμοκρασία 26°C στις 14,5 h, το έμβρυο ετοιμάζεται να εκκολαφτεί, έχοντας

αναπτύξει ένα σημαντικό αριθμό μυομερών κατά μήκος του οπίσθιου μέρους του σώματος.

Η πρόωμη ανάπτυξη του εμβρυακού σταδίου των ειδών *Cichlasoma bimaculatum*, *Cichlasoma biocellatum*, *Cichlasoma nigrofasciatum* και του *Hemichromis bimaculatus*, τα οποία εναποθέτουν τα αυγά τους σε υπόστρωμα, παρουσιάζουν πολλές ομοιότητες κατά την περιγραφή 5 διαφορετικών οντογενετικών σταδίων (Jones, 1972).

Η ζέμπρα, *Danio rerio* παρουσιάζει μια σειρά μορφολογικών αλλαγών κατά την διαδικασία της μεταμόρφωσης από το μεταλεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο σε πρόωμο και ατελές ιχθύδιο (Parichy et al., 2009). Οι μεταβολές που παρατηρούνται σχετίζονται με αλλαγές στη νυκτική κύστη, το κοιλιακό πτερύγιο, το ουραίο πτερύγιο και στον σκελετό της νύμφης, οι οποίες σχετίζονται με το μέγεθος και την ηλικία και επηρεάζονται από τη θερμοκρασία. Το μέγεθος του ψαριού σε σχέση με την ηλικία αποτελεί την καλύτερη ένδειξη για τη μελέτη εξέλιξης των μορφομετρικών προτύπων (Parichy et al., 2009).

Η εμβρυακή ανάπτυξη εξαρτάται από τη θερμοκρασία και διαρκεί 15-18 h στους 28° C για το είδος *Chaetodontoplus septentrionalis* (Ming-Yih Leu et al., 2010), ενώ για τα είδη *Centropyge flavissimus* και *Cichlasoma dimerus*, η εμβρυακή ανάπτυξη ολοκληρώνεται στις 15 h στους 28° C και στις 48h στους 25°C (Olivotto et al., 2006) αντίστοιχα. Οι Klimogianni et al (2011), στην ερευνά τους αναφέρουν ότι το μυτάκι *Diplodus puntazzo*, ολοκληρώνει την εμβρυακή ανάπτυξη στις 64 h, μετά την γονιμοποίηση, σε θερμοκρασία 21°C.



## 1.5 Σκοπός εργασίας

Σκοπός της παρούσης πειραματικής εργασίας είναι να μελετήσει την επίδραση της θερμοκρασίας (23°C & 27°C) στη μορφομετρική εξέλιξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου της κηλιδοζέμπρας, *Archocentrus nigrofasciatus* σε ενυδρεία.

Η σπουδαιότητα διερεύνησης των σταδίων της οντογένεσης είναι μια σημαντική διαδικασία διότι, δίνει πληροφορίες για την εξέλιξη των σταδίων της οντογένεσης δημιουργώντας πρότυπα μοντέλα, τα οποία συγκρίνουν την εξέλιξη του εμβρυακού και λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου.

Βρίσκουν πρακτική εφαρμογή τόσο στην υδατοκαλλιέργεια όσο και στη βιολογία των ειδών. Η εξέλιξη της ανάπτυξης των οντογενετικών σταδίων περιγράφεται πλήρως μέσω ενός μεγάλου αριθμού φωτογραφιών, παρέχοντας πληροφορίες για την εξέλιξη των μορφομετρικών χαρακτήρων σε σχέση με τη θερμοκρασία.

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ**  
**ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΡΕΥΝΑΣ**

## 2.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Η παρούσα πειραματική εργασία μελετά την οντογένεση του είδους *Archocentrus nigrofasciatum* κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο και διεξήχθη στο εργαστήριο των Ενυδρείων του τμήματος Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης του Τ.Ε.Ι Μεσολογγίου τον Δεκέμβριο του 2010 έως τον Ιανουάριο του 2011. Η χρονική περίοδος δε καθορίστηκε από τη περίοδο ωοτοκίας του είδους κάτω από φυσικές περιβαλλοντικές συνθήκες μιας και το πείραμα πραγματοποιήθηκε με αυγά προερχόμενα από γεννήτορες που επιλέχθηκαν από απόθεμα γεννητόρων οι οποίοι διατηρούνταν σε συνθήκες αιχμαλωσίας.

Το πειραματικό σύστημα που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από 7 ενυδρεία διαστάσεων 0,4m X 0.35m X 0.3m και ωφέλιμου όγκου 37,8 lt. Η διάταξη των ενυδρείων παρουσιάζεται στο σχήμα 2.1, ενώ πριν από την έναρξη του πειράματος τα ενυδρεία και ο βοηθητικός εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε, καθαρίστηκαν. Για να μελετηθούν τα στάδια χρησιμοποιήθηκαν 20 ώριμοι γεννήτορες του *A. nigrofasciatum* μέσου αρχικού βάρους  $8,28 \pm 0,9$  (Πίν. 2.1).

**Πίνακας 2.1** Μέσο βάρος γεννητόρων που χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία.

	Aq 1	Aq 2	Aq 3	Aq 4	Aq 5	Aq 6	Aq 7	Aq 8	Aq 9	Aq 10	Μέση τιμή ± STDEV
Αρσενικά	14,6	12,8	11,23	10,73	11,35	14,09	12,9	13,1	11,4	12,2	12,44± 1,29
Θηλυκά	3,98	4,32	4,5	4,73	4,28	3,21	4,03	4,46	3,26	4,34	4,11±0,51
Βιομάζα γεννητόρων(gr)	18,58	17,12	15,73	15,46	15,63	17,3	16,93	17,56	14,66	16,54	16,55±1,80
Μέσο βάρος γεννητόρων(gr)	9,29	8,56	7,87	7,73	7,82	8,65	8,47	8,78	7,33	8,27	8,28±0,90

## 2.2 Πειραματικός σχεδιασμός

### 2.2.1 Στάδια οντογένεσης

Η θερμοκρασία ως παράγοντας επιδρά στην ανάπτυξη και εξέλιξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου. Η ωοτοκία πραγματοποιήθηκε αυθόρμητα και τα αυγά που χρησιμοποιήθηκαν προήλθαν από μια ωοτοκία (αυγά της ίδιας ομάδας) σε θερμοκρασία 27° C (Morison et al.,2001).

Η φωτοπερίοδος ήταν φυσική 12h ημέρα 12h νύκτα. Η εναπόθεση των αυγών στο υπόστρωμα και η γονιμοποίηση τους από τον αρσενικό γεννήτορα έλαβε χώρα τις πρώτες πρωινές ώρες, αφού αρχικά το αρσενικό όσο και το ώριμο θηλυκό πριν γίνει η εναπόθεση των αυγών άρχισαν να κατασκευάζουν τη φωλιά τους.

Για την καλύτερη διαχείριση της πειραματικής διαδικασίας (μέτρηση βάρους, αριθμός αυγών, αριθμός προνυμφών φωτογράφιση σταδίων οντογένεσης στο λεκιθοφόρο νυμφικό) τοποθετήθηκε κεραμικό υπόστρωμα για την εναπόθεση των αυγών (Robert et al.,1990).

Ο βαθμός εκκολασιμότητας και η επιβίωση επηρεάζονται από τη θερμοκρασία και τη γονική φροντίδα του είδους (Taborsky, 1994). Οι θερμοκρασίες που επιλέχθηκαν να μελετηθούν κατά τη διάρκεια του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου ήταν  $23\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  και  $27\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ .

Η μελέτη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου έγινε μετά από εγκλιματισμό και προσαρμογή των γεννητόρων που επιλέχθηκαν στις δύο θερμοκρασίες. Ο αριθμός των προνυμφών που μελετήθηκε ήταν περίπου 600 προνύμφες και έγινε με απουσία των γονέων από το ενυδρείο.

### **2.2.2 Προετοιμασία πειραματικών ενυδρείων**

Η παρούσα μελέτη, πραγματοποιήθηκε με αυγά τα οποία προήλθαν από ώριμους γεννήτορες που επιλέχθηκαν για αναπαραγωγή. Για τη διαδικασία αναπαραγωγής κρίθηκε απαραίτητη η δημιουργία κατάλληλου περιβάλλοντος του συστήματος. Επιλέχθηκαν συνολικά 7 ενυδρεία διαστάσεων 0,4m X 0.35m X 0.3m, συνολικού ωφέλιμου όγκου 37,8 L, με τα αντίγραφα τους. Στο ενυδρείο τοποθετήθηκε ψευδοπυθμένας ο οποίος συνδεόταν με αεροσωλήνα με ταχύτητα φιλτραρίσματος  $2,79 \pm 0,42\text{ cm/min}$ . Στη συνέχεια προστέθηκε πορώδες χαλίκι (λάβα) μέσου διαμετρήματος  $0,92\pm 0,28\text{ cm}$  τα οποία ξεπλύθηκαν με άφθονο γλυκό νερό και τοποθετήθηκαν στο ενυδρείο (Spotte, 1992).

Για τη ρύθμιση της θερμοκρασίας σε επιθυμητά επίπεδα χρησιμοποιήθηκαν θερμοστάτες τιτανίου (TH 300,100W), οι οποίοι συνδέθηκαν με ρυθμιστή θερμοκρασίας T- controller (T2001 HC AQUAMEDIC), έτσι ώστε η θερμοκρασία να διατηρείται σταθερή στο βέλτιστο δυνατό επίπεδο με την ελάχιστη δυνατή απόκλιση  $\pm 0,02$ .

Σε κάθε πειραματικό ενυδρείο τοποθετήθηκε στο πυθμένα και πάνω απ' το χαλίκι ένα κομμάτι κεραμικού υλικού διαστάσεων 12×7cm ώστε το ζευγάρι να ορίσει τη περιοχή φωτοκίας του και να εναποθέσει τα αυγά του στο υπόστρωμα (Bernstein, 1980 ; Robert et al.,1990). Τέλος, σε κάθε ενυδρείο τοποθετήθηκε πλαστική επιφάνεια, ώστε τα ζευγάρια να μην έρχεται σε οπτική επαφή και στρεσάρονται (Βλάχος, 2008).

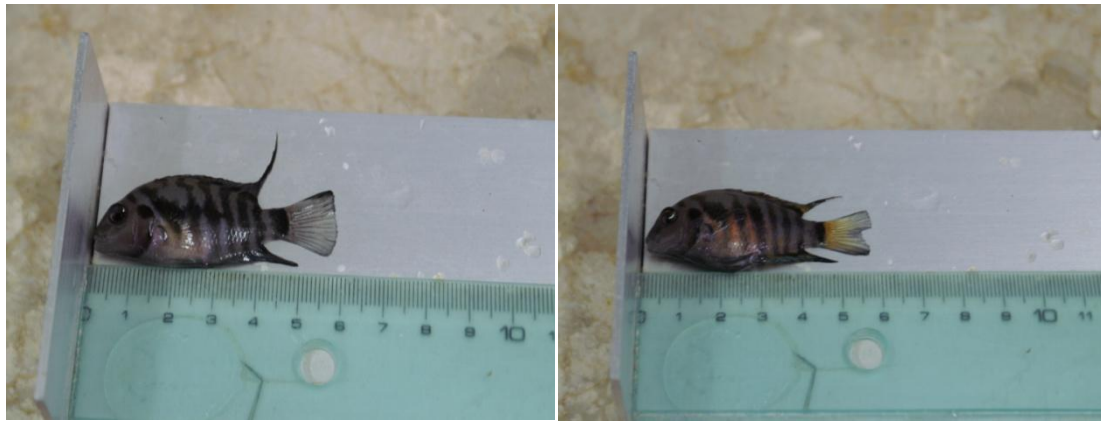
### 2.2.3 Επιλογή γεννητόρων

Τα ζευγάρια προήλθαν από απόθεμα γεννητόρων οι οποίοι διατηρούνταν σε συνθήκες αιχμαλωσίας, στο εργαστήριο. Στο ενυδρείο των γεννητόρων τοποθετήθηκαν σπηλιές με πέτρες ή πήλινες γλάστρες. Η επιλογή των ώριμων αρσενικών ή θηλυκών γεννητόρων γίνεται με το χρωματισμό και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά (Σχήμα 2.2).



**Σχήμα 2.2** Ζευγάρι γεννητόρων κηχλιδοζέμπρας (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Η επιλογή των γεννητόρων έγινε με βάση την προεκβολή του ουρογεννητικού πόρου στη περιοχή της έδρας. Στα αρσενικά, η προεκβολή της έδρας είναι μικρή και σχεδόν που διακρίνεται μακροσκοπικά, ενώ στα θηλυκά η προεκβολή της έδρας είναι μεγαλύτερη, κωνοειδούς σχήματος σχηματίζοντας γωνία 180° με την υπόλοιπη κοιλιακή περιοχή (Σχ. 2.3). Η γωνία που δημιουργεί η προεκβολή της έδρας με το υπόλοιπο της κοιλιακής περιοχής βοηθάει το θηλυκό ώστε κατά τη περίοδο εναπόθεσης των αυγών να δημιουργεί ωθήσεις προκειμένου το αυγό να προσκολληθεί στο υπόστρωμα (Βλάχος, 2008).



**Σχήμα 2.3** Αρσενικό (αριστερά) και θηλυκό άτομο (δεξιά) κηλιδοζέμπρας (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Τα ζευγάρια τοποθετήθηκαν στα ενδρεία αναπαραγωγής και σε θερμοκρασία 27°C αφού αρχικά αναισθητοποιήθηκαν με MS222 σε συγκέντρωση 0.25 gr/L, για να μετρηθούν τα μορφομετρικά τους χαρακτηριστικά (Σχ. 2.4).



**Σχήμα 2.4** Μέτρηση βάρους (πηγή: προσωπικό αρχείο).

## 2.3 Παράμετροι υπολογισμού

### 2.3.1 Παράμετροι υπολογισμοί του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου

Η μελέτη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου στηρίχθηκε κυρίως στη παρατήρηση και το προσδιορισμό των:

1. επιβίωση
2. χρόνοι αναπτυξιακών γεγονότων
3. μορφολογική ανάπτυξη και εξέλιξη

#### 2.3.2.1 Επιβίωση

Το ποσοστό επιβίωσης και στις δύο θερμοκρασίες υπολογίστηκαν σύμφωνα με τον τύπο (Bahadir et al., 2009) :

$$\text{Επιβίωση(\%)} = (\text{Τελικός αριθμός ατόμων} / \text{Αρχικός αριθμός ατόμων}) * 100$$

### 2.3.2.2 Χρόνοι αναπτυξιακών γεγονότων

Οι χρόνοι στους οποίους έλαβαν χώρα τα διάφορα αναπτυξιακά γεγονότα του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου και εκφράστηκε τόσο ως απόλυτες (ώρες μετά τη γονιμοποίηση) όσο και ως σχετικές τιμές (Divanach, 1985) προσδιορίστηκε σύμφωνα με το τύπο

$$R_{ti} = (t_i / T_{sd}) * 100$$

όπου:

$R_{ti}$ : Σχετικός χρόνος (Relative time) του  $i$  αναπτυξιακού γεγονότος

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

$T_{sd}$ : Συνολική διάρκεια του σταδίου (ώρες)

Ως σημείο έναρξης του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου θεωρήθηκε ο χρόνος όπου το 50% των αυγών εκκολάφθηκε, ενώ το τέλος του σταδίου καθορίστηκε ως το χρονικό σημείο όπου τα λεκιθικά αποθέματα εξαντλήθηκαν πλήρως (Kendall et al., 1984).

### 2.3.2.3 Μορφολογική ανάπτυξη και εξέλιξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου

Η καταγραφή της μορφολογικής ανάπτυξης και η εξέλιξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου, έγινε *in vivo* με χρήση του οπτικού μικροσκοπίου (Leica ICCA), ενώ κάθε δείγμα φωτογραφήθηκε με ψηφιακή κάμερα (Leica DM100), (Σχ.2.5). Με την ολοκλήρωση της εκκόλαψης δείγμα 15 ατόμων λαμβάνονταν κάθε 4 ώρες μέχρι το τέλος του σταδίου και για τις δύο θερμοκρασίες. Επίσης υπολογίστηκε ο όγκος του λεκιθικού σάκου σύμφωνα με τον τύπο:

$$Y_sV = (\pi/6) * Y_sL * Y_sD^2$$



Σχήμα 2.5 Σύστημα φωτογράφισης (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Ο όγκος της σταγόνας λιπιδίου δεν υπολογίστηκε επειδή δεν ήταν ευδιάκριτη λόγω της μορφολογίας και των χρωστικών και μελανοφόρων κυττάρων που παρουσιάζει η λέκιθος. Στο λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο μετρήθηκαν επισταμένως τα μετρικά χαρακτηριστικά των ατόμων της ζέμπρας με τη βοήθεια του προγράμματος Image J. Το φωτογραφικό υλικό που συλλέχθηκε από το στάδιο και στις δύο θερμοκρασίες οδήγησε στην εξαγωγή των αποτελεσμάτων. Κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο εξετάστηκε η εξέλιξη των εξής μετρικών χαρακτηριστικών (Σχ.2.6):

**Ολικό Μήκος (TL):** Από το ρύγχος έως το τέλος του σώματος

**Μήκος Νωτοχορδής (NL):** Από το ρύγχος έως το τέλος της νωτοχορδής.

**Ύψος σώματος (BD):** Από το κατώτερο άκρο του εντέρου ως το ανώτερο σημείο του κορμού του σώματος.

**Προεδρικό Μήκος (PrAnl):** Από το ρύγχος ως το σημείο τομής του εντέρου με την πρωτογενή πτερυγιοπτυχή.

**Μεταεδρικό Μήκος (PstAnl):** Από το σημείο τομής του εντέρου με την πρωτογενή πτερυγιοπτυχή ως το τέλος του σώματος.

**Πρόσθιο άκρο Λεκιθικού Σάκου (prYs):** Από το ρύγχος ως το πρόσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου

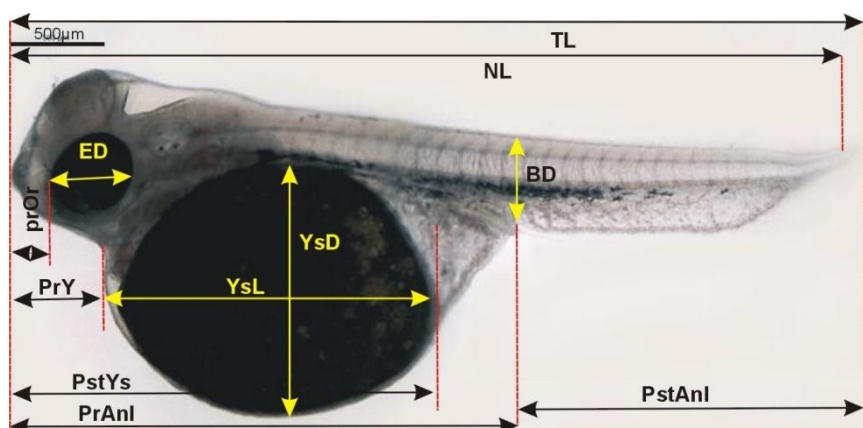
**Οπίσθιο Άκρο Λεκιθικού Σάκου (pstYs):** Από το ρύγχος ως το οπίσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου.

**Μήκος Λεκιθικού Σάκου (YsL):** Από το πρόσθιο ως το οπίσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου.

**Ύψος Λεκιθικού Σάκου (YsD):** Το μέγιστο ύψος του λεκιθικού σάκου.

**Προκογχικό Μήκος (prOr):** Από το ρύγχος ως το πρόσθιο άκρο του οφθαλμού.

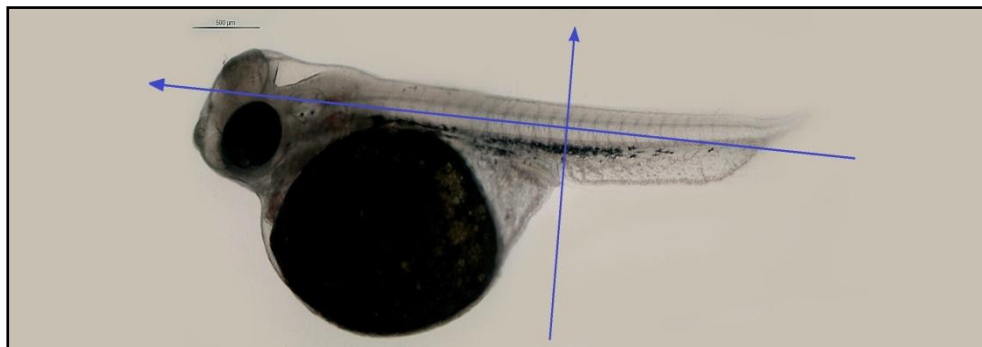
**Διάμετρος Οφθαλμού (ED):** Η μέση διάμετρος του Οφθαλμού.



**Σχήμα.2.6** Μορφομετρικοί χαρακτήρες που εξετάστηκαν κατά το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο του *Archocentrus nigrofasciatum* (Πηγή: Βλάχος και Συν., 2011).



Η καταμέτρηση του μήκους έγινε σύμφωνα με το νοητό επιμήκη άξονα του σώματος, ενώ τα ύψη μετρήθηκαν κάθετα στον ίδιο άξονα (Σχ.2.7).



**Σχήμα 2.7** Απεικόνιση των κάθετων αξόνων μορφομετρίας με το πρόγραμμα ImageJ (πηγή: προσωπικό αρχείο).

## 2.4 Μετρήσεις - Αναλύσεις

Η μέτρηση των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού γίνονταν καθημερινά και περιλάμβανε μετρήσεις ολικής αμμωνίας (T.A.N.), νιτρικών ιόντων ( $\text{NO}_2^-$ -N), νιτρικών ιόντων ( $\text{NO}_3^-$ -N), pH,  $^{\circ}\text{C}$ , γενικής (GH) και ανθρακικής (KH) σκληρότητας, ούτως ώστε να επιτυγχάνεται έλεγχος ώστε να μην δυσχεραίνεται ή αναστέλλεται η αναπαραγωγική διαδικασία των ψαριών. Η μεθοδολογία προσδιορισμού των φυσικοχημικών παραμέτρων αναλύεται παρακάτω (Βλάχος, 2006, Εργαστηριακές ασκήσεις ενυδρείων).

### 2.4.1 Μέτρηση αζωτούχων προϊόντων

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν και η μεθοδολογία που εφαρμόστηκε για τη μέτρηση των αζωτούχων παραγώγων είναι τα εξής:

1. Κυψελίδα χωρητικότητας 5ml
2. Δείγμα νερού (5ml) από το ενυδρείο
3. Κλίμακα ερμηνείας αποτελεσμάτων
4. Χρονόμετρο
5. Αντιδραστήρια (δείκτες αλλαγής χρώματος)

#### 2.4.1.1 Μέτρηση Ολικής αμμωνίας (T.A.N)

Σε κυψελίδα προστίθενται 5 ml νερό από το ενυδρείο. Στη συνέχεια προστίθενται 8 σταγόνες από το αντιδραστήριο (ammonia 1) και αναδεύουμε για

1 min. Κατόπιν προσθέτουμε 8 σταγόνες από το δεύτερο αντιδραστήριο (ammonia 2) και αναδεύουμε για 1 min περίπου. Μόλις επέλθει αλλαγή στο χρώμα με την πάροδο 5 min με τη βοήθεια της κλίμακας, συγκρίνουμε το χρώμα, καταγράφοντας την αντίστοιχη τιμή. Στις μετρήσεις αμμωνίας το χρώμα του δείγματος μετά την προσθήκη των αντιδραστηρίων αναμένεται να είναι από ανοιχτό κίτρινο έως σκούρο πράσινο.

#### **2.4.1.2 Μέτρηση νιτρωδών ιόντων ( $\text{NO}_2^-$ -N)**

Ομοίως για τη μέτρηση των νιτρωδών ιόντων, σε κυψελίδα προστίθενται 5 ml νερό από το ενυδρείο. Στη συνέχεια προστίθενται 5 σταγόνες από το αντιδραστήριο (Nitrite reagent) και αναδεύουμε για 5 sec. Ο χρόνος αναμονής για να πραγματοποιηθεί η μέτρηση είναι 5 min και μόλις επέλθει αλλαγή στο χρώμα, συγκρίνουμε το χρώμα, καταγράφοντας την αντίστοιχη τιμή. Στις μετρήσεις των νιτρωδών το χρώμα του δείγματος μετά την προσθήκη των αντιδραστηρίων αναμένεται να είναι από ανοιχτό ροζ έως σκούρο μωβ.

#### **2.4.1.3 Μέτρηση νιτρικών ιόντων ( $\text{NO}_3^-$ -N)**

Ομοίως για τη μέτρηση των νιτρικών ιόντων, σε κυψελίδα προστίθενται 5 ml νερό από το ενυδρείο. Στη συνέχεια προστίθενται 10 σταγόνες από το αντιδραστήριο (Nitrate #1) και αναδεύουμε για 5 sec. Στη συνέχεια προσθέτουμε 10 σταγόνες από το δεύτερο αντιδραστήριο (Nitrate #2) και αναδεύουμε για 5 sec. Ο χρόνος αναμονής για να πραγματοποιηθεί η μέτρηση είναι 3 min και μόλις επέλθει αλλαγή στο χρώμα, συγκρίνουμε το χρώμα, καταγράφοντας την αντίστοιχη τιμή. Στις μετρήσεις των νιτρωδών το χρώμα του δείγματος μετά την προσθήκη των αντιδραστηρίων αναμένεται να είναι από ανοιχτό κίτρινο σε σκούρο κίτρινο.

#### **2.4.2 Μέτρηση pH και θερμοκρασίας**

Οι μετρήσεις pH και θερμοκρασίας γίνονται με χρήση ηλεκτρονικού πεχάμετρου, το οποίο έχει ρυθμιστεί σε ρυθμιστικά διαλύματα με pH 7, 6 και 4 αντίστοιχα. Οι φυσικοχημικές παράμετροι των ενυδρείων αναπαραγωγής παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 2.4).

**Πίνακας 2.4** Φυσικοχημικές παράμετροι ενυδρείων αναπαραγωγής

<b>ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ</b>	<b>ΤΙΜΕΣ</b>
T (°C)	27±0.05
pH	8.35±0.06
TAN (ppm)	0.16±0.03
NH <sub>3</sub> -N (ppm)	0.02±0.01
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N (ppm)	0,14±0.03
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N (ppm)	0.00±0.00
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N (ppm)	3.25±0.56
GH ( °dH)	16.78±1.74
KH ( °dH)	9.45±0.51

## 2.5 Παράμετροι υπολογισμού

### 2.5.1 Υπολογισμός της συγκέντρωσης της ιονισμένης και μη – ιονισμένης αμμωνίας

Η συγκέντρωση της μη-ιονισμένης αμμωνίας υπολογίζεται από την σχέση (Βλάχος, 2004):

$$(\text{NH}_3\text{-N}) = a * \text{TAN}$$

όπου:

**(NH<sub>3</sub>-N)**: Συγκέντρωση της μη ιονισμένης αμμωνίας.

**a** : Ποσοστό της μη ιονισμένης αμμωνίας (από πίνακες), ο οποίος εξαρτάται από το pH και τη θερμοκρασία.

**T.A.N.** = Συγκέντρωση της συνολικής αμμωνίας.

### 2.5.2 Υπολογισμός Ταχύτητας Φιλτραρίσματος

Ο υπολογισμός της ταχύτητας φιλτραρίσματος υπολογίστηκε από τον τύπο (Spotte, 1992):

$$V_{\text{φιλτρ}} = Q / S \text{ \{cm/ min\}}$$

Όπου:

Q: Παροχή νερού (cm<sup>3</sup>/min)

S: Επιφάνεια φίλτρου (cm<sup>2</sup>)

Ο υπολογισμός της παροχής νερού διαμέσου του φίλτρου πυθμένα έγινε μετρώντας την εκροή του νερού από τον αεροσωλήνα του φίλτρου όπου μεταφέρεται το νερό από το κάτω μέρος του φίλτρου στην επιφάνεια του ενυδρείου, σε

συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Λήφθησαν δειγματοληψίες σε χρόνο 10 sec και μετρήθηκε ο όγκος του νερού που εκτοπίστηκε από τον αεροσωλήνα (Spotte, 1992). Για την μέτρηση της παροχής χρησιμοποιήθηκε ογκομετρική φιάλη και χρονόμετρο.

Η επιφάνεια του φίλτρου διατηρήθηκε σταθερή σε όλα τα πειραματικά ενυδρεία και υπολογίστηκε από τον παρακάτω τύπο (Spotte, 1992):

$$S_{\text{φίλτρ}} = \text{Μήκος}_{\text{φίλτρ}} * \text{Πλάτος}_{\text{φίλτρ}}$$

## 2.6 Διαχείριση ενυδρείων

Σε καθημερινή βάση πριν την καταγραφή των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού, πραγματοποιούνται επαναριθμήσεις των παροχών του αέρα και του νερού, ώστε να εξασφαλιστεί η ομοιομορφία στην οξυγόνωση και στην ανακύκλωση του νερού στα πειραματικά ενυδρεία εκτροφής. Συνεπώς ανά τακτά χρονικά διαστήματα καθαρίζονταν τα μηχανικά μέρη των ενυδρείων με σκοπό τη μείωση των αιωρούμενων σωματιδίων από τα υπολείμματα της τροφής και τα περιττώματα των ψαριών (Βλάχος, 2008).

Ο καθαρισμός των εσωτερικών επιφανειών των ενυδρείων γίνονταν με ειδικές βούρτσες και scrambles, για απομάκρυνση των μικροφυκών από τα τοιχώματα των ενυδρείων. Η αλλαγή του νερού ήταν της τάξης του 5-10% και γίνονταν κάθε 20 ημέρες, ενώ καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος το υπόστρωμα του βιολογικού φίλτρου βυθού καθαρίζονταν με τη διαδικασία του σιφωνισμού. Οι αερόπετρες των ενυδρείων απομακρύνονταν και καθαρίζονταν τρεις φορές εβδομαδιαία, την ίδια χρονική στιγμή και αμέσως μετά το πρώτο γεύμα (Βλάχος, 2008 ; Ρέμμας και Τσιρίνης ,2011)

## 2.7 Διατροφή γεννητόρων

Η διατροφή των γεννητόρων ακολουθούσε ένα περιοδικό πρόγραμμα σε εβδομαδιαία βάση που αποτελούνταν από ξηρή και κατεψυγμένη τροφή. Η ποιότητα , η συχνότητα χορήγησης και ο τύπος της τροφής, παίζουν καθοριστικό ρόλο, τόσο στην αναπαραγωγή των γεννητόρων όσο και στην ποιότητα και βιωσιμότητα των αυγών (Rathasabapathi, et al.,1992). Η ξηρή τροφή που χορηγήθηκε στους

γεννήτορες ήταν του εμπορίου και αποτελούνταν από μίγμα ξηρών τροφών (σύμπηκτα και νιφάδες) με κατεψυγμένες, πλούσιες σε πρωτεΐνες και χαμηλές σε λιπαρά οξέα οι οποίες αναμείχθηκαν στο εργαστήριο (Πιν.2.5) Με τον συγκεκριμένο τύπο τροφής που χορηγήθηκε επιδιώχθηκε στο μέγιστο η ισορροπημένη διατροφή των γεννητόρων. Οι κατεψυγμένες τροφές που χρησιμοποιήθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια εκτροφής ήταν οι εξής:

1. προνύμφες λευκών κουνουπιών
2. προνύμφες μαύρων κουνουπιών
3. μικροπλαγκτόν
4. Cichlid mix

**Πίνακας 2.5.** Μίγμα τροφών που χρησιμοποιήθηκαν για τη διατροφή των γεννητόρων καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

Τροφές	Ακατέργαστες Πρωτεΐνες(min)	Ακατέργαστα Λιπαρά Οξέα(min)	Ακατέργαστες Φυσικές Ίνες(max)	Υγρασία(max)
Cichlid Aquarium Flake Food	46%	7%	4%	8%
Cichlid Vegi Flakes	35%	9%	1%	8.8%
Community Formula Flakes	47.5%	11%	1%	8.8%
TetraBits Breeder Red	45%			
Spirulina	71%	8%		

Το σιτηρέσιο αποτελούνταν από 3 γεύματα ημερησίως, τα οποία παρέχονταν χρονικά την ίδια περίοδο και με την ακόλουθη σειρά:

**Πρωί:** 10:00 πμ ξηρή τροφή,

**Μεσημέρι:** 15:00 κατεψυγμένη τροφή

**Βράδυ:** 20:00 μμ ξηρή τροφή.

Ο αριθμός των γευμάτων, η ώρα τροφοληψίας καθώς και η ποσότητα της τροφής προσαρμόστηκαν στους ρυθμούς διατροφής του οργανισμού που εκτρέφεται. Οι ρυθμοί παρουσιάζουν αρκετές διαφοροποιήσεις σε ημερήσια και ετήσια βάση ανάλογα με το είδος του εκτρεφόμενου ψαριού της ηλικίας του μεγέθους καθώς και των συνθηκών εκτροφής (Azzayadi et al., 1999). Το επίπεδο διατροφής σύμφωνα με τον Παπουτσόγλου (2008), μειώνεται με την αύξηση του μεγέθους τους και

αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας του νερού με την προϋπόθεση ότι το σιτηρέσιο θα ήταν ισόρροπο.

Η τροφή παρέχονταν μέχρι κορεσμού σταδιακά ώστε να γίνεται καλύτερη διαχείριση και να καταχώνεται πλήρως από τους γεννήτορες και να περιοριστούν οι απώλειες της τροφής και η επιβάρυνση του νερού του ενυδρείου ώστε να προκαλείται μεταβολή των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού. Για το λόγο αυτό, η συχνή παρατήρηση των γεννητόρων κατά τη διάρκεια της τροφοληψίας τους, ήταν σχολαστική. Το επίπεδο διατροφής που χορηγήθηκε σύμφωνα με τη βιομάζα των ψαριών ήταν 7% του μέσου ζώντος βάρους ψαριού (Yanong, 1996).

## **2.8 Στατιστική Ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση που διεξήχθη με την βοήθεια του στατιστικού λογισμικού προγράμματος SPSS 17 κάνοντας χρήση του «ανεξάρτητου t-test» όπου συγκρίνονται οι μέσες τιμές των δυο διατροφικών ομάδων με επίπεδο σημαντικότητας 5% (Zar,1999).

Η μορφομετρική εξέλιξη στις δυο ομάδες, ποτελούνται από παρατηρήσεις οι οποίες είναι ανεξάρτητες μεταξύ τους. Οι τιμές των παραμέτρων που προσδιορίστηκαν ελέγχθηκαν για την κανονικότητα της κατανομής και την ομοιογένεια της διασποράς τους μέσου του Levene's test. Τα αποτελέσματα των πειραματικών δεδομένων παρουσιάζονται σε πίνακες ως εξής: μέσος όρος  $\pm$  τυπικό σφάλμα (mean + STDEV), ενώ οι μέσοι όροι που έχουν διαφορετικά γράμματα διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους (Zar,1999).

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ**  
**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

### 3.1 Μορφολογική ανάπτυξη των λεκιθοφόρων νυμφών του *A.nigrofasciatus*

Η έναρξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου (Yolk sac stage), δεν σηματοδοτεί διαφορές για τα άτομα της ζέμπρας (convict cichlid) από τα έμβρυα λίγο πριν από την εκκόλαψη. Μετά την εκκόλαψη του *A.nigrofasciatus*, οι νύμφες του, φέρουν λεκιθικό σάκο, ωοειδούς σχήματος, στην πρόσθια και κοιλιακή περιοχή του σώματος, ο οποίος εκτείνεται από το ρύγχος της κεφαλής μέχρι την έδρα (Σχ. 3.1), ενώ δεν φέρουν σχηματισμένα πτερύγια. Ο λεκιθικός σάκος καταλαμβάνει περίπου το μισό του ολικού μήκους της νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης, ενώ περίπου κατά δύο φορές μεγαλύτερο ύψος από το σωματικό ύψος της νύμφης (YsL/TL ίσο με 0,42 mm και YsD/BD ίσο με 3,02 mm, αντίστοιχα).

Η λέκιθος είναι ομογενής, χρώματος καφέ, αδιαφανής και καλύπτεται σε μεγάλο ποσοστό από μελανοφόρα κύτταρα. Σε όλες τις παρατηρήσεις που έγιναν, η σταγόνα λιπιδίου δεν ήταν ευδιάκριτη λόγω της συνεκτικότητας και της χρωστικής ουσίας που παρουσιάζει.



**Σχήμα 3.1** Απεικόνιση λεκιθικού σάκου αμέσως μετά την εκκόλαψη (πηγή: προσωπικό αρχείο)

Ο κορμός του λεκιθοφόρου ιχθυδίου, σε όλο σχεδόν το μήκος του, από το ύψος των οφθαλμών (κορυφή κεφαλής) μέχρι το ουραίο τμήμα, γύρω από αυτό και προσθίως του κορμού, μέχρι το οπίσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου, περιβάλλεται από την πρωτογενής περιφερειακή πτερυγιοπτυχή, η οποία είναι διαφανής και λεπτή. Το πρόσθιο τμήμα του σώματος είναι κεκαμένο προς τα κάτω, εξαιτίας της στενής επαφής της περιοχής της κεφαλής με το λεκιθικό σάκο. Οι οφθαλμοί είναι άχρωμοι και στο κέντρο τους, διακρίνονται οι φακοί κρυστάλλινης.



Το πεπτικό σύστημα της νέο- εκκολαπτόμενης νύμφης, αποτελείται από κλειστή στοματική κοιλότητα είναι υπό κατασκευή, αδιαμόρφωτο και ευθυτενή γαστρικό σωλήνα που εκτείνεται μέχρι πίσω από το λεκιθικό σάκο, διακόπτοντας την πτερυγιοπτυχή, για να καταλήξει στην έδρα η οποία είναι κλειστή. Η νυκτική κύστη (swim bladder) είναι καλά σχηματισμένη ενώ δεν έχει πληρωθεί με αέρα, ενώ βρίσκεται σε στενή επαφή με το γαστρικό σωλήνα.

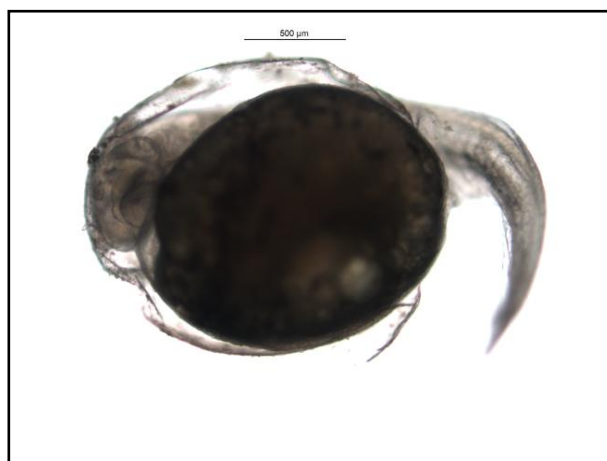
Η καρδιά είναι τοποθετημένη πρόσθια και ραχιαία του λεκιθικού σάκου και είναι ήδη λειτουργική. Το οπίσθιο άκρο της, επικοινωνεί με εκτεταμένο δίκτυο αγγείων το οποίο είναι αναπτυγμένο στο εσωτερικό της λεκίθου, μέσω του περικαρδίου και της περιλεκιθικής μεμβράνης (Russell, 1976 ; Κλημογιάννη, 2004; Fujimura και Okada, 2007). Στο πρόσθιο τμήμα της κεφαλής, μπροστά από τους οφθαλμούς και κοντά στο ρύγχος βρίσκονται οι ρινικές κοιλότητες, οι οποίες αργότερα συνδέονται με την πλευρική γραμμή και το εσωτερικό της ακουστικής κοιλότητας.

Καθ' όλη τη διάρκεια του σταδίου, από την εκκόλαψη μέχρι και την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου, πραγματοποιείται πληθώρα αλλαγών στη μορφολογία και στην λειτουργικότητα των οργάνων. Οι μεταβολές αυτές σηματοδοτούν την έναρξη της εξωγενούς θρέψης της νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης (Meijide και Guerrero, 1999 ; Fujimura και Okada, 2007). Τα αναπτυξιακά γεγονότα που έλαβαν χώρα καθ' όλη τη διάρκεια του σταδίου καταγράφονται στον Πίνακα 3.1, ενώ σύμφωνα με την Κλημογιάννη (2004), η θερμοκρασία επηρεάζει τον πραγματικό χρόνο που λαμβάνει χώρα ένα αναπτυξιακό γεγονός, ενώ η εξέλιξη του σταδίου (από την έναρξη έως την ολοκλήρωση του σταδίου) δεν επηρεάζεται από τη θερμοκρασία.

**Πίνακας 3.1.** Αναπτυξιακά γεγονότα κατά το στάδιο του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου του *A.nigrofasciatus*

ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ	23 <sup>0</sup> C		27 <sup>0</sup> C		Τέλος Σταδίου(h)
	Χρόνος (h)	Rti (%)	Χρόνος (h)	Rti (%)	
Εκκόλαψη	0,00	0	0,00	0,00	72,00
Έναρξη χρωματισμού οφθαλμών	4,00	5,26	4,00	5,56	72,00
Εμφάνιση καρδιάς	20,00	26,32	16,00	22,22	72,00
Εντερικός αυλός	24,00	31,58	20,00	27,78	72,00
Εντερικός βρόγχος	26,00	34,21	25,00	34,72	72,00
Ουρητήρας	28,00	36,84	24,00	33,33	72,00
Άνοιγμα έδρας	32,00	42,11	28,00	38,89	72,00
Εμφάνιση κάτω σιαγόνας	40,00	52,63	28,00	38,89	72,00
Λειτουργία στόματος	44,00	57,89	32,00	44,44	72,00
Άνοιγμα στόματος	56,00	73,68	36,00	50,00	72,00
Απορρόφηση λεκιθικού σάκου	76,00	100,00	72,00	100,00	72,00
Τέλος σταδίου	76,00	100,00	72,00	100,00	72,00

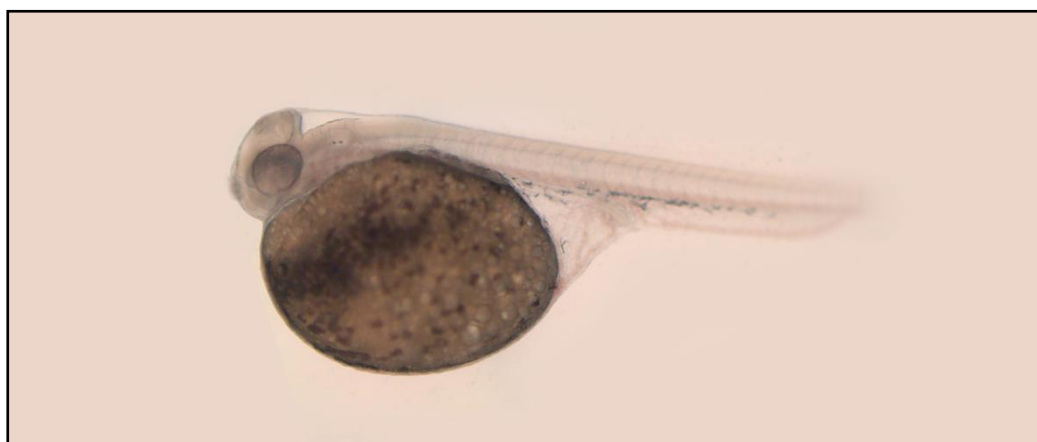
Με την έναρξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου τα άτομα της κηλιδοζέμπρας δεν διαφέρουν από τα έμβρυα της ζέμπρας πριν την εκκόλαψη (Σχ.3.2). Οι νύμφες μετά την εκκόλαψη φέρουν λεκιθικό σάκο, ελλειπτικού σχήματος στην πρόσθια και κοιλιακή περιοχή, μέσου διαμετρήματος κατά τον οριζόντιο άξονα  $1.72\pm 0.05$  και  $1.37\pm 0.03$  κατά τον κατακόρυφο άξονα (Σχ.3.2).



**Σχήμα 3.2** Νεοεκκολαπτόμενη προνύμφη (πηγή: προσωπικό αρχείο)

Η λέκιθος εκτείνεται από το μέσον του προκογχικού μήκους (PrOr, το οποίο ορίζεται από το ρύγχος μέχρι το πρόσθιο άκρο) μέχρι την έδρα της νύμφης (Σχ.3.3). Ο λεκιθικός σάκος καταλαμβάνει περίπου το μισό του ολικού μήκους της νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης, ενώ ο λόγος του μήκους του λεκιθικού σάκου (YsL) προς το ολικό μήκος της νύμφης (T.L), υπολογίστηκε ίσος με 0,39, ενώ ο λόγος του ύψους του λεκιθικού σάκου (YsD) προς το ύψος του σώματος της νύμφης (BD) υπολογίστηκε σε 2,5. Το χρώμα της λέκιθου είναι χρώματος μπεζ- καφέ ενώ παρουσιάζει ομοιογένεια και αδιαφάνεια αποτελούμενη από πολλά μελανοφόρα κύτταρα, ενώ η σταγόνα λιπιδίου δεν είναι ευδιάκριτη σε όλο το στάδιο (Σχ.3.3).

Το σώμα σε όλο σχεδόν το μήκος του από την κορυφή της κεφαλής μέχρι το ουραίο τμήμα περιβάλλεται από την πρωτογενή περιφερειακή πτερυγιοπτυχή η οποία είναι διαφανής και λεπτή (Σχ.3.3). Το πρόσθιο τμήμα του σώματος είναι κεκαμένο προς τα κάτω λόγω της επαφής της περιοχής της κεφαλής με το λεκιθικό σάκο. Οι οφθαλμοί έχουν διάμετρο  $0,29 \pm 0,02 \text{mm}$ , είναι άχρωμοι και στο κέντρο αρχίζουν να σχηματίζονται οι φακοί κρυσταλλίνης και τα οφθαλμικά κυστίδια. (Σχ.3.3).

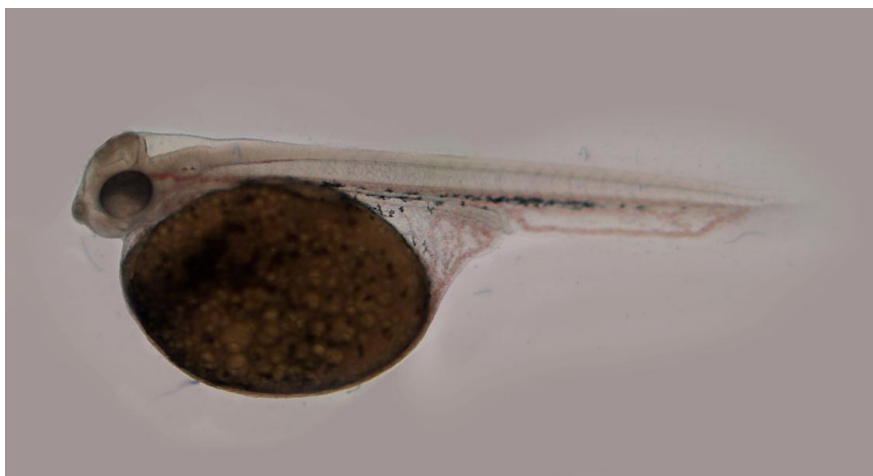


**Σχήμα 3.3** Απεικόνιση οφθαλμού και οφθαλμικών κυστιδίων 4h μετά την εκκόλαση (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Το πεπτικό σύστημα της νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης του *A. nigrofasciatus*, αποτελείται: από κλειστή στοματική κοιλότητα, ευθυτενή γαστρικό σωλήνα, ο οποίος εκτείνεται μέχρι το πίσω τμήμα του λεκιθικού σάκου, διακόπτοντας την πτερυγιοπτυχή και καταλήγει στην έδρα η οποία είναι κλειστή.

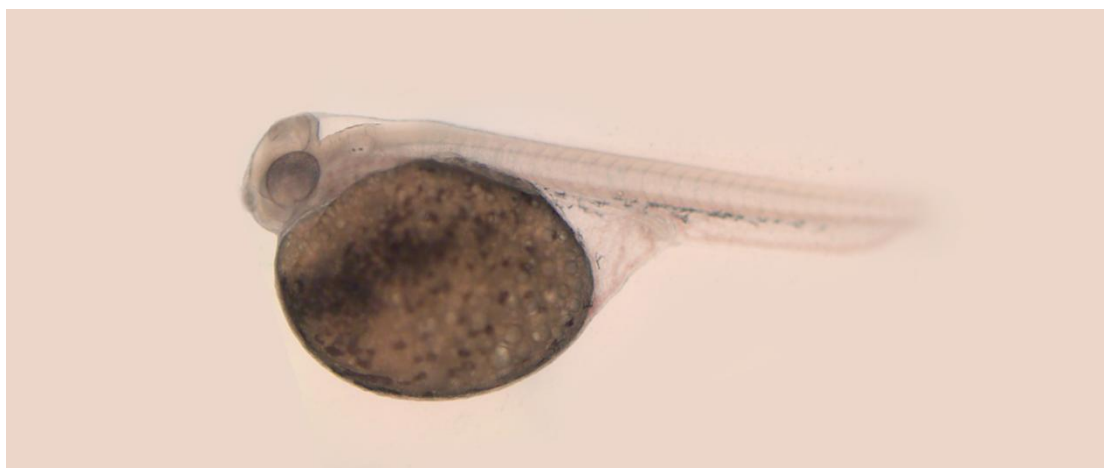
Η νυκτική κύστη (swim bladder) δεν είναι ευδιάκριτη και δεν έχει πληρωθεί ακόμη με αέρα, ενώ βρίσκεται πρόσθια και ραχιαία της λέκιθου. Αρχίζει να

διακρίνεται 8 h μετά την εκκόλαψη (Μ.Ε), ενώ αρχίζει να διαφαίνεται 8 h μετά την εκκόλαψη (Μ.Ε) (Σχ.3.4).



**Σχήμα 3.4** Εμφάνιση νηκτικής κύστης 8h μετά την εκκόλαψη (πηγή: προσωπικό αρχείο)

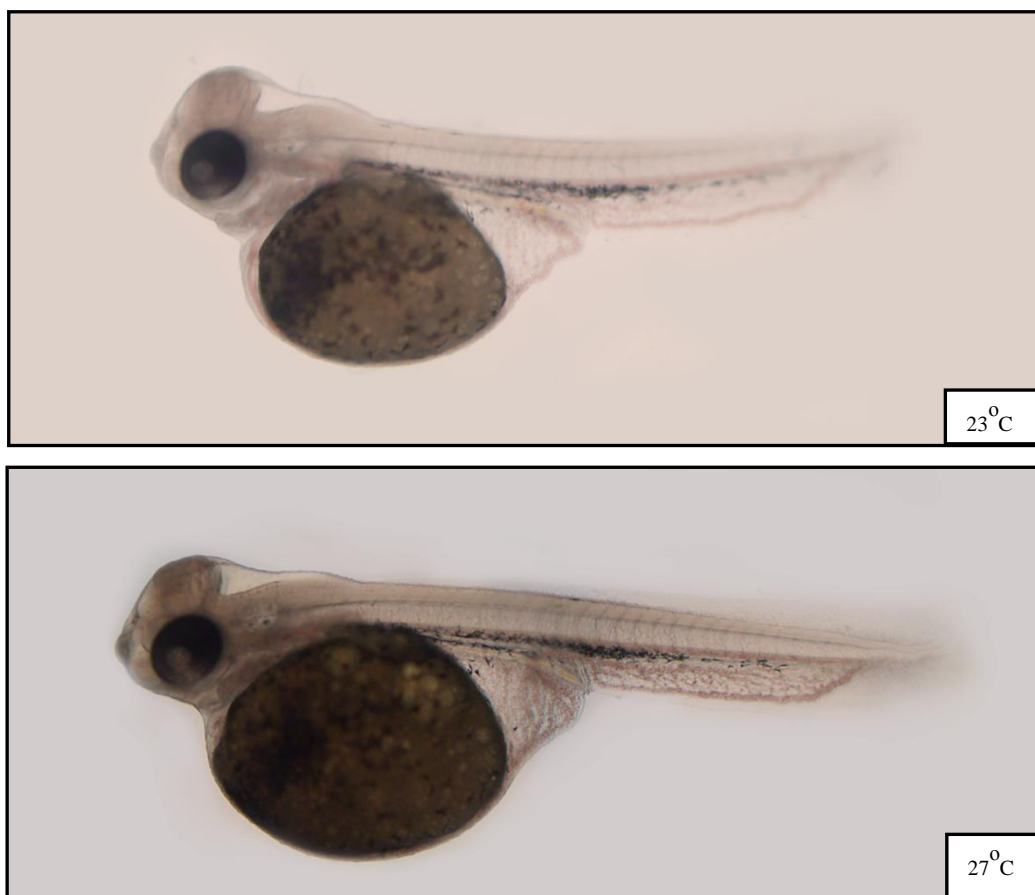
Το πρόσθιο τμήμα της κεφαλής μπροστά από τους οφθαλμούς και κοντά στο ρύγχος, βρίσκονται οι ρινικές ή οσφρητικές κοιλότητες (Σχ.3.5), οι δομές των οποίων θα συνδεθούν αργότερα με την πλευρική γραμμή και το εσωτερικό της ακουστικής κοιλότητας.



**Σχήμα 3.5** Περιγραφή του πρόσθιου τμήματος της κεφαλής της κηλιδοζέμπρας (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Η νεοεκκολαπτόμενη νύμφη του *A. nigrofasciatus*, δεν φέρει κανένα σχηματισμένο πτερύγιο, ενώ ο συνολικός αριθμός των μυομερών κυμάνθηκε από 20-22 με 12 έως 14 να βρίσκονται στο προεδρικό τμήμα του κορμού. Η λέκιθος αποτελείται από μελανοφόρα κύτταρα τα οποία με την εξέλιξη των σταδίων δεν μεταβάλλονται. Σε χρόνο 4h μετά την εκκόλαση αρχίζει να εμφανίζονται τα πρώτα χρωματοφόρα κύτταρα στην επιφάνεια των οφθαλμών για τους 23° C και 27° C (Σχ.3.5), ενώ ο αριθμός των χρωματοφόρων αυξάνεται έως ότου καταλάβουν ολόκληρη την επιφάνεια του οφθαλμού.

Ο γαστρικός σωλήνας άρχισε να διαφοροποιείται στις 20 -24 h μετά την εκκόλαση για τους 27° C και στις 24-28h στους 23° C (Σχ.3.6).



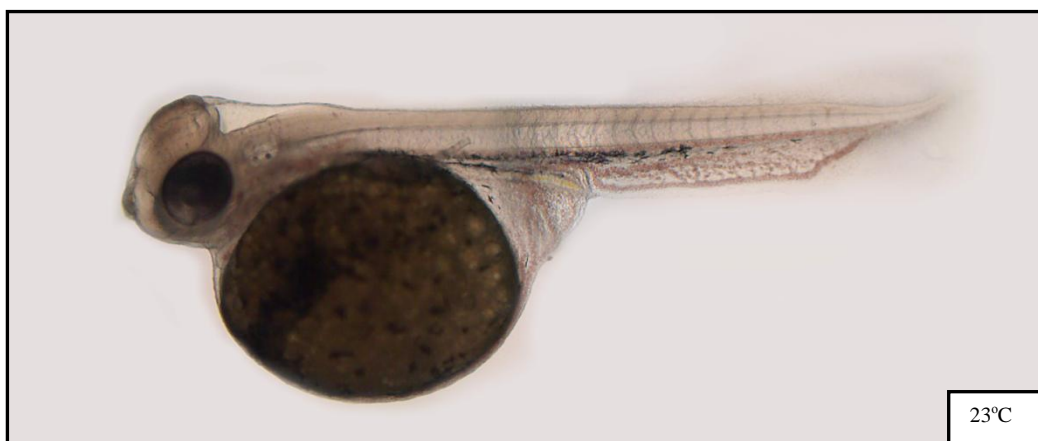
**Σχήμα 3.6** Διαφοροποίηση γαστρικού σωλήνα και για τις δύο θερμοκρασίες (πηγή: προσωπικό αρχείο).

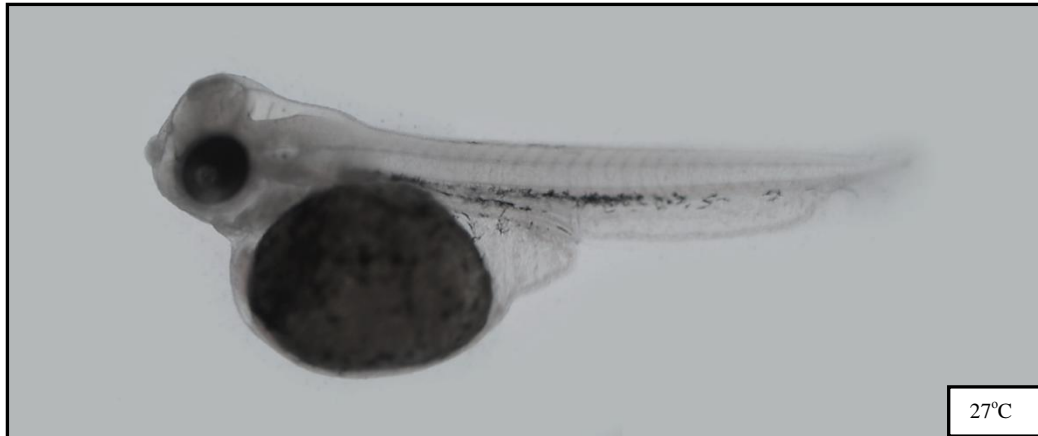
Αντιστοίχως στο στάδιο αυτό περιλαμβάνεται ο σχηματισμός του εντερικού αυλού, ενώ αρχίζει να γίνεται ορατός ο ουρητήρας και σε μικρή απόσταση από το έντερο στις 28-32 h για τη θερμοκρασία των 23° C και στις 24-28h για τους 27° C (Σχ.3.7).



**Σχήμα 3.7** Σχηματισμός του εντερικού αυλού και του ουρητήρα και για τις δύο θερμοκρασίες (πηγή: προσωπικό αρχείο).

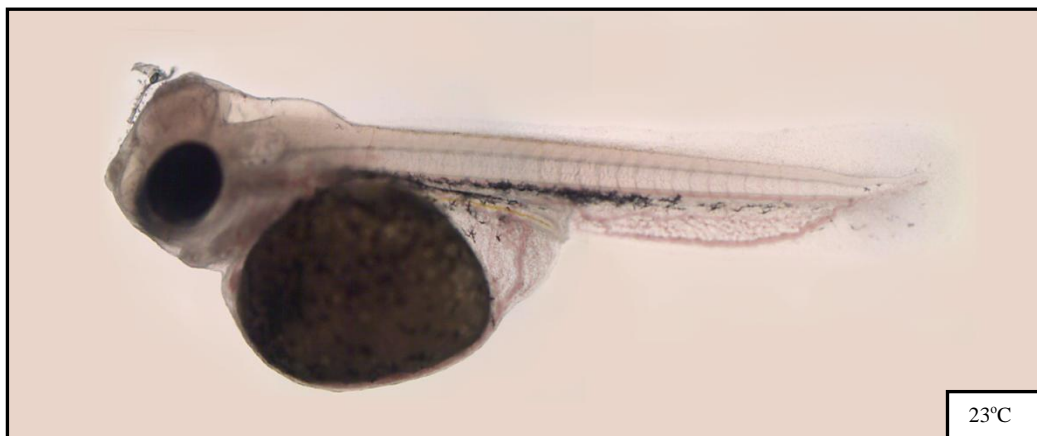
Η κατανομή των χρωματοφόρων κυττάρων στα μυομερή αρχίζει να διαφαίνεται πιο έντονα στους 20-24 h για τους 23°C και στις 16-20h για τους 27° C αντίστοιχα (Σχ.3.8).





**Σχήμα 3.8** Κατανομή χρωματοφόρων κυττάρων στα μυομερή και για τις δύο θερμοκρασίες (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Τα θωρακικά πτερύγια αρχίζουν να σχηματίζονται χωρίς να είναι ευδιάκριτες οι άκανθες. Η διαφοροποίηση του πεπτικού συστήματος αρχίζει με το σχηματισμό του εντερικού βρόγχου και της κάτω σιαγόνας. Η απορρόφηση των λεκιθικών αποθεμάτων συνεχίζεται να μειώνεται με αποτέλεσμα η κεφαλή να αρχίζει να ελευθερώνεται από το πρόσθιο τμήμα της λεκίθου στις 12-16 h για τους 23° C και 27° C αντίστοιχα. Ο σχηματισμός της κάτω σιαγόνας άρχισε να εμφανίζεται στις 40-44h στους 23° C και στις 28-32h για τους 27° C (Σχ.3.9).





**Σχήμα 3.9** Σχηματισμός της κάτω σιαγόνας και άνοιγμα στοματικής κοιλότητας για τις δύο θερμοκρασίες (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Το πεπτικό σύστημα διαφοροποιείται με το σχηματισμό του ήπατος μπροστά και πίσω από το λεκιθικό σάκο, στις 56 -60h για τους 23° C και στις 36-40 h στους 27° C (Σχ.3.10).



**Σχήμα 3.10** Διαφοροποίηση πεπτικού συστήματος και για τις δύο θερμοκρασίες (πηγή: προσωπικό αρχείο)



Η εμφάνιση της καρδιάς αρχίζει να φαίνεται από τις 20-24h για τους 23° C και στις 16-20h στους 27° C (Σχ.3.11).



**Σχήμα 3.11** Εμφάνιση καρδιάς και για τις δύο θερμοκρασίες (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Σε χρόνο 52h, για τους 23° C και 36-40 h στους 27° C η επιφάνεια των οφθαλμών έχει καλυφθεί πλήρως με μελανοφόρα και εμφανίζεται έντονα χρωματισμένη μαύρη (Σχ.3.12).



**Σχήμα 3.12** Πλήρης κάλυψη οφθαλμών από μελανοφόρα και για τις δύο θερμοκρασίες (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Τα μυομερή της προεδρικής περιοχής φαίνονται να είναι 12 με 13 στις 36 h για τους 23° C και 27° C, αντίστοιχα, ενώ αρχίζει να εντοπίζεται συγκέντρωση μελανοφόρων ραχιαία, ενώ στο οπίσθιο τμήμα του εντέρου εντοπίζεται συγκέντρωση χρωματοφόρων (Σχ.3.13).



**Σχήμα 3.13** Αριθμός των μυομερών στις δυο θερμοκρασίες (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Η λήξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου σηματοδοτείται με την απορρόφηση των λεκιθικών αποθεμάτων στις 72-76h στους 27° C και στις 76-80h στους 23° C (Σχ. 3.14), ενώ η πλήρης απορρόφηση του λεκιθικού σάκου, παρατηρείται στις 105-110h στους 27° C και στις 120-130h στους 23° C (Σχ. 3.15), με τον τελικό αριθμό των μυομερή τα κυμαίνεται από 23-24 και για τις δύο θερμοκρασίες. Η πλήρης απορρόφηση του λεκιθικού σάκου σηματοδοτεί και την πλήρη διατροφή της μετά-λεκιθοφόρας νύμφης με εξωγενή τροφή.



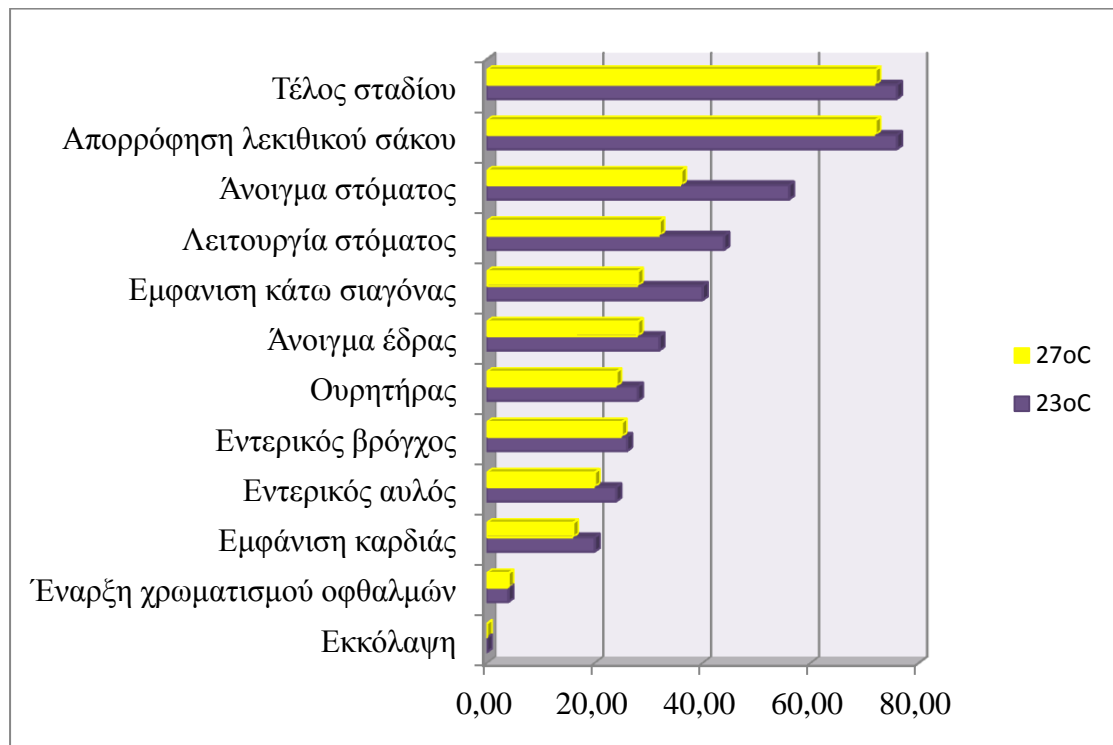
**Σχήμα 3.14** Λήξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου και για τις δύο θερμοκρασίες (πηγή: προσωπικό αρχείο).





**Σχήμα 3.15** Πλήρης απορρόφηση του λεκιθικού σάκου και για τις δύο θερμοκρασίες (πηγή: προσωπικό αρχείο).

Η εξέλιξη της μορφολογικής ανάπτυξης, των λεκιθοφόρων νυμφών του *A. nigrofasciatus*, σε σχέση με το χρόνο που εκδηλώνονται, τα διάφορα αναπτυξιακά γεγονότα και για τις δυο πειραματικές θερμοκρασίες φαίνεται στο Σχήμα 3.16.



**Σχήμα 3.16** Γράφημα της λεκιθοφόρας νυμφικής ανάπτυξης του *A. nigrofasciatus* σε σχέση με το σχετικό χρόνο RTi και για τις δυο θερμοκρασίες εκκόλαψης (23°C και 27°C).

### 3.2 Μορφομετρική ανάπτυξη των λεκιθοφόρων νυμφών του *A.nigrofasciatus*.

Οι νύμφες του *A.nigrofasciatus*, στην αρχή του πειράματος, έχουν ολικό μήκος  $4.25 \pm 0,22$  mm και  $3,99 \pm 0,15$  mm στους  $23^{\circ}\text{C}$  και  $27^{\circ}\text{C}$ , (Πιν.3.2 και Πιν.3.3). Στο τέλος του σταδίου, το ολικό μήκος της κηλιδοζέμπρας μετρήθηκε  $5,30 \pm 0.05$  mm και  $5.53 \pm 0,18$  mm στους  $23^{\circ}\text{C}$  και  $27^{\circ}\text{C}$ , αντίστοιχα, παρουσιάζοντας σημαντικές στατιστικές διαφορές (t test,  $t=2,28$ ,  $p=0,027 < 0.05$ ), (Πιν.3.4).

**Πίνακας 3.4** Μορφομετρικοί χαρακτήρες του *A.nogrofasciatus* στις δυο πειραματικές θερμοκρασίες.

	23°C	27°C	
<b>Μορφομετρικός χαρακτήρας</b>			
Ολικό Μήκος (TL)	$5,30 \pm 0,5$	$5,00 \pm 0,39$	Σ.Δ*
Μήκος Νωτοχορδής (NL)	$4,98 \pm 0,52$	$4,64 \pm 0,28$	Σ.Δ*
Ύψος Σώματος (BD)	$0,64 \pm 0,04$	$0,59 \pm 0,09$	Σ.Δ*
Προεδρικό Μήκος (PrAnl)	$2,85 \pm 0,36$	$2,67 \pm 0,15$	Σ.Δ*
Μεταεδρικό Μήκος (PstAnl)	$2,42 \pm 0,29$	$2,33 \pm 0,25$	Μ.Σ.Σ.Δ**
Μήκος Λεκιθικού Σάκου (YsL)	$1,48 \pm 0,23$	$1,31 \pm 0,28$	Σ.Δ*
Ύψος Λεκιθικού Σάκου (YsD)	$1,11 \pm 0,17$	$1,00 \pm 0,22$	Μ.Σ.Σ.Δ**
Διάμετρος Οφθαλμού (ED)	$0,57 \pm 0,41$	$0,49 \pm 0,09$	Μ.Σ.Σ.Δ**
Όγκος Λεκιθικού Σάκου (YsV)	$1,03 \pm 0,43$	$0,79 \pm 0,45$	Σ.Δ*
Σχετικός χρόνος αναπτυξιακού γεγονότος (Rti)	$46,71 \pm 32,17$	$41,31 \pm 31,08$	Μ.Σ.Σ.Δ**
* Σ.Δ: Σημαντική Στατιστική Διαφορά			
** Μ.Σ.Σ.Δ: Μη Σημαντική Στατιστική Διαφορά			

Και στις δυο θερμοκρασίες, το ολικό μήκος παρουσιάζει μια τάση αύξησης με την εξέλιξη του σταδίου, ενώ ο ρυθμός της αύξησης μειώνεται (μέχρι το σχετικό χρόνο 60-70%), για να μηδενιστεί σχεδόν μέχρι το τέλος του σταδίου.

Παρόμοιο μοντέλο εξέλιξης παρουσιάζει και το μήκος της νωτοχορδής (NL), το οποίο κυμαίνεται από 4,17 έως 6,71 mm στους  $23^{\circ}\text{C}$  και από 4,74 έως 4,98 mm στους  $27^{\circ}\text{C}$ , παρουσιάζοντας σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ των δυο θερμοκρασιών (t test,  $t=2,852$ ,  $p=0,006 < 0,05$ ), (Πιν.3.4). Η αύξηση του μήκους της νωτοχορδής, οδηγεί στο σχηματισμό και ανάπτυξη του ουραίου πτερυγίου.

Το ύψος σώματος (BD), αυξάνεται σε σχέση με την ηλικία της νύμφης παρουσιάζοντας μέσες τιμές  $0,65 \pm 0,05$  στους  $23^{\circ}\text{C}$  και  $0,59 \pm 0,09$ , στους  $27^{\circ}\text{C}$ . Ανάμεσα στις δύο θερμοκρασίες εκκόλαψης, παρουσιάζονται σημαντικές στατιστικές

διαφορές στο ύψος σώματος της κηχλιδοζέμπρας (t test,  $t=2,563$ ,  $p=0,015<0,05$ ), (Πιν.3.4).

Το προεδρικό μήκος (PrAnl) της κηχλιδοζέμπρας στους  $23^{\circ}\text{C}$  είναι  $2,85\pm 0,30$  mm και  $2,67\pm 0,15$ mm στους  $27^{\circ}\text{C}$ , παρουσιάζοντας σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ των δυο θερμοκρασιών (t test,  $t=2,37$ ,  $p=0,021<0,05$ ), (Πιν.3.4). Το μεταεδρικό μήκος (PstAnl), κυμαίνεται από 1,89 έως 2,79 mm για τους  $23^{\circ}\text{C}$  και 1,75 έως 2,70 mm για τους  $27^{\circ}\text{C}$  ενώ δεν παρουσιάζει σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ των δυο θερμοκρασιών (t test,  $t=1,245$ ,  $p=0,2>0,05$ ), (Πιν.3.4). Τόσο το προεδρικό μήκος όσο και το μεταεδρικό μήκος της νύμφης αυξάνονται σε σχέση με την ηλικία της νύμφης προκειμένου να αυξηθεί και να σχηματισθεί η ουρά.

Οι νύμφες μετά την εκκόλαψη φέρουν ευμεγέθη λεκιθικό σάκο, ελλειπτικού σχήματος στην πρόσθια και κοιλιακή περιοχή, μέσου διαμετρήματος κατά τον οριζόντιο άξονα  $1,72\pm 0,05$  mm και  $1,37\pm 0,03$  mm κατά τον κατακόρυφο άξονα. Ο λεκιθικός σάκος καταλαμβάνει περίπου το μισό του ολικού μήκους της νεοεκκολαπτόμενης νύμφης, ενώ περίπου κατά δύο φορές μεγαλύτερο ύψος από το σωματικό ύψος της νύμφης. Το μήκος του λεκιθικού σάκου (YsL) μειώνεται σε σχέση με το χρόνο και κυμαίνεται από 1,76 έως 0,95 mm στη θερμοκρασία των  $23^{\circ}\text{C}$  και από 1,71 έως 0,84 mm στους  $27^{\circ}\text{C}$ , παρουσιάζοντας σημαντικές στατιστικές διαφορές (t test,  $t=2,371$ ,  $p=0,02<0,05$ ), (Πιν.3.4). Το ύψος του λεκιθικού σάκου (YsD) κυμαίνεται από 1,35 έως 0,81 mm στους  $23^{\circ}\text{C}$  και 1,39 έως 0,58 mm στους  $27^{\circ}\text{C}$ , αντίστοιχα χωρίς να διαφοροποιούνται στατιστικά (t test,  $t=1,972$ ,  $p=0,054>0,05$ ), (Πιν.3.4).

Το μήκος και το ύψος του λεκιθικού σάκου μειώνονται σε σχέση με την ηλικία της νύμφης, με αποτέλεσμα το σχήμα της λεκίθου να γίνεται περισσότερο ελλειπτικό και να απορροφάται τελείως στο τέλος του σταδίου. Η αναλογία YsL/TL κυμάνθηκε από  $0,29\pm 0,07$  mm και  $0,27\pm 0,08$  mm για τους  $23^{\circ}\text{C}$  και  $27^{\circ}\text{C}$  αντίστοιχα. Η αναλογία YsD/BD και στις δυο θερμοκρασίες κυμάνθηκε  $1,75 \pm 0,39$  mm για τους  $23^{\circ}\text{C}$  και  $1,80 \pm 0,70$  mm για τους  $27^{\circ}\text{C}$ .

Η λέκιθος είναι ομογενής, χρώματος καφέ, αδιαφανής και καλύπτεται σε μεγάλο ποσοστό από μελανοφόρα κύτταρα. Σε όλες τις παρατηρήσεις που έγιναν, η σταγόνα λιπιδίου δεν ήταν ευδιάκριτη λόγω της συνεκτικότητας και της χρωστικής ουσίας που παρουσιάζει ο λεκιθικός σάκος.

Η μείωση του όγκου του λεκιθικού σάκου φαίνεται να ακολουθεί εκθετικό πρότυπο εξέλιξης και στις δυο θερμοκρασίες εκκόλαψης, χωρίς να παρουσιάζει

σημαντικές στατιστικές διαφορές (t test,  $t=1,992$ ,  $p=0,052>0,05$ ), (Πιν.3.4). Ο όγκος του λεκιθικού σάκου κυμαίνεται από 1,67 έως 0,35 mm για τους 23°C και από 1,74 έως 0,15 mm, για τους 27°C. Τα θρεπτικά αποθέματα των νυμφών της κηλιδοζέμπρας καταναλώνονται με διαφορετικό τρόπο και πιθανά πιο γρήγορα στην υψηλότερη θερμοκρασία σε σχέση με τη μικρότερη.

Η μέση τιμή της διαμέτρου του οφθαλμού (ED), είναι μεγαλύτερη στους 23°C  $0,57\pm 0,42$  mm, και μικρότερη στους 27°C  $0,50\pm 0,10$  mm, χωρίς να παρουσιάζονται σημαντικές στατιστικές διαφορές (t test,  $t=0,88$ ,  $p=0,383>0,05$ ), (Πιν.3.4).

Το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ολοκληρώνεται στους 23° C στις 76 έως 80 h μετά την εκκόλαψη, και στους 27°C, στις 72 έως 76 h μετά την εκκόλαψη. Τα λεκιθικά αποθέματα να απορροφούνται πλήρως στους 27° C, τις 105-110h και στις 120-130h στους 23° C.

Σε ότι αφορά το σχετικό χρόνο (RTi) που συμβαίνουν τα διάφορα αναπτυξιακά γεγονότα είναι ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία, αφού δεν παρουσιάζουν σημαντικές στατιστικές διαφορές (t test,  $t=0,417$ ,  $p=0,680>0,05$ ), (Πιν.3.4), ενώ η ταχύτητα εξέλιξης των μορφολογικών αλλαγών επηρεάζεται από την ηλικία της νύμφης.



**Πίνακας 3.2** Εξέλιξη των μορφομετρικών χαρακτήρων (Μέση τιμή  $\pm$ STDEV) των λεκιθοφόρων νυμφών του *A.nigrofasciatus* στους 27°C.

<b>ΔΕΙΓΜΑ</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
<b>ΩΡΕΣ Μ.Ε</b>	0	4	8	12	16	20	24	28
TL	4,01 $\pm$ 0,17	4,33 $\pm$ 0,23	4,44 $\pm$ 0,09	4,59 $\pm$ 0,10	4,71 $\pm$ 0,10	4,82 $\pm$ 0,09	4,77 $\pm$ 0,26	4,91 $\pm$ 0,09
NL	3,71 $\pm$ 0,25	4,08 $\pm$ 0,30	4,26 $\pm$ 0,13	4,40 $\pm$ 0,10	4,53 $\pm$ 0,09	4,64 $\pm$ 0,09	4,60 $\pm$ 0,26	4,77 $\pm$ 0,08
BD	0,39 $\pm$ 0,03	0,40 $\pm$ 0,03	0,53 $\pm$ 0,03	0,56 $\pm$ 0,02	0,58 $\pm$ 0,03	0,57 $\pm$ 0,10	0,58 $\pm$ 0,02	0,61 $\pm$ 0,08
prAnl	2,26 $\pm$ 0,16	2,44 $\pm$ 0,18	2,55 $\pm$ 0,06	2,56 $\pm$ 0,08	2,65 $\pm$ 0,07	2,66 $\pm$ 0,07	2,62 $\pm$ 0,23	2,74 $\pm$ 0,05
pstAnl	1,75 $\pm$ 0,13	1,82 $\pm$ 0,12	1,89 $\pm$ 0,10	2,03 $\pm$ 0,09	2,06 $\pm$ 0,07	2,15 $\pm$ 0,06	2,15 $\pm$ 0,07	2,17 $\pm$ 0,07
prYs	0,11 $\pm$ 0,06	0,19 $\pm$ 0,08	0,33 $\pm$ 0,08	0,44 $\pm$ 0,07	0,51 $\pm$ 0,06	0,62 $\pm$ 0,09	0,68 $\pm$ 0,09	0,71 $\pm$ 0,10
pstYs	1,89 $\pm$ 0,09	1,88 $\pm$ 0,09	1,94 $\pm$ 0,10	2,02 $\pm$ 0,10	2,06 $\pm$ 0,07	2,09 $\pm$ 0,09	2,14 $\pm$ 0,12	2,18 $\pm$ 0,13
YsL	1,77 $\pm$ 0,09	1,69 $\pm$ 0,08	1,61 $\pm$ 0,06	1,58 $\pm$ 0,07	1,55 $\pm$ 0,05	1,48 $\pm$ 0,06	1,46 $\pm$ 0,06	1,47 $\pm$ 0,07
YsD	1,41 $\pm$ 0,12	1,29 $\pm$ 0,12	1,20 $\pm$ 0,07	1,16 $\pm$ 0,10	1,16 $\pm$ 0,08	1,10 $\pm$ 0,06	1,08 $\pm$ 0,06	1,03 $\pm$ 0,27
YsV	1,87 $\pm$ 0,36	1,49 $\pm$ 0,32	1,22 $\pm$ 0,17	1,13 $\pm$ 0,23	1,10 $\pm$ 0,17	0,94 $\pm$ 0,12	0,90 $\pm$ 0,13	0,87 $\pm$ 0,31
prOr	0,12 $\pm$ 0,03	0,14 $\pm$ 0,02	0,17 $\pm$ 0,06	0,18 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,02	0,22 $\pm$ 0,02	0,24 $\pm$ 0,01	0,23 $\pm$ 0,02
ED	0,28 $\pm$ 0,02	0,32 $\pm$ 0,02	0,33 $\pm$ 0,04	0,37 $\pm$ 0,02	0,39 $\pm$ 0,01	0,42 $\pm$ 0,02	0,43 $\pm$ 0,02	0,46 $\pm$ 0,03
<b>ΔΕΙΓΜΑ</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>
<b>ΩΡΕΣ Μ.Ε</b>	32	36	40	44	48	52	56	60
TL	4,98 $\pm$ 0,11	5,03 $\pm$ 0,10	5,05 $\pm$ 0,14	5,21 $\pm$ 0,18	5,05 $\pm$ 0,29	5,18 $\pm$ 0,14	5,27 $\pm$ 0,09	5,22 $\pm$ 0,17
NL	4,82 $\pm$ 0,12	4,85 $\pm$ 0,10	4,87 $\pm$ 0,15	4,88 $\pm$ 0,20	4,79 $\pm$ 0,31	4,85 $\pm$ 0,11	4,91 $\pm$ 0,11	4,83 $\pm$ 0,16
BD	0,59 $\pm$ 0,03	0,60 $\pm$ 0,02	0,59 $\pm$ 0,03	0,61 $\pm$ 0,03	0,63 $\pm$ 0,10	0,61 $\pm$ 0,02	0,61 $\pm$ 0,04	0,61 $\pm$ 0,03
prAnl	2,74 $\pm$ 0,08	2,71 $\pm$ 0,08	2,71 $\pm$ 0,07	2,72 $\pm$ 0,06	2,65 $\pm$ 0,25	2,67 $\pm$ 0,06	2,69 $\pm$ 0,06	2,65 $\pm$ 0,11
pstAnl	2,24 $\pm$ 0,05	2,32 $\pm$ 0,08	2,34 $\pm$ 0,10	2,50 $\pm$ 0,13	2,40 $\pm$ 0,09	2,51 $\pm$ 0,11	2,58 $\pm$ 0,07	2,56 $\pm$ 0,10
prYs	0,76 $\pm$ 0,12	0,74 $\pm$ 0,08	0,68 $\pm$ 0,18	0,78 $\pm$ 0,09	0,81 $\pm$ 0,11	0,91 $\pm$ 0,09	0,93 $\pm$ 0,12	0,98 $\pm$ 0,07
pstYs	2,17 $\pm$ 0,13	2,17 $\pm$ 0,11	2,05 $\pm$ 0,21	2,18 $\pm$ 0,10	2,17 $\pm$ 0,07	2,17 $\pm$ 0,10	2,15 $\pm$ 0,13	2,15 $\pm$ 0,09
YsL	1,42 $\pm$ 0,06	1,43 $\pm$ 0,06	1,37 $\pm$ 0,06	1,40 $\pm$ 0,06	1,37 $\pm$ 0,06	1,26 $\pm$ 0,07	1,21 $\pm$ 0,06	1,17 $\pm$ 0,06
YsD	1,05 $\pm$ 0,07	1,00 $\pm$ 0,07	0,93 $\pm$ 0,07	0,97 $\pm$ 0,08	0,88 $\pm$ 0,22	0,90 $\pm$ 0,06	0,86 $\pm$ 0,05	0,86 $\pm$ 0,04
YsV	0,83 $\pm$ 0,14	0,76 $\pm$ 0,14	0,62 $\pm$ 0,13	0,69 $\pm$ 0,13	0,58 $\pm$ 0,18	0,54 $\pm$ 0,09	0,47 $\pm$ 0,06	0,46 $\pm$ 0,07
prOr	0,22 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,01	0,19 $\pm$ 0,01	0,20 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,01	0,22 $\pm$ 0,03	0,24 $\pm$ 0,04	0,23 $\pm$ 0,04
ED	0,46 $\pm$ 0,01	0,48 $\pm$ 0,02	0,47 $\pm$ 0,22	0,48 $\pm$ 0,04	0,50 $\pm$ 0,01	0,51 $\pm$ 0,02	0,51 $\pm$ 0,03	0,51 $\pm$ 0,05
<b>ΔΕΙΓΜΑ</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>				
<b>ΩΡΕΣ Μ.Ε</b>	64	68	72	76				
TL	5,28 $\pm$ 0,07	5,23 $\pm$ 0,07	5,33 $\pm$ 0,06	5,73 $\pm$ 1,00				
NL	5,05 $\pm$ 0,67	4,80 $\pm$ 0,09	4,76 $\pm$ 0,12	4,81 $\pm$ 0,09				
BD	0,64 $\pm$ 0,02	0,63 $\pm$ 0,03	0,66 $\pm$ 0,02	0,72 $\pm$ 0,03				
prAnl	2,67 $\pm$ 0,04	2,68 $\pm$ 0,04	2,71 $\pm$ 0,04	2,66 $\pm$ 0,05				
pstAnl	2,61 $\pm$ 0,06	2,55 $\pm$ 0,06	2,62 $\pm$ 0,06	3,08 $\pm$ 1,02				
prYs	1,02 $\pm$ 0,08	1,05 $\pm$ 0,08	1,14 $\pm$ 0,07	1,16 $\pm$ 0,14				
pstYs	2,19 $\pm$ 0,10	2,16 $\pm$ 0,09	2,19 $\pm$ 0,10	2,14 $\pm$ 0,13				
YsL	1,16 $\pm$ 0,05	1,12 $\pm$ 0,06	1,05 $\pm$ 0,08	0,98 $\pm$ 0,13				
YsD	0,81 $\pm$ 0,04	0,77 $\pm$ 0,03	0,71 $\pm$ 0,05	0,74 $\pm$ 0,06				
YsV	0,40 $\pm$ 0,05	0,35 $\pm$ 0,04	0,28 $\pm$ 0,05	0,28 $\pm$ 0,06				
prOr	0,23 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,03	0,18 $\pm$ 0,04	0,23 $\pm$ 0,05				
ED	0,55 $\pm$ 0,02	0,58 $\pm$ 0,01	0,58 $\pm$ 0,02	0,58 $\pm$ 0,02				

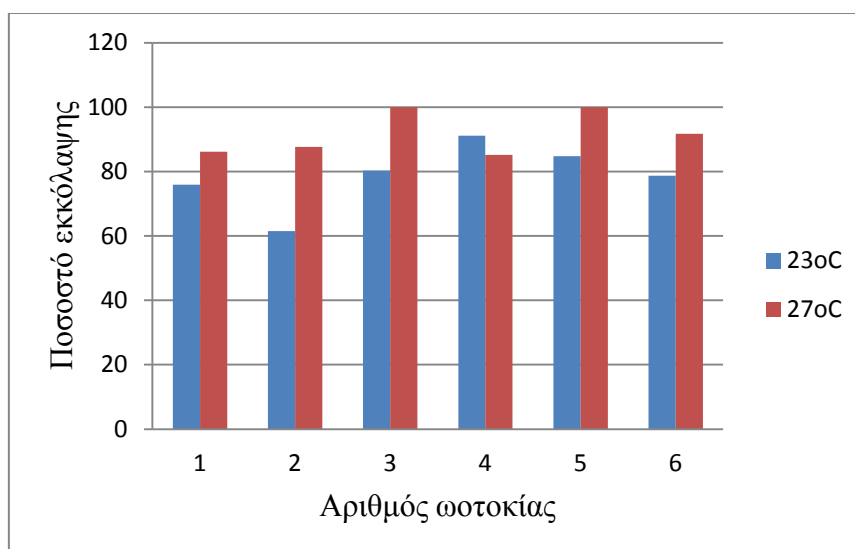
**Πίνακας 3.3** Εξέλιξη των μορφομετρικών χαρακτήρων (Μέση τιμή±STDEV) των λεκιθοφόρων νυμφών του *A.nigrofasciatus* στους 23°C.

<b>ΔΕΙΓΜΑ</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
<b>ΩΡΕΣ Μ.Ε</b>	0	4	8	12	16	20	24	28
TL	4,26±0,16	4,40±0,13	4,52±0,19	4,57±0,12	4,49±0,50	4,49±0,28	4,77±0,12	4,66±0,29
NL	4,02±0,17	4,21±0,12	4,35±0,20	4,39±0,11	4,45±0,16	4,45±0,14	4,59±0,12	4,47±0,30
BD	0,53±0,04	0,55±0,03	0,57±0,04	0,58±0,03	0,57±0,04	0,57±0,04	0,58±0,03	0,61±0,03
prAnl	2,37±0,11	2,43±0,09	2,51±0,11	2,54±0,10	2,56±0,13	2,56±0,08	2,58±0,08	2,51±0,25
pstAnl	1,89±0,09	1,97±0,10	2,01±0,10	2,03±0,07	1,93±0,48	1,93±0,25	2,19±0,09	2,15±0,11
prYs	0,23±0,07	0,26±0,06	0,34±0,09	0,41±0,11	0,48±0,11	0,48±0,12	0,59±0,10	0,56±0,11
pstYs	1,90±0,08	1,89±0,08	1,98±0,13	2,05±0,11	2,04±0,18	2,04±0,11	2,10±0,11	2,03±0,13
YsL	1,66±0,06	1,63±0,05	1,64±0,11	1,65±0,09	1,56±0,14	1,56±0,11	1,50±0,09	1,47±0,05
YsD	1,34±0,09	1,22±0,05	1,28±0,09	1,24±0,09	1,17±0,08	1,17±0,07	1,11±0,28	1,17±0,07
YsV	1,57±0,23	1,27±0,12	1,41±0,28	1,41±0,28	1,13±0,23	1,13±0,21	1,02±0,32	1,06±0,13
prOr	0,14±0,03	0,16±0,02	0,17±0,02	0,18±0,02	0,19±0,03	0,19±0,02	0,22±0,02	0,21±0,02
ED	0,31±0,03	0,31±0,02	0,35±0,03	0,37±0,02	0,38±0,02	0,38±0,02	0,41±0,03	0,41±0,03
<b>ΔΕΙΓΜΑ</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>
<b>ΩΡΕΣ Μ.Ε</b>	32	36	40	44	48	52	56	60
TL	4,65±0,23	4,80±0,10	4,90±0,17	4,87±0,16	4,90±0,08	4,99±0,13	4,92±0,24	5,01±0,14
NL	4,48±0,22	4,60±0,09	4,70±0,15	4,66±0,15	4,80±0,07	4,77±0,14	4,69±0,23	4,76±0,13
BD	0,60±0,04	0,60±0,03	0,60±0,02	0,66±0,04	0,63±0,04	0,65±0,03	0,64±0,04	0,62±0,03
prAnl	2,55±0,09	2,65±0,03	2,68±0,11	2,67±0,10	2,75±0,04	2,75±0,07	2,65±0,10	2,70±0,08
pstAnl	2,10±0,15	2,15±0,09	2,21±0,12	2,21±0,09	2,25±0,06	2,25±0,07	2,26±0,17	2,31±0,09
prYs	0,63±0,13	0,67±0,12	0,64±0,11	0,68±0,13	0,79±0,06	0,75±0,14	0,67±0,12	0,69±0,09
pstYs	2,07±0,12	2,19±0,11	2,21±0,13	2,12±0,17	2,40±0,07	2,23±0,14	2,11±0,08	2,16±0,10
YsL	1,44±0,06	1,53±0,08	1,57±0,12	1,44±0,08	1,61±0,05	1,47±0,07	1,44±0,08	1,47±0,05
YsD	1,20±0,27	1,20±0,09	1,21±0,08	1,09±0,08	1,20±0,07	1,11±0,07	1,09±0,07	1,11±0,06
YsV	1,15±0,69	1,16±0,22	1,21±0,24	0,90±0,16	1,22±0,16	0,95±0,15	0,90±0,15	0,94±0,12
prOr	0,21±0,02	0,21±0,02	0,22±0,01	0,21±0,03	0,25±0,02	0,23±0,02	0,23±0,01	0,23±0,01
ED	0,43±0,03	0,44±0,02	0,44±0,02	0,45±0,04	0,49±0,03	0,48±0,03	0,46±0,03	0,48±0,02
<b>ΔΕΙΓΜΑ</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>			
<b>ΩΡΕΣ Μ.Ε</b>	64	68	72	76	80			
TL	5,03±0,15	5,05±0,16	5,09±0,17	5,13±0,01	5,19±0,10			
NL	4,78±0,14	4,81±0,15	4,83±0,18	4,85±0,00	4,88±0,11			
BD	0,64±0,03	0,63±0,03	0,62±0,03	0,62±0,00	0,63±0,02			
prAnl	2,69±0,09	2,71±0,08	2,72±0,10	2,70±0,00	2,71±0,11			
pstAnl	2,34±0,09	2,34±0,12	2,37±0,10	2,42±0,00	2,48±0,07			
prYs	0,71±0,15	0,71±0,15	0,67±0,13	0,71±0,00	0,77±0,07			
pstYs	2,19±0,16	2,16±0,17	2,16±0,15	2,20±0,00	2,29±0,07			
YsL	1,49±0,05	1,45±0,06	1,49±0,06	1,49±0,00	1,52±0,04			
YsD	1,11±0,05	1,06±0,07	1,01±0,26	1,09±0,00	1,10±0,04			
YsV	0,97±0,10	0,86±0,13	0,86±0,27	0,94±0,20	0,97±0,08			
prOr	0,23±0,02	0,22±0,02	0,22±0,01	0,23±0,00	0,22±0,02			
ED	0,47±0,05	0,48±0,04	0,49±0,05	0,52±0,00	0,52±0,02			

### 3.2 Ποσοστά εκκόλαψης και επιβίωσης

Η κηχλιδοζέμπρα, *A.nigrofasciatus* παρουσιάζει υψηλότερα ποσοστά εκκόλαψης  $91,8\pm 6,77\%$  στη θερμοκρασία των  $27^{\circ}\text{C}$  σε σχέση με τη θερμοκρασία των  $23^{\circ}\text{C}$  όπου καταγράφηκαν χαμηλότερα ποσοστά εκκόλαψης ( $78,8\pm 9,79\%$ ), (Σχ.3.17).

Η επιβίωση των λεκιθοφόρων νυμφών κυμάνθηκε σε σχετικά υψηλά ποσοστά και στις δυο πειραματικές θερμοκρασίες και ήταν αντίστοιχα 65% στους  $23^{\circ}\text{C}$  και 85% στους  $27^{\circ}\text{C}$ . Επίσης, αμέσως μετά την εκκόλαψη και καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος οι λεκιθοφόρες νύμφες αντιδρούν στα μηχανικά ερεθίσματα. Επίσης οι λεκιθοφόρες νύμφες της κηχλιδοζέμπρας παραμένουν προσκολλημένες στο υπόστρωμα, παρουσιάζουν ομοιόμορφη διασπορά και εκδηλώνουν παθητική κίνηση.



**Σχήμα 3.17** Ποσοστά (%) εκκόλαψης της κηχλιδοζέμπρας για το σύνολο των ωοτοκίων που έλαβαν χώρο καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ**  
**ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

#### 4.1 Συζήτηση

Η αναπαραγωγή της κηχλιδοζέμπρας σε συνθήκες αιχμαλωσίας πραγματοποιήθηκε από γεννήτορες οι οποίοι διατηρούνταν σε συνθήκες αιχμαλωσίας σε ενυδρεία, σε δυο διαφορετικές θερμοκρασίες εκκόλαψης (23°C και 27°C) με φωτοπερίοδο 12 ώρες ημέρες: 12 ώρες νύκτα. Εναποθέτει τα αυγά της, σε υπόστρωμα παρουσιάζοντας συχνή αναπαραγωγική περίοδο, υπό την προϋπόθεση οι συνθήκες του ενυδρείου να είναι ιδανικές.

Τα αυγά της κηχλιδοζέμπρας, είναι κολλώδη, παραμένουν προσκολλημένα στο υπόστρωμα με τη βοήθεια ινών, ενώ η ανάπτυξη των μορφομετρικών χαρακτήρων γίνεται με γρήγορους ρυθμούς και εξαρτώνται από την ηλικία της κηχλιδοζέμπρας. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με εκείνα των Brummett & Dumont (1981), όπου μελέτησαν τα χαρακτηριστικά και τη μορφομετρική εξέλιξη του *Cichlasoma dimerus*.

Στην παρούσα μελέτη το ολικό μήκος της νεοεκκολαπτόμενης προνύμφης είναι  $5,30 \pm 0,5$  για τους 23°C και  $5,00 \pm 0,39$  στους 27°C, παρουσιάζοντας σημαντικές στατιστικές διαφορές. Το *A. nigrofasciatus* παρουσιάζει μεγαλύτερο μήκος λεκιθοφόρας προνύμφης σε σχέση με 28 είδη ψαριών που μελετήθηκαν και παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.1.

Ο λεκιθικός σάκος της νέο-εκκολαπτόμενης νύμφης *A.nigrofasciatus* είναι ογκώδης, ελλειπτικού σχήματος, βρίσκεται στην πρόσθια και κοιλιακή περιοχή του σώματος, και εκτείνεται από το ρύγχος της κεφαλής μέχρι την έδρα. Καλύπτεται σε μεγάλο ποσοστό από μελανοφόρα κύτταρα εμποδίζοντας τη σταγόνα λιπιδίων να γίνει εύκολα ορατή.

Τα αποτελέσματα της παρούσης εργασίας, συμφωνούν με εκείνα των Meijidae & Guerrero (2000) όπου μελέτησαν το είδος *Cichlasoma dimerus*, του Jones (1972), που μελέτησε τα είδη *Cichlasoma bimaculatum*, *Cichlasoma biocellatum*, *Cichlasoma nigrofasciatum* και του *Hemichromis bimaculatus*. Το μέγεθος του λεκιθικού σάκου έχει βρεθεί ότι εξαρτάται κυρίως από τις διαστάσεις του αυγού και από τη ποσότητα της λεκίθου που έχει καταναλωθεί από το έμβρυο πριν την εκκόλαψη (Mosser, 1996). Σύμφωνα με τους Balon (1977), Holden & Bruton, (1992,1994),ο λεκιθικός σάκος χρησιμεύει ως μια συμπληρωματική πηγή διατροφής προκειμένου οι προνύμφες να αναπτύξουν εξωτερικές δυνατότητες για την συλλογή της τροφής τους, που αρχίζει με την έναρξη του επόμενου σταδίου, όπως παρατηρείται και στην παρούσα μελέτη.

Πίνακας 4.1 Σύγκριση της κηγλιδοζέμπρας *A. nigrofasciatus* με διάφορα είδη ψαριών.

Είδη	Παραγωγή αυγών	Διάμετρος αυγού (mm)	Θερμοκρασία επώασης (°C)	Ωρα εκκόλαψης (h)	TL στις νέο-εκκολαπτόμενες λάρβες (mm)	Απορρόφηση λεκίθου (day)	TL και απορρόφηση λεκίθου (mm)	Αναφορές
<i>Apolemichthys trimaculatus</i>	NS	0,75-0,80	25,4-26,0	16-17	1,60-1,63	3	2,84-2,92	Hioki and Suzuki (1995b)
<i>Centropyge acanthops</i>	NS	0,58-0,61	26,4-27,6	14-15	0,97-1,05	3	2,17-2,32	Hioki (1999)
<i>C. bicolor</i>	NS	0,68-0,70	26,3-26,7	14-15	1,58-1,74	3	2,64-2,80	Hioki (1999)
<i>C. bispinosa</i>	NS	0,66-0,70	25,5-26,5	14-15	1,35-1,40			Hioki (1999)
<i>C. debelius</i>	NS	0,71	25-26	20		3	2,7	Baensch and Tamaru (2009)
<i>C. interruptus</i>	NS	0,68-0,70	24,8-25,5	15-16	1,30-1,40	3	2,50-2,80	Hioki and Suzuki (1987)
<i>C. terrugatus</i>	NS	0,67-0,70	25,0-26,0	16-17	1,28-1,30	3	2,50-2,56	Hioki et al.(1990)
<i>C. fisheri</i>	NS	0,65-0,70	26,8-28,2	13-16	1,18-1,30	3	2,30-2,60	Hioki(1999);Baensch (2002)
<i>C. flavicauda</i>	NS	0,68-0,73	26,5-27,5	14-15	1,13-1,25	3	2,15-2,38	Hioki (1999)
<i>C. flavissima</i>	NS	0,70-0,75	26,5-27,0	15-16	1,55-1,63	3	2,55-2,63	Hioki (1999); Olivotto et al. (2006a)
<i>C. heraldi</i>	NS	0,73-0,75	26,4-27,1	13-14	1,45-1,63	3	2,36-2,74	Hioki (1999)
<i>C. loricula</i>	NS	0,70	27	16	1,9	3	2,4	Baensch (2002)
<i>C. multicolor</i>	NS	0,70	27	16-18		2	2,3	Baensch (2003)
<i>C. multispinis</i>	NS	0,70-0,73	27,1	15-16	1,43-1,50	3	2,64-2,72	Hioki (1999)
<i>C. nox</i>	NS	0,70-0,73	27,1-28,2	14-15	1,58-1,60	3	2,64-2,72	Hioki (1999)
<i>C. shepardi</i>	NS	0,63-0,70	26,4-26,8	14-15	1,22-1,39	3	2,29-2,38	Hioki (1999)
<i>C. tibicen</i>	NS	0,71-0,75	27,1-28,0	14-15	1,65-1,70	3	2,48-2,68	Hioki (1999)
<i>C. vrolikii</i>	NS	0,72-0,73	26,3-26,5	14-15	1,45-1,54	3	2,41-2,81	Hioki (1999)
<i>Chaetodontoplus duboulayi</i>	NS	0,92-0,97	25,0-25,4	24-25	2,40-2,63	2	2,97-3,17	Arai (1994)
<i>C. mesoleucus</i>	NS	0,95-1,05	25,8-27,0	20-21	2,28-2,34	3	3,12-3,32	Hioki and Suzuki (1995a)
<i>C. septentrionalis</i>	AF; NS	0,80-0,88	24,0-28,1	15-23	1,59-2,00	2	2,60-2,95	Fujita and Mito 1960; Present study
<i>Genicanthus bellus</i>	NS	0,71-0,72	26,0-26,5	16-17	1,46-1,52	3	2,60-2,70	Hioki et al.(1995)
<i>G. Lamarck</i>	NS	0,75-0,80	24,5-24,9	17-18	1,58-1,68	3	3,00-3,08	Suzuki et al.(1995)
<i>G. melanospilos</i>	NS	0,73-0,75	27,0-27,5	13-14	1,50-1,55			Hioki et al. (1982)
<i>G. semifasciatus</i>	NS	0,75-0,78	25,0-26,5	15-16	1,53-1,58	3	3	Suzuki et al.(1979)
<i>G. watanabei</i>	NS	0,78-0,83	25,5-26,0	16-17	1,51-1,57	3	2,59-2,61	Hioki et al. (1995)
<i>Pomacanthus arcuatus</i>	NS	0,9	28	15-20	2,5	2	3	Moe Jr (1976); Kelley (1995)
<i>P. semicirculatus</i>	NS	0,57-0,64	24,8-28,5	18-21	1,32-1,40	3	2,32-2,44	Leu at al. (2009)
<i>A.nigrofasciatus</i>	NS		27,0		4,16	3	5,31	Παρούσα έρευνα

Ο ρυθμός κατανάλωσης των λεκιθικών αποθεμάτων κατά τη διάρκεια του αυτότροφου σταδίου, είναι σταθερός και αυξάνεται, ενώ ο όγκος του λεκιθικού σάκου μειώνεται με την πάροδο του χρόνου και την εξέλιξη του σταδίου και εξαρτάται από τη θερμοκρασία. Τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης συμφωνούν με τους Ronnestad et al (1994) όπου μελέτησαν είδη της οικογένειας Sparidae, καθώς και με τους Πυρένη και Τράκο (2011), οι οποίοι μελέτησαν το μυτάκι.

Στην παρούσα μελέτη, παρατηρήθηκε ότι τα λεκιθικά αποθέματα δεν εξαντλούνται πλήρως κατά το στάδιο μετάβασης από την ενδογενή στην εξωγενή θρέψη. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με εκείνα των Meijidae & Guerrero (2000) που μελέτησαν το *C. dimerus*, τους Πυρένη και Τράκο (2011), που μελέτησαν το μυτάκι και παρατήρησαν την ίδια ακριβώς συμπεριφορά των νυμφών κατά την μετάβαση από την ενδογενή στην εξωγενή θρέψη. Μέχρι την ώρα που η προνύμφη της κηχλιδοζέμπρας άρχισε να κολυμπά ελεύθερα, δηλαδή την 8η ημέρα από την ωοτοκία, τα σκελετικά και αισθητήρια συστήματα είχαν αναπτυχθεί επαρκώς επιτρέποντας την αναζήτηση της τροφής.

Το στάδιο της εκκόλαψης ξεκίνησε 72 με 76 ώρες μετά τη γονιμοποίηση για τις δυο θερμοκρασίες εκκόλαψης, ενώ η πρωτογενώς η αλλαγή που παρατηρήθηκε στη λεκιθοφόρα προνύμφη της κηχλιδοζέμπρας ήταν ο χρωματισμός των οφθαλμών όπου παρατηρήθηκε μετά από 4 ώρες. Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξαν και οι Meijidae & Guerrero (2000), για το είδος *C. dimerus*.

Αμέσως μετά την εμφάνιση της καρδιάς ξεκινά να διαμορφώνεται το πεπτικό σύστημα, το οποίο παρουσιάζει αδιαμόρφωτο και ευθυτενή γαστρικό σωλήνα που εκτείνεται μέχρι πίσω από το λεκιθικό σάκο, διακόπτοντας την πτερυγιοπτύχη, για να καταλήξει στην έδρα η οποία είναι κλειστή.

Η νέοεκκολαπτόμενη νύμφη του *A. nigrofasciatus*, δεν φέρει κανένα σχηματισμένο πτερύγιο, ενώ ο συνολικός αριθμός των μυομερών κυμάνθηκε από 20-22 με 12 έως 14 να βρίσκονται στο προεδρικό τμήμα του κορμού και στις δυο θερμοκρασίες εκκόλαψης.

Υψηλά ποσοστά επιβίωσης παρατηρήθηκαν στην υψηλότερη θερμοκρασία (27°C) σε σχέση με τη μικρότερη. Τα πτερύγια αναπτύσσονται πλήρως, οι σκελετικές δομές οστεοποιούνται βαθμιαία και τα λέπια αρχίζουν σταδιακά να καλύπτουν το σώμα από την 15<sup>η</sup> -20<sup>η</sup> ημέρα μετά την εκκόλαψη, όπου η μορφή σώματος και ο χρωματισμός ομοιάζει με των ενηλίκων ατόμων. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρούνται και στα είδη *Cichlasoma dimerus*, *Cichlasoma bimaculatum*,

*Cichlasoma biocellatum*, *Cichlasoma nigrofasciatum* και *Hemichromis bimaculatus*, τα οποία μελετήθηκαν από τους Meijidae & Guerrero (2000), και Jones (1972).

Οι μορφομετρικοί χαρακτήρες (ολικό μήκος, μήκος νωτοχορδής, ύψος σώματος, διάμετρος οφθαλμού, προεδρικό και μεταεδρικό μέκος) που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία, παρουσιάζουν μια τάση αύξησης σε σχέση με το χρόνο, ενώ σύμφωνα με τα αποτελέσματα φαίνεται να είναι ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία εκκόλαψης. Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξαν οι Πυρένης και Τράκος (2011) για το μυτάκι.

Σε ότι αφορά το σχετικό χρόνο (RTi) που συμβαίνουν τα διάφορα αναπτυξιακά γεγονότα είναι ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία, μιας και δεν παρουσιάζονται σημαντικές στατιστικές διαφορές, ενώ η ταχύτητα εξέλιξης των μορφολογικών αλλαγών επηρεάζεται από την ηλικία της νύμφης. Η παρούσα εργασία επιβεβαιώνει τα αποτελέσματα που βρέθηκαν και σε άλλα είδη ψαριών (Koumoundouros et al., 2001 ; Klimogianni et al., 2004 ; Πυρένης και Τράκος, 2011).



## 4.2 Συμπεράσματα

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν από την παρούσα εργασία είναι τα εξής:

1. Το πρότυπο της μορφολογικής ανάπτυξης των λεκιθοφόρων νυμφών της κηχλιδοζέμπρας *A.nigrofasciatus*, δεν διαφέρει από αυτό που παρουσιάζουν τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας Cichlidae.
2. Η κατανομή των μελανοφόρων της μεταεδρικής περιοχής καθώς και ο αριθμός των μυομερών της κηχλιδοζέμπρας αποτελεί ταξινομικό χαρακτήρα.
3. Η ανάπτυξη των μορφομετρικών χαρακτήρων φαίνεται να εξαρτάται από την ηλικία της νύμφης και είναι ανεξάρτητη από τη θερμοκρασία.
4. Ο σχετικός χρόνος  $R_{ti}$ , που σχηματίζονται τα διάφορα αναπτυξιακά γεγονότα είναι σταθερός ενώ διαφορές παρατηρούνται ανάμεσα στο χρόνο που συμβαίνουν τα διάφορα αναπτυξιακά γεγονότα.
5. Οι νύμφες της κηχλιδοζέμπρας μετά την εκκόλαψη φέρουν ευμεγέθη λεκιθικό σάκο, ελλειπτικού σχήματος στην πρόσθια και κοιλιακή περιοχή, μέσου διαμετρήματος κατά τον οριζόντιο άξονα  $1.72 \pm 0.05$  mm και  $1.37 \pm 0.03$  mm κατά τον κατακόρυφο άξονα. Ο λεκιθικός σάκος καταλαμβάνει περίπου το μισό του ολικού μήκους της νεοεκκολαπτόμενης νύμφης, ενώ περίπου κατά δύο φορές μεγαλύτερο ύψος από το σωματικό ύψος της νύμφης.
6. Η λέκιθος είναι ομογενής, χρώματος καφέ, αδιαφανής και καλύπτεται σε μεγάλο ποσοστό από μελανοφόρα κύτταρα, ενώ η σταγόνα λιπιδίου δεν είναι ευδιάκριτη λόγω της συνεκτικότητας και της χρωστικής ουσίας που παρουσιάζει ο λεκιθικός σάκος.
7. Η μείωση του όγκου του λεκιθικού σάκου φαίνεται να ακολουθεί εκθετικό πρότυπο εξέλιξης και στις δυο θερμοκρασίες εκκόλαψης, χωρίς να παρουσιάζει σημαντικές στατιστικές διαφορές. Ο όγκος του λεκιθικού σάκου κυμαίνεται από 1,67 έως 0,35 mm για τους 23°C και από 1,74 έως 0,15 mm, για τους 27°C. Τα θρεπτικά αποθέματα των νυμφών της κηχλιδοζέμπρας καταναλώνονται με διαφορετικό τρόπο και πιθανά πιο γρήγορα στην υψηλότερη θερμοκρασία σε σχέση με τη μικρότερη.
8. Το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο ολοκληρώνεται στους 23°C στις 76 έως 80 h μετά την εκκόλαψη, και στους 27°C, στις 72 έως 76 h μετά την εκκόλαψη. Τα λεκιθικά αποθέματα να απορροφούνται πλήρως στους 27° C, τις 105-110h και στις 120-130h στους 23° C.

## **Abstract**

In the present study the yolk sac stage development of the tropical convict cichlid, *Archocentrus nigrofasciatus*, under two different hatched temperatures (22°C & 27°C) respectively. The Yolk sac stage analysis, provide the possibility of identification on critical developmental stages, and the optimum temperature that the fish has better development. *Archocentrus nigrofasciatus* is a species with huge commercial value. The newly hatched larvae came from breeders that were kept in captivity.

The yolk-sac stage development of *Archocentrus nigrofasciatus* was studied in vivo So, every 4 hours for a duration of 100 hours (4 days) after hatching, a sample of 60 individuals (30 individuals from each tank) were analysed in the stereoscope. As a starting point of the Yolk-sac stage development was the time where the 50% of eggs hatched, and the end of stage identified as the point where the yolk sac was completely reabsorbed until 3 or 4 days. The results of this study showed that the total length (TL) in the Yolk-Sac stage development ranged from 3.73-5.78 mm and 4,16-5,19 mm at 27°C and 23°C, respectively and shows statistically significant difference with age (t-test ;  $p < 0.05$ ), and independent of the hatched temperature.

At the temperature of 27°C intense changes were observed in morphological pattern of juveniles occur by the age of 32 hours to 56 hours while the respectively in the temperature of 23°C occur by the age 56 hours to 72 hours. In conclusion, our results showed that the temperature conditions influence the real time that a developmental event takes place, while the progress of each stage (from the beginning until the end of each stage) is not influenced by the temperature.

**Key Words:** Yolk-sac stage, Ontogeny, *Archocentrus nigrofasciatus*.

## Βιβλιογραφικές Αναφορές

- Armstrong, P. B. & Child, J. S. (1965). Stages in the normal development of *Fundulus heteroclitus*. Biol. Bull. 128: 143-168.
- Azzayydi, M., Martinez, F.J., Zamora, S., Sanchez-Vazquez, F.J., Madrid, J.A. (1999). Effect of meal size modulation on growth performance and feeding rhythms, growth in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture, 170:253-266.
- Baerends, G. P. & Baerends van Roon, J. M. (1950). An introduction to the study of the ethology of cichlid fishes. Behaviour Suppl. 1: 1-242.
- Bahadir, K.S., Diller, I., Dulluc, A., Yigit, N.O and Bayrak, H. (2009). Effect of different feed types and feed conversion ratio of angelfish (*Pterophyllum scalare*, Lichtenstein, 1823). Journal of Applied Biological Science, 3:6-10.
- Ballard, W. W. (1973a). Normal embryonic stages for salmonid fishes based on *Salmo gairdneri* and *Salvelinus fontinalis*. J. exp. Zool. 184: 7-26.
- Ballard, W. W. (1973b). Morphogenetic movements in *Salmo gairdneri*. J. exp. Zool. 184: 27-48.
- Ballard, W. W. (1973c). A new fate map for *Salmo gairdneri*. J. exp. Zool. 184: 49-73.
- Ballard, W. W. (1981). Morphogenetic movements and fate maps of vertebrates. Am. Zool. 21: 391-399.
- Balon, E. K. (1960). Embryonic development of *Cichlasoma nigrofasciatum* (Gunther). Vest. Cesk. Spolecnosti Zool. 24: 199-214
- Balon, E. K. (1975). Reproductive guilds of fishes: a proposal and definition. J. Fish Res. Board Can. 32: 821-864.
- Balon, E. K. (1977). Early ontogeny of *Labeotropheus* Ahl, 1927 (Mbuna, Cichlidae, Lake Malawi), with a discussion on advanced protective styles in fish reproduction and development. Environ. Biol. Fish. 2: 147-176.
- Barley, A., Coleman, M.R. (2010). Habitat structure directly affects aggression in convict cichlids *Archocentrus nigrofasciatus*. Current Zoology, 56 (1):52-56.
- Barlow, G. W. (1991). Mating systems among cichlid fishes. In Cichlid fishes: behaviour, ecology and evolution: 173-190. Keenleyside, M. H. A. (Ed.). London: Chapman & Hall.
- Bernstein, J.W. (1980). Parental care in the Cichlid fish *Cichlasoma nigrofasciatum*, Copeia, 80:682-686.
- Blaxter, J.H.S. and G.Hempel, (1963). The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus*). ICES J. Mar Sei., 28: 211-240.
- Cabrera, J., Murillo, R. & Mora, M. (1988). Desarrollo embrionario, larval y del alevin de *Cichlasoma dovii* (Gunther, 1864) (Pisces: Cichlidae). Rev. Biol. Trop. 36: 417-422.
- Contreras, T. & Diaz, E. (1990). Primeros estadios ontogeneticos de *Cichlasoma istlanum* (Pisces: Cichlidae). An. Esc. Nac. Cienc. Biol. Mex. 33: 85-101.
- Divanach, P., (1985). Contribution de la biologie et de l' élevage de 6 sparides mediterranees: *Sparus aurata*, *Diplodus sargus*, *Diplodus vulgaris*, *Diplodus annularis*, *Lithognathus mormyrus*, *Puntazzo puntazzo*, (poissons teleosteens). PhD. Thesis, Universite des Scinces et Techniques, Languedoc.
- Fryer, G. & Iles, T. D. (1972). The cichlid fishes of the great lakes of Africa: their biology and evolution. Neptune City, NJ: T. F. H. Publications.

- Galman, O. R. & Avtalion, R. R. (1989). Further study of the embryonic development of *Oreochromis niloticus* (Cichlidae, Teleostei) using scanning electron microscopy. *J. Fish Biol.* 34: 653-664.
- Holden, K. K. & Bruton, M. N. (1992). A life-history approach to the early ontogeny of the Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* (Pisces, Cichlidae). *S. Afr. J. Zool.* 27: 173-191.
- Holden, K. K. & Bruton, M. N. (1994). The early ontogeny of the southern mouthbrooder, *Pseudocrenilabrus philander* (Pisces, Cichlidae). *Environ. Biol. Fish.* 41: 311-329.
- Jones, A. J. (1972). The early development of substrate-brooding cichlids (Teleostei: Cichlidae) with a discussion of a new system of staging. *J. Morphol.* 136: 255-272.
- Kendall A.W., Ahistrom F. H., Moser H. G., 1984. Early life history stages of fishes and their characters. In: *Ontogeny and systematics of fish* (Moser HG, Richards WJ, Cohen DM, Fahey MP, Kendall AW, Richardson SL, eds), pp. 11-22. Spec. Publ, No1, American society of Ichthyologists and Herpetologists Allen Press, Lawrence.
- Kimmel, C. B., Ballard, W. W., Kimmel, S. R., Ullmann, B. & Schilling, T. F. (1995). Stages of embryonic development of the Zebrafish. *Dev. Dynam.* 203: 253-310.
- Klimogianni, A., G. Koumoundouros, P. Kaspiris and M.Kentouri.,(2004). Effect of temperature on the egg and yolk-sac larval development of common pandora *Pagellus erythrinus*. *Mar. Biol.*, 145: 1015-1022.
- Kuwamura, T. & Mihigo, N. K. (1988). Early ontogeny of a substrate-brooding cichlid, *Boulengerochromis microlepis*, compared with mouthbrooding species in Lake Tanganyika. *Physiol. Ecol. Jpn* 25: 19-25.
- Lavery, R. J. and Keenleyside, M. H. A. (1990). Parental investment of a biparental cichlid fish, *Cichlasoma nigrofasciatum*, in relation to brood size and past investment. *Animal Behaviour*, 40: 128–1137.
- Lehtonen, K.T and Lindstrom, K.,(2008). Density dependent sexual selection in the monogamous fish *Archocentrus nigrofasciatus*. *Oikos*, 117:867-874.
- Marangos, C., (1995). Larviculture of the Sheepshead Seabream, *Puntazzo puntazzo* (Pisces Sparidae) CIHEAM, Zaragoza, Spain, pp 41-46
- Martinez, G. & Murillo, R. (1987). Desarrollo larval de *Cichlasoma nigrofasciatum* (Gunther, 1868) (Pisces: Cichlidae) en cultivos de laboratorio. *Rev. Biol. Trop.* 35: 113-119.
- Mejjidae, J.F., and Guerrero, A.G. (2000). Embryonic and larval development of a substrate-brooding cichlid *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840) under laboratory conditions. *Journal Zoology London*, 252:481-493.
- Nelson, J. S. (1994). *Fishes of the world*. 3rd edn. New York: Wiley.
- Rathasabapathi, D., ; Burns, J and Soucek, R. (1992). Effects of temperature and prior residence on the territorial Aggression in the convict cichlid *Cichlasoma nigrofasciatum*. *Aggressive behavior*, 18 (5): 365-372.
- Robert, J.L., and Keenleyside, H.M. (1990). Parental investment of a biparental cichlid fish *Cichlasoma nigrofashiatum*, in reation to brood size and Past investment. *Animal Behaviour*. 40:1128-1137.
- Rogers,W.,(1995). Female choice predicts the best father in a biparental fish, the Midas cichlid (*Cichlasoma citrinellum*). *Ethol.*, 100: 230-241.
- Spotte, S.(1992). *Captive Seawater Fishes.*, John Wiley and sons, New York, 942pp.

- Townshead, J.T and Wootton, J.R.(1984). Effects of food supply on the reproduction of the convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum*. J.Fish.Biol., 24:91-104.
- Trinkaus, J. P. (1984). Mechanism of *Fundulus* epiboly: A current view. Am. Zool. 24: 673-688.
- Trinkaus, J. P. (1992). The midblastula transition, the YSL transition and the onset of gastrulation in *Fundulus*. Development (Suppl.): 75-80.
- Warga, R. M. & Kimmel, C. B. (1990). Cell movements during epiboly and gastrulation in zebrafish. Development 108: 569-580.
- Wootton, R. J. (1979). Energy costs of egg production and environmental determinants of fecundity in teleost fishes. Symp. zool. SOC. Lond. 44: 133-159.
- Yamamoto, M.N. and Tagawa, W. A. (2000). Hawai'i's native and exotic freshwater animals. Mutual Publishing, Honolulu, Hawaii. 200 p.
- Yanong, P.E.R. (1996). Reproductive management of fresh water ornamental fish. Seminars in Avian and exotic pet Medicine, 5 (4):222-235.
- Zapata, A., B. Diez, T. Cejalvo, C. Gutierrez. de fri – as and A. Corts, 2006. Ontogeny of the immune system of fish. Fish. Shellfish Immunol, 20: 126-136.
- Zar, J.H. (1999). Biostatistical analysis. Prentice- Hall International Editions, London, U.K.

### **Ελληνική Βιβλιογραφία**

- Βλάχος, Ν. (2008). Καλλιέργειες Διακοσμητικών ψαριών, Εκπαιδευτικές Σημειώσεις, Τμήμα Υδατοκαλλιεργειών & Αλιευτικής Διαχείρισης. Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου, εκδόσεις Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου., σς 325.
- Βλάχος, Ν.(2004). Εργαστηριακές Σημειώσεις ενυδρείων. Εκπαιδευτικές Σημειώσεις, Τμήμα Υδατοκαλλιεργειών & Αλιευτικής Διαχείρισης. Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου, εκδόσεις Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου., σς 85.
- Κλημογιάννη Α., (2004). Μελέτη της οντογένεσης του λιθρινιού (*Pagellus erythrinus* L. 1758) και η επίδραση της θερμοκρασίας στα επιμέρους αναπτυξιακά στάδια σε συνθήκες εντατικής εκτροφής. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών.
- Κλημογιάννη Α., (2006). Εργαστηριακές σημειώσεις Ιχθυογεννητικών σταθμών. ΤΕΙ Μεσολογγίου, τμήμα Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης.
- Παπουτσόγλου, Σ.Ε.(2008). Διατροφή Ιχθύων, εκδόσεις Αθ.Σταμούλης, Αθήνα.
- Ρέμμας, Δ., & Τσιρίνης, Σ. (2011). Διαχείριση μιας τυπικής καλλιέργειας Διακοσμητικών ψαριών γλυκού και αλμυρού νερού σε ενυδρεία. Πτυχιακή εργασία, σς.125.