



## ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

### ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

### ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ

#### ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΣΠΟΥΔΩΝ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΕ ΣΥΜΠΡΑΞΗ ΜΕ ΤΑ ΤΕΙ ΗΠΕΙΡΟΥ

**"Η χρήση των υποφύσεων της πεταλούδας (*Carassius gibelio*, Bloch 1783) στην τεχνητή αναπαραγωγή του κοινού κυπρίνου (*Cyprinus carpio*, L. 1758)"**

**Ευαγγελία Κωστή**

#### ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- 1.Περδικάρης Κωνσταντίνος**, Επόπτης, Ιχθυολόγος Εποπτείας Αλιείας Θεσπρωτίας
- 2.Αθανασοπούλου Φωτεινή**, Καθηγήτρια, Επιβλέπουσα Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας, Ιχθυολογίας & Υδατοκαλλιεργειών, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 3. Πάσχος Ιωάννης**, Καθηγητής, Εργαστήριο Υδατοκαλλιεργειών & Εσωτερικών Υδάτων. ΤΕΙ Ηπείρου.

**Καρδίτσα 2008**



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ**  
**ΣΠΟΥΔΩΝ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΕ ΣΥΜΠΡΑΞΗ**  
**ΜΕ ΤΑ ΤΕΙ ΗΠΕΙΡΟΥ**

**"Η χρήση των υποφύσεων της πεταλούδας (*Carassius gibelio*, Bloch 1783) στην τεχνητή αναπαραγωγή του κοινού κυπρίνου (*Cyprinus carpio*, L. 1758)"**

**Ευαγγελία Κωστή**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

- 1.Περδικάρης Κωνσταντίνος**, Επόπτης, Ιχθυολόγος Εποπτείας Αλιείας Θεσπρωτίας
- 2.Αθανασοπούλου Φωτεινή**, Καθηγήτρια, Επιβλέπουσα Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας, Ιχθυολογίας & Υδατοκαλλιεργειών, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 3. Πάσχος Ιωάννης**, Καθηγητής, Εργαστήριο Υδατοκαλλιεργειών & Εσωτερικών Υδάτων, ΤΕΙ Ηπείρου.

**Καρδίτσα 2008**



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ  
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 7536/1

Ημερ. Εισ.: 10-09-2009

Δωρεά: \_\_\_\_\_

Ταξιθετικός Κωδικός: Δ

639.374 83

ΚΩΣ



**UNIVERSITY OF THESSALY**  
**SCHOOL OF HEALTH SCIENCES**  
**FACULTY OF VETERINARY MEDICINE**

**MSc DISSERTATION SUBMITTED TO THE UNIVERSITY OF THESSALY,  
IN PART FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS OF THE MSc  
POSTGRADUATE COURSE OF DEPARTMENT OF VETERINARY  
SCIENCES AND THE TECHNOLOGICAL EDUCATIONAL INSTITUTE  
(T.E.I.) OF EPIRUS.**

**"The use of gibel carp (*Carassius gibelio*, Bloch 1783) pituitaries for  
artificial propagation of common carp (*Cyprinus carpio*, L. 1758)"**

**Evangelia Kosti**

**THREE-MEMBER ADVISORY COMMITTEE**

- 1. Costas Perdikaris, Supervisor, Ichthyologist Prefecture of Thesprotia**
- 2. Fotini Athanassopoulou, Assoc. Professor**  
Laboratory of Aquaculture and Fish Diseases, Department of Veterinary, University of Thessaly
- 3. Giannis Paschos, Professor, Supervisor**  
Freshwater Aquaculture Laboratory, Department of Aquaculture & Fisheries,  
Technological Educational Institute of Epir

**Karditsa, Greece, 2008**

**Στην Ευτυχία,**

**τη μάνα της ζωής μου**

**Στο Γιώργο,**

**σύντροφο και συνοδοιπόρο**

**Στον γιο μου Κώστα,**

**το μέλλον μου**

## Ευχαριστίες

Θα ήθελα κατ'αρχήν να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες, στην κ. Αθανασοπούλου Φωτεινή και στον κ. Πάσχο Ιωάννη, διοργανωτές του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών “ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ-ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ”, γιατί μου έδωσαν την ευκαιρία να ξαναγίνω φοιτήτρια.

Επίσης υπήρξε για μένα ιδιαίτερα σημαντική η βοήθεια του προσωπικού της Δ.Ε.Λ.Ι. και συγκεκριμένα, του κ. Χαντζαρόπουλου Αθανασίου, του κ. Χαρατσιάρη Αναστασίου και του φοιτητή του Τμήματος Ιχθυοκομίας, κ. Βαβάτσικου Μάριου.

Οφείλω ευχαριστίες στους συναδέλφους μου, στο Πειραματικό Κυπρινοτροφείο Χελοτροφείο Άρτας, κ. Βάσιου Αδαμαντία, κ. Ζαρκάδα Αλεξία, κ. Θεοδωρή Νικόλαο, κ. Νταβρή Γεώργιο και κ. Τσότσιο Δημήτριο, που με στήριξαν σε όλη την πορεία της πειραματικής διαδικασίας.

Τέλος ευχαριστώ ολόψυχα τον κ. Περδικάρη Κωνσταντίνο, Υπεύθυνο Καθηγητή, γιατί στάθηκε δίπλα μου σ'αυτή τη διαδρομή. Η ευγένιά του, οι πολύτιμες και εύστοχες επιστημονικές επισημάνσεις του, με βοήθησαν να ανταπεξέλθω με σταθερότητα και θετική διάθεση, στην ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο κοινός κυτρίνος (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) είναι το πλέον διαδομένο είδος ψαριού παγκοσμίως στα εσωτερικά νερά και η παραγωγή του στις ιχθυοκαλλιέργειες στηρίζεται σε σημαντικό βαθμό σε ελεγχόμενη παραγωγή γόνου με χρήση αναπαραγωγικών ορμονών. Αντίθετα, η πεταλούδα (*Carassius gibelio* Bloch, 1783), θεωρείται παρασιτικό και ανταγωνιστικό είδος έναντι άλλων αυτόχθονων ειδών, λόγω της ικανότητας επιβίωσης σε ακραία περιβάλλοντα και του ιδιαίτερου διττού τρόπου αναπαραγωγής (γονοχωριστικός - γυνογενετικός).

Η στενή ταξινομική εγγύτητα των δύο ειδών, καθώς και η πρόσφατα αποδεδειγμένη παρουσία της ομόλογης ορμόνης cLH σε ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα στις υποφύσεις της πεταλούδας, αποτέλεσε το έναυσμα για την αξιολόγηση της δυνατότητας χρήσης ξηρών υποφύσεων της πεταλούδας στην τεχνητή αναπαραγωγή του κοινού κυτρίνου, σε συνθήκες εκκολαπτηρίου.

Μετά την αλιεία πεταλούδων στη Λίμνη Παμβώτιδα, την λήψη και επεξεργασία των υποφύσεων, ακολούθησε η χορήγηση ενέσιμου διαλύματος υποφύσεων στην πειραματική ομάδα θηλυκών γεννητόρων κοινού κυτρίνου στο εκκολαπτήριο του Κρατικού Κυπρινοτροφείου – Χελοτροφείου στο Ψαθοτόπι Άρτας.

Το ποσοστό ωοτοκίας ανήλθε στο 60%, η συνολική ποσότητα των ωαρίων που συλλέχθηκαν ήταν 430 g, η συνολική σχετική γονιμότητα ήταν 24,43 g (39,7 g επί των ωοτοκούντων), ενώ το ποσοστό εκκολαψιμότητας ανήλθε στο 36,66%, χωρίς να παρατηρηθούν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με τους μάρτυρες.

Συμπερασματικά, η χρήση των υποφύσεων πεταλούδας στην τεχνητή αναπαραγωγή του κοινού κυτρίνου αποδείχθηκε εξίσου αποτελεσματική με τις υποφύσεις κοινού κυτρίνου, μειώνοντας το λειτουργικό κόστος του εκκολαπτηρίου και αξιοποιώντας έναν φυσικό πόρο που παρέμενε μέχρι σήμερα ανεκμετάλλευτος.



## ABSTRACT

Common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) is the most widespread fish species in the freshwaters worldwide and aquaculture production is greatly based on artificial insemination using reproductive hormones. In the contrary, gibel carp (*Carassius gibelio* Bloch, 1783) is considered as pest and antagonistic species against other indigenous freshwater fish species. This is mainly due to its' ability to survive in extreme environmental conditions and also due to the unique dual mode of reproduction (gonochoristic – gynogenetic).

Close taxonomic proximity between the above species and the recently documented presence in high levels of the homologous cLH hormone in gibel carp pituitaries, was the principal argument to evaluate the use of dry gibel carp pituitaries in the artificial reproduction of common carp under commercial hatchery conditions.

Gibel carps were fished in Lake Pamvotis and pituitaries were extracted and processed. Accordingly, the pituitary liquid extract was injected in female common carps consisting the experimental group in the hatchery of State Carp and Eel Fishfarm in Psathotopi, Arta (NW Greece).

Spawning success was 60%, total egg yield was 430 g, total mean fecundity was 24,43 g (39,7 g based on fertile broodstock) and hatching percentage reached 36,66%. Statistically, all the above performance values were not significantly different compared to the controls.

In conclusion, taking advantage of a natural resource practically unexploited, the use of gibel carp pituitaries in the artificial insemination of

common carp was proved to be equally effective to common carp pituitaries, contributing to lower running costs in the hatchery.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>0</sup>

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....                                                        | 1  |
| 1.1 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΚΟΙΝΟΥ ΚΥΠΡΙΝΟΥ.....                      | 1  |
| 1.2 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΠΕΤΑΛΟΥΔΑΣ.....                           | 8  |
| 1.3 ΥΠΟΦΥΣΕΙΣ ΚΑΙ ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΠΙΝΗ-<br>ΤΡΟΠΟΙ ΟΡΜΟΝΙΚΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ..... | 13 |
| 1.4 ΤΕΧΝΗΤΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΤΟΝ ΚΟΙΝΟ ΚΥΠΡΙΝΟ.....                      | 18 |
| 1.5 ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....                                        | 24 |

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>0</sup>

|                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....                                                                               | 26 |
| 2.1 ΑΛΙΕΙΑ-ΕΠΙΛΟΓΗ ΓΕΝΝΗΤΟΡΩΝ.....                                                                   | 26 |
| 2.2 ΠΕΡΙΟΧΗ ΑΛΙΕΙΑΣ-ΤΡΟΠΟΣ ΑΛΙΕΙΑΣ ΠΕΤΑΛΟΥΔΑΣ.....                                                   | 27 |
| 2.3 ΛΗΨΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΥΠΟΦΥΣΕΩΝ.....                                                             | 28 |
| 2.4 ΙΧΘΥΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΣ ΣΤΑΘΜΟΣ-<br>ΤΕΧΝΗΤΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ & ΧΟΡΗΓΗΣΗ<br>ΕΝΕΣΙΜΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΥΠΟΦΥΣΕΩΝ..... | 29 |
| 2.5 ΕΠΩΑΣΗ- ΕΚΚΟΛΑΨΗ- ΠΡΩΤΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ.....                                                            | 33 |
| 2.6 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....                                                                      | 34 |

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>0</sup>

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....                                                                 | 36 |
| 3.1 ΑΛΙΕΙΑ ΠΕΤΑΛΟΥΔΩΝ- ΣΥΛΛΟΓΗ<br>ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΠΟΦΥΣΕΩΝ.....                  | 36 |
| 3.2 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΣΤΙΣ ΧΩΜΑΤΙΝΕΣ<br>ΔΕΞΑΜΕΝΕΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΓΕΝΝΗΤΟΡΩΝ..... | 36 |

|                                                 |    |
|-------------------------------------------------|----|
| 3.3 ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΕΝΕΣΙΜΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΥΠΟΦΥΣΕΩΝ..... | 39 |
| 3.4 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΕΝΝΗΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ.....          | 40 |
| 3.5 ΕΠΩΑΣΗ –ΕΚΚΟΛΑΨΙΜΟΤΗΤΑ.....                 | 43 |

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>0</sup>**

|               |    |
|---------------|----|
| ΣΥΖΗΤΗΣΗ..... | 46 |
|---------------|----|

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>0</sup>**

|                   |    |
|-------------------|----|
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ..... | 52 |
|-------------------|----|

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΚΟΙΝΟΥ ΚΥΠΡΙΝΟΥ

- **Συστηματική κατάταξη**

**Κλάση:** Actinopterygii

**Τάξη:** Cypriniformes

**Οικογένεια:** Cyprinidae

**Γένος:** Cyprinus

**Είδος:** *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758)

**Κοινό όνομα:** κυπρίνος, σαζάνι, γριβάδι, κάρπα, τσάφα, καρλιώτικο, μμποτσικάρι, γκοτζάρι, τσουκάνι.

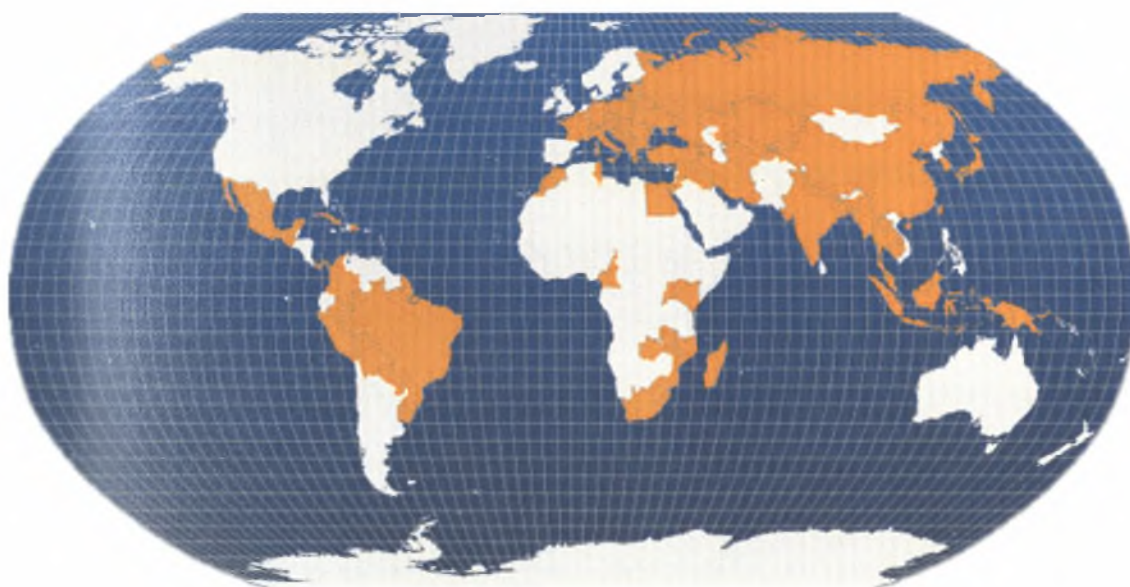
- **Ιστορία - Γεωγραφική κατανομή**

Το όνομα κυπρίνος (kyprinos) είναι ελληνικό και χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Αριστοτέλη (384–322 π.Χ.). Πιθανόν προέρχεται από την λέξη "kypris" η οποία αποτελούσε το δεύτερο όνομα της θεάς Αφροδίτης και υποδήλωνε την γονιμότητα και τον θόρυβο της αναπαραγωγής (Πάσχος, 2004).

Ο πρόγονος του κοινού κυπρίνου, σύμφωνα με όλες τις πληροφορίες, εντοπίζεται στην Κασπία Θάλασσα ο οποίος στην συνέχεια εξαπλώθηκε προς την Μαύρη Θάλασσα, τον ποταμό Δούναβη και σε όλες τις περιοχές της Ευρώπης. Παράλληλη πορεία ακολούθησε και η εξάπλωση του κυπρίνου στην Ασία από την Κίνα προς όλες τις περιοχές της Ασιατικής ηπείρου και αργότερα προς την Αυστραλία, Αμερική και Αφρική. Ο κυπρίνος στη χώρα μας, μάλλον προέρχεται από τον Ευρωπαϊκό πρόγονο της Κασπίας Θάλασσας και κανείς δεν μπορεί με σιγουριά

να βεβαιώσει ότι η "άγρια" μορφή στον Ελληνικό χώρο (κυρίως στη Μακεδονία) προέκυψε από φυσική διασπορά ή εισαγωγή του είδους, ήδη από τους αρχαίους χρόνους (Economidis & Banarescu, 1991).

Η προσαρμογή του ήταν επιτυχημένη σε όλες σχεδόν τις λίμνες και συνέβαλε ουσιαστικά στη "σταθεροποίηση" των οικοσυστημάτων και στη διατροφή του πληθυσμού (Economidis *et al.*, 2000). Σήμερα ο κυπρίνος είναι το περισσότερο διαδεδομένο ψάρι στον κόσμο (Εικόνα 1), καθώς έχει εισαχθεί σε περισσότερες από 81 χώρες και αποτελεί αλιευτικό στόχο στα φυσικά και τεχνητά υδάτινα οικοσυστήματα και κυρίαρχο εμπορικό είδος στις ιχθυοκαλλιέργειες (FAO, 2006).



**Εικ. 1 Κύριες χώρες εκτροφής κοινού κυπρίνου (FAO, Fishery Statistics, 2006)**

- **Μορφολογία- Φυσιολογία**

Η "άγρια" μορφή του κοινού κυπρίνου περιγράφεται ως ένα ψάρι εύρωστο, μακρόστενο σε σχήμα "οβίδας" με μεγάλα λέπια και χρώμα κίτρινο–καφέ. Πρόσφατες έρευνες κατέληξαν σε δύο υποείδη: το Ευρωπαϊκό (*Cyprinus carpio carpio*) και το Ασιατικό υποείδος (*Cyprinus carpio haematopterus*) με κύρια μορφολογική διαφορά

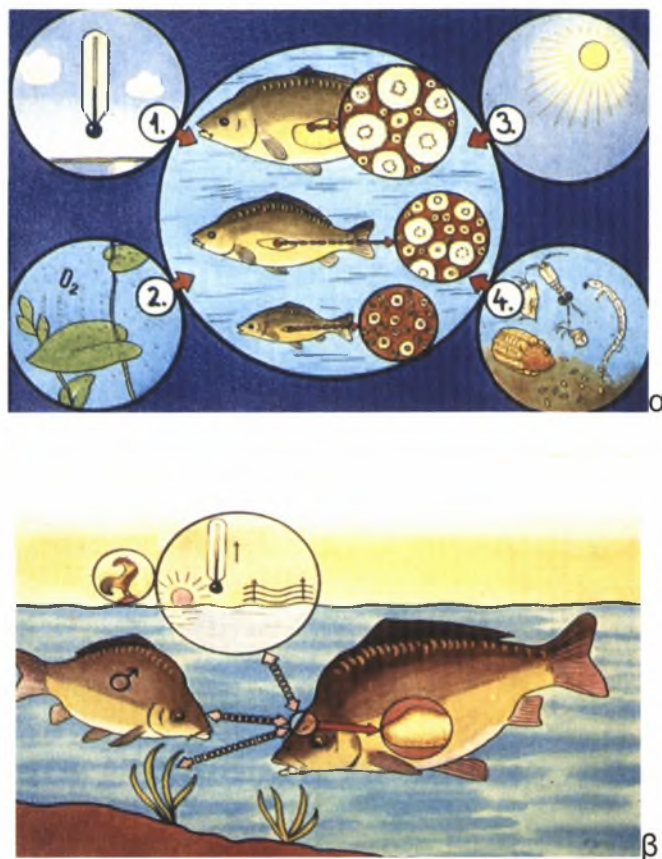
στις βραγχιακές άκανθες (Πάσχος, 2004). Πληθυσμοί του Ασιατικού υποείδους μπορούν να υποδιαιρεθούν περαιτέρω, σε αυτούς της Κεντρικής Ασίας και σε αυτούς του Ανατολικού - Νοτιοανατολικού άκρου (Kohlmann *et al.*, 2003; Flajšhans & Hulata, 2006). Αξιόλογες διαφορές των ``πλαστικών`` χαρακτηριστικών, εντοπίζονται μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ατόμων, με τα αρσενικά να έχουν μεγαλύτερο μήκος κεφαλής, μικρότερο ύψος σώματος και ελαφρά μεγαλύτερους μύστακες και μήκος πτερυγίων (Πάσχος, 2004).

Ο κοινός κυπρίνος είναι ένα ιδιαίτερα προσαρμοστικό είδος, σε ένα ευρύ οικολογικό φάσμα και απαντάται σε ήρεμα αλλά και τρεχούμενα νερά, ψυχρών, εύκρατων και τροπικών ζωνών (FAO, 1985). Παρουσιάζει μεγάλη αντοχή σε χαμηλές θερμοκρασίες, με βέλτιστη ανάπτυξη σε θερμοκρασία νερού 23-30 °C. Μπορεί να ανεχθεί επίπεδα αλατότητας ως 5 ‰ και το βέλτιστο εύρος του pH κυμαίνεται μεταξύ 6.5 - 9.0. Ο κοινός κυπρίνος μπορεί να επιζήσει σε υποξικές συνθήκες (0.3 - 0.5 mg l<sup>-1</sup>), καθώς επίσης και σε συνθήκες υπερκορεσμού σε οξυγόνο (Flajšhans & Hulata, 2006). Είναι παμφάγο είδος, με προτίμηση στην κατανάλωση βενθικών οργανισμών (προνύμφες εντόμων, σκουλήκια, μαλάκια) και προκαλεί υψηλή θολότητα του νερού. Οι λίμνες στην Ευρώπη που αποτελούν τους σημαντικότερους βιότοπους του κοινού κυπρίνου είναι ρηχές, εύτροφες με λασπώδη βυθό και πυκνή υδρόβια και υδροχαρή βλάστηση στις όχθες (Flajšhans & Hulata, 2006).

Η φυσική ωοτοκία του κοινού κυπρίνου επηρεάζεται από δύο διαφορετικούς τύπους περιβαλλοντικών παραγόντων : τους βασικούς παράγοντες (θερμοκρασία νερού, φωτοπερίοδος, διαλυμένο οξυγόνο, διατροφή) και τους διεγερτικούς παράγοντες (συγκεκριμένες καιρικές συνθήκες - βροχοπτώσεις, πλημμύρες, η παρουσία του αντίθετου φύλου και το υπόστρωμα που αποτελείται από υδρόβια βλάστηση) (Εικόνα 2α,β) (Horvath, 1985). Κατά τη διάρκεια του τελικού σταδίου



γεννητικής ωριμότητας τα ωάρια παραμένουν στις γονάδες σε αδρανές στάδιο μέχρι να υπάρξουν τις κατάλληλες συνθήκες (Horvath, 1985; Nathanael & Edirisinghe, 2001).



**Εικ. 2 α) Παράγοντες που επιδρούν στην γεννητική ωριμότητα του κοινού κυπρίνου και β) Παράγοντες που επιδρούν στην απελευθέρωση των γεννητικών προϊόντων (Wolstad)**

Η γεννητική ωριμότητα του κοινού κυπρίνου, εξαρτάται κυρίως από τη διάρκεια έκθεσής του σε υψηλές θερμοκρασίες ( $> 18^{\circ}\text{C}$ ) (Horvath, 1986), αλλά εν μέρη επηρεάζεται και από την φωτοπερίοδο (Davies *et al.*, 1986; Bromage, 1995). Η ηλικία πρώτης ωριμότητας του κοινού κυπρίνου είναι στενά συνδεδεμένη με τις κλιματολογικές συνθήκες της εποχής (Horvath 1986; Bromage, 1995). Έτσι σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές, αυτή παρατηρείται κατά το πρώτο έτος και μπορεί να ωοτοκήσει αρκετές φορές μέσα στο χρόνο, ενώ σε εύκρατες περιοχές η



ωριμότητα ξεκινά συνήθως μεταξύ 3<sup>ου</sup> έως 4<sup>ου</sup> έτους, με την ωτοκία να παρατηρείται, μόνο μία φορά το χρόνο κατά τη διάρκεια της άνοιξης (Nathanael & Edirisinghe, 2001). Η ωτοκία του κοινού κυπρίνου στην Ευρώπη αρχίζει, όταν η θερμοκρασία του νερού σταθεροποιηθεί στους 17-18°C. Τα θηλυκά απελευθερώνουν 100 έως 230 g ωαρίων ανά kg γεννήτορα και αμέσως μετά την επαφή τους με το νερό γίνονται κολλώδη και διογκώνονται κατά 3-4 φορές προσροφώντας νερό (Flajšhans & Hulata, 2006). Τρεις ημέρες μετά την εκκόλαψη, οι προνύμφες κολυμπούν και μπορούν να καταναλώσουν τροφή με μέγεθος 150 - 180 μm (Peteri, 2006).

Η απλούστερη μέθοδος αναπαραγωγής, είναι η τοποθέτηση των ώριμων γεννητόρων σε μια αναλογία 2 αρσενικά : 1 θηλυκό, σε χωμάτινες δεξαμενές, με αβαθή πρηνή και υδρόβια βλάστηση, που χρησιμεύει ως υπόστρωμα για τα ωάρια. Η πιο γνωστή δεξαμενή τέτοιου τύπου είναι η “Dubish” που πήρε το όνομα του Δανού σχεδιαστή της. Οι γεννήτορες απομακρύνονται από την δεξαμενή αμέσως μετά την απελευθέρωση των γεννητικών προϊόντων (Πάσχος, 2004). Το μεγαλύτερο ποσοστό του παραγόμενου γόνου, στηρίζεται στην τεχνητή αναπαραγωγή και σε τεχνικές εκκολαπτηρίου (Drori *et al.*, 1994).

- **Γενετικά στοιχεία – Ποικιλίες του είδους**

Η γενετική σύνθεση των “άγριων” πληθυσμών, δεν είναι επαρκώς κατανοητή. Οι περισσότερες φυλο-γεωγραφικές και γενετικές μελέτες πληθυσμών έγιναν σε εκτρεφόμενους πληθυσμούς και εξέτασαν τις διαφορές μεταξύ των δύο υποειδών, τη γενετική ποικιλότητα μέσα και μεταξύ των πληθυσμών και τη γενετική απόσταση μεταξύ τους (Flajšhans & Hulata, 2006). Ο συνήθης αριθμός χρωμοσωμάτων είναι  $2n = 100 - 104$ , με κυρίαρχη τιμή το  $2n = 104$ . Διακρίνονται σε

16 - 20 μετακεντρικά, 20 - 40 υπομετακεντρικά και 44 - 59 ακροκεντρικά χρωμοσώματα. Το τυπικό καρυοτυπικό πρότυπο αποτελείται από 18 μετακεντρικά, 32 υπομετακεντρικά και 54 ακροκεντρικά χρωμοσώματα (Πάσχος, 2004).

Ο κυπρίνος εμφανίζει συνήθως τέσσερις ποικιλίες: τη λεπιδωτή\_ποικιλία με λέπια διασκορπισμένα σε όλο το σώμα, την καθρεπτοειδή\_ποικιλία με λέπια μεγάλα και ακανόνιστα, τη γραμμική\_ποικιλία με μικρά λέπια στην ράχη και κατά μήκος της πλευρικής γραμμής και την γυμνή ποικιλία. Τα φαινοτυπικά αυτά πρότυπα προκύπτουν από τη δράση δύο αυτοσωμικών γονιδίων S και N, καθώς και άλλες "ενδιάμεσες ποικιλίες" (Πάσχος, 2004). Έχει μελετηθεί η πλειοτροπική δράση αυτών και άλλων γονιδίων στον κυπρίνο που σχετίζονται με διάφορα ποσοτικά χαρακτηριστικά όπως τον ρυθμός αύξησης, την επιβίωση, την ανθεκτικότητα στις ασθένειες και την αντοχή σε απουσία οξυγόνου (Τριανταφυλλίδης, 2006).

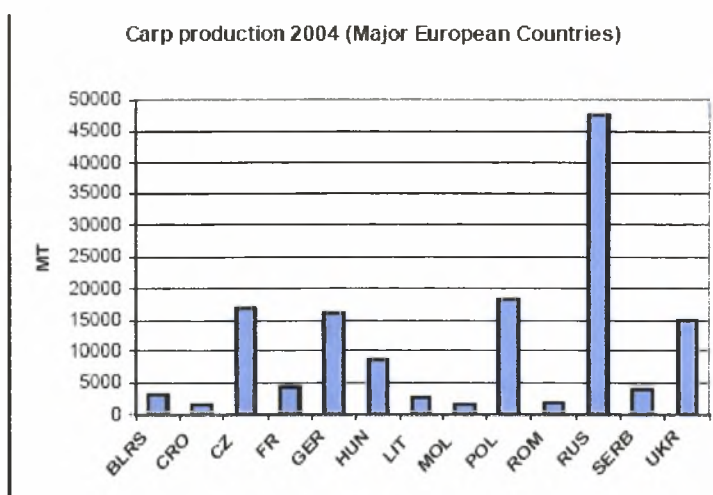
Ο κοινός κυπρίνος, έχει υποβληθεί σε διάφορους χρωμοσωμικούς χειρισμούς, όπως μειωτική ή μιτωτική γυνογένεση, ανδρογένεση, ορμονική πρόκληση αναστροφής φύλου σε γυνογενετικούς απογόνους για την παραγωγή αρσενικών απογόνων γενοτύπου XX, οι οποίοι σε μια επόμενη διασταύρωση με κανονικά θηλυκά οδηγεί σε ολοθηλυκό πληθυσμό (Gomelsky, 2003). Η τεχνική της μεταφοράς του γονιδίου της αυξητικής ορμόνης, αρχικά από τον άνθρωπο, και εν συνεχεία από τον χορτοφάγο κυπρίνο (*Ctenopharyngodon idella* Valenciennes, 1844), στο γονιδίωμα του κοινού κυπρίνου, εφαρμόστηκε στην Κίνα, για τη δημιουργία διαγενετικών ψαριών με υψηλό ρυθμό αύξησης και αποδοτικότερο ρυθμό μετατρεψιμότητας της τροφής (Wu *et al.*, 2003; Flajšhans & Hulata, 2006).

- **Τεχνικές εκτροφής – Στοιχεία παραγωγής**

Ο κοινός κυπρίνος μπορεί να εκτραφεί εντατικά ως το εμπορεύσιμο μέγεθος, με χορήγηση συνθετικής τροφής σε ιχθυοκλωβούς, χωμάτινες δεξαμενές ή κλειστά

κυκλώματα), ή ημιεντατικά (σε μονοκαλλιέργεια ή πολυκαλλιέργεια με άλλα είδη όπως κυπρινοειδή, τιλάπια, κέφαλος) με στόχο, την υψηλότερη παραγωγή, με το μικρότερο δυνατό κόστος (Flajšhans & Hulata, 2006). Για την εκτροφή του κοινού κυπρίνου έχουν αναπτυχθεί πολλές και ενδιαφέρουσες τεχνικές, σε χωμάτινες δεξαμενές που συνήθως περιλαμβάνουν δύο στάδια εκτροφής, μετά τον πρώτο μήνα διατροφής των προνυμφών. Το πρώτο στάδιο, διαρκεί 3-4 μήνες, με αρχική ιχθυοπυκνότητα 10.000 ατόμων (μέσου βάρους 2-3 g) ανά στρέμμα και τελική εκτιμώμενη παραγωγή τα 100 kg (μέσου βάρους 15-20 g,) ανά στρέμμα. Το δεύτερο στάδιο διαρκεί ως το εμπορεύσιμο μέγεθος (> 600 g ), με αρχική ιχθυοπυκνότητα, 500-600 ατόμων (μέσου βάρους 10-20 g) ανά στρέμμα και τελική παραγωγή 400-500 άτομα ανά στρέμμα (Πάσχος, 2004).

Σύμφωνα με τα στατιστικά στοιχεία του FAO για το έτος 2004, η παραγωγή του εκτρεφόμενου κοινού κυπρίνου καλύπτει το 13% περίπου (3.387.918 τόνοι) της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής από υδατοκαλλιέργειας στα εσωτερικά νερά (Peteri, 2006).



**Εικ. 3 Παραγωγή κοινού κυπρίνου το 2004 στις κυριότερες ευρωπαϊκές χώρες (FAO, Fisheries Department 2006).**

Η παραγωγή του κοινού κυπρίνου σε παγκόσμια κλίμακα, αυξάνεται ετησίως από το 1985-2004, κατά ένα μέσο ποσοστό 9,5%. Η Ασία είναι η κύρια παραγωγική περιοχή κυπρινοειδών, με την Κίνα να καλύπτει το 70% της παγκόσμιας παραγωγής. Η ευρωπαϊκή παραγωγή κοινού κυπρίνου το 2004, ήταν 146.840 τόνοι (Εικόνα 3), σημειώνοντας ουσιαστική μείωση από το 1990 της τάξης των 402.000 τόνων, η οποία είναι στενά συνδεδεμένη με τις κοινωνικοοικονομικές αλλαγές της Κεντρικής και Ανατολικής Ευρώπης (Flajšhans & Hulata, 2006).

## 1.2 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΠΕΤΑΛΟΥΔΑΣ

- **Συστηματική κατάταξη**

Κλάση: Actinopterygii

Τάξη: Cypriniformes

Οικογένεια: Cyprinidae

Γένος: *Carassius*

Είδος: *Carassius gibelio* (Bloch, 1783)

Κοινό όνομα: Silver crucian carp, gibel carp, πεταλούδα.

- **Ιστορική – Γεωγραφική κατανομή**

Η πεταλούδα εισήχθη στην Ευρώπη το 17<sup>ο</sup> αιώνα από την Ασία και στην συνέχεια αναγνωρίστηκε από τις επιδράσεις που άσκησε στα αυτόχθονα είδη (Balik *et al.*, 2004; Vetemaa *et al.*, 2005; Gaygusuz *et al.*, 2007). Διαβιεί σε ρεύματα, μικρές και μεγάλες λίμνες με ευρεία γεωγραφική κατανομή από την Βόρεια Ευρώπη ως την Ασία (Jiang *et al.*, 1983; Abramenko *et al.*, 1997; Kalous *et al.*, 2004). Έχουν αναφερθεί τριπλοειδή αρσενικά άτομα σε φυσικούς πληθυσμούς στην Κίνα και στην



Ευρώπη (Hong *et al.*, 2005). Η πεταλούδα κατανέμεται κυρίως σε χώρες και περιοχές της πρώην Σοβιετικής Ένωσης, στην Ευρώπη, στην Κορέα, στη Β.Α. και Β.Δ. Κίνα (Holcik & Zitman, 1978).

- **Μορφολογία- Φυσιολογία**

Ο Kottelat (1997) αρχικά αναγνώρισε την πεταλούδα ως αυτόχθον είδος στην Κεντροανατολική Ευρώπη αλλά εν συνεχεία οι Kottelat & Freyon (2007) κατέταξαν την πεταλούδα ως εισαχθέν είδος στην Κασπία θάλασσα. Η πεταλούδα φέρει 27-35 λέπια κατά μήκος της πλευρικής γραμμής και ασημί-κίτρινο χρώμα. Ο αριθμός των βραγχιακών ακάνθων είναι 42-56 (ο αριθμός αυτός, αυξάνεται με την ανάπτυξη) (Coad, 2007). Ζει ως έντεκα χρόνια και η διάρκεια ζωής, είναι μεγαλύτερη σε πληθυσμούς όπου τα αρσενικά είναι ελάχιστα ή απόντα συγκριτικά με τους στους αμφίφυλους πληθυσμούς (Pirouyan & Rukhkyan, 1998).

Μπορεί να επιζήσει και να αναπτυχθεί κάτω από εξαιρετικά δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, όπου τα άλλα είδη δεν καταφέρνουν να επιβιώσουν (Holcik, 1980; Muus & Dahistrom, 1999). Έχει μελετηθεί η περιβαλλοντική αντοχή της πεταλούδας και ειδικά η ανθεκτικότητά της στην αμμωνία (αντοχή ως και  $35\text{mg l}^{-1}$ ) (Nathanailides *et al.*, 2003). Κατόπιν τούτου, οι πληθυσμοί, έχοντας την δυνατότητα να αξιοποιήσουν υδάτινα οικοσυστήματα με ακραία χαρακτηριστικά, εξαπλώθηκαν και αυξήθηκαν δραματικά σε πολλά υδάτινα οικοσυστήματα της Ευρώπης συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας (Economidis 1991; Kottela 1997; Economidis *et al.*, 2000; Paschos *et al.*, 2004).

Το υψηλό αναπαραγωγικό δυναμικό, η ικανότητα να κυριαρχεί στον ανταγωνισμό για αναπαραγωγικά πεδία και σε τροφικό επίπεδο, θεωρούνται σημαντικές αιτίες στην εξάπλωσή του είδους σε υποβαθμισμένα υδάτινα οικοσυστήματα προς συρρίκνωση άλλων ειδών, συχνά ενδημικών (Holcik, 1980). Η

πεταλούδα πρόσφατα έχει προσελκύσει το επιστημονικό ενδιαφέρον, λόγω των επιπτώσεων της στα αυτόχθονα είδη (π.χ υβριδισμοί) και των πιθανών αλλαγών που επιφέρει στα τροφικά πλέγματα των οικοσυστημάτων (Vetemaa *et al.*, 2005; Gaygusuz *et al.*, 2007).

Η τροφή της αποτελείται κυρίως από ζωοπλαγκτόν αλλά περιλαμβάνει και υδρόβια έντομα, καρκινοειδή, μαλάκια, σκουλήκια, άλγη, μακρόφυτα και νεαρά ψάρια, εναλλάσσοντας το είδος τροφής ανάλογα με τις περιστάσεις (Coad, 2007).

Η γεννητική ωριμότητα συνδέεται με μέση ετήσια θερμοκρασία 12 - 13 °C και εμφανίζεται στο τέλος του πρώτου έτους, ενώ σε θερμοκρασίες 8,4 - 9° C εμφανίζεται στο τέλος του 3<sup>ου</sup> ή 4<sup>ου</sup> έτους (Pirouyan & Rukhkyan, 1998). Στις λίμνες της Ελλάδας, η πεταλούδα παρουσιάζει γρήγορη ανάπτυξη κατά τη διάρκεια των πρώτων ετών της ζωής της και φθάνει σε γεννητική ωριμότητα κατά το δεύτερο έτος (Leonardos *et al.*, 2001).

Οι τυπικές περιοχές ωοτοκίας των κυπρινοειδών χαρακτηρίζονται από ρηχά νερά με χαμηλή βλάστηση, προσφέροντας κατάλληλα υποστρώματα για την προσκόλληση των γονιμοποιημένων ωαρίων, το απαιτούμενο οξυγόνο και αυξημένα επίπεδα αφθονίας μικροασπόνδυλων, παράγοντες που συμβάλλουν στην επιβίωση του γόνου στα αρχικά στάδια της ζωής του και ενισχύουν την στρατολόγηση (Paschos *et al.*, 2001). Παρόμοια αναπαραγωγικά πεδία χρησιμοποιεί και η πεταλούδα. Η σχετική γονιμότητα έχει καταμετρηθεί σε 253.200 ωάρια (έως και 685.700 με απόλυτη γονιμότητα στα επίπεδα των 860.000 ωαρίων). Τα ωάρια έχουν διάμετρο ως 1,6 mm, φέρουν κολλώδη ουσία και εκκολάπτονται σε 5-8 ημέρες ανάλογα με τη θερμοκρασία του νερού (Coad, 2007).

- **Στοιχεία γενετικής - Γυνογένεση**

Οι πληθυσμοί της πεταλούδας στη βορειοανατολική Κίνα, έχουν ζυγωτικό αριθμό χρωμοσωμάτων (140-156) με πιθανόν τριπλοειδή προέλευση. Μετρήσεις DNA που έγιναν σε σπερματοζωάρια και σωματικά κύτταρα δείχνουν ότι οι συγκεκριμένοι πληθυσμοί του είδους, παρουσιάζουν διπλοειδή χρωμοσωμική συμπεριφορά. Ο καρυότυπος των αρσενικών και θηλυκών ατόμων, σε καλλιέργειες λευκών αιμοσφαιρίων είναι ο ίδιος και αποτελείται από 156 χρωμοσώματα - 21 ζεύγη μετακεντρικά, 37 ζεύγη υπομετακεντρικά και 20 ζεύγη ακροκεντρικά χρωμοσώματα (Shen *et al.*, 1983a; Fan & Shen, 1990). Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η πεταλούδα στην βόρεια Κίνα είναι ο μοναδικός τριπλοειδής πληθυσμός, σε σχέση με άλλα γυνογενετικά σπονδυλωτά. Αυτό το τριπλοειδές ψάρι, παρουσιάζει αρκετά ασυνήθιστα χαρακτηριστικά (Gui, 1996) που το καθιστούν, ένα ελπιδοφόρο πρότυπο μελέτης για την εξελικτική γενετική, την αναπτυξιακή βιολογία και την γενετική βελτίωση (Hong, *et al.*, 2005). Στους πληθυσμούς συναντάμε κυρίως θηλυκά άτομα με μεταβλητό ποσοστό αρσενικών ατόμων (μέχρι 25%). Η αναπαραγωγή μπορεί να είναι γυνογενετική ή αμφίφυλη και ο φυλοκαθορισμός βάσει του συστήματος XX - XY (Fan & Shen, 1990).

Η γυνογένεση μπορεί να αρχίσει εύκολα από τη γονιμοποίηση με σπέρμα άλλων ειδών. Αξιοσημείωτο είναι ότι το ετερόλογο σπέρμα, εκτός από το ρόλο του στην ενεργοποίηση του ωαρίου, είναι σε θέση να συμβάλει στο φαινότυπο του γυνογενετικού απογόνου. Αυτή η μορφή γυνογένεσης έχει αναφερθεί ως αλλογυνογένεση (Jiang *et al.*, 1983; Hong *et al.*, 2005). Πιθανόν η διαφορετική έκφραση του σπέρματος να σχετίζεται με ένα εξειδικευμένο σύστημα ελέγχου των ωαρίων (Gui *et al.*, 1993α,β; Zhou *et al.*, 2000β; Xie *et al.*, 2001).

Μια υπόθεση η οποία θα μπορούσε να δώσει κάποιες εξηγήσεις, σχετικά με την αναπαραγωγή της πεταλούδας, είναι ότι τα θηλυκά μπορούν να παράγουν δυο



τύπους ωαρίων, τον τύπο “G” που δεν μπορεί να ολοκληρώσει τη μειωτική διαίρεση και οδηγεί σε γυνογενετικό διπλοειδές άτομο και τον τύπο “B” που ολοκληρώνει την μείωση, γονιμοποιείται κανονικά και οδηγεί σε αρσενικούς και θηλυκούς απόγονους. Το σπέρμα από αρσενικά του ίδιου είδους, μπορεί μόνο να γονιμοποιήσει ωάρια τύπου “B”, ενώ σπέρμα από άλλα είδη ενεργοποιεί απλά τον γυνογενετικό τρόπο αναπαραγωγής. Όταν ένα θηλυκό άτομο έχει τους δύο τύπους ωαρίων σε ποσοστό 50% και τα ωάρια του γονιμοποιούνται με σπέρμα πεταλούδας, αναμένονται 75% θηλυκοί απόγονοι και 25% αρσενικοί. Σε ένα θηλυκό όμως άτομο που παράγει ωάρια τύπου “B” σε μικρότερο ποσοστό, αναμένονται και χαμηλότερα ποσοστά (κάτω από 25%) αρσενικών απογόνων. Οι περιβαλλοντικές συνθήκες, η ηλικία και η φυσική κατάσταση του θηλυκού γεννήτορα επηρεάζει την αναλογία των δύο αυτών τύπων ωαρίων (Fan & Shen, 1990).

Στην Παμβώτιδα, τα θηλυκά άτομα του πληθυσμού της πεταλούδας, κυριαρχούν με ένα ποσοστό 97,7%, λόγω του γυνογενετικού τρόπου αναπαραγωγής του. Σε συνθήκες εκκολαπτηρίου, γονιμοποιήθηκαν με επιτυχία, ωάρια πεταλούδας με σπέρμα δρομίτσας (*R. Ylikiensis*), χρυσόψαρου (*Carassius auratus*) και κοινού κυπρίνου (*Cyprinus carpio*) (Paschos *et al.*, 2004).

Τα σπερματοζωάρια της πεταλούδας έχουν μεγαλύτερη κεφαλή (2.81 μm) σε σχέση με αυτά του χρυσόψαρου (*Carassius auratus auratus* Linnaeus, 1758) (2.34 μm). Εντούτοις, η μορφολογική αυτή ιδιαιτερότητα δεν συνδυάζεται με καμία ανωμαλία τόσο στα στάδια της σπερματογένεσης, στην διάρκεια της ζωής και στην κολυμβητική δυνατότητα (Fan & Shen, 1983α, β; Fan & Shen, 1990).



## 1.3 ΥΠΟΦΥΣΕΙΣ ΚΑΙ ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΠΙΝΗ-ΤΡΟΠΟΙ ΟΡΜΟΝΙΚΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ

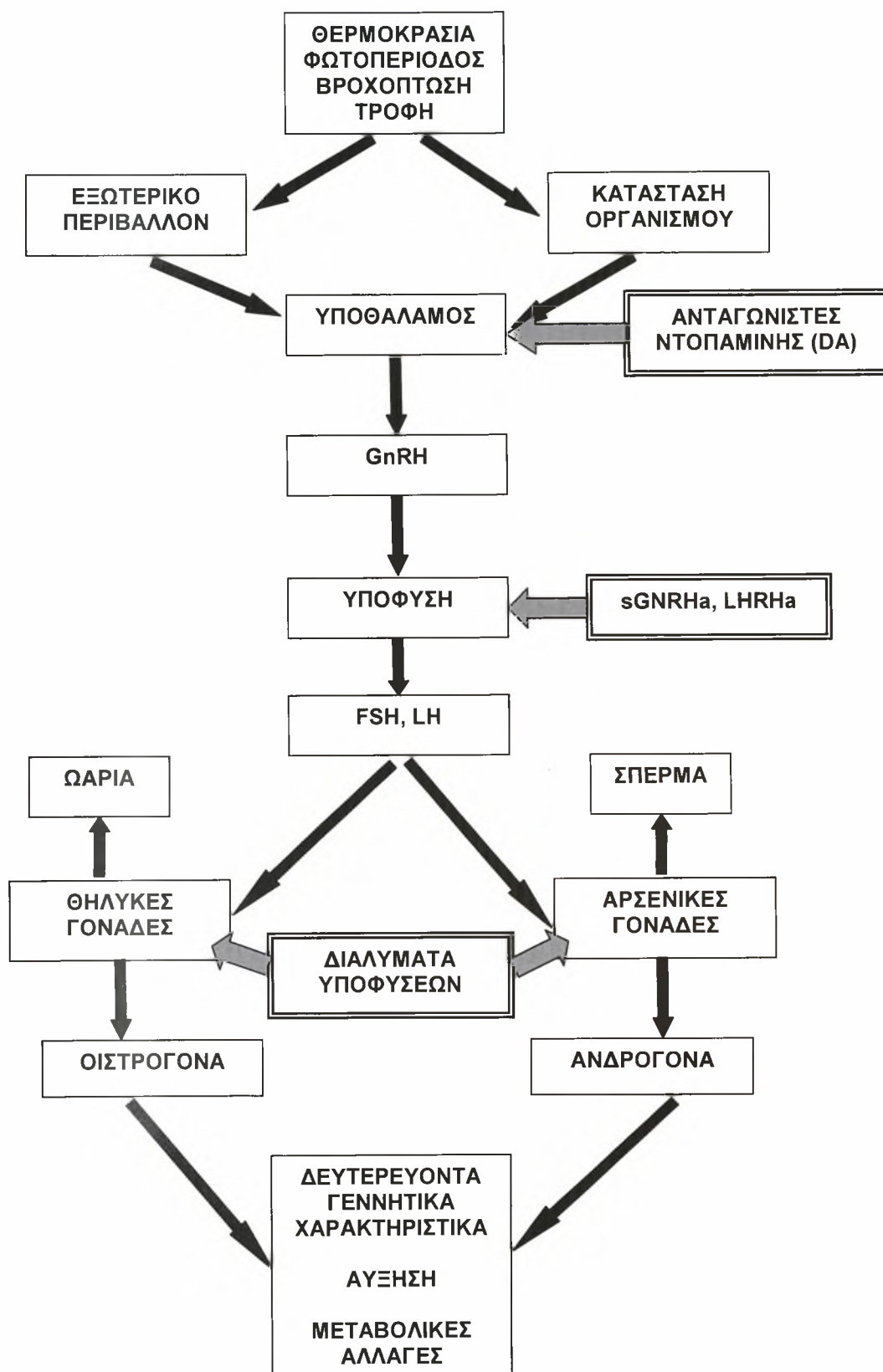
- **Υπόφυση – Γοναδοτροπίνη**

Η υπόφυση θεωρείται ο σημαντικότερος ενδοκρινής αδένας όλων των κατηγοριών ιχθύων και μέσω της νευροορμονικής λειτουργίας της, επιδρά τόσο στην σωματική αύξηση όσο και στην γεννητική ωριμότητα, καθώς και σε όλα τα στάδια της αναπαραγωγής, ρυθμίζοντας άμεσα ή έμμεσα τη λειτουργία άλλων ενδοκρινών και εξωκρινών αδένων. Βρίσκεται σε άμεση λειτουργική και ανατομική επαφή (στα περισσότερα είδη συνδέεται με τον υποθάλαμο με "μίσχο") με κέντρα του υποθαλάμου, στα οποία πραγματοποιείται επεξεργασία τόσο εξωτερικών όσο και εσωτερικών ερεθισμάτων - μηνυμάτων. Αποτελείται από νευρικό και επιθηλιακό ιστό και χωρίζεται σε τρία κύρια τμήματα: στον πρόσθιο λοβό, στον ενδιάμεσο λοβό και στον οπίσθιο λοβό (Παπουτσόγλου, 2002).

Στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης (αδενοϋπόφυση) βρίσκονται τα κύτταρα των γοναδοτρόπων ορμονών, τύπου β και γ, που έχουν εντοπισθεί σε αρκετά είδη τελεόστεων. Τα κύτταρα αυτά παράγουν, όπως έχει πιστοποιηθεί στον κοινό κυπρίνο, δύο γλυκοπρωτεϊνικής μοριακής δομής ορμόνες, την γοναδοτροπίνη (GTH I) η οποία είναι πλούσια σε υδατάνθρακες και προσομοιάζει από χημικής και βιολογικής άποψης με την ωοθηλακιοτρόπο ορμόνη (Follicle Stimulating Hormone - FSH) των θηλαστικών και την γοναδοτροπίνη (GTH II), φτωχότερη σε υδατάνθρακες που προσομοιάζει με την ωχρινοποιητική (Luteinizing Hormone - LH) ορμόνη των θηλαστικών (Παπουτσόγλου, 1998) (Εικόνα 4). Η FSH, συμμετέχει στα αρχικά στάδια της γαμετογένεσης (βιτελλογένεση και σπερματογένεση) και η LH, επιδρά στην τελική ωριμότητα των γεννητικών προϊόντων και στους μηχανισμούς ωορρηξίας και ωοτοκίας (Mylonas *et al.*, 1996). Η LH, αποτελεί το 90% της συνολικής

γοναδοτροπίνης που εξήχθη από υπόφυση ώριμου κοινού κυπρίνου (Van der Kraak *et al.*, 1992; Yaron, 1995).

Διάφορες ορμόνες και νευροδιαβιβαστές του εγκεφάλου εμπλέκονται στην έκκριση της γοναδοτροπίνης. Εντούτοις, δύο είναι οι κύριοι υποθαλαμικοί παράγοντες που ρυθμίζουν την έκκριση της από την υπόφυση. Η γοναδολιμπερίνη (Gonadotropin-releasing Hormone - GnRH) που ασκεί διεγερτική επίδραση και οι ανταγωνιστές ντοπαμίνης (Dopamin antagonists - DA), που ασκούν ανασταλτική δράση, παρεμποδίζοντας την απελευθέρωση γοναδοτροπίνης (Chang *et al.*, 1984α, β; σε Peter *et al.*, 1986, 1991; Yaron, 1995). Ανασταλτική δράση επί της έκκρισης των γοναδοτροπινών έχουν και οι στεροειδείς ορμόνες των γονάδων (Παπουτσόγλου, 1998).



Εικ. 4 Αναπαραγωγικός άξονας και κυριότεροι τρόποι ορμονικής παρέμβασης (βασισμένη σε Shepherd & Bromage, 1992).

- **Τρόποι ορμονικής παρέμβασης**

Σκοπός της ορμονικής “θεραπείας”, της χορήγησης δηλαδή ορμονών είναι να επιτευχθεί το τελικό στάδιο ωριμότητας και η απελευθέρωση των γεννητικών προϊόντων. Έχει παρατηρηθεί, ότι η δράση των ορμονών (γοναδοτροπίνες) είναι αποτελεσματική, μόνο όταν τα ωάρια έχουν ολοκληρώσει επιτυχώς το στάδιο της βιτελλογένεσης και όλες οι άλλες συνθήκες είναι ευνοϊκές. Έχουν χρησιμοποιηθεί τόσο φυσικές όσο και συνθετικές ορμόνες, σε ενέσιμη μορφή (Πάσχος, 2004). Η ορμονική προσέγγιση μπορεί να είναι είτε υποφυσιακή, είτε υποθαλαμική (Yaron *et al.*, 2002).

### **1. Υποφυσιακή προσέγγιση**

Η χρήση των υποφύσεων σχετίζεται με την αξιοποίηση των γοναδοτροπίνων FSH και LH (Van Der Kraak *et al.*, 1992). Η σύνθεση και η έκκριση τους διαφέρει κατά την διάρκεια του αναπαραγωγικού κύκλου, με την FSH να προηγείται της LH. Η FSH διεγείρει τα πρώτα στάδια της γαμετογένεσης και της στεροειδογένεσης. Ακολουθεί μείωση της FSH με ταυτόχρονη αύξηση της LH, η οποία διεγείρει τα τελικά στάδια της γαμετογένεσης (Gomez *et al.*, 1999). Το πιο κοινά χρησιμοποιούμενο σκεύασμα είναι το διάλυμα υπόφυσης κοινού κυτρίνου (Carp Pituitary - CP). Η τεχνική της χορήγησης διαλύματος υποφύσεων (από ξηρή υπόφυση κοινού κυτρίνου) εφαρμόζεται στις υδατοκαλλιέργειες από το 1930 (Von Ihering, 1937; Brzuska, 2006).

Η υπόφυση μπορεί να συλλεχθεί από ώριμα αρσενικά ή θηλυκά άτομα βάρους άνω των 500 g. Η υπόφυση ενός ατόμου κοινού κυτρίνου που δεν έχει ωοτοκήσει θεωρείται καλύτερη (Pao *et al.*, 2007). Η βιολογική δράση των ορμονών της ουρόφυσης στους τελεόστεους ιχθύς, θεωρείται γενικά πολύπλευρη (Παπουτσόγλου,

1998). Μελέτη που σύγκρινε την επίδραση της ουρόφυσης και της υπόφυσης, στην επαγωγή της ωοτοκίας στον κοινό κυπρίνο και άλλα είδη ψαριών, έδειξε ότι η ουρόφυση (σε μια ενιαία δόση, από 1,0 έως 3,0 mg kg<sup>-1</sup> ψαριού) δεν είχε καμία επίδραση στην ωοτοκία ενώ αντιθέτως η υπόφυση (ποσότητα σε δύο δόσεις από 3 έως 4 mg kg<sup>-1</sup> ψαριού) επέδρασε θετικά στην ωοτοκία (Behr *et al.*, 2000).

Η ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (Human Chorionic Gonadotropin - HCG) είναι μια πολυπεπτιδική ορμόνη, με παρόμοια βιολογική δράση προς τις LH και FSH. Προωθεί την ωογένεση, την ανάπτυξη των γονάδων και την έκκριση στεροειδών ορμονών. Σήμερα στην Κίνα ως έτοιμο υλικό, διαθέσιμο στην αγορά, είναι η κτηνιατρική γοναδοτροπίνη, μια άσπρη σκόνη που είναι διαλυτή στο νερό και πρέπει να αποθηκευτεί σε δροσερό, σκιερό, ξηρό, αεροστεγές περιβάλλον (Pao, *et al.*, 2007). Εν τούτοις, η χρήση της HCG έχει πρακτικά εγκαταλειφθεί στην Δύση, καθώς η αποτελεσματικότητα συγκριτικά με τις υποφύσεις (π.χ. κοινού κυπρίνου) είναι σημαντικά μειωμένη, ενώ έχουν παρατηρηθεί επιπλοκές που οδηγούν σε θνησιμότητες των γεννητόρων (ιδιαίτερα στα χρυσόψαρα), πιθανότατα λόγω περιορισμένης συμβατότητας (Πάσχος, προσ. επικ.).

## 2. Υποθαλαμική προσέγγιση

Αποτελεί εναλλακτική προσέγγιση, με στόχο την ενδογενή απελευθέρωση της γοναδοτροπίνης από την υπόφυση των ψαριών, η οποία υποκινείται από ένα συνθετικό ανάλογο της υποθαλαμικής ορμόνης γοναδολιμπερίνης (GnRH) (Yaron, 1995). Στους ιχθύες έχουν προσδιοριστεί διάφορες μορφές της GnRH (Sherwood & Coe, 1991).

Το 1971, απομονώθηκε στην Κίνα από τον υποθάλαμο των προβάτων, η εκλυτική ορμόνη της ωχρινοποιητικής (LH), η LHRH, που η βιολογική της δράση

έπρεπε να ενισχυθεί κατά 100 φορές σε σχέση με τα θηλαστικά για να προκαλέσει ωοτοκία στα ψάρια, λόγω του ότι καταστρέφονταν εύκολα από την πρωτεάση των ψαριών. Το 1975 συντέθηκε το ενισχυμένο ανάλογο LHRHa, το οποίο είναι διαθέσιμο στην αγορά με την μορφή σκόνης και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή δύο δόσεις. Ο συνδυασμός με υπόφυση κυπρίνου ή ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη, έχει καλύτερα αποτελέσματα (Pao *et al.*, 2007).

Η αύξηση της παραγωγής των κυπρινοειδών στο Ισραήλ, κυρίως των διακοσμητικών ψαριών και η μείωση του αριθμού των εκτρεφόμενων κυπρίνων (οι υποφύσεις κυπρίνου δεν μπορούν πλέον να ικανοποιήσουν τις αυξανόμενες απαιτήσεις) (Peter *et al.*, 1988), οδήγησε στην εισαγωγή της μεθόδου "Linpe", που στηρίζεται στην χορήγηση του Ovaprim (Zohar, 1986; Peter *et al.*, 1987, 1988, 1993; Drori *et al.*, 1994). Το Ovaprim περιέχει, ένα συνθετικό ανάλογο της ορμόνης γοναδολιμπερίνης σολομού (sGnRHa) και ανταγωνιστή ντοπαμίνης (Domperidone), που ουσιαστικά ενισχύει την δράση της sGnRHa, σε αποστειρωμένο υγρό για εύκολη έγχυση. Ενεργοποιεί την απελευθέρωση των φυσικών ορμονών του εγκεφάλου και των γονάδων, προκαλώντας ωοτοκία και σπερμιογένεση. Χορηγείται σε μία ενιαία δόση, κατά τη διάρκεια ή την έναρξη της εποχής ωοτοκίας. Βασικό πλεονέκτημα είναι ο ακριβής υπολογισμός της χορηγούμενης δόσης (Pao *et al.*, 2007).

#### **1.4 ΤΕΧΝΗΤΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΤΟΝ ΚΟΙΝΟ ΚΥΠΡΙΝΟ**

Η τεχνητή αναπαραγωγή είναι μια σύνθετη διαδικασία και περιλαμβάνει διάφορα στάδια, που αλληλοεπηρεάζονται (Woynarovich, 1980), αρχίζοντας από την διαχείριση των γεννητόρων, την απελευθέρωση των γεννητικών προϊόντων, την γονιμοποίηση, την επώαση, την εκκόλαψη και την πρώτη διατροφή (Πάσχος, 2004).

Σημαντικό βήμα στην αναπαραγωγή των ψαριών και κατ' επέκταση στην ανάπτυξη της υδατοκαλλιέργειας, είναι η συνεχής βελτιστοποίηση των τεχνικών διαχείρισης των γεννητόρων και συγχρονισμού της αναπαραγωγής (Zohar & Mylonas, 2001). Συχνά όμως, η έλλειψη φυσικών περιβαλλοντικών ερεθισμάτων και η αναπόφευκτη πίεση που ασκείται κατά την αιχμαλωσία επηρεάζει τους γεννήτορες, παρεμποδίζοντας την ωογένεση, την τελική ωριμότητα των ωοκυττάρων, ακόμη και την φυσική ωοτοκία. Στα αρσενικά προκαλείται αντίστοιχα μείωση του όγκου σπερματικού υγρού και υποβάθμιση της ποιότητας του σπέρματος (Rainis *et al.*, 2003). Η αναπαραγωγή στα ψάρια εξαρτάται από μια συντονισμένη δράση ορμονών του υποθαλάμου, της υπόφυσης και των γονάδων, με τις γοναδοτροπίνες (FSH και LH) να καταλαμβάνουν σημαντικό ρόλο στον αναπαραγωγικό άξονα (Yaron *et al.*, 2003).

#### • Ωογένεση – Σπερματογένεση

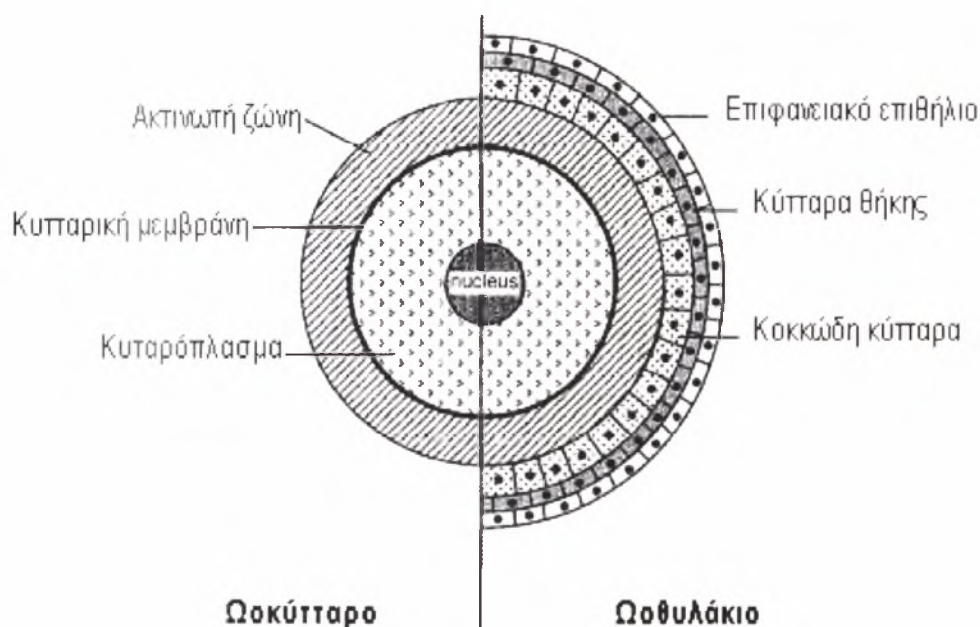
Κατά την ωογένεση τα θηλυκά γεννητικά κύτταρα διέρχονται τις παρακάτω φάσεις διαίρεσης και αύξησης:

- τον μιτωτικό πολλαπλασιασμό των ωογονιών
- την αρχή μείωσης των ωοκυττάρων
- τη διακοπή της μείωσης κατά την πρώτη μειωτική πρόφαση (διπλοταινία)
- την προλεκιθική και λεκιθική αύξηση\_ωοκυττάρων.
- συνέχιση μείωσης - ωριμότητα
- ωοτοκία\_ απελευθέρωση των ωαρίων από τα ωοθυλάκια

Κατά την προλεκιθική αύξηση, εμφανίζονται πολλοί πυρηνίσκοι στην περιφέρεια του πυρήνα του ωοκυττάρου (στάδιο περιπυρηνίσκου). Οι πυρηνίσκοι παράγουν μεγάλες ποσότητες r και mRNA. Επίσης το ωοκύτταρο συνθέτει μεγάλες



ποσότητες γλυκοπρωτεϊνών (σχηματισμός cortical alveoli στην περιφέρεια). Κατά το μέσον και έως το τέλος της προλεκιθικής αύξησης αρχίζει η συσσώρευση λιπιδίων στο ωκύτταρο και ο σχηματισμός της ακτινωτής ζώνης (ή λεκιθικού φακέλου), μη κυτταρικής δομής με γλυκοπρωτεϊνική σύσταση, ανάμεσα στο ωκύτταρο και τα κοκκώδη κύτταρα (Tyler & Sumpter, 1996) (Εικόνα 5).



**Εικ. 5 Οργάνωση κυττάρων ωοθηκών (Tyler & Sumpter, 1996)**

Η αύξηση της FSH στο αίμα προκαλεί την παραγωγή της 17β-οιστραδιόλης (17β-oestradiol) από το ωθυλάκιο. Η τελευταία δίνει το έναυσμα της παραγωγής λεκιθογενίνης στο ήπαρ. Η λεκιθογενίνη, είναι γλυκοφωσφολιποπρωτεΐνη η οποία εισέρχεται μέσω της κυκλοφορίας, στο ωθυλάκιο και μεταφέρεται στο εσωτερικό του ωοκυττάρου ενεργητικά. Αποτελεί την βάση για τη δημιουργία των πρωτεϊνών της λεκίθου, με κυριότερες τη λιπολεκθίνη, που είναι η πηγή των αμινοξέων και των λιπιδίων για την εμβρυική ανάπτυξη και τη φωσφοβιτίνη που είναι η κύρια πηγή μετάλλων για τη σκελετική ανάπτυξη και τις μεταβολικές λειτουργίες του εμβρύου (Tyler & Sumpter, 1996).



Η μείωση ολοκληρώνεται κατά τη γονιμοποίηση με την αποβολή του δεύτερου πολικού σωμάτιου (Jalabert, 2005). Τα ωοθυλάκια του κοινού κυπρίνου, μετά από λεπτομερή μικροσκοπικό έλεγχο, διαχωρίζονται σε δύο τύπους: τα μικρά μη ενεργά ωοθυλάκια διαμέτρου 0,15 mm και τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια που εμφανίζονται στην ωοθήκη, από τον Αύγουστο έως τον Μάιο. Τους ακόλουθους μήνες η βιτελλογένεση συνεχίζεται, με σταδιακή αύξηση του γοναδικού δείκτη (GSI). Τον Φεβρουάριο, τα ωοκύτταρα φθάνουν στην μεγαλύτερη διάμετρο τους ( $1,10 \pm 0,01\text{mm}$ ) και οι ωοθήκες εισέρχονται στην προ-ωοτοκική φάση τους. Οι γονάδες μετά από δύο μήνες ανάπαυσης ξεκινούν καινούργιο ορμονικό κύκλο (Billard *et al.*, 1989; Bromage, 1995).

Η σπερματογένεση είναι εποχική διαδικασία, μη συνεχής και αρχίζει μόνο όταν τα σπερματοζωάρια που έχουν παραχθεί από τον προηγούμενο κύκλο, απελευθερωθούν στο περιβάλλον (Πάσχος, 2002). Παρ' όλα αυτά, ο κοινός κυπρίνος μετά την πρώτη αναπαραγωγική περίοδο της ζωής του, χαρακτηρίζεται από συνεχή παρουσία σπερματογονίων τύπου A και B, καθώς και σπερματοζωαρίων (Παπουτσόγλου, 1998). Η παρουσία ώριμων θηλυκών στον ίδιο χώρο μαζί με αρσενικά άτομα, πιθανόν αυξάνει την σπερματογένεση και την παραγωγή σπέρματος (Billard *et al.*, 1989; Bromage, 1995)

Τα αρσενικά γεννητικά κύτταρα διέρχονται τρεις κύριες φάσεις διαίρεσης και μεταμόρφωσης:

- τον μιτωτικό πολλαπλασιασμό των σπερματογονίων τύπου A και B
- τον μειωτικό πολλαπλασιασμό (πρωτογενή και δευτερογενή σπερματοκύτταρα)
- τη σπερμιογένεση, (μετατροπή των απλοειδών πλέον σπερματίδων σε μαστιγωτά σπερματοζωάρια) (Στουμπούδη, 2006).

- **Ορμονική θεραπεία**

Η πρόκληση της ωοτοκίας με χρήση υποφύσεων, είναι πρακτική που εφαρμόζεται στο Ισραήλ πολλές φορές σε συνδυασμό με άλλα υποφυσιικά ανάλογα. Η συνιστώμενη δόση είναι 20% του αδένος ξηρής υπόφυσης ανά kg θηλυκού γεννήτορα, το μεσημέρι και 1 αδένος ανά kg θηλυκού γεννήτορα 10-12 ώρες αργότερα. Στα αρσενικά δίνεται μία ενιαία δόση 50% του αδένος ξηρής υπόφυσης ανά kg ψαριού, 7-20 ώρες πριν την συλλογή σπέρματος. Τα αποτελέσματα είναι γενικά ικανοποιητικά. Όμως, όταν η πρόκληση της ωοτοκίας αποτυγχάνει, είναι δύσκολο να καθοριστεί αν αιτία ήταν η κατάσταση του γεννήτορα, που πιθανόν δεν βρίσκεται στο σωστό στάδιο ή αν η υπόφυση δεν περιείχε αρκετή ποσότητα γοναδοτροπίνης (Bromage, 1995).

Η ποσότητα της γοναδοτροπίνης κυμαίνεται καθ' όλη την διάρκεια του έτους, από 300  $\mu\text{g}$  ανά υπόφυση ως 1,4 mg, ανάλογα με την εποχή και το μέγεθος του ψαριού (Bromage, 1995,). Η εμπορική παραγωγή υπολογισμένου εκχυλίσματος γοναδοτροπίνης από υποφύσεις κοινού κυπρίνου, με συνιστώμενη εμπορική δόση 450-600  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ψαριού, βελτίωσε την απόδοση, αν και αποδείχθηκε ότι σε υψηλότερες δόσεις το σκεύασμα είναι λιγότερο αποτελεσματικό (Yaron *et al.*, 1984; Bromage, 1995).

Οι Woynarovich & Horvath, (1980) πρότειναν μια απλή ένεση υπόφυσης, 2,5-3,7 mg ξηρής υπόφυσης κυπρίνου  $\text{kg}^{-1}$  σωματικού βάρους. Η ξηρή υπόφυση κονιορτοποιείται και διαλύεται, σε διάλυμα φυσιολογικού ορού, χρησιμοποιώντας 1-2ml για κάθε γεννήτορα ανάλογα με το βάρος του. Το διάλυμα χορηγείται ενδομυϊκά, μεταξύ της βάσης του ραχιαίου πτερυγίου και της πλευρικής γραμμής, στον ραχιαίο μύ, ή ενδοπεριτοναϊκά στη ρίζα των κοιλιακών πτερυγίων.

Οι γεννήτορες που έχουν υποβληθεί σε ορμονική θεραπεία, διαχωρίζονται ανά φύλο και τοποθετούνται σε ξεχωριστές δεξαμενές. Στη χώρα μας, συνήθως χορηγούνται 3-4 mg ξηρής υπόφυσης κυπρίνου  $\text{kg}^{-1}$ , ειδικά στα θηλυκά άτομα. Η χορήγηση γίνεται σε δύο δόσεις στα θηλυκά (10% και 90%) και μια ενιαία δόση στα αρσενικά ταυτόχρονα με την χορήγηση της 2<sup>ης</sup> δόσης στα θηλυκά, 24 και 12 ώρες πριν από την λήψη των γεννητικών προϊόντων, αντίστοιχα (Horvath *et al.*, 2002; Πάσχος, 2004).

Η χρήση των υποφύσεων στην τεχνητή αναπαραγωγή του κυπρίνου είναι κοινή σε όλο τον κόσμο (Yaron, 1995). Εντούτοις, η ανάγκη να θανατωθούν ώριμα ψάρια, για την απόσπαση της υπόφυσης αυξάνει πολύ το κόστος αυτών των εμπορικών προετοιμασιών από 119-432 US\$ ανά γραμμάριο (Perdikaris *et al.*, 2007). Η αποδοτικότητα μιας υπόφυσης εξαρτάται από την ταξινομική απόσταση που υπάρχει, μεταξύ του χορηγού και του δότη (Zohar και Mylonas, 2001). Η χρήση υποφύσεων πεταλούδας, είδος, που βρίσκεται σε στενή ταξινομική εγγύτητα με τα εκτρεφόμενα κυπρινοειδή και ζει παρασιτικά στα περισσότερα υδάτινα οικοσυστήματα, θα μπορούσε να μειώσει αισθητά το κόστος αυτό. Χαρακτηριστική είναι η υπέρμετρη αύξηση της πεταλούδας, στην λίμνη Παμβώτιδα, σε σχέση με άλλα εμπορικά σημαντικά είδη που παρουσιάζουν μείωση, όπως του κοινού κυπρίνου (*Cyprinus carpio*), του γληνιού (*Tinca tinca*), της δρομίτσας (*Rutilus rubilio*) (Perdikaris *et al.*, 2005).

Η ανοσολογική συμβατότητα η οποία υπάρχει μεταξύ των υποφύσεων της πεταλούδας και του κοινού κυπρίνου και τα υψηλότερα επίπεδα της LH που ανιχνεύτηκαν στην υπόφυση της πεταλούδας σε σχέση με αυτήν του κοινού κυπρίνου αποτελεί ένα αποφασιστικό βήμα για την ορμονική χρήση της στην τεχνητή αναπαραγωγή του κοινού κυπρίνου (Perdikaris *et al.*, 2007).

Συνθετικά ανάλογα με ενισχυμένη βιολογική δραστηριότητα, της ορμόνης GnRH και της LHRH όπως και συνδυασμός ορμονών, χρησιμοποιούνται για ορμονική θεραπεία σε διάφορες χώρες (Κίνα, Καναδάς, Νότια Αφρική, Ουγγαρία κ.ά.) (Yaron, 1994). Ο χρόνος, μέχρι την ωορρηξία, εξαρτάται από την θερμοκρασία και συνήθως απαιτούνται περίπου 340 βαθμοί (Rothbard & Yaron, 1995).

- **Συλλογή γεννητικών προϊόντων- επώαση- εκκόλαψη**

Ο χρόνος απελευθέρωσης των ωαρίων εξαρτάται, κυρίως από τη θερμοκρασία και στον κοινό κυτρίνο σε θερμοκρασία 21- 22 °C απαιτούνται 240-260 βαθμοί. Τα ωάρια με το σπέρμα αναμιγνύονται για 3-4 min, με ειδικό διάλυμα (ουρίας, NaCl) και στην συνέχεια με την χρήση διαλυμάτων (ουρίας, NaCl και τανίνης) αφαιρείται η κολλώδης ουσία. Τα γονιμοποιημένα ωάρια τοποθετούνται σε επωαστικές συσκευές διαφόρων τύπων (Zugar jars, MacDonald). Τα zugar jars είναι μεγάλες κυλινδρικές διαφανείς φιάλες, ανοιχτές στην κορυφή και καταλήγουν σε στενό λαιμό από όπου και εισέρχεται το νερό. Φιάλες με χωρητικότητα 6-8 l, μπορούν να δεχθούν 1-2 l ωαρίων, ενώ η παροχή ρυθμίζεται μεταξύ 2-6 l sec<sup>-1</sup>. Τα ωάρια εκκολάπτονται σε 2-7,5 ημέρες ανάλογα με την θερμοκρασία (Πάσχος, 2004).

## **1.5 ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

Οι στόχοι της παρούσας εργασίας ήταν:

- α) η διερεύνηση της δυνατότητας μαζικής συλλογής και επεξεργασίας υποφύσεων πεταλούδας στο πεδίο
- β) η συγκριτική δοκιμή, σε συνθήκες εκκολαπτηρίου, της αποτελεσματικότητας της ορμονικής παρέμβασης στην τεχνητή αναπαραγωγή του κοινού κυτρίνου με χρήση ξηρών υποφύσεων πεταλούδας και ξηρών υποφύσεων κοινού κυτρίνου



- γ) η διερεύνηση της επίδραση της χρήσης υποφύσεων πεταλούδας στα ποσοστά εκκολαψιμότητας των παραγόμενων ωαρίων και
- δ) η οικονομική αποτίμηση της χρήσης των συγκεκριμένων υποφύσεων σε συνθήκες μαζικής παραγωγής.

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 ΑΛΙΕΙΑ- ΕΠΙΛΟΓΗ ΓΕΝΝΗΤΟΡΩΝ

Στις αρχές Μαρτίου 2007 και σε διάστημα δέκα ημερών, αλιεύθηκαν με δίχτυα από τις χωμάτινες δεξαμενές του Πειραματικού Κυπρινοτροφείου - Χελοτροφείου στην περιοχή Ψαθοτόπι Άρτας, πενήντα πέντε γεννήτορες. Ακολούθησε, επιλογή αυτών με βάση τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά (βάρος, χρώμα, σχήμα), απομάκρυνση των ψαριών με εξωτερικές μολύνσεις και σκελετικές δυσμορφίες και ο διαχωρισμός τους στηριζόμενος στον φυλετικό διμορφισμό που παρουσιάζεται όσο πλησιάζουμε στην αναπαραγωγική περίοδο (τα θηλυκά άτομα έχουν μεγάλη και διογκωμένη κοιλιακή χώρα λόγω των ανεπτυγμένων γονάδων και κόκκινο και διογκωμένο γεννητικό πόρο, ενώ τα αρσενικά απελευθερώνουν εύκολα σπέρμα με μαλάξεις στην κοιλιά και τα βραγχιακά τους επικαλύμματα είναι τραχιά) (Εικόνα 6).

α



β



**Εικ. 6 (α) Επιλογή και (β) διαχωρισμός γεννητόρων**

Μετά την επιλογή, είκοσι πέντε θηλυκοί γεννήτορες, μέσου βάρους 2 kg περίπου, τοποθετήθηκαν σε χωμάτινη δεξαμενή έκτασης 400 m<sup>2</sup> και βάθους 1 m,



ενώ δέκα επτά αρσενικοί γεννήτορες μέσου βάρους 2 kg τοποθετήθηκαν σε χωμάτινη δεξαμενή έκτασης 200 m<sup>2</sup> και βάθους 1 m (Εικόνα 7α,β).

α



β



**Εικ. 7 Χωμάτινη δεξαμενή παραμονής (α) θηλυκών γεννητόρων και (β) αρσενικών γεννητόρων**

Κατά την διάρκεια διατήρησης των γεννητόρων στις ανωτέρω χωμάτινες δεξαμενές, χορηγούνταν τροφή για κοινό κυπρίνο (ΕΛ.ΒΙ.Ζ., Νο 345) πλούσια σε πρωτεΐνες και ιχνοστοιχεία, σε ποσότητα 2% του συνολικού βάρους των ψαριών καθημερινά σε δύο γεύματα (πρωί - μεσημέρι) και πραγματοποιούνταν έλεγχος των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού.

## **2.2 ΠΕΡΙΟΧΗ ΑΛΙΕΙΑΣ-ΤΡΟΠΟΣ ΑΛΙΕΙΑΣ ΠΕΤΑΛΟΥΔΑΣ**

Η αλίευση των ψαριών πραγματοποιήθηκε στο Ν.Α παράκτιο τμήμα της Λίμνης Παμβώτιδας στα αναπαραγωγικά πεδία της πεταλούδας στις 4 Απριλίου 2007, με την χρήση διχτύων.

Οι πεταλούδες τοποθετήθηκαν σε δοχεία με αερισμό και μεταφέρθηκαν στις εγκαταστάσεις της Δημοτικής Επιχείρησης Λίμνης Ιωαννίνων (Δ.Ε.Λ.Ι.). Απομακρύνθηκαν τα νεκρά και τραυματισμένα ψάρια και τα υπόλοιπα εξήντα οκτώ θανατώθηκαν με ισχυρή δόση αναισθητικού (MS-222). Πραγματοποιήθηκε καταγραφή του ολικού βάρους (TW, σε g) με την χρήση ψηφιακού ζυγού, του ολικού

μήκους (TL, σε cm) με την χρήση ιχθυόμετρου, το βάρος των γονάδων (σε g), προσδιορίστηκε το φύλο και υπολογίστηκε ο γοναδικός δείκτης (GSI) ως ποσοστιαία αναλογία του βάρους των γονάδων προς το ολικό βάρος του ψαριού.

### 2.3 ΛΗΨΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΥΠΟΦΥΣΕΩΝ

Η λήψη των υποφύσεων από τις πεταλούδες έγινε μετά από κάθετη προσθιοπίσθια διατομή του κρανίου, η οποία και διευκολύνει την απόσπαση της υπόφυσης από τον εγκέφαλο. Οι υποφύσεις συλλέχθηκαν με τη χρήση λαβίδας και τοποθετήθηκαν σε ατομικά φιαλίδια erpendorf με ακετόνη (15:1 v/v) (Perdikaris *et al.*, 2007) (Εικόνα 8α,β).

α



β



**Εικ. 8 (α) Απόσπαση υπόφυσης από τον εγκέφαλο και (β) συλλογή υπόφυσης σε φιαλίδια erpendorf**

Η ανανέωση της ακετόνης στα φιαλίδια έγινε μία και δέκα ώρες μετά την συλλογή (Lutz, 2001). Δέκα τέσσερις ώρες μετά την δεύτερη ανανέωση απομακρύνθηκε η ακετόνη και οι υποφύσεις αφέθηκαν να στεγνώσουν σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθως, ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας (AND GF-200) και αποθηκεύτηκαν σε αεροστεγή αποστειρωμένα φιαλίδια.



## 2.4 ΙΧΘΥΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΣ ΣΤΑΘΜΟΣ - ΤΕΧΝΗΤΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ & ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΕΝΕΣΙΜΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΥΠΟΦΥΣΕΩΝ

Στις 17-4-2007, οι γεννήτορες του κοινού κυπρίνου μεταφέρθηκαν σε δεξαμενές εντός του εκκολαπτηρίου. Τα θηλυκά άτομα αφού πρώτα ελέγχθηκαν για τυχόν αποβολή των γεννητικών προϊόντων, διαχωρίστηκαν σε δύο ομάδες ( $n=10$  αποτέλεσαν την πειραματική μονάδα και  $n=10$  την ομάδα των μαρτύρων), ζυγίστηκαν, μαρκαρίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε διαφορετικές δεξαμενές (ορθογώνιες, τσιμεντένιες, χωρητικότητας  $6 \text{ cm}^3$ ) (Εικόνα 9α,β). Οι αρσενικοί γεννήτορες αποτέλεσαν μια ενιαία ομάδα ( $n=8$ ) και τοποθετήθηκαν σε ξεχωριστή δεξαμενή εντός του εκκολαπτηρίου.

α



β



**Εικ. 9 Δεξαμενή παραμονής (α) θηλυκών και (β) αρσενικών γεννητόρων**

Στις 18-4-2007, στην ομάδα των θηλυκών του μαρτύρα, χορηγήθηκε ενδομυϊκά ενέσιμο διάλυμα κονιορτοποιημένης υπόφυση κοινού κυπρίνου, ενώ με τον ίδιο τρόπο χορηγήθηκε στην πειραματική ομάδα ενέσιμο διάλυμα υπόφυσης πεταλούδας. Στην ενιαία ομάδα των αρσενικών χορηγήθηκε κατά τον ίδιο τρόπο υπόφυση κοινού κυπρίνου (Εικόνα 10).



**Εικ. 10 Χορήγηση ενέσιμου διαλύματος υπόφυσης πεταλούδας σε θηλυκό γεννήτορα κοινού κυπρίνου**

Η προϋπολογισμένη δόση της ξηρής υπόφυσης για κάθε ομάδα, τοποθετήθηκε σε γουδί, κονιορτοποιήθηκε και αφού προστέθηκε φυσιολογικός ορός σε αναλογία 1-2 ml ανά γεννήτορα, λήφθηκε το υπερκείμενο υγρό με τη βοήθεια σύριγγας. Η συνολική ποσότητα ορμόνης που χορηγήθηκε τόσο στα θηλυκά άτομα στην ομάδα των μαρτύρων, όσο και στα θηλυκά άτομα της πειραματικής ομάδας, ήταν  $4 \text{ mg kg}^{-1}$  γεννήτορα και χορηγήθηκε σε δύο δόσεις με διαφορά 12 ωρών περίπου. Η πρώτη δόση, σε ποσοστό 10% της συνολικής ( $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$  γεννήτορα), χορηγήθηκε στις 11:30, μετά από πλήρη αναισθησία με χρήση MS 222 (10 g σε 100 l νερού). Η δεύτερη δόση, σε ποσοστό 90% της συνολικής ( $3,6 \text{ mg kg}^{-1}$  γεννήτορα), χορηγήθηκε μετά από περίπου 12 ώρες (23:30). Στους αρσενικούς γεννήτορες χορηγήθηκε υπόφυση κοινού κυπρίνου ( $3 \text{ mg kg}^{-1}$  γεννήτορα) σε μια δόση (100%), ταυτόχρονα με τη δεύτερη δόση (23:00) στα θηλυκά άτομα (Πάσχος, 2004). Οι φυσικοχημικές συνθήκες του νερού κατά την εικοσιτετράωρη παραμονή των γεννητόρων στις δεξαμενές ήταν ίδιες.

Μετά την αναισθητοποίηση και πριν την χορήγηση της δεύτερης δόσης του υποφυσιακού διαλύματος στα θηλυκά άτομα, πραγματοποιήθηκε ράψιμο του γεννητικού πόρου για την αποφυγή πρόωρης αποβολής των ωαρίων (Εικόνα 11).



**Εικ. 11 Ράψιμο του γεννητικού πόρου σε θηλυκό γεννήτορα κοινού κυπρίνου**

Η συλλογή του σπέρματος ξεκίνησε στις 08:00 της επόμενης ημέρας (19-4-2007), 210 βαθμώρες μετά την χορήγηση της ορμόνης. Το σπέρμα από κάθε γεννήτορα συλλέχθηκε με άσκηση κοιλιακής πίεσης (‘‘άρμεγμα’’), σε ξεχωριστά αποστειρωμένα δοχεία και διατηρήθηκε προσωρινά και μέχρι τη συλλογή των ωαρίων σε πάγο (Εικόνα 12α,β).

α

β



**Εικ. 12 (α) Συλλογή σπέρματος και (β) προσωρινή διατήρηση του σε πάγο**

Τις πρώτες πρωινές ώρες, τοποθετήθηκε ένα αρσενικό, τόσο στην δεξαμενή παραμονής των θηλυκών γεννητόρων του μάρτυρα όσο και στην δεξαμενή της πειραματικής ομάδας. Η συλλογή των ωαρίων ξεκίνησε στις 09:00 και ολοκληρώθηκε στις 11:30. Τα ωάρια από κάθε γεννήτορα συλλέχθηκαν με άσκηση κοιλιακής πίεσης, σε πλαστικές λεκάνες και αφού κόπηκαν τα ράμματα στον γεννητικό πόρο, Η ποσότητα των ωαρίων ζυγίστηκε και αυτά γονιμοποιήθηκαν με χρήση μίγματος από σπέρμα τριών αρσενικών ατόμων, προς αποφυγή στειρότητας (Εικόνα 13α,β).

α

β



**Εικ. 13 (α) Συλλογή ωαρίων και (β) γονιμοποίηση με προσθήκη μίγματος από σπέρμα**

Ακολούθησε επεξεργασία των γονιμοποιημένων ωαρίων για την αφαίρεση της κολλώδους ουσίας. Συγκεκριμένα, μετά την ανάμειξη του σπέρματος με τα ωάρια, προστέθηκε διάλυμα, αποτελούμενο από 40 g NaCl και 50 g ουρίας σε 10 l νερό (Διάλυμα I) και ανακατεύτηκαν για 3-5 min. Εν συνεχεία προστέθηκε διάλυμα αποτελούμενο από 40 g NaCl και 160 g ουρίας, σε 10 l νερό (Διάλυμα II) και ανακατεύτηκαν για 3-5 min. Τα ωάρια τοποθετήθηκαν σε μεγαλύτερη πλαστική λεκάνη που περιείχε διάλυμα II και αφέθηκαν για 30 min, με περιοδική ανάδευση. Η τελευταία αλλαγή έγινε με διάλυμα II για μιάνιση ώρα. Τέλος τα ωάρια απολυμάνθηκαν με διάλυμα τανίνης (5-7 gr τανίνης σε 10 l νερό) για 10-20 sec και



στη συνέχεια ξεπλύθηκαν με καθαρό νερό. Μετά το τέλος της ανωτέρω επεξεργασίας το βάρος των γονιμοποιημένων ωαρίων σχεδόν τριπλασιάστηκε.



**Εικ. 14** Γονιμοποιημένο ωάριο κοινού κυτρίνου στο στάδιο morula

## **2.5 ΕΠΩΑΣΗ - ΕΚΚΟΛΑΨΗ - ΠΡΩΤΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ**

Μετά το τέλος της επεξεργασίας των ωαρίων, ισοβαρής ποσότητα ωαρίων (300 g) από την ομάδα του μάρτυρα και από την πειραματική ομάδα τοποθετήθηκαν σε φιάλες επώασης τύπου zugar των 7 l (Εικόνα 15α) και στο στάδιο της εκκόλαψης (Εικόνα 16α), συλλέχθηκαν τρία τυχαία δείγματα ωαρίων ( $n=100$ ) από κάθε ομάδα με αναρρόφηση και προσδιορίστηκε το ποσοστό εκκολαψιμότητας.

α



β



**Εικ. 15 Φιάλες (α) επώασης τύπου zugar των 7 l και (β) πρώτης διατροφής και ανάπτυξης των 500 l.**

Οι φυσικοχημικές συνθήκες του νερού στις φιάλες επώασης ήταν πανομοιότυπες. Η εκκόλαψη ξεκίνησε μετά από δυόμισι μέρες (από την τοποθέτηση των ωαρίων για επώαση) και ολοκληρώθηκε σε τέσσερις ημέρες. Οι λεκιθοφόρες προνύμφες μεταφέρθηκαν σε φιάλες τύπου zugar των 500l (Εικόνα 15β) για την αποφυγή μολύνσεων και κατά την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου χορηγήθηκε μίγμα κρόκου αυγού κότας (1 μέρος κρόκος : 3 μέρη νερό) για δύο ημέρες. Εν συνεχεία, ο γόνος των δύο ομάδων, στηρίχθηκε τροφικά για πέντε ημέρες με *ad libidum* χορήγηση ναυπλίων *Artemia* εντός του Σταθμού (Εικόνα 17β). Ακολούθησε μεταφορά του γόνου σε εξωτερικές πολυεστερικές δεξαμενές (4 m<sup>3</sup>), σταδιακή αποκοπή από την *Artemia* και προσαρμογή του στην συνθετική τροφή (*ad libidum* χορήγηση 5 γευμάτων ημερησίως).

α



β



**Εικ. 17 (α) Έμβρυα κοινοί κυπρίνου πριν το στάδιο της εκκόλαψης και (β) προνύμφη κοινού κυπρίνου, στην οποία διακρίνεται η πλήρωση του πεπτικού σωλήνα με ναυπλίους *Artemia* καθώς και η διαμορφωμένη νυκτική κύστη.**

## 2.6 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

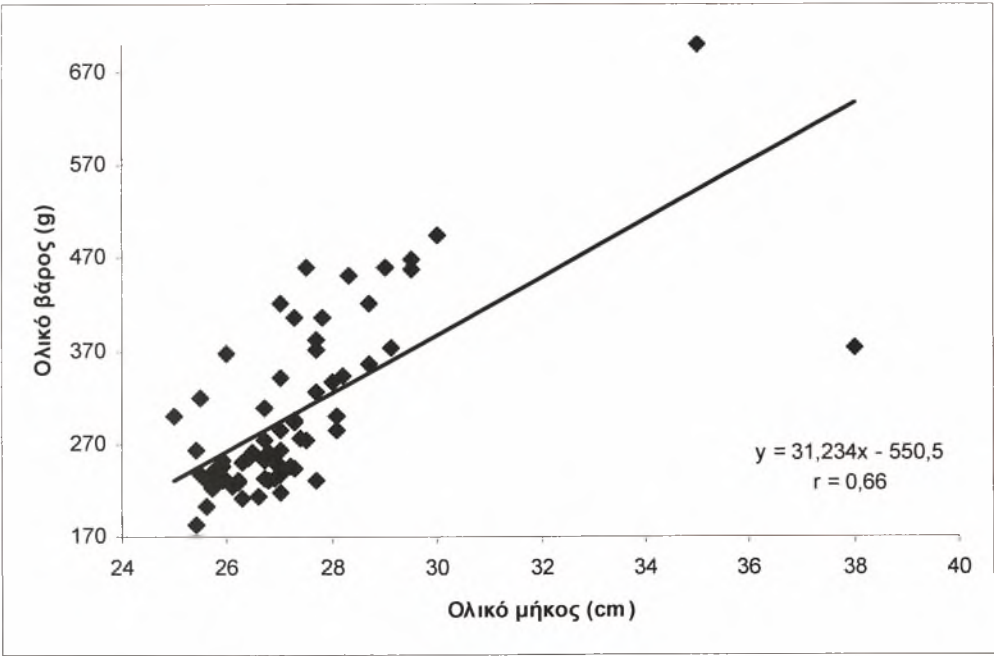
Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (σύγκριση πειραματικής ομάδας και ομάδας μαρτύρων) έγινε με την μέθοδο ANOVA (Microsoft Excel).



### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1 ΑΛΙΕΙΑ ΠΕΤΑΛΟΥΔΩΝ - ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΠΟΦΥΣΕΩΝ

Από τα 68 άτομα πεταλούδας που αλιεύθηκαν, μέσου βάρους 301,67 g ( $\pm 91,80$ ) και μέσου μήκους 27,28 cm ( $\pm 1,96$ ), συλλέχθηκαν 65 αδένες υπόφυσης, η οποίες μετά την επεξεργασία τους είχαν συνολικό βάρος 72,8 mg (μέσο βάρος 1,12 mg). Η μέση τιμή του γοναδικού δείκτη ήταν 9,14% ( $\pm 3,13$ ). Αναφορικά με την αναλογία φύλου, αυτή ήταν συντριπτικά υπέρ των θηλυκών ατόμων (98,5%), καθώς εντοπίστηκε μόνο ένα αρσενικό άτομο. Η σχέση ολικού μήκους- ολικού βάρους στο δείγμα των πεταλούδων εμφανίζεται στο Διάγραμμα 1 ( $r=0,66$ ).

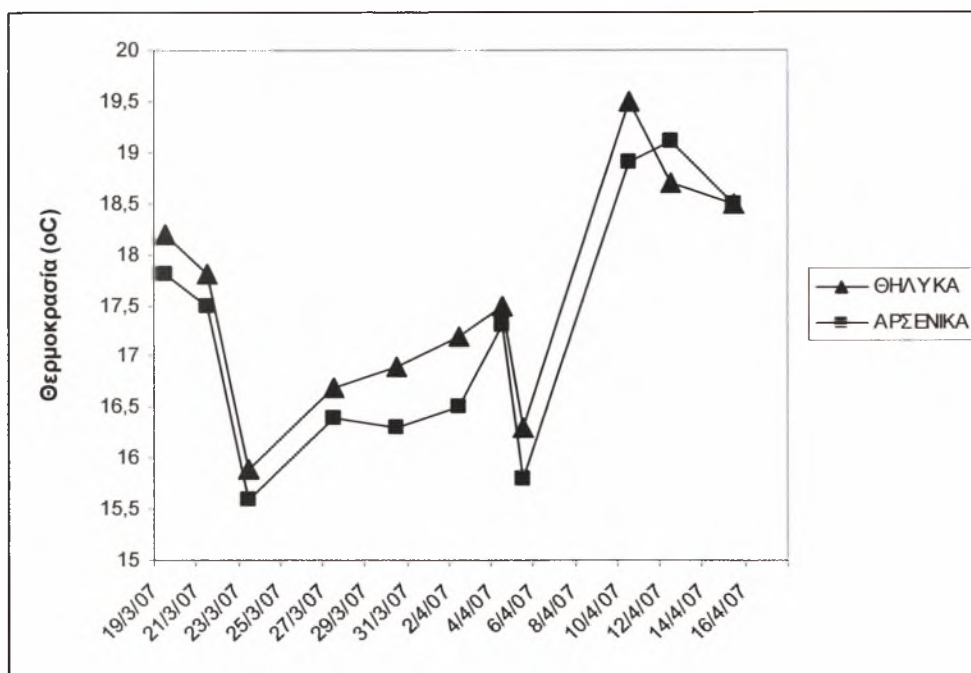


**Διάγρ. 1** Συσχέτιση ολικού μήκους με ολικό βάρος στο δείγμα των αλιευθέντων πεταλούδων

#### 3.2 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΣΤΙΣ ΧΩΜΑΤΙΝΕΣ ΔΕΞΑΜΕΝΕΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΓΕΝΝΗΤΟΡΩΝ

Η διακύμανση των τιμών των φυσικοχημικών παραμέτρων ( $T^{\circ}\text{C}$ , D.O., pH), που καταγράφηκαν στις εξωτερικές δεξαμενές διατήρησης των θηλυκών και αρσενικών γεννητόρων κατά την περίοδο 19-3-2007 ως 15-4-2007, απεικονίζονται στα Διαγράμματα 2-4.

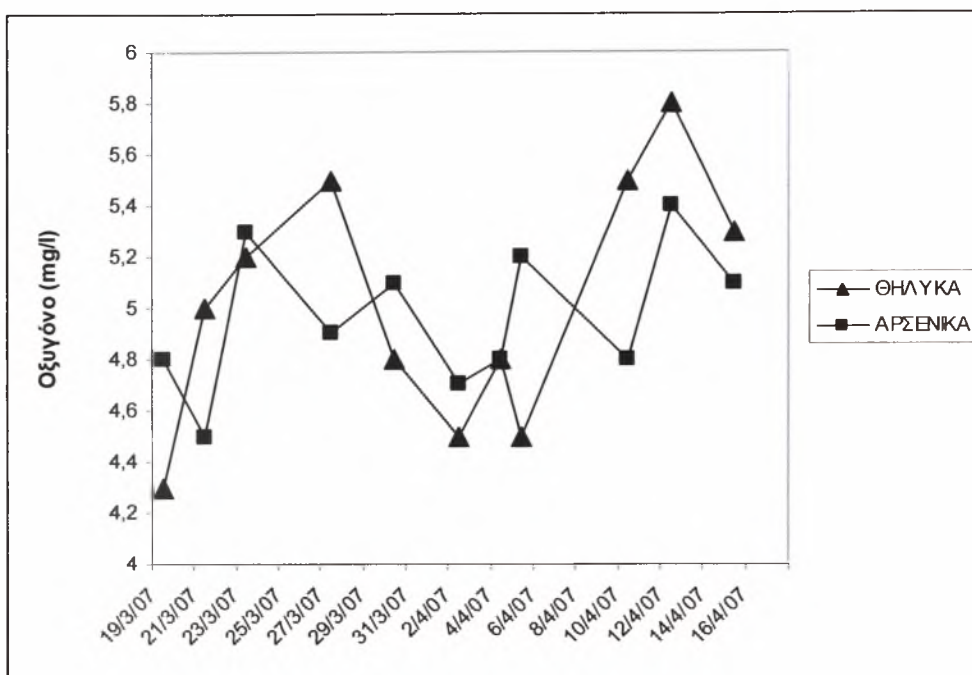
Η θερμοκρασία κυμάνθηκε εντός των επιτρεπτών ορίων για την εποχή σε ένα εύρος από  $15,9^{\circ}\text{C}$  έως  $19,5^{\circ}\text{C}$  για τους θηλυκούς γεννήτορες με μέση τιμή  $17,56^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1,10$ ) και από  $15,8^{\circ}\text{C}$  έως  $19,1^{\circ}\text{C}$  για τους αρσενικούς γεννήτορες με μέση τιμή  $17,25^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1,23$ ) (Διάγραμμα 2). Οι τιμές ήταν απολύτως φυσιολογικές για την γεννητική ωριμότητα των γεννητόρων.



**Διάγρ. 2 Διακύμανση των τιμών της θερμοκρασίας του νερού στις εξωτερικές χωμάτινες δεξαμενές διατήρησης των θηλυκών και των αρσενικών γεννητόρων**

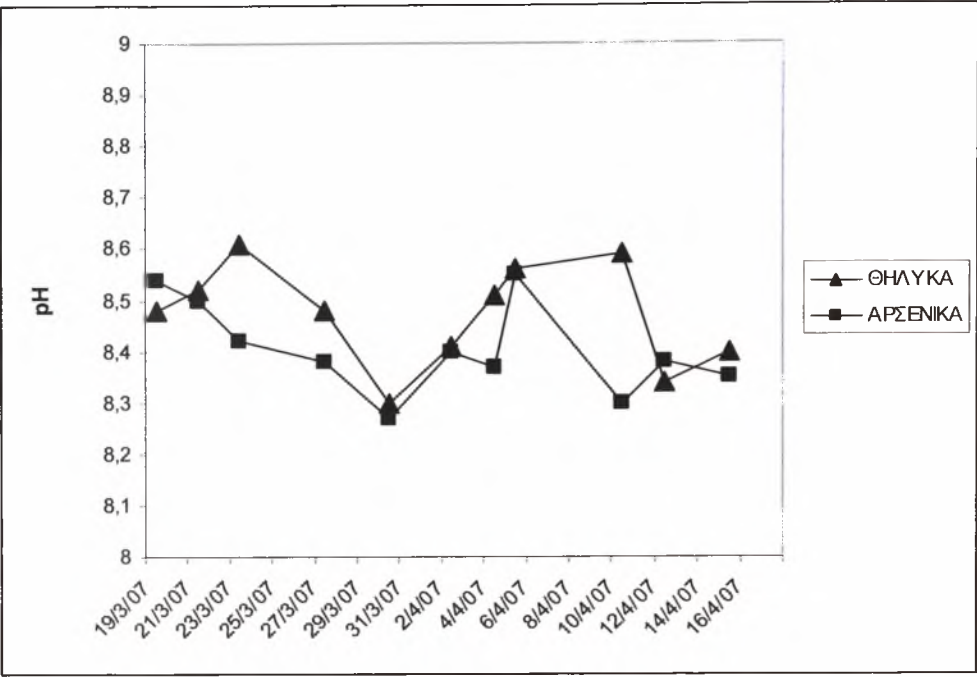
Το διαλυμένο οξυγόνο (D.O.) κυμάνθηκε, στις δεξαμενές διατήρησης των θηλυκών γεννητόρων από  $4,3 - 5,8 \text{ mg l}^{-1}$  με μέση τιμή τα  $5,02 \text{ mg l}^{-1}$  ( $\pm 0,48$ ) και στις δεξαμενές διατήρησης των αρσενικών γεννητόρων από  $4,5 - 5,4 \text{ mg l}^{-1}$  με μέση τιμή

τα  $4,96 \text{ mg l}^{-1}$  ( $\pm 0,28$ ). Οι τιμές ήταν φυσιολογικές και εντός των επιτρεπτών ορίων για την γεννητική ωριμότητα των γεννητόρων (Διάγραμμα 3).



**Διάγρ. 3 Διακύμανση των τιμών του διαλυμένου οξυγόνου στις εξωτερικές χωμάτινες δεξαμενές διατήρησης των θηλυκών και των αρσενικών γεννητόρων**

Οι τιμές του pH, ήταν απολύτως φυσιολογικές και εντός των επιτρεπτών ορίων για την εκτροφή και ειδικότερα για το στάδιο γεννητικής ωριμότητας των γεννητόρων του κοινού κυπρίνου. Συγκεκριμένα, στις δεξαμενές των θηλυκών γεννητόρων το pH κυμάνθηκε μεταξύ 8,3 - 8,61 με μέση τιμή 8,47 ( $\pm 0,10$ ) και στις δεξαμενές των αρσενικών γεννητόρων μεταξύ 8,27 - 8,55 με μέση τιμή 8,41 ( $\pm 0,09$ ) (Διάγραμμα 4).



**Διάγρ. 4 Διακύμανση των τιμών του pH στις εξωτερικές χωμάτινες δεξαμενές διατήρησης των θηλυκών και των αρσενικών γεννητόρων**

**3.3 ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΕΝΕΣΙΜΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΥΠΟΦΥΣΕΩΝ**

Οι συνθήκες που επικρατούσαν στις δεξαμενές παραμονής των γεννητόρων εντός του εκκολαπτηρίου, εμφανίζονται στον Πίνακα Ι και ήταν οι βέλτιστες για την έναρξη της αναπαραγωγικής διαδικασίας.

**Πίν. Ι Τιμές βασικών φυσικοχημικών παραμέτρων στις δεξαμενές παραμονής των γεννητόρων εντός του εκκολαπτηρίου**

|                                    |      |
|------------------------------------|------|
| Θερμοκρασία (°C)                   | 21,4 |
| pH                                 | 7,90 |
| Αγωγιμότητα (μS cm <sup>-1</sup> ) | 667  |
| Αλατότητα (‰)                      | 0,3  |

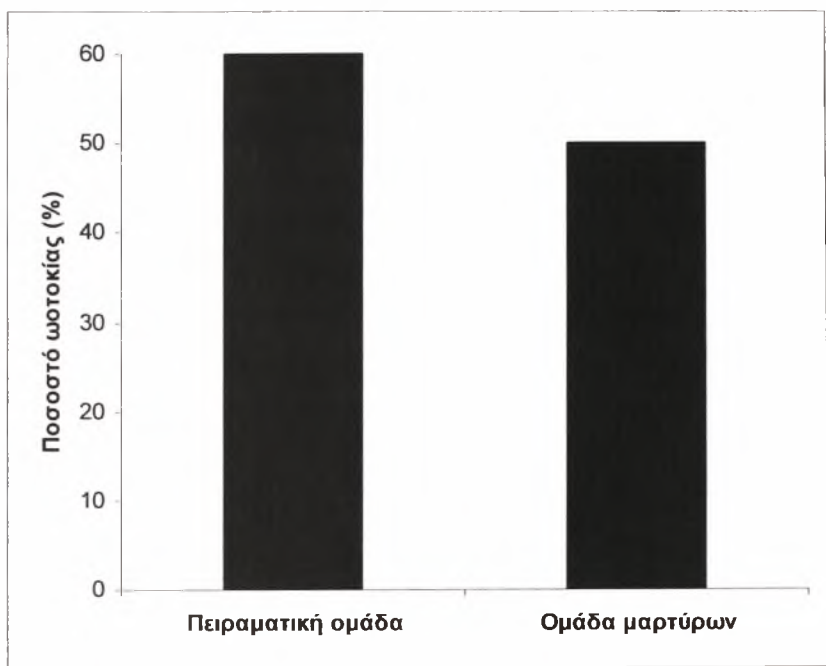
|                                              |             |
|----------------------------------------------|-------------|
| <b>Διαλυμένο οξυγόνο (mg l<sup>-1</sup>)</b> | <b>7,20</b> |
|----------------------------------------------|-------------|

Το συνολικό βάρος των θηλυκών γεννητόρων της πειραματικής ομάδας (n=10) που εισήχθη στον Ιχθυογεννητικό Σταθμό, ήταν 17,6 kg και το αντίστοιχο συνολικό βάρος των θηλυκών γεννητόρων της ομάδας των μαρτύρων (n=10), ήταν 18,9 kg. Η στατιστική σύγκριση των βαρών των δύο ομάδων έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά (p=0,47) (Πίνακας III).

Η συνολική ποσότητα των ξηρών υποφύσεις πεταλούδας που χορηγήθηκε στους θηλυκούς γεννήτορες της πειραματικής ομάδας ήταν 70,4 mg, ενώ η συνολική ποσότητα ορμόνη από υποφύσεις κοινού κυπρίνου που χορηγήθηκε στην ομάδα των μαρτύρων ήταν 75,6 mg.

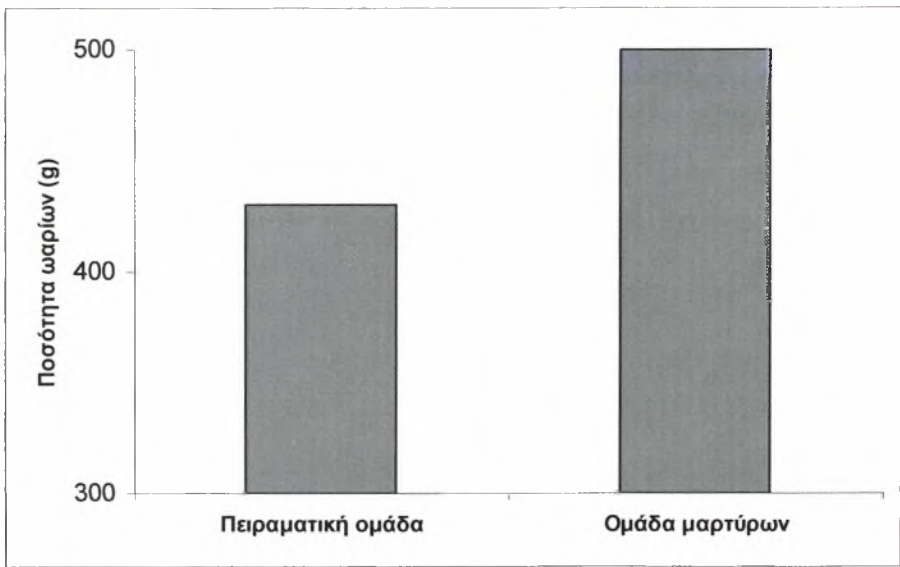
### 3.4 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΕΝΝΗΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Το ποσοστό ωοτοκίας ήταν 60% για την πειραματική ομάδα (έξι στους δέκα θηλυκούς γεννήτορες αντέδρασαν θετικά στην ορμονική παρέμβαση) και 50% για τους μάρτυρες (πέντε στους δέκα θηλυκούς γεννήτορες απέβαλαν ωάρια) (Διάγραμμα 5).



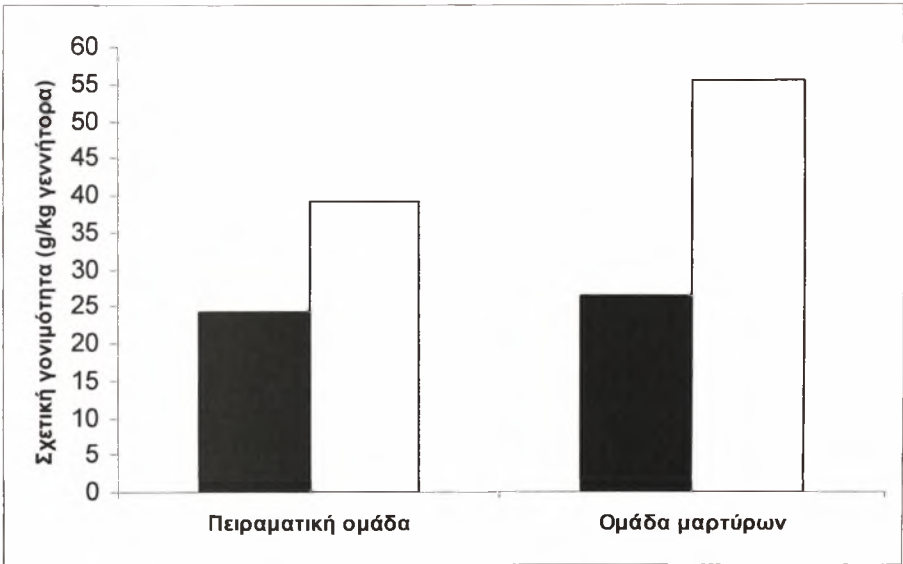
**Διάγρ. 5 Ποσοστό ωοτοκίας στην πειραματική ομάδα και στην ομάδα των μαρτύρων**

Η πειραματική ομάδα έδωσε συνολική ποσότητα 430 g ωαρίων, ενώ η ομάδα των μαρτύρων 500 g (Διάγραμμα 6). Η στατιστική σύγκριση των αντίστοιχων τιμών των δύο ομάδων έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ανωτέρω τιμών ( $p=0,81$ ) (Πίνακας III).



**Διάγρ. 6 Συνολική ποσότητα παραγόμενων ωαρίων στην πειραματική ομάδα και στην ομάδα των μαρτύρων**

Η συνολική σχετική γονιμότητα στην πειραματική ομάδα ήταν 24,43 g ωαρίων ανά kg γεννήτορα και στην ομάδα των μαρτύρων 26,46 g ωαρίων ανά kg γεννήτορα, ενώ η σχετική γονιμότητα επί των ωοτοκούντων θηλυκών για την πειραματική ομάδα ήταν 39,27 g kg<sup>-1</sup> και για τον μάρτυρα 55,56 g kg<sup>-1</sup> (Διάγραμμα 7). Η στατιστική σύγκριση των τιμών της συνολικής σχετικής γονιμότητας καθώς και της σχετικής γονιμότητας επί των ωοτοκούντων ατόμων των δύο ομάδων (Πίνακας III) έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους (p=0,82 και p=0,31).

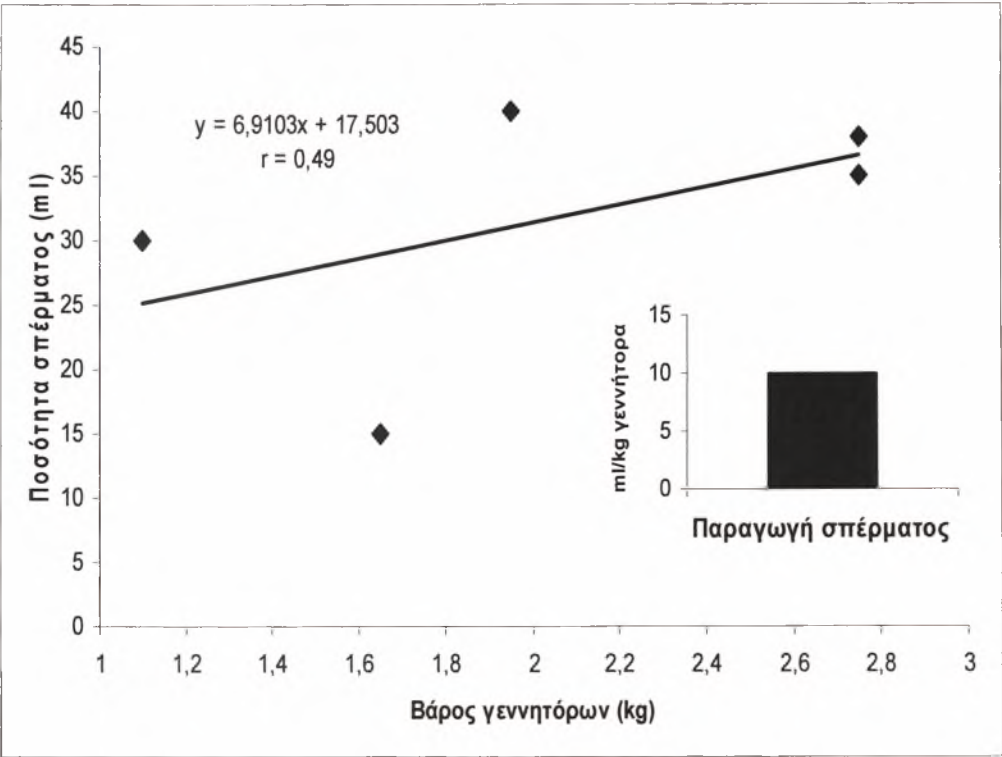


**Διάγρ. 7 Επίπεδα σχετικής γονιμότητας επί του συνολικού αριθμού των ατόμων της κάθε ομάδας (συμπαγείς στήλες) και επί των ωοτοκούντων ατόμων (κενές στήλες)**

Οι αρσενικοί γεννήτορες αποτέλεσαν ενιαία ομάδα (n= 8) συνολικού βάρους 15,7 kg και η συνολική ποσότητα του σπέρματος που συλλέχθηκε ήταν 158 ml. Η



παραγωγή σπέρματος ήταν 10,064 ml kg<sup>-1</sup> γεννήτορα. Η σχέση του βάρους των αρσενικών γεννητόρων προς την ποσότητα του σπέρματος που συλλέχθηκε (r=0,49), καθώς και η παραγωγή σπέρματος ανά kg γεννήτορα εμφανίζονται στο Διάγραμμα 8.



**Διάγρ. 8** Σχέση βάρους αρσενικών γεννητόρων και παραγόμενης ποσότητας σπέρματος. Στο ένθετο διάγραμμα εμφανίζεται η παραγωγή σπέρματος ανά μονάδα βάρους (kg)

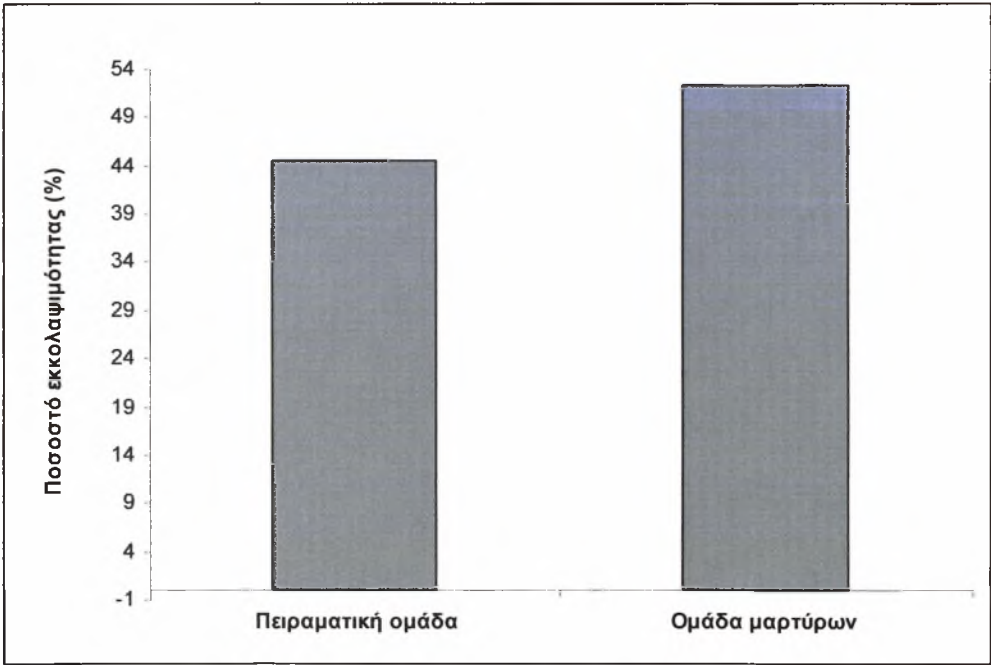
**3.5 ΕΠΩΑΣΗ - ΕΚΚΟΛΑΨΙΜΟΤΗΤΑ**

Οι φυσικοχημικές συνθήκες στις φιάλες επώασης (zugars των 7l) ήταν ευνοϊκές για την επώαση και εκκόλαψη των γονιμοποιημένων ωαρίων (Πίνακας II).

Πιν. II Τιμές βασικών φυσικοχημικών παραμέτρων στις φιάλες επώασης των γονιμοποιημένων ωαρίων

|                                         |           |
|-----------------------------------------|-----------|
| Θερμοκρασία (°C)                        | 21,5 - 22 |
| pH                                      | 7,62      |
| Αγωγιμότητα (μS cm <sup>-1</sup> )      | 655       |
| Αλατότητα (‰)                           | 0,3       |
| Διαλυμένο οξυγόνο (mg l <sup>-1</sup> ) | 7 - 7,5   |

Τα ποσοστά εκκολαψιμότητας ήταν 44,5% για την πειραματική ομάδα και 52,3% για την ομάδα του μάρτυρα (Διάγραμμα 9). Η στατιστική σύγκριση των τιμών των δειγμάτων στις δύο ομάδες (Πίνακας III) έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους (ρ=0,23).



Διάγρ. 9 Ποσοστό εκκολαψιμότητας των γονιμοποιημένων ωαρίων στην πειραματική ομάδα και στην ομάδα του μάρτυρα

Στον Πίνακα III, εμφανίζονται συγκεντρωτικά και σε παράλληλη παράθεση τα αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας της παρούσας εργασίας

Πίν. ΙΙΙ Συγκεντρωτικά αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας από την εφαρμογή των υποφύσεων πεταλούδας στην τεχνητή αναπαραγωγή του κοινού κυττρίνου

|                                                                                                   | ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ<br>ΟΜΑΔΑ | ΟΜΑΔΑ<br>ΜΑΡΤΥΡΩΝ | ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ<br>ΣΥΓΚΡΙΣΗ |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------|------------------------|
| <b>ΘΗΛΥΚΑ</b>                                                                                     |                      |                   |                        |
| <b>N</b>                                                                                          | 10                   | 10                | -                      |
| <b>Ολικό βάρος (kg)</b>                                                                           | 17,6                 | 18,9              | p>0,05                 |
| <b>Συνολική ποσότητα<br/>χρησιμοποιηθείσας ξηρής<br/>υπόφυσης (mg)</b>                            | 70,4                 | 75,6              | -                      |
| <b>Ποσοστό ωοτοκίας (%)</b>                                                                       | 60                   | 50                | -                      |
| <b>Ποσότητα ωαρίων (g)</b>                                                                        | 430                  | 500               | p>0,05                 |
| <b>Συνολική σχετική γονιμότητα (g<br/>kg<sup>-1</sup> βάρους γεννήτορα)</b>                       | 24,43                | 26,46             | p>0,05                 |
| <b>Σχετική γονιμότητα επί των<br/>ωοτοκούντων ατόμων (g kg<sup>-1</sup><br/>βάρους γεννήτορα)</b> | 39,27                | 55,56             | p>0,05                 |
| <b>Ποσοστό εκκολαψιμότητας (%)</b>                                                                | 44,5                 | 52,3              | p>0,05                 |
| <b>ΑΡΣΕΝΙΚΑ</b>                                                                                   |                      |                   |                        |
| <b>N</b>                                                                                          | -                    | 8                 |                        |
| <b>Ολικό βάρος (kg)</b>                                                                           | -                    | 15,7              |                        |
| <b>Ποσότητα συλλεχθέντος<br/>σπέρματος (ml)</b>                                                   | -                    | 158               |                        |
| <b>Ποσότητα συλλεχθέντος<br/>σπέρματος (ml kg<sup>-1</sup> βάρους<br/>γεννήτορα)</b>              | -                    | 10,1              |                        |

## 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο κυπρίνος είναι το περισσότερο διαδεδομένο ψάρι στον κόσμο. Έχει εισαχθεί σε περισσότερες από 81 χώρες και αποτελεί αλιευτικό στόχο και κυρίαρχο ψάρι στις ιχθυοκαλλιέργειες. Η παραγωγή του σε συνθήκες εκτροφής καλύπτει το 13% περίπου της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής αναφορικά με τις υδατοκαλλιέργειες στα εσωτερικά νερά (Peteri, 2006) και παράλληλα το μεγαλύτερο μέρος του παραγόμενου γόνου, στηρίζεται στην τεχνητή αναπαραγωγή και σε τεχνικές εκκολαπτηρίου (Dgori *et al.*, 1994).

Πρόσφατα, η πεταλούδα έχει προσελκύσει το επιστημονικό ενδιαφέρον, λόγω των αρνητικών επιπτώσεών της στα αυτόχθονα είδη (π.χ. υβριδισμοί) και τις πιθανές αλλαγές που φέρει στα τροφικά πλέγματα των οικοσυστημάτων (Vetemaa *et al.*, 2005; Gaygusuz *et al.*, 2007). Το υψηλό αναπαραγωγικό δυναμικό της, η ικανότητα της να κυριαρχεί στον ανταγωνισμό για τα αναπαραγωγικά πεδία και σε τροφικό επίπεδο θεωρούνται σημαντικές αιτίες, στην εξάπλωσή τους σε υποβαθμισμένα υδάτινα οικοσυστήματα προς συρρίκνωση άλλων ειδών που κυριαρχούσαν (Paschos *et al.*, 2004). Ειδικότερα στην Ελλάδα έχει αναφερθεί η παρουσία του είδους σε δώδεκα λιμναία σημαντικά οικοσυστήματα (Tsoumani *et al.*, 2005; Leonardos *et al.*, 2007).

Ένα σημαντικό βήμα στην αναπαραγωγή των ψαριών και κατ' επέκταση στην ανάπτυξη της υδατοκαλλιέργειας, είναι η βελτιστοποίηση των τεχνικών διαχείρισης των γεννητόρων και συγχρονισμού της αναπαραγωγής (Zohar & Mylonas, 2001). Η αναπαραγωγή στα ψάρια εξαρτάται από μια συντονισμένη δράση ορμονών του υποθαλάμου, της υπόφυσης και των γονάδων, με τις γοναδοτροπίνες (FSH & LH) να καταλαμβάνουν σημαντικό ρόλο στον άξονα αυτό (Yaron *et al.*, 2003).

Η τεχνική της χορήγησης διαλύματος υποφύσεων (από ξηρή υπόφυση κοινού κυπρίνου) με στόχο την επιτάχυνση και τον συντονισμό της τελικής ωρίμανσης και απελευθέρωσης των γεννητικών προϊόντων, εφαρμόζεται στις υδατοκαλλιέργειες από το 1930 (Von Ihering, 1937; Brzuska, 2006).

Εντούτοις, η ανάγκη να θανατωθούν ώριμοι γεννήτορες κοινού κυπρίνου, προς εξασφάλιση της απαιτούμενης ποσότητας ορμόνης, με την απόσπαση της υπόφυσης, αυξάνει πολύ το κόστος αυτών των εμπορικών προετοιμασιών. Η χρήση υποφύσεων πεταλούδας, είδος που βρίσκεται σε στενή ταξινομική εγγύτητα με τα εκτρεφόμενα κυπρινοειδή, ζει παρασιτικά και δεν αποτελεί αλιευτικό στόχο, θα μπορούσε να μειώσει αισθητά το κόστος αυτό.

Πέραν της ανοσολογικής συμβατότητας, που πρόσφατα αποδείχθηκε μεταξύ των υποφύσεων της πεταλούδας και του κοινού κυπρίνου, τα επίπεδα της LH που ανιχνεύτηκαν στην υπόφυση της πεταλούδας ήταν  $591.8 \pm 22.07$   $\mu\text{g/}$  υπόφυση, ποσότητα υψηλότερη από την αντίστοιχη του κοινού κυπρίνου και υπεραρκετή για την πρόκληση ωοτοκίας σε κυπρίνο ενός κιλού. Η συνιστώμενη εμπορική δόση κατά την εμπορική παραγωγή υπολογισμένου εκχυλίσματος γοναδοτροπίνης από υποφύσεις κοινού κυπρίνου, είναι  $450\text{-}600$   $\mu\text{g kg}^{-1}$  ψαριού. Κατόπιν τούτου τα ανωτέρω αποτελέσματα μπορούν να αποτελέσουν ένα αποφασιστικό βήμα, για την ορμονική χρήση της στον κοινό κυπρίνο (Perdikaris *et al.*, 2007).

Η εφαρμογή αυτής της τεχνικής, όπου μελετήθηκε στο εκκολαπτήριο, η αποτελεσματικότητα της ορμονικής παρέμβασης στην τεχνητή αναπαραγωγή του κοινού κυπρίνου, με χρήση ξηρής υπόφυσης πεταλούδας, συγκριτικά με την ξηρή υπόφυση κοινού κυπρίνου, σε συνθήκες μαζικής παραγωγής, αποδείχτηκε επιτυχής.

Διεθνώς, είναι η πρώτη φορά που χρησιμοποιήθηκαν υποφύσεις πεταλούδας, καθώς δεν υπάρχουν διαθέσιμες βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με το εν λόγω ζήτημα.

Η τεχνητή αναπαραγωγή των ψαριών και κατ' επέκταση και του κοινού κυπρίνου, είναι μια σύνθετη διαδικασία και περιλαμβάνει διάφορα στάδια, που αλληλοεπηρεάζονται, αρχίζοντας από την διαχείριση των γεννητόρων, την απελευθέρωση των γεννητικών προϊόντων, την γονιμοποίηση, την επώαση, την εκκόλαψη και την πρώτη διατροφή. Η διαδικασία είναι πολύπλοκη και είναι σημαντικό να αντιμετωπίζεται στο σύνολό της και όχι να εστιάζεται μόνο στην απελευθέρωση των γεννητικών προϊόντων και την τεχνητή γονιμοποίηση (Πάσχος, 2004).

Κατ' αρχήν, με την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας, γεννήτορες κοινού κυπρίνου, αλιεύθηκαν από την ίδια περιοχή (Πειραματικό Κυπρινοτροφείο Άρτας – Ψαθοτόπι Άρτας ) και αφού επιλέχθηκαν και διαχωρίστηκαν κατά φύλο, παρέμειναν στις ίδιες δεξαμενές ανά φύλο, κάτω από τις ίδιες φυσικοχημικές συνθήκες, οι οποίες κυμάνθηκαν σε φυσιολογικά επίπεδα, βρισκόταν στην ίδια ηλικία και είχαν παρόμοιο βάρος. Οι παράγοντες αυτοί, αφ' ενός μεν ασκούν καθοριστική επίδραση τόσο στην ωρίμανση των γεννητόρων, όσο και στην μετέπειτα ποιότητα και ποσότητα των γεννητικών τους προϊόντων, εφ' ετέρου ορίζουν ένα κοινό σημείο αφετηρίας για την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας, στις δύο ομάδες θηλυκών γεννητόρων που χρησιμοποιήθηκαν .

Για να είναι αποτελεσματική η δράση των ορμονών, θα πρέπει τα ωάρια του γεννήτορα να βρίσκονται στο στάδιο της βιτελλογένεσης και όλες οι άλλες συνθήκες να είναι ευνοϊκές. Είναι γεγονός ότι η αναπόφευκτη πίεση, που ασκείται κατά την αιχμαλωσία στους γεννήτορες, πολλές φορές παρεμποδίζει την αποβολή των γεννητικών προϊόντων (Rainis *et al.*, 2003). Παρ' όλες τις δυσκολίες που μπορεί να

εμφανιστούν κατά την τεχνητή αναπαραγωγή, η παρούσα πειραματική εφαρμογή εξελίχθηκε ομαλά και για τις δύο ομάδες.

Την άποψη αυτή, την τεκμηριώνει η επεξεργασία των αποτελεσμάτων που καταγράφηκαν κατά την διεξαγωγή του πειράματος. Συγκεκριμένα, τα ποσοστά ωοτοκίας που παρουσίασαν οι γεννήτορες της πειραματικής ομάδας (60%) και της ομάδας του μάρτυρα (50%) ήταν υψηλά. Τα γεγονόσ ότι η πειραματική ομάδα, όπου έγινε χρήση ξηρής υπόφυσης πεταλούδας παρουσίασε υψηλότερο ποσοστό ωοτοκίας από την ομάδα του μάρτυρα, παρ'όλο που δεν σημειώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ τους, κάνει τα αποτελέσματα πιο ενθαρρυντικά.

Η ποσότητα και ποιότητα (χρώμα, πηκτικότητα) του σπέρματος, που συλλέχθηκε από τους αρσενικούς γεννήτορες της κοινής ομάδας, ήταν ικανοποιητική και αρκετή να γονιμοποιήσει την ποσότητα των ωαρίων που συλλέχθηκαν από τις δύο ομάδες.

Τα συγκριτικά αποτελέσματα και η στατιστική επεξεργασία αυτών, που αφορούν την ποσότητα των ωαρίων στις δύο ομάδες, την σχετική γονιμότητα επί του συνολικού αριθμού των ατόμων της κάθε ομάδας και επί των ωοτοκούντων, έδειξαν ότι δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ τους και η πορεία μετά από ορμονική παρέμβαση με ξηρή υπόφυση πεταλούδας και με ξηρή υπόφυση κοινού κυπρίνου, ήταν ίδια.

Μετά την γονιμοποίηση, στο τελικό στάδιο επώασης των ωαρίων, έγιναν μετρήσεις για τον υπολογισμό του ποσοστού εκκολαψιμότητας στην πειραματική ομάδα και στην ομάδα του μάρτυρα. Τα ελαφρώς χαμηλότερα ποσοστά εκκολαψιμότητας που παρουσίασε η πειραματική ομάδα, παρ'όλο που δεν υπήρχε στατιστικώς σημαντική διαφορά με τον μάρτυρα, συνδέονται με διάφορους παράγοντες αλλά κυρίως και άμεσα με την κατάσταση των γεννητόρων.



Η εκκόλαψη, ολοκληρώθηκε παράλληλα και στις δύο ομάδες και οι προνύμφες, είχαν την ίδια συμπεριφορά και σταδιακά ανέπτυξαν στοματική κοιλότητα, πεπτικό σωλήνα και νηκτική κύστη. Με την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου τους χορηγήθηκε τροφή, όπου οι προνύμφες και των δύο ομάδων ανταποκρίθηκαν θετικά.

Ο αριθμός των γεννητόρων που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία, ήταν ο μέγιστος δυνατός, γιατί την περίοδο αυτή το εκκολαπτήριο κάλυπτε και τις πάγιες απαιτήσεις της μονάδας. Η επανάληψη της ανωτέρω διαδικασίας με μεγαλύτερο αριθμό γεννητόρων και η χορήγηση υπόφυσης πεταλούδας και στα αρσενικά, θα δώσει την δυνατότητα μελέτης και άλλων παραμέτρων, όπως την επίδραση της ορμόνης στην ποσότητα και την ποιότητα του παραγόμενου σπέρματος και φυσικά θα εδραιώσει τα ήδη υπάρχοντα αποτελέσματα.

Η αλιεία του απαιτούμενου αριθμού ώριμων πεταλούδων >500 g, προς εξασφάλιση της αναγκαίας ποσότητας ορμόνης, είναι μια διαδικασία ιδιαίτερα απλή, λόγω της αφθονίας της στο πεδίο, που απαιτεί μέτρια ειδίκευση και χαμηλό κόστος, συντελώντας συγχρόνως στην αποκατάσταση των βιοτόπων και κατ'έκταση στην ισορροπία του οικοσυστήματος υπέρ των ενδημικών ψαριών. Επιπλέον η συλλογή και η επεξεργασία υποφύσεων δεν απαιτεί ιδιαίτερο εξοπλισμό, ούτε υψηλή τεχνογνωσία.

Δεδομένου ότι σε συνθήκες μαζικής παραγωγής απαιτείται 1g ξηρής υπόφυσης κοινού κυπρίνου ετησίως, αξίας 410,38 €, η μέθοδος συλλογής υποφύσεων από την πεταλούδα, μπορεί να μειώσει αισθητά τα λειτουργικά έξοδα

ενός εκκολαπτηρίου, αποτελώντας σημαντικό στόχο για την διεθνή βιομηχανία και πηγή εσόδων για τους τοπικούς ψαράδες.

Μετά από μια συγκριτική οικονομική αποτίμηση της χρήσης υποφύσεων κοινού κυτρίνου και πεταλούδας και δεδομένου ότι η διαδικασία είναι κοινή και στις δύο περιπτώσεις, η διαφορά στο κόστος, εστιάζεται βασικά στους δότες υποφύσεων, που στην πρώτη περίπτωση έχουν εμπορική αξία, ενώ στην δεύτερη είναι είδη παρασιτικά χωρίς καμία εμπορική αξία.

Γνωρίζοντας ότι η ξηρή υπόφυση κοινού κυτρίνου έχει εφαρμοστεί με θετικά αποτελέσματα σε πολλά είδη ψαριών του γλυκού νερού (Zohar, 1989; Horvath *et al*, 2002), η επιτυχής εφαρμογή υποφύσεων πεταλούδας δίνει μια προοπτική για την χρήση της και σε άλλα είδη όπως, χρυσόψαρο, γουλιανό, άλλα κυτρινειδή.

Επιπλέον, τα χημικά υποθαλαμικά υποκατάστατα, που χρησιμοποιούνται για την πρόκληση ωοτοκίας, αφ' ενός έχουν υψηλό κόστος, αφετέρου δρουν δευτερογενώς στις γονάδες και δεν μπορούν να συγκριθούν με φυσικά προϊόντα (υποφύσεις) που δρουν άμεσα σ' αυτές.

Οι παράγοντες αυτοί σε συνδυασμό με τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα που προέκυψαν από την εν' λόγω εφαρμογή κάνουν την επιλογή αυτή ιδιαίτερα ελκυστική, δημιουργώντας μια νέα δυναμική στη σύγχρονη υδατοκαλλιέργεια στα εσωτερικά νερά.

## 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Behr R.E., Baldisserotto B., Garcia-Parra W., Atlante Brandão D., Herke Z., 2000.

Urophysial and pituitary extracts for spawning induction in teleosts. *Ciência Rural, Santa Maria*, 30(5): 897-898.

Bromage N., 1995. Broodstock management and seed quality - General considerations. In: *Broodstock management and egg and larval quality* (ed. by N. R. Bromage & R. J. Roberts). Blackwell Science, Oxford, pp. 1-24.

Brzuska E., 2006. Artificial propagation of female Hungarian strain 7 carp (*Cyprinus carpio*) after treatment with carp pituitary homogenate, Ovopel or Dagin. Institute of Ichthyobiology and Aquaculture, Polish Academy of Sciences, *Gołysz. Czech J. Anim. Sci.*, 51(3): 132-141.

Coad W.B., 2007. Species Accounts - Cyprinidae - Carassius. Freshwater Fishes of Iran. (<http://www.briancoad.com>)

Drori S., Ofir M., Levavi-Sivan B., Yaron Z., 1994. Spawning induction in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with metoclopramide: Analysis of hormone profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. *Aquaculture*, 119: 393-407.

Economidis P.S., Dimitriou E., Pagoni R., Michaloudi E., Natsis L., 2000. Introduced and translocated fish species in the inland waters of Greece. *Fisheries Management and Ecology*, 7: 239-250.

Economidis P.S., Banarescu P.M., 1991. The distribution and origins of freshwater fishes in the Balkan Peninsula, especially in Greece. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie* 76(2): 257-284.

- Fan Z., Shen J. 1990. Studies on the Evolution of Bisexual Reproduction in Crucian Carp (*Carassius auratus gibelio*, Bloch). *Aquaculture*, 84: 235-244.
- FAO Fisheries Department, 2006. Fisheries Statistics. FAO - Rome.  
(<http://www.fao.org/figis/servlet/>)
- FAO. 1985. Common carp. Part 1. Mass production of eggs and early fry. Food and Agriculture Organization, Rome. FAO Fisheries Training Series 8, 87pp.
- Flajšhans M., Hulata G., 2006. Evaluation of genetic impact of aquaculture activities on native populations. Genetics of domestication, breeding and enhancement of performance of fish and shellfish, Common carp - *Cyprinus carpio*. University of South Bohemia, Vodnany, Czech Republic, Agricultural Research Organization, Volcani Center, Bet Dagan, Israel. Viterbo, Italy, 7 pp. (<http://genimpact.imr.no/>)
- Gaygusuz Ö., Tarkan S.A., Gaygusuz G.C., 2007. Changes in the fish community of the Ömerli Reservoir (Turkey) following the introduction of non-native gibel carp *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) and other human impacts. *Aquatic Invasions*, 2(2): 117-120.
- Gomelsky B., 2003. Chromosome set manipulation and sex control in common carp: A review. *Aquatic Living Resources*, 16: 408-415.
- Gomez J.M., Weil C., Ollitrault M., Le Bail P.Y, Breton B., Le Gac F., 1999. Growth hormone (GH) and gonadotropin subunit gene expression and pituitary and plasma changes during spermatogenesis and oogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *General and Comparative Endocrinology*, 113(3): 413-428.
- Gui J.F., 1996. A unique study system: gynogenetic fish *Carassius auratus gibelio*. *Sci. Found. China*, 4: 44-46.

- Hong J.Y., Yu J.Z., Zhou L., Gui F.J., 2005. Brief Communications. A population of red-transparent, triploid *Carassius auratus*. *Journal of Fish Biology*, 67: 1139-1143.
- Holcik J., 1980. *Carassius auratus* (pisces) in the Danube river. *Acta Sc. Nat. Brno*, 14: 1-43.
- Holcik J. and Zitman R., 1978. On the expansion and origin of *Carassius auratus gibelio* in Chechoslovakia. *Folia Zoologica*, 7: 239-250.
- Horvath L., Tamas G., Seagrave C., 2002. *Carp and Pond Fish Culture*. Fishing News Books, Oxford. 170 pp.
- Horvath L. 1986. Carp oogenesis and the environment. In: R. Billard & J. Marcel (eds.), *Aquaculture of Cyprinids*, 2-6 September 1985, Evry, France. INRA, Paris, France. pp. 109-117.
- Horvath L. 1985. Egg development (oogenesis) in the common carp (*C. carpio*). In: *Recent Advances in Aquaculture 2* (ed. J.F. Muir and R.J. Roberts): pp 32-77, Croom Helm, London.
- Jalabert B., 2005. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. Groupe « Sexualité et Reproduction des Poissons », Institut National de la Recherche Agronomique, SCRIBE, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France. *Reprod. Nutr. Dev.*, 45: 261-279.
- Kalous L., Memis D., Bohlen J., 2004. Finding of triploid *Carassius gibelio* (Bloch, 1780) (Cypriniformes, Cyprinidae), in Turkey. *Cybum*, 28: 77-79.
- Kottelat M., 1997. European freshwater fishes. *Biologia*, 52(S5): 1-271.
- Leonardos I., Kokkinidou A., Katharios P., Harisis C., 2001. Age growth and mortality of gibel carp (*Carassius gibelio*, Bloch, 1873) in Lake Lysimachia (W. Greece).

Proceedings of the Hellenic Conference of Ichthyologist, Mesolongi, Greece, pp. 137-140.

Lutz C.G., 2001. Practical Genetics for Aquaculture. Blackwell Sci., Oxford, 256 pp.

Muus, B.J., Dahlstrom P., 1999. Freshwater Fish. G.E.G gods Forlag, Denmark.

Mylonas C., Magnus Y., Gissis A., Klebanov Y., Zohar Y., 1996. Application of controlled-release, GnRHa-delivery systems in commercial production of white bass x striped bass hybrids (sunshine bass), using captive broodstocks. *Aquaculture*, 140: 265-280.

Nathanael S., Edirisinghe U., 2001. Abundance and Aspects of the Reproductive Biology of Common Carp, *Cyprinus carpio* in an Upland Reservoir in Sri Lanka. *Asian Fisheries Science*, 14: 343-351. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.

Nathanailides C., Perdikaris C., Gouva E., Paschos I., 2003. Gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) growth under increased ammonia concentration. Proceedings of the 11th Hellenic Conference of Ichthyologists, 18-20 October 2001, Chania, Greece, pp. 178-181. (in Greek).

Pao X., Kuanhong M., Jian Z., Wang J., Yongseng G., 2007. Comparative studies on spawning-inducing using Ovaprim and other hormones. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi, China.

Παπουτσόγλου Σ., 1998. Ενδοκρινολογία Ιχθύων, Αθήνα, 599 σελ.

Πάσχος Ι., 2004. Ιχθυοκαλλιέργειες Εσωτερικών Υδάτων (Β' Έκδοση). Ιωάννινα, 293 σελ.

Paschos I., Nathanailides C., Tsoumani M., Perdikaris C., Gouva E., Leonardos I., 2004. Intra and inter-specific mating options for gynogenetic reproduction of

- Carassius gibelio (Bloch, 1783) in Lake Pamvotis (NW Greece). *Belgian Journal of Zoology*, 134(1): 55-60.
- Paschos I., Nathanailides C., Samara A., Gouva E., Tsoumani M., 2001. Presence of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) in Greek lakes: on the characteristics and controlling the population. Proceedings of the 10th Hellenic Conference of Ichthyologists, 18-20 October 2001, Chania, Greece, pp. 245-248. (in Greek).
- Perdikaris C., Levavi-Sivan B., Chantzaropoulos A., Nathanailides C., Gouva E., Paschos I., 2007. Pituitary Collection from Gibel Carp *Carassius gibelio* (Bloch 1782) in Lake Pamvotis (Greece): Prospects for Use in Carp Reproduction. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 59(3): 162-167.
- Perdikaris C., Nathanailides C., Gouva E., Karipoglou C. and I. Paschos, 2005. Collapse of Epirus minnow, *Phoxinellus epiroticus* (Steindachner, 1895) fisheries in lake Pamvotis, Greece. *Ichthyological Explorations of Freshwaters*, 16(4):371-374.
- Peter R.E., Lin H.R., Van der Kraak G., 1988. Induced ovulation and spawning of cultured freshwater fish in China: advances in application of GnRH analogues and dopamine antagonists. *Aquaculture*, 74: 1-10.
- Peteri A., 2006. Inland Water Resources and Aquaculture Service (FIRI). Cultured Aquatic Species Information Programme - *Cyprinus carpio*. Cultured Aquatic Species Fact Sheets. FAO - Rome. (<http://www.fao.org/fi/figis/>).
- Pipoyan S.K.H., Rukhkyan R.G., 1998. Reproduction and development of *Carassius gibelio* in water bodies of Armenia. *Journal of Ichthyology*, 38(5): 374-379.
- Rainis S., Ballestrazzi R., 2005. The control of reproduction in finfish species through GnRH treatments. Associazione Allevatori Friuli Venezia Giulia. Codroipo (UD), Italy. Dipartimento di Scienze Animali. Università di Udine, Italy



- Rothbard S., Yaron Z., 1995. Carps (Cyprinidae). In: Broodstock management and egg and larval quality (ed. by N. R. Bromage & R. J. Roberts). Blackwell Science, Oxford, pp. 321-352.
- Shepherd J., Bromage R., 1992. Intensive Fish Farming. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England. 416 pp.
- Sherwood N.M., Coe I.R., 1991. Neuropeptides and their genes in fish. In: A.P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime and M.S. Rolfe (Editors), Proceedings of the Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, Norwich, U.K., 7-12 July 1991, FishSymp91, Sheffield, pp. 38-40.
- Τριανταφυλλίδης Κ., 2006. Αρχές Γενετικής Βελτίωσης. Μέρος VIII. 49 σελ.
- Tsoumani M., Roman L., Moutsaki P., Kagalou I., Leonardos I., 2006. Length–weight and length–length relationships of an invasive cyprinid fish (*Carassius gibelio*) from 12 Greek lakes in relation to their trophic states. *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 281-284.
- Στουμπούδη, Μ., 2006. Σημειώσεις Μ.Δ.Ε. Υδατοκαλλιέργειες – Παθολογικά προβλήματα υδρόβιων εκτρεφόμενων οργανισμών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 7 σελ.
- Tyler R.C., Sumpter P.J., 1996. Oocyte growth and development in teleosts. Fish Physiology Research Group, Department of Biology and Biochemistry, Brunel University, Uxbridge, Middlesex UB8 3PH, United Kingdom. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 6: 287-318.
- Vetemaa M., Eschbaum R., Albert A., Saat T., 2005. Distribution, sex ratio and growth of *Carassius gibelio* (Bloch) in coastal and inland waters of Estonia (north-eastern Baltic Sea). *Journal of Applied Ichthyology*, 21: 287-291.

- Wu G., Sun Y., Zhu Z., 2003. Growth hormone gene transfer in common carp. *Aquatic Living Resources*, 16: 416 - 420.
- Woynarovich E., Horvath L. 1980. The artificial propagation of warm-water finfishes - a manual for extension. FAO Fisheries Technical Paper No. 201. FAO, Rome, Italy. 183 pp.
- Xie J., Wen J.J., Chen B., Gui J.F., 2001. Differential gene expression in fully-grown oocytes between gynogenetic and gonochoristic crucian carps. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China *Gene*, 271: 109-116.
- Yaron Z., Gur G., Melamed P., Rosenfeld A., Elizur A., Levavi-Sivan B., 2003. Regulation of fish gonadotropins. *International Review of Cytology*, 225: 131-185.
- Yaron Z., Silvan B., Drori S., Kulikovsky Z., 2002. Spawning induction in Cyprinids: hypophyseal and hypothalamic approaches. *Bull. VÚRH, Vodňany*, 4: 181–193.
- Yaron Z., 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, 129: 49-73.
- Yaron Z., Bogomolnaya A., Levavi B., 1984. A calibrated carp pituitary extract as a spawning-inducing agent. *European Mariculture Society Special Publication*, 8: 151-168.
- Zohar Y., Mylonas C.C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197: 99-136.



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

Τηλ.: ~~74.760-61~~

2442066080



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000092415