

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Πληθυσμιακά χαρακτηριστικά του ολοθούριου *Holothuria tubulosa*
Gmelin 1788 στον Άγιο Στέφανο του Παγασητικού»**

Κυριακούλη Κυρατσώ

ΒΟΛΟΣ 2011

**«Πληθυσμιακά χαρακτηριστικά του ολοθούριου *Holothuria tubulosa* Gmelin
1788 στον Άγιο Στέφανο του Παγασητικού»**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :

- 1) **Δημήτριος Βαφείδης**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Βιοποικιλότητα των Θαλάσσιων Βενθικών Ασπονδύλων και άμεση - έμμεση χρησιμότητά τους, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Επιβλέπων***,
- 2) **Χρήστος Νεοφύτου**, Καθηγητής, Ιχθυολογία - Υδροβιολογία, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***,
- 3) **Αθανάσιος Εξαδάκτυλος**, Επίκουρος Καθηγητής, Γενετική Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κ. Δημήτριο Βαφείδη για την πολύτιμη βοήθειά του και τη διαρκή υποστήριξή του, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου, αποτελούμενη από τους 1) Αθανάσιο Εξαδάκτυλο και 2) Χρήστο Νεοφύτου για τις χρήσιμες συμβουλές τους και την καθοδήγησή τους καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την πολύ καλή μου φίλη Νικολέτα Νταλαμάγκα, το Γεώργιο Καζανίδη και τον υποψήφιο διδάκτορα Αλέξιο Λόλα για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθειά τους και την αμέριστη συμπαράστασή τους κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στους γονείς μου για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Σκοπός της εργασίας ήταν η καταγραφή των πληθυσμιακών χαρακτηριστικών του *Holothuria tubulosa* στο κινητό υπόστρωμα της ανώτερης υποπαριακτής ζώνης του Παγασητικού κόλπου.

Πραγματοποιήθηκαν 14 μηνιαίες δειγματοληψίες σε ένα σταθμό με αυτόνομη κατάδυση (Φεβρουάριος 2009 – Μάρτιος 2010) με σκοπό να εκτιμηθεί η πυκνότητα, τα κυριότερα βιομετρικά χαρακτηριστικά και ο αναπαραγωγικός κύκλος του είδους.

Συνολικά συλλέχθηκαν 265 άτομα. Η μέση πληθυσμιακή πυκνότητα ήταν 14 άτομα/ 100 m², η μέση τιμή του ολικού βάρους ήταν $190,59 \pm 79,19$ g, του βάρους σωματικού τοιχώματος $86,25 \pm 28,25$ g, του βάρους γονάδας $5,68 \pm 1,49$ g, μήκος πεπτικού σωλήνα $76,3 \pm 20,8$ cm, βάρος πεπτικού σωλήνα $49,73 \pm 24,29$ g και η περίμετρος περιφρυγγικού δακτυλίου $43,72 \pm 6,04$ mm. Έγινε ακόμα ταυτοποίηση του φύλου και υπολογίστηκε ο γοναδοσωματικός δείκτης (GSI) η μέση τιμή του οποίου βρέθηκε $6,24 \pm 2,89\%$.

Στο σύνολο των μορφομετρικών χαρακτηριστικών οι κατανομές των κλάσεων μεγέθους παρουσίασαν μία ξεκάθαρη κορυφή. Οι βιομετρικές σχέσεις που εξετάστηκαν βρέθηκε να ακολουθούν αρνητική αλλομετρία ($b < 3$) με τη σχέση ολικό βάρος σώματος- βάρος σωματικού τοιχώματος να παρουσιάζει το μεγαλύτερο συντελεστή συσχέτισης ($r = 0,84$).

Τέλος το είδος φάνηκε να παρουσιάζει ετήσιο αναπαραγωγικό κύκλο με την απελευθέρωση των γαμετών στο τέλος του καλοκαιριού.

Λέξεις κλειδιά: *Holothuria tubulosa*, αναπαραγωγή, βιομετρία, πυκνότητα

Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Συστηματική του <i>Holothuria tubulosa</i>	1
1.2 Γεωγραφική εξάπλωση	2
1.3 Βιολογία του <i>Holothuria tubulosa</i>	4
1.3.1 Μορφολογία.....	4
1.3.2 Πεπτικό σύστημα	5
1.3.3 Αιματικό σύστημα	6
1.3.4 Αναπαραγωγή	7
1.4 Εμπορική σημασία	10
1.5 Αντικείμενο και στόχοι της έρευνας	11
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	13
2.1 Δειγματοληψίες.....	13
2.2 Πληθυσμιακή πυκνότητα	14
2.3 Μορφομετρικές μετρήσεις.....	15
2.4 Ιστολογική μελέτη της γονάδας	17
2.5 Τεχνική παρασκευής των ιστολογικών παρασκευασμάτων	18
2.6 Μικροσκοπική παρατήρηση και καταγραφή	20
2.7 Στατιστική επεξεργασία δεδομένων	21
3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	22
3.1 Αβιοτικοί παράγοντες	22
3.2 Πληθυσμιακή πυκνότητα	22
3.3 Μορφομετρικές μετρήσεις	23
3.3.1 Κλάσεις μεγέθους- Στατιστική επεξεργασία	26
3.3.2 Βιομετρικές σχέσεις.....	43

3.4 Ιστολογική ανάλυση	47
3.5 Αναλογία φύλου.....	52
3.6 Γοναδοσωματικός δείκτης – Αναπαραγωγή.....	52
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	54
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	55
6. ABSTRACT.....	58

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα ολοθούρια ή κοινώς, αγγούρια της θάλασσας, αποτελούν μία ιδιαίτερα ποικιλόμορφη ομάδα θαλάσσιων βενθικών ασπόνδυλων και τα οποία παρουσιάζουν έντονο οικολογικό, οικονομικό αλλά και επιστημονικό ενδιαφέρον.

Τα ολοθούρια ασκούν σημαντική επίδραση στο θαλάσσιο οικοσύστημα, καθώς συμβάλλουν στην ανακύκλωση της οργανικής ύλης και τη σταθεροποίηση των συνθηκών που επικρατούν στην επιφάνεια του πυθμένα (Coulon & Jangoux 1993). Εκτός από την οικολογική σημασία, τα ολοθούρια έχουν ενδιαφέρον και από οικονομική άποψη. Σε χώρες της ανατολικής Ασίας αποτελούν κομμάτι της τοπικής γαστρονομίας αλλά και της φαρμακευτικής (Tortonese & Vadon 1987). Πρόσφατα έχουν αποκτήσει και επιστημονικό ενδιαφέρον, λόγω της ενδεχόμενης χρήσης τους ως βιοδείκτες (Waurneau et al. 2006).

Ένα από τα πολύ κοινά είδη των ολοθούριων που συναντάται συχνά και στις ελληνικές θάλασσες, είναι το *Holothuria tubulosa*. Ειδικά στον Παγασητικό κόλπο είναι ευρύτατα διαδεδομένο (Kazanidis et al. 2010).

Η εμπορική αξιοποίηση του *H. tubulosa* στον ελλαδικό χώρο είναι σε πολύ αρχικό στάδιο, όπως επίσης και η έρευνα γύρω από το συγκεκριμένο είδος. Παρόλα αυτά, υπάρχουν μεγάλες προοπτικές για ανάπτυξη, οι οποίες προϋποθέτουν καλύτερη γνώση και κατανόηση των βιολογικών και οικολογικών χαρακτηριστικών του είδους.

1.1 Συστηματική του *Holothuria tubulosa*

Το *H. tubulosa* ανήκει στο φύλο των Εχινόδερμων όπως οι αστερίες και οι αχινοί. Ειδικότερα, κατατάσσεται στην κλάση των Holothurioidea η οποία χωρίζεται σε 6 τάξεις, τις Aspidochirodita, Dendrochirotida, Dactylochirotida, Elapsipodida, Apodita και Molpadiida (Conand 1990). Το *H. tubulosa*, ανήκει στην τάξη Aspidochirodita.

Συνολικά, η συστηματική κατάταξη του *H. tubulosa* σύμφωνα με τις 7 βασικές ταξινομικές κατηγορίες περιγράφεται στον Πίνακα 1.1.

Πίνακας 1.1: Συστηματική κατάταξη του ολοθουρίου (Integrated Taxonomic Information System, ITIS, 2010).

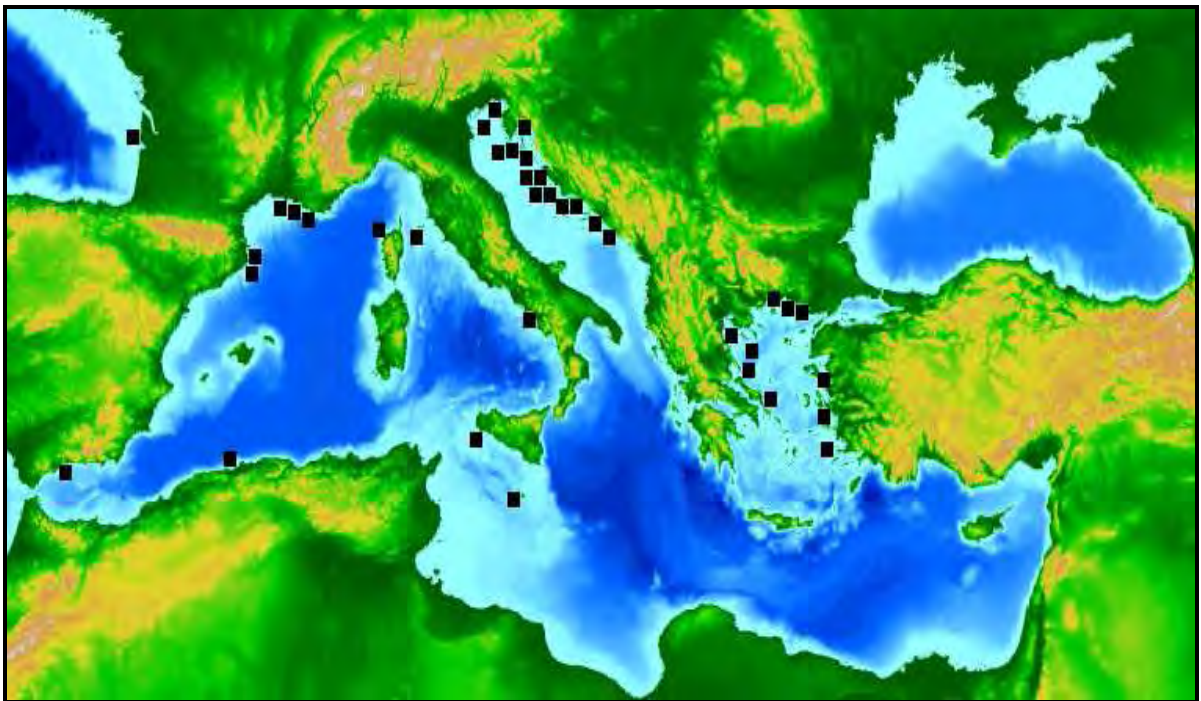
Βασίλειο	Animalia	Kingdom
Φύλο	Echinodermata	Phylum
Κλάση	Holothuroidea	Class
Τάξη	Aspidochirotida	Order
Οικογένεια	Holothuriidae	Family
Γένος	<i>Holothuria</i>	Genus
Είδος	<i>Holothuria tubulosa</i> (Gmelin, 1788)	Species

1.2 Γεωγραφική εξάπλωση

Τα ολοθούρια βρίσκονται σε πολλούς θαλάσσιους βιότοπους και είναι κατανεμημένα σε όλα τα γεωγραφικά πλάτη, από τις πολικές έως τις τροπικές περιοχές. Συνήθως είναι βενθικά, εκτός από ορισμένα είδη τα οποία είναι πελαγικά, όπως αυτά που ανήκουν στην τάξη των Elapsipodida. Βρίσκονται σε όλα τα βάθη, από την παλιρροιακή ζώνη ως τις ωκεάνιες τάφρους, όπου αποτελούν μεγάλο μέρος της συνολικής βιομάζας. Ορισμένα είδη ζουν στο σκληρό υπόστρωμα (βράχια, κοιλότητες,

κοραλλιογενείς ύφαλοι) αλλά η πλειοψηφία των ειδών διαβιεί σε μαλακά υποστρώματα (Conand 1990).

Το *H. tubulosa* ανήκει στα Ατλαντο-μεσογειακά είδη αφού συναντάται στο βόρειο-ανατολικό κομμάτι του Ατλαντικού και τη Μεσόγειο θάλασσα. Στο ανατολικό τμήμα του Ατλαντικού ωκεανού έχει αναφερθεί η παρουσία του στο Βискаϊκό Κόλπο και στο Γιβραλτάρ (Tortonese 1965). Στη δυτική Μεσόγειο, έχει αναφερθεί στις ακτές της Αλγερίας (Mezali et al. 2003) και της Ισπανίας (Ocana & Sanchez-Tocino 2005). Στο κεντρικό κομμάτι της Μεσόγειου, έχει καταγραφεί στις ακτές της Γαλλίας, την Κορσική (Waurneau et al. 2006), στις δυτικές ακτές της Ιταλίας (Goldbeck et al. 2005) και τις ανατολικές ακτές της Ανδριατικής (Despalatovic et al. 2004). Τέλος, στην ανατολική Μεσόγειο έχει αναφερθεί στο βόρειο αλλά και στο νότιο Αιγαίο (Kazanidis et al. 2010). Στην Εικόνα 1.1 φαίνονται συνολικά οι διάφορες τοποθεσίες όπου έχει αναφερθεί η παρουσία του είδους.



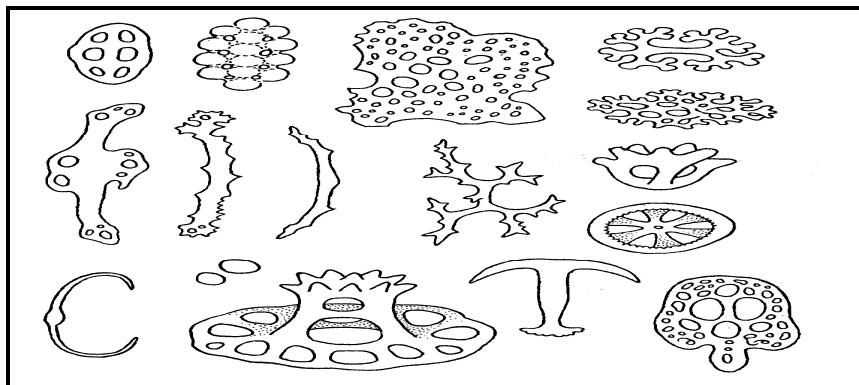
Εικόνα 1.1: Γεωγραφική εξάπλωση του *H. tubulosa*

1.3 Βιολογία του *Holothuria tubulosa*

1.3.1 Μορφολογία

Το σώμα του *H. tubulosa* έχει σακοειδή ή σκωληκοειδή μορφή και είναι αμφίπλευρα συμμετρικό. Το επίπεδο συμμετρίας περνά από το στόμα και την έδρα τα οποία και αποτελούν τα δύο άκρα του σώματος. Δε φέρει άκανθες και το σώμα του είναι μαλακό, μυώδες και γλοιώδες. Υπάρχουν μικροσκοπικοί ασβεστιτικοί σκληρίτες μέσα στο δέρμα του ζώου, οι οποίοι δεν ενώνονται μεταξύ τους και διαφέρουν από είδος σε είδος (Εικ. 1.2)(Λαζαρίδου 1992).

Εξωτερικά στο σώμα ξεχωρίζουν οι πέντε υδροφορικοί σωλήνες, από τους οποίους οι τρεις διατρέχουν κατά μήκος την κοιλιακή επιφάνεια και οι άλλοι δύο, τη νωτιαία και επικοινωνούν με το νερό μέσω της μαδρεπορικής πλάκας. Η μαδρεπορική πλάκα είναι εσωτερική και βρίσκεται κάτω από το φάρυγγα. Ακόμη, ένας δακτύλιος περιβάλλει το αρχικό τμήμα του πεπτικού σωλήνα και αποτελείται από 1 με 50 κυστήδια, τις κύστες του Poli. Από το δακτύλιο προκύπτουν πέντε ακτινωτά κανάλια, τα οποία καταλήγουν στις περιστοματικές κεραίες, οι οποίες έχουν την ικανότητα να αποτραβιούνται μέσα στο σώμα (Brusca & Brusca 2003).



Εικόνα 1.2: Διάφορες μορφές σκληριτών (<http://www.ibmk.org/projects/krastavci/krastavac.html>)

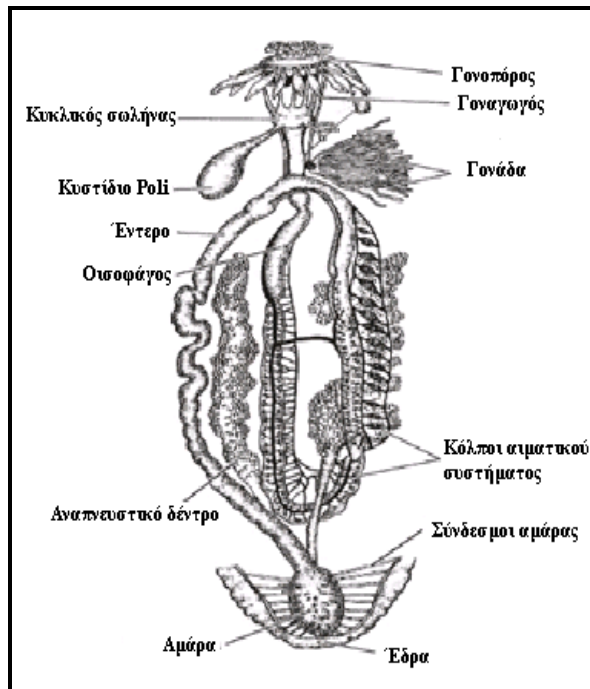
1.3.2 Πεπτικό σύστημα

Το πεπτικό σύστημα του *H. tubulosa* είναι ουσιαστικά ένας επιμήκης πεπτικός σωλήνας, οποίος ξεκινά από το στόμα και καταλήγει στην έδρα (Εικ. 1.3). Ειδικότερα, μπορεί να χωριστεί σε μικρότερα λειτουργικά τμήματα. Αρχικά, ο οισοφάγος (ή φάρυγγας), περνά από ένα δαχτυλίδι ασβεστολιθικών πλακών που υποστηρίζουν το πρόσθιο τμήμα του πεπτικού σωλήνα και το υδροφορικό σύστημα και καταλήγει στο στομάχι. Το έντερο επεκτείνεται προς τα πίσω δημιουργώντας βρόχους καταλήγοντας στην αμάρα και τέλος στην έδρα. Στην αμάρα καταλήγουν και δύο δομές τα αναπνευστικά δέντρα, στα οποία το νερό διοχετεύεται μέσω του πρωκτού για ανταλλαγή αερίων (Εικ. 1.4). Η πέψη και η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών γίνεται κατά πάσα πιθανότητα σε όλο το μήκος του εντέρου (Brusca & Brusca 2003).



Εικόνα 1.3. Πεπτικός σωλήνας του *H. tubulosa*

Το πεπτικό σύστημα του ολοθουρίου συνδέεται με ένα συναρπαστικό φαινόμενο, την απεντέρωση. Όταν το ζώο ενοχληθεί, εκτοξεύει όλο ή μέρος του πεπτικού του σωλήνα και μερικές φορές και άλλων οργάνων, όπως των αναπνευστικών δέντρων και των γονάδων. Σε τέτοιες περιπτώσεις το ζώο έχει την ικανότητα να το αναγεννήσει σε μερικές μέρες (Λαζαρίδου 1992).

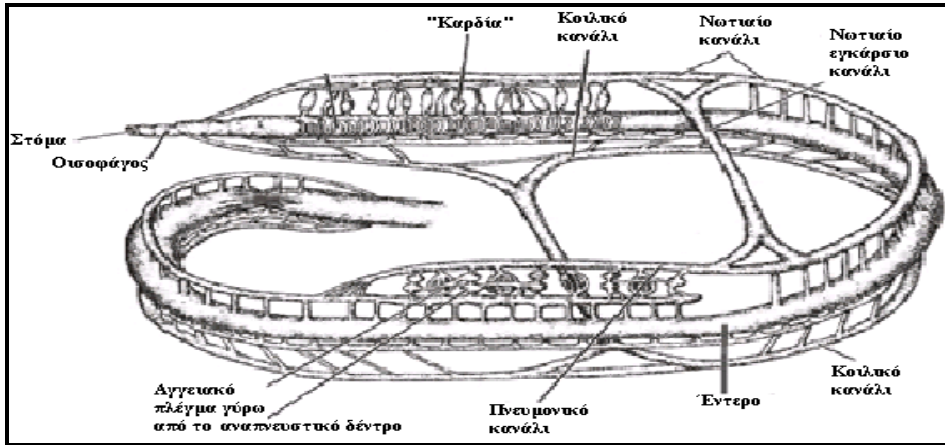


Εικόνα 1.4. Πεπτικό σύστημα *H. tubulosa*
(τροποποίηση από Brusca & Brusca
2003).

1.3.3 Αιματικό σύστημα

Το αιματικό σύστημα είναι πάρα πολύ αναπτυγμένο στα ολοθούρια σε σχέση με τα υπόλοιπα εχινόδερμα. Το σύστημα αποτελείται από μικρούς αιματικούς κόλπους και κανάλια (Εικ. 1.5). Κύρια λειτουργία των καναλιών είναι η κυκλοφορία του «αίματος» μέσα στο σώμα του ζώου. Το «αίμα» έχει την ίδια σύσταση με το υγρό που βρίσκεται στο κοίλωμα του ζώου.

Ένας κεντρικός δακτύλιος περιβάλλει το φάρυγγα και από εκεί ξεκινούν ένας κοιλιακός και ένας νωτιαίος κόλπος που συνοδεύουν το έντερο και ενώνονται με αυτό μέσω πολλών μικρών αγγείων. Στην περιοχή του ραχιαίου κόλπου υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός από «καρδίες» που αντλούν «αίμα» από το ραχιαίο κόλπο και το διοχετεύουν στο έντερο και στη συνέχεια στον κοιλιακό κόλπο. Το «αίμα» είναι ίδιο στη σύσταση με το υγρό που βρίσκεται στο κοίλωμα του ζώου.



Εικόνα 1.5: Αιματικό σύστημα *H. tubulosa* (τροποποίηση από Brusca & Brusca 2003).

Η λειτουργία του αιματικού συστήματος δεν έχει κατανοηθεί πλήρως αλλά βοηθά ενδεχομένως στη διανομή των θρεπτικών ουσιών που απορροφούνται από το πεπτικό σύστημα. Επίσης πιθανότατα, παίζει ρόλο και στην ανταλλαγή των αερίων, διότι βρίσκεται σε επαφή με τα αναπνευστικά δέντρα (Brusca & Brusca 2003).

1.3.4 Αναπαραγωγή

Η πλειοψηφία των ολοθουρίων αναπαράγονται εγγενώς αλλά υπάρχουν και περιπτώσεις αγενούς αναπαραγωγής, ενώ σε ορισμένα είδη έχει καταγραφεί το φαινόμενο του ερμαφροδιτισμού (Smiley et al. 1991).

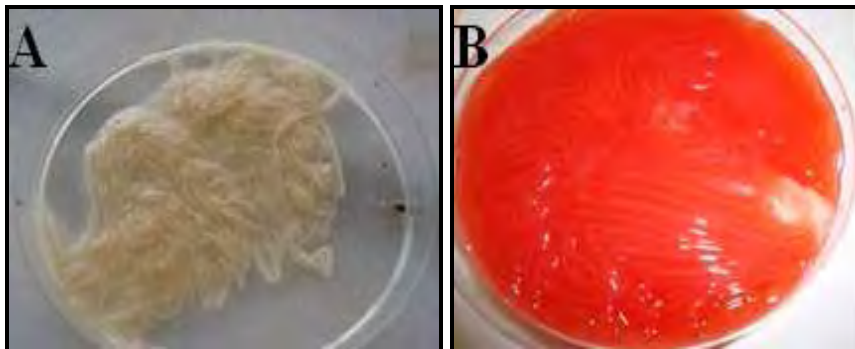
Η εγγενής αναπαραγωγή αποτελείται από δύο κύριες φάσεις, τη γαμετογένεση και την ωοτοκία. Γαμετογένεση είναι ο σχηματισμός του σπέρματος και των ωαρίων ενώ η ωοτοκία είναι η διαδικασία απελευθέρωσης του σπέρματος και των ωαρίων στο νερό (Pearse et al. 1987).

Η εγγενής αναπαραγωγή έχει υψηλές απαιτήσεις σε ενέργεια για αυτό οι οργανισμοί συγχρονίζουν τους αναπαραγωγικούς τους κύκλους με διάφορα εξωτερικά ερεθίσματα. Τέτοια ερεθίσματα μπορεί να είναι η θερμοκρασία (Despalatovic et al.

2004), οι ανθίσσεις του φυτοπλαγκτού (Cameron & Fankboner 1986) και η περιοδικότητα της σελήνης (Ocana & Sanchez-Tocino 2005).

Στην αγενή αναπαραγωγή πραγματοποιείται διαίρεση του σώματος του ολοθουρίου. Η επιλογή της αγενούς αναπαραγωγής καθορίζεται κυρίως από τη διαθεσιμότητα της τροφής και το μέγεθος του ζώου (Uthicke 1997).

Το *H.tubulosa* όπως και τα περισσότερα είδη της κλάσης των Holothurioidea είναι γονοχωριστικό, χωρίς να παρουσιάζει φυλετικό διμορφισμό, αναπαράγεται εγγενώς και η γονιμοποίηση γίνεται εξωτερικά. Η αναγνώριση του φύλου γίνεται με την παρατήρηση του χρώματος της γονάδας όταν βρίσκεται σε ώριμο στάδιο. Τα αρσενικά έχουν γονάδες άσπρου χρώματος και τα θηλυκά έντονο πορτοκαλί (Εικ. 1.6).



Εικόνα 1.6: Γονάδα Α) αρσενικού και Β) θηλυκού ατόμου *H. tubulosa*

Μελέτες έχουν δείξει ότι το μελετηθέν είδος ακολουθεί ετήσιο κύκλο αναπαραγωγής, ενώ η αναπαραγωγική περίοδος τοποθετείται κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού (Bulteel et al. 1992, Despalatovic et al. 2004) και φαίνεται να εξαρτάται από την εποχιακή μεταβολή της θερμοκρασίας (Ocana & Sanchez-Tocino 2005) και το σεληνιακό κύκλο (Valls 2003).

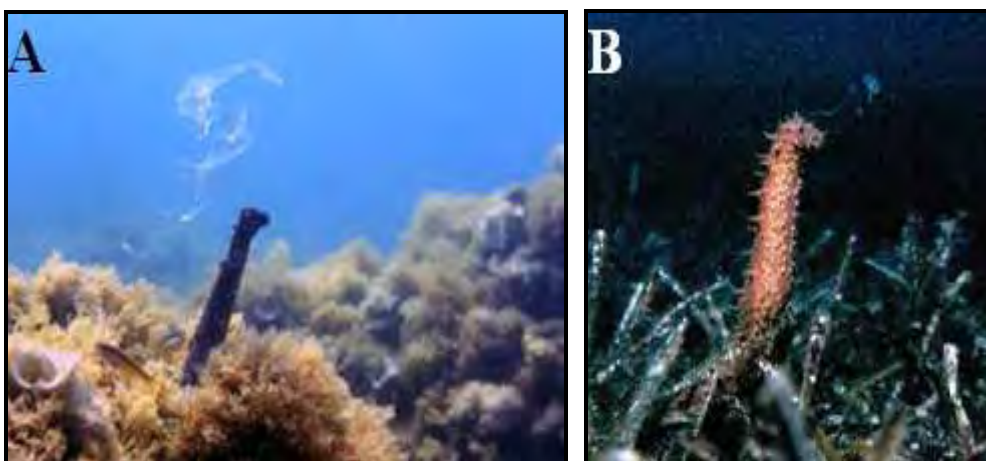
Με βάση μορφολογικές και ιστολογικές παρατηρήσεις διακρίνονται πέντε στάδια ανάπτυξης των γαμετών και για τα δύο φύλα. Τα χαρακτηριστικά κάθε σταδίου

για τα θηλυκά είναι: **1^ο στάδιο ανάκαμψης:** μικρά ανώριμα ωοκύτταρα βρίσκονται στα τοιχώματα των γονάδων, τα οποία έχουν μεγάλο πάχος και διακρίνονται εύκολα τρία βασικά στρώματα, **2^ο στάδιο ανάπτυξης:** εντοπίζονται ωάρια σε διάφορα στάδια ανάπτυξης. Καθώς, όμως, η ανάπτυξη προχωρά ωοκύτταρα με μεγάλους πυρήνες αρχίζουν να καταλαμβάνουν κεντρική θέση στα σωληνάκια των γονάδων. Τα τοιχώματα των γονάδων έχουν ακόμα μεγάλο πάχος αλλά στα προχωρημένα στάδια της ανάπτυξης εξασθενούν, **3^ο στάδιο ωριμότητας:** τα τοιχώματα των γονάδων είναι λεπτά και τα πλήρως αναπτυγμένα ωάρια έχουν φτάσει στο μέγιστο μέγεθός τους και βρίσκονται σε μεγάλη πυκνότητα, **4^ο στάδιο αναπαραγωγής:** τα τοιχώματα των γονάδων είναι λεπτά, υπάρχει αισθητή μείωση της αφθονίας των ωαρίων και δημιουργία κενών λόγω της απελευθέρωσης των γαμετών. Ο αριθμός των ωαρίων και το μέγεθος των κενών εξαρτάται από το στάδιο της ωοτοκίας και **5^ο μετα-αναπαραγωγικό στάδιο:** τα τοιχώματα των γονάδων αποκτούν και πάλι μεγάλο πάχος και υπάρχουν υπολείμματα ωοκυττάρων που δεν απελευθερώθηκαν (Despalatovic et al. 2004).

Τα χαρακτηριστικά κάθε σταδίου για τα αρσενικά είναι: **1^ο στάδιο ανάκαμψης:** τα τοιχώματα των γονάδων έχουν μεγάλο πάχος και δημιουργούν πολυάριθμες πτυχές που αυξάνουν την επιφάνεια για σπερματογένεσης, **2^ο στάδιο ανάπτυξης:** στο στάδιο αυτό υπάρχει έντονη σπερματογένεση ενώ τα σπερματοζώαρια αρχίζουν να καταλαμβάνουν κεντρική θέση στα σωληνάκια των γονάδων, **3^ο στάδιο ωριμότητας:** οι γονάδες είναι γεμάτες από ώριμα σπερματοζώαρια και τα τοιχώματα των γονάδων είναι λεπτά, **4^ο στάδιο αναπαραγωγής:** αρχίζει η αραίωση των σπερματοζωαρίων και η δημιουργία κενών λόγω της απελευθέρωσής τους, ενώ τα τοιχώματα των γονάδων παραμένουν λεπτά και **5^ο μετα-αναπαραγωγικό στάδιο:** τα τοιχώματα των γονάδων

είναι πολύ παχιά, χαρακτηρίζεται από την παρουσία μεγάλων ποσοτήτων συνδετικού ιστού και παρατηρούνται σπερματοζώαρια που δεν έχουν απελευθερωθεί (Despalatonic et al. 2004).

Σημαντικός, επίσης, είναι και ο τρόπος απελευθέρωσης των γαμετών. Πριν την έναρξη της απελευθέρωσης των γαμετών το μισό ή και λιγότερο του οπίσθιου τμήματος του σώματος των ολοθούριων έρχεται σε επαφή με το υπόστρωμα, ενώ το υπόλοιπο παραμένει σε όρθια θέση (Εικ. 1.7). Έτσι ο γεννητικός πόρος, που είναι τοποθετημένος στο πρόσθιο τμήμα του σώματος, βρίσκεται όσο το δυνατόν πιο μακριά από το υπόστρωμα, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται η μεγαλύτερη δυνατή διασπορά των γαμετών (Ocana & Sanchez-Tocino 2005).



Εικόνα 1.7: Στάση απελευθέρωσης γαμετών του *H. tubulosa* A) Costa Brava (Valls 2003) και B) Αιγαίο πέλαγος (Moosleitner 2006)

1.4 Εμπορική σημασία

Εκτός από την καθοριστική συμβολή των ολοθουρίων στην ανακύκλωση της οργανικής ύλης και τη διατήρηση της ισορροπίας των βενθικών οικοσυστημάτων, τα ολοθούρια έχουν και μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον. Σε πολλές χώρες χρησιμοποιούνται ως δόλωμα, στην παραγωγή φαρμάκων αλλά και ως τρόφιμο.

Η κατανάλωση των ολουθουρίων, ωμά ή μετά από απλή επεξεργασία, είναι κοινή σε Ιαπωνία και Κορέα. Στην Ιαπωνία, το τοίχωμα του σώματος (“namako”), τρώγεται ωμό ή σε φέτες εμποτισμένο σε ένα μίγμα ξιδιού και σάλτσα σόγιας, ενώ στην Κίνα, αποξηραμένο (“trepang”). Και άλλα όργανα θεωρούνται επίσης λιχουδιές. Πιο συγκεκριμένα, οι γονάδες τρώγονται είτε αποξηραμένες (“komoko”) είτε αλατισμένες, ενώ εδώδιμα είναι και το έντερο (“konowata”) και το αναπνευστικό δέντρο (“minowata”) (Conand 1990).

Η εμπορική αξιοποίηση του *H. tubulosa* στη Μεσόγειο είναι ακόμα σε πολύ αρχικό στάδιο. Η μεταποίηση του περιλαμβάνει εξωτερική πλύση, εκσπλαχνισμό, βρασμό, ψύξη και ξήρανση στον ήλιο (Calki et al. 2004). Το προϊόν αυτό εξάγεται κυρίως σε χώρες της ανατολικής Ασίας (Simunovic & Grubelic 1998). Στην ανατολική μεσόγειο χρησιμοποιείται κυρίως ως δόλωμα για διάφορα είδη ψαριών (Calki 2004).

Στο Αιγαίο το *H. tubulosa* εκμεταλλεύεται εμπορικά στα τουρκικά παράλια, σε αντίθεση με την ελληνική επικράτεια η αξιοποίηση του είδους δεν είναι διαδεδομένη και περιορίζεται στη χρήση ως δόλωμα (Vafidis et al. 2008).

1.5 Αντικείμενο και στόχοι της έρευνας

Αντικείμενο της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση των πληθυσμιακών χαρακτηριστικών του *H. tubulosa* στον Παγασητικό Κόλπο. Αυτό πραγματοποιήθηκε μέσα από την καταγραφή της πληθυσμιακής αφθονίας και της βιομετρίας του είδους, καθώς και τη μελέτη του αναπαραγωγικού του κύκλου, στην περιοχή Άγιος Στέφανος, πολύ κοντά στο πολεοδομικό συγκρότημα της πόλης του Βόλου.

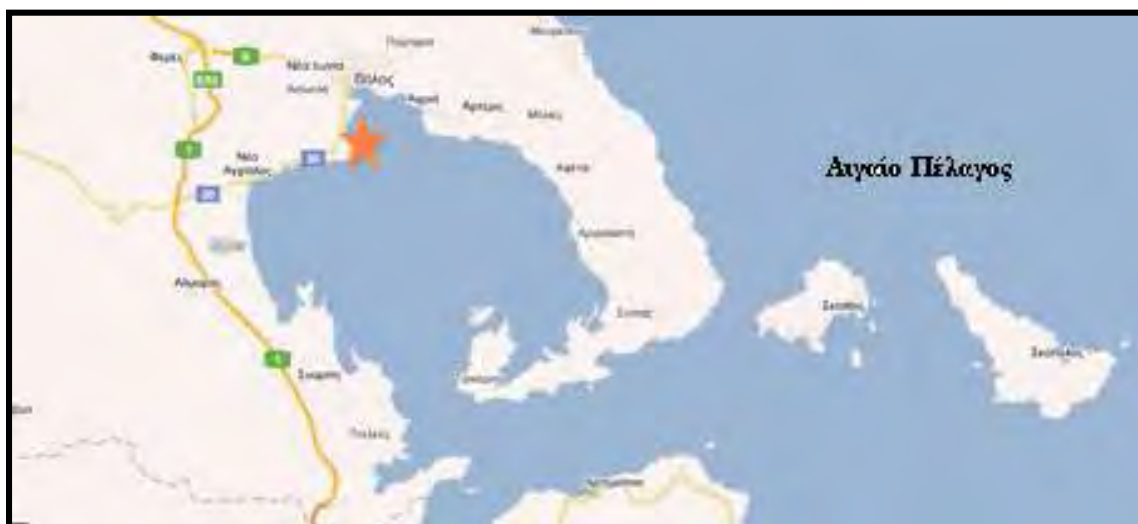
Οι στόχοι της συγκεκριμένης ερευνητικής προσπάθειας ήταν από τη μία ο εμπλουτισμός των πρωταρχικών δεδομένων που έχουν συλλεχθεί από προηγούμενες

εργασίες στην ευρύτερη περιοχή και από την άλλη η καλύτερη κατανόηση της οικολογίας του είδους, στον Παγασητικό Κόλπο. Οι πληροφορίες που προέκυψαν, μπορεί μακροπρόθεσμα να συνεισφέρουν σε ενδεχόμενα σχέδια διαχείρισης και εμπορικής εκμετάλλευσης του σημαντικού αυτού είδους.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Δειγματοληψίες

Πριν από την επιλογή της κατάλληλης τοποθεσίας, ως σταθμό δειγματοληψίας, πραγματοποιήθηκε επισκόπηση της ακτογραμμής του Παγασητικού κόλπου (Εικ. 2.1). Η παρατήρηση και φωτογράφιση του πυθμένα πραγματοποιήθηκε με αυτόνομη κατάδυση. Τέλος, η επιλογή της περιοχής για μελέτη έγινε με βάση την ύπαρξη ολοθούριων, την εύκολη πρόσβαση στην περιοχή και την ασφάλεια κατάδυσης.



Εικόνα 2.1: Χάρτης της περιοχής δειγματοληψίας.

Πραγματοποιήθηκαν 14 δειγματοληψίες (Φεβρουάριο 2009 – Μάρτιος 2010) με αυτόνομη κατάδυση (SCUBA), σε βάθη από 1 μέχρι 6 m. Η επιλογή της πραγματοποίησης των δειγματοληψιών σε μηνιαία βάση έγινε με σκοπό τη λεπτομερή καταγραφή των σταδίων αναπαραγωγής του *H. tubulosa* και τη σύγκριση με παλιότερες εργασίες.

Σε κάθε δειγματοληψία συλλέχθηκαν 20 τυχαία άτομα του είδους *H. tubulosa* από τον πληθυσμό και έγινε καταγραφή των κυριότερων αβιοτικών παραμέτρων του

νερού όπως η αλατότητα, η θερμοκρασία, το διαλυμένο οξυγόνο και η ενεργός οξύτητα, με τη χρήση αυτογραφικού οργάνου CTD της εταιρείας Sea – bird (Εικ. 2.2).



Εικόνα 2.2: Αυτογραφικό όργανο CTD (<http://marine.rutgers.edu/mrs/nopp/photogal/photoju1.htm>)

2.2 Πληθυσμιακή πυκνότητα

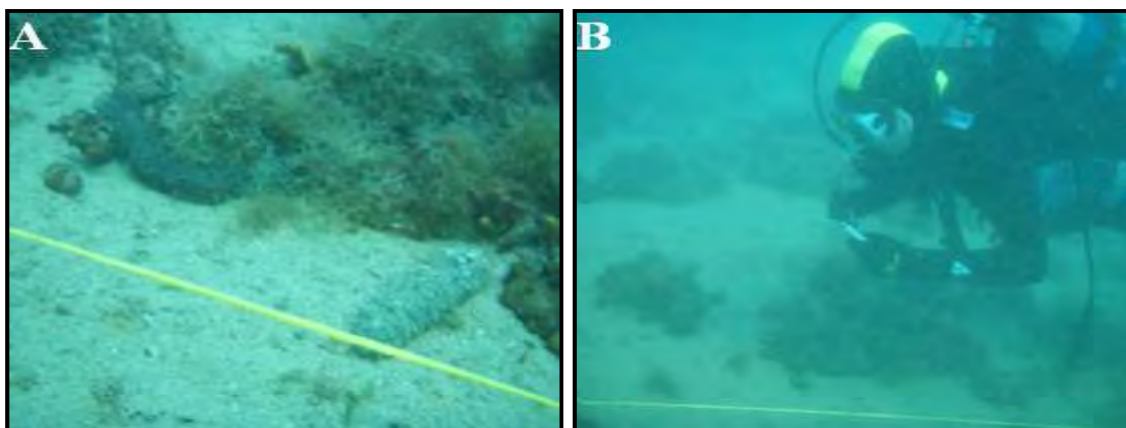
Η εκτίμηση της πυκνότητας του πληθυσμού του *H. tubulosa* έγινε με τη μέθοδο του Distance Sampling (Buckland et al, 2001). Πρόκειται για ένα σύνολο εργαλείων υπολογισμού της πληθυσμιακής πυκνότητας τα οποία βασίζονται στην αρχή πως η πιθανότητα εντοπισμού ενός αντικειμένου εξαρτάται από την απόσταση μεταξύ του αντικειμένου και του παρατηρητή (Barry & Welsh 2001).

Από τα διάφορα εργαλεία, εκείνο που χρησιμοποιείται συχνότερα είναι η μέθοδος των οριοθετημένων διατομών (line transects), κατά την οποία, η περιοχή μελέτης, οριοθετείται σε μικρότερες περιοχές με μία σειρά διατομών είτε σε τυχαία είτε, συχνότερα, σε παράλληλη διάταξη. Ο παρατηρητής κινείται πάνω στη διατομή μήκους L και καταγράφει κάθε άτομο του οργανισμού – στόχου που εντοπίζει μέσα σε

μία μέγιστη απόσταση w , εκατέρωθεν της διατομής, καθώς και την απόσταση d του οργανισμού από τη γραμμή.

Στη συγκεκριμένη έρευνα, το μήκος της διατομής ήταν 50 m (Εικ. 2.3). Για την οριοθέτηση της γραμμής διατομής χρησιμοποιήθηκε κίτρινο νήμα μήκους 50 m. Η απόσταση των ατόμων από τη γραμμή μετρήθηκε με απλή μετροταινία σταθερού μήκους 2 m. Η μέγιστη απόσταση εντοπισμού εκατέρωθεν της γραμμής ορίστηκε στα 150 cm, δημιουργώντας έτσι μία δειγματοληπτική επιφάνεια 150 m².

Συνολικά έγινε καταγραφή σε 5 διατομές παράλληλες προς την ακτογραμμή, με τυχαία απόσταση μεταξύ τους. Η καταγραφή έγινε σε κάθε σταθμό πριν από την πρώτη δειγματοληψία, ώστε να μην επηρεαστεί η εκτίμηση του αποτελέσματος από την αφαίρεση ατόμων του είδους. Για τον υπολογισμό της πληθυσμιακής πυκνότητας, χρησιμοποιήθηκε η τελευταία έκδοση του πακέτου Distance (Version 6.0 Release 2).



Εικόνα 2.3: Α) Σχοινί για την καταγραφή της πληθυσμιακής πυκνότητας και Β) επισκόπηση του χώρου.

2.3 Μορφομετρικές μετρήσεις

Μετά τη δειγματοληψία τα άτομα μεταφέρονταν στο Εργαστήριο Βενθικών Ασπόνδυλων του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος για

τη μέτρηση των μορφομετρικών χαρακτηριστικών. Η μεταφορά έγινε σε κλειστό δοχείο σταθερού όγκου 35 lt γεμάτο με θαλασσινό νερό και οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εντός 3h από τη δειγματοληψία, ώστε να διατηρηθούν τα άτομα όσο το δυνατόν πιο φρέσκα.

Οι μορφομετρικοί χαρακτήρες που προσδιορίστηκαν ήταν οι εξής: i) το ολικό νωπό βάρος του ατόμου (Tw) που προέρχεται από την αφαίρεση των κοιλοματικών υγρών μετά από τομή στην περιοχή της κοιλιάς, ii) το νωπό βάρος της γονάδας (Gw), iii) το μήκος του πεπτικού σωλήνα (DI) από τον περιφαρυγγικό δακτύλιο μέχρι την έδρα, vi) το νωπό βάρος του πεπτικού σωλήνα (Dw) μαζί με το περιεχόμενό του, v) το νωπό βάρος του σωματικού τοιχώματος (Bw) μετά από την αφαίρεση όλων των εσωτερικών οργάνων, iv) η περίμετρος του περιφαρυγγικού δακτυλίου (Pc).

Οι μετρήσεις του βάρους έγιναν με ηλεκτρονικό ζυγό με ακρίβεια 0,01g (OHAUS Precision TS 400D). Για την περίμετρο του περιφαρυγγικού δακτυλίου χρησιμοποιήθηκε παχύμετρο ακριβείας 0,01 mm (500-267U/CDL-20CP/Mitutoyo ABSolute digimatic Caliper) ενώ για το μήκος του πεπτικού σωλήνα απλή μετροταινία.

Οι γονάδες από όλα τα άτομα, αφαιρέθηκαν και τοποθετήθηκαν σε αριθμημένα φιαλίδια που περιείχαν μονιμοποιητικό διάλυμα αιθανόλης 70% προκειμένου να αποθηκευτούν και να διατηρηθούν μέχρι να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της ιστολογικής μελέτης.

Οι μορφομετρικοί χαρακτήρες που προσδιορίστηκαν, είναι άμεσα συνδεδεμένοι μεταξύ τους και περιγράφουν τη σωματική ανάπτυξη του ατόμου και κατά επέκταση τη δυναμική των πληθυσμών του είδους. Από τα αποτελέσματα των βιομετρικών μετρήσεων υπολογίστηκαν οι εξής παράμετροι:

1. **Κλάσεις μεγέθους:** Για κάθε δειγματοληψία και συνολικά πραγματοποιήθηκε ανάλυση της σύνθεσης του πληθυσμού ως προς κάθε μορφομετρικό χαρακτήρα. Η επιλογή του βήματος και του αριθμού των κλάσεων για κάθε έναν από τους μορφομετρικούς χαρακτήρες έγινε με βάση βιβλιογραφικές αναφορές.
2. **Βιομετρικές σχέσεις:** Οι βιομετρικές σχέσεις περιγράφουν τον τρόπο ανάπτυξης ενός οργανισμού, συσχετίζοντας την αύξηση ενός μορφομετρικού χαρακτήρα με την αύξηση κάποιου άλλου. Αυτή η αύξηση, μπορεί να είναι ανάλογη οπότε να υπάρχει κάποια συσχέτιση μεταξύ των χαρακτήρων ή να μην υπάρχει καθόλου συσχέτιση. Η εφαρμογή των μοντέλων της παλινδρόμησης μέσω γραμμικών ($y = bx + a$) ή εκθετικών ($y = ax^b$) εξισώσεων, καθορίζει εάν η σχέση μεταξύ δύο μορφομετρικών χαρακτήρων είναι ισομετρική (αρμονική αύξηση των δύο) ή αλλομετρική (η αύξηση του ενός μορφομετρικού χαρακτήρα δεν ακολουθείται από αντίστοιχη αύξηση του άλλου).
3. **Γοναδοσωματικός δείκτης (GSI):** Ο δείκτης αυτός περιγράφει την αναπαραγωγική κατάσταση των ατόμων του πληθυσμού και προκύπτει από το συσχετισμό του βάρους των γονάδων ως προς το βάρος του σώματος του ατόμου και εκφράζεται σαν ποσοστό επί τοις εκατό (%):

$$GSI = \frac{Gw}{Bw} \times 100 \quad (\text{Shiell \& Uthicke 2006})$$

2.4 Ιστολογική μελέτη της γονάδας

Προκειμένου να διαπιστωθεί το στάδιο ωρίμανσης των ατόμων που συλλέχθηκαν, έγινε ποιοτική εκτίμηση της παρουσίας των διαφόρων σταδίων των γαμετών (ωοκύτταρα, σπερματοκύτταρα), μετά από χρώση των ιστολογικών

παρασκευασμάτων των γονάδων, που είχαν συντηρηθεί σε αιθανόλη 70%, και παρατηρήθηκαν στο μικροσκόπιο.

2.5 Τεχνική παρασκευής των ιστολογικών παρασκευασμάτων

Η μέθοδος χρώσης που χρησιμοποιήθηκε ήταν η προοδευτική χρώση αιματοξυλίνης / ηωσίνης. Με τη μέθοδο αυτή, η αιματοξυλίνη βάφει τους πυρήνες με μπλε χρώμα, ενώ η ηωσίνη βάφει το κυτταρόπλασμα και τα κυτταρικά συστατικά σε διάφορες αποχρώσεις του ροζ. Η μέθοδος αυτή αποτελείται από τα παρακάτω στάδια:

A. Εγκλεισμός ιστών σε παραφίνη

Πριν από τον εγκλεισμό του ιστού στην παραφίνη, πρέπει πρώτα να αφαιρεθεί από τον ιστό όλη η ποσότητα του περιεχόμενου νερού. Έτσι τα δείγματα, αφού επισημάνθηκαν, πέρασαν διαδοχικά από μία σειρά διαλυμάτων αλκοόλης προκειμένου να αφυδατωθούν. Με το τέλος της διαδικασίας της αλκοολικής αφυδάτωσης, τα δείγματα πέρασαν από διάλυμα ξυλόλης προκειμένου να γίνει αντικατάσταση του υδατικού διαλύτη (αιθανόλη) με έναν οργανικό ώστε να είναι δυνατή η εμπότιση των ιστών με την παραφίνη. Όλα αυτά τα βήματα πραγματοποιήθηκαν στην ιστοκινέτα TP 1020 της εταιρίας Leica.

Ο εγκλεισμός των γονάδων σε παραφίνη έγινε μέσα σε καλούπια κατάλληλων διαστάσεων, στα οποία χυνόταν λιωμένη παραφίνη. Στη συνέχεια η παραφίνη ψύχθηκε και στερεοποιήθηκε σταθεροποιώντας έτσι τον ιστό που ήταν έτοιμος για κοπή.

B. Κοπή των δειγμάτων

Η κοπή των δειγμάτων έγινε στη μικροτόμο CUT 5062 της εταιρίας SLEE MAINZ (Εικ. 2.4), με πάχος τομής 8μm. Μετά την κοπή, οι τομές τοποθετήθηκαν στην επιφάνεια νερού που διατηρούταν στους $\sim 40^{\circ}\text{C}$ με τη βοήθεια υδατόλουτρου, για να απλωθούν και στη συνέχεια έγινε η συλλογή τους με αντικειμενοφόρους πλάκες. Κατόπιν οι αντικειμενοφόροι τοποθετήθηκαν σε θερμαινόμενη πλάκα για να στεγνώσουν.



Εικόνα 2.4: Μικροτόμος για την κοπή των δειγμάτων.

Γ. Αποπαραφίνωση και χρώση

Με τη διαδικασία της αποπαραφίνωσης επιδιώκεται η απομάκρυνση της παραφίνης που είναι εμποτισμένη στην τομή, έτσι ώστε να είναι αποτελεσματική η χρώση. Για να επιτευχθεί αυτό, οι αντικειμενοφόροι πέρασαν από μία σειρά διαλυμάτων ξυλόλης και αιθανόλης πριν την εμβάπτισή τους στα διαλύματα της αιματοξυλίνης και της ηωσίνης.

Τέλος αφού τοποθετήθηκαν πάνω σε θερμαντική πλάκα για να στεγνώσουν τοποθετήθηκε βάλσαμο του Καναδά επάνω στις τομές οι οποίες καλύφθηκαν με

καλυπτρίδες. Το βάλσαμο του Καναδά είναι αρχικά ρευστό και στη συνέχεια στερεοποιείται με αποτέλεσμα να δίνει τη δυνατότητα στις τομές να καλύπτονται με ένα μέσο με κατάλληλο δείκτη διάθλασης για μεγάλο χρονικό διάστημα. Μετά και την τοποθέτηση του βάλσαμου του Καναδά τα παρασκευάσματα ήταν έτοιμα για παρατήρηση στο μικροσκόπιο.

2.6 Μικροσκοπική παρατήρηση και καταγραφή

Η παρατήρηση των τομών της γονάδας έγινε σε μικροσκόπιο με ενσωματωμένη ψηφιακή φωτογραφική μηχανή (ProgRes C10 Plus 2.1). Η λήψη των φωτογραφιών έγινε σε ηλεκτρονικό υπολογιστή συνδεδεμένο με το μικροσκόπιο, με το πρόγραμμα ProgRes CapturePro 2.1 (Εικ. 2.5).

Το στάδιο ωριμότητας των γονάδων εκτιμήθηκε σύμφωνα με τα στάδια που καθόρισαν οι Despalatovic et al. (2004). Με βάση μορφολογικές και ιστολογικές παρατηρήσεις διακρίνονται πέντε στάδια ανάπτυξης των γαμετών για τα αρσενικά και για τα θηλυκά: 1^ο στάδιο ανάκαμψης, 2^ο στάδιο ανάπτυξης, 3^ο στάδιο ωριμότητας, 4^ο στάδιο αναπαραγωγής και 5^ο μετα-αναπαραγωγικό στάδιο.



Εικόνα 2.5: Το μικροσκόπιο και ο Η/Υ που χρησιμοποιήθηκε για την παρατήρηση και τη λήψη των φωτογραφιών των ιστολογικών παρασκευασμάτων.

2.7 Στατιστική επεξεργασία δεδομένων

Οι μετρήσεις από κάθε δειγματοληψία καταχωρήθηκαν σε φύλλα του λογιστικού προγράμματος Microsoft Excel 2007 ενώ για την περαιτέρω στατιστική επεξεργασία χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS17.

Ο έλεγχος για την πιθανότητα ύπαρξης φυλετικού διμορφισμού έγινε με τη χρήση του t-κριτηρίου (t-test) ενώ η αναλογία φύλου εξετάστηκε με το κριτήριο χ^2 .

Ακόμη, πραγματοποιήθηκε μονοπαραγοντική ανάλυση (one-way ANOVA) με βαθμό σημαντικότητας 95%, για τη σύγκριση των μορφομετρικών χαρακτηριστικών μεταξύ των δειγματοληψιών. Για τον εντοπισμό των επιμέρους διαφοροποιήσεων πραγματοποιήθηκε έλεγχος Tukey – Kramer HSD.

3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Αβιοτικοί παράγοντες

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων των αβιοτικών παραγόντων αποδίδονται συγκεντρωτικά στον Πίνακα 3.1.

Πίνακας 3.1: Αποτελέσματα μετρήσεων αβιοτικών παραμέτρων για κάθε δειγματοληψία

Δειγματοληψία	Θερμοκρασία (°C)	Αλατότητα (psu)	Δ.Ο. (mg/l)	pH
27/2/2009	13,2	38,3	6,83	8,3
28/3/2009	13,3	38,3	6,71	8,2
24/4/2009	15,3	37,9	6,82	8,2
22/5/2009	21,1	37,4	6,59	8,2
21/6/2009	25,2	36,4	5,72	8,2
26/7/2009	27,1	36,1	2,04	8,2
23/8/2009	28,2	36,4	4,92	8,3
26/9/2009	24,2	36,4	5,21	8,3
22/10/2009	21,7	36,7	2,49	8,3
28/11/2009	18,5	36,9	4,03	8,3
24/12/2009	15,3	37,7	4,81	8,2
21/1/2010	15,2	37,9	2,58	8,3
28/2/2010	14,6	38,2	4,09	8,4
18/3/2010	14,5	38,2	6,31	8,4

3.2 Πληθυσμιακή πυκνότητα

Συνολικά καταμετρήθηκαν 105 άτομα του *H. tubulosa* και στις 5 διατομές, σε συνολική έκταση δηλαδή 750 m². Αυτό με απλή αναγωγή, σημαίνει 14 άτομα / 100 m². Σύμφωνα όμως με την ανάλυση των αποστάσεων από το λογισμικό του Distance, η πυκνότητα του πληθυσμού εκτιμήθηκε στα 15,6 άτομα / 100 m².

Σύμφωνα με τη θεωρία του distance sampling, η υπερεκτίμηση της πυκνότητας συνήθως οφείλεται σε τυχαία κίνηση του οργανισμού ή κακή εκτίμησή της, καθώς και σε τυχαία λάθη κατά τη μέτρηση της απόστασης (Marques et al., 2011). Επειδή, όμως, το *H. tubulosa* είναι στατικός οργανισμός και οι μετρήσεις έγιναν από τον ίδιο παρατηρητή υπάρχουν μικρές πιθανότητες σφάλματος.

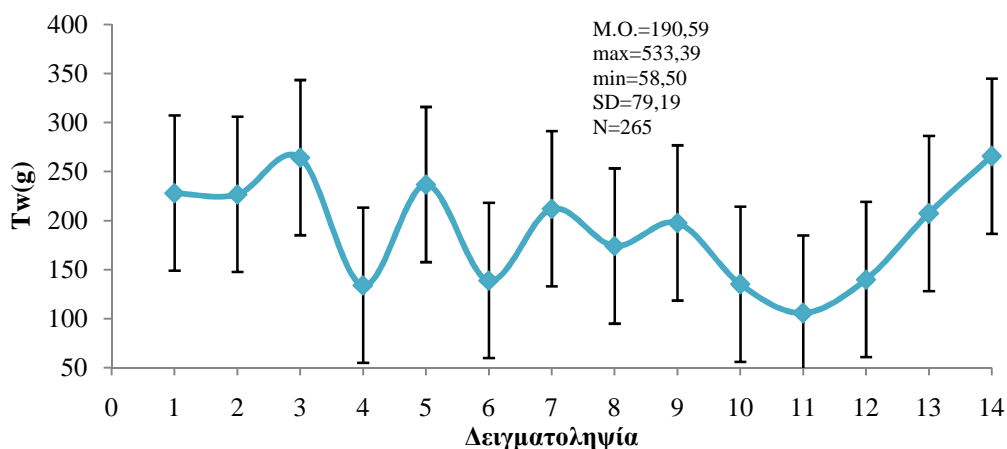
Οι τιμές αυτές φαίνεται να διαφέρουν σημαντικά από άλλες περιοχές του Παγασητικού κόλπου όπως της κάτω Γατζέας όπου αναφερθεί πυκνότητα 9,93 άτομα / 100 m² (Kazanidis et al. 2010). Όμως, υπάρχουν περιοχές της Μεσογείου όπου γίνεται αναφορά μεγαλύτερων πυκνοτήτων όπως στον κόλπο της Νάπολης όπου έχει σημειωθεί πυκνότητα έως και 0,34 άτομα /m² (Gustato et al. 1982) ακόμα και 3,77 άτομα /m² (Coulon & Jangoun 1993).

Οι μεγάλες αυτές διαφορές στις τιμές της πυκνότητας στις διαφορετικές περιοχές πιθανότατα σχετίζεται με τον τύπο του υποστρώματος, την παρουσία ή απουσία μακροφυκών αλλά και την περιεκτικότητα σε οργανική ύλη.

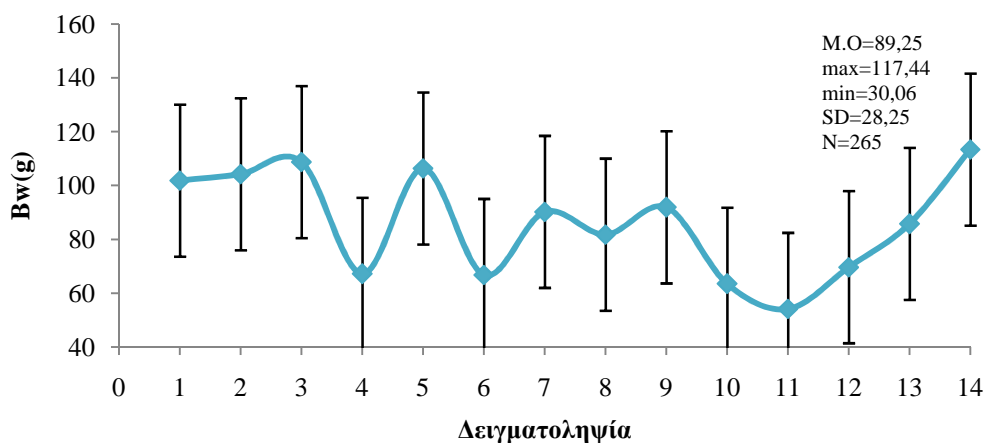
3.3 Μορφομετρικές μετρήσεις

Συνολικά συλλέχθηκαν και μετρήθηκαν 256 άτομα. Από τον έλεγχο που έγινε με το t-κριτήριο (t-test), δε σημειώθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των φύλων ως προς κάθε βιομετρικό χαρακτηριστικό ($P > 0,05$). Αυτό σημαίνει ότι δεν εμφανίστηκε φυλετικός διμορφισμός ως προς κάποιο από αυτά τα χαρακτηριστικά. Έτσι, στις συγκρίσεις που έγιναν μεταξύ των πληθυσμών, δε λήφθηκε υπόψη ο παράγοντας φύλο. Στα παρακάτω σχήματα φαίνονται οι μέσες τιμές για το ολικό βάρος σώματος (Σχ. 3.1), το βάρος σωματικού τοιχώματος (Σχ. 3.2), το υγρό βάρος γονάδας (Σχ.3.3), το μήκος πεπτικού

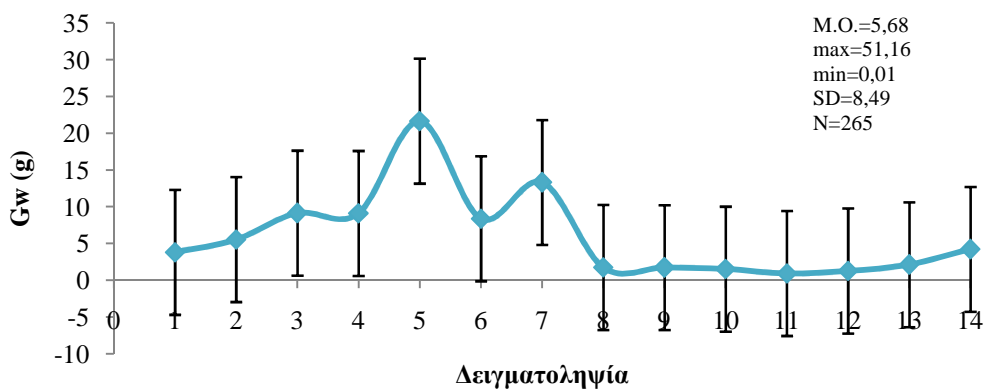
σωλήνα (Σχ. 3.4), το βάρος πεπτικού σωλήνα (Σχ.3.5), την περίμετρο περιφερυγγικού δακτυλίου (Σχ. 3.6) και το γοναδοσωματικό δείκτη (Σχ. 3.7).



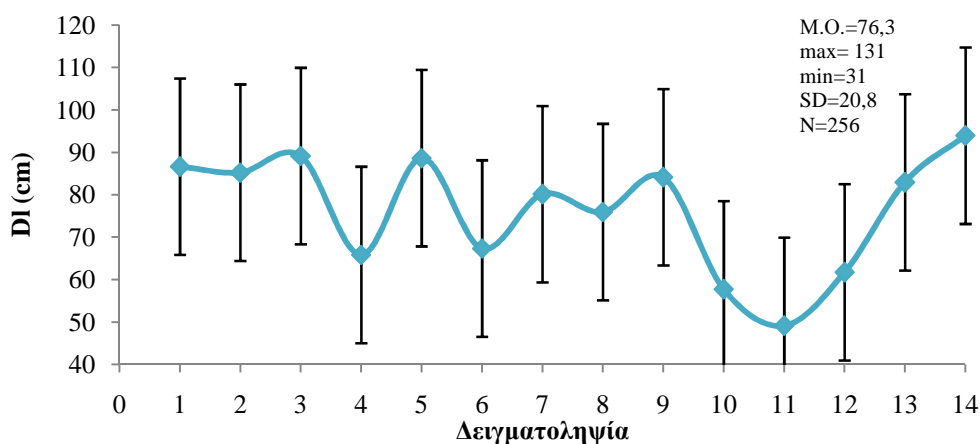
Σχήμα 3.1: Οι μέσες τιμές για το ολικό βάρος σώματος ανά δειγματοληψία.



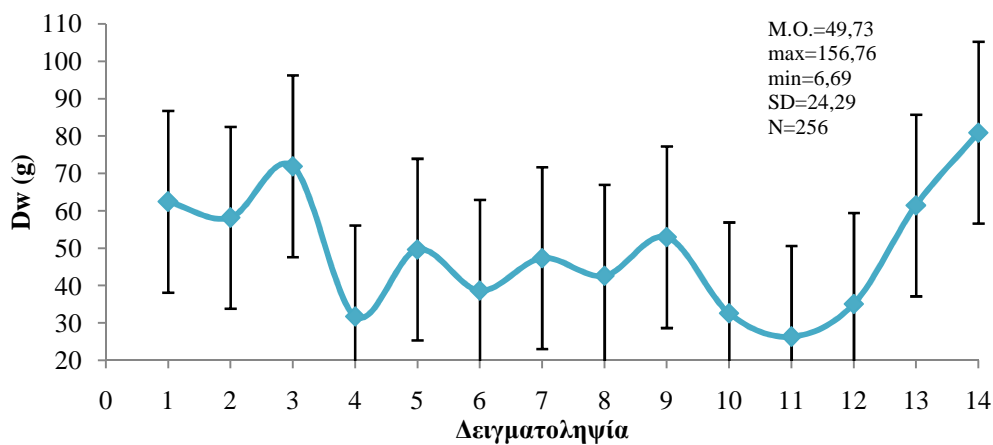
Σχήμα 3.2: Οι μέσες τιμές για το βάρος σωματικού τοιχώματος ανά δειγματοληψία.



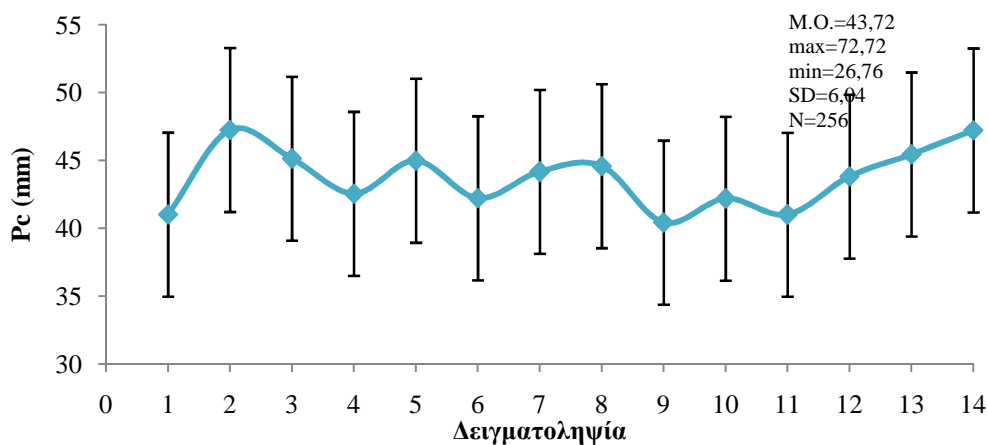
Σχήμα 3.3: Οι μέσες τιμές για το υγρό βάρος γονάδας ανά δειγματοληψία.



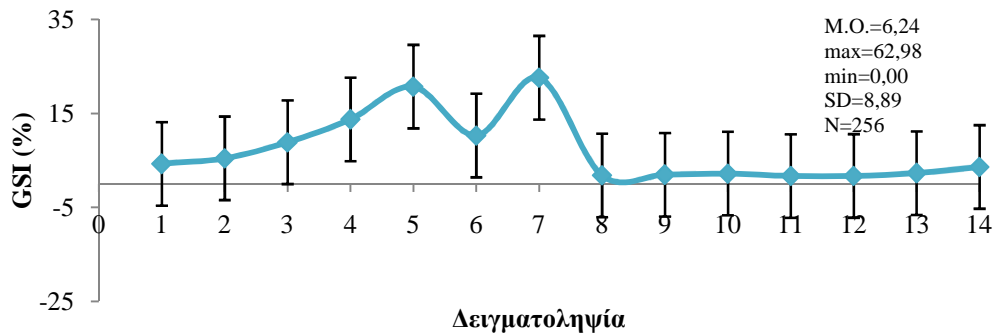
Σχήμα 3.4: Οι μέσες τιμές για το μήκος πεπτικού σωλήνα ανά δειγματοληψία.



Σχήμα 3.5: Οι μέσες τιμές για το βάρος πεπτικού σωλήνα ανά δειγματοληψία.



Σχήμα 3.6: Οι μέσες τιμές για την περίμετρο περιφερυγγικού δακτυλίου ανά δειγματοληψία.



Σχήμα 3.7: Οι μέσες τιμές για το γοναδοσωματικό δείκτη ανά δειγματοληψία.

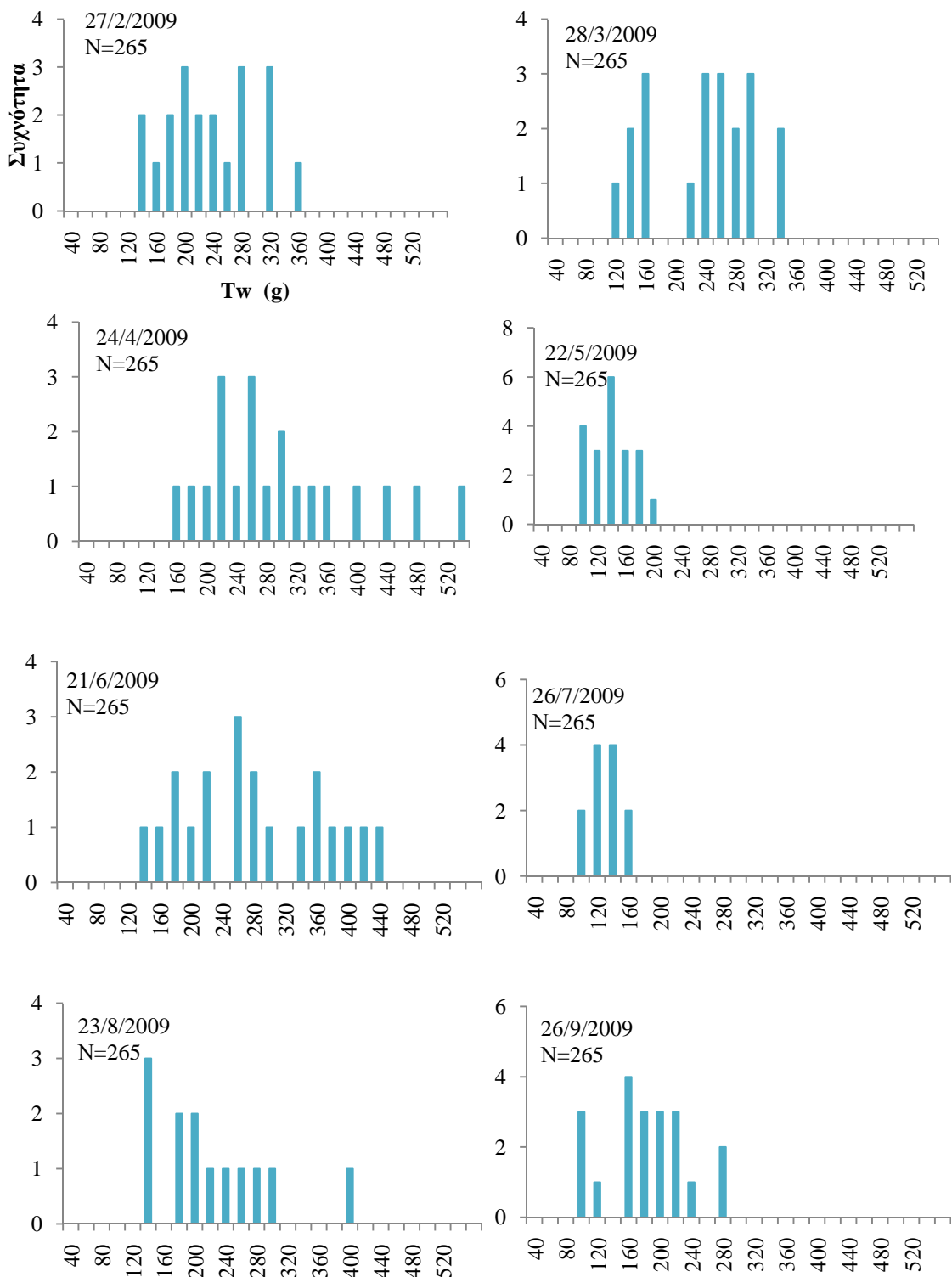
3.3.1 Κλάσεις μεγέθους- Στατιστική επεξεργασία

Στα Σχήματα 3.8, 3.9, 3.11, 3.12, 3.14, 3.15, 3.17, 3.18, 3.20 και 3.21 φαίνεται η ανάλυση της σύνθεσης του πληθυσμού ως προς τα σημαντικότερα βιομετρικά χαρακτηριστικά για κάθε δειγματοληψία και συνολικά.

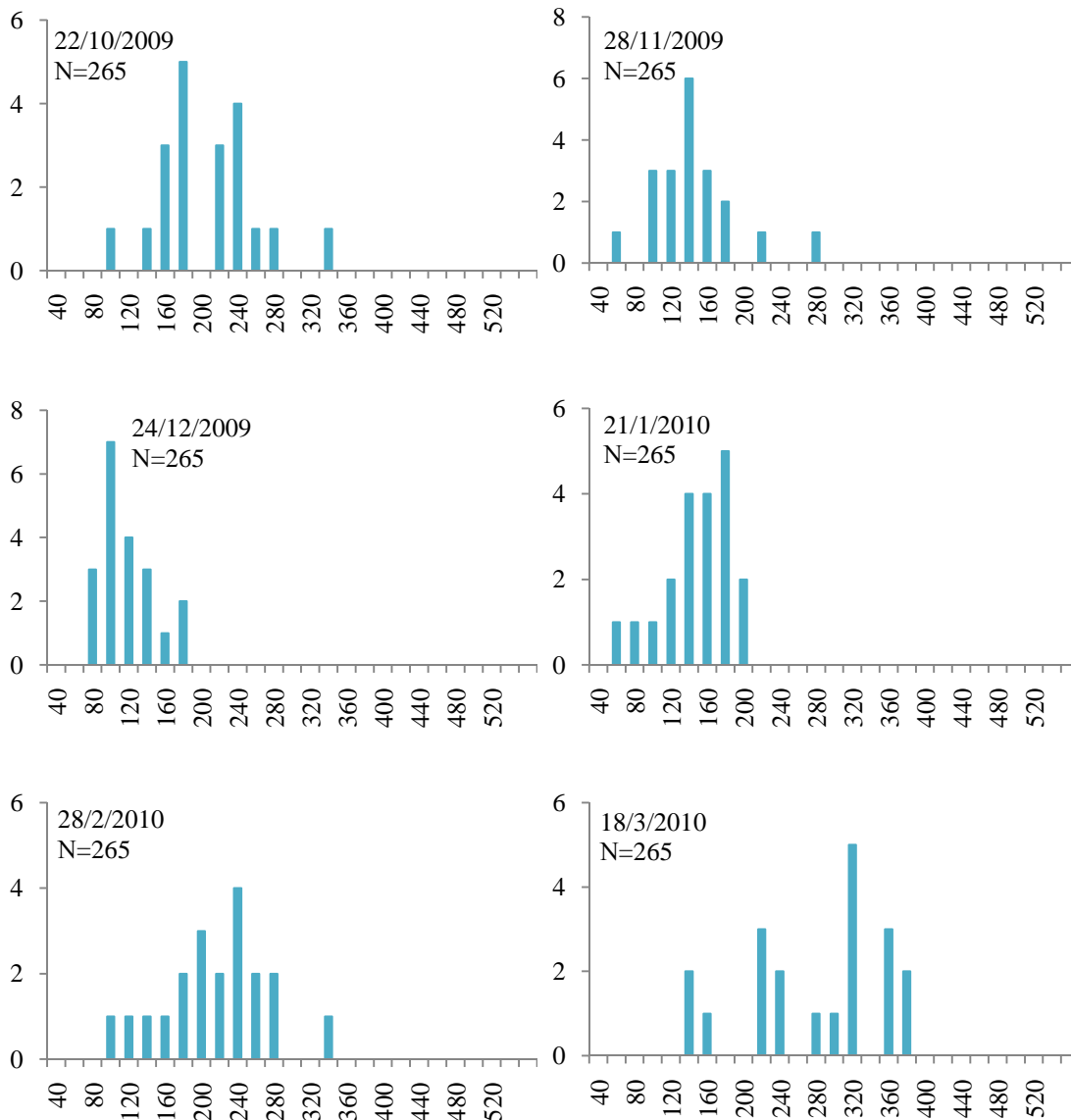
Η μεγαλύτερη συχνότητα για το ολικό βάρος εντοπίστηκε στην κλάση 140-160 g (36 άτομα), για το βάρος τοιχώματος 80-100 g (67 άτομα), για το μήκος πεπτικού σωλήνα στα 80-100 (88 άτομα), για το βάρος πεπτικού σωλήνα στις κλάσεις 30-40 και 40-50 g (48 άτομα) και για την περίμετρο περιφaryγγικού δακτυλίου στην κλάση 50-60 mm (149 άτομα).

Όλες οι κλάσεις μεγέθους ανά δειγματοληψία παρουσίασαν διαφορετικά πρότυπα κατανομής μεταξύ των μορφομετρικών χαρακτηριστικών. Τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά ολικό βάρος, βάρος τοιχώματος, και βάρος πεπτικού σωλήνα παρουσίασαν και ισοκατανομές, ενώ τα χαρακτηριστικά μήκος πεπτικού σωλήνα και περίμετρος περιφaryγγικού δακτυλίου παρουσίασαν ξεκάθαρες κορυφές.

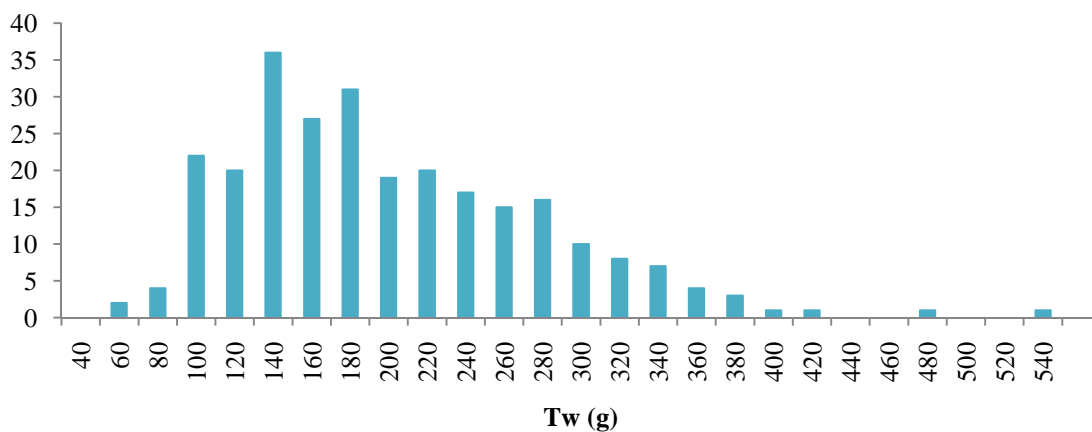
Οι κλάσεις μεγέθους συνολικά για κάθε χαρακτηριστικό παρουσίασαν ίδιο πρότυπο κατανομής με την ύπαρξη ξεκάθαρης κορυφής με εξαίρεση το βάρος πεπτικού σωλήνα. Όμως αυτό το πρότυπο κατανομής των κλάσεων μεγέθους κάνει πιο δύσκολη την αναγνώριση των ηλικιακών κλάσεων ενός πληθυσμού (Bulteel et al. 1992).



Σχήμα 3.8α: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για το ολικό βάρος σώματος για τις δειγματοληψίες 1-8.



Σχήμα 3.8β: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για το ολικό βάρος σώματος για τις δειγματοληψίες 9-14.



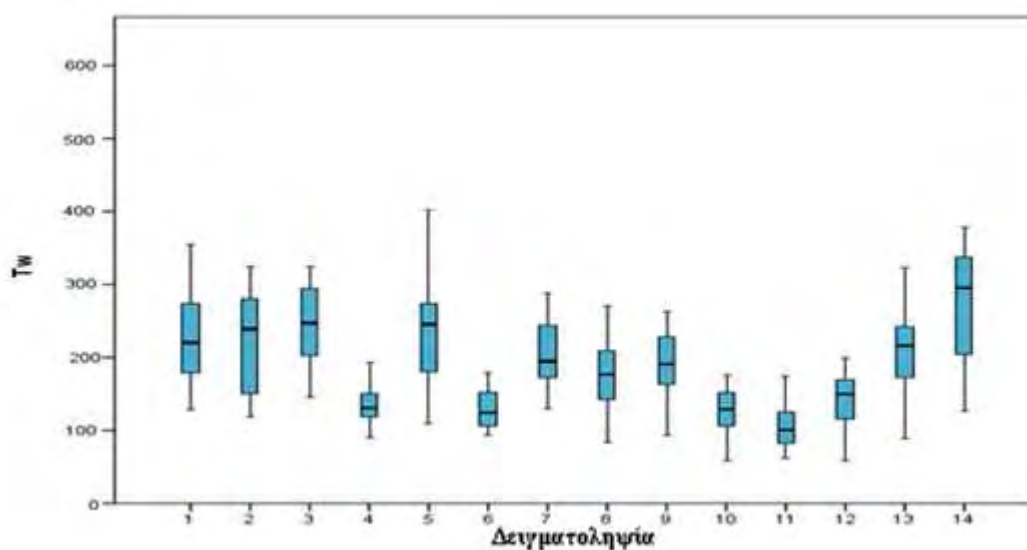
Σχήμα 3.9: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για το ολικό βάρος σώματος συνολικά.

Η σύγκριση των μορφομετρικών χαρακτηριστικών μεταξύ των δειγματοληψιών έγινε με την μονοπαραγοντική ανάλυση (one way ANOVA), με επίπεδο σημαντικότητας 95%.

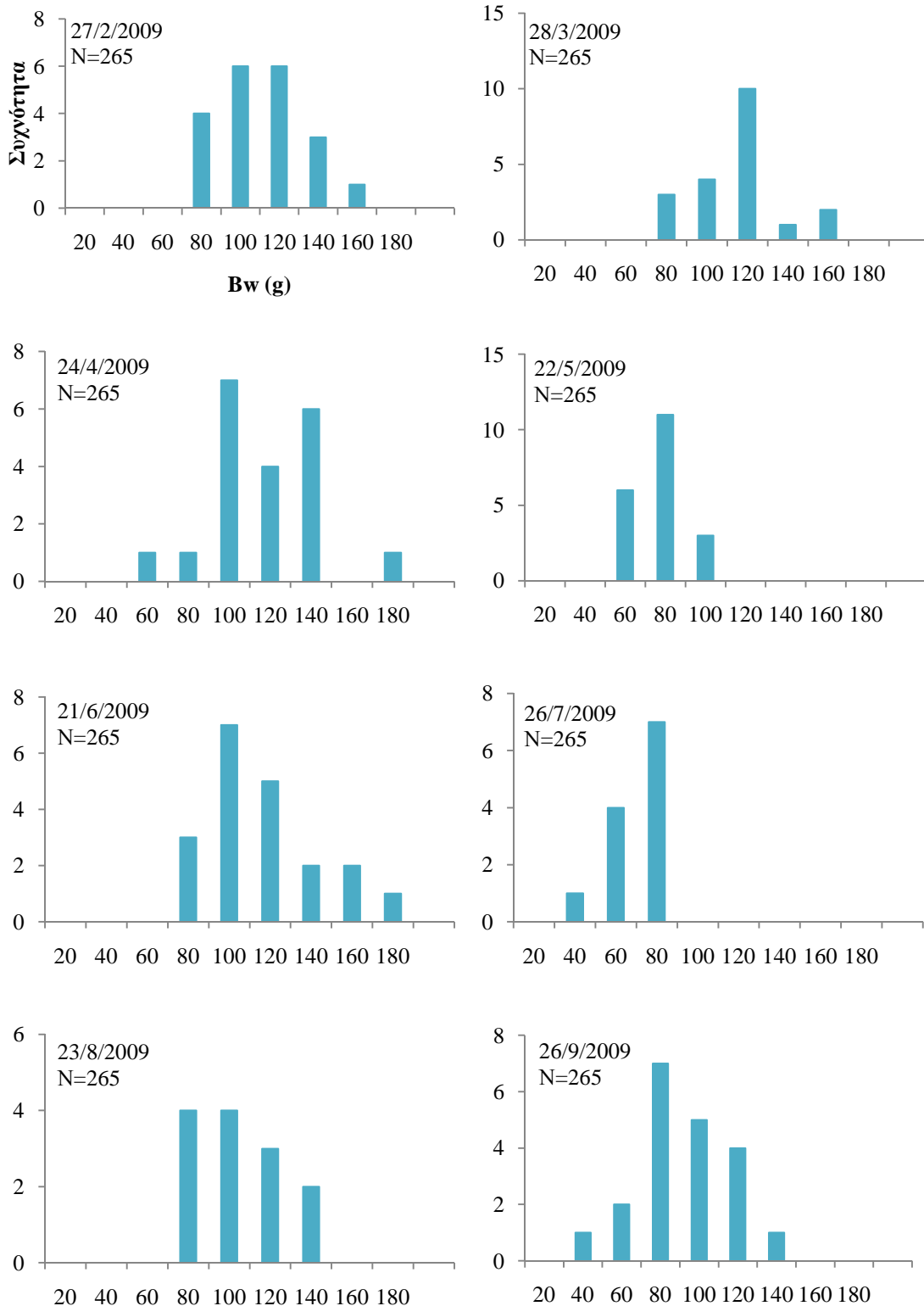
Η σύγκριση των δειγματοληψιών με βάση ολικό βάρος σώματος έδειξε ότι υπάρχει μεταξύ τους στατιστικά σημαντική διαφορά (Πιν. 3.2). Οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρήθηκαν στη δειγματοληψία 14 (18/3/2010) ενώ οι μικρότερες στη δειγματοληψία 11 (24/12/2009). Στο Σχήμα 3.10, φαίνεται η κατανομή των τιμών του ολικού βάρους σώματος σε κάθε δειγματοληψία.

Πίνακας 3.2: Αποτελέσματα της μονοπαραγοντικής ανάλυσης για το ολικό βάρος σώματος (Tw).

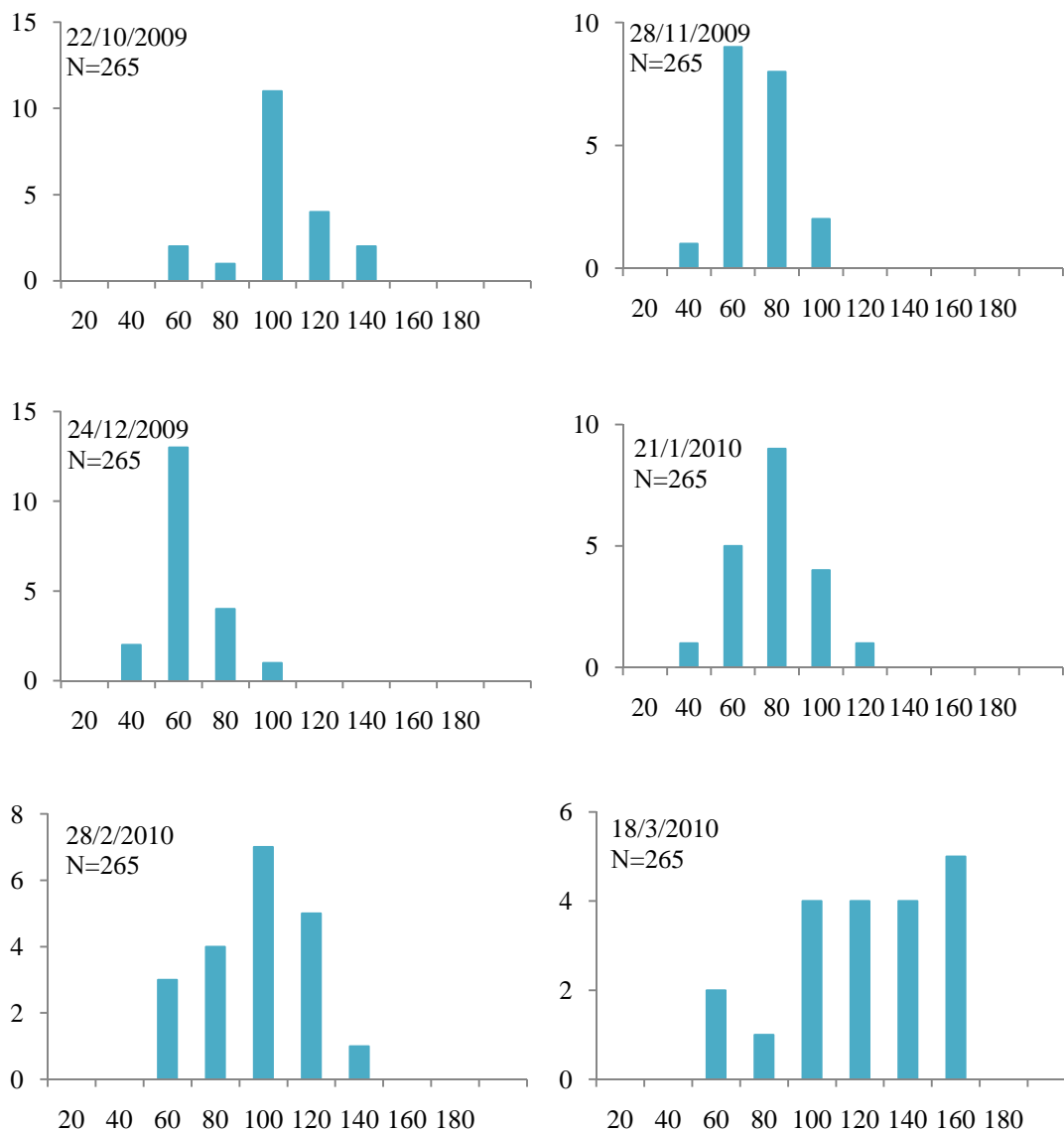
	Άθροισμα Τετραγώνων	B.E.	Μέσο Τετράγωνο	F	Πιθανότητα
Μεταξύ δειγματοληψιών	690658,455	13	53127,573	13,815	<0,05
Μεταξύ ατόμων	965272,832	251	3845,708		
Σύνολο	1655931,287	264			



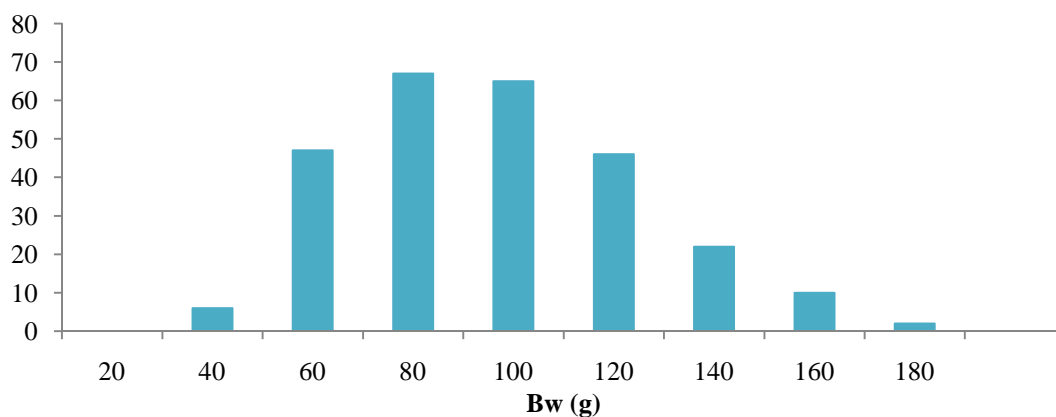
Σχήμα 3.10: Θηκόγραμμα του ολικού βάρους σώματος (Tw) για κάθε δειγματοληψία.



Σχήμα 3.11α: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για το βάρος σωματικού τοιχώματος για τις δειγματοληψίες 1-8.



Σχήμα 3.11β: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για το βάρος σωματικού τοιχώματος για τις δειγματοληψίες 9-14.

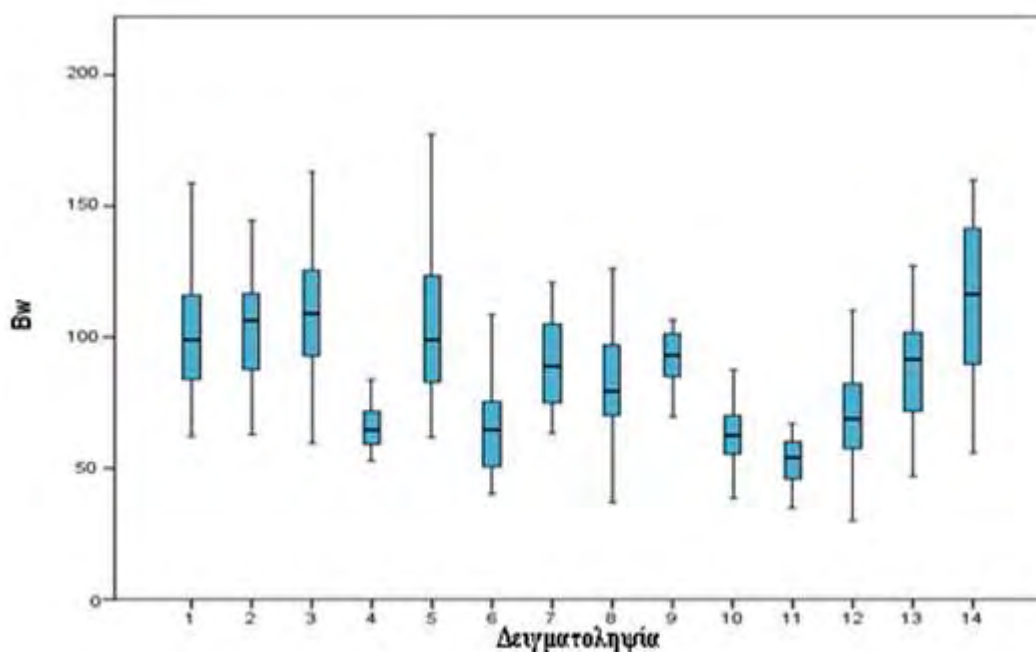


Σχήμα 3.12: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για το βάρος σωματικού τοιχώματος συνολικά.

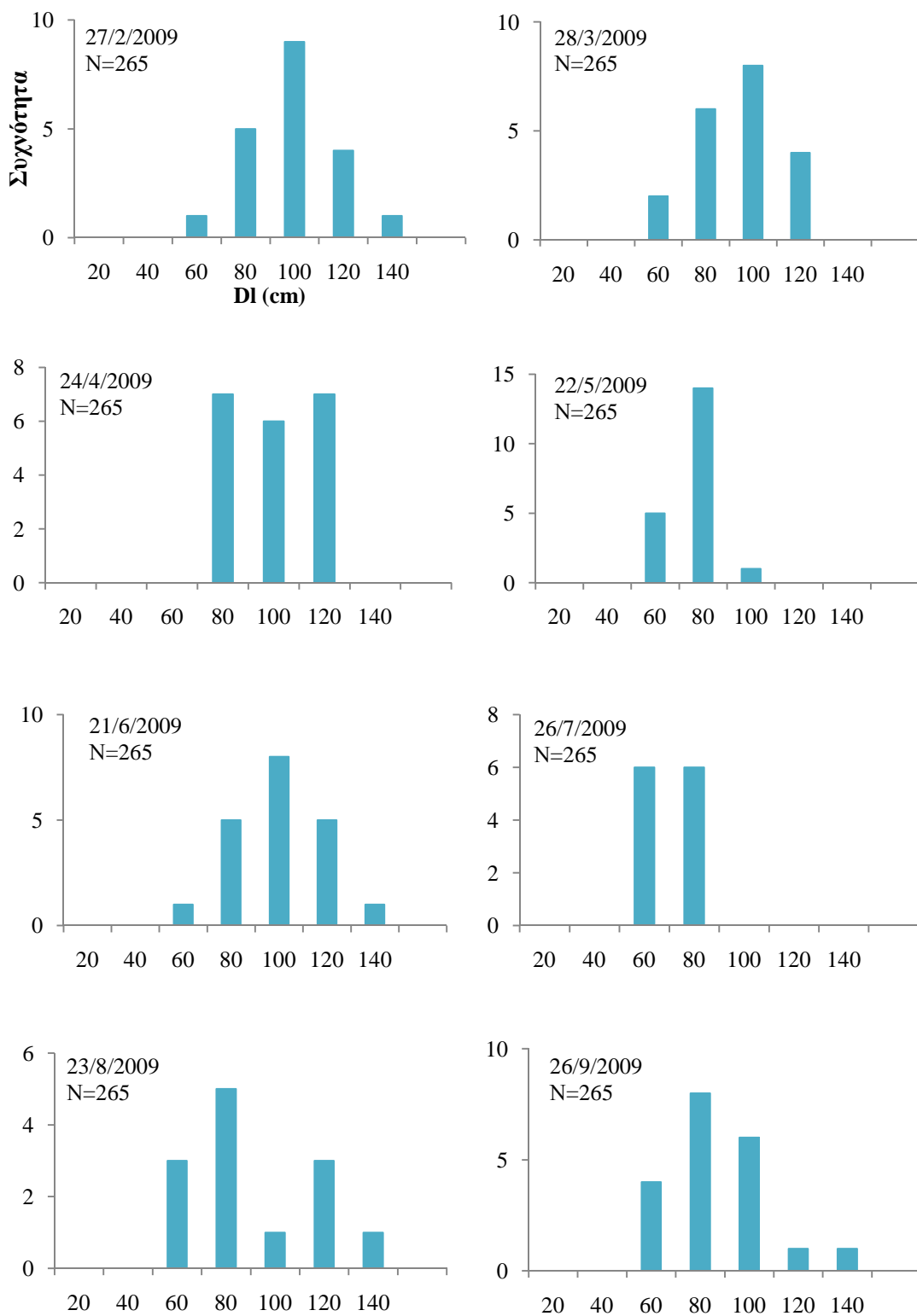
Η σύγκριση των δειγματοληψιών με βάση το βάρος σωματικού τοιχώματος έδειξε ότι υπάρχει μεταξύ τους στατιστικά σημαντική διαφορά (Πιν. 3.3). Οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρήθηκαν στη δειγματοληψία 14 (18/3/2010) ενώ οι μικρότερες στη δειγματοληψία 11 (24/12/2009). Στο Σχήμα 3.13, φαίνεται η κατανομή των τιμών του βάρους σωματικού τοιχώματος σε κάθε δειγματοληψία.

Πίνακας 3.3: Αποτελέσματα της μονοπαραγοντικής ανάλυσης για το βάρος σωματικού τοιχώματος (Bw).

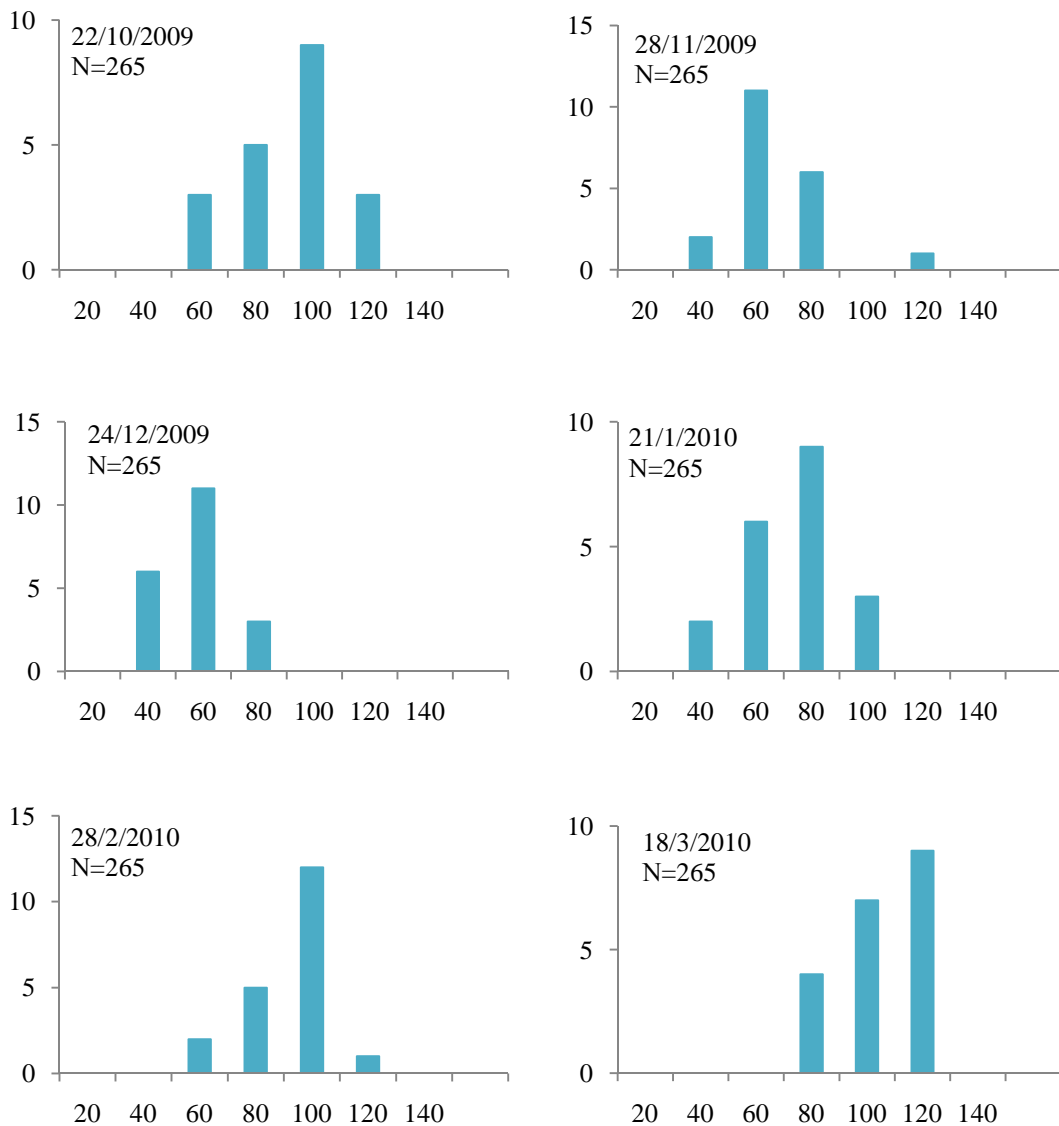
	Άθροισμα Τετραγώνων	B.E.	Μέσο Τετράγωνο	F	Πιθανότητα
Μεταξύ δειγματοληψιών	93637,400	13	7202,877	15,445	<0,05
Μεταξύ ατόμων	117056,261	251	466,360		
Σύνολο	210693,661	264			



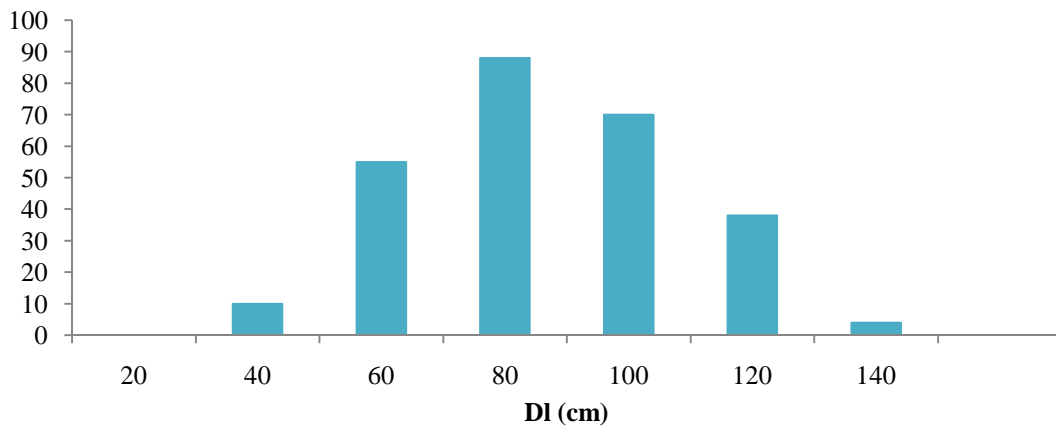
Σχήμα 3.13: Θηκόγραμμα βάρους του σωματικού τοιχώματος (Bw) για κάθε δειγματοληψία.



Σχήμα 3.14α: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για το μήκος πεπτικού σωλήνα για τις δειγματοληψίες 1-8.



Σχήμα 3.14β: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για το μήκος πεπτικού σωλήνα για τις δειγματοληψίες 9-14.

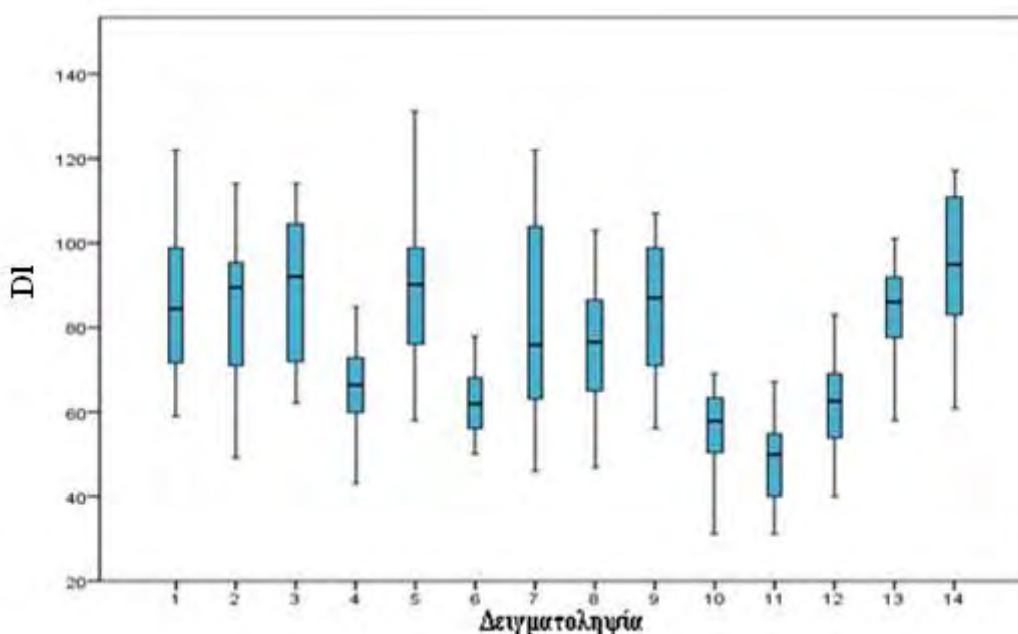


Σχήμα 3.15: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για το μήκος πεπτικού σωλήνα συνολικά.

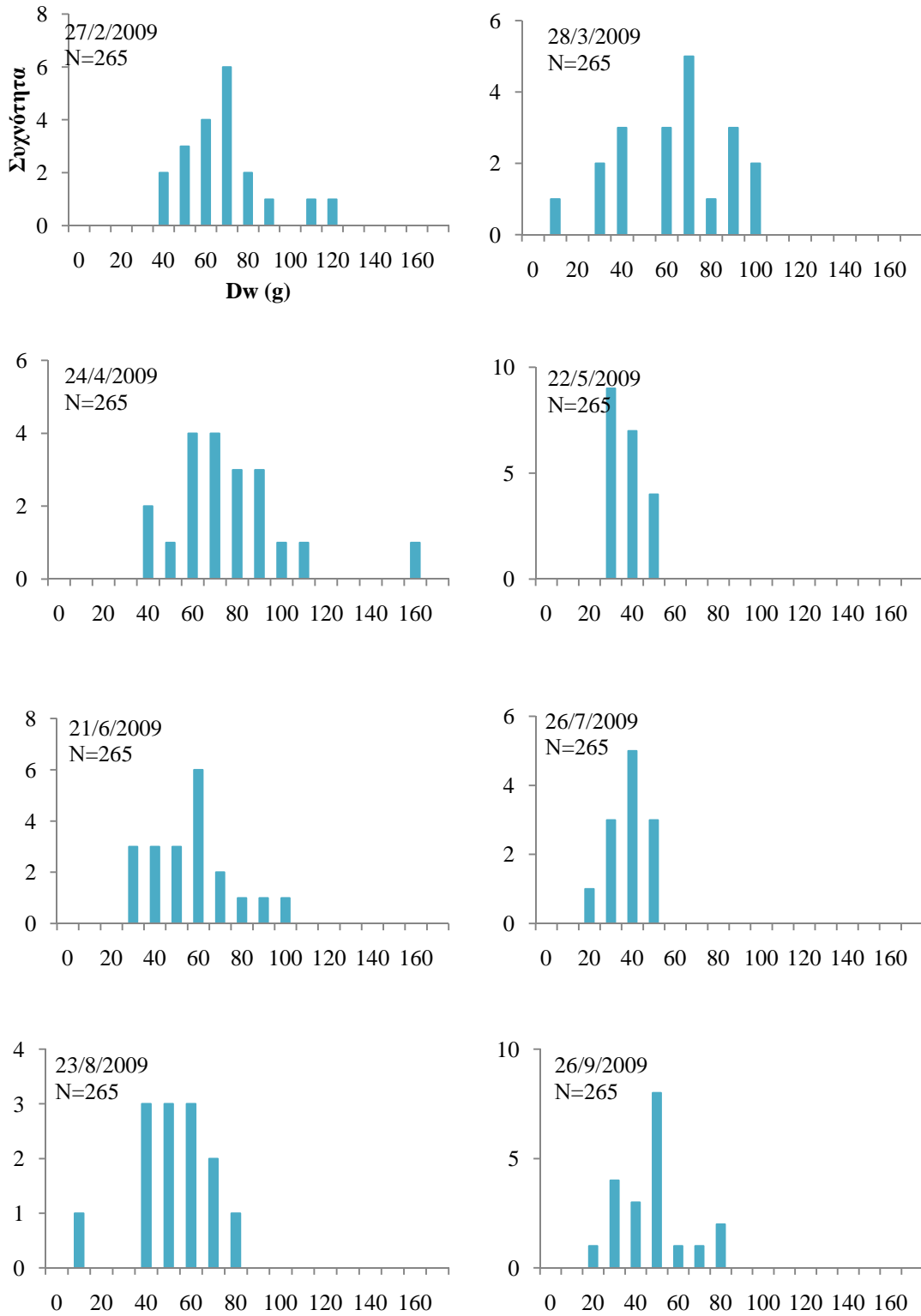
Η σύγκριση των δειγματοληψιών με βάση το μήκος πεπτικού σωλήνα έδειξε ότι υπάρχει μεταξύ τους στατιστικά σημαντική διαφορά (Πιν. 3.4). Οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρήθηκαν στη δειγματοληψία 14 (18/3/2010) ενώ οι μικρότερες στη δειγματοληψία 11 (24/12/2009). Στο Σχήμα 3.16, φαίνεται η κατανομή των τιμών του μήκους πεπτικού σωλήνα σε κάθε δειγματοληψία.

Πίνακας 3.4: Αποτελέσματα της μονοπαραγοντικής ανάλυσης για το μήκος πεπτικού σωλήνα (DI).

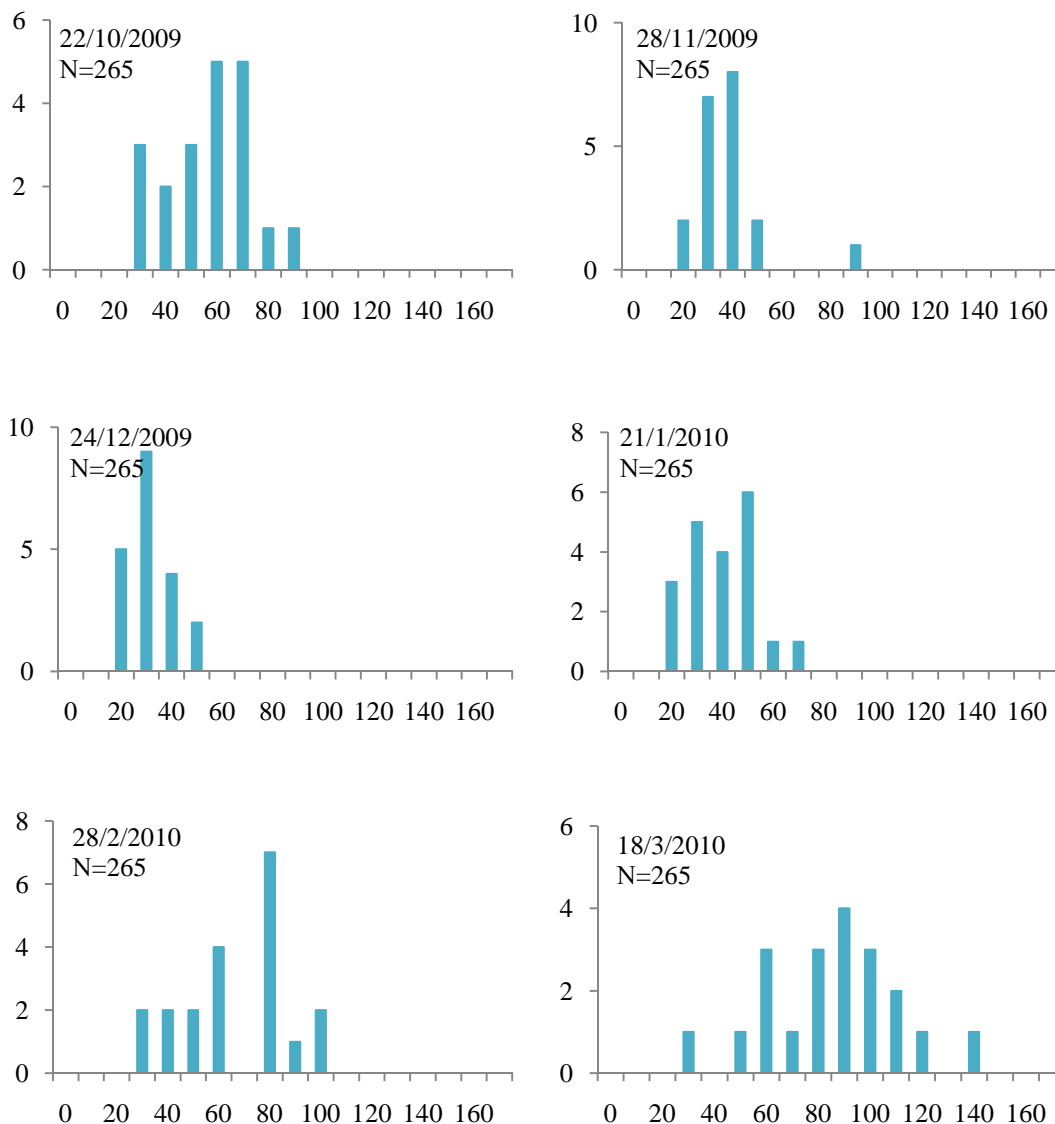
	Άθροισμα Τετραγώνων	B.E.	Μέσο Τετράγωνο	F	Πιθανότητα
Μεταξύ δειγματοληψιών	47571,834	13	3659,372	13,721	<0,05
Μεταξύ ατόμων	66939,615	251	266,692		
Σύνολο	114511,449	264			



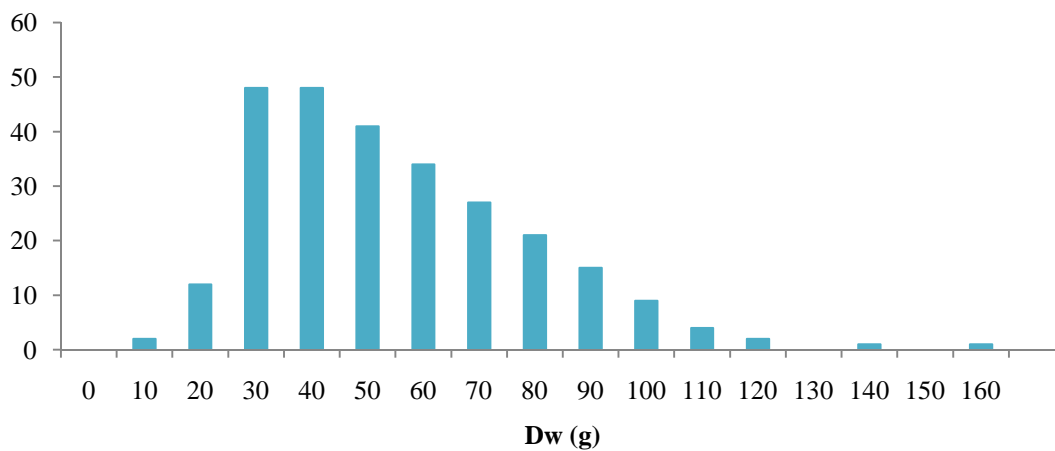
Σχήμα 3.16: Θηκόγραμμα βάρους του μήκους πεπτικού σωλήνα (DI) για κάθε δειγματοληψία.



Σχήμα 3.17α: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για το βάρος πεπτικού σωλήνα για τις δειγματοληψίες 1-8.



Σχήμα 3.17β: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για το βάρος πεπτικού σωλήνα δειγματοληψίες 9-14.

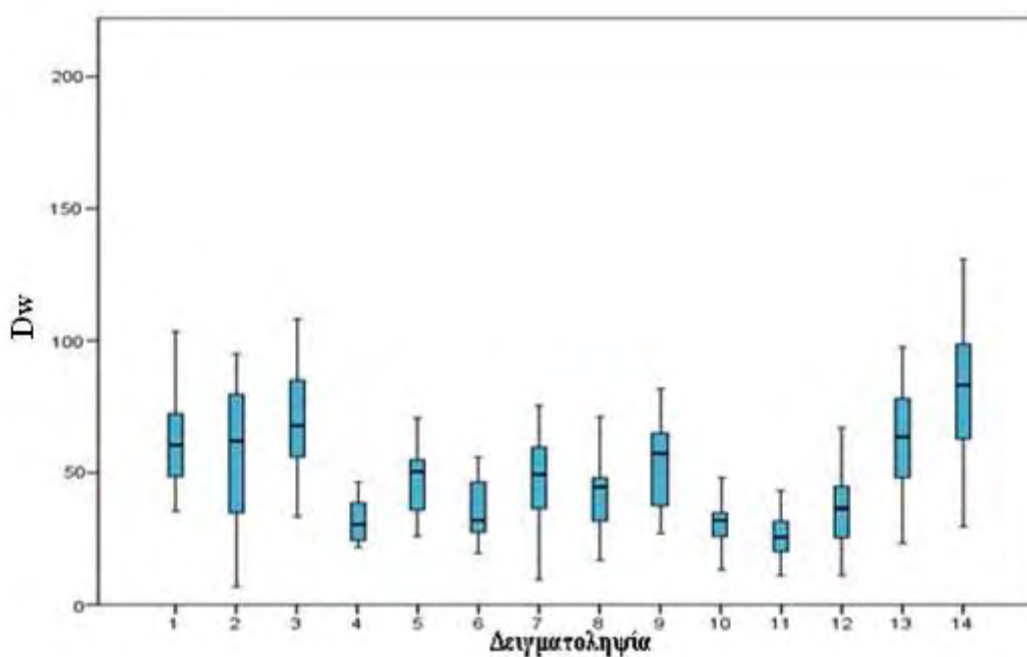


Σχήμα 3.18: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για το βάρος πεπτικού σωλήνα συνολικά.

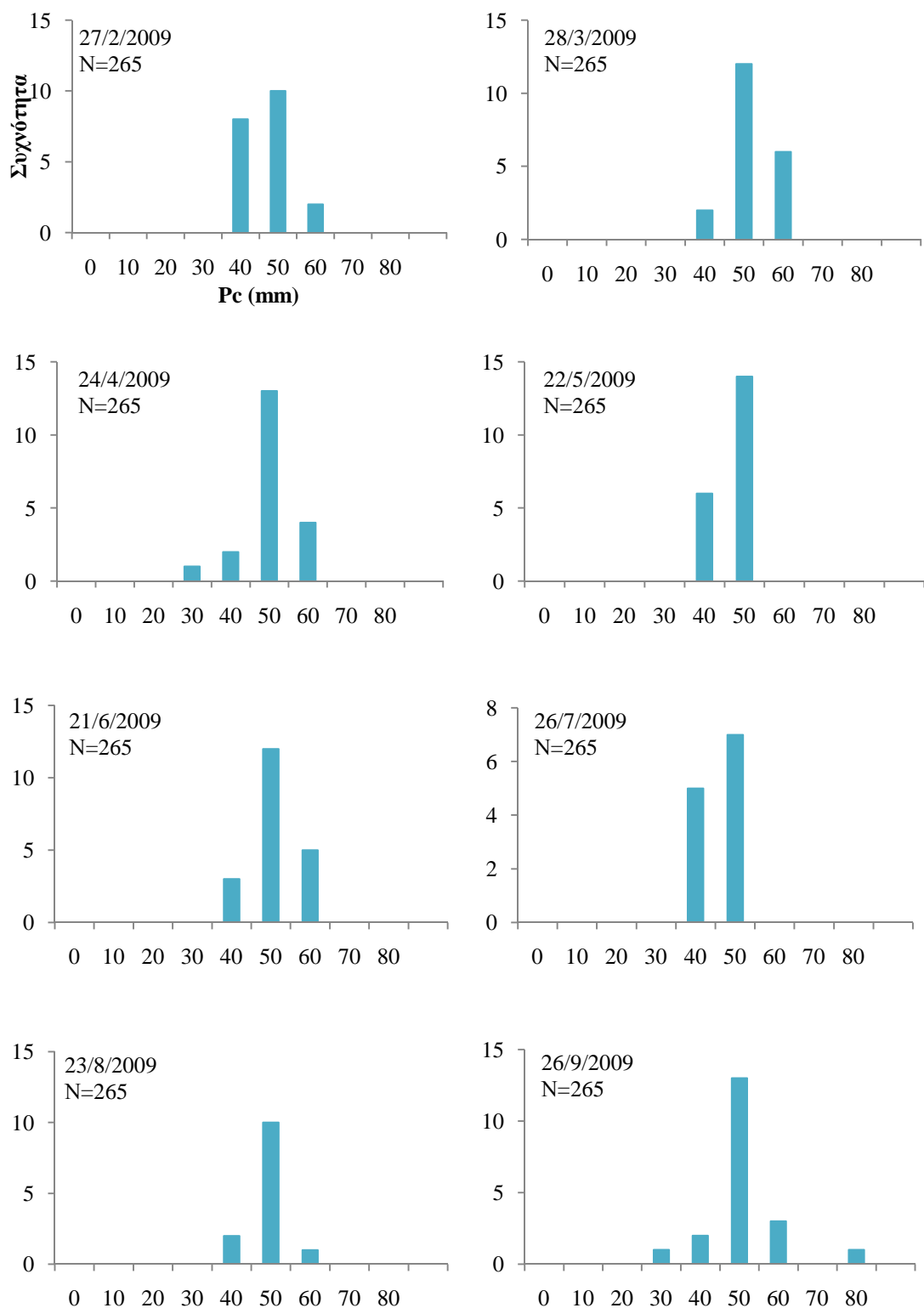
Η σύγκριση των δειγματοληψιών με βάση το βάρος πεπτικού σωλήνα έδειξε ότι υπάρχει μεταξύ τους στατιστικά σημαντική διαφορά (Πιν. 3.5). Οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρήθηκαν στη δειγματοληψία 14 (18/3/2010) ενώ οι μικρότερες στη δειγματοληψία 11 (24/12/2009). Στο Σχήμα 3.19, φαίνεται η κατανομή των τιμών του βάρους πεπτικού σωλήνα σε κάθε δειγματοληψία.

Πίνακας 3.5: Αποτελέσματα της μονοπαραγοντικής ανάλυσης για το βάρος πεπτικού σωλήνα (Dw).

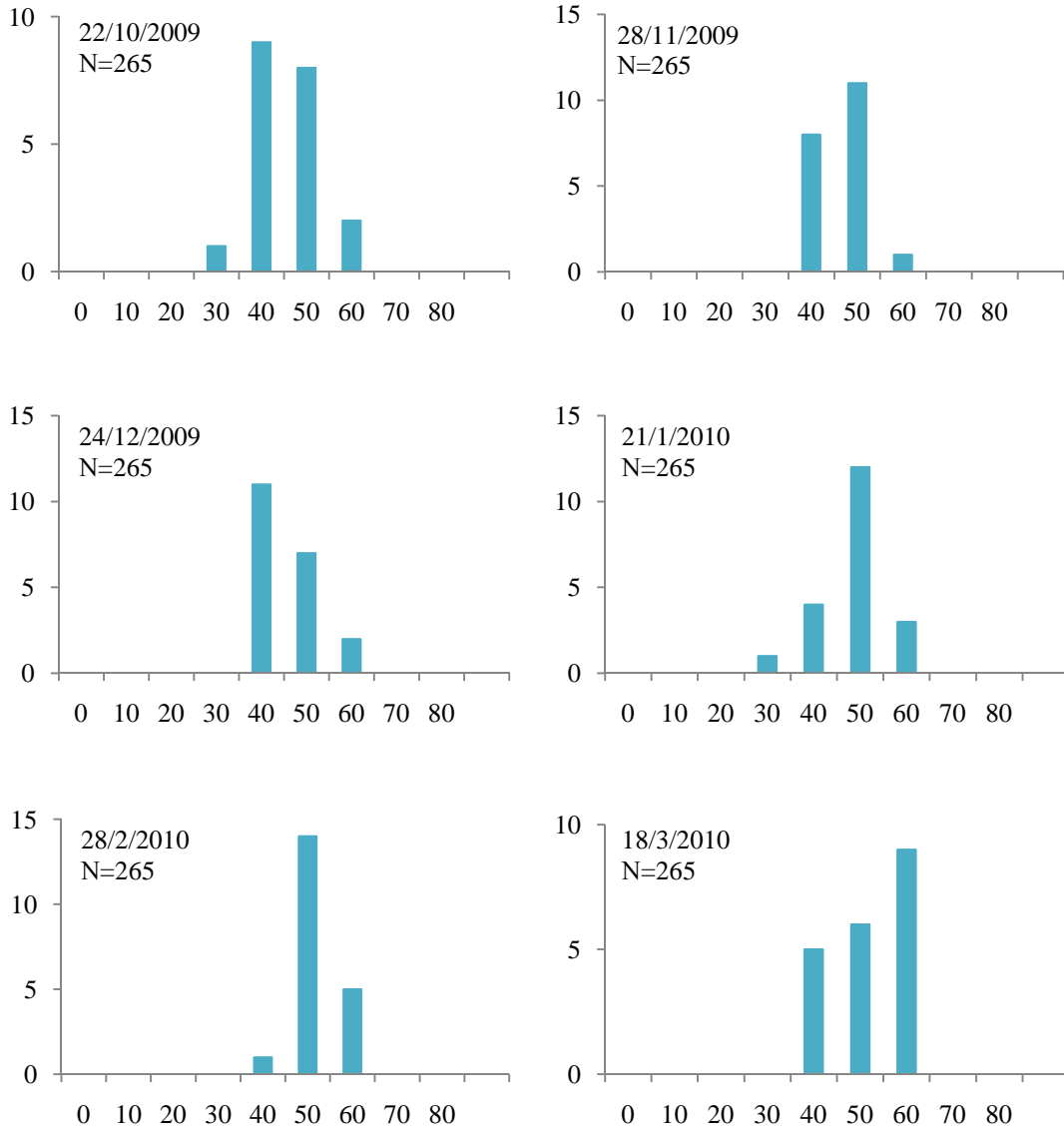
	Άθροισμα Τετραγώνων	B.E.	Μέσο Τετράγωνο	F	Πιθανότητα
Μεταξύ δειγματοληψιών	67190,960	13	5168,535	14,645	<0,05
Μεταξύ ατόμων	88585,049	251	352,928		
Σύνολο	155776,009	264			



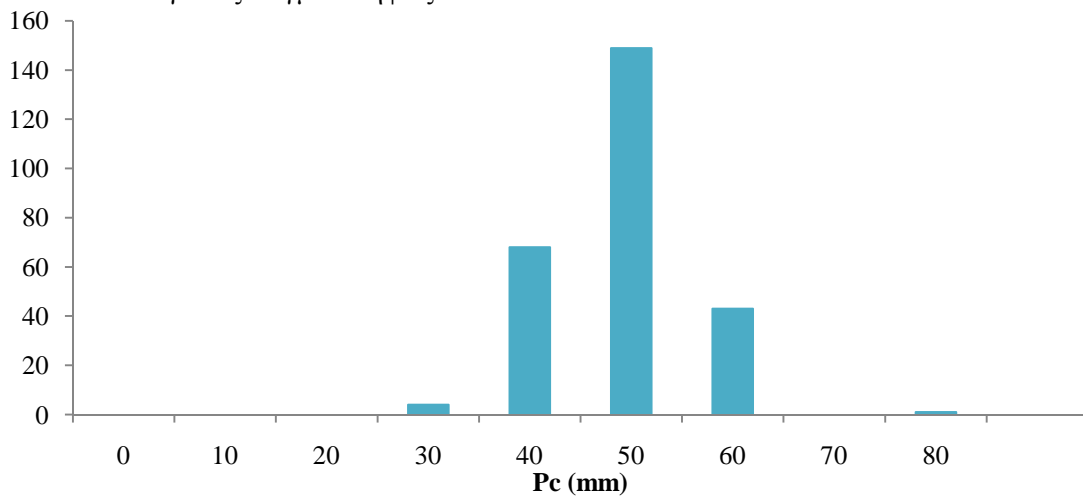
Σχήμα 3.19: Θηκόγραμμα βάρους του βάρους πεπτικού σωλήνα (Dw) για κάθε δειγματοληψία.



Σχήμα 3.20α: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για τη διάμετρο περιβαρυγγικού δακτυλίου για τις δειγματοληψίες 1-8.



Σχήμα 3.20β: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για τη διάμετρο περιφαρυγγικού δακτυλίου για τις δειγματοληψίες 9-14.

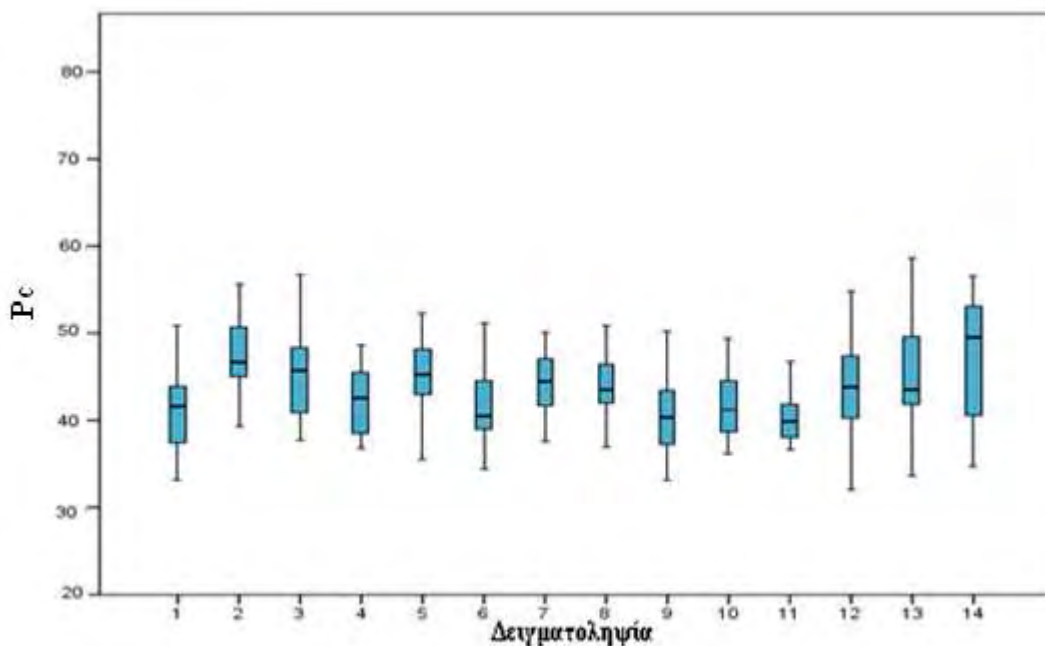


Σχήμα 3.21: Κατανομή των κλάσεων μεγέθους για τη διάμετρο περιφαρυγγικού δακτυλίου συνολικά.

Η σύγκριση των δειγματοληψιών με βάση τη περίμετρο του περιβαρυγτικού δακτυλίου έδειξε ότι υπάρχει μεταξύ τους στατιστικά σημαντική διαφορά (Πιν. 3.6). Οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρήθηκαν στη δειγματοληψία 14 (18/3/2010) ενώ οι μικρότερες στη δειγματοληψία 11 (27/2/2009). Στο Σχήμα 3.22, φαίνεται η κατανομή των τιμών της περιμέτρου του περιβαρυγτικού δακτυλίου σε κάθε δειγματοληψία.

Πίνακας 3.6: Αποτελέσματα της μονοπαραγοντικής ανάλυσης για τη περίμετρο περιβαρυγτικού δακτυλίου (P_c)

	Αθροισμα Τετραγώνων	B.E.	Μέσο Τετράγωνο	F	Πιθανότητα
Μεταξύ δειγματοληψιών	1257,358	13	96,720	2,894	<0,05
Μεταξύ ατόμων	8387,938	251	33,418		
Σύνολο	9645,295	264			

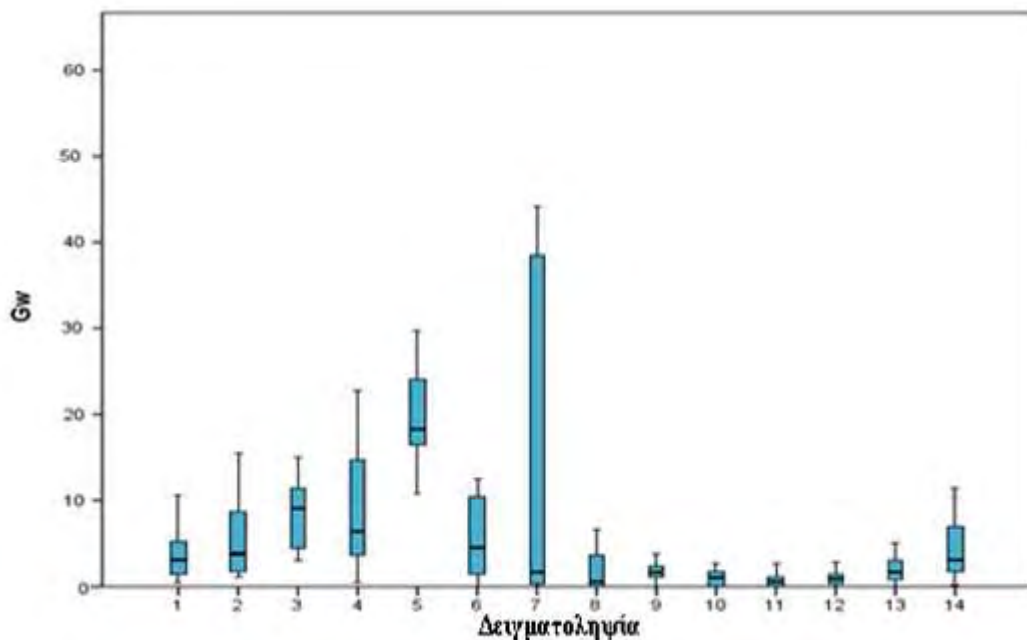


Σχήμα 3.22: Θηκόγραμμα βάρους τη περίμετρο περιβαρυγτικού δακτυλίου (P_c) για κάθε δειγματοληψία.

Τέλος η σύγκριση των δειγματοληψιών με βάση το βάρος γονάδας έδειξε ότι υπάρχει μεταξύ τους στατιστικά σημαντική διαφορά (Πιν. 3.7). Οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρήθηκαν στη δειγματοληψία 7 (23/8/2009) ενώ οι μικρότερες στις δειγματοληψίες 8,9,10,11,12,13 (26/9/2009, 22/10/2009, 28/11/2009, 24/12/2009, 21/1/2010 αντίστοιχα). Στο Σχήμα 3.23, φαίνεται η κατανομή των τιμών του βάρους γονάδας σε κάθε δειγματοληψία.

Πίνακας 3.7: Αποτελέσματα της μονοπαραγοντικής ανάλυσης για το βάρος γονάδας (Gw).

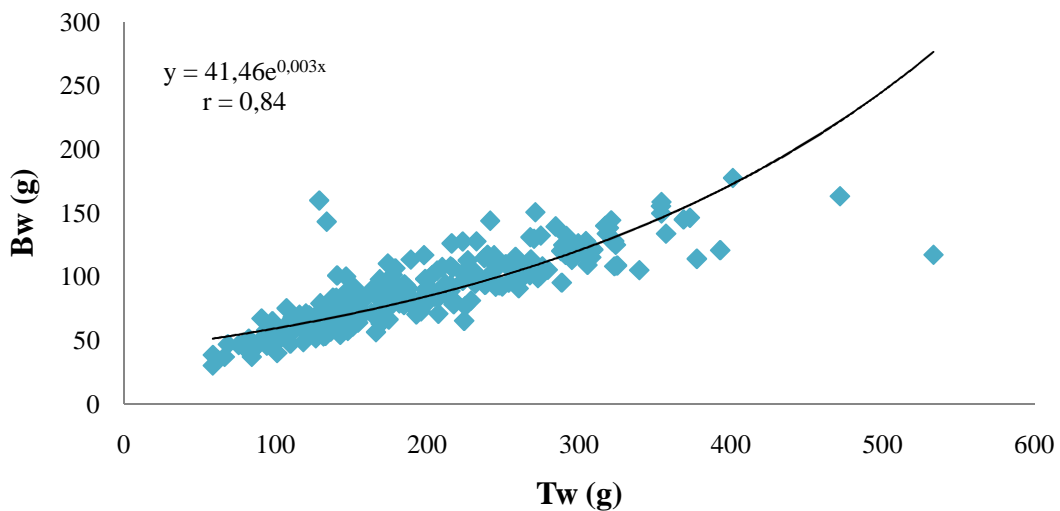
	Άθροισμα Τετραγώνων	B.E.	Μέσο Τετράγωνο	F	Πιθανότητα
Μεταξύ δειγματοληψιών	8083,970	13	621,844	14,207	<0,05
Μεταξύ απόμων	10986,190	251	43,770		
Σύνολο	19070,160	264			



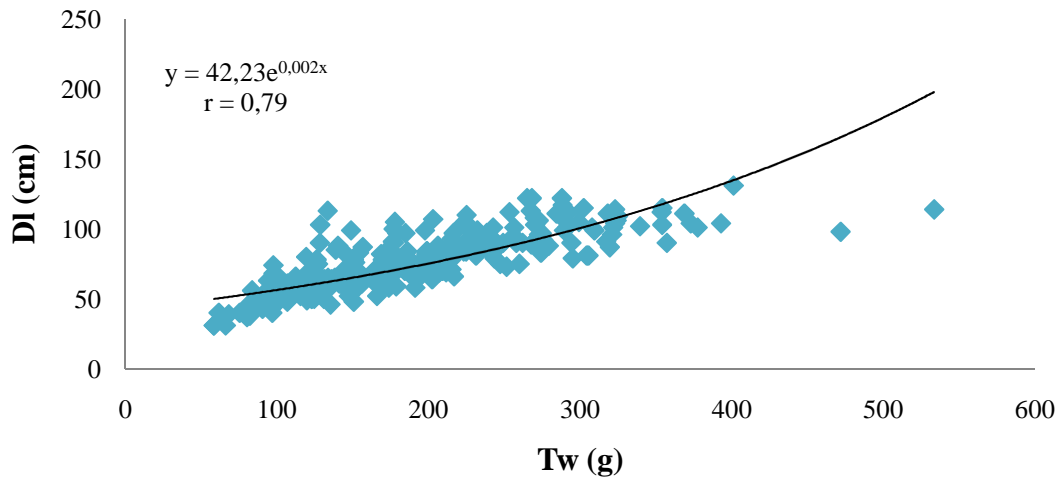
Σχήμα 3.23: Θηκόγραμμα του βάρους γονάδας (Gw) για κάθε δειγματοληψία.

3.3.2 Βιομετρικές σχέσεις

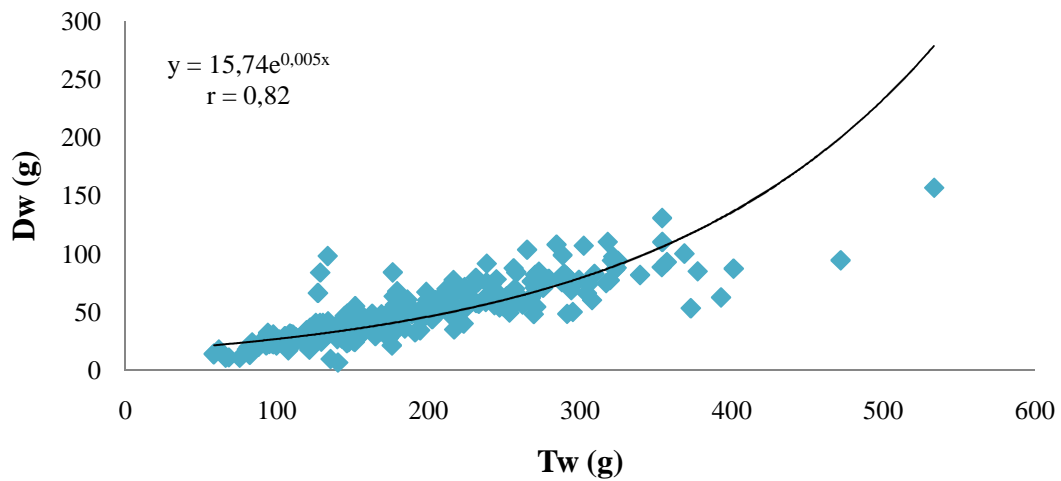
Έγινε αναζήτηση των βιομετρικών σχέσεων μεταξύ των βιομετρικών χαρακτηριστικών ολικό βάρος, βάρος σωματικού τοιχώματος, μήκος πεπτικού σωλήνα, βάρος πεπτικού σωλήνα και περίμετρος περιφaryγγικού δακτυλίου. Πραγματοποιήθηκε αυτή η διαδικασία ώστε να βρεθούν τα πιο ισχυρά συσχετιζόμενα χαρακτηριστικά και να γίνει σύγκριση των συντελεστών συσχέτισης που προέκυψαν με παλαιότερες μελέτες. Για την περιγραφή όλων των σχέσεων χρησιμοποιήθηκε το εκθετικό μοντέλο, διότι απέδωσε καλύτερα τη συσχέτιση των βιομετρικών χαρακτηριστικών (Σχ. 3.24-3.33).



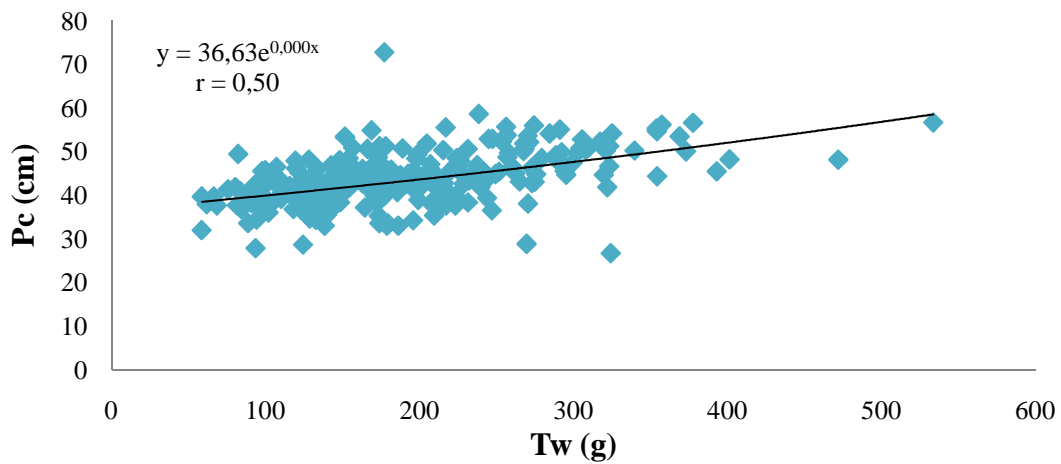
Σχήμα 3.24: Συσχέτιση ολικού βάρους σώματος (Tw) - βάρος τοιχώματος (Bw).



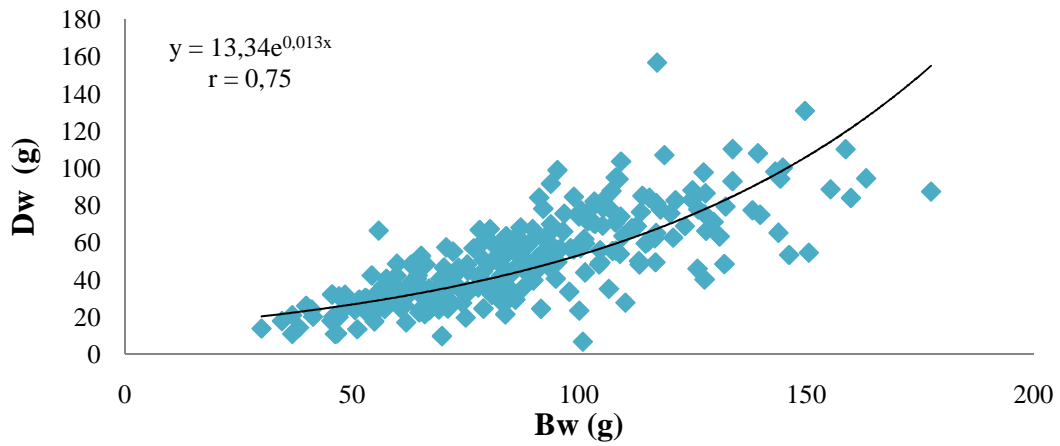
Σχήμα 3.25: Συσχέτιση ολικού βάρους σώματος (T_w) - μήκος πεπτικού σωλήνα (DI).



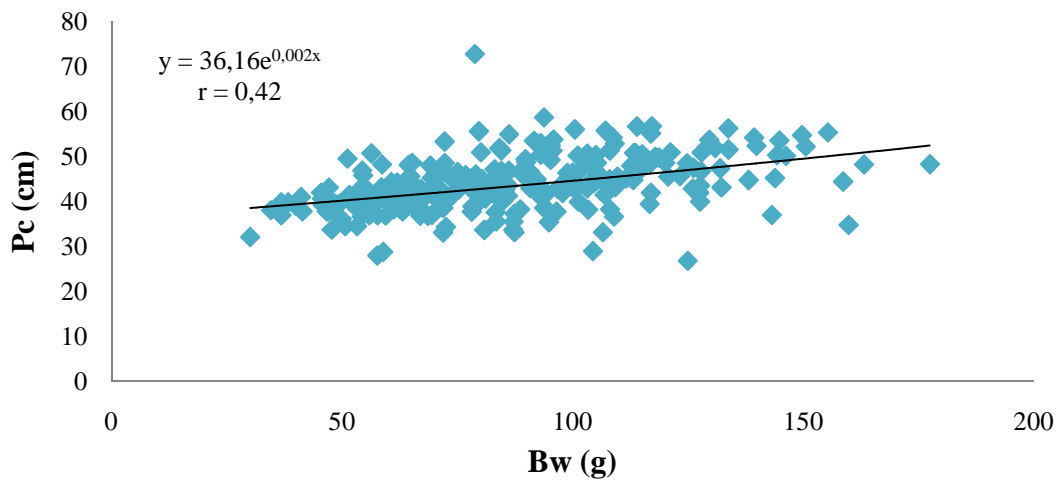
Σχήμα 3.26: Συσχέτιση ολικού βάρους σώματος (T_w) - βάρος πεπτικού σωλήνα (D_w).



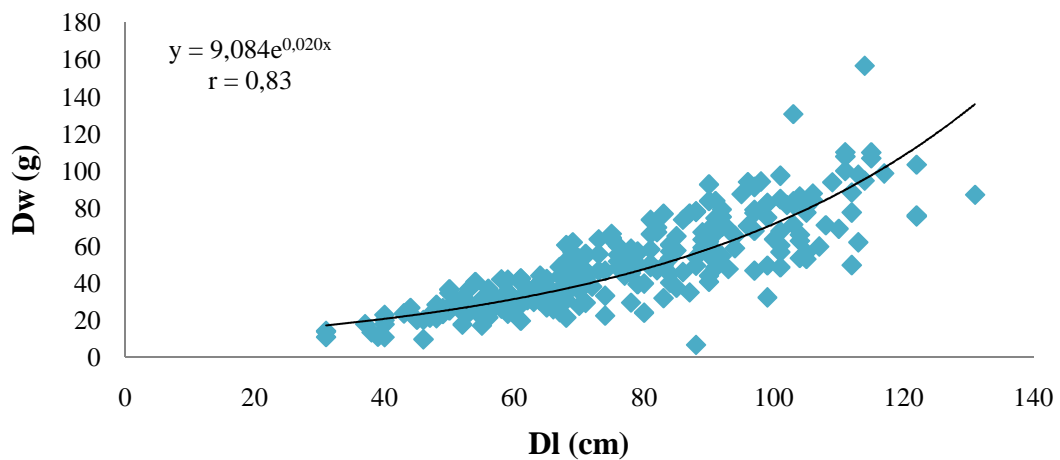
Σχήμα 3.27: Συσχέτιση ολικού βάρους σώματος (T_w) - διάμετρος περιφερυγγικού δακτυλίου (P_c).



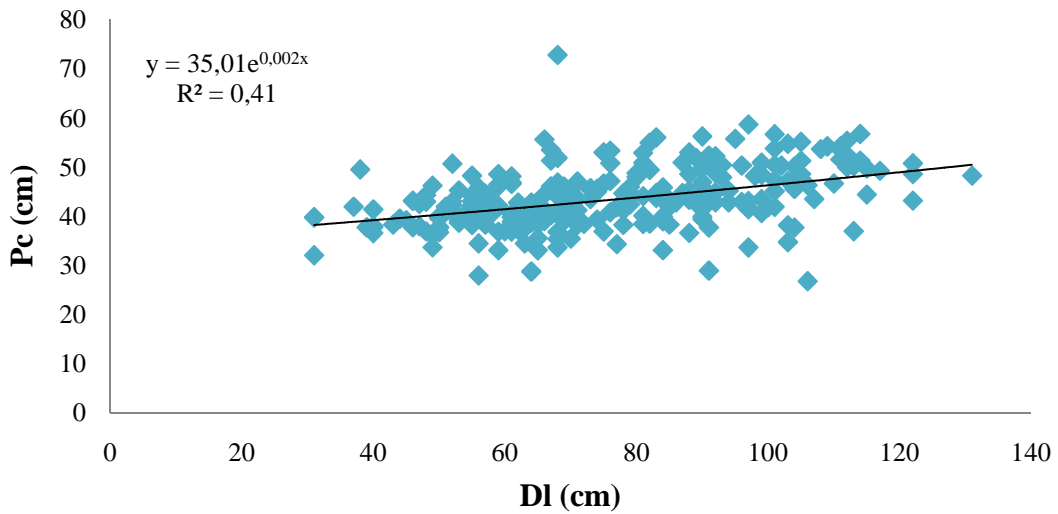
Σχήμα 3.28: Συσχέτιση βάρους τοιχώματος (Bw) - βάρους πεπτικού σωλήνα (Dw).



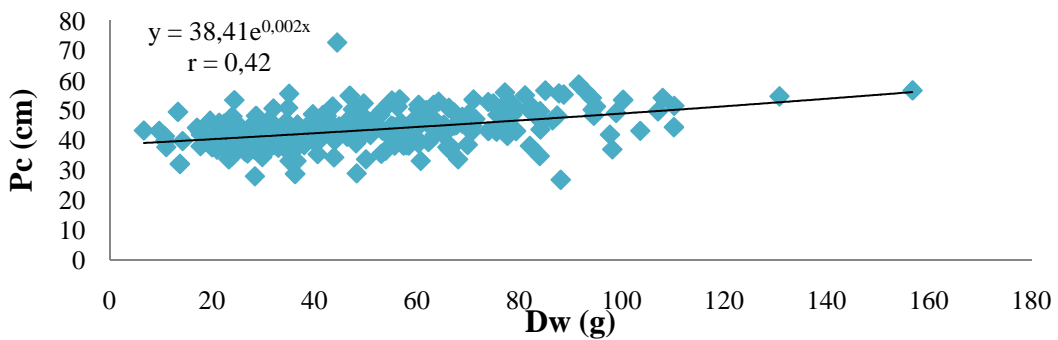
Σχήμα 3.29: Συσχέτιση βάρους τοιχώματος (Bw) - διάμετρος περιβαρυγγικού δακτυλίου (Pc).



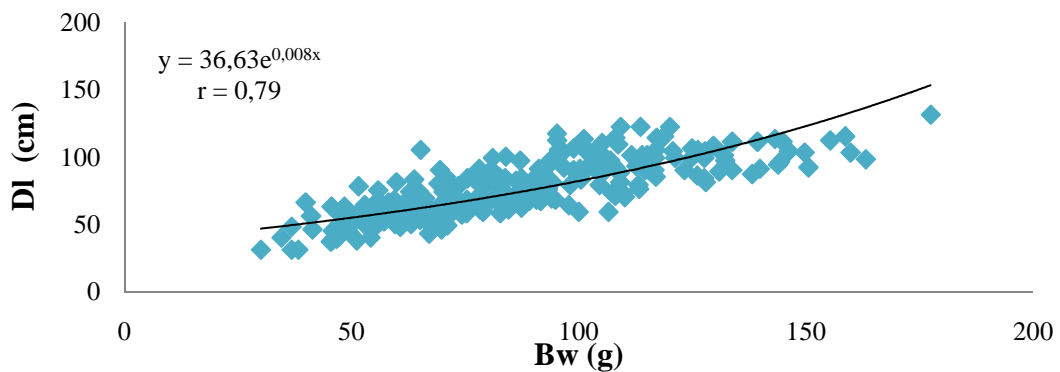
Σχήμα 3.30: Μήκος πεπτικού σωλήνα (DI)- βάρους πεπτικού σωλήνα (Dw).



Σχήμα 3.31: Συσχέτιση μήκους πεπτικού σωλήνα (DI)-διάμετρος περιβαρυγγικού δακτυλίου (Pc).



Σχήμα 3.32: Συσχέτιση βάρους πεπτικού σωλήνα (Dw)-διάμετρος περιβαρυγγικού δακτυλίου (Pc).



Σχήμα 3.33: Συσχέτιση βάρος τοιχώματος (Bw) - μήκος πεπτικού σωλήνα (DI).

Όλες οι βιομετρικές σχέσεις που εξετάστηκαν ακλούθησαν αρνητική αλλομετρία ($b < 3$). Το ίδιο έχει αναφερθεί και σε άλλους μεσογειακούς πληθυσμούς

(Bulteel et al. 1992, Kazanidis et al. 2010). Η αρνητική αλλομετρία δείχνει την αλλαγή του σώματος του ζώου καθώς αυτό μεγαλώνει αφού το σχετικό ποσοστό αύξησης του όγκου είναι χαμηλότερο από τη γραμμική. Επίσης το εύρος των συντελεστών συσχέτισης (r) μεταξύ των βιομετρικών σχέσεων ήταν μεγάλο, με μεγαλύτερη τιμή 0,84 (ολικό βάρος σώματος- βάρος τοιχώματος) και μικρότερη 0,41 (περίμετρος περιφάρυγγικού δακτυλίου- μήκος πεπτικού σωλήνα).

Το σύνολο σχεδόν των συντελεστών συσχέτισης που προέκυψαν στην παρούσα έρευνα είναι πολύ κοντά σε αυτές που προέκυψαν σε άλλες εργασίες στον Παγασητικό κόλπο. Για παράδειγμα στην παρούσα έρευνα η τιμή του ζεύγους περίμετρος περιφάρυγγικού δακτυλίου- μήκος πεπτικού σωλήνα είναι 0,41 έναντι 0,45, μήκος πεπτικού σωλήνα- βάρος σωματικού τοιχώματος 0,79 έναντι 0,70 αντιστοίχα. Οι χαμηλές τιμές των συντελεστών συσχέτισης που προέκυψε για το σύνολο των βιομετρικών σχέσεων εκτός από το ζεύγος ολικό βάρος σώματος- βάρος σωματικού τοιχώματος (0,84) υποδηλώνει ότι μόνο το τελευταίο ζεύγος μορφομετρικών χαρακτηριστικών μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αντιπροσωπευτικό χαρακτηριστικό του συγκεκριμένου πληθυσμού (Kazanidis et al. 2010).

3.4 Ιστολογική ανάλυση

Συνολικά στο μικροσκόπιο παρατηρήθηκαν τα δείγματα από 231 άτομα, 102 θηλυκά και 129 αρσενικά. Στους Πίνακες 3.8 και 3.9 φαίνονται τα αποτελέσματα της καταγραφής των σταδίων ωριμότητας, ενώ στα Σχήματα 2.34 και 3.35 αποδίδεται γραφικά η κατανομή των σταδίων, ανάλογα με την περίοδο δειγματοληψίας και το φύλο.

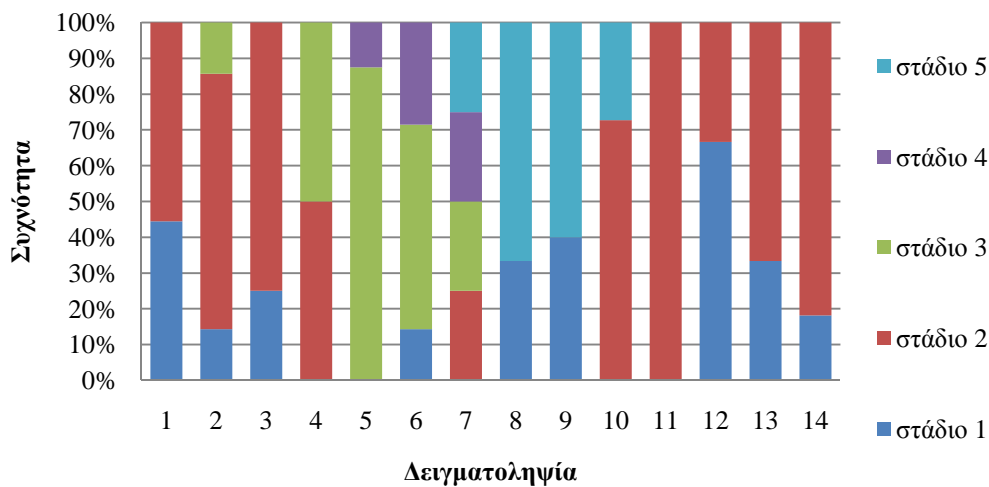
Πίνακας 3.8: Καταγραφή ανά δειγματοληψία των σταδίων ωριμότητας των γονάδων για τα θηλυκά.

Θηλυκά					
Δειγματοληψία	Στάδιο 1	Στάδιο 2	Στάδιο 3	Στάδιο 4	Στάδιο 5
27/2/09	4	5			
28/3/09	1	5	1		
24/4/09	2	6			
22/5/09		4	4		
21/6/09			7	1	
26/7/09	1		4	2	
23/8/09		1	1	1	
26/9/09	1				
22/10/09	2				1
28/11/10		8			1
24/12/09		6			2
21/1/10	6	3			3
28/2/10	2	4			
18/3/10	2	9			

Πίνακας 3.9: Καταγραφή ανά δειγματοληψία των σταδίων ωριμότητας των γονάδων για τα αρσενικά.

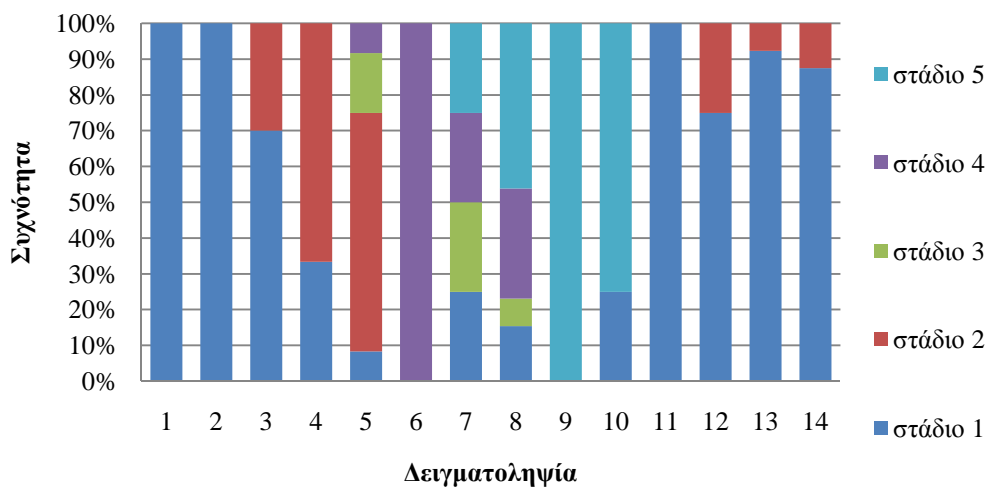
Αρσενικά					
Δειγματοληψία	Στάδιο 1	Στάδιο 2	Στάδιο 3	Στάδιο 4	Στάδιο 5
27/2/09	10				
28/3/09	12				
24/4/09	7	3			
22/5/09	4	8			
21/6/09	1	10		1	
26/7/09				4	
23/8/09	1		1	1	1
26/9/09	2		1	4	6
22/10/09					11
28/11/10	1				3
24/12/09	9				
21/1/10	6	2			
28/2/10	12	1			
18/3/10	7	1			

Θηλυκά



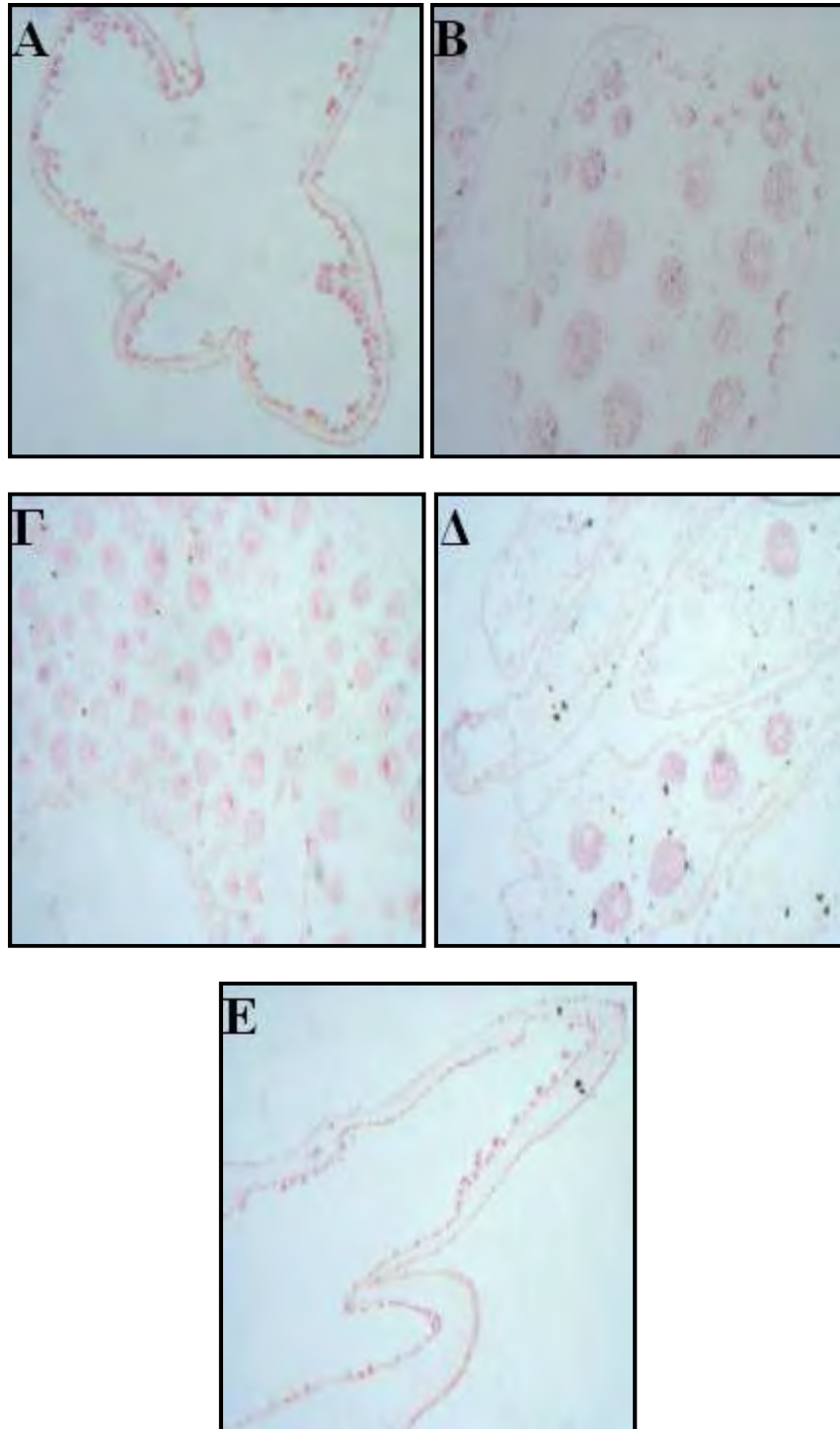
Σχήμα 3.34: Κατανομή των σταδίων ωριμότητας των γονάδων των θηλυκών ατόμων ανάλογα με την δειγματοληψία.

Αρσενικά

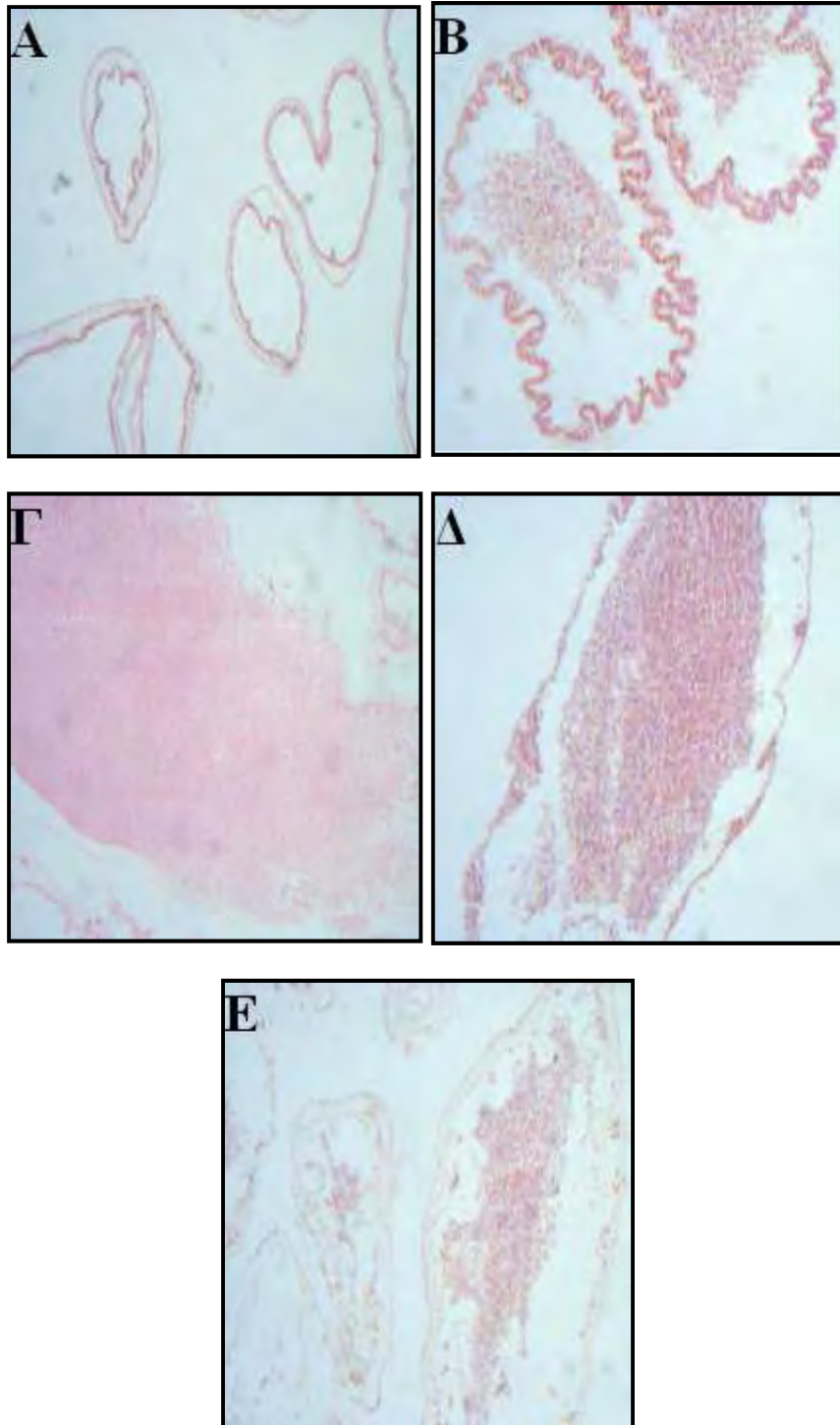


Σχήμα 3.35: Κατανομή των σταδίων ωριμότητας των γονάδων των αρσενικών ατόμων ανάλογα με την δειγματοληψία.

Στις Εικόνες 3.1 και 3.2 φαίνονται ενδεικτικά φωτογραφίες που λήφθηκαν από το μικροσκόπιο και αποδίδουν τα διαφορετικά στάδια ωριμότητας των γονάδων και των δύο φύλων, όπως αυτά αναγνωρίστηκαν σύμφωνα με τα στάδια που καθόρισαν οι Despalatovic et al. (2004).



Εικόνα 3.1: Φωτογραφίες από το μικροσκόπιο που αποδίδουν τα στάδια ωριμότητας των γονάδων των θηλυκών ατόμων του *H. tubulosa* όπως αυτά αναγνωρίστηκαν Α) στάδιο ανάκαμψης, Β) στάδιο ανάπτυξης, Γ) στάδιο ωριμότητας, Δ) στάδιο αναπαραγωγής, Ε) μετα-αναπαραγωγικό στάδιο.



Εικόνα 3.2: Φωτογραφίες από το μικροσκόπιο που αποδίδουν τα στάδια ωριμότητας των γονάδων των αρσενικών ατόμων του *H. tubulosa* όπως αυτά αναγνωρίστηκαν (α) στάδιο ανάκαμψης, β) στάδιο ανάπτυξης, γ) στάδιο ωριμότητας, δ) στάδιο αναπαραγωγής, ε) μετα-αναπαραγωγικό στάδιο.

3.5 Αναλογία φύλου

Ο προσδιορισμός του φύλου βασίστηκε στην ιστολογική εξέταση. Από τα 265 άτομα που συλλέχθηκαν, τα 102 (37,6%) ήταν θηλυκά, τα 129 (47,6%) αρσενικά και τα υπόλοιπα 34 (12,8%) απροσδιορίστου φύλου. Από την στατιστική επεξεργασία πρόεκυψε πως η αναλογία φύλου δε διαφέρει στατιστικώς σημαντικά από τη σχέση 1:1 ($\chi^2=3,15$, $P>0,05$).

Η συγκεκριμένη αναλογία είναι χαρακτηριστικό και άλλων πληθυσμών του ίδιου είδους τόσο στον Παγασητικό κόλπο (Kazanidis et al. 2010) όσο και σε άλλες περιοχές της Μεσογείου (Despalatovic et al. 2004). Ο μη προσδιορισμός του φύλου για μικρό αριθμό ατόμων, κυρίως κατά τους χειμερινούς μήνες αποδίδεται στο γεγονός ότι μετά την αναπαραγωγή υπάρχει πλήρη απορρόφηση της γονάδας.

3.6 Γοναδοσωματικός δείκτης – Αναπαραγωγή

Ο γοναδοσωματικός δείκτης και κατ' επέκταση η αναπαραγωγή του ολοθουρίου ακολούθησε ετήσιο κύκλο. Η ψηλότερη τιμή του γοναδοσωματικού δείκτη (22,62 %) σημειώθηκε κατά την καλοκαιρινή περίοδο και πιο συγκεκριμένα στην έβδομη δειγματοληψία (23/8/2009), ενώ στην επόμενη ακριβώς δειγματοληψία υπήρξε κατακόρυφη πτώση του γοναδοσωματικού δείκτη (1,84 %). Η πτώση του γοναδοσωματικού δείκτη είναι απόδειξη ότι η αναπαραγωγική περίοδος πραγματοποιήθηκε στο τέλος της καλοκαιρινής περιόδου.

Η αναπαραγωγική περίοδος φαίνεται να συμπίπτει σχεδόν απόλυτα με άλλες έρευνες που έχουν γίνει στον Παγασητικό κόλπο (Kazanidis et al. 2010), αλλά και σε άλλες περιοχές της Μεσογείου όπως στην περιοχή Lacco Ameno (Bulttel et al. 1992)

όπου η τιμή του γοναδοσωματικού δείκτη είχε μεγάλη τιμή το μήνα Αύγουστο ενώ την φθινοπωρινή περίοδο παρουσίασε μεγάλη πτώση.

Κατά την χειμερινή περίοδο παρουσιάστηκε ακόμα πιο μεγάλη πτώση του γοναδοσωματικού δείκτη, όπου σε πολλές περιπτώσεις υπήρξε και πλήρης απορρόφηση των γονάδων. Στην περίοδο της άνοιξης και όσο πλησίαζε στην καλοκαιρινή περίοδο υπήρξε σταδιακή αύξηση του γοναδοσωματικού δείκτη, η οποία συνοδεύονταν με αύξηση της θερμοκρασίας. Αυτή η συσχέτιση της θερμοκρασίας με την ωρίμανση των γαμετών και την αναπαραγωγική περίοδο έχει αναφερθεί για το *H. tubulosa* (Kazanidis et al. 2010) αλλά και σε άλλα είδη ολοθουρίων (Conand 1981).

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Η μέση τιμή του ολικού βάρους ήταν $190,59 \pm 79,19$ g, του βάρους σωματικού τοιχώματος $86,25 \pm 28,25$ g, του βάρους γονάδας $5,68 \pm 1,49$ g, του μήκους πεπτικού σωλήνα $76,3 \pm 20,8$ cm, του βάρους πεπτικού σωλήνα $49,73 \pm 24,29$ g, της περιμέτρου περιφάρυγγικού δακτυλίου $43,72 \pm 6,04$ mm και του γοναδοσωματικού δείκτη (GSI) $6,24 \pm 2,89\%$ ενώ η πληθυσμιακή πυκνότητα ήταν 14 άτομα /100 m².

2. Όλες οι βιομετρικές σχέσεις που εξετάστηκαν βρέθηκε να ακολουθούν αρνητική αλλομετρία ($b < 3$) με τη σχέση ολικό βάρος σώματος- βάρος σωματικού τοιχώματος να παρουσιάζει το μεγαλύτερο συντελεστή συσχέτισης ($r = 0,84$) και τη σχέση περίμετρος περιφάρυγγικού δακτυλίου- μήκος πεπτικού σωλήνα να παρουσιάζει το μικρότερο συντελεστή συσχέτισης ($r = 0,41$).

3. Στο σύνολο των μορφομετρικών χαρακτηριστικών οι κατανομές των κλάσεων μεγέθους παρουσίασαν μία ξεκάθαρη κορυφή.

4. Τέλος, το είδος φάνηκε να παρουσιάζει ετήσιο αναπαραγωγικό κύκλο με απελευθέρωση γαμετών στο τέλος του καλοκαιριού.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Barry C. S., Welsh A. H. (2001) Distance sampling methodology. J. R. Statist. Soc. B. 63 (Part 1): 31-51
- Brusca R.C., Brusca G.J. (2003) Phylum Echinodermata in: Invertebrates: 803-837
- Buckland S.T., Anderson D. R., Burnham K. P., Laake J. L., Borchers D.L. and Thomas L. (2001). Introduction to distance sampling: estimating abundance of biological populations. Oxford University Press, Oxford
- Butleel P., Jangoux M., Coulon P. (1992) Biometry, bathymetric distribution and reproductive cycle of the holothuroid *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) in Mediterranean seagrass beds. Marine Ecology, 13:53-62
- Calki S., Cadun A., Kisla D., Dincer T. (2004) Determination of quality characteristics of *Holothuria tubulosa*, (Gmellin, 1788) in Turkish Sea (Aegean Region) depending on sun drying process step used in Turkey. Journal of aquatic food product technology 13:69-78
- Cameron, J. L., Fankboner P. V. (1986) Reproductive biology of the commercial sea cucumber *Parastichopus californicus* (Stimpson) (Echinodermata: Holothuroidea) I. Reproductive periodicity and spawning behavior. Canadian Journal of Zoology 64:168-175
- Conand C. (1981) Sexual cycle of the three commercially important holothurian species (Echinodermata) from the lagoon of New Caledonia. Bulletin of marine Science 31:523-543
- Conand C. (1990) The fishery resources of pacific island countries. Part 2: holothurians. Fao fisheries technical paper 272(2):143p. Rome
- Coulon P., Jangoux M. (1993) Feeding rate and sediment reworking by the holothuroid *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) in a Mediterranean seagrass bed off Ischia Island, Italy. Marine Ecology Progress Series 92, 201–204.
- Despalatovic M., Grubelic I., Simunovic A., Antolic B. and Zuljevic A. (2004) Reproductive biology of the holothurian *Holothuria tubulosa* (Echinodermata)

in the Adriatic Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 84, 409–414

- Goldbeck E.J., Houben C., Langer M.R. (2005) Survival of foraminifera in the gut of holothuroids from Elba Island (Mediterranean Sea). *Revue de micropaleontology* 48:169-174
- Gustato G., Villari A., Del Claudio S., Pedata P. (1982): Ulteriori dati sulla distribuzione di *Holothuria tubulosa*, *Holothuria poli* e *Holothuria stellati* nel Golfo di Napoli. *Boll.Soc.Nat.Napoli* 91:1-14
- Kazanidis G., Antoniadou C., Lolas A.P., Neofitou N., Vafidis D., Chintiroglou C., Neofitou N. (2010) Population dynamics and reproduction of *Holothuria tubulosa* (Holothuroidea: Echinodermata) in the Aegean Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 90:895–901
- Marques T. A., Buckland S. T., Borchers D. L., Rexstad E. A and Thomas L. (2011) Distance sampling. Pp 398-400 in Lovric, M. (Ed.), *International Encyclopedia of Statistical Science*, Springer-Verlag, Berlin.
- Mezali K., Chekaba B., Zupo V., Asslah B. (2003) Comportement alimentaire de cinq especes D’holothuries aspidochirotés (Holothuroidea: Echinodermata) de la presqu’île de Sidi-Fredj (Algerie). *Bulletin de la Societe zoologique de France* 128:46-62
- Moosleitner H. (2006) Observation of natural spawning of *Holothuria tubulosa*. *SPC Beche-de-Mer information Bulletin* 24:53
- Ocana A, Sanchez Tocino L. (2005) Spawning of *Holothuria tubulosa* (Holothuroidea, Echinodermata) in the Alboran Sea (Mediterranean Sea). *Zool. Baetica* 16:147-150
- Pearse, V., J. Pearse, M. Buchsbaum and R. Buchsbaum. (1987) *Living Invertebrates*. Boxwood Press, Pacific Grove, California, USA
- Shiell G.R., Uthcke S. (2006) Reproduction of the commercial sea cucumber *Holothuria whitmaei* [Holothuroidea: Aspidochitotida] in the Indian and Pacific Ocean regions of Australia. *Marine Biology* 148: 973-986
- Simunovic A., Grubelic I. (1998) A contribution to the knowledge of the species *Holothuria tubulosa* Gmellin, 1788 (Holothuria, Echinodermata) in the coastal area of the central eastern Adriatic. *Acta Adriatica* 39:13-231

- Smiley, S., F. S. McEuen, C. Chaffee and S. Krishan. (1991) Echinodermata: Holothuroidea. Pages 663-750 in A.C. Giese, J. S. Pearse, and V. B. Pearse, editors. Reproduction of marine invertebrates, echinodermata and lophophorates. Volume VI. Boxwood Press, Pacific Grove, California, USA
- Tortonese E. (1965) Fauna d' Italia-Echinodermata. Calderini, Bologna.
- Tortonese E., Vadon C. (1987) Oursins et Holothuries. In Fischer W., Bouchon M.L. and Schneider M. (eds) Fiches FAO de identification des especes pour les besoins de la peche (revision 1)—Mediterranee et Mer Noire. Zone de peche 37. Rome: FAO publications, pp. 743–760.
- Uthicke, S. (1997) Seasonality of asexual reproduction in *Holothuria (Halodeima) atra*, *H. (H.) edulis* and *Stichopus chloronotus* (Holothuroidea: Aspidochirotida) on the Great Barrier Reef. Marine Biology 129:435-441
- Vafidis D., Tsagridis A., Chintiroglou C., Stamatis N. and Antoniadou C. (2008) Fisheries, processing and trade of the South Aegean holothurians stocks. Ministry of Agricultural Development and Food, Operational Programme for Greek fisheries for the period 2000–2006, Final Technical Report, Greece, 83 pp.
- Valls A. (2003) Natural spawning observation in *Holothuria tubulosa*. SPC Beche-de-Mer information Bulletin 19:40
- Warnau M., Dutrieux S., Ledent G., Rodriguez A.M., Baenad Y., Dubois P. (2006) Heavy Metals in the Sea Cucumber *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) from the Mediterranean *Posidonia oceanica* Ecosystem: Body Compartment, Seasonal, Geographical and Bathymetric Variations. Environmental Bioindicators, 1:268-285

Ελληνική βιβλιογραφία

- Λαζαρίδου-Δημητριάδου Μ. (1992) Δευτεροστόμια Επιθηλιονευρά στο: Γενική ζωολογία. Γιαχούδι, Θεσσαλονίκη σελ: 307-319

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

- <http://www.ibm.com/projects/krastavci/krastavac.html>
- (<http://marine.rutgers.edu/mrs/nopp/photogal/photoju1.htm>)

6. ABSTRACT

The aim of the present study was the recording of the population structure of the holothroid *Holothuria tubulosa*, in the mobile substratum of the upper sublittoral zone of the Pagasitikos gulf.

Fourteen samplings were carried out by Scuba diving from one location on a monthly basis (February 2009- March 2010). The purpose of this survey was the estimation of the density, biometry and reproductive cycle of *H. tubulosa*.

In general, 265 individuals were collected. The mean population density was 14 individuals / 100m². The mean values of every morphometric parameter were examined, too. The mean total weight was $190,59 \pm 79,19$ g, the mean body wall weight was $86,25 \pm 28,25$ g, the mean gonad weight was $5,68 \pm 1,49$ g, the mean digestive-tract weight was $49,73 \pm 24,29$ g, the mean length of the digestive tract was $76,3 \pm 20,8$ cm, the mean perimeter of the periphryngeal crown was $43,72 \pm 6,04$ mm, as well. Moreover, the sex was determined and the mean value of the gonadosomatic index (GSI) was accounted for $6,24 \pm 2,89\%$.

Furthermore, all the investigated biometric relationships followed negative allometry ($b < 3$), as well as, the relationship between the total weight and the body wall weight gives the highest correlation coefficient $r = 0,84$.

Finally, the reproductive cycle showed a clear annual pattern and the spawning occurred at the end of the summer.

Key words: *Holothuria tubulosa*, reproductive cycle, biometry, density