



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Ιστολογική ανάλυση των γονάδων του αχινού *Arbacia lixula*
(Linnaeus, 1758) στον Παγασητικό Κόλπο»

ΧΑΤΖΗΛΙΑΣ ΜΑΡΚΟΣ

ΒΟΛΟΣ 2015

**«Ιστολογική ανάλυση των γονάδων του αχινού *Arbacia lixula* (Linnaeus, 1758)
στον Παγασητικό Κόλπο»**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1) **Δημήτριος Βαφείδης**, Καθηγητής, Βιοποικιλότητα των Θαλάσσιων Βενθικών Ασπονδύλων και άμεση - έμμεση χρηστικότητα τους, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Επιβλέπων*,

2) **Αθανάσιος Εξαδάκτυλος**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Γενετική Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος*,

3) **Ελένη Γκολομάζου**, Λέκτορας, Ιχθυοπαθολογία, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος*.

Στην οικογένειά μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους με βοήθησαν προκειμένου να φέρω εις πέρας την παρούσα προπτυχιακή διπλωματική εργασία.

Πρωτίστως θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα αυτής της εργασίας κο. Δημήτριο Βαφειδή, Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, ο οποίος μου εμπιστεύθηκε την πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης, καθοδηγώντας με καθ' όλη την διάρκειά της.

Επίσης επιθυμώ να ευχαριστήσω τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, κο. Αθανάσιο Εξαδάκτυλο, Αναπληρωτή Καθηγητή του Επισπεύδοντος Τμήματος και την κα. Ελένη Γκολομάζου, Λέκτορα του Επισπεύδοντος Τμήματος για τις επισημάνσεις και διορθώσεις τους στην παρούσα διπλωματική εργασία.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον κο. Αλέξη Λόλα, Υποψήφιο Διδάκτορα του Τμήματος Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, για την πολύτιμη συνδρομή που μου παρείχε, τόσο με τις καταδυτικές δειγματοληψίες που πραγματοποίησε, όσο και με την συνολική του καθοδήγηση κατά την εκπόνηση της παρούσας μελέτης.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά τους φίλους και την οικογένειά μου για την αμέριστη στήριξη που μου πρόσφεραν κατά την πραγματοποίηση τόσο της πτυχιακής μου εργασίας όσο και κατά τη συνολική διάρκεια των πανεπιστημιακών μου σπουδών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η ιστολογική ανάλυση και εκτίμηση των σταδίων ωριμότητας των γονάδων του αχινού *A. lixula* (Linnaeus, 1758) στον Παγασητικό Κόλπο.

Πραγματοποιήθηκαν 12 μηνιαίες δειγματοληψίες, από τον Δεκέμβριο του 2008 ως τον Νοέμβριο του 2009, στις περιοχές του Αγίου Στεφάνου και της Κάτω Γατζέας, που ορίστηκαν ως σταθμοί δειγματοληψίας. Η συλλογή των δειγμάτων έγινε με αυτόνομη κατάδυση (scuba diving). Σε κάθε δειγματοληψία έγινε τυχαία συλλογή 980 ατόμων – 40 ατόμων ανά σταθμό και δειγματοληψία – καθώς και μέτρηση και καταγραφή του ολικού νωπού βάρους σώματος και του νωπού βάρους των γονάδων αυτών των ατόμων. Από αυτά υπολογίστηκε ο γοναδοσωματικός δείκτης (GSI).

Ακολούθησε ιστολογική ανάλυση των γονάδων με τη μη προοδευτική χρώση Αιματοξυλίνης – Ηωσίνης.

Συνολικά εξετάστηκαν ιστολογικά 960 άτομα (480 από κάθε σταθμό) από τα οποία τα 461 ήταν αρσενικά και τα 499 θηλυκά. Στον Άγιο Στέφανο η μέση τιμή του ολικού βάρους σώματος υπολογίστηκε σε $33,87 \pm 13,07g$, του βάρους των γονάδων σε $0,661 \pm 0,607g$, ενώ ο GSI είχε κατά μέσο όρο τιμή $1,86 \pm 1,37$.

Στον δεύτερο σταθμό της Κάτω Γατζέας η μέση τιμή του ολικού βάρους σώματος υπολογίστηκε σε $28,49 \pm 10,95g$, του βάρους των γονάδων σε $0,540 \pm 0,570g$, ενώ ο GSI κατά μέσο όρο είχε τιμή $1,80 \pm 1,53$.

Επίσης παρατηρήθηκε ότι η αναλογία φύλων δεν διέφερε από την ισορροπία 1:1, όπως προέκυψε και από τους δύο σταθμούς που μελετήθηκαν.

Για τον *A. lixula* (Linnaeus, 1758), ήταν δύσκολο να προσδιοριστεί ιστολογικά η ακριβής αναπαραγωγική περίοδος. Φαίνεται ότι το είδος βρίσκεται σε

αναπαραγωγική ετοιμότητα σε όλη τη διάρκεια του έτους, με πιθανό αναπαραγωγικό συμβάν τα τέλη της άνοιξης.

Λέξεις Κλειδιά: *Arbacia lixula*, Ιστολογική Ανάλυση, Γοναδοσωματικός Δείκτης, Αιγαίο.

Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	- 1 -
1.1 Γενικά	- 1 -
1.2 Σκοπός.....	- 2 -
1.3 Μελέτη της αναπαραγωγής.....	- 3 -
1.3.1 Γοναδοσωματικός Δείκτης (GSI).....	- 3 -
1.3.2 Ιστολογική Ανάλυση.....	- 4 -
1.4 Το είδος <i>A. lixula</i> (Linnaeus, 1758).....	- 5 -
1.4.1 Βιολογία του <i>A. lixula</i>	- 9 -
2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	- 17 -
2.1 Περιοχή Μελέτης.....	- 17 -
2.2 Σταθμοί δειγματοληψίας.....	- 17 -
2.3 Δειγματοληψίες.....	- 18 -
2.4 Μορφομετρικές μετρήσεις.....	- 18 -
2.5 Ιστολογική ανάλυση	- 20 -
2.5.1 Εγκλεισμός σε παραφίνη.....	- 20 -
2.5.2 Τομή δειγμάτων	- 21 -
2.5.3 Χρώση	- 22 -
2.6 Παρατήρηση και καταγραφή	- 23 -
2.7 Στατιστική επεξεργασία.....	- 24 -
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	- 25 -
3.1 Θερμοκρασία	- 25 -
3.2 Αναλογία φύλων	- 26 -
3.3 Γοναδοσωματικός δείκτης (GSI).....	- 28 -
3.4 Ιστολογική ανάλυση	- 28 -
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	- 38 -
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	- 39 -
5.1 Ξένη Βιβλιογραφία	- 39 -
5.2 Ελληνική Βιβλιογραφία.....	- 48 -
5.3 Ηλεκτρονική Βιβλιογραφία	- 49 -
6. ABSTRACT	- 50 -

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικά

Τμήμα του φυσικού περιβάλλοντος, το θαλάσσιο περιβάλλον περιλαμβάνει τις εκβολές των ποταμών, τις παράκτιες περιοχές, τις παρακείμενες στις ακτές θαλάσσιες ζώνες, τις περιοχές της ανοιχτής θάλασσας και του θαλάσσιου ωκεάνιου βυθού καθώς και τα θαλάσσια οικοσυστήματα, καλύπτοντας έτσι το σύνολο της θαλάσσιας πανίδας και χλωρίδας (Παναγόπουλος, 2004). Οι ωκεανοί και οι θάλασσες καλύπτουν το 71% της επιφάνειας της Γης (European Commission, 2006) και περιέχουν το 90% της βιόσφαιρας, αποτελώντας κατά συνέπεια μεγαλύτερη πηγή βιοποικιλότητας από τα χερσαία οικοσυστήματα και τα οικοσυστήματα γλυκού νερού.

Ωστόσο, το θαλάσσιο περιβάλλον, παράγοντας καθοριστικός για την οικολογική ισορροπία του πλανήτη, αντιμετωπίζει έναν συνεχώς αυξανόμενο αριθμό απειλών που αφορούν κυρίως την απώλεια ή την υποβάθμιση της βιοποικιλότητας καθώς και τις μεταβολές στη δομή της, την απώλεια οικολογικών ενδιαιτημάτων, και τη ρύπανση από επικίνδυνες ουσίες που οφείλεται σε ένα μεγάλο βαθμό στη ναυτιλία και τα ατυχήματα των πλοίων που μεταφέρουν πετρέλαιο ή άλλα επικίνδυνα χημικά προϊόντα.

Επιπλέον, ανθρώπινες δραστηριότητες που συμβάλλουν στη μείωση της βιοποικιλότητας στα θαλάσσια οικοσυστήματα είναι η υπεραλίευση και οι εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες. Αυτές προκαλούν φθορά και απώλεια των ενδιαιτημάτων του θαλάσσιου περιβάλλοντος συντελώντας με τον τρόπο αυτό στην εξαφάνιση των θαλάσσιων ειδών (Lawrence & Hemingway, 2003).

Κρίνεται συνεπώς επιτακτική η ανάγκη σύνταξης ενός νομοθετικού πλαισίου που θα παρεμποδίζει τις δραστηριότητες εκείνες που υπονομεύουν την ομαλή λειτουργία των θαλάσσιων οικοσυστημάτων. Ένα αποτελεσματικό όμως πλαίσιο

χρειάζεται τη συνδρομή της επιστημονικής έρευνας που θα προσφέρει τις απαραίτητες πληροφορίες για τα θαλάσσια οικοσυστήματα και τους οργανισμούς που διαβιούν σε αυτά.

Πέρα από τις αναλύσεις του θαλασσινού νερού, οι επιστήμονες χρησιμοποιούν κάποιους οργανισμούς ως βιοδείκτες των θαλάσσιων οικοσυστημάτων. Τέτοιοι οργανισμοί είναι για παράδειγμα τα φύκη και οι αχινοί. Στους τελευταίους ανήκει το είδος *A. lixula* (Linnaeus, 1758) που αποτέλεσε αντικείμενο μελέτης της συγκεκριμένης εργασίας. Το είδος αυτό ανήκει στους λεγόμενους βενθικούς οργανισμούς, οι οποίοι συνιστούν το 98% των θαλάσσιων ζωικών ειδών (Θεοδώρου, 2004). Αν και το βένθος αποτελείται από λίγα άτομα και έχει συνολικά μικρότερη βιομάζα από το πελαγικό σύστημα, εμφανίζεται ωστόσο με πολύ μεγαλύτερη ποικιλία τύπων. Σε αυτούς τους ζωικούς βενθικούς τύπους χρειάζεται να εστιάσουμε την προσοχή μας καθώς το μεγαλύτερο τμήμα των ωκεανών αποτελείται αποκλειστικά από ζωικούς βενθικούς οργανισμούς.

1.2 Σκοπός

Σκοπός της συγκεκριμένης έρευνάς ήταν η παρατήρηση και μελέτη του αναπαραγωγικού κύκλου ενός κοινού ζωικού βενθικού οργανισμού, του αχινού *A. lixula* (Linnaeus, 1758).

Οι αχινοί αποτελούν δείκτες εκτίμησης της οικολογικής κατάστασης μιας θαλάσσιας περιοχής και ιδιαίτερα του βαθμού ρύπανσης αυτής (Dinnel et al., 1987, 1988; Portocali et al., 1996). Η διαπίστωση αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία για την ανατολική Μεσόγειο θάλασσα, εφόσον πρόκειται για ένα ολιγοτροφικό περιβάλλον στο οποίο ακόμη και η παραμικρή διατάραξη προκαλεί απόκριση του οικοσυστήματος (Azov, 1986).

Επομένως, η μελέτη ενός σημαντικού βιοδείκτη όπως είναι ο *A. lixula*, θα προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες για τη βιολογία του είδους καθώς και για την αντιμετώπιση των παραμέτρων που απειλούν τόσο το συγκεκριμένο είδος, όσο και τους υπόλοιπους ζωικούς οργανισμούς των θαλάσσιων οικοσυστημάτων.

1.3 Μελέτη της αναπαραγωγής

Η έναρξη και διάρκεια της αναπαραγωγής των παραπάνω ειδών διαδραματίζει πρωταρχικό ρόλο στη διαχείρισή τους, ιδίως όταν υπάρχουν χρονικοί περιορισμοί θα ήταν καταστροφικό ένα θαλάσσιο ζωικό είδος να αλιεύεται πριν ή κατά τη διάρκεια της περιόδου κατά την οποία αναπαράγεται καθώς δεν θα μπορούσε να δημιουργήσει απογόνους, με αποτέλεσμα τη μελλοντική εξάλειψή του. Συνεπώς η γνώση της χρονικής περιόδου αναπαραγωγής των θαλάσσιων ζωικών οργανισμών, ιδιαίτερα των αλιεύσιμων, είναι απόλυτα σημαντική.

Για τον προσδιορισμό αυτής της περιόδου οι επιστήμονες χρησιμοποιούν δύο βασικές μεθόδους:

- A) την εκτίμηση του γοναδοσωματικού δείκτη και
- B) την ιστολογική ανάλυση των γονάδων του οργανισμού.

1.3.1 Γοναδοσωματικός Δείκτης (GSI)

Ο γοναδοσωματικός δείκτης (GSI) συσχετίζει το βάρος των γονάδων των ατόμων με το ολικό βάρος του σώματός τους και αποτελεί έναν ευρύτατα διαδεδομένο τρόπο για τον προσδιορισμό της αναπαραγωγικής περιόδου των διαφόρων πληθυσμών (Ourens et al., 2010).

Όταν λοιπόν ο οργανισμός ετοιμάζεται να αναπαραχθεί, οι γαμέτες (ωοκύτταρα και σπερματοκύτταρα) ωριμάζουν, αυξάνοντας σε μέγεθος και βάρος. Αντίστοιχα, αυξάνει και το βάρος των γονάδων, με αποτέλεσμα ο γοναδοσωματικός δείκτης να

παίρνει υψηλότερες τιμές (Johns & Miranda, 1997). Όταν όμως οι γονάδες κατά την αναπαραγωγή περίοδο αδειάζουν και καθώς οι γαμέτες απελευθερώνονται στην υδάτινη στήλη, ο γοναδοσωματικός δείκτης μειώνεται.

Επομένως ο δείκτης αυτός επηρεάζεται από το βάρος ή το μέγεθος των γαμετών και των γονάδων, εμφανίζοντας αυξομειώσεις. Αυτές καταδεικνύουν και την περίοδο αναπαραγωγής του εξεταζόμενου είδους.

Όμως η αύξηση ή η μείωση του GSI πιθανό να μην οφείλεται μόνο στην αναπαραγωγική δραστηριότητα του οργανισμού (Lozano et al., 1995), αλλά και σε παράγοντες όπως τα αποθέματα των γονάδων σε θρεπτικά συστατικά (Martinez – Pitta et al., 2008) ή η ποιότητα και διαθεσιμότητα της τροφής (Pearse & Cameron, 1991, Sanchez – Espana et al., 2004). Άλλες μελέτες (Sellem & Guillou, 2007) δείχνουν ότι ο γοναδοσωματικός δείκτης δεν είναι αξιόπιστος για τη μελέτη της αναπαραγωγής ειδικά των αχινών στους οποίους ανήκει και ο *A. lixula*, κυρίως λόγω του διττού ρόλου των γονάδων των οργανισμών αυτών ως οργάνων αναπαραγωγής, αλλά και ως αποθηκών θρεπτικού υλικού (Gonzalez – Irusta et al., 2009).

1.3.2 Ιστολογική Ανάλυση

Η Ιστολογία είναι επιστημονικός κλάδος της Βιολογίας με αντικείμενο την έρευνα της εσωτερικής μορφολογίας, και μάλιστα της μικροσκοπικής ανατομικής, των φυτικών και ζωικών ιστών. Αποτελεί τη μελέτη της λεπτής υφής των ιστολογικών οργάνων των διαφόρων οργανισμών. Γενικότερα, η Ιστολογία ταυτίζεται με τη Μικροσκοπική Ανατομική.

Για να μπορέσει ένα δείγμα να εξεταστεί μικροσκοπικά χρειάζεται να είναι αρκετά λεπτό και διαυγές και οι δομικές του λεπτομέρειες να παρουσιάζουν αυξημένη αντίθεση. Συνήθως οι ιστοί που θα υποβληθούν σε ιστολογική ανάλυση προέρχονται

από δείγματα με αρκετά μεγάλη και στέρεα εσωτερική δομή. Στην περίπτωση αυτή πραγματοποιείται η όσο γίνεται λεπτότερη τομή του ιστού και η διαφορετική χρώση του ώστε να γίνουν ορατά τα διαφορετικής χημικής υφής συστατικά του (Kiernan, 2005).

Επιπλέον, η Ιστολογία έδωσε στους επιστήμονες τη δυνατότητα να παρατηρήσουν τις γονάδες των μελετώμενων οργανισμών από το εσωτερικό. Με τον τρόπο αυτό γίνεται δυνατός ο προσδιορισμός των σταδίων ωριμότητας των γονάδων των ατόμων, παρέχοντας πληροφορίες για τον αναπαραγωγικό κύκλο των οργανισμών.

Η Ιστολογία ως Μικροσκοπική Ανατομική επιτρέπει επίσης την ταυτοποίηση του φύλου οργανισμών που δεν εμφανίζουν σαφή εξωτερικό διμορφισμό – όπως οι αχινοί – μέσα από την παρατήρηση της μορφολογίας των κυττάρων στα αναπαραγωγικά όργανα των ατόμων που εξετάζονται.

Προκύπτει λοιπόν ότι η ιστολογική ανάλυση, ειδικά στην περίπτωση των αχινών όπου ανήκει και ο *A. lixula* που θα εξετάσουμε, αποτελεί μία αξιόπιστη μέθοδο για την εκτίμηση του φύλου των ατόμων καθώς και του σταδίου ωριμότητας των γονάδων τους.

1.4 Το είδος *A. lixula* (Linnaeus, 1758)

Οι αχινοί ανήκουν στους ζωικούς βενθικούς ασπόνδυλους οργανισμούς και συγκεκριμένα στο φύλο *Εχινόδερμα*. Τα Εχινόδερμα περιλαμβάνουν περίπου 6.000, αποκλειστικά θαλάσσια, είδη. Στο φύλο Εχινόδερμα ανήκουν τα Αστεροειδή, τα Οφιουροειδή, τα Ολοθουροειδή, τα Κρινοειδή και τα Εχινοειδή (Castro & Huber, 1992).

Στην τελευταία κατηγορία ανήκουν οι αχινοί, μία ομάδα θαλάσσιων ασπόνδυλων με 900 είδη (Castro & Huber, 1992), που απαντάται σχεδόν σε κάθε

θαλάσσιο οικοσύστημα, από τους πόλους προς τον ισημερινό και από την υποπαραλιακή ζώνη μέχρι βάθος που ξεπερνά τα 5.000 μέτρα. Οι αχινοί διακρίνονται από ένα ευρύ φάσμα θαλάσσιων ενδιαιτημάτων (Keesing & Hall, 1998: Lawrence, 2001). Αποτελούν τον κύριο παράγοντα ελέγχου της δυναμικής, της δομής και της σύνθεσης των μακρόφυτων εξ' αιτίας της βόσκησης σε αυτά (Palacín et al., 1998a: Sala et al., 1998a: Guidetti & Mori, 2005). Οι αχινοί επιπλέον αποτελούν ένα από τα συνηθέστερα θύματα εκμετάλλευσης από τον ανθρώπινο παράγοντα: 700 τόνοι αχινών αλιεύονται στις ελληνικές θάλασσες ανά χρόνο με σκοπό την κατανάλωσή τους από τον άνθρωπο (Papathanassiou & Zenetos, 2005).

Στη Μεσόγειο θάλασσα συναντούμε 15 είδη αχινών, που αντιπροσωπεύονται από 21 διαφορετικά είδη (Heinke & Schultz, 2006). Από αυτά δύο είναι τα συνηθέστερα, ο αχινός *A. lixula* (Linnaeus, 1758), μαύρου χρώματος (εικόνα 1.1) και ο *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), λίγο μεγαλύτερος, συνήθως χρώματος καφέ ή μωβ (εικόνα 1.2). Η συγκεκριμένη μελέτη εστιάστηκε στο είδος *A. lixula*.



Εικόνα 1.1. Το είδος *A. lixula* (Linnaeus, 1758) (Πηγή: www.obs-banyuls.fr).



Εικόνα 1.2. Το είδος *P. lividus* (Lamarck, 1816) (Πηγή: www.marlin.ac.uk).

Στο γένος *Arbacia* (Gray, 1835) ανήκουν συνολικά 11 διαφορετικά είδη.

- 1) *Arbacia crassispina* (Mortensen, 1910) - Tristan de Cunha (Νότιος Ατλαντικός),
- 2) *Arbacia dufresnii* (Blainville, 1825) - Νότια Αμερική - Νήσοι Φώκλαντ - υπο-περιοχή της Ανταρκτικής,
- 3) *Arbacia elegans* (Mortensen, 1910) - Δυτική Αφρική,
- 4) *Arbacia improcera* (Conrad, 1843) - Ανατολικά των ΗΠΑ,
- 5) *Arbacia punctulata* (Lamarck, 1816) - Ανατολικές ακτές ΗΠΑ - Καραϊβική,
- 6) *Arbacia rivula* (Cooke, 1941) - Ανατολικές ακτές ΗΠΑ,
- 7) *Arbacia sloani* (Clark, 1915) - Ανατολικές ακτές ΗΠΑ,
- 8) *Arbacia spatuligera* (Valenciennes, 1846) - Δυτικές ακτές της Νότιας Αμερικής,
- 9) *Arbacia stellata* (Blainville, 1825) ή *Arbacia incisa* (Agassiz, 1863), Δυτικές ακτές της Κεντρικής Αμερικής - Νησιά Γκαλαπάγκος,
- 10) *Arbacia waccamaw* (Cooke, 1941) - Ανατολικές ακτές ΗΠΑ και
- 11) *Arbacia lixula* (Linnaeus, 1758) ή *Arbacia aequituberculata* (Blainville, 1825) - Μεσόγειος Θάλασσα - Ανατολικός Ατλαντικός - ακτές Βραζιλίας (EOL, 15 ITIS,

Natural History Museum, WoRMS), αλλά στη Μεσόγειο θάλασσα και στο Αιγαίο Πέλαγος συναντάται μόνο το είδος *A. lixula*.

Το είδος *A. lixula* είναι γνωστό στον ελλαδικό χώρο ως «μαύρος αχινός» ή «αχινός εβραίος». Στη συνέχεια παρατίθεται η συστηματική κατάταξη του είδους (Πίνακας 1.1).

Πίνακας 1.1. Συστηματική κατάταξη του είδους *A. lixula*.

Βασίλειο	Animalia	Linnaeus, 1758	
Υποβασίλειο	Eumetazoa	Butschli, 1910	
Βαθμίδα	Bilateria	Hatschek, 1888	
Υποδιαίρεση	Deuterostomia		
Φύλο	Echinodermata	Klein, 1734	Εχινόδερμα
Υποφύλο	Eleutherozoa		
Κλάση	Echinoidea	Leske, 1778	Εχινοειδή
Υπόκλαση	Euechonoidea	Bronn, 1860	
Σειρά	Stirodonta	Jackson, 1912	
Τάξη	Arbacioida	Gregory, 1900	
Οικογένεια	Arbaciidae	Gray, 1855	
Γένος	<i>Arbacia</i>	Gray, 1835	
Είδος	<i>Arbacia lixula</i>	Linnaeus, 1758	

Αν και έχουν γίνει πολλές μελέτες πάνω στους ζωικούς βενθικούς οργανισμούς στη Νότια Ευρώπη, λίγα πράγματα γνωρίζουμε για την Ανατολική Μεσόγειο θάλασσα παρά το γεγονός ότι χαρακτηρίζεται από βενθικό πλούτο (Koukouras et al., 2010).

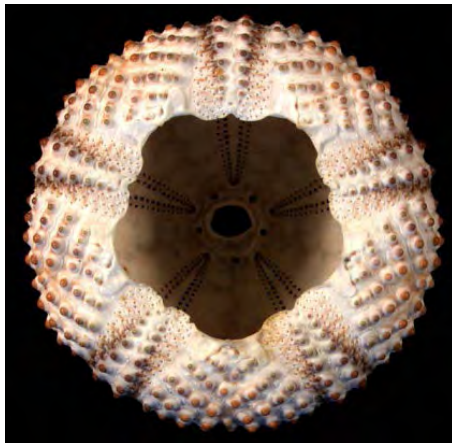
Υπάρχουν αρκετές βιβλιογραφικές αναφορές στο είδος *A. lixula*, αφορούν όμως τα ΒΔ και τα Βόρεια παράλια της κεντρικής Μεσογείου, την Αδριατική και τις βορειοανατολικές ακτές του Ατλαντικού (Pedrotti & Fenaux, 1993, Guidetti & Mori, 2005). Περισσότερες μάλλον είναι οι αναφορές στο άλλο συνηθισμένο είδος αχινού στις ελληνικές θάλασσες, τον *P. lividus* (Lamarck, 1816) (Gago et al., 2003: Gianguzza et al., 2006: Allain, 1975: Pais et al., 2007: Sala et al., 1996). Πολλές είναι επίσης οι

έρευνες στις οποίες γίνεται παράλληλη μελέτη των ειδών *P. lividus* και *A. lixula* (Bulleri et al., 1999: Guidetti, 2004: Guidetti & Mori, 2005: Maggiore et al., 1987: Kempf, 1962).

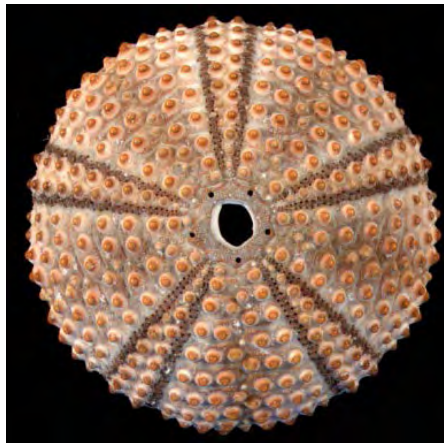
Στον ελλαδικό χώρο έχουν πραγματοποιηθεί δυο μελέτες για το είδος *A. lixula*, μία για τις τροφικές προτιμήσεις του είδους (Τσιάγκα, 1997) και μια για την πληθυσμιακή δυναμική του είδους (Τζιατζίου, 2010).

1.4.1 Βιολογία του *A. lixula*

Μορφολογία: Ο *A. lixula* εμφανίζει ένα στέρεο ημισφαιρικό σχήμα σώματος με κοντά και χονδρά αγκάθια, το μήκος των οποίων δεν ξεπερνά τη διάμετρο του σώματός του (Heinke & Schultz, 2006). Η μέγιστη οριζόντια διάμετρός του – χωρίς τα αγκάθια – αγγίζει τα 80mm. Η στοματική του πλευρά είναι πεπλατυσμένη (Εικόνα 1.3).



Εικόνα 1.3. Περιστοματική πλευρά.

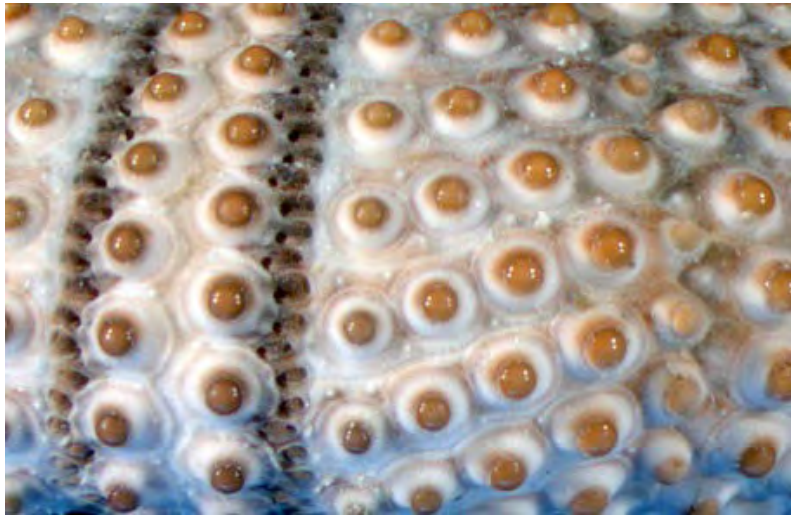


Εικόνα 1.4. Γυμνός σκελετός.

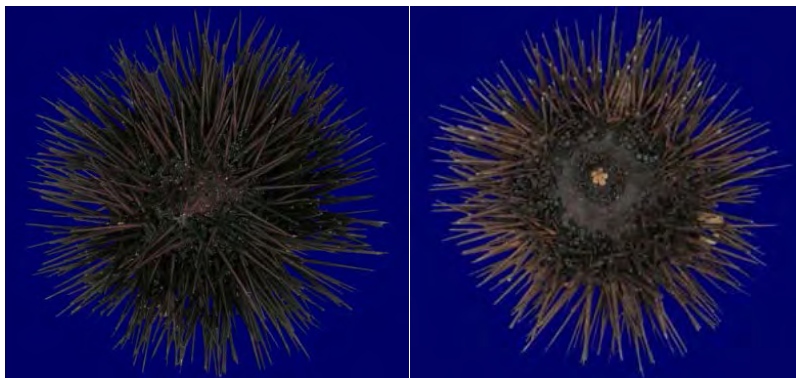
Το εξωτερικό χρώμα του *A. lixula* είναι μαύρο. Ο γυμνός του σκελετός (Εικόνα 1.4) φέρει κόκκινο – καφέ ή κόκκινο – πορτοκαλί χρώμα έως ανοιχτό ροζ, με πιο σκούρες τις ζώνες των πόρων και τις κορυφές των φυματίων (Heinke & Schultz, 2006: Guidetti & Mori, 2005).

Ο σκελετός του σχηματίζεται στο μεσόδερμα και αποτελείται από ενωμένα πλακίδια, η σύσταση των οποίων είναι ασβεστολιθική. Το κέλυφός του επίσης

διαίρειται σε δέκα ακτινωτές ομάδες πλακών (2 σειρές πλακιδίων η κάθε μία ομάδα), πέντε βαδιστικές και πέντε μεσοβαδιστικές. Οι βαδιστικές πλάκες είναι διάτρητες, ονομάζονται υδροφορικά πεδία και φέρουν τρία ζευγάρια πόρων (Heinke & Schultz, 2006) (Εικόνα 1.5).



Εικόνα 1.5. Η διάτρητη βαδιστική ζώνη του *A. lixula*.



Εικόνα 1.6. Εδρική περιοχή και περιστοματική μεμβράνη (πηγή: www.echinoids.nl).

Στο τέλος των βαδιστικών ζωνών αρθρώνονται πολυάριθμα δυνατά πόδια. Κάθε πόδι καταλήγει σε έναν πλατύ δίσκο – βεντούζα, με τον οποίο ο αχινός προσκολλάται στο υπόστρωμα. Με αυτά τα πόδια – αγκάθια ο *A. lixula* έχει τη δυνατότητα να προσκολλάται στα βράχια, αλλά και να είναι ανθεκτικός στις επιθέσεις των θηρευτών του.

Στην κορυφή της καμπυλωτής επιφάνειας του αχινού βρίσκεται η έδρα (Εικόνα 1.6), η οποία αποτελείται από την περιεδρική μεμβράνη που περιβάλλεται από 4 ή 5 μεγάλες υποτριγωνικές πλάκες. Αυτές ονομάζονται περιεδρικές ή γεννητικές πλάκες. Κάθε μία από αυτές φέρει μία οπή, το γεννητικό πόρο ή γονοπόρο. Μεταξύ αυτών και περιμετρικά τους είναι τοποθετημένες οι μεσογεννητικές πλάκες, μικρές υποτριγωνικές πλάκες.

Το μόνο μαλακό σημείο στην εξωτερική επιφάνεια του αχινού είναι ένας μυώδης ιστός, η περιστοματική μεμβράνη (Εικόνα 1.6) η οποία είναι γυμνή. Αυτή βοηθά τη λειτουργία της μασητικής συσκευής του αχινού, γνωστής ως “Λύχνου του Αριστοτέλη” (Εικόνα 1.7). Πρόκειται για ένα πολύπλοκο σύστημα σιαγόνων με ισάριθμα ασβεστολιθικά δόντια και μυών που χρησιμοποιεί ο *A. lixula* για να αποσπάσει την τροφή του από τον βυθό.



Εικόνα 1.7. “Λύχνος του Αριστοτέλη”
(πηγή: http://www.chalk.discoveringfossils.co.uk/CIDAROID_terminology.htm).

Διατροφή και πέψη: Σύμφωνα με αρκετές μελέτες τόσο ο *A. lixula* όσο και ο *P. lividus* αποτελούν τους δύο βασικούς φυτοφάγους οργανισμούς στα υποπαλιρροϊκά θαλάσσια περιβάλλοντα της Μεσογείου (Bulleri et al., 2002). Και τα δύο είδη

εμφανίζονται σε περιοχές όπου κυριαρχούν κοράλλια και μακροφύκη· η διατροφική τους δραστηριότητα μάλιστα μπορεί να αφανίσει ολόκληρες συστάδες μακροφυκών (Bulleri et al., 2002).

Ο *A. lixula* – όπως και οι περισσότεροι αχινοί – τρέφεται κυρίως από προσκολλημένο ή ελεύθερο φυτικό υλικό συγκεντρωμένο σε κοινότητες με στρώμα μακροφυκών (Kempf, 1962; Regis, 1978; Boudouresque & Verlaque, 2001). Οι επιστήμονες κατέληξαν σ' αυτό το συμπέρασμα από την παρουσία του αχινού σε περιβάλλοντα που καλύπτονται σχεδόν αποκλειστικά από μακροφύκη, αλλά και από την ανάλυση του εντέρου του *A. lixula*. Συγκεκριμένα σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στις ΝΑ ακτές της Βραζιλίας βρέθηκε ότι το 29% του εντερικού περιεχομένου του *A. lixula* ήταν φυτικής προέλευσης (Carbal de Oliveira, 1991). Πρόκειται για ένα μικρό ποσοστό γιατί στο ίδιο έντερο το 71% ανήκε σε ζωικά τμήματα, ιδιαίτερα στρείδια *Cthmamalus sp.* Τα ευρήματα αυτά ενισχύουν την άποψη ότι ο *A. lixula* – όπως και οι περισσότεροι αχινοί – τρέφονται με ελεύθερα κρουστώδη ζώα όπως σπόγγους και βρυόζωα καθώς και με νεκρά οργανικά υλικά (Castro & Huber, 1992). Σε άλλη έρευνα, στο στοματικό περιεχόμενο του *A. lixula* βρέθηκε σεβαστό ποσοστό υδρόζωων, καθώς και μικρών γαστερόποδων (*Bittium spp.*).

Διαπιστώνεται λοιπόν ότι ο *A. lixula* είναι ένας κατά κύριο λόγο φυτοφάγος οργανισμός των βενθικών κοινοτήτων, εμφανίζει όμως και ζωικές διατροφικές επιλογές. Κατά τους Wangensteen et al. (1994), αποτελεί έναν παμφάγο οργανισμό με ροπή προς τη σαρκοφαγία.

Το πεπτικό σύστημα του *A. lixula* είναι ένας μακρύς και περιελιγμένος πεπτικός σωλήνας που μπορεί να χωριστεί σε τρία επιμέρους τμήματα:

α)το πρώτο περιλαμβάνει τον φάρυγγα και τον οισοφάγο και εξέρχεται από το κέντρο του λύχνου,

β)το δεύτερο είναι το στομάχι, όπου παράγονται τα πεπτικά ένζυμα και διασπώνται οι τροφές και

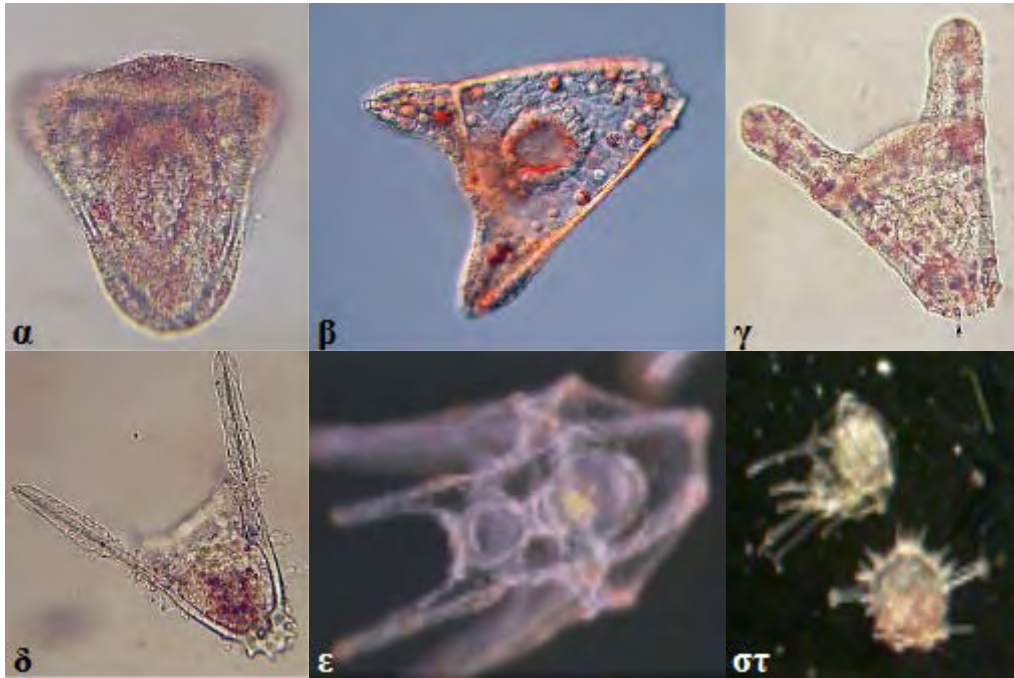
γ)το τρίτο τμήμα περιλαμβάνει ένα μικρό μέρος του στομάχου και το έντερο, το οποίο είναι στενότερο από το στομάχι και οδηγεί στην έδρα. Στο έντερο πραγματοποιείται ουσιαστικά η απορρόφηση των αναγκαίων θρεπτικών συστατικών των τροφών (Jangoux, 1982).

Στον *A. lixula*, όπως και σε όλα τα εχινόδερμα, τα θρεπτικά συστατικά μεταφέρονται με το υγρό που γεμίζει την αρκετά διευρυμένη σωματική κοιλότητα. Το υγρό αυτό ονομάζεται κοιλωματικό υγρό, αφού η σωματική κοιλότητα των εχινόδερμων είναι το κοίλωμα (Castro & Huber, 1992).

Αναπαραγωγή: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *A. lixula* αποτελείται ουσιαστικά από 5 γονάδες διατεταγμένες συμμετρικά στην κοιλιακή κοιλότητα, κάθε μία από τις οποίες συνδέεται με έναν αγωγό. Οι αγωγοί αυτοί εκτείνονται μέχρι την έδρα του κελύφους και από εκεί, μέσα από ειδικές οπές, τους γονοπόρους, διοχετεύουν τους ώριμους γαμέτες στο περιβάλλον (Brusca & Brusca, 2003).

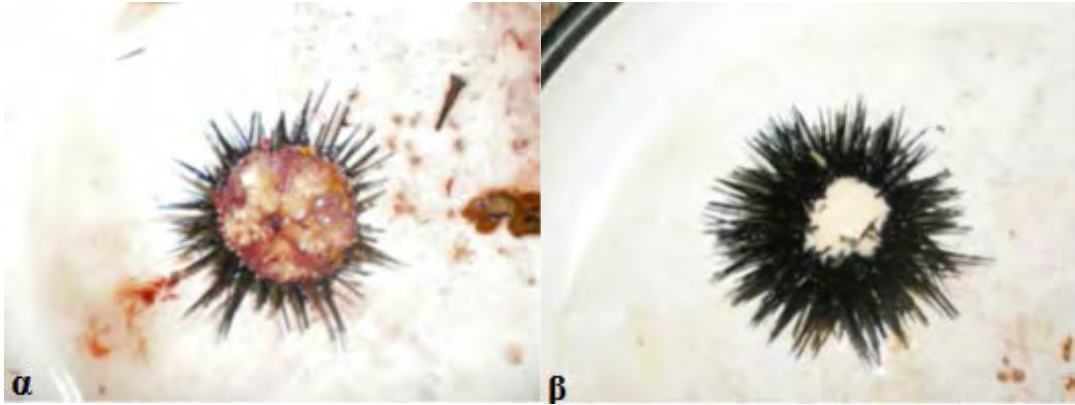
Γενικά, η γονιμοποίηση των αυγών συντελείται στην υδάτινη στήλη και οι λάρβες που προκύπτουν είναι πλαγκτονικοί οργανισμοί που δεν μοιάζουν καθόλου με τα ενήλικα άτομα. Το προνυμφικό στάδιο διαρκεί μόλις λίγες εβδομάδες κατά τις οποίες οι προνύμφες αναπτύσσουν άκρα (Εικόνα 1.8). Στο τέλος αυτής της περιόδου, η προνύμφη αναζητά σκληρό υπόστρωμα όπου προσκολλάται και έτσι πραγματοποιείται η μεταμόρφωση. Η προνύμφη αλλάζει μορφή και παίρνει το σχήμα του ενηλικίου ατόμου, αλλά σε μικρογραφία του, αφού δεν έχουν ακόμη δημιουργηθεί η έδρα και το

στόμα. Με την πάροδο του χρόνου, το νεαρό άτομο αναπτύσσει ένα πλήρες πεπτικό σύστημα που του επιτρέπει να ξεκινήσει την εξωγενή διατροφή.

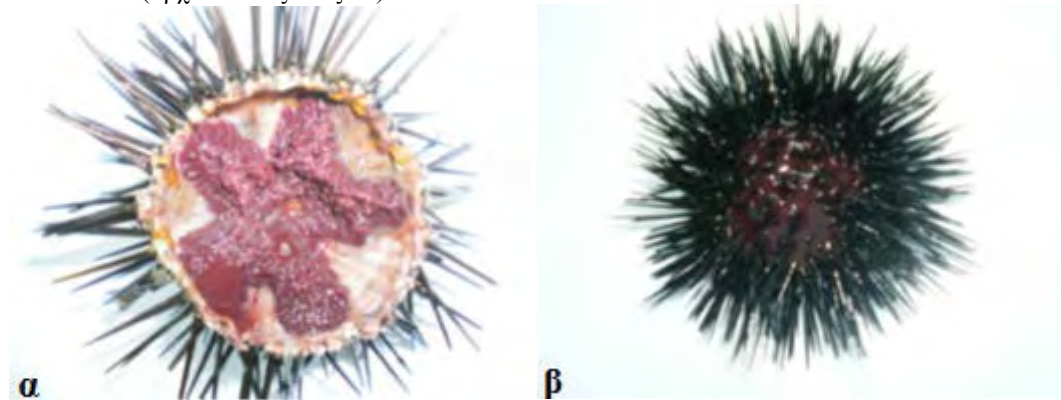


Εικόνα 1.8. (α), (β), (γ), (δ) Διάφορα στάδια εξέλιξης των προνυμφών του *A. lixula*, (ε) Λαρβικό στάδιο, στο οποίο ξεκινάει η προνύμφη τρέφεται με άλγη, (στ) Λίγο πριν και αμέσως μετά τη μεταμόρφωση προνυμφών *A. lixula* (πηγή: <http://stanford.edu/group/Urchin/egypt/index.html> & <http://www.usp.br/cbm/index.php>).

Όσον αφορά στα φύλα των ατόμων του *A. lixula*, δεν είναι δυνατόν αυτά να διαχωριστούν εξωτερικά. Το βασικό χαρακτηριστικό που διαχωρίζει τα δύο φύλα είναι το χρώμα των γονάδων και το χρώμα του γεννητικού εκκρίματος. Στα αρσενικά άτομα οι γονάδες παρουσιάζουν ένα λευκό χρώμα και άσπρο γεννητικό έκκριμα (Εικόνα 1.9), ενώ στα θηλυκά οι γονάδες έχουν μελιτζανί-μπορντό χρώμα με παρόμοιο γεννητικό έκκριμα (Εικόνα 1.10).



Εικόνα 1.9. (α) Γονάδες αρσενικού ατόμου *A. lixula*, (β) γεννητικό έκκριμα αρσενικού ατόμου (αρχείο Λ. Τζιάντζιου).



Εικόνα 1.10. (α) Γονάδες θηλυκού ατόμου *A. lixula*, (β) γεννητικό έκκριμα θηλυκού ατόμου (αρχείο Λ. Τζιάντζιου).

Γεωγραφική εξάπλωση: Ο *A. lixula*, αν και συνήθως θεωρείται ένας τυπικός ζωικός οργανισμός της Μεσογείου, συναντάται όμως συχνότατα και σε τροπικά περιβάλλοντα (Tortonese, 1965). Αυτό πιθανότατα συνέβη λόγω της εξάπλωσής του στη Μεσόγειο κατά την περίοδο του ανώτερου Πλειστόκαινου (Wangenstein et al., 1993). Έτσι ο *A. lixula* απαντάται στα νησιά Αζόρες (Hanson, 1998), στις βόρειες ακτές της Αφρικής (Hayward & Ryland, 1990), στο Πράσινο Ακρωτήριο (Koehler, 1921), καθώς και στις ακτές της Βραζιλίας όπου σύμφωνα με έρευνες αποτελεί ένα από τα τρία πιο κοινά είδη αχινού (Carbal de Oliveira, 1991).

Ο *A. lixula* απαντάται σε ολόκληρη τη Μεσόγειο Θάλασσα, όπου η πυκνότητα του πληθυσμού του μπορεί να υπερβεί τα δέκα άτομα ανά τετραγωνικό μέτρο (Guidetti et al., 2003).

Υπάρχουν αναφορές για αυτόν στην Ιταλία (Αδριατική, Σαρδηνία, κ.α.) (Gianguzza et al., 2006) και στις γαλλικές ακτές (Νίκαια, Μασσαλία) (Koehler, 1921). Κατά τις τελευταίες δεκαετίες, μάλιστα έχει παρατηρηθεί αύξηση στην πυκνότητα του είδους στη ΒΔ Μεσόγειο, λόγω της αύξησης της θερμοκρασίας των νερών της Μεσογείου (Francour et al., 1994).

2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1 Περιοχή Μελέτης

Ως πεδίο μελέτης του *A. lixula* επιλέχθηκε ο Παγασητικός Κόλπος. Πρόκειται για μία κλειστή και σχετικά αβαθή θάλασσα που σχηματίζεται ανάμεσα στην κύρια ελληνική χερσόνησο και την χερσόνησο του Πηλίου. Ο κόλπος έχει έκταση περίπου 520 km² και μέγιστο βάθος 108 μέτρα, στο ανατολικό του μέρος (Petihakis et al., 2005).

Το οικοσύστημα του Κόλπου επηρεάζεται σημαντικά από τις ανθρωπογενείς δραστηριότητες κυρίως γύρω από τη βιομηχανική περιοχή του Βόλου. Πέρα από αυτή την παράμετρο, ο Παγασητικός ήταν και είναι ο κύριος αποδέκτης αστικών και γεωργικών λυμάτων. Βέβαια η κατάσταση βελτιώθηκε αρχικά με την εφαρμογή το 1987 του βιολογικού καθαρισμού της πόλης του Βόλου και δευτερευόντως με την κατασκευή μίας σήραγγας παροχέτευσης νερών από τη λίμνη Κάρλα στον Παγασητικό, με αποτέλεσμα την εισροή σημαντικών ποσοτήτων νερού, πλούσιων σε θρεπτικά συστατικά (Theodorou & Petihakis, 2000).

2.2 Σταθμοί δειγματοληψίας

Η επιλογή των σταθμών δειγματοληψίας στηρίχθηκε σε προηγούμενη μελέτη που είχε ως αντικείμενο τη δομή και τη δυναμική των πληθυσμών του Παγασητικού Κόλπου. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε από το Εργαστήριο Βενθικών Ασπόνδυλων του Τμήματος Γεωπονίας – Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος. Επιλέχθηκαν δύο περιοχές δειγματοληψίας κατά μήκος της ακτογραμμής του Παγασητικού Κόλπου, ο Άγιος Στέφανος και η Κάτω Γατζέα, οι οποίες αναφέρονται στη συνέχεια ως σταθμοί Σ1 και Σ2, αντίστοιχα (Εικόνα 2.1).



Εικόνα 2.1. Σταθμοί Δειγματοληψίας (Σ1, Σ2) του αχινού *A. lixula* στον Παγασητικό Κόλπο.

Οι περιοχές αυτές επελέγησαν λόγω εύκολης πρόσβασης, παρουσίας αχινών και ασφάλεια στην κατάδυση, η οποία ήταν αυτόνομη και ελεύθερη. Επίσης ελήφθη υπ' όψιν η κυκλοφορία των ρευμάτων του Παγασητικού Κόλπου, η οποία συμβάλλει στην ανακύκλωση των θρεπτικών συστατικών και την παραγωγικότητα του Κόλπου (Petihakis et al., 2005).

2.3 Δειγματοληψίες

Πραγματοποιήθηκαν 12 μηνιαίες δειγματοληψίες, από τον Δεκέμβριο του 2008 έως το Νοέμβριο του 2009. Όλες οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν με αυτόνομη κατάδυση (scuba diving) και χαρακτηρίστηκαν από: α) μέτρηση της παραμέτρου της θερμοκρασίας και β) συλλογή 40 ατόμων από τον πληθυσμό για την μέτρηση των μορφομετρικών χαρακτηριστικών και την ταυτοποίηση του φύλου.

2.4 Μορφομετρικές μετρήσεις

Από τις δειγματοληψίες και στους δύο σταθμούς συλλέχθηκαν 40 άτομα. Στη συνέχεια μεταφέρθηκαν μέσα σε κλειστό δοχείο σταθερού όγκου 35lt, γεμάτο με

θαλασσινό νερό, και ακολούθησε η μέτρηση και καταγραφή των παρακάτω μορφομετρικών χαρακτήρων:

- Το ολικό νωπό βάρος (W_t) του κάθε ατόμου, το οποίο περιγράφει το βάρος του μόλις βγαίνει από το δοχείο μεταφοράς.
- Το νωπό βάρος γονάδων (W_g), το βάρος δηλαδή των 5 γονάδων, αμέσως μετά την αφαίρεσή του από το κέλυφος.

Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιήθηκε την ίδια μέρα, ώστε τα άτομα να διατηρηθούν όσο το δυνατό πιο φρέσκα.

Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας 0,001g (OHAUS Precision TS 400D) και χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του γοναδοσωματικού δείκτη (GSI). Ο GSI υπολογίστηκε ως το ποσοστό συμμετοχής του βάρους των γονάδων στο ολικό βάρος των ατόμων.

$$GSI = \frac{W_g}{W_t} * 100$$

Όπου: W_g = το βάρος των γονάδων

W_t = το ολικό σωματικό βάρος

Ο γοναδοσωματικός δείκτης στη συνέχεια συσχετίστηκε με τη θερμοκρασία της υδάτινης στήλης.

Μετά από τη διαδικασία των μετρήσεων οι γονάδες όλων των ατόμων τοποθετήθηκαν σε αριθμημένα φιαλίδια με μονιμοποιητικό διάλυμα αιθανόλης 70% για να διατηρηθούν μέχρι την ιστολογική τους ανάλυση.

2.5 Ιστολογική ανάλυση

Για την αναγνώριση του φύλου και τον προσδιορισμό του σταδίου ωριμότητας των γονάδων των ατόμων πραγματοποιήθηκε ιστολογική ανάλυση με τη μη προοδευτική χρώση Αιματοξυλίνης – Ηωσίνης. Η συγκεκριμένη τεχνική χωρίζεται σε τρία στάδια: τον εγκλεισμό του ιστού, την τομή του δείγματος και τη χρώση.

2.5.1 Εγκλεισμός σε παραφίνη

Για να γίνει εφικτή η τομή και χρώση του ιστού πρέπει το παρασκεύασμα να διαποτιστεί και να κλειστεί μέσα σε ένα αδρανές και στερεό, σε θερμοκρασία δωματίου, υλικό. Το συνηθέστερο μέσο εγκλεισμού είναι η παραφίνη γιατί είναι εύχρηστη και φθηνή. Το σημείο τήξης της ποικίλλει από 40-70°C. Ο τύπος της παραφίνης που θα χρησιμοποιηθεί καθώς και το σημείο τήξης της έχουν ιδιαίτερη σημασία για την κοπή των δειγμάτων· επιπλέον εξαρτώνται από το κλίμα της περιοχής όπου πραγματοποιείται η ιστολογική ανάλυση. Στην Ελλάδα συνήθως χρησιμοποιείται παραφίνη με σημείο τήξης μεταξύ των 53-57 °C (Λόλας, 2008).

Για να επιτευχθεί η παραφίνωση του ιστού χρειάζεται προηγουμένως ο ιστός να έχει αφυδατωθεί. Αυτό συνήθως επιτυγχάνεται με την εμβάπτιση των δειγμάτων σε αιθανόλη. Επειδή όμως η αιθανόλη δεν αναμειγνύεται με την παραφίνη, αντικαθίσταται από ένα άλλο υγρό που μπορεί να αναμειχθεί τόσο με την αιθανόλη, όσο και με την παραφίνη. Τέτοιου είδους υγρά είναι η ξυλόλη και η φορμόλη. Ακολουθεί η παραφίνωση του ιστού. Ο ιστός εμβαπτίζεται σε υγρή παραφίνη η οποία προσδίδει στον ιστό την σταθερότητα που χρειάζεται ώστε να γίνει η κοπή του στη μικροτόμο.

Ο εγκλεισμός του ιστού σε παραφίνη πραγματοποιήθηκε για τμήμα 1 cm δείγματος σε ιστοκινέτα. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο TP 1020 της εταιρίας LEICA (Εικόνα 2.2). Για την αφυδάτωση του ιστού τα δείγματα

εμβαπτίστηκαν σε διαδοχικά αυξανόμενες συγκεντρώσεις αιθυλικής αλκοόλης. Και το μέσο που χρησιμοποιήθηκε για την αντικατάσταση της ήταν η ξυλόλη.



Εικόνα 2.2. Η ιστοκινέτα που χρησιμοποιήθηκε για τον εγκλεισμό των ιστών σε παραφίνη.

2.5.2 Τομή δειγμάτων

Για να μπορέσει ένα δείγμα να εξεταστεί μακροσκοπικά, χρειάζεται να είναι αρκετά λεπτό και διαυγές και οι δομικές του λεπτομέρειες να παρουσιάζουν αυξημένη αντίθεση.

Η κοπή των δειγμάτων έγινε σε μικροτόμο (Εικόνα 2.3), με πάχος τομής 8μm.



Εικόνα 2.3. Η μικροτόμος που χρησιμοποιήθηκε για την τομή των δειγμάτων.

2.5.3 Χρώση

Η χρώση Αιματοξυλίνης – Ηωσίνης είναι ίσως η πιο διαδεδομένη χρώση στις ιστολογικές αναλύσεις γιατί μπορεί να περιγράψει με μεγάλη ακρίβεια πολλές διαφορετικές δομές των ιστών.

Η Αιματοξυλίνη προκύπτει από το δέντρο *Haematoxylon campechianum* που ευδοκίμει στην Κεντρική Αμερική. Με Αιματοξυλίνη βάφεται κυρίως ο πυρήνας των κυττάρων (μπλε), είναι δηλαδή βασεόφιλη, ενώ η ηωσίνη είναι οξύφιλη και αναδεικνύει το κυτταρόπλασμα των κυττάρων, βάφοντάς το ροζ. Βέβαια στην έρευνα σήμερα χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο συνθετικές ποσότητες αιματοξυλίνης.

Υπάρχουν δύο βασικές μέθοδοι χρώσης, η προοδευτική (*progressive*) και η μη προοδευτική (*regressive*). Στην προοδευτική χρώση, η χρωστική αφήνεται να δράσει σταδιακά ώσπου να παρατηρηθεί το επιθυμητό αποτέλεσμα. Στη μη προοδευτική το δείγμα αφήνεται για αρκετή ώρα μέσα στο διάλυμα της χρωστικής και έπειτα

εμβαπτίζεται σε διάλυμα νερού ή αλκοόλης για να αφαιρεθεί σταδιακά μέρος της χρωστικής μέχρι το επιθυμητό αποτέλεσμα (Kiernan, 2005).

Στην ιστολογική ανάλυση του *A. lixula* εφαρμόσαμε τη μη προοδευτική χρώση Αιματοξυλίνης – Ηωσίνης καθώς αυτή έχει με επιτυχία χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν (Ioannidi et al., 2011).

2.6 Παρατήρηση και καταγραφή

Η παρατήρηση των τομών πραγματοποιήθηκε σε μικροσκόπιο με ενσωματωμένη ψηφιακή φωτογραφική μηχανή (Progress Plus 2.1) και η λήψη των φωτογραφιών σε ηλεκτρονικό υπολογιστή συνδεδεμένο με το μικροσκόπιο, χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Progress Capture 2.1 (Εικόνα 2.4).



Εικόνα 2.4. Το μικροσκόπιο και ο υπολογιστής που χρησιμοποιήθηκαν για την παρατήρηση και καταγραφή των τομών.

Η αναγνώριση του φύλου και η ταυτοποίηση του σταδίου ωριμότητας των γονάδων του κάθε ατόμου, λόγω έλλειψης πληροφορίας, στηρίχθηκε σε αντίστοιχες μελέτες συγγενικών ειδών (Ιωαννίδη, 2011; Σταμούλη, 2012).

2.7 Στατιστική επεξεργασία

Για τη σύγκριση στο χρόνο των βιομετρικών παραμέτρων (ολικό νωπό βάρος σώματος και νωπό βάρος γονάδων) εφαρμόστηκε η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one - way ANOVA), ενώ για τον έλεγχο της πιθανής διαφοροποίησης των όλων μορφομετρικών χαρακτηριστικών ως προς το φύλο αλλά και ως προς τις 2 περιοχές εφαρμόστηκε το κριτήριο t (t-test) (Zar, 1984). Η πιθανή απόκλιση της αναλογίας φύλου από τη σχέση 1:1 ελέγχθηκε με το κριτήριο χ^2 (Zar, 1996).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία της θάλασσας φαίνεται να επηρεάζει σοβαρά τον αναπαραγωγικό κύκλο του *A. lixula* σύμφωνα με προγενέστερες μελέτες που αφορούν άλλες περιοχές (Cohen et al., 2010), αλλά και άλλα θαλάσσια είδη της Μεσογείου (Lejeusne et al., 2010). Αποτελεί λοιπόν, η θερμοκρασία μία σημαντική παράμετρο που πρέπει να μελετήσουμε σε σχέση με τον *A. lixula* στον Παγασητικό Κόλπο.

Από τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στους 2 σταθμούς δειγματοληψίας προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα:

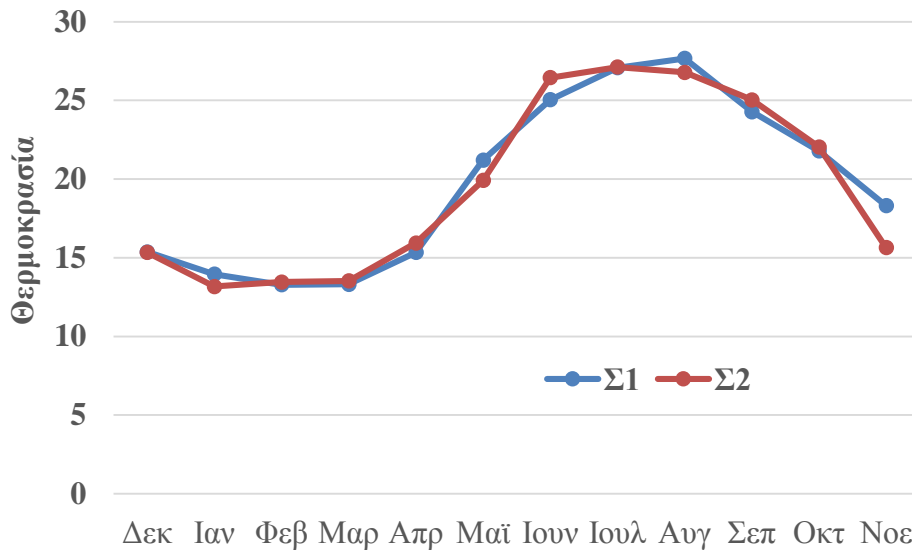
Στον σταθμό του Αγ. Στεφάνου (Σ1) η ελάχιστη θερμοκρασία (13,31°C) καταγράφηκε κατά το μήνα Μάρτιο του 2009, ενώ η μέγιστη (27,21 °C) τον Αύγουστο του 2009. Η μέση τιμή της θερμοκρασίας και για τους 12 μήνες των δειγματοληψιών ήταν 19,79 °C.

Στον σταθμό της Κάτω Γατζέας (Σ2) η θερμοκρασία εμφάνισε την χαμηλότερη τιμή (13,52 °C) κατά το μήνα Μάρτιο του 2009, ενώ τη μέγιστη τιμή (27,18 °C) κατά τον Αύγουστο του 2009. Η μέση τιμή της θερμοκρασίας και για τους 12 μήνες ήταν 19,67 °C.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων της θερμοκρασίας για κάθε ένα από τους σταθμούς δειγματοληψίας Σ1 και Σ2 φαίνονται στον Πίνακα 3.1, ενώ η μεταβολή των τιμών της απεικονίζεται στο Σχήμα 3.1.

Πίνακας 3.1. Αποτελέσματα των μετρήσεων της θερμοκρασίας στους σταθμούς Σ1 & Σ2.

Σταθμός	Άγιος Στέφανος (Σ1)	Κάτω Γατζέα (Σ2)
Ελάχιστη τιμή	13,31 °C	13,52 °C
Μέγιστη τιμή	27,21 °C	27,18 °C
Μέση τιμή	19,79 °C	19,67 °C
Τυπική απόκλιση ±	5,30	5,17



Σχήμα 3.1. Μηνιαία κατανομή των τιμών της θερμοκρασίας στους σταθμούς Σ1 και Σ2.

3.2 Αναλογία φύλων

Κατά τη διάρκεια της μελέτης αυτής εξετάστηκαν 960 άτομα (480 άτομα από κάθε σταθμό, εκ των οποίων τα 461 ήταν αρσενικά και τα 499 θηλυκά. Αναλυτικά ο αριθμός των ατόμων αχινού ανά σταθμό και φύλο φαίνεται στον πίνακα 3.2.

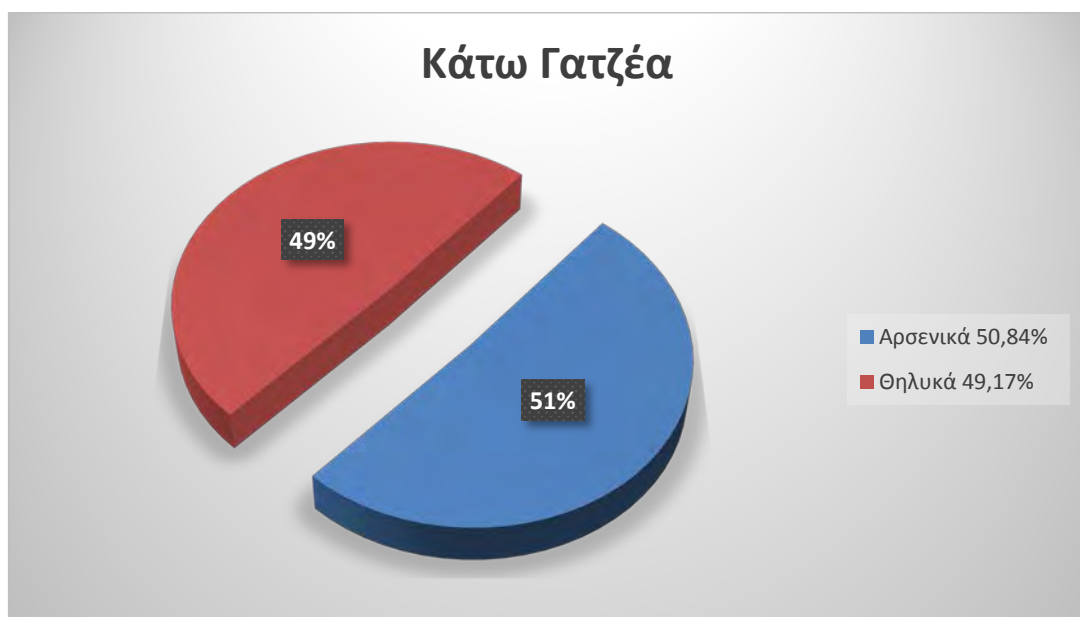
Πίνακας 3.2. Αναλογία φύλων αχινού που εξετάστηκαν στους 2 Σταθμούς.

Αριθ. ατόμων	Άγιος Στέφανος (Σ1)	Κάτω Γατζέα (Σ2)	Συνολικά
Αρσενικά	217	244	461
Θηλυκά	263	236	499
Σύνολο	480	480	960
Αρσενικά:Θηλυκά	0,83	1,04	0,92

Στον σταθμό Σ1 τα θηλυκά άτομα βρέθηκαν περισσότερα από τα αρσενικά, ενώ αντίθετα στον σταθμό Σ2, βρέθηκαν οριακά λιγότερα. Παρόλα αυτά, η δοκιμασία του χ^2 έδειξε πως η αναλογία των φύλων δε διαφέρει στατιστικά από την ισορροπία 1:1. Η αφθονία των φύλων για κάθε σταθμό απεικονίζονται στα Σχήματα 3.2 και 3.3.



Σχήμα 3.2. Ποσοστιαία αναλογία αρσενικών και θηλυκών ατόμων στο σταθμό Σ1.



Σχήμα 3.3. Ποσοστιαία αναλογία αρσενικών και θηλυκών ατόμων στο σταθμό Σ2.

3.3 Γοναδοσωματικός δείκτης (GSI)

Όσον αφορά στον γοναδοσωματικό δείκτη (GSI), εμφανίζονται μεγάλες διαφορές ανάμεσα στην ελάχιστη και στη μέγιστη τιμή του από μήνα σε μήνα: Στον σταθμό Σ1 η ελάχιστη τιμή του είναι 0,03 ενώ η μέγιστη 8,56. Αντίστοιχα, στον σταθμό Σ2 ο GSI έχει ελάχιστη τιμή 0,02 και μέγιστη 9,31. Οι διαφορές αυτές από μήνα σε μήνα μπορούν ίσως να αποδοθούν στην προτίμηση του είδους *A. lixula* στις ιδιαιτερότητες των κάθε φορά ενδιαιτημάτων.

Στον Αγ. Στέφανο ο GSI είχε κατά μέσο όρο τιμή $1,86 \pm 1,37$, με την ελάχιστη τιμή του να εμφανίζεται την Άνοιξη και συγκεκριμένα το Μάρτιο (0,03). Η μέγιστή του τιμή (8,56) καταγράφηκε επίσης την Άνοιξη, αλλά τον Απρίλιο. Στον σταθμό της Κ. Γατζέας η μέση τιμή του GSI υπολογίστηκε σε $1,80 \pm 1,53$. η ελάχιστή του τιμή καταγράφηκε τόσο κατά το Καλοκαίρι (Αύγουστο) όσο και κατά το Φθινόπωρο (Σεπτέμβριο). Η μέγιστη τιμή του (9,31) καταγράφηκε τον Ιούλιο του ίδιου έτους.

Ωστόσο η μέση τιμή του GSI και στους δύο σταθμούς κυμαίνεται σε παρόμοια επίπεδα αφού στον σταθμό Σ1 εμφανίζει τιμή $1,86 \pm 1,37$ και στον σταθμό Σ2 $1,80 \pm 1,53$.

Στα σχήματα 3.4 και 3.5 απεικονίζεται η κατανομή των τιμών του GSI τόσο για τα αρσενικά όσο και για τα θηλυκά άτομα, για κάθε σταθμό δειγματοληψίας.

3.4 Ιστολογική ανάλυση

Μετά από παρατήρηση των ιστολογικών παρασκευασμάτων ορίστηκαν 4 στάδια ωριμότητας για τις γονάδες των θηλυκών και 2 για τις γονάδες των αρσενικών ατόμων.

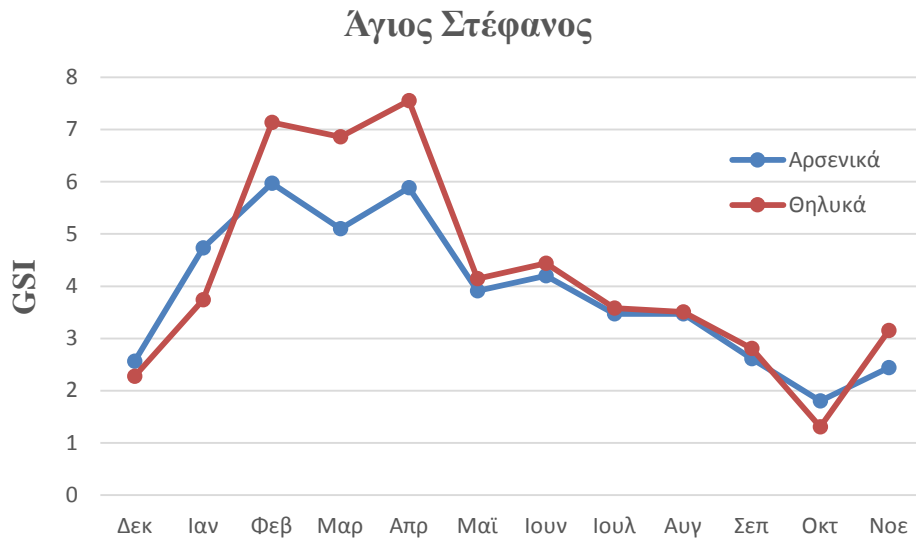
Στάδιο 1: κενές γονάδες (Εικ. 3.1), χρονικά πρόκειται για το στάδιο μετά την αναπαραγωγή. Τα ωοθυλάκια είναι άδεια από ωοκύτταρα, και έχουν αρχίσει να συσσωρεύουν εκ νέου θρεπτικό υλικό για να αρχίσει ένας νέος κύκλος ωογένεσης.

Μπορεί να παρατηρηθούν υπολειμματικά ωοκύτταρα τα οποία δεν απελευθερώθηκαν κατά τη διαδικασία της αναπαραγωγής.

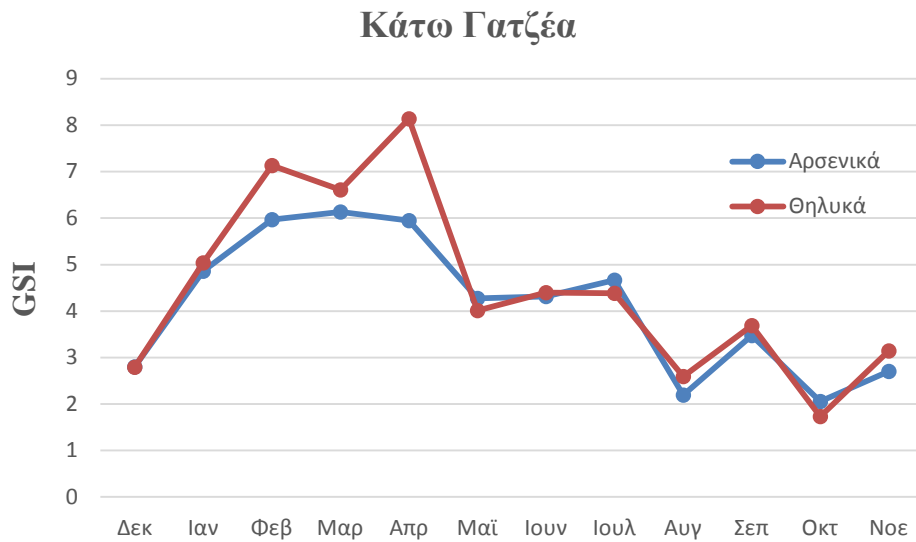
Στάδιο 2: *στάδιο αναδιοργάνωσης* (Εικ. 3.2.), τα ωοθυλάκια έχουν γεμίσει με θρεπτικό υλικό και είναι έτοιμα να αρχίσουν το νέο κύκλο δημιουργίας ωοκυττάρων.

Στάδιο 3: *στάδιο ανάπτυξης* (Εικ. 3.3.), εμφάνιση των πρώιμων ωοκυττάρων με ευδιάκριτους τους πυρήνες στο κέντρο τους, το θρεπτικό υλικό αρχίζει να καταναλώνεται. Σε πρώτη φάση τα πρώιμα αυτά ωοκύτταρα εμφανίζονται στα τοιχώματα των ωοθυλακίων και σε προχωρημένο στάδιο γεμίζουν ολόκληρο το χώρο των ωοθυλακίων καταναλώνοντας όλη την ποσότητα των θρεπτικών υλικών.

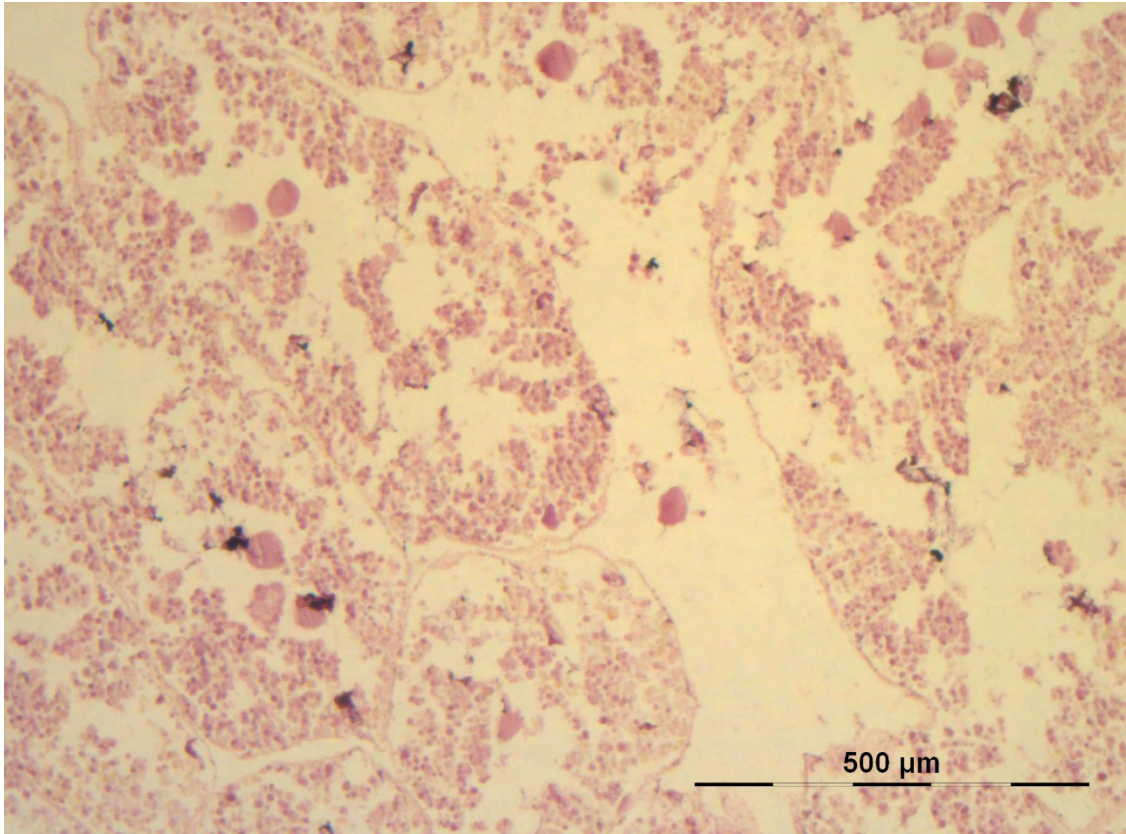
Στάδιο 4: *στάδιο ώριμων ωοκυττάρων* (Εικ. 3.4.), όλα τα ωοκύτταρα έχουν αναπτυχθεί πλήρως και έχουν κατακλύσει όλο το χώρο των ωοθυλακίων. Είναι αρκετά μεγάλα σε μέγεθος και πυκνά διατεταγμένα, έτοιμα να απελευθερωθούν στο περιβάλλον. Τα τοιχώματα των ωοθυλακίων έχουν γίνει αρκετά λεπτά που σχεδόν δε φαίνονται, λόγω της πλήρης αφομοίωσης των θρεπτικών. Χρονικά είναι το στάδιο λίγο πριν η αναπαραγωγική διαδικασία αρχίσει, με απελευθέρωση των ωοκυττάρων στο περιβάλλον.



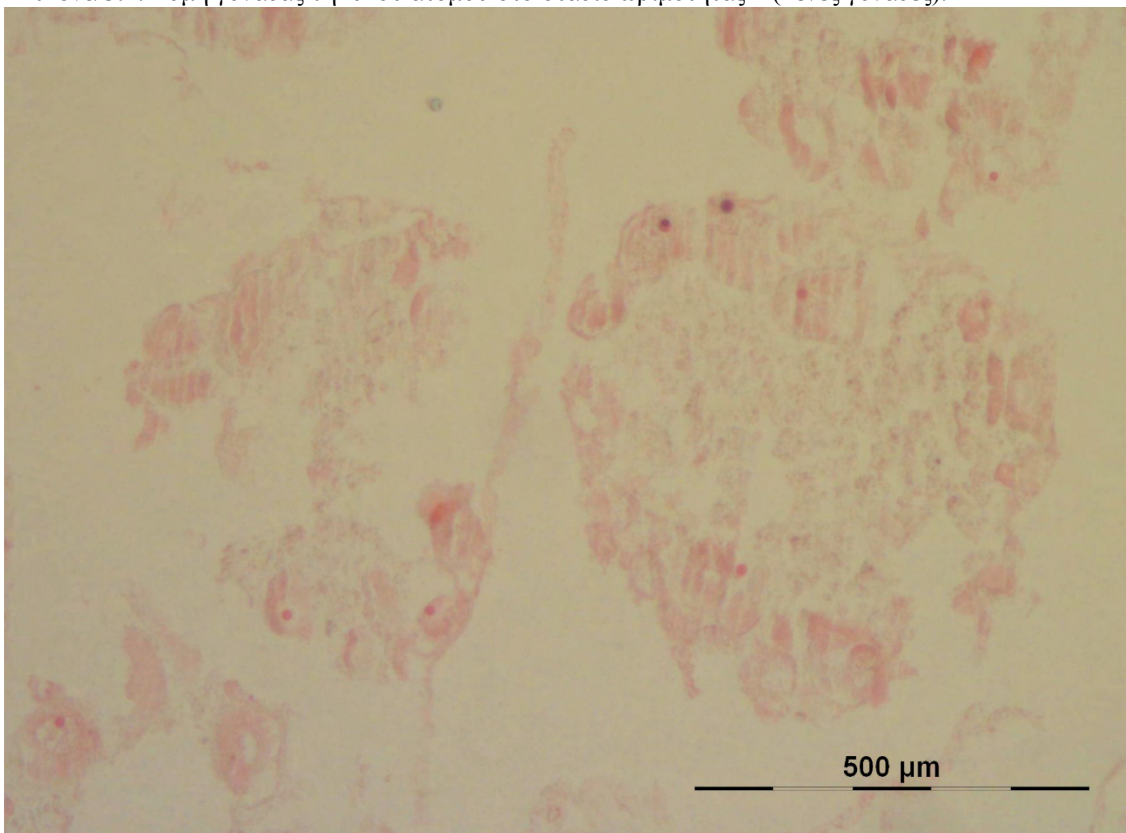
Σχήμα 3.4. Μεταβολή του γοναδοσωματικού δείκτη (GSI) των αρσενικών και των θηλυκών ατόμων στο σταθμό Σ1.



Σχήμα 3.5. Μεταβολή του γοναδοσωματικού δείκτη (GSI) των αρσενικών και των θηλυκών ατόμων στο σταθμό Σ2.



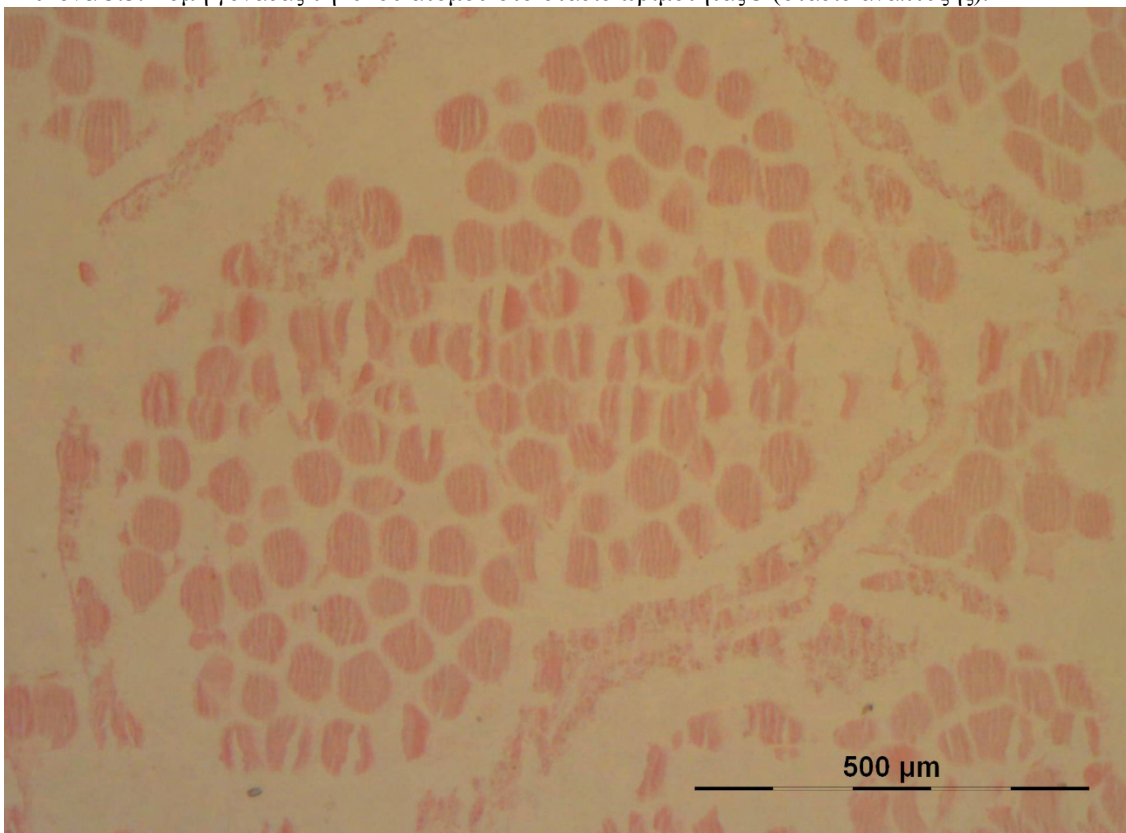
Εικόνα 3.1. Τομή γονάδας θηλυκού ατόμου στο στάδιο ωριμότητας 1 (κενές γονάδες).



Εικόνα 3.2. Τομή γονάδας θηλυκού ατόμου στο στάδιο ωριμότητας 2 (στάδιο αναδιοργάνωσης).



Εικόνα 3.3. Τομή γονάδας θηλυκού ατόμου στο στάδιο ωριμότητας 3 (στάδιο ανάπτυξης).

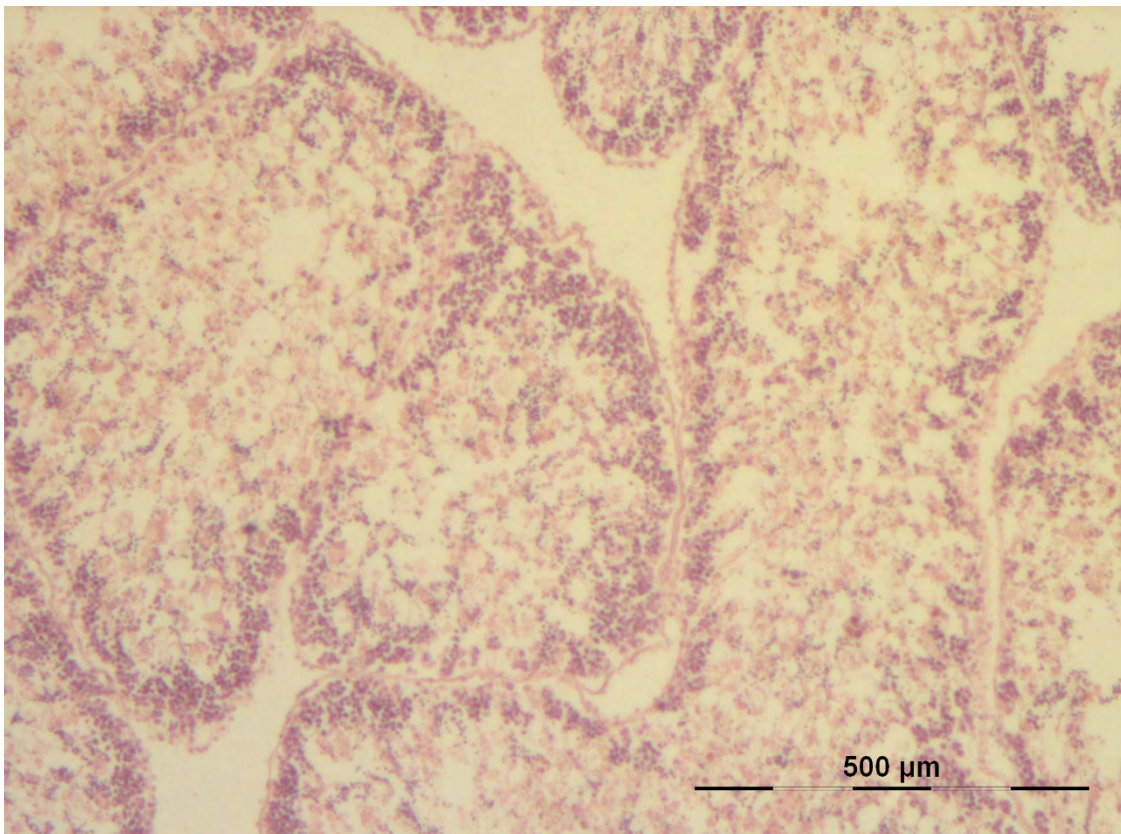


Εικόνα 3.4. Τομή γονάδας θηλυκού ατόμου στο στάδιο ωριμότητας 4 (στάδιο ώριμων ωοκυττάρων).

Για τα αρσενικά άτομα ο καθορισμός των σταδίων έγινε ως εξής:

Στάδιο 0: κενές γονάδες (Εικ. 3.5.), οι σπερματοκύστες είναι σχεδόν άδειες και έχει αρχίσει να συσσωρεύεται θρεπτικό υλικό για την αρχή ενός νέου κύκλου γαμετογένεσης. Μπορούν να παρατηρηθούν υπολειμματικά ίχνη σπέρματος, που δεν απελευθερώθηκε κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγής. Χρονικά πρόκειται για το στάδιο μετά την αναπαραγωγή.

Στάδιο 1: στάδιο αναπαραγωγής (Εικ. 3.6.), το σπέρμα έχει γεμίσει τους όρχεις και σε προχωρημένο στάδιο έχει βγει και έξω από αυτούς καταλαμβάνοντας χώρο στο περιβάλλον των σπερματοκύστεων. Οι γονάδες είναι έτοιμες να απελευθερώσουν τους γαμέτες στο περιβάλλον. Χρονικά είναι το στάδιο λίγο πριν η αναπαραγωγική διαδικασία αρχίσει.



Εικόνα 3.5. Τομή γονάδας αρσενικού ατόμου στο στάδιο ωριμότητας 0 (στάδιο κενών γονάδων).

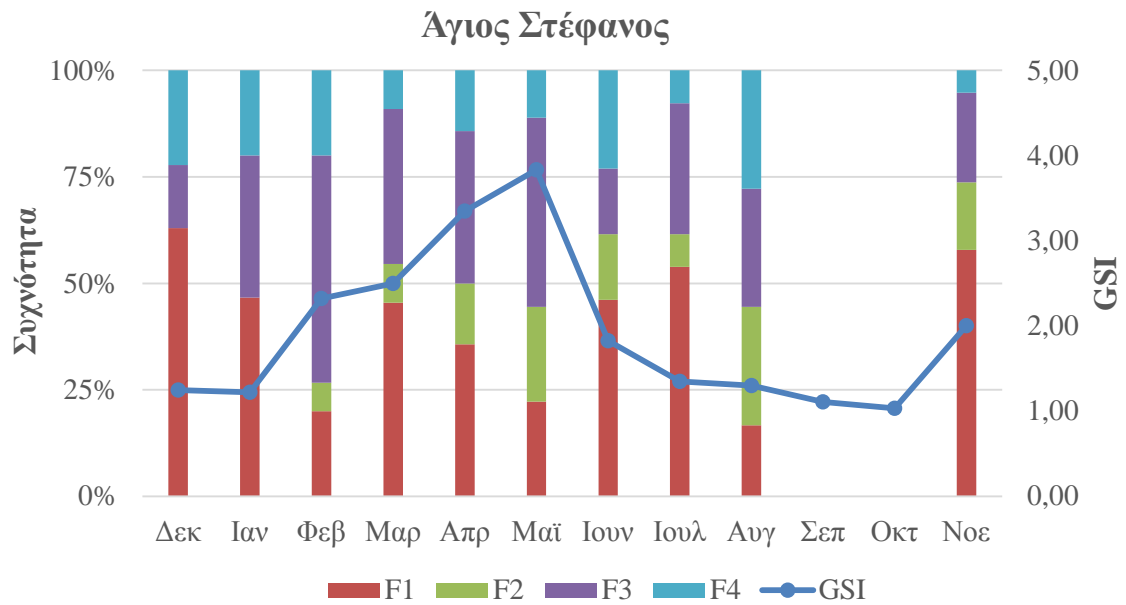


Εικόνα 3.6. Τομή γονάδας αρσενικού ατόμου στο στάδιο ωριμότητας 1 (στάδιο αναπαραγωγής).

Η κατανομή των σταδίων για κάθε φύλο και για κάθε σταθμό, περιγράφεται στους Πίνακες 3.5 και 3.6. Η αθροιστική συχνότητα του κάθε σταδίου για τα θηλυκά άτομα για κάθε σταθμό απεικονίζονται στα Σχήματα 3.6 και 3.7.

Πίνακας 3.5. Κατανομή σταδίων ανά μήνα και φύλο για τον σταθμό του Αγ. Στεφάνου (Σ1).

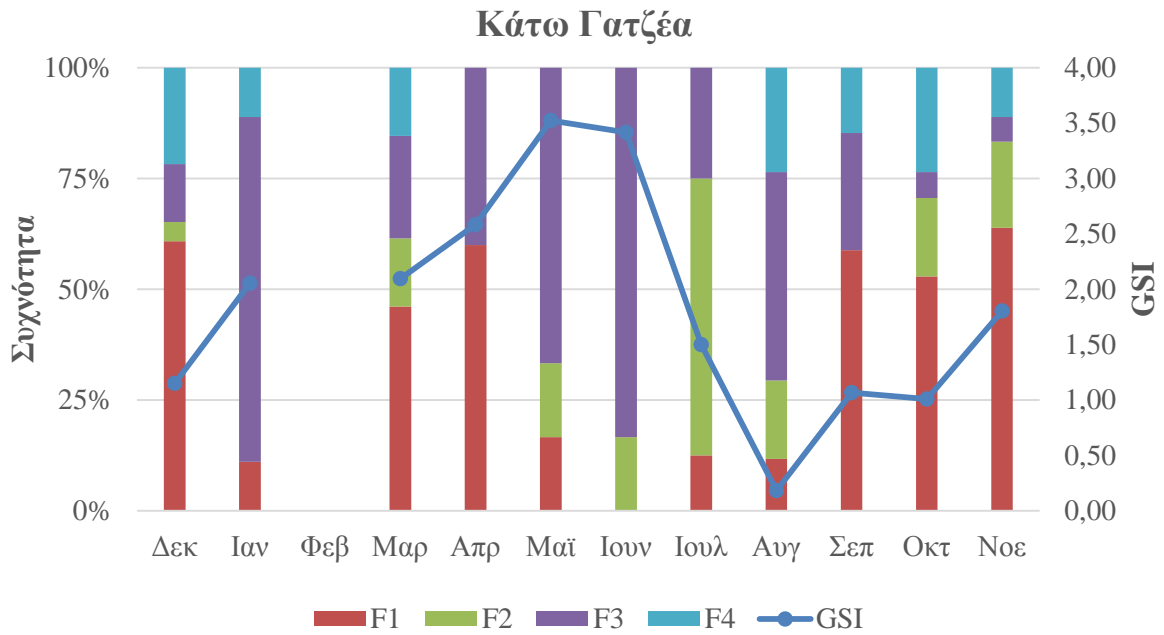
Μήνας	Θηλυκά				Αρσενικά	
	Στάδιο 1	Στάδιο 2	Στάδιο 3	Στάδιο 4	Στάδιο 0	Στάδιο 1
Δεκέμβριος	17	0	4	6	0	0
Ιανουάριος	7	0	5	3	0	0
Φεβρουάριος	3	1	8	3	0	1
Μάρτιος	5	1	4	1	2	2
Απρίλιος	5	2	5	2	0	0
Μάϊος	2	2	4	1	0	0
Ιούνιος	6	2	2	3	0	0
Ιούλιος	7	1	4	1	0	0
Αύγουστος	3	5	5	5	1	0
Σεπτέμβριος	0	0	0	0	0	0
Οκτώβριος	0	0	0	0	0	0
Νοέμβριος	22	6	8	2	0	0



Σχήμα 3.6. Ποσοστιαία κατανομή των σταδίων ωριμότητας των θηλυκών ατόμων για κάθε μήνα στον σταθμό του Αγ. Στεφάνου (Σ1).

Πίνακας 3.6. Κατανομή σταδίων ανά μήνα και φύλο για τον σταθμό της Κάτω Γατζέας (Σ2).

Μήνας	Θηλυκά				Αρσενικά	
	Στάδιο 1	Στάδιο 2	Στάδιο 3	Στάδιο 4	Στάδιο 0	Στάδιο 1
Δεκέμβριος	14	1	3	5	0	2
Ιανουάριος	1	0	7	1	0	0
Φεβρουάριος	0	0	0	0	0	0
Μάρτιος	6	2	3	2	0	1
Απρίλιος	3	0	2	0	0	0
Μάιος	1	1	4	0	2	0
Ιούνιος	0	1	5	0	2	1
Ιούλιος	1	5	2	0	0	0
Αύγουστος	2	3	8	4	0	0
Σεπτέμβριος	20	0	9	5	0	5
Οκτώβριος	18	6	2	8	0	0
Νοέμβριος	23	7	2	4	0	1



Σχήμα 3.7. Ποσοστιαία κατανομή των σταδίων ωριμότητας των θηλυκών ατόμων για κάθε μήνα στον σταθμό Κάτω Γατζέας (Σ2).

Οι επιστημονικές απόψεις για την εποχή αναπαραγωγής του *A. lixula* διαφέρουν καθώς σύμφωνα με κάποιους επιστήμονες η αναπαραγωγική περίοδος του είδους είναι μία, κατά την άνοιξη (Selenka, 1879), ενώ σύμφωνα με άλλους παρατηρούνται δύο αναπαραγωγικές περιόδους, την άνοιξη και το φθινόπωρο (Pedrotti, 1993; Fenaux, 1968). Σύμφωνα με τους Pedrotti και Fenaux, η ωοτοκία του *A. lixula* πραγματοποιείται δύο φορές το χρόνο, η πρώτη από τον Μάιο μέχρι τον Ιούνιο και η δεύτερη από τον Σεπτέμβριο έως και τον Οκτώβριο. Άλλες μελέτες υποστηρίζουν ότι ο *A. lixula* παρουσιάζει μία κύρια και μία δευτερεύουσα φάση αναπαραγωγής. Συγκεκριμένα, η έρευνα των Wangensteen et al., (2013) πάνω στον αναπαραγωγικό κύκλο του *A. lixula* στη ΒΔ Μεσόγειο, έδειξε ότι αυτός παρουσιάζει μία κύρια φάση αναπαραγωγής κατά τους μήνες Μάιο – Ιούλιο και μία δευτερεύουσα κατά τους μήνες Οκτώβριο και Νοέμβριο, κάθε χρόνο.

Από την πορεία της μεταβολής του γοναδοσωματικού δείκτη (GSI) στην παρούσα μελέτη, η απότομη πτώση που παρατηρείται μετά τον Μάιο, πιθανόν να υποδεικνύει αναπαραγωγικό συμβάν (spawning event) στα τέλη της άνοιξης. Μια τέτοια ερμηνεία δεν είναι απολύτως ακριβής, καθώς ο GSI από μόνος του δεν είναι αξιόπιστος δείκτης για την εκτίμηση της αναπαραγωγικής περιόδου (Lozano et al., 1995). Παρόλα αυτά, η κατανομή των σταδίων των θηλυκών δε φάνηκε να ακολουθεί κάποιο συγκεκριμένο πρότυπο ώστε να είναι εφικτό να ορισθεί συγκεκριμένη εποχή αναπαραγωγής από τα ιστολογικά ευρήματα. Η παρουσία πολλών ατόμων στο στάδιο 4 (ώριμα ωοκύτταρα) σε όλη τη διάρκεια του έτους, ίσως να υποδηλώνει ότι το συγκεκριμένο είδος δεν έχει συγχρονισμένη αναπαραγωγή, γεγονός που δεν είναι σπάνιο στα εχινοειδή αλλά και γενικότερα στα εχινόδερμα (Byrne, 1990; Kazanidis et al., 2014).

Από αντίστοιχες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στην περιοχή για τα συγγενικά είδη *P. lividus* και *Sphaerechinus granularis*, εντόπισαν την περίοδο αναπαραγωγής τους στα τέλη της άνοιξης – αρχές καλοκαιριού (Σταμούλη, 2012; Ιωαννίδη, 2014), επομένως, είναι πολύ πιθανό ο *A. lixula* να έχει ένα κύριο αναπαραγωγικό συμβάν μέσα σε αυτή την περίοδο, ενώ καθόλη τη διάρκεια του έτους ένα σημαντικό κομμάτι του πληθυσμού φαίνεται να είναι αναπαραγωγικά ώριμο.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Φαίνεται πως οι πληθυσμοί που εξετάστηκαν δε διαφοροποιούνται αναπαραγωγικά και έτσι μπορεί να θεωρηθεί πως το είδος στον Παγασητικό κόλπο αντιπροσωπεύεται από έναν πληθυσμό.

Το είδος *A. lixula* στον Παγασητικό κόλπο φαίνεται να είναι σε αναπαραγωγική ετοιμότητα καθόλη τη διάρκεια του έτους.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

5.1 Ξένη Βιβλιογραφία

- **Allain J.Y., (1975).** Structures des populations de *Paracentrotus lividus*(Lamarck) (Echinodermata, Echinoidea) soumises a la peche sur les cotes de Bretagne. Reme Trav. Inst. (scient tech.) Pech. Marit., 39:171-209.
- **Azov Y., (1986).** Seasonal pattern of phytoplankton productivity and abundance in nearshore oligotrophic waters of the Levant Basin (Mediterranean). *Journal of Plankton Research.* 8: 41-53.
- **Bakus G.J., (1990).** Quantitative ecology and marine biology. AA Balkema, Rotterdam. 157 pp.
- **Boudouresque C.F. & Verlaque M., (2001).** Ecology of *Paracentrotus lividus*. In: Lawrence, J.M. (Ed.), Edible Sea Urchins: Biology and Ecology. Elsevier, Amsterdam, pp. 177–216.
- **Brusca R. C. & Brusca G. J., (2003).** Invertebrates (2nd ed.). Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- **Bulleri F., Benedetti-Cecchi L. & Cinelli F., (1999).** Grazing by the sea urchins *Arbacia lixula* L. and *Paracentrotus lividus* Lam. in the Northwest Mediterranean. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* 24: 81–95.
- **Bulleri F., Bertocci I. & Micheli F., (2002).** Interplay of encrusting coralline algae and sea urchins in maintaining alternative habitats. *Marine Ecology Progress Series.* 243: 101–109.

- **Byrne M., (1990).** Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and a sheltered subtidal habitat on the west coast of Ireland. *Marine Biology*, 104:275–289.
- **Carbal de Oliveira M., (1991).** Survival of seaweeds ingested by three species of tropical sea urchins from Brazil. *Hydrobiologia*. 222:13-17.
- **Castro, P. & Huber M.E., (1992).** *Marine Biology*. Mosby- Year Book, USA. 608 pp.
- **Dinnel P.A., Pagano G.G. & Oshida P.S., (1988).** A sea urchin test system for marine environmental monitoring. *In: Echinoderm Biology* (Ed Burke *et al.*), Rotterdam, A.A. Balkema, pp. 611-619.
- **Dinnel, P.A., Link J. & Stober Q., (1987).** Improved methodology for sea urchin sperm cell bioassay for marine waters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 16: 23-32.
- **Fenaux L. & Pedrotti M.L., (1988).** Metamorphose des larves d'Echinides en pleine eau. *Pubblicazioni della Stazione Zoologica di Napoli, I Marine Ecology*. 9:93-107.
- **Fenaux L., (1968).** Maturation des gonades et cycle saisonnier des larves chez *Arbacia lixula*, *Paracentrotus lividus* et *Psammechinus microtuberculatus* (Echinides) a Villefranche-sur-Mer. *Vie et Milieu*. 19: 1-52.
- **Francour P., Boudouresque C.F., Harmelin J.G., Harmelin-Vivien M.L. & Quignard J.P., (1994).** Are the Mediterranean waters becoming warmer? Information from biological indicators. *Marine Pollution Bulletin*. 28: 523– 536.
- **Gago J., Range P. & Luis O., (2003).** Growth, reproductive biology and habitat selection of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the coastal waters of Cascais,

Portugal. *In: Echinoderm Research 2001: proceedings of the 6th European Conference on Echinoderm Research, Banyuls-sur-mer, 3-7 September 2001.* (Ed. Féral, J.-P.; David, B.) pp. 269-276.

- **Gianguzza P., Chiantore M., Bonaviri C., Cattaneo-Vietti R., Vielmini I. & Riggio S., (2006).** The effects of recreational *Paracentrotus lividus* fishing on distribution patterns of sea urchins at Ustica Island MPA (Western Mediterranean, Italy). *Fisheries Research*. 81: 37-44.
- **Gonzalez-Irusta J.M., Goni De Cerio F., Canteras J.C., (2010).** Reproductive cycle of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the Cantabrian Sea (northern Spain): environmental effects. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 90: 699–709.
- **Guettaf M., San Martin G.A. & Francour P., (2000).** Interpopulation variability of the reproductive cycle of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in the south-western Mediterranean. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*. 80: 899-907.
- **Guidetti P. & Mori M., (2005).** Morpho-functional defenses of Mediterranean sea urchins, *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula*, against fish predators. *Marine Biology*. 147: 797-802.
- **Guidetti P., (2004).** Consumers of sea urchins, *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula*, in shallow Mediterranean rocky reefs. *Helgoland Marine Research*. 58: 110–116.
- **Hansson H.G., (2001).** Echinodermata, *In: Costello, M.J. et al. (Ed.) (2001).* European register of marine species: a check-list of the marine species in Europe

and a bibliography of guides to their identification, *Collection Patrimoines Naturels*, 50: 336-351.

- **Hayward P.J. & Ryland J.S., (1990).** The marine fauna of the British Isles and North-West Europe: 1. Introduction and protozoans to arthropods. Clarendon Press: Oxford, UK. 627 pp.
- **Heinke & Schultz P., (2006).** Sea-Urchins: a guide to worldwide shallow water species. 3rd ed., Scientific Publications, Germany. 484 pp.
- **Jangoux M., (1982).** Excretion. *In: Echinoderm nutrition*, M. Jangoux and J.M. Lawrence (eds.), A.A. Balkema Publ., Rotterdam: 437-445.
- **Johns G. D., Miranda L. E., (1997).** Ovarian weight as an index of fecundity, maturity, and spawning periodicity. *Journal of Fish Biology*, 50: 150–156
- **Keesing J.K. & Hall K.C., (1998).** Review of harvests and status of world sea urchin fisheries points to opportunities for aquaculture. *Journal of Shellfish Research*. 17: 1597-1604.
- **Kempf M., (1962).** Recherches d'ecologie comparee sur *Paracentrotus lividus* et *Arbacia lixula*. *Recueil du Travaux de la Station Marine d' Endoume*. 25: 47–116.
- **Kiernan J.A., (2005).** Preservation and retrieval of antigens for immunochemistry – Methods and Mechanisms Part 2. Retrieving masked antigens . *The Cutting Edge*, April 2005, Pp- 5-11.
- **Koehler R., (1921).** Echinodermes. Faune de France, 1. Librairie de la Faculte des Sciences, Paris. 216 pp.
- **Koukouras A., Coll M., Piroddi C., Steenbeek J., Kaschner K. et al., (2010).** The biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, patterns, and threats,

PLOS One, Journal Article, Institute of Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture.

- **Koukouras A., Sinis A.I., Bobori D., Kazantzidis S., Kitsos M.S., (2007).** The echinoderm (Deuterostomia) fauna of the Aegean Sea, and comparison with those of the neighbouring seas. *Journal of Biological Research*, 7: 67-92.
- **Lawrence A., Hemingway K.I., (2003).** *Effects of Pollution on Fish*. Blackwell, Oxford.
- **Lawrence J.M., (1987).** "A functional biology of echinoderms". London: Croom Helm. pp.340.
- **Lawrence J.M., (2001).** *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology*. Elsevier, Amsterdam.
- **Lejeusne C., Chevaldonne P., Pergent – Martini C., Boudouresque C. F., & Perez, T., (2010).** Climate Change effects on a miniature Ocean: The Highly Diverse, lightly impacted Mediterranean Sea, *Trends Ecol. Evol.* 25, 250-260.
- **Lolas A., Tziatziou L., Kazanidis G., Neofitou N., Vafidis D., (2009).** Preliminary results on the study of the reproductive behavior of *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula* in the Aegean. 11th ICZEGAR Abstracts, Herakleion, Crete, Greece.
- **Lozano J., Galera J., Lopez S., Turon X., Palacin C. & Morera G., (1995).** Biological cycles and recruitment of *Paracentrotus lividus* in 2 contrasting habitats. *Marine Ecology Progress Series*. 122: 179-191.
- **Maggiore F., Berthon J.F., Boudouresque C.F. & Lawrence J.M., (1987).** Données préliminaires sur les relations entre *Paracentrotus lividus*, *Arbacia lixula* et le phytobenthos dans la baie de Port-Cros (Var, France, Méditerranée).

In: Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles
(Ed. Boudouresque, C.F.) GIS Posidonie Publ., Marseille, pp. 65–82.

- **Martinez - Pita, I., Garcia F.J., & Pita M., (2009).** Males and females gonad fatty acids of the sea urchins *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula* (Echinodermata). *Helgoland Marine Research*. 1-8 (in press).
- **Martinez – Pitta I., Sanchez – Espana A., Garcia F., (2008).** Gonadal growth and reproduction in the sea urchin *Sphaerechinus granularis* (Lamarck 1816) (Echinodermata: Echinoidea) in southern Spain. *Scientia Marina*, 72:603-611.
- **Ourens R., Fernandez L., Freire J., (2010).** Geographic, population, and seasonal patterns in the reproductive parameters of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Marine Biology*.
- **Pais A., Chessa L.A., Serra S., Ruiu A., Meloni G. and Donno Y., (2007).** The impact of commercial and recreational harvesting for *Paracentrotus lividus* on shallow rocky reef sea urchin communities in north-western Sardinia, Italy. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 73(3-4): 589-597.
- **Palacín C., Turon X., Ballesteros M., Giribet G. & Lopez S., (1998).** Stock evaluation of three littoral echinoid species on the Catalan coast (north-western Mediterranean). *Marine Ecology*. 19(3): 163–177.
- **Palacín G., Giribet G., Carner S., Dantart L. & Turon X., (1998a).** Low densities of sea urchins influence the structure of algal assemblages in the western Mediterranean. *Journal of Sea Research*. 39: 281-290.
- **Papathanassiou E. & Zenetos A., (2005).** State of the Hellenic Marine environment, Hellenic Centre for Marine Research, Athens, Greece, p. 253.

- **Pearse J.S., Cameron R.A., (1991).** Echinodermata: Echinoidea. In: Giese A.C., Pearse J.S., Pearse, V.B. (eds.) *Reproduction of marine invertebrates*, Vol. VI: Echinoderms and Lophophorates. Boxwood Press, Pacific Grove, California. Pp 513-662.
- **Pedrotti M.L. & Fenaux L. (1993).** Effects of food diet on the survival, development and growth rates of two cultured echinoplutei (*Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula*). *International Journal of Invertebrate Reproduction and Development*. 24: 59-70.
- **Pedrotti M.L., (1993).** Spatial and temporal distribution and recruitment of echinoderm larvae in the ligurian sea. *Journal - Marine Biological Association of the United Kingdom*. 73(3): 513-530.
- **Petihakis G., Triantafyllou G., Pollani A., Koliou A., Theodorou A., (2005).** Field data analysis and application of a complex water column biogeochemical model in different areas of a semi-enclosed basin: towards the development of an ecosystem management tool. *Marine Environmental Research*, 59: 493–518
- **Portocali P., Iliopoulou-Georgoudaki J., Catsiki V.A. & Papapetropoulou M., (1996).** The role of Echinoderms as bioindicators of seawater pollution: A case study from Patraikos and Corinthiacos Gulf, N. Peloponnesus, Greece. *Toxicological and Environmental Chemistry*. 59: 293-303.
- **Regis M.B., (1978).** Croissance de deux echinoïdes du golfe de Marseille (*Paracentrotus lividus* (Lmk.) et *Arbacia lixula* (L.)). Aspects écologiques de la microstructure du squelette et de l'évolution des indices physiologiques Thèse Doct. Sci. Université St. Jerome, Aix-Marseille I, Fr., 221 pp.

- **Sala E. & Zabala M., (1996).** Fish predation and the structure of the sea urchin *Paracentrotus lividus* populations in the NW Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series*. 140: 71–81.
- **Sala, E., Ribes M., Hereu B., Zabala M., Alvà V., Coma R. & Garrabou J., (1998a).** Temporal variability in abundance of the sea urchins *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula* in the northwestern Mediterranean: comparison between a marine reserve and an unprotected area. *Marine Ecology Progress Series*. 168: 135–145.
- **Sanchez-Espana, A.I., Martinez-Pita I. & Garcia F.J., (2004).** Gonadal growth and reproduction in the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from southern Spain. *Hydrobiologia*. 519: 61-72.
- **Sellem F., Guillou M., (2007).** Reproductive biology of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats of northern Tunisia (south – east Mediterranean). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87: 763 – 767.
- **Spirlet C., Grosjean P., Jangoux M., (1998).** Reproductive cycle of the echinoid *Paracentrotus lividus*: analysis by means of maturity index. *Invertebrate Reproduction and Development*, 34:69-81.
- **Spirlet C., Grosjean P., Jangoux M., (2001).** Cultivation of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) on extruded feeds: digestive efficiency, somatic and gonadal growth. *Aquaculture Nutrition*, 7:91–99.
- **Theodorou A., Triantafyllou G., Petihakis G., Dounas C., (2001)** Assessing marine ecosystem response to nutrient inputs. *Marine Pollution Bulletin* 43: 175–186.

- **Tortonese E., (1965).** Echinodermata. *In: Fauna d' Italia (Ed.)*, vol. 6. Calderini, Bologna. 422 pp.
- **Vatilingon D., Rasolofonirina R., Jangoux M., (2005).** Reproductive Cycle of Edible Echinoderms from the Southwestern Indian Ocean. *Western Indian Ocean Journal of Marine. Science*, 4: 47–60.
- **Wangensteen OS., Turon Xavier., Casso Maria., Palacin Creu., (2013).** The reproductive cycle of the sea urchin *Arbacia lixula* in northwest Mediterranean: potential influence of temperature and photoperiod. *Marine Biology*(2013) 160: 3157-3168

5.2 Ελληνική Βιβλιογραφία

- **Castro P., Huber M.E., (1999).** Θαλάσσια Βιολογία., Επιμέλεια απόδοσης στα Ελληνικά: Κούκουρας Θ., Βουλτσιάδου Ε., UNIVERSITY STUDIO PRESS, Θεσσαλονίκη, σελ. 608.
- **Θεοδώρου Α., (2004).** Ωκεανογραφία: Εισαγωγή στο Θαλάσσιο Περιβάλλον. Σταμούλη Α.Ε, Αθήνα, σελ. 712.
- **Ιωαννίδη Β., (2013).** Μελέτη του αναπαραγωγικού κύκλου του αχινού *Sphaerechinus Granularis* (Lamarck, 1816), στο Αιγαίο. ΜΔΕ, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- **Λόλας Α., (2008).** Παραλλακτικότητα των πληθυσμών του αχινού στον Παγασητικό κόλπο και στις Σποράδες. Μεταπτυχιακή διατριβή. Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος Π.Θ., σελ. 114.
- **Παναγόπουλος Θ., (2004).** Δίκαιο Περιβάλλοντος, Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα, σελ. 154.
- **Σταμούλη Α., (2012).** Ιστολογική ανάλυση των γονάδων του αχινού *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) στον Παγασητικό κόλπο. ΠΔΕ, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- **Τσιάγκα Ε., (1997).** Οι τροφικές προτιμήσεις των εχινοειδών *Paracentrotus lividus* και *Arbacia lixula*. ΜΔΕ, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, σελ. 93.

5.3 Ηλεκτρονική Βιβλιογραφία

- *European Commission, 2006, E.U., Marine Strategy, The Story Behind The Strategy,* p.7
http://ec.europa.eu/environment/marine/pdf/eumarinestrategy_storybook.pdf
- **Natural History Museum.** <http://www.nhm.ac.uk/index.html>
- **World Register of Marine Species (WoRMS).**
<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=124249>

6. ABSTRACT

Aspects of the reproduction of the common sea urchin *Arbacia lixula* (Linnaeus, 1756) were investigated using histological analysis in the Pagasitikos Gulf.

A 12-month survey (December 2008 – November 2009) was conducted in two sampling locations along the coastline of the Gulf in order to monitor the developmental cycle of the species' gonads. Sampling was done by scuba diving. A total number of 960 individuals were measured. Both gonad development and sex were determined by histological analysis based on the hematoxylin eosin regressive stain. The gonadosomatic index of each individual was calculated as the ratio between the weight of the gonads and the total weight of the sea urchin. The mean value from each sampling was correlated with the mean water temperature.

The species in the Pagasitikos Gulf seems to have one annual reproductive cycle, with spawning occurred at the end of the summer.

Key words: *Arbacia lixula*, Histological Analysis, Gonadosomatic Index, Pagasitikos Gulf.