

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Επίδραση της αλατιότητας
στην ανάπτυξη και την
αναπαραγωγή του αυτόχθο
νου Καλανοειδούς Κωπήτιο
δου *Calanipeda aquaedul
cis* (Kritschagin 1873)».

Παναγιώτα Αηδόνη
Ιχθυολόγος

ΚΑΡΔΙΤΣΑ, 2008.



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ
ΣΠΟΥΔΩΝ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΕ ΣΥΜΠΡΑΞΗ ΜΕ ΤΟ Τ.Ε.Ι.
ΗΠΕΙΡΟΥ

«Επίδραση της αλατότητας στην ανάπτυξη και την αναπαραγωγή του
αυτόχθονου Καλανοειδούς Κωπηπόδου *Calanipeda aquaedulcis*
(Kritschagin 1873)».

Παναγιώτα Ι. Αηδόνη
Ιχθυολόγος

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- 1. Κλαδάς Ιωάννης, Επιβλέπων Καθηγητής.**
Εργαστήριο Θαλασσοκαλλιεργειών, Τμήμα Ιχθυοκομίας-Αλιείας, Τ.Ε.Ι.
Ηπείρου.
- 2. Δενδρινός Παναγάγγελος, Καθηγητής.**
Εργαστήριο Θαλασσοκαλλιεργειών, Τμήμα Ιχθυοκομίας-Αλιείας, Τ.Ε.Ι.
Ηπείρου.
- 3. Ναθαναηλίδης Κοσμάς, Καθηγητής.**
Εργαστήριο Εσωτερικών Υδάτων, Τμήμα Ιχθυοκομίας-Αλιείας, Τ.Ε.Ι.
Ηπείρου.

ΚΑΡΔΙΤΣΑ, 2008.



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

Αριθ. Εισ.: 7556/1

Ημερ. Εισ.: 10-09-2009

Δωρεά: _____

Ταξιθετικός Κωδικός: Δ

592.177 6

ΑΗΔ



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
DEPARTMENT OF VETERINARY

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

« Effect of salinity on the growth and the reproduction of the native calanoid copepod *Calanipeda aquaedulcis* (Kritschagin 1873) ».

Panagiota I. Aidoni
Ichthyologist

ADVISOR COMMITTEE

1. Cladas Ioannis, Supervisor

Laboratory of Marine Culture, Fisheries and Aquaculture Department, Technological and Educational Institute(T.E.I) of Epirus.

2. Dendrinos Panagaggelos, Professor

Laboratory of Marine Culture, Fisheries and Aquaculture Department, Technological and Educational Institute(T.E.I) of Epirus.

3. Nathanailidis Kosmas, Professor

Laboratory of Fresh Water Culture, Fisheries and Aquaculture Department, Technological and Educational Institute(T.E.I) of Epirus.

KARDITSA, 2008.

*...στον Γιάννη, την Ελένη, τον Νικόλα
και την Βασούλα*

Περίληψη

Πληθυσμός του Καλανοειδούς Κωπηπόδου *Calanipeda aquaedulcis* (Kritschagin 1873), καλλιεργήθηκε σε κύκλωμα ανακυκλοφορίας νερού στο οποίο προσαρμόστηκε ειδικό σύστημα ημερήσιας συλλογής των παραγόμενων ναυπλίων. Αρχικά μελετήθηκε η επιβίωση και η ανάπτυξη του είδους στις αλατότητες 15, 20 και 25‰. Η συνολική επιβίωση την 14^η ημέρα στις αλατότητες 15, 20 και 25‰ δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των τριών αλατοτήτων (42,2%, 35,6% και 47,7% αντίστοιχα), όμως ο ρυθμός θνησιμότητας ήταν μεγαλύτερος στις καλλιέργειες στα 20‰. Η αλατότητα του μέσου καλλιέργειας δεν επηρέασε την σωματική αύξηση. Η μελέτη της αντοχής των ναυπλιακών σταδίων σε στρες απότομης μεταφοράς σε νερά υψηλής αλατότητας, έδειξε ότι η αλατότητα εγκλιματισμού επηρεάζει την αντοχή σε στρες μόνο στα προχωρημένα αναπτυξιακά στάδια. Επίσης όλα τα στάδια, σε κάθε περίπτωση, επιδεικνύουν μεγαλύτερη αντοχή σε στρες μεταφοράς στα 30‰ από ότι στα 37‰. Διαφορές παρουσιάστηκαν στον ρυθμό εμφάνισης ώριμων θηλυκών ατόμων με ωόσακους σε πληθυσμούς που προήλθαν από μητρικές καλλιέργειες στις αντίστοιχες αλατότητες. Τα ώριμα θηλυκά άτομα που προέκυψαν στις αλατότητες 15, 20 και 25‰ ήταν 50.3, 41.4 και 1.9% του αρχικού αριθμού των ναυπλίων που καλλιεργήθηκαν αντίστοιχα. Η μελέτη της επίδρασης της αλατότητας στην γονιμότητα των ναυπλίων της δεύτερης γενιάς εγκλιματισμού, έδειξε ότι η παραγωγή βιώσιμων ναυπλίων ήταν πολύ μεγαλύτερη στην αλατότητα 20‰ σε σχέση με 15‰, ενώ από την καλλιέργεια σε αλατότητα 25‰ δεν προέκυψε ικανός αριθμός βιώσιμων ατόμων. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το είδος αυτό παρουσιάζει μειωμένες επιδόσεις αντοχής σε υψηλές αλατότητες και για το λόγο αυτό δεν φαίνεται να είναι κατάλληλο για την χρησιμοποίησή του ως θήραμα στις καλλιέργειες ιχθυονυμφών θαλασσινών ειδών. Παρά ταύτα, τα αποτελέσματά μας συνιστούν πρόκληση για την υλοποίησή του στο μέλλον σχετικών οικοφυσιολογικών μελετών για την διερεύνηση του ρόλου του *Calanipeda aquaedulcis* στα μεταβατικά παράκτια οικοσυστήματα.

Abstract

A population of the calanoid copepod *Calanipeda aquaedulcis* (Kritschagin 1873) was cultured in a closed recirculation system equipped with a specially adapted system for the daily collection of nauplii. Initially, the survival and the growth of the copepod in different salinities of 15, 20 and 25‰ was studied. The overall survival on the 14th day was not significantly different among the three salinities (42.2%, 35.6% & 47.7% respectively), but the mortality rate was higher in the culture of 25‰. Also, growth has not been influenced by the different salinities. The study of the naupliar tolerance to sudden transfer in water of higher salinity has shown that the acclimation salinity influences the tolerance only in the adult stages. In addition, in all the copepod stages was shown a greater tolerance in transfer stress at 30‰ rather than at 37‰. Differences occurred in the appearance rate of mature female individuals with egg sack in populations originated from maternal cultures in the above three salinities. The mature females produced in 15, 20 and 25‰ were 50.3, 41.4 and 1.9% of the initial nauplii number. The study of the influence of salinity in the fertility of the individual of the second generation acclimation shown that the production of viable nauplii was much higher in 20‰ than in 15‰ but in the salinity of 25‰ few viable individuals were observed. The results showed that *Calanipeda aquaedulcis* presents low tolerance in high salinity and for this reason it might not be suitable for larvae feed. However, results represent a challenge for future ecophysiological studies for the role of *Calanipeda aquaedulcis* in transient coastal ecosystems.

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη του Εργαστηρίου Θαλασσοκαλλιεργειών, τα οποία συμμετείχαν στην συγκεκριμένη έρευνα. Ξεκινώντας, θέλω να εκφράσω την εκτίμησή μου και να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Γιάννη Κλαδά για τις γνώσεις που μου προσέφερε, τον χρόνο που μου αφιέρωσε και την υπομονή την οποία επέδειξε. Επίσης, ευχαριστώ τον κ. Γιώργο Ιωάννου για τις πολύτιμες συμβουλές και την συνεργασία του, τον κ. Παναγάγγελο Δενδρινό και τον κ. Ιωάννη Τζοβενή για την βοήθειά τους. Ακόμα, θέλω να ευχαριστήσω την κ. Αθηνά Σαμαρά, η οποία παρήγαγε τα μικροφύκη για την διατροφή των Κωπηπόδων, καθώς επίσης και για την άψογη τριετή συνεργασία μας. Τελειώνοντας, ευχαριστώ τον συνάδελφο κ. Αλέξανδρο Κάκο, για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	4
Abstract.....	5
Ευχαριστίες	6
Περιεχόμενα	7
1 Πρόλογος	8
2 Εισαγωγή	9
2.1 Σκοπός	9
2.2 Τα Κωπήποδα	11
2.2.1 Τα Καλανοειδή Κωπήποδα	12
2.2.2 Αναπτυξιακά στάδια Καλανοειδούς Κωπηπόδου	14
2.3 Η χρήση των Κωπηπόδων στην ιχθυοκαλλιέργεια	17
2.4 Το είδος <i>Calanipeda aquaedulcis</i>	19
3 Μέθοδοι και υλικά.....	21
3.1 Η Προέλευση των ζώων	21
3.2 Το σύστημα καλλιέργειας.....	21
3.3 Η Παραγωγή των ναυπλίων	25
3.4 Ανάπτυξη και επιβίωση	27
3.5 Αντοχή των αναπτυξιακών σταδίων σε στρες αλατότητας.....	29
3.6 Επίδραση της αλατότητας στην ωρίμανση των θηλυκών	30
3.7 Επίδραση της αλατότητας στη γονιμότητα.....	31
4 Αποτελέσματα	32
4.1 Επιβίωση σε διαφορετικές αλατότητες.....	32
4.2 Ανάπτυξη σε διαφορετικές αλατότητες	35
4.3 Επίδραση του εγκλιματισμού στην αντοχή των αναπτυξιακών σταδίων σε στρες υψηλών αλατοτήτων.....	37
4.4 Επίδραση της αλατότητας στην ωρίμανση των θηλυκών	43
4.5 Επίδραση της αλατότητας στην γονιμότητα του <i>C. aquaedulcis</i>	47
5 Συζήτηση.....	48
6 Συμπεράσματα-Προτάσεις	51
7 Βιβλιογραφία.....	53

1 Πρόλογος

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του ερευνητικού έργου: "Μελέτη των Κωπηπόδων στις λιμνοθάλασσες της Ηπείρου: διερεύνηση της ύπαρξης αξιοποιήσιμων ειδών για τις Ελληνικές θαλάσσιες ιχθυοκαλλιέργειες" του Προγράμματος ΑΡΧΙΜΗΔΗΣ II (Ε.Π.Ε.Α.Ε.Κ. II), στο οποίο συμμετείχε το Εργαστήριο Θαλασσοκαλλιεργειών του Τμήματος Ιχθυοκομίας – Αλιείας του Τ.Ε.Ι Ηπείρου, με επιστημονικό υπεύθυνο τον Καθηγητή Γιάννη Κλαδά.

Στόχος του προγράμματος ήταν η ανάλυση της βιοποικιλότητας του ζωοπλαγκτού των λιμνοθαλασσών της Ηπείρου, καθώς επίσης η εύρεση ειδών Καλανοειδών Κωπηπόδων που θα μπορούσαν να καλλιεργηθούν μαζικά ώστε να χρησιμοποιηθούν ως ζωντανή τροφή στην καλλιέργεια των ιχθυονυμφών θαλασσινών ψαριών.

2 Εισαγωγή

2.1 Σκοπός

Αναζητώντας ζωοπλαγκτικά είδη ικανά για μαζική καλλιέργεια και με ιδιαίτερο βιοχημικό προφίλ για τη χρησιμοποίησή τους ως θηράματα σε καλλιέργειες ιχθυονυμφών θαλασσινών ψαριών, η ομάδα του ερευνητικού έργου επέλεξε να εξερευνήσει σχετικά τις λιμνοθάλασσες της περιοχής μας. Αυτό γιατί τα μεταβατικά αυτά οικοσυστήματα είναι ιδιαίτερα δυναμικά παρουσιάζοντας έντονες διακυμάνσεις αλατότητας και θερμοκρασίας με αποτέλεσμα οι μεσοζωοπλαγκτικοί οργανισμοί που διαβιούν εκεί να είναι κατεξοχήν οπορτουμιστές με μεγάλα εύρη ανοχής στους ανωτέρω παράγοντες. Ο εντοπισμός τέτοιων ειδών, η απομόνωσή τους, ο εγκλιματισμός, η μαζική καλλιέργειά τους και η πιστοποίηση του διατροφικού τους προφίλ είναι τα διαδοχικά στάδια για την αποδοχή ή όχι της χρησιμοποίησής τους ως θηράματα στις ιχθυοκαλλιέργειες.

Το ενδιαφέρον για την ανάπτυξη τεχνολογιών καλλιέργειας Καλανοειδών Κωπηπόδων, έγκειται στο ότι:

- συνιστούν πλούσια πηγή φωσφολιπιδίων, απαραίτητων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (HUFA) και φυσικών αντιοξειδωτικών (Sargent *et al.*, 1997) και γενικά σε διατροφική αξία υπερτερούν των τροχοζώων *Brachionus plicatilis* και του βραγχιόποδου *Artemia* sp, δηλαδή των ζωοπλαγκτικών οργανισμών που χρησιμοποιούνται σήμερα ως θηράματα στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς θαλασσινών ειδών,
- τα αναπτυξιακά τους στάδια έχουν κατάλληλα μεγέθη, συμβατά με τις ικανότητες θήρευσης των ιχθυονυμφών (Sørensen *et al.*, 2004), των οποίων είναι άλλωστε φυσικά θηράματα
- σε αντίθεση με τα αρπακτικοειδή, των οποίων οι καλλιέργειες είναι πιο εύκολες & αποδοτικές, τα Καλανοειδή δεν περιορίζονται στον πυθμένα ή στα τοιχώματα μιας δεξαμενής αλλά κατανέμονται σε όλη τη στήλη του νερού με αποτέλεσμα η χρήση τους να είναι συμβατή με τις υπάρχουσες τεχνικές καλλιέργειας ιχθυονυμφών

Λόγω της άριστης θρεπτικής τους αξίας και της καταλληλότητας χρησιμοποίησής τους ως θηράματα ιχθυονυμφών, θα μπορούσαν να αποτελέσουν καλές εναλλακτικές λύσεις σε σχέση με τα τροχόζωα και την *Artemia* ειδικότερα για "νέα" θαλασσινά είδη, πιο απαιτητικά ως προς την ποιότητα διατροφής τους.

Το Καλανοειδές Κωπήποδο *Calanipeda aquaedulcis* εγκλιματίστηκε επιτυχώς στις συνθήκες του εργαστηρίου μας και στη συνέχεια καλλιεργήθηκε σε μαζική κλίμακα. Όμως πρόκειται για ένα είδος που ευδοκίμει σε αλατότητες κάτω από 15‰. Σε τέτοια επίπεδα αλιεύτηκε και καλλιεργήθηκε αρχικά με μεγάλη επιτυχία. Θα έπρεπε να μελετηθεί λοιπόν η συμπεριφορά του είδους (αύξηση, επιβίωση, όρια ανοχής, αναπαραγωγή) και σε υψηλότερες αλατότητες, με απώτερο στόχο την χρησιμοποίησή του ως θήραμα σε καλλιέργειες ιχθυονυμφών θαλασσινών ειδών, που ως γνωστόν πραγματοποιούνται στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς σε νερά αλατότητας από 30 έως 39 ‰ ανάλογα με το αν τα νερά αυτά αντλούνται από γεώτρηση ή κατευθείαν από τη θάλασσα. Η παρούσα εργασία οργανώθηκε λοιπόν με τέτοιο τρόπο ώστε να διερευνηθεί η δυνατότητα χρησιμοποίησής του είδους στις καλλιέργειες ιχθυονυμφών θαλασσινών ψαριών.

2.2 Τα Κωπήποδα

Τα Κωπήποδα είναι υδρόβιοι ασπόνδυλοι οργανισμοί. Αποτελούν την σημαντικότερη ομάδα του ζωοπλαγκτού. Η ονομασία τους προήλθε από τις αρχαιοελληνικές λέξεις “κώπη”, δηλαδή κουπί και “πους”, δηλαδή πόδι. (Støttrup, 2003).

Η Υφομοταξία Κωπήποδα ανήκει στην Ομοταξία Καρκινοειδή στο φύλο των Αρθρόποδων. Υπάρχουν συνολικά 10 τάξεις Κωπηπόδων (Μονστριλοειδή, Σιφωνοστοματοειδή, Ποικιλοστοματοειδή, Μορμονιλοειδή, Αρπακτικοειδή, Κυκλωποειδή, Γελυελοειδή, Μισοφριοειδή, Καλανοειδή, Πλατυκοποειδή), 200 οικογένειες, 1650 γένη και περισσότερα από 11500 είδη Κωπηπόδων (Humes, 1994). Το 75% των ειδών ζει στη θάλασσα και το 25% στο γλυκό νερό (Mauchline, 1998). Τα περισσότερα είναι ολοπλαγκτονικά είδη, υπάρχουν όμως και βενθικά, όπως επίσης και παρασιτικά (σε ψάρια, καρχαρίες, θαλάσσια θηλαστικά, μαλάκια, χιτωνοφόρα, κοράλλια κ.ά.). Τα περισσότερα είδη Κωπηπόδων είναι γονοχωριστικά και παρουσιάζουν φυλετικό διμορφισμό. Αφήνουν τα αυγά τους ελεύθερα στο περιβάλλον ή δημιουργούν ωοσάκκους. Όσον αφορά τη διατροφή τους, τα Κωπήποδα διακρίνονται σε φυτοπλαγκτονοφάγα, σαρκοφάγα και παμφάγα.

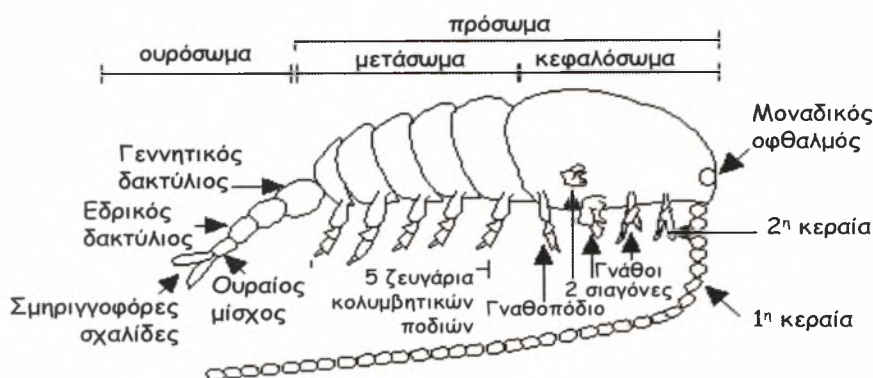
Το σώμα τους χωρίζεται σε τρία τμήματα: το κεφάλι (κεφαλόσωμα), τον θώρακα (μετάσωμα) και την κοιλία (ουρόσωμα). Ο θώρακας και η κοιλία αποτελούνται από μεταμέρη (Støttrup, 2003).

Τα πιο κοινά είδη ανήκουν στις τάξεις των Καλανοειδών, των Αρπακτικοειδών και των Κυκλωποειδών (Huys & Boxsall, 1991). Τα Καλανοειδή και τα Κυκλωποειδή είναι πελαγικά είδη. Το κεφάλι και τα θωρακικά μεταμέρη είναι πλατύτερα από τα κοιλιακά, στα δε Κυκλωποειδή πολύ πλατύτερα. Μεταξύ τους διαφέρουν επίσης στο μήκος των κεραιών. Στα Καλανοειδή οι κεραιές είναι πολύ μακριές, καλύπτοντας το σύνολο του κεφαλοθώρακα σε αντίθεση με τα Κυκλωποειδή. Τα Αρπακτικοειδή είναι βενθικά είδη, έχουν εντελώς κυλινδρικό σώμα και κοντές κεραιές (Støttrup, 2003).

2.2.1 Τα Καλανοειδή Κωπήποδα

Τα Καλανοειδή είναι μία από τους σημαντικότερες τάξεις Κωπήποδων. Περιλαμβάνει 43 οικογένειες με περίπου 2000 είδη (Boltovsoy et al, 1999).

Πρόκειται για είδη πελαγικά, διαβιούν δηλαδή σε όλη τη στήλη του νερού. Χαρακτηριστικό τους γνώρισμα είναι οι μακριές αρθρωτές κεραίες. Τα ενήλικα άτομα έχουν κυλινδροκωνικό σώμα με μήκος το οποίο κυμαίνεται από 1 έως 5mm (Støttrup, 2003). Ο κορμός αποτελείται από δύο ξεχωριστά μέρη, το πρόσωμα και το ουρόσωμα (εικόνα 1).



Εικόνα 1: Εξωτερική μορφολογία Καλανοειδούς Κωπήπόδου.

Πηγή: www.enchantedlearning.com.

Το πρόσωμα υποδιαιρείται σε άλλα δύο μέρη, το κεφαλόςωμα (κεφάλι) και το μετάσωμα (θώρακας). Το κεφαλόςωμα αποτελείται από ένα δακτύλιο, ενώ το μετάσωμα και το ουρόσωμα (κοιλία) αποτελούνται από 5 θωρακικούς δακτυλίους το κάθε ένα (Støttrup, 2003).

Τα Καλανοειδή εμφανίζουν σεξουαλικό διμορφισμό, όσον αφορά τη μορφολογία του πέμπτου ζεύγους θωρακικών ποδιών. Στα θηλυκά άτομα το ζεύγος αυτό είναι συνήθως ατροφικό ή μπορεί να απουσιάζει, ενώ αντίθετα στα αρσενικά είναι μεγάλο και μετατρέπεται σε όργανο κατάλληλο για την μεταφορά των σπερματοφόρων στον γεννητικό πόρο του θηλυκού κατά την σύζευξη (Støttrup, 2003 ; Mauchline, 1998).

Ανάλογα με τον τύπο της τροφής τους, τα Καλανοειδή Κωπήποδα διακρίνονται σε φυτοφάγα και σαρκοφάγα ενώ υπάρχει ένας ορισμένος αριθμός ειδών ο οποίος εμφανίζει μεικτή διατροφή. Τα φυτοφάγα τρέφονται με φυτοπλαγκτονικούς οργανισμούς, ενώ τα σαρκοφάγα τρέφονται με προνύμφες Κωπήποδων, πρωτόζωα, τροχόζωα κ.α. Ο μηχανισμός

πρόσληψης της τροφής είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικός. Τα προσαρτήματα του στόματος παράγουν ένα ρεύμα νερού από εμπρός προς τα πίσω. Μόλις οι δέκτες της τροφής εντοπίσουν μικροφύκη λ.χ. οι σιαγόνες ανοίγουν. Το νερό με τα κύτταρα απορροφούνται μεταξύ των σιαγόνων. Όταν ο στοματικός θάλαμος κλείσει, το νερό πιέζεται προς τα έξω. Τα κύτταρα των φυκών παγιδεύονται μεταξύ των σκληρών τριχών των σιαγόνων (Støttrup, 2003).

Η κίνηση των τροφικών εξαρτημάτων αλλά και των μακριών κεραιών βοηθά τις μετακινήσεις του Κωπηπόδου προωθώντας το στο νερό. Για τις πιο γρήγορες μετακινήσεις χρησιμοποιούνται τα κολυμβητικά πόδια. Μερικά είδη παρουσιάζουν κάθετες μεταναστεύσεις ανεβαίνοντας στην επιφάνεια του νερού κατά τη διάρκεια της νύχτας και κατεβαίνοντας σε αρκετά μέτρα βάθος κατά την ημέρα. Η ταχύτητα μετακίνησής τους φθάνει έως τα 90 μέτρα ανά ώρα (Mauchline, 1998).

Οι οργανισμοί αυτοί παίζουν σημαντικό ρόλο στην μεταφορά της ύλης και της ενέργειας ενώ με την βύθισή τους κατά το θάνατό τους αποτελούν τροφή για τους οργανισμούς που ζουν σε μεγάλα βάθη. Είναι τόσο άφθονα που μόνον τα κόπρανά τους φαίνεται να έχουν ένα σημαντικότατο ρόλο στην ανακύκλωση των ωκεανών σε θρεπτικά συστατικά.

Η γονιμοποίηση επιτελείται κατά κανόνα με σύζευξη, κατά την οποία το αρσενικό συλλαμβάνει και ακινητοποιεί το θηλυκό, χρησιμοποιώντας τα εξαρτήματα του πρώτου ζεύγους κεραιών ή το πέμπτο ζεύγος θωρακικών ποδιών. Στη συνέχεια το αρσενικό τοποθετεί το σπερματοφόρο του (χιτινώδης σάκος γεμάτος με σπερματοζωάρια) στο γεννητικό πόρο του θηλυκού. Τα αυγά γεννιούνται μεμονωμένα και εγκαταλείπονται στη θάλασσα όπου και αποτελούν μέρος του πλαγκτού. Σε μερικά είδη τα αυγά εγκλείονται σε σάκους (ωοσάκους), οι οποίοι κρέμονται από τον γεννητικό πόρο του θηλυκού ατόμου και παραμένουν εκεί μέχρι την εκκόλαψη (Mauchline, 1998).

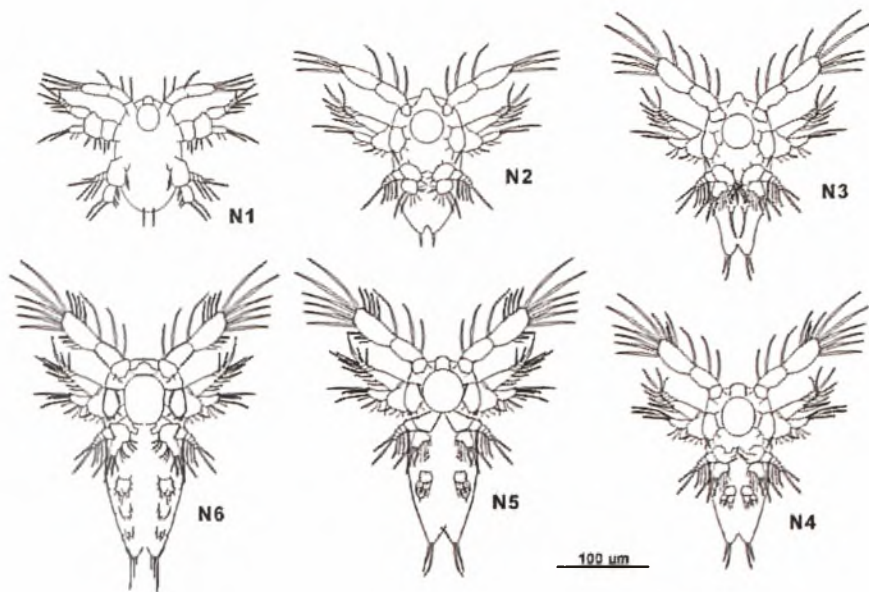
Μερικά Καλανοειδή γεννούν αβγά σε λανθάνουσα κατάσταση (resting eggs) ώστε να είναι δυνατή η διατήρησή τους ως είδη και μετά από άσχημες περιβαλλοντικές συνθήκες. Τα αβγά αυτά φέρουν χονδρό κέλυφος από παχύ πολυστρωματικό χορείο και μπορούν να επιβιώσουν για μακρές περιόδους ύπνωσης (dormancy) (Marcus, 2005 ; Støttrup, 2003). Το μέγεθος και τα εξωτερικά χαρακτηριστικά του κελύφους τους είναι κριτήρια ταυτοποίησης του είδους.

2.2.2 Αναπτυξιακά στάδια Καλανοειδούς Κωπηπόδου

Από το αβγό εκκολάπτεται μία προνύμφη (ναύπλιος) που μεταμορφώνεται διαδοχικά σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια (ναύπλιοι και κωπηποδίτες) με τελευταίο το ενήλικο στάδιο. Ο χρόνος ανάπτυξης από το αβγό στο ενήλικο επηρεάζεται από την θερμοκρασία και τα επίπεδα της τροφής. Κυμαίνεται από 1 έως 6 εβδομάδες αλλά μπορεί να διαρκέσει και περισσότερο. Η διάρκεια ζωής των ενηλίκων μπορεί να είναι από έναν έως αρκετούς μήνες (Mauchline, 1998 ; Støttrup, 2003).

Ειδικότερα, διακρίνονται δώδεκα κύρια στάδια ανάπτυξης: έξι ναυπλιακά (N1 έως N6), πέντε κωπηποδητικά (C1 έως C5) και το στάδιο του ενηλίκου. Η διάρκεια ολοκλήρωσης του κάθε σταδίου εξαρτάται από την θερμοκρασία του νερού και από την διαθεσιμότητα της τροφής. Ο οργανισμός τρέφεται για πρώτη φορά στο στάδιο N2, ενώ το αβγό και ο πρωτοεκκολαπτόμενος ναύπλιος συντηρούνται με τα λεκιθικά αποθέματα (Mauchline, 1998).

Όπως προαναφέρθηκε, οι πρώτες προνύμφες των Κωπηπόδων καλούνται **ναύπλιοι**. Χαρακτηριστικό τους γνώρισμα είναι ο μικρός αριθμός των προσαρτημάτων. Το πρώτο ναυπλιακό στάδιο διαθέτει μόλις τρία ζεύγη προσαρτημάτων, απαραίτητα για την μετακίνηση και την διατροφή τους. Στη συνέχεια, μέσω διαδοχικών εκδύσεων, ο οργανισμός αποκτά περισσότερα προσαρτήματα(εικόνα 2). Στα πιο προχωρημένα στάδια σχηματίζονται περισσότερα στοματικά εξαρτήματα και κολυμβητικά πόδια (Mauchline, 1998).

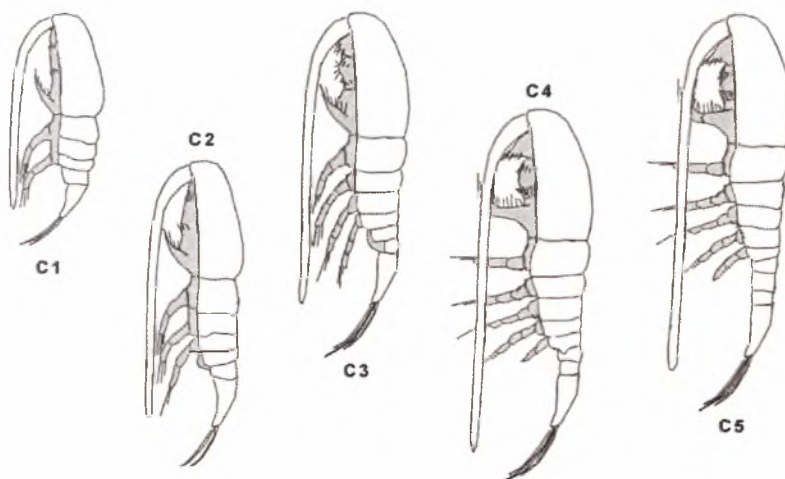


Εικόνα 2: τα έξι ναυπλιακά στάδια Καλανοειδούς Κωπηπόδου.

Πηγή: www.reef-guardian.com.

Το κάθε στάδιο προσδιορίζεται από την προοδευτική τριχοφυΐα στην άκρη του τρίτου τμήματος των κεραιών και από την προοδευτική ανάπτυξη του οπλισμού του τελικού μεταμεριδίου. Το N1 έχει από τρία τριχίδια στο ακροτελεύτιο τμήμα κεραιών και δύο σμήριγγες στο τελικό άκρο. Στο N4 υπάρχουν αντίστοιχα 9 έως 17 τριχίδια και 10 ή περισσότερες σμήριγγες (Mauchline, 1998).

Μετά το έκτο ναυπλιακό στάδιο, εμφανίζονται σημαντικές μορφολογικές αλλαγές. Ο οργανισμός επιμηκύνεται, η κατάτμηση γίνεται προφανής και ο **κωπηποδίτης** μοιάζει αρκετά με το ενήλικο Κωπήποδο. Πέντε στάδια κωπηποδιτών εμφανίζονται κατά την διάρκεια των οποίων αναπτύσσονται τα περισσότερα προσαρτήματα και μεταμερή (εικόνα 3).



Εικόνα 3: Κωπηποδητικά στάδια Καλανοειδούς Κωπηπόδου .

Πηγή: www.reef-guardian.com.

Τα διαδοχικά στάδια διακρίνονται από την προοδευτική ανάπτυξη της κατάτμησης του σώματος σε μεταμερή, την αυξανόμενη διαφοροποίηση των προσαρτημάτων και φυσικά την αύξηση των διαστάσεων του σώματος (Mauchline, 1998).



2.3 Η χρήση των Κωπηπόδων στην ιχθυοκαλλιέργεια

Η χρησιμοποίηση ζωντανών θηραμάτων για την καλλιέργεια των ιχθυοσυμφών θαλασσινών ειδών είναι απαραίτητη. Η έλλειψή της είναι ο κύριος λόγος της θνησιμότητας κατά την διάρκεια της μετάβασης από την ενδογενή διατροφή στην έναρξη της θήρευσης (Κλαδάς, 2001).

Στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς, η ζωντανή τροφή εξασφαλίζεται με την μαζική παραγωγή τροχοζώων *Brachionus plicatilis* και *Artemia* sp. Οι συγκεκριμένοι οργανισμοί είναι απαραίτητο να εμπλουτίζονται κύρια με πολυακόρεστα λιπαρά οξέα έτσι ώστε να αλλάξουν και να αυξήσουν την θρεπτική τους σύσταση (π.χ. προϊόντα Selco, INVE).

Τα Κωπήποδα πλεονεκτούν έναντι των τροχοζώων και της *Artemia* όσον αφορά τα επίπεδα και τις αναλογίες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (πίνακας 1). Οι συνέπειες από μια φτωχή διατροφή κατά την διάρκεια της ανάπτυξης των νυμφών κάποιες φορές είναι εμφανείς π.χ. χρωματισμός, παραμορφώσεις ψαριών, ενώ κάποιες άλλες φορές είναι άμεσες π.χ. στην αντοχή στο στρες (Morehead *et al.*, 2005 ; Payne *et al.*, 2001).

Έχει λοιπόν αποδειχθεί ότι η χρησιμοποίηση των Κωπηπόδων στις νυμφικές καλλιέργειες των θαλασσινών ψαριών έχει θετικά αποτελέσματα στην λαρβική αύξηση. Επίσης, έχει παρατηρηθεί καλύτερος χρωματισμός σε ιχθύδια τα οποία τράφηκαν με Κωπήποδα, τα οποία έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια, σε σύγκριση με εκείνα τα οποία διατράφηκαν με εμπλουτισμένη *Artemia* (Naess *et al.*, 1995 ; McEvoy *et al.*, 1998).

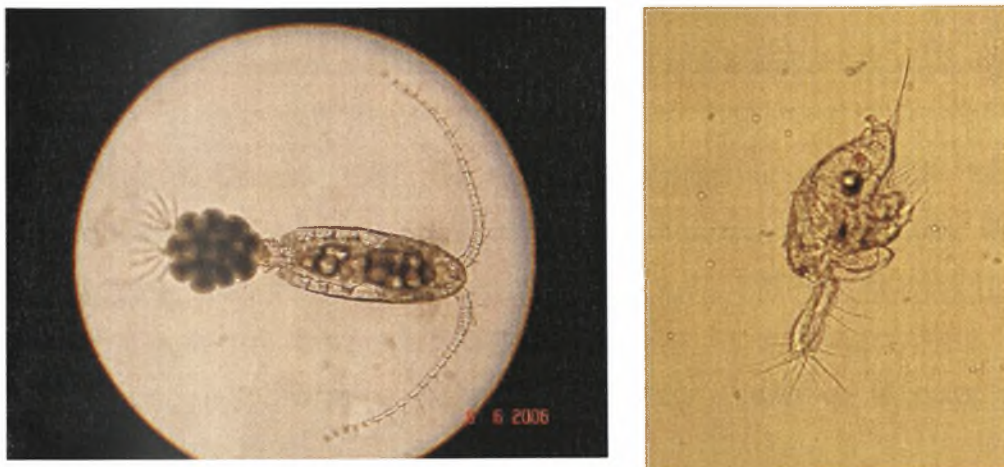
Πίνακας 1: Προφίλ λιπαρών οξέων (PUFA) (σε mg/g ξηρού βάρους) των ζωντανών θηραμάτων ιχθυοσυμφών. Τα τροχόζωα και η *Artemia* έχουν εμπλουτιστεί με Super Selco (INVE S.A.) ενώ τα Κωπήποδα, οι ναύπλιοι και τα ενήλικα με συνδυασμό *T-Isocryshis* και *N. oculata* (Payne et al., 2001).

Fatty acid	Enriched rotifers	Enriched <i>Artemia</i>	Copepod nauplii	Copepod adults
14:0	1.5±0.2	1.8±0.1	6.0±0.9	78.1±6.6
14:1	–	0.7±0.0	–	–
16:0	7.9±1.6	14.0±0.3	13.4±1.6	76.0±7.2
16:1	4.5±1.0	6.1±0.2	1.8±0.4	18.1±3.8
17:0	–	0.8±0.1	–	1.7±0.3
18:0	2.6±0.7	5.3±0.1	2.4±1.2	8.1±0.9
18:1	8.4±2.2	22.1±0.3	11.3±2.0	103.5±18.5
18:2	3.7±0.9	9.1±0.1	2.7±0.4	36.1±3.5
18:3n-3	2.9±1.5	21.1±0.5	1.7±0.3	24.0±2.1
18:4n-3	0.3±0.1	3.0±0.0	4.5±0.7	22.6±1.9
20:0	0.8±0.2	0.2±0.1	–	–
20:1	1.9±0.3	0.9±0.0	–	3.9±0.4
20:2	1.1±0.4	0.2±0.0	1.8±0.7	4.0±0.4
20:4n-6	0.6±0.1	1.4±0.0	0.9±0.4	3.2±0.4
20:5n-3	13.2±1.2	15.4±0.2	2.8±0.2	10.1±1.4
22:6n-3	7.6±0.6	3.2±0.0	10.1±0.9	49.1±4.8
24:0	2.6±0.1	0.7±0.1	–	–
DHA/EPA	0.6	0.2	3.6	4.9
DW (μg/individual)	0.11	2.64	0.10	6.12
Length (μm)	100–280	570–580	125–265	880–970

Παρά τα πλεονεκτήματα από τη χρήση των Κωπήπόδων, τα εμπλουτισμένα τροχόζωα και η *Artemia* θα συνεχίσουν να αποτελούν την βασική τροφή στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς. Αυτό συμβαίνει γιατί προς το παρόν η καλλιέργεια των Κωπήπόδων παραμένει σε πιλοτικό στάδιο καθώς η μαζική τους παραγωγή δεν είναι ακόμα εφικτή και κατά συνέπεια το κόστος παραγωγής τους παραμένει ιδιαίτερα υψηλό.

2.4 Το είδος *Calanipeda aquaedulcis*

Το *Calanipeda aquaedulcis* είναι ένα ευκαιριακό είδος το οποίο εμφανίζει πληθυσμιακή έκρηξη τους εαρινούς μήνες σε υφάλμυρα νερά (Nicolaidou *et al.*, 2005 ; Frisch *et al.*, 2006).



Εικόνα 4: Αριστερά, θηλυκό άτομο *Calanipeda aquaedulcis* με ωόσακκο. Δεξιά, ναύπλιος

Ειδικότερα στην ευρύτερη περιοχή της Ηπείρου, το είδος απαντάται στις λιμνοθάλασσες Ροδιά και Τσουκαλιό του Αμβρακικού, στο Δέλτα των ποταμών Λούρου-Αράχθου (εικόνα 5).



Εικόνα 5: Αριστερά, αεροφωτογραφία των λιμνοθαλασσών Ροδιά και Τσουκαλιό. Δεξιά, δειγματοληψία ζωοπλακτού στη λιμνοθάλασσα.

Το είδος εμφανίστηκε σε αυτές τις περιοχές το Φεβρουάριο του 2006 αντικαθιστώντας το είδος *Acartia tonsa*, που ήταν κυρίαρχο τους αμέσως προηγούμενους χειμερινούς μήνες, έως το Ιούνιο του ίδιου έτους (Κλαδάς κ.ά., 2007b). Σε όλο το ανωτέρω διάστημα οι αλατότητες στις δύο αυτές λιμνοθάλασσες ήταν σε επίπεδα μικρότερα των 10‰.

Για τη βιολογία του είδους αυτού υπάρχουν ελάχιστες βιβλιογραφικές αναφορές, κυρίως από παρατηρήσεις στο πεδίο (Baudin & Champreau, 1977; Menendez & Comin, 1986; Treer, 1990; Brucet *et al.*, 2005). Μία μόνο επιστημονική ανακοίνωση αναφέρεται στις πρώτες προσπάθειες εντατικής καλλιέργειάς του στο εργαστήριο (Κλαδάς κ.ά., 2007a). Η βιοχημική του σύσταση κρίνεται διατροφικά κατάλληλη για τη χρησιμοποίησή του σε καλλιέργειες ιχθυονυμφών θαλασσινών ειδών (Vilela & Bandarra 2002; Tzovenis *et al.*, 2007).

3 Μέθοδοι και υλικά

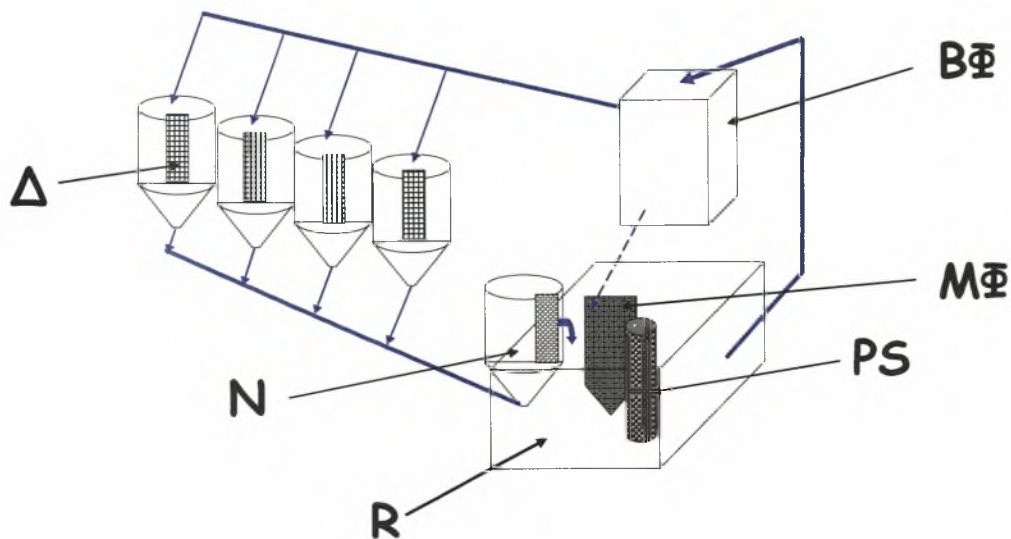
3.1 Η Προέλευση των ζώων

Πληθυσμός του είδους *Calanipeda aquaedulcis* συλλέχτηκε με σύρση πλαγκτικού διχτυού, ανοίγματος ματιού 150 μm, από την λιμνοθάλασσα Τσουκαλιό στο Δέλτα του ποταμού Λούρου στον Αμβρακικό κόλπο, το Φεβρουάριο του 2006.

Το είδος αυτό απομονώθηκε, ταυτοποιήθηκε και εγκλιματίστηκε επιτυχώς στις συνθήκες του εργαστηρίου μας και στη συνέχεια καλλιεργήθηκε σε μαζική κλίμακα για 18 περίπου μήνες πριν χρησιμοποιηθεί γι' αυτή τη μελέτη.

3.2 Το σύστημα καλλιέργειας

Για την καλλιέργεια του είδους και την παραγωγή ναυπλίων, χρησιμοποιήθηκε σύστημα επανακυκλοφορίας του νερού αποτελούμενο από κυβική δεξαμενή αποθήκευσης του νερού (ρεζερβουάρ), μηχανικό και βιολογικό φίλτρο καθώς και "protein scimmer". Στο σύστημα αυτό έχουν ενσωματωθεί τέσσερις δεξαμενές καλλιέργειας, χωρητικότητας 60 l η κάθε μία (εικόνα 6), με κεντρικό φίλτρο αποχέτευσης "ανοίγματος" ματιού 150 μm και δεξαμενή συλλογής ναυπλίων με φίλτρο αποχέτευσης "ανοίγματος" ματιού 53 μm. Ο σχεδιασμός του συστήματος βασίστηκε στην εργασία των Payne & Ripplingale (2001a).



Εικόνα 6: Σύστημα παραγωγής Κωπηπόδων σε κλειστό κύκλωμα. (Δ): δεξαμενές καλλιέργειας με κεντρικό φίλτρο αποχέτευσης (σήτα ανοίγματος «ματιού» 150 μm), (N): δεξαμενή συλλογής ναυπλίων με πλευρικό φίλτρο αποχέτευσης (σήτα ανοίγματος «ματιού» 150 μm), (R): ρεζερβουάρ, (PS): Protein skimmer, (MΦ): μηχανικό φίλτρο, (BΦ): βιολογικό φίλτρο.

Καθημερινά ο όγκος του νερού που φιλτράρεται στην δεξαμενή συλλογής, αποχετεύεται προς καθαρισμό στο ρεζερβουάρ του κλειστού κυκλώματος (βλέπε κατωτέρω παράγραφο 3.3). Η αναπλήρωσή του στις δεξαμενές καλλιέργειας γίνεται μαζί με την προσθήκη τροφής στη διάρκεια της ημέρας.

Η διατροφή των Κωπηπόδων βασίστηκε στα μικροφύκη *Rhodomonas salina* (Cryptophyceae) και *Isochrysis aff. galbana* (T-ISO) (Prymnesiophyceae) πυκνότητας καλλιέργειας 1×10^6 κύτταρα ανά ml και 6×10^6 κύτταρα ανά ml αντίστοιχα (εικόνα 7).



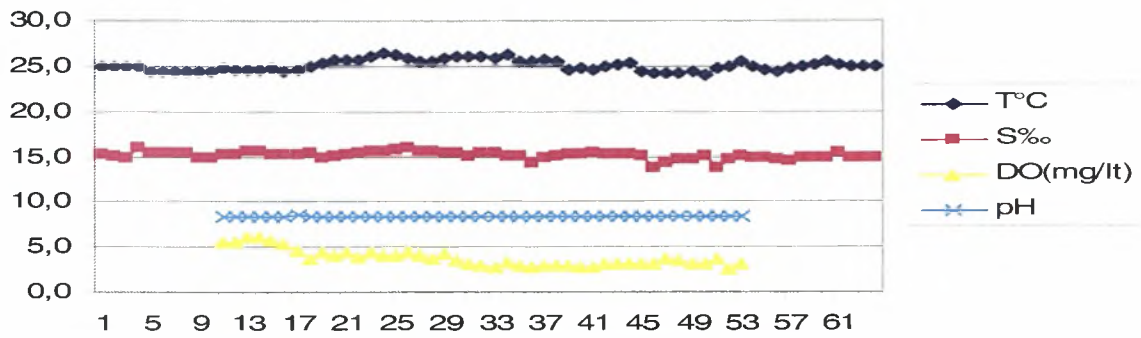
Εικόνα 7: Παραγωγή των μικροφυκών *R. salina* και T-ISO για το τάϊσμα των Κωπηπόδων.

Τα είδη αυτά έχουν χρησιμοποιηθεί από πολλούς ερευνητές με καλά αποτελέσματα για τη διατροφή των Καλανοειδών Κωπηπόδων (Drillet, 2003 ; Støttrup *et al.*, 1986 ; Støttrup & Jensen 1990 ; Schipp *et al.*, 1999 ; Zillioux, 1969(in Kinne, 1976)). Η αναλογία φυτοπλαγκτικών κυττάρων από τα δύο αυτά είδη στη διατροφή των Κωπηπόδων ήταν 1:1. Οι συγκεντρώσεις φυτοπλαγκτικών κυττάρων στο μέσο καλλιέργειας ήταν της τάξεως των 2×10^5 κύτταρων ανά ml στα ώριμα στάδια.

Για τις μετρήσεις των παραμέτρων του νερού των καλλιεργειών χρησιμοποιήθηκαν θερμομέτρο ακρίβειας 0,5 °C, επιτραπέζιο pH-μετρο (Rusesel, RLSO10), φορητό οξυγονόμετρο (Oxygard, handy) και φορητό διαθλασίμετρο (Atago hand refractometer, Salinity 0-100‰) για τον έλεγχο της αλατότητας.

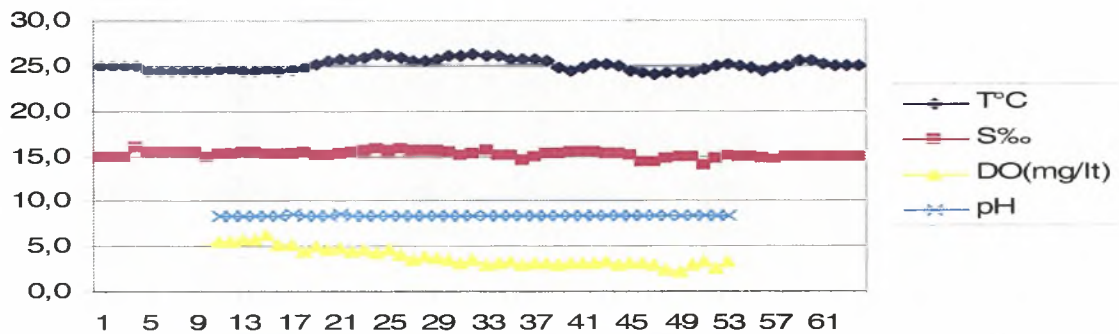
Οι φυσικοχημικές παράμετροι κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας των Κωπηπόδων κυμάνθηκαν σε σχετικά σταθερά επίπεδα (γραφήματα 1, 2 & 3). Συγκεκριμένα η αλατότητα του νερού ήταν 15‰, η θερμοκρασία κυμάνθηκε στους 25 °C, το διαλυμένο οξυγόνο σε επίπεδα 3,5 ως 5,4 mg/l, ενώ το pH 8,5. Ο φωτισμός των καλλιεργειών ήταν έμμεσος από τα φώτα της αίθουσας και δεν ξεπερνούσε τα 200 lux στην επιφάνεια των δεξαμενών.

Δεξαμενή 1 (29/06-31/08/2007)



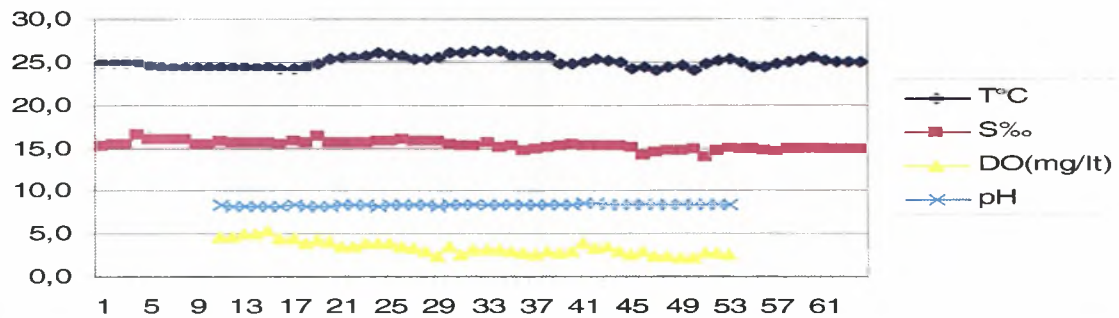
Γράφημα 1: Εξέλιξη των κυριότερων φυσικοχημικών παραμέτρων στην δεξαμενή καλλιέργειας 1 στο διάστημα παρακολούθησης.

Δεξαμενή 2 (29/06-31/08/2007)



Γράφημα 2: Εξέλιξη των κυριότερων φυσικοχημικών παραμέτρων στην δεξαμενή καλλιέργειας 2 στο διάστημα παρακολούθησης.

Δεξαμενή 3 (29/06-31/08/2007)

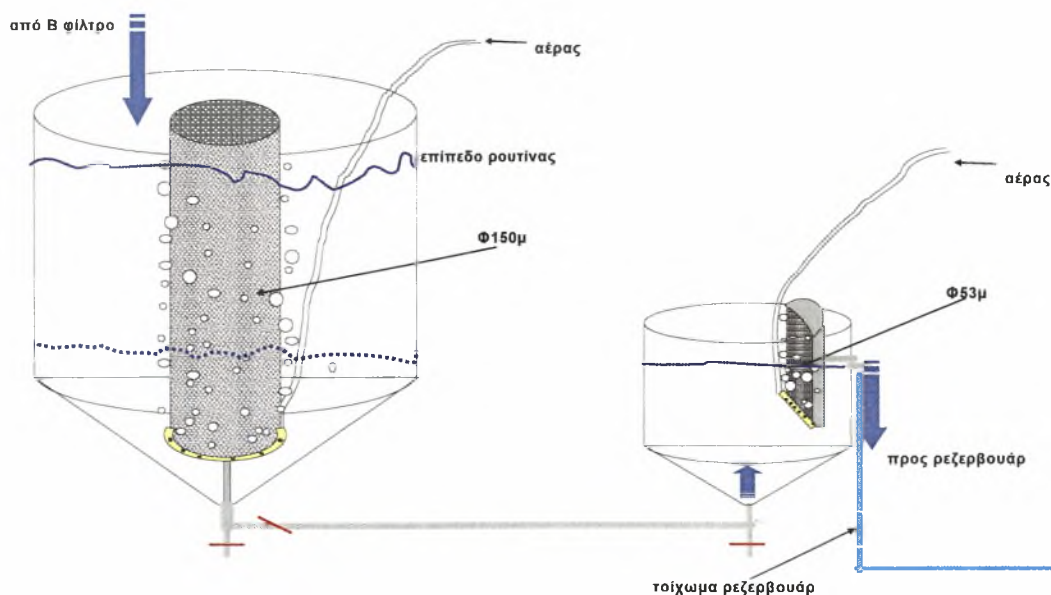


Γράφημα 3: Εξέλιξη των κυριότερων φυσικοχημικών παραμέτρων στην δεξαμενή καλλιέργειας 3 στο διάστημα παρακολούθησης.

3.3 Η Παραγωγή των ναυπλίων

Για την παραγωγή των ναυπλίων χρησιμοποιήθηκαν τρεις δεξαμενές καλλιέργειας Κωπηπόδων. Σε κάθε δεξαμενή εισήχθησαν 30.000 ναύπλιοι. Η συγκομιδή των ναυπλίων άρχισε στην δεξαμενή 1 από την ενδέκατη ημέρα καλλιέργειας όταν τα ζώα είχαν μπει ήδη σε φάση αναπαραγωγής, ενώ στην δεξαμενή 2 την εικοστή δεύτερη ημέρα και στην δεξαμενή 3 την τριακοστή τρίτη. Η επιλογή αυτή έγινε με σκοπό να διαπιστώσουμε σύντομα ποιά θα ήταν η καλύτερη δυνατή διαχείριση της κάθε δεξαμενής: η συστηματική αφαίρεση των ναυπλίων από την αρχή ή ο εγκλιματισμός των πρώτων γενεών με ενδεχόμενη αύξηση του πληθυσμού τους πριν την έναρξη της συγκομιδής.

Για την καθημερινή συγκομιδή των ναυπλίων από την δεξαμενή συλλογής τους (εικόνες 8 & 9), χρησιμοποιήθηκε ένα φίλτρο με "άνοιγμα" ματιού 80 μm προσαρμοσμένο σε ανοιχτό δοχείο χωρητικότητας 0,75 l περίπου, ένας κάδος από λευκό πολυαιθυλένιο χωρητικότητας 30 l και φιλτραρισμένο (0,2 μm) θαλασσινό νερό αλατότητας 15‰.



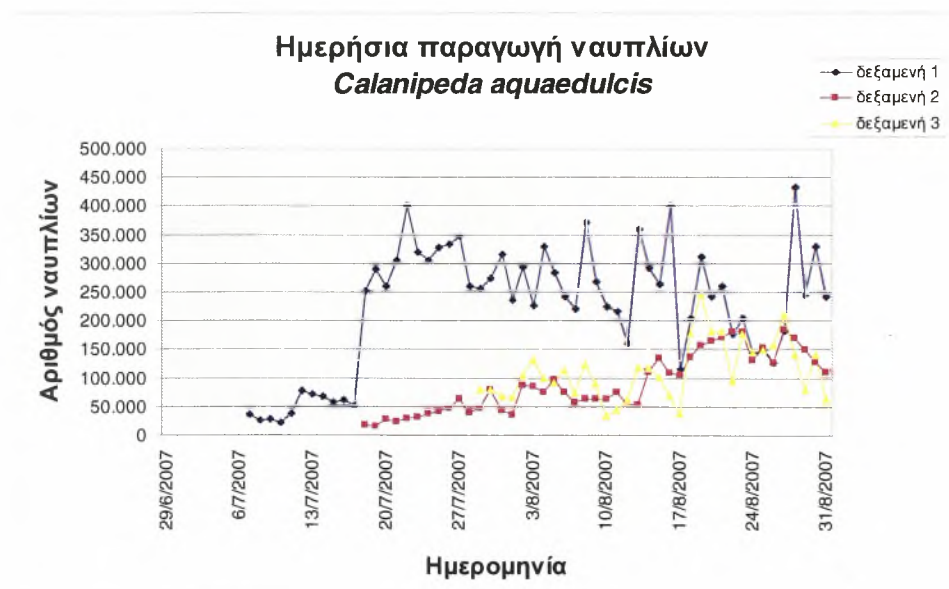
Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση της δεξαμενής συλλογής των ναυπλίων στο κλειστό κύκλωμα καλλιέργειας Κωπηπόδων



Εικόνα 9: Η δεξαμενή συλλογής ναυπλίων στο κλειστό κύκλωμα καλλιέργειας Κωπηπόδων.

Για την μέτρηση των ναυπλίων από τον κάδο συλλογής, λαμβάνονταν τυχαίο δείγμα με την βοήθεια ενός ποτηριού ζέσεως του 1 l. Το δείγμα μεταφερόταν στη συνέχεια σε γυάλινη φιάλη χωρητικότητας επίσης 1 l στην οποία προσαρμόζονταν μία ειδική γυάλινη πιπέτα χωρητικότητας 10 ml (τύπος NS 29,2 / 32, Witeg, Germany). Μετά από αναστροφή-ανάδευση της φιάλης, λαμβάνονταν 6 υποδείγματα για καταμέτρηση στο στερεοσκόπιο (Paralux).

Η καθημερινή παραγωγή των ναυπλίων στο κλειστό κύκλωμα κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης, παρουσιάζεται στο γράφημα 4.



Γράφημα 4: Εξέλιξη της παραγωγής ναυπλίων *Calanipeda aquaedulcis* από τις δεξαμενές καλλιέργειας Κωπηπόδων.

Η ημερήσια παραγωγή του συστήματος κυμάνθηκε από 21.000 έως 742.000 ναυπλίους. Η απόδοση της δεξαμενής 1, στην οποία αφαιρούνταν συστηματικά οι ναύπλιοι από το ξεκίνημα σχεδόν της παραγωγής τους, κυμάνθηκε σε σαφώς υψηλότερα επίπεδα από τις άλλες δύο. Άρα η καθημερινή συγκομιδή των ναυπλίων συνιστά την καλύτερη μέθοδο παραγωγής.

Είναι δύσκολο να ερμηνευτεί το φαινόμενο και σίγουρα χρειάζεται για το σκοπό αυτό να πραγματοποιηθεί ιδιαίτερη έρευνα στο μέλλον. Πιθανόν στις δεξαμενές 2 και 3 να εκδηλώθηκαν κανιβαλιστικές πιέσεις, θήρευση δηλαδή των νεαρών σταδίων από τα ενήλικα όπως υποθέτουν για το ίδιο είδος σε καλλιέργεια οι Κλαδάς και συνεργάτες (2007a), φαινόμενο σύνηθες κατά τα άλλα, είτε σε καλλιεργούμενους πληθυσμούς Καλανοειδών Κωπηπόδων (Støttrup *et al.* 1986, Ohno *et al.* 1990, Schipp *et al.* 1999), είτε στη φύση σε περιόδους πληθυσμιακής έξαρσης (Uye & Liang 1998). Μία άλλη πιθανή εξήγηση είναι το να έχει επηρεαστεί η γονιμότητα από την διαθεσιμότητα της τροφής ανά Κωπήποδο (Mauchline 1998), στην περίπτωση μας εξαιτίας της συστηματικής αφαίρεσης των ναυπλίων.

Για τα πειράματά μας χρησιμοποιήσαμε 57.000 ναύπλιους από την ημερήσια παραγωγή της δεξαμενής 1 (15/07/2007).

3.4 Ανάπτυξη και επιβίωση

Περίπου 57.000 ναύπλιοι μοιράστηκαν σε 9 δοχεία (κανάτες) με όγκο νερού 2 l το καθένα (περίπου 3,2 άτομα ανά ml). Τρεις κανάτες είχαν νερό αλατότητας 15‰ (K1, K2, K3), τρεις 20‰ (K4, K5, K6) και τρεις 25‰ (K7, K8, K9). Οι αλατότητες επιτυγχάνονταν με ανάμειξη φιλτραρισμένου (0,2 μm) φυσικού θαλασσινού νερού 39‰ και εμφιαλωμένου πόσιμου νερού. Η οξυγόνωση του νερού και η ομογενοποίηση της καλλιέργειας γινόταν με ήπια παροχέτευση αέρα από το στόμιο γυάλινης πιπέτας (αργές φυσαλίδες) στην οποία καταλήγει ανάλογης διαμέτρου διαφανής, εύκαμπτος, πλαστικός

σωλήνας συνδεδεμένος με το δίκτυο αερισμού του εργαστηρίου. Η διατροφή των Κωπηπόδων γινόταν με το μικροφύκος *Isochrysis aff. galbana* (T-ISO) πυκνότητας καλλιέργειας 6×10^6 κύτταρα ανά ml σε μέσο αλατότητας 20‰. Ο χώρος στον οποίο αναπτύχθηκαν οι καλλιέργειες ήταν θερμοστατούμενος (air conditioned), ρυθμισμένος στους 23 °C.

Για την εκτίμηση της βιωσιμότητας, γινόταν καθημερινά καταμέτρηση ενός δείγματος του πληθυσμού και στις 9 κανάτες. Ο τρόπος δειγματοληψίας γινόταν όπως και στην προηγούμενη παράγραφο (3.3). Για την σύγκριση των δεδομένων υπολογίστηκε ο στιγμιαίος συντελεστής θνησιμότητας z και συγκρίθηκε στατιστικά. Ο ρυθμός μεταβολής ενός πληθυσμού σε σχέση με τον χρόνο dN/dt είναι ανάλογος του στιγμιαίου συντελεστή θνησιμότητας z και του μεγέθους του πληθυσμού πριν την μεταβολή N κατά το αντίστοιχο χρονικό διάστημα dt σύμφωνα με την διαφορική εξίσωση:

$$dN = -zNdt$$

που δέχεται τη λύση:

$$N = Ce^{-zt}$$

όπου C σταθερά της ολοκλήρωσης. Λογαριθμίζοντας την παραπάνω εξίσωση προκύπτει ότι:

$$\ln N = \ln C - zt$$

Και τοιουτοτρόπως διαπιστώνουμε ότι ο φυσικός λογάριθμος της αφθονίας του πληθυσμού ($\ln N$) είναι μια φθίνουσα συνάρτηση του χρόνου καλλιέργειας t (ο όρος $\ln C$ είναι μια σταθερά). Η κλίση της ευθείας αυτής σχέσης είναι ίση με τον στιγμιαίο συντελεστή της ολικής θνησιμότητας $-z$.

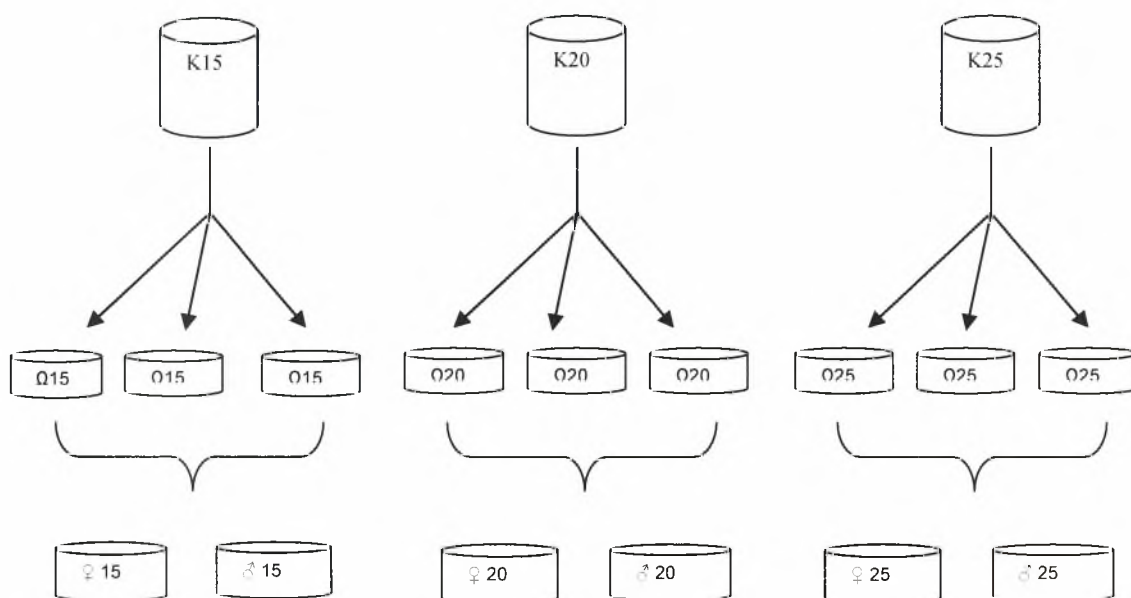
Για τη μελέτη της ανάπτυξης, 10 άτομα από κάθε δοχείο αλιεύονταν κάθε ημέρα και συντηρούνταν σε φορμαδεΰδη 4% εξουδετερωμένης με βόρακα για 30 ημέρες. Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις ολικού μήκους στους ναυπλίους και μήκους προσώματος στους κωπηποδίτες και τα ενήλικα. Πραγματοποιήθηκε καταγραφή σταδίου ανά άτομο.

3.5 Αντοχή των αναπτυξιακών σταδίων σε στρες αλατότητας

Η μελέτη της αντοχής των Κωπηπόδων στις αλατότητες 30 και 37‰ έγινε με ζώα τα οποία αλιεύτηκαν από ένα κουβά ανά αλατότητα (Κ2, Κ5 και Κ8 με αλατότητα 15‰, 20‰ και 25‰ αντίστοιχα) και αντίστοιχη μέτρηση της επιβίωσής τους. Από κάθε αλατότητα μεταφέρθηκαν 120 άτομα σε τέσσερα τρυβλία petri των 30 ml (30 άτομα ανά τρυβλίο), εκ των οποίων τα δύο τρυβλία είχαν νερό αλατότητας 30‰ και τα άλλα δύο 37‰. Δύο φορές την ημέρα, στις 10:00 και στις 18:00 η ώρα, απομακρύνονταν τα νεκρά και καταγράφονταν. Κατά την διάρκεια της παραμονής τους στα τρυβλία τα Κωπήποδα δεν ταΐζονταν για να φανεί καλύτερα, χωρίς την παροχή πρόσθετης ενέργειας, η επίδραση της ωσμωρύθμισης στην αντοχή του ζώου (Payne *et al.*, 2001b). Το πείραμα πραγματοποιήθηκε τρεις φορές, μία για τους ναυπλίους (16/07, ημέρα καλλιέργειας 2), μία για τους κωπηποδίτες (20/07, ημέρα 6) και μία για τα ενήλικα (27/07 ημέρα 13).

3.6 Επίδραση της αλατότητας στην ωρίμανση των θηλυκών

Η μελέτη του ρυθμού ωρίμανσης των Κωπηπόδων ανά αλατότητα έγινε χρησιμοποιώντας ζώα από τις καλλιέργειες K2, K5 και K8 με αλατότητες 15‰, 20‰ και 25‰ αντίστοιχα. Η διατροφή των Κωπηπόδων γινόταν με το μικροφύκος *Isochrysis aff. galbana* (T-ISO) πυκνότητας καλλιέργειας 6×10^6 κύτταρα ανά ml. Από κάθε αλατότητα, 120 άτομα ηλικίας 6 ημερών (σε κωπηποδητικό στάδιο) μεταφέρθηκαν σε δοχεία των 100ml (K15, K20 και K25) σε θερμοστατούμενο χώρο (23 °C). Η αλατότητα του μέσου του ταΐσματος ήταν 20‰. Κάθε μέρα, τα θηλυκά που φέραν ωοσάκκους αλιεύονταν και μεταφέρονταν σε ένα νέο δοχείο των 100 ml, σε μέσο ίδιας αλατότητας (εικόνα 10).

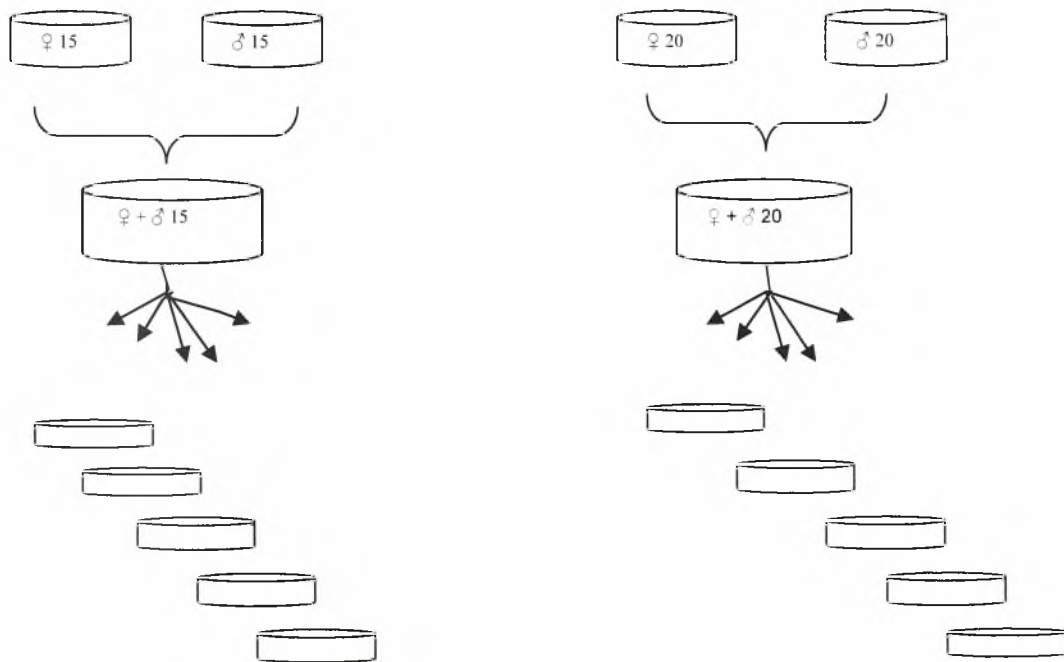


Εικόνα10: Σχηματική απεικόνιση της οργάνωσης μελέτης του ρυθμού ωρίμανσης των θηλυκών ατόμων ανά αλατότητα.

Το ποσοστό ωρίμανσης των θηλυκών ανά ημέρα, υπολογίστηκε βάσει του τελικού αριθμού των θηλυκών ατόμων που συλλέχτηκαν.

3.7 Επίδραση της αλατότητας στη γονιμότητα

Όταν όλα τα θηλυκά που απομονώθηκαν από το προηγούμενο πείραμα γέννησαν, ξανα-ανακατεύτηκαν με τα αρσενικά σε κοινό δοχείο και αφέθηκαν να γονιμοποιηθούν για 4 ημέρες σε θερμοστατούμενο χώρο (23 °C). Από κάθε καλλιέργεια μεταφέρθηκαν για διασταυρώσεις σε πέντε τρυβλία (20 ml), 2-3 αρσενικά Κωπήποδα και 3 θηλυκά. Η διατροφή των Κωπηπόδων γινόταν με το μικροφύκος *Isochrysis aff. galbana* (T-ISO) πυκνότητας καλλιέργειας 6×10^6 κύτταρα ανά ml. Μετά από 4 ημέρες όλα τα ζώα και οι απόγονοί τους θανατώθηκαν στα τρυβλία και μετρήθηκαν (εικόνα 11). Η αλατότητα του μέσου του ταΐσματος ήταν 20‰.



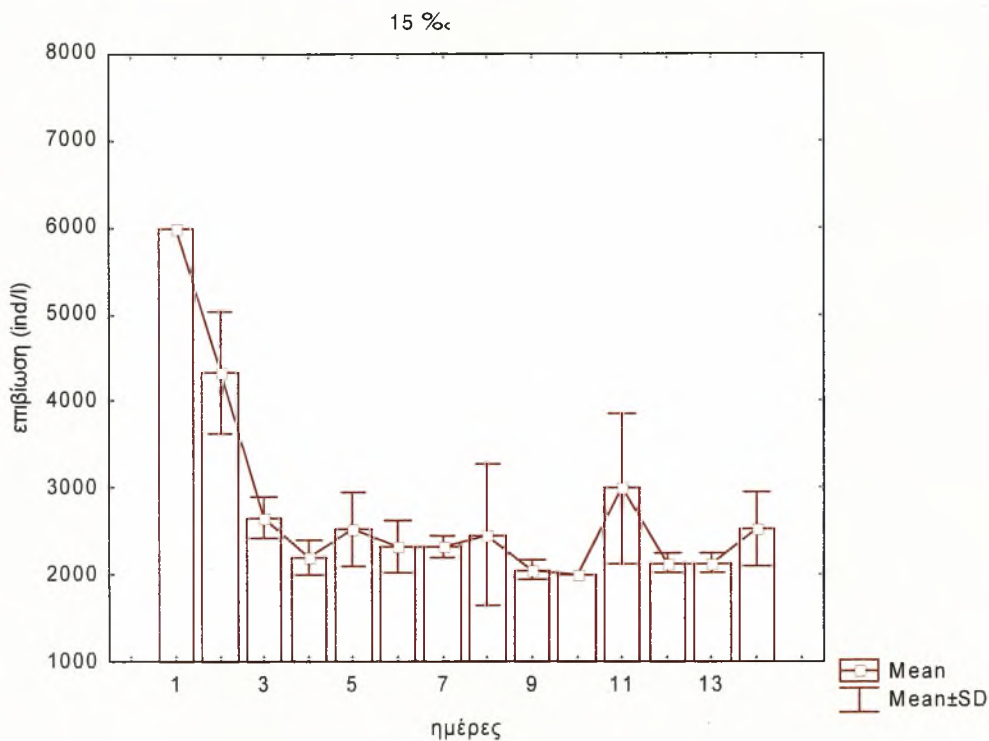
Εικόνα 11: Σχηματική απεικόνιση της οργάνωσης μελέτης της γονιμότητας εγκλιματισμένων ατόμων στις αλατότητες 15‰ και 20 ‰.

Η στατιστική επεξεργασία και η παρουσίαση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα STATISTICA (StatSoft Inc).

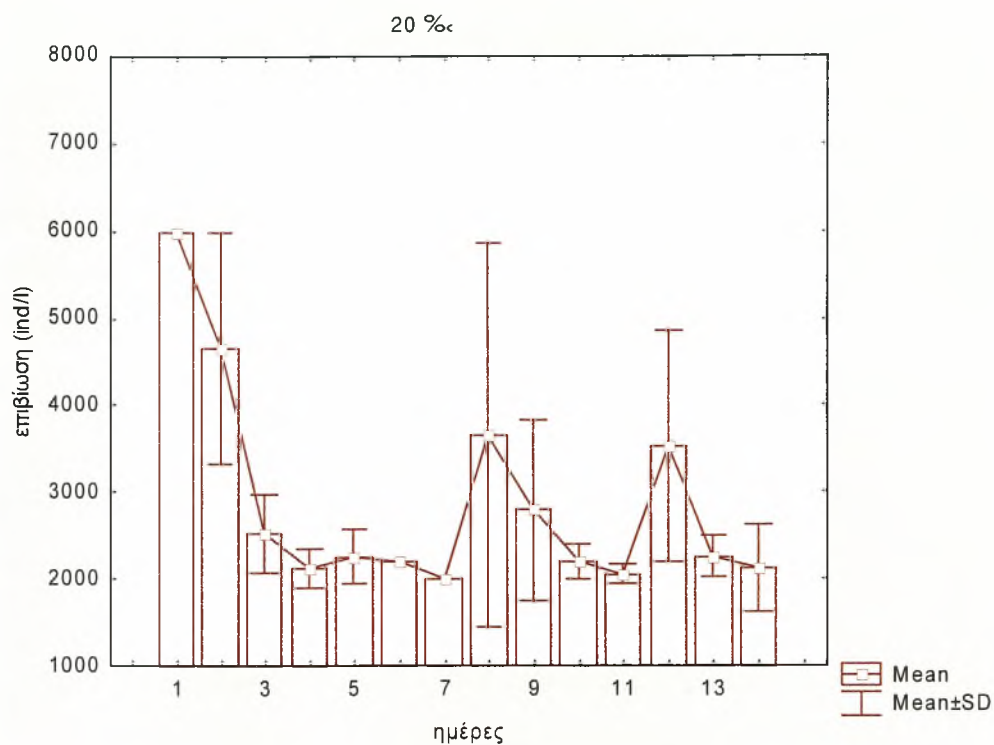
4 Αποτελέσματα

4.1 Επιβίωση σε διαφορετικές αλατότητες

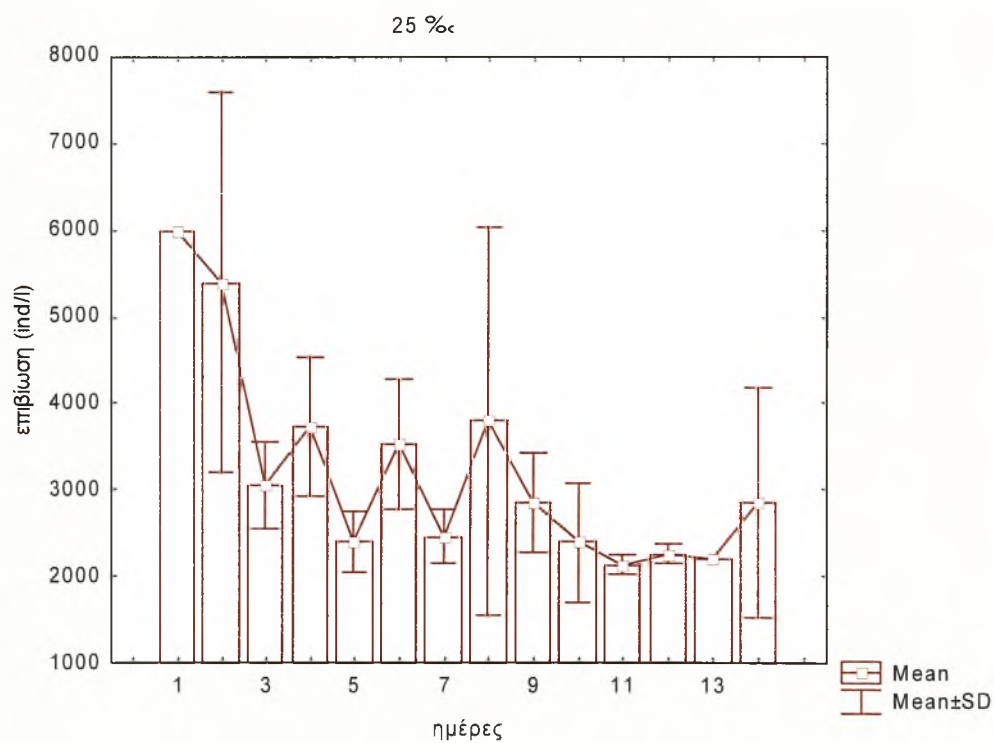
Στα γραφήματα 5, 6 και 7 παρουσιάζεται η επιβίωση του πληθυσμού του Κωπηπόδου *C. aquaedulcis* σε συνάρτηση με τον χρόνο για τις αλατότητες 15, 20 και 25‰ αντίστοιχα.



Γράφημα 5:Επιβίωση του Κωπηπόδου *C. aquaedulcis* στην αλατότητα 15 ‰.



Γράφημα 6: Επιβίωση του Κωπηπόδου *C. aquaedulcis* στην αλατότητα 20 ‰.



Γράφημα 7: Επιβίωση του Κωπηπόδου *C. aquaedulcis* στην αλατότητα 25 ‰.

Διαπιστώνουμε ότι και στις τρεις αλατότητες υψηλοί ρυθμοί θνησιμότητας εμφανίζονται κατά τη διάρκεια των πρώιμων ναυπλιακών σταδίων στις τρεις πρώτες ημέρες, ενώ στη συνέχεια οι πληθυσμοί σταθεροποιούνται. Η μέση επιβίωση από το πρώτο ναυπλιακό στάδιο έως το ενήλικο των δεκατεσσάρων ημερών στους 23°C, ήταν 42,2%, 35,6% και 47,7% για τις αλατότητες 15, 20 και 25‰ αντίστοιχα.

Οι στιγμιαίοι συντελεστές θνησιμότητας (z) βάσει των σχέσεων που συνδέουν τους λογαρίθμους της αφθονίας των πληθυσμών και ηλικίας των ζώων είναι 0.045, 0.039 και 0.058 ανά ημέρα. Στατιστική ανάλυση one-way ANOVA για την επίδραση της αλατότητας στην θνησιμότητα (z), δείχνει ότι υπάρχει επίδραση ($p < 0,05$) (πίνακας 2).

Πίνακας 2 : One-way ANOVA ανάλυση για την επίδραση της αλατότητας στην θνησιμότητα

Univariate Tests of Significance for zs slope (<i>Calanipeda</i> salinity survival) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of freedom	MS	F	p
Intercept	0,020384	1	0,020384	380,7875	0,000001
salinity	0,000561	2	0,000280	5,2389	0,048279
Error	0,000321	6	0,000054		

Ιεραρχώντας τα αποτελέσματα με την χρήση του στατιστικού τεστ Tukey HSD (honest significance distance – ειλικρινούς σημαντικής διαφοράς), διαπιστώνεται ότι το αποτέλεσμα για την αλατότητα 25‰ διαφέρει από τις άλλες δύο (πίνακας 3).

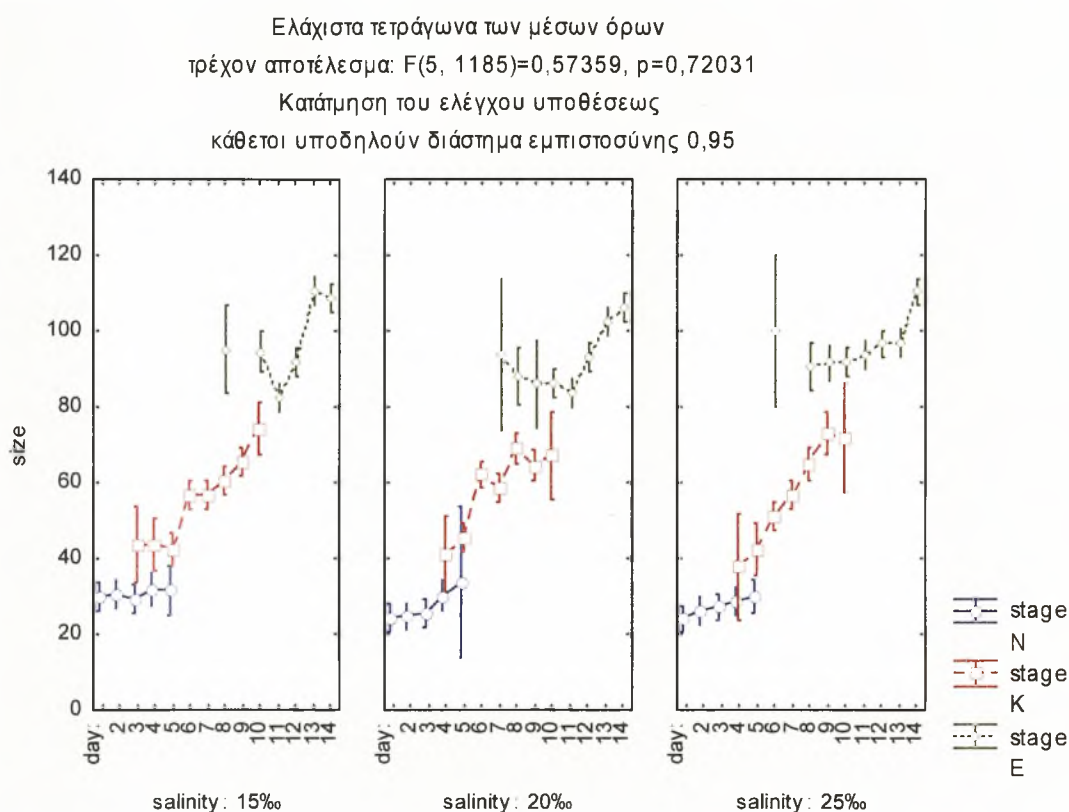
Πίνακας 3 : Αποτελέσματα Tukey HSD τεστ για τις αλατότητες 15, 20 και 25 ‰.

Tukey HSD test; variable zs slope (<i>calanipeda</i> salinity survival) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00005, df = 6,0000				
	salinity	{1}15‰	{2}20‰	{3}25‰
1	15‰		0,644815	0,145592
2	20‰	0,644815		0,045398
3	25‰	0,145592	0,045398	

4.2 Ανάπτυξη σε διαφορετικές αλατότητες

Στο γράφημα 8 παρουσιάζονται οι μετρήσεις του μέσου μεγέθους (ολικού μήκους ναυπλίων, μήκους προσώματος στους κωπηποδίτες και τα ενήλικα) των ατόμων *C. aquaedulcis* σε σχέση με την ηλικία των ζώων στις αλατότητες 15, 20 και 25‰.

Τα μεγέθη κυμάνθηκαν για μεν τα ναυπλιακά στάδια από 200 έως 480 μm, για δε τους κωπηποδίτες από 360 έως 800 μm και από 780 έως 1300 μm για τα ενήλικα.



Γράφημα 8: Καμπύλες ανάπτυξης του Κωπηπόδου *C. aquaedulcis* στις διαφορετικές αλατότητες του πειράματος ανά αναπτυξιακό στάδιο.

Πίνακας 4: Στατιστική επεξεργασία δεδομένων για την εξέλιξη του μεγέθους των αναπτυξιακών σταδίων ανά αλατότητα (ANOVA)

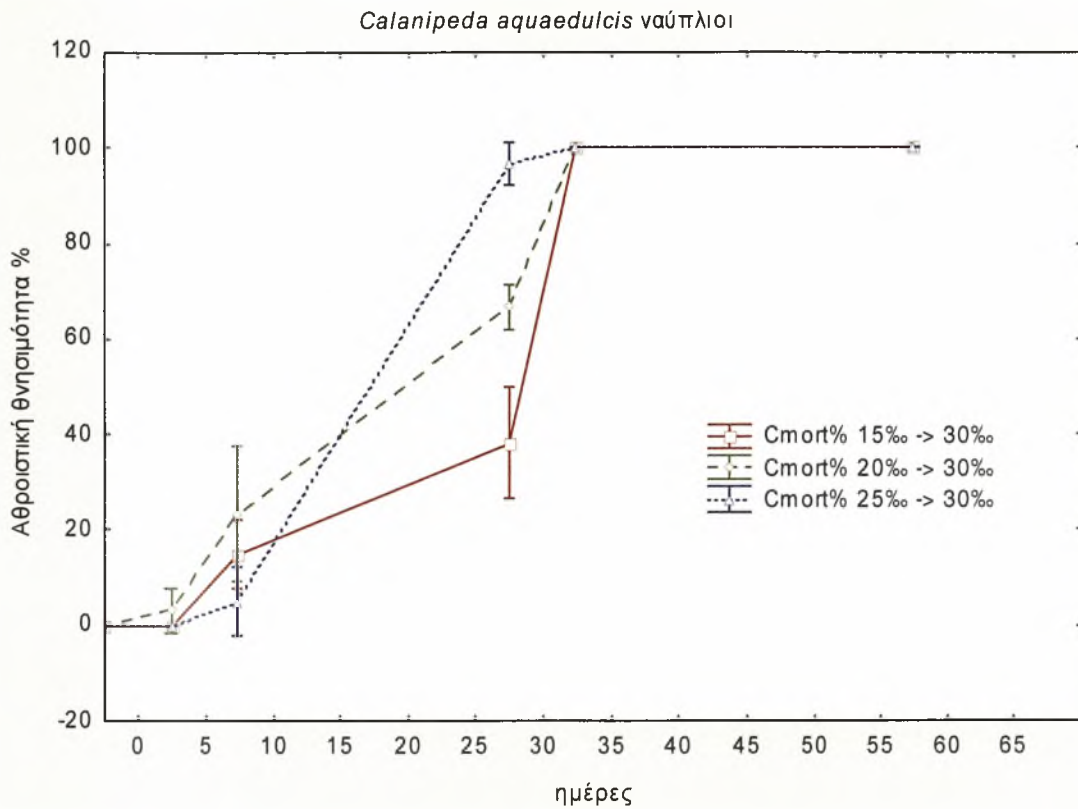
Δοκιμασία στατιστικής σημαντικότητας μίας μεταβλητής. Παραμετροποίηση σ-περιοριζόμενη. Κατάτμηση Ελέγχου Υποθέσεως

	SS	Βαθμοί ελευθερίας	MS	F	p
Intercept	5036851	1	5036851	40416,60	0,000000
χρόνος	1008271	13	77559	622,35	0,000000
αλατότητα	181	2	90	0,73	0,484024
χρόνος*αλατότητα	20131	26	774	6,21	0,000000
σφάλμα	150670	1209	125		

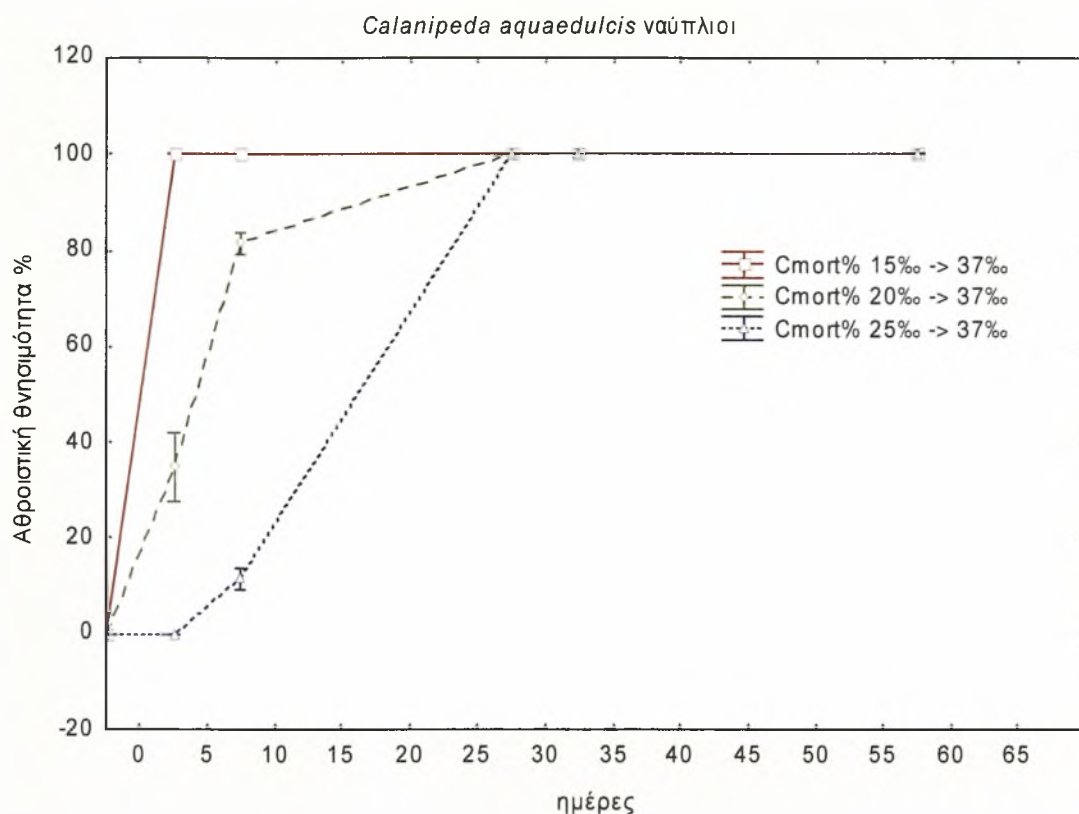
Από την στατιστική επεξεργασία δεν φαίνεται να υπάρχει επίδραση της αλατότητας στο μέγεθος.

4.3 Επίδραση του εγκλιματισμού στην αντοχή των αναπτυξιακών σταδίων σε στρες υψηλών αλατοτήτων

Στα γραφήματα 9 και 10 παρουσιάζεται η αθροιστική θνησιμότητα των ναυπλίων του *Calanipeda aquaedulcis* σε στρες απότομης μεταφοράς σε νερά αλατότητας 30 και 37‰ αντίστοιχα, σε ζώα που είχαν μεταφερθεί 24 ώρες πριν στις αλατότητες 15, 20 και 25‰.



Γράφημα 9: Αθροιστική θνησιμότητα των ναυπλίων του *Calanipeda aquaedulcis* σε στρες απότομης μεταφοράς σε νερό αλατότητας 30 ‰ (εγκλιματισμένα σε νερό αλατότητας 15, 20 και 25 ‰).

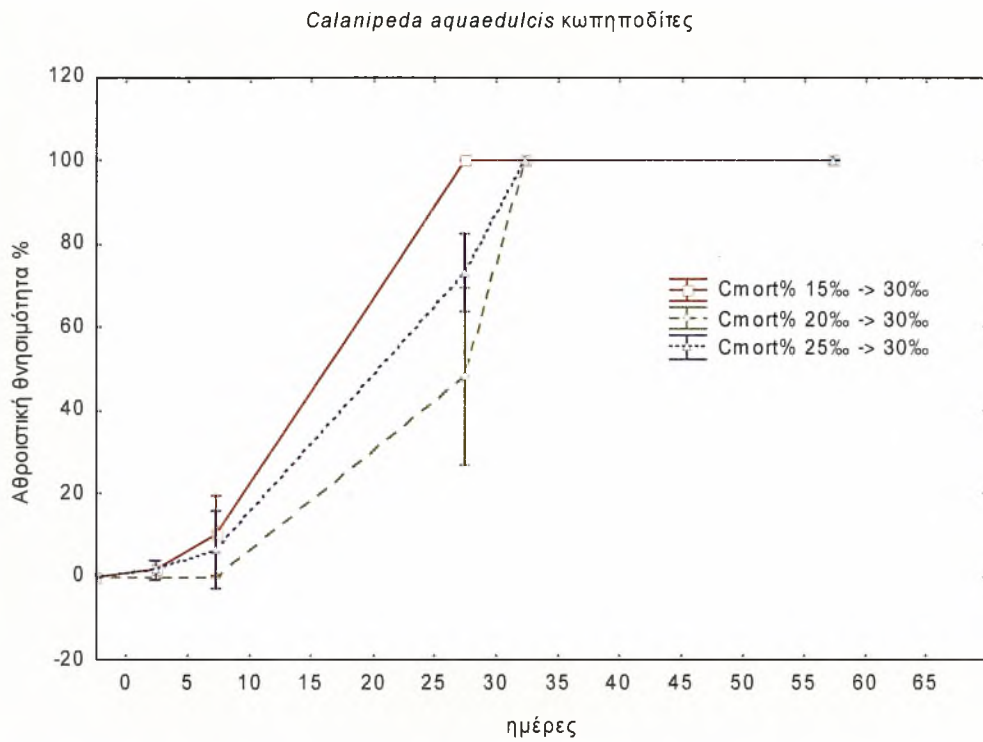


Γράφημα 10: Αθροιστική θνησιμότητα των ναυπλίων του *Calanipeda aquaedulcis* σε στρες απότομης μεταφοράς σε νερό αλατότητας 37 ‰ (εγκλιματισμένα σε νερό αλατότητας 15, 20 και 25 ‰).

Από την μελέτη των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι:

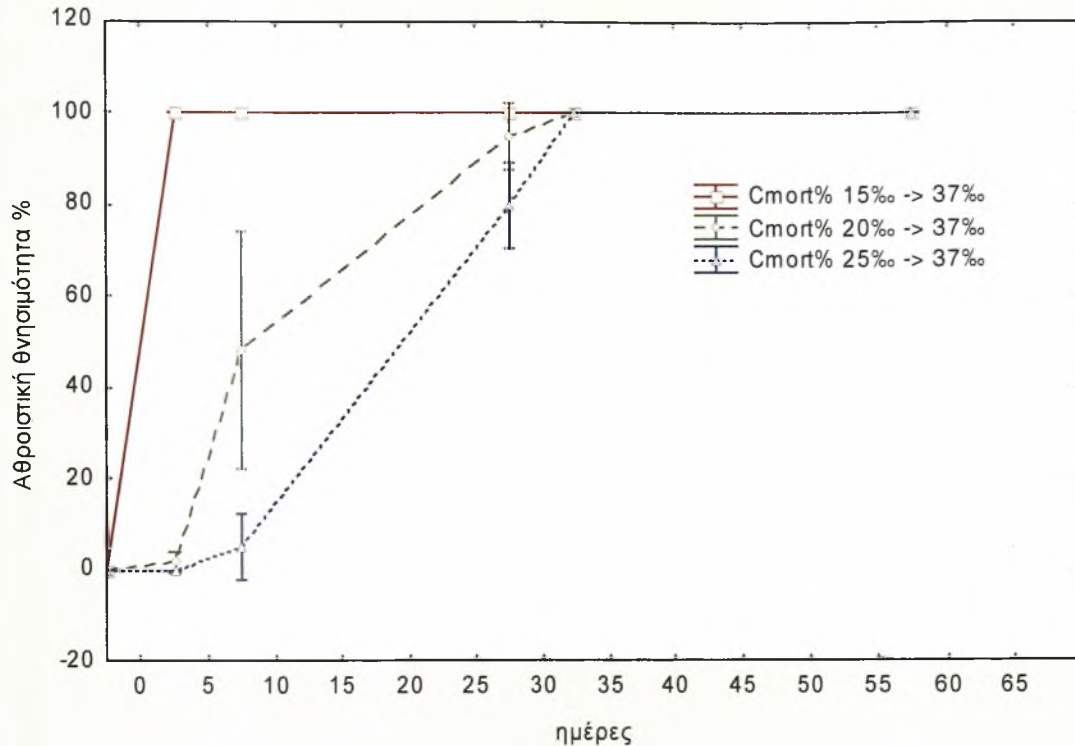
- Σε στρες αλατότητας στα 30‰ η αντοχή των ναυπλίων έχει γενικά μεγαλύτερη διάρκεια από ότι σε στρες αλατότητας στα 37‰ και για τις τρεις αλατότητες εγκλιματισμού.
- Σε στρες αλατότητας στα 30‰ δεν φαίνεται να υπάρχει επίδραση της αλατότητας του εγκλιματισμού στην αντοχή των ναυπλίων, με την έννοια πως οι καμπύλες θνησιμότητας δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.
- Αντίθετα σε στρες αλατότητας στα 37‰ διαπιστώνονται γρηγορότερες θνησιμότητες και εμφανίζεται καθαρά η επίδραση της αλατότητας του εγκλιματισμού στην αντοχή των ναυπλίων.

Στα γραφήματα 11 και 12 παρουσιάζεται η αθροιστική θνησιμότητα των κωπηποδιών του *Calanipeda aquaedulcis* σε στρες απότομης μεταφοράς σε νερά αλατότητας 30 και 37‰ αντίστοιχα, σε ζώα που είχαν εγκλιματιστεί για έξι ημέρες στις αλατότητες 15, 20 και 25‰.



Γράφημα 11: Αθροιστική θνησιμότητα των κωπηποδιών του *Calanipeda aquaedulcis* σε στρες απότομης μεταφοράς σε νερό αλατότητας 30 ‰ (εγκλιματισμένα σε νερό αλατότητας 15, 20 και 25 ‰).

Calanipeda aquaedulcis κωπηποδίτες



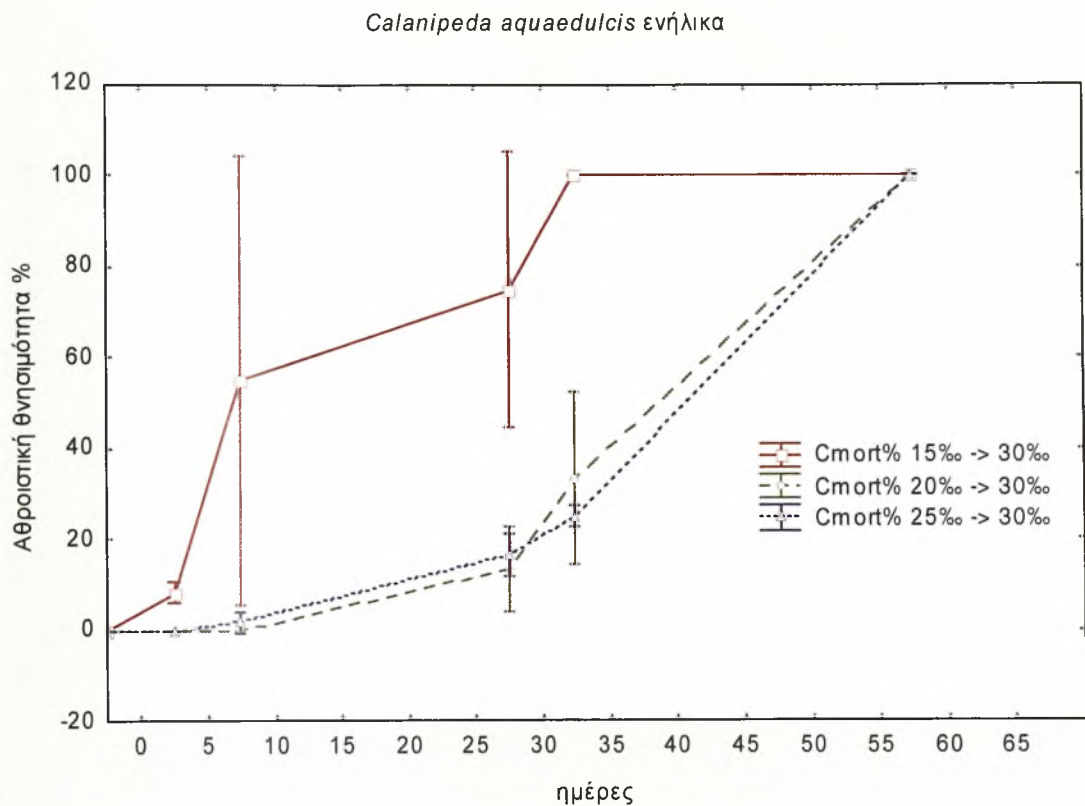
Γράφημα 12: Αθροιστική θνησιμότητα των κωπηποδιτών του *Calanipeda aquaedulcis* σε στρες αλατότητας μεταφοράς σε νερό αλατότητας 37 ‰ (εγκλιματισμένα σε νερό αλατότητας 15, 20 και 25 ‰).

Από την μελέτη των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι:

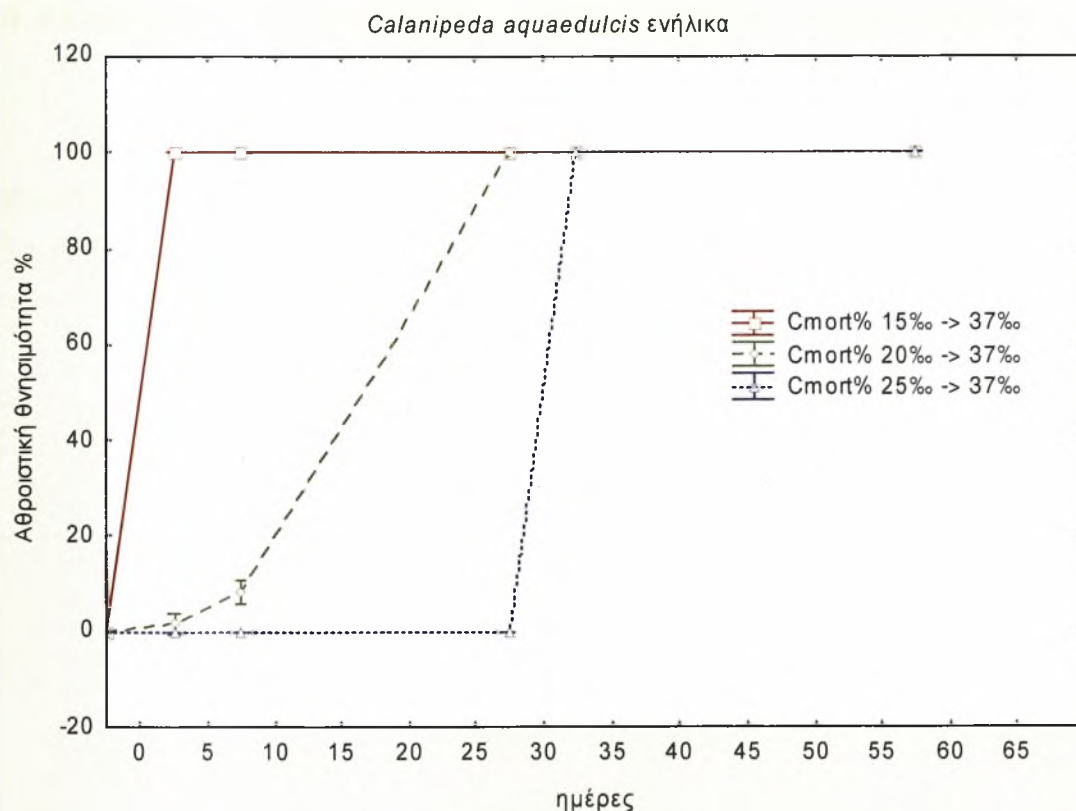
- Σε στρες αλατότητας στα 30‰ η αντοχή των κωπηποδιτών έχει γενικά μεγαλύτερη διάρκεια από ότι σε στρες αλατότητας στα 37‰ και για τις τρεις αλατότητες εγκλιματισμού, όπως και στην περίπτωση των ναυπλίων.
- Αντίθετα με τους ναύπλιους, τόσο σε στρες αλατότητας στα 30 όσο και στα 37‰, η επίδραση της αλατότητας του εγκλιματισμού φαίνεται να επηρεάζει την αντοχή των κωπηποδιτών και αυτό είναι ιδιαίτερα εμφανές στο στρες αλατότητας στα 37‰.



Στα γραφήματα 13 και 14 παρουσιάζεται η αθροιστική θνησιμότητα των ενηλίκων ατόμων του *Calanipeda aquaedulcis* σε στρες απότομης μεταφοράς σε νερά αλατότητας 30 και 37‰ αντίστοιχα, σε ζώα που είχαν εγκλιματιστεί για δεκατρείς ημέρες στις αλατότητες 15, 20 και 25‰.



Γράφημα 13: Αθροιστική θνησιμότητα ενηλίκων ατόμων του *Calanipeda aquaedulcis* σε στρες απότομης μεταφοράς σε νερό αλατότητας 30‰ (εγκλιματισμένα σε νερό αλατότητας 15, 20 και 25‰).



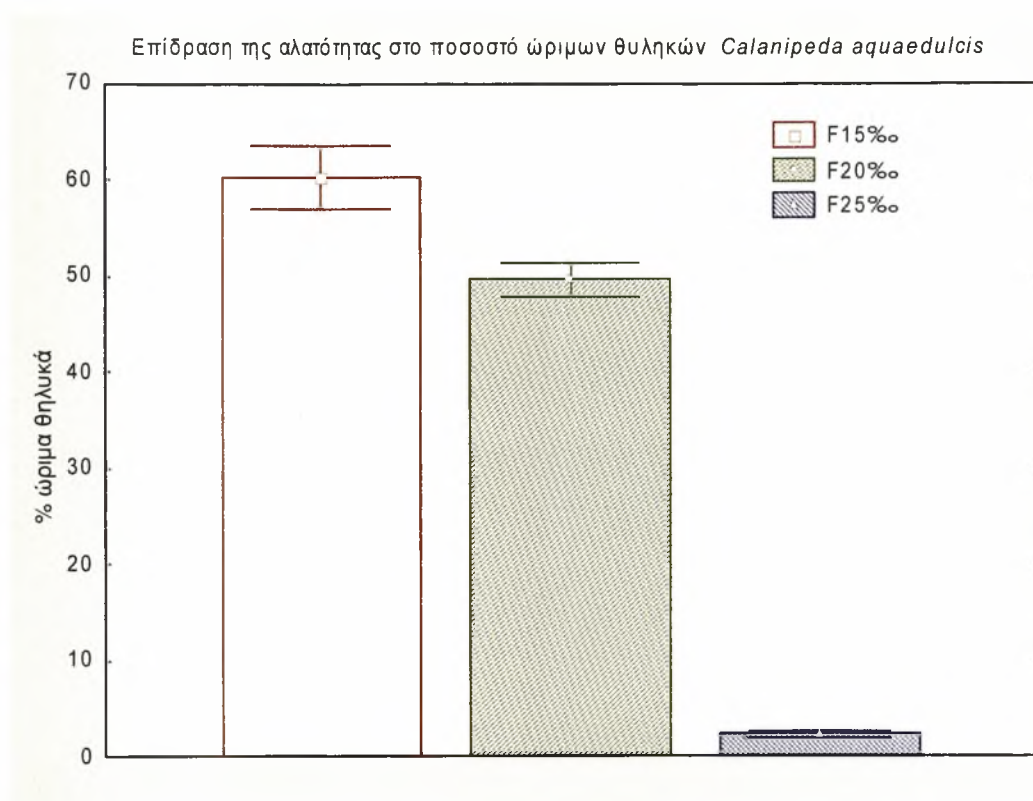
Γράφημα 14: Αθροιστική θνησιμότητα ενηλίκων ατόμων του *Calanipeda aquaedulcis* σε στρες απότομης μεταφοράς σε νερό αλατότητας 30‰ (εγκλιματισμένα σε νερό αλατότητας 15, 20 και 25 ‰).

Από την ανάγνωση των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι:

- Σε στρες αλατότητας στα 30‰ η αντοχή των ενηλίκων εξαρτάται από την αλατότητα εγκλιματισμού. Οι ρυθμοί θνησιμότητας διαφέρουν πολύ μεταξύ των ζώων που εγκλιματίστηκαν στα 15‰ σε σχέση με αυτά που εγκλιματιστήκαν στις μεγαλύτερες, χωρίς να φαίνεται καμιά διαφορά μεταξύ των δύο άλλων εγκλιματισμένων ομάδων.
- Στα 37‰ διαπιστώνεται σαφής επίδραση της αλατότητας του εγκλιματισμού στην αντοχή των ενηλίκων.

4.4 Επίδραση της αλατότητας στην ωρίμανση των θηλυκών

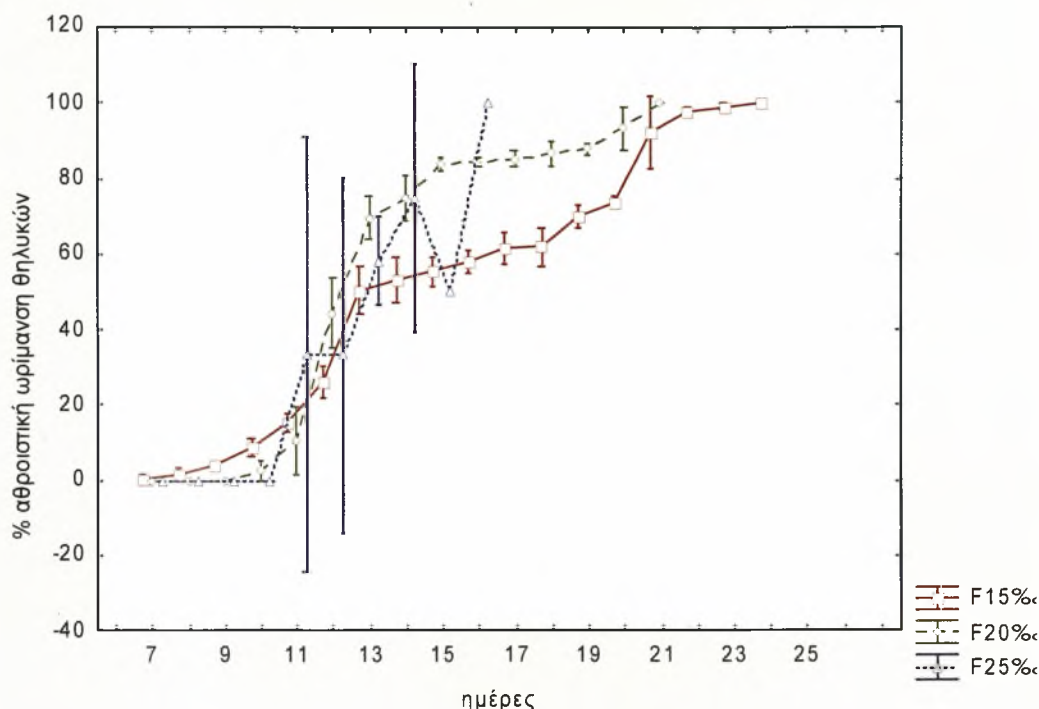
Σε αντίθεση με τις καλλιέργειες στις αλατότητες 15 και 20‰, ελάχιστα θηλυκά με ωόσακο εμφανίστηκαν στην αλατότητα 25‰ μετά την 11^η ημέρα. Τα αντίστοιχα ποσοστά εμφάνισης ήταν 50.3, 41.4 και 1.9% (γράφημα 15).



Γράφημα 15: Ποσοστό εμφάνισης ώριμων θηλυκών ατόμων στο σύνολο των ενηλίκων του είδους *Calanipeda aquaedulcis* στις τρεις αλατότητες.

Στο γράφημα 16 παρουσιάζονται οι ρυθμοί ωρίμανσης θηλυκών ατόμων του *Calanipeda aquaedulcis* σε νερά αλατότητας 15, 20 και 25‰.

Εξέλιξη της ωρίμανσης των θηλυκών *Calanipeda* (%) σε διαφορετικές αλατότητες



Γράφημα 16: Ρυθμός ωρίμανσης θηλυκών ατόμων *Calanipeda aquaedulcis* σε νερά αλατότητας 15, 20 και 25‰.

Διαπιστώνουμε ότι οι ρυθμοί ωρίμανσης ακολουθούν ένα σιγμοειδές πρότυπο. Το προφίλ των τριών καμπύλων διαφέρει σημαντικά. Στατιστική ανάλυση one-way ANOVA για την επίδραση της αλατότητας στην ωρίμανση των θηλυκών ατόμων, δείχνει ότι υπάρχει έντονη επίδραση στον συνολικό αριθμό θηλυκών ($p < 0,05$) (πίνακας 5).

Όσον αφορά την αλατότητα 25‰, το ποσοστό εμφάνισης των ώριμων θηλυκών ατόμων ήταν σχεδόν ανύπαρκτο, ενώ ταυτόχρονα υπήρξε μεγάλη θνησιμότητα. Στην περίπτωση της αλατότητας 20‰, διαπιστώνεται μία μικρή καθυστέρηση εμφάνισης ώριμων θηλυκών ατόμων που αντισταθμίζεται όμως από μία μεγαλύτερη επιτάχυνση του ρυθμού ωρίμανσης μετά την 11^η ημέρα σε σχέση με τα ζώα που αναπτύσσονται στα 15‰.

Πίνακας 5 : One-way ANOVA ανάλυση για την επίδραση της αλατότητας στην ωρίμανση των θηλυκών

Univariate Tests of Significance for <i>n</i> (<i>Calanipeda</i> females) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	12618,78	1	12618,78	901,3413	0,000000
salinity	5718,22	2	2859,11	204,2222	0,000003
Error	84,00	6	14,00		

Ιεραρχώντας τα αποτελέσματα με την χρήση του στατιστικού τεστ Tukey HSD (honest significance distance - ειλικρινούς σημαντικής διαφοράς), διαπιστώνεται ότι όλες οι τιμές διαφέρουν μεταξύ τους (πίνακας 6).

Πίνακας 6 : Αποτελέσματα Tukey HSD τεστ για την επίδραση της αλατότητας στην ωρίμανση των θηλυκών

Tukey HSD test; variable <i>n</i> (<i>Calanipeda</i> females) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 14,000, df = 6,0000				
	salinity	{1}	{2}	{3}
1	15		0,030122	0,000227
2	20‰	0,030122		0,000229
3	25‰	0,000227	0,000229	

Επιπλέον, οι πληθυσμοί και στις τρεις επαναλήψεις κατέρρευσαν εντελώς μετά την 20^η ημέρα της καλλιέργειας (πίνακας 7).

Πίνακας 7: Αριθμός (Nb) και συσσωρευμένο ποσοστό (% cum) ώριμων θηλυκών ατόμων *Calanipeda aquaedulis* στις τρεις επαναλήψεις σε 25% .

Ηλικία	καλλιέργεια Ω25_1		καλλιέργεια Ω25_2		καλλιέργεια Ω25_3	
	Nb	%cum	Nb	%cum	Nb	%cum
7	0	0,0	0	0,0	0	0,0
8	0	0,0	0	0,0	0	0,0
9	0	0,0	0	0,0	0	0,0
10	0	0,0	0	0,0	0	0,0
11	0	0,0	0	0,0	2	100,0
12	2	66,7	0	0,0	0	
13	0	66,7	1	50,0	0	
14	1	100,0	0	50,0	0	
15	0		0	50,0	0	
16	0		1	100,0	0	
17	0		0		0	
18	0		0		0	
19	0		0		0	
20	0		0		0	
21	0		ΌΛΑ ΝΕΚΡΑ		ΌΛΑ ΝΕΚΡΑ	
22	0					
23	ΌΛΑ ΝΕΚΡΑ					

4.5 Επίδραση της αλατότητας στην γονιμότητα του *C. aquaedulcis*

Στον πίνακα 8 που ακολουθεί, παρουσιάζεται η γονιμότητα των θηλυκών ατόμων σε πέντε επαναληπτικές διασταυρώσεις με αρσενικά για τις αλατότητες 15 και 20%. Από την καλλιέργεια με αλατότητα 25‰ δεν προέκυψε ικανός αριθμός βιώσιμων ατόμων ώστε να γίνουν δυνατές οι διασταυρώσεις (βλέπε παράγραφο 4.4).

Πίνακας 8: Αριθμός παραγόμενων ναυπλίων και αβγών σε πέντε επαναληπτικές διασταυρώσεις θηλυκών και αρσενικών ατόμων ανά αλατότητα

	ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ 15‰					ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ 20‰				
	15.1	15.2	15.3	15.4	15.5	20.1	20.2	20.3	20.4	20.5
N♂	3	3	3	3	2	3	3	3	2	2
N♀	3	3	3	3	2	3	3	3	2	2
Ναύπλιοι	34	0	30	0	0	55	56	59	58	62
Αβγά	39	54	79	74	47	76	80	79	19	24
Ναύπλιοι/♀	11,3	0,0	10,0	0,0	0,0	18,3	18,7	19,7	29,0	31,0
Αβγά/♀	19,5	18,0	39,5	37,0	--	38,0	40,0	39,5	19,0	24,0
ΜΟΝαύπλιοι/♀	4,3					23,3				
SD	5,9					6,1				
ΜΟ Αβγά/ SD	27,5					32,1				
	10,1					9,9				

Τα αποτελέσματα δείχνουν μία πολύ μεγάλη διαφορά στην παραγωγή βιώσιμων ναυπλίων από τις διασταυρώσεις στις δύο αλατότητες, η οποία ήταν κατά μέσο όρο περίπου διπλάσια στην περίπτωση των 20‰ σε σχέση με εκείνη των 15‰. Η διαφορά αυτή δεν φαίνεται να επαναλαμβάνεται στην επόμενη γενιά των ίδιων θηλυκών καθώς οι ωόσακοι φέρουν κατά μέσο όρο παρόμοιους αριθμούς αυγών.

5 Συζήτηση

Ανάπτυξη: Δεν αποδείχτηκε επίδραση της αλατότητας στην σωματική αύξηση των ζώων. Παρατηρήθηκαν όμως υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας στους ναυπλίους από ότι στους κωπηποδίτες. Οι Ohman & Wood (1996) σε ανάλογη εργασία τους για το είδος *Pseudocalanus newmani*, παρατήρησαν ότι υπάρχει μεγάλη θνησιμότητα στα πρώτα κωπηποδητικά στάδια (C1), η οποία μειώνεται από το 2^ο (C2) έως το 4^ο (C4) στάδιο, ενώ αυξάνεται και πάλι στο 5^ο(C5) στάδιο. Οι Carlotti & Nival (1992) σε μελέτη τους για το είδος *Centropages typicus*, αναφέρουν όσον αφορά τα κωπηποδητικά στάδια, ότι η θνησιμότητα του είδους αυξάνεται ανάλογα με την ηλικία.

Αντοχή στα στρες: Παρατηρήθηκε ότι οι ναύπλιοι οι οποίοι είχαν εγκλιματιστεί για μία ημέρα στις αλατότητες 15, 20 και 25‰, επέδειξαν μεγαλύτερη αντοχή όταν μεταφέρθηκαν απότομα σε νερό αλατότητας 30‰ σε σχέση με εκείνους οι μεταφέρθηκαν σε νερό αλατότητας 37‰. Στην πρώτη περίπτωση, η θνησιμότητα επήλθε μεταξύ του χρονικού διαστήματος 26 - 34 ωρών από την στιγμή που μεταφέρθηκαν σε νερό αλατότητας 30‰, ενώ στην δεύτερη περίπτωση ολική θνησιμότητα καταγράφηκε τις 10 πρώτες ώρες τοποθέτησής τους στο νερό αλατότητας 37‰. Δεν φαίνεται λοιπόν να υπάρχει επίδραση της αλατότητας του εγκλιματισμού στην αντοχή των ναυπλίων στο στρες αλατότητας 30‰, σε αντίθεση με το στρες αλατότητας 37‰.

Όσον αφορά τους κωπηποδίτες οι οποίοι είχαν εγκλιματιστεί για έξι ημέρες στις αλατότητες 15, 20 και 25‰, επέδειξαν μεγαλύτερη αντοχή όταν μεταφέρθηκαν απότομα σε νερό αλατότητας 30‰, σε σχέση με εκείνους που μεταφέρθηκαν σε νερό αλατότητας 37‰. Μεγάλη θνησιμότητα καταγράφηκε μεταξύ του χρονικού διαστήματος 26 - 34 ωρών, από την στιγμή που μεταφέρθηκαν σε νερό αλατότητας 30‰. Στο ίδιο χρονικό διάστημα καταγράφηκε η θνησιμότητα και για τους κωπηποδίτες οι οποίοι μεταφέρθηκαν σε νερό αλατότητας 37‰, με εξαίρεση εκείνους που είχαν εγκλιματιστεί σε νερό αλατότητας 15‰, η ολική θνησιμότητα των οποίων επήλθε τις 2 πρώτες ώρες της μεταφοράς τους. Είναι σαφές, ότι υπάρχει επίδραση της αλατότητας του εγκλιματισμού στην αντοχή των κωπηποδιτών

τόσο στο στρες μεταφοράς σε νερό αλατότητας 30‰ , όσο και στο στρες μεταφοράς σε νερό αλατότητας 37‰.

Πιθανότατα η μεγαλύτερη διάρκεια εγκλιματισμού των κωπηποδητών σε σχέση με τους ναυπλίους ή οι μεγαλύτερες δυνατότητες ωσμωρύθμισης των πρώτων (ή και τα δύο) μπορούν να ερμηνεύσουν αυτές τις διαφορές. Οι Kimmel and Bradley (2001) και οι Roddie *et al.*, (1984) σε ανάλογες εργασίες τους για το Καλανοειδές Κωπήποδο *Eurytemora affinis* συμπέραναν ότι τόσο τα κωπηποδητικά όσο και τα ενήλικα στάδια του είδους, εμφανίζουν ιδιαίτερη αντοχή σε υψηλές αλατότητες λόγω ρύθμισης της ώσμωσης.

Για τα ενήλικα τα οποία είχαν εγκλιματιστεί για δεκατρείς ημέρες στην αλατότητα 15‰ ολική θνησιμότητα καταγράφηκε τις 2 πρώτες ώρες κατά την μεταφορά τους τόσο σε νερό αλατότητας 30‰ όσο και σε 37‰. Για εκείνα τα οποία είχαν εγκλιματιστεί σε νερό αλατότητας 20 και 25‰ η θνησιμότητα επήλθε μεταξύ του χρονικού διαστήματος 26 - 34 ωρών από την στιγμή που μεταφέρθηκαν σε νερό αλατότητας 30 και 37‰. Διαπιστώθηκε ότι υπάρχει σαφής επίδραση του εγκλιματισμού στην αντοχή τους στα στρες μεταφοράς σε νερό αλατότητας 30 και 37‰. Οι Payne & Rippingale (2001b) μελετώντας την επίδραση της αλατότητας στα ενήλικα άτομα του Καλανοειδούς Κωπηπόδου *Gladioferens imparipes*, ενός ευρύαλου είδους της εύκρατης ζώνης, με παρόμοια χαρακτηριστικά με το *Calanipeda aquaedulcis* καθώς εμφανίζει εποχιακά υψηλή κυριαρχία και καλλιεργείται σε νερό αλατότητας 17 ‰ (Payne and Rippingale 2001a) παρατήρησαν ότι η θνησιμότητα είναι μεγαλύτερη κατά την μεταφορά τους σε υψηλές αλατότητες και συγκεκριμένα στην αλατότητα 35 ‰, σε σχέση με τις χαμηλότερες των 9, 18 και 27‰.

Πιθανότατα η μεγαλύτερη διάρκεια εγκλιματισμού ή οι μεγαλύτερες δυνατότητες ωσμωρύθμισης των πιο προχωρημένων σταδίων ή και τα δύο μπορούν να ερμηνεύσουν αυτές τις διαφορές. Από τα αποτελέσματα αυτά συμπεραίνουμε ότι ο εγκλιματισμός των ενηλίκων σε μεγάλη αλατότητα (25‰) τα καθιστά ικανά να αντέξουν την μεταφορά τους σε θαλασσινά νερά και άρα θα λέγαμε ότι σε αυτά τα στάδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν στις εντατικές καλλιέργειες ιχθυοσυμψών. Σε μία τέτοια προοπτική θα ήταν πολύ ενδιαφέρον να πειραματιστεί κανείς και σε εγκλιματισμό μικρότερης διάρκειας.

Ρυθμός ωρίμανσης: Ενδιαφέρον παρουσίασε η μελέτη του ρυθμού ωρίμανσης των θηλυκών ατόμων *Calanipeda aquaedulcis*. Σε αλατότητα 15‰ τα θηλυκά άτομα εμφανίστηκαν μετά την 7^η ημέρα, σε αλατότητα 20‰ μετά την 9^η ημέρα, ενώ ελάχιστα θηλυκά με ωόσακο εμφανίστηκαν σε αλατότητα 25‰ μετά την 11^η ημέρα. όμως ο ρυθμός ωρίμανσης ήταν υψηλότερος στα 20‰.

Από τα αποτελέσματα αυτά φαίνεται πώς η αλατότητα 25‰ είναι έξω από τα φυσιολογικά όρια του είδους, επιδρώντας αρνητικά και στην αναπαραγωγή και την επιβίωση. Η παρατήρηση αυτή έρχεται σε συμφωνία με τις παρατηρήσεις για την εποχιακή εμφάνιση του είδους στις λιμνοθάλασσες της περιοχής μας (Κλαδάς κ.ά., 2007a).

Οι Payne & Rippingale (2001) παρατήρησαν ότι ο ρυθμός ωρίμανσης των ενήλικων θηλυκών ατόμων του Καλανοειδούς Κωπηπόδου *Gladioferens imparipes*, ήταν πολύ πιο σύντομος στην αλατότητα 27‰ σε σχέση με την αλατότητα 9‰.

Γονιμότητα: Η γονιμότητα των θηλυκών ατόμων, δηλαδή η παραγωγή αβγών ανά θηλυκό, μελετήθηκε πραγματοποιώντας πέντε επαναληπτικές διασταυρώσεις με αρσενικά για τις αλατότητες 15 και 20‰. Από την καλλιέργεια με αλατότητα 25‰ δεν προέκυψε ικανός αριθμός βιώσιμων ατόμων ώστε να γίνουν δυνατές οι διασταυρώσεις. Παρατηρήθηκε λοιπόν, ότι η παραγωγή των βιώσιμων ναυπλίων ήταν πολύ μεγαλύτερη στην αλατότητα των 20‰ από εκείνη των 15‰.

6 Συμπεράσματα-Προτάσεις

Όπως προαναφέρθηκε με την εργασία μας αυτή σκοπεύαμε στην διερεύνηση της δυνατότητας χρησιμοποίησης του Κωπηπόδου *Calanipeda aquaedulcis* στις καλλιέργειες ιχθυονυμφών θαλασσινών ψαριών.

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το είδος αυτό δεν είναι ίσως το πλέον κατάλληλο γι' αυτό το σκοπό λόγω των μειωμένων επιδόσεων αντοχής τους στις υψηλές αλατότητες του θαλασσινού νερού που χρησιμοποιείται στην πλειοψηφία των ιχθυογεννητικών σταθμών θαλασσινών ψαριών στην χώρα μας, με εξαίρεση τις περιπτώσεις χρησιμοποίησης των θαλασσινών νερών γέωτρησης μειωμένης αλατότητας (28 ως 32‰) ή την περίπτωση υιοθέτησης της γαλλικής τεχνικής του IFREMER στις νυμφικές καλλιέργειες του λαβρακιού (Coves *et al.*, 1990), σύμφωνα με την οποία γίνονται σε αλατότητα 25‰ (κλειστό κύκλωμα).

Παρόλα αυτά, η ανθεκτικότητα και η καλή προσαρμοστικότητα του συγκεκριμένου είδους σε εργαστηριακές συνθήκες βοήθησε πολύ την εξέλιξη της ζωοτεχνίας παραγωγής Καλανοειδών Κωπηπόδων και αυτό από μόνο του είναι πολύ σημαντικό καθώς όλη αυτή η εμπειρία μπορεί στο εγγύς μέλλον να επενδυθεί στην καλλιέργεια και άλλων περισσότερο κατάλληλων ειδών.

Από την άλλη πλευρά, οι διαφορετικές αποκρίσεις του είδους στις διαφορετικές αλατότητες σε συνδυασμό με την καθολική επικράτησή του στα υφάλμυρα λιμνοθαλάσσια συστήματα τον χειμώνα και την εξαφάνισή του στο τέλος της άνοιξης συνιστούν πρόκληση για την υλοποίηση στο μέλλον ειδικότερων οικοφυσιολογικών μελετών για την εξακρίβωση της επίδρασης και άλλων παραγόντων, όπως λ.χ. της θερμοκρασίας και της φωτοπεριόδου στην βιολογία του είδους (ρυθμοί αύξησης και αναπαραγωγής, στρατηγικές αναπαραγωγής, εύρη αντοχής κτλ.) για ένα μεγαλύτερο εύρος αλατοτήτων.

Ενδιαφέρον επίσης θα είχε η μελέτη της αναπαραγωγικής στρατηγικής του είδους σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες, κάτι που θα συνεισφέρει στην κατανόηση των μηχανισμών προσαρμογής των μεσοζωοπλαγκτικών οργανισμών στα μεταβατικά συστήματα, όπως είναι οι λιμνοθάλασσες αλλά

και στην υδατοκαλλιέργεια με στόχο τον έλεγχο της παραγωγής αβγών
διαρκείας.

7 Βιβλιογραφία

Baudin J-P. & A. Champeau, 1977. Contribution to the ecology of the calanoid copepod *Calanipeda aquaedulcis* Kristchagin. Rapp. P.-V. Reun., Comm. Int. Explor. Sci. Mer Mediterr., Monaco, 24(6), 95-96.

Boltovskoy D., M.J. Gibbons, L. Hutcings & D. Binet , 1999. General biological features of the South Atlantic. *In*: Boltovskoy, D. (ed.). Zooplankton of the South Atlantic. Backhuys Publishers, Leiden.

Brucet S., Boix D., Lopez-Flores R., A. Badosa & X.D. Quintana, 2005. Ontogenic changes of amino acid composition in planktonic crustacean species. *Marine Biology*. Vol. 148, no. 1, p.p. 131-139.

Carlotti F. & S. Nival, 1992. Moulting and mortality rates of copepods related to age within stage: experimental results. *Marine Ecology*. Progress Series. Vol.84, 135-243.

Coves D., G. Dewavrin, G. Brueil & N. Devauchelle, 1990. Culture of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Handbook of Mariculture, Vol.II: finfish aquaculture. CRC Press Publication. Edited by J.P.McVEY.

Devreker D., S. Souissi & L. Seuront, 2003. Development and mortality of the first naupliar stages of *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) under different conditions of salinity and temperature. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 303 : 31 - 46.

Drillet G., 2003. Temperature and cold storage effects upon hatching success of subitaneous eggs from the calanoid copepod *Acartia tonsa*. Rapport de fin d'études. DESS "Exploitation des ressources vivants côtiers, 2002-2003.

Frisch D., H. Rodríguez-Pérez & A.J. Green, 2006. Invasion of artificial ponds in Doñana Natural Park, southwest Spain, by an exotic estuarine copepod. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 16 (5): 483-492.

Hagiwara A., W. G. Gallardo, M. Assavaaree, T. Kotani & A. B. de Araujo, 2001. Live food production in Japan : recent progress and future aspects. *Aquaculture* 200: 111 - 127.

Humes, A.G., 1994. How many copepods? *Hdrobiologia* 292 / 293, 1-7.

- Huys, R. & G. A. Boxsall, 1991.** *Copepod Evolution*. Ray Society, London.
- Kimmel, D.G. & B.P., 2001.** Specific protein responses in the calanoid copepod *Eurytemora affinis* (Poppe, 1980) to salinity and temperature variation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 266 :135 - 149.
- Kinne, 1976.** Marine Ecology. A Comprehensive, Integrated Treatise on Life in Oceans and Coastal waters. Vol.III, Cultivation, Part 1. John Wiley & Sons, Ltd. ISBN 0 471 48005 3.
- Marcus H. N., 2005.** Calanoid Copepods, Resting Eggs, and Aquaculture. In "Copepods in Aquaculture", Blackwell Publishing, Edited by C.S.Lee, P.O'Bryen & N.H.Marcus. ISBN 0-8138-0066-8.
- Mauchline J., 1998.** The biology of calanoid copepods. *Advances in Marine Biology* 33, 710 p.
- McEvoy L.A., T. Naess, J.G. Bell & Ø. Lie., 1998.** Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched Artemia : a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture* 163:237-250.
- Menendez M. & F.A. Comin, 1986.** Seasonal changes in zooplankters in the coastal lagoons of Ebro Delta (NE Spain). *Oecologia aquatica*. Barcelona. no.8, pp. 47-60.
- Morehead D.T., S.C. Batteglene, E.B. Metillo, M.P. Bransden & G.A. Dunstan, 2005.** Copepods as a Live Feed for Striped Trumpeter *Latris lineata* Larvae. In "Copepods in Aquaculture", Blackwell Publishing, Edited by C.S.Lee, P.O'Bryen & N.H.Marcus. ISBN 0-8138-0066-8.
- Naess T., M. Germain-Henry, K.E. Naasa, 1995.** First feeding of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) using different combinations of Artemia and wild zooplankton. *Aquaculture* 130 : 235 - 250.
- Nicolaidou A., S. Reizopoulou., D. Koutsoubas, S. Orfanidis & T. Kevrekidis, 2005.** Biological components of Greek lagoonal ecosystems: an overview. *Mediterranean Marine Science*, 6 / 2: 31-50.

- Ohman D. M. & S. N. Wood, 1996.** Mortality estimation for planktonic copepods: *Pseudocalanus newmani* in a temperate fjord. *Limnology and Oceanography*, 41(1), 126-135.
- Ohno A., T. Takahashi & Y. Taki, 1990.** Dynamics of exploited populations of the calanoid copepod, *Acartia tuensis*. *Aquaculture* 84: 27-39.
- Payne M.F. & R.J. Rippingale, 2001a.** Intensive cultivation of the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. *Aquaculture* 201: 329–342.
- Payne M.F. & R.J. Rippingale, 2001b.** Effects of salinity, cold storage and enrichment on the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. *Aquaculture* 201 : 251 – 262.
- Payne M.F. & R.J. Rippingale & J.J. Cleary, 2001.** Cultured copepods as food for west Australian huffish (*Glaucosoma hebraicum*) and pink snapper (*Pagrus auratus*) larvae. *Aquaculture* 194:137-150.
- Roddie, B.D., R. J. G. Leakey, & A. J. Berry, 1984.** Salinity – temperature tolerance and osmoregulation in *Eurytemora affinis* (Poppe, 1980) (Copepoda: Calanoida) in relation to its distribution in the zooplankton of the upper reaches of the forth estuary. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 79 :191 - 211.
- Sargent, J. R., McEvoy, L. A. & J. G. Bell, 1997.** Requirements, presentation and sources of polyun-saturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155: 117-127.
- Schipp, G.R., J.M.P. Bosmans & A.J. Marshall, 1999.** A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp. *Aquaculture* 174: 81-88.
- Sørensen K. E., Støttrup J.G. & Holmstrup, 2004.** Rearing of flounder (*Platyichthys flesus*) juveniles in semiextensive systems. *Aquaculture* 230, 475-491.
- Støttrup J.G., K. Richardson, E. Kirkegaard & N. J. Pihl, 1986.** The cultivation of *Acartia tonsa* Dana for use in marine fish hatcheries. NAGA, the ICLARM Quarterly, July 1995, 27-28.

Støttrup J.G. & J. Jensen, 1990. Influence of algal diet on feeding and egg production of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 141: 87-105.

Støttrup J.G., 2003. Production and nutrition value of copepods. In J.G. Støttrup and L.A. McEvoy (eds) "*Live Feeds in Marine Aquaculture*", Blackwell, UK, pp. 145 - 204.

Treer T., 1990. The ecology of copepod *Calanipeda aquaedulcis* in Vransko Lake, Yugoslavia. *Acta biologica Yugoslavica. Serija E. Ichthyologia.* Belgrade. Vol. 22, no. 1, p.p. 45-52.

Tzovenis I., Y. Cladas, G. Ioannou, P. Dendrinis & I. Nengas, 2007. Experimental rearing of the calanoid copepod *Calanipeda aquaedulcis* (Kritz), for use in aquaculture. Aquaculture Europe 2007, Istanbul Turkey, October 24 - 27, 2007.

Uye S. & D. Liang, 1998. Copepods attain high abundance, biomass and production in the absence of large predators but suffer cannibalistic loss. *Journal of Marine Systems*, 15: 495–501.

Vilela M. H. & N. M. Bandarra, 2002. Cultura de copepods, um alimento vivo essencial em piscicultura marinha. *IPIMAR Divulgação*, 25: 1-4.

Κλαδάς Γ. 2001. Σημειώσεις Μαθήματος "Παραγωγή ιχθυδίων θαλασσινών ειδών". Τμήμα Ιχθυοκομίας-Αλιείας, Τ.Ε.Ι. Ηπείρου.

Κλαδάς Γ., Ιωάννου Γ., Νικολοπούλου Σ., Δενδρινός Π. & Τζοβενής Ι., 2007a. Πιλοτική εκτροφή του ενδημικού Καλανοειδούς Κωπηπόδου *Calanipeda aquaedulcis* KRITSHAGIN με σκοπό τη χρησιμοποίησή του στην ιχθυοκαλλιέργεια. Πρακτικά 13ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ιχθυολόγων, Μυτιλήνη 27 - 30 Σεπτεμβρίου 2007.

Κλαδάς Γ., Δενδρινός Π., Κροντηρά Γ., Ιωάννου Γ., Νέγκας Ι., Βερροϊόπουλος Γ., Θεοδώρου Ι., Σαμαρά Α., Αηδόνη Γ., Νικολοπούλου Σ. & Τζοβενής Ι., 2007b. Μελέτη των Κωπηπόδων στις λιμνοθάλασσες της Ηπείρου: διερεύνηση της ύπαρξης αξιοποιήσιμων ειδών για τις Ελληνικές θαλάσσιες ιχθυοκαλλιέργειες. Ημερίδα Παρουσίασης των αποτελεσμάτων των Ερευνητικών Προγραμμάτων που υλοποιήθηκαν στα πλαίσια των έργων: «ΑΡΧΙΜΗΔΗΣ II», «ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ – ΑΡΧΙΜΗΔΗΣ II» και «ΦΥΛΟ –

ΑΡΧΙΜΗΔΗΣ ΙΙ», 1 Δεκεμβρίου 2007, Αίθουσα «ΔΙΩΝΗ», Εκθεσιακό κέντρο
Δήμου Αρταίων.

Ηλεκτρονικές διευθύνσεις:

www.enchantedlearning.com

www.reef-guardian.com/news-article-842.html



ΛΗΞΗ	ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΔΑΝΕΙΖΟΜΕΝΟΥ

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ**

Τηλ.: ~~74.760-61~~

2441066080



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000092406