ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ – ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«Υδατοκαλλιέργειες»-

«Παθολογικά Προβλήματα Εκτρεφόμενων Υδρόβιων Οργανισμών»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Τριπλοειδή ή ολοθηλυκά»

Μεταπτυχιακή Φοιτήτρια: Σταμάτη Κ. Καλλιρρόη

Επιβλέπων Καθηγητής: Δρ. Πάσχος Ιωάννης

Ηγουμενίτσα 2012

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

UNIVERSITY OF THESSALY

SCHOOL OF HEALTH SCIENCES– FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

POSTGRADUATE STUDIES PROGRAM

"Aquaculture"-"Aquatic Animal Health"

THESIS

«Triploids or All-females»

Postgraduate student: Stamati K. Kallirroi

Supervisor: Prof. Dr. Paschos Ioannis

Igoumenitsa 2012

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αυξανόμενη απαίτηση για διάφορα είδη ψαριών που προορίζονται για να καλύψουν τις διατροφικές ανάγκες του σύγχρονου ανθρώπου, θα συνεχιστεί αναμφισβήτητα και στο μέλλον καθώς η αύξηση του πληθυσμού της γης είναι δεδομένη. Προκειμένου να ικανοποιηθεί η απαίτηση αυτή θα πρέπει η παραγωγή να αυξηθεί σημαντικά , κάτι που είναι πολύ δύσκολο να επιτευχθεί από την αλιεία. Γι΄ αυτό η υδατοκαλλιέργεια καλείται να παίξει σημαντικό ρόλο με τεχνικές που θα συντελούν στην οικονομική βιωσιμότητα των επιχειρήσεων μέσω της αποδοτικότερης παραγωγής σε συνδυασμό με το μειωμένο κόστος. Στις τεχνικές αυτές περιλαμβάνονται η παραγωγή τριπλοειδών και ολοθηλυκών ατόμων.

Σκοπός της διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη της έως σήμερα προόδου ως προς τη παραγωγή τριπλοειδών ατόμων μέσω της μηχανικής γενετικής καθώς και ολοθηλυκών. Πραγματοποιήθηκε εκτενής αναφορά και αναλυτική ιστορική ανασκόπηση έτσι ώστε να φανεί η πορεία της έρευνας για κάθε είδος ξεχωριστά. Στη συνέχεια περιγράφηκαν οι μέθοδοι παραγωγής που έχουν εφαρμοστεί μέχρι σήμερα τόσο σε εργαστηριακό όσο και σε παραγωγικό επίπεδο.

Είναι η πρώτη φορά που γίνεται μια συνολική παρουσίαση και αναλυτική αναφορά των μεθόδων παραγωγής τριπλοειδών και ολοθηλυκών ατόμων γεγονός που θα συμβάλει στην ολοκληρωμένη ενημέρωση των επιστημόνων που εργάζονται στην έρευνα και στην παραγωγή.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

ABSTRACT

The growing global demand for fish species targeted for covering the nutrient needs of human consumption will definitely continue to grow in the future as the earths' rising population is certain. In order to fulfill this growing demand, production must rise rapidly because the large needs can't be met only by wild catches. That is why aquaculture is expected to play an important role for the development of new practices which will increase the financial viability of the industry through the combination of more efficient production methods at a lower production cost. Such practices are considered to be the production of triploid and all-female populations of fish.

The purpose of the present study is to evaluate the progress that has been done up to day on the global production of triploids and all-females aquatic species through the induction of genetic engineering. An extensive study has been conducted in order to present a complete historical overview of the trials that have been performed at each species with important market value. Consequently follows a detailed description of the trials, methods and their results for each species.

It is the first time that a full and detail overview of all the methods of producing triploids and all-females is presented, which makes the present study a valuable tool of reference for the scientists which are working on this topic.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1. Υδατοκαλλιέργεια- Ιστορική Διαδρομή 9

2. Παγκόσμια Υδατοκαλλιέργεια και Αλιεία 13

3. Μηχανική Γενετική 16

4. Τριπλοειδή 20

4.1 Εισαγωγή 20

4.2 Τεχνικές παραγωγής τριπλοειδών 21

4.3 Η φυσιολογία των τριπλοειδών ψαριών 24

4.4 Σολομοί 28

4.4.1 Παραγωγή τριπλοειδών ατόμων σολομού 29

4.4.2 Πλεονεκτήματα 31

4.4.3 Προβλήματα του παρελθόντος 31

4.4.4 Σύγχρονη έρευνα 33

4.5 Λαυράκι (*Dicentrarchus labrax*) 34

4.5.1 Σκοπός του πρωτοκόλλου 34

4.5.2 Διαδικασία 35

4.5.3 Υλικά 36

4.5.4 Αντιδραστήρια και διαλύματα 36

4.5.5 Αποτελέσματα πειράματων 37

4.6 Τιλάπιες 38

4.7 Κυπρίνοι 41

4.8 Πέστροφες 43

4.9 Αμερικάνικο γατόψαρο (*Ictalurus punctatus*) 46

4.10 Γλήνι (*Tinca tinca*) 47

4.11Τσιπούρα (*Sparus aurata)* 47

4.12 Ιαπωνική τσιπούρα (*Pagrus major*) 49

4.13 Καλκάνι (*Scophthalmus maximus*) 49

4.14 Στρείδια 50

4.15 Αποτελέσματα – Συζήτηση 51

5. Ολοθηλυκά 57

5.1 Εισαγωγή 57

5.2 Τεχνικές - Μέθοδοι 58

5.3 Αντιστροφή φύλου 59

5.4 Χρωμοσωμικός διαχωρισμός σπέρματος 65

5.5 Εφαρμογή σε εκτρεφόμενα είδη 66

5.6 Κυπρίνοι 73

5.7 Σολομοί 73

5.8 Πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) 79

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

5.9 Καλκάνι (*Hippoglossus hipoglossus*) 82
5.10 Γαρίδες (*Penaeus semisilcatus*) 83
5.11 Αποτελέσματα –Συζήτηση 85
6.Συμπεράσματα 87
Βιβλιογραφία 90
Ξένη Βιβλιογραφία 90
Ελληνική βιβλιογραφία 108
Ηλεκτρονικές πηγές 109

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στα πλαίσια της μεταπτυχιακής μου διπλωματικής, μου δίνεται η ευκαιρία να ευχαριστήσω όλους όσους με βοήθησαν να ολοκληρώσω την εργασία μου και ταυτόχρονα να επεκτείνω τις γνώσεις μου στην επιστήμη που επέλεξα να σπουδάσω σε προπτυχιακό επίπεδο.

Καταρχήν θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή αλλά και επόπτη της διπλωματικής μου εργασίας, Δρ. Ιωάννη Πάσχο υπεύθυνο της κατεύθυνσης «Υδατοκαλλιέργειες» του συγκεκριμένου Προγράμματος, γιατί μου πρότεινε να ασχοληθώ με ένα θέμα πραγματικά ενδιαφέρον και ήταν πάντα δίπλα μου με τις επιστημονικές του παρεμβάσεις έτσι ώστε να ολοκληρωθεί αυτή η εργασία. Γενικότερα έδωσε απλόχερα σε όλους τους μεταπτυχιακούς φοιτητές όχι μόνο τις γνώσεις και την εμπειρία του αλλά και τους προβληματισμούς του για το μέλλον των υδατοκαλλιεργειών τόσο σε ελληνικό όσο και σε παγκόσμιο επίπεδο.

Σε προσωπικό επίπεδο θέλω να τον ευχαριστήσω για την κατανόηση αλλά και την υποστήριξη του σε ένα πολύ σοβαρό οικογενειακό πρόβλημα που μου προέκυψε κατά την διάρκεια της συγγραφής της διπλωματικής μου εργασίας.

Θα ήθελα επίσης να εκφράσω τα συγχαρητήρια μου στους υπευθύνους του μεταπτυχιακού προγράμματος, Δρ. Φωτεινή Αθανασοπούλου και Δρ. Ιωάννη Πάσχο για την επιλογή των καθηγητών. Έχοντας περίπου 15 χρόνια προϋπηρεσία ως ιχθυολόγος σε διάφορες μεγάλες εταιρίες του κλάδου, πολλές φορές και κατά την διαρκή ενημέρωσή μου για τα επιστημονικά δρώμενα της επιστήμης, συναντούσα ονόματα καθηγητών που τους θαύμαζα για την ερευνητική τους δραστηριότητα και μέσω του συγκεκριμένου

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

μεταπτυχιακού προγράμματος μου δόθηκε η δυνατότητα να τους γνωρίσω και να τους θέσω τις ανησυχίες μου.

Επίσης θα ήθελα ευχαριστήσω τον Δρ.Περδικάρη Κώστα, για την πολύτιμη βοήθειά του καθ' όλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος. Η συμβολή του στη συγγραφή αυτής της διπλωματικής εργασίας ήταν καθοριστική μιας και μας υπέδειξε τον σωστό τρόπο γραφής και παρουσίασης αυτής.

Σημαντικό ρόλο στην συγγραφή της διπλωματικής αυτής εργασίας έπαιξε ο σύζυγός μου, Νικόλαος Τζουρμανάς. Ως Ιχθυολόγος και στέλεχος του Ομίλου ΣΕΛΟΝΤΑ, μετά από 20 χρόνια σκληρής δουλειάς, εμπειρίας και γνώσεων στο χώρο των Υδατοκαλλιεργειών, δεν θα μπορούσε να μην βάλει ένα μέρος του εαυτού του σε αυτή την εργασία.

Αν και το άφησα για το τέλος, οφείλω ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ στις κόρες μου Χριστίνα και Χαρούλα που έδειξαν μεγάλη κατανόηση κατά την διάρκεια παρακολούθησης του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

1. Υδατοκαλλιέργεια- Ιστορική Διαδρομή

Είναι αδιαμφισβήτητο γεγονός ότι ο άνθρωπος από την προϊστορική κιόλας εποχή χρησιμοποίησε διάφορες μεθόδους και τεχνικές για την συλλογή και εκτροφή υδρόβιων οργανισμών. Από αρχαιολογικά ευρήματα (δομές σε σχήμα δεξαμενών) προκύπτει ότι πολύ απλές μορφές εκτροφής υδρόβιων οργανισμών πραγματοποιούνταν στη Χαβάη από την προϊστορική εποχή (Kikuchi, 1976). Ακόμη ευρήματα του 475 μ.Χ. περιγράφουν με σαφήνεια απλές τεχνικές εκτροφής του κυπρίνου που εφαρμόζονταν στην Κίνα και την Ινδονησία το 2000 π.Χ. (Hickling, 1971).

Αναφορές υπάρχουν για εκτροφή γόνου κυπρίνου στην Άπω Ανατολή γύρω στο 500 π.Χ. (Πάσχος, 2004). Στην Αρχαία Ελλάδα τον 5^{ο} αιώνα π.Χ φαίνεται πως εξασκούσαν την εκτροφή οστράκων (Basurco & Lovatelli, 2003). Με την εξέλιξη των βιολογικών επιστημών και της τεχνολογίας, μετά το 1900, αναπτύχθηκε η εντατική υδατοκαλλιέργεια με κυρίαρχη την εκτροφή του σολομού του Ατλαντικού (*Salmo salar*) (Πάσχος, 2004). Στη Μεσόγειο, η εντατική υδατοκαλλιέργεια θαλασσινών ειδών ξεκίνησε περίπου πριν από 4 δεκαετίες και διαρκώς εξελίσσεται.

Εικόνα 1:Αλιεία ιχθύων στην αρχαιότητα
(Πηγή: http://pluton22.blogspot.com/2012/01/blog-post_10.html).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Από τις αναφορές που υπάρχουν φαίνεται καθαρά ότι οι πρώτες προσπάθειες εκτροφής ιχθύων αλλά και άλλων υδρόβιων οργανισμών, στηρίχθηκαν στη συλλογή γόνου από το φυσικό περιβάλλον (Εικόνα 1) και στην πάχυνσή του με μεθόδους που είχαν ως σκοπό την μέγιστη δυνατή αξιοποίηση του βιοτικού δυναμικού των φυσικών υδάτινων πόρων. Ακριβώς πάνω σε αυτές τις μεθόδους στηρίχθηκε και η σύγχρονη υδατοκαλλιέργεια ,οι οποίες εφαρμόζονται σε ευρεία κλίμακα σε αναπτυσσόμενες κυρίως χώρες, με αποτέλεσμα να εξελιχθεί σε μια αυτόνομη βιομηχανία όπου υπάρχει πλήρης έλεγχος και προγραμματισμός όλων των σταδίων παραγωγής.

Το επίτευγμα αυτό οφείλεται στην εμπειρία που αποκτήθηκε τα τελευταία 150 χρόνια και στην αλματώδη πρόοδο της επιστήμης όσον αφορά την ελεγχόμενη αναπαραγωγή, την εκτροφή των νυμφικών σταδίων, την εντατικοποίηση της παραγωγής και κυρίως την αντικατάσταση της νωπής τροφής που οι εκτρεφόμενοι οργανισμοί καταναλώνουν στο φυσικό περιβάλλον από βιομηχανικές τροφές.

Σε αυτή την απροσδόκητη ανάπτυξη της υδατοκαλλιέργειας συνέβαλαν σημαντικά οι τεχνολογικές εξελίξεις της βιομηχανικής επανάστασης που εισέβαλαν σύντομα στο θαλάσσιο περιβάλλον, βοηθώντας το τομέα της αλιείας να περάσει από την παραδοσιακή -περιορισμένης έντασης και κλίμακας- εκμετάλλευση των θαλάσσιων πόρων στη βιομηχανική και εντατικοποιημένη παραγωγή, καθιστώντας τα αλιευτικά προϊόντα αναπόσπαστο μέρος της δίαιτας του σύγχρονου ανθρώπου. Σε ότι αφορούσε όμως στην συστηματική εκτροφή θαλάσσιων και γενικότερα υδρόβιων οργανισμών, η έλλειψη εδικών επιστημονικών και τεχνικών γνώσεων

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

καθήλωσε για πολλές δεκαετίες την υδατοκαλλιεργητική παραγωγή στο περιθώριο της συνολικής παραγωγής διατροφικών προϊόντων.

Οι λόγοι που οδήγησαν την υδατοκαλλιέργεια έτσι ώστε να θεωρείται ο κλάδος με την ταχύτερη ανάπτυξη είναι:

- **Η τεράστια αύξηση του πληθυσμού της γης.**

  Τα τελευταία χρόνια εκτιμάται, σύμφωνα με τον FAO, ότι ο πληθυσμός της γης θα ανέλθει στα 8,5 δισεκατομμύρια ανθρώπους το 2050 (FAO, 2010). Άρα είναι επιτακτική η ανάγκη εξεύρεσης τροφής για την κάλυψη των συνεχώς αυξανόμενων αναγκών σίτισης του διευρυνόμενου παγκόσμιου πληθυσμού, σε ένα ευρύτερο πλαίσιο υπερεκμετάλλευσης ή/και εξάντλησης των φυσικών και βιολογικών πόρων του πλανήτη μας. Συνεπώς η λύση πρέπει να αναζητηθεί περισσότερο στην αύξηση της παραγωγής, για την κάλυψη των αναγκών, παρά στο περιορισμό των αναγκών στα όρια της παραγωγής.

- **Οι διατροφικές συνήθειες.**

  Η διατροφή του σύγχρονου ανθρώπου έχει διαφοροποιηθεί κατά πολύ σε σχέση με τα προηγούμενα χρόνια καθώς ενισχύεται η τάση για υγιεινή διατροφή. Ως γνωστόν, το ψάρι αποτελεί σημαντική πηγή πρωτεϊνών ψηλής διατροφικής αξίας για τον ανθρώπινο οργανισμό και συμβάλει στην διατήρηση της υγείας αλλά και στην προστασία του από πλήθος νοσημάτων που προκαλεί η μη ισορροπημένη διατροφή. Αυτό άλλωστε φαίνεται και από την μέση κατά κεφαλήν κατανάλωση υδρόβιων οργανισμών που προέρχονται από την υδατοκαλλιέργεια

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

που αυξήθηκε από 0,7kg το 1970 σε 7,8kg το 2008 με ένα μέσο ετήσιο ποσοστό αύξησης 6,6% (FAO, 2010).

- **Υπεραλίευση.**

Τα παγκόσμια αλιευτικά αποθέματα μειώνονται από τα τέλη του 1980 κατά περίπου 0,7 εκατομμύρια τόνους ετησίως (Pauly & Watson, 2003). Αιτία φαίνεται να είναι η υπεραλίευση (Roberts & Hawkins, 1999) που ασκείται με υπερσύγχρονα αλιευτικά εργαλεία και μεθόδους και η υποβάθμιση των ενδιαιτημάτων. Η εκβιομηχανισμένη αλιεία έχει μειώσει τα αποθέματα των μεγαλόσωμων ψαριών θηρευτών κατά 90% τα τελευταία 15 χρόνια. Σήμερα, πάνω από το 70% των εμπορικά εκμεταλλεύσιμων ψαριών θεωρείται υπεραλιευμένο και οι πληθυσμοί τους τελούν υπό κατάρρευση. Έτσι η υδατοκαλλιέργεια καλείται να παίξει σημαντικό ρόλο στην κάλυψη των αναγκών για σίτιση του παγκόσμιου πληθυσμού της γης και να δώσει την δυνατότητα στα υδάτινα οικοσυστήματα να ανακάμψουν συμβάλλοντας έτσι στην διατήρηση της βιοποικιλότητας.

- **Κόστος αγοράς.**

Το κόστος αγοράς των προϊόντων της υδατοκαλλιέργειας είναι εφάμιλλο ή χαμηλότερο απ' αυτό των κοινών τροφίμων με αποτέλεσμα ο καταναλωτής να μπορεί να τα προμηθεύεται σε ιδιαίτερα προσιτές τιμές.

- **Εκτροφή κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες.**

Η δυνατότητα ελέγχου όλων των σταδίων της παραγωγικής διαδικασίας κατά την ιχθυογέννηση αλλά και την εκτροφή των υδρόβιων οργανισμών συμβάλλει στην ανάπτυξη του κλάδου τόσο σε

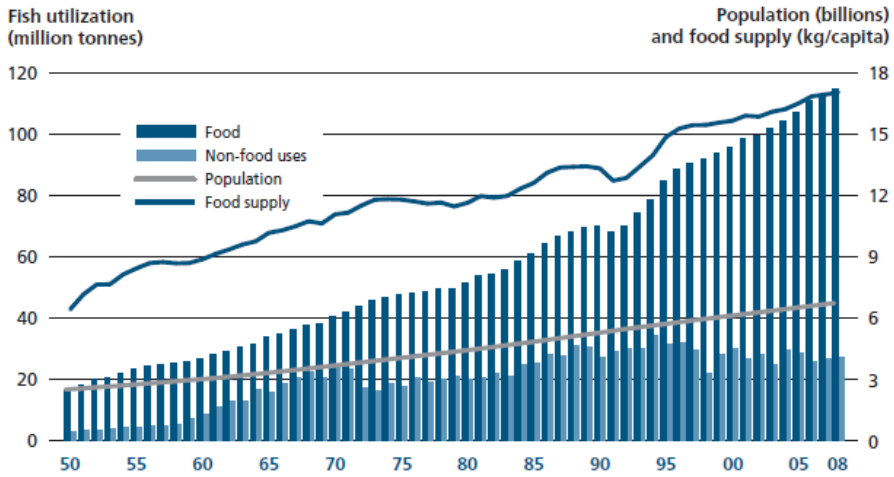
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

εργαστηριακό όσο και σε παραγωγικό επίπεδο. Με τον τρόπο αυτό προκύπτουν καινούριες τεχνικές που οδηγούν ολοένα και περισσότερο σε μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης αλλά και διατήρησης της ευζωίας των υδρόβιων οργανισμών που επιλέγονται για εκτροφή.

2. Παγκόσμια Υδατοκαλλιέργεια και Αλιεία

Η παγκόσμια παραγωγή ιχθύων και άλλων υδρόβιων οργανισμών που προέρχεται από την αλιεία και τις υδατοκαλλιέργειες αυξάνεται ουσιαστικά με ραγδαίους ρυθμούς και παρέχει όλο και μεγαλύτερες ποσότητες για κατανάλωση ως τροφή από τον άνθρωπο. Είναι γεγονός ότι η αλιεία και η υδατοκαλλιέργεια παρείχε παγκοσμίως περίπου 142 εκατομμύρια τόνους ιχθύων το 2008. Από την παραγωγή αυτή τα 115 εκατομμύρια τόνοι χρησιμοποιήθηκαν για την ανθρώπινη κατανάλωση με αποτέλεσμα ο δείκτης της κατά κεφαλήν κατανάλωσης από τον άνθρωπο να πλησιάζει τα 17kgr (βάρος ζώντος οργανισμού) και να θεωρείται ο υψηλότερος όλων των εποχών, ενώ το υπόλοιπο (27 εκατομμύρια τόνοι) χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή ιχθυελαίου, για δολώματα, για φαρμακευτικές χρήσεις καθώς επίσης και για την άμεση σίτιση στην υδατοκαλλιέργεια.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147



Διάγραμμα 1 : Παγκόσμια παραγωγή και διάθεση ιχθύων (FAO, 2010).

Η συμμετοχή της αλιείας στη παγκόσμια παραγωγή των 142 εκατομμυρίων τόνων το 2008, ανέρχεται περίπου σε 90 εκατομμύρια τόνους αξίας US$ 93,9 δισεκατομμύρια ενώ της υδατοκαλλιέργειας σε 52,5 εκατομμύρια τόνους αξίας US$98,4 δισεκατομμύρια (Πίνακας 1, Διάγραμμα 1) (FAO, 2010). Σύμφωνα με τον ίδιο πίνακα, το 2009, παρατηρήθηκε μικρή αύξηση στη παραγωγή που προέρχεται από την αλιεία (90 εκατ. τόνοι) ενώ σημαντική ήταν η αύξηση της παραγωγικής ποσότητας της υδατοκαλλιέργειας που ανήλθε σε 55,1 εκατομμύρια τόνους.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Πίνακας 1: Παγκόσμια παραγωγή αλιείας και υδατοκαλλιέργειας και χρήση αυτών (FAO, 2010).

	2004	2005	2006	2007	2008	2009
	(Million tonnes)					
PRODUCTION						
INLAND						
Capture	8.6	9.4	9.8	10.0	10.2	10.1
Aquaculture	25.2	26.8	28.7	30.7	32.9	35.0
Total Inland	33.8	36.2	38.5	40.6	43.1	45.1
MARINE						
Capture	83.8	82.7	80.0	79.9	79.5	79.9
Aquaculture	16.7	17.5	18.6	19.2	19.7	20.1
Total marine	100.5	100.1	98.6	99.2	99.2	100.0
TOTAL CAPTURE	92.4	92.1	89.7	89.9	89.7	90.0
TOTAL AQUACULTURE	41.9	44.3	47.4	49.9	52.5	55.1
TOTAL WORLD FISHERIES	134.3	136.4	137.1	139.8	142.3	145.1
UTILIZATION						
Human consumption	104.4	107.3	110.7	112.7	115.1	117.8
Non-food uses	29.8	29.1	26.3	27.1	27.2	27.3
Population (*billions*)	6.4	6.5	6.6	6.7	6.8	6.8
Per capita food fish supply (*kg*)	16.2	16.5	16.8	16.9	17.1	17.2

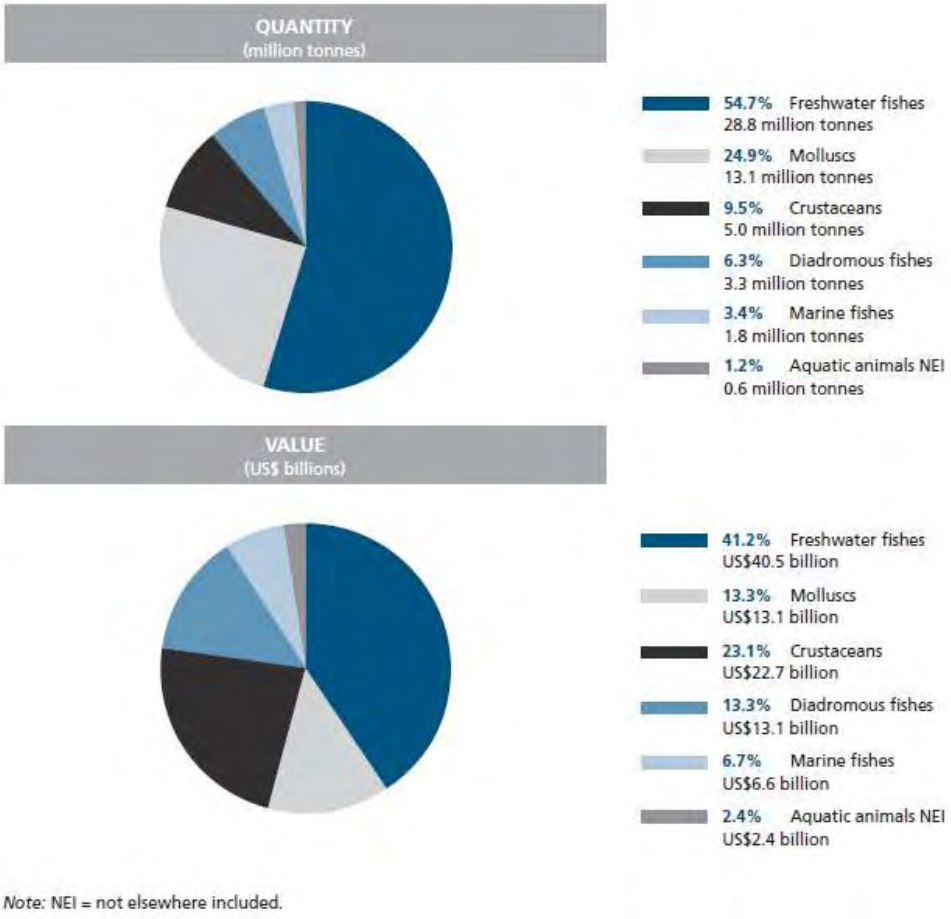
Note: Excluding aquatic plants. Data for 2009 are provisional estimates.

Σύμφωνα με πρόσφατα στοιχεία του FAO (FAO, 2010) η υδατοκαλλιέργεια συνεχίζει να είναι ο ταχύτερα αναπτυσσόμενος κλάδος στον τομέα της παραγωγής και να ξεπερνά την αύξηση του πληθυσμού της γης. Υπολογίζεται ότι η παγκόσμια παραγωγή υδρόβιων οργανισμών που προέρχονται από την υδατοκαλλιέργεια ανήλθε σε 52,5 εκατομμύρια τόνους το 2008 και η συμβολή της στην παγκόσμια παραγωγή (αλιεία και υδατοκαλλιέργειες) αυξήθηκε από 34,5% το 2006 σε 36,9%, ενώ ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξήθηκε σε ένα μέσο όρο 1,6% το χρόνο (Πίνακας 1).

Στο διάγραμμα που ακολουθεί (Διάγραμμα 2) φαίνεται καθαρά ότι το 54,7% της παγκόσμιας παραγωγής υδατοκαλλιέργειας το 2008 προήλθε από ψάρια των εσωτερικών υδάτων (28,8 εκατομμύρια τόνοι) που η αξία τους

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

υπολογίστηκε σε US$ 40,5 δισεκατομμύρια ενώ μόλις το 3,4% (1,8 εκατομμύρια τόνοι) προήλθε από θαλασσινά ψάρια.



Διάγραμμα 2:Παγκόσμια παραγωγή υδατοκαλλιέργειας: κύριες ομάδες ειδών το 2008 (FAO, 2010).

3. <u>Μηχανική Γενετική</u>

➢ Διαγονιδιακά άτομα

Η μηχανική γενετική εφαρμόζεται για την παραγωγή γενετικά τροποποιημένων ψαριών (transgenetic fish) τα οποία φέρουν και αναμεταδίδουν ένα ή περισσότερα αντίγραφα μιας ανασχεδιασμένης σειράς

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

DNA όπως για παράδειγμα μιας σειράς DNA η οποία σχεδιάστηκε και παράχθηκε με χρήση *in vitro* εργαστηριακών τεχνικών.

Επειδή η μηχανική γενετική προσδιορίζεται από την τεχνική η οποία εφαρμόζεται για την δημιουργία και μεταφορά της νέας αλληλουχίας DNA και όχι από το είδος του οργανισμού το οποίο προσδίδει το αρχικό DNA, ακόμη και τα ψάρια τα οποία τροποποιούνται με χρήση DNA προερχόμενο εξ' ολοκλήρου από άλλα ψάρια, θεωρούνται και αυτά γενετικά τροποποιημένα.

Τα πρώτα γενετικά τροποποιημένα ψάρια παράχθηκαν πριν 20 χρόνια και από τη στιγμή εκείνη, περισσότερα από 35 είδη έχουν τροποποιηθεί. Συγκρινόμενα με τα θηλαστικά, τα ψάρια προσφέρουν πολλά πλεονεκτήματα για εφαρμογή γενετικής τροποποίησης γιατί παράγουν πολύ μεγάλους αριθμούς ωαρίων ανά θηλυκό, μπορεί να γίνει τεχνητή γονιμοποίηση, τα έμβρυα μεγαλώνουν εκτός του σώματος του θηλυκού, υπάρχει μικρή πιθανότητα μεταφοράς ανθρώπινων παθογόνων οργανισμών και επίσης το γεγονός ότι η αγορά ψαριών είναι από τις ταχύτερα αναπτυσσόμενες στον πλανήτη. Για το λόγο αυτό πολλές χώρες όπως η Κίνα, η Κούβα , η Ινδία, η Κορέα, οι Φιλιππίνες και η Ταϊλάνδη διατηρούν σε ενέργεια αρκετά προγράμματα μηχανικής γενετικής ψαριών (Van Eenennaam, 2005).

Ενώ όμως αυτή η ομάδα υδρόβιων οργανισμών έχει τις πιο πολλές έρευνες γενετικής τροποποίησης και προσφέρει τα πιο πολλά πλεονεκτήματα για την εφαρμογή της, έχει γίνει από την άλλη πλευρά στόχος σοβαρών περιβαλλοντικών ανησυχιών εξ αιτίας της δυσκολίας περιορισμού και ελέγχου των ψαριών αυτών τα οποία όπως όλα τα ψάρια έχουν την τάση της συχνής μετακίνησης και εξάπλωσης, ανταγωνιζόμενοι τους τοπικούς πληθυσμούς (National Research Council, 2002).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

- **Χρωμοσωμική Μηχανική**

Αναπόσπαστο κομμάτι της μηχανικής γενετικής αποτελεί η Μηχανική των Χρωμοσωμάτων ή αλλιώς Χρωμοσωμική Μηχανική που άρχισε να αναπτύσσεται στα αμφίβια στις αρχές του 20^{ου} αιώνα. Στον τομέα της υδατοκαλλιέργειας αποκτά συνεχώς μεγαλύτερο πεδίο έρευνας μιας και τα αποτελέσματα που έχουν προκύψει είναι άκρως εντυπωσιακά σε πολλά είδη υδρόβιων οργανισμών.

Σύμφωνα με τους Lakra *et al.* (1998), οι τεχνικές επεξεργασίας των χρωμοσωμάτων με στόχο την εισαγωγή της πολυπλοειδίας (τριπλοειδία και τετραπλοειδία) αλλά και την εισαγωγή της μονοφυλετικότητας (γυνογένεση, ανδρογένεση), έχουν χρησιμοποιηθεί σε αρκετά υπό εκτροφή είδη ψαριών.

Πολυπλοειδία είναι ο όρος που περιγράφει την παρουσία περισσοτέρων των δύο σετ ομόλογων χρωμοσωμάτων σε έναν οργανισμό ή κύτταρο. Οι πολυπλοειδείς οργανισμοί δεν θεωρούνται γενετικά τροποποιημένοι. Η φυσική πολυπλοειδία εμπλέκεται στην εξέλιξη πολλών υδρόβιων οργανισμών, αλλά όσον αφορά την υδατοκαλλιέργεια η παραγωγή των τριπλοειδών θεωρείται η πιο κοινή φόρμα πολυπλοειδίας και αναφέρεται στους οργανισμούς εκείνους ή στα κύτταρα τα οποία περιέχουν τουλάχιστον τρία σετ ομόλογων χρωμοσωμάτων. Σε μερικά ασπόνδυλα και σπονδυλωτά συμπεριλαμβανομένων ερπετών, αμφίβιων και τελεόστεων, η τριπλοειδία μπορεί εύκολα να εφαρμοστεί σε εργαστηριακό επίπεδο και να δώσει βιώσιμα άτομα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Η εφαρμογή της πολυπλοειδίας (τριπλοειδία και τετραπλοειδία) βασίζεται στα εξής:

- Τα πιο πολλά σπονδυλωτά είδη είναι διπλοειδή, το οποίο σημαίνει ότι έχουν 2 πλήρη χρωμοσωματικά σετ στα κύτταρα τους.
- Τα πολυπλοειδή έχουν ένα ή περισσότερα επιπλέον σετ χρωμοσωμάτων στα κύτταρά τους.
- Τα τριπλοειδή έχουν ένα επιπλέον σετ χρωμοσωμάτων ενώ τα τετραπλοειδή έχουν 2 επιπλέον σετ χρωμοσωμάτων.

Η εισαγωγή της τριπλοειδίας θεωρείται η πιο επιτυχημένη μέθοδος πρόκλησης στειρότητας των εκτρεφόμενων ψαριών με μεγάλα οφέλη στην διαχείρισή τους. Η τριπλοειδία μπορεί να εισαχθεί με την έκθεση των ωαρίων σε φυσικοχημική διαχείριση αμέσως μετά την γονιμοποίηση. Τα τριπλοειδή ψάρια αναμένεται να είναι στείρα εξαιτίας της αποτυχίας ομόλογων χρωμοσωμάτων να επιτύχουν σωστή σύναψη μεταξύ τους κατά τη διάρκεια της δεύτερης μειωτικής αντίδρασης. Η παρέμβαση στη δεύτερη μειωτική αντίδραση γίνεται με χρήση θερμικού σοκ (θερμού και ψυχρού), με εφαρμογή πίεσης αλλά και με τη χρήση χημικών. Τριπλοειδή μπορούν επίσης να παραχθούν με την διασταύρωση τετραπλοειδών και διπλοειδών.

Η τετραπλοειδία έχει αξία μόνο σαν επικουρική μέθοδος για δημιουργία τριπλοειδίας όπως έδειξε η διασταύρωση τετραπλοειδών και διπλοειδών ατόμων ιριδίζουσας πέστροφας (*O.mykiss*) (Chourrout *et al.,* 1986). Παρόλο που η τετραπλοειδία έχει χρησιμοποιηθεί από μόνη της, τα ψάρια που παράχθηκαν στις περισσότερες περιπτώσεις είχαν πολύ μικρό ποσοστό επιβίωσης.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Στους τελεόστεους οργανισμούς, οι τεχνικές για πρόκληση στειρότητας περιλαμβάνουν επίσης και ορμονική θεραπεία. Η χρήση ορμονών παρόλα αυτά θα μπορούσε να ελαχιστοποιηθεί εξαιτίας νομοθετικών περιορισμών αλλά και του προβληματισμού των καταναλωτών σχετικά με την χρήση ορμονών στα ψάρια που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση.

Από την άλλη πλευρά, η τεχνική της μονοφυλετικότητας μπορεί να επιτευχθεί με την γυνογένεση ή ανδρογένεση. Γυνογένεση είναι η διαδικασία της δημιουργίας ψαριών με αποκλειστικά θηλυκή προδιάθεση. Η παραγωγή γυνογενετικών ατόμων είναι σημαντικού ενδιαφέροντος για τους εκτροφείς ψαριών γιατί σε μια μόνο γενιά μπορεί να εφαρμοσθεί ένα υψηλού επιπέδου ενδοαναπαραγωγικό πρόγραμμα. Η γυνογένηση μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για δημιουργία ολοθηλυκών ψαριών με θηλυκούς ομογαμέτες και επίσης να αποκαλύψει τον μηχανισμό φυλοκαθορισμού των ψαριών.

4. Τριπλοειδή

4.1 Εισαγωγή

Η ανάγκη παραγωγής στείρων πληθυσμών και ατόμων ενός φύλου προέκυψε όταν διαπιστώθηκε το τεράστιο μέγεθος της οικονομικής απώλειας που υφίστανται οι μονάδες υδατοκαλλιέργειας από τη χρονικά ανεπιθύμητη γεννητική ωρίμανση των εκτρεφόμενων ατόμων λόγω επιβράδυνσης της σωματικής αύξησης, αυξημένων θνησιμοτήτων των γεννητικά ώριμων ψαριών, υποβάθμισης της ποιότητας της σάρκας και απωλειών λόγω παραγωγής γεννητικών προϊόντων στην φάση της πάχυνσης . Ουσιαστικά αυτό μπόρεσε να αντιμετωπιστεί μέσο της μηχανικής γενετικής και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

συγκεκριμένα με την παραγωγή πολυπλοειδικών ατόμων (κυρίως τριπλοειδή) και μονοφυλετικών πληθυσμών.

Οι περισσότερες έρευνες έχουν επικεντρωθεί στην ανάπτυξη καινοτόμων τεχνικών που στοχεύουν στην παραγωγή τριπλοειδών (3n). Ο στόχος της ανάπτυξης τριπλοειδών ατόμων είναι η παραγωγή οργανισμών οι οποίοι λειτουργούν βιολογικά από κάθε άποψη εκτός από το σχηματισμό γαμετών και τις σχετικές φυσιολογικές και συμπεριφοριστικές διαδικασίες. Τα τριπλοειδή έχουν παραχθεί, τουλάχιστον σε εργαστηριακό επίπεδο, σε όλα τα εμπορικά είδη ψαριών υδατοκαλλιέργειας. Σύμφωνα με τους Piferrer *et al.* (2007) πρωτόκολλα παραγωγής τριπλοειδών έχουν δημιουργηθεί σε διάφορες οικογένειες ειδών γλυκού νερού (Salmonidae, Cichlidae, Siluridae και Cyprinidae) αλλά και θαλάσσιων ειδών (Sparidae, Moronidae, Pleuronectidae). Επίσης αντικείμενο μελέτης για πολλούς ερευνητές αποτελεί η εφαρμογή της τριπλοειδίας στα οστρακόδερμα (π.χ στρείδια), τα μαλάκια και τα όστρακα.

.

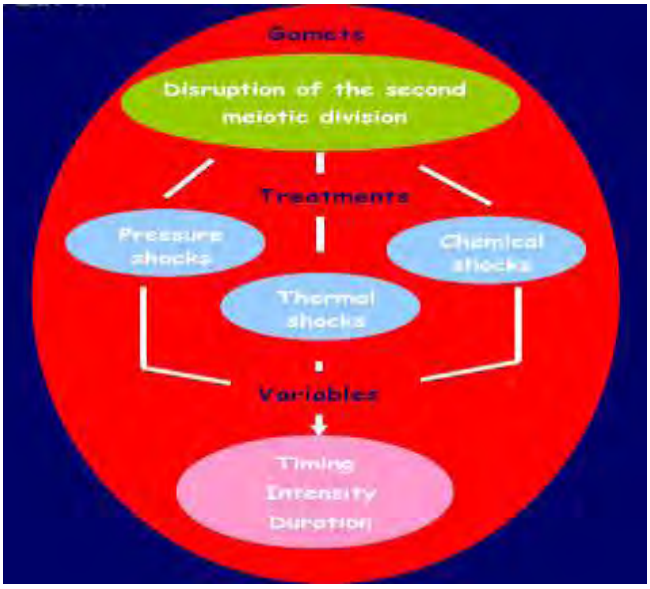
4.2 Τεχνικές παραγωγής τριπλοειδών

Η τριπλοειδία, προκαλείται τεχνητά με εφαρμογή σοκ στα πρόσφατα γονιμοποιημένα ωάρια (ζυγωτά κύτταρα) ώστε να ανασταλεί η δεύτερη μειωτική διαίρεση (Malison *et al*., 1996; Maxime, 2008). Οι μέθοδοι αυτοί βασίζονται στην χρήση σοκ με την εφαρμογή πιέσεως, θερμότητας ή χημικών ενώσεων (Εικόνα 2), προκαλώντας αποσταθεροποίηση των μικροσωληνίσκων και επηρεάζοντας έτσι τα κεντροσώματα τα οποία χρειάζονται για την δημιουργία της μιτωτικής ατράκτου (Komen & Thorgaard,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

2007). Ως συνέπεια αυτού, η κυτταρική διαίρεση του ωαρίου διακόπτεται, με αποτέλεσμα να επέρχεται η παραγωγή τριπλοειδούς ψαριού (3n) το οποίο έχει 2 σετ χρωμοσωμάτων μητρικής προέλευσης (2n) και ένα σετ χρωμοσωμάτων πατρικής προέλευσης (1n).

Η φυσική πρόκληση είναι η προτιμώμενη μέθοδος μιας και η χρήση χημικού σοκ (με χρήση κολχικίνης ή αναισθητικού), παρατηρήθηκε να οδηγεί σε εκδήλωση ασθενειών (Maxime, 2008). Η φυσική πρόκληση περιλαμβάνει σοκ υπό πίεση, είναι μια μέθοδος που έχει εφαρμοστεί με επιτυχία στην ιριδίζουσα πέστροφα (Taylor *et al*., 2007) και θερμικό σοκ (ζεστό και κρύο), το οποίο έχει εφαρμοστεί με επιτυχία στο καλκάνι (Piferrer *et al*., 2003), στην πέρκα *Perca fluviatilis* (Rougeot *et.al*., 2003) και στην τιλάπια *Oreochromis aureus* (Byamungu *et al*., 2001) (Εικόνα 2).



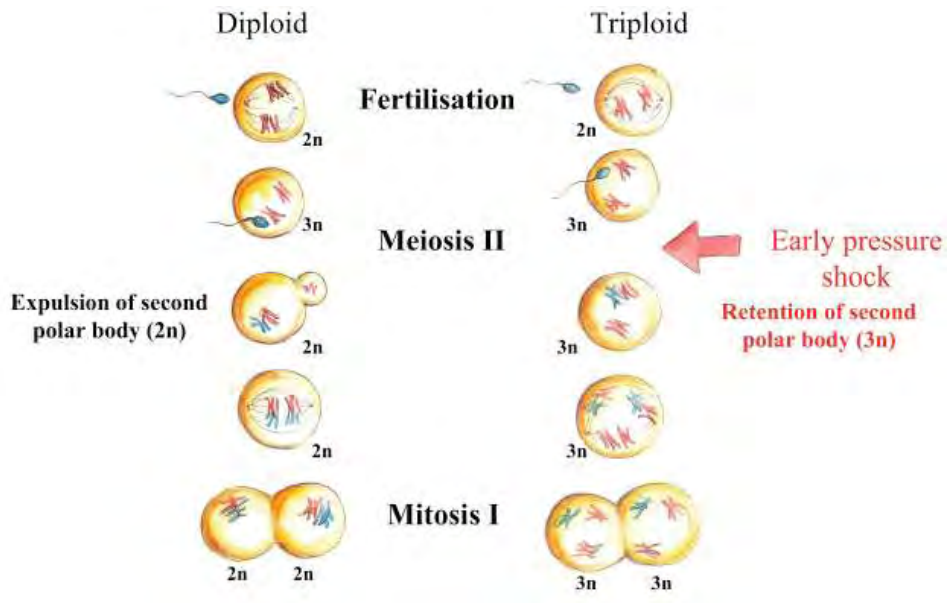
Εικόνα 2 :Μέθοδοι και παράμετροι παραγωγής τριπλοειδών υδρόβιων οργανισμών (από Migaud, 2009).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Επιπλέον οι τρείς σημαντικότερες μεταβλητές για την επιτυχία της παρέμβασης και διακοπής της δεύτερης μειωτικής διαίρεσης του γονιμοποιημένου αυγού είναι:

- Ο χρόνος μετά την γονιμοποίηση κατά την οποία θα εφαρμοσθεί το σοκ.
- Η ένταση του σοκ.
- Η διάρκεια του σοκ.

Συγκρίνοντας το βαθμό επιτυχίας, το σοκ πίεσης (Εικόνα 3) βρέθηκε να είναι πιο αποτελεσματική τεχνική, παράγοντας υψηλότερες αποδόσεις τριπλοειδιών (McGeachy *et al*., 1995; Maxime, 2008). Επίσης, το σοκ πίεσης όπως περιγράφηκε προκαλεί μικρότερα προβλήματα σε σχέση με το θερμικό σοκ (Peruzzi & Chatain, 2000; Maxime, 2008).

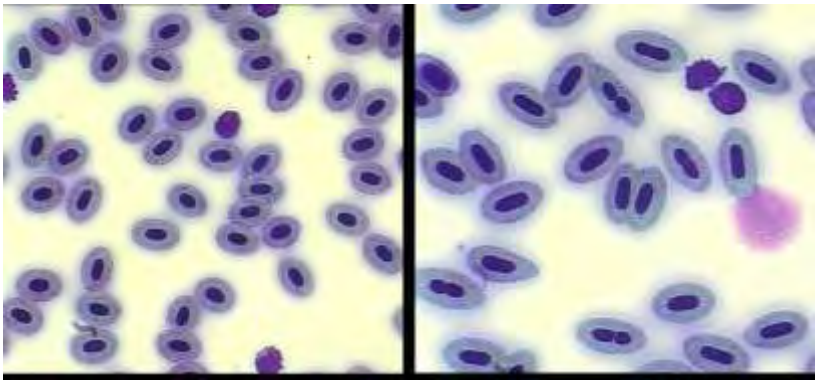


Εικόνα 3: Η διαδικασία παραγωγής τριπλοειδών και η φάση κατά την οποία εφαρμόζεται η μέθοδος του σοκ πίεσης (από Migaud *et al*., 2009).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Η επιλογή της καταλληλότερης μεθόδου παραγωγής τριπλοειδών εξαρτάται από το συγκεκριμένο είδος προς αναπαραγωγή. Η αναγνώριση του κατάλληλου συνδυασμού σοκ, της διάρκειας αυτού και της χρονικής εφαρμογής του μετά τη γονιμοποίηση, είναι ζωτικής σημασίας και μοναδικός για κάθε είδος ξεχωριστά. Μιας και τα τριπλοειδή ψάρια έχουν έναν επιπλέον αριθμό χρωμοσωμάτων, τα γενετικά κύτταρά δεν μπορούν να εφαρμόσουν τα στάδια των μειωτικών διαιρέσεων.

Για την ανίχνευση της τριπλοειδίας χρησιμοποιούνται έμμεσες τεχνικές όπως ο έλεγχος των κυτταρικών πυρήνων ή διαμέσου της ροής της κυτταρομετρίας. Το μέγεθος των ερυθρών αιμοσφαιρίων χρησιμοποιείται με επιτυχία ως δείκτης για τριπλοειδία στα ψάρια (Benfey, 1999) (Εικόνα 4).



Εικόνα 4: Τυπική εικόνα επιχρισμάτων αίματος τα οποία χρησιμοποιούνται για την επιβεβαίωση της πλοειδικής κατάστασης. Τα τριπλοειδικά αιμοκύτταρα στα δεξιά είναι 1,5 φορές μεγαλύτερα από τα αντίστοιχα των διπλοειδών στα αριστερά (από Migaud *et al.*, 2009).

4.3 Η φυσιολογία των τριπλοειδών ψαριών

Η φυσιολογία των τριπλοειδών ψαριών αποτελεί ενδιαφέρον πεδίο έρευνας για τους εξής λόγους:

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

- Ενώ είναι στείρα, παρουσιάζουν σημαντικές διαφοροποιήσεις οι οποίες επηρεάζουν την ανάπτυξη των γονάδων τους.

  Σε γενικές γραμμές τα τριπλοειδή θηλυκά έχουν μειωμένο γοναδικό δείκτη με τις ωοθήκες τους να εμφανίζουν ωογονία και ανώριμα ωάρια αλλά με κανένα ενδοκρινικό σήμα γεννητικής ωρίμανσης.
- Έχουν λιγότερα αλλά μεγαλύτερα κύτταρα στους περισσότερους από τους ιστούς των οργάνων τους (Benfey, 1999).
- Τα τριπλοειδή αρσενικά εμφανίζουν γοναδικό δείκτη παρόμοιο με αυτό των διπλοειδών αλλά με διαταραγμένη σπερματογένεση η οποία επηρεάζει την τελική μειωτική διαίρεση και ως εκ τούτου εμποδίζει την παραγωγή σπερματοζωαρίων.

  Αν καταφέρουν όμως και παραχθούν, είναι ανευπλοειδικά (απουσία ή περίσσια παρουσία ενός ή περισσοτέρων χρωμοσωμάτων) και για το λόγο αυτό η ικανότητά τους για γονιμοποίηση είναι πολύ περιορισμένη (Benfey, 1999).

Η στειρότητα των τριπλοειδών έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον της βιομηχανίας ως λύση στο πρόβλημα της χαμηλής ποιότητας σάρκας που παρατηρείται κατά την διάρκεια της γεννητικής ωρίμανσης, αλλά και σαν έναν αξιόπιστο τρόπο διασφάλισης ότι κανένα από τα ψάρια που διαφεύγουν της εκτροφής, δεν θα είναι ικανό προς αναπαραγωγή. Με τον τρόπο αυτό, τα τελευταία χρόνια επιλέγονται τριπλοειδή άτομα διαφόρων ειδών ψαριών για τον εμπλουτισμό υδάτινων οικοσυστημάτων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Παρόλα αυτά η εμπειρία από την εκτροφή τριπλοειδών ατόμων σολομού του Ατλαντικού σε μεγάλη κλίμακα έδειξε αποθαρρυντικά αποτελέσματα (Benfey, 2001). Η εκτροφή του έδειξε ότι τείνουν να έχουν χαμηλότερο ρυθμό αύξησης και μικρότερο ποσοστό επιβίωσης συγκρινόμενα με τα διπλοειδή, ενώ δείχνουν να είναι συνεχώς κάτω από την επίδραση στρες.

Έρευνες που έγιναν σε τριπλοειδή άτομα του σαλβελίνου (*Salvelinus fontinalis)* έδειξαν ότι αυτά είχαν πολύ λεπτές ωοθήκες κατά την πρώτη τους αναπαραγωγική περίοδο. Καθώς όμως τα τριπλοειδή αυτά θηλυκά μεγάλωναν έδειχναν να δεσμεύουν μικρούς αριθμούς ωοθυλακίων προς την μεγαλύτερη ανάπτυξη της λεκίθου. Τα ωοθυλάκια αυτά είχαν διαφορετικά μεγέθη και φάνηκε ότι αναπτύσσονταν ασύγχρονα (Schafhauser-Smith *&* Benfey, 2002a). Πειράματα *in vitro* έδειξαν ότι αυτά τα ωοθυλάκια είναι από ενδοκρινικής πλευράς ικανά, όπως αυτό αποδείχθηκε από την έκκριση της 17β-οιστραδιόλης, ως αντίδραση στη διέγερση με τεστοστερόνη, χοληστερόλη και/ή γοναδοτροπίνη (Schafhauser-Smith *&* Benfey, 2002b).

Σύμφωνα με τους Schafhauser-Smith *&* Benfey (2002c), σε πείραμα μεγάλης διάρκειας το οποίο περιλάμβανε θεραπεία οιστρογόνων στα τριπλοειδή και πραγματοποιήθηκε *in vivo* , απέτυχε να αυξήσει τον αριθμό ή το μέγεθος των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων τους. Προκάλεσε όμως την ηπατική σύνθεση βιτελογενίνης και την έκκρισή της στο αίμα, με την παράλληλη μείωση των επιπέδων αιμογλοβίνης στο αίμα . Αν αυτό συνδιαστεί με προηγούμενες μελέτες της υπόφυσης και της ηπατικής λειτουργίας των τριπλοειδών ατόμων σολομού coho (*Oncorhynchus kisutch*), γίνεται φανερό ότι το ενδοκρινικό σύστημα που συνδέεται με τις ωοθήκες είναι πλήρως λειτουργικό και στα τριπλοειδή θηλυκά. Λείπουν όμως τα κατάλληλα σήματα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

για την ανάπτυξη των ωοθηκών αυτών, πιθανώς εξαιτίας του μικρού αριθμού των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων (Benfey *et al*., 1989) .

Κατά τα άλλα, τα τριπλοειδή και τα διπλοειδή φαίνεται να έχουν παρόμοιες αεροβικές ικανότητες (Stillwell & Benfey, 1997) αλλά τα τριπλοειδή έχουν χαμηλότερους ρυθμούς κατανάλωσης οξυγόνου και όταν κολύμπησαν αεροβικά μέσα σε ρεσπιρόμετρο (Stillwell & Benfey, 1996) αλλά και όταν επανέρχονταν μετά από εξαντλητική σωματική άσκηση (Hyndman *et al,* 2002a).

Τα πιο πάνω πειράματα ήρθαν ως απάντηση στην ερώτηση αν η μείωση της συνολικής επιφάνειας των ερυθρών κυττάρων του αίματος σε σύγκριση με τον όγκο του, θα επηρεάσει τον ρυθμό κατανάλωσης οξυγόνου των κυττάρων στα τριπλοειδή ψάρια. Όπως έδειξαν τα αποτελέσματα των πειραμάτων, κάτι τέτοιο δεν φαίνεται να υφίσταται. Ο ρυθμός κατανάλωσης οξυγόνου στο αίμα τριπλοειδών δεν είναι σημαντικά διαφορετικός από τον αντίστοιχο των διπλοειδών. (1,87 ± 0,51 vs 1,67 ± 0,28 nmol/ml/min/g Hb αντιστοίχως).

Σύμφωνα με τους Hyndman *et al*. (2002a), η γενική ανταπόκριση σε εξαντλητική σωματική άσκηση σε θερμοκρασία νερού 9 ^{o}C, ήταν παρόμοια στα τριπλοειδή και στα διπλοειδή, παρόλο που τα τριπλοειδή επανέρχονταν πιο γρήγορα από την αλκαλική ύφεση του αίματος, την μείωση της ATP των μυών και την συσσώρευση του γαλακτικού οξέως σε αυτούς. Παρόλα αυτά στους 19 ^{o}C τα τριπλοειδή παρουσίασαν πολύ υψηλή (90%) θνησιμότητα κατά την διάρκεια 4 ωρών εξαντλητικής άσκησης, ενώ τα διπλοειδή δεν είχαν καμία θνησιμότητα. Τα τριπλοειδή έδειξαν μειωμένη αναεροβική ικανότητα η οποία οφείλεται στην απουσία της εξάντλησης της φωσφοκρεατίνης, και είχε

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

ως επακόλουθο την αργή επαναφορά της ATP των μυών και την αργή μείωση του γαλακτικού οξέως (Hyndman *et al.,* 2002b).

Τα πιο πάνω αποτελέσματα βοήθησαν στην εξήγηση προηγούμενης παρατήρησης για μειωμένη αντοχή των τριπλοειδών ιριδίζουσας πέστροφας (*O. mykiss*) σε αυξημένες θερμοκρασίες νερού (Ojolick *et al*., 1995). Επίσης, στα τριπλοειδή άτομα του σολομού coho σύμφωνα με την έρευνα του Withler *et al.,* (1995), παρατηρήθηκε φτωχή ανάπτυξη και μικρή επιβίωση.

4.4 Σολομοί

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια δραματικά αυξανόμενη τάση παραγωγής εκτρεφόμενου σολομού του Ατλαντικού *(Salmo salar)* (Εικόνα 5) στις χώρες της Ευρώπης καθώς και στη Χιλή, η οποία οδηγεί σε σοβαρούς προβληματισμούς σχετικά με τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις αυτών των δραστηριοτήτων. Ένα συγκεκριμένο πεδίο προβληματισμού έχει να κάνει με την αύξηση των διαφυγών και τις επιπτώσεις που έχουν στους άγριους πληθυσμούς. Μόνο στη Σκωτία για παράδειγμα, καταγράφηκαν 52 περιπτώσεις διαφυγών μεταξύ του 2003 και 2005. Για το λόγο αυτό έγινε επιτακτική η ανάγκη να γνωστοποιηθούν οι αρνητικές επιπτώσεις που είχαν οι διαφυγές αυτές προς το περιβάλλον. Επιπλέον αυτού κινήθηκαν διαδικασίες συνεχούς παρακολούθησης των αγρίων αποθεμάτων με σκοπό την προστασία τους αλλά και ορισθήκαν νέοι κανονισμοί απαραίτητοι για την αειφόρο ανάπτυξη της βιομηχανίας εκτροφής σολομού, κάνοντάς την φιλική προς το περιβάλλον.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Εικόνα 5:Σολομός του Ατλαντικού*(Salmo salar)*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/photos/ThumbnailsSummary.php?ID=236)

4.4.1 Παραγωγή τριπλοειδών ατόμων σολομού

Παρότι έχει επιτευχθεί μεγάλη τεχνολογική πρόοδος στον σχεδιασμό και εγκατάσταση πλωτών συστημάτων εκτροφής, κανένα σύστημα δεν μπορεί να είναι απόλυτα ασφαλές κατά των διαφυγών όσο αυτές είναι πιθανές εξαιτίας καιρικών συνθηκών, ανθρώπινου λάθους η μηχανικής βλάβης. Έτσι ο κίνδυνος διαφυγής στο περιβάλλον σολομού δυνητικά ικανού προς αναπαραγωγή είναι πολύ πιθανός. Για το λόγο αυτό η διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής στείρου σολωμού αποτελεί πεδίο το οποίο κερδίζει ολοένα και περισσότερους υποστηρικτές εξαιτίας της ελάχιστης επίπτωσης στο περιβάλλον που θα έχει η διαφυγή αυτών των ψαριών.

Επίσης η τριπλοειδία υποστηρίζεται και από διάφορες ΜΚΟ (FAO International Council of the Exploitation of the Sea, North Atlantic Salmon Conservation Organisation) ως ο καλύτερος τρόπος αντιμετώπισης της γενετικής επιμόλυνσης από τις διαφυγές.

Η τριπλοειδία στα άτομα του σολομού επιτυγχάνεται με την υποβολή προσφάτως γονιμοποιημένων ωαρίων σε συνθήκες πιέσεως ή θερμικού (ζεστού ή κρύου) σοκ, την στιγμή της δεύτερης μειωτικής διαίρεσης, το οποίο θα προκαλέσει την κατακράτηση του πολικού σώματος στο ωάριο και την παραγωγή ψαριών με 3 σετ χρωμοσωμάτων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Στον πίνακα 2 που ακολουθεί αναφέρονται ενδεικτικά κάποιες μελέτες ερευνητών οι οποίοι παρήγαγαν τριπλοειδή άτομα διαφόρων ειδών σολομού με την μέθοδο της πίεσης.

Πίνακας 2: Μελέτες ερευνητών για την παραγωγή τριπλοειδών ατόμων σολομού με την μέθοδο της πιέσης.

Είδος	**Πίεση (psi)**	**Διάρκεια άσκησης πίεσης (min)**	**Χρόνος έναρξης μετά την γονιμοποίηση (min)**	**Ποσοστό επιβίωσης (%)**	**Ποσοστό Τριπλοειδίας (%)**	**Θερμοκρασία εκκόλαψης (^oC)**	**Ερευνητές**
Salmo salar	10150	3	15	27,7	100		Benfey & Sutterlin, (1984)
Salmo salar	10150	6	15	30,4	100		Benfey & Sutterlin, (1984)
O. kisutch	9500	4	20	78	100	10 ^oC	Piferrer *et al.*, (1994)
Salmo salar	9500	5	30	95			Johnstone & Stet,(1995)
Salmo salar	9500	5	30	68		10 ^oC	McGeachy *et al.,* (1995)
Salmo salar	9500	5	30	68		10 ^oC	Friars *et al.,* (2001)
Oncorhynchus tshawytscha	10000	5	30	53	96	8 ^oC	Johnson *et al.*, (2004)
Salmo salar	9500	6 & 0.15sec	37 &30 sec	77,5			Fjelldal & Hansen, (2010)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

4.4.2 Πλεονεκτήματα

Η παραγωγή τριπλοειδών ατόμων όχι μόνο θα ελαχιστοποιούσε τον κίνδυνο γεννητικής επιμόλυνσης του άγριου πληθυσμού, αλλά μπορεί να αποφέρει και μια σειρά από πλεονεκτήματα, όπως:

- Μερική ή ολική αποφυγή της γεννητικής ωρίμανσης και των επιπτώσεων που έχει στην απώλεια βάρους αλλά και το στρες που προκαλεί κάνοντας τα ψάρια ευπαθή σε ασθένειες.
- Αύξηση σωματικού ρυθμού ανάπτυξης μιας και η ενέργεια που προοριζόταν για την ανάπτυξη των γονάδων, ανακατευθύνεται προς την αύξηση μυϊκού ιστού.
- Περισσότερες και μεγαλύτερες περίοδοι αλίευσης.
- Βοηθά τις εταιρείες ιχθυογέννησης σολομού να προστατέψουν την επένδυση και γραμμή παραγωγής τους με την χρήση γενετικά επιλεγμένων στελεχών.

4.4.3 Προβλήματα του παρελθόντος

Η τριπλοειδία δεν είναι νέα μέθοδος. Εφαρμόστηκε για πρώτη φορά στις αρχές τις δεκαετίας του 90’ με σκοπό να αποφευχθεί η γεννητική ωρίμανση των ψαριών. Δυστυχώς η χαμηλή απόδοσή της, οι υψηλές θνησιμότητες και οι ανομοιομορφίες των παραχθέντων ιχθυδίων οδήγησε την βιομηχανία στο να εγκαταλείψει την ιδέα της τριπλοειδία και να προτιμήσει τον φωτοπεριοδικό έλεγχο της γεννητικής ωρίμανσης πριν από την αλίευση.

Όμως παρόλο που ο φωτοπεριοδικός έλεγχος μειώνει αισθητά την γεννητική ωρίμανση, κατά την εκτροφή, το απόθεμα των ψαριών παραμένει

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

δυνητικά ικανό προς αναπαραγωγή, και για το λόγο αυτό συνεχίζει να υφίσταται ο κίνδυνος διαφυγών και επιμόλυνσης του άγριου στοκ.

Η τριπλοειδία είναι σήμερα η μόνη μη χημική και μη γενετικά τροποποιημένη μέθοδος η οποία μπορεί και παράγει στείρα άτομα.

Επιπλέον αυτού, τα εξαιρετικά επιτεύγματα της έρευνας και ανάπτυξης της γενετικής επιλογής, η διαχείριση των ψαριών, οι διατροφικές φόρμουλες (Εικόνα 6), οι λειτουργικές διαδικασίες και η γενικώς καλύτερη γνώση της φυσιολογίας του σολομού κατά τη διάρκεια των 10-15 τελευταίων ετών, συνιστά ότι τα προβλήματα που ήταν μέχρι στιγμής συνδεδεμένα με την τριπλοειδία φαίνεται να είναι λιγότερο σθεναρά από ότι φαινόταν στην αρχή.

Εικόνα 6: Πρώτο τάισμα ιχθυδίων σολομού με ξηρή τροφή
(από Migaud *et al.,* 2009).

Λαμβάνοντας υπόψη διάφορες μελέτες οι οποίες δείχνουν διαφορετικά αποτελέσματα σωματικής ανάπτυξης των τριπλοειδών ατόμων σολομού, είναι πολύ σημαντικό να διασφαλισθεί ότι τα τριπλοειδή έχουν τον ίδιο ή καλύτερο ρυθμό ανάπτυξης από τα διπλοειδή αφού βέβαια τους δοθούν οι κατάλληλες συνθήκες εκτροφής.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Με την διαδικασία παραγωγής τριπλοειδών να έχει αποσαφηνισθεί, τις λειτουργίες διαχείρισης να έχουν βελτιωθεί και τις περιβαλλοντικές ανησυχίες να έχουν κορυφωθεί, φαίνεται ότι αυτή είναι η κατάλληλη στιγμή για την εισαγωγή των τριπλοειδών στην βιομηχανία παραγωγής σολομού.

4.4.4 Σύγχρονη έρευνα

Με την αύξηση της επιστημονικής γνώσης στην φυσιολογία των τριπλοειδών έγινε φανερό ότι τα προβλήματα του παρελθόντος σχετίζονται με ακατάλληλες συνθήκες ανάπτυξης, λάθη στο χειρισμό του γόνου και ελλιπείς φόρμουλες διατροφής. Παρόλα αυτά ακόμη και σήμερα υπάρχουν άγνωστες περιοχές οι οποίες χρειάζονται περισσότερη έρευνα και μελέτη. Αν και σε αυτές τις άγνωστες περιοχές βελτιωθεί η γνώση, είναι φανερό ότι η παραγωγή τριπλοειδών ιχθυδίων εκτρεφόμενων κάτω από συνθήκες ευζωίας, θα κάνει ένα μεγάλο βήμα μπροστά προς την κατεύθυνση του ελέγχου των περιβαλλοντικών επιπτώσεων που θα είχε η γενετική επιμόλυνση του άγριου πληθυσμού.

Η τριπλοειδία θα μπορέσει επίσης να επιλύσει το πρόβλημα της ευζωίας που συνδέεται με την πρώιμη γεννητική ωρίμανση και τα μειωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά της περιόδου αυτής.

Μιας και τα περισσότερα ωάρια σολομού αυτή τη στιγμή προέρχονται από οργανωμένους ιχθυογεννητικούς σταθμούς είναι σημαντικό το να συγκριθούν τα τριπλοειδή με τα υπόλοιπα προγράμματα γενετικής επιλογής ώστε να αναγνωρισθούν οι καλύτερες γραμμές επιλογής ιχθυδίων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Πριν βέβαια εφαρμοσθεί μια τέτοια μεγάλη αλλαγή στη βιομηχανία του σολομού θα πρέπει να κατανοηθούν πλήρως οι περιβαλλοντικές απαιτήσεις των τριπλοειδών και η απόδοσή τους σε βιομηχανική κλίμακα εκτροφής.

Επιπλέον αυτού είναι πολύ σημαντικό να γίνει έρευνα καταναλωτικής αποδοχής των τριπλοειδών ως προϊόντος, ώστε να διερευνηθεί αν ένα τέτοιο προϊόν θα είναι οικονομικά βιώσιμο.

4.5 Λαυράκι (Dicentrarchus labrax)

Ένα βελτιστοποιημένο πρωτόκολλο παραγωγής τριπλοειδών λαβρακιών, βασισμένο σε χρήση ψυχρού σοκ στα ωάριά τους, εκπονήθηκε από τους Felip *et al*. (1997) και παρουσιάζεται πιο κάτω:

4.5.1 Σκοπός του πρωτοκόλλου

Σκοπός του πρωτόκολλου είναι να εισάγει την τριπλοειδία στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) (Εικόνα 7), χρησιμοποιώντας μια βελτιστοποιημένη διαδικασία βασισμένη στην εφαρμογή ψυχρού θερμικού σοκ στα ωάρια. Το ποσοστό συμμετοχής της κάθε ψυχρής διαχείρισης των αυγών, φέρει διαφορά στο ποσοστό επιτυχίας της τριπλοειδίας και στο τελικό ποσοστό επιβίωσης. Επίσης παρουσιάζεται το αποτέλεσμα που έχει η τριπλοειδία στην ανάπτυξη των γονάδων στα θηλυκά αλλά και αρσενικά λαβράκια που θα παραχθούν από την εφαρμογή της μεθόδου.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Εικόνα 7:Λαυράκι(*Dicentrarhus labrax)*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=63).

4.5.2 Διαδικασία

- Διατηρούμε κατάλληλο αριθμό από αρσενικούς και θηλυκούς γεννήτορες για την διαδικασία της ωοτοκίας.
- Ελέγχουμε τακτικά την ποιότητα των γαμετών.
- Όταν οι γαμέτες φθάσουν στην απαιτούμενη ποιότητα, προετοιμάζουμε τον εξοπλισμό για την διαδικασία της τριπλοειδίας.
- Συλλέγουμε (με μαλάξεις) τους γαμέτες θηλυκών και αρσενικών και στη συνέχεια γονιμοποιούμε τα ωάρια.
- Προσεκτικά τοποθετούμε τα ωάρια σε κύλινδρο διαχωρισμού τους για το τεστ πλευστότητας. Μόνο τα ωάρια που επιπλέουν είναι βιώσιμα και προχωρούμε στη συλλογή τους.
- Πέντε λεπτά μετά τη γονιμοποίηση υποβάλουμε τα γονιμοποιημένα ωάρια σε ψυχρό σοκ στους 0 ^{o}C για 10 min. Για καλύτερο αποτέλεσμα θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί ψυχρό θαλασσινό νερό τοποθετημένο μέσα σε γυάλινη λεκάνη. Η λεκάνη καλό είναι να τοποθετηθεί μέσα σε μια μεγαλύτερη η οποία θα περιέχει μείγμα νερού και τριμμένου πάγου ώστε να διατηρηθεί η χαμηλή θερμοκρασία. Χρησιμοποιούμε ένα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

θερμόμετρο υδραργύρου ώστε να ελέγχουμε τις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας νερού κατά τη διάρκεια της διαδικασίας.

- Μετά το τέλος του δεκάλεπτου μεταφέρουμε τα ωάρια (Εικόνα 8) στον επωαστήρα.

4.5.3 Υλικά

- Γυάλινα φιαλίδια των 15ml για τη συλλογή του σπέρματος.
- Γυάλινα φιαλίδια των 500ml για τη συλλογή των αυγών.
- Πλαστικό δίσκο για την τεχνητή γονιμοποίηση.
- Ένα φτερό χήνας.
- Πιπέτες Pasteur.
- Διαβαθμισμένους κυλίνδρους.
- Πλαστικούς δίσκους και κόσκινα.
- Πλαστικούς δίσκους για το ψυχρό σοκ.
- Γυάλινες λεκάνες στις οποίες θα τοποθετηθούν τα γονιμοποιημένα αυγά για να υποβληθούν στο ψυχρό σοκ.
- Χρονόμετρο.
- Θερμόμετρο υδραργύρου.
- Ρούχα προστασίας εργαστηρίου.
- Πλαστικά δοχεία για την αναισθητοποίηση των ψαριών.
- Διαθέσιμο επωαστήρα.

4.5.4 Αντιδραστήρια και διαλύματα

- Αναισθητικό: MS-222 (0,1g/l θαλασσινού νερού) ή 2-phenoxyethanol (0,5ml/l θαλασσινού νερού). Εναλλακτικά, η αναισθησία μπορεί να γίνει

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

με χρήση γαρυφαλλέλαιου. Το γαρυφαλλέλαιο έχει αναγνωρισθεί σαν αποτελεσματικό αναισθητικό για το λαβράκι χρησιμοποιούμενο σε υποδεκαπλάσια δόση από αυτή της 2-phenoxyethanol.

- Μείγμα νερού με τριμμένο πάγο, για το ψυχρό σοκ.

4.5.5 Αποτελέσματα πειράματων

Η εφαρμογή της τριπλοειδίας είναι τύπος πολυπλοειδίας κατά τον οποίο ο ζυγωτής έχει τρία απλοειδή σετ χρωμοσωμάτων, εκ των οποίων το ένα προέρχεται από τον πατέρα (1n, σπέρμα) και δύο από την μητέρα (1n, από τον πυρήνα του ωαρίου και 1n ακόμη από τον πυρήνα του δεύτερου πολικού σώματος). Είναι φανερό ότι η συγκράτηση του δεύτερου πολικού σώματος είναι κρίσιμη για την δημιουργία των τριπλοειδών (3n). Αυτό σημαίνει ότι είναι απαραίτητο να ελέγχεται στενά η διαδικασία της τεχνητής γονιμοποίησης ώστε να ταυτοποιηθεί η κατάλληλη στιγμή εφαρμογής του κρύου σοκ ώστε να προληφθεί η δεύτερη μειωτική διαίρεση στο γονιμοποιημένο ωάριο (Ihssen *et al*., 1990). Πειράματα με την χρήση ψυχρού σοκ έχουν εκπονηθεί και από άλλους ερευνητές όπως φαίνεται στον πίνακα 3 που ακολουθεί.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Πίνακας 3: Χρήση ψυχρού σοκ για την παραγωγή τριπλοειδών ατόμων λαβρακιού (*Dicentrarhus labrax*).

Ερευνητές	**Θερμοκρασία (^oC)**	**Διάρκεια ψυχρού σοκ (min)**	**Χρόνος έναρξης μετά την γονιμοποίηση (min)**	**Ποσοστό επιβίωσης (%)**	**Ποσοστό τριπλοειδίας (%)**
Colombo *et al*., (1995)	0-2	20	5	50	90
Felip *et al*., (1997)	0	10	5	80	97,5
Felip *et al*., (1999)	0	10	5	80	96
Peruzzi & Chatain, (2000)	0-1	15-20	5	56	100
Felip *et al.,* (2009)	0	10	5	90	96

Στο λαβράκι έχουν δοκιμασθεί σοκ πίεσης και θερμικά σοκ. Αν και οι διαδικασίες θερμικού σοκ έχουν τυποποιηθεί, οι αντίστοιχες του σοκ με την εφαρμογή πίεσης φαίνονται απλά σαν εναλλακτική λύση για τη δημιουργία τριπλοειδών.

4.6 Τιλάπιες

Η τιλάπια δείχνει να είναι το πιο προσδόκιμο είδος ψαριού για μεγάλης κλίμακας παραγωγή δυνητικά στείρων ατόμων, σύμφωνα με τα μέχρι σήμερα δεδομένα της ιχθυοκαλλιέργειας. Η τιλάπια του Νείλου (*Oreochromis niloticus)* (Εικόνα 9), έδωσε υψηλά ποσοστά τριπλοειδών (83,3%), με χρήση ψυχρού σοκ 14^oC, για διάρκεια 60 λεπτών, μόλις 5 λεπτά μετά την γονιμοποίηση των ωαρίων ώστε να προκληθεί διακοπή της αποβολής του δεύτερου πολικού σώματος. Επίσης η τιλάπια του Νείλου που προέρχεται από τριπλοειδία εμφανίζει καλύτερη ανάπτυξη (66-90%) σε σχέση με τα άτομα που

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

προέρχονται από διπλοειδία και έδειξε μειωμένο γεννητικό διμορφισμό (Dunham,1995).

Εικόνα 9: Τιλάπια του Νείλου *(Oreochromis niloticus)*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=2).

Σε ηλικία 6 μηνών, η ανάπτυξη των γονάδων ήταν αισθητά μειωμένη και στα δύο τριπλοειδή φύλα. Οι Jeong *et al*. (1992), αναφέρει ιδανική παραγωγή τριπλοειδών (100%) με χρήση ψυχρού σοκ στους 10° C±0,2 πέντε λεπτά μετά την γονιμοποίηση.

Παρότι η ανάπτυξη των διπλοειδών και τριπλοειδών ήταν ίδια κατά τις πρώτες εβδομάδες εκτροφής τους, στο αμέσως επόμενο διάστημα των 6 μηνών τα τριπλοειδή έδειξαν πολύ μεγαλύτερη αύξηση. Η εξέταση των γονάδων τους, έδειξε γεννητική ωρίμανση των διπλοειδών και λειτουργική στειρότητα των τριπλοειδών.

Οι Martinez-Dias & Celis-Maldonado (1994) αναφέρουν 100% παραγωγή τριπλοειδών στην *O. niloticus*, με την χρήση και θερμού και ψυχρού σοκ. Καμία διαφορά στον ρυθμό ανάπτυξης δεν παρατηρήθηκε μέχρι την ηλικία των 3 μηνών, και τα τριπλοειδή ψάρια παρουσίασαν διαφορετικό ποσοστό επιβίωσης και σκελετικών δυσμορφιών (25% των τριπλοειδών με τη μέθοδο του ψυχρού σοκ και 32% με τη μέθοδο του θερμού σοκ).

Σε περεταίρω εξέταση των τριπλοειδών ατόμων της *O. niloticus* που γεννήθηκαν με τη χρήση πιέσεως ή θερμού-ψυχρού σοκ, οι Hussain *et al*.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

(1995), αναφέρουν ότι παρόλο που τα θηλυκά τριπλοειδή ήταν και λειτουργικώς αλλά και ενδοκρινολογικώς στείρα, τα τριπλοειδή αρσενικά παρουσίασαν ενδοκρινολογικό προφίλ παρόμοιο με των διπλοειδών παρά το ότι είχαν στείρους γαμέτες. Στην ίδια μελέτη και τα δύο τριπλοειδή φύλα δεν παρουσίασαν διαφορά στην ανάπτυξη συγκρινόμενα με τα διπλοειδή.

Σε άλλη έρευνα εφαρμογής θερμού σοκ στο είδος *O. niloticus* οι Bramick *et al.* (1995) (Πίνακας 4) επίσης αναφέρουν παρόμοιο ρυθμό ανάπτυξης μεταξύ τριπλοειδών και διπλοειδών αλλά μέχρι την ηλικία γεννητικής ωρίμανσης. Στο τέλος των πειραμάτων τους όμως, τα τριπλοειδή αρσενικά ξεπέρασαν σε σωματικό βάρος τα διπλοειδή κατά μέσο όρο 66%, ενώ τα τριπλοειδή θηλυκά ξεπέρασαν τα διπλοειδή κατά μέσο όρο 95%.

Πίνακας 4:Παραγωγή τριπλοειδών ατόμων διαφορετικών ειδών τιλάπιας με τη χρήση θερμού σοκ.

Είδος	**Αριθμός ωαρίων**	**Θερμοκρασία (^oC)**	**Διάρκεια θερμικού σοκ (min)**	**Χρόνος έναρξης μετά την γονιμοποίηση (min)**	**Ποσοστό επιβίωσης (%)**	**Ποσοστό τριπλοειδίας (%)**	**Ερευνητές**
T. aurea	25	38	60	15	50	10	Valenti, 1975
O. aureus		39,5	3,75	2.5-3.5	61	100	Don & Avtalion, (1986)
O. niloticus	800	40,5	3,75	3,5	13	50	Don & Avtalion, (1988)
O. aureus	800	39,5	3,75	3	60	60	Don & Avtalion, (1988)
O. mossambicus		42	3	3,5	72	100	Varadaraj & Pandian, (1988)
O. mossambicus	1200	42	3	2,5	57	100	Varadaraj & Pandian, (1990)
O. niloticus		41	3,5	5	70	100	Hussain *et al*., (1991)
O. niloticus	2400	41	4,5	4	87	97	Bramick *et al.*,(1995)
O. niloticus		40,5	4,5	5	88	75	El Gamal *et al.,* (1999)
O. aureus		42	3	3	60,7	80	Byamungu *et al.,* (2001)
O. mossambicus X O. niloticus	350-400	41	5	4	85	94,4	Pradeep *et al*., (2012)
O. mossambicus X O. niloticus		41	5	4	80	91	Pradeep *et al.,* (2010)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Ερευνώντας την μπλε τιλάπια *Oreochromis aureus* (Εικόνα 10), οι Chang *et al*. (1993), ανέφεραν διακριτές διαφορές στην ανάπτυξη γονάδων τριπλοειδών που παράχθηκαν με την χρήση θερμικού σοκ, μέχρι την ηλικία των 24 εβδομάδων, αν και δεν φάνηκαν διακριτές διαφορές στον ρυθμό ανάπτυξης των ψαριών αυτών.

Εικόνα 10: Μπλε Τιλάπια *(Oreochromis aureus)*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=1387)

4.7 Κυπρίνοι

Παρά την εμπορική επιτυχία του τριπλοειδούς κυπρίνου grass (*Ctenophatyngodon idella*) (Εικόνα 11), τα αποτελέσματα της τριπλοειδίας στα κυπρινοειδή δεν είναι αρκετά ικανοποιητικά και ομοιόμορφα.

Εικόνα 11:Χορτοφάγος κυπρίνος *(Ctenophatyngodon idella)*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=79).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Ο Tave (1993) αναφέρει ότι σε μικτή εκτροφή του μαρμαροκυπρίνου *Hypophthalmichthys nobilis* (Εικόνα 12) και κατά τη διάρκεια του 2ου έτους εκτροφής, τα διπλοειδή ξεπέρασαν σημαντικά τα τριπλοειδή τόσο σε σωματικό βάρος αλλά και σωματικό μήκος. Όταν εκτράφηκαν ξεχωριστά, τα διπλοειδή ήταν και μακρύτερα κατά 5% και βαρύτερα κατά 15%, αλλά οι διαφορές αυτές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

Εικόνα 12: Μαρμαροκυπρίνος ***(****Hypophthalmichthys nobilis)*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=275)

Σε μελέτη τριπλοειδίας στον κοινό κυπρίνο (*Cyprinus carpio*) (Εικόνα 13), οι Cherfas *et al.* (1994) αναφέρουν ότι η συνολική επιβίωση τριπλοειδών ήταν κατά τον πρώτο χρόνο εκτροφής μόλις στο 70% της αντίστοιχης επιβίωσης των διπλοειδών. Επιπροσθέτως, ενώ τα τριπλοειδή φαίνεται να είναι λειτουργικώς στείρα, το μέσο σωματικό βάρος τους ήταν στο 85% του αντίστοιχου των διπλοειδών.

Εικόνα 13:Κοινός κυπρίνος ***(****Cyprinus carpio)*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=1450)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Κάτω από κάθε μορφή συνθηκών που έχουν ερευνηθεί μέχρι στιγμής, οι τριπλοειδείς κυπρίνοι αναπτύσσονται με πιο αργό ρυθμό από τους διπλοειδείς.

4.8 Πέστροφες

Συχνά τα αποτελέσματα της εφαρμογής σοκ στα ωάρια για την δημιουργία τριπλοειδών, μπορεί να καθυστερήσουν για κάποιο διάστημα μέχρι να δώσουν τα πρώτα δείγματα των πλεονεκτημάτων της στειρότητας στον ρυθμό σωματικής ανάπτυξης. Οι Ihssen *et al.* (1991), ερευνώντας αυτό το φαινόμενο με την ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) (Εικόνα 14), αναφέρουν φτωχό ρυθμό ανάπτυξης κατά το πρώτο διάστημα της εκτροφής, ο οποίος όμως αντιστρέφεται σε εξαιρετικό και ξεπερνά κατά πολύ τον αντίστοιχο των διπλοειδών όταν τα ψάρια φτάσουν σε γεννητική ωρίμανση της οποίας η επίδραση είναι ελάχιστη στα τριπλοειδή.

Εικόνα 14: Ιριδίζουσα πέστροφα *(Oncorhynchus mykiss)*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=239

Οι Goryczno *et al*. (1992), παρήγαγαν τριπλοειδή αμοιβαίων διασταυρώσεων των ειδών σολομοειδών, *S. fontinalis*, *Salmo trutta trutta* (Εικόνα 15*)* και *O. mykiss.* Παρότι η μειωτική τριπλοειδία εφαρμόσθηκε με την χρήση θερμού σοκ, τα τριπλοειδή υβρίδια έδειξαν επιβίωση και ρυθμό ανάπτυξης ανάλογους αυτών της ιριδίζουσας πέστροφας που είχε κρατηθεί ως μάρτυρας. Το γεγονός αυτό οι συγγραφείς το αποδίδουν στην ετέρωση.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Οι McKay *et al.* (1992), αναφέρουν μετρίως καλύτερο ρυθμό ανάπτυξης της τριπλοειδούς υβριδικής tiger πέστροφας (*S. trutta x S. fontinalis*) σε σχέση με τα αντίστοιχα διπλοειδή υβρίδια, αν και το μικρό αυτό πλεονέκτημα δεν ήταν ορατό αν συγκριθεί με τον ρυθμό ανάπτυξης της *S. fontinalis.*

Εικόνα 15: Πέστροφα *(Salmo trutta)*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=238).

Οι Blanc *et al.* (1992), εξέτασε τις επιδόσεις της διπλοειδούς και τριπλοειδούς ιριδίζουσας πέστροφας συγκρινόμενες με αυτές των τριπλοειδών υβριδίων προερχόμενα από την διασταύρωση θηλυκών ατόμων ιριδίζουσας πέστροφας και αρσενικών ατόμων αλπικού σαλβελίνου (*Salvelinus alpinus)* (Εικόνα 16). Αν και η επιβίωση των τριπλοειδών υβριδίων ήταν αντίστοιχη με αυτή των διπλοειδών και τριπλοειδών της ιριδίζουσας πέστροφας, η ανάπτυξη των τριπλοειδών υβριδίων ήταν φανερά μειωμένη. Ακόμη και στην ηλικία των 3 ετών και ενώ η γεννητική ανάπτυξη είχε καθυστερήσει την ανάπτυξη των διπλοειδών ψαριών, τα τριπλοειδή υβρίδια είχαν βάρος 20% μικρότερο και μπορούσαν να συγκριθούν μόνο με το μέγεθος των μη υβριδικών τριπλοειδών.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Εικόνα 16: *Salvelinus alpinus*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=247)

Οι Diaz *et al.* (1993), παρέχουν πολύτιμα στοιχεία σχετικά με τις επιμέρους μεταβλητές οι οποίες επηρεάζουν την επιτυχία της διαδικασίας τριπλοειδίας της ιριδίζουσας πέστροφας. Αν και ο χρόνος εφαρμογής του θερμού σοκ (26,5 ^{o}C για 5 min), στα 15 ή 25 min μετά την γονιμοποίηση των ωαρίων, έδωσε παρόμοια αποτελέσματα επιτυχίας (73,4% και 78,6% αντίστοιχα), η αυξημένη επιτυχία της μεθόδου ήρθε με την χρήση χαμηλότερων θερμοκρασιών κατά το «άρμεγμα» των ωαρίων (85,9% στους 6-8 ^{o}C, και 63% στους 12,1-14 ^{o}C). Επίσης σημαντικό ρόλο παίζει ο χρόνος παραμονής των ωαρίων στην σωματική κοιλότητα του ψαριού δίνοντας ποσοστά επιτυχίας τριπλοειδών, 46,1% για 2 ημέρες παραμονής, 54,7% για 6 ημέρες και 76,8% για 10 ημέρες. Πόλλοί ερευνητές έχουν στρέψει την έρευνά τους στην εφαρμογή του θερμού σοκ (Πίνακας 5) και τα αποτελέσματα όσον αφορά τα ποσοστά τριπλοειδίας , ποικίλουν.

Ένα σημαντικό τμήμα της εκτροφής πέστροφας (μέσου βάρους >1Kg+) βασίζεται σε τριπλοειδή άτομα προκειμένου να ξεπερασθεί η απώλεια βάρους λόγω γεννητικής ωρίμανσης πριν την αλίευσή τους.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Πίνακας 5:Παραγωγή τριπλοειδών ατόμων ιριδίζουσας πέστροφας(*O.mykiss*) με τη χρήση θερμικού σοκ.

Είδος	Αριθμός ωαρίων	Θερμο-κρασία (^oC)	Διάρκεια θερμικού σοκ (min)	Χρόνος έναρξης μετά την γονιμοποίηση (min)	Ποσοστό επιβίωσης (%) ως την πρώτη διατροφή	Ποσοστό τριπλο-ειδίας (%)	Ερευνητές
O.mykiss	1000	0,2	360	30	25	0	Chourrout, (1980)
O.mykiss	1000	-0,4	240	10	5	0	Chourrout, (1980)
O.mykiss	1000	26,5	10	10	15	50	Chourrout, (1980)
O.mykiss	1000	28,5	10	40	60	50	Chourrout, (1980)
O.mykiss		26	20	25	80	100	Chourrout & Quillet, (1982)
O.mykiss	1600	24	10	60	70	100	Solar *et al.,* (1984)
O.mykiss		28	10	40	30	74	Lincoln & Scott, (1984)
O.mykiss		28	10	40	62,6	90	Lou & Purdom (1984)
O.mykiss		28	10	480	0,2		Lou & Purdom (1984)
O.mykiss		26	20	25		70	Chourrout *et al.*, (1986)
O.mykiss		27,2	25	25	65,2		Myers & Hershberger, (1991)
O.mykiss		26,5	15	40	70	76,5	Diaz *et al.,* (1993)
O.mykiss		26,5	16	10	78,7		Happe *et al.*, (1988)
O.mykiss		28	10	45	50		Purdom *et al.,* (1985)

4.9 Αμερικάνικο γατόψαρο (Ictalurus punctatus)

Οι Wolters *et al*. (1991) παρουσίασαν στοιχεία από πειράματα εκτροφής του τριπλοειδούς γατόψαρου (*Ictalurus punctatus)* (Εικόνα 17), σε χωμάτινες δεξαμενές. Όταν τα ψάρια στοκαρίστηκαν σε πυκνότητα 11.000 ψαριών ανά εκτάριο και ταΐστηκαν με τροφή που περιείχε 32% επιπλέουσα πρωτεΐνη, δεν παρουσιάστηκε καμία διαφορά στην ανάπτυξη ή εξωτερική εμφάνιση μεταξύ των διπλοειδών και τριπλοειδών ατόμων. Τα τριπλοειδή όμως έδειξαν χαμηλότερη επιβίωση και υψηλότερο ρυθμό μεταβολισμού της

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

τροφής σε σύγκριση με τα διπλοειδή. Η εξέταση δε των γονάδων έδειξε την αναμενόμενη λειτουργική στειρότητα των τριπλοειδών.

Εικόνα 17: Αμερικάνικο γατόψαρο ***(****Ictalurus punctatus)*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=290).

4.10 Γλήνι (Tinca tinca)

Οι Flajshans *et al.* (1993), αναφέρουν ότι στο γλήνι (*Tinca tinca*) (Εικόνα 18), η χρήση ψυχρού σοκ, έδωσε υψηλής απόδοσης τριπλοειδή τα οποία είχαν πολύ υψηλότερο σωματικό βάρος (13,5% τα θηλυκά και 23,7% τα αρσενικά) σε σχέση με τα αντίστοιχα διπλοειδή ψάρια.

Εικόνα 18: Γλήνι *(Tinca tinca)*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=269)

4.11Τσιπούρα (Sparus aurata)

Η τριπλοειδία έχει εφαρμοσθεί με επιτυχία στην τσιπούρα (*Sparus aurata*) (Εικόνα 19), με χρήση ψυχρού σοκ. Η τεχνική αυτή παράγει υψηλό

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

ποσοστό τριπλοειδών (90-100%) το οποίο επιβεβαιώνεται με ανάλυση καρυώτυπου, ή κυτομετρική ροή (Francescon *et al*., 1994).

Το ποσοστό εκκόλαψης των τριπλοειδών ήταν σημαντικά μικρότερο από το αντίστοιχο των διπλοειδών. Επίσης τα τριπλοειδή αναπτύσσονται σαν αρσενικά αλλά δεν αντιστρέφουν το φύλλο τους όπως κάνουν τα διπλοειδή.

Τα σπερματοκύτταρά τους είναι μπλοκαρισμένα στη δεύτερη μειωτική διαίρεση και δεν αναπτύσσονται περεταίρω (Haffray *et al*., 2005).

Εικόνα 19: Τσιπούρα *(Sparus aurata)* (Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/PicturesSummaryV2.php?ID=1164&pic=Spaur_ue.jpg).

Μέχρι την ηλικία και το μέγεθος όπου ξεκινά η φυσική αναστροφή φύλλου των διπλοειδών αρσενικών σε θηλυκά (480g, το οποίο είναι και το συνήθες εμπορικό μέγεθος), τα αντίστοιχα τριπλοειδή δεν παρουσιάζουν διαφορές στην ανάπτυξη, επιβίωση αλλά και στην ποιότητα σάρκας συγκρινόμενα με τα διπλοειδή. (Haffray *et al*., 2005).

Σε μεγαλύτερα μεγέθη, τα τριπλοειδή παρουσιάζουν χαμηλότερο ρυθμό ανάπτυξης, αλλά είναι πιο λιπόσαρκα και δίδουν καλύτερο συντελεστή στο απεντερωμένο προϊόν.

Η αναπαραγωγική τους συμπεριφορά στους κλωβούς θαλάσσης δεν έχει γίνει ακόμη αντικείμενο συγκριτικής μελέτης (Haffray *et al*., 2005).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

4.12 Ιαπωνική τσιπούρα (Pagrus major)

Ένα ακόμη παράδειγμα θετικών αποτελεσμάτων εφαρμογής τριπλοειδίας αναφέρεται από τους Sugama *et al.* (1992). Οι ερευνητές έκαναν χρήση ψυχρού σοκ στους $0^{o}C$ για διάρκεια 12 λεπτών σε χρονική στιγμή 3 min μετά την γονιμοποίηση των ωαρίων και κατάφεραν τη δημιουργία 100% τριπλοειδών ατόμων του είδους *Pagrus major* (Εικόνα 20). Αν και η επιβίωση των πρώτων σταδίων ήταν μικρότερη για τα τριπλοειδή, στη συνέχεια και για την διάρκεια των επόμενων 10 μηνών, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην συνολική επιβίωση αλλά και στο ρυθμό ανάπτυξης μεταξύ των τριπλοειδών και των διπλοειδών. Μετά από εξέταση επιβεβαιώθηκε ότι τα τριπλοειδή ήταν λειτουργικώς στείρα.

Εικόνα 20: Ιαπωνική τσιπούρα*(Pagrus major)*
(Πηγή:http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=445)

4.13 Καλκάνι (Scophthalmus maximus)

Το αυξανόμενο ενδιαφέρον σε όλο τον κόσμο για τα πλατύψαρα, κίνησε τις ερευνητικές προσπάθειες για την δημιουργία πολυπλοειδίας και σε αυτά τα είδη. Οι Piferrer *et al.* (2000) αναφέρουν την δημιουργία 90% τριπλοειδίας στο καλκάνι (*Scophthalmus maximus*) (Εικόνα 21) με χρήση ψυχρού σοκ στους $0^{o}C$ για διάρκεια 20 min και χρονική εφαρμογή του 5 min μετά την γονιμοποίηση των ωαρίων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Εικόνα 21: Καλκάνι *(Scophthalmus maximus)*
(Πηγή: http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=1348)

***4.14* Στρείδια**

Στο στρείδι του είδους *Ostrea edulis* (Εικόνα 22), η τριπλοειδία επέδρασε στην αύξηση της παραγωγικότητας και της εμπορευσιμότητας του είδους. Οι Guo *et al*. (1996), στην ερευνά τους, έδειξαν ότι τα τριπλοειδή στρείδια που παράγονται από σύζευξη τετραπλοειδών με διπλοειδή άτομα, παρουσίασαν μεγαλύτερη επιβίωση και μεγαλύτερο μέγεθος από τα διπλοειδή στρείδια, σε σχέση με τα τριπλοειδή στρείδια που παράγονται με χημικό σοκ.

Εικόνα 22: Στρείδι (*Ostrea edulis*)
(Πηγή: http://en.wikipedia.org/wiki/Ostrea_edulis)

Πάνω από το 95% των στρειδιών που εκτρέφονται στη Γαλλία είναι τριπλοειδή. Σύμφωνα με τους Guo *et al*., (1996) τα στρείδια που προέρχονται από τριπλοειδία έδειξαν αύξηση 13-51% σε σχέση με τα άτομα που

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

προέρχονται από διπλοειδία σε ηλικιά 8-10 μηνών και καλύτερη εμπορευσιμότητα εξαιτίας των μειωμένων γονάδων . Τα τριπλοειδή άτομα του στρειδιού Sydney rock *(Saccostrea commercialis)* έδειξαν 41% αύξηση στο βάρος σώματος στα 2,5 χρόνια (Nell *et al*., 1994).

4.15 Αποτελέσματα – Συζήτηση

Τις τελευταίες δεκαετίες, η τεχνητή αναπαραγωγή των ψαριών αναπτύσσεται και εξελίσσεται με απίστευτους ρυθμούς τόσο σε επίπεδο εργαστηρίου και έρευνας όσο και στον παραγωγικό τομέα. Είναι γεγονός ότι ο έλεγχος και η ρύθμιση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας των ψαριών αποτελεί ίσως τη σημαντικότερη φάση της μαζικής παραγωγής.

Ο Chourrout (1980), μετά από μια σειρά πειραμάτων παρήγαγε τριπλοειδή άτομα ιριδίζουσας πέστροφας (*O. mykiss*) εφαρμόζοντας θερμικό σοκ μετά την γονιμοποιήση των ωαρίων.Χρησιμοποιώντας θερμοκρασίες της τάξης των -0,4 και 0,2^{o}C για μεγάλο χρονικό διάστημα (240 και 360min) στα 10 και 30min αντίστοιχα, μετά τη γονιμοποίηση παρατηρήθηκε πολύ μικρό ποσοστό επιβίωσης ως προς την πρώτη διατροφή (5-25%) ενώ απέτυχε να παράξει τριπλοειδή άτομα πέστροφας.Όταν όμως εφάρμοσε θερμικό σοκ στα ωάρια της πέστροφας στους 28,5^{o}C για 10min και με χρόνο έναρξης 40min μετά την γονιμοποίηση, το ποσοστό επιβίωσης ανήλθε στο 60% και το ποσοστό τριπλοειδίας στο 50%.Δυο χρόνια αργότερα,οι Chourrout & Quillet (1982), μειώνοντας την θερμοκρασία στους 26°C και διπλασιάζοντας τη διάρκεια του θερμικού σοκ (20min) σημειώσαν τεράστια επιτυχία μιας και η επιβίωση ως την πρώτη διατροφή αυξήθηκε στο 80% και το ποσοστό της τριπλοειδίας ήταν το άκρως επιθυμητό (100%).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Στο ίδιο ποσοστό επιτυχιας κατέληξε και η εργασία των Solar *et al*. (1984), μειώνοντας την θερμοκρασία στους 24°C και την διάρκεια του θερμικού σοκ (10min) αλλά αυξάνοντας τον χρόνο έναρξης μετά την γονιμοποίηση των ωαριών σε 60min, συνοδευόμενο από μια μικρή μείωση του ποσοστού επιβίωσης (70%).

Ιδιαίτερη εντύπωση προκαλούν οι έρευνες των Lincoln & Scott (1984) και Lou & Purdom (1984) για την παραγωγή τριπλοειδών ατόμων ιριδίζουσας πέστροφας (*O. mykiss)* οι οποίοι εφάρμοσαν τις ίδιες παραμέτρους (θερμοκρασία 28°C, διάρκεια θερμικού σοκ 10min στα 40min μετά την γονιμοποίηση) αλλά τα αποτελέσματα ήταν ανομοιογενή.Σύμφωνα με τους Lincoln & Scott (1984) το ποσοστό επιβίωσης ήταν χαμηλό (30%) και το ποσοστό τριπλοειδίας ανήλθε στο 74% ενώ από την έρευνα των Lou & Purdom (1984), εξήχθησαν καλύτερα αποτελέσματα με το ποσοστό επιβίωσης να διπλασιάζεται (62,6%) και το ποσοστό τριπλοειδίας να αυξάνεται στο 90%.

Μεταγενέστερη έρευνα των Diaz *et al*.(1993) παρήγαγε τριπλοειδή άτομα ιριδίζουσας πέστροφας *(O. mykiss)* με ποσοστό επιτυχίας 76,5% και με ικανοποιητικό ποσοστό επιβίωσης (70%) όταν εφάρμοστηκε θερμικό σοκ στα ωάρια (26,5^{o}C) για 15 min και με χρόνο έναρξης 40min μετά την γονιμοποίηση.

Προκειμένου να εξαχθούν κάποια γενικότερα συμπεράσματα για την παραγωγή τριπλοειδίας στα διάφορα είδη πέστροφας αντλήθηκαν στοιχεία από τον Πίνακα 5 και εφαρμόστηκε σε αυτά η στατιστική ανάλυση κατά Pearson. Εφαρμόζοντας τον συντελεστή συσχέτισης Pearson, παρουσιάζεται ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση του χρόνου έκθεσης στο θερμικό

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

σοκ και του ποσοστού επιβίωσης (S%) ($r=-0.643, p<0.05$).Η αρνητική τιμή του r φανερώνει ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ των δυο μεταβλητών δηλαδή όταν αυξάνεται η μια μεταβλητή μειώνεται η άλλη. Δηλαδή όταν αυξάνεται ο χρόνος έκθεσης του θερμικού σοκ, μειώνεται το ποσοστό επιβίωσης.

Οι Benfey & Sutterlin (1984), εφαρμόζοντας στα ωάρια του σολομού του Ατλαντικού *(Salmo salar)* σοκ πίεσης 10150psi για 3min για 15min μετά την γονιμοποίηση, το ποσοστό τριπλοειδίας ανήλθε στο 100% με χαμηλό όμως ποσοστό επιβίωσης (27,7%). Αυξάνοντας την διάρκεια άσκησης πίεσης από 3min σε 6min το ποσοστό τριπλοειδίας παρέμεινε το ίδιο ενώ υπήρξε μια μικρή αύξηση στο ποσοστό επιβίωσης (30,4%).

Πιο ενθαρρυντικά ήταν τα αποτελέσματα των Johnstone & Stet (1995), McGeachy *et al*. (1995) και Friars *et al*. (2001) όπου εφάρμοσαν στα ωάρια του σολομού του Ατλαντικού σοκ πίεσης 9500psi για 5min για 30min με αποτέλεσμα τα ποσοστά επιβίωσης να αυξηθούν σημαντικά και να κυμανθούν από 68-95%. Αυξάνοντας μόνο την πίεση (10000psi) σε σχέση με τα παραπάνω, οι Johnson *et al*.(2004) παρήγαγαν υψηλό ποσοστό (96%) τριπλοειδών ατόμων σολομού *Oncorhynchus tshawytscha* με σχετικά χαμηλό όμως ποσοστό επιβίωσης (53%).

Οι Piferrer *et al*. (1994) παρήγαγαν επιτυχώς τριπλοειδή άτομα σολομού *O.kisutch* (ποσοστό τριπλοειδίας 100%) όταν εφάρμοσαν την ίδια πίεση (9500psi) και μείωσαν την διάρκεια άσκησης πίεσης σε 4min αλλά και τον χρόνο έναρξης μετά την γονιμοποίηση (20min).Το ποσοστό επιβίωσης ανήλθε στο 78%.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Αντλώντας στοιχεία από τον πίνακα 2 και εφαρμόζοντας τον συντελεστή συσχέτισης Pearson, διαπιστώνεται ότι η πίεση (psi) συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τον χρόνο έκθεσης μετά την αναπαραγωγή (TAF) ($r=-0.761$, $p<0.01$).Επίσης παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική συσχέτιση της πίεσης (psi) και του ποσοστού επιβίωσης (S%) ($r=-807$, $p<0.01$).Οι αρνητικές τιμές του r και στις δυο περιπτώσεις φανερώνουν ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών.

Αντικείμενο μελέτης έχει γίνει από πολλούς ερευνητές και η επίτευξη τριπλοειδίας στο λαυράκι *(Dicentrarchus labrax)* με αποτέλεσμα η εφαρμογή του ψυχρού σοκ στα ωάρια του λαυρακιού να θεωρείται η πιο επιτυχημένη μέθοδος.Σύμφωνα με έρευνες των Felip *et al*.(1997,1999,2009) όταν εφαρμόστηκε ψυχρό σοκ (0^oC) σε ωάρια λαυρακιού για 10min, 5min μετά την γονιμοποίηση, το ποσοστό επιβίωσης κυμάνθηκε από 80-90% και τελικά το ποσοστό τριπλοειδίας θεωρήθηκε ιδιαίτερα ικανοποιητικό (96-97,5%).

Οι Colombo *et al.*(1995), αυξάνοντας την θερμοκρασία ($0-2^oC$) αλλά και διπλασιάζοντας την διάρκεια του ψυχρού σοκ παρατήρησαν ότι το ποσοστό επιβίωσης ελαττώθηκε κατά πολύ (50%) ενώ το ποσοστό τριπλοειδίας παρουσιάσε μια μικρή μείωση (90%).Σχετικά μικρό ποσοστό επιβίωσης (56%) αλλά με απόλυτη επιτυχία στο ποσοστό τριπλοειδίας (100%) παρουσιάσαν οι Perruzzi & Chatain (2000) όταν εφάρμοσαν πρωτόκολλο παραγωγής τριπλοειδών ατόμων λαυρακιού.Σύμφωνα με την μελέτη αυτή, ωάρια λαυρακιού υπέστησαν ψυχρό σοκ ($0-1^oC$) για 15-20min με χρόνο έναρξης 5min μετά την γονιμοποίηση. Η εφαρμογή του ψυχρού σοκ στην παραγωγή τριπλοειδών ατόμων λαυρακιού θεωρείται η πιο αποτελεσματική.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Εφαρμόζοντας και εδώ τον συντελεστή συσχέτισης Pearson (στοιχεία από τον πίνακα 3) φαίνεται καθαρά ότι υπαρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση της θερμοκρασίας (TShock) που εφαρμόζεται κατά το θερμικό σοκ, με την διάρκεια (D) αυτού ($r=0.961, p<0.01$) αλλά και με το ποσοστό επιβίωσης (S%) ($r=-0.918$, $p<0.05$).Επίσης στατιστικά σημαντική συσχέτιση προσδιορίστηκε και για την διάρκεια (D) του θερμικού σοκ με το ποσοστό επιβίωσης (S%) ($r=-0.970, p<0.01$).

Σημαντικές έρευνες για την παραγωγή τριπλοειδών ατόμων διαφόρων ειδών τιλάπιας έχουν αναδείξει την εφαρμογή του θερμικού σοκ ως την πιο επιτυχημένη μέθοδο.Οι Don & Avtalion (1986),εφαρμόζοντας θερμικό σοκ (39,5^{o}C) σε ωάρια του είδους *O.aureus* για 3,75min και με χρόνο έναρξης μετά την γονιμοποίηση 2,5-3,5min, το ποσοστό επιβίωσης ανήλθε στο 61% και το ποσοστό τριπλοειδίας στο 100%. Το ποσοστό αυτό μειώθηκε (80%) όταν οι Byamungu *et al*. (2001) αύξησαν την θερμοκρασία (42 ^{o}C) και μείωσαν την διάρκεια του θερμικού σοκ (3min) ενώ το ποσοστό επιβίωσης παρέμεινε περίπου το ίδιο (60,7%).

Οι Varadaraj & Pandian, (1988) παρήγαγαν με απόλυτη επιτυχία (100%) τριπλοειδή άτομα τιλάπιας *O.mossambicus* με θερμικό σοκ (42 ^{o}C) για 3min, 3.5min μετά την γονιμοποίηση και με ποσοστό επιβίωσης 72%.Όταν μετά από δύο χρόνια οι ίδιοι (Varadaraj & Pandian,1990) μείωσαν τον χρόνο έναρξης μετά την γονιμοποίηση σε 2,5min, το ποσοστό τριπλοειδίας παρέμεινε σταθερό ενώ παρατηρήθηκε μείωση στο ποσοστό επιβίωσης (57%).Υψηλό ποσοστό τριπλοειδίας (100%) στο είδος *O.niloticus* επιτεύχθηκε από τους Hussain *et al*. (1991) εφαρμόζοντας θερμικό σοκ στους 41 ^{o}C για 3,5min στα 5min μετά την γονιμοποίηση των ωαρίων και με ποσοστό

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

επιβίωσης 70%.Διατηρώντας την ίδια θερμοκρασία (41 ^{o}C), αυξάνοντας κατά 1min την διάρκεια του θερμικού σοκ(4,5min) αλλά μειώνοντας κατά 1min τον χρόνο έναρξης(4min) μετά την γονιμοποίηση, οι Bramick *et al.* (1995) διατήρησαν στο περίπου το ποσοστό τριπλοειδίας (97%) και παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στο ποσοστό επιβίωσης (87%).

Με βάση τα στοιχεία του Πίνακα 4 και εφαρμόζοντας τον συντελεστή συσχέτισης Pearson, παρατηρήθηκε ότι υπάρχει στατισικά σημαντική συσχέτιση της θερμοκρασίας (Tshock) που εφαρμόζεται κατά το θερμικό σοκ με την διάρκεια (D) αυτού ($r=-0.715, p<0.01$), με τον χρόνο έναρξης μετά την γονιμοποίηση (TAF)($r=-0.697, p<0.05$) αλλά και με το ποσοστό τριπλοείδιας (TR) (0.733, $p<0.01$).Επίσης διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της διάρκειας (D) του θερμικού σοκ με το ποσοστό τριπλοειδίας (TR)($r=-0.793, p<0.01$) αλλά και με τον χρόνο έναρξης μετά την γονιμοποίηση (TAF)($r=-0.977, p<0.01$).Τέλος υπήρξε συσχέτιση στατιστικά σημαντική μεταξύ του ποσοστού τριπλοειδίας (TR) και του χρόνου έναρξης μετά τη γονιμοποίηση (TAF)($r=-0.761, p<0.01$).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

5. ***Ολοθηλυκά***

5.1 Εισαγωγή

Στο πεδίο των υδατοκαλλιεργειών, παρατηρήθηκε ότι σε πολλά εκτρεφόμενα είδη ψαριών τα θηλυκά εκδηλώνουν υψηλότερους ρυθμούς ανάπτυξης σε σχέση με τα αρσενικά, προκειμένου αυτά να αποκτήσουν μεγαλύτερο μέγεθος, ενώ τα αρσενικά στην πορεία ωριμάζουν, κάτι που επιβραδύνει την ανάπτυξή τους πριν φθάσουν σε εμπορεύσιμο μέγεθος. Συνεπώς, υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον των παραγωγών για την παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων (Piferrer, 2001).

Επίσης η παραγωγή ενός μόνου φύλου είναι μια αποτελεσματική τεχνική διαχείρισης που χρησιμοποιείται για να αντιμετωπισθούν προβλήματα πρώιμης ωρίμανσης των ψαριών, που παρατηρείται σε μια σειρά εμπορικών ειδών που εκτρέφονται και παρουσιάζουν γεννητικό διμορφισμό (Piferrer, 2001; Pandian & Kirankumar, 2003).

Οι άμεσες τεχνικές επικεντρώνονται στη χρήση οιστρογόνων για τον έλεγχο του φύλου. Η αντιστροφή φύλου στα ψάρια, επιτυγχάνεται με χορήγηση ανδρογόνων και οιστρογόνων στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης, με αποτέλεσμα παράγονται άτομα ενός φύλου (Dunham, 1995). Η χρήση ορμονών στα αρχικά στάδια της εκτροφής των οργανισμών είναι ευρέως αποδεκτή εξαιτίας του γεγονότος ότι δεν υπάρχουν υπολείμματα όταν ο εκτρεφόμενος οργανισμός φθάσει σε εμπορεύσιμο μέγεθος, παρόλο που σε ορισμένες χώρες (Ε.Ε και Η.Π.Α) υπάρχουν περιορισμοί για την κατανάλωση των ψαριών στα οποία έχουν χορηγηθεί ορμόνες.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Για την όσο το δυνατόν μεγαλύτερη επιτυχία της αλλαγής του φύλου θα πρέπει να γνωρίζουμε την ασταθή περίοδο. Τη περίοδο δηλαδή στην οποία γίνεται η διαφοροποίηση του φύλου. Σε ορισμένα είδη σολομοειδών για παράδειγμα, η περίοδος αυτή διαρκεί 10-40 ημέρες μετά την εκκόλαψη, ενώ στα είδη τιλάπιας η περίοδος αυτή αρχίζει τη $10^{η}$ ημέρα μέχρι τη $40^{η}$ (Kavumpurath & Pandian, 1993a).

Γενικά, η στιγμή της έναρξης της παρέμβασης, η διάρκεια, η δοσολογία, ο τρόπος και το είδος των ορμονών, είναι οι παράγοντες που επηρεάζουν την αλλαγή του φύλου (Fujioka, 2002).

5.2 Τεχνικές - Μέθοδοι

Η παραγωγή πληθυσμού ενός φύλου μπορεί να εφαρμοστεί με επιτυχία σε είδη ψαριών που παρουσιάζουν γεννητικό διμορφισμό, όταν το άτομο φθάνει σε εμπορικό μέγεθος πριν ωριμάσει γεννητικά. Για παράδειγμα οι θηλυκοί πληθυσμοί του καλκανιού κατά την αλίευση, ενώ βρίσκονται σε πλεονεκτική θέση, εξαιτίας του μεγέθους τους δεν είναι ώριμοι (Hendry *et al*., 2002, 2003 ; Tvedt *et al*., 2006).

Οι έμμεσες τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή πληθυσμών ενός φύλου στα ψάρια αποτελούν χρονοβόρα διαδικασία και απαιτούνται 2 γενιές προκειμένου να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματά τους (Piferrer, 2001). Για παράδειγμα, στην περίπτωση του καλκανιού απαιτούνται 4-5 χρόνια. Συνεπώς, η ταυτοποίηση οποιασδήποτε εναλλακτικής και ταχύτερης παραγωγής ολοθηλυκών ατόμων συμβάλει στην αξιοποίηση του εμπορικού οφέλους που προκύπτει από την εκτροφή.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Ο έλεγχος της διαφοροποίησης του φύλου είναι μια σημαντική διαδικασία και σε μερικές περιπτώσεις αποτελεί το βασικό στοιχείο για την εκτροφή τροπικών και ψαριών κρύου γλυκού νερού. Πολλά ψάρια παρουσιάζουν φυλετικό διμορφισμό, λαμβάνοντας υπόψη σημαντικά χαρακτηριστικά όπως ο ρυθμός ανάπτυξης, η ηλικία ωρίμανσης του ψαριού, το μέγεθος και τα μορφολογικά του χαρακτηριστικά.

Στον κλάδο της κτηνοτροφίας η αντιστροφή φύλου χρησιμοποιείται στην παραγωγή ενός φύλου, προκειμένου να αυξηθεί η παραγωγή κρέατος και γάλατος (Joerg *et al*., 2004).

5.3 Αντιστροφή φύλου

- **Έμμεση αντιστροφή**

Η έμμεση αντιστροφή φύλου περιλαμβάνει την ορμονική παρέμβαση σε ιχθύδια τα οποία χρησιμοποιούνται στη συνέχεια για γεννήτορες προκειμένου να παράγουν απογόνους επιθυμητού φύλου. Κατά τη διάρκεια του πρώτου σταδίου η χορήγηση ορμονών είναι δυνατή να προκαλέσει την αντιστροφή φύλου. Με αυτό τον τρόπο είναι εφικτό αρσενικά (XY) άτομα με χορήγηση οιστρογόνων να παράγουν ωάρια και θηλυκά (XX) άτομα με τη χορήγηση ανδρογόνων να παράγουν σπέρμα. Στη συνέχεια γίνεται επιλογή των κατάλληλων γενοτύπων και η διασταύρωσή τους οδηγεί στη παραγωγή μονόφυλων πληθυσμών (Πάσχος, 2004).

Για παράδειγμα στο καλκάνι, σύστημα φυλοκαθορισμού (XX: θηλυκά, XY: αρσενικά), ο προσδιορισμός ολοθηλυκών ατόμων αποτελεί πρωταρχικό στόχο και επιτυγχάνεται μέσω της «αρρενοποίησης» των θηλυκών αποθεμάτων χορηγώντας την συνθετική τεστοστερόνη MDHT (η οποία

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

χρησιμοποιείται για την διαφοροποίηση του φύλου), ώστε να παραχθεί ένα νέος φαινότυπος τα οποία αναφέρονται ως ανδροποιημένα θηλυκά. Στη συνέχεια τα ανδροποιημένα θηλυκά άτομα που παράγονται διασταυρώνονται με κανονικά θηλυκά XX, παράγοντας ολοθηλυκούς απογόνους (Piferrer, 2001).

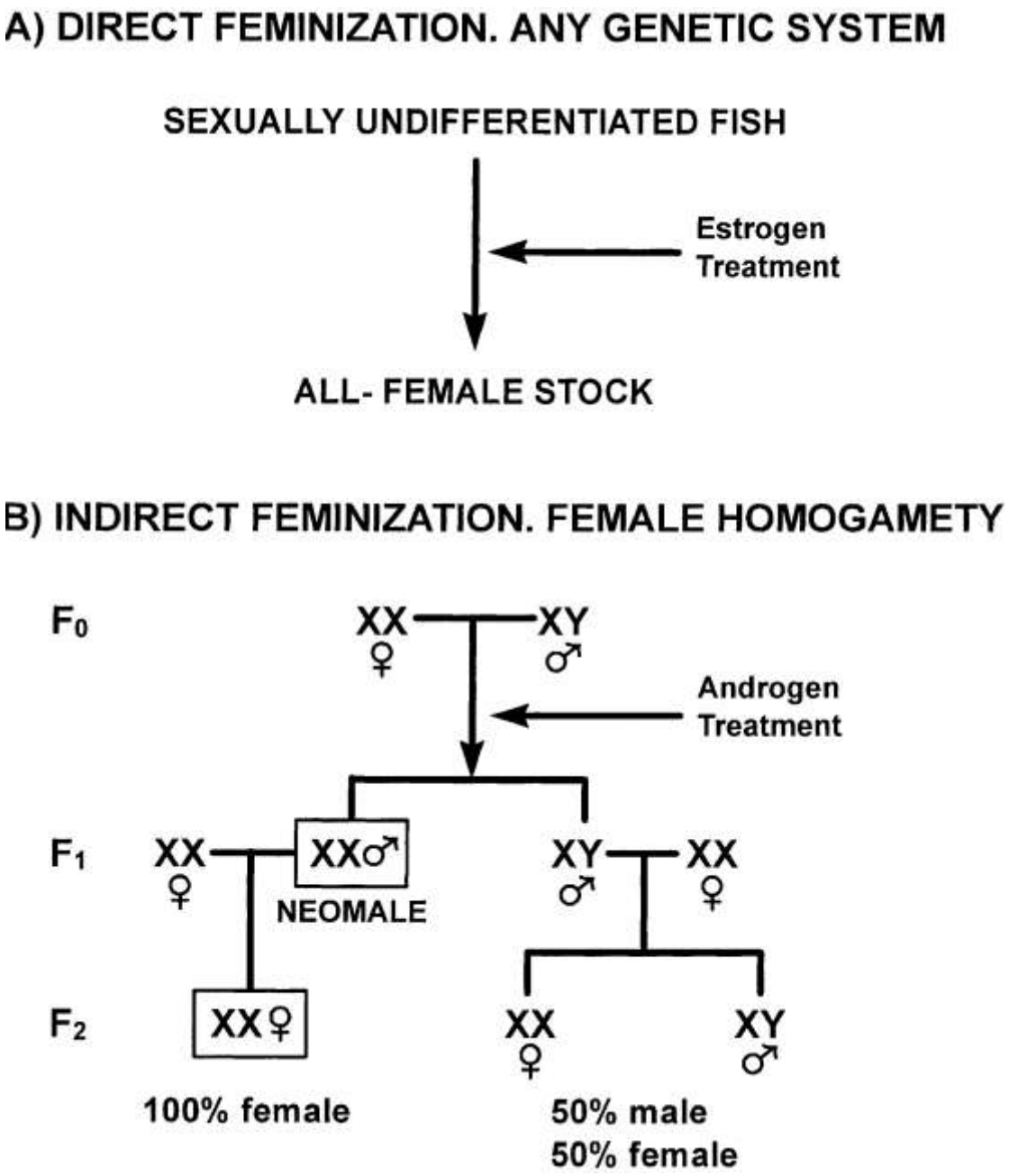
Το πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου σε σχέση με την άμεση θηλυκοποίηση με 17β-οιστραδιόλη, έγκειται στο ότι τα στεροειδή δεν χορηγούνται στα ψάρια που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, αλλά μόνο στους γεννήτορες (Tsoumani *et al.,* 2008).

Έμμεση αντιστροφή φύλου, εφαρμόζεται κυρίως για τα ψάρια τα οποία προορίζονται για κατανάλωση προκειμένου να μην έλθουν σε άμεση επαφή με προσθήκη ορμονών, υπό την προϋπόθεση ότι ένα μέρος του πληθυσμού είναι άμεσα συνδεδεμένο με την αντιστροφή φύλου, ενώ κατά τη ωρίμανση οι «νέοι γονείς» που αναγνωρίζονται, διασταυρώνονται με την μητρική γενιά ώστε να παραχθεί πληθυσμός με ένα φύλο (Cowan *et al*., 2010).

Οι Hendry *et al.* (2003), εφάρμοσαν ένα επιτυχές πρωτόκολλο για την ελεγχόμενη παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων καλκανιού. Άλλα είδη ψαριών στα οποία πραγματοποιήθηκε αντιστροφή φύλου με επιτυχία είναι η ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) (Bye & Lincoln, 1986) και η κίτρινη πέκρα (*Perca flavescens)* (Malison & Garcia-Abiando, 1996).

Στην εικόνα 23 απεικονίζονται οι δυο μέθοδοι παραγωγής ολοθηλυκών πληθυσμών, η άμεση και η έμμεση μέθοδος αντιστροφής φύλου, σύμφωνα με τον Piferrer (2001).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147



Εικόνα 23:Μέθοδοι που παράγουν ολοθηλυκούς πληθυσμούς.Το διάγραμμα δείχνει την άμεση μέθοδο «θηλυκοποίησης» χρησιμοποιώντας οιστρογόνα (A), κατάλληλα για κάθε σύστημα φυλετικής διαφοροποίησης, και την έμμεση μέθοδο «θηλυκοποίησης» με ανδρογόνα (B), κατάλληλα μόνο για είδη με θηλυκούς ομογαμέτες (Piferrer , 2001).

- **Άμεση αντιστροφή**

Φυσικές και συνθετικές ορμόνες (οιστρογόνα και 17α-μεθυλοτεστοστερόνη) χρησιμοποιούνται σε πειράματα αντιστροφής φύλου, οι οποίες αναμιγνύονται με τη τροφή των ψαριών, από τα πρώτα στάδια

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

εκτροφής του ψαριού, όπως για παράδειγμα συμβαίνει με στην περίπτωση των χορτοφάγων κυπρίνων και ασημοί κυπρίνων. Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την αντιστροφή του φύλου, πραγματοποιούνται στο στάδιο του γόνου.

- **<u>Γυνογένεση</u>**

Η λέξη γυνογένεση (gynogenesis), σημαίνει παραγωγή από θηλυκό και αποτελείται από τις λέξεις gyno= γυναίκα και genesis= γενεά, γεννώ (Πάσχος, 2004).

Η γυνογένεση είναι μια μέθοδος γενετικής βελτίωσης των ψαριών, η οποία έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για τη βελτίωση των γενετικών χαρακτηριστικών σε διάφορα είδη ψαριών (Liu, 1993; Arai, 2001). Ως γυνογένεση ορίζεται η παραγωγή και ανάπτυξη ολοθηλυκών ψαριών χωρίς τη γενετική συνεισφορά του σπέρματος και εμφανίζεται κυρίως σε φυσικούς πληθυσμούς των κατώτερων σπονδυλωτών (Zhang, 1996 ; Luo *et al*., 2011).

Πληθυσμοί ενός μόνο φύλου, παράγονται με γυνογένεση. Η μέθοδος αυτή είναι μια διαδικασία αγενούς αναπαραγωγής όπου οι απόγονοι των ψαριών κληρονομούν μόνο το μητρικό γενετικό υλικό (Piferrer, 2001).

Σύμφωνα με τους Linhart *et al*. (1995), κατά τη γυνογένεση τα σπερματοζωάρια δεν συμμετέχουν στη δημιουργία του νέου γονιδιώματος. Η απενεργοποίηση αυτή μπορεί να προέλθει είτε φυσικά είτε τεχνητά με έκθεση του σπερματοζωαρίου σε υπεριώδη ακτινοβολία.

Εάν δεν συμβεί καμία εξωτερική παρέμβαση, το γυνογενετικό έμβρυο εξελίσσεται ως απλοειδές μετά την αποβολή του 2^{ου} πολικού σωμάτιου και

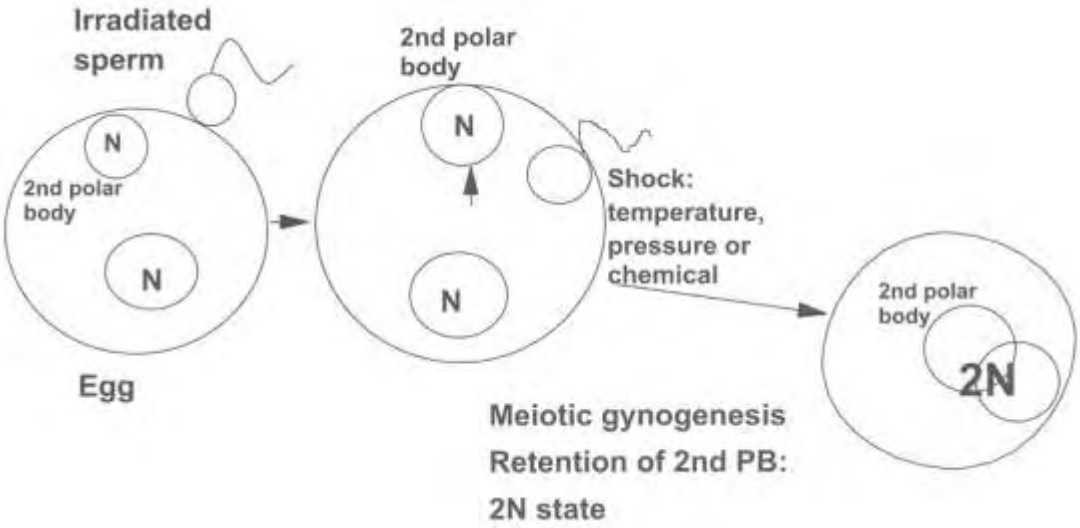
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

δεν ζει συνήθως πέραν του σταδίου του λεκιθικού σάκου. Κατάλληλη όμως επέμβαση μπορεί να προκαλέσει διπλοειδία και το γυνογενετικό έμβρυο να αναπτυχθεί και ως ομοζυγωτικό άτομο (Πάσχος, 2004).

Τέτοιου είδους επέμβαση είναι η έκθεση των γονιμοποιημένων ωαρίων σε θερμικό ψυχρό σοκ (Πάσχος, 2004) ή σε μηχανικό σοκ (π.χ. 8.000 psi για 2 min) (Peruzzi & Chatain, 2000). Υπάρχουν δύο τύποι γυνογένεσης:

- ✓ **Μειωτική γυνογένεση**

Κατά τη μειωτική γυνογένεση (Εικόνα 25), αδρανοποιούνται τα σπερματοζωάρια με έκθεσή τους σε ακτινοβολία UV και στη συνέχεια γίνεται η γονιμοποίηση με τα ωάρια. Με τη είσοδο του αδρανοποιημένου σπερματοζωαρίου στο ωάριο προκαλούμε περιβαλλοντικό σοκ (θερμικό ή ψυχρό) για να εμποδίσουμε τη έξοδο του δεύτερου πολικού σωματίου από το ωάριο (XX: 2n, XY: 0n). Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνουμε τη διπλοειδία στο έμβρυο (Εικόνα 25) (Peruzzi & Chatain, 2000).

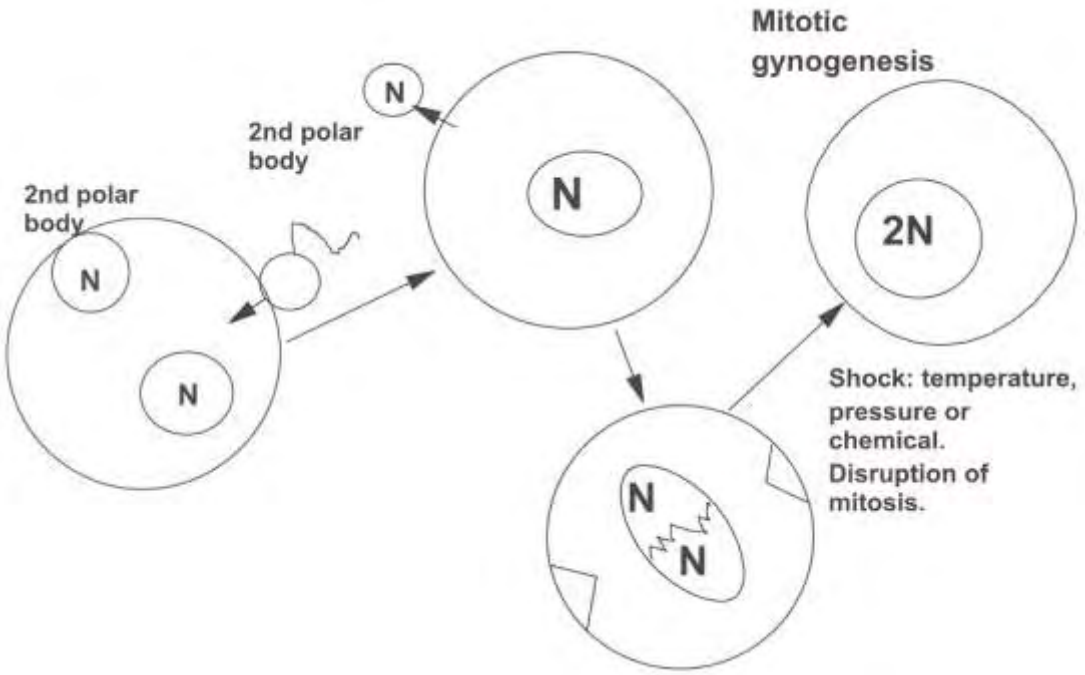


Εικόνα 25: Μειωτική γυνογένεση με περιβαλλοντικό σοκ (Lutz, 2001).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

✓ **Μιτωτική Γυνογένεση**

Ο μηχανισμός της μιτωτικής γυνογένεσης (Εικόνα 26), ερμηνεύεται ως η συγχώνευση των προϊόντων της πρώτης μιτωτικής διαίρεσης του απλοειδούς ζυγωτού. Η συγκράτηση δηλαδή των χρωμοσωμάτων που διπλασιάστηκαν, δημιουργώντας με αυτόν τον τρόπο ομόζυγα άτομα (Πάσχος, 2004).

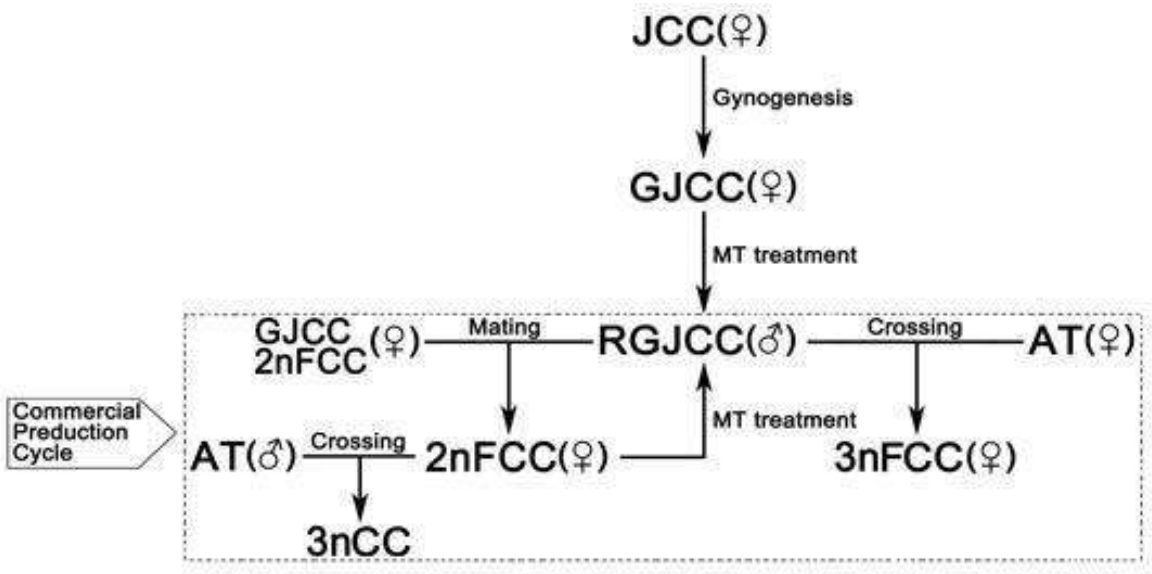


Εικόνα 25: Μιτωτική γυνογένεση με περιβαλλοντικό σοκ (Lutz, 2001).

Σύμφωνα με τον Piferrer (2001) το απλοειδές έμβρυο υφίσταται θερμικό σοκ ή σοκ πίεσης με αποτέλεσμα να αποκαθιστά τη διπλοειδία του. Η γυνογένεση χρησιμοποιείται ως μια τεχνική για την παραγωγή ενός μόνου φύλου (Εικόνα 26) όπως για παράδειγμα συμβαίνει στην παραγωγή του κοινού κυπρίνου (*Cyprinus carpio*) (Luo *et al*., 2011), του *Puntius gonionotus* (Silver barb) στην Ταϊλάνδη (Pongthana *et al*., 1999).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Εντούτοις σήμερα χρησιμοποιείται για ερευνητικούς σκοπούς από πολλούς ερευνητές (Piferrer, 2001).



Εικόνα 26: Γενετικό δέντρο παραγωγής διαφόρων ειδών κυπρίνου σε μεγάλη κλίμακα (Pongthana *et al*., 1999).
(Επεξήγηση όρων: JCC: Ιαπωνικός κυπρίνος; GJCC: Γυνογενετικός Ιαπωνικός κυπρίνος; RGJCC: Αντιστροφή Φύλου; AT: Υβρίδιο; 2nFCC: Όλοθηλυκά άτομα κυπρίνου; 3nFCC: Όλοθηλυκά άτομα κυπρίνου (τριπλοειδία); 3nCC: Τριπλοειδία.)

5.4 Χρωμοσωμικός διαχωρισμός σπέρματος

Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ενός φύλου παρουσιάζουν μειονεκτήματα, όπως για παράδειγμα η χρήση ορμονών. Η μέθοδος που καθιερώθηκε για την παραγωγή ενός φύλου βασίζεται στον χρωμοσωμικό διαχωρισμό του σπέρματος (Garner, 2001). Η τεχνική αυτή εφαρμόζεται στην εκτροφή, μέσω της διαδικασίας απομόνωσης των σπερματοζωαρίων.

Η τεχνική περιλαμβάνει, τη χρήση κυτταρόμετρων ροής προκειμένου να διαφοροποιηθούν τα χρωμοσώματα Χ και Υ των σπερματοζωαρίων βασιζόμενοι στο χρωμοσωμικό DNA. Τα σπερματικά κύτταρα στη συνέχεια ταξινομούνται αυτόματα με βάση το φύλο, ενώ το επιθυμητό φύλο του

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

σπερματοζωαρίου επιλέγεται προκειμένου να γονιμοποιηθεί το ωάριο (Garner, 2001).

Η εφαρμογή φθορισμού ενεργοποιεί την ταξινόμηση των κυττάρων (FACS: Fluorescence-Activated Cell Sorting), και χρησιμοποιείται στα σταγονίδια που περιέχουν επιθυμητά κύτταρα. Αυτά ταξινομούνται σε πληθυσμούς με αρσενικά και θηλυκά, οι οποίοι μπορούν να ψυχθούν, να αποθηκευτούν και να χρησιμοποιηθούν για τεχνητή γονιμοποίηση (Seidal, 2009). Η τεχνική διαφοροποίησης του σπέρματος αποτελεί ένα πλεονέκτημα για τον κλάδο της υδατοκαλλιέργειας διότι παρέχει πολλά οφέλη για την παραγωγή πληθυσμών που αποτελούνται από ένα φύλο και σχετίζονται με τις διαφορές στο DNA (Ocalewacz *et al.*, 2008a). Στην πραγματικότητα όμως έλαχιστες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί στα κυρίως εκτρεφόμενα είδη χωρίς όμως να έχουν εξαχθεί ασφαλή συμπεράσματα.

5.5 Εφαρμογή σε εκτρεφόμενα είδη

Η χρήση οιστρογόνων για την παραγωγή ολοθηλυκών ψαριών στην υδατοκαλλιέργεια τα τελευταία χρόνια αυξήθηκε. Τα οιστρογόνα έχουν εφαρμοστεί σε τουλάχιστον 56 διαφορετικά είδη υδρόβιων οργανισμών και χρησιμοποιήθηκαν 12 διαφορετικές οιστρογονικές ουσίες (3 φυσικές και 9 συνθετικές) (Πίνακας 7).

Στον πίνακα 6 που ακολουθεί, οι Devlin & Nagahama (2002) παραθέτουν είδη ψαριών όπου έχει εφαρμοστεί η χρήση οιστρογόνων.

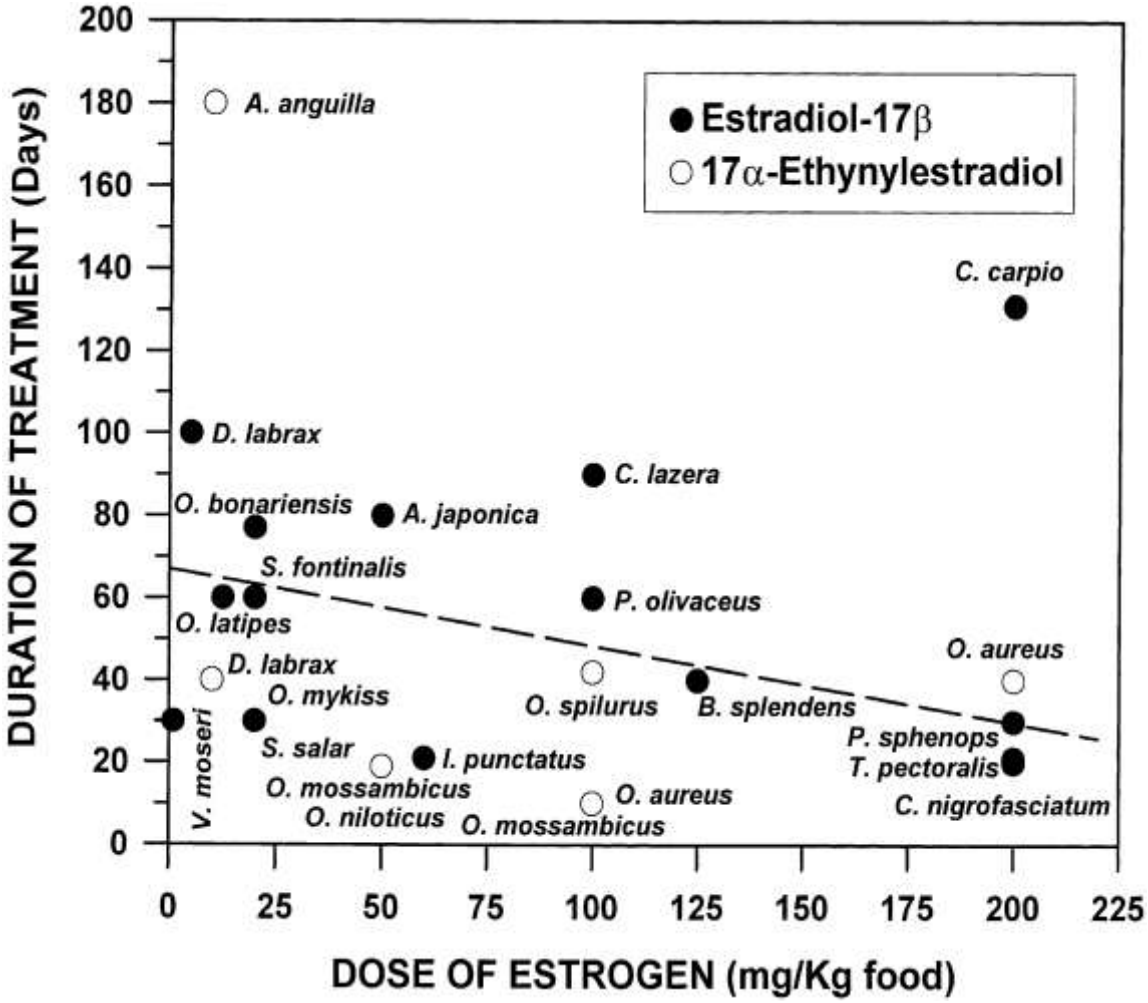
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Πίνακας 6: Παραδείγματα ειδών και παρεμβάσεων (από Devlin & Nagahama, 2002).

Είδη	**MT δόση**	**Χρονική Διάρκεια**
Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)	400 (μg/l)	Κατά την εκκόλαψη
Tilapia (*O.niloticus*)	5 μg/ml 50mg/kg feed	Για 75h μετά την εκκόλαψη. Για 40 ημέρες μετά το πρώτο τάισμα.
Common carp (*Cyprinus carpio carpio*)	100mg/kg	40-70 ημέρες μετά την γονιμοποίηση.

Ο Piferrer (2001), κάνοντας μια ανασκόπηση σε ένα πλήθος τελεοστέων ειδών που υπέστησαν ορμονική παρέμβαση με σκοπό να παράγουν ολοθηλυκούς πληθυσμούς, δημιούργησε το παρακάτω διάγραμμα 3 όπου φαίνεται καθαρά η σχέση που υπάρχει μεταξύ της δόσης των οιστρογόνων και της διάρκειας της διατροφικής θεραπείας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147



Διάγραμμα 3:Διατροφικές θεραπείες που οδηγούν σε ολοθηλυκούς πληθυσμούς σε πλήθος τελεοστέων .Η διακεκομμένη γραμμή δείχνει την πτωτική τάση της σχέσης μεταξύ της δόσης των οιστρογόνων και της διάρκειας χορήγησης αυτών (*A.anguilla* και *C. carpio* δεν υπολογίζονται) (από Piferrer, 2001).

Υπάρχουν περισσότερα από 25.000 είδη ψαριών στα οποία έχει γίνει ορμονική θεραπεία με οιστρογόνα, εκ των οποίων το 64% είναι ψάρια γλυκού νερού, το 21% είναι ψάρια θαλασσινού νερού. Το 11% των ψαριών είναι ανάδρομα και το 4% αυτών είναι κατάδρομα. Το 91% των ψαριών είναι γονοχωριστικά, ενώ τα υπόλοιπα παρουσιάζουν πρωτανδρικό ερμαφροδιτισμό, προκειμένου να προωθήσουν την αλλαγή του φύλου σε θηλυκά.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Δεν υπάρχουν αναφορές χορήγησης οιστρογόνων σε ερμαφρόδιτα άτομα, για την παραγωγή ολοθηλυκών ψαριών και για τον έλεγχο του φύλου με χορήγηση ορμονών στα ψάρια (αρρενοποίηση, θηλυκοποίηση στείρα) συμπεριλαμβανομένων των ερευνών των: Schreck, (1974); Hunter & Donaldson, (1983); Yamazaki, (1983); Billard, (1989); Dunham, (1990); Pandian & Sheela, (1995); Patin, (1997).

Στον πίνακα 7 που ακολουθεί παρουσιάζονται είδη ψαριών που χορηγήθηκαν συνθετικά και φυσικά οιστρογόνα με σκοπό τον έλεγχο του φύλου. Η έρευνα αυτή έγινε από τον Piferrer (2001) και περιλαμβάνει πειράματα που έχουν γίνει από ένα πλήθος επιστημόνων από όλο τον κόσμο και ξεκινά από το 1937 έως το 2000.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Πίνακας 7: Είδη ψαριών που χορηγήθηκαν συνθετικά και φυσικά οιστρογόνα με σκοπό τον έλεγχο του φύλου (1937-2000)(από Piferrer,2001).

Οικογένεια	Είδη	Κοινό όνομα	Οιστρογόνα	Διαχείριση	Αναφορές
Anguillidae	*Anguilla anguilla*	European eel	EE2	Τροφή	Colombo and Grandi (1990, 1995)
	Anguilla japonica	Japanese eel	E2	Τροφή	Degani and Kushnirov (1992) , Andersen *et al.*(1996)
Cyprinidae	*Cyprinus carpio*	Common carp	DES	Τροφή	Satoh *et al.*(1992)
			E2	Τροφή	Chiba *et al.* (1993)
			E1	Εμβάπτιση	Castelnuovo (1937)
			E2	Τροφή	Sathyanarayana Rao and Satyanarayana Rao (1983)
			DES	Τροφή	Komen *et al.* (1989)
			E1 , E2	Τροφή	Basavaraja *et al.*(1989, 1997)
	Carassius auratus	Goldfish	E1, E2	Τροφή	Sehgal and Saxena (1997a,b)
			E1	Τροφή	Yamamoto and Kajishima (1969)
	Pimephales promelas	Fathead minnow	DES	Τροφή	Yamamoto (1975b)
			E2	Εμβάπτιση	Schreck (1974)
					Miles (1997) , Kramer *et al.* (1998)
Cobitidae					Miles-Richardson *et al.* (1999)
	Misgurnus anguillicaudatus	Mud loach	E1		Kubota and Hatakeyama (1987) ,. Kubota *et al.* (1988)
	M. mizolepis	Mud loach	E2	Εμβάπτιση	Kim *et al.* (1997)
Ictaluridae	*Ictalurus punctatus*	Catfish	E2	Τροφή	Goudie *et al.* (1983),Gannam and Lovell (1991)
Clariidae	*Clarias lazera*	Airbreathing catfish	E2	Τροφή	Liu *et al.* (1996)
Salmonidae	*Oncorhynchus mykiss*	Rainbow trout	E1	Εμβάπτιση	Padoa (1937, 1939a)
			E1,E2	Τροφή	Okada (1973, 1985)
			E1	Τροφή	Jalabert *et al.* (1975)
			E2	Εμβάπτιση και/ή τροφή	Simpson (1976)
					Johnstone *et al.* (1978)
					Bye and Lincoln (1986) ,Goryczko *et al.* (1991)
			DES, E2		Sower *et al.* (1983)
			E1E2,EE2, Hexestrol		Chevassus *et al.* (1988)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Salmonidae	*Salmo trutta*	Brown trout	E2 Estrogenic compound	Εμβάπτιση Εμβάπτιση	Ashby, (1957) Poston, (1968)
	Salvelinus namaycush	Lake trout	E2	Τροφή	Wentrom (1975), Herman & Kincaid (1991)
	S. fontinalis	Brook trout	E2	Τροφή και/ή εμβάπτιση	Johnstone *et al*. (1979b) , Parks and Parks, (1991)
	Salmo salar	Atlantic salmon	E2	Τροφή και/ή εμβάπτιση	Simpson (1976) , Johnstone *et al*. (1978) , Herman and Kincaid (1991)
			DES, E 2	Τροφή	Sower *et al*. (1984)
	Oncorhynchus kisutch	Coho salmon	E2 E2 E2	Εμβάπτιση και τροφή Εμβάπτιση Τροφή	Goetz *et al.(*1979) , Donaldson and Hunter (1982) Hunter *et al*. (19860 , Piferrer and Donaldson (1989, 1994) Redding *et al.*(1987)
	O. tshawytscha	Chinook salmon	DES E2 E2 E2,EE2 E2,EE2,ME2	Τροφή Τροφή και εμβάπτιση Εμβάπτιση Εμβάπτιση Εμβάπτιση	Schreck and Fowler (1981) Donaldson and Hunter (1982), Wertheimer and Barnum (1984) Hunter *et al*. (1986) Piferrer and Donaldson (1992) Solar *et al.* (1994)
	O. masou *O. gorbuscha* *O. keta*	Masu salmon Pink salmon Chum salmon	E2 E2 E2 E2	Εμβάπτιση Εμβάπτιση και τροφή Εμβάπτιση Τροφή	Nakamura (1978, 1981, 1984) Nakamura and Takahashi (1985) Donaldson and Hunter (1982) Nakamura (1984) Redding *et al.* (1987)
Mugilidae Atherinidae	*Mugil cephalus* *Odontesthes bonariensis*	Grey mullet Pejerrey	E2 E2	Τροφή Τροφή	Chang *et al.* (1995c) Strussmann *et al*. (1996)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Centrarchidae Percidae	*Pomoxis nigromaculatus* *Lepomis macrochirus* *Perca flavescens*	Black crappie Bluegill Yellow perch	DES, E2 DES, E2 E2	Τροφή Τροφή Τροφή	Al-Ablani (1997) Al-Ablani (1997) Malison *et al.* (1986) , Malison and Garcia-Abiado (1996)
Sparidae Cichlidae	*Mylio macrocephalus* *Acanthopagrus schlegeli* *Sparus auratus* *Oreochromis aureus* *Hemihaplochromis multicolor*	Black sea bream Black porgy Sea bream Tilapia aurea	? E2 E2 , EE2 «Female.hormone» DES, DES-DP E1 , E2 , E3 DES, E2 , EE2 EE2 E2 , EE2 DES, EE 2 EBA	? Τροφή Τροφή Εμβάπτιση και τροφή Εμβάπτιση Τροφή Τροφή Τροφή Τροφή Τροφή Εμβάπτιση	Hibiya (1972) Chang and Lin (1998) Chang *et al.* (1994, 1995a,b) Condec and Canario (1999) Yashouv and Eckstein (1965) Eckstein and Spira (1965) Jensen (1976) Hopkins (1977), Hopkins *et al.* (1979) Kittler (1986),Melard (1995) Mair *et al.* (1987) Rosenstein and Hulata (1994) Muller (1969), Hackmann (1971), Hackmann and Reinboth (1974)
	Oreochromis mossambicus *Oreochromis niloticus*	Tilapia mossambica Tilapia nilotica	EE2 E1 DES DES,E2,EE2 E 2 DES, E2 EE2 DES,E1 E2 DES,EE2 DES,E2,EE2 DES	Τροφή Τροφή Τροφή Τροφή Εμβάπτιση Τροφή Τροφή Τροφή Τροφή Τροφή Εμβάπτιση Τροφή	Nakamura and Takahashi (1973) Guerrero and Guerrero (1976) Varadaraj (1989) Basavaraja *et al.*(1990) Varadaraj (1989) Rosenstein and Hulata (1992) Rosenstein and Hulata (1994) Nakamura and Takahashi (1973) Yoshikawa and Oguri (1978) Tayamen and Shelton (1978) Chipunga (1987) Potts and Phelps (1995) Gilling *et al.* (1996) Abbucay and Mair (1997) Tuan *et al.* (1999)

Συντμήσεις (ονοματολογία των παραγώγων χημικών σε: Anonymous, 1996):DES, diethylstilbestrol;DES-DP, diethylstilbestrol diphosphate; E1, oestrone; E2 , oestradiol-17b; E3, oestriol; EB, oestradiol benzoate; EBA, oestradiol butyryl acetate; EE2 , 17a-ethynyloestradiol; EP, oestradiol propionate; Euvestin, diethylstilbestrol dipropionate; Hexestrol, dihydrodiethylstilbestrol; ME2 , 14,15-methyleneoestradiol.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

5.6 Κυπρίνοι

Η γενετική βελτίωση στον κοινό κυπρίνο, ξεκίνησε αρκετές δεκαετίες πριν (Balon, 1995).

Οι Luo et al. (2011) παρουσίασαν μελέτη για μαζική παραγωγή ολοθηλυκών τριπλοειδών του χρυσόψαρου *Carassius auratus red var* με συνδυασμό γυνογένησης, αντιστροφής φύλου και διπλοειδή -τετραπλοειδή υβριδισμού. Προηγουμένως, είχαν δημιουργήσει έναν αλλοτετραπλοειδή πληθυσμό κυπρίνων (4n = 200) από υβριδισμό μεταξύ κόκκινου χρυσόψαρου (*Carassius auratus red VAR* ♀) και κοινού κυπρίνου (*Cyprinus carpio* ♂). Επίσης δημιούργησαν ολοθηλυκά γυνογενετικά διπλοειδή ιαπωνικού χρυσόψαρου (*Cuvieri Carassius* 2n = 100). Ακόμη παρήγαγαν αρσενικά διπλοειδή γυνογενή του ίδιου είδους, με χρήση 17α-μεθυλοτεστοστερόνη στο γόνο, η οποία οδήγησε στην παραγωγή γεννητικά θεωρούμενα γυνογενητικά αρσενικά. Τελικά, τα αρσενικά αυτά χρησιμοποιήθηκαν για διασταύρωση με τα θηλυκά διπλοειδή γυνογενή του ιαπωνικού χρυσόψαρου και με τα αλλοτετραπλοειδή θηλυκά, με αποτέλεσμα την παραγωγή του αναπαραγωγικά ικανών ολοθηλυκών διπλοειδών ιαπωνικού χρυσόψαρου (2n=100) και στείρων ολοθηλυκών τριπλοειδών υβριδίων (3n = 150) αντιστοίχως.

5.7 Σολομοί

Τα αρσενικά άτομα ορισμένων στελεχών σολομού ωριμάζουν γενετικά νωρίτερα με αποτέλεσμα να μειώνεται το βέλτιστο εμπορικό μέγεθος του

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

ψαριού. Η αντιμετώπιση του προβλήματος αυτού επιτυγχάνεται με παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων σολομού (*Oncorhynchus tshawytscha*), οι οποίοι αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής στον Καναδά (Anonymous, 2009). Ο σολομός διαθέτει το χρωμόσωμα XY το οποίο καθορίζει το φύλο και είναι σταθερό, επιτρέποντας την παραγωγή καθαρών πληθυσμών που αποτελούνται από άτομα με χρωμόσωμα XX.

Ιστορικά αυτό έχει επιτευχθεί με αλλαγή του φύλου, όπου σε ένα μεικτό αριθμό ατόμων χορηγούνται ανδρογόνα σε νεαρή ηλικία με στόχο να παραχθούν XX θηλυκά τα οποία αποκτούν αρσενικά χαρακτηριστικά (αρρενοποίηση πληθυσμού) τα οποία περιέχουν το χρωμόσωμα XX και XY.Οι δυο τύποι αρσενικών ατόμων έχουν διαχωριστεί ο ένας από τον άλλο ως εξής:

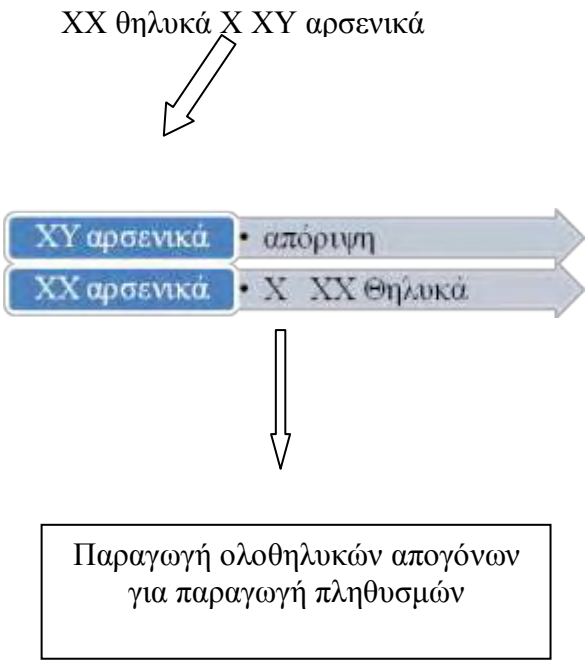
1. Διασταύρωση κάθε ατόμου που παράγεται με τα κανονικά θηλυκά άτομα προκειμένου να παραχθούν θηλυκά άτομα (η μέθοδος είναι χρονοβόρα διαδικασία).
2. Χρησιμοποιώντας ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που υπάρχουν μεταξύ XX και XY αρσενικών ατόμων (προκαλώντας το χαρακτηριστικό αυτό απαιτούνται μακροχρόνιες διατροφικές αγωγές, ενώ τα αποτελέσματα δεν είναι αξιόπιστα).
3. Ταυτοποίηση των ερμαφρόδιτων γονάδων, η οποία είναι ενδεικτική του χρωμοσώματος XX (αλλά εμφανίζεται μόνο σε ένα μικρό ποσοστό του φύλου που αντιστράφηκε και είναι αναξιόπιστο).
4. Η χρήση του χρωμοσωμικού δείκτη Y στο γενετικό υλικό όπου μπορεί να διακριθεί ο γενότυπος XX και XY.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Ο σολομός είναι ένα είδος ψαριού με μεγάλη εμπορική αξία και παρουσιάζει μέτρια έως υψηλά επίπεδα πρόωρης ωρίμανσης σε ορισμένα στελέχη του. Επιπρόσθετα, η ένταση κεφαλαίου για την εκτροφή αυτού του είδους είναι εξαιρετικά υψηλή, με συνέπεια η ανάπτυξη ολοθηλυκών ατόμων να παρουσιάζει σημαντικό όφελος για την εκτροφή του. Η μέθοδος για την παραγωγή ενός ολοθηλυκού ατόμου πρώτου στελέχους (Εικόνα 28), συνίσταται στην εξής διαδικασία (Anonymous,2009).

1) Η πρώτη γενιά αποκτά αρσενικά χαρακτηριστικά (αρρενοποίηση).
2) Ανάπτυξη ενός γενετικού δείκτη όπου θα χρησιμοποιείται για να διακριθούν τα αρσενικά άτομα (XY) από τα θηλυκά άτομα (XX).
3) Έλεγχος κάθε ψαριού με το γενετικό δείκτη για την απομάκρυνση των αρσενικών (XY).
4) Επαλήθευση της απομάκρυνσης των αρσενικών (XY) που παρουσιάζουν αυξημένη ωρίμανση και το ζευγάρι που παρουσιάζει το θηλυκό χρωμόσωμα (XX), για να παραχθεί ένα μείγμα αρσενικών (XY) και θηλυκών (XX) απογόνων.
5) Έλεγχος ζευγαρώματος στα ψάρια τα οποία είναι γενετικά θηλυκά άτομα (XX-αλλά φαίνονται να είναι αρσενικά και παράγουν σπέρμα) με φυσιολογικά θηλυκά (XX) προκειμένου να παραχθούν ολοθηλυκοί απόγονοι ψαριών (XX).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147



Εικόνα 28: Διαγραμματική πορεία παραγωγής ολοθηλυκών διαμέσου της απόκτησης αρσενικών χαρακτηριστικών (αρρενοποίηση) και γενετικός έλεγχος (Anonymous, 2009).

Σύμφωνα με την έρευνα που διεξήγαγε ο Anonymous (2009), ο πληθυσμός του σολομού, αποκτά αρσενικά χαρακτηριστικά σε μια περίοδο πέντε ετών μετά από χορήγηση μεθυλοτεστοστερόνης. Η εκτροφή των ψαριών συνεχίστηκε μέχρι να ωριμάσουν γεννητικά ώστε να χρησιμοποιηθούν για γεννήτορες. Η γενοτυπική ανάλυση και το γενετικό φύλο για την παραγωγή ατόμων σολομού παρουσιάζονται στον πίνακα 8.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Πίνακας 8: Παραγωγή ατόμων σολομού ενός φύλου (Πηγή:Anonymous, 2009).

Χαρακτηριστικά	Έτος				
	1ο	2ο	3ο	4ο	5ο
Άτομα	522	591	582	158	210
% ατόμων με αρσενικά χαρακτηριστικά	1%	4%	33%	41%	86%
% ανώριμα άτομα	9%	38%	55%	41%	14%
Αριθμός απογόνων	1600	1600	1600	600	600
% θηλυκών απογόνων	100%	95%	100%	100%	100%

Φαινοτυπικά αρσενικά που προέρχονται από θηλυκό γενότυπο (XX) επιλέχθηκαν να χρησιμοποιηθούν ως γεννήτορες για να διασταυρωθούν με κανονικά θηλυκά. Το πρώτο έτος της παραγωγής, ένα μεγάλο ποσοστό θηλυκών ατόμων παρήγαγε απογόνους που προέρχονταν από τέτοιες διασταυρώσεις. Το δεύτερο χρόνο τα αρσενικά που επιλέχθηκαν, αναλύθηκαν και βρέθηκε να περιέχουν το Y χρωμόσωμα. Το δεύτερο έτος τα αρσενικά που παρήχθησαν εξετάσθηκαν και βρέθηκε να περιέχουν το χρωμόσωμα Y.

Επομένως τα αρσενικά που εμφανίστηκαν προκύπτουν από αυτοσωμικές γενετικές ή περιβαλλοντικές επιδράσεις, αλλά κατά πάσα πιθανότατα προέκυψαν από μια τυχαία διασταύρωση μεταξύ αρσενικών γεννητόρων που φέρουν το χρωμόσωμα XY. Τα επόμενα έτη το 100% των απογόνων που παρήχθησαν ήταν θηλυκά άτομα, αποδεικνύοντας με τον τρόπο αυτό τη χρησιμότητα της μεθόδου για την παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων σολομού, *Oncorhynchus kisutch* (Anonymous, 2009).

Με τα ολοθηλυκά άτομα επιτρέπεται η παραγωγή μπρικ και ως εκ τούτου θα πρέπει να ενισχύεται η εκτροφή και η παραγωγή ολοθηλυκών

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

ατόμων για εμπορικούς λόγους. Συνεπώς, τα θηλυκά στελέχη που προέρχονται από τον σολομό coho, οδήγησαν σε αύξηση της ικανότητας του ψαριού να παράγει μπρικ (Εικόνα 29), αφού διπλασιάστηκε η ποσότητα, που προέρχονταν από τον ίδιο αριθμό ατόμων σε σχέση με εκείνα που χρησιμοποιήθηκαν στη κανονική εκτροφή ψαριών.

Εικόνα 29: Παραγωγή μπρικ μεταξύ φυσιολογικών και ολοθηλυκών ατόμων σολομού (από Anonymous, 2009).

Σε ότι αφορά στην ανάπτυξη του σολομού δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο βάρος και στο μήκος μεταξύ των παρεμβάσεων κατά τη διάρκεια χορήγησης ορμόνης (μεθυλοτεστοστερόνης) στις τροφές. Η αύξηση βάρους ήταν μεγαλύτερη όταν χορηγήθηκαν 5 ppm ορμόνης (1847 g) σε σχέση με τους σολομούς που δεν χορηγήθηκε καθόλου ορμόνη και είχαν μέσο τελικό βάρος 1548 g για διάστημα 26 μηνών (Hendry *et al*., 2003 ; Imsland & Jonassen, 2005).

Επίσης, σύμφωνα με την ίδια έρευνα, η ανάπτυξη ήταν μεγαλύτερη στα θηλυκά ψάρια (50%) σε σχέση με τα αρσενικά άτομα και κατά συνέπεια η αύξηση αυτή οφείλεται στη διαφοροποίηση του φύλου. Το 50% των θηλυκών στον πληθυσμό που δεν εφαρμόστηκε ορμονική παρέμβαση αυξήθηκαν πιο γρήγορα σε σχέση με τα αρσενικά άτομα και επομένως η αύξηση του

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

πληθυσμού που χορηγήθηκε MDHT, οφειλόταν κατά κύριο λόγο στο αυξημένο ποσοστό των φαινοτυπικών αρσενικών που ήταν 97% του πληθυσμού (Hendry *et al.,* 2003; Imsland & Jonassen, 2005).

,

5.8 Πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*)

Στα ψάρια η τεχνική της αντιστροφής φύλου είναι ευρύτατα διαδεδομένη σε πολλές χώρες. Η παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων στην ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) επιτυγχάνεται με την τεχνική της φαινοτυπικής αντιστροφής του φύλου και συνίσταται:

Στάδιο1 α: στη χορήγηση ανδρογόνου ορμόνης (17α-μεθυλοτεστεστοστερόνης-17MTT) μέσω της τροφής σε γόνο πρώτης διατροφής

β: στην επιλογή των ώριμων αρσενικών ατόμων (XX) που έχουν υποστεί αντιστροφή φαινοτυπικού φύλου. Κατά το στάδιο αυτό, ο διαχωρισμός των ανδροποιημένων θηλυκών ατόμων από τα φυσιολογικά αρσενικά είναι εφικτός αφού ο σπερματικός αγωγός στα ανδροποιημένα θηλυκά είναι ατελής και με άσκηση πίεσης στην κοιλιά συχνά δεν είναι ικανή η λήψη σπέρματος. Κατά συνέπεια απαιτείται χειρουργική αφαίρεση των όρχεων, ο τεμαχισμός τους και η λήψη δείγματος για τον έλεγχο της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων στο μικροσκόπιο σύμφωνα με την ακόλουθη διαδικασία (Ναθαναηλίδης, 2004):

- Αραιώνεται το σπέρμα με διάλυμα ακινητοποίησης σπέρματος (1η αραίωση) σε αναλογία 1:10 (σπέρμα:διάλυμα).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

- Τοποθετείται ποσότητα 5ml αραιωμένου σπέρματος σε αντικειμενοφόρο πλάκα και εστιάζουμε με μικροσκόπιο σε μεγέθυνση Χ40.
- Προστίθεται ποσότητα 50ml του διαλύματος ακινητοποίησης σπέρματος ($2^{η}$ αραίωση) και παρατηρούμε το ποσοστό κινούμενων σπερματοζωαρίων. Ένα ποσοστό τουλάχιστον 50% κρίνεται ως ικανοποιητικό, προκειμένου να προχωρήσει η διαδικασία κατάψυξης του σπέρματος.
- Ανάμιξη σπέρματος με διάλυμα από κρυοπροστατευτικές ουσίες [Nacl-Kcl-CaCl2-Tris/Hcl(pH 9)-DMSO-Λέκιθος αυγού κότας] σε αναλογία 1:3(σπέρμα:διάλυμα) για την προστασία της κυτταρικής μεμβράνης του σπέρματος και την αποφυγή ρήξης της μεμβράνης από τον σχηματισμό κρυστάλλων πάγου.
- Τοποθέτηση σπέρματος σε πλαστικά καλαμάκια κατάψυξης σπέρματος, χωρητικότητας 0,5ml.
- Τοποθέτηση των καλαμακιών σε ύψος 4cm πάνω από το υγρό άζωτο για 9 min και στη συνέχεια βύθιση μέσα στο υγρό άζωτο στο δοχείο αποθήκευσης όπου και διατηρείται για εκατοντάδες έτη.
- Για την απόψυξη του σπέρματος τοποθετούμε τα καλαμάκια σε υδατόλουτρο με θερμοκρασία 30C για 10 sec.

Στάδιο 2 Γ) :διασταύρωση αυτών με ώριμα θηλυκά άτομα (XX)

Δ) την ανάπτυξη του ολοθηλυκού γόνου

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Η ανάπτυξη αυτών των τεχνικών-μεθόδων γίνεται σκόπιμα γιατί στις ιριδίζουσες πέστροφες το αρσενικό ωριμάζει νωρίτερα σε σύγκριση με το θηλυκό. Η επίδραση τριών ορμονών (17α-μεθυλοτεστοστερόνη, 11β υδροξυ-ανδροστεδεριόνη και 17 α αιθιν-τεστοστερόνη) στην αντιστροφή του φύλου και στην ανάπτυξη της ιριδίζουσας πέστροφας μελετήθηκε από τους Atar *et al.* (2009). Η ομάδα του μάρτυρα διατράφηκε με εμπορικές τροφές για πέστροφες χωρίς την προσθήκη ορμονών. Τα λειτουργικά αρσενικά με αντιστροφή φύλου ανατράφηκαν από την απορρόφηση του λεκιθικού σάκκου μέχρι να φθάσουν σε γεννητική ωρίμανση. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι η 17α-μεθυλοτεστοστερόνη ήταν περισσότερο αποτελεσματική ορμόνη. Ο μεγαλύτερος λόγος αντιστροφής φύλου (86.67±6.67%), παρατηρήθηκε στην ομάδα που χορηγήθηκε 3 mg/kg 17α μεθυλοτεστοστερόνης για διάστημα 60 ημερών (Atar *et al.,* 2009). Οι υπόλοιπες δύο ορμόνες (17α αιθιν-τεστοστερόνη και 11β υδροξυ-ανδροστεδεριόνη) έδειξαν μικρότερους ρυθμούς ανάπτυξης και παρόμοια αποτελέσματα. Ωστόσο ο μεγαλύτερος λόγος μεσόφυλου (46.67±6.67%) καταγράφηκε στην ομάδα που χορηγήθηκε 30mg/kg 17 α αιθιν-τεστοστερόνη για χρονικό διάστημα 40 ημερών, αλλά ο ρυθμός ανάπτυξης ήταν κατώτερος του 20% περίπου για όλα τα υπόλοιπες ομάδες.

Από την άλλη πλευρά, τα αποτελέσματα της έρευνας που διεξήγαγαν οι Gullu *et al* (2005), ήταν παρόμοια με αυτή των Atar *et al*. (2009) δείχνοντας την επίδραση της οιστραδιόλης στην αντιστροφή του φύλου για χρονικό διάστημα 140 ημερών οι οποίες χωρίσθηκαν σε 5 περίοδοι. Σύμφωνα με την μελέτη αυτή, στα νεαρά και αναπτυσσόμενα ιχθύδια πέστροφας ηλικίας 35 ημερών μετά την εκκόλαψη, χορηγήθηκαν 400mg/l με εμβάπτιση, διαλύματος

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

οιστραδιόλης, για 2 ώρες, 2 φορές την εβδομάδα για χρονικό διάστημα 4 εβδομάδων. Στη συνέχεια ο γόνος της πέστροφας διατράφηκε για διάστημα 60 ημερών με 20mg/kg οιστραδιόλη (Gullu *et al.,* 2005).

Η ποσότητα χορήγησης της οιστραδιόλης επηρεάζει το ρυθμό αλλαγής του φύλου και βρέθηκε να είναι της τάξης του 100%.Τα θηλυκά άτομα πέστροφας είναι κατάλληλα εξαιτίας του καλύτερου ρυθμού ανάπτυξης και της μειωμένης γενετικής ωρίμανσης που παρουσιάζουν (Bye & Lincoln, 1986).

5.9 Καλκάνι (*Hippoglossus hipoglossus)*

Μια από τις μεθόδους που χρησιμοποιείται για την παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων καλκανιού είναι η αντιστροφή φύλου με χρήση ορμονών (Shelton *et al*., 1978; Kommen, 1989; Piferrer, 2001). Σύμφωνα με το πείραμα που διεξήγαγαν οι Hendry *et al*. (2003), η επιτυχία αντιστροφής φύλου εξαρτάται από τη διάρκεια της ορμονικής θεραπείας (διαρκεί 6 εβδομάδες όταν τα ιχθύδια καλκανιού έχουν μέσο μήκος 30mm και τη χορηγούμενη ποσότητα (5ppm, MDHT). Σε περίπτωση που χρησιμοποιηθεί υψηλότερη συγκέντρωση (10ppm MDHT), συνίσταται η μείωση της χρονικής διάρκειας της θεραπείας (περίπου στις 3 εβδομάδες), ώστε να «αρρενοποιηθεί» ένας πληθυσμός νεαρών ατόμων μέσα στον ετερογενή πληθυσμό.

Τα θηλυκά άτομα του καλκανιού του Ατλαντικού, *Hippoglossus hipoglossus,* αναπτύσσονται γρήγορα και αυξάνουν περισσότερο σε σχέση με τα αρσενικά άτομα, φθάνοντας σε εμπορικό μέγεθος πριν την ωρίμανση (Hendry *et al.*,2002, 2003; Tvedt *et al.,*2006). Η ωρίμανση είναι το μείζον πρόβλημα, με αποτέλεσμα κατά τη διάρκεια της εκτροφής, τα ενεργειακά αποθέματα που διαθέτουν μετατοπίζονται στην ανάπτυξη των

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

αναπαραγωγικών αδένων, με αποτέλεσμα να μειώνεται η αύξηση του ψαριού και να αλλοιώνεται η ποιότητα της σάρκας και να γίνονται περισσότερο ευπαθή στις ασθένειες (Taranger *et al.,*2009). Το καλκάνι είναι από τα είδη ψαριών που προσφέρονται για αντιστροφή φύλου, αρχίζουν να διαφοροποιούνται μετά την αρχική χορήγηση των ορμονών η οποία μπορεί να γίνει με προσθήκη στις τροφές, τα αποτελέσματα της οποίας δείχνουν, μια περίοδο που χαρακτηρίζεται αδιάφορη και διαρκεί από το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο μέχρι το μήκος της προνύμφης φθάνει τα 38 mm (Lf), (Hendry *et al*.,2002). Έμμεση αντιστροφή φύλου, έχει πραγματοποιηθεί με επιτυχία στο καλκάνι, σύμφωνα με τη μελέτη των Hendry *et al.* (2003), όπου όλα τα θηλυκά άτομα γίνονται αρσενικά (XX ανδροποιημένα θηλυκά), στα οποία χορηγείται μεθυλ-υδρο-τεστοστερόνη (MDHT) πριν διαφοροποιηθεί το φύλο, διασταυρώνονται με θηλυκά άτομα (XX) προκειμένου να παραχθούν ολοθηλυκά άτομα (Piferrer, 2001).

Η προτεινόμενη αγωγή (5ppm MDHT για διάστημα 6 εβδομάδες), είναι μια ισχυρή και αποτελεσματική μέθοδος ώστε τα νεαρά άτομα να αποκτήσουν χαρακτηριστικά αρσενικών ατόμων τα οποία χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων. Η ποσοτικοποίηση της αναλογίας του φύλου μεταξύ των απογόνων προσδιορίζει την παρουσία των ανδροποιημένων θηλυκών στον πληθυσμό (Cowan *et al*., 2010).

5.10 Γαρίδες (*Penaeus semisilcatus*)

Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα της επίδρασης της οιστραδιόλης στην αντιστροφή του φύλου στις γαρίδες (Aktas & Genc, 2011). Σύμφωνα με την παρούσα μελέτη οι επιδράσεις της 17 β –οιστραδιόλης που παρατηρήθηκαν

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

στην επιβίωση, στη θηλεοποίηση και στην ανάπτυξη των γαριδών *Penaeus semisilcatus* (Εικόνα 30) σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης. Τα ωάρια, οι προνύμφες, οι πρωτοζωές και οι νύμφες γαρίδας εμβαπτίστηκαν σε νερό που περιείχε 50μg/L β-οιστραδιόλης από την αρχή αυτού του σταδίου έως το τέλος του για διάστημα 4 μηνών μέχρι να εμφανίσουν τα δευτερεύοντα φυλετικά χαρακτηριστικά στην κοιλιακή τους χώρα (Aktas & Genc, 2011). Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν ότι η μέθοδος της εμβάπτισης σε διάλυμα 50μg/L 17β-οιστραδιόλης στο στάδιο ανάπτυξης του ωαρίου, των προνυμφών μειώνει το ρυθμό επιβίωσης.

Εικόνα 30: Γαρίδα (*Penaeus semisilcatus*)
(Πηγή: http://www.ropme.com/program7.html)

Σύμφωνα με την ίδια μελέτη ο βαθμός θηλεοποίησης (71.88%) παρατηρήθηκε στις ομάδες των προνυμφών παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες ($P<0.0001$). Σε σχέση με το ρυθμό ανάπτυξης, η μεγαλύτερη αύξηση στο βάρος ήταν στην ομάδα των προνυμφών (14.15±2.41g), στο μάρτυρα (13.66±2.48g) και στα ωάρια (12.04±0.68g), παρουσιάζοντας σημαντικές στατιστικές διαφορές σε σχέση με τα υπόλοιπες ομάδες γαριδών ($P<0.005$) (Aktas & Genc, 2011).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

5.11 Αποτελέσματα –Συζήτηση

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει δημιουργηθεί μια σειρά πρωτοκόλλων για την παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων και έχουν εφαρμοσθεί σε 35 διαφορετικά εμπορικά είδη συμπεριλαμβανομένου των χελιών, των σολομών, τα κυπρινοειδή, οι κηχλίδες (Cichlidae), τα gourami (Osphronemidae), τα πλατύψαρα, οι μονομάχοι και τα άτομα της οικογένειας Poecilidae (George & Pandian, 1995 ; Piferrer & Lim,1997 ; Kipouros *et al.,*2011). Αναμένεται ότι ο αριθμός των πρωτοκόλλων θηλυκοποίησης που υπάρχουν θα αυξηθεί στο μέλλον μιας και το ενδιαφέρον για την παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων στην υδατοκαλλιέργεια γίνεται όλο και πιο έντονο.

Πάρα πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί με αντικείμενο την πραγωγή ολοθηλυκών ατόμων σολομοειδών.Οι Johnstone *et al*. (1978) παρήγαγαν με επιτυχία 100% ολοθηλυκά άτομα σολομού του Ατλαντικού (*Salmo salar*) χορηγώντας 20mg E_2 (οιστραδιόλη-17β)/kg τροφής από την $15^η$-$45^η$ ημέρα μετά το πρώτο τάϊσμα για 30 ημέρες. Τα ίδια θεαματικά αποτελέσματα παρουσίασαν και μεταγενέστερες έρευνες όπως του Nakamura (1984) ο οποίος παρουσίασε 100% ποσοστό επιτυχίας στην παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων του είδους *O.keta* με την χορήγηση 1μg/l E_2 μέσω εμβάπτισης από την $64^η$ έως την $100^η$ ημέρα μετά την εκκόλαψη.Σύμφωνα με τον Piferrer (2001), τα σολομοειδή που υποβάλλονται σε διατροφική παρέμβαση με στεροειδή είναι τα πιο εύκολα είδη για θηλυκοποιήση. Το ίδιο ισχύει και για τα σολομοειδή που θηλυκοποιούνται μέσω εμβάπτισης μιας και ο χρόνος που απαιτείται είναι ελάχιστος (Nakamura,1984;Piferrer & Donaldson, 1989,1992).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Σε αντίθεση με τα σαλμονοειδή, τα κυπρινοειδή απαίτουν συγκριτικά υψηλότερη έντασης παρέμβαση για την επίτευξη της παραγωγής ολοθηλυκών ατόμων (Shelton, 1986; Komen & Richter, 1993). Οι Yamamoto & Kahishima (1969) χορήγησαν 100mg E_1 (oestrone)/kg τροφής από το πρώτο ταίσμα και για 60 ημέρες με αποτέλεσμα την επίτευξη 100% παραγωγής ολοθηλυκών ατόμων χρυσόψαρου (*Carassius auratus*). Μικρότερο ποσοστό επιτυχίας (23%+17% στείρα) παραγωγής ολοθηλυκών ατόμων του κοινού κυπρίνου (*Cyprinus carpio*) ανέδειξε η έρευνα των Basavaraja et al. (1997) όταν χορηγήθηκε 300mg DES (diethylstilbestrol)/kg τροφής 5 ημέρες μετά την εκκόλαψη για 30 ημέρες. Όπως διαπιστώνεται από την παραπάνω έρευνα αλλά και από μια σειρά ερευνών (από το 1970 και μετά) για την παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων κοινού κυπρίνου (*Cyprinus carpio*), απαιτείται μεγαλύτερη δόση στεροειδών αλλά και μεγαλύτερος χρόνος εφαρμογής τους.

Ιδιαίτερα ενθαρρυντικά είναι τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την χρήση της οιστραδιόλης (E_2) για την παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων ιριδίζουσας πέστροφας (*O.mykiss*). Σύμφωνα με τους Johnstone *et al*.(1978) όταν χορηγήθηκε 20mg οιστραδιόλης/kg τροφής κατά το πρώτο τάισμα και για 30 ημέρες , το ποσοστό επιτεύξης ολοθηλυκών ατόμων ανήλθε στο 100%. Μεταγενέστερη έρευνα των Chevassus *et al*.(1988) παρουσιάζει μικρότερο ποσοστό επιτυχίας (90%) με την χορήγηση 0,8mg Hexestrol /kg τροφής για 90 ημέρες όταν ο γόνος άρχισε να αποκτά δυνητική κολύμβηση.

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν από την μελέτη του τρόπου παραγωγής των ολοθηλυκών ατόμων είναι σημαντικά, αλλά απαιτείται διευρημένο πεδίο έρευνας ώστε να βελτιωθεί και να σταθεροποιηθεί η αποτελεσματικότητα της κάθε μεθόδου.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

6.Συμπεράσματα

Έντονο ενδιαφέρον παρατηρείται τις τελευταίες δεκαετίες από τους παραγωγικούς τομείς της υδατοκαλλιέργειας για την εισαγωγή τριπλοειδών ατόμων στην εκτροφή, μιας και τα αποτελέσματα που έχουν εξαχθεί αποτελούν λύση σε μια σειρά προβλημάτων τα οποία σχετίζονται με την ανάπτυξη, την ποιότητα της σάρκας,τις διαφυγές στο φυσικό περιβάλλον κ.α. Η τριπλοειδία έχει ως κύριο χαρακτηριστικό την πρόκληση της στειρότητας των οργανισμών με αποτέλεσμα να θεωρείται η πιο επιτυχημένη μέθοδος παραγωγής στείρων πληθυσμών με μεγάλα οφέλη στην διαχείρισή τους.

Εξαρτώμενη από το είδος του οργανισμού, η εφαρμογή μεθόδου θερμικού σοκ στα ωάρια προκειμένου να παραχθούν τριπλοειδή άτομα, έχει φέρει ανάμεικτα αποτελέσματα με διαφορετικά ποσοστά επιτυχίας, ενώ η εφαρμογή μεθόδου πίεσης είναι πιο αποτελεσματική και για το λόγο αυτό κερδίζει περισσότερο έδαφος στην επιλογή της. Η μέθοδος της τριπλοειδίας εξαρτάται από το είδος και δεν είναι αποτελεσματική σε όλα τα είδη. Σε αυτά όμως που εφαρμόζεται με επιτυχία (σολωμός,τιλάπια,λαυράκι και πέστροφα), παρουσιάζεται υψηλό ποσοστό επιτυχίας (περίπου 98%).Τα μειονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι: η ανάπτυξή των παραγώμενων τριπλοειδών σε μερικές περιπτώσεις είναι μικρότερη από αυτή των διπλοειδών, το ποσοστό επιβίωσης μετά την εκκόλαψη ποικίλει, τα ιδανικά πρωτόκολλα παραγωγής τριπλοειδών διαφέρουν μεταξύ των ειδών, το 2% των παραγόμενων ατόμων δεν είναι στείρα και τέλος τα οφέλη της εφαρμογής τριπλοειδίας εμφανίζονται με την παραγωγή κυρίως θηλυκών τριπλοειδών.

Είναι αδιαμφισβήτητο γεγονός όμως, ότι παραμένουν ακόμη πολλά ερωτήματα σχετικά με την βιολογία των τριπλοειδών προκειμένου να

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

παραχθούν υψηλής ποιότητας πληθυσμοί οι οποίοι θα συμβάλουν σημαντικά στην οικονομική βιωσιμότητα των υδατοκαλλιεργειών. Η έρευνα θα πρέπει να επικεντρωθεί στον ρυθμό ανάπτυξης του κάθε είδους, στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του αλλά και στην αναζήτηση οικονομικών ωφελειών από την επιλογή του κατάλληλου τρόπου εκτροφής για κάθε είδος.

Από την άλλη πλευρά η παραγωγή ολοθηλυκών πληθυσμών κρίνεται αναγκαία μιας και έχει παρατηρηθεί ότι τα θηλυκά άτομα ορισμένων ειδών παρουσιάζουν μεγαλύτερο ρυθμό ανάπτυξης σε σχέση με τα αρσενικά άτομα του ίδιου είδους. Αυτό εξηγεί τον συνεχώς αυξανόμενο αριθμό πρωτοκόλλων για την θηλυκοποίηση σε μια μεγάλη ποικιλία τελεόστεων οργανισμών.

Γενικότερα, τα πρωτόκολλα παραγωγής ολοθηλυκών ατόμων θα πρέπει να βασίζονται στη χρήση φυσικών οιστρογόνων (αν και η αξία τους σε σχέση με τα συνθετικά ανάλογα αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα κατά την μαζική παραγωγή).Επίσης η χρήση των ορμονών θα πρέπει να εφαρμόζεται κατά την ασταθή περίοδο επιτρέποντας έτσι την μείωση της δοσολογίας των ορμονών αλλά και τη διάρκεια της θεραπείας.Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η άμεση μέθοδος παραγωγής ολοθηλυκών πληθυσμών γιατί δεν υπάρχει κίνδυνος κατάλοιπων στεροειδών που χορηγήθηκαν στα ψάρια δεδομένου ότι η πλήρης απορρόφησή τους ολοκληρώνεται πολύ πριν την τελική διάθεση του προϊόντος.

Απώτερος στόχος είναι η βελτίωση της βιωσιμότητας και η αύξηση του κέρδους της υδατοκαλλιέργειας με τελικό στόχο την διασφάλιση της παραγωγής ενός προϊόντος το οποίο θα είναι και υψηλών ποιοτικών προδιαγραφών και άμεσα διαθέσιμο στον καταναλωτή.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Κατά την συγγραφή της παρούσας μελέτης παρουσιάστηκαν οι τρόποι παραγωγής τριπλοειδών και ολοθηλυκών πληθυσμών αλλά και τα είδη των υδρόβιων οργανισμών όπου έχουν εφαρμοστεί οι παραπάνω τεχνικές. Η επιλογή της μεθόδου διαφέρει ανά είδος μιας και ένα πλήθος από βιολογικούς, περιβαλλοντικούς αλλά και οικονομικούς παράγοντες καθορίζουν την καταλληλότερη έτσι ώστε να επιτευχθεί όσο το δυνατόν μεγαλύτερο ποσοστό επιτυχίας που θα οδηγήσει στο επιθυμητό αποτέλεσμα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Βιβλιογραφία

Ξένη Βιβλιογραφία

Aktas M., Genc M., 2011.The effect of 17β-estradiol on growth, survival and Feminization of Green Tiger Shrimp, *P.semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae). *Journal of animal and Veterinary Advances,* 10(5):562-565.

Anonymous, 2009**.** Production of All female Populations of Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch)*, using Y-Chromosomal DNA markers. Aquaculture Collaborative Research and Development Program (ACRDP) Fast sheet. *Fiesheries and Oceans*., 3:1-4

Arai K., 2001. Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. *Aquaculture*. 197: 205-228.

Atar H., Beckan S., Dogankaya L., 2009 .Effects of different hormones on sex reversal of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*,Walbaum) and production of all-female populations. *Biotechnology & Biotechnological Equipment,* 23(4):1509-1514.

Balon K., 1995. The common carp, *Cyprinus Carpio:* Its wild origin, domestication in aquaculture, and selection as colored nishikigoi. *Guelph Ichthyology Reviews,* 3 : 1-55.

Basavaraja N., Gangadhar B., Udupa S., 1997. Effect of diethylstilbestrol-incorporated diet on sex ratio and body composition of common carp,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Cyprinus carpio. *Journal of Aquaculture in the Tropics* (Calcutta), 12: 209–218.

Basurco B., Lovatelli A., 2003. The aquaculture situation in the Mediterranean Sea. Predictions for the future. In: International Conference on Sustainable Development of the Mediterranean and Black Sea Environment, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα, 29-31 Μαίου 2003. Διαθέσιμο στο www. faosipam. org/ virtuability / Aquacmed.pdf.

Benfey J., 2001. Use of sterile triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) for aquaculture in New Brunswick. ICES J. Mar. Sci. 58: 525-529.

Benfey J., 1999. The physiology and behaviour of triploid fishes. *Reviews in Fisheries Sciences,* 7: 38-67.

Benfey J., Dye M., Donaldson M., 1989. Estrogen-induced vitellogenin production by triploid coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), and its effect on plasma and pituitary gonadotropin. *General and Comparative Endocrinology,* 75: 83-87.

Benfey J., Sutterlin A., 1984. Growth and gonadal development in triploid landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41:1387-1392.

Billard R., 1989. Endocrinology and fish culture. *Fish Physiology and Biochemistry,* 7: 49–58.

Blanc M., Poisson H., Vallee F., 1992. Survival, growth and sexual maturation of the triploid hybrid between rainbow trout and Arctic char.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Aquatic Living Resources/Ressources Vivantes Aquatiques, 5 (Suppl. 1): 15–21.

Bramick U., Puckhaber B., Langholz J. , Horstgen-Schwark G., 1995. Testing of triploid tilapia (*Oreochromis niloticus*) under tropical pond conditions. *Aquaculture,* 137 (Suppl. 1–4):343–353.

Byamungu N., Darras M., Kuhn R., 2001. Growth of heat-shock induced triploids of blue tilapia, *Oreochromis aureus*, reared in tanks and in ponds in Eastern Congo: feeding regimes and compensatory growth response of triploid females. *Aquaculture* 198:109-122.

Bye J., Lincoln F., 1986. Commercial methods for the control of sexual maturation in rainbow trout (*Salmo gairdneri R*.). *Aquaculture* 57: 299-309.

Chang L., Chang F., Liao C., 1993. Comparative study on the growth and gonadal development of diploid and triploid tilapia, *Oreochromis aureus*. *Journal of Taiwan Fisheries Research*, 1 (Suppl. 1): 43–49.

Cherfas B., Gomelsky B., Ben-Dom N., Peretz Y., Hulata G., 1994. Assessment of triploid common carp (*Cyprinus carpio* L.) for culture. *Aquaculture*, 127 (Suppl. 1): 11–18.

Chevassus B., Devaux A., Chourrout D., Jalabert B., 1988. Production of YY rainbow trout males by self-fertilization of induced hermaphrodites. *Journal of Heredity*, 79: 89–92.

Chourrout D., Chevassus B., Krieg F., Happe G., Renard P., 1986. Production of second generation triploids and tetraploid rainbow trout by

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

mating tetraploid males and diploid female. Potentials of tetraploid fish. *Theoretical and Applied Genetics*, 72:193-206.

Chourrout D., Qillet E., 1982.Induced gynogenesis in the rainbow trout: sex and survival of progenies. Production of all triploid populations. *Theoretical and Applied Genetics,* 63: 201–205.

Chourrout D., 1980. Thermal induction of diploid and triploidy in the eggs of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Reproduction & Development,* 20: 727-733.

Colombo L., Barbaro A., Libertini A., Benedetti P., Francescon A., Lombardo I., 1995. Artificial fertilization and inductionof triploidy and meiogynogenesis in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Journal of Applied Ichthyology,* 11: 118–125.

Cowan M., Migaud H., Davie A., 2010. Research and development of stock management in ongrowing of marine fish. Published by the: Scottish Aquaculture Research Forum (SARF) pp 100. ISBN: 978-1-907266-35-5.

Devlin H., Nagahama Y., 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological and environmental influences. *Aquaculture,* 208: 191-364.

Diaz F., Iturra P., Veloso A., Estay F., Colihueque N., 1993. Physiological factors affecting triploid production in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 114 (Suppl. 1–2): 33–40.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Don J., Avtalion R., 1988a. Comparative study on the induction of triploidy in tilapias using cold and heat shock techniques. *Journal of Fish Biology*, 32:665-672.

Don J., Avtalion R., 1986. The induction of triploidy in *Oreochromis aureus* by heat shock. *Theoretical and Applied Genetics,* 72:186-192.

Dunham A., 1995. The Contribution of Genetically Improved Aquatic Organisms to Global Food Security. Thematic paper presented to the Japan/FAO International Conference on Sustainable Contribution of Fisheries to Food Security, 4-9 December, Kyoto, Japan.

Dunham A., 1990. Production and use of monosex or sterile fishes in aquaculture. *Reviews in Aquatic Sciences,* 2:1–17.

El Gamal A., Davis B., Jenkins J., Torrans E., 1999. Induction of triploidy and tetraploidy in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of the World Aquaculture Society*, 30:269-275.

FAO Fisheries and Aquaculture Department. 2010. THE STATE OF WORLD FISHERIES AND AQUACULTURE 2010. Rome, 2010.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (1997). *Aquaculture Development.* FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries, No. 5. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Felip A., Carrillo M., Zanuy S., 2009. Older triploid fish retain impairedreproductive endocrinology in the European sea bass *Dicentrarchus labrax. Journal of Fish Biology*, 75: 2657–2669.

Felip A., Piferrer F., Carrillo M., Zanuy S., 1999. The relationship between the effects of UV light and thermal shock on gametes and the viability of early developmental stages in a marine teleost fish, the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Heredity*, 83: 387–397.

Felip A., Zanuy S., Carrillo M., Martinez G., Ramos J., Piferrer F., 1997.Optimal conditions for the induction of triploidy in the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) .*Aquaculture,* 152:287-298.

Flajshans M., Linhart O., Kvasnicka P., 1993. Genetic studies of tench (*Tinca tinca L*.): Induced triploidy and tetraploidy and first performance data. *Aquaculture*, 113 (Suppl. 4): 301–312.

Fjelldal G., Hansen T., 2010. Verteberal deformities in triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) underyearling smolts. *Aquaculture*, 309 (1–4): 131–136.

Friars W., McMillan I., Quinton V., O'Flynn M., McGeachy A., Benfey J., 2001. Family differences in relative growth of diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture,* 192: 23-29.

Francescon A, Libertini A, Barbaro A, Bozzato G, Lombardo.I., 1994. "Prime sperimentazioni di manipolazione cromosomica in orata (*Sparus aurata* L.). *Biologia Marina Mediterranea*, vol. 2, no. 2:317-318.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Fujioka Y., 2002. Effects of hormone treatments and temperature on sex-reversal of Nigorobuna *Carassius carassius grandoculis*. *Fisheries science* No: 68.

Garner L., 2001. Sex-Sorting Mammalian Sperm: Concept to Application in Animals. *Journal of Andrology,* 22:519-526.

George T., Pandian J., 1995. Production of ZZ females in the female-heterogametic black molly, *Poecilia sphenops*, by endocrine sex reversal and progeny testing. *Aquaculture* 136: 81–90.

Goryczko K., Dobosz S., Luczynski M., Jankun M., 1992. Triploidized trout hybrids in aquaculture. Bulletin of the Sea Fisheries Institute, Gdynia, 125: 3–6.

Gullu K., Guzel S., Guner Y., 2005. Effect of Esradiol Valerate Applied by Immersion and Oral Administration on Grwoth and Sex Reversal of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss. Biotechnology,* 4(3):202-205.

Guo X., DeBrosse A., Allen K., 1996. All-triploid oysters *(Crassostrea gigas* Thunberg*)* produced by mating tetraploids and diploids. *Aquaculture,* 142:149-161.

Haffray P., Bruant S., Facqueur M., and Fostier A., 2005.“Gonad development, growth, survival and quality traits in triploids of the protandrous hermaphrodite gilthead seabream *Sparus aurata* (L.).*Aquaculture*, 247: 107-117.

Happe A., Zohar Y., 1988. Self-fertilization in the protandrous hermaphrodite *Sparus aurata*: development of the technology. *In Reproduction in Fish –*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics, pp 177–180. Eds Y Zohar & B Breton. Les colloques de l'INRA, no. 44. Tel-Aviv, Israel: INRA: Paris.

Hendry I., Martin-Robichaud J., Benfey J., 2003.Hormonal sex reversal of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture,* 219: 769-781.

Hendry I., Martin-Robichaud J., Benfey J., 2002. Gonadal sex differentiation in Atlantic halibut. *Journal of Fish Biology,* 60:1431-1442.

Hickling F., 1971. Fish culture> Faber eds., London.

Hunter A., Donaldson M., Stoss,J., Baker I., 1983. Production of monosex female groups of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha)* by the fertilization of normal ova with sperm from sex-reversed females. *Aquaculture,* 33: 355–364.

Hussain G., Rao S., Humayun M., Randall F., Penman J., Kime D., Bromage R., Myers M., McAndrew J., 1995. Comparative performance of growth, biochemical composition and endocrine profiles in diploid and triploid tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 138:87-97.

Hussain G., Chatterji A., McAndrew B., Johnstone R., 1991. Triploidy inductionin Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. using pressure, heat and cold shocks. *Theoretical and Applied Genetics*, 81:6-12.

Hyndman A., Kieffer D., Benfey J., 2002b. Physiology and survival of triploid brook trout following exhaustive exercise in warm water. Manuscript in prep.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Hyndman A., Kieffer D., Benfey J., 2002a. Does cell size limit recovery from exhaustive exercise in fish?. *Comparative Biochemistry Physiology: in press.*

Ihssen E., McKay R., McMillan I., 1991. Growth and survival of triploid rainbow trout. *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada*, 91 (Suppl. 3): 13–15.

Ihssen E., McKay R., McMillan I., Phillips B., 1990. Ploidy manipulation and gynogenesis in fishes: Cytogenetic and fisheries applications. *Transactions of the American Fisheries Society*, 119: 698-717.

Imsland K., Jonassen M., 2005. The relation between age at first maturity and growth inAtlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) reared at four different light regimes. *Aquaculture Research,* 36:1-7.

Jeong G., Hue S., Kim O., 1992. Induction of triploidy, gonadal development and growth in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Bulletin of the National Fisheries Research and Development Agency (Korea), 46:161–171.

Joerg H., Asai M., Graphodatskaya D., Janett F., Stranzinger G., 2004.Validating bovine sexed semen samples using quantitative PCR. *Journal of Animal Breeding and Genetics,* 121:209-215.

Johnson M., Shrimpton M., Heath W., Heath D., 2004. Family, induction methodology and interaction effects on the performance of diploid and triploid chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha). Aquaculture,* 234: 123–142.

Johnstone R., Stet M., 1995. The production ofgynogenetic Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 90: 819–826.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Johnstone R., Simpson H., Youngson F., 1978. Sex reversal in salmonid culture. *Aquaculture,* 13:115–134.

Kavumpurath S., Pandian J., 1993a. Production of a YY female guppy, Poecilia reticulata, by endocrinesex reversal and progeny testing. *Aquaculture,* 118:183–189.

Kikuchi K., 1976. Prehistoric hawaian fish pond. *Science*, 193: 296 –299 p.

Kipouros K., Paschos I., Gouva E.,Ergolavou A., Perdikaris C., 2011. Masculization of the ornamental Siamese fighting fish with oral lormonal administration. *Science Asia* 37:277-280.

Kommen H., Thorgaard H., 2007. Androgenesis, gynogenesis and the production of clones in fishes: A review. *Aquaculture* 269, 1-4p: 150-173.

Komen J., Richter J., 1993. Sex control in carp. In: Muir F., Roberts J. (Eds.), *Recent Advances in Aquaculture*, vol. IV, Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 78–86.

Komen J., Lodder J., Huskens F., 1989. Effects of oral admin-istration of 17 alpha-methyltestosterone and 17 beta-estradiol on gonadal development in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture*, 78:349-363.

Lakra S., Das P., 1998. Genetic engineering in aquaculture. *Indian Journal of Animal Science*, 68(8):873-879.

Lincoln F., & Scott A., 1984. Sexual maturation in triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri*, R. *Journal of Fish Biology*, 25:385-392.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Linhart O., Kvasnicka P., Flajshans M., Kasal A., Rab P., Palecek J., Slechta V., Hamackova J., Prokes M., 1995. Gentic studies with tench, *Tinca tinca* L.: induced meiotic gynogenesis and sex reversal. *Aquaculture* No: 132.

Liu Y., 1993. Propagation Physiology of Main Cultivated Fish in Chi-na. Beijing, China: Agricultural Publishing House.

Lou D., Purdom E., 1984. Polyploidy induced by hydrostatic pressure in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology,* 25: 345–351.

Luo K., Xiao J., Liu S., Wang J., He W., Hu J., Qin Q., Zhang C., Tao M., Liu Y., 2011. Massive Production of All-female Diploids and Triploids in the *Crucian Carp*. *International Journal of Biological Science*, 7(4):487-495.

Lutz G., 2001. Chromosomal Genetics II: Polyploidy. In: *Practical Genetics for Aquaculture,* Iowa State University Press, Ames Iowa, USA, pp. 141-161.

Malison A., Garcia-Abiado R., 1996. Sex control and ploidy manipulations in yellow perch (*Perca flavescens*) and walleye (*Stizostedion vitreum*). *Journal of Applied Ichthyology*, 12: 189-194.

Martinez-Diaz A., Celis-Maldonado A., 1994. Analisis de viabilidad y crecimiento haste el levante de triploides y diploides de tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus,*). Biologia Cientifi ca Inpa, 2: 33–45.

Maxime V., 2008. The physiology of triploid fish: current knowledge and comparisons with diploid fish. *Fish and Fisheries,* 9: 67-78.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

McGeachy A., Benfey J., Friars W., 1995. Freshwater performance of triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*) in New Brunswick aquaculture. *Aquaculture,* 137:333-341.

McKay R., Ihssen E. & McMillan I., 1992. Growth and mortality of diploid and triploid tiger trout (*Salmo trutta X Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture,* 106 (Suppl. 3–4): 239–251.

Migaud H., Taylor J., Hansen T., 2009. Sterile salmon: toward a more sustainable and eco-friendly industry. Institute of Aquaculture, University of Stirling Scotland, Institute of Marine Research Bergen Norway.

Myers M., Hershberger W., 1991. Early growth and survival of heat-shocked and tetraploid-derived triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture,* 96:97-107.

Nakamura M., 1984. Effects of estradiol-17b on gonadal sex differentiation in two species of salmonids, the masu salmon, *Oncorhynchus masou*, and the chum salmon, *O. keta*. Aquaculture, 43:83–90.

National Research Council. 2002. Animal Biotechnology: Science-based concerns. Washington, D.C. National Academy Press.

Nell A., Cox E., Smith R., Maguire B., 1994. Studies on triploid oysters in Australia. 1. The farming potential of triploid Sydney rock oysters *Saccostrea commercialis* (Iredale and Roughley). *Aquaculture,* 126: 243-255.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Ocalewicz K., Fopp-Bayat D., Woznicki P., Jankun M., 2008a. Heteromorphic sex chromosomes in the ninespine stickleback *Pungitius pungitius*. *Journal of Fish Biology,* 73:456-462.

Ojolick J., Cusack R., Benfey J., Kerr R., 1995. Survival and growth of all-female diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at chronic high temperature. *Aquaculture,* 131: 177-187.

Pandian J., Kirankumar S., 2003. Recent advances in hormonal induction of sex reversal in fish. *Journal of Applied Aquaculture,* 13:205-230.

Pandian J., Sheela G., 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture*, 138:1–22.

Patino R., 1997. Manipulations of the reproductive system of fishes by means of exogenous chemicals. *Progressive Fish Culurist,* 59:118–128.

Pauly D., Watson R., 2003. Counting the Last Fish.*Scientific American,* 289(1 July 2003): 42-47.

Peruzzi S., Chatain B., 2000. Pressure and cold shock induction of meiotic gynogenesis and triploidy in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.: relative efficiency of methods and parental variability. *Aquaculture,* 189: 23-27.

Piferrer F., Felip A., Cal M., 2007. Induccion de la triploidia y la ginogenesis para la obtencion de peces esteriles y poblaciones monosexo: Aplicaciones en acuicultura. Madrid: Editorial Consejo Superior de Investigaciones Cientificas: 401-472.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Piferrer F., Cal C., Gomez C., Bouzza C., Martinez P., 2003. Induction of triploidy in the turbot (*Scophthalmus maximus*): II. Effects of cold shock timing and induction of triploidy in a large volume of eggs. *Aquaculture,* 220: 821-831.

Piferrer F., 2001. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture,* 197:229-281.

Piferrer F., Cal M., Alvarez-Blazquez B., Sanchez L., Martinez P., 2000. Induction of triploidy in the turbot (*Scophthalmus maximus*) I. Ploidy determination and the effects of cold shocks. *Aquaculture*, 188 (Suppl. 1–2): 79–90.

Piferrer F., Lim C., 1997. Application of sex reversal technology in ornamental fish culture. *Aquarium Sciences and Conservation,* 1:113–118.

Piferrer F., Benfey J., Donaldson M., 1994b. Production of female triploid coho salmon *(Oncorhynchus kitsutch)* by pressure shock and direct estrogen treatment. *Aquatic Living Resources*, 7: 127–131.

Piferrer F., Donaldson M., 1992. The comparative effectiveness of the natural and a synthetic estrogen for the direct feminization of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture*, 106:183–193.

Piferrer F., Donaldson M., 1989. Gonadal differentiation in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, after a single treatment with androgen or estrogen at different stages during ontogenesis. *Aquaculture*, 77:251–262.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Pongthana N., Penman J., Baoprasertkul P., Hussain G., Islam S., Powell F., McAndrew J., 1999. Monosex female production in the silver barb (*Puntius gonionotus* Bleeker). *Aquaculture* 173:247-256.

Pradeep J., Srijaya C., Shahreeza S., Mithun S., Anuar H., Anil A., 2010. Induction of triploidy in red tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) X *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) by heat shock treatment under laboratory conditions. *Journal of Coastal Environment,* 1(1): 91-102.

Purdom E., Thompson D., Lou D., 1985. Genetic engineering in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, by the suppression of meiotic and mitotic metaphase. *Journal of Fish Biology*, 27: 73–79.

Roberts M., Hawkins J., 1999. Extinction risk in the sea. Elsevier Science. TREE vol. 14, no. 6 (June 1999).

Rougeot C., Minet I., Prignon C., Vanderplasschen A., Detry B., Pastoret P., Melard C., 2003. Induce triploidy by heat shock in Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. *Aquatic Living Resources,* 16: 90-94.

Schafhauser-Smith D. & Benfey J., 2002c. The effects of long-term estradiol-17β treatment on the growth and physiology of triploid brook trout *(Salvelinus fontinalis*). *General and Comparative Endocrinology: in review.*

Schafhauser-Smith D. & Benfey J., 2002b. In vitro steroid production by triploid ovarian follicles. *General and Comparative Endocrinology: in review.*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Schafhauser-Smith D. & Benfey J., 2002a. The reproductive physiology of three age classes of female diploid and triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Fish Physiology and Biochemistry: in review*.

Schreck B., 1974. Hormonal treatment and sex manipulation in fishes. In: Schreck B. Control of Sex in Fishes. Virginia Polytechnic Institute and State University Sea Grant Program, pp. 84–106.

Seidel E., 2009. Sexing mammalian sperm – intertwining of commerce, technology, and biology. *Animal Reproduction Science* 79: 145-156.

Shelton L., 1986. Control of sex in Cyprinids for aquaculture. In: Billard R., Marcel J. (Eds.), Aquaculture of Cyprinids. INRA, Paris, pp. 179–194.

Shelton L., Hopkins D., Jensen L., 1978. Use of hormones to produce monosex Tilapia for aquaculture. In: Smitherman RO, Shelton WL and Grover JH, eds. Culture of exotic fishes sym-posium proceedings Fish Culture Section. Auburn, Alabama, USA: *American Fisheries Society*:10-33.

Solar I., Donaldson M., Hunter A., 1984. Optimalization of treatment regimes for controlled sex differentiation and sterilization in wild rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) by oral administration of 17-methyltestosterone. *Aquaculture,* 42**:** 129–139.

Stillwell J., Benfey T., 1997. The critical swimming velocity of diploid and triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Journal of Fish Biology*, 51: 650-653.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Stillwell J., Benfey T., 1996. Hemoglobin level, metabolic rate, opercular abduction rate and swimming efficiency in female triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 15: 377-383.

Sugama K., Taniguchi N., Seki S. & Nabeshima H., 1992. Survival, growth and gonad development of triploid red sea bream, *Pagrus major* (Timminck et Schlegel): use of allozyme markers for ploidy and family identifi cation. *Aquaculture and Fisheries Management*, 23 (Suppl. 2): 149–159.

Taranger L., Carrillo M., Schulz W., Fontaine P., Zanuy S., Felip A., Weltzien F.A., Dufour S., Karlsen O., Norberg B., Andersson E., Hansen T., 2009. Control of puberty in farmed fish. *General and Comparative Endocrinology,* 165 (3):483-515.

Tave D., 1993. Genetics for Fish Hatchery Managers. 2nd ed. Van Nostrand Reinhold, New York, NY.

Taylor F., Needham P., North P., Morgan A., Thompson K., Migaud H., 2007. The influence of ploidy on saltwater adaptation, acute stress response and immune function following seawater transfer in non-smolting rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology* **,**152: 314-325.

Tsoumani M., Chantzaropoulos A., Gouva E., Perdikaris C., Strantzali A., Paschos I., & Nathanailides C., 2008. Sexual reversal of reinbow trout (*Onchorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) in Greece. Aquaculture Europe 2008 symposium, 15-18 September 2008, Krakow, Plloand, ep. 446447.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Tvedt B., Benfey J., Martin-Robichaud J., McGowan C., Reith M., 2006. Gynogenesis and sex determination in Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture,* 252: 573-583.

Valenti J., 1975. Induced polyploidy in *Tilapia aurea* (Steindachner) by means of temperature shock treatment. *Journal of Fish Biology*, 7:519-528.

Van Eenennaam A., 2005. Genetic Engineering and Fish. Animal Genomics and Biotechnology, Department of Animal Science, University of California.

Varadaraj K., Pandian T., 1990. Production of all-female sterile-triploid *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture,* 84:117-123.

Varadaraj K., Pandian T., 1989. Monosex male broods of Oreochromis mossambicus produced through artificial sex reversal with 17a- methyl-4 androsten-17b-ol-3-one. *Current Trends in Life Science*, 15:169-173.

Withler E., Beacham D., Solar I., Donaldson M., 1995. Freshwater growth, smolting, and maine survival and growth of diploid and triploid coho salmon *(Oncorhynchus kisutch). Aquaculture*, 136: 91-107.

Wolters R., Lilyestrom G., Craig J., 1991. Growth, yield and dress-out percentage of diploid and triploid channel catfish in earthen ponds. *The Progressive Fish-Culturist*, 53 (Suppl. 1): 33–36.

Yamamoto T., Kajishima T., 1969. Sex-hormonic induction of reversal of sex differentiation in the goldfish and evidence for its male heterogamety. *Journal of Experimental Zoology*, 168: 215–222.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Yamazaki F., 1983. Sex control and manipulation in fish. *Aquaculture,* 33: 329–354.

Zhang Q., Arai K., 1996. Flow cytometric DNA contents of somatic cells and spermatozoa in the progeny of natural tetraploid loach. *Fish Science*, 62:870-877.

Ελληνική βιβλιογραφία

Ναθαναηλίδης Κ., 2004. Παραγωγή ολοθηλυκών ατόμων Ιριδίζουσας πέστροφας *(Oncorhynchus mykiss*). Σημειώσεις εργαστηρίου, Τμήμα Ιχθυοκομίας-Αλιείας, ΤΕΙ Ηπείρου.

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

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

Ηλεκτρονικές πηγές

http://pluton22.blogspot.com/2012/01/blog-post_10.html [accessed 24 October 2011].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=236 [accessed 24 October 2011].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=63 [accessed 28 October 2011].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=2 [accessed 5 November 2011].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=1387 [accessed 5 November 2011].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=79 [accessed 19 November 2011].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=275 [accessed 2 December 2011].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=1450 [accessed 15 December 2011].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=239 [accessed 15 December 2011].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=238 [accessed 7 January 2012].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=247 [accessed 7 January 2012].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=290 [accessed 16 January 2012].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=269 [accessed 30 January 2012].

http://www.fishbase.org/Photos/PicturesSummaryV2.php?ID=1164&pic=Spaur_ue.jpg [accessed 25 February 2012].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=445 [accessed 18 March 2012].

http://www.fishbase.org/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=1348 [accessed 1 April 2012].

http://en.wikipedia.org/wiki/Ostrea_edulis [accessed 17 April 2012].

http://www.ropme.com/program7.html [accessed 17 April 2012].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 11:05:41 EEST - 18.222.118.147