

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΧΘΥΟΚΟΜΙΑΣ - ΑΛΙΕΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μελέτη της αναπαραγωγής και της ωοτοκίας
τους είδους *Aphanius fasciatus* (Ζαμπαρέλα)

ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ
ΙΩΑΝΝΗΣ Δ. ΛΕΟΝΑΡΔΟΣ

ΣΠΟΥΔΑΣΤΕΣ
ΙΩΑΝΝΗΣ ΜΟΥΤΑΦΗΣ
ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΣΤΑΥΡΟΠΟΥΛΟΥ

Τ.Ε.Ι. ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

Αριθ. Εισαγωγής

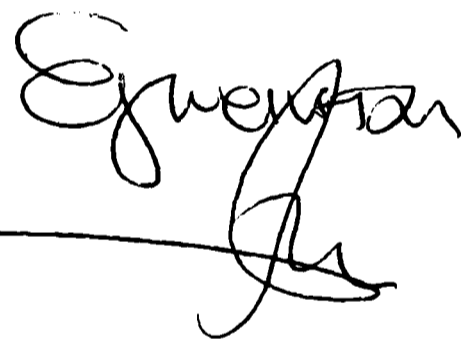
660

ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 1998

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΧΘΥΟΚΟΜΙΑΣ - ΑΛΙΕΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μελέτη της αναπαραγωγής και της ωοτοκίας
του είδους *Aphanius fasciatus* (Ζαμπαρέλα)



ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ
ΙΩΑΝΝΗΣ Δ. ΛΕΟΝΑΡΔΟΣ

ΣΠΟΥΔΑΣΤΕΣ
ΙΩΑΝΝΗΣ ΜΟΥΤΑΦΗΣ
ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΣΤΑΥΡΟΠΟΥΛΟΥ

Τ.Ε.Ι. ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
Αριθμ. Εισαγωγής <u>660</u>

ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 1998

Πρόλογος

Ευχαριστούμε θερμά τον εισηγητή της πτυχιακής μας εργασίας καθηγητή Ι. Λεονάρδο για τη συνεχή βοήθεια που μας παρείχε κατά πειραματικό μέρος και τη συγγραφή της εργασίας αυτής, καθώς και τη σύζυγό του και καθηγήτρια Α. Κοκκινίδου για τις υποδείξεις της.

Επίσης, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τον Κ^ο Φ. Βορεινάκη, υπεύθυνο του εργαστηρίου Ιχθυοπαθολογίας και Ποιοτικού Υγειονομικού Ελέγχου Ιχθυηρών του τμήματος Ιχθυοκομίας - Αλιείας του ΤΕΙ Μεσολογγίου, για τις διευκολύνσεις που μας παρείχε, καθώς και τη δυνατότητα χρήσης του εξοπλισμού του εργαστηρίου κατά τη διεξαγωγή αυτής της εργασίας.

Ακόμη, τον Κ^ο Γ. Τσιπά και το Ελληνογαλλικό Βιοϊατρικό Κέντρο Αγρινίου για τη βοήθειά τους κατά την προετοιμασία και επεξεργασία των ιστολογικών τομών των γονάδων.

Τη διεύθυνση της εταιρίας «Ελληνικές Αλυκές Α.Ε.» ευχαριστούμε ιδιαίτερα για την άδεια που μας παραχώρησε για διεξαγωγή δειγματοληψιών στους χώρους των Αλυκών Μεσολογγίου.

Τέλος, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τους γονείς μας, καθώς, τους φίλους μας και συναδέρφους, Έλλη Κλάγκου, Γεώργιο Λουκά και Βασιλική Παπαντωνίου για τις συμβουλές και τη συμπαράστασή τους κατά τη διάρκεια της εργασίας αυτής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικά για το είδος.....	2
1.1.1 Γενικά για το <i>Aphanius fasciatus</i>	2
1.1.2 Ταξινονική θέση του είδους.....	3
1.1.3 Μορφολογία.....	5
1.2 Γενικά για την περιοχή μελέτης.....	8
1.2.1 Λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου - Αιτωλικού.....	8
1.2.2 Αλυκές.....	12

2. ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ - ΩΟΘΗΚΕΣ

2.1 Εισαγωγικά στοιχεία.....	22
2.2 Ταξινόμηση ατόμων σε αναπαραγωγικά στάδια.....	23
2.3 Συντήρηση και ιστολογία ωοθηκών.....	24
2.4 Ατρησία.....	24
2.5 Αναπαραγωγική συχνότητα.....	25
2.6 Εκτίμηση του μήκους των κατά 50% ώριμων θηλυκών.....	26
2.7 Γοναδοσωματικός και ηπατοσωματικός δείκτης.....	27
2.8 Συντελεστής ευρωστίας.....	28

3. ΓΟΝΑΔΕΣ - ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΟΜΕΣ - ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΩΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

3.1 Υλικά και μέθοδοι.....	30
3.1.1 Δειγματοληψίες.....	30
3.1.2 Συλλογή υλικού.....	31
3.1.3 Συντήρηση δειγμάτων.....	32
3.2 Προετοιμασία και δημιουργία ιστολογικών παρασκευασμάτων...32	
3.2.1 Επεξεργασία γονάδας- Τεχνική μικροσκοπικών ιστολογικών παρασκευασμάτων.....	33
3.3 Αποτελέσματα.....	38
3.3.1 Ανάπτυξη των ωοκυττάρων - ωοτοκία.....	38
3.3.2 Αναπαραγωγική συχνότητα.....	39
3.3.3 Φωτογραφίες ιστολογικών τομών.....	40
3.3.4 Ωογένεση.....	45

3.3.4.1 Πρωτογενής αυξητική φάση.....	45
3.3.4.2 Δευτερογενής αυξητική φάση.....	46
3.3.5 Ατρησία.....	51
3.3.5.1 Ατρησιακά στάδια.....	51
3.3.5.2 Αλληλουχία - σχέσεις ατρησιακών σταδίων....	53
3.3.5.3 Ατρησιακές καταστάσεις.....	54
3.3.6 Αναπαραγωγικός κύκλος - Ιστολογική ταξινόμηση των θηλυκών.....	55
4. ΑΒΓΑ - ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΜΒΡΥΟΥ	
4.1 Υλικά και μέθοδοι.....	59
4.1.1 Δειγματοληψίες.....	59
4.1.2 Συλλογή αυγών.....	59
4.1.3 Συντήρηση αυγών.....	59
4.1.4 Μεθοδολογία μελέτης αυγών.....	59
4.2 Αποτελέσματα - Εμβρυϊκή ανάπτυξη.....	60
4.2.1 Μέγεθος και χαρακτηριστικά ωοκυττάρου.....	60
4.2.2 Περιγραφή ζυγωτού.....	60
4.2.3 Περιγραφή εμβρύου.....	60
4.2.4.Φωτογραφίες αυγών - εμβρύων.....	62
4.2.5 Περιγραφή του ελευθεροεμβρύου - Φωτογραφίες του...	68
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	72
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	75

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟ ΕΙΔΟΣ

1.1.1 Γενικά για το *Aphanius fasciatus*

Το *Aphanius fasciatus* (Nardo, 1827) είναι γνωστό στην Ελλάδα με το κοινό όνομα ζαμπαρέλα ή γούργος ή ζαχαρίας. Είναι ένα από τα δύο είδη της οικογένειας των Cyprinontidae που ζουν στην Ελλάδα. Πρόκειται για ψάρι ανθεκτικό σε μεγάλες διακυμάνσεις της αλατότητας που ζει σε λιμνοθάλασσες, αλμυρόβαλτους, εκβολές ποταμών, σε υφάλμυρα οικοσυστήματα σχετικά μικρού βάθους και, σπάνια, σε εσωτερικά νερά. Σχηματίζει μεγάλους πληθυσμούς που καταλαμβάνουν την παραλιακή ζώνη των λιμνοθαλασσών. Γενικά, συναντιέται στις πλέον αποκλεισμένες ζώνες των λιμνοθαλασσών, σε γεωγραφικά απομονωμένα νερά, αλλά και σε περιβάλλοντα τα οποία δε θα χαρακτηρίζονται ως ιδανικά για άλλα είδη όσον αφορά την αλατότητα και την περιεκτικότητά τους σε διάφορα ιόντα.

Πρόκειται για είδος το οποίο περιλαμβάνεται στο παράρτημα II της οδηγίας 92/43 του συμβουλίου της ΕΟΚ «Για τη διατήρηση των φυσικών οικοτόπων καθώς και της άγριας πανίδας και χλωρίδας».

Είναι είδος δίχως εμπορική αξία, χρησιμοποιείται ως δόλωμα σε παραγάδια κατά τους φθινοπωρινούς μήνες, όταν είναι δύσκολο να βρεθούν άλλα δολώματα, και είναι σημαντικό στην εκτροφή του λαβρακιού στην Τυνησία. Σημαντικό ενδιαφέρον παρουσιάζει η αντοχή του στις μεταβολές των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού, ικανότητα που του επιτρέπει να επιβιώνει σε ακραία περιβάλλοντα. Έτσι, συχνά συναντάται ως το μοναδικό ψάρι σε αποκλεισμένες υπέραλες περιοχές της λιμνοθάλασσας.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει ο ρόλος της ζαμπαρέλας στο τροφικό πλέγμα και στη ροή ενέργειας στο οικοσύστημα. Η ζαμπαρέλα έχει προσαρμοστεί να τρέφεται στα χαμηλότερα επίπεδα του τροφικού πλέγματος. Σε αντίθεση με τα περισσότερα σπονδυλωτά των λιμνοθαλασσών τα οποία στη πλειονότητά τους είναι σαρκοφάγα ή φυτοφάγα, η ζαμπαρέλα είναι ένα από τα λίγα ιζηματοφάγα είδη και είναι σε θέση να τρέφεται με την οργανική ύλη που βρίσκεται στο βυθό με τη μορφή αποτιθέμενου ή αποικοδομούμενου οργανικού υλικού. Στη συνέχεια, η ζαμπαρέλα, ως λεία άλλων ψαριών ή πουλιών «επαναφέρει» στο οικοσύστημα την αποτιθέμενη ενέργεια.

Είναι ένα είδος του οποίου η κατανομή καλύπτει την κεντρική και ανατολική παράκτια ζώνη της Μεσογείου, όπως: Κορσική, Σαρδηνία, Μάλτα,

Δαλματία, Ελλάδα, θάλασσα του Μαρμαρά, Κύπρο, Συρία, Ισραήλ, Αίγυπτο, διώρυγα του Σουέζ, Αλγερία, Τυνησία. Στην Ελλάδα το είδος βρίσκεται στη λιμνοθάλασσα του Πόρτο Λάγος και στη λίμνη Βιστωνίδα, στην Κέρκυρα, στη Ζάκυνθο, στο Αμβρακικό κόλπο, στις λιμνοθάλασσες Μεσολογγίου και Αιτωλικού, στο Μαλιακό κόλπο, στην Ήπειρο και στην Πελοπόννησο.

Οι θαλάσσιοι τελεόστεοι έχουν μια συνολική συγκέντρωση ιόντων στα σωματικά τους υγρά που είναι περίπου ίση με το 1/3 αυτής του περιβάλλοντος θαλασσινού νερού. Τα ψάρια στη θάλασσα, τείνουν να χάνουν νερό προς το εξωτερικό περιβάλλον και να προσλαμβάνουν ανόργανα ιόντα. Για να διατηρήσουν σταθερή την ωσμωτική τους πίεση πρέπει να επανακτούν το αποβαλλόμενο νερό και να αποβάλλουν διαρκώς ιόντα. Τα σημαντικότερα όργανα για την ωσμωτική και ιοντική ρύθμιση είναι τα νεφρά, τα βράγχια και σε μερικές περιπτώσεις το πεπτικό σύστημα. Τα είδη του γένους *Aphanius*, και ιδιαίτερα το *Aphanius fasciatus*, επιδεικνύουν σημαντική ωσμωρυθμιστική ικανότητα, καταφέρνοντας να επιβιώνουν σε ακραία περιβάλλοντα. Η ζαμπαρέλα μπορεί να επιβιώνει ακόμη και στις πρώτες δεξαμενές παραγωγής αλατιού στις αλυκές Μεσολογγίου όπου οι τιμές της αλατότητας του νερού συχνά ξεπερνούν το 100‰, γεγονός που καθιστά ως έναν από τους λίγους θηρευτές της *Artemia*. Κατόπιν μελετών που έγιναν στο *Aphanius dispar* διαπιστώθηκε ότι τα κύτταρα προλακτίνης της υπόφυσης έδειχναν έντονη εκκριτική δραστηριότητα όταν τα ψάρια μεταφέρονταν σε υποτονικά περιβάλλοντα, καθώς επίσης, ότι η δομή και η λειτουργία των κυττάρων προλακτίνης εξαρτιόταν από το αν τα ψάρια προέρχονται από υπερτονικά ή υποτονικά περιβάλλοντα. Η δομή των κυττάρων του νεφρού του *Aphanius fasciatus* μελετήθηκε και διαπιστώθηκαν σημαντικές μεταβολές σ' αυτή όταν τα ψάρια που ζούσαν σε νερά υψηλής αλατότητας μεταφέρονταν σε γλυκό νερό (πρόκληση ωσμωτικού στρες).

1.1.2 Ταξινομική θέση του είδους

Τα Cyprinodontidae είναι μια οικογένεια της τάξης των Atherinomorpha και στην υπόταξη των Cyprinodontoides. Τα χαρακτηριστικά που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση των μελών αυτής της υπόταξης είναι η παρουσία μόνο μαλακών ακτινών στα πτερύγια τους, η ύπαρξη ενός μόνο

ραχιαίου πτερυγίου το οποίο βρίσκεται στο μέσο περίπου του τόξου της ράχης, η απουσία δοντιών από τα βραγχιακά οστά, η ύπαρξη συνήθως κυκλοειδών λεπιών, η απουσία του κογχικοσφηνοειδούς οστού, η σύνδεση των θωρακικών πτερυγίων με το σκελετό της κεφαλής (σύνδεσμος του Baudelot), καθώς και η ύπαρξη δύο ή τριών βασιβραγχιακών οστών στο εσωτερικό μέρος των βραγχιακών ακανθών, το οποίο είναι και ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της υπόταξης των Cyprinodontoides. Αν και η οικογένεια των Cyprinodontidae θεωρείται συγγενής των Cyprinidae, διαφέρει ουσιαστικά απ' αυτή λόγω της παρουσίας δοντιών στις γνάθους των ψαριών που ανήκουν σε αυτή. Τα περισσότερα είδη αυτής της υπόταξης έχουν μεγάλα μάτια, σχετικά πλατυσμένο καφάλι και τελικό στόμα με ελαφρά κλίση προς τα πάνω. Μερικά είδη είναι ζωτόκα, ενώ τα περισσότερα αφήνουν τα αυγά τους στο νερό, στη συνέχεια αυτά προσκολλώνται σε φυτά, όστρακα και πέτρες όπου και παραμένουν μέχρι την εκκόλασή τους.

Η συστηματική κατάταξη του *Aphanius fasciatus* είναι η εξής:

Κλάση:	Osteichthyes
Υποκλάση:	Euteleostei
Υπέρταξη:	Acanthopterygii
Σειρά:	Atherinomorpha
Τάξη:	Atheriniformes
Υπόταξη:	Cyprinodontoides
Οικογένεια:	Cyprinodontidae
Γένος:	Aphanius
Είδος:	Aphanius fasciatus

Συνώνυμα του *Aphanius fasciatus* είναι τα *Lebias calaritana*, *Cyprinodon fasciatus*, *Cyprinodon marmoratus* και *Cyprinodon calaritanus*.

Έχουν καταγραφεί περισσότερα από 270 είδη που ανήκουν στην οικογένεια των Cyprinodontidae. Στην ευρύτερη περιοχή της Μεσογείου έχουν καταγραφεί έξι αντιπρόσωποι αυτής της οικογένειας, τέσσερις του γένους *Aphanius* και δύο του γένους *Valencia* οι οποίοι είναι τα : *Aphanius fasciatus*, *Aphanius iberus*, *Aphanius dispar* και *Aphanius mento*, το οποίο συναντάται μόνο στα εσωτερικά νερά, *Valencia hispanica*, *Valencia letourneuxi*, το οποίο είναι το

δεύτερο είδος της οικογένειας των Cyprinodontidae που συναντάται στην Ελλάδα. Επίσης έχουν αναφερθεί υβριδισμοί μεταξύ των ειδών *Aphanius fasciatus*, *Aphanius dispar* και *Aphanius mento*.

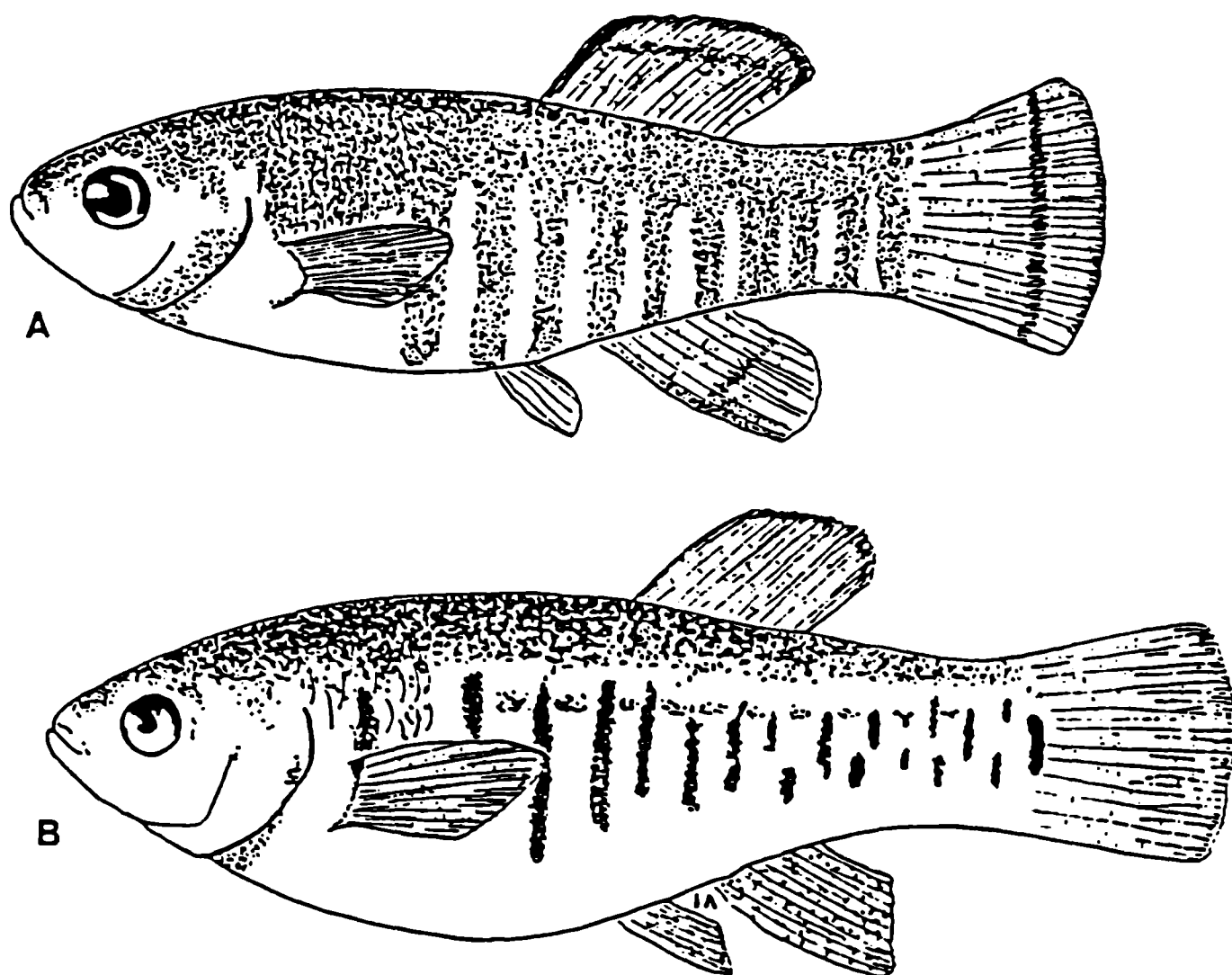
Τα Cyprinodontidae έχουν γίνει αντικείμενο μελετών όσον αφορά τη μορφολογία, το διμορφισμό των φύλων, την αναπαραγωγή, την κατανομή, τους πολυμορφισμούς, τη γενετική και τους υβριδισμούς, τη δομή του πληθυσμού και τη βιολογία, την ηλικία, αύξηση και αναπαραγωγή. Το *Aphanius fasciatus* έχει μελετηθεί όσον αφορά τη συστηματική του, τη βιομετρία, τους πολυμορφισμούς που εμφανίζει και την αναπαραγωγή του, την περιγραφή των προνυμφών του, την κατανομή του. Επίσης, έχει μελετηθεί η σπουδαιότητα του *Aphanius fasciatus* ως τροφή στις υδατοκαλλιέργειες. Το *Aphanius dispar* παρουσιάζει σημαντικό οικονομικό ενδιαφέρον, χρησιμοποιούμενο ως τροφή των καλλιεργούμενων ψαριών. Επίσης, στην Ινδία και τη Σαουδική Αραβία είναι γνωστό ως κουνουπόψαρο, όπου και έχει προταθεί να χρησιμοποιηθεί για το βιολογικό έλεγχο στην αντιμετώπιση της ελονοσίας. Είδη του γένους *Aphanius* (*A. dispar*, *A. ginaonis*, *A. sophiae*, ίσως το *A. mento* και το *A. fasciatus*) θεωρούνται ως παθητικά ιχθυοτοξικά ψάρια.

Ένα άλλο είδος της υπόταξης των Cyprinodontoides και συγκεκριμένα της οικογένειας των Poeciliidae ζει και στην Ελλάδα, το ζωτόκο γνωστό με το όνομα κουνουπόψαρο *Gambusia affinis* και εκτοπίζει το *Aphanius* ή τα άλλα Cyprinodontidae από τα φυσικά ενδιαίτημά τους.

1.1.3 Μορφολογία

Το *Aphanius fasciatus* είναι ένας μικρού μεγέθους τελεόστεος. Τα θηλυκά έχουν μέγιστο ολικό μήκος 7,8 cm ενώ τα αρσενικά 7,5cm. Το σώμα του είναι κυλινδρικό μάλλον τορπιλόμορφο και το μέγιστο ύψος του σώματος είναι 4 - 6 φορές μικρότερο από το ολικό μήκος (Εικ. 1). Το κεφάλι του φτάνει σε μήκος το 1/5 περίπου του ολικού μήκους του, είναι ελαφρά πλατυσμένο, το στόμα του έχει μια ελαφρά κλίση προς τα πάνω, η κάτω γνάθος είναι προτεταμένη και φέρει στο εμπρόσθιο τμήμα της περίπου 12 δόντια, ενώ η άνω γνάθος φέρει περίπου 15 δόντια τα οποία καλύπτονται από το παχύ άνω χείλος. Τα δόντια είναι εμφυτευμένα στη γνάθο με μια ρίζα, ενώ το ελεύθερο μέρος

τους έχει τρεις κορυφές, θυμίζοντας τρίαίνα. Η άνω γνάθος μπορεί να προεκβάλλεται, επιτρέποντας στη ζαμπαρέλα να συλλαμβάνει τροφές που βρίσκονται στο πυθμένα. Παράλληλα, η θέση του στόματος της επιτρέπει να τρέφεται με οργανισμούς που επικάθονται στην επιφάνεια του νερού.



Εικόνα 1: Ενήλικα άτομα του *Arhanius fasciatus* κατά την περίοδο της αναπαραγωγής στα οποία διακρίνεται ο γαμήλιος χρωματισμός. Α. Αρσενικό, Β. Θηλυκό.

Το σώμα του *Arhanius fasciatus* καλύπτεται από κυκλοειδή λέπια, το σχήμα και το μέγεθός των οποίων εξαρτάται από την περιοχή του σώματος που βρίσκονται. Στην κοιλιά, στα βραγχιακά επικαλύμματα, στην περιοχή της κεφαλής, καθώς και στο μίσχο της ουράς είναι μικρά, κυκλικά ή ελλειπτικά, ενώ στα πλευρά του σώματος είναι αρκετά μεγάλα. Η πλευρική γραμμή ξεκινά από το άνω και πίσω μέρος της κεφαλής και καταλήγει στην αρχή του ουραίου πτερυγίου. Διακρίνεται μόνο κάτω από μεγέθυνση, παρόλο το σχετικά μεγάλο μέγεθος των λεπιών. Ο αριθμός των λεπιών κατά μήκος της πλευρικής γραμμής είναι 29 - 30, ενώ ο αριθμός των σπονδύλων 26 - 28. Τα πτερύγια αποτελούνται μόνο από μαλακές, διακλαδισμένες ακτίνες. Το ραχιαίο πτερύγιο βρίσκεται στο μέσο περίπου του τόξου της ράχης και φέρει 9 - 10 ακτίνες. Το εδρικό

πτερύγιο, το οποίο βρίσκεται στο ίδιο ύψος με το ραχιαίο, φέρει 10 - 11 ακτίνες. Τα κοιλιακά πτερύγια βρίσκονται στο τέλος της κοιλιακής χώρας και φέρουν 6 - 7 ακτίνες. Το ουραίο πτερύγιο είναι μεγάλο, κυκλικό και έχει 23-26 ακτίνες. Τα θωρακικά πτερύγια είναι αρκετά ανεπτυγμένα και έχουν 14 - 17 ακτίνες (Πιν. 1).

ΜΕΡΙΣΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ		KIENER (1974)	ΒΟΥΜΑΙΖΑ (1980)	TIGANO (1983)	WHITHEAD <i>et.al.</i> , (1986)	ΠΑΝΑΓΩΤΟΠΟΥΛΟΣ (1916)
Ακτίνες ραχιαίου πτερυγίου	(D)		10-11		10-12	10-12
Ακτίνες ουραίου πτερυγίου	(C)			26-29		16-17
Ακτίνες εδρικού πτερυγίου	(A)		10-11		9-12	10-12
Ακτίνες κοιλιακών πτερυγίων	(V)		6-7	6-8		6-8
Ακτίνες θωρακικών πτερυγίων	(P)		15-16	14-16		13-16
Αριθμός σπονδύλων	(Vc)	26-30	25-30			
Αρ. λεπιών πλευρικής γραμμής	(LL)	24-28	25-28		25-27	26-29
Αρ. δοντιών άνω / κάτω γνάθου	(T)				12-20	

Πίνακας 1: Μεριστικά χαρακτηριστικά του *Aphanis fasciatus* όπως αναφέρονται από τους αντίστοιχους ερευνητές.

Το κάθε φύλο παρουσιάζει ιδιαίτερη εμφάνιση, καθώς επίσης και χαρακτηριστικό χρωματισμό. Στα θηλυκά άτομα το σώμα τους έχει χρώμα καφέ υποπράσινο μέχρι καφέ λαδί, η ράχη είναι πιο σκούρα, ενώ η κοιλιακή περιοχή ανοιχτόχρωμη ως άσπρη. Στα πλευρά υπάρχουν 14 περίπου σκοτεινόχρωμες κάθετες ταινίες. Τα πτερύγια είναι ανοιχτόχρωμα και την περίοδο της αναπαραγωγής λαμβάνουν ένα υποκίτρινο χρώμα, ενώ στο ραχιαίο πτερύγιο οι δυο πρώτες ακτίνες εμφανίζονται μαυριδερές. Στην περιοχή της ουράς εμφανίζονται διάσπαρτα μαύρα στίγματα, τα οποία κατά την περίοδο της αναπαραγωγής και ιδιαίτερα στα θηλυκά άτομα δείχνουν να συγκεντρώνονται σε μια κηλίδα στο ύψος των υποουραίων πλακών. Τα αρσενικά άτομα παρουσιάζουν πιο έντονο χρωματισμό ιδιαίτερα κατά την περίοδο της αναπαραγωγής. Τότε, τα πτερύγια τους είναι πιο μεγάλα από αυτά των θηλυκών και με πιο έντονο κίτρινο χρώμα, και οι δυο πρώτες ακτίνες του ραχιαίου

πτερυγίου (όπως και η κατάληξη των υπόλοιπων ακτινών) γίνονται μαύρες, δημιουργώντας κατ' αυτόν τον τρόπο ένα μαύρο περίγραμμα. Στα πλευρά διακρίνονται 10 περίπου κάθετες ταινίες, στο ραχιαίο πτερύγιο ιδιαίτερα κατά την περίοδο της αναπαραγωγής διακρίνονται 2 και σπάνια 3 ταινίες, ενώ στο εδρικό πτερύγιο διακρίνονται 1 και σπάνια 2 ταινίες παράλληλες προς τον κατά μήκος άξονα του σώματος. Στο τέλος του ουραίου πτερυγίου διακρίνεται μια μαύρη κάθετη ταινία κάθετη προς τον κατά μήκος άξονα του σώματος.

1.2 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΜΕΛΕΤΗΣ

1.2.1 Λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου-Αιτωλικού

Η λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου-Αιτωλικού αποτελεί την κλασική περίπτωση ενός υγρότοπου μεγάλης βιολογικής αξίας. Λόγω της υψηλής παραγωγής της σε αλιεύματα θεωρείται ένας από τους πλουσιότερους ιχθυοτροφικούς βιότοπους της Μεσογείου.

Η λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου-Αιτωλικού δημιουργήθηκε με τις τελευταίες τεκτονικές διαταράξεις του Καινοζωικού αιώνα, βρίσκεται στο νοτιοδυτικό τμήμα του νομού Αιτωλοακαρνανίας και περικλείεται μεταξύ των γεωγραφικών συντεταγμένων :

- Ανατολικό γεωγραφικό μήκος : $21^{\circ} 05' - 21^{\circ} 35'$
- Βόρειο γεωγραφικό πλάτος : $38^{\circ} 15' - 38^{\circ} 30'$

Εκτείνεται μεταξύ των εκβολών του Ευήνου και Αχελώου ποταμού και κατά κύριο λόγο οφείλει το σχηματισμό της στις προσχώσεις των δυο αυτών ποταμών. Οι ανθρώπινες επεμβάσεις είχαν σαν αποτέλεσμα οι ποταμοί, που αποτελούν τους δυο βασικότερους παράγοντες που δημιούργησαν τις φυσικές συνθήκες, να μην συμβάλλουν πια στην ενίσχυση των λουρονησίδων και μακροπρόθεσμα, στην διατήρηση των χαρακτηριστικών που απέκτησε η λιμνοθάλασσα.

Ο πυθμένας της λιμνοθάλασσας συνιστάται κυρίως από άργιλο, άμμο, χαλίκια, κροκάλες και αμμοχάλικες. Επικοινωνεί με τον Πατραϊκό κόλπο με ένα στόμιο μήκους 12,5 χιλ. Το μέγιστο μήκος της είναι 27.300 μέτρα και το μέγιστο πλάτος της 14.800 μέτρα. Συνολικά, η επιφάνεια της λιμνοθάλασσας

είναι 139.000 στρέμματα δίχως να συμπεριλαμβάνονται τα αλίπεδα της εταιρίας «Αλυκές Μεσολογγίου Α.Ε.».

Η θερμοκρασία των υδάτων της λιμνοθάλασσας παρουσιάζει ευρεία διακύμανση με μέγιστη τιμή 30°C κατά τον Αύγουστο (θερμοκρασία θάλασσα, 25°C). Συγκεκριμένα, στη λιμνοθάλασσα του Αιτωλικού, η επιφανειακή θερμοκρασία εξαρτάται από την εποχή και κυμαίνεται στους 13°C τον χειμώνα, 19°C την άνοιξη και 27°C - 30°C το καλοκαίρι, ενώ στα βαθύτερα στρώματα δεν αλλάζει εποχιακά και είναι περίπου 15°C. Αντίθετα, στη λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου, οι διαφορές της θερμοκρασίας λόγω του μικρού βάθους της είναι ασήμαντες.

Το βάθος στη λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου κυμαίνεται στα 0,45 μέτρα (το μέγιστο βάθος είναι 1,65 μέτρα), ενώ στη λιμνοθάλασσα Αιτωλικού είναι μεγαλύτερο από 20 μέτρα. Η λιμνοθάλασσα του Αιτωλικού συνδέεται με την λιμνοθάλασσα του Μεσολογγίου με ανοίγματα γέφυρας, που ενώνει την πόλη του Αιτωλικού με την ξηρά. Η αλμυρότητα παρουσιάζει ευρεία διακύμανση, κυμαινόμενη από 0‰ (περιοχές εκβολών γλυκών νερών) μέχρι και 55‰ σε περιοχές με πτωχή επικοινωνία κατά το καλοκαίρι όταν το φαινόμενο της εξατμίσεως είναι έντονο (αλμυρότητα ανοιχτής θάλασσας; 38,5‰). Το μέσο εύρος της παλίρροιας είναι 0,16 μέτρα, ενώ η διαφορά μέγιστης πλημμυρίδας και κατωτάτης αμπώτηδας 1,2 μέτρα.

Η λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου-Αιτωλικού μπορεί να ενταχθεί στον ανοιχτό τύπο Μεσογειακών λιμνοθαλασσών με επικρατέστερα μορφολογικά χαρακτηριστικά τις επιμήκεις αμμωνησίδες και το μεγάλο άνοιγμα διαύλων.

Ο εμφανιζόμενος, σήμερα, διαφορετικός τύπος (κλειστός) της Κλείσοβας και του Παλαιοποτάμου οφείλεται, ο μιν πρώτος στην καθοριστικής σημασίας ανθρώπινη επέμβαση, ο δε δεύτερος, στην κατασκευή μεγάλων αρδευτικών έργων της περιοχής.

Στη λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου-Αιτωλικού διαμορφώνονται κατάλληλες συνθήκες που προσελκύουν μεγάλο αριθμό και ποικιλία υδρόβιων οργανισμών. Αυτό οφείλεται, αφ' ενός, στην είσοδο γλυκού νερού στη λιμνοθάλασσα, που έχει σαν αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό των νερών με θρεπτικά άλατα, και, αφ' ετέρου, στο ότι τα μικρά βάθη της λιμνοθάλασσας επιτρέπουν στο φως να θερμαίνει και να διαπερνά μεγάλη στήλη νερού και, σε πολλές περιπτώσεις, να φτάνει ως τον πυθμένα. Έτσι η μεγάλη ποσότητα

θρεπτικών αλάτων και η άφθονη ηλιακή ενέργεια συνεπάγονται την ανάπτυξη της πρωτογενούς παραγωγής, του φυτοπλαγκτού και ζωοπλαγκτού, που σημαίνει παράγωγή άφθονης τροφής για τα ψάρια.

Οξυγόνο υπάρχει σε όλη την έκταση των υδάτων της λιμνοθάλασσα. Στο Αιτωλικό, τα επιφανειακά νερά οξυγονώνονται κανονικά αλλά στα βαθύτερα, το οξυγόνο μειώνεται σημαντικά και τελικά μηδενίζεται, κυρίως από τα 17 μέτρα μέχρι τον πυθμένα.

Στη λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου, το H_2S (υδρόθειο) απουσιάζει τελείως, ενώ αφθονεί στο Αιτωλικό, λόγω μικροβιακής αποσύνθεσης οργανικών ουσιών που μαζεύτηκαν στον πυθμένα. Η συγκέντρωση του δεν επιτρέπει την ανάπτυξη της ιχθυοπανίδας και συχνά παρουσιάζονται φαινόμενα θανατώσεως ψαριών στη λιμνοθάλασσα του Αιτωλικού. Επίσης, περιοδικά, ερυθρούνται τα νερά της λιμνοθάλασσα Αιτωλικού πιθανότατα λόγω δράσεως σηψοβακτηρίων αλλά και άλλων αιτιών.

Η εκμετάλλευση της λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου-Αιτωλικού πραγματοποιείται κυρίως με τα διβάρια ή τα ιχθυοτροφεία, τα οποία στην ουσία αποτελούν θέσεις αλιείας που παρεμβάλλονται ανάμεσα στις λουρονησίδες, και τους ιχθυοφραγμούς από πλαστικό δίχτυ που κλείνουν όλο το μέτωπο προς τον Πατραϊκό κόλπο. Οι θέσεις των διβαριών είναι οι ίδιες εδώ και πάρα πολλά χρόνια και φαίνεται ότι είναι κατάλληλες. Προσπάθειες που κατά καιρούς έχουν γίνει για την αλλαγή των παραδοσιακών θέσεων έχουν όλες αποτύχει. Εκτός από τα διβάρια, η εκμετάλλευση της λιμνοθάλασσας πραγματοποιείται με μια σειρά άλλων αλιευτικών μεθόδων που εφαρμόζεται από τους συνεταιρισμένους αλιείς.

Αναλυτικότερα, οι μέθοδοι αλιείας της λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου-Αιτωλικού είναι:

- ◆ Τα διβάρια
- ◆ Οι βολκοί
- ◆ Τα παραγάδια
- ◆ Το σταφνοκάρι
- ◆ Το καμάκι
- ◆ Η τράϊνα

Η αλιεία στη λιμνοθάλασσα του Μεσολογγίου αρχίζει τον Ιούλιο με μικρού μήκους ευρύαλα ψάρια (λιάνωμα, λιανό, βουρί) των οποίων οι

ποσότητες και το μέγεθος αυξάνει με την άνοδο της θερμοκρασίας. Οι μεγάλες ποσότητες αλιεύονται κατά την περίοδο Οκτωβρίου-Φεβρουαρίου και κυρίως κατά τον Νοέμβριο και το Δεκέμβριο με την καθολική κάθοδο των ψαριών στην ανοιχτή θάλασσα λόγω της γεννητικής ωριμότητας και της απότομης πτώσης της θερμοκρασίας στην αβαθή λιμνοθάλασσα.

Εξαίρεση στην χρονική μετακίνηση των ψαριών αποτελεί ο κέφαλος (*Mugil cephalus*) που μετακινείται ομαδικά προς την ανοιχτή θάλασσα κυρίως κατά το διάστημα Αυγούστου και Σεπτεμβρίου λόγω της γεννητικής ωρίμανσής του. Από τις ωοθήκες του ψαριού αυτού παρασκευάζεται το αυγοτάραχο.

Το φυτοπλαγκτόν παρουσιάζει σημαντικές ποιοτικές και ποσοτικές διαφορές σε όλη την έκταση της λιμνοθάλασσας. Παρατηρούνται οι εξής φυτοπλαγκτονικοί οργανισμοί:

- διάτομα
- δινομαστιγωτά
- κοκκολιθοφόρα
- πυριτιδοφόρα
- μικρομαστιγωτά

Το ζωοπλαγκτόν κατέχει τη δεύτερη θέση στην τροφική αλυσίδα των υδρόβιων συστημάτων, όπου και χρησιμοποιείται σαν τροφή από πλαγκτονοφάγους οργανισμούς, όπως:

- προνύμφες καρκινοειδών
- προνύμφες ψαριών

Οι δυο κύριοι παράγοντες που επιδρούν στην εισχώρηση άφθονων αλιευτικών προϊόντων στη λιμνοθάλασσα είναι το ζωοβένθος και το φυτοβένθος που προσφέρουν άμεσα τροφή σε ψάρια, αχινούς, γαστερόποδα και άλλους οργανισμούς.

Το φυτοβένθος είναι οι οργανισμοί που προσφέρονται σαν υπόστρωμα για μια μεγάλη ποικιλία επιφύτων και επιζωοβένθους. Αυτοί αποτελούν τροφή πολλών βενθικών οργανισμών, παρέχουν μεγάλες ποσότητες νεκρής οργανικής ύλης που αποτελεί βασική τροφή για την επιπανίδα και ενδοπανίδα του ιζήματος. Με αυτό τον τρόπο, σταθεροποιούν το ίζημα και εμποδίζουν τη μεταφορά του από τα ρεύματα. Παρέχουν μεγάλες ποσότητες διαλυμένου οξυγόνου στο νερό, ιδιαίτερα το καλοκαίρι που είναι έντονη η φωτοσύνθεση, και δημιουργούν μεγάλη ποικιλία μικροοικοσυστημάτων.

Το ζωοβένθος παρουσιάζει μεγάλη ποικιλομορφία οργανισμών, όπως πολύχαιτοι, μαλάκια, καρκινοειδή, εχινόδερμα, σπόγγοι, ανθόζωα, ολιγόχαιτοι, έντομα και ασκίδια.

Η λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου-Αιτωλικού λόγω του τροφικού της πλούτου αποτελεί φυσικό τρόπο συγκέντρωσης και ανάπτυξης μικρών θαλασσινών ψαριών. Περιστασιακά, όμως, εισέρχονται και μεγαλύτερα ψάρια ταυτόχρονα με την είσοδο του γόνου και παραμένουν έξι έως και επτά μήνες, τα οποία έπειτα αποχωρούν με σκοπό την ωτοκία ή την διαχείμαση.

Τα είδη των ψαριών είναι περιορισμένα λόγω των μεγάλων διακυμάνσεων των φυσικοχημικών παραγόντων των νερών της λιμνοθάλασσας. Τα κυριότερα είδη είναι τα:

- ◇ *Sparus aurata* (τσιπούρα)
- ◇ *Disentrarchus labrax* (λαυράκι)
- ◇ *Mugil cephalus* (κέφαλος)
- ◇ *Mugil capito* (λακίνος)
- ◇ *Mugil chelo* (βελάνισσα)
- ◇ *Mugil saliens* (γάστρος)
- ◇ *Mugil auratus* (μυξυνάρι)
- ◇ *Anguilla anguilla* (χέλι)
- ◇ *Diplodus annularis* (σπάρος)
- ◇ *Diplodus diplodus* (σπάρος)
- ◇ *Gobius gobius* (γοβιός)

1.2.2 Αλυκές

Η εταιρία «Αλυκές Μεσολογγίου Α.Ε.» ιδρύθηκε το 1978. Βασικός της στόχος υπήρξε ο εκμοντερνισμός και η αύξηση της παραγωγικής ικανότητας της αλυκής του Μεσολογγίου.

Η εταιρία καλύπτει το 50% των αναγκών σε αλάτι. Όλες οι συνθήκες που απαιτούνται για την παραγωγή αλατιού συνδυάζονται ιδανικά στην περιοχή που βρίσκονται εγκατεστημένες οι αλυκές του Μεσολογγίου: η εξάτμιση φθάνει στα 1622 mm το χρόνο, οι βροχοπτώσεις κατά μέσο όρο στα

794 mm το χρόνο (την περίοδο, όμως, Μαρτίου-Νοεμβρίου φθάνουν μόνο στα 296 mm) ενώ η διαπερατότητα του εδάφους είναι αμελητέα.

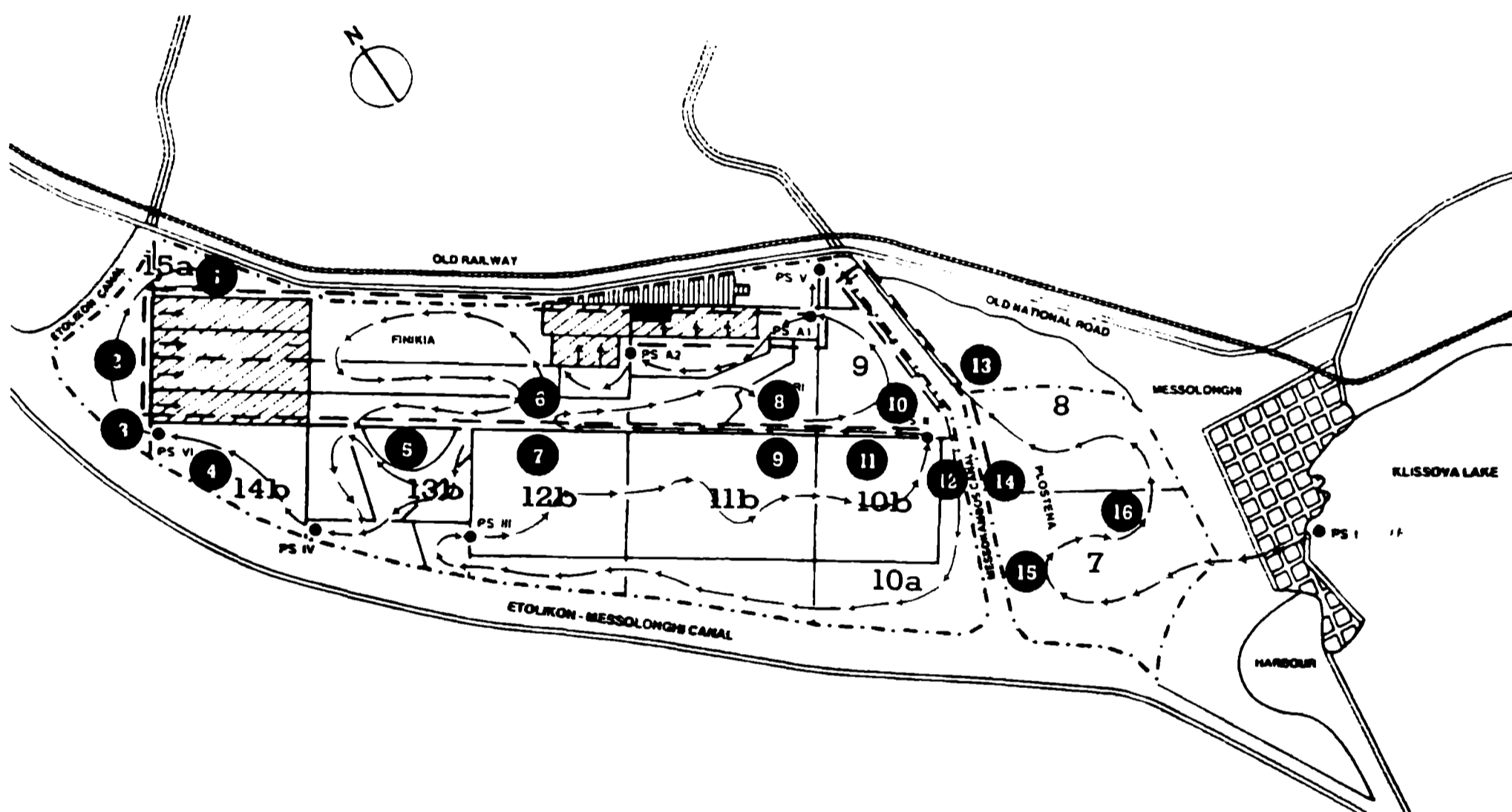
Οι αλυκές Μεσολογγίου καταλαμβάνουν μια έκταση 1240 εκταρίων με ιδανική τοπογραφική διάταξη και πολύ μικρές υψομετρικές διαφορές. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την κάλυψη ολόκληρης της περιοχής με ένα αβαθές στρώμα άλμης και, έτσι, το ποσό της ενέργειας που απαιτείται για την άντληση είναι σχετικά περιορισμένο.

Οι βασικές εγκαταστάσεις (χάρτης 1) περιλαμβάνουν:

- * Τηγάνια, που διαχωρίζονται με αναχώματα και στα οποία το θαλασσινό νερό εξατμίζεται, αφήνοντας υψηλής συγκέντρωσης άλμη. Η συνολική τους επιφάνεια είναι 1024 εκτάρια.
- * Ορθογώνια «κρυσταλλωτήρια», όπου η άλμη αποθέτει στρώμα αλατιού πάχους 8-12 cm, ανάλογα με τις μετεωρολογικές συνθήκες. Η συνολική τους επιφάνεια είναι 98 εκτάρια.
- * Δεξαμενές αποθήκευσης, περίπου 1,5 m βάθους, όπου η συμπυκνωμένη άλμη διατηρείται κατά την χειμερινή περίοδο και παρεμποδίζει την αραίωση που προκαλούν οι βροχοπτώσεις.
- * Σταθμούς άντλησης της άλμης.
- * Κανάλια, πύλες, κλπ, που διευκολύνουν και ρυθμίζουν τη ροή της άλμης.
- * Εγκατάσταση πλύσεως του αλατιού, μεταφορικές ταινίες, κλπ.
- * Μετεωρολογικό σταθμό.
- * Χημικό εργαστήριο.

Η παραγωγή του αλατιού αρχίζει τον Μάρτιο και τελειώνει συνήθως στα τέλη Οκτωβρίου όταν οι βροχοπτώσεις υπερβαίνουν την εξάτμιση. Το θαλασσινό νερό αντλείται από την λιμνοθάλασσα της Κλείσοβας και τροφοδοτείται μέσω καναλιού στην πρώτη ομάδα λεκανών στην περιοχή της Πλόστενας. Από εκεί σιφωνίζεται στην επόμενη λεκάνη, από την οποία η συμπυκνωμένη άλμη ρέει με την βοήθεια της βαρύτητας ή με άντληση προς τα κρυσταλλωτήρια. Η διαδικασία διαρκεί από τον Μάρτιο μέχρι τις αρχές Σεπτεμβρίου, οπότε και αρχίζει η συγκομιδή του αλατιού. Αυτή πρέπει να έχει ολοκληρωθεί πριν οι φθινοπωρινές βροχές διαλύσουν αισθητή ποσότητα του προϊόντος. Η συγκομιδή διαρκεί περίπου 6 εβδομάδες και ολοκληρώνεται περί

τα μέσα του Οκτωβρίου. Όπως ήδη αναφέρθηκε, περίσσεια συμπυκνωμένης άλμης αποθηκεύεται σε κατάλληλες δεξαμενές δημιουργώντας στρώμα βάθους περίπου 1,5m για να ελαχιστοποιηθεί η διάλυση που προκαλούν οι χειμερινές βροχοπτώσεις. Με αυτό τον τρόπο, χρησιμοποιώντας αυτή την άλμη στην επόμενη παραγωγική περίοδο, προκαλείται μια σημαντική αύξηση της συνολικής παραγωγής της αλυκής.



Χάρτης 1: Κάτοψη των Αλυκών Μεσολογγίου

Η παραγωγική διαδικασία και η ποιότητα του προϊόντος ελέγχονται με την βοήθεια δεδομένων που παρέχονται από τον μετεωρολογικό σταθμό και το χημικό εργαστήριο. Καθ' όλη την διάρκεια του έτους και σε ημερήσια βάση, ο μετεωρολογικός σταθμός πραγματοποιεί μετρήσεις και καταγράφει την εξάτμιση, τις βροχοπτώσεις, την θερμοκρασία του αέρα και την ταχύτητα και διεύθυνση του ανέμου. Έτσι, χρησιμοποιούνται τα πλεονεκτήματα των ευνοϊκών καιρικών συνθηκών και ελαχιστοποιούνται οι απώλειες λόγω των βροχοπτώσεων.

Το εργαστήριο ελέγχει τη σύσταση της άλμης, των προσμίξεων και του αλατιού πριν και μετά το πλύσιμο. Πραγματοποιεί, επίσης, κοκκομετρίες του προϊόντος. Οι συνήθεις έλεγχοι αφορούν την ύπαρξη αδρανών, αλάτων ασβεστίου και μαγνησίου, χλωριούχου νατρίου και τη μέτρηση της υγρασίας του προϊόντος.

Η εκτίμηση του οικολογικού αρίστου, σε σχέση πάντα με τις ανθρώπινες δραστηριότητες, είναι σχεδόν αδύνατον να επιτευχθεί. Στην συγκεκριμένη όμως περίπτωση, δηλαδή της χρήσης γης υπό την μορφή μιας ηλιακής αλυκής, επιτυγχάνεται η αξιοποίηση ενός φυσικού πόρου με τον πλέον ανώδυνο για το περιβάλλον τρόπο. Η ίδια η αλυκή αποτελεί ένα φυσικό πάρκο που, λόγω του περιορισμένου και εξειδικευμένου προσωπικού της, με ιδιαίτερη αγάπη και ευαισθησία για τον τόπο, προστατεύει και διαφυλάσσει την ισορροπία αυτού του οικοσυστήματος.

Σε αντίθεση με τις γύρω γεωργικές και κτηνοτροφικές περιοχές και τα ιχθυότροφα νερά, η αλυκή έχει ένα μεγάλο πλεονέκτημα για την άγρια ζωή, δηλαδή, ότι η φωτοσυνθετική παραγωγή δεν συγκομίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση αλλά διατίθεται για τους ετερότροφους ζωικούς οργανισμούς που βρίσκονται στην κορυφή της τροφικής αλυσίδας, τα πουλιά.

Οι ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες έχουν σαν αποτέλεσμα την μείωση του αριθμού των υδρόβιων ειδών με ταυτόχρονη κατακόρυφη αύξηση του πλήθους τους. Έτσι, οι τροφικές αλυσίδες είναι σχετικά απλές και η απώλεια ενέργειας μεταξύ των τροφικών επιπέδων ελάχιστη έως αμελητέα. Αυτός είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την ανάπτυξη της ορνιθοπανίδας. Παρά τον πλούτο, όμως, της ορνιθοπανίδας των αλυκών του Μεσολογγίου, είναι φανερό, ότι υπάρχουν περιθώρια βελτίωσης, βέβαια. Η κατασκευή νησίδων αναπαραγωγής έδωσε διέξοδο στα φωλεάζοντα πουλιά για την αποφυγή των εδαφόδιων θηρευτών τους.

Το οικοσύστημα της αλυκής Μεσολογγίου είναι ένα αναπόσπαστο τμήμα από το ευρύτερο και πολύ πιο σύνθετο οικοσύστημα των Υδροβιότοπων του Μεσολογγίου με το οποίο υπάρχει μια συνεχής αλληλεπίδραση καθώς, κανένα οικοσύστημα, δεν μπορεί να είναι απομονωμένο από τα γειτονικά του.

Η περιοχή συμπυκνώσεως (δεξαμενές εξάτμισης-λεκάνες) θεωρείται σαν ένα ενιαίο οικοσύστημα όπου ο ανταγωνισμός των ειδών είναι ισχυρός και ο ρόλος της διατροφής σημαντικός στη δυναμική των πληθυσμών. Η ποιότητα

της διαθέσιμης τροφής θα λέγαμε ότι παίζει ένα ρόλο περιοριστικά καθοριστικό.

Στην περιοχή κρυστάλλωσης (αλοπήγια, κρυσταλλοπήγια, τηγάνια) το οικοσύστημα είναι απλούστερο και ο αριθμός των ειδών περιορισμένος αλλά με άφθονους πληθυσμούς. Η αφθονία αυτή έχει καθαρά τοπογραφικό χαρακτήρα.

Οι μεταβολές της πυκνότητας των πληθυσμών οφείλονται είτε στις απότομες αβιοτικές απρόβλεπτες μεταβολές, χωρίς καμία φαινομενική αιτία, είτε σε άλλες που έχουν χαρακτήρα κυκλικό, σχεδόν κανονικό.

Η αυτορύθμιση των πληθυσμών εξαρτάται από φυσιολογικούς, γενετικούς ή και αβιοτικούς παράγοντες του μέσου που επιδρούν χρονικά διάφορα και προηγούνται σημαντικά του φαινομένου.

Η ποιοτική και ποσοτική απόδοση σε αλάτι είναι άμεσα συνδεδεμένη με τις διεργασίες που γίνονται στις δύο προαναφερθείσες περιοχές που, και αυτές με τη σειρά τους, εξαρτώνται, κυρίως, από τις ατμοσφαιρικές μεταβολές.

Εκτός από τους φυσικούς παράγοντες, που τους ονομάζουμε «αβιοτικούς» και που επηρεάζουν την δυναμική του συστήματος της αλυκής, υπεισέρχεται και μια σειρά από βιολογικούς παράγοντες, που τους ονομάζουμε και «βιοτικές παραμέτρους». Αυτές έχουν σχέση με τους οργανισμούς που κατοικούν στο βιότοπο και παίζουν, ίσως, τον πιο σημαντικό ρόλο.

Όταν θα μιλάμε για οικοσύστημα, θα αναφερόμαστε στο λειτουργικό σύστημα της βιόσφαιρας που περιλαμβάνει ένα σύνολο από οργανισμούς (βιοκοινωνίες) και το περιβάλλον τους. Γενικά, υπάρχουν 3 τύποι οικοσυστημάτων:

- τα ανεξάρτητα φυσικά οικοσυστήματα
- τα εξαρτωμένα οικοσυστήματα
- τα αστικοβιομηχανικά οικοσυστήματα

Το οικοσύστημα της αλυκής ανήκει στα ανεξάρτητα φυσικά οικοσυστήματα, επειδή τροφοδοτείται μόνο με ηλιακή ενέργεια.

Η κάθε αλυκή ή και κλειστή λίμνη γλυκού ή αλμυρού νερού, είναι κλειστό ή σχεδόν κλειστό σύστημα με περιορισμένες ανταλλαγές με τα γύρω του οικοσυστήματα, εκτός βέβαια από την συνεχή παροχή ηλιακής ενέργειας.

Στα αντλιοστάσια, η είσοδος και η έξοδος του νερού καθώς και η κυκλοφορία του γίνεται με ανθρώπινη επέμβαση.

Τα οργανικά υλικά που παρασύρει η βροχή επηρεάζουν σε μικρό βαθμό την λειτουργία της αλυκής. Και τούτο διότι η σημαντικότερη περίοδος των βροχοπτώσεων, χειμερινού μήνες κυρίως, βρίσκει την αλυκή εκτός λειτουργίας.

Η μελέτη οποιουδήποτε οικοσυστήματος, για να είναι ολοκληρωμένη, πρέπει να περιλαμβάνει την ανάλυση της δομής του και της λειτουργίας του. Από την πλευρά της λειτουργίας του οικοσυστήματος, η μελέτη πρέπει να γίνει σε σχέση με την ροή της ενέργειας και των υλικών και σε σχέση με τον ενεργειακό απολογισμό. Από την πλευρά της οργάνωσης η ανάλυση πρέπει να γίνει στη δομή, στα είδη και τη σύνθεση των βιοκοινωνιών, στη σύνθεση του χώρου, στις περιοδικές αλλαγές σε συνάρτηση με το χρόνο και την τροφική αλυσίδα.

Οι διάφοροι οργανισμοί που συγκροτούν το οικοσύστημα βρίσκονται σε σχέση στενής αλληλεξάρτησης και αλληλεπίδρασης. Έχουμε κατ' αρχήν τους παραγωγούς οργανισμούς (αυτότροφοι), οι οποίοι χάρις στον αποκλειστικό μηχανισμό που διαθέτουν μπορούν να παράγουν οργανική ύλη ξεκινώντας από ανόργανα στοιχεία. Τυπικοί παραγωγοί είναι τα διάφορα χλωροφυλλούχα φυτά (χερσαία ή υδρόβια). Όλοι οι άλλοι οργανισμοί είναι καταναλωτές (ετερότροφοι) και η ύπαρξη τους εξαρτάται από τους αυτότροφους οργανισμούς. Από την ανάλυση των σχέσεων μεταξύ αυτότροφων και ετερότροφων οργανισμών, μέσα σε κάθε οικοσύστημα, δημιουργούνται τα τροφικά επίπεδα και η τροφική αλυσίδα.

Οι κοινωνίες που ενδημούν στην αλυκή είναι περιορισμένες σε αριθμό ειδών (αφθονία). Αυτό οφείλεται στις συνθήκες που επικρατούν και που δεν είναι ούτε σταθερές ούτε και ομοιόμορφες ή με μια σχετική αυξομείωση, όπως ισχύει στα άλλα οικοσυστήματα. Η προοδευτική αύξηση, λοιπόν, των αβιοτικών παραμέτρων απουσιάζει παντελώς. Έτσι, οι οργανισμοί που καταφέρνουν να επιζήσουν στην αλυκή, έχουν αναπτύξει τέτοια χαρακτηριστικά που τους επιτρέπει να επιζούν στις ακραίες συνθήκες που επικρατούν εδώ. Για παράδειγμα, το θαλασσινό νερό έχει αλατότητα περίπου 38‰, ενώ το νερό που μπαίνει στην αλυκή έχει αλατότητα 41‰ και καταλήγει σε 301‰ στα κρυσταλλωτήρια.

Οι κατηγορίες οργανισμών που θα συναντήσουμε σε κάθε τροφικό επίπεδο στο περιβάλλον της αλυκής είναι οι εξής:

♦ *Πρώτο τροφικό επίπεδο*

Οι οργανισμοί αυτοί, όπως ήδη έχουμε πει, διακρίνονται σε υδρόβιους και χερσαίους. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν το φυτοπλαγκτόν και τα μικρά φύκη που ζουν προσκολλημένα στον πυθμένα, καθώς επίσης και όλη η υδρόβια βλάστηση. Στη δεύτερη κατηγορία ανήκει κυρίως η αλοφυτική βλάστηση.

♦ *Δεύτερο τροφικό επίπεδο*

Η ποικιλότητα των ειδών σ' αυτό το τροφικό επίπεδο εξαρτάται από την αλατότητα του υδάτινου μέσου. Δηλαδή στις πρώτες λεκάνες, όπως βλέπουμε στο χάρτη 1, υπάρχει μεγάλη ποικιλία οργανισμών, ίδια με την πανίδα που προέρχεται από την Κλείσοβα και ανάλογη βιολογική παραγωγικότητα και διακυμάνσεις με το συνολικό οικοσύστημα.

Στις άλλες λεκάνες, όπου η αλατότητα κυμαίνεται από 40 έως 57‰, παρατηρείται μείωση της ποικιλότητας των οργανισμών και αύξηση της αδιάλυτης λεπτοφυούς οργανικής ύλης, που οφείλεται στην ικανότητα των βακτηριδίων ν' αποικοδομούν την οργανική ύλη με τον ίδιο ρυθμό που αυτή συσσωρεύεται. Καθώς, όμως, η αλατότητα αυξάνει από λεκάνη σε λεκάνη, οι πλαγκτονικοί οργανισμοί εξαφανίζονται και παρατηρείται ανάπτυξη συγκεκριμένων ειδών. Δηλαδή, εμφανίζονται υδρόβια έντομα (αυγά, νύμφες, ώριμα άτομα) που είτε κολυμπούν ελεύθερα είτε φωλιάζουν μέσα στην λάσπη, μικροί σκώληκες κόκκινου χρώματος και, κυρίως, το μικρό ανόστρακο καρκινοειδές *Artemia salina*.

Είναι σημαντικό για τους παραπάνω πληθυσμούς το γεγονός ότι η ανάπτυξή τους δεν παρουσιάζει ομοιογένεια, ακόμα και στην ίδια τη λεκάνη. Μπορούμε να τους εντοπίσουμε σε ορισμένες περιοχές που, όμως, δε μένουν σταθερές. Εξαρτώνται, δηλαδή, από τις τροφικές συνθήκες, την διεύθυνση του ανέμου, τα ρεύματα που δημιουργεί η δράση του και, τέλος, από τους καταβροχθιστές. Όλα αυτά, έχουν ιδιαίτερη σημασία για τους οργανισμούς που κινούνται με παθητική μεταφορά, όπως, ας πούμε, η *Artemia*.

◆ *Τρίτο τροφικό επίπεδο*

Σ' αυτό το τροφικό επίπεδο περιλαμβάνεται ένα είδος, με μεγαλύτερο μέγεθος από τα προηγούμενα και που τρέφεται με αυτά που είναι και το αντικείμενο της παρούσης εργασίας, δηλαδή το ψαράκι ζαμπαρέλα ή *Aphanius fasciatus*. Αυτό το είδος δείχνει εκπληκτική αντοχή στην αυξημένη αλατότητα. Στο τροφικό αυτό επίπεδο εντάσσονται και ορισμένα είδη πτηνών.

◆ *Τέταρτο τροφικό επίπεδο*

Σημαντικό ρόλο σε αυτό το τροφικό επίπεδο παίζουν οι οργανισμοί που ανακυκλώνουν τις οργανικές ύλες αφού πρώτα τις ανοργανοποιούν. Όσο, λοιπόν, αυξάνει η αλατότητα των λεκανών, όσο και λιγότεροι οργανισμοί ζουν μέσα σε αυτές. Εδώ, δημιουργείται το ερώτημα, πώς εξηγείται η υψηλή περιεκτικότητα του νερού σε οργανικά υλικά. Η κυκλοφορία του νερού ρυθμίζεται με ανθρώπινη επέμβαση. Ο χάρτης 1 μας δείχνει με τα κόκκινα βελάκια τη διαδρομή του νερού από λεκάνη σε λεκάνη. Οτι υπολείμματα κελυφών, νεκρών ατόμων κ.α. που δεν διαλύονται αμέσως ή δεν κατακάθονται στο βυθό, μεταφέρονται παθητικά από τη μια λεκάνη στην άλλη συμπαρασυρόμενα από το νερό. Αυτά, λοιπόν, τα οργανικά υλικά αποτελούν το υπόβαθρο για την ανάπτυξη των βακτηρίων και των μυκήτων. Κυρίως, βέβαια, τα συναντάμε στις λεκάνες μέσης αλατότητας, όπου τα υλικά αυτά επανέρχονται ταχύτατα στον τροφικό κύκλο και επαναχρησιμοποιούνται. Στις τελευταίες θερμάστρες ο αριθμός αυτών των μικροοργανισμών περιορίζεται και, έτσι, ο ρυθμός αποικοδόμησης στις τελευταίες θερμάστρες είναι σχετικά μικρός.

Βασικό ρόλο στα παραπάνω παίζει το *Halobacterium* που, μαζί με την *Dunaliella salina*, προσδίδει το κόκκινο χρώμα στο νερό.

Το κόκκινο χρώμα του νερού σαν βιολογικό φαινόμενο δεν παρουσιάζεται μόνο στις αλυκές, αλλά και στην θάλασσα, με την ίδια συχνότητα. Αυτό έχει παρατηρηθεί από τα αρχαία χρόνια, δεν είναι πρόσφατο φαινόμενο.

Κάποιος παράγοντας του θαλασσινού νερού αλλάζει ξαφνικά, αυξάνει ως πούμε η συγκέντρωσή του, π.χ. μετά από μια ξαφνική βροχόπτωση. Αυτό θα

έχει σαν αποτέλεσμα κάποιοι από τους μικροοργανισμούς να βρουν τις ιδανικές συνθήκες π.χ. τροφής, και να αναπτυχθούν υπέρμετρα. Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται, κυρίως, σε μονοκυτταρικούς φυτοπλαγκτονικούς οργανισμούς και βακτήρια ή σε ανόργανη επίδραση της ύλης. Το τελευταίο φαινόμενο εμφανίζεται συχνά σαν πορτοκαλοκόκκινος κροσσός κυρίως, στις επιπλέουσες μάζες του αλατιού, μπορεί, όμως, και να καλύπτει τα τοιχώματα δεξαμενών συγκεκριμένης αλατότητας και οφείλεται στην παρουσία απιτεταρτοξειδίου του σιδήρου. Υπάρχει, επίσης, μια σημαντική ποσότητα αδιάλυτου σιδήρου στις δεξαμενές των αλυκών εξ αιτίας της μεγάλης ποσότητας του ενυδατωμένου θειούχου σιδήρου που συνεχώς σχηματίζεται κάτω από την άλμη. Αυτός πάντως ο αδιάλυτος σίδηρος Δε φαίνεται να επηρεάζει πολύ το χρώμα. Επίσης τα αυγά της *Artemia* που είναι μικρά σαν κεφάλι καρφίτσας δημιουργούν ένα καφεκόκκινο κροσσό στα τηγάνια.

2. ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ -
ΩΘΗΚΕΣ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Σε πολλά είδη ψαριών της εύκρατης και τροπικής ζώνης τα ωκύτταρα δεν ωριμάζουν ταυτόχρονα και οι ωθήκες περιλαμβάνουν σειρά ωκυττάρων διαφόρων μεγεθών σε διαδοχικά στάδια ανάπτυξης. Η κατανομή των μεγεθών παρουσιάζει την εικόνα των συνεχών επικαλυπτομένων ομάδων και μόνο κατά τις στιγμές της ωτοκίας απομονώνεται η ομάδα των ενυδατωμένων ωκυττάρων. Η εικόνα αυτή είναι συνεχής σε όλη τη διάρκεια της παρατεταμένης αναπαραγωγικής περιόδου και υποδηλώνει ότι η ασύγχρονη ωγένεση χαρακτηρίζεται από μια συνεχή είσοδο ανώριμων ωκυττάρων στην αναπαραγωγική διαδικασία.

Ο προσδιορισμός της αναπαραγωγικής κατάστασης ενός πληθυσμού αντιμετωπίζεται συνήθως με τους εξής τέσσερις τρόπους:

α. Ταξινόμηση των ατόμων σε αναπαραγωγικά στάδια με μακροσκοπικά γνωρίσματα.

β. Εκτίμηση του γοναδοσωματικού δείκτη.

γ. Εκτίμηση της μέσης τιμής του μεγέθους των περισσότερο εξελιγμένων ωκυττάρων και

δ. Ταξινόμηση των ατόμων σε αναπαραγωγικά στάδια σύμφωνα με ιστολογικά κριτήρια.

Για πολλαπλούς εναποθέτες η τελευταία μέθοδος θεωρείται απαραίτητη. Εν τούτοις, οι ιστολογικές μελέτες των ωθηκών, αποτελούσαν έως πρόσφατα συμπληρωματική μέθοδο παρακολούθησης της ωγένεσης. Όμως, πρόσφατα έχει αποδειχθεί ότι η ιστολογία των ωθηκών αποτελεί το «κλειδί» για την ανάπτυξη μεθόδων εκτίμησης της αναπαραγωγικής συχνότητας και γενικά της μελέτης του αναπαραγωγικού κύκλου.

Συγκεκριμένα, η χρήση των ιστολογικών τομών των ωθηκών επιτρέπει να προσδιοριστούν ιστολογικά κριτήρια βάση των οποίων αναγνωρίζονται τα διάφορα στάδια της αποικοδόμησης των ωκυττάρων, φαινόμενο γνωστό ως **ατρησία**, και τα άδεια ωθυλάκια που παραμένουν στην ωθήκη μετά την ωτοκία. Η μελέτη των ατρησιακών ωκυττάρων σε συνδυασμό με την παρουσία άδειων ωθυλακίων ή ενυδατωμένων ωκυττάρων καθορίζουν τη σχέση ατρησιακής ωθήκης και πιθανότητας ωτοκίας.

Παρακάτω εξετάζονται με την βοήθεια των ιστολογικών τομών θηλυκών γονάδων η ωογένεση, το φαινόμενο της ατρησίας, ο αναπαραγωγικός κύκλος και η εκτίμηση της αναπαραγωγικής συχνότητας.

2.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΣΕ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΑΔΙΑ

Η μακροσκοπική ταξινόμηση των ατόμων στα διάφορα αναπαραγωγικά στάδια έγινε με βάση την κλίμακα Macer (1974), η οποία αποτελείται από 9 στάδια. Στην πράξη όμως ήταν δύσκολο να διαχωριστούν μερικά από τα στάδια του Macer, όπως τα αναπτυσσόμενα παρθένα (στάδιο 3) από τα άτομα στο στάδιο της αδράνειας (στάδιο 2), ή τα ώριμα (στάδιο 5) από τα ωοτοκούντα (στάδιο 6), όπως επίσης και εκείνα που ωαπόθεσαν ολοκληρωτικά (στάδιο 8) από τα άτομα που προσπαθούν να ανασυντάξουν τη γονάδα τους (στάδιο 9). Γι' αυτό έγινε συγχώνευση των παραπάνω σταδίων, δηλαδή 2-3= II, 5-6 = V, 8-9 = VII, ενώ το στάδιο 4 (αναπτυσσόμενα) χωρίστηκε στα αναπτυσσόμενα (στάδιο III) και στα αναπτυγμένα (στάδιο IV). Η κλίμακα, η οποία προέκυψε (7 στάδια) με βάση μακροσκοπικά γνωρίσματα ήταν:

- I. **Ανώριμα I άτομα:** μέγεθος γονάδας $< 1/4$ της σπλαχνικής κοιλότητας.
- II. **Ανώριμα II** ή παρθένα αναπτυσσόμενα ή άτομα στο στάδιο της αδράνειας: μέγεθος γονάδας $1/4 - 1/3$ της σπλαχνικής κοιλότητας.
- III. **Αναπτυσσόμενα:** μέγεθος γονάδας $1/3 - 1/2$ της σπλαχνικής κοιλότητας.
- IV. **Αναπτυγμένα:** μέγεθος γονάδας $2/3 - 3/3$ της σπλαχνικής κοιλότητας.
Με ελαφρά πίεση στην περιοχή του γεννητικού πόρου τα αυγά ελευθερώνονται.
- V. **Ωοτοκούντα:** μέγεθος γονάδας $3/3$ της σπλαχνικής κοιλότητας. Τα αυγά εξέρχονται ελεύθερα από το γεννητικό πόρο.
- VI. **Μερικώς ωαποθέσαντα:** χαλαρή γονάδα μεγέθους $2/3 - 1/3$ της σπλαχνικής κοιλότητας.
- VII. **Ολικώς ωαποθέσαντα:** περισσότερο χαλαρή γονάδα μεγέθους $1/3$ της σπλαχνικής κοιλότητας ή ακόμη μικρότερη σε φάση απορρόφησης.

2.3 ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΩΟΘΗΚΩΝ

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι αν οι ωοθήκες πρόκειται να χρησιμοποιηθούν μόνο για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ωοκυττάρων (εκτός των ενυδατωμένων), είναι προτιμότερο αυτές να συντηρούνται σε διάλυμα Gilson, στο οποίο διάλυμα διαχωρίζονται τα ωοκύτταρα και θρυμματίζονται τα τοιχώματα της ωοθήκης. Αν όμως πρόκειται να επακολουθήσουν ιστολογικές τομές ή να μετρηθούν ενυδατωμένα ωοκύτταρα, όπως έγινε σε αυτή την εργασία, τότε το διάλυμα Gilson είναι ακατάλληλο. Επίσης δε συνιστάται συντήρηση, τομή και χρώση σε αποψυγμένες ωοθήκες, γιατί μετά την χρώση των ιστολογικών τομών δεν είναι εύκολα αναγνωρίσιμα τα άδεια ωοθυλάκια, τα οποία είναι απαραίτητα για τον προσδιορισμό της αναπαραγωγικής συχνότητας. Επίσης με την απόψυξη προκαλείται μερική λύση των ενυδατωμένων ωοκυττάρων. Το καλύτερο συντηρητικό που προτείνεται για την διατήρηση φρέσκων ωοθηκών είναι φορμόλη.

Κατά την ιστολογική διεργασία αφαιρείται ένα κομμάτι 0,5-1 εκ. από την μια ωοθήκη συνήθως από το μέσο της. Ο ιστός της ωοθήκης για να παρατηρηθεί θα πρέπει να μονιμοποιηθεί, να τμηθεί και χρωσθεί.

Μετά τη μονιμοποίηση του ιστού ακολουθεί η τομή σε φέτες σε μικροτόμο. Οι τομές αφού στεγνώσουν σε κλίβανο 40°C για μισή ώρα, είναι έτοιμες για τη χρώση. Η μέθοδος η οποία συνήθως ακολουθείται είναι η χρώση με αιματοξυλίνη κατά Harris και ηωσίνη (H+E).

2.4 ΑΤΡΗΣΙΑ

Είναι γνωστό ότι η ατρησία είναι γενικό φαινόμενο σε όλη την περίοδο της αναπαραγωγής ενός πολλαπλού εναποθέτη και ιδιαίτερα έντονο σε είδη με ασύγχρονη ωογένεση, όπως είναι οι ζαμπαρέλες και αφορά είτε την απορρόφηση του ωοκυττάρου πριν και μετά την ωοτοκία είτε την απορρόφηση του άδειου ωοθυλακίου που παραμένει στην ωοθήκη μετά την απελευθέρωση των ενυδατωμένων ωοκυττάρων στο περιβάλλον. Το ποσοστό συμμετοχής ατρησιακών ωοκυττάρων στην ωοθήκη αυξάνεται στο τέλος της αναπαραγωγικής περιόδου.

Η μελέτη της ατρησίας και η γνώση του χρόνου ζωής των διαδοχικών σταδίων της είναι απαραίτητα γιατί:

α) Επιτρέπει να αποδίδεται η διάρκεια ζωής (ηλικία) στα άδεια ωοθυλάκια. Η διάρκεια ζωής δηλώνει το χρόνο που έχει παρέλθει από πρόσφατη ωοτοκία και χρειάζεται στην εκτίμηση της αναπαραγωγικής συχνότητας.

β) Αποτελεί ιστολογικό κριτήριο για να σηματοδοτήσει το τέλος της αναπαραγωγικής περιόδου.

γ) Επιτρέπει την ακριβέστερη εκτίμηση του μήκους του ψαριού κατά την 1^η αναπαραγωγή (ML₅₀).

δ) Επιτρέπει να διαχωρίζονται κατά την περίοδο της αναπαραγωγής τα ανώριμα άτομα από τα ώριμα.

Σε αυτή την εργασία μελετήθηκε το φαινόμενο της ατρησίας και προσδιορίστηκαν τα ατρησιακά στάδια στις ιστολογικές τομές των ωοθηκών του *A. fasciatus*. Με την ποσοστιαία εκτίμηση των ατρησιακών σταδίων καθορίστηκαν οι ατρησιακές καταστάσεις των θηλυκών βάση των οποίων έγινε η μελέτη του αναπαραγωγικού κύκλου.

2.5 ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ

Οι ζαμπαρέλες ωοτοκούν τη νύχτα. Οι πιθανές ώρες ωοτοκίας του *A. fasciatus* είναι πολύ νωρίς το πρωί ή και πολύ αργά το απόγευμα και πάντως όχι κατά τη διάρκεια την ημέρας.

Για να καθοριστεί η αναπαραγωγική συχνότητα, θα πρέπει να βρεθεί η ηλικία των άδειων ωοθυλακίων, δηλαδή να εκτιμηθεί ο χρόνος που έχει παρέλθει από πρόσφατη ωοτοκία ως την ημέρα της δειγματοληψίας, καθώς επίσης και να υπολογιστεί ο χρόνος για την αμέσως επόμενη, η οποία πιστοποιείται ιστολογικά από την παρουσία ενυδατωμένων ή έτοιμων να ενυδατωθούν ωοκυττάρων. Τα ωοκύτταρα των ατόμων με ήδη μεταναστεύοντα πυρήνα, θα ενυδατωθούν εντός ολίγων ωρών και θα γεννηθούν μετά από 12 ώρες περίπου.

Μια προσεγγιστική μέθοδος για να καθοριστούν ιστολογικά κριτήρια με βάση των οποίων μπορεί να αποδοθεί ηλικία στα άδεια ωοθυλάκια, είναι η

διατήρηση ωτοκοούντων ατόμων σε δεξαμενές και η παρακολούθηση σε καθορισμένα πυκνά διαστήματα της απορρόφησης των άδειων ωθυλακίων.

Ας υποθέσουμε ότι οι δειγματοληψίες γίνονται κατά τη διάρκεια της νύχτας. Έτσι, χρησιμοποιούνται κριτήρια που αφορούν ωτοκίες της νύχτας της δειγματοληψίας (παρουσία ωκυττάρων με είδη μεταναστεύοντα πυρήνα ή ενυδατωμένων ωκυττάρων ή πολύ νεαρών άδειων ωθυλακίων), της προηγούμενης νύχτας (παρουσία άδειων ωθυλακίων μέσης ηλικίας 24 ωρών) και της προπροηγούμενης (παρουσία άδειων ωθυλακίων μέσης ηλικίας 48 ωρών).

Σ' αυτήν την εργασία, οι ιστολογικές τομές κατά τη διάρκεια της ωογενετικής περιόδου έγιναν σε δείγματα, τα οποία αλιεύτηκαν με απόχη κατά τη διάρκεια της ημέρας. Ελήφθη λοιπόν, ως μέσος χρόνος δειγματοληψίας η 3^η μεσημβρινή και ως μέσος χρόνος ωτοκίας η 12^η νυχτερινή. Από την ιστολογική μελέτη μπόρεσαν να διακριθούν ωτοκίες, οι οποίες γινόντουσαν σε τρεις διαδοχικές νύχτες με τα παρακάτω ιστολογικά γνωρίσματα:

α) Ωκύτταρα με ήδη μετακινηθέντα πυρήνα, που δηλώνουν προσεχή ωτοκία μετά από μέσο χρόνο 12 ωρών.

β) Άδεια ωθυλάκια (νεαρά) ηλικίας < 12 ωρών, που φανερώνουν ότι η ωτοκία έγινε την προηγούμενη νύχτα.

γ) Άδεια ωθυλάκια (παλαιά) ηλικίας <36 ωρών και >12 ωρών, που δείχνουν ότι η ωτοκία έγινε την προπροηγούμενη νύχτα.

Η μέση ποσοστιαία παρουσία των θηλυκών με ιστολογικά γνωρίσματα ωτοκίας στις τρεις παραπάνω διαδοχικές νύχτες και σε όλη την ωογενετική περίοδο παρέχει το μέσο ποσοστό των θηλυκών που αναπαράγεται ημερησίως και συνεπώς το μέσο χρόνο (σε ημέρες) που μεσολαβεί μεταξύ των ωτοκιών.

2.6 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΜΗΚΟΥΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑ 50% ΩΡΙΜΩΝ ΘΗΛΥΚΩΝ

Η εκτίμηση του μήκους στο οποίο το 50% των θηλυκών (ML_{50}) είναι ώριμο, βασίζεται στην εφαρμογή λογιστικής εξίσωσης $y = 1/1 + e^{-bx}$, όπου y ήταν το ποσοστό των ώριμων θηλυκών και x η αντίστοιχη τάξη μεγέθους. Η τιμή του ML_{50} εκτιμάται από την εφαρμογή των δεδομένων σε μη γραμμική παλινδρόμηση.

Σε αυτήν την εργασία δεν έχει γίνει εκτίμηση του μήκους των κατά 50% ώριμων θηλυκών αλλά θεωρητικά γίνεται ως εξής:

Τα θηλυκά άτομα ταξινομούνται κατά την ωογεννητική περίοδο σε ομάδες μήκους ανά 1 εκατοστό. Στη συνέχεια υπολογίζονται οι σχετικές συχνότητες ανά ομάδα μήκους των ιστολογικά ώριμων στο σύνολο ώριμων και ανώριμων ατόμων. Οι τιμές αυτές χρησιμοποιούνται στην εφαρμογή της εξίσωσης. Επιπλέον και για την ίδια περίοδο, ο υπολογισμός του ML_{50} γίνεται και στα μακροσκοπικά ώριμα θηλυκά όλων των δειγμάτων για τις σχετικές συγκρίσεις. Στη δεύτερη περίπτωση, μακροσκοπικά ώριμα θεωρούνται τα θηλυκά, τα οποία ταξινομούνται σε αναπαραγωγικό στάδιο μεγαλύτερο από το II.

2.7 ΓΟΝΑΔΟΣΩΜΑΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΗΠΑΤΟΣΩΜΑΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ

Ο γοναδοσωματικός δείκτης έχει χρησιμοποιηθεί στην Αλιευτική Βιολογία για να προσδιοριστεί ο χρόνος ενυδάτωσης των ωοκυττάρων και συνεπώς ο χρόνος της μέγιστης αναπαραγωγικής διαδικασίας, καθώς επίσης και το εύρος της αναπαραγωγικής περιόδου.

Όμως είναι προφανές, ότι για τους πολλαπλούς εναποθέτες, όπως είναι οι ζαμπαρέλες, αυτή η αρχική υπόθεση μελέτης του γοναδοσωματικού δείκτη δεν έχει νόημα. Αυτό συμβαίνει, γιατί τα άτομα που ετοιμάζονται για την πρώτη ωοτοκία, έχουν παρεμφερείς τιμές του γοναδοσωματικού δείκτη με τα άτομα που έχουν ήδη γεννήσει μια φορά. Επίσης η τιμή του γοναδοσωματικού δείκτη διαφέρει ελάχιστα μεταξύ των ατόμων που έχουν γεννήσει, αλλά είναι ακόμη αναπαραγωγικά δραστήρια και αυτών που τελείωσαν την αναπαραγωγική τους περίοδο πολύ πρόσφατα. Άρα ο γοναδοσωματικός δείκτης, ενώ στους απλούς εναποθέτες μπορεί να αποτελέσει ένα δείκτη προσδιορισμού του χρόνου της ενυδάτωσης των ωοκυττάρων και του εύρους της αναπαραγωγικής περιόδου, στους πολλαπλούς δεν είναι αρκετή μόνο η εκτίμησή του. Οι ιστολογικές τομές είναι απαραίτητες για την πλήρη κατανόηση του αναπαραγωγικού κύκλου.

Ο ηπατοσωματικός δείκτης, ο οποίος περιγράφει την κατάσταση του ψαριού πριν και μετά την περίοδο της ωοτοκίας, κατά την περίοδο της

ωοτοκίας αυξομειώνεται. Αυτό συμβαίνει, γιατί σ' αυτήν την περίοδο μεταβάλλεται η συγκέντρωση των ελεύθερων αμινοξέων και των ορμονών στο ήπαρ παρακολουθώντας έτσι την πορεία της ωογένεσης. Για το λόγο αυτό οι δυο δείκτες μελετιούνται ταυτόχρονα (σε αυτή την εργασία δεν έχουν μελετηθεί).

Ο γοναδοσωματικός (GSI) και ηπατοσωματικός δείκτης (HSI) υπολογίζονται με βάση τις εξισώσεις:

$$GSI = [Wg / (Wt - Wg)] * 100 \text{ και } HSI = [Wl / (Wt - Wl)] * 100,$$

όπου Wg = βάρος γονάδας, Wt = ολικό βάρος σώματος και Wl = βάρος ήπατος.

2.8 ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΕΥΡΩΣΤΙΑΣ

Είναι γνωστό ότι κατά την περίοδο της ενεργειακής συσσώρευσης στους μυς και στο ήπαρ το βάρος του σώματος αυξάνει περισσότερο από το σύνθητες σε συγκεκριμένο μήκος. Το φαινόμενο αυτό εκφράζεται με το συντελεστή ευρωστίας K , ο οποίος κατά Le Cren (1951) ισούνται με

$$K = W/L^b$$

όπου W = το βάρος του σώματος

L = το ολικό μήκος

b = ο συντελεστής κλίσης από την γραμμική παλινδρόμηση της σχέσης μήκους - βάρους.

**3. ΓΟΝΑΔΕΣ - ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΟΜΕΣ -
ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΩΟΚΥΤΤΑΡΩΝ**

3.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1.1 Δειγματοληψίες

Για τη συλλογή ατόμων *Aphanius fasciatus* με σκοπό τη λήψη και επεξεργασία των γονάδων τους, επιλέχθηκαν δυο θέσεις δειγματοληψίας.

Οι δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν ήταν έντεκα, διήρκησαν από τον Οκτώβρη του 1997 έως τον Απρίλιο του 1998 και έλαβαν χώρα τις μεσημεριανές ώρες της ημέρας (Βλέπε τον παρακάτω πίνακα).

Ο πρώτος σταθμός δειγματοληψίας βρισκόταν στην περιοχή των Αλυκών, η οποία βρίσκεται στο ανατολικό μέρος της λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου, μετά τα πρώτα «τηγάνια», δηλαδή στους αύλακες τροφοδοσίας νερού των αλυκών Μεσολογγίου. Η περιοχή χαρακτηρίζεται από λασπώδη πυθμένα, από σχεδόν ανύπαρκτη βλάστηση, έχει βάθος από λίγα εκατοστά έως 2 μέτρα, ενώ η θερμοκρασία του νερού κυμαίνονταν από 4 °C έως και 42 °C και η αλατότητα από 17 ‰ έως 52 ‰.

Πρέπει να σημειωθεί ότι στη συγκεκριμένη περιοχή πολλές φορές ήταν αδύνατη η λήψη δειγμάτων λόγω απουσίας του πληθυσμού με την ύπαρξη μη ευνοϊκών καιρικών συνθηκών ή εκτέλεσης διαφόρων έργων από το προσωπικό των αλυκών.



Ο πρώτος σταθμός δειγματοληψίας στις Αλυκές Μεσολογγίου. Διακρίνεται ένα μεγάλο «τηγάνι», μέσα στο οποίο έγιναν οι δειγματοληψίες του *Aphanius fasciatus*.

Ο δεύτερος σταθμός δειγματοληψίας βρισκόταν στη λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου, βορειοανατολικά του λιμανιού. Η περιοχή χαρακτηριζόταν από αμμώδη πυθμένα, με λίγη βλάστηση, μικρό βάθος νερού με έντονο το φαινόμενο της παλίρροιας.

Παρακάτω αναφέρονται τα μέσα μήκη των ατόμων *Aphanius fasciatus*, που επιλέχθηκαν για κάθε δειγματοληψία, από τα οποία αφαιρέθηκαν οι γονάδες και παρασκευάστηκαν οι ιστολογικές τομές τους.

Δειγματοληψία	Μέσο μήκος δείγματος (cm) (<i>Aphanius fasciatus</i>)
1 ^η	5,584
2 ^η	4,846
3 ^η	4,990
4 ^η	5,584
5 ^η	4,320
6 ^η	4,760
7 ^η	4,134
8 ^η	3,565
9 ^η	5,178
10 ^η	5,544
11 ^η	5,842

3.1.2 Συλλογή υλικού

Η αλίευση των ατόμων *Aphanius fasciatus* πραγματοποιήθηκε με απόχες δίχως κόμπους με άνοιγμα ματιού 5mm.

Προσπαθήσαμε η συλλογή του υλικού να είναι όσο το δυνατόν πιο αντιπροσωπευτική του πληθυσμού της ζαμπαρέλας, καθώς και ομοιογενής κατά τις διάφορες δειγματοληψίες (Φωτογρ. 1).



Φωτογραφία 1: Άτομα *Aphanis fasciatus* που μόλις αλιευτίκαν. Από αυτά επιλέγονται και διατηρούνται άτομα ίδιου περίπου μεγέθους.

3.1.3 Συντήρηση δειγμάτων

Τα ψάρια που συλλαμβάνονταν πλένονταν με γλυκό νερό και τοποθετούνταν σε δοχεία με διάλυμα φορμόλης 10% όπου και διατηρήθηκαν ωσότου δόθηκαν στο Κ^ο Τσιπά και στο Ελληνογαλλικό Βιοϊατρικό Κέντρο Αγρινίου και κατασκευάστηκαν οι ιστολογικές τομές των γονάδων των δειγμάτων του *Aphanis fasciatus*.

3.2 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ

Η χρήση ιστολογικών τομών είναι απαραίτητη, διότι επιτρέπει να προσδιοριστούν ιστολογικά κριτήρια με τα οποία αναγνωρίζονται τα διάφορα ανάπτυξης των ωοκυττάρων. Επίσης αναγνωρίζονται τα άδεια ωοθυλάκια που παραμένουν στην ωοθήκη μετά την ωοτοκία καθώς και τα διάφορα στάδια της απορρόφησης των ωοκυττάρων (ατρησία) τα οποία παραμένουν μετά την λήξη της αναπαραγωγικής περιόδου. Προκειμένου να μελετηθεί ιστολογικά η πορεία ανάπτυξης της ωοθήκης και της ωρίμανσης των ωοκυττάρων, ολόκληρη η γονάδα εγκλείστηκε σε κύβους παραφίνης. Στη συνέχεια με τη βοήθεια περιστροφικού μικροτόμου κόπηκαν τομές πάχους 3 - 4 μ οι οποίες επιστρώθηκαν σε αντικειμενοφόρους πλάκες. Μετά από μια σειρά διεργασιών

οι τομές χρωματίστηκαν με τη μέθοδο Αιματοξυλίνης - Ηωσίνης (H&E). Με αυτή τη μέθοδο χρωματίζονται κυανόμαυροι οι πυρήνες και κόκκινο το κυτταρόπλασμα.

3.2.1 Επεξεργασία γονάδας - Τεχνική μικροσκοπικών ιστολογικών παρασκευασμάτων

Σκοπός της όλης διαδικασίας είναι η προετοιμασία ιστολογικών τομών αρκετά λεπτών, ώστε να διατηρείται κατά το δυνατόν η φυσική δομή των ιστών που χρωματίζονται κατάλληλα, για να διακρίνονται σαφώς στη μικροσκοπική εξέταση. Τα στάδια που ακολουθήσαμε για την προετοιμασία των ιστολογικών τομών είναι τα εξής:

α) Η Μονιμοποίηση

β) Η Έγκλιση

γ) Η Χρώση

α) Η Μονιμοποίηση

Η μονιμοποίηση των ιστών έγινε για να εμποδιστεί η αποσύνθεση των ιστών, να σταθεροποιηθούν τα λευκώματα και διατηρηθεί η φυσική κατάσταση των ιστών. Η μονιμοποίηση έγινε με ουδέτερη φορμόλη η οποία παρασκευάζεται από 10% υδατικού διαλύματος, 40% αερίου φορμαλδεΐδης και 2% ανθρακικό νάτριο.

β) Η έγκλιση

Η έγκλιση των ιστών έγινε για την λήψη ικανοποιητικά λεπτών ιστών. Το συνηθέστερο χρησιμοποιούμενο μέσο έγκλισης των ιστών είναι η παραφίνη, η οποία έχει σταθερή μορφή στη συνήθη θερμοκρασία του περιβάλλοντος και λιώνει στους 56 - 58^o C, η οποία και χρησιμοποιήθηκε για τα ιστολογικά μας παρασκευάσματα. Έτσι, το υλικό τοποθετείται στην υγρή παραφίνη και με την στερεοποίηση του επέρχεται η έγκλιση του.

Πριν από την έγκλιση απαιτείται αφυδάτωση του ιστού γιατί η παραφίνη δεν αναμειγνύεται με το νερό. Η αφυδάτωση του ιστού έγινε σε μια σειρά αλκοολών διαφορετικής αυξανόμενης πυκνότητας από 70 - 100^o. Η αφυδάτωση έγινε σταδιακά για να εκλείψει ο κίνδυνος συρρίκνωσης του ιστού

(απαραίτητη προϋπόθεση για τέλεια και σωστή έγκλιση είναι η αφυδάτωση, γι' αυτό πρέπει συχνά να ελέγχεται η πυκνότητα των απόλυτων διαλυμάτων οينوπνεύματος). Μεταξύ της αφυδάτωσης και της έγκλισης παραφίνης παρεμβάλλεται το στάδιο της διαύγασης που αποσκοπεί στο να δώσει ημιδιαφανή όψη στον μέχρι τότε αδιαφανή ιστό. Η διαύγαση έγινε με ξυλόλη, η οποία είναι και ισχυρά πτητική ουσία. Η όλη διαδικασία της αφυδάτωσης, διαύγασης και παραφίνωσης έγινε σε αυτόματη ιστοκινέτα Citabel 1000 της Shandon. Τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν και ο χρόνος παραμονής σε καθένα από αυτά αναφέρονται κατωτέρω:

Αφυδάτωση με διάλυμα	50% Φορμόλη - 50% Οινόπνευμα	για	30'
Αφυδάτωση με διάλυμα	70 ⁰ Οινόπνευμα	για	60'
Αφυδάτωση με διάλυμα	80 ⁰ Οινόπνευμα	για	60'
Αφυδάτωση με διάλυμα	96 ⁰ Οινόπνευμα	για	60'
Αφυδάτωση με διάλυμα	96 ⁰ Οινόπνευμα	για	120'
Αφυδάτωση με διάλυμα	100 ⁰ Οινόπνευμα	για	60'
Αφυδάτωση με διάλυμα	100 ⁰ Οινόπνευμα	για	60'
Αφυδάτωση με διάλυμα	100 ⁰ Οινόπνευμα	για	120'
Διαύγαση	με Ξυλόλη	για	120'
Διαύγαση	με Ξυλόλη	για	120'
Παραφίνωση	με Παραφίνη	για	120'
Παραφίνωση	με Παραφίνη	για	180 - 240'

Με την παραμονή των ιστοτεμαχίων για περίπου 6 ώρες στην υγρή παραφίνη για σκλήρυνση, τοποθετήθηκαν σε ειδικά πλαστικά και μεταφέρθηκαν σε αυτόματο κλίβανο παροχής υγρής παραφίνης Histocenter 2 της Shandon και αφού περιεβλήθησαν από ρευστή παραφίνη εγκλείστηκαν σε στερεούς κύβους (μπλοκ) και στη συνέχεια αφήσαμε το μπλοκ να κρυώσει για να αφαιρέσουμε κατόπιν τον κύβο. Το ιστοτεμάχιο, μετά το μαρκάρισμα του, μεταφέρθηκε σε μικρότομο τύπου «Rotary - Minot M1R» της Shandon όπου και κόπηκαν λεπτές τομές πάχους 3-4μm και επιστρώθηκαν σε αντικειμενοφόρους πλάκες (η σωστή επίστρωση και η στέγνωση των πλακών είναι βασική προϋπόθεση για την χρώση των τομών).

γ) Η χρώση

Η χρώση των τομών έγινε με τη χρήση διαφόρων διαλυμάτων χρωστικών για τον εκλεκτικό χρωματισμό και δομών που μας ενδιαφέρουν. Επειδή οι περισσότερες από τις κοινές χρωστικές που χρησιμοποιήθηκαν είναι υδατικά διαλύματα και επομένως χρειάζεται ενυδάτωση του αφυδατούμενου ιστού πριν από την χρώση, οι τομές μας ακολούθησαν μια σειρά διεργασιών όπως η αποπαραφίνωση, ενυδάτωση - κατιούσα (i) και μετά την χρώση μια άλλη σειρά διεργασιών όπως η αποπαραφίνωση, ενυδάτωση - ανιούσα, διαύγαση και κάλυψη των τομών (ii).

i) Αποπαραφίνωση, Ενυδάτωση - Κατιούσα

Η αποπαραφίνωση των ιστών έγινε για να διαλυθεί η παραφίνη με ξυλόλη και η ενυδάτωση έγινε με μια σειρά οινόπνευμάτων στην οποία ο βαθμός του οινόπνευματος μειώνεται σταδιακά και γι' αυτό λέγεται κατιούσα. Η διαδικασία αποπαραφίνωσης και ενυδάτωσης είναι:

Ξυλόλη	για	15'
Ξυλόλη	για	15'
Οινόπνευμα 96°	για	1'
Οινόπνευμα 80°	για	1'
Οινόπνευμα 70°	για	1'
Οινόπνευμα 80°	για	1'
Νερό βρύσης	για	1'

ii) Διαφοροποίηση, Αφυδάτωση - Ανιούσα, Διαύγαση, Κάλυψη

Το στάδιο της διαφοροποίησης περιλαμβάνει την αφαίρεση της περίσσειας της χρωστικής με ένα υγρό το οποίο λέγεται «Διαφοροποιητικό». Η διαφοροποίηση για όλες τις χρώσεις έγινε με οξυνισμένο οινόπνευμα (διάλυμα αποτελούμενο από 1ml HCl σε 100ml οινόπνευματος 70°). Η αφυδάτωση των τομών έγινε όπως και για την έγκλιση των ιστοτεμαχίων σε παραφίνη σε μια «ανιούσα» σειρά οινόπνευμάτων ως εξής:

Οινόπνευμα	70 ⁰	για	1΄
Οινόπνευμα	80 ⁰	για	1΄
Οινόπνευμα	96 ⁰	για	1΄
Οινόπνευμα	96 ⁰	για	1΄
Οινόπνευμα	100 ⁰	για	2΄
Οινόπνευμα	100 ⁰	για	2΄

Η διαύγαση των τομών έγινε και πάλι με ξυλόλη ως εξής:

Ξυλόλη	για	2΄
Ξύλολη	για	5΄

Πρέπει να σημειωθεί, ότι, εάν η αφυδάτωση των τομών δεν γίνει πολύ καλά τότε στο μικροσκόπιο οι τομές εμφανίζονται θολές. Μετά την διαύγαση οι τομές επάνω στις αντικειμενοφόρους πλάκες καλύφθηκαν με καλυπτρίδα, έτοιμες πλέον για παρατήρηση στο μικροσκόπιο.

Αναλυτικότερα, για τη χρώση με την μέθοδο Αιματοξυλίνης - Ηωσίνης, ισχύουν τα εξής:

Με τη χρώση αυτή, η οποία είναι και η πιο συνηθισμένη, πετύχαμε να χρωματίσουμε κυανόμαυρους τους πυρήνες των κυττάρων και κόκκινο το κυτταρόπλασμα.

Στις χρωστικές ουσίες και διαλύματα που χρησιμοποιήσαμε ανήκει η αιματοξυλίνη Harris και η ηωσίνη.

Η Αιματοξυλίνη Harris παρασκευάζεται ως εξής:

Αιματοξυλίνη	5gr
Απόλυτο οινόπνευμα	50gr
Στυπτηρία αμμωνίας ή καλίου	100gr
Απεσταγμένο νερό	1000ml
Οξείδιο υδραργύρου	2,5gr
Οξικό οξύ (προαιρετικά)	20ml

Έτσι, διαλύσαμε την αιματοξυλίνη στο οινόπνευμα με θέρμανση, καθώς και τη στυπτηρία σε απεσταγμένο νερό (με θέρμανση). Στη συνέχεια αναμίξαμε τα δύο διαλύματα. Το νέο διάλυμα θερμάνθηκε μέχρι του σημείου

βρασμού ανακινούμενο. Μετά, έπαυσε η θέρμανση και προστέθηκε σιγά και προσεκτικά το οξειδίο του υδραργύρου. Το διάλυμα ξαναθερμάνθηκε μέχρις ότου πάρει βαθύ ιώδες χρώμα. Αμέσως η φιάλη τοποθετήθηκε σε κρύο νερό ώστε να κρυώσει απότομα. Προστέθηκε οξικό οξύ, ώστε να δωθεί καλύτερο χρώμα στους πυρήνες.

Η αιματοξυλίνη είναι έτοιμη για χρώση μόλις κρυώσει, αλλά πριν την χρήση της απαιτείται διήθηση.

Η ηωσίνη χρησιμοποιείται σαν οينوπνευματικό διάλυμα 1% γιατί έχει καλύτερη απόδοση και παρασκευάζεται ως εξής:

α. 1% αλκοολική ηωσίνη (στοκ):

Ηωσίνη	5gr
Απεσταγμένο νερό	100ml
Οινόπνευμα 96°	400ml

β. Διάλυμα για χρώση:

Διάλυμα στοκ	1 μέρος
Οινόπνευμα 80°	3 μέρη

Πριν από την χρώση προστίθενται 0,5ml οξικού οξέος για κάθε 100ml διαλύματος.

Η τεχνική της χρώσης με τη μέθοδο Αιματοξυλίνης - Ηωσίνης γίνεται ως εξής:

α. Αποπαραφίνωση - Κατιούσα.

β. Αιματοξυλίνη για 10 -15'.

γ. Απόπλυση σε νερό βρύση μέχρις ότου οι τομές πάρουν βαθύ κυανούν χρώμα.

δ. Διαφοροποίηση.

ε. Απόπλυση σε νερό βρύσης (δυο αλλαγές) μέχρις ότου οι τομές ξαναγίνουν κυανές.

στ. Ηωσίνη. Αρκούν 5 - 6 εμβαπτίσεις.

ζ. Απόπλυση γρήγορη σε νερό βρύσης.

η. Αφυδάτωση - Διαύγηση - Κάλυψη τομών.

3.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.3.1 Ανάπτυξη των ωοκυττάρων - ωοτοκία

Οι ιστολογικές τομές των γονάδων μελετήθηκαν κάτω από στερεοσκόπιο και μικροσκόπιο, η μέτρηση της διαμέτρου των ωοκυττάρων έγινε με μικρομετρική κλίμακα σε αυτά μόνο που η τομή περνούσε απ' το πυρήνα τους (και ως διάμετρος λαμβανόταν η μεγαλύτερη διάσταση).

Η ανάπτυξη των ωοκυττάρων αρχίζει από το Φθινόπωρο, πολύ πριν την έναρξη της αναπαραγωγικής περιόδου, όπου αρχίζουν να διακρίνονται μεταβολές στα ωοκύτταρα. Το Νοέμβριο η ωοθήκη είναι ανώριμη και σε αυτή κυριαρχούν μάζες στρογγυλών και πολυγωνικών ωοκυττάρων με κεντρικό βασαιόφικο πυρήνα και αρκετή ποσότητα κυτταροπλάσματος γύρω του. Σε περιορισμένο αριθμό ωοκυττάρων παρατηρήθηκαν λεκιθικά κυστίδια στη περιφέρεια του κυτταροπλάσματος. Η αναλογία της διαμέτρου του πυρήνα προς αυτή του ωοκυττάρου είναι περίπου 50%, ενώ η μέση διάμετρος των ωοκυττάρων είναι 0,4mm. Επίσης παρατηρήθηκε η παρουσία μικρού αριθμού ωοκυττάρων τα οποία βρισκόταν σε προχωρημένο στάδιο απορρόφησης. Πρόκειται για άτρητα ωοκύτταρα που απέμειναν από την προηγούμενη αναπαραγωγική περίοδο. Κατά τη διαδικασία της απορρόφησης, πρώτα αποικοδομείται ο πυρήνας, στη συνέχεια το ωοκύτταρο διακρίνεται σαν ομογενής κοκκώδης μάζα και τέλος απορροφάται, αφήνοντας το κενό ωοθυλάκιο.

Τον Ιανουάριο τα ωοκύτταρα έχουν αυξηθεί αρκετά, σε αυτά παρατηρείται μεγάλος αριθμός κυστιδίων λεκίθου, τα οποία αρχικά διακρίνονται στη περιφέρεια του κυτταροπλάσματος και στη συνέχεια καθώς το ωοκύτταρο μεγαλώνει αυξάνονται σε αριθμό και μέγεθος, μετακινούμενα προς το πυρήνα. Σε αρκετά ωοκύτταρα διακρίνεται η ακτινωτή ζώνη. Τα κυστίδια της λεκίθου τα οποία στις ιστολογικές τομές δεν χρωματίζονται με τη χρώση της αιματοξυλίνης - ηωσίνης, αποτελούνται από τη λεκιθογενίνη η οποία δημιουργείται στο συκώτι και μεταφέρεται στην εξωτερική μεμβράνη των ωοκυττάρων με την κυκλοφορία του αίματος και στη συνέχεια εισέρχεται στο εσωτερικό των ωοκυττάρων με το φαινόμενο της μικροπινοκύττωσης δημιουργώντας κατ' αυτό το τρόπο τα πρώιμα λεκιθικά κυστίδια, τα οποία στη συνέχεια θα σχηματίσουν τα τελικά κυστίδια της λεκίθου.

Το Φεβρουάριο παρατηρείται σημαντική αύξηση του μεγέθους των ωοκυττάρων που είναι αποτέλεσμα της απόθεσης λεκίθου. Αρχικά τα κυστίδια της λεκίθου είναι διάσπαρτα μέσα στα ωοκύτταρα ενώ στη συνέχεια συγχωνεύονται ως ότου η λεκίθος καλύψει το μεγαλύτερο μέρος του ωοκυττάρου και η διαδικασία αυτή συνοδεύεται με μετατόπιση του πυρήνα προς τη περιφέρεια. Τέλος, παρατηρείται είσοδος νερού στο ωοκύτταρο, που έχει σαν αποτέλεσμα το περιορισμό του κυτταροπλάσματος στην περιφέρεια του ωοκυττάρου. Σε αυτό το στάδιο τα ωοκύτταρα είναι αδιαφανή και είναι στενά συνδεδεμένα με τους ιστούς της ωοθήκης. Αποτέλεσμα της συσσώρευσης λεκίθου στα ωοκύτταρα και της αύξησης του μεγέθους τους είναι η αύξηση του βάρους της ωοθήκης.

Τον Απρίλιο διακρίνεται μια σημαντική ανάπτυξη του μεγέθους των ωοκυττάρων, αρκετά από τα οποία είναι γεμάτα με λεκίθο, πλήρως ώριμα, διαφανή, υποκίτρινου χρώματος με ένα ή δυο σταγονίδια ελαίου κοντά στη λεκίθο, περιβάλλονται από σκληρή ανθεκτική εξωτερική μεμβράνη, είναι εντελώς στρογγυλά, έτοιμα για να εξέλθουν. Τα διάσπαρτα σταγονίδια ελαίου που διακρίνονταν στο προηγούμενο στάδιο ανάπτυξης κοντά στο πυρήνα του ωοκυττάρου, συγχωνεύονται σε ένα ή δυο μεγάλα.

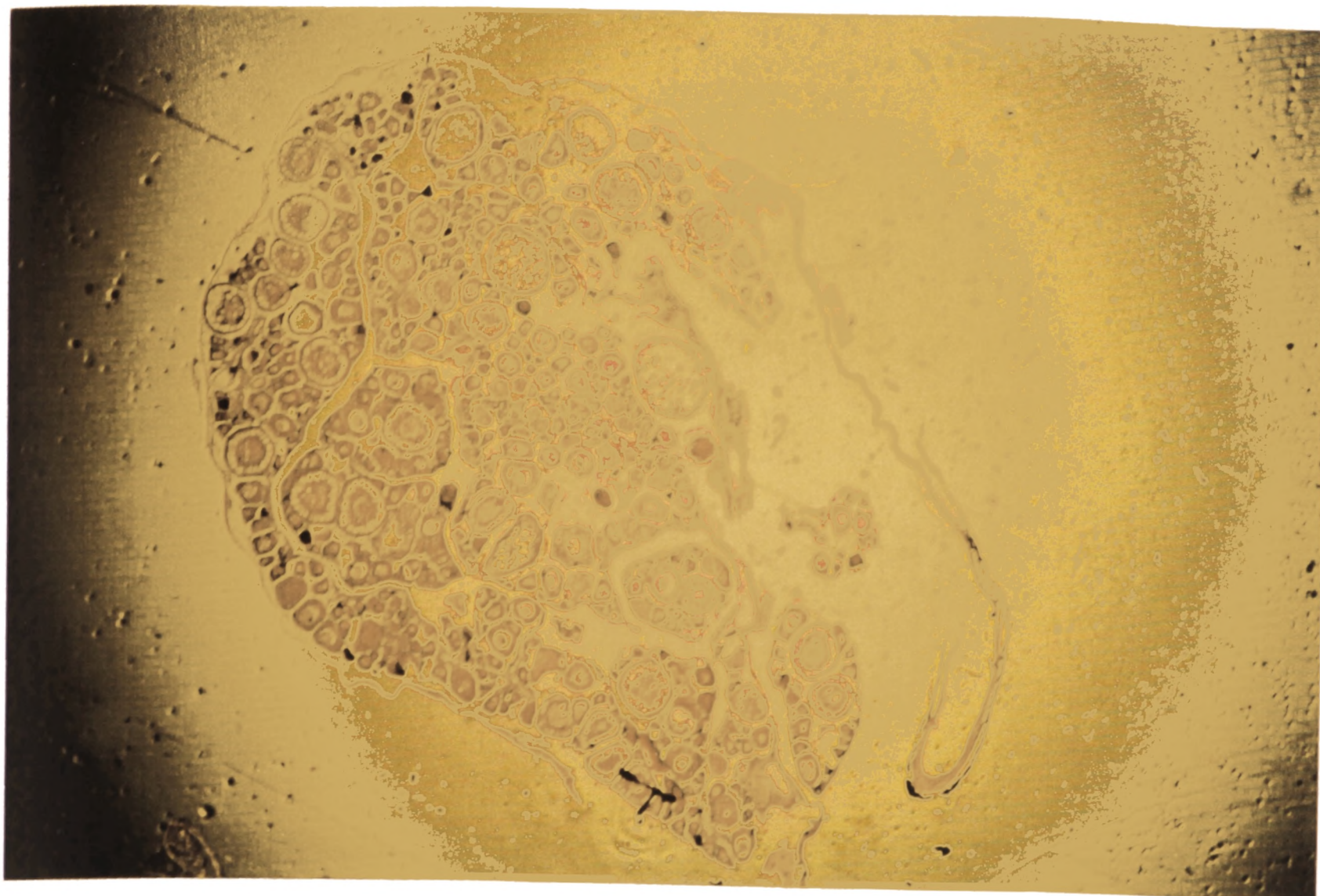
3.3.2. Αναπαραγωγική συχνότητα

Η αναπαραγωγή του *Aphanius fasciatus* αρχίζει στα μέσα της άνοιξης και διαρκεί ως τα μέσα του καλοκαιριού. Στα ψάρια των οποίων η αναπαραγωγή είναι συνεχής είναι σημαντικό να προσδιοριστούν ο αριθμός των αυγών που γεννιούνται κατά παρτίδα καθώς και η συχνότητα των γεννήσεων (αναπαραγωγική συχνότητα). Οι διάφορες τεχνικές που έχουν αναπτυχθεί για τον υπολογισμό της αναπαραγωγικής συχνότητας στηρίζονται στην καταμέτρηση των ενυδατωμένων ωοκυττάρων ή στη μελέτη των ιστολογικών τομών των ωοθηκών λίγο πριν την απελευθέρωση μιας παρτίδας αυγών. Μετρώντας το ποσοστό των ενυδατωμένων ωοκυττάρων που υπάρχουν στην ωοθήκη και γνωρίζοντας το χρόνο που απαιτείται ώστε ένα ενυδατωμένο ωοκύτταρο να απελευθερωθεί στο περιβάλλον, υπολογίζεται η αναπαραγωγική συχνότητα. Για τον υπολογισμό της αναπαραγωγικής συχνότητας του *Aphanius fasciatus* οι ιστολογικές τομές και οι μακροσκοπικές παρατηρήσεις στις

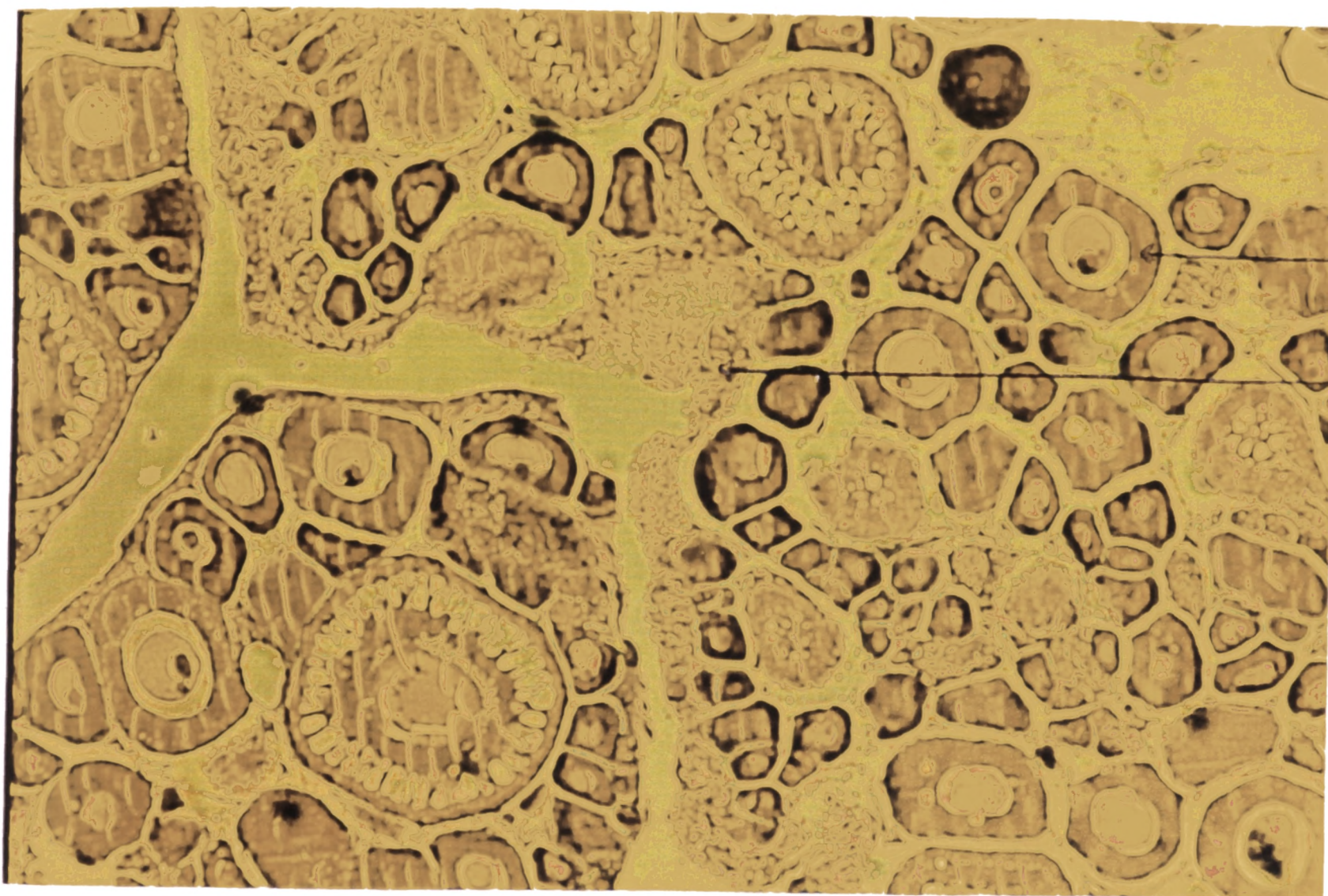
ωοθήκες των γεννητικά ώριμων θηλυκών ατόμων κατά τη περίοδο της αναπαραγωγής έδειξαν ότι τα ενυδατωμένα, έτοιμα για απομάκρυνση στο περιβάλλον ωοκύτταρα ήταν λιγότερα του 5% του συνόλου των ωοκυττάρων της ωοθήκης. Επιπλέον το μικρό ποσοστό ενυδατωμένων ωοκυττάρων στις ωοθήκες της ζαμπαρέλας δείχνει ότι η διαδικασία της ενυδάτωσης είναι σύντομη. Δείγμα αυγών που συλλέχτηκαν από τα πεδία αναπαραγωγής της ζαμπαρέλας έδειξαν ότι αυτά βρίσκονται σε διάφορα στάδια ανάπτυξης και δεδομένου ότι η επώαση των αυγών της ζαμπαρέλας διαρκεί περίπου 5 ημέρες, φαίνεται ότι τα αυγά δεν απελευθερώνονται κατά μεγάλες παρτίδες αλλά κάθε φορά μικρός αριθμός ωοκυττάρων ωριμάζουν και απελευθερώνονται στο περιβάλλον. Επιπλέον, σε θηλυκά άτομα που συλλέχτηκαν στα αναπαραγωγικά πεδία της ζαμπαρέλας κατά την περίοδο της αναπαραγωγής μετά από ελαφρά πίεση στην κοιλιακή περιοχή εξέρχονται από κάθε θηλυκό 4 έως 5 ενυδατωμένα αυγά.

3.3.3 Φωτογραφίες ιστολογικών τομών

Παρακάτω παρουσιάζονται οι ιστολογικές τομές των γονάδων της ζαμπαρέλας από όλα τα στάδια ανάπτυξης.



A

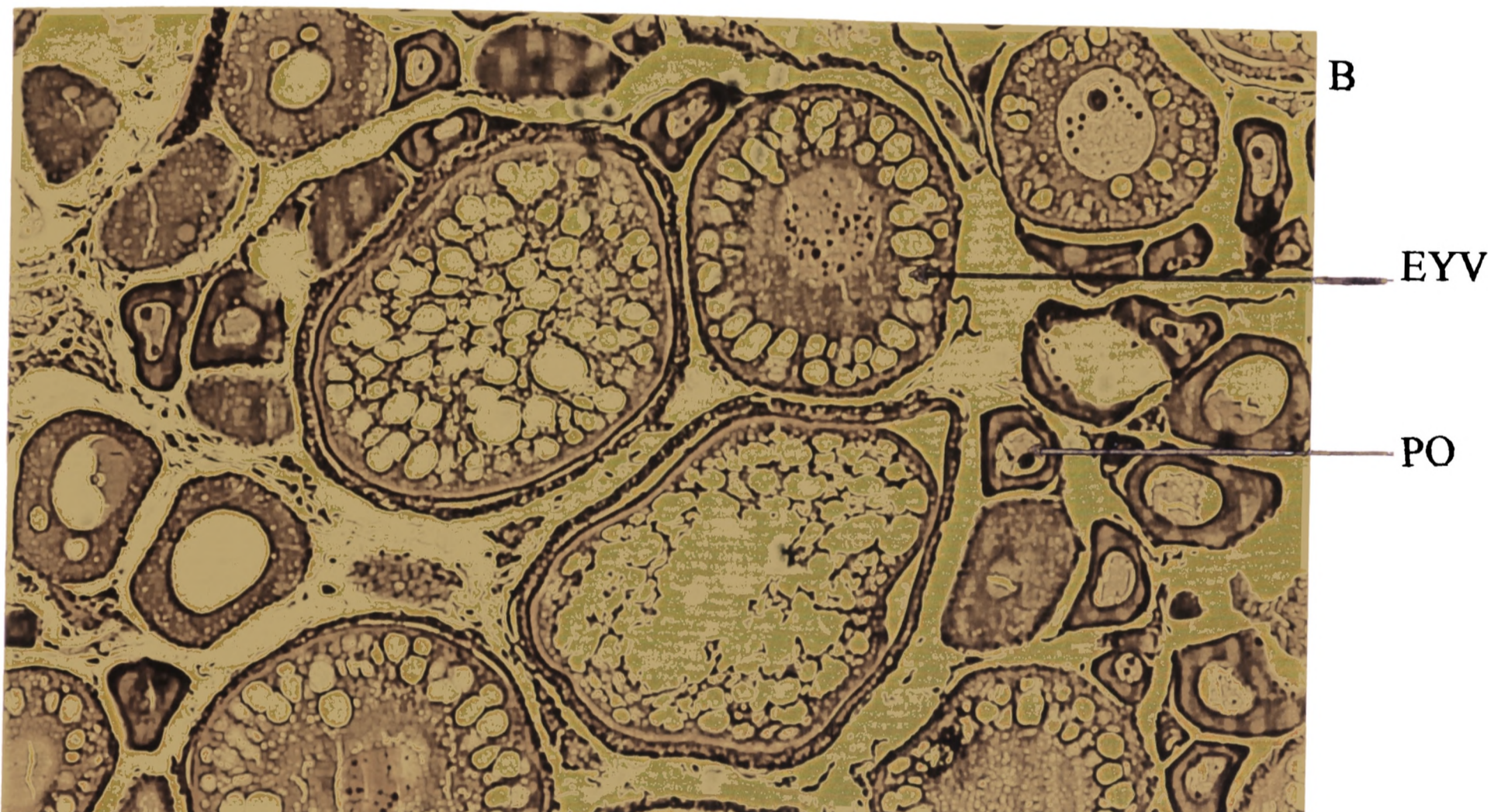
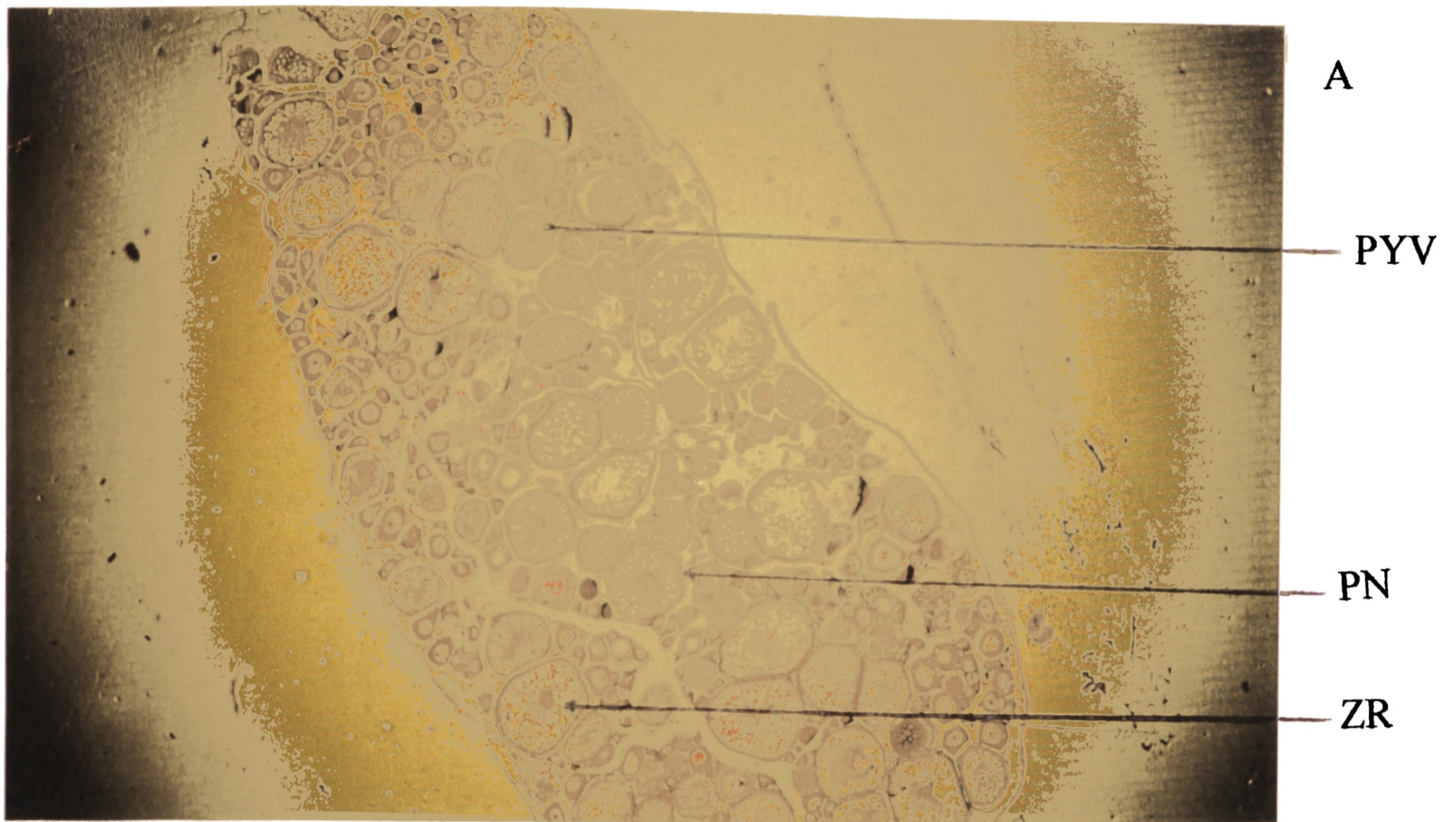


B

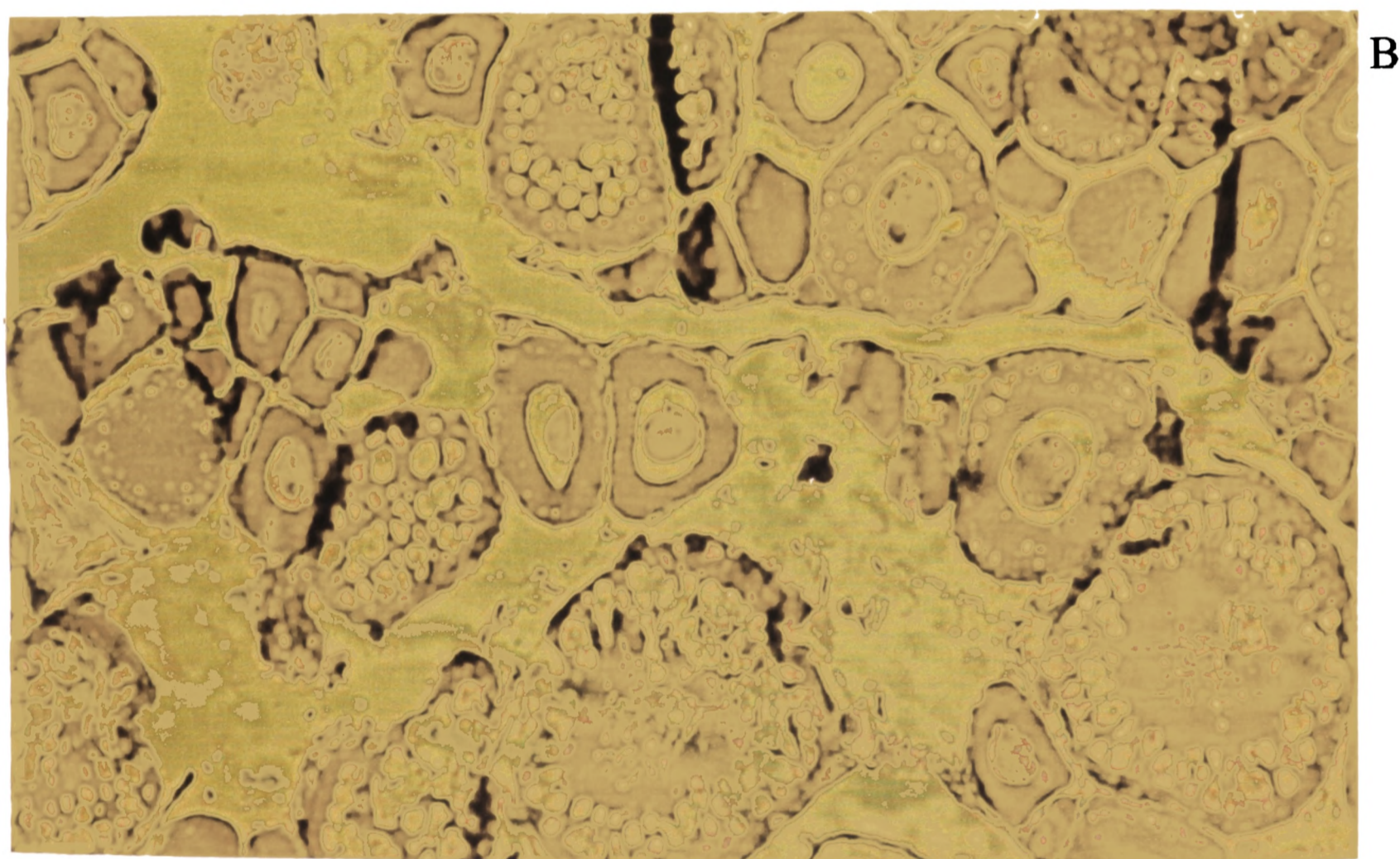
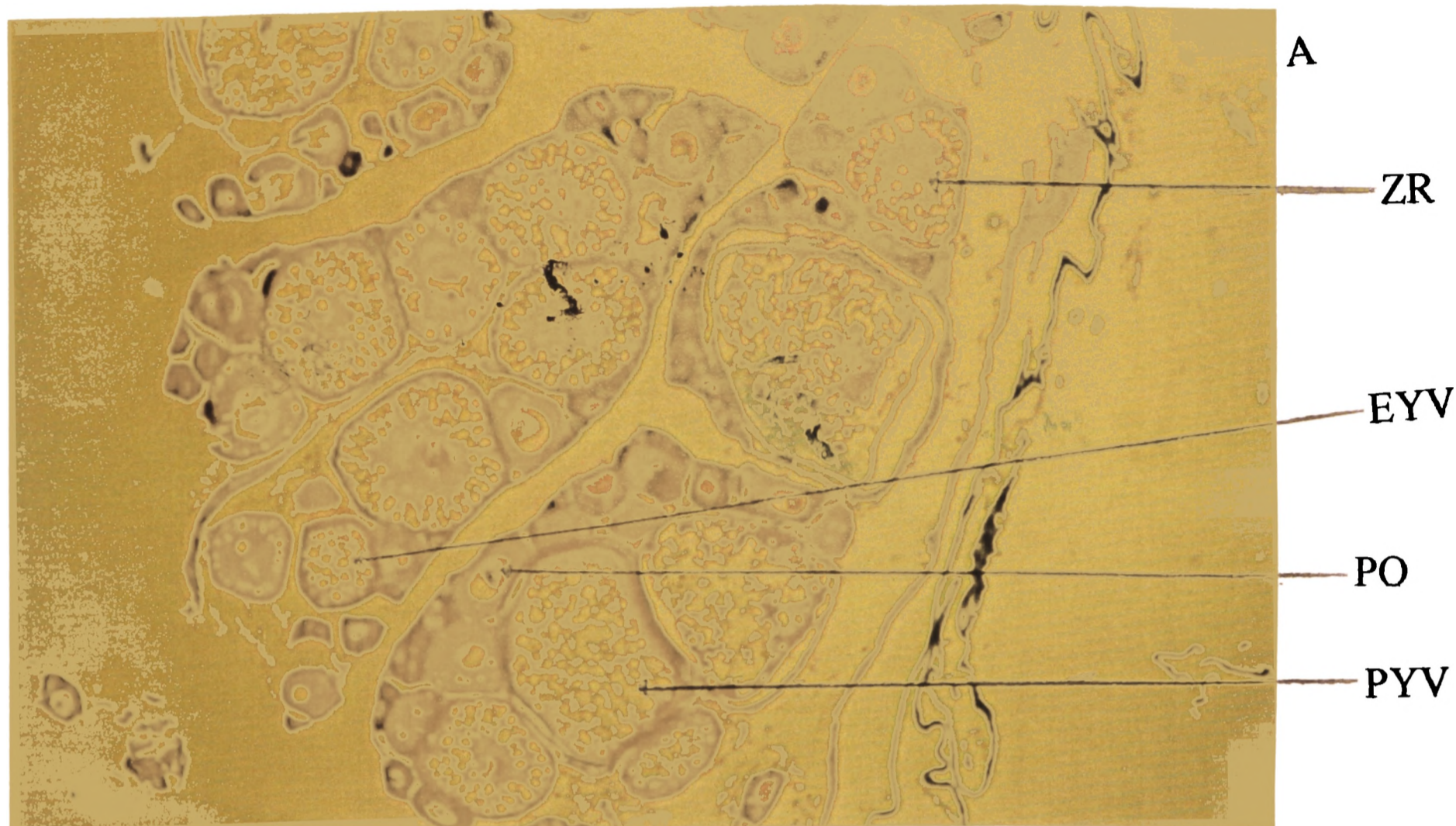
PO

RO

Ιστολογική δομή της ωοθήκης του *Arhanius fasciatus* το μήνα Νοέμβριο. Τα ωοκύτταρα βρίσκονται στην πρωτογενή φάση ανάπτυξης (PO), είναι μικρά, σφαιρικά με κεντρικό πυρήνα και σημαντική ποσότητα κυτταροπλάσματος. Διακρίνονται ωοκύτταρα στο στάδιο της απορρόφησης (RO). (A : X4, B : X10)

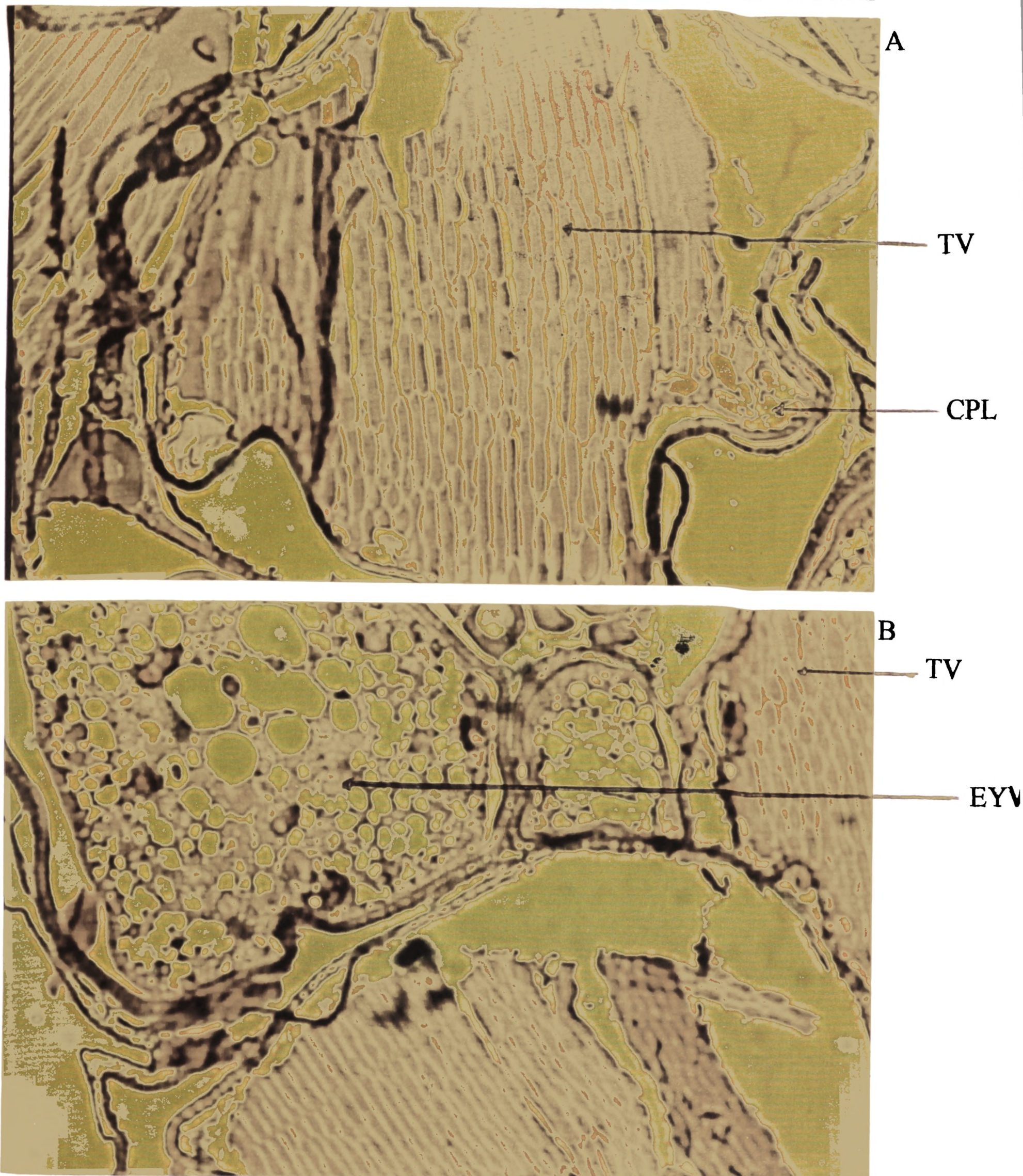


Ιστολογική δομή της ωοθήκης του *Arhanius fasciatus* το μήνα Ιανουάριο. Φαίνονται αρκετά ωοκύτταρα στη δευτερογενή φάση ανάπτυξης (EYV), καθώς και σε προχωρημένα στάδια της δευτερογενούς φάσης ανάπτυξης (PYV), κύστεις λεκίθου διακρίνονται στην περιφέρεια του ωοκυττάρου, ενώ σε μερικά οι κύστεις κατευθύνονται προς το κέντρο. Σε μερικά ωοκύτταρα έχει σχηματιστεί η ακτινωτή ζώνη (ZR), ενώ διακρίνονται αρκετά στην πρωτογενή φάση ανάπτυξης (PO), περιπυρηνική διάταξη των λεκιθικών κυστιδίων (PN). (A : X2, β : X10)



Ιστολογική δομή της ωοθήκης του *Arhania fasciatus* το μήνα Φεβρουάριο. Το μέγεθος των ωοκυττάρων έχει αυξηθεί. Διακρίνονται αρκετά ωοκύτταρα που είναι στη δευτερογενή φάση ανάπτυξης (PYV), μικρότερου μεγέθους (EYV) και αρκετά που βρίσκονται στην πρωτογενή φάση ανάπτυξης (PO), σε λίγα ανεπτυγμένα ωοκύτταρα φαίνεται ο σχηματισμός της ακτινωτής ζώνης (ZR).

(A : X4, B : X10)



Ιστολογική δομή της ωοθήκης του *Arhanius fasciatus* το μήνα Απρίλιο. Αρκετά ωοκύτταρα είναι γεμάτα από λέκιθο περιβαλλόμενα από σκληρή μεμβράνη, έτοιμα να απομακρυνθούν στο περιβάλλον (TV), διακρίνονται ωοκύτταρα από τα προηγούμενα στάδια ανάπτυξης (EYV), στα ώριμα ωοκύτταρα το κυτταρόπλασμα έχει περιοριστεί στην περιφέρεια του (CPL). (A : X10, β : X10)

3.3.4 ΩΟΓΕΝΕΣΗ

Έγιναν τομές σε 11 γονάδες του *A. fasciatus*. Μελετήθηκε η διαδικασία της ωογένεσης, η οποία χαρακτηρίζεται από δυο φάσεις, την πρωτογενή και τη δευτερογενή αυξητική φάση. Η πρωτογενής αυξητική φάση είναι ανεξάρτητη από τη λειτουργία της ορμόνης γοναδοτροπίνη και έχει σχέση με μεταβολές του πυρήνα. Κατά τη δευτερογενή φάση και με τη λειτουργία της γοναδοτροπίνης αρχίζει και ολοκληρώνεται η εναπόθεση της λεκιθογενίνης στο κύτταρο.

3.3.4.1 Πρωτογενής αυξητική φάση

α) Ωογόνια

Τα ωογόνια παρουσιάζονται ως μικρά στρογγυλά κύτταρα διαμέτρου 10-20 μ έντονα βασοφιλικά με ομοιογενή υφή χωρίς εμφανείς πυρήνες.

β) Χρωματινικό στάδιο

Ωοκύτταρα διαμέτρου 20-30 μ με μεγάλο στρογγυλό πυρήνα λιγότερο βασοφιλικό από το περιβάλλον κυτόπλασμα. Η αναλογία της διαμέτρου του πυρήνα προς αυτή του κυτοπλάσματος, η οποία από δω και στο εξής θα συμβολίζεται ως N/C, είναι περίπου ίση με 80%. Δηλαδή γύρω από τον πυρήνα το κυτόπλασμα φαίνεται ως μια λεπτή κυτοπλασματική ζώνη. Φαίνονται στον πυρήνα ως 3 έντονα βασοφιλικοί πυρηνίσκοι.

γ) Περιπυρηνικό στάδιο

Η ωοθήκη οργανώνεται σε εγκάρσια, προς το τοίχωμά της, ωοφόρα ελάσματα κατευθυνόμενα προς το κέντρο της. Στην επιφάνεια των ελασμάτων παρουσιάζονται πολυγωνικά ωοκύτταρα έως 60 μ, στα οποία η τιμή N/C μειώνεται στο 60% (αν και απόλυτα μεγαλώνει και η διάμετρος του πυρήνα), ενώ στον πυρήνα οι πυρηνίσκοι, περιφερειακοί πλέον, γίνονται 8-12. Το κυτόπλασμα παραμένει έντονα βασοφιλικό. Το πλέγμα των χρωμοσωμάτων αρχίζει να φαίνεται, όπως και το φολιδωτό πλέγμα των επιθηλιακών κυττάρων (πρώιμο περιπυρηνικό στάδιο).

Στη συνέχεια και ενώ το ωοκύτταρο μεγαλώνει (ως 150 μ) αρχίζει να χάνει το πολυγωνικό του σχήμα, η τιμή N/C μειώνεται ως 50%, το κυτόπλασμα βάφεται ελαφρώς ασθενέστερα και οι πυρηνίσκοι γίνονται περισσότεροι, έως 16, πράγμα το οποίο αποδεικνύει την ενίσχυση των ριβοσωμικών γονιδίων.

Κατά τη διάρκεια της πρωτογενούς αυξητικής φάσης συγκεντρώνεται βασοφιλικό υλικό στο περιπυρηνικό κυτόπλασμα, το οποίο αποδείχτηκε ότι αποτελείται από ριβονουκλεοπρωτεΐνες. Στη συνέχεια κάνουν την εμφάνισή τους λιγότερο βασοφιλικά οργανίδια, τα οποία κατά καιρούς έχουν ονομαστεί πυρήνες λεκίθου ή σωματίδια του Balbiani. Αυτά τα οργανίδια δεν είναι άλλο από συγκεντρώσεις μιτοχονδρίων, σωματίων του Golgi ή λιπιδίων σταγονιδίων, τα οποία πιθανόν να έχουν σχέση με συγκέντρωση υλικού που απαιτείται για το σχηματισμό της λεκίθου. Όλοι αυτοί οι σχηματισμοί στις ιστολογικές τομές του *A.fasciatus* φαίνονται στο οπτικό μικροσκόπιο ως αχρωματικοί σωλήνες. Στο τέλος του σταδίου αυτού (όψιμο περιπυρηνικό), το πλέγμα των χρωμοσωμάτων είναι πολύ έντονο. Το περιπυρηνικό στάδιο είναι το στάδιο που χαρακτηρίζει τα κύτταρα εφησυχασμού. Τα χρωμοσώματα των ωοκυττάρων αυτού του σταδίου διακόπτουν τη μειωτική διαίρεση στο στάδιο της πρόφασης.

3.3.4.2 Δευτερογενής αυξητική φάση

Σ' αυτή τη φάση και με την επίδραση ορμονικών και περιβαλλοντικών ερεθισμάτων ένας αριθμός πρωτογενών ωοκυττάρων εισέρχεται στον κύκλο της λεκιθογένεσης, όπου θ' αρχίσει και θα ολοκληρωθεί η εναπόθεση της λεκιθογενίνης στα ωοκύτταρα, ο μετασχηματισμός της σε λέκιθο, ενώ στη συνέχεια θα ακολουθήσει η φάση της ωρίμανσης και η ενυδάτωση μέχρι την πλήρη απελευθέρωση των ωοκυττάρων στο περιβάλλον. Ανάλογα με το αν η λέκιθος σχηματίζεται ενδογενώς ή εξωγενώς, η φάση αυτή χωρίζεται στην ενδογενή και εξωγενή λεκιθογένεση.

α) Ενδογενής λεκιθογένεση

Η φάση αυτή χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση λιπιδικών «λεκιθικών» σταγονιδίων, τα οποία δε χρωματίζονται από τη χρώση H+E. Υπάρχουν διάφορες αναφορές σχετικά με τη σύσταση και το ρόλο αυτών των λιπιδικών

σταγονιδίων. Πιστεύεται ότι αυτά τα σταγονίδια συνίστανται από γλυκοπρωτεΐνες και πιθανόν να αποτελούν τον πρόδρομο των πρωτεϊνικών σχηματισμών του κυτοπλασματικού φλοιού, οι οποίοι κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης θα απελευθερώσουν το γλυκοπρωτεϊνικό υλικό τους στον ελεύθερο περιλεκιθικό χώρο. Έχει αποδειχθεί, όμως, ιστοχημικά, ότι αποτελούνται από ακόρεστα λιπίδια και ότι οι σχηματισμοί «cortical alveoli» είναι πράγματι σύμπλεγμα πολυσακχαριτών, αλλά παρουσιάζονται αργότερα κατά την εξωγενή λεκιθογένεση.

Με την αυστηρή, λοιπόν, έννοια καθορισμού της λεκίθου, αυτοί οι σχηματισμοί δεν μπορούν να χαρακτηριστούν ως λέκιθος, γιατί η λέκιθος των ωοκυττάρων είναι ο δευτερογενής σχηματισμός της πρόδρομης πρωτεΐνης λεκιθογενίνης, η οποία εισέρχεται στο ωοκύτταρο και μεταφέρεται από το συκώτι μέσω του αίματος. Η λέκιθος αποτελείται από φώσφορο, λιπίδια, σάκχαρα, ασβέστιο και σίδηρο. Τελικά, χωρίς να αποκλείεται ότι ένα μέρος της λεκίθου να σχηματίζεται ενδογενώς, ο χρόνος εμφάνισης των διάφορων σχηματισμών εξαρτάται από το είδος που μελετάται.

Στις ωοθήκες του *A.fasciatus* τα λιπιδικά σταγονίδια εμφανίζονται περιφερειακά του κυτοπλάσματος ή περιπυρηνικά. Τα ωοκύτταρα μεγαλώνουν και φτάνουν τα 250 μ, ενώ τα σταγονίδια πολλαπλασιάζονται καλύπτοντας όλο το κυτόπλασμα. Το επιθήλιο είναι πια χαρακτηριστικό αποτελούμενο από δυο στοιβάδες κυττάρων, την εσωτερική, με αραιά βελονόμορφα κύτταρα που έχουν μεγάλο πυρήνα, καλούμενα από δω και στο εξής κοκκιομόρφα κύτταρα, και την εξωτερική, αποτελούμενη από μακρόστενα κύτταρα, καλούμενα, από δω και στο εξής, κύτταρα θήκης. Μεταξύ των κυττάρων της θήκης παρεμβάλλονται τα τριχοειδή αγγεία.

Στις ιστολογικές τομές του *A.fasciatus* παρατηρήθηκε η παρακάτω ανάπτυξη και διάταξη των λιπιδικών σταγονιδίων, ξεκινώντας πάντα από μέγεθος ωοκυττάρου 150μ :

1^{ος} τρόπος

Τα λιπιδικά σταγονίδια παρουσιάζονται αρχικά στην περιφέρεια του κυτοπλάσματος. Στη συνέχεια, μερικά από αυτά, ενώ αυξάνονται σε μέγεθος και αριθμό, κινούνται προς τον πυρήνα. Ο πυρήνας γύρω στα 100 μ χάνει το στρογγυλό του σχήμα και γίνεται ωοειδής. Στο τέλος αυτής της φάσης και πριν αρχίσει η εξωγενής λεκιθογένεση τα λιπιδικά σταγονίδια είναι διατεταγμένα

σε δυο ζώνες δίκην στεφάνων, η μια γύρω από τον πυρήνα και η άλλη περιφερειακά. Το ωοκύτταρο έχει φτάσει τα 220 μ και η τιμή της N/C είναι περίπου ίση με 45%.

2^{ος} τρόπος

Τα λιπιδικά σταγονίδια εμφανίζονται περιφερειακά, όπου και περιορίζονται αρχικά, δημιουργώντας μια στεφάνη. Τότε αρχίζει αμυδρά η εξωγενής λεκιθογένεση (μικρά ηωσινικά κοκκία), η οποία θα περιγραφεί αναλυτικά στην επόμενη φάση, ενώ μεγάλα πια λιπιδικά σταγονίδια κινούνται προς την περιπυρηνική περιοχή.

3^{ος} τρόπος

Μεγάλα λιπιδικά σταγονίδια εμφανίζονται γύρω από τον πυρήνα. Στη συνέχεια τα περιπυρηνικά σταγονίδια μεγαλώνουν ακόμη περισσότερο, ενώ στην περιφέρεια παρουσιάζεται μια στεφάνη αποτελούμενη από αχρωματικούς σωλήνες και μικρά σταγονίδια. Στη στεφάνη αυτή, σε μέγεθος ωοκυττάρων 300 μ παρουσιάζονται τα πρώτα ηωσινικά κοκκία της εξωγενούς λεκιθογένεσης.

β) Εξωγενής λεκιθογένεση

Ήδη έχει αποδειχτεί με αυτοραδιογραφικές μελέτες ότι η λεκιθογενίνη μεταφέρεται από το συκώτι μέσα από το αίμα και συγκεντρώνεται εντός του ωοκύτου. Η είσοδος των λεκιθικών κοκκίων στο εσωτερικό του ωοξύτου γίνεται με το φαινόμενο της μικροπινοκύτωσης. Τα λεκιθικά ηωσινικά κοκκία αρχίζουν να εμφανίζονται περιφερειακά. Το μέγεθος του ωοκυττάρου κυμαίνεται από 250 ως 200 μ, ενώ το ωοκύτταρο έχει σαφή κυτταρική μεμβράνη και επιθήλιο. Καθώς το ωοκύτταρο μεγαλώνει, τα κοκκία πολλαπλασιάζονται και απλώνονται σ' όλο το κυτόπλασμα.

Όταν το ωοκύτταρο φτάσει τα 400 μ η κυτταρική μεμβράνη διακρίνεται σε εξωτερική λεπτή και βασοφιλική και εσωτερική λιγότερο βασοφιλική, αλλά πολύ φαρδύτερη. Ο πυρήνας έχει διάμετρο περίπου 130 μ (N/C περίπου ίση με 40%). Τα κοκκιόμορφα κύτταρα του επιθηλίου πολλαπλασιάζονται και από βελονόμορφα μετατρέπονται σε κυβόμορφα με μεγάλο ωοειδή πυρήνα. Τα λεκιθικά κοκκία μεγαλώνουν και καλούνται πλέον σφαιρίδια.

Σε μέγεθος ωοκυττάρου 450-500 μ η κυτταρική μεμβράνη έχει πάχος 10-15 μ και τιμή N/C είναι περίπου ίση με 30%. Είναι διακριτές πλέον οι εγκάρσιες γραμμώσεις της κυτταρικής μεμβράνης, στις οποίες οφείλεται η ακτινωτή

εμφάνισή της και το κοινώς αποδεκτό όνομά της ως ακτινωτή ζώνη. Οι ακτινωτές διατάξεις οφείλονται στην ύπαρξη μικρολαχνών, οι οποίες διεισδύουν από το κυτόπλασμα εντός των κοκκιομορφων κυττάρων, ενώ κυτοπλασματικές προεκτάσεις διεισδύουν από τα κοκκιομορφα κύτταρα εντός του κυτοπλάσματος, ώστε να επιτυγχάνεται η επικοινωνία.

Όταν το ωοκύτταρο φτάσει τα 600 μ έχει λεκιθικά σφαιρίδια μεγέθους 10-20 μ, τα οποία είναι διασκορπισμένα σ' όλο το κυτόπλασμα. Τα λιπιδικά σταγονίδια είτε είναι μικρά και διάσπαρτα, είτε μεγάλα και συγκεντρωμένα γύρω από τον πυρήνα. Ο πυρήνας, με μέγεθος περίπου 150 μ (N/C = 25%), βρίσκεται ακόμη στο κέντρο του ωοκυττάρου. Σ' αυτό το σημείο έχει ολοκληρωθεί η λεκιθογένεση και ακολουθεί η ωρίμανση με τελικό στάδιο την ενυδάτωση του ωοκυττάρου.

γ) Ωρίμανση

Από το μέγεθος περίπου των 600 μ το ωοκύτταρο αρχίζει τη διαδικασία της ωρίμανσης, η οποία είναι αποτέλεσμα ορμονικής λειτουργίας, για τη τελική του ενυδάτωση. Το στάδιο αυτό, όπως έχει ήδη αναφερθεί, κρατά ορισμένες ώρες.

Σε γενικές γραμμές, ωρίμανση του ωοκυττάρου σημαίνει συγχώνευση των λεκιθικών σφαιριδίων και μετατόπιση του πυρήνα προς το ζωικό πόλο. Αφού ο πυρήνας μετατοπιστεί, παρατηρείται αυθόρμητη είσοδος νερού στο ωόπλασμα με αποτέλεσμα την κατ' όγκο αύξηση του ωοκυττάρου και την επαναδραστηριοποίηση της μείωσης, η οποία είχε σταματήσει στο περιπυρηνικό στάδιο. Συγκεκριμένα, τα χρωμοσώματα διέρχονται τη δεύτερη μειωτική μετάφαση με αποτέλεσμα τη διάλυση του πυρήνα, η οποία συντελείται κοντά στο τοίχωμα της κυτταρικής μεμβράνης. Η είσοδος του νερού στο ωοκύτταρο έχει ως επιπλέον αποτέλεσμα την άσκηση, από τα μέσα, πίεσης της κυτταρικής μεμβράνης και των κυττάρων του επιθηλίου. Η δυναμική αυτή φάση προκαλεί το «τέντωμα» των κυττάρων του επιθηλίου και την εμφάνιση λεπτής ιώδους κυτταρικής μεμβράνης (χόριο), από την οποία λείπουν οι ακτινωτές διατάξεις. Τα κοκκιομορφα κύτταρα του επιθηλίου φαίνονται ως μακρά λεπτά τετράγωνα, ενώ τα κύτταρα της θήκης παρουσιάζονται στην τομή πολύ συρρικνωμένα. Ο ωόκυτος είναι πλέον έτοιμος να απελευθερωθεί στο περιβάλλον.

Στο *A. fasciatus* παρατηρήθηκαν οι εξής τρόποι ωρίμανσης:

1^{ος} τρόπος

Τα λεκιθικά σφαιρίδια συγχωνεύονται και δημιουργούν μικρές λεκιθικές πλάκες. Εφ' όσον περιβάλλουν τον πυρήνα λιπιδικά σταγονίδια, αυτά συνενώνονται και δημιουργούν μεγάλες ελαιοσταγόνες. Τότε αρχίζει η μετατόπιση του πυρήνα. Κατά τη μετατόπιση οι ελαιοσταγόνες συγκεντρώνονται στη μια πλευρά του πυρήνα αντίθετα προς τη διεύθυνση της μετατόπισης. Ο πυρήνας αρχίζει να διαλύεται, ενώ οι λεκιθικές πλάκες ενυδατώνονται.

2^{ος} τρόπος

Τα λιπιδικά σταγονίδια συνενώνονται και σχηματίζουν μεγάλες ελαιοσταγόνες 30-150 μ γύρω από τον πυρήνα. Αρχίζει ελαφρά μετατόπιση του πυρήνα συμπαρασύροντας και τις ελαιοσταγόνες, οι οποίες χαρακτηριστικά πάλι συγκεντρώνονται στο αντίθετο άκρο του. Εφ' όσον ο πυρήνας είναι έκκεντρος, τα λεκιθικά σφαιρίδια ενώνονται μεταξύ τους δημιουργώντας μεγάλες διαθλαστικές σφαίρες, ενώ αρχίζει η διάλυση του πυρήνα. Οι σφαίρες διατηρώντας την ακεραιότητα τους, πιθανόν όχι όλες, ενυδατώνονται σχηματίζοντας αρχικά ενυδατωμένες σφαίρες, οι οποίες στη συνέχεια παίρνουν το χαρακτηριστικό σχήμα των ενυδατωμένων πλακών. Από την έναρξη της ενυδάτωσης είναι χαρακτηριστική η κυματοειδής εμφάνιση της κυτταρικής μεμβράνης και η ελαφρά αποκόλληση του επιθηλίου.

Τέλος τα ενυδατωμένα ωοκύτταρα έχουν μέγεθος από 700 ως 1200 μ και είναι δυνατόν να αποτελούνται ή μόνο από ενυδατωμένες πλάκες ή και από άμορφο ενυδατωμένο ωόπλασμα με μια ή πολλές ελαιοσταγόνες. Η συνύπαρξη ολικώς λεκιθοφόρων ωοκυττάρων με ατρησιακά ενυδατωμένα ωοκύτταρα, τα οποία δηλώνουν πολύ πρόσφατη ωοτοκία, είναι μια πρώτη ένδειξη της πολλαπλής εναπόθεσης.

3.3.5 ΑΤΡΗΣΙΑ

3.3.5.1 Ατρησιακά στάδια

Με βάση ιστολογικά γνωρίσματα η ατρησία χωρίζεται σε τέσσερα στάδια, το άλφα (α), το βήτα (β), το γάμα (γ) και το δέλτα (δ). Στις ιστολογικές τομές των ωοθηκών του *A.fasciatus* παρατηρήθηκαν τρία ατρησιακά στάδια με τα εξής χαρακτηριστικά:

Άλφα (α)-στάδιο ατρησίας

Σ' αυτό το στάδιο το ωοκύτταρο, καλούμενο ατρησιακό ωοκύτταρο, απορροφάται αφήνοντας μόνο τα στρώματα του ωοθυλακίου. Στην αρχική φάση του σταδίου παρατηρείται αποικοδόμηση του πυρήνα, ο οποίος αλλάζει σχήμα, γίνεται κοκκώδης και παίρνει σκούρο βασοφιλικό χρώμα. Στην περίπτωση που υπάρχουν λεκιθικά σφαιρίδια, αυτά παίρνουν ακανόνιστο σχήμα, αρχίζοντας την αποικοδόμησή τους. Στη συνέχεια ρευστοποιούνται, χάνουν δηλαδή τη δομική τους ακεραιότητα και παρουσιάζονται ως ομογενοποιημένη ηωσινοφιλική περιοχή. Η κυτταρική μεμβράνη τεμαχίζεται και χάνει τη χαρακτηριστική της ζώνωση. Τα κοκκιομορφα κύτταρα του επιθηλίου πολλαπλασιάζονται, μεγαλώνουν και μέσα από τη τεμαχισμένη κυτταρική μεμβράνη εισβάλλουν μαζί με τα κομμάτια της μεμβράνης στο αποικοδομούμενο ωόπλασμα. Η ενεργητική φαγοκύτωση της λεκίθου από τα υπερτροφικά κύτταρα του επιθηλίου αποδεικνύεται από την παρουσία της λεκίθου στα χυμοτόπια των κυττάρων αυτών. Τα αιμοφόρα τριχοειδή αγγεία είναι πολυάριθμα μεταξύ των κυττάρων της θήκης, η οποία κατά τη διαδικασία του σταδίου αυτού παραμένει αναλλοίωτη.

Η α- ατρησία τελειώνει με την πλήρη απορρόφηση κυτοπλάσματος και λεκιθικών σφαιριδίων. Τα επόμενα στάδια αφορούν την απορρόφηση του ωοθυλακίου που εναπόμεινε, το οποίο καλείται πια ατρησιακό ωοθυλάκιο.

Στα μη λεκιθοφόρα ωοκύτταρα η διαδικασία της ατρησίας είναι παρόμοια με αυτή των λεκιθοφόρων. Δηλαδή παρατηρείται αποικοδόμηση του πυρήνα, διάλυση της κυτταρικής μεμβράνης και φαγοκύτωση από τα αυξημένα σε μέγεθος και αριθμό κοκκιομορφα κύτταρα του επιθηλίου.

Βήτα (β) - στάδιο ατρησίας

Αρχικά στο στάδιο αυτό το ατρησιακό ωοθυλάκιο είναι μια μάζα, αρκετά μικρότερη από το αρχικό ωοκύτταρο, αποτελούμενη από τα αποικοδομούμενα κοκκιομορφα κύτταρα του επιθηλίου, ενώ περιβάλλεται από το στρώμα των κυττάρων της θήκης και τα τριχοειδή αγγεία. Ο πυρήνας των κοκκιομορφων κυττάρων αρχίζει να παρουσιάζει πυκνή υφή, ενώ στο εσωτερικό του ωοθυλακίου εμφανίζονται κοιλότητες, είτε κενές, είτε που περιέχουν άμορφα κομμάτια. Στις περισσότερες περιπτώσεις το ατρησιακό ωοθυλάκιο περιέχει σφαιρικά χυμοτόπια, τα οποία είναι τα λιπιδικά σταγονίδια που εναπόμειναν και τα οποία απαιτούν μεγαλύτερο χρόνο από τη λέκιθο για να απορροφηθούν.

Σ' αυτό το στάδιο, τα ατρησιακό ωοθυλάκιο είναι δύσκολο να διαχωριστεί από το, μετά την ωοτοκία, άδειο ωοθυλάκιο ηλικίας μεγαλύτερης από 48 ώρες, το οποίο και αυτό υφίσταται την ίδια αποικοδόμηση. Γι' αυτό το β- και τα μεταγενέστερα στάδια ατρησίας δεν χρησιμοποιούνται στον προσδιορισμό της προέλευσης του ατρησιακού ωοθυλακίου.

Γάμα (γ) - στάδιο ατρησίας

Το γ - στάδιο ατρησίας δεν παρατηρήθηκε στις ιστολογικές τομές των ωοθυλακίων του *A.fasciatus*. Στο στάδιο αυτό το ατρησιακό ωοθυλάκιο είναι πολύ μικρότερο απ' αυτό του προηγούμενου σταδίου. Τα κοκκιομορφα κύτταρα του επιθηλίου περιέχουν ένα κροκιδώδες υλικό ανοιχτού κίτρινου χρώματος, ενώ οι πυρήνες τους έχουν ακανόνιστο σχήμα. Τα κύτταρα αυτά περιβάλλονται από λιγότερα κύτταρα θήκης και τριχοειδή αγγεία. Είναι πιθανόν το κροκιδώδες υλικό να είναι αποτέλεσμα της αποικοδόμησης των κοκκιομορφων κυττάρων του επιθηλίου.

Δέλτα (δ) - στάδιο ατρησίας

Το χαρακτηριστικό γνώρισμα του σταδίου αυτού είναι η παρουσία ενός κοκκιδώδους σκούρου κίτρινο-καφέ υλικού στα λίγα κύτταρα του επιθηλίου που εναπόμειναν. Οι πυρήνες των κυττάρων αυτών έχουν ακανόνιστο σχήμα. Το μέγεθος του ατρησιακού ωοθυλακίου είναι πολύ μικρό. Τα κύτταρα της θήκης και τα τριχοειδή δεν περικλείουν πλέον το ωοθυλάκιο, το οποίο βρίσκεται ανάμεσα από κύτταρα συνδετικού ιστού.

3.3.5.2 Αλληλουχία - σχέσεις ατρησιακών σταδίων

Όπως ήδη αναφέρθηκε, το γ - ατρησιακό στάδιο δεν παρατηρήθηκε στις ιστολογικές τομές των ωοθηκών. Αυτό συνέβη είτε γιατί το στάδιο αυτό δεν υπήρχε στο *A.fasciatus* είτε γιατί η διάρκεια του ήταν τόσο μικρή, ώστε οι πιθανότητες παρατήρησής του να είναι ελάχιστες. Αναφέρεται σχετικά, ότι η μεταπήδηση από το β- στάδιο στο γ- και δ- δεν είναι υποχρεωτική πορεία. Είναι δυνατόν το β- ατρησιακό ωοθυλάκιο να «τελειώσει» τη ζωή του ως έχει ή να περάσει από το β- στο δ- στάδιο, όπως πιθανόν συμβαίνει στο *A.fasciatus*. Ο χρόνος ζωής κάθε σταδίου έχει εκτιμηθεί από πειράματα διακοπής της διατροφής σε ωοτοκούντα ψάρια διατηρούμενα σε δεξαμενές. Έτσι, έχει αποδειχθεί ότι τα α- και β- στάδια έχουν διάρκεια ζωής το καθένα μια εβδομάδα περίπου, ενώ τα μεταγενέστερα στάδια, ένα ή και δυο μήνες. Η αλληλουχία των δυο πρώτων σταδίων είναι κοινή για όλους του τελεόστεους και ο χρόνος ζωής κυμαίνεται στα ίδια πλαίσια για όλα τα ψάρια που ζουν στα ίδια τουλάχιστον γεωγραφικά πλάτη.

Λόγω της μικρής διάρκειας του α- ατρησιακού σταδίου και μάλιστα σε ολικώς λεκιθοφόρα ωοκύτταρα είναι προφανές ότι αποτελεί το καλύτερο γνώρισμα για τον ανάδρομο υπολογισμό του χρόνου της αναπαραγωγικής δραστηριότητας. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι τα μη λεκιθοφόρα ατρησιακά ωοκύτταρα δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το σκοπό αυτό, διότι πέραν του ότι απορροφώνται πολύ αργότερα από τα ολικώς λεκιθοφόρα, παρατηρείται συνεχής είσοδος μη ολικώς λεκιθοφόρων ωοκυττάρων στη διαδικασία της ατρησίας.

Με βάση την υπόθεση ότι η πιθανότητα ωοτοκίας μειώνεται καθώς αρχίζει να παρουσιάζεται το φαινόμενο της ατρησίας, γίνεται προφανές ότι ο ποσοτικός προσδιορισμός των ατρησιακών ολικώς λεκιθοφόρων ωοκυττάρων σε ωοθήκες με ώριμα ωοκύτταρα ή με άδεια μετά την ωοτοκία θυλάκια, αποτελεί μια μέτρηση της αναπαραγωγικής δυνατότητας.

Επίσης η παρουσία β- ή δ- σταδίων ατρησίας πιθανολογούν προγενέστερη αναπαραγωγική δραστηριότητα (άτομα δηλαδή που σίγουρα προσπάθησαν να γεννήσουν), γι' αυτό τα ιστολογικά αυτά στοιχεία σημειώθηκαν εκεί που υπήρχαν. Επειδή το ολικώς λεκιθοφόρο σε α- στάδιο ατρησίας ωοκύτταρο είναι η ιστολογική μορφή της οποίας αφ' ενός είναι βέβαιη η αρχική προέλευση και αφ' ετέρου έχει μικρή διάρκεια ζωής, το

κριτήριο αυτό χρησιμοποιήθηκε για να βρεθεί η σχέση ατρησιακής ωοθήκης και αναπαραγωγικής δυνατότητας.

3.3.5.3 Ατρησιακές καταστάσεις

Με βάση τον ποσοτικό προσδιορισμό των α- ατρησιακών ολικώς λεκιθοφόρων ωοκυττάρων και την παρουσία των μεταγενέστερων σταδίων ατρησίας οι ωοθήκες, επομένως και τα θηλυκά, μπορούν να ταξινομηθούν σε τέσσερις ατρησιακές καταστάσεις:

Ατρησιακή κατάσταση 0. Θηλυκά άτομα χωρίς ίχνος ατρησίας στα ολικώς λεκιθοφόρα ωοκύτταρα. Βήτα (β)- ατρησιακό στάδιο πιθανόν παρόν, μη ικανό να πιστοποιήσει με βεβαιότητα προγενέστερη ωοτοκία.

Ατρησιακή κατάσταση 1. Θηλυκά άτομα, όπου το <math><50\%</math> (1 ωοκύτταρο έως 49%) των ολικώς λεκιθοφόρων ωοκυττάρων βρίσκεται σε α- ατρησία.

Ατρησιακή κατάσταση 2. Θηλυκά άτομα, στα οποία το >50% των ολικώς λεκιθοφόρων ωοκυττάρων βρίσκεται σε α- ατρησία.

Ατρησιακή κατάσταση 3. Θηλυκά άτομα, στις ωοθήκες των οποίων δεν υπάρχουν κύτταρα ωογενετικά δραστήρια. Βήτα (β)-, ή δέλτα (δ)- στάδια ατρησίας είναι παρόντα. Εφ' όσον αυτά τα στάδια υποδεικνύουν πιθανή προγενέστερη ωοτοκία, η ατρησιακή κατάσταση 3 χρησιμοποιείται για να διαχωριστεί τα ανώριμα θηλυκά από τα ώριμα που τελείωσαν την αναπαραγωγική τους δραστηριότητα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ακόμη και αν τα ατρησιακά ωοθυλάκια σε μεταγενέστερα στάδια ατρησίας έχουν τόσο υποστεί αποικοδόμηση, ώστε να μην είναι εύκολα αναγνωρίσιμα, η ωοθήκη σε προχωρημένο στάδιο ατρησιακής κατάστασης 3 χαρακτηρίζεται από αποδιοργάνωση των ωοφόρων ελασμάτων και υπόλοιπα αποικοδόμησης ωοθυλακίων ατάκτως διατεταγμένα.

3.3.6 ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ - ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΘΗΛΥΚΩΝ

Τα θηλυκά άτομα σύμφωνα με τα ιστολογικά κριτήρια ταξινομήθηκαν σε ανώριμα και ώριμα.

Ως ανώριμα χαρακτηρίστηκαν τα άτομα τα οποία είχαν ωογόνια ή κύτταρα στο χρωματινικό και περιπυρηνικό στάδιο χωρίς κανένα ίχνος ατρησίας.

Τα ώριμα διακρίθηκαν σε δραστήρια και μη δραστήρια άτομα.

Ως δραστήρια χαρακτηρίστηκαν τα άτομα που είχαν ενυδατωμένα ωοκύτταρα ή ωοκύτταρα σε οποιοδήποτε στάδιο λεκιθογένεσης, με βάση την παρουσία άδειων ωοθυλακίων ή ενυδατωμένων ωοκυττάρων ή ακόμη ωοκυττάρων έτοιμων να ενυδατωθούν, διακρίθηκαν σε άτομα ωοτοκούντα, εκείνα, δηλαδή, που μόλις γέννησαν ή θα γεννήσουν πολύ σύντομα, και σε μη ωοτοκούντα, εκείνα που δεν είχαν ιστολογικά γνωρίσματα πρόσφατης ή επερχόμενης γέννας.

Ως μη δραστήρια χαρακτηρίστηκαν τα άτομα που τελείωσαν την αναπαραγωγική τους περίοδο.

Στον παρακάτω πίνακα δίνεται η αντιστοιχία των μακροσκοπικών γνωρισμάτων των ωοθηκών και των αντίστοιχων ιστολογικών σε συνδυασμό με τα αναπαραγωγικά στάδια των θηλυκών.

Στάδια γεννητικής Ωριμότητας	Μακροσκοπική Περιγραφή	Ιστολογική Περιγραφή της Γεννητικής Ωριμότητας των Ωοθηκών
1. Ανώριμα (Ιούνιο - Δεκέμβριο)	Πολύ μικρά αναπαραγωγικά όργανα, διαφανή κοντά στην σπονδυλική στήλη, γονάδες σαν λεπτές κλωστές, ωοκύτταρα ορατά μόνο με την βοήθεια μικροσκοπίου. Το φύλο διακρίνεται μόνο από εξωτερικά	Μικρά ανώριμα ωοκύτταρα, σφαιρικού σχήματος με κεντρικό πυρήνα και μεγάλη ποσότητα ομογενούς κυτταροπλάσματος. Μέση διάμετρος ωοκυττάρων 00,6- 0,13 mm.

	χαρακτηριστικά.	
2. Σε ανάπαυση (Σεπτέμβριο-Δεκέμβριο)	Λεπτές γονάδες ημιδιαφανείς, γκριζωπές, φθάνουν σε μήκος μικρότερο του μισού της κοιλακής κοιλότητας. Ωοκύτταρα ορατά μόνο με μεγεθυντικό φακό.	Μικρά ωοκύτταρα στη πρωτογενή φάση ανάπτυξης, μερικά έχουν εισέλθει στη δευτερογενή φάση ανάπτυξης. Σε μερικά ωοκύτταρα αρχίζουν να εμφανίζονται κυστίδια λεκίθου στην περιφέρεια του ωοκυττάρου, αυξανόμενη ποσότητα του κυτταροπλάσματος. Στις ωοθήκες σε ανάνηψη διακρίνονται άτρητα ωοκύτταρα σε προχωρημένη απορρόφηση. Διάμετρος ωοκυττάρων ως και 0,4mm.
3. Αναπτυσσόμενα (Δεκέμβριο-Φεβρουάριο)	Γεννητικοί αδένες αδιαφανείς με λεπτά αιμοσφαίρια, μήκος μεγαλύτερο του μισού της κοιλιακής κοιλότητας, τα ωοκύτταρα αρχίζουν να φαίνονται με γυμνό μάτι. Σπανίως σε άτομα μεγάλης ηλικίας διακρίνονται 1 έως 2 μεγάλα ωοκύτταρα σε κάθε γονάδα. Όρχεις απαροκόκκινοι δεν εμφανίζεται σπέρμα μετά από πίεση στην κοιλιακή κοιλότητα.	Στα περισσότερα ωοκύτταρα έχουν σχηματιστεί κυστίδια λεκίθου στη περιφέρεια του κυτταροπλάσματος, σε αρκετά ωοκύτταρα διακρίνεται η ακτινωτή ζώνη. Τα μεγαλύτερα των ωοκυττάρων φαίνονται με πολλά, έντονα, βαμμένα κόκκινα κόκκια γύρα από τον πυρήνα, χωρίς να τον αγγίζουν. Διάμετρος ωοκυττάρων ως και 0,8mm.
4. Ωριμα (Μάρτιο-Απρίλιο)	Γεννητικά όργανα που γεμίζουν την κοιλιακή κοιλότητα, στα θηλυκά άτομα η κοιλιά φαίνεται διαγκωμένη, αρκετά αυγά είναι έτοιμα για απομάκρυνση, αλλά δύσκολα απελευθερώνονται με ελαφρά πίεση στην κοιλιακή χώρα. Στα αρσενικά εμφανίζεται ο γαμήλιος χρωματισμός.	Φαίνονται αρκετά κόκκινα χρωματισμένα ώριμα ωοκύτταρα, παράλληλα στη γονάδα διακρίνονται όλα τα μεταβατικά στάδια από τα ανώριμα ωοκύτταρα ως και τα εντελώς ώριμα (πρωτογενούς ανάπτυξης ως και τρίτης τάξεως ωοκύτταρα). Περιφερειακά του κυτταροπλάσματος διακρίνεται ένα παχύ σκληρό στρώμα. Μέγεθος ωοκυττάρου ως 1,06mm.
5. Ρέοντα (Απρίλιο- Ιούνιο)	Τα γεννητικά όργανα γεμίζουν την κοιλιακή κοιλότητα η οποία είναι διογκωμένη. Η ουρογεννητική οπή στα θηλυκά άτομα δείχνει ερεθισμένη, προτεταμένη, με ελαφρά διαστολή, μερικά αυγά είναι μεγάλα με διαφανή περιλεκιθικό χώρο, με ελαφρά πίεση στη κοιλιακή χώρα αυγά και σπέρμα	Μεταξύ των ώριμων ωοκυττάρων που φαίνονται έτοιμα για απομάκρυνση στο περιβάλλον διακρίνονται κάποια διαρρηγμένα ωοθυλάκια. Διάμετρος ωοκυττάρων ως και 2,1mm.

	ρέουν.	
6. Μερικώς εξαντλημένα (Ιούλιο)	Γεννητικά όργανα μικρότερα σε μέγεθος και λιγότερο συμπαγή από αυτά των δυο προηγούμενων. Η ουρογεννητική οπή παραμένει ερεθισμένη. Διακρίνονται ακόμη αρκετά μεγάλα στρόγγυλα αυγά. Με ελαφρά πίεση στη κοιλιακή χώρα συνήθως δεν εξέρχονται γεννητικά προϊόντα.	Διακρίνονται αρκετά κενά ωοθυλάκια ή κενά διαστήματα μεταξύ των ωοθυλακίων, φαίνονται λίγα ωοκύτταρα έτοιμα για απομάκρυνση προς το περιβάλλον. Διακρίνονται ωοκύτταρα σε όλα τα στάδια ανάπτυξης.
7. Εξαντλημένα (Ιούνιο-Σεπτέμβριο)	Ωοθήκες σχετικά άδειες, διακρίνονται μεμβράνες και μεταξύ αυτών αρκετά εναπομείναντα αυγά μικρού μεγέθους.	Διακρίνονται αρκετά ωοκύτταρα τα οποία βρίσκονται στο στάδιο του ανώριμου και του αναπτυσσόμενου χωρίς όμως να παρουσιάζονται όλα τα μεταβατικά στάδια μέχρι τα έτοιμα για απομάκρυνση αυγά. Μεγεθος εναπομείναντων ωοκυττάρων 0,4-0,6mm.

4. ΑΥΓΑ - ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΜΒΡΥΟΥ

4.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1.1 Δειγματοληψίες

Για τη συλλογή αυγών του *Aphanius fasciatus* επιλέχθηκαν οι ίδιες θέσεις δειγματοληψίας μ' αυτές της συλλογής ατόμων, δηλαδή, στις Αλυκές (ανατολικό μέρος λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου) και στη λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου στην περιοχή του λιμανιού.

Χαρακτηριστικό των δειγματοληπτικών μας σταθμών ήταν ότι ο πυθμένας τους ήταν καλυμμένος από λεπτόκοκκο ίζημα με αποτέλεσμα το περπάτημα μέσα στα νερά να γίνεται με δυσκολία και η πρόσβαση στις συγκεκριμένες θέσεις να είναι δύσκολη.

Πραγματοποιήθηκαν αρκετές δειγματοληψίες και ανάμεσα σ' αυτές υπήρξαν δυο επιτυχείς.

Τα θηλυκά άτομα του *Aphanius fasciatus*, όπως έχουμε αναφέρει, είναι πολλαπλοί ενποθέτες και εναποθέτουν τα αυγά τους σε ψιλά και πυκνά φύκια περίπου σε βάθος 30cm έως το πολύ 1m. Πρέπει να σημειωθεί ότι η απελευθέρωση των αυγών του είδους γίνεται μόνο κατά τις ασέληνες νύχτες.

4.1.2 Συλλογή αυγών

Φορώντας ολόσωμες αδιάβροχες φόρμες (μέστια) πραγματοποιήθηκε η συλλογή φυκών μέσα στα οποία ήταν εναποτηθέμενα τα αυγά του *Aphanius fasciatus*.

4.1.3 Συντήρηση αυγών

Τα αυγά που συλλέχθηκαν διατηρήθηκαν σε δοχεία με υφάλμυρο νερό του οποίου η αλατότητα κυμαίνονταν από 20‰ έως 30‰.

4.1.4 Μεθοδολογία μελέτης αυγών

Τα αυγά του *Aphanius fasciatus* καθημερινά παρατηρούνταν και μελετούνταν μικροσκοπικά στην αίθουσα Ιχθυοπαθολογίας και Ποιοτικού

Υγειονομικού Ελέγχου Ιχθυηρών του Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου και συγχρόνως φωτογραφίζονταν από ενσωματωμένη στο μικροσκόπιο φωτογραφική μηχανή.

4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΕΜΒΡΥΪΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ

4.2.1 Μέγεθος και χαρακτηριστικά ωοκυττάρου

Σε γεννητικά ώριμα θηλυκά μετά από ελαφρά πίεση στην κοιλιακή χώρα εξέρχονται 5 - 6 ώριμα αυγά, συνήθως ενυδατωμένα και ημιδιαφανή. Φέρουν μία ή δύο σταγόνες ελαίου διαμέτρου περίπου 0,4mm και η λέκιθος παρουσιάζει ένα ελαφρό κίτρινο χρώμα. Η μέση διάμετρος των ώριμων, έτοιμων για απελευθέρωση, αυγών είναι συγκριτικά μεγάλη σε σχέση με το μήκος του ψαριού (μέση διάμετρος: 1,95mm με εύρος 1,5 - 2,6mm, N = 3335). Η εξωτερική μεμβράνη είναι γυαλιστερή, ιδιαίτερα σκληρή, η οποία φέρει στην επιφάνεια της λεπτά μακρά νημάτια με τη βοήθεια των οποίων προσκολλάται στο υδρόβια φυτά. Μετά την απελευθέρωση στο περιβάλλον και τη γονιμοποίηση οι διαστάσεις των αυγών αυξάνονται (διάμετρος: 2,3mm, N = 38), ενώ η μεμβράνη τους σκληραίνει.

4.2.2 Περιγραφή ζυγωτού

Στα μικρότερης εμβρυϊκής ηλικίας αυγά που συλλέχτηκαν διακρινόταν μια μάζα κυττάρων διαμέτρου περίπου 0,7mm να επικάθεται της λεκίθου. Φαίνεται ότι τα κύτταρα αυτά βρίσκονταν στο στάδιο του μοριδίου. Καθώς προχωρούσαν οι διαιρέσεις του ζυγωτού άρχισε να διακρίνεται ο περιλεκιθικός χώρος.

4.2.3 Περιγραφή εμβρύου

Η εμβρυϊκή φάση της ανάπτυξης του *Aphanius fasciatus* διακρίνεται από τη πρώτη ημέρα της παραμονής στο εργαστήριο, που θεωρούμε ότι αντιστοιχεί στη δεύτερη ημέρα της επώασης. Τα πρώτα σημεία που διακρίνονται στο αυγό και καθορίζουν την εμβρυϊκή φάση ανάπτυξης είναι η αύξηση του περιλεκιθικού χώρου στο σημείο που θα σχηματιστεί το έμβρυο, καθώς και η

παρουσία μελανοφόρων κυττάρων. Κατά το σχηματισμό του εμβρύου ο άξονας κεφαλής ουράς φτάνει σε μήκος περίπου 1,5mm, ενώ η περιοχή στην οποία θα σχηματιστεί η κεφαλή διακρίνεται από μια διόγκωση.

Στη συνέχεια στην περιοχή της κεφαλής, αρχίζουν να διακρίνονται εσωτερικές κοιλότητες που μεταγενέστερα θα αποτελέσουν τον εγκέφαλο. Στο εμπρόσθιο μέρος της κεφαλής αρχίζει να διακρίνεται ένα τριγωνικό ρύγχος και πλευρικά δυο μεγάλοι οπτικοί λοβοί οι οποίοι φτάνουν τα 0,4mm. Στο μέσο περίπου του σώματος του εμβρύου αρχίζουν να διακρίνονται οι πρώτοι σωμίτες. Αυξάνεται ο αριθμός των μελανοφόρων στη λέκιθο, ενώ αρχίζουν να εμφανίζονται μελανοφόρα κύτταρα πρώτα στη κεφαλή και στη συνέχεια στο υπόλοιπο σώμα του εμβρύου, ιδιαίτερα στα σημεία που υπάρχουν σωμίτες. Οι οπτικοί λοβοί αρχίζουν να σκουραίνουν με τη συσσώρευση μελανίνης, ενώ σε κάθε λοβό σχηματίζεται μια εγκόλπωση στο κέντρο της οποίας διακρίνεται ο φακός του ματιού.

Από τη δεύτερη ημέρα της παρατήρησης η ουρά αποκολλάται από τη λέκιθο, ενώ κάτω από το ρύγχος διακρίνεται μια εγκόλπωση η οποία είναι η αρχή της αποκόλλησης της κεφαλής από τη λέκιθο. Στα βάθος της εγκόλπωσης διακρίνεται από τις παλμικές κινήσεις η καρδιά, ενώ μεταγενέστερα παρατηρείται και ροή αίματος. Στην ουρά διακρίνονται ένα καλοσχηματισμένο ουραίο πτερύγιο με 6 - 7 μη διακλαδισμένες ακτίνες, οι τελευταίοι σπόνδυλοι της ουράς και οι υποουραίες πλάκες.

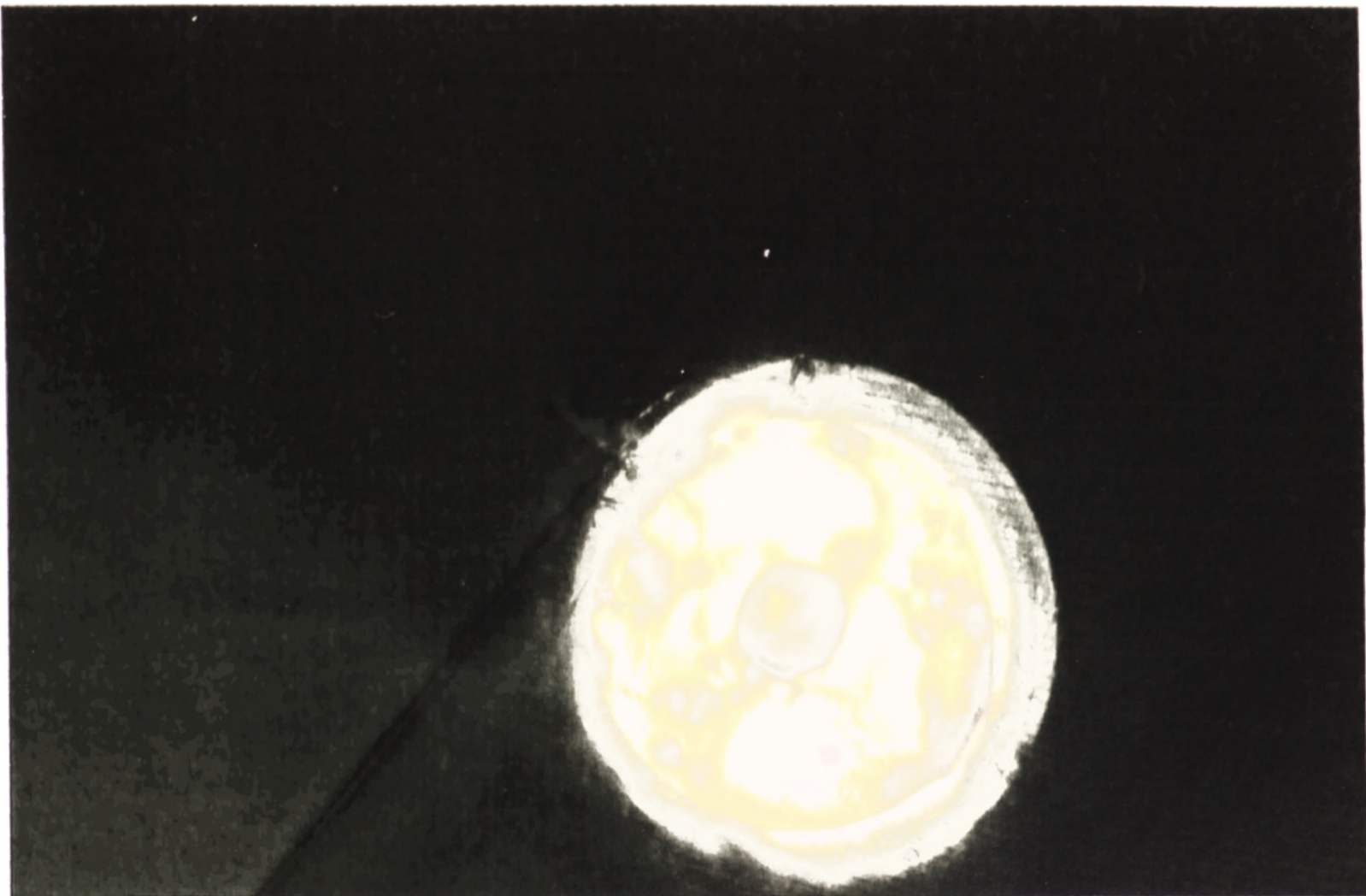
Στο *Aphanius fasciatus* τα αναπνευστικό δίκτυο φαίνεται ότι σχηματίζεται μεταξύ της δεύτερης και της τρίτης ημέρας της παρατήρησης. Στο εμπρόσθιο μέρος της λεκίθου διακρίνονται οι καλά ανεπτυγμένοι αγωγοί του Cuvier, ενώ στο κάτω και πίσω μέρος της λεκίθου κλάδοι της ηπατοκοιλιακής φλέβας που καταλήγουν στο ογκώδες πορτοκαλί χρώματος συκώτι. Κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής, αλλά και στη συνέχεια της μετεμβρυϊκής (ελευθεροέμβρυο) ανάπτυξης το κυκλοφοριακό σύστημα του λεκιθικού σάκου παραμένει το κύριο αναπνευστικό όργανο. Την τρίτη ημέρα της παρακολούθησης το έμβρυο δείχνει να επικάθεται της λεκίθου και σχηματίζει τόξο περίπου 300° . Παρατηρούνται οι πρώτες σπασμωδικές κινήσεις της ουράς, ενώ προς το τέλος της τρίτης ημέρας οι κινήσεις του εμβρύου είναι έντονες και επιτείνονται κάτω από την επίδραση θερμοκρασίας ή φωτός. Το έμβρυο παρουσιάζει τακτισμό και

σε μετατοπίσεις του αυγού το έμβρυο περιστρέφεται μέχρις ότου να βρεθεί και το σώμα πάνω και η λέκιθος προς τα κάτω.

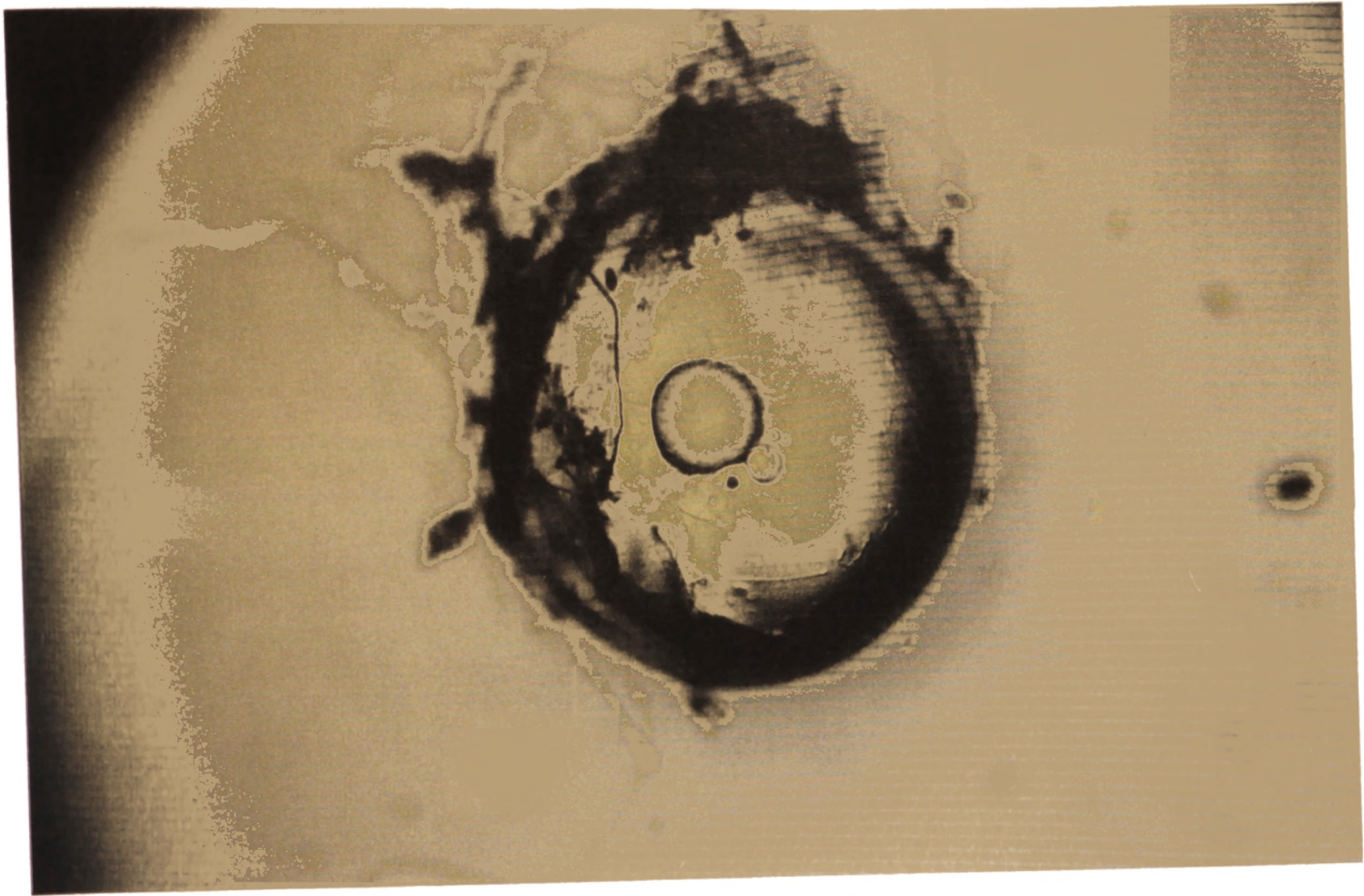
Η εκκόλαψη γίνεται μεταξύ του τέλους της τρίτης και τις αρχές της τέταρτης ημέρας της παραμονής στο εργαστήριο οπότε η μεμβράνη του αυγού σπάει και απελευθερώνεται το έμβρυο από το αυγό με κινήσεις του ουραίου πτερυγίου. Το άδειο περίβλημα παραμένει στο πυθμένα και ελευθεροέμβρυο κινείται με σπασμωδικές κινήσεις.

4.2.4 Φωτογραφίες αυγών - εμβρύων

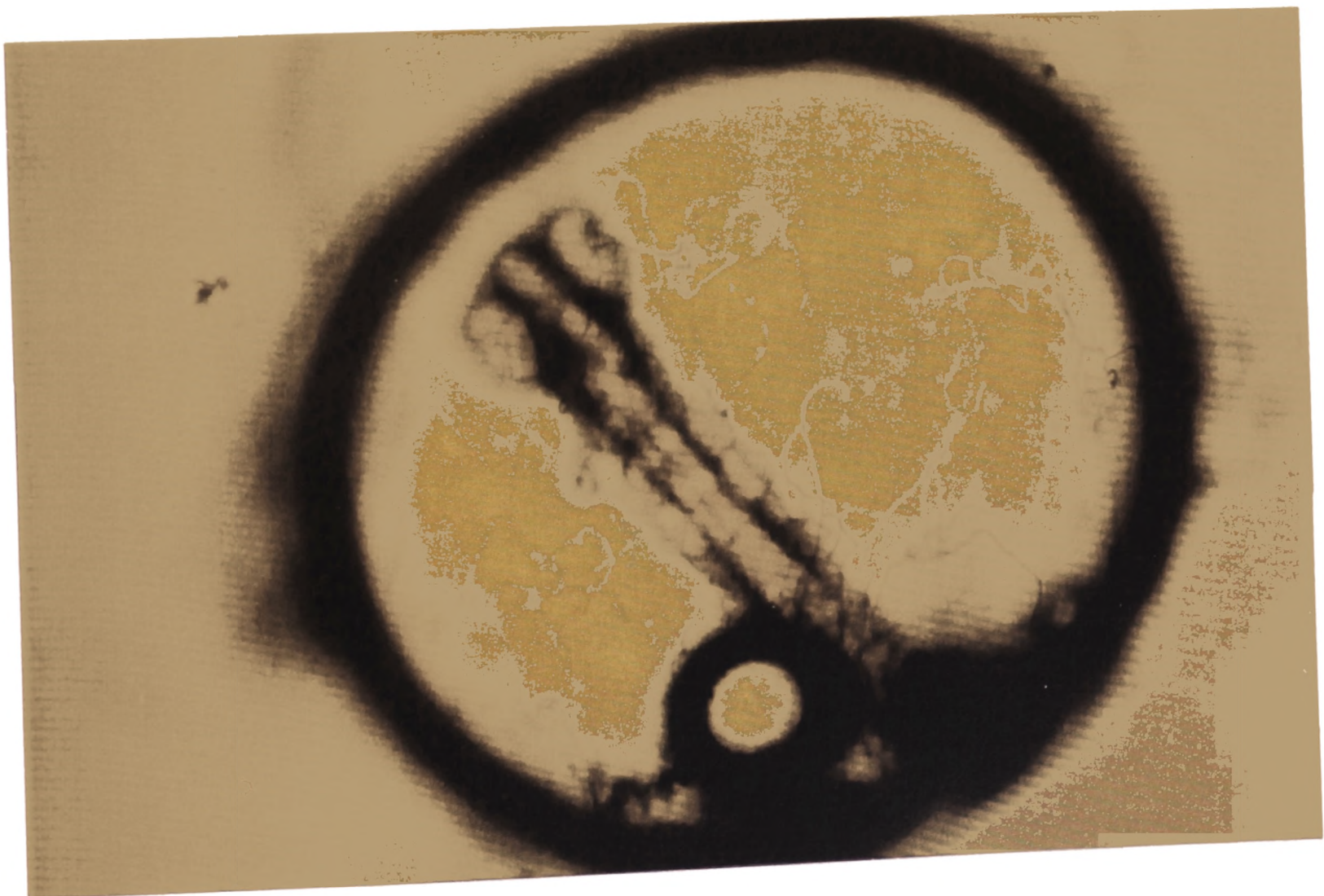
Βάση αυτής της προηγούμενης μελέτης, παρουσιάζονται παρακάτω τα διάφορα στάδια της ωρίμανσης των αυγών του *A. fasciatus* και, συγχρόνως, της ανάπτυξης των εμβρύων του.



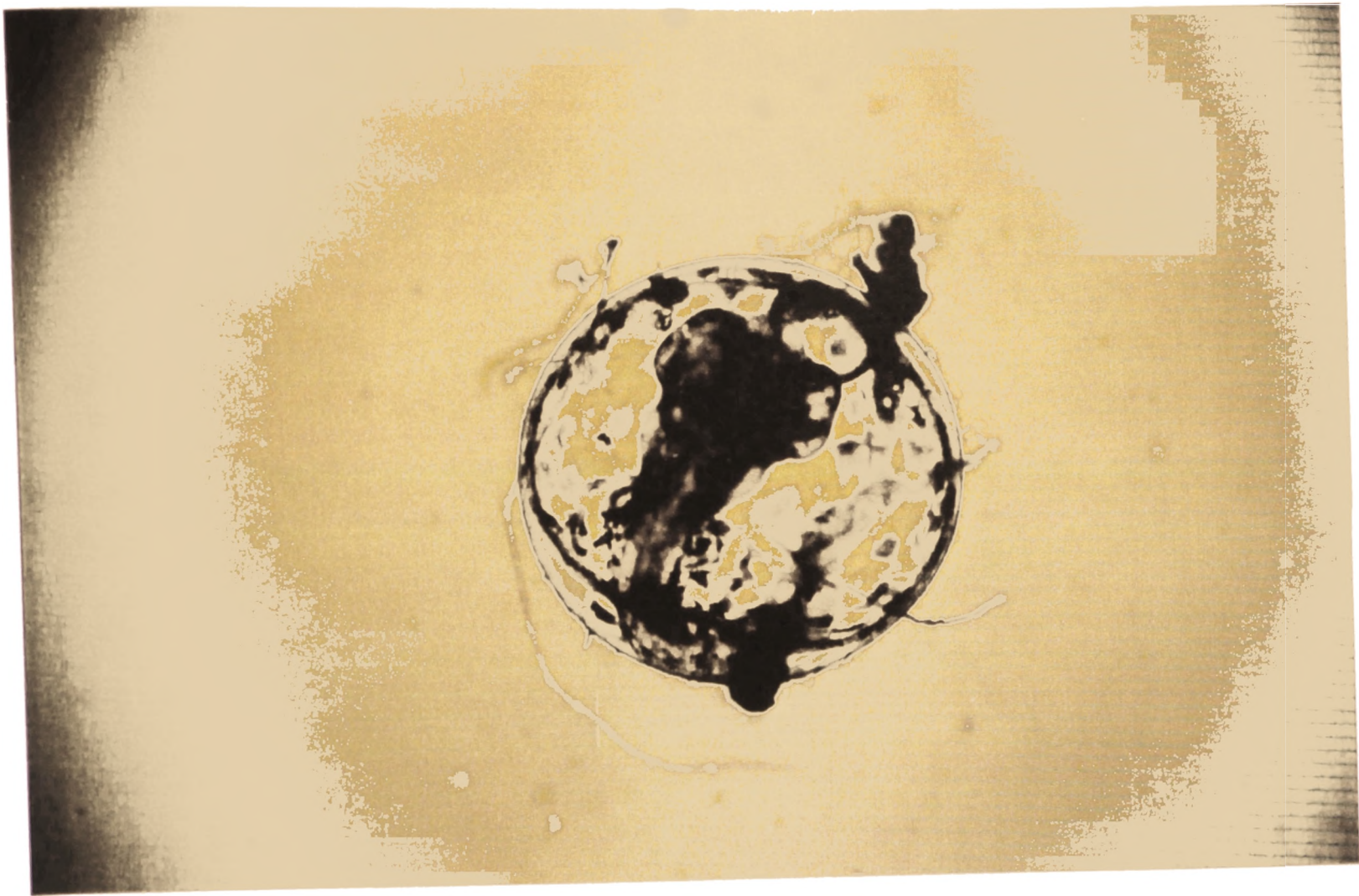
Πρώτο στάδιο μετά τη γονιμοποίηση, δεν διακρίνεται έμβρυο, διακρίνεται μεγάλος περιλεκιθικός σάκος



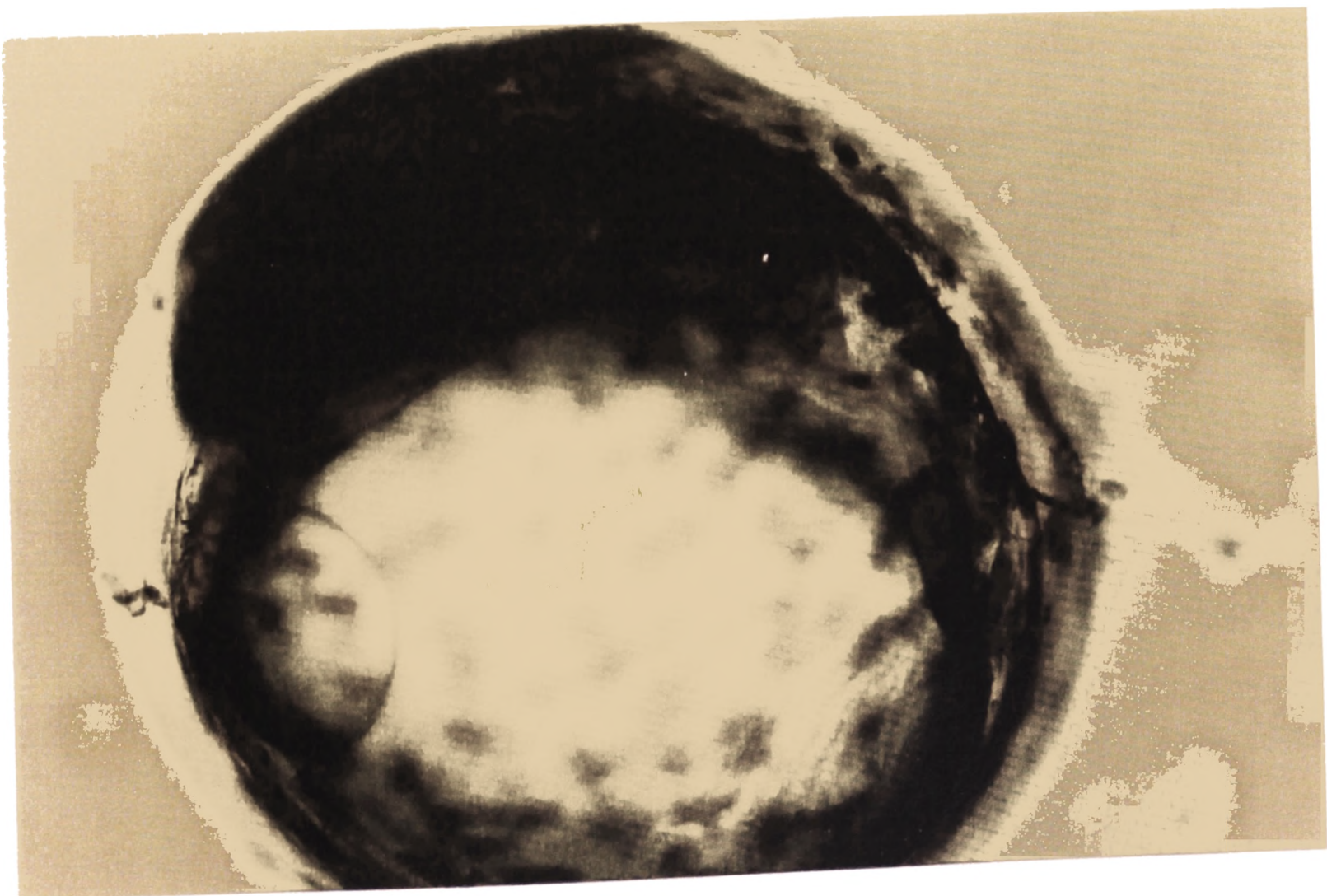
Διακρίνονται νημάτια με τα οποία προσκολλάται το αβγό στην υδρόβια βλάστηση, επίσης διακρίνονται φυσαλίδια αέρα



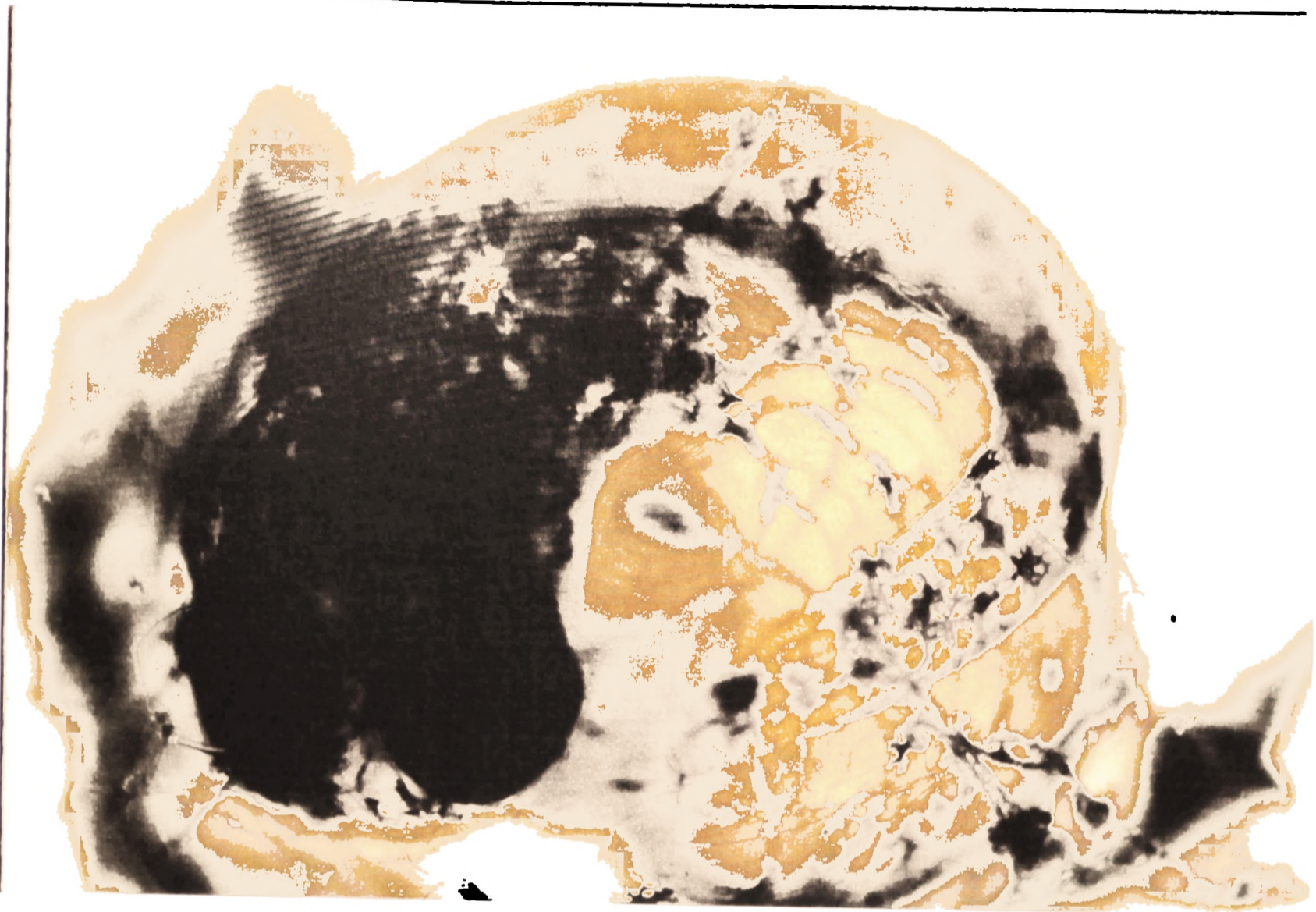
Αρχίζει να εμφανίζεται το έμβρυο



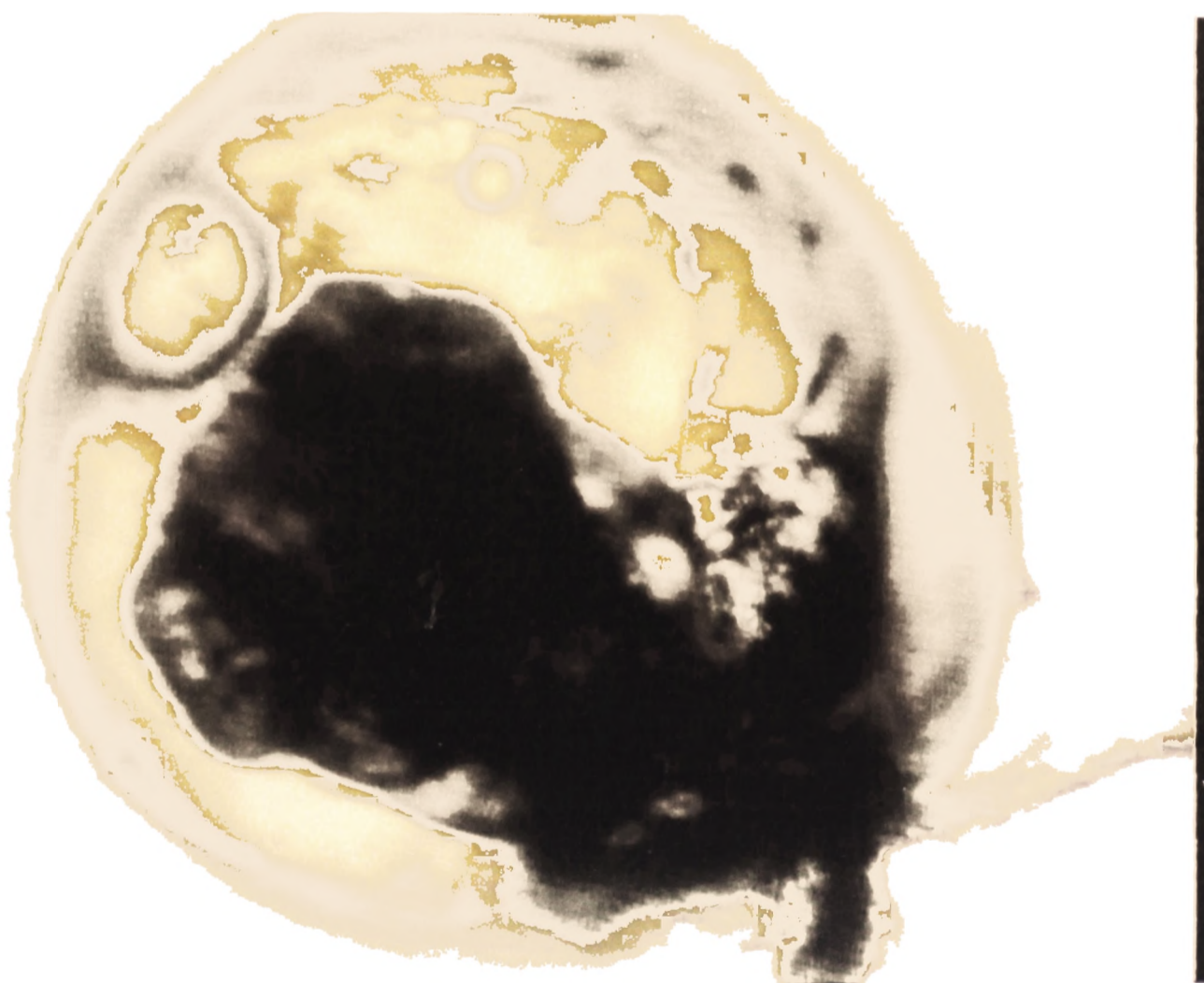
Διακρίνεται το έμβρυο και τα χρωματοφόρα



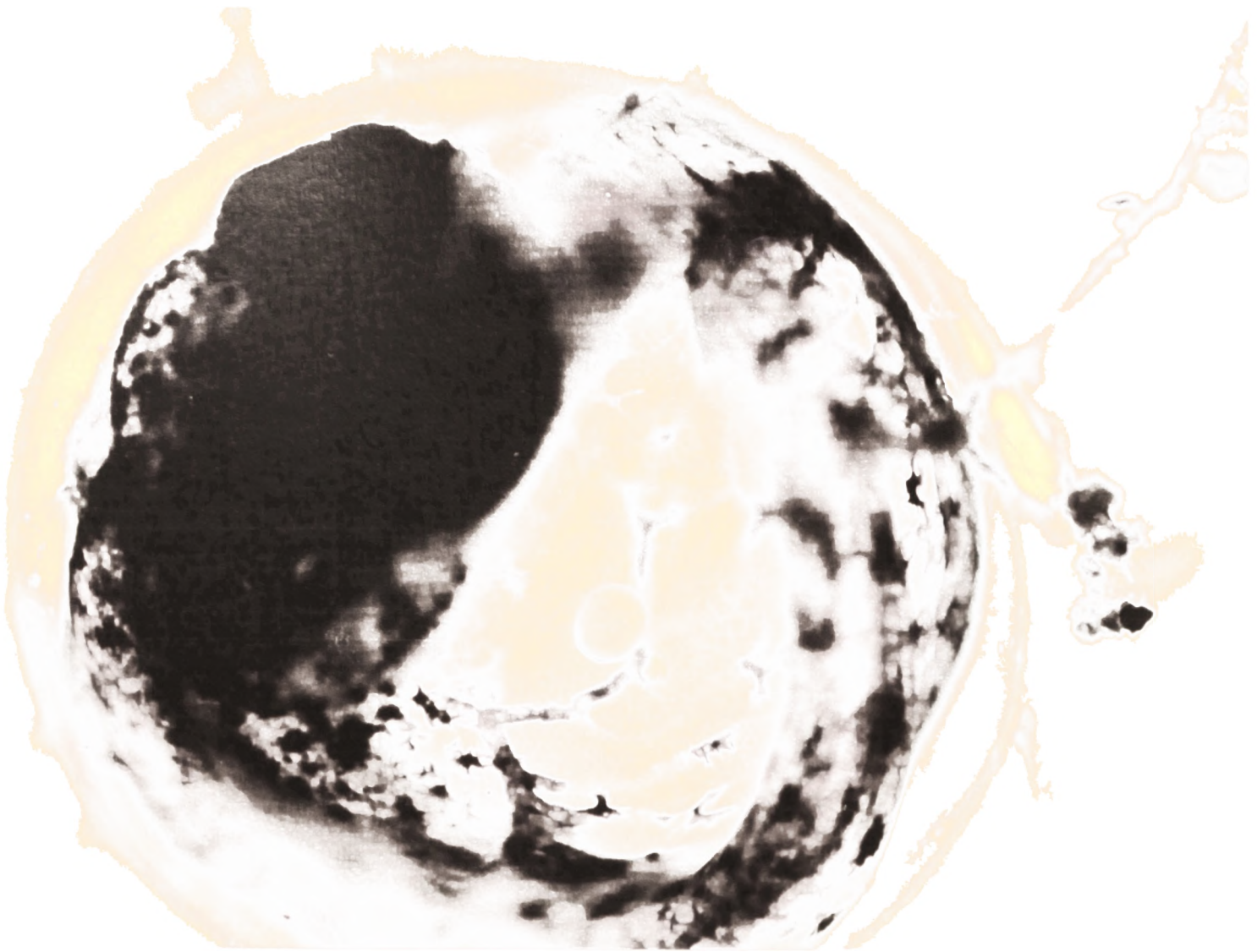
Φαίνεται το κεφάλι και αρχίζουν να φαίνονται τα μάτια



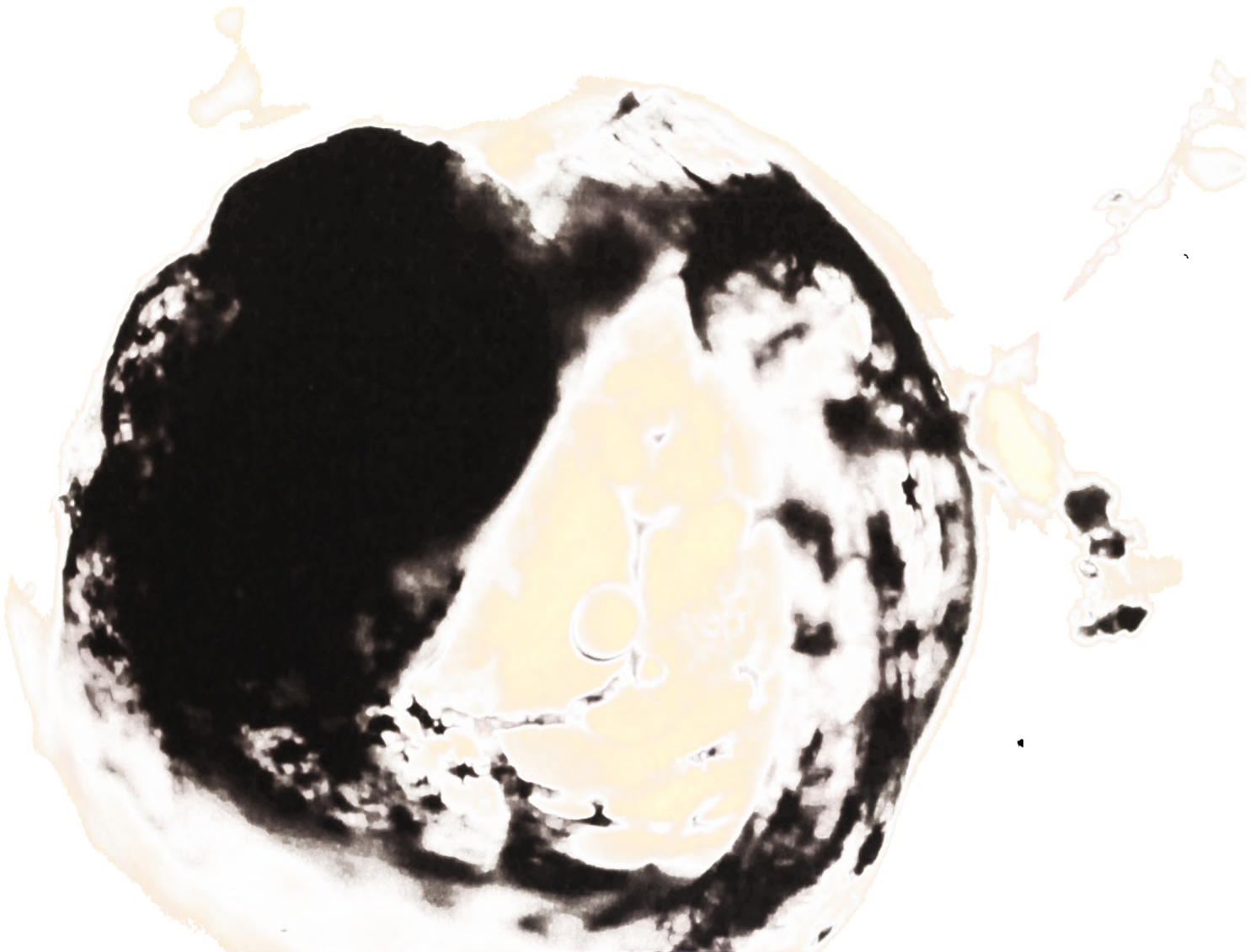
Διακρίνονται το κεφάλι, τα μάτια και το θωρακικό πτερύγιο



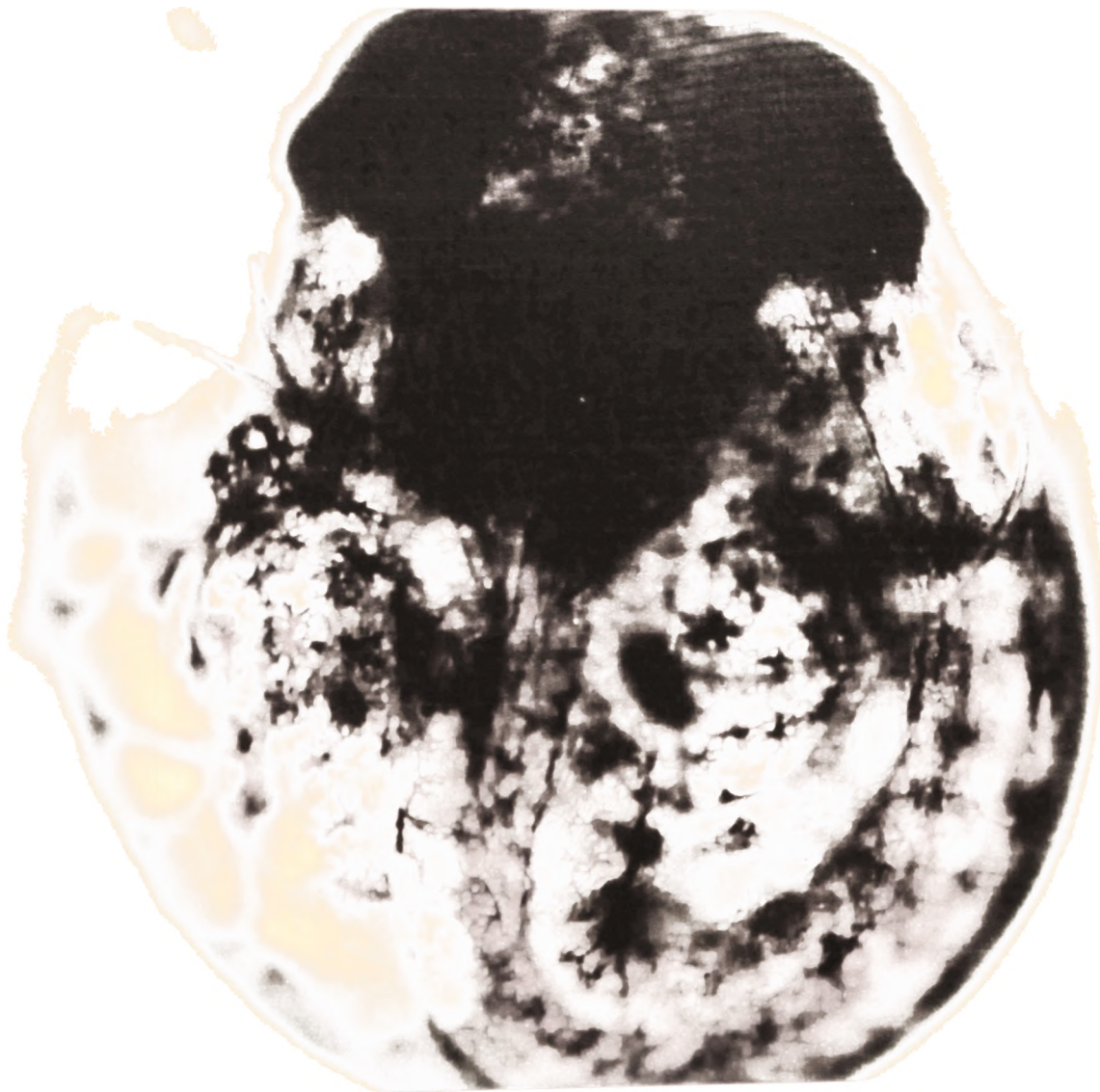
Διακρίνονται τα χρωματοφόρα, τα μάτια και οι φακοί των ματιών



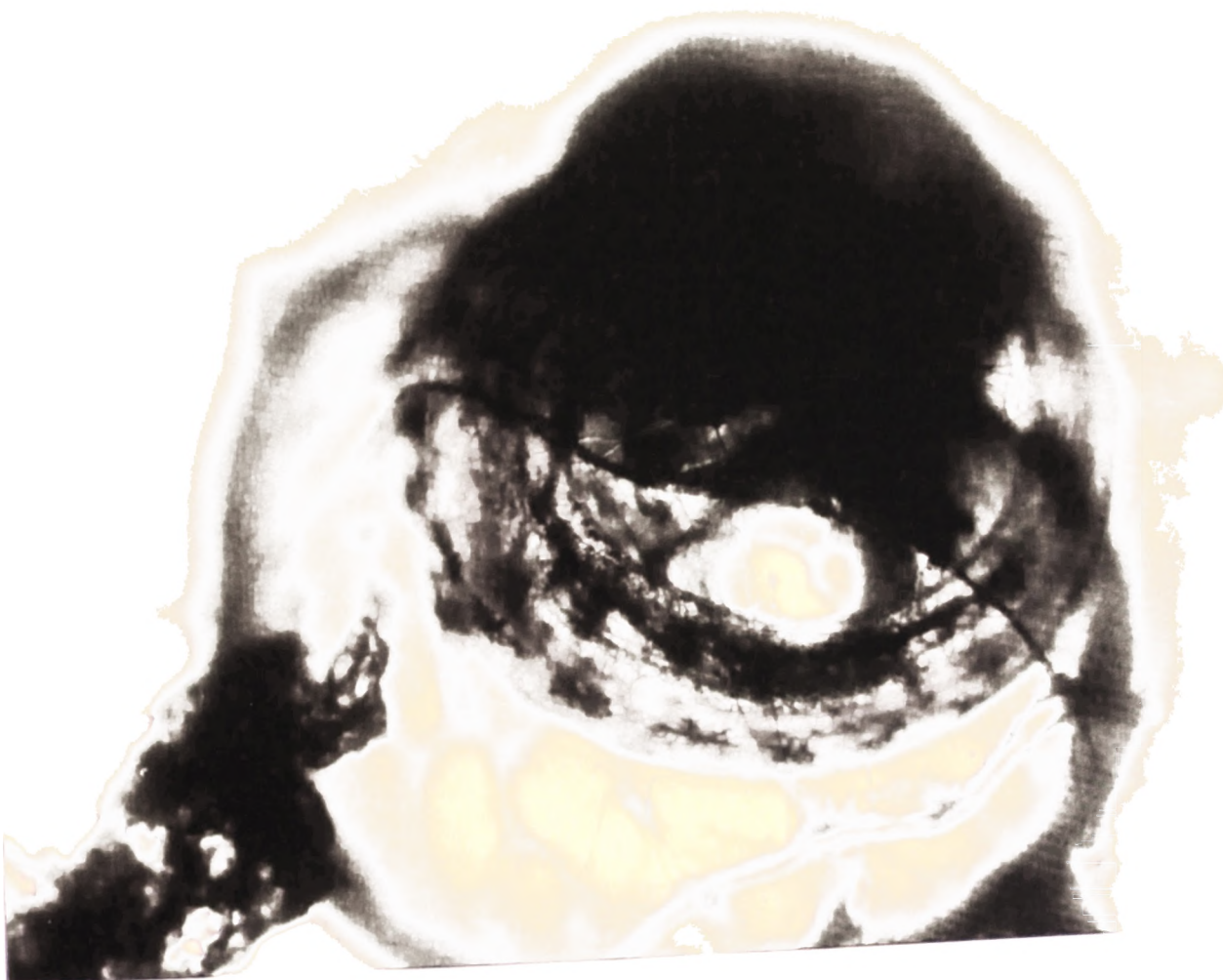
Εμφανίζονται τα πρώτα μνομερή κατά μήκος του σώματος και οι ακτίνες του ουραίου πτερυγίου



Το σώμα κάνει πλήρη κύκλο πάνω από τη λέκιθο, διακρίνεται καλά η κυκλοφορία του αίματος



Διακρίνονται τα οστά της κεφαλής



Διαρκής κινήσεις της ουράς

4.2.5 Περιγραφή του ελευθεροεμβρύου - Φωτογραφίες του

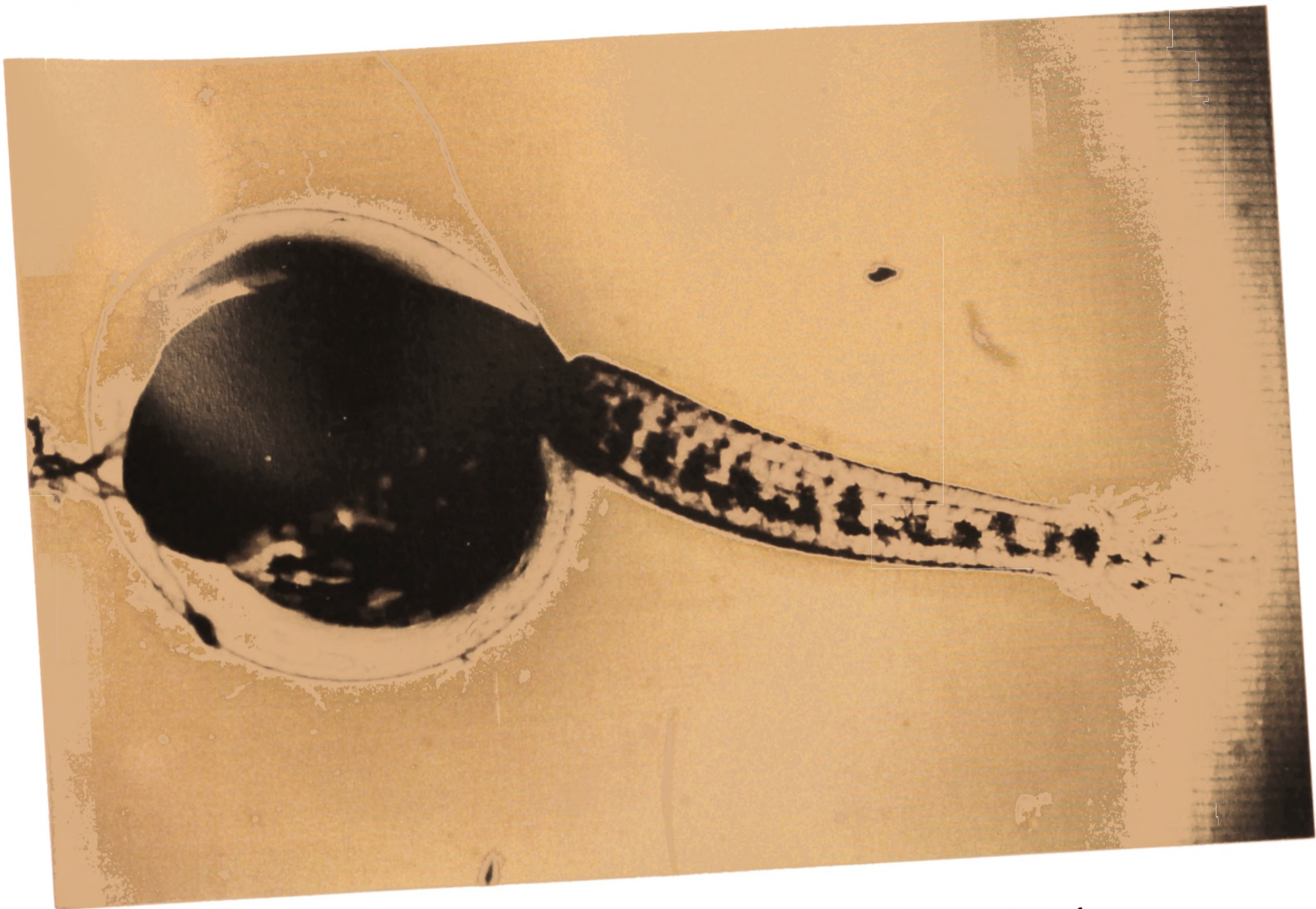
Τα έμβρυα κατά την εκκόλαψη έχουν ολικό μήκος 5 - 6mm (N = 26), το οποίο είναι αρκετά μεγάλο σε σχέση με το μέγιστο ολικό μήκος του ψαριού ($Tl_{max} = 75,46\text{mm}$). Τα πρωταρχικά θωρακικά πτερύγια είναι καλά αναπτυγμένα και κινούνται διαρκώς. Το ουραίο πτερύγιο φτάνει σε μήκος το 30% του ολικού μήκους και σε αυτό διακρίνονται 12 - 14 μη διακλαδισμένες μαλακές ακτίνες. Τα μάτια είναι σχετικά μεγάλα, χρωματισμένα και φτάνουν σε διάμετρο το 17% του ολικού μήκους. Η έδρα διακρίνεται στο τέλος του λεκιθικού σάκου (προεδρικό μήκος <120 50% του ολικού μήκους), ενώ δεν διακρίνεται νηκτική κύστη. Ο λεκιθικός σάκος απορροφάται προς το τέλος της τρίτης ημέρας μετά την εκκόλαψη.

Κατά την εκκόλαψη, το χρωματικό πρότυπο είναι καλά αναπτυγμένο και προσδίδει στο ελευθεροέμβρυο μάλλον σκούρο χρωματισμό. Στη περιοχή της κεφαλής και στο πάνω μέρος του σώματος διακρίνονται πολυάριθμα μικρά αστεροειδή μελανοφόρα κύτταρα, τα οποία δημιουργούν ένα σκούρο χρωματικό πρότυπο. Στο σώμα, κατά μήκος της ήδη σχηματισμένης σπονδυλικής στήλης, διακρίνονται δυο σειρές μεγάλων αστεροειδών μελανοφόρων κυττάρων που συγκλίνουν σε ένα μελανοφόρο κύτταρο στο ύψος των υποουραίων πλακών.

Με την απορρόφηση του λεκιθικού σάκου το ολικό μήκος της λάρβας φτάνει στα 7 - 8 mm, το ουραίο πτερύγιο φτάνει σε μήκος στο 20% του ολικού μήκους και σε αυτό διακρίνονται 16 μη διακλαδισμένες μαλακές ακτίνες. Τα θωρακικά πλέον πτερύγια φτάνουν το 10% του ολικού μήκους και σε αυτά διακρίνονται 3 ακτίνες. Το προεδρικό μήκος φτάνει στο 42% του ολικού μήκους. Στην κοιλιακή χώρα αρχίζουν να διακρίνονται τα κοιλιακά πτερύγια. Η αναπνοή γίνεται αποκλειστικά με τα βράγχια και διακρίνονται τα βραγχιακά επικαλύμματα. Η διάμετρος του ματιού φτάνει στα 9,5% του ολικού μήκους.

Στις παρακάτω φωτογραφίες παρουσιάζεται η εκκόλαψη ενός αυγού του είδους

Aphanius fasciatus.



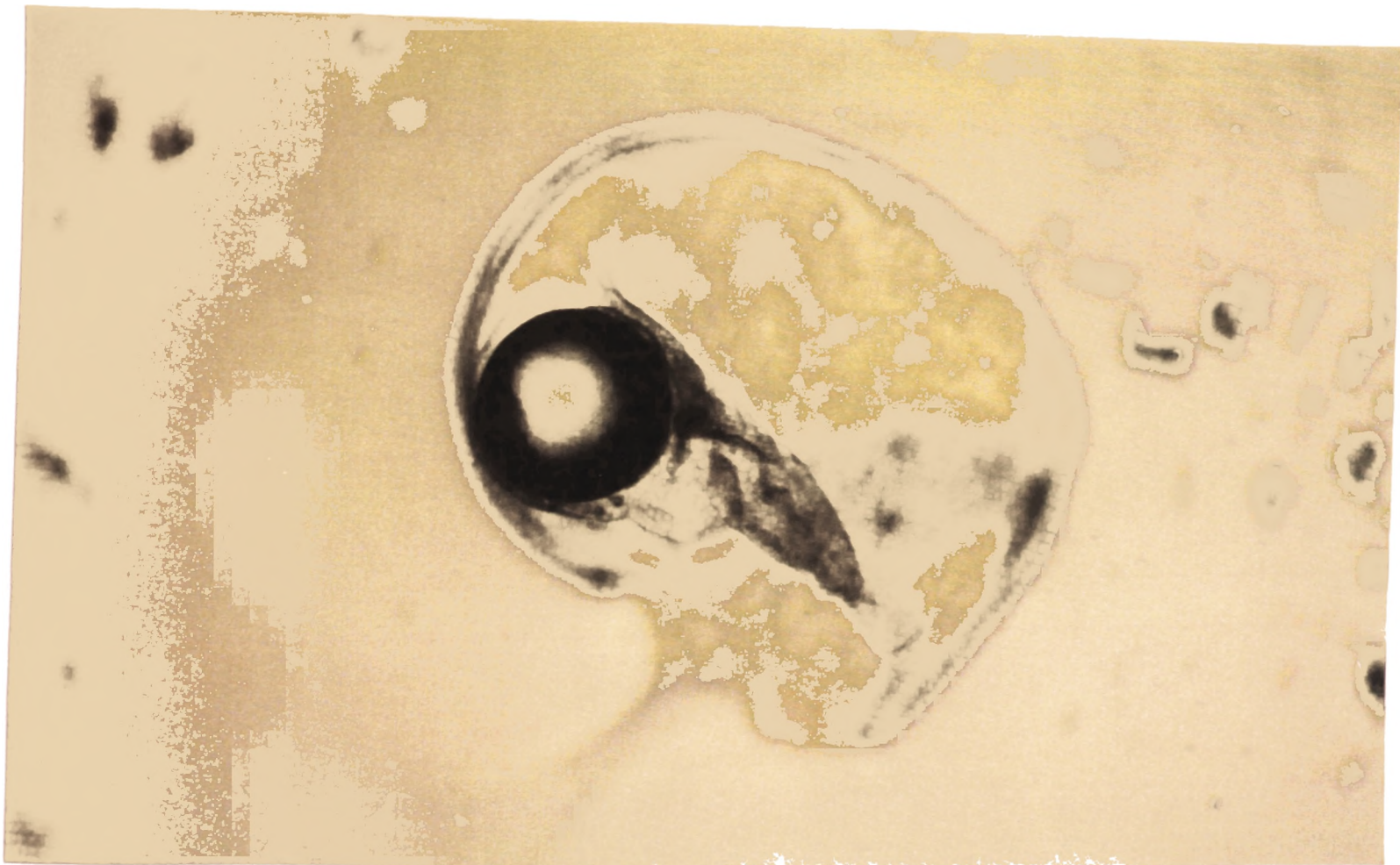
Σπάει το αυγό, βγαίνει η ουρά του ατόμου έξω απ' αυτό



Εξέρχεται ολόκληρο το σώμα, πρώτες κινήσεις του ιχθυδίου



Ελευθερόεμβρυο. Κινούνται διαρκώς τα θωρακικά πτερύγια και σπασμωδικά το ουραίο πτερύγιο



Άδειο κέλυφος αυγού

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ
ΚΑΙ
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το *Aphanius fasciatus*, όπως και ο μεγαλύτερος αριθμός των ψαριών που αναπαράγονται στις λιμνοθάλασσες, αναπτύσσουν χαρακτηριστικές προσαρμογές ως προς την αναπαραγωγική τους στρατηγική, οι οποίες τους δίνουν τη δυνατότητα να αντεπεξέρχονται στις μεταβολές των φυσικοχημικών παραγόντων του νερού, στην παρουσία αιωρούμενων σωματιδίων, λάσπης καθώς και μικροοργανισμών στους χώρους απόθεσης των αυγών τους, δηλαδή παραγόντων που μπορεί να έχουν καταστροφικές επιπτώσεις, προκαλώντας τελικά μαζικούς θανάτους των αυγών ή των λαρβών. Το ειδικό βάρος των αυγών της ζαμπαρέλας, όπως και των περισσότερων ψαριών των εσωτερικών νερών και των λιμνοθαλασσών, είναι ελαφρώς μεγαλύτερο από αυτό του περιβάλλοντος νερού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, τα αυγά, κατά την αργή πτώση τους, αιωρούμενα με τη βοήθεια ρευμάτων ή και κινήσεων του ψαριού να προσκολλώνται στη υδρόβια βλάστηση. Κατ' αυτόν τον τρόπο αποφεύγουν την πτώση τους στη λάσπη, γεγονός που θα είχε δυσμενείς επιπτώσεις στην επιβίωση των αυγών και των λαρβών, αλλά και τη παράσυρσή τους από τα παλιρροιακά ρεύματα του νερού. ενδεικτικά αναφέρουμε ότι σε δείγματα νερού που πάρθηκαν με τη βοήθεια πλαγκτονικού διχτυού, καθώς και σε δείγματα βένθους από τους τόπους ωοτοκίας της ζαμπαρέλας, δε βρέθηκε κανένα αυγό, ενώ όλα τα αυγά που μελετήθηκαν βρέθηκαν να είναι προσκολλημένα με τα λεπτά νημάτιά τους στην υδρόβια βλάστηση.

Τα αυγά και οι λάρβες της ζαμπαρέλας είναι προσαρμοσμένα έτσι ώστε να ανταπεξέρχονται στις συνθήκες χαμηλής περιεκτικότητας οξυγόνου στο νερό. Ο μεγάλος περιλεκιθικός χώρος των αυγών, ενδεχόμενα να χρησιμεύει ως αναπνευστικός θάλαμος και θεωρείται σαν προσαρμοστικός μηχανισμός στα βεβαρημένα με λάσπη περιβάλλοντα. Τα ιδιαίτερα αναπτυγμένα αναπνευστικά όργανα (αγωγοί του Cuvier) των εμβρύων και ελευθεροεμβρύων επιτρέπουν την εκμετάλλευση σε μεγάλο βαθμό ακόμη και ελάχιστων συγκεντρώσεων του οξυγόνου στο νερό.

Το μέγεθος των αυγών της ζαμπαρέλας είναι συγκριτικά μεγάλο σε σχέση με το μέγεθος του ψαριού. Η μέση διάμετρος των ενυδατωμένων ωοκυττάρων φτάνει στο 1,95mm, η οποία είναι μεγαλύτερη από τις τιμές που αναφέρουν οι Boumaïza et al. (1979), οι οποίοι μελετώντας τη γονιμότητα της ζαμπαρέλας στην Τυνησία βρήκαν ότι η μέση διάμετρος των ωοκυττάρων στη λίμνη Nord ήταν 1,759mm, στην ακτή Sidi Mansour ήταν 1,826mm και στην

όαση Chenini ήταν 1,898mm. Το μεγάλο μέγεθος των αυγών οδηγεί στη γέννηση μεγάλου μεγέθους ιχθυδίων τα οποία είναι λιγότερο ευπρόσβλητα από τους θηρευτές, και κατά συνέπεια, περισσότερο βιώσιμα, το οποίο σε συνδιασμό με τη δύσκολη πρόσβαση θηρευτών στους τόπους αναπαραγωγής του είδους, εξασφαλίζει υψηλή επιβίωση.

Συμπερασματικά φαίνεται ότι η παρατεταμένη αναπαραγωγική περίοδος, η τμηματική ωοτοκία, το ιδιαίτερα μεγάλο μέγεθος των αυγών, το μεγάλο μέγεθος των λαρβών (5 - 6mm), η σύντομη επώαση των αυγών (4 - 5 ημέρες) και η πολύ μεγάλη εκκολαψιμότητα των αυγών (100% σε δείγμα 22 αυγών), χαρακτηρίζουν την αναπαραγωγική στρατηγική του είδους σε ένα ευμετάβλητο και ασταθές περιβάλλον όπως είναι η λιμνοθάλασσα του Μεσολογγίου.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Λεονάρδος Ι. 1996. Δυναμική πληθυσμών της Ζαμπαρέλας (*Aphanius fasciatus* Nardo, 1827) στις λιμνοθάλασσες Μεσολογγίου - Αιτωλικού. Διδακτορική διατριβή, Αριστ/λειο Πανεπ/μιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας.
- Λεονάρδος Ι. & Σίνης Α. Εμβρυϊκή ανάπτυξη του ιχθύος *Aphanius fasciatus* (Nardo 1827) στη λιμνοθάλασσα του Μεσολογγίου. Πρακτικά 5^{ου} Πανελλήνιου Συμπόσιου Ωκεανογραφίας & Αλιείας, 1997 - Τόμος ΙΙ.
- Κατρίτση - Καθάρου Ι. 1992. Η ζωή στις Αλυκές Μεσολογγίου. Ελληνικές Αλυκές Α.Ε.
- Συμβολή στη μελέτη των Ιχθυοτροφείων της Λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου - Αιτωλικού. Πτυχιακή εργασία από την βιβλιοθήκη του τμήματος Ιχθυοκομίας - Αλιείας του ΤΕΙ Μεσολογγίου.
- Προσέγγιση πραγματικής παραγωγής λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου - Αιτωλικού καθώς και κατανομής αυτής. Πτυχιακή εργασία από την βιβλιοθήκη του τμήματος Ιχθυοκομίας - Αλιείας του ΤΕΙ Μεσολογγίου.
- Ασθένειες και παράσιτα των κεφάλων στη λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου - Αιτωλικού. Πτυχιακή εργασία από την βιβλιοθήκη του τμήματος Ιχθυοκομίας - Αλιείας του ΤΕΙ Μεσολογγίου.

