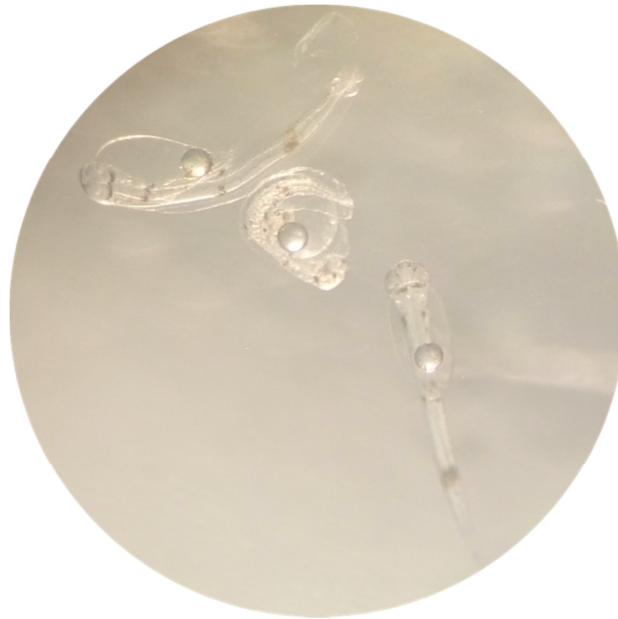


Επίδραση της πυκνότητας αβγών τσιπούρας,
στις αποδόσεις των επώσεων σε στάσιμα
νερά.



Ελένη Ασπετάκη (11673)
Εισηγητής: Ιωάννης Κλαδάς

*Αφιερώνεται,
στην οικογένειά μου & ιδιαίτερα
στην μητέρα μου,
που με πίστεψε και με στήριξε
εξ' αρχής ...*

Πρόλογος

Η εργασία αυτή συνιστά κατά κάποιον τρόπο συνέχεια προηγούμενης Πτυχιακής Εργασίας (Σεριάνι Κλείνιτς, μη υποβληθείσα ακόμη), στην οποία είχε επιβεβαιωθεί η δυνατότητα πραγματοποίησης αξιόπιστων επώασεων πελαγικών αβγών θαλασσινών ψαριών με τον διαθέσιμο, αναγκαστικά περιορισμένο εξοπλισμό στον εργαστηριακό χώρο «Βιολογίας & Καλλιέργειας Ιχθύων» του Τμήματος Τεχνολογίας Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών του ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας, στο Μεσολόγγι, με στόχο την ενσωμάτωση της σχετικής δραστηριότητας στην εκπαιδευτική του ρουτίνα.

Αυτό γιατί, υπενθυμίζουμε ότι (α) τα πελαγικά αβγά θαλασσινών ειδών ψαριών παράγονται σε ιχθυογεννητικούς σταθμούς κατά κανόνα μακριά από τον χώρο εκπαίδευσης, (β) οι συνθήκες επώασης στις εργαστηριακές εγκαταστάσεις του Τμήματος υπολείπονται των αντίστοιχων των εκκολαπτηρίων των ιχθυογεννητικών σταθμών (φιλτράρισμα, αποστείρωση, επαρκής ποσότητα, απόλυτη σταθερότητα θερμοκρασίας νερού επώασης) και (γ) οι επώσεις πελαγικών αβγών θαλασσινών ψαριών διαρκούν λίγα εικοσιτετράωρα, με αποτέλεσμα η σχετική παρακολούθηση και οι φροντίδες από τους σπουδαστές να γίνεται σε καθημερινή, αν όχι σε ολόημερη βάση και να μην καλύπτονται από το ωράριο μιας συμβατικής εργαστηριακής άσκησης. Η πτυχιακή αυτή είχε καταλήξει στο συμπέρασμα πως η προσθήκη φυτοπλαγκτού στο μέσο επώασης μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα της εκκόλαψης και των παραγόμενων προνυμφών.

Σε ένα επόμενο στάδιο λοιπόν, η παρούσα πτυχιακή εργασία στόχο είχε στο να εξεταστούν τα όρια της τεχνικής αυτής, ως αναφορά την πυκνότητα των πελαγικών αβγών θαλασσινών ψαριών σε στάσιμα νερά επώασης, πραγματοποιήθηκε δε κάτω από την καθοδήγηση του επιβλέποντα Καθηγητή Γιάννη Κλαδά.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τα μέλη ΕΤΕΠ του Τμήματος Αθηνά Σαμαρά και Βασίλη Σταυρόπουλο για την καθημερινή βοήθεια που μου προσέφερε, ιδιαίτερα για τις μεταφορές των αβγών από τον Ιχθυογεννητικό Σταθμό της εταιρείας ΝΗΡΕΑΣ, στην Χιλιαδού Δωρίδας. Οπωσδήποτε θα πρέπει να ευχαριστήσω επίσης τα στελέχη της Εταιρείας κ.κ. Ανδρέα Σμπούκη και Κατερίνα Μπάκου για τη διάθεση των αβγών. Ευχαριστώ επίσης τα στελέχη του Τμήματος Δημήτρη Μουτόπουλο, Επίκουρο

Καθηγητή για την βοήθειά του στην στατιστική επεξεργασία των δεδομένων αυτής της εργασίας, επίσης τον Παναγάγγελο Δενδρινό, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος καθώς και Δέσποινα Αβραμίδου, ΕΤΕΠ και Νίκο Βλάχο ΕΔΙΠ για την πρόθυμη ανταπόκρισή τους σχετικά με την παροχή εξοπλισμού για τα πειράματά μας.

Περίληψη

Στόχος της παρούσας πτυχιακής εργασίας στόχο είναι η διερεύνηση των ορίων της τεχνικής της επώασης πελαγικών αβγών θαλασσινών ψαριών σε στάσιμα νερά , σε σχέση με την πυκνότητα τους, με χρήση φυτοπλαγκτού ως εξυγιαντικού παράγοντα. Η μέθοδος που ακολουθήθηκε είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί για εκπαιδευτικούς λόγους, δηλαδή την επώαση αβγών και την παραγωγή νυμφών στο εργαστήριο, καθώς μπορεί να παράγει με ασφάλεια 60 έως 90% βιώσιμες νύμφες ηλικίας 3 ημερών, σε μία μεγάλη γκάμα συγκεντρώσεων αβγών και σε πολύ ικανοποιητικές συνθήκες ποιότητας νερού. Το διαθέσιμο οξυγόνο επηρεάζεται ελαφρά μόνον από τις μεγάλες συγκεντρώσεις αβγών ανα λίτρο, ενώ, από τα διαθέσιμα στοιχεία, δεν εντοπίστηκαν σημαντικές αλλαγές στις υπόλοιπες παραμέτρους ποιότητας του νερού. Ο έλεγχος της θερμοκρασίας επώασης αποδείχτηκε το πλέον προβληματικό ζήτημα της όλης προσπάθειας, καθώς η θερμορύθμιση του χώρου αποδείχτηκε αναποτελεσματική. Το γεγονός αυτό μας δείχνει ότι με τον υπάρχοντα εξοπλισμό δεν μπορούμε να οργανώσουμε επώσεις αβγών στον χώρο του εργαστηρίου για πειραματικούς σκοπούς.

Abstract

The aim of this thesis is to investigate the limits of the technique of incubating seaweed pelagic eggs in stagnant waters in relation to their density using phytoplankton as a sanitizing agent. The method followed can be used for educational purposes, ie incubation of eggs and larval production in the laboratory, as it can safely produce 60 to 90% viable yolk sac larvae 3 DPH, in a wide range of egg concentrations and in very satisfactory conditions of water quality. The available oxygen is only slightly affected by the high concentrations of eggs per liter, and, from the available data, no significant changes in other water quality parameters have been identified. The control of the incubation's temperature proved to be the most problematic issue of the whole project, as the thermoregulation of the room proved to be ineffective. This fact shows that with existing equipment we cannot organize incubations of eggs in the laboratory area for experimental purposes.

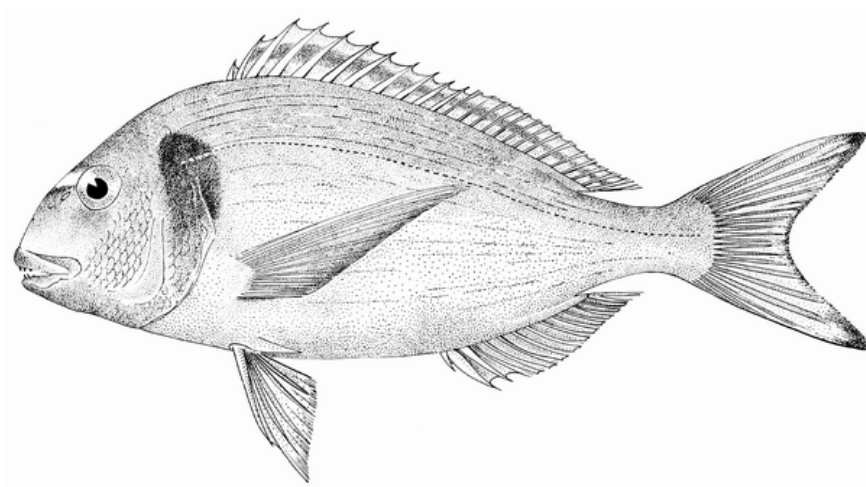
Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	3
Περίληψη.....	5
Abstract.....	6
Περιεχόμενα.....	8
1. Εισαγωγή.....	10
1.1 Η βιολογία της τσιπούρας.....	10
1.1.1 Χαρακτηριστικά του είδους.....	10
1.1.2 Βιολογία και κύκλος ζωής.....	11
1.1.3 Βιότοπος.....	11
1.1.4 Γεωγραφική εξάπλωση.....	11
1.2 Παραγωγή.....	12
1.2.1 Παγκόσμια Αλιευτική Παραγωγή.....	12
1.2.2 Παραγωγή από Ιχθυοκαλλιέργεια.....	13
1.3 Ιχθυοκαλλιέργεια του είδους.....	20
1.3.1 Ο κύκλος παραγωγής γόνου εντατικής εκτροφής.....	20
1.3.2 Παραγωγή αβγών.....	20
1.3.3 Ποιότητα νερού και επώαση αβγών.....	28
1.3.4 Μέθοδοι επώασης των αβγών και μεταφορά προνυμφών στους ΙΧΣ (συγκριτική παρουσίαση, πλεονεκτήματα, μειονεκτήματα).....	29
1.3.5 Ποιότητα προνυμφών.....	30
1.3.6 Περιορισμοί στην επώαση αβγών πελαγικών ψαριών στον εργαστηριακό χώρο του ΤΕΙ.....	32
2. Υλικά & Μέθοδοι.....	33
2.1 Προέλευση αυγών & μεταφορά.....	33
2.2 Διανομή αυγών στα δοχεία επωάσεων.....	33
2.3 Γενικές συνθήκες επωάσεων.....	34
2.3.1 Μέσο Καλλιέργειας.....	34
2.3.2 Θερμοκρασία.....	34
2.3.3 Αερισμός.....	35
2.3.4 Φυτοπλαγκτόν.....	35
2.3.5 Φωτισμός.....	35
2.4 Σχεδιασμός πειράματος.....	36
2.5 Καθημερινές φροντίδες επωάσεων.....	37
2.6 Δειγματοληψίες.....	38
2.7 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων.....	38
3. Αποτελέσματα.....	40
3.1 Σειρά Α.....	40
3.2 Σειρά Β.....	43
3.3 Σειρά Γ.....	47
4. Συμπεράσματα.....	51
5. Βιβλιογραφία.....	52

1. Εισαγωγή

1.1 Η βιολογία της τσιπούρας

Η τσιπούρα *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758, εικ.1) ή σπάρος ο χρυσόχρους ανήκει στο Βασίλειο Ζώα (Animalia), στο Φύλο Χορδωτά (Chordata), στην Ομοταξία Ακτινοπτερύγιοι (Actinopterygii), στην Τάξη Περκόμορφοι (Perciformes), στην Οικογένεια Σπαροειδή (Sparidae) και στο Γένος Sparus.



Εικόνα 1. Σχηματική απεικόνιση τσιπούρας *Sparus aurata* (Moretti *et. al.*, 1999).

Είναι ένα κοινό είδος στη Μεσόγειο και στις ακτές του Ατλαντικού, με αποτέλεσμα τη μεγάλη οικονομική σημασία της ως αλίευμα αλλά και ως προϊόν εκτροφής και εντατικής καλλιέργειας.

1.1.1 Χαρακτηριστικά του είδους

Το σώμα της είναι σχήματος οβάλ, πλευρικά πεπιεσμένο. Το προφίλ της κεφαλής είναι κυρτό. Έχει μικρό μάτι και το στόμα της βρίσκεται χαμηλά και είναι ελαφρά λοξό, ενώ περιβάλλεται από σαρκώδη χείλη. Υπάρχουν τέσσερις ως έξι κυνόδοντες αντικριστά σε κάθε γνάθο ενώ ακολουθούνται προς τα πίσω από γομφίους, οι οποίοι σταδιακά μετασχηματίζονται σε τραπεζίτες και είναι τακτοποιημένα σε δύο ως τέσσερις σειρές δοντιών (τα δόντια που βρίσκονται στις δύο εξωτερικές σειρές είναι και τα πιο

δυνατά). Τα βράγχιά της αποτελούνται από 11 ως 13 βραγχιακά τόξα. Το ραχιαίο πτερύγιο αποτελείται από 11 σκληρές άκανθες και 13 ως 14 μαλακές. Το εδρικό πτερύγιο έχει 3 σκληρές άκανθες και 11 ως 12 μαλακές. Κατά μήκος της πλευρικής γραμμής υπάρχουν 73 ως 85 λέπια. Έχει ασημένιο χρώμα με μια χαρακτηριστική μαύρη κηλίδα στο τέλος του βραγχιακού επικαλύμματος. Επίσης χαρακτηριστικό είναι και το χρυσό τόξο που ενώνει τα μάτια, πιο έντονο στα ενήλικα ψάρια, και της έδωσε και το όνομα «χρυσόφρυς» (Moretti *et. al.*, 1999, FAO, 2018).

1.1.2 Βιολογία και κύκλος ζωής

Η τσιπούρα είναι είδος ευρύθερμο και ευρύαλο, αντέχει δηλαδή σε μεγάλες μεταβολές της αλατότητας και της θερμοκρασίας του νερού. Έτσι το συναντάμε τόσο στην ανοικτή θάλασσα, όσο και στις εκβολές ποταμών και στις λιμνοθάλασσες σε συγκεκριμένα στάδια του κύκλου ζωής της. Γεννημένα στην ανοικτή θάλασσα από τον Νοέμβρη έως και τον Δεκέμβρη, τα ιχθύδια μεταναστεύουν στις αρχές της άνοιξης σε προστατευμένες παράκτιες περιοχές, όπου και βρίσκουν άφθονες πηγές τροφής και υψηλότερες θερμοκρασίες. Ευαίσθητα στις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες (χαμηλότερο όριο επιβίωσης 4 °C), στο τέλος του φθινοπώρου επιστρέφουν ξανά στην ανοικτή θάλασσα, όπου, ενήλικα πλέον άτομα, γεννούν.

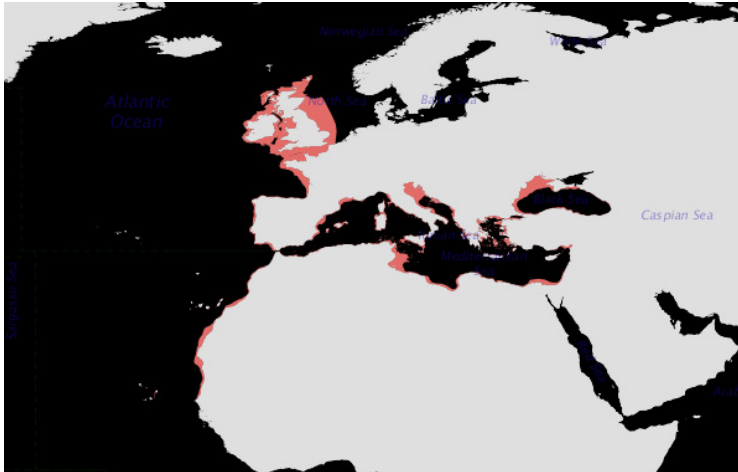
Οι τσιπούρες είναι πρώτανδρα ερμαφρόδιτα ψάρια, δηλαδή γεννιούνται πρώτα ως αρσενικά και μετά το πέρας περίπου τριών χρόνων κάνουν αναστροφή φύλου και γίνονται θηλυκά. Ενηλικιώνονται σεξουαλικά ως αρσενικά όταν γίνουν 2 χρονών (σε μήκος 20 - 30 εκ. και σε βάρος 350 με 400 γρ.).

1.1.3 Βιότοπος

Βρίσκεται σε λιβάδια και αμμώδεις βυθούς, συνήθως στα 30 μέτρα, αλλά και πολύ βαθύτερα στα 150 μέτρα, ως ενήλικο. Την άνοιξη μπαίνει συχνά σε υφάλμυρα νερά λιμνοθαλασσών και εκβολών ποταμών.

1.1.4 Γεωγραφική εξάπλωση

Η τσιπούρα συναντάται σ' όλη τη Μεσόγειο και στις ακτές του Ατλαντικού από τη Βρετανία ως τη Σενεγάλη, σπανιότερα στη Μαύρη θάλασσα (εικ.2) (ΣΕΘ, 2017).



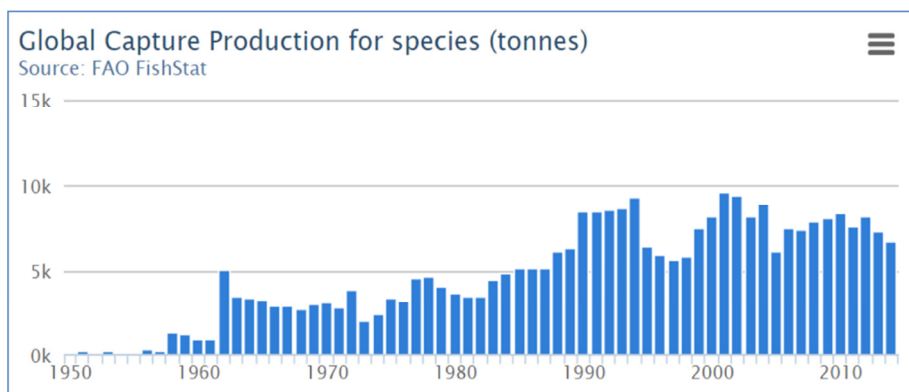
Εικόνα 2. Γεωγραφική εξάπλωση τσιπούρας (ΣΕΘ, 2017).

1.2 Παραγωγή

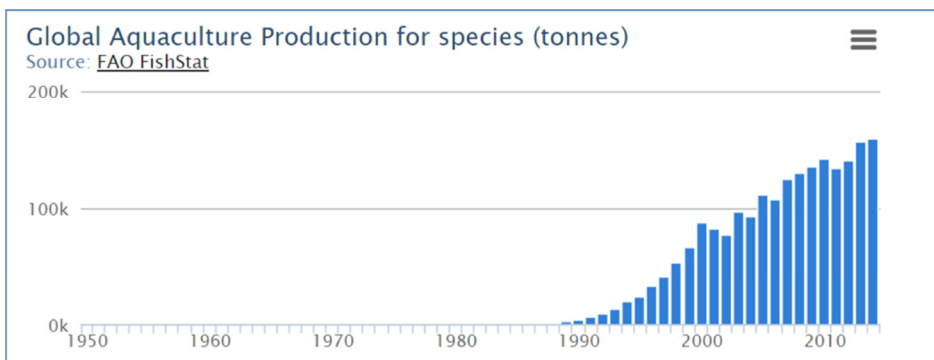
1.2.1 Παγκόσμια Αλιευτική Παραγωγή

Η υδατοκαλλιέργεια και κυρίως η ιχθυοκαλλιέργεια, αποτελούν έναν από τους πιο σημαντικούς κλάδους του πρωτογενούς τομέα ζωικής παραγωγής που έχει μεγάλο ενδιαφέρον λόγω της συμβολής της στην οικονομική ανάπτυξη και την κοινωνική συνοχή των χωρών.

Ενδεικτικά αναφέρεται πως το 1980 μόλις το 2% της εγχώριας προσφοράς αλιευτικών προϊόντων προερχόταν από την υδατοκαλλιέργεια (2.000 τόνοι) και το υπόλοιπο 98% από την συλλεκτική αλιεία (105.651 τόνοι). Η αναλογία αυτή άρχισε να μεταβάλλεται ταχύτατα από το 1980 και μετά και σύμφωνα με τα τελευταία διαθέσιμα στοιχεία εκτιμάται ότι το 63% της εγχώριας παραγωγής αλιευτικών προϊόντων προήλθε από την υδατοκαλλιέργεια και το υπόλοιπο 37% από τη συλλεκτική αλιεία (εικ.3,4).

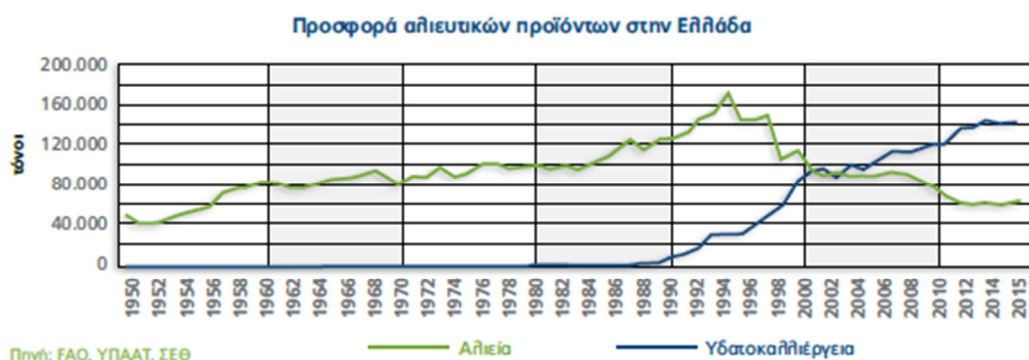


Εικόνα 3. Παγκόσμια αλιευτική παραγωγή για τα είδη (τόνοι) (ΣΕΘ, 2017).



Εικόνα 4. Παγκόσμια παραγωγή ιχθυοτροφείων για τα είδη (τόνοι) (ΣΕΘ, 2017).

Η ίδια εξέλιξη παρατηρείται και στην Ελλάδα και αφορά τις ίδιες χρονικές περιόδους (εικ.5), καθώς η χώρα μας ως πρωτοπόρος στην εκτροφή αυτού του είδους στη Μεσόγειο, συνέβαλε και συμβάλει ακόμη στη διαμόρφωση αυτών των στατιστικών.



Εικόνα 5. Προσφορά αλιευτικών προϊόντων στην Ελλάδα (ΣΕΘ, 2017).

1.2.2 Παραγωγή από Ιχθυοκαλλιέργεια

Παραδοσιακά, οι τσιπούρες καλλιεργούνταν εκτενώς σε λιμνοθάλασσες και λίμνες αλμυρού νερού, έως ότου αναπτύχθηκαν συστήματα εντατικής εκτροφής κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1980. Η ιταλική «vallicoltura» ή η αιγυπτιακή «hosha» είναι εκτεταμένα συστήματα εκτροφής ψαριών που λειτουργούν σαν φυσικές παγίδες ιχθύων, εκμεταλλευόμενες τη φυσική τροφική μετανάστευση νεαρών από τη θάλασσα σε λιμνοθάλασσες. Η τσιπούρα είναι ένα από τα πιο κατάλληλα είδη για υδατοκαλλιέργεια στη Μεσόγειο, λόγω της καλής τιμής αγοράς, του υψηλού ποσοστού

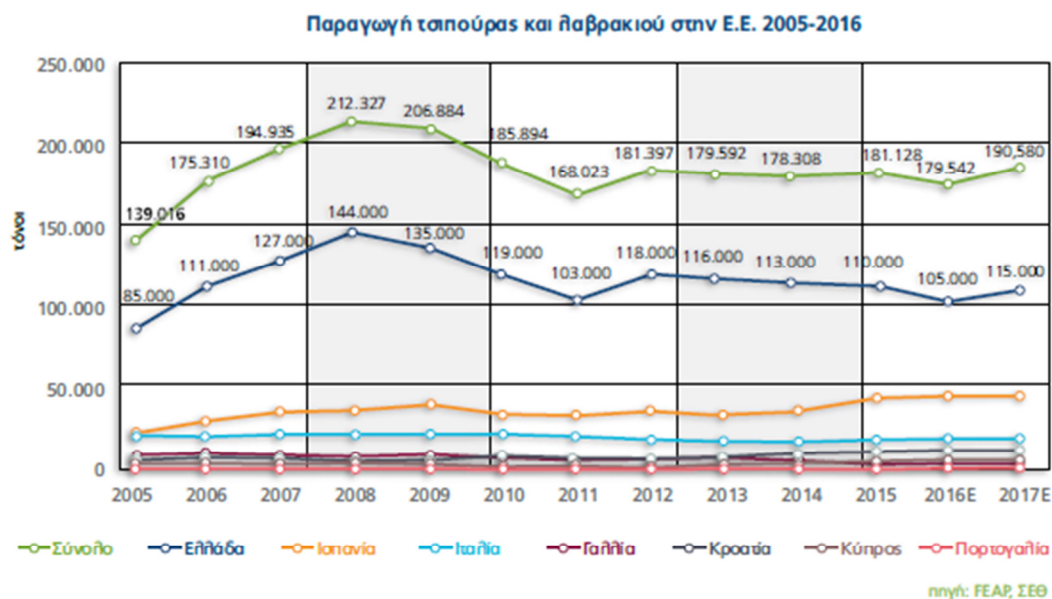
επιβίωσης των ιχθυδίων της και των διατροφικών της συνηθειών (που είναι σχετικά χαμηλά στην τροφική αλυσίδα).

Η τεχνητή αναπαραγωγή του είδους, επιτεύχθηκε με επιτυχία στην Ιταλία το 1981 - 1982 και η παραγωγή μεγάλης κλίμακας ιχθυδίων επιτεύχθηκε οριστικά το 1984 αρχικά στον Ιχθυογεννητικό Σταθμό των ιχθυοτροφείων Κεφαλονιάς και κλιμακώθηκε από την περίοδο 1988 - 1989 σε Ισπανία, Ιταλία, Ισραήλ, Κύπρος, Κροατία και Γαλλία. Σταδιακά και άλλες χώρες απέκτησαν και εφάρμοσαν αυτή την τεχνολογία, όπως η Πορτογαλία, η Τουρκία, η Τυνησία κτλ (εικ.6).



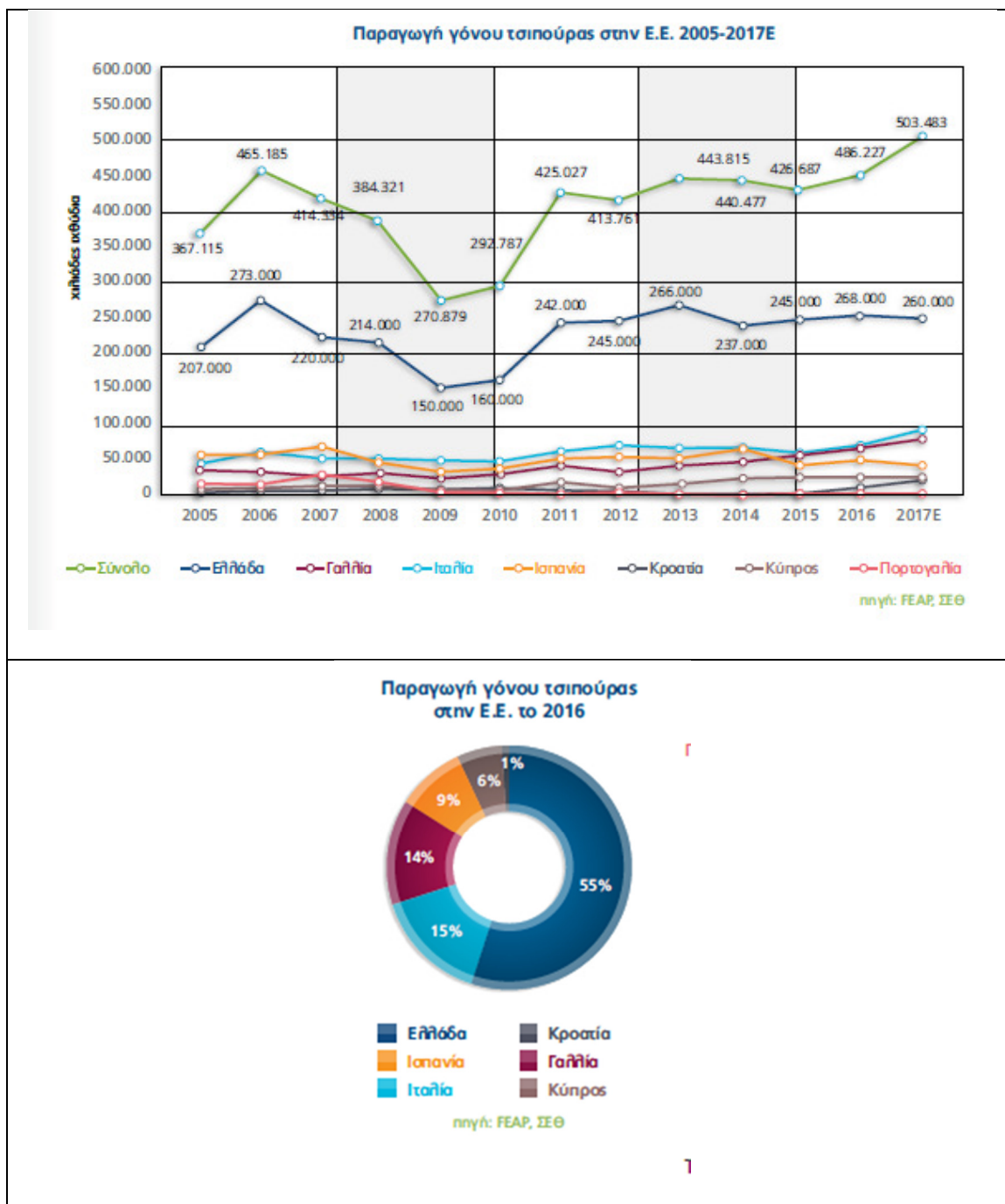
Εικόνα 6. Κύριες χώρες παραγωγής της τσιπούρας (*Sparus aurata*) (FAO, (2018), Fishery Statistics, 2006).

Η παραγωγή και η εκτροφή της τσιπούρας είναι ένας από τους πιο επιτυχημένους κλάδους της ιχθυοκαλλιέργειας. Αυτό το είδος έδειξε πολύ γρήγορα μεγάλη προσαρμοστικότητα στις συνθήκες εντατικής εκτροφής, τόσο σε δεξαμενές όσο και σε ιχθυοκλωβούς, ενώ η ετήσια παραγωγή του αυξήθηκε ραγδαία μέχρι το 2000. Η ευρωπαϊκή παραγωγή κυμαίνεται σήμερα πάνω από 100 χιλιάδες τόνους (εικ.7).



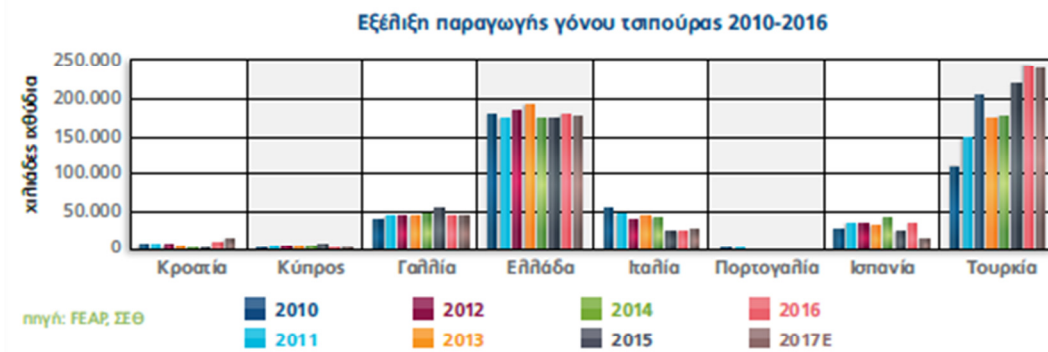
Εικόνα 7. Παραγωγή τσιπούρας και λαβρακιού στην Ε.Ε. 2005 - 2006 (ΣΕΘ, 2017).

Η παραγωγή αυτή υποστηρίζεται από ανάλογη δραστηριότητα τεχνητής αναπαραγωγής του είδους σε ιχθυογεννητικούς σταθμούς (εικ.8) που παράγουν ετησίως συνολικά 400 – 450 εκ. ιχθύδια. Από αυτά σχεδόν το 98% (448 εκ. ιχθύδια) αντιπροσωπεύει την παραγωγή γόνου τσιπούρας και λαβρακιού, και το 2% (9,6 εκ. ιχθύδια) την παραγωγή γόνου για όλα τα υπόλοιπα μεσογειακά είδη (μυτάκι, φαγκρί και κρانيό). Το 2016 η συνολική παραγωγή γόνου ήταν 457,6 εκ. ιχθύδια συνολικής αξίας 94,2 εκ. ευρώ, με την τιμή μονάδας να κυμαίνεται από 0,2 ευρώ για την τσιπούρα έως 0,4 ευρώ για τον κρانيό. Σε σχέση με το προηγούμενο έτος παρατηρείται αύξηση 8,7% ως προς τον όγκο και 22% ως προς την αξία πωλήσεων γόνου.



Εικόνα 8. Παραγωγή γόνου τσιπούρας στην Ε.Ε. 2005 - 2017 (επάνω), Παραγωγή γόνου τσιπούρας στην Ε.Ε. το 2016 (κάτω) (ΣΕΘ, 2017).

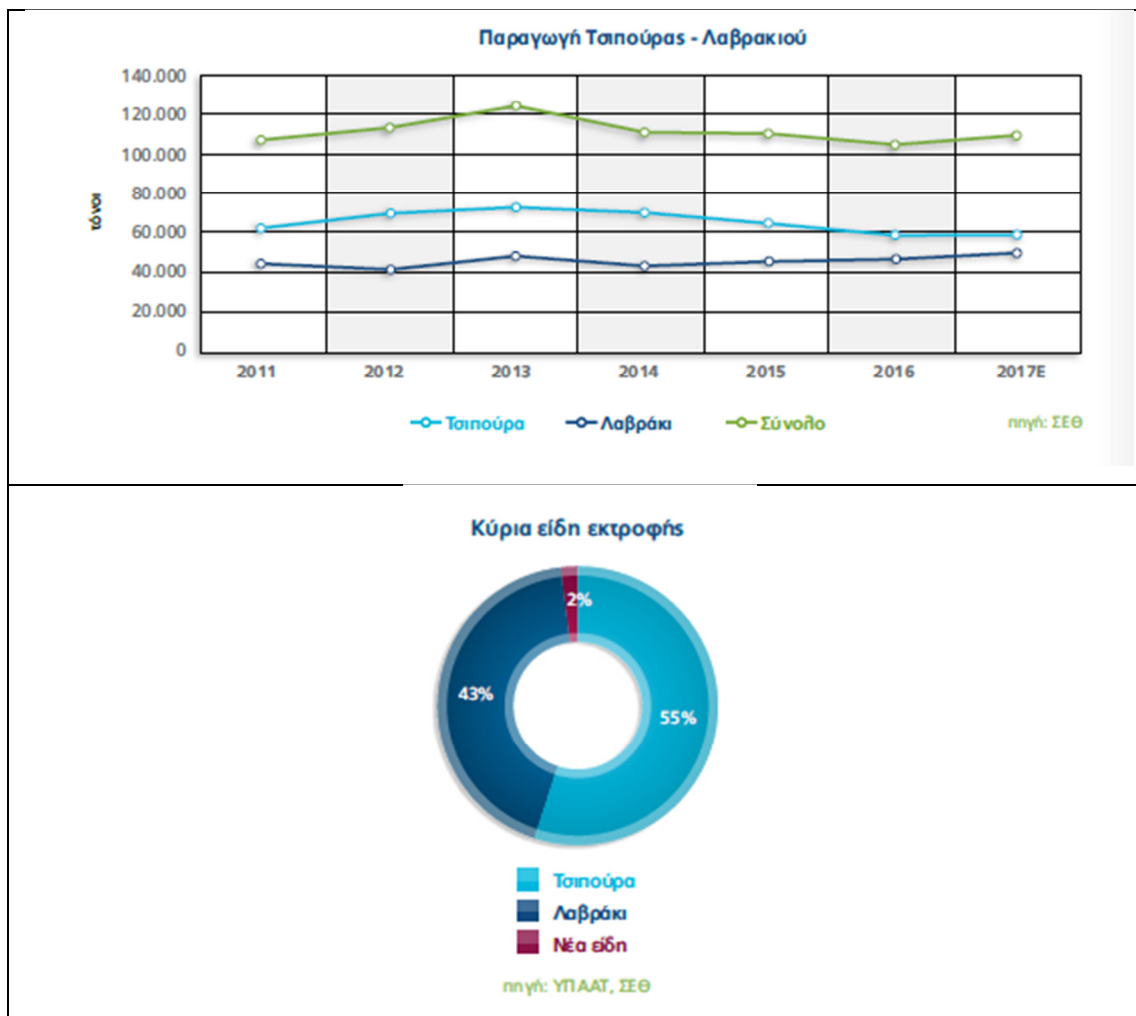
Η Ελλάδα και εδώ κρατάει την πρωτοπορία, όμως τα τελευταία χρόνια σε αυτόν τον τομέα έχει ιδιαίτερα προοδεύσει και η Τουρκία (εικ.9). Αναλυτικότερα και όσον αφορά στην παραγωγή γόνου τσιπούρας και λαβρακιού, το 2016 παρήχθησαν συνολικά 448 εκ. ιχθύδια αξίας 91,58 εκ. ευρώ. Από αυτά, το 16,6% (74,8 εκ. ιχθύδια) εξήχθησαν σε άλλες χώρες (Ισπανία, Κροατία, Αίγυπτο, Η.Α.Ε, Τυνησία).



Εικόνα 9. Εξέλιξη παραγωγής γόνου τσιπούρας 2010 - 2016 (ΣΕΘ, 2017).

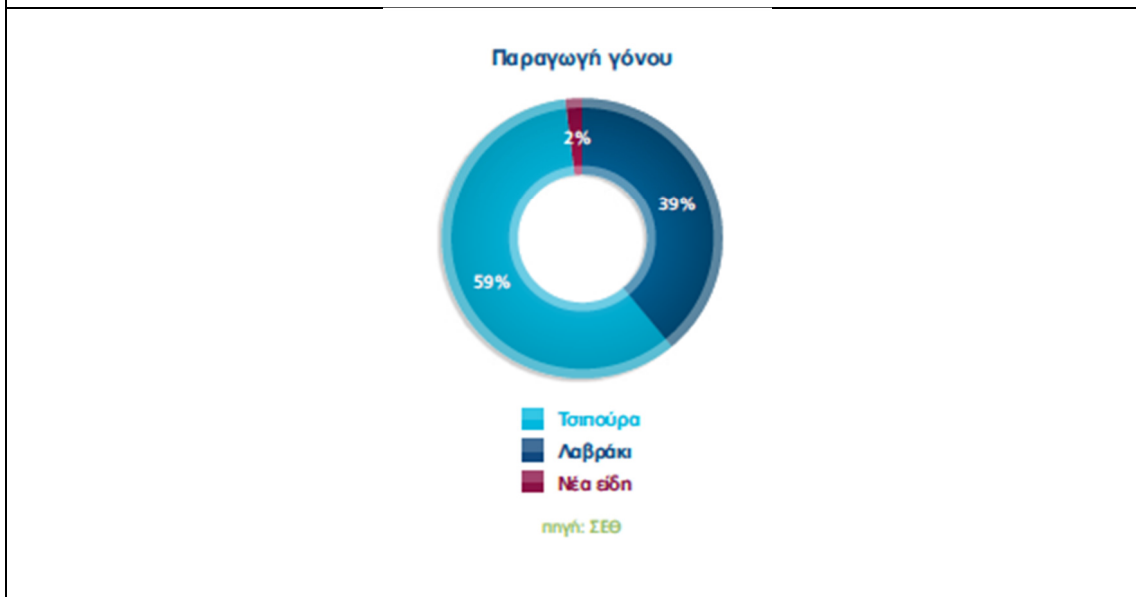
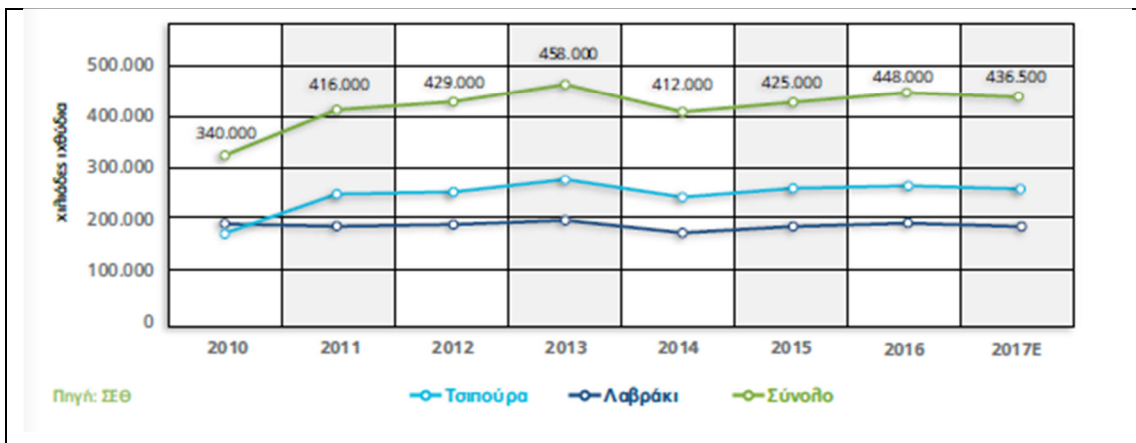
1.2.2.1 Η ελληνική παραγωγή

Η εκτροφή θαλάσσιων μεσογειακών ιχθύων αποτελεί εδώ και 30 χρόνια τη βασική δραστηριότητα υδατοκαλλιέργειας της χώρας. Τα κύρια είδη που εκτρέφονται είναι η τσιπούρα (*Sparus aurata*) και το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) αποτελώντας περίπου το 98% των πωλήσεων, ενώ σε πολύ μικρότερη κλίμακα, περίπου 2%, εκτρέφονται όλα τα υπόλοιπα μεσογειακά είδη, μυτάκι (*Diplodus puntazzo*), φαγκρί (*Pagrus pagrus*), λυθρίνι (*Pagellus erythrinus*), κρانيός (*Argyrosomus regius*), συναγρίδα (*Dentex dentex*) κ.α.. Από το 1981 που δημιουργήθηκαν οι πρώτες πειραματικές μονάδες, ο κλάδος έφτασε το 2016 να κατέχει μία από τις πρώτες θέσεις παγκοσμίως στην εκτροφή μεσογειακών ιχθύων. Το 2016 η παραγωγή τσιπούρας και λαβρακιού ανήλθε σε 105.000 τόνους αξίας σχεδόν 553 εκ. ευρώ (εικ.10).



Εικόνα 10. Παραγωγή τσιπούρας - λαβρακιού (επάνω), Κύρια είδη εκτροφής (κάτω) (ΣΕΘ, 2017).

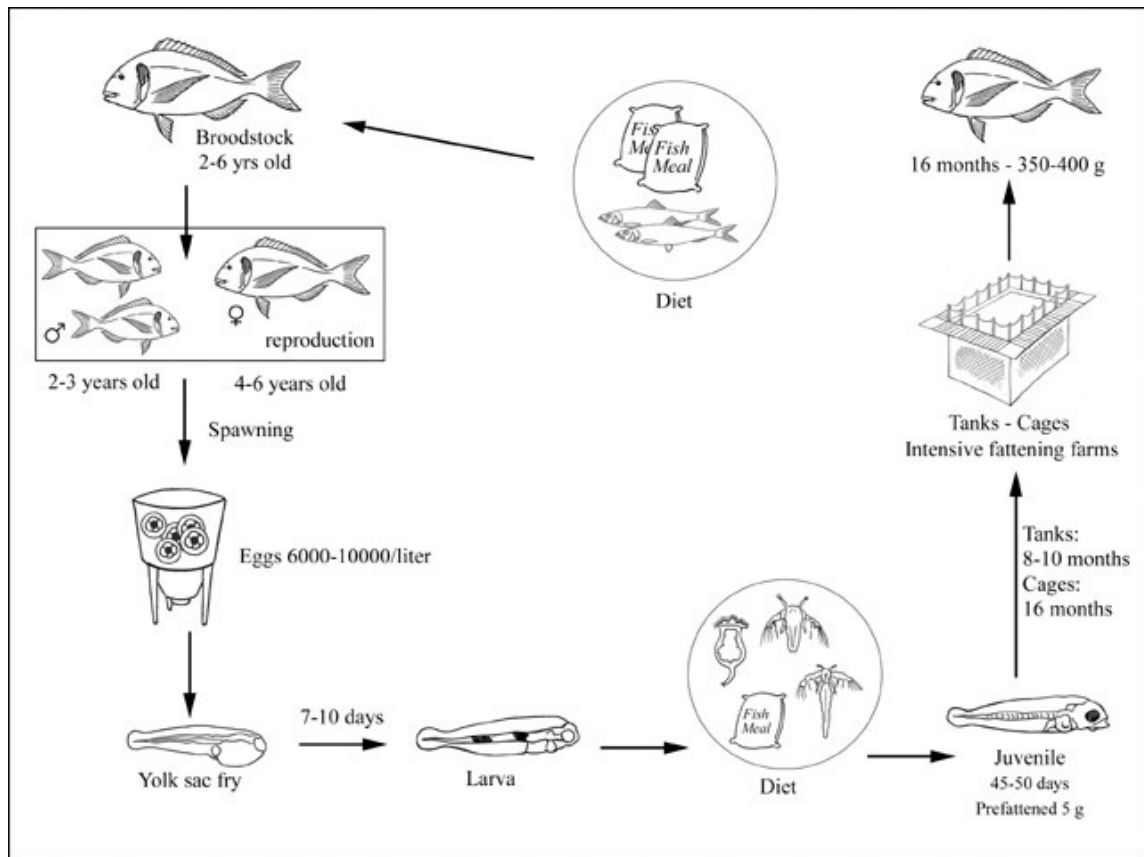
Αναφορικά με τους Ιχθυογεννητικούς Σταθμούς στην χώρα μας το 2016 παρήχθησαν 268 εκ. ιχθύδια τσιπούρας αξίας 56,28 εκ. ευρώ. Από αυτά εξήχθησαν 35,8 εκ. ιχθύδια σε ευρωπαϊκές (Ιταλία, Ισπανία) αλλά και τρίτες χώρες. Όσον αφορά τη συνολική εγχώρια παραγωγή γόνου, η τσιπούρα κατέχει την πρώτη θέση με 59%, έναντι των υπολοίπων ειδών (εικ.11).



Εικόνα 11. Παραγωγή γόνου (ΣΕΘ, 2017).

1.3 Ιχθυοκαλλιέργεια του είδους

1.3.1 Ο κύκλος παραγωγής γόνου εντατικής εκτροφής



Εικόνα 12. Περίληψη των κυριότερων σταδίων αναπαραγωγής και εκτροφής της τσιπούρας (FAO, 2018).

1.3.2 Παραγωγή αβγών

1.3.2.1 Διαχείριση των γεννητόρων

Για να εξασφαλίσει τη σωστή λειτουργία του, κάθε εκκολαπτήριο ψαριών πρέπει να διαθέτει μια ικανή και αξιόπιστη πηγή ποιοτικών αυγών. Γι' αυτό το λόγο, τα περισσότερα εκκολαπτήρια έχουν τη δική τους μονάδα γεννητόρων, όπου ψάρια διαφορετικών ηλικιών εκτρέφονται σε μακροχρόνιες συνθήκες αιχμαλωσίας. Το κόστος λειτουργίας μιας τέτοιας μονάδας είναι υψηλό λόγω των μεγάλων απαιτούμενων όγκων εκτροφής και της υψηλής ποιότητας διατροφής. Κατά τη διαχείριση μιας μονάδας γεννητόρων τα κύρια ζητήματα είναι (α) ο αριθμός και η ηλικία των ψαριών που θα αποτελέσουν τον πληθυσμό των γεννητόρων, (β) η συλλογή των γεννητόρων, (γ) η

προσαρμογή στις μακροχρόνιες συνθήκες αιχμαλωσίας και εκτροφής, (δ) η σεξουαλική ωρίμανση και ωοτοκία σύμφωνα με το πρόγραμμα παραγωγής και (ε) η ανανέωση των ηλικιωμένων ατόμων.

Στην αρχή της εποχής ωοτοκίας, επιλεγμένες παρτίδες γεννητόρων μεταφέρονται από τις δεξαμενές εκτροφής τους στις δεξαμενές ωοτοκίας. Ο έλεγχος της αναλογίας αρσενικών – θηλυκών ατόμων είναι πολύ σημαντικός παράγοντας, για την επιτυχή ωοτοκία, καθώς η αναστροφή φύλου είναι κοινωνικά καθορισμένη και προκαλούμενη. Η παρουσία νεαρών αρρένων στο τέλος της περιόδου ωοτοκίας, για παράδειγμα, αυξάνει τον αριθμό των ηλικιωμένων ψαριών που γίνονται θηλυκά. Από την άλλη πλευρά, η εμφάνιση ηλικιωμένων θηλυκών μειώνει την αντιστροφή του φύλου σε νεαρότερα ψάρια.

1.3.2.2 Παραγωγή αβγών

1.3.2.2.1 Προγραμματισμός

Η τσιπούρα, όπως και τα άλλα είδη της οικογένειά της, έχουν εκτεταμένη περίοδο αναπαραγωγής σε σχέση με άλλα είδη (π.χ. λαβράκι), η οποία εκτείνεται συνήθως σε τρεις μήνες. Η τσιπούρα γεννάει φυσιολογικά συνήθως από τον Νοέμβρη, έως τον Γενάρη σε συνθήκες μικρής φωτοπεριόδου. Όμως για να αξιοποιηθούν πλήρως οι εγκαταστάσεις ενός ιχθυογεννητικού σταθμού και να αυξηθεί η παραγωγή του, και άλλες περίοδοι της ωοτοκίας μπορούν να προγραμματιστούν σε συνθήκες φωτοπεριοδικής (και θερμοπεριοδικής) μετατόπισης, έτσι ώστε η παραγωγή αβγών να υπερβαίνει τους εννέα μήνες τον χρόνο (πίν.1).

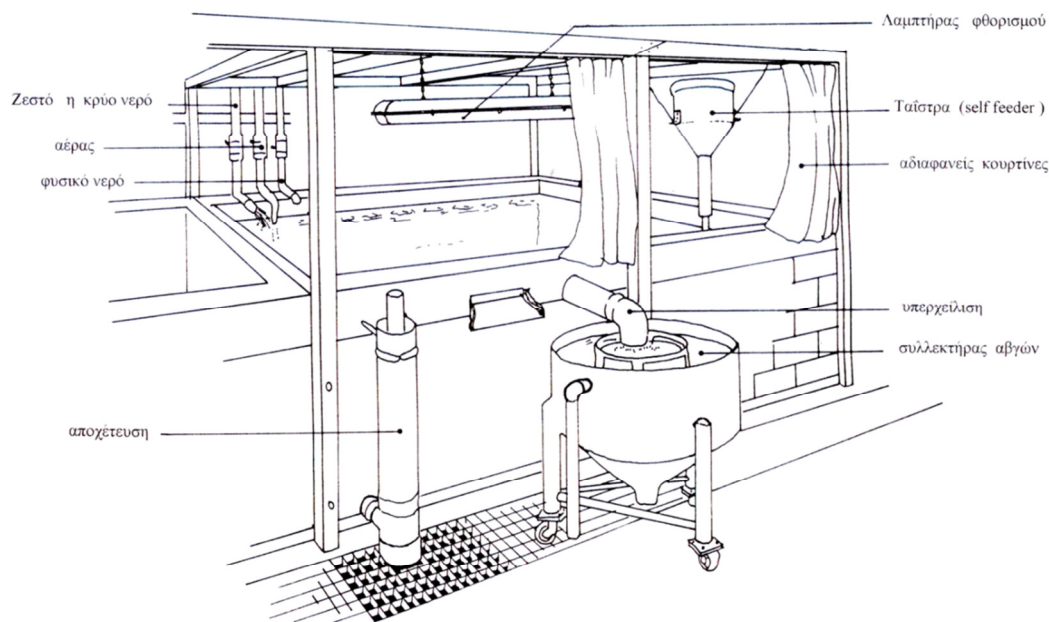
Πίνακας 1. Παράδειγμα προγράμματος παραγωγής αβγών σε ένα τυπικό μεσογειακό ιχθυογεννητικό σταθμό (Κλαδάς, 2012).

Είδος	Περίοδοι Ωοτοκίας				
	Φυσική	Πρώιμες		Όψιμες	
Λαβράκι	Φεβρουάριος - Μάρτιος	Νοέμβριος - Δεκέμβριος	Ιανουάριος - Φεβρουάριος	Απρίλιος - Μάιος	
Τσιπούρα	Νοέμβριος - Δεκέμβριος	Αύγουστος - Νοέμβριος	Οκτώβριος - Νοέμβριος	Ιανουάριος - Μάρτιος	Απρίλιος - Μάιος

1.3.2.2.2 Συλλογή αβγών και καθαρισμός

Τα αβγά και το σπέρμα αφήνονται αβίαστα από τους γεννήτορες και η γονιμοποίηση λαμβάνει χώρα μέσα στο νερό της δεξαμενής εκτροφής των γεννητόρων. Τα πλαγκτονικά αβγά μεταφέρονται με την υπερχειλίση της δεξαμενής σε καλάθια με τοιχώματα από δίχτυ πλαγκτού 500 μm. Τα συγκεντρωμένα αβγά βρίσκονται συνεχώς μέσα στο τρεχούμενο νερό της υπερχειλίσης της δεξαμενής των γεννητόρων, καθώς το καλάθι συλλογής είναι στερεωμένο στην κατάλληλη θέση.

Η τσιπούρα ωοτοκεί πολλές φορές στην ίδια περίοδο αναπαραγωγής. Η παραγωγή είναι της τάξης των 50.000 αυγών ανά κιλό θηλυκού ατόμου ανά ημέρα, ή 800.000 αβγά ανά κιλό θηλυκού ατόμου ανά έτος (Κλαδάς, 2006).



Εικόνα 13. Δεξαμενή γεννητόρων μετατοπισμένης φωτοπεριόδου με τον εξοπλισμό της (Κλαδάς, 2006).

1.3.2.2.3 Μέτρηση

Η γνώση του αριθμού των αβγών με ζύγισμα (σε κόσκινο), ή ογκομετρικά, επιτρέπει το σωστό στοκάρισμα των δεξαμενών, την καλή διαχείρισή τους και τον υπολογισμό αργότερα της συνολικής επιβίωσης από το αβγό (εκκόλαψη, νύμφη, ιχθύδιο). Η μέτρηση των αβγών πραγματοποιείται (α) με ζύγισμα, μετά από γρήγορο στράγγισμα (απαιτείται η γνώση του μέσου βάρους του αβγού), (β) με την μέτρηση του

όγκου τους σε διαφανείς προχοΐδες (απαιτείται η γνώση του μέσου βάρους του αβγού και του βάρους των αβγών ανά μονάδα όγκου) και (γ) με την μέτρηση του αριθμού των αβγών σε δείγματα των 10 ml με τη βοήθεια μικροσκοπίου.

1.3.2.2.4 Απολύμανση

Η απολύμανση των αυγών είναι το πρώτο αποτελεσματικό φράγμα κατά της μετάδοσης των ασθενειών των ψαριών και ως εκ τούτου συνιστάται ιδιαίτερα για όλες τις παρτίδες αυγών, τόσο εκείνες που παράγονται στο εκκολαπτήριο όσο και εκείνες που προέρχονται από άλλα εκκολαπτήρια. Αυτή η σημαντική εργασία διεξάγεται συνήθως αμέσως μετά τη ζύγιση, όταν το φίλτρο που περιέχει το δείγμα του αυγού βυθίζεται στο λουτρό απολύμανσης για μικρό χρονικό διάστημα πριν από την τοποθέτησή του στη δεξαμενή επώασης. Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα απολυμαντικά αυγών είναι Penicillin G, θειική στρεπτομυκίνη και ενεργό ιώδιο. Ακόμη και αν αυτά τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται συνήθως, λόγω των ανεπιθύμητων παρενεργειών που έχουν και των κινδύνων που προκαλούν με κυριότερο την βακτηριακή αντοχή, προτείνεται το ενεργό ιώδιο (Moretti *et al.*, 1999).

Πίνακας 2. Μέθοδοι απολύμανσης αβγών θαλασσινών ειδών (Moretti *et al.*, 1999).

Ενεργή ουσία	Δόση	Χρόνος	Χρήση
PENICILLING	80 I.U./mL	1min	500/10L θαλασσινού νερού για 100-200g αυγών τη φορά
STREPTOMYCIN-SO ₄	50 I.U./mL	1min	500/10L θαλασσινού νερού για 100-200g αυγών τη φορά
ACTIVE IODINE	50ppm/L	10min	8L για 1x10 ⁶ αυγών

1.3.2.2.5 Ποιότητα αβγών

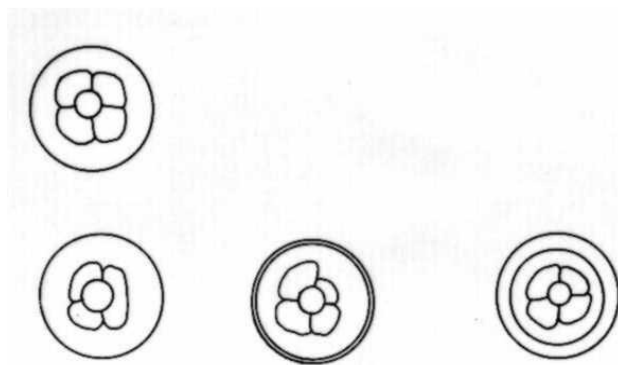
Τα αβγά έχουν σφαιρικό σχήμα, το μέσο μέγεθός τους είναι της τάξης του 1 mm και χαρακτηρίζονται από μια πυκνότητα ελαφρά μικρότερη εκείνης του θαλασσινού νερού. Εξαιτίας του γεγονότος αυτού, τα αβγά των περισσότερων θαλασσινών οστεϊχθύων αιωρούνται με μια σχεδόν ουδέτερη πλευστότητα στα επιφανειακά στρώματα μεταξύ των υπόλοιπων πλαγκτονικών πληθυσμών.

Μέσα στο αβγό συντελούνται όλες οι βασικές μεταβολικές και καταβολικές διεργασίες ενός οργανισμού. Προς τούτο χρησιμοποιείται η λέκιθος και το νερό που ενυπάρχει σε αυτό, καθώς και οξυγόνο και ορισμένα ιόντα τα οποία προσλαμβάνει από το περιβάλλον του. Συγχρόνως το αβγό αποβάλλει διοξείδιο του άνθρακα και αζωτούχες ενώσεις (π.χ. αμμωνία). Η λέκιθος των αβγών περιέχει επίσης τα θρεπτικά συστατικά, τα οποία αποτελούν την πρώτη ύλη για τη δόμηση των βασικών τους οργάνων. Στα ψάρια η λέκιθος καταλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος του αβγού, ενώ τα εξελισσόμενα κύτταρα του νέου οργανισμού βρίσκονται στο ένα άκρο του. Αυτού του τύπου τα αβγά καλούνται τελολεκιθικά.

Σε πολλά είδη οστεϊχθύων υπάρχουν, μέσα στο λεκιθικό χώρο, σταγόνες ελαίου, λίγες (π.χ. τσιπούρα, λαβράκι) ή μικρές και πολυάριθμες (π.χ. γλώσσα), οι οποίες με την πρόοδο της εμβρυογένεσης γρήγορα ή αργότερα ενώνονται σε μια μεγάλη σταγόνα ελαίου, η οποία είναι επίσης μέρος του θρεπτικού υλικού που προορίζεται να καλύψει τις αναπτυξιακές ανάγκες της μελλοντικής νύμφης.

Σχετικά με την ποιότητα, μετά τη συλλογή ελέγχονται τα ακόλουθα χαρακτηριστικά του αβγού:

- Απουσία, ή ενδεχόμενη παρουσία στο δείγμα νεκρών αβγών (αδιαφανή, γαλακτώδη), ή αγονιμοποίητων (διαφανή αλλά χωρίς κυτταρικές διαιρέσεις, φυσιολογικά < 5%)
- Κανονικό σφαιρικό σχήμα και μέγεθος (980 - 990 μm)
- Κανονικές κυτταρικές διαιρέσεις (φαίνονται μόνο στα πρώτα βλαστομερή)
- Κανονικό σχήμα λεκίθου (να καταλαμβάνει όλο τον όγκο του αβγού, χωρίς περιλεκιθικό διάστημα)
- Κρυστάλλινη διαφάνεια (χωρίς επιφανειακές κηλίδες και σκούρες περιοχές)
- Μία σταγόνα ελαίου στην τσιπούρα (ø 230 - 240 μm)
- Απουσία ή παρουσία παρασίτων, ή συνδεδεμένων μικροοργανισμών στην επιφάνεια του χορίου.



Εικόνα 14. Κριτήρια βιωσιμότητας αβγών με βάση την εξέλιξη των κυτταρικών διαιρέσεων, λίγο μετά τη γονιμοποίηση. Επάνω: βιώσιμο αβγό, κάτω: μη φυσιολογικά αβγά (Κλαδάς, 2006).

1.3.2.3 Οντογενετικά στάδια τσιπούρας

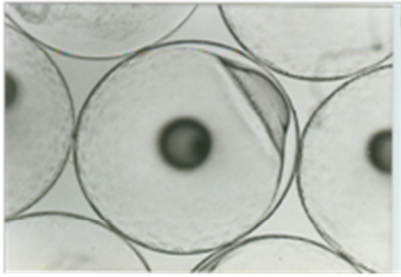
Η ζωή μέσα στο αβγό χαρακτηρίζεται από διαφορετικά οντογεννητικά στάδια (εικ.15). Η διάρκεια του κάθε οντογενετικού σταδίου (από μερικά λεπτά ως μερικές ημέρες), εξαρτάται από το είδος, αλλά και τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος νερού.

Αμέσως μετά την απελευθέρωση του αβγού στο περιβάλλον, ο μελλοντικός οργανισμός δεν είναι τίποτε άλλο από ένα πλατύ κύτταρο ενωμένο στη μία του πλευρά με τη λέκιθο, η οποία είναι σχετικά ογκώδης. Όλος ο σχηματισμός περιβάλλεται από μία εξωτερική μεμβράνη, η οποία εσωτερικά επενδύεται από μια στοιβάδα, το χόριο. Η περιοχή μεταξύ του αβγού και του χορίου ονομάζεται περιλεκιθικός χώρος.

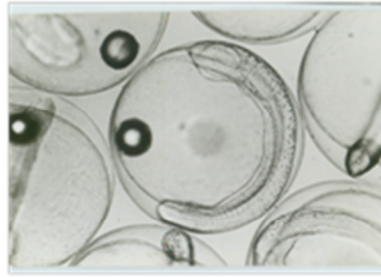
Λίγα λεπτά μετά τη γονιμοποίηση του αβγού από ένα μοναδικό σπερματοζώαριο, λαμβάνουν χώρα διαδοχικές διαιρέσεις του κυττάρου και τα κύτταρα που προκύπτουν είναι συνεχώς μικρότερα και διαμορφώνονται σε δομές που αντιστοιχούν σε στάδια. Έτσι διακρίνονται:

- **Αρχικά στάδια.** Το ένα κύτταρο γίνεται δύο, μετά τέσσερα, οκτώ, δεκάξι, τριάντα δύο, εξήντα τέσσερα, κτλ., γενικά $2n$, όπου $n =$ ο αριθμός των διαιρέσεων. Αντίστοιχα, με αυτόν τον τρόπο, ορίζεται μία πληθώρα σταδίων (στάδιο του ενός κυττάρου, των δύο, των τεσσάρων κτλ.).
- **Μορίδιο.** Γρήγορα στη θέση του αρχικού κυττάρου έχουμε μία συσσώρευση πολλών μικρών κυττάρων, συμμετρικά διατεταγμένων μεταξύ τους. Ο σχηματισμός αυτός θυμίζει έντονα τον καρπό της μουριάς και από την ομοιότητα αυτή ονομάστηκε στάδιο του μορίδιου.

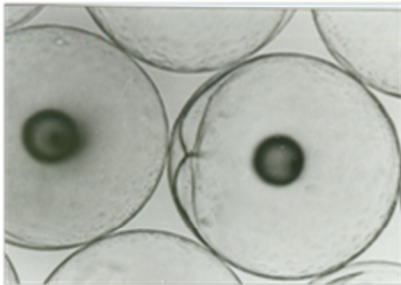
- **Βλαστίδιο.** Οι κυτταρικές διαιρέσεις συνεχίζουν να πραγματοποιούνται, τα κύτταρα μικραίνουν ακόμη περισσότερο, αρχίζουν να μην είναι διακριτά μεταξύ τους και η συνολική τους επιφάνεια επεκτείνεται, καλύπτοντας ένα μικρό τομέα του όλου σφαιρικού σχηματισμού (λέκιθος). Έτσι, διατεταγμένα τα κύτταρα σε μία λεπτή στοιβάδα δίνουν την εικόνα επιδερμίδας με κοκκιώδη υφή, ο δε σχηματισμός ονομάζεται βλαστόδερμα.
- **Γαστρίδιο.** Η διαίρεση και η σμίκρυνση των κυττάρων συνεχίζεται, το βλαστόδερμα απεικονίζεται στο μικροσκόπιο να έχει όλο και περισσότερο λεία επιφάνεια, ενώ συνεχώς επεκτείνεται περιφερειακά. Κατά την εξέλιξη αυτού του φαινομένου, η λεπτή κυτταρική στοιβάδα θα καλύψει εξωτερικά πολύ πάνω από τη μισή επιφάνεια της λεκιθικής σφαίρας.
- **Νευρίδιο.** Στο τέλος αυτού του σταδίου, η κυτταρική μεμβράνη θα αναδιπλωθεί κατά μήκος ενός άξονα, ο οποίος, σαν κανάλι, τη μοιράζει συμμετρικά σε δυο μέρη. Στα σημεία της αναδίπλωσης, οι επιφάνειες από τα δύο γειτονικά μέρη θα κολλήσουν μεταξύ τους σαν "ραφή". Ο επιμήκης αυτός σχηματισμός θα αποτελέσει σύντομα τη νωτιαία χορδή και τη σπονδυλική στήλη, γύρω από την οποία θα σχηματιστεί αργότερα το σώμα της μικρής προνύμφης.
- Τέλος, το **εμβρυϊκό στάδιο** διαιρείται σε πολλά επιμέρους διακριτά υποστάδια, καθένα από τα οποία χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερες μορφολογικές διαμορφώσεις (σχηματισμός χαρακτηριστικών μυϊκών μεταμεριδίων των "σωμιτών", διαμόρφωση της καρδιάς, των οφθαλμών, εμφάνιση χρωστικών, επιμήκυνση του σώματος κτλ.). Η επιμήκυνση του σώματος, ως ποσοστό κάλυψης της περιμέτρου του αβγού, χρησιμοποιείται κυρίως για την περιγραφή των υποσταδίων αυτών.



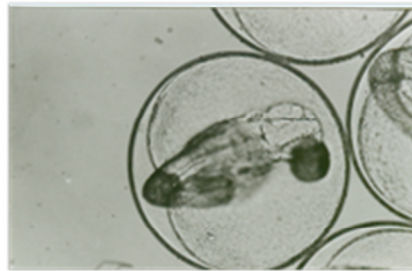
A. Στάδιο ενός κυττάρου.



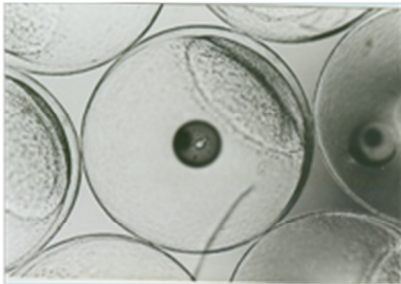
E. Έμβρυο 1/2 περιμέτρου.



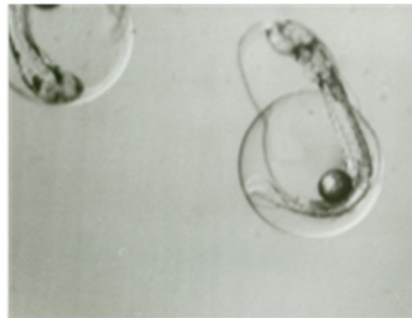
B. Στάδιο δύο κυττάρων.



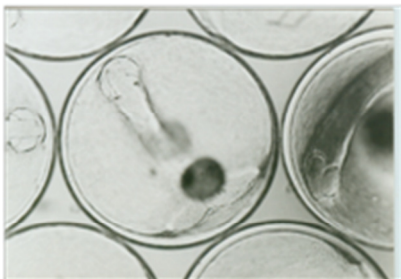
Z. Έμβρυο 3/4 περιμέτρου.



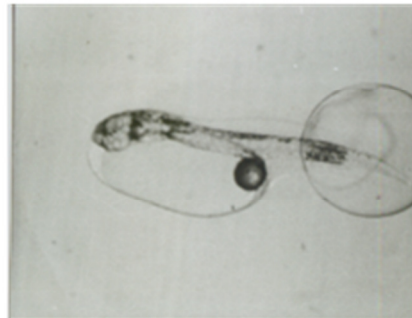
Γ. Βλαστίδιο.



H. Ρήξη εξωτερικής μεμβράνης.



Δ. Αρχή εμβρυϊκού σταδίου.



Θ. Απελευθέρωση προνύμφης.

Εικόνα 15. Χαρακτηριστικά στάδια επώασης αβγού τσιπούρας.

Στον πίνακα 3 παρουσιάζεται η χρονική στιγμή εμφάνισης των κυριότερων εμβρυϊκών σταδίων, εκφρασμένη ως ποσοστό της συνολικής διάρκειας της επώασης (από τη γονιμοποίηση έως την εκκόλαψη) ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία.

Πίνακας 3. Διάρκεια εμβρυακών σταδίων (KENTOYPIH, 1990).

Στάδιο	% Διάρκειας Επώασης	
	Λαβράκι	Τσιπούρα
2 κύτταρα	1,4	2,5
4 κύτταρα	1,8	3,9
8 κύτταρα	2,3	5,0
16 κύτταρα	2,9	6,5
Μορίδιο	4,1	9,0
Βλαστίδιο (εμβρυακός δίσκος)	8,2	14,0
Γαστρίδιο (3 στάδια)	25,4 έως 45,5	26,0 έως 40,0
Έμβρυο - 1/2 περιμέτρου	51,8	47,0
Έμβρυο - 3/4 περιμέτρου	76,0	75,0
Έμβρυο - 4/4 περιμέτρου	94,5	94,0
Εκκόλαψη	100,0	100,0

Το στάδιο του μοριδίου είναι εξαιρετικά ευαίσθητο και οποιοσδήποτε χειρισμός σε εκείνη τη χρονική περίοδο πρέπει να αποφεύγεται.

1.3.2.4 Θερμοκρασία και επώαση αβγών

Γενικά σε όλη τη διάρκεια της οντογενετικής ανάπτυξης (επώαση, προνυμφική ανάπτυξη) οι θερμοκρασίες επιλέγονται να είναι ίδιες με τις θερμοκρασίες της ωτοκίας. Η διάρκεια της επώασης, δηλαδή ο χρόνος από τη γονιμοποίηση ως την εκκόλαψη για κάθε είδος, εξαρτάται από τη θερμοκρασία του νερού.

Για το αβγό της τσιπούρας, ο χρόνος επώασης είναι 43 ως 46 ώρες στους 23 °C και 56 ως 68 ώρες στους 20 °C. Σε βαθμώρες ο χρόνος επώασης του αυγού της τσιπούρας είναι 659 ± 18 . Αν τα αυγά προέρχονται από άλλη πηγή και έχουν μεταφερθεί στο εκκολαπτήριο, είναι απαραίτητο να καταγραφούν η θερμοκρασία, η αλατότητα και το διαλυμένο οξυγόνο του νερού και να συγκριθούν οι τιμές αυτές με τις αντίστοιχες του νερού της επώασης. Πριν τη μεταφορά των αβγών στους επωαστήρες, κάθε διαφορά πρέπει να προσαρμοστεί με ήπιο εγκλιματισμό στις τοπικές συνθήκες (Κλαδάς, 2006).

1.3.3 Ποιότητα νερού και επώαση αβγών

Σε ένα τυπικό ιχθυογεννητικό σταθμό, το θαλασσινό νερό που χρησιμοποιείται στην επώαση των αβγών υφίσταται την εξής επεξεργασία (Κλαδάς, 2006):

1. Άντληση από θάλασσα ή γεώτρηση

2. Δεξαμενή αποθήκευσης (όγκος σε συνάρτηση με την αυτονομία που επιθυμούμε ανάλογα με την ολική κατανάλωση θαλασσινού νερού του Ιχθυογεννητικού Σταθμού)
3. Φιλτράρισμα σε επίπεδο 50 μm (φίλτρα άμμου ή drum filters ή screen filters)
4. Φιλτράρισμα σε επίπεδο 20 μm (φίλτρα άμμου ή «φυσίγγια» cartridge filters ή «bag» filters)
5. Θέρμανση ή Ψύξη (για τις ποσότητες που προορίζονται για τις ανάγκες σε ζεστό ή κρύο θαλασσινό νερό)
6. Φιλτράρισμα σε επίπεδο 5 μm (συνήθως «φυσίγγια» cartridge filters ή «bag» filters)
7. Υπεριώδης ακτινοβολία UV
8. Δεξαμενή αποθήκευσης νερού επωαστηρίου (μείξη φυσικού και ζεστού ή κρύου νερού και απαερισμού με χρήση έντονου αερισμού)
9. Επωαστήρες

1.3.4 Μέθοδοι επώασης των αυγών και μεταφορά προνυμφών στους ΙΧΣ (συγκριτική παρουσίαση, πλεονεκτήματα, μειονεκτήματα)

Η επώαση των αυγών μπορεί να γίνει είτε σε ειδικές δεξαμενές επώασης, είτε απευθείας στις δεξαμενές εκτροφής των νυμφών.

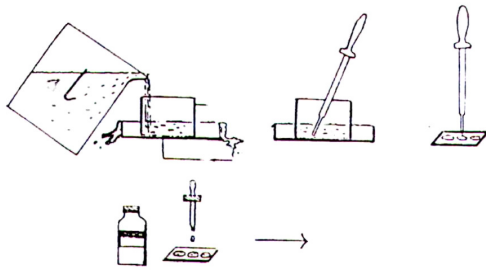
Στην περίπτωση επώασης σε επωαστήρες, μετά την εκκόλαψη μόνο οι εκκολαφθείσες προνύμφες μεταφέρονται στις καθαρές δεξαμενές εκτροφής των προνυμφών. Συνήθως στα εκκολαπτήρια, για την επώαση των αυγών, χρησιμοποιούνται πλαστικές ή πολυεστερικές δεξαμενές σχήματος κυλινδροκωνικού και χωρητικότητας 100 ως 200L. Η εσωτερική τους επιφάνεια είναι λεία έτσι ώστε να αποτραπούν τραυματισμοί τόσο στα αυγά, όσο και στις νέο-εκκολαφθείσες προνύμφες. Το κυλινδροκωνικό σχήμα εξασφαλίζει την καλή κυκλοφορία του νερού, υπό την προϋπόθεση ότι μια κεντρική πηγή αερισμού τοποθετείται κοντά στην άκρη του πυθμένα για τον καλύτερο διαχωρισμό των μη βιώσιμων αυγών και των υπολειμμάτων της εκκόλαψης (Moretti *et al.*, 1999). Κοινό χαρακτηριστικό όλων των επωαστήρων είναι η ύπαρξη ειδικού φίλτρου προστασίας από πλαγκτονικό δίκτυο με άνοιγμα ματιού 200 - 300 μm , το οποίο εμποδίζει την διαφυγή των προνυμφών στην αποχέτευση. Η επιφάνεια φιλτραρίσματος του δικτυού (σήτα ή κρεπίνα) πρέπει να είναι αρκετά

μεγάλη, ώστε να αποφεύγεται η μεγάλη πίεση σ' αυτό. Πριν την τοποθέτηση των αυγών στους επωαστήρες, αυτοί καθαρίζονται και απολυμαίνονται με υποχλωριώδες διάλυμα, συμπεριλαμβανομένου του συστήματος σωληνώσεων εισόδου και εξόδου του νερού καθώς και των σωλήνων παροχής αέρα. Στη συνέχεια, ο επωαστήρας γεμίζεται με διηθημένο και αποστειρωμένο θαλασσινό νερό ίδιας θερμοκρασίας και αλατότητας με αυτές της δεξαμενής ωοτοκίας απο όπου προέρχονται. Οι επωαστήρες λειτουργούν σε ανοικτό κύκλωμα νερού, και έτσι απομακρύνονται τα παραπροϊόντα της εκκόλαψης καθώς και δυνητικά επικίνδυνοι μικροοργανισμοί που σχετίζονται με τα αυγά. Ο ρυθμός ανανέωσης του νερού εξαρτάται από την πυκνότητα των αυγών, και πρέπει να ρυθμιστεί έτσι ώστε να τους παρέχεται αρκετό οξυγόνο (100% κορεσμού), χωρίς όμως η ένταση της ροής του να τα παρασύρει και να τα κολλά στη σίτα αποχέτευσης. Γενικά πάντως στους επωαστήρες εφαρμόζονται ανανεώσεις νερού πάνω από 30% ανά ώρα (Moretti *et al.*, 1999).

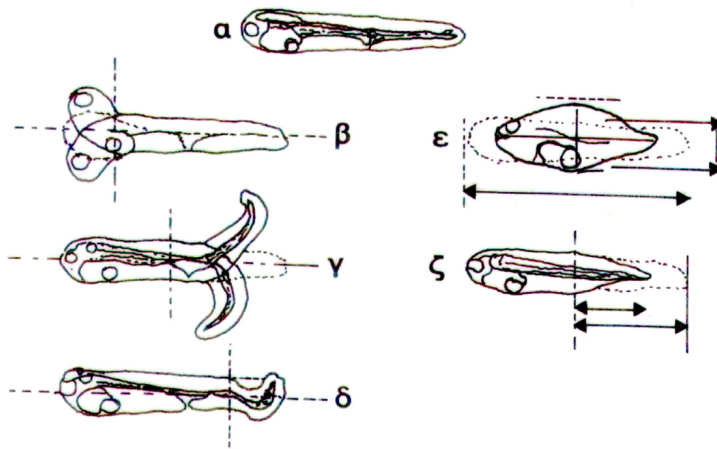
Η επώαση και εκκόλαψη των αυγών στις δεξαμενές εκτροφής των ιχθυονυμφών ήταν παλιότερα μία δημοφιλής μέθοδος λόγω του χαμηλού χειρονακτικού κόστους. Όμως τυχόν μεγάλες θνησιμότητες αυγών και προνυμφών μπορούσαν να μολύνουν σοβαρά το περιβάλλον εκτροφής και έτσι η μέθοδος αυτή είχε περιοριστεί σημαντικά. Όμως με τις προόδους που έχουν γίνει στην ποιότητα διατροφής των γεννητόρων και στην προληπτική υγιεινή, αυτή η μέθοδος επανέρχεται σε μεγάλο βαθμό, ως η λιγότερο στρεσογόνο για τις ιχθυονύμφες. Μάλιστα κατά την επώαση χρησιμοποιούνται και ποσότητες φυτοπλαγκτού, ως ρυθμιστές της ποιότητας του περιβάλλοντος μέσου. Πάντως οι ωριαίες ανανεώσεις του νερού της δεξαμενής είναι στα επίπεδα του 10% του όγκου της ανά ώρα (Κλαδάς, 2012).

1.3.5 Ποιότητα προνυμφών

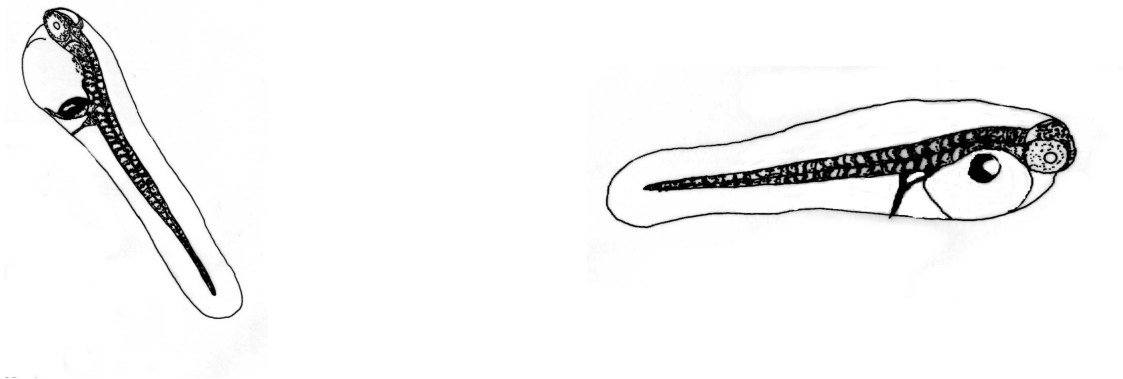
Όταν η εκκόλαψη ολοκληρωθεί, δείγμα προνυμφών ελέγχεται στο στερεοσκόπιο (εικ.16), όπου γίνεται εκτίμηση του ποσοστού των νεκρών, των παραμορφωμένων προνυμφών (εικ.17) και των νυμφών που παρουσιάζουν αποκόλληση της σταγόνας ελαίου (εικ.18).



Εικόνα 16. Δειγματοληψία προνυμφών (Κλαδάς, 2006).



Εικόνα 17. Τύποι σωματικών ανωμαλιών προνυμφών (Κλαδάς, 2006).



Εικόνα 18. Αριστερά: σωστή θέση της σταγόνας ελαίου, δεξιά: αποκολλημένη σταγόνα ελαίου (Κλαδάς, 2006).

1.3.6 Περιορισμοί στην επώαση αβγών πελαγικών ψαριών στον εργαστηριακό χώρο του ΤΕΙ.

Ο εργαστηριακός χώρος στον οποίον γίνονται μαθήματα υδατοκαλλιέργειας δεν χαρακτηρίζεται από τις υπερειδικευμένες δομές ενός τυπικού εκκολαπτήριου ιχθυογεννητικού σταθμού, οι οποίες εξυπηρετούν (α) την άριστη ποιότητα του θαλασσινού νερού, (β) την μεγάλη ανανέωση του μέσου επώασης (γ) το χαμηλό βακτηριακό φορτίο και (δ) την σταθερότητα της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια των οντογεννητικών σταδίων των αβγών.

Από την αρχή λοιπόν ορίστηκε ο τρόπος εργασίας στο περιβάλλον μας να συνάδει με τις δυνατότητες του χώρου και του εξοπλισμού μας (πιν.4). Ειδικότερα, για να έχουμε μία ανεκτή ποιότητα νερού γνωρίζοντας ότι εργαζόμαστε σε στάσιμο περιβάλλον, επιλέξαμε οι περιοχές υδροληψίας μας να είναι από ανοικτές ακτές, με ρεύματα και καθαρά νερά (παραλίες Αντίρριου, Γαλατά), να φιλτράρουμε εν συνεχεία το θαλασσινό νερό στο εργαστήριο στα 70 μm και τέλος να το αποστειρώσουμε στο αυτόκαυστο, ενώ συστηματικά απομακρύνουμε τα νεκρά αβγά από τους επωαστήρες. Για την προληπτική αντιμετώπιση παθογόνων, χρησιμοποιήσαμε φυτοπλακτό στηριζόμενοι στην προβιοτική του δράση. Τέλος για την διατήρηση της σταθερότητας της θερμοκρασίας βασιστήκαμε στον κλιματισμό του χώρου.

Πίνακας 4. Διαχείριση των χαρακτηριστικών του μέσου καλλιέργειας σε τυπικό εκκολαπτήριο Α ιχθυογεννητικού σταθμού, σε αντιδιαστολή με τις συνθήκες εργασίας μας.

Χαρακτηριστικά νερού επώασης	Στο εκκολαπτήριο (Κλαδάς, 2012)	Στον εργαστηριακό μας χώρο
Ποιότητα νερού	<ul style="list-style-type: none"> • Φιλτράρισμα σε επίπεδο 5 μm τουλάχιστον, • Ανοικτό κύκλωμα • Μεγάλο % ωριαίας ανανέωσης νερού 	<ul style="list-style-type: none"> • Επιλογή τοποθεσίας υδροληψίας • Φιλτράρισμα 70 μm • Στάσιμο νερό
Απομάκρυνση, ή αντιμετώπιση παθογόνων	<ul style="list-style-type: none"> • Υπεριώδης ακτινοβολία (UV) 	<ul style="list-style-type: none"> • Αυτόκαυστο • Χρησιμοποίηση φυτοπλακτού • Καθημερινή απομάκρυνση νεκρών
Έλεγχος θερμοκρασίας	Ρύθμιση θερμοκρασίας τρεχούμενου νερού με μικρή απόκλιση ($\pm 0,5$ °C)	Κλιματισμός χώρου (Air condition)

2. Υλικά & Μέθοδοι

2.1 Προέλευση αυγών & μεταφορά

Τα αυγά που χρησιμοποιήθηκαν για την πραγματοποίηση των πειραμάτων, μας χορηγήθηκαν από τον Ιχθυογεννητικό Σταθμό της εταιρείας Νηρέας, στην Χιλιαδού Δωρίδας.

Τα γονιμοποιημένα αυγά με την τάση τους να επιπλέουν στις δεξαμενές γεννητόρων, συλλέγονται από την υπερείλισή τους. Τα ζωντανά αβγά, αφού είχαν διαχωριστεί από τα νεκρά της συλλογής με επίπλευση, είχαν καθαριστεί, απολυμανθεί και στοκαριστεί προσωρινά σε επωαστήρες, από το προσωπικό του ιχθυογεννητικού σταθμού. Ακολουθούσε η συσκευασία τους σε πλαστικές σακούλες όγκου 30L, με 10L φιλτραρισμένο στα 0,22 μm θαλασσινό νερό αλατότητας 39‰ και με προσθήκη 30L καθαρού οξυγόνου. Οι σακούλες τοποθετούνταν μέσα σε θερμομονωτικά κουτιά από φελιζόλ με καπάκι. Ο χρόνος της μεταφοράς τους με το αυτοκίνητο από το σταθμό στο εργαστήριο, ήταν περίπου 45 λεπτά.

2.2 Διανομή αυγών στα δοχεία επώασεων

Κατά την άφιξη των αυγών στο εργαστήριο, ξεσκεπάζαμε εν μέρει την κούτα μεταφοράς, ώστε τα αβγά να ηρεμήσουν και να εγκλιματιστούν στις συνθήκες του εργαστηρίου (φως – θερμοκρασία).

Μετά από μικρό χρονικό διάστημα, τα αβγά μεταφέρονταν σε μπέικερ των 5L από πολυαιθυλένιο, μέσα στα οποία αφήνονταν να ηρεμήσουν για το πολύ 10 λεπτά, για την πρόληψη ανοξίας, ώστε να διαχωριστούν τα νεκρά ή κακής ποιότητας - βυθισμένα αβγά με τα επιπλέοντα - υγιή.

Στο ίδιο διάστημα, σε εννέα αυτοσχέδιους κυλινδρικούς επωαστήρες, όγκου 5L από διαφανή πολυκαρβονικό πλαστικό (μποτόνια κρασιού), γέμιζαν με 2,5 έως 3,5L αποστειρωμένο στο αυτόκαυστο θαλασσινό νερό. Στους επωαστήρες προστέθηκαν καλλιέργειες μικροφυκών *Nannochloropsis* sp. και *Isochrysis galbana*.

Μικρές ποσότητες από τα επιπλέοντα αβγά αφαιρούνταν με κόσκινο από φίλτρο 80 μm, από τις οποίες στην συνέχεια, με κουταλάκι του γλυκού και με πολύ φροντίδα,

απομονώναμε μικρότερες ποσότητες, που ζυγίζαμε σε κομμάτι αλουμινόχαρτου πριν τα εισάγουμε για επώαση σε κάθε επωαστήρα. Έχοντας υπολογίσει στις ασκήσεις εργαστηρίου τη σχέση αριθμού και βάρους αβγών 1,2 : 1, γνωρίζαμε λοιπόν τον αριθμό των αβγών σε κάθε επωαστήρα.

2.3 Γενικές συνθήκες επώασεων

Τα αβγά ομογενοποιούνταν με τον τεχνητό αερισμό που ξεκινούσε από το σωληνάκι της αντλίας και μέσω διακλαδώσεων οδηγούνταν σε κάθε επωαστήρα μέσω πλαστικής πιπέτας. Ο αερισμός ρυθμιζονταν με βανάκι αέρα όταν αυτό ήταν αναγκαίο.

2.3.1 Μέσο Καλλιέργειας

Τα νερό που χρησιμοποιήθηκε συλλέγονταν από την θάλασσα και μεταφέρονταν σε μπουκάλια χωρητικότητας 10L από πολυκαρβινικό διαφανές πλαστικό. Ως μέσο επώασης, χρησιμοποιήθηκε θαλασσινό νερό από την παραλία Κρυονέρι Αιτωλοακαρνανίας. Πριν τη χρήση του, το νερό περνούσε από απλά φίλτρα καθαρισμού για να απαλλαγεί από φερτά υλικά και έπειτα αποθηκεύονταν σε αδιαφανή δοχεία.

2.3.2 Θερμοκρασία

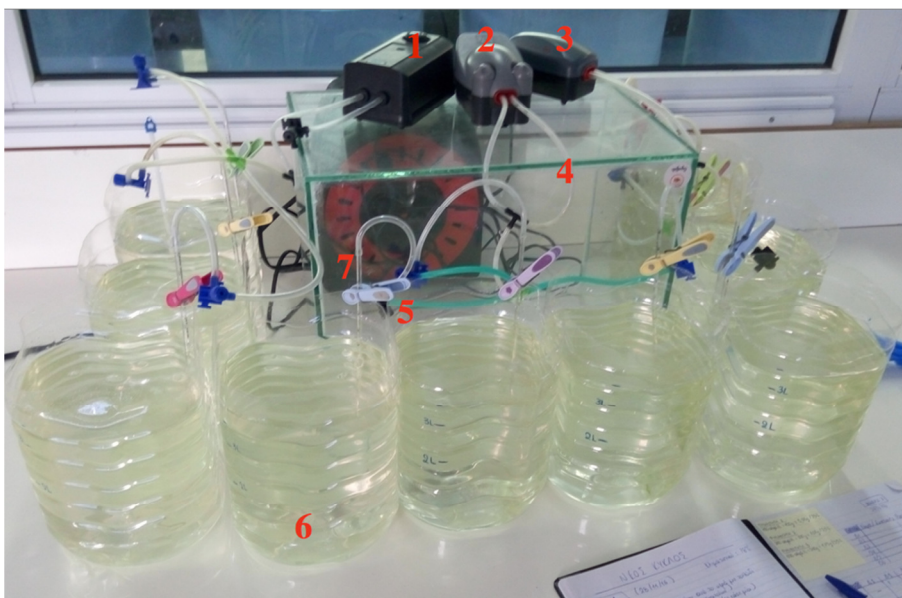
Η θερμοκρασία περιβάλλοντος, είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τη θερμοκρασία του στάσιμου μέσου καλλιέργειας, και για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκε κλιματιστικό χώρου (air condition), ρυθμισμένο στους 18 °C. Δυστυχώς, η μεγάλη επιφάνεια των γυάλινων παραθύρων σε συνδυασμό με την εποχή, επηρέασε τελικά τη διακύμανση των θερμοκρασιών των καλλιεργειών. Έτσι, πραγματοποιούνταν διορθωτικές παρεμβάσεις στη θερμοκρασία του κλιματιστικού στις περιπτώσεις όπου παρατηρούνταν οριακές συνθήκες στην θερμοκρασία του νερού.

Καταγραφή της θερμοκρασίας γινόταν τις πρωινές ώρες, χρησιμοποιώντας θερμόμετρο υδραργύρου. Επαναληπτικές μετρήσεις θερμοκρασίας πραγματοποιούνταν σε περιπτώσεις όπου οι πρωινές μετρήσεις ήταν αρκετά εκτός ορίων και ακολουθήθηκε αλλαγή της θερμοκρασίας του κλιματιστικού.

2.3.3 Αερισμός

Ο αερισμός, είναι σημαντικός για την οξυγόνωση του νερού (αναπνοή και μεταβολισμό των αβγών), καθώς και για την ομογενοποίηση της πυκνότητας των αβγών και των προνυμφών, αλλά και του μέσου καλλιέργειας γενικότερα.

Η οξυγόνωση (και η ομογενοποίηση ταυτόχρονα) του νερού, γίνονταν με πεπιεσμένο αέρα που έδιναν αεραντλίες ενυδρείου απόδοσης πάνω από 2000 cm³/min (NewAir 33 και AquaClear 30).



Εικόνα 19. Διάταξη πειράματος: 1) έως 3) αεραντλίες 4) σωληνάκια αερισμού 5) μανταλάκια στήριξης πιπετών, 6) δοχείο επώασης, 7) πλαστικές πιπέτες για διοχέτευση αέρα.

2.3.4 Φυτοπλαγκτόν

Η παρουσία του φυτοπλαγκτού στα δοχεία επώασης, συμβάλει στην εξυγίανση του νερού. Γι' αυτό το λόγο χρησιμοποιήθηκαν τα είδη *Nannochloropsis* sp. και *Isochrysis galbana*, σε ποσότητες 6 ml/Lit και 3 ml/Lit αντίστοιχα. Οι αναλογίες αυτές είναι οι ίδιες που χρησιμοποιούνται στις νυμφικές καλλιέργειες στους Ιχθυογεννητικούς Σταθμούς με την μέθοδο των «πράσινων νερών».

2.3.5 Φωτισμός

Καθόλη τη διάρκεια των επώασεων χρησιμοποιήθηκε σε εικοσιτετράωρη βάση ο φωτισμός της αίθουσας. Με αυτό τον τρόπο θεωρήσαμε ότι το φυτοπλαγκτόν μπορούσε

να ανταποκριθεί, έστω και οριακά, στον φωτοσυνθετικό του ρόλο για αποφυγή της ανοξίας στο νερό των επώάσεων. Την αλήθεια αυτής της υπόθεσης, διαπιστώσαμε και από τις μετρήσεις του οξυγόνου.

2.4 Σχεδιασμός πειράματος

Σύμφωνα με αποτελέσματα προηγούμενης πτυχιακής (αδημοσίευτα στοιχεία των Κλαδά και Σεριάνι, προσωπική επικοινωνία), έδειξαν να υπάρχει μία ευεργετική επίδραση του φυτοπλαγκτού στην ποιότητα των εκκολάψεων, όπως αυτή αποτυπώνεται κύρια στο ποσοστό εκκόλαψης.

Στην προκείμενη περίπτωση, θελήσαμε να ερευνήσουμε τα όρια αξιοπιστίας αυτού του τύπου των επώάσεων αβγών σε στάσιμο νερό, ως προς την πυκνότητά τους. Πραγματοποιήσαμε τρία παρόμοια, ανεξάρτητα πειράματα. Σε κάθε πείραμα χρησιμοποιήθηκαν τρεις ομάδες επωαστήρων, υψηλής, μεσαίας και χαμηλής πυκνότητας αβγών, κάθε μία σε τριπλή επανάληψη (triplicate). Στον πίνακα 5, φαίνονται οι πυκνότητες που εξετάστηκαν ανά πείραμα.

Πίνακας 5. Σχεδιασμός πειραμάτων εκκόλαψης, προβλεπόμενες πυκνότητες.

Πυκνότητες (αριθμός αβγών ανά λίτρο)	Χαμηλές	Μεσαίες	Υψηλές
Πείραμα Α (21/11/2016)	300	600	1000
Πείραμα Β (28/11/2016)	100	300	600
Πείραμα Γ (13/12/2016)	300	800	1300

Οι αποδόσεις των επώάσεων ελέγχθησαν ως προς:

- το ποσοστό των εκκολάψεων

- το ποσοστό βιώσιμων νυμφών την ημέρα 3 από την εκκόλαψη, λίγο πριν το μικτό τροφικό στάδιο (καθώς η ηλικία αυτή αντιστοιχεί συχνά στην ημέρα μεταφοράς των νυμφών στις δεξαμενές εκτροφής τους, ανάλογα με την τεχνική που επιλέγεται)
- και την συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου στη διάρκεια της επώασης, καθώς θεωρήσαμε ότι αντικατοπτρίζει ολιστικά την ποιότητα του μέσου καλλιέργειας στην κάθε περίπτωση.

2.5 Καθημερινές φροντίδες επώασεων

Τα νεκρά αβγά, εφόσον υπήρχαν, αφαιρούνταν προσεκτικά με σιφόνι. Ο σιφωνισμός των δοχείων γινόταν κατά τις ημέρες επώασης, κατά τις πρωινές ώρες πάντα. Προηγουμένως, η παροχή αέρα αφαιρούνταν σταδιακά ανά δύο δοχεία (ξεκινώντας από τα δοχεία χαμηλής συγκέντρωσης) για ένα λεπτό, με σκοπό την καθίζηση νεκρών αβγών και σκουπιδιών. Με εύκαμπτο πλαστικό σωλήνα 6 mm, τα απορρίματα μαζεύονταν σε ποτήρι ζέσεως 500 ml. Σε πετρί τύπου λαβύρινθος (από πλεξιγκλας), τοποθετούνταν δείγμα 10 ml από το νερό που συλλέχθηκε κατά τον σιφωνισμό, αφού προηγουμένως είχε προηγηθεί η καταγραφή του όγκου που αφαιρέθηκε από κάθε επωαστήρα (για την συμπλήρωση με νέο θαλασσινό νερό) και έπειτα η σύντομη ανάδευση της ποσότητας αυτής με τη χρήση κουταλιού.

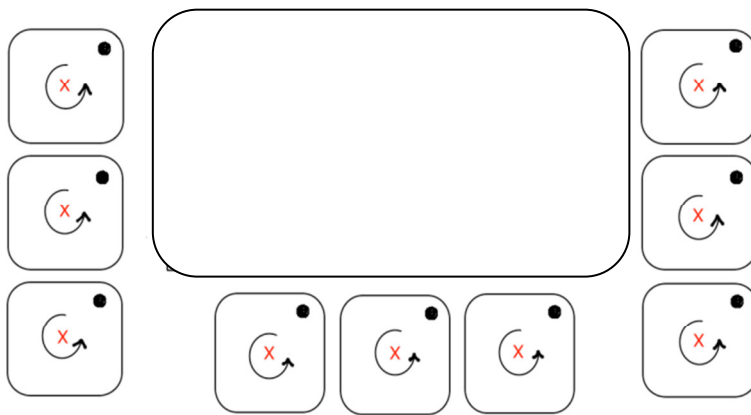
Αξίζει να σημειωθεί ότι, από την στιγμή που συλλέγονταν τα δείγματα από κάθε επωαστήρα, επαναφέραμε την παροχή οξυγόνου στην αρχική της θέση. Επίσης, η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιούνταν μέσα σε τρία λεπτά, ώστε να αποφευχθούν τυχόν προβλήματα ανοξίας. Επιπλέον, οι επωαστήρες επαναφέρονταν στον αρχικό τους όγκο (2,5 L και 3,5 L, ανάλογα την επώαση) χρησιμοποιώντας θαλασσινό νερό που αποθηκεύαμε στο εργαστήριο. Τα δείγματα που πάρθηκαν από τον σιφωνισμό των δοχείων, παρακολουθούνταν με οπτικό μικροσκόπιο (Olympus CHA), με σκοπό την καταγραφή του αριθμού των νεκρών αβγών, ή προνυμφών.

Ακολουθούσε η καταγραφή της θερμοκρασίας με θερμόμετρο υδραργύρου, του διαλυμένου οξυγόνου με οξυγονόμετρο OxyGuard Handy Gamma, όπως και του pH και της αλατότητας με ηλεκτρονικό pHμετρο, YSI 556 MPS. Για την παρακολούθηση της αμμωνίας στα δοχεία, χρησιμοποιήθηκε KIT αμμωνίας (JBL, rate: 0 - 5 mg/L NH₄).

2.6 Δειγματοληψίες

Πάρθηκαν επιφανειακά δείγματα όγκου 10 ml από το κέντρο κάθε επωαστήρα, αφότου είχε αφαιρεθεί η παροχή αέρα και έπειτα από ελαφρύ ανακάτεμα με μεταλλικό αποστειρωμένο κουτάλι (εικ.20).

Οι μετρήσεις έγιναν την ημέρα της εκκόλαψης (DPH1) και δύο ημέρες αργότερα (DPH3). Στο πείραμα Α αντιμετωπίσαμε μεθοδολογικά προβλήματα στις πρώτες μετρήσεις, τα αποτελέσματα της εκκόλαψης (DPH1) ήταν προφανώς λάθος, δεν ήταν δυνατόν να ερμηνευτούν και έτσι τα αφαιρέσαμε από το κεφάλαιο αποτελέσματα.



Εικόνα 20. Μεθοδολογία δειγματοληψιών.

2.7 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Η ανάλυση των δεδομένων περιελάμβανε τον παραμετρικό έλεγχο της ανάλυσης διασποράς (Analysis Of Variance, ANOVA) με έναν (One-way ANOVA) παράγοντα. Η ανάλυση αυτή συγκρίνει τους μέσους όρους των εξεταζόμενων μεταβλητών θέτοντας ως μηδενική υπόθεση (H_0) ότι τα δείγματα επιλέγονται από πληθυσμό που έχουν τους ίδιους μέσους όρους για τις εξεταζόμενες μεταβλητές. Όταν οι διαφορές μεταξύ των μέσων όρων είναι τέτοιες ώστε να υπερβαίνουν το 5% των περιπτώσεων των θεωρητικών τιμών, τότε αυτό είναι αρκετό για να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση (Sokal & Rohlf, 1995).

Ο έλεγχος αυτός εξυπηρετεί δύο σκοπούς: α) επιτρέπει τον υπολογισμό ενός κοινού σφάλματος για τη σύγκριση των μέσων όρων των μεταβλητών και β) παρέχει τη

δυνατότητα ενός προκαταρκτικού ελέγχου της ύπαρξης διαφορών μεταξύ των μέσων όρων με τη χρήση του κριτηρίου F (Sokal & Rohlf, 1996, Zar, 1999).

Η ANOVA θεωρείται ως εξαιρετικά «ισχυρή» στατιστική δοκιμασία που μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε δείγματα που αποκλίνουν ελάχιστα από την κανονική κατανομή, αφού επηρεάζεται ελάχιστα από τυχόν αποκλίσεις από αυτήν και ειδικότερα στις περιπτώσεις σύγκρισης δειγμάτων με παραπλήσιο αριθμό μετρήσεων.

Το επίπεδο σημαντικότητας (τιμές P) ορίστηκε στο 0,05. Στην περίπτωση που διαπιστώνονταν η ύπαρξη σημαντικών διαφορών ($P < 0,05$) ανάμεσα στους μέσους όρους κάθε παράγοντα αναφοράς, εφαρμόστηκε ο έλεγχος της ύστερης δοκιμασίας (Tukey post-hoc test) προκειμένου να διαπιστωθεί από ποιες παραμέτρους προέρχεται η ύπαρξη των διαφορών.

3. Αποτελέσματα

Αν και ο σχεδιασμός των πειραμάτων ήταν απλός, εν τούτοις όλα τα αποτελέσματα δεν μπορούν να παρουσιαστούν σε κοινά πεδία, καθώς ορισμένες μετρήσεις δεν είναι αξιοποιήσιμες.

Πιο συγκεκριμένα, αν και τα αποτελέσματα των εκκολάψεων ήταν απόλυτα ικανοποιητικά με την έννοια ότι παράχθηκε μεγάλο πλήθος υγείων προνυμφών, βρεθήκαμε αντιμέτωποι με ορισμένα μεθοδολογικά προβλήματα που δεν μας επέτρεψαν να συσχετίσουμε τα εξωπραγματικά όπως προέκυψαν αποτελέσματα των εκκολάψεων, με τον αριθμό των αβγών που μπήκαν για εκκόλαψη. Έτσι, περιοριστήκαμε στο θέμα της επιβίωσης των προνυμφών μέσα στο επωαστήριο και την προκύπτουσα ποιότητα του νερού, μετά από την πολυήμερη παραμονή τους στο στάσιμο νερό. Ωστόσο, τα στοιχεία αυτά βοηθάνε στον σκοπό αυτής της πτυχιακής, δηλαδή στο κατά πόσον οι επώσεις των αβγών σε στάσιμο νερό στους εργαστηριακούς χώρους του ΤΕΙ, επηρεάζουν την ποιότητα του νερού ως μέσου.

3.1 Σειρά Α

Τα αβγά μπήκαν στους επωαστήρες στις 21/11/2016 και οι νύμφες που εκκολάφθηκαν στις 23/11, μετρήθηκαν στις 25/11. Η θερμοκρασία επώασης ήταν 16,0°C με αποκλίσεις μεταξύ των δοχείων κατά τη διάρκεια της επώασης (15,5 έως 17,7°C, τυπική απόκλιση 0,5). Η μέση διάρκεια της επώασης ήταν περίπου 1153 βαθμοώρες.

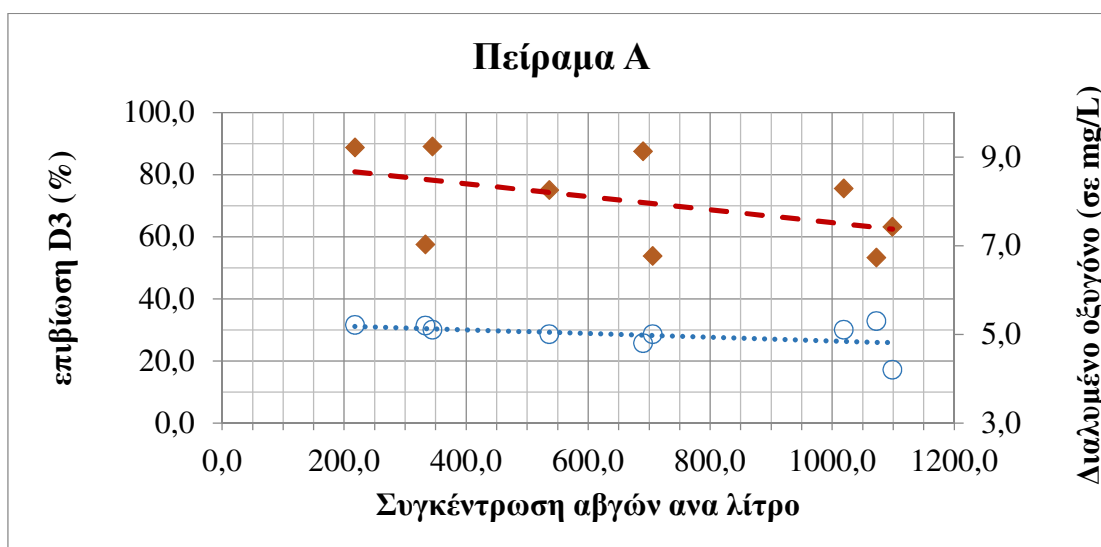
Πίνακας 6. Περιγραφή συνθηκών και αποδόσεις επώασεων στο πείραμα Α.

Δοχείο	Ολικός Αριθμός Αβγών	Πυκνότητα (αβγά/L)	Θερμοκρασίες Επώασης (°C)					Νεκρά Αβγά	Βαθμοώρες Επώασης	Νεκρές προνύμφες	Συνολικός Αριθμός Προνυμφών	% Εκκόλαψης	% Βιόσιμων Προνυμφών D1-D3	Διαλυμένο Οξυγόνο (mg/l)	Αμμονία (mg/l)	pH
			D1	D2	D3	D4	D5									
A1	783	333,2		15,5	16,3			59	1144,8	200	271	35	57,5	5,2	1	-
A2	544	217,6			16,0			63	1152,0	525	4125	758	88,7	5,2	3	-
A3	863	345,0			16,0			313	1152,0	350	2850	330	89,1	5,1	1,5	-
A4	1725	690,1			16,0			500	1152,0	1175	8225	477	87,5	4,8	4	-
A5	1340	536,1			16,0	16,2		625	1152,0	875	2625	196	75,0	5,0	3	6,5
A6	1765	706,0			15,8	16,3		313	1137,6	625	725	41	53,7	5,0	3	-
A7	2747	1098,8			16,0	17,7		250	1152,0	1575	2700	98	63,2	4,2	3	6,4
A8	2548	1019,2			15,9	16,3		313	1144,8	825	2550	100	75,6	5,1	4	-
A9	2681	1072,3	16,5			16,4		125	1188,0	1825	2075	77	53,2	5,3	3	-

Όπως έχουμε ήδη αναφέρει, οι επιδόσεις των εκκολάψεων στο πείραμα A δεν μπορούν να αξιολογηθούν. Έτσι το πείραμα αυτό θεωρήθηκε προκαταρκτικό και εστίασαμε κυρίως στην ποιότητα του νερού δεδομένης της μεγάλης διαφοράς συγκεντρώσεων αβγών μεταξύ των τριών γκρουπ.

Η παραμονή των νυμφών στους επωαστήρες (επιβίωση από την ημέρα 1 στην ημέρα 3) δεν φαίνεται να επηρεάζεται ως την επιβίωσή τους από την πυκνότητα αν και τις πιο καλές επιδόσεις (88,7% και 89,1%) τις παρουσιάζει το πρώτο γκρουπ, δηλαδή οι επωαστήρες A1 έως A3 με $298,6 \pm 70,4$ αβγά/L, έναντι των άλλων με τις υψηλότερες πυκνότητες A4 έως A6 με $524 \pm 172,9$ αβγά/L και A7 έως A9 με $1063,4 \pm 40,5$ αβγά/L.

Τα αποτελέσματα ανά γκρουπ δεν έδωσαν διαφορετικές τιμές επιβίωσης, φαίνεται όμως ότι αν εξετάσουμε και τους εννέα επωαστήρες ξεχωριστά, υπάρχει μία πτωτική τάση στην επιβίωση με την αύξηση της πυκνότητας των αβγών στους επωαστήρες. Επίσης ελαφρά πτωτική τάση παρουσιάζει και το διαλυμένο στο νερό οξυγόνο (εικ.21), ενώ οι μεγαλύτερες τιμές τις αμμωνίας εμφανίζονται γενικά στις πιο πυκνές επωάσεις.

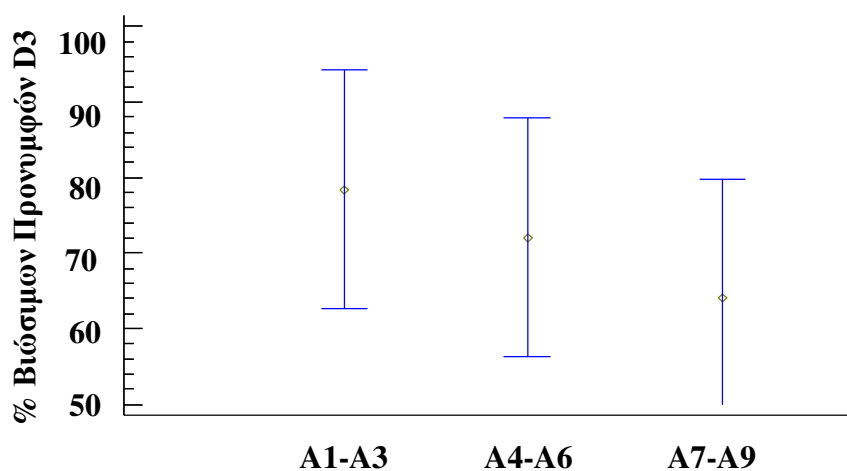


Εικόνα 21. Επίδραση της πυκνότητας των αβγών στους επωαστήρες, στην βιωσιμότητα των νυμφών την ημέρα 3 και στη συγκέντρωση του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου (πείραμα Α).

Στη συνέχεια παρουσιάζεται η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων του πειράματος A για τα ποσοστά εκκόλαψης, για τα ποσοστά επιβίωσης και για τις συγκεντρώσεις του διαλυμένου οξυγόνου, ανά ομάδες επωαστήρων.

Πίνακας 7. Στατιστική επεξεργασία των ποσοστών παραγωγής βιώσιμων προνυμφών στο πείραμα Α.

% Βιώσιμων Προνυμφών D3	Average	Standard deviation	Coeff. of variation	Minimum	Maximum	Range
A1-A3	78,42	18,13	23,11%	57,49	89,06	31,57
A4-A6	72,07	17,09	23,71%	53,70	87,50	33,80
A7-A9	63,97	11,20	17,50%	53,21	75,56	22,35

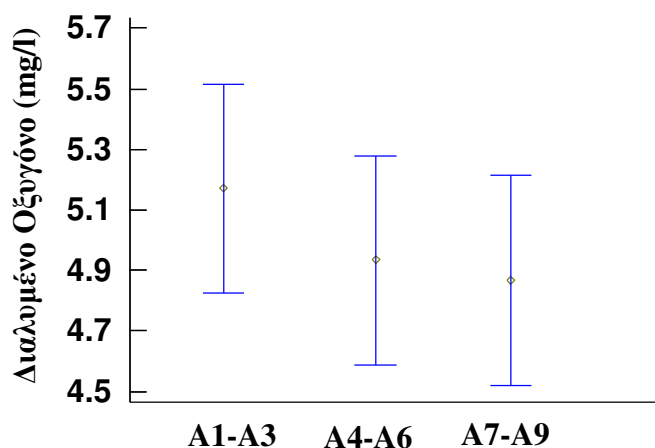


Εικόνα 22. Σύγκριση των ποσοστών παραγωγής βιώσιμων προνυμφών στις τρεις ομάδες του πειράματος Α.

Συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει σημαντική (ANOVA, $F = 0,63$, $P < 0,050$) διαφορά στα ποσοστά βιώσιμων προνυμφών της ομάδας Α (πιν.7, εικ.22).

Πίνακας 8. Στατιστική επεξεργασία των συγκεντρώσεων του διαλυμένου οξυγόνου στο πείραμα Α.

Διαλυμένο Οξυγόνο (mg/l)	Average	Standard deviation	Coeff. of variation (%)	Minimum	Maximum	Range
A1-A3	5,17	0,06	1,12%	5,10	5,20	0,10
A4-A6	4,93	0,12	2,34%	4,80	5,00	0,20
A7-A9	4,87	0,59	12,04%	4,20	5,30	1,10



Εικόνα 23. Σύγκριση του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου στις τρεις ομάδες του πειράματος A.

Συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει σημαντική (ANOVA, $F = 5,63$, $P < 0,050$) διαφορά στο διαλυμένο οξυγόνο, ανάμεσα στις τρεις ομάδες στο πείραμα A (πιν.8, εικ.23).

3.2 Σειρά B

Στο πείραμα B, με δεδομένα τα πρόσφατα μεθοδολογικά προβλήματα του προηγούμενου πειράματος, προτιμήσαμε να πειραματιστούμε με ηπιότερες διαφορές στις συγκεντρώσεις αβγών ανά λίτρο σε κάθε γκρουπ.

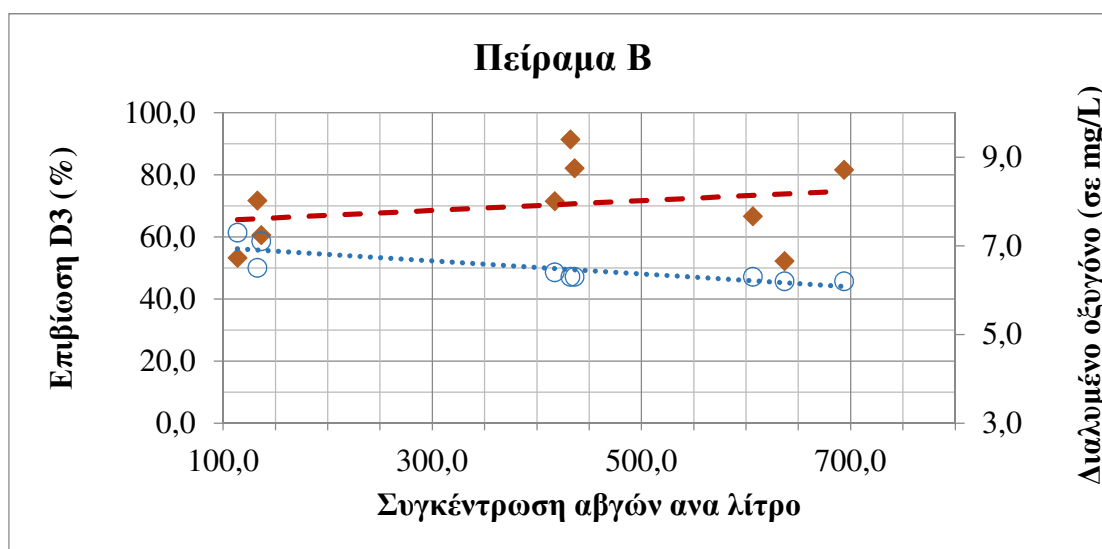
Έτσι, στους επωαστήρες B1 έως B3 μπήκαν $127,7 \pm 12,2$ αβγά ανά λίτρο, στους επωαστήρες B4 έως B6 μπήκαν $428,5 \pm 10,0$ αβγά ανά λίτρο και στους επωαστήρες B7 έως B9 μπήκαν $645,8 \pm 44,3$ αβγά ανά λίτρο. Τα αβγά μπήκαν στους επωαστήρες στις 28/11/2016 και οι νύμφες που εκκολάφτηκαν στις 30/11, μετρήθηκαν στις 2/12.

Αν και η σταθερότητα της θερμοκρασίας επώασης είναι ζητούμενο για την ομαλή πορεία της επώασης, φαίνεται ότι ο έλεγχος της θερμοκρασίας του χώρου δεν απέδωσε όσον αφορά την επίδραση των εποχιακών μεταβολών της θερμοκρασίας (πιν.9). Η θερμοκρασία επώασης ήταν $15,5 \text{ }^\circ\text{C}$ με σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ των δοχείων κατά τη διάρκεια της επώασης ($13,0$ έως $18,3 \text{ }^\circ\text{C}$, τυπική απόκλιση 1,5). Η μέση διάρκεια της επώασης ήταν περίπου 1146 βαθμοώρες.

Πίνακας 9. Περιγραφή συνθηκών και αποδόσεις επωάσεων στο πείραμα Β.

Δοχείο	Ολικός Αριθμός Αβγών	Πυκνότητα (αβγά/L)	Θερμοκρασίες Επώασης (°C)					Νεκρά Αβγά	Βαθμώρες Επώασης	Νεκρές προνύμφες	Συνολικός Αριθμός Προνυμφών	% Εκκόλαψης	% Βιώσιμων Προνυμφών D1-D3	Διαλυμένο Οξυγόνο (mg/l)	Αμμωνία (mg/l)	pH
			D1	D2	D3	D4	D5									
B1	398	113,7	17,8	15,8	15,0	13,6	15,9	88	1166,4	178	380	95	53,2	7,3	-	8,77
B2	478	136,5	17,8	15,6	15,0	13,4	15,5	88	1161,6	108	273	57	60,6	7,1	-	8,8
B3	464	132,7	17,8	15,5	14,9	13,4	15,5	175	1156,8	88	310	67	71,7	6,5	-	8,8
B4	1460	417,1	17,6	15,5	14,8	13,2	15,6	1488	1149,6	235	825	57	71,5	6,4	-	8,7
B5	1526	436,0	17,5	15,5	14,7	13,0	15,6	263	1144,8	205	1149	75	82,2	6,3	-	8,7
B6	1513	432,2	17,4	15,4	14,6	13,1	16,0	700	1137,6	75	866	57	91,3	6,3	-	8,7
B7	2429	693,9	17,3	15,4	14,5	13,4	15,5	3850	1132,8	245	1333	55	81,6	6,2	-	8,7
B8	2123	606,7	17,2	15,3	14,5	13,7	17,5	963	1128,0	535	1605	76	66,7	6,3	-	8,7
B9	2229	637,0	17,3	15,5	14,5	14,0	18,3	963	1135,2	975	2040	92	52,2	6,2	-	8,67

Αντίθετα, στο δεύτερο πείραμα δεν επιβεβαιώθηκε κάποια τάση εξέλιξης, είτε του ποσοστού εκκόλαψης, είτε της βιωσιμότητας των προνυμφών την ημέρα 3 με την αύξηση της πυκνότητας των αβγών στους επωαστήρες (εικ.24). Η ελαφρά πτωτική τάση του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου επιβεβαιώνεται και σε αυτό το πείραμα, ενώ η αντίστοιχη πτώση του pH είναι αμελητέα (πιν.9).

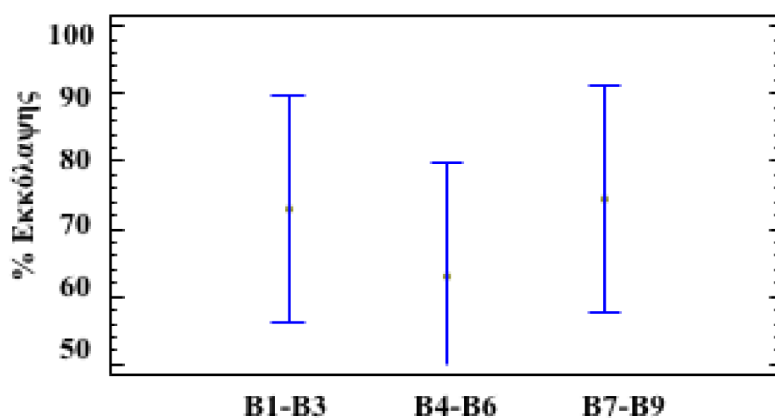


Εικόνα 24. Επίδραση της πυκνότητας των αβγών στους επωαστήρες στην βιωσιμότητα των νυμφών την ημέρα 3 και στη συγκέντρωση του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου (πείραμα Β).

Στη συνέχεια παρουσιάζεται η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων του πειράματος B για τα ποσοστά εκκόλαψης, για τα ποσοστά επιβίωσης και για τις συγκεντρώσεις του διαλυμένου οξυγόνου, ανά ομάδες επωαστήρων.

Πίνακας 10. Στατιστική επεξεργασία των ποσοστών εκκόλαψης στο πείραμα B.

% Εκκόλαψης	Average	Standard Deviation	Coeff. of variation (%)	Minimum	Maximum	Range
B1-B3	73,00	19,92	27,29	57,04	95,32	38,28
B4-B6	63,02	10,63	16,88	56,52	75,29	18,77
B7-B9	73,99	18,36	24,81	54,89	91,50	36,61

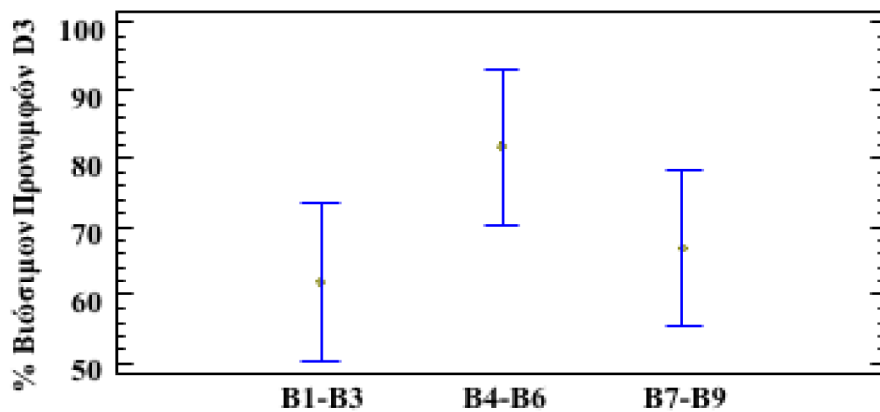


Εικόνα 25. Σύγκριση των ποσοστών εκκόλαψης στις τρεις ομάδες του πειράματος B.

Συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει σημαντική (ANOVA, $F = 0,41$, $P < 0,050$) διαφορά στα ποσοστά εκκόλαψης, ανάμεσα στις τρεις ομάδες στο πείραμα B (πιν.10, εικ.25).

Πίνακας 11. Στατιστική επεξεργασία των ποσοστών παραγωγής βιώσιμων προνυμφών στο πείραμα B.

% Βιώσιμων Προνυμφών D3	Average	Standard deviation	Coeff. of variation	Minimum	Maximum	Range
B1-B3	61,84	9,32	15,07 %	53,23	71,73	18,50
B4-B6	81,67	9,92	12,15 %	71,52	91,34	19,82
B7-B9	66,83	14,71	22,01 %	52,21	81,62	29,41

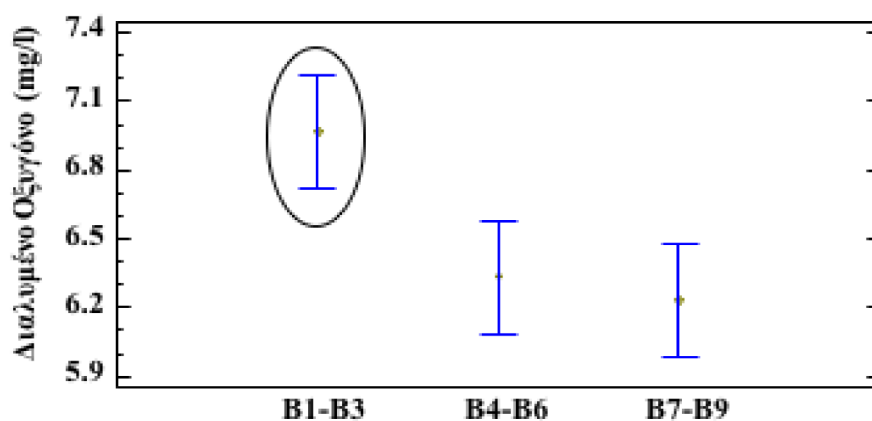


Εικόνα 26. Σύγκριση των ποσοστών παραγωγής βιώσιμων προνυμφών, στις τρεις ομάδες του πειράματος B.

Συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει σημαντική (ANOVA, $F = 2,39$, $P < 0,050$) διαφορά στα ποσοστά βιώσιμων προνυμφών (πιν.11, εικ.26).

Πίνακας 12. Στατιστική επεξεργασία των συγκεντρώσεων του διαλυμένου σοξυγόνου στο πείραμα B.

Διαλυμένο Οξυγόνο (mg/l)	Average	Standard deviation	Coeff. of variation	Minimum	Maximum	Range
B1-B3	6,97	0,42	5,98%	6,50	7,30	0,80
B4-B6	6,33	0,06	0,91%	6,30	6,40	0,10
B7-B9	6,23	0,06	0,93%	6,20	6,30	0,10



Εικόνα 27. Σύγκριση του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου στις τρεις ομάδες του πειράματος B.

Υπάρχει σημαντική (ANOVA, $F = 7,91$, $P < 0,050$) διαφορά στο διαλυμένο οξυγόνο, με τις τιμές της ομάδας B1 - B3 να είναι σημαντικά μεγαλύτερες από τις τιμές των ομάδων B4 - B6 και B7 - B9 (πιν.12, εικ.27).

3.3 Σειρά Γ

Τα αβγά μπήκαν στους επωαστήρες στις 13/12/2016 και οι νύμφες που εκκολάφθηκαν στις 16/12, μετρήθηκαν στις 17/12. Και σε αυτή την περίπτωση, ο έλεγχος της θερμοκρασίας του χώρου δεν απέδωσε όσον αφορά την επίδραση που είχαν οι εποχιακές μεταβολές της θερμοκρασίας.

Η θερμοκρασία επώασης ήταν $15,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ με σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ των δοχείων κατά τη διάρκεια της επώασης ($12,3$ έως $18,3\text{ }^{\circ}\text{C}$, τυπική απόκλιση $2,0$). Η μέση διάρκεια της επώασης ήταν περίπου 1067 βαθμοώρες (πιν.13).

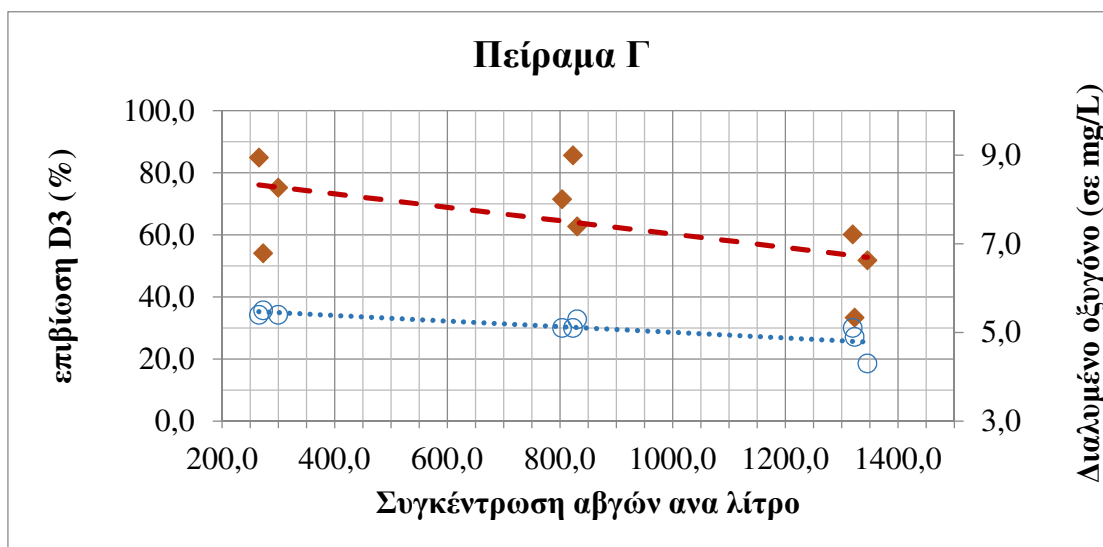
Πίνακας 13. Περιγραφή συνθηκών και αποδόσεις επώασεων στο πείραμα Γ.

Δοχείο	Ολικός Αριθμός Αβγών	Πυκνότητα (αβγά/L)	Θερμοκρασίες Επώασης ($^{\circ}\text{C}$)					Νεκρά Αβγά	Βαθμοώρες Επώασης	Νεκρές προνύμφες	Συνολικός Αριθμός Προνυμφών	% Εκκόλαψης	% Βιώσιμων Προνυμφών D1-D3	Διαλυμένο Οξυγόνο (mg/l)	Αμμωνία (mg/l)	pH
			D1	D2	D3	D4	D5									
Γ1	929	265,4	18,3	13,9	12,7	15,8	15,9	0	1077,6	100	662	71	84,9	5,4	-	7,96
Γ2	1048	299,5	18,2	13,8	12,5	15,5	15,5	0	1068,0	275	1107	106	75,2	5,4	< 0,05	7,97
Γ3	956	273,0	18,3	13,7	12,5	15,5	15,4	175	1068,0	275	598	63	54,0	5,5	-	8
Γ4	2880	822,8	18,1	13,5	12,4	15,4	15,5	88	1056,0	850	5890	205	85,6	5,1	-	7,97
Γ5	2906	830,4	18,0	13,4	12,3	15,3	15,5	263	1048,8	1225	3290	113	62,8	5,3	0,1-0,2	7,99
Γ6	2813	803,8	18,0	13,5	12,4	15,5	15,7	613	1053,6	825	2890	103	71,5	5,1	-	7,98
Γ7	4618	1319,5	18,0	13,6	12,6	15,8	16,3	525	1060,8	625	1570	34	60,2	5,1	-	7,95
Γ8	4632	1323,3	18,0	13,7	13,1	16,0	16,8	263	1075,2	1050	1575	34	33,3	4,9	0,4-0,6	7,95
Γ9	4711	1346,0	18,0	13,9	13,8	16,5	17,4	1838	1096,8	750	1555	33	51,8	4,3	-	7,88

Στο πείραμα Γ, πειραματιστήκαμε ξανά με μεγάλες διαφορές στις συγκεντρώσεις αβγών ανά λίτρο σε κάθε γκρουπ (πιν.13). Στους επωαστήρες Γ1 έως Γ3 μπήκαν $279,3 \pm 17,9$ αβγά ανά λίτρο, στους επωαστήρες Γ4 έως Γ6 μπήκαν $819,0 \pm 13,7$ αβγά ανά λίτρο και στους επωαστήρες Γ7 έως Γ9 μπήκαν $1329,6 \pm 14,3$ αβγά ανά λίτρο.

Τα αποτελέσματα ταυτίζονται ως προς τις τάσεις που καταγράφηκαν και στο πείραμα Α. Συγκεκριμένα, αν εξετάσουμε τους εννέα επωαστήρες ξεχωριστά, υπάρχει μία πτωτική τάση στην επιβίωση με την αύξηση της πυκνότητας των αβγών στους επωαστήρες. Επίσης ελαφρά πτωτική τάση παρουσιάζει και το διαλυμένο στο νερό

οξυγόνο (εικ.28), ενώ οι μεγαλύτερες τιμές τις αμμωνίας εμφανίζονται γενικά στις πιο πυκνές επωάσεις.

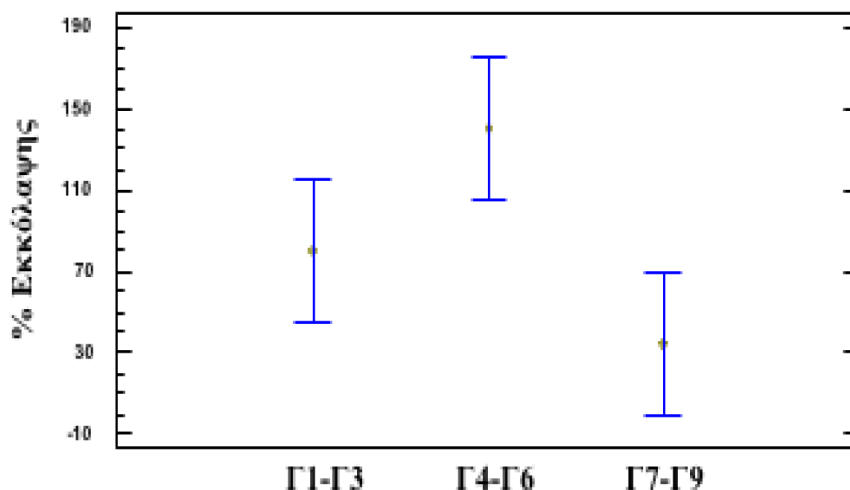


Εικόνα 28. Επίδραση της πυκνότητας των αβγών στους επωαστήρες στην βιωσιμότητα των νυμφών την ημέρα 3 και στη συγκέντρωση του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου (πείραμα Γ).

Στη συνέχεια παρουσιάζεται η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων του πειράματος Γ για τα ποσοστά εκκόλαψης, για τα ποσοστά επιβίωσης και για τις συγκεντρώσεις του διαλυμένου οξυγόνου, ανά γκρουπ επωαστήρων.

Πίνακας 14. Στατιστική επεξεργασία των ποσοστών εκκόλαψης στο πείραμα Γ.

% Εκκόλαψης	Average	Standard deviation	Coeff. of variation	Minimum	Maximum	Range
Γ1-Γ3	79,81	22,74	28,49%	62,58	105,59	43,00
Γ4-Γ6	140,15	56,00	39,96%	102,72	204,53	101,81
Γ7-Γ9	33,67	0,57	1,70%	33,01	34,01	1,00

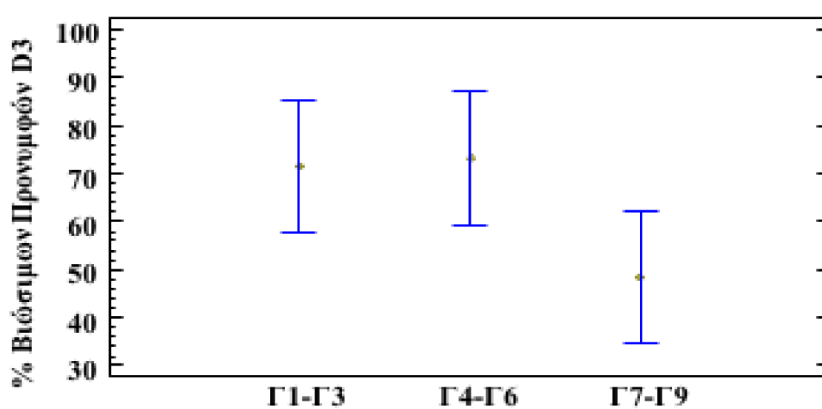


Εικόνα 29. Σύγκριση των ποσοστών εκκόλαψης στις τρεις ομάδες του πειράματος Γ.

Συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά (ANOVA, $F=0,41$, $P < 0,050$) στα ποσοστά εκκόλαψης, ανάμεσα στις τρεις ομάδες στο πείραμα Γ (πιν.14, εικ.29).

Πίνακας 15. Στατιστική επεξεργασία των ποσοστών παραγωγής βιώσιμων προνυμφών στο πείραμα Γ.

% Βιώσιμων Προνυμφών D3	Average	Standard deviation	Coeff. of variation	Minimum	Maximum	Range
Γ1-Γ3	71,36	15,79	22,13%	54,01	84,89	30,88
Γ4-Γ6	73,26	11,51	15,71%	62,77	85,57	22,80
Γ7-Γ9	48,43	13,74	28,36%	33,33	60,19	26,86

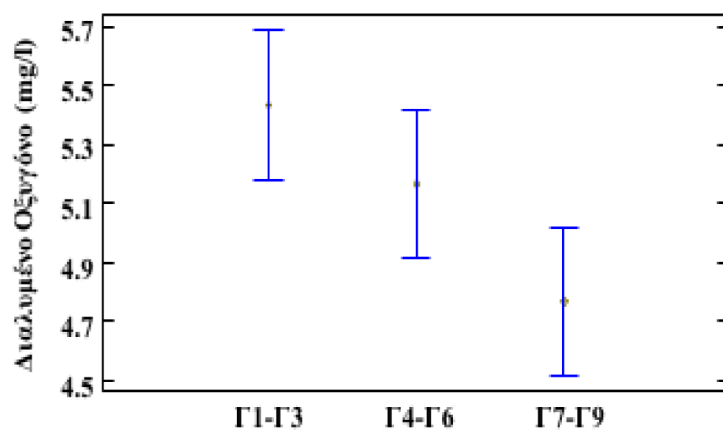


Εικόνα 30. Σύγκριση των ποσοστών παραγωγής βιώσιμων προνυμφών στις τρεις ομάδες του πειράματος Γ.

Συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει σημαντική (ANOVA, $F = 3,01$, $P < 0,050$) διαφορά στα ποσοστά βιώσιμων προνυμφών (πιν.15 και εικ.30).

Πίνακας 16. Στατιστική επεξεργασία των συγκεντρώσεων του διαλυμένου οξυγόνου στο πείραμα Β.

Διαλυμένο Οξυγόνο (mg/l)	Average	Standard deviation	Coeff. of variation	Minimum	Maximum	Range
Γ1-Γ3	5,43	0,06	1,06%	5,40	5,50	0,10
Γ4-Γ6	5,17	0,12	2,23%	5,10	5,30	0,20
Γ7-Γ9	4,77	0,42	8,73%	4,30	5,10	0,80



Εικόνα 31. Σύγκριση του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου στις τρεις ομάδες του πειράματος Γ.

Συμπεραίνεται ότι υπάρχει σημαντική (ANOVA, $F = 5,33$, $P < 0,050$) διαφορά στο διαλυμένο οξυγόνο, με τις τιμές των ομάδων Γ1 - Γ3 και Γ4 - Γ6 να είναι σημαντικά μεγαλύτερες από τις τιμές της ομάδας Γ7 - Γ9 (πιν.16 και εικ.31).

4. Συμπεράσματα

Ο έλεγχος της θερμοκρασίας επώασης ήταν το πλέον προβληματικό σημείο της εργασίας μας. Ο βορεινός προσανατολισμός του χώρου, τα μεγάλα παράθυρα, η ανεπάρκεια της μονάδας κλιματισμού και η απουσία ανεμιστήρα, δεν βοηθάνε στην σταθερότητα της θερμοκρασίας, ειδικά με την είσοδο στους χειμερινούς μήνες, όπως προκύπτει από τα σχετικά δεδομένα στα πειράματα Β και Γ. Το γεγονός αυτό μας δείχνει ότι δεν μπορούμε να οργανώσουμε πειράματα επώασης αβγών στον χώρο για πειραματικούς σκοπούς.

Το διαθέσιμο οξυγόνο επηρεάζεται ελαφρά μόνον από τις μεγάλες συγκεντρώσεις αβγών ανά λίτρο, ενώ, από τα διαθέσιμα στοιχεία, δεν εντοπίστηκαν σημαντικές αλλαγές στις υπόλοιπες παραμέτρους ποιότητας του νερού.

Γενικά, είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος που ακολουθήθηκε για εκπαιδευτικούς λόγους, δηλαδή την επώαση αβγών και την παραγωγή νυμφών στο εργαστήριο, καθώς μπορεί να παράγει με ασφάλεια 60 έως 90% βιώσιμες νύμφες ηλικίας 3 ημερών, σε μία μεγάλη γκάμα συγκεντρώσεων αβγών και σε πολύ ικανοποιητικές συνθήκες ποιότητας νερού. Αντίθετα, ο εργαστηριακός μας χώρος αποδεικνύεται ελλιπής για επιστημονικά πειράματα στο αντικείμενο αυτό.

5. Βιβλιογραφία

- FAO (2018) *Cultured Aquatic Species Information Programme: Sparus aurata* (Linnaeus, 1758) (ημερομηνία πρόσβασης 15/8/2018).
- FAO (2018) *Species Fact Sheets: Sparus aurata* (Linnaeus, 1758) (ημερομηνία πρόσβασης 15/8/2018).
- Moretti A., M.Pedini Fernandez-Criado, G.Cittolin, R.Guidastri. 1999. *Manual on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream*, Volume 1. Ed. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Κεντούρη Μ. (1990) *Η εκτροφή του λαβρακιού και της τσιπούρας*. Σημειώσεις Σεμιναρίου: Επιμόρφωση - Εξειδίκευση στην Υδατοκαλλιέργεια τσιπούρας - λαβρακιού, Ηράκλειο, σελ. 79.
- Κλαδάς Ι. (2006) *Σημειώσεις Μαθήματος «Παραγωγή ιχθυδίων Θαλασσινών Ειδών»: Διαχείριση γεννητόρων & παραγωγή αβγών στους Ιχθυογεννητικούς Σταθμούς θαλασσινών ειδών*, Τμήμα Ιχθυοκομίας-Αλιείας, ΤΕΙ Ηπείρου, Ηγουμενίτσα.
- Κλαδάς Ι. (2012) *Διαφάνειες Διαλέξεων Μαθήματος «Ιχθυογεννητικοί Σταθμοί»*, ηλεκτρονικές σημειώσεις, Τμήμα ΤΑΥ, ΤΕΙ Δ. Ελλάδας.
- ΣΕΘ (2017) *Ελληνική υδατοκαλλιέργεια 2017*. Ετήσια έκθεση 35 σελ.

Συμπληρωματική Ενδεικτική Βιβλιογραφία:

- Kokou F., Makridis P., Kentouri M., Divanach P. (2012) Antibacterial activity in microalgae cultures. *Aquaculture Research*, 43: 1520-1527.
- Κυριάκος, Ζ., Κουμουνδούρος, Γ., Κεντούρη Μ., και Divanach, P. (1993). *Εμβρυακή ανάπτυξη της τσιπούρας, Sparus aurata (Linnaeus, 1758) (Pisces, Sparidae)*. 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών. 21-24 Απριλίου 1993. Φλώρινα-Καστοριά, 122-124.
- Παπανικόλας Σ. (2012) *Μελέτη της ποιότητας των αβγών της κοινής τσιπούρας (Sparus aurata L. 1758) κατά τη διάρκεια μίας περιόδου ωοτοκίας*. Πτυχιακή εργασία, Τμήμα ΤΑΥ, ΤΕΙ Δ. Ελλάδας.
- Χώτος Γ. (2015) *Μαζική καλλιέργεια μικροφυκών*, Σημειώσεις Μαθήματος «Καλλιέργειες Πλαγκτού», Τμήμα ΤΑΥ, ΤΕΙ Δ. Ελλάδας.