

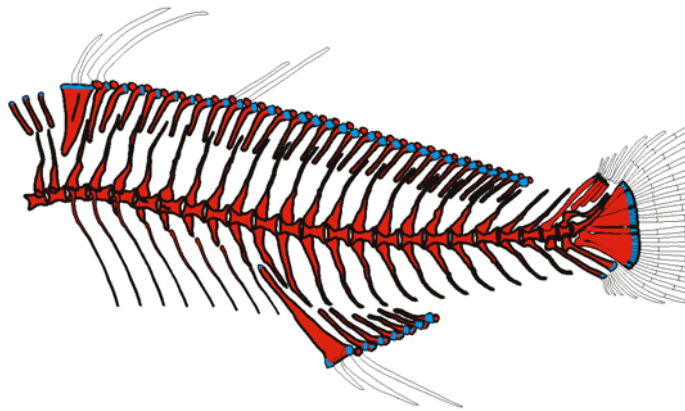


ΔΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
“ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ”  
“ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΧΕΡΣΑΙΩΝ ΚΑΙ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ”

## ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

με τίτλο

Μελέτη της οντογένεσης του σκελετού και των παραμορφώσεών του στο μυλοκόπι, *Umbrina cirrosa* (Linnaeus, 1758).



ΝΕΟΦΥΤΟΥ ΜΑΡΙΑ

Ηράκλειο, 2005

## Εξεταστική Επιτροπή

### **Επιβλέπουσα:**

*Μ. Κεντούρη* (Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Κρήτης)

### **Εξεταστής:**

*Γ. Κουμουνδούρος* (Λέκτορας Πανεπιστημίου Πατρών)

Η μελέτη χρηματοδοτήθηκε από το Πρόγραμμα Τεχνολογίας και Έρευνας (2003-05) μεταξύ των κυβερνήσεων Ελλάδας και Κύπρου (αριθμός πρωτοκόλλου 2206, 26 Φεβρουαρίου 2004).

**στην οικογένεια μου**

**στη μνήμη του Lucky...**

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η διεκπόνηση της διατριβής αυτής απετέλεσε για μένα μία ευκαιρία όχι μόνο να δοκιμάσω τα όρια μου στον χώρο της έρευνας, αλλά και να βρεθώ ανάμεσα σε πολύ σπουδαίους επιστήμονες και ανθρώπους από τους οποίους εισέπραξα γνώσεις και εμπειρίες που θα με συνοδεύουν στο μέλλον. Τελειώνοντας τον κύκλο αυτό της επιστημονικής μου πορείας θα ήθελα μέσα από λίγες γραμμές να ευχαριστήσω όλους όσους συντέλεσαν άμεσα ή έμμεσα στην πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης.

Ευχαριστώ πρώτα από όλους την καθηγήτρια μου κ. Μαρουδιώ Κεντούρη η οποία ήταν και η επιβλέπουσα της διατριβής μου. Ότι και να γράψω θα είναι λίγα για την αξιόλογη αυτή επιστήμων αλλά και γυναίκα η οποία αποτέλεσε πρότυπο καθηγήτριας για μένα από την πρώτη γνωριμία που είχα μαζί της κατά τον προπτυχιακό κύκλο σπουδών μου. Ήταν αυτή που με δέχθηκε με χαρά στο εργαστήριο της πριν τρία χρόνια που ως προπτυχιακή φοιτήτρια έψαχνα εργαστήριο για την διπλωματική εργασία μου και από τότε είναι η “καθηγήτρια μου”. Την ευχαριστώ για αυτό και για την συνεχή επιστημονική καθοδήγηση, ηθική και οικονομική βοήθεια που μου προσέφερε και συνεχίζει να μου προσφέρει. Την ευχαριστώ επίσης που παρόλο τον υπερβολικό φόρτο εργασίας που είχε τον τελευταίο χρόνο ποτέ δεν μου αρνήθηκε σε τίποτα και πάντα έβρισκε χρόνο για εποικοδομητικές συζητήσεις και για συμβουλές. Τέλος, την ευχαριστώ θερμά για τις ουσιαστικές παρατηρήσεις και διορθώσεις κατά την συγγραφή της παρούσας διατριβής.

Ένα πάρα πολύ μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στον δεύτερο εξεταστή της διατριβής μου, λέκτορα κ. Γιώργο Κουμουνδούρο ο οποίος αν και στην Πάτρα πια δέχθηκε με χαρά να είναι επιβλέπων στην διατριβή μου όταν του το ζήτησα. Μπορεί να μην ήταν παρών κατά την διεξαγωγή της μελέτης αλλά με καθοδηγούσε, όπως μόνο αυτός ξέρει, ακόμη και από μακριά. Ο Γιώργος ήταν ο πρώτος που έδειξε εμπιστοσύνη στο πρόσωπο μου πριν τρία χρόνια («ψάρι» εγώ τότε στο εργαστήριο), που με ενθάρρυνε και με έκανε να πιστέψω στις δυνάμεις μου. Στον ενάμιση χρόνο που είχα την τύχη να δουλέψω μαζί του πήρα τις βάσεις αλλά και τον τρόπο σκέψης που με βοήθησε να συνεχίσω με αυτοπεποίθηση στην διεκπόνηση της μεταπτυχιακής μου διατριβής. Τον ευχαριστώ για όλα, όπως επίσης για τις καίριες παρατηρήσεις και

υποδείξεις του στην παρούσα μελέτη που με βοήθησαν και με οδήγησαν σε ουσιώδεις προβληματισμούς.

Κατά την διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών είχα την τύχη να γνωρίσω και να συνεργαστώ και με έναν άλλο αξιόλογο ερευνητή, τον Dr. Ντίνο Μυλωνά. Από την πρώτη φορά που τον γνώρισα με εντυπωσίασε η αμεσότητα του με τους φοιτητές και ο ιδιαίτερος του τρόπος που σε κάνει να νοιώσεις άνετα μαζί του από την πρώτη στιγμή. Τον ευχαριστώ για όλα όσα μου πρόσφερε κατά τη διάρκεια της συνεργασίας μας. Ευχαριστώ επίσης όλη την ερευνητική του ομάδα όπου κατά τη διάρκεια των πειραμάτων στο «Φάρο» ήταν πάντα πρόθυμη να βοηθήσει.

Ευχαριστώ τον Dr. Pascal Divanach για τις πολύτιμες συμβουλές του και για την καταλυτική του συμβολή κατά τις πρώτες προσπάθειες μου να «δαμάσω» τις νύμφες... Ήταν πάντα εκεί για να δώσει τα «φώτα» του και να βρει λύση για κάθε πρόβλημα που προέκυπτε.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Κύπριους συνεργάτες του ερευνητικού προγράμματος για την παροχή μέρους των δειγμάτων που μελετήθηκαν στην παρούσα διατριβή.

Δημήτρης Σφακιανάκης. Ο Δημήτρης (αν και βάζελος...) απέκτησε την δική του παράγραφο στις ευχαριστίες γιατί ουσιαστικά αν δεν υπήρχε αυτός δεν ξέρω κατά πόσο η παρούσα δουλειά θα είχε πραγματοποιηθεί. Ως boss πια στο εργαστήριο είχε αναλάβει το δύσκολο έργο της επίβλεψης μου τον τελευταίο αυτό χρόνο. Τον ευχαριστώ για όλα (που είναι τόσα πολλά που αν τα αναφέρω ξεχωριστά θα μακρηγορήσω) και του ζητώ συγνώμη για τις φορές που ήμουν κουραστική, και για τα ξεσπάσματα μου όσον αφορά το τσιγάρο...

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω και στα υπόλοιπα παιδιά του εργαστηρίου των Ιχθυοκαλλιεργειών: την Αλίκη Καρούσου (με τις κουβεντούλες μας τα πρωινά), τη Χρύσα Δόξα (με τις επιλογές της στην μουσική), τον Γιάννη Λέρη (με τις ατάκες του και τον Vaio του που με έσωσε στην παρουσίαση και τον ευχαριστώ ιδιαίτερω) και την Νατάσα Λάγκη (με τους αναστεναγμούς και τα ατελείωτα χασμουρητά). Τους ευχαριστώ για το όμορφο κλίμα και την ομαδικότητα που καλλιεργούσαν όλο αυτό τον καιρό και για την βοήθεια που μου πρόσφεραν όποτε τους χρειαζόμουν.

Ευχαριστώ τον Άρη Παρμακέλη για την προθυμία του να με βοηθήσει όταν τον χρειάστηκα και γιατί του το υποσχέθηκα...

Ευχαριστώ τη φίλη μου Γιώτα για την ηθική υποστήριξη και την φιλία της όλα αυτά τα χρόνια....

Ευχαριστώ τον αδελφό μου Χρίστο, που συνεχίζει να με ανέχεται και να με βγάζει από τη δύσκολη θέση όποτε τα βρίσκω σκούρα με τους υπολογιστές.... Ευχαριστώ και τον αδελφό μου Γιώργο για τις ατέλειωτες ιατρικές συμβουλές και συνταγές που μου έδινε όλον αυτό τον καιρό που οι πονοκεφάλοι και οι ιώσεις έπεφταν βροχή...

Τέλος, ένα τεράστιο ευχαριστώ οφείλω στους γονείς μου που με στηρίζουν όλα αυτά τα χρόνια τόσο ηθικά όσο και οικονομικά. Τους ευχαριστώ για την αγάπη, την κατανόηση, την υπομονή και την καρτερία τους όλο αυτό τον καιρό που είμαι μακριά τους.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	<b>1</b>
1.1. Ορισμός και σημασία των υδατοκαλλιιεργειών	2
1.2. Παρούσα κατάσταση των υδατοκαλλιιεργειών	2
1.3. Νέα είδη στην ιχθυοκαλλιιεργεια	3
1.4. Το μυλοκόπι ( <i>Umbrina cirrosa</i> , Linnaeus 1758) ως υποψήφιο νέο είδος στη Μεσογειακή ιχθυοκαλλιιεργεια	4
1.5. Σημασία της μελέτης της οντογένεσης του σκελετού των ψαριών για την ιχθυοκαλλιιεργεια	6
1.6. Τεχνολογία εκτροφής “μεσοκόσμων”	7
1.7. Μορφοανατομικές ανωμαλίες στην Ιχθυοκαλλιιεργεια	8
1.7.1. Σκελετικές ανωμαλίες	
• Σπονδυλική στήλη	10
• Πτερύγια	11
1.8. Γενεσιουργοί παράγοντες των μορφοανατομικών παραμορφώσεων	11
1.8.1. Σκελετικές ανωμαλίες	
• Σπονδυλική στήλη	15
• Πτερύγια	16
1.9. Ιχθυοφόρτιση	16
1.10. Αποκοπή από τη ζωντανή τροφή	18
1.11. Στόχοι παρούσας μελέτης	19
<b>2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b>	<b>20</b>
2.1. Προέλευση των δειγμάτων	
2.1.1. Οντογένεση της σπονδυλικής στήλης και του σκελετού των εξαρτημάτων	21
2.1.2. Επίδραση δύο διαφορετικών ιχθυοφορτίσεων (εντατική μέθοδος) στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων	23
2.1.3. Επίδραση τριών διαφορετικών πρωτοκόλλων διατροφής, κατά την φάση αποκοπής από τη ζωντανή τροφή (εντατική μέθοδος), στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων	24
2.2. Δειγματοληψία, συντήρηση, χρώση και φωτογράφιση των δειγμάτων	
2.2.1. Οντογένεση της σπονδυλικής στήλης και του σκελετού των εξαρτημάτων	26
2.2.2 Επίδραση δύο διαφορετικών ιχθυοφορτίσεων (εντατική μέθοδος) στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων	27
2.2.3. Επίδραση τριών διαφορετικών πρωτοκόλλων αποκοπής από τη ζωντανή τροφή (εντατική μέθοδος) στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων	28
2.2.4. Συντήρηση, χρώση και φωτογράφιση των δειγμάτων των ενοτήτων 2.2.1-3	28
<b>3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	<b>29</b>
3.1. Οστεολογική ανάπτυξη	
3.1.1. Σπονδυλική στήλη	30
3.1.2. Πτερύγια	
• Ουραίο	34
• Ραχιαίο	36
• Εδρικό	38
• Θωρακικά	39
• Κοιλιακά	42

3.2. Σκελετικές παραμορφώσεις	
3.2.1. Επίδραση δύο διαφορετικών ιχθυοφορτίσεων στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων	44
3.2.1.α. Περιγραφή και εξέλιξη συχνότητας εμφάνισης	44
3.2.1.β. Επίδραση της ιχθυοφόρτισης στην συχνότητα των παρατηρούμενων σκελετικών παραμορφώσεων στο τέλος του νυμφικού σταδίου	59
3.2.2. Επίδραση τριών διαφορετικών πρωτοκόλλων διατροφής, κατά την φάση αποκοπής από τη ζωντανή τροφή, στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων	61
<b>4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	<b>64</b>
4.1. Οντογένεση της σπονδυλικής στήλης και του σκελετού των εξαρτημάτων	65
4.2. Σκελετικές παραμορφώσεις	
4.2.1. Περιγραφή και εξέλιξη παραμορφώσεων	71
4.2.2. Επίδραση δύο διαφορετικών ιχθυοφορτίσεων στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων	76
4.2.3. Επίδραση τριών διαφορετικών πρωτοκόλλων διατροφής, κατά την φάση αποκοπής από τη ζωντανή τροφή, στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων	77
<b>5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	<b>80</b>
<b>6. ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	<b>82</b>
<b>7. ABSTRACT</b>	<b>85</b>
<b>8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>88</b>



## ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΟΥ ΜΥΛΟΚΟΠΙΟΥ

	<u>ΛΑΤΙΝΙΚΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ</u>	<u>ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ</u>
ΦΥΛΟ	Chordata	Χορδωτά
Ομάδα	Vertebrata	Σπονδυλωτά
Υποφύλο	Gnathostomata	Γναθόστομα
Υπερομοταξία	Pisces	Ιχθύες
ΟΜΟΤΑΞΙΑ	Osteichthyes	Οστειχθύες
Υφομοταξία	Actinopterygii	Ακτινοπτερύγιοι
Υπέρταξη	Teleostei	Τελεόστεοι
ΤΑΞΗ	Perciformes	Περκόμορφα
Υποτάξη	Percoidae	Περκοειδή
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	Sciaenidae	
ΕΙΔΟΣ	<i>Umbrina cirrosa</i>	Μυλοκόπι

# **1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

---

## **1.1. Ορισμός και σημασία των υδατοκαλλιεργειών**

Οι υδατοκαλλιέργειες αποτελούν μια οικονομική δραστηριότητα που αποβλέπει στην παραγωγή υδρόβιων οργανισμών, που προορίζονται είτε για την διατροφή του ανθρώπου, είτε για την παραγωγή δευτερογενών προϊόντων (ζωοτροφές, διακοσμητικά, φάρμακα κλπ.). Καλύπτει όλες τις διαδικασίες που έχουν σαν σκοπό την παραγωγή, μεταποίηση, και εμπορία φυτικών και ζωικών οργανισμών που ζουν σε γλυκά, υφάλμυρα ή θαλασσινά νερά (Κεντούρη 1998). Είναι γεγονός ότι οι υδατοκαλλιέργειες επιτελούν σε παγκόσμια κλίμακα ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο όσον αφορά στην παγκόσμια παραγωγή πρωτεΐνης ζωικής προελεύσεως. Ο ρόλος αυτός ενισχύεται σημαντικά λόγω της ιδιαίτερης διατροφικής αξίας των προϊόντων των υδατοκαλλιεργειών. Είναι επίσης γεγονός ότι αποτελούν πηγή πλούτου για πολλούς λαούς, ενισχύοντας ιδιαίτερα οικονομίες που ασχολούνται με αυτές λόγω της μεγάλης εμπορικής αξίας αυτών των προϊόντων. Αν συγχρόνως αναλογισθεί κάποιος ότι το ένα τρίτο σε παγκόσμια κλίμακα των ψαριών που καταναλώνεται προέρχονται από την υδατοκαλλιέργεια, γίνεται πλέον πρακτικά αντιληπτή η μέγιστη σημασία του κλάδου αυτού (Basurco & Abellan 1999).

## **1.2. Παρούσα κατάσταση των υδατοκαλλιεργειών**

Σύμφωνα με τον παγκόσμιο οργανισμό τροφίμων (F.A.O), οι υδατοκαλλιέργειες αποτελούν σήμερα έναν από τους ταχύτερα αναπτυσσόμενους τομείς τροφίμων. Σε παγκόσμια κλίμακα, η παραγωγή των υδατοκαλλιεργειών αυξάνεται περισσότερο από 10% κάθε χρόνο συγκρινόμενη με το 3% της αύξησης της χερσαίας ζωικής παραγωγής και το 1.5% της αύξησης της αλιείας (Basurco & Abellan 1999, Belias & Dassenakis 2002). Στη Μεσόγειο, η βιομηχανία της ιχθυοκαλλιέργειας αυξάνεται με σταθερούς ρυθμούς την τελευταία δεκαετία και η Ελλάδα έχει σήμερα την μεγαλύτερη παραγωγή θαλάσσιων ψαριών στην Ευρώπη. Πλέον του 50% της Ευρωπαϊκής παραγωγής των δύο κύριων ειδών, λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) και τσιπούρα (*Sparus aurata*), παράγονται στην Ελλάδα (F.E.A.P. 1999).

Δυστυχώς, όμως, ο κλάδος της ιχθυοκαλλιέργειας στην Ελλάδα αντιμετωπίζει σοβαρά προβλήματα τα τελευταία 6 χρόνια, με μείωση της τιμής πώλησης του βρώσιμου ψαριού από τους παραγωγούς σε τιμές, σε πολλές περιπτώσεις, κάτω του κόστους. Ο λόγος είναι ότι πλέον του 90% της παραγωγής των ιχθυοτροφείων της Ελλάδας αποτελείται μόνο από τσιπούρα και λαβράκι, με αποτέλεσμα τον έντονο συναγωνισμό και την ανεξέλεγκτη μείωση των τιμών. Σε αυτό συνετέλεσε ο μεγάλος αριθμός μονάδων που λειτουργούν στην Ελλάδα και ο ανταγωνισμός από το εξωτερικό (κυρίως από την Τουρκία). Αυτή η φάση “προσγείωσης” της ανάπτυξης του κλάδου υπαγόρευσε μια σειρά μέτρων από τους εμπλεκόμενους φορείς (οικονομικούς και ερευνητικούς) τεχνο-οικονομικού και βιολογικού χαρακτήρα. Τα αναγκαία αυτά μέτρα απέβλεπαν αφενός στη διεύρυνση των αγορών για τα εκτρεφόμενα είδη, στη μεταποίηση των παραγόμενων προϊόντων και στη μείωση του κόστους παραγωγής, και αφετέρου στην εκτροφή νέων ειδών και στη βελτίωση της ποιότητας των παραγόμενων προϊόντων. Η διαφοροποίηση της παραγωγής ως προς τα εκτρεφόμενα είδη αποτελεί έναν τομέα που μπορεί να αποσυμφορήσει τις αγορές από τα δύο κύρια καλλιεργήσιμα είδη και να συνεισφέρει θετικά στην προσπάθεια αιεφόρου ανάπτυξης της θαλάσσιας ιχθυοκαλλιέργειας στην Μεσόγειο. (Κεντούρη 1995).

### **1.3. Νέα είδη στην ιχθυοκαλλιέργεια**

Η Μεσογειακή ιχθυοκαλλιέργεια διανύει στην παρούσα φάση μια περίοδο αναζήτησης καινούργιων τεχνολογιών και νέων ειδών για εκτροφή. Δεδομένου του υψηλού επιχειρηματικού κινδύνου της βιομηχανίας της ιχθυοκαλλιέργειας (επενδύσεις, ειδικοί εξοπλισμοί, λειτουργικά έξοδα κλπ.), η επιλογή ενός είδους ως κατάλληλου για εκτροφή προϋποθέτει μια σειρά χαρακτηριστικών που πρέπει να διαθέτει αυτό ούτως ώστε να διασφαλίζεται η επιτυχής μαζική παραγωγή του και η διαχρονικά υψηλή εμπορική του αξία. Δηλαδή, ένα υποψήφιο είδος πρέπει να συνδυάζει κριτήρια όπως υψηλή εμπορική αξία, δυνατότητα αύξησης με υψηλό ρυθμό, δυνατότητα σύλληψης από τη φύση, ύπαρξη επαρκούς βιολογικής γνώσης, υψηλή ικανότητα μεταφοράς, εύκολη διαχείριση, μειωμένο κόστος παραγωγής, προσαρμοστικότητα σε συνθήκες εκτροφής ούτως ώστε να επιτυγχάνεται η

αναπαραγωγή, η επιβίωση, η ανάπτυξη και η αύξηση του και υψηλές βιολογικές αποδόσεις γενικότερα (Quemener *et al.* 2002).

Μερικά από τα υποσχόμενα εμπορικά είδη που έχουν ήδη αρχίσει να εισέρχονται στον χώρο των ιχθυοκαλλιεργειών είναι το φαγκρί (*Pagrus pagrus* L.), το μυτάκι (*Diplodus puntazzo* Getti), ο σαργός (*Diplodus sargus* L.), το μαγιάτικο (*Seriola dumerilii* L.), το λυθρίνι (*Pagellus erythrinus* L.), ο κέφαλος (*Mugil cephalus* L. και *Liza ramada* L.), η συναγρίδα (*Dendex dentex* L.), η μουρμούρα (*Lithognathus mormyrus* L.), η γλώσσα (*Sollea vulgaris* L.), διάφορα είδη ροφών (*Epinephelus* spp. L.), διάφορα είδη τόνων (*Thunnus* sp. L.) και το μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa* L.).

#### **1.4. Το μυλοκόπι, *Umbrina cirrosa* (Linnaeus 1758), ως υποψήφιο νέο είδος στη Μεσογειακή ιχθυοκαλλιέργεια.**

Το μυλοκόπι είναι ένα είδος με ευοίωνη προοπτική ενσωμάτωσης στη βιομηχανία ιχθυοκαλλιέργειας στην Ελλάδα και στην υπόλοιπη Ευρώπη. Συστηματικά ανήκει στην οικογένεια των *Sciaenidae* και είναι ένα από τα πέντε είδη της οικογένειας αυτής που συναντιούνται στη Μεσόγειο (Fisher *et al.* 1987). Η οικογένεια αυτή συμπεριλαμβάνει 250 είδη παγκοσμίως (Nelson 1994). Το μυλοκόπι είναι ένας ευρύαλος τελεόστεος ιχθύς που απαντάται μεταξύ των γεωγραφικών πλατών 46 °N και 30 °N με κύριες περιοχές εμφάνισης τον ανατολικό Ατλαντικό, το Βискаϊκό κόλπο, το Γιβραλτάρ, το βόρειο Μαρόκο, την Μεσόγειο και την Μαύρη Θάλασσα (Fisher *et al.* 1987). Στη περιοχή της Μεσογείου απαντάται αρκετά συχνά κυρίως στο Μαρόκο, την Ελλάδα, την Τουρκία και την Κύπρο. Το σώμα του έχει ατρακτοειδές σχήμα και υποκύανο-γκρι μεταλλικό χρώμα με πλάγιες ανοδικές οφιοειδής γραμμές (Basurco & Abellan 1999). Συχνάζει σε αβαθή παράκτια νερά (μέχρι 100 μ βάθος) με αμμώδεις και βραχώδεις βυθούς και αναφέρεται ότι ως νεαρό άτομο μπορεί να εισέλθει σε λιμνοθάλασσες για να τραφεί. Είναι παμφάγο ψάρι και η διατροφή του βασίζεται κυρίως σε ασπόνδυλα μαλάκια, καρκινοειδή και φύκια τα οποία συλλαμβάνει από το βυθό. Ο τρόπος που συλλαμβάνει την τροφή του είναι άμεσα συνδεδεμένος με την θέση του στόματος του, το οποίο είναι τοποθετημένο υπογναθικά. Η μορφοανατομική αυτή θέση του στόματος του εξηγεί και την διατροφική συμπεριφορά του στους χώρους εκτροφής του. Παρατηρείται στις δεξαμενές να κινείται στο βυθό όπου ψάχνει για την τροφή του, ενώ στα κλουβιά

κινείται στα τοιχώματα των διχτύων (fishbase.org). Είναι είδος γονοχωριστικό με ομαδικό συγχρονισμό ωοτοκίας (Zohar 1988). Στη φύση έχει δείξει να έχει υψηλό ρυθμό αύξησης κατά τα τρία πρώτα χρόνια της ζωής του (Fabi & Fiorentini 1993 in Mylonas *et al.* 2000).

Το μυλοκόπι είναι ένα από τα πολλά υποσχόμενα νέα είδη στον χώρο των θαλάσσιων ιχθυοκαλλιεργειών. Πολλά είναι εκείνα τα στοιχεία που συνηγορούν σε αυτήν την άποψη. Ο υψηλός ρυθμός ανάπτυξης του, η υψηλή εμπορική του αξία σε συνάρτηση και με την πολύ καλή ποιότητα κρέατος που διαθέτει, του δίνουν μία αξιολογη θέση στην αγορά (Melotti *et al.* 1995, Libertini *et al.* 1998). Επιπροσθέτως, το είδος έχει και κάποια επιπλέον στοιχεία που το καθιστούν δυνατό υποψήφιο ανάμεσα από πολλά άλλα είδη. Ωοτοκεί από την αρχή της Άνοιξης μέχρι το τέλος του καλοκαιριού, και έτσι δεν συναγωνίζεται για τις νυμφικές εγκαταστάσεις με τα ευρέως καλλιεργούμενα Μεσογειακά είδη. Επίσης, λόγω του ευμεγέθους στόματός της, η νύμφη του μυλοκοπιού μπορεί να αποδεχτεί πολύ νωρίς βιομηχανική τροφή και να καλλιεργηθεί χωρίς τη χρήση *Artemia* spp., γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του κόστους παραγωγής (Mylonas *et al.* 2000). Το είδος αυτό έχει παρατηρηθεί ότι παρουσιάζει καλή προσαρμοστικότητα στην αιχμαλωσία, όσον αφορά την αναπαραγωγή του (Mylonas *et al.* 2000, Pedini 2002), ενώ τα μικρά αναπαραγωγικά προβλήματα που παρουσιάζει μπορούν να υπερκεραστούν με τη χρήση ορμονικών θεραπειών (Zohar & Mylonas 2001). Επίσης, δεν παρουσιάζει κανιβαλιστική συμπεριφορά γεγονός που κάνει πιο εύκολη την διαχείριση του όσον αφορά τις διαλογές του ανάλογα με το μέγεθος. Με την παροχή εξειδικευμένης τροφής και με την χρήση κατάλληλων απάνεμων και με μικρό κυματισμό περιοχών μπορεί να φτάσει πολύ υψηλούς ρυθμούς αύξησης (Fabi & Fioredini 1993 in Mylonas *et al.* 2000). Τέλος, μελέτες έχουν δείξει ότι το μυλοκόπι έχει γρηγορότερους ρυθμούς αύξησης και μεγαλύτερη παραγωγική απόδοση από τα υπάρχοντα ευρέως καλλιεργούμενα είδη, όπως η τσιπούρα και το λαβράκι, και μπορεί να φτάσει το εμπορεύσιμο μέγεθος σε μόνο 14 μήνες από την ημέρα εκκόλαψης (Mylonas *et al.* 2000, 2004). Τα πιο πάνω καθιστούν το μυλοκόπι ένα από τα είδη που έχει επιλεγεί από ερευνητικά κέντρα αλλά και βιομηχανικές μονάδες της Μεσογείου για τη διαφοροποίηση της Ιχθυοκαλλιέργειας.

Η υπάρχουσα βιβλιογραφία για το είδος επικεντρώνεται κυρίως στην αναπαραγωγική βιολογία (Barbaro *et al.* 1996, Barbaro *et al.* 2002, Cardellini *et al.* 1999, Mylonas *et al.* 2000, 2004,) στη φυσιολογία του πεπτικού συστήματος (Pedini

*et al.* 2001, 2002, Parillo *et al.* 2002), στη φυσιολογική οντογένεση του πεπτικού συστήματος (Zaiss & Mylonas *et al.* 2005, αδημοσίευτα αποτελέσματα), στην παθολογία (Bovo *et al.* 1999), στην εμβρυϊκή ανάπτυξη (Cardellini *et al.* 1998), στην εκτροφή (growing) ιχθυδίων (Cardellini *et al.* 1999), και στη φυλογένεση και στη γενετική (Valle *et al.* 2001, Maccatrozzo *et al.* 2002, Radaelli *et al.* 2003). Επίσης, πρόσφατα έχει μελετηθεί η οντογένεση της εξωτερικής μορφολογίας του είδους από τους Koumoundouros *et al.* (2005, υπό δημοσίευση). Παρά το ενδιαφέρον για αυτό το είδος, δεν έχουν ακόμη αναφερθεί μελέτες που να αφορούν την οστεολογία του, τόσο στην φυσιολογική οντογένεση του σκελετού, όσο και στην περιγραφή πιθανών μορφοανατομικών παραμορφώσεων που αναπτύσσει το είδος.

### **1.5. Σημασία της μελέτης της οντογένεσης του σκελετού των ψαριών για την ιχθυοκαλλιέργεια**

Κατά την οντογένεση, η οποία είναι μια διαδικασία *αύξησης* (αλλαγή του μεγέθους με την ηλικία) και *ανάπτυξης* (διαφοροποίηση και ωρίμανση των κυττάρων, ιστών, οργάνων και συστημάτων) (Chambers & Leggett 1987), οι ιχθυονύμφες υφίστανται δραματικές αλλαγές που αφορούν στο σχήμα του σώματος, στην ικανότητα κολύμβησης, στον μεταβολισμό και στην συμπεριφορά τους. Οι αλλαγές αυτές οδηγούν στην σύντομη μεταμόρφωση των νυμφών των ψαριών σε ιχθύδια ή ενήλικα άτομα, ενώ παράλληλα αναπτύσσονται, τρέφονται και επιβιώνουν ως λειτουργικοί οργανισμοί (Osse & van de Boogart 1995, van Snik *et al.* 1997, Gisbert 1999, Koumoundouros *et al.* 1999a).

Η γνώση της φυσιολογικής οντογένεσης ενός είδους και ειδικότερα της οστεολογικής εξέλιξης του είναι σημαντική σε θεωρητικό επίπεδο, αλλά και επιβεβλημένη σε πρακτικό, διότι συμβάλλει στην κατανόηση των βιολογικών απαιτήσεων του είδους για κάθε αναπτυξιακό στάδιο και αποτελεί εργαλείο διεκπεραίωσης ποιοτικού ελέγχου, αξιολόγησης συνθηκών εκτροφής και πρόληψης μορφο-ανατομικών παραμορφώσεων με όρους αποτελεσματικότερης παραγωγής και υψηλής ποιότητας ιχθυδίων και ενηλίκων ψαριών. Η μελέτη της οστεολογίας επιτρέπει όχι μόνο το σαφή διαχωρισμό μεταξύ φυσιολογικών και παραμορφωμένων ατόμων, αλλά και πιθανή αντιμετώπιση των σκελετικών αυτών ανωμαλιών στο επίπεδο του πληθυσμού.

Η γνώση του φυσιολογικού προτύπου ανάπτυξης του σκελετού ενός είδους, δίνει όχι μόνο τη δυνατότητα του προσδιορισμού οποιασδήποτε παρέκκλισης από το φυσιολογικό (παραμόρφωσης), αλλά προσδιορισμό και του αναπτυξιακού σταδίου στο οποίο εμφανίστηκε αυτή, πιθανή εύρεση της γενεσιουργού αιτίας καθώς και λύσης. Επιπροσθέτως, η σύγκριση της φυσιολογικής οντογένεσης υποψηφίων ειδών με τα καθιερωμένα εκτρεφόμενα είδη μπορεί να δώσει πολύ χρήσιμες πληροφορίες για τις απαραίτητες τροποποιήσεις των απαιτούμενων για τα νέα είδη μεθόδων εκτροφής (Chatain 1994, Koumoundouros *et al.* 1994, 1999b, Bengtson 1999). Καθώς οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι δείκτες, μήκος, μάζα και ηλικία, δεν δείχνουν αυστηρές συσχετίσεις με την ανάπτυξη (Segner *et al.* 1995), οι μορφολογικοί δείκτες πρέπει να δίνουν πιο χρήσιμες ενδείξεις για την ανάπτυξη των βέλτιστων τεχνικών εκτροφής.

#### **1.6. Τεχνολογία εκτροφής “μεσοκόσμων”**

Η ανάπτυξη των ψαριών επηρεάζεται ως προς ένα μεγάλο βαθμό από τις περιβαλλοντικές συνθήκες, κυρίως των πρώιμων ετερότροφων σταδίων, (Bukley 1981, Divanach 1985, Matsuoka 1987, Beccaria *et al.* 1991, Koumoundouros *et al.* 1994, 1995a, 2001a), οδηγώντας σε μορφολογικές διαφορές μεταξύ των εκτρεφόμενων και των “άγριων” ατόμων (Koumoundouros *et al.* 1994, 1995a, Corti *et al.* 1996). Επιπρόσθετα, η μελέτη του φυσικού προτύπου ανάπτυξης με συλλογή ατόμων από το φυσικό περιβάλλον είναι πολλές φορές δύσκολη για αυτό χρησιμοποιείται ως εναλλακτική λύση η χρήση ήπιων τεχνολογιών εκτροφής, όπως αυτή των “μεσοκόσμων”, που μιμούνται όσο το δυνατό καλύτερα τις αβιοτικές και βιοτικές συνθήκες του φυσικού περιβάλλοντος και οι νύμφες έχουν τη δυνατότητα επιλογής ανάμεσα σε ποικιλία φυσικών πλαγκτονικών πληθυσμών που αναπτύσσονται ενδογενώς στο μέσο εκτροφής (Kentouri 1985, Πήττα 1995, Divanach & Kentouri 2000). Οι παραγόμενοι πληθυσμοί είναι υψηλής ποιότητας και εμφανίζουν πολύ λίγες και μικρής έντασης μορφο-ανατομικές παραμορφώσεις (Divanach *et al.* 1996, Koumoundouros *et al.* 1995a, 1997a). Η εκτατική αυτή μέθοδος αν και δεν χρησιμοποιείται για τη μαζική εκτροφή νυμφών, αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό εργαλείο για τη μελέτη ειδών με άγνωστες διατροφικές και περιβαλλοντικές προτιμήσεις.



## 1.7. Μορφοανατομικές ανωμαλίες στην Ιχθυοκαλλιέργεια

Στην Ιχθυοκαλλιέργεια, οι μορφοανατομικές ανωμαλίες συνιστούν ένα μεγάλο οικονομικό πρόβλημα, καθώς επηρεάζουν την μορφολογία και την επιβίωση των ψαριών, ένα φαινόμενο το οποίο συνεπώς οδηγεί σε μείωση της αγοραστικής αξίας των παραγόμενων ιχθυδίων (Andrades *et al.* 1996, Koumoundouros *et al.* 1997a). Ως μορφοανατομικές ανωμαλίες στην ιχθυοκαλλιέργεια χαρακτηρίζονται οι μη αντιστρεπτές αποκλίσεις από ένα πρότυπο ποιότητας, το οποίο στις προτιμήσεις του καταναλωτή ταυτίζεται συνήθως με αυτό των “άγριων” ατόμων. Καθώς απαιτείται χειρονακτική επιλογή (manual sorting) των παραμορφωμένων ατόμων, υπάρχει μία αρνητική επίδραση στους ρυθμούς αύξησης και μετατρεψιμότητας, όπως επίσης και της ευαισθησίας σε ασθένειες (Koumoundouros *et al.* 1997b, Boglione *et al.* 2001). Υψηλές συχνότητες των παραμορφώσεων, που συχνά σχετίζονται με μειωμένη αύξηση και βιωσιμότητα, έχουν αναφερθεί σε εκτρεφόμενα ιχθύδια (Hilomen-Garcia 1997, Kitajima *et al.* 1994) και μπορεί να προκαλούνται είτε από γενετικούς (Bengtsson *et al.* 1998) είτε από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Οι πιο πιθανές αιτίες φαίνεται να είναι η ύπαρξη δυσμενών αβιοτικών συνθηκών (Polo *et al.* 1991, Pavlov 1997, Pavlov & Moksness 1997, Faustino & Power 1999), θρεπτικές ανεπάρκειες (Estevez & Kanazawa 1995, Takeuchi *et al.* 1995, Dedi *et al.* 1998), συνθήκες εκτροφής (Koumoundouros *et al.* 2001b, Sfakianakis *et al.* 2004), καθώς και άλλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες (Boglione *et al.* 1993, Lindesjoo *et al.* 1994, Divanach *et al.* 1997, Haaparanta *et al.* 1997). Προηγούμενες μελέτες εισηγούνται ότι οι παραμορφώσεις επάγονται σε πρώιμα στάδια κατά την εμβρυϊκή και νυμφική περίοδο ζωής, παρόλο που οι αιτίες και οι μηχανισμοί που ευθύνονται δεν είναι ακόμη πολύ καλά κατανοητοί (Kentouri 1985, Daoulas *et al.* 1991, Polo *et al.* 1991, Andrades *et al.* 1996, Divanach *et al.* 1996, Koumoundouros *et al.* 1997a, 1997b).

Αρκετές μελέτες στις σκελετικές παραμορφώσεις έχουν αναφερθεί για τις νύμφες και τα ιχθύδια πολλών ειδών ψαριών. Πολλές αναφορές υπάρχουν για το λαβράκι (*D. labrax* L.) (Chatain 1987, Daoulas *et al.* 1991, Boglione *et al.* 1993, Marino *et al.* 1993, Divanach *et al.* 1997, Koumoundouros *et al.* 2000, 2002, Sfakianakis *et al.* 2005, υπό δημοσίευση) όπως επίσης και για την τσιπούρα (*S. aurata* L.) (Paperna 1978, Andrades *et al.* 1994, 1996, Koumoundouros *et al.* 1997a,

b, Faustino & Power 1999, Afonso *et al.* 2000). Αναφορές έχουν επίσης γίνει και για άλλα εκτρεφόμενα εμπορικά είδη ψαριών όπως το fourhorn skulpin (*Physiculus helenaensis* L.) (Bengtsson *et al.* 1998), το φαγκρί του Ειρηνικού (*Pagrus major* L.), το ιαπωνικό λαβράκι (*Lateolabrax japonicus* L.) και ένα είδος μαγιάτικου (*Seriola aureovittata* L.) (Kitajima *et al.* 1994), το πλατύψαρο (*Paralichthys olivaceus* L.) (Hosoya & Kawamura 1995, 1998), τη συναγρίδα (*D. dentex* L.) (Koumoundouros *et al.* 2001b) και τη γλώσσα (*Solea senegalensis* L.) (Gavaia *et al.* 2002). Πρόσφατα, υπάρχουν επίσης αναφορές για υπογήφια είδη για την Ιχθυοκαλλιέργεια, όπως ο σαργός (*D. sargus* L.) (Sfakianakis *et al.* 2003), το μυτάκι (*Diplodus puntazzo* L.) (Boglione 2003) και το λυθρίνι (*P. erythrinus* L.) (Boglione 2003, Sfakianakis *et al.* 2004).

Οι μορφοανατομικές παραμορφώσεις επηρεάζουν όχι μόνο την εξωτερική μορφολογία των εκτρεφόμενων ψαριών, αλλά και τις βιολογικές επιδόσεις αυτών καθ' όλη την διάρκεια του κύκλου παραγωγής (Paperna 1978, Barahona-Fernandes 1982, Chatain 1987, 1994a, 1994b). Οι μορφοανατομικές παραμορφώσεις επηρεάζουν όλα τα μέρη του σκελετού, π.χ. την σπονδυλική στήλη, τα βραγχιακά επικαλύμματα, τις σιαγόνες, τα υοειδή τόξα και τα πτερύγια. Η ανάπτυξη των μορφοανατομικών ανωμαλιών δεν είναι ειδο-ειδική, εκτός συγκεκριμένων εξαιρέσεων (όπως η "Pike jaw deformity" στο *Esox lucius*, (Lindesjoo & Thulin 1992) (ανασκόπηση από Divanach *et al.* 1996) και γενικά αποδίδεται σε ακατάλληλες συνθήκες εκτροφής, κυρίως κατά τα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια (Kentouri 1985, Daoulas *et al.* 1991, Polo *et al.* 1991, Andrades *et al.* 1996, Divanach *et al.* 1996, Koumoundouros *et al.* 1997a, 1997b). Ο εντοπισμός αναπτυξιακών ανωμαλιών, όπως στην περίπτωση των μορφοανατομικών ανωμαλιών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την βελτιστοποίηση των τεχνικών νυμφικής εκτροφής μέσω τροποποίησης περιβαλλοντικών παραμέτρων και μεθόδων διατροφής (Segner *et al.* 1995).

### 1.7.1. Σκελετικές ανωμαλίες

- Σπονδυλική στήλη

Οι ανωμαλίες της σπονδυλικής στήλης χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Σε αυτές που αφορούν την σπονδυλική στήλη (αξονικές) και σε αυτές που αφορούν τους σπονδύλους (σπονδυλικές).

Στην κατηγορία των αξονικών παραμορφώσεων υπάγονται η λόρδωση (V σχήματος κάμψη στο κατακόρυφο επίπεδο), η κύφωση (Λ σχήματος κάμψη στο κατακόρυφο επίπεδο) και η σκολίωση (πλευρική κάμψη). Οι πιο πάνω παραμορφώσεις μπορούν να εμφανιστούν μόνες τους ή σε συνδυασμό όπως επίσης και σε υψηλές εντάσεις και ποσοστά εμφάνισης (Francescon *et al* 1988, Daoulas *et al.* 1991, Saroglia & Scarano 1992, Boglione *et al.* 1993, 1995, Chatain 1994a, Andrades *et al.* 1996, Divanach *et al.* 1997, Koumoundouros *et al.* 2002).

Μερικοί συγγραφείς έχουν αναφέρει ότι οι αξονικές παραμορφώσεις στους τελεόστεους μπορεί να είναι αποτέλεσμα ανικανότητας πλήρωσης της νηκτικής κύστης (Kitajima *et al.* 1981, Chatain 1987, Daoulas *et al.* 1991, Chatain 1994). Παρόλα αυτά οι Boglione *et al.* (1995) και Divanach *et al.* (1997), έδειξαν ότι αυτό δεν είναι απόλυτο μιας και ψάρια με λειτουργική κύστη εμφάνισαν λόρδωση καθώς και άλλες αξονικές παραμορφώσεις σε υψηλά ποσοστά. Συνεπώς, πλέον της μη πλήρωσης της νηκτικής κύστης, και άλλοι παράγοντες μπορεί, κατά την εμβρυική ανάπτυξη να εμπλέκονται στην εμφάνιση των σκελετικών παραμορφώσεων. Αυτό γιατί οι παραμορφώσεις αυτές μπορεί να εμφανιστούν σε πολύ πρώιμα στάδια πριν ακόμη την πλήρωση της νηκτικής κύστης (Andrades *et al.* 1996) ή πριν την έναρξη του σχηματισμού της σπονδυλικής στήλης υπό μορφή παραμόρφωσης της νωτοχορδής (αποτελέσματα παρούσας μελέτης).

Στην κατηγορία των σπονδυλικών παραμορφώσεων εντάσσονται συντήξεις, μετατοπίσεις, δυσπλασίες, διπλασιασμοί ή απουσίες, τόσο των σωμάτων των σπονδύλων, όσο και των τόξων και ακανθών καθώς και των πλευρών (Matsuoka 1987, Daoulas *et al.* 1991, Boglione *et al.* 1993, 1995, Divanach *et al.* 1997, αποτελέσματα παρούσας μελέτης). Αποτελούν συνήθως μικρής έντασης παραμορφώσεις και εκτός μερικών περιπτώσεων εκτεταμένης σύντηξης, δεν επηρεάζουν την ποιότητα των εκτρεφόμενων ψαριών.

- Πτερύγια

Στα πτερύγια μπορούν να εμφανιστούν σοβαρής μορφής παραμορφώσεις όπως είναι η μερική έλλειψη του ραχιαίου πτερυγίου (ή αλλιώς saddleback syndrome) (Tave *et al.* 1983, 1986, Sfakianakis *et al.* 2003, αποτελέσματα παρούσας μελέτης) ή η μερική έλλειψη του εδρικού πτερυγίου (Hussain 1979, αποτελέσματα παρούσας μελέτης). Οι πιο πάνω παραμορφώσεις συμβαίνουν συνήθως σε χαμηλές συχνότητες στη τσιπούρα και το λαβράκι (Chatain 1994b), όπως επίσης και στο μυλοκόπι (αποτελέσματα παρούσας μελέτης). Σοβαρές οστεολογικές παραμορφώσεις μπορούν να αναπτυχθούν και στο ουραίο πτερύγιο, όπως πλευρική κάμψη, διπλασιασμός (Koumoundouros *et al.* 1995b, 1997a) και στένωση του ουραίου πτερυγίου που έχουν επιδράσεις στο σχήμα του σώματος και εμφανίζονται σε υψηλές συχνότητες. Στο λαβράκι, σε σύγκριση με τις υπόλοιπες οστεολογικές ανωμαλίες οι παραμορφώσεις του ουραίου εμφάνισαν το μεγαλύτερο ποσοστό (34%) (Marino *et al.* 1993).

Άλλες ανωμαλίες που μπορούν να εντοπιστούν στα πτερύγια και αποτελούν μικρής έντασης παραμορφώσεις που επηρεάζουν λίγο έως καθόλου την ποιότητα των ιχθύων είναι οι συχνές κάμψεις και δυσμορφίες των ακτίνων (Paperna 1978, Sindermann 1988, Daoulas *et al.* 1991), καθώς και ατροφία, συντήξεις και παραμορφώσεις σχήματος των στηρικτικών οστών των πτερυγίων (Sfakianakis *et al.* 2004, αποτελέσματα παρούσας μελέτης).

### **1.8. Γενεσιουργοί παράγοντες των μορφοανατομικών παραμορφώσεων**

Οι μέχρι τώρα μελέτες των αναπτυξιακών παραμορφώσεων στα ψάρια είναι στο μεγαλύτερο τους μέρος περιγραφικές, ενώ λίγες είναι εκείνες οι οποίες έχουν επεκταθεί πέρα από το επίπεδο της συσχέτισης με συγκεκριμένους παράγοντες που τις προκαλούν.

Ορισμένες συχνά παρατηρούμενες παραμορφώσεις στα ψάρια έχουν συσχετιστεί με έκθεση σε φυσικές, χημικές και περιβαλλοντικές μεταβλητές και παθογόνους οργανισμούς. Κάποιες έχουν επίσης συσχετιστεί με αιμομιξία (inbreeding) και διατροφικές ανεπάρκειες. Γενικά, η έκθεση σε επιβλαβείς ή μη βέλτιστες συνθήκες τείνει να είναι πιο έντονη και εμφανής στα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια. Σχετικά ανεπαίσθητες αλλαγές μπορούν να έχουν μεγάλη επίδραση σε μία ολόκληρη ομάδα ευαίσθητων εμβρύων ή νυμφών κατά τη διάρκεια κρίσιμων

αναπτυξιακών σταδίων, που συχνά οδηγεί σε θνησιμότητα ή σοβαρές δυσμορφίες. Ψάρια τα οποία δεν έχουν ακόμη μπει στην διαδικασία της σκελετικής οστεοποίησης είναι ιδιαίτερα ευπαθή σε επιδράσεις διάσπασης. Αυτό μπορεί να έχει σοβαρές συνέπειες για τους ιχθυοκαλλιεργητές, μιας και τα περισσότερα ψάρια με εμφανείς εξωτερικά παραμορφώσεις είναι ουσιαστικά μη εμπορεύσιμα.

Οι πιο πολλές μορφολογικές ανωμαλίες οδηγούν σε μείωση της ικανότητας κολύμβησης και της ικανότητας λήψης τροφής, και συνεπώς επηρεάζουν την αύξηση, την ομοιομορφία και την αγοραστική αξία των εκτρεφόμενων ιχθυδίων. Έχουν αναφερθεί στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) παραμορφώσεις και συχνά θνησιμότητα λόγω μη πλήρωσης της νηκτικής κύστης, που αναπτύσσονται λόγω μείωσης της ικανότητας αρπαγής της λείας και αύξησης των ενεργειακών απαιτήσεων του ιχθυδίου (Chatain & Dewavrin 1989, Daoulas *et al.* 1991). Μεταξύ άλλων αιτιολογικών παραγόντων, η μη λειτουργική ανάπτυξη της νηκτικής κύστης μπορεί να είναι αποτέλεσμα διατροφικών ανεπαρκειών (Pousao-Ferreira & Soares 1991, Leu & Liou 1992).

Οι πιο συχνά αναφερόμενες παραμορφώσεις είναι ανωμαλίες που συμβαίνουν κατά το σχηματισμό του σκελετικού συστήματος. Η εμφανής επικράτηση των παραμορφώσεων της σπονδυλικής στήλης, των πτερυγίων και των βραγχίων μπορεί να οφείλεται εν μέρει στον συχνά μη-θνησιγόνο αλλά συνήθως αρκετά εμφανή εξωτερικά χαρακτήρα τους. Άλλες όχι και τόσο σημαντικές παραμορφώσεις μπορεί να είναι πιο δύσκολο να ανιχνευτούν, αλλά μπορεί να συμβάλλουν στην θνησιμότητα των πρώιμων αναπτυξιακών σταδίων που συχνά παραμένει ανεξήγητη (ανασκόπηση από Brown & Nunez, 1994).

Κάποιες παραμορφώσεις που αναπτύσσονται σε συνθήκες αιχμαλωσίας οφείλονται στην περιβαλλοντική αστάθεια των τεχνητών συστημάτων εκτροφής. Σε καλλιέργειες ψαριών με μεγάλο ποσοστό εμφάνισης ανωμαλιών (>33%), ένας αριθμός διαδικασιών εκτροφής που περιλαμβάνει τις συνθήκες πριν την αναπαραγωγή (prespawning), τις διαδικασίες αναπαραγωγής και χειρισμού των αυγών, των νυμφών και των ιχθυδίων πρέπει να ληφθούν υπόψη, πέραν του σύνθετος εύρους πιθανών γενετικών, τοξικολογικών και περιβαλλοντικών παραγόντων (Post 1993a).

Η χρήση εξωγενών ορμονών αποτελεί πια συνηθισμένη διαδικασία για την ιχθυοκαλλιέργεια, παρόλο που διάφορες παραμορφώσεις έχουν συσχετιστεί με τέτοιες ορμονικές θεραπείες. Κάποιες αποδίδονται στην χρήση υπερβολικών δόσεων,

ή σε χρονικά ακατάλληλες θεραπείες (Brown & Nunez 1994). Αυγά τσιπούρας (*Sparus aurata*) που προήλθαν από επαγόμενη αναπαραγωγή με χρήση αναλόγων της ορμόνης γοναδοτροπίνη (LhRH) έδειξαν μεγάλο ποσοστό εμφάνισης αποκόλλησης της σταγόνας ελαίου καθώς και προβλήματα επίπλευσης (Barbaro *et al.* 1991). Αναβολικά στεροειδή που είχαν δοθεί σε μεγάλη δόση στην τιλάπια είχαν επιταχύνει όχι μόνο την αύξηση, αλλά και την συχνότητα εμφάνισης παραμορφώσεων (Guegtero 1975, 1976). Αγωγή με θυρεοειδείς ορμόνες που χρησιμοποιήθηκαν πειραματικά για να προάγουν την αύξηση και ανάπτυξη των νυμφών (Lam 1990), αύξησε την συχνότητα εμφάνισης κυρτώσεων της σπονδυλικής στήλης και παραμορφώσεων των βραγχιακών επικαλυμμάτων κάτω από κάποιες συνθήκες (Higgs *et al.* 1982, Brown & Nunez 1994).

Η διατροφή των νυμφών αποτελεί επίσης πολύ σημαντικό παράγοντα που ευθύνεται για την ανάπτυξη παραμορφώσεων. Ανεπάρκειες συγκεκριμένων θρεπτικών και ιχνοστοιχείων μπορεί να προκαλέσουν μια πληθώρα παραμορφώσεων. Οι διατροφές των ιχθυοτροφείων είναι αρκετά απλουστευμένες σε σχέση με τις σχετικά ποικίλες διατροφές που μπορούν να συναντήσουν οι νύμφες στο φυσικό τους περιβάλλον (Marak 1974).

Οι επαγγελματίες ιχθυοτρόφοι συναντούν πολλές φορές αναπτυξιακές παραμορφώσεις, κυρίως κατά την προσπάθεια ανάπτυξης, δημιουργίας ή βελτιστοποίησης μεθόδων εκτροφής για καινούργια είδη. Είναι πολύ σύνηθες κατά την διάρκεια προκαταρκτικών προσπαθειών νυμφικής εκτροφής να παρατηρείται μια εκτεταμένη λίστα από παραμορφώσεις, όπως την περίπτωση του *Plecoglossus altivelis* (Takashima *et al.* 1976). Επιπροσθέτως, αυξημένες συχνότητες εμφάνισης αναπτυξιακών παραμορφώσεων έχουν αποδοθεί σε απροσδιόριστους παράγοντες που σχετίζονται με την εντατικοποίηση των εκτροφών για αύξηση της παραγωγής (Devauchelle & Chopin 1982, Chatain & Dewavrin 1989). Οι συχνότητες συγκεκριμένων παραμορφώσεων μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως χρήσιμοι δείκτες καταλληλότητας περιβαλλοντικών συνθηκών στην εκτροφή (Langdon 1988), και μπορούν να θέσουν την επιστημονική βάση για την βελτίωση των συνθηκών εκτροφής.

Ακόμη και σε ένα καλά “ισορροπημένο” και προφανώς “βελτιστοποιημένο” σύστημα εκτροφής, μπορούν να αναπτυχθούν παραμορφώσεις μετά από γενεές επιτυχούς εκτροφής αν η γενοτυπική ποικιλότητα μειωθεί. Λόγω του υψηλού ρυθμού αναπαραγωγικότητας των περισσότερων ειδών ψαριών, οι πρακτικές αναπαραγωγής

και πολλαπλασιασμού συχνά στηρίζονται σε ένα μικρό αριθμό γεννητόρων με ελκυστικά χαρακτηριστικά. Αυτό οδηγεί στην κατάπτωση (depression) λόγω αιμομιξίας (inbreeding) (Liao *et al.* 1993).

Στις περισσότερες περιπτώσεις είναι δύσκολο να συσχετιστούν οι παρατηρούμενες παραμορφώσεις με συγκεκριμένο γενεσιουργό παράγοντα, γιατί πολλές από αυτές έχουν συσχετιστεί με περισσότερες από μία πιθανή αιτία. Για παράδειγμα, οι παραμορφώσεις που αφορούν το βραγχιακό επικάλυμμα, είναι ευρύτατα διαδεδομένες στα εκτρεφόμενα ψάρια, και έχουν αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες όπως μολυσματικές ασθένειες, αιμομιξία, περιβαλλοντικές διαταραχές, κλπ. (βλέπε Tave & Handwerker 1994). Πολύ συχνά, πολλαπλές παραμορφώσεις εντοπίζονται στο ίδιο άτομο (Takashima *et al.* 1976, Daoulas *et al.* 1991). Σε τέτοιες περιπτώσεις, η διάγνωση και η διορθωτική δράση μπορεί να στηρίζεται όχι μόνο στην παρατήρηση της φύσης των ανωμαλιών, αλλά επίσης και στην συχνότητα και στα πρότυπα κληρονομικότητάς τους. Αλλαγές της σοβαρότητας και της έντασης των παραμορφώσεων και της συχνότητας αυτών στον χρόνο μπορεί να αποτελέσουν χρήσιμα διαγνωστικά συμπεράσματα που να οδηγούν σε διορθωτικές διαδικασίες (Tave & Handwerker 1994). Επίσης, η λεπτομερής κατανόηση του φυσικού και χημικού περιβάλλοντος είναι απαραίτητο εφόδιο της καλής διαχείρισης ενός ιχθυοτροφείου.

Η διάγνωση των παραμορφώσεων στα ψάρια και η εφαρμογή διορθωτικών ενεργειών, απαιτούν προσεχτική μελέτη και εξέταση πιθανών περιβαλλοντικών, διατροφικών και γενετικών παραγόντων. Οι πιο πολλές μορφοανατομικές ανωμαλίες είναι αποτέλεσμα πλήθους προβλημάτων κατά την ανάπτυξη. Ένας αυξανόμενος αριθμός πειραματικών μελετών και μελετών πεδίου έχει συνδέσει συγκεκριμένες παραμέτρους με μία ή περισσότερες παραμορφώσεις. Γενικά, αυτές οι σχέσεις αιτίας-αποτελέσματος δεν ανατρέχουν στους βασικούς αναπτυξιακούς μηχανισμούς που σχετίζονται, παρόλο που η συνεχιζόμενη έρευνα σε αυτό το πεδίο θα ήταν πολύ χρήσιμη. Οι πληθυσμοί των ψαριών συχνά επιδεικνύουν πολυσύνθετες παραμορφώσεις, και τόσο οι συχνότητες όσο και τα πρότυπα κληρονόμησής τους μπορούν να αποτελέσουν χρήσιμα εργαλεία στην διαδικασία διάγνωσης. Λίγα είναι γνωστά, ωστόσο, για τις πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των εξακριβωμένων παραγόντων που επάγουν τις διάφορες μορφοανατομικές παραμορφώσεις στα ψάρια.

### **1.8.1. Σκελετικές ανωμαλίες**

- Σπονδυλική στήλη

Οι ανωμαλίες της σπονδυλικής στήλης μπορεί να είναι κληρονομικές (Lodi 1978, McKay & Gjerde 1986), παρόλο που συνήθως προκαλούνται από ακραίες διατροφικές και περιβαλλοντικές συνθήκες. Γενικότερες θρεπτικές ανεπάρκειες έχουν συνδεθεί συχνά με σκολίωση στα ψάρια (Zitsow & Millard 1988, Harris & Hulsman 1991). Μία αιτία πρόκλησης σκολίωσης είναι η διατροφική ανεπάρκεια σε απαραίτητα αμινοξέα, όπως η τρυπτοφάνη (Akiyama *et al.* 1986, Post 1993b), παρόλο που αυτό το πρόβλημα πιο συχνά συνδέεται με ανεπαρκή επίπεδα της βιταμίνης C (Koenig 1984). Η βιταμίνη C συντελεί στην ανάπτυξη της σπονδυλικής στήλης, όπως επίσης και στην δραστική διατήρηση και επαναδιόρθωση των σπονδυλικών ιστών. Έτσι η ανεπάρκεια της ενοχοποιείται για πολλές παραμορφώσεις της σπονδυλικής στήλης (Halver *et al.* 1969, Post 1993b).

Παθολογικές ανωμαλίες της σπονδυλικής στήλης μπορούν επίσης να προέλθουν από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η φωτεινότητα, η αλατότητα (Langdon 1988, Liu *et al.* 1994, Sfakianakis *et al.* 2004, 2005, υπό δημοσίευση), και το pH (Oyen *et al.* 1991). Οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας μπορούν να οδηγήσουν σε σπονδυλικές παραμορφώσεις με τουλάχιστον δύο τρόπους: Θερμοκρασίες νυμφικής εκτροφής πάνω ή κάτω από τη βέλτιστη θερμοκρασία για κάθε είδος (Polo *et al.* 1991) και θερμικό σοκ μπορούν να αυξήσουν την συχνότητα των παραμορφώσεων της σπονδυλικής στήλης (Lindstrom & Brown, αδημοσίευτα αποτελέσματα).

Σπονδυλικές ανωμαλίες μπορούν επίσης να προκληθούν από έκθεση σε σχετικά μικρή συγκέντρωση τοξικών υλικών (ανασκόπηση από Roberts 1989). Σε μερικές περιπτώσεις, έχουν ενοχοποιηθεί και μολυσματικοί παράγοντες για την πρόκληση σπονδυλικών ανωμαλιών. Έχουν βρεθεί παθογόνοι ιοί, μύκητες, πρωτόζωα και βακτήρια να ευθύνονται για παραμορφώσεις της σπονδυλικής στήλης. Είναι επίσης γενικά αποδεκτό ότι κάποιες από τις σπονδυλικές ανωμαλίες εντοπίζονται και σε ένα μικρό ποσοστό των κατά τα άλλα φυσιολογικών ατόμων μιας εκτρεφόμενης ομάδας ψαριών. Μια τέτοια ομάδα μπορεί να εμπεριέχει κάποια άτομα που παρουσιάζουν σπονδυλικές ανωμαλίες ως αποτέλεσμα τραυματισμού ή συμπίεσης και σύνθλιψης της σπονδυλικής στήλης κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης (Srivastana 1984, Shresta 1985). Μικρής συχνότητας σκολίωση μπορεί επίσης να προέλθει από



μεταλλάξεις σημείου. Περιστασιακά, ένας πληθυσμός ψαριών μπορεί να παρουσιάζει ένα υψηλό ποσοστό σπονδυλικών ανωμαλιών για κάποιο ασυνήθιστο λόγο, σε ένα τέτοιο συμβάν περίπου ο μισός πληθυσμός πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) ανέπτυξε σπονδυλικές παραμορφώσεις λόγω τραυματισμών από μια ιχθυοπαγίδα λάμπραινων (DeVore & Eaton 1983).

- Πτερύγια

Οι μορφοανατομικές ανωμαλίες των πτερυγίων σχετίζονται με τους ίδιους φυσικούς, χημικούς και γενετικούς παράγοντες που προκαλούν και τις σπονδυλικές ανωμαλίες. Πτερύγια τα οποία έχουν αναπτυχθεί φυσιολογικά μπορούν επίσης να αποκτήσουν ανωμαλίες ως αποτέλεσμα μόλυνσης ή τραυματισμού. Παραμορφώσεις των πτερυγίων που συνίστανται από κάμψη ή δύσμορφες ακτίνες συνήθως εμφανίζονται σε συνδυασμό με κυρτώσεις της σπονδυλικής στήλης και/ή παραμορφώσεις του κρανίου (Sindermann 1988). Επίσης παραμορφώσεις ενός πτερυγίου που συνίστανται από απουσία ακτινών και παραμορφώσεις των στηρικτικών του οστών μπορεί να συνοδεύονται από παραμορφώσεις των στοιχείων ενός άλλου πτερυγίου (Koumoundouros *et al.*, 2001b). Ανεπάρκειες σε βιταμίνη C έχουν συσχετιστεί με ανωμαλίες στα πτερύγια, όπως επίσης και μορφολογικές ανωμαλίες των βραγχίων, των ματιών, των σπονδύλων και των λεπιών (Halver 1972).

Η σύνδεση των ανωμαλιών των πτερυγίων με άλλα φυσικά συμπτώματα δεν είναι μοναδική στην ιχθυοκαλλιέργεια. Έχουν αναφερθεί άγρια ψάρια τόσο θαλασσινού όσο και γλυκού νερού με συνδυασμούς σπονδυλικών και άλλων παραμορφώσεων (Matsusato 1986, Purcell *et al.* 1990).

## 1.9. Ιχθυοφόρτιση

Υπάρχει αυξανόμενο δημόσιο, κυβερνητικό και εμπορικό ενδιαφέρον για την “ευζωία” (welfare) των εντατικά εκτρεφόμενων ψαριών σε όλο τον κόσμο, και η ιχθυοφόρτιση έχει εστιαστεί ως αντικείμενο με ξεχωριστό ενδιαφέρον. Για ένα εντατικό σύστημα εκτροφής, η αύξηση της ιχθυοφόρτισης είναι ένας τρόπος βελτιστοποίησης της παραγωγικότητας. Παρόλα αυτά, η ιχθυοφόρτιση, ιδιαίτερα των ιχθυονυμφών, μπορεί να προκαλέσει διάφορα προβλήματα στην παραγωγή των

ψαριών. Μελέτη της επιδράσης της ιχθυοφόρτισης στην εκτρεφόμενη πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss* L.), ανέφερε ότι η αυξημένη πυκνότητα οδήγησε σε μείωση της μετατρεψιμότητας της τροφής, της θρεπτικής κατάστασης και αύξησης, και σε αύξηση της αποσάθρωσης (erosion) των πτερυγίων (Lefrancois *et al.* 1999). Σύμφωνα με την ίδια μελέτη, η υψηλή πυκνότητα μπορεί να αποβεί παράγοντας καταπόνησης για τα ψάρια και να περιορίσει την ικανότητα αύξησης τους. Αυτή η αρνητική επίδραση φαίνεται εν μέρει να εκδηλώνεται με αλλαγές στη συμπεριφορά των ψαριών (αύξηση των κοινωνικών αλληλεπιδράσεων: επιθετικότητα, κυνηγητό, παρεμπόδιση (hampering)) η οποία επάγει συμπληρωματική μεταβολική δαπάνη που είναι ζημιογόνα για την αύξηση του ψαριού. Άλλη μελέτη σε ενήλικα άτομα εκτρεφόμενου γάδου (*Gadus morhua* L.) έδειξε ότι οι συνθήκες ιχθυοφόρτισης επηρεάζουν την πρόσληψη τροφής και την αύξηση του είδους (Lambert & Dutil 2001). Επίσης, έχει βρεθεί ότι η ιχθυοφόρτιση επηρεάζει την επιβίωση, την αύξηση, και την ανάπτυξη κανιβαλισμού στις νύμφες της πέρκας (*Stizostedion lucioperca* L.) (Mamcarz *et al.* 1997). Μία άλλη μελέτη, έδειξε ότι η χαμηλή ιχθυοφόρτιση βελτίωσε σημαντικά την αύξηση των νυμφών του *Paralichthys olivaceus* L. (Dou *et al.* 2003). Η πυκνότητα εκτροφής, έχει επίσης αναφερθεί να επηρεάζει την σεξουαλική ωρίμανση και αύξηση σε εκτρεφόμενους σε ιχθυοκλωβούς ατλαντικούς σολομούς, (*Salmo salar* L.) (McLay *et al.* 1992). Κάποιες άλλες μελέτες επιχείρησαν να εκτιμήσουν την επιδράση της ιχθυοφόρτισης στην πλαστικότητα της συμπεριφοράς ως πιθανού δείκτη “ευζωίας” (welfare) (Begout & Lagardere 1999, Ellis *et al.* 2002). Εντούτοις, στοιχεία που να τεκμηριώνουν την επίδραση της ιχθυοφόρτισης των νυμφών στην πρόκληση μορφο-ανατομικών παραμορφώσεων δεν έχουν υποπέσει στην αντίληψη μας, με την εξαίρεση μίας μόνο μελέτης των Devauchelle *et al.* 1987, που αποδίδει την ανάπτυξη μορφο-ανατομικών παραμορφώσεων στο στάδιο της προνύμφης μεταξύ άλλων στην υψηλή πυκνότητα των αυγών.

Συνεπώς, μόνο επαγωγικά μπορεί να κατηγορηθεί η υψηλή ιχθυοφόρτιση για την πρόκληση σκελετικών παραμορφώσεων σε εκτρεφόμενα ψάρια. Η παρούσα μελέτη στοχεύει στην διερεύνηση της επίδρασης της ιχθυοφόρτισης στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων σε εκτρεφόμενα ψάρια, χρησιμοποιώντας ως πειραματικό είδος το μυλοκόπι.

## 1.10. Αποκοπή από τη ζωντανή τροφή

Μια κρίσιμη περίοδος στην νυμφική εκτροφή των θαλάσσιων ψαριών είναι ο απογαλακτισμός (η φάση αποκοπής από την ζωντανή τροφή). Το κόστος της διατροφής σε μία ιχθυοκαλλιεργητική μονάδα είναι το υψηλότερο από όλα τα έξοδα της παραγωγής, ενώ η παραγωγή των ζωντανών τροφών είναι πολυδάπανη για την μονάδα. Ο πλαγκτονικός οργανισμός *Artemia* spp. μαζί με το τροχόζωο *Brachionus plicatilis*, είναι οι κατ' εξοχήν ζωντανές τροφές που δίνονται στα θαλάσσια ψάρια στα πρώτα στάδια ανάπτυξης τους και το κόστος παραγωγής τους ανέρχεται περίπου στο 50% του ολικού κόστους παραγωγής ιχθυδίων (Moretti *et al.* 1999). Γι' αυτό η μείωση της περιόδου παροχής *Artemia* spp. είναι από οικονομική άποψη θεμιτή σε κάθε βιομηχανική μονάδα παραγωγής. Κατά την ανάπτυξη τους, οι νύμφες των διαφόρων ειδών ψαριών υφίστανται σημαντικές ανατομικές και φυσιολογικές αλλαγές, οι οποίες επηρεάζουν τις διατροφικές τους απαιτήσεις (Gononi *et al.* 1986). Όταν αξιολογείται ένα είδος σαν εν δυνάμει κατάλληλο για μαζική παραγωγή είναι αναγκαίο να καθορίζονται και να ελέγχονται διάφορα πρωτόκολλα απογαλακτισμού του για επιλογή του πλέον κατάλληλου. Τροφές απογαλακτισμού που είναι καλά αποδεκτές, εύπεπτες και πληρούν τις θρεπτικές απαιτήσεις των ψαριών είναι απαραίτητες για την επιτυχή παραγωγή γόνου.

Η διαθεσιμότητα και τιμή της *Artemia* spp. μπορεί να διαφέρει κατά πολύ από χρόνο σε χρόνο, ενώ τελευταία οι τιμές πώλησης των κύστεων *Artemia* spp. έχουν φτάσει σε υψηλά επίπεδα και αποτελούν το 80% του κόστους αγοράς και παραγωγής όλων των ζωντανών τροφών (Callan *et al.* 2003). Έτσι, τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχουν γίνει προσπάθειες αντικατάστασης των ζωντανών τροφών με συνθετικές τροφές, αλλά και προσπάθειες μείωσης του χρόνου χορήγησης των ζωντανών τροφών. Οι Callan *et al.*, 2003 έδειξαν ότι μπορεί να μειωθεί η παροχή *Artemia* spp., με την χρήση συμπληρωματικών σύμπληκτων που περιέχουν *Artemia* spp. σε κάποιο ποσοστό, χωρίς να έχει αρνητική επίδραση στην επιβίωση και αύξηση του γατόψαρου (*Gadus morhua*). Στο bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*) βρέθηκε ότι οι νύμφες μπορούν να απογαλακτιστούν γρηγορότερα (29<sup>η</sup> ημέρα μετά την εκκόλαψη, M.E) χωρίς σημαντικές μειώσεις στην αύξηση και την επιβίωση σε σύγκριση με τον απογαλακτισμό την ημέρα 39 M.E. (Garcia-Ortega *et al.* 2003).

Προηγούμενες μελέτες στο μυλοκόπι έδειξαν ότι η νυμφική εκτροφή μπορεί να γίνει χωρίς *Artemia* spp., μειώνοντας έτσι το κόστος παραγωγής (Μυλωνάς &

Κυριάκου 2002). Αυτό σημαίνει ότι το πεπτικό του σύστημα “ωριμάζει” πιο γρήγορα από άλλα είδη (Cahu & Zambonino Infante 1994, 1995). Κάποιες άλλες προκαταρκτικές μελέτες για το ίδιο είδος έδειξαν ότι μπορεί να απογαλακτιστεί γρήγορα, χωρίς ιδιαίτερες επιδράσεις στην ποιότητα και την βιωσιμότητα του γόνου (Mylonas *et al.*, αδημοσίευτα αποτελέσματα). Μελέτες που να συνδέουν τον γρήγορο απογαλακτισμό με ή χωρίς χρήση *Artemia* spp. με την ανάπτυξη μορφο-ανατομικών παραμορφώσεων δεν έχουν υποπέσει στην αντίληψη μας.

### 1.11. Στόχοι παρούσας μελέτης

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν δύο πολύ σημαντικά στοιχεία της οστεολογίας του μυλοκοπιού: α) η οντογένεση του σκελετού και β) οι παραμορφώσεις αυτού. Απώτερος στόχος της μελέτης είναι η εφαρμογή των αποτελεσμάτων στην κατανόηση και επίλυση πρακτικών προβλημάτων που αφορούν στην εισαγωγή του μυλοκοπιού στη Μεσογειακή θάλασσα ιχθυοκαλλιέργεια, ενώ επιμέρους στόχοι της εργασίας αποτελούν:

α) Η μελέτη και περιγραφή του φυσιολογικού προτύπου ανάπτυξης του σκελετού (σπονδυλική στήλη και πτερύγια) στο μυλοκόπι.

β) Η περιγραφή των σκελετικών παραμορφώσεων που παρουσιάζει το μυλοκόπι ως προς την ανατομία και την εξέλιξη της συχνότητας εμφάνισης των.

γ) Η αξιολόγηση διαφορετικών συνθηκών εκτροφής:

1) διαφορετικές ιχθυοφόρτισεις (δύο) και

2) διαφορετικά πρωτόκολλα αποκοπής από τη ζωντανή τροφή (τρία)

με κριτήριο αξιολόγησης αυτών την ανάπτυξη σκελετικών δυσπλασιών δεδομένου ότι οι τελευταίες αποτελούν έναν αξιόπιστο δείκτη για τις συνθήκες της οντογενετικής περιόδου μέχρι τη μεταμόρφωση.

## **2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Υδατοκαλλιεργειών του Πανεπιστημίου Κρήτης. Τα δείγματα για τις επιμέρους μελέτες πάρθηκαν από τρεις διαφορετικές πειραματικές εκτροφές που πραγματοποιήθηκαν στο Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών του Ελληνικού Κέντρου Θαλάσσιων Ερευνών στο Ηράκλειο της Κρήτης και στις Ιχθυοκαλλιεργητικές εγκαταστάσεις του Τμήματος Ιχθυοκαλλιεργειών και Θαλάσσιας Έρευνας στο Μενεού της Κύπρου και οι οποίες περιγράφονται παρακάτω.

## 2.1. Προέλευση των δειγμάτων

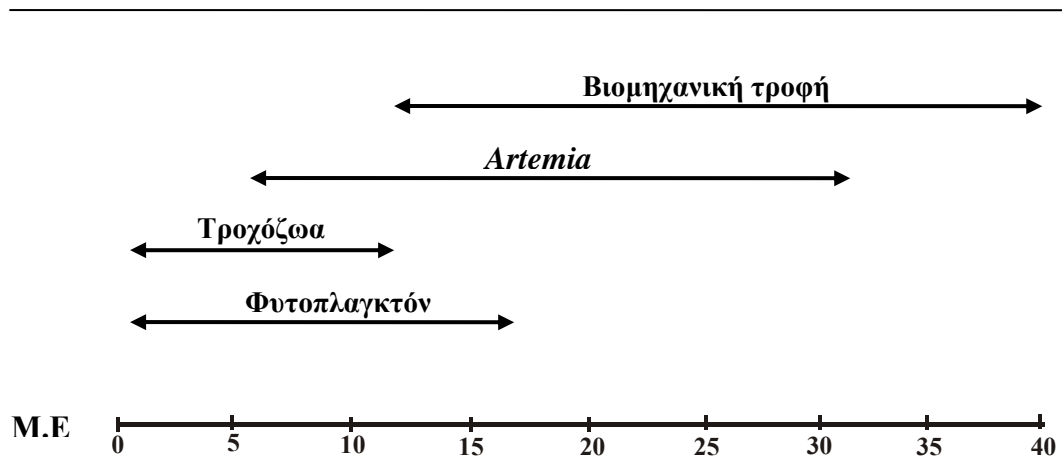
### 2.1.1. Οντογένεση της σπονδυλικής στήλης και του σκελετού των εξαρτημάτων

Για την εκτροφή των ατόμων που θα χρησίμευαν σαν πρότυπο ανάπτυξης, χρησιμοποιήθηκε η ημι-εντατική μέθοδος του μεσοκόσμου, που όπως έχει αποδειχθεί παράγει ιχθύδια με υψηλό ποσοστό βιωσιμότητας και σύγκλισης της μορφολογίας τους με αυτή των ατόμων του φυσικού περιβάλλοντος (Divanach *et al.* 1996, Divanach & Kentouri 2000). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στο μυλοκόπι, και η εκτροφή πραγματοποιήθηκε στις Ιχθυοκαλλιεργητικές εγκαταστάσεις του Ινστιτούτου Υδατοκαλλιεργειών του Ελληνικού Κέντρου Θαλάσσιων Ερευνών στο Ηράκλειο της Κρήτης (ΕΛΚΕΘΕ).

Τα αυγά προήλθαν από γεννήτορες ηλικίας δύο ετών, οι οποίοι διατηρούνταν σε ιχθυογεννητική μονάδα στην Κύπρο. Στους γεννήτορες εφαρμόστηκε μέθοδος τεχνητής επαγωγής της ωοτοκίας με ορμονική θεραπεία (ένεση GnRH $\alpha$  (10  $\mu\text{g kg}^{-1}$ )) (Mylonas *et al.*, 2000). Τα γονιμοποιημένα αυγά ( $\approx 100.000$ ) εκτιμήθηκαν ογκομετρικά και τοποθετήθηκαν σε κυλινδροκωνική δεξαμενή (40  $\text{m}^3$ ) στην οποία έλαβε χώρα η εκκόλαψη και η νυμφική εκτροφή. Οι νύμφες και τα νεαρά ιχθύδια διατηρούνταν σε χαμηλή πυκνότητα (2 νύμφες  $\text{l}^{-1}$ ). Κατά την διάρκεια των πρώτων ημερών διατροφής (μέχρι τα 7,0 mm ολικό μήκος (TL)), οι νύμφες ταΐζονταν δύο φορές την ημέρα με τροχόζωα (*Brachionus plicatilis*) εμπλουτισμένα με “Protein Selco” (Artemia Systems SA, Gent, Belgium) των οποίων η μέση ημερήσια συγκέντρωση διατηρούνταν στα 2 άτομα.  $\text{ml}^{-1}$ . Από τα 4,0 mm TL και μέχρι τα 28 mm TL χορηγούνταν συνεχώς εμπλουτισμένοι ναύπλιοι *Artemia* spp. (A1 DAH Selco, INVE S.A., Belgium) ώστε η συγκέντρωσή τους να διατηρείται στα για

διατήρηση  $0,5$  άτομα  $\text{ml}^{-1}$  κατά τη διάρκεια της μέρας και να εξασφαλίζεται μια ελάχιστη συγκέντρωση  $0,05$  άτομα. $\text{ml}^{-1}$  το πρωί. Στη συνέχεια από την 12<sup>η</sup> Μ.Ε (αρχή απογαλακτισμού) και σύμφωνα με το ολικό μήκος των νυμφών, χορηγείτο βιομηχανική τροφή με συνεχώς αυξανόμενο μέγεθος κόκκων (Μ.Κ) (R1 100, Proton 2/3 Μ.Κ 200-300  $\mu\text{m}$ , NRD 3/5 Μ.Κ 300-500  $\mu\text{m}$  και NRD 5/8 Μ.Κ 500-800  $\mu\text{m}$ , INVE S.A., Belgium) μέχρι και το τέλος της εκτροφής. Μέχρι τα 12,0 mm TL, η ανάπτυξη των νυμφών γινόταν παρουσία φυτοπλαγκτού (*Chlorella minutissima*), το οποίο χορηγείτο καθημερινά στην συγκέντρωση των 250-400  $10^3$  κυττάρων  $\text{ml}^{-1}$ . Ο απογαλακτισμός ολοκληρώθηκε την 33<sup>η</sup> ημέρα Μ.Ε, όπου τα ψάρια είχαν φτάσει τα 0,244 g μέσο βάρος και 27,68 mm (TL) μέσο ολικό μήκος. Την 34<sup>η</sup> ημέρα Μ.Ε τα ψάρια μεταφέρθηκαν σε συνθήκες προπάχυνσης.

Η δεξαμενή τροφοδοτούνταν επιφανειακά με θαλασσινό νερό θερμοκρασίας περιβάλλοντος και ήταν εκτεθειμένη σε ρυθμιζόμενη φωτοπερίοδο. Στην περίμετρο της δεξαμενής ήταν τοποθετημένες αερόπετρες, χάρις στις οποίες εξασφαλιζόνταν μικρή ανάδευση της στήλης του νερού. Η ημερήσια ανανέωση του νερού αυξήθηκε σταδιακά από 20% (1L/10sec) σε 200% (5L/sec) του όγκου της δεξαμενής την 19<sup>η</sup> Μ.Ε. Η ένταση του φωτός ρυθμιζόταν στα 600 lux κατά το βράδυ και στα 6000 lux κατά τη διάρκεια της ημέρας (24:0 h φωτοπερίοδος). Όταν τα ψάρια έφτασαν το μέσο ολικό μήκος (TL) των 20 mm, η φωτοπερίοδος άλλαξε σε φυσική (Αύγουστος-Σεπτέμβριος, 35°N). Σε όλη τη διάρκεια της φάσης εκτροφής ο κορεσμός του οξυγόνου ήταν 90-95% και η αλατότητα από 40 su τις πρώτες ημέρες, μειώθηκε σταδιακά μέσα σε 10 μέρες στα 32 su. Η θερμοκρασία του νερού κυμαινόταν από 21°C σε 26°C. Η επιφάνεια του νερού καθαριζόταν καθημερινά με τη χρήση επιφανειακών συστημάτων καθαρισμού από τη 2<sup>η</sup> ημέρα Μ.Ε μέχρι και την 14<sup>η</sup> ημέρα Μ.Ε και από την 17<sup>η</sup> ημέρα Μ.Ε άρχισε ο καθαρισμός και του πυθμένα της δεξαμενής.



**Εικόνα 2.1.** Πρωτόκολλο διατροφής των νυμφών μυλοκοπιού υπό συνθήκες εκτροφής μεσοκόσμου, που δείχνει την διαδοχή των διαφόρων τύπων τροφής. Μ.Ε: ημέρα μετά την εκκόλαψη των αυγών.

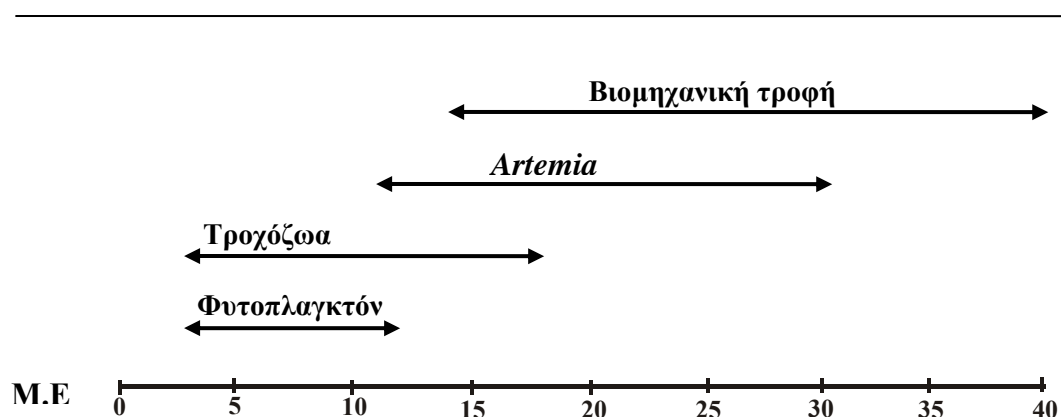
### 2.1.2. Επίδραση δύο διαφορετικών ιχθυοφορτίσεων (εντατική μέθοδος) στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων

Η επίδραση της ιχθυοφόρτισης στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων μελετήθηκε σε άτομα από δύο διαφορετικούς πληθυσμούς που προέρχονταν από το ίδιο απόθεμα αυγών αλλά που εκτράφηκαν υπό συνθήκες διαφορετικής ιχθυοφόρτισης (25 νύμφες  $L^{-1}$  και 50 νύμφες  $L^{-1}$ ).

Η εκτροφή των δύο αυτών πληθυσμών πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Ιχθυοκαλλιεργειών και Θαλάσσιας Έρευνας στο Μενεού της Κύπρου. Τα αυγά πάρθηκαν από γεννήτορες στους οποίους είχε γίνει θεραπεία με ορμόνη GnRHα. Το στάδιο της λεκιθοφόρου νύμφης καθώς και η περαιτέρω νυμφική εκτροφή διεξήχθη σε κυλινδροκωνικές δεξαμενές των 400-l, σε θερμοκρασία 21-25 °C και ένταση φωτός 1000-1200 lux καθόλη την διάρκεια του 24-ώρου. Το πρωτόκολλο διατροφής βασίστηκε σε αυτό που χρησιμοποιείται ευρέως για την τσιπούρα. Γενικά, έγινε σταδιακή μετάβαση από τροχόζωα σε *Artemia spp.*, και μετά σε βιομηχανοποιημένη τροφή (απογαλακτισμός). Οι νύμφες τις πρώτες μέρες τρέφονταν με τροχόζωα (*B. plicatilis*) εμπλουτισμένα με ειδικά σκευάσματα (“Protein Selco,” INVE, Gent, Belgium) προκειμένου να βελτιωθεί η θρεπτική τους αξία, ενώ ταυτόχρονα το νερό των δεξαμενών εμπλουτιζόνταν με φυτοπλαγκτόν (*Nannochloropsis spp.*). Στη συνέχεια οι νύμφες τρέφονταν με *Artemia spp* εμπλουτισμένη με εμπορικό γαλάκτωμα (“Selco,” INVE), και τέλος με



βιομηχανοποιημένη τροφή ('Lancy', Artemia Systems SA, Gent, Belgium) αφού είχε ολοκληρωθεί η αποκοπή από τους πλαγκτονικούς οργανισμούς. Η χρονική διαδοχή της τροφής φαίνεται στην εικόνα 2.2. Η καθημερινή ποσότητα των τροφών καθοριζόταν ανάλογα με την ανάπτυξη και ευρωστία των νυμφών. Η νυμφική καλλιέργεια ολοκληρώθηκε όταν τα ψάρια είχαν μέσο βάρος 2 g. Καθημερινά γινόταν καταγραφή των δεδομένων σχετικά με την ποιότητα του νερού (οξυγόνο και θερμοκρασία), την ποσότητα χορήγησης τροφής και τη ροή του νερού. Το καθάρισμα των δεξαμενών γινόταν κατά διαστήματα 2-3 ημερών τις πρώτες δώδεκα μέρες και μετέπειτα καθημερινά.



**Εικόνα 2.2.** Πρωτόκολλο διατροφής των νυμφών μυλοκοπιού υπό εντατικές συνθήκες εκτροφής, που δείχνει την διαδοχή των διαφόρων τύπων τροφής. Μ.Ε: ημέρα μετά την εκκόλαψη των αυγών.

### 2.1.3. Επίδραση τριών διαφορετικών πρωτοκόλλων διατροφής, κατά την φάση αποκοπής από τη ζωντανή τροφή (εντατική μέθοδος), στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων

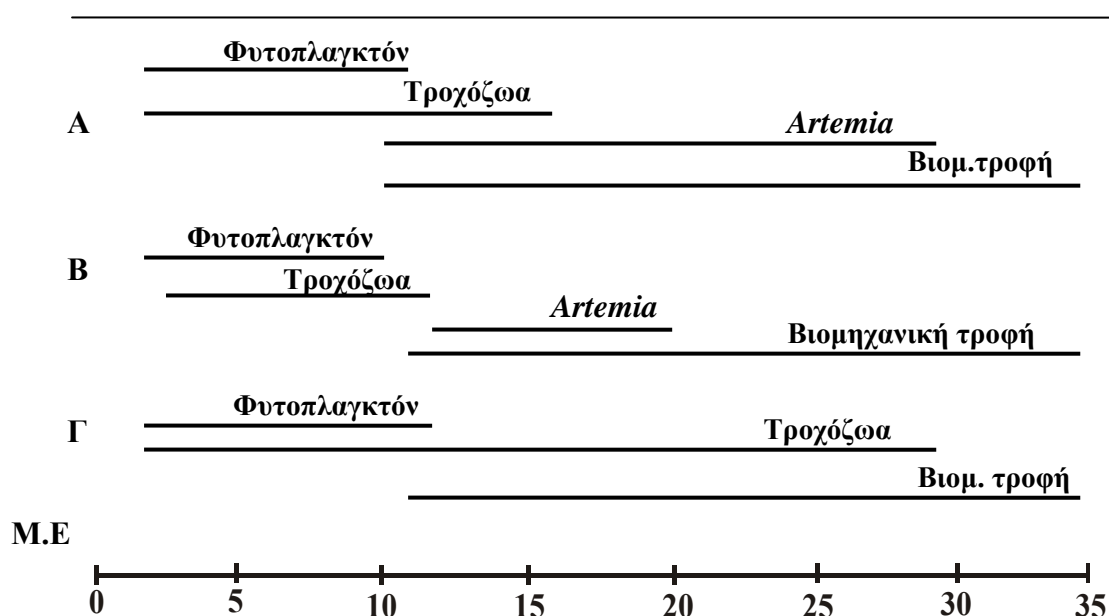
Η επίδραση του τρόπου αποκοπής από την ζωντανή τροφή στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων μελετήθηκε σε άτομα που εκτράφηκαν υπό εντατικές συνθήκες εκτροφής χρησιμοποιώντας τρία διαφορετικά πρωτόκολλα διατροφής. Τα προνύμφες από αυγά από τα οποία προέρχονταν τα άτομα αυτά πάρθηκαν από γεννήτορες στους οποίους είχε χορηγηθεί ορμόνη GnRHα. Η εκτροφή έλαβε χώρα στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Ιχθυοκαλλιεργειών και Θαλάσσιας Έρευνας στο Μενεού της Κύπρου σε δεξαμενές όγκου 400 l με πυκνότητα 25 άτομα l<sup>-1</sup>, θερμοκρασία 25-28 °C, ένταση φωτός 100-1200 lux καθόλη τη διάρκεια της ημέρας

και με ανανέωση του όγκου του νερού στα αρχικά στάδια μια φορά ανά ημέρα και 4 φορές στο τέλος της νυμφικής καλλιέργειας. Στο σημείο εξόδου του νερού τοποθετήθηκαν φίλτρα με συγκεκριμένο άνοιγμα κατά τα διάφορα στάδια της εκτροφής αναλόγως με τον τύπο τροφής.

Τα πρωτόκολλα εκτροφής (Εικόνα 2.3) διαμορφώθηκαν βάσει παλιότερων αποτελεσμάτων που έδειχναν εμφανώς ότι το είδος αυτό μεγαλώνει πολύ πιο γρήγορα από άλλα εκτρεφόμενα είδη (Mylonas *et al.* 2000, 2004), καθώς και από προηγούμενη μελέτη που αν και στο πρωτόκολλο εκτροφής δεν χρησιμοποιήθηκε *Artemia* spp. τα ψάρια απογαλακτίθηκαν στην ίδια περίπου ηλικία με άλλα που κατανάλωναν *Artemia* spp. (Μυλωνάς & Κυριάκου 2002). Σε όλες τις ομάδες οι νύμφες τις πρώτες μέρες τρέφονταν με τροχόζωα (*B. plicatilis*) εμπλουτισμένα με ειδικά σκευάσματα (“Protein Selco,” INVE, Gent, Belgium) για να έχουν καλύτερη θρεπτική αξία, ενώ ταυτόχρονα το νερό των δεξαμενών εμπλουτιζόταν με φυτοπλαγκτόν (*Nannochloropsis* spp.). Στη συνέχεια οι νύμφες της ομάδας Α και Β τρέφονταν με *Artemia* spp. εμπλουτισμένη με εμπορικό γαλάκτωμα (“Selco,” INVE). Τέλος, και στις τρεις ομάδες (Α, Β και Γ) δόθηκε βιομηχανοποιημένη τροφή (‘Lancy’, Artemia Systems SA, Gent, Belgium) για ένα χρονικό διάστημα, για να ολοκληρωθεί η αποκοπή. Η ομάδα Β είχε σχετικά γρηγορότερη αλλαγή τροφής και γρηγορότερη αποκοπή (ημέρα 20 Μ.Ε). Η ομάδα Α και Γ είχαν την ίδια διάρκεια χορήγησης ζωντανής τροφής (μέχρι την 29<sup>η</sup> ημέρα Μ.Ε) αλλά στην περίπτωση της ομάδας Γ στις νύμφες δεν χορηγήθηκε *Artemia* spp. Η καθημερινή ποσότητα και ποιότητα των τροφών καθορίστηκαν βάσει ποσοτήτων που δίνονταν παλιότερα σε προκαταρκτικά πειράματα εκτροφής που είχαν γίνει. Η εφαρμογή των πρωτοκόλλων διατροφής άρχισε την ημέρα ένα μετά την εκκόλαψη (Μ.Ε) με χορήγηση φυτοπλαγκτού και τροχόζωων (Εικόνα 2.3). Η προσθήκη φυτοπλαγκτού γινόταν δυο φορές την μέρα για την εφαρμογή της μεθόδου εκτροφής του ψευδό-πράσινου νερού (14 l φυτοπλαγκτόν την ημέρα με πυκνότητα 12 εκατομμυρίων κυττάρων ml<sup>-1</sup>). Τα τροχόζωα ταιΐζονταν αρχικά δυο φορές την ημέρα (10 εκατομμύρια τροχόζωα την ημέρα), και καθώς οι ανάγκες για ζωντανή τροφή αυξήθηκαν το τάισμα γινόταν τρεις φορές την ημέρα (21 εκατομμύρια τροχόζωα την ημέρα). Η χορήγηση *Artemia* spp. άρχισε σταδιακά (0.5 εκατομμύρια την ημέρα) και έφτασε μέχρι τα 2 εκατομμύρια την ημέρα. Η ποσότητα *Artemia* spp. μειώθηκε σταδιακά ούτως ώστε να ολοκληρωθεί ο απογαλακτισμός.

Η νυμφική καλλιέργεια ολοκληρώθηκε 7 μέρες μετά την αποκοπή *Artemia* spp. (ή ζωντανής τροφής) και τότε καταγράφηκε το ποσοστό επιβίωσης καθώς και το μήκος και βάρος των νυμφών. Συγκεκριμένα με το τέλος της νυμφικής καλλιέργειας την ημέρα 35 Μ.Ε, μετρήθηκε ο ολικός αριθμός ιχθυδίων σε κάθε δεξαμενή και υπολογίστηκε το ποσοστό επιβίωσης. Από κάθε δεξαμενή πάρθηκε δείγμα 200 ιχθυδίων για υπολογισμό του μέσου βάρους και μήκους. Το ποσοστό νηκτικής κύστης υπολογίστηκε στην αρχή και τέλος της εκτροφής.

Καθημερινά καταγράφονταν δεδομένα σχετικά με την ποιότητα του νερού (οξυγόνο και θερμοκρασία), την ποσότητα χορήγησης της τροφής, τη ροή του νερού και την κατάσταση των ψαριών. Το καθάρισμα των δεξαμενών γινόταν κατά διαστήματα 2-3 ημερών τις πρώτες δώδεκα μέρες και μετέπειτα καθημερινά.



**Εικόνα 2.3.** Τρία διαφορετικά πρωτόκολλα αποκοπής από τη ζωντανή τροφή (A,B,Γ) που δείχνουν την χρονική διαδοχή των διαφόρων τύπων τροφής. Μ.Ε: ημέρα μετά την εκκόλαψη των αυγών.

## 2.2. Δειγματοληψία, συντήρηση, χρώση και φωτογράφιση των δειγμάτων

### 2.2.1. Οντογένεση της σπονδυλικής στήλης και του σκελετού των εξαρτημάτων

Για την μελέτη της οστεολογικής ανάπτυξης, λαμβάνονταν δείγματα καθημερινά μέχρι την 5<sup>η</sup> ημέρα μετά την εκκόλαψη (Μ.Ε), κάθε 2 ημέρες μέχρι την 23<sup>η</sup> ημέρα Μ.Ε, στη συνέχεια κάθε 3 ημέρες μέχρι την 32<sup>η</sup> ημέρα Μ.Ε και έπειτα

μετά από 4 ημέρες και 5 ημέρες φτάνοντας μέχρι την 41<sup>η</sup> ημέρα Μ.Ε. Για την εκπόνηση της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 170 άτομα από την αρχή του ετερότροφου σταδίου (3 ημέρες μετά την εκκόλαψη, 2,7 mm TL) μέχρι και τα 30,2 mm TL.

Τα ολικά μήκη των ατόμων μετρήθηκαν 4 μήνες περίπου μετά τη συντήρηση με ακρίβεια 0,1 του χιλιοστού, σε στερεοσκόπιο “Olympus SZX-ILLD200”. Η ορολογία που χρησιμοποιήθηκε για την περιγραφή των όρων της οστεολογίας προέρχεται από τον Κουμουνδούρο (1998). Η αρίθμηση των επιμέρους στοιχείων του σκελετού έγινε από το κεφάλι προς την ουρά, από το ραχιαίο προς το εδρικό ή με κατεύθυνση προς το κέντρο του επιμήκους άξονα του σώματος. Εξετάστηκε η οντογένεση όλων των οστών, στις ανατομικές περιοχές της σπονδυλικής στήλης και των πτερυγίων. Το μήκος το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως σημείο αναφοράς για το εκάστοτε χαρακτηριστικό κατά την περιγραφή της οντογένεσης ήταν το μικρότερο ολικό μήκος στο οποίο τα άτομα εμφάνιζαν κάθε φορά το υπό μελέτη χαρακτηριστικό.

### 2.2.2. Επίδραση δύο διαφορετικών ιχθυοφορτίσεων (εντατική μέθοδος) στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων

Λαμβάνονταν τυχαία δείγματα κατά τη διάρκεια της αναπτυξιακής περιόδου, από την εκκόλαψη μέχρι και την 39<sup>η</sup> ημέρα Μ.Ε. Εκτός της μελέτης της επίδρασης της ιχθυοφόρτισης στην ανάπτυξη σκελετικών ανωμαλιών, έγινε αρχικά μια προσπάθεια εκτίμησης των τύπων των παραμορφώσεων που αναπτύσσονται στο μυλοκόπι, της πρώτης εμφάνισης καθώς και της εξέλιξης της συχνότητας εμφάνισης αυτών σε 821 άτομα. Για την μελέτη των πιο πάνω τριών τελευταίων λαμβάνονταν 30-40 δείγματα από κάθε ιχθυοφόρτιση τις 2 πρώτες ημέρες μετά την εκκόλαψη και στη συνέχεια κάθε δύο ημέρες, καθόλη τη φάση της νυμφικής εκτροφής, μέχρι την 39<sup>η</sup> ημέρα Μ.Ε. Για την επίδραση της ιχθυοφόρτισης μελετήθηκαν συνολικά 674 άτομα στην ηλικία των 19 (τερματισμός χορήγησης τροχοζώων) και 39 ημερών (ηλικιακά μεγαλύτερο δείγμα) μετά την εκκόλαψη. Οι οστεολογικές παραμορφώσεις εκτιμήθηκαν τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά (συχνότητα (%) παραμορφωμένων ατόμων) για κάθε πληθυσμό ξεχωριστά.

### 2.2.3. Επίδραση τριών διαφορετικών πρωτοκόλλων αποκοπής από τη ζωντανή τροφή (εντατική μέθοδος) στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων.

Για τον έλεγχο της επίδρασης των τριών διαφορετικών πρωτοκόλλων αποκοπής από τη ζωντανή τροφή στην ανάπτυξη σκελετικών δυσπλασιών εξετάστηκαν συνολικά 231 άτομα των μεγαλύτερων ηλικιακών κλάσεων (21<sup>η</sup> -34<sup>η</sup> ημέρα Μ.Ε).

Οι διάφορες σκελετικές παραμορφώσεις που εντοπίστηκαν ποσοτικοποιήθηκαν ως συχνότητα (%) προσβαλλόμενων ατόμων. Τα άτομα εξετάστηκαν στις ανατομικές περιοχές της σπονδυλικής στήλης και των περυγίων για την ύπαρξη όλων των ανωμαλιών που έχουν μέχρι σήμερα περιγραφεί, αλλά και για τυχόν καινούργιες παραμορφώσεις.

### 2.2.4. Συντήρηση, χρώση και φωτογράφιση των δειγμάτων των ενοτήτων 2.2.1-3

Τα άτομα για την μελέτη της οστεολογικής ανάπτυξης καθώς και των σκελετικών παραμορφώσεων αναισθητοποιήθηκαν (Ethylenglycol-monophenylether, Merck, 0,2-0,3 ml Γ<sup>1</sup>), στη συνέχεια συντηρήθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης 5% (pH 6,8) (Markle, 1984) και φυλάχθηκαν στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου. Τα άτομα μελετήθηκαν μετά από διπλή χρώση με Αλιζαρίνη και Κυανό της Αλσατίας για την βαφή των οστών και των χόνδρων αντίστοιχα, σύμφωνα με τροποποιημένη μέθοδο των Park & Kim (1984). Η Αλιζαρίνη βάφει με ερυθρό χρώμα όλα τα μεμβρανικά οστά καθώς και τα οστά αντικατάστασης που βρίσκονται σε διαδικασία οστεοποίησης, ενώ το Κυανό της Αλσατίας βάφει με χρώμα κυανό τις χόνδρινες δομές.

Τα δείγματα παρατηρήθηκαν με τη βοήθεια στερεοσκοπικού μικροσκοπίου (Olympus SZX-ILLD200) και στη συνέχεια φωτογραφήθηκαν με φωτογραφική μηχανή “Olympus Camedia C-3030Zoom” προσαρμοσμένη στο στερεοσκόπιο υπό συνθήκες διερχόμενου και/ή προσπίπτοντος φωτισμού. Από τις φωτογραφίες που πάρθηκαν κατά την μελέτη της οστεολογικής ανάπτυξης έγιναν σχέδια σε ηλεκτρονικό υπολογιστή χρησιμοποιώντας το λειτουργικό πρόγραμμα ανάλυσης εικόνας CorelDraw 11, ενώ οι φωτογραφίες των σκελετικών παραμορφώσεων επεξεργάστηκαν με τη βοήθεια των λειτουργικών προγραμμάτων ανάλυσης εικόνας CorelDraw 11 και Corel Photo-Paint 11.

### **3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

### 3.1. Οστεολογική ανάπτυξη

#### 3.1.1. Σπονδυλική στήλη

Η σπονδυλική στήλη συνίσταται από τα κέντρα των σπονδύλων (U), τις νευρικές και αιματικές αποφύσεις (HS και NS), τις κοιλιακές και νωτιαίες πλευρές (Pr και Drl) καθώς και τις βασαιοφύσεις (Pr). Από τα οστά αυτά, τα κέντρα των σπονδύλων και οι νωτιαίες πλευρές είναι μεμβρανικά, ενώ τα υπόλοιπα είναι οστά αντικατάστασης.

Στο μυλοκόπι υπάρχουν 24 κέντρα σπονδύλων και στο τέλος αυτών υπάρχει το ουρόστυλο (Ur). Η αρίθμηση των νευρικών και των αιματικών αποφύσεων, κάθε μια από τις οποίες αποτελείται από ένα τόξο και μία άκανθα, φτάνει τις 24 και 14 αντίστοιχα. Κάθε νευρική απόφυση προσφύεται στη νωτιαία πλευρά καθενός από τους 24 σπονδύλους και η άκρη του τόξου της “αγκαλιάζει” τον σπόνδυλο και από τις δύο πλευρές. Η 24<sup>η</sup> νευρική απόφυση δεν φέρει άκανθα και αποτελεί στην πραγματικότητα ένα τροποποιημένο τόξο το οποίο συμβολίζεται ως “Na”. Οι αιματικές αποφύσεις προσφύονται στην κοιλιακή πλευρά των σπονδύλων U11-U24 ενώ οι κοιλιακές πλευρές απαρτίζονται από 8 ζεύγη που προσφύονται στα κέντρα των σπονδύλων U3-U10. Τα πρώτα 2 ζεύγη αρθρώνονται πλευρικά στους σπονδύλους ενώ τα υπόλοιπα 6 αρθρώνονται στις βασαιοφύσεις.

Η οντογένεση στην περιοχή της σπονδυλικής στήλης ξεκινάει με την εμφάνιση της πρώτης και της δεύτερης NS στα 3.4 mm TL, έπειτα εμφανίζονται και οι πρώτες 7 HS στα 4.0 mm TL (Εικόνα 3.1Α). και στη συνέχεια η πρώτη από το τέλος Pr (6η) στα 4.5 mm TL. Η οντογένεση για τις υπόλοιπες NS και HS παρουσιάζει ουραία ανάπτυξη με αποτέλεσμα το σχηματισμό όλων των NS, που οριοθετείται με το σχηματισμό του “Na”, στα 4.7 mm TL (Εικόνα 3.1Γ). και τον πλήρη σχηματισμό όλων των HS στα 4.2 mm TL με τον σχηματισμό και της τελευταίας HS. Αντίθετα η οντογένεση των Pr's έχει πρόσθια κατεύθυνση και ολοκληρώνεται ο σχηματισμός και των 6 Pr's στα 5.2 mm TL, όπου εμφανίζεται η Pr1 (Εικόνα 3.1Δ).

Οι νευρικές και οι αιματικές αποφύσεις, αποτελούνται από τα αντίστοιχα τόξα και άκανθες. Κάθε τόξο σχηματίζεται σαν ένα αμφίπλευρο ζεύγος χόνδρων οι οποίοι επιμηκύνονται και τελικά συντήκονται στο πάνω μέρος τους. Έπειτα, κάθε άκανθα σχηματίζεται από την επιμήκυνση του άπω άκρου του αντίστοιχου τόξου. Οι Pr5 και

Pp6 αρχικά σχηματίζονται όπως οι νευρικές και αιματικές αποφύσεις, σαν ένα αμφίπλευρο ζεύγος χόνδρων τα οποία στη συνέχεια επιμηκύνονται και τελικά συντήκονται μεταξύ τους. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό δύο επιπρόσθετων αιματικών τόξων στους σπονδύλους U9-U10.

Η πρώτη εναπόθεση ασβεστίου στα οστά της σπονδυλικής στήλης παρουσιάζεται ταυτόχρονα στις NS1 και NS2 στα 4.0 mm TL (Εικόνα 3.1A). Στις HS η ασβεστοποίηση ξεκινάει στα 4.2 mm TL με την ασβεστοποίηση των πρώτων 7 HS και στις Pp's στα 4.7 mm TL (Εικόνα 3.1B, Γ). Ακολουθώντας το ίδιο πρότυπο και την σειρά εμφάνισης των χόνδρινων στοιχείων, η διαδικασία οστεοποίησης των σπονδυλικών αποφύσεων φτάνει τελικά στην NS23 και HS14 στα 5.1 mm TL, "Na" στα 5.2 mm TL και Pp1-6 επίσης στα 5.2 mm TL (Εικόνα 3.1Δ). Το πρώτο πλήρες οστεοποιημένο οστό είναι το NS1 στα 9.4 mm TL, και μέσω μιας ουραίας κατεύθυνσης ακολουθούν τα Pp's και τα HS1-9 (11.2 mm TL), "Na" (15.2 mm TL) (Εικόνα 3.1ΣΤ), HS13-14 και NS23 στα 19.4-19.7 mm TL. Οι NS23 και HS23-24 (συμμετέχουν ως ανατομικά και λειτουργικά στοιχεία και στο ουραίο πτερύγιο) διατηρούν μέχρι τα 27.1 mm TL στο οπίσθιο τμήμα τους μια χόνδρινη ζώνη πάνω στην οποία αρθρώνονται οι ακτίνες του ουραίου πτερυγίου.

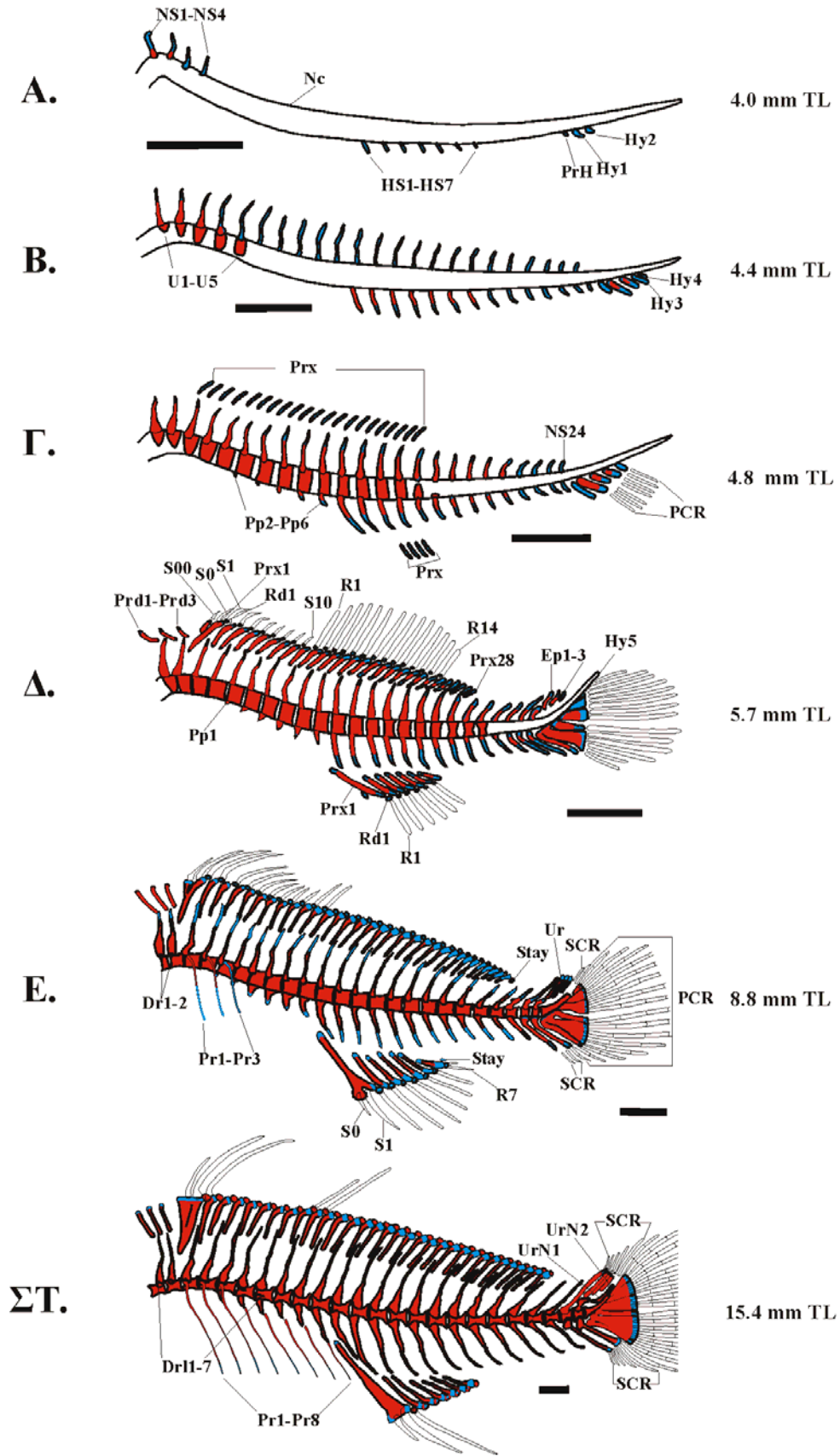
Η ανάπτυξη των κέντρων των σπονδύλων ξεκινάει με τα U1-U3 στα 4.1 mm TL και συνεχίζει με ουραία κατεύθυνση στο σχηματισμό και των υπόλοιπων σπονδύλων (Εικόνα 3.1B). Οι U1 και U2 παρόλα αυτά παρουσιάζουν πιο αργό ρυθμό οστεοποίησης συγκριτικά με τον U3 και τους υπόλοιπους U (Εικόνα 3.1B, Γ) με αποτέλεσμα να μην ολοκληρώνονται πλήρως πριν τα 5.7 mm TL. Το ουρόστυλο οστεοποιείται ταυτόχρονα με τον U21 (5.9 mm TL) και νωρίτερα από τους U22-U24. Πέρα από αυτή την ιδιαιτερότητα, η οστεοποίηση των κέντρων προχωράει οπίσθια με το U24 να είναι το τελευταίο κέντρο που οστεοποιείται στα 7.4 mm TL (Εικόνα 3.1E). Η εναπόθεση ασβεστίου στους σπονδύλους 1 έως 5 και στον 8 εξελίσσεται κοιλιακά, στους 6, 7, 9-19 νωτιαία, ενώ στους 20-24 παρουσιάζονται και τα δύο πιο πάνω πρότυπα ασβεστοποίησης, δηλ., υπάρχει μία ταυτόχρονη εναπόθεση ασβεστίου από πάνω προς τα κάτω και από κάτω προς τα πάνω. Τα οκτώ ζεύγη των κοιλιακών πλευρών αναπτύσσονται από εμπρός προς τα πίσω (7.4-11.6 mm TL) (Εικόνα 3.1E-ΣΤ). Τα δύο πρώτα ζεύγη αρθρώνονται σε πλευρικές αποφύσεις των σπονδύλων 3 έως 4, ενώ τα επόμενα 6 ζεύγη αρθρώνονται στις βασαποφύσεις των σπονδύλων 5 έως 10. Η οστεοποίηση των κοιλιακών πλευρών ξεκινάει στα 7.7 mm TL, με οπίσθια κατεύθυνση και στα 15.2 mm TL είναι όλες υπό οστεοποίηση (Εικόνα 3.1ΣΤ). Μέχρι



το τέλος του μελετούμενου αναπτυξιακού σταδίου (30.2 mm TL) πάντως, δεν έχει ολοκληρωθεί η οστεοποίηση τους.

Η αρχή ανάπτυξης των νωτιαίων πλευρών πραγματοποιείται με την ταυτόχρονη εμφάνιση των πρώτων 2 ζευγών στον πρώτο και τον δεύτερο σπόνδυλο αντίστοιχα στα 8.4 mm TL. Μέχρι τα 12.5 mm TL, σχηματίζονται 7 ζεύγη πλευρών στους σπονδύλους 1 έως 7, τα οποία εμφανίζονται με τον ίδιο αριθμό μέχρι και το τέλος του μελετούμενου αναπτυξιακού σταδίου (Εικόνα 3.1ΣΤ). Τα δύο πρώτα ζεύγη αρθρώνονται σε πλευρονωτιαίες αποφύσεις, ενώ τα υπόλοιπα πέντε με τις πλευρικές αποφύσεις άρθρωσης των κοιλιακών πλευρών (Εικόνα 3.1ΣΤ).

**Εικόνα 3.1.** Ανάπτυξη της σπονδυλικής στήλης, του ραχιαίου, του εδρικού και του ουραίου πτερυγίου στο μυλοκόπι. Για λόγους ευκρίνειας, οι ακτίνες του ραχιαίου πτερυγίου στο (E) και οι ακτίνες του ραχιαίου και του εδρικού πτερυγίου στο (ΣΤ) δεν απεικονίζονται όλες. Η οστεοποίηση στις ακτίνες των πτερυγίων δεν παρουσιάζεται. Με το κυανό χρώμα δείχνονται οι χόνδρινες δομές, ενώ με το ερυθρό δείχνεται η οστεοποίηση. Drl, νωτιαίες πλευρές. Ep, επουραία. HS, αιματικές αποφύσεις. Hy, υπουραία. Nc, νωτοχορδή. NS, νευρικές αποφύσεις. PCR, ουραία λεπιδοτρίχια. Pp, βασαποφύσεις. Pr, κοιλιακές πλευρές. Prd, προραχιαία. PrH, παρυπουραίο. Prx, εγγύς πτερυγιοφόρα. R, λεπιδοτρίχια. Rd, άπω πτερυγιοφόρα. S, σκληρές ακτίνες. SCR, ουραία δερματοτρίχια U, κέντρα των σπονδύλων. Ur, ουρόστυλο. UrN, ουρονευρικά. Η κλίμακα σε κάθε σχέδιο αντιστοιχεί σε 0.5 mm.



### 3.1.2. Πτερύγια

- Ουραίο

Το ουραίο πτερύγιο αποτελείται από οστά αντικατάστασης και υμενογενή. Στην πρώτη ομάδα οστών ανήκουν τα υποουραία (Hy), τα εποουραία (Ep), το παρυπουραίο (PrH), τα NS23, “Na”, HS23 και HS24, ενώ στη δεύτερη ανήκουν το ουρόστυλο, τα προουραία κέντρα 2 και 3 (PU2 και PU3, που είναι τα U24 και U23 αντίστοιχα), οι ουραίες ακτίνες (λεπιδοτρίχια και δερματοτρίχια, PCR και SCR) και τα ουρονευρικά (UrN). Επίσης στοιχεία του ουραίου πτερυγίου αποτελούν και μία σειρά βοηθητικών χόνδρων (Ac). Η οντογένεση του ουρόστυλου, των δύο προουραίων κέντρων καθώς και των NS23, “Na”, HS23 και HS24 περιγράφεται στην ενότητα της σπονδυλικής στήλης (3.1.1).

Η ανάπτυξη του ουραίου πτερυγίου ξεκινάει με τον ταυτόχρονο σχηματισμό των υποουραίων οστών (Hy) και του παρυπουραίου (PrH). Πρώτα σχηματίζονται τα Hy1-2 και το PrH στα 3.8 mm TL, ως μικροί χόνδρινοι σχηματισμοί, κοιλιακά του οπίσθιου μέρους της νωτοχορδής (Εικόνα 3.1Α). Στη συνέχεια ακολουθεί ο σχηματισμός του Hy3 (4.0 mm TL), του Hy4 (4.3 mm TL), των Ep2-3 τα οποία σχηματίζονται ταυτόχρονα (4.9 mm TL) και του Ep1 (5.2 mm TL) (Εικόνα 3.1Δ). Τελευταίο από όλα τα οστά αντικατάστασης εμφανίζεται το Hy5 (5.6 mm TL) το οποίο σχηματίζεται ακριβώς κάτω από το οπίσθιο άκρο της νωτοχορδής (Εικόνα 3.1Δ). Ενώ αρχικά κατά το σχηματισμό τους τα οστά είναι ευδιάκριτα μεταξύ τους, μετά και τον σχηματισμό του Hy5 (5.6 mm TL) αρχίζουν να συντήκονται στη βάση τους τα PrH, Hy1 και το Hy2. Στα 5.8 mm TL φαίνεται πιο καθαρά η συνένωση και του Hy2 και πλέον τα τρία οστά εμφανίζουν μια κοινή ενιαία βάση. Σε μεγαλύτερο μήκος όμως τα τρία πιο πάνω οστά διαχωρίζονται μεταξύ τους, με πρώτο να διαχωρίζεται το Hy2 στα 18.2 mm TL και να ακολουθεί σε πολύ μικρό διάστημα ο διαχωρισμός και του Hy1 από το PrH (18.9 mm TL).

Η οστεοποίηση των οστών αντικατάστασης ξεκινάει ταυτόχρονα στα δύο πρώτα υποουραία (Hy1-2) στα 4.2 mm TL. Στη συνέχεια εμφανίζεται η οστεοποίηση στο Hy3 (4.8 mm TL), λίγο αργότερα στο PrH και στο Hy4 (4.9 mm TL), στα Ep1-2 (5.6 mm TL), και τέλος στο Hy5 και στο Ep3 (5.9 mm TL) (Εικόνα 3.1Ε). Η

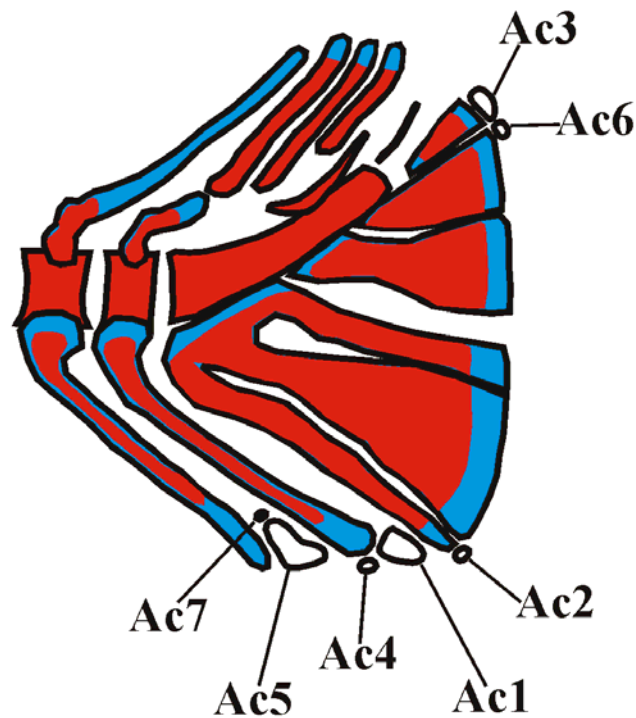
οστεοποίηση των υποουραίων και του παρυπουραίου ολοκληρώνεται μετά τα 16.8 mm TL και των επουραίων στα 19.4 mm TL. Μέχρι και το στάδιο των 27.1 mm TL, όλα τα χόνδρογενή οστά του ουραίου πτερυγίου (συμπεριλαμβανομένων των NS23, “Na”, HS23 και HS24) διατηρούν στο οπίσθιο τμήμα τους μια χόνδρινη ζώνη (περιοχή άρθρωσης των ακτίνων), ενώ στη συνέχεια παρατηρείται η σταδιακή οστεοποίηση της.

Τα λεπιδοτρίχια (PCR) σχηματίζονται μέσω υμενογενούς οστεοποίησης γύρω από τη μέση ουραία γραμμή στα 4.5 mm TL (Εικόνα 3.1Γ). Η ανάπτυξη τους κατευθύνεται από το μέσο του πτερυγίου προς τις δύο άκρες και ολοκληρώνεται στα 6.8 mm TL με την δημιουργία 9 άνω και 8 κάτω λεπιδοτριχιών (Εικόνα 3.1Ε). Τα δερματοτρίχια (SCR) παρουσιάζονται ταυτόχρονα και στους δύο λοβούς του ουραίου πτερυγίου στα 6.9 mm TL (Εικόνα 3.1Ε) και ακολουθώντας πρόσθια ανάπτυξη ολοκληρώνονται σε 7 άνω και 6 κάτω SCR στα 17.5 mm TL.

Η οστεοποίηση των ουρονευρικών ξεκινάει στα 10.7 mm TL με το UrN1, ενώ το UrN2 πρωτοεμφανίζεται στα 11.6 mm TL (Εικόνα 3.1ΣΤ). Η ολοκλήρωση της οντογένεσής τους λαμβάνει χώρα στα 18.2 mm TL για το UrN1 και στα 17.0 mm TL για το UrN2.

Στην ανατομική περιοχή του ουραίου πτερυγίου εμφανίζονται ακόμη μια σειρά βοηθητικοί χόνδροι (Ac), οι οποίοι έχουν ως χρησιμότητα τη λειτουργική στήριξη των ουραίων ακτινών. Είναι 7 στον αριθμό και εμφανίζονται σε αυστηρά συγκεκριμένες περιοχές του ουραίου πτερυγίου (Εικόνα 3.2):

- Ac1, μεταξύ των άπω άκρων των HS13 και PrH (7.6 mm TL)
- Ac2, πίσω από το άκρο του PrH (7.6 mm TL)
- Ac3, πίσω από το άπω άκρο του Hy5 (7.6 mm TL)
- Ac4, μεταξύ των Ac1 και Ac2 και μεταξύ των HS13 και HS14 (πλησίον στο κάτω άκρο της HS14) (7.6 mm TL)
- Ac5, μεταξύ των άπω άκρων των HS13 και HS14 (7.8 mm TL)
- Ac6, κοιλιακά του Ac3 (9.9 mm TL)
- Ac7, ακριβώς πίσω από τον Ac5 (15.2 mm TL)



**Εικόνα 3.2.** Θέση των βοηθητικών χόνδρων στο ουραίο σύμπλεγμα του μυλοκοπιού. Με το κυανό και ερυθρό χρώμα απεικονίζονται οι χόνδρινες δομές και η ασβεστοποίηση αντίστοιχα.

- Ραχιαίο

Τα οστά που απαρτίζουν το ραχιαίο πτερύγιο είναι: τα εγγύς πτερυγιοφόρα (PrX), τα άπω πτερυγιοφόρα (Rd), τα προραχιαία οστά (PrD), οι σκληρές ακτίνες (S), και τα λεπιδοτρίχια (R). Τα λεπιδοτρίχια και οι σκληρές ακτίνες είναι υμενογενή οστά, ενώ τα υπόλοιπα είναι οστά αντικατάστασης.

Τα πρώτα στοιχεία που εμφανίζονται στο ραχιαίο πτερύγιο είναι τα εγγύς πτερυγιοφόρα στα 4.5 mm TL. Η ανάπτυξη τους ξεκινάει γύρω από το κέντρο Prx4-Prx7 και Prx10-Prx16 στην περιοχή όπου αργότερα θα αναπτυχθούν οι σκληρές ακτίνες και τα λεπιδοτρίχια αντίστοιχα, και ακολουθεί τόσο οπίσθια όσο και πρόσθια πορεία (Εικόνα 3.1Γ). Μέχρι τα 5.9 mm TL έχουν σχηματιστεί 31-35 εγγύς πτερυγιοφόρα (τελικός αριθμός). Η οστεοποίηση ξεκινάει στα 5.1 mm TL για τα

πρώτα 6 PrX, ακολουθεί οπίσθια πορεία και μέχρι τα 6.7 mm TL όλα τα PrX's είναι υπό διαδικασία οστεοποίησης (Εικόνα 3.1E). Παρόλα αυτά μέχρι το τέλος του μελετούμενου αναπτυξιακού σταδίου (30.2 mm TL), η διαδικασία της οστεοποίησης δεν έχει ολοκληρωθεί σε κανένα από τα PrX.

Τα άπω πτερυγιοφόρα παρουσιάζονται για πρώτη φορά στα 5.3 mm TL (1-28 Rd's) και μέχρι τα 8.2 mm TL έχουν σχηματιστεί όλα (Εικόνα 3.1E). Η οστεοποίηση τους ξεκινάει αργότερα στα 10.3 mm TL (Rd1-2) και ακολουθώντας ουραία κατεύθυνση εξαπλώνεται σε όλα έως τα 15.2 mm TL (Εικόνα 3.1ΣΤ). Η πλήρης οστεοποίηση των Rds εμφανίζεται για πρώτη φορά στα 26.0 mm TL με την πλήρη οστεοποίηση των πρώτων τριών Rds και μέχρι τα 30.2 mm TL που είναι το μεγαλύτερο μέγεθος ατόμου που έχει μελετηθεί έχουν οστεοποιηθεί πλήρως 8 Rds.

Οι σκληρές ακτίνες και τα λεπιδοτρίχια ακολουθούν ουραία ανάπτυξη ξεκινώντας από το 1<sup>ο</sup> και 9<sup>ο</sup>-10<sup>ο</sup> PrX αντίστοιχα. Πρώτα εμφανίζονται οι πρώτες 2 σκληρές ακτίνες στα 5.3 mm TL και σε σχετικά μικρό διάστημα (5.7 mm TL) αποκτούν τον τελικό τους αριθμό (10-12) (Εικόνα 3.1Δ). Τα λεπιδοτρίχια σχηματίζονται πρώτα στα 5.7 mm TL και μέχρι τα 6.9 mm TL αποκτούν τον τελικό τους αριθμό που ποικίλει από 22 μέχρι 25 R (Εικόνα 3.1E). Στο ραχιαίο πτερύγιο για κάθε εγγύς πτερυγιοφόρο αναλογεί ένα άπω πτερυγιοφόρο και μία ακτίνα με εξαίρεση το PrX1 στο οποίο προσφύονται τρεις σκληρές ακτίνες από τις οποίες μόνο η οπίσθια αναλογεί σε Rd. Οι πρώτες δύο από τις ακτίνες αυτές είναι και οι πρώτες που σχηματίζονται στο ραχιαίο πτερύγιο. Τέλος, στο τελευταίο PrX αρθρώνονται δύο λεπιδοτρίχια, τα οποία όμως προσμετρώνται ως ένα.

Στα προραχιαία οστά τόσο η δημιουργία όσο και η οστεοποίηση ακολουθούν πορεία από τα εμπρός προς τα πίσω. Στα 5.2 mm TL εμφανίζονται τα Prd1-Prd2, ενώ το Prd3 ακολουθεί λίγο αργότερα στα 5.3 mm TL (Εικόνα 3.1Δ). Η οστεοποίηση επίσης εμφανίζεται σχεδόν ταυτόχρονα στα Prd1-Prd2 στα 5.3 mm TL και λίγο πιο μετά στα 5.4 mm TL άρχισε και το Prd3 να οστεοποιείται (Εικόνα 3.1Δ). Μέχρι και στο μεγαλύτερο διαθέσιμο στάδιο (30.2 mm TL), η διαδικασία της οστεοποίησης των προραχιαίων οστών δεν έχει ολοκληρωθεί.

Κατά την οντογένεση του ραχιαίου πτερυγίου σχηματίζονται μια σειρά από χόνδροι. Στα 5.7 mm TL παρατηρείται μια χόνδρινη απόφυση πρόσθια του Prx1 που στα 7.0 mm TL συντήκεται μαζί του σχηματίζοντας ένα ενιαίο σχηματισμό (Εικόνα 3.1E). Στην ανατομία του ραχιαίου πτερυγίου συμμετέχει και ένα οστό αντικατάστασης (stay) το οποίο δημιουργείται ως ένα ξεχωριστό στοιχείο πίσω από

το τελευταίο PrX στα 8.8 mm TL (Εικόνα 3.1Ε) και ως τα 10.6 mm TL συντήκεται μαζί του (Εικόνα 3.1ΣΤ). Στα 6.1 mm TL σχηματίζεται ένας ακόμη χόνδρος αυτή τη φορά νωτιαία του PrX1 που στα 7.1 mm TL συντήκεται με αυτό, αποτελώντας στηρικτικό στοιχείο στην άρθρωση της δεύτερης σκληρής ακτίνας του πτερυγίου (Εικόνα 3.1Ε).

- Εδρικό

Το εδρικό είναι το ίδιο σε μορφή με το ραχιαίο και απαρτίζεται από τα ίδια οστά (με εξαίρεση τα προραχιαία οστά που στο εδρικό δεν υπάρχουν).

Και εδώ τα πρώτα οστά που σχηματίζονται είναι τα εγγύς πτερυγιοφόρα με κέντρο ανάπτυξης το PrX3-PrX5 στα 4.5 mm TL (Εικόνα 3.1Γ). Μετά η ανάπτυξη μέσω οπίσθιας και πρόσθιας ταυτόχρονα πορείας καταλήγει στην ολοκλήρωση του σχηματισμού τους (7-8) στα 5.3-5.4 mm TL (Εικόνα 3.1Δ). Η οστεοποίηση των πτερυγιοφόρων ξεκινάει με το PrX1 (5.0 mm TL) και ακολουθώντας ουραία κατεύθυνση εξαπλώνεται σε όλα στα 5.7 mm TL (Εικόνα 3.1Δ). Μέχρι το τέλος του μελετούμενου αναπτυξιακού σταδίου δεν είχε οστεοποιηθεί πλήρως κανένα πτερυγιοφόρο.

Τα άπω πτερυγιοφόρα εμφανίζονται –όπως στο ραχιαίο- μετά τα εγγύς. Τα πρώτα Rd's (Rd1-Rd6) σχηματίζονται στα 5.7 mm TL και μέχρι τα 5.9 mm TL έχουν εμφανιστεί όλα (Εικόνα 3.1Δ-Ε). Η οστεοποίηση τους ξεκινάει στα 10.7 mm TL με την ταυτόχρονη οστεοποίηση των Rd1-Rd2 και συντελούμενη με ουραία κατεύθυνση μέχρι τα 15.0 mm TL επεκτείνεται σε όλα (Εικόνα 3.1ΣΤ). Μέχρι το τέλος του μελετούμενου αναπτυξιακού σταδίου (30.2 mm TL) έχουν οστεοποιηθεί πλήρως όλα τα Rds.

Ο σχηματισμός των σκληρών ακτινών και των λεπιδοτριχίων αρχίζει μέσω υμενογενούς οστεοποίησης στα 5.7 mm TL με την ταυτόχρονη εμφάνιση της πρώτης σκληρής ακτίνας και των 5 πρώτων λεπιδοτριχίων (Εικόνα 3.1Δ). Λίγο αργότερα στα 5.9 mm TL εμφανίζεται και η δεύτερη και τελευταία σκληρή ακτίνα και στα 6.6 mm TL ολοκληρώνονται όλα τα λεπιδοτρίχια που φτάνουν σε τελικό αριθμό τα 7 με 8 (Εικόνα 3.1Ε). Το Prx1 είναι το μοναδικό πτερυγιοφόρο στο οποίο προσφύονται δύο σκληρές ακτίνες από τις οποίες μόνο η οπίσθια αρθρώνεται σε Rd. Τέλος, στο τελευταίο PrX αρθρώνονται δύο λεπιδοτρίχια που όμως προσμετρώνται ως ένα.

Στα 5.7 mm TL μια χόνδρινη απόφυση σχηματίζεται πρόσθια στο Prx1 (Εικόνα 3.1Δ) και σύντομα (5.9 mm TL) συντήκεται μαζί του δημιουργώντας έναν ενιαίο σχηματισμό (Εικόνα 3.1Ε). Στα 5.9 mm TL σχηματίζεται ακόμη ένας χόνδρινος σχηματισμός αυτή τη φορά πιο μικρός και κοιλιακά του PrX1, ο οποίος πολύ σύντομα (6.1 mm TL) συντήκεται με αυτό, συμβάλλοντας στη στήριξη της πρώτης σκληρής ακτίνας του πτερυγίου (Εικόνα 3.1Ε). Τέλος, το οστό αντικατάστασης (stay) που υπάρχει πανομοιότυπο και στο ραχιαίο, δημιουργείται και εδώ σαν χόνδρος πίσω από το τελευταίο PrX στα 6.9 mm TL (Εικόνα 3.1Ε) και στα 10.1 mm TL συντήκεται με αυτό (Εικόνα 3.1ΣΤ).

- Θωρακικά

Τα θωρακικά πτερύγια είναι μαζί με τα κοιλιακά τα ζυγά εξαρτήματα των ιχθύων. Ανήκουν στην ευρύτερη θωρακική ζώνη, η οποία περιλαμβάνει αμφίπλευρα ζεύγη οστών μεμβράνης και αντικατάστασης. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν το κλείθρο (Cl), το επικλείθρο (Suc), το μετακροταφικό (Pot), το άνω μετακλείθρο (PocUp), το κάτω μετακλείθρο (PocLo), το άνω επικροταφικό (SutUp), το κάτω επικροταφικό (SutLo), και τα λεπιδοτρίχια (R), ενώ στη δεύτερη το κορακοειδές (Co), το επικορακοειδές (Sca), τα εγγύς πτερυγιοφόρα (Prx), το προπτερύγιο (Pprop) και τα άπω πτερυγιοφόρα (Rd).

Η οντογένεση των θωρακικών πτερυγίων ξεκινάει στα 3.0 mm TL με τον ταυτόχρονο σχηματισμό του κλείθρου, μιας ενιαίας χόνδρινης πλάκας (Fin Plate, Fr) και ενός ενιαίου χόνδρου που βρίσκεται πρόσθια και κοιλιακά της Fr (Co-Sca χόνδρος) (Εικόνα 3.3Α). Πάνω στον χόνδρο αυτό διαφοροποιούνται αργότερα το κορακοειδές και το επικορακοειδές οστό. Από την Fr προκύπτουν αργότερα τα εγγύς πτερυγιοφόρα. Στα 3.2 mm TL η Fr εμφανίζει μια σχισμή στο πρόσθιο μεσαίο τμήμα της και έτσι χωρίζεται σε δύο τμήματα (Εικόνα 3.3Β).

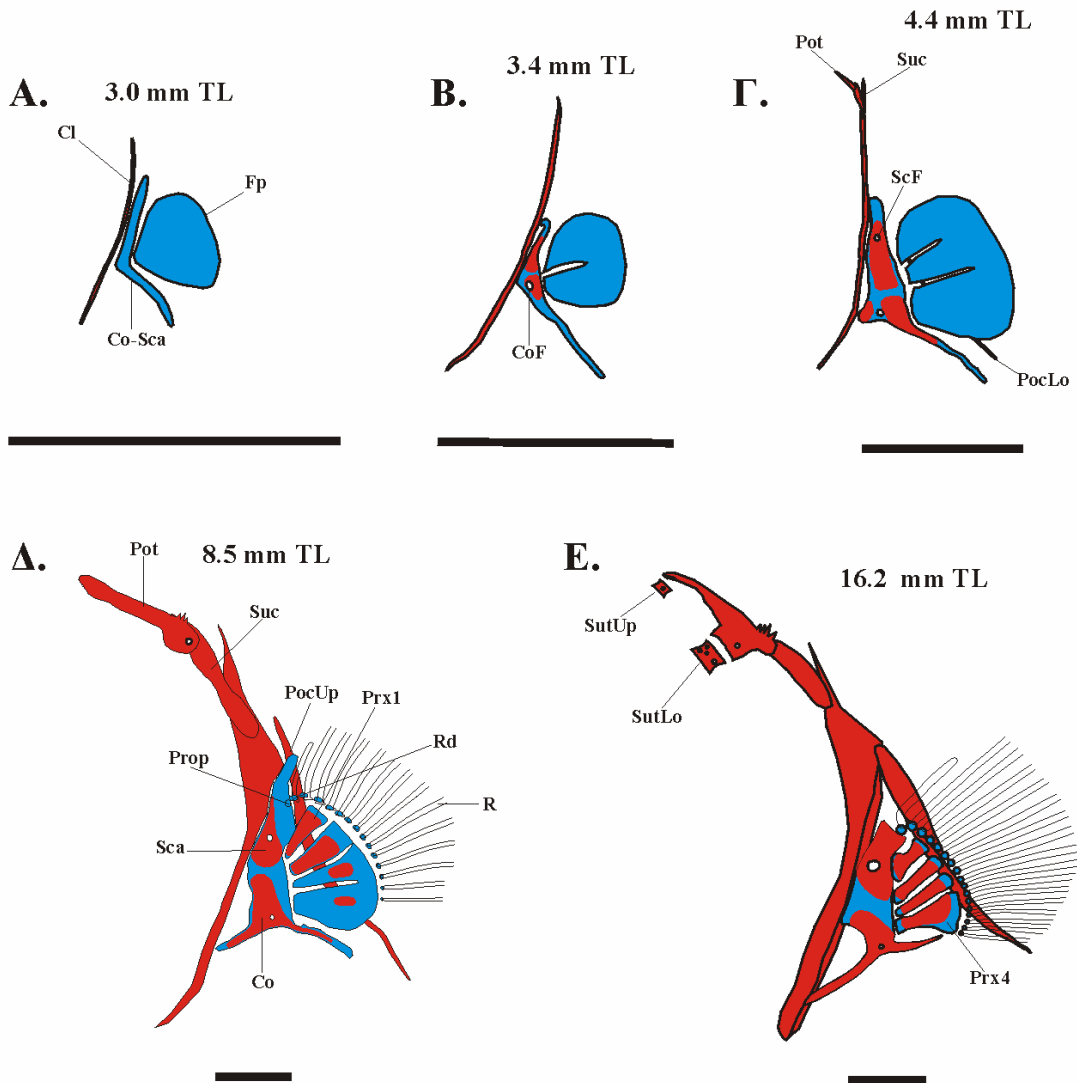
Στα 3.4 mm TL, στη μεριά του κορακοειδές οστού του χόνδρου Co-Sca σχηματίζεται το κορακοειδές τρήμα (CoF) (Εικόνα 3.3Β). Παρόμοια, στα 3.4 mm TL, αρχίζει μια προσθοκοιλιακή αναδίπλωση από τη μεριά του επικορακοειδούς αυτή τη φορά, που έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία του επικορακοειδούς τρήματος (ScF) (4.2 mm TL) (Εικόνα 3.3Γ). Η έναρξη της οστεοποίησης στα Co και Sca αρχίζει στα 3.4 mm TL σημαίνει και τον μεταξύ τους διαχωρισμό σε Co και Sca (Εικόνα 3.3Β).



Τα τέσσερα PrX διαφοροποιούνται με κατεύθυνση από το νωτιαίο προς το κοιλιακό στα 7.6, 7.8, 9.4, και 9.4 mm TL, αντίστοιχα πάνω στην αρχικά ενιαία χόνδρινη πλάκα σαν αποτέλεσμα των δημιουργούμενων σχισμών (Εικόνα 3.3E). Η έναρξη της δεύτερης και τρίτης σχισμής παρουσιάζεται νωτιαία (3.7 mm TL) και κοιλιακά (5.0 mm TL) της πρώτης αντίστοιχα (Εικόνα 3.3Γ-Δ). Η οστεοποίηση των εγγύς πτερυγιοφόρων ξεκινάει πολύ πριν τον διαχωρισμό τους στα 5.9 mm TL όταν είναι ακόμη η ενιαία χόνδρινη πλάκα με τις σχισμές (Εικόνα 3.3Δ). Η ολοκλήρωση της οστεοποίησης στα Co και Sca γίνεται στα 16.0 mm TL (Εικόνα 3.3E). Στα 26.0 mm TL ολοκληρώνεται η οστεοποίηση του PrX1, στα 28.1 mm TL του PrX2 και PrX3, ενώ το PrX4 παραμένει υπό οστεοποίηση μέχρι και το τελευταίο στάδιο που μελετήθηκε (30.2 mm TL).

Τα θωρακικά λεπιδοτρίγια σχηματίζονται διαδοχικά με πρώτο το ανώτερο και τελευταίο το κατώτερο. Η οντογένεση τους ξεκινάει στα 5.6 mm TL και αποκτούν τον τελικό αριθμό (17-18) στα 9.8 mm TL (Εικόνα 3.3E). Ακολουθώντας τον σχηματισμό των λεπιδοτριχίων, εμφανίζεται στα 5.8 mm TL πρώτο το προπτερύγιο (Prop) και ακολουθούν τα πρώτα άπω πτερυγιοφόρα στα 5.8 mm TL και το τελευταίο στα 9.8 mm TL (Εικόνα 3.3E). Τα άπω πτερυγιοφόρα όπως και το προπτερύγιο αρχίζουν να οστεοποιούνται στα 25.6 mm TL, και μέχρι το τελευταίο μελετούμενο στάδιο οστεοποιούνται πλήρως τα πρώτα εννιά άπω πτερυγιοφόρα όπως και το προπτερύγιο.

Το Suc σχηματίζεται ταυτόχρονα με το Pot στα 4.0 mm TL, και ακολουθούν το PocLo στα 4.3 mm TL, το PocUp στα 5.0 mm TL. Τα δύο μετακλείθρα ενώνονται μεταξύ τους στα 5.7 mm TL (Εικόνα 3.3Δ). Το SutLo εμφανίζεται στα 11.1 mm TL, το SutUp στα 12.5 mm TL και σε μετέπειτα στάδια τα δύο αυτά επικροταφικά οστά ενώνονται με το μετακροταφικό (Εικόνα 3.3E).

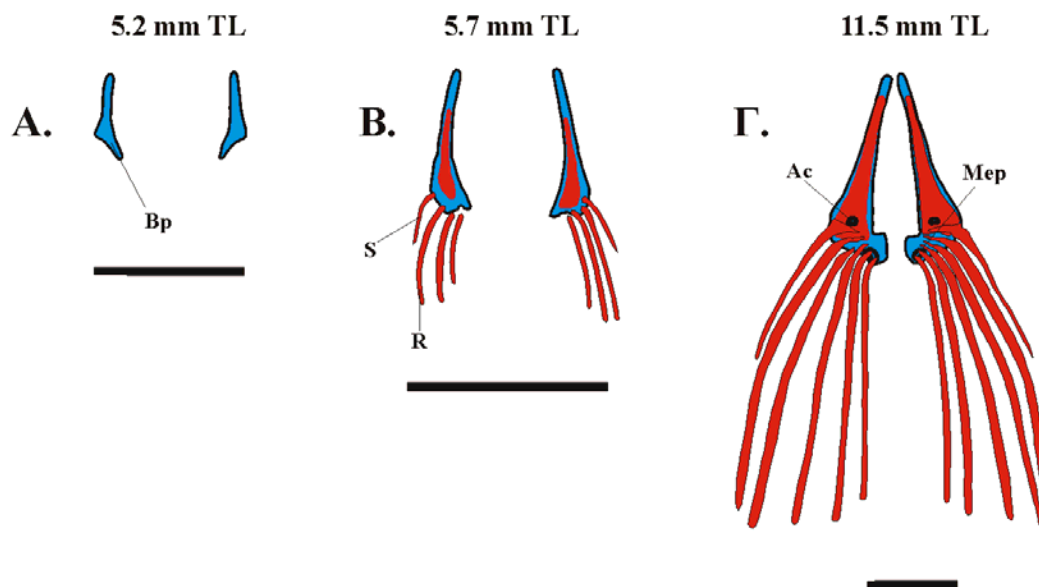


**Εικόνα 3.3.** Ανάπτυξη των θωρακικών περυγίων στο μυλοκόπι. Η οστεοποίηση στις ακτίνες των περυγίων δεν απεικονίζεται. Με κυανό και ερυθρό χρώμα απεικονίζονται οι χόνδρινες δομές και η ασβεστοποίηση αντίστοιχα. Cl, κλείθρο. Co, κορακοειδές. CoF, κορακοειδές τρήμα. Fp, ενιαία χόνδρινη πλάκα. PocLo, κάτω μετακλείθρο. PocUp, άνω μετακλείθρο. Pot, μετακροταφικό. Prop, προπετέρυγιο. Prx1, εγγύς περυγιοφόρα. R, λεπιδοτρίχια. Rd, άπω περυγιοφόρα. Sca, επικορακοειδές. ScF, επικορακοειδές τρήμα. Suc, επικλείθρο. SutLo, κάτω επικροταφικό. SutUp, άνω επικροταφικό. Η κλίμακα κάθε σχεδίου αντιστοιχεί σε 0.5 mm.

- Κοιλιακά

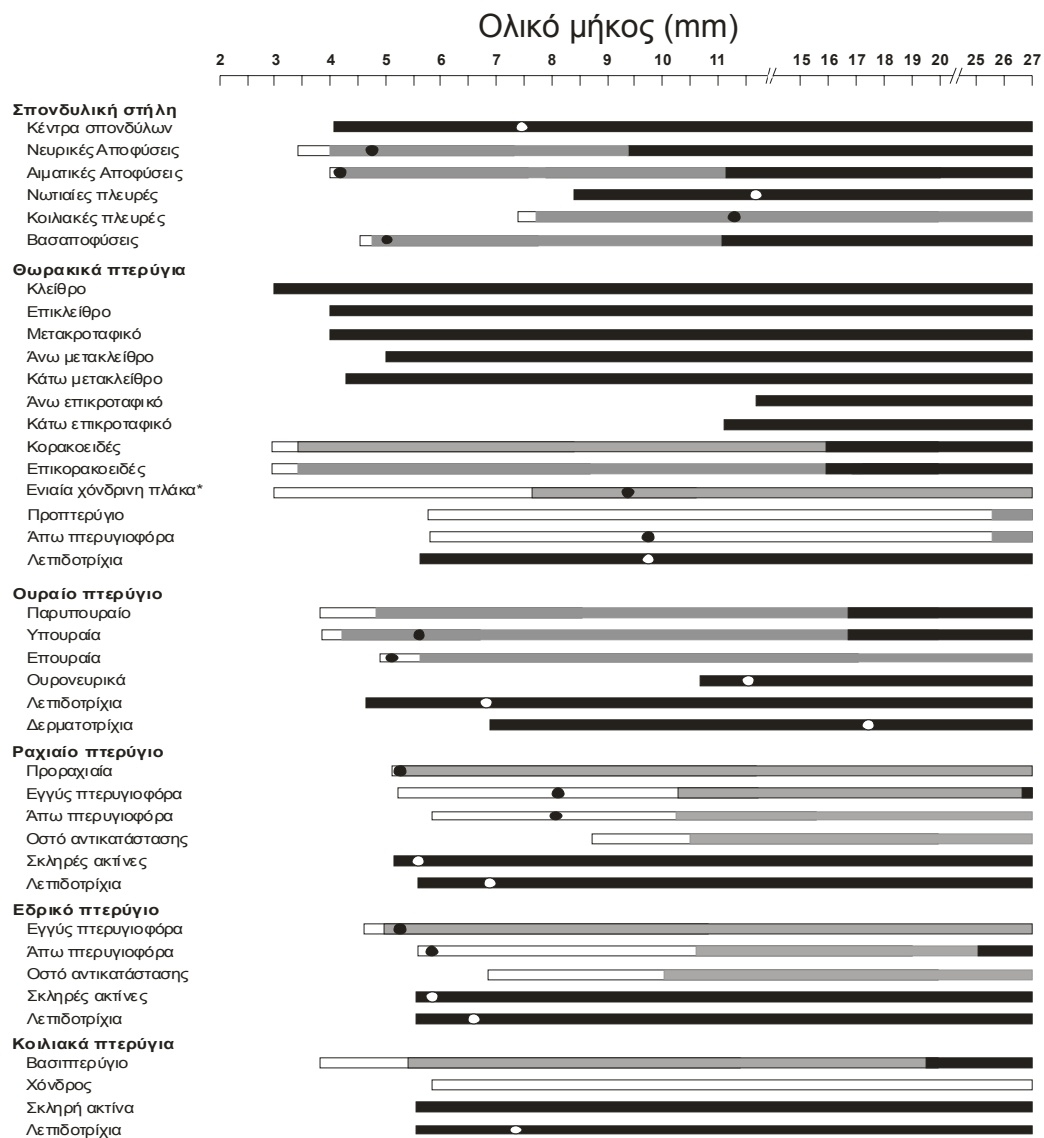
Το κάθε ένα από το ζεύγος των κοιλιακών πτερυγίων αποτελείται από το βασιπτερύγιο (Bp), μια σκληρή ακτίνα και πέντε λεπιδοτρίχια. Το βασιπτερύγιο που είναι και το μοναδικό στηρικτικό στοιχείο των ακτίνων αποτελεί οστό αντικατάστασης, ενώ οι ακτίνες είναι υμενογενούς προέλευσης.

Η οντογένεση των κοιλιακών πτερυγίων ξεκινάει με την έναρξη του σχηματισμού του Bp στα 3.9 mm TL (Εικόνα 3.4A). Η οστεοποίηση του αρχίζει στα 5.4 mm TL και ολοκληρώνεται στα 19.8 mm TL. Στα 5.7 mm TL εμφανίζεται η σκληρή ακτίνα με ταυτόχρονη εμφάνιση και των πρώτων 3 λεπιδοτριχίων (Εικόνα 3.4B) τα οποία έχουν μια πορεία ανάπτυξης από τα έξω προς τα μέσα. Το πέμπτο και τελευταίο λεπιδοτρίχιο σχηματίζεται στα 7.4 mm TL (Εικόνα 3.4Γ). Στα 5.9 mm TL εμφανίζεται ένας μικρός χόνδρος (Mer, μεταπτερύγιο) μεταξύ της R5 και του Bp και στα 9.4 mm TL ένας δεύτερος μικρός χόνδρος (Ac) μεταξύ της S και του Bp (Εικόνα 3.4Γ) οι οποίοι δεν διακρίνονται μετά τα 14.8 mm TL.



**Εικόνα 3.4.** Ανάπτυξη των κοιλιακών πτερυγίων στο μυλοκόπι. Με κυανό και ερυθρό χρώμα απεικονίζονται οι χόνδρινες δομές και η ασβεστοποίηση αντίστοιχα. Ac, χόνδρος. Bp, βασιπτερύγιο. Mer, μεταπτερύγιο. R, λεπιδοτρίχια. S, σκληρή ακτίνα. Κάθε κλίμακα αντιστοιχεί σε 0.5 mm.

Η εικόνα 3.5 δείχνει συγκεντρωτικά την αναπτυξιακή σειρά όλων των σκελετικών στοιχείων που μελετήθηκαν, σε συσχέτιση με το ολικό μήκος (TL).



\* + εγγύς πτερυγιοφόρα

**Εικόνα 3.5.** Αναπτυξιακή σειρά των στοιχείων της σπονδυλικής στήλης, των στηρικτικών οστών των πτερυγίων και των ακτινών στο μυλοκόπι. Λευκή μπάρα: στάδιο χονδρογένεσης. Γκρι μπάρα: στάδιο οστεοποίησης. Μαύρη μπάρα: στάδιο πλήρους οστεοποίησης. ○ ή ●, πλήρης συμπλήρωση των στοιχείων.

## 3.2. Σκελετικές παραμορφώσεις

### 3.2.1. Επίδραση δύο διαφορετικών ιχθυοφορτίσεων στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων

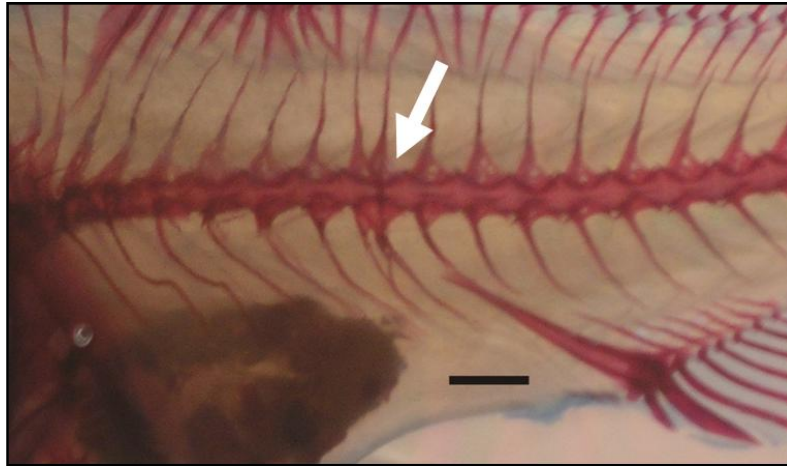
#### 3.2.1.α. Περιγραφή και εξέλιξη συχνότητας εμφάνισης

Τα άτομα που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη εμφάνισαν τέσσερις διαφορετικές παραμορφώσεις υψηλής σοβαρότητας. Οι τρεις από αυτές εντοπίστηκαν στην σπονδυλική στήλη και ήταν οι: σύντηξη σπονδύλων, λόρδωση (V σχήματος κάμψη στο κατακόρυφο επίπεδο) και κύφωση (Λ-σχήματος κάμψη στο κατακόρυφο επίπεδο), ενώ η τέταρτη αφορούσε στην μερική έλλειψη του ραχιαίου περυγίου. Οι παραμορφώσεις αυτές χαρακτηρίστηκαν ως υψηλής σοβαρότητας διότι είναι εμφανείς εξωτερικά προκαλώντας αλλοίωση του σχήματος και έχουν επίδραση στην ποιότητα του ψαριού (Koumoundouros *et al.* 1997a). Οι υψηλής σοβαρότητας παραμορφώσεις μπορούν επιπλέον να διαχωριστούν σε διαφορετικές εντάσεις ανάλογα με τον βαθμό της παραμόρφωσης.

#### **Σύντηξη σπονδύλων**

##### *Περιγραφή και εξέλιξη συχνότητας εμφάνισης*

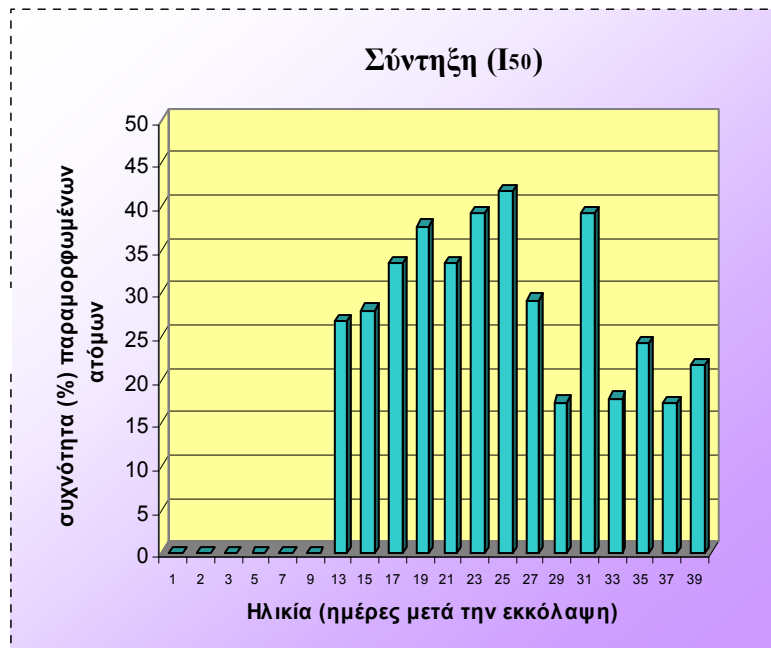
Σύντηξη σπονδύλων (Εικόνα 3.6) εμφανίστηκε σε διάφορες περιοχές της σπονδυλικής στήλης. Σε κάθε περίπτωση, υπήρχαν δύο έως και τέσσερις συντηγμένοι σπόνδυλοι, ενώ μερικές φορές υπήρχαν ταυτόχρονα συντήξεις σε δύο ή περισσότερα μέρη της σπονδυλικής στήλης. Σε όλες τις περιπτώσεις η σύντηξη οδηγούσε σε προφανή βράχυνση της σπονδυλικής στήλης και άρα μείωση του μήκους του ψαριού. Η παραμορφωμένη περιοχή παρουσίαζε συμπτώματα υπεροστεοποίησης.



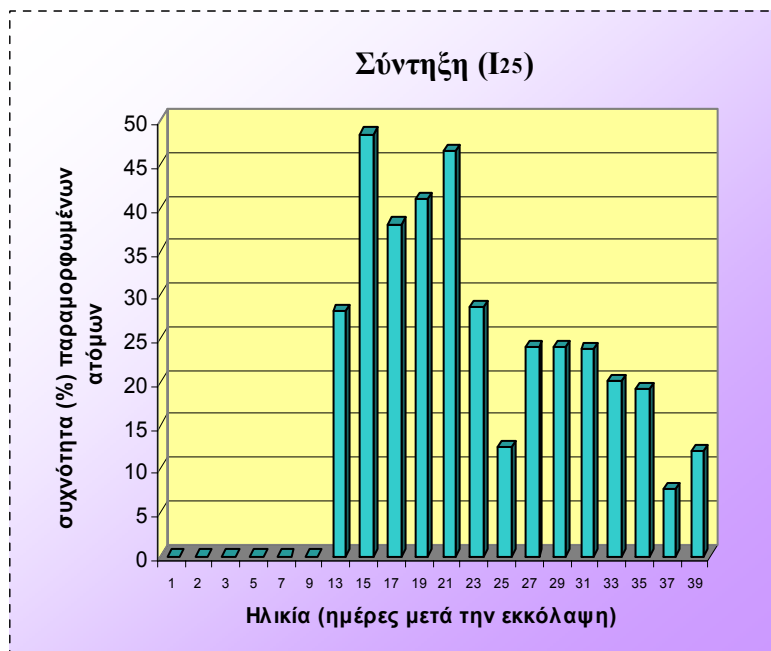
**Εικόνα 3.6.** Σύντηξη σε μια νύμφη μυλοκοπιού ολικού μήκους 24.6 mm (39<sup>η</sup> ημέρα M.E). Με το ερυθρό χρώμα απεικονίζονται τα οστά. Το τόξο δείχνει το κέντρο της παραμόρφωσης. Η κλίμακα αντιστοιχεί σε 1 mm.

Η σύντηξη παρατηρήθηκε για πρώτη φορά και για τους δύο υπό εξέταση πληθυσμούς, την ημέρα 13 μετά την εκκόλαψη (M.E) και έπειτα ήταν συνεχώς παρούσα μέχρι και το τέλος της μελέτης (ημέρα 39 M.E). Αμέσως μετά την πρώτη εμφάνιση της, το ποσοστό των παραμορφωμένων ατόμων αυξήθηκε και στις δύο ιχθυοφορτίσεις και μετά μειώθηκε σταδιακά μέχρι την ημέρα 39 M.E (Εικόνα 3.7).

α)



β)



**Εικόνα 3.7.** Εξέλιξη της συχνότητας ατόμων μυλοκοπιού με σύντηξη σπονδύλων σε σχέση με την ηλικία (ημέρες μετά την εκκόλαψη): α) στον πληθυσμό υψηλότερης ιχθυοφόρτισης,  $I_{50}$  β) στον πληθυσμό χαμηλότερης ιχθυοφόρτισης,  $I_{25}$ .

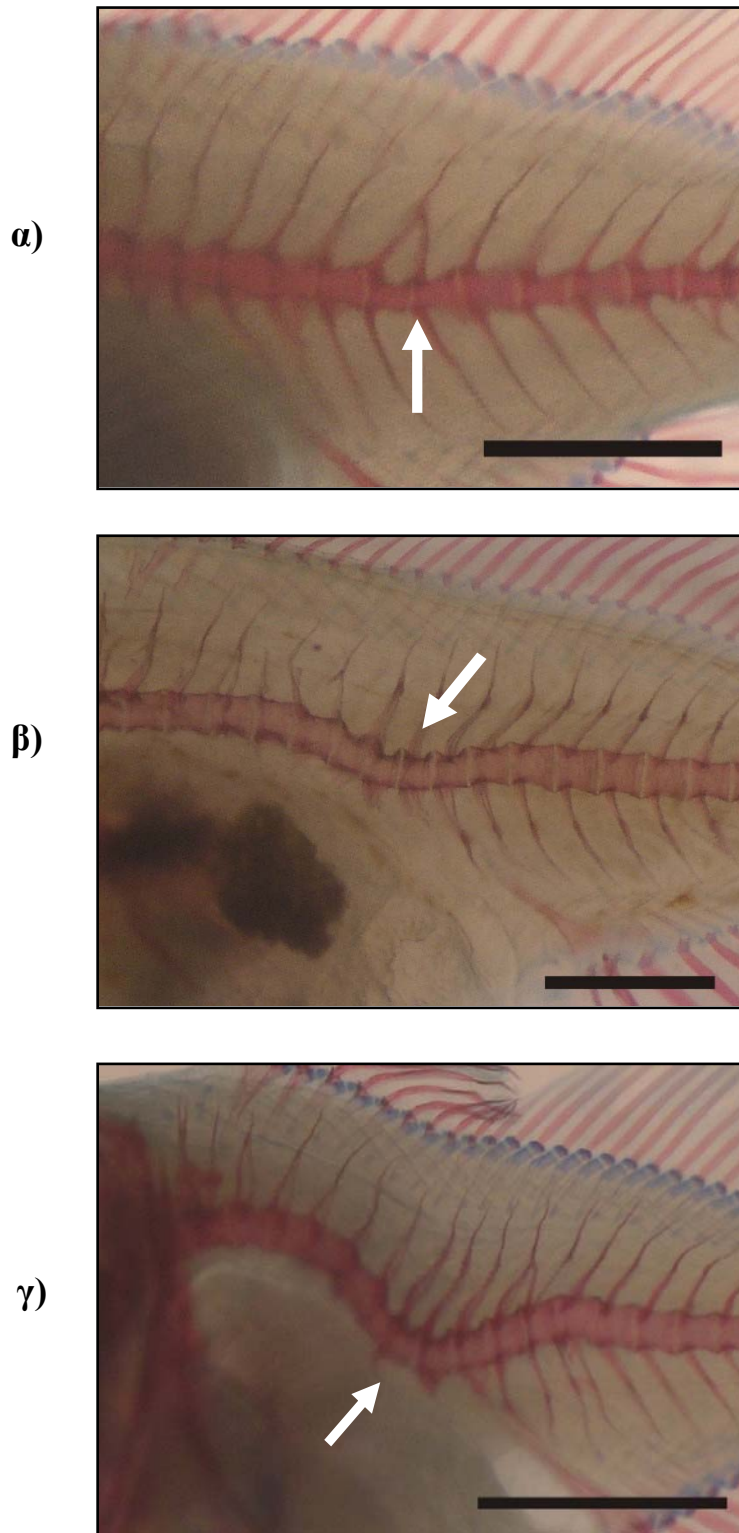
## **Λόρδωση**

### *Περιγραφή και εξέλιξη συχνότητας εμφάνισης*

Η λόρδωση εντοπίστηκε επίσης σε διάφορες περιοχές της σπονδυλικής στήλης ως μία κοιλιακή κάμψη (V) αυτής (Εικόνα 3.8). Ανάλογα με την ένταση της λόρδωσης, τα παραμορφωμένα άτομα με πλήρως αναπτυγμένη σπονδυλική στήλη κατηγοριοποιήθηκαν σε 3 κατηγορίες:

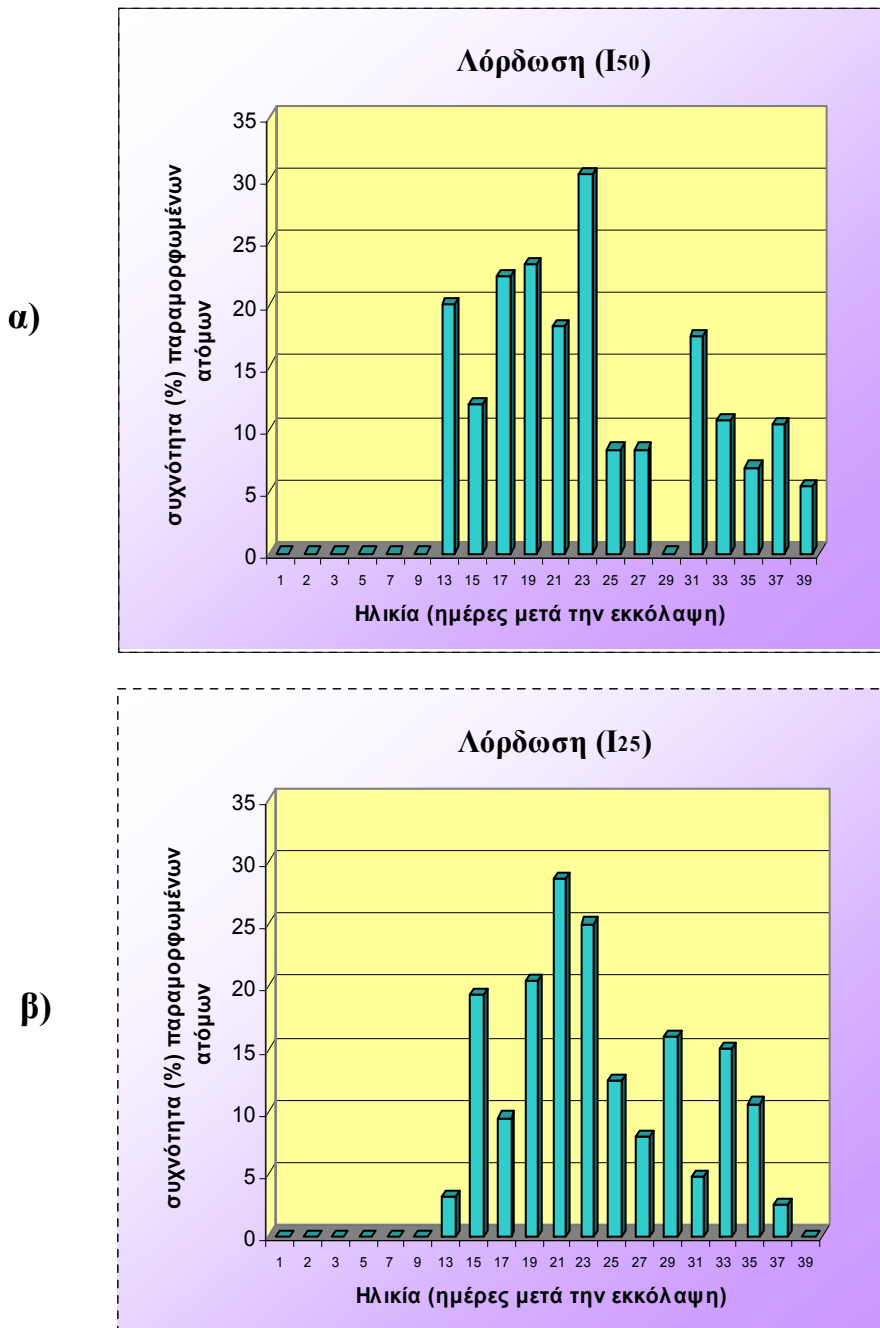
- Άτομα τα οποία παρουσίαζαν μικρής έντασης παραμόρφωση που αφορούσε 1-3 σπονδύλους με μερικές φορές παραμορφωμένες νευρικές και αιματικές αποφύσεις, αλλά χωρίς καμία σμίκρυνση ή σύντηξη. Η σπονδυλική στήλη σχημάτιζε μια ελαφριά καμπύλη προς τα κάτω, και η παραμόρφωση δεν ήταν ανιχνεύσιμη εξωτερικά. Αυτός ο τύπος λόρδωσης συμβολιζόταν με ένα σταυρό (+) (Εικόνα 3.8α).
- Άτομα τα οποία εμφάνιζαν μέτριας έντασης λόρδωση που συνήθως περιελάμβανε 3-6 παραμορφωμένους, βραχύτερους και συχνά συντηγμένους σπονδύλους με παραμορφωμένες νευρικές και αιματικές αποφύσεις, και με μία πιο οξεία καμπύλη της σπονδυλικής στήλης η οποία ήταν βέβαια ορατή μετά από χρώση. Η λόρδωση στην περίπτωση αυτή συμβολιζόταν με διπλό σταυρό (++) (Εικόνα 3.8β).
- Άτομα τα οποία εμφάνιζαν υψηλής έντασης λόρδωση που συνήθως περιελάμβανε 6-9 παραμορφωμένους, βραχύτερους και συχνά συντηγμένους σπόνδυλους, με παραμορφωμένες νευρικές και αιματικές αποφύσεις, και με τέτοια οξεία κύρτωση της σπονδυλικής στήλης που ήταν ορατή εξωτερικά. Αυτός ο τύπος λόρδωσης συμβολιζόταν με τρεις σταυρούς (+++) (Εικόνα 3.8γ).





**Εικόνα 3.8.** Τρία λορδωτικά άτομα μυλοκοπιού με διαφορετικές εντάσεις λόρδωσης: α) κατηγορία 1 (+), άτομο ολικού μήκους 10.1 mm, β) κατηγορία 2 (++) , άτομο ολικού μήκους 12.1 mm, γ) κατηγορία 3 (+++), άτομο ολικού μήκους 7.1 mm. Οι κατηγορίες περιγράφονται εκτενώς στο κείμενο. Με κυανό και ερυθρό χρώμα απεικονίζονται οι χόνδροι και τα οστά αντίστοιχα. Το τόξο δείχνει το κέντρο της παραμόρφωσης. Η κλίμακα αντιστοιχεί σε 1 mm.

Η λόρδωση παρατηρήθηκε για πρώτη φορά την ημέρα 13 Μ.Ε και στις δύο ιχθυοφορτίσεις. Στη συνέχεια το υψηλότερο ποσοστό μετρήθηκε μεταξύ των ημερών 21-23 Μ.Ε, ενώ από το σημείο αυτό και μετά το ποσοστό εμφάνισης μειώθηκε μέχρι το τέλος του νυμφικού σταδίου. Στη χαμηλότερη ιχθυοφόρτιση η παρουσία λόρδωσης εξαλείφθηκε (Εικόνα 3.9).



**Εικόνα 3.9.** Εξέλιξη της συχνότητας ατόμων μυλοκοπιού με λόρδωση σε σχέση με την ηλικία (ημέρες μετά την εκκόλαψη): α) στον πληθυσμό υψηλότερης ιχθυοφόρτισης, I<sub>50</sub> β) στον πληθυσμό χαμηλότερης ιχθυοφόρτισης, I<sub>25</sub>.

## Κύφωση

### Περιγραφή και εξέλιξη συχνότητας εμφάνισης

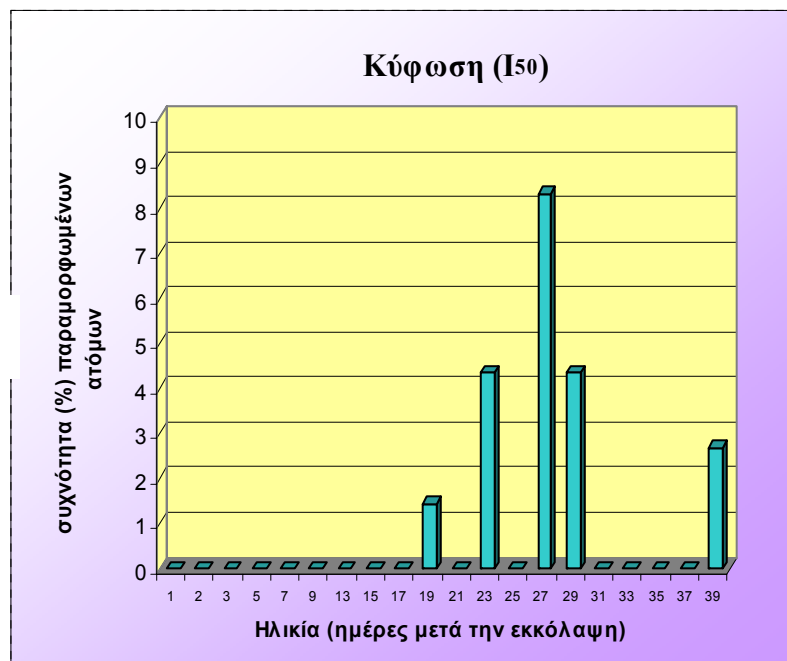
Η κύφωση εμφανίστηκε ως μια νωτιαία κάμψη ( $\Lambda$ ) της σπονδυλικής στήλης που αφορούσε σε όλες τις περιπτώσεις δύο γειτονικούς σπόνδυλους οι οποίοι ήταν αρκετά παχύτεροι από τους διπλανούς τους (Εικόνα 3.10). Επιπλέον, αυτή η παραμόρφωση εμφανίστηκε σε όλο το εύρος της σπονδυλικής στήλης.



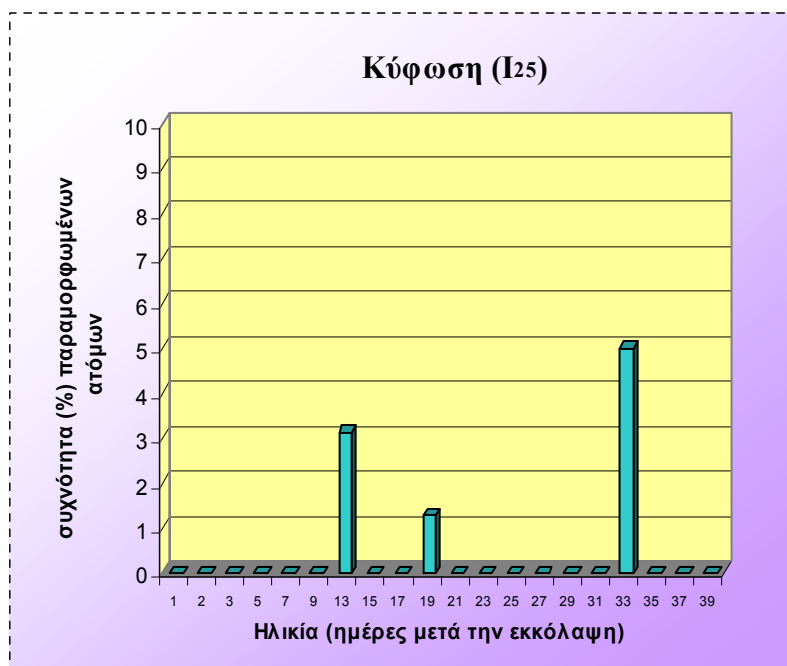
**Εικόνα 3.10.** Κύφωση σε ένα δείγμα μυλοκοπιού ολικού μήκους 18.2 mm (27<sup>η</sup> ημέρα μετά την εκκόλαψη) με δύο σπόνδυλους να παίρνουν μέρος στην παραμόρφωση. Με το ερυθρό απεικονίζονται τα οστά. Η κλίμακα αντιστοιχεί σε 1 mm.

Η κύφωση ήταν παρούσα μόνο συγκεκριμένες ημέρες κατά την διάρκεια της μελετούμενης περιόδου και για τις δύο ιχθυοφορτίσεις (Εικόνα 3.11). Στην υψηλή ιχθυοφόρτιση παρατηρήθηκε για πρώτη φορά την ημέρα 19 M.E, έφτασε την υψηλότερη εμφάνιση της την 27<sup>η</sup> ημέρα M.E και η τελευταία της εμφάνιση ήταν την 39<sup>η</sup> ημέρα M.E (Εικόνα 3.11α). Στην χαμηλή ιχθυοφόρτιση, η πρώτη εμφάνιση της κύφωσης διαπιστώθηκε την ημέρα 13 M.E. Επανεμφανίστηκε την 19<sup>η</sup> ημέρα M.E και η τελευταία της παρουσία ήταν την 33<sup>η</sup> ημέρα M.E όπου είχε και το μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης της (Εικόνα 3.11β).

α)



β)

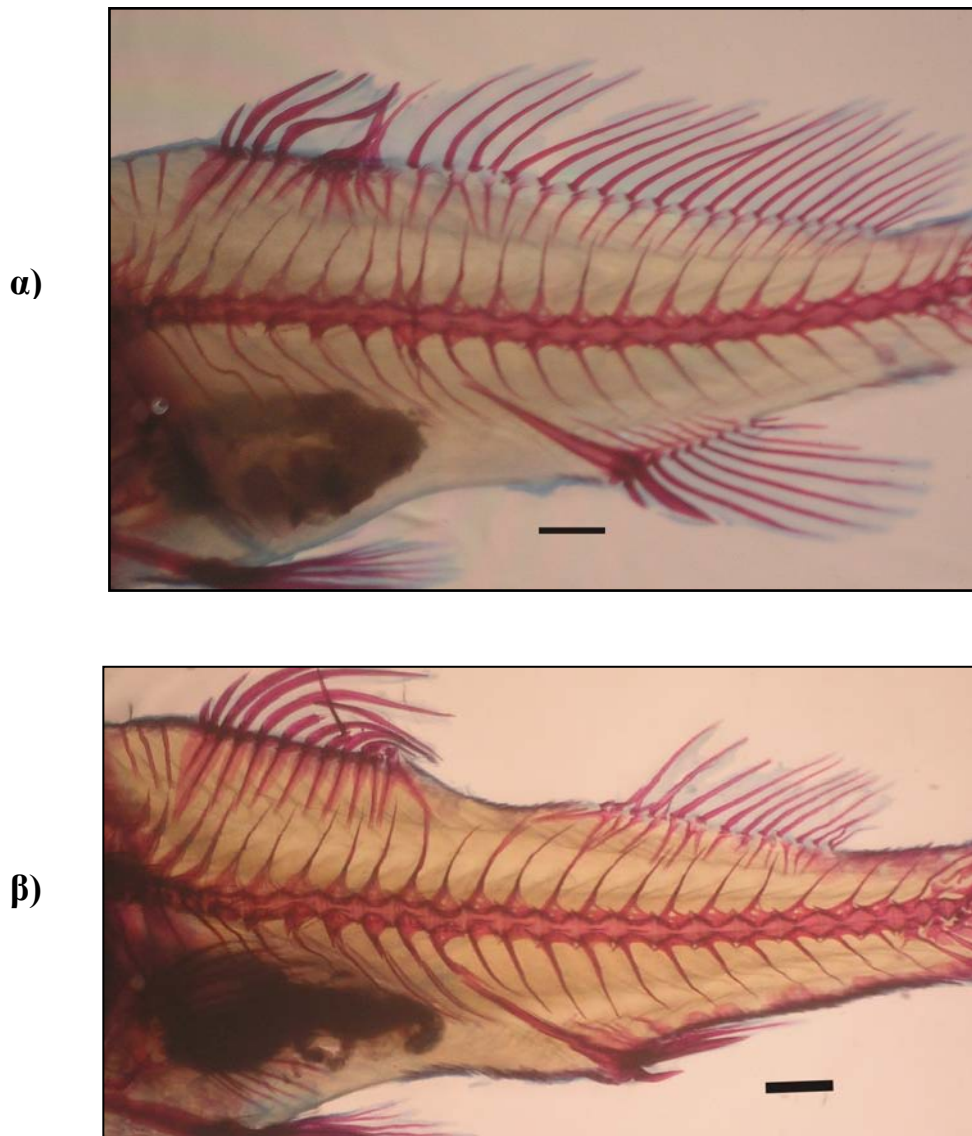


**Εικόνα 3.11.** Εξέλιξη της συχνότητας ατόμων μυλοκοπιού με κύφωση σε σχέση με την ηλικία (ημέρες μετά την εκκόλαψη): α) στον πληθυσμό υψηλότερης ιχθυοφόρτισης, I<sub>50</sub> β) στον πληθυσμό χαμηλότερης ιχθυοφόρτισης, I<sub>25</sub>.

## **Μερική έλλειψη ραχιαίου πτερυγίου (MEP) ή αλλιώς παραμόρφωση Saddleback (Sdlbk)**

### *Περιγραφή και εξέλιξη συχνότητας εμφάνισης*

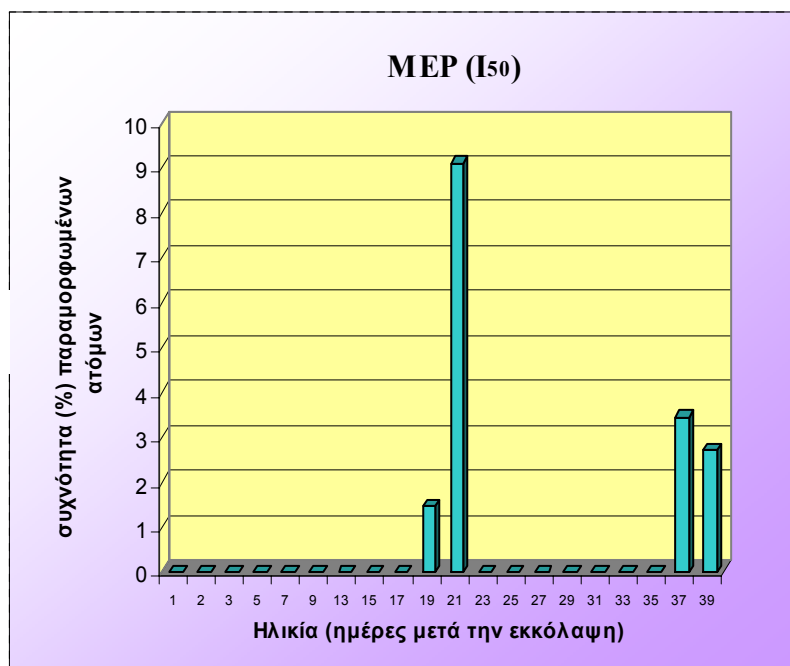
Τα άτομα που εμφάνισαν παραμόρφωση MEP, χαρακτηρίζονταν από έλλειψη κάποιων ραχιαίων ακτινών, συντηγμένα πτερυγιοφόρα και μια ελαφριά κύρτωση της ραχιαίας γραμμής του σώματος τους (Εικόνα 3.12α), ή από έλλειψη κάποιων ραχιαίων ακτινών και μια οξεία κύρτωση της ραχιαίας γραμμής του σώματος τους (Εικόνα 3.12β). Τα κύρια χαρακτηριστικά της παραμόρφωσης αυτής και στις δύο πιο πάνω μορφές αποτελούσαν το ανώμαλο σχήμα, ο αριθμός και η θέση των γειτονικών στηρικτικών οστών του ραχιαίου (πτερυγιοφόρα), σε συνδυασμό με έλλειψη όλων των άπω πτερυγιοφόρων που συνδέονταν με τις ελλειπείς ακτίνες. Η παραμόρφωση συνοδευόταν στις πιο πολλές των περιπτώσεων (70%) με σύντηξη κάποιων σπονδύλων ή λόρδωση (30%) όλων των εντάσεων (+,++,+++)στην περιοχή της σπονδυλικής στήλης που βρισκόταν κάτω από την περιοχή που εμφανιζόταν η MEP παραμόρφωση.



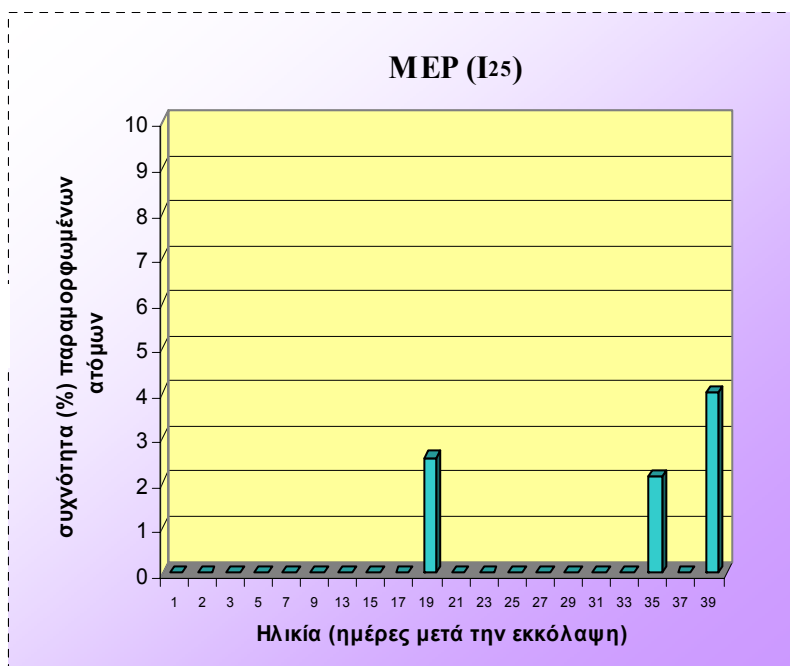
**Εικόνα 3.12.** Μερική έλλειψη ραχιαίου πτερυγίου (MEP) στο μυλοκόπι: α) άτομο ολικού μήκους 24.6 mm, β) άτομο ολικού μήκους 23.6 mm. Με ερυθρό χρώμα απεικονίζονται τα οστά. Η κλίμακα αντιστοιχεί σε 1 mm.

Η παραμόρφωση MEP πρωτοεμφανίστηκε και για τις δύο ιχθυοφορτίσεις την ημέρα 19 M.E και ήταν παρούσα μετά μόνο σε συγκεκριμένες ημέρες. Είναι αξιοσημείωτο να αναφερθεί ότι μόνο την ημέρα 19 και ημέρα 39 M.E είναι παρούσα η παραμόρφωση και για τους δύο υπό εξέταση πληθυσμούς (Εικόνα 3.13).

α)



β)

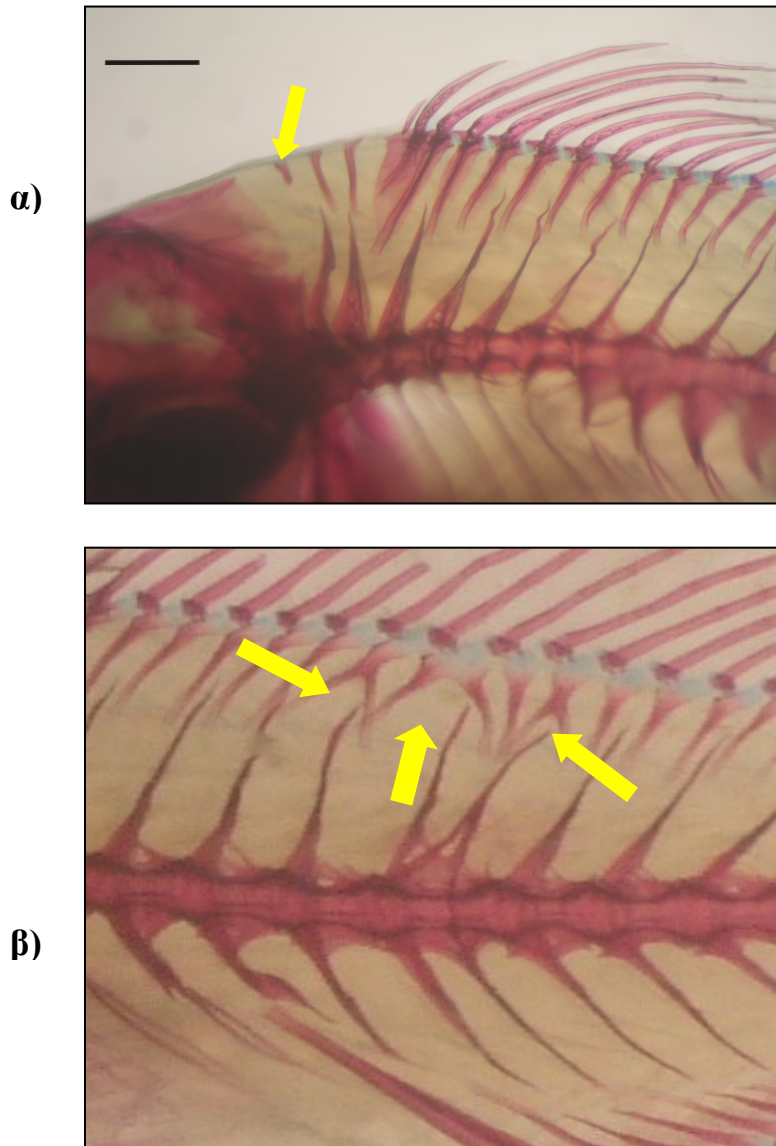


**Εικόνα 3.13.** Εξέλιξη της συχνότητας ατόμων μυλοκοπιού με μερική έλλειψη ραχιαίου περυγίου (MEP) σε σχέση με την ηλικία (ημέρες μετά την εκκόλαψη): α) στον πληθυσμό υψηλότερης ιχθυοφόρτισης,  $I_{50}$  β) στον πληθυσμό χαμηλότερης ιχθυοφόρτισης,  $I_{25}$ .

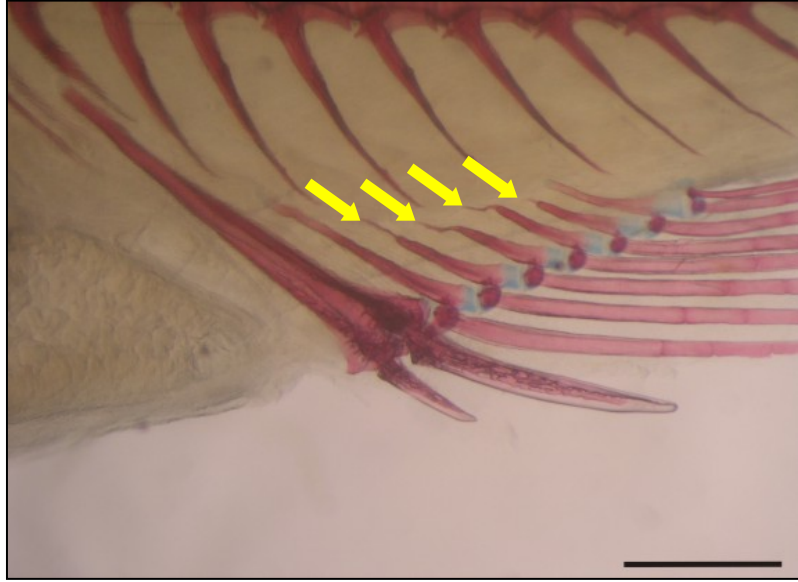
Πέραν των πιο πάνω παραμορφώσεων, κατά την παρούσα μελέτη, εντοπίστηκαν και κάποιες παραμορφώσεις μικρής σοβαρότητας, οι οποίες δεν έχουν σοβαρό αντίκτυπο στην εξωτερική εικόνα και δεν επηρεάζουν την ομαλή ανάπτυξη καθώς και την ποιότητα του ψαριού. Αυτές αφορούσαν:

- στραβά και ατροφικά προραχιαία οστά ή/και παραμορφωμένα και συντηγμένα πτερυγιοφόρα (Εικόνα 3.14),
- παραμορφώσεις των απολήξεων των πτερυγιοφόρων (Εικόνα 3.15) και συντήξεις δύο ή περισσότερων πτερυγιοφόρων του εδρικού πτερυγίου, και
- παραμορφώσεις του συμπλέγματος του ουραίου πτερυγίου που περιελάμβαναν αλλοιώσεις σχήματος των διαφόρων ουραίων στοιχείων, συντήξεις των προουραίων κέντρων και μικρές συντήξεις μεταξύ των επουραίων και υποουραίων οστών (Εικόνα 3.16).

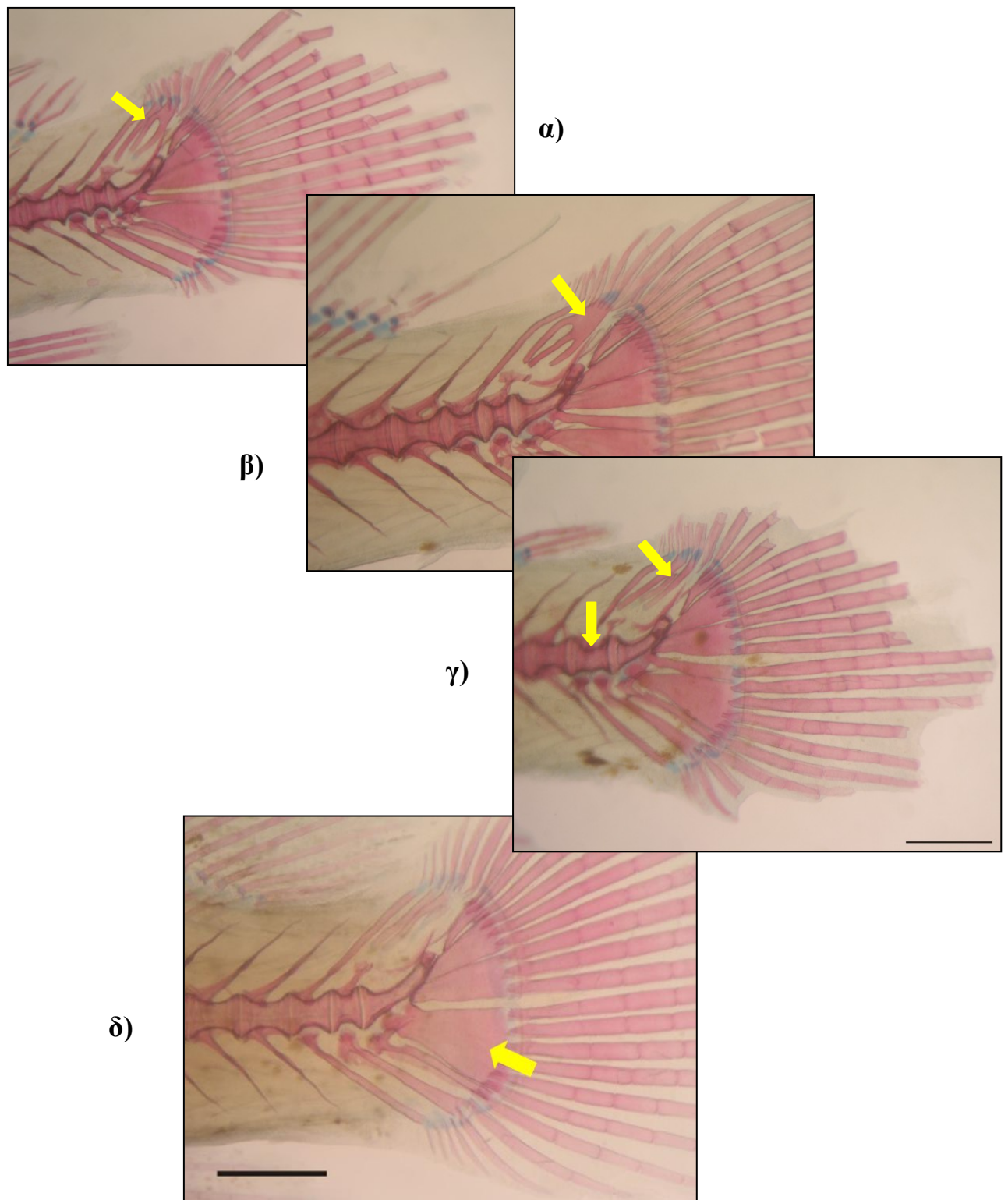




**Εικόνα. 3.14.** Παραμορφώσεις στην περιοχή του ραχιαίου πτερυγίου: α) ατροφικό προραχιαίο οστό σε δείγμα μυλοκοπιού ολικού μήκους 12.1 mm (29<sup>η</sup> μέρα μετά την εκκόλαψη), β) συντηγμένα και στραβά πτερυγιοφόρα σε δείγμα μυλοκοπιού (34<sup>η</sup> μέρα μετά την εκκόλαψη) ολικού μήκους 34.4 mm. Με κυανό και ερυθρό χρώμα απεικονίζονται οι χόνδροι και τα οστά αντίστοιχα. Η κλίμακα αντιστοιχεί σε 0.5 mm.



**Εικόνα. 3.15.** Παραμορφώσεις στην περιοχή του εδρικού πτερυγίου σε δείγμα μυλοκοπιού ολικού μήκους 12.3 mm (29<sup>η</sup> ημέρα μετά την εκκόλαψη). Με κυανό και ερυθρό χρώμα απεικονίζονται οι χόνδροι και τα οστά αντίστοιχα. Η κλίμακα αντιστοιχεί σε 0.5 mm.

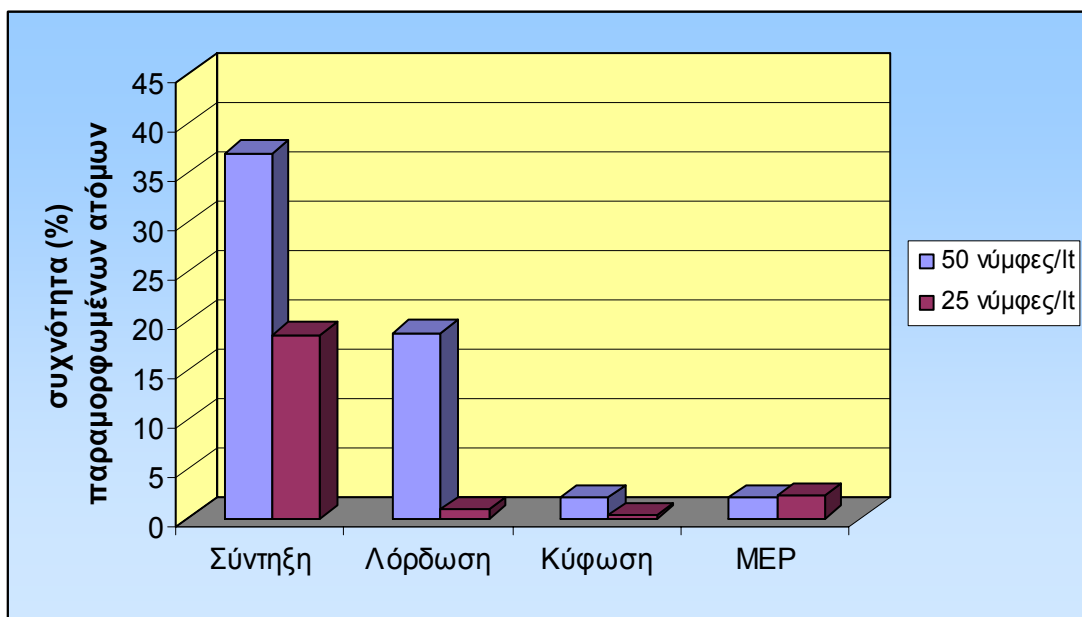


**Εικόνα 3.16.** Χαρακτηριστικοί τύποι παραμορφώσεων του ουραίου πετεργίου. α., β., συντήξεις μεταξύ των επουραίων οστών (άτομο ολικού μήκους 19.5 mm και 13.0 mm αντίστοιχα), γ. σύντηξη μεταξύ των επουραίων οστών και των προουραίων κέντρων PU2-PU3 σε άτομο ολικού μήκους 15.6 mm, δ. σύντηξη υποουραίων οστών σε άτομο ολικού μήκους 12.2 mm. Με κυανό και ερυθρό χρώμα απεικονίζονται οι χόνδροι και τα οστά αντίστοιχα. Η κλίμακα αντιστοιχεί σε 0.5 mm.

### **3.2.1.β. Επίδραση της ιχθυοφόρτισης στην συχνότητα των παρατηρούμενων σκελετικών παραμορφώσεων στο τέλος του νυμφικού σταδίου.**

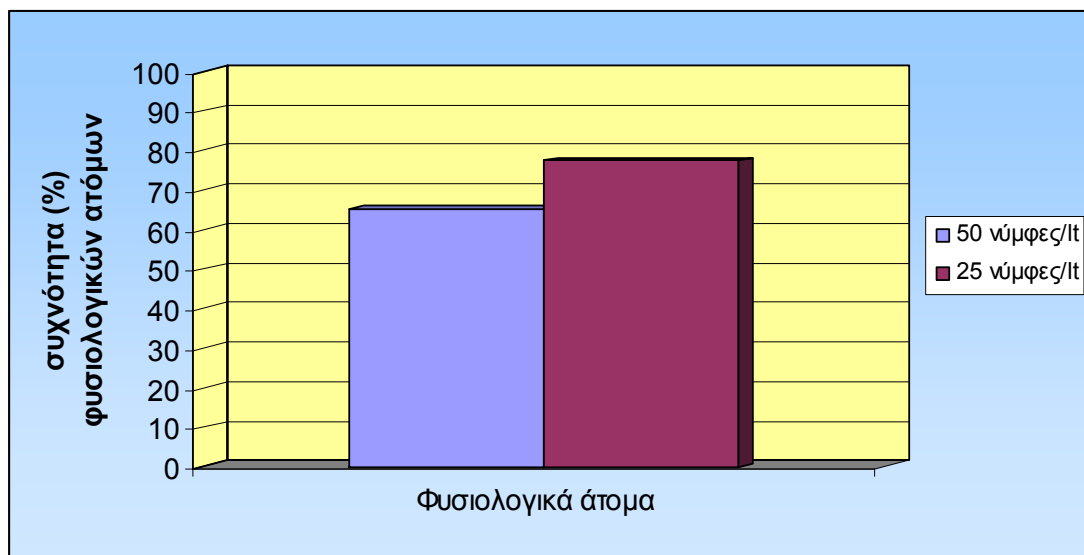
Στην προηγούμενη ενότητα όπου καταγράφηκε η εξέλιξη των παραμορφώσεων (συχνότητα εμφάνισης), έγινε καταρχήν εξακρίβωση της ύπαρξης σκελετικών παραμορφώσεων στο μυλοκόπι και δείχθηκε ότι δεν υπάρχει διαφορά στον τύπο των παραμορφώσεων που αναπτύσσονται στις διαφορετικές ιχθυοφορτίσεις. Στην παρούσα ενότητα, μελετήθηκε η επίδραση της ιχθυοφόρτισης στην συχνότητα εμφάνισης των παραμορφώσεων στο τελικό στάδιο της εκτροφής (σύνολο των μεγαλύτερων ηλικιακών κλάσεων). Το τελικό αυτό στάδιο αφορούσε μαζικό δείγμα ατόμων από την ημέρα 19 Μ.Ε (αποκοπή από τη ζωντανή τροφή) μέχρι την ημέρα 39 Μ.Ε (τέλος της νυμφικής εκτροφής).

Η μελέτη των υψηλής σοβαρότητας παραμορφώσεων ως αποτέλεσμα της διαφορετικής ιχθυοφόρτισης (Εικόνα 3.17), έδειξε τρεις από αυτές να εμφανίζονται σε μεγαλύτερο ποσοστό στην  $I_{50}$  σε σύγκριση με την  $I_{25}$ , ενώ την τέταρτη να εμφανίζεται σε περίπου τα ίδια ποσοστά και για τις δύο ιχθυοφορτίσεις. Συγκεκριμένα, η σύντηξη εμφάνισε σχεδόν διπλάσιο ποσοστό (37%) στην  $I_{50}$ , έναντι της  $I_{25}$  στην οποία εμφανίστηκε σε ποσοστό 18.6 %. Η λόρδωση εμφάνισε ποσοστό 18.8% στην  $I_{50}$ , έναντι μόλις 0.9% στην  $I_{25}$ . Η κύφωση εμφάνισε ποσοστό 2.1% στην  $I_{50}$ , ενώ στην  $I_{25}$  πολύ μικρότερο ποσοστό (0.3%). Τέλος, η μερική έλλειψη του ραχιαίου πτερυγίου εμφάνισε ποσοστό 2.1% για την  $I_{50}$  το οποίο ελάχιστα διέφερε από αυτό της  $I_{25}$  (2.3%) (Εικόνα 3.17).



**Εικόνα 3.17.** Ποσοστό παρουσίας παραμορφωμένων ατόμων στους δύο πληθυσμούς διαφορετικής ιχθυοφόρτισης (50 νύμφες/lt, 25 νύμφες/lt) ημερών 19 μέχρι 39 Μ.Ε για τους τέσσερις τύπους παραμόρφωσης υψηλής σοβαρότητας (Σύντηξη, Λόρδωση, Κύφωση, Μερική έλλειψη ραχιαίου πτερυγίου (ΜΕΡ)). n=674

Το ποσοστό των φυσιολογικών ατόμων στους δύο πληθυσμούς διαφορετικής ιχθυοφόρτισης (50 νύμφες/lt, 25 νύμφες/lt), μετά την εξέταση των παραμορφώσεων υψηλής σοβαρότητας εμφανίστηκε μεγαλύτερο στην I<sub>25</sub> (77.0%) έναντι της I<sub>50</sub> (65.0%) (Εικόνα 3.18). Στα φυσιολογικά άτομα εντάσσονταν άτομα τα οποία δεν έφεραν καμία από τις τέσσερις παραμορφώσεις υψηλής σοβαρότητας που παρατηρήθηκαν.

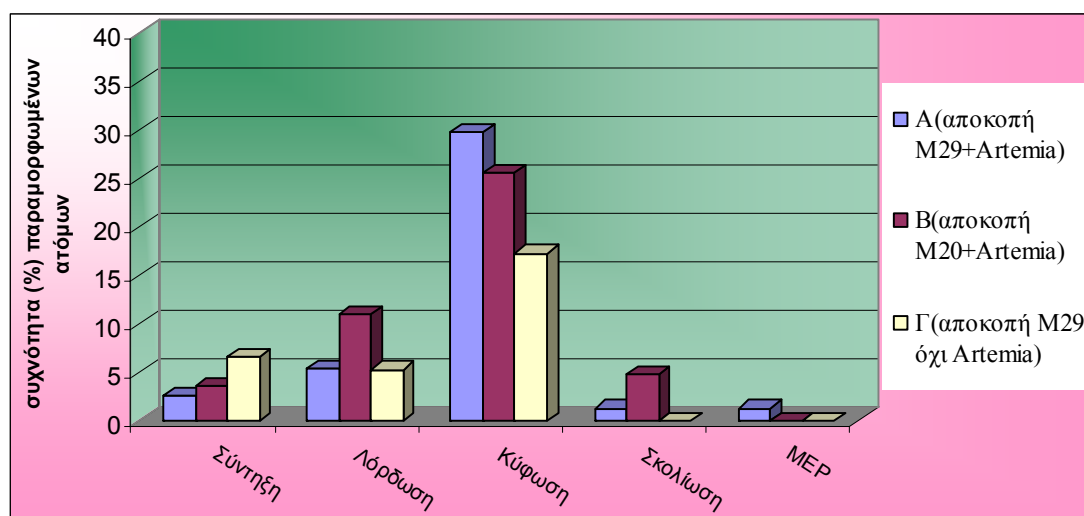


**Εικόνα 3.18.** Ποσοστό παρουσίας φυσιολογικών ατόμων στους δύο πληθυσμούς διαφορετικής ιχθυοφόρτισης (50 νύμφες/l, 25 νύμφες/l) ημερών 19 μέχρι 39 Μ.Ε για τους υψηλής σοβαρότητας τύπους παραμορφώσεων (σύντηξη, λόρδωση, κύφωση, ΜΕΡ). n=674

### 3.2.2. Επίδραση τριών διαφορετικών πρωτοκόλλων διατροφής, κατά την φάση αποκοπής από τη ζωντανή τροφή, στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων

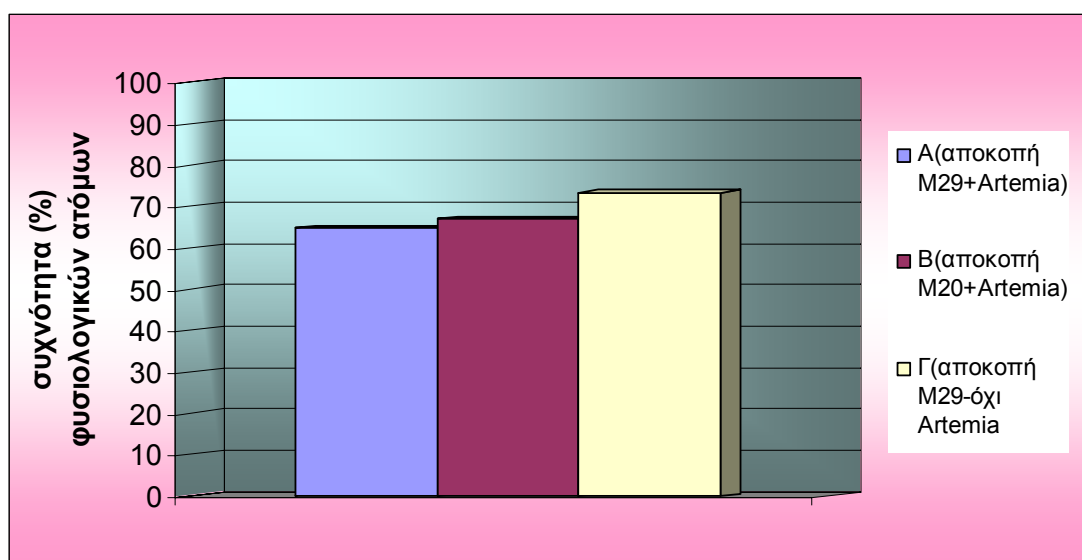
Οι τρεις πειραματικοί πληθυσμοί που εκτράφηκαν με διαφορετικό πρωτόκολλο αποκοπής από τη ζωντανή τροφή εμφάνισαν τους ίδιους τύπους παραμορφώσεων με αυτούς που παρατηρήθηκαν στους πληθυσμούς διαφορετικής ιχθυοφόρτισης, με την εμφάνιση μίας επιπλέον παραμόρφωσης. Εμφάνισαν δηλαδή τις παραμορφώσεις υψηλής σοβαρότητας: σύντηξη (Εικόνα 3.6), λόρδωση, (Εικόνα 3.8), κύφωση (Εικόνα 3.10), μερική έλλειψη ραχιαίου πτερυγίου (ΜΕΡ) (Εικόνα 3.12) καθώς και τις παραμορφώσεις μικρής σοβαρότητας στο ραχιαίο, εδρικό και ουραίο πτερύγιο (Εικόνα 3.14, 3.15 και 3.16 αντίστοιχα). Η επιπλέον παραμόρφωση που εμφανίστηκε ήταν η σκολίωση η οποία εμφανίστηκε ως πλευρική κύρτωση της σπονδυλικής στήλης και αποτελεί παραμόρφωση υψηλής σοβαρότητας.

Η μελέτη των παραμορφώσεων υψηλής έντασης (Εικόνα 3.19) έδειξε την κύφωση να είναι η μόνη παραμόρφωση που εμφανίζεται σε σχετικά μεγάλο ποσοστό και για τα τρία πρωτόκολλα αποκοπής από τη ζωντανή τροφή, σε σχέση με τις υπόλοιπες και την λόρδωση να ακολουθεί. Η σύντηξη, η σκολίωση και η ΜΕΡ εμφανίστηκαν σε σχετικά χαμηλά ποσοστά και για τα 3 πρωτόκολλα. Πιο αναλυτικά, η κύφωση εμφανίστηκε σε ποσοστό 29.7%, 25.6%, και 17.3% για τα πρωτόκολλα Α, Β και Γ, αντίστοιχα. Η λόρδωση εμφανίστηκε σε ποσοστό 11.0 % για το πρωτόκολλο Β, ενώ για τα υπόλοιπα δύο πρωτόκολλα εμφανίστηκε σε μικρότερο, αλλά περίπου το ίδιο ποσοστό (5.4% για το Α και 5.3% για το Γ). Η σύντηξη εμφανίστηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό για το πρωτόκολλο Γ (6.7%) και για τα υπόλοιπα πρωτόκολλα εμφανίστηκε σε ποσοστό 3.7% για το Β και 2.7% για το Α. Η σκολίωση εμφανίστηκε σε ένα ποσοστό 4.9% για το πρωτόκολλο Β και μόλις 1.4% για το Α, ενώ στο πρωτόκολλο Γ δεν εμφανίστηκε καθόλου. Τέλος, η ΜΕΡ εμφανίστηκε μόνο στο πρωτόκολλο Α σε πάρα πολύ μικρό ποσοστό (1.4%) (Εικόνα 3.19).



**Εικόνα 3.19.** Ποσοστό παραμορφωμένων ατόμων στους τρεις πληθυσμούς διαφορετικού πρωτοκόλλου αποκοπής από τη ζωντανή τροφή (Α. αποκοπή την ημέρα 29 Μ.Ε (με *Artemia*), Β. αποκοπή την ημέρα 20 Μ.Ε (με *Artemia*), Γ. αποκοπή την ημέρα 29 Μ.Ε (χωρίς *Artemia*), από την ημέρα 21 μέχρι την ημέρα 34 Μ.Ε. για τους πέντε τύπους παραμόρφωσης υψηλής σοβαρότητας (Σύντηξη, Λόρδωση, Κύφωση, Σκολίωση, Μερική έλλειψη ραχιαίου πτερυγίου (ΜΕΡ). n=231

Μετά από εξέταση των παραμορφώσεων υψηλής σοβαρότητας, τα φυσιολογικά άτομα για τα τρία διαφορετικά πρωτοκόλλα αποκοπής από τη ζωντανή τροφή εμφανίστηκαν με το μεγαλύτερο ποσοστό παρουσίας (73.3%) στο πρωτόκολλο Γ, ακολουθούμενο με μικρή διαφορά από το πρωτόκολλο Β (67.1%) και το πρωτόκολλο Α (64.9 %) (Εικόνα 3.20).



**Εικόνα 3.20.** Ποσοστό παρουσίας φυσιολογικών ατόμων στους τρεις πληθυσμούς διαφορετικού πρωτοκόλλου αποκοπής από τη ζωντανή τροφή (Α. αποκοπή την ημέρα 29 Μ.Ε (με *Artemia*), Β. αποκοπή την ημέρα 20 Μ.Ε (με *Artemia*), Γ. αποκοπή την ημέρα 29 Μ.Ε (χωρίς *Artemia*), από την ημέρα 21 μέχρι την ημέρα 34 Μ.Ε. για τους τύπους παραμόρφωσης υψηλής σοβαρότητας (Σύντηξη, Λόρδωση, Κύφωση, Σκολίωση, Μερική έλλειψη ραχιαίου περυγίου (MEP). n=231



## **4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

---

#### 4.1. Οντογένεση της σπονδυλικής στήλης και του σκελετού των εξαρτημάτων

Οι Τελεόστεοι αποτελούν μια ομάδα με μεγάλη ποικιλομορφία όσον αφορά το στάδιο της πρώτης ανάπτυξης του σκελετού. Σε κάποια είδη, όπως διάφορα Salmonidae (Kendall *et al.* 1984) καθώς και στο *Oryzias latipes* Temminck & Schlegel (Langille & Hall 1987) η ανάπτυξη του σκελετού αρχίζει πολύ πριν την εκκόλαψη, ενώ στο μυλοκόπι (παρούσα μελέτη) και σε άλλα είδη όπως *Pagrus major* Temminck & Schlegel (Matsuoka 1987), *Barbus barbus* L. (Vandewalle *et al.* 1992), *Dicentrarchus labrax* L. (Marino *et al.* 1993, Gluckmann *et al.* 1999), *Sparus aurata* L. (Koumoundouros *et al.* 1997a, Faustino & Power 1998, 1999), *Heterobranchus longifilis* Valenciennes (Vandewalle *et al.* 1997), *Scophthalmus maximus* L. (Wagemans *et al.* 1998), *Chrisichthys auratus* L. (Geoffroy Saint-Hilaire, Vandewalle *et al.* 1997), *Solea solea* L. (Wagemans & Vandewalle 1999), *Dentex dentex* (Koumoundouros *et al.* 1999b, 2000, 2001c), *Diplodus sargus* L., (Koumoundouros *et al.* 2001d), *Pagellus erythrinus* L. (Sfakianakis *et al.* 2004), *Diplodus puntazzo* (Sfakianakis *et al.* 2005, υπό δημοσίευση) δεν υπάρχει κανένα οστεολογικό στοιχείο του σκελετού κατά την εκκόλαψη. Επίσης μεγάλη ποικιλία μεταξύ των ειδών μπορεί να παρουσιαστεί και ως προς την κατάσταση οστεοποίησης, όπου σε κάποια είδη όπως το *Galeichthys felis* (Tilney & Hecht 1993) αρχίζει πριν την εκκόλαψη, ενώ σε άλλα είδη αρκετά μετά (σε όλα τα είδη με ανάπτυξη του κρανίου μετά την εκκόλαψη). Γενικά στους τελεόστεους, τα οστά αντικατάστασης αναπτύσσονται πριν τα μεμβρανικά οστά (Vandewalle *et al.* 1997).

Η αρχή της ανάπτυξης των χονδρογενών στοιχείων της σπονδυλικής στήλης μπορεί να διαφέρει μεταξύ των διαφόρων ειδών. Μπορεί να αρχίσει γύρω από δύο (πρόσθια και οπίσθια) (Sfakianakis *et al.* 2004, 2005 υπό δημοσίευση), τρία (προσθονωτιαία, κεντροκοιλιακά, οπισθοκοιλιακά) (Potthoff *et al.* 1988) ή τέσσερα σημεία κατά μήκος της νωτοχορδής (προσθονωτιαία, κεντροκοιλιακά, κεντρονωτιαία, οπισθοκοιλιακά) (Potthoff *et al.* 1984, 1986, Matsuoka 1987, Potthoff & Tellock 1993, Faustino & Power 1998, Koumoundouros *et al.* 1999b, 2001d). Στο μυλοκόπι (παρούσα εργασία) δεν παρουσιάστηκαν πέραν του ενός σημείου ανάπτυξης των χονδρογενών στοιχείων της σπονδυλικής στήλης, το οποίο εμφανίστηκε στην αρχή της σπονδυλικής στήλης και η ανάπτυξη συντελούνταν με κοιλιακή κατεύθυνση.

Η οστεοποίηση των κέντρων των σπονδύλων στα περισσότερα Perciformes, ξεκινάει από τον πρώτο και κινείται οπίσθια μέχρι τα προουραία κέντρα, ενώ,

αντίθετα, από το ουρόστυλο μέχρι το πιο πρόσθιο προουραίο κέντρο κινείται προς τα εμπρός (Houde & Potthoff 1976, Mook 1977, Potthoff *et al.* 1986, 1987, 1988, Watson 1987, Matsuoka 1987, Watson & Walker 1992, Potthoff & Tellock 1993, Faustino & Power 1998, Koumoundouros *et al.* 1999b). Παρόλα αυτά, έχει βρεθεί σε είδη της οικογένειας των Sparidae (*Archosargus rhomboidalis*, Houde & Potthoff 1976, *P. major*, Matsuoka 1987, *S. aurata*, Faustino & Power 1998, *D. dentex*, Koumoundouros *et al.* 1999b, *D. sargus*, Koumoundouros *et al.* 2001d, *P. erythrinus*, Sfakianakis *et al.* 2004, *D. puntazzo*, Sfakianakis *et al.* 2005 (υπό δημοσίευση), το πρώτο κέντρο να αρχίζει να οστεοποιείται πολύ μετά το δεύτερο. Επιπλέον, στο *D. puntazzo* (Sfakianakis *et al.* 2005, υπό δημοσίευση) το ουρόστυλο παρουσιάζει ταυτόχρονη εμφάνιση με τον U13 ενώ η οντογένεση των υπόλοιπων κέντρων προχωράει οπίσθια μέχρι και το τελευταίο. Στα Clupeiformes, η διαδοχή οστεοποίησης των κέντρων των σπονδύλων είναι διαφορετική. Πρώτα οστεοποιούνται τα προουραία κέντρα και στη συνέχεια τα ενδιάμεσα με ταυτόχρονη πρόσθια και οπίσθια κατεύθυνση (Richards *et al.* 1974). Στο μυλοκόπι (παρούσα εργασία), η οστεοποίηση των κέντρων των σπονδύλων δεν εμφανίζει κανένα από τα παραπάνω πρότυπα διαδοχής. Ξεκινάει με τον πρώτο σπόνδυλο και συνεχίζει με μια οπίσθια πορεία κατεύθυνσης μέχρι και το 24<sup>ο</sup> κέντρο, ενώ το ουρόστυλο οστεοποιείται ταυτόχρονα με τον U21.

Στο μυλοκόπι, ενώ οι κοιλιακές του πλευρές ακολουθούν την διάταξη όλων των υπόλοιπων Percoidae, με 8 πλευρές στους σπονδύλους 3-10 (Johnson 1981), οι νωτιαίες του πλευρές (U1-U7) διαφέρουν από τα υπόλοιπα Percoidae. Δεν παρουσιάζει νωτιαίες πλευρές στους αιματικούς σπονδύλους, διάταξη συνήθης για τα Perciformes (Houde & Potthoff 1976, Matsuoka 1987, Watson 1987, Potthoff *et al.* 1987, Koumoundouros *et al.* 1999b, 2001d, Sfakianakis *et al.* 2004, 2005, υπό δημοσίευση).

Η ανάπτυξη των πτερυγίων του μυλοκοπιού ακολουθεί το βασικό πρότυπο των περισσότερων Percoidae (ανασκόπηση από Potthoff & Tellock 1993). Σύμφωνα με το πρότυπο αυτό, το ουραίο είναι το πρώτο πτερύγιο που αναπτύσσει ακτίνες και αποκτά τον πλήρη αριθμό λεπιδοτριχίων, αλλά το τελευταίο που συμπληρώνει τον πλήρη αριθμό τους με την ολοκλήρωση του αριθμού των δερματοτριχίων. Ακολουθεί ο σχηματισμός των ακτινών του ραχιαίου και του εδρικού, που αποτελούν τα πρώτα πτερύγια στα οποία ολοκληρώνεται ο μεριστικός αριθμός τους στα περισσότερα Perciformes. Τα θωρακικά και τα κοιλιακά πτερύγια παρουσιάζουν ακτίνες

τελευταία, αλλά ολοκληρώνουν την ανάπτυξη τους πριν από το ουραίο πτερύγιο. Εξαιρέσεις του πιο πάνω προτύπου αποτελούν τάξα όπως το *Lutjanus* (Potthoff *et al.* 1988) και μέλη των οικογενειών *Pempheridae* και *Serranidae* (Leis & Rennis 1983, Johnson 1984), όπου ανάπτυξη των ακτινών του ουραίου πτερυγίου αρχίζει μετά αυτήν των υπόλοιπων μονών πτερυγίων. Επίσης, σε μερικά *Blennidae* (Watson 1987) και *Scorpaenidae* (Neira 1989), τα πτερύγια που εμφανίζουν πρώτα ακτίνες είναι τα θωρακικά. Η διατήρηση της οντογενετικής σειράς παρόλα αυτά, σχετίζεται πιθανότατα με τις παρόμοιες απαιτήσεις των ειδών για επιβίωση στα πρώτα στάδια της ζωής τους.

Το σύμπλεγμα του ουραίου πτερυγίου στο μυλοκόπι, ακολουθεί το βασικό αρχέγονο πρότυπο των *Percoidei* (Johnson 1984), με 9+8 κύριες ακτίνες, ένα παρυπουραίο, πέντε υποουραία, τρία επουραία, δύο ζεύγη ουρονευρικά οστά, το ουρόστυλο, δύο προουραία κέντρα και τις νευρικές και αιματικές αποφύσεις, χωρίς να υπάρχει καμία σύντηξη μεταξύ των στοιχείων αυτών. Οι φυλογενετικές αλλαγές του ουραίου συμπλέγματος συνήθως περιλαμβάνουν συντήξεις μεταξύ των υποουραίων (Hy1-Hy2, Hy3-Hy4), απώλεια του οπίσθιου ζεύγους ουρονευρικών, και λιγότερο συχνά, απώλεια 1-3 επουραίων, διάφορους συνδυασμούς συντήξεων ανάμεσα στα υποουραία και στο παρυπουραίο και/ή το ουρόστυλο, απώλεια ή σύντηξη του πρόσθιου ζεύγους ουρονευρικών, και συντήξεις των αιματικών ακάνθων (Johnson 1984). Σύμφωνα με τον Johnson, (1981) όλες αυτές οι αλλαγές έχουν άμεση σχέση με μια πιο ενεργή κολύμβηση.

Κατά την οντογένεση του ουραίου του μυλοκοπιού, παρατηρείται σύντηξη της βάσης του παρυπουραίου οστού με το πρώτο και δεύτερο υποουραίο οστό που σε μετέπειτα στάδιο διαχωρίζονται μεταξύ τους. Παρόμοια σύντηξη έτσι όπως παρατηρήθηκε στην παρούσα μελέτη έχει παρατηρηθεί και για διάφορα *Sparidae* όπως το *S. aurata* (Koumoundouros *et al.* 1997a), το *D. dentex*, (Koumoundouros *et al.* 1999b), και το *D. sargus* (Koumoundouros *et al.* 2001d). Παρόμοιες συντήξεις έχουν παρατηρηθεί και σε άλλα είδη μεταξύ των *Percoidei*. Έχει βρεθεί ταυτόχρονη σύντηξη μεταξύ του πρώτου και δεύτερου υποουραίου (1+2) και μεταξύ των υποουραίων 3, 4, και 5 (3+4+5) σε πρώιμα στάδια της ανάπτυξης στο *Seriola dumerili* (Liu 2001) και σε μετέπειτα στάδια στα *Lutjanus campehanus* (Potthoff *et al.* 1988), *Anisotremus davidsoni* (Watson & Walker 1992), *Pagrus major* (Matsuoka 1982), *Pomacanthus arcuatus* (Kelley 1995) και *Coryphaena equiselis* (Potthoff 1980). Επίσης, έχει παρατηρηθεί σύντηξη του παρυπουραίου οστού με το πρώτο υποουραίο

οστό από τα πρώιμα στάδια των οικογενειών Pomacanthis, Coryphaenids και Haemulids. Παρόλα αυτά υπάρχουν πολλές οικογένειες στις οποίες δεν συμβαίνει τέτοια σύντηξη (PrH+Hy1) ούτε σε μετέπειτα στάδια, ούτε ακόμη σε ενήλικα, όπως Carangids και Lutjanids. Η σύντηξη στοιχείων του ουραίου συμπλέγματος κατέχει σημαντική θέση σε φυλογενετικές μελέτες. Πιο παλιά, θεωρείτο ότι η σύντηξη των υποουραίων οστών σε πρώιμο αναπτυξιακό στάδιο για το σχηματισμό ενιαίας πλάκας ήταν προϊόν εξελιγμένης φυλογενετικά κατάστασης (Gosline 1961).

Το πιο κοινό πρότυπο ανάπτυξης των Perciformes όσον αφορά το εδρικό και ραχιαίο πτερύγιο, είναι το εδρικό και οπίσθιο μέρος του ραχιαίου πτερυγίου να αρχίζουν να σχηματίζονται πριν το πρόσθιο μέρος του ραχιαίου πτερυγίου και επίσης να εμφανίζουν το stay (Johnson 1984, Potthoff *et al.* 1984, Watson & Walker 1992, Faustino & Power 1999, Koumoundouros *et al.* 2001c, d, Sfakianakis *et al.* 2004, 2005, υπό δημοσίευση). Εκτός από το stay, το μυλοκόπι δεν συμβαδίζει με το κοινό αυτό πρότυπο ανάπτυξης αφού αρχίζει ταυτόχρονα τόσο τον σχηματισμό του “πρόσθιου” και “οπίσθιου” μέρους του ραχιαίου, όσο και τον σχηματισμό του εδρικού πτερυγίου. Παρόλα, αυτά τόσο στο ραχιαίο όσο και στο εδρικό πτερύγιο παρατηρήθηκαν κέντρα ανάπτυξης από τα οποία η ανάπτυξη των στηρικτικών οστών και των ακτινών προχωρούσε πρόσθια και οπίσθια από αυτά. Τα εγγύς και τα άπω πτερυγιοφόρα στο μυλοκόπι, όπως και σε πολλά είδη ψαριών (Potthoff 1975, 1980, Potthoff *et al.* 1980, Potthoff & Kelly 1982, Kohno & Taki 1983, Potthoff *et al.* 1984, 1987, 1988, αναθεώρηση από Potthoff & Tellock 1993, Matsuoka 1987, Faustino & Power 1999, Koumoundouros *et al.* 2001c, d, Sfakianakis *et al.* 2004, 2005, υπό δημοσίευση), προέρχονται από διαφορετικά χονδρογενή στοιχεία.

Η παρουσία του επικορακοειδούς τρήματος αποτελεί τυπικό χαρακτηριστικό των Perciformes. Σε αντίθεση με μελέτες πολλών ειδών ψαριών (Houde & Potthoff 1976, Potthoff *et al.* 1984, 1988, Matsuoka 1987, Watson 1987, Watson & Walker 1992, Faustino & Power 1999, Koumoundouros *et al.* 2001c, d, Sfakianakis *et al.* 2004, 2005, υπό δημοσίευση) η παρούσα μελέτη στο μυλοκόπι, έδειξε επιπλέον τρήμα στο κορακοειδές οστό. Το τρήμα στο κορακοειδές, έχει δειχθεί και στα Pomacentrids, πολλά Lambroids και άλλα taxa (Emery 1973, Taki *et al.* 1986, Potthoff *et al.* 1987, Potthoff & Tellock 1993).

Η κατεύθυνση της ανάπτυξης των κοιλιακών πτερυγίων όπως περιγράφηκε στην παρούσα εργασία για το μυλοκόπι, αποτελεί άλλο ένα κοινό χαρακτηριστικό των Perciformes (Potthoff *et al.* 1987). Παρόλα αυτά υπάρχουν ομάδες ψαριών όπως

για παράδειγμα ο *Xiphias gladius* που δεν έχουν καθόλου κοιλιακά πτερύγια (Potthoff & Kelly 1982). Ενώ η παρουσία του μεταπτερυγίου στα κοιλιακά πτερύγια του μυλοκοπιού έχει αναφερθεί ξανά για τα Perciformes (Matsuoka 1987, Johnson 1992, Potthoff & Tellock 1993, Koumoundouros *et al.* 2001c, d, Sfakianakis *et al.* 2004, 2005, υπό δημοσίευση), η παρουσία του δεύτερου χόνδρου που παρατηρήθηκε επίσης στα κοιλιακά πτερύγια στην παρούσα εργασία δεν έχει αναφερθεί ξανά.

Οι πιο πολλές μελέτες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα για την οστεολογία αναφέρονται στην οικογένεια των Sparidae. Για την οικογένεια των Sciaenidae υπάρχει μόνο μία αναφορά για ένα είδος που συναντάται κυρίως στη Νότια Αφρική, το *Argyrosomus hololepidotus* (Beckley 1990), όπου τα δείγματα για την μελέτη του συλλέχθηκαν από το φυσικό περιβάλλον. Παρατηρήθηκαν ομοιότητες στην διαδοχή ανάπτυξης κάποιων στοιχείων. Συγκεκριμένα, το κλείθρο εμφανίστηκε να είναι το πρώτο μεμβρανικό στοιχείο που εμφανίζεται, οι πρώτες δύο νευρικές άκανθες εμφανίζονται πριν την έναρξη οστεοποίησης των κέντρων των σπονδύλων, το ουραίο πτερύγιο εμφανίζει 9+8 κύριες ακτίνες, τα θωρακικά πτερύγια εμφανίζουν 17-18 λεπιδοτρίχια, εμφανίζει 11 σκληρές ακτίνες στο ραχιαίο πτερύγιο και παρουσιάζει μόνο 2 σκληρές ακτίνες στο εδρικό πτερύγιο σε αντίθεση με τα Sparidae τα οποία εμφανίζουν συνήθως τρεις σκληρές ακτίνες. Το *A. hololepidotus*, παρόλα αυτά αναφέρεται ότι εμφανίζει 19 αιματικές αποφύσεις, ενώ το μυλοκόπι εμφανίζει 14 αιματικές αποφύσεις. Επίσης το *A. hololepidotus* εμφανίζει 26-28 τελικό αριθμό λεπιδοτριχίων στο ραχιαίο πτερύγιο, ενώ το μυλοκόπι παρουσιάζει 22-25 λεπιδοτρίχια. Τέλος, ενώ και στα δύο είδη στοιχεία των θωρακικών πτερυγίων εμφανίστηκαν πρώτα, η σειρά ολοκλήρωσης των πτερυγίων είναι ουραίο, ραχιαίο, εδρικό, θωρακικά, κοιλιακά για το *A. hololepidotus* και ραχιαίο, εδρικό, κοιλιακά, θωρακικά και ουραίο για το μυλοκόπι.

Η ταχύτητα εξέλιξης του σκελετού (ολοκλήρωση των στοιχείων του σκελετού σε σχέση με το μήκος) ενός υποψήφιου είδους παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για την προοπτική ένταξης του στην Ιχθυοκαλλιέργεια. Οι Sfakianakis *et al.* 2004 έδειξαν ότι η ειδοειδική διακύμανση στην αναπτυξιακή ταχύτητα του σκελετού λόγω θερμοκρασίας είναι αρκετά μεγάλη. Επιπλέον, οι Koumoundouros *et al.* (1999b), έδειξαν ότι μικρές διαφοροποιήσεις στην μεθοδολογία της σύλληψης, της συντήρησης και της μέτρησης του μήκους μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά το μέγεθος και τις σχετικές διαστάσεις του σώματος. Σύμφωνα με τα παραπάνω, η άμεση σύγκριση της ταχύτητας εξέλιξης του σκελετού μεταξύ ειδών που προέρχονται

από διαφορετικές μελέτες δεν οδηγεί σε ασφαλές συμπέρασμα. Ως εκ τούτου λοιπόν αν και το μυλοκόπι (παρούσα εργασία) δείχνει να είναι “γρηγορότερο” από άλλα είδη που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα (Richards *et al.* 1974, Houde & Potthoff 1976, Mook 1977, Johnson 1981, 1984, Leis & Rennis 1983, Kendall *et al.* 1984, Potthoff *et al.* 1984, 1986, 1987, 1988, Matsuoka 1987, Watson 1987, Langille & Hall 1987, Potthoff *et al.* 1988, Neira 1989, Watson & Walker 1992, Vandewalle *et al.* 1992, 1997, Potthoff & Tellock 1993, Tilney & Hecht 1993, Marino *et al.* 1993, Koumoundouros *et al.* 1997a, 1999b, 2000, 2001c, 2001d, Faustino & Power 1998, 1999, Wagemans *et al.* 1998, Wagemans & Vandewalle 1999, Gluckmann *et al.* 1999, Sfakianakis *et al.* 2004, 2005, υπό δημοσίευση) αυτό δεν μπορεί να τεκμηριωθεί.

Η χρήση εκτρεφόμενων νυμφών για την μελέτη της ανάπτυξης του σκελετού έχει προταθεί από πολλούς μελετητές ως μια λύση στα προβλήματα που προκύπτουν από την συλλογή των δειγμάτων από το άγριο περιβάλλον (Blaxter 1984, Cohen 1984, Hunter 1984), αλλά αυτή η προσέγγιση δεν είναι αλάνθαστη, καθώς έχει δειχθεί ότι οι συνθήκες εκτροφής μπορούν να επηρεάσουν την ανάπτυξη (Hunter 1984, Divanach 1985, Blaxter 1988, Koumoundouros *et al.* 1999a) και κυρίως την οστεολογία (Matsuoka 1987, Wimberger 1993, Koumoundouros *et al.* 1997a) και την μεριστική διαφοροποίηση (Lau & Shafland 1982, Matsuoka 1987). Σημαντική λύση στο πρόβλημα, δίνει η εκτατική μέθοδος εκτροφής της οποίας οι συνθήκες θεωρούνται πολύ όμοιες με αυτές του φυσικού περιβάλλοντος (Divanach & Kentouri 1983, Kentouri 1985, Danielssen *et al.* 1990), και τα παραγόμενα ιχθύδια σπάνια εμφανίζουν μορφοανατομικές αποκλίσεις από το φυσιολογικό πρότυπο (Divanach 1985, Danielssen *et al.* 1990, Koumoundouros *et al.* 1997a).

Τόσο για την αλιεία όσο και για την ιχθυοκαλλιέργεια, η οστεολογική ανάπτυξη βοηθάει στην καλύτερη κατανόηση των λειτουργιών και των περιβαλλοντικών προτιμήσεων των διαφόρων αναπτυξιακών σταδίων (Fukuhara 1992). Επιπλέον, για την ιχθυοκαλλιέργεια, η ακριβής γνώση της ανάπτυξης του σκελετού των ψαριών αποτελεί εφόδιο για την έγκαιρη εκτίμηση της ποιότητας των εκτρεφόμενων ιχθυδίων και την πρόληψη σκελετικών παραμορφώσεων που είναι αρκετά συχνές στις συνθήκες εκτροφής (Divanach *et al.* 1996, 1997, Koumoundouros *et al.* 1997a, b). Επειδή οι παραμορφώσεις μπορούν να εμφανιστούν σε όλα τα ανατομικά μέρη του σκελετού (ανασκόπηση από Divanach *et al.* 1996) καθίσταται επιτακτική η λεπτομερής μελέτη και γνώση όλων των οστεολογικών στοιχείων που σε συνδυασμό με την μορφομετρία και την ηθολογία, μπορεί να συνεισφέρει στην

καλύτερη κατανόηση της συστηματικής και της οικολογίας των ειδών, καθώς και των απαιτήσεων και αναγκών τους σε συνθήκες ιχθυοκαλλιέργειας. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν η σπονδυλική στήλη και τα πτερύγια όπου και εμφανίζονται συχνότερα και σε μεγαλύτερη ένταση οι παραμορφώσεις (Divanach *et al.* 1996). Για μια όμως πιο ολοκληρωμένη εικόνα του φυσιολογικού προτύπου ανάπτυξης της οστεολογίας του μυλοκοπιού, παραμένει να μελετηθεί και η φυσιολογική ανάπτυξη των οστών του σπλαγνοκρανίου και του νευροκρανίου.

Τα αποτελέσματα της μελέτης του προτύπου της φυσιολογικής ανάπτυξης του σκελετού του μυλοκοπιού, μπορούν να συμβάλουν στον προσδιορισμό των αρχικών σταδίων ανάπτυξης διαφόρων σκελετικών παραμορφώσεων, και έτσι στον πιθανό αποκλεισμό πολλών γενεσιουργών παραγόντων, οι οποίοι έχουν αποδειχθεί ότι ευθύνονται για την ανάπτυξη συγκεκριμένων ανωμαλιών. Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι η περιγραφή, που έγινε στην παρούσα εργασία, της φυσιολογικής ανάπτυξης του σκελετού στο μυλοκόπι, είναι η πρώτη από την οικογένεια Sciaenidae της περιοχής της Μεσογείου και η δεύτερη για Scianidae παγκοσμίως.

## **4.2. Σκελετικές παραμορφώσεις**

### **4.2.1. Περιγραφή και εξέλιξη παραμορφώσεων**

Οι μορφο-ανατομικές παραμορφώσεις θεωρούνται ως το πιο σημαντικό πρόβλημα ποιότητας στην Μεσογειακή ιχθυοκαλλιέργεια. Γενικότερα, αναπτύσσονται λόγω της ανεπαρκούς γνώσης των βέλτιστων περιβαλλοντικών προτιμήσεων κατά τα διάφορα αναπτυξιακά στάδια ζωής των εκτρεφόμενων ειδών. Ως αποτέλεσμα, και παρόλη την πρόοδο που έχει γίνει στις μεθόδους εκτροφής, την διατροφή, και τον έλεγχο των ασθενειών, οι μορφο-ανατομικές παραμορφώσεις συνεχίζουν σήμερα να επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τους εκτρεφόμενους πληθυσμούς (Koumoundouros *et al.* 2002, 2004, Planas & Cunha 1999, Boglione *et al.* 2003, Cahu *et al.* 2003, Sfakianakis *et al.* 2004). Ιδιαίτερα για είδη όπως το μυλοκόπι με άγνωστη βιολογία και περιβαλλοντικά εύρη βέλτιστης ανάπτυξης. Οι σκελετικές παραμορφώσεις, όπως οι αξονικές -σκολίωση, λόρδωση, κύφωση, συσπειρωμένη σπονδυλική στήλη-, ελλειπείς ή πρόσθετες ακτίνες πτερυγίων, κυρτωμένα επικαλύμματα ή παραμορφώσεις των σιαγόνων και άλλες, αποτελούν την



ομάδα παραμορφώσεων με την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης σε εκτρεφόμενες νύμφες. Οι παραμορφώσεις της σπονδυλικής στήλης αποτελούν τις πιο σημαντικές σκελετικές παραμορφώσεις, αφού έχουν αναφερθεί σε υψηλή συχνότητα σε πολλά είδη, κάτω από φυσικές συνθήκες και/ή συνθήκες εκτροφής (ανασκόπηση από Divanach *et al.* 1996). Ο εντοπισμός του σταδίου εκκίνησης κάθε παραμόρφωσης αλλά και η πορεία της μέσα από τα διάφορα στάδια ανάπτυξης έχει μεγάλη σημασία για την πρόμνη διάγνωση και έγκαιρη εξάλειψη των πασχόντων ατόμων και την καλύτερη κατανόηση των γενεσιουργών παραγόντων. Παρόλα αυτά μόνο μερικές μελέτες έχουν αναφερθεί να περιγράφουν σκελετικές παραμορφώσεις από το στάδιο γένεσης τους και καθ' όλη την ανάπτυξη τους (Ishikawa 1990, Kiriakos *et al.* 1994, Sfakianakis *et al.* 2005, submitted).

Ανάμεσα στις παραμορφώσεις υψηλής σοβαρότητας που παρατηρήθηκαν στην παρούσα εργασία, η πιο κοινή ήταν η σύντηξη σπονδύλων, δείχνοντας ότι η ανάπτυξη τέτοιων δομών μπορεί να είναι η πιο ευπαθής στις συνθήκες εκτροφής, όπως είναι η ιχθυοφόρτιση. Παρόμοιο αποτέλεσμα αναφέρθηκε για τη *Solea senegalensis* (Gavaia 2002). Αυτές οι παραμορφώσεις είναι ανάμεσα στις πιο εμφανείς, καθώς μπορούν να αλλάξουν το σχήμα και το μήκος του ψαριού, ανάλογα με την σοβαρότητα και τον αριθμό των επηρεασμένων δομών, και συνεπώς, το κάνουν λιγότερο ελκυστικό για τον καταναλωτή. Στην βράχυνση της σπονδυλικής στήλης που είχε περιγραφεί στο σολομό υπήρχε υποψία ότι οφειλόταν σε μόλυνση (Kvellingstad *et al.* 2000). Κάποιες άλλες μελέτες σε ιχθύδια καλκανιού (*Japanese flounder*) εκτρεφόμενα σε αιχμαλωσία, απέδειξαν ότι συντήξεις συνέβαιναν επίσης σε υψηλή συχνότητα και σε άλλα μέρη του σκελετού εκτός των σπονδύλων, όπως το ουραίο σύμπλεγμα οστών, στο οποίο είχαν εντοπιστεί σε παρουσία 30–60% του ολικού αριθμού των παραμορφώσεων που είχαν παρατηρηθεί στο ουραίο πτερύγιο (Hosoya & Kawamura 1995, 1998). Το γεγονός ότι η σύντηξη στην παρούσα μελέτη εμφανίστηκε και για τους δύο πληθυσμούς διαφορετικής ιχθυοφόρτισης την ημέρα 13 Μ.Ε, υποδηλώνει ότι πιθανότατα τότε είναι που εμφανίζονται και οι σπόνδυλοι. Η αύξηση της συχνότητας εμφάνισης και η μετέπειτα μείωση της και για τους δύο πληθυσμούς διαφορετικής ιχθυοφόρτισης οφείλεται πιθανότατα στον μικρό αριθμό δειγμάτων και την δειγματοληπτική τυχαιότητα. Επίσης, η σύντηξη εμφάνισε μία συνεχή παρουσία μέχρι το τέλος της μελέτης γεγονός που δείχνει ότι η παραμόρφωση αυτή δεν έχει θνησιγόνα δράση.

Η λόρδωση εμφανίστηκε επίσης την ημέρα 13 Μ.Ε και για τους δύο πληθυσμούς διαφορετικής ιχθυοφόρτισης, γύρω από την ημέρα που πιθανότατα ολοκληρώνεται η σπονδυλική στήλη. Επιπροσθέτως, υπήρχε μια σαφής μείωση των λорδωτικών ατόμων με το χρόνο και για τις δύο ιχθυοφορτίσεις. Το τελευταίο υποδηλώνει ότι η παραμόρφωση πιθανότατα οδηγεί σε θνησιμότητα σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια και συνιστά μία από τις πιο σοβαρές παραμορφώσεις. Σε μελέτες για εκτρεφόμενα ψάρια που πραγματεύονται τη λόρδωση και άλλες σκελετικές ανωμαλίες δείχνουν ότι αυτή η παραμόρφωση μπορεί να προέλθει λόγω διαφόρων γενεσιουργών παραγόντων. Για παράδειγμα, η λόρδωση στο λαβράκι είχε συσχετιστεί με την υδροδυναμική των δεξαμενών εκτροφής, συγκεκριμένα την ένταση του ρεύματος του νερού (Divanach *et al.* 1997). Επιπροσθέτως, έμμεσες διατροφικές ανεπάρκειες, μέσω διαταραχής της φυσιολογίας της πέψης ή προβλήματα υγιεινής στην παραγωγή των τροφών, έχουν εμπλακεί στην επαγωγή λόρδωσης σε ιχθύδια λαβρακιού (Person-Le Ruyet 1989).

Η αιματική λόρδωση – η λόρδωση που εμφανίζεται στην αιματική περιοχή της σπονδυλικής στήλης- ήταν αρχικά η πιο σοβαρή σπονδυλική παραμόρφωση στην εκτροφή του λαβρακιού, αλλά η έρευνα πάνω στο ρόλο της πλήρωσης της νηκτικής κύστης (Chatain 1986, 1987, 1994a, Chatain & Ounais-Guschemann 1990) και την ταχύτητα κίνησης του νερού (Divanach *et al.* 1997) συντέλεσε σημαντικά στον έλεγχο της. Πρόσφατα οι Sfakianakis *et al.* (2005, submitted), έδειξαν ότι σημαντικός γενεσιουργός παράγοντας της αιματικής λόρδωσης είναι η θερμοκρασία ανάπτυξης και η ένταση της κολύμβησης. Από την άλλη, υπάρχει λίγη πληροφορία για τις υπόλοιπες παραμορφώσεις της σπονδυλικής στήλης και κυρίως για την κύφωση (Λ-σχήματος κάμψη στο κατακόρυφο επίπεδο), η οποία μπορεί να επηρεάσει ένα σημαντικό ποσοστό ιχθυδίων λαβρακιού με λειτουργικές νηκτικές κύστες (Boglione *et al.* 1995). Αποδεδειγμένως, αυτή η παραμόρφωση είναι τώρα θεραπεύσιμη, για πολλά ψάρια, με την εισαγωγή των ειδικών συσκευών καθαρισμού της επιφάνειας του νερού (Charman *et al.* 1988) που εμποδίζει το φιλμ λαδιού στην διεπιφάνεια νερού-αέρα, επιτρέποντας στις νύμφες να ενεργοποιήσουν τις νηκτικές τους κύστες με την εισρόφιση αέρα από την επιφάνεια. Στην περίπτωση του μυλοκοπιού, η πλήρωση της νηκτικής κύστης γίνεται πριν την έναρξη της ετερότροφης φάσης κατά την περίοδο δηλαδή που η επιφάνεια του νερού είναι καθαρή, έτσι απουσία ειδικών

συσκευών καθαρισμού της επιφάνειας του νερού κατά την έναρξη της χορήγησης τροφής δεν μπορεί να επηρεάσει την νηκτική κύστη των νυμφών.

Η κύφωση είναι μία πολύ κοινή σκελετική παραμόρφωση για διάφορα είδη ψαριών, και έχει αποδοθεί σε παράσιτα Myxosporean σε κάποια ψάρια (Langdon 1987, Lom *et al.* 1991, Treasurer 1992), σε διατροφικές ανεπάρκειες (Mahajan & Agrawal 1980, Furuichi *et al.* 1997), σε ρυπαντές (Muramoto 1981, Van Leeuwen *et al.* 1986, Pohl 1990, Lemly 1993, Kingsford *et al.* 1996) ή σε αγνώστου ταυτότητας παράγοντες (Boglione *et al.* 1995, 2001, Divanach *et al.* 1996, Ferreri *et al.* 2000). Ένδειξη κληρονομικότητας των σκελετικών παραμορφώσεων στα ψάρια είναι σπάνια (Divanach *et al.* 1996). Σχετικά πρόσφατα, οι Afonso *et al.* (2000), έδειξαν ότι μια σπονδυλική ανωμαλία που συνίσταται από μία αλληπάλληλη επανάληψη λόρδωσης, σκολίωσης και κύφωσης (σύνδρομο LSK) στην τσιπούρα μπορεί να είναι γενετικά καθορισμένη. Στην παρούσα μελέτη, παρόλο που η κύφωση δεν είχε εμφανιστεί ως μέρος του LSK συνδρόμου, η υπόθεση της έμμεσης γενετικής ανάμιξης δεν μπορεί να αποκλειστεί.

Οι Koumoundouros *et al.* (2002), έδειξαν στο λαβράκι, για πρώτη φορά, ότι παρόλο που μια σκελετική παραμόρφωση μπορεί να έχει μικρή επίδραση στην τελική ποιότητα των εκτρεφόμενων ιχθυδίων, μπορεί να επηρεάσει σημαντικά το ποσοστό θνησιμότητας, και έτσι την παραγωγικότητα των ιχθυοτροφείων. Επιπροσθέτως οι Koumoundouros *et al.* (2002) βρήκαν ότι η προ-αιματική κύφωση στο λαβράκι αναπτύσσεται κατά το νυμφικό στάδιο, ενώ στο επόμενο στάδιο (μεταμόρφωση) είναι θνησιγόνα για τα παραμορφωμένα ψάρια. Η προ-αιματική κύφωση βρέθηκε υψηλά συσχετιζόμενη με την αιματική λόρδωση σε εκτρεφόμενα ιχθύδια λαβρακιού (Boglione *et al.* 1995). Οι παραμορφώσεις της νωτοχορδής που προκαλούνται από μη ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες ή από αγνώστου ταυτότητος παράγοντες έχουν συχνά ενοχοποιηθεί για επαγωγή παραμορφώσεων του άξονα (Van Leeuwen *et al.* 1986, Kiriakos *et al.* 1994, Andrades *et al.* 1996, Koumoundouros *et al.* 1997a). Όσον αφορά την κύφωση στο μυλοκόπι, από τα παρόντα αποτελέσματα δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα διότι εμφάνισε μία σποραδική συχνότητα εμφάνισης σε τυχαίες μέρες.

Η μερική έλλειψη ραχιαίου πτερυγίου (MEP) (ή αλλιώς σύνδρομο Saddleback - Sdlbk) που περιγράφηκε για πρώτη φορά στην μπλε τιλάπια (*Oreochromis aureus* L.) από τους Tave *et al.* (1983) δεν πρέπει να συγχυστεί με την παθολογία ασθένεια saddleback που περιλαμβάνει αλλοίωση του χρωματισμού του σώματος και

σωματικές κακώσεις (Morrison *et al.* 1981). Αυτή η σκελετική παραμόρφωση χαρακτηρίζεται από μεγάλη μεταβλητότητα, παρουσιάζοντας συνεχόμενη κατανομή από την απλή έλλειψη μόνο της πρώτης ραχιαίας ακτίνας έως και την πλήρη έλλειψη του ραχιαίου πτερυγίου και μια ταυτόχρονη έλλειψη των αντίστοιχων πτερυγιοφόρων. Η παραμόρφωση αυτή μπορεί επίσης να εμφανιστεί και σε άλλες μορφές. Αυτή η ανωμαλία είχε πρόσφατα περιγραφεί στο red pandora (*Pagellus bellottii bellottii* L.) από τους Boglione *et al.* (2003) ως μία παραμόρφωση που εμφανίζεται στην μεταβατική ζώνη μεταξύ των περιοχών των σκληρών και των μαλακών ακτινών του ραχιαίου πτερυγίου, με πτερυγιοφόρα και ακτίνες παρούσες, παρότι παραμορφωμένα, ενώ στην συναγρίδα (*Dentex dentex* L.), οι Koumoundouros *et al.* (2001b) το περιέγραψαν ως απουσία μίας έως όλων των σκληρών ακτινών και των σχετικών πτερυγιοφόρων. Πιο πρόσφατα, η εμφάνιση παραμόρφωσης τύπου MEP στο σαργό (*D. sargus*) χαρακτηρίστηκε από τους Sfakianakis *et al.* (2003), ως παραμόρφωση V κάμψης της ραχιαίας γραμμής με παραμορφωμένα, μετατοπισμένα και συντηγμένα με την εγγύς νευρικές άκανθες πτερυγιοφόρα και σε συνδυασμό με παραμορφώσεις των στοιχείων της σπονδυλικής στήλης. Στην παρούσα εργασία, τα παραμορφωμένα ψάρια εμφάνισαν απουσία κάποιων στοιχείων του ραχιαίου πτερυγίου, συντηγμένα πτερυγιοφόρα και μία κάμψη της ραχιαίας γραμμής του σώματος που άλλοτε ήταν πιο ελαφριά και άλλοτε πιο οξεία. Η παρουσία της παραμόρφωσης MEP ήταν σποραδική και χωρίς συγκεκριμένο πρότυπο με μοναδικό κοινό στοιχείο μεταξύ των δύο πληθυσμών διαφορετικής ιχθυοφόρτισης την παρουσία την ημέρα 19 Μ.Ε

Παρόλο που η MEP έχει αναφερθεί σε μια ποικιλία ειδών ψαριών τόσο υπό φυσικές συνθήκες (Browder *et al.* 1993, Lemly 1993, Honma 1994) όσο και υπό συνθήκες εκτροφής (Komada 1980, Tave *et al.* 1983, Valente 1988, Efthimiou 1996), οι γενεσιουργοί παράγοντες έχουν προσδιοριστεί μόνο σε μερικές περιπτώσεις. Η MEP έδειξε να έχει κληρονομική βάση στην εκτρεφόμενη μπλε τιλάπια, (Tave 1986, Tave *et al.* 1983), ενώ κάτω από φυσικές συνθήκες η ανάπτυξη της MEP είχε αποδοθεί σε ρύπανση από σελήνιο (Lemly 1993). Επιπλέον, στην μελέτη των Koumoundouros *et al.* (2001b) η παραμόρφωση αυτή είχε περιγραφεί ως ανατομικά και οντογενετικά συσχετιζόμενη με σοβαρής μορφής παραμορφώσεις στο ουραίο πτερύγιο και απόδωσαν την ανάπτυξη της σε ανωμαλίες της πρωτογενούς περιφερειακής πτερυγιοπτυχής, ενώ στην μελέτη των Boglione *et al.* (2003) η MEP βρέθηκε να σχετίζεται με παραμορφώσεις του ουραίου μόνο σε μία περίπτωση. Οι

Sfakianakis et al. (2003), υπέθεσαν ότι η εμφάνιση της ΜΕΡ οφειλόταν σε διατροφικής φύσεως ανεπάρκειες. Έτσι, η παραμόρφωση ΜΕΡ μπορεί να αποδοθεί σε διαφορετικούς αιτιολογικούς παράγοντες. Η άμεση εμπλοκή των γενετικών παραγόντων στην ανάπτυξη της ΜΕΡ, όπως και των υπόλοιπων παραμορφώσεων που παρατηρήθηκαν στην παρούσα εργασία, μπορεί να αποκλειστεί καθώς οι διαφορετικά εκτρεφόμενοι πειραματικοί πληθυσμοί προήλθαν από ένα κοινό απόθεμα αυγών, αλλά δεν μπορεί να αποκλειστεί η έμμεση εμπλοκή μέσω αλληλεπίδρασης με το περιβάλλον εκτροφής.

Η παρούσα μελέτη προσδιορίζει τους τύπους των παραμορφώσεων που μπορούν να εμφανιστούν στο μυλοκόπι, γνώση απαραίτητη για τον εύκολο εντοπισμό παρουσίας παραμορφωμένων ατόμων σε τυχόν μελλοντικές μελέτες πάνω στο είδος αυτό.

#### **4.2.2. Επίδραση δύο διαφορετικών ιχθυοφορτίσεων στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων**

Κατά την μελέτη της επίδρασης της ιχθυοφόρτισης στο σύνολο των μεγαλύτερων ηλικιακών κλάσεων (από την ημέρα αποκοπής από τη ζωντανή τροφή μέχρι και το τέλος της νυμφικής εκτροφής) όσον αφορά τον ποσοτικό χαρακτήρα των τύπων των παραμορφώσεων τρεις εκ των τεσσάρων σοβαρών παραμορφώσεων που παρατηρήθηκαν στην παρούσα εργασία εμφανίστηκαν να επηρεάζονται από την ιχθυοφόρτιση. Επίσης, η ιχθυοφόρτιση φάνηκε να επηρεάζει μόνο το ποσοστό παρουσίας κάποιων παραμορφώσεων μεταξύ των δύο ιχθυοφορτίσεων, και όχι τον τύπο των παραμορφώσεων. Ο πληθυσμός που προήλθε από την υψηλή ιχθυοφόρτιση επέδειξε υψηλότερα ποσοστά παρουσίας στην σύντηξη, την λόρδωση και την κύφωση. Είναι επίσης σημαντικό να σημειωθεί ότι κανένα άτομο δεν παρατηρήθηκε να φέρει ταυτόχρονα όλους τους τύπους παραμορφώσεων που παρατηρήθηκαν.

Από την εξέταση των ποσοστών των φυσιολογικών ατόμων φάνηκε ότι η χαμηλότερη ιχθυοφόρτιση είναι καταλληλότερη της υψηλότερης. Το γεγονός ότι το ποσοστό των φυσιολογικών ατόμων της χαμηλότερης ιχθυοφόρτισης δεν επέδειξε την αναμενόμενη διαφορά σε σχέση με την υψηλότερη, κάτι που αναμένεται από τα ποσοστά των παραμορφώσεων, οφείλεται πιθανότατα στο ότι στην χαμηλότερη ιχθυοφόρτιση τα άτομα είχαν περισσότερες της μίας παραμόρφωσης σε μεγαλύτερο

βαθμό από ότι τα άτομα της υψηλότερης ιχθυοφόρτισης. Δεν παύουν όμως και οι δύο ιχθυοφορτίσεις να εμφανίζουν παραμορφώσεις γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι δεν μπορεί εκ του ασφαλούς να θεωρηθεί κάποια εκ των δύο ως καταλληλότερη. Τέλος, προκειμένου να βρεθεί η βέλτιστη ιχθυοφόρτιση για τη νυμφική εκτροφή του μυλοκοπιού θα πρέπει να μελετηθούν περισσότερες συνθήκες (ιχθυοφόρτισης) και σε μεγαλύτερο εύρος.

#### **4.2.3. Επίδραση τριών διαφορετικών πρωτοκόλλων διατροφής, κατά την φάση αποκοπής από τη ζωντανή τροφή, στην ανάπτυξη σκελετικών παραμορφώσεων**

Το μυλοκόπι έχει δειχθεί ότι είναι ένα ψάρι το οποίο μπορεί να τραφεί με *Artemia* spp. και ξηρή τροφή σχετικά νωρίς λόγω του μεγάλου στόματος της προνύμφης του (Mylonas *et al.* 2000). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την σημαντική μείωση του κόστους παραγωγής διότι όσο μεγαλύτερη είναι η τροφή (κυρίως η βιομηχανική) τόσο φθηνότερη είναι. Παρόλα αυτά, βρέθηκε επίσης ότι η χρήση *Artemia* spp. ακόμα και σε μεγαλύτερης ηλικίας νύμφες δημιουργεί προβλήματα και αυξημένη θνησιμότητα (Μυλωνάς & Κυριάκου 2002). Η χρήση *Artemia* spp. αν και όχι αναγκαία βιολογικά δεν μπορεί να αποφευχθεί λόγω των προβλημάτων που θα προκύψουν από τις μεγάλες ποσότητες τροχοζώων που θα χρειάζονται.

Τα αποτελέσματα της οστεολογικής μελέτης των ατόμων δεν έδειξαν κάποια σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των τριών πρωτοκόλλων αποκοπής από τη ζωντανή τροφή όσον αφορά την καταλληλότητα κάποιου από αυτών. Αν και οι τρεις συνθήκες εμφάνισαν τους ίδιους τύπους σκελετικών παραμορφώσεων, φάνηκε να διαφοροποιούνται μεταξύ τους ως προς τον ποσοστό των σκελετικών δυσπλασιών που εμφάνισαν. Αυτό που φάνηκε είναι ότι το πρωτόκολλο στο οποίο έγινε αποκοπή την ημέρα 29 χωρίς τη χρήση *Artemia* spp. εμφάνισε με μικρή βέβαια διαφορά το μεγαλύτερο ποσοστό φυσιολογικών ατόμων, κάτι που υποδυναμίζει ότι η χρήση *Artemia* spp. δεν είναι αναγκαία. Οι διαφορές που προκύπτουν στα ποσοστά των φυσιολογικών ατόμων μεταξύ των τριών πρωτοκόλλων είναι τόσο μικρές όμως που το πιο πάνω συμπέρασμα δεν μπορεί να εξαχθεί με σιγουριά και δεν μπορεί να θεωρηθεί ότι η χρήση *Artemia* spp. ευνοεί την μια κατάσταση ή την άλλη.

Παράλληλες μελέτες που έγιναν από τους Μυλωνά & Κυριάκου (2002) έδειξαν χαμηλότερο ποσοστό επιβίωσης στην περίπτωση που η αποκοπή ζωντανής τροφής γίνεται σχετικά γρήγορα (ημέρα 20 Μ.Ε) και το υψηλότερο ποσοστό επιβίωσης είχαν οι δεξαμενές που δεν χρησιμοποιήθηκε *Artemia* spp.. Επίσης δεν υπήρξε στατιστική διαφορά σε ποσοστό επιβίωσης, βάρος και μήκος από τις ομάδες που έγινε αποκοπή ζωντανής τροφής την ημέρα 29 αν και στη μια περίπτωση χρησιμοποιήθηκε *Artemia* spp. ενώ στην άλλη δεν χρησιμοποιήθηκε. Η κατανάλωση *Artemia* spp. από τις νύμφες έγινε από την πρώτη μέρα χορήγησης τους στις δεξαμενές ανεξαρτήτως ομάδας. Αυτό όμως είχε ως αποτέλεσμα να παρουσιαστούν προβλήματα όπως διογκωμένα στομάχια, ακανόνιστη/πλανόδια κολύμβηση στην επιφάνεια και σημαντικές απώλειες. Το φαινόμενο αυτό παρουσιάστηκε πιο έντονα στην ομάδα γρήγορου απογαλακτισμού.

Αν και το μυλοκόπι διαφέρει από τα άλλα είδη όπως για παράδειγμα την τσιπούρα ως προς το ότι μεγαλώνει πολύ πιο γρήγορα και ξεπερνάει τα διάφορα αναπτυξιακά στάδια γρηγορότερα με αποτέλεσμα να χρησιμοποιείται λιγότερη ζωντανή τροφή και για μικρότερο χρόνο, εντούτοις η χρήση *Artemia* spp. δημιουργεί προβλήματα με αποτέλεσμα να αυξάνεται η θνησιμότητα εάν χρησιμοποιηθεί σε πολύ αρχικά στάδια. Η χρήση της *Artemia* spp. είναι υπό αμφισβήτηση αφού και σε προηγούμενη μελέτη στην οποία δεν χρησιμοποιήθηκε τα ψάρια απογαλακτίστηκαν σε ίδια περίπου ηλικία, αλλά τα ποσοστά επιβίωσης δεν αναφέρονται ενώ η γρήγορη αποκοπή είχε αρνητικά αποτελέσματα στην επιβίωση (Mylonas *et al.* 2000). Χρησιμοποιώντας παρόμοια πρωτόκολλα με παρόμοια αποτελέσματα, κάποιες προκαταρκτικές μελέτες με την νυμφική καλλιέργεια μυλοκοπιού έχουν γίνει ήδη (Melotti *et al.* 1995, Libertini *et al.* 1998, Mylonas *et al.* 2000) και έδειξαν σε σύγκριση με την τσιπούρα ότι το είδος αυτό προσαρμόζεται εύκολα σε συνθήκες εκτροφής, απογαλακτίζεται νωρίς, αποδέχεται βιομηχανική τροφή, και αναπτύσσεται γρήγορα

Η παρουσία σκελετικών παραμορφώσεων στο μυλοκόπι που παρατηρήθηκε μετά την εφαρμογή των τριών πρωτοκόλλων αποκοπής από τη ζωντανή τροφή, μπορεί να οφείλεται σε άλλους παράγοντες, για παράδειγμα σε παράγοντες που συνδέονται με την ποιότητα των αυγών και των προνυμφών. Επίσης μπορεί να οφείλονται στην ιχθυοφόρτιση, γιατί όπως έδειξε η μελέτη των ιχθυοφορτίσεων ακόμη και η χαμηλότερη ιχθυοφόρτιση των 25 νυμφών ανά λίτρο (που εφαρμόστηκε και στις 3 εκτροφές των διαφορετικών πρωτοκόλλων διατροφής), εμφάνισε

παραμορφώσεις όλων των τύπων και κάποιες από αυτές σε μεγάλα ποσοστά. Οπότε δεν αποκλείεται η ανάπτυξη κάποιων εκ των παραμορφώσεων που προκλήθηκαν στις τρεις πειραματικές εκτροφές να οφείλονται στην ιχθυοφόρτιση. Εντούτοις, περαιτέρω έρευνα είναι αναγκαία για να εντοπιστούν οι παράγοντες που ευθύνονται για την ανάπτυξη των σκελετικών παραμορφώσεων που παρατηρήθηκαν.

Ένα γενικότερο συμπέρασμα από τη μελέτη των παραμορφώσεων στο μυλοκόπι είναι ότι οι σκελετικές δυσπλασίες που αναπτύσσονται στο είδος αυτό δεν διαφοροποιούνται ποιοτικά από εκείνες που αναπτύσσονται υπό συνθήκες εκτροφής σε άλλα είδη ψαριών, επιβεβαιώνοντας την εκτίμηση ότι αποτελούν ένα μη ειδοειδικό πρόβλημα (Divanach *et al.* 1996, Koumoundouros *et al.* 1997a, b, 2001b, Sfakianakis *et al.* 2003, 2004). Η διαφοροποίηση των ειδών ως προς τις σκελετικές ανωμαλίες έγκειται μόνο στο αναπτυξιακό στάδιο στο οποίο αυτές μπορεί να εμφανίζονται. Είναι γνωστό πλέον ότι βασική προϋπόθεση για την επίλυση του προβλήματος των σκελετικών δυσπλασιών σε οποιοδήποτε είδος είναι η μελέτη να γίνεται με γνώμονα κάθε στάδιο ανάπτυξης ξεχωριστά (ανασκόπηση από Koumoundouros *et al.* 2003).



## **5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

1. Το πρότυπο ανάπτυξης του σκελετού και των πτερυγίων στο μυλοκόπι ακολουθεί σε πολλά σημεία το γενικό πρότυπο οστεολογικής ανάπτυξης των υπόλοιπων Percoidae όπως: στην οντογενετική σειρά ανάπτυξης των πτερυγίων, στην διάταξη των κοιλιακών πλευρών, στο σύμπλεγμα του ουραίου πτερυγίου, στην κατεύθυνση της ανάπτυξης των κοιλιακών πτερυγίων. Παρόλα αυτά εμφανίζει και διαφορές με τα υπόλοιπα Percoidae όπως: στο σημείο ανάπτυξης των χονδρογενών στοιχείων της σπονδυλικής στήλης, στην οστεοποίηση των κέντρων των σπονδύλων, στον αριθμό των νωτιαίων πλευρών, στο πρότυπο ανάπτυξης του εδρικού και του ραχιαίου πτερυγίου.
2. Ο σκελετός του μυλοκοπιού εμφάνισε δύο στοιχεία που δεν έχουν αναφερθεί ξανά για Percoidae: τρήμα στο κορακοειδές οστό, και παρουσία δεύτερου χόνδρου στα κοιλιακά πτερύγια.
3. Ο παράγοντας ιχθυοφόρτιση στην εντατική εκτροφή του μυλοκοπιού δεν επηρεάζει τον τύπο των παραμορφώσεων που αναπτύσσονται αλλά επηρεάζει τα ποσοστά εμφάνισης αυτών. Η ιχθυοφόρτιση των 50 νυμφών/l έναντι αυτής των 25 νυμφών/l φαίνεται να παρουσιάζει μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης σε τρεις σοβαρές για την ιχθυοκαλλιέργεια παραμορφώσεις: την σύντηξη, την λόρδωση και την κύφωση.
4. Η ημέρα αποκοπής από την ζωντανή τροφή σε συνδυασμό με την παροχή ή όχι *Artemia* spp. δεν φαίνεται να επηρεάζει το ποσοστό ανάπτυξης σκελετικών παραμορφώσεων στο μυλοκόπι. Οι τρεις πληθυσμοί που εκτράφηκαν με διαφορετικό πρωτόκολλο αποκοπής από τη ζωντανή τροφή εμφάνισαν τους ίδιους τύπους παραμορφώσεων αλλά διαφορετικά ποσοστά εμφάνισης αυτών που παρόλα αυτά δεν έδειξαν κάποια σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των τριών πρωτοκόλλων.
5. Οι παραμορφώσεις που εμφανίστηκαν στο μυλοκόπι ανεξάρτητα από τις συνθήκες εκτροφής ή από τη σοβαρότητα κάθε παραμόρφωσης ήταν: σύντηξη, λόρδωση, κύφωση, σκολίωση, μερική έλλειψη ραχιαίου πτερυγίου, παραμορφωμένα στηρικτικά οστά του ραχιαίου, εδρικού και ουραίου πτερυγίου. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει ότι το μυλοκόπι (όπως και όλα τα άλλα μελετηθέντα είδη μέχρι τώρα) δεν αναπτύσσει κάποια ειδο-ειδική παραμόρφωση.

## **6. ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

---

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η οντογένεση της σπονδυλικής στήλης και του σκελετού των εξαρτημάτων του μυλοκοπιού, *Umbrina cirrosa*, (Linnaeus, 1758) καθώς και οι παραμορφώσεις που αυτό εμφανίζει σε συγκεκριμένες συνθήκες εκτροφής με στόχο την εφαρμογή των αποτελεσμάτων στην κατανόηση και επίλυση πρακτικών προβλημάτων που αφορούν στην εισαγωγή του μυλοκοπιού στην Μεσογειακή ιχθυοκαλλιέργεια. Η μελέτη της οστεολογικής ανάπτυξης πραγματοποιήθηκε σε 170 άτομα που εκτράφηκαν με την μέθοδο του “μεσοκόσμου”, ολικού μήκους (TL) από 2.7 έως 30.2 mm. Για την ανάπτυξη των σκελετικών παραμορφώσεων μελετήθηκαν συνολικά 821 άτομα που προήλθαν από εντατικές εκτροφές διαφορετικής ιχθυοφόρτισης (50 νύμφες/l και 25 νύμφες/l) και 231 άτομα από εντατικές εκτροφές διαφορετικού πρωτοκόλλου αποκοπής από τη ζωντανή τροφή (Α: αποκοπή ημέρα 29 Μ.Ε (χορήγηση *Artemia* spp.), Β: αποκοπή ημέρα 20 Μ.Ε (χορήγηση *Artemia* spp.), Γ: αποκοπή ημέρα 29 Μ.Ε (μη χορήγηση *Artemia* spp.)). Όλα τα δείγματα μελετήθηκαν μετά από εκλεκτική χρώση των χόνδρων και των οστών. Η έναρξη της οντογένεσης της σπονδυλικής στήλης παρατηρήθηκε στα 3.4 και 4.0 mm TL, με το σχηματισμό των πρώτων χόνδρινων νευρικών και αιματικών αποφύσεων αντίστοιχα, και ολοκληρώθηκε στα 12.5 mm TL όπου σχηματίστηκαν πλήρως οι νωτιαίες πλευρές. Τα κέντρα των σπονδύλων διαμορφώθηκαν μεταξύ 4.1 και 7.4 mm TL. Τα πρώτα στοιχεία πτερυγίων που σχηματίστηκαν ήταν τα στηρικτικά οστά των θωρακικών πτερυγίων (3.0 mm TL), και ακολούθησαν τα στηρικτικά οστά του ουραίου (3.8 mm TL), των κοιλιακών (3.9 mm TL) και τελευταία του εδρικού και του ραχιαίου πτερυγίου ταυτόχρονα (4.5 mm TL). Το ουραίο πτερύγιο στο μυλοκόπι ήταν το πρώτο που εμφάνισε ακτίνες και το πρώτο που απόκτησε τον πλήρη αριθμό λεπιδοτριχίων (4.5-6.8 mm TL), αλλά το τελευταίο που ολοκλήρωσε τον πλήρη αριθμό των δερματοτριχίων (6.9-17.5 mm TL). Τα επόμενα πτερύγια που εμφάνισαν ακτίνες, ήταν κατά σειρά το ραχιαίο (5.3 mm TL), τα θωρακικά (5.6 mm TL) και τέλος το εδρικό και τα κοιλιακά ταυτόχρονα (5.7 mm TL). Μετά τα ουραία λεπιδοτρίχια (6.8 mm TL), η οντογένεση των πτερυγίων ολοκληρώθηκε με τη εξής σειρά: ραχιαίο, εδρικό (6.9 mm TL), κοιλιακά (7.4 mm TL), και θωρακικά (9.8 mm TL). Τελευταία από τα μεριστικά, σχηματίστηκαν τα ουραία δερματοτρίχια.. Όσον αφορά την επίδραση της ιχθυοφόρτισης στην ανάπτυξη των παραμορφώσεων, βρέθηκε ότι αυτή δεν επηρεάζει τον τύπο των παραμορφώσεων, παρά μόνο τη συχνότητα εμφάνισής τους. Δείχθηκε επίσης ότι η υψηλότερη ιχθυοφόρτιση οδηγεί σε μεγαλύτερο ποσοστό σκελετικών δυσπλασιών για

τρεις σοβαρές παραμορφώσεις: την σύντηξη, λόρδωση και κύφωση. Όσον αφορά τα τρία πρωτόκολλα διατροφής, αυτά παρουσίασαν διαφορές μεταξύ τους στα ποσοστά εμφάνισης των επιμέρους παραμορφώσεων χωρίς να προκύπτει όμως ότι κάποιο από τα πρωτόκολλα είναι καταλληλότερο από τα άλλα. Το τελευταίο αποδεικνύεται και από τα ποσοστά των φυσιολογικών ατόμων που δε διέφεραν ιδιαίτερα ανάμεσα στις τρεις συνθήκες ενώ πρέπει να σημειωθεί ότι ούτε και οι παρατηρούμενοι τύποι παραμορφώσεων διέφεραν μεταξύ των τριών συνθηκών. Τα παραπάνω αποτελέσματα συμβάλλουν τόσο στην έγκαιρη διάγνωση των σκελετικών παραμορφώσεων όσο και στη βελτίωση της ποιότητας των εκτρεφόμενων πληθυσμών μυλοκοπιού.

## **7. ABSTRACT**

---

The osteological development of the vertebral column and fins in shi drum, *Umbrina cirrosa* (Linnaeus, 1758), as well as the development of skeletal deformities under different rearing conditions, was studied, in order to gain applicable results for solutions in practical issues concerning the introduction of shi drum in the Mediterranean aquaculture. The osteological development was studied in 170 individuals that were reared under the “mesocosm” technique, between 2.7 and 30.2 mm total length (TL). The development of the deformities was studied in 821 individuals that were reared under intensive conditions with different stocking density (50 larvae/l και 25 larvae/l) and 231 individuals that were reared under intensive conditions with different feeding protocols (A: weaning at 20 D.A.H (supplying *Artemia* spp.), B: weaning at 29 D.A.H (supplying *Artemia* spp.), C: weaning at 29 D.A.H (no supplying *Artemia* spp.)). All the samples were studied after selective staining of the cartilage and bones. Vertebral ontogeny started at 3.4 mm TL and 4.0 mm TL, with the formation of the first cartilaginous neural and haemal spines respectively, and was completed with the full attainment of dorsal ribs (12.5 mm TL). The formation of vertebral centra occurred between 4.1 and 7.4 mm TL. Pectoral supports were the first fin elements that started to develop (3.0 mm TL), followed by those of the caudal fin (3.8 mm TL), of the pelvic fin (3.9 mm TL) and finally by those of the dorsal and anal fin (4.5 mm TL). The caudal fin of shi drum was the first to develop fin rays and attain the full count of lepidotrichia (4.5-6.8 mm TL), but the last to attain the full count of dermatotrichia (6.9-17.5 mm TL). The next fins starting to present rays were the dorsal (5.3 mm TL) and the pectoral fins (5.6 mm TL), while the anal and pelvic fins were the last (5.7 mm TL). Following the caudal lepidotrichia (6.8 mm TL), the dorsal, anal (6.9 mm TL), pelvic (7.4 mm TL) and pectoral fins (9.8 mm TL) were the next with fully completed ray counts. Finally, fin meristics were fully developed with the caudal dermatotrichia. The results of the development of the skeletal deformities showed that stocking density does not affect the type of the developing deformities but affects only the frequency of them. It was also shown that the higher stocking density leads to higher percentage of high severity deformities like fusion, lordosis and saddleback. On the other hand, although the three different feeding protocols showed differences on the frequency of the deformities, this did not prove one of them to be better than the others. Plus, the types of the deformities did not differ between the three protocols. The above results contribute to the early

detection of skeletal deformities as well as on the improvement of the quality of the reared shi drum populations.



## **8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

---

- Afonso, J. M., Montero, D., Robaina, L., Astorga, N., Izquierdo, M.S., Gines, R., 2000. Association of lordosis– scoliosis – kyphosis deformity in gilthead seabream (*Sparus aurata*) with family structure. *Fish Physiol. Biochem.* 22, 159–163.
- Akiyama, T., Murai, T., Mori, K., 1986. Role of tryptophan metabolites in inhibition of spinal deformity of chum salmon fry caused by tryptophan deficiency. *Bulletin of the Japanese society of Scientific Fisheries* 52, 1255-1259. and *Systematics of Fishes* (Moser, H. G., Richards, W. J., Cohen, D. M., Fahay, M. P., Kendall, A. W. & Richardson, S. L., eds), American Society of Ichthyologist and Herpetologists, Special Publication 1, 24–27. Laurence: Allen Press.
- Andrades, J.A., Becerra J., Fernández-Llebrez, P., 1994. Skeletal deformities of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.): study of the subcommissural organ (SCO) and Reissner's fiber (RF). *Annual Anatomy.* 176, 381–383.
- Andrades, J.A., Becerra, J., Fernández-Llebrez, P., 1996. Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.). *Aquaculture.* 141, 1–11.
- Barahona-Fernandes, M.H., 1982. Body deformation in hatchery reared European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L). Types, prevalence and effect on fish survival. *J. Fish Biol.* 21, 239-249.
- Barbaro, A., Colombo, L., Francescon, A., Benedetti, P., Bozzato, G., Belvedere, P., 1991. Developmental abnormalities in eggs of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) following spawning induced with LH-RH analogues. In : Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E. & Olivier, F. (eds) *Larvae '91 Fish and Crustaceans Symposium.* European Aquaculture Society Special Publication No. 15, Ghent, Belgium, pp. 235-236.
- Barbaro, A., Bozzato, G., Fanciulli, G., Franceson, A., Libertini, A. & Rinchar, J., 1996. Maturita gonadica in *Umbrina cirrosa* (L.), riproduzione ed allevamento in cattività. *Biologia Marina Mediterranea* 3,394-395.
- Barbaro, A., Franceson, A., Bertotto, D., Bozzato, G., Di Maria, I., Patarnello, P., Furlan, F., Colombo, L., 2002. More effective induction of spawning with long-acting GnRH agonist in the shi drum, *Umbrina cirrosa* L. (Sciaenidae, Teleostei), a valuable candidate for Mediterranean mariculture. *J. Appl. Ichthyol.* 18, 192-199.
- Basurco, B., Abellan, E., 1999. Finfish species diversification in the context of Mediterranean marine fish farming development. In: Abellan, E., Basurco, B. (Eds.), *Options Méditerranéennes*, No. 24: Marine Finfish Species Diversification; Current Situation and Prospects in Mediterranean Aquaculture. C.I.H.E.A.M., Zaragoza, Spain, pp. 9-25.
- Beccaria, C., Diaz, J., P., Connes, R., Chatain, B., 1991. Organogenesis of the exocrine pancreas in the sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., reared extensively and intensively. *Aquaculture* 99: 339-354.
- Begout, M., L., Lagardere J., P., 1999. Effects of Stocking Densities on Swimming Characteristics of Rainbow Trout: Applying Acoustic Telemetry to the Culture Environment. International Council for the Exploration of the Sea Copenhagen (Denmark) Theme Sess. Health and Welfare of Cultivated Aquatic Animals. Council Meeting of the International Council for the Exploration of the Sea, Stockholm (Sweden), 1 pp.

- Belias, C., Dassenakis, M., 2002. Environmental problems in the development of marine Fish-Farming in Mediterranean Sea. Ocean challenge Special (European Issue), Volume 12, No 1, 11-16.
- Bengtson, D. A., 1999. Aquaculture of summer flounder (*Paralichthys dentatus*): status of knowledge, current research and future research priorities. *Aquaculture* 176, 39–49.
- Bengtsson, A., Bengtsson, B.E., Lithner, G., 1998. Vertebral defects in fourhorn sculpin, *Myoxocephalus quadricornis* L., exposed to heavy metal pollution in the Gulf of Bothnia. *J. Fish Biol.* 33, 517–529.
- Blaxter, J. H. S., 1984. Ontogeny, systematics and fisheries. In *Ontogeny and Systematics of Fishes* (Moser, H. G., Richards, W. J., Cohen, D. M., Fahay, M. P., Blaxter, J. H. S., 1988. Pattern and variety in development. In *Fish Physiology XIA* (Hoar, W. S. & Randall, D. J., eds), pp. 1–58. London: Academic Press.
- Boglione, C., Marino, G., Bertolini, B., Rossi, A., Ferreri, F., Cataudella S., 1993. Larval and post larval monitoring in sea bass: morphological approach to evaluate finfish seed quality. In: G. Barnabé and P. Kestmont, Editors, *Aquaculture 92. Production, Environment and Quality*, Eur. Aquacult. Soc. Spec. Publ. 18, 189–204.
- Boglione, C., Marino, G., Fusari, A., Ferreri, A., Finoia, M.G., Cataudella, S., 1995. Skeletal anomalies in *Dicentrarchus labrax* juveniles selected for functional swimbladder. *ICES mar. Sci. Symp.* 201, 163-169.
- Boglione, C., Gagliardi, F., Scardi, M., Cataudella, S., 2001. Skeletal descriptors and quality assessment in larvae and post-larvae of wild-caught and hatchery-reared gilthead sea bream (*Sparus aurata* L. 1758). *Aquaculture*. 192, 1– 22.
- Boglione, C., Costa, C., Di Dato, P., Ferzini, G., Scardi, M., Cataudella, S., 2003. Skeletal quality assessment of reared and wild sharpnose sea bream and pandora juveniles. *Aquaculture*. 227, 373–394.
- Bovo, G., Nishizawa, T., Maltese, C., borghesan, E., Mutinelli, F., Montesi F., De Mas S., 1999. Viral encephalopathy and retinopathy of farmed marine fish species in Italy. *Virus Research* 63,143-146.
- Browder, J.A., McClellan, D.B., Harper, D.E., Kandrashoff, M.G., Kandrashoff, W., 1993. A major developmental defect observed in several Biscayne Bay, Florida, species. *Environ. Biol. Fishes.* 37, 181–188.
- Brown, C. L & Nunez, J.M., 1994. Hormone actions and applications in embryogenesis. In: Davey, K.G, Peter, R.E & Tobe, S.S (eds) *Perspectives in Comparative Endocrinology*. National Research Council of Canada, Ottawa, pp. 333-339.
- Buckley, L. J., 1981. Biochemical changes during ontogenesis of cod (*Gadus morhua*) and winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) larvae. *Rapp. P. – v. Reun. Cons. Int. Explor. Mer*, 178: 547-552.
- Buckley, L., E., 1990. A description of the early life history stages of the kob, *Argyrosomus hololepidotus* (Pisces: Scianidae), from southern Africa. *South African Journal of Zoology*, 25: 224-228.
- Cahu, C.L. & Zambonino Infante, J.L., 1994. Early weaning of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae with a compound diet: effect on digestive enzymes. *Comp. Biochem. Physiol.* 109A: 213-222.
- Cahu, C.L. & Zambonino Infante, J.L., 1995. Maturation of the pancreatic and intestinal digestive functions in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effect of weaning with different protein sources. *Fish Physiol. Biochem.* 14: 431-437.

- Cahu, C., Infante, J. Z., Takeuchi, T., 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. *Aquaculture*. 227, 245–258.
- Callan, C., Jordaan, A., Kling L., J., 2003. Reducing *Artemia* use in the culture of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture* 219, 585-595.
- Cardellini P., Zanella S., Franceson A., Barbaro, A., Bozzato G., 1998. Embryological development of *Umbrina cirrosa* (L.): observations by time-lapse video recording. *Biologia Marina Mediterranea* 5, 413-420.
- Cardellini P., Franceson A., Zanella S., Bozzato G., Benedetti P., Borgoni N., Barbaro A., 1999. Captive rearing of shi drum, *Umbrina cirrosa* (L.), in different thermal conditions. *Biologia Marina Mediterranea* 6, 287-290.
- Chambers, R. C., Legget, W. C., 1987. Size and age at metamorphosis in marine fishes: An analysis of laboratory-reared winter flounder (*Pleuronectes americanus*) with a review of variation in other species. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44: 1936-1947.
- Chapman, D.C., Wayne, A.H., Jackson, U.T., 1988. Influences of access to air and of salinity on swim bladder inflation in striped bass. *Prog. Fish-Cult.* 50, 23– 27.
- Chatain, B., 1986. La vessie natatoire chez *Dicentrarchus labrax* et *Sparus auratus*. I. Aspects morphologiques du développement. *Aquaculture*. 53, 303-311.
- Chatain B., 1987. La vessie natatoire chez *Dicentrarchus labrax* et *Sparus aurata*: II. Influence des anomalies de développement sur la croissance de la larve. *Aquaculture*. 65, 175–181.
- Chatain B., 1994a. Abnormal swimbladder development and lordosis in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus auratus*). *Aquaculture*. 119, 371-379.
- Chatain B., 1994b. Estimation et amélioration des performances zootechniques de l'élevage larvaire de *Dicentrarchus labrax* et de *Sparus auratus*. These Doctorale es Sciences, Université d'Aix-Marseille II 199p.
- Chatain B., & Dewavrin G., 1989. Influence des anomalies de développement de la vessie natatoire sur la mortalité de *Dicentrarchus labrax* au cours du sevrage. *Aquaculture*, 78: 55-61.
- Chatain, B. & Ounais-Guschemann, N., 1990. Improved rate of initial swim bladder inflation in intensively reared *Sparus auratus*. *Aquaculture*. 84, 345-353.
- Cohen, D. M., 1984. Ontogeny, systematics and phylogeny. In *Ontogeny and Systematics of Fishes* (Moser, H. G., Richards, W. J., Cohen, D. M., Fahay, M. P., Kendall, A. W. & Richardson, S. L., eds), American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Special Publication 1, 7–11. Laurence: Allen Press.
- Corti M, Loy A, Cataudella S., 1996. Form changes in the sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Moronidae: Teleostei), after acclimation to freshwater: an analysis using shape coordinates. *Envir Biol Fish* 47: 165-175.
- Danielsen, D. S., Haugen. A. S., Oiestad, V., 1990. Survival and growth of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) in a land-situated mesocosm. *Flodeviger rapportser* 2: 11-45.
- Daoulas, C.H., Economou, N.A., Bantavas, I., 1991. Osteological abnormalities in laboratory reared sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fingerlings. *Aquaculture*. 97, 169–180.
- Dedi, J., Takeuchi T., Hosoya, K., Watanabe, T., Seikai, T., 1998. Effect of vitamin A levels in *Artemia* nauplii on the caudal skeleton formation of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries Science*. 64, 344–345.
- Devauchelle, N. & Chopin, T., 1982. Presentation de techniques d'incubation pour œufs pelagiques de poissons marins. *Aquaculture Engineering*, 227-233.

- Devauchelle, N. J. C., Alexandre, N. LeCorre, Letty, Y., 1987. Spawning of solea (*Solea solea*) in captivity. *Aquaculture*, 66: 125-147.
- DeVore, P.W & Eaton, J.G., 1983. An investigation of spinal deformity of trout (*Salmo* sp.) in the Brule river, Wisconsin. *Journal of Great Lakes Research* 9, 69-73.
- Divanach P., 1985. Contribution de la Biologie et de l'Élevage de 6 Sparidés Méditerranéens: *Sparus aurata*, *Diplodus sargus*, *Diplodus vulgaris*, *Diplodus annularis*, *Lithognathus mormyrus*, *Puntazzo puntazzo* (Poissons Téléostéens). Thèse d'Etat, Université des Sciences et Techniques de Languedoc 479 pp.
- Divanach, P. & Kentouri, M., 1983. The influence of initial trophic conditions on oil globule resorption, growth and survival of gilt head sea bream *Sparus aurata*, larvae in extensive breeding. *Aquaculture* 35, 43–55 (in French).
- Divanach, P. & Kentouri, M., 2000. Hatchery techniques for specific diversification in Mediterranean finfish larviculture. In: Proceedings of the CIHEAM TECAM network field in Zaragoza, 24-28 May, 1999. *Cah. Options Mediterr.* 47, 75-87.
- Divanach, P., Boglione, C., Menu, B., Koumoundouros, G., Kentouri, M., Cataudella, S., 1996. Abnormalities in finfish mariculture: an overview of the problem, causes and solutions. In: *Seabass and Seabream culture: Problems and Prospects* (Chatain, B., Saroglia, M., Sweetman, J., Lavens, P., eds.), pp. 45-66. Oostende, Belgium: European Aquaculture, Society.
- Divanach, P., Papandroulakis, N., Anastasiadis, P., Koumoundouros, G., Kentouri, M., 1997. Effect of water currents during postlarval and nursery phase on the development of skeletal deformities in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) with functional swimbladder. *Aquaculture*. 156, 145-155.
- Dou, S., Masuda, R., Tanaka, M., Tsukamoto, K., 2003. Identification of factors affecting the growth and survival of the settling Japanese flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*. 218, 309-327.
- Efthimiou, S., 1996. Performance of juvenile and ongrowing common dentex *Dentex dentex*, L 1758, Sparidae in relation to nutrition under culture. *Berichte aus dem Institut Fur Meereskunde Kiel*. 286, 1–123.
- Emery A. R., 1973. Ecology and functional osteology damselfish (Pisces: Pomacentridae) at Alligator Reef, Florida Keys. *Bull Mar Sci* 23: 649-770.
- Estevez, A., Kanazawa, A., 1995. Effect of (n-3) PUFA and vitamin A *Artemia* enrichment on pigmentation success of turbot, *Scophthalmus maximus* (L). *Aquaculture Nutrition*. 1, 159–168.
- F.E.A.P., 1999. Minutes of the 31<sup>st</sup> annual general meeting: production and forecast report of the Federation of European Aquaculture Producers. 78 pp.
- Fabi, G. Fiorentini, L., 1993. Catch and growth of *Umbrina cirrosa* (L.) around artificial reefs in the Adriatic Sea. *Boll. Oceanol. Teor. Appl.* 11, 235-242.
- Faustino M. & Power D. M., 1998. Development of the osteological structures in the sea bream: vertebral column and caudal fin complex. *J Fish Biol* 52: 11-22.
- Faustino, M. & Power, D.M., 1999. Development of the pectoral, pelvic, dorsal and anal fins in cultured sea bream. *Journal of Fish Biology*. 54, 1–17.
- Ferreri, F., Nicolais, C., Boglione, C., Bertolini, B., 2000. Skeletal characterization of wild and reared zebrafish: anomalies and meristic characters. *J. Fish Biol.* 56, 1115– 1128.
- Fischer, W., Bauchot, M.L., Schneider, M., 1987. Fiches FAO d'identification des especes pour le besoins de la peche. (Revision 1). Méditerranée et mer Noire zone de peche 37 Rome. Volume II

- Francescon, A., Freddi, A., Barbaro, A., Giavenni, R., 1988. Daurade *Sparus aurata* L. reproduite artificiellement et daurade sauvage. Expériences parallèles en diverses conditions d' élevage. *Aquaculture*, 72:273-285.
- Fukuhara O., 1992. Study on the development of functional morphology and behaviour of the larvae of eight commercially valuable teleost fishes. *Contr Fish Res Jap Sea Block* 25: 1-122
- Furuichi, M., Furusho, Y., Matsui, S., Kitajima, C., 1997. Essentiality of mineral mixture supplement to white fish meal diet for tiger puffer. *J. Fac. Agric., Kyushu Univ.* 42, 77– 85.
- Garcia-Ortega, A., Abdo, I., Hernandez, C., 2003. Weaning of bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*) from live food to microparticulate diets made with
- Gavaia, P.J., Dinis, M.T., Cancela, M.L., 2002. Osteological development and abnormalities of the vertebral column and caudal skeleton in larval and juvenile stages of hatchery-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*. 211, 305–323.
- Gisbert, E., 1999. Early development and allometric growth patterns in Siberian sturgeon and their ecological significance. *Journal of Fish Biology* 54, 852–862.
- Gosline., W. A., 1961. The perciform caudal skeleton. *Copeia*: 256-270.
- Govoni, J.J., Boehlert, G.W., Watanabe, Y., 1986. The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of fishes*. 16.1-3: 59-77.
- Guerrero, R. D., 1975. Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Transactions of thw American Fisheries Society* 104, 342-348.
- Guerrero, R. D., 1976. Culture of male *Tilapia mossambica* produced through artificial sex reversal. Food and Agriculture Organization Technical Conference on Aquaculture. FAO document number FIR: AQ [76]76/E/5.
- Haaparanta, A., Valtonen, E. T., Hoffmann, R. W., 1997. Gill anomalies of perch and roach from four lakes differing in water quality. *Journal of Fish Biology*. 50, 575–591.
- Halver, J. E., 1972. The role of ascorbic acid in fish disease and tissue repair. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 38, 79-92.
- Halver, J. E., Ashley, L.M., Smith, R.M., 1969. Ascorbic acid requirements of coho salmon and rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society* 98, 762-771.
- Harder, W., 1975. *Anatomy of Fishes. Part I.* E. Schweizerbart' sche Verlagsbuchhandlung (Nagele u.Obermiller), Stuttgart, 612p.
- Higgs. D. A., Fagerlund, u. H. M., Eales, J. G., McBride, J. R., 1982. Application of thyroid and steroid hormones as anabolic agents in fish culture. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73B, 143-176.
- Hilomen-Garcia, G. V., 1997. Morphological abnormalities in hatchery-bred milkfish (*Chanos chanos*, Forsskal) fry and juveniles. *Aquaculture*. 152, 55– 166.
- Honma, Y., 1994. Droplets from the Sado marine biological station, Niigata university: VII. Further notes on some anomalous fishes. *Rep. Sado Mar. Biol. Sta. Niigata Univ.* 24, 11–21.
- Hosoya, K. & Kawamura, K., 1995. Osteological evaluation in artificial seedlings of *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel). In: Keller, B., Park, P., McVey, J., Takayanagi, K., Hosoya, K. (Eds.), *Interactions Between Cultured Species And Naturally Occurring Species In The Environment*. 24. Corpus Christi, Texas, pp. 107– 114.

- Hosoya, K. & Kawamura, K., 1998. Skeletal formation and abnormalities in the caudal complex of the Japanese flounder, (*Paralichthys olivaceus* L.) (Temminck and Schlegel). Bull. Natl. Res. Inst. Fish. Sci. 12, 97–110.
- Houde E. D. & Potthoff T., 1976. Egg and larval development of the sea bream *Archosargus rhomboidalis* (Linnaeus): Pisces, Sparidae. Bull Mar Sci 26: 506-529.
- Hunter, J. R., 1984. Synopsis of culture methods for marine fish larvae. In Ontogeny
- Hurris, K. C. & Hulsman, P. F., 1991. Intensive culture of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) from larvae to yearling size using dry feeds. Aquaculture 96, 255-268.
- Hussain, S. M., 1979. Record of a clupeoid fish *Nematalosa nasus* without an anal fin. 1979. Hydrobiologia, 63: 185-188.
- Ishikawa, Y., 1990. Development of caudal structures of a morphogenetic mutant (Da) in the teleost fishmedaka (*Oryzias latipes*). J. Mprphol., 205:219-232.
- Johnson G. D., 1981. The limits and relationships of the Lutjanidae and associated families. Bull Scripps Inst Oceanogr, Univ Calif 24: 1-114.
- Johnson G. D., 1992. Monophyly of the euteleostean clades - neoteleostei, eurypterygii, and ctenosquamata. Copeia 1992: 8-25.
- Johnson, D. W. & Katavic, I., 1984. Mortality, growth and swim bladder stress syndrome of sea bass (*Dicentrarchus Labrax*) larvae under varied environmental conditions. Aquaculture. 38, 67–78.
- Kelley, S., 1995. Pigmentation, squamation and the osteological development of larval and juvenile grey angelfish, *Pomacanthus arcuatus*, (Pomacanthidae: Pisces). Bull. Mar. Sci. 56: 826-848.
- Kendall A.W., Ahlstrom E.H., Moser H.G., 1984. Early life history stages of fishes and their characters. In: Moser, H.G., Richards, W.J., Cohen, D.M., Fahay, M.P., Kendall, A.W., Richardson, S.L. (eds.), Ontogeny and Systematics of Fishes. American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Special Publication no 1, Allen Press Inc, Laurence USA, pp. 11-22.
- Kentouri, M., 1985. Comportement larvaire de 4 Sparidés Méditerranéens en élevage *Sparus aurata*, *Diplodus sargus*, *Lithognathus mormyrus*, *Puntazzo puntazzo* (Poissons Téléostéens). Thèse d'État, Université des Sciences et Techniques de Languedoc, Montpellier, 478 pp.
- Kingsford, M.J., Suthers, I.M., Gray, C.A., 1996. Exposure to sewage plumes and the incidence of deformities in larval fishes. Mar. Pollut. Bull. 33, 201–212.
- Kiriakos, Z., Koumoundouros, G., Divanach, P., Kentouri, M., 1994. Prelarval and larval description of notochord development as a criterion for early detection of tail abnormalities in gilthead seabream (*Sparus aurata*). In: Kestemont, P., Muir, J., Se'vila, F., Williot, P. (Eds.), Measures for Success—Metrology and Instrumentation in Aquaculture Management. Bordeaux Aquaculture Int. Conference, Bordeaux, France, March 23–25, 1994. Cemagref, Bordeaux, pp. 185–190.
- Kitajima, C., Tsukashima, Y., Fujita, S., Watanabe, T., Yone., 1981. Relationship between uninflated swimbladder and lordotic deformity in hatchery -reared red sea bream *Pagrus major*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 47: 1289-1294.
- Kitajima, C., Watanabe, T., Tsukashima, Y., Fujita, S., 1994. Lordotic deformation and abnormal development of swim bladders in some hatchery-bred Physoclistous fish in Japan. J. World Aquac. Soc. 25, 64–77.
- Koenig, J., 1984. Importance of vitamin C in ichthyophysiology and practice of pisciculture. Ichthyophysiological Acta 8, 41-57.

- Kohno H, Taki Y., 1983. Comments on the development of fin supports in fishes. *Jpn J Ichthyol* 30: 284-290.
- Komada, N., 1980. Incidence of gross malformations and vertebral anomalies of natural and hatchery *Plecoglossus altivelis*. *Copeia*, 29-35.
- Κουμουνδούρος Γ., 1998. Οντογένεση της λειτουργικής μορφολογίας και κριτήρια ποιότητας των νυμφών και ιχθυδίων της συναγρίδας *Dentex dentex* (L. 1758), σε συνθήκες εκτροφής. Διδακτορική διατριβή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, σελ. 155.
- Koumoundouros G., Kiriakos Z., Divanach P., Kentouri M., 1994. Morphometric relationships as criteria for the evaluation of culture conditions of gilthead seabream (*Sparus aurata*) at the larval stage. *In: Measures for success - Metrology and Instrumentation in Aquaculture management*. Bordeaux Aquaculture 1994 Int. Conference, Bordeaux, France, March 23-25, 1994. Kestemont P., Muir J., Sévila F., Williot P. (Eds.). CEMAGREF, pp. 199-205.
- Koumoundouros G., Kiriakos Z., Divanach P., Kentouri M., 1995a. Morphometric relationships as criteria for the evaluation of larval quality of gilthead sea bream. *Aquaculture Intern.* 3, 143-149.
- Koumoundouros G., Gagliardi F., Divanach P., Stefanakis S., Kentouri M. 1995b. Osteological study of the origin and development of the abnormal caudal fin in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fry. *In: quality in Aquaculture*. Aquaculture Europe' 95 Int. Conference, Trondheim, Norway, August 9-12, 1995. European Aquaculture Society, Special Publication No. 23, Gent, Belgium, pp. 16-18.
- Koumoundouros, G., Gagliardi, F., Divanach, P., Boglione, C., Cataudella, S., Kentouri, M., 1997a. Normal and abnormal osteological development of caudal fin in *Sparus aurata* L. fry. *Aquaculture*. 149, 215-226.
- Koumoundouros, G., Oran, G., Divanach, P., Stefanakis, S., Kentouri, M., 1997b. The opercular complex deformity in intensive gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larviculture. Moment of apparition and description. *Aquaculture*. 156, 165-177.
- Koumoundouros G., Divanach P., Kentouri M., 1999a. Ontogeny and allometric plasticity of *Dentex dentex* (Osteichthyes: Sparidae) in rearing conditions. *Mar. Biol.* 135, 561-572.
- Koumoundouros G, Divanach P, Kentouri M., 1999b. Osteological development of the vertebral column and of the caudal complex in *Dentex dentex*. *J Fish Biol* 54: 424-436.
- Koumoundouros, G., Divanach, P., Savaki, A., Kentouri, M., 2000. Effects of three preservation methods on the evolution of swimbladder radiographic appearance in sea bass and sea bream juveniles. *Aquaculture*. 182, 17-25.
- Koumoundouros G., Divanach P., Anezaki L., Kentouri M., 2001a. Temperature-induced ontogenetic plasticity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Marine Biology*, 139: 817-830.
- Koumoundouros, G., Divanach, P., Kentouri, M., 2001b. The effect of rearing conditions on development of saddleback syndrome and caudal fin deformities in *Dentex dentex* (L.). *Aquaculture*. 200, 285-304.
- Koumoundouros, G., Divanach, P., Kentouri, M., 2001c. Osteological development of *Dentex dentex* (Osteichthyes, Sparidae): dorsal, anal, paired fins and squamation. *Mar. Biol.* 138: 399-406.
- Koumoundouros, G., Sfakianakis, D.G., Maingot, E., Divanach, P., Kentouri, M. 2001d. Osteological development of the vertebral column and of the fins in *Diplodus sargus* (Teleostei: Perciformes: Sparidae). *Mar. Biol.* 139: 853-862.



- Koumoundouros, G., Maingot, E., Divanach, P., Kentouri, M., 2002. Kyphosis in reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): ontogeny and effects on mortality. *Aquaculture*. 209, 49–58.
- Κουμουνδούρος, Γ., Divanach, P., Κεντούρη, Μ., 2003. Οντογενετική πλαστικότητα των ιχθύων. Εφαρμογές στην ιχθυοκαλλιέργεια. Forum νέων επιστημόνων με θέμα “Εφαρμοσμένη Έρευνα στο χώρο των εντατικών και εκτατικών ιχθυοκαλλιεργειών”. 19 Φεβρουαρίου 2003, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα.
- Koumoundouros, G., Kouttouki, S., Georgakopoulou, E, Papadakis, I, Maingot, E, Kaspiris, P., Kiriakou, Y., Georgiou, G., Divanach, P., Kentouri, M., Mylonas, C.C., 2005. Ontogeny of the shi drum (*Umbrina cirrosa* L.), a candidate new species for aquaculture. *Aquaculture research*. Υπό δημοσίευση.
- Kvellingstad, A., Høie, S., Thorud, K., Tørud, B., Lyngøy, A., 2000. Platyspondyly and shortness of vertebral column in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway-description and interpretation of pathologic changes. *Dis. Aquat. Org.* 39, 97–108.
- Lam, T. J., 1990. Technology development in aquaculture: new ideas and approaches. In: Ming, C.L & Ng, P.K.L. (eds) *Essays in Zoology*. National University of Singapore press, Singapore, pp. 357-370.
- Lambert, Y.; Dutil, J-D., 2001. Food intake and growth of adult Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) reared under different conditions of stocking density, feeding frequency and size-grading. *Aquaculture*. 192, 233-247.
- Langdon, J. S., 1987. Spinal curvatures and an encephalotropic myxosporean, *Triangula percae* sp. nov. (Myxozoa: Ortholineidae), enzootic in redfin perch, (*Perca fluviatilis* L.), in Australia. *J. Fish Dis.* 10, 425– 434.
- Langdon, J. S., 1988. Investigation of fish kills. In: Bryden D.I. (ed.) *Fish Diseases-Refresher Course for Veterinarians-Proceedings* 106. The University of Sydney, Australia, pp. 167-223.
- Langille, R. M. & Hall, B. K., 1987. Development of the head skeleton of the Japanese medaka, *Oryzias latipes* (Teleostei). *J. Morphol.* 135-158.
- Lau, S. R. & Shafland, P. L., 1982. Larval development of snook, *Centropomus undecimailis* (Pisces: Centropomidae). *Copeia* 1982, 618–627.
- Lefrancois, C, Mercier, C, Claireaux G., 1999. Effect of Rearing Density on the Routine Metabolic Expenditure of Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Copenhagen Denmark ICES. Council Meeting of the International Council for the Exploration of the Sea, Stockholm (Sweden), 16 pp.
- Leis J. M. & Rennis D. S., 1983. *The larvae of Indo-Pacific coral reef fishes*. Honolulu, Sydney: New South Wales Univ. Press, Sydney, Australia and University of Hawaii Press, 371p.
- Lemly, A. D., 1993. Teratogenic effects of selenium in natural populations of freshwater fish. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 26, 181–204.
- Leu, M. Y & Liou, C. H., 1992. Substitution of live foods with a micro-coated diet in the feeding of larval silver bream, *Sparus sarba* (Forsk.) note on the swim bladder inflation. *Journal of the Fisheries Society of Taiwan* 19, 65-73.
- Liao, I-C., Su, M-S., Chang, S-L., 1993. A review of fish genetic research and conservation issues in Taiwan. In: Main, K. & Reynolds, E. (eds) *Selective Breeding of Fishes in the United States and Asia*. 267 pp. The Oceanic Institute, Makapuu Oint Hawaii, USA.
- Libertini, A., Francescon, A., Bozzato, G., Barbaro, A., 1998. The shi drum, (*Umbrina cirrosa* L.), an unexploited resource for the Mediterranean aquaculture: Recent advances in captive reproduction and applied cytogenetics. In: *Proc.* 33<sup>rd</sup>

- Symposium on New Species for Mediterranean Aquaculture, Alghero (Italy), pp. 1-8.
- Lindesjoo, E., Thulin, J., Bengtsson, B.E., Tjarnlund U., 1994. Abnormalities of a gill cover bone, the operculum, in perch (*Perca fluviatilis* L.) from a pulp mill effluent area. *Aquatic Toxicology*. 28, 189–207.
- Linnaeus, C., 1758. *Systema Naturae per Regna Tria Naturae secundum Classes, Ordinus, Genera, Species cum Characteribus, Differentiis Synonymis, Locis*. 10th ed., Vol. 1. Holmiae Salvii. 824 p.
- Liu, C. H., 2001. Early Osteological Development of the Yellow Tail *Seriola dumerili* (Pisces: Carangidae). *Zoological Studies*, 40 (4): 289-298.
- Liu, H.W., Stickney, R.R., Dickhgoft, W.W., McCaughran, D.A., 1994. Effects of environmental factors on egg development and hatching of Pacific halibut, *Hippoglossus stenolepis*. *Journal of the World Aquaculture society* 25, 317-321.
- Lodi, E., 1978. Palla: a hereditary vertebral deformity in the guppy, *Poecilia reticulata* Peters (Pisces, Osteichthyes). *Genetica*, 48: 197-200.
- Lom, J., Pike, A.W., Dykova, I., 1991. Myxobolus sandrae Reuss, 1906, the agent of vertebral column deformities of perch (*Perca fluviatilis* L.) in northeast Scotland. *Dis. Aquat. Org.* 12, 49–53.
- Maccatrozzo, L., Bargelloni, L., Patarnello, P., Radaelli, G., Mascarello, F., Patarnello T., 2002. Characterization of the myostatin gene and a linked microsatellite marker in shi drum (*Umbrina cirrosa*, Sciaenidae). *Aquaculture*. 205, 49-60.
- Mahajan, C.L., Agrawal, N.K., 1980. Nutritional requirement of ascorbic acid by Indian major carp, (*Cirrhina mrigala* L.), during early growth. *Aquaculture*. 19, 37– 48.
- Mamcarz, A., Kucharczyk, D., Kujawa, R., Skrzypczak, A., 1997: Influence of fish density on survival, growth and cannibalism development of pikeperch (*Stizostedion lucioperca* L.) larvae. In: *Martinique 97. Island Aquaculture and Tropical Aquaculture. Short communications and abstracts*. Les Trois Ilets, Martinique, French West Indies, May 4-9, 1997., Edited by L. Creswell, et al, pp. 343-346. European Aquaculture Society, Oostende.
- Marac, R. R., 1974. Food and feeding of larval redfish in the gulf of Maine. In: Blaxter, J.H.S. (ed.) *The early Life History of Fish*. Springer Verlag, Berlin, pp. 267-275.
- Marino, G., Boglione, C., Bertolini, B., Rossi, A., Ferreri, F., Cataudella, S., 1993. Observations on development and anomalies in the appendicular skeleton of sea bass, (*Dicentrarchus labrax* L. 1758), larvae and juveniles. *Aquaculture and Fisheries Management*. 24, 445–456.
- Markle, D. F., 1984. Phosphate buffered formalin for long term preservation of formalin fixed ichthyoplankton. *Copeia*. 2, 525-528.
- Matsuoka, M., 1982., Development of vertebral column and caudal skeleton of the Red Sea bream, *Pagrus major*. *Jpn. J. Ichthyol.* 29: 285-294. (In Japanese with English abstract).
- Matsuoka, M., 1987. Development of the skeletal tissues and skeletal muscles in the red sea bream. *Bull. Seikai Reg. Fish. Res. Lab.* 65: 1-114.
- Matsusato, T., 1986. Studies on the skeletal anomaly of fishes. *Bulletin of the National research Institute of Aquaculture (Japan)/Yoshokukenho* 10, 57-179.
- McKay, L. R. & Gjerde, B., 1986. Genetic variation for a spinal deformity in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, 52: 263-272.

- McLay, H. A., Youngson, A.F., Wright, R. S., Johnstone, R., 1992. Effects of rearing density on sexual maturation and growth in sea-cage reared Atlantic salmon, (*Salmo salar* L.) Aquacult. Fish. Manage. 23, 353-365.
- Melotti, P., Roncarati, A., Gennari, L., Mordenti, O., 1995. Trials of induced reproduction and larval rearing of curb (*Umbrina cirrosa* L.). Oebalia. 21, 37-42.
- Mook D., 1977. Larval and osteological development of the sheephead, *Archosargus probatocephalus* (Pisces: Sparidae). Copeia 1977: 126-133.
- Moretti, A., Pedini Fernandez-Criado, M., Cittolin, G., Guidastrri, R., 1999. Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream, Vol. 1. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 194 pp.
- Morrison, C., Cornick, G., Shum, G., Zwicker, B., 1981. Microbiology and histopathology of Asaddleback disease of under-yearling Atlantic salmon, (*Salmo salar* L.) J. Fish Dis. 4, 243-258.
- Muramoto, S., 1981. Vertebral column damage and decrease of calcium concentration in fish exposed experimentally to cadmium. Environ. Pollut., Ser. A 24, 125-133.
- Μυλωνάς, Κ. & Κυριάκου, Γ., 2002. Ανάπτυξη μεθόδων ελεγχόμενης αναπαραγωγής και εκτροφής μυλοκοπιού (*Umbrina cirrosa*) για την διαφοροποίηση της παραγωγής ιχθυοκαλλιέργειας στην Κύπρο και Ελλάδα. Ενδιάμεση έκθεση προόδου ερευνητικού έργου ΜΥΛΟΚΟΠΙ. Πρόγραμμα Ε&Τ Συνεργασίας μεταξύ των Δημοκρατιών Ελλάδας και Κύπρου (2000-2002). Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης, 46 pp.
- Mylonas, C. C., Georgiou, G., Stephanou, D., Attack, T., Afonso, A., Zohar, Y., 2000. Preliminary data on the reproductive biology and hatchery production of the shi drum (*Umbrina cirrosa*) in Cyprus. In: Basurco, B. (ed), Cahiers Options Mediterranennes, vol. 47: Mediterranean Marine Finfish Species Diversification, CIHEAM, Zaragoza, Spain, pp.303-312.
- Mylonas, C. C., Kyriakou, Y., Sigelaki, I., Georgiou, G., Stefanou, D., Divanach, P., 2004. Reproductive biology of the shi drum (*Umbrina cirrosa*) in captivity and induction of spawning using GNRHA. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh 56 (2), 75-92
- Nelson, J.S. 1994. Fishes of the world, 3rd edn. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Neira F.J., 1989. Larval development of the Australian devilfish, *Gymnapistes marmoratus* (Teleostei: Scorpaenidae). Fish Bull US 87: 889-898.
- Nelson, J. S., 1994. Fish of the World, 3rd Edition. John Wiley & Sons, Inc., New York, 600 pp.
- Osse, J. W. M., van den Boogaart, J. G. M., 1995. Fish larvae, development, allometric growth and the aquatic environment. ICES Mar. Sci. Symp. 201: 21-34.
- Oyen, F.G. F., Camps, L. E., Wendelaae-Bonga, S. E., 1991. Effects of acid stress on the embryonic development of the common carp (*Cyprinus carpio*) Aquatic Toxicology 19, 1-12.
- Paousao-Ferreira, P. & Soares, F., 1991. Growth and swim bladder inflation in *Sparus aurata* L. larvae. In: Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E. & Olivier, F. (eds) Larvae '91 Fish and Crustaceans Larviculture Symposium, European Aquaculture Society Special Publication No. 15, Ghent, Belgium, pp.41-42.
- Paperna, I., 1978. Swimbladder and skeletal deformations in hatchery bred *Sparus aurata* (L.). Journal of Fish Biology. 12, 109-114.
- Parillo, F.; Fagioli, O.; Ceccarelli, P., 2002. Glucidic determinants expressed by the digestive apparatus of *Umbrina cirrosa* (L.) fries as revealed by lectin histochemistry. Acta histochemica. 104, 209-215.

- Park, E. H., Kim, D. S., 1984. A procedure for staining cartilage and bone of whole vertebrate larvae while rendering all other tissues transparent. *Stain Technol.* 59, 269–272.
- Pavlov, D. A., 1997. Development of head skeleton and paired fin girdles in wolffish, (*Anarhichas lupus* L.), at different temperature regimes. *Journal of Ichthyology.* 37, 294–303.
- Pavlov, D. A. & Moksness, E., 1997. Development of the axial skeleton in wolffish, *Anarhichas lupus* (Pisces, Anarhichadidae), at different temperatures. *Environmental Biology of Fishes.* 49, 401–416.
- Pedini V., Scocco P., Radaelli G., Fagioli O., Ceccarelli P., 2001 Carbohydrate histochemistry of the alimentary canal of the shi drum, *Umbrina cirrosa* L. *Anat Histol Embryol.* 30, 345-349.
- Pedini, V., Scocco, P., Gargiulo, A.M., Ceccarelli, P., Lorvik S., 2002. Glycoconjugate characterization in the intestine of *Umbrina cirrosa* by means of lectin histochemistry. *Journal of Fish Biology.*
- Person-Le Ruyet, J., 1989. Early weaning of marine fish larvae onto microdiets: constraints and perspectives. *Advances in Tropical Aquaculture, Tahiti, AQUACOP. Actes Colloq.-IFREMER,* 9, pp. 625–642.
- Planas, M., Cunha, I., 1999. Larviculture of marine fish: problems and perspectives. *Aquaculture* 177, 171-190.
- Pohl, Ch., 1990. Skeletal deformities and trace metal contents of European smelt, (*Osmerus eperlanus* L.), in the Elbe Estuary. *Meeresforschung.* 33, 76– 89.
- Polo, A., Yufera, M., Pascual, E., 1991. Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L. *Aquaculture.* 92, 367-375.
- Post, G. W., 1993a. Salmonid reproduction. In: Stoskorf, M. (ed.) *Fish Medicine.* Saunders, Philadelphia, pp. 358-364.
- Post, G. W., 1993b. Nutrition and nutritional diseases of salmonids. In: Stoskorf, M. (ed.) *Fish Medicine.* Saunders, Philadelphia, pp. 343-357.
- Potthoff T., 1975. Development and structure of the caudal complex, the vertebral column, and the pterygiophores in the black fin tuna (*Thunnus atlanticus*, Pisces, Scombridae). *Bull Mar Sci* 25: 205-231.
- Potthoff T., 1980. Development and structure of fins and fin supports in dolphin fishes *Coryphaena hippurus* and *Coryphaena equiselis* (Coryphaenidae). *Fish Bull US* 78: 277-312.
- Potthoff T. & Kelley S., 1982. Development of the vertebral column, fins and fin supports, branchiostegal rays and squamation in the swordfish, *Xiphias gladius*. *Fish Bull US* 80: 161-186.
- Potthoff T. & Tellock JA., 1993. Osteological development of the snook, *Centropomus undecimalis* (Teleostei, Centropomidae). *Bull Mar Sci* 52: 669-716.
- Potthoff T, Richards WJ, Ueyanagi S., 1980. Development of *Scombrobrax heterolepis* (Pisces, Scombrobracidae) and comments on familial relationships. *Bull Mar Sci* 30: 329-357.
- Potthoff T, Kelley S, Javech JC., 1986. Cartilage and bone development in scombroid fishes. *Fish Bull US* 84: 647-678.
- Potthoff T, Kelley S, Collins LA., 1988. Osteological development of the red snapper, *Lutjanus campechanus* (Lutjanidae). *Bull Mar Sci* 43: 1-40.
- Potthoff T, Kelley S, Moe M, Young F., 1984. Description of porkfish larvae (*Anisotremus virginicus*, Haemulidae) and their osteological development. *Bull Mar Sci* 34: 21-59

- Potthoff T, Kelley S, Saksena V, Moe M, Young F., 1987. Description of larval and juvenile damselfish *Microspathodon chrysurus*, Pomacentridae, and their osteological development. *Bull Mar Sci* 40: 330-375.
- Purcell, J. E., Grosse, D., Grover, J. J., 1990. Mass abundances of abnormal Pacific herring larvae at a spawning ground in British Columbia. *Transactions of the American Fisheries Society* 19, 463-469.
- Quemener, L., Suquet, M., Mero, D., Gaignon, J. L. 2002. Selection method of new candidates for finfish aquaculture: the case of French Atlantic, the Channel and the North Sea coast. *Aquat. Living Resour.* 15, 293-302.
- Radaelli, C., Domeneghini, S., Arrighi, G., Bosi, M., Patrino, B., 2003. Localization of IGF-I, IGF-I receptor, and IGF-BP-2 in developing *Umbrina cirrosa* (Pisces:Osteichthyes). *Funkenstein.* 130, 232-244.
- Richards WJ, Miller RV, Houde E., 1974. Egg and larval development of Atlantic thread herring, *Opisthonema oglinum*. *Fish Bull US* 72: 1123-1136.
- Roberts, R. J., 1989. *Fish Pathology*, 2nd edn. Balliere Tindall, London. 467 pp.
- Saroglia, M. & Scarano, G., 1992. Experimental induction of ascorbic acid deficiency in sea bass in intensive aquaculture. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 12: 96-99.
- Segner, H., Storch, V., Reinecke, M. Et al., 1995. A tabular overview of organogenesis in larval turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *ICES mar.Sci. Symp.*, 201: 35-39.
- Sfakianakis, D. G., Koumoundouros, G., Anezaki, L., Divanach, P., Kentouri, M., 2003. Development of a saddleback-like syndrome in reared white seabream *Diplodus sargus* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture.* 217, 673–676.
- Sfakianakis, D. G., Koumoundouros, G., Divanach, P., Kentouri, M., 2004. Osteological development of the vertebral column and of the fins in *Pagellus erythrinus* (L. 1758). Temperature effect on the developmental plasticity and morpho-anatomical abnormalities. *Aquaculture.* 232, 673–676.
- Sfakianakis, D. G., Doxa, C. K., Kouttoui S., Koumoundouros G., Maingot E., Divanach P., Kentouri M. 2005. Osteological development of the vertebral column and of the fins in *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777). *Aquaculture*, υπό δημοσίευση.
- Sfakianakis, D.G., Georgakopoulou, E., Papadakis, I.E, Divanach, P., Kentouri, M, Koumoundouros, G., 2005. Environmental determinants of haemal lordosis in fish. *Aquaculture*, submitted.
- Shivastava, A. K., 1984. Caudal fin deformity in freshwater spiny eel, *Magrornathus aculeatus* (Bloch). *MATSYA-the Bulletin of the Indian Society of Ichthyologists* 9-10, 189-191.
- Shresta, T. K., 1985. Further observations on vertebral deformity in *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *MATSYA-the Bulletin of the Indian Society of Ichthyologists* 11, 82-84.
- Sindermann, C. J., 1988. Skeletal deformities in striped bass. In: Sindermann, C.J. & Lighter, D.V. (eds) *Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture*. Elsevier, Amsterdam, pp. 370-372.
- Takashima, F., Nomura, M., Ishii, S., 1976. Anomalies of hatchery reared ayu, *Plecoglossus altivelis*. 1. Malformation of the skeletal system found in the fry. *Journal of the Tokyo University School of Fisheries, Tokyo, Japan* 62, 91-97.
- Takeuchi, T., Dedi, J., Ebisawa, C., Watanabe, T., Seikai, T., Hosoya, K., Nakazone, J. I., 1995. The effect of beta-carotene and vitamin A enriched *Artemia* nauplii on the malformation and color abnormality of larval Japanese flounder. *Fisheries Science.* 61, 141–148.

- Taki Y, Kohno H, Hara S., 1986. Early development of fin-supports and fin-rays in the milkfish *Chanos chanos*. Jpn J Ichthyol 32: 413-420.
- Tave, D. & Handwerker, T. S., 1994. Semi-operculum: a non heritable birth defect in *Tilapia nilotica*. Journal of the World Aquaculture Society 25, 333-336.
- Tave, D., 1986. Genetics for hatchery managers. AVI Publishing, Westport. 299 pp.
- Tave, D., Bartels, J. E., Smitherman, R. O., 1983. Saddleback: a dominant, lethal gene in *Sarotherodon aureus* (Steindachner) (=Tilapia aurea). J. Fish Dis. 6, 59-73.
- Tilney, R. L. & Hecht, T., 1993. Early ontogeny of *Galeichthys feliceps* from the south east coast of South Africa. J. Fish Biol., 43: 183-212.
- Treasurer, J., 1992. Vertebrae anomalies associated with *Myxobolus* sp. in perch, *Perca fluviatilis* L., in a Scottish loch. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 12, 61-63.
- Valente, A.C.N., 1988. A note on fin abnormalities in *Leuciscus cephalus* L. and *Carassius carassius* L. Ž. Pisces: Cyprinidae. J. Fish Biol. 32, 633-634.
- Valle, L. D., Negrisolo, E., Patarnello, P., Zanella, L., Maltese, C., Bovo, G., Colombo, L., 2001. Sequence comparison and phylogenetic analysis of fish nodaviruses based on the coat protein gene. Arch Virol. 146, 1125-37.
- Van Leeuwen, C.J., Helder, T., Seinen, W., 1986. Aquatic toxicological aspects of dithiocarbamates and related compounds: IV. Teratogenicity and histopathology in rainbow trout (*Salmo gairdneri* L.). Aquat. Toxicol. 9, 147-159.
- Van Snik, G. M. J., van den Boogaart, Osse, J. W. M., 1997. Larval growth patterns in *Cyprinus carpio* and *Chlarias gariepinus* with attention to the finfold. J. Fish. Biol., 50: 1339-1353.
- Vandewalle, P., Focant, B., Huriaux, F., Chardon, M., 1992. Early development of the cephalic skeleton of *Barbus barbus* (Teleostei, Cyprinidae). J. Fish Biol. 41: 43-62.
- Vandewalle P, Gluckmann I, Baras E, Huriaux F, Focant B., 1997. Postembryonic development of the cephalic region in *Heterobranchius longifilis*. J Fish Biol 50: 227-253.
- Wagemans F. & Vandewalle P., 1999. Development of the cartilaginous skull in *Solea solea*: trends in Pleuronectiforms. Ann Sci Nat 1: 39-52.
- Wagemans F, Focant B, Vandewalle P., 1998. Early development of the cephalic skeleton in the turbot. J Fish Biol 52: 166-204.
- Watson W., 1987. Larval development of the endemic Hawaiian blennioid, *Enchelyurus brunneolus* (Pisces: Blenniidae: Omobranchini). Bull Mar Sci 41: 856-888.
- Watson W. & Walker H. J., 1992. Larval development of sargo (*Anisotremus davidsonii*) and salema (*Xenistius californiensis*) (Pisces, Haemulidae) from the Southern California bight. Bull Mar Sci 51: 360-406.
- Wimberger, P. H., 1993. Effects of vitamin C on body shape and skull osteology in *Geophagus brasiliensis*: implications for interpretations of morphological plasticity. Copeia 2, 343-351.
- Zaiss, M. & Mylonas C. C., 2005. Ontogeny of the digestive tract in shi drum (*Umbrina cirrosa* L.) reared using the mesocosm larval rearing system. Αδημοσίευτα αποτελέσματα.
- Zitzow, R. E., Millard, J. L., 1988. Survival and growth of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis* L.) larvae fed only formulated dry diets. Aquaculture. 69, 105-113.
- Zohar, Y., 1988. Gonadotropin releasing hormone in spawning induction in teleosts: basic and applied considerations, in Reproduction in Fish. Basic and Applied Aspects of Endocrinology and Genetics, Y Zohar and B. Breton eds. INRA Press: Paris p47-62.

- Zohar, Y. & Mylonas, C. C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture* 197: 99-136.
- Κεντούρη, Μ., 1998. Υδατοκαλλιέργειες. Παγκόσμια πρακτική και αποδόσεις. Πανεπιστήμιο Κρήτης-Βιολογικό Τμήμα. 177pp.
- Πήττα, Π., 1995. Η δυναμική του πλαγκτονικού συστήματος σε μεσοκόσμους εκτροφής τσιπούρας (*Sparus aurata*). Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, 209 p.
- <http://www.fishbase.gr>