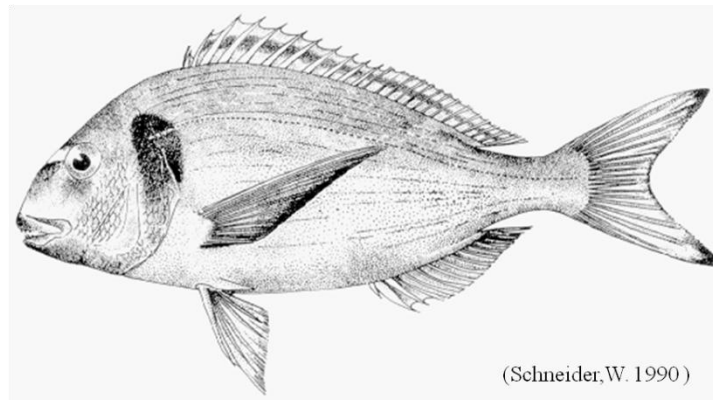




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΜΣ: ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ
ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΧΕΡΣΑΙΩΝ ΚΑΙ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ ΤΟΥ
ΣΧΗΜΑΤΟΣ ΣΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΩΤΟΛΙΘΩΝ ΣΕ ΤΣΙΠΟΥΡΕΣ
(*SPARUS AURATA* LINNAEUS, 1758) ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ
ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΟΥ ΕΛΛΑΔΙΚΟΥ ΧΩΡΟΥ**



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΓΕΛΑΔΑΚΗΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2016



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΜΣ: ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ
ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΧΕΡΣΑΙΩΝ ΚΑΙ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ**

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ ΤΟΥ
ΣΧΗΜΑΤΟΣ ΣΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΩΤΟΛΙΘΩΝ ΣΕ ΤΣΙΠΟΥΡΕΣ
(*SPARUS AURATA* LINNAEUS, 1758) ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ
ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΟΥ ΕΛΛΑΔΙΚΟΥ ΧΩΡΟΥ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΓΕΛΑΔΑΚΗΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΟΥΜΟΥΝΔΟΥΡΟΣ

ΣΥΝΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ: ΣΤΥΛΙΑΝΟΣ ΣΩΜΑΡΑΚΗΣ

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Γ. ΚΟΥΜΟΥΝΔΟΥΡΟΣ (ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ, ΠΑΝ. ΚΡΗΤΗΣ)

Σ. ΣΩΜΑΡΑΚΗΣ (ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΕΡΕΥΝΩΝ, ΕΛΚΕΘΕ)

Μ. ΓΙΑΝΝΟΥΛΑΚΗ (ΚΥΡΙΑ ΕΡΕΥΝΗΤΡΙΑ, ΕΛΚΕΘΕ)

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα Πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Θαλάσσιας Βιολογίας-Βιολογίας Ιχθύων, του τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης.

Πρώτα απ' όλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Γεώργιο Κουμουνδούρο για την εμπιστοσύνη, την στήριξη και την άμεση ανταπόκριση που μου έχει δείξει καθ όλη τη διάρκεια παραμονής μου στο εργαστήριο. Επίσης θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την μεγάλη παροχή γνώσης και εμπειρίας που μου πρόσφερε τόσο σε θεωρητικό όσο και σε πρακτικό επίπεδο.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στον Δρ. Στέλιο Σωμαράκη για την μεγάλη και άμεση βοήθεια του, στην ανάλυση και την στατιστική επεξεργασία δειγμάτων. Επίσης θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη και τη στήριξη που μου έδειξε, προσφέροντας μου το ταξίδι στη Θεσσαλονίκη για την αρχική επεξεργασία μέρους των δειγμάτων της παρούσας μελέτης.

Από την άριστη αυτή συνεργασία, δεν θα μπορούσε να λείπει φυσικά και ο Δρ. Νίκος Νικολιουδάκης, μεταδιδακτορικός ερευνητής στο Ινστιτούτο Θαλασσιών Ερευνών του Bergen της Νορβηγίας, για την άμεση ανταπόκρισή του στη στατική επεξεργασία των δειγμάτων (εκμάθηση R) καθώς και για την ανιδιοτέλεια και την υπομονή του.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που μεσολάβησαν για τη λήψη των δειγμάτων: την κ. Νότα Περιστεράκη, ερευνήτρια του ΕΛΚΕΘΕ, τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Θανάση Τσίκληρα από το Πανεπιστήμιο της Θεσσαλονίκης, καθώς και το προσωπικό της εταιρίας ιχθυοκαλλιεργειών ΑΝΔΡΟΜΕΔΑ.

Ευχαριστώ επίσης και τα άτομα του Εργαστηρίου Βιολογίας Ιχθύων του Πανεπιστημίου Κρήτης, για την καθημερινή στήριξη και την προσφορά άμεσης βοήθειας όποτε την χρειαζόμουν.

Τελειώνοντας, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους δικούς μου ανθρώπους στο Ηράκλειο για τη στήριξη και την εμπύχωση που μου πρόσφεραν όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

Κλείνοντας, χρωστάω ίσως το μεγαλύτερο ευχαριστώ και την ευγνωμοσύνη μου προς την οικογένειά μου! Τους ευχαριστώ από βάθους ψυχής για την αγάπη και τη συνεχή τους στήριξη αλλά και την υποστήριξή τους σε κάθε μου επιλογή.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1	ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	1
2	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	5
2.1	Αλιευτικά αποθέματα.....	5
2.2	Ταυτοποίηση αποθεμάτων	5
2.2.1	Σημασία προσδιορισμού των αποθεμάτων	5
2.2.2	Τρόποι διάκρισης αποθεμάτων	6
2.2.3	Εργαλεία διάκρισης αποθεμάτων	7
2.3	Βασικά χαρακτηριστικά της τσιπούρας (κατανομή – βιολογία).....	9
2.4	Στοιχεία καλλιέργεια της τσιπούρας.....	10
2.5	Διαφοροποίηση μεταξύ γεωγραφικών ομάδων τσιπούρας	10
2.6	Διάκριση μεταξύ άγριων και εκτρεφόμενων ατόμων τσιπούρας.....	12
2.7	Επιπτώσεις των δραπετεύσεων των εκτρεφόμενων ατόμων τσιπούρας στους φυσικούς πληθυσμούς.....	13
2.8	Σκοπός της παρούσας εργασίας	14
3	Υλικά και μέθοδοι	15
3.1	Δειγματοληψία	15
3.2	Επεξεργασία δειγμάτων	16
3.3	Ανάλυση λεπιών.....	16
3.4	Μορφομετρική ανάλυση του σχήματος του σώματος	17
3.5	Συντελεστής ευρωστίας (condition factor)	19
3.6	Ανάλυση ωτολίθων	19
4	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	22
4.1	Κύρια βιολογικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων	22
4.2	Ανάλυση βαθμού αναγέννησης λεπιών.....	23
4.3	Ανάλυση σχήματος σώματος	24
4.3.1	Διάκριση με βάση την περιοχή προέλευσης των ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών (LR)	24
4.3.2	Διάκριση με βάση την περιοχή προέλευσης ανεξάρτητα βαθμού αναγέννησης λεπιών	27
4.3.3	Διάκριση με βάση την προέλευσης του συνόλου των δειγμάτων	30
4.4	Ανάλυση σχήματος ωτολίθων.....	33

4.4.1	Διάκριση με βάση την περιοχή προέλευσης στα άτομα με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών (LR)*	33
4.4.2	Διάκριση με βάση την περιοχή προέλευσης ανεξάρτητα από το βαθμό αναγέννησης λεπιών	37
4.4.3	Διάκριση με βάση την προέλευση των ωτόλιθων του συνόλου των δειγμάτων	42
4.5	Κυμαινόμενη ασυμμετρία ωτολίθων.....	47
4.6	Συντελεστής ευρωστίας.....	51
5	Συζήτηση	53
5.1	Βαθμός αναγέννησης των λεπιών	53
5.2	Σχήμα του σώματος.....	54
5.3	Σχήμα των ωτολίθων.....	56
5.4	Συμπεράσματα	58
6	Βιβλιογραφία	59
7	Παράρτηματα	63

1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στη παρούσα Μεταπτυχιακή Διατριβή πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη, γεωγραφικά διακριτών δειγμάτων τσιπούρας (*Sparus aurata*), ως προς το σχήμα του σώματος, το σχήμα των ωτολίθων, καθώς και ως προς την κυμαινόμενη ασυμμετρία των ωτολίθων. Σκοπός ήταν να ελεγχθούν οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των υπό εξέταση γεωγραφικών περιοχών, να μελετηθούν οι διαφορές μεταξύ της άγριας και της εκτρεφόμενης τσιπούρας, και να εκτιμηθεί η συμβολή των δραπετεύσεων στην διακύμανση του φυσικού φαινοτύπου. Τα δείγματα συλλέχθηκαν, από το Βόρειο (Λιμνοθάλασσα Βιστωνίδας), το Κεντρικό-Δυτικό (Μαλιακός Κόλπος) και το Κεντρικό-Ανατολικό (Κάλυμνος) Αιγαίο, καθώς και από το Ιόνιο πέλαγος, τα έτη 2014-2015. Δείγματα από δύο διαφορετικές μονάδες εκτροφής, μια από το Ιόνιο και μια από το Αιγαίο, χρησιμοποιήθηκαν στη παρούσα μελέτη. Τα ψάρια εκτροφής παρουσιάζουν υψηλότερο ποσοστό αναγεννημένων λεπιών σε σχέση με τα άγρια, λόγω των μηχανικών καταπονήσεων που υφίστανται από τους ανθρώπινους χειρισμούς στις μονάδες καλλιέργειας. Βάσει αυτού, ο βαθμός αναγέννησης των λεπιών, χρησιμοποιήθηκε ως κριτήριο διάκρισης των ατόμων σε άγρια και πιθανά ψάρια δραπέτες. Ο μέσος βαθμός αναγέννησης των ατόμων των δειγμάτων εκτροφής προέκυψε 99.9%. Για τα 4 από τα 5 δείγματα φυσικής προέλευσης, ο βαθμός αναγέννησης κυμάνθηκε από $24 \pm 16\%$ έως $42 \pm 18\%$ με μέσο βαθμό αναγέννησης 32.5% (Εικόνα 6a). Έτσι ορίστηκε το 30% αναγέννηση ως κατώφλι διάκρισης μεταξύ «πραγματικά άγριων» και πιθανά διαφυγόντων ατόμων. Το δείγμα της Καβάλας παρουσίασε 2-3 φορές μεγαλύτερο βαθμό αναγέννησης από τα υπόλοιπα δείγματα φυσικής προέλευσης, αυξάνοντας τη πιθανότητα ύπαρξης υψηλού ποσοστού πρώην εκτρεφόμενων ατόμων εντός του αποθέματος. Με βάση την προέλευση, εξετάστηκε η ύπαρξη διαφορών στο σχήμα του σώματος και των ωτολίθων, για τα άτομα με χαμηλό βαθμό αναγέννησης ($\leq 30\%$, πιθανά πραγματικά «άγρια»), για το σύνολο των ατόμων που συλλέχθηκαν στο πεδίο, καθώς και για το σύνολο των δειγμάτων (άγρια και εκτροφής).

Η ανάλυση του σχήματος του σώματος έγινε με τη μέθοδο της γεωμετρικής μορφομετρίας, ενώ οι διαφορές μεταξύ των ομάδων εξετάστηκαν μέσω της ανάλυσης διαχωρισμού bg-PCA (between groups Principal component analysis). Για τη μελέτη της ποικιλομορφίας του σχήματος των ωτολίθων, έγινε χρήση του ειδικού πακέτου “ShapeR” μέσω της γλώσσας προγραμματισμού ‘R’ και της ανάλυσης διαχωρισμού CAP (Canonical Analysis of Principal Coordinates). Ως προς την κυμαινόμενη ασυμμετρία των ωτολίθων, εξετάστηκε η μέση απόλυτη τιμή της διαφοράς των

δύο πλευρών ($| Ri-Li |$) καθώς και η διακύμανση της διαφοράς, σταθμισμένη με το ήμισυ του μέσου όρου $\frac{Ri-Li}{2}$, με βάση την άγρια ή εκτρεφόμενη προέλευση των ατόμων και τον βαθμό αναγέννησης των λεπιών. Για το σύνολο των αναλύσεων, η στατιστική σημαντικότητα των διαφορών μεταξύ των ομάδων εξετάστηκε μέσω ανάλυσης διασποράς (ANOVA) και του *a posteriori* Bonferroni test.

Από την ανάλυση του σχήματος του σώματος οι σημαντικότερες διαφορές αφορούσαν τη διάκριση των εκτρεφόμενων από τα άγρια άτομα κατά μήκος του bg-PC1 άξονα ($P < 0.001$), με το δείγμα της περιοχής της Καβάλας να ομαδοποιείται με τα εκτροφής. Από την ανάλυση του σχήματος των ωτολίθων, σημαντική διαφορά προέκυψε μεταξύ των δειγμάτων Ιονίου και Αιγαίου για τα άτομα με χαμηλό βαθμό αναγέννησης κατά μήκος του CAP1 άξονα ($P < 0.001$). Ισχυρή διαφοροποίηση υπήρξε μεταξύ εκτρεφόμενων και άγριων ατόμων ως προς το σχήμα ($P < 0.001$) και την κυμαινόμενη ασυμμετρία των ωτολίθων ($P < 0.05$).

Στη συζήτηση σχολιάζεται η σημασία των αποτελεσμάτων ως προς τη διάκριση των αποθεμάτων τσιπούρας, τη διαφοροποίηση των άγριων ατόμων από τα εκτροφής, καθώς και τον διαχωρισμό των διαφυγόντων από τα άγρια. Τα κύρια αποτελέσματα δείχνουν ότι το σχήμα του σώματος και των ωτολίθων, διαφοροποιείται μεταξύ των διαφορετικών περιοχών. Τα άτομα εκτροφής διαφοροποιούνται από τα άγρια για όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν. Ο βαθμός αναγέννησης των λεπιών δεν επιδρά σημαντικά στη διακύμανση του σχήματος του σώματος και των ωτολίθων στα άγρια άτομα τσιπούρας. Σημαντική είναι η ένδειξη της ύπαρξης γεωγραφικής διαφοροποίησης της τσιπούρας μεταξύ Αιγαίου και Ιονίου πελάγους με βάση το σχήμα των ωτολίθων, το οποίο φαίνεται να μην επηρεάζεται από την εποχικότητα.

ABSTRACT

In the present thesis, a comparative study of the body shape, otolith shape and otolith fluctuating asymmetry between the two sides of the body, was carried out on gilthead sea breams (*Sparus aurata*) of different geographical origin. Our purpose was to be examined the differentiations between area samples, studied the differences between reared and wild individuals and to estimate the contribution of aquaculture escapees to the variation of natural phenotype. Samples were collected from the North (Kavala), West-central (Maliakos) and East-central (Kalymnos) Aegean, as well as from the Ionian Sea in 2014-2015. Fish from two different aquaculture farms, one from the Ionian and one from the Aegean Sea, were used at present study. The rate of regenerated scales is greater in reared compared to wild fish, as the former are succumbed into mechanical stress, which is provoked by aquaculture manipulations. Based on this, the degree of scale regeneration was used to assign wild-caught fish as actually wild or, potentially, aquaculture escapees. The mean degree of scale regeneration of reared fish was 99.9%. For 4 of 5 samples collected in the field, the degree of scale regeneration ranged from $24 \pm 16\%$ to $42 \pm 18\%$, with mean degree 32.5% (Image 6a). Based on this result, the degree of 30% of scale regeneration was defined as discrimination threshold between actually wild and potentially, aquaculture escapees. Kavala area sample presented 2-3 times greater degree of scale regeneration compared to the other samples collected in the field, increasing possibility of existence high level of former reared individuals in the stock. Based on origin, Differences in body and otoliths shapes, for individuals with low degree of scale regeneration (presumably wild individuals), for all individuals collected in the field, as well as for all sampled (including reared fish), were examined.

Geometric morphometric technique was used for body shape analysis and the differences between groups were examined by the bg-PCA (between groups Principal component analysis) discriminant analysis. The “ShapeR” package by means of programming language ‘R’ and CAP (Canonical Analysis of Principal Coordinates) discriminant analysis, were used for otolith shape variation between samples. For otoliths fluctuating asymmetry, the mean absolute difference between the two sides of the body ($| Ri - Li |$) and also the variance of difference, weighted by half of the average $\frac{Ri + Li}{2}$, based on wild or reared origin of individuals and the degree of scale

regeneration, were examined. For all analysis, the statistical significance of differences between groups was examined with the analysis of variance (ANOVA) and the *a posteriori* Bonferroni test.

Body shape analysis main results, suggested that the most significant differences were presented between reared and wild-caught individuals along the bg-PC1 axis ($P < 0.001$), with the Kavala sample being grouped with reared samples. Otolith shape analysis main results, suggested a differentiation between the Aegean and Ionian samples for individuals with low degree of scale regeneration along the CAP1 axis ($P < 0.001$). Furthermore, wild-caught and reared individuals differed significantly in terms of otolith shapes ($P < 0.01$) and fluctuating asymmetry ($P < 0.05$).

In discussion segment was annotated the importance of the results in Sea bream stock discrimination, in wild-caught and reared differentiation as well as in the distinction of potentially, aquaculture escapees from wild fish. The main results indicate that the body and otolith shape, differentiated between district areas. The differentiation between reared and wild individuals was significant for all the parameters were examined. The degree of scale regeneration had no significant effect on the variance of body and otolith shape of wild-caught individuals. Finally, there was strong indication of a geographical differentiation between the Aegean and Ionian Sea seabream stocks based on otolith shape, which seems to remain unaffected by seasonality.

2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

2.1 Αλιευτικά αποθέματα

Αλιευτικό απόθεμα είναι μια ομάδα ψαριών του ίδιου είδους, με συγκεκριμένη κατανομή στο χώρο και στο χρόνο, ικανό πληθυσμιακό μέγεθος αναπαραγωγής και με μερική ή ολική αναπαραγωγική απομόνωση. Τα μέλη του κάθε αποθέματος παρουσιάζουν παρόμοια χαρακτηριστικά ιστορίας ζωής, όπως είναι ο ρυθμός ανάπτυξης, ο ρυθμός θνησιμότητας και ρυθμός στρατολόγησης (Begg & Waldman 1999, Pawson & Jennings 1996). Το κυριότερο χαρακτηριστικό των αποθεμάτων, που τα διαχωρίζει από τις έννοιες του πληθυσμού και του υποπληθυσμού, είναι το ότι τα αποθέματα αποτελούν μονάδες οι οποίες υπόκεινται σε αλιευτική εκμετάλλευση. Για το λόγο αυτό, στην αλιευτική επιστήμη το απόθεμα αρχικά αναφέρθηκε σαν μια οποιαδήποτε ομάδα ενός είδους ψαριού η οποία είναι διαθέσιμη για εκμετάλλευση σε μια συγκεκριμένη περιοχή (Milton & Shaklee 1987). Σύμφωνα με τον Marr (1957), ο όρος του υποπληθυσμού, αναφέρεται σε μια γενετικά αυτοτελή μονάδα, με το μικρότερο ικανό μέγεθος αναπαραγωγής. Ένα αλιευτικό απόθεμα, μπορεί να αποτελεί είτε έναν πληθυσμό, είτε τμήμα ενός πληθυσμού, είτε να περιλαμβάνει μέλη από διαφορετικούς υποπληθυσμούς. Τα μέλη του αποθέματος, χαρακτηρίζονται από μη κληρονομήσιμες ιδιότητες οι οποίες επάγονται από το ίδιο περιβάλλον διαβίωσης (Marr 1957). Για το λόγο αυτό η ταξονομική θέση των αποθεμάτων μπορεί να ποικίλει και να παραμένει ασαφής, με τις περισσότερες των περιπτώσεων να θεωρείται ως κατώτερη ταξονομική βαθμίδα από αυτή του πληθυσμού (Cushing 1968).

2.2 Ταυτοποίηση αποθεμάτων

2.2.1 Σημασία προσδιορισμού των αποθεμάτων

Η ταυτοποίηση των αποθεμάτων έχει μεγάλη σημασία για την αλιευτική επιστήμη, αποτελώντας αναπόσπαστο κομμάτι της αλιευτικής διαχείρισης και της προστασίας των απειλούμενων ειδών (Begg *et al.* 1999a). Η οριοθέτηση της κατανομής των αποθεμάτων είναι απαραίτητη για την αναγνώριση και την προστασία των περιοχών ωοτοκίας και ανάπτυξης των ιχθυονυμφών. Τα ωκεανογραφικά δεδομένα συνδράμουν στη ταυτοποίηση των αναπαραγωγικών περιόδων, στη κατανόηση του ελέγχου της διασποράς των αναπτυσσόμενων ιχθυονυμφών καθώς και στον καθορισμό των ευαίσθητων ενδιαιτημάτων του κύκλου ζωής των

ψαριών (πεδία αναπαραγωγής, στρατολόγησης και αύξησης) (Pawson & Jennings 1996). Για την αλιευτική επιστήμη, κύριος σκοπός του προσδιορισμού των ιχθυοαποθεμάτων, αποτελεί η επίτευξη της αειφόρου παραγωγής και η ανάπτυξη κατάλληλων στρατηγικών για τη διαχείριση τους (Begg *et al.* 1999b). Παρόλα αυτά, η δυσκολία στην οριοθέτηση της κατανομής των αποθεμάτων δημιουργεί αβεβαιότητα σχετικά με τον προσδιορισμό της δομής και της σύστασής τους (Begg *et al.* 1999a).

2.2.2 Τρόποι διάκρισης αποθεμάτων

Πλήθος ερευνών έχουν ασχοληθεί με την ταυτοποίηση των αποθεμάτων, ελέγχοντας την ύπαρξη ποικιλομορφίας σε παραμέτρους γενετικές, φυσιολογίας ή παραμέτρους που επηρεάζονται από το περιβάλλον. Η ποικιλομορφία αυτή μπορεί να επηρεάσει και να διαφοροποιήσει όλες τις παραμέτρους της ιστορίας ζωής των αποθεμάτων όπως είναι ο ρυθμός αύξησης, ο ρυθμός στρατολόγησης, η γονιμότητα, η ηλικία πρώτης αναπαραγωγής, η αφθονία και ο ρυθμός θνησιμότητας. Η ύπαρξη γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ αποθεμάτων του ίδιου είδους, προϋποθέτει χρόνια γεωγραφική και αναπαραγωγική απομόνωση και εντείνεται με τη δράση διαφορετικής περιβαλλοντικής πίεσης. Για το σκοπό αυτό, οι τοπικές υδρολογικές συνθήκες θα πρέπει να είναι τέτοιες ώστε να ελαχιστοποιούν την ανάμιξη των αυγών και ιχθυονυμφών μεταξύ γειτονικών αποθεμάτων, διατηρώντας τη γενετική απομόνωση. Εντούτοις, είναι απαραίτητος ο έλεγχος της σταθερότητας της απομόνωσης σε βάθος χρόνου, τόσο μέσω γενετικών μελετών όσο και περιβαλλοντικών δεδομένων (Begg *et al.* 1999a).

Οι διαφορές στις παραμέτρους της ιστορίας ζωής των ψαριών μεταξύ αποθεμάτων δεν οφείλονται κατ' ανάγκη σε αντίστοιχες διαφορές στο γονότυπο. Συγκεκριμένα, γειτονικά αποθέματα μπορούν να παρουσιάζουν φαινοτυπική ποικιλομορφία εξαιτίας διαφορετικών περιβαλλοντικών και οικολογικών συνθηκών. Οι φαινοτυπικές αυτές διαφορές δεν υπαγορεύουν αναγκαστικά αντίστοιχες γονοτυπικές διαφοροποιήσεις, ούτε υποδεικνύουν απαραίτητα γενετική απομόνωση μεταξύ των αποθεμάτων. Εντούτοις μπορούν να προκληθούν ως αποτέλεσμα της φαινοτυπικής πλαστικότητας των ψαριών (Begg & Waldman 1999). Η φαινοτυπική πλαστικότητα ορίζεται ως η διαφορική έκφραση του ίδιου γονότυπου σε διαφορετικούς φαινότυπους ως απόκριση στις διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες διαβίωσης. Η πλαστικότητα μπορεί να εκφράζεται τόσο σε επίπεδο μορφολογίας, βιοχημικό, αναπτυξιακό και φυσιολογικό καθώς και στα πρότυπα συμπεριφοράς των ψαριών. Σε βιοχημικό και αναπτυξιακό

επίπεδο η πλαστικότητα μπορεί να αναστραφεί εντός μικρής χρονικής κλίμακας, ενώ σε επίπεδο ανάπτυξης, τείνει να προκαλεί μόνιμες, μη αναστρέψιμες αποκρίσεις (Pigliucci *et al.* 2006).

Οι παράγοντες που συντελούν στη διαφορική απόκριση των φαινοτύπων των ψαριών στα διαφορετικά περιβάλλοντα διαβίωσης είναι κυρίως η θερμοκρασία, η αλατότητα, η φωτοπερίοδος, η διαθεσιμότητα τροφής, η πληθυσμιακή πυκνότητα και η θήρευση (Gilbert 2001, Loizides *et al.* 2014). Συγκεκριμένα για τη θερμοκρασία, έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες σε διαφορετικά είδη ψαριών, οι οποίες έχουν δείξει ότι η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσει τον ρυθμό ανάπτυξης (Koumoundouros *et al.* 2001), το σχήμα του σώματος (Georgakopoulou *et al.* 2007, Loizides *et al.* 2014) και των ωτολίθων (Abaad *et al.* 2016), την αναλογία του φύλου (Koumoundouros *et al.* 2002), και την δημιουργία μορφο-ανατομικών ανωμαλιών κατά την ανάπτυξη (Georgakopoulou *et al.* 2010). Τέλος, η άσκηση διαφορετικής αλιευτικής πίεσης σε αποθέματα γειτονικών περιοχών, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα σημαντικές επιπτώσεις στην αύξηση, την επιβίωση και την αναπαραγωγική ικανότητα των μελών τους (Pawson & Jennings 1996).

2.2.3 Εργαλεία διάκρισης αποθεμάτων

2.2.3.1 Γενετικοί και μοριακοί δείκτες

Ένα ευρύ φάσμα γενετικών και μοριακών δεικτών έχει χρησιμοποιηθεί στην αλιευτική επιστήμη για τον προσδιορισμό της γενετικής ποικιλότητας και δομής των αλιευτικών αποθεμάτων σε είδη με μεγάλη οικονομική και εμπορική αξία. Οι δείκτες αυτοί, αποτελούν τη βάση για τον καθορισμό της γενετικής απομόνωσης διότι είναι θετικά συσχετιζόμενοι με το χρόνο γενετικής απόκλισης των αποθεμάτων. Σε κάθε περίπτωση, η επιλογή της χρήσης των διαφορετικών γενετικών ή μοριακών δεικτών, εξαρτάται από τον ρυθμό της εξελικτικής τους διαφοροποίησης (Begg *et al.* 1999a). Στους μοριακούς δείκτες περιλαμβάνονται οι έλεγχοι της ποικιλομορφίας των πρωτεϊνών και των ενζύμων (αλλοένζυμα), ως έμμεση έκφραση διαφορών στις νουκλεοτιδικές βάσεις του DNA. Η ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών αποτελεί μια απλή μέθοδο ελέγχου γενετικών διαφορών μεταξύ των αποθεμάτων (Alarcon *et al.* 2004). Στους γενετικούς δείκτες, ανήκουν οι έλεγχοι της ποικιλομορφίας των αλληλουχιών του πυρηνικού (nDNA) και μιτοχονδριακού DNA (mtDNA). Το πλεονέκτημα του μιτοχονδριακού DNA είναι ότι αποτελεί ένα μικρό, απλοειδές, κυκλικό μόριο, το οποίο ως επί το πλείστον είναι μητρικής προέλευσης και οι διαφορετικές περιοχές του έχουν διαφορετικό ρυθμό εξέλιξης. Το πυρηνικό

DNA, περιλαμβάνει ένα πολυάριθμο σύνολο δεικτών, τόσο γονιδίων (βραδύς ρυθμός εξέλιξης) όσο και μη κωδικών περιοχών (ταχύς ρυθμός εξέλιξης). Εξαιτίας του ότι είναι διπλοειδές και κατανεμημένο στα χρωμοσώματα, τα γεγονότα του ανασυνδυασμού αντανακλούν γενετικά χαρακτηριστικά και στα δύο φύλα (Begg & Waldman 1999). Περιοχές του πυρηνικού DNA (όπως είναι το μικροδορυφορικό DNA), αποτελούν πολύ ευαίσθητους δείκτες της ομοζυγωτίας (προϊόν συγγενών διασταυρώσεων) και ως εκ τούτου είναι κατάλληλες για τη διάκριση ελαφρώς διαφοροποιημένων πληθυσμών (Alarcon *et al.* 2004). Αρκετοί μικροδορυφορικοί τόποι έχουν χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό άγριων και εκτρεφόμενων πληθυσμών ψαριών, συμπεριλαμβανομένης της τσιπούρας (Batargias *et al.* 1999, Karaiskou *et al.* 2009).

2.2.3.2 Φαινοτυπικοί χαρακτήρες

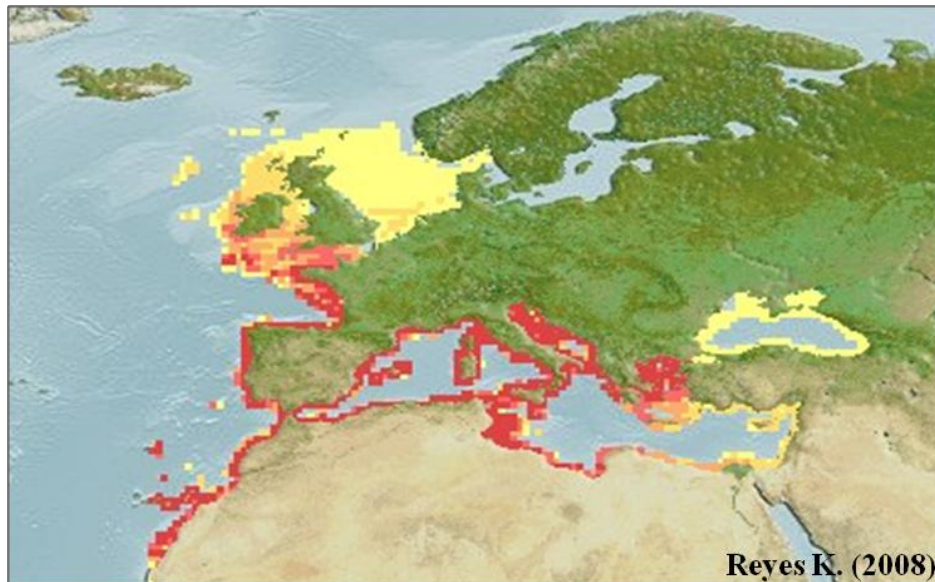
Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά είναι οι κυριότεροι φαινοτυπικοί χαρακτήρες που χρησιμοποιούνται στον έλεγχο διαφοροποίησης των αποθεμάτων. Είναι ιδιαίτερα χρήσιμοι διότι υπόκεινται σε ταυτόχρονο έλεγχο τόσο της γενετικής σύστασης όσο και του περιβάλλοντος στο οποίο αναπτύσσονται και διαβιούν τα ψάρια. Οι μεριστικοί χαρακτήρες είναι από τις παλαιότερα μετρήσιμες μορφολογικές παραμέτρους και παρέχουν διακριτά και εύκολα στην ανάλυση δεδομένα. Σε αυτούς περιλαμβάνονται ο αριθμός των ακτινών των διαφορετικών πτερυγίων, ο αριθμός των βραγχιακών ακανθών και ο αριθμός των λεπιών της πλευρικής γραμμής. Ο έλεγχος της ποικιλομορφίας του σχήματος του σώματος των ψαριών μέσω της ανάλυσης των μορφομετρικών σωματικών χαρακτήρων αποτελεί μια άλλη, αποτελεσματική και ακριβή μέθοδο ελέγχου της φαινοτυπικής διαφοροποίησης, με ευρεία εφαρμογή στην αλιευτική διαχείριση (Begg & Waldman 1999). Μορφομετρικές αναλύσεις, όπως είναι η ανάλυση γεωμετρικής μορφομετρίας, χρησιμοποιούνται ευρέως για τη μελέτη της ποικιλομορφίας χαρακτήρων όπως το σχήμα του σώματος (Garcia-Rodriguez *et al.* 2011, Loizides *et al.* 2014, Fragkoulis *et al.* 2016), το σχήμα το ωτολίθων (Vignon & Morat 2010, Hussy *et al.* 2016,) και το σχήμα των λεπιών (Arechavala-Lopez *et al.* 2012b, Brager *et al.* 2016). Άλλοι χαρακτήρες που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της διάκρισης των αποθεμάτων, αποτελούν: η μικροχημεία των ωτολίθων (Warner *et al.* 2005), η κυμαινόμενη ασυμμετρία των ωτολίθων (Vignon & Morat 2010) καθώς και η διερεύνηση της διακύμανσης στις αποστάσεις μεταξύ των *circuli* στα λέπια και των *annuli* στα λέπια και τους ωτόλιθους (Beeg & Waldman 1999).

2.2.3.3 Αλιευτικά δεδομένα

Αλιευτικά και υδρογραφικά δεδομένα όπως είναι η κατά μέγεθος σύνθεση των δειγμάτων από γεωγραφικά διαχωρισμένες ομάδες, ή χαρακτηριστικά όπως η γονιμότητα, η εποχή και η διάρκεια αναπαραγωγής, καθώς και ο ρυθμός αύξησης, μπορούν να προσφέρουν σπουδαίες πληροφορίες σχετικά με τη κατανομή και τη δομή των αποθεμάτων (Begg & Waldman 1999).

2.3 Βασικά χαρακτηριστικά της τσιπούρας (κατανομή – βιολογία)

Η κοινή τσιπούρα, *Sparus aurata*, αποτελεί ένα βενθοπελαγικό, ευρύαλο, υποτροπικό είδος της οικογένειας Sparidae (Ακτινοπτερύγιοι). Η κατανομή της εκτείνεται κατά μήκος των Ανατολικών ακτών του Ατλαντικού, από τις Βρετανικές νήσους (Βόρεια) έως το Πράσινο Ακρωτήριο και τα Κανάρια νησιά (Νότια), καθώς και σε ολόκληρη τη Μεσόγειο και τη Μαύρη Θάλασσα (Εικόνα 1). Συνήθως κατοικεί σε θαλάσσια λιβάδια ποσειδωνίας και σε αμμώδεις πυθμένες. Εντοπίζεται γύρω στα 30 m βάθος, ενώ ορισμένα ενήλικα φτάνουν στα 150 m βάθος. Στις αρχές της άνοιξης μεταναστεύει σε προστατευμένες παράκτιες περιοχές για αναζήτηση τροφής και ηπιότερων θερμοκρασιών. Στα τέλη του φθινοπώρου επιστρέφει στην ανοιχτή θάλασσα για λόγους αναπαραγωγής. Είναι σαρκοφάγο είδος (οστρακοειδή) και δευτερευόντως φυτοφάγο. Είναι πρώτανδρο ερμαφρόδιτο είδος, λειτουργώντας ως αρσενικό περίπου μέχρι τα δύο πρώτα χρόνια της ζωής του. Κατά την αναπαραγωγική περίοδο (διάρκεια έως 3 μήνες), μια θηλυκή τσιπούρα εναποθέτει 20.000 με 80.000 αυγά ημερησίως. Στη Μεσόγειο Θάλασσα αυτή η περίοδος διαρκεί από τον μήνα Οκτώβριο έως τον Δεκέμβριο. Τα αυγά είναι τελολεκτιτικά, σφαιρικά και πελαγικά, με διάμετρο ελαφρώς μικρότερη από 1 mm. Το νυμφικό στάδιο διαρκεί έως 50 περίπου μέρες σε θερμοκρασία 17-18 °C (Sola *et al.* 2006)



Εικόνα 1. Περιοχή εξάπλωσης της τσιπούρας (*Sparus aurata*).

2.4 Στοιχεία καλλιέργεια της τσιπούρας

Η τσιπούρα είναι ένα από τα σημαντικότερα εμπορικά θαλάσσια είδη ψαριών στη Μεσόγειο, τόσο για την ιχθυοκαλλιέργεια όσο και για την αλιεία. Οι όλο και αυξανόμενες απαιτήσεις για παραγωγή ειδών με μεγάλη εμπορική και οικονομική αξία (όπως η τσιπούρα και το λαβράκι), οδήγησαν στη μετάβαση από την παραδοσιακή εκτατική εκτροφή (εκμετάλλευση λιμνοθαλασσών) στην εντατική εκτροφή και στην διαρκή βελτίωση των τεχνικών παραγωγής (Sola *et al.* 2006). Η καλλιέργεια της τσιπούρας έχει αυξηθεί τόσο τις τελευταίες δεκαετίες, ώστε το 2004 η συνολική παγκόσμια ιχθυοκαλλιεργητική παραγωγή της να είναι περίπου 10 φορές μεγαλύτερη από την αντίστοιχη αλιευτική. Η Ελλάδα, η Τουρκία, η Ιταλία και η Ισπανία, αποτελούν τους κυριότερους παραγωγούς εκτρεφόμενης τσιπούρας στη περιοχή της Μεσογείου (FAO 2014).

Ως επί το πλείστον, η εκτροφή της τσιπούρας γίνεται σε κλωβούς θαλάσσης κατά τη διάρκεια της πάχυνσης, και σε χερσαίες εγκαταστάσεις (ιχθυογεννητικοί σταθμοί) κατά τη φάση παραγωγής του γόνου.

2.5 Διαφοροποίηση μεταξύ γεωγραφικών ομάδων τσιπούρας

Τα τελευταία χρόνια έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές ερευνητικές εργασίες με σκοπό τον προσδιορισμό της γενετικής δομής της άγριας τσιπούρας κατά μήκος των περιοχών κατανομής της. Οι πρώτες μελέτες έδωσαν αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με την ύπαρξη ενός ενιαίου ή περισσότερων απομονωμένων πληθυσμών (ανασκόπηση από Rossi *et al.* 2006). Οι

ακόλουθες έρευνες βασίστηκαν σε ένα πλήθος γενετικών δεικτών, που περιλάμβαναν αλλοένζυμα (Rossi *et al.* 2006), μικροδορυφορικό (Karaiskou *et al.* 2009, Castro *et al.* 2007) και μιτοχονδριακό DNA (Alarcon *et al.* 2004), καθώς και πολυμορφικά θραύσματα πυρηνικού DNA (AFLPs) (Miggiano *et al.* 2005). Όπως αναμένονταν, τα αποτελέσματα αυτών των ερευνών διαφοροποιήθηκαν ανάλογα με το είδος του γενετικού δείκτη που χρησιμοποιήθηκε κάθε φορά. Πλήθος μελετών, υποδεικνύουν μια εικόνα διαφοροποίησης της άγριας τσιπούρας μεταξύ των διαφορετικών περιοχών, η οποία όμως χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση. Οι Ben-Slimen *et al.* (2004) ανίχνευσαν ισχυρή διαφοροποίηση μεταξύ βόρειων και νότιων γεωγραφικών ομάδων τσιπούρας στη περιοχή της Τυνησίας, μέσω της χρήσης αλλοενζύμων. Μικρότερη αλλά σημαντική διαφοροποίηση προσδιορίστηκε μέσω της χρήσης αλλοενζυμικών, μιτοχονδριακών και μικροδορυφορικών δεικτών σε γεωγραφικές ομάδες μεταξύ της Ανατολικής και της Δυτικής Μεσογείου, καθώς και των ευρωπαϊκών ακτών του Ατλαντικού (Alarcon *et al.* 2004, De Innocentiis *et al.* 2005). Διαφορές μέσω της χρήσης αλλοενζύμων, έχουν επίσης εντοπιστεί γύρω από την Ιταλική Χερσόνησο μεταξύ γεωγραφικών ομάδων τσιπούρας της Αδριατικής και της Τυρρηνικής Θάλασσας (Rossi *et al.* 2006). Εντούτοις σημαντικές διαφοροποιήσεις ως προς τις αλληλουχίες μικροδορυφορικού DNA έχουν προσδιοριστεί μεταξύ άγριων και εκτρεφόμενων πληθυσμών του Ελλαδικού χώρου (Karaiskou *et al.* 2009) καθώς και άγριων και εκτρεφόμενων γεννητόρων από τα Ισπανικά ύδατα της Μεσογείου και του Ατλαντικού (Miggiano *et al.* 2005, Castro *et al.* 2007). Αξιοσημείωτο μένει το γεγονός, πως παρότι οι μέχρι τώρα εκτιμήσεις γενετικής διαφοροποίησης της τσιπούρας έχουν παρουσιάσει συγκεκριμένα πρότυπα ποικιλομορφίας μεταξύ των διαφορετικών περιοχών κατανομής της, η ύπαρξη διαφοροποιήσεων δεν είναι συνυφασμένη με τη γεωγραφική απόσταση ή/και τους γνωστούς ωκεανογραφικούς παράγοντες (Alarcon *et al.* 2004).

Διαφορές μεταξύ άγριων ατόμων τσιπούρας με διαφορετική γεωγραφική προέλευση, έχουν εντοπιστεί και μέσω φαινοτυπικών χαρακτηριστικών. Οι Arechavala *et al.* (2012a, 2012b) σύγκριναν ως προς τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά του σχήματος του σώματος, των ωτολίθων και των λεπιών, άγρια και εκτρεφόμενα άτομα τσιπούρας από τα Ισπανικά και τα Ελληνικά ύδατα, βρίσκοντας διαφορές μεταξύ τους και στις δύο περιοχές.

2.6 Διάκριση μεταξύ άγριων και εκτρεφόμενων ατόμων τσιπούρας

Εξαιτίας του μεγάλου εμπορικού και οικονομικού της ενδιαφέροντος, η καλλιέργεια της τσιπούρας αποτελεί ένα ευρύ πεδίο έρευνας. Συγκεκριμένα, πολλές εργασίες έχουν ασχοληθεί με τον ποιοτικό έλεγχο της εκτρεφόμενης τσιπούρας, τόσο μέσω προγραμμάτων γενετικής βελτίωσης (ρυθμός αύξησης, φαινότυπος) όσο και της διερεύνησης των βέλτιστων συνθηκών εκτροφής της (βιοτικοί και αβιοτικοί παράγοντες). Μια από τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις της αυξανόμενης καλλιέργειας του συγκεκριμένου είδους, αφορά τις δραπετεύσεις των ατόμων από τις μονάδες παραγωγής και τη μετέπειτα ενσωμάτωση τους στους φυσικούς πληθυσμούς. Οι δραπετεύσεις αυτές μπορούν να συμβούν είτε ως αυγά μετά από αυθόρμητη ωοτοκία στους κλωβούς (Somarakis *et al.* 2013), είτε ως ιχθύδια και ενήλικα άτομα καθ' όλη τη διάρκεια παραμονής τους στους κλωβούς (Arechavala *et al.* 2013). Στη δεύτερη περίπτωση, οι δραπετεύσεις μπορεί να οφείλονται σε κακούς χειρισμούς του ανθρώπου, σε καιρικά φαινόμενα ή στην ίδια τη συμπεριφορά των εκτρεφόμενων ατόμων τσιπούρας, τα οποία μπορούν να δαγκώσουν και να τρυπήσουν το δίκτυο των κλωβών (Glaropoulos *et al.* 2012).

Εξαιτίας της χρόνιας απομόνωσης και του διαφορετικού περιβάλλοντος ανάπτυξης και διαβίωσης της εκτρεφόμενης σε σχέση με την άγρια τσιπούρα, ένα πλήθος μελετών έχει αναπτύξει διαφορετικές μεθόδους και τεχνικές για την ταυτοποίηση των διαφορών τους σε πολλά επίπεδα. Οι μέθοδοι αυτοί, αφορούν γενετικές και μοριακές τεχνικές, χημικά χαρακτηριστικά, ποιοτικά στοιχεία (όπως χρώμα, γεύση και οσμή), σύνθεση σε λιπίδια, λιπαρά οξέα και ιχνοστοιχεία, καθώς και μορφολογικές παραμέτρους. Η κάθε μέθοδος είναι χρήσιμη ανάλογα με το χρονικό διάστημα που έχει μεσολαβήσει από το γεγονός της διαφυγής. Η μελέτη της εξωτερικής μορφολογίας και του σχήματος αποτελεί μια χρήσιμη, φθηνή και απλή μέθοδο προσδιορισμού των ατόμων που έχουν αποδράσει πριν από σχετικά μικρό χρονικό διάστημα. Από την άλλη μεριά, οι τεχνικές που αφορούν γενετικά, μοριακά και χημικά χαρακτηριστικά είναι πιο ακριβείς και ικανές να ανιχνεύσουν άτομα που έχουν δραπετεύσει πριν από μεγάλο χρονικό διάστημα (ανασκόπηση από Arechavala *et al.* 2013). Εξαιτίας της χρόνιας διαμονής τους στο φυσικό περιβάλλον, τα άτομα αυτά έχουν αποκτήσει φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ομοιότερα με εκείνα των άγριων ατόμων (Rogdakis *et al.* 2011)

2.7 Επιπτώσεις των δραπετεύσεων των εκτρεφόμενων ατόμων τσιπούρας στους φυσικούς πληθυσμούς

Οι δραπετεύσεις εκτρεφόμενων ατόμων στο φυσικό περιβάλλον έχουν πολλές αρνητικές επιπτώσεις στους φυσικούς πληθυσμούς. Η διασπορά τους στα κοντινά οικοσυστήματα μπορεί να προκαλέσει την εξάπλωση ασθενειών ή παρασίτων προσβάλλοντας τους άγριους πληθυσμούς. Η ενσωμάτωσή τους στα φυσικά αποθέματα, αυξάνει τον ανταγωνισμό για τους φυσικούς πόρους, την τροφή, το χώρο και την αναπαραγωγή. Εκτρεφόμενα άτομα τσιπούρας που απελευθερώθηκαν στο φυσικό περιβάλλον με σκοπό τον εμπλουτισμό τοπικών αποθεμάτων, εμφάνισαν την ίδια συμπεριφορά ωοτοκίας με τα άγρια άτομα συμμετέχοντας στο αναπαραγωγικό δυναμικό των πληθυσμών (ανασκόπηση από Arechavala *et al.* 2013).

Η σταδιακή ροή γονιδίων από τα εκτρεφόμενα άτομα στα φυσικά αποθέματα έχει ως αποτέλεσμα τη διαταραχή ή/και τη μείωση της γενετικής ποικιλότητας των πληθυσμών. Τα εκτρεφόμενα άτομα διαθέτουν ένα μικρό μόνο ποσοστό της γενετικής ποικιλομορφίας του αρχικού φυσικού πληθυσμού. Κάθε νέος, τεχνητός πληθυσμός που δημιουργείται στις μονάδες εκτροφής, παρουσιάζει, με την πάροδο του χρόνου, διαφοροποιημένες αλληλικές συχνότητες, προκαλείται δηλαδή ένα τεχνητό «φαινόμενο ιδρυτή». Έρευνες στη τσιπούρα έχουν δείξει μειώσεις της γενετικής ποικιλομορφίας των εκτρεφόμενων σε σχέση με τους άγριους πληθυσμούς (Palma *et al.* 2001, Alarcon *et al.* 2004). Με τον τρόπο αυτό, η μετέπειτα απελευθέρωση και η διασταύρωση των εκτρεφόμενων με τα άγρια άτομα, μπορεί να προκαλέσει μείωση της γενετικής ποικιλότητας στους φυσικούς πληθυσμούς και εξάλειψη σπάνιων αλληλομόρφων. Μεγαλύτερη αλλοίωση των γενετικών χαρακτηριστικών των φυσικών πληθυσμών, μπορεί να προκληθεί στην περίπτωση που τα εκτρεφόμενα άτομα προέρχονται από γόνο ο οποίος έχει παρθεί από μακρινές γεωγραφικά περιοχές, έχοντας διαφορετική γενετική σύσταση. Τέλος, προγράμματα γενετικής βελτίωσης των ψαριών στις μονάδες καλλιέργειας, έχουν ως αποτέλεσμα την δημιουργία στελεχών με μεγάλους ρυθμούς αύξησης, μειωμένα ποσοστά σκελετικών δυσπλασιών και ανθεκτικότητα στην προσβολή ασθενειών. Τα άτομα αυτά, με την απελευθέρωση τους στο φυσικό περιβάλλον, ανταγωνίζονται και εκτοπίζουν τα άγρια, αλλάζοντας τη γενετική σύσταση των πληθυσμών (ανασκόπηση από Arechavala *et al.* 2013).

Η έλλειψη συσχέτισης μεταξύ γενετικής ποικιλομορφίας και γεωγραφικής απόστασης στις διάφορες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί για την άγρια τσιπούρα (βλ. §2.5), θα μπορούσε

ενδεχομένων να αποδοθεί στη συμμετοχή ψαριών, που έχουν δραπετεύσει από μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας, στην ανάλυση της γενετικής σύστασης των άγριων αποθεμάτων.

2.8 Σκοπός της παρούσας εργασίας

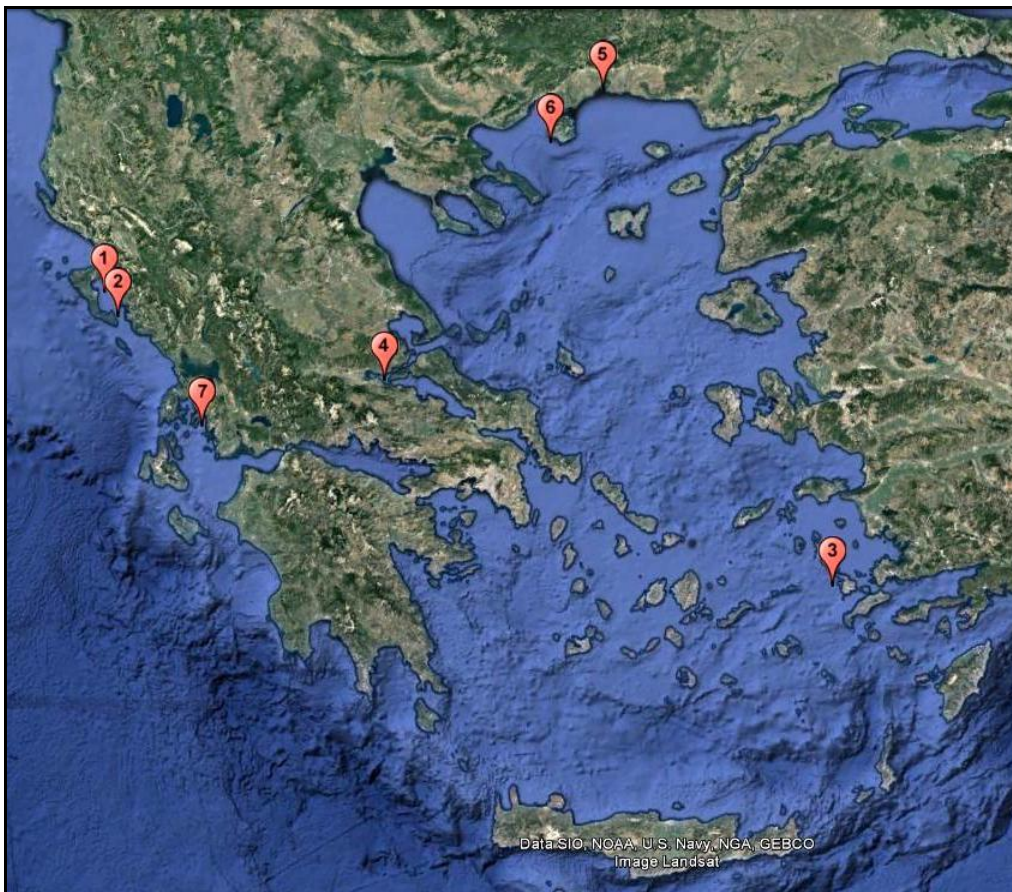
Στο πλαίσιο της παρούσας Μεταπτυχιακής Διατριβής, πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη μορφολογικών χαρακτήρων της τσιπούρας από διαφορετικές περιοχές του Αιγαίου και του Ιονίου πελάγους, καθώς και από δύο μονάδες εκτροφής. Ο βαθμός αναγέννησης των λεπιών, το σχήμα του σώματος, καθώς και το σχήμα και η αμφίπλευρη ασυμμετρία των ωτολίθων εξετάστηκαν σε κάθε άτομο ξεχωριστά προκειμένου

- ✓ να ελεγχθούν οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των υπό εξέταση γεωγραφικών περιοχών,
- ✓ να μελετηθούν οι διαφορές μεταξύ της άγριας και της εκτρεφόμενης τσιπούρας, και
- ✓ να εκτιμηθεί η συμβολή των δραπετεύσεων στην διακύμανση του φυσικού φαινοτύπου.

3 Υλικά και μέθοδοι

3.1 Δειγματοληψία

Στη παρούσα Μεταπτυχιακή διατριβή συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν 218 άτομα τσιπούρας από 6 συνολικά περιοχές του Ελλαδικού χώρου (Εικόνα 2). Τα 160 άτομα είχαν προέλευση αλιείας («άγριες συλλήψεις») από 4 διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, ενώ τα υπόλοιπα 58 πάρθηκαν από 2 μονάδες εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας (Πίνακας 1). Τα άγρια ψάρια του Ιονίου συλλέχθηκαν με τράτα από το Ερευνητικό σκάφος ‘ΦΙΛΙΑ’, ενώ της Καλύμνου και της Καβάλας με δίκτυα (απλάδια) από τον εμπορικό στόλο. Όλες οι δειγματοληψίες έλαβαν χώρα κατά το έτος 2015 εκτός από το πρώτο δείγμα του Ιονίου όπου συλλέχθηκε τον Οκτώβριο του 2014 (Πίνακας 1). Έπειτα από τη συλλογή κάθε δείγματος, τα ψάρια καταψύχονταν άμεσα μέχρι να αναλυθούν αργότερα στο εργαστήριο.



Εικόνα 1. Χάρτης δειγματοληψίας. Οι σημαίες προσδιορίζουν τις τοποθεσίες συλλογής των δειγμάτων. (1) Ιόνιο 2014, (2) Ιόνιο 2015, (3) Κάλυμνος, (4) Μαλιακός Κόλπος, (5) Καβάλα (Λιμνοθάλασσα Βιστωνίδας), (6) Καβάλα εκτροφής, (7) Ιόνιο εκτροφής.

Πίνακας 1. Εποχή σύλληψης και μέγεθος δείγματος ανά περιοχή δειγματοληψίας

Περιοχή	Εποχή σύλληψης	Αριθμός	Συντομογραφία
Ιόνιο πέλαγος (2014)	Οκτώβριος 2014	45	In´14
Ιόνιο πέλαγος (2015)	Μάιος 2015	37	In´15
Κάλυμνος	Οκτώβριος 2015	30	Klm
Μαλιακός Κόλπος	Σεπτέμβριος 2015	18	Mal
Καβάλα (Λιμνοθαλ. Βιστωνίδας)	Νοέμβριος 2015	30	Kv
Καβάλα (εκτροφής)	Νοέμβριος 2015	30	Kv-R
Ιόνιο πέλαγος (εκτροφής)	Απρίλιος 2015	28	In-R
Σύνολο		218	

3.2 Επεξεργασία δειγμάτων

Η επεξεργασία και η ανάλυση των δειγμάτων διεξήχθη στο εργαστήριο Θαλάσσιας Βιολογίας-Βιολογίας Ιχθύων, του τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης. Έπειτα από την απόψυξη των δειγμάτων, κάθε ψάρι φωτογραφήθηκε με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή (Cannon G12 Power Shot) και από τις δύο πλευρές του, μετρήθηκε το ολικό του βάρος, καθώς και ο αριθμός των ακτινών του κάθε πτερυγίου (εκτός του ουραίου). Δείγμα ιστού και λεπιών απομονώθηκε από κάθε ψάρι και αποθηκεύτηκε σε μικρά erpendorfs. Τέλος, πραγματοποιήθηκε κάθετη τομή στο πίσω μέρος της κεφαλής του κάθε ψαριού, για την εξαγωγή του ζεύγους των ωτολίθων του (sagittae).

3.3 Ανάλυση λεπιών

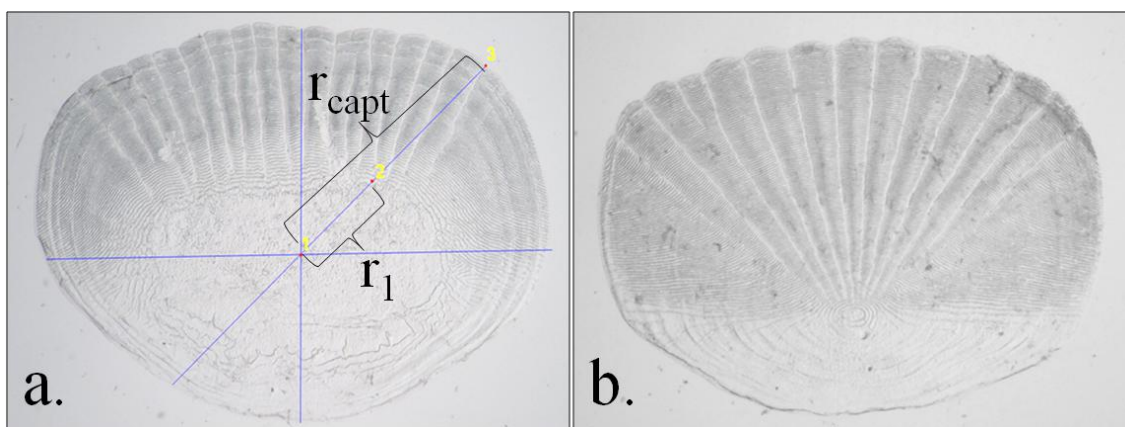
Ένα σύνολο 20 λεπιών αφαιρέθηκε από την περιοχή μεταξύ του ραχιαίου πτερυγίου και της πλευρικής γραμμής της αριστερής όψης του κάθε ψαριού με σκοπό τον υπολογισμό του βαθμού της αναγέννησής τους, καθώς και του μέσου μήκους απώλειας των λεπιών για κάθε ψάρι. Κάθε λέπι καθαρίστηκε (με αιθανόλη 75%) και φωτογραφήθηκε μεμονωμένα πάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα, με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή (Canon G12 Power Shot) προσαρμοσμένης σε στερεοσκόπιο. Από τον αριθμό των αναγεννημένων λεπιών υπολογίστηκε ο

βαθμός αναγέννησης για κάθε ψάρι. Από το σύνολο των αναγεννημένων λεπιών του κάθε ψαριού, υπολογίστηκε η ακτίνα του αρχικού λεπιού που χάθηκε (r_1) καθώς και η ακτίνα του λεπιού κατά τη σύλληψη του ατόμου (r_{capt} , σε pixels, Εικόνα 3), μέσω του λογισμικού tpsDig

(Rohlf 2010a). Με βάση την εξίσωση του Duncan (1980): $SL_1 = \frac{r_1}{r_{capt}} * (SL_{capt} - 2) + 2$ έγινε

αναλογική εκτίμηση του αρχικού μήκους που είχε το κάθε ψάρι (SL_1) όταν έχασε το κάθε λέπι (όπου SL_{capt} το τυπικό μήκος του κάθε ψαριού κατά τη σύλληψη). Τα δείγματα από τις δύο μονάδες εκτροφής χρησιμοποιήθηκαν ως δείγματα ελέγχου για τη συγκριτική εκτίμηση της ύπαρξης δραπετών μέσα στους φυσικούς πληθυσμούς.

Με βάση τα αποτελέσματα του Δημητρίου (2007) τα άγρια ψάρια παρουσιάζουν βαθμό αναγέννησης λεπιών <20%, ενώ τα εκτροφής >82%. Στη παρούσα εργασία ορίστηκε το όριο διάκρισης των ατομών σε πιθανώς «πραγματικά άγρια» και σε πιθανώς δραπετεύσεις από εκτρεφόμενους πληθυσμούς, με βάση το μέσο βαθμό αναγέννησης των δειγμάτων φυσικής προέλευσης. Με βάση το ποσοστό αυτό τα άτομα της κάθε περιοχής διαχωρίστηκαν και εξετάστηκαν ως προς το σχήμα του σώματος και το σχήμα των ωτολίθων.



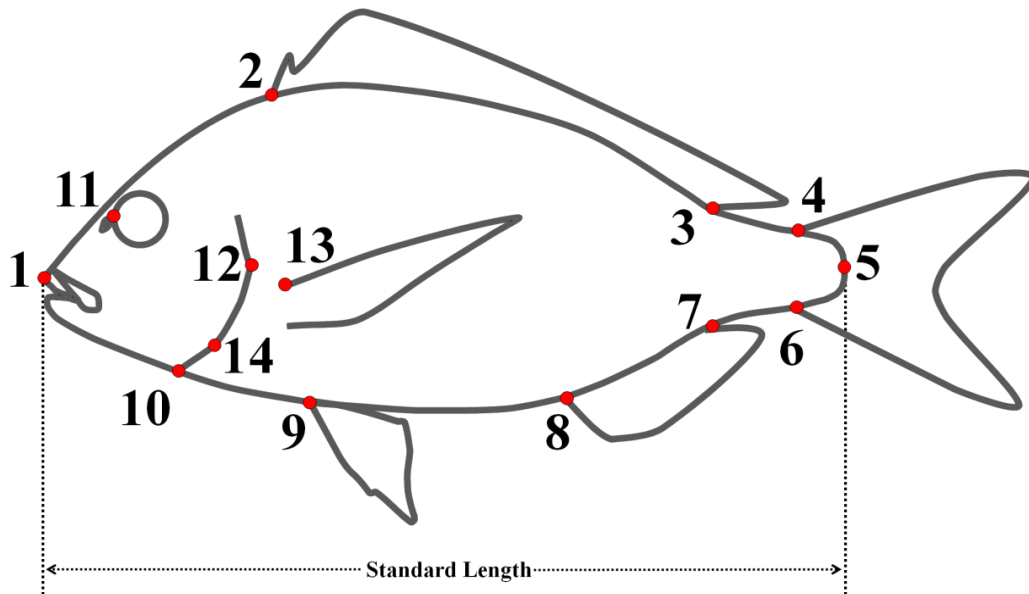
Εικόνα 3. Φωτογραφία αναγεννημένου (a) και φυσιολογικού λεπιου (b).

3.4 Μορφομετρική ανάλυση του σχήματος του σώματος

Για τη μελέτη της ποικιλομορφίας του σχήματος του σώματος των ψαριών πραγματοποιήθηκε ανάλυση γεωμετρικής μορφομετρίας. Η φωτογραφία της αριστερής όψης του κάθε ψαριού αναλύθηκε μέσω του λογισμικού tpsDig2 (Version 2.12, Rohlf [2010a]). Σε κάθε φωτογραφία τοποθετήθηκαν 14 ομόλογα μορφομετρικά ορόσημα (landmarks), σε αντίστοιχες διακριτές ανατομικές περιοχές (Εικόνα 4). Για την εξάλειψη των επιπτώσεων του μεγέθους, της θέσης, και του προσανατολισμού του κάθε ατόμου, εφαρμόστηκε κατάλληλη μέθοδος ελαχίστων

τετραγώνων, με τη χρήση του λογισμικού IMPstandard (CoordGen6d, Rohlf & Slice [1990]). Συγκεκριμένα δύο ορόσημα μορφομετρικά σημεία (1, 5) αποτέλεσαν τη βασική γραμμή (baseline) δύο νοητών κάθετων αξόνων, με σκοπό το κάθε διαφορετικό σχήμα να μετασχηματίζεται και να διαμορφώνεται ώστε τα δύο αυτά σημεία να τοποθετούνται στις συντεταγμένες 0,0 και 1,0 αντίστοιχα για όλα τα δείγματα. Με τον τρόπο αυτό όλα τα υπόλοιπα μορφομετρικά ορόσημα συντάσσουν τις λεγόμενες Bookstein συντεταγμένες (Bookstein Coordinates) των διαμορφώσεων. Για την εκτίμηση της μέσης διαμόρφωσης και την αναγωγή όλων των παραγόμενων διαμορφώσεων των δειγμάτων στο ίδιο μέγεθος, υπολογίστηκε το κεντροειδές μέγεθος. Αυτό ορίζεται ως η τετραγωνική ρίζα του αθροίσματος των ελάχιστων αποστάσεων όλων των μορφομετρικών οροσήμων από ένα σημείο που ονομάζεται κεντροειδές. Με την εφαρμογή της μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων, εφαρμόστηκε ο αλγόριθμος thin plate spline (tpsRelw, Version 1.49, Rohlf [2010b]), ώστε οι μεταβλητές να τοποθετηθούν σε έναν νέο ευκλείδειο πολυδιάστατο γεωμετρικό χώρο, με σκοπό να εφαρμοστούν οι πολυπαραγοντικές μέθοδοι. Στις νέες μεταβλητές που προκύπτουν, υπολογίζεται ο πίνακας βαρύτητας (weight matrix), όπου εφαρμόζονται οι ακόλουθες στατιστικές αναλύσεις.

Ο πίνακας βαρύτητας, ως τελικό αποτέλεσμα της ανάλυσης του σχήματος του σώματος, χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση κύριων συνιστωσών μεταξύ των ομάδων (Between-Group Principal Component Analysis: bg-PCA), για τον έλεγχο της διακύμανσης του σχήματος του σώματος με βάση την περιοχή προέλευσης και το βαθμό αναγέννησης. Για την εκτίμηση της σημαντικότητας των διαφορών του σχήματος των ατόμων μεταξύ των ομάδων, πραγματοποιήθηκε ανάλυση διασποράς (ANOVA) και *a posteriori Bonferroni test* για την πρώτη και για τη δεύτερη κύρια συνιστώσα της bg-PCA. Η στατιστική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε μέσω της γλώσσας προγραμματισμού R, με τη βοήθεια ενός στατιστικού πακέτου εντολών 'Morpho' (Version 2.4.1.1, Schlager & Jefferis [2016]). Μέσω των μεταβλητών του σχήματος και των μεταβλητών ανάλυσης κύριων συνιστωσών, πραγματοποιήθηκε ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης μέσω του λογισμικού tpsRegr (Version 1.38, Rohlf [2011]). Με τον τρόπο αυτό προέκυψαν τα πλέγματα παραμόρφωσης, βάσει των οποίων απεικονίζεται σχηματικά η διακύμανση του σώματος των ψαριών μεταξύ των ομάδων.



Εικόνα 4. Τοποθέτηση των 14 ομόλογων μορφομετρικών οροσήμων. (1) πρόσθιο σημείο της άνω γνάθου. (2, 3) πρόσθια και οπίσθια βάση του ραχιαίου πτερυγίου. (4, 6) άνω και κάτω βάση του ουραίου πτερυγίου. (5) μέσο της βάσης του ουραίου πτερυγίου. (7, 8) οπίσθια και πρόσθια βάση του εδρικού πτερυγίου. (9) πρόσθια βάση του κοιλιακού πτερυγίου. (10) οπίσθιο κατώτερο όριο του βραγχιακού επικαλύμματος. (11) πρόσθιο όριο του ματιού. (12) οπίσθιο όριο του βραγχιακού επικαλύμματος. (13) οπίσθια βάση του αριστερού θωρακικού πτερυγίου. (14) κατώτερο όριο του υπο-επικαλυμματικού οστού.

3.5 Συντελεστής ευρωστίας (condition factor)

Μετά την τοποθέτηση των μορφομετρικών οροσήμων πάνω στις φωτογραφίες των ψαριών, υπολογίστηκε το τυπικό μήκος του κάθε ψαριού (Standard Length, SL) με βάση την απόσταση των οροσήμων 1 και 5 και την κλίμακα της κάθε φωτογραφίας (5cm). Ακολούθως υπολογίστηκε η σχέση μήκους (SL) – βάρους (W) για το σύνολο των δειγμάτων άγριας προέλευσης ($W = a SL^b$). Με βάση τη σχέση αυτή, για κάθε άτομο υπολογίστηκε ο συντελεστής ευρωστίας, ως η % αναλογία του παρατηρούμενου προς το αναμενόμενο βάρος. Ο έλεγχος της επίδρασης της περιοχής προέλευσης των ατόμων στο συντελεστή ευρωστίας έγινε με ανάλυση διασποράς (ANOVA) και *a posteriori* Bonferroni test.

3.6 Ανάλυση ωτολίθων

Μετά την εξαγωγή τους, οι ωτόλιθοι καθαρίστηκαν (με αιθανόλη 75%) και μεμονωμένα μέσω ψηφιακής μηχανής τοποθετημένης πάνω σε στερεοσκόπιο (Εικόνα 5a,b). Πριν από κάθε φωτογράφιση, οι ωτόλιθοι τοποθετούνταν πάνω σε μαύρο φόντο μέσα σε νερό. Η φωτογράφιση των ωτολίθων πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Αλιείας του Ινστιτούτου Θαλασσίων

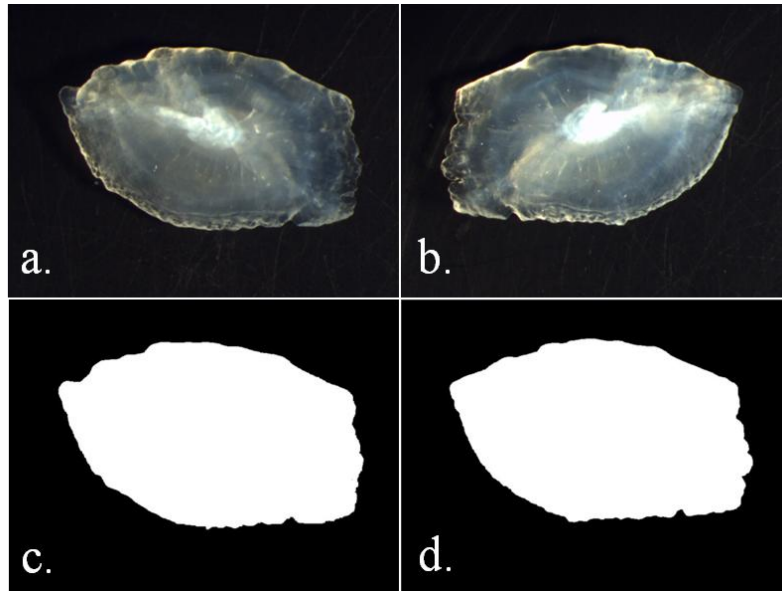
Βιολογικών Πόρων και Εσωτερικών Υδάτων του Ελληνικού Κέντρου Θαλασσιών Ερευνών (ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε. Κρήτης). Το σύνολο των φωτογραφιών των ωτολίθων επεξεργάστηκε με το λογισμικό ImageJ (Schneider *et al.* 2012). Οι φωτογραφίες μετασχηματίστηκαν σε δυαδική ασπρόμαυρη εικόνα (binary image) (Εικόνα 5c,d) και υπολογίστηκε το εμβαδόν, η περίμετρος, το μήκος και το πλάτος του κάθε ωτολίθου, με βάση την αντίστοιχη κλίμακα (x1.6, x1.25 mm). Οι μετρήσεις αυτές χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της ασυμμετρίας του κάθε ζεύγους ωτολίθων (Left-Right) μεταξύ των ομάδων, μέσω των ακόλουθων δεικτών ασυμμετρίας

- μέση απόλυτη τιμή της διαφοράς των δύο πλευρών ($|R_i - L_i|$) και
- διακύμανση της διαφοράς των δύο πλευρών, σταθμισμένη με το ήμισυ του μέσου όρου $\left(\frac{R_i - L_i}{R_i + L_i}\right)$ (Palmer & Strobeck 1986).

Ακολούθησε ο στατιστικός έλεγχος των διαφορών μεταξύ των διαφορετικών δειγμάτων με ανάλυση διασποράς (ANOVA), *a posteriori* Bonferroni test και Barlett test.

Οι δυαδικού τύπου εικόνες των ωτολίθων χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη της ποικιλομορφίας του σχήματος τους σε σχέση με την περιοχή προέλευσης των ψαριών. Για το σκοπό αυτό έγινε χρήση του πακέτου 'ShapeR' (Libungan & Pálsson 2015), ειδικού για τη μελέτη της διακύμανσης του σχήματος των ωτολίθων, μέσω της γλώσσας προγραμματισμού 'R'. Μέσω μιας σειράς συγκεκριμένων εντολών, δημιουργείται το περίγραμμα των ωτολίθων όλων των εικόνων της ανάλυσης. Στη συνέχεια όλα τα περιγράμματα τοποθετούνται πάνω σε ένα σύστημα αξόνων με σκοπό να ευθυγραμμιστούν. Από μια σειρά εντολών λαμβάνονται οι συντελεστές Wavelet και Fourier. Για τη λήψη των συντελεστών Wavelet και Fourier, πραγματοποιείται κανονικοποιημένη ελλειπτική Fourier ανάλυση, με σκοπό της εξάλειψη των επιπτώσεων της θέσης του μεγέθους και του προσανατολισμού, του κάθε δείγματος ωτολίθου. Για την εξάλειψη της αλλομετρίας, έγινε συσχέτιση των συντελεστών Wavelet και Fourier του σχήματος με τα μήκη των ψαριών, με αποτέλεσμα την απομάκρυνση των βασικών αλλομετρικών διαφορών στο δείγμα. Για την ανάλυση της διακύμανσης του σχήματος των ωτολίθων (αριστερών και αντίστοιχα δεξιών) με βάση την περιοχή προέλευσης, πραγματοποιήθηκε κανονική ανάλυση κύριων συντεταγμένων (Canonical Analysis of Principal Coordinates CAP, Anderson & Willis [2003]) στους συντελεστές Wavelet/Fourier μέσω του στατιστικού πακέτου 'vegan' (Oksanen *et al.* 2013) της 'R'. Τέλος για την εκτίμηση της σημαντικότητας των διαφορών του σχήματος των ωτολίθων μεταξύ των περιοχών,

πραγματοποιήθηκε ανάλυση διασποράς (ANOVA) και *a posteriori* Bonferroni test για τον πρώτο και για το δεύτερο άξονα της CAP.



Εικόνα 5. (a) Φωτογραφία αριστερού ωτόλιθου, (b) Φωτογραφία δεξιού ωτόλιθου, (c) Δυαδική ασπρόμαυρη εικόνα αριστερού ωτόλιθου, (d) Δυαδική ασπρόμαυρη εικόνα ανεστραμμένου δεξιού ωτόλιθου.

4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Κύρια βιολογικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων

Ο Πίνακας 2 παρουσιάζει τα βιολογικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων με βάση την περιοχή προέλευσης και το ποσοστό αναγεννησιμότητας των λεπιών. Το μέσο μήκος (SL) και το μέσο ολικό βάρος (TW) των δειγμάτων με βάση την περιοχή προέλευσης κυμάνθηκαν από 17.2 cm και 132.7 g στη περιοχή του Ιονίου το 2014 έως 25.2 cm και 501.5 g στα ψάρια εκτροφής της Καβάλας. Ο μέσος βαθμός αναγέννησης των λεπιών κυμάνθηκε από 24% στη περιοχή του Ιονίου το 2014 έως 99.9% στα ψάρια εκτροφής της Καβάλας και του Ιονίου. Στα άτομα με χαμηλό ποσοστό αναγέννησης ($\leq 30\%$, όπως αυτό ορίστηκε στην §4.2) το μέσο μήκος και το μέσο ολικό βάρος κυμάνθηκαν από 17.1 cm και 119.1 g στη περιοχή του Ιονίου 2015 έως 20.7 cm και 292.5 g στη περιοχή της Καβάλας. Ο μέσος βαθμός αναγέννησης κυμάνθηκε από 14.8% στη περιοχή του Ιονίου το 2014 έως 27.5% στη περιοχή της Καβάλας. Στα άγρια άτομα με υψηλό ποσοστό αναγέννησης ($>30\%$) το μέσο μήκος, το μέσο ολικό βάρος και ο μέσος βαθμός αναγέννησης κυμάνθηκαν από 17.5 cm, 131.5 g και 44.3% στη περιοχή του Ιονίου το 2014, έως 20.8 cm, 267.8 g και 85.9% στη περιοχή της Καβάλας.

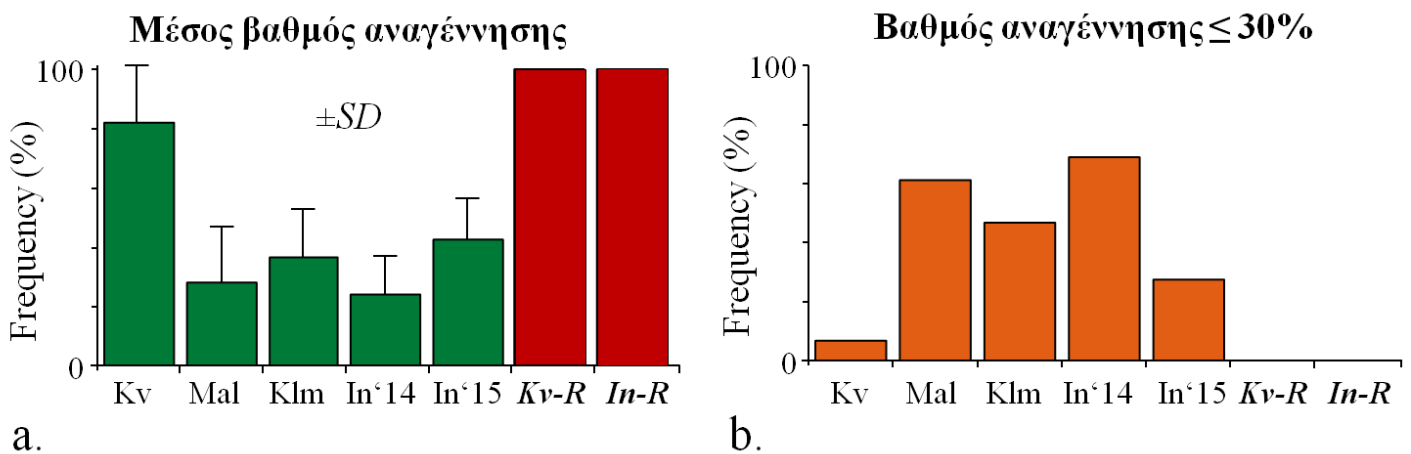
Πίνακας 2. Περιοχή δειγματοληψίας (Area) , μέσο μήκος (SL σε cm), μέσο ολικό βάρος (TW σε g) και μέσο ποσοστό αναγέννησης (Reg. Rate %) των ατόμων τσιπούρας. Δίνονται οι τιμές του συνόλου των δειγμάτων (All), καθώς και των δύο υποδιαιρέσεων κάθε δείγματος, με βάση το βαθμό αναγέννησης των λεπιών (≤ 30 ή >30).

	Abr Area	In'14 Ιονιο 2014	In'15 Ιόνιο 2015	Klm Κάλυμνος	Mal Μαλιακός	Kv Καβάλα	Kv-R Καβάλα Εκτροφής	In-R Ιόνιο Εκτροφής
All	Season N	Οκτώβριος 45	Μάιος 37	Οκτώβριος 30	Σεπτέμβριος 18	Νοέμβριος 30	Νοέμβριος 30	Απρίλιος 30
	Mean SL(\pm SD)	17.2(\pm 1.8)	17.8(\pm 1.9)	19.3(\pm 0.9)	17.9(\pm 1.2)	20.8(\pm 1.0)	25.2(\pm 1.9)	21.4(\pm 0.7)
	Mean TW(\pm SD)	132.7(43.8)	142.2(\pm 44.7)	195.1(\pm 30.6)	171.9(\pm 31.2)	269.4(\pm 44.1)	501.5(\pm 106.9)	252.0(\pm 26.4)
	Mean Reg. Rate(%)(SD)	24.0(\pm 16.3)	42.2(\pm 18.2)	36.6(\pm 19.7)	27.8(\pm 20.5)	81.9(\pm 22.3)	99.8(\pm 0.9)	100.00
≤ 30	N	31.00	10.00	14.00	11.00	2.00	-	-
	Mean SL(\pm SD)	17.1(\pm 1.8)	17.1(\pm 1.6)	19.4(\pm 0.9)	17.6(\pm 1.5)	20.7(\pm 0.3)	-	-
	Mean TW(\pm SD)	133.2(\pm 47.9)	119.1(\pm 20.7)	200.6(\pm 27.1)	183.7(\pm 17.6)	292.5(\pm 43.1)	-	-
	Mean Reg. Rate(%)(SD)	14.8(7.8)	22.9(\pm 5.8)	18.9(\pm 9.6)	14.5(\pm 10.4)	27.5(\pm 3.5)	-	-
>30	N	14	27	16	7	28	30	30
	Mean SL(\pm SD)	17.5(\pm 1.8)	18.0(\pm 2.1)	19.1(\pm 1.0)	18.3(\pm 2.1)	20.8(\pm 1.0)	25.2(\pm 1.9)	21.4(\pm 0.7)
	Mean TW(\pm SD)	131.5(\pm 34.8)	150.8(\pm 48.3)	190.4(\pm 33.6)	144.4(\pm 18.3)	267.8(\pm 44.4)	501.5(\pm 106.9)	252.0(\pm 26.4)
	Mean Reg. Rate(%)(SD)	44.3(10.5)	49.4(\pm 15.8)	52(\pm 11.2)	48.6(\pm 13.8)	85.9(\pm 17.0)	99.8(\pm 0.9)	100.00

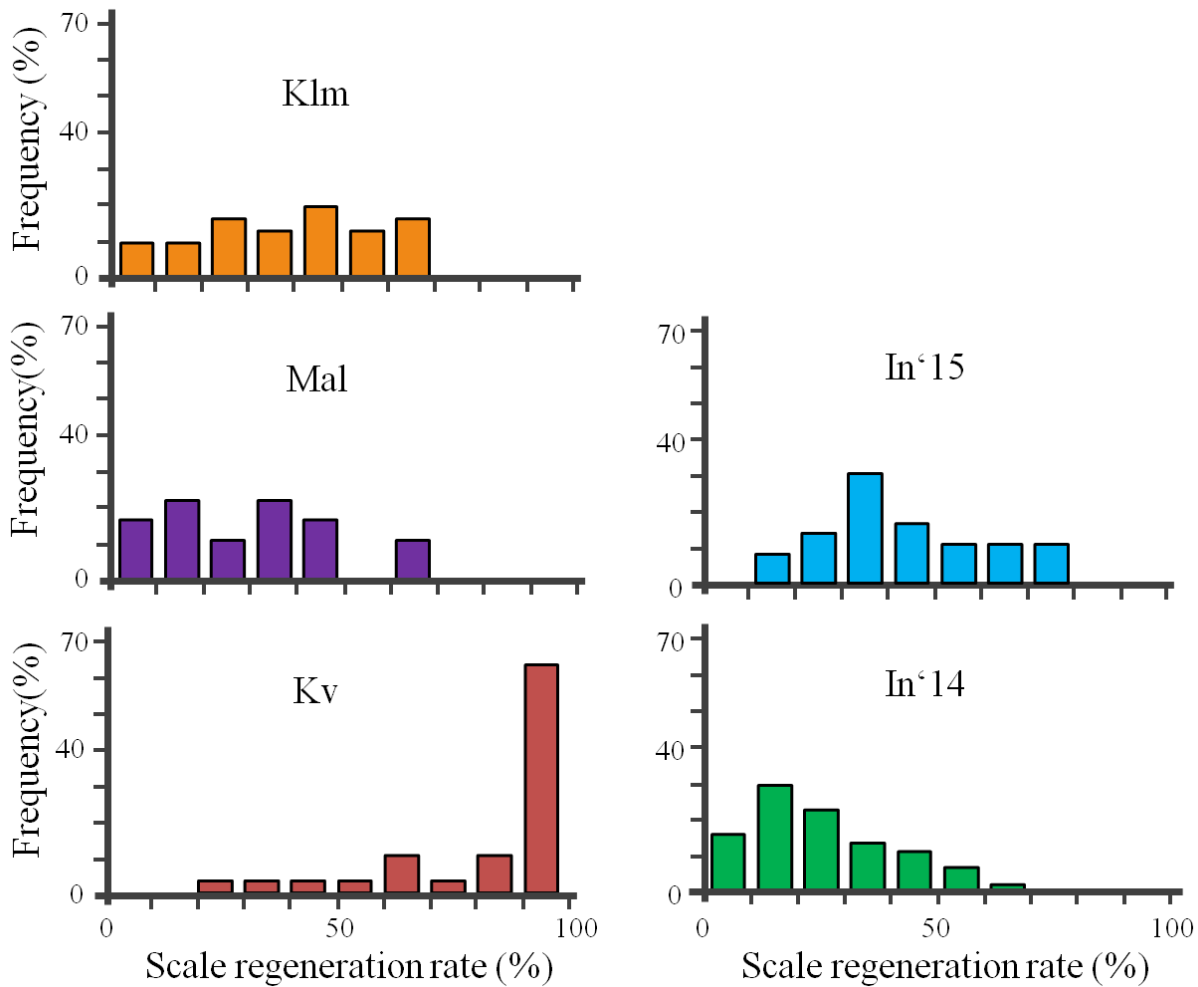
4.2 Ανάλυση βαθμού αναγέννησης λεπιών

Ο μέσος βαθμός αναγέννησης των ατόμων των δειγμάτων εκτροφής προέκυψε 99.9%. Για τα 4 από τα 5 δείγματα φυσικής προέλευσης, ο βαθμός αναγέννησης ήταν περίπου σταθερός μεταξύ 24±16% (Ιόνιο 2014) και 42±18% (Ιόνιο 2015) (Εικόνα 6a). Σε αυτούς τους πληθυσμούς, ο μέσος βαθμός αναγέννησης ήταν 32.5%. Έτσι αποφασίστηκε το όριο για τη διάκριση των άγριων ατόμων σε πιθανά «πραγματικά άγρια» και πιθανά εκτροφής να οριστεί το 30% αναγέννηση. Το δείγμα της Καβάλας παρουσίασε 2-3 φορές μεγαλύτερο βαθμό αναγέννησης από τα υπόλοιπα δείγματα φυσικής προέλευσης (Εικόνα 6a). Το γεγονός αυτό αποδίδεται αφενός στο μικρό ποσοστό ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης (Εικ. 6β), και αφετέρου στο πολύ υψηλό ποσοστό ατόμων με συχνότητα αναγέννησης κοντά στα επίπεδα των εκτρεφόμενων ατόμων (>90%, Εικ. 7).

Η μέση διαφορά του μέγιστου και του ελάχιστου μήκους απώλειας λεπιών των ατόμων των δειγμάτων εκτροφής ήταν 8.5, με τη μεγαλύτερη να παρατηρείται στο δείγμα εκτροφής της Καβάλας (Εικόνα Π₁ Παράρτημα 1). Για το σύνολο των άγριων ατόμων με υψηλό βαθμό αναγέννησης (>30%) η μέση διαφορά μέγιστου και ελάχιστου μήκους ήταν 6.5, συγκριτικά διπλάσια από την αντίστοιχη διαφορά για τα άγρια άτομα με χαμηλό βαθμό αναγέννησης (≤30).



Εικόνα 6. (a) Διαγραμματική απεικόνιση του μέσου βαθμού αναγέννησης και (b) του ποσοστού των ατόμων με βαθμό αναγέννησης ≤ 30% για την κάθε περιοχή αντίστοιχα.



Εικόνα 7. Κατανομή του ποσοστού των ατόμων με βάση το βαθμό αναγέννησης στις διαφορετικές περιοχές.

4.3 Ανάλυση σχήματος σώματος

4.3.1 Διάκριση με βάση την περιοχή προέλευσης των ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών (LR)

Η ανάλυση κύριων συνιστωσών μεταξύ των ομάδων (bg-PCA), έδειξε σημαντική επίδραση της περιοχής προέλευσης στο σχήμα του σώματος των ψαριών με βαθμό αναγέννησης $\leq 30\%$. Οι δύο πρώτοι άξονες PC1-PC2, εξηγούσαν το 87.9% τις συνολικής διακύμανσης (Εικόνα 8). Η ανάλυση διασποράς και το *a posteriori* Bonferroni test έδειξε σημαντική διαφοροποίηση του Ιονίου 2015 από τα υπόλοιπα δείγματα κατά μήκος του PC1 (Πίνακας 3). Κατά μήκος του δεύτερου άξονα (PC2), τη σημαντικότερη διαφορά είχαν τα δείγματα του Μαλιακού και του Ιονίου 2014. Μικρότερες αλλά σημαντικές διαφορές υπήρχαν και μεταξύ των

δειγμάτων του Μαλιακού και της Καλύμνου καθώς και μεταξύ των δειγμάτων του Ιονίου (In'14-In'15).

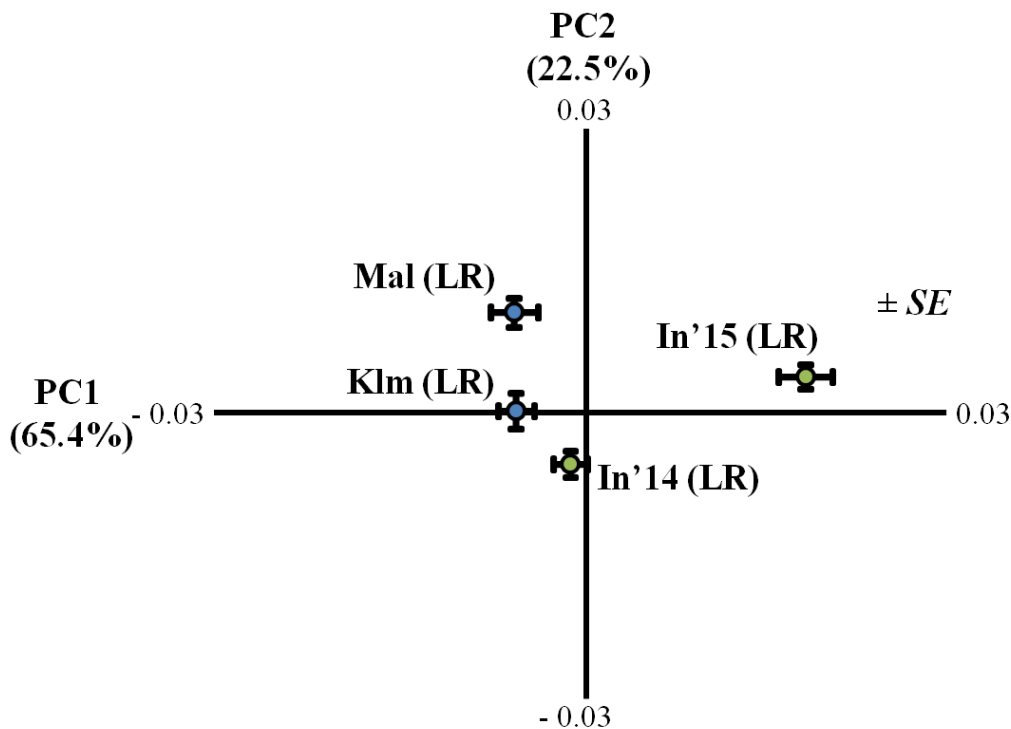
Η διαφορά στο σχήμα σώματος κατά μήκος της πρώτης συνιστώσας (PC1) αφορούσε κυρίως στην 'αντίθεση' Μαλιακού - Ιονίου 2015, με τα ψάρια στο Μαλιακό να παρουσιάζουν κοιλιακή μετατόπιση του στόματος, πρόσθια και νωτιαία μετατόπιση της πρόσθιας βάσης του ραχιαίου πτερυγίου, ραχιαία μετατόπιση των θωρακικών πτερυγίων και κοντύτερο ουραίο μίσχο (Εικόνα 9). Κατά μήκος της δεύτερης κύριας συνιστώσας (PC2), η διακύμανση του σχήματος αφορούσε κυρίως στην αντίθεση Ιονίου 2014 - Μαλιακού, με τα ψάρια Ιονίου 2014 να παρουσιάζουν μικρότερο μέγεθος κεφαλής, κοιλιακή μετατόπιση της πρόσθιας βάσης του ραχιαίου πτερυγίου, πρόσθια μετατόπιση των θωρακικών πτερυγίων, μακρύτερο και στενότερο ουραίο μίσχο (Εικόνα 9).

Πίνακας 3. Σημαντικότητα των διαφορών στο σχήμα του σώματος μεταξύ περιοχών των ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών (LR) για την PC1 (πάνω) και την PC2 (κάτω) (ANOVA, Bonferroni test). **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

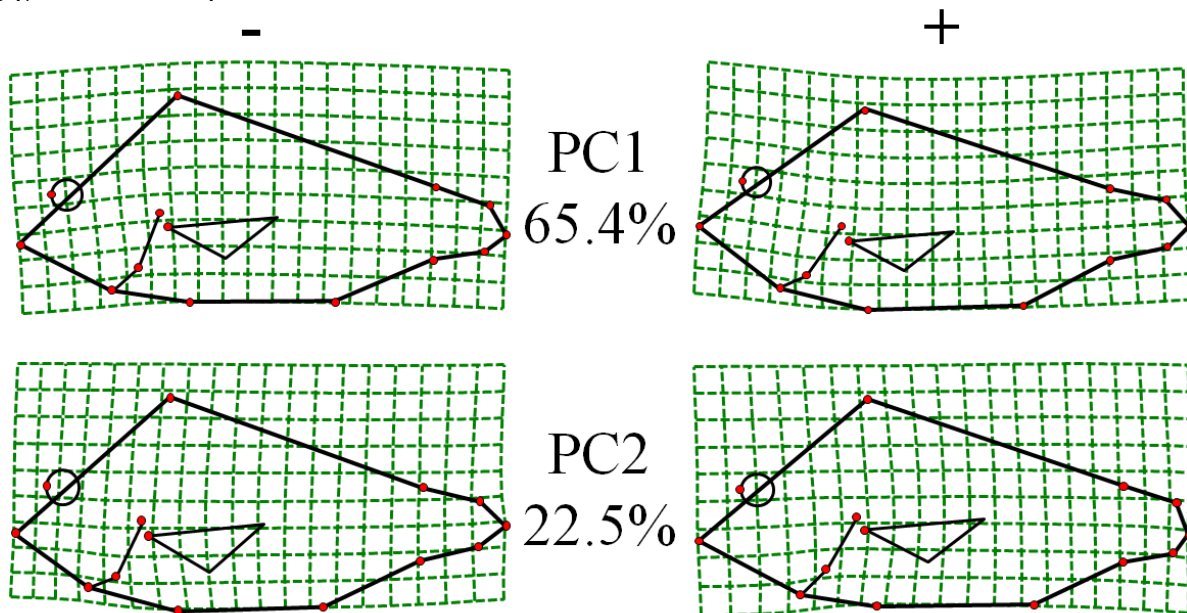
[Το δείγμα της Καβάλας δεν χρησιμοποιήθηκε στη συγκεκριμένη ανάλυση λόγω του μικρού αριθμού ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών ($n=3$)]

Area	In'14(LR)	In'15(LR)	Klm(LR)	Mal(LR)
In'14(LR)		***	-	-
In'15(LR)			***	***
Klm(LR)				-
Mal(LR)				

Area	In'14(LR)	In'15(LR)	Klm(LR)	Mal(LR)
In'14(LR)				
In'15(LR)	**			
Klm(LR)	-	-		
Mal(LR)	***	-	**	



Εικόνα 8. Επίδραση της περιοχής προέλευσης στις τιμές (mean±SD) της ανάλυσης κύριων συνιστωσών των ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών (LR, Low Regeneration). Στις παρενθέσεις δίνονται τα ποσοστά της συνολικής διακύμανσης του σχήματος σώματος που εξηγούνται από την εκάστοτε συνιστώσα.



Εικόνα 9. Πλέγματα παραμόρφωσης που απεικονίζουν τη μεταβολή του σχήματος σώματος των ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών, κατά μήκος των κύριων αξόνων διαχωρισμού PC1-PC2 (ακραίες τιμές, $\pm X3$)

4.3.2 Διάκριση με βάση την περιοχή προέλευσης ανεξάρτητα βαθμού αναγέννησης λεπιών

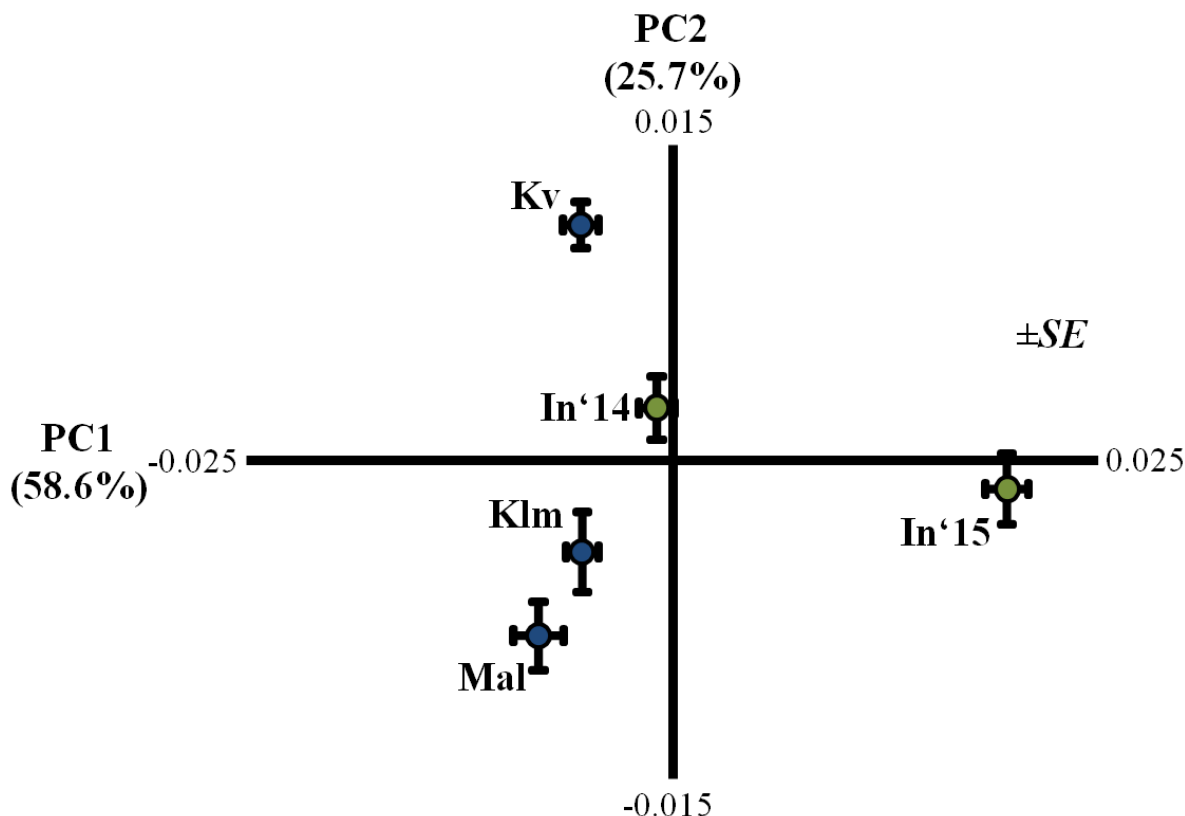
Η ανάλυση κύριων συνιστωσών μεταξύ των ομάδων (bg-PCA), έδειξε σημαντική επίδραση της περιοχής προέλευσης στο σχήμα του σώματος. Οι δύο πρώτοι άξονες κύριων συνιστωσών PC1-PC2, εξηγούσαν το 84.3% της συνολικής διακύμανσης του σχήματος (Εικόνα 10). Κατά μήκος του πρώτου άξονα (PC1), η ανάλυση διασποράς (ANOVA) και το *a posteriori* Bonferroni test, έδειξαν σημαντική διαφοροποίηση του δείγματος Ιονίου 2015 από τα δείγματα των υπόλοιπων περιοχών (Πίνακας 4). Μικρότερη αλλά σημαντική διαφορά προέκυψε και μεταξύ Μαλιακού και Ιονίου 2014. Κατά μήκος του δεύτερου άξονα (PC2), τη σημαντικότερη διαφοροποίηση παρουσίασε το δείγμα της Καβάλας από τα δείγματα των υπόλοιπων περιοχών. Σημαντική διαφοροποίηση παρουσίαζε επίσης το δείγμα του Ιονίου 2014 από το δείγμα του Μαλιακού και το δείγμα της Καλύμνου.

Σύμφωνα με τα πλέγματα παραμόρφωσης, η διαφοροποίηση μεταξύ του δείγματος Μαλιακού και δείγματος Ιονίου 2015 κατά μήκος της πρώτης κύριας συνιστώσας (PC1), οφειλόταν στο ότι τα ψάρια του Μαλιακού παρουσίαζαν μεγαλύτερο μέγεθος κεφαλής, νωτιαία μετατόπιση της πρόσθιας βάσης του ραχιαίου πτερυγίου, παχύτερη πρόσθια κοιλιακή περιοχή, στενότερη οπίσθια κοιλιακή περιοχή, κοιλιακή μετατόπιση των θωρακικών πτερυγίων, στενότερο και παχύτερο ουραίο μίσχο (Εικόνα 11). Κατά μήκος της PC2, (αντίθεση μεταξύ Μαλιακού και Καβάλας), τα ψάρια του Μαλιακού είχαν μικρότερο κεφάλι, κοιλιακή μετατόπιση της πρόσθιας βάσης του ραχιαίου πτερυγίου, πρόσθιο-οπίσθια διεύρυνση της κοιλιακής χώρας και στενότερο ουραίο μίσχο.

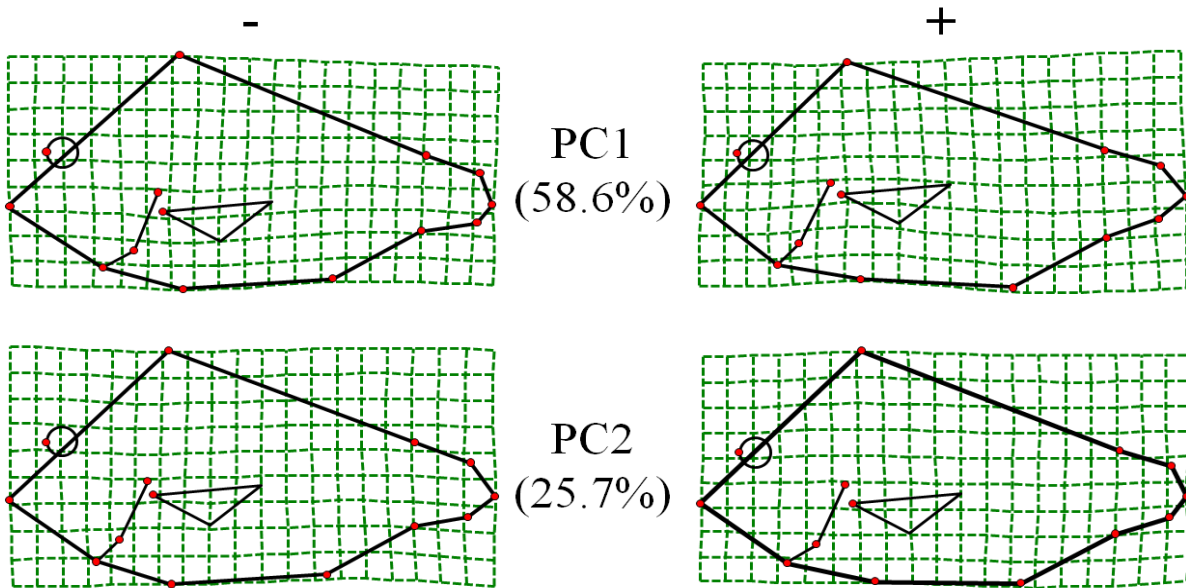
Πίνακας 4 Σημαντικότητα των διαφορών του σχήματος σώματος μεταξύ των περιοχών ανεξάρτητα από το βαθμό αναγέννησης των λεπιών για την PC1 (πάνω) και την PC2 (κάτω). (ANOVA, Bonferroni test). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

Area	In'14	In'15	Klm	Kv	Mal
In'14		***	-	-	**
In'15			***	***	***
Klm				-	-
Kv					-
Mal					

Area	In'14	In'15	Klm	Kv	Mal
In'14					
In'15	-				
Klm	*	-			
Kv	**	***	***		
Mal	***	-	-	***	



Εικόνα 10. Επίδραση της περιοχής προέλευσης στις τιμές (mean±SD) της ανάλυσης κύριων συνιστωσών των άγριων ατόμων, ανεξάρτητα από το βαθμό αναγέννησης των λεπιών. Στις παρενθέσεις δίνονται τα ποσοστά της συνολικής διακύμανσης του σχήματος σώματος που εξηγούνται από την εκάστοτε κύρια συνιστώσα.



Εικόνα 11. Πλέγματα παραμόρφωσης που απεικονίζουν τη μεταβολή του σχήματος σώματος των άγριων ατόμων, ανεξάρτητα από το βαθμό αναγέννησης των λεπιών, κατά μήκος των κύριων αξόνων διαχωρισμού PC1-PC2 (ακραίες τιμές, $\pm X3$)

Στο Παράρτημα 2 παρουσιάζεται η διάκριση των άγριων ατόμων με βάση τη περιοχή προέλευσης και το βαθμό αναγέννησης. Από τον Πίνακα (Π₂) της σημαντικότητας των διαφορών μεταξύ των ομάδων προκύπτει μη στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των ατόμων με υψηλό (HR) και χαμηλό ποσοστό αναγέννησης (LR) εντός της εκάστοτε περιοχής δειγματοληψίας.

4.3.3 Διάκριση με βάση την προέλευσης του συνόλου των δειγμάτων

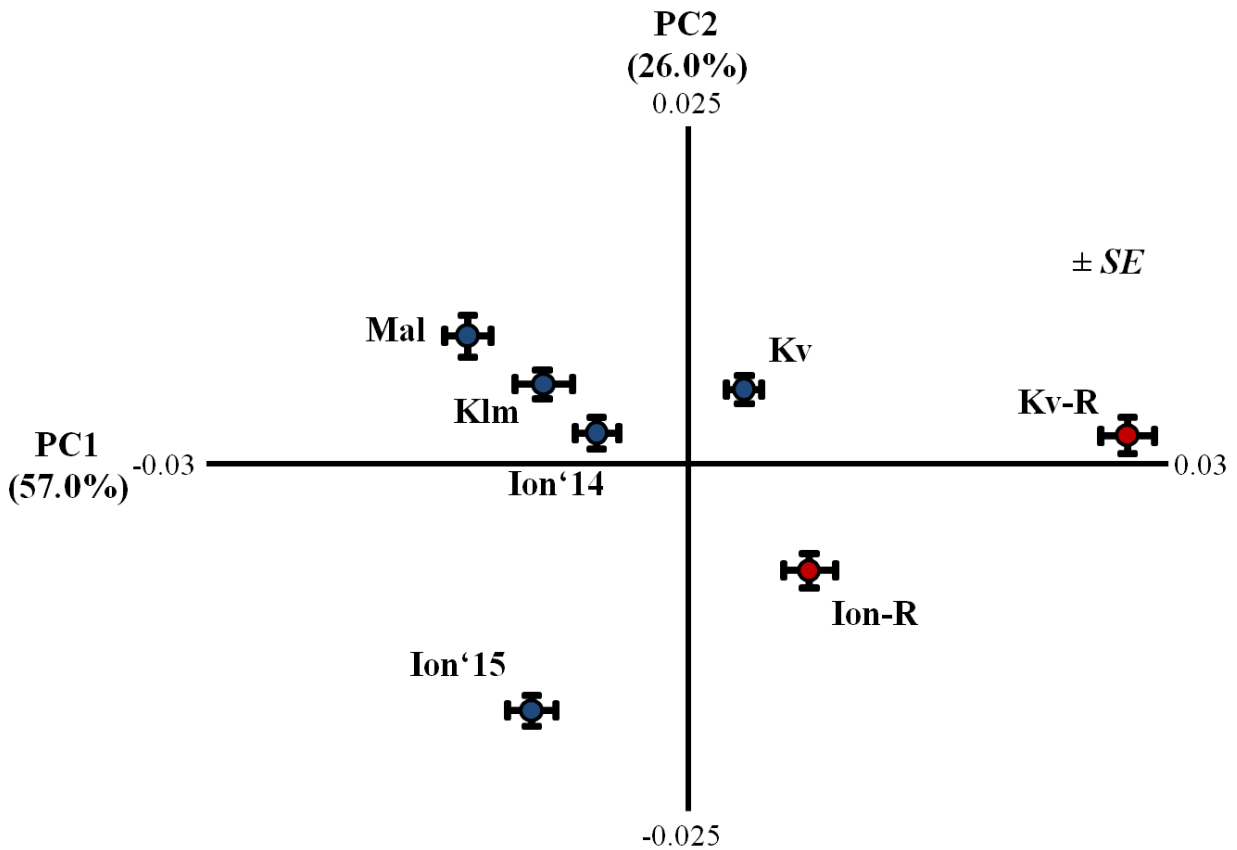
Η ανάλυση κύριων συνιστωσών μεταξύ των ομάδων (bg-PCA), έδειξε σημαντική επίδραση της προέλευσης στο σχήμα του σώματος των ατόμων για το σύνολο των δειγμάτων (άγρια και καλλιεργούμενα). Οι δύο πρώτοι άξονες κύριων συνιστωσών PC1-PC2, εξηγούσαν το 83.1% της συνολικής διακύμανσης (Εικόνα 12). Κατά μήκος του πρώτου άξονα (PC1), τα δείγματα εκτροφής και το δείγμα της περιοχής της Καβάλας ομαδοποιούνται στις θετικές τιμές του άξονα, με το δείγμα εκτροφής της Καβάλας να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη διαφοροποίηση (Πίνακας 5). Τα υπόλοιπα δείγματα ομαδοποιούνται στις αρνητικές τιμές του άξονα, χωρίς να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Εξαίρεση αποτελούσε η διαφορά μεταξύ του δείγματος της περιοχής του Μαλιακού και του δείγματος του Ιονίου 2014, η οποία ήταν οριακά σημαντική. Κατά μήκος του δεύτερου άξονα (PC2), τη μεγαλύτερη διαφοροποίηση παρουσίαζε το δείγμα Ιονίου 2015. Το δείγμα εκτροφής του Ιονίου (κεντρικά) διέφερε σημαντικά από όλα τα άλλα δείγματα. Μικρότερη αλλά σημαντική διαφοροποίηση παρουσιάστηκε και μεταξύ του δείγματος του Μαλιακού και του δείγματος εκτροφής της Καβάλας.

Σύμφωνα με τα πλέγματα παραμόρφωσης, η διαφοροποίηση μεταξύ του δείγματος Μαλιακού και του δείγματος εκτροφής της Καβάλας κατά μήκος της πρώτης κύριας συνιστώσας (PC1), αφορούσε στο ότι τα ψάρια του Μαλιακού είχαν μικρότερο μέγεθος κεφαλής, οπίσθιο-ραχιαία μετατόπιση του στόματος και του ρύγχους, κοιλιακή μετατόπιση της πρόσθιας βάσης του ραχιαίου πτερυγίου, πρόσθιο-κοιλιακή μετατόπιση των θωρακικών πτερυγίων, ραχιαία μετατόπιση της οπίσθιας κοιλιακής περιοχής, στενότερο και μακρύτερο ουραίο μίσχο (Εικόνα 13). Κατά μήκος της δεύτερης κύριας συνιστώσας (PC2), η διαφοροποίηση μεταξύ του δείγματος Ιονίου 2015 και του δείγματος Μαλιακού, οφειλόταν στο ότι τα ψάρια του Ιονίου 2015 είχαν μικρότερο μέγεθος κεφαλής, οπίσθια μετατόπιση του ρύγχους, πρόσθια μετατόπιση των θωρακικών πτερυγίων, πάχυνση της κοιλιακής χώρας και μακρύτερο ουραίο μίσχο.

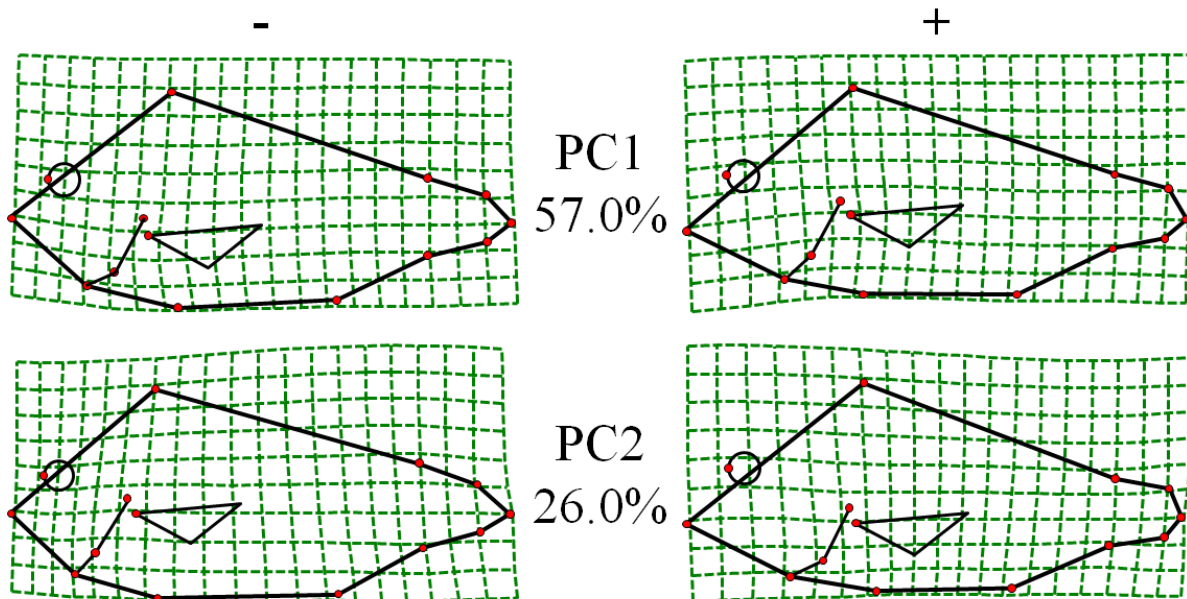
Πίνακας 5. Σημαντικότητα των διαφορών του σχήματος σώματος μεταξύ των δειγμάτων τσιπούρας (άγριων και καλιεργούμενων) για την PC1 (πάνω) και την PC2 (κάτω). (ANOVA, Bonferroni test). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

Area	In'14	In'15	In-R	Klm	Kv	Kv-R	Mal
In'14		-	***	-	***	***	*
In'15			***	-	***	***	-
In-R				***	-	***	***
Klm					***	***	-
Kv						***	***
Kv-R							***
Mal							

Area	In'14	In'15	In-R	Klm	Kv	Kv-R	Mal
In'14							
In'15	***						
In-R	***	***					
Klm	-	***	***				
Kv	-	***	***	-			
Kv-R	-	***	***	-	-		
Mal	**	***	***	-	-	**	



Εικόνα 12. Επίδραση της περιοχής προέλευσης στις τιμές (mean \pm SE) της ανάλυσης κύριων συνιστωσών του συνόλου των δειγμάτων. Στις παρενθέσεις δίνονται τα ποσοστά της συνολικής διακύμανσης του σχήματος σώματος που εξηγείται από την εκάστοτε συνιστώσα.



Εικόνα 13. Πλέγματα παραμόρφωσης που απεικονίζουν τη μεταβολή του σχήματος του σώματος των ατόμων του συνόλου των δειγμάτων, κατά μήκος των κύριων αξόνων διαχωρισμού PC1-PC2 (ακραίες τιμές, $\pm X3$)

4.4 Ανάλυση σχήματος ωτολίθων

4.4.1 Διάκριση με βάση την περιοχή προέλευσης στα άτομα με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών (LR)*

4.4.1.1 Αριστερός ωτόλιθος

Η κανονική ανάλυση κύριων συντεταγμένων (CAP) έδειξε σημαντική επίδραση της περιοχής προέλευσης στο σχήμα των αριστερών ωτολίθων των ατόμων με βαθμό αναγέννησης $\leq 30\%$. Οι δύο πρώτοι άξονες διαχωρισμού (CAP1-CAP2), έκφρασαν το 92% της συνολικής διακύμανσης (Εικόνα 14). Κατά μήκος του πρώτου άξονα (CAP1), η ανάλυση διασποράς (ANOVA) και το *a posteriori* Bonferroni test έδειξαν σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων του Ιονίου (In'14-'15) και του Αιγαίου (Mal-Klm) (Πίνακας 6). Κατά μήκος του δεύτερου άξονα (CAP2), η μεγαλύτερη διαφοροποίηση παρουσιάστηκε μεταξύ του Μαλιακού και του δείγματος της Καλύμνου. Ακολούθως, διέφεραν σημαντικά το δείγμα του Ιονίου 2015 από το δείγμα του Μαλιακού και το δείγμα του Ιονίου 2014 από τα δείγματα του Αιγαίου. Μέσω των συντελεστών της ανάλυσης Fourier αναπαριστάται σχηματικά η μέση διαμόρφωση του σχήματος των αριστερών ωτολίθων με βάση την περιοχή προέλευσης των ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών (Εικόνα 15). Στο δείγμα Ιονίου 2015 παρατηρήθηκε πιο επίμηκες σχήμα σε σχέση με τα υπόλοιπα, ενώ στο δείγμα του Μαλιακού πλατύτερη επιφάνεια.

Πίνακας 6. Σημαντικότητα των διαφορών του σχήματος των αριστερών ωτολίθων μεταξύ περιοχών των ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών (LR) για την CAP1 (πάνω) και την CAP2 (κάτω). (ANOVA, Bonferroni test). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

Area	In'14(LR)	In'15(LR)	Klm(LR)	Mal(IR)
In'14(LR)		-	***	***
In'15(LR)			**	*
Klm(LR)				-
Mal(LR)				

Area	In'14(LR)	In'15(LR)	Klm(LR)	Mal(IR)
In'14(LR)				
In'15(LR)	-			
Klm(LR)	*	-		
Mal(LR)	*	**	***	

4.4.1.2 Δεξιός ωτόλιθος

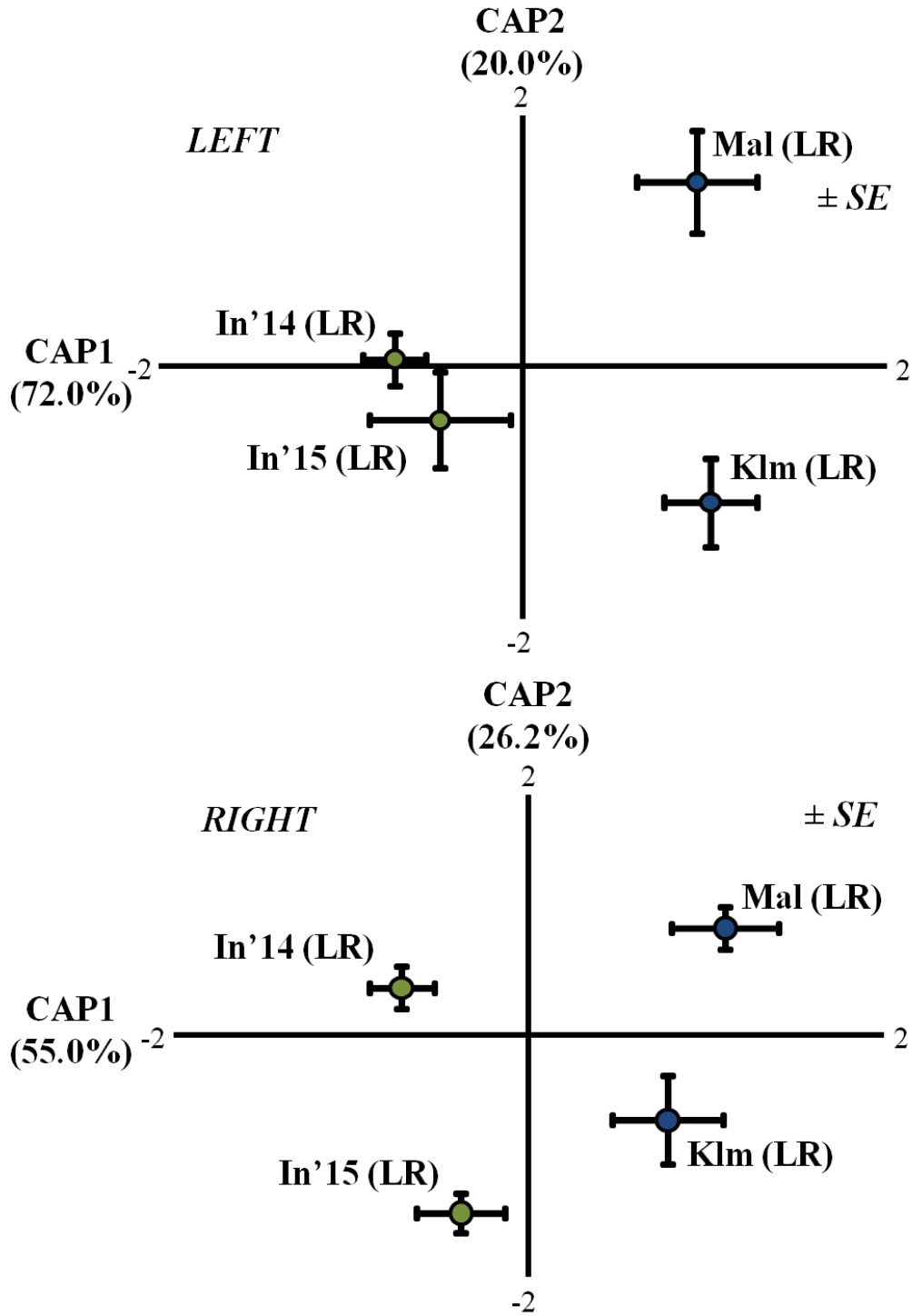
Η κανονική ανάλυση κύριων συντεταγμένων (CAP) έδειξε σημαντική επίδραση της περιοχής προέλευσης στο σχήμα των δεξιών ωτολίθων των ατόμων με βαθμό αναγέννησης λεπιών $\leq 30\%$. Οι δύο πρώτοι άξονες διαχωρισμού (CAP1-CAP2), εξηγούσαν το 81.2% τις συνολικής διακύμανσης (Εικόνα 14). Κατά μήκος του πρώτου άξονα (CAP1), η ανάλυση διασποράς (ANOVA) και το *a posteriori* Bonferroni test έδειξαν μεγαλύτερη διαφοροποίηση μεταξύ του Ιονίου 2014 και των ομάδων του Αιγαίου (Mal-Klm) (Πίνακας 7). Σημαντική διαφορά παρουσιάστηκε επίσης μεταξύ του δείγματος Ιονίου 2015 και του Μαλιακού. Κατά μήκος του δεύτερου άξονα (CAP2), διέφεραν σημαντικά τα δείγματα του Ιονίου 2015 και της Καλύμνου από τα δείγματα Ιονίου 2014 και Μαλιακού. Η μέση διαμόρφωση του σχήματος των δεξιών ωτολίθων με βάση την περιοχή προέλευσης των ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών αποκάλυψε πιο επίμηκες σχήμα στο δείγμα Ιονίου 2015 σε σχέση με τα υπόλοιπα και πλατύτερη επιφάνεια στο δείγμα του Μαλιακού (Εικόνα 15).

Πίνακας 7. Σημαντικότητα των διαφορών του σχήματος των δεξιών ωτολίθων μεταξύ περιοχών των ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών για την CAP1 (πάνω) και τη CAP2 (κάτω). (ANOVA, Bonferroni test). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

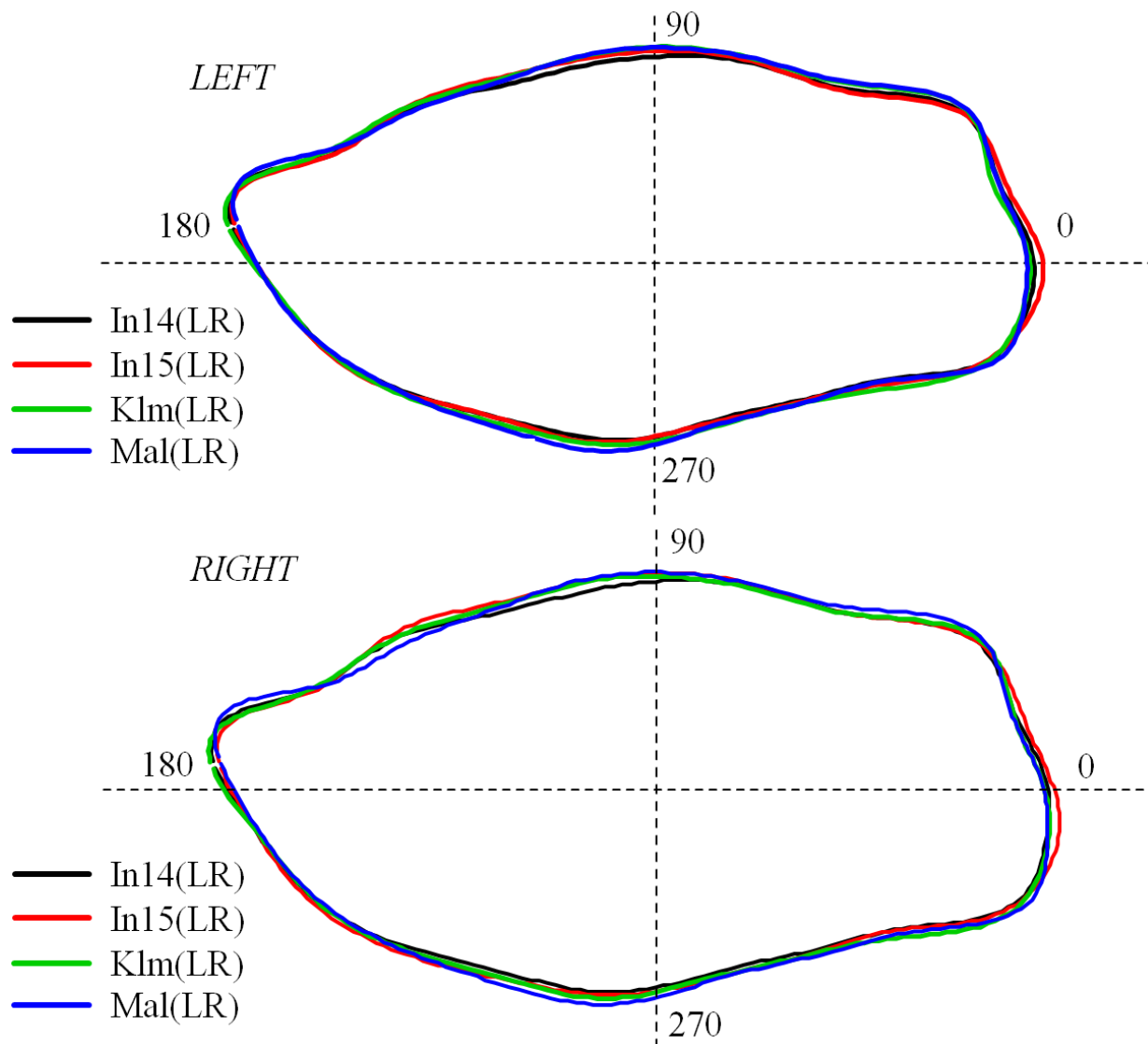
Area	In'14(LR)	In'15(LR)	Klm(LR)	Mal(LR)
In'14(LR)		-	***	***
In'15(LR)			-	*
Klm(LR)				-
Mal(LR)				

Area	In'14(LR)	In'15(LR)	Klm(LR)	Mal(LR)
In'14(LR)				
In'15(LR)	***			
Klm(LR)	**	-		
Mal(LR)	-	***	***	

*[Το δείγμα ωτολίθων της Καβάλας δεν χρησιμοποιήθηκε στη συγκεκριμένη ανάλυση λόγω του μικρού αριθμού ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών ($n=3$)]



Εικόνα 14. Επίδραση της περιοχής προέλευσης στις τιμές (mean±SE) της ανάλυσης κύριων συντεταγμένων των ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών για τον αριστερό (πάνω) και το δεξιό (κάτω) ωτόλιθο. Στις παρενθέσεις δίνονται τα ποσοστά της συνολικής διακύμανσης του σχήματος ωτολίθων που εξηγούνται από τον εκάστοτε άξονα.



Εικόνα 15. Μέση διαμόρφωση του σχήματος των αριστερών (πάνω) και των δεξιών (κάτω) ωτολίθων με βάση την περιοχή προέλευσης των ατόμων με χαμηλό ποσοστό αναγέννησης λεπιών, όπως αυτή προκύπτει από την ανάλυση Fourier.

4.4.2 Διάκριση με βάση την περιοχή προέλευσης ανεξάρτητα από το βαθμό αναγέννησης λεπιών

Ο έλεγχος των διαφορών σχήματος των ωτολίθων των άγριων ατόμων με βάση τη περιοχή προέλευσης και το βαθμό αναγέννησης παρουσιάζεται στο παράρτημα 3. Από τους Πίνακες (Π_{3,1}-Π_{3,2}) της σημαντικότητας των διαφορών μεταξύ των ομάδων, τόσο για τον αριστερό όσο και για τον δεξιό ωτόλιθο, προέκυψε μη στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων με υψηλό (HR) και χαμηλό ποσοστό αναγέννησης (LR), εντός της κάθε περιοχής δειγματοληψίας. Με βάση το αποτέλεσμα αυτό, η ανάλυση που ακολούθησε διέκρινε τα δείγματα με βάση τη περιοχή προέλευσής τους, ανεξάρτητα από τον βαθμό αναγέννησης των λεπιών.

4.4.2.1 Αριστερός ωτόλιθος

Η κανονική ανάλυση κύριων συντεταγμένων (CAP) έδειξε σημαντική επίδραση της περιοχής προέλευσης στο σχήμα των αριστερών ωτολίθων για το σύνολο των άγριων ατόμων. Οι δύο πρώτοι άξονες διαχωρισμού (CAP1-CAP2), εξηγούσαν το 85.7% τις συνολικής διακύμανσης (Εικόνα 16). Κατά μήκος του πρώτου άξονα (CAP1), υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων του Ιονίου (In'14-In'15) και των δειγμάτων του Μαλιακού και της Καβάλας (Πίνακας 8). Το δείγμα της Καλύμνου ήταν στη μέση του άξονα και δεν διέφερε σημαντικά από τις υπόλοιπες ομάδες, με εξαίρεση το δείγμα την Καβάλα. Κατά μήκος του δεύτερου άξονα (CAP2), διέφεραν σημαντικά τα δείγματα της Καλύμνου και του Μαλιακού από τα δείγματα του Ιονίου και της Καβάλας. Η μέση διαμόρφωση του σχήματος των αριστερών ωτολίθων με βάση την περιοχή προέλευσης των άγριων ατόμων έδειξε μικρή διεύρυνσή της επιφάνειας των ωτολίθων του Μαλιακού συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα (Εικόνα 17).

Πίνακας 8. Σημαντικότητα των διαφορών του σχήματος των αριστερών ωτολίθων μεταξύ περιοχών για το σύνολο των άγριων ατόμων κατά μήκος της CAP1 (πάνω) και της CAP2 (κάτω). (ANOVA, Bonferroni test). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

Area	In'14	In'15	Klm	Kv	Mal
In'14		-	-	***	***
In'15			-	***	**
Klm				**	-
Kv					-
Mal					

Area	In'14	In'15	Klm	Kv	Mal
In'14					
In'15	-				
Klm	***	***			
Kv	-	-	***		
Mal	*	*	-	***	

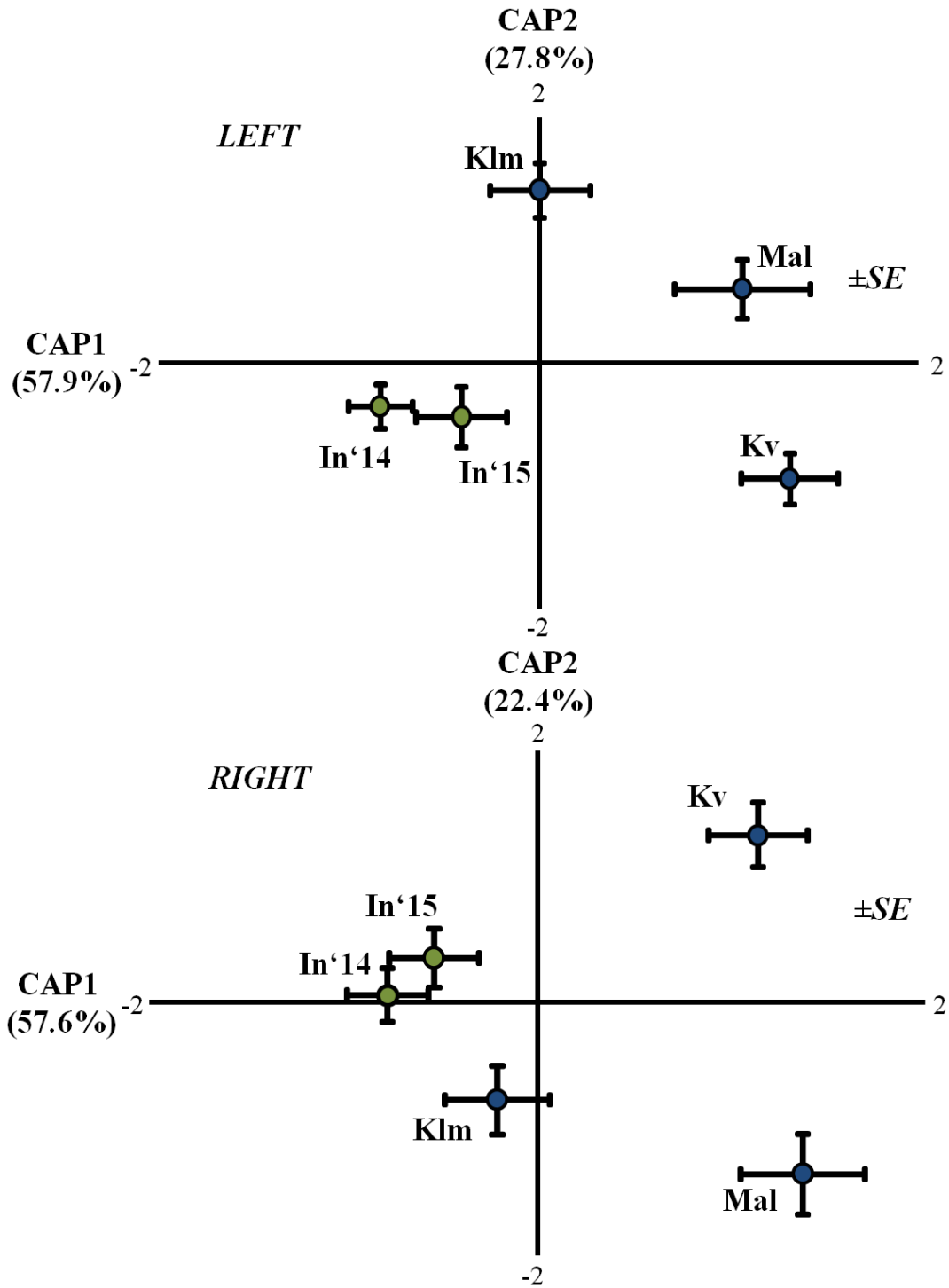
4.4.2.2 Δεξιός ωτόλιθος

Η κανονική ανάλυση κύριων συντεταγμένων (CAP) έδειξε σημαντική επίδραση της περιοχής προέλευσης στο σχήμα των δεξιών ωτολίθων για το σύνολο των άγριων ατόμων. Οι δύο πρώτοι άξονες διαχωρισμού (CAP1-CAP2), εξηγούσαν το 80% της συνολικής διακύμανσης (Εικόνα 16). Κατά μήκος του πρώτου άξονα (CAP1), προέκυψαν δύο ομαδοποιήσεις με στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους (Πίνακας 9). Η πρώτη ομάδα περιλάμβανε τα δείγματα του Ιονίου (In'14-'15) και το δείγμα της Καλύμνου, ενώ η δεύτερη τα δείγματα του Μαλιακού και της Καβάλας. Κατά μήκος του δεύτερου άξονα (CAP2), τα δείγματα της Καβάλας και του Ιονίου 2015 διέφεραν σημαντικά από τα δείγματα Μαλιακού και Καλύμνου. Στο ενδιάμεσο του άξονα ήταν το δείγμα του Ιονίου 2014 το οποίο διέφερε σημαντικά από τα δείγματα της Καβάλας και του Μαλιακού. Η μέση διαμόρφωση του σχήματος των δεξιών ωτολίθων με βάση την περιοχή προέλευσης των άγριων ατόμων έδειξε προς τα άνω μετατόπιση της αριστερής και δεξιάς πλευράς των ωτόλιθων του Μαλιακού συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα (Εικόνα 17).

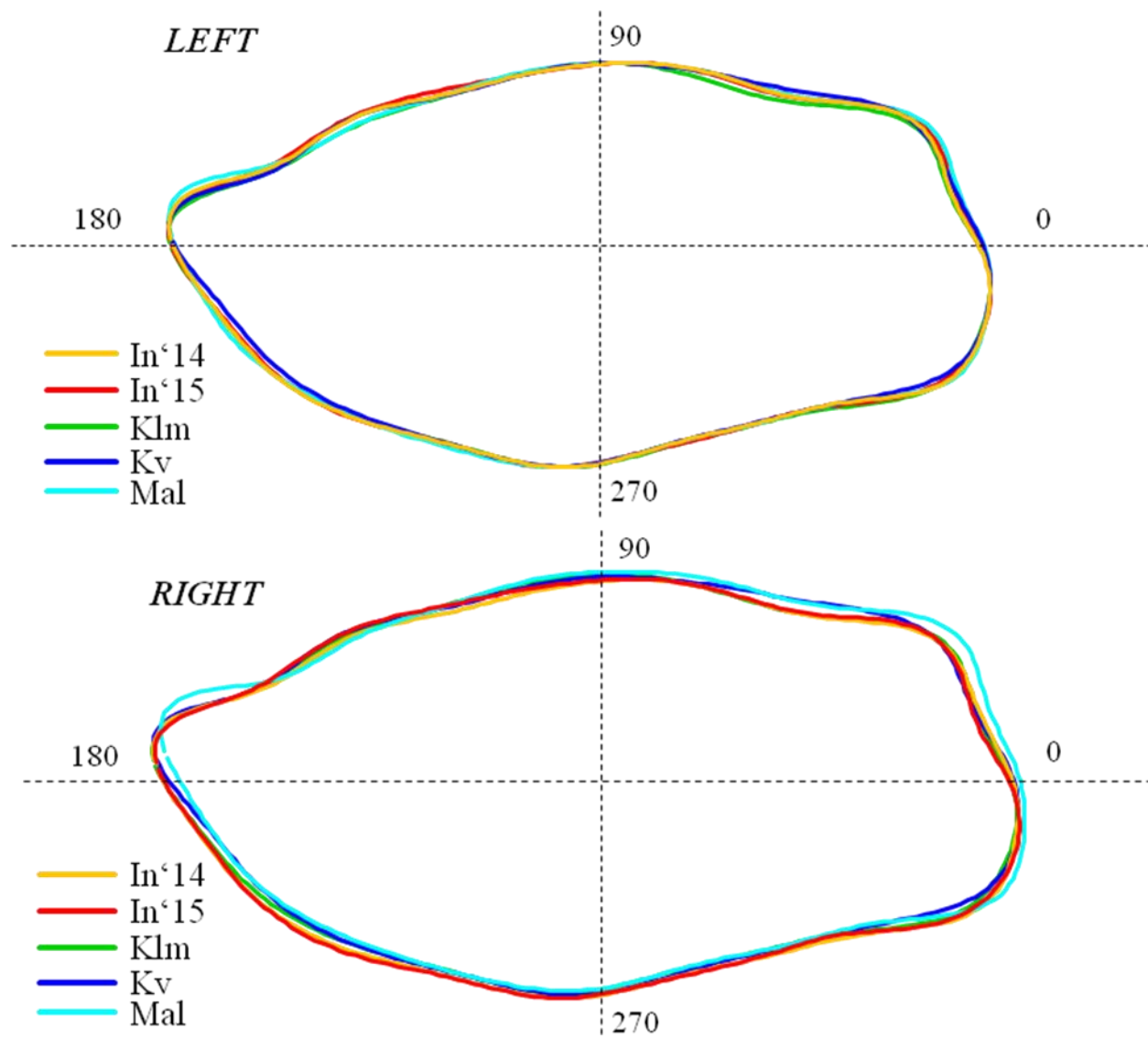
Πίνακας 9. Σημαντικότητα των διαφορών του σχήματος των δεξιών ωτολίθων μεταξύ περιοχών για το σύνολο των άγριων ατόμων κατά μήκος της CAP1 (πάνω) και της CAP2 (κάτω). (ANOVA, Bonferroni test). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

Area	In'14	In'15	Klm	Kv	Mal
In'14		-	-	***	***
In'15			-	***	***
Klm				**	**
Kv					-
Mal					

Area	In'14	In'15	Klm	Kv	Mal
In'14					
In'15	-				
Klm	-	*			
Kv	**	-	***		
Mal	**	***	-	***	



Εικόνα 16. Επίδραση της περιοχής προέλευσης στις τιμές (mean±SE) της ανάλυσης κύριων συντεταγμένων του συνόλου των άγριων ατόμων για τον αριστερό (πάνω) και τον δεξιό (κάτω) ωτόλιθο. Στις παρενθέσεις δίνονται τα ποσοστά της συνολικής διακύμανσης του σχήματος των ωτολίθων που εξηγούνται από τον εκάστοτε άξονα.



Εικόνα 17. Μέση διαμόρφωση του σχήματος των αριστερών (πάνω) και δεξιών (κάτω) ωτολίθων με βάση την περιοχή προέλευσης για το σύνολο των άγριων ατόμων, όπως αυτή προκύπτει από την ανάλυση Fourier.

4.4.3 Διάκριση με βάση την προέλευση των ωτόλιθων του συνόλου των δειγμάτων

4.4.3.1 Αριστερός ωτόλιθος

Η κανονική ανάλυση κύριων συντεταγμένων (CAP) έδειξε σημαντική επίδραση της προέλευσης στο σχήμα των αριστερών ωτολίθων για το σύνολο των δειγμάτων (άγρια και καλλιεργούμενα). Οι δύο πρώτοι άξονες διαχωρισμού (CAP1-CAP2), εξηγούσαν το 76.2% της συνολικής διακύμανσης (Εικόνα 18). Κατά μήκος του πρώτου άξονα (CAP1), προέκυψαν δύο ομαδοποιήσεις με στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους (Πίνακας 10). Η πρώτη περιλάμβανε τα δείγματα εκτροφής (In-R, Kv-R) και η δεύτερη το σύνολο των δειγμάτων των άγριων ατόμων (In'14-In'15, Klm, Mal, Kv). Κατά μήκος του δεύτερου άξονα (CAP2), δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων με εξαίρεση το δείγμα του Ιονίου 2014 που διέφερε από το δείγμα της Καβάλας. Η μέση διαμόρφωση του σχήματος των αριστερών ωτολίθων με βάση τη προέλευση του συνόλου των δειγμάτων, έδειξε μια χαρακτηριστική εγκοπή στο αριστερό πάνω άκρο των ωτολίθων των δειγμάτων εκτροφής (*rostrum* & *antirostrum* τμήματα), καθώς και διεύρυνση της δεξιάς πλευράς τους (Εικόνα 19).

Πίνακας 10. Σημαντικότητα των διαφορών του σχήματος των αριστερών ωτολίθων μεταξύ των διαφορετικών δειγμάτων για την CAP1 (πάνω) και την CAP2 (κάτω). (ANOVA, Bonferroni test).*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

Area	In'14	In'15	In-R	Klm	Kv	Kv-R	Mal
In'14		-	***	-	-	***	-
In'15			***	-	-	***	-
In-R				***	***	-	***
Klm						***	-
Kv						***	-
Kv-R							***
Mal							

Area	In'14	In'15	In-R	Klm	Kv	Kv-R	Mal
In'14							
In'15	-						
In-R	-	-					
Klm	-	-	-				
Kv	*	-	-	-			
Kv-R	-	-	-	-	-		
Mal	-	-	-	-	-	-	

4.4.3.2 Δεξιός ωτόλιθος

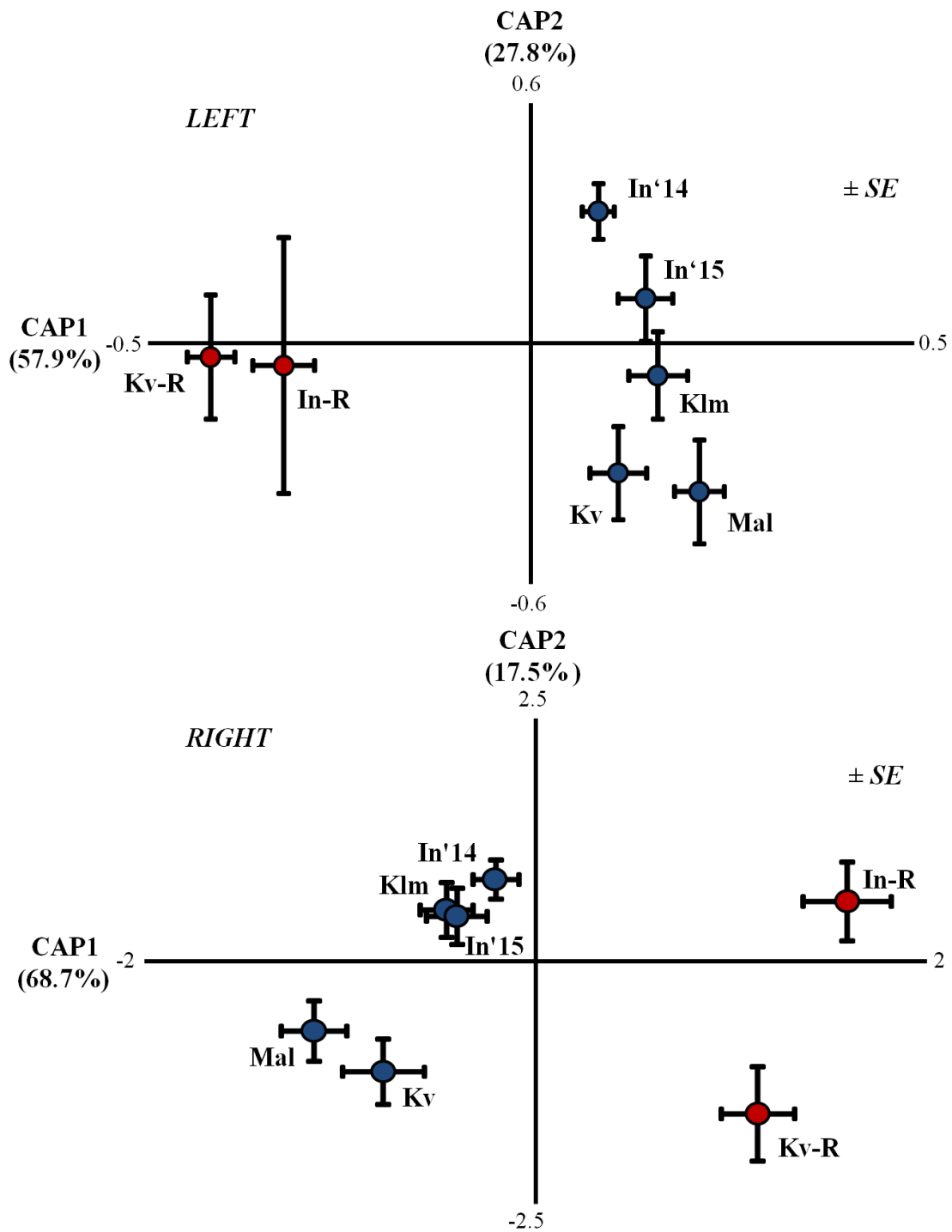
Η κανονική ανάλυση κύριων συντεταγμένων (CAP) έδειξε σημαντική επίδραση του δείγματος προέλευσης στο σχήμα των δεξιών ωτολίθων. Οι δύο πρώτοι άξονες διαχωρισμού (CAP1-CAP2), εξηγούσαν το 86.7% της συνολικής διακύμανσης (Εικόνα 18). Κατά μήκος του πρώτου άξονα (CAP1), προέκυψαν δύο ομαδοποιήσεις με στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους (Πίνακας 11). Η πρώτη περιλάμβανε τα δείγματα εκτροφής (In-R, Kv-R) και η δεύτερη το σύνολο των δειγμάτων των άγριων ατόμων. Μικρότερη αλλά σημαντική διαφοροποίηση υπήρχε μεταξύ του δείγματος Ιονίου 2014 και του δείγματος Μαλιακού. Κατά μήκος του δεύτερου άξονα (CAP2), υπήρχε μια ομάδα αποτελούμενη από τα δείγματα εκτροφής και τα άγρια της Καβάλας και μια δεύτερη, που περιλάμβανε τα δείγματα του Ιονίου (άγρια και εκτροφής) και το δείγμα της Καλύμνου (Πίνακας 11). Το δείγμα του Μαλιακού ήταν στο ενδιάμεσο του άξονα με σημαντική διαφοροποίηση από το δείγμα Ιονίου 2014. Η μέση διαμόρφωση του σχήματος των δεξιών ωτολίθων με βάση την περιοχή προέλευσης του συνόλου των δειγμάτων έδειξε μια χαρακτηριστική εγκοπή στο αριστερό πάνω άκρο των ωτολίθων των

δειγμάτων εκτροφής, καθώς και διεύρυνση της οπίσθιας πλευράς τους (*rostrum* & *antirostrum* τμήματα) (Εικόνα 19).

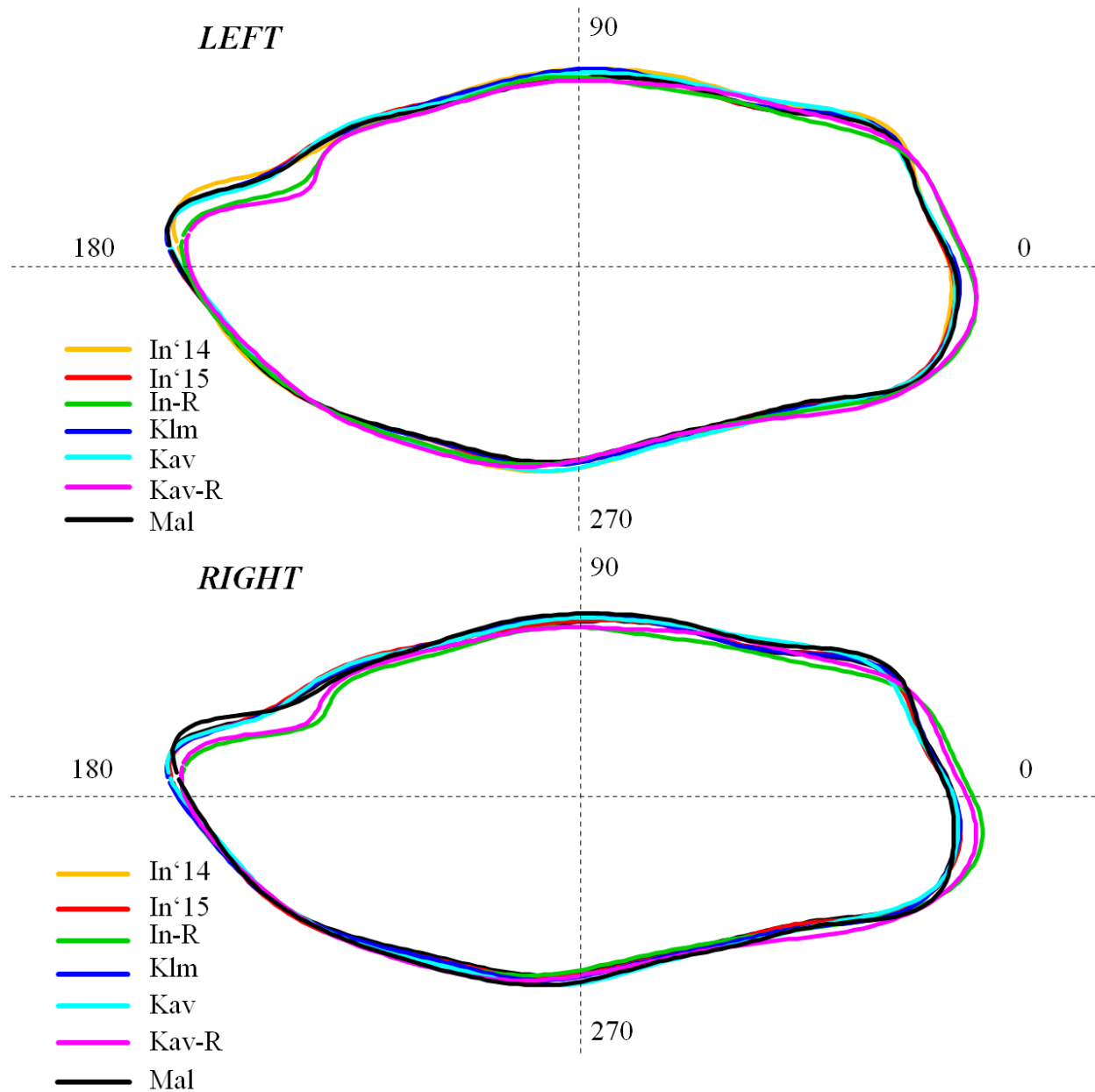
Πίνακας 11. Σημαντικότητα των διαφορών του σχήματος των δεξιών ωτολίθων για το σύνολο των δειγμάτων κατά μήκος της CAP1 (πάνω) και της CAP2 (κάτω). (ANOVA, Bonferroni test).*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

Area	In'14	In'15	In-R	Klm	Kv	Kv-R	Mal
In'14		-	***	-	-	***	**
In'15			***	-	-	***	-
In-R				***	***	-	***
Klm					-	***	-
Kv						***	-
Kv-R							***
Mal							

Area	In'14	In'15	In-R	Klm	Kv	Kv-R	Mal
In'14							
In'15	-						
In-R	-	-					
Klm	-	-	-				
Kv	***	*	**	*			
Kv-R	***	***	***	***	-		
Mal	***	-	-	-	-	-	



Εικόνα 18. Επίδραση της περιοχής προέλευσης στις τιμές (mean $\pm 1SE$) της ανάλυσης κύριων συντεταγμένων του συνόλου των δειγμάτων για τον αριστερό (πάνω) και τον δεξιό (κάτω) ωτόλιθο. Στις παρενθέσεις δίνονται τα ποσοστά της συνολικής διακύμανσης του σχήματος των ωτολίθων που εξηγούνται από τους εκάστοτε άξονες.



Εικόνα 19. Μέση διαμόρφωση του σχήματος των αριστερών (πάνω) και δεξιών (κάτω) ωτολίθων με βάση την περιοχή προέλευσης για το σύνολο των δειγμάτων (άγρια και καλλιεργούμενα), όπως αυτή προκύπτει από τους συντελεστές της ανάλυσης Fourier.

4.5 Κυμαινόμενη ασυμμετρία ωτολίθων

Η μέση απόλυτη διαφορά των διαστάσεων των ωτολίθων (μήκος, πλάτος, εμβαδόν, περίμετρος) μεταξύ των δύο πλευρών κάθε ψαριού, ελέγχθηκε με βάση την άγρια ή εκτρεφόμενη προέλευση των δειγμάτων καθώς και το βαθμό αναγέννησης των λεπιών (≤ 30 ή >30). Για το σύνολο των παραμέτρων που ελέγχθηκαν, η ανάλυση διασποράς έδειξε, σημαντικές διαφορές στην ασυμμετρία ($P < 0.01$). Τα άγρια άτομα με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών εμφάνιζαν τη μικρότερη κυμαινόμενη ασυμμετρία και για τις τέσσερις παραμέτρους που εξετάστηκαν. Τα άγρια άτομα με υψηλό βαθμό αναγέννησης είχαν ενδιάμεση κυμαινόμενη ασυμμετρία, ενώ τα άτομα εκτροφής παρουσίαζαν τη μεγαλύτερη κυμαινόμενη ασυμμετρία ωτολίθων (Εικόνα 20). Η ανάλυση διασποράς και το *a posteriori* Bonferroni test έδειξαν σημαντική διαφοροποίηση των εκτρεφόμενων σε σχέση με τα άγρια άτομα για τις 2 από τις 4 παραμέτρους που εξετάστηκαν (Περίμετρο, Εμβαδόν) (Πίνακες 12, 13).

Η κυμαινόμενη ασυμμετρία, ελέγχθηκε επίσης μέσω της διακύμανσης (variance) των τιμών του δείκτη $[Ri-Li/(Ri+Li)/2]$ για το σύνολο των παραμέτρων του κάθε ζεύγους ωτολίθων. Για τον έλεγχο της ομοιογένειας της διακύμανσης, η ανάλυση διασποράς και το *a posteriori* Barlett test, έδειξαν σημαντικές διαφορές στην διακύμανση της ασυμμετρίας των ωτολίθων για το σύνολο των παραμέτρων ($P < 0.05$). Προέκυψε λοιπόν, ότι τα άγρια άτομα με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών παρουσίαζαν τη μικρότερη διακύμανση και για τις τέσσερις παραμέτρους που εξετάστηκαν (Εικόνα 21). Τα άγρια άτομα με υψηλό βαθμό αναγέννησης είχαν ενδιάμεση, ενώ τα άτομα εκτροφής είχαν τη μεγαλύτερη διακύμανση στην ασυμμετρία των παραμέτρων που εξετάστηκαν.

Πίνακας 12. Σημαντικότητα της διαφοράς στη μέση απόλυτη ασυμμετρία στο μήκος (πάνω) και το πλάτος (κάτω) δεξιού και αριστερού ωτόλιθου μεταξύ των εκτρεφόμενων (R) και των άγριων ατόμων με υψηλό ($W > 30$) και χαμηλό ($W \leq 30$) ποσοστό αναγέννησης λεπιών. *: $P < 0.05$

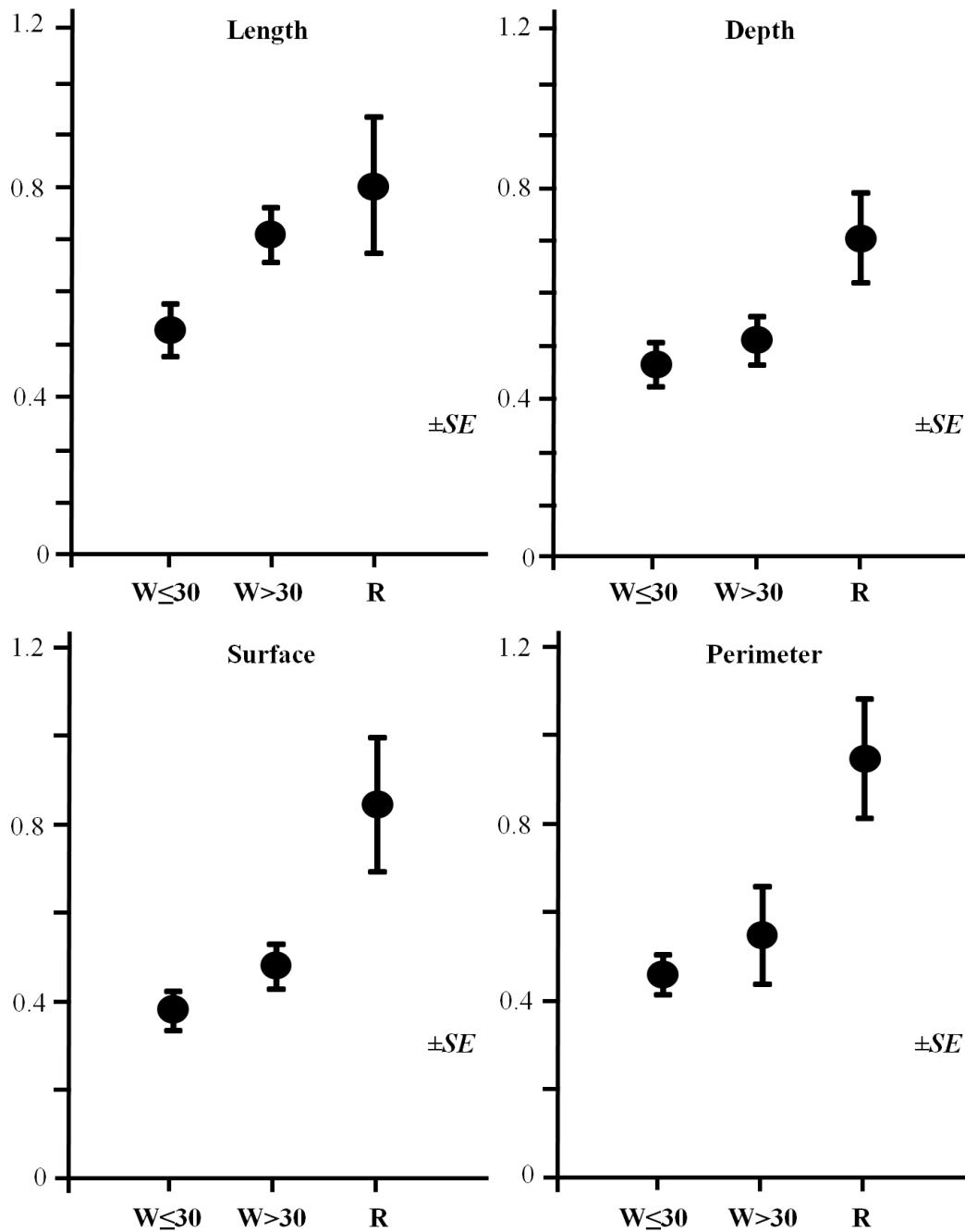
Groups	R	W<30	W>30
R		-	-
W<30			-
W>30			

Groups	R	W<30	W>30
R			
W<30	*		
W>30	-	-	

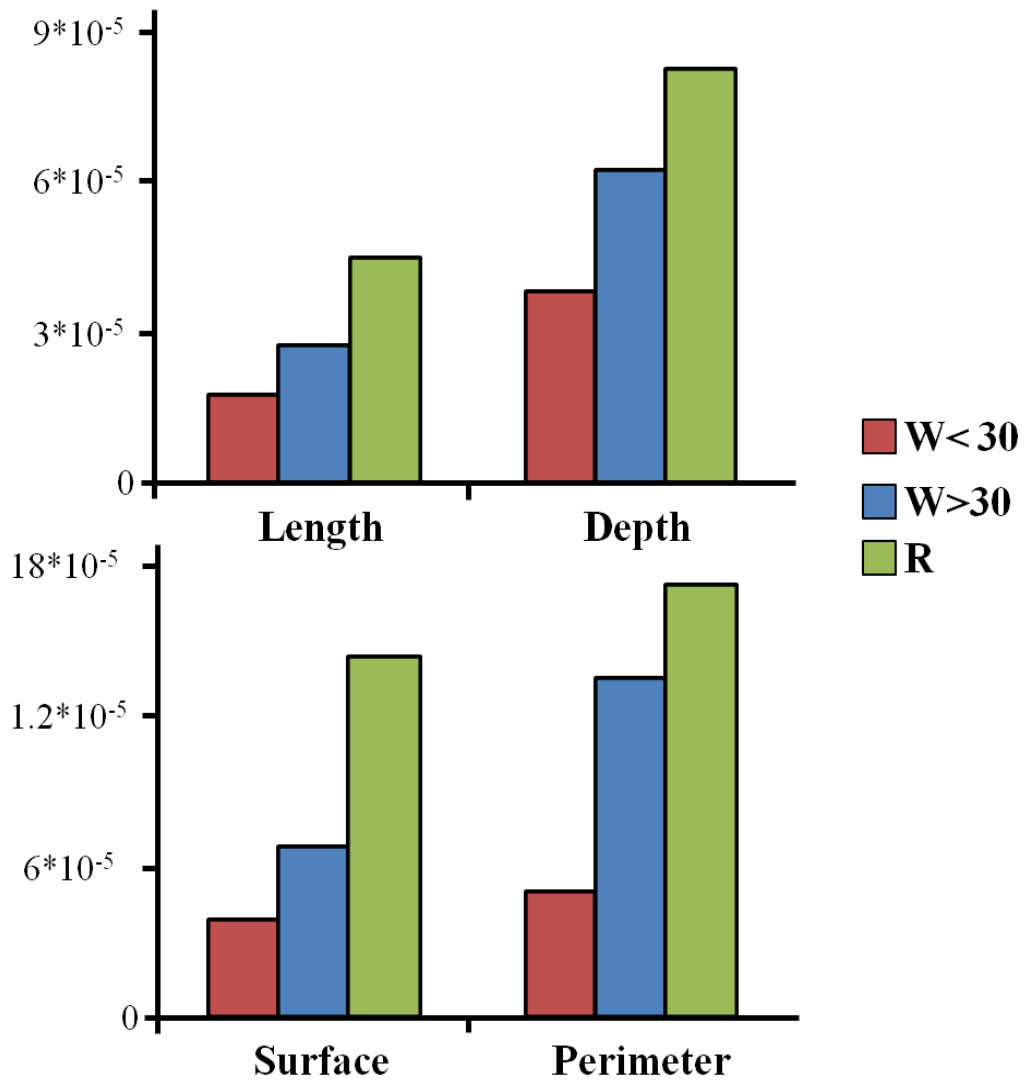
Πίνακας 13. . Σημαντικότητα της διαφοράς στη μέση απόλυτη ασυμμετρία στο εμβαδό (πάνω) και την περίμετρο (κάτω) δεξιού και αριστερού ωτόλιθου μεταξύ των εκτρεφόμενων (R) και των άγριων ατόμων με υψηλό ($W>30$) και χαμηλό ($W\leq 30$) ποσοστό αναγέννησης λεπιών. *: $P<0.05$, **: $P<0.01$, ***: $P<0.001$.

Groups	R	W<30	W>30
R		***	**
W<30			-
W>30			

Groups	R	W<30	W>30
R			
W<30	**		
W>30	*	-	



Εικόνα 20. Επίδραση της άγριας ή εκτρεφόμενης προέλευσης και του βαθμού αναγέννησης των λεπιών στη μέση απόλυτη ασυμμετρία των ωτολίθων.



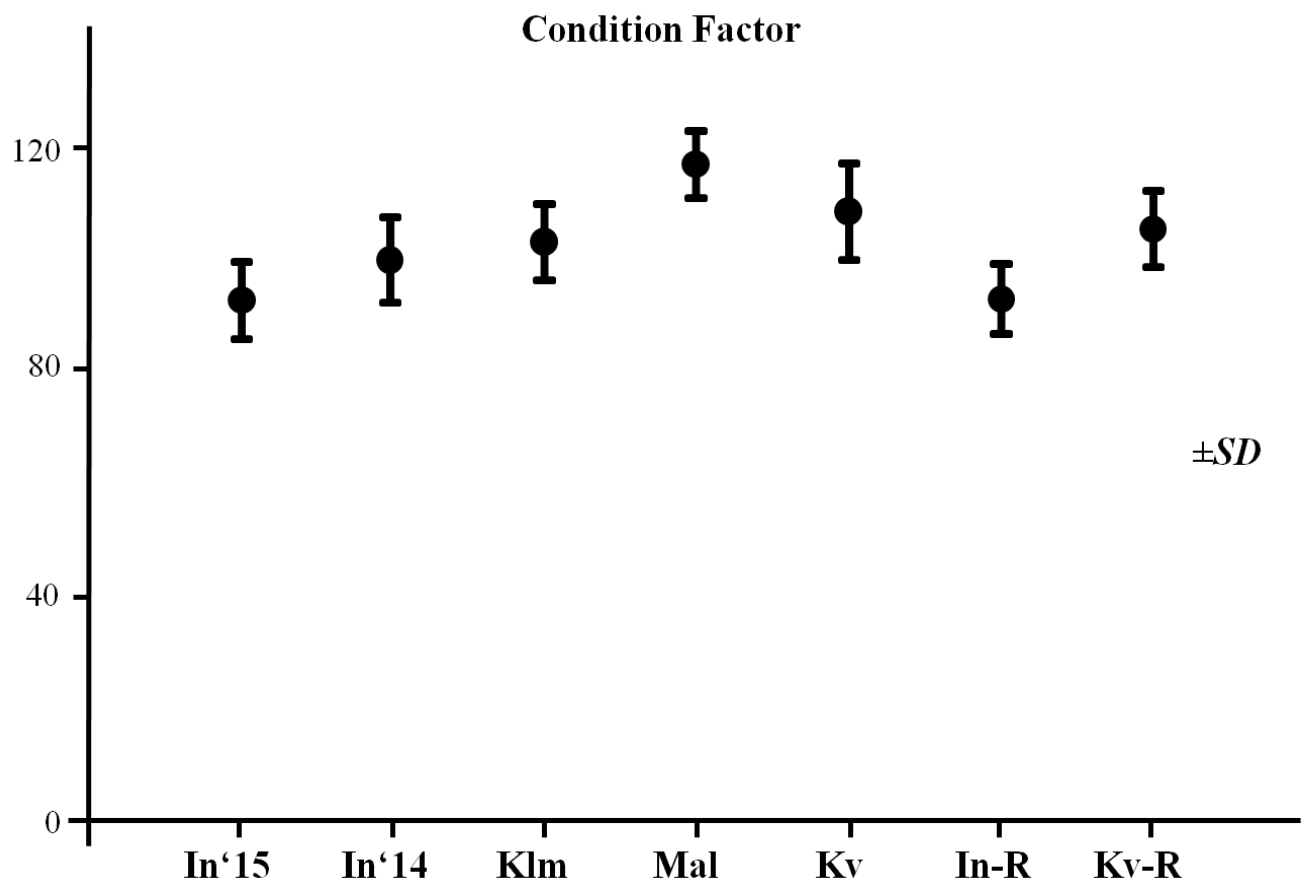
Εικόνα 21. Επίδραση της άγριας ή εκτρεφόμενης προέλευσης και του βαθμού αναγέννησης των λεπιών στη διακύμανση της ασυμμετρίας των ωτολίθων, όπως αυτή προκύπτει από το δείκτη $\text{var}[\text{Ri-Li} / (\text{Ri-Li})/2]$.

4.6 Συντελεστής ευρωστίας

Ο έλεγχος της διακύμανσης (ANOVA) του συντελεστή ευρωστίας, αποκάλυψε σημαντική επίδραση της προέλευσης των δειγμάτων ($p < 0.001$). Η ανάλυση διασποράς και το *a posteriori* Bonferroni test έδειξαν σημαντικές διαφορές του Ιονίου 2015 και Ιονίου εκτροφής σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες, εμφανίζοντας το μικρότερο συντελεστή ευρωστίας. Τη μεγαλύτερη ευρωστία παρουσίαζαν τα δείγματα του Μαλιακού και της Καβάλας (άγρια και εκτροφής) (Εικόνα 22).

Πίνακας 14. Σημαντικότητα των διαφορών του συντελεστή ευρωστίας για το σύνολο των δειγμάτων. (ANOVA, Bonferroni test). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

Area	In-R	Kv-R	In'14	In'15	Klm	Kv	Mal
In-R		***	*	-	**	***	***
Kv-R			*	***	-	-	**
In'14				**	-	***	***
In'15					***	***	***
Klm						*	***
Kv							-
Mal							



Εικόνα 22: Επίδραση της προέλευσης στο συντελεστή ευρωστίας, όπως αυτή προκύπτει από την ποσοστιαία αναλογία του πραγματικού/αναμενόμενου βάρους.

5 Συζήτηση

5.1 Βαθμός αναγέννησης των λεπιών

Τα ψάρια εκτροφής (Kv-R, In-R), εξαιτίας της καταπόνησης που υφίστανται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους (μεταφορά από τους ιχθυογενετικούς σταθμούς στους κλωβούς πάχυνσης, συνωστισμός στα κλουβιά, εμβολιασμοί), χάνουν το σύνολο σχεδόν των αρχικών τους λεπιών τους (99.8-100% αναγέννηση) (Katselis *et al.* 2003). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Δημητρίου (2007) και το μέσο ποσοστό αναγέννησης των άγριων δειγμάτων της παρούσας εργασίας, η διάκριση των ατόμων βάσει του βαθμού αναγέννησης των λεπιών ($\leq 30\%$ ή $> 30\%$), είχε σκοπό τη διερεύνηση της ύπαρξης πιθανών δραπετών ψαριών από μονάδες καλλιέργειας εντός των φυσικών πληθυσμών. Ο μέσος βαθμός αναγέννησης των λεπιών των άγριων ατόμων διέφερε μεταξύ των διαφορετικών περιοχών, με τα άτομα της Καβάλας να παρουσιάζουν το υψηλότερο ποσοστό αναγέννησης. Το αποτέλεσμα αυτό, δείχνει πιθανώς διαφορετικό ποσοστό συμμετοχής διαφυγόντων ατόμων μέσα στα αποθέματα, με το υψηλότερο ποσοστό να παρουσιάζεται στο απόθεμα της Καβάλας. Το γεγονός ότι η λιμνοθάλασσα κοντά στην Καβάλα από όπου συλλέχθηκε το άγριο δείγμα ψαριών αποτελεί ένα σχετικά παραγωγικό, κλειστό σύστημα, κοντά στο οποίο εντοπίζονται μονάδες καλλιέργειας (π.χ. στη Θάσο), αυξάνει την πιθανότητα προσέλκυσης δραπετών εντός της λιμνοθάλασσας και αυξημένης ανάμειξής τους με άγρια ψάρια. Το μεγαλύτερο εύρος μηκών απώλειας λεπιών που παρατηρείται στα άτομα με υψηλό βαθμό αναγέννησης υποδεικνύει ότι χάνουν λέπια σε περισσότερες ηλικίες σε σχέση με τα άτομα με χαμηλή αναγέννηση. Το γεγονός αυτό αυξάνει τη πιθανότητα προέλευσης των ατόμων αυτών από μονάδες καλλιέργειας, καθώς τα ψάρια εκτροφής χάνουν λέπια σε περισσότερες ηλικιακές κλάσεις, εν αντιθέσει με τα άτομα των άγριων πληθυσμών, όπου η απώλεια λεπιών είναι περιορισμένη και οφείλεται σε μεμονωμένα περιστατικά. Στο σημείο αυτό πρέπει να σημειωθεί, πως η ανάλυση του εύρους μήκους απώλειας λεπιών δεν είναι αξιόπιστη εξαιτίας της αύξησης της διακύμανσης της διαφοράς του μέγιστου και του ελάχιστου μήκους απώλειας στα άτομα με υψηλό βαθμό αναγέννησης (μεγαλύτερο δείγμα αναγεννημένων λεπιών) (Εικόνα Π₁, Παράρτημα 1).

5.2 Σχήμα του σώματος

Η διάκριση του σχήματος του σώματος με βάση την περιοχή προέλευσης των ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης (πιθανά «πραγματικά άγρια») καθώς και του συνόλου των άγριων ατόμων, δεν αποκάλυψε κάποια σαφή γεωγραφική ομαδοποίηση των δειγμάτων (Εικόνα 8, Εικόνα 10). Η έντονη διαφοροποίηση του δείγματος της περιοχής του Ιονίου το 2015 από τις υπόλοιπες ομάδες, οφείλεται πιθανώς στη διαφορετική εποχή σύλληψης του συγκεκριμένου δείγματος (Μάιος έναντι Σεπτεμβρίου έως Νοέμβριο στις άλλες περιοχές). Η περίοδος της άνοιξης ακολουθεί το τέλος της αναπαραγωγικής περιόδου της τσιπούρας (Sola *et al.* 2006) και τα ψάρια έχουν χάσει μεγάλο μέρος του σωματικού τους λίπους το οποίο επενδύεται στην παραγωγή αυγών (Almansa *et al.* 1999). Σύμφωνα με τα πλέγματα παραμόρφωσης, η μεταβολή του σχήματος σώματος κατά μήκος της πρώτης κύριας συνιστώσας (bg-PC1, 58.6% της συνολικής διακύμανσης), αφορούσε κυρίως στο δείγμα Ιονίου 2015, τα ψάρια του οποίου παρουσίαζαν λεπτότερο σώμα σε σχέση με τα υπόλοιπα (Εικόνα 9). Η παρατήρηση αυτή, είναι σύμφωνη με τα αποτελέσματα της ανάλυσης του συντελεστή ευρωστίας, σύμφωνα με την οποία τα ψάρια του δείγματος Ιονίου 2015 παρουσίαζαν τη μικρότερη ποσοστιαία αναλογία πραγματικού προς αναμενόμενου βάρους (Εικόνα 22).

Η ανάλυση με βάση τον βαθμό αναγέννησης των λεπιών και την περιοχή προέλευσης των άγριων δειγμάτων, αποκάλυψε μη στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των ατόμων με υψηλή (πιθανά εκτροφής) και χαμηλή αναγέννηση λεπιών (πιθανά «πραγματικά άγρια») (Πίνακας Π₁, Παράρτημα 1). Παρόμοια μελέτη διάκρισης άγριων ατόμων τσιπούρας βάσει του βαθμού αναγέννησης των λεπιών, έχει πραγματοποιηθεί από τους Fragkouli *et al.* (2016), που δε βρήκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Με βάση τα παραπάνω, η πιθανή εισροή εκτρεφόμενων ατόμων στους φυσικούς πληθυσμούς δεν έχει σοβαρή επίπτωση στη διακύμανση του σχήματος σώματος. Η έλλειψη συσχέτισης του βαθμού αναγέννησης των λεπιών με τη διακύμανση της εξωτερικής μορφολογίας των ψαριών, δεν καταδεικνύει αναγκαστικά έλλειψη ύπαρξης πρώην εκτρεφόμενων ατόμων εντός των φυσικών πληθυσμών. Άτομα τα οποία έχουν δραπετεύσει για μεγάλο χρονικό διάστημα από τις μονάδες παραγωγής, μπορεί να έχουν αποκτήσει φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ομοιότερα με αυτά των άγριων ατόμων, εξαιτίας της άσκησης ίδιας περιβαλλοντικής πίεσης (Rogdakis *et al.* 2011). Επιπρόσθετα, αυγά που έχουν απελευθερωθεί στο φυσικό περιβάλλον από εκτρεφόμενα ψάρια μέσα στους κλωβούς, μπορεί να καταφέρουν να επιβιώσουν και να ενσωματωθούν στους φυσικούς πληθυσμούς. Σε τέτοιες

περιπτώσεις, τα άτομα αυτά είναι φαινοτυπικά όμοια με τα άγρια ψάρια και μόνο με γενετικές και μοριακές τεχνικές μπορεί να ανιχνευτεί η προέλευσή τους (Arechavala *et al.* 2013).

Η διάκριση με βάση την προέλευση του συνόλου των δειγμάτων, έδειξε σαφή διαφοροποίηση του σχήματος του σώματος μεταξύ των εκτρεφόμενων και των άγριων ατόμων (Εικόνα 12). Η ενδιάμεση κατανομή των άγριων δειγμάτων της Καβάλας κατά μήκος του άξονα διαφοροποίησης της πρώτης κύριας συνιστώσας (bg-PC1, 57% της συνολικής διακύμανσης), αποτελεί ισχυρή ένδειξη της ύπαρξης πρώην εκτρεφόμενων ατόμων στο συγκεκριμένο απόθεμα. Παρόμοιες διαφοροποιήσεις ως προς σχήμα του σώματος, έχουν βρεθεί μεταξύ άγριων και εκτρεφόμενων ατόμων τσιπούρας στην Ελλάδα και την Ισπανία (Arechavala *et al.* 2012), καθώς και σε τοπικές περιοχές του Ελλαδικού χώρου (Rogdakis *et al.* 2011, Fragkoulis *et al.* 2016).

Πολλές έρευνες έχουν ασχοληθεί με τους περιβαλλοντικούς και γενετικούς παράγοντες που επιδρούν στη διαμόρφωση του σχήματος του σώματος των ψαριών (Loukovitis *et al.* 2013, Loizides *et al.* 2014). Οι μορφολογικές διαφορές μεταξύ των εκτρεφόμενων και των άγριων ατόμων τσιπούρας, μπορεί να οφείλονται είτε στη διαφορετική γενετική σύσταση των εκτρεφόμενων πληθυσμών (Arechavala *et al.* 2013) είτε στο διαφορετικό περιβάλλον διαβίωσης (θερμοκρασία, αλατότητα, διαίτα) (Gilbert 2001, Grigorakis *et al.* 2002, Loizides *et al.* 2014). Σύμφωνα με τα πλέγματα παραμόρφωσης της πρώτης κύριας συνιστώσας, όπως προκύπτει από την ανάλυση του συνόλου των δειγμάτων, τα δείγματα εκτροφής της Καβάλας έχουν αυξημένη ευρωστία σε σύγκριση με τα άγρια εκτός του Μαλιακού και της Καβάλας. Τα εκτρεφόμενα ψάρια, λόγω των μεγάλων ποσοτήτων τροφής που προσλαμβάνουν, εμφανίζουν μεγαλύτερα ποσοστά λίπους στο σώμα τους (περισπλαγγικό και περιτονιακό λίπος) με αποτέλεσμα τη αύξηση της ευρωστίας τους (Grigorakis *et al.* 2002, Abaad *et al.* 2016). Παρόλα αυτά, το δείγμα εκτροφής του Ιονίου παρουσίασε το μικρότερο δείκτη ευρωστίας σε σχέση με τα υπόλοιπα. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο λεγόμενο «σύνδρομο του χειμώνα» (winter syndrome), όπου τα καλλιεργούμενα ψάρια χάνουν βάρος εξαιτίας του στρες που υφίστανται από την απότομη πτώση της θερμοκρασίας του νερού κατά τη χειμερινή περίοδο (Ibarz *et al.* 2010). Το δείγμα της περιοχής της Καβάλας παρουσίασε παρόμοιο δείκτη ευρωστίας με τα εκτρεφόμενα της Καβάλας, επιβεβαιώνοντας την ύπαρξη πρώην εκτρεφόμενων ατόμων στο απόθεμα. Τέλος, το δείγμα του Μαλιακού εμφάνισε το μεγαλύτερο δείκτη ευρωστίας σε σχέση με τα υπόλοιπα, ενδεχομένως λόγω του μη αντιπροσωπευτικού μεγέθους των μετρήσεων (10 μετρήσεις βάρους).

5.3 Σχήμα των ωτολίθων

Το σχήμα των ωτολίθων αποτελεί πολύ αξιόπιστο μορφολογικό δείκτη προσδιορισμού αποθεμάτων, εξαιτίας του ότι εξαρτάται από τον συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων (Hussy *et al.* 2015), καθώς και από την ηλικία και το φύλο των ψαριών (Hussy *et al.* 2015, Vignon 2015), χωρίς να επηρεάζεται από την εποχικότητα. Στους περιβαλλοντικούς παράγοντες που επιδρούν στο σχήμα των ωτολίθων, περιλαμβάνονται η θερμοκρασία, το βάθος διαβίωσης, ο τύπος του υποστρώματος του ενδιαιτήματος και η τροφή (Vignon 2015; Arechavala *et al.* 2012). Οι Vignon & Morat (2010), σε μελέτη που πραγματοποίησαν στο τροπικό είδος (*Lutjanus kasmira*), αποκάλυψαν ότι το σχήμα των ωτολίθων καθορίζεται από την αλληλεπίδραση του περιβάλλοντος και των γενετικών χαρακτηριστικών του ψαριού. Σύμφωνα με την ανάλυση τους, το συνολικό σχήμα των ωτολίθων διαφοροποιείται σύμφωνα με τις εναλλαγές του περιβάλλοντος, ενώ η διακύμανση συγκεκριμένων γενετικών περιοχών επηρεάζει το σχήμα σε τοπικό επίπεδο (*rostrum* & *antirostrum* τμήματα του ωτολίθου).

Η ανάλυση του σχήματος των ωτολίθων με βάση την περιοχή προέλευσης των ατόμων με χαμηλό βαθμό αναγέννησης λεπιών (πιθανά «πραγματικά άγρια»), έδειξε γεωγραφική διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων του Ιονίου και των δειγμάτων του Αιγαίου, τόσο για τον αριστερούς όσο και για τον δεξιούς ωτόλιθους (Εικόνα 14). Γεωγραφική διαφοροποίηση μεταξύ Αιγαίου και Ιονίου πελάγους προέκυψε επίσης, με βάση το σύνολο των άγριων ατόμων (ανεξάρτητα από το βαθμό αναγέννησης των λεπιών) τόσο για τον αριστερό όσο και για τον δεξιό ωτόλιθο. Ωστόσο και στους δύο ωτόλιθους, το δείγμα της Καλύμνου, είχε ενδιάμεσο σχήμα (Εικόνα 16). Από την ανάλυση των άγριων ατόμων με βάση την περιοχή προέλευσης και τον βαθμό αναγέννησης των λεπιών και για τις δύο πλευρές των ωτολίθων, προέκυψε μη στατιστικά σημαντική επίδραση του βαθμού αναγέννησης των λεπιών εντός της κάθε γεωγραφικής ομάδας (Πίνακας Π_{3,1} και Π_{3,2}, Παράρτημα 3). Με βάση τα παραπάνω, η πιθανή εισροή εκτρεφόμενων ατόμων στους φυσικούς πληθυσμούς δεν έχει σοβαρή επίδραση στο σχήμα των ωτολίθων τους. Από τη ανάλυση των ωτολίθων με βάση την προέλευση του συνόλου των δειγμάτων, προέκυψε σαφής διαφοροποίηση μεταξύ εκτρεφόμενων και άγριων δειγμάτων τόσο για τον αριστερό όσο και για τον δεξιό ωτόλιθο (Εικόνα 18). Στην ανάλυση αυτή, το δείγμα των άγριων ατόμων της Καβάλας ομαδοποιήθηκε εμφανώς με τα υπόλοιπα δείγματα άγριων ατόμων και για τις δύο πλευρές των ωτολίθων. Το αποτέλεσμα αυτό έρχεται σε αντίθεση με τις υπόλοιπες αναλύσεις, που υποστηρίζουν την ύπαρξη πρώην εκτρεφόμενων ατόμων στο

συγκεκριμένο δείγμα. Από την απεικόνιση του μέσου σχήματος των ωτολίθων των δειγμάτων της κάθε περιοχής, είναι εμφανής η διαφοροποίηση τμημάτων των ωτολίθων (*rostrum* & *antirostrum*) μεταξύ εκτρεφόμενων και άγριων ψαριών, τόσο για τον αριστερό όσο και για τον δεξιό ωτόλιθο (Εικόνα 19). Διαφορές ως προς τα χαρακτηριστικά του σχήματος των ωτολίθων έχουν προσδιοριστεί μεταξύ άγριων καθώς και άγριων και εκτρεφόμενων ατόμων σε τσιπούρες του Ελλαδικού και του Ισπανικού χώρου (Arechavala *et al.* 2012a). Παρόμοιες διαφοροποιήσεις μεταξύ άγριων και καλλιεργούμενων ατόμων έχουν βρεθεί και σε άλλα είδη ψαριών (ανασκόπηση από Arechavala *et al.* 2012a).

Η κυμαινόμενη ασυμμετρία ωτολίθων αποτελεί μια ευαίσθητη μέθοδο ελέγχου της επίδρασης του περιβαλλοντικού stress κατά την ανάπτυξη των ψαριών και δείκτης της φυσικής τους κατάστασης (fitness) (Somarakis *et al.* 1997). Από τον έλεγχο της κυμαινόμενης ασυμμετρίας των ωτολίθων με βάση την εκτρεφόμενη ή άγρια προέλευση των ατόμων και του βαθμού αναγέννησης των λεπιών τους, προκύπτει ότι τα εκτρεφόμενα άτομα παρουσιάζουν μεγαλύτερη ασυμμετρία μεταξύ αριστερού και δεξιού ωτόλιθου σε σχέση με τα άγρια. Οι Koumoundouros *et al.* (2001) σε μελέτη που πραγματοποίησαν στη συναγρίδα, έδειξαν ότι από το εκτατικό στο εντατικό περιβάλλον εκτροφής, η ασυμμετρία των πτερυγίων αυξήθηκε. Με βάση τα παραπάνω, ο συνωστισμός στα κλουβιά των μονάδων μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα του stress των ψαριών κατά την ανάπτυξη, με αποτέλεσμα την αύξηση της ασυμμετρίας των ωτολίθων. Μια πιθανή ερμηνεία της ενδιάμεσης κατάστασης των άγριων ατόμων τσιπούρας με υψηλό βαθμό αναγέννησης ως προς την κυμαινόμενη ασυμμετρία των ωτολίθων, θα μπορούσε να είναι η ύπαρξη δραπετών ανάμεσα τους, οι οποίοι ελευθερώθηκαν σε νεότερο στάδιο της ζωής τους (Εικόνες 20, 21). Σύμφωνα με τους Vignon & Morat (2010), η ύπαρξη κυμαινόμενης ασυμμετρίας είναι αποτέλεσμα της ίδιας δράσης γενετικών και περιβαλλοντικών αλληλεπιδράσεων στο κάθε ζεύγος ωτολίθων, τα οποία αποθηκεύουν το ίδιο είδος πληροφορίας.

5.4 Συμπεράσματα

- Το σχήμα του σώματος και των ωτολίθων διαφοροποιείται μεταξύ των διαφορετικών περιοχών
- Διαφοροποίηση ως προς το σχήμα του σώματος και ωτολίθων καθώς και ως προς την ασυμμετρία των ωτολίθων μεταξύ άγριων και εκτρεφόμενων ατόμων
- Το σχήμα των ωτολίθων δεν επηρεάζεται από την εποχή σύλληψης και το δείκτη ευρωστίας
- Ισχυρή ένδειξη ύπαρξης γεωγραφικής διαφοροποίησης της τσιπούρας μεταξύ Αιγαίου και Ιονίου πελάγους με βάση το σχήμα των ωτολίθων.
- Πιθανή ύπαρξη διαφορετικού ποσοστού δραπετών εντός των αποθεμάτων
- Ο βαθμός αναγέννησης των λεπιών δεν επιδρά σημαντικά στη διακύμανση του σχήματος του σώματος και των ωτολίθων στα άγρια άτομα τσιπούρας
- Ένδειξη αυξημένης συμμετοχής πρώην εκτρεφόμενων ψαριών στον πληθυσμό της Καβάλας με βάση το βαθμό αναγέννησης των λεπιών και το σχήμα του σώματος.

Για την εξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων ως προς τον προσδιορισμό των αποθεμάτων τσιπούρας του Ελλαδικού χώρου, καθώς και της ύπαρξης δραπετών εντός των φυσικών πληθυσμών, είναι αναγκαία η εξέταση δειγμάτων από περισσότερες περιοχές και σε διαφορετικές εποχές. Επίσης είναι απαραίτητη η εξέταση γενετικών δεικτών, τόσο για την διερεύνηση της ύπαρξης γενετικής ποικιλομορφίας μεταξύ των διαφορετικών γεωγραφικών ομάδων, καθώς και για την ταυτοποίηση δραπετών εντός των φυσικών πληθυσμών, που έχουν διαφύγει κατά τα πρώτα στάδια της ζωής τους. Απαραίτητος επίσης είναι ο προσδιορισμός των γενετικών δεικτών, οι οποίοι σχετίζονται με τη διαμόρφωση του σχήματος του σώματος και των ωτολίθων στη τσιπούρα.

6 Βιβλιογραφία

- Abaad, M., V. M. Tuset, D. Montero, A. Lombarte, J. L. Otero-Ferrer & R. Haroun (2016). "Phenotypic plasticity in wild marine fishes associated with fish-cage aquaculture." *Hydrobiologia* **765**(1): 343-358.
- Alarcon, J. A., A. Magoulas, T. Georgakopoulos, E. Zouros & M. C. Alvarez (2004). "Genetic comparison of wild and cultivated European populations of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*)." *Aquaculture* **230**(1-4): 65-80.
- Almansa, E., M. J. Perez, J. R. Cejas, P. Badia, J. E. Villamandos and A. Lorenzo (1999). "Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season." *Aquaculture* **170**(3-4): 323-336.
- Anderson, M. J. and T. J. Willis (2003). "Canonical analysis of principal coordinates: A useful method of constrained ordination for ecology." *Ecology* **84**(2): 511-525.
- Arechavala-Lopez, P., D. Fernandez-Jover, K. D. Black, E. Ladoukakis, J. T. Bayle-Sempere, P. Sanchez-Jerez & T. Dempster (2013). "Differentiating the wild or farmed origin of Mediterranean fish: a review of tools for sea bream and sea bass." *Reviews in Aquaculture* **5**(3): 137-157.
- Arechavala-Lopez, P., P. Sanchez-Jerez, J. T. Bayle-Sempere, D. G. Sfakianakis & S. Somarakis (2012a). "Discriminating farmed gilthead sea bream *Sparus aurata* and European sea bass *Dicentrarchus labrax* from wild stocks through scales and otoliths." *J Fish Biol* **80**(6): 2159-2175.
- Arechavala-Lopez, P., P. Sanchez-Jerez, J. T. Bayle-Sempere, D. G. Sfakianakis & S. Somarakis (2012b). "Morphological differences between wild and farmed Mediterranean fish." *Hydrobiologia* **679**(1): 217-231.
- Batargias, C., E. Dermitzakis, A. Magoulas & E. Zouros (1999). "Characterization of six polymorphic microsatellite markers in gilthead seabream, *Sparus aurata* (Linnaeus 1758)." *Molecular Ecology* **8**(5): 897-898.
- Begg, G. A., K. D. Friedland & J. B. Pearce (1999a). "Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview." *Fisheries Research* **43**(1-3): 1-8.
- Begg, G. A., J. A. Hare & D. D. Sheehan (1999b). "The role of life history parameters as indicators of stock structure." *Fisheries Research* **43**(1-3): 141-163.
- Begg, G. A. & J. R. Waldman (1999). "An holistic approach to fish stock identification." *Fisheries Research* **43**(1-3): 35-44.
- Ben Slimen, H., H. Guerbej, A. Ben Othmen, I. O. Brahim, H. Blel, N. Chatti, A. El Abed & K. Said (2004). "Genetic differentiation between populations of gilthead seabream (*Sparus aurata*) along the Tunisian coast." *Cybium* **28**(1): 45-50.
- Brager, Z., T. Moritz, A. C. Tsikliras, J. Gonzalvo, M. Radulovic & A. Staszny (2016). "Scale morphometry allows discrimination of European sardine *Sardina pilchardus* and round sardinella *Sardinella aurita* and among their local populations." *J Fish Biol* **88**(3): 1273-1281.
- Castro, J., A. Pino, M. Hermida, C. Bouza, D. Chavarrias, P. Merino, L. Sanchez & P. Martinez (2007). "A microsatellite marker tool for parentage assessment in gilthead seabream (*Sparus aurata*)." *Aquaculture* **272**: S210-S216.
- Cushing, D., H., (1968). "Fisheries Biology: A Study in Population Dynamics". The University of Wisconsin Press, Madison, WI: 200.
- De Innocentiis, S., A. Lesti, S. Livi, D. Crosetti & L. Sola (2005). "Population structure of gilthead seabream (*Sparus aurata*) through microsatellite analysis." *Aquaculture* **247**(1-4): 11-11.

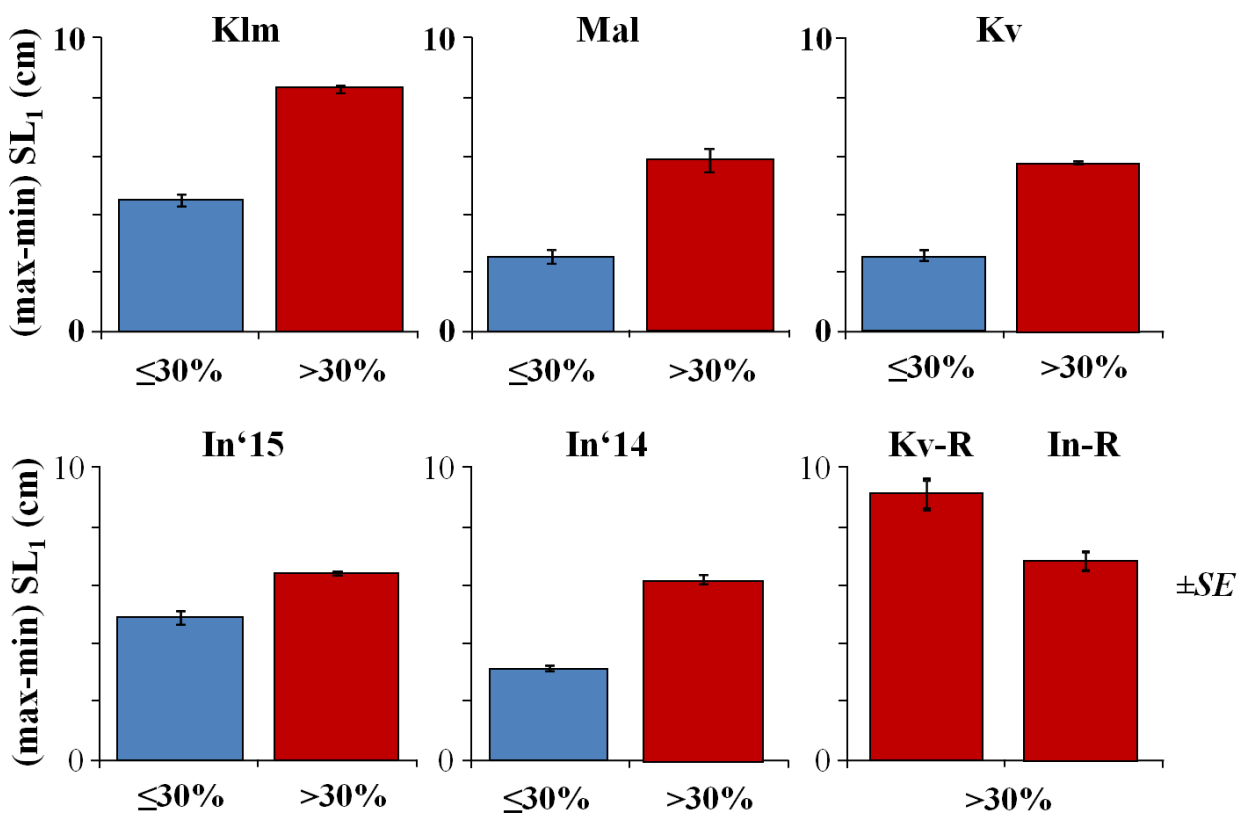
- Duncan, K. W. (1980). "On the Back-Calculation of Fish Lengths - Modifications and Extensions to the Fraser-Lee Equation." Journal of Fish Biology **16**(6): 725-730.
- FAO 2005-2014. "Cultured Aquatic Species Programme. Sparus aurata. Cultured Aquatic Species Information Programme". FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome. Updated 8 February 2005.
- Fragkoulis, S., M. Christou, R. Karo, C. Ritas, C. Tzokas, C. Batargias & G. Koumoundouros (2016). "Scaling of body-shape quality in reared gilthead seabream Sparus aurata L. Consumer preference assessment, wild standard and variability in reared phenotype." Aquaculture Research.
- Garcia-Rodriguez, F. J., S. A. Garcia-Gasca, J. De la Cruz-Aguero & V. M. Cota-Gomez (2011). "A study of the population structure of the Pacific sardine Sardinops sagax (Jenyns, 1842) in Mexico based on morphometric and genetic analyses." Fisheries Research **107**(1-3): 169-176.
- Georgakopoulou, E., P. Katharios, P. Divanach & G. Koumoundouros (2010). "Effect of temperature on the development of skeletal deformities in Gilthead seabream (Sparus aurata Linnaeus, 1758)." Aquaculture **308**(1-2): 13-19.
- Georgakopoulou, E., D. G. Sfakianakis, S. Kouttouki, P. Divanach, M. Kentouri & G. Koumoundouros (2007). "The influence of temperature during early life on phenotypic expression at later ontogenetic stages in sea bass." Journal of Fish Biology **70**(1): 278-291.
- Gilbert, S. F. (2001). "Ecological developmental biology: Developmental biology meets the real world." Developmental Biology **233**(1): 1-12.
- Glaropoulos, A., V. M. Papadakis, I. E. Papadakis & M. Kentouri (2012). "Escape-related behavior and coping ability of sea bream due to food supply." Aquaculture International **20**(5): 965-979.
- Grigorakis, K., M. N. Alexis, K. D. A. Taylor & M. Hole (2002). "Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (Sparus aurata); composition, appearance and seasonal variations." International Journal of Food Science and Technology **37**(5): 477-484.
- Hussy, K., H. Mosegaard, C. M. Albertsen, E. E. Nielsen, J. Hemmer-Hansen & M. Eero (2016). "Evaluation of otolith shape as a tool for stock discrimination in marine fishes using Baltic Sea cod as a case study." Fisheries Research **174**: 210-218.
- Ibarz, A., F. Padros, M. A. Gallardo, J. Fernandez-Borras, J. Blasco and L. Tort (2010). "Low-temperature challenges to gilthead sea bream culture: review of cold-induced alterations and 'Winter Syndrome'." Reviews in Fish Biology and Fisheries **20**(4): 539-556.
- Karaiskou, N., A. Triantafyllidis, V. Katsares, T. J. Abatzopoulos & C. Triantaphyllidis (2009). "Microsatellite variability of wild and farmed populations of Sparus aurata." Journal of Fish Biology **74**(8): 1816-1825.
- Katselis, G., C. Koutsikopoulos, E. Dimitriou & Y. Rogdakis (2003). "Spatial patterns and temporal trends in the fishery landings of the Messolonghi-Etoliko lagoon system (western Greek coast)." Scientia Marina **67**(4): 501-511.
- Koumoundouros, G., P. Divanach, L. Anezaki & M. Kentouri (2001). "Temperature-induced ontogenetic plasticity in sea bass (Dicentrarchus labrax)." Marine Biology **139**(5): 817-830.
- Koumoundouros, G., M. Pavlidis, L. Anezaki, C. Kokkari, K. Sterioti, P. Divanach & M. Kentouri (2002). "Temperature sex determination in the European sea bass, Dicentrarchus labrax (L., 1758) (Teleostei, Perciformes, Moronidae): Critical sensitive ontogenetic phase." Journal of Experimental Zoology **292**(6): 573-579.
- Libungan, L. A. & S. Palsson (2015). "ShapeR: An R Package to Study Otolith Shape Variation among Fish Populations." Plos One **10**(3).

- Loizides, M., E. Georgakopoulou, M. Christou, M. Iliopoulou, I. Papadakis, P. Katharios, P. Divanach & G. Koumoundouros (2014). "Thermally-induced phenotypic plasticity in gilthead seabream *Sparus aurata* L. (Perciformes, Sparidae)." *Aquaculture* **432**: 383-388.
- Loukovitis, D., C. Batargias, E. Sarropoulou, A. P. Apostolidis, G. Kotoulas, A. Magoulas, C. S. Tsigenopoulos and D. Chatziplis (2013). "Quantitative trait loci affecting morphology traits in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.)." *Animal Genetics* **44**(4): 480-483.
- Marr, J. C. (1957). "The problem of defining and recognizing subpopulations of fishes." US *Fish Wildlife Serv Spec Sci Rep* **208**:1-6
- Miggiano, E., S. De Innocentiis, A. Ungaro, L. Sola & D. Crosetti (2005). "AFLP and microsatellites as genetic tags to identify cultured gilthead seabream escapees: data from a simulated floating cage breaking event." *Aquaculture International* **13**(1-2): 137-146.
- Milton, D. A. & J. B. Shaklee (1987). "Biochemical Genetics and Population-Structure of Blue Grenadier, *Macrurus novaezelandiae* (Hector) (Pisces, Merlucciidae), from Australian Waters." *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* **38**(6): 727-742.
- Oksanen, J., F. G. Blanchet, R. Kindt, P. Legendre, P. R. Minchin, R. B. O'Hara, et al. (2013). "vegan: Community Ecology Package, version 2.0-7. R package." Available: <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Palma, J., J. A. Alarcon, C. Alvarez, E. Zouros, A. Magoulas & J. P. Andrade (2001). "Developmental stability and genetic heterozygosity in wild and cultured stocks of gilthead sea bream (*Sparus aurata*)." *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **81**(2): 283-288.
- Palmer, A. R. & C. Strobeck (1986). "Fluctuating Asymmetry - Measurement, Analysis, Patterns." *Annual Review of Ecology and Systematics* **17**: 391-421.
- Pawson, M. G. & S. Jennings (1996). "A critique of methods for stock identification in marine capture fisheries." *Fisheries Research* **25**(3-4): 203-217.
- Pigliucci, M., C. J. Murren & C. D. Schlichting (2006). "Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation." *Journal of Experimental Biology* **209**(12): 2362-2367.
- Rogdakis, Y. G., K. K. Koukou, A. Ramfos, E. Dimitriou & G. N. Katselis (2011). "Comparative morphology of wild, farmed and hatchery-released gilthead sea bream (*Sparus aurata*) in western Greece." *International Journal of Fisheries and Aquaculture* **3** (1): 1-9
- Rohlf, F.J. (2010a). "TpsDig, Digitize Landmarks and Outlines, Version 2.12." Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, NY.
- Rohlf, F.J. (2010b). "TpsRelw, Relative Warps Analysis, version 1.49." Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, NY.
- Rohlf, F.J. (2011). "TpsRegr, shape regression, version 1.38." Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, NY.
- Rohlf, F. J. & D. Slice (1990). "Extensions of the Procrustes Method for the Optimal Superimposition of Landmarks." *Systematic Zoology* **39**(1): 40-59.
- Rossi, A. R., E. Perrone & L. Sola (2006). "Genetic structure of gilthead seabream, *Sparus aurata*, in the central Mediterranean sea." *Central European Journal of Biology* **1**(4): 636-647.
- Schneider, C. A., W. S. Rasband & K. W. Eliceiri (2012). "NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis." *Nature Methods* **9**(7): 671-675.
- Schlager, S. & G. Jefferis (2016). "Calculations and Visualisations Related to Geometric Morphometrics, version 2.4.1.1".

- Sola, L., Moretti, A., Crosetti, D., Karaiskou, N., Magoulas A., Rossi, A. R., Rye, M., Triantafyllidis, A. & C.S. Tsigenopoulos (2006). "Gilthead seabream - *Sparus aurata*". Genimpact final scientific report: 47-54
- Somarakis, S., I. Kostikas & N. Tsimenides (1997). "Fluctuating asymmetry in the otoliths of larval fish as an indicator of condition: conceptual and methodological aspects." Journal of Fish Biology **51**: 30-38.
- Somarakis, S., M. Pavlidis, C. Saapoglou, C. S. Tsigenopoulos and T. Dempster (2013). "Evidence for 'escape through spawning' in large gilthead sea bream *Sparus aurata* reared in commercial sea-cages." Aquaculture Environment Interactions **3**(2): 135-152.
- Vignon, M. (2015). "Disentangling and quantifying sources of otolith shape variation across multiple scales using a new hierarchical partitioning approach." Marine Ecology Progress Series **534**: 163-177.
- Vignon, M. & F. Morat (2010). "Environmental and genetic determinant of otolith shape revealed by a non-indigenous tropical fish." Marine Ecology Progress Series **411**: 231-241.
- Warner, R. R., S. E. Swearer, J. E. Caselle, M. Sheehy & G. Paradis (2005). "Natal trace-elemental signatures in the otoliths of an open-coast fish." Limnology and Oceanography **50**(5): 1529-1542.
- Δημητρίου, Ε. (2007). "Συμβολή στη μελέτη της αύξησης και της ηθολογίας της τσιπούρας (*Sparus aurata*, L.) στο σύμπλεγμα των λιμνοθαλασσών Μεσολογίου-Αιτωλικού." Διδακτορική διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών.

7 Παράρτηματα

Παράρτημα 1



Εικόνα Π₁. Μέση διαφορά του μέγιστου και του ελάχιστου μήκους απώλειας των λεπιών, μεταξύ των ατόμων με υψηλό και χαμηλό ποσοστό αναγέννησης για την κάθε γεωγραφική περιοχή.

Παράρτημα 2

Πίνακας Π₂. Σημαντικότητα των διαφορών του σχήματος σώματος μεταξύ των περιοχών των άγριων ατόμων με υψηλό (HR) και χαμηλό βαθμό αναγέννησης (LR), για την πρώτη (PC1, πάνω) και τη δεύτερη (PC2, κάτω) κύρια συνιστώσα (ANOVA, Bonferroni test). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

Area	In'14(LR)	In'14(HR)	In'15(LR)	In'15(HR)	Kal(LR)	Kal(HR)	Kav(HR)	Mal(LR)	Mal(HR)
In'14(LR)		-	***	***	-	-	-	-	*
In'14(HR)			***	***	-	-	-	-	**
In'15(LR)				-	***	***	***	***	***
In'15(HR)					***	***	***	***	***
Kal(LR)						-	-	-	-
Kal(HR)							-	-	-
Kav(HR)								-	-
Mal(LR)									-
Mal(HR)									

Area	In'14(LR)	In'14(HR)	In'15(LR)	In'15(HR)	Kal(LR)	Kal(HR)	Kav(HR)	Mal(LR)	Mal(HR)
In'14(LR)									
In'14(HR)	-								
In'15(LR)	-	-							
In'15(HR)	-	-	-						
Kal(LR)	-	-	-	-					
Kal(HR)	*	-	-	-					
Kav(HR)	-	-	***	***	**	***			
Mal(LR)	**	-	-	-	-	-	***		
Mal(HR)	**	-	-	-	-	-	***	-	

Παράρτημα 3

Πίνακας Π_{3,1}. Σημαντικότητα των διαφορών στο σχήμα των αριστερών ωτολίθων μεταξύ περιοχών των άγριων ατόμων με υψηλό (HR) και χαμηλό βαθμό αναγέννησης (LR) κατά μήκος της CAP1 (πάνω) και CAP2 (κάτω). (ANOVA, Bonferroni test). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

Area	In'14(LR)	In'14(HR)	In'15(LR)	In'15(HR)	Kal(LR)	Kal(HR)	Kav(HR)	Mal(LR)	Mal(HR)
In'14(LR)		-	-	-	-	-	***	*	*
In'14(HR)			-	-	*	-	***	**	**
In'15(LR)				-	-	-	*	-	-
In'15(HR)					-	-	***	-	-
Kal(LR)						-	-	-	-
Kal(HR)							**	-	-
Kav(HR)								-	-
Mal(LR)									-
Mal(HR)									

Area	In'14(LR)	In'14(HR)	In'15(LR)	In'15(HR)	Kal(LR)	Kal(HR)	Kav(HR)	Mal(LR)	Mal(HR)
In'14(LR)									
In'14(HR)	-								
In'15(LR)	-	-							
In'15(HR)	-	-	-						
Kal(LR)	***	*	*	***					
Kal(HR)	-	-	-	-	-				
Kav(HR)	-	-	-	-	***	***			
Mal(LR)	-	-	-	*	-	-	***		
Mal(HR)	-	-	-	-	-	-	*	-	

Πίνακας Π_{3,2}. Σημαντικότητα των διαφορών στο σχήμα των δεξιών ωτολίθων μεταξύ περιοχών, των άγριων ατόμων με υψηλό (HR) και χαμηλό βαθμό αναγέννησης (LR) κατά μήκος της CAP1 (πάνω) και CAP2 (κάτω). (ANOVA, Bonferroni test). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

Area	In'14(LR)	In'14(HR)	In'15(LR)	In'15(HR)	Kal(LR)	Kal(HR)	Kav(HR)	Mal(LR)	Mal(HR)
In'14(LR)		-	-	-	-	-	***	*	*
In'14(HR)			-	-	-	-	**	*	*
In'15(LR)				-	-	-	-	-	-
In'15(HR)					-	-	*	-	-
Kal(LR)						-	-	-	-
Kal(HR)							*	-	-
Kav(HR)								-	-
Mal(LR)									-
Mal(HR)									

Groups	In'14(LR)	In'14(HR)	In'15(LR)	In'15(HR)	Kal(LR)	Kal(HR)	Kav(HR)	Mal(LR)	Mal(HR)
In'14(LR)									
In'14(HR)	-								
In'15(LR)	***	***							
In'15(HR)	-	-	***						
Kal(LR)	-	-	***	-					
Kal(HR)	-	-	***	-	-				
Kav(HR)	-	-	***	-	-	-			
Mal(LR)	-	-	***	-	-	-	-		
Mal(HR)	-	-	***	-	-	-	-	-	