

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**Π.Μ.Σ. "ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ - ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΧΕΡΣΑΙΩΝ
ΚΑΙ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ"**



**Επίδραση της θερμοκρασίας και των ρευματικών συνθηκών
του μέσου διαβίωσης στην ανάπτυξη λόρδωσης στο
λαβράκι, *Dicentrarchus labrax* (L. 1758).**



Διατριβή Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης

ΣΦΑΚΙΑΝΑΚΗΣ ΔΗΜΗΤΡΗΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2003

Εξεταστική Επιτροπή

Επιβλέπουσα:

Μ. Κεντούρη (Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Κρήτης)

Εξετάστρια:

Ν. Λύκα (Λέκτορας Πανεπιστημίου Κρήτης)

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος **ORCIS**, QLRT-2000-01233.

*στους γονείς μου,
στην αδελφή μου, Σοφία*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στο σύνολό της στο εργαστήριο Υδατοκαλλιιεργειών του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης και για αυτό το λόγο το ευχαριστώ.

Θα ήθελα πρώτα από όλους να ευχαριστήσω θερμά την καθηγήτρια μου κ. Μαρουδιώ Κεντούρη κυρίως για όλα τα υπόλοιπα και όχι τόσο επειδή ήταν η επιβλέπουσα σε αυτήν τη διατριβή. Η παρουσία της αποτέλεσε έναν από τους καθοριστικότερους λόγους για την καταρχήν απόφασή μου να ξεκινήσω αυτό το μεταπτυχιακό. Είναι η πιο ανοιχτή καθηγήτρια που έχω γνωρίσει ποτέ (εντάξει δεν είναι και πολλές!) και δεν έχει αρνηθεί ποτέ τίποτα τόσο σε εμένα όσο και σε οποιοδήποτε άλλο από τα παιδιά του εργαστηρίου της έχει ζητήσει κάτι. Είναι πάντα εκεί να βοηθήσει όσος και να είναι ο φόρτος της εργασίας της (και πάντα είναι υπερβολικά πολύς) και όποτε το κάνει, το κάνει με τόση χαρά που σου υπενθυμίζει ποιος είναι τελικά ο πραγματικός ρόλος του καθηγητή. Τέλος –αν και δε με συμφέρει- οφείλω να πω ότι η συμβολή της στην παρούσα εργασία ήταν καταλυτική τόσο ως προς τη γενικότερη οργάνωση όσο και ως προς την ίδια τη βελτίωση του κειμένου με τις –όπως πάντα άλλωστε- ουσιαστικές και άμεσες παρατηρήσεις και διορθώσεις της.

Θέλω να ευχαριστήσω την κ. Ν. Λύκα η οποία σαν δεύτερη εξετάστρια της διατριβής μου και παρότι δεν είχε τον απαιτούμενο χρόνο, διάβασε με περισσή προσοχή το κείμενό μου υποδεικνύοντάς μου ατέλειες και παραλείψεις που εγώ δε θα μπορούσα να δω. Η συμβολή της στη στατιστική επεξεργασία ήταν όπως μπορεί ο καθένας να αντιληφθεί ουσιαστικότερη ενώ σημαντική ήταν η προσφορά της και στη βελτίωση εκείνων των κομματιών που δεν εμπίπτουν στο γνωστικό της αντικείμενο.

Γιώργος Κουμουνδούρος. Από πού να αρχίσεις και πού να τελειώσεις. (Αν δεν ήταν και γαύρος...). Ας πάρουμε όμως τα πράγματα από την αρχή. Το Γιώργο τον Κουμουνδούρο τον γνώρισα ένα χειμωνιάτικο πρωινό πριν από 4 περίπου χρόνια...(Μάλλον πήγα πολύ πίσω...τελοσπάντων). Τον ευχαριστώ για όλα. Είναι

πάντα εκεί για να επιβλέπει, να καθοδηγεί, να συμβουλεύει, να προτείνει, να βοηθάει. Δεν ξέρω αν η παρούσα δουλειά καθώς και οι άλλες που έχουν προηγηθεί θα είχαν γίνει χωρίς το Γιώργο, αυτό που όμως ξέρω είναι ότι δύσκολα θα ήμουν εγώ εδώ να γράφω τις τελευταίες γραμμές μιας μεταπτυχιακής διατριβής εάν δεν ήταν αυτός. Επειδή όμως ξέρω ότι δεν του αρέσουν οι ευχαριστίες και στον κίνδυνο να τον εκθειάσω υπερβολικά, θα σταματήσω εδώ να μιλάω για το Γιώργο. Όλα τα υπόλοιπα εννοούνται, τα ξέρει και τα ξέρω και δε χρειάζεται να τα αναφέρουμε συνεχώς.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλα τα παιδιά του εργαστηρίου για τη δημιουργία στις περισσότερες των περιπτώσεων ιδανικών συνθηκών εργασίας μέσα στο μικρό χώρο που συνυπάρχουμε. Ονομαστικά θα ευχαριστήσω τη Μαρία Νεοφύτου, την Αλίκη Καρούσου, την Κατερίνα Παρασύρη, το Βασίλη Κανάκη και τη Χρύσα Δόξα. Ειδικά για τους δύο τελευταίους θέλω να πω δυο λόγια ακόμα. Τον μεν Βασίλη τον ευχαριστώ διότι όλο τον καιρό, αλλά ιδιαίτερα τους τελευταίους 2 μήνες που σε σταθερή βάση είμαστε σχεδόν μόνοι μας, είναι καλή συντροφιά και πολύτιμη βοήθεια σε όλες τις άλλες δουλειές του εργαστηρίου οι οποίες δυστυχώς «τρέχουν» συνέχεια. Τη δε Χρύσα την ευχαριστώ γιατί ήταν παρούσα σε ένα πολύ μεγάλο κομμάτι της πειραματικής δουλειάς που απαίτησε αυτή η διατριβή (και πιστέψτε με, ήταν πολλή αυτή η δουλειά) βοηθώντας με όποτε της το ζητήσω (καμιά φορά και χωρίς να της το ζητήσω) παραμελώντας σε πολλές περιπτώσεις τόσο τον προσωπικό της χρόνο όσο και την ξεκούρασή της.

Η Ελένη η Μαραβέγια κάτι επειδή δεν είναι τυπικά μέλος του εργαστηρίου και κάτι επειδή είναι υπ'ατιμόν (αμάν πια, σε βαρεθήκαμε Ελένη) απέκτησε δική της παράγραφο. Την ευχαριστώ θερμά γιατί ήταν πάντα εκεί, πρόθυμη να κουβεντιάσει, να συμβουλέψει, να καλαμπουρίσει και κυρίως να προσφέρει την εμπειρία της όχι τόσο σε θέματα που αφορούν στην παρούσα διατριβή αλλά κυρίως σε θέματα που αφορούν στη ζωή.

Ευχαριστώ πολύ τη Δρ. Λίτσα Παπακωνσταντή (ή Κουμουνδούρου αν προτιμάτε) για το ότι μου παραχώρησε τμήμα του εξοπλισμού στο Εργαστήριο Βιοχημείας της Ιατρικής για ένα μεγάλο μέρος των αναλύσεων του γαλακτικού οξέως. Αν και απέκλινα πολύ από το αρχικό μου χρονοδιάγραμμα, η Λίτσα όχι μόνο δεν δυσανασχέτησε όταν τελικά πήγα, αλλά ήταν και από πάνω μου βοηθώντας με σε κάθε σημείο που τη χρειαζόμουν παρατώντας αρκετές φορές και τη δική της εργασία.

Σε αυτό το σημείο πρέπει να ευχαριστήσω και τα παιδιά του εργαστηρίου της κ. Ρουμπελάκη για το ότι μου επέτρεψαν να χρησιμοποιήσω μέρος του εξοπλισμού τους αφήνοντας κατά μέρος ή καθυστερώντας τις δικές τους δουλειές. Ευχαριστώ λοιπόν τη Στάσα, τον Δάκη, τον Μήτσο, τον Κώστα και την Ελένη.

Ευχαριστώ τον κολλητό Κώστα Τριάντη για κανένα ιδιαίτερο λόγο αλλά γιατί αν δεν τον ευχαριστούσα θα είχαμε πρόβλημα.

Ευχαριστώ τον Άρη Παρμακέλη για την παρέα του όλον αυτόν τον ατελείωτο χρόνο (και κυρίως τα βαρετά Σαββατοκύριακα) και γιατί όσες φορές ζήτησα τη βοήθεια ή τη γνώμη του για κάτι μου έδινε πάντα απίστευτα επιστημονικά τεκμηριωμένες απαντήσεις. Τον θεωρώ έναν από τους πιο ολοκληρωμένους επιστήμονες που έχω γνωρίσει.

Ευχαριστώ θερμά τη συμφοιτήτρια και συνοδοιπόρο μέχρι σήμερα Vera Szisch (ή κάπως έτσι) για την παρέα της, για τις κουβέντες που έχουμε κάνει και συνεχίζουμε να κάνουμε και για το γεγονός ότι τα πολλές φορές κοινά μας προβλήματα βρίσκουν παρηγοριά και βάλσαμο μόνο όταν τα εκμυστηρευόμαστε ο ένας στον άλλο.

Φυσικά δε μπορώ να ξεχάσω να ευχαριστήσω το φίλο και συμφοιτητή Γιάννη Παπαδάκη διότι αν και “μικρότερος” έχει την τάση να μου δίνει πάντα συμβουλές για το καλό μου. Γιάννη, σε ευχαριστώ και...άσε και λίγη από τη μηλόπιτα.

Φτάνοντας προς το τέλος του μακρύ αυτού καταλόγου ευχαριστιών, προφανώς ένα μεγάλο ευχαριστώ αρμόζει στους γονείς μου για τους γνωστούς λόγους (Σφακιανάκης, 2001).

Αναφορές:

Σφακιανάκης Δ.Γ. (2001) Ανάπτυξη της σπονδυλικής στήλης και του σκελετού των εξαρτημάτων στο σαργό *Diplodus sargus* (L. 1758). Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Διπλωματική Διατριβή, 35 σελ.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Μορφοανατομικές ανωμαλίες	2
1.2 Σκοπός και φάσεις της μελέτης	7
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	10
2.1. Πειραματικοί πληθυσμοί	11
2.1.1 Φάση 1. Εκτίμηση της κολυμβητικής ικανότητας και υπολογισμός του χρόνου ανάκαμψης με μελέτη του ρυθμού μείωσης του γαλακτικού οξέως.....	11
2.1.2 Φάση 2. Επίδραση 2 διαφορετικών θερμοκρασιών ανάπτυξης και 4 διαφορετικών ρευματικών συνθηκών κατά την εκτροφή των ιχθυδίων λαβρακιού. ..	13
Νυμφική Εκτροφή.....	14
Φάση αποκοπής από τα ζωντανά θηράματα (πλαγκτόν) και προπάχυνσης (weaning and pregrowing).....	15
2.2 Μέτρηση της κολυμβητικής δραστηριότητας.....	16
2.2.1 Πειραματική συσκευή.....	16
2.2.2 Μεθοδολογία εκτίμησης της κολυμβητικής ικανότητας των ιχθυδίων λαβρακιού.	18
2.3 Υπολογισμός γαλακτικού οξέος	21
2.4 Ανατομική και μορφομετρική εξέταση των ατόμων	22
2.4.1 Εσωτερική ανατομία	22
2.4.2 Μορφομετρία	23
2.5 Ανάλυση Δεδομένων και Στατιστική επεξεργασία	26
2.5.1 Κολυμβήσεις.....	26
2.5.1 Μορφολογική Ανάλυση:.....	27
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	31
3.1.1 Επίδραση της θερμοκρασίας στην κολυμβητική ικανότητα.....	32
Αλλομετρική αύξηση του σώματος:.....	33
3.1.2 Γαλακτικό οξύ.....	36
3.2 Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης και των ρευματικών συνθηκών στην ανάπτυξη λόρδωσης.....	38
3.3 Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης στην κολυμβητική ικανότητα.....	44
3.4 Επίδραση της λόρδωσης στη διαφοροποίηση του σχήματος του σώματος.....	45
3.4.1 Μορφολογική διαφοροποίηση μεταξύ των ατόμων με βάση τη γωνία της λόρδωσης	46
3.4.2 Μορφολογική διαφοροποίηση μεταξύ των ατόμων με βάση τον αριθμό των εμπλεκόμενων στην παραμόρφωση σπονδύλων.....	50
3.4.3 Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης στη διαφοροποίηση του σχήματος του σώματος.....	53
3.4.4 Επίδραση όλων των περιβαλλοντικών συνθηκών (θερμοκρασίας ανάπτυξης και ρευματικές συνθήκες) στη διαφοροποίηση του σχήματος του σώματος	55
3.5 Αναλογίες.....	59
4. ΣΗΖΗΤΗΣΗ	60
4.1 Φαινοτυπική πλαστικότητα στα ψάρια	61
4.2 Πλαστικότητα κολυμβητικών επιδόσεων.....	62
4.2.1 Κολυμβητική επίδοση στις διαφορετικές θερμοκρασίες νερού.....	62

4.2.2 Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης στην κολυμβητική ικανότητα.....	64
4.2.3 Συγκέντρωση γαλακτικού οξέως στους μύες σε συνάρτηση με την άσκηση.....	67
4.3 Πλαστικότητα του σχήματος του σώματος.	68
4.3.1 Επίδραση των περιβαλλοντικών συνθηκών (θερμοκρασία και ρεύμα νερού) στο σχήμα του σώματος.....	68
4.4 Λόρδωση (σαν μη φυσιολογική έκφραση πλαστικότητας)	69
4.4.1 Γενεσιουργοί παράγοντες (θερμοκρασία και ρεύματα)	69
4.4.2 Επίδραση της λόρδωσης στο σχήμα του σώματος – Κλίμακα ποιότητας.....	72
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	74
6. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	77
7. ABSTRACT.....	81
8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	84

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Μορφοανατομικές ανωμαλίες

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που παρουσιάζονται στην εντατική ιχθυοκαλλιέργεια είναι η παρουσία υψηλού αριθμού ψαριών με μορφοανατομικές ανωμαλίες. Οι ανωμαλίες αυτές εντοπίζονται κυρίως στο χρωματισμό, στα λέπια, στη νηκτική κύστη και στον σκελετό (Divanach *et al.*, 1996) και είναι ιδιαίτερα ζημιογόνες για την οικονομία του κλάδου των ιχθυοκαλλιεργειών διότι μειώνουν σημαντικά την εμπορική αξία των παραγόμενων ψαριών. Πιο συγκεκριμένα, η παρουσία μορφοανατομικών ανωμαλιών που σχετίζονται με παραμορφώσεις στα ψάρια επηρεάζει αρνητικά τους ρυθμούς επιβίωσης και αύξησης, την εμπορευσιμότητά τους και τελικά τα περιθώρια κέρδους από την παραγωγή των εκτρεφόμενων ψαριών. Παραμορφώσεις έχουν αναφερθεί σε μια μεγάλη ποικιλία ειδών ψαριών χωρίς να παρουσιάζουν κάποια ειδο-ειδική έκφραση όσον αφορά στην ανατομική τους εικόνα (ανασκόπηση από Divanach *et al.*, 1996).

Μεταξύ αυτών, οι σκελετικές παραμορφώσεις είναι οι πιο διαδεδομένες καθώς μπορούν δυνητικά να εμφανιστούν σε όλα τα είδη των ψαριών και οι συνέπειες τους είναι συνήθως επιβλαβείς τόσο για τον ίδιο τον οργανισμό όσο και για το οικονομικό αποτέλεσμα του κλάδου των ιχθυοκαλλιεργειών διότι συνήθως γίνονται αντιληπτές στο μέσο ή το τέλος του κύκλου εκτροφής, δηλαδή σε μία φάση που η εκτροφή ψαριών τα οποία δεν είναι εμπορεύσιμα έχει ήδη κοστίσει αρκετά στον παραγωγό. Για το λόγο αυτό, οι μελέτες πάνω στις σκελετικές ανωμαλίες είναι πάρα πολλές και μόνο ενδεικτικά μπορούν να αναφερθούν κάποιες από τις πιο πρόσφατες και σημαντικές στο λαβράκι, *Dicentrarchus labrax* (Chatain, 1987; Daoulas *et al.*, 1991; Boglione *et al.*, 1993; Marino *et al.*, 1993) και στην τσιπούρα *Sparus aurata* (Paperna, 1978; Andrades *et al.*, 1994, 1996; Koumoundouros *et al.*, 1997a,b; Faustino and Power, 1999) που είναι δύο από τα πιο σημαντικά είδη της Μεσογειακής ιχθυοκαλλιέργειας.

Μεταξύ των σκελετικών ανωμαλιών, εκείνες που αναπτύσσονται στη σπονδυλική στήλη έχουν σημαντικότερο αντίκτυπο από τις άλλες λόγω του ότι αντιπροσωπεύουν μέχρι 5% της συνολικής παραγωγής της βιομηχανίας υδατοκαλλιέργειας (Andrades *et al.*, 1996). Έχουν περιγραφεί σε πάρα πολλά είδη εκτρεφόμενων ψαριών, όπως ο σολωμός του Ατλαντικού (*Salmo salar*) (McKay & Gjerde, 1986), η Αμερικάνικη πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) (Aulstad & Kittelsen, 1971), ο κυπρίνος (*Cyprinus carpio*) (Wunder,

1981; Backiel *et al.*, 1984), η θαλασσοπέστροφα (*Salmo trutta*) (Poynton, 1987), η τιλάρια (*Oreochromis niloticus*) (Mair, 1992), το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) (Chatain, 1994; Divanach *et al.*, 1997; Koumoundouros *et al.*, 2001a), το μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) (προσωπικά αδημοσίευτα αποτελέσματα) το ιαπωνικό φαγγρί (*Pagrus major*) (Takashima, 1978; Taniguchi *et al.*, 1984; Kihara *et al.*, 2002), το *Pogonichthys macrolepidotus* (Teh *et al.*, 2002) και η τσιπούρα (*Sparus aurata*) (Andrades *et al.*, 1996).

Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, ο ακριβής προσδιορισμός των γενεσιουργών αιτιών είναι αρκετά δύσκολος λόγω του μεγάλου τους αριθμού, της κοινής συμπτωματολογίας, της συνεργατικής δράσης διαφόρων παραγόντων και του εύρους των αναπτυξιακών φάσεων στη διάρκεια των οποίων δραστηριοποιούνται (ανασκόπηση από Divanach *et al.*, 1996). Παρόλα αυτά, είναι αρκετές οι μελέτες που έχουν ασχοληθεί με τα αίτια του προβλήματος και έχουν επιχειρήσει να δώσουν απαντήσεις. Ανάμεσα στους παράγοντες που έχουν ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση μορφο-ανατομικών παραμορφώσεων είναι πέραν των γενετικών (Purdom, 1993; Divanach *et al.*, 1996; Andrades *et al.*, 1996; Bengtsson *et al.*, 1998) οι: α) διάφοροι περιβαλλοντικοί παράγοντες και γενικότερα συνθήκες εκτροφής (Chun *et al.*, 1981; Francescon *et al.*, 1988; Boglione *et al.*, 1993, 1994; Lindesjoo *et al.*, 1994; Divanach *et al.*, 1997; Haaparanta *et al.*, 1997 Faustino and Power, 1997 Koumoundouros *et al.*, 1997a,b, 2001a; Teh *et al.*, 2002; Sfakianakis *et al.*, in press), β) ακραίες αβιοτικές συνθήκες (Polo *et al.*, 1991; Pavlov, 1997; Pavlov and Moksness, 1997; Faustino and Power, 1999), και γ) ακατάλληλες διατροφικές συνθήκες χαρακτηριζόμενες κυρίως από ανεπάρκεια ή περίσσεια βιταμινών και απαραίτητων αμινοξέων (Nacario, 1983; Akiyama *et al.*, 1986a,b; Hinton *et al.*, 1992; Kanazawa *et al.*, 1992; McConnell & Barrows, 1993 Estevez and Kanazawa, 1995; Takeuchi *et al.*, 1995; Dedi *et al.*, 1998).

Ο κάθε ένας από τους παραπάνω παράγοντες ανάλογα με την ένταση των υπολοίπων και το είδος στο οποίο επιδρά, διαμορφώνει διαφορετικά τόσο την ανατομική εικόνα των παραγόμενων παραμορφώσεων όσο και τη συχνότητά τους.

Επίσης, κάποιες μελέτες (Daoulas *et al.*, 1991; Koumoundouros *et al.*, 1997a,b; 2001a) καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι αν και δεν είναι απόλυτα γνωστοί οι γενεσιουργοί παράγοντες και οι μηχανισμοί δράσης τους, είναι σχεδόν σίγουρο ότι οι παραμορφώσεις προκαλούνται στα πρώτα αναπτυξιακά στάδια (εμβρυακό αυτότροφο και πλαγκτο-

νοφάγα ετερότροφα) και κυρίως κατά το εμβρυακό και το λεκιθοφόρο νυμφικό. Συνεπώς, ο προσδιορισμός της πρώτης αναπτυξιακής φάσης στην οποία προκαλείται ο κάθε τύπος παραμόρφωσης και ακολούθως ο εντοπισμός των καθοριστικών αιτιών θεωρείται σήμερα ως η αποδοτικότερη στρατηγική προληπτικής αντιμετώπισης (Koumoundouros *et al.*, 2001a).

Οι παραμορφώσεις που κυρίως αναπτύσσονται στη σπονδυλική στήλη είναι οι ακόλουθες (Afonso *et al.*, 2000):

1. η **λόρδωση** η οποία προκαλεί ραχιαία παραμόρφωση του σώματος που σε ακραίες περιπτώσεις παίρνει μορφή ανοικτού V,
2. η **σκολίωση** η οποία προκαλεί πλευρική παραμόρφωση του σώματος που σε ακραίες περιπτώσεις παίρνει μορφή ζιγκ-ζαγκ, και
3. η **κύφωση** η οποία προκαλεί κοιλιακή παραμόρφωση του σώματος που σε ακραίες περιπτώσεις παίρνει μορφή ανοικτού Λ).

Από αυτές, η λόρδωση έχει χαρακτηριστεί ως η πιο σοβαρή και έχει παρατηρηθεί σε ποικιλία ειδών (ανασκόπηση από Divanach *et al.*, 1996; Afonso *et al.*, 2000; Kihara *et al.*, 2002; Teh *et al.*, 2002). Την δεκαετία του '80 και μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του '90, που το επενδυτικό ενδιαφέρον ήταν έντονο για την εκτροφή του λαβρακιού, αποτέλεσε τον κυριότερο ανασταλτικό παράγοντα δεδομένου ότι η εν λόγω παραμόρφωση έπληττε σε ποσοστά μέχρι και 70% (Chatain, 1994; Divanach *et al.*, 1997) τους εκτρεφόμενους πληθυσμούς. Αρχικά, η ανάπτυξη της παραμόρφωσης αποδόθηκε στην έλλειψη νηκτικής κύστης ή στη μερική λειτουργικότητά της (Paperna, 1978; Takashima *et al.*, 1980; Kitajima *et al.*, 1981; Chatain, 1994) που όπως απεδείχθη (Coves, 1985) οφείλονταν σε καθαρά τεχνικά προβλήματα, απόρροια της έλλειψης επαρκούς γνώσης σχετικά με τους μηχανισμούς ενεργοποίησης της λειτουργικότητας της νηκτικής κύστης. Η εφαρμογή κατάλληλων τεχνολογικών προσαρμογών στη μεθοδολογία εκτροφής (Chatain & Dewavrin, 1989; Chatain & Ounais-Guschemann, 1990), μείωσε το ποσοστό εμφάνισης λορδωτικών ατόμων στους εκτρεφόμενους πληθυσμούς, χωρίς όμως να το λύσει καθώς, όπως απεδείχθη στη συνέχεια, άρχισε να παρατηρείται και σε άτομα με λειτουργική

νηκτική κύστη (Boglione *et al.*, 1995) σε ποσοστά που άγγιζαν το 25% και έφταναν μέχρι 75% με μόνη διαφορά ότι το κέντρο της λόρδωσης εντοπίζονταν σε διαφορετικό σπόνδυλο: 15^{ος}-16^{ος} σπόνδυλος (Divanach *et al.*, 1997) έναντι 11^{ου} σπονδύλου (Chatain, 1994) (αρίθμηση με φορά από το κεφάλι προς την ουρά) σε ιχθύδια με ή χωρίς λειτουργική νηκτική κύστη αντίστοιχα. Και στις δύο περιπτώσεις, τόσο η φαινοτυπική όσο και η ανατομική εικόνα των ατόμων ήταν παρεμφερείς δεδομένου ότι η λόρδωση συνοδευόταν από παραμορφώσεις και συντήξεις των κέντρων των σπονδύλων.

Σε συνέχεια αυτών των ευρημάτων αναζητήθηκε το γενεσιουργό αίτιο της νέας αυτής περίπτωσης λόρδωσης στους εκτρεφόμενους πληθυσμούς που όπως απεδείχθη από τους Divanach *et al.* (1997) και επιβεβαιώθηκε από τους Kihara *et al.* (2002) στο είδος *Pagrus major*, οφείλεται στην παρουσία στο μέσο διαβίωσης έντονων ρευματικών συνθηκών. Εδώ πρέπει όμως να σημειωθεί ότι η υποψία για την συγκεκριμένη επίδραση των ρευματολογικών συνθηκών υπήρχε από το 1984 όταν οι Backiel *et al.* (in Kihara *et al.*, 2002) την είχαν συσχετίσει για πρώτη φορά με την ανάπτυξη λόρδωσης αν και ο πειραματικός σχεδιασμός δεν ήταν επαρκής για να στηριχτεί αυτή η υπόθεση.

Το πρόβλημα μπορεί να φαντάζει απλό στη λύση του, όμως οι υψηλές απαιτήσεις της εντατικής υδατοκαλλιέργειας όσον αφορά στο ρυθμό ανανέωσης του νερού των δεξαμενών εκτροφής προκειμένου να εξασφαλιστεί τόσο η επάρκεια σε οξυγόνο, όσο και η γρήγορη απομάκρυνση των διαφόρων προϊόντων του μεταβολισμού των ψαριών, δημιουργούν συνθήκες που δε διευκολύνουν την επίλυσή του διότι η αναταραχή και τα ρεύματα μέσα στις δεξαμενές είναι απαραίτητες προϋποθέσεις για να αποφευχθούν άλλου είδους προβλήματα (μειωμένος ρυθμός αύξησης, αυξημένος κίνδυνος παθολογίας, υψηλό κόστος λόγω της χρήσης καθαρού οξυγόνου, έλλειψη κατάλληλων δεξαμενών κ.α.).

Επιπλέον, η επίδραση των ρευματικών συνθηκών δεν έχει ποσοτικοποιηθεί μέχρι σήμερα, καθώς έχουν μελετηθεί είτε ακραίες τιμές ρευμάτων σε δύο μεγάλα και όχι ακριβώς καθορισμένα αναπτυξιακά εύρη (Divanach *et al.*, 1997) ή δύο συγκεκριμένες αλλά αυθαίρετες τιμές ρευμάτων (Kihara *et al.*, 2002).

Φυσικά, η έλλειψη νηκτικής κύστης και οι ρευματολογικές συνθήκες δεν είναι οι μόνες αιτίες που μπορεί να προκαλέσουν λόρδωση. Μελέτες σε άλλα είδη ψαριών έχουν

δείξει ότι λόρδωση μπορεί να προκληθεί και από άλλους παράγοντες, όπως διατροφικές ελλείψεις, αλλοιώσεις στη νωτοχορδή κατά τη διάρκεια του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου, ύπαρξη ρυπαντών (ανασκόπηση από Divanach *et al.*, 1996) και παθήσεις των μυών (Lopez-Albors *et al.* 1995).

Επίσης, αν και η μυϊκή δραστηριότητα έχει προταθεί ως ο κύριος γενεσιουργός παράγοντας της λόρδωσης (Kihara *et al.*, 2002), μέχρι σήμερα δεν έχει προσδιορισθεί ο βαθμός εμπλοκής αυτού του παράγοντα, ενώ από την άλλη η πιθανή εμπλοκή και συνέργεια άλλων παραγόντων, όπως η θερμοκρασία, έχει υποτιμηθεί. Απόδειξη αυτού του γεγονότος είναι η ανάπτυξη λόρδωσης και υπό συνθήκες «στάσιμου νερού» (Κουμουνδούρος, προσωπική επικοινωνία).

Η επίδραση της θερμοκρασίας έχει μελετηθεί εκτενώς στους ρυθμούς αύξησης, διαφοροποίησης (Kinne and Kinne, 1962; Blaxter, 1969; May, 1974; Margulies, 1988; Walsh *et al.*, 1991; Watanabe *et al.*, 1995; Kucharczyk *et al.*, 1997) και μεταβολισμού (Oikawa and Itazawa, 1985; Giquere *et al.*, 1988; Walsh *et al.*, 1989, 1991), στη συμπεριφορά της κολύμβησης (Blaxter, 1988; Batty *et al.*, 1993), στις μορφολογικές ανωμαλίες (Wiegand *et al.*, 1988; Polo *et al.*, 1991; Sfakianakis *et al.*, in press), στην οντογένεση του σκελετού (Blaxter, 1969; Lindsey, 1988; Murray and Beacham, 1989; Blaxter, 1992) και των μυών (Stickland *et al.*, 1988; Johnston, 1993; Nathanailides *et al.*, 1995; Galloway *et al.*, 1999). Ακόμη, η θερμοκρασία μπορεί να μεταβάλλει το μέγεθος στο οποίο λαμβάνουν χώρα τα διάφορα οντογενετικά γεγονότα, όπως η εκκόλαψη, το τέλος του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου, ο σχηματισμός των πτερυγίων και η μεταμόρφωση (Polikansky, 1982; Seikai *et al.*, 1986; Chambers and Leggett, 1987; Polo *et al.*, 1991; Fuiman *et al.*, 1998; Sfakianakis *et al.*, in press).

Όσον αφορά στη λόρδωση, ο ρόλος της θερμοκρασίας θα μπορούσε να είναι είτε άμεσος είτε έμμεσος. Άμεσα θα μπορούσε να επιδρά μέσω της πρόκλησης ανωμαλιών στη νωτοχορδή ή στους αναπτυσσόμενους σπονδύλους κατά τα πρώτα οντογενετικά στάδια (Wiegand *et al.*, 1989; Wang and Tsai, 2000; Koumoundouros *et al.*, 2001a; Divanach *et al.*, 1996), ενώ έμμεσα μέσω της σχετικής πλαστικότητας της ανάπτυξης των μυών (Nathanailides *et al.*, 1996; Johnston *et al.*, 1998; Ayala *et al.*, 2001) και/ή των ο-

στών (Sfakianakis *et al.*, in press), και κατ' επέκταση στη συνολική λειτουργική απόδοση του μυοσκελετικού συστήματος.

1.2. Σκοπός και φάσεις της μελέτης

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι να αξιολογηθεί η επίδραση συγκεκριμένων περιβαλλοντικών παραγόντων κατά την οντογένεση του λαβρακιού στη μετέπειτα πιθανότητα ανάπτυξης λόρδωσης. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που εδώ μελετούνται είναι η θερμοκρασία ανάπτυξης (δύο διαφορετικές τιμές: 15 και 20°C) και οι ρευματικές συνθήκες μέσα στη δεξαμενή (τέσσερις διαφορετικές τιμές, με διαβάθμιση από μηδενική μέχρι πολύ υψηλή).

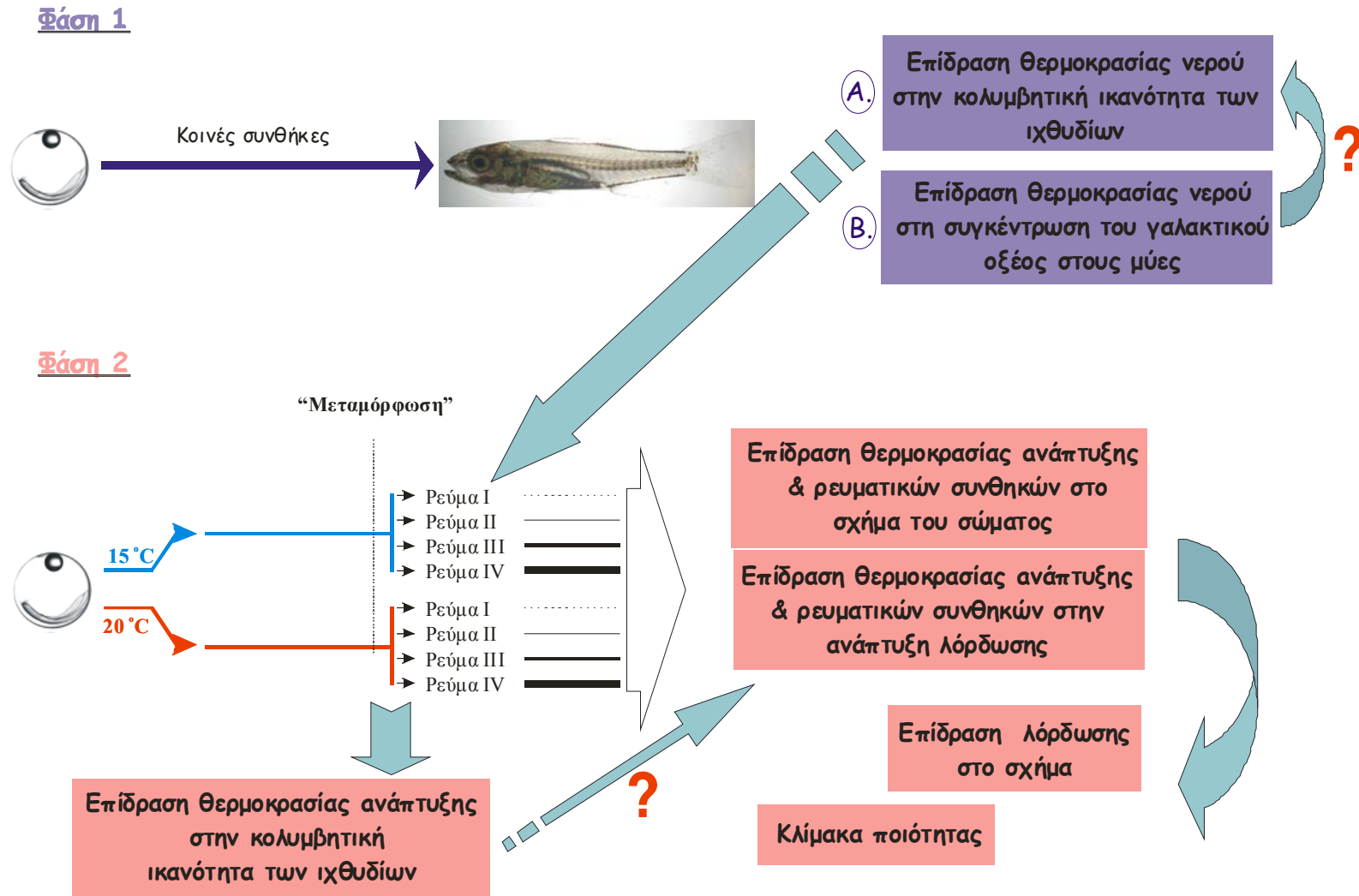
Για να γίνει όμως η παραπάνω μελέτη ήταν επιβεβλημένο να προηγηθεί ένα προκαταρκτικό πείραμα που θα έθετε τις βάσεις του πειραματικού της σχεδιασμού (**Φάση 1**). Στο προκαταρκτικό πείραμα εξετάστηκε η επίδραση της θερμοκρασίας του νερού πάνω στην κολυμβητική ικανότητα ιχθυδίων λαβρακιού (Φάση 1A) και προσδιορίστηκε ο χρόνος που αυτά απαιτούν για να επανέλθουν μετά την έντονη άσκηση στην πρότερη φυσιολογική οργανική κατάσταση (Φάση 1B) (μέσω του υπολογισμού του επιπέδου του γαλακτικού οξέως στους μύες), δεδομένα που είναι απαραίτητα για την εφαρμογή των κατάλληλων ρευματικών συνθηκών στο κυρίως πείραμα, αλλά και για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Κατόπιν, πραγματοποιήθηκε το κυρίως πείραμα (Φάση 2) όπου εξετάστηκε η επίδραση που έχουν οι δύο διαφορετικές θερμοκρασίες ανάπτυξης σε συνδυασμό με τις τέσσερις διαφορετικές συνθήκες ρεύματος στην ανάπτυξη λόρδωσης μέσω της λεπτομερούς μελέτης σειράς χαρακτήρων (μετρικών και μορφομετρικών) που περιγράφουν τη συγκεκριμένη παραμόρφωση. Επίσης επιχειρήθηκε η συσχέτιση μεταξύ κάποιου ή κάποιων εξωτερικών μορφομετρικών χαρακτήρων με τη λόρδωση ώστε να δημιουργηθεί μια βάση για τη δημιουργία ενός κριτηρίου ποιότητας των ιχθυδίων.

Παράλληλα με τα παραπάνω, εξετάστηκε η επίδραση της λόρδωσης στο σχήμα του σώματος του λαβρακιού και το εύρος διαφοροποίησης αυτού ανάλογα με την ένταση της παραμόρφωσης.

Τέλος, στην προσπάθεια ερμηνείας των αποτελεσμάτων του κυρίου πειράματος, μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης του λαβρακιού στην κολυμβητική ικανότητα αυτού μετά το πέρας της μεταμόρφωσης και στη διαφοροποίηση του σχήματος.

Η κλιμάκωση όλων αυτών των εργασιών παρουσιάζεται σχηματικά στην εικόνα 1.1.



Εικόνα 1.1: Σχηματική αναπαράσταση των πειραματικών στόχων της παρούσας εργασίας. Ρεύμα I, II, III και IV, τα διαφορετικά κατά σειρά επίπεδα έντασης ρεύματος μέσα στις δεξαμενές. Περισσότερες λεπτομέρειες δίνονται στο κεφάλαιο “Υλικά και Μέθοδοι”.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Πειραματικοί πληθυσμοί

2.1.1. **Φάση 1.** Εκτίμηση της κολυμβητικής ικανότητας και υπολογισμός του χρόνου ανάκαμψης με μελέτη του ρυθμού μείωσης του γαλακτικού οξέως.

Οι πειραματικοί πληθυσμοί που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονταν από ημι-εντατικά συστήματα παραγωγής με τη μέθοδο των μεσοκόσμων (Divanach & Kentouri, 2000). Πιο αναλυτικά:

Τα αυγά προήλθαν από αυτόματη ωτοκία αποθέματος γεννητόρων που διατηρείτο στο ΙΘΑΒΙΚ υπό ελεγχόμενες συνθήκες φωτοπεριόδου και θερμοκρασίας. Η επώαση των αυγών και η νυμφική εκτροφή έγιναν σε εξωτερικές δεξαμενές των 40 m³, με αρχική πυκνότητα 5,5 αυγά ανά λίτρο. Αρχικά, οι νύμφες τρέφονταν με εμπλουτισμένα ("Protein Selco", INVE S.A., Gent, Belgium) τροχόζωα *Brachionus plicatilis*. Μετά το στάδιο των 7,0 mm ολικό μήκος (TL), στη διατροφή των νυμφών προστέθηκαν και εμπλουτισμένοι ("Selco", INVE S.A., Gent, Belgium) ναύπλιοι *Artemia* sp. (Instar II). Η συγκέντρωση της ζωντανής τροφής μέσα στις δεξαμενές ρυθμιζόταν 2 φορές την ημέρα στα 1000-4000 άτομα l⁻¹ για τα τροχόζωα και στα 250-1250 άτομα l⁻¹ για την *Artemia* sp. Μέχρι το τέλος της χορήγησης τροχοζώων (8,5 mm TL), η εκτροφή των νυμφών γινόταν παρουσία του φυτοπλαγκτονικού οργανισμού *Chlorella minutissima* (100-200 10³ κύτταρα ml⁻¹). Η αντικατάσταση των πλαγκτονικών θηραμάτων από βιομηχανική τροφή (σιτηρέσια) (Lansy, INVE S.A., Gent, Belgium) άρχισε στα 10 mm TL, ενώ μέχρι τα 21 mm TL είχε τερματιστεί η χορήγηση ναυπλίων *Artemia* sp. Η πλήρωση της νηκτικής κύστης με αέρα (100% στον πληθυσμό) διασφαλίστηκε με την λειτουργία της συσκευής καθαρισμού της επιφάνειας του νερού (air blower skimmer) η οποία τοποθετήθηκε από την 2η ημέρα διατροφής. Το εμβρυακό και το λεκιθοφόρο νυμφικό στάδιο πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία νερού 17,7±0.3 °C και αλατότητα 40 ppt, ενώ στο νυμφικό στάδιο η θερμοκρασία ρυθμίστηκε στους 19,3±0.3 °C και η αλατότητα στα 35 ppt. Κατά τη διάρκεια ολόκληρης της εκτροφής, ο κορεσμός του νερού σε οξυγόνο ήταν στο 90-95%, και η φωτοπερίοδος φυσική. Η ανανέωση του νερού στις δεξαμενές σταδιακά αυξήθηκε από 20 σε 200% του όγκου της δεξαμενής ανά ημέρα.

Προκειμένου να μελετηθεί η κολυμβητική ικανότητα, χίλια ιχθύδια λαβρακιού 25 mm μέσου ολικού μήκους (TL) μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο

Υδατοκαλλιεργειών του Τμήματος Βιολογίας Κρήτης και τοποθετήθηκαν σε 4 ενυδρεία όγκου 125 lt. Κάθε ένα από αυτά τα ενυδρεία ήταν εξοπλισμένο με μία αντλία (EHEIM, model 2217, ρυθμός ανανέωσης 900 l h^{-1}) που περιείχε βιολογικό φίλτρο και ενεργό άνθρακα. Η φωτοπερίοδος διατηρήθηκε σε επίπεδα ισημερίας (12 ώρες φως και 12 ώρες σκοτάδι), ενώ η θερμοκρασία του νερού ήταν $20 \text{ }^\circ\text{C}$, ο κορεσμός σε οξυγόνο ήταν πάνω από 90% και η αλατότητα 35 ppt. Τα ψάρια ταίζονταν 6 φορές την ημέρα με βιομηχανική τροφή (Lansy, INVE S.A., Gent, Belgium).

Για να αποφευχθούν τυχόν επιδράσεις της θερμοκρασίας σε παράγοντες που επηρεάζουν την κολυμβητική ικανότητα όπως η αύξηση και η κυτταρικότητα των μυών (Ayala *et al.*, 2001), ο ρυθμός αύξησης και η οντογένεση του σχήματος του σώματος και των πτερυγίων (Koumondouros *et al.*, 2001b), ο εγκλιματισμός των ιχθυδίων έγινε με διαδικασία συντομότερη από αυτή που προτείνει ο Fry (1971): 18 ώρες πριν τις δοκιμές της κολύμβησης, τα ψάρια μεταφέρονταν από τις δεξαμενές συντήρησης σε ένα ενυδρείο 30 λίτρων για εγκλιματισμό στη θερμοκρασία κολύμβησης όπου διατηρούνταν στο απόλυτο σκοτάδι χωρίς τροφή μέχρι την έναρξη των μετρήσεων της κολυμβητικής ικανότητας.

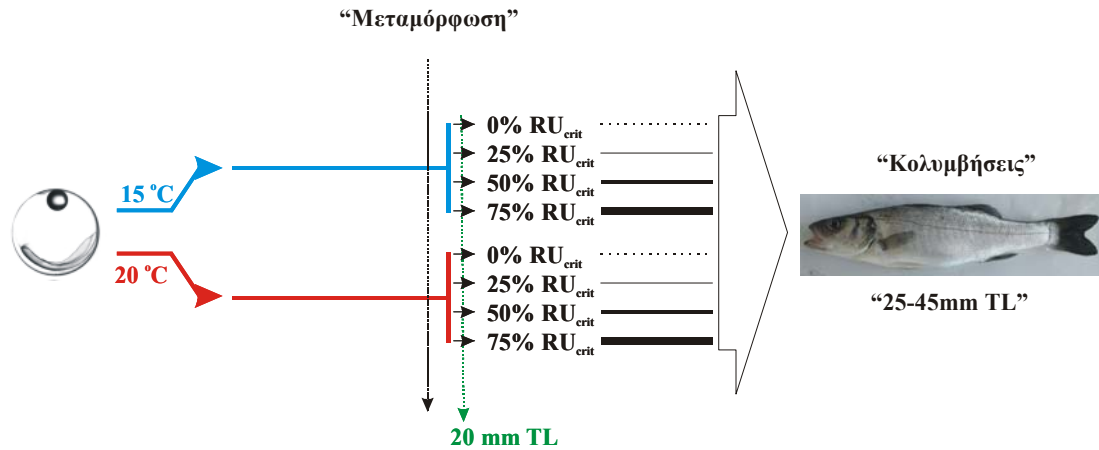
Οι τελευταίες πραγματοποιήθηκαν στις θερμοκρασίες των **15, 20, 25** και **28°C** με άτομα λαβρακιού των οποίων το μήκος κυμαινόταν από 25 έως 40 mm TL.

Για την εκτίμηση του χρόνου ανάκαμψης με μέτρηση της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέως στους μύες, χρησιμοποιήθηκαν ιχθύδια που είχαν εκτραφεί με παρόμοια με την προηγούμενη μέθοδο σε διαφορετικό χρόνο, μεγέθους 35 έως 45 mm TL.

Για να διασφαλιστεί ότι όλα τα άτομα πριν την κολύμβηση θα είχαν υποστεί τους ίδιους χειρισμούς, εκείνα που επρόκειτο να υποβληθούν σε δοκιμή, μεταφέρονταν την προηγούμενη ημέρα από τις εγκαταστάσεις του ΙΘΑΒΙΚ στο εργαστήριο Υδατοκαλλιεργειών όπου τοποθετούνταν σε ενυδρείο των 120 lt στην πυκνότητα των 2 ατόμων στο λίτρο ώστε να εγκλιματιστούν για 24 περίπου ώρες στην θερμοκρασία-δοκιμασίας της επόμενης ημέρας. Οι θερμοκρασίες του νερού που χρησιμοποιήθηκαν για αυτό το πείραμα ήταν **15, 20** και **25°C**. Όλοι οι πληθυσμοί το βράδυ πριν τη δοκιμασία αφήνονταν νηστικοί ενώ ταίζονταν καθόλη τη διάρκεια της υπόλοιπης ημέρας με βιομηχανική τροφή (Lansy, INVE S.A., Belgium).

2.1.2. **Φάση 2.** Επίδραση 2 διαφορετικών θερμοκρασιών ανάπτυξης και 4 διαφορετικών ρευματικών συνθηκών κατά την εκτροφή των ιχθυδίων λαβρακιού.

Για τη μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας ανάπτυξης και των ρευματικών συνθηκών στην ανάπτυξη λόρδωσης στα ιχθύδια λαβρακιού αλλά και στην κολυμβητική τους ικανότητα μετά τη μεταμόρφωση χρησιμοποιήθηκαν 2 διαφορετικές θερμοκρασίες ανάπτυξης. Η εκτροφή αυτών των ψαριών χωρίστηκε σε δύο υπο-φάσεις: νυμφική εκτροφή και προπάχυνση. Στην υπο-φάση της νυμφικής εκτροφής εφαρμόστηκαν 2 διαφορετικές θερμοκρασίες ανάπτυξης (**15** ή **20** °C) ενώ όλες οι άλλες παράμετροι της εκτροφής παρέμειναν οι ίδιες μεταξύ των διαφορετικών πληθυσμών. Στην υπο-φάση της προπάχυνσης, η εκτροφή όλων των πειραματικών πληθυσμών πραγματοποιήθηκε στην ίδια θερμοκρασία και σε κοινές συνθήκες πλην των επιπέδων έντασης του ρεύματος που ήταν 4 διαφορετικά. Όλα τα παραπάνω πειράματα έγιναν εις διπλούν ενώ η συνοπτική απεικόνιση του πειραματικού σχεδιασμού παρουσιάζεται στην εικόνα 2.1.



Εικόνα 2.1: Σχηματική απεικόνιση του πειραματικού σχεδιασμού του 2.1.2. Όλες οι πειραματικές συνθήκες εφαρμόστηκαν εις διπλούν.

Νυμφική εκτροφή

Τα αυγά προήλθαν από αυτόματη ωοτοκία αποθέματος γεννητόρων που διατηρείτο στο ΙΘΑΒΙΚ υπό φυσικές συνθήκες φωτοπεριόδου και θερμοκρασίας. Η επώαση των αυγών και η νυμφική εκτροφή πραγματοποιήθηκαν σε 4 εσωτερικές δεξαμενές των 500 lt, οι οποίες ήταν συνδεδεμένες με κλειστό σύστημα κυκλοφορίας του νερού εξοπλισμένο με βιολογικό φίλτρο. Οι δεξαμενές χωρίστηκαν σε 2 ζεύγη (επαναλήψεις) κάθε ένα από τα οποία τροφοδοτούνταν με νερό διαφορετικής θερμοκρασίας (15 ή 20 °C). Η θερμοκρασία παρέμενε σταθερή καθόλη τη διάρκεια της εκτροφής με τη χρήση συστημάτων ψύξης και θέρμανσης.

Στο στάδιο της έναρξης της επιβολής, 50000 αυγά τοποθετήθηκαν σε κάθε δεξαμενή και διατηρήθηκαν σε απόλυτο σκοτάδι μέχρι και την έναρξη της διατροφής. Κατόπιν, εφαρμόστηκε φωτοπερίοδος με 14 ώρες φως και 10 ώρες σκοτάδι, ενώ η αλατότητα ήταν 30 ppt και ο κορεσμός σε οξυγόνο πάνω από 90%. Η θερμοκρασία στις 2 συνθήκες ήταν 20.0 ± 0.4 και 15.2 ± 0.3 (μέσος \pm SD) ενώ η νυμφική εκτροφή τερματίστηκε στο ολικό μήκος (TL) των 16-17 mm όπου τα ψάρια μεταφέρθηκαν στις δεξαμενές αποκοπής τους από τη ζωντανή τροφή και αντικατάστασής της με βιομηχανική (weaning).

Η σίτιση κατά τη διάρκεια της νυμφικής εκτροφής έγινε σύμφωνα με τους Koumoundouros et al. (2001b) με μικρές παραλλαγές. Έτσι, χρησιμοποιήθηκαν εμπλουτισμένα ("Protein Selco", INVE S.A., Gent, Belgium) τροχόζωα *Brachionus plicatilis* από την πρώτη ημέρα την διατροφής (5-5.5 mm TL) μέχρι και τα 6.3 mm TL και μία συνδυασμένη δίαιτα από τροχόζωα και εμπλουτισμένους ("Selco", INVE S.A., Gent, Belgium) ναύπλιους *Artemia* sp. (Instar II) μεταξύ 6.3 και 9.0 mm TL. Η συγκέντρωση της ζωντανής τροφής μέσα στις δεξαμενές ρυθμιζόταν 2 με 5 φορές την ημέρα στα 2000-5000 άτομα l^{-1} για τα τροχόζωα και στα 1000-4000 άτομα l^{-1} για την *Artemia* sp. Τέλος, η πλήρωση της νηκτικής κύστης με αέρα διασφαλίστηκε (σε ποσοστό 90-95% σε όλες τις ομάδες) χάρις στην εγκατάσταση και λειτουργία συσκευής καθαρισμού της επιφάνειας (air blower skimmer).

Φάση αποκοπής από τα ζωντανά θηράματα (πλαγκτόν) και προπάχυνσης (weaning and pregrowing)

Οι πληθυσμοί που προήλθαν από τις νυμφικές εκτροφές στους 15 και 20 °C διατηρήθηκαν χωριστά και καθένας υποβλήθηκε σε 4 διαφορετικά επίπεδα ρευματικών συνθηκών μέσα στις δεξαμενές εκτροφής (Εικ. 2.1) σε 2 επαναλήψεις. Συνολικά, χρησιμοποιήθηκαν 8 δεξαμενές των 500 l για κάθε ένα από τους δύο πληθυσμούς της νυμφικής εκτροφής (15 ή 20 °C) στην αρχική πυκνότητα των 5 ατόμων στο λίτρο. Τα 4 διαφορετικά επίπεδα ρευματικών συνθηκών που εφαρμόστηκαν αντιστοιχούσαν στο 0, 25, 50 και 75% της μέγιστης κρίσιμης ταχύτητας (U_{crit} , κατά Brett 1964) που επιτυγχάνουν τα ιχθύδια λαβρακιού όπως αυτή προσδιορίστηκε κατά τη φάση 1 (3.1 στο κεφάλαιο των Αποτελεσμάτων).

Η θερμοκρασία του νερού στη φάση της προπάχυνσης ήταν 18.6 ± 0.8 °C για τα ψάρια που αναπτύχθηκαν στους 20 °C και 19.0 ± 1.0 °C για εκείνα που αναπτύχθηκαν στους 15 °C διότι τα τελευταία καθυστέρησαν γύρω στις 10 μέρες μέχρι να φτάσουν στο ίδιο αναπτυξιακό στάδιο με εκείνα των 20 °C. Η φωτοπερίοδος απομιμούνταν συνθήκες ισημερίας, ο ρυθμός ανανέωσης του νερού ξεκίνησε από 50% και έφτασε σταδιακά έως 300% του όγκου της δεξαμενής ανά ώρα προκειμένου να επιτευχθούν οι επιδιωκόμενες ρευματικές συνθήκες. Η αλατότητα ήταν 33-35 ppt και ο κορεσμός του οξυγόνου πάνω από 90%. Τα ιχθύδια άρχισαν σταδιακά να τρέφονται με βιομηχανική τροφή (Lansy, INVE S.A., Belgium και BioMar S.A., France) μέσω ταϊστών αυτοχειρισμού ενώ η χορήγηση της *Artemia* sp. τερματίστηκε στα 22 mm TL περίπου.

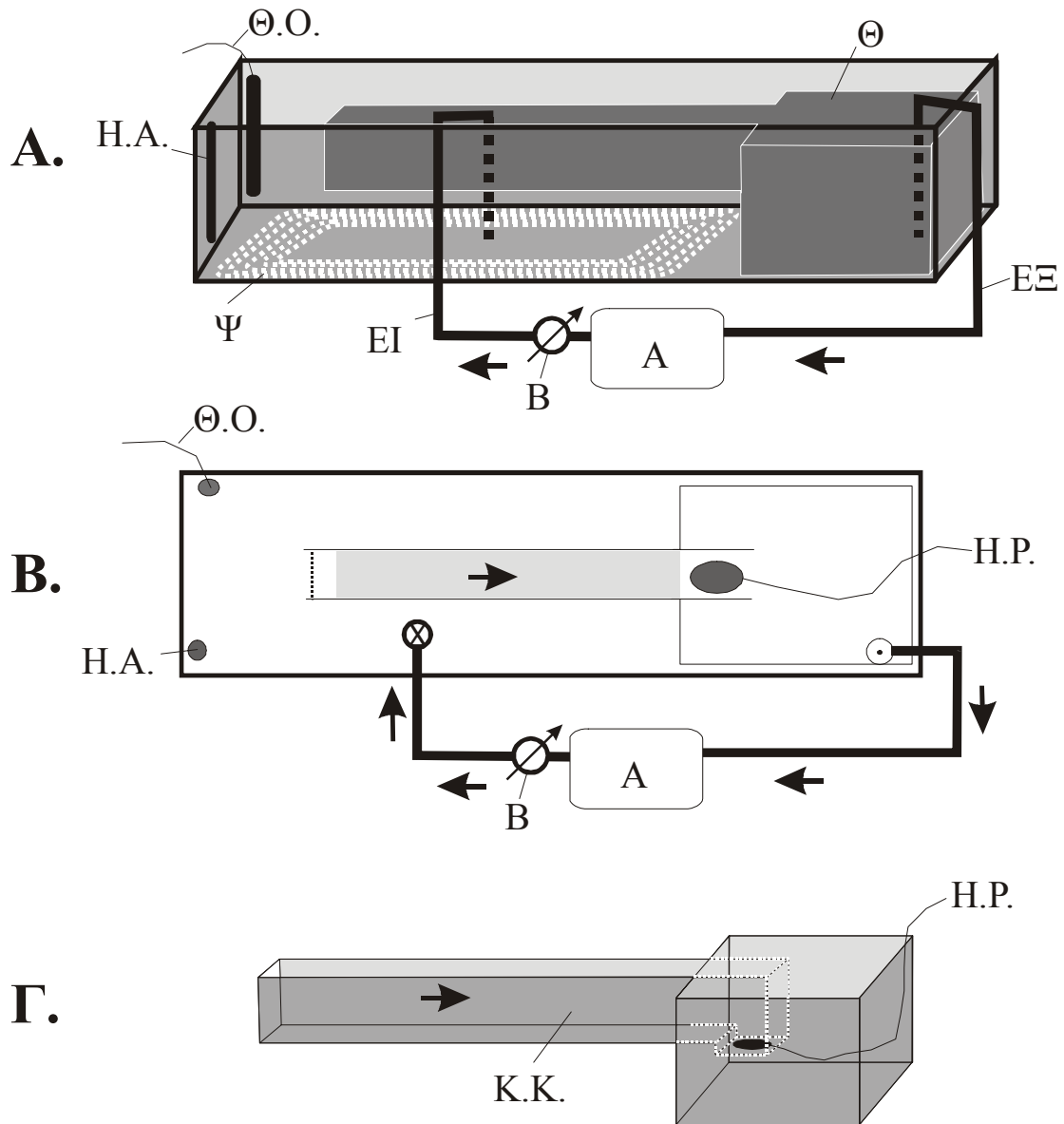
Οι διαφορετικές ρευματικές συνθήκες στις δεξαμενές εφαρμόστηκαν στο μέγεθος των 20 mm TL με τη χρήση κατάλληλα διαμορφωμένων σωλήνων (hydrojet pipes) οι οποίες προσαρμόστηκαν στην είσοδο του νερού στις δεξαμενές (Divanach *et al.*, 1997). Ο προσδιορισμός και η μέτρηση κάθε φορά του επιθυμητού ρεύματος έγιναν με τη χρήση ηλεκτρομαγνητικού ρευματογράφου (Valerport SA, model 801). Στα μεγέθη των 25, 30, 35 και 40 mm TL γινόταν επαναπροσδιορισμός των ρευματικών συνθηκών στα επιθυμητά επίπεδα της σχετικής κρίσιμης ταχύτητας κολύμβησης (RU_{crit} , 0, 25, 50, 75%) ανάλογα με τη θερμοκρασία (εφόσον η κολυμβητική ικανότητα είναι διαφορετική στις διαφορετικές θερμοκρασίες νερού), ώστε αυτές να ακολουθούν την αύξηση του μεγέθους των ψαριών (Koumoundouros *et al.* 2002a).

2.2 Μέτρηση της κολυμβητικής δραστηριότητας των ψαριών

2.2.1. Πειραματική συσκευή

Όλα τα πειράματα μέτρησης της κολυμβητικής δραστηριότητας έγιναν σε μία ειδικά σχεδιασμένη συσκευή (Εικ. 2.2) η οποία διαθέτει 3 συγκριτικά πλεονεκτήματα έναντι των αντίστοιχων συσκευών που έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν: α) είναι κατάλληλη για μετρήσεις σε τόσο μικρού μεγέθους ψάρια, β) χαρακτηρίζεται από υψηλή ακρίβεια και γ) λειτουργεί σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης (με όσα πλεονεκτήματα συνεπάγεται αυτό για την ακριβή απόδοση των ψαριών).

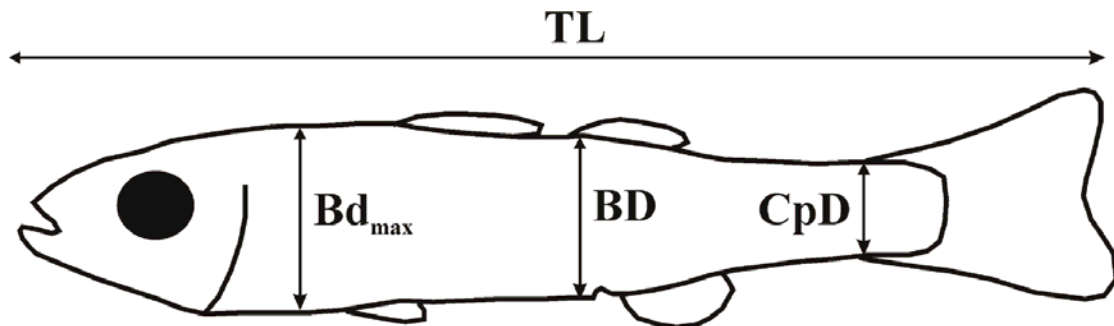
Η συσκευή απαρτίζεται από ένα κανάλι κολύμβησης μήκους 70 cm, πλάτους 5 cm και βάθους 4.5 cm και ένα κλειστό θάλαμο. Είναι φτιαγμένη στο σύνολό της από γυαλί και τοποθετείται σε ένα ενυδρείο χωρητικότητας 125 l (Εικ. 2.2 Α,Β) ώστε να γεμίζει με νερό. Με τη χρήση αντλιών (EHEIM, μοντέλο 2217), αφαιρείται νερό από τον κλειστό θάλαμο και επιστρέφεται στη δεξαμενή, δημιουργώντας έτσι το απαραίτητο ρεύμα νερού μέσα στο κανάλι κολύμβησης. Η επιθυμητή κάθε φορά ένταση ρεύματος επιτυγχάνεται με χρήση της ρυθμιζόμενης βαλβίδας της αντλίας. Στις περιπτώσεις που απαιτείται ιδιαίτερα υψηλή ένταση ρεύματος, είναι δυνατή η ταυτόχρονη χρησιμοποίηση περισσότερων της μιας αντλίας. Η ταχύτητα του επικρατούντος ρεύματος υπολογίζεται με τη χρήση ηλεκτρονικού ρευματογράφου (Valeport, Model 801) κατάλληλα προσαρμοσμένου μέσα στο κανάλι κολύμβησης. Για να μην “δραπετεύουν” τα ψάρια από το κανάλι κολύμβησης, ένα δίχτυ είναι τοποθετημένο στο σημείο όπου εισέρχεται το νερό ενώ η ανάδρομη διαφυγή αποφεύγεται με τη χρήση οπτικών και ηχητικών ερεθισμάτων. Η ομογενής κίνηση του νερού σε όλο το βάθος και μήκος του καναλιού κολύμβησης ελέγχεται με τη χρήση χρωστικής. Τέλος, η συσκευή κολύμβησης είναι εξοπλισμένη ταυτόχρονα με αντιστάσεις και ψυκτικό μηχάνημα για την αποκατάσταση της επιθυμητής κάθε φορά θερμοκρασίας.



Εικόνα 2.2: Συσκευή κολύμβησης. Α. τρισδιάστατη όψη του συστήματος ενδρείο-συσκευή κολύμβησης. Β. κάτοψη. Γ. τρισδιάστατη όψη της γυάλινης συσκευής. Η.Ρ., αισθητήρας ηλεκτρομαγνητικού ρευματογράφου; ΕΙ, είσοδος νερού; ΕΞ, έξοδος νερού; Α, αντλία; Η.Α., ηλεκτρική αντίσταση με θερμοστάτη; Θ, θάλαμος κολύμβησης; Κ.Κ., κανάλι κολύμβησης; Ψ, σύστημα ψύξης; Θ.Ο., αισθητήρας θερμοκρασίας και συγκέντρωσης οξυγόνου; Β, βαλβίδα ρύθμισης της κίνησης του νερού. Τα βέλη υποδεικνύουν την κίνηση του νερού.

2.2.2. Μεθοδολογία εκτίμησης της κολυμβητικής ικανότητας των ιχθυδίων λαβρακιού.

1. Κατά τη διάρκεια της φάσης 1A, στο κανάλι κολύμβησης τοποθετούνταν ένα ψάρι κάθε φορά σε ρεύμα νερού ίσο με 2 μήκη σώματος ανά δευτερόλεπτο (2 TL s^{-1}). Κατόπιν, το ρεύμα αυξανόταν με ρυθμό 1 TL s^{-1} κάθε 10 λεπτά μέχρι που το ψάρι κουραζόταν και ήταν ανίκανο να διατηρήσει κολυμβητική δραστηριότητα αντίθετα στο ρεύμα του νερού. Όταν αυτό παρασυρόταν από το ρεύμα χωρίς να μπορεί να αντιδράσει σε κανένα οπτικό ή ηχητικό ερέθισμα θεωρούνταν πλήρως εξουθενωμένο, οπότε συλλαμβάνονταν, αναισθητοποιούνταν (ethylenglycol-monophenylether, Merck, $0.2\text{--}0.3 \text{ ml l}^{-1}$) και ζυγίζονταν ($W, \pm 0.001 \text{ g}$). Στη συνέχεια μετρούνταν κάτω από στερεοσκόπιο (Olympus SZX 9) σειρά μετρικών χαρακτήρων ($\pm 0.01 \text{ mm}$) όπως: Ολικό μήκος (TL), μέγιστο πλάτος σώματος (BW), μέγιστο ύψος σώματος (BD_{max}), ύψος σώματος στην έδρα (BD) και ύψος στον ουραίο μίσχο (CpD) (Εικ. 2.3). Τέλος, εξετάζονταν η παρουσία μορφοανατομικών ανωμαλιών (Divanach *et al.*, 1996, 1997; Koumoundouros *et al.*, 1997a,b, 2001a) και στην περίπτωση που διαπιστώνονταν κάποιες τέτοιες ανωμαλίες, το ψάρι εξαιρούνταν από τη μελέτη.



Εικόνα 2.3: Μορφομετρικοί χαρακτήρες που μετρήθηκαν στα ιχθύδια λαβρακιού που υποβλήθηκαν σε δοκιμή κολύμβησης. TL, ολικό μήκος; BD_{max}, μέγιστο ύψος σώματος; BD, ύψος σώματος στην έδρα; CpD, ύψος στον ουραίο μίσχο. Το μέγιστο πλάτος σώματος (BW), δε διακρίνεται στο σχήμα.

Η κολυμβητική επίδοση εκτιμούνται με κριτήριο την κρίσιμη ταχύτητα κολύμβησης (critical swimming speed, U_{crit}) όπως αυτή ορίζεται από τον Brett (1964):

$$U_{crit} = U_i + [U_{ii}(t_i/t_{ii})],$$

όπου U_i η υψηλότερη ταχύτητα κολύμβησης (mm s^{-1}) που διατήρησε το εκάστοτε άτομο για ολόκληρο το χρονικό διάστημα των 10 λεπτών, U_{ii} το βήμα αύξησης της ταχύτητας (25, 30, 35 ή 40 mm s^{-1} , ανάλογα με το μέγεθος του κάθε ψαριού), t_i ο χρόνος (σε λεπτά) που το κάθε ψάρι κολύμπησε στην ταχύτητα που κουράστηκε, και t_{ii} το χρονικό διάστημα (στην προκειμένη μελέτη ήταν πάντα 10 λεπτά) που μεσολαβούσε ανάμεσα στις αυξήσεις του ρεύματος του νερού. Καθώς η μέγιστη εγκάρσια επιφάνεια των ψαριών που υποβλήθηκαν σε αυτήν τη δοκιμασία ήταν πάντα μικρότερη του 5% της εγκάρσιας επιφάνειας του καναλιού, δεν πραγματοποιήθηκαν τροποποιήσεις ή αναγωγές στις τιμές των αποτελεσμάτων λόγω φαινομένων στρέβλωσης του ρεύματος (Bell & Terhune, 1970).

Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι το σωστό κάθε φορά βήμα αύξησης της ταχύτητας (U_{ii}) είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την εξαγωγή αποτελεσμάτων ακριβείας καθώς είναι άμεσα σχετιζόμενο με το ολικό μήκος του ατόμου (το βήμα αύξησης κάθε φορά είναι ίσο με 1 TL s^{-1}). Επειδή όμως το εύρος των ολικών μηκών μέσα στον πληθυσμό των ψαριών κυμαινόταν από 25 έως 40 mm TL και η ακριβής μέτρηση του μήκους του ατόμου κάθε φορά πριν την κολύμβηση είναι αδύνατη (οι επιπρόσθετοι χειρισμοί του ατόμου θα οδηγούσαν σε μη ασφαλή αποτελέσματα καθώς η κολύμβηση είναι ιδιαίτερη συνάρτηση του stress (Kieffer, 2000) γινόταν εμπειρική εκτίμηση του μήκους του οπτικά. Μετά το πέρας όμως της κολύμβησης, όπου μετρούνταν το μήκος του στο στερεοσκόπιο, αν η μέτρηση δε συμφωνούσε με το βήμα που εφαρμοζόταν (25, 30, 35 ή 40 mm s^{-1}) ± 2.5 mm TL, τότε το άτομο εξαιρούνταν από τη μελέτη.

2. Σκοπός της φάσης 1B ήταν, αφού υπολογιστούν τα μέγιστα επίπεδα συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέως στους μύες ιχθυδίων λαβρακιού σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες νερού (15, 20 και 25°C) λόγω άσκησης, να εκτιμηθεί ο ρυθμός απομάκρυνσης αυτού μετά την άσκηση και κατά την περίοδο της ξεκούρασης (recovery).

Προς τούτο, υπεβλήθησαν σε κολύμβηση ιχθύδια λαβρακιού μέχρι την πλήρη εξουθένωσή τους, δηλαδή μέχρι να μη μπορούν πλέον να αντιδράσουν στο ρεύμα και να παρασύρονται από αυτό. Για να υπολογιστεί η ταχύτητα απομάκρυνσης του γαλακτικού οξέως από τους μύες, και άρα ο χρόνος που χρειάζεται ο οργανισμός για να επανέλθει σε φυσιολογικά επίπεδα (επίπεδα πριν την άσκηση) τα άτομα, μόλις διαπιστωνόταν η πλήρης εξουθένωσή τους, τοποθετούνταν σε χωριστά ενυδρεία (σε νερό της ίδιας θερμοκρασίας με αυτό της συσκευής κολύμβησης σε συνθήκες σκότους) μέχρι και τη στιγμή της δειγματοληψίας τους.

Στο σύνολό της, η διαδικασία κολύμβησης και δειγματοληψίας συνοψίζεται στα εξής:

- Αφού υπολογίζονταν το μέσο TL σε δείγμα 5 ατόμων, ρυθμίζονταν η συσκευή της κολύμβησης σε ρεύμα νερού ίσο με 2 TL/sec. Τα ψάρια τοποθετούνταν μέσα στο κανάλι τρεξίματος και κάθε 10 λεπτά η ταχύτητα αυξανόταν κατά περίπου 1,5-2 TL/sec μέχρι και την πλήρη εξουθένωση.
- Οι δειγματοληψίες που έγιναν στις τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες ήταν επτά κάθε φορά και συμπεριλάμβαναν:
 1. 5 άτομα πριν την άσκηση (A, αρχή άσκησης)
 2. 5 άτομα τη στιγμή της πλήρους εξουθένωσης (T, τέλος άσκησης)
 3. 5 άτομα που είχαν ξεκουραστεί για μισή ώρα (0,5h)
 4. 5 άτομα που είχαν ξεκουραστεί για μία ώρα (1h)
 5. 5 άτομα που είχαν ξεκουραστεί για τρεις ώρες (3h)
 6. 5 άτομα που είχαν ξεκουραστεί για έξι ώρες (6h)
 7. 5 άτομα που είχαν ξεκουραστεί για εννιά ώρες (9h)

3. Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την εκτίμηση της κολυμβητικής ικανότητας στα ιχθύδια λαβρακιού που προέρχονται από τις δύο διαφορετικές θερμοκρασίες ανάπτυξης είναι η ίδια με εκείνη του τμήματος 1 στη σελ. 20.

2.3 Μέτρηση γαλακτικού οξέως

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέως χρησιμοποιήθηκε ολοκληρωμένο σύστημα μέτρησης (κιτ) της «bioMerieux» (61 192) το οποίο είναι σχεδιασμένο για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέως στο πλάσμα και όχι στους ιστούς. Για το λόγο αυτό μετατρέψαμε τον ιστό σε διάλυμα μετρήσιμο από το κιτ εφαρμόζοντας τη διαδικασία που προτείνεται από τους (Barnett & Pankhurst, 1998) και περιγράφεται ως εξής:

Τα ψάρια –ανάλογα με τη δειγματοληψία- συλλέγονταν ατομικά και αναισθητοποιούνταν αμέσως (ethylenglycol-monophenylether, Merck, 0.2–0.3 ml l⁻¹). Κατόπιν, αφαιρούνταν ποσότητα ιστού ίση με 150mg από περιοχή του σώματος πίσω από την έδρα αποτελούμενο, όσο αυτό ήταν εφικτό (λόγω του μικρού μεγέθους των ατόμων), μόνο από άσπρους μύες. Ο ιστός καταψύχονταν αμέσως σε υγρό άζωτο και φυλάγονταν στους -80°C. Η επεξεργασία των ιστών έλαβε χώρα μετά από 2 περίπου μήνες καθώς η αποθήκευση σε αυτές τις θερμοκρασίες τους κρατάει αναλλοίωτους (τουλάχιστον όσον αφορά στη συγκέντρωση του γαλακτικού οξέως στους μύες, προσωπικά αδημοσίευτα αποτελέσματα).

Οι ιστοί ομογενοποιήθηκαν με χρήση ηλεκτρικού μαχαιριού (Ultra Turax) παρουσία 1,5ml 0,6M perchloric acid (PCA) για κάθε 150mg ιστού. Κατόπιν, το ομογενοποιημένο διάλυμα φυγοκεντρώνταν για 15 λεπτά στις 3000 σ.α.λ (Barnett & Pankhurst, 1998) και διαχωρίζονταν το υπερκείμενο διάλυμα στο οποίο μπορούσε να υπολογιστεί η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέως με τη βοήθεια του κιτ.

Για να ελεγχθεί η πιστότητα των μετρήσεων του φωτομέτρου, πραγματοποιήθηκε δοκιμή γραμμικότητας (**linearity test**) μετρώντας 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις του υπό μέτρηση διαλύματος: 100%, 80%, 60%, 40% και 20%.

2.4 Ανατομική και μορφομετρική εξέταση των ατόμων

2.4.1. Εσωτερική ανατομία

Για τη μελέτη της επίδρασης των υπό μελέτη περιβαλλοντικών συνθηκών (θερμοκρασία ανάπτυξης-ένταση ρεύματος) στην ανάπτυξη λόρδωσης, χρησιμοποιήθηκαν δείγματα από τους 16 πειραματικούς πληθυσμούς (2.1.2) που συλλέχθηκαν στο στάδιο των 40mm TL (Εικ. 2.1). Περίπου 200 άτομα από κάθε συνθήκη (100 από κάθε επανάληψη του πειράματος, Πίν. 2.1) συλλέχθηκαν τυχαία και ακτινογραφήθηκαν χρησιμοποιώντας το πρωτόκολλο των Koumoundouros *et al.* (2000).

Πίνακας 2.1: Αριθμός ατόμων (n) που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη της λόρδωσης στις 8 διαφορετικές ομάδες (συνθήκες). “20-” και “15-”, η θερμοκρασιακή προέλευση των ατόμων; “-75” “-50” “-25” “-0”, οι ρευματικές συνθήκες από τις οποίες προέρχονται.

Ομάδα	Θερμοκρ.	Ρεύμα (%)	n
15-0	15	0	197
15-25		25	191
15-50		50	188
15-75		75	189
20-0	20	0	198
20-25		25	192
20-50		50	194
20-75		75	201

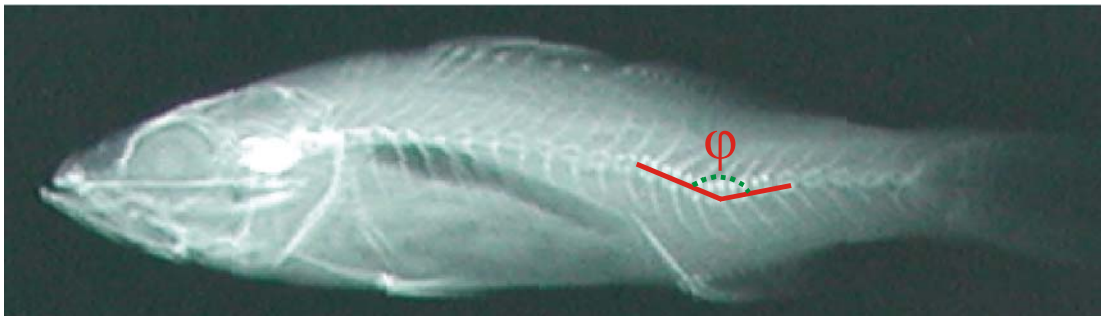
Ακολούθησε φωτογράφιση των ακτινογραφιών με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή (Olympus Camedia C3030 Zoom) ενώ η μελέτη των ατόμων έγινε τόσο στον υπολογιστή (στις ψηφιακές φωτογραφίες) όσο και μακροσκοπικά στις ίδιες τις ακτινογραφίες.

Για την ποσοτικοποίηση και περιγραφή της λόρδωσης, εξετάστηκαν 1 μετρικός και 4 μεριστικοί χαρακτήρες (Εικ. 2.4), ως εξής:

1. Η γωνία της λόρδωσης
2. Ο πρώτος παραμορφωμένος σπόνδυλος (V-αρχικός)

3. Ο τελευταίος παραμορφωμένος σπόνδυλος (V-τελικός)
4. Ο σπόνδυλος που βρίσκεται στο κέντρο της λόρδωσης (V-κεντρικός)
5. Ο αριθμός των παραμορφωμένων σπονδύλων (Σύνολο V)

Η γωνία της λόρδωσης μετριόταν στο κέντρο της παραμόρφωσης, δηλαδή στο σημείο που υπήρχε η καμπή στη σπονδυλική στήλη με τον τρόπο που φαίνεται στην εικόνα 2.4. Οι μετρήσεις έγιναν στον υπολογιστή πάνω στις φωτογραφίες με τη βοήθεια κατάλληλου λογισμικού πακέτου (Scion Image Analysis, Scion Corporation).



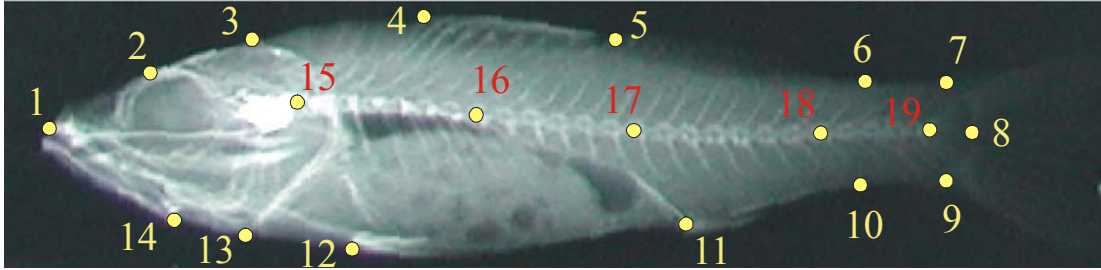
Εικόνα 2.4: Μέτρηση γωνίας σε λορδωτικό άτομο.

Οι γωνίες των φυσιολογικών ατόμων μετριόνταν στην περιοχή μεταξύ του 14^{ου} και του 18^{ου} σπονδύλου (σε εύρος 5 σπονδύλων) με κέντρο τον 16^ο σπόνδυλο.

Η αρίθμηση των σπονδύλων γινόταν με κατεύθυνση από το κεφάλι προς την ουρά (ουραία) ενώ ως παραμορφωμένοι σε ένα λορδωτικό άτομο λαμβάνονταν όλοι εκείνοι που συμμετείχαν στην παραμόρφωση.

2.4.2. Μορφομετρία

Για τη μελέτη του σχήματος των ιχθυδίων λαβρακιού χρησιμοποιήθηκαν 100 άτομα περίπου από κάθε συνθήκη, δηλαδή 50 ανά επανάληψη από εκείνα που ήδη είχαν ακτινογραφηθεί, φωτογραφηθεί και χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση της γωνίας της λόρδωσης (τμήμα 2.3.1).



Εικόνα 2.5: Τα 19 σημεία (landmarks) που χρησιμοποιήθηκαν στα ακτινογραφημένα ιχθυδία για τη μελέτη του σχήματος του σώματος. Με κίτρινο αναγράφονται τα σημεία που αντιστοιχούν σε κάποιο χαρακτηριστικό της εξωτερικής ανατομίας ενώ με κόκκινο εκείνα της εσωτερικής ανατομίας. Η ανατομική περιγραφή των σημείων δίνεται στον Πίνακα 2.2.

Το περίγραμμα των ψαριών οριοθετήθηκε από σημεία (landmarks) που τοποθετήθηκαν σε επιλεγμένα σημεία του σώματος και της σπονδυλικής στήλης πάνω στη φωτογραφία της ακτινογραφίας κάθε ατόμου (Εικ. 2.5; Πιν. 2.2) με τη χρήση κατάλληλου προγράμματος ανάλυσης εικόνας (Rohlf, 1996). Η μορφομετρία τους μελετήθηκε με τον υπολογισμό των αποστάσεων μεταξύ των σημείων με τη βοήθεια του Microsoft Excel και μέτρου αναφοράς (κλίμακα, που υπάρχει σε κάθε φωτογραφία) καθώς το πρόγραμμα ανάλυσης εικόνας υπολογίζει για κάθε σημείο μόνο τις x, y συντεταγμένες.

Η επιλογή των συγκεκριμένων αποστάσεων έγινε με τρόπο τέτοιο ώστε να περιγράφουν όσο το δυνατό πληρέστερα όλο το σχήμα του σώματος χρησιμοποιώντας το λεγόμενο «truss network» (Strauss & Bookstein, 1982) (Εικ. 2.6, 2.7) το οποίο με βάση προηγούμενες μελέτες (Junquera & Perez-Gandaras, 1993; Hauser *et al.*, 1995, 1998) δίνει πολύ καλά αποτελέσματα. Επίσης, στην επιλογή των σημείων καθοριστικό ρόλο έπαιξε το γεγονός ότι έπρεπε να είναι σταθερά σημεία της ανατομίας του ιχθυδίου (γι αυτό και στην πλειοψηφία τους είναι τοποθετημένα σε τμήματα του σκελετού) και να είναι εύκολα τοποθετήσιμα σε όλα τα άτομα ανεξαιρέτως (είτε αυτά ήταν φυσιολογικά είτε παρουσίαζαν αποκλίσεις από το φυσιολογικό πρότυπο). Συνολικά, τοποθετήθηκαν 19 σημεία (landmarks) σε κάθε άτομο, εκ των οποίων τα 14 πρώτα εφάπτονται σημείων της περιμέτρου του σώματος ενώ τα σημεία 15-19 τοποθετήθηκαν πάνω στη σπονδυλική στήλη (σημεία εσωτερικής ανατομίας).

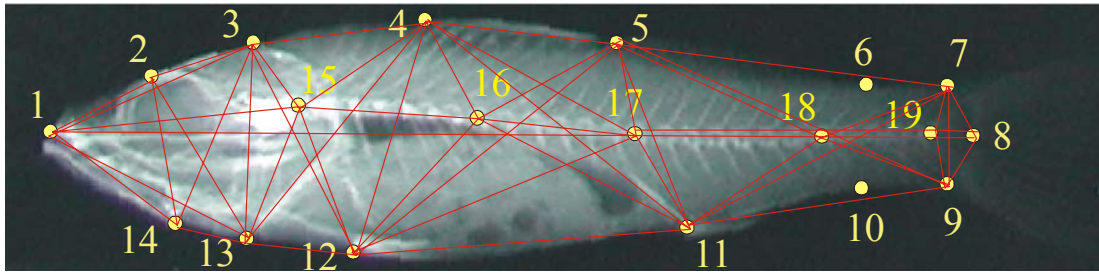
Όλες οι μετρήσεις έγιναν στην αριστερή πλευρά του σώματος των ιχθυδίων ώστε να μην επηρεαστούν τα δεδομένα από την πλευρική ασυμμετρία. Οι μετρήσεις

έχουν γίνει με ακρίβεια 0,1mm και όλες από τον ίδιο άνθρωπο ώστε να μην υπεισέλθει επιπλέον παράγοντας διαφοροποίησης.

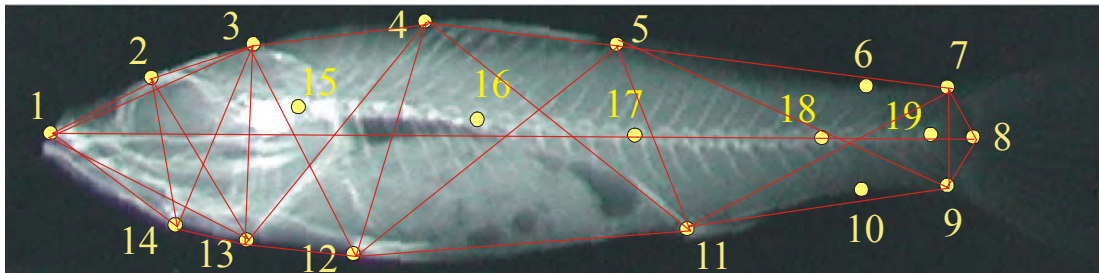
Πίνακας 2.2: Σημεία (landmarks) που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη του σχήματος του σώματος.

Σημείο	Θέση στο σώμα
1	Πρόσθιο άκρο του προγναθικού οστού
2	Μέση του νευροκρανίου, στην άπω νωτιαία περιοχή του οφθαλμού
3	Βάση του υπερ-ινιακού οστού
4	Πρόσθια βάση του 1 ^{ου} ραχιαίου πτερυγίου.
5	Πρόσθια βάση του 2 ^{ου} ραχιαίου πτερυγίου
6	Κάθετη νωτιαία προβολή του 22 ^{ου} σπονδύλου, στην άκρη του ουραίου μίσχου
7	Νωτιαία βάση του ουραίου πτερυγίου
8	Άπω άκρο των υποουραίων οστών
9	Κοιλιακή βάση του ουραίου πτερυγίου
10	Κάθετη κοιλιακή προβολή του 22 ^{ου} σπονδύλου, στην άκρη του ουραίου μίσχου
11	Πρόσθια βάση του εδρικού πτερυγίου
12	Βάση αριστερού κοιλιακού πτερυγίου
13	Κοιλιακή άκρη του κλείθρου.
14	Οπίσθιο άκρο του γωνιακού οστού.
15	1 ^ο κέντρο σπονδύλων
16	Μεταξύ του 7 ^{ου} και του 8 ^{ου} σπονδυλικού κέντρου
17	Μεταξύ του 13 ^{ου} και του 14 ^{ου} σπονδυλικού κέντρου
18	Μεταξύ του 20 ^{ου} και του 21 ^{ου} σπονδυλικού κέντρου
19	Βάση ουρόστυλου

Από τα 19 σημεία που φαίνονται στον πίνακα 2.2, υπολογίστηκαν όλες οι αποστάσεις (d) που χρειάζονται για την πλήρη περιγραφή του σχήματος του σώματος (Εικ. 2.6, 2.7), και είναι οι ακόλουθες: d1-2, d1-14, d14-2, d2-13, d3-14, d1-15, d15-16, d16-17, d17-18, d18-19, d3-15, d4-15, d12-15, d13-15, d4-16, d5-16, d11-16, d12-16, d4-17, d5-17, d11-17, d12-17, d11-18, d7-9, d7-8, d8-9, d5-18, d18-9, d18-7, **d1-8 (σταθερό μήκος, SL)**, d1-3, d1-13, d2-3, d3-13, d13-14, d3-4, d12-13, d3-12, d4-13, d4-5, d11-12, d12-4, d4-11, d5-12, d11-5, d5-7, d11-9, d5-9, d11-7, d19-8, d7-19 και d9-19.



Εικόνα 2.6: Αποστάσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση του σχήματος χρησιμοποιώντας όλα τα σημεία (σημεία 1 έως 19).



Εικόνα 2.7: Αποστάσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση του σχήματος χρησιμοποιώντας σημεία μόνο της εξωτερικής ανατομίας (σημεία 1 έως 14).

Σημείωση: Τα σημεία 6 και 10, αν και τοποθετήθηκαν αρχικά, στη συνέχεια δε συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση καθώς αποτελούν προβολές ενός σταθερού ανατομικού σημείου (22^ο σπονδυλικού κέντρου) και όχι σταθερά ανατομικά σημεία τα ίδια.

2.5 Ανάλυση Δεδομένων και Στατιστική επεξεργασία

2.5.1 Κολυμβήσεις

Η ανεξαρτησία της σχετικής (ως προς το μήκος) κρίσιμης ταχύτητας κολύμβησης (RU_{crit}) από το ολικό μήκος (TL) ελέγχθηκε εξετάζοντας την κλίση της ευθείας (1.1) σε σχέση με τη μονάδα (Koumoundouros *et al.*, 1999):

$$\log U_{crit} = a + b \cdot \log TL \quad (1.1)$$

Στη συνέχεια εξετάζεται η σχέση της RU_{crit} με τη θερμοκρασία (T) και τα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκαν στη μη γραμμική εξίσωση:

$$RU_{crit} = a \cdot T^2 + b \cdot T + c$$

Η μεταβολή του σχήματος του σώματος στο αναπτυξιακό εύρος που εξετάστηκε, μελετήθηκε με αναφορά στη σχέση αλλομετρίας (Huxley, 1932):

$$Y_i = a \cdot T L^b$$

Η αλλομετρική ή ισομετρική αύξηση του σώματος ελέγχθηκε εξετάζοντας τη διαφορά του b από τη μονάδα (για χαρακτήρες μιας διάστασης) ή από το 3 (για το σωματικό βάρος). Ο έλεγχος της υπόθεσης των διαφορών των κλίσεων από τις σταθερές τιμές (1 ή 3) έγιναν με το Student's t-test (Sokal and Rohlf, 1981).

Για τις συγκρίσεις των μέσων τιμών των διαφόρων μεταβλητών μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών-ομάδων εφαρμόστηκε η ανάλυση διασποράς (ANOVA). Όπου οι προϋποθέσεις¹ δεν πληρούνταν, χρησιμοποιήθηκε η μη παραμετρική δοκιμή των Mann-Whitney για δύο δείγματα, ενώ εκεί που αυτά ήταν περισσότερα χρησιμοποιήθηκε το Kruskal-Wallis test (Sokal and Rohlf, 1981).

2.5.2 Μορφολογική Ανάλυση

Η διαφοροποίηση της ανατομίας της λόρδωσης μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών του περιβάλλοντος ελέγχθηκε με ανάλυση διασποράς (ANOVA) και όπου δεν πληρούνταν οι συνθήκες που αναφέρθηκαν παραπάνω, με τις μη παραμετρικές δοκιμές των Mann-Whitney και Kruskal Wallis.

¹ οι προϋποθέσεις αυτές είναι δύο: α) κανονικότητα κατανομής δεδομένων και β) ομοιογένεια διασπορών μεταξύ των δειγμάτων.

Όλες οι μεταβλητές που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή του σχήματος εξαρτώνται από το μέγεθος και για αυτό το λόγο έπρεπε να προσαρμοστούν κατάλληλα (διαδικασία κανονικοποίησης). Αυτό έγινε μέσω της εξίσωσης αλλομετρίας $Y=a \cdot X^b$ κατά τρόπο τέτοιο ώστε η προσαρμοσμένη τιμή μιας μεταβλητής ενός ατόμου μεγέθους X_i ισούται με

$$Y_i^* = Y_i \left[\frac{X_0}{X_i} \right]^b,$$

όπου Y_i είναι η πραγματική τιμή της μεταβλητής Y , Y_i^* η προσαρμοσμένη τιμή και X_0 ένα αυθαίρετο μέγεθος αναφοράς (στην συγκεκριμένη περίπτωση ως μέγεθος αναφοράς χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος των σταθερών μηκών (SL) όλων των ψαριών της μελέτης που ήταν 38,6mm). Η κανονικοποίηση έγινε χρησιμοποιώντας κοινό b για όλο το σύνολο των ατόμων αφού τα b μεταξύ των επιμέρους κατηγοριών δε διέφεραν.

Αυτή η μέθοδος ανάγει τα άτομα ενός πληθυσμού σε ένα κοινό μέγεθος (38,6mm SL) διατηρώντας όμως την ατομική διαφοροποίηση και παράλληλα κανονικοποιεί τα δεδομένα (Tudela, 1999). Το μεγάλο της πλεονέκτημα είναι ότι διατηρεί τις σχέσεις αλλομετρίας των μορφομετρικών μεταβλητών μέσα σε κάθε ομάδα. Ο Reist (1985) σε μια συγκριτική εργασία του σχετικά με τις διαφορετικές τεχνικές κανονικοποίησης δεδομένων την κατέταξε ανάμεσα στις καλύτερες και από τότε έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλά είδη ψαριών με πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα (Ibanez & Lleonart, 1996; Tudela, 1999).

Για τον έλεγχο της επιτυχούς κανονικοποίησης των μεταβλητών (απαλλαγή από την επίδραση του μεγέθους), τόσο οι κανονικοποιημένες μεταβλητές όσο και οι λογάριθμοι των πρωτογενών μεταβλητών υποβλήθηκαν σε ανάλυση κυρίων συνιστωσών (Principal Components Analysis, PCA) και ακολούθως ελέγχθηκε η συσχέτιση των 5 πρώτων κυρίων συνιστωσών (PC1-PC5) με το τυπικό μήκος (SL).

Οι αναλύσεις που αφορούσαν στις διαφορές του σχήματος μεταξύ των ατόμων χωρίστηκαν σε δύο ενότητες:

1. Στη μελέτη της επίδρασης που έχει η παραμόρφωση (λόρδωση) των ιχθυδίων λαβρακιού στο σχήμα του σώματός τους. Αυτό έγινε με σύγκριση φυσιολογικών και παραμορφωμένων ατόμων. Επειδή όμως υπήρχε πολύ μεγάλη

διαφοροποίηση στην «ένταση» των παρατηρούμενων παραμορφώσεων (τόσο ως προς τη γωνία, όσο και ως προς τους εμπλεκόμενους σπονδύλους), έπρεπε να προηγηθεί κατηγοριοποίηση των παραμορφωμένων ατόμων έτσι ώστε η σύγκριση να γίνει μεταξύ κατηγοριών. Αυτή η κατηγοριοποίηση σε ομάδες έγινε με δύο τρόπους: α) με αναφορά στη γωνία της λόρδωσης που είναι ο μόνος χαρακτήρας που περιγράφει την έντασή της και την ποσοτικοποιεί και β) με αναφορά στον αριθμό των εμπλεκόμενων σπονδύλων στην παραμόρφωση (Σύνολο-V). Η μελέτη της επίδρασης της λόρδωσης στο σχήμα του σώματος πραγματοποιήθηκε και για τις δύο διαφορετικές κατηγοριοποιήσεις.

2. Στη μελέτη της επίδρασης των περιβαλλοντικών συνθηκών κατά την οντογένεση στο σχήμα του σώματός των ιχθυδίων λαβρακιού. Σε αυτήν την ενότητα επιχειρήθηκε σύγκριση των μορφολογικών διαφορών μεταξύ των φυσιολογικών ιχθυδίων λαβρακιού που αναπτύχθηκαν στις διαφορετικές συνθήκες (δύο θερμοκρασίες 15 και 20 °C και 4 ρευματικές συνθήκες: 0, 25, 50 και 75% ένταση ρεύματος). Από τη μελέτη εξαιρέθηκαν παντελώς τα άτομα με δυσπλασίες αφού ο σκοπός ήταν να διαπιστωθεί εάν υπάρχει κάποια επίδραση των συνθηκών στο φυσιολογικό πρότυπο του σχήματος. Τα φυσιολογικά άτομα που χρησιμοποιήθηκαν περιλαμβάνουν εκείνα που δεν έχουν καθόλου παραμορφωμένα στοιχεία στη σπονδυλική στήλη καθώς και τέσσερα ακόμη άτομα τα οποία είναι σχεδόν φυσιολογικά και έχουν μόνο 1 ή 2 ελαφρώς υπερ-ασβεστοποιημένους σπονδύλους και γωνία μεγαλύτερη των 170°. Συνεπώς, η μελέτη περιορίστηκε σε 21 φυσιολογικά άτομα στους 20 °C και 71 στους 15 °C τα οποία και χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση του σχήματος. Οι αναλύσεις που έγιναν χρησιμοποιούσαν ως παράγοντες διαχωρισμού αρχικά τις δύο θερμοκρασίες και στη συνέχεια τις 8 διαφορετικές συνθήκες μαζί (2 θερμοκρασίες x 4 ρευματικές συνθήκες).

Για τον προσδιορισμό των διαφορών στο σχήμα των διαφορετικών ομάδων μεταξύ των οποίων έγινε η σύγκριση, χρησιμοποιήθηκε πολυπαραγοντική ανάλυση διασποράς (MANOVA) και η “forward stepwise Discriminant Analysis” (DA). Σε αυτήν την ανάλυση οι μεταβλητές τοποθετούνται ανά μία κάθε φορά σύμφωνα με το κριτήριο «F to enter» (στην προκειμένη περίπτωση ήταν 1,00), ενώ μέσω της “Ανάλυσης Κανονικών Μεταβλητών” (Canonical Variate Analysis, CVA) αποδίδονται κανονικές μεταβλητές (Canonical Variates) που ταξινομούν τις

μεταβλητές κατά τρόπο ώστε να μεγιστοποιείται η διασπορά μεταξύ των διαφορετικών ομάδων σε σχέση με τη διασπορά μέσα στις ίδιες τις ομάδες.

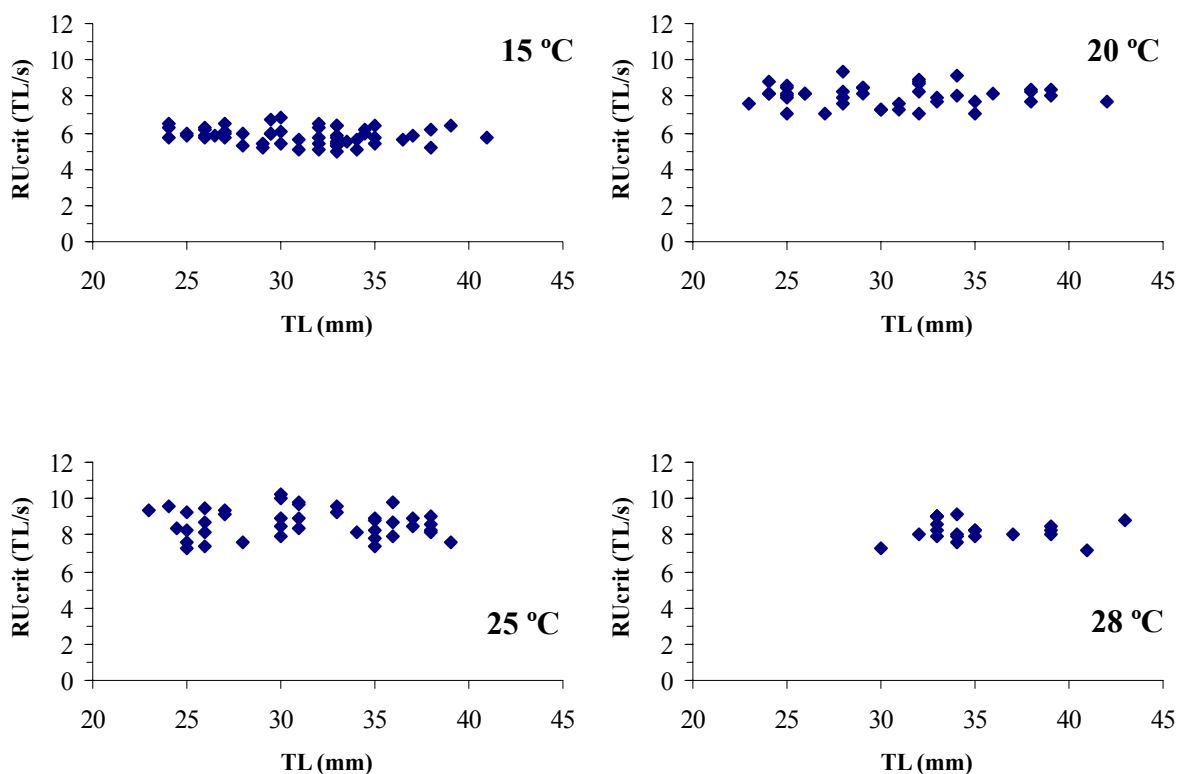
Όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή με τη βοήθεια του λογισμικού πακέτου «Statistica, 6» ενώ όλα τα σχέδια και η επεξεργασία των ακτινογραφιών έγιναν με το πρόγραμμα «Corel, 10».

Τέλος, στην προσπάθεια ανεύρεσης και καθορισμού κάποιου προτύπου ποιότητας βασισμένου στα μορφομετρικά δεδομένα των ατόμων, χρησιμοποιήθηκε διμεταβλητή στατιστική (bivariate statistics). Προς τούτο, όλες οι αποστάσεις μεταξύ των εξωτερικών σημείων υπολογίστηκαν και εκφράστηκαν σαν αναλογίες της απόστασης **d3-13** (σε mm). Η συγκεκριμένη απόσταση επιλέχθηκε διότι συνδέει δύο καλά συγκροτημένα σημεία της περιμέτρου του ψαριού που ελάχιστα επηρεάζονται από τη λόρδωση. Για αυτές τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε διαφορετική από ότι πριν (σελ.29) κατηγοριοποίηση ατόμων με βάση τη γωνία γιατί με αυτόν τον τρόπο παράγονται καλύτερα αποτελέσματα. Οι κατηγορίες που δημιουργήθηκαν ήταν 8: οι 7 πρώτες ήταν κλάσεις των 5° από τις 180° έως και τις 145° ενώ η τελευταία περιελάμβανε όλα τα πολύ έντονα παραμορφωμένα άτομα (<145°).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1.1 Επίδραση της θερμοκρασίας στην κολυμβητική ικανότητα

Σε όλες τις θερμοκρασίες που εξετάστηκαν, η κλίση της σχέσης του λογαρίθμου του U_{crit} με το λογάριθμο του TL δεν ήταν διαφορετική από τη μονάδα ($p > 0.05$, Πίν. 3.1) υποδηλώνοντας ότι η σχετική (του μήκους) κρίσιμη ταχύτητα ($RU_{crit} = U_{crit} TL^{-1}$) ιχθυδίων λαβρακιού μήκους από 23 έως 43 mm TL είναι ανεξάρτητη του μήκους. Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνεται από τη σταθερή RU_{crit} σε σχέση με το TL (Εικ. 3.1: $b=0$, $p > 0.05$).



Εικόνα 3.1: Σχέση της σχετικής κρίσιμης ταχύτητας κολύμβησης με το ολικό μήκος των ψαριών στις τέσσερις διαφορετικές θερμοκρασίες που εξετάστηκαν.

Η θερμοκρασία του νερού επηρεάζει σημαντικά την κολυμβητική ικανότητα των ιχθυδίων λαβρακιού (Πίν. 3.2): η καμπύλη που περιγράφει τη μεταβολή της σχετικής κρίσιμης ταχύτητας κολύμβησης (RU_{crit}) με τη θερμοκρασία (T) έχει παραβολική μορφή, δηλαδή: η RU_{crit} αυξάνει με την αύξηση της θερμοκρασίας μεταξύ 15 και 25 °C, ενώ μετά τους 25 °C μειώνεται (Εικ. 3.2). Η σχέση αυτή περιγράφεται από τη δευτεροβάθμια εξίσωση

$$RU_{crit} = -0.0323 \cdot T^2 + 1.578 \cdot T - 10.588 \quad (r^2=1),$$

όπου RU_{crit} η σχετική κρίσιμη ταχύτητα κολύμβησης και T η θερμοκρασία του νερού.

Η βέλτιστη θερμοκρασία για τη μέγιστη κολυμβητική ικανότητα συμπίπτει με το σημείο όπου ο ρυθμός αύξησης της RU_{crit} ισούται με το μηδέν (δηλ. το σημείο όπου η πρώτη παράγωγος της παραπάνω εξίσωσης είναι ίση με μηδέν):

$$dRU_{crit}/dT = -2 \cdot 0.0323 \cdot T + 1.578 = 0 \quad \text{ή}$$

$$T_{opt} = 24.4 \text{ } ^\circ\text{C}.$$

Η λύση της σχέσης RU_{crit} - T για τη βέλτιστη θερμοκρασία οδηγεί στο μέγιστο RU_{crit} (για $T=24.4 \text{ } ^\circ\text{C}$):

$$RU_{crit \ 24.4} = 8.69 \text{ TL s}^{-1}.$$

Αλλομετρική αύξηση του σώματος

Το μέγιστο ύψος του σώματος, BW , ακολουθεί ισομετρική αύξηση σε σχέση με το ολικό μήκος (συντελεστής ισομετρίας ίσος με 1: $p > 0.05$, Πίν. 3.1). Αντίθετα, οι συντελεστές αλλομετρίας του μέγιστου ύψους του σώματος, BD_{max} , του ύψους στην έδρα, BD , και στον ουραίο μίσχο, CpD , είναι μεγαλύτεροι από τη μονάδα ($p < 0.001$), δείχνοντας έτσι καθαρά ότι ακολουθούν θετική αλλομετρική αύξηση σε σχέση με το TL (Πίν. 3.1). Θετική αλλομετρική αύξηση ακολουθεί όμως και το βάρος του σώματος, W , σε σχέση με το ολικό μήκος αφού ο συντελεστής αλλομετρίας του είναι σημαντικά μεγαλύτερος από το 3 ($p < 0.001$, Πίν. 3.1).

Πίνακας 3.1: Παράμετροι της εξίσωσης ($Y=a \cdot TL^b$) της κρίσιμης ταχύτητας κολύμβησης και των μορφομετρικών χαρακτήρων που μελετήθηκαν (Y) σε σχέση με το ολικό μήκος (TL).

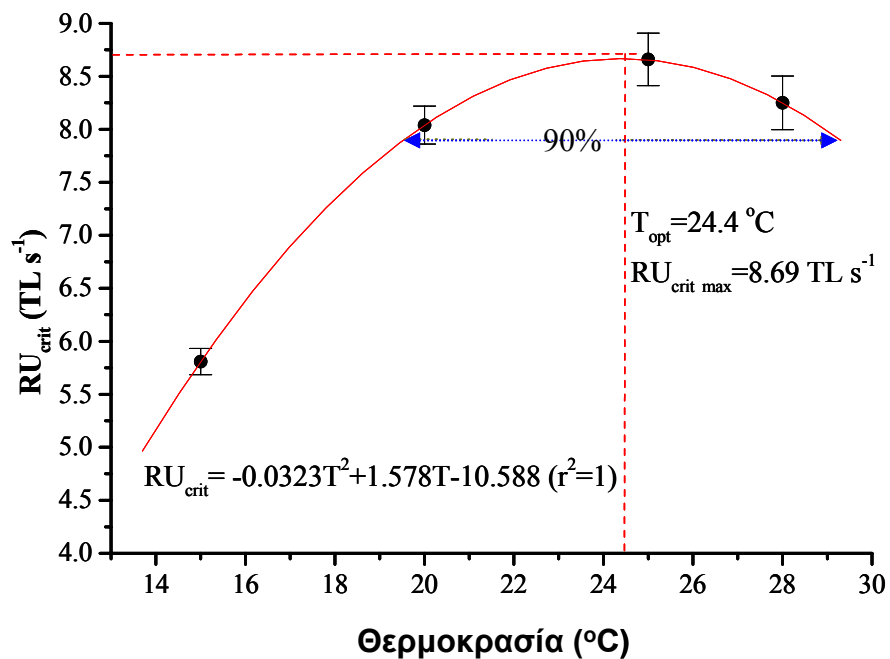
Χαρακτήρας	T (°C)	loga	b	SEa	SEb	r ²	n	t _b
U _{crit}	15	0.963	0.865	0.117	0.079	0.699	54	-
U _{crit}	20	0.931	0.982	0.104	0.071	0.829	42	-
U _{crit}	25	0.990	0.964	0.137	0.092	0.739	41	-
U _{crit}	28	0.964	0.969	0.267	0.173	0.623	21	-
W		-2.5396	3.2837	0.073	0.0489	0.967	158	***
BDmax		-1.0828	1.2185	0.0308	0.0206	0.957	158	***
BW		-0.9793	1.0082	0.0364	0.0244	0.916	158	-
BD		-1.3632	1.339	0.0354	0.0237	0.954	158	***
CpD		-1.3841	1.2063	0.0341	0.0228	0.947	158	***

b, συντελεστής αλλομετρίας; a, σταθερά της εξίσωσης αλλομετρίας; r², συντελεστής προσδιορισμού; n, αριθμός ατόμων; T, θερμοκρασία; t_b, έλεγχος υπόθεσης αλλομετρίας (b=1, ή στην περίπτωση του βάρους b=3); W, βάρος σώματος; BDmax, μέγιστο ύψος σώματος; BW, μέγιστο πλάτος σώματος; BD, ύψος στην έδρα; CpD, ύψος ουραίου μίσχου; U_{crit}, κρίσιμη ταχύτητα κολύμβησης; ***, p<0.001.

Πίνακας 3.2: Επίδραση της θερμοκρασίας του νερού στην σχετική κρίσιμη ταχύτητα κολύμβησης (RU_{crit}).

T (°C)	RU _{crit} (TL s ⁻¹)	SD	min	max	n
15	5.81	0.45	5.00	6.79	54
20	8.04	0.58	7.00	9.33	42
25	8.66	0.79	7.28	10.20	41
28	8.25	0.56	7.13	9.10	21

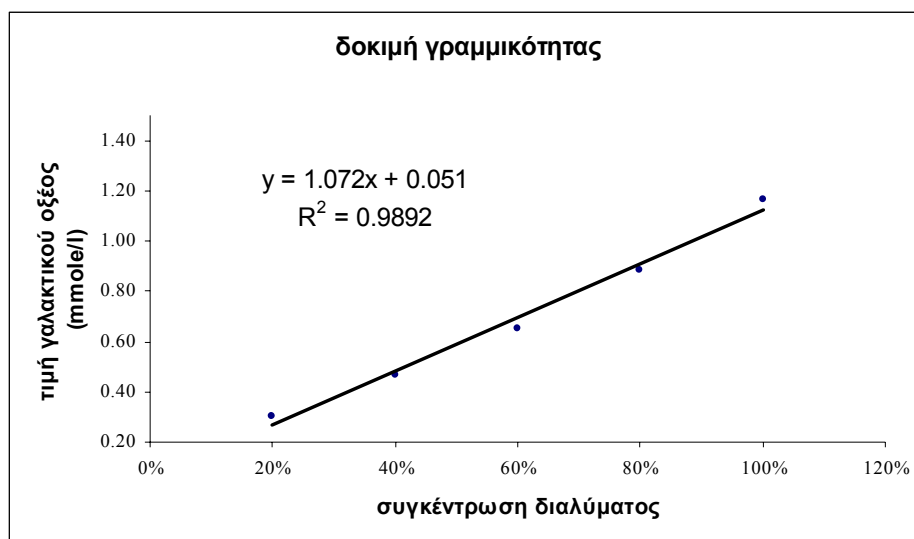
RU_{crit}, σχετική κρίσιμη ταχύτητα κολύμβησης; SD, standard deviation; n, αριθμός ατόμων; T, θερμοκρασία.



Εικόνα 3.2: Καμπύλη απόκρισης της σχετικής κρίσιμης ταχύτητας (RU_{crit}) σε σχέση με τη θερμοκρασία του νερού. Τα βέλη δείχνουν το θερμικό εύρος μέσα στο οποίο η RU_{crit} είναι μεγαλύτερη από το 90% της μέγιστης τιμής της. Οι μπάρες αντιπροσωπεύουν 2 standard errors.

3.1.2 Γαλακτικό οξύ

Η δοκιμή γραμμικότητας για την πιστοποίηση της ακρίβειας της μεθόδου έδωσε αρκετά καλό αποτέλεσμα (Εικ. 3.3).

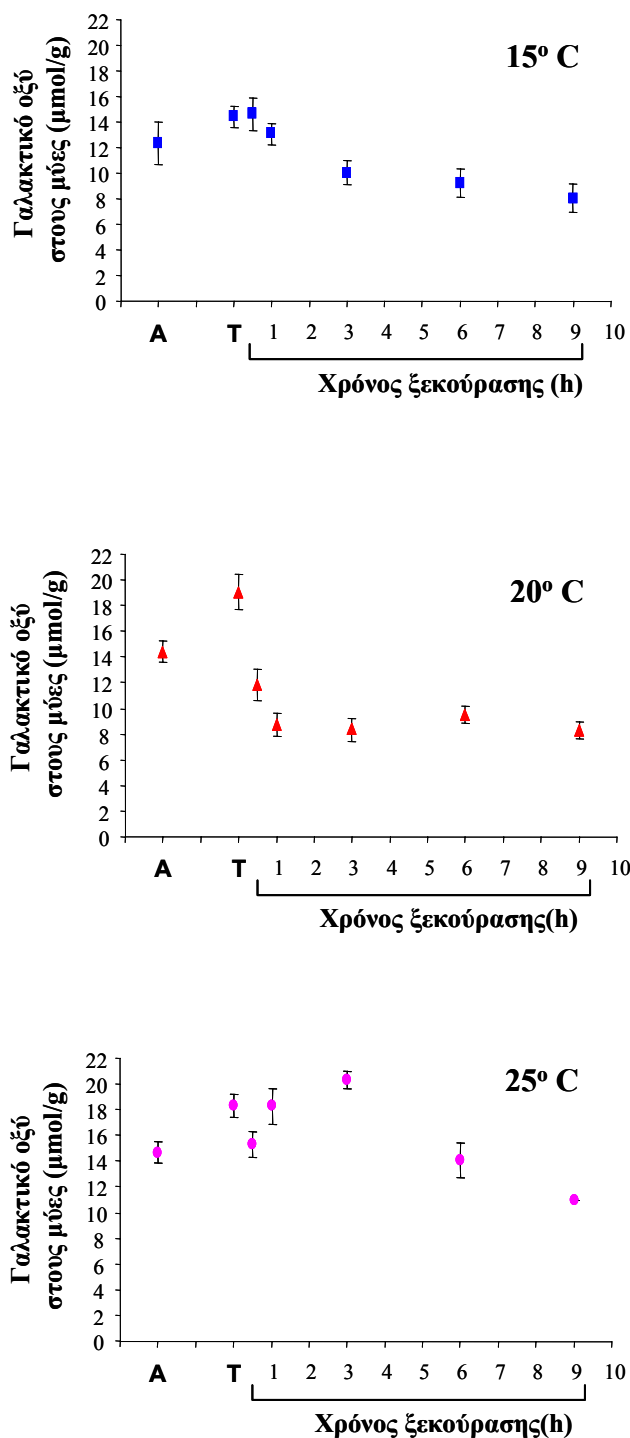


Εικόνα 3.3: Σχέση της μετρούμενης συγκέντρωσης γαλακτικού οξέως με την προκαθορισμένη συγκέντρωση του διαλύματος.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα δείγματα των ψαριών παρουσιάζονται στην εικόνα 3.4. Σε όλες τις περιπτώσεις, είναι εμφανής η αύξηση της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέως στους μύες κατά τη διάρκεια της άσκησης.

Στους 15 °C, την πρώτη μισή ώρα της ξεκούρασης τα επίπεδα του γαλακτικού οξέως στους μύες συνεχίζουν να αυξάνονται ενώ αντίθετα στους 20 °C αρχίζει η πτώση τους αμέσως μετά το τέλος της άσκησης (Εικ. 3.4).

Τα αποτελέσματα στους 25 °C είναι διαφορετικά από το πρότυπο που φαίνεται να ισχύει στις υπόλοιπες θερμοκρασίες, καθώς την πρώτη μισή ώρα μετά την άσκηση το γαλακτικό οξύ φαίνεται να έχει μειωθεί ενώ μετά αυξάνει και πάλι για να καταλήξει στην αναμενόμενη μείωση μετά τις 3 ώρες ξεκούρασης (Εικ. 3.4).



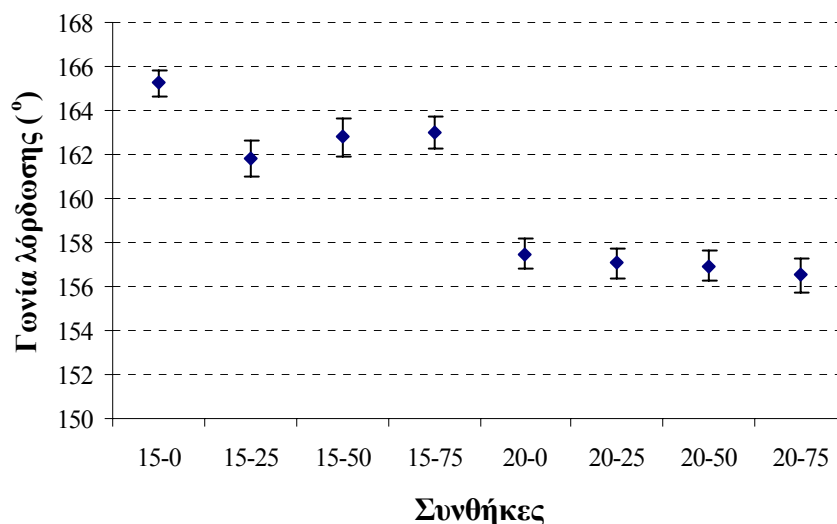
Εικόνα 3.4: Συγκέντρωση γαλακτικού οξέως κατά τη διάρκεια της άσκησης και της περιόδου ξεκούρασης στις 3 θερμοκρασίες. A, πριν την έναρξη της άσκησης. T, στο τέλος της άσκησης (πλήρη εξουθένωση των ψαριών). Οι μπάρες ισούνται με ± 1 S.E.

3.2 Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης και των ρευματικών συνθηκών στην ανάπτυξη λόρδωσης.

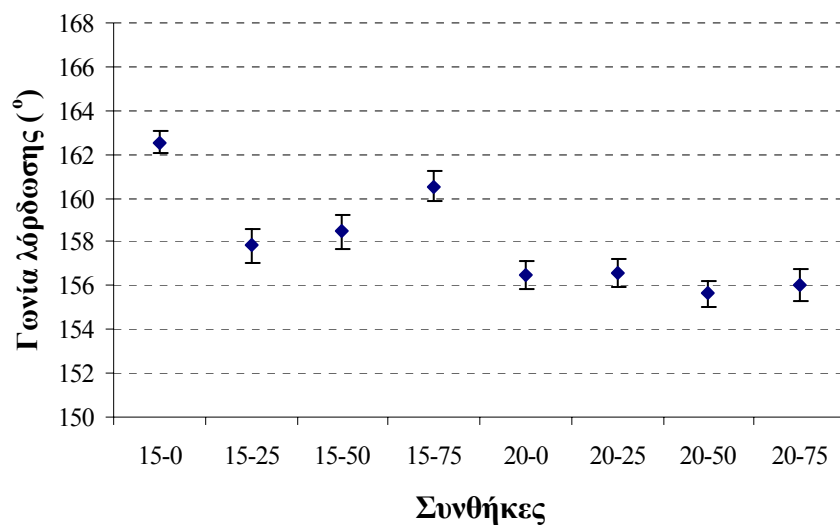
Όλα τα άτομα που εμφάνισαν παραμόρφωση είχαν λειτουργική νηκτική κύστη.

Οι πληθυσμοί που εκτράφηκαν στους 15 °C είχαν στο σύνολό τους αρκετά μεγαλύτερη μέση γωνία λόρδωσης από ότι εκείνοι που εκτράφηκαν στους 20 °C σε όλες τις ρευματικές συνθήκες (Εικ. 3.5). Το συμπέρασμα αυτό επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα της εικόνας 3.7 όπου το ποσοστό των φυσιολογικών ατόμων φαίνεται ότι είναι σχεδόν 4 φορές μεγαλύτερο για τα ψάρια που αναπτύχθηκαν στους 15 °C σε σύγκριση με τα ψάρια που αναπτύχθηκαν στους 20 °C.

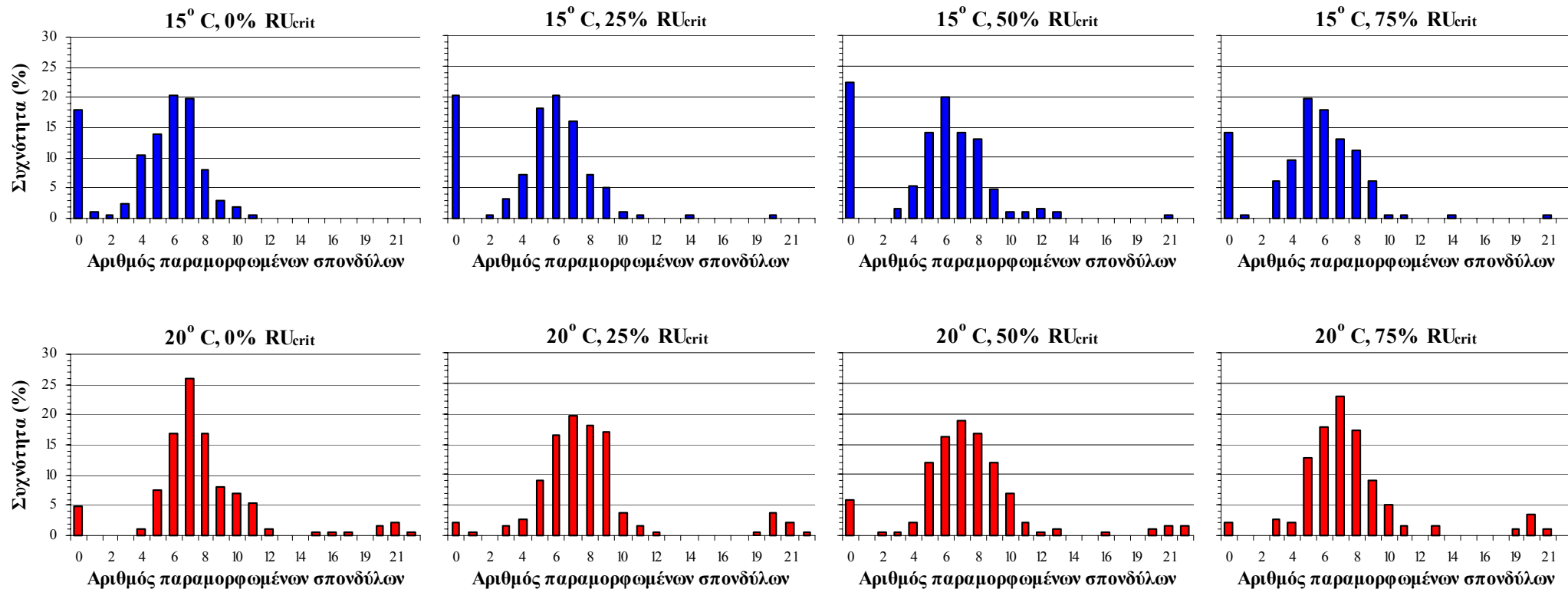
Ακόμη όμως και μέσα στα παραμορφωμένα άτομα υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση στην ένταση των παρατηρούμενων παραμορφώσεων ανάμεσα στις δύο θερμοκρασίες με τον πληθυσμό των 20 °C ξανά να παρουσιάζει χειρότερη εικόνα (Εικ. 3.6, 3.7, Πίν. 3.3).



Εικόνα 3.5: Μέση ($\pm 1SE$) γωνία λόρδωσης ($^{\circ}$) στις διαφορετικές συνθήκες (n=188-201)

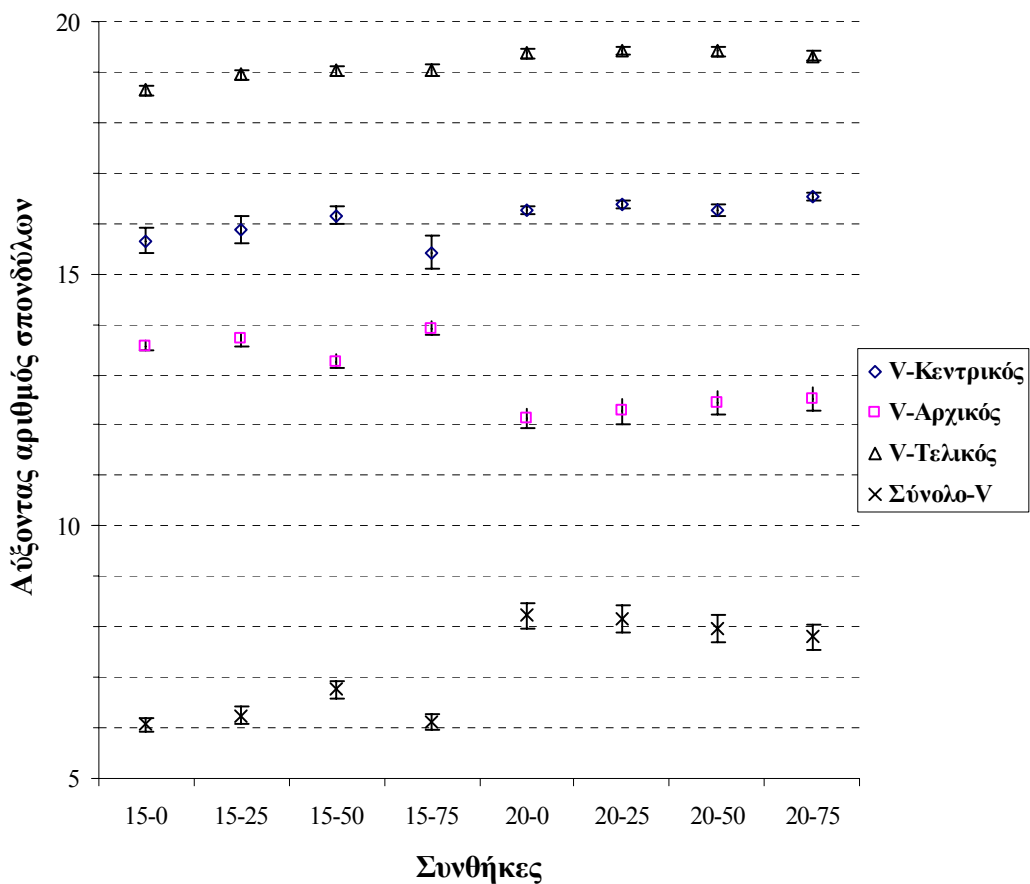


Εικόνα 3.6: Μέση ($\pm 1SE$) γωνία λόρδωσης ($^{\circ}$) των παραμορφωμένων ατόμων στις διαφορετικές συνθήκες ($n=149-193$). Οι στατιστικές διαφορές παρουσιάζονται στον πίνακα 3.3.



Εικόνα 3.7: Συχνότητα (%) κατανομής του αριθμού των παραμορφωμένων σπονδύλων στις διαφορετικές συνθήκες.

Στην εικόνα 3.8 δίνονται οι μέσες τιμές όλων των μεριστικών χαρακτήρων που εξετάστηκαν στα λорδωτικά άτομα. Είναι προφανές ότι οι πληθυσμοί των 15 και των 20 °C διαφέρουν μεταξύ τους στατιστικά σημαντικά όσον αφορά στον αριθμό των εμπλεκόμενων στην παραμόρφωση σπονδύλων και στην θέση του πρώτου και του τελευταίου παραμορφωμένου σπονδύλου (Εικ. 3.8, Πίν. 3.4-3.7). Εκεί που δε διαφέρουν (εκτός ελαχίστων περιπτώσεων) είναι στο παρατηρούμενο κέντρο της λόρδωσης το οποίο βρίσκεται στους σπονδύλους 15-17 (Εικ. 3.8, Πίν. 3.7).



Εικόνα 3.8: Μέσοι (± 1 SE) των διαφορετικών μεριστικών χαρακτήρων των λорδωτικών ατόμων στις διαφορετικές συνθήκες ($n=149-193$). Οι στατιστικές διαφορές παρουσιάζονται στους πίνακες 3.4-3.7.

Πίνακας 3.3: Στατιστικές διαφορές στη γωνία μεταξύ των παραμορφωμένων ατόμων στις διαφορετικές συνθήκες (Mann-Whitney U test). *******, $p < 0,001$; ******, $p < 0,01$; *****, $p < 0,05$; -, $p > 0,05$.

		15 C				20 C			
		0%	25%	50%	75%	0%	25%	50%	75%
15 C	0%		***	***	*	***	***	***	***
	25%			-	*	-	-	*	-
	50%				-	*	*	***	*
	75%					***	***	***	***
20 C	0%						-	-	-
	25%							-	-
	50%								-
	75%								-

Πίνακας 3.4: Στατιστικές διαφορές στον αριθμό των εμπλεκόμενων σπονδύλων (Σύνολο-V) μεταξύ των παραμορφωμένων ατόμων στις διαφορετικές συνθήκες (Mann-Whitney U test). *******, $p < 0,001$; ******, $p < 0,01$; *****, $p < 0,05$; -, $p > 0,05$.

		15 C				20 C			
		0%	25%	50%	75%	0%	25%	50%	75%
15 C	0%		-	*	-	***	***	***	***
	25%			*	-	***	***	***	***
	50%				**	***	***	***	**
	75%					***	***	***	***
20 C	0%						-	-	*
	25%							-	-
	50%								-
	75%								-

Πίνακας 3.5: Στατιστικές διαφορές στον αρχικό παραμορφωμένο σπόνδυλο (V-αρχικός) μεταξύ των παραμορφωμένων ατόμων στις διαφορετικές συνθήκες (Mann-Whitney U test). *******, $p < 0,001$; ******, $p < 0,01$; *****, $p < 0,05$; -, $p > 0,05$.

		15 C				20 C			
		0%	25%	50%	75%	0%	25%	50%	75%
15 C	0%		*	-	**	***	***	***	***
	25%			*	-	***	***	***	***
	50%				***	***	**	**	*
	75%					***	***	***	***
20 C	0%						*	*	**
	25%							-	-
	50%								-
	75%								-

Πίνακας 3.6: Στατιστικές διαφορές στον τελικό παραμορφωμένο σπόνδυλο (V-τελικός) μεταξύ των παραμορφωμένων ατόμων στις διαφορετικές συνθήκες (Mann-Whitney U test). *******, $p < 0,001$; ******, $p < 0,01$; *****, $p < 0,05$; -, $p > 0,05$.

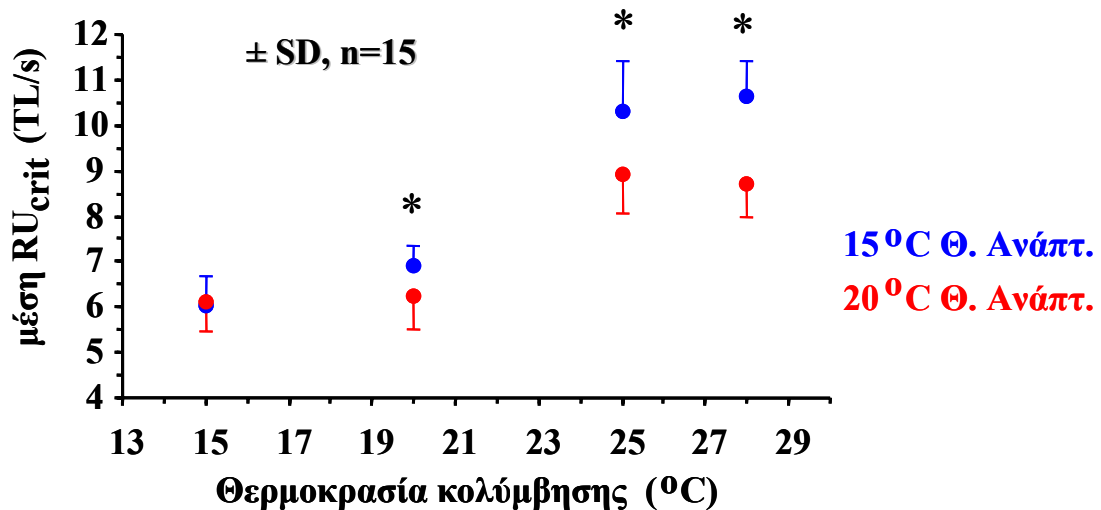
		15 C				20 C			
		0%	25%	50%	75%	0%	25%	50%	75%
15 C	0%		*	**	**	***	***	***	***
	25%			-	-	**	***	***	***
	50%				-	*	**	**	*
	75%					-	**	*	*
20 C	0%						-	-	-
	25%							-	-
	50%								-
	75%								

Πίνακας 3.7: Στατιστικές διαφορές στον κεντρικό σπόνδυλο της λόρδωσης (V-κεντρικός) μεταξύ των παραμορφωμένων ατόμων στις διαφορετικές συνθήκες (Mann-Whitney U test). *******, $p < 0,001$; ******, $p < 0,01$; *****, $p < 0,05$; -, $p > 0,05$.

		15 C				20 C			
		0%	25%	50%	75%	0%	25%	50%	75%
15 C	0%		**	*	**	-	**	**	***
	25%			-	-	*	-	-	-
	50%				-	-	-	-	*
	75%					*	-	-	-
20 C	0%						-	-	**
	25%							-	-
	50%								-
	75%								

3.3 Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης στην κολυμβητική ικανότητα

Τα αποτελέσματα της επίδρασης των δύο διαφορετικών θερμοκρασιών ανάπτυξης στην κολυμβητική ικανότητα που επιδεικνύουν τα ιχθύδια λαβρακιού μετά το πέρας της επίδρασης της θερμοκρασίας, απεικονίζονται συγκεντρωτικά στην εικόνα 3.9.



Εικόνα 3.9: Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης (15 και 20 °C) στην κολυμβητική ικανότητα ιχθυδίων λαβρακιού σε τέσσερις διαφορετικές θερμοκρασίες κολύμβησης: 15, 20, 25 και 28 °C. Οι κάθετες μπάρες αντιπροσωπεύουν 1 SD; *, $p < 0.05$.

Στην χαμηλότερη θερμοκρασία δοκιμασίας (15 °C), η κολυμβητική ικανότητα των ιχθυδίων που προέρχονται από τις δύο διαφορετικές θερμοκρασίες ανάπτυξης δεν διαφοροποιείται ($p > 0.05$, Mann-Whitney U test). Αντιθέτως, σε όλες τις υπόλοιπες περιπτώσεις, ο πληθυσμός των ψαριών που αναπτύχθηκαν στους 15 °C επιδεικνύει στατιστικά σημαντικά υψηλότερη κολυμβητική ικανότητα από τον πληθυσμό που αναπτύχθηκε στους 20 °C (Εικ. 3.9).

3.4 Επίδραση της λόρδωσης στη διαφοροποίηση του σχήματος του σώματος

Όπως έδειξαν τα αποτελέσματα της ανάλυσης κυρίων συνιστωσών των κανικοποιημένων μεταβλητών, η πρώτη κύρια συνιστώσα δεν συσχετίζεται με το μέγεθος (Πίν. 3.8), πιστοποιώντας την ορθότητα της μεθόδου κανονικοποίησης που εφαρμόστηκε. Αντίθετα, η PC1 αλλά και PC2 των λογαριθμοποιημένων μεταβλητών δεν ήταν ανεξάρτητες του μεγέθους (Πίν. 3.8).

Στην ανάλυση των κυρίων συνιστωσών (PCA) χρησιμοποιήθηκαν όλες οι μεταβλητές και όλα τα άτομα. Στην περίπτωση των κανονικοποιημένων μεταβλητών, το SL δεν μπήκε στην ανάλυση, αφού έχει 0 διασπορά. Η ανάλυση έγινε στον πίνακα συνδιακύμανσης (covariance matrix).

Πίνακας 3.8: Τιμές και στατιστικές διαφορές του συντελεστή συσχέτισης μεταξύ των πρώτων 5 συνιστωσών που προκύπτουν από την εφαρμογή της PCA στα λογαριθμοποιημένα και στα κανονικοποιημένα μορφομετρικά δεδομένα αντίστοιχα, και στο μέγεθος (σταθερό μήκος).

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Log X_i					
Ιδιοτιμή	0.0993	0.0047	0.0038	0.0026	0.0022
% Variance Explained	77.29	3.65	2.92	2.04	1.73
R (με το SL)	-0.9818	0.1372	-0.0435	0.0495	0.0213
p	0.0000	0.0001	0.2214	0.1640	0.5491
Κανονικοποιημένες X_i					
Ιδιοτιμή	2.0587	1.1626	0.8812	0.4843	0.4209
Variance Explained	27.08	15.30	11.60	6.37	5.54
R (με το SL)	0.0070	-0.0069	0.0006	0.0006	-0.0038
p	0.8433	0.8468	0.9855	0.9855	0.9155

Για τις κανονικοποιημένες μεταβλητές που είναι και το ζητούμενο στην παρούσα εργασία, φαίνεται ότι αφού $p > 0.05$ σε όλες τις περιπτώσεις, η συσχέτιση με το μέγεθος δεν είναι σημαντική (Πιν. 3.14). Από τη μελέτη των λογαριθμοποιημένων τιμών (πάνω μισό του πίνακα 3.8) φαίνεται ότι τόσο η PC1, όσο και η PC2 σχετίζονται σημαντικά με το μέγεθος

3.4.1 Μορφολογική διαφοροποίηση μεταξύ των ατόμων με βάση τη γωνία της λόρδωσης

Οι κατηγορίες των παραμορφωμένων ατόμων που προκύπτουν από τη σύγκριση με κριτήριο τη γωνία της παραμόρφωσης, είναι έξι στον αριθμό και φαίνονται στον πίνακα 3.9.

Πίνακας 3.9: Δημιουργούμενες ομάδες παραμορφωμένων ατόμων με βάση τη γωνία, μέσος όρος, SD, Min, Max και αριθμός ατόμων (n) σε κάθε ομάδα.

Ομάδα	Κλάση γωνιών	Mean	SD	Min	Max	n
0	173-180	177,3	1,9	173,0	180,0	115
1	166-173	169,3	2,0	166,0	172,9	128
2	159-166	162,3	2,0	159,1	166,0	189
3	152-159	155,8	2,0	152,0	158,9	201
4	145-152	149,4	1,8	145,2	152,0	104
5	<145	140,7	4,4	126,3	144,9	54

Η ομάδα 0 επί της ουσίας περιλαμβάνει όλα τα φυσιολογικά και κάποια ελαφρώς παραμορφωμένα άτομα που έχουν όμως γωνία λόρδωσης πάνω από 173° (Πίν. 3.9).

Η πολυπαραγοντική ανάλυση διασποράς (MANOVA) έδειξε μια συνολική στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των διαφορετικών ομάδων γωνιών όσον αφορά στους διάφορους μετρήσιμους χαρακτήρες (Wilks' $\lambda=0,34553$, $F_{100,3741}=9,1$, $p<0,001$). Συνολικά επιλέχθηκαν 20 χαρακτήρες από το μοντέλο (Πίν. 3.10).

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η Ανάλυση Κανονικών Μεταβλητών (Canonical Variate Analysis, CVA). Στον πίνακα 3.10 δίνονται οι κανονικοποιημένοι συντελεστές (standardized coefficients) για τους περισσότερο σημαντικούς χαρακτήρες και στους 5 κύριους άξονες που παράγει η CVA.

Η εξέταση των κανονικοποιημένων συντελεστών δείχνει ότι οι χαρακτήρες εκείνοι που συνεισφέρουν περισσότερο στο διαχωρισμό είναι οι **d11-17**, **d5-18**, **d17-18**, **d5-17**, **d11-16**, **d16-17** και ο **d4-17**, δηλαδή η πλειονότητα εκείνων που βρίσκονται στην

προσβαλλόμενη από τη λόρδωση περιοχή, κάτι που ήταν αναμενόμενο. Άλλωστε όπως φαίνεται ευδιάκριτα και στον πίνακα 3.10, οι 20 χαρακτήρες που επιλέχθηκαν από το μοντέλο για το διαχωρισμό είναι στη μεγάλη τους πλειοψηφία αποστάσεις γύρω και μέσα στην περιοχή της λόρδωσης.

Πίνακας 3.10: Κανονικοποιημένοι συντελεστές των 20 μορφομετρικών χαρακτήρων (Εικ. 2.5) που συμμετείχαν στην ανάλυση. Αθρ. %, Αθροιστική διασπορά που ερμηνεύεται από κάθε Κ. Αξ.; Κ. Αξ., Κανονικός άξονας της ανάλυσης μεταβλητών; % Αθρ. Μεταβλ., επί τοις εκατό αθροιστική μεταβλητότητα.

	Κ. Αξ. 1	Κ. Αξ. 2	Κ. Αξ. 3	Κ. Αξ. 4	Κ. Αξ. 5
d17-18	-0,07805	1,75075	-1,58063	-1,51745	0,68701
d5-17	-0,71260	0,95074	-0,34852	-1,67342	0,50062
d11-16	0,82789	-1,98134	1,33533	3,15073	-1,31152
d11-18	0,25524	-0,99319	0,89025	1,31439	-0,19904
d15-16	0,22362	1,34648	0,25300	1,21739	0,09643
d5-18	1,52365	-1,59225	2,14243	2,40565	-0,90507
d5-16	0,90871	-0,59448	1,28918	1,22771	-0,40136
d4-17	-0,74663	-1,42738	-0,24540	-0,93470	-0,54074
d12-15	-0,16549	-0,56532	-0,32487	0,38767	0,45660
d18-19	-0,02662	0,42916	0,31649	0,44993	-0,59216
d7-8	0,15922	-0,13066	0,42736	0,49432	-0,25555
d13-15	0,13602	0,10506	0,65568	0,01999	0,31703
d8-9	0,00437	0,29327	-0,34406	-0,02880	-0,05200
d4-16	0,36270	0,42075	-0,34553	0,70403	0,11669
d11-17	-1,02079	1,78835	-1,16290	-2,54588	0,86771
d16-17	-0,59201	3,12718	-0,98329	-1,23651	1,20695
d4-15	-0,25061	-0,50473	-0,29360	-0,17591	-0,54913
d1-14	0,03035	0,35814	-0,07032	0,26453	0,47481
d18-7	0,17056	0,13331	0,25901	0,24562	0,22328
d1-15	0,20803	0,34455	0,21574	0,75704	-0,47316
Ιδιοτιμή	1,43435	0,09642	0,04667	0,01928	0,01637
% Αθρ. Μεταβλ.	0,88920	0,94897	0,97790	0,98985	1,00000

Όπως φαίνεται και από τον πίνακα 3.10, οι πρώτοι δύο κανονικοί άξονες της CVA εξηγούν το 94,8% της παρατηρούμενης μεταβλητότητας στις διαφορετικές ομάδες παραμορφώσεων (η πρώτη το 88,9% και η δεύτερη το 9.6%) με 20 από τους μορφολογικούς χαρακτήρες εισηγμένους στην ανάλυση.

Από τη μελέτη των τετραγωνισμένων αποστάσεων Mahalanobis (Πίν. 3.11) είναι προφανές ότι όσο μεγαλώνει η γωνία σε ένα άτομο και αυτό μετακινείται από την ομάδα 0 προς την ομάδα 5, τόσο περισσότερο αυξάνει και η απόστασή του από την κατηγορία των φυσιολογικών.

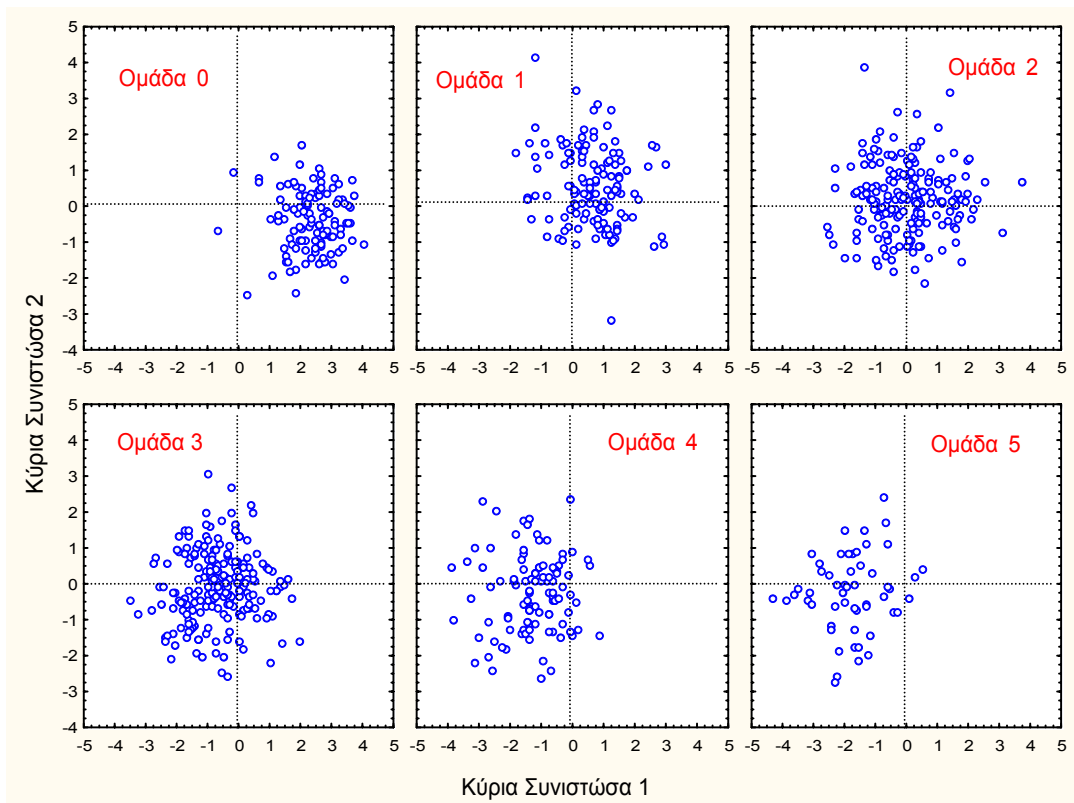
Πίνακας 3.11: Τετραγωνισμένες γενικευμένες αποστάσεις Mahalanobis μεταξύ των έξι ομάδων γωνιών και διαφορές στο σχήμα μεταξύ των ομάδων των διαφορετικών πληθυσμών με βάση τις αποστάσεις Mahalanobis. Με τα * σημειώνονται κάθε φορά οι διαφορές μεταξύ των ομάδων στα διαφορετικά επίπεδα σημαντικότητας. ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; -, $p > 0,05$.

	Ομάδα 0	Ομάδα 1	Ομάδα 2	Ομάδα 3	Ομάδα 4	Ομάδα 5
Ομάδα 0		3,96	6,04	9,44	13,49	17,66
Ομάδα 1	***		0,79	2,27	4,44	6,73
Ομάδα 2	***	***		0,67	2,11	4,06
Ομάδα 3	***	***	***		0,64	1,85
Ομάδα 4	***	***	***	**		0,79
Ομάδα 5	***	***	***	***	-	

Στον πίνακα 3.11 διακρίνονται επίσης οι διαχωρισμοί που προκύπτουν ανάμεσα στις ομάδες, με βάση τις γενικευμένες αποστάσεις Mahalanobis στα διαφορετικά επίπεδα σημαντικότητας. Όλες οι διαφορετικές ομάδες διαχωρίζονται μεταξύ τους με βάση το σχήμα τους σε πολύ υψηλά επίπεδα σημαντικότητας (Πίν. 3.11), εκτός των 2 τελευταίων ομάδων (Ομάδες 4 και 5 με γωνία $< 152^\circ$) που περιλαμβάνουν τα πολύ έντονα παραμορφωμένα άτομα.

Από τους 5 άξονες της CVA, μόνο οι 2 πρώτοι έχουν στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην απόδοση της μεταβλητότητας (δοκιμή χ^2 , $p < 0,001$).

Το παραπάνω αποτέλεσμα σε συνδυασμό με το γεγονός ότι οι 2 πρώτοι άξονες της CVA εξηγούν το 94,8% της μεταβλητότητας μεταξύ των ομάδων, οδηγεί στην γραφική απεικόνιση μόνο των 2 πρώτων αξόνων της CVA καθώς κρίνονται αρκετές (Εικ. 3.10).



Εικόνα 3.10: Γραφική απεικόνιση των 2 πρώτων αξόνων της Canonical Analysis για τις έξι ομάδες γωνιών (Ομάδα 0 έως ομάδα 5).

Ο πρώτος άξονας φαίνεται να διαχωρίζει τις ομάδες 0,1,2,3 και 4 μεταξύ τους, ενώ ο δεύτερος άξονας συμβάλλει κυρίως στο διαχωρισμό της ομάδας 1 από τις υπόλοιπες.

3.4.2. Μορφολογική διαφοροποίηση μεταξύ των ατόμων με αναφορά στον αριθμό των εμπλεκόμενων στην παραμόρφωση σπονδύλων

Οι κατηγορίες που προκύπτουν μεταξύ των ατόμων όταν αυτά κατηγοριοποιηθούν με αναφορά στον αριθμό των εμπλεκόμενων σπονδύλων είναι 4 (Πίν. 3.12).

Πίνακας 3.12: Δημιουργούμενες ομάδες παραμορφωμένων ατόμων με βάση τον αριθμό των εμπλεκόμενων σπονδύλων, μέσος όρος, SD, Min, Max και αριθμός ατόμων (n) σε κάθε ομάδα.

Ομάδα	Κλάση παρ. σπ.	Mean	SD	Min	Max	n
0	0-2	0,07	0,34	0	2	94
1	3-5	4,52	0,72	3	5	181
2	6-8	6,90	0,78	6	8	389
3	≥ 9	11,35	4,00	9	22	127

Η χρήση της MANOVA και σε αυτήν την περίπτωση έδειξε μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των διαφορετικών ομάδων που χρησιμοποιήθηκαν όσον αφορά στους διάφορους μετρήσιμους χαρακτήρες (Wilks' $\lambda=0,32971$, $F_{57,2293}=18,141$, $p<0,001$). Οι χαρακτήρες που επιλέχθηκαν συνολικά από το μοντέλο ήταν 19 (Πίν. 3.13).

Η CVA για τους 19 χαρακτήρες που συμμετέχουν στο διαχωρισμό των κατηγοριών δίνεται στον πίνακα 3.13. Οι 2 πρώτοι κανονικοί άξονες της CVA αποδίδουν το 97,7% της μεταβλητότητας, ενώ ο 1^{ος} μόνος του το 89,6%.

Η εξέταση των κανονικοποιημένων συντελεστών δείχνει ότι οι χαρακτήρες εκείνοι που συνεισφέρουν περισσότερο στο διαχωρισμό είναι οι, **d17-18**, **d4-15**, **d11-17**, **d5-18** και ο **d11-16**, δηλαδή αποστάσεις που βρίσκονται στην προσβαλλόμενη από τη λόρδωση περιοχή και σχεδόν οι ίδιες με εκείνες που διαχωρίζουν τις διαφορετικές ομάδες γωνιών όπως αναφέρθηκε παραπάνω (σελ. 46). Από τις τιμές του πίνακα των τετραγωνισμένων αποστάσεων Mahalanobis (3.14), είναι ξεκάθαρο ότι και σε αυτήν την περίπτωση, όσο μεγαλώνει η γωνία σε ένα άτομο και αυτό μετακινείται από την ομάδα 0 προς την ομάδα 5, τόσο περισσότερο αυξάνει και η απόστασή του από την κατηγορία των φυσιολογικών.

Πίνακας 3.13: Κανονικοποιημένοι συντελεστές των 19 μορφομετρικών χαρακτήρων (Εικ. 2.5) που συμμετείχαν στην ανάλυση. Αθρ. %, Αθροιστική διασπορά που ερμηνεύεται από κάθε Κ. Αξ.; Κ. Αξ., Κανονικός άξονας της CVA; % Αθρ. Μεταβλ., επί τοις εκατό αθροιστική μεταβλητότητα.

	Κ. Αξ. 1	Κ. Αξ. 2	Κ. Αξ. 3
d17-18	-0,955779	-0,427811	0,151437
d16-17	-0,230639	1,164856	-0,084184
d11-16	0,732264	-0,525593	0,249085
d11-18	0,295124	0,108468	0,255488
d11-17	-0,454107	0,593012	-0,160232
d4-15	-0,103854	-0,409231	0,882457
d12-16	0,379377	-0,067910	-0,453451
d3-14	0,081708	-0,225212	-0,221355
d7-8	-0,184930	-0,180016	-0,097677
d5-16	0,191699	0,065814	-0,004827
d15-16	0,394124	0,397139	0,056971
d12-17	-0,250170	-0,379425	0,679117
d18-19	0,135860	0,171347	0,238388
d3-15	0,171195	0,145997	0,091574
d4-17	-0,251415	-0,231320	0,074097
d1-14	0,045691	-0,291321	0,333643
d2-13	-0,075039	0,104218	-0,379294
d18-7	-0,012407	-0,374514	0,011408
d7-9	0,137041	0,317371	0,152088
Ιδιοτιμή	1,559972	0,139457	0,039763
% Αθρ. Μεταβλ.	0,896952	0,977137	1,000000

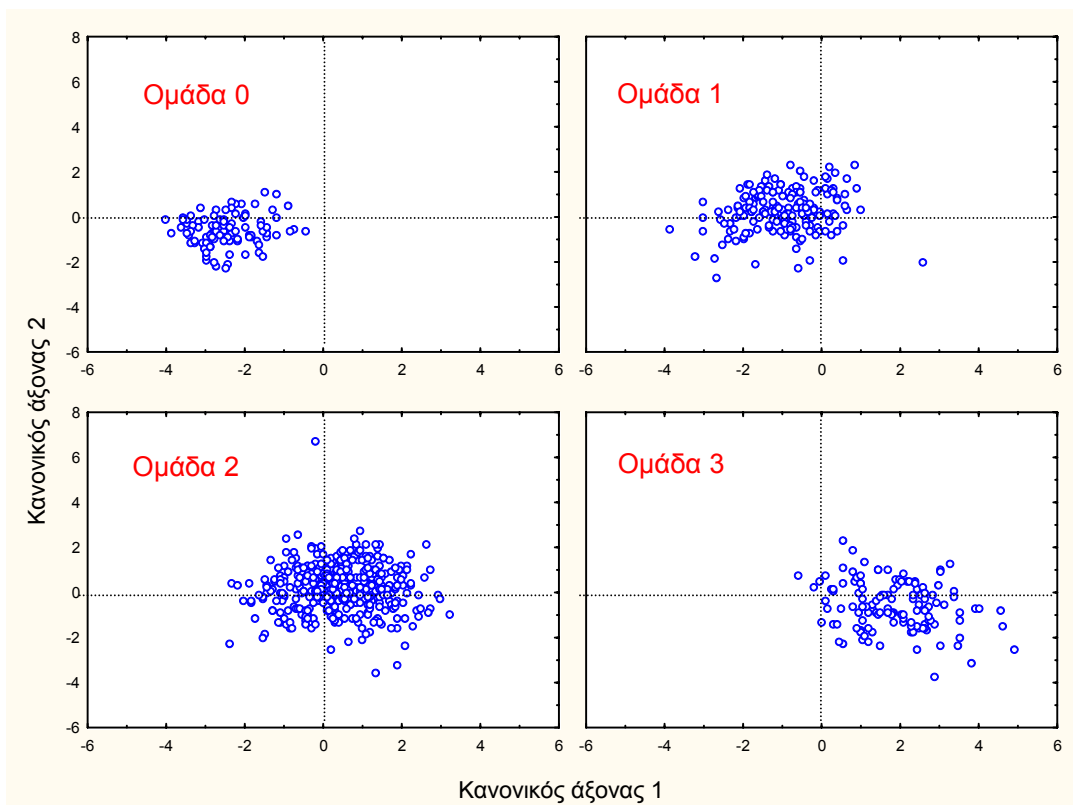
Πίνακας 3.14: Τετραγωνισμένες γενικευμένες αποστάσεις Mahalanobis μεταξύ των τεσσάρων ομάδων σπονδύλων και διαφορές στο σχήμα μεταξύ των ομάδων με βάση τις αποστάσεις Mahalanobis. Με τα * σημειώνονται κάθε φορά οι διαφορές μεταξύ των ομάδων στα διαφορετικά επίπεδα σημαντικότητας. ***, p<0,001.

	Ομάδα 0	Ομάδα 1	Ομάδα 2	Ομάδα 3
Ομάδα 0		3,12	8,96	18,56
Ομάδα 1	***		2,13	8,61
Ομάδα 2	***	***		2,77
Ομάδα 3	***	***	***	

Σε αυτήν την περίπτωση (σε αντίθεση με πριν) όλες οι ομάδες διαχωρίζονται στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (p<0,001) (Πίν. 3.14).

Από τους 3 κανονικούς άξονες της CVA, μόνο οι 2 πρώτοι έχουν στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην απόδοση της μεταβλητότητας (δοκιμή χ^2 , $p < 0,001$). Επομένως η γραφική απεικόνιση μόνο των 2 πρώτων αξόνων της CVA (Εικ. 3.11) επαρκεί για τη γραφική απεικόνιση των διαφοροποιήσεων.

Ο πρώτος άξονας στην περίπτωση της εικόνας 3.11 φαίνεται ότι διαχωρίζει όλες τις ομάδες ξεκάθαρα μεταξύ τους.



Εικόνα 3.11: Γραφική απεικόνιση των 2 πρώτων αξόνων της CVA για τις τέσσερις ομάδες γω-νιών (Ομάδα 0 έως ομάδα 3).

3.4.3. Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης στη διαφοροποίηση του σχήματος του σώματος.

Η MANOVA που πραγματοποιήθηκε, έδειξε μια στατιστικά σημαντική διαφορά στα άτομα των δύο θερμοκρασιών όσον αφορά στο σχήμα του σώματός τους (Wilks'λ=0,49169, $F_{8,83}=10,726$, $p<0,001$). Οι χαρακτήρες που επιλέχθηκαν συνολικά από το μοντέλο ήταν 8 (Πίν. 3.15)

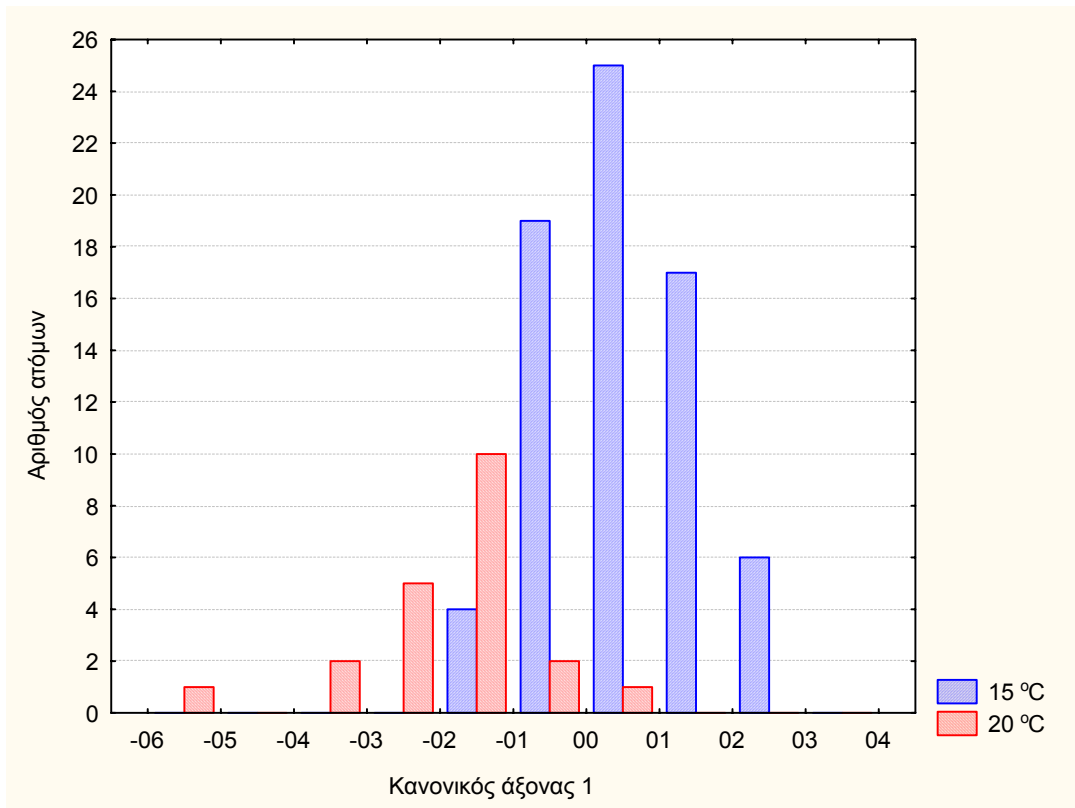
Η ανάλυση CVA για τους 8 χαρακτήρες που συμμετέχουν στο διαχωρισμό των κατηγοριών δίνεται στον πίνακα 3.15, ενώ το ιστόγραμμα των τιμών του 1^{ου} κανονικού άξονα της CVA απεικονίζεται στην εικόνα 3.12.

Πίνακας 3.15: Κανονικοποιημένοι συντελεστές των 8 μορφομετρικών χαρακτήρων (Εικ. 2.5) που συμμετείχαν στην ανάλυση. Αθρ. %, Αθροιστική διασπορά που ερμηνεύται από τον Κ. Άξ.; Κ. Άξ., Κανονικός άξονας της CVA; % Αθρ. Μεταβλ., επί τοις εκατό αθροιστική μεταβλητότητα.

	Κ. Άξ. 1
d18-7	0,999423
d5-17	-0,454640
d12-15	0,947677
d7-9	-0,534287
d5-18	-0,310208
d1-2	-0,336038
d17-18	-0,347592
d18-9	-0,387844
Ιδιοτιμή	1,033818
% Αθρ. Μεταβλ.	1,000000

Η τετραγωνισμένη απόσταση Mahalanobis ανάμεσα στους δύο πληθυσμούς υπολογίζεται σε **5,86**.

Τέλος, το συνολικό ποσοστό επανατοποθέτησης των ατόμων στους δύο πληθυσμούς είναι ιδιαίτερα υψηλό (91,3%, Πίν. 3.16).



Εικόνα 3.12: Ιστόγραμμα των τιμών του 1^{ου} κανονικού άξονα της CVA για τις παρατηρούμενες τιμές των ατόμων των δύο πληθυσμών.

Πίνακας 3.16: Ταξινόμηση των ατόμων στους δύο πληθυσμούς (15 °C και 20 °C) βάση των αποτελεσμάτων της ανάλυσης διαχωρισμού. Στήλες, παρατηρούμενες ταξινομήσεις; Γραμμές, προβλεπόμενες ταξινομήσεις.

	Ποσοστό	15 °C	20 °C
15 °C	90,14	64	7
20 °C	95,24	1	20
Σύνολο	91,30	65	27

3.4.4. Επίδραση όλων των περιβαλλοντικών συνθηκών (θερμοκρασία ανάπτυξης και ρευματικές συνθήκες) στη διαφοροποίηση του σχήματος του σώματος

Σε αυτήν την περίπτωση η ανάλυση έγινε με τις 8 ομάδες ατόμων (Πίν. 3.17)

Πίνακας 3.17: Ομάδες ατόμων με βάση τη θερμοκρασία ανάπτυξης και το ρεύμα νερού μέσα στη δεξαμενή και αριθμός ατόμων (n) σε κάθε ομάδα.

Ομάδα	Θερμοκρ.	Ρεύμα (%)	n
15-0	15	0	19
15-25		25	17
15-50		50	21
15-75		75	14
20-0	20	0	6
20-25		25	3
20-50		50	8
20-75		75	4

Η MANOVA έδειξε μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των διαφορετικών ομάδων που χρησιμοποιήθηκαν όσον αφορά στους διάφορους μετρήσιμους χαρακτήρες (Wilks' $\lambda=0,03223$, $F_{133,446}=2,2892$, $p<0,001$). Οι χαρακτήρες που επιλέχθηκαν συνολικά από το μοντέλο ήταν 19 (Πίν. 3.18).

Η CVA για τους 19 χαρακτήρες που συμμετέχουν στο διαχωρισμό των κατηγοριών δίνεται στον πίνακα 3.18). Οι 3 πρώτοι κανονικοί άξονες της CVA αποδίδουν το 74,2% της μεταβλητότητας, ενώ οι 2 πρώτες το 54,3%.

Πίνακας 3.18 Κανονικοποιημένοι συντελεστές των 19 μορφομετρικών χαρακτήρων (Εικ. 2.5) που συμμετείχαν στην ανάλυση. Αθρ. %, Αθροιστική διασπορά που ερμηνεύται από κάθε Κ. Άξ.; Κ. Άξ., Κανονικός άξονας της CVA; % Αθρ. Μεταβλ., επί τοις εκατό αθροιστική μεταβλητότητα.

	Κ. Άξ. 1	Κ. Άξ. 2	Κ. Άξ. 3	Κ. Άξ. 4	Κ. Άξ. 5	Κ. Άξ. 6	Κ. Άξ. 7
d5-17	0,3200	0,8619	0,7444	0,0798	0,0592	0,0645	-0,2731
d18-7	1,5761	0,6393	0,1905	-0,2125	-0,3856	0,0418	-0,1058
d12-15	0,3299	-0,4950	0,1994	0,0099	-1,4588	1,0843	-0,2890
d7-9	-0,0756	-0,3079	0,6990	0,9452	-0,1123	-0,2753	0,3176
d1-2	-0,5867	0,3962	-0,2748	-0,5399	0,0522	0,1539	0,3162
d17-18	-0,5165	0,0294	0,4491	-0,1370	0,5057	0,6132	-0,1246
d4-15	-0,7712	-0,1026	-0,5727	-0,6473	-0,3311	-0,5976	0,0453
d15-16	0,9642	0,6196	0,1236	0,7245	0,5555	0,0908	-0,0183
d11-17	0,1940	0,4451	0,1383	-0,6929	-0,3998	1,0448	0,4167
d18-9	-0,967	-0,1464	-0,3058	-0,4263	0,1916	0,0501	0,1697
d12-16	-0,3858	-1,1441	-0,3042	-0,1262	1,1750	-1,4540	-0,7005
d4-16	-0,1694	-0,4976	0,4084	-0,4283	0,1484	-0,1903	0,2483
d13-15	0,0974	0,5864	-0,7329	-0,3940	0,3318	-0,4240	-0,0779
d14-2	-0,5055	-0,8360	0,4299	-0,4406	-0,2320	-0,4608	0,2319
d3-14	0,2342	0,6323	-0,2385	0,6072	-0,2436	0,6156	-0,1010
d12-17	0,2587	0,5288	0,5940	-0,4199	-0,3789	1,1521	1,2413
d11-16	0,2047	-0,1323	0,2219	0,3400	0,8062	-1,1085	-0,3307
d1-14	0,3628	0,1684	0,3824	0,1851	0,5525	0,6656	-0,3706
d5-16	0,1726	-0,4519	-0,0571	0,2143	0,0756	0,1121	0,0123
Ιδιοτιμή	1,4148	1,2456	0,9729	0,5692	0,3408	0,2600	0,0938
% Αθρ. Μεταβλ.	0,2888	0,5432	0,7419	0,8581	0,9277	0,9808	1,0000

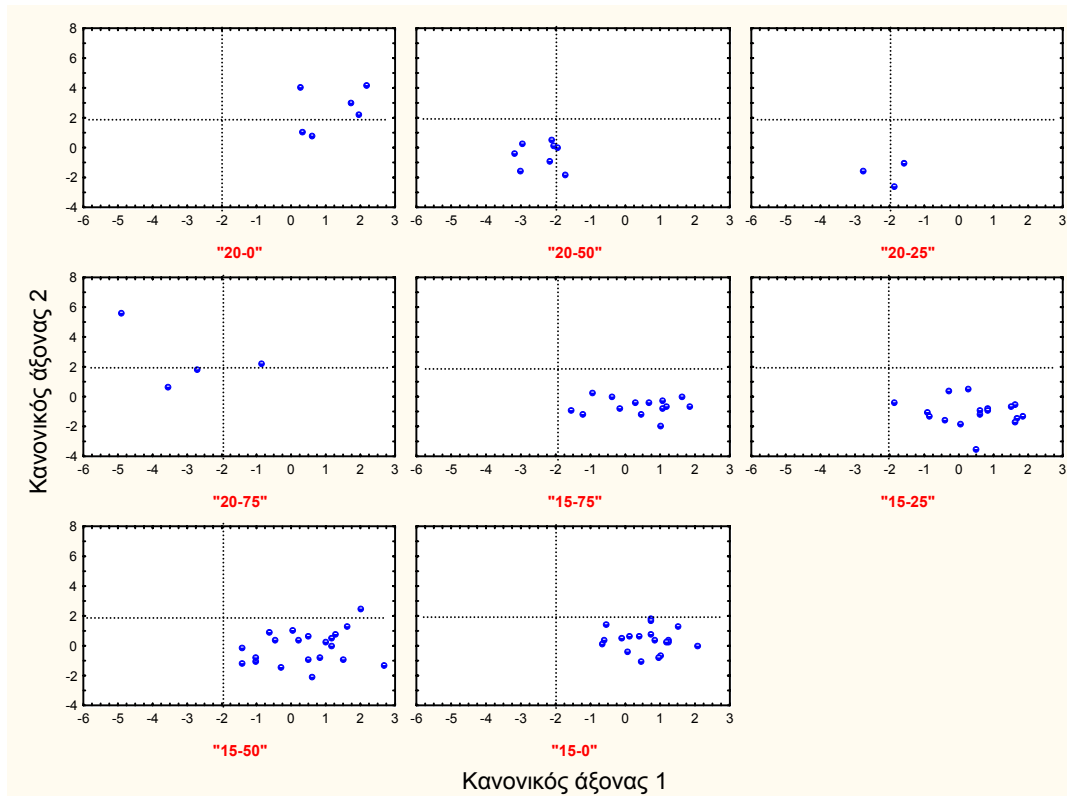
Η εξέταση των κανονικοποιημένων συντελεστών δείχνει ότι οι χαρακτήρες εκείνοι που δε συνεισφέρουν σημαντικά στο διαχωρισμό είναι μόνο έξι (d5-16, d1-14, d4-16, d11-17, d12-15 και ο d11-16) ενώ όλοι οι υπόλοιποι συμμετέχουν.

Σύμφωνα με τις αποστάσεις Mahalanobis, οι συνθήκες των “20-0” και “15-0” φαίνεται να διαχωρίζονται περισσότερο από όλες τις υπόλοιπες, ενώ με εξαίρεση την “20-25”, όλες οι συνθήκες διαχωρίζονται ανάμεσα στις δύο θερμοκρασίες (Πίν. 3.19).

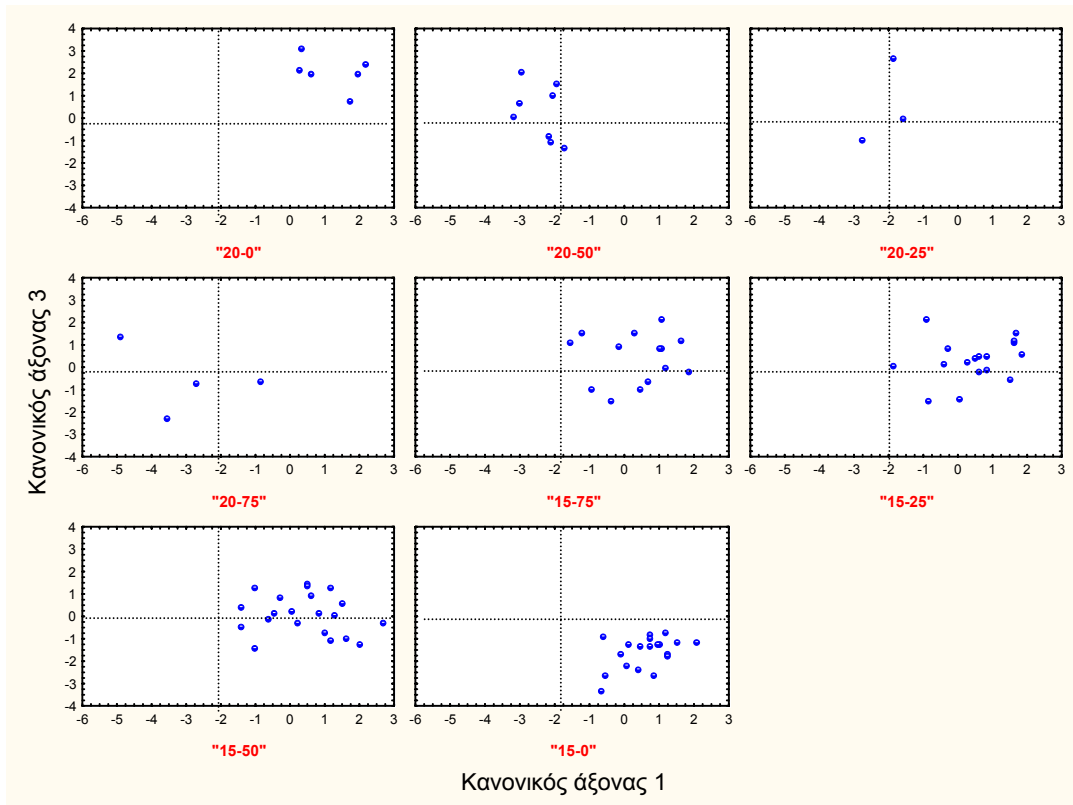
Από τους 7 κανονικούς άξονες της CVA, οι 3 πρώτοι έχουν στατιστικά σημαντική συνεισφορά στην απόδοση της μεταβλητότητας (δοκιμή χ^2 , $p < 0,001$). Στις εικόνες 3.13 και 3.14 αναπαρίστανται οι γραφικές απεικονίσεις του 1^{ου} άξονα κάθε φορά με τον 2^ο και τον 3^ο.

Πίνακας 3.19: Τετραγωνισμένες αποστάσεις Mahalanobis μεταξύ των οκτώ συνθηκών και διαφορές στο σχήμα μεταξύ των συνθηκών με βάση τις αποστάσεις Mahalanobis. Με τα * σημειώνονται κάθε φορά οι διαφορές μεταξύ των ομάδων στα διαφορετικά επίπεδα σημαντικότητας. ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; -, $p > 0,05$.

	20-0	20-25	20-50	20-75	15-75	15-25	15-50	15-0
20-0		39,07	29,05	35,15	18,17	19,86	16,88	20,56
20-25	**		12,03	22,95	12,45	12,64	13,93	16,04
20-50	***	-		32,44	16,75	13,42	16,37	22,78
20-75	**	-	*		27,51	31,74	25,09	26,42
15-75	**	-	**	**		1,96	3,43	7,47
15-25	***	-	**	***	-		3,93	7,25
15-50	**	-	***	**	-	-		6,13
15-0	***	-	***	**	**	**	**	



Εικόνα 3.13: Γραφική απεικόνιση των 2 πρώτων κανονικών αξόνων της CVA για τις τέσσερις ομάδες γωνιών (Ομάδα 0 έως ομάδα 3).

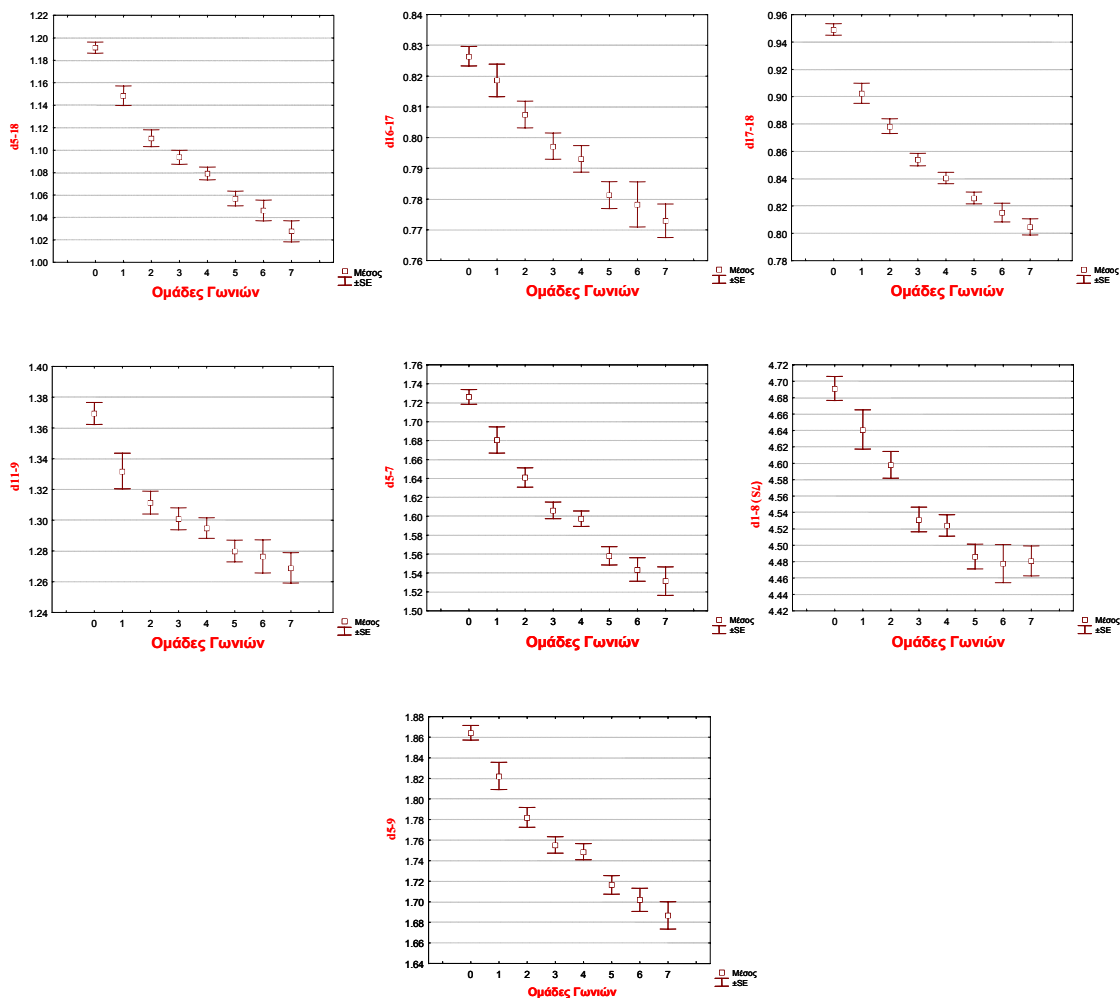


Εικόνα 3.14: Γραφική απεικόνιση του 1^{ου} και του 3^{ου} κανονικών αξόνων της CVA για τις τέσσερις ομάδες γωνιών (Ομάδα 0 έως ομάδα 3).

Αν και ο αριθμός των ατόμων σε κάποιες συνθήκες είναι πολύ μικρός (π.χ. στη συνθήκη “20-25” υπάρχουν μόνο 3 άτομα) εντούτοις η γραφική απόδοση των 3 πρώτων κανονικών αξόνων προσφέρει έναν οπτικό διαχωρισμό ανάμεσα στις ρευματικές συνθήκες στις δύο θερμοκρασίες.

3.5 Αναλογίες

Τα γραφήματα των αναλογιών στις ομάδες γωνιών έδειξαν ότι υπάρχουν 7 εξωτερικοί μορφομετρικοί χαρακτήρες οι οποίοι διαφοροποιούνται αρκετά καλά μεταξύ των διαφορετικών ομάδων γωνιών και άρα ομάδων ποιότητας (Εικ. 3.15). Οι χαρακτήρες αυτοί είναι οι d5-18, d16-17, d17-18, d11-9, d5-7, d5-9 και το SL, d1-8 (Εικ. 2.4).



Εικόνα 3.15: Διαγράμματα διασποράς των μέσων (\pm SE) αναλογιών των αναγραφόμενων μορφομετρικών αποστάσεων σε σχέση με την απόσταση “d3-13”, στις διαφορετικές κατηγορίες γωνίας.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Φαινοτυπική πλαστικότητα στα ψάρια

Για την επιτυχή αντιμετώπιση των συνεχώς μεταβαλλόμενων συνθηκών του περιβάλλοντός τους, οι οργανισμοί διαθέτουν δύο στρατηγικές οι οποίες δρουν παράλληλα: την προσαρμογή συγκεκριμένων χαρακτήρων με απώτερο στόχο τη διαφύλαξη των ζωτικών τους δραστηριοτήτων (*φαινοτυπική πλαστικότητα*), και τη μείωση της ποικιλομορφίας που οφείλεται σε αναπτυξιακά λάθη (*αναπτυξιακή σταθερότητα*) (Debat & David 2001). Το εύρος της φαινοτυπικής πλαστικότητας και της αναπτυξιακής σταθερότητας ποικίλλει όχι μόνο μεταξύ διαφορετικών συστηματικών ομάδων, αλλά και μέσα στο ίδιο είδος ανάλογα με τον περιβαλλοντικό παράγοντα στον οποίο οφείλει να προσαρμοσθεί.

Κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής τους, τα ψάρια αντιμετωπίζουν ένα διαρκώς μεταβαλλόμενο περιβάλλον τόσο ως προς τους αβιοτικούς όσο και ως προς τους βιοτικούς παράγοντες. Αποτελούν δε μια από τις πλέον ευπροσάρμοστες ομάδες οργανισμών, με άμεσες προσαρμογές πλήθους χαρακτηριστικών (μεταβολικής, φυσιολογικής, μορφολειτουργικής και ηθολογικής φύσεως), οι οποίες στην πλειονότητά τους πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της οντογένεσης (Kendall *et al.*, 1984). Η πλαστικότητα αυτή που επιδεικνύουν τα ψάρια είναι σημαντική όχι μόνο λόγω της αξίας που έχει για την προσαρμοστικότητα των φυσικών πληθυσμών, αλλά και για τη δυνατότητα που δίνει στον άνθρωπο-καλλιεργητή να μεταβάλλει ανάλογα με το προσδοκούν αποτέλεσμα τις βιολογικές παραμέτρους των εκτρεφόμενων πληθυσμών. Από την άλλη όμως, οι διαταραχές της αναπτυξιακής σταθερότητας σε μη ευνοϊκές συνθήκες εκτροφής αποτελούν μια από τις σημαντικότερες αιτίες ανάπτυξης μορφο-ανατομικών ανωμαλιών.

Η βελτίωση της ποιότητας των εκτρεφόμενων ψαριών αποτελεί σήμερα απαραίτητη προϋπόθεση για την επιβίωση και την περαιτέρω ανάπτυξη της Μεσογειακής θαλάσσιας ιχθυοκαλλιέργειας. Σε αυτά τα πλαίσια, η κατανόηση της φαινοτυπικής και ειδικότερα της αναπτυξιακής πλαστικότητας, αλλά και σταθερότητας, των εκτρεφόμενων ειδών μπορεί να προσφέρει τα κατάλληλα διαχειριστικά εργαλεία για τη βελτίωση της ποιότητας (εξάλειψη των μορφο-ανατομικών παραμορφώσεων) και κατ' επέκταση για την αύξηση της αποδοτικότητας αυτού του τόσο σημαντικού παραγωγικού κλάδου (Koumoundouros *et al.*, 2001a).

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η πλαστικότητα των ιχθυδίων λαβρακιού ως προς την εμφάνιση λόρδωσης και συσχετίστηκε με τους κύριους δυνητικούς γενεσιουργούς παράγοντές της. Για αυτό το σκοπό, η λόρδωση δεν εξετάστηκε μονοδιάστατα ως απλώς μια δυσπλασία της σπονδυλικής στήλης που προκαλείται από συγκεκριμένες συνθήκες, αλλά πολυδιάστατα, ως τμήμα της γενικότερης φαινοτυπικής πλαστικότητας, συμπεριλαμβανομένης και της **λειτουργικής** πλαστικότητας του μυοσκελετικού συστήματος.

Πιο συγκεκριμένα, εξετάστηκε η λόρδωση τόσο ως προς την ανατομία του σκελετού, όσο και ως προς τη λειτουργία των μυών και την απόκρισή τους στο μοναδικό μέχρι σήμερα γνωστό γενεσιουργό παράγοντα, δηλαδή τις υψηλές ρευματικές συνθήκες (Divanach *et al.*, 1997; Kihara *et al.*, 2002), αλλά και ως προς το ρόλο της θερμοκρασίας ως σημαντικό παράγοντα γένεσης της φαινοτυπικής πλαστικότητας στα ψάρια. Τέλος, γίνεται για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία προσπάθεια ποσοτικοποίησης μιας μορφοανατομικής ανωμαλίας με βάση μια κλίμακα επιδράσεων.

4.2 Πλαστικότητα κολυμβητικών επιδόσεων

4.2.1 Κολυμβητική επίδοση στις διαφορετικές θερμοκρασίες νερού

Η θερμοκρασία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην κολυμβητική ικανότητα των ψαριών (Koumoundouros *et al.*, 2002). Η επίδρασή της συνίσταται κυρίως στην τροποποίηση των βιοχημικών αντιδράσεων που μετατρέπουν την ενέργεια σε δύναμη ώθησης (Beamish, 1978), καθώς και στη μετατροπή των φυσικών χαρακτηριστικών του νερού, τα οποία με τη σειρά τους επηρεάζουν σημαντικά την κολύμβηση των ψαριών (Fuiman & Batty, 1997; Johnson *et al.*, 1998). Ακόμη, και όσον αφορά στην οντογένεση της μορφολογίας και της λειτουργίας, η θερμοκρασία επιδρά εμμέσως στην κολυμβητική ικανότητα ενός αναπτυσσόμενου ψαριού επηρεάζοντας το μέγεθός του στην εκκόλαψη, το σχήμα του σώματος, τους μεριστικούς χαρακτήρες των πτερυγίων, το ρυθμό ανάπτυξης το ρυθμό διαφοροποίησης του σκελετού (Blaxter, 1969, 1992; Polikansky, 1982; Seikai *et al.*, 1986; Chambers & Leggett, 1987; Lindsey, 1988; Murray & Beacham, 1989; Fui-

man *et al.*, 1998; Koumoundouros *et al.*, 2001b; Sfakianakis *et al.*, in press), καθώς και την οντογένεση των μυών (Stickland *et al.*, 1988; Johnston, 1993; Nathanailides *et al.*, 1995).

Η κρίσιμη ταχύτητα κολύμβησης εισήχθη για πρώτη φορά από τον Brett (1964, 1967) σαν μέθοδος μέτρησης κυρίως της αερόβιας κολυμβητικής προσπάθειας των ψαριών. Πρόκειται για μια μέτρηση της λεγόμενης παρατεταμένης (prolonged) άσκησης, η οποία συνήθως διαρκεί από 2 έως 200 λεπτά και τερματίζεται με την εξουθένωση των ψαριών πιθανότατα λόγω της ανεπαρκούς τροφοδοσίας των μυών με ενέργεια και την απομάκρυνση των παραπροϊόντων (Beamish, 1978; Jones, 1982). Πρέπει να τονιστεί ότι, εκτός από τους κόκκινους μύες, οι άσπροι και οι ροζ εμπλέκονται επίσης όταν οι ταχύτητες κολύμβησης πλησιάζουν κοντά στη μέγιστη U_{crit} (>92-93% της U_{crit} , Jones, 1982; Johnston & Goldspink, 1973a,b).

Η καμπύλη απόκρισης της κολυμβητικής ταχύτητας με τη θερμοκρασία του νερού παρουσιάζει την τυπική μορφή μιας καμπύλης επίδοσης με τις υψηλές τιμές γύρω από ένα βέλτιστο και τις χαμηλές τιμές στις υψηλές και στις χαμηλές θερμοκρασίες (Beamish, 1978; Myrlick & Cech, 2000; Ojanguren & Brana, 2000). Η παρούσα εργασία έδειξε ότι τα ιχθύδια του λαβρακιού ακολουθούν το χαρακτηριστικό μοντέλο της εξάρτησης της U_{crit} από τη θερμοκρασία, με τη βέλτιστη θερμοκρασία να είναι 24.4 °C ενώ το θερμοκρασιακό εύρος στο οποίο η επίδοση είναι μεγαλύτερη από το 90% της μέγιστης U_{crit} είναι αρκετά μεγάλο (19.3-29.6 °C). Η διατήρηση υψηλής κολυμβητικής επίδοσης σε ένα μεγάλο θερμοκρασιακό εύρος είναι ζωτικής σημασίας για την επιβίωση των νυμφών στη φύση, αφού διευκολύνει και επηρεάζει τόσο την αποφυγή των θηρευτών όσο και τη σύλληψη των θηραμάτων (Fuiman, 1991; Blaxter, 1992; Temple & Johnston, 1998; Ojanguren & Brana, 2000). Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό σε ψάρια όπως το λαβράκι το οποίο διαβιεί σε ρηχές λίμνες και εκβολές ποταμών όσο είναι ιχθύδιο, και επομένως πρέπει να αντιμετωπίζει ένα διαρκώς μεταβαλλόμενο περιβάλλον με μεγάλες θερμοκρασιακές διαφοροποιήσεις (Alliot *et al.*, 1983; Claireaux & Lagardère, 1999).

Η βέλτιστη θερμοκρασία για την U_{crit} συμπίπτει με τη βέλτιστη θερμοκρασία για μέγιστη δραστηριότητα (ανασκόπηση από Beamish, 1978; Hammer, 1995). Οι Claireaux & Lagardère (1999) έδειξαν ότι η δραστηριότητα στο λαβράκι (629 gr μέσου βάρους) μεγιστοποιείται στους 22-23 °C. Αυτά τα δεδομένα δεν έρχονται σε αντίθεση με αυτά της

παρούσας εργασίας (77-620 mg βάρους, 24.4 °C βέλτιστο), καθώς είναι ευρέως γνωστό ότι το βέλτιστο θερμοκρασιακό εύρος στα ψάρια τροποποιείται σημαντικά κατά την οντογένεση και αύξησή τους (Herzig & Winkler, 1986; Blaxter, 1992).

Η κολυμβητική ικανότητα των ψαριών αυξάνεται με το μέγεθος αλλά όχι αναλογικά: αυτό που ισχύει γενικότερα είναι ότι η κρίσιμη ταχύτητα κολύμβησης είναι ανάλογη του μήκους του σώματος υψωμένο σε μια δύναμη μεταξύ του 0.4 και του 0.7. Αυτό συνεπάγεται ότι η σχετική κολυμβητική επίδοση (εκφρασμένη σαν ποσοστό επί του μήκους του σώματος) μειώνεται με την αύξηση του μεγέθους του σώματος (Jones *et al.*, 1974; Beamish, 1978; Hammer, 1995). Στην παρούσα μελέτη, η κολυμβητική επίδοση των ιχθυδίων του λαβρακιού ήταν (απολύτως) ανάλογη του TL, και συνεπώς η σχετική (του μήκους) κολυμβητική επίδοση δεν είχε καμία εξάρτηση από αυτό. Το σχετικά στενό εύρος TL που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία θα μπορούσε να αποτελεί μια εξήγηση για αυτήν την ανεξαρτησία. Επιπρόσθετα, η θετική αλλομετρική αύξηση των υψών του σώματος, ειδικά στην περιοχή εκείνη που συμμετέχει μέγιστα στην κολύμβηση (περιοχή μετά την έδρα και ουραίος μίσχος), δείχνει μια θετική αλλομετρική αύξηση των μυών η οποία θα μπορούσε, τουλάχιστον μερικώς, να αιτιολογήσει τη θεωρητικά αναμενόμενη αρνητική σχέση του RU_{crit} με το μέγεθος του σώματος.

4.2.2 Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης στην κολυμβητική ικανότητα

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ξεκάθαρα ότι η διαφορετική θερμοκρασία ανάπτυξης στο λαβράκι επηρεάζει την κολυμβητική του ικανότητα με τα ψάρια που μεγάλωσαν στην χαμηλή θερμοκρασία (15 °C) να έχουν καλύτερες επιδόσεις από τα αντίστοιχα της υψηλής θερμοκρασίας (20 °C).

Παρότι η επίδραση της θερμοκρασίας στη μορφολογία και τη φυσιολογία των ψαριών έχει μελετηθεί εκτενώς, εντούτοις δεν υπάρχει ουδεμία μελέτη παρόμοια με την παρούσα. Η μοναδική βιβλιογραφική αναφορά που υπάρχει σχετικά με την επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης στην ικανότητα κίνησης αναφέρεται σε ένα είδος σαύρας (*Pardalis muralis*), όπου και εκεί οι συγγραφείς διαπιστώνουν διαφορετική ικανότητα κίνησης μεταξύ των ατόμων των διαφορετικών θερμοκρασιών ανάπτυξης (Brana & Ji, 2000).

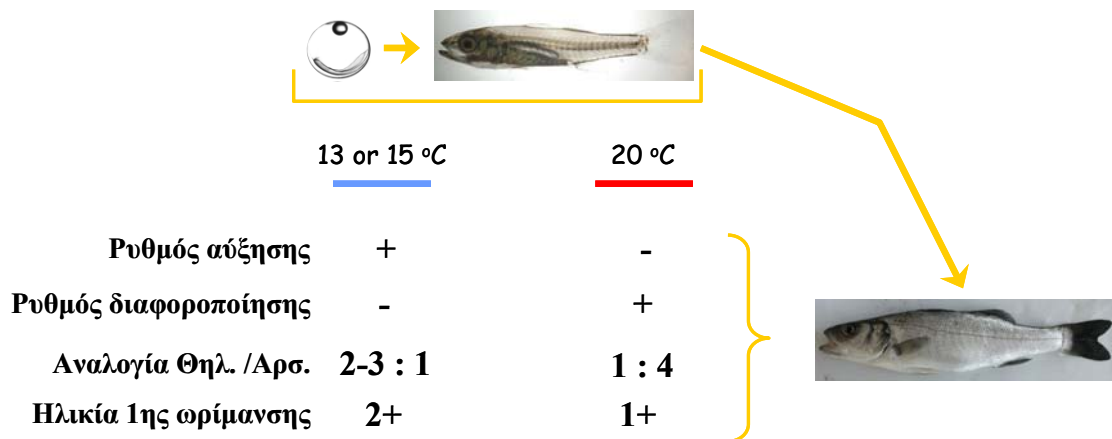
Οι πιθανές εξηγήσεις που μπορούν να δοθούν για αυτό το αποτέλεσμα είναι δύο ειδών:

- Η θερμοκρασία ανάπτυξης επιδρά στην οντογένεση των μυών (Stickland *et al.*, 1988; Johnston, 1993; Galoway *et al.*, 1999) οι οποίοι με τη σειρά τους είναι η κινητήρια δύναμη της κολύμβησης. Είναι πιθανό λοιπόν η διαφορετική θερμοκρασία ανάπτυξης να έχει διαφοροποιήσει τους μύες ανάμεσα στους δύο πληθυσμούς τόσο ώστε αυτή η διαφοροποίηση να ερμηνεύει τη διαφορά στην κολυμβητική τους ικανότητα.
- Όπως έδειξαν τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας (3.4.3), υπάρχει έντονη επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης στο τελικό σχήμα του σώματος. Αυτό σε συνδυασμό με μελέτες επίδρασης της θερμοκρασίας πάνω στους μεριστικούς χαρακτήρες (Murray & Beacham, 1989; Blaxter, 1992; Koumoundouros *et al.*, 2001b) θα μπορούσε να αιτιολογήσει τη διαφορά που παρατηρήθηκε εδώ στην κολυμβητική ικανότητα καθώς η τελευταία επηρεάζεται σημαντικά από το σχήμα του σώματος (και των πτερυγίων).

Τα παραπάνω αποτελέσματα έχουν ιδιαίτερη οικολογική σημασία καθώς επηρεάζουν άμεσα την ικανότητα επιβίωσης του είδους αυτού στη φύση. Πιο συγκεκριμένα, το λαβράκι έχει περίοδο ωοτοκίας διάρκειας 3 περίπου μηνών που εκτείνεται από το χειμώνα έως την άνοιξη. Είναι λοιπόν δεδομένο ότι τα άτομα που γεννιούνται στην αρχή της αναπαραγωγικής περιόδου (χειμώνας) αντιμετωπίζουν αρκετά πιο ψυχρές θερμοκρασίες στα πρώτα αναπτυξιακά τους στάδια από εκείνα που γεννιούνται στο τέλος της αναπαραγωγικής περιόδου (άνοιξη). Είναι ως εκ τούτου απαραίτητο να διαθέτουν την ικανότητα να αλλάζουν τη στρατηγική τους προκειμένου να αντεπεξέρχονται εξίσου επιτυχώς σε τέτοιου είδους περιβαλλοντικές διαφοροποιήσεις. Αν και τα δεδομένα της παρούσας εργασίας έχουν ληφθεί υπό συνθήκες εργαστηρίου, εντούτοις παρέχουν σίγουρα μια γενική εικόνα για το πώς συμπεριφέρονται οι οργανισμοί στο φυσικό τους περιβάλλον και μας βοηθούν να εντρυφήσουμε στους μηχανισμούς επιβίωσης που διαθέτουν.

Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι η επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης συγκεκριμένα στο λαβράκι έχει μελετηθεί αρκετά και τα αποτελέσματα πλέον -εάν προστεθούν

και αυτά της παρούσας εργασίας- καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα λειτουργιών του οργανισμού (Εικ. 4.1).



Εικόνα 4.1: Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης στον κύκλο ζωής του λαβρακιού (Koumoundouros *et al.*, 2001b; Pavlidis *et al.*, 2000; Koumoundouros *et al.*, 2002b)

4.2.3 Συγκέντρωση γαλακτικού οξέως στους μύες σε συνάρτηση με την άσκηση

Κατά τη διάρκεια εξαντλητικής για τα ψάρια άσκησης, πολλές από τις φυσιολογικές και βιοχημικές διεργασίες «φτάνουν στα όριά τους» με αποτέλεσμα να περιορίζεται η απόδοση των ψαριών έως ότου τερματιστεί πλήρως (Moyes and West, 1995). Η πιο σημαντική από αυτές τις διεργασίες είναι ο καταβολισμός του λακτικού οξέως σε γαλακτικό οξύ και ιόντα υδρογόνου (Milligan, 1996; Rossiter, 1996) ο οποίος αρχίζει να λαμ-

βάνει χώρα όταν ο μεταβολισμός των ψαριών γίνεται αναερόβια, σαν αποτέλεσμα έντονης εξουθενωτικής άσκησης (Wood, 1991).

Το πρότυπο αυξομείωσης του γαλακτικού οξέως στους μύες που παρατηρήθηκε στην παρούσα εργασία βρίσκεται σε συμφωνία με άλλες μελέτες σε άλλα είδη ψαριών (Davison, 1997; Hardewig *et al.*, 1998) όπου η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέως στους μύες μετά την εξουθενωτική άσκηση αυξάνεται επίσης για λίγο μέχρι να επέλθει η μέγιστη συγκέντρωσή του.

Τα αποτελέσματα του πειράματος εκτίμησης της ταχύτητας αποδόμησης του γαλακτικού οξέως από τους μύες που επιχειρήθηκε σε αυτήν την εργασία, έρχονται να συμπληρώσουν τις γνώσεις μας σχετικά με τη μεταβολή της κολυμβητικής επίδοσης των ιχθυδίων στις διαφορετικές θερμοκρασίες. Εξετάζοντας λοιπόν κανείς τους ρυθμούς αποδόμησης του γαλακτικού στις θερμοκρασίες των 15 και των 20 °C, διαπιστώνει πιθανότατα τον λόγο για τον οποίο τα ιχθύδια στους 20 °C επιτυγχάνουν υψηλότερες επιδόσεις: ο ρυθμός αποδόμησης του γαλακτικού σε αυτήν τη θερμοκρασία είναι υψηλότερος με αποτέλεσμα να μετατοπίζεται αργότερα ο ούτως ή άλλως αναπόφευκτος μυϊκός κάματος. Το παραπάνω αποτέλεσμα δείχνει επίσης ότι τα ιχθύδια που ζουν στους 20 °C θα είναι ταχύτερα έτοιμα για νέα άσκηση μετά από κάποια εξουθενωτική κολύμβηση.

Όσον αφορά στο πείραμα των 25 °C, πρέπει να τονιστεί ότι αυτή η θερμοκρασία βρίσκεται στα ανώτατα φυσιολογικά όρια λειτουργίας του συγκεκριμένου είδους. Η γενετική ωρίμανση του λαβρακιού στη φύση γίνεται στο θερμοκρασιακό εύρος 11-15 °C (Barnabe, 1976; Mananos *et al.*, 1997; Mendez *et al.*, 1995), η εμβρυϊκή του ανάπτυξη μεταξύ 8 και 20 °C (Marangos *et al.*, 1986; Jennings and Pawson, 1992) ενώ οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες θερμοκρασίες εκτροφής του κυμαίνονται από 15 έως 20 °C. Στην τόσο υψηλή θερμοκρασία λοιπόν των 25 °C πιθανώς να επιδρούν και άλλοι παράγοντες οι οποίοι, μέσω της φυσιολογικής καταπόνησης (stress) που υφίσταται ο οργανισμός, μεταβάλλουν έντονα και ακανόνιστα τα επίπεδα του γαλακτικού οξέως στους μύες (Ros-siter, 1996).

4.3 Πλαστικότητα του σχήματος του σώματος

4.3.1 Επίδραση των περιβαλλοντικών συνθηκών (θερμοκρασία και ρεύμα νερού) στο σχήμα του σώματος

Η διαφοροποίηση της μορφολογίας (εξαιρουμένων των ανωμαλιών) μεταξύ εκτρεφόμενων και φυσικών ή μεταξύ εκτρεφόμενων υπό διαφορετικές συνθήκες πληθυσμών ψαριών έχει αναφερθεί σε πλήθος εργασιών. Οι διαφορές αφορούν στο σχήμα του σώματος (Blaxter 1976, Divanach 1985, Matsuoka 1987, Meyer 1987, Blaxter 1988, Wimberger 1992, Corti *et al.* 1996, Ellis *et al.* 1997; Hard *et al.*, 2000; Loy *et al.*, 1999), στην ένταση του χρωματισμού (Mansfield & Mansfield 1982, Marliave 1988) σε συγκεκριμένα αναπτυξιακά στάδια ή στην αλλομετρική αύξηση του σώματος καθόλη τη διάρκεια της οντογένεσης (Opuszynski *et al.* 1985, Durento 1986, Koumoundouros *et al.* 1995, 1999, 2001a). Η θερμοκρασία από όλους τους περιβαλλοντικούς παράγοντες, αποτελεί ως γνωστόν τον κυριότερο ρυθμιστή των μορφολειτουργικών χαρακτηριστικών των ψαριών, και έχει μελετηθεί ιδιαίτερα στο λαβράκι (Εικ. 4.1; Koumoundouros *et al.*, 2001b).

Στην παρούσα εργασία διαπιστώθηκε μια ξεκάθαρη διαφοροποίηση στο σχήμα μεταξύ των πληθυσμών που αναπτύχθηκαν στις δύο διαφορετικές θερμοκρασίες ενώ παρατηρήθηκαν σε κάποιες περιπτώσεις στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ατόμων που αναπτύχθηκαν σε διαφορετικές ρευματικές συνθήκες.

Η μορφολογική πλαστικότητα που εμφανίζουν τα ψάρια στις διαφορετικές συνθήκες του περιβάλλοντός τους οφείλεται στην τροποποίηση του προτύπου των οστών και των μυών, η οποία προκαλείται από τις διαφορετικές συνθήκες που απαιτούν αντίστοιχα διαφορετικές κινητικές αποκρίσεις (Wimberger 1992 in Koumoundouros, 1998, μηχανιστική-λειτουργική προσέγγιση). Επίσης, είναι γνωστό ότι το περιβάλλον επιδρά διαφορετικά στο ρυθμό αύξησης των διαφόρων τμημάτων και οργάνων του σώματος των ψαριών, μεταβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο το σχετικό ρυθμό αύξησής τους (μεταβολική-αναπτυξιακή προσέγγιση (Seikai *et al.* 1986; Lindsey 1988; Murray & Beacham, 1989; Koumoundouros, 1998).

4.4 Λόρδωση (σαν μη φυσιολογική έκφραση πλαστικότητας)

4.4.1 Γενεσιουργοί παράγοντες (Θερμοκρασία και ρεύματα)

Όπως και στην περίπτωση των υπόλοιπων σπονδυλικών παραμορφώσεων, η λόρδωση δυνητικά θα μπορούσε να προκληθεί από οποιοδήποτε παράγοντα που επηρεάζει την ανάπτυξη των οστών ή των πρόδρομων αναπτυξιακά δομών (νωτοχορδή). Οι παράγοντες αυτοί είναι μη ευνοϊκές συνθήκες εκτροφής (θερμοκρασία, ιχθυοφόρτιση, αμμωνία, νιτρώδη, βαρέα μέταλλα), διατροφικοί, παρουσία μεταλλαξιγόνων και γενετικοί παράγοντες (ανασκόπηση από Divanach *et al.*, 1996; Andrandes *et al.* 1996; Afonso *et al.*, 2000). Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις όμως, η πρόκληση παραμορφώσεων είναι γενικευμένη και δεν αφορά σε συγκεκριμένη ανατομική περιοχή (όπως στην περίπτωση της κολύμβησης) αφού επηρεάζει περισσότερες της μίας περιοχές του σώματος.

Οι μόνοι παράγοντες που αποδεδειγμένα προκαλούν αποκλειστικά λόρδωση και μάλιστα σε αυστηρά καθορισμένη ανατομική περιοχή (σπόνδυλοι 15-17) είναι η νηκτική κύστη και οι ρευματικές συνθήκες, που ουσιαστικά όμως αποτελούν έναν κοινό παράγοντα, δεδομένου ότι η δράση τους έχει κοινή συνισταμένη την πρόκληση διαρκούς κολύμβησης. Η μεταξύ τους μικρή ανατομική διαφοροποίηση οφείλεται καθαρά στην μετατόπιση του κέντρου μηχανικών πιέσεων λόγω της απουσίας νηκτικής κύστης, ενώ και στις δύο περιπτώσεις το κέντρο της λόρδωσης ταυτίζεται με την περιοχή όπου εκδηλώνεται η κύρια κολυμβητική δραστηριότητα των μυών (Divanach *et al.*, 1997; Webb, 1997).

Στην παρούσα εργασία, η λόρδωση που εμφανίζεται στα ιχθύδια λαβρακιού με λειτουργική νηκτική κύστη έχει σαν κέντρο την περιοχή των σπονδύλων 15-17 συμβαδίζοντας έτσι απόλυτα με τα αποτελέσματα των Divanach *et al.* (1997). Οι Kihara *et al.* (2002) προσδιόρισαν το κέντρο της λόρδωσης σε λαβράκια με λειτουργική νηκτική κύστη στην ευρεία περιοχή ανάμεσα στους σπονδύλους 12 και 18 αποτέλεσμα το οποίο συμφωνεί με αυτά της παρούσας εργασίας, ενώ η Chatain (1994) περιέγραψε το κέντρο της λόρδωσης στον 11^ο σπόνδυλο σε λαβράκια όμως χωρίς λειτουργική νηκτική κύστη.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, είναι προφανές ότι οι πληθυσμοί των 15 και των 20 °C διαφέρουν μεταξύ τους στατιστικά σημαντικά όσον αφορά στον αριθμό των εμπλεκόμενων στην παραμόρφωση σπονδύλων, στον πρώτο και στον τελευταίο παραμορφωμένο σπόνδυλο ενώ δε διαφέρουν στο παρατηρούμενο κέντρο της λόρδωσης (σπόνδυλοι 15-17). Ακόμη, σε κάποιες περιπτώσεις παρατηρούνται διαφοροποιήσεις και ανάμεσα στους πληθυσμούς της ίδιας θερμοκρασίας αλλά διαφορετικών ρευματικών συνθηκών. Τα παραπάνω δείχνουν ότι υπάρχει μεγάλη ανατομική ποικιλομορφία (μεταξύ των συνθηκών και στην ίδια θερμοκρασία) στην ανάπτυξη λόρδωσης ακόμη και μόνο μέσα στην αιματική περιοχή γεγονός που υποδηλώνει ένα ευρύ υπόβαθρο πιθανών γενεσιουργών παραγόντων, πέρα των ρευμάτων.

Το πιο σημαντικό όμως εύρημα στο οποίο καταλήγει η μελέτη αυτή (για πρώτη φορά) είναι ότι οι πληθυσμοί που αναπτύχθηκαν στους 15 °C έχουν πολύ μεγαλύτερο ποσοστό φυσιολογικών ατόμων (σχεδόν 4 φορές υψηλότερο) από ότι εκείνοι που αναπτύχθηκαν στους 20 °C σε όλες τις ρευματικές συνθήκες. Ακόμη, και μεταξύ των παραμορφωμένων ατόμων υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση στην ένταση των παρατηρούμενων παραμορφώσεων ανάμεσα στις δύο θερμοκρασίες με τον πληθυσμό των 20 °C ξανά να παρουσιάζει τη χειρότερη εικόνα.

Η θερμοκρασία ανάπτυξης λοιπόν ασκεί σημαντικό ρόλο στη γένεση της λόρδωσης στο λαβράκι και αυτό γίνεται πιθανότατα μέσω της επίδρασής της στη σχετική κολυμβητική ικανότητα των ιχθυδίων (κεφάλαιο των αποτελεσμάτων 3.3). Αν και η άμεση πρόκληση πρώιμων δυσπλασιών της νωτοχορδής ή/και των αναπτυσσόμενων σπονδύλων δεν εξετάστηκε από την εργασία αυτή, ο ανατομικά εστιασμένος χαρακτήρας της λόρδωσης που παρατηρήθηκε εδώ, σε συνδυασμό με τον τοπογραφικά εκτενή και γενικευμένο χαρακτήρα των αξονικών ανωμαλιών που προκαλεί η θερμοκρασία (Wang & Tsai, 2000; Sfakianakis *et al.*, in press), καθιστά εξαιρετικά αμφίβολη την άμεση εμπλοκή της τελευταίας στη γένεση της λόρδωσης. Όχι όμως και την έμμεση εμπλοκή της μέσω της οντογενετικής πλαστικότητας των μυών και οστών (διαφορετική επίδραση στην κολυμβητική ικανότητα) καθώς είναι γνωστό (Divanach *et al.*, 1997; Kihara *et al.*, 2002) ότι η έντονη κολυμβητική προσπάθεια είναι ο κύριος γενεσιουργός παράγοντας λόρδωσης.

Μια προσεκτικότερη ματιά στα αποτελέσματα, αποκαλύπτει ότι τα άτομα που μεγάλωσαν στους 15 °C και σε μηδενικές ρευματικές συνθήκες διαφοροποιούνται από

όλους τους άλλους πληθυσμούς των 15 °C ως προς τη γωνία της λόρδωσης καθώς και ότι τα άτομα στη συνθήκη 25% “ένταση ρεύματος” διαφοροποιούνται από εκείνα στην 75 % αλλά όχι από εκείνα των 50%. Αυτή η διαφοροποίηση δεν μπορεί να αποδοθεί πουθενά άλλου παρά μόνο στην επίδραση των ρευματικών συνθηκών.

Από την άλλη, οι διαφορετικές συνθήκες στους 20 °C δε διαφέρουν μεταξύ τους καθόλου. Η εξήγηση που μπορεί να δοθεί εδώ είναι ότι υπεισέρχεται και κάποιος άλλος ή άλλοι παράγοντες οι οποίοι πέραν των ρευμάτων ή μαζί με τα ρεύματα δρουν και κάνουν εντονότερο το πρόβλημα της παραμόρφωσης σε τέτοιο βαθμό ώστε τα ρεύματα από μόνα τους να μην εκδηλώνουν τελικά την αποδεδειγμένη γενεσιουργό τους δράση στη λόρδωση. Η δράση και κάποιου άλλου παράγοντα επιβεβαιώνεται και από το γεγονός ότι οι πληθυσμοί που υπόκεινται σε μηδενικές ρευματικές συνθήκες εμφανίζουν επίσης μεγάλα ποσοστά λόρδωσης ενώ σε παρόμοια αποτελέσματα είχαν καταλήξει και οι Divanach *et al.*(1997). Ο παράγοντας αυτός, θα πρέπει να είναι κάποιος που δρα εξειδικευμένα και άρα μέσω της κολύμβησης, και τέτοιος θα μπορούσε να είναι το «schooling» που εμφανίζουν οι πληθυσμοί μέσα στις δεξαμενές.

Βέβαια, δεν πρέπει να παραγνωριστεί και η συμμετοχή του γαλακτικού οξέως στην πρόκληση λόρδωσης. Όπως έδειξαν τα αποτελέσματα της επίδρασης της θερμοκρασίας του νερού στην κολυμβητική ικανότητα ιχθυδίων λαβρακιού προερχόμενων από κοινές συνθήκες (3.1), υπάρχει θετική συσχέτιση ανάμεσα στην κολυμβητική επίδοση και στο ρυθμό απομάκρυνσης του συσσωρευόμενου γαλακτικού οξέως στους μύες. Οι Divanach *et al.*(1997) από την άλλη, διατύπωσαν την υπόθεση ότι η συσσώρευση του γαλακτικού στους μύες ιχθυδίων λαβρακιού λόγω άσκησης ίσως αποτελεί το βιολογικό μηχανισμό πρόκλησης της λόρδωσης. Συνδυαζόμενα τα παραπάνω, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι τα ψάρια των 20 °C είναι πιο ευαίσθητα στην ανάπτυξη λόρδωσης όχι μόνο λόγω υπερβολικών μηχανικών πιέσεων εξαιτίας της μειωμένης απόδοσής τους στην κολύμβηση αλλά και λόγω μεγαλύτερης έκθεσης της ευαίσθητης εκείνης περιοχής σε γαλακτικό οξύ.

Τέλος, η εμφάνιση λόρδωσης στους πληθυσμούς με μηδενικές ρευματικές συνθήκες θα μπορούσε να αποδοθεί επίσης στο γαλακτικό οξύ. Καθώς όπως παρατηρήθηκε ο μεταβολισμός του γαλακτικού είναι διαφορετικός στις διαφορετικές συνθήκες, θα μπορούσε η θερμοκρασία στη φάση της προπάχυνσης μέσω του διαφορετικού μεταβολισμού

του γαλακτικού να προκαλεί λόρδωση, υπό οποιεσδήποτε συνθήκες ρευμάτων ή αναπτυξιακής θερμοκρασίας.

4.4.2 Επίδραση της λόρδωσης στο σχήμα του σώματος – Κλίμακα ποιότητας

Η μεσογειακή θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια έχει αναπτυχθεί ραγδαία τα τελευταία 20 χρόνια, παρόλα αυτά όμως, η εμφάνιση υψηλών ποσοστών παραμορφώσεων οδηγεί σε δραστική υποβάθμιση της ποιότητας του προϊόντος (Boglione *et al.*, 1994; Cataudella *et al.*, 1995; Divanach *et al.*, 1996; Koumoundouros *et al.*, 1997a,b, 2002b; Loy *et al.*, 1999) και συνεπώς και των οικονομικών κερδών. Ιδιαίτερα για τη λόρδωση, διαπιστώνονται ακόμα και σήμερα ποσοστά εμφάνισης μέχρι και 70% (Κουμουνδούρος, προσωπική επικοινωνία).

Για αυτό το λόγο σήμερα είναι κοινά αποδεκτή λύση η διατήρηση και εκτροφή των ψαριών εκείνων που διαθέτουν τα χαρακτηριστικά του άγριου ατόμου, το οποίο αποτελεί και το πρότυπο για τα ψάρια της ιχθυοκαλλιέργειας.

Όμως το πρόβλημα που παρουσιάζεται εδώ είναι ότι αν και οι παραμορφώσεις εύκολα ανιχνεύονται και προσδιορίζονται με βάση το φυσιολογικό πρότυπο (τουλάχιστον σε ότι αφορά στην επίδρασή τους στην εξωτερική μορφολογία) είναι εντούτοις δύσκολο να κατηγοριοποιηθούν σε εμπορικά σημαντικές και σε μόνο επιστημονικά ενδιαφέρουσες.

Το σημαντικό λοιπόν πρόβλημα που πρέπει να αντιμετωπιστεί σε επίπεδο εφαρμογής είναι η ποσοτικοποίηση της ποιοτικής αλλοίωσης των εξωτερικών (αρχικά) χαρακτηριστικών των ατόμων λόγω της ύπαρξης των μορφοανατομικών παραμορφώσεων. Στο παρελθόν, παρόμοια εργασία έχει γίνει μερικώς σε σχέση με παραμορφώσεις του βραγχιακού επικαλύμματος στην τσιπούρα (Koumoundouros *et al.*, 1997b) ενώ πρώτη φορά στην παρούσα εργασία επιχειρείται μία τέτοια συσχέτιση με την ανάπτυξη λόρδωσης.

Προκειμένου να μελετηθεί και ποσοτικοποιηθεί λοιπόν η επίδραση της λόρδωσης στο σχήμα του σώματος, στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν 2 διαφορετικές τεχνικές μορφομετρίας (πολυπαραγοντική και μέθοδος αναλογιών):

Η πολυπαραγοντική ανάλυση των δεδομένων του σχήματος του σώματος, έδωσε πολύ καλά αποτελέσματα όσον αφορά στη διαφοροποίηση του σχήματος που οφείλεται στην ύπαρξη λόρδωσης. Οι διαφορετικές κατηγορίες που επιλέχθηκαν ανάμεσα στα φυσιολογικά και στα διαφορετικής εντάσεως παραμορφωμένα άτομα, διαχωρίζονται επαρκώς μεταξύ τους δείχνοντας μια στατιστικά σημαντική επίδραση τόσο της γωνίας όσο και του αριθμού των εμπλεκόμενων σπονδύλων στο σχήμα.

Οι περιοχές του σώματος που φαίνεται να επηρεάζονται περισσότερο από την παραμόρφωση είναι η αιματική περιοχή (γύρω από το κέντρο της παραμόρφωσης) και ο ουραίος μίσχος. Αυτό προκύπτει από την εξέταση των περισσότερο μεταβαλλόμενων ανατομικών αποστάσεων στο σώμα που όπως έδειξαν τα αποτελέσματα είναι οι **d11-17, d5-18, d17-18, d5-17, d11-16, d16-17, d4-17, d11-18, d15-16, d5-16** και η **d4-15** (Εικ. 2.5).

Η διαφοροποίηση που επιτυγχάνεται μέσω των κατηγοριών των σπονδύλων (συνολικός αριθμός εμπλεκόμενων) είναι καλύτερη από ότι η αντίστοιχη μέσω των κατηγοριών των γωνιών. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι η 1^η κατηγοριοποίηση βασίζεται σε μεριστικούς χαρακτήρες (σπόνδυλοι) και άρα οι κατηγορίες που προκύπτουν με βάση αυτούς είναι διακριτές μεταξύ τους σε αντίθεση με τις γωνίες που σα μορφομετρικοί χαρακτήρες δίνουν κατηγορίες χωρίς ξεκάθαρη αρχή και τέλος ή μπορεί να οφείλεται πολύ απλά στο ότι ο αριθμός των παραμορφωμένων σπονδύλων σε ένα λορδωτικό άτομο είναι καλύτερος τρόπος απόδοσης της έντασης της παραμόρφωσής του.

Αν και η χρήση αναλογιών θεωρείται σήμερα ξεπερασμένη, καθώς έχει δοθεί μεγάλη έμφαση στη μορφομετρία μέσω πολυπαραγοντικής ανάλυσης δεδομένων, είναι ξεκάθαρο στην παρούσα εργασία ότι υπάρχει πολύ καλή συσχέτιση ανάμεσα στη λόρδωση (όπως αυτή ποσοτικοποιείται από τη γωνία) και τους συγκεκριμένους μορφομετρικούς χαρακτήρες που επιλέχθηκαν. Πρόκειται όμως μόνο για το πρώτο βήμα μιας μελέτης που αν αναπτυχθεί με τα κατάλληλα μαθηματικά εργαλεία θα μπορούσε να καταλήξει σε μία γρήγορη μέθοδο όχι μόνο για την εύκολη εξωτερική διάγνωση της λόρδωσης αλλά και για την εκτίμηση της έντασής της (κλίμακα ποιότητας).

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η σχετική (ως προς το μήκος) κρίσιμη ταχύτητα κολύμβησης ιχθυδίων λαβρακιού ολικού μήκους (TL) από 23 έως 43 mm είναι ανεξάρτητη του ολικού τους μήκους.
- Η θερμοκρασία του νερού επηρεάζει σημαντικά την κολυμβητική ικανότητα των ιχθυδίων λαβρακιού και μάλιστα η σχέση τους ακολουθεί παραβολική καμπύλη με το μέγιστο να παρατηρείται στη θερμοκρασία των 24.4 °C.
- Το συσσωρευμένο γαλακτικό οξύ στους μύες ιχθυδίων λαβρακιού μετά από εξουθενωτική άσκηση αποδομείται γρηγορότερα στους 20 °C σε σύγκριση με τους 15 και τους 25 °C.
- Τα ιχθύδια λαβρακιού που αναπτύσσονται στους 20 °C είναι πιο ευαίσθητα στην ανάπτυξη λόρδωσης από ότι τα αντίστοιχα που αναπτύσσονται στους 15 °C. Αυτό μεταφράζεται τόσο στη συχνότητα εμφάνισης της παραμόρφωσης, όσο και στην έντασή της.
- Οι ρευματικές συνθήκες του νερού μέσα στις δεξαμενές δε δείχνουν στην παρούσα εργασία ισχυρή συσχέτιση με την ανάπτυξη λόρδωση (με την εξαίρεση κάποιων περιπτώσεων).
- Τα ιχθύδια που έχουν αναπτυχθεί στη θερμοκρασία των 15 °C επιτυγχάνουν υψηλότερη τιμή κρίσιμης ταχύτητας κολύμβησης σε όλες τις θερμοκρασίες δοκιμής (20, 25 και 28 °C) σε σύγκριση με τα ιχθύδια που έχουν αναπτυχθεί στους 20 °C. Μοναδική εξαίρεση στο παραπάνω αποτελεί η χαμηλότερη θερμοκρασία δοκιμής (15 °C) όπου οι δύο πληθυσμοί δε διαφοροποιούνται.
- Όσο μεγαλύτερη είναι η ένταση της λόρδωσης (όπως αυτή ποσοτικοποιείται από τη γωνία ή το συνολικό αριθμό των παραμορφωμένων σπονδύλων) σε ιχθύδια λαβρακιού, τόσο περισσότερο διαφοροποιείται το σχήμα τους από το πρότυπο του φυσιολογικού.
- Τόσο η θερμοκρασία ανάπτυξης (15 ή 20 °C) όσο και οι ρευματικές συνθήκες (4 διαφορετικά επίπεδα) επιδρούν σημαντικά στη διαμόρφωση του σχήματος του σώματος σε ιχθύδια λαβρακιού.

- Υπάρχουν τουλάχιστον 7 εξωτερικοί μορφομετρικοί χαρακτήρες οι οποίοι διαφοροποιούνται αρκετά καλά στις διαφορετικές εντάσεις λόρδωσης και άρα θα μπορούσαν να αποτελέσουν εξωτερικούς δείκτες ποιότητας των ιχθυδίων λαβρακιού.

6. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία επιχειρήθηκε να αξιολογηθεί η επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης και των ρευματικών συνθηκών του μέσου διαβίωσης στην ανάπτυξη λόρδωσης στο λαβράκι *Dicentrarchus labrax* (L. 1758).

Καταρχάς, διενεργήθηκε ένα προκαταρκτικό πείραμα όπου εξετάστηκε η επίδραση της θερμοκρασίας του νερού στην κολυμβητική ικανότητα ιχθυδίων λαβρακιού και προσδιορίστηκε ο χρόνος που αυτά απαιτούν για να επανέλθουν μετά την έντονη άσκηση στην πρότερη φυσιολογική κατάσταση (μέσω του υπολογισμού της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέως στους μύες). Τα ευρήματα δείχνουν ότι η σχετική κρίσιμη ταχύτητα κολύμβησης των ιχθυδίων λαβρακιού επηρεάζεται σημαντικά από τη θερμοκρασία, σύμφωνα με την παραβολική καμπύλη που περιγράφεται από τη σχέση $RU_{crit} = -0.0323 * T^2 + 1.578 * T - 10.588$ ($r^2=1$). Η σχετική κρίσιμη ταχύτητα κολύμβησης ($RU_{crit} = U_{crit} TL^{-1}$) ιχθυδίων λαβρακιού ολικού μήκους (TL) από 23 έως 43 mm είναι ανεξάρτητη του TL ($p > 0.05$), ενώ και ο ρυθμός αποδόμησης του γαλακτικού οξέως στους μύες διαφοροποιείται έντονα ανάμεσα στις τρεις θερμοκρασίες που δοκιμάστηκαν (15, 20 και 25°C) με το μέγιστο να παρουσιάζεται στη θερμοκρασία των 20°C.

Ακολούθως ελέγχθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης (15 ή 20°C) και των ρευματικών συνθηκών του μέσου εκτροφής (0, 25, 50 και 75% της μέγιστης κρίσιμης ταχύτητας, U_{crit}) στην ανάπτυξη λόρδωσης, μέσω της λεπτομερούς μελέτης μετρικών και μορφομετρικών χαρακτήρων που περιγράφουν τη συγκεκριμένη παραμόρφωση. Διαπιστώθηκε ότι οι πληθυσμοί που εκτράφηκαν στους 15 °C είχαν έως και 4 φορές υψηλότερο ποσοστό φυσιολογικών ατόμων από ότι εκείνοι που εκτράφηκαν στους 20 °C σε όλες τις ρευματικές συνθήκες (20% έναντι 5% περίπου). Ως προς τα παραμορφωμένα άτομα, η ένταση της λόρδωσης διαφοροποιήθηκε σημαντικά ανάμεσα στις δύο θερμοκρασίες ($p < 0,05$), με τον πληθυσμό των 20 °C να παρουσιάζει ξανά χειρότερη εικόνα (μέση γωνία λόρδωσης για τους 15 °C, 160° ενώ για τους 20 °C, 156,1°). Τέλος, παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις μεταξύ των παραμορφωμένων ατόμων των διαφορετικών συνθηκών και όσον αφορά στην ανατομική εικόνα της παραμόρφωσης (πρώτος και τελευταίος παραμορφωμένος σπόνδυλος και αριθμός παραμορφωμένων σπονδύλων) με σημαντικότερη όλων τη διαφοροποίηση ανάμεσα στις δύο θερμοκρασίες όσον αφορά στον αριθμό των παραμορφωμένων σπονδύλων ($p < 0.01$).

Στην προσπάθεια ερμηνείας της διαφορικής επίδρασης της θερμοκρασίας ανάπτυξης στην γένεση λόρδωσης, μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας στην κολυμβητική ικανότητα του λαβρακιού μετά το πέρας της μεταμόρφωσης. Σε όλες τις θερμοκρασίες νερού στις οποίες πραγματοποιήθηκαν οι δοκιμές της κολύμβησης (με εξαίρεση την χαμηλότερη των 15 °C), ο πληθυσμός των ψαριών που αναπτύχθηκαν στους 15 °C επιδεικνύει σημαντικά υψηλότερη κολυμβητική ικανότητα από τον πληθυσμό που αναπτύχθηκε στους 20 °C ($p < 0,05$).

Παράλληλα με τα παραπάνω, εξετάστηκε η επίδραση της λόρδωσης στο σχήμα του σώματος του λαβρακιού και το εύρος διαφοροποίησης αυτού ανάλογα με την ένταση της παραμόρφωσης. Για να γίνει αυτό, προηγήθηκε μια κατηγοριοποίηση των παραμορφωμένων ατόμων ανάλογα με την ένταση της λόρδωσης, η οποία έγινε με αναφορά είτε στη γωνία της λόρδωσης (γωνία της σπονδυλικής στήλης), ή στο συνολικό αριθμό των παραμορφωμένων σπονδύλων. Και στις δύο περιπτώσεις, προέκυψε ότι η ένταση της λόρδωσης επιδρά σημαντικά (και κατά τρόπο συνεχή) στη διαφοροποίηση του σχήματος του σώματος των ατόμων ($p < 0.001$) και μάλιστα η περιοχή του σώματος που υφίσταται τη μεγαλύτερη επίδραση από τη λόρδωση είναι εκείνη γύρω από το κέντρο της παραμόρφωσης (αιματική περιοχή).

Τέλος, επιχειρήθηκε η συσχέτιση μεταξύ κάποιου ή κάποιων μορφομετρικών χαρακτηριστήρων με τη λόρδωση ώστε να δημιουργηθεί μια βάση για τη δημιουργία ενός κριτηρίου ποιότητας των ιχθυδίων. Διαπιστώθηκε ότι υπάρχουν τουλάχιστον 3 χαρακτήρες της εσωτερικής ανατομίας και 4 αντίστοιχοι της εξωτερικής οι οποίοι διαφοροποιούνται αρκετά καλά μεταξύ των διαφορετικών ομάδων γωνιών και άρα ομάδων ποιότητας. Είναι αξιοσημείωτο ότι όλοι οι παραπάνω χαρακτήρες εντοπίζονται στην προσβαλλόμενη από τη λόρδωση αιματική περιοχή.

Τα παραπάνω αποτελέσματα συζητιούνται ως προς τις εφαρμογές που μπορεί να έχουν για την αντιμετώπιση της λόρδωσης. Καταρχάς, η παρούσα εργασία παρέχει τα εργαλεία για περαιτέρω και ακριβέστερη διερεύνηση των γενεσιουργών παραγόντων, για έγκαιρη διάγνωση της παραμόρφωσης και για αξιολόγηση της έντασής της. Έπειτα, για πρώτη φορά σε οποιοδήποτε είδους παραμόρφωση, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας δίνουν τη δυνατότητα για δημιουργία κλίμακας ποιότητας. Τέλος, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι στην παρούσα εργασία αποδεικνύεται για πρώτη φορά η επίδραση και

κάποιου άλλου παράγοντα (θερμοκρασία) στην ανάπτυξη λόρδωσης πέραν των ήδη γνωστών ρευματικών συνθηκών.

7. ABSTRACT

In the present study, the effect of developmental temperature and water current conditions was studied, in respect to lordosis development in sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L. 1758).

First of all, a preliminary study preceded, were the effect of water temperature on swimming ability of sea bass juveniles was studied, and the recovery time after exhaustive exercise was calculated (through the estimation of muscle lactate concentration). The findings clearly show that the swimming performance of sea bass juveniles is significantly affected by water temperature whereas their response curve is bell-shaped and statistically described by the 2-degree polynomial equation $RU_{crit} = -0.0323 \cdot T^2 + 1.578 \cdot T - 10.588$ ($r^2=1$). Moreover, the relative to TL swimming performance ($RU_{crit} = U_{crit} \cdot TL^{-1}$) is independent of the TL in sea bass juveniles of 23-43 mm Total Length (TL). The recovery time needed for muscle lactate concentration to return to normal levels after exhaustive exercise, was significantly affected by water temperature. Between the temperatures studied (15, 20 and 25°C), the highest rate of lactate removal was observed at the 20°C water temperature.

Afterwards, the effect of developmental temperature (15 or 20°C) and water current conditions (0, 25, 50 και 75% of the maximum critical swimming speed, U_{crit}) on lordosis development was studied, through the study of a number of meristic and morphometric characters that describe the deformity. It was concluded that the percentage of the normal specimens was 4 times higher in the population that developed at 15 °C as opposed to the population developed at 20 °C in all current conditions (20% versus 5% approximately). As far as the deformed specimens are concerned, the severity of lordosis differentiated between the two temperature conditions ($p < 0,05$), with the juveniles reared at 20 °C presenting more severe condition (the mean lordosis angle for fish developed at 15 °C was 160° while it was only 156,1° for those that developed at 20 °C). Finally, differences were observed in fish reared at different conditions (temperature and currents) as far as the anatomical image of the deformity is concerned (first and last deformed vertebrae and total number of deformed vertebrae) with the most important of them being the differentiation of the total number of the deformed vertebrae between the two different temperatures ($p < 0.01$).

In the attempt to explain the differential effect of developmental temperature on lordosis induction, the effect of the former on the swimming ability of sea bass juveniles was studied. At the lower swimming temperature (15 °C), the performance of the two populations was not significantly different ($p>0.05$). On the other hand, fish developed at 15 °C exhibited in all other swimming temperatures (20, 25 and 28 °C) higher RU_{crit} values than fish developed at 20 °C ($p<0.05$).

Following the above, the effect of lordosis on body shape differentiation was studied. In order to accomplish that, deformed specimens were first of all categorized in respect to the severity of the lordosis they beard. There were two different categorizations applied: the first took into account the lordosis angle (spinal column angle) and the second the total number of the deformed vertebrae. In both cases, lordosis severity was found to have a determinative effect on body shape differentiation ($p<0.001$). The body area that was mostly affected by lordosis was the one around the deformity centre (haemal area).

Finally, it was attempted to find a correlation between some morphometric characters and lordosis, in order to enable the creation of a quality criterion for sea bass juveniles. The study was conducted in respect to lordosis angle and it revealed that there are at least 3 internal anatomy morphometric characters and 4 ones of the external anatomy that are well differentiated between the different angle categories and therefore between the different quality groups. It is worthwhile mentioning that all the above characters are located at the mostly affected by lordosis haemal area of the body.

The results are discussed in respect to the possible applications concerning the successful confrontation of lordosis. The results of the present study provide valuable tools for more accurate assessment of the causal factors of the deformity, for on time diagnosis of the problem and of course for evaluation of its intensity. Moreover, the results of the present study give the opportunity -for the first time in any kind of deformity- to create a juvenile quality scale. Finally, it is important to note that it is the first time in this study that a factor (temperature) other than water current conditions is strongly associated with lordosis development.

8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Afonso J.M, Montero D., Robaina L., Astorga N., Izquierdo M.S., & Ginés R., 2000. Association of a lordosis-scoliosis-kyphosis deformity in gilthead seabream (*Sparus aurata*) with family structure. *Fish Physiology and Biochemistry*, 22: 159-163.
- Akiyama T., Murai T., & Nose T., 1986a. Oral administration of serotonin against spinal deformity of chum salmon fry tryptophan deficiency. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 52: 1249–1254.
- Akiyama T., Murai T., & Mori K., 1986b. Role of tryptophan metabolites in inhibition of spinal deformity of chum salmon fry caused by tryptophan deficiency. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 52: 1255–1259.
- Alliot E., Pastoureaud A., & Thebault H., 1983. Influence de la température et de la salinité sur la croissance et la composition corporelle d'alevins de *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 31: 181-194.
- Andrades J.A., Becerra J., & Fernández-Llebrez P., 1994. Skeletal deformities of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.): study of the subcommissural organ (SCO) and Reissner's fiber (RF). *Annual Anatomy*, 176: 381–383.
- Andrades J.A., Becerra J., & Fernández-Llebrez P., 1996. Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.). *Aquaculture*, 141: 1–11.
- Ayala M.D., López-Albors O., Gil F., García-Alcázar A., Abellán E., Alarcón J.A., Álvarez M.C., Ramírez-Zarzosa G., & Moreno F., 2001. Temperature effects on muscle growth in two populations (Atlantic and Mediterranean) of sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Aquaculture*, 202: 359-370.
- Backiel T., Kokurewicz B., & Ogorzalek A., 1984. High incidence of skeletal anomalies in carp, *Cyprinus carpio*, reared in cages in flowing water. *Aquaculture*, 43: 369–380.
- Barnabe G., 1976. Contribution a la connaissance de la biologie du loup *Dicentrarchus labrax* (Poisson Serranide) de la region de Sete. Thèse d'Etat, Université des Sciences et Techniques de Languedoc, Montpellier.
- Barnett C.W., & Pankhurst N.W., 1998. The effects of common laboratory and husbandry practices on the stress response of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* (Gunther, 1862). *Aquaculture*, 162: 313-329.
- Batty R.S., Blaxter J.H.S., & Fretwell K., 1993. Effect of temperature on the escape responses of larval herring, *Clupea harengus*. *Marine Biology*, 115: 523-528.
- Beamish F.W.H., 1978. Swimming capacity, Locomotion. In *Fish Physiology*, Vol. VII (Hoar, W.S., Randall, D.J., eds.), pp 101-187. New York: Academic Press.
- Bell W. H., & Terhune L. D. B., 1970. Water tunnel design for fisheries research. Fisheries Research Board of Canada Technical Report, 195: 1-69.
- Bengtsson Å., Bengtsson B.E., & Lithner G., 1998. Vertebral defects in fourhorn sculpin, *Myoxocephalus quadricornis* L., exposed to heavy metal pollution in the Gulf of Bothnia. *Journal of Fish Biology*, 33: 517–529.

- Blaxter J.H.S., 1969. Development: eggs and larvae. *In*: Fish Physiology, Vol. III (Hoar, W.S., Randall, D.J., eds.), pp 177-252. New York: Academic Press.
- Blaxter J.H.S., 1976. Reared and wild fish-how do they compare? *In*: 10th European Symposium on Marine Biology. Belgium, September 12-13, 1975. Vol. 1 (Persoone, G. & Jaspers, E., eds). Wetteren, Universal Press, pp. 11-26.
- Blaxter J.H.S., 1988. Pattern and variety in development. *In*: Fish Physiology XIA. Hoar, W.S. and Randall, D.J. (Eds.). Academic Press, London, pp. 1-58.
- Blaxter, J.H.S., 1992. The effect of temperature on larval fishes. *Netherlands Journal of Zoology*, 42: 336-357.
- Boglione C., Marino G., Bertolini B., Rossi A., Ferreri F., & Cataudella S., 1993. Larval and post larval monitoring in sea bass: morphological approach to evaluate finfish seed quality. *In*: G. Barnabé and P. Kestmont, Editors, Aquaculture 92. Production, Environment and Quality, Eur. Aquacult. Soc. Spec. Publ., 18: 189–204.
- Boglione C., Marino G., Ferreri F., Finoia M.G., Scardi M., Fresi E., & Cataudella S., 1994. Anatomical aspects for seed quality assessment in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): hatchery and wild populations. p.191-197. *In*: Measures for success. Metrology and instrumentation in aquaculture management (Kestemont P., J. Muir, F. Sevilla, & P. Williot Eds). CEMAGREF., France, 321p.
- Boglione C., Marino G., Fusari A., Ferreri A., Finoia M.G., & Cataudella S., 1995. Skeletal anomalies in *Dicentrarchus labrax* juveniles selected for functional swimbladder. ICES marine Science Symposium, 201: 163-169.
- Brana F., & Ji X., 2000. Influence of Incubation Temperature on Morphology, Locomotor Performance, and Early Growth of Hatchling Wall Lizards (*Podarcis muralis*). *Journal of Experimental Biology*, 286: 422-433.
- Brett J.R., 1964. The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 21: 1183-1226.
- Brett J.R., 1967. Swimming performance of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in relation to fatigue time and temperature. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 24: 1731-1741.
- Cataudella S., Marino G., Ferreri F., dell'Aquila M., Loy A., Scardi M., & Boglione C., 1995. Morphology and morphometrics to evaluate finfish larval and fry quality: the case of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *In*: Lavens, P., Jaspers, E. and Roelants, J. Editors, 1995. Larvi '95 Fish and Shellfish Larviculture Symposium, EAS Special Publication, (24): 60–63.
- Chambers R.C., & Leggett W.C., 1987. Size and age at metamorphosis in marine fishes: An analysis of laboratory-reared winter flounder (*Pleuronectes americanus*) with a review of variation in other species. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44: 1936-1947.
- Chatain B., 1987. La vessie natatoire chez *Dicentrarchus labrax* et *Sparus aurata*: II. Influence des anomalies de développement sur la croissance de la larve. *Aquaculture*, 65: 175–181.

- Chatain B., 1994. Abnormal swimbladder development and lordosis in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus auratus*). *Aquaculture*, 119: 371–379.
- Chatain B., & Dewavrin G., 1989. Influence des anomalies de développement de la vessie natatoire sur la mortalité de *Dicentrarchus labrax* au cours du sevrage. *Aquaculture*, 78: 55-61.
- Chatain B., & Ounais-Guschemann N., 1990. Improved rate of initial swim bladder inflation in intensively reared *Sparus auratus*. *Aquaculture*, 84: 345-353.
- Chun S., Park C., & Lee C., 1981. Acute toxicity of certain pesticides to teleost, with special respect to TLM and vertebral abnormality. *Publ. Inst. Mar. Sci. Nat. Fish. Univ. Busan*, 13: 43–48.
- Claireaux G., & Lagardère J.P., 1999. Influence of temperature, oxygen and salinity on the metabolism of the European sea bass. *Journal of Sea Research*, 42: 157-168.
- Corti M., Loy A., & Cataudella S., 1996. Form changes in the sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Moronidae: Teleostei), after acclimation to freshwater: an analysis using shape coordinates. *Environmental Biology of Fishes*, 47: 165-175.
- Coves D., 1985. Etat actuel de l'élevage du loup *Dicentrarchus labrax*, en ecloserie. *Aquarevue*, 3: 26-30.
- Daoulas C.H., Economou N.A., & Bantavas I., 1991. Osteological abnormalities in laboratory reared sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fingerlings. *Aquaculture*, 97: 169–180.
- Davison W., 1997. The effects of exercise training on teleost fish, a review of recent literature. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 117A: 67-75.
- Debat V., & David P., 2001. Mapping phenotypes: canalization, plasticity and developmental stability. *Tree*, 16: 555-561.
- Dedi J., Takeuchi T., Hosoya K., Watanabe T., & Seikai T., 1998. Effect of vitamin A levels in *Artemia* nauplii on the caudal skeleton formation of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries Science*, 64: 344–345.
- Divanach P., 1985. Contribution de la Biologie et de l'Élevage de 6 Sparidés Méditerranéens: *Sparus aurata*, *Diplodus sargus*, *Diplodus vulgaris*, *Diplodus annularis*, *Lithognathus mormyrus*, *Puntazzo puntazzo* (Poissons Téléostéens). Thèse d'Etat, Université des Sciences et Techniques de Languedoc. 479p.
- Divanach P., & Kentouri M., 2000. Hatchery techniques for specific diversification in Mediterranean finfish larviculture. *In: Proceedings of the CIHEAM TECAM network field in Zaragoza, 24-28 May, 1999. Cahier Options Mediterranee*, 47: 75-87.
- Divanach P., Boglione C., Menu B., Koumoundouros G., Kentouri M., & Cataudella S., 1996. Abnormalities in finfish mariculture: an overview of the problem, causes and solutions. *In: Seabass and Seabream culture: Problems and Prospects* (Chatain, B., Saroglia, M., Sweetman, J., Lavens, P., eds.), pp. 45-66. Oostende, Belgium: European Aquaculture, Society.

- Divanach P., Papandroulakis N., Anastasiadis P., Koumoundouros G., & Kentouri M., 1997. Effect of water currents during postlarval and nursery phase on the development of skeletal deformities in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) with functional swimbladder. *Aquaculture*, 156: 145-155.
- Durent H., 1986. Influence de l'alimentation sur la croissance des larves de capre (*Cyprinus carpio*) et de coregone (*Coregonus schinzi palea*) aspects morphologiques. Université de Bordeaux I, Science des Aliments. Docteur en Nutrition et Alimentation.
- Ellis T., Howell B.R. & Hayes J., 1997. Morphological differences between wild and hatchery-reared turbot. *Journal of Fish Biology*, 50: 1124-1128.
- Estevez A., & Kanazawa A., 1995. Effect of (n-3) PUFA and vitamin A *Artemia* enrichment on pigmentation success of turbot, *Scophthalmus maximus* (L). *Aquaculture Nutrition*, 1: 159-168.
- Faustino M., & Power D.M., 1997. Development of osteological structures in the sea bream: vertebral column and caudal fin complex. *Journal of Fish Biology*, 52: 11-22.
- Faustino M., & Power D.M., 1999. Development of the pectoral, pelvic, dorsal and anal fins in cultured sea bream. *Journal of Fish Biology*, 54: 1-17.
- Francescon A., Freddi A., Barbaro A., & Giavenni R., 1988. Daurade *Sparus aurata* L. reproduite artificiellement et daurade sauvage. Expériences paralleles en diverses conditions d' élevage. *Aquaculture*, 72: 273-285.
- Fry F.E.J. 1971. The effect of environmental factors on the physiology of fish. *In: Fish Physiology*, Vol. VI, (Hoar, W.S., Randall, D.J., eds.), pp 1-98. New York: Academic Press.
- Fuiman L.A., 1991. Influence of temperature on evasive responses of Atlantic herring larvae attacked by yearling, *Clupea harengus* L. *Journal of Fish Biology*, 39: 93-102.
- Fuiman L.A., & Batty R.S., 1997. What a drag it is getting cold: partitioning the physical and physiological effects of temperature on fish swimming. *Journal of Experimental Biology*, 200: 1745-1755.
- Fuiman L.A., Poling K.R., & Higgs D.M., 1998. Quantifying developmental progress for comparative studies of larval fishes. *Copeia*, 1998(3): 602-611.
- Galloway T.F., Kjorsvik E, & Kryvi H., 1999. Muscle growth in yolk-sac larvae of the Atlantic halibut as influenced by temperature in the egg and yolk-sac stage. *Journal of Fish Biology*, 55: 26-43.
- Giguere L.A., Cote B., & St-Pierre J.F., 1988. Metabolic rates scale isometrically in larval fishes. *Marine Ecology Progress Series*, 50: 13-19.
- Haaparanta A., Valtonen E.T., & Hoffmann R.W., 1997. Gill anomalies of perch and roach from four lakes differing in water quality. *Journal of Fish Biology*, 50: 575-591.

- Hammer C., 1995. Fatigue and exercise tests with fish. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 112: 1-20.
- Hard J.J., Berejikian B.A., Tezak E.P., Schroder S.L., Knudsen C.M., & Parker T.L., 2000. Evidence for morphometric differentiation of wild and captively reared adult coho salmon: a geometric analysis. *Environmental Biology of Fishes*, 58: 61-73.
- Hardewig I., Van Dijk P.L.M., & Portner H.O., 1998. High-energy turnover at low temperatures: recovery from exhaustive exercise in Antarctic and temperate eelpouts. *American Journal of Physiology*, 274: 1789-1796.
- Hauser L., Carvalho G.R., & Pitcher T. J., 1995. Morphological and genetic differentiation of the African clupeid *Limnothrissa miodon* 34 years after its introduction to Lake Kivu. *Journal of Fish Biology*, 47 (Suppl. A): 127-144.
- Hauser L., Carvalho G.R., & Pitcher T.J., 1998. Genetic population structure in the Lake Tanganyika sardine *Limnothrissa miodon*. *Journal of Fish Biology*, 53 (Suppl. A): 413-429.
- Herzig A., & Winkler H., 1986. The influence of temperature on the embryonic development of three cyprinid fishes, *Abramis brama*, *Chalcalburnus chalcoides mento* and *Vimba vimba*. *Journal of Fish Biology*, 28: 171-181.
- Hinton D.E., Baumann P.C., Gardner G.R., Hawkins W.E., Hendricks J.D., Murchelano, R.A., & Okihira M.S., 1992. Histopathological biomarkers. In: *Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological Markers of Antropogenic Stress*. pp. 155-209. Edited by R.J. Hugget, R.A. Kimerle, P.M. Mehrle and H. Bergman. Lewis, Boca Raton.
- Huxley J.S., 1932. *Problems of relative growth*. Methuen and Co., London, 276p.
- Ibanez-Aguirre A.L., & Leonart J., 1996. Relative growth and comparative morphometrics of *Mugil cephalus* L. and *M. curema* V. in the Gulf of Mexico. *Sci. Mar.*, 60: 361-368.
- Jennings S., Pawson M.G., 1992. The origin and recruitment of bass, *Dicentrarchus labrax*, larvae to nursery areas. *Journal of the Marine Biological Association, UK* 72: 199-212.
- Johnson T.P., Cullum A.J., & Bennett A.F., 1998. Partitioning the effects of temperature and kinematic viscosity on the c-start performance of adult fishes. *Journal of Experimental Biology*, 20: 2045-2051.
- Johnston I.A., 1993. Temperature influences muscle differentiation and the relative timing of organogenesis in herring (*Clupea harengus*) larvae. *Marine Biology*, 116: 363-379.
- Johnston I.A., & Goldspink G., 1973a. A study of glycogen and lactate in the myotomal muscles and liver of the coalfish (*Gadus virens* L.) during sustained swimming. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 53: 17-26.
- Johnston I.A., & Goldspink G., 1973b. A study of the swimming performance of the crucian carp *Carassius carassius* (L.) in relation to the effects of exercise and recovery

- on biochemical changes in the myotomal muscles and liver. *Journal of Fish Biology*, 5: 249-260.
- Johnston I.A., Cole N.J., Abercromby M., Vieira V.L.A. 1998. Embryonic temperature modulates muscle growth characteristics in larval and juvenile herring *Journal of Experimental Biology*, 201 (5): 623-646.
- Jones D.R., 1982. Anaerobic exercise in teleost fish. *Canadian Journal of Zoology*, 60: 1131-1134.
- Jones D.R., Kiceniuk J.W., & Bamford O.S., 1974. Evaluation of the swimming performance of several fish species from the Mackenzie River. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 31: 1641-1647.
- Junquera S., & Perez-Gandaras G., 1993. Population diversity in Bay of Biscay anchovy (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) as revealed by multivariate analysis of morphometric and meristic characters. *ICES Journal of Marine Science* 50: 383-391.
- Kanazawa A., Teshima S., Koshio S., Higashi M., & Itoh S., 1992. Effect of L-ascorbyl-2-phosphate-Mg on the yellowtail *Seriola quinqueradiata* as a vitamin C source. *Nippon Suisan Gakkishi*, 58: 337-341.
- Kendall A.W., Ahlstrom E.H., & Moser H.G., 1984. Early life history stages of fishes and their characters. In: Moser, H.G., Richards, W.J., Cohen, D.M., Fahay, M.P., Kendall, A.W., Richardson, S.L. (eds.), *Ontogeny and Systematics of Fishes*. American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Special Publication no 1, Allen Press Inc, Laurence USA, pp. 11-22.
- Kieffer J.D., 2000. Limits to exhaustive exercise in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 126A: 161-179.
- Kihara M., Ogata S., Kawano N., Kubota I., & Yamaguchi R., 2002. Lordosis induction in juvenile red sea bream, *Pagrus major*, by high swimming activity. *Aquaculture*, 212: 149-158.
- Kinne O., & Kinne E.M., 1962. Rates of development in embryos of a cyprinodont fish exposed to different temperature - salinity - oxygen combinations. *Canadian Journal of Zoology*, 40: 231-253.
- Kitajima C., Tsukashima Y., Fujita S., Watanabe T., & Yone Y., 1981. Relationship between uninflated swim bladders and lordotic deformity in hatchery-reared red seabream *Pagrus major*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 47: 1289-1294 (in Japanese with English abstract).
- Klimogianni A., Koumoundouros G., Kaspiris P., & Kentouri M. Effect of temperature on the embryonic and yolk-sac larval development of common Pandora, *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758). Submitted
- Κουμουνδούρος Γ., 1998. Οντογένεση της λειτουργικής μορφολογίας και κριτήρια ποιότητας των νυμφών και ιχθυδίων της συναγροΐδας *Dentex dentex* (L. 1758), σε συνθήκες εκτροφής. Διδακτορική διατριβή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, σελ. 155.

- Koumoundouros G., Kiriakos Z., Divanach P., & Kentouri M., 1995. Morphometric relationships as criteria for the evaluation of larval quality of gilthead sea bream. *Aquaculture International*, 3: 143-149.
- Koumoundouros G., Gagliardi F., Divanach P., Boglione C., Cataudella S., & Kentouri M., 1997a. Normal and abnormal osteological development of caudal fin in *Sparus aurata* L. fry. *Aquaculture*, 149: 215-226.
- Koumoundouros G., Oran G., Divanach P., Stefanakis S., & Kentouri M., 1997b. The opercular complex deformity in intensive gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larviculture. Moment of apparition and description. *Aquaculture*, 156: 165-177.
- Koumoundouros G., Divanach P., & Kentouri M., 1999. Ontogeny and allometric plasticity of *Dentex dentex* (Osteichthyes, Sparidae) in rearing conditions. *Marine Biology*, 135: 561-572.
- Koumoundouros G., Divanach P., Savaki A., & Kentouri M., 2000. Effects of three preservation methods on the evolution of swimbladder radiographic appearance in sea bass and sea bream juveniles. *Aquaculture*, 182: 17-25.
- Koumoundouros G., Maingot E., Divanach P., & Kentouri M., 2001a. Kyphosis in reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): ontogeny and effects on mortality. *Aquaculture*, 209: 49-58.
- Koumoundouros G., Divanach P., Anezaki L., & Kentouri M., 2001b. Temperature-induced ontogenetic plasticity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Marine Biology*, 139: 817-830.
- Koumoundouros G., Sfakianakis D.G., Divanach P., & Kentouri M., 2002a. Effect of temperature on swimming performance of sea bass juveniles. *Journal of Fish Biology*, 60: 923-932.
- Koumoundouros G., Pavlidis M., Anezaki L., Kokkari C., Sterioti A., Divanach P., & Kentouri M., 2002b. Temperature sex determination in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L., 1758) (Teleostei, Perciformes, Moronidae): Critical sensitive ontogenetic phase. *Journal of Experimental Biology*, 292: 573-579.
- Kucharczyk D., Luczynski M., Kujawa R., & Czerkies P., 1997. Effect of temperature on embryonic and larval development of bream (*Abramis brama* L.). *Aquatic Sciences*, 59: 214-224.
- Lindesjoo E., Thulin J., Bengtsson B.E., & Tjarlund U., 1994. Abnormalities of a gill cover bone, the operculum, in perch *Perca fluviatilis* from a pulp mill effluent area. *Aquatic Toxicology*, 28: 189-207.
- Lindsey C.C., 1988. Factors controlling meristic variation. *In: Fish Physiology XIB*. Hoar, W.S. and Randall, D.J. (Eds.). Academic Press, London, pp. 197-274.
- Lopez-Albors O., Gil F., Ramirez-Zarzosa G., Latorre R., Garcia-Alcazar A., Abellan E., Blanco A., Vazquez J.M., & Moreno F., 1995. Early muscle injuries in a standard reared stock of sea bass *Dicentrarchus labrax*, (L.). *Aquaculture*, 138: 69-76.

- Loy A., Boglione C., & Cataudella S., 1999. Geometric morphometrics and morphoanatomy: a combined tool in the study of sea bream (*Sparus aurata*, Sparidae) shape. *Journal of Applied Ichthyology*, 15: 104–119.
- Mair G.C., 1992. Caudal deformity syndrome (CDS): an autosomal recessive lethal mutation in the tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of Fish Diseases*, 15: 71-75.
- Mananos E.L., Zanuy S., & Carrillo M., 1997. Photoperiodic manipulations of the reproductive cycle of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and their effects on gonadal development, and plasma 17 β -estradiol and vitellogenin levels. *Fish Physiology and Biochemistry* 16: 211-222.
- Mansfield P.J., & Mansfield A.H., 1982. Influence of background color and intensity of illumination on melanophore expansion in larval fish. *In: The fifth annual larval fish conference.* (Bryan C.F., Conner J.V., & Truesdale F.M. eds.). Louisiana State University, Louisiana Cooperative Fishery Research Unit, Baton Rouge, pp. 60-62.
- Marangos C., Yagi H., & Ceccaldi H.J., 1986. The role of temperature and salinity on hatching rate and morphogenesis during embryo development in *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Pisces, Teleostei, Serranidae). *Aquaculture*, 54: 287-300.
- Margulies D. 1988. Effects of food concentration and temperature on development, growth, and survival of white perch, *Morone americana*, eggs and larvae. *Fishery Bulletin USA* 87: 63-72.
- Marino G., Boglione C., Bertolini B., Rossi A., Ferreri F., & Cataudella S., 1993. Observations on development and anomalies in the appendicular skeleton of sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. 1758, larvae and juveniles. *Aquaculture and Fisheries Management*, 24: 445–456.
- Marliave J.B., 1988. Variation in pigment and nape morphology of larval tidepool sculpin. *Am. Fish. Soc. Symp.*, 5: 50-88.
- Matsuoka M., 1987. Development of the skeletal tissues and skeletal muscles in the red sea bream. *Bull. of Seikai Reg. Fish. Res. Lab.*, 65: 1-114.
- May R.C., 1974. Effects of temperature and salinity on the yolk utilization in *Bairdiella icistia* (Jordan and Gilbert) (Pisces: Scianidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 16: 213-225.
- McConnell E., & Barrows F., 1993. Pathological changes associated with vitamin C deficiency in walleyes. *Journal of Aquatic Animal Health*, 5: 287–293.
- McKay L.R., & Gjerde B., 1986. Genetic variation for a spinal deformity in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, 52: 263-272.
- Mendez E., Anastasiadis P., Kentouri M., Pavlidis M., & Divanach P., 1995. Preliminary data on spawning activity of five Mediterranean teleost species kept in captivity, in Crete (Greece). *In: Castello I, Orvay F, Calderer I, Reig A (eds) Proceedings of the fifth National Congress on Aquaculture.* Universitat de Barcelona, Spain, p 398-403.

- Meyer A., 1987. Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense* (Pisces: Cichlidae) and their implications for speciation in cichlid fishes. *Evolution*, 41: 1357-1369.
- Milligan C.L., 1996. Metabolic recovery from exhaustive exercise in rainbow trout: Review. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 113A: 51-60.
- Milligan C.L., & Girard S.S. 1993. Lactate metabolism in rainbow trout: *Journal of Experimental Biology*, 180: 175-193.
- Moyes C.D., & West T.G., 1995. Exercise metabolism of fish, in *Biochemistry and molecular biology of fishes*, vol 4. (Eds. Hochachka and Mommsen). Elsevier Science B.V.
- Murray C.B., & Beacham T., 1989. Responses of meristic characters in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) to temperature changes during development. *Canadian Journal of Zoology*, 67: 596-600.
- Myrick C.A., & Cech J.J.Jr., 2000. Swimming performances of four California stream fishes: temperature effects. *Environmental Biology of Fishes*, 58: 289-295.
- Nacario J.F., 1983. The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherondon niloticus* (*Tilapia nilotica*). *Aquaculture*, 34: 73-83.
- Nathanailides C., Lopez-Albors O., & Stickland N.C., 1995. Influence of pre-hatch temperature on the development and muscle cellularity in post-hatch Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52: 675-680.
- Nathanailides C., Lopez-Albors O., Abellan E., Vazquez J.M., Tyler D.D., Rowlerson A., & Stickland N.C., 1996. Muscle cellularity in relation to somatic growth in the European sea bass *Dicentrarchus labrax*, L. *Aquaculture Research*, 27: 885-889.
- Oikawa S., & Itazawa Y., 1985. Gill and body surface areas of the carp in relation to body mass, with special reference to the metabolism-size relationship. *Journal of Experimental Biology*, 117: 1-14
- Ojanguren A.F., & Brana F., 2000. Thermal dependence of swimming endurance in juvenile brown trout. *Journal of Fish Biology*, 56: 1342-1347.
- Opuszynski K., Shireman J.V., Aldridge F.J., & Rottmann R., 1985. Intensive culture of grass carp and hybrid grass carp larvae. *Journal of Fish Biology*, 26: 563-573.
- Paperna I., 1978. Swimbladder and skeletal deformations in hatchery bred *Sparus aurata*. *Journal of Fish Biology*, 12: 109-114.
- Paton K.R., Cake M.H., & Potter I.C., 2001. Muscle glycogen, lactate and glycerol-3-phosphate concentrations of larval and young adult lampreys in response to exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 129: 759-766.
- Pavlidis M., Koumoundouros G., Steriotti A., Somarakis S., Divanach P., & Kentouri M., 2000. Evidence of temperature dependent sex determination in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Journal of Experimental Zoology*, 287:225-232.

- Pavlov D.A., & Moksness E., 1997. Development of the axial skeleton in wolffish, *Anarhichas lupus* (Pisces, Anarhichadidae), at different temperatures. *Environmental Biology of Fishes*, 49: 401–416.
- Pavlov D.A., 1997. Development of head skeleton and paired fin girdles in wolffish, *Anarhichas lupus*, at different temperature regimes. *Journal of Ichthyology*, 37: 294–303.
- Policansky D., 1982. Influence of age, size, and temperature on metamorphosis in the starry flounder, *Platichthys stellatus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39: 514–517.
- Polo A., Yufera M., & Pascual E., 1991. Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 92: 367–375.
- Poynton S., 1987. Vertebral column abnormalities in brown trout, *Salmo trutta* L. *Journal of Fish Diseases*, 10: 53–57.
- Purdom C.E., 1993. *Genetics and Fish Breeding*. Chapman & Hall, London.
- Reist J.D., 1985. An empirical evaluation of several univariate methods that adjust for size variation in morphometric data. *Canadian Journal of Zoology* 63: 1429–1439.
- Ricker W.E., 1979. Growth rates and models. *In: Fish Physiology VIII*. W.S. Hoar, D.J. Randall and J.R. Brett (Editors). Academic Press, New York, pp. 678–743.
- Rossiter A.M., 1996. Physiology and survival of Atlantic salmon following exhaustive exercise in soft and acidic water: implications for the catch and release fishery. M.Sc. Thesis. Queen's University, Kingston, Canada, pp 82.
- Seikai T., Tanangonan J.B., & Tanaka M., 1986. Temperature influence on larval growth and metamorphosis of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in the laboratory. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 52: 977–982.
- Sfakianakis D.G., Koumoundouros G., Divanach P., & Kentouri M., Osteological development of the vertebral column and of the fins in *Pagellus erythrinus* (L. 1758). Temperature effect on the developmental plasticity and morpho-anatomical abnormalities. *Aquaculture*, in press
- Sokal RR., & Rohlf F.J., 1981. *Biometry*, 2nd edn. New York: W. H. Freeman.
- Stickland N.C., White R.N., Mescall P.E., Crook A.R., & Thorpe J.E., 1988. The effect of temperature on myogenesis in embryonic development of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L). *Anatomy and Embryology*, 178: 253–257.
- Strauss R. E., & Bookstein F. L., 1982. The truss: body form reconstruction in morphometrics. *Systematic Zoology*, 31: 113–135.
- Takashima F., 1978. Vertebral malformation in hatchery-reared red seabream, *Chrysophrys major*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 44: 435–443 (in Japanese with English abstract).
- Takashima F., Arai Y., & Nomura M., 1980. Abnormal development of the swimbladder in hatchery-reared red sea-bream, *Chrysophrys major*. *J. Tokyo Univ. Fish.*, 67, 67–73 (in Japanese with English abstract).

- Takeuchi T., Dedi J., Ebisawa C., Watanabe T., Seikai T., Hosoya K., & Nakazone J.I., 1995. The effect of beta-carotene and vitamin A enriched *Artemia* nauplii on the malformation and color abnormality of larval Japanese flounder. *Fisheries Science*, 61: 141–148.
- Taniguchi N., Azuma K., & Umeda S., 1984. Difference due parents in incidence of vertebral malformation in artificially-bred red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50: 787-792. (In Japanese with English abstract).
- Teh S.J., Deng X., Teh F.C., & Hung S.O., 2002. Selenium-induced teratogenicity in Sacramento splittail (*Pogonichthys macrolepidotus*). *Marine Environmental Research*, 54: 605-608.
- Temple G.K., & Johnston I.A., 1998. Testing hypotheses concerning the phenotypic plasticity of escape performance in fish of the family Cottidae. *Journal of Experimental Biology*, 201: 317–331.
- Thomas P.M., Pankhurst N.W., Bremner H.A., 1999. The effect of stress and exercise on post-mortem biochemistry of Atlantic salmon and rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 54: 1177–1196.
- Tudela S., 1999. Morphological variability in a Mediterranean, genetically homogeneous population of the European anchovy, *Engraulis encrasicolus*. *Fisheries Research*, 42: 229–243.
- Walsh W.A., Swanson C., Lee C.S., Banno J.E., & Eda H., 1989. Oxygen consumption by eggs and larvae of striped mullet, *Mugil cephalus*, in relation to development, salinity and temperature. *Journal of Fish Biology*, 35: 347-358.
- Walsh W.A., Swanson C., & Lee C.-S., 1991. Effects of development, temperature and salinity on metabolism in eggs and yolk-sac larvae of milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal). *Journal of Fish Biology*, 39: 115-125.
- Wang L.H., & Tsai C.L., 2000. Effects of temperature on the deformity and sex differentiation of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Experimental Zoology*, 286: 534-537.
- Watanabe W.O., Lee C.S., Ellis S.C., & Ellis E.P., 1995. Hatchery study of the effects of temperature on eggs and yolksac larvae of the Nassau grouper *Epinephelus striatus*. *Aquaculture*, 136: 141-147.
- Webb P., 1997. Swimming. *In*: D. Evans, Editor, *The Physiology of Fishes*. CRC Press, New York, pp. 3–24.
- Wiegand M.D., Buchanan L.G., Loewen J.M., & Hewitt C.M., 1988. Effects of rearing temperature on development and survival of embryonic and larval goldfish. *Aquaculture*, 71: 209-222.
- Wiegand M.D., Hataley J.M., Kitchen C.L., & Buchanan L.G., 1989. Induction of developmental abnormalities in larval goldfish, *Carassius auratus* L., under cool incubation conditions. *Journal of Fish Biology*, 35: 85-95.

- Wimberger P.H., 1992. Plasticity of fish body shape: the effects of diet, development, family and age in two species of *Geophagus* (Pisces: Cichlidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 45: 197-218.
- Wood C.M., 1991. Acid–base and ion balance, metabolism, and their interactions, after exhaustive exercise in fish. *Journal of Experimental Biology*, 160: 285–308.
- Wunder W., 1981. Lateral Curvature of the Vertebral Column (Scoliosis) of Carp (*Cyprinus carpio*). A Photographic study. *Fisch. Teichwirt*, 32: 293–296.