

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ & ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ- ΥΔΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Παραλλακτικότητα πληθυσμών αχινού
(*Paracentrotus lividus*, Lamarck, 1816) στο Αιγαίο και Ιόνιο Πέλαγος.



ΒΑΣΙΛΙΚΗ Γ. ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ

ΒΟΛΟΣ 2006

Παραλλακτικότητα πληθυσμών αχινού
(*Paracentrotus lividus*, Lamarck, 1816) στο Αιγαίο
και Ιόνιο Πέλαγος

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Νεοφύτου Χρήστος
Καθηγητής Π.Θ.
Υδροβιολογία-Ιχθυολογία
Επιβλέπων

Βαφείδης Δημήτριος
Επίκουρος Καθηγητής Π.Θ.
Βιοποικιλότητα των θαλάσσιων
Βενθικών Ασπονδύλων και
άμεση-έμμεση χρηστικότητα τους
Μέλος

Εξαδάκτυλος Αθανάσιος
Λέκτορας Π.Θ.
Γενετική Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών
Μέλος

Αφιερώνεται στους γονείς μου και την αδερφή μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ιχθυολογίας-Υδροβιολογίας του τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με επιβλέποντα τον Καθηγητή κ. Χρήστο Ν. Νεοφύτου.

Από την θέση αυτή θεωρώ υποχρέωση μου να ευχαριστήσω όλους όσους βοήθησαν και συνέβαλαν στην πραγματοποίηση αυτής της εργασίας και κυρίως τους γονείς μου για την ηθική και υλική συμπαράσταση, που χωρίς τη δική τους προσφορά και υπομονή δε θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί αυτό το Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή κ. Χρήστο Ν. Νεοφύτου, τον Λέκτορα κ. Αθανάσιο Εξαδάκτυλο και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Βαφείδη Δημήτριο για την πολύτιμη και αμέριστη βοήθεια τους, το χρόνο που μου αφιέρωσαν και τις εύστοχες παρατηρήσεις τους.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Αθανάσιο Εξαδάκτυλο για την κατανόηση και τη συμπαράσταση που μου έδειξε κατά την πορεία της διατριβής. Την κ. Μ. Α. Pancucci, τον κ. Π. Πανταζή και τον κ. Δ. Βαφείδη για τη βοήθεια τους. Επίσης, τον κ. Γ. Γκάφα για την πολύτιμη βοήθεια του κατά την πορεία της παρούσας διατριβής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν ο εντοπισμός της παραλλακτικότητας του *Paracentrotus lividus* στην Ελλάδα, δηλαδή ο εντοπισμός των διαφορών όσον αφορά τα μορφομετρικά και γενετικά χαρακτηριστικά των πληθυσμών. Στα πλαίσια του σκοπού αυτού η εκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας-δομής επιτεύχθη με τη χρήση της τεχνικής RAPD- PCR.

Οι μορφομετρικές μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν η μέγιστη σταθερή διάμετρος, το μέγιστο σταθερό ύψος, το ολικό νωπό βάρος, το καθαρό βάρος κελύφους και το καθαρό βάρος γονάδας. Υπολογίστηκε επίσης ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος και προς το καθαρό βάρος κελύφους.

Όλοι οι πληθυσμοί που εξετάστηκαν (του Παγασητικού Κόλπου, του Αμβρακικού Κόλπου, δύο της Αστυπάλαιας και της Χαλκιδικής, συνολικά 208 άτομα) παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά όλες τις μορφομετρικές μετρήσεις που εξετάστηκαν. Όλοι οι πληθυσμοί παρουσίασαν παραλλακτικότητα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του συντελεστή παλινδρόμησης (b), με μεγαλύτερη τιμή (3,717) για τον έναν πληθυσμό της Αστυπάλαιας (2005). Ο ρυθμός αύξησης των ατόμων καθώς και ο γοναδοσωματικός δείκτης δεν παρουσίασαν αξιόλογες διαφορές μεταξύ των πληθυσμών. Τα περισσότερα άτομα ήταν θηλυκά, τα οποία παρουσίασαν μεγαλύτερο μέγεθος από τα αρσενικά. Επίσης, υπήρχαν αρκετά γενετικά ανώριμα άτομα μεταξύ των πληθυσμών.

Για την τεχνική RAPD- PCR χρησιμοποιήθηκαν 7 RAPD δείκτες από τους 31 που δοκιμάστηκαν σε δυο πληθυσμούς, του Παγασητικού κόλπου και της Χαλκιδικής. Για τους δυο πληθυσμούς προέκυψε ο δείκτης παραλλακτικότητας (F_{ST}) ίσος με 0,04239 μη στατιστικά σημαντικός ($P=0,06$) και η γενετική τους απόσταση (D) 0,014. Επίσης, υπολογίστηκε η γονιδιακή ροή (N_m) ίση με 5,64 άτομα ανά γενιά ανά

πληθυσμό. Οι δυο πληθυσμοί παρουσιάζουν μικρή γενετική διαφοροποίηση, μικρή γενετική απόσταση και υψηλή γονιδιακή ροή. Η παρούσα μελέτη για το είδος *P. lividus* επαληθεύεται από μελέτες που έχουν γίνει σε πολλά είδη αχινών. Αν και οι αχινοί είναι εδραίοι οργανισμοί με μικρή κινητικότητα, εμφανίζουν μεγάλα ποσοστά γονιδιακής ροής ακόμα και σε πληθυσμούς οι οποίοι βρίσκονται σε μεγάλες γεωγραφικές αποστάσεις. Οι δυο υπό εξέταση πληθυσμοί δεν είναι αποκλεισμένοι μεταξύ τους δηλαδή δεν υπάρχει κάποιο φυσικό εμπόδιο που να εμποδίζει τη γονιδιακή ροή μεταξύ των πληθυσμών.

Λέξεις κλειδιά: *Paracentrotus lividus*, RAPD-PCR, γενετική δομή, μορφομετρικές μετρήσεις, γοναδοσωματικός δείκτης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1: Εχινόδερμα	9
Συμμετρία	10
Το υδροφορικό σύστημα.....	11
Ύπαρξη ασβεστολιθικού εξωσκελετού	11
1.2: Οικολογία του φύλου των Εχινόδερμων	12
1.3: Εχινόειδή	14
1.4: Το είδος <i>Paracentrotus lividus</i>	15
1.5: Γενετικός πολυμορφισμός	24
1.6: Μοριακές τεχνικές	26
1.6.1: Αλλοενζυμική Ηλεκτροφόρηση (Αλλοένζυμα, Ισοένζυμα, Πρωτεΐνες), Allozyme (alloenzyme) electrophoresis.	26
1.6.2: Ανάλυση περιορισμού μιτοχονδριακού (mt) DNA, Mitochondrial DNA restriction analysis (RFLP).	27
1.6.3: Μικροδορυφορικό DNA, microsatellite DNA or simple sequence repeats (SSRs)	28
1.6.4: Τυχαία ενισχυμένο πολυμορφικό DNA, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD).	28
1.7: Ηλεκτροφόρηση	29
1.8: Τεχνική Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR)	29
1.9: Χρήση μοριακών τεχνικών στα Εχινόδερμα	32
1.10: Σκοπός εργασίας	34
2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	35
2.1: Δειγματοληψίες	35
2.2: Μορφομετρικές μετρήσεις	36
2.3: Εξαγωγή DNA	37
2.4: Ηλεκτροφόρηση DNA	39
2.5: Επιλογή RAPD δεικτών	40
2.6: Πρωτόκολλο PCR	42
2.7: Ηλεκτροφόρηση PCR	43
2.8: Στατιστική επεξεργασία δεδομένων	44
3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	46
3.1: Αποτελέσματα Μορφομετρικών Μετρήσεων	46
3.1.1: Το είδος <i>P. lividus</i>	46
3.1.2: Παγασητικός κόλπος	49
3.1.3: Χαλκιδική	53
3.1.4: Αστυπάλαια	57
3.1.5: Αμβρακικός Κόλπος	65
3.1.6: Συγκριτικά στοιχεία για τους πληθυσμούς	69
3.1.7: Θηκογράμματα (Box-plot)	73
3.1.8: Συντελεστές παλινδρόμησης (b)	77
3.2: Αποτελέσματα Γενετικής Ανάλυσης	79
3.2.1: Δείκτης Παραλλακτικότητας (F_{ST})	80
3.2.2: Γονιδιακή ροή, N_m (gene flow)	81
3.2.3: Γενετική απόσταση	81
4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ	82
4.1: Μορφομετρικά χαρακτηριστικά	82

4.1.1: Μορφομετρικές μετρήσεις.....	82
4.1.2: Σχέση Διαμέτρου – Ύψους (ο λόγος Y / Δ), κλάσεις μεγέθους	89
4.1.3: Διαφορά φύλων και ανώριμα άτομα	92
4.1.4: Γοναδοσωματικός δείκτης.....	94
4.2: Γενετική	95
4.3: Διαχείριση Αποθεμάτων Αχινών	102
4.3.1: Καλλιέργεια αχινών	103
5: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	105
6: ABSTRACT.....	123
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	125
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι	126
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ.....	128
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ	131

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται συνεχής μείωση των αλιευτικών αποθεμάτων του αχινού. Για αυτό γίνεται προσπάθεια να θεσπιστεί νομοθεσία ώστε να τεθούν περιοριστικά μέτρα όσον αφορά τις ποσότητες των αλιευμάτων όσο και τη μείωση της έκτασης των αλιευτικών πεδίων.

Η διατήρηση της γενετικής ποικιλότητας είναι πολύ σημαντική για την διατήρηση των ιχθυοαποθεμάτων. Είναι γεγονός ότι η γενετική ποικιλομορφία επιτρέπει στα είδη να προσαρμόζονται στις περιβαλλοντικές μεταβολές (Ferguson, 1994). Για να γίνει αποτελεσματική διαχείριση των βιολογικών πόρων, οι ερευνητές πρέπει να προσδιορίσουν το επίπεδο της γενετικής ποικιλότητας μεταξύ των πληθυσμών καθώς και μέσα στον ίδιο πληθυσμό (Carvalho & Pitcher, 1995).

Η γενετική παίζει σημαντικό ρόλο γιατί βοηθά:

1. Στην κατανόηση της δομής των πληθυσμών
2. Αναγνώριση των αποθεμάτων καθώς και διατήρηση τους
3. Ανάλυση διαφορετικών ειδών ταυτόχρονα
4. Γενετικές επιδράσεις στο ρυθμό αύξησης, επιβίωσης, αντίσταση σε ασθένειες και άλλες σημαντικές παραμέτρους (για ελεγχόμενη ανάπτυξη)
5. Δημιουργία νέων ειδών (για ελεγχόμενη ανάπτυξη), (Thorpe *et al.*, 2000)

1.1 Εχινόδερμα

Στο φύλο των εχινοδέρμων περιλαμβάνονται οι αχινοί, οι αστερίες, οι οφίουροι τα κρινοειδή και τα ολοθούρια (θαλάσσια αγγούρια). Όλα τα εχινόδερμα είναι θαλάσσιοι οργανισμοί. Είναι ζώα ελεύθερα ή προσκολλημένα. Βρίσκονται σε όλα τα βάθη και σε όλα τα κλίματα (Λαζαρίδου, 1992).

Στην Ελλάδα τα είδη των Εχινοδέρμων είναι 107 (Pancucci, 1996) ή το 70,4 % του συνολικού αριθμού της Μεσογείου ως εξής:

- Κρινοειδή (2 είδη)
- Ολοθουροειδή (34 είδη)
- Αστεροειδή (26 είδη)
- Οφιουροειδή (23 είδη)
- Εχινοειδή (22 είδη)

Είναι ζώα που προτιμούν γενικά το σκληρό υπόστρωμα, στο οποίο κινούνται με τη βοήθεια βαδιστικών ποδίσκων και ακάνθων. Η σημασία τους στη δομή και εξέλιξη των βενθικών φυτοβιοκοινωνιών είναι σπουδαία και μάλιστα αναγνωρίζονται πλέον ως καθοριστικός παράγοντας για την αφθονία και την εξάπλωση των φυτών σε θαλάσσια αβαθή περιβάλλοντα (Lawrence, 1975).

Οι οργανισμοί που αποτελούν αυτό το φύλο διακρίνονται εύκολα, το οποίο οφείλεται σε 3 ιδιαίτερα χαρακτηριστικά. Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι:

1. Η συμμετρία.
2. Το υδροφορικό σύστημα
3. Η ύπαρξη ασβεστολιθικού εξωσκελετού.

Συμμετρία

Το σώμα των ώριμων ατόμων είναι δευτερογενώς ακτινοσυμμετρικό, συνήθως πεντακτινοσυμμετρικό, ενώ οι προνύμφες παρουσιάζουν αμφίπλευρη συμμετρία, με εξαίρεση τα Ακανόνιστα Εχινοειδή (τριτογενώς αμφίπλευρη συμμετρία) και τα Ολοθουροειδή που παραμένει αμφίπλευρη. Είναι σχεδόν όλα γονοχωριστικά. Η γονιμοποίηση είναι εξωτερική. Η ανάπτυξη είναι έμμεση και περιλαμβάνει και αμφίπλευροσυμμετρική βλεφαριδοφόρα προνύμφη που μεταμορφώνεται και γίνεται

ακτινωτά συμμετρική. Οι προνύμφες έχουν διάφορες μορφές (Λαζαρίδου, 1992: Pancucci, 1996).

Το υδροφορικό σύστημα

Αποτελείται από σύστημα κλειστών σωλήνων που βρίσκονται στο εσωτερικό του σώματος και συγκοινωνούν με το θαλασσινό νερό δια μέσω της μαδρεπορικής (ή μητροπόρος) πλάκας. Αυτή είναι μια από τις νωτιαίες ασβεστικές πλάκες του σώματος που ξεχωρίζει γιατί φέρει πολλούς πόρους. Στο υδροφορικό σύστημα εισέρχεται το νερό της θάλασσας από τη μαδρεπορική πλάκα (Λαζαρίδου, 1992).

Ύπαρξη ασβεστολιθικού εξωσκελετού

Ο ασβεστολιθικός σκελετός βρίσκεται κάτω από την επιδερμίδα και είναι μεσοδερμικής προέλευσης, που αποτελείται από συνεχόμενα πινακίδια ή από μεμονωμένους σκληρίτες (Ολοθουροειδή). Στα Αστεροειδή, Οφιουροειδή και Κρινοειδή τα πινακίδια εναρθώνονται μεταξύ τους, ενώ στα Εχινοειδή είναι σταθερά ενωμένα σχηματίζοντας μια θήκη γύρω από το σώμα του ζώου (Λαζαρίδου, 1992).

1.2 Οικολογία του φύλου των Εχινόδεσμων

Τα Κρινοειδή (π.χ. *Antedon mediterranea* και *Leptometra phalangium*) βρίσκονται σε όλα τα γεωγραφικά πλάτη. Οι τροπικές μορφές τους παρουσιάζουν διακλαδισμένους βραχίονες. Έχουν πολύ μεγάλη αναγεννητική ικανότητα (Λαζαρίδου, 1992).

Τα Ολοθουροειδή (π.χ. *Holothuria forskali*, *Mesothuria intestinalis* *Echinocucumis typica* *Ladiplax buski*) είναι βενθικοί κυρίως οργανισμοί αλλά υπάρχουν και κάποια πελαγικά είδη. Παραμένουν ακίνητα στο βυθό για μεγάλα χρονικά διαστήματα, και δραστηριοποιούνται κυρίως τη νύχτα. Είναι μικροφάγοι ιζηματοφάγοι οργανισμοί. Υπάρχουν από την παραλία μέχρι τις αβυσσοαίες περιοχές. Ζουν σε όλα τα υποστρώματα (Pancucci, 1996).

Τα Αστεροειδή (π.χ. *Astropecten aranciacus*, *Luidia ciliaris*, *Chaetaster longipes*, *Ceramaster grendensis*, *Ophidiaster ophidianus* *Marginaster carpeens*, *Anseropoda placeda*, *Coscinasterias tenuispina*, *Marthasterias glacialis*, *Sclerasterias neglecta*, *Sclerasterias richardi*) βρίσκονται σε όλες τις θάλασσες και ζουν σε διάφορα υποστρώματα. Είναι σαρκοφάγα και τρέφονται με άλλα Εχινόδεσμα. Όσα ζουν στη λάσπη και είναι μικροφάγα. Μερικά είδη είναι βλαβερά για τις υδατοκαλλιέργειες γιατί τρέφονται με μύδια και στρείδια (Λαζαρίδου, 1992).

Τα Οφιουροειδή (π.χ. *Astrospartus mediterraneus*, *Amphilepis norvegica*, *Amphipholis squamata*, *Amphiura brachiata*, *Ophiacantha setosa*, *Ophiopsila annulosa*, *Ophiopsila aranea*, *Ophioconis forbesi*, *Ophiomyxa pentagona*, *Ophiocten abyssicolum*, *Ophiura albida*) ζουν σε ποικίλα υποστρώματα και έχουν ευρεία οριζόντια και κατακόρυφη εξάπλωση. Παρουσιάζουν μεγάλη κινητικότητα και οφείλεται στις γρήγορες κινήσεις των βραχιόνων. Τρέφονται με ασπόνδυλα που καταπίνουν με υλικά του υποστρώματος (Pancucci, 1996).

Τα Εχινοειδή (π.χ. *Cidaris cidaris*, *Centrostephanus longispinus*, *Arbacia lixula*, *Arbaciella elegans*, *Genocidaris maculate*, *Sphaerechinus granularis*, *Echinus acutus*, *Echinus melo*, *Paracentrorus lividus*, *Psammechinus microtuberculatus*, *Echinocyamus pusillus*, *Brissopsis lyrifera*, *Brissopsis mediterranea*, *Brissus unicolor*, *Plagiobrissus costai*, *Echinocardium cordatum*, *Echinocardium fenauxi*, *Echinocardium flavescens*, *Echinocardium mediterraneum*, *Spatangus purpureus*) βρίσκονται σε όλες τις θάλασσες και σε όλα τα βάθη. Διακρίνονται σε κανονικά και ακανόνιστα. Στους κανονικούς αχινούς η έδρα και το στόμα βρίσκονται σε δυο αντιδιαμετρικούς πόλους ενώ στους ακανόνιστους το στόμα βρίσκεται στο κέντρο ή έκκεντρα στην κοιλιακή επιφάνεια και η έδρα βρίσκεται εκτός του αντιπολικού του σημείου (Λαζαρίδου, 1992). Τα κανονικά προτιμούν σκληρό υπόστρωμα ενώ τα ακανόνιστα το μαλακό και συχνά διεισδύουν στη λάσπη. Η κίνηση τους σε σκληρό υπόστρωμα γίνεται με τους ποδίσκους και τις άκανθες, ενώ σε μαλακό παίρνει μέρος ο λύχνος του Αριστοτέλη. Πολλά από αυτά είναι παμφάγα, κυρίως όμως είναι ή σαρκοφάγα ή φυτοφάγα. Τα ακανόνιστα καταπίνουν το ίζημα και πετούν τα οργανικά θρύμματα που περιέχει. Συχνά είναι τροφή για Αστεροειδή αλλά αποτελούν λεία και για ψάρια, πτηνά και θαλάσσια θηλαστικά. Οι γονάδες κάποιων ειδών είναι τροφή για τον άνθρωπο (Pancucci, 1996).

Σύμφωνα με έρευνα του Matsuoka (1989) και σύμφωνα με την βιοχημική τους ομοιότητα: οι αστερίες και τα θαλάσσια αγγούρια έχουν στενή φυλογεννητική σχέση ενώ οι αχινοί είναι πιο απομακρυσμένη ομάδα από όλα τα εχινόδερμα.

1.3 Εχινοειδή

Η ζήτηση των αχινών συνεχώς αυξάνεται, κυρίως για να ικανοποιηθεί η Ιαπωνική αγορά. Δυο είδη παραδοσιακά καταναλώνονται στις Μεσογειακές Χώρες και στην Ιρλανδία, τα *Paracentrotus lividus* και το *Echinus esculentus*. Παρόμοια είδη καταναλώνονται στη Μέση Ανατολή, καθώς και την Ιαπωνία, τη Χιλή και τη Νέα Ζηλανδία. Λόγω της αυξημένης ζήτησης, είδη του Βόρειου Ατλαντικού εισάγονται στην Ιαπωνία, και έχει αναπτυχθεί η αλιεία αχινών στα νερά της Αυστραλίας από Ιαπωνικά πλοία (Thorpe *et al.*, 2000)

Τα Εχινοειδή απαντώνται παγκόσμια ανεξάρτητου κλίματος (τροπικά, υποτροπικά, πολικά, εύκρατα, μεσογειακά). Στην Ευρώπη τα εδώδιμα και εμπορικά σημαντικά είναι: *Psammechinus spp.*(Βόρεια Ευρώπη και Μεσόγειος), *Echinus* ή *Sphaerechinus spp.* (Βόρεια Ευρώπη και Μεσόγειος) και *Paracentrotus spp.*(Μεσόγειος).

Τα Κανονικά Εχινοειδή προτιμούν τα σκληρά υποστρώματα, πάνω στα οποία κινούνται με τη βοήθεια των βαδιστικών ποδίσκων και των ακάνθων. Στη Μεσόγειο τα είδη των Εχινοειδών που απαντώνται σε σκληρά υποστρώματα της παραλιακής ζώνης είναι τα *Arbacia lixula*, *Sphaerechinus granularis* και *P. lividus*. Αυτά παίζουν καθοριστικό ρόλο στην εξέλιξη των βενθικών φυτοβιοκοινωνιών (Pancucci, 1996), και έχουν χαρακτηριστεί ως «καθοριστικός παράγοντας για την αφθονία και εξάπλωση των φυτών σε θαλάσσια αβαθή περιβάλλοντα» (Lawrence, 1975)

Έχει αναφερθεί καταστροφή φυτοκοινωνιών από υπερβόσκηση αχινών (κανονικών Εχινοειδών), η οποία πραγματοποιείται με γρήγορους ρυθμούς (Leighton, 1971: Camp *et al.*, 1973: Arnold, 1976: Strenger & Splechtna, 1978: Breen & Mann, 1976: Mann, 1977: Monteiro-Marques, 1984: Hagen, 1983: Shunula & Ndibalema, 1986: Delmas & Regis, 1984: Ebeling *et al.*, 1985: Zavodnik, 1977: Torunski, 1979). Σε

περιοχές που παρουσιάζεται υπερβόσκηση δεν παρουσιάζεται μείωση του πληθυσμού αλλά παρατηρείται μείωση του ρυθμού αύξησης των ατόμων (Regis *et al.*, 1986)

Οι επιπτώσεις των αχινών στο φυτοβένθος ανάλογα με την πυκνότητα τους είναι:

- Μικρή πυκνότητα αχινών ↔ αύξηση ειδών φυτοβένθους με συνέπεια αύξηση βιοποικιλότητας (Andrew & Underwood, 1993)
- Μεγάλη πυκνότητα αχινών ↔ φυτοκοινωνία με μικρό αριθμό ειδών με συνέπεια μείωση βιοποικιλότητας (Lubchenco & Gaines, 1981)

Ορισμένοι παράγοντες, όπως είναι οι ασθένειες, οι φυσικοί παράγοντες και η στρατολόγηση (Hart and Scheibling, 1988: Hagen 1992: Sala *et al.*, 1998: Hereu *et al.*, 2004), η θήρευση, συμπεριλαμβανομένης της ανθρώπινης εκμετάλλευσης (Guidetti *et al.*, 2004) έχουν δείξει ότι επηρεάζουν την πυκνότητα, τη συμπεριφορά, και την πληθυσμιακή δομή των αχινών ((Tegner & Dayton, 1981: McClanahan & Shafir, 1990: Estes & Duggins, 1995: Scheibling, 1996: Sala *et al.*, 1998: Shears & Babcock, 2002).

1.4 Το είδος *Paracentrotus lividus*

Το *P. lividus* παρουσιάζει οικονομικό ενδιαφέρον ως εδώδιμο είδος, με σταθερή ζήτηση στη διεθνή αγορά και αλιευτικά αποθέματα που συνεχώς συρρικνώνονται. Επίσης, παρουσιάζει επιστημονικό και οικολογικό ενδιαφέρον λόγω της σημαντικής συμβολής του στη διαμόρφωση των βενθικών βιοκοινωνιών (Οικονομίδης, 2003).

Οι γονάδες των αχινών αποτελούν είδος πολυτελείας στις αγορές της Νότιας Ευρώπης (1000 τόνοι ετησίως) και της Ασίας, με ιδιαίτερα υψηλές τιμές (Grosjean *et al.*, 1998). Το 1996 η ποσότητα αχινών που καταγράφηκε στις ιχθυόσκαλες σε παγκόσμιο επίπεδο ανήλθε στους 112.000 τόνους. Η Χιλή κατέχει την πρώτη θέση με 54.000 τόνους ετησίως και ακολουθούν οι ΗΠΑ με 33.000 τόνους, η Ιαπωνία με

14.000, ο Καναδάς με 1.400 τόνους, η Ισλανδία με 923 τόνους και η Νέα Ζηλανδία με 800 τόνους. Στην Ελλάδα τα είδη αχινού που καταναλώνονται κυρίως είναι τα *Sphaerechinus spp.*, *Paracentrotus spp.* και *Psammechinus spp.* Υφίστανται σημαντική πίεση στα αλιευτικά πεδία σε παγκόσμιο επίπεδο γεγονός που ωθεί στην θεσμοθέτηση αυστηρότερων νόμων-αλιευτικών ρυθμίσεων όσο και στην εντατικοποίηση των προσπαθειών καλλιέργειας του είδους (Keesing & Hall, 1998).

Είναι ένα από τα είδη που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιολογικός δείκτης (βιοδείκτης) χημικής και μικροβιολογικής μόλυνσης των θαλασσινών νερών, αφού βρίσκονται σε μολυσμένες και μη μολυσμένες περιοχές, και οι μικροβιολογικές συγκεντρώσεις τους είναι αντιπροσωπευτικές της μικροβιολογικής ποιότητας του νερού (Portocali *et al.*, 1996).

Η συστηματική κατάταξη του είδους είναι η εξής:

Βασίλειο:	Animalia
Φύλο:	Echinodermata
Κλάση:	Echinoidea (Regularia)
Υποκλάση:	Euechinoidea
Τάξη:	Diadematoida
Υπόταξη:	Camarodonta
Οικογένεια:	Echinidae
Γένος:	<i>Paracentrotus</i>
Είδος:	<i>Paracentrotus lividus</i> (Lamarck, 1816)



Εικόνα 1: Το είδος *Paracentrotus lividus* πάνω σε βραχώδες υπόστρωμα.

Το *P. lividus* είναι ένα από τα πιο γνωστά είδη Εχινοειδών της Μεσογείου. Απαντάται στη Μεσόγειο και τον Ατλαντικό Ωκεανό, από τις Αζόρες, Κανάρια και ακτές του Μαρόκου μέχρι την Ιρλανδία και τη Σκωτία. Τα βαθυμετρικά του όρια κυμαίνονται από λίγα εκατοστά μέχρι 80 m (Tortonese, 1965). Στην Αδριατική αναφέρεται μέχρι 32 m με μέγιστο μεταξύ 1 και 6 m (Zavodnic, 1987).

Το σώμα του είναι σφαιρικό και λίγο πεπλατυσμένο. Η διάμετρος του σώματος του ενήλικου είναι περίπου 5 cm, αλλά σε καλές συνθήκες φτάνει και τα 7-8 cm. Οι άκανθες είναι δυνατές, κατανεμημένες σε όλο το σώμα και λίγο μικρότερες στην κοιλιακή περιοχή. Ο χρωματισμός ποικίλλει από μοβ σε πράσινο, καφέ ή κοκκινωπό. Οι διαφορετικές αποχρώσεις του είδους συνήθως έχουν εμπορική σημασία.

Στον Ατλαντικό οι κύριοι ανταγωνιστές του είναι τα Δεκάποδα και το *Marthasterias glacialis* τα οποία τρέφονται τη νύχτα ενώ το *P. lividus* τρέφεται την ημέρα (Ebling *et al.*, 1966).

Για τη Μεσόγειο κύριοι θηρευτές θεωρούνται τα ψάρια *Diplodus sargus* και *Diplodus vulgaris*, που τρέφονται την ημέρα και το *M. glacialis* με ρυθμό κατανάλωσης ενός αχινού κάθε 4 ή 5 ημέρες. Συνήθως, στη Μεσόγειο το είδος τρέφεται την νύχτα.

Σύμφωνα με τον Zavodnik (1987) κύριοι θηρευτές του είδους είναι τα ψάρια (*D. vulgaris*), τα κεφαλόποδα (*Octopus vulgaris*), τα αστεροειδή (*M. glacialis*) και τα δεκάποδα (*Maja squinado* & *Palinurus elephas*).

Προσκολλάται στο υπόστρωμα χάρη σε ένα πολύπλοκο βαδιστικό σύστημα, του οποίου ένα μέρος (οι ποδίσκοι) είναι εξωτερικά ορατό, ενώ το μεγαλύτερο μέρος βρίσκεται στο εσωτερικό του σώματος. Η δομή των ποδίσκων είναι ίδια σε όλο το σώμα, αλλά η λειτουργία τους είναι διαφορετική ανάλογα με το σημείο του σώματος στο οποίο βρίσκονται. Οι ποδίσκοι της κοιλιακής επιφάνειας, που βρίσκονται κοντά στο στόμα και στο υπόστρωμα, χρησιμεύουν για να συγκρατήσουν το ζώο στο υπόστρωμα και για τη λήψη τροφής. Στη ραχιαία επιφάνεια, οι ποδίσκοι χρειάζονται πρακτικά μόνο για τη σύλληψη και συγκράτηση φυτικών και ζωικών υπολειμμάτων, καθώς και μικρών ανόργανων θρυμμάτων. Η δράση των ραχιαίων ποδίσκων οδηγεί σε ένα φαινόμενο γνωστό ως κάλυψη (covering), το οποίο είχε κατά καιρούς διάφορες ερμηνείες ως τρόπος αύξησης του βάρους και κατά συνέπεια αντίσταση στη δράση των κυμάτων, ως κρυπτικός μηχανισμός (camouflage) από τους εχθρούς, ως προστασία από την ξήρανση του δέρματος από τις ακραίες θερμοκρασίες ή την φωτεινή ακτινοβολία είτε ως απόθεμα τροφής (Millot, 1975).

Οι αχινοί φαίνονται ζώα ακίνητα. Στην πραγματικότητα όχι μόνο έχουν κίνηση αλλά μπορούν να διανύσουν σημαντικές αποστάσεις. Οι κινήσεις τους είναι πολύ αργές αλλά τους επιτρέπουν να αναζητήσουν τροφή ή να βρουν μια καλύτερη θέση σε σχέση με τις συνθήκες του περιβάλλοντος (π.χ. καταιγίδα, έντονος κυματισμός, άμπωτη). Αυτές οι κινήσεις είναι αποτέλεσμα των βασικών κινήσεων έκτασης και συστολής των ποδίσκων σε συνδυασμό με εκείνες των ακάνθων της κοιλιακής επιφάνειας. Η κάθε άκανθα αρθρώνεται μέσω ενός φύματος και μερικών μυών γύρω του. Με τη σύσπαση των μυών αυτών μπορεί να κινηθεί και αυτή η κίνηση

μεταδίδεται σε όλο το σώμα. Σε μερικές περιπτώσεις μπορούν να αφηθούν και να μεταφερθούν από τα ρεύματα σε άλλο μέρος. Σε ρηχά νερά έχουν παρατηρηθεί συντονισμένες νυχτερινές κινήσεις ατόμων του *P. lividus*, με μέγιστη δραστηριότητα γύρω στο ηλιοβασίλεμα και την ανατολή (Stepherd & Boudouresque, 1979). Η ελάχιστη διαδρομή μετρήθηκε 98 cm/ώρα (Pancucci, 1996). Σε μεγαλύτερο βάθος λείπει ο συντονισμός ενώ οι κινήσεις συνεχίζουν και κατά τη διάρκεια της ημέρας. Η κίνηση δεν φαίνεται να επηρεάζεται ούτε από την εποχή ούτε από την παρουσία θηρευτών και μόνο εν μέρει από άσχημες καιρικές συνθήκες και από την παρουσία τροφής. Σύμφωνα με τους Rico *et al.* (1990) παρατηρήθηκε ότι για το είδος δεν υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ κίνησης δοντιών (φάση διατροφής) μετακίνησης και κίνησης των ακάνθων, καθώς και σχέση μεταξύ κίνησης και διατροφικής προτίμησης. Κατά τη διάρκεια του φαγητού δεν κινούνται και δεν κινούν τις άκανθες, οι οποίες κινούνται ασταμάτητα κατά τη διάρκεια της μετακίνησης. Η κίνηση των ακάνθων θεωρείται συνδεδεμένη με την διήθηση του νερού, εναλλακτικού τρόπου διατροφής σε σχέση με τη μάσηση (Rico *et al.*, 1990).

Το *P. lividus* ζει συνήθως σε περιοχές εκτεθειμένες στον κυματισμό, δηλαδή πλούσιες σε οξυγόνο. Με βάση την πολύπλοκη ανατομία του οι ιστοί του είναι σχεδόν όλοι σε άμεση επαφή με το περιβάλλον. Οι αναπνευστικές ανταλλαγές γίνονται εύκολα μέσω όλων των επιφανειών. Μερικά όργανα φαίνεται όμως να έχουν ιδιαίτερη σημασία όπως μερικοί ποδίσκοι οι οποίοι δε φέρουν μυζητήρα και έτσι δε φαίνεται να χρησιμεύουν για την προσκόλληση στο έδαφος. Επιπλέον υπάρχουν δέκα βράγχια σε ένα περιστοματικό κύκλο που αντιστοιχούν σε διακλαδιζόμενες αποφύσεις μιας κοιλότητας που βρίσκεται στην μπροστινή περιοχή του πεπτικού σωλήνα (Pancucci, 1996).

Οι αχινοί γενικά θεωρούνται φυτοφάγοι οργανισμοί. Η μελέτη του στομαχικού περιεχομένου αχινών από διαφορετικά περιβάλλοντα δείχνουν την ύπαρξη και ζωικών τροφών. Πολλά είδη είναι παμφάγα και κάποια σαρκοφάγα (Karlson, 1978).

Η διατροφή των ώριμων ατόμων του είδους είναι πολυποίκιλη. Η διατροφή των κανονικών Εχινοειδών διαφέρει ανάλογα με το περιβάλλον και την εποχή. Αυτός είναι ο λόγος των διαφορετικών αποτελεσμάτων που παρουσιάζονται για το είδος αυτό. Επίσης, έχουν γίνει πολλές μελέτες για τη διατροφή του είδους. Μπορούν ενδεικτικά να αναφερθούν:

- Άμμος, ασβεστολιθικό υλικό, φύκη, φυτικά υπολείμματα, Διάτομα, Τρηματοφόρα από ανάλυση στομαχικού περιεχομένου και από τα κοπροσωμάτια (Valentin, 1841)
- Κυρίως φύκη, μικροσκοπικά και μαροσκοπικά, τυχαία ζωική τροφή από ανάλυση στομαχικού περιεχομένου (Σπόγγοι) (Mortensen, 1943)
- *Enteromorpha* και άλλα προσκολλημένα φύκη από παρατηρήσεις πεδίου (Kitching & Ebling, 1961, 1967; Ebling *et al.*, 1966)
- Μαλακά φύκη, *Ulva*, *Posidonia*, *Codium*, *Dictyota*, *Ectocarpale*, *Gelidiales* από παρατηρήσεις πεδίου, στομαχικό περιεχόμενο και κοπροσωμάτια (Kempf, 1962)
- *Lithophyllum*, *Cystoseira*, *Ulva*, *Laurencia*, *Mytilus*, *Enteromorpha*, Κνιδόζωα, Κωπήποδα από ανάλυση στομαχικού περιεχομένου (Niell & Pastor, 1973)
- Διάτομα, *Posidonia*, φύκη. Διαφορετικό είδος τροφής ανάλογα την περιοχή από παρατηρήσεις πεδίου (Regis, 1979a,b)
- *Posidonia*, επίφυτα φύκη, Υδρόζωα, Βρυόζωα, Πολύχαιτοι από παρατηρήσεις πεδίου και στομαχικού περιεχομένου (Traer, 1980)

- Διάτομα, Κυανοφύκη, Χλωροφύκη από στομαχικό περιεχόμενο (San Martin, 1987)
- Ροδοφύκη, Φαιοφύκη, Χλωροφύκη, *Posidonia* από στομαχικό περιεχόμενο (Frantzis, 1988)

Η κατανάλωση της *Posidonia* θεωρείται ως χρήση φερτής ύλης με την οποία πρώτα το ζώο καλύπτεται και μετά το καταναλώνει που μερικές φορές καλύπτει το 40% των τροφικών αναγκών του (Verlaque & Nedelec, 1983)

Η διατροφή των νεαρών ατόμων του είδους είναι διαφορετική σε σχέση με τα ενήλικα άτομα. Έχουν παρατηρηθεί λιγότερα φύκη σε άτομα <1,45cm σε σχέση με τα μεγαλύτερα (Traer, 1980). Στην αρχή της ζωής τους τρέφονται με μεγάλα ποσοστά οργανικών και ανόργανων θρυμμάτων ενώ κατά τη διάρκεια του πρώτου χρόνου της ζωής τους στρέφονται στα νηματοειδή φύκη (*Ceramiales*, *Rhodomelales*, *Dasyales*), λόγω της αύξησης της μασητικής τους ικανότητας και να διανύει μεγαλύτερες αποστάσεις μέχρι τα 7mm, και κατόπιν διατρέφεται κυρίως με Φαιοφύκη. Μετά τα 10 mm η διατροφή τους είναι ίδια με των ώριμων ατόμων (Verlaque, 1984).

Τα δόντια τους μεγαλώνουν συνέχεια (1 με 1,5 mm την εβδομάδα, Rico *et al.*, 1990) και τα ξύνει πάνω σε πέτρες με συνέπεια να είναι σημαντικός παράγοντας διάβρωσης (Trudgill *et al.*, 1987).

Το πεπτικό σύστημα διακρίνεται σε τρία τμήματα. Το πρώτο τμήμα περιλαμβάνει τον φάρυγγα και τον οισοφάγο, όπου παράγεται βλέννα (mucus). Το δεύτερο τμήμα, το στομάχι, όπου παράγονται ένζυμα. Το τρίτο μέρος, περιλαμβάνει μέρος του στόμαχου και το έντερο όπου γίνεται η απορρόφηση της τροφής (Jangoux, 1982). Το στομάχι είναι χώρος έκκρισης πεπτικών ενζύμων και το έντερο, με πολλά μιτοχόνδρια και μικρολάχνες, είναι χώρος απορρόφησης. Ο χρόνος παραμονής της τροφής στο

στομάχι είναι μικρός ενώ στο στομάχι μεγάλος, όπου γίνεται η πέψη και η απορρόφηση (Lawrence, 1982).

Ο ρυθμός διατροφής εξαρτάται από διάφορους παράγοντες:

- **Μέγεθος:** τα μικρότερα ζώα τρέφονται ταχύτερα (Fuji, 1962; Moore & McPherson, 1965; Miller & Mann, 1973)
- **Φάση αναπαραγωγής:** Πριν την ωοτοκία τρέφονται λιγότερο ενώ μετά πολύ περισσότερο (Fuji, 1962, 1967). Δεν είναι γνωστό εάν είναι φυσιολογικό φαινόμενο ή λόγω έλλειψης χώρου αφού υπάρχει διόγκωση γονάδων.
- **Είδος τροφής:** Ανάλογα με την προτίμηση ως προς το είδος της τροφής εξαρτάται η ταχύτητα κατανάλωσης.
- **Πυκνότητα πληθυσμού:** Ο ρυθμός διατροφής μειώνεται με την αύξηση του πληθυσμού, λόγω φυσικής αλληλεπίδρασης (Levitan, 1989)

Το αναπαραγωγικό σύστημα του υπό μελέτη είδους αποτελείται από 5 γονάδες οι οποίες επικοινωνούν ξεχωριστά με το εξωτερικό περιβάλλον μέσω σωλήνων που εκβάλλουν στις πλάκες γύρω από την έδρα. Τα τοιχώματα της κάθε γονάδας αποτελούνται από συνδετικό ιστό και από μυϊκές ίνες, οι οποίες χρησιμεύουν στην αποβολή των γεννητικών προϊόντων. Στο εσωτερικό βρίσκονται μεγάλα κύτταρα με αποθηκευτικό ρόλο και μικρά για τη δημιουργία των γαμετών.

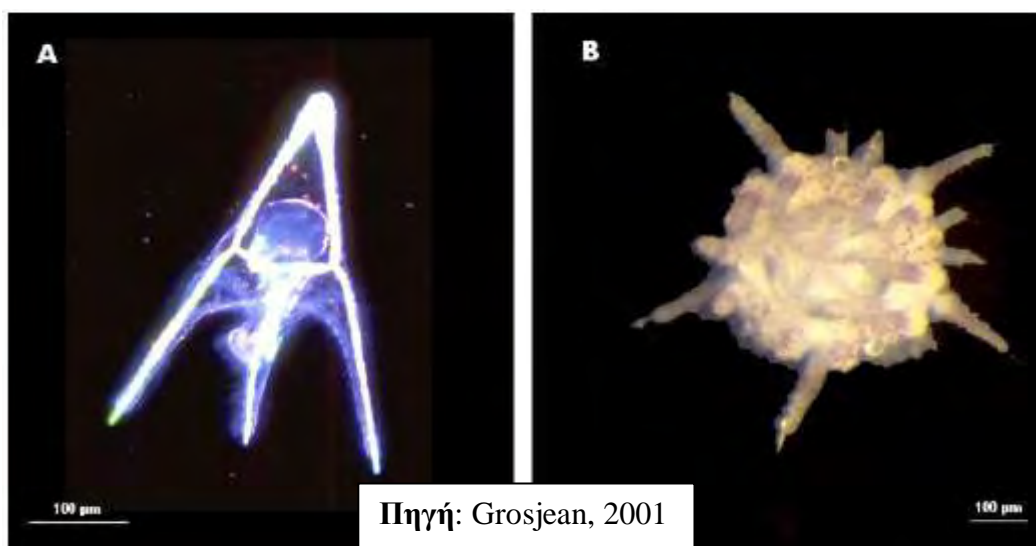
Στο φυσικό περιβάλλον ο όγκος των γονάδων μεταβάλλεται περιοδικά σε αντιστοιχία με τις περιόδους του κύκλου αναπαραγωγής. Το πρώτο στάδιο αντιστοιχεί στην αύξηση του όγκου των γονάδων, όπου τα σωματικά κύτταρα αποθηκεύουν θρεπτικά στοιχεία. Στο δεύτερο βήμα τα γεννητικά προϊόντα πολλαπλασιάζονται και αρχίζουν να ωριμάζουν σε βάρος των αποθηκευμένων ουσιών. Αν οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι ευνοϊκές οι γαμέτες αποβάλλονται, οι γονάδες αδειάζουν και ο κύκλος

ξαναρχίζει. Η διάρκεια του φαινομένου ποικίλλει ανάλογα το είδος αλλά και την πυκνότητα του πληθυσμού καθώς και τα χαρακτηριστικά του περιβάλλοντος.

Όσον αφορά το είδος αυτό παρατηρούνται δυο κύριες περίοδοι αναπαραγωγής, η άνοιξη και το φθινόπωρο, αλλά σε όλη τη διάρκεια τους έτους παρατηρείται μικρός αριθμός γεννητικών ώριμων ατόμων, ειδικά στις νοτιότερες περιοχές (Pancucci, 1996).

Το είδος είναι γονοχωριστικό. Ο διαχωρισμός των αρσενικών και θηλυκών ατόμων γίνεται από το χρώμα των γονάδων. Τα θηλυκά άτομα παρουσιάζουν έντονο πορτοκαλί χρώμα γονάδων σε αντίθεση με τα αρσενικά των οποίων είναι πιο άσπρες. Εκτός των περιόδων αναπαραγωγής υπάρχουν πολλά ανώριμα άτομα των οποίων οι γονάδες είναι πολύ μικρές και μαύρες ή είναι σχεδόν ανύπαρκτες. Το χρώμα των γονάδων στα εχινοειδή είναι αποτέλεσμα της αφομοίωσης και μετατροπής των απορροφόμενων καροτινοειδών (Kelly *et al.*, 2001).

Το *P. lividus* παρουσιάζει πλαγκτονική μορφή κατά τα πρώτα στάδια της ζωής του ενώ στη συνέχεια βενθικός οργανισμός (Pancucci, 1996).



Εικόνα 2: Το είδος *P. lividus*. **A.** *Echinopluteus*. **B.** *Postlarvae*: μερικές μέρες μετά τη μεταμόρφωση.

Σε μελέτη του ο Grosjean (2001) έχει διαχωρίσει την ανάπτυξη του είδους σε έξι στάδια. Πρώτο στάδιο τα έμβρυα (embryos, *Echinopluteus*) τα οποία είναι για τις πρώτες 4 ώρες της ζωής τους, δεύτερο στάδιο οι λάρβες (competent larvae) για 16 -25 ημέρες, τρίτο στάδιο οι μεταλάρβες (postlarvae) μια ημέρα μετά το στάδιο της λάρβας, τέταρτο στάδιο τα νεαρά άτομα δέκα ημέρες μετά το στάδιο της λάρβας, πέμπτο στάδιο τα υποενήλικα (subadults) μετά από εννέα μήνες ζωής και έκτο στάδιο τα ενήλικα 1,7- 3,5 χρόνια ζωής.

Οι προνυμφικές μορφές των βενθικών οργανισμών είναι εξαιρετικά ευαίσθητες στις μεταβολές των φυσικών παραμέτρων. Για κάθε είδος υπάρχουν ιδανικές συνθήκες αλατότητας και θερμοκρασίας, ιδίως στα πρώτα στάδια (Thorson, 1966).

1.5 Γενετικός πολυμορφισμός

Τα μόρια του DNA αντιγράφονται κατά το πέρασμα τους από γενιά σε γενιά, συνεπώς όταν υπάρχει γενετική ποικιλομορφία παραμένει. Οι μοριακές μεταβολές ονομάζονται μεταλλάξεις και αποτελούν την τελική πηγή βιολογικής ποικιλομορφίας και την πρώτη ύλη της εξέλιξης.

Η διεργασία της μετάλλαξης παράγει μόνο τους δομικούς λίθους –πρώτες ύλες από τις οποίες συνθέτονται με τη φυσική επιλογή οι εξελικτικές αλλαγές καθώς και οι διαφορές ανάμεσα στα είδη. Όλες οι γενετικές αλλαγές είναι εξ' ορισμού μεταλλάξεις. Οι μεταλλάξεις μπορούν να αλλάξουν διάφορα χαρακτηριστικά του οργανισμού- δομικά, φυσιολογικά, βιοχημικά και ηθολογικά.

Τα χαρακτηριστικά των φυσικών πληθυσμών ποικίλλουν τουλάχιστον σε κάποιο βαθμό. Η ποικιλότητα αυτή έχει σαν βάση τη γενετική. Υπάρχουν πληθυσμοί οι οποίοι παρουσιάζουν δυο ή περισσότερους διαφορετικούς, διακριτούς φαινότυπους

που είναι αρκετά κοινοί ανάμεσα στα άτομα. Όταν υπάρχει ένας δεύτερος τουλάχιστον φαινότυπος με σημαντική συχνότητα τότε υπάρχει πολυμορφισμός.

Η γενετική ποικιλότητα μέσα σε ένα πληθυσμό περιγράφεται από τον αριθμό και τη συχνότητα των αλληλομόρφων σε κάθε γενετικό τόπο καθώς και από το βαθμό που τα αλληλόμορφα είναι οργανωμένα σε μη τυχαίους συνδυασμούς. Μετά τον καθορισμό της αλληλικής συχνότητας σε ορισμένους γενετικούς τόπους η γενετική απόσταση (γενετική ομοιότητα ή διαφορά) ανάμεσα σε δυο πληθυσμούς μπορεί να εκφραστεί με διάφορους δείκτες όπως είναι ο δείκτης γενετικής απόστασης του Nei (Nei, 1972). Υπάρχει σημαντική γενετική ποικιλότητα μέσα στους περισσότερους πληθυσμούς ενώ η μη τυχαία οργάνωση δεν είναι στον ίδιο βαθμό εμφανής. Διαφορές στις αλληλικές συχνότητες μεταξύ των πληθυσμών ενός είδους αποτελούν τη βάση της γεωγραφικής ποικιλότητας η οποία μπορεί να πάρει τη μορφή διάφορων προτύπων. Μεταξύ των πληθυσμών υπάρχει ποικιλότητα και σε ευρύτερη γεωγραφική κλίμακα. Συνήθως όσο πιο απομακρυσμένος είναι δυο πληθυσμοί τόσο περισσότερο διαφέρουν στις συχνότητες των αλληλομόρφων τους και στα γενετικά ελεγχόμενα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά. Ο βαθμός απόκλισης μπορεί να είναι από πολύ μικρός μέχρι πολύ μεγάλος. Πολύ συχνά ιδιαίτερα σε είδη με περιορισμένη κινητικότητα ακόμα και πληθυσμοί που ζουν πολύ κοντά διαφέρουν στις συχνότητες των γαινοτύπων αλλά και σε ένα η περισσότερα μορφολογικά ή φυσιολογικά χαρακτηριστικά. Το πρότυπο της γεωγραφικής ποικιλότητας ενός χαρακτήρα σχετίζεται μερικές φορές με το πρότυπο άλλων χαρακτήρων σε άλλες όμως περιπτώσεις δεν παρουσιάζει τέτοιο συσχετισμό. Υπάρχει ένα φάσμα γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών μέχρι του σημείου που χαρακτήρες που επηρεάζουν τη διασταύρωση μπορεί να γίνουν τόσο διαφορετικοί που οι πληθυσμοί να μπορούν να θεωρηθούν διαφορετικά είδη. Η μελέτη της γεωγραφικής

ποικιλότητας αποτελεί μια από τις πιο σημαντικές προσεγγίσεις στη μελέτη της εξέλιξης (Ζούρος και συν, 1995).

1.6 Μοριακές τεχνικές

Ένα μεγάλο εύρος μοριακών τεχνικών έχουν εφαρμοστεί στη γενετική ανάλυση διαφόρων ειδών ψαριών (reviews by Park & Moran, 1995: Ward & Grewe, 1995: Carvalho & Hauser, 1998).

Η χρήση της Αλλοενζυμικής Ηλεκτροφόρησης έχει αποδειχθεί και παραμένει γενικά η τεχνική πρώτης επιλογής αφού έχει μειωμένο κόστος και ευκολία χρήσης μεγάλου μεγέθους δειγμάτων από τον οργανισμό, αλλά η χρήση της είναι περιορισμένη όταν πρόκειται για φρέσκο ή κατεψυγμένο ιστό από τα δείγματα (Utter, 1995: Ward & Grewe, 1995).

Πιο μοντέρνες μέθοδοι βασισμένες σε DNA μπορούν να δώσουν μεγαλύτερη ανάλυση και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε πολύ μικρά (π.χ. βιοψία) ή συντηρημένα δείγματα (Ward & Grewe, 1995). Από τις μεθόδους που στηρίζονται στην ανάλυση του DNA, η ανάλυση του μιτοχondριακού DNA (RFLP) είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη, αλλά σε μικρότερο βαθμό από την Αλλοενζυμική Ηλεκτροφόρηση (Wright & Bentzen, 1995).

1.6.1 Αλλοενζυμική Ηλεκτροφόρηση (Αλλοένζυμα, Ισοένζυμα, Πρωτεΐνες), Allozyme (alloenzyme) electrophoresis.

Χρησιμοποιείται για να εξεταστεί η ποικιλότητα σε ένα μόνο ξεχωριστό τόπο. *Αλλοένζυμα* (Allozymes) είναι οι διαφορετικές πρωτεϊνικές μορφές που κωδικοποιούνται από τα διαφορετικά αλληλόμορφα στον ίδιο γονιδιακό τόπο. Ο όρος *Ισοένζυμα* (Isoenzyme ή isozyme) αναφέρεται σε ένα μεγαλύτερο υποσύνολο

πρωτεϊνικών μορφών, συμπεριλαμβανομένου των διαφορετικών πρωτεϊνικών προϊόντων [πρωτεϊνικά προϊόντα μέσα στον ίδιο τόπο (intralocus) και μεταξύ διαφορετικών τόπων (interlocus)], που κωδικοποιούν έναν μόνο τύπο ενζύμων από διαφορετικούς γονιδιακούς τόπους. Έχει εξισωθεί η Αλλοενζυμική Ηλεκτροφόρηση με τον Μεντελικό διαχωρισμό και τον εντοπισμό της γενετικής ποικιλότητας σε ένα μόνο πρωτεϊνικό κωδικοποιημένο τόπο (αν και μερικές μη ενζυματικές πρωτεΐνες εξετάζονται με αυτή τη μεθοδολογία) (Beaumont *et al.*, 1996).

1.6.2 Ανάλυση περιορισμού μιτοχονδριακού (mt) DNA, Mitochondrial DNA restriction analysis (RFLP).

Η τεχνική RFLP χρησιμοποιείται για την επίλυση προβλημάτων συστηματικής καθώς και αναγνώρισης των ειδών. Η ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA και ο προσδιορισμός της αλληλουχίας συγκεκριμένων περιοχών του γονιδιώματος του μιτοχονδριακού DNA, που ακολουθείται από ενίσχυση με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), είναι οι κύριες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για μελέτες σε επίπεδο πληθυσμού (Thorpe *et al.*, 2000).

Τα μιτοχόνδρια είναι κυτταροπλασματικά οργανίδια των ευκαριωτικών κυττάρων τα οποία έχουν το δικό τους DNA, το μιτοχονδριακό DNA. Το mtDNA είναι απλοειδές, δίκλωνο, κυκλικό μόριο. Δεν ανασυνδυάζεται και μεταβιβάζεται σχεδόν αποκλειστικά μητρικά. Έχει σχετικά μικρό μέγεθος και απομονώνεται εύκολα, λόγω φυσικού διαχωρισμού. Παρουσιάζει ταχύτερο ρυθμό αλλαγών σε σχέση με το πυρηνικό DNA στην αλληλουχία των βάσεων του. Έτσι μπορούν να εντοπιστούν διαφορές μεταξύ των πληθυσμών ακόμη και όταν οι πληθυσμοί είναι ίδιοι σε επίπεδο πυρηνικού DNA (Avisé *et al.*, 1994).

1.6.3 Μικροδορυφορικό DNA, microsatellite DNA or simple sequence repeats (SSRs)

Οι μικροδορυφόροι αποτελούνται από μικρές διατεταγμένες παρατάξεις (1+-6 ζευγάρια βάσεων) (Tautz & Renz, 1984; Tautz, 1989). Οι SSRs γενικά εξετάζονται με την χρήση ραδιενεργού προσδιορισμού με δυο συμπληρωματικούς εκκινητές. Αυτοί οι εκκινητές χρησιμοποιούνται στην αντίδραση της πολυμεράσης ώστε να ενισχυθεί η επαναλαμβανόμενη σειρά. Οι διαφορές εντοπίζονται με την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων σε πήκτωμα.

1.6.4 Τυχαία ενισχυμένο πολυμορφικό DNA, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD).

Η RAPD τεχνική προκύπτει από την εφαρμογή της τεχνικής PCR σε δείγματα γενομικού DNA χρησιμοποιώντας τυχαίως κατασκευασμένα ολιγονουκλεοτίδια σαν εκκινητές (primers). Αυτή η τεχνική είναι σχετικά εύκολη στην εφαρμογή της σε μεγάλο εύρος ζώων και φυτών και ο αριθμός των τόπων που εξετάζει είναι απεριόριστος. Η ενίσχυση του DNA σε αυτή την τεχνική είναι τυχαία. Όταν οι εκκινητές είναι μεσαίου μεγέθους, πολλά διαφορετικά ενισχυμένα τεμάχια (από διαφορετικό τόπο) είναι συνήθως παρόντα για κάθε εκκινητή σε κάθε γονιδίωμα. Τα τμήματα μπορούν να διαχωριστούν ανά μέγεθος σε πηκτική αгарόζης και να βαφτούν με παραμονή σε βρωμιούχο αιθίδιο.

Για την χρήση της RAPD δεν απαιτείται γνώση της αλληλουχίας του DNA, αφού οι εκκινητές θα προσαρτηθούν σε κάποιο τυχαίο σημείο της αλληλουχίας, αλλά η ακριβής θέση δεν μπορεί να εντοπιστεί. Αυτό κάνει αυτή τη μέθοδο πολύ δημοφιλή για τη σύγκριση DNA των βιολογικών συστημάτων που δεν έχουν την προσοχή της επιστημονικής κοινότητας (Williams *et al.*, 1990).

1.7 Ηλεκτροφόρηση

Η ηλεκτροφόρηση είναι μια μοριακή μέθοδος με την οποία διαχωρίζονται τα μακρομόρια (π.χ. πρωτεΐνες) έχοντας σα βάση τη διαφορά της κινητικότητας τους, η οποία μπορεί να οφείλεται στο μέγεθος τους τη στερεοδιάταξη τους καθώς και το ολικό τους φορτίο. Χρησιμοποιείται ένα πορώδες πήκτωμα (gel), το οποίο τοποθετείται στη συσκευή ηλεκτροφόρησης με τη βοήθεια ρυθμιστικού διαλύματος και εφαρμόζεται ηλεκτρικό πεδίο. Τα φορτισμένα μόρια κινούνται υπό την επίδραση του ηλεκτρικού πεδίου και το προϊόν γίνεται ορατό με τη χρήση χρωστικής ουσίας.

Το πήκτωμα το οποίο χρησιμοποιείται αποτελείται συνήθως από άμυλο, ακρυλαμίδη, αγαρόζη ή μίγμα από ακρυλαμίδη-αγαρόζη. Τα μικρότερα μόρια τρέχουν γρηγορότερα και περισσότερο μέσα στο πήκτωμα (gel).

1.8 Τεχνική Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR)

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης έχει πολύ γρήγορα γίνει μια από τις πιο διαδεδομένες χρησιμοποιούμενες τεχνικές στην μοριακή βιολογία και αυτό επειδή είναι γρήγορη, φτηνή και απλό μέσο για την παραγωγή πολλών αντιγράφων μορίων DNA από πολύ μικρό δείγμα DNA ακόμα και όταν το αρχικό DNA δεν είναι καλής ποιότητας. Δεν χρησιμοποιεί ζωντανό οργανισμό, όπως είναι το *E. coli*. Επίσης επειδή είναι μια τεχνική σε τεχνητό περιβάλλον (*in vitro*) μπορεί να διενεργηθεί χωρίς περιορισμό στην μορφή του DNA και μπορεί να τροποποιηθεί ώστε να εκπληρωθούν ένα μεγάλο εύρος γενετικών διαφοροποιήσεων. Χρησιμοποιείται για την φαρμακευτική και βιολογική έρευνα για διάφορες εφαρμογές όπως εντοπισμός κληρονομικών ασθενειών, προσδιορισμός γενετικών αποτυπωμάτων, διάγνωση μολυσματικών ασθενειών, κλωνοποίηση γονιδίων, τεστ πατρότητας.

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης χρησιμοποιείται για να ενισχύσει ένα μικρό μέρος της αλληλουχίας του DNA. Αυτό μπορεί να είναι ένα μόνο γονίδιο ή μέρος γονιδίου. Για τους ζωντανούς οργανισμούς η διαδικασία της PCR μπορεί να αντιγράψει μόνο μικρά κομμάτια DNA, συνήθως μέχρι 10 kb. Ορισμένες μέθοδοι μπορούν να αντιγράψουν μέχρι 47 kb (κιλοβάσεις). Η αντίδραση της PCR απαιτεί κάποια βασικά στοιχεία. Αυτά είναι:

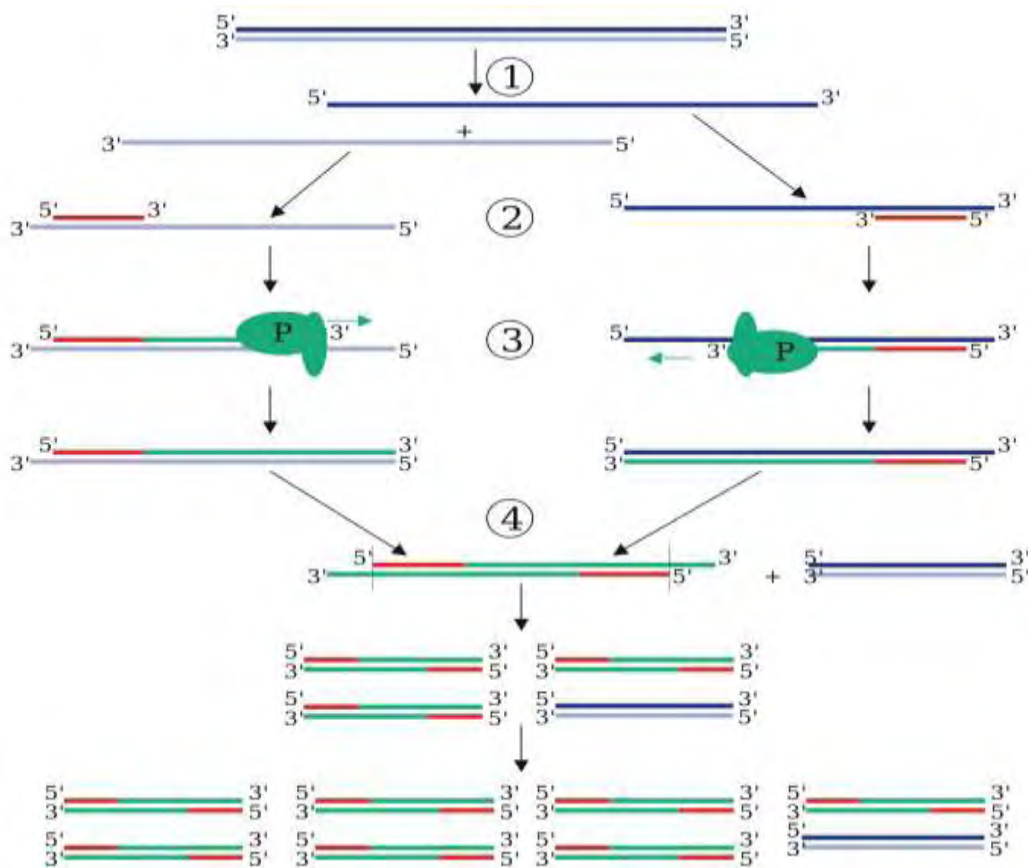
1. Το DNA,
2. Τους εκκινήτες (primers), οι οποίοι είναι συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια προσδιορίζουν την αρχή και το τέλος της περιοχής που θα ενισχυθεί,
3. Την Taq πολυμεράση (που απομονώνεται από το θερμόφιλο βακτήριο, *Thermus aquaticus*), η οποία αντιγράφει την περιοχή του DNA που μας ενδιαφέρει,
4. Διάλυμα PCR (PCR buffer) που δημιουργεί το σωστό χημικό περιβάλλον για την αντίδραση,
5. Τα dNTP's, διάλυμα ελεύθερων 5'τριφωσφορικών δεοξυριβοζονουκλεοτιδίων,
6. Διάλυμα MgCl₂.

Η αντίδραση της πολυμεράσης πραγματοποιείται σε έναν θερμικό κυκλοποιητή (thermal cycler), ο οποίος είναι ένα μηχάνημα το οποίο θερμαίνει ή κρυώνει τα tubes μέσα στα οποία γίνεται η αντίδραση. Για να αποφευχθεί η εξάτμιση τοποθετείται μια θερμαινόμενη πλάκα πάνω από τα tubes.

Η διαδικασία της PCR αποτελείται από τρία στάδια:

1. Αποδιάταξη (Denaturation), όπου με την βοήθεια της υψηλής θερμοκρασίας, το δικλωνο DNA μετατρέπεται σε μονόκλωνο,

2. Επαναδιάταξη (Annealing) του DNA, η θερμοκρασία μειώνεται και οι primers κολλάνε στο μονόκλωνο DNA,
3. Αντιγραφή του αρχικού DNA (Extension).



Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας της PCR. (1) Denaturing, (2) Annealing, (3) Extension (P=Polymerase), (4) Ο πρώτος κύκλος έχει ολοκληρωθεί. Τα δυο μόρια DNA που προκύπτουν θα χρησιμοποιηθούν στον επόμενο κύκλο, και έτσι σε κάθε κύκλο τα μόρια του DNA θα διπλασιάζονται.

Τα προϊόντα της PCR πρέπει να είναι μέρος ή μέρη συγκεκριμένου μήκους. Ο ευκολότερος τρόπος για να εξεταστεί η ύπαρξη αυτών είναι να φορτωθεί ένα μέρος του προϊόντος, μαζί με τους σωστούς μοριακού- βάρους δείκτες, σε πηκτή αгарόζης περιεκτικότητας 2% η οποία να περιέχει 0,8-4,0% βρωμιούχο αιθίδιο. Οι μπάντες του

DNA που θα δημιουργηθούν μπορούν να εξεταστούν κάτω από υπεριώδη ακτινοβολία.

1.9 Χρήση μοριακών τεχνικών στα Εχινόδερμα

Ο αριθμός των μελετών πληθυσμιακής γενετικής όσον αφορά τα Εχινόδερμα είναι σχετικά μικρός. Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες μοριακές τεχνικές όπως είναι η Αλλοενζυμική ηλεκτροφόρηση, η ανάλυση μιτοχονδριακού DNA, η τεχνική RAPD κ.α. Η γενετική δομή στους αχινοί έχει μελετηθεί κυρίως από Ιάπωνες (e.g. Marcus, 1977; Matsuoka & Nakamura, 1990, 1991; Watts *et al.*, 1990; Mladenov *et al.*, 1997).

Για το είδος *Asterias amurensis* (Αστεροειδή) με την τεχνική της Αλλοενζυμικής ηλεκτροφόρησης πραγματοποιήθηκε σύγκριση των πληθυσμών της Ιαπωνίας, Ρωσίας και της Τασμανίας. Οι πληθυσμοί έδειξαν γενετική διαφοροποίηση. Οι πληθυσμοί της Ιαπωνίας και της Τασμανίας βρίσκονται πιο κοντά και οι πληθυσμοί της Ιαπωνίας παρουσιάζουν μικρή γενετική διαφοροποίηση άρα και μικρή γονιδιακή ροή (Ward & Andrew, 1995).

Για το είδος *Coscinasterias muricata* (Αστεροειδή) με ανάλυση μιτοχονδριακού DNA στα φιόρδ και στην ευρύτερη περιοχή της Νέας Ζηλανδίας. Σε μεγάλη γεωγραφική κλίμακα (>1000 Km) παρατηρήθηκε περιορισμένη γονιδιακή ροή μεταξύ Βορείων και Νοτίων Νησιών. Σε μικρότερη γεωγραφική κλίμακα (10-200 Km) σημαντική πληθυσμιακή δομή βρέθηκε μεταξύ των φιόρδ και της ανοικτής θάλασσας (Perrin *et al.*, 2004).

Η γενετική δομή τριών ειδών αχινών του γένους *Strongylocentrotus* (*S. intermedius*, *S. nudus*, *S. pallidus*) από την Ιαπωνία μελετήθηκε, μεταξύ πληθυσμών του ίδιου είδους αλλά και μεταξύ των 3 ειδών με την τεχνική της Αλλοενζυμικής ηλεκτροφόρησης. Τα είδη *S. pallidus* και *S. intermedius* παρουσίασαν υψηλές τιμές

ετεροζυγωτίας. Για το είδος *S. nudus* το ποσοστό ήταν μικρότερο (Manchenko & Yakovlev, 2000).

Η τεχνική RAPD έχει χρησιμοποιηθεί για τη συγκριτική ανάλυση μεταξύ δυο πληθυσμών της Ιρλανδίας και της Γαλλίας, του είδους *Amphiura filiformis* (Οφιουροειδή). Από 31 RAPD δείκτες επιλέχθηκαν 4, οι οποίοι έδειξαν μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ των δυο πληθυσμών. Η ανάλυση της μοριακής διακύμανσης (AMOVA) έδειξε ότι το ελάχιστο της γενοτυπικής ποικιλότητας που απαντάται μεταξύ των ατόμων ανάμεσα στους πληθυσμούς είναι 93% (McCormack *et al.*, 2000).

Για τρία είδη αχινών του γένους *Echinometra* έγινε μελέτη με ανάλυση μιτοχονδριακού DNA για τη διαφοροποίηση και τη γενετική δομή των ειδών. Καθένα από τα τρία είδη έδειξε διαφορετική μορφή. Το *E. vanbrunti* του ανατολικού Ειρηνικού έδειξε υψηλή γονιδιακή ροή σε μεγάλες αποστάσεις. Ο μέσος όρος των γενετικών διαφοροποιήσεων για τους 3 διαφορετικούς πληθυσμούς του *E. vanbrunti* ήταν πολύ μικρός και έδειξε μεγάλη πιθανότητα να αναπαράγεται τυχαία. Οι πληθυσμοί του Μεξικού και του Παναμά του *E. vanbrunti* συνδέονται από υψηλά επίπεδα γενετικής ανταλλαγής- γονιδιακής ροής (McCartney *et al.*, 2000).

Για κάποια είδη Ολοθουροειδών (θαλάσσια αγγούρια) του Ανατολικού Ειρηνικού Ωκεανού έγινε ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα είδη *Cucumariidae pseudocurata* και *Cucumariidae curate* είναι διαφορετικά είδη, και όχι γεωγραφικές παραλλαγές του ίδιου είδους. Επίσης η ίδια ανάλυση έδειξε ότι το *C. pseudocurata* είναι το ίδιο είδος με το *C. Vegae* (Arndt *et al.*, 1996).

Για το είδος *P. lividus* έχει μελετηθεί η γενετική δομή και η γενετική ποικιλότητα, με μελέτη του μιτοχονδριακού DNA (mt DNA) για τη Μεσόγειο και τον Ατλαντικό, με

υψηλά ποσοστά γενετικής ποικιλότητας και χαμηλά επίπεδα γενετικής δομής το οποίο συνιστά υψηλή γονιδιακή ροή μεταξύ των δυο πληθυσμών (Duran *et al.*, 2004).

1.10 Σκοπός εργασίας

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι ο εντοπισμός της παραλλακτικότητας του είδους *P. lividus* στην Ελλάδα. Έγινε προσπάθεια για τον προσδιορισμό της γενετικής δομής του είδους, με την χρήση μοριακών γενετικών δεικτών και συγκεκριμένα με τη μέθοδο RAPD τεχνική, καθώς και για τον εντοπισμό διαφορών όσον αφορά τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά. Τα αποτελέσματα τα οποία θα προκύψουν θα χρησιμοποιηθούν για τη διερεύνηση των διαφορών μεταξύ των πέντε πληθυσμών και θα δώσουν πληροφορίες που θα βοηθήσουν στη διαχείριση και τη διατήρηση αυτού του οικολογικά πολύ σημαντικού θαλάσσιου ασπόνδυλου.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Δειγματοληψίες

Η συλλογή των δειγμάτων έγινε από επαγγελματίες δύτες, όχι σε μεγάλη απόσταση από την ξηρά. Οι περιοχές από τις οποίες έγιναν οι δειγματοληψίες είναι:

1. ο Παγασητικός Κόλπος
2. ο Αμβρακικός Κόλπος
3. η Αστυπάλαια
4. η Χαλκιδική

και συνολικά συλλέχθηκαν 208 άτομα.

Η δειγματοληψία στον Παγασητικό Κόλπο πραγματοποιήθηκε τον Οκτώβριο του 2005 και συλλέχθηκαν 75 άτομα.

Για την Αστυπάλαια πραγματοποιήθηκε εποχική δειγματοληψία (year class samples). Πραγματοποιήθηκαν δυο δειγματοληψίες, η πρώτη τον Ιούλιο του 2005 και συλλέχθηκαν 21 άτομα και η δεύτερη τον Ιούλιο του 2006 και συλλέχθηκαν 19 άτομα.

Η δειγματοληψία στην Χαλκιδική πραγματοποιήθηκε τον Νοέμβριο του 2005 με 40 άτομα και του Αμβρακικού Κόλπου τον ίδιο μήνα με 53 άτομα.

Οι δειγματοληψίες πραγματοποιηθήκαν μια φορά χωρίς επανάληψη, και σε διαφορετικούς μήνες. Σύμφωνα με τους Wares *et al.* (2001) αυτό δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα της γενετικής ανάλυσης

Μετά την αλίευση τους τοποθετούνταν σε ισοθερμικά ψυγεία και μεταφέρονταν σε καταψύκτη στους -20°C όπου αποθηκεύονταν μέχρι την επεξεργασία τους.

2.2 Μορφομετρικές μετρήσεις

Οι μορφομετρικές μετρήσεις οι οποίες πραγματοποιήθηκαν για κάθε άτομο είναι οι εξής:

1. Μέγιστη σταθερή διάμετρος σώματος (D), η διάμετρος του σώματος του αχινού εκεί που παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τιμή, δηλαδή στη μέση του σώματος.
2. Μέγιστο σταθερό ύψος σώματος (L), η απόσταση από το στόμα έως την έδρα.
3. Ολικό νωπό βάρος (Wt), το ολικό βάρος του ατόμου.
4. Καθαρό βάρος κελύφους (Wk), το βάρος του κελύφους.
5. Καθαρό βάρος γονάδας (Wg), το βάρος των 5 γονάδων του κάθε ατόμου.

Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση παχυμέτρου με ακρίβεια χιλιοστού και ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας χιλιοστού του γραμμαρίου.

Όλες οι μορφομετρικές παράμετροι οι οποίες μετρήθηκαν για τα άτομα του είδους *P. lividus*, είναι άμεσα συνδεδεμένες μεταξύ τους και περιγράφουν τη σωματική ανάπτυξη των πληθυσμών. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων χρησιμοποιήθηκαν για να υπολογιστούν ο γοναδοσωματικός δείκτης καθώς και να προκύψουν οι αλλομετρικές σχέσεις για τους πληθυσμούς, καθώς επίσης να διαχωριστούν σε κλάσεις μεγέθους σύμφωνα με τη διάμετρο τους (ανά 5 mm). Όλα τα παραπάνω βοήθησαν στη σύγκριση των διαφορετικών πληθυσμών. Γενικά στη μελέτη της μορφολογίας των αχινών, η διάμετρος των ατόμων απεικονίζει την ηλικία τους για αυτό και θεωρείται η κύρια παράμετρος για την παρακολούθηση της εξέλιξης ενός πληθυσμού (Pancucci, 1996). Ο γοναδοσωματικός δείκτης υπολογίστηκε ως προς το ολικό νωπό βάρος (βάρος γονάδος/ολικό νωπό βάρος) καθώς και ως προς το καθαρό βάρος κελύφους (βάρος γονάδος/καθαρό βάρος κελύφους).

Μετά τον υπολογισμό των μορφομετρικών μετρήσεων, οι γονάδες των ατόμων τοποθετούνταν σε αποστειρωμένους κυβέτες (Eppendorf tubes) με 95% αιθανόλη και συντηρούνταν στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.3 Εξαγωγή DNA

Για την απομόνωση του γενομικού DNA χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο του Levitan & Grosberg (1993) με μικρές διαφοροποιήσεις.

Τα βήματα του πρωτοκόλλου που ακολουθήθηκαν ήταν τα εξής:

1. Ένα μικρό κομμάτι από τις γονάδες του κάθε ατόμου αφαιρούνται και τοποθετούνται σε αποστειρωμένους κυβέτες (Eppendorf tubes), αφού έχουν συντηρηθεί σε 95% αιθανόλη στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.
2. Προστίθεται 500μl διαλύματος CTAB το οποίο περιέχει:
 - 2% hexadecyltrimethyl ammonium bromide
 - 1.4 M NaCl (Scarlau)
 - 0,2% 2-mercaptoethanol
 - 20μM EDTA
 - 100 mM Tris (pH=8)
 - 5 μl proteinase K (25mg/ml stock solution)
3. Τα δείγματα τοποθετούνται σε υδατόλουτρο στους $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ για όλη τη νύχτα.
4. Ο ιστός από τις γονάδες διαλύεται με κοφτερό αντικείμενο μέσα στο παραπάνω διάλυμα.
5. Τα δείγματα επωάζονται σε κλίβανο (WTB Binder, Labortechnik GmbH) στους $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 90 λεπτά (για την απομάκρυνση των πρωτεϊνών).
6. Τα δείγματα εξάγονται δύο φορές (για την απομάκρυνση πυρηνικών οξέων και την δέσμευση των πρωτεϊνών). Αρχικά προστίθενται 500μl από 25:24:1 διαλύματος φαινόλη: χλωροφόρμιο: ισοαμυλική αλκοόλη. Αναμιγνύονται

προσεκτικά (σε μηχανή ανάδευσης) και φυγοκεντρώνται για 18 λεπτά στις 8000 στροφές. Αφαιρείται το υπερκείμενο και μεταφέρεται σε καινούριο Eppendorf tube, και τις δυο φορές.

7. Κατόπιν προστίθεται διάλυμα 24:1 χλωροφόρμιο: ισοαμυλική αλκοόλη (για την απομάκρυνση υπολειμμάτων φαινόλης). Αναμιγνύονται προσεκτικά (σε μηχανή ανάδευσης) και φυγοκεντρώνται για 18 λεπτά στις 8000 στροφές. Αφαιρείται το υπερκείμενο και μεταφέρεται σε καινούριο Eppendorf tube.
8. Σε αυτό προστίθεται 1 ml 95% αιθανόλη, και τοποθετείται στους -20°C για 20 λεπτά (για την δέσμευση του DNA σε στερεά μορφή).
9. Στη συνέχεια τοποθετείται στην φυγόκεντρο για 20 λεπτά στις 8000 στροφές
10. Η αιθανόλη αφαιρείται πλήρως.
11. Το DNA pellet που σχηματίζεται ξεπλένεται δύο φορές με 70% αιθανόλη.
12. Η αιθανόλη αφαιρείται τελείως και το Eppendorf τοποθετείται με ανοικτό το πώμα στον κλίβανο επώασης για περίπου 30 λεπτά στους 40°C για να εξατμιστούν τα υπολείμματα αιθανόλης.
13. Μετά την επώαση προστίθεται 50 μl υπέρ-αποστειρωμένο νερό (Gibco ultra-sterilized water) και τοποθετείται στον καταψύκτη στους -20°C , έως ότου αναλυθεί.

2.4 Ηλεκτροφόρηση DNA

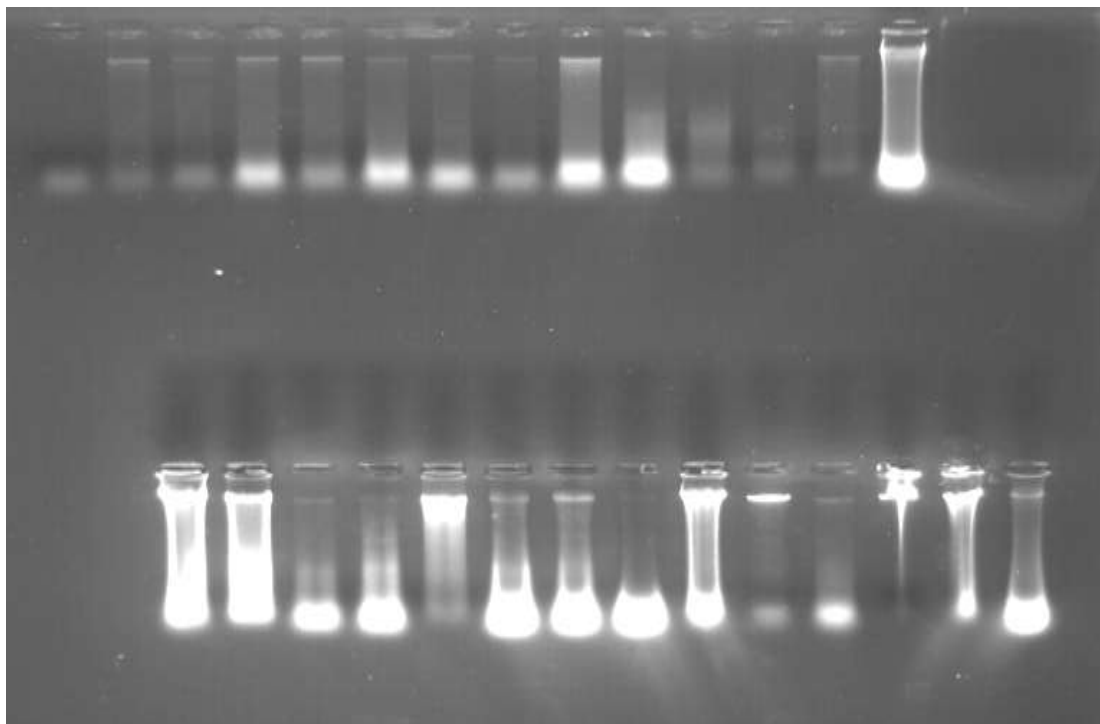
Για τον έλεγχο παρουσίας DNA μετά την εξαγωγή του, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης συγκέντρωσης 2% (Invitrogen).

Η πηκτή αγαρόζης κατασκευάζονταν με θέρμανση 1,2 g στερεής αγαρόζης σε 60 ml διαλύματος TAE συγκέντρωσης 1%. Η θέρμανση του μίγματος πραγματοποιούνταν σε φούρνο μικροκυμάτων (KENWOOD microwave) για 2 λεπτά, στους 90°C. Στη συνέχεια στο διάλυμα προστέθηκε 2,5 ml Βρωμιούχου Αιθιδίου συγκέντρωσης 1% (Scharlau), και μετά από σύντομη ανακίνηση και ελαφριά ψύξη, τοποθετούνταν σε τετράγωνο Plexiglas (πίατο ηλεκτροφόρησης), μήκους 10 cm, και δημιουργούνταν 28 θέσεις όγκου 14 μl. Μετά από παραμονή 20 λεπτών σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προέκυπτε η πηκτή. Στη συνέχεια με πιπέτα τοποθετούνταν το μίγμα γενομικού DNA, χρωστικής ουσίας και νερού με προσοχή ώστε να μην τρυπηθεί η πηκτή.

Το ρυθμιστικό διάλυμα TAE συγκέντρωσης 1% προέκυπτε από αραιώση διαλύματος TAE συγκέντρωσης 50% το οποίο κατασκευαζόταν στο εργαστήριο της Σχολής από 242 g Tris-HCl, 57 ml Acetic Acid, 0,05 M EDTA pH 8.

Το μίγμα το οποίο τοποθετούνταν στην πηκτή ήταν συνολικά όγκου 11 μl, συγκεκριμένα 2 μl DNA, 1 μl χρωστικής (Blue-bromophenol, Invitrogen) και 8 μl απεσταγμένου νερού. Η χρωστική είναι απαραίτητη για τον διαχωρισμό των προϊόντων. Το ρυθμιστικό διάλυμα που χρησιμοποιούνταν στη συσκευή ηλεκτροφόρησης ήταν επίσης TAE συγκέντρωσης 1%.

Η παροχή τάσης στη συσκευή ηλεκτροφόρησης (SCIE-PLAS) ήταν (60 volt) από το τροφοδοτικό (CONSORT E143) για 20 λεπτά. Μετά το τέλος της ηλεκτροφόρησης η πηκτή τοποθετούνταν σε υπεριώδη ακτινοβολία (UV) για να παρατηρηθούν και στη συνέχεια φωτογραφήθηκαν για ευκολία και περαιτέρω ανάλυση, (με φωτογραφική μηχανή: DNR, Mini Bis Bio-Imaging Systems).



Εικόνα 4: Φωτογραφία πηκτής μετά από ηλεκτροφόρηση DNA, η οποία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ιχθυολογίας-Υδροβιολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

2.5 Επιλογή RAPD δεικτών

Η επιλογή των RAPD δεικτών έγινε σύμφωνα με τη βιβλιογραφία για το ίδιο αλλά και διαφορετικά είδη αχινών (Pancucci *et al.*, 1996; Levitan, 2002). Επίσης έγινε δοκιμή κάποιων δεικτών RAPD οι οποίοι υπήρχαν στο εργαστήριο και είχαν χρησιμοποιηθεί για άλλα είδη (φούσκα, караβίδα κ.ά.). Συνολικά έγινε δόκιμη σε 31 δείκτες εκ των οποίων οι 7 τελικά επιλέχθηκαν. Η επιλογή αυτών, έγινε γιατί οι μπάντες των συγκεκριμένων δεικτών ήταν πιο έντονες και αυτό διευκόλυνε το σκοράρισμα των πηκτών.

Από αυτούς οι 11 RAPD δείκτες είχαν επιλεγεί σύμφωνα με βιβλιογραφία, για το ίδιο είδος αλλά και γενικότερα για τα εχινόδερμα. Οι υπόλοιποι 20 ήταν δείκτες οι οποίοι υπήρχαν στο εργαστήριο και είχαν χρησιμοποιηθεί για άλλα είδη.

Οι δείκτες οι οποίοι δοκιμάστηκαν παρατίθενται στο Πίνακα 1.

Πίνακας 1. RAPD δείκτες που εξετάστηκαν για το είδος *P. lividus*.

Κωδικός Primer	Αλληλουχία
	5'-ACCCGGAAAC-3'
	5'-TCGCAGCGAG-3'
	5'-TGATGGCGTC-3'
A02	5'-CAGGCCCTTC-3'
A03	5'-AGTCAGCCAC-3'
A04	5'-AATCGGGCTG-3'
A09	5'-GGGTAACGCC-3'
A10	5'-GTGATCGCAG-3'
F03	5'-CCTGATCACC-3'
F04	5'-GGTGATCAGG-3'
F12	5'-ACGGTACCAG-3'
UBC-521	5'-CCGCCCCACT-3'
UBC-526	5'-AACGGGCACC-3'
UBC-542	5'-CCCATGGCCC-3'
UBC-717	5'-CCCACACCCA-3'
UBC-725	5'-GGGTTGGGTG-3'
UBC-726	5'-GGTGTGGGTG-3'
UBC-728	5'-GTGGGTGGTG-3'
UBC-730	5'-CCACACCCAC-3'
UBC-735	5'-GGGAGAGGAG-3'
UBC-750	5'-GGGTGGTGTG-3'
F10	5'-GGAAGCTTGG-3'
Pr14	5'-GGTGACGCAG-3'
R02	5'-CACAGCTGCC-3'
R13	5'-GGACGACAAG-3'
Y01	5'-GTGGCATCTC-3'
Y02	5'-CATCGCCGCA-3'

Y05	5'-GGCTGCGACA-3'
Y08	5'-AGGCAGAGCA-3'
Y15	5'-AGTCGCCCTT-3'
Y18	5'-GTGGAGTCAG-3'

Από αυτούς τελικά επιλέχθηκαν οι 7 δείκτες που έδωσαν ευκρινείς, επαναλήψιμες και καθαρές από παραπροϊόντα μπάντες. Στον Πίνακα 2, παρατίθενται οι δείκτες που τελικά επιλέχθηκαν για την παρούσα εργασία.

Πίνακας 2. RAPD δείκτες που επιλέχθηκαν για την παρούσα μελέτη.

Κωδικός Primer	Αλληλουχία
	5'-ACCCGGAAAC-3'
	5'-TCGCAGCGAG-3'
	5'-TGATGGCGTC-3'
A02	5'-CAGGCCCTTC-3'
A03	5'-AGTCAGCCAC-3'
A09	5'-GGGTAACGCC-3'
F10	5'-GGAAGCTTGG-3'

2.6 Πρωτόκολλο PCR

Το πρωτόκολλο της PCR που χρησιμοποιήθηκε ήταν σύμφωνα με τον Exadactylos (1997).

Συνολικά αποτελούνται από 44 κύκλους.

ΒΗΜΑ 1: Θερμοκρασία 94 °C για 5 λεπτά.

ΒΗΜΑ 2: Θερμοκρασία 94 °C για 3 λεπτά

ΒΗΜΑ 3: Θερμοκρασία 36 °C για 0,30 λεπτά

ΒΗΜΑ 4: Θερμοκρασία 72 °C για 1,30 λεπτά

ΒΗΜΑ 5: Θερμοκρασία 94 °C για 2,30 λεπτά

ΒΗΜΑ 6: Θερμοκρασία 36 °C για 0,30 λεπτά

ΒΗΜΑ 7: Θερμοκρασία 72 °C για 1,30 λεπτά

ΒΗΜΑ 8: Επανάληψη των τριών τελευταίων βημάτων 43 φορές.

ΒΗΜΑ 8: Θερμοκρασία 75 ° για 5 λεπτά

ΒΗΜΑ 9: Θερμοκρασία 10 °C μέχρι να βγουν από τον κυκλοποιητή.

Ο όγκος του δείγματος που τοποθετούνταν στον κυκλοποιητή ήταν 21 μl. Για κάθε δείγμα μέσα στο tube τοποθετούνταν τα εξής:

1. 1 μl DNA
2. 14, 1 μl διπλά αποστειρωμένο νερό
3. 2 μl PCR Buffer συγκέντρωσης 10X
4. 3 μl MgCl₂ συγκέντρωσης 25 mM
5. 0,5 μl dNTP's συγκέντρωσης 10mM
6. 0,3 μl Primer συγκέντρωσης 50 μM
7. 0,1 μl Taq

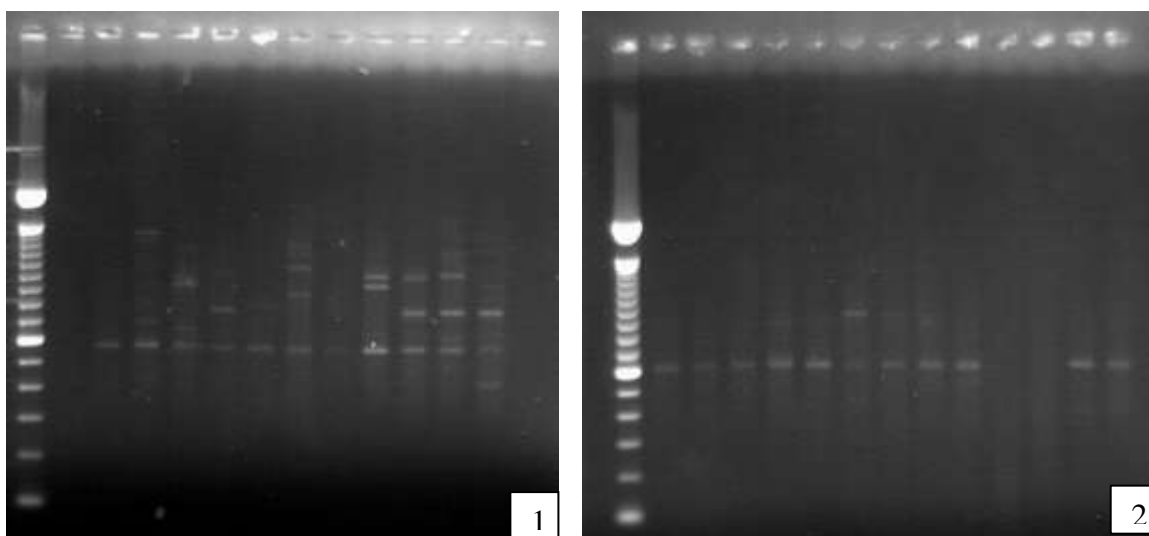
2.7 Ηλεκτροφόρηση PCR

Μετά το τέλος της PCR για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων, γινόταν ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της. Η ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR πραγματοποιούνταν σε πηκτή αгарόζης συγκέντρωσης 2%. Η διαδικασία παρασκευής της πηκτής καθώς και η συσκευή ηλεκτροφόρησης ήταν η ίδια που χρησιμοποιήθηκε και στην ηλεκτροφόρηση του DNA.

Από κάθε προϊόν της PCR χρησιμοποιούνταν 10 μl μαζί με 1 μl χρωστικής ουσίας, τα οποία τοποθετούνταν στα πηγάδια της ηλεκτροφόρησης. Επίσης στο πρώτο πηγάδι της πηκτής φορτώνονταν η σκάλα (ladder), σύμφωνα με τον οποίο θα μετρηθούν τα bp στα οποία εμφανίζονται οι μπάντες και στη συνέχεια το σκοράρισμα, και η οποία

μετράει ανά 100 bp. Το μίγμα του ladder που φορτωνόταν στην πηκτή, αποτελούνται από 0,5 μl ladder και 1 μl χρωστική.

Η παροχή τάσης οριζόταν σε 60 V και μετά από πέντε ώρες περίπου έβγαιναν από της συσκευή ηλεκτροφόρησης και τοποθετούνταν σε υπεριώδη ακτινοβολία για την παρατήρηση τους. Επίσης στο τέλος φωτογραφίζονταν για ευκολία και περαιτέρω ανάλυση.



Εικόνα 5: Φωτογραφίες μετά από ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR, η οποία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ιχθυολογίας- Υδροβιολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η πρώτη (1) φωτογραφία προέκυψε από τη ηλεκτροφόρηση προϊόντων της PCR με τον RAPD δείκτη 5' GGGTAACGCC-3' (A09) ενώ η δεύτερη (2) με τον 5'-TGATGGCGTC-3'.

2.8 Στατιστική επεξεργασία δεδομένων

Για όλους τους πληθυσμούς και για όλες τις μορφομετρικές μετρήσεις υπολογίστηκαν το εύρος των μετρήσεων (min-max), η μέση τιμή (\bar{x}), η τυπική απόκλιση (S.d.), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και το τυπικό σφάλμα (S.E.). Όλοι οι παραπάνω υπολογισμοί έγιναν με τη βοήθεια των συναρτήσεων στο EXCEL 2003,

εκτός από τον συντελεστή παραλλακτικότητας (CV%) ο οποίος υπολογίστηκε από τον τύπο:

$$CV\% = (S.d. * 100) / x \text{ (Zar, 1984)}$$

Τα άτομα κάθε πληθυσμού χωρίστηκαν σε κλάσεις των 5 mm ανάλογα με τη σταθερή διάμετρο τους, και υπολογίστηκε το ποσοστό του πληθυσμού που ανήκει σε κάθε κλάση.

Υπολογίστηκε η σχέση της μέγιστης σταθερής διαμέτρου (D) και του ολικού βάρους (W_i). Εφαρμόστηκε το εκθετικό μοντέλο $W_i = a * D^b$, όπως χρησιμοποιήθηκε και από τους ΕΘΙΑΓΕ (2005) και Οικονομίδη (2003) για μελέτη που πραγματοποίησαν για αχινούς του ίδιου είδους. Χρησιμοποιήθηκε η Ανάλυση της απλής παλινδρόμησης (Simple Regression) στο EXCEL 2003 για να βρεθούν οι συντελεστές της σχέσης (a,b).

Για κάθε μια από τις μορφομετρικές μετρήσεις (Μέγιστη σταθερή διάμετρο, Μέγιστο σταθερό ύψος, Ολικό νωπό βάρος κτλ) πραγματοποιήθηκε Ανάλυσης Διασποράς κατά ένα παράγοντα (Oneway ANOVA) στο στατιστικό πακέτο SPSS 13, για να διαπιστωθεί εάν υπάρχουν διαφορές για τη συγκεκριμένη μέτρηση ανάμεσα στους πληθυσμούς. Επίσης με τη χρήση του ίδιου στατιστικού πακέτου δημιουργήθηκαν θηκογράμματα ανά μέτρηση για όλους τους πληθυσμούς.

Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων της γενετικής ανάλυσης χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα γενετικής Arlequin Vs 2.0 (Schneider *et al.*, 2000). Με τη χρήση αυτού του λογισμικού υπολογίστηκε η ανάλυση μοριακής διακύμανσης (Analysis of Molecular Variance- AMOVA), ο δείκτης παραλλακτικότητας (F_{ST}), η γενετική απόσταση μεταξύ των πληθυσμών (D) καθώς και οι συχνότητες των αλληλομόρφων.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Αποτελέσματα Μορφομετρικών Μετρήσεων

3.1.1 Το είδος *P. lividus*

Συνολικά, εξεταστήκαν 208 άτομα του υπο μελετη είδους, από 4 περιοχές της Ελλάδας. Από αυτά τα 46 ήταν αρσενικά, τα 102 θηλυκά και τα 69 ανώριμα.

Συνολικά η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε 22,420-67,640 mm, με μέση τιμή 43,495 και τυπική απόκλιση 10,751. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 10,090-45,380 mm, με μέση τιμή 22,350 τυπική απόκλιση 6,324. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 3,270-80,150 mm, με μέση τιμή 30,558 και τυπική απόκλιση 18,255. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,010-8,990 gr, με μέση τιμή 1,340 και τυπική απόκλιση 1,403. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 2,150-41,971, με μέση τιμή 17,380 και τυπική απόκλιση 9,431.

Για τα αρσενικά άτομα η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 24,690-64,700, με μέση τιμή 46,394 και τυπική απόκλιση 9,177. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 12,210-35,590, με μέση τιμή 23,563 και τυπική απόκλιση 5,198. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 5,790-76,590 gr, με μέση τιμή 34,662 και τυπική απόκλιση 16,543. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,050-3,986, με μέση τιμή 1,588 και τυπική απόκλιση 1,181. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 3,010-41,971, με μέση τιμή 19,908 και τυπική απόκλιση 9,213.

Για τα θηλυκά άτομα η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 22,420-67,640, με μέση τιμή και τυπική απόκλιση. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 10,540-45,380, με μέση τιμή 25,626 και τυπική απόκλιση 5,319. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 4,190-80,150, με μέση τιμή 39,489 και τυπική απόκλιση 16,554. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,050-8,990, με μέση τιμή 1,742 και τυπική απόκλιση

1,538. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 2,600-41,658, με μέση τιμή 22,173 και τυπική απόκλιση 7,495.

Τα ανώριμα άτομα παρουσιάζουν το μικρότερο μέγεθος. Η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 22,440-52,880, με μέση τιμή 33,602 και τυπική απόκλιση 7,506. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 10,090-29,470, με μέση τιμή 16,847 και τυπική απόκλιση 4,287. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 3,270-41,430, με μέση τιμή 14,978 και τυπική απόκλιση 9,434. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,010-1,100, με μέση τιμή 0,229 και τυπική απόκλιση 0,222. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 2,150-23,240 με μέση τιμή 8,807 και τυπική απόκλιση 5,306.

Πίνακας 3. Οι Στατιστικές παράμετροι για το σύνολο των υπό εξέταση ατόμων και το σύνολο των υπό εξέταση μεγεθών. Τα μήκη D, L είναι σε mm ενώ τα βάρη W_t , W_g και W_k σε gr, (**min**: ελάχιστη τιμή, **max**: μέγιστη τιμή, **avg**: μέση τιμή, **sd**: τυπική απόκλιση, **CV%**: συντελεστής παραλλακτικότητας, **SE**: τυπικό σφάλμα).

<i>Paracentrotus lividus</i>							
Συνολικά άτομα (=208)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/ W_t	GSI/ W_k
min	22,420	10,090	3,270	0,010	2,150	0,037	0,056
max	67,640	45,380	80,150	8,990	41,971	14,737	31,289
avg	43,495	22,350	30,558	1,340	17,380	3,766	6,457
sd	10,751	6,324	18,255	1,403	9,431	2,955	5,118
CV%	24,717	28,295	59,739	104,693	54,262	78,470	79,259
SE	0,728	0,428	1,236	0,100	0,639	0,212	0,366
Αρσενικά άτομα (=46)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/ W_t	GSI/ W_k
min	24,690	12,210	5,790	0,050	3,010	0,864	1,661
max	64,700	35,590	76,590	3,986	41,971	13,709	18,608
avg	46,364	23,563	34,662	1,588	19,908	4,427	7,491
sd	9,177	5,198	16,543	1,181	9,213	2,903	4,219
CV%	19,794	22,059	47,728	74,416	46,278	65,574	56,315
SE	1,353	0,766	2,439	0,174	1,358	0,428	0,622
Θηλυκά άτομα (=102)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/ W_t	GSI/ W_k
min	22,420	10,540	4,190	0,050	2,600	0,859	1,201
max	67,640	45,380	80,150	8,990	41,658	14,737	31,289

avg	49,077	25,626	39,489	1,742	22,173	4,323	7,537
sd	8,206	5,319	16,554	1,538	7,495	2,981	5,559
CV%	16,722	20,758	41,920	88,317	33,804	68,947	73,755
SE	0,813	0,527	1,639	0,152	0,742	0,295	0,550
Ανώριμα άτομα (=61)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	22,440	10,090	3,270	0,010	2,150	0,037	0,056
max	52,880	29,470	41,430	1,100	23,240	12,228	16,937
avg	33,602	16,847	14,978	0,229	8,807	1,935	3,118
sd	7,506	4,287	9,434	0,222	5,306	2,124	3,201
CV%	22,338	25,447	62,983	96,810	60,249	109,773	102,668
SE	0,904	0,516	1,136	0,033	0,639	0,313	0,472

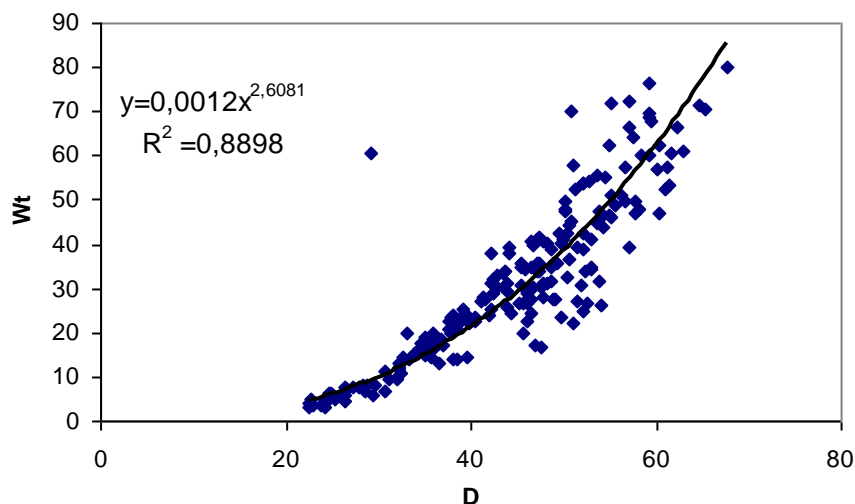
Συνολικά για όλα τα άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 0,037-14,737, με μέση τιμή 3,766 και τυπική απόκλιση 2,955 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 0,056-31,289 με μέση τιμή 6,457 και τυπική απόκλιση 5,118.

Για τα αρσενικά άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 0,864-13,709, με μέση τιμή 4,427 και τυπική απόκλιση 2,903 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 1,661-18,608, με μέση τιμή 7,491 και τυπική απόκλιση 4,219.

Για τα θηλυκά άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 0,859-14,737, με μέση τιμή 4,323 και τυπική απόκλιση 2,981 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 1,201 -31,289, με μέση τιμή 7,537 και τυπική απόκλιση 5,559.

Σχέση μέγιστης σταθερής διαμέτρου (D) – Ολικού Βάρους (W_t)

Η ανάλυση των στοιχείων για τα συνολικά άτομα του είδους έδωσε το παρακάτω διάγραμμα της σχέσης ολικού βάρους και μέγιστης σταθερής διαμέτρου.



Εικόνα 6. Σχέση της μέγιστης σταθερής διαμέτρου και του ολικού βάρους για όλα τα άτομα όλων των πληθυσμών.

Πίνακας 4. Τα στατιστικά στοιχεία της ανάλυσης παλινδρόμησης μεταξύ μέγιστης σταθερής διαμέτρου και του ολικού βάρους για όλα τα άτομα όλων των πληθυσμών.

	a	b	F	R²	P
Συνολικά	-2,918	2,608	1754,652311	0,8898	0

Η σχέση που συνδέει τις δυο παραμέτρους είναι $W=0,0012*L^{2,6081}$, $R^2 = 0,8898$.

3.1.2 Παγασητικός κόλπος

Για τον Παγασητικό Κόλπο εξετάστηκαν 75 άτομα, εκ των οποίων τα 22 ήταν αρσενικά και τα 47 θηλυκά. Για 6 άτομα δεν ήταν εφικτός ο προσδιορισμός του φύλου, αφού ήταν γεννητικά ανώριμα.

Συνολικά η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε 37,600-60,200 mm, με μέση τιμή 49,754 και τυπική απόκλιση 4,870. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 17,120-34,200 mm, με μέση τιμή 25,142 τυπική απόκλιση 3,819. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 13,810-76,590 mm, με μέση τιμή 40,206 και τυπική απόκλιση 12,081.

Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,010-8,990 gr, με μέση τιμή 2,056 και τυπική απόκλιση 1,757. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 9,540-38,985, με μέση τιμή 23,604 και τυπική απόκλιση 5,520.

Για τα αρσενικά άτομα η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 42,100-59,200, με μέση τιμή 49,557 και τυπική απόκλιση 4,873. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 18,800-34,200, με μέση τιμή 24,836 και τυπική απόκλιση 3,805. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 25,520-76,590 gr, με μέση τιμή 39,778 και τυπική απόκλιση 12,277. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,402-3,986, με μέση τιμή 2,159 και τυπική απόκλιση 1,238. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 13,819-38,712, με μέση τιμή 23,381 και τυπική απόκλιση 5,504.

Για τα θηλυκά άτομα η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 37,600-60,200, με μέση τιμή 50,499 και τυπική απόκλιση 4,715. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 17,120-33,030, με μέση τιμή 25,729 και τυπική απόκλιση 3,769. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 19,990-70,309, με μέση τιμή 42,194 και τυπική απόκλιση 11,437. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,300-8,990, με μέση τιμή 2,220 και τυπική απόκλιση 1,934. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 14,090-38,985, με μέση τιμή 24,395 και τυπική απόκλιση 5,306.

Τα ανώριμα άτομα παρουσιάζουν το μικρότερο μέγεθος. Η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 38,580-47,610, με μέση τιμή 44,642 και τυπική απόκλιση 3,163. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 17,510-23,830, με μέση τιμή 21,657 και τυπική απόκλιση 2,484. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 13,810-35,039, με μέση τιμή 26,208 και τυπική απόκλιση 7,103. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,010-1,122, με μέση τιμή 0,070 και τυπική απόκλιση 0,050. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 9,540-23,240 με μέση τιμή 18,228 και τυπική απόκλιση 4,902.

Πίνακας 5. Οι Στατιστικές παράμετροι για τα υπό εξέταση άτομα του πληθυσμού του Παγασητικού Κόλπου και το σύνολο των υπό εξέταση μεγεθών. Τα μήκη D, L είναι σε mm ενώ τα βάρη W_t , W_g και W_k σε gr, (**min**: ελάχιστη τιμή, **max**: μέγιστη τιμή, **avg**: μέση τιμή, **sd**: τυπική απόκλιση, **CV%**: συντελεστής παραλλακτικότητας, **SE**: τυπικό σφάλμα).

Παγασητικός Κόλπος							
Συνολικά άτομα (=75)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	37,600	17,120	13,810	0,010	9,540	0,037	0,056
max	60,200	34,200	76,590	8,990	38,985	14,737	31,289
avg	49,754	25,142	40,206	2,056	23,604	4,818	8,388
sd	4,870	3,819	12,081	1,757	5,520	3,512	6,594
CV%	9,788	15,190	30,047	85,451	23,387	72,888	78,612
SE	0,562	0,441	1,395	0,204	0,637	0,408	0,7665
Αρσενικά άτομα (=22)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	42,100	18,800	25,520	0,402	13,819	1,057	1,836
max	59,200	34,200	76,590	3,986	38,712	13,709	18,608
avg	49,557	24,836	39,778	2,159	23,381	5,562	9,073
sd	4,873	3,805	12,277	1,238	5,504	3,394	4,843
CV%	9,833	15,319	30,864	57,351	23,539	61,020	53,376
SE	1,039	0,811	2,618	0,264	1,173	0,724	1,032
Θηλυκά άτομα (=47)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	37,600	17,120	19,990	0,300	14,090	0,859	1,201
max	60,200	33,030	70,309	8,990	38,985	14,737	31,289
avg	50,499	25,729	42,194	2,220	24,395	4,956	8,922
sd	4,715	3,769	11,437	1,934	5,306	3,427	7,125
CV%	9,336	14,647	27,105	87,113	21,749	69,153	79,858
SE	0,688	0,550	1,668	0,282	0,774	0,500	1,0393
Ανώριμα άτομα (=6)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	38,580	17,510	13,810	0,010	9,540	0,037	0,056
max	47,610	23,830	35,039	0,122	23,240	0,479	0,694
avg	44,642	21,657	26,208	0,070	18,228	0,242	0,357
sd	3,163	2,484	7,103	0,050	4,902	0,178	0,271
CV%	7,085	11,470	27,103	72,036	26,894	73,651	75,927
SE	1,291	1,014	2,900	0,022	2,001	0,080	0,1212

Ο γοναδοσωματικός δείκτης για το κάθε άτομο υπολογίστηκε ως προς το ολικό νωπό βάρος (δηλαδή το βάρος γονάδων προς το ολικό βάρος) και ως προς το καθαρό βάρος κελύφους (δηλαδή το βάρος γονάδων προς το βάρος κελύφους).

Συνολικά για όλα τα άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 0,037-14,737, με μέση τιμή 4,818 και τυπική απόκλιση 3,512 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 0,056-31,289 με μέση τιμή 8,388 και τυπική απόκλιση 6,594.

Για τα αρσενικά άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 1,057-13,709, με μέση τιμή 5,562 και τυπική απόκλιση 3,394 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 1,836-18,608, με μέση τιμή 9,073 και τυπική απόκλιση 4,843.

Για τα θηλυκά άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 0,859-14,737, με μέση τιμή 4,956 και τυπική απόκλιση 3,427 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 1,201 -31,289, με μέση τιμή 8,922 και τυπική απόκλιση 7,125.

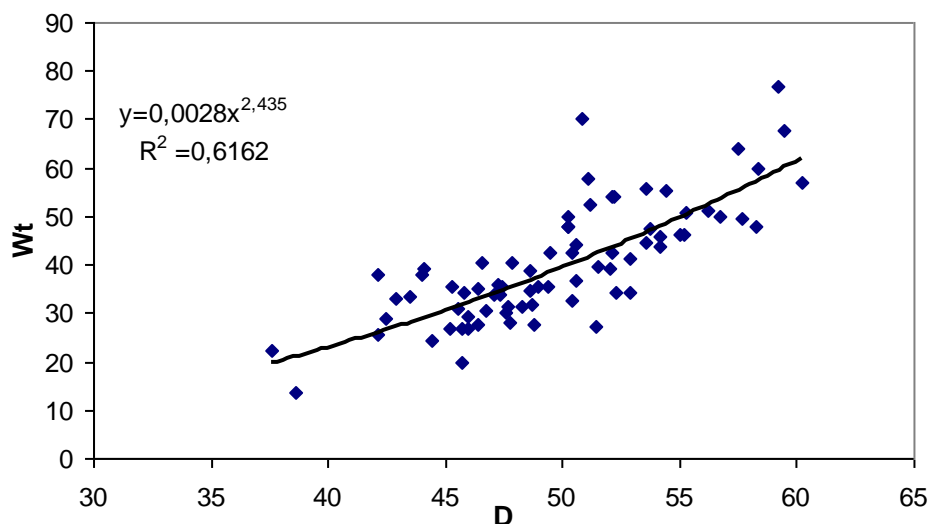
Ανάλογα με τη μέγιστη σταθερή τους διάμετρο, όλα τα άτομα χωρίστηκαν σε κλάσεις των 5 mm, και προέκυψαν συνολικά 6 κλάσεις όπως φαίνεται στον Πίνακα 6:

Πίνακας 6. Κατάταξη των ατόμων σε τάξεις μεγέθους και μεσοί όροι του λόγου Ύψος/ Διάμετρος για τον πληθυσμό του Παγασητικού Κόλπου.

Τάξη μεγέθους (mm)	Αριθμός ατόμων	% του πληθυσμού	Ύψος/ Διάμετρος
35-40	2	3 %	0,527
40,1-45	8	11 %	0,456
45,1-50	28	37 %	0,495
50,1-55	26	35 %	0,515
55,1-60	10	13 %	0,531
60,1-65	1	1 %	0,535

Σχέση μέγιστης σταθερής διαμέτρου (D) – Ολικού Βάρους (Wt)

Η ανάλυση των στοιχείων για τον κόλπο του Παγασητικού έδωσε το παρακάτω διάγραμμα της σχέσης ολικού βάρους και μέγιστης σταθερής διαμέτρου.



Εικόνα 7. Σχέση της μέγιστης σταθερής διαμέτρου και του ολικού βάρους για όλα τα άτομα του πληθυσμού του Παγασητικού Κόλπου.

Πίνακας 7. Τα στατιστικά στοιχεία της ανάλυσης παλινδρόμησης μεταξύ μέγιστης σταθερής διαμέτρου και ολικού βάρους για όλα τα άτομα του Παγασητικού Κόλπου.

	a	b	F	R²	P
Συνολικά	-2,543	2,435	119,826	0,6162	0

Η σχέση που συνδέει τις δυο παραμέτρους είναι $W = 0,0028 * L^{2,435}$, $R^2 = 0,6162$.

3.1.3 Χαλκιδική

Από την περιοχή της Χαλκιδικής εξετάστηκαν 40 άτομα, εκ των οποίων τα 11 ήταν αρσενικά και τα 20 θηλυκά. Τα 9 άτομα ήταν γεννητικά ανώριμα.

Συνολικά η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε 32,180-48,140 mm, με μέση τιμή 39,543 και τυπική απόκλιση 3,951. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 13,770-45,380 mm, με μέση τιμή 20,433 τυπική απόκλιση 4,554. Το ολικό νωπό βάρος

κυμάνθηκε από 13,210-41,430, με μέση τιμή 24,074 και τυπική απόκλιση 7,175. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,060-2,620 gr, με μέση τιμή 0,681 και τυπική απόκλιση 0,504. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 7,870-20,650, με μέση τιμή 13,248 και τυπική απόκλιση 3,317.

Για τα αρσενικά άτομα η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 32,180-48,140, με μέση τιμή 40,470 και τυπική απόκλιση 4,324. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 16,340-24,660, με μέση τιμή 20,511 και τυπική απόκλιση 2,109. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 13,210-40,280 gr, με μέση τιμή 24,919 και τυπική απόκλιση 7,675. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,350-2,620, με μέση τιμή 0,885 και τυπική απόκλιση 0,674. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 7,870-20,370, με μέση τιμή 13,529 και τυπική απόκλιση 4,002.

Για τα θηλυκά άτομα η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 33,890-47,220, με μέση τιμή 40,040 και τυπική απόκλιση 4,058. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 15,830-45,380, με μέση τιμή 21,341 και τυπική απόκλιση 6,225. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 15,400-41,290, με μέση τιμή 24,345 και τυπική απόκλιση 7,439. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,220-1,900, με μέση τιμή 0,796 και τυπική απόκλιση 0,409. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 9,570-20,650, με μέση τιμή 14,144 και τυπική απόκλιση 3,250.

Η μέγιστη σταθερή διάμετρος στα ανώριμα άτομα κυμάνθηκε από 33,130-47,310, με μέση τιμή 38,484 και τυπική απόκλιση 3,570. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 13,770-29,150, με μέση τιμή 19,433 και τυπική απόκλιση 3,332. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 15,320-41,340, με μέση τιμή 23,298 και τυπική απόκλιση 6,916. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,060-0,390, με μέση τιμή 0,267 και τυπική απόκλιση 0,104. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 8,320-20,430 με μέση τιμή 12,143 και τυπική απόκλιση 2,770.

Πίνακας 8. Οι Στατιστικές παράμετροι για τα υπό εξέταση άτομα του πληθυσμού της Χαλκιδικής και το σύνολο των υπό εξέταση μεγεθών. Τα μήκη D, L είναι σε mm ενώ τα βάρη W_t , W_g και W_k σε gr, (**min**: ελάχιστη τιμή, **max**: μέγιστη τιμή, **avg**: μέση τιμή, **sd**: τυπική απόκλιση, **CV%**: συντελεστής παραλλακτικότητας, **SE**: τυπικό σφάλμα).

Χαλκιδική							
Συνολικά άτομα (=40)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	32,180	13,770	13,210	0,060	7,870	0,191	0,721
max	48,140	45,380	41,430	2,620	20,650	10,089	13,041
avg	39,543	20,433	24,074	0,681	13,248	2,953	4,897
sd	3,951	4,554	7,175	0,504	3,317	2,160	2,944
CV%	9,993	22,288	29,803	74,091	25,037	73,148	60,129
SE	0,559	0,644	1,015	0,078	0,469	0,333	0,454
Αρσενικά άτομα (=11)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	32,180	16,340	13,210	0,350	7,870	1,602	3,065
max	48,140	24,660	40,280	2,620	20,370	10,089	13,041
avg	40,470	20,511	24,919	0,885	13,529	3,574	6,251
sd	4,324	2,109	7,675	0,674	4,002	2,452	3,275
CV%	10,686	10,283	30,800	76,065	29,583	68,609	52,392
SE	1,304	0,636	2,314	0,203	1,207	0,739	0,987
Θηλυκά άτομα (=20)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	33,890	15,830	15,400	0,220	9,570	0,970	1,695
max	47,220	45,380	41,290	1,900	20,650	7,776	12,533
avg	40,040	21,341	24,345	0,796	14,144	3,536	5,598
sd	4,058	6,225	7,439	0,409	3,250	2,114	2,606
CV%	10,135	29,172	30,555	51,422	22,979	59,793	46,554
SE	0,907	1,392	1,663	0,091	0,727	0,473	0,583
Ανώριμα (=9)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	33,130	13,770	15,320	0,060	8,320	0,191	0,721
max	47,310	29,150	41,430	0,390	20,430	2,067	3,825
avg	38,484	19,433	23,298	0,267	12,143	1,274	2,267
sd	3,570	3,332	6,916	0,104	2,770	0,653	1,143
CV%	9,278	17,147	29,686	38,994	22,810	51,253	50,411
SE	0,819	0,764	1,587	0,031	0,635	0,197	0,345

Συνολικά για όλα τα άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 0,191-10,089, με μέση τιμή 2,953 και τυπική απόκλιση 2,160 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 0,721-13,041 με μέση τιμή 4,897 και τυπική απόκλιση 2,944.

Για τα αρσενικά άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 1,602-10,089, με μέση τιμή 3,574 και τυπική απόκλιση 2,452 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 3,065-13,041, με μέση τιμή 6,251 και τυπική απόκλιση 3,275.

Για τα θηλυκά άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 0,970-7,776, με μέση τιμή 3,536 και τυπική απόκλιση 2,114 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 1,695 -12,533, με μέση τιμή 5,598 και τυπική απόκλιση 2,606.

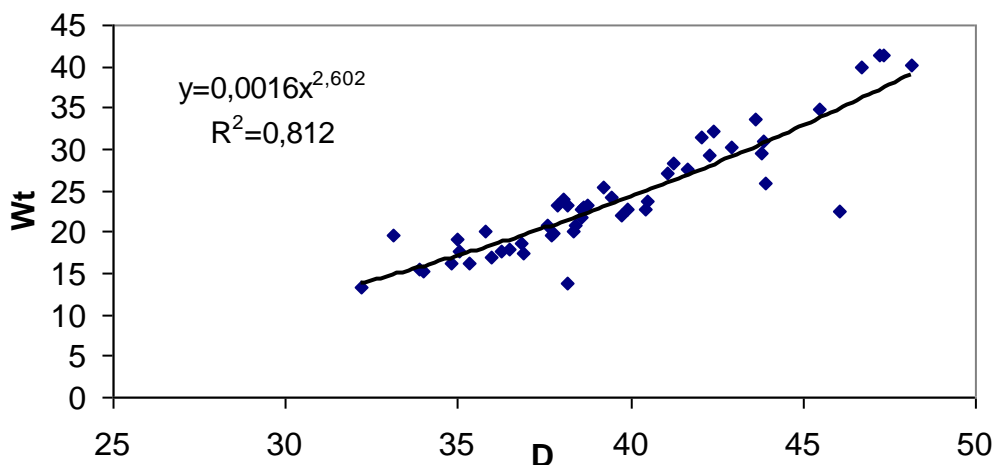
Ανάλογα με τη μέγιστη σταθερή τους διάμετρο, όλα τα άτομα χωρίστηκαν σε κλάσεις των 5 mm, και προέκυψαν συνολικά 4 κλάσεις όπως φαίνεται στον Πίνακα 9:

Πίνακας 9. Κατάταξη των ατόμων σε τάξεις μεγέθους και μεσοί όροι του λόγου Ύψος/ Διάμετρος για τον πληθυσμό της Χαλκιδικής.

Τάξη μεγέθους (mm)	Αριθμός ατόμων	% του πληθυσμού	Ύψος/ Διάμετρος
30-35	6	12%	0,483
35,1-40	25	50%	0,505
40,1-45	13	26%	0,502
45,1-50	6	12%	0,608

Σχέση μέγιστης σταθερής διαμέτρου (D) – Ολικού Βάρους (Wt)

Η ανάλυση των στοιχείων για την Χαλκιδική έδωσε το παρακάτω διάγραμμα της σχέσης ολικού βάρους και μέγιστης σταθερής διαμέτρου.



Εικόνα 8. Σχέση της μέγιστης σταθερής διαμέτρου και του ολικού βάρους για όλα τα άτομα του πληθυσμού της Χαλκιδικής.

Πίνακας 10. Τα στατιστικά στοιχεία της ανάλυσης παλινδρόμησης μεταξύ μέγιστης σταθερής διαμέτρου και ολικού βάρους για όλα τα άτομα της Χαλκιδικής.

	a	b	F	R²	P
Συνολικά	-2,786	2,602	213,102	0,812	0

Η σχέση που συνδέει τις δυο παραμέτρους είναι $W=0,0016*L^{2,6018}$, $R^2=0,812$.

3.1.4 Αστυπάλαια

Κατά την πρώτη δειγματοληψία (Ιούνιος 2005) εξετάστηκαν 21 άτομα, εκ των οποίων τα 4 ήταν αρσενικά και τα 15 θηλυκά. Τα 2 άτομα ήταν γεννητικά ανώριμα. Συνολικά η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε 46,380-67,640 mm, με μέση τιμή 55,244 και τυπική απόκλιση 6,431. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 22,790-38,810 mm, με μέση τιμή 29,434 τυπική απόκλιση 4,571. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 16,790-80,150, με μέση τιμή 39,291 και τυπική απόκλιση 18,347. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,180-3,288 gr, με μέση τιμή 1,637 και τυπική απόκλιση

0,895. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 13,000-41,658, με μέση τιμή 24,424 και τυπική απόκλιση 7,676.

Για τα αρσενικά άτομα η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 51,090-62,820, με μέση τιμή 59,063 και τυπική απόκλιση 5,372. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 24,070-35,590, με μέση τιμή 30,880 και τυπική απόκλιση 4,891. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 22,280-61,180 gr, με μέση τιμή 48,413 και τυπική απόκλιση 17,769. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,490-3,166, με μέση τιμή 1,965 και τυπική απόκλιση 1,121. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 16,690-31,018, με μέση τιμή 26,966 και τυπική απόκλιση 6,887.

Για τα θηλυκά άτομα η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 46,380-67,640, με μέση τιμή 54,945 και τυπική απόκλιση 6,572. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 22,790-38,810, με μέση τιμή 29,423 και τυπική απόκλιση 4,673. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 16,790-80,150, με μέση τιμή 38,623 και τυπική απόκλιση 18,785. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,480-3,288, με μέση τιμή 1,738 και τυπική απόκλιση 0,740. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 13,450-41,658, με μέση τιμή 24,589 και τυπική απόκλιση 7,919.

Η μέγιστη σταθερή διάμετρος στα ανώριμα άτομα κυμάνθηκε από 46,830-52,880, με μέση τιμή 49,855 και τυπική απόκλιση 4,278. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 23,780-29,470, με μέση τιμή 26,625 και τυπική απόκλιση 4,023. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 17,250-34,870, με μέση τιμή 26,060 και τυπική απόκλιση 12,459. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,180-0,270, με μέση τιμή 0,225 και τυπική απόκλιση 0,064. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 13,00-23,210 με μέση τιμή 18,105 και τυπική απόκλιση 7,220.

Πίνακας 11. Οι Στατιστικές παράμετροι για τα υπό εξέταση άτομα του πληθυσμού της Αστυπάλαιας (2005) και το σύνολο των υπό εξέταση μεγεθών. Τα μήκη D, L είναι σε mm ενώ τα βάρη W_t , W_g και W_k σε gr, (**min**: ελάχιστη τιμή, **max**: μέγιστη τιμή, **avg**: μέση τιμή, **sd**: τυπική απόκλιση, **CV%**: συντελεστής παραλλακτικότητας, **SE**: τυπικό σφάλμα).

Αστυπάλεια 2005							
Συνολικά άτομα (=21)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	46,380	22,790	16,790	0,180	13,000	0,516	0,776
max	67,640	38,810	80,150	3,288	41,658	14,354	17,918
avg	55,244	29,434	39,291	1,637	24,424	4,552	6,854
sd	6,431	4,571	18,347	0,895	7,676	3,022	3,958
CV%	11,641	15,529	46,696	54,649	31,430	66,380	57,751
SE	1,403	0,997	4,004	0,195	1,675	0,659	0,864
Αρσενικά άτομα (=4)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	51,090	24,070	22,280	0,490	16,690	2,199	2,936
max	62,820	35,590	61,180	3,166	31,018	5,175	10,293
avg	59,063	30,880	48,413	1,965	26,966	3,745	6,778
sd	5,372	4,891	17,769	1,121	6,887	1,235	3,048
CV%	9,096	15,840	36,703	57,035	25,541	32,980	44,978
SE	2,686	2,446	8,884	0,560	3,444	0,618	1,524
Θηλυκά άτομα (=15)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	46,380	22,790	16,790	0,480	13,450	1,360	2,404
max	67,640	38,810	80,150	3,288	41,658	14,354	17,918
avg	54,945	29,423	38,623	1,738	24,589	5,235	7,598
sd	6,572	4,673	18,785	0,740	7,919	3,198	3,941
CV%	11,960	15,883	48,638	42,577	32,207	61,090	51,861
SE	1,697	1,207	4,850	0,191	2,045	0,826	1,017
Ανώριμα άτομα (=2)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	46,830	23,780	17,250	0,180	13,000	0,516	0,776
max	52,880	29,470	34,870	0,270	23,210	1,565	2,077
avg	49,855	26,625	26,060	0,225	18,105	1,041	1,426
sd	4,278	4,023	12,459	0,064	7,220	0,742	0,920
CV%	8,581	15,112	47,810	28,284	39,876	71,275	64,522
SE	3,025	2,845	8,810	0,045	5,105	0,525	0,651

Συνολικά για όλα τα άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 0,516-14,354, με μέση τιμή 4,552 και τυπική απόκλιση 3,022 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 0,776-17,918 με μέση τιμή 6,854 και τυπική απόκλιση 3,958.

Για τα αρσενικά άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 2,199-5,175, με μέση τιμή 3,745 και τυπική απόκλιση 1,235 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 2,936-10,293, με μέση τιμή 6,778 και τυπική απόκλιση 3,048.

Για τα θηλυκά άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 1,360-14,354, με μέση τιμή 5,235 και τυπική απόκλιση 3,198 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 2,404 -17,918, με μέση τιμή 7,598 και τυπική απόκλιση 3,941.

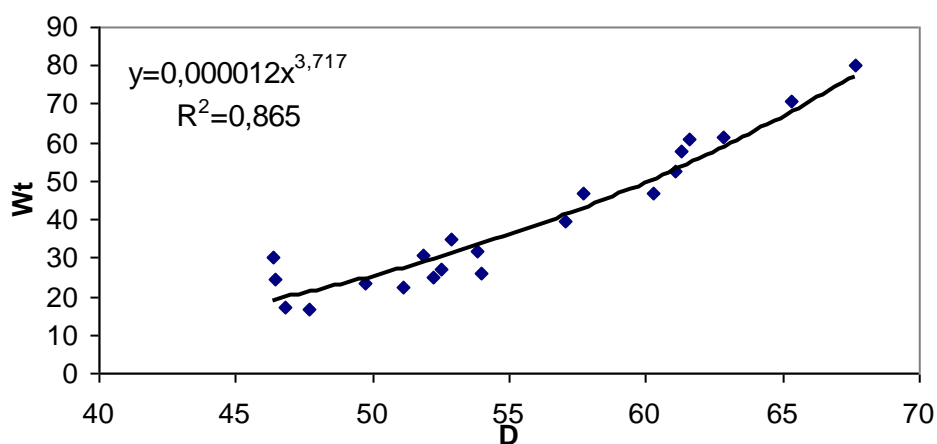
Ανάλογα με τη μέγιστη σταθερή τους διάμετρο, όλα τα άτομα χωρίστηκαν σε κλάσεις των 5 mm, προέκυψαν συνολικά 5 κλάσεις όπως φαίνεται στον Πίνακα 13:

Πίνακας 12. Κατάταξη των ατόμων σε τάξεις μεγέθους και μεσοί όροι του λόγου Ύψος/ Διάμετρος για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας (2005).

Τάξη μεγέθους (mm)	Αριθμός ατόμων	% του πληθυσμού	Ύψος/ Διάμετρος
45-50	5	23,8%	0,524
50,1-55	7	33,4%	0,514
55,1-60	2	9,5%	0,567
60,1-65	5	23,8%	0,540
65,1-70	2	9,5%	0,553

Σχέση μέγιστης σταθερής διαμέτρου (D) – Ολικού Βάρους (Wt)

Η ανάλυση των στοιχείων για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας 2005 έδωσε το παρακάτω διάγραμμα της σχέσης ολικού βάρους και μέγιστης σταθερής διαμέτρου.



Εικόνα 9. Σχέση της μέγιστης σταθερής διαμέτρου με το ολικό βάρος για όλα τα άτομα του πληθυσμού της Αστυπάλαιας (2005).

Πίνακας 13. Τα στατιστικά στοιχεία της ανάλυσης παλινδρόμησης μεταξύ μέγιστης σταθερής διαμέτρου και ολικού βάρους για όλα τα άτομα της Αστυπάλαιας (2005).

	a	b	F	R²	P
Συνολικά	-4,916	3,717	130,203	0,865	4,963E-08

Η σχέση που συνδέει τις δυο παραμέτρους είναι $W = 0,000012 * L^{3,717}$, $R^2 = 0,865$.

Κατά την δεύτερη δειγματοληψία (2006) εξετάστηκαν 19 άτομα, εκ των οποίων τα 3 ήταν αρσενικά και τα 16 θηλυκά. Δεν υπήρχαν γενετικά ανώριμα άτομα. Συνολικά η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε 48,990-64,700 mm, με μέση τιμή 56,551 και τυπική απόκλιση 4,489. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 24,100-32,400 mm, με μέση τιμή 29,056 τυπική απόκλιση 2,935. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 27,561-72,580, με μέση τιμή 58,013 και τυπική απόκλιση 12,574. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,598-3,867 gr, με μέση τιμή 1,861 και τυπική απόκλιση 1,046. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 18,367-41,971, με μέση τιμή 28,384 και τυπική απόκλιση 6,323.

Για τα αρσενικά άτομα η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 50,000-64,700, με μέση τιμή 56,567 και τυπική απόκλιση 7,474. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 25,000-32,400, με μέση τιμή 29,300 και τυπική απόκλιση 3,84. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 41,347-71,680 gr, με μέση τιμή 58,476 και τυπική απόκλιση 15,543. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,932-2,239, με μέση τιμή 1,706 και τυπική απόκλιση 0,686. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 21,831-41,971, με μέση τιμή 34,623 και τυπική απόκλιση 11,119.

Για τα θηλυκά άτομα η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 48,990-62,200, με μέση τιμή 56,548 και τυπική απόκλιση 4,091. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 24,100-31,700, με μέση τιμή 29,010 και τυπική απόκλιση 2,214. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 27,561-72,580, με μέση τιμή 57,926 και τυπική απόκλιση 12,549. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,598-3,867, με μέση τιμή 1,890 και τυπική απόκλιση 1,116. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 18,367-34,840, με μέση τιμή 27,214 και τυπική απόκλιση 4,717.

Πίνακας 14. Οι Στατιστικές παράμετροι για τα υπό εξέταση άτομα του πληθυσμού της Αστυπάλαιας (2006) και το σύνολο των υπό εξέταση μεγεθών. Τα μήκη L, D είναι σε mm ενώ τα βάρη W_t , W_g και W_k σε gr, (**min**: ελάχιστη τιμή, **max**: μέγιστη τιμή, **avg**: μέση τιμή, **sd**: τυπική απόκλιση, **CV%**: συντελεστής παραλλακτικότητας, **SE**: τυπικό σφάλμα).

Αστυπάλαια 2006							
Συνολικά άτομα (=19)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	48,990	24,100	27,561	0,598	18,367	1,391	2,901
max	64,700	32,400	72,580	3,867	41,971	7,264	13,125
avg	56,551	29,056	58,013	1,861	28,384	3,107	6,466
sd	4,489	2,395	12,574	1,046	6,323	1,510	3,407
CV%	7,938	8,244	21,675	56,230	22,277	48,587	52,694
SE	1,030	0,550	2,885	0,240	1,451	0,346	0,782
Αρσενικά άτομα (=3)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	50,000	25,000	41,347	0,932	21,831	2,254	4,269

max	64,700	32,400	71,680	2,239	41,971	3,124	5,588
avg	56,567	29,300	58,476	1,706	34,623	2,833	4,833
sd	7,474	3,843	15,543	0,686	11,119	0,501	0,680
CV%	13,213	13,117	26,580	40,215	32,115	17,700	14,070
SE	4,315	2,219	8,974	0,396	6,420	0,290	0,393
Θηλυκά άτομα (=16)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	48,990	24,100	27,561	0,598	18,367	1,391	2,901
max	62,200	31,700	72,580	3,867	34,840	7,264	13,125
avg	56,548	29,010	57,926	1,890	27,214	3,159	6,773
sd	4,091	2,214	12,549	1,116	4,717	1,638	3,638
CV%	7,234	7,632	21,664	59,051	17,331	51,864	53,719
SE	1,023	0,553	3,137	0,279	1,179	0,410	0,910

Συνολικά για όλα τα άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 1,391-7,264, με μέση τιμή 3,107 και τυπική απόκλιση 1,510 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 2,901-13,125 με μέση τιμή 6,466 και τυπική απόκλιση 3,407.

Για τα αρσενικά άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 2,254-3,124, με μέση τιμή 2,833 και τυπική απόκλιση 0,501 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 4,269-5,588, με μέση τιμή 4,833 και τυπική απόκλιση 0,680.

Για τα θηλυκά άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 1,391-7,264, με μέση τιμή 3,159 και τυπική απόκλιση 1,638 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 2,901 -13,125, με μέση τιμή 6,773 και τυπική απόκλιση 3,638.

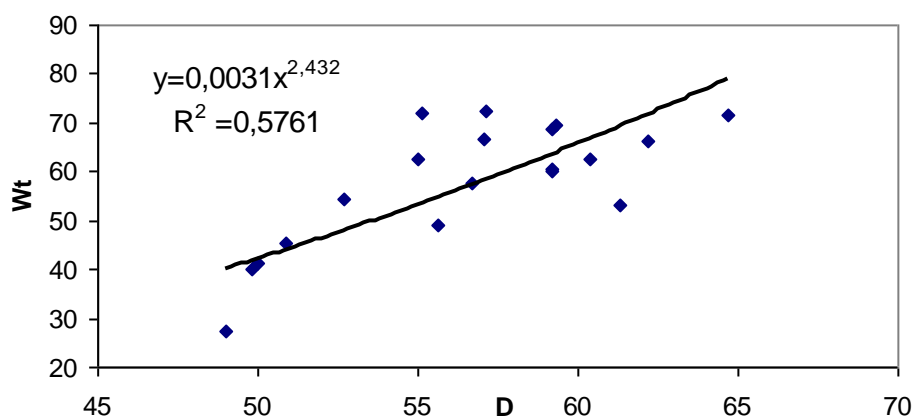
Ανάλογα με τη μέγιστη σταθερή τους διάμετρο, όλα τα άτομα χωρίστηκαν σε κλάσεις των 5 mm, προέκυψαν συνολικά 4 κλάσεις όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 15. Κατάταξη των ατόμων σε τάξεις μεγέθους και μεσοί όροι του λόγου Ύψος/ Διάμετρος για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας (2006).

Τάξη μεγέθους (mm)	Αριθμός ατόμων	% του πληθυσμού	Ύψος/ Διάμετρος
45,1-50	2	10,5%	0,506
50,1-55	4	21,1%	0,542
55,1-60	9	47,3%	0,520
60,1-65	4	21,1%	0,481

Σχέση μέγιστης σταθερής διαμέτρου (D) – Ολικού Βάρους (Wt)

Η ανάλυση των στοιχείων για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας 2006 έδωσε το παρακάτω διάγραμμα της σχέσης ολικού βάρους και μέγιστης σταθερής διαμέτρου.



Εικόνα 10. Σχέση της μέγιστης σταθερής διαμέτρου (D) με το ολικό βάρος (Wt) για όλα τα άτομα του πληθυσμού της Αστυπάλαιας (2006).

Πίνακας 16. Τα στατιστικά στοιχεία της ανάλυσης παλινδρόμησης μεταξύ μέγιστης σταθερής διαμέτρου και ολικού βάρους για όλα τα άτομα της Αστυπάλαιας (2006).

	a	b	F	R²	P
Συνολικά	-2,508	2,432	25,465	0,5761	0,008576

Η σχέση που συνδέει τις δυο παραμέτρους είναι $W=0,0031*L^{2,432}$, $R^2 =0,5761$.

3.1.5 Αμβρακικός Κόλπος

Από τον Αμβρακικό Κόλπο εξετάστηκαν συνολικά 53 άτομα, εκ των οποίων τα 6 ήταν αρσενικά, τα 4 θηλυκά και τα 43 ήταν γεννητικά ανώριμα με πολύ μικρές γονάδες. Τα άτομα του Αμβρακικού παρουσιάζουν πολύ μικρό μέγεθος, φαινόμενο νανισμού όπως αναφέρει σε μελέτη της η Pancucci (1996).

Συνολικά η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε 22,420-41,850 mm, με μέση τιμή 29,598 και τυπική απόκλιση 5,040. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 10,090-23,690 mm, με μέση τιμή 14,998 τυπική απόκλιση 3,165. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 3,270-24,110, με μέση τιμή 9,720 και τυπική απόκλιση 5,177. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,010-1,100 gr, με μέση τιμή 0,277 και τυπική απόκλιση 0,280. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 2,150-12,810, με μέση τιμή 5,736 και τυπική απόκλιση 2,482.

Για τα αρσενικά άτομα η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 24,690-35,740, με μέση τιμή 31,897 και τυπική απόκλιση 4,161. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 12,210-19,260, με μέση τιμή 16,743 και τυπική απόκλιση 2,682. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 5,790-19,160 gr, με μέση τιμή 12,688 και τυπική απόκλιση 5,586. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,050-0,940, με μέση τιμή 0,468 και τυπική απόκλιση 0,353. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 3,010-9,430, με μέση τιμή 6,807 και τυπική απόκλιση 2,902.

Για τα θηλυκά άτομα η μέγιστη σταθερή διάμετρος κυμάνθηκε από 22,420-39,670, με μέση τιμή 33,165 και τυπική απόκλιση 7,488. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 10,540-23,960, με μέση τιμή 18,063 και τυπική απόκλιση 5,562. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 4,190-16,900, με μέση τιμή 12,935 και τυπική απόκλιση 5,916. Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,050-0,480, με μέση τιμή 0,288 και τυπική απόκλιση

0,189. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 2,600-9,560, με μέση τιμή 6,988 και τυπική απόκλιση 3,108.

Η μέγιστη σταθερή διάμετρος στα ανώριμα άτομα κυμάνθηκε από 22,440-41,850, με μέση τιμή 29,043 και τυπική απόκλιση 4,809. Το μέγιστο σταθερό ύψος κυμάνθηκε από 10,090-19,930, με μέση τιμή 14,524 και τυπική απόκλιση 2,790. Το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε από 3,270-24,110, με μέση τιμή 9,083 και τυπική απόκλιση 4,953.

Οι τιμές του βάρους γονάδας 0,010-1,100, με μέση τιμή 0,243 και τυπική απόκλιση 0,268. Για το βάρος του κελύφους οι τιμές κυμάνθηκαν από 2,150-12,810 με μέση τιμή 5,509 και τυπική απόκλιση 2,370.

Πίνακας 17. Οι Στατιστικές παράμετροι για τα υπό εξέταση άτομα του πληθυσμού του Αμβρακικού Κόλπου και το σύνολο των υπό εξέταση μεγεθών. Τα μήκη L, D είναι σε mm ενώ τα βάρη W_t , W_g και W_k σε gr, (**min**: ελάχιστη τιμή, **max**: μέγιστη τιμή, **avg**: μέση τιμή, **sd**: τυπική απόκλιση, **CV%**: συντελεστής παραλλακτικότητας, **SE**: τυπικό σφάλμα).

Αμβρακικός Κόλπος							
Συνολικά άτομα (=53)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/ W_t	GSI/ W_k
min	22,420	10,090	3,270	0,010	2,150	0,176	0,317
max	41,850	23,960	24,110	1,100	12,810	12,228	16,937
avg	29,598	14,998	9,720	0,277	5,736	2,543	4,254
sd	5,040	3,165	5,177	0,280	2,482	2,236	3,472
CV%	17,028	21,103	53,261	101,007	43,267	87,900	81,623
SE	0,692	0,435	0,711	0,045	0,341	0,358	0,556
Αρσενικά άτομα (=6)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/ W_t	GSI/ W_k
min	24,690	12,210	5,790	0,050	3,010	0,864	1,661
max	35,740	19,260	19,160	0,940	9,430	4,906	9,968
avg	31,897	16,743	12,688	0,468	6,807	3,079	5,772
sd	4,161	2,682	5,586	0,353	2,902	1,752	3,447
CV%	13,046	16,017	44,028	75,449	42,633	56,898	59,725
SE	1,699	1,095	2,281	0,144	1,185	0,715	1,407
Θηλυκά άτομα (=4)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/ W_t	GSI/ W_k
min	22,420	10,540	4,190	0,050	2,600	1,193	1,923

max	39,670	23,960	16,900	0,480	9,560	2,970	5,540
avg	33,165	18,063	12,935	0,288	6,988	2,054	3,778
sd	7,488	5,562	5,916	0,189	3,108	0,907	1,771
CV%	22,579	30,795	45,740	65,773	44,478	44,150	46,879
SE	3,744	2,781	2,958	0,095	1,554	0,453	0,886
Ανώριμα άτομα (=43)							
	D	L	W_t	W_g	W_k	GSI/W_t	GSI/W_k
min	22,440	10,090	3,270	0,010	2,150	0,176	0,317
max	41,850	19,930	24,110	1,100	12,810	12,228	16,937
avg	29,043	14,524	9,083	0,243	5,509	2,561	4,066
sd	4,809	2,790	4,953	0,268	2,370	2,482	3,702
CV%	16,557	19,207	54,534	110,453	43,026	96,933	91,037
SE	0,742	0,430	0,764	0,051	0,366	0,469	0,700

Συνολικά για όλα τα άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 0,176-12,228, με μέση τιμή 2,543 και τυπική απόκλιση 2,236 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 0,317-16,937 με μέση τιμή 4,254 και τυπική απόκλιση 3,472.

Για τα αρσενικά άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 0,864-4,906, με μέση τιμή 3,079 και τυπική απόκλιση 1,752 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 1,661-9,968, με μέση τιμή 5,772 και τυπική απόκλιση 3,447.

Για τα θηλυκά άτομα ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος κυμάνθηκε 1,193-2,970, με μέση τιμή 2,054 και τυπική απόκλιση 0,907 ενώ ο γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους 1,923 -5,540, με μέση τιμή 3,778 και τυπική απόκλιση 1,771.

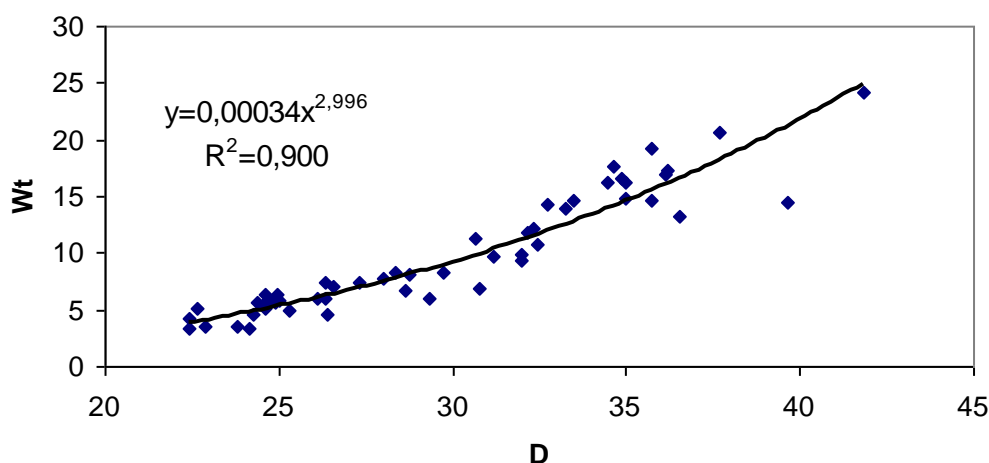
Ανάλογα με τη μέγιστη σταθερή τους διάμετρο, όλα τα άτομα χωρίστηκαν σε κλάσεις των 5 mm, προέκυψαν συνολικά 5 κλάσεις όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 18. Κατάταξη των ατόμων σε τάξεις μεγέθους και μεσοί όροι του λόγου Ύψος/ Διάμετρος για τον πληθυσμό του Αμβρακικού Κόλπου.

Τάξη μεγέθους (mm)	Αριθμός ατόμων	% του πληθυσμού	Ύψος/ Διάμετρος
20-25	15	28,3	0,490
25,1-30	14	26,4	0,489
30,1-35	16	30,2	0,523
35,1-40	7	13,2	0,525
40,1-45	1	1,9	0,476

Σχέση μέγιστης σταθερής διαμέτρου (D) – Ολικού Βάρους (Wt)

Η ανάλυση των στοιχείων για τον πληθυσμό του Αμβρακικού κόλπου έδωσε το παρακάτω διάγραμμα της σχέσης ολικού βάρους και μέγιστης σταθερής διαμέτρου.



Εικόνα 11. Σχέση της μέγιστης σταθερής διαμέτρου με το ολικό βάρος για όλα τα άτομα του πληθυσμού του Αμβρακικού Κόλπου.

Πίνακας 19. Τα στατιστικά στοιχεία της ανάλυσης παλινδρόμησης μεταξύ μέγιστης σταθερής διαμέτρου και του ολικού βάρους για όλα τα άτομα του Αμβρακικού Κόλπου.

	a	b	F	R ²	P
Συνολικά	-3,462	2,996	469,315	0,900	0

Η σχέση που συνδέει τις δυο παραμέτρους είναι $W = 0,00034 * L^{2,996}$, $R^2 = 0,900$.

3.1.6 Συγκριτικά στοιχεία για τους πληθυσμούς

Με τη χρήση το στατιστικού πακέτου SPSS 13 πραγματοποιήθηκε η σύγκριση των 4 πληθυσμών του *P. lividus* για κάθε μια από τις μορφομετρικές μετρήσεις.

1. Μέγιστη σταθερή διάμετρος (D)

Πίνακας 20. Αποτελέσματα της Ανάλυσης Διασποράς κατά ένα παράγοντα για τη μέγιστη σταθερή διάμετρο.

	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντι- κότητα
Μεταξύ ομαδων	19356,101	4	4839,025	180,071	,000
Μεταξύ ατόμων	5723,923	213	26,873		
Συνολικά	25080,023	217			

2. Μέγιστο σταθερό ύψος (L)

Πίνακας 21. Αποτελέσματα της Ανάλυσης Διασποράς κατά ένα παράγοντα για το μέγιστο σταθερό ύψος.

	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντι- κότητα
Μεταξύ ομαδων	5540,696	4	1385,174	94,033	,000
Μεταξύ ατόμων	3137,638	213	14,731		
Συνολικά	8678,334	217			

3. Ολικό νωπό βαρος (Wt)

Πίνακας 22. Αποτελέσματα της Ανάλυσης Διασποράς κατά ένα παράγοντα για το ολικό νωπό βάρος.

	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντι- κότητα
Μεταξύ ομαδων	48021,699	4	12005,425	105,258	,000
Μεταξύ ατόμων	24294,095	213	114,057		
Συνολικά	72315,794	217			

4. Καθαρό βάρος κελύφους (Wk)

Πίνακας 23. Αποτελέσματα της Ανάλυσης Διασποράς κατά ένα παράγοντα για το καθαρό βάρος κελύφους

	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντι- κότητα
Μεταξύ ομαδων	14287,441	4	3571,860	151,779	,000
Μεταξύ ατόμων	5012,604	213	23,533		
Συνολικά	19300,045	217			

5. Καθαρό βάρος γονάδας (Wg)

Πίνακας 24. Αποτελέσματα της Ανάλυσης Διασποράς κατά ένα παράγοντα για το καθαρό βάρος γονάδας.

	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντικότητα
Μεταξύ ομαδων	107,291	4	26,823	18,564	,000
Μεταξύ ατόμων	274,525	190	1,445		
Συνολικά	381,816	194			

6. Γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το ολικό νωπό βάρος (GSI/Wt)

Πίνακας 25. Αποτελέσματα της Ανάλυσης Διασποράς κατά ένα παράγοντα για τον γοναδοσωματικό δείκτη ως προς το ολικό νωπό βάρος.

	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντι- κότητα
Μεταξύ ομαδων	189,127	4	47,282	5,968	,000
Μεταξύ ατόμων	1505,207	190	7,922		
Συνολικά	1694,334	194			

7. Γοναδοσωματικός δείκτης ως προς το καθαρό βάρος κελύφους (**GSI/Wk**).

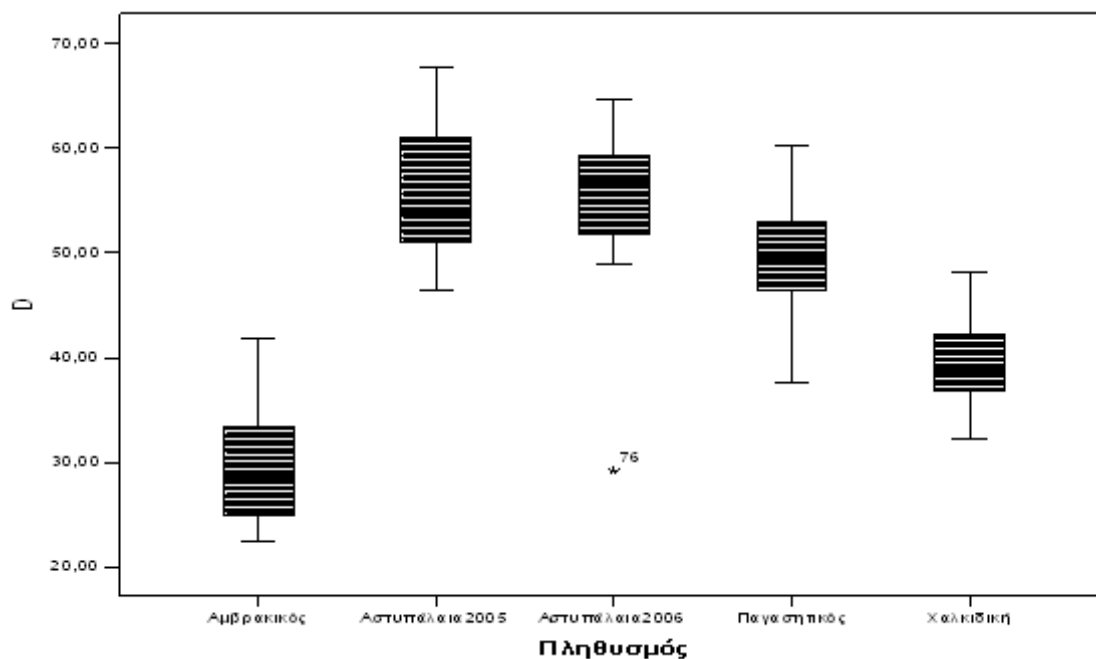
Πίνακας 26. Αποτελέσματα της Ανάλυσης Διασποράς κατά ένα παράγοντα για τον γοναδοσωματικό δείκτη ως προς το καθαρό βάρος κελύφους

	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	Σημαντικότητα
Μεταξύ ομαδων	570,772	4	142,693	6,011	,000
Μεταξύ ατόμων	4510,065	190	23,737		
Συνολικά	5080,838	194			

3.1.7 Θηκογράμματα (Box-plot)

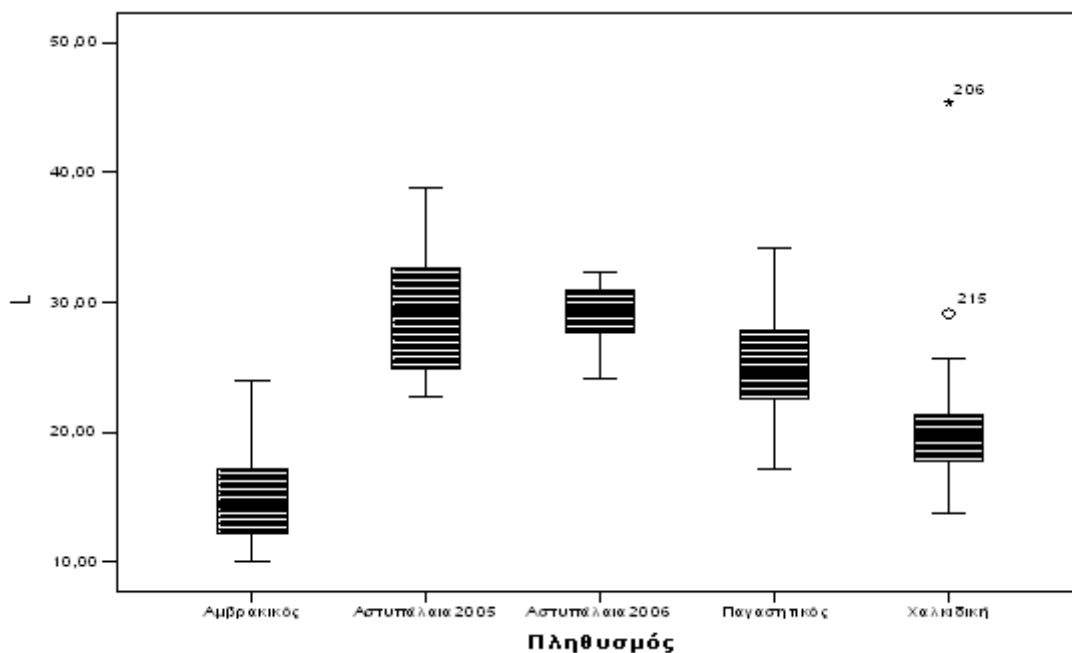
Για την κάθε μέτρηση έγινε το θηκόγραμμα για όλους του υπό εξέταση πληθυσμούς.

1. Μέγιστη σταθερή διάμετρος (D)



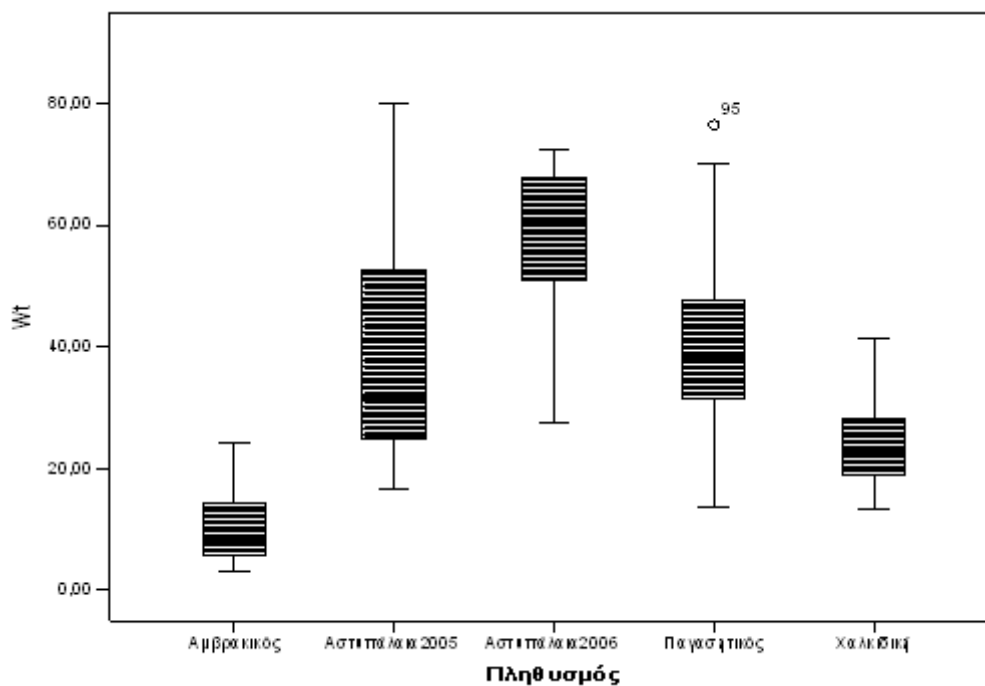
Εικόνα 12. Θηκόγραμμα της μέγιστης σταθερής διαμέτρου για όλους τους πληθυσμούς.

2. Μέγιστο σταθερό ύψος (L)



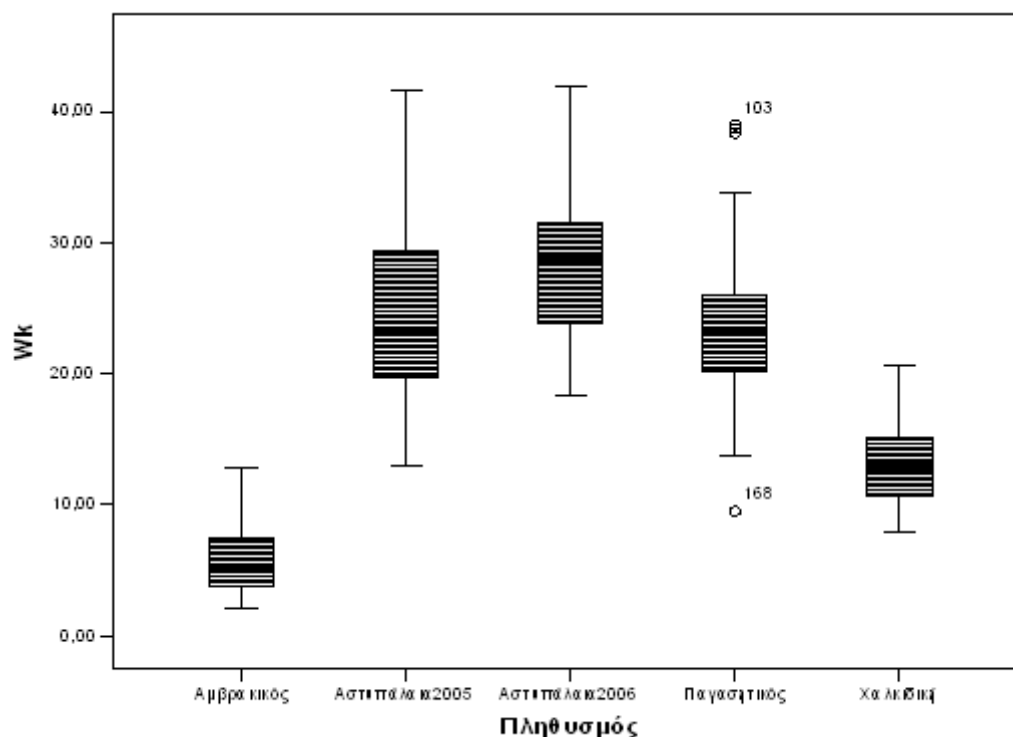
Εικόνα 13. Θηκόγραμμα του μέγιστου σταθερού ύψους για όλους τους πληθυσμούς.

4. Ολικό νωπό βάρος (Wt)



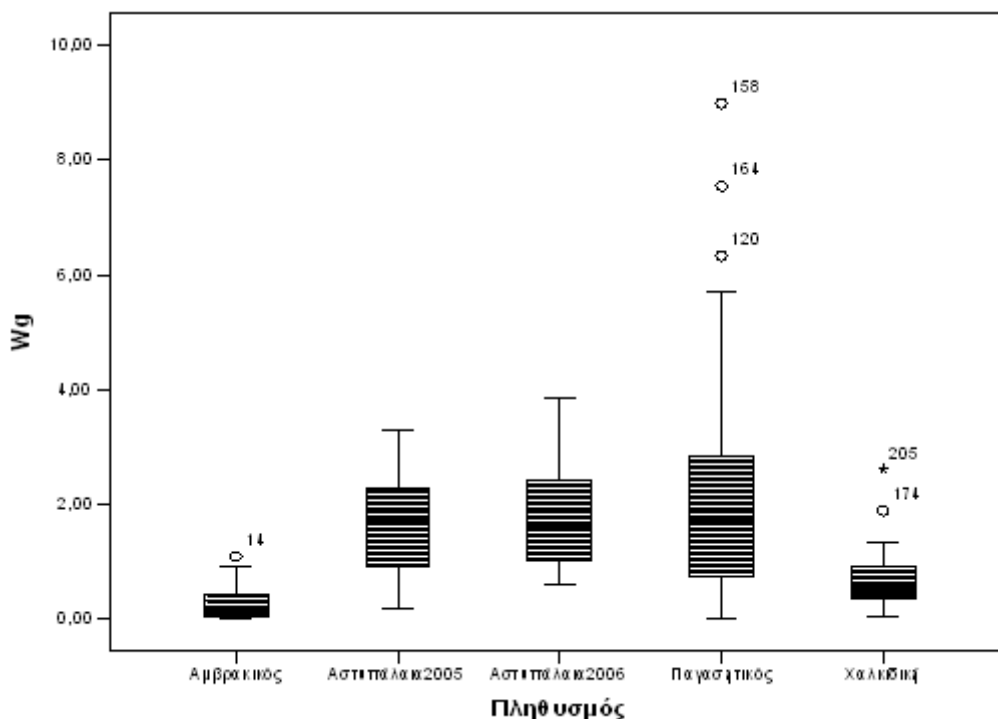
Εικόνα 14. Θηκόγραμμα του ολικού νωπού βάρους για όλους τους πληθυσμούς.

4. Καθαρό βάρος κελύφους (Wk)



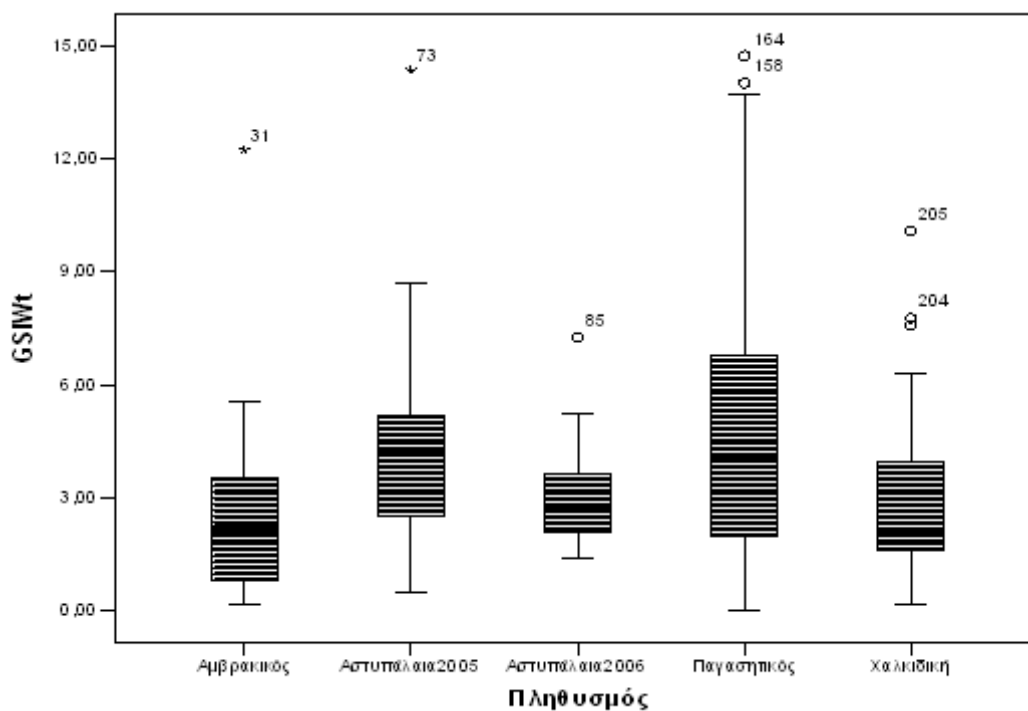
Εικόνα 15. Θηκόγραμμα του καθαρού βάρους κελύφους για όλους τους πληθυσμούς.

5. Καθαρό βάρος γονάδας (Wg)



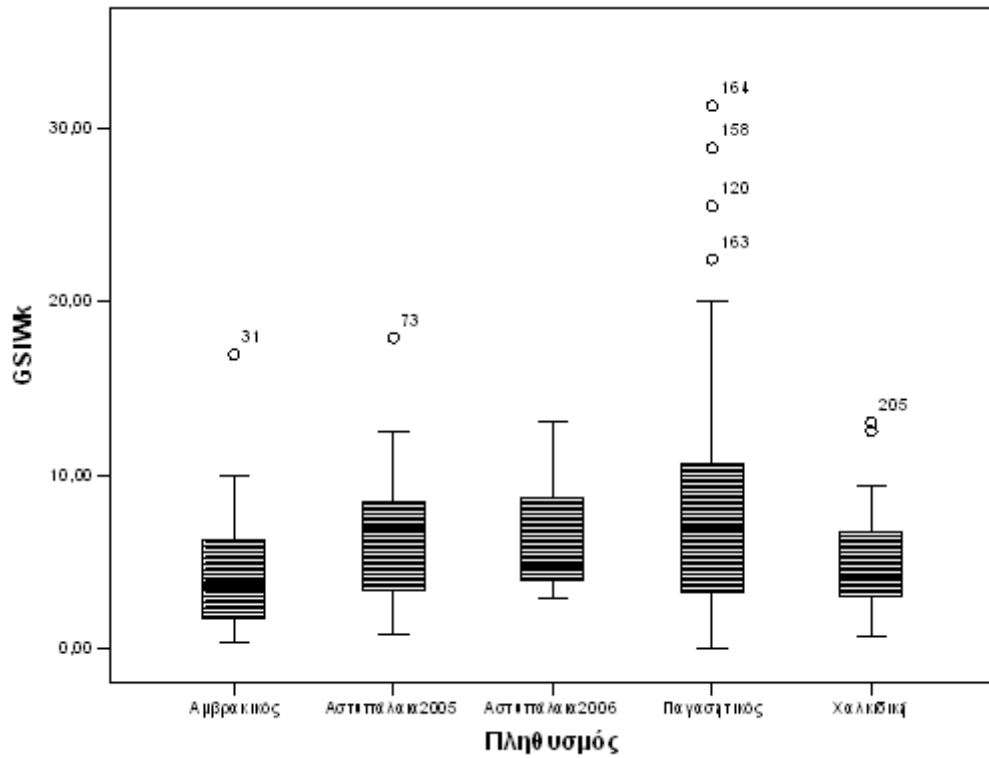
Εικόνα 16. Θηκόγραμμα του καθαρού βάρους γονάδας για όλους τους πληθυσμούς.

6. Γοναδοσωματικός δείκτης, προς ολικό νωπό βάρος (GSI/Wt)



Εικόνα 17. Θηκόγραμμα του γοναδοσωματικού δείκτη ως προς το ολικό βάρος για όλους τους πληθυσμούς.

7. Γοναδοσωματικός δείκτης, προς καθαρό βάρος κελύφους (GSI/Wk)



Εικόνα 18. Θηκόγραμμα του γοναδοσωματικού δείκτη ως προς το καθαρό βάρος κελύφους για όλους τους πληθυσμούς.

3.1.8 Συντελεστές παλινδρόμησης (b)

Η σχέση που συνδέει το ολικό βάρος (W_t) και τη μέγιστη σταθερή διάμετρο (D) υπολογίστηκε και είναι οι εξής:

1. Συνολικά για όλους του πληθυσμούς το βάρος δίνεται από τη σχέση:

$$W=0,0012*L^{2,608}, R^2=0,8898, b=2,608, n=208$$

2. Για τον πληθυσμό του Παγασητικού το βάρος δίνεται από τη σχέση:

$$W=0,0028*L^{2,435}, R^2=0,6162, b_1=2,435, n=75$$

3. Για τον πληθυσμό της Χαλκιδικής το βάρος δίνεται από τη σχέση:

$$W=0,0016*L^{2,602}, R^2=0,812, b_2=2,602, n=40$$

4. Για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας (2005) το βάρος δίνεται από τη σχέση:

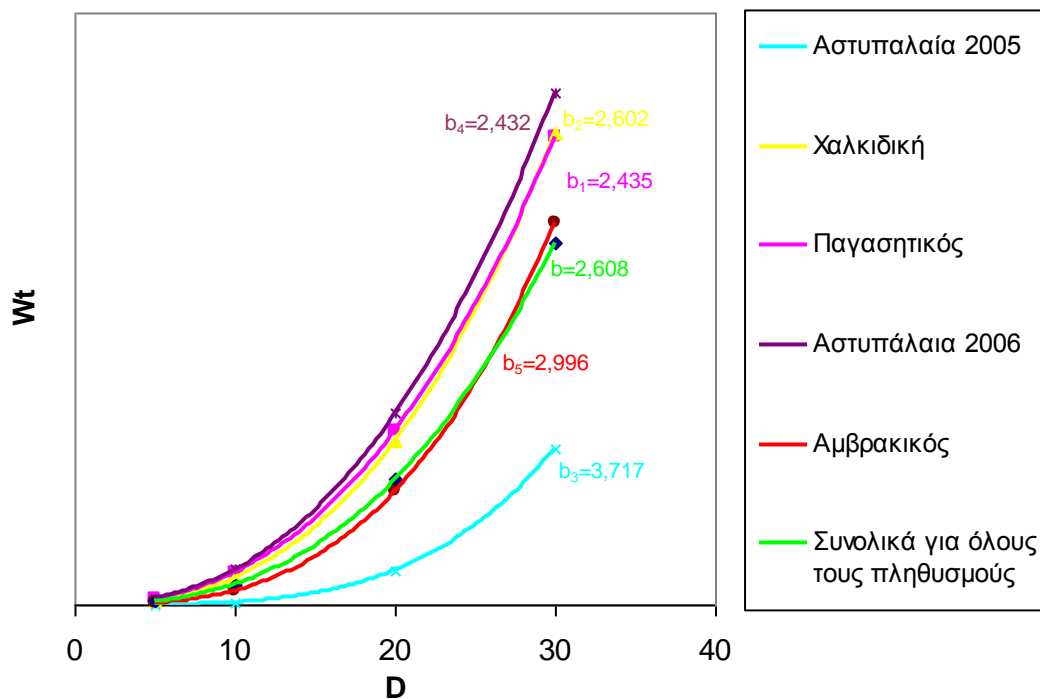
$$W=0,000012*L^{3,717}, R^2=0,865, b_3=3,717, n=21$$

5. Για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας (2006) το βάρος δίνεται από τη σχέση:

$$W=0,0031*L^{2,432}, R^2=0,5761, b_4=2,432, n=19$$

6. Για το πληθυσμό του Αμβρακικού το βάρος δίνεται από τη σχέση:

$$W=0,00034*L^{2,996}, R^2=0,900, b_5=2,996, n=53$$



Εικόνα 19. Γραφική απεικόνιση της σχέσης Ολικού βάρους- Μέγιστης σταθερής διαμέτρου για όλους του πληθυσμούς ξεχωριστά καθώς και η συνολική σχέση που προκύπτει για όλους τους πληθυσμούς.

3.2 Αποτελέσματα Γενετικής Ανάλυσης

Η γενετική ανάλυση πραγματοποιήθηκε μόνο στα ώριμα άτομα των πληθυσμών (Levitan, 2002). Έγινε προσπάθεια εξαγωγής DNA από όλα τα ενήλικα άτομα των πληθυσμών. Για κάθε άτομο έγιναν τρεις προσπάθειες εξαγωγής γενομικού DNA και τελικά προέκυψαν τα εξής:

1. Για τον πληθυσμό του Παγασητικού ↔ 59 άτομα.
2. Για τον πληθυσμό της Χαλκιδικής ↔ 17 άτομα.
3. Για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας (2005) ↔ 12 άτομα.
4. Για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας (2006) ↔ 18 άτομα.
5. Για το πληθυσμό του Αμβρακικού ↔ 0 άτομα.

Τα υπόλοιπα δείγματα βρίσκονται υπό εξέταση.

Το επόμενο βήμα ήταν η διαδικασία της PCR. Το DNA που προέκυψε από τα παραπάνω άτομα τοποθετήθηκε στο θερμικό κυκλοποιητή (thermal cycler) με τα κατάλληλα αντιδραστήρια. Προέκυψαν αποτελέσματα για **δύο** πληθυσμούς αυτούς του Παγασητικού κόλπου και της Χαλκιδικής για συνολικά 23 άτομα, όπως φαίνεται και στο Παράρτημα I.

Ο αριθμός των ζευγών βάσεων (bp) όπου εμφανίστηκαν οι μάντες για τον κάθε εκκινητή παρατίθενται στον Πίνακα 27. Από τους επτά (7) εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν, ο ένας (A03) εμφάνισε δυο γενετικούς τόπους ενώ οι υπόλοιποι έναν.

Πίνακας 27. Αριθμός ζευγών βάσεων όπου εμφανίστηκαν οι μπάντες.

Κωδικός Primer	Αλληλουχία	Αριθμός ζευγών βάσεων που εμφανίστηκαν οι μπάντες
1	5'-TCGCAGCGAG-3'	1000
2	5'-ACCCGGAAAC-3'	1050
3	5'-TGATGGCGTC-3'	600
A02	5'-CAGGCCCTTC-3'	700
A03	5'-AGTCAGCCAC-3'	600
		1000
A09	5'-GGGTAACGCC-3'	600
F10	5'-GGAAGCTTGG-3'	600

Στο θερμικό κυκλοποιητή τοποθετήθηκαν όλα τα δείγματα DNA τα οποία είχαν προκύψει. Μετά από αρκετές προσπάθειες προέκυψαν επαναλήψιμα αποτελέσματα 17 για τον Παγασητικό Κόλπο και 6 για την Χαλκιδική. Το σκοράρισμα των πηκτών που προέκυψαν από την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR παρατίθενται στο Παράρτημα I.

Για τους δυο πληθυσμούς που προέκυψαν αποτελέσματα (Παγασητικού και Χαλκιδικής) εμφανίστηκαν συνολικά 8 τόποι. Από αυτούς οι δυο είναι μονομορφικοί ενώ οι 6 πολυμορφικοί. Για τους δυο πληθυσμούς εμφανίστηκαν 9 διαφορετικοί τύποι απλότυπων. Οι συχνότητες των αλληλομόρφων για κάθε τόπο παρουσιάζονται στο Παράρτημα II.

3.2.1 Δείκτης Παραλλακτικότητας (F_{ST})

Για την παρούσα μελέτη η τιμή του δείκτη παραλλακτικότητας F_{ST} προέκυψε από τα αποτελέσματα της AMOVA και υπολογίστηκε (συμφωνά με τους Weir & Cockerham, 1984. Excoffier *et al.* 1992, Weir, 1996) ίση με $F_{ST} = -0,04239$.

Πίνακας 28: Αποτελέσματα AMOVA για τον δείκτη παραλλακτικότητας F_{ST} .

Source of Variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation
Among Populations	1	0.478	-0.03040 Va	-4.24
Within Populations	21	15.696	0.74743 Vb	104.24
Total	22	16.174	0.71704	
Fixation Index	$F_{ST} : -0.04239 (P=0.06)$			

3.2.2 Γονιδιακή ροή, N_m (gene flow)

Η γονιδιακή ροή υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο:

$$N_m = [(1 / F_{ST}) - 1] / 4 \text{ (Wright, 1965)}$$

Για την παρούσα μελέτη υπολογίστηκε ίση με $N_m = 5,64$

Η τιμή της γονιδιακής ροής που προκύπτει, δείχνει τον αριθμό των ατόμων που μεταναστεύουν από τον ένα πληθυσμό στον άλλον ανά γενιά ανά πληθυσμό. Στην παρούσα μελέτη ο αριθμός των ατόμων που μεταναστεύουν είναι 5,64 άτομα ανά γενιά.

3.2.3 Γενετική απόσταση

Υπολογίστηκε σύμφωνα με τη συνάρτηση Kronecker (Weir & Cockerham, 1984; Excoffier et al., 1992; Weir, 1996) και βρέθηκε ίση με $D = 0,014$. Αυτό σημαίνει ότι οι δυο πληθυσμοί παρουσιάζουν μικρή γενετική απόσταση. Αυτό σημαίνει υψηλή γονιδιακή ροή μεταξύ των δυο πληθυσμών.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Μορφομετρικά χαρακτηριστικά

4.1.1 Μορφομετρικές μετρήσεις

Όλες οι μορφομετρικές παράμετροι οι οποίες μετρηθήκαν για τα άτομα του είδους *P. lividus*, είναι άμεσα συνδεδεμένες μεταξύ τους και περιγράφουν τη σωματική ανάπτυξη των πληθυσμών. Στη μελέτη της μορφολογίας των αχινών η διάμετρος των ατόμων απεικονίζει την ηλικία τους για αυτό και θεωρείται η κύρια παράμετρος για την παρακολούθηση της εξέλιξης ενός πληθυσμού (Pancucci, 1996).

Η σύγκριση των εξεταζόμενων πληθυσμών της παρούσας μελέτης του είδους *P. lividus* έδειξε διαφορά ως προς το μέγεθος των ατόμων. Οι πληθυσμοί της Αστυπάλαιας (και των δυο ετών) παρουσιάζουν ως προς τη διάμετρο το μικρότερο εύρος τιμών και περιέχουν τα μεγαλύτερα άτομα από όλους τους πληθυσμούς. Μετά τους πληθυσμούς της Αστυπάλαιας ακολουθεί με μικρότερο μέγεθος ατόμων ο πληθυσμός του Παγασητικού κόλπου, της Χαλκιδικής και τελευταίος ο πληθυσμός του Αμβρακικού κόλπου. Γίνεται φανερό ότι οι πληθυσμοί είναι διαφορετικοί. Αυτό επιβεβαιώνεται με τα αποτελέσματα της Ανάλυσης Διασποράς κατά ένα παράγοντα από την οποία προέκυψε ότι η μέγιστη σταθερή διάμετρος διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των πληθυσμών ($P < 0,05$, αφού το επίπεδο σημαντικότητας έχει οριστεί $P = 0,05$). Η διαφοροποίηση των πληθυσμών όσον αφορά τη μέγιστη σταθερή διάμετρο μπορεί να οφείλεται στα χαρακτηριστικά των ενδιαιτημάτων, όπως είναι διαφορές σε τροφή, θερμοκρασία, αλατότητα καθώς και τη γεωγραφική θέση των σταθμών δειγματοληψίας (κλειστοί κόλποι ή ανοικτή θάλασσα). Επίσης στη θήρευση και την αλιευτική πίεση του είδους ή ακόμα και στη δειγματοληψία, η οποία μπορεί να μην ήταν αντιπροσωπευτική του πληθυσμού.

Από την Εικόνα 8 προκύπτει ότι ο πληθυσμός του Αμβρακικού παρουσιάζει διάμετρο σώματος περίπου κατά το μισό μικρότερο από τους πληθυσμούς του Παγασητικού και της Αστυπάλαιας, φαινόμενο ‘νανισμού’ όπως αναφέρει η Pancucci (1996) χαρακτηριστικά για κάποιους πληθυσμούς του Αμβρακικού κόλπου. Ο πληθυσμός της Χαλκιδικής μπορεί να θεωρηθεί ‘ενδιάμεσος’ σε μέγεθος. Τα ίδια αποτελέσματα προκύπτουν και για το ύψος του σώματος, τα οποία είναι ανάλογα της διαμέτρου και κατατάσσουν τους πληθυσμούς στην ίδια φθίνουσα σειρά. Για το ύψος του σώματος των ατόμων πραγματοποιήθηκε Ανάλυση Διασποράς κατά ένα παράγοντα η οποία έδειξε ότι διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των πληθυσμών ($P < 0,05$, αφού το επίπεδο σημαντικότητας έχει οριστεί $P = 0,05$). Η διαφοροποίηση των πληθυσμών ως προς το ύψος πιθανό να οφείλεται στους ίδιους παράγοντες για τους οποίους μεταβάλλεται η διάμετρος.

Η διάμετρος του σώματος των αχινών, υπό κανονικές συνθήκες, αυξάνεται με τον χρόνο, με ρυθμό που φθίνει, μέχρι να φθάσει στο μέγιστο μέγεθος το οποίο διαφοροποιείται από είδος σε είδος αλλά και από περιοχή σε περιοχή για το ίδιο είδος, το οποίο μπορεί να οφείλεται σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες (Pancucci, 1996). Οι μεταβολές των περιβαλλοντικών συνθηκών καθώς και η επιβάρυνση του υδάτινου περιβάλλοντος μπορεί να επιφέρει μεταβολές στο ρυθμό ανάπτυξης των αχινών. Για το είδος *P. lividus* έχουν γίνει διάφορες μελέτες. Σε περιοχές που η ρύπανση είναι σχεδόν μηδενική η μέγιστη τιμή της διαμέτρου που έχει μετρηθεί για τη Μεσόγειο είναι 6,5 cm έως και 9 cm (Regis, 1969) και στον Ατλαντικό 6,2 cm (Ebling *et al.*, 1966). Για το είδος *Strongylocentrotus franciscanus* στο Όρεγκον και την Ουάσιγκτον, έχουν αναφερθεί άτομα τα οποία η διάμετρος τους είναι μεγαλύτερη από 17 cm και πρόσφατες μελέτες για την ηλικία τους από μοντέλα αύξησης τα υπολογίζουν σε 100 χρονών (Ebert, 1998).

Για τους πληθυσμούς της συγκεκριμένης μελέτης οι μέγιστες τιμές της διαμέτρου ήταν:

Για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας (2005) ήταν 6,76 cm.

Για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας (2006) ήταν 6,47 cm.

Για τον πληθυσμό του Παγασητικού κόλπου ήταν 6,02 cm.

Για τον πληθυσμό της Χαλκιδικής ήταν 4,81 cm.

Για τον πληθυσμό Αμβρακικού κόλπου ήταν 4,18 cm.

Οι πληθυσμοί της Αστυπάλαιας (και των δυο ετών) και του Παγασητικού κόλπου μοιάζουν ως προς το μέγεθος του σώματος για όλες σχεδόν τις μορφομετρικές μετρήσεις. Η διαφορά που εντοπίζεται είναι ότι ο πληθυσμός της Αστυπάλαιας του 2005 παρουσιάζει μικρότερες τιμές όσον αφορά το ολικό βάρος σε σχέση με τους άλλους δύο πληθυσμούς. Οι πληθυσμοί της Αστυπάλαιας υπερτερούν σε μέγεθος από του Παγασητικού αλλά σε μικρό ποσοστό. Διαφοροποιήσεις ως προς τις μορφομετρικές μετρήσεις για διαφορετικούς πληθυσμούς του είδους *Echinus esculentus* παρουσιάζεται και στην Σκωτία (Kelly *et al.*, 2001).

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τον Pantazis (2006) για το είδος *E. esculentus* η μέση τιμή της διαμέτρου υπολογίστηκε 90 mm, του ολικού βάρους 365 gr και του βάρους γονάδας 33,4 gr ενώ για το είδος *Psamechinus microtuberculatus* η μέση τιμή της διαμέτρου υπολογίστηκε 38,6 mm, του ολικού βάρους 31,65 gr και του βάρους γονάδας 5,34 gr, για πληθυσμούς που συλλέχθηκαν στον Παγασητικό Κόλπο και τις Σποράδες. Στην παρούσα μελέτη για το είδος *P. lividus* η μέση τιμή της διαμέτρου υπολογίστηκε 43,495 mm, του ολικού βάρους 30,558 gr και του βάρους γονάδας 1,340 gr. Οι τιμές των διαστάσεων του σώματος (Διάμετρος και Ολικό βάρος) του *P. lividus* για την παρούσα μελέτη πλησιάζουν τις τιμές του είδους *P. microtuberculatus*

ενώ οι τιμές του βάρους γονάδας είναι πολύ μικρότερες. Συγκριτικά το *P. lividus* παρουσιάζει τις μικρότερες γονάδες σε σχέση με τα άλλα δύο είδη.

Για τους πληθυσμούς της Αστυπάλαιας της παρούσας μελέτης και για τις δυο χρονιές τα μορφομετρικά τους χαρακτηριστικά δεν παρουσιάζουν μεγάλη διακύμανση, εκτός του ολικού βάρους που παρουσιάζεται μεγαλύτερο κατά την δεύτερη δειγματοληψία (2006). Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι τα άτομα αυτά περιείχαν μεγαλύτερη ποσότητα νερού στο εσωτερικό του σώματος τους σε σχέση με τα άτομα της προηγούμενης χρονιάς, τα οποία δεν περιείχαν καθόλου νερό. Η έλλειψη νερού μπορεί να είναι αποτέλεσμα της μεγάλης παραμονής των ατόμων μετά την αλίευση στο εξωτερικό περιβάλλον και συνεπώς την χρησιμοποίηση όλου του νερού για την επιβίωση τους. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε από το ΕΘΙΑΓΕ (2005) για πληθυσμούς του *P. lividus* στην περιοχή του Νοτίου Αιγαίου (Αστυπάλαια) η μέση τιμή της διαμέτρου υπολογίστηκε ίση με 48,7 mm, το ύψος 25,1 mm και το ολικό βάρος 45,97 gr. Τα άτομα αυτής της μελέτης παρουσιάζουν γενικά μικρότερο μέγεθος το οποίο να οφείλεται στο γεγονός ότι οι μετρήσεις δεν έγιναν από το ίδιο άτομο καθώς και στην ύπαρξη σφάλματος κατά τη δειγματοληψία η οποία να μην ήταν αντιπροσωπευτική του πληθυσμού.

Στα εχινοειδή όταν η τροφή είναι ανεπαρκής, έχει αναφερθεί ότι χρησιμοποιούν το σωματικό τοίχωμα με συνέπεια μείωση του τελικού μεγέθους (Regis, 1979a). Αυτή η δυνατότητα των εχινοειδών είναι πολύ σημαντική γιατί καταφέρνουν να επιβιώσουν σε δυσμενείς συνθήκες. Επίσης η σωματική ανάπτυξη μειώνεται ή μένει σταθερή κατά τη διάρκεια των περιόδων γαμετογένεσης (Moore *et al.*, 1963).

Ο πληθυσμός του Αμβρακικού κόλπου παρουσιάζει το μικρότερο μέγεθος από όλους τους πληθυσμούς που εξετάστηκαν. Διαφορά στο μέγιστο μέγεθος των εχινοειδών στο πεδίο έχουν ερμηνευτεί ως αποτέλεσμα διαφορών στα επίπεδα διαθεσιμότητας

των θρεπτικών ουσιών που προσλαμβάνονται, η οποία εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα τροφής (Lawrence, 1978). Για το είδος *Hemicidaris luciensis* για έναν πληθυσμό του που παρουσίαζε πολύ μικρό μέγεθος, θεωρήθηκε νέο είδος, αφού η διαφορά μεγέθους δεν αποδόθηκε σε δυσμενείς συνθήκες (Mortensen, 1943). Επίσης πολύ μικρό μέγεθος σώματος έχει αναφερθεί σε Αστεροειδή μετά από περίοδο ανεπαρκούς σίτισης (Nichols & Barker, 1984). Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε για πληθυσμούς σε ολόκληρο τον Αμβρακικό κόλπο η μέση τιμή της διαμέτρου για το ίδιο είδος κυμάνθηκε από 20,7- 44,7 mm και για το ύψος 10,7- 22,8 mm (Pancucci, 1996). Για την παρούσα μελέτη η μέση τιμή της διαμέτρου υπολογίστηκε 29,6 mm και για το ύψος 14,9 mm. Σύμφωνα με τις τιμές της παρούσας μελέτης και σε σύγκριση με τη μελέτη της Pancucci (1996), ο πληθυσμός που εξετάστηκε μπορεί να χαρακτηριστεί από τους μεσαίους πληθυσμούς που διαβιούν στον κόλπο του Αμβρακικού.

Ο πληθυσμός της Χαλκιδικής παρουσίασε μέση τιμή διαμέτρου 39,5 mm, ύψους 20,4 mm και ολικό βάρος 24,1 gr. Σε μελέτη του ίδιου είδους για το Βόρειο Αιγαίο (Καβάλα) η διάμετρος υπολογίστηκε 34,3 mm, το ύψος 17,4 mm και το βάρος 17,44 gr (ΕΘΙΑΓΕ, 2005). Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι ο πληθυσμός της Χαλκιδικής παρουσιάζει μεγαλύτερο μέγεθος σε σχέση με τους πληθυσμούς της Καβάλας. Αυτό μπορεί να οφείλεται στους διαφορετικούς μήνες που πραγματοποιήθηκαν οι δειγματοληψίες καθώς και στη διαθεσιμότητα και το είδος της τροφής.

Όσον αφορά τα θηκογράμματα για τη μέγιστη σταθερή διάμετρο ο πληθυσμός της Αστυπάλαιας 2005 παρουσιάζει τις μεγαλύτερες τιμές. Επίσης για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας 2006 παρουσιάζεται ένα εξωτερικό σημείο, 'πιθανό παράτυπο σημείο', δηλαδή μια παρατήρηση- ένα άτομο το οποίο έχει πολύ μικρότερη διάμετρο σε σχέση

με τα υπόλοιπα. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η δειγματοληψία είναι τυχαία και ίσως όχι αντιπροσωπευτική όλων των κλάσεων, καθώς και σε στατιστικό σφάλμα. Η μεγαλύτερη διασπορά τιμών παρουσιάζεται από τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας 2005, που σημαίνει ότι ο πληθυσμός αποτελείται από διάφορα μεγέθη ατόμων. Ο πληθυσμός του Παγασητικού κόλπου παρουσιάζει συμμετρία, δηλαδή η διάμετρος του πληθυσμού αυτού είναι κατανεμημένη ομοιόμορφα. Τις μικρότερες τιμές της μέγιστης σταθερής διαμέτρου τις παρουσιάζει ο πληθυσμός του Αμβρακικού κόλπου. Η διαφοροποίηση της διαμέτρου των πληθυσμών μπορεί να οφείλεται στο διαφορετικό περιβάλλον στο οποίο διαβιεί ο καθένας, τόσο στους αβιοτικούς όσο και στους βιοτικούς παράγοντες του περιβάλλοντος. Είναι γνωστό ότι οι διαφορετικές τιμές της θερμοκρασίας, της αλατότητας καθώς και των θρεπτικών επηρεάζουν την ανάπτυξη των οργανισμών.

Για το μέγιστο σταθερό ύψος, τη μεγαλύτερη διασπορά τιμών την παρουσιάζει ο πληθυσμός του Παγασητικού κόλπου, τις μεγαλύτερες τιμές παρουσιάζει ο πληθυσμός της Αστυπάλαιας 2006 ενώ τις μικρότερες ο πληθυσμός του Αμβρακικού κόλπου. Οι πληθυσμοί της Αστυπάλαιας 2006 και του Αμβρακικού είναι συμμετρικοί για αυτή την μέτρηση, δηλαδή το ύψος αυτών είναι κατανεμημένο ομοιόμορφα. Ο πληθυσμός της Χαλκιδικής παρουσιάζει ένα 'πιθανό παράτυπο σημείο (*)' και ένα 'πέρα πολύ πιθανό (°)', δηλαδή δυο παρατηρήσεις-δύο άτομα των οποίων οι τιμές του ύψους είναι πολύ μεγαλύτερες σε σχέση με τα υπόλοιπα άτομα. Οι δυο αυτές παρατηρήσεις μπορεί να είναι στατιστικό σφάλμα ή να είναι άτομα τα οποία έχουν αποκτήσει πολύ μεγαλύτερο ύψος από τα άτομα του υπόλοιπου πληθυσμού. Όσον αφορά τη διαφοροποίηση που παρουσιάζουν οι πληθυσμοί ως προς το ύψος μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες, τη ρύπανση καθώς και την αλιευτική πίεση που δέχονται τα αποθέματα.

Για το ολικό νωπό βάρος τη μεγαλύτερη διασπορά τιμών καθώς και τις μεγαλύτερες τιμές, τις παρουσιάζει ο πληθυσμός της Αστυπάλαιας 2005 ενώ τις μικρότερες ο πληθυσμός του Αμβρακικού. Ο πληθυσμός του Παγασητικού παρουσιάζει ένα ‘πάρα πολύ πιθανό (°)’ παράτυπο σημείο, δηλαδή μια παρατήρηση- ένα άτομο το οποίο παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερη τιμή σε σχέση με τα υπόλοιπα άτομα. Για το βάρος κελύφους μεγαλύτερες τιμές παρουσιάζει ο πληθυσμός της Αστυπάλαιας 2006, μεγαλύτερο εύρος τιμών ο πληθυσμός της Αστυπάλαιας 2005 ενώ τις μικρότερες και για αυτό τον πληθυσμό τις μικρότερες του Αμβρακικού. Για τον πληθυσμό του Παγασητικού δυο ‘πάρα πολύ πιθανά (°)’ παράτυπα σημεία, δηλαδή δυο παρατηρήσεις- δυο άτομα εκ των οποίων το ένα παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερο βάρος κελύφους σε σχέση με τα υπόλοιπα ενώ το δεύτερο πολύ μικρότερο. Οι διαφορές που παρουσιάζουν ως προς το βάρος οι πληθυσμοί οφείλονται αρχικά στο μέγεθος που παρουσιάζουν, και κατ’επέκταση στους παράγοντες που επηρεάζουν το μέγεθος τους, καθώς και στην περιεκτικότητα τους σε νερό και περιττώματα που εμπεριέχονται μέσα στο σώμα τους.

Τις μεγαλύτερες τιμές του βάρους των γονάδων το παρουσιάζει ο πληθυσμός του Παγασητικού καθώς και τη μεγαλύτερη διασπορά τιμών. Επίσης παρουσιάζει τρία ‘πάρα πολύ πιθανά (°)’ παράτυπα σημεία, δηλαδή τρεις παρατηρήσεις- τρία άτομα τα οποία παρουσιάζουν πολύ μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τα υπόλοιπα. Όλοι οι πληθυσμοί δεν είναι συμμετρικοί για τη συγκεκριμένη μέτρηση. Τις μικρότερες τιμές παρουσιάζει ο πληθυσμός του Αμβρακικού και λίγο μεγαλύτερες της Χαλκιδικής. Γενικά από τα παραπάνω προκύπτει ότι όσο ελαττώνεται το μέγεθος των ατόμων τόσο μειώνεται και το μέγεθος των γονάδων, δηλαδή είναι ανάλογα μεγέθη. Επίσης ο πληθυσμός της Χαλκιδικής παρουσιάζει δυο παράτυπα σημεία ένα ‘πάρα πολύ πιθανό (°)’ και ένα ‘πιθανό’ παράτυπο σημείο, δηλαδή δυο παρατηρήσεις- δύο άτομα

που έχουν πολύ μεγαλύτερο βάρος γονάδας σε σχέση με τα υπόλοιπα. Στο φυσικό περιβάλλον ο όγκος των γονάδων μεταβάλλεται περιοδικά σε αντιστοιχία με τις περιόδους του κύκλου αναπαραγωγής. Αν οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι ευνοϊκές οι γαμέτες αποβάλλονται, οι γονάδες αδειάζουν και ο κύκλος ξαναρχίζει. Η διάρκεια του φαινομένου ποικίλλει ανάλογα το είδος αλλά και τα χαρακτηριστικά του περιβάλλοντος. Οι κύριες περίοδοι αναπαραγωγής είναι η άνοιξη και το φθινόπωρο, αλλά σε όλη τη διάρκεια τους έτους παρατηρείται μικρός αριθμός γεννητικών ώριμων ατόμων, ειδικά στις νοτιότερες περιοχές (Pancucci, 1996). Όποτε μικρές γονάδες συνεπάγεται ότι τα άτομα είναι εκτός της αναπαραγωγικής περιόδου ή ακόμη ότι μόλις έχουν αποβάλλει τα γεννητικά τους προϊόντα και ο κύκλος ξαναρχίζει. Κάποια άτομα τα οποία παρουσιάζουν μεγάλο μέγεθος γονάδων είναι αναπαραγωγικά έτοιμα πιο γρήγορα από τα υπόλοιπα, το οποίο μπορεί να οφείλεται στις αυξημένες θερμοκρασίες που τους επιτρέπει να ωριμάσουν γρηγορότερα ή ακόμα και στο ότι έχουν αργήσει να αποβάλλουν τα γεννητικά τους προϊόντα λόγω κακών καιρικών συνθηκών.

4.1.2 Σχέση Διαμέτρου – Ύψους (ο λόγος Y / Δ), κλάσεις μεγέθους

Ο λόγος Ύψος προς Διάμετρος φανερώνει τον ρυθμό αύξησης των ατόμων ενός πληθυσμού και θεωρείται ένα από τα πιο σταθερά χαρακτηριστικά για το *P. lividus*, με μικρές διακυμάνσεις ανάμεσα στους πληθυσμούς διαφορετικών περιοχών υπό κανονικές συνθήκες (Pancucci *et al.*, 1993).

Για τους υπό εξέταση πληθυσμούς της παρούσας εργασίας ο λόγος κυμάνθηκε 0,45-0,55, με τα περισσότερα άτομα να κυμαίνονται από 0,50 και άνω με μερικές εξαιρέσεις, που είτε παρουσιάζουν μεγαλύτερη είτε μικρότερη τιμή. Χαρακτηριστική είναι η τιμή του λόγου για μια κλάση του πληθυσμού της Χαλκιδικής που

παρουσιάζει υψηλή τιμή ($=0,608$). Σε μελέτη της Pancucci (1996) ο λόγος για διάφορους πληθυσμούς του Αμβρακικού κόλπου υπολογίστηκε $0,49-0,53$. Ο ρυθμός αύξησης μπορεί να διαφέρει από πληθυσμό σε πληθυσμό ακόμα και μέσα στον πληθυσμό (Pancucci, 1996). Ανωμαλίες του ρυθμού αύξησης με συνέπεια πολύ υψηλή ή πολύ χαμηλή τιμή του λόγου έχουν παρατηρηθεί σε ρυπασμένη περιοχή του Ισραήλ (Dafni, 1980) για το γένος *Tripneustes*.

Για τον Παγασητικό Κόλπο τα μικρά (κλάση 35-40) και τα πιο μεγάλα άτομα (κλάσεις 55,1-65) παρουσιάζουν μεγαλύτερο λόγο από τα υπόλοιπα άτομα, δηλαδή παρουσιάζουν μεγαλύτερο ρυθμό αύξησης του ύψους. Βέβαια αυτές οι κλάσεις εμπεριέχουν και τα λιγότερα άτομα σε σχέση με τις υπόλοιπες του συγκεκριμένου πληθυσμού. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη διαθεσιμότητα τροφής καθώς και στις περιβαλλοντικές συνθήκες. Όταν η διάμετρος των ατόμων είναι μικρή (35-40) το ύψος αυξάνεται γρηγορότερα από τη διάμετρο, όταν τα άτομα αυξηθούν ως προς τη διάμετρο (40-50) τότε το ύψος αυξάνεται με μικρότερο βαθμό σε σχέση με τη διάμετρο και όταν τα άτομα αποκτήσουν αρκετά μεγάλη διάμετρο (50-65) ο ρυθμός αύξησης του ύψους αυξάνεται (Pancucci, 1996).

Οι πληθυσμοί της Αστυπάλαιας διαφοροποιούνται όσον αφορά το λόγο αυτό. Για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας 2006 τα άτομα της μεγαλύτερης κλάσης (60,1-65) παρουσιάζουν τον μικρότερο λόγο $0,481$ ενώ για τα υπόλοιπα είναι περίπου ίδιος. Δηλαδή όσο μεγαλύτερα είναι τα άτομα (πάνω από 60) τόσο μειώνεται ο ρυθμός αύξησης του ατόμου ως προς το ύψος. Ενώ για τον πληθυσμό της Αστυπάλαιας 2005 τα μικρότερα άτομα (κλάσεις 45-55) παρουσιάζουν μικρότερο λόγο από τα μεγαλύτερα με μέγιστο ($=0,567$) της μεσαίας κλάσης (55,1-60). Για τα μικρά άτομα ο λόγος είναι περίπου στο $0,520$, αρκετά υψηλός, και όσο μεγαλώνουν αυξάνεται, δηλαδή όσο μεγαλώνουν ο ρυθμός αύξησης του ύψους αυξάνεται. Αυτή η διαφορά

που παρουσιάζεται μεταξύ των δυο ετών μπορεί να οφείλεται στη δειγματοληψία, η οποία να μην ήταν αντιπροσωπευτική για τους πληθυσμούς.

Για τον πληθυσμό της Χαλκιδικής εμφανίζεται ο μεγαλύτερος λόγος ($=0,608$) για την μεγαλύτερη κλάση του πληθυσμού (45,1-50). Οι δυο μεσαίες κλάσεις παρουσιάζουν μέση τιμή περίπου στο 0,500 ενώ η μικρότερη κλάση παρουσιάζει σχετικά μικρό λόγο ($=0,481$). Όσο μικρότερα είναι τα άτομα τόσο μεγαλύτερο ρυθμό αύξησης ύψους παρουσιάζουν. Σε αντίθεση για τον Αμβρακικό κόλπο, αν και είναι τα άτομα με το μικρότερο μέγεθος, ο λόγος όλων των κλάσεων κυμαίνεται περίπου στο 0,500 με εξαίρεση τη μεγαλύτερη κλάση (40,1-45) στην οποία ανήκει μόνο ένα άτομο και παρουσιάζει μικρό λόγο ($=0,476$). Για αυτό τον πληθυσμό ο λόγος είναι σχεδόν σταθερός το οποίο υποδηλώνει τον ίδιο ρυθμό ανάπτυξης για όλες τις κλάσεις.

Η διαφοροποίηση των λόγων ανάλογα με την κλάση δείχνει ότι η ανάπτυξη των ατόμων μεταβάλλεται ανάλογα με το μέγεθος. Όταν ο λόγος αυξάνεται τότε αυτό συνεπάγεται ότι τα άτομα αυξάνονται περισσότερο σε ύψος από ότι σε διάμετρο. Αυτό μπορεί να αλλάζει από κλάση σε κλάση οπότε μπορούμε να βγάλουμε συμπεράσματα για τον κάθε πληθυσμό και την ανάπτυξη του ανά μέγεθος. Γενικά ο λόγος Y / Δ δεν παρουσιάζει μεγάλη διαφοροποίηση ανάμεσα στους πληθυσμούς. Αυτό σημαίνει ότι η αναλογία ύψους βάρους δεν επηρεάζεται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Μικρές διαφοροποιήσεις υπάρχουν, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στη δειγματοληψία, η οποία να μην ήταν αντιπροσωπευτική του πληθυσμού.

Ο συντελεστής παλινδρόμησης (b) είναι διαφορετικός για κάθε ένα από τους εξεταζόμενους πληθυσμούς ($b_1=2,435$, $b_2=2,602$, $b_3=3,717$, $b_4=2,432$, $b_5=2,996$). Οι συντελεστές b_1 , b_4 των πληθυσμών Παγασητικού και της Αστυπάλαιας 2006 είναι σχεδόν ίδιοι. Ο μεγαλύτερος συντελεστής είναι ο b_3 του πληθυσμού του της

Αστυπάλαιας (2005). Αυτό σημαίνει ότι ο πληθυσμός της Αστυπάλαιας (2005) παρουσιάζει τη μεγαλύτερη παραλλακτικότητα. Στην Εικόνα 15 όπου απεικονίζονται οι γραφικές παραστάσεις της σχέσης $W=a* L^b$, συμπεραίνουμε ότι αν και οι συντελεστές b_1 , b_4 είναι σχεδόν ίδιοι, οι γραφικές απεικονίσεις των σχέσεων δεν ταυτίζονται αφού και ο συντελεστής a παίζει πολύ σημαντικό ρόλο. Σε μελέτη που έγινε για το είδος *Strongylocentrotus franciscanus* βρέθηκε ότι η σχέση διαμέτρου-ύψους είναι $D = 3.31*J^{1.15}$ ($R^2=0.989$, $df=382$), όπου D = διάμετρος (mm) και J = ύψος (mm) (Rogers- Bennett *et al.*, 2003).

Η διαφοροποίηση που παρουσιάζεται στις τιμές του συντελεστή μπορεί να οφείλεται σε διάφορους παράγοντες, όπως είναι οι περιβαλλοντικές συνθήκες περιοχής αλίευσης (θερμοκρασία, αλατότητα, διαλυμένο οξυγόνο κ.α.) (Morato *et al.*, 2001) καθώς και στον διαφορετικό ρυθμό ανάπτυξης των ατόμων που παρατηρήθηκε για το είδος. Από τα παραπάνω καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι για το υπό μελέτη είδος, ο ρυθμός ανάπτυξης διαφέρει όχι μόνο σε επίπεδο πληθυσμών αλλά ακόμη και μέσα στον ίδιο πληθυσμό και συνήθως είναι ανάλογος με το μέγεθος του ατόμου.

Αυτό επιβεβαιώνεται με τα αποτελέσματα της Ανάλυσης Διασποράς κατά ένα παράγοντα από την οποία προέκυψε ότι η κάθε μορφομετρική μέτρηση που πραγματοποιήθηκε διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των πληθυσμών ($P < 0,05$, αφού το επίπεδο σημαντικότητας έχει οριστεί $P=0,05$).

4.1.3 Διαφορά φύλων και ανώριμα άτομα

Το ποσοστό των θηλυκών σε σχέση με τα αρσενικά άτομα ήταν μεγαλύτερο για όλους του πληθυσμούς που εξετάστηκαν. Οι περισσότερες μελέτες για αχινοίς δεν διαχωρίζουν τα άτομα ανά φύλο αλλά τα εξετάζουν συγκεντρωτικά. Σε μελέτη που τα φύλα εξετάστηκαν χωριστά παρατήρηθηκε ότι τα θηλυκά άτομα υπερτερούν των

αρσενικών (Pancucci, 1996). Ως προς το μέγεθος δεν υπάρχουν μεγάλες διαφοροποιήσεις μεταξύ των δυο φύλων, γενικά όμως μπορεί να αναφερθεί ότι τα αρσενικά άτομα είναι μικρότερα από τα θηλυκά.

Για τα ανώριμα άτομα των πληθυσμών ίσως να μην μπορεί να τεθεί κάποιο συγκεκριμένο όριο κάτω από το οποίο να θεωρούνται ανώριμα, και αυτό συμβαίνει γιατί στην παρούσα μελέτη εντοπιστήκαν ανώριμα άτομα τα οποία ήταν μεγάλου μεγέθους και το οποίο πιθανώς να οφείλεται στην αυξημένη θερμοκρασία του νερού.

Για τον πληθυσμό του Παγασητικού τα ανώριμα άτομα κυμαίνονται κυρίως από 38-44 mm, ενώ τα ώριμα άτομα κυρίως παρουσιάζουν διάμετρο μεγαλύτερη των 44 mm.

Δεν υπάρχει σαφής διαχωρισμός των ώριμων από τα ανώριμα άτομα. Για τον πληθυσμό της Χαλκιδικής τα ανώριμα κυμαίνονται από 33-38 mm και υπάρχουν και τρία άτομα με διάμετρο 43-47 mm, οπότε πάλι είναι δύσκολος ο διαχωρισμός τους.

Για την Αστυπάλαια 2005 παρουσιάζονται δύο μεγάλα σε μέγεθος άτομα με διάμετρο περίπου 47 mm και 53 mm, τα οποία έχουν μεγάλο μέγεθος για ανώριμα άτομα. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην πιθανότητα να έγινε η δειγματοληψία τη στιγμή που απέβαλαν τα γεννητικά τους προϊόντα. Ο πληθυσμός της Αστυπάλαιας 2006 δεν περιείχε κανένα ανώριμο άτομο, που μάλλον οφείλεται στην περίοδο της δειγματοληψίας, η οποία ήταν κατά την περίοδο αναπαραγωγής. Για τον πληθυσμό του Αμβρακικού τα ανώριμα άτομα κυμαίνονται από 22-30 mm περίπου, με εξαίρεση ένα αρκετά μεγάλο άτομο με διάμετρο 41 mm το οποίο ήταν ανώριμο και το πιο πιθανό είναι να έγινε η δειγματοληψία τη στιγμή που είχε αποβάλλει τα γεννητικά του προϊόντα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης για τον πληθυσμό του Αμβρακικού ίσως να μπορούσε να τεθεί όριο ανωριμότητας τα 30 mm.

Χαρακτηριστική είναι η έλλειψη ανώριμων ατόμων από τους πληθυσμούς της Αστυπάλαιας, (το 2005 κανένα ενώ για το 2006 δύο άτομα), γεγονός το οποίο μπορεί

να οφείλεται στην περίοδο δειγματοληψίας που ταυτίζεται με αυτή της αναπαραγωγικής διαδικασίας. Επίσης για τον πληθυσμό του Αμβρακικού παρουσιάζεται το μεγαλύτερο ποσοστό ανώριμων ατόμων (81%), το οποίο το πιο πιθανό να οφείλεται στο γεγονός ότι η δειγματοληψία ήταν εκτός αναπαραγωγικής περιόδου ή ήταν αμεσως μετά από αυτή και έτσι τα άτομα δεν είχαν ακόμα παράγει τα νέα γεννητικά τους προϊόντα. Σε ορισμένες μελέτες έχουν τεθεί όρια ωριμότητας για το είδος τα οποία είναι τα 15 mm (Azzolina, 1987) και τα 12 mm (Verlaque, 1984), τα οποία δεν μπορούν να εφαρμοστούν για τους πληθυσμούς που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη.

4.1.4 Γοναδοσωματικός δείκτης

Ο γοναδοσωματικός δείκτης περιγράφει την αναπαραγωγική κατάσταση των ατόμων του πληθυσμού και προκύπτει από το συσχετισμό του βάρους της γονάδας προς το συνολικό βάρος του ατόμου (ΕΘΙΑΓΕ, 2005). Όπως ήδη αναφέρθηκε κατά τις περιόδους γαμετογένεσης η σωματική ανάπτυξη μειώνεται ή μένει σταθερή (Moore *et al.*, 1963). Για κάποια είδη έχει αναφερθεί αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ σωματικής αύξησης και αύξησης των γονάδων (Greenwood, 1980). Η έλλειψη τροφής παίζει σημαντικό ρόλο σε κάποια είδη αφού δεν επιτρέπει τη γεννητική ωρίμανση όπως είναι για το είδος *Echinocardium cordatum* (Buchanan, 1966). Το είδος της τροφής παίζει επίσης πολύ σημαντικό ρόλο τόσο στην ανάπτυξη όσο και στο χρώμα των γονάδων (Kelly *et al.*, 2001).

Όπως φαίνεται στις Εικόνες 12 και 13 ο γοναδοσωματικός δείκτης δεν παρουσιάζει έντονη διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών. Ο πληθυσμός του Παγασητικού παρουσιάζει τη μεγαλύτερη διασπορά τιμών όσον αφορά τους γοναδοσωματικούς δείκτες. Επίσης παρουσιάζει το μεγαλύτερο εύρος τιμών καθώς και αρκετές

εξωτερικές τιμές «πιθανά παράτυπα σημεία», δηλαδή κάποια άτομα του πληθυσμού παρουσιάζουν τιμές για το γοναδοσωματικό δείκτη οι οποίες είναι πολύ μεγαλύτερες σε σχέση με τις υπόλοιπες. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην περίοδο που πραγματοποιήθηκε η δειγματοληψία καθώς και στις περιβαλλοντικές συνθήκες της περιχής. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω οι πληθυσμοί του Παγασητικού και της Αστυπάλαιας ενώ μοιάζουν ως προς τις εξωτερικές διαστάσεις, διαφέρουν ως προς το βάρος των γονάδων και συνεπώς τον γοναδοσωματικό δείκτη. Στην παρούσα μελέτη οι τιμές του γοναδοσωματικού δεν παρουσιάζουν έντονη διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών αλλά είναι μη στατιστικά σημαντικές. Σε παρόμοια όμως μελέτη για το ίδιο είδος προέκυψε ότι η μέση τιμή του γοναδοσωματικού δείκτη δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των σταθμών δειγματοληψίας όσο και μεταξύ των εποχικών δειγματοληψιών (ΕΘΙΑΓΕ, 2005).

4.2 Γενετική

Στην παρούσα μελέτη εκτός από την ανάλυση των μορφομετρικών μετρήσεων, έγινε και προσπάθεια εντοπισμού της γενετικής δομής του είδους. Για τη γενετική ανάλυση έγινε προσπάθεια και ήταν πιο εύκολη στα ώριμα άτομα των πληθυσμών.

Τα αποτελέσματα δεν ήταν τα αναμενόμενα αφού ένα μέρος των δειγμάτων συμμετείχαν στην αντίδραση (PCR) ενώ τα υπόλοιπα όχι. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε λάθος στην εξάγωγή του DNA ή και σε εξωγενείς παράγοντες. Τελικά προέκυψαν αποτελέσματα για **δύο** πληθυσμούς, του Παγασητικού κόλπου και της Χαλκιδικής.

Η γενετική δομή στους αχινούς έχει ευρέως μελετηθεί κυρίως από Ιάπωνες (Marcus, 1977: Matsuoka & Nakamura, 1991: Watts *et al.*, 1990: Mladenov *et al.*, 1997).

Για τη συγκεκριμένη μελέτη προέκυψε ότι για τους δύο πληθυσμούς του Παγασητικού κόλπου και της Χαλκιδικής η γονιδιακή ροή (N_m) υπολογίστηκε ίση με

5,64, ο δείκτης παραλλακτικότητας (F_{ST}) υπολογίστηκε ίσος με $-0,04239$ ($P= 0,06$) και η γενετική τους απόσταση (D) 0,014.

Η πληθυσμιακή δομή περιγράφει πως τα άτομα (ή οι συχνότητες των αλληλομόρφων) μεταβάλλονται στο χρόνο και τον χώρο. Η πληθυσμιακή δομή συνήθως ποσοτικοποιείται με έναν στατιστικό δείκτη ο οποίος είναι γνωστός ως δείκτης παραλλακτικότητας F_{ST} ο οποίος περιγράφεται από τον Wright (1969, 1978). Ο δείκτης αυτός έχει άμεση σχέση με τη στατιστική ανάλυση διακύμανσης (ANOVA). Οι τιμές κυμαίνονται από μηδέν (0) έως ένα (1). Τιμές του F_{ST} μικρότερες από 0,20 σημαίνει μετανάστευση περισσότερων από ένα άτομο ανά γενιά (Avisé, 1994). Το αρνητικό πρόσημο του δείκτη παραλλακτικότητας F_{ST} μπορεί να οφείλεται σε σφάλμα που προέρχεται από τον μικρό αριθμό δειγμάτων ή ένδειξη ούτως ή άλλως υψηλής γονιδιακής ροής χωρίς να επηρεάζει τα αποτελέσματα (Lessios *et al.*, 2003). Υψηλές τιμές συνεπάγονται αξιοσημείωτο βαθμό διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών. Οι τιμές του F_{ST} είναι χρήσιμες σαν δείκτες σχετικής γονιδιακής ροής (Neigel, 1997). Στην παρούσα μελέτη ο δείκτης παραλλακτικότητας εμφανίζει μικρή τιμή αλλά είναι μη στατιστικώς σημαντικός. Αυτό σημαίνει ότι οι δυο πληθυσμοί παρουσιάζουν μικρή γενετική διαφοροποίηση. Αυτό επιβεβαιώνεται και από τη μικρή γενετική απόσταση των πληθυσμών που βρέθηκε ίση με 0,014.

Η γονιδιακή ροή (N_m) υπολογίστηκε ίση με 5,64. Με τον όρο γονιδιακή ροή (ή γονιδιακή μετανάστευση) ονομάζεται η μεταφορά των αλληλομόρφων των γονιδίων από ένα πληθυσμό σε έναν άλλο. Η μεταφορά των αλληλομόρφων εντός και εκτός ενός πληθυσμού μπορεί να είναι υπεύθυνη για την αλλαγή των συχνοτήτων των αλληλομόρφων. Η μεταφορά μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την προσθήκη νέου γενετικού υλικού στο ήδη υπάρχον (γενετικό απόθεμα) ενός είδους ή ενός

πληθυσμού, και η αντίστροφη μετανάστευση μπορεί να προκαλέσει την αφαίρεση γενετικού υλικού.

Υπάρχουν διάφοροι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την γονιδιακή ροή μεταξύ διαφορετικών πληθυσμών. Ένας πολύ σημαντικός παράγοντας είναι η κινητικότητα των οργανισμών. Βέβαια υπάρχουν οργανισμοί οι οποίοι αν και διανύουν πολύ μικρές αποστάσεις παρουσιάζουν υψηλές τιμές γονιδιακής ροής, όπως ο αχινός *Evechinus chloroticus* ο οποίος παρουσιάζει υψηλά επίπεδα γονιδιακής ροής σε αποστάσεις από 250- 2200 km (Mladenov *et al.*, 1997). Τα όρια της γονιδιακής ροής είναι συνήθως φυσικά. Σύμφωνα με τους Lessios *et al.* (2003) για τους αχινούς του γένους *Triploneustes* τα όρια τα οποία είναι σημαντικά για τον φυλογενετικό αποκλεισμό των πληθυσμών είναι κυρίως η ανάδυση (upwelling) κρύου νερού, ο ισθμός του Παναμά καθώς και η εισροή γλυκών νερών στη θάλασσα. Επίσης για πολλά ασπόνδυλα ο ισθμός του Γιβραλτάρ αποτελεί ένα σημαντικό φυσικό όριο γονιδιακής ροής (Zane *et al.*, 2000).

Η γονιδιακή ροή έχει πολύ σημαντικά αποτελέσματα στην εξέλιξη. Μέσα σε έναν πληθυσμό μπορεί να εισαχθούν ή να εξαχθούν γονίδια μεγαλώνοντας έτσι την γενετική ποικιλότητα (genetic variation) του. Όσο πιο μικρή είναι η γονιδιακή ροή μεταξύ πληθυσμών τόσο πιθανότερο είναι να οδηγηθούν σε ειδογένεση, πάντα σε συσχέτιση και με τις άλλες εξελικτικές δυνάμεις. Για την παρούσα μελέτη η γονιδιακή ροή μεταξύ των πληθυσμών είναι υψηλή. Λόγω της μικρής κινητικότητας των ενήλικων αχινών και της σχετικά μεγάλης γεωγραφικής απόστασης των υπό εξέταση πληθυσμών ίσως να ήταν αναμενόμενο να υπάρχει μεγάλη γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των απομακρυσμένων γεωγραφικά πληθυσμών, αλλά σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αυτό δεν ισχύει. Το είδος παρουσιάζει μεγάλη γεωγραφική εξαπλωση στη Μεσόγειο επομένως η όποια

γενετική παραλλακτικότητα διατηρείται ακόμη και αν υπάρξει υψηλή αλιευτική ή άλλη πίεση.

Για τους αχινούς του είδους *Echinometra vanbrunti* σε μελέτη με ανάλυση μιτοχονδριακού DNA προέκυψε ότι οι πληθυσμοί του Μεξικού και του Παναμά παρουσιάζουν υψηλή γονιδιακή ροή και εμφανίζουν μεγάλη πιθανότητα να αναπαράγονται με τυχαίες διασταυρώσεις (McCartney *et al.*, 2000). Επίσης για το γένος *Arbacia* με ανάλυση μιτοχονδριακού DNA έγινε προσπάθεια ανάλυσης των φυλογεννητικών σχέσεων τεσσάρων ειδών. Από την μελέτη προέκυψε ότι για τους πληθυσμούς του ίδιου είδους υπάρχει μικρή γενετική διαφοροποίηση και υψηλή γονιδιακή ροή ακόμα και σε γεωγραφικά απομακρυσμένους πληθυσμούς (Metz *et al.*, 1998). Όμοια για το ίδιο είδος *P. lividus* από τους Duran *et al.* (2004) με ανάλυση μιτοχονδριακού DNA για τη Μεσόγειο και τον Ατλαντικό, ο συνολικός δείκτης F_{ST} που προέκυψε ($=0.01733$) φανερώνει ότι για τη Μεσόγειο και τον Ατλαντικό δεν υπάρχει γενετική δομή και υπάρχει πανμιξία μεταξύ των πληθυσμών. Αυτό συνιστά υψηλή γονιδιακή ροή ανεξαρτήτου γεωγραφικής απόστασης και δεν υπάρχει αναπαραγωγική απομόνωση των πληθυσμών. Το ίδιο συμβαίνει και για τους πληθυσμούς του Παγασητικού κόλπου και της Χαλκιδικής, οι οποίοι δεν είναι απομονωμένοι και παρουσιάζουν μικρή γενετική διαφοροποίηση και υψηλή γονιδιακή ροή, στις περιοχές μελέτης της παρούσας εργασίας.

Επίσης πολύ σημαντικά είναι τα αποτελεσματα μελέτης που έγινε για το γένος *Diadema* από τους Lessios *et al.* (2001) και αποδείχτηκε ότι σε αξιοσημείωτα μεγάλες αποστάσεις η γονιδιακή ροή είναι υψηλή εκτός από την περίπτωση που υπάρχει κάποιο φυσικό εμπόδιο το οποίο οδηγεί στον αποκλεισμό των πληθυσμών. Για το είδος *D. setosum* εντοπίστηκε αποκλεισμός των πληθυσμών μεταξύ του Δυτικού Ινδικού Ωκεανού και του Δυτικού Ειρηνικού Ωκεανού, το οποίο πιθανόν να

συμβαίνει από τον περιορισμό της ροής νερού λόγω των στενωμάτων που δημιουργεί η ξηρά, μεταξύ βόρειας Αυστραλίας και Νοτιοανατολικής Ασίας. Ο αποκλεισμός των πληθυσμών του *D. antillarum* των κεντρικών Ατλαντικών νησιών και της Βραζιλίας πιθανότατα οφείλεται στην εισροή γλυκού νερού από τον Αμαζόνιο ποταμό. Το είδος *D. savignyi* χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα γονιδιακής ροής μεταξύ του κεντρικού Ειρηνικού Ωκεανού και του Ανατολικού άκρου της Αφρικής. Συμπερασματικά η γονιδιακή ροή για τους πληθυσμούς των αχιών του γένους *Diadema* είναι πολύ υψηλή ακόμα και σε μεγάλες γεωγραφικές αποστάσεις εκτός εάν παραπέμπεται κάποιο φυσικό εμπόδιο το οποίο οδηγεί σε αποκλεισμό των πληθυσμών. Επίσης σύμφωνα με τους Lessios *et al.* (2003) για τους αχιούς του γένους *Triploneustes* διερευνήθηκαν φαινόμενα τα οποία οδηγούν σε αναπαραγωγική και γεωγραφική απομόνωση των πληθυσμών και τα οποία είναι η ανάδυση κρούου νερού, στενώματα της ξηράς και τα ρεύματα. Όσον αφορά τους πληθυσμούς που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη (Παγασητικού-Χαλκιδικής) δεν προκύπτει να υπάρχει κάποιο φυσικό όριο- εμπόδιο που να οδηγεί στην αναπαραγωγική απομόνωση των δύο πληθυσμών. Έτσι μπορούμε να πούμε ότι το είδος δεν παρουσιάζει γεωγραφική απομόνωση που να προκύπτει από ωκεανογραφικά φαινόμενα σε αυτές τις περιοχές.

Αντίθετα όμως υπάρχουν και μελέτες που έχει διαπιστωθεί ότι σε μικρές αποστάσεις εμφανίζεται απομόνωση πληθυσμών αχιών. Σύμφωνα με τους Addison & Hart (2003) υπάρχει μεγάλη γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών του πράσινου αχιού *Strongylocentrotus droebachiensis* κατά μήκος του Βορείου Ατλαντικού.

Σε πολλά βενθικά θαλάσσια είδη η γεωγραφική εξάπλωση τους εξαρτάται από τη διάρκεια της πελαγικής τους ζωής (λαρβικά στάδια). Η κατανομή των λαρβών

εξαρτάται από τις μεταβολές της θερμοκρασίας, που επηρεάζει τη θνησιμότητα τους, τα θαλάσσια ρεύματα και τα ωκεανογραφικά μέτωπα (Hedgecock, 1986: Scheltema, 1986: Cowen *et al.*, 1993: Hare and Cowen, 1996). Βέβαια αυτοί οι παράγοντες μπορεί να επηρεάζουν την κατανομή των λαρβών αλλά όχι και τη γενετική δομή των πληθυσμών. Όπως απέδειξαν οι Wares *et al.* (2001) τα θαλάσσια ρεύματα δεν παίζουν ρόλο στη δημιουργία γενετικής δομής μεταξύ τεσσάρων ειδών εχινόδερμων, των *Balanus glandula*, *Chthamalus fissus*, *Strongylocentrotus purpuratus* και του *Nucella emarginata*, των οποίων οι λάρβες έχουν πλαγκτονική μορφή. Επίσης για δύο είδη αχινών του γένους *Strongylocentrorus* που οι λάρβες τους παρουσιάζουν μεγάλη διάρκεια ζωής, το *S. lividus* παρουσιάζει πανμιξία από την Αλάσκα μέχρι την Καλιφόρνια (Debenham, 1997), ενώ το *S. purpuratus* παρουσιάζει γενετικές διαφοροποιήσεις μεταξύ τοπικών πληθυσμών στην Καλιφόρνια (Edmands *et al.*, 1996). Συνεπώς η διάρκεια των λαρβικών σταδίων παίζει ρόλο στη γεωγραφική εξάπλωση των ειδών. Στην παρούσα μελέτη το υπό εξέταση είδος, το οποίο παρουσιάζει μεγάλης διάρκειας λαρβικά στάδια, παρουσιάζει και υψηλή γονιδιακή ροή μεταξύ σχετικά μεγάλων γεωγραφικά αποστάσεων.

Συμπερασματικά και σύμφωνα με όλα τα παραπάνω, η παρούσα μελέτη για το είδος *P. lividus* επαληθεύεται από μελέτες που έχουν γίνει σε πολλά είδη αχινών. Αν και οι αχινοί είναι εδραίοι οργανισμοί με μικρή κινητικότητα στα ενήλικα στάδια τους, εμφανίζουν μεγάλα ποσοστά γονιδιακής ροής ακόμα και ανάμεσα σε πληθυσμούς που βρίσκονται σε μεγάλες γεωγραφικές αποστάσεις. Σε αυτό συμβάλλει το γεγονός ότι ο χρόνος ζωής των λαρβικών σταδίων τους είναι σχετικά μεγάλος (40 ημέρες περίπου, σύμφωνα με τον Grosjean, 2001) καθώς και ότι η γονιμοποίηση του είδους γίνεται εξωτερικά, όταν το επιτρέπουν οι περιβαλλοντικές συνθήκες. Το είδος *P. lividus* παρουσιάζει δυο εκτεταμένες περιόδους αναπαραγωγής, το οποίο καθώς και

σχετικά μεγάλη διάρκεια ζωής από 1,7 έως 3,5 χρόνια (Grosjean, 2001), γεγονός το οποίο μπορεί να συμβάλλει στην γεωγραφική εξάπλωση του είδους. Τα άτομα κατά τα λαρβικά στάδια πιθανώς να παρασύρονται από τα θαλάσσια ρεύματα και λόγω της μεγάλης διάρκειας αυτής της μορφής, μεταφέρονται σε μεγάλες γεωγραφικές αποστάσεις. Στην παρούσα μελέτη οι πληθυσμοί του Παγασητικού και της Χαλκιδικής ενώ βρίσκονται σε μεγάλη γεωγραφική απόσταση παρουσιάζουν υψηλή γονιδιακή ροή. Οι δυο αυτοί πληθυσμοί δεν είναι απομονωμένοι, δηλαδή δεν υπάρχει κάποιο φυσικό εμπόδιο- όριο της γονιδιακής ροής, όπως έχει διερευνηθεί για άλλες περιοχές.

4.3 Διαχείριση Αποθεμάτων Αχινών

Η διαχείριση της αλίευσης των αχινών είναι αρκετά δύσκολη κυρίως από έλλειψη κατανόησης των διαδικασιών στρατολόγησης ανηλίκων. Δυο γεγονότα είναι ίσως ιδιαίτερης σπουδαιότητας. Το πρώτο είναι ότι οι λάρβες εμφανίζονται με πλαγκτονική μορφή για μια περίοδο μερικών εβδομάδων (περίπου 6) και οι αχινοί παρουσιάζουν εξάπλωση σε μεγάλες γεωγραφικές αποστάσεις. Δεύτερον τα ενήλικα άτομα των αχινών έχουν εξαιρετικά μεγάλη γονιμότητα, οπότε είναι πιθανό για σχετικά λίγα θηλυκά άτομα να αναπαραχθούν επαρκή αποθέματα νεοσύλλεκτων για να υποστηρίξουν την αφθονία των αχινών παρά την ενδεχόμενη εντατική αλιευτική τους πίεση (Burton, 2003).

Σύμφωνα με τους Duran *et al.* (2004) η μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση της πελαγικής ζωής των λαρβών, χαρακτηρίζουν ένα υγιές απόθεμα του είδους *P. lividus* στις ακτές της Μεσογείου και του Ατλαντικού. Ένα υγιές απόθεμα δεν επηρεάζεται εύκολα από τη μείωση πληθυσμών που σχετίζεται με την εντατική αλίευση (Le Gall, 1987; Rigis, 1987; Byrne, 1990) καθώς και από την επίδραση ασθενειών, όπως η φαλάκρυνση των αχινών (bald-urchin disease) (Boudouresque, 1980; Azzolina, 1987).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης τα αποθέματα του Παγασητικού κόλπου και της Χαλκιδικής μπορούν να χαρακτηριστούν υγιή. Μικρή ελάττωση των αποθεμάτων πιθανώς δεν θα επηρεάσει την εξελικτική πορεία των πληθυσμών. Μεγάλη ελάττωση του δραστικού μεγέθους (N_e) όμως των πληθυσμών μπορεί να έχει μη προβλέψιμα αποτελέσματα για το είδος και την φέρουσα ικανότητα των οικοσυστημάτων που διαβιούν και να οδηγήσει ακόμα και στην εξάλειψη των αποθεμάτων, εάν δεν πραγματοποιηθούν επαρκείς στρατηγικές διατήρησης των αποθεμάτων του είδους.

Μία παράμετρος που μπορεί να απαντήσει σε τέτοια προβλήματα είναι ίσως η καλλιέργεια τους. Με αυτό τον τρόπο θα μπορέσει να γίνει εμπλουτισμός των οικοσυστημάτων ώστε να διατηρηθούν τα αποθέματα στα επιθυμητά επίπεδα.

4.3.1 Καλλιέργεια αχινών

Η ζήτηση των αχινών συνεχώς αυξάνεται, κυρίως για να ικανοποιηθεί η Ιαπωνική αγορά (Thorpe *et al.*, 2000). Οι γονάδες των αχινών αποτελούν είδος πολυτελείας στις αγορές της Νότιας Ευρώπης (1000 τόνοι ετησίως) και της Ασίας, με ιδιαίτερα υψηλές τιμές (Grosjean *et al.*, 1998). Το 1996 η ποσότητα αχινών που καταγράφηκε στις ιχθυόσκαλες σε παγκόσμιο επίπεδο ανήλθε στους 112.000 τόνους. Η σημαντική πίεση στα αλιευτικά πεδία που υφίστανται σε παγκόσμιο επίπεδο, ωθεί στην θεσμοθέτηση αυστηρότερων νόμων-αλιευτικών ρυθμίσεων όσο και στην εντατικοποίηση των προσπαθειών καλλιέργειας του είδους (Keesing & Hall, 1998).

Η καλλιέργεια των εχινοδέρμων, συμπεριλαμβανομένης των αχινών και των θαλάσσιων αγγουριών είναι γνωστή ως εχινοκαλλιέργεια (echinoculture) (Le Gall & Bucaille, 1989: Le Gall, 1990). Συνήθως, όμως, ο όρος εχινοκαλλιέργεια χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια μόνο των αχινών η οποία ακόμη δεν έχει πλήρως αναπτυχθεί. Έχουν γίνει πολλές προσπάθειες καλλιέργειας διάφορων ειδών σε εργαστήρια με διαφορετικές διαδικασίες (Hinegardner, 1969: Fridberger *et al.*, 1979: Cellario & Fenaux, 1990).

Καλλιέργεια αχινών έχει πραγματοποιηθεί με συλλογή φυσικών δειγμάτων ως γεννήτορες και χρησιμοποιήθηκαν για εκτροφή σε εργαστήριο (Fernandez & Caltagirone, 1994: Fernandez, 1996), σε χωμάτινες δεξαμενές (Le Gall & Bucaille, 1989: Le Gall, 1990: Fernandez, 1996) ακόμη και σε πολυκαλλιέργεια μαζί με ψάρια

(Kelly *et al.*, 1998) και οι οποίες ήταν επιτυχημένες. Επίσης έχει επιτευχθεί επιτυχημένη τεχνητή γονιμοποίηση σε εργαστήριο από τον Grosjean (2001).

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΘΙΑΓΕ (2005). Ενδιάμεση Τεχνική Έκθεση Προόδου. Ερευνητική μελέτη των ειδών *P. nobilis*, *M. sabatieri* και *P. lividus* από τη θαλάσσια περιοχή της Περιφέρειας Ν. Αιγαίου σε πιλοτική βάση. Περιφερειακό Επιχειρησιακό Πρόγραμμα Ν. Αιγαίου (2000-2006).

Οικονομίδης Ν. (2003). Μελέτη των φυσικών αποθεμάτων του αχινού *Paracentrotus lividus* L. στον κόλπο της Καβάλας. Πρακτική Άσκηση. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας.

Rancucci-Παπαδοπούλου Μ.Α. (1996). Οικολογία και εξάπλωση των εχινοδέρμων της Ελλάδας. Διερεύνηση του φαινόμενου νανισμού του Εχινοειδούς *Paracentrotus lividus* (Lamarck) ως οικολογικής προσαρμογής. Διδακτορική διατριβή. Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας ζωολογίας- Θαλάσσιας Βιολογίας.

Λαζαρίδου-Δημητριάδου Μ. (1992). Γενική Ζωολογία, Εκδόσεις ΓΙΑΧΟΥΔΗ.

Ζούρος Α. και συνεργάτες (1995). Εξελικτική Βιολογία (του Douglas J. Futuyma), Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.

ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Addison J. A. & Hart M. W. (2003). Analysis of population genetic structure of the green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*) using microsatellites. *Marine Biology* 144: 243-251.

Andrew N. L. & Underwood A.J. (1993). Density-dependent foraging in the sea urchin *Centrostephanus rodgersii* on shallow subtidal reefs in New South Wales (Australia). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 99: 89-98.

Arndt A., Marquez C., Lambert Ph. & Smith M.J. (1996). Molecular Phylogeny of Eastern Pacific Sea Cucumber (Echinodermata: Holothuroidea) based on Mitochondrial DNA Sequence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 6 (3): 425–437.

Arnold D.C. (1976). Local denudation of the sublittoral fringe by the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* (O.F.Muller). *Can. Naturalist*, 98: 186-187.

Awise J.C. (1994). *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall, New York.

Azzolina J.F. (1987). Evolution long terme des populations de l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* dans la baie de Port-Cros (Var, France). *In: Colloque International sur Paracentrotus lividus et les Oursins Comestibles* (ed. Boudouresque CF). GIS Posidonie Publ, Marseille.

Barnes D.K. & Crook A.C. (2001). Seasonal variation in the covering behaviour of the echinoid *Paracentrotus lividus*. *Marine Ecology*, 22 (3): 231-239.

Boudouresque C.F. (1980). The decline of a population of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the bay of Port-Cros (Var, France). *Travaux Scientifiques du Parc National du Port-Cros*, 6: 242–251.

Breen P.A. & Mann K.H. (1976). Destructive grazing of kelp by sea urchins in Eastern Canada. *J. Fish Res. Bd. Can.*, 33: 1278-1283.

Burton S.R. (2003). Patterns of Recruitment in Red Sea Urchins: A Population Genetics Approach. California Sea Grant College Program. Research Completion Reports, University of California, San Diego.

Byrne M. (1990). Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and sheltered subtidal habitat on the west coast of Ireland. *Marine Biology*, 104: 275–289.

Camp D.K., Cobb S.P & Van Breedveld (1973). Overgrazing of sea grasses by a regular sea urchin, *Lytechinus variegates*. *Bio Science*, 23: 37-38.

Carvalho G. R. & T. J. Pitcher, 1995. *Molecular Genetics in Fisheries*. Chapman and Hall, London.

Carvalho G. R. & Hauser L. (1998). Advances in the molecular analysis of fish population structure. *Ital. J. Zool.*, 65: 21–33.

Cellario, Ch. & L. Fenaux, 1990. *Paracentrotus lividus* (Lamarck) in culture (larval and benthic phases): Parameters of growth observed during two years following metamorphosis. *Aquaculture*, 84:173-188.

Cowen R.K., Hare J.A. & Fahay M.P. (1993). Beyond hydrography: can physical processes explain larva fish assemblages within the Middle Atlantic Bight? *Bull. Mar. Sci.*, 53: 567–587.

Dafni J. (1980). Abnormal growth patterns in the sea urchin *Tripneustes gratilla* under pollution. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 47: 259-279.

Debenham P. (1997). Molecular approaches to assessing red sea urchin (*Strongylocentrotus franciscianus*) populations: Implications of sequence variation for evolution and population genetics of the species. Unpublished thesis, University of California, Santa Barbara.

Delmas Ph. & Regis M.B. (1984). Influence d' une pollution complexe a dominante domestique sur les populations de l' echinoide comestible *Paracentrotus lividus* (Lamarck). *Vie Marine*, 6: 63-72.

Duran S., Palacin C., Becerro C, Turon X. & Giribet G. (2004). Genetic diversity and population structure of the commercially harvested sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata, Echinoidea). *Molecular Ecology*, 13: 3317-3328.

Ebeling A., Laur D. & Rowley (1985). Severe storm disturbances and reversal of community structure in a southern California kelp forest. *Mar. Biol.*, 84: 287-294.

Ebert T.A. (1998). An analysis of the importance of Allee effects in management of the red sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus*. In: R. Mooi & M. Telford (eds). *Echinoderms: San Francisco*. Balkema, Rotterdam, pp. 619-627.

Ebling F.J., Hawkins A.D., Kitching J.A, Muntz L. & Pratt V.M. (1966). The ecology of Ough Ine. XVI. Predation and diurnal migration in the *Paracentrotus community*. *J. Animal Ecology.*, 35: 559-566.

Edmands S., Moberg P.E. & Burton R. S. (1996). Allozyme and mitochondrial DNA evidence of population subdivision in the purple sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *Mar. Biol.*, 126: 443–450.

Estes J.A. & Duggins D.O. (1995). Sea otters and kelp forests in Alaska: generality and variation in a community ecology paradigm. *Ecol. Monogr.*, 65: 75–100.

Exadactylos A. (1997). Population Genetics of the Dover sole, *Solea solea L.*. Linnaeus, 1758. Teleostei: Soleidae. Ph.D. Thesis. University of Liverpool, School of Biological Sciences, Port Erin Marine Lab., UK.

Excoffier L., Smouse P. & Quattro J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.

Ferguson A., 1994. Molecular genetics and fisheries: Current and future perspectives. *Rev. Fish Biol. Fish.* 4: 389–392.

Fernandez C. & A. Caltagirone, 1994. Growth rate of adult sea urchins, *Paracentrotus lividus* in a lagoon environment: the effect of different diet types. In: B. David, A. Guille, J.-P. Féral & M. Roux (eds.). *Echinoderms through Time*. Balkema, Rotterdam. Pp. 655-660.

Fernandez C., 1996. Croissance et nutrition de *Paracentrotus lividus* dans le cadre d'un projet aquacole avec alimentation artificielle. PhD Thesis, Université de Corse, France.

Frantzis A., Berthon J.F. & Maggiore F. (1988). Relation trophique entre les oursins *Arbacia lixula* et *Paracentrotus lividus* (Echinoidea regularia) et le phytobenthos infralittoral super.ciel de la baie de Port-Cros (Var, France). *Sci. Rep. Port. Cros. Natl. Park*, 14: 81–140.

Frantzis A. (1992). Etude experimentale des niveaux de consommation et d' utilization des macrophytes et des detritus derives par deux invertébres benthiques: *Paracentrotus lividus* (Echinoidea, Regularia) et *Abra ovata* (Bivalve, Depositivore). These Doct. 3eme cycle Oceanogr. Biol. Univ. Aix-Marseille II, pp. 308-319.

Fridberger A., T. Fridberger & L.-G. Lundin, 1979. Cultivation of sea urchins of five different species under strict artificial conditions. *Zoon*, 7:149-151.

Fuji A. (1962). Studies on the biology of the sea urchin. Food consumption of *Strongylocentrotus intermedius*. *Jap. J. Ecol.*, 12: 181-186.

Fuji A. (1967). Ecological studies on the growth and food consumption of Japanese common littoral sea urchin, *Strongylocentrotus intermedius*. Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 15: 83-160.

Guidetti P., Terlizzi A. & Boero F. (2004). Effects of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus* fishery along the Apulian rocky coasts (SE Italy, Mediterranean Sea). Fish. Res., 66: 278–297.

Greenwood P.J. (1980). Growth, respiration and tentative energy budgets for two populations of the sea urchin *Parechinus angulosus*. Est. Coast. Mar. Scie., 10: 347-367.

Grosjean Ph., Spirlet C., Gosselin P., Vaitilingon D. & Jangoux M. (1998). Land-based closed-cycle echinoculture of *Paracentrotus lividus*: a long-term experiment at a pilot scale. J. Shellfish Res., 17(5): 1523-1531.

Grosjean Ph. (2001). Growth model of the reared sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). Thesis of Doctor in Agronomic Sciences and Biological Engineering. Universite Libre de Bruxelles.

Hagen N.T. (1983). Destructive grazing of kelp beds by sea urchins in Vestfjorden northern Norway. Sarsia, 68:177-190.

Hagen N.T. (1992). Macroparasitic epizootic disease: a potential mechanism for the termination of sea urchin outbreaks in northern Norway. Mar. Biol., 114: 469–478.

Hare J.A. & Cowen R. K. (1996). Transport mechanisms of larval and pelagic juvenile bluefish (*Pomatomis saltatrix*) from South Atlantic Bight spawning grounds to Middle Atlantic Bight nursery habitats. Limnol. Oceanogr., 41: 1264–1280.

Harmelin J.G., Bouchon C. & Hone J.C. (1981). Impact de pollution sur la distribution de échinodermes des substrats durs en Provence (mediterranee Nordoccidentale). *Tethys*, 10 (1): 13-36.

Hart M.W., Scheibling R.E. (1988). Heat waves, baby booms and the destruction of kelp beds by sea urchins. *Mar. Biol.*, 99:167–176.

Hedgecock D. (1986). Is gene flow from pelagic larval dispersal important in the adaptation and evolution of marine invertebrates? *Bull. Mar. Sci.*, 39: 550–564.

Hereu B., Zabala M., Linares C. & Sala E. (2004). Temporal and spatial variability in settlement of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the NW Mediterranean. *Mar. Biol.*, 144: 1011–1018.

Hinegardner R.T., 1969. Growth and development of the laboratory cultured sea urchin. *Biol. Bull.*, 137:465-475.

Jangoux M. (1982). Excretion. *In: Echinoderm nutrition*, M. Jangoux & J.M. Lawrence (eds.), A.A. Balkema Publ., Rotterdam: 437-445.

Karlson R. (1978). Predation and space utilization pattern in a marine epifaunal community. *J. exp. Mar. Biol. Ecol.*, 31: 225-239.

Keesing J.K. & Hall K.C. (1998). Review of the status of world sea urchin fisheries points to opportunities for aquaculture. *J. Shellfish Res.*, 17 (5): 1597-1604.

Kelly M.S., J.D. McKenzie & C.C. Brodie (1998). Sea urchins in polyculture: The way to enhanced gonad growth? *In: R. Mooi & M. Telford (eds). Echinoderms: San Francisco. Balkema, Rotterdam. Pp. 707-711.*

Kelly M.S., Owen P.V. & Pantazis P. (2001). The commercial potential of the common sea urchin *Echinus esculentus* from the West coast of Scotland. *In: Burnell, G.M., editor ' Coastal shellfish-a sustainable resource'. Hydrobiologia*, 465: 85-94.

Kempf M. (1962). Recherches d' ecologie compare sur *Paracentrotus lividus* et *Arbacia lixula*. Rec. Trav. Sta. mar. Endoume, 25 (39): 47-116.

Kitching J.A. & Ebling F.J. (1961). The ecology of Lough Ine. The control of algae by *Paracentrotus lividus* (Echinoidea). J. Animal Ecology, 30: 373-383.

Kitching J.A. & Ebling F.J. (1967). Ecological studies at Lough Ine. Adv. Ecol. Res., 4: 197-291.

Lawrence J.M. (1975). On the relationships between marine plants and sea urchins. Oceanogr. Mar. Biol., 36: 321-326.

Lawrence J.M. (1978). Numbers of individuals and biomass of echinoderms inhabiting the heads of *Porites lutea* on the reef flat at Enewetak. Amer. Zool., 18: 666-672.

Lawrence J.M. (1982). Digestion. In: Echinoderm nutrition, M. Jangoux & J.M. Lawrence (eds.), A.A. Balkema Publ., Rotterdam: 283-316.

Le Gall P. (1987). La peche des oursins en Bretagne. In: Colloque International Sur *Paracentrotus Lividus* et les Oursins Comestibles (ed. Boudouresque CF). GIS Posidonie Publ, Marseille.

Le Gall P., 1990. Culture of echinoderms, In: G. Barnabé (ed.). Aquaculture, Vol. 1. Ellis Horwood, New York. Pp. 443-462.

Le Gall P. & D. Bucaille, 1989. Sea urchins production by inland farming. In: N. De Pauw, E. Jaspers, H. Ackefors & N. Wilkins (eds.). Aquaculture-A biotechnology in progress. European Aquaculture Society, Bredene, Belgium. Pp. 53-59.

Leighton D.L. (1971). Grazing activities of benthic invertebrates in southern California kelp beds. Nova Hedwigia (Suppl.), 32: 421-453.

Lessios H.A., Kessing B.D & Pearse J.S. (2001). Population Structure and Speciation in tropical seas: global phylogeography of the sea urchin *Diadema*. *Evolution*, 55 (5): 955–975.

Lessios H.A., Kane J. & Robertson D.R. (2003). Phylogeography of the pantropical sea urchin *Tripneustes*: contrasting patterns of population structure between oceans. *Evolution*, 57 (9): 2026–2036.

Levitan D.R. (1989). Density-dependent size regulation in *Diadem antillarum*: effects on fecundity and survivorship. *Ecology*, 70 (5): 1414-1424.

Levitan D.R. & Grosberg R.K. (1993). The analysis of paternity and maternity in the marine hydrozoan *Hydractinia symbiolongicarpus* using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Mol. Ecol.*, 2: 315–326.

Levitan D.R. (2002). The relationship between conspecific fertilization success and reproductive isolation among three congeneric sea urchins. *Evolution*, 56 (8): 1599–1609.

Lubchenco J. & Gaines S.D. (1981). A unified approach to marine plant-herbivore interaction. Populations and communities. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 12: 405-437.

Manchenko G.P. & Yakovlev S.N. (2000). Genetic divergence between three sea urchin species of the genus *Strongylocentrotus* from the Sea of Japan. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29: 31-44.

Mann K.H. (1977). Destruction of kelp-beds by sea urchins: a cyclical phenomenon or irreversible degradation? *Helgol. Wiss Meeresunt.*, 30: 455-467.

Marcus N.H. (1977). Genetic variation within and between geographically separated populations of the sea urchin *Arabacea punctulata*. *Biol. Bull.*, 153: 560–570.

Matsuoka N. (1989). Biochemical systematics of four sea urchin species of the family *Diadematidae* from Japanese waters. *Biochem. System. Ecol.*, 17 (5): 423-429.

Matsuoka N. & Nakamura Y. (1990). Enzyme variation within the population of the sea urchin *Glyptocidaris crenularis* from Japanese waters. *Comp. Biochem. Physiol.*, 96B: 335–338.

Matsuoka N. & Nakamura Y. (1991). Genetic distance and protein polymorphism in two sea urchin species of the order *Arabacioidea* and implications for their evolution. *Comp. Biochem. Physiol.*, 98B: 21–27.

Matsuoka N. (1993). Biochemical Systematics of Echinoderms. *Biochemical Systematics and Ecology*, 21 (1): 93-94.

McCartney M.A., Keller G. & Lessios H.A. (2000). Dispersal barriers in tropical oceans and speciation in Atlantic and eastern Pacific sea urchins of the genus *Echinometra*. *Molecular Ecology*, 9: 1391–1400.

McClanahan T.R. & Shafir S.H. (1990). Causes and consequences of sea urchin abundance and diversity in Kenyan coral reef lagoons. *Oecologia*, 83: 362–370.

McCormack G.P., Powell R. & Keegan B.F. (2000). Comparative Analysis of Two Populations of the Brittle Star *Amphiura filiformis* (Echinodermata: Ophiuroidea) with Different Life History Strategies Using RAPD Markers. *Mar. Biotechnol.*, 2: 100–106.

Metz C.E., Gomez-Gutierrez G. & Vacquier D.V. (1998). Mitochondrial DNA and Bindin Gene Sequence Evolution Among Allopatric Species of the Sea Urchin Genus *Arbacia*. *Mol. Biol. Evol.*, 15 (2): 185–195.

Miller R.G. & Mann K.H. (1973). Ecological energetics of the seaweed zone in a marine bay on the Atlantic coast of Canada. Energy transformation by sea urchins. *Mar. Biol.*, 18: 99-114.

Miller K.M., Kaukinen K.H., Laberee K., Supernault K.J. (2004). Microsatellite loci from red sea urchins (*Strongylocentrotus franciscanus*). *Molecular Ecology Notes*, 4: 722–724.

Millott N. (1956). The covering reaction of sea urchins. A preliminary account in the tropical echinoid *Lytechinus variegates*, and its relation to light. *J. Exp.Biol.*, 3: 508-523.

Millot N. (1975). The photosensitivity of echinoids. *Adv. Mar. Biol.*, 13: 1-52.

Minokawa T., Amemiya S. & Matsuoka N. (1992). Genetic variation and differentiation in two local Japanese populations of the sea urchin *Asthenosoma ijimai*: electrophoretic analysis of isozymes. *Zool. Sci.*, 9: 1299-1305.

Mladenov P.V., Allibone R. M. & Wallis G. P. (1997). Genetic differentiation in the New Zealand sea urchin *Evechinus chloroticus* (Echinodermata: Echinoidea). *New Zealand J. mar. Freshwat. Res.*, 31: 261–269.

Monteiro-Marques V. (1984). Effects of *Arbacia lixula* (Echinoidea) on the algal communities of Sao Miguel and Graciosa Islands. *Arch. Mus. Bocage, Ser.B.*, 2(13): 103-108.

Morato T., Afonso P., Lourinho P., Barreiros J.P., Santis R.S., Nash R.D.M. (2001). Length-weight relationships for 21 coastal fish species of the Azores, north-eastern Atlantic. *Fisheries Research* 50:297-302.

Moore H.B., Jutare T., Bauer J.C. & Jones J.A. (1963). The biology of *Lytechinus variegates*. *Bull. Mar. Sci.*, 13: 23-53.

Moore H.B. & McPherson B.F. (1965). A contribution to the study of productivity of the urchins *Trpneustes esculentus* and *Lytechinus variegates*. Bull. Mar. Sci., 15 (4): 855-871.

Mortensen T. (1943). A Monograph of the Echinoidea. Camarodonta. Reitzel Publ., Copenhagen.

Nedelec H., Verlaque M. & Diapoulis A. (1981). Preliminary data on Posidonia consumption by *Paracentrotus lividus* in Corsica (France). Rapp. Comm. Int. Mer. Medit., 27 (2): 203-204.

Nei M. (1972). Genetic distance between populations. Am. Nat., 106: 283-292.

Neigel J.E. (1997). A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. Annual Reviews of Ecology and Systematics, 28: 105-128.

Nichols D. & Barker M.F. (1984). A comparative study of reproductive and nutritional periodicities in two populations of *Asterias rubens* from the English channel. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 64: 471-484.

Niell F.X. & Pastor R. (1973). Relaciones troficas de *Paracentrotus lividus* en la zona litoral. Invest. Pesc., 37: 1-7.

Pancucci M.A., Panayotidis P. & Zenetos A. (1993). Morphological changes in sea-urchin populations as a response to environmental stress. Quantified Phenotypic Responses in Morphology and physiology, pp:247-257.

Pancucci- Papadopoulou M.A., Sara M., Piazza M., Randazzo M. & Cognetti G. (1996). Nanismo di *Paracentrotus lividus* del Golfo Amvrakikos: Analisi mediante RAPD fingerprinting. Recupero a gestiona della fascia rostiara Roma, 1996: 97-105.

Pantazis A. P. (2006). Carotenoid profiles of two echinoids from central Greece *Psammechinus microtuberculatus* and *Echinus esculentus*. *Journal of World Aquaculture Society*, 37 (1): 1-8.

Park L.K. & Moran P. (1995). Developments in molecular genetic techniques in fisheries. *In: Carvalho, G. R. & T. J. Pitcher (eds), Molecular Genetics in Fisheries.* Chapman and Hall, London: 1–28.

Perrin C., Wing S. R. & Roy M. (2004). Effects of hydrographic barriers on population genetic structure of the sea star *Coscinasterias muricata* (Echinodermata, Asteroidea) in the New Zealand fiords. *Molecular Ecology*, 13: 2183–2195.

Portocali Ph., Iliopoulou-Georgoudaki J., Catsiki V.A. & Papapetropoulou M. (1996). The role of Echinoderms as bioindicators of seawater pollution: A case study from Patraicos and Corinthiacos Gulf, N. Peloponnesus, Greece. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 59: 293-303.

Regis M.B. (1969). Premieres donnees sur la croissance de *Paracentrotus lividus*. *Tethys*, 1 (4): 1049-1056.

Regis M.B (1979a). Particularites microstructurales du squelette de *Paracentrotus lividus* et *Arbacia lixula*: Rapports avec l'ecologie de ces echinoids. *Mar. Biol.*, 54: 373-382.

Regis M.B (1979b). Analyse des fluctuations des indices physiologiques chez deux *Echinoides* (*Paracentrotus lividus* et *Arabacia lixula*) du Golfe de Parseille. *Tethys*, 9 (2): 167-181.

Regis M.B., Peres J.M. & Gras G. (1986). Donnees prelimaires sur l'exploitation de la ressource: *Paracentrotus lividus* dans le quartier maritime de Marseille. *Vie marine*, 7: 41-60.

Rico V., Caltagirone G. & Fernandez C. (1990). Comportement de *Paracentrotus lividus*. Rapp. Comm. int. Mer. Medit., 32 (1): 38-42.

Rigis M.B. (1987). L'oursin comestible *Paracentrotus lividus*, une ressource en danger dans le quartier maritime de Marseille. *In*: Colloque International Sur Paracentrotus Lividus et les Oursins Comestibles (ed. Boudouresque CF). GIS Posidonie Publ, Marseille.

Rogers- Bennett L., Rogers.W.D, Bennett A.W. & Ebert A.T. (2003). Modeling red sea urchin (*Strongylocentrotus franciscanus*) growth using six growth functions. Fish Bull., 101: 614-626.

Sala E., Boudouresque C.F. & Harmelin-Vivien M.L. (1998). Fishing, trophic cascades, and the structure of algal assemblages: evaluation of an old but untested paradigm. Oikos, 82: 425–439.

San Martin G.A. (1987). Comportement alimentaire de *Paracentrotus lividus* dans l'Etang de Thau. *In*: Colloque international sur Paracentrotus lividus et les oursins comestibles, C.F. Boudouresque ed., GIS Posidonie Publ., Marseille: 37-57.

Shears N.T. & Babcock R.C. (2002). Marine reserves demonstrate topdown control of community structure on temperate reefs. Oecologia , 132: 131–142.

Scheibling R.E. (1996). The role of predation in regulating sea urchin populations in eastern Canada. Oceanol. Acta, 19: 421–430.

Scheltema R.S. (1986). On dispersal and planktonic larvae of benthic invertebrates: an eclectic overview and summary of problems. Bull. Mar. Sci., 39: 290–322.

Schneider S., Roessli D. & Excoffier L. (2000). *ARLEQUIN, Version 2.000: A Software for Population Genetics Data Analysis*. University of Geneva, Geneva.

Shunula J.P. & Ndibalema V. (1986). Grazing preferences of *Diadema setosum* and *Heliocidaris erythrogramma* (Echinoderms) on an assortment of marine algae. *Aquatic Bot.*, 25: 91-95.

Stepherd S.A. & Boudouresque C.F. (1979). A preliminary note on the movement of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Trav. Sci. Parc nation.*, 5: 155-158.

Strenger A. & Splechtna H. (1978). On the appearance and feeding of *Echinus melo*. *Lam. Zool. Anz. Jena*, 200 (5-6): 374-378.

Tautz D. & Renz M. (1984). Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res.*, 12: 4127-4138.

Tautz D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.*, 17: 6463-6471.

Tegner M.J. & Dayton P.K. (1981). Population structure, recruitment and mortality of two sea urchins (*Strongylocentrotus franciscanus* and *S. purpuratus*) in kelp forests. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 5: 255-268.

Thorpe J.P., Sole-Cava A.M. & Watts P.C. (2000). Exploited marine invertebrates: genetics and fisheries. *Hydrobiologia*, 420: 165-184.

Thorson G. (1966). Some factors influencing the recruitment and establishment of marine benthic communities. *Nether. J. Sea Res.*, 3 (2): 267-293.

Tortonese E. (1965). Fauna d'Italia. Echinodermata. Ediz. Calderini, Bologna, 422pp.

Torunski H. (1979). Biological erosion and its significance for the morphogenesis of limestone coasts and for nearshore sedimentation (Northern Adriatic). *Senckenbergiana marit.*, 11(3-6): 193-265.

Traer K. (1980). The consumption of *Posidonia oceanica* Delile by echinoids at the Isle of Ischia. *In: Echinoderms: Present and Past*, edited Jangoux, Balkema, Rotterdam, pp. 241-244.

Trudgill S.T., Smart P.L., Friederich H. & Crabtree (1987). Bioerosion of intertidal limestone, Co Clare, Eire-1: *Paracentrotus lividus*. *Mar. Geol.*, 74 (1-2): 85-98.

Utter F. M. (1995). Perspective of molecular genetics and fisheries into the 21st century. *In: Carvalho, G. R. & T. J. I. Pitcher (eds), Molecular Genetics in Fisheries*. Chapman and Hall, London: 105–109.

Verlaque M., 1984. Biology of juveniles of the herbivorous sea urchin *Paracentrotus lividus*: selectivity of grazing and impact on rocky algal communities in Corsica. *Botanica Marina*, XXVII (9):191-201.

Verling E., Crook A. & Barnes D. (2002). Covering behaviour in *Paracentrotus lividus*: is light important? *Marine biology*, 140: 391-396.

Ward R.D. & Andrew J. (1995). Population genetics of the northern Pacific seastar *Asterias amurensis* (Echinodermata: Asteroiidae): Allozyme differentiation among Japanese, Russian, and recently introduced Tasmanian populations. *Marine Biology*, 124: 99-109.

Ward R.D. & Grewe P. M. (1995). Appraisal of molecular genetic techniques in fisheries. *In: Carvalho, R. & T. J. Pitcher (eds), Molecular Genetics in Fisheries*. Chapman and Hall, London: 29–54.

Wares P.J., Gaines S.D. & Cunningham C.W. (2001). A comparative study of asymmetric migration events across a marine biogeographic boundary. *Evolution*, 55 (2): 295–306.

Watts R.J., Johnson M. S. & Black R. (1990). Effects of recruitment on genetic patchiness in the urchin *Echinometra mathaei* in Western Australia. *Mar. Biol.*, 105: 145–151.

Weir B.S. & Cockerham C.C. (1984). Estimating F – Statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.

Weir B.S. (1996). Genetic data analysis II: Methods for discrete Population Data. Sinauer Assoc., Inc., Sunderland, MA, USA.

Williams G.J., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski A.J. & Tingey S.V. (1990). Nucleic DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18 (22): 6531- 6535.

Wright S. (1965). The interpretation of population structure by F- statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19: 395-420.

Wright S. (1969). *Evolution and the Genetics of Populations*, Vol. 2. University of Chicago Press, Chicago.

Wright S. (1978). *Evolution and the Genetics of Populations*, Vol. 4. University of Chicago Press, Chicago.

Zane L, Ostellari L & Maccatrozzo L (2000). Genetic differentiation in a pelagic crustacean (*Meganyctiphanes norvegica*: Euphausiacea) from the North East Atlantic and the Mediterranean Sea. *Marine Biology*, 136, 191–199.

Zar J.H. (1984). *Biostatistical analysis*. Prentice Hall Intern. Publ., New York, 718pp.

Zavodnik D. (1977). Echinodermata of the Island Vir (Adriatic Sea). *Biosistematika*, 3 (1): 69-78.

Zavodnic D. (1987). Synopsis on the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) in the Adriatic Sea. *In: Colloque international sur Paracentrotus*

lividus et les oursins comestibles, C.F. Boudouresque ed., GIS Posidonie Publ.,
Marseille: 221-240.

6. ABSTRACT

In the Mediterranean Sea *Paracentrotus lividus*, is one of the most abundant and widely distributed species of the echinoderms. Sea urchins are undoubtedly one of the most important elements of the hard bottom benthos. *P. lividus* presents low mobility in adult stages. However, they can exhibit moderately high gene flow only when strong ecological or biogeographical barriers to dispersal are absent. The common sea urchin *P. lividus* is also an edible invertebrate of commercial interest. It is a quite well-studied species, especially to the western Mediterranean, where the depletion of its natural populations have lead to intense research effort for the management of the tailing stocks. Contrarily, very few studies have been conducted to the eastern Mediterranean, and even fewer to the area of Dodecanese, in which *P. lividus* is traditionally harvested. This study presents data on the status of *P. lividus* natural stocks in the Aegean Sea.

A total of 208 samples were collected with SCUBA diving along the coastline of Astypalea Island, at a depth ranging from 2 to 10 m. (June 2005 and June 2006). The method of randomly placed frames was applied to estimate population density and spatial dispersion (20 frames of 0.5 x 0.5 m each), since *Paracentrotus lividus* is an epibenthic sessile species, thus permitting *in-situ* counting. Morisita's index (I') was calculated to estimate spatial dispersion and a chi-square test was used to determine the significance of deviation from random distribution. Forty (40) of them mature individuals from Astypalea Island along with 53 from Amvrakikos Gulf, 75 from Pagasitikos Gulf and 40 from Chalkidiki were used in order to genetically determine the species' population structure in Hellenic waters. Genomic DNA was extracted from the gonad of each adult individual using the protocol of with modified procedure. Seven RAPD primer markers produced repeatable results. Eight loci were

used for distance computation between and within populations. Analysis of Molecular Variance (AMOVA) was performed among and within two populations. Total population differentiation value (F_{ST}) was estimated, its overall and pairwise gene flow (N_m) values and also genetic distances.

These results, although preliminary, indicate that *P. lividus* stocks undergo temporal oscillations, probably linked to its reproductive output. The population seems to sustain the pressure of the local fisheries, since it retains overall high density, with no significant reduction on the mean test diameter (unpublished data). The AMOVA permutation design and results table differed significantly ($p < 0.001$) either among or within studied populations, nevertheless $F_{ST} = -0.04$ was quite low. Pairwise F_{ST} values were statistically significant for all populations at all loci. Furthermore, data imply near-panmixia among populations, considering those pairwise F_{ST} values along with the high observed $N_m = 5,64$ migrants per generation, value. In several cases echinoderm species dispersal occurs over very long distances. Populations of *P. lividus* within Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea appear to be panmictic, gene flow occurs over large distances with no evidence of isolation by distance, indicating formidable plasticity to environmental or other pressures.

Keywords: *Paracentrotus lividus*, RAPD-PCR, genetic structure, morphometric measurements, gonadal index.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

Αποτελέσματα του σκοραρίσματος των πηκτών.

Κωδικός Primer	1	2	3	A02	A03		A09	F10
Μπάντες					A	B		
Παγασητικός Κόλπος								
1	1	0	1	0	0	1	1	1
2	1	0	1	1	1	1	1	1
3	1	1	1	1	1	1	1	1
4	1	1	1	0	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	1	0	1
6	1	1	1	1	1	1	1	1
7	0	1	1	1	1	1	1	1
8	1	0	1	1	1	1	1	0
9	1	1	1	1	1	1	1	1
10	1	1	1	1	1	1	1	1
11	1	0	1	0	1	1	1	1
12	0	1	1	1	1	1	1	1
13	1	1	1	0	1	1	1	1
14	1	1	1	1	1	1	1	0
15	0	1	1	1	1	1	1	0
16	0	1	1	1	1	1	1	1
17	1	1	1	1	1	1	1	1
Χαλκιδική								
1	1	0	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1	1	1	1
3	0	1	1	1	1	1	1	1
4	1	1	1	1	1	1	1	1
5	0	1	1	1	1	1	1	1
6	1	1	1	1	1	1	1	1

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

Συχνότητες αλληλομόρφων του πληθυσμού του Παγασητικού κόλπου.

Παγασητικός κόλπος			
No.	Freq.	s.d.	Allele
Alleles for the locus 0:			
1	0.8	0.1	1
2	0.2	0.1	0
Alleles for the locus 1:			
1	1.0	0.0	1
Alleles for the locus 2:			
1	1.0	0.0	1
Alleles for the locus 3:			
1	0.8	0.1	1
2	0.2	0.1	0
Alleles for the locus 4:			
1	0.2	0.1	0
2	0.8	0.1	1
Alleles for the locus 5:			
1	0.1	0.1	0
2	0.9	0.1	1
Alleles for the locus 6:			
1	0.9	0.1	1
2	0.1	0.1	0
Alleles for the locus 7:			
1	0.2	0.1	0
2	0.8	0.1	1

Συχνότητες αλληλομόρφων του πληθυσμού της Χαλκιδικής.

Χαλκιδική			
No.	Freq.	s.d.	Allele
Alleles for the locus 0:			
1	1.0	0.0	1
Alleles for the locus 1:			
1	1.0	0.0	1
Alleles for the locus 2:			
1	1.0	0.0	1
Alleles for the locus 3:			
1	0.7	0.2	1
2	0.3	0.2	0
Alleles for the locus 4:			
1	1.0	0.0	1
Alleles for the locus 5:			
1	1.0	0.0	1
Alleles for the locus 6:			
1	1.0	0.0	1
Alleles for the locus 7:			
1	0.2	0.2	0
2	0.8	0.2	1

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

Κείμενο δημοσίευσης στο συνέδριο «38th CIESM Congress», 9-13 Απριλίου 2007, Κωνσταντινούπολη, Τουρκία.

Density dispersion and genetic structure of *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) natural stocks in the south Aegean Sea.

¹Antoniadou C., ²Vafidis D., ¹Voultsiadou E., ¹Chintiroglou C., ²Papageorgiou V., ²Gkafas G., ²Exadactylos A.

¹ Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki, Hellas. e-mail: chintigl@bio.auth.gr

² Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, Nea Ionia, Magnesia's, Hellas. e-mail: dvafidis@apae.uth.gr

ABSTRACT

The edible sea urchin's (*Paracentrotus lividus*) spatial variation in population density and dispersion patterns was studied over a three-year period in a south Aegean island. Sampling was carried out with a non-destructive method, the randomly placed frames technique combined with *in-situ* registration of data. Mean population density was 13 ± 3.86 individuals/m², while the pattern of dispersion was random. The species' genetic population structure was also determined, using RAPD fingerprinting. Populations of *P. lividus* in Hellenic waters appear to be panmictic and should be treated as a mixture stock over a large geographic scale, indicating that *P. lividus* stocks seem to sustain exploitation.

Keywords: population density, dispersion, sea urchin, natural stocks, genetic structure.

INTRODUCTION

In the Mediterranean Sea *Paracentrotus lividus*, is one of the most abundant and widely distributed species of the echinoderms. Sea urchins are undoubtedly one of the most important elements of the hard bottom benthos. *P. lividus* presents low mobility in adult stages. However, they can exhibit moderately high gene flow only when strong ecological or biogeographical barriers to dispersal are absent [1]. The common sea urchin *P. lividus* is also an edible invertebrate of commercial interest. It is a quite well-studied species, especially to the western Mediterranean, where the depletion of its natural populations have lead to intense research effort for the management of the tailing stocks [2], [3]. Contrarily, very few studies have been conducted to the eastern Mediterranean, and even fewer to the area of Dodecanese, in which *P. lividus* is traditionally harvested. This study presents data on the status of *P. lividus* natural stocks in the Aegean Sea.

MATERIALS AND METHODS

A total of samples were collected with SCUBA diving at three sites (A: 36°34'652''N 26°25'231''E; B: 36°34'618''N 26°27'251''E; C: 36°36'702''N 26°23'481''E) along the coastline of Astypalea Island, at a depth ranging from 2 to 10 m. Overall eight samplings were accomplished (August 2003, November 2003, March 2004, October 2004, December 2004, June 2005, September 2005 and June 2006). The method of randomly placed frames was applied to estimate population density and spatial dispersion (20 frames of 0.5 x 0.5 m each), since *Paracentrotus lividus* is an

epibenthic sessile species, thus permitting *in-situ* counting [4]. Morisita's index (I') was calculated to estimate spatial dispersion and a chi-square test was used to determine the significance of deviation from random distribution [4]. Forty (40) of them mature individuals from Astypalea Island along with 53 from Amvrakikos Gulf, 75 from Pagasitikos Gulf and 40 from Chalkidiki were used in order to genetically determine the species' population structure in Hellenic waters. Genomic DNA was extracted from the gonad of each adult individual using the protocol of [5] with modified procedure. Seven RAPD primer markers produced repeatable results. Eight loci were used for distance computation between and within populations. Analysis of Molecular Variance (AMOVA) was performed among and within populations. Total population differentiation value (F_{ST}) was estimated and subsequently its overall and pairwise gene flow (N_m) values also. A UPGMA tree of [6] genetic distance was produced. This kind of analysis showed a better fit between geographical and genetic distances relying on goodness of fit statistics.

RESULTS AND DISCUSSION

Mean population density, over all sites and samplings, was 13 ± 3.86 individuals/m². At each site a decrease in population density was evident at least twice during the study period (Figure 1). Two-way ANOVA showed significant spatial differences ($F=9.37$ $p<0.05$) on mean population density of *Paracentrotus lividus*, as well as temporal ones ($F=19.98$ $p<0.05$). The spatial oscillations are tabulated to reduced density of *P. lividus* at station A, while the temporal ones were more complicated. The abundance of sea urchins increased, gained maximum values in November 2003 and remain at high levels till March 2004; thereafter declined up to September 2005 where the population started to upturn, reaching again high density in June 2006. *P. lividus* individuals were randomly dispersed in most cases (I' ranged from 1.05 to 1.32). These results, although preliminary, indicate that *P. lividus* stocks undergo temporal oscillations, probably linked to its reproductive output [7]. The population seems to sustain the pressure of the local fisheries, since it retains overall high density, with no significant reduction on the mean test diameter (unpublished data).

The AMOVA permutation design and results table differed significantly ($p<0.001$) either among or within studied populations, nevertheless $F_{ST}=0.077$ was quite low. Pairwise F_{ST} values were statistically significant for all populations at all loci. Furthermore, data imply near-panmixia among populations, considering those pairwise F_{ST} values along with the high observed $N_m=13.952$ migrants per generation, value. One could observe a rather neighbour clustering pattern even between the Aegean and Ionian Seas populations (Figure 2). In several cases echinoderm species dispersal occurs over very long distances [8]. Populations of *P. lividus* within Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea appear to be panmictic, gene flow occurs over large distances with no evidence of isolation by distance, indicating formidable plasticity to environmental or other pressures [1].

REFERENCES

1. Duran S, Palacin C, Becerro MA, Turon X, Giribet G. 2004. Genetic diversity and population structure of the commercially harvested sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata, Echinoidea). *Molecular Ecology* 13: 3317–3328.
2. Turon X, Giribet G, López S, Palacin C. 1995. Growth and population structure of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 122: 193-204.

3. Guidetti P, Terlizzi A, Boero F. 2004. Effects of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus* fishery along the Apulian rocky coast (SE Italy, Mediterranean Sea). *Fish. Res.*, 66: 287-297.
4. Antoniadou C, Voultziadou E, Chintiroglou C. 2006. Sublittoral megabenthos along cliffs of different profile (Aegean Sea, Eastern Mediterranean). *Belg. J. Zool.*, 136: 69-79.
5. Levitan DR. 2002. The relationship between conspecific fertilization success and reproductive isolation among three congeneric sea urchins. *Evolution*, 56 (8): 1599–1609.
6. Slatkin, M. (1985). Gene flow in natural populations. *A. Rev. Ecol. Syst.* 16: 393-430.
7. López S, Turon X, Montero E, Palacín C, Duarte C, Tarjuelo I. 1998. Larval abundance, recruitment and early mortality in *Paracentrotus lividus* (Echinoidea). Interannual variability and plankton-benthos coupling. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 172: 239-251.
8. Lessios, HA, Kessing BD, Robertson DR. 1998. Massive gene flow across the world's most potent marine biogeographical barrier. *Proc. r. Soc. Lond. B* 265: 583–588.

CAPTIONS

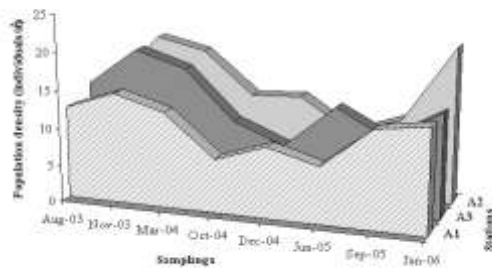


Figure 1. Temporal oscillations of *Paracentrotus lividus* population density at the three sampling sites in Astypalea Island.

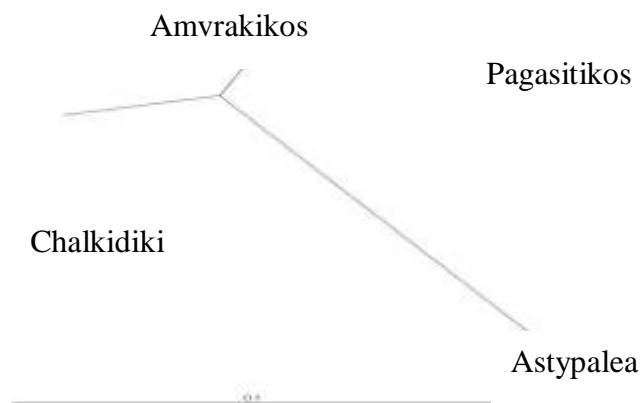


Figure 2. UPGMA cluster analysis using Slatkin's (1985) genetic distance between the studied populations of *Paracentrotus lividus*.