

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

«ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ»

«Σκελετικές δυσμορφίες στην τσιπούρα»

Μπουρσιάκη Βάια

ΒΟΛΟΣ 2016

«Σκελετικές δυσμορφίες στην τσιπούρα»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1) **Παναγιώτης Βερίλλης**, Επίκουρος Καθηγητής, Μικροσκοπία και Ανάλυση Εικόνας στην Ιστολογία και στους Υδρόβιους Οργανισμούς, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Επιβλέπων**.

2) **Έλενα Μεντέ**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Φυσιολογία Θρέψης Υδρόβιων Ζωϊκών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**

3) **Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης**, Επίκουρος Καθηγητής, Διατροφή Υδρόβιων Ζωϊκών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**

Στον αδερφό μου

Στάθη

Και στους γονείς μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κ. Π. Βερίλλη για την πολύτιμη βοήθειά του και τη διαρκή υποστήριξή του, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και τα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου, αποτελούμενη από τους κ. Ε. Μεντέ και κ. Ι. Καραπαναγιωτίδη για τις χρήσιμες συμβουλές τους και την καθοδήγησή τους καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η τσιπούρα αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα εκτρεφόμενα είδη της Μεσογείου. Ωστόσο οι σκελετικές παραμορφώσεις και κυρίως η σκελετική δυσμορφία της λόρδωσης επιφέρουν αρνητικές επιπτώσεις στην παραγωγή καθώς επηρεάζουν την ανάπτυξη και την επιβίωση του ψαριού. Στην παρούσα εργασία συλλέχθηκαν από υδατοκαλλιέργεια 25 άτομα τσιπούρας και χωρίστηκαν σε δύο ομάδες (η πρώτη ομάδα περιελάμβανε άτομα χωρίς σκελετικές παραμορφώσεις, ενώ η δεύτερη ομάδα περιελάμβανε άτομα με την σκελετική δυσμορφία της λόρδωσης). Μετρήθηκε το ολικό μήκος και το βάρος όλων των ατόμων και κατόπιν ακτινογραφήθηκαν. Η σπονδυλική στήλη όλων των ατόμων χωρίστηκε σε τρεις περιοχές: την αυχενική, την ραχιαία και την ουραία περιοχή. Έπειτα, μετρήθηκε και συγκρίθηκε το μήκος των σπονδύλων μεταξύ της περιοχής της σπονδυλικής στήλης ανάμεσα στα φυσιολογικά και στα σκελετικά δύσμορφα άτομα. Οι διαφορές μεταξύ της απόστασης των σπονδύλων δεν ήταν σημαντικές ανάμεσα στις 2 ομάδες ατόμων. Επιπλέον, μετρήθηκε και συγκρίθηκε η αμαύρωση των σπονδύλων μεταξύ της περιοχής της σπονδυλικής στήλης ανάμεσα στα φυσιολογικά και στα σκελετικά δύσμορφα άτομα. Η διαφορά της αμαύρωσης των σπονδύλων δεν ήταν σημαντική ανάμεσα στις 2 ομάδες ατόμων στην αυχενική και στην ουραία περιοχή, ενώ στην ραχιαία περιοχή η διαφορά της αμαύρωσης ήταν σημαντική ανάμεσα στις 2 ομάδες ατόμων.

Λέξεις κλειδιά: τσιπούρα, σκελετικές δυσμορφίες, λόρδωση, αμαύρωση σπονδύλων

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	9
1.1. Γενικά χαρακτηριστικά του είδους.....	9
1.2. Μέθοδοι εκτροφής τσιπούρας.....	10
1.3 Οστίτης ιστός και σπονδυλική στήλη τσιπούρας.....	12
1.4 Σκελετική δυσμορφία λόρδωσης.....	13
1.5 Παράγοντες στους οποίους οφείλεται η λόρδωση.....	15
1.6 Σκοπός.....	16
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	17
2.1 Συλλογή και μέτρηση δειγμάτων.....	17
2.2 Μέθοδοι στατιστικής ανάλυσης.....	18
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	21
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	31
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	41
6. ABSTRACT.....	50

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. 1 Γενικά χαρακτηριστικά του είδους

Η τσιπούρα *Sparus aurata* (Linnaeus 1758) ανήκει στην οικογένεια των Sparidae, στην τάξη των Perciformes, στην κλάση των οστειχθύων και αποτελεί ένα από τα κυριότερα εκτρεφόμενα είδη της Μεσογειακής ιχθυοκαλλιέργειας, καθώς εγκλιματίζεται εύκολα σε συνθήκες αιχμαλωσίας, αναπτύσσεται με γρήγορους ρυθμούς και προσαρμόζεται σε πιθανές μεταβολές των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού (Apostolopoulos & Kladatos 1986). Το μέσο μήκος της ανέρχεται στα 70 cm ενώ το μέσο βάρος της στα 17,2 kg (Fishbase 2015).

Μορφολογικά διαθέτει ένα υψηλό και πλευρικά συμπιεσμένο σώμα με την ράχη να είναι αρκετά υψηλή και καμπυλωτή, έχει ένα διχλωτό ουραίο πτερύγιο και φέρει μεγάλα κτενοειδή λέπια. Φέρει επίσης ένα μοναδικό ραχιαίο πτερύγιο το οποίο αποτελείται από 11 σκληρές και 13 μαλακές ακτίνες. Χαρακτηριστικό επίσης του είδους είναι και η χρυσή γραμμή ανάμεσα στα μάτια καθώς και η μαύρη κηλίδα στο τέλος του βραχυοκαλλύματος, (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012).

Το στόμα τους είναι προεκτεινόμενο με πολυάριθμα δόντια τα οποία βοηθούν στην σύλληψη και σύνθλιψη των οστράκων. Ιδιαίτερη δομή έχει το έντερο τους καθώς είναι ευθύ και κοντό και ανθεκτικό σε πιθανά σχισίματα που προκαλούνται από τα κελύφη, (Χώτος & Ρογδάκης 2010). Επιπλέον, είναι είδος πελαγικό, ευρύαλο και ευρύθερμο που ζει σε βάθος έως 150 μέτρα κοντά στα λιβάδια της *Pocidonia oceanica* και σε αμμώδης πυθμένες ενώ σπάνια σχηματίζει κοπάδια. Οι τσιπούρες είναι σαρκοφάγα είδη με τα ενήλικα άτομα να τρέφονται κυρίως με μαλάκια (γαστερόποδα, δίθυρα κ.ά.) και καρκινοειδή ενώ τα ιχθύδια με μικρά καρκινοειδή, σκόληκες κ.ά. (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012). Παρουσιάζουν πρωτανδρικό

ερμαφροδιτισμό και η αναστροφή του φύλου πραγματοποιείται μεταξύ του 2^{ου} και του 3^{ου} έτους..

Η παγκόσμια παραγωγή της τσιπούρας για το έτος 2013 ανήλθε στους 173.062 τόνους (FAO 2015). Συγκεκριμένα, στην Ελλάδα το έτος 2012 η παραγωγή της τσιπούρας ανήλθε στους 53.459,2 τόνους, το 2013 ανήλθε στους 55.751,3 ενώ το 2014 ήταν 50.688,2 παρουσιάζοντας μείωση 9,1% (www.statistics.gr).

1.2 Μέθοδοι εκτροφής τσιπούρας

Η τσιπούρα μπορεί να καλλιεργηθεί με διάφορους τρόπους: σε παράκτιες λίμνες και λιμνοθάλασσες, με εκτατικές και ημι-εντατικές μεθόδους ή σε χερσαίες εγκαταστάσεις και σε θαλάσσιους κλωβούς με συστήματα εντατικής εκτροφής. Αυτές οι μέθοδοι είναι πολύ διαφορετικές, ιδίως όσον αφορά την ιχθυοπυκνότητα και τον τρόπο παροχής της τροφής.

Εκτατικό σύστημα εκτροφής

Το σύστημα αυτό βασίζεται στην φυσική μετανάστευση της τσιπούρας σε λιμνοθάλασσες με σκοπό την εξασφάλιση της εκτροφής των άγριων πληθυσμών. Επειδή όμως η προέλευση των ιχθυδίων είναι επικίνδυνη καθώς μπορεί να εγκυμονεί κινδύνους για ολόκληρη την εκτροφή πολλά σύγχρονα εκτεταμένα συστήματα προμηθεύονται ιχθύδια 2-3 γραμμαρίων και τα εναποθέτουν στις λιμνοθάλασσες (FAO 2015). Στο συγκεκριμένο σύστημα εκτροφής δεν ελέγχονται οι περιβαλλοντικές παράμετροι και δεν χορηγείται τροφή στα ψάρια. Ένα βασικό πλεονέκτημα της τσιπούρας σε εκτατικά συστήματα εκτροφής είναι η ανθεκτικότητα που παρουσιάζει στις απότομες θερμοκρασιακές αλλαγές των νερών της λεκάνης (Χώτος & Ρογδάκης,

2010) και στην προσαρμοστικότητα στις διατροφικές συνθήκες καθώς τρέφεται με άτομα που βρίσκονται χαμηλά στην τροφική αλυσίδα (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος, 2012).

Ημιεντατικό σύστημα εκτροφής

Σε αυτό το σύστημα εκτροφής υπάρχει πιο έντονα ο ανθρώπινος παράγοντας από ότι στα εκτατικά συστήματα καθώς τα νεαρά ιχθύδια προμηθεύονται από εκκολαπτήρια έτσι ώστε να είναι ασφαλή για την υπόλοιπη ιχθυοκαλλιέργεια και χορηγούνται συμπληρώματα διατροφής. Στην ημιεντατική εκτροφή, η τροφή χορηγείται έμμεσα ή άμεσα σε κάποιο στάδιο της ζωής του ψαριού και η ανάπτυξη των ιχθυδίων πραγματοποιείται σε ελεγχόμενους χώρους. Επίσης, ελέγχεται η εναλλαγή των νερών μέσω ειδικών φραγμάτων (Χώτος & Ρογδάκης 2010). Η τσιπούρα είναι ένα από τα εμπορικότερα είδη που εκτρέφονται σε λιμνοθάλασσες με αυτή την μέθοδο καθώς παρουσιάζει ανθεκτικότητα και μεγάλα ποσοστά επιβίωσης.

Εντατικά συστήματα εκτροφής

Βασικό στοιχείο της εντατικής εκτροφής είναι η ανάπτυξη και η διατήρηση των γεννητόρων με σκοπό να είναι γνωστή η ποιότητα των αυγών ώστε να μην συντρέχει κίνδυνος για τα άτομα που θα εκκολαφθούν. Στην εντατική εκτροφή η οποία συνήθως λαμβάνει χώρα σε πλωτούς κλωβούς, ελέγχεται η ποιότητα και η ποσότητα της χορηγούμενης τροφής καθώς και η συχνότητα χορήγησης της όπως επίσης και οι φυσικοχημικές παράμετροι του νερού (FAO 2015). Στην εντατική εκτροφή, την περίοδο της φυσικής αναπαραγωγής, συλλέγονται οι γεννήτορες 5-6 μήνες νωρίτερα, αντίθετα σε χρονική περίοδο εκτός φυσικής αναπαραγωγής πραγματοποιούνται τεχνικές ορμονικών χειρισμών και φωτοπεριόδου. Στην συνέχεια, τα αυγά

συλλέγονται και ακολουθεί η επώαση και η εκκόλαση τους (50 ώρες για 18 °C και 36 ώρες για 22⁰ C (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012). Τέλος, εκτρέφονται οι προνύμφες και οι νύμφες με πλήρη έλεγχο των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού και την χορήγηση της κατάλληλης τροφής με την τεχνική του 'πράσινου νερού' όπου εμπλουτίζεται η δεξαμενή με διάφορα είδη φυτοπλαγκτού ή με την τεχνική του 'καθαρού νερού' όπου στο καθαρό νερό χορηγούνται οι κατάλληλες ποσότητες τροχοζώων και ναυπλίων της *Artemia* (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012).

1.3 Οστίτης ιστός και σπονδυλική στήλη τσιπούρας

Ο οστίτης ιστός βρίσκεται στα οστά του σκελετού και τα χαρακτηριστικά του κύτταρα είναι οι οστεοβλάστες, οι οστεοκλάστες και τα οστεοκύτταρα (Κουσουλάκος 2007).

Ο συνολικός αριθμός των σπονδύλων της σπονδυλικής στήλης της τσιπούρας είναι 24. Κατά την διάρκεια της εμβρυογένεσης των σπονδυλωτών ο χόνδρος είναι το πρώτο στοιχείο του σκελετού που διαμορφώνεται και στην συνέχεια μετατρέπεται σε οστίτη ιστό (Faustino & Power 1998). Συνεπώς, στις προνύμφες των εκτρεφόμενων ατόμων η πρώτη δομή των οστών προσδιορίζεται περίπου στα 1-4.1 χιλιοστά του μήκους της νωτιαίας χορδής. Από τα 5,3 mm του μήκους της νωτιαίας χορδής, πριν από την έναρξη της οστεοποίησης, διακρίνεται η ακόλουθη χόνδρινη δομή: 23 νευρικά τόξα, 13 αιμικά τόξα και δύο από τα τέσσερα ζεύγη της παραπόφυσης. Τα νευρικά τόξα από το 1-4 και από το 15-23 σχηματίζονται στην νωτιαία χορδή κατά μήκος της ραχιαίας περιοχής, ενώ από το 5-14 εμφανίζονται στην ραχιαία πλευρά του νωτιαίου μυελού και κατά μήκος της κοιλιακής περιοχής. Η έναρξη της οστεοποίησης συμβαίνει στα 5.7-6 χιλιοστά του προτύπου μήκος όταν

ολοκληρώνεται η χόνδρινη οντογένεση της σπονδυλικής στήλης (Faustino & Power 1998).

Η οστεοποίηση συμπίπτει με την ραχιαία κάμψη στο οπίσθιο άκρο της νωτιαίας χορδής και πραγματοποιείται με ένα διαδοχικό τρόπο (Faustino & Power 1998). Στην διαδικασία της οντογένεσης κατά το στάδιο της προνύμφης σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η οστεονεκτίνη, η οποία είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που εμπλέκεται στην ανάπτυξη, τον σχηματισμό των οστών και των ανόργανων ουσιών (Estevao *et al* 2005).

Η ανάπτυξη λαμβάνει χώρα σε τέσσερις περιοχές της σπονδυλικής στήλης της τσιπούρας: (1) στην οπισθοκοιλιακή, (2) στην κεντρική κοιλιακή, (3) στην κεντρική ραχιαία και (4) στην οπισθοραχιαία (Faustino & Power 1998). Η σπονδυλική στήλη της τσιπούρας χωρίζεται σε 3 μέρη: στο αυχενικό το οποίο αποτελείται από 4 σπονδύλους, στο κοιλιακό που αποτελείται από 12 σπονδύλους και στο ουραίο που αποτελείται από 8 σπονδύλους (Berillis & Panagiotopoulos 2015).

Το κολλαγόνο αντιπροσωπεύει το 90% του οργανικού μέρους των οστών (Berillis *et al* 2015). Τα οστά των ιχθύων αποτελούνται από άλατα υδροαξιαπατίτη ασβεστίου- φωσφόρου (όπου το 65% του ανόργανου μέρους είναι η ξηρή μάζα) τα οποία ενσωματώνονται στις χασματικές περιοχές του κολλαγόνου (κυρίως τύπου I).

1.4 Σκελετική δυσμορφία λόρδωσης

Σύμφωνα με τους Fernandez *et al.* (2008), οι σκελετικές παραμορφώσεις έχουν σημαντικές επιπτώσεις καθώς επηρεάζουν έως και το 30% της παραγωγής, ενώ σύμφωνα με τον Koumoundouros (2010) οι σκελετικές παραμορφώσεις την τελευταία δεκαετία αντιπροσωπεύουν έως και το 20% της συνολικής ετήσιας

παραγωγής στην βιομηχανία των υδατοκαλλιεργειών. Επιπλέον, έχουν ως αποτέλεσμα την μείωση του ρυθμού ανάπτυξης, την αύξηση της θνησιμότητας και επηρεάζουν το κόστος παραγωγής εφόσον το προϊόν δεν διατίθεται στην αγορά αφού δεν είναι αποδεκτό από τους καταναλωτές (Divanach *et al* 1996).

Η λόρδωση είναι μια σκελετική δυσμορφία των οστών της σπονδυλικής στήλης και του νωτιαίου μυελού η οποία έχει σχήμα V παρουσιάζοντας μία οξεία γωνία (Andrades *et al*, 1996, Chatain 1994) και είναι η πιο συχνή ανωμαλία που παρουσιάζει αυτό το είδος καθώς η συχνότητά της φτάνει το 80% κυρίως στα εκτρεφόμενα είδη (Castro *et al* 2008). Η κύρτωση αυτή της σπονδυλικής στήλης εμφανίζεται συχνότερα μεταξύ του 10^{ου} και του 16^{ου} σπόνδυλου (Andrades *et al* 1996) της κοιλιακής περιοχής των σπονδύλων ωστόσο υπάρχει πιθανότητα εμφάνισης και στην ουραία περιοχή των σπονδύλων (Boglione *et al* 2001). Συνήθως εμφανίζεται στο στάδιο της νύμφης σε άτομα με μήκος περίπου 20 χιλιοστά. Στην περίπτωση αυτή η γωνία της λόρδωσης είναι μικρή αλλά αυξάνεται καθώς το άτομο θα αναπτυχθεί. Το 15-50% των νεαρών ατόμων της τσιπούρας που εμφανίζουν σκελετική παραμόρφωση αποσύρονται από την παραγωγή στο τέλος της φάσης της εκκόλαψης (Boglione & Costa 2011). Εμφανίζεται στην προ-αιματική αλλά και στην αιματική περιοχή της σπονδυλικής στήλης και προκαλείται από διάφορους παράγοντες (Chatain 1989).

Χαρακτηριστικοί είναι επίσης και οι σπόνδυλοι στους οποίους παρατηρείται η λόρδωση καθώς εναποτίθενται υπερβολικές ποσότητες αλάτων σε σχέση με τους κανονικούς και δεν έχουν το φυσιολογικό τους τετραγωνισμένο σχήμα αλλά ένα τραπεζοειδές σχήμα (Kranenbarg *et al* 2005). Η δυσμορφία της λόρδωσης μπορεί να υπάρχει «εκ γενετής» ή να εμφανίζεται μετά τη γέννηση και παρατηρείται συνήθως σε συνθήκες εντατικής εκτροφής (Chatain 1994). Μορφολογικά τα άτομα που εμφανίζουν λόρδωση διαφέρουν από τα φυσιολογικά καθώς το σχήμα του σώματος

τους έχει το σχήμα της σπονδυλικής τους στήλης και η κοιλιακή τους χώρα είναι προτεταμένη. Επίσης, η νηκτική κύστη αρκετές φορές απουσιάζει. Διαφορές παρουσιάζονται και στους σπονδύλους καθώς μπορεί να εμφανίζεται στένωση, ανώμαλο σχήμα ή διαφορά στην περιεκτικότητα του ασβεστίου και του φωσφόρου.

1.5 Παράγοντες στους οποίους οφείλεται η λόρδωση

Διάφοροι παράγοντες σχετίζονται με τις σκελετικές αυτές αλλοιώσεις όπως οι διατροφικές συνθήκες και συγκεκριμένα η μειωμένη πρόσληψη ή η ανεπάρκεια τρυπτοφάνης και βιταμίνης C ή η υπερβολική πρόσληψη τυροσίνης ή βιταμίνης D (Nacario 1983). Επίσης, οι συνθήκες εκτροφής όπως η ποιότητα του νερού, η ύπαρξη πιθανών φυτοφαρμάκων στο νερό και άλλοι χημικοί παράμετροι συμβάλλουν στην εμφάνιση σκελετικών ανωμαλιών (Afonso *et al* 2000). Εκτός από την περιεκτικότητα των βιταμινών σημαντική είναι και η περιεκτικότητα της τροφής σε λιπίδια. Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση των φωσφολιπιδίων επηρέασε την δυσμορφία της νωτιαίας χορδής στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) και ειδικότερα η φωσφατιδυλινοσιτόλη φαίνεται να εμποδίζει τις σκελετικές παραμορφώσεις. Ακόμα, τα πολυακόραστα λιπαρά οξέα και ειδικά το DHA προκάλεσε την μείωση των σκελετικών παραμορφώσεων στο είδος *Chanos Chanos* (Cahu *et al* 2003). Η σκελετική ανωμαλία της λόρδωσης μπορεί να οφείλεται στην ύπαρξη χημικών ρύπων στο περιβάλλον εκτροφής, όπως βαρέα μέταλλα, υδρογονάνθρακες κ.ά. Επίσης, η θερμοκρασία του νερού επιδρά σημαντικά στην παρουσίαση της λόρδωσης καθώς και σε παραμορφώσεις του ουραίου και του ραχιαίου πτερυγίου (Georgakopoulou *et al* 2010).

Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι η απουσία ή η δυσλειτουργία της νηκτικής

κύστεως και η μυϊκή δραστηριότητα του ουραίου πτερυγίου σχετίζονται με την παρουσία της λόρδωσης (Kihara *et al* 2002). Σε άτομα με λόρδωση έχει ανιχνευθεί στον εγκέφαλο τους ένα νηματοειδές παράσιτο που επηρεάζει την φυσιολογική ανάπτυξη της σπονδυλικής στήλης, (Balebona *et al* 1993). Τέλος, γενετικοί λόγοι όπως η κληρονομικότητα ή κάποια ενδεχόμενη γονιδιακή μετάλλαξη φαίνεται να οφείλονται για την εκκόλαψη των ατόμων που παρουσιάζουν λόρδωση. Για την εμφάνιση της λόρδωσης μπορεί να οφείλονται είτε οι παραπάνω παράγοντες (διατροφικοί, περιβαλλοντικοί, γενετικοί) ο καθένας ξεχωριστά είτε μια αλληλεπίδραση αυτών (Castro *et al* 2008).

Οι σκελετικές παραμορφώσεις της σπονδυλικής στήλης όπως η σκολίωση και η λόρδωση έχουν μελετηθεί και περιγραφεί σε διάφορα εκτρεφόμενα είδη όπως το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) (Chatain 1994), ο κυπρίνος (*Cyprinus carpio*) (Backiel *et al* 1984), η πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) (Gjerde *et al* 2005), ο σολωμός του Ατλαντικού (*Salmo salar*) (Sadler *et al* 2001), η τιλάπια (*Oreochromis niloticus*) (Mair 1992), κ.ά.

1.6 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη και η κατανόηση των παραγόντων που επιφέρουν την σκελετική δυσμορφία της λόρδωσης σε εκτρεφόμενες τσιπούρες καθώς και η επιρροή αυτής στο μήκος της σπονδυλικής στήλης και στην αμαύρωση των σπονδύλων.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Συλλογή και μέτρηση δειγμάτων

Στην παρούσα εργασία συλλέχθηκαν συνολικά 25 ενήλικα άτομα τσιπούρας *Sparus aurata* από μια τοπική μονάδα ιχθυοκαλλιέργειας στην περιοχή Μηλίνα Μαγνησίας. Τα ψάρια εκτράφηκαν σε θαλάσσιους ιχθυοκλωβούς σε πυκνότητα 8 kg/m³ και η χορηγηθείσα εμπορική τροφή περιείχε 46% ολική πρωτεΐνη και 17% λίπος. Οι φυσικές και χημικές παράμετροι του νερού, συμπεριλαμβανομένης της θερμοκρασίας και του διαλυμένου οξυγόνου, κατά τη στιγμή της δειγματοληψίας, κυμαίνονταν από 21,5 °C έως 23,7 °C η θερμοκρασία και το διαλυμένο οξυγόνο από 8,1 έως 9,0 mg/l. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε ένας φορητός ηλεκτρονικός μετρητής οξυγόνου και θερμοκρασίας. Τα εξεταζόμενα ψάρια συλλέχθηκαν από τον ίδιο κλωβό και εν συνεχεία συντηρήθηκαν σε πάγο στους 0⁰ C μέχρι να μετρηθούν και να ακτινογραφηθούν (1 ημέρα μετά). Από τα 25 συνολικά άτομα, τα 10 δεν παρουσίαζαν καμία σκελετική δυσμορφία, ενώ τα 15 παρουσίαζαν την σκελετική δυσμορφία της λόρδωσης. Στην συνέχεια, μετρήθηκε το ολικό μήκος και το βάρος των μη σκελετικών δύσμορφων ατόμων με μέσο ολικό μήκος $24 \pm 0,5$ cm και μέσο βάρος $232,7 \pm 17,8$ gr. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τα σκελετικά δύσμορφα άτομα με μέσο ολικό μήκος $24 \pm 1,2$ cm και μέσο βάρος $307,4 \pm 5$ gr.

Στα άτομα τα οποία δεν παρουσίαζαν σκελετικές δυσμορφίες μετρήθηκε με το πρόγραμμα K-Pacs το μήκος των 24 σπονδύλων, αφού πρώτα οι σπόνδυλοι χωρίστηκαν στις 3 κύριες κατηγορίες: τους αυχενικούς όπου περιλαμβάνονται οι 4 πρώτοι σπόνδυλοι ξεκινώντας από το τέλος των βραγχοκαλυμμάτων, τους ραχιαίους όπου περιλαμβάνονται οι 12 επόμενοι σπόνδυλοι από το τέλος των αυχενικών και

τέλος οι ουραίοι στους οποίους περιλαμβάνονται οι 8 τελευταίοι σπόνδυλοι από το τέλος των ραχιαίων έως το ουραίο πτερύγιο. Η ίδια διαδικασία πραγματοποιήθηκε και για την μέτρηση των συνολικά 24 επίσης σπονδύλων των ατόμων που παρουσίαζαν την σκελετική δυσμορφία της λόρδωσης κάνοντας χρήση του ίδιου προγράμματος.

Τέλος, με την χρήση του προγράμματος K-Pacs, μετρήθηκε η αμαύρωση των 24 σπονδύλων στις ακτινογραφίες, τόσο στα σκελετικά δύσμορφα άτομα όσο και στα φυσιολογικά. Στις 3 περιοχές της σπονδυλικής στήλης (αυχενική, ραχιαία, ουραία) μετρήθηκε σε κάθε σπόνδυλο η μέση τιμή καθώς και η τυπική απόκλιση της μέτρησης. Τα άτομα τα οποία παρουσίασαν την σκελετική δυσμορφία της λόρδωσης δεν παρουσίασαν διαφορές και αλλοιώσεις (ανώμαλο σχήμα, στένωση κ.ά.) στους σπονδύλους σε σχέση με τα μη σκελετικά δύσμορφα άτομα. Οι παραπάνω μετρήσεις έγιναν με την βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή κάνοντας χρήση του προγράμματος επεξεργασίας εικόνων K-Pacs.

2.2 Μέθοδοι στατιστικής ανάλυσης

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα Origin Pro 8. Η στατιστική ανάλυση των μηκών των σπονδύλων για τα τρία ζεύγη δειγμάτων ανά περιοχή ενδιαφέροντος (δηλαδή αυχενική, ραχιαία, ουραία), έγινε σε δυο στάδια. Στο πρώτο στάδιο εξετάστηκε εάν οι παρατηρήσεις των καθενός από τα δείγματα ξεχωριστά ακολουθούν την κανονική κατανομή ή όχι με την χρήση του Kolmogorov-Smirnov τεστ του λειτουργικού προγράμματος και την κατασκευή των αντιστοίχων ιστογραμμάτων των δειγμάτων. Καθώς αποδεικνύεται από τα αποτελέσματα του πρώτου σταδίου η μη κανονικότητα των παρατηρήσεων των δειγμάτων, ακολουθεί η αντίστοιχη στατιστική επεξεργασία της διαφοράς των

μέσων των τριών ζευγαριών, με την χρήση του Mann-Whitney τεστ. Το παραπάνω τεστ είναι το καταλληλότερο για την επεξεργασία των συλλεχθέντων δεδομένων, διότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για δυο ανεξάρτητα τυχαία δείγματα, ένα από κάθε υπό εξέταση πληθυσμό και δεν απαιτεί τις υποθέσεις ισότητας των πληθυσμιακών διακυμάνσεων και την υπόθεση της ίδιας μορφής κατανομών για τους πληθυσμούς. Δυο σημαντικές προϋποθέσεις που ισχύουν για τα δεδομένα της παρούσας έρευνας, αποκλείοντας έτσι την χρήση άλλων σχετικών στατιστικών τεστ για την σύγκριση των μέσων δυο δειγμάτων. Οι τιμές των δειγμάτων που ακολουθούν την κανονική κατανομή παρουσιάζονται ως διάμεσος \pm τυπική απόκλιση, ενώ οι τιμές των δειγμάτων που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή παρουσιάζονται ως διάμεσος \pm ενδοτεταρτημοριακό εύρος. Παρόμοια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τις μετρήσεις της αμαύρωσης.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όλα τα υπό εξέταση άτομα διέθεταν λειτουργική νηκτική κύστη. Το μέσο μήκος των μη σκελετικών δύσμορφων ατόμων είναι $24 \pm 0,5$ cm και το μέσο βάρος $232,7 \pm 17,8$ gr. Επίσης, το μέσο μήκος των λορδωτικών ατόμων είναι $24 \pm 1,2$ cm και μέσο βάρος $307,4 \pm 5$ gr. (Πίν. 3.1 και Πίν. 3.2).

Πίνακας 3.1: Ολικό μήκος των φυσιολογικών και των σκελετικά δύσμορφων ατόμων

Λορδωτικά άτομα		Μη σκελετικά δύσμορφα άτομα	
A/A	Ολικό Μήκος (cm)	A/A	Ολικό Μήκος (cm)
1	20,9	1	23,5
2	23,6	2	24,3
3	24,9	3	24,2
4	25,7	4	23,1
5	22,5	5	23,3
6	23,8	6	24,2
7	22,8	7	24,7
8	24,3	8	23,7
9	24,6	9	24,5
10	24,7	10	23,7
11	25,3		
12	23,5		
13	24,3		
14	22,8		
15	24		
Μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	$23,8 \pm 1,2^a$		$23,9 \pm 0,5^a$

Τα δεδομένα που έχουν το ίδιο εκθέτη δεν διαφέρουν σημαντικά ($P > 0,05$).

Πίνακας 3.2: Ολικό βάρος των φυσιολογικών και των σκελετικά δύσμορφων ατόμων

Λορδωτικά άτομα		Μη σκελετικά δύσμορφα άτομα	
A/A	Ολικό βάρος (gr)	A/A	Ολικό βάρος (gr)
1	181,2	1	208,8
2	206,2	2	212,9
3	300,9	3	222,4
4	307,4	4	180,4
5	184,3	5	193,1
6	262,5	6	208,6
7	218,7	7	232,7
8	228,4	8	204,6
9	263,1	9	220,8
10	272,7	10	203
11	285,7		
12	256,3		
13	222,8		
14	222,1		
15	246		
Μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	243,9±39,1 ^b		208,7±15,0 ^c

Τα δεδομένα που έχουν διαφορετικό εκθέτη διαφέρουν σημαντικά ($P < 0,05$).

Πίνακας 3.3: Παρουσίαση των στατιστικών αποτελεσμάτων των μηκών των σπονδύλων (mm) των μη σκελετικά δύσμορφων και των λорδωτικών ατόμων.

	Πλήθος	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	Τυπικό σφάλμα μέσης τιμής	Ελάχιστη τιμή	Διάμεσος	Μέγιστη τιμή	Ενδοτεταρτημοριακό εύρος
Φυσιολογικά άτομα								
Αυχενική περιοχή	40	4,7	0,8	0,1	2,9	4,8	5,9	1,4
Ραχιαία περιοχή	120	6,9	0,6	0,1	5,4	7,0	8,3	0,8
Ουραία περιοχή	80	6,2	1,3	0,1	2,1	6,6	8,1	2,1
Λорδωτικά άτομα								
Αυχενική περιοχή	60	5,0	1,1	0,1	2	5,3	6,8	1,4
Ραχιαία περιοχή	180	7,0	0,9	0,1	3,3	7	9	1
Ουραία περιοχή	120	6,1	1,8	0,2	1,5	6,4	9	2,9

Στον πίνακα 3.3 εμφανίζονται τα στατιστικά στοιχεία των ομαδοποιημένων παρατηρήσεων σχετικά με τα μήκη των 24 σπονδύλων οι οποίοι έχουν χωριστεί στις 3 κατηγορίες (αυχενικοί, ραχιαίοι και ουραίοι) για κάθε φυσιολογικό και σκελετικά δύσμορφο άτομο. Για τον έλεγχο της κανονικότητας των δειγμάτων της αυχενικής περιοχής πραγματοποιήθηκε το τεστ Kolmogorov-Smirnov και διαπιστώθηκε μη κανονικότητα. Άρα, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως διάμεσος \pm ενδοτεταρτημοριακό εύρος.

Παρατηρούμε επίσης από τον σχετικό πίνακα ότι στο δείγμα για την αυχενική περιοχή των φυσιολογικών ατόμων η διάμεσος των μηκών των 40 σπονδύλων είναι 4,8, το ενδοτεταρτημοριακό εύρος είναι 1,4, ελάχιστη τιμή είναι 2,9 και η μέγιστη τιμή είναι 5,9 ενώ στην αυχενική περιοχή των λорδωτικών ατόμων η διάμεσος των μηκών των 60 σπονδύλων είναι 5,3, το ενδοτεταρτημοριακό εύρος είναι 1,4, η ελάχιστη τιμή είναι 2 και η μέγιστη τιμή είναι 6,8. Για την στατιστική σύγκριση των δυο δειγμάτων, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της διαφοράς των μέσων τιμών για δείγματα των οποίων οι παρατηρήσεις δεν προσεγγίζουν την κανονική κατανομή, ακολουθώντας το τεστ Mann-Whitney με πιθανότητα 0,06283 ($P=0,06283>0,05$). Συνεπώς, τα μήκη των σπονδύλων της αυχενικής περιοχής των φυσιολογικών ατόμων δεν διαφέρουν σημαντικά με τα μήκη των σπονδύλων της αντίστοιχης περιοχής των σκελετικά δύσμορφων ατόμων. Οι τιμές αυτές διαφέρουν ελάχιστα μεταξύ τους καθώς δεν παρατηρήθηκαν παραμορφώσεις σε κανένα σπόνδυλο της αυχενικής περιοχής.

Στην ραχιαία περιοχή, ελέγχθηκε επίσης η κανονικότητα των δειγμάτων με την χρήση του Kolmogorov-Smirnov τεστ και διαπιστώθηκε μη κανονικότητα. Άρα, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως διάμεσος \pm ενδοτεταρτημοριακό εύρος.

Στην ραχιαία περιοχή των μη σκελετικά δύσμορφων ατόμων η διάμεσος των μηκών των 120 σπονδύλων είναι 7, το ενδοτεταρτημοριακό εύρος είναι 0,8, η ελάχιστη τιμή είναι 5,4 και η μέγιστη τιμή είναι 8,3 ενώ στην ραχιαία περιοχή των λорδωτικών ατόμων η διάμεσος των μηκών των 180 σπονδύλων είναι 7, το ενδοτεταρτημοριακό εύρος είναι 1, η ελάχιστη τιμή είναι 3,3 και η μέγιστη τιμή είναι 9. Το στατιστικό τεστ που χρησιμοποιήθηκε είναι το τεστ Mann-Whitney και η καταδεικνυόμενη πιθανότητα είναι 0,29868 ($P=0,29868>0,05$). Λαμβάνοντας υπόψη την τιμή της πιθανότητας καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι τα μήκη των σπονδύλων της ραχιαίας περιοχής των φυσιολογικών ατόμων δεν διαφέρουν σημαντικά με τα μήκη των σπονδύλων της ραχιαίας περιοχής των λорδωτικών ατόμων.

Παρότι σε αυτό το τμήμα της σπονδυλικής στήλης παρατηρούνται παραμορφώσεις οι οποίες επηρεάζουν το τελικό της σχήμα, οι μέσες τιμές των μηκών των σπονδύλων ανάμεσα στις 2 ομάδες διαφέρουν ελάχιστα μεταξύ τους, άρα η απόσταση μεταξύ των σπονδύλων δεν επηρεάζεται από τη λόρδωση.

Τέλος, στην ουραία περιοχή των μη σκελετικά δύσμορφων ατόμων παρατηρήθηκε μη κανονικότητα στην κατανομή των δειγμάτων μέσω του Kolmogorov-Smirnov τεστ. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως διάμεσος \pm ενδοτεταρτημοριακό εύρος. Έτσι, η διάμεσος των μηκών των 80 σπονδύλων είναι 6,4, το ενδοτεταρτημοριακό εύρος είναι 2,1, η ελάχιστη τιμή είναι 2,1 και η μέγιστη τιμή είναι 8,1 ενώ στην ουραία περιοχή των λорδωτικών ατόμων η διάμεσος των μηκών των 120 σπονδύλων είναι 6,4, ενδοτεταρτημοριακό εύρος είναι 2,9, η ελάχιστη τιμή είναι 1,5 και η μέγιστη τιμή είναι 9. Η στατιστική σύγκριση των μετρήσεων της ουραίας περιοχής

πραγματοποιήθηκε με το τεστ Mann-Whitney καθώς τα δείγματα δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή και η τιμή της πιθανότητας είναι 0,82916 ($P=0,82916 > 0,05$). Καταλήγοντας, τα μήκη των σπονδύλων της ουραίας περιοχής των φυσιολογικών ατόμων δεν διαφέρουν σημαντικά από τα μήκη των σπονδύλων της αντίστοιχης περιοχής των ατόμων που παρουσίασαν την σκελετική δυσμορφία της λόρδωσης. Άρα, η απόσταση μεταξύ των σπονδύλων δεν επηρεάζεται ούτε στο ουραίο τμήμα της σπονδυλικής στήλης καθώς οι μέσες τιμές των μηκών δεν διαφέρουν ανάμεσα στις δύο ομάδες.

Πίνακας 3.4: Μήκη (mm) των σπονδύλων για τις δύο ομάδες των ιχθύων (Διάμεσος \pm ενδοτεταρτημοριακό εύρος).

	Αυχενική περιοχή		Ραχιαία περιοχή		Ουραία περιοχή	
Φυσιολογικά άτομα	4,8 ^a \pm 1,4	N=40	6,7 ^b \pm 0,8	N=120	6,6 ^c \pm 2,1	N=80
Λορδωτικά άτομα	5,3 ^a \pm 1,4	N=60	7.0 ^b \pm 1,0	N=180	6,4 ^c \pm 2,9	N=120

Τα δεδομένα που έχουν το ίδιο εκθέτη δεν διαφέρουν σημαντικά ($P > 0,05$). Όπου N ο συνολικός αριθμός των εξεταζόμενων σπονδύλων της κάθε περιοχής της σπονδυλικής στήλης στα φυσιολογικά και στα λορδωτικά άτομα.

Εφόσον, τα δείγματα δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως διάμεσος \pm ενδοτεταρτημοριακό εύρος.

Πίνακας 3.5: Παρουσίαση των στατιστικών αποτελεσμάτων των τιμών της αμαύρωσης των σπονδύλων (INT) των φυσιολογικών και των λорδωτικών ατόμων.

	Πλήθος	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	Τυπικό σφάλμα μέσης τιμής	Ελάχιστη τιμή	Διάμεσος	Μέγιστη τιμή	Ενδοτεταρτημοριακό εύρος
Φυσιολογικά άτομα								
Αυχενική περιοχή	40	176,8	23,2	3,7	90	185	208	25,5
Ραχιαία περιοχή	120	151,4	31,4	2,9	35	155	198	33,5
Ουραία περιοχή	80	102,1	20,6	2,3	61	101,5	177	29
Λорδωτικά άτομα								
Αυχενική περιοχή	60	181,6	23,4	3,0	135	189	213	40
Ραχιαία περιοχή	180	159,9	26,6	2,0	31	161	206	41,5
Ουραία περιοχή	120	95,1	27,4	2,5	34	96,5	156	40

Στον πίνακα 3.5 εμφανίζονται τα στατιστικά στοιχεία των ομαδοποιημένων παρατηρήσεων σχετικά με την αμαύρωση των 24 σπονδύλων οι οποίοι έχουν χωριστεί στις 3 κατηγορίες (αυχενικοί, ραχιαίοι και ουραίοι) για κάθε φυσιολογικό και σκελετικά δύσμορφο άτομο.

Για τον έλεγχο της κανονικότητας των δειγμάτων της αυχενικής περιοχής πραγματοποιήθηκε το τεστ Kolmogorov-Smirnov και διαπιστώθηκε μη κανονικότητα. Άρα, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως διάμεσος \pm ενδοτεταρτημοριακό εύρος.

Παρατηρούμε επίσης από τον σχετικό πίνακα ότι στο δείγμα για την αυχενική περιοχή των μη σκελετικά δύσμορφων ατόμων η διάμεσος της αμαύρωσης των 40 σπονδύλων είναι 185, το ενδοτεταρτημοριακό εύρος είναι 25,5 η ελάχιστη τιμή είναι 90 και η μέγιστη τιμή είναι 208 ενώ στην αυχενική περιοχή των λорδωτικών ατόμων η διάμεσος της αμαύρωσης των 60 σπονδύλων είναι 189, το ενδοτεταρτημοριακό εύρος είναι 40, η ελάχιστη τιμή είναι 135 και η μέγιστη τιμή είναι 213. Η σύγκριση των παραπάνω δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το τεστ Mann-Whitney καθώς τα δεδομένα δεν παρουσίασαν κανονική κατανομή και η πιθανότητα ισούται με 0,1917. Άρα, αφού $P=0,1917 > 0,05$, οι τιμές της αμαύρωσης των σπονδύλων της αυχενικής περιοχής δεν διαφέρουν σημαντικά ανάμεσα στις δύο εξεταζόμενες ομάδες.

Η κανονικότητα των δειγμάτων ελέγχθηκε και για τα δεδομένα της ραχιαίας περιοχής με την χρήση του προγράμματος Kolmogorov-Smirnov και παρατηρήθηκε μη κανονικότητα άρα τα αποτελέσματα για την συγκεκριμένη περιοχή παρουσιάζονται ως διάμεσος \pm ενδοτεταρτημοριακό εύρος.

Στην ραχιαία περιοχή των μη σκελετικά δύσμορφων ατόμων η διάμεσος της αμαύρωσης των 120 σπονδύλων είναι 155, το ενδοτεταρτημοριακό εύρος είναι 33,5,

η ελάχιστη τιμή είναι 35 και η μέγιστη τιμή είναι 198 ενώ στην ραχιαία περιοχή των λорδωτικών ατόμων η διάμεσος της αμαύρωσης των 180 σπονδύλων είναι 161, το ενδοτεταρτημοριακό εύρος είναι 41,5, η ελάχιστη τιμή είναι 81 και η μέγιστη τιμή είναι 206. Η σύγκριση των τιμών της αμαύρωσης στην ραχιαία περιοχή μεταξύ λорδωμένων και φυσιολογικών ατόμων πραγματοποιήθηκε με το τεστ Mann-Whitney αφού τα δεδομένα δεν παρουσίασαν κανονική κατανομή και η πιθανότητα ισούται με 0,03132 δηλαδή $P=0,03132 < 0,05$. Συνεπώς, οι τιμές της αμαύρωσης των σπονδύλων της ραχιαίας περιοχής των φυσιολογικών ατόμων διαφέρουν σημαντικά με τις τιμές της αμαύρωσης των σπονδύλων της αντίστοιχης περιοχής των σκελετικά δύσμορφων ατόμων.

Πίνακας 3.6: Τιμές της αμαύρωσης (INT) των σπονδύλων για τις δύο ομάδες των ιχθύων (Διάμεσος \pm ενδοτεταρτημοριακό εύρος).

	Αυχενική περιοχή		Ραχιαία περιοχή		Ουραία Περιοχή	
Φυσιολογικά άτομα	185 ^a \pm 25,5	N=40	155 ^b \pm 33.5	N=120	101,5 ^d \pm 29	N=80
Λорδωτικά άτομα	189 ^a \pm 40	N=60	161 ^c \pm 41.5	N=180	96,5 ^d \pm 40	N=120

Τα δεδομένα που έχουν το ίδιο εκθέτη δεν διαφέρουν σημαντικά ($P > 0,05$). Όπου N ο συνολικός αριθμός των εξεταζόμενων σπονδύλων της κάθε περιοχής της σπονδυλικής στήλης στα φυσιολογικά και στα λорδωτικά άτομα. Εφόσον, τα δείγματα δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως διάμεσος \pm ενδοτεταρτημοριακό εύρος.



Εικόνα 1: α) Σκελετική δυσμορφία λόρδωσης και β) άτομο χωρίς σκελετικές δυσμορφίες. Παρουσιάζονται οι τρεις περιοχές της σπονδυλικής στήλης: (1) αυχενική περιοχή, (2) ραχιαία περιοχή και (3) ουραία περιοχή. Με βέλος καταδεικνύεται η νηκτική κύστη.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η τσιπούρα (*Sparus aurata*) είναι ένα από τα κυριότερα εκτρεφόμενα είδη της Μεσογείου. Οι σκελετικές παραμορφώσεις που συνήθως παρουσιάζονται επηρεάζουν την εξωτερική μορφολογία, την ανάπτυξη, το ποσοστό επιβίωσης και τέλος το κόστος παραγωγής. Εμφανίζονται κυρίως κατά την διάρκεια των προνυμφικών και νεανικών σταδίων, ενώ οι λόγοι που οδηγούν στον σχηματισμό των παραμορφώσεων δεν είναι σαφείς, σχετίζονται όμως με διατροφικούς, περιβαλλοντικούς και γενετικούς παράγοντες (Fernandez *et al* 2008). Τα ψάρια τα οποία φέρουν οποιαδήποτε σκελετική δυσμορφία είτε απορρίπτονται και δεν διατίθενται προς πώληση είτε πωλούνται σε χαμηλότερη τιμή από την προβλεπόμενη τιμή της αγοράς τους (Boglione *et al* 2013 a,b). Για τους παραπάνω λόγους κρίνεται επιτακτική η ανάγκη περαιτέρω μελέτης των σκελετικών παραμορφώσεων, ώστε να γνωστοποιηθούν οι λόγοι εμφάνισης τους και να παρθούν τα κατάλληλα μέτρα πρόληψης προσαρμόζοντας κατάλληλα το περιβάλλον και τις συνθήκες εκτροφής. Η μελέτη των (Bengtsson *et al* 1979) αποτελεί μια απόδειξη του παραπάνω ισχυρισμού καθώς οι σκελετικές παραμορφώσεις των ιχθύων χρησιμοποιήθηκαν και ως βιολογικοί δείκτες για την παρακολούθηση της θαλάσσιας ρύπανσης.

Στην παρούσα εργασία, όλα τα υπό εξεταζόμενα άτομα διέθεταν λειτουργική νηκτική κύστη. Δηλαδή, η κίνηση και η λειτουργία της νηκτικής κύστης ήταν φυσιολογική. Έρευνες τόσο στην τσιπούρα (*Sparus aurata*) όσο και στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) παρουσιάζουν συσχέτιση της εμφάνισης της λόρδωσης με την παρουσία και την λειτουργία της νηκτικής κύστης. Συγκεκριμένα, σε περίπτωση μη φυσιολογικής λειτουργίας της νηκτικής κύστης παρουσιάζεται κυρτότητα στην σπονδυλική στήλη, στο σημείο εκείνο όπου η κίνηση των μυών είναι υψηλότερη

(Chatain 1994). Η παρατήρηση αυτή δεν φαίνεται να συνάδει με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας αφού τα άτομα διέθεταν όλα λειτουργική νηκτική κύστη. Σε άλλες έρευνες, υποστηρίζεται ότι η παρουσία της λόρδωσης στα εκτρεφόμενα λαβράκια δεν σχετίζεται άμεσα με την απουσία ή την μη λειτουργία της νηκτικής κύστης, διότι η λόρδωση παρουσιάζεται και σε ιχθύδια με λειτουργική νηκτική κύστη εάν τα ρεύματα της δεξαμενής είναι υψηλότερα από 10 cm/s (Divanach *et al* 1997). Σε προνύμφες του γάδου (*Gadus morhua*) η μη φυσιολογική λειτουργία της νηκτικής κύστης και συγκεκριμένα η υπερλειτουργία αυτής προκάλεσε ανωμαλίες στην νωτιαία χορδή όπου στην συνέχεια εξελίχθηκε σε ανωμαλία των αυχενικών σπονδύλων (Grotmol *et al* 2005). Οι Santamaria *et al* (1994) παρατήρησαν την παρουσία λόρδωσης στην νωτιαία χορδή σε προνύμφες τσιπούρας, 18 ημέρες μετά την εκκόλαψη. Επιπλέον, στις λορδωμένες προνύμφες παρατηρήθηκε λιγότερη αλληλεπίδραση μεταξύ κολλαγόνου και πρωτεογλυκάνης, πιθανώς λόγω του εξασθενημένου σχηματισμού της πρωτεογλυκάνης. Η λόρδωση είναι η πιο συχνά εμφανιζόμενη σκελετική παραμόρφωση στον γάδο του Ατλαντικού κυρίως σε άτομα με λειτουργική νηκτική κύστη. Αυτό επιβεβαιώνεται και από την παρούσα μελέτη καθώς διέθεταν φυσιολογική και λειτουργική νηκτική κύστη τόσο τα λορδωτικά όσο και τα φυσιολογικά άτομα. Η ταυτοποίηση αυτής της ανωμαλίας βασίζεται στη μέτρηση της γωνίας μεταξύ των οκτώ σπονδύλων όπου λαμβάνει χώρα η λόρδωση, επικεντρωμένη στο μεσοσπονδύλιο χώρο στο σημείο της μέγιστης κάμψης (Beverfjord *et al* 2009).

Τα θρεπτικά συστατικά επηρεάζουν την ανάπτυξη και την επιβίωση των προνυμφών και των νεαρών ατόμων, αλλά και την ανάπτυξη του σκελετού. Στην παρούσα εργασία, και οι δύο ομάδες ατόμων σιτίστηκαν με την ίδια τροφή και η περιεκτικότητα του λίπους ήταν 17%. Άρα, η σύσταση του σιτηρεσίου φαίνεται να

μην επηρεάζει σημαντικά την παραμόρφωση της σπονδυλικής στήλης. Παράλληλα, η σύσταση της τροφής σε φωσφολιπίδια δεν είναι γνωστή, παρότι άλλες μελέτες έδειξαν ότι η συγκέντρωση φωσφολιπιδίου 12% συμπεριλαμβανομένης 1,6% φωσφατιδυλινοσιτόλης σε ξηρά τροφή βελτιώνει την σκελετική ανάπτυξη, ενώ η ανεπάρκεια αυτών των συστατικών οδηγεί σε δυσπλασίες, σε πολλά είδη όπως στο *Dicentrarchus labrax*, στο είδος *Chanos Chanos* και στο *Paralichthys olivaceus* (Cahu *et al* 2003 b). Η χαμηλή περιεκτικότητα της χορηγούμενης ζωντανής τροφής σε DHA (εικοσιδυοεξανοϊκό οξύ) σε άτομα του είδους *Pagrus pagrus*, οδήγησε στην παρουσία σκελετικών παραμορφώσεων, υποδηλώνοντας τον σημαντικό ρόλο του DHA στην πρόληψη της δημιουργίας παραμορφώσεων στο στάδιο όπου παρέχεται η ζωντανή τροφή (Roo *et al* 2009). Μια πιο αναλυτική και λεπτομερής γνώση της σύστασης της τροφής που χορηγήθηκε στα άτομα της παρούσας έρευνας, θα μπορούσε να δώσει μια πιο σαφής εικόνα, σχετικά με την επιρροή των θρεπτικών συστατικών της συγκεκριμένης τροφής και της εμφάνισης της λόρδωσης.

Στην παρούσα μελέτη, η σύσταση των βιταμινών και των ανόργανων στοιχείων δεν είναι γνωστή οπότε υπάρχει το ενδεχόμενο η παρουσίαση της λόρδωσης να οφείλεται στην ανεπάρκεια ή στην αυξημένη ποσότητα κάποιας βιταμίνης (ή βιταμινών) ή ανόργανων στοιχείων. Ο ρόλος των θρεπτικών ουσιών είναι βασικός για την ανάπτυξη του σκελετού και ιδιαίτερα του φωσφόρου, της βιταμίνης Α και της βιταμίνη Κ, και είτε ανεπάρκεια τους είτε η τοξικότητα τους οδηγούν σε σκελετικές παραμορφώσεις (Lall & Lewis-McCrea 2007). Στο λαβράκι και στην τσιπούρα, επίσης, η ανεπάρκεια της βιταμίνης C φέρει ως αποτέλεσμα διάφορες σκελετικές παραμορφώσεις (κύφωση, λόρδωση, σκολίωση), ενώ η αύξηση της ποσότητας της βιταμίνης C μειώνει την παρουσία των σκελετικών ανωμαλιών (Divanach *et al* 1996). Σύμφωνα με τους Lim και Lowell (1978) η ανεπάρκεια της βιταμίνης C στο είδος

Ictalurus punctatus οδήγησε στην παρουσία παραμορφώσεων της σπονδυλικής στήλης και μείωση της περιεκτικότητας των οστών σε κολλαγόνο.

Οι διαφορετικοί τύποι των πειραματικών και εμπορικών προϊόντων υδρόλυσης πρωτεϊνών τα οποία διαφέρουν στην αρχική ακατέργαστη ύλη τους, στο σύστημα παραγωγής τους και στα βιοχημικά χαρακτηριστικά τους (δηλαδή προφίλ αμινοξέων, μοριακό βάρος των πεπτιδίων) έχουν δείξει ότι τα προϊόντα υδρόλυσης των πρωτεϊνών συμβάλλουν στην ανάπτυξη των προνυμφών και των ιχθυδίων και στο ποσοστό επιβίωσης σε πολλά είδη του γλυκού και του αλμυρού νερού, όπως ο κυπρίνος *Cyprinus carpio* (Carvalho *et al* 1997), η ιριδίζουσα πέστροφα (Dabrowski *et al* 2003), το Ευρωπαϊκό λαβράκι (Cahu *et al* 1999), η τσιπούρα (Gisbert *et al* 2012) κ.ά. Οι τύποι των υδρολυομένων πρωτεϊνών και το ποσοστό αυτών, φαίνεται να επηρεάζουν την ορθή ανάπτυξη του σκελετού των παραπάνω ειδών με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν διάφορες σκελετικές δυσπλασίες συμπεριλαμβανομένης και της λόρδωσης (Gisbert *et al* 2012).

Η θερμοκρασία του νερού στους θαλάσσιους ιχθυοκλωβούς όπου εκτράφηκαν τα 25 εξεταζόμενα άτομα τσιπούρας, την στιγμή όπου πραγματοποιήθηκε η δειγματοληψία κυμαινόνταν μεταξύ 21,5 °C και 23,7 °C και ήταν ίδια και για τις δύο ομάδες ατόμων. Με βάση τα παραπάνω στοιχεία, αποδεικνύεται ότι η θερμοκρασία του νερού την στιγμή της δειγματοληψίας, ήταν προσαρμοσμένη κατάλληλα στις θερμοκρασιακές απαιτήσεις της τσιπούρας, άρα η τιμή της θερμοκρασίας του νερού δεν επηρέασε την φυσιολογική ανάπτυξη της σπονδυλικής στήλης. Με περισσότερες δειγματοληψίες στους ιχθυοκλωβούς όπου συλλέχθηκαν τα ψάρια θα υπήρχε μια πιο σαφής ένδειξη σχετικά με την θερμοκρασία του νερού και θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε με περισσότερη βεβαιότητα αν η λόρδωση οφείλεται ή όχι στην τιμή της θερμοκρασίας, καθώς ο ισχυρισμός αυτός θα βασίζονταν σε μεγαλύτερο αριθμό

δειγματοληψιών. Η θερμοκρασία του νερού επιδρά άμεσα στην ανάπτυξη των σκελετικών δυσμορφιών στο λαβράκι, (Georgakopoulou *et al* 2010). Όσον αφορά τις σκελετικές ανωμαλίες, οι υπάρχουσες μελέτες αποδεικνύουν μία σημαντική επίδραση της θερμοκρασίας του νερού κατά την πρώιμη οντογένεση όλων των ειδών που εξετάστηκαν μέχρι τώρα. Στην τσιπούρα, οι Polo *et al* (1991) απέδειξαν ότι η θερμοκρασία του νερού κατά τη διάρκεια των εμβρυϊκών και των λεκιθικών προνυμφικών σταδίων επηρεάζει την ανάπτυξη των σκελετικών παραμορφώσεων. Οι Georgakopoulou *et al* (2010) έδειξαν ότι η θερμοκρασία του νερού επιδρά σημαντικά στην εμφάνιση της αιματικής λόρδωσης και σε παραμορφώσεις του ουραίου και του ραχιαίου πτερυγίου κατά την φάση της μεταμόρφωσης. Αν και η τιμή της θερμοκρασίας στην διάρκεια της επώασης των αυγών των εξεταζόμενων ατόμων δεν είναι γνωστή, φαίνεται ότι η θερμοκρασία η οποία ξεπερνά τους 18 °C στο στάδιο της επώασης των αυγών οδηγεί σε ανωμαλίες της σπονδυλικής στήλης στο είδος *Solea senegalesis* (Dionisio *et al*, 2012).

Σύμφωνα με τους Afonso *et al.* (2009) η παρουσία των παραμορφώσεων της σπονδυλικής στήλης και συγκεκριμένα η εμφάνιση της λόρδωσης, σε εκτρεφόμενες τσιπούρες, σχετίζεται με την ύπαρξη της αιμομιξίας. Επιπλέον, οι Navarro *et al.* (2009) παραθέτουν την κληρονομικότητα ως βασική αιτία της εμφάνισης της λόρδωσης σε ιχθύδια τσιπούρας, ενώ μία ασθενής συσχέτιση μεταξύ των ανωμαλιών του σκελετού και της αιμομιξίας στην τσιπούρα αναφέρθηκε από τους Astorga *et al.* (2003). Τέλος, οι Sadler *et al* (2001) έδειξαν ότι οι διάφορες σκελετικές παραμορφώσεις στο σολομό του Ατλαντικού δεν σχετίζονται και δεν επηρεάζονται από το φύλο των ατόμων αλλά η οποιαδήποτε παρατηρούμενη σκελετική δυσμορφία είναι γενετικής προέλευσης. Σύμφωνα με τα παραπάνω, και λαμβάνοντας υπόψη ότι οι τιμές της θερμοκρασίας του νερού και του διαλυμένου οξυγόνου ήταν κοινές και

στις δύο εξεταζόμενες ομάδες, καθώς και ότι όλα τα άτομα σιτίστηκαν με το ίδιο σιτηρέσιο, υπάρχει μεγάλη πιθανότητα η εμφάνιση της λόρδωσης να οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες.

Σε αυτή την μελέτη, η σκελετική δυσμορφία της λόρδωσης παρατηρήθηκε κυρίως στην ραχιαία περιοχή της σπονδυλικής στήλης μεταξύ του 10^{ου} και του 18^{ου} σπονδύλου. Συγκεκριμένα, πιο συχνά παρατηρήθηκε στον 10^ο σπόνδυλο ενώ μόνο σε ένα ψάρι παρατηρήθηκε σε υψηλότερο σπόνδυλο από τον 16^ο. Η σπονδυλική στήλη της τσιπούρας αποτελείται από 24 σπόνδλους και η σκελετική δυσμορφία της λόρδωσης συνήθως λαμβάνει χώρα μεταξύ του 10^{ου} και του 16^{ου} σπονδύλου στην ραχιαία και στην ουραία περιοχή, (Andrades *et al* 1996). Οι λόγοι οι οποίοι συμβάλλουν στην παρουσίαση της λόρδωσης στην ραχιαία και στην ουραία περιοχή της σπονδυλικής στήλης στα άτομα της τσιπούρας δεν είναι γνωστοί.

Το μήκος των αυχενικών σπονδύλων δεν διέφερε μεταξύ των φυσιολογικών και των σκελετικά δύσμορφων ατόμων, καθώς η σκελετική δυσμορφία της λόρδωσης δεν έλαβε χώρα σε κανέναν αυχενικό σπόνδυλο. Αντίθετα, η λόρδωση παρατηρήθηκε στην ραχιαία περιοχή της σπονδυλικής στήλης, όμως η διαφορά των μηκών των ραχιαίων σπονδύλων μεταξύ των φυσιολογικών και των σκελετικά δύσμορφων ατόμων δεν διέφερε σημαντικά. Τέλος, η διαφορά των μηκών των ουραίων σπονδύλων δεν διέφερε ανάμεσα στις δύο εξεταζόμενες ομάδες. Η παρατήρηση αυτή, πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι αλλάζει η θέση της σπονδυλικής στήλης των λορδωμένων ατόμων δεν αλλάζει όμως το μήκος αυτής. Κατά συνέπεια, το ολικό μήκος της σπονδυλικής στήλης δεν φαίνεται να επηρεάζεται από την παρουσία της λόρδωσης. Η ίδια διαδικασία μέτρησης του μήκους των σπονδύλων για την κάθε περιοχή της σπονδυλικής στήλης σε ενήλικα άτομα τσιπούρας ακολουθήθηκε από τους Berillis *et al* (2015) όπου το μήκος των σπονδύλων δεν διέφερε σε καμία

περιοχή της σπονδυλικής στήλης μεταξύ των φυσιολογικών και των λорδωμένων ατόμων.

Η χρήση μεθόδων μέτρησης της οστικής πυκνότητας και των ανόργανων στοιχείων των οστών οι οποίες βασίζονται στην απορρόφηση των ακτίνων X είναι ευρέως διαδεδομένη σε ανθρώπους αλλά και σε ζώα όπως τρωκτικά, κουνέλια κ.ά. Μία πρόσφατη μέθοδος μέτρησης της αμαύρωσης στον άνθρωπο (προς το παρόν στη σπονδυλική στήλη και στα ισχία) είναι η διπλού φωτονίου απορροφησιμετρία ακτίνων X, DXA) η οποία έχει αξιολογηθεί ως προς την ικανότητά της να αξιολογεί μακροπρόθεσμα τις αλλαγές της πυκνότητας των οστών. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί ακτίνες X αντί για γ ακτίνες ως πηγή φωτονίων της (Cullum *et al* 2014).

Στα περισσότερα σπονδυλωτά, ο σκελετός αποτελείται από Ca, P, και άλλα ιόντα που βρίσκονται σε κατάσταση συνεχούς ανταλλαγής με τους ηλεκτρολύτες που βρίσκονται στο αίμα και στα εξωκυτταρικά υγρά. Το ασβέστιο και ο φώσφορος σχετίζονται με την ανάπτυξη του σκελετικού συστήματος και η σταθερότητα των σπονδύλων διατηρείται από την στέρεα φάση του φωσφορικού ασβεστίου. Η περιεκτικότητα σε ανόργανα άλατα των οστών μπορεί να μετρηθεί με πολλές τεχνικές όπως φασματοσκοπία ηλεκτρονίων, EDS και με υψηλής ροής φωτονίων δέσμεων ακτίνων-X (Tzaflidou *et al* 2005). Το ασβέστιο και ο φώσφορος είναι στενά συνδεδεμένα με την ανάπτυξη και την δομή του σκελετικού συστήματος και συμβάλλουν στη σταθερότητα των σπονδύλων. Τα ψάρια όπως και άλλοι υδρόβιοι οργανισμοί απορροφούν Ca και P απευθείας από το νερό, (Lall & Lewis-McCrea 2007) πέραν της πρόσληψης τους απευθείας από την τροφή. Το ποσοστό Ca και P σε αποτεφρωμένους σπόνδυλους ατόμων με λόρδωση και ατόμων χωρίς σκελετικές δυσμορφίες, δεν

παρουσιάζει σημαντικές διαφορές, (Berillis & Panagiotopoulos 2015 a). Οι Berillis et al. (2015 b) έδειξαν ότι οι σκελετικές ανωμαλίες σε ενήλικα άτομα τσιπούρας δεν σχετίζονται με το ποσοστό του Ca και P της σπονδυλικής στήλης αλλά πιθανώς με ανωμαλίες στα ινίδια κολλαγόνου. Η σχέση μεταξύ του κολλαγόνου και του υδροξυαπατίτη είναι σημαντική για την ανθεκτικότητα και την σκληρότητα των οστών, (Mahamid et al., 2008). Η διατροφή είναι η κύρια πηγή φωσφόρου, διότι η συγκέντρωση του φωσφόρου είναι χαμηλή στο θαλασσινό νερό (Lall & Lewis-McCrea 2007). Η ανεπάρκεια του ασβεστίου δεν υφίσταται συχνά στα ψάρια, αντίθετα η ανεπάρκεια του φωσφόρου οδηγεί στην μειωμένη ανάπτυξη του ατόμου, στην μειωμένη ανοργανοποίηση των οστών και τέλος στην δημιουργία σκελετικών ανωμαλίες (Lall, 2002). Η αναλογία Ca / P σε ολόκληρο το σώμα των διαφόρων ειδών ψαριών κυμαίνεται από 0,7 έως 1.6 (Lall 2002). Σε αυτή τη μελέτη, με την σύγκριση των μέσων τιμών της αμαύρωσης αποδείχθηκε ότι στην αυχενική και στην ουραία περιοχή δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο εξεταζόμενες ομάδες. Αντίθετα, στην ραχιαία περιοχή, η σύγκριση των μέσων τιμών έδειξε ότι υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών ανάμεσα στα φυσιολογικά και στα σκελετικά δύσμορφα άτομα. Η παραπάνω παρατήρηση μπορεί να οφείλεται στην συνήθη εναπόθεση αλάτων στους ραχιαίους σπονδύλους στους οποίους λαμβάνει χώρα η λόρδωση (Kranenbarg *et al*, 2005).

Η παρούσα εργασία απέδειξε ότι δεν υπάρχει διαφορά στα μήκη των σπονδύλων μεταξύ των λορδωτικών και των φυσιολογικών ατόμων, συνεπώς η θέση της σπονδυλικής στήλης δεν αλλάζει με την παρουσία της λόρδωσης. Η λόρδωση επηρεάζει τις τιμές της αμαύρωσης των σπονδύλων στην περιοχή εμφάνισης της λόρδωσης, γεγονός που αποδεικνύεται από την παρούσα μελέτη καθώς οι τιμές της αμαύρωσης των σπονδύλων μεταξύ των δύο εξεταζόμενων ομάδων διέφερε

σημαντικά στην ραχιαία περιοχή της σπονδυλικής στήλης. Οι λόγοι εμφάνισης της λόρδωσης καθώς και επιρροή αυτής στα ανόργανα στοιχεία και γενικότερα στην συστατικά των σπονδύλων δεν είναι ακόμη ξεκάθαροι. Περαιτέρω έρευνα, κυρίως στα λορδωτικά νεαρά άτομα, με πλήρης γνώση του ερευνητή των συνθηκών εκτροφής, όπως τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του νερού, η σύσταση της χορηγούμενης τροφής κ.ά τόσο κατά την διάρκεια της εκκόλαψης, όσο και των μετέπειτα σταδίων θα μπορούσε να προσδιορίσουν τους λόγους παρουσίασης της λόρδωσης. Καταλήγοντας, είναι επιτακτική η ανάγκη ύπαρξης περισσότερων ερευνών ώστε μελλοντικά να μπορέσουν να προσδιοριστούν οι λόγοι εμφάνισης της λόρδωσης για μπορούν να εφαρμοστούν τα κατάλληλα προληπτικά μέτρα.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Afonso J.M., Montero D., Robaina L., Astorga N., Izquierdo M.S., Gines R. (2000) Association of a lordosis-scoliosis- kyphosis deformity in gilthead seabream (*Sparus aurata*) with family structure. Fish Physiology and Biochemistry, 22 (2):159-163

Afonso JM, Astorga N, Navarro A, Montero D, Zamorano MJ, Izquierdo M. (2009) Genetic determination of skeletal deformities in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). In: IAFSB 2009 Book of abstracts, Communication Interdisciplinary Approaches in Fish Skeletal Biology, Tavira, Algarve, Portugal, 90

Andrades J.A, Becerra J., Fernandez-Liebrez P. (1996) Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture, 141 (1-2):1-11

Apostolopoulos I., Klaoudatos S. (1986) Effect of acclimatization and degree of hunger on the satiation amount in *Sparus aurata* and satiation curve of the fish. Thalassographica 9(2):69-78

Astorga N, Valencia A, Fenández-Palacios H, Montero D, Zamorano MJ, Aguilera C et al. (2003) Genetic effect of the type of cross and consanguinity level in spawning quality of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Eighth International Symposium on Genetics in Aquaculture. The Foundation for Agrarian Innovation (FIA) and The Institute of Fisheries Development (IFOP) Book of Abstracts, 60

Backiel T, Kokurewicz B, Ogorzalek A (1984) High incidence of skeletal anomalies in carp, *Cyprinus carpio*, reared in cages in flowing water. *Aquaculture* 43(4), 369-380

Baeverfjord G, Helland S, Hough C (2009) Control of Malformations in Fish Aquaculture: Science and Practice. Federation of European Aquaculture Producers. RapidPress, Luxembourg

Balebona M.C, Monirigo M.A, Andrades J.A, Santamaria J.A, Becerra J, Borrego J.J. (1993) Microbiological study of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) affected by lordosis (a skeletal deformity). *Bull. European. Ass. Fish Pathology.*, 13(1):33-36

Bengtsson B.E., Coombs T.L., Waldichuk M. (1979) Biological Variables, Especially Skeletal Deformities in Fish, for Monitoring Marine Pollution. The Royal Society, 286, 1015

Berillis P., Panagiotopoulos N., (2015 a), Ca, P and Collagen Fibrils Period Measurements in the Vertebrae of Lordotic *Sparus aurata*. 2nd International Multidisciplinary Microscopy and Microanalysis Congress of Springer Proceedings In Physics, (164) 217-222

Berillis P., Panagiotopoulos N., Boursiaki V., Karapanagiotidis T.I., Mente E. (2015 b) Vertebrae length and ultra-structure measurements of collagen fibrils and mineral content in the vertebrae of lordotic gilthead seabreams (*Sparus aurata*). *Micron* 75:27-33

Boglione, C., Costa, C., 2011. Skeletal deformities and juvenile quality. In: Pavlidis,

M., Mylonas, C. (Eds.), *Sparidae: Biology, Aquaculture of Gilthead Sea Bream, Other Species*. Wiley-Blackwell, Oxford, pp. 233–294.

Boglione C, Gagliardi F, Scardi M, Cataudella S. (2001) Skeletal descriptors and quality assessment in larvae and post-larvae of wild-caught and hatchery-reared gilthead sea bream (*Sparus aurata* L. 1758). *Aquaculture*, 192 (1):1-22

Boglione, C., Gavaia, P., Koumoundouros, G., Gisbert, E., Moren, M., Fontagné, S., Witten, P.E. (2013b) A review on skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 1: normal and anomalous skeletogenic processes. *Rev. Aquac.*, 5, 99–120.

Boglione, C., Gisbert, E., Gavaia, P., Witten, E., Moren, P., Fontagné, M., Koumoundouros, S.G. (2013a) Skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 2: main typologies, occurrences and causative factors. *Rev. Aquac.* 5, 121–167

Cahu C., Jambonino-Infante J., Takeuchi T. (2003b) Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae, *Aquaculture*, 227, 245-258

Cahu C., Zambonino Infante L. J. and Barbosa V. (2003 a) Effect of dietary phospholipid level and phospholipid: neutral lipid value on the development of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed a compound diet. *B J N* 90: 21-28.

Cahu CL, Zambonino-Infante JL, Quazuguel P, Le Gall MM. (1999) *Protein hydrolysate vs fish meal in compound diets for 10-day old sea bass Dicentrarchus*

labrax larvae. Aquaculture, 171: 109–119

Carvalho AP, Escaffre A-M, Oliva-Teles A, Bergot P. (1997) First feeding of common carp larvae on diets with high levels of protein hydrolysates. Aquaculture, 5: 361–367

Castro J., Pino-Querido A., Hermida M., Chavarrias D., Romero R., Garcia-Cortes A.L., Toro A.M., Martinez P. (2008) Heritability of skeleton abnormalities (lordosis, lack of operculum) in gilthead seabream (*Sparus aurata*) supported by microsatellite family data. Aquaculture, 279 (1-4):18-22

Chatain,B. (1994) Abnormal swimbladder development and lordosis in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus auratus*). Aquaculture, 119 (4):371–379

CullumI.D, EllP.J, Ryder J.P. (2014) X-ray dual-photon absorptiometry: a new method for the measurement of bone density. The British Institute of Radiology , 62, 739

Dabrowski K, Lee KJ, Rinchar J. (2003) The smallest vertebrate, teleost fish, can utilize synthetic dipeptide-based diets. Journal of Nutrition, 133: 4225–4229.

Dionísio G, Campos C, Valente LMP, Conceição LEC, Cancela ML, Gavaia PJ. (2012) Effect of egg incubation temperature on the occurrence of skeletal deformities in *Solea senegalensis*. Journal of Applied Ichthyology, 28: 471–476.

Divanach P., Papandroulakis N., Anastasiadis P., Koumoundouros G., Kentouri M. (1996) Effect of water currents on the development of skeletal deformities in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) with functional swimbladder during postlarval and nursery

phase. *Aquaculture*, 156 (1-2), 145-155

Estevao M.D., Redruello B., Canario A.V.M., Power D.M. (2005) Ontogeny of osteonectin expression in embryos and larvae of sea bream (*Sparus auratus*). *General and comparative endocrinology*, 142 (1-2), 155-162

FAO, 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Cultured Aquatic Species Information Program, *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758), http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en (accessed 20.12.15).

Faustino M., Power M.D. (1998) Development of osteological structures in the sea bream: vertebral column and caudal fin complex. *Journal of fish biology*, 52, 11-22

Fernandez I., Hontoria F., Ortiz-Delgado B.J., Kotzamanis Y., Estevez a., Zambonino-Infante J.L., Gisbert E. (2008) Larval performance and skeletal deformities in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed with graded levels of Vitamin A enriched rotifers (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture*, 283 (1-4): 102-115

Fernandez I., Ortiz-Delgado J.B., Sarasquete C., Gisbert E. (2012) Vitamin A effects on vertebral bone tissue homeostasis in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Journal of Applied Ichthyology*, 28 (3): 419-426

Georgakopoulou E., Katharios P., Divanach, P., Koumoundouros, G. (2010) Effect of temperature on the development of skeletal deformities in gilthead seabream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 308(1-5): 13–19

- Gjerde B, Pante M.J.R, Baeverfjord G. (2005) Genetic variation for a vertebral deformity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 244 (1-4), 77-87
- Gisbert E, Skalli A, Fernández I, Kotzamanis Y, Zambonino-Infante JL, Fabregat R. (2012) Protein hydrolysates from yeast and pig blood as alternative raw materials in microdiets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 338: 96–104
- Grotmol S, Kryvi H, Totland GK. (2005) Deformation of the notochord by pressure from the swim bladder may cause malformation of the vertebral column in cultured Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae: a case study. *Diseases of Aquatic Organisms*, 65: 121–128.
- Kihara M., Ogata S., Kawano N., Kubota I., Yamaguchi R. (2002) Lordosis induction in juvenile red sea bream, *Pagrus major*, by high swimming activity. *Aquaculture*, 212 (1-4):149-158
- Koumoundouros, G., 2010. Morpho-anatomical abnormalities in Mediterranean marine aquaculture. In: Koumoundouros, G. (Ed.), *Recent Advances in Aquaculture Research*. Transworld Research Network, Kerala, India, pp. 125–148.
- Kranenbarg S., Waarsing H.J., Muller M., Weinans H., Leeuwen J.L. (2005) Lordotic vertebrae in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) are adapted to increased loads. *Journal of Biomechanics*, 38(6):1239–1246
- Lall, S.P., 2002. The minerals. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*. ,

3rd edition. Academic Press Inc., San Diego, pp. 259–308

Lall, S.P., Lewis-McCrea, L.M. (2007) Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish – an overview. *Aquaculture*, 267, 3–19

Liebrez P. (1996) Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 141 (1-2), 1-11

Lim, C., Lowell, R.T., 1978. Pathology of the vitamin C syndrome in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Journal of Nutrition*, 108, 1137–1146.

Mahamid, J., Sharir, A., Addadi, L., Weiner, S., 2008. Amorphous calcium phosphate is a major component of the forming fin bones of zebrafish: indications for an amorphous precursor phase. *Proceeding of the National Academic Science. U. S. A.* 105, 12748–12753

Mair G.C. (1992) Caudal deformity syndrome (CDS): an autosomal recessive lethal mutation in the tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of fish diseases*, 15: 71-75

Nacario, J.F. (1983) The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherondon niloticus* (*Tilapia nilotica*). *Aquaculture*, 34 (1-2):73–83.

Navarro A, Zamorano MJ, Hildebrandt S, Ginés R, Aguilera C, Afonso JM. (2009) Estimates of heritabilities and genetic correlations for growth and carcass traits in gilthead seabream (*Sparus auratus* L.), under industrial conditions. *Aquaculture*, 289:

225–230.

Polo A, Yúfera M, Pascual E. (1991) Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 92: 367–375.

Polychroniadis E.K., Oral A.V., Ozer M., (2015) 2nd International Multidisciplinary Microscopy and Microanalysis Congress Springer Proceedings in Physics In: Berillhs P., Panagiotopoulos N. Ca, P and Collagen Fibrils Period Measurements in the Vertebrae of Lordotic *Sparus aurata*. *Springer*, 164:217-222

Roo F.J., Hernandez-Cruz C.M., Saccoro J.A., Fernandez-Palacios H., Montero D., Izquierdo M.S. (2009) Effect of DHA content in rotifers on the occurrence of skeletal deformities in red porgy *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 287 (1-2), 84-93

Sadler J., Panhurst P.M., King H.R. (2001) High prevalence of skeletal deformity and reduced gill surface area in triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 198 (3-4), 369-386

Santamaria J.A, Andrades J.A, Herraiz P, Fernández-Llebrez P, Beccera J, (1994). Perinotochordal connective sheet of gilthead sea bream larvae (*Sparus aurata*, L.) affected by axial malformations: An histochemical and immunocytochemical study. *The Anatomical Record*, 240 (2), 248-254

Tzaphlidou, M., Berillis, P., Matthopoulos, D., (2005). Bone calcium, phosphorus detection by Auger electron spectroscopy. *Micron*, 36, 706–709

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Χώτος Γ., Ρογδάκης Ι. (2010) Υδατοκαλλιέργειες ευρύαλων ψαριών. Ιων, Αθήνα, 39-50

Κλαουδάτος Σ., Κλαουδάτος Δ. (2012) Καλλιέργειες φυτικών και εκτροφές υδρόβιων ζωικών οργανισμών. Προπομπός, Αθήνα, 228-240

Κουσουλάκος Σ. (2007) Εισαγωγή στην αναπτυξιακή βιολογία και ιστολογία. Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου, Αθήνα, 198-203

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

www.fishbase.org (accessed 20.12.15)

www.statistics.ge (accessed 23.05.16)

6. ABSTRACT

Gilthead seabream (*Sparus aurata*) is one of the most important farmed fish species in the Mediterranean region. Skeletal deformities is a major factor that affects the production cost, the external morphology of the fish as well as its survival and growth aspects. The development of skeletal disorders is not well understood, but it is considered to be related to nutritional, environmental and genetic factors. In this study a sample of 25 individual sea breams were collected from a nearby fish farm and divided into two groups. The first group included fish without skeletal deformities, while the second group consisted of fish with the skeletal deformity of lordosis. The total length and weight of every single individual fish of the sample was measured and then radiographed. The vertebral column of all individuals was divided into three main regions: cervical, abdominal and caudal region. Afterwards, the length of each vertebrae for both the normal and deformed skeletal fish was measured. As a result of the statistical process of all the above collected data, it was found that no significant difference existed between the distance of each vertebrae of the two examined groups. Furthermore, a similar analysis followed regarding the tarnishing of the vertebrae between normal and deformed skeletal fish, with each vertebrae of the two groups being measured and compared. In this particular case the statistical analysis of the relative collected data enabled as to reach the conclusion, that the difference in tarnishing of vertebrae was insignificant regarding the cervical and caudal region of the individuals belonging into each separate group. On the contrary, a noticeable difference was detected regarding the tarnishing of the vertebrae of the abdominal region of the two groups.

Keywords: *Sparus aurata*, skeletal deformities, lordosis, tarnishing of vertebrae