

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

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Μορφολογικά χαρακτηριστικά σπονδύλων λαβρακίων και μέτρηση ποσοστών ασβεστίου φωσφόρου σε αυτούς»

Βασιλική Νικηφορίδου

ΒΟΛΟΣ 2019

**UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF AGRICULTURAL SCIENCES
DEPARTMENT OF ICHTHYOLOGY AND AQUATIC
ENVIRONMENT**

POSTGRADUATE MASTER'S THESIS

«Morphometric measurement and Ca/P levels of sea bass vertebrae»

Vasiliki Nikiforidou

VOLOS 2019

**«Μορφολογικά χαρακτηριστικά σπονδύλων λαβρακίων και μέτρηση ποσοστών
ασβεστίου φωσφόρου σε αυτούς»**

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

- 1) Παναγιώτης Βερίλλης**, Επίκουρος Καθηγητής, Μικροσκοπία και Ανάλυση Εικόνας στην Ιστολογία και στους Υδροβίους Οργανισμούς, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Επιβλέπων*,
- 2) Στέφανος Ζαούτσος**, Καθηγητής, Αντοχή Υλικών, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Ανώτατο Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλίας Τεχνολογικού Τομέα, ΤΕΙ Θεσσαλίας, *Μέλος*,
- 3) Παντελής Καθάρης**, Ερευνητής, Ιχθυοπαθολογία, Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιέργειας, Ελληνικό Κέντρο Θαλάσσιων Ερευνών, *Μέλος*.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κ. Βερίλλη Παναγιώτη 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 μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου, αποτελούμενη από τους κ. Ζαούτσο Στέφανο και κ. Καθάριο Παντελή 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

Το λαβράκι αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα εκτρεφόμενα είδη της Μεσογείου και ειδικότερα και της Ελλάδας. Έχουν αναφερθεί άτομα με διαφορετικό αριθμό σπονδύλων στην σπονδυλική τους στήλη. Ο αριθμός αυτός κυμαίνεται σε 24,25 και 26 σπονδύλους. Στην παρούσα εργασία συλλέχθηκαν από μονάδες υδατοκαλλιέργειας 73 άτομα λαβρακιού χωρισμένα σε τρεις ηλικιακές ομάδες. Η πρώτη ομάδα περιλάμβανε νεαρά ιχθύδια (Fingerlings), η δεύτερη ομάδα περιλάμβανε ιχθύδια στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) και η τρίτη ομάδα περιλάμβανε ενήλικα άτομα (Adults). Μετρήθηκε το βάρος των ιχθύων, ακτινογραφήθηκαν και από τις ακτινογραφίες μετρήθηκε το μήκος των ατόμων καθώς και ο αριθμός σπονδύλων τους και το μήκος αυτών. Τα άτομα χωρίστηκαν σε υποομάδες σύμφωνα με τον αριθμό σπονδύλων τους και από κάθε άτομο πάρθηκε ο 10^{ος} σπόνδυλος του οποίου το βάρος μετρήθηκε. Επιπλέον, μετρήθηκαν τα ποσοστά Ca και P στο ανόργανο μέρος όλων των 10^{ων} σπονδύλων με φασματοσκοπία ακτινών X (EDS). Συγκρίθηκε το μήκος των ατόμων, το μήκος, το βάρος και τα ποσοστά Ca, P καθώς και η αναλογία Ca/P του 10^{ου} σπονδύλου τους ανάμεσα στις ηλικιακές κλάσεις και ανάμεσα στα άτομα με διαφορετικό αριθμό σπονδύλων. Το μήκος των ατόμων, το μήκος και το βάρος του 10^{ου} σπονδύλου διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ και των τριών ηλικιακών κλάσεων. Το ποσοστό Ca διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ενήλικων ατόμων (Adults) και των άλλων δύο ηλικιακών κλάσεων και μεταξύ των ενήλικων ατόμων (Adults) με διαφορετικό αριθμό σπονδύλων. Τέλος, το ποσοστό P διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με διαφορετικό αριθμό σπονδύλων.

Λέξεις κλειδιά: λαβράκι, τρεις ηλικιακές κλάσεις, αριθμός σπονδύλων, EDS

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 Συστηματική κατάταξη.....	1
1.2 Γενικά χαρακτηριστικά <i>D. labrax</i>	2
1.3 Γεωγραφική κατανομή	3
1.4 Εμπορική σημασία.....	4
1.5 Σκελετικό σύστημα και αξονικός σκελετός	5
1.6 Παράγοντες στους οποίους οφείλεται η οστεογένεση και ο σχηματισμός του αριθμού σπονδύλων.....	9
1.7 Ο ρόλος του ασβέστιο και του φώσφορου στα οστά.....	12
1.8 Σκοπός.....	13
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	14
2.1 Συλλογή και μέτρηση δειγμάτων	14
2.2 Μέθοδοι στατιστικής ανάλυσης	18
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	20
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	37
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	48
ABSTRACT.....	59

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Συστηματική κατάταξη

Η συστηματική κατάταξη του λαβρακιού είναι:

Βασίλειο: Ζώα (Animalia)

Συνομοταξία: Χορδωτά (Chordata)

Κλάση: Ακτινοπτερύγιοι (Actinopterygii)

Τάξη: Περκόμορφα (Perciformes)

Οικογένεια: Μορονίδες (Moronidae)

Γένος: *Dicentrarchus*

Είδος: *D. labrax*



Εικόνα 1: Λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) Πηγή: Citron / CC-BY-SA-3.0

1.2 Γενικά χαρακτηριστικά *D.labrax*

Το λαβράκι είναι ευρύαλο και ευρύθερμο είδος. Αντέχει σε 0,5 ‰ έως και 40‰ αλατότητα και το θερμοκρασιακό εύρος που μπορεί να αντέξει είναι από 5°C μέχρι και 28°C. Ζει σε βάθος μέχρι 100m. Φτάνει σε μήκος έως το 1m και σε βάρος έως τα 14kg (Σύνδεσμος Ελληνικών Θαλασσοκαλλιεργειών, ΣΕΘ 2017). Οι μέσες διαστάσεις του είναι 30 έως 50 cm σε μήκος και 0,50kg σε βάρος (Kuzir et al. 2004). Τα θηλυκά άτομα είναι 10 έως 40% μεγαλύτερα από τα αρσενικά άτομα (Haffray et al. 2000) και η διαφορά γίνεται αισθητή από τον πρώτο χρόνο ζωής τους και έπειτα.

Το λαβράκι είναι ιχθύς θηρευτής και βρίσκεται ψηλά στην τροφική αλυσίδα. Τρέφεται με μικρούς πελαγικούς ιχθύες όπως σαρδέλες, μικρές ρέγγες και άλλα μικρά ψάρια της άμμου, χέλια της άμμου, καλαμάρια και καρκινοειδή. Οι νεαροί ιχθύες προτιμούν περισσότερο τα ασπόνδυλα ως τροφή (Brosowski 1999). Από έρευνα που σχετιζόταν με τις διατροφικές συνήθειες του λαβρακιού και έγινε στην Ελλάδα, στην λιμνοθάλασσα Μεσολογίου- Αιτωλικού, έδειξε την προτίμησή του στις γαρίδες *Palaemon*, στα καβούρια, στα κεφαλοειδή και στις αθερίνες (Ρογδάκης και Κασπίρης 1999) (Παπαδόπουλος 2008).

Είναι είδος γονοχωριστικό. Η αναπαραγωγή του γίνεται μέσα στη θάλασσα (Nebel et al. 2005), παρουσιάζει εποχικό αναπαραγωγικό κύκλο (Mayer et al. 1988) και υψηλή γονιμότητα (κατά μέσο όρο 200.000 αυγά/ κιλά θηλυκού) (Haffray et al. 2000). Η εκκόλαψη των αυγών γίνεται 4 έως 9 μέρες μετά την γονιμοποίηση (Παπαδόπουλος 2008). Σημαντικό ρόλο στην εκκόλαψη των αυγών παίζει η θερμοκρασία του νερού και το πόσο ευνοϊκές για την επιβίωση τους είναι οι περιβαλλοντικές συνθήκες (Mayeretal. 1988). Η περίοδος εναπόθεσης αυγών αρχίζει τον χειμώνα στην Μεσόγειο Θάλασσα, Δεκέμβριο έως και Μάρτιο και μέχρι τον Ιούνιο στον Ατλαντικό Ωκεανό. Παρουσιάζεται μεγάλη διασπορά

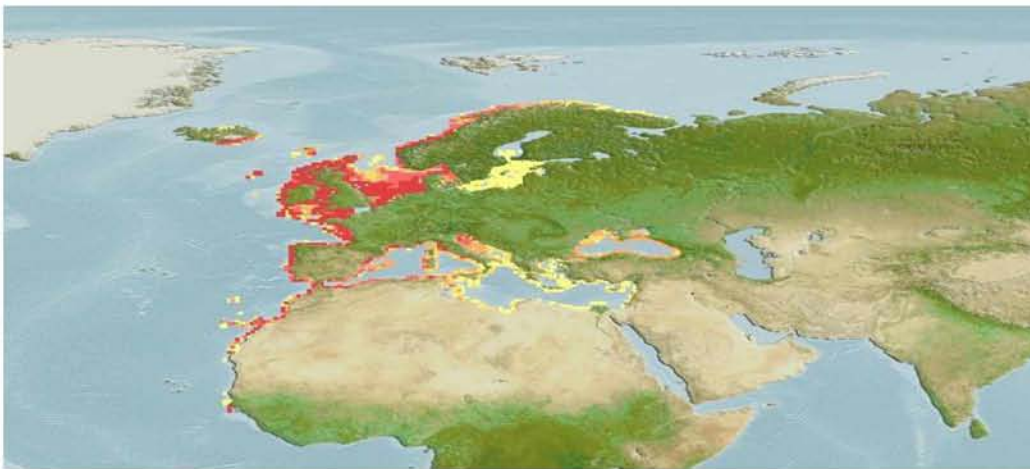
των αυγών και των προνυμφών κατά τους 3 πρώτους μήνες ζωής τους. Τα λαβράκια στην φύση μπορούν να φτάσουν μέχρι και τα 6 με 7 χρόνια ζωής (Haffray et al. 2000). Το πλαγκτονικό στάδιο της προνύμφης κρατάει 2 έως 3 μήνες και έπειτα μετακινούνται και αναπτύσσονται για 2 χρόνια στα παρόχθια ύδατα, στις λιμνοθάλασσες και στις εισόδους ποταμών (Παπαδόπουλος 2008). Αφού ενηλικιωθούν μεταναστεύουν στην ανοιχτή θάλασσα σε περιοχές αναπαραγωγής (Naciri et al. 1999). Στις συνθήκες εκτροφής η ωτοκία του λαβρακιού γίνεται αυθόρμητα (Piferfer et al. 2004).

Η σεξουαλική διαφοροποίηση του επηρεάζεται κυρίως από την θερμοκρασία ενώ στις υδατοκαλλιέργειες επηρεάζεται και από την συνθήκη εκτροφής τους, όπου και προτιμούνται τα αρσενικά άτομα (Saillant et al. 2003). Αυτό φαίνεται και από τα ποσοστά αρσενικών ατόμων στις υδατοκαλλιέργειες και στην φύση που είναι 75-80% και 50% ή και λιγότερο αντίστοιχα (Piferfer et al. 2004). Η ωρίμανση στα θηλυκά άτομα γίνεται τον τρίτο χρόνο ζωής τους, στα αρσενικά άτομα τον δεύτερο χρόνο ζωής του ενώ, μπορεί να συμβεί και η πρόωρη ωρίμανση των ατόμων στην διάρκεια του πρώτου έτους ζωής τους (Papadaki et al. 2005).

1.3 Γεωγραφική κατανομή

Το Ευρωπαϊκό (ή κοινό) λαβράκι *Dicentrarchus labrax* L. ζει στις θάλασσες, στις λιμνοθάλασσες και στις εισόδους των ποταμών (Naciri et al. 1999). Συναντάται σε ολόκληρη τη Μεσόγειο Θάλασσα και τη Μαύρη Θάλασσα καθώς επίσης και στα παράκτια ύδατα του Ατλαντικού Ωκεανού μεταξύ της Νότιας Νορβηγίας (60 ° N γεωγραφικού πλάτους) προς Μαρόκο, Κανάριους Νήσους, Σενεγάλη έως την Δυτική Σαχάρα (30 ° N

γεωγραφικού πλάτους). Εισάχθηκε για πολιτιστικούς σκοπούς στο Ισραήλ ενώ πιο πρόσφατα στο Ομάν και στα Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα (Haffray et al. 2000) (Εικ. 2).



Εικόνα 2: Χάρτης κατανομής λαβρακιού Πηγή: Kaschner et al. 2016

1.4 Εμπορική σημασία

Από τα τέλη της δεκαετίας του 1980 και μετά το λαβράκι έχει αποκτήσει μεγάλη σημασία για την Ευρώπη και ειδικότερα για την Μεσόγειο με συνεχόμενη αύξηση στην ζήτηση του. Πιο συγκεκριμένα, η παραγωγή του αυξήθηκε από το 1990 που ήταν 3.500 t σε 15.000 t το 1994 και συνέχισε να αυξάνεται σε 51.000 t το 2001, με την παραγωγή της Ελλάδας να φτάνει σε 25.000 t, της Ιταλίας σε 9.550 t, της Τουρκίας σε 8.000 t, της Γαλλίας σε 3.700 t, της Ισπανίας σε 2.950 t, της Πορτογαλίας σε 1.330 t και η υπόλοιπη ποσότητα προερχόταν από άλλες χώρες σύμφωνα με τα στοιχεία της Ευρωπαϊκής Ομοσπονδίας Ιχθυοκαλλιεργητών (FEAP) (Piferrer et al. 2004) (Παπαδόπουλος 2008). Από την άλλη πλευρά όμως σε αντίθεση με την αύξηση παραγωγής του η αγοραστική του αξία έχει μειωθεί από το 1990 (Lloris 2003). Το 2009 η Ευρωπαϊκή Ένωση κατείχε το 80% της παγκόσμιας παραγωγής λαβρακιού από υδατοκαλλιέργειες επιβεβαιώνοντας ότι είναι η μεγαλύτερη παραγωγός λαβρακιού, στην δεύτερη θέση ήταν η Αίγυπτος. Η Ελλάδα το

2009 παρήγαγε πάνω από 30.000 t λαβρακιού και έπαιξε σημαντικό ρόλο ούσα η κύρια χώρα παραγωγής λαβρακιού στην Ευρώπη, στην δεύτερη θέση ήταν η Ισπανία με 10.000-20.000 t παραγωγή σύμφωνα με τη (Eurostat) το 2009. Το 2016 η παγκόσμια παραγωγή του ήταν 191.003 t σύμφωνα με το Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) το 2019. Το 2017 η Ευρώπη παρήγαγε 84.319 t όπου από αυτούς η Ελλάδα παρήγαγε τους 48.000 t λαβρακιού αξίας 251,5 εκατομμυρίων ευρώ με μέση τιμή 5,24 ευρώ ανά κιλό, κατά 5,24% μειώθηκε η τιμή του σε σχέση με το προηγούμενο έτος 2016. Από αυτούς η εξαγωγή της ήταν 39.000 t, όπου οι 29.186 t από αυτούς πουλήθηκαν στην Ιταλία και οι υπόλοιποι σε άλλες χώρες. Το 2018 εκτιμάται ότι η παραγωγή του λαβρακιού στην Ελλάδα έφτασε τους 50.000 t (ΣΕΘ 2017). Όπως φαίνεται από τα παραπάνω, η Ελλάδα κατέχει την μεγαλύτερη παραγωγή λαβρακιού. Έτσι, η περαιτέρω ενασχόληση με αυτό το είδος έχει ιδιαίτερο επιστημονικό αλλά και οικονομικό ενδιαφέρον.

1.5 Σκελετικό σύστημα και αξονικός σκελετός

Το λαβράκι είναι ανώτερος ακτινοπτερύγιος και πιο συγκεκριμένα νεοτελεόστεος ιχθύς. Στο σκελετικό σύστημα των ιχθύων περιλαμβάνονται τα οστά, οι χόνδροι, τα λέπια, τα δόντια, ο συνδετικός ιστός, οι ακτίνες των πτερυγίων, οι τένοντες, οι σύνδεσμοι και όλα τα στηρικτικά κύτταρα που σχετίζονται με αυτά (Ferguson 2006) (Παπαδόπουλος 2008). Το σκελετικό σύστημα διακρίνεται σε τρία μέρη, τον αξονικό σκελετό ή σπονδυλική στήλη, τον κρανιακό σκελετό και τον ζωνικό σκελετό (Μούτου 2015). Ο αξονικός σκελετός αποτελείται από οστά και χόνδρους και λειτουργεί ως στήριγμα για τους μύες του σώματος τους, ως προστασία για τα όργανα τους και παίζει σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό του ασβεστίου ως πηγή αποθηκευμένων ιόντων (Παπαδόπουλος 2008). Ο αξονικός σκελετός ποικίλει δομικά από ένα χόνδρινο σωλήνα που περικλείει την

νωτοχορδή στους μυξίνους, μέχρι μία πλήρως οστέινη σπονδυλική στήλη στους τελεόστεους. Η σπονδυλική στήλη είναι σχηματισμένη από σπονδύλους που ο καθένας τους αποτελείται από το σπονδυλικό σώμα και από το νευρικό και αιματικό τόξο. Το νευρικό κανάλι σχηματίζεται από την ένωση όλων αυτών των νευρικών τόξων και διατρέχει όλο το μήκος τους σώματος. Νευρικές άκανθες προεκβάλλουν από τα νευρικά τόξα και αποτελούν σημεία πρόσφυσης των μυών. Αντίστοιχα, το αιματικό κανάλι σχηματίζεται από την ένωση όλων των αιματικών τόξων το οποίο βρίσκεται κοιλιακά και προς τα πίσω και διατρέχεται από τα κύρια αιμοφόρα αγγεία τα οποία είναι υπεύθυνα για την αιμάτωση της ουραίας περιοχής. Οι σπόνδυλοι της σπονδυλικής στήλης στο λαβράκι κυμαίνονται από 24 έως 26 και εφόσον τα μεσοσπονδύλια διαστήματα στους οστειχθύες είναι $n-1$, όπου n είναι ο συνολικός αριθμός των σπονδύλων, στο λαβράκι τα μεσοσπονδύλια διαστήματα κυμαίνονται από 23 έως 25 αντίστοιχα (Faustino & Power 1998). Το μαροκινό λαβράκι που ταιριάζει με το ευρωπαϊκό λαβράκι έχει 25 σπονδύλους όπως κατέγραψε ο Gravién (1961) και το γραμμωτό λαβράκι (*Morone saxatilis*) βρέθηκε να έχει 24 σπονδύλους, 12 ραχιαίους και 11 ουραίους ενώ σε μερικά γραμμωτά λαβράκια βρέθηκαν και 25 σπόνδυλοι με τον έναν παραπάνω να προστίθεται στην ουραία περιοχή (Nowroozi et al. 2012). Ενώ, μελετώντας την μορφολογία και την ανατομία του ευρωπαϊκού λαβρακιού ο Bou Ain (1977) κατέγραψε λίγα λαβράκια με 24 σπονδύλους. Ο αξονικός σκελετός των ιχθύων είναι λειτουργικά διαφοροποιημένος από τον σκελετό των χερσαίων σπονδυλωτών. Οι δυο μπροστινοί σπόνδυλοι που είναι ο άτλας και ο άξονας είναι διαφοροποιημένοι για την πρόσφυση του κεφαλιού. Στο άλλο άκρο της σπονδυλικής στήλης, οι τελευταίοι σπόνδυλοι που είναι οι υπόουροι, οι επίουροι και το ουρόστηλο φέρουν ειδικά πεπλατυσμένα τόξα για τη συμμετρική πρόσφυση με τις ακτίνες του ουραίου πτερυγίου. Ενδιάμεσα βρίσκονται οι σπόνδυλοι του κορμού οι οποίοι φέρουν πλευρά στο μπροστινό κομμάτι του σώματος για την πρόσφυση με τους μύες που σχηματίζουν την

σπλαχνική κοιλότητα και με τους σπονδύλους που σχηματίζουν το αιματικό κανάλι στο πίσω μέρος του σώματος (Μούτου 2015).

Ο οστίτης ιστός αποτελείται από δύο τύπους, τον κυτταρικό οστίτη ιστό και τον ακυτταρικό οστίτη ιστό. Ο ακυτταρικός οστίτης ιστός δεν έχει οστεοκύτταρα διότι οι οστεοβλάστες, τα κύτταρα που σχηματίζονται από τα οστά του σκελετού, εξασθενούν κατά το στάδιο της ασβεστοποίησης και έτσι δεν εμπεριέχονται μέσα στα οστά. Τα οστά αυτά άρα είναι «νεκρά» παρόλο που οι οστεοκλάστες εισέρχονται μέσα στα οστά (Kranenbarg et al. 2005) (Παπαδόπουλος 2008).

Τα ακυτταρικά οστά στους ανώτερους οστειχθύες, όπως είναι και το λαβράκι, περιβάλλονται από περίοστεο που αποτελείται από δύο στρώματα, το στρώμα ινώδους συνδετικού ιστού και οστεογόνο στρώμα. Στο τελευταίο εμπεριέχονται οστεοβλάστες που είναι υπεύθυνοι για την έκκριση της κολλαγόνου θεμέλιας ουσίας των ακυτταρικών οστών (Groman 1982) (Παπαδόπουλος 2008).

Οι οστεοβλάστες είναι οξεόφιλα κύτταρα ακανόνιστου σχήματος στα οποία εμπεριέχονται μεγάλοι κυκλικοί πυρήνες με διάχυτη χρωματίνη και καταλαμβάνουν μεγάλους χώρους στην θεμέλια ουσία. Έπειτα, όσο απομακρύνονται από το στηρικτικό περίοστεο αποπλατύνονται και εκφυλίζονται (Stoskopf 1993).

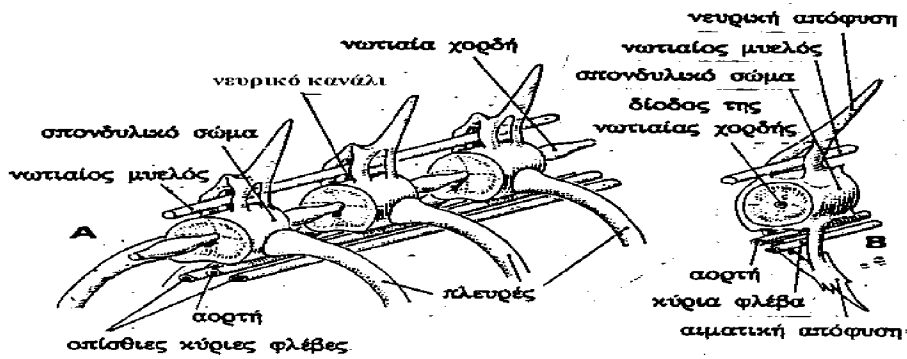
Τα οστά των ιχθύων δεν έχουν μυελό. Η αιμοποίηση πραγματοποιείται στο πρόσθιο μέρος των νεφρών, στο σπλήνα και σε μικρότερο βαθμό εστίες αιμοποίησης εντοπίζονται σε περιοχές του ήπατος, στον υποβλεννογόνο χιτώνα του εντέρου και στον θύμο αδένα (Βερίλλης και Μεντέ 2017). Επίσης, τα οστά των ιχθύων έχουν την τάση να παγιδεύουν τα οστικά τους κύτταρα και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την μη δυνατότητα επαναρρόφησης του ασβεστίου. Συνεπώς είναι δύσκολο να αποκατασταθούν τα σπασίματα των οστών ή η οποιαδήποτε παραμόρφωσή τους (Χώτος 2015).

Τα οστά των ιχθύων είναι δυναμικοί ιστοί , οι οποίοι παρουσιάζουν επαναρρόφηση και αναδόμηση, έχοντας στόχο την ανάπτυξή τους και την εξυπηρέτηση διάφορων μεταβολικών σκοπών. Η αντικατάσταση των οστών γίνεται μέσω πολλών κυτταρικών διαδικασιών όπως είναι η επαναρρόφηση των οστών από μονοπύρηννα κύτταρα, από πολυπύρηνους οστεοκλάστες και από οστεοκύτταρα όπως είναι η απασβέστωση της μεσοκυττάριας ουσίας των οστών (Witten and Hall 2002) (Παπαδόπουλος 2008).

Ο σχηματισμός των οστών από χονδρικά στοιχεία στους τελεόστεους ιχθύες μπορεί να γίνει με τους εξής τρόπους: με άμεση οστέωση όπως στα δερματικά και υμενογενή οστά, με έμμεση περιχόνδρια που έχει σαν αποτέλεσμα τον σχηματισμό οστών που χαρακτηρίζονται από χόνδρινο πυρήνα που τον περιβάλλει ακυτταρικό οστό όπως είναι οι νευραποφύσεις και οι αιματοποφύσεις και με ενδοχόνδρια οστέωση του υαλοειδούς χόνδρου όπως στα χονδρογενή οστά που έχει σαν αποτέλεσμα τον σχηματισμό ακυτταρικών οστών όπως είναι το νευροκρανίο και οι σπόνδυλοι (Groman 1982) (Παπαδόπουλος 2008).

Το κέντρο των σπονδύλων στο λαβράκι αποτελείται από ακυτταρικό οστό ενώ, στα νεαρά άτομα ο σκελετός τους είναι κυρίως χόνδρινος (Kuzir et al. 2004). Στην νωτοχορδή που βρίσκεται μέσα στην σπονδυλική στήλη των ιχθύων εμπεριέχεται μια διαφορετική ειδική μορφή χόνδρου, ένας μη ασβεστοποιημένος ιστός ο οποίος αποτελείται από ένα ενδιάμεσο, ανάμεσα σε κυτταρικό συνδετικό ιστό και χόνδρο. Στο λαβράκι ο χόνδρος αυτός, στο κέντρο της νωτοχορδής, αποτελείται από χονδροκύτταρα που περιέχουν κενोटόπια με νερό και ο πυρήνας τους βρίσκεται στο κέντρο του κυττάρου. Στην περιφέρεια του κυττάρου τα χονδροκύτταρα παρουσιάζουν μια διόγκωση (Stoskopf 1993) (Παπαδόπουλος 2008). Η νωτοχορδή ξεκινάει από το νευροκρανίο και φτάνει έως τη βάση του ουραίου πτερυγίου και έχει σχήμα ράβδου. Στους οστεϊχθύες είναι προσκολλημένη, ανά κανονικά διαστήματα, στο κέντρο των σπονδύλων και την περιβάλλει μια θήκη

συνδετικού ιστού, όσο ένα κύτταρο σε πάχος (Groman 1982) (Παπαδόπουλος 2008) (Εικ. 3).



Εικόνα 3: Αξονικός σκελετός τελεόστεου. Α. Κορμός. Β. Σπόνδυλος ουραίας περιοχής Πηγή: Μούτου 2015

1.6 Παράγοντες στους οποίους οφείλεται η οστεογένεση και ο σχηματισμός του αριθμού σπονδύλων

Οι ιχθύες λόγω του μικρού μεγέθους τους είναι κατάλληλα μοντέλα για την μελέτη των μηχανισμών ανάπτυξης των σπονδύλων. Υπάρχει στενή συσχέτιση ανάμεσα στην πρώτη σίτιση των προνυμφών και των σκελετικών ανωμαλιών (Zambonino and Cahu 1999). Τα γονίδια που παίζουν ρόλο στην διαμόρφωση του σώματος μπορούν να ρυθμιστούν είτε από την φύση αλλά και από την μοριακή μορφή των θρεπτικών ουσιών (Krumlauf 1994).

Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) με κυρίαρχο μεταφορέα τον SVCT1 (Savini et al. 2008) φαίνεται να συμβάλει στις σκελετικές ανωμαλίες των ιχθύων προκαλώντας με την έλλειψή της κυρίως την ανώμαλη ανάπτυξη χόνδρου στα βράγχια, σκορβούτο και την ύπαρξη μειωμένης ποσότητας κολλαγόνου στους χόνδρους των περισσότερων ιστών των

νεαρών ατόμων (Darias et al. 2011) (Divanach et al. 1997). Επιπλέον, σύμφωνα με το National Research Council (NRC) το 1993, η προτεινόμενη και φυσιολογική ποσότητας βιταμίνης C στην σύσταση της τροφής σε λάρβες ιχθύων είναι 400mg βιταμίνης C/kg τροφής. Ωστόσο, σε λάρβες λαβρακίων η χαμηλότερη χορηγούμενη ποσότητα μέσω της τροφής, 15mg βιταμίνης C/kg τροφής έδειξε πως στο τέλος της προνυμφικής περιόδου, 45 ημερών είχε σαν αποτέλεσμα τον σχηματισμό 24 σπονδύλων δηλαδή επέφερε έναν σπόνδυλο λιγότερο, η χορήγηση 30mg έως 50mg βιταμίνης C/kg τροφής είχε σαν αποτέλεσμα την συχνότερη εμφάνιση ατόμων με 25 σπονδύλους ενώ, η χορήγηση της προτεινόμενης ποσότητας, 400mg βιταμίνης C/kg τροφής είχε σαν αποτέλεσμα τον σχηματισμό 26 σπονδύλων δηλαδή, ενός παραπάνω σπονδύλου (Darias et al. 2011). Επί πρόσθετα, σε λάρβες λαβρακίων που τροφοδοτήθηκαν με τροχοφόρα εμπλουτισμένα με βιταμίνη C και Αρτέμια διαπιστώθηκε πως εμφάνισαν 50% λιγότερες λειτουργικές ανωμαλίες συγκεκριμένα, στα βράγχια (Cahu et al. 2003b).

Η βιταμίνη A είναι μία ακόμα απαραίτητη βιταμίνη η οποία αν χορηγηθεί είτε σε μεγαλύτερη είτε σε μικρότερη ποσότητα μέσω της τροφής στους ιχθύες έχει τερατογόνες επιδράσεις στους σπονδύλους τους ,επιδράσεις στην ανάπτυξή τους και επιφέρει παραμορφώσεις στο νευροκρανίο, στην άνω γνάθο και στον εγκέφαλο (Villeneuve et al. 2005).

Η βιταμίνη D που είναι μια λιποδιαλυτή προ-ορμόνη επιδρά στους οστεοβλάστες και αυτοί με την σειρά τους αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό, ρυθμίζουν την διαφοροποίηση και την ανοργανοποίηση της εξωκυτταρικής ουσίας. Ακόμη η βιταμίνη D παίζει σημαντικό ρόλο στην διατήρηση της ομοιόστασης του ασβεστίου και του φωσφόρου και προστατεύει τον σκελετό. Η χορήγησή κατάλληλης ποσότητας βιταμίνης D αναστέλλει την δημιουργία σκελετικών παραμορφώσεων αν και ακόμα δεν έχουν καθοριστεί οι απαιτήσεις της κατά την προνυμφική περίοδο στους ιχθύες (Darias et al. 2010).

Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα επηρεάζουν την έκφραση γονιδίων που έχει σαν αποτέλεσμα τις επιδράσεις και στον μεταβολισμό, στην ανάπτυξη και την διαφοροποίηση των κυττάρων (Cahu et al. 2003).

Οι πρωτεΐνες που συμπεριλαμβάνονται στην δίαιτα προνυμφών φαίνεται να επηρεάζουν την ποιότητα της ανάπτυξής τους. Ειδικότερα, η ενσωμάτωση πεπτιδίων, διπεπτιδίων ή και τριπεπτιδίων με 20 αμινοξέα φέρει μείωση σπονδυλικών δυσπλασιών στο λαβράκι (Cahu et al. 2003). Η πρωτεΐνη οστεοκαλσίνη παράγεται αποκλειστικά από τους οστεοβλάστες και η σύνθεσή της εξαρτάται από την παρουσία των βιταμινών D3, K και C και συμβάλει στην οστεοποίηση ώριμων οστεοβλαστών. Επιπλέον, η TRPV6 αποτελεί μεμβρανική πρωτεΐνη, η έκφρασή της εξαρτάται από την ύπαρξη της βιταμίνης D και εμπλέκεται στο πρώτο στάδιο απορρόφησης ασβεστίου στο έντερο (Darias et al. 2011).

Πολλοί γονιδιακοί δείκτες παίζουν ρόλο στη γένεση σκελετικών δυσμορφιών στους ιχθύες. Η BMP4, που είναι οστική μορφογενετική πρωτεΐνη 4 εμπλέκεται στην ανάπτυξη των οστών και των χόνδρων και για την δράση της είναι απαραίτητη η βιταμίνη A, οποιαδήποτε διαταραχή της οδηγεί σε αλλοιώσεις σιαγόνων ή σπονδύλων (Haga et al. 2002). Ο IGF-1, που είναι ο ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας 1 αποτελεί ορμόνη που η παραγωγή της γίνεται κυρίως από το ήπαρ με την βοήθεια της αυξητικής ορμόνης GH και παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των ιχθύων και στην ρύθμιση της συμβάλει η παρουσία της βιταμίνης A καθώς το γονίδιο αυτό είναι δυνητικά επαγωγίμο από την βιταμίνη A (Gabbitas and Canalis 1998). Ο PPAR γ είναι ενεργοποιημένος υποδοχέας από πολλαπλασιαστή υπεροξειδάσης και εμπλέκεται στον σχηματισμό και την διαφοροποίηση των οστεοβλαστών. Ο RAR γ είναι ο γάμμα υποδοχέας της βιταμίνης A και εμπλέκεται στον σχηματισμό χόνδρων. Ο VDR β είναι ο υποδοχέας β της βιταμίνης D και παίζει ρόλο στην ρύθμιση γονιδίων στόχων που εμπλέκονται στην οστεοποίηση (Darias et al. 2011).

1.7 Ο ρόλος του ασβέστιο και του φώσφορου στα οστά

Οι ιχθύες προσλαμβάνουν απευθείας από το νερό το ασβέστιο και μέσω της διατροφής τους το φώσφορο διότι η συγκέντρωσή του στο θαλασσινό νερό είναι χαμηλή (Lall and Lewis- McCrea 2007). Το 90% από το οργανικό μέρος των οστών των ιχθύων αποτελείται από κολλαγόνο. Ο κύριος τύπος κολλαγόνου στα οστά των ιχθύων είναι ο I. Το 65% της ξηρής μάζας από το ανόργανο μέρος των οστών των ιχθύων αποτελείται από ασβέστιο και φώσφορο (Berillis and Panagiotopoulos 2015). Ο λόγος ασβεστίου φωσφόρου (Ca/P) στα οστά των ιχθύων κυμαίνεται από 0,7 έως 1,6 (Lall 2002). Ο υδροξυαπατίτης, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ είναι φωσφορικό ορυκτό του ασβεστίου με υψηλές συγκεντρώσεις ιόντων υδροξυλίου που χρησιμεύει ως υπόστρωμα στον οστικό ιστό. Ο συνδυασμός των ινών κολλαγόνου, του φωσφόρου και του ασβεστίου συμβάλουν στην ακαμψία και στην σκληρότητα των οστών αν και οι ίνες κολλαγόνου του προσδίδουν μια μικρή ελαστικότητα. Παθολογικά, όταν ο οστίτης ιστός δεν έχει την φυσιολογική λεπτή δομή αυτό οδηγεί στις μη φυσιολογικές ρυθμίσεις των ινών κολλαγόνου και σε ανωμαλίες στην δομή των ινών (Berillis and Panagiotopoulos 2015). Η έλλειψη ασβεστίου δεν είναι συνηθισμένη στους ιχθύες σε αντίθεση με το φώσφορο όπου τα σημάδια ανεπάρκειάς του είναι η αργή ανάπτυξη, η αργή ασβεστοποίηση των οστών και η εμφάνιση σκελετικών δυσμορφιών (Lall 2002).

1.8 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας είναι η μέτρηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών και των ποσοστών ασβεστίου (Ca) και φωσφόρου (P) στους σπονδύλους λαβρακιού ανάμεσα σε τρεις διαφορετικές ηλικιακές κλάσεις και ανάμεσα σε τρεις διαφορετικούς αριθμούς σπονδύλων τους οποίους κατείχαν. Ερώτημα αποτέλεσε επίσης και η σύγκριση των χαρακτηριστικών και των ποσοστών αυτών ανάμεσα στις τρεις διαφορετικές ηλικιακές κλάσεις σχετικά με τον αριθμό σπονδύλων και το αντίστροφο. Ο λόγος για τον οποίο έλαβε μέρος το πείραμα ήταν για να εξεταστεί αν το ποσοστό Ca και P καθώς και ο λόγος Ca/P έχει άμεση σχέση και επηρεάζεται από την ηλικία ή και από τον αριθμό σπονδύλων που κατέχει το λαβράκι.

2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Συλλογή και μέτρηση δειγμάτων

Η παρούσα εργασία περιλαμβάνει συλλογή 73 ατόμων λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) συνολικά, τριών διαφορετικών ηλικιακών κλάσεων. Από αυτά τα 45 ήταν νεαρά ιχθύδια (Fingerlings), τα 18 ήταν ιχθύδια στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) και τα 10 ενήλικα (Adults). Τα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) προήρθαν από την μονάδα ιχθυοκαλλιέργειας ΣΕΛΟΝΤΑ ΑΕΓΕ από την περιοχή Ψαχνά Ευβοίας και εκτράφηκαν με τροφή που περιείχε 55% ολική πρωτεΐνη, 15% ολικές λιπαρές ουσίες, 21,2% ενέργεια, 1,6% φώσφορο 11,3% τέφρα, 500 IU/ Kg βιταμίνη C, 1000mg/ Kg βιταμίνη D3 και 390 mg/ Kg βιταμίνη E ενώ, η θερμοκρασία στις δεξαμενές ήταν στους 20°C και το pH 7,5 σε όλη την διάρκεια εκτροφής τους. Το μέσο ολικό μήκος τους ήταν $94,96 \pm 0,9$ mm και το μέσο ολικό βάρος τους ήταν $5,27 \pm 0,06$ g. Από την ίδια ιχθυοκαλλιέργεια προήρθαν 18 επιπλέον νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) των οποίων η ανάπτυξη συνεχίστηκε μέχρι και το πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) σε ενυδρεία των εγκαταστάσεων του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η σύσταση της τροφής με την οποία και εκτράφηκαν ήταν η ίδια με αυτή των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) , η θερμοκρασία ήταν στους 20,3°C και το pH κυμάνθηκε από 6,9 έως 7,1. Το μέσο ολικό μήκος τους ήταν $143,79 \pm 1,98$ mm και το μέσο ολικό βάρος τους ήταν $25,25 \pm 1,05$ g. Τα ενήλικα άτομα (Adults) προήρθαν από το εμπόριο και εκτράφηκαν με εμπορική τροφή που περιείχε 46% ολική πρωτεΐνη και 17% ολικές λιπαρές ουσίες ενώ, οι φυσικές και χημικές παράμετροι του νερού μαζί με την θερμοκρασία και το διαλυμένο οξυγόνο ήταν από 21,5°C έως 23,7°C και 8,1 έως 9,0 mg/l αντίστοιχα. Το μέσο ολικό μήκος τους ήταν $319,43 \pm 5$ mm και το μέσο ολικό βάρος τους ήταν $291,9 \pm 29,68$ g.

Αρχικά, ακτινογραφήθηκαν όλοι οι ιχθύες και από τις ακτινογραφίες μετρήθηκε το ολικό μήκος τους, το ολικό μήκος της σπονδυλικής στήλης, ο αριθμός σπονδύλων και το μήκος αυτών καθενός ξεχωριστά μέσω του προγράμματος *syngofastView*. Στα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) και στα ιχθύδια στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) ο αριθμός σπονδύλων τους κυμάνθηκε σε 24, 25 και 26 σπόνδυλους ενώ στα ενήλικα άτομα (Adults) σε 24 και 25 σπονδύλους.

Μετά την ακτινογράφιση και την διαδικασία μέτρησης των μηκών τους, με χρήση λαβίδας και νυστεριού όλοι οι ιχθύες ανατομήθηκαν για να παρθεί ο 10^{ος} σπόνδυλος από το κάθε άτομο. Όλοι οι 10^{οι} σπόνδυλοι κωδικοποιήθηκαν. Στην κωδικοποίηση επισημάνθηκε η ηλικιακή κλάση του κάθε ατόμου με A(Adults) για τα ενήλικα άτομα, με J (Juveniles) για τα ιχθύδια στο πρώτο στάδιο εκτροφής και με F (Fingerlings) για τα νεαρά ιχθύδια. Επίσης, η κωδικοποίηση έγινε και σε σχέση με τον αριθμό σπονδύλων που είχε το κάθε άτομο. Παραδείγματος χάριν ο 10^{ος} σπόνδυλος από το πρώτο ενήλικο άτομο με 24 σπονδύλους πήρε τον κωδικό1A24. Με την ίδια φιλοσοφία κωδικοποιήθηκαν και όλοι οι υπόλοιποι 10^{οι} σπόνδυλοι από όλα τα άτομα (Εικ. 4). Με βάση αυτόν τον σπόνδυλο έγιναν όλες οι μετρήσεις και λειτούργησε σαν αντιπροσωπευτικό δείγμα για την εργασία διότι ο 10^{ος} σπόνδυλος βρίσκεται στην μέση της σπονδυλικής στήλης του λαβρακιού. Σε αντίθεση με την τσιπούρα (*Sparus aurata*) παραδείγματος χάριν που έχει 24 σπονδύλους και χωρίζονται σε 4 αυχενικούς, 12 κοιλιακούς και 8 ουραίους σπονδύλους (Berillis and Panagiotopoulos 2014). Δεν βρέθηκε αντίστοιχο πρωτόκολλο για τον διαχωρισμό των σπονδύλων του λαβρακιού εφόσον ο συνολικός αριθμός των σπόνδυλων του κυμαίνονται σε 24,25 και 26.

Για την μέτρηση βάρους των σπονδύλων χρησιμοποιήθηκαν πορσελάνινα δοχεία (Εικ. 5) και ζυγός ακριβείας (Εικ. 6). Αρχικά μετρήθηκε το βάρος των πορσελάνινων δοχείων και στη συνέχεια το συνολικό βάρος μαζί με τους σπονδύλους. Το ολικό καθαρό βάρος του κάθε σπονδύλου προέκυψε με την αφαίρεση του βάρους του πορσελάνινου

δοχείου από το βάρος του δοχείου που περιείχε το σπόνδυλο. Τα δοχεία με τους σπονδύλους μεταφέρθηκαν σε αποτεφρωτή (Εικ. 7) για 90 min στους 600°C.



Εικόνα 4: Κωδικοποίηση δειγμάτων



Εικόνα 5: Ειδικά πορσελάνινα δοχεία



Εικόνα 6: Ζυγός ακριβείας



Εικόνα 7: Αποτεφρωτής

Μετά την αποτέφρωση στο ανόργανο υλικό των σπονδύλων που είχε παραμείνει πραγματοποιήθηκε η μέθοδος φασματοσκοπίας ακτίνων X (EDS) (Εικ. 10 και 11), με σκοπό την ανίχνευση των στοιχείων που περιέχουν οι σπόνδυλοι με έμφαση στα ποσοστά ασβεστίου (Ca) και φωσφόρου (P). Κατά την διαδικασία της μεθόδου EDS, ο κάθε σπόνδυλος χωρίστηκε σε 3 φασματικές περιοχές όπου μετρήθηκε ο μέσος όρος όλων των στοιχείων στις 3 φασματικές περιοχές.

Ο τύπος του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σαρώσεως (SEM) που χρησιμοποιήθηκε ήταν ο JSM-6510 LV της εταιρίας JEOL (Εικ. 8) και το EDS με βάση του οποίου πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις της εταιρίας Oxford Instruments (Εικ. 9).



Εικόνα 8: Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σαρώσεως (SEM) JSM-6510 LV JEOL **Εικόνα 9:** EDS Oxford Instruments



Εικόνα 10: Προετοιμασία δειγμάτων για την πραγματοποίηση της μεθόδου φασματοσκοπίας ακτίνων Χ(EDS)



Εικόνα 11: Εισαγωγή δειγμάτων στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σαρώσεως (SEM)

2.2 Μέθοδοι στατιστικής ανάλυσης

Για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα OriginPro8. Η στατιστική ανάλυση του μήκους, του καθαρού βάρους και του ποσοστό Ca και P έγινε στον 10^ο σπόνδυλο του κάθε δείγματος. Οι μετρήσεις αρχικά ομαδοποιήθηκαν σύμφωνα με την ηλικιακή κλάση και έπειτα σύμφωνα με τον αριθμό σπονδύλων που είχε ο κάθε ιχθύς για να γίνει βάση αυτών η στατιστική επεξεργασία. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε έλεγχος ακολουθίας κανονικής κατανομής των μετρήσεων ανά ομάδα με το τεστ Shapiro-Wilk του προγράμματος για την πλειονότητα των δειγμάτων όπου το μέγεθός τους ήταν μικρότερο από 50 εκτός από τις μετρήσεις του Ca και του P στα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) με αριθμό σπονδύλων 24 και 25 όπου το μέγεθος των μετρήσεων των δειγμάτων ξεπερνούσε το 50 και χρησιμοποιήθηκε το τεστ Kolmogorov-Smirnov του

προγράμματος. Στη συνέχεια υπολογίστηκε ο μέσος όρος, το τυπικό σφάλμα του μέσου όρου, η τυπική απόκλιση, η διάμεσος και το ενδοτεταρτημοριακό εύρος.

Για την παρουσίαση των δειγμάτων των οποίων οι τιμές ακολουθούν την κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα, για την παρουσίαση των δειγμάτων των οποίων οι τιμές δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε ο διάμεσος \pm ενδοτεταρτημοριακό εύρος.

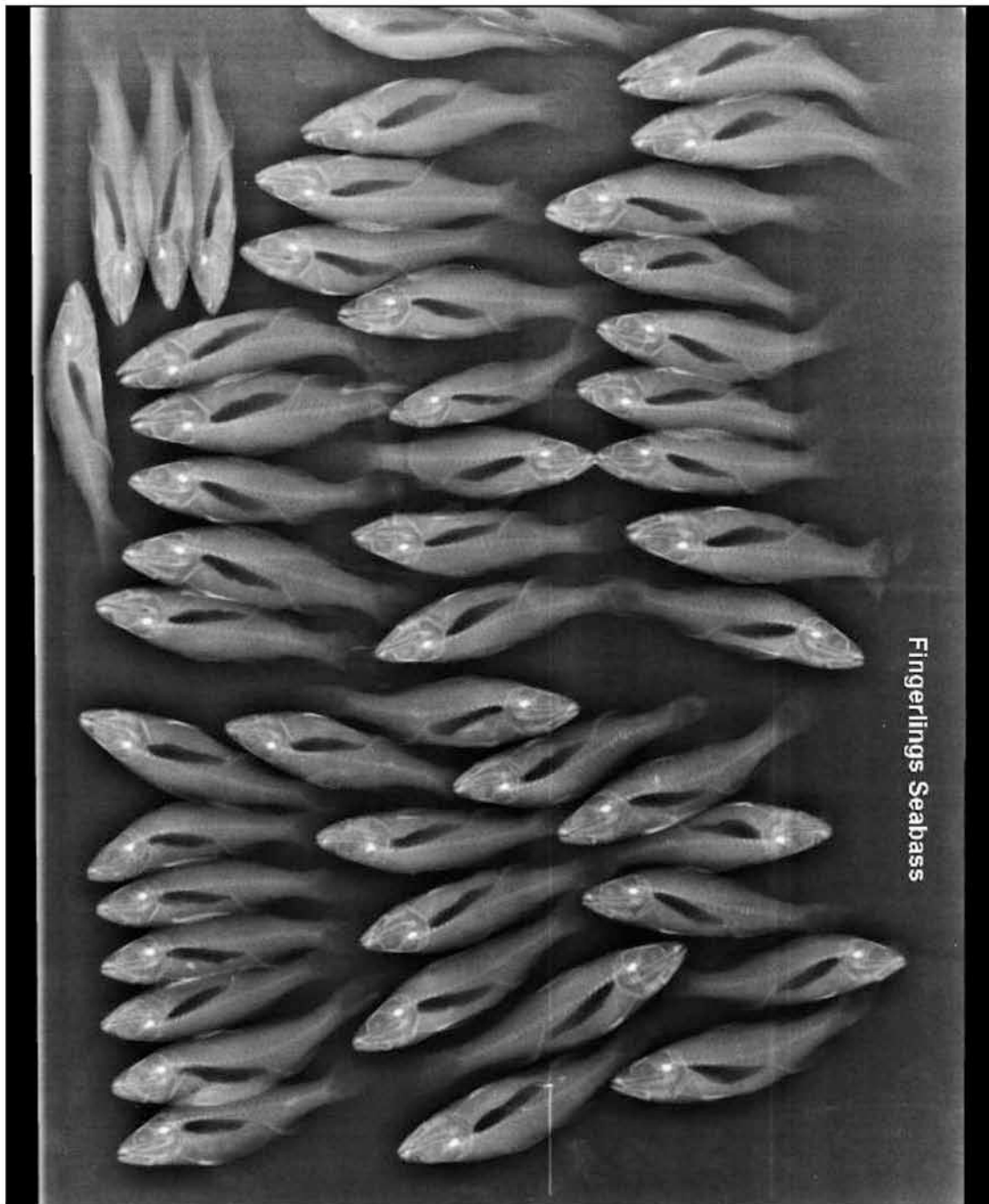
Έπειτα, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση στα ποσοστά Ca και P καθώς και στο καθαρό βάρος των 10^{6v} σπονδύλων ανάμεσα στα άτομα με διαφορετικό αριθμό σπονδύλων που βρισκόταν στην ίδια ηλικιακή κλάση για την εύρεση των διαφορών και την σύγκριση των ποσοστών αυτών καθώς και για την σύγκριση των καθαρών βαρών των σπονδύλων σε σχέση με τον αριθμό σπονδύλων που είχαν τα άτομα στην αντίστοιχη ηλικιακή κλάση. Έπειτα πραγματοποιήθηκε και στατιστική ανάλυση εκ νέου στα ποσοστά Ca και P καθώς και στα καθαρά βάρη σπονδύλων αυτήν την φορά ανάμεσα στα άτομα με τον ίδιο αριθμό σπονδύλων που βρισκόταν σε διαφορετική ηλικιακή κλάση για την εύρεση διαφορών και την σύγκριση των ποσοστών αυτών καθώς και για την σύγκριση των καθαρών βαρών των σπονδύλων σε σχέση με την ηλικιακή κλάση. Η στατιστική σύγκριση έγινε με ANOVA όπου είχαμε σύγκριση ανάμεσα σε 3 ομάδες, αν αυτές ακολουθούσαν την κανονική κατανομή. Μέσω της ANOVA έγιναν συγκρίσεις ανάμεσα στους μέσους όρους των ομάδων με το Tukey test. Για σύγκριση ανάμεσα σε 2 ομάδες που η μία ή και οι δύο δεν ακολουθούσαν την κανονική πραγματοποιήθηκε το μη-παραμετρικό τεστ Mann-Whitney ενώ, για σύγκριση ανάμεσα σε 2 ομάδες όπου και οι δύο ακολουθούσαν την κανονική κατανομή πραγματοποιήθηκε Two-sample t-Test. Το επίπεδο σημαντικότητας (P) ορίστηκε στο 0,05.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

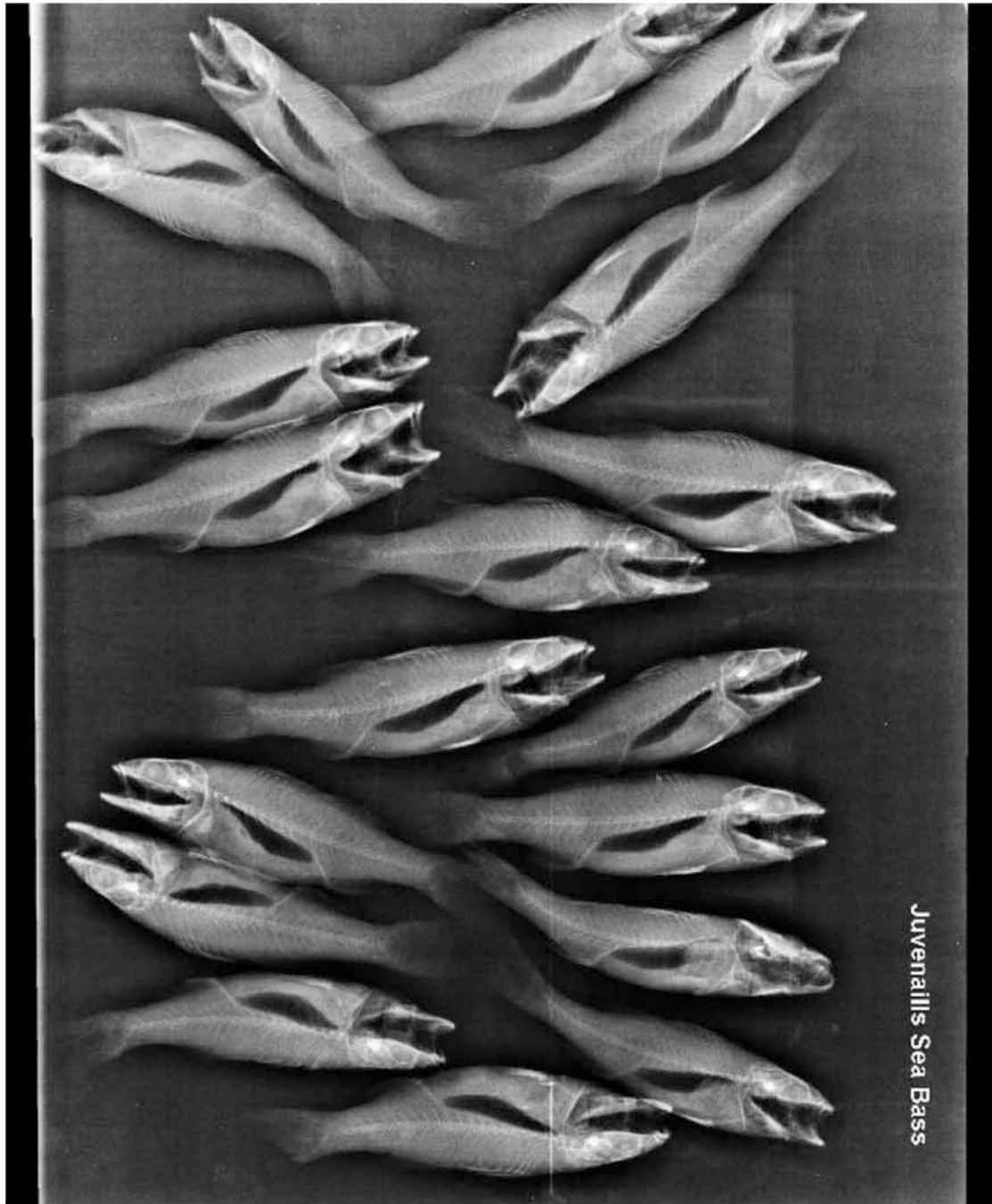
Στον Πίνακα 3.1 παρουσιάζονται τα μήκη των 73 συνολικά ατόμων για τις τρεις ηλικιακές κλάσεις των ιχθύων. Από το σύνολο των 73 ατόμων τα 45 ήταν νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) (Εικ. 12), τα 18 ήταν ιχθύδια στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) (Εικ. 13) και τα 10 ήταν ενήλικα άτομα (Adults) (Εικ. 14 και 15). Το μέσο ολικό μήκος των 45 νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) είναι $94,96 \pm 0,93$ mm (Εικ. 16), των 18 ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) είναι $143,79 \pm 1,98$ mm (Εικ. 17) και των 10 ενήλικων ατόμων (Adults) είναι $319,43 \pm 5$ mm (Εικ. 18). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα διότι τα δεδομένα ακολουθούσαν την κανονική κατανομή και διέφεραν στατιστικά σημαντικά.

Πίνακας 3.1: Ολικό μήκος (mm) όλων των ατόμων (Μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα).

Νεαρά ιχθύδια (Fingerlings)	Ιχθύδια πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles)	Ενήλικοι ιχθύες (Adults)
$94,96 \pm 0,93$	$143,79 \pm 1,98$	$319,43 \pm 5$



Εικόνα 12: Ακτινογραφία νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) λαβρακιού



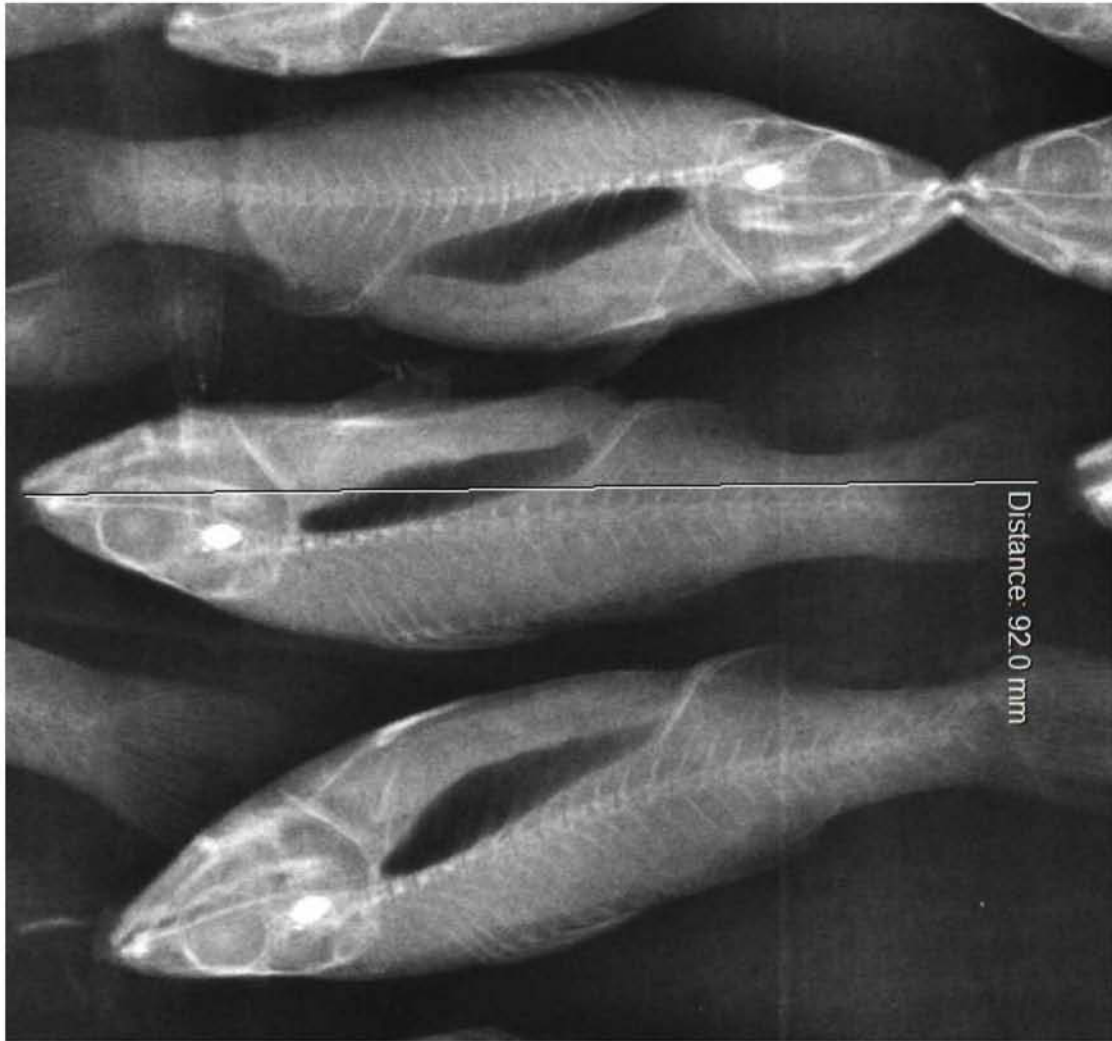
Εικόνα 13: Ακτινογραφία ιχθυδίων λαβρακιού πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles)



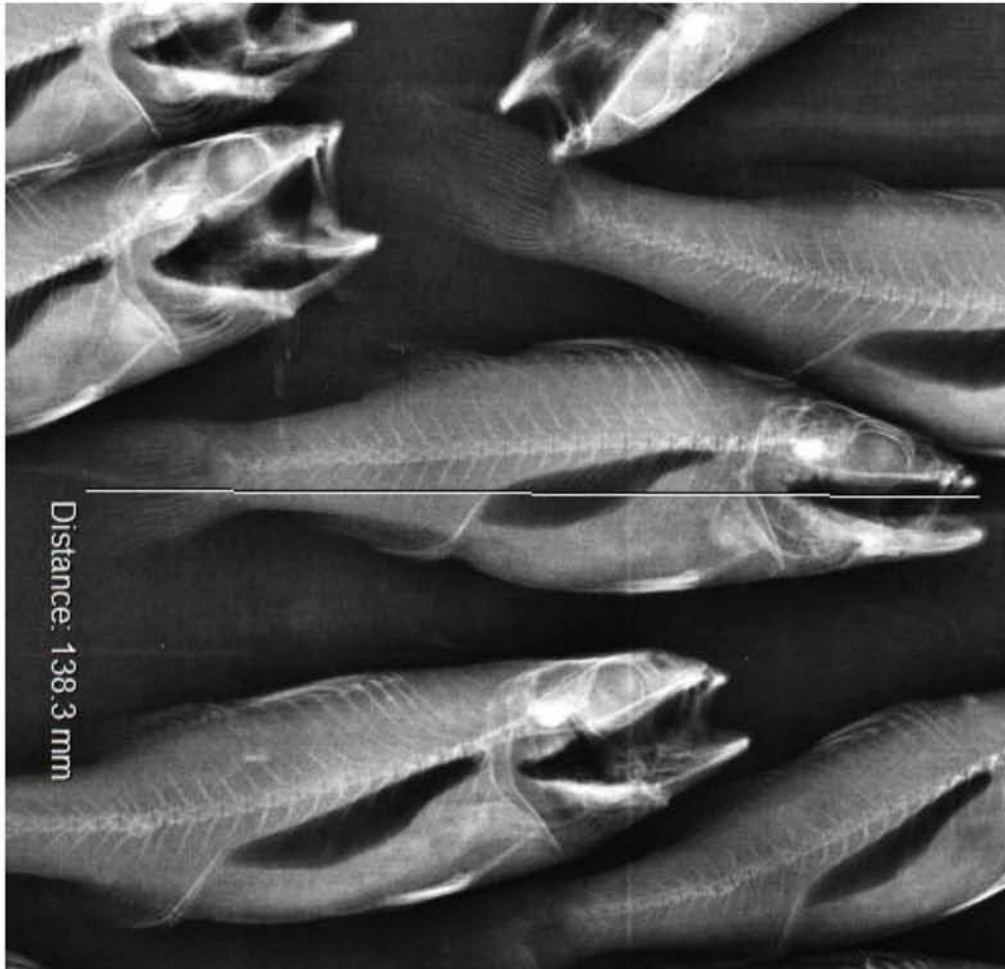
Εικόνα 14: Ακτινογραφία ενήλικων ατόμων (Adults) λαβρακιού



Εικόνα 15: Ακτινογραφία ενήλικων ατόμων (Adults) λαβρακιού



Εικόνα 16: Μέτρηση ολικού μήκους νεαρού ιχθυδίου (Fingerling) λαβρακιού



Εικόνα 17: Μέτρηση ολικού μήκους πρώτου σταδίου εκτροφής ιχθυδίου (Juvenile) λαβρακιού



Εικόνα 18: Μέτρηση ολικού μήκους ενήλικου ατόμου (Adult) λαβρακιού

Στον Πίνακα 3.2 παρουσιάζεται αναλυτικά ο αριθμός ατόμων σύμφωνα με τον αριθμό σπονδύλων που κατείχαν τα άτομα ομαδοποιημένα κατά την κάθε ηλικιακή κλάση.

Πίνακας 3.2: Αριθμός ατόμων κατά αριθμό σπονδύλων ομαδοποιημένα κατά ηλικιακή κλάση.

	Νεαρά ιχθύδια (Fingerlings)	Ιχθύδια πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles)	Ενήλικοι ιχθύες (Adults)
Άτομα με 24 σπονδύλους	17	4	7
Άτομα με 25 σπονδύλους	22	8	3
Άτομα με 26 σπονδύλους	6	6	-
Σύνολο	45	18	10

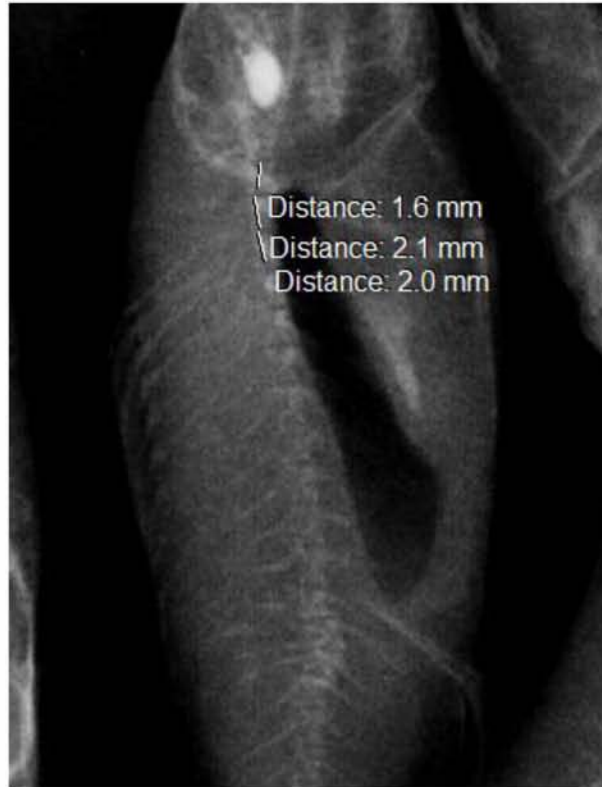
Στον Πίνακα 3.3 παρουσιάζονται τα μέσα μήκη του 10^{ov} σπονδύλου ομαδοποιημένα σύμφωνα με την ηλικιακή κλάση στην οποία ανήκουν τα άτομα και σύμφωνα με τον αριθμό σπονδύλων που κατείχαν τα άτομα. Το μέσο μήκος των 10^{ov} σπονδύλων των 17 νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με 24 σπονδύλους είναι $1,69 \pm 0,05\text{mm}$, το μέσο μήκος των 10^{ov} σπονδύλων των 4 ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 24 σπονδύλους είναι $2,7 \pm 0,22\text{mm}$ και το μέσο μήκος των 10^{ov} σπονδύλων των 7 ενήλικων ατόμων (Adults) με 24 σπονδύλους είναι $7,65 \pm 0,27\text{mm}$. Το μέσο μήκος των 10^{ov} σπονδύλων των 22 νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με 25 σπονδύλους είναι $1,67 \pm 0,06\text{mm}$, το μέσο μήκος των 10^{ov} σπονδύλων των 8 ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 25 σπονδύλους είναι $2,9 \pm 0,17\text{mm}$ και το μέσο μήκος των 10^{ov} σπονδύλων των 3 ενήλικων

ατόμων (Adults) με 25 σπονδύλους είναι $6,13 \pm 1,27$ mm. Το μέσο μήκος των 10^{ov} σπονδύλων των 6 νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με 26 σπονδύλους είναι $1,68 \pm 0,09$ mm και το μέσο μήκος των 10^{ov} σπονδύλων των 6 ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 26 σπονδύλους είναι $3,01 \pm 0,15$ mm. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα καθώς τα δεδομένα ακολουθούσαν την κανονική κατανομή.

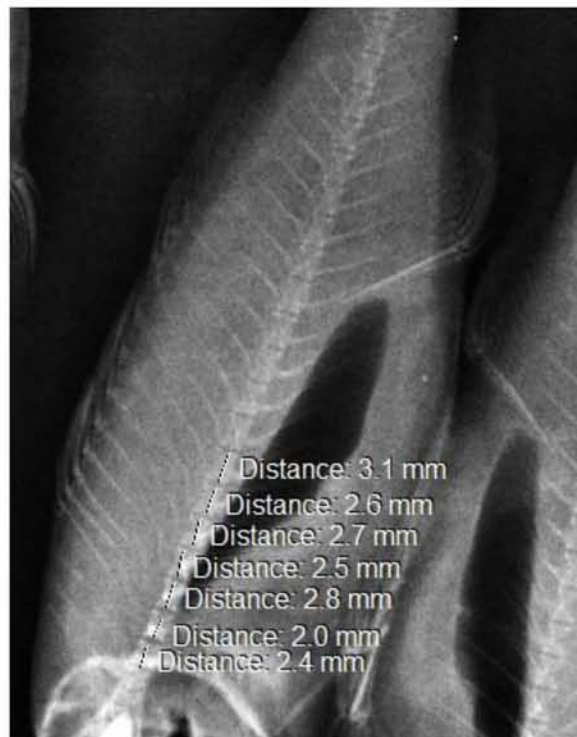
Πίνακας 3.3: Μήκος 10^{ov} σπονδύλου (mm) ατόμων λαβρακιού ομαδοποιημένα κατά ηλικιακή κλάση και αριθμό σπονδύλων. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα.

	Νεαρά ιχθυδία (Fingerlings)	Ιχθυδία πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles)	Ενήλικοι ιχθύες (Adults)
Άτομα με 24 σπονδύλους	$1,69 \pm 0,05^{a,a}$	$2,7 \pm 0,22^{b,a}$	$7,65 \pm 0,27^{c,a}$
Άτομα με 25 σπονδύλους	$1,67 \pm 0,06^{a,a}$	$2,9 \pm 0,17^{b,a}$	$6,13 \pm 1,27^{c,a}$
Άτομα με 26 σπονδύλους	$1,68 \pm 0,09^{a,a}$	$3,01 \pm 0,15^{b,a}$	-

Σημ: Οι μέσοι που έχουν διαφορετικό πρώτο εκθέτη ανά γραμμή διαφέρουν σημαντικά ($P < 0,05$). Οι μέσοι που έχουν διαφορετικό δεύτερο εκθέτη ανά στήλη διαφέρουν σημαντικά ($P < 0,05$).



Εικόνα 19: Μέτρηση μήκους σπονδύλων νεαρού ιχθυδίου (Fingerling) λαβρακιού



Εικόνα 20: Μέτρηση μήκους σπονδύλων ιχθυδίου πρώτου σταδίου εκτροφής (Juvenile) λαβρακιού



Εικόνα 21: Μέτρηση μήκους σπονδύλων ενήλικου ατόμου (Adult) λαβρακιού

Το μέσο ολικό βάρος των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) ήταν $5,27 \pm 0,06g$, των ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) ήταν $25,25 \pm 1,05g$ και των ενήλικων ατόμων (Adults) ήταν $291,9 \pm 29,68g$.

Στον Πίνακα 3.4 παρουσιάζονται τα μέσα καθαρά βάρη του 10^{ου} σπονδύλου ομαδοποιημένα σύμφωνα με την ηλικιακή κλάση στην οποία ανήκουν τα άτομα και σύμφωνα με τον αριθμό σπονδύλων που κατείχαν τα άτομα. Το μέσο καθαρό βάρος των 10^{ου} σπονδύλων των 17 νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με 24 σπονδύλους είναι $0,0057$

$\pm 0,0019g$, το μέσο καθαρό βάρος των 10^{ov} σπονδύλων των 4 ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 24 σπονδύλους είναι $0,0119 \pm 0,0019g$ και το μέσο καθαρό βάρος των 10^{ov} σπονδύλων των 7 ενήλικων ατόμων (Adults) με 24 σπονδύλους είναι $0,2648 \pm 0,0331g$. Το μέσο καθαρό βάρος των 10^{ov} σπονδύλων των 22 νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με 25 σπονδύλους είναι $0,0043 \pm 0,0018g$, το μέσο καθαρό βάρος των 10^{ov} σπονδύλων των 8 ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 25 σπονδύλους είναι $0,02 \pm 0,0016g$ και το μέσο καθαρό βάρος των 10^{ov} σπονδύλων των 3 ενήλικων ατόμων (Adults) με 25 σπονδύλους είναι $0,2462 \pm 0,0173g$. Το μέσο καθαρό βάρος των 10^{ov} σπονδύλων των 6 νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με 26 σπονδύλους είναι $0,0046 \pm 8,3g$ και το μέσο καθαρό βάρος των 10^{ov} σπονδύλων των 6 ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 26 σπονδύλους είναι $0,0185 \pm 0,0027g$. Τα δεδομένα όσων αποτελεσμάτων παρουσιάζονται ως μέσοι όροι \pm τυπικό σφάλμα ακολουθούσαν την κανονική κατανομή ενώ, τα δεδομένα όσων αποτελεσμάτων παρουσιάζονται ως διάμεσος \pm ενδοτεταρτημοριακό εύρος δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή. Τα αποτελέσματα του καθαρού βάρους του 10^{ov} σπονδύλου των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) και των ιχθυδίων του πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles) σε σχέση με των ενήλικων ατόμων (Adults) διέφεραν στατιστικά σημαντικά.

Πίνακας 3.4: Βάρος 10⁰⁰ σπονδύλου (g) ατόμων λαβρακιού ομαδοποιημένα κατά ηλικιακή κλάση και αριθμό σπονδύλων. Στα κελιά με * τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσος όρος± τυπικό σφάλμα ενώ σε αυτά με # ως διάμεσος± ενδοτεταρτημοριακό εύρος.

	Νεαρά ιχθύδια (Fingerlings)	Ιχθύδια πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles)	Ενήλικοι ιχθύες (Adults)
Άτομα με 24 σπονδύλους	0,0057 ±0,0019 ^{a,a} #	0,0119± 0,0019 ^{a,a} *	0,2648±0,0331 ^{b,a} #
Άτομα με 25 σπονδύλους	0,0043±0,0018 ^{a,a} #	0,02±0,0016 ^{b,a} *	0,2462±0,0173 ^{c,a} *
Άτομα με 26 σπονδύλους	0,0046±8,3 ^{a,a} #	0,0185±0,0027 ^{b,a} *	-

Σημ: Οι μέσοι που έχουν διαφορετικό πρώτο εκθέτη ανά γραμμή διαφέρουν σημαντικά (P<0,05). Οι μέσοι που έχουν διαφορετικό δεύτερο εκθέτη ανά στήλη διαφέρουν σημαντικά (P<0,05).

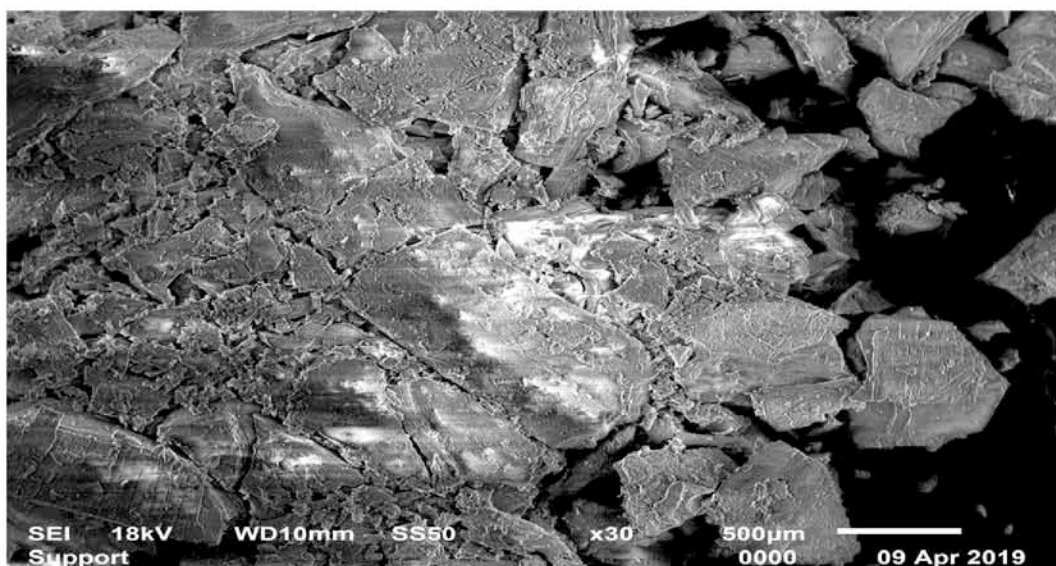
Στον Πίνακα 3.5 παρουσιάζονται τα ποσοστά επί τοις εκατό του ασβεστίου (Ca), του φωσφόρου (P) και η αναλογία ασβεστίου/φωσφόρου (Ca/P) του 10⁰⁰ σπονδύλου λαβρακιού ομαδοποιημένα κατά ηλικιακή κλάση και αριθμό σπονδύλων (Εικ. 22). Σε κάθε σπόνδυλο πάρθηκαν τρεις μετρήσεις φάσματος. Τα δεδομένα όσων αποτελεσμάτων παρουσιάζονται ως μέσος όρος ± τυπικό σφάλμα ακολουθούσαν την κανονική κατανομή ενώ, τα δεδομένα όσων αποτελεσμάτων δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή παρουσιάζονται ως

διάμεσος±ενδοτεταρτημοριακό εύρος. Για τα άτομα που είχαν 24 σπονδύλους τα αποτελέσματα από το ποσοστό Ca και P μεταξύ των ενήλικων ατόμων (Adults) και των άλλων δύο ηλικιακών κλάσεων και τα αποτελέσματα από την αναλογία Ca/P μεταξύ των ιχθυδίων πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles) και των άλλων δύο ηλικιακών κλάσεων διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Για τα άτομα που είχαν 25 σπονδύλους τα αποτελέσματα δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους εκτός από το ποσοστό Ca μεταξύ των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) και των ενήλικων ατόμων (Adults). Για τα άτομα που είχαν 26 σπονδύλους τα αποτελέσματα του ποσοστού Ca μεταξύ των δύο ηλικιακών κλάσεων νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) και ιχθύδια πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles) διέφεραν στατιστικά σημαντικά ενώ, τα αποτελέσματα του ποσοστού P και της αναλογίας Ca/P ανάμεσα σε αυτές τις δύο ηλικιακές κλάσεις δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά. Ανάμεσα στα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) ξεχωριστά τα αποτελέσματα δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους σε σχέση με τον αριθμό σπονδύλων που είχαν τα άτομα εκτός από το ποσοστό P μεταξύ των ατόμων με 24 και 26 σπονδύλους. Ανάμεσα στα ιχθύδια πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles) τα αποτελέσματα δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους σε σχέση με τον αριθμό σπονδύλων που είχαν τα άτομα. Τέλος, ανάμεσα στα ενήλικα άτομα (Adults) ξεχωριστά τα αποτελέσματα δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους σε σχέση με τον αριθμό σπονδύλων που είχαν τα άτομα εκτός από το ποσοστό Ca μεταξύ των ατόμων με 24 και 25 σπονδύλους.

Πίνακας 3.5: Ποσοστά Ca(%) και P(%) και αναλογία Ca/P 10ου σπονδύλου ατόμων λαβρακιού ομαδοποιημένα κατά ηλικιακή κλάση και αριθμό σπονδύλων. Στα κελιά με * τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσος όρος± τυπικό σφάλμα ενώ σε αυτά με # ως διάμεσος± ενδοτεταρτημοριακό εύρος. Εντός παρένθεσης ο αριθμός των μετρήσεων.

	Νεαρά ιχθύδια (Fingerlings)			Ιχθύδια πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles)			Ενήλικοι ιχθύες (Adults)		
	Ca	P	Ca/P	Ca	P	Ca/P	Ca	P	Ca/P
Άτομα με 24 σπονδύλους	20,95±1,99 ^{a,a} (51)*	12,24±1 ^{a,a} (51)*	1,77±2,25 ^{a,a} (51)#	22,29±2,01 ^{a,a} (12)*	13,41±3,51 ^{a,a} (12)*	2,12±3,05 ^{b,a} (12)#	53,08±0,94 ^{b,a} (21)*	27,7±4,5 ^{b,a} (21)#	1,89±0,37 ^{a,a} (21)#
Άτομα με 25 σπονδύλους	20,77±1,48 ^{a,a} (66)*	11,35±13,2 ^{a,ab} (66)#	0,54±2,73 ^{a,a} (66)#	23,7±2,35 ^{ab,a} (24)*	13,56±1,53 ^{a,a} (24)*	1,56±2,2 ^{a,a} (24)#	34,7±6,5 ^{b,b} (9)*	21,1±4,78 ^{a,a} (9)*	2,48±0,71 ^{a,a} (9)*
Άτομα με 26 σπονδύλους	15,96±2,03 ^{a,a} (18)*	20,44±3,521 ^{a,b} (18)*	0,73±1,57 ^{a,a} (18)#	22,78±2,61 ^{b,a} (18)*	13,96±1,3 ^{a,a} (18)*	1,85±0,27 ^{a,a} (18)*	-	-	-

Σημ: Οι μέσοι που έχουν διαφορετικό πρώτο εκθέτη ανά στοιχείο ανά γραμμή διαφέρουν σημαντικά (P<0,05). Οι μέσοι που έχουν διαφορετικό δεύτερο εκθέτη ανά στοιχείο ανά στήλη διαφέρουν σημαντικά (P<0,05).



Εικόνα 22: Προβολή ανόργανου μέρους δείγματος σπονδύλου (1A24) στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σαρώσεως και μέτρησή του με τη μέθοδο φασματοσκοπίας ακτίνων X(EDS)

4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) αποτελεί ένα από τα κυριότερα εκτρεφόμενα είδη της Μεσογείου και ειδικότερα της Ελλάδας που κατέχει την μεγαλύτερη παραγωγή λαβρακιού στην Ευρώπη, είναι μετά την τσιπούρα (*Sparus aurata*) το δεύτερο είδος με την μεγαλύτερη παραγωγή στην Ελλάδα και το δεύτερο επίσης είδος με την μεγαλύτερη εξαγωγή. Από την δεκαετία του 1990 η παραγωγή του ολοένα και αυξάνεται ενώ η αγοραστική του τιμή μειώνεται (Σύνδεσμος Ελληνικών Θαλασσοκαλλιεργειών 2017).

Στο λαβράκι παρατηρείται διαφορά στον αριθμό σπονδύλων που έχουν τα άτομα. Αρχικά, παρατηρήθηκε πως ο αριθμός σπονδύλων στην σπονδυλική τους στήλη είναι 25 (Gravien 1961). Έπειτα από έρευνες παρατηρήθηκαν και άτομα που είχαν έναν λιγότερο σπόνδυλο (Bou Ain 1977) και τέλος παρατηρήθηκαν και άτομα που είχαν έναν παραπάνω σπόνδυλο (Darias et al. 2011). Δεν έχει αναφερθεί πουθενά βιβλιογραφικά πως οι ιχθύες με την εμφάνιση ενός λιγότερου ή ενός παραπάνω σπονδύλου εμφανίζουν τις σκελετικές δυσμορφίες της σκολίωσης, της λόρδωσης ή της κύφωσης. Οι ιχθύες με έναν λιγότερο ή ένα παραπάνω σπόνδυλο εμφανίζουν σκελετικές δυσμορφίες στην συχνότητα που εμφανίζουν και οι ιχθύες με 25 σπονδύλους. Άρα, ο αριθμός σπονδύλων της σπονδυλικής τους στήλης δεν σχετίζεται με την παρουσία σκελετικών δυσμορφιών.

Στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκαν άτομα με έναν παραπάνω και έναν λιγότερο σπόνδυλο. Μελετήθηκαν 73 άτομα από τα οποία 45 ήταν νεαρά ιχθύδια (Fingerlings), 18 ήταν ιχθύδια πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles) και 10 ήταν ενήλικα άτομα (Adults). Από τα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) 17 είχαν 24 σπονδύλους, 22 είχαν 25 σπονδύλους και 6

είχαν 26 σπονδύλους. Από τα ιχθύδια πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles) 4 είχαν 24 σπονδύλους, 8 είχαν 25 σπονδύλους και 6 είχαν 26 σπονδύλους. Από τα ενήλικα άτομα (Adults) 7 είχαν 24 σπονδύλους και 3 είχαν 25 σπονδύλους ενώ δεν παρατηρήθηκαν άτομα από αυτήν την ηλικιακή κλάση με 26 σπονδύλους.

Λόγω της ύπαρξης τριών διαφορετικών αριθμών σπονδύλων στην σπονδυλική στήλη του λαβρακιού είναι δύσκολο να υπάρξει διαχωρισμός τμημάτων της σπονδυλικής στήλης τους σύμφωνα με τον αριθμό σπονδύλων από τους οποίους αποτελείται το κάθε τμήμα της. Στην τσιπούρα που έχει 25 σπονδύλους, η σπονδυλική της στήλη σταθερά και χωρίζεται σε 3 μέρη, το αυχενικό που αποτελείται από 4 σπονδύλους, το κοιλιακό που αποτελείται από 12 σπονδύλους και το ουραίο που αποτελείται από 8 σπονδύλους (Berillis and Panagiotopoulos 2015). Έτσι, και στην παρούσα εργασία ως αντιπροσωπευτικό δείγμα για τις μετρήσεις του μήκους, του βάρους και του ποσοστού ασβεστίου (Ca) και φωσφόρου (P) χρησιμοποιήθηκε ο 10^{ος} σπόνδυλος από το κάθε άτομο.

Οι διατροφικοί παράγοντες είναι από τους πιο σημαντικούς που συμβάλουν στον σχηματισμό και στον αριθμό των σπονδύλων του λαβρακιού (Darias et al. 2011). Οι ίδιοι διατροφικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο και στην εμφάνιση σκελετικών δυσμορφιών.

Οι παράγοντες αυτοί είναι, η βιταμίνη C που αν δεν χορηγείται στην προτεινόμενη ποσότητα των 400 mg βιταμίνης C/kg τροφής (National Research Council 1993) το λαβράκι σχηματίζει έναν παραπάνω ή έναν λιγότερο σπόνδυλο σε περίπτωση περίσσειας ποσότητας βιταμίνης C στην τροφή ή σε περίπτωση έλλειψης ποσότητας βιταμίνης C στην τροφή αντίστοιχα (Darias et al. 2011). Επίσης, έλλειψη ποσότητας βιταμίνης C χορηγούμενη μέσω της τροφής επιφέρει σκελετικές παραμορφώσεις ενώ με την αύξηση της ποσότητας της έχουμε αποτροπή των σκελετικών παραμορφώσεων (Divanach et al. 1997).

Η βιταμίνη Α που η προτεινόμενη χορηγούμενη ποσότητα είναι 50mg/kg τροφής (Cahu et al. 2003a) και αν χορηγηθεί είτε σε περίσσεια είτε σε έλλειψη στους ιχθύες από το πρώιμο στάδιο ανάπτυξης ακόμα επιφέρει ανωμαλίες στην ανάπτυξή τους και στην ανάπτυξη των σπονδύλων όπως επίσης και τερατογόνες επιδράσεις σε αυτούς (Villeneuve et al. 2005). Τα ρητινοειδή τα οποία έχουν άμεση σχέση με την βιταμίνη Α ρυθμίζουν βιολογικές λειτουργίες συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής διαφοροποίησης, του πολλαπλασιασμού και της μορφογένεσης (Hagaetal. 2002). Η βιολογική δράση της βιταμίνης Α προκαλείται από το ρετινοϊκό οξύ ο οποίος και είναι ο ενεργός μεταβολίτης της (Cahu et al. 2003a). Προνύμφες λαβρακίων που δεν τράφηκαν με βιταμίνη Α ή που τράφηκαν με περίσσεια ποσότητας βιταμίνης Α, 1000mg/kg τροφής είχαν 19% και 27% λιγότερο τελικό βάρος σε σχέση με αυτές που τράφηκαν με την προτεινόμενη ποσότητα βιταμίνης Α. Η πλήρης απουσία βιταμίνης Α στην διατροφή θα μπορούσε να αποβεί θανατηφόρα για τις λάρβες λαβρακίων (Villeneuve et al. 2005). Παρόμοια έρευνα έγινε και κατά την διάρκεια τριών διαφορετικών περιόδων ηλικίας σε λαβράκια, σε άτομα από 8 έως 13 ημερών, σε άτομα από 13 έως 18 ημερών και σε άτομα από 18 έως 23 ημερών με δίαιτα που περιείχε υψηλά επίπεδα βιταμίνης Α και τα αποτελέσματα ήταν η καθυστερημένη ανάπτυξή τους, ο μειωμένος αριθμός σπονδυλικών τμημάτων και η διαταραχή στον σχηματισμό του οστού της κεφαλικής περιοχής (Villeneuve et al. 2006). Η βιταμίνη D που δεν έχουν διερευνηθεί ακόμα ακριβώς τα κατάλληλα επίπεδα χορηγούμενης ποσότητας αλλά η τήρηση των κατάλληλων χορηγούμενων ποσοτήτων βιταμίνης D στην τροφή αναστέλλει την δημιουργία σκελετικών παραμορφώσεων, διατηρεί την ομοιόσταση του ασβεστίου και του φωσφόρου προστατεύοντας έτσι τον σκελετό. Η βιταμίνη D έχει και επίδραση στους οστεοβλάστες, τα κύτταρα που σχηματίζουν τα οστά του σκελετού, αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό τους, καθορίζοντας την διαφοροποίηση και ρυθμίζοντας την ανοργανοποίηση της εξωκυττάριας ουσίας (Sutton et al. 2005). Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα

συγκεκριμένα, το δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA) και το εικοσιπεντανοϊκό οξύ (EPA) που συμβάλουν στην έκφραση γονιδίων και στην ανάπτυξη του ψαριού αλλά και προλαμβάνουν λειτουργικές παραμορφώσεις και σκελετικές δυσμορφίες (Cahu et al. 2003). Οι πρωτεΐνες και συγκεκριμένα, πεπτίδια, διπεπτίδια και τριπεπτίδια με 20 αμινοξέα επιδρούν στην ποιότητα ανάπτυξης των ιχθύων και μειώνουν τις σπονδυλικές δυσπλασίες (Cahu et al. 2003) όπως και η οστεοκαλσίνη που συμβάλει στην οστεοποίηση των ώριμων οστεοβλαστών (Darias et al. 2011). Τέλος, έρευνα έδειξε πως η συγκέντρωση 12% φωσφολιπιδίου με συγκέντρωση 1,6% φωσφατιδυλινοσιτόλης σε ξηρά τροφή επιφέρει θετικά αποτελέσματα στην ανάπτυξη του σκελετού του λαβρακιού ενώ, η έλλειψή της επιφέρει σκελετικές δυσπλασίες (Cahu et al. 2003 b). Επειδή ο σπόνδυλος του λαβρακιού τις πρώτες μέρες της ζωής του είναι κυρίως χόνδρινος (Kuzir et al. 2004) και έπειτα αρχίζει να σχηματίζεται το οστέινο μέρος του, είναι σημαντικό να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή στους διατροφικούς αυτούς παράγοντες από το στάδιο των λαβρών.

Σε αυτήν την έρευνα τα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) και τα ιχθύδια του πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles) εκτράφηκαν με τροφή που περιείχε 55% ολική πρωτεΐνη, 15% ολικές λιπαρές ουσίες, 21,2% ενέργεια, 1,6% φώσφορο 11,3% τέφρα, 500 IU/ Kg βιταμίνη C, 1000mg/ Kg βιταμίνη D3 και 390 mg/ Kg βιταμίνη E. Γνωρίζοντας μόνο αυτά τα στοιχεία, συγκριτικά με τις παραπάνω προτεινόμενες χορηγούμενες ποσότητες στην τροφή βγαίνει το συμπέρασμα πως εφόσον οι ιχθύες τράφηκαν με έλλειψη βιταμίνης C, διότι η προτεινόμενη χορηγούμενη ποσότητα είναι 400 mg βιταμίνης C/ Kg και η τροφή τους περιείχε 500 IU/ Kg τροφής βιταμίνη C που σημαίνει ότι είναι 25 mg/ Kg τροφής βιταμίνη C σχημάτισαν ένα παραπάνω και ένα λιγότερο σπόνδυλο διότι και στις δύο αυτές ηλικιακές κλάσεις ανήκαν άτομα με 24 και 26 σπονδύλους. Η ποσότητα φωσφόρου ήταν ανάλογη με την βέλτιστη που αναφέρεται παραπάνω. Από τα ενήλικα άτομα (Adults)

γνωρίζουμε μόνο ότι τράφηκαν με εμπορική τροφή που περιείχε 46% ολική πρωτεΐνη και 17% ολικές λιπαρές ουσίες.

Η μορφολογία των ιχθύων επηρεάζεται σημαντικά και από την θερμοκρασία εκτροφής τους και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την θερμοεξαρτώμενη φαινοτυπική πλαστικότητα χαρακτήρων που είναι σημαντικοί για την κίνηση όπως είναι οι μύες, τα οστά και το σχήμα του σώματος όπου σε έρευνα που έγινε σε λάρβες λαβρακίων στο μεταμορφωτικό στάδιο απέδειξε πως το σώμα τους κατέληγε να είναι πιο λεπτό στην θερμοκρασία εκτροφής των 15° C σε σχέση με των 20° C (Georgakopoulou et al. 2007). Ακόμη η θερμοκρασία εκτροφής είναι ο σημαντικότερος παράγοντας που επηρεάζει τον ρυθμό ανάπτυξης και διαφοροποίησης (Walsh et al. 1991), το σχήμα του σώματος (Loy et al. 1999), τους μεριστικούς χαρακτήρες (Blaxter et al. 1992), την οντογένεση του σκελετού, των μυών (Stickland et al. 1998), και τις μορφολογικές παραμορφώσεις των ιχθύων (Σφακιανάκης 2003). Λάρβες λαβρακίων που εκτράφηκαν μέχρι το στάδιο της μεταμόρφωσης στους 21° C έδειξαν να έχουν μεγαλύτερο μήκος και πλάτος σχετικά με τις λάρβες που εκτράφηκαν μέχρι το στάδιο της μεταμόρφωσης στους 15° C και στους 18° C. Αυτό οφείλεται στον πιο μακρύ σκελετό αλλά και στις πιο μακριές άκανθες που είχαν (Κοκκινιάς 2010). Ακόμη, άλλη έρευνα απέδειξε πως λαβράκια που εκτράφηκαν σε θερμοκρασίες 13° C, 15° C και 20° C στο αρχικό στάδιο της προνυμφικής περιόδου είχαν αυξημένη ανάπτυξη στους 20° C σε σχέση με τους 13° C ενώ στο τελικό στάδιο της προνυμφικής περιόδου φάνηκε διαφορά στην ανάπτυξη τους σε σχέση και με τους 15° C (Koumoundouros et al. 2001). Στην παρούσα εργασία τα νεογνά ιχθύδια εκτράφηκαν στους 20° C, τα ιχθύδια πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles) στους 20,3° C και τέλος η θερμοκρασία στην εκτροφή των ενήλικων ατόμων (Adults) κυμάνθηκε από 21,5°C έως 23,7°C. Άρα, η θερμοκρασία εκτροφής όλων των ηλικιακών κλάσεων ήταν η βέλτιστη.

Από έρευνα που διεξάχθηκε σε ενήλικα άτομα γραμμωτού λαβρακιού (*Morone saxatilis*) υπολογίσθηκε πως το μέσο ολικό μήκος τους ήταν 345,7 mm και το μέσο ολικό βάρος τους ήταν 584 g (Nowroozi and Brainerd 2012) ενώ, όπως αναφέρθηκε παραπάνω οι μέσες διαστάσεις του κοινού λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) είναι σε μήκος από 30 έως 50 cm δηλαδή, από 300 έως 500 mm και σε βάρος 0,50 kg δηλαδή, 500 g (Kuzir et al. 2004). Τα δεδομένα αυτά συνάδουν με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας καθώς το μέσο ολικό μήκος των ενήλικων ατόμων (Adults) ήταν $319,43 \pm 5$ mm και το μέσο ολικό βάρος τους ήταν $291,9 \pm 29,98$ g.

Το μέσο μήκος του 10⁰⁰ σπονδύλου των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με 24 σπονδύλους ήταν $1,69 \pm 0,05$ mm, των ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 24 σπονδύλους ήταν $2,7 \pm 0,22$ mm και των ενήλικων ατόμων (Adults) με 24 σπονδύλους ήταν $7,65 \pm 0,27$ mm. Τα αποτελέσματα από τα μέσα μήκη του 10⁰⁰ σπονδύλου των ατόμων με 24 σπονδύλους διέφεραν στατιστικά σημαντικά σε σχέση με την ηλικιακή κλάση όπου ανήκαν. Το μέσο μήκος του 10⁰⁰ σπονδύλου των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με 25 σπονδύλους ήταν $1,67 \pm 0,06$ mm, των ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 25 σπονδύλους ήταν $2,9 \pm 0,17$ mm και των ενήλικων ατόμων (Adults) με 25 σπονδύλους ήταν $6,13 \pm 1,27$ mm. Τα αποτελέσματα από τα μέσα μήκη του 10⁰⁰ σπονδύλου των ατόμων με 25 σπονδύλους διέφεραν στατιστικά σημαντικά σε σχέση με την ηλικιακή κλάση όπου ανήκαν. Το μέσο μήκος του 10⁰⁰ σπονδύλου των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με 26 σπονδύλους ήταν $1,68 \pm 0,09$ mm και των ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 26 σπονδύλους ήταν $3,01 \pm 0,15$ mm. Τα αποτελέσματα από τα μέσα μήκη του 10⁰⁰ σπονδύλου των ατόμων με 26 σπονδύλους διέφεραν στατιστικά σημαντικά σε σχέση με την ηλικιακή κλάση όπου ανήκαν. Συμπεραίνεται πως όσο μεγαλώνουν τα άτομα σε ηλικία τόσο αυξάνονται και τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά, στην περίπτωση αυτή, το μήκος του 10⁰⁰ σπονδύλου τους και σύμφωνα με τους Nowroozi et al. (2012) το μήκος των

σπονδύλων αυξάνεται αναλογικά με το σωματικό μήκος. Επίσης, βρέθηκε ότι το μέσο μήκος των σπονδύλων της ραχιαίας περιοχής ενήλικων φυσιολογικών ατόμων τσιπούρας είναι $6,91 \pm 0,05$ mm (Berillis et al. 2015), $6,7 \pm 0,8$ mm (Μπουρσιάκη 2016) και $7,7 \pm 1,8$ mm (Μπουρσιάκη 2018). Σε ενήλικα φυσιολογικά άτομα σολομού του Ατλαντικού (*Salmo salar*) το μέσο μήκος των σπονδύλων τους είναι $8,56 \pm 1,13$ mm (Witten et al. 2005). Στην παρούσα εργασία το μέσο μήκος των 10^{ov} σπονδύλων, που βρίσκονται στην ραχιαία περιοχή της σπονδυλικής στήλης, των ενήλικων ατόμων (Adults) είναι $7,65 \pm 0,27$ mm για τα άτομα με 24 συνολικά σπονδύλους και $6,13 \pm 1,27$ mm για τα άτομα με 25 συνολικά σπονδύλους άρα, δεν υπάρχουν διαφορές.

Τα αποτελέσματα του μέσου μήκους του 10^{ov} σπονδύλου ανάμεσα στα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) με 24,25 και 26 σπονδύλους δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, όπως ούτε τα αποτελέσματα του μέσου μήκους του 10^{ov} σπονδύλου ανάμεσα στα ιχθύδια πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles) με 24,25 και 26 και ούτε τα αποτελέσματα του μέσου μήκους του 10^{ov} σπονδύλου ανάμεσα στα ενήλικα άτομα (Adults) με 24 και 25 σπονδύλους. Άρα, το μήκος του 10^{ov} σπονδύλου δεν διέφερε σε σύγκριση με τον αριθμό σπονδύλων που είχαν τα άτομα στην ίδια ηλικιακή κλάση.

Το μέσο βάρος του 10^{ov} σπονδύλου των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με 24 σπονδύλους ήταν $0,0057 \pm 0,0019$ g, των ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 24 σπονδύλους ήταν $0,0199 \pm 0,0019$ g και των ενήλικων ατόμων (Adults) με 24 σπονδύλους ήταν $0,2648 \pm 0,0331$ g. Τα αποτελέσματα από τα μέσα βάρη του 10^{ov} σπονδύλου των ατόμων με 24 σπονδύλους δεν διέφεραν σημαντικά ανάμεσα στις ηλικιακές κλάσεις των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) και των ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) ενώ διέφεραν στατιστικά σημαντικά σε σχέση με τα ενήλικα άτομα (Adults). Το μέσο βάρος του 10^{ov} σπονδύλου των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με 25 σπονδύλους ήταν $0,0043 \pm 0,0018$ g, των ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 25 σπονδύλους

ήταν $0,02\pm 0,0016\text{g}$ και των ενήλικων ατόμων (Adults) με 25 σπονδύλους ήταν $0,2462\pm 0,0173\text{g}$. Τα αποτελέσματα από τα μέσα βάρη του $10^{\text{ου}}$ σπονδύλου των ατόμων με 25 σπονδύλους διέφεραν στατιστικά σημαντικά σε σχέση με την ηλικιακή κλάση όπου ανήκαν. Το μέσο βάρος του $10^{\text{ου}}$ σπονδύλου των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) με 26 σπονδύλους ήταν $0,0046\pm 8,3\text{g}$ και των ιχθυδίων στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 26 σπονδύλους ήταν $0,0185\pm 0,0027\text{g}$. Τα αποτελέσματα από τα μέσα βάρη του $10^{\text{ου}}$ σπονδύλου των ατόμων με 26 σπονδύλους διέφεραν στατιστικά σημαντικά σε σχέση με την ηλικιακή κλάση όπου ανήκαν. Συμπεραίνεται πως όσο μεγαλώνουν τα άτομα σε ηλικία τόσο αυξάνονται και επί το πλείστον τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά, στην περίπτωση αυτή, το βάρος του $10^{\text{ου}}$ σπονδύλου τους.

Τα αποτελέσματα του μέσου βάρους του $10^{\text{ου}}$ σπονδύλου ανάμεσα στα νεαρά ιχθυδία (Fingerlings) με 24,25 και 26 σπονδύλους δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, όπως ούτε τα αποτελέσματα του μέσου βάρους του $10^{\text{ου}}$ σπονδύλου ανάμεσα στα ιχθυδία στο πρώτο στάδιο εκτροφής (Juveniles) με 24,25 και 26 και ούτε τα αποτελέσματα του μέσου βάρους του $10^{\text{ου}}$ σπονδύλου ανάμεσα στα ενήλικα άτομα (Adults) με 24 και 25 σπονδύλους. Άρα, το βάρος του $10^{\text{ου}}$ σπονδύλου δεν διέφερε σε σύγκριση με τον αριθμό σπονδύλων που είχαν τα άτομα στην ίδια ηλικιακή κλάση.

Έρευνα έχει δείξει πως το ποσοστό Ca και P στους σπονδύλους ενήλικων ατόμων τσιπούρας δεν διέφεραν ανάμεσα σε άτομα με την σκελετική δυσμορφία της λόρδωσης και σε φυσιολογικά άτομα. Άρα, οι σκελετικές ανωμαλίες δεν σχετίζονται με τα ποσοστά Ca και P που εμπεριέχονται στους σπονδύλους αλλά μάλλον έχουν άμεση σχέση με ανωμαλίες στα ινίδια κολλαγόνου (Berrilis et al. 2015).

Η μέτρηση της περιεκτικότητας των ποσοστών ασβεστίου και φωσφόρου μπορεί να γίνει πλην άλλων και με τη τεχνική φασματοσκοπίας ηλεκτρονίων, EDS και με υψηλής ροής φωτονίων δέσμεων ακτινών-X (Tzaphlidou et al. 2005). Η αναλογία ασβεστίου

φωσφόρου (Ca/P) στα οστά των ιχθύων θα πρέπει να είναι από 0,7-1,6 (Lall 2002). Ενώ, έρευνα έχει δείξει πως η αναλογία Ca/P στην τσιπούρα ήταν 2,02 (Ozaka and Suzuki 2002). Σε περίπτωση έλλειψης φωσφόρου τα οστά αργούν να ασβεστοποιηθούν, υπάρχει εμφάνιση σκελετικών δυσμορφιών και αργής ανάπτυξης (Lall 2002). Στα αποτελέσματα τις παρούσας έρευνας, οι αναλογίες Ca/P στους σπονδύλους των λαβρακίων σε κάθε ηλικιακή κλάση κυμαίνονται σε λογικές τιμές εκτός την αναλογία Ca/P στα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) με 25 σπονδύλους που είναι λίγο μικρότερη από 0,7 και την αναλογία Ca/P των ενήλικων ατόμων (Adults) επίσης με 25 σπονδύλους που είναι μεγαλύτερη από 2,02.

Οι ιχθύες περιβάλλονται από μεγάλη διαθεσιμότητα ασβεστίου λόγω του περιβάλλοντος που ζούνε διότι όπως αναφέρθηκε παραπάνω η κύρια πηγή πρόληψης ασβεστίου είναι το νερό (Lall and Lewis- McCrea 2007). Όργανα και ιστοί όπως τα βράγχια, ο λειτουργικός επιθηλιακός ιστός, το δέρμα και το έντερο που είναι σε συνεχή επαφή με το νερό είναι και οι σημαντικά και για την μεταφορά ασβεστίου στους ιχθύες. Στα ενήλικα άτομα (Adults) αυτοί οι ιστοί που είναι υπεύθυνοι για την μεταφορά ασβεστίου είναι πλήρως ανεπτυγμένοι. Συμπεραίνεται λοιπόν πως όσο μεγαλώνουν τα άτομα σε ηλικία τόσο αυξάνεται και το ποσοστό Ca στους σπονδύλους τους διότι στα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) η διαδικασία ασβεστοποίησης των οστών δεν έχει ολοκληρωθεί ακόμα σε αντίθεση με τα ενήλικα άτομα (Adults) (Guerreiro e al. 2001). Επιπλέον, το pH στην συνθήκη εκτροφής των νεαρών ιχθυδίων (Fingerlings) είναι χαμηλό (7,5) και ίσως αυτός να είναι ένας επιπρόσθετος λόγος στον οποίο οφείλεται το χαμηλό ποσοστό Ca στους σπονδύλους τους σύμφωνα με τους Martens et al. 2006, διότι πείραμα που διεξήχθη σε άτομα σολομού του Ατλαντικού (*Salmo salar*) έδειξε κυρίως πως το χαμηλό pH στην συνθήκη εκτροφής τους κατέληξε σε μειωμένη ποσότητα του ποσοστού Ca στα οστά τους (Martens et al. 2006). Ενώ, στην παρούσα εργασία το ποσοστό P και η αναλογία Ca/P στους σπονδύλους τους δεν φαίνεται να αυξάνεται αναλογικά με την ηλικία τους.

Επίσης, συμπεραίνεται πως το ποσοστό P στα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) αυξάνεται ανάλογα με τον αριθμό σπονδύλων που έχουν τα άτομα καθώς παρατηρήθηκε διαφορά και πιο συγκεκριμένα αύξηση στο ποσοστό P από τα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) με 24 στα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings) με 26 σπονδύλους. Άρα, τα άτομα με παραπάνω αριθμό σπονδύλων φαίνεται να έχουν περισσότερο ποσοστό P στους σπονδύλους τους και αυτό φαίνεται στην αρχή της ζωής τους. Κοινός παράγοντας που παίζει σημαντικό ρόλο και στην εμφάνιση ενός παραπάνω σπονδύλου και στην κύρια πρόσληψη P στους ιχθύες είναι η διατροφή (Lall and Lewis- McCrea 2007) (Darias et al. 2011). Άρα, πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι όσο αυξάνεται ο αριθμός σπονδύλων του λαβρακιού αυξάνεται και το ποσοστό P σε αυτούς διότι η ανάπτυξη τους δεν έχει ολοκληρωθεί ακόμα. Το ποσοστό Ca και η αναλογία Ca/P δεν φαίνεται να επηρεάζεται από τον αριθμό σπονδύλων που έχουν τα νεαρά ιχθύδια (Fingerlings). Τα ποσοστά Ca, P και η αναλογία Ca/P δεν διαφέρει συγκριτικά με τον αριθμό σπόνδυλων που έχουν τα ιχθύδια του πρώτου σταδίου εκτροφής (Juveniles). Μια πιθανή εξήγηση στην μη μεταβολή του ποσοστού Ca ανάλογα με τον αριθμό σπονδύλων που έχουν οι ιχθύες στην ίδια ηλικιακή κλάση είναι ότι επειδή το Ca το προσλαμβάνουν κυρίως από το νερό για αυτό να μην μεταβάλετε το ποσοστό του διότι οι ιχθύες που βρίσκονται στην ίδια ηλικιακή κλάση εκτρέφονται με τις ίδιες συνθήκες φυσικών και χημικών παραμέτρων όσον αφορά το νερό εκτροφής τους. Τέλος, στα ενήλικα άτομα (Adults) φαίνεται η διαφορά και πιο συγκεκριμένα η αύξηση μόνο στο ποσοστό Ca των σπονδύλων ανάμεσα στα άτομα με 24 και 25 σπονδύλους. Άρα, τα άτομα με παραπάνω αριθμό σπονδύλων φαίνεται να έχουν περισσότερο ποσοστό Ca στους σπονδύλους τους και αυτό φαίνεται κατά την ενήλικη ζωή τους. Τα ποσοστά P και η αναλογία Ca/P δεν φαίνεται να επηρεάζεται από τον αριθμό σπονδύλων που έχουν τα ενήλικα άτομα.

Περαιτέρω έρευνες, κυρίως στα άτομα του λαβρακιού με εμφάνιση ενός λιγότερου και ενός παραπάνω σπονδύλου με πλήρη γνώση των συνθηκών εκτροφής τους, όπως τη σύσταση της χορηγούμενης τροφής τους, τις φυσικές και τις χημικές παραμέτρους του νερού εκτροφής τους κ.ά. σε όλα τα στάδια ανάπτυξής τους θα μπορούσαν να επιφέρουν και άλλους παράγοντες, εκτός τους διατροφικούς, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την εμφάνιση ενός λιγότερου ή ενός παραπάνω σπονδύλου, όπως παραδείγματος χάριν περιβαλλοντικούς και γενετικούς. Οι γενετικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση σκελετικών παραμορφώσεων (Μπουρσιάκη 2018) αλλά δεν έχει διερευνηθεί ακόμη εις βάθος αν εμπλέκονται στους λόγους για τους οποίους το λαβράκι σχηματίζει έναν παραπάνω ή έναν λιγότερο σπόνδυλο. Αν και ο σκελετός των νεαρών ατόμων είναι κυρίως χόνδρινος και έπειτα αρχίζει η ασβεστοποίηση του (Kuzir et al. 2004). Επιπλέον, περαιτέρω μελλοντικοί πειραματισμοί στους διατροφικούς παράγοντες εκτροφής και συγκεκριμένα στην χορήγηση κατάλληλων ποσοτήτων του κάθε θρεπτικού συστατικού θα ήταν δυνατό να έχουν σαν αποτέλεσμα την γνώση των ακριβών ποσοτήτων των θρεπτικών συστατικών που εμπεριέχονται στην τροφή δηλαδή, τα όρια κάθε χορηγούμενης ποσότητας ουσιών που σύμφωνα με αυτά τα λαβράκια εμφανίζουν έναν λιγότερο και έναν παραπάνω σπόνδυλο. Επίσης, περαιτέρω έρευνες στον αριθμό των σπονδύλων του λαβρακιού και στον χαρακτηριστικών τους θα μπορούσαν να αποβούν σε ακριβή διαχωρισμό τμημάτων της σπονδυλικής του στήλης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική Βιβλιογραφία

Βερίλλης Π., Μεντέ Ε. (2017) Ιστοφυσιολογία ιχθύων και καρκινοειδών. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος, σελ. 297

Κοκκινιάς Π. (2010) Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης, από το στάδιο της επιβολής έως τη μεταμόρφωση, στο σχήμα του λαβρακιού, (*Dicentrarchus labrax*). Πτυχιακή εργασία, Τ.Ε.Ι. Μεσολογγίου, σελ. 38

Μούτου Α. (2015) Φυσιολογία ψαριών. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, σελ. 26

Μπουρσιάκη Β. (2016) Σκελετικές δυσμορφίες στην τσιπούρα. Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, σελ. 50

Μπουρσιάκη Β. (2018) Ακτινογραφική και στοιχειομετρική μελέτη σπονδύλων εκτρεφόμενων *Sparus aurata* με την σκελετική δυσμορφία της σκολίωσης. Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, σελ. 63

Παπαδόπουλος Π. Ε. (2008) Άτλαντας ιστολογίας του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, σελ.148

Ρογδάκης Ι., Κασπίρης Π. (1999) Διατροφικό καθεστώς του Λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) στη λιμνοθάλασσα Μεσολογίου-Αιτωλικού. Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε. Γαλησσάς Σύρου, σελ. 28-31

Σπανομαρίδου Μ., Αρβανίτης Π. (1998) Συμβολή στη μελέτη της χημικής σύστασης του λαβρακιού (*Dicentrarchuslabrax*). Πτυχιακή εργασία, Τ.Ε.Ι. Μεσολογίου, σελ.49

Σφακιανάκης Δ. (2003) Επίδραση της θερμοκρασίας και των ρευματικών συνθηκών του μέσου διαβίωσης στην ανάπτυξη λόρδωσης στο λαβράκι, *Dicentrarchus labrax* (L. 1758). Διατριβή μεταπτυχιακού διπλώματος ειδίκευσης. Τμήμα Βιολογίας. Πανεπιστήμιο Κρήτης

Χώτος Γ. (2015) Υδατοκαλλιέργειες νερό και ψάρια (θεμελιώδεις απαραίτητες γνώσεις) Τ.Ε.Ι. Δυτικής Ελλάδας

Ξένη Βιβλιογραφία

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

Berillis P., Panagiotopoulos N., Boursiaki V., Karapanagiotidis I.T., Mente E. (2015) 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

Blaxter JHS (1992) The effect of temperature on larval fishes. *Netherlands Journal of Zoology* 42(2-3): 336-357

Bou Ain A. (1977) Étude des caractères morphologiques et anatomiques de *Dicentrarchus labrax* (Linné 1758) et *Dicentrarchus punctatus* (Bloch 1792) des côtes tunisiennes. *Bull. Soc. Sci. Nat. Tunisie (Nouv. Ser.)* 12: 57-68

Brosowski J. (1999) *Dicentrarchus labrax*, https://animaldiversity.org/accounts/Dicentrarchus_labrax/. (Πρόσβαση:15-03-2019)

Cahu C. L., Zambonino Infante J. L., Barbosa Solomieu V. (2003a) Effect of dietary phospholipid level and phospholipid: Neutral lipid value on the development of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed a compound diet. . British Journal of Nutrition 90(1): 8-21

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

Darias M.J., Mazurais D., Koumoundouros G., Glynatsi N., Christodouloupoulou S., Huelvan C., Desbruyeres E., Le Gamm M. M., Quazuguel P., Cahu C.I., Zambonino-Infante J. (2010) Dietary vitamin D₃ affects digestive system ontogenesis and ossification European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) Aquaculture 298:300-307

Darias M. J., Mazurais D., Koumoundouros G., Le Gall M.-M., Huelvan C., Desbruyères E., Quazuguel P., Cahu C. I., Zambonino-Infante J. (2011) Imbalanced dietary ascorbic acid alters molecular pathways involved in skeletogenesis of developing European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Biochemistry and Molecular Biology, 159 (1):46-55

Divanach P., Papandroulakis N., Anastasiadis P., Koumoundouros G., Kentouri M. (1997) 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

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

Ferguson H. W. (2007) Systemic Pathology of Fish: a text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease. *Journal of Fish Diseases* 30(6):381-382

Fishbase (2019) *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) European sea bass, <https://www.fishbase.se/summary/Dicentrarchus-labrax> (Πρόσβαση: 13-03-2019)

Gabbitas B., Canalis E. (1998) Retinoic acid regulates the expression of insulin- like growth factors I and II in osteoblasts. *Journal of Cellular Physiology* 172(2):253-264

Georgakopoulou E., Sfakianakis D.G., Kouttouki S., Divanach P., Kentouri M., Koumoundouros G. (2007) The influence of temperature during early life on phenotypic expression at later ontogenetic stages in sea bass. *Journal of Fish Biology* 70: 278-291

Groman D. (1982) Histology of the Striped Bass. American Fisheries Society.
5410 Grosvenor Lane, Bethesda, Maryland 20814

Guerreiro P.M., Fuentes J., Power D.M., Ingleton P.M., Flik G., Canario A.V.M. (2001) Parathyroid hormone-related protein: a calcium regulatory factor in sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae. American Journal of Physiology- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 281(3)

Haffray P., Tsigenopoulos C.S., Bonhomme F., Chatain B., Magoulas A., Rye M., Triantafyllidis A., Triantaphyllidis C. (2000) European sea bass – *Dicentrarchus labrax*. Genimpact final scientific report 40-46.

Haga Y., Suzuki T., Takeuchi T. (2002) Retinoic acid isomers produce malformations in postembryonic development of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Zoological Science 19(10):1105-1112

Koumoundouros G., Divanach P., Anezaki L., Kentouri M. (2001) Temperature-induced ontogenetic plasticity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Marine Biology 139: 817-830

Kranenbarg S., Cleynenbreugel T., Schipper H., Leeuwe J. (2005) Adaptive bone formation in acellular vertebrae of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). The Journal of Experimental Biology 208:3493-3502

Krumlauf R. (1994) Hox genes in vertebrate development. *Cell* 2978(2): 191-201

Kuzir S., Kozaric Z., Nejedli S. (2004) Development of mandibular arch in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) from the “Cenmar” hatchery, Croatia. *Veterinarski Arhiv* 74 (5):321-330

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

Lloris D., Matallanas J., Oliver P. (2003) Merzulas del Mundo (Familia Merlucciidae). Catalogocomentado e ilustrado de las merluzasconocidas. FAO Catalogo de especies para los fines de la pesca 2:57

Loy A., Cataudella S., Corti M. (1996) Shape change of the sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Teleostea: Perciformes), in relation to different rearing conditions: an analysis using Bookstein,s shape coordinate and an application of the thin-plate splines regression analysis. In: *Advances in Morphometrics*. Corti M., Marcus L. F., Loy A., Naylor G. and Slice D. (Eds.). N. A. T. O. ASI Series. Plenum Press, New York 399-406

Martens L. G., Witten P. E., Fivelstad S., Huysseune A., Sævareid B., Vikesa V., Obach A. (2006) Impact of high water carbon dioxide levels on Atlantic salmon smolts (*Salmo salar* L.): Effects on fish performance, vertebrae composition and structure. *Aquaculture* 261:80-88

Mayer I., Shackley E. S., Ryland S. J. (1988) Aspects of the reproductive biology of the bass, *Dicentrarchus labrax* L. 1. An histological and histochemical study of oocyte development. *Journal of Fish Biology* 33:609-622

Naciri M., Lemaire M., Borsa P., Bonhomme F. (1999) Genetic study of the Atlantic/ Mediterranean transition in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Heredity*, 90 (6):591-596

Nebel C., Romestand B., Negre-Sadargues G., Grousset E., Aujoulat F., Bacal J., Bonhomme F., Charmantier G. (2005) Differential freshwater adaptation in juvenile sea-bass *Dicentrarchus labrax*: involvement of gills and urinary system. *The Journal of Experimental Biology* 208:3859-3871

Nowroozi B. N., Brainerd E. L. (2012) Regional variation in the mechanical properties of the vertebral column during lateral bending in *Morone saxatilis*. *Journal of the Royal Society Interface* 9(75): 2667–2679

Papadaki M., Piferrer F., Zanuy S., Maingot E., Divanach P., Mylonas C. C. (2005) Growth, sex differentiation and gonad and plasma levels of sex steroids in male- and female-dominant populations of *Dicentrarchus labrax* obtained through repeated size grading. *Journal of Fish Biology* 66: 938-956

Piferrer F., Blazquez M., Gonzalez A., Navarro L., Laura L. (2004) Update on sex determination and sex differentiation in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax*(PERCIFORMES, F. MORONIDAE). Journal of Fish Society 31(1):13-21

Saillant E., Chatain B., Menu B., Fauvel C., Vidal O. M., Fostier A. (2003) Sexual differentiation and juvenile intersexuality in the European sea bass(*Dicentrarchus labrax*). Journal of Zoology 260:53-63

Savini I., Rossi A., Pierro C., Avigliano L., Catani M.V. (2008). SVCT1 and SVCT2: key proteins for vitamin C uptake". Amino Acids 34: 347–355

Stickland N.C., White R.N., Mescall P.E., Crook A.R., Thorpe J.E. (1988). The effects of temperature on myogenesis in embryonic development of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Anat Embryol 178: 253-257

Stoskopf M. K. (1993) Fish Medicine. W. B. Saunders. London, UK

Sutton A.L., Zhang X., Fillioson T.I., Macdonald P.N., (2005) The 1,25 (OH)₂ D₃- regulated transcription factor MN1 stimulates vitamin D receptor-mediated transcription and inhibits osteoblastic cell proliferation. Mol. Endocrinol 19:2234-2244

Tzaphlidou M., (2005) The role of collagen in bone structure: an image processing approach. Micron 36:593-601

Villeneuve L., Gisbert E., Delliou H., Cahu C. L., Zambonino-Infante J. L., (2005) Dietary levels of all- trans retinol affect retinoid nuclear receptor expression and skeletal development in European sea bass larvae. *British Journal of Nutrition* 93: 791-801

Villeneuve L., Gisbert E., Moriceau J., Chantal L., Cahu C. L., Zambonino-Infante J. L. (2006) Intake of high levels of vitamin A and polyunsaturated fatty acids during different developmental periods modifies the expression of morphogenesis genes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *British Journal of Nutrition* 95:677- 687

Walsh W.,A., Swanson C., Lee C.,S. (1991) Combined effects of temperature and salinity on development and hatching of striped mullet, *Mugil cephalus*. *Aquaculture* 97:281–289

Witten P. E., Hall K. B. (2002) Differentiation and growth of kype skeletal tissues in anadromous male atlantic salmon (*Salmo salar*). *International Journal of Developmental Biology* 46:719-730

Witten P. E., Gil-Martens L., Hall K. B., Huysseune A., Obach A. (2005) Compressed vertebrae in Atlantic salmon *Salmo salar*: evidence for metaplastic chondrogenesis as a skeletogenic response late in ontogeny. *Diseases of Aquatic Organisms* 64: 237-246

Zambonino Infante J. L., Cahu C. L., (1999) High dietary lipids levels enhance digestive tract maturation and improve *Dicentrarchus labrax* larval development. The Journal of Nutrition 129(6):1195-12000

ABSTRACT

The sea bass is one of the most important species of the Mediterranean, and especially of Greece. Individuals with a different number of vertebrae in their vertebral column have been reported. This number ranges from 24, 25 to 26 vertebrae. In this study a sample of 73 individual of sea bass were collected from fish farms and divided into three age groups. The first group included individuals belonging to the Fingerlings age group, the second group included individuals belonging to the Juveniles age group, and the third group included individuals belonging to the age group of Adults. The weight was measured and from radiographs measured the length of the individuals as well as the number of their vertebrae and the length of them. The individuals were divided into subgroups according to their vertebrae number and from each individual was taken the 10th vertebra and his weight was measured. In addition, the percentages of Ca and P in the inorganic part of all 10 vertebrae were measured by X-ray spectroscopy (EDS). The length, the weight, and the percentages of Ca, P and the ratio of Ca / P of their 10th vertebrae were compared between the age classes and among the individuals with a different number of vertebrae. The length of the individuals, the length and the weight of the 10th vertebra differed statistically between each of the three age classes. The percentage of Ca differed statistically between Adults and the other two age classes and between Adults with a different number of vertebrae. Finally, the percentage of P differed statistically between Fingerlings with a different number of vertebrae.

Keywords: sea bass, three classes of age, number of vertebrae, EDS