

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

«ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ»

**«Χημική σύσταση και μορφομετρία του ξύστρου και των πλακών ενός
κοινού είδους πολυπλακοφόρου (*Rhysoplax olivacea*)»**

Μυγδαλίας Θωμάς

ΒΟΛΟΣ 2025

«Χημική σύσταση και μορφομετρία του ξύστρου και των πλακών ενός κοινού είδους πολυπλακοφόρου (*Rhyssoplax olivacea*)»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1) Βαφείδης Δημήτριος, Καθηγητής (Δρ.), Βιοποικιλότητα των Θαλάσσιων Βενθικών Ασπονδύλων και Άμεση – Έμμεση χρησιμότητα της, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Επιβλέπων***.

2) Δημήτριος Κλαουδάτος, Αναπληρωτής Καθηγητής (Δρ.), Αλιεία, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***.

3) Μαριάνθη Χατζιωάννου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια (Δρ.), Εκτροφή Σαλιγκαριών και Βατράχων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες και την απεριόριστη ευγνωμοσύνη μου σε όλους όσοι συνέβαλαν στην ολοκλήρωση της παρούσας Πτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας.

Πρώτα απ' όλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής κ. Βαφείδη Δημήτριο, καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Τον ευχαριστώ θερμά για την καθοδήγηση και τη στήριξή του καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής, καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου αυτή την ιδιαίτερο ερώτημα. Η δυνατότητα συνεργασίας με την ομάδα του υπήρξε τιμή για εμένα και τον ευγνωμονώ βαθύτατα. Όπως θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, κ. Κλαουδάτο Δημήτριο, αναπληρωτή καθηγητή του τμήματος, και κα Χατζηγιωάννου Μαριάνθη, αναπληρώτρια καθηγήτρια, για τις παρατηρήσεις και τις συμβουλές τους, οι οποίες συνέβαλαν ουσιαστικά στη βελτίωση της έρευνάς μου.

Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Ζαούτσο Στέφανο, καθηγητή στο Τμήμα Συστημάτων Ενέργειας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ο οποίος μου επέτρεψε να χρησιμοποιήσω το εργαστήριό του, παρέχοντάς μου τον απαραίτητο εξοπλισμό και τις κατάλληλες συνθήκες για την εκπόνηση της έρευνας. Η βοήθειά του υπήρξε καθοριστική και η στήριξή του σημαντική για την ολοκλήρωση αυτής της μελέτης.

Ακόμα, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στους υποψήφιους διδάκτορες του τμήματος και μέλη της ερευνητικής ομάδας του κ. Βαφείδη, Βαρκούλη

Αναστάσιο και Βούλγαρη Κωνσταντίνο. Μέσα από τη συνεργασία μας, μου δίδαξαν την πραγματική έννοια της έρευνας, από την δημιουργία ερωτημάτων, στη δειγματοληψία και τις εργαστηριακές διαδικασίες μέχρι τη συγγραφή επιστημονικών κειμένων. Η υποστήριξή τους ήταν πολύτιμη, καθώς δεν περιορίστηκε μόνο στην πτυχιική μου εργασία, αλλά επεκτάθηκε και σε άλλους τομείς, προσφέροντάς μου καθοδήγηση και πολύτιμες συμβουλές. Η συνεργασία μας υπήρξε εξαιρετική και χάρη σε αυτούς έζησα μοναδικές εμπειρίες, που συνέβαλαν καθοριστικά στην εξέλιξή μου ως φοιτητής και ως ερευνητής.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την απaráμιλλή ευγνωμοσύνη στους γονείς μου και τον αδερφό μου. Χωρίς την ανιδιοτελή τους υποστήριξη, την κατανόηση την υπομονή και την αμέριστη αγάπη τους σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου, δεν θα μπορούσα να ολοκληρώσω τις σπουδές μου. Τους ευχαριστώ από καρδιάς για όλα όσα μου έχουν προσφέρει στη ζωή μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το *Rhyssoplax olivacea* αποτελεί από τα πιο κοινά είδη πολυπλακοφόρων στην Μεσόγειο, παρόλα αυτά η χημική σύσταση και η μορφομετρία του είδους παραμένει κυρίως ανεξερευνήτη. Η παρούσα διπλωματική έρευνα έχει ως στόχο τον προσδιορισμό των αλλομετρικών τάσεων της μορφομετρίας του ξύστρου και των πλακών αλλά και τη χημική σύσταση αυτών, χρησιμοποιώντας δείγματα από 5 διαφορετικές περιοχές της Ανατολικής Μεσογείου. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις τύποι πλακών και τέσσερις τύποι δοντιών. Οι μορφομετρικές μετρήσεις αφορούσαν τις διαστάσεις συνολικά των ατόμων, των πλακών και του ξύστρου, ενώ πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία ακτίνων-X (EDS) σε κάθε σκελετικό μέρος. Διαπιστώθηκε ότι υπήρχαν διαφορές στο πλάτος και πάχος μεταξύ όλων των πλακών, παρόλα αυτά η πλάκα IV διέφερε στις αλλομετρικές τάσεις όσων αφορά το μήκος πλάκας προς πλάτος πλάκας και μήκος πλάκας προς πάχος πλάκας. Επίσης η πλάκα IV είχε χαρακτηριστικά μικρότερο μήκος από τις άλλες δυο. Παρόλα αυτά, όλες οι μορφομετρικές μετρήσεις των πλακών προς το συνολικό μήκος του ζώου κατέγραψαν την ίδια τάση, ενώ το ξύστρο παρουσίασε θετική αλλομετρία. Όσον αφορά τη χημική σύσταση, οι πλάκες διαπιστώθηκε ότι αποτελούνται από την ίδια αναλογία χημικών στοιχείων παρόλα αυτά το ξύστρο διέφερε ανά τύπο δοντιού. Ο σίδηρος αποτελούσε το κυρίαρχο στοιχείο σε όλα τα δόντια με την υψηλότερη ποσότητα να σημειώνεται στο έξω πλευρικό δόντι (83 %). Η παρούσα μελέτη παρέχει σημαντικές πληροφορίες για τις σκελετικές δομές του *R. olivacea*, επιτρέποντας μελλοντικές έρευνες να συγκεντρωθούν στην λειτουργικότητα του σκελετού από εξελικτική και οικολογική προοπτική.

Λέξεις κλειδιά: πολυπλακοφόρα, *Rhyssoplax olivacea*, πλάκες, ξύστρο, αλλομετρία, χημική σύσταση, φασματοσκοπία ενεργειακής διασποράς

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	9
1.1 Ιστορική αναδρομή των μαλακίων	9
1.2 Περιγραφή των πολυπλακοφόρων	10
1.3 Σημασία της αλλομετρίας.....	13
1.4 Σημασία του ξύστρου	13
1.5 Σκοπός της εργασίας	14
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	15
2.1 Δειγματοληψία.....	15
2.2 Περιοχές μελέτης.....	16
2.3 Μορφομετρικές μετρήσεις	18
2.4 Φασματοσκοπία ενεργειακής διασποράς (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy, EDS)	20
2.5 Στατιστική ανάλυση	22
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	24
3.1 Μορφομετρική ανάλυση.....	24
3.2 Χημική σύσταση.....	28
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	31
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	36
6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	38
7. ABSTRACT	45

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ιστορική αναδρομή των μαλακίων

Η ζωή στον πλανήτη μας ξεκίνησε και εξακολουθεί να εξελίσσεται μέσα στις τεράστιες υδάτινες μάζες που καλύπτουν περίπου το 70 % της επιφάνειας της Γης. Τα θαλάσσια οικοσυστήματα των θαλασσών και τα ωκεανών φιλοξενούν ένα από τα πιο ποικιλόμορφα σύνολα ζωής, τα οποία στην αρχή της ιστορίας της Γης, υπήρξαν πεδίο για τη δημιουργία και την ανάπτυξη αμέτρητων και πολύπλοκων μορφών ζωής. Ένα από τα πιο σημαντικά φύλα αυτών των οργανισμών είναι τα μαλάκια τα οποία παίζουν ζωτικό ρόλο στη λειτουργία των οικοσυστημάτων.

Η ιστορία της εξέλιξης των μαλακίων είναι εξαιρετικά μακρά και πλούσια, τα πρώτα μαλάκια πιθανώς εμφανίστηκαν κατά το Προκάμβριο εφόσον υπάρχουν αρκετά στοιχεία (απολιθώματα) τα οποία χρονολογούνται από την αρχή της Καμβρίου περίοδο πριν από περίπου 550 εκατομμύρια χρόνια (Parkhaev 2007, Haszprunar & Wanninger 2012, Vinther *et al.*, 2012). Τα μαλάκια αποτελούν το δεύτερο μεγαλύτερο φύλο ασπόνδυλων ζώων στη Γη γενικά και το μεγαλύτερο θαλάσσιο φύλο καταλαμβάνοντας το 23% της θαλάσσιας ζωής (Rosenberg 2014). Αυτό το φύλο οργανισμών παρουσιάζει εντυπωσιακή ποικιλομορφία, καθώς διαφέρουν μεταξύ τους τόσο στη μορφολογία όσο και στο τρόπο ζωής. Συνολικά περιλαμβάνουν περίπου 120000 περιγραφόμενα είδη και άλλα 200000 μη περιγραφόμενα είδη μαλακίων (Ruppert *et al.* 2004, Chapman 2009), ενώ έρευνες πάνω στα απολιθώματα αυτού του φύλου υπολογίζουν ότι υπήρχαν τουλάχιστον 60 με 100000 επιπλέον είδη (Brusca & Brusca 2003, Taylor 2005). Παρόλο αυτά, πολλές ταξινομικές ομάδες μαλακίων παραμένουν ανεπαρκώς μελετημένες (Fedosov & Puillandre 2012). Τα μαλάκια παρουσιάζουν βασικά χαρακτηριστικά όπως είναι τα μη τμηματοποιημένα μαλακά σώματα με αμφίπλευρη

συμμετρία (εκτός από τα Γαστερόποδα), το τοίχωμα του σώματος ή «μανδύας», μια εξωτερική δομή που καλύπτει το σώμα και σχηματίζει κοιλότητες για την αναπνοή και την απέκκριση, το ξύστρο, μια σειρά δοντιών που χρησιμοποιούνται για την βόσκηση και το πολύπλοκο νευρικό τους σύστημα, το οποίο τα καθιστά ικανά να αντιλαμβάνονται το περιβάλλον τους (Brusca & Brusca 2003, Ruppert *et al.* 2004).

Ο Πολωνός ερευνητής J. Jonston (1603-1675) καθιέρωσε το όρο «Μαλάκια», ωστόσο στην πραγματικότητα ο όρος άρχισε να χρησιμοποιείται ευρύτερα αργότερα από τον Λινναίο το 1758. Παλαιότερα, υπήρχαν διάφορα συστήματα ταξινόμησης των μαλάκιων, από τους Pelseneer (1906), Cooke (1917), Thiele (1929) και πιο πρόσφατα οι o Boss (1982) και Ruppert *et al.* (2004), καταλήγοντας στην σημερινή ταξινόμηση των μαλάκιων να αποτελείται από 8 κλάσεις, τα Ουροβοθριωτά, οι Σωληνόγαστροι, τα Μονοπλακοφόρα, τα Πολυπλακοφόρα, τα Δίθυρα, τα Γαστερόποδα, τα Κεφαλόποδα και τα Σκαφόποδα.

1.2 Περιγραφή των πολυπλακοφόρων

Γενικά, τα πολυπλακοφόρα και τα απλακοφόρα (Ουροβοθριωτά και Σωληνόγαστροι) ανήκουν στο κλάδο των Aculifera και τα μονοπλακοφόρα ανήκουν στο κλάδο των Conchifera. Τα Aculifera δεν έχουν όστρακο αλλά διαθέτουν ασβεστώδεις σκληρίτες ή πλάκες ασβεστίου (Brusca & Brusca, 2003, Ruppert *et al.* 2004), ενώ τα Conchifera μπορούν να φέρουν ένα ή περισσότερα ασβεστούχα κελύφη (Aiken *et al.* 2013). Όπως υπονοεί το όνομά τους, τα απλακοφόρα δεν διαθέτουν όστρακο, τα μόνοπλακοφόρα έχουν ένα ενιαίο όστρακο και τα πολυπλακοφόρα φέρουν 8 μικρότερες ασβεστολιθικές πλάκες (Ponder *et al.* 2020).

Ειδικότερα, τα πολυπλακοφόρα, κοινώς γνωστά και ως χιτώνες, , υπάρχουν από την Λιθανθρακοφόρο περίοδο έχοντας παρουσιάσει μικρές αλλαγές στην μορφολογία τους (Sigwart 2009). Υπάρχουν περίπου 1000 είδη και 13 οικογένειες (Chaetodermomorpha, Neomeniomorpha, Lepidopleuridae, Acanthochitonidae, Lepidochitonidae, Tonicellidae, Mopallidae, Callochitonidae, Caetopleuridae, Ischnochitonidae, Callistoplacidae, Chitonidae και Acanthochitonidae) (Ruppert *et al.* 2004). Βρίσκονται σε μεσοπαραλιακά και ρηχά υποπαραλιακά κροκαλώδη υποστρώματα σε όλο το κόσμο και επηρεάζουν τον τύπο των ενδιαιτημάτων στα οποία βρίσκονται κάνοντάς τους σημαντικούς βοσκητές (Sigwart 2009, Kaas *et al.* 2006, Dethier & Duggins 1984, Elahi & Sebens 2013).

Το *Rhyssoplax olivacea* ανήκει στην οικογένεια Chitonidae είναι κυρίως μεσογειακό και θεωρείται από τα πιο κοινά είδη στη Μεσόγειο θάλασσα (Strack 1988, Koukouras & Karahle 2004). Η παρουσία του έχει καταγραφεί από την ανατολική Μεσόγειο έως τη νότια Πορτογαλία (Dell'Angelo & Smriglio 2001). Συνήθως κατοικεί σε ογκόλιθους, αν και έχει επίσης παρατηρηθεί να ζει σε ασβεστολιθικά φύκη, σφουγγάρια και ανθόζωα, σε βάθη που κυμαίνονται από 0,5 έως 62 μέτρα (Koukouras & Karahle 2004). Πρόσφατα, η δυναμική του πληθυσμού του έχει περιγραφεί όσον αφορά το μέγεθος και την ανάπτυξη του πληθυσμού- ωστόσο, δεν είναι πολλά γνωστά για την εξέλιξη των οικολογικών παραμέτρων του (Varkoulis *et al.* 2023).

Τα πολυπλακοφόρα είναι ραχιαία πεπλατυσμένα, αμφίπλευρα συμμετρικά μαλάκια, και χαρακτηρίζονται από το κέλυφος τους, το οποίο αποτελείται από οκτώ αρθρωτές ασβεστολιθικές πλάκες ή θυρίδες, ενσωματωμένες σε ένα περιφερειακό σκληρό μανδύα (Brusca & Brusca 2003, Haszprunar, 2001, Ruppert *et al.* 2004). Ο μανδύας είναι μια επιδερμίδα στην οποία ενσωματώνονται οι πλάκες, ο μανδύας

δημιουργεί μια ζώνη γύρω από το χείλος των πλακών και σε μερικά είδη μανδυακές πτυχές καλύπτουν τμήμα ή ολόκληρες τις πλάκες σχηματίζοντας ενσωματωμένη με αγκάθια και ακίδες ανθρακικού ασβεστίου (Haas 1981, Scheltma 1993). Το όστρακο είναι ένας πολύπλοκος συνδυασμός οργανικού υλικού και διαφορετικών διαμορφώσεων κρυστάλλων ανθρακικού ασβεστίου που σε συνδυασμό δημιουργούν μια μηχανικά ισχυρή δομή (Ponder *et al.* 2020). Οι πλάκες παρέχουν προστασία, ενώ παράλληλα επιτρέπουν κάποιο βαθμό ευκαμψίας κατά την κίνηση του ζώου πάνω σε ανώμαλες επιφάνειες, καθώς και κατά την αμυντική κύλιση σε μορφή μπάλας, όταν αποκολληθούν από μια επιφάνεια (Connors *et al.* 2012, Sigwart *et al.* 2015).

Η κοιλιακή πλευρά του ζώου χωρίζεται σε δύο μέρη, ένα ελάχιστα διαφοροποιούμενο «κεφάλι» και ένα μυώδες κοιλιακό πόδι το οποίο συνδέεται με τον μανδύα και σε συνδυασμό προσφέρουν την ικανότητα στο ζώο να προσκολλάτε στις σκληρές επιφάνειες των κροκάλων (Brusca & Brusca 2003, Haszprunar 2001, Ruppert *et al.* 2004). Στη «κεφαλή» βρίσκεται η στοματική κοιλότητα η οποία περιέχει τη ξύστρο (Ponder *et al.* 2020). Το ξύστρο είναι μια χιτινώδης μεμβράνη με πολλές σειρές δοντιών, καταταγμένα σε εγκάρσιες και διαμήκεις σειρές, που καλύπτονται από μεγάλες συγκεντρώσεις μαγνητίτη και απατίτη, τα οποία θεωρούνται από τα πιο σκληρά και άκαμπτα βιογενή υλικά, επιτρέποντας τη συνεχή απόξεση της τροφής από τις επιφάνειες των κροκάλων (Lowenstam 1967, Wang *et al.* 2022). Τα δόντια ανανεώνονται συνεχώς με τη δημιουργία νέων δοντιών στο οπίσθιο μέρος του ξύστρου γνωστό και ως ο σάκος του ξύστρου (radular sack) και ωριμάζουν στη «ζώνη βιοορυκτογένεσης» (mineralization zone) από τα σκληρά επιθήλια (Shaw *et al.* 2008) ενώ μόνο οι μπροστινές σειρές χρησιμοποιούνται στην «χρηστική ζώνη» (working zone) για την σίτιση.

1.3 Σημασία της αλλομετρίας

Η αλλομετρία σαν μέθοδος έρευνας ασχολείται με τη μεταβολή των χαρακτηριστικών (σχήμα του ζώου, μέγεθος μερών του σώματος του ζώου κ.α.) που συνδέονται με τη μεταβολή του συνολικού μεγέθους των οργανισμών. Η αύξηση του ζώου πολλές φορές συνδυάζεται από αλλαγές στην αναλογία του ολικού μεγέθους, το οποίο είναι ευρέως γνωστό και ως φαινόμενο της σχετικής ή αλλομετρικής αύξησης. Η ισομετρική ανάπτυξη αναφέρεται σε δομές που μεταβάλλονται αναλογικά με το συνολικό μέγεθος του σώματος (Klingenberg 1996, 1998). Η αλλομετρική ανάπτυξη πραγματοποιείται όταν ένα μέρος του σώματος δεν αναπτύσσεται γραμμικά ανάλογα με το συνολικό μέγεθος του σώματος (Huxley 1932, Gayon 2000). Γενικά, η χρήση της αλλομετρίας μπορεί να αποτελέσει τη βάση για την κατανόηση της καλύτερης πρόβλεψης των συγκεκριμένων μεταβλητών σχήματος (Dryden & Mardia 1998, Klingenberg 1998).

Ειδικότερα η αλλομετρία του σχήματος και του μεγέθους του σώματος στα πολυπλακοφόρα έχει αποτελέσει ως εργαλείο για την έλεγχο της πλαστικότητας και για τον προσδιορισμό σχέσεων αλλομετρίας μεγέθους στη σχέση μήκους-βάρους για τη συσχέτιση των διαφορετικών ρυθμών ανάπτυξης των διάφορων μερών του σώματος ενδο-ειδικά και δυα-ειδικά (Baxter & Jones 1986, Varkoulis *et al.* 2023).

1.4 Σημασία του ζύστρου

Καθώς τα είδη των μαλάκιων είναι εξαιρετικά διαφορετικά, έτσι και τα οδοντικά χαρακτηριστικά τους συμπεριλαμβανομένου τη χημική σύσταση και τις μηχανικές ιδιότητες είναι αρκετά ποικίλα. Αυτή η ποικιλομορφία έχει οδηγήσει στη χρήση των χαρακτηριστικών των δοντιών ως ταξινομικό χαρακτηριστικό (Solem 1972).

Εκτός από την παραπάνω χρήση τους αντανακλούν επίσης και τις διατροφικές προτιμήσεις, καθώς αλληλοεπιδρούν άμεσα με τη τροφή. Παράγοντες όπως η μορφολογία, η χημική σύσταση και η τάση θραύσης των δοντιών επηρεάζουν τη βιομηχανική τους και συμβάλλουν στη λειτουργική τους εξειδίκευση. Κάθε δόντι μπορεί να έχει διαφορετικό ρόλο, όπως για παράδειγμα κάποιοι τύποι δοντιών μπορεί να μην αλληλοεπιδρούν άμεσα με τη τροφή, με αποτέλεσμα τα δόντια να ποικίλλουν ακόμη και στο ίδιο το ξύστρο (Krings *et al.* 2019). Πολλές έρευνες έχουν ήδη διερευνήσει τη σχέση μεταξύ τη χημικής σύστασης, των μηχανικών ιδιοτήτων των δοντιών στα πολυπλακοφόρα (Lee *et al.* 2003). Παρόλα αυτά πολλές έρευνες έχουν επικεντρωθεί στο έξω πλευρικό δόντι λόγω της εξαιρετικής τους σκληρότητα καθώς αυτό το δόντι καθώς είναι εξειδικευμένο στο ξύσιμο των τροφών από τα σκληρά υποστρώματα (Krings *et al.* 2022α, Towe & Lowenstam 1967, Brooker *et al.* 2006, Brooker & Macey 2001).

1.5 Σκοπός της εργασίας

Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που περιγράφει την αλλομετρία και τη στοιχειακή σύσταση των πλακών και του ξύστρου του *R. olivacea* στη Μεσόγειο Θάλασσα, χρησιμοποιώντας συγκεντρωτικά δεδομένα από ένα γεωγραφικό εύρος κατά μήκος του Αιγαίου Πελάγους. Δεδομένου ότι τα πολυπλακοφόρα είναι υπομελετημένα στη Μεσόγειο, αυτό θα προσφέρει νέες γνώσεις σχετικά με την οικολογική λειτουργικότητα των σκελετικών στοιχείων ενός από τα πιο ευρέως διαδεδομένα είδη χιτώνων.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Δειγματοληψία

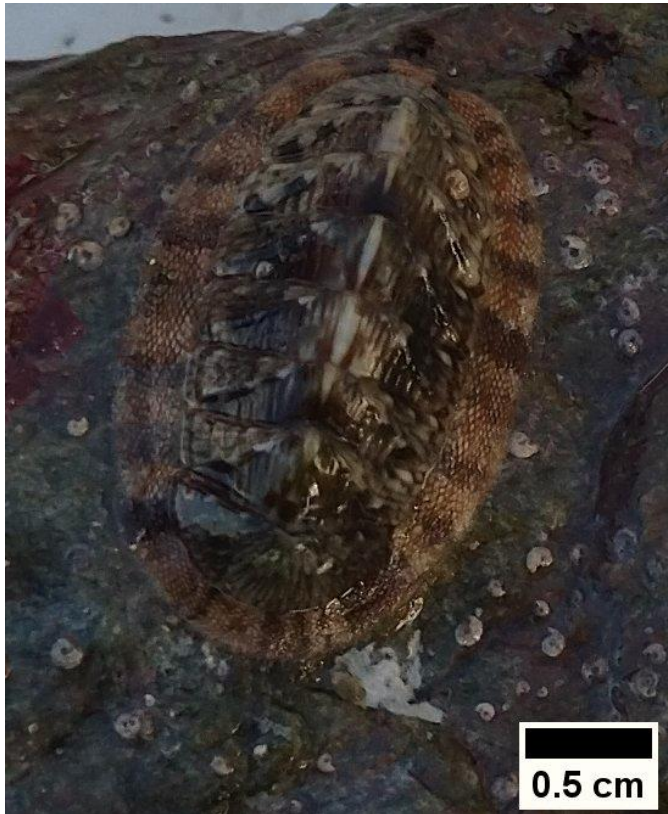
Για την παρούσα μελέτη συλλέχθηκαν συνολικά 98 άτομα του είδους *R. olivacea*, στο πέρας του καλοκαιριού του 2023 και 2024 (Πίν. 1).

Πίνακας 1. Περιγραφικός πίνακας των περιοχών, του αριθμού των δειγμάτων, το μέσο βάθος και μέσο μήκος των ζώων ανά περιοχή.

Περιοχή	Συντεταγμένες	N	Βάθος (m)	Μέσο μήκος (mm)
Χαλκιδική	40° 23' 2.73"N, 23° 55' 21.19"E	31	2-2.5	14.4
Λήμνος	39° 51' 28.6"N, 25° 03' 47.0"E	9	0.5-1	15.01
Παγασιτικός Κόλπος	39° 20' 50.09"N, 22° 58' 22.84"E	34	0.5-1	16.69
Εύβοια	38° 37' 31.35"N, 24° 7' 16.09"E	15	0.5-1	20.03
Παξοί	39° 11' 51.47"N, 20° 11' 10.74"E	9	0.5	17.41

Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε κατά τη διάρκεια ημερήσιων δειγματοληψιών με τη χρήση ελεύθερων καταδύσεων σε βάθη που κυμαίνονταν από 0,5 μέτρο έως και το βάθος των 2.5 μέτρων. Αρχικά, χρησιμοποιήθηκαν τελάρα για τη συλλογή των κροκαλών, τα πολυπλακοφόρα τα οποία βρέθηκαν κάτω από κάθε κροκάλα αποκολλήθηκαν με τη χρήση της αιχμής ενός νυστεριού και τοποθετήθηκαν σε πλαστικά δοχεία τα οποία ήταν γεμάτα με θαλασσινό νερό ώστε να μην πεθάνουν τα πολυπλακοφόρα κατά τη διάρκεια της μεταφοράς στο εργαστήριο (Εικ. 1). Μετά τη συλλογή τους, τα πλαστικά δοχεία με τα άτομα του *R. olivacea* τοποθετήθηκαν σε

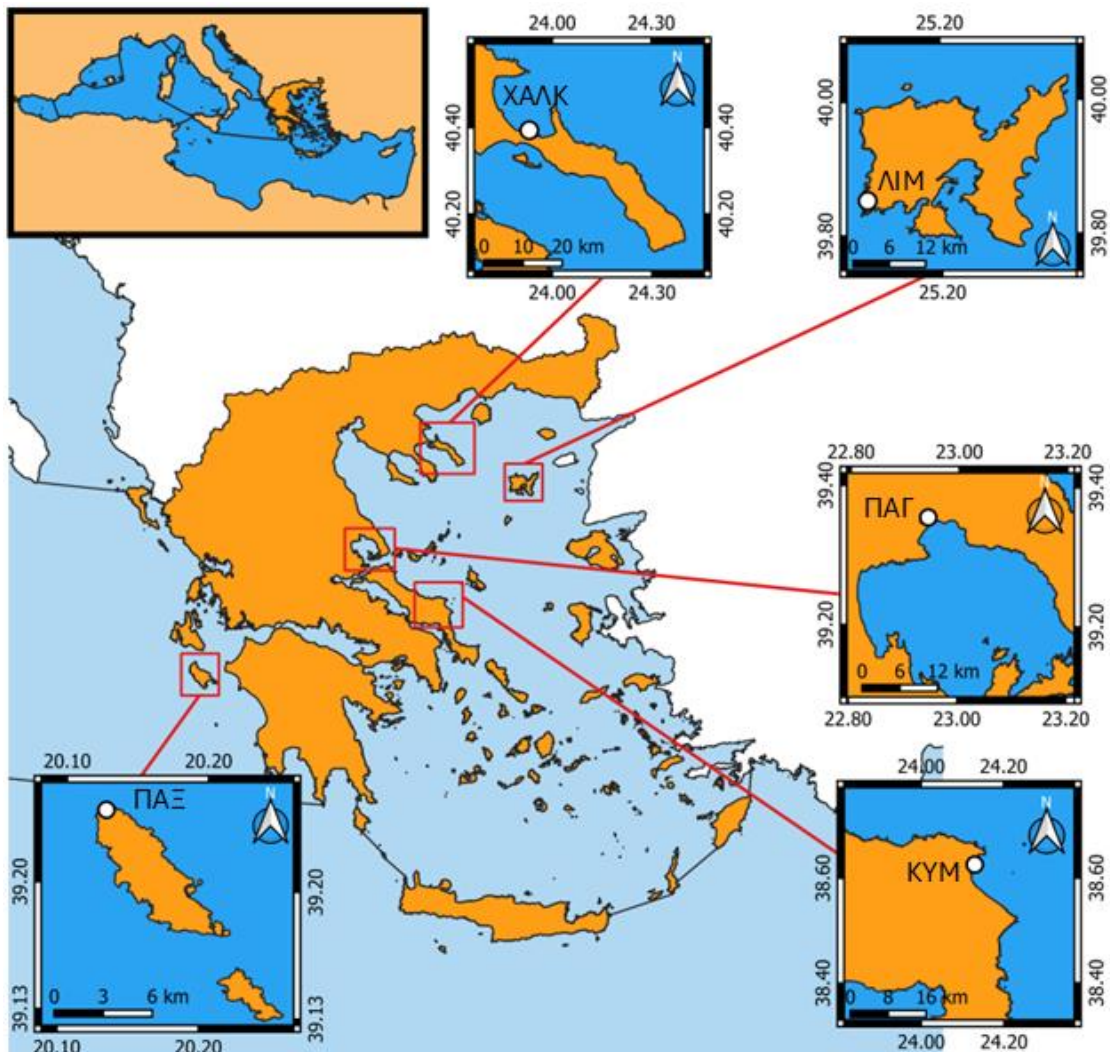
ειδικά ψυγεία τα οποία περιείχαν μεγάλες ποσότητες πάγου για να διατηρηθούν σε καλή κατάσταση μέχρι να ολοκληρωθεί η μεταφορά τους στις εγκαταστάσεις του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο εργαστήριο θαλάσσιας βιολογίας του τμήματος της Ιχθυολογίας για περεταίρω αναλύσεις για τις ανάγκες της παρούσας έρευνας.



Εικόνα 1. Φωτογραφία in situ του *R. olivacea* πάνω σε κροκάλα.

2.2 Περιοχές μελέτης

Οι περιοχές μελέτης περιλάμβαναν τέσσερις διαφορετικές περιοχές του Αιγαίου Πελάγους και μια περιοχή που βρίσκεται στο Ιόνιο Πέλαγος (Εικ. 2).



Εικόνα 2. Χάρτης της Ελλάδος ο οποίος δείχνει τις πέντε περιοχές δειγματοληψίας.

Το νησί των Παξών βρίσκεται στο Ιόνιο Πέλαγος, χαρακτηρίζεται από βραχώδεις ακτές ενώ αποτελεί μια μεταβατική περιοχή η οποία χαρακτηρίζεται από διάφορα ωκεανογραφικά φαινόμενα μικρής κλίμακας και μεγάλη βιοποικιλότητα, λόγω των ιδιαίτερων τοπογραφικών χαρακτηριστικών (Coll *et al.* 2010). Η Εύβοια (Κύμη) βρίσκεται στο κεντρικό Αιγαίο χαρακτηρίζεται από σχετικά υψηλές παλίρροιες, ενώ παρατηρείται και μεγάλη ανθρωπογενής πίεση (Poulos *et al.* 2024). Ο Παγασητικός κόλπος βρίσκεται στα δυτικά του Αιγαίου Πελάγους και βόρεια της Εύβοιας. Πρόκειται για έναν σχετικά αβαθή ημίκλειστο κόλπο με αρκετές βραχώδεις παραλίες και αμμώδη

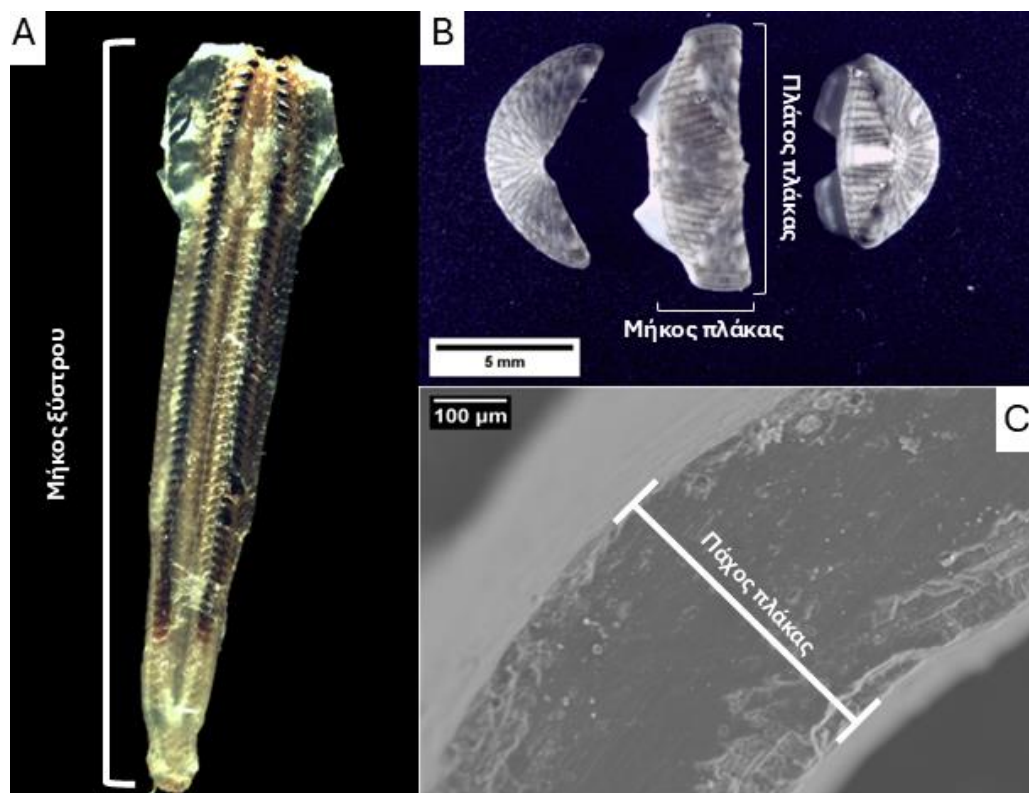
πυθμένα σε μεγαλύτερα βάθη, ο οποίος έχει μέσο βάθος 69 m και μέγιστο βάθος 102 m. Η περιοχή του κόλπου επηρεάζεται σημαντικά από ανθρωπογενή δραστηριότητες (Petihakis *et al.* 2005). Η χερσόνησος της Χαλκιδικής βρίσκεται στο βόρειο τμήμα του Αιγαίου Πελάγους, χαρακτηρίζεται από πλούσια ακτογραμμή που περιλαμβάνει αμμώδεις παραλίες και απότομα βραχώδη μέρη. Κυριαρχείται από την παρουσία χαμηλής αλατότητας νερού της Μαύρης Θάλασσας (BSW) που εισέρχεται στο Αιγαίο μέσω των Στενών των Δαρδανελίων, διαμορφώνοντας τα ωκεανογραφικά χαρακτηριστικά αυτής της περιοχής (Zodiatis 1994). Τέλος, το νησί της Λήμνου βρίσκεται στο βόρειο Αιγαίο Πέλαγος το οποίο χαρακτηρίζεται από ηφαιστιογενή ιζήματα ενώ επηρεάζεται από τις σύνθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των νερών χαμηλής αλατότητας της Μαύρης Θάλασσας (BSW) και των υδάτων του Αιγαίου, στοιχεία το οποίο το διαχωρίζουν από τη Χαλκιδική (Zervakis & Georgopoulos 2002).

2.3 Μορφομετρικές μετρήσεις

Το ελάχιστο μήκος σώματος των συλλεχθέντων ατόμων *R. olivacea* καθορίστηκε στα 14 mm για να μειωθούν οι πιθανές διακυμάνσεις στην χημική σύσταση ή στην αλλομετρία του ξύστρου και των πλακών, που μπορεί να προκύψουν λόγω διαφορών στα οντογενετικά στάδια των ατόμων. Επιπλέον, για την αποφυγή σφαλμάτων στις μετρήσεις που προκαλούνται λόγω της συστολής του σώματος των ζώων από την αποκόλλησή τους από τις κροκάλες, ακολουθήθηκε ένα πρωτόκολλο χαλάρωσης σύμφωνα με τους Avila-Poveda & Abadia-Chanona (2013). Σε αυτό το πρωτόκολλο πραγματοποιείται η σταδιακή αραίωση του θαλασσινού νερού που υπάρχει στα δοχεία με γλυκό νερό μέχρι η αναλογία τους να φτάσει 1 προς 1. Σε κάθε στάδιο της χαλάρωσης προστέθηκαν στα δοχεία μικρές ποσότητες αιθυλικής αλκοόλης 10 %

ώστε να επιταχυνθεί η διαδικασία. Τέλος, όλα τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε δοχεία με διάλυμα 10% φορμαλδεΰδης για την καλύτερη συντήρησή τους.

Για κάθε άτομο, το συνολικό μήκος μετρήθηκε με τη χρήση ενός ψηφιακού παχύμετρου με ακρίβεια 0,01 mm. Ύστερα, κάθε άτομο τεμαχίστηκε προσεκτικά με τη χρήση νυστεριού για να πάρουμε το ξύστρο αλλά και τις τρεις χαρακτηριστικές πλάκες (Πλάκα I, Πλάκα IV, Πλάκα VIII), το οποία ξεπλύθηκαν με απεσταγμένο νερό για να απομακρυνθεί τυχόν εναπομείναντες μαλακοί ιστοί από την επιφάνεια τους. Για το ξύστρο οι μορφομετρικές μετρήσεις περιείχαν μόνο το μήκος του ενώ για το όστρακο οι μορφομετρικές μετρήσεις περιείχαν το μήκος, το πλάτος και το πάχος της κάθε πλάκας ξεχωριστά. Όλες αυτές οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση ψηφιακού παχύμετρου ($\pm 0,01$ mm) με το πάχος των πλακών να αποτελεί εξαίρεση καθώς μετρήθηκε με τη χρήση ενός ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης για την επίτευξη πιο ακριβών αποτελεσμάτων αλλά και την αποφυγή λαθών κατά τη μέτρηση λόγω της καμπυλότητάς τους (Εικ. 3).



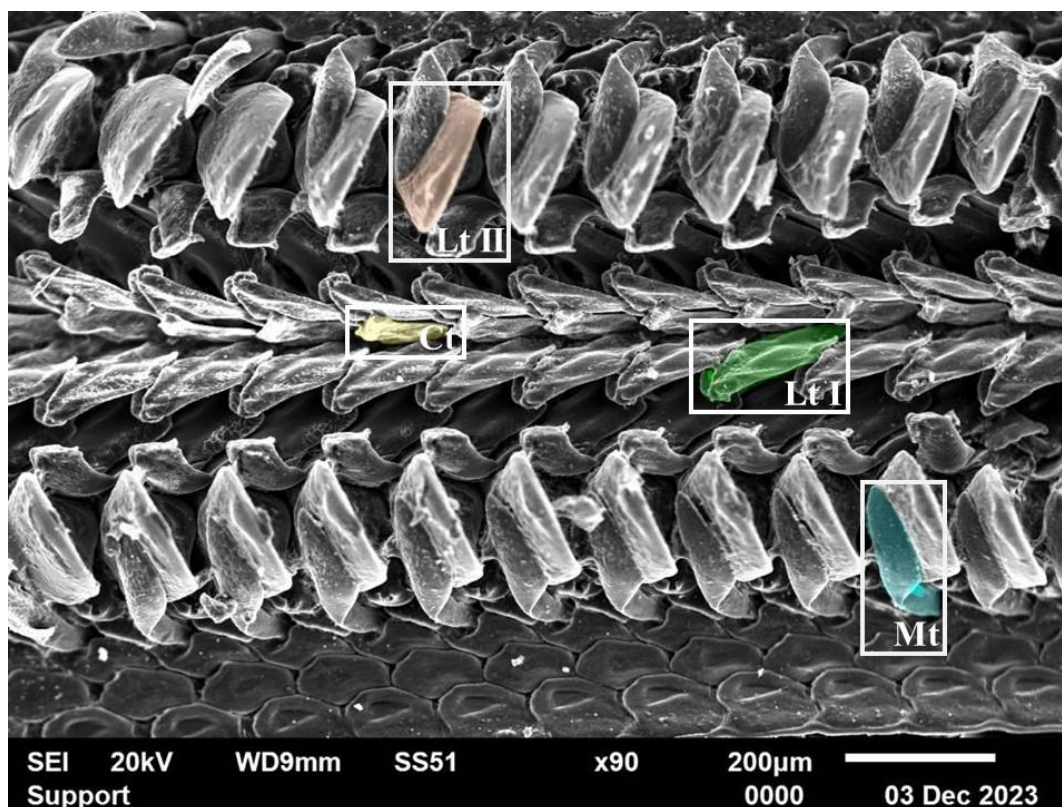
Εικόνα 3. (Α) Μακροσκοπική φωτογραφία του ζύστρου που δείχνει το μήκος της. (Β) Μακροσκοπική φωτογραφία που δείχνει τη πρόσθια – Πλάκα I (αριστερά), την ενδιάμεση – Πλάκα IV και την οπίσθια – Πλάκα VIII (δεξιά) με μετρήσεις για το μήκος και το πλάτος των πλακών (C) Φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης που δείχνει την εγκάρσια τομή μιας πλάκας με την μέτρηση του πάχους της.

2.4 Φασματοσκοπία ενεργειακής διασποράς (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy, EDS)

Για την εξερεύνηση της χημικής σύστασης του ζύστρου και των πλακών χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 40 άτομα *R. olivacea* από τα οποία το ζύστρο αλλά και οι τρεις εξεταζόμενες πλάκες (I, IV, VIII) είχαν παραμείνει άθικτες κατά την αφαίρεση καθώς ελέγχθηκαν μακροσκοπικά σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Για την προετοιμασία των δειγμάτων για την ανάλυση EDS, έγινε καθαρισμός με απεσταγμένο νερό και έγινε χρήση του πρωτοκόλλου Critical Point Drying για να αφαιρεθούν τυχόν υπολείμματα μαλακού ιστού αποφεύγοντας την παραμόρφωση των δειγμάτων ώστε να διατηρήσουν

την μορφολογία τους όσο καλύτερα γίνεται. Κάθε πλάκα τροχίστηκε μέχρι να εμφανιστεί η εσωτερική εγκάρσια επιφάνεια. Τα ήδη επεξεργασμένα δείγματα τοποθετήθηκαν σε μεταλλικές πλάκες διαμέτρου 2 cm με ειδική ταινία διπλής όψεως η οποία είχε ως βάση των άνθρακα και επικαλύφθηκαν με μια στρώση άνθρακα 6nm, χρησιμοποιώντας το Q150R Plus εξοπλισμένο με αντλία περιστροφικού κενού. Στην συνέχεια, έγινε η απεικόνιση των δειγμάτων στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης SEM JEOL JSM 6510 (JEOL Ltd., Tokyo, Japan).

Όσον αφορά το ξύστρο, έγινε επιλογή “χρηστική εργασία» (working zone), καθώς μόνο οι μπροστινές σειρές των δοντιών χρησιμοποιούνται για τη σίτιση, και τα δόντια του ξύστρου κατηγοριοποιήθηκαν σε τέσσερα είδη (κεντρικό δόντι, έσω πλευρικό δόντι, έξω πλευρικό δόντι, περιφερειακό δόντι) με κριτήρια τη μορφολογία τους αλλά και την θέση τους πάνω στο ξύστρο σύμφωνα με την σχετική βιβλιογραφία (Εικ. 4) (Krings *et al.* 2022a).



Εικόνα 4. Φωτογραφία των δοντιών του ξύστρου από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Τα διαφορετικά χρώματα δείχνουν του διαφορετικούς τύπους δοντιών: πορτοκαλί – έξω πλευρικό δόντι, κίτρινο – κεντρικό δόντι, πράσινο – έσω πλευρικό δόντι, μπλε – περιφερειακό δόντι.

Η ανάλυση EDS πραγματοποιήθηκαν σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης JEOL JSM 6510 εξοπλισμένο με ένα Oxford Ling ISIS 300 για την εξέταση της χημικής σύστασης των δοντιών του ξύστρου και των πλακών, όπου ελήφθησαν τρεις μετρήσεις από την πάνω επιφάνεια κάθε δοντιού και τη διατομή κάθε πλάκας με διάρκεια 240 δευτερολέπτων σε μια περιοχή 0,102 mm.

2.5 Στατιστική ανάλυση

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις των δεδομένων και η δημιουργία κατάλληλων σχεδιαγραμμάτων και πινάκων πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση της γλώσσας R στο προγραμματιστικό περιβάλλον RStudio (έκδοση 2024.09.0+375).

Αρχικά, ελέγχθηκε η ομοιογένεια και η κανονικότητα των μορφομετρικών μετρήσεων μεταξύ των διάφορων τύπων πλακών, καθώς και των συγκεντρώσεων των χημικών στοιχείων μεταξύ των δοντιών του ξύστρου με τις δοκιμές Levene's και Kolmogorov-Smirnov's τεστ, αντίστοιχα. Έστερα, πραγματοποιήθηκαν one-way ANOVA (ανάλυση διακύμανσης) σε συνδυασμό με Tukey post-hoc τεστ με διόρθωση Bonferroni adjusted-p, λαμβάνοντας έτσι υπόψη τις πολλαπλές συγκρίσεις. Με τη χρήση του προγράμματος RStudio δημιουργήθηκαν σχεδιαγράμματα, χρησιμοποιώντας το πακέτο ggplot2, τα οποία παρουσιάζουν τις μορφομετρικές μετρήσεις μεταξύ των διάφορων τύπων πλακών, καθώς και τις συγκεντρώσεις των στοιχείων μεταξύ των δοντιών του ξύστρου.

Όσον αφορά, τις αλλομετρικές σχέσεις δημιουργήθηκαν σχεδιαγράμματα χρησιμοποιώντας τη συνάρτηση SMA (Standard Major Axis) από το πακέτο «smatr» (Warton *et al.* 2012). Η SMA είναι συσχέτιση τύπου II, με σκοπό την ελαχιστοποίηση της απόστασης μεταξύ της γραμμής συσχέτιση και των σημείων των δεδομένων κατά μήκος και των δύο αξόνων, παίρνοντας υπόψη το σφάλμα και στις δύο μεταβλητές. Οι μεταβλητές μετασχηματίστηκαν σε λογάριθμο για τη γραμμοποίηση της αλλομετρικής εξίσωσης ($y=ax^b$) (Samuel 1945). Στην συνέχεια, κάθε αλλομετρική σχέση υποβλήθηκε σε συσχέτιση με τη μέθοδο SMA (Sokal & Rohlf 2013). Τέλος, για να προσδιοριστεί αν οι σχέσεις των μεταβλητών είναι ισομετρική (ίση με 1) ή αλλομετρική (θετική >1, αρνητική <1), διενεργήθηκαν one-way 2-tailed t-test για κάθε σύνολο μεταβλητών.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Μορφομετρική ανάλυση

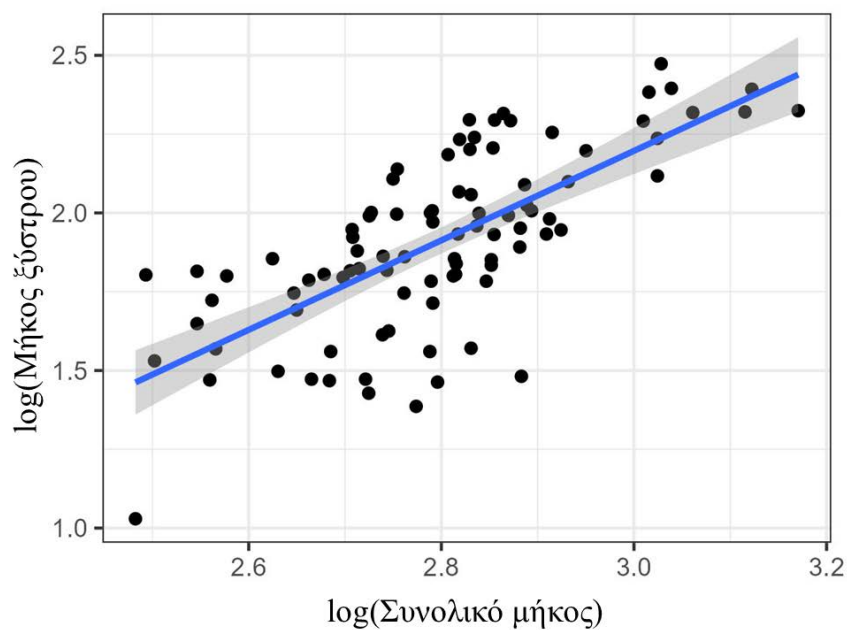
Όλες οι αλλομετρικές σχέσεις ήταν σημαντικές ($p < 0.05$), όπου ο υψηλότερος συντελεστής προσδιορισμού (R^2) παρατηρήθηκε στη σχέση μήκος πλάκας – πλάτος πλάκας στην πλάκα I ($R^2=0.65$) ενώ ο χαμηλότερος συντελεστής προσδιορισμού σημειώθηκε στη σχέση μήκος πλάκας – πάχος πλάκας στην πλάκα VIII ($R^2=0.16$) (Πίν. 2).

Πίνακας 2. Περιγραφικός πίνακας των αλλομετρικών σχέσεων στις πλάκες και το ξύστρο.

Σχέση	Σκελετικές δομές	Αλλομετρική εξίσωση	R^2	Αλλομετρία
Μήκος-Πλάτος	I	$\log(L)=1.082\log(W)-0.365$	0.65	Ισομετρία
	IV	$\log(L)=1.309\log(W)-0.723$	0.46	Θετική
	VIII	$\log(L)=1.062\log(W)-0.286$	0.61	Ισομετρία
Πλάτος-Πάχος	I	$\log(W)=0.699\log(T)+1.011$	0.38	Αρνητική
	IV	$\log(W)=0.66\log(T)+1.046$	0.39	Αρνητική
	VIII	$\log(W)=0.705\log(T)+0.921$	0.21	Αρνητική
Μήκος-Πάχος	I	$\log(L)=0.756\log(T)+0.729$	0.33	Αρνητική
	IV	$\log(L)=0.864\log(T)+0.646$	0.41	Ισομετρία
	VIII	$\log(L)=0.748\log(T)+0.692$	0.16	Αρνητική
Συνολικό Μήκος-Μήκος Πλάκας	I	$\log(TL)=1.094\log(IL)+0.646$	0.41	Ισομετρία
	IV	$\log(TL)=0.874\log(IVL)+0.819$	0.27	Ισομετρία

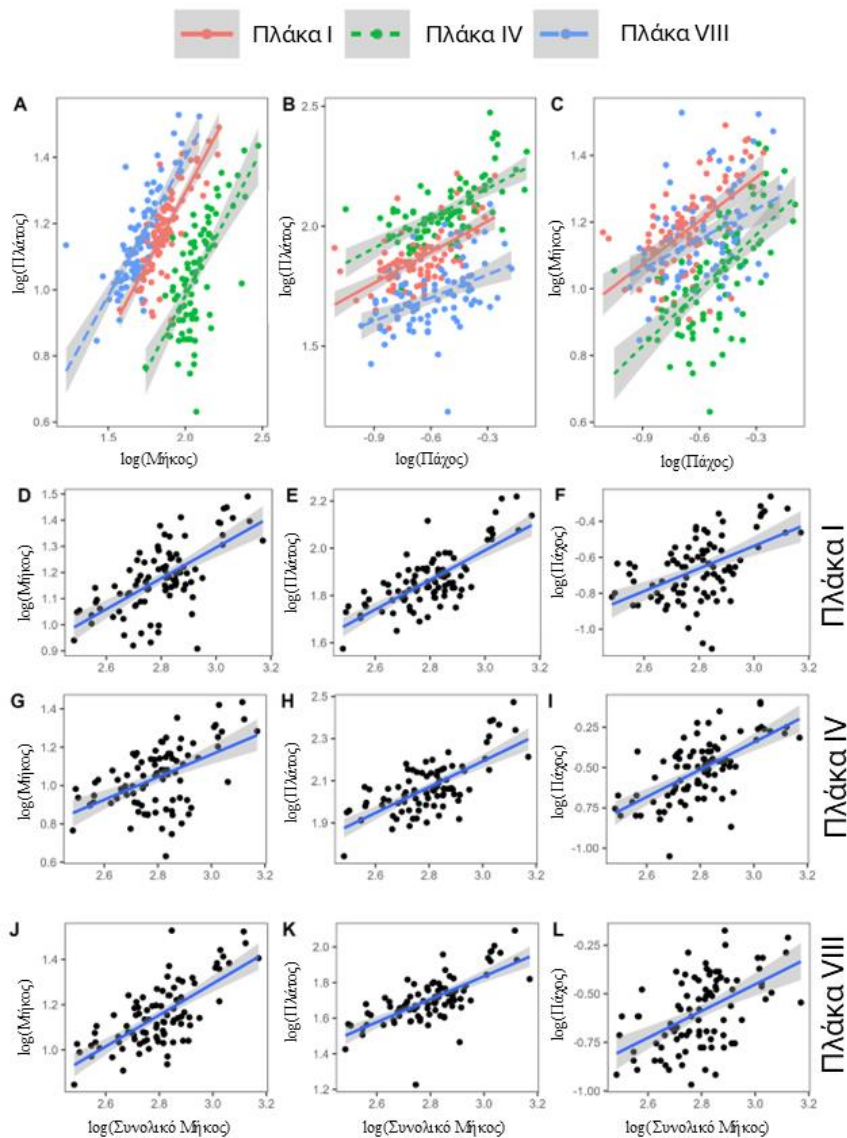
	VIII	$\log(TL)=1.009\log(VIII L)+0.709$	0.49	Ισομετρία
Συνολικό Μήκος- Πλάτος Πλάκας	I	$\log(TL)=1.183\log(IW)+0.0.257$	0.55	Θετική
	IV	$\log(TL)=1.145\log(IVW)+0.186$	0.49	Ισομετρία
	VIII	$\log(TL)=1.072\log(VIII W)+0.421$	0.47	Ισομετρία
Συνολικό Μήκος- Πάχος Πλάκας	I	$\log(TL)=0.827\log(IT)+1.453$	0.27	Αρνητική
	IV	$\log(TL)=0.756\log(IVT)+1.384$	0.41	Αρνητική
	VIII	$\log(TL)=0.755\log(VIII T)+1.41$	0.27	Αρνητική
Μήκος ξύστρου- Συνολικό Μήκος	Ξύστρο	$\log(RL)=2\log(TL)-1.6$	0.5	Θετική

Η σχέση μεταξύ του μήκους ξύστρου με το συνολικό μήκος παρουσίασε θετική αλλομετρία, με τον μέσο λόγο να είναι με $0,42 \pm 0,08$ με τις ελάχιστες και μέγιστες τιμές του λόγου να ισούται 0,23 και 0,58 αντίστοιχα (Πίν. 2, Σχ.1).



Σχήμα 1. Αλλομετρική σχέση του μήκους ξύστρου με το συνολικό μήκος του ζώου.

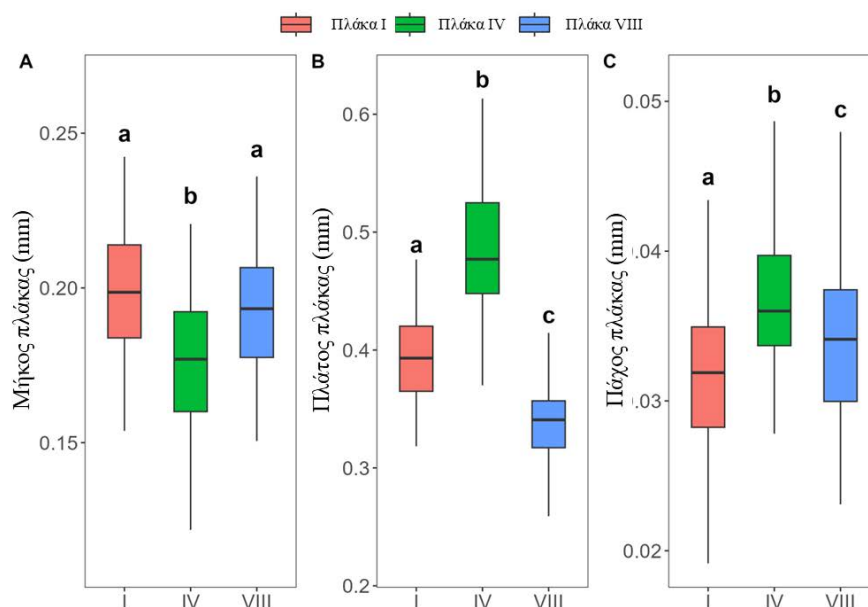
Στην αλλομετρία μεταξύ των μετρήσεων των πλακών, στη σχέση μήκος με πλάτος, οι πλάκες I και VIII παρουσίασαν ισομετρία ενώ θετική αλλομετρία παρατηρήθηκε για τη πλάκα IV (Πίν. 2, Σχ. 2Α). Στη αλλομετρική σχέση πλάτος με πάχος παρατηρήθηκε αρνητική αλλομετρία σε όλες τις πλάκες (Πίνακας 2, Σχήμα 2Β). Τέλος, στη σχέση μήκος με πάχος στην πλάκα IV παρουσιάστηκε ισομετρία ενώ στη πλάκα I και VIII παρουσιάστηκε αρνητική αλλομετρία (Πίν. 2, Σχ. 2C).



Σχήμα 2. Αλλομετρικές σχέσεις μεταξύ των διαστάσεων των πλακών (Α-Γ) και των διαστάσεων των πλακών με το συνολικό μήκος του ζώου (Δ-Λ).

Συνεχίζοντας, οι αλλομετρικές σχέσεις μεταξύ του συνολικού ζώου και των μετρήσεων των πλακών, καταγράφηκε ισομετρία στη σχέση συνολικού μήκους με μήκος πλάκας ενώ στη σχέση συνολικού μήκους με πάχος πλάκας παρουσίασε αρνητική αλλομετρία (Πίν. 2, Σχ. 2D, F, G, I, J, L). Η μόνη σχέση στην οποία δεν σημειώθηκε ομοιομορφία στα αποτελέσματα είναι στη σχέση συνολικού μήκους με πλάτος πλάκας, όπου οι πλάκα I παρουσίασε θετική αλλομετρία, με τις πλάκες IV και VIII να παρουσιάζουν ισομετρία (Πίν. 2, Σχ. 2E, H, K).

Συγκρίνοντας την μορφομετρία μεταξύ των πλακών, στις πλάκες I και VIII δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σχετικά το μήκος τους, σημειώνοντας υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με την IV ($p < 0,001$, $F = 28,43$, $df = 270$, $MSE = 0,00052$, Σχ. 3A). Όσον αφορά, το πλάτος και το πάχος των πλακών, παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές και στους τρεις τύπους των πλακών ($p < 0,001$, $F = 289,9$, $df = 270$, $MSE = 0,0017$ - $p < 0,001$, $F = 21,14$, $df = 270$, $MSE = 0,000028$, αντίστοιχα), όπου η πλάκα IV σημείωσε τις υψηλότερες τιμές και για τις δύο μεταβλητές, ενώ πλάκα VIII είχε το μικρότερο πλάτος και η πλάκα I το μικρότερο πάχος (Σχ. 3B, C).



Σχήμα 3. Συγκρίσεις των διαστάσεων των πλακών ((A) Μήκος πλάκας, (B) Πλάτος πλάκας, (C) Πάχος πλάκας) μεταξύ των τριών πλακών. ^{a-c} περιγράφουν τη στατιστική διαφορά με τη χρήση post-hoc τεστ.

3.2 Χημική σύσταση

Σύμφωνα με την one-way ANOVA που πραγματοποιήθηκε στη χημική σύσταση μεταξύ των διάφορων τύπων δοντιών και μεταξύ των πλακών στατιστικά σημαντικές διαφορές σημειώθηκαν μόνο για τη χημική σύσταση μεταξύ των δοντιών αλλά όχι μεταξύ των πλακών (Πίν. 3).

Πίνακας 3. Αποτελέσματα της one-way ANOVA για τη χημική σύσταση των μεταξύ των τύπων δοντιών και των πλακών.

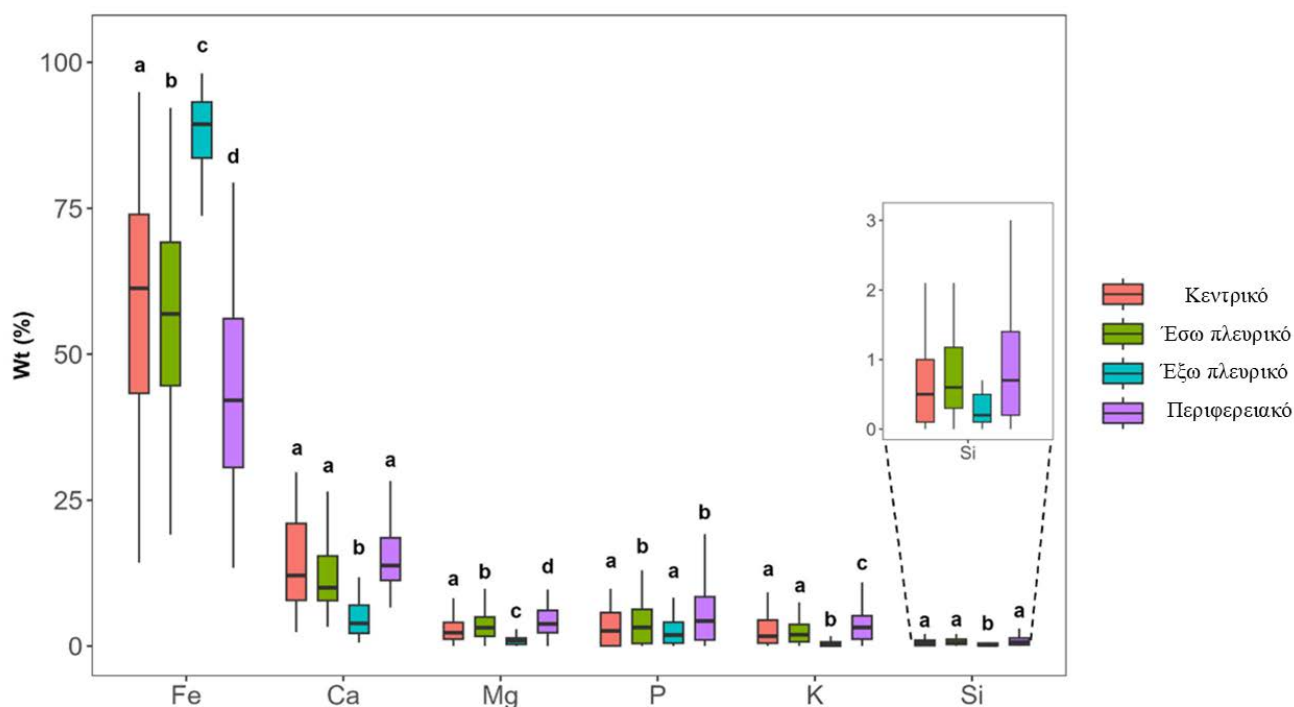
	Ξύστρο		Πλάκες	
	F	p	F	p
Ca	33.51	<0.001	0.266	0.766
Fe	137	<0.001	0.532	0.588
Mg	35.94	<0.001	0.886	0.413
K	61.34	<0.001	0.344	0.709

P	15.16	<0.001	3.058	0.482
Si	10.7	<0.001	0.169	0.844

Το Ca παρουσίασε τις υψηλότερες περιεκτικότητες μεταξύ των χημικών στοιχείων που αναφέρονται στο πίνακα 3, $93,03 \pm 15,12\%$ για πλάκα I, $93,64 \pm 11,97\%$ για την πλάκα IV και $94,28 \pm 11,33\%$ για την πλάκα VIII. Η μέση τιμή του Fe στις πλάκες καταγράφηκε στο $1,76 \pm 7,49\%$, $1,33 \pm 4,17\%$ και $3,34 \pm 4,17\%$ για τις πλάκες I, IV και VIII, αντίστοιχα. Στη συνέχεια, οι συγκεντρώσεις του Mg, P και Si για την πρόσθια πλάκα ήταν $0,64 \pm 2,07\%$, $0,69 \pm 2,76\%$, $0,58 \pm 1,64\%$ και $0,47 \pm 2,83\%$, αντίστοιχα για τη τέταρτη πλάκα, ήταν $0,39 \pm 0,88\%$, $0,22 \pm 0,56\%$, $0,58 \pm 0,98\%$ και $0,35 \pm 1,32\%$, και για την οπίσθια, ήταν $0,47 \pm 1,11\%$, $0,23 \pm 0,53\%$, $0,47 \pm 0,61\%$ και $0,5 \pm 1,8\%$, αντίστοιχα.

Ο Fe σημείωσε το υψηλότερο wt % για όλους τους τύπους δοντιών, με το Ca να σημειώνει τη δεύτερη υψηλότερη τιμή ενώ το χαμηλότερο ποσοστό παρατηρήθηκε από το Si (Σχ. 4). Η ποσόστωση του Fe παρατηρήθηκε ότι ήταν διαφορετική σε όλους τους τύπους δοντιών, όπου το μεγαλύτερο ποσοστό καταγράφηκε στο έξω πλευρικό (83 %) ενώ το λιγότερο σημειώθηκε στο περιφερειακό δόντι (36 %), με τη διαφορά μεταξύ τους να είναι περίπου στο 47 % (Πίν. 3, Σχ. 4). Το Ca δεν σημείωσε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διάφορων τύπων δοντιών εκτός από το έξω πλευρικό, το οποίο είχε εμφανές χαμηλότερες τιμές σε σχέση με τα υπόλοιπα τρία δόντια. Διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ όλων των δοντιών στη περιεκτικότητα Mg, με το έξω πλευρικό δόντι να έχει τις μικρότερες τιμές και το περιφερειακό δόντι τις μεγαλύτερες. Επιπλέον, παρατηρήθηκε και ότι είχε αντίστροφη τάση σε σχέση με το Fe. Όσον αφορά το P, δεν καταγράφηκαν διαφορές μεταξύ του κεντρικού με το έξω πλευρικό

δόντι και του έσω πλευρικό με το περιφερειακό δόντι, με τα δύο πρώτα να έχουν τις χαμηλότερες ποσοτώσεις. Στο K, οι χαμηλότερες τιμές παρατηρήθηκαν για το έξω πλευρικό, με το κεντρικό δόντι να ακολουθεί στη περιεκτικότητα τα οποία δεν είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, ενώ το περιφερειακό δόντι είχε τις υψηλότερες τιμές. Τέλος το Si παρουσίασε την ίδια τάση με το Ca, όπου το έξω πλευρικό δόντι κατέγραψε σημαντικά χαμηλότερες τιμές σε σύγκριση με τους άλλους τρεις τύπους δοντιών (Σχ. 4).



Σχήμα 4. Box plot σύγκρισης της χημικής σύστασης του ζύστρου μεταξύ των τεσσάρων τύπων δοντιού. ^{a-d} περιγράφουν την στατιστική διαφορά μεταξύ των δοντιών για κάθε στοιχείο με τη χρήση post-hoc τεστ.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σε μια παλαιότερη έρευνα κατά την οποία ερευνήθηκαν οι τροφικές προτιμήσεις στα είδη των πολυπλακοφόρων είχε υποστηριχθεί η άποψη ότι το μήκος του ξύστρου προς το συνολικό μήκος του ατόμου μπορεί να αποτελέσει ένδειξη της τροφικής προτίμησης σε επίπεδο είδους (Sigwart & Schwabe 2017). Καθώς το σχετικό μήκος ποικίλει ανάλογα με τη με τη τροφική προτίμηση και σύμφωνα με τα αποτελέσματα των μέσων τιμών του μήκους του ξύστρου της παρούσας έρευνας μπορούμε να υποθέσουμε ότι το *R. olivacea* μπορεί να μην είναι φυτοφάγο (Sigwart & Schwabe 2017, Pitacco *et al.* 2014). Η αλλομετρία του ξύστρου μεταβάλλεται ανάλογα με το στάδιο ζωής για πολλά θαλάσσια μαλάκια, όπου τα νεαρά άτομα να παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές μήκους σε σύγκριση με τα ενήλικα άτομα (για παράδειγμα Yee & Padilla 2015). Στην περίπτωση μας, παρατηρήθηκε θετική αλλομετρία, αποτέλεσμα το οποίο υποδεικνύει ότι το ξύστρο από τα ενήλικα άτομα του είδους *R. olivacea* συνεχίζει να αυξάνεται με γρήγορους ρυθμούς. Αυτό το αποτέλεσμα μπορεί να συνδέεται με το μικρό κύκλο ζωής και υψηλό ρυθμό ανάπτυξης αυτού του είδους (Varkoulis *et al.* 2023); παρόλα αυτά, καθώς αυτή είναι η πρώτη έρευνα που εξετάζει την αλλομετρία του ξύστρου των πολυπλακοφόρων, είναι αβέβαιο αν αυτή η τάση είναι χαρακτηριστικό του *R. olivacea* ή μπορεί να συμβαίνει και σε άλλα πολυπλακοφόρα.

Γενικά, διαφορές στην αλλομετρία των πλακών έχουν παρατηρηθεί ενδο-ειδικά και δυα-ειδικά, ενώ το μήκος στις πλάκες μπορεί να διαφέρει μεταξύ και στο ίδιο είδους (Connors *et al.* 2012, Baxter 1982, Baxter & Jones 1986). Η Salloum *et al.* (2023) είχαν υποθέσει ότι η αλλομετρία των πλακών μπορεί να συνδέεται με τις προτιμήσεις του ζώου στα ενδιαιτήματα, παρόλα αυτά, η αλλομετρία των πλακών μπορεί να αποτελεί και αποτέλεσμα από διαφορετικούς μηχανισμούς ανάπτυξης

(Ibáñez *et al.* 2018). Στην έρευνα της Ibáñez, *et al.* (2018) τα είδη *Acanthopleura echinata*, *Chiton granosus*, *Enoplochiton niger* και *Tonicia elegans* παρουσίασαν ισομετρία στη σχέση μήκους πλάκας με συνολικό μήκος ατόμου, τα οποία αποτελέσματα ήταν παρόμοια με τα δικά μας. Από το σημείο που και τα πέντε είδη ανήκουν στην οικογένεια Chitonidae, αυτή η τάση μπορεί να σχετίζεται με τη κοινή εξέλιξη τους παρά την επίδραση του ενδιαιτήματος, καθώς τα ζώα συλλέχθηκαν σε διαφορετικές βιογεωγραφικές ζώνες. Οι αλλομετρικές τάσεις σχετικά με τη μορφομετρία μεταξύ των πλακών του είδους *R. olivacea* κατέγραψαν διαφορές μεταξύ των ενδιάμεσων (IV) και οπίσθιων πλακών (VIII), αποτέλεσμα το οποίο είχε παρατηρηθεί και σε άλλα είδη (Ibáñez, *et al.* 2018, Saad 1997). Αυτές οι διαφορές μεταξύ της μορφολογίας των πλακών μπορεί να είναι απαραίτητες όσον αφορά την λειτουργικότητα του κελύφους ως σύνολο, παρέχοντας μέγιστη προστασία κατά τη διάρκεια της «παθητικής» στάσης (τεντωμένο) και της «αμυντικής» στάσης του ζώου (Connors *et al.* 2012).

Η σύγκριση της χημικής σύστασης μεταξύ διάφορων ειδών από διαφορετικές οικογένειες και γένη παρουσιάζει σημαντική μεταβλητότητα μεταξύ των πολυπλακοφόρων (Πίν. 4). Οι περισσότερες έρευνες πάνω στη χημική σύσταση του ξύστρου έχουν επικεντρωθεί σε ένα τύπο δοντιού, το έξω πλευρικό (Πίν. 4). Όπου σύμφωνα με τον πίνακα 4, σε διάφορα είδη συμπεριλαμβανομένου το *Acanthopleura hirtosa*, το *Lepidochitona cinerea*, το *Cryptochiton stelleri*, και το *Plaxiphora albida* σημειώθηκαν υψηλή περιεκτικότητα Fe στο έξω πλευρικό δόντι. Παρόλα αυτά, η σύγκριση μεταξύ των ποσοτώσεων καθίσταται ανέφικτη λόγω των διαφορετικών μεθοδολογιών (Krings *et al.* 2022β, Weaver *et al.* 2010, Shaw *et al.* 2008). Η παρούσα

έρευνα κατέγραψε παρόμοιες συγκεντρώσεις Ca, Mg, P, K και Si με αυτές που βρέθηκαν σε διαφορετικά είδη πολυπλακοφόρων στο έξω πλευρικό δόντι.

Πίνακας 2. Περίληπτικός πίνακας χημικής σύστασης σχετικά από μελετημένα είδη πολυπλακοφόρων. Ο τύποι δοντιού που περιγράφονται είναι: C – Κεντρικό δόντι, L1 – Έσω πλευρικό δόντι, L2 – Έξω πλευρικό δόντι, M – Περιφερειακό δόντι.

Οικογένεια	Είδη	Περιοχή	Μέθοδος	Τύπος δοντιού	Χημικά στοιχεία (%)	Αναφορά
Acanthochitonidae	<i>Acanthochtiona fascicularis</i>	Βόρεια θάλασσα	EDX	C	Ca (<1%), Mg (<1%), P (1%)	Krings <i>et al.</i> (2022β)
	<i>Acanthochtiona fascicularis</i>	Βόρεια θάλασσα	EDX	L1	Fe (<1%), Ca (1%), Mg (2%), P (2%), K (1%)	Krings <i>et al.</i> (2022β)
	<i>Acanthochtiona fascicularis</i>	Βόρεια θάλασσα	EDX	L2	Fe (29%), Ca (6%), Mg (4%), P (9%), K (1%)	Krings <i>et al.</i> (2022β)
	<i>Acanthochtiona fascicularis</i>	Βόρεια θάλασσα	EDX	M	Ca (6%), Mg (<1%)	Krings <i>et al.</i> (2022β)
	<i>Cryptochiton stelleri</i>	-	EMPA	L2	Fe (51.8%), Ca (3.8%), P (13.3%)	Towe & Lowenstam (1967)
	<i>Cryptochiton stelleri</i>	Ειρηνικός ωκεανός	Raman, EDS	L2	Fe (69%)	Weaver <i>et al.</i> (2010)
Chitonidae	<i>Acanthopleura hirtosa</i>	Ινδικός ωκεανός	ICP-AES	Ολόκληρη	Fe (59.2%), Ca (18.9%), Mg (3.4%), P (12.9%), K (0.2%), Si (0.2%)	Shaw <i>et al.</i> (2008)
	<i>Acanthopleura echinata</i>	Ειρηνικός ωκεανός	Raman, EDS	L2	Fe (<3%), Ca (32%), P (16%)	Lee <i>et al.</i> (2000)
	<i>Acanthopleura echinata</i>	Ειρηνικός ωκεανός	EDS	L2	Fe (66%), Ca (<1%), P (<1%)	Brooker <i>et al.</i> (2003)
	<i>Acanthopleura echinata</i>	Ειρηνικός ωκεανός	Raman, EDS	L2	Fe (1.3%), Ca (27.3%), Mg (0.4%), P (14.2%)	Brooker <i>et al.</i> (2006)

<i>Acanthopleura miles</i>	Ινδικός ωκεανός	Raman, EDS	L2	Fe (7.1%), Ca (28.4%), Mg (0.6%), P (13.6%)	Brooker et al. (2006)
<i>Acanthopleura spinosa</i>	Ειρηνικός ωκεανός	EDS	L2	Fe (~62%), Ca (<1%), Mg (<1%), P (<1%)	Brooker & Macey (2001)
<i>Chiton mamoratus</i>	Βόρειος Ατλαντικός ωκεανός	Raman, EDS	L2	Fe (0.8%), Ca (33.2%), Mg (0.5%), P (16.7%)	Brooker et al. (2006)
<i>Clavarizona hirtosa</i>	Ινδικός ωκεανός	PIXE & PIGME	L2	Fe, Ca, K, P	Kim et al. (1986)
<i>Onithochiton quercinus</i>	Ινδικός ωκεανός	EDS	L2	Fe (66%), Ca (<1%), Mg (<1%), P (<1%)	Brooker & Macey (2001)
<i>Onithochiton quercinus</i>	Ινδικός ωκεανός	Raman, EDS	L2	Fe (0.2%), Ca (31.3%), Mg (0.4%), P (15.3%)	Παρούσα έρευνα
<i>Rhyssoplax olivacea</i>	Μεσόγειος θάλασσα	EDS	C	Fe (54%), Ca (15%), Mg (3%), P (4%), K (4%), Si (<1%)	Παρούσα έρευνα
<i>Rhyssoplax olivacea</i>	Μεσόγειος θάλασσα	EDS	L1	Fe (47%), Ca (15%), Mg (4%), P (6%), K (4%), Si (<1%)	Παρούσα έρευνα
<i>Rhyssoplax olivacea</i>	Μεσόγειος θάλασσα	EDS	L2	Fe (83%), Ca (7%), Mg (2%), P (4%), K (<1%), Si (<1%)	Παρούσα έρευνα
<i>Rhyssoplax olivacea</i>	Μεσόγειος θάλασσα	EDS	M	Fe (36%), Ca (17%), Mg (5%), P (7%), K (5%), Si (<1%)	Παρούσα έρευνα
<i>Sypharochiton pelliserpentis</i>	Ειρηνικός ωκεανός	Raman, EDS	L2	Fe (4.2%), Ca (30.5%), Mg (0.6%), P (16.3%)	Brooker et al. (2006)

Cryptoplacidae	<i>Cryptoplax striata</i>	Ινδικός ωκεανός	EDS	L2	Fe (~92%), Mg (5.5%), K (1%), Si (1%)	Macey & Brooker (1996)
Ischnochitonidae	<i>Ischnochiton australis</i>	Ινδικός ωκεανός	EDS	L2	Fe (~62%), Ca (<1%), Mg (<1%), P(<1%)	Brooker & Macey (2001)
	<i>Ischnochiton australis</i>	Ινδικός ωκεανός	Raman, EDS	L2	Fe (2.7%), Ca (16.2%), Mg (6.0%), P (13.6%)	Brooker et al. (2006)
Mopaliidae	<i>Plaxiphora albida</i>	Ινδικός ωκεανός	ICP-AES	Ολόκληρη	Fe (86.6%), Ca (2.1%), Mg (0.9%), P (4.6%), K (0.2%), Si (0.4%)	Shaw et al. (2008)
	<i>Plaxiphora albida</i>	Ινδικός ωκεανός	EDS	L2	Fe (~66%), Ca (<1%), Mg (<1%), P(<1%)	Brooker & Macey (2001)
	<i>Plaxiphora albida</i>	Ινδικός ωκεανός	Raman, EDS	L2	Fe (26.7%), Ca (6.5%), Mg (2.4%), P (11.2%)	Brooker et al. (2006)
Tonicellidae	<i>Lepidochitona cinerea</i>	Βόρεια θάλασσα	EDX	C	Fe (2%), Ca (4%), K (<1%)	Krings et al. (2022α)
	<i>Lepidochitona cinerea</i>	Βόρεια θάλασσα	EDX	L1	Ca (4%), Si (<1%)	Krings et al. (2022α)
	<i>Lepidochitona cinerea</i>	Βόρεια θάλασσα	EDX	L2	Fe (32%), Ca (8%), Mg (3%), P (7%), K (1%)	Krings et al. (2022α)
	<i>Lepidochitona cinerea</i>	Βόρεια θάλασσα	EDX	M	Fe (1%), Ca (5%), K (<1%), Si (<1%)	Krings et al. (2022α)

Όσον αφορά τους υπόλοιπους τύπους δοντιών (κεντρικό, έσω πλευρικό, περιφερειακό) η ανίχνευση υψηλών συγκεντρώσεων ανόργανων στοιχείων αντιτίθεται με τα αποτελέσματα προηγούμενων ερευνών, οι οποίες αναφέρουν ότι η συγκεκριμένοι τύποι δοντιών περιέχουν καθαρές οργανικές ενώσεις (Krings et al. 2022α).

Το *R. olivacea* κατέγραψε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις Fe (83%) σε σχέση με τα υπόλοιπα μελετημένα είδη πολυπλακοφόρων της οικογένειας Chitonidae ενώ συνολικά διαθέτει τη δεύτερη μεγαλύτερη ποσόστωση Fe σε όλα τα ήδη ερευνημένα είδη όπου το *Cryptoplax striata* της οικογένειας Cryptoplacidae παρουσίασε την υψηλότερη συγκέντρωση σιδήρου όσον αφορά το έξω πλευρικό δόντι (~92%). Μεταξύ των δύο ειδών που αναφέραμε υπάρχουν και άλλες διαφορές, καθώς στο *C. striata* σημειώθηκε μηδενική συγκέντρωση Ca ενώ καταγράφηκε υψηλότερη συγκέντρωση Mg από το *R. olivacea* (Πίν. 4). Ο συνδυασμός αυτών των αναλογιών (υψηλή συγκέντρωση Fe και Mg) έχει αναφερθεί σε άλλες έρευνες ότι προσδίδει ανώτερες μηχανικές ιδιότητες (π.χ. μέτρο ελαστικότητας και σκληρότητα) το οποίο πιθανότατα να συνδέεται με τροφικές προτιμήσεις (Krings *et al.* 2022γ). Αυτή η υπόθεση μπορεί να σημαίνει ότι το *C. striata* διαφέρει με το *R. olivacea* σχετικά με τη τροφικές προτιμήσεις των δύο ειδών, το οποίο μπορεί να υποστηριχθεί όχι μόνο από τις διαφορές στη χημική σύσταση αλλά και από το μήκος του ξύστρου του κάθε είδος (0.24 και 0.42, αντίστοιχα) (Sigwart *et al.* 2017).

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, η αλλομετρία και το μήκος του ξύστρου του *R. olivacea* φαίνεται ότι μπορεί να σχετίζεται με την οικολογία του είδους, όπως οι τροφικές προτιμήσεις και τη χρήση της ενέργειας του. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά των πλακών, παρατηρήθηκαν μικρές διαφορές μεταξύ των πλακών, όπου η πλάκα IV να διαφέρει με τις άλλες πλάκες ως προς το μέγεθος και τις αλλομετρικές τάσεις. Στη μελέτη της χημικής σύστασης οι πλάκες δεν έχουν κάποια διαφορά όποτε φτιάχνονται από τις ίδιες αναλογίες στοιχείων, ενώ στο ξύστρο τα δόντια παρουσίασαν ότι

διαθέτουν διαφορετικό χημικό προφίλ. Αυτό ενδεχομένως μπορεί να σχετίζεται με τη διαφορετική λειτουργία του κάθε τύπου δοντιού στη διαδικασία της βόσκησης, όπου η υψηλή περιεκτικότητα Fe στο έξω πλευρικό δόντι μπορεί να σχετίζεται άμεσα με τη τροφική προτίμηση του ζώου.

Καθώς αυτό το είδος είναι αρκετά διευρυμένο, η εκτεταμένη χωρική κατανομή του μπορεί να επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παραμέτρους όπως είναι οι γεωγραφικές και βαθυμετρικές ενδο-ειδικές διαφορές. Δεδομένου ότι αυτή η έρευνα αποτελεί την πρώτη που επικεντρώνεται στην αλλομετρία και τη χημική σύσταση του *R. olivacea* δεν ήταν δυνατή η διενέργεια ενδοειδικών συγκρίσεων, συνεπώς μελλοντικές έρευνες θα πρέπει να συγκεντρωθούν σε άλλες περιοχές για να διευκρινιστεί ο τρόπος με το οποίο οι αβιοτικοί παράγοντες μπορεί να επηρεάζουν αυτές τις εξεταζόμενες παραμέτρους.

6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aiken, D. E., Tunnicliffe, V., Shih, C. T., & Delorme, L. D. (2013). Crustacean. The Canadian Encyclopedia.
- Avila-Poveda, O. H., & Abadia-Chanona, Q. Y. (2013). Emergence, development, and maturity of the gonad of two species of chitons "sea cockroach" (Mollusca: Polyplacophora) through the early life stages. PLoS ONE, 8, e69785. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069785>
- Baxter, J. M. (1982). Allometric and morphological variations of whole animal and valve dimensions in the chiton *Lepidochitona cinereus* (L.) (Mollusca: Polyplacophora). Journal of Molluscan Studies, 48, 275–282.
- Baxter, J. M., & Jones, A. M. (1986). Allometric and morphological characteristics of *Tonicella marmorea* (Fabricius, 1780) populations (Mollusca: Polyplacophora: Ischnochitonidae). Zoological Journal of the Linnean Society, 88, 167–177.
- Brooker, L. R., & Macey, D. J. (2001). Biomineralization in chiton teeth and its usefulness as a taxonomic character in the genus *Acanthopleura* Guilding, 1829 (Mollusca: Polyplacophora). American Malacological Bulletin, 16, 203–215.
- Brooker, L. R., Lee, A. P., Macey, D. J., & Webb, J. (2003). Multiple-front iron-mineralisation in chiton teeth (*Acanthopleura echinata*: Mollusca: Polyplacophora). Marine Biology, 142, 447–454. <https://doi.org/10.1007/s00227-003-1004-0>
- Brooker, L. R., Lee, A. P., Macey, D. J., Webb, J., & van Bronswijk, W. (2006). In situ studies of biomineral deposition in the radula teeth of chitons of the suborder Chitonina. Venus, 65, 71–80.
- Brusca, R. C., & Brusca, G. J. (2003). Invertebrates (2nd ed.). Sinauer Associates. Sunderland, MA, p. 702
- Chapman, A. D. (2009). Numbers of living species in Australia and the world (2nd ed.). Australian Biological Resources Study. Canberra, Australia, pp. 31, 34.
- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Lasram, F. B. R., Aguzzi, J., Ballesteros, E., Bianchi, C. N., Corbera, J., Dailianis, T., et al. (2010). The

- biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, patterns, and threats. PLoS ONE, 5, e11842. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011842>
- Connors, M. J., Ehrlich, H., Hog, M., Godeffroy, C., Araya, S., Kallai, I., Gazit, D., Boyce, M., & Ortiz, C. (2012). Three-dimensional structure of the shell plate assembly of the chiton *Tonicella marmorea* and its biomechanical consequences. *Journal of Structural Biology*, 177, 314–328. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2011.12.002>
- Cooke, A. H. (1917). A colony of *Nucella* (olim *Purpura*) *lapillus* (Linn.) with operculum malformed or absent. *Proceedings of the Malacological Society of London*, 12, 231–232.
- Dell'Angelo, B., & Smriglio, C. (2001). *Living chitons of the Mediterranean*. Evolver. VA, USA, 2001
- Dethier, M. N., & Duggins, D. O. (1984). An "indirect commensalism" between marine herbivores and the importance of competitive hierarchies. *American Naturalist*, 124, 205–219. <https://doi.org/10.1086/284260>
- Dryden, I. L., & Mardia, K. V. (1998). *Statistical shape analysis*. Wiley, New York, p 347
- Elahi, R., & Sebens, K. P. (2013). Experimental removal and recovery of subtidal grazers highlights the importance of functional redundancy and temporal context. PLoS ONE, 8, e78969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078969>
- Fedosov, A. E., & Puillandre, N. (2012). Phylogeny and taxonomy of the *Kermia*–*Pseudodaphnella* (Mollusca: Gastropoda: Raphitomidae) genus complex: A remarkable radiation via diversification of larval development. *Systematics and Biodiversity*, 10(4), 447–477. <https://doi.org/10.1080/14772000.2012.753137>
- Gayon, J. (2000). History of the concept of allometry. *American Zoologist*, 40, 748–758. <https://doi.org/10.1093/icb/40.5.748>
- Haas, W. (1981). Evolution of calcareous hardparts in primitive molluscs. *Malacologia*, 21, 403–418.
- Haszprunar, G. (2001). Mollusca (Molluscs). In eLS. John Wiley & Sons Ltd. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0001598>

- Haszprunar, G., & Wanninger, A. (2012). Molluscs. *Current Biology*, 22, 510–514. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.05.039>
- Huxley, J. S. (1932). Problems of relative growth. Methuen. Methuen, Co. LTD., London, p 276
- Ibáñez, C. M., Sepúlveda, R. D., & Sigwart, J. D. (2018). Comparative allometric variation in intertidal chitons (Polyplacophora: Chitonidae). *Zoomorphology*, 137, 249–256. <https://doi.org/10.1007/s00435-018-0398-7>
- Kaas, P., Belle, R. A. V., & Strack, H. L. (2006). Monograph of living chitons (Mollusca: Polyplacophora), Volume 6: Family Schizochitonidae. Brill.
- Kim, K.-S., Webb, J., Macey, D. J., & Cohen, D. D. (1986). Compositional changes during biomineralization of the radula of the chiton *Clavarizona hirtosa*. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 28, 337–345. [https://doi.org/10.1016/0162-0134\(86\)80103-0](https://doi.org/10.1016/0162-0134(86)80103-0)
- Klingenberg, C. P. (1996). Multivariate allometry. In L. F. Marcus, M. Corti, A. Loy, G. J. P. Naylor, & D. E. Slice (Eds.), *Advances in morphometrics*. Plenum Press, New York pp 23-49
- Klingenberg, C. P. (1998). Heterochrony and allometry: The analysis of evolutionary change in ontogeny. *Biological Reviews*, 73, 79–123. <https://doi.org/10.1017/S000632319800512X>
- Koukouras, A., & Karachle, P. (2004). The polyplacophoran (Eumollusca, Mollusca) fauna of the Aegean Sea with the description of a new species, and comparison with those of the neighbouring seas. *Journal of Biological Research*, 3, 23–38.
- Krings, W., Kovalev, A., Glaubrecht, M., & Gorb, S. N. (2019). Differences in the Young modulus and hardness reflect different functions of teeth within the taenioglossan radula of gastropods. *Zoology*, 137, 125713. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2019.125713>
- Krings, W., Brütt, J.-O., & Gorb, S. N. (2022α). Ontogeny of the elemental composition and the biomechanics of radular teeth in the chiton *Lepidochitona cinerea*. *Frontiers in Zoology*, 19, 19. <https://doi.org/10.1186/s12983-022-00465-w>

- Krings, W., Brütt, J.-O., & Gorb, S. N. (2022 β). Elemental analyses reveal distinct mineralization patterns in radular teeth of various molluscan taxa. *Scientific Reports*, 12, 7499. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11014-0>
- Krings, W., Matsumura, Y., Brütt, J.-O., & Gorb, S. N. (2022 γ). Material gradients in gastropod radulae and their biomechanical significance: A combined approach on the paludomid *Lavigeria grandis*. *Die Naturwissenschaften*, 109, 52. <https://doi.org/10.1007/s00114-022-01818-5>
- Lee, A. P., Brooker, L. R., Macey, D. J., & Webb, J. (2000). Apatite mineralization in teeth of the chiton *Acanthopleura echinata*. *Calcified Tissue International*, 67, 408–415. <https://doi.org/10.1007/s002230001153>
- Lee, A. P., Brooker, L. R., Macey, D. J., van Bronswijk, W., & Webb, J. (2003). A new biomineral identified in the cores of teeth from the chiton *Plaxiphora albida*. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 8, 256–262. <https://doi.org/10.1007/s00775-002-0412-9>
- Lowenstam, H. A. (1967). Lepidocrocite, an apatite mineral, and magnetite in teeth of chitons (Polyplacophora). *Science*, 156, 1373–1375. <https://doi.org/10.1126/science.156.3780.1373>
- Macey, D. J., & Brooker, L. R. (1996). The junction zone: Initial site of mineralization in radula teeth of the chiton *Cryptoplax striata* (Mollusca: Polyplacophora). *Journal of Morphology*, 230, 33–42. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4687\(199610\)230:1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4687(199610)230:1)
- Parkhaev, P. Yu. (2007). The Cambrian 'basement' of gastropod evolution. *Geological Society, London, Special Publications*, 286(1), 415–421. <https://doi.org/10.1144/SP286.31>
- Pelseneer, P. (1906). *A treatise on zoology, Part V. Mollusca*. Adam & Charles Black Publisher, London.
- Petihakis, G., Triantafyllou, G., Pollani, A., Koliou, A., & Theodorou, A. (2005). Field data analysis and application of a complex water column biogeochemical model in different areas of a semi-enclosed basin: Towards the development of an

- ecosystem management tool. *Marine Environmental Research*, 59, 493–518.
<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2004.07.002>
- Pitacco, V., Orlando-Bonaca, M., Mavrič, B., & Lipej, L. (2014). Macrofauna associated with a bank of *Cladocora caespitosa* (Anthozoa, Scleractinia) in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic). *Annales, Series Historia Naturalis*, 24, 1–14.
- Ponder, W. F., Lindberg, D. R., & Ponder, J. M. (2020). *Biology and evolution of the Mollusca, Volume 1*. CRC Press.
- Poulos, S., Lesioti, S., Karditsa, A., & Angelopoulos, C. (2024). Factors controlling the formation and evolution of a beach zone in front of a coastal cliff: The case of the east coast of Evia Island in the Aegean Sea, Eastern Mediterranean. *Water*, 16, 1622. <https://doi.org/10.3390/w16121622>
- Rosenberg, G. (2014). A new critical estimate of named species-level diversity of the recent mollusca. *American Malacological Bulletin*, 32(2), 308–322.
<https://doi.org/10.4003/006.032.0204>
- Ruppert, E. E., Fox, R. S., & Barnes, R. D. (2004). *Invertebrate zoology* (7th ed.). Brooks Cole Thomson. Thomson, California.
- Saad, A. E. A. (1997). Morphometric studies on the rock chiton *Acanthopleura spiniger* (Mollusca: Polyplacophora) from the northwestern region of the Red Sea. *Indian Journal of Marine Sciences*, 26, 49–52.
- Salloum, P. M., Lavery, S. D., de Villemereuil, P., & Santure, A. W. (2023). Local adaptation in shell shape traits of a brooding chiton with strong population genomic differentiation. *Evolution*, 77, 210–220.
<https://doi.org/10.1093/evolut/qpac001>
- Samuel, B. (1945). *Bioenergetic and growth*. Reinhold: New York, USA.
- Scheltema, A. H. (1993). Aplacophora as progenetic aculiferans and the coelomate origin of mollusks as the sister taxon of Sipuncula. *Biological Bulletin*, 184, 57–78. <https://doi.org/10.2307/1542380>
- Shaw, J. A., Macey, D. J., & Brooker, L. R. (2008). Radula synthesis by three species of iron mineralizing molluscs: Production rate and elemental demand. *Journal of*

- the Marine Biological Association of the United Kingdom, 88, 597–601.
<https://doi.org/10.1017/S002531540800095X>
- Sigwart, J. D. (2009). Morphological cladistic analysis as a model for character evaluation in primitive living chitons (Polyplacophora, Lepidopleurina). *American Malacological Bulletin*, 27, 95–104.
<https://doi.org/10.4003/006.027.0208>
- Sigwart, J. D., Green, P. A., & Crofts, S. B. (2015). Functional morphology in chitons (Mollusca, Polyplacophora): Influences of environment and ocean acidification. *Marine Biology*, 162, 2257–2264. <https://doi.org/10.1007/s00227-015-2738-1>
- Sigwart, J. D., & Schwabe, E. (2017). Anatomy of the many feeding types in polyplacophoran molluscs. *Invertebrate Zoology*, 14, 205–216.
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (2013). *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research* (3rd ed.). W.H. Freeman and Co: New York, NY, USA
- Solem, A. (1972). Malacological applications of scanning electron microscopy II. Radular structure and functioning. *Veliger*, 14, 327–336.
- Strack, H. L. (1988). The distribution of chitons (Polyplacophora) in Greece. *Apex*, 3, 67–80.
- Taylor, P. D., & Lewis, D. N. (2005). *Fossil invertebrates*. Harvard University Press.
- Thiele, J. (1929). *Manual of the Mollusca system* (in German). Gustav Fischer.
- Towe, K. M., & Lowenstam, H. A. (1967). Ultrastructure and development of iron mineralization in the radular teeth of *Cryptochiton stelleri* (Mollusca). *Journal of Ultrastructure Research*, 17, 1–13. [https://doi.org/10.1016/S0022-5320\(67\)80015-7](https://doi.org/10.1016/S0022-5320(67)80015-7)
- Varkoulis, A., Voulgaris, K., Zachos, D. S., & Vafidis, D. (2023). Population dynamics of three Polyplacophora species from the Aegean Sea (Eastern Mediterranean). *Diversity*, 15, 867. <https://doi.org/10.3390/d15070867>
- Vinther, J., Sperling, E. A., Briggs, D. E., & Peterson, K. J. (2012). A molecular palaeobiological hypothesis for the origin of aplacophoran molluscs and their

- derivation from chiton-like ancestors. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279, 1259–1268. <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.1773>
- Wang, T., Huang, W., Pham, C. H., Murata, S., Herrera, S., Kirchhofer, N. D., Arkook, B., Stekovic, D., Itkis, M. E., Goldman, N., et al. (2022). Mesocrystalline ordering and phase transformation of iron oxide biominerals in the ultrahard teeth of *Cryptochiton stelleri*. *Small Structures*, 3, 2100202. <https://doi.org/10.1002/sstr.202100202>
- Warton, D. I., Duursma, R. A., Falster, D. S., & Taskinen, S. (2012). Smatr 3—an R package for estimation and inference about allometric lines. *Methods in Ecology and Evolution*, 3, 257-259.
- Weaver, J. C., Wang, Q., Miserez, A., Tantuccio, A., Stromberg, R., Bozhilov, K. N., Maxwell, P., Nay, R., Heier, S. T., DiMasi, E., et al. (2010). Analysis of an ultra hard magnetic biomineral in chiton radular teeth. *Materials Today*, 13, 42–52. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(10\)70009-9](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(10)70009-9)
- Yee, A. K., & Padilla, D. K. (2015). Allometric scaling of the radula in the Atlantic slipper snail *Crepidula fornicata*. *Journal of Shellfish Research*, 34, 903–907. <https://doi.org/10.2983/035.034.0325>
- Zervakis, V., & Georgopoulos, D. (2002). Hydrology and circulation in the North Aegean (Eastern Mediterranean) throughout 1997 and 1998. *Mediterranean Marine Science*, 3, 5–19. <https://doi.org/10.12681/mms.249>
- Zodiatis, G. (1994). Advection of the Black Sea water in the North Aegean Sea. *Global Atmosphere and Ocean Systems*, 2, 41–60.

7. ABSTRACT

Elemental Composition and Morphometry of the skeletal structures of a common polyplacophoran species (*Rhyssoplax olivacea*)

Rhyssoplax olivacea is one of the most common Mediterranean polyplacophoran species, however the chemical composition and morphometry of the species remains largely unexplored. The present research explores the allometric trends of the morphometry of radula and valves as well as their chemical composition, utilizing samples from 5 different regions of the Eastern Mediterranean Sea. Three types of valves and four tooth types were identified of which the total length of each individual was measured, as well as four morphometric measurements (length of radula and length, width, and thickness of each valve). After dissection EDS analysis was performed on skeletal component. Differences in valve width and thickness were found among all valves, in particular, the valve IV exhibited a significant shorter length compared to the other two valves. The intermediate valve exhibited different trends for valve length to valve width and valve length to valve thickness compared to the terminal

valves. However, all valve morphometrics to total body length appeared to have shared trends, whereas the radula to body length exhibited positive allometry. Regarding the elemental composition, all valves appeared to have similar elemental compositions, however, the chemical composition of the radula differed by the tooth type. Fe was the predominant element in all tooth types with the highest quota recorded in lateral II tooth (83%). The present study provides valuable information on the skeletal structures of *R. olivacea*, enabling future research to concentrate on the skeletal functionality from an evolutionary and ecological perspective.

Keywords: polyplacophora, *Rhyssoplax olivacea*, valves, radula, allometry, elemental composition, energy-dispersive spectroscopy