

Περιβαλλοντικές και γενετικές επιδράσεις στην εξωτερική μορφολογία της τσιπούρας (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758)

Φραγκούλης Σ.¹, Χρίστου Μ.¹, Λουκοβίτης Δ.², Κυπραίου Ε.², Τζόκας Κ.³, Πετρόπουλος Ι.³, Μούκας Γ.³, Μπαταργιάς Κ.² και Κουμουνδούρος Γ.¹

¹ Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, stefanos_fragkoulis@hotmail.com, mchristou_1987@hotmail.com, gkoumound@biology.uoc.gr

² Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας - Υδατοκαλλιεργειών, ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας, dloukovi@hotmail.com, evakypr@yahoo.gr, batc@teimes.gr

³ ΑΝΔΡΟΜΕΔΑ Α.Ε. ktzokas@andromedagroup.gr, ipetrooulos@andromedagroup.gr, gmoukas@andromedagroup.gr

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία διερευνάται η επίδραση του περιβάλλοντος εκτροφής (πάχυνση σε κλωβούς ή δεξαμενές) στο σχήμα σώματος της τσιπούρας, με σημείο αναφοράς άτομα που συλλέχθηκαν από το φυσικό περιβάλλον. Ακολούθησε εκτίμηση της κληρονομησιμότητας (h^2) των χαρακτήρων με σημαντική συμμετοχή στις διαφορές σχήματος μεταξύ των ομάδων. Το περιβάλλον εκτροφής επηρέασε σημαντικά το σχήμα σώματος ($p < 0.001$), με την εκτροφή σε δεξαμενές να προκαλεί σχετική διόγκωση της κοιλιακής χώρας, σμίκρυνση της κεφαλής και επιμήκυνση του ουραίου μίσχου. Συγκρινόμενα με τα «άγρια» άτομα, τα εκτρεφόμενα παρουσίασαν πρόσθια μετατόπιση του στόματος και διόγκωση της κοιλιακής χώρας. Οι εκτιμήσεις h^2 κυμάνθηκαν μεταξύ 0.055 ± 0.076 και 0.604 ± 0.129 .

Λέξεις κλειδιά: σχήμα σώματος, πλαστικότητα, κληρονομησιμότητα, γεωμετρική μορφομετρία

Environmental and genetic influences on the external morphology of Gilthead seabream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758)

Fragkoulis S.¹, Christou M.¹, Loukovitis D.², Kypraioy E.², Tzokas C.³, Petropoulos I.³, Moukas G.³, Batargias C.² and Koumoundouros G.¹

¹ Biology Department, University of Crete, stefanos_fragkoulis@hotmail.com, mchristou_1987@hotmail.com, gkoumound@biology.uoc.gr

² Department of Aquaculture and Fisheries Management, TEI of Western Greece, dloukovi@hotmail.com, evakypr@yahoo.gr, batc@teimes.gr

³ ANDROMEDA SA, ktzokas@andromedagroup.gr, ipetrooulos@andromedagroup.gr, gmoukas@andromedagroup.gr

Abstract

We examined the effect of rearing environment (on-growing in cages or in tanks) on the body shape of seabream, with reference to wild-captured individuals. Heritability (h^2) values were estimated for the case of morphometric characters with significant contribution to the between-group shape variation. Rearing environment significantly affected the body shape ($p < 0.001$) with rearing in tanks resulting to an increase of the abdominal area, head shortening and elongation of the caudal-peduncle. Compared to the wild-captured fish, reared individuals were characterized by an anterior transposition of the snout and an increase of the abdominal area. Heritability estimations ranged between 0.055 ± 0.076 and 0.604 ± 0.129 .

Keywords: body shape, plasticity, heritability, geometric morphometry

1. Εισαγωγή

Η εξωτερική μορφολογία των ιχθύων θεωρείται σημαντικό χαρακτηριστικό ποιότητας για τον καταναλωτή και σημαντικός χαρακτήρας στόχος στα προγράμματα γενετικής βελτίωσης. Σε συνθήκες εκτροφής, η διακύμανση της εξωτερικής μορφολογίας σχετίζεται με την ανάπτυξη μορφο-ανατομικών ανωμαλιών (Boglione et al., 2013) και με τη φυσιολογική φαινοτυπική διακύμανση (Loizides et al., 2014). Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η διακύμανση του σχήματος σώματος ενήλικων ατόμων τσιπούρας σε διαφορετικές συνθήκες εκτροφής, με σημείο αναφοράς τον άγριο φαινότυπο. Τα αποτελέσματα της φαινοτυπικής διακύμανσης συνδυάστηκαν με δεδομένα αναλύσεων πατρότητας και οικογενειακής δομής, ώστε να εκτιμηθούν οι δείκτες κληρονομησιμότητας επιμέρους μορφομετρικών χαρακτήρων.

2. Υλικά και Μέθοδοι

Τα εκτρεφόμενα άτομα προήλθαν από μαζική ωτοκία τριών ομάδων γεννητόρων (76 αρσενικοί και 182 θηλυκοί γεννήτορες, συνολικά). Η επώαση των αυγών και η εκτροφή των νυμφών έγινε σύμφωνα με την καθιερωμένη μεθοδολογία για το είδος. Στο μέσο βάρος των 10 g τα ιχθύδια σημάνθηκαν ηλεκτρονικά. Μετά τα 18 g μέσο βάρος, ο πληθυσμός των ιχθυδίων μοιράστηκε τυχαία σε δύο υποπληθυσμούς, οι οποίοι εκτράφηκαν σε διαφορετικά περιβάλλοντα (χερσαίες δεξαμενές ή θαλάσσιος κλωβός, Πίνακας 1) μέχρι το εμπορεύσιμο μέγεθος (320-400 g).

Πίνακας 1. Συνθήκες εκτροφής στα δύο διαφορετικά περιβάλλοντα

Συνθήκες	Χερσαίες δεξαμενές	Θαλάσσιος κλωβός
Αριθμός δομών εκτροφής (δεξαμενή ή κλωβός)	2	1
Όγκος δομών (m ³)	35	216
Θερμοκρασία (°C)	18,3-20,3	12,0-27,8
Συγκέντρωση οξυγόνου (ppm)	7,0-9,0	4,5-8,0
Αρχική - τελική ιχθυοφόρτιση (Kg/m ³)	2,3 - 12	2,3 - 5,3

Συνολικά εξετάσθηκαν 2299 άτομα από την εκτροφή σε κλωβό και 1315 άτομα από την εκτροφή σε δεξαμενές (21,7±1,8 cm SL, τυπικό μήκος). Τα άτομα των φυσικών πληθυσμών προήλθαν από τη λιμνοθάλασσα του Μεσολογίου και το Σαρωνικό κόλπο (50 και 2 άτομα αντίστοιχα) (21,4±0,9 και 29,3±1,3 cm SL αντίστοιχα). Η ανάλυση του σχήματος σώματος έγινε σε ψηφιακές φωτογραφίες των αναισθητοποιημένων εκτρεφόμενων και «άγριων» ατόμων, με τη μέθοδο της γεωμετρικής μορφομετρίας, τοποθετώντας δεκατρία ορόσημα (landmarks) σε διακριτές ανατομικές περιοχές (π.χ. Loizides et al., 2014). Για τη μελέτη του φυσιολογικού φαινοτύπου, εξαιρέθηκαν τα άτομα που έφεραν μορφο-ανατομικές ανωμαλίες ή είχαν κακή τοποθέτηση σώματος κατά τη φωτογράφιση. Όσον αφορά στα «άγρια» άτομα, δείγμα είκοσι λεπιών από κάθε άτομο πάρθηκε από την περιοχή ανάμεσα στην πλευρική γραμμή και το πρόσθιο τμήμα του ραχιαίου πτερυγίου. Προκειμένου να αποκλειστούν από την ανάλυση τα άτομα που διέφυγαν από εκτρεφόμενους πληθυσμούς, «άγρια» άτομα με υψηλή συχνότητα αναγεννημένων λεπιών (Arechavala-Lopez et al., 2012), σκελετικές δυσπλασίες (Boglione et al., 2013) ή αλλοιώσεις της πλευρικής γραμμής (Carrillo et al., 2001) εξαιρέθηκαν από την ανάλυση.

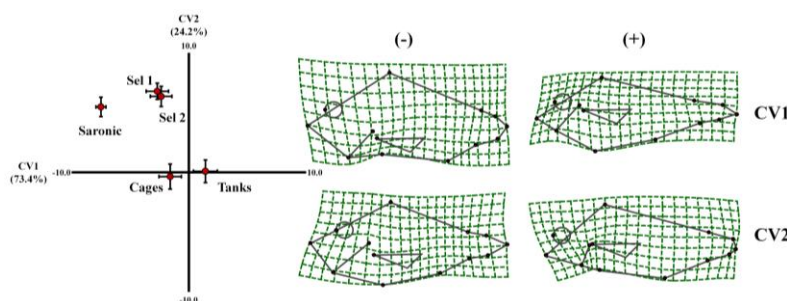
Η ανάλυση πατρότητας έγινε με την μέθοδο Μεντελικού αποκλεισμού (VITASSIGN_v8.2, Vanderputte et al., 2006), ενώ η εκτίμηση των συνιστωσών διακυμάνσεων και της κληρονομησιμότητας έγινε με τη μέθοδο της περιορισμένης μέγιστης πιθανοφάνειας (Meyer, 2007).

3. Αποτελέσματα

Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν 695 άτομα από τους κλωβούς και 574 άτομα από τις δεξαμενές. Από τα πενήντα άτομα της λιμνοθάλασσας του Μεσολογίου χρησιμοποιήθηκαν 21 άτομα που δεν είχαν σκελετικές παραμορφώσεις ή/και αλλοιώσεις της πλευρικής γραμμής, και είχαν σωστή τοποθέτηση σώματος κατά τη φωτογράφιση. Με βάση το ρυθμό αναγέννησης των λεπιών, τα 21 άγρια άτομα που επιλέχθηκαν διακρίθηκαν σε εκείνα που είχαν ρυθμό αναγέννησης μέχρι 20% (Sel1, n=5) και αυτά που είχαν ρυθμό αναγέννησης 20-60% (Sel2, n=16). Όλα τα άτομα του Σαρωνικού κόλπου είχαν μικρό ρυθμό αναγέννησης λεπιών (25%) και δεν έφεραν μορφο-ανατομικές ανωμαλίες.

Η ανάλυση κανονικών μεταβλητών έδειξε ότι το περιβάλλον εκτροφής επηρέασε σημαντικά το σχήμα του σώματος (Wilks- $\lambda=0,1498$, $p<0,000$) (Εικ. 1). Στην πρώτη κανονική μεταβλητή (CV1, 73,4% της διακύμανσης), διαχωρίστηκαν τα άτομα των δεξαμενών από τις υπόλοιπες ομάδες, ενώ στη CV2 διαχωρίστηκαν τα «άγρια» άτομα από τα εκτρεφόμενα (24,2% της διακύμανσης). Οι σημαντικότερες μορφολογικές διαφορές αφορούσαν στη θέση του ρύγχους, στο μέγεθος της κεφαλής, στη θέση των κοιλιακών πτερυγίων και στο ύψος του σώματος (Εικ. 1).

Η εκτίμηση της κληρονομησιμότητας έγινε για τα ορόσημα που συμμετείχαν περισσότερο στις μορφολογικές διαφορές μεταξύ φυσικών και εκτρεφόμενων πληθυσμών (Πίνακας 2). Μεγαλύτερη κληρονομησιμότητα παρουσίασε η θέση των κοιλιακών πτερυγίων, η θέση της βάσης των ουραίων λεπιδοτριχίων και η θέση της άνω γνάθου στον κάθετο άξονα (y_8 , y_4 και y_1 αντίστοιχα, Πίνακας 2). Οι τιμές h^2 για την προσοπίσθια μετατόπιση (άξονας x) των ίδιων σημείων κυμαίνονταν πιο χαμηλά (Πίνακας 2).



Εικ. 1. Αριστερά. Κατανομή των μέσων τιμών ($\text{mean} \pm \text{SD}$) των διαφορετικών ομάδων κατά μήκος των δύο πρώτων κανονικών μεταβλητών (CV1, CV2). Στις παρενθέσεις δίνονται τα ποσοστά της συνολικής φαινοτυπικής διακύμανσης που εξηγούνται από κάθε κανονική μεταβλητή. Δεξιά. Πλέγματα παραμόρφωσης ($\times 3$) που δείχνουν την αλλαγή στο σχήμα σώματος κατά μήκος των CV1 και CV2 αξόνων.

Πίνακας 2. Εκτίμηση της κληρονομησιμότητας του σχήματος σώματος των εκτρεφόμενων ατόμων σε κλωβούς για επιλεγμένα μορφομετρικά ορόσημα

Ορόσημο (Landmark)	Άξονας	$h^2 \pm \text{SE}$
Άνω πρόσθιο άκρο του ρύγχους (ορόσημο 1)	x	0.137 $\pm$ 0.093
	y	0.544 $\pm$ 0.128
Μέσο της βάσης των ουραίων λεπιδοτριχίων (ορόσημο 4)	x	0.222 $\pm$ 0.109
	y	0.553 $\pm$ 0.125
Πρόσθια βάση των κοιλιακών πτερυγίων (ορόσημο 8)	x	0.166 $\pm$ 0.092
	y	0.604 $\pm$ 0.129
Ραχιαίο τμήμα της κάθετης προέκτασης της προβολής του ορόσημου 8 (ορόσημο 13)	x	0.055 $\pm$ 0.076
	y	0.195 $\pm$ 0.095

4. Συμπεράσματα/Συζήτηση

Προηγούμενες εργασίες δείχνουν το σημαντικό ρόλο του περιβάλλοντος εκτροφής και διαβίωσης στο σχήμα του σώματος της τσιπούρας (Loizides et al., 2014). Στην παρούσα εργασία εξετάσθηκε η διακύμανση του φυσιολογικού φαινοτύπου του είδους μεταξύ δύο διακριτών περιβαλλόντων εκτροφής, με σημείο αναφοράς τον «άγριο» πρότυπο. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η εντατικοποίηση της εκτροφής (πάχυνση σε δεξαμενές) αυξάνει την απόσταση του σχήματος του σώματος από τον άγριο φαινότυπο.

Η μέθοδος της γεωμετρικής μορφομετρίας που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία, επέτρεψε την ανάλυση της διακύμανσης σχήματος κατά ανατομική περιοχή. Από τις διαφορές παραμόρφωσης κατά μήκος των μορφομετρικών πλεγμάτων φαίνεται πως η απόκριση των διαφορετικών σωματικών δομών στη δράση του περιβάλλοντος δεν είναι ενιαία. Γεγονός που ενισχύεται και από τις διαφορές στις εκτιμήσεις κληρονομησιμότητας μεταξύ των x-y συντεταγμένων των διαφορετικών ορόσημων. Όμοια αποτελέσματα έδειξαν και οι Costa et al. (2010) στο λαβράκι, υποδεικνύοντας μάλιστα την κεφαλή και την κοιλιακή χώρα ως ιδιαίτερα πλαστικές στις γενετικές και περιβαλλοντικές επιδράσεις.

Μελλοντικά, σημαντική θα ήταν η διερεύνηση των μηχανισμών φαινοτυπικής διαφοροποίησης μεταξύ των διαφορετικών περιβαλλόντων εκτροφής.

5. Ευχαριστίες

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: ΑΡΧΙΜΗΔΗΣ ΙΙΙ. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου. Ευχαριστούμε τον Δρ. Σ. Σωμαράκη για την προμήθεια των δειγμάτων από τον Σαρωνικό κόλπο.

6. Βιβλιογραφία

- Arechavala-Lopez, P., Sanchez-Jerez, P., Bayle-Sempere, J.T., Sfakianakis, D.G. and Somarakis, S. 2012. Discriminating farmed gilthead sea bream *Sparus aurata* and European sea bass *Dicentrarchus labrax* from wild stocks through scales and otoliths. *Journal of Fish Biology*, 80, 2159-2175.
- Batargias C., Dermitzakis, M., Magoulas, A. and Zouros, E. 1999. Characterization of six polymorphic microsatellite markers in gilthead seabream, *Sparus aurata* (Linnaeus 1758). *Molecular Ecology*, 8, 897-898.
- Boglione, C., Gisbert, E., Gavaia, P., Witten, P. E., Moren, M., Fontagne, S. and Koumoundouros, G. 2013. Skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 2: main typologies, occurrences and causative factors. *Reviews in Aquaculture*, 5, S121-S167.
- Carrillo, J., Koumoundouros, G., Divanach, P. and Martinez, J. 2001. Morphological malformations of the lateral line in reared gilthead sea bream (*Sparus aurata* L. 1758). *Aquaculture*, 192, 281-290.
- Costa, C., Vandeputte, M., Antonucci, F., Boglione, C., Menesatti, P., Cenadelli, S., Parati, K., Chavanne, H. and Chatain, B. 2010. Genetic and environmental influences on shape variation in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 101, 427-436.
- Loizides, M., Georgakopoulou, E., Christou, M., Iliopoulou, M., Papadakis, I., Katharios, P., Divanach, P. and Koumoundouros, G. 2014. Thermally-induced phenotypic plasticity in gilthead seabream *Sparus aurata* L. (Perciformes, Sparidae). *Aquaculture*, 432, 383-388.
- Meyer, K. 2007. WOMBAT – A tool for mixed model analyses in quantitative genetics by REML. *J. Zhejiang Uni. SCIENCE B* 8: 815–821. [doi:10.1631/jzus.2007.B0815].
- Van deputte, M., Mauger, S. and Dupont-Nivet, M. 2006. An evaluation of allowing for mismatches as a way to manage genotyping errors in parentage assignment by exclusion. *Molecular Ecology Notes*, 6, 265-267.