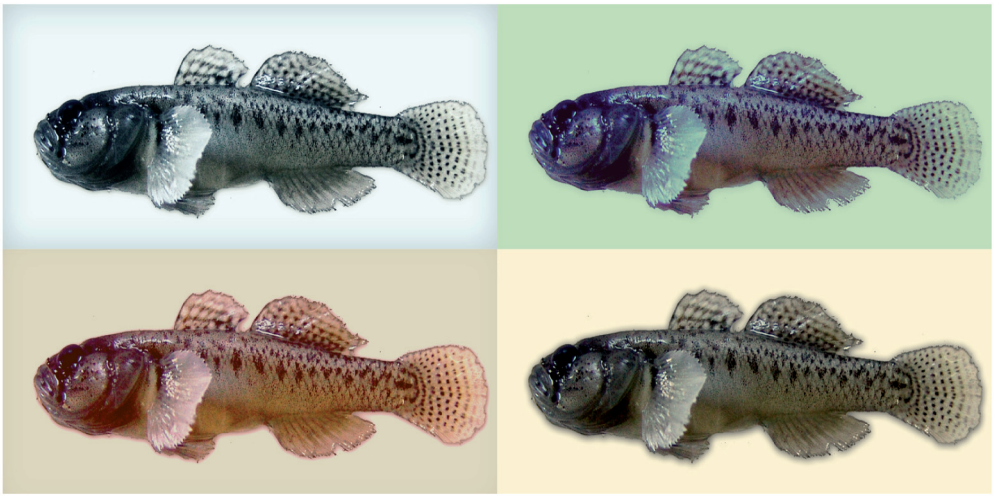
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑΣ ΕΙΔΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ GOBIIDAE ΣΤΑ ΕΣΩΤΕΡΙΚΑ ΥΔΑΤΑ ΤΗΣ ΔΥΤΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΟ ΕΙΔΟΣ *ECONOMIDICHTHYS PYGMAEUS* (HOLLY, 1929) ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΠΑΜΒΩΤΙΔΑΣ



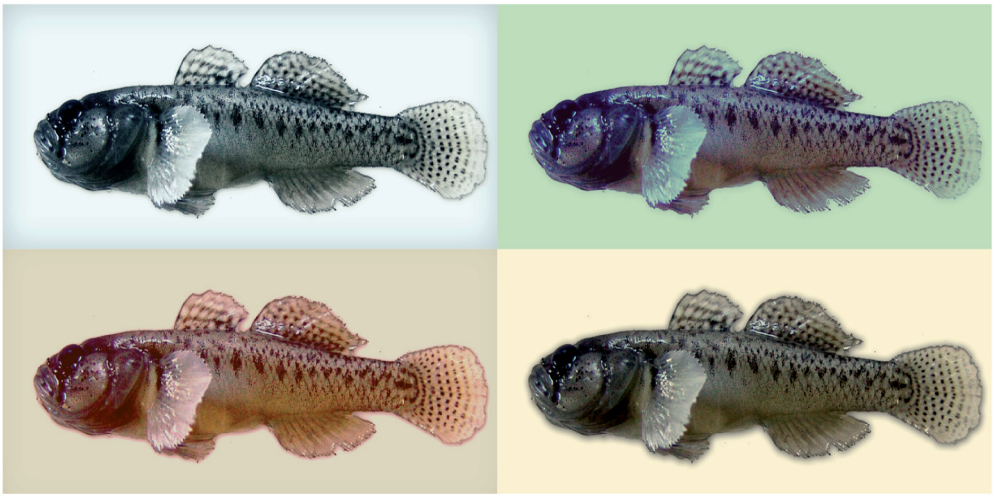
ΧΡΗΣΤΟΣ ΓΚΕΝΑΣ
ΙΧΘΥΟΛΟΓΟΣ ΤΕ, MSc

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2012

UNIVERSITY OF IOANNINA
SCHOOL OF SCIENCES AND TECHNOLOGIES
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL APPLICATIONS AND TECHNOLOGIES

ECOLOGY OF GOBIIDAE SPECIES IN INLAND WATERS OF WESTERN GREECE WITH EMPHASIS ON SPECIES *ECONOMIDICHTHYS PYGMAEUS* (HOLLY, 1929) IN LAKE PAMVOTIS



ΧΡΗΣΤΟΣ ΓΚΕΝΑΣ
ΙΧΘΥΟΛΟΓΟΣ ΤΕ, MSc

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2012

«Η έγκριση της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής από το Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέως» (Ν. 5343/1932, άρθρο 202, παραγρ. 2).

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ
Αριθμ. Πρωτ. 259
Ημερομηνία 20-12-12

ΠΡΑΚΤΙΚΟ
ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗΣ, ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Σήμερα Πέμπτη 15 Νοεμβρίου 2012, ώρα 15.00 στην αίθουσα του ΔΙ. Κ.Ε.Π.Π.Ε.Ε. «Σταύρος Νιάρχος», πραγματοποιείται σύμφωνα με τα άρθρα 12 & 13 του Ν.2083/92, η διαδικασία της δημόσιας παρουσίασης, εξέτασης και αξιολόγησης της διδακτορικής διατριβής του υποψήφιου διδάκτορα **κ. Χρήστου Γκένα**.

Την επταμελή εξεταστική επιτροπή, που συγκροτήθηκε με απόφαση της Γενικής Συνέλευσης Ειδικής Σύνθεσης του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, αποτελούν οι:

1. Απόστολος Σίνης ,Ομότιμος Καθηγητής του Τμήματος Βιολογίας του Αριστοτέλειου Πανεπιστήμιου Θεσσαλονίκης
2. Εμμανουήλ Κουτράκης Τακτικός του Ερευνητής του ΕΛΓΟ-ΙΝΑΛΕ
3. Αλέξανδρος Τριανταφυλλίδης, Επίκουρος Καθηγητής του Τμήματος Βιολογίας του Αριστοτέλειου Πανεπιστήμιου Θεσσαλονίκης
4. Ιωάννης Λεονάρδος, Καθηγητής του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
5. Ήρα Καραγιάννη, Λέκτορα του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
6. Αθανάσιος Τσίκληρας Λέκτορας του Τμήματος Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
7. Dot. Stefano Malavasi , Department of Environmental Sciences, Informatics and Statistics, Ca' Foscari University of Venice Italy

Η κ. Καραγιάννη απουσίαζε δικαιολογημένα λόγω γονικής άδειας. Ενώ ο Dot. Stefano Malavasi συμμετέχει μέσω τηλεδιάσκεψης.

Το θέμα της διατριβής που εκπόνησε και παρουσίασε σήμερα ο κ. Γκένας Χρήστος είναι:
"Μελέτη της οικολογίας ειδών της οικογένειας Gobiidae στα εσωτερικά ύδατα της Δυτικής Ελλάδας με έμφαση στο είδος *Economidichthys pygmaeus* (Holly, 1929) της Λίμνης Παμβώτιδας".

Ο Πρόεδρος της εξεταστικής επιτροπής, ο κ. **Ι. Λεονάρδος**, καλεί τον υποψήφιο να αναπτύξει το θέμα της διδακτορικής διατριβής.

Ακολουθεί ανάπτυξη και παρουσίαση του θέματος από τον υποψήφιο.

Στη συνέχεια, αφού ο υποψήφιος απαντά σε σχετικές ερωτήσεις, η εξεταστική επιτροπή αποσύρεται και εισέρχεται στη διαδικασία αξιολόγησης του υποψήφιου και της τελικής κρίσης της διδακτορικής διατριβής.

Μετά από συζήτηση, η εξεταστική επιτροπή, κατέληξε στα ακόλουθα:

1. <u>Διαπιστώνει ότι:</u>

α) Η παρουσίαση και ανάπτυξη του θέματος της διδακτορικής της διατριβής ήταν αρίστη.
β) Η επιστημονική κατάρτιση του υποψήφιου είναι πλήρης.
γ) Η συγγραφή της διατριβής έγινε με τρόπο που δείχνει μεθοδικότητα και ενημέρωση του υποψήφιου πάνω στη βιβλιογραφία τη σχετική με το θέμα της διατριβής.

2. Κρίνει ότι:

α) Η διατριβή είναι προϊόν μακρόχρονης κοπιώδους προσπάθειας και καταλήγει σε σημαντικά αποτελέσματα τα οποία προάγουν την επιστήμη.

β) Η επάρκεια του υποψήφιου στο γνωστικό αντικείμενο της διατριβής είναι πλήρης.

Με βάση τα ανωτέρω τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής εγκρίνουν ομόφωνα τη διδακτορική διατριβή του **κ. Χρήστου Γκένα** και εισηγούνται ανεπιφύλακτα και ομόφωνα την απονομή του τίτλου του διδάκτορα με βαθμό ..Αριστα.....

Ιωάννινα 15-11-2012

Τα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής

Ιωάννης Λεονάρδος
Καθηγητής
(Επιβλέπων)

1) Απόστολος Σίνης ,Ομότιμος Καθηγητής

2) Εμμανουήλ Κουτράκης Κύριος Ερευνητής

3) Ιωάννης Λεονάρδος. Καθηγητής

4) Αλέξανδρος Τριανταφυλλίδης, Επίκουρος Καθηγητής

5) Αθανάσιος Τσίκληρας Επίκουρος Καθηγητής

6) Καραγιάννη Ήρα , Λέκτορας

7) Dot. Stefano Malavasi

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ
& ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ
Ακριβές φωτοαντίγραφο από το πρωτότυπο
17-1-2013
ΑΝΝΑ ΥΦΑΝΤΗ

Στους γονείς μου,

Γιώργο και Στέλλα

Δημοσιευμένες εργασίες με στοιχεία από τη διδακτορική διατριβή
Published papers with data from the present PhD thesis

Gkenas, C., Malavasi, S., Georgalas, V., Leonardos, I.D. & Torricelli, P., 2010. The reproductive behavior of *Economidichthys pygmaeus*: secondary loss of sound production within the sand goby group? Environ. Biol. Fish., 87: 299–307.

Libertini, A., Rampin, M., **Gkenas C.** & Malavasi, S., 2011. A cytogenetical study on *Economidichthys pygmaeus* (Pisces: Gobiidae): an endemic threatened freshwater goby from Western Greece. *Comp. Cytogenet*., 5: 391-396.

Gkenas, C., Malavasi, S. & Leonardos, I., 2012. Diet and feeding habits of *Economidichthys pygmaeus* (Perciformes: Gobiidae) in Lake Pamvotis, NW Greece. *J. Appl. Ichthyol*., 28: 75-81.

Gkenas, C. & Leonardos, I., 2012. Life cycle of a small endemic goby *Economidichthys pygmaeus* (Family: Gobiidae) in Lake Pamvotis, northwestern Greece. *J. Appl. Ichthyol.*, 28: 565-571.

Malavasi, S., **Gkenas, C.,** Leonardos I, Torricelli P & McLennan D.A., 2012. The phylogeny of a reduced 'sand goby' group based on behavioural and life history characters. *Zool. J. Linn. Soc*. 165: 916-924.

Πρόλογος

Η παρούσα διδακτορική διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ζωολογίας του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Φτάνοντας στην ολοκλήρωσή της θα ήθελα να ευχαριστήσω ένα πλήθος ανθρώπων οι οποίοι βοήθησαν σημαντικά στην υλοποίησή της.

Αρχικά, θα ήθελα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στον επιβλέποντα της διδακτορικής μου διατριβής, Καθηγητή κ. Ιωάννη Λεονάρδο για τη συμβολή του στην επιλογή του θέματος, την άψογη συνεργασία μας όλα αυτά τα χρόνια, τη συνεχή παρακολούθηση του ερευνητικού μέρους, καθώς και για την αμέριστη συνεισφορά και καθοδήγηση κατά τη συγγραφή και παρουσίαση της διατριβής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα υπόλοιπα δύο μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής, τον Καθηγητή κ. Απόστολο Σίνη για το ενδιαφέρον που έδειξε κατά την πορεία εξέλιξης της διατριβής μου, καθώς και για τις εύστοχες υποδείξεις του πάνω στο κείμενο και τον Τακτικό Ερευνητή κ. Μάνο Κουτράκη για τη καθοδήγησή του, τη θετική του συμβολή στην αναβάθμιση του κειμένου, καθώς και για την παροχή φιλοξενίας στο Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας Καβάλας κατά τη περίοδο των δειγματοληψιών. Επίσης, θερμές ευχαριστίες απευθύνω και στα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Αλέξανδρο Τριανταφυλλίδη, τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Αθανάσιο Τσίκληρα, τη Λέκτορα κ. Ήρα Καραγιάννη και το Λέκτορα κ. Stefano Malavasi για τις καλοπροαίρετες παρατηρήσεις τους που συνέβαλαν στη διόρθωση και βελτίωση του παρόντος κειμένου.

Θα ήταν παράλειψή μου να μην τονίσω τη μεγάλη συνεισφορά που είχαν δύο καθηγητές μου στην πραγματοποίηση και ολοκλήρωση δύο ενοτήτων της διδακτορικής μου διατριβής που αφορούσαν τη φυλογένεση των ‘sand gobies’ και την αναπαραγωγική συμπεριφορά του *Economidichthys pygmaeus*. Ευχαριστώ ξεχωριστά τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Αλέξανδρο Τριανταφυλλίδη για τη φιλοξενία στα Εργαστήρια του Τομέα Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας του ΑΠΘ, για τη πολύτιμη βοήθειά του στην εκμάθηση των μοριακών τεχνικών, καθώς και για τις παρατηρήσεις και συμβουλές του στη συγγραφή των αποτελεσμάτων. Ένα εξίσου μεγάλο ευχαριστώ στον Λέκτορα κ. Stefano Malavasi για την επιστημονική του καθοδήγηση στο πειραματικό μέρος και στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων, αλλά και για την αποστολή βιολογικού υλικού. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω και την επικεφαλής του Εργαστηρίου Οικολογίας του Τμήματος Περιβαλλοντικών Επιστημών, Πληροφοριών και Στατιστικής του

Πανεπιστημίου Ca′ Foscari Καθηγήτρια κ. Patrizia Torricelli για την υποδοχή, τη φιλοξενία και την άριστη συνεργασία των δύο εργαστηρίων.

Πολλά ευχαριστώ θέλω να εκφράσω στους φίλους και συνεργάτες του Εργαστηρίου Ζωολογίας του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών. Στο Διδάκτορα Roman Liasko για τη βοήθειά του στις δειγματοληψίες και τις πολύτιμες συμβουλές του όσον αφορά τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων. Στη Διδάκτορα Χρύσα Αναστασιάδου η οποία με βοήθησε σημαντικά τόσο στα πρώτα μου 'βήματα' στον εργαστηριακό χώρο όσο και αργότερα κατά τη διάρκεια της έρευνάς μου. Η συμπαρουσία και η στήριξή της στις δειγματοληψίες ήταν μεγάλη, όπως και η προθυμία της να με συμβουλεύσει μέσα και έξω από το εργαστήριο. Στην υποψήφια διδάκτορα Βέρα Λιούσια για την πολύ καλή συντροφιά της κατά τη διάρκεια των μακρινών και δύσκολων ταξιδιών κατά την αναζήτηση δειγμάτων, καθώς και για την υπομονή της και την καλή της διάθεση που συνέβαλαν στην εκτόνωση της καθημερινότητας του εργαστηρίου. Στην υποψήφια διδάκτορα Μιράντα Τσουμάνη γιατί ήταν πάντα πρόθυμη να με βοηθήσει σε ότι είχε να κάνει με τη διεξαγωγή των πειραμάτων, την επεξεργασία των αποτελεσμάτων ή την εύρεση κάποιου σημαντικού άρθρου. Στην υποψήφια διδάκτορα Ανθή Οικονόμου για το ενδιαφέρον, την υποστήριξη και την αισιοδοξία που μου μετέδωσε τον τελευταίο χρόνο παραμονής μου στα Γιάννενα. Στον υποψήφιο διδάκτορα Αργύρη Σαπουνίδη για τη συμμετοχή του στα δειγματοληπτικά ταξίδια σε Μακεδονία και Έβρο, αλλά και για την αποστολή χρήσιμου βιολογικού υλικού. Στο συνάδελφο Αλέξανδρο Ντάκη για τη συμπαράστασή του σε όλη την πορεία της διατριβής, αλλά και για την παρέα και τις συζητήσεις μας εντός και εκτός του εργαστηρίου.

Ευχαριστίες ανήκουν φυσικά και σε συνεργάτες εκτός του Εργαστηρίου Ζωολογίας. Στον ιχθυολόγο Βύρων Γεωργαλά για τη βοήθειά του όσον αφορά την περάτωση των πειραμάτων και την επίλυση γραφειοκρατικών προβλημάτων κατά τη διαμονή μου στην Βενετία. Στα μέλη του εργαστηρίου Μοριακής Βιολογίας και ιδιαίτερα στον υποψήφιο διδάκτορα Τάσο Βασιλειάδη για την παραχώρηση εξοπλισμού, αλλά και για τις απαντήσεις του στις απορίες μου σχετικά με τις μοριακές τεχνικές.

Πολλά ευχαριστώ θέλω να στείλω σε όλους τους φίλους και συγγενείς εντός και εκτός Πανεπιστημίου που μου συμπαραστάθηκαν όλα αυτά τα χρόνια και μοιράστηκαν τις αγωνίες και τα άγχη μου. Είμαι ιδιαίτερα ευγνώμων στους Αλέκο, Ευδοκία, Μπάμπη, Γρηγόρη, Έφη, Νίκο, Ιωάννα, Μαριάννα, Μιχάλη, Καλλιόπη, Σταύρο, Τηλέμαχο και Χάρη για τη στήριξη και την κατανόησή τους.

Κλείνοντας, θέλω μέσα από την καρδιά μου να ευχαριστήσω τον αδερφό μου Πάνο και τους γονείς μου Γιώργο και Στέλλα που είναι πάντα δίπλα μου. Η συμπαράστασή τους, η συνεχής παρότρυνσή τους και η ηθική υποστήριξή τους αποτέλεσαν τα πολύτιμα εφόδια για να φέρω εις πέρας αυτή την εργασία.

Περιεχόμενα

Κεφάλαιο 1 Εισαγωγή **11**

1.1. Γενικά για τους γωβιούς 13

1.2. Μορφολογικά, οικολογικά και ηθολογικά χαρακτηριστικά των γωβιών 14

1.3. Γωβιοί των εσωτερικών υδάτων της Μεσογείου 16

1.4. Φυλογένεση των 'αμμογωβιών' 19

1.5. Παλαιογεωγραφία του Ελλαδικού χώρου 23

1.6. Διαγνωστικά χαρακτηριστικά της ομάδας 'αμμογωβιοί' 27

1.7. Συστηματική κατάταξη της ομάδας 'αμμογωβιοί' 28

1.7.1. Γένος *Pomatoschistus* Gill, 1863 29

1.7.2. Γένος *Knipowitschia* Ilin, 1863 34

1.7.3. Γένος *Economidichthys* Bianco, Bullock, Miller & Roubal, 1987 39

1.8. Σκοπός της έρευνας 41

Κεφάλαιο 2 Υλικά και Μέθοδοι: Γενικά **43**

2.1. Περιγραφή της περιοχής μελέτης 45

2.2. Γεωλογικό υπόβαθρο-γεωμορφολογία 46

2.3. Στοιχεία για το φυτοπλαγκτό της λίμνης 46

2.4. Στοιχεία για το ζωοπλαγκτό της λίμνης 47

2.5. Στοιχεία για το Μακροβένθος 47

2.6. Στοιχεία για την ιχθυοπανίδα της λίμνης 48

2.7. Επιλογή σταθμών δειγματοληψίας 50

2.8. Δειγματοληψίες πεδίου 51

2.9. Μετρήσεις φυσικών και χημικών παραμέτρων *in situ* 53

2.10. Δείγματα νερού 53

2.11. Μέτρηση βιολογικών παραμέτρων 53

2.12. Στατιστική επεξεργασία 55

Κεφάλαιο 3 Αβιοτικές Παράμετροι **57**

3.1. Εισαγωγή 59

3.2. Υλικά και Μέθοδοι 60

3.2.1. Δειγματοληψία στο πεδίο 60

3.2.2. Ποσοτικός προσδιορισμός των ανόργανων θρεπτικών ενώσεων του νερού 60

3.3. Αποτελέσματα-Συζήτηση 63

3.3.1. Θερμοκρασία 63
3.3.2. Διαλυμένο οξυγόνο 63
3.3.3. Ενεργός οξύτητα (pH) 64
3.3.4. Αγωγιμότητα 65
3.3.5. Ορθοφωσφορικά 66
3.3.6. Άζωτο νιτρωδών, νιτρικών και αμμωνιακών αλάτων 67
Κεφάλαιο 4 Ηλικία-Αύξηση 71
4.1. Εισαγωγή 73
4.2. Υλικά και μέθοδοι 76
4.2.1. Προσδιορισμός της ηλικίας 76
4.2.1.1.Μέθοδος Petersen 77
4.2.1.2.Μέθοδος Bhattacharya 77
4.2.2. Μοντέλο της κατά μήκος αύξησης 78
4.2.3. Σχέση μήκους-βάρους 80
4.2.4. Δείκτης ευρωστίας 80
4.3. Αποτελέσματα 83
4.3.1. Κατά μήκος σύνθεση (μέθοδος Petersen) 83
4.3.2. Μέθοδος Bhattacharya 88
4.3.3. Παράμετροι αύξησης 89
4.3.4. Σχέση μήκους-βάρους 91
4.3.5. Δείκτης Ευρωστίας κατά Clark 94
4.4. Συζήτηση 98
Κεφάλαιο 5 Αναπαραγωγή 103
5.1. Εισαγωγή 105
5.2. Υλικά και μέθοδοι 106
5.2.1. Μακροσκοπική περιγραφή γονάδων-Στάδια γεννητικής ωριμότητας 106
5.2.2. Πρώτη γεννητική ωρίμαση 106
5.2.3. Αναλογία φύλων 108
5.2.4. Γοναδοσωματικός δείκτης 109
5.2.5. Ηπατοσωματικός δείκτης 109
5.2.6. Εκτίμηση γονιμότητας και μέγεθος αβγών 110
5.3. Αποτελέσματα 112

5.3.1. Αναλογία φύλων 112
5.3.2. Πρώτη γεννητική ωρίμαση 112
5.3.3. Γοναδοσωματικός δείκτης 114
5.3.4. Ηπατοσωματικός δέικτης 115
5.3.5. Γονιμότητα 117
3.5. Μέγεθος και χαρακτηριστικά ωοκυττάρων 119
5.4. Συζήτηση 122
Κεφάλαιο 6 Παρατηρήσεις στην Ακουστική Επικοινωνία του *E. pygmaeus*: Δευτερογενής Απώλεια Ήχων Εντός της Ομάδας 'Αμμογωβιοί'; 127
6.1. Εισαγωγή 129
6.2. Υλικά και μέθοδοι 131
6.2.1. Προέλευση και διατήρηση ιχθύων 131
6.2.2. Πειραματική διαδικασία 131
6.2.3. Παραγωγή ήχων κατά τη διάρκεια επιθετικής συμπεριφοράς 131
6.2.4 Παραγωγή ήχων κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας και ωοτοκίας 132
6.2.5. Ηθολογικές παρατηρήσεις 133
6.3. Αποτελέσματα 137
6.3.1. Παραγωγή ήχων κατά τη διάρκεια επιθετικής συμπεριφοράς 137
6.3.2. Παραγωγή ήχων κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας και ωοτοκίας 137
6.3.3. Ηθολογικές παρατηρήσεις 138
6.4. Συζήτηση 144
Κεφάλαιο 7 Τροφική Οικολογία 147
7.1. Εισαγωγή 149
7.1.1. Διατροφικές συνήθειες ψαριών 149
7.1.2. Σημασία της γνώσης της διατροφής των ψαριών 150
7.1.3. Σκοπός της παρούσας εργασίας 150
7.2. Υλικά και Μέθοδοι 152
7.2.1. Ανάλυση δειγμάτων στο εργαστήριο 152
7.2.2. Επεξεργασία δεδομένων και στατιστική ανάλυση 152
7.2.3. Εύρος τροφικού θώκου 154
7.2.4. Επικάλυψη τροφικών θώκων 155
7.2.5. Συντελεστής εκλεκτικότητας κατά Vanderploeg και Scavia (*E**) 155

7.2.6. Μέθοδος Costello 156
7.2.7. Τροφικό Επίπεδο 157
7.2.8. Τροφική δραστηριότητα κατά τον ημερήσιο κύκλο 158
7.3. Αποτελέσματα 159
7.3.1. Τροφική δραστηριότητα 159
7.3.2. Σύνθεση του διαιτολογίου 160
7.3.3. Εποχικές διακυμάνσεις των τροφικών συνηθειών 162
7.3.4. Διακυμάνσεις των τροφικών συνηθειών σε σχέση με το φύλο και το μήκος 164
7.3.5. Τροφική επικάλυψη 166
7.3.6. Συντελεστής εκλεκτικότητας κατά Vanderploeg και Scavia (*E**) 167
7.3.7. Στρατηγική διατροφής 168
7.3.8. Τροφικό επίπεδο 169
7.3.9. Ημερονύκτιο πρότυπο διατροφής 170
7.4. Συζήτηση 173
Κεφάλαιο 8 Μορφολογική Ποικιλομορφία των 'Αμμογωβιών' 179
8.1. Εισαγωγή 181
8.2. Υλικά και μέθοδοι 183
8.2.1. Συλλογή δειγμάτων 183
8.2.2. Μετρήσεις μορφολογικών και μεριστικών χαρακτηριστικών 185
8.2.3. Μεθοδολογία ανάλυσης 186
8.2.4. Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών 189
8.2.5. Διαχωριστική Ανάλυση 189
8.2.6. Ανάλυση Συστοιχειών 190
8.3. Αποτελέσματα 191
8.3.1. Ανάλυση μορφολογικής ποικιλομορφίας 191
8.3.2. Μεριστικοί χαρακτήρες 191
8.3.3. Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών 194
8.3.3.1.Γένος *Economidichthys* 194
8.3.3.2.Γένος *Knipowitschia* 196
8.3.3.3.Ομάδα 'αμμογωβιοί' 198
8.3.4. Διαχωριστική Ανάλυση 200
8.3.4.1.Γένος *Economidichthys* 200

8.3.4.2.Γένος *Knipowitschia* 203
8.3.4.3.Ομάδα 'αμμογωβιοί' 207
8.3.5. Ανάλυση Συστοιχειών 212
8.3.5.1.Γένος *Economidichhtys* 212
8.3.5.2.Γένος *Knipowitschia* 212
8.3.5.3.Ομάδα 'αμμογωβιοί' 213
8.4. Συζήτηση 215
Κεφάλαιο 9 Γενετική Ανάλυση και Φυλογενετικές Σχέσεις Ειδών της Ομάδας 'Αμμογωβιοί' 219
9.1. Εισαγωγή 221
9.2. Υλικά και μέθοδοι 224
9.2.1. Βιολογικό υλικό 224
9.2.2. Εργαστηριακές αναλύσεις 224
9.2.3. Απομόνωση DNA 227
9.2.4. Ενίσχυση με τη μέθοδο της PCR 229
9.2.5. Καθαρισμός και προσδιορισμός της αλληλουχίας των προϊόντων της PCR (sequencing) 230
9.2.6. Στατιστική επεξεργασία των δεδομένων της ανάλυσης αλληλουχίας 231
9.2.6.1.Στοίχιση αλληλουχιών 231
9.2.6.2.Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων 232
9.2.6.3.Επιλογή του καταλληλότερου μοντέλου εξέλιξης 232
9.2.6.4.Μέθοδοι φυλογενετικής ανάλυσης και στατιστικός έλεγχος των φυλογενετικών δένδρων 232
9.2.6.5.Μέθοδος Σύνδεσης-Γειτόνων (Neighbor-Joining) 233
9.2.6.6.Μέθοδος Μέγιστης Πιθανοφάνειας (Maximum Likelihood) 233
9.2.6.7.Πληθυσμιακή ανάλυση 234
9.3. Αποτελέσματα 236
9.3.1. Ανάλυση των αλληλουχιών του γονιδίου COI 236
9.3.1.1.Γένος *Economidichthys* 236
9.3.1.2.Γένος *Knipowitschia* 240
9.3.1.3.Γένος *Pomatoschistus* 245
9.3.2. Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων των μελετημένων πληθυσμών 250

9.3.2.1.Γένος *Economidichthys* 250
9.3.2.2.Γένος *Knipowitschia* 251
9.3.2.3.Γένος *Pomatoschistus* 254
9.3.3. Πληθυσμιακή μελέτη 255
9.3.3.1.Ανάλυση των πληθυσμών του *E. pygmaeus* με βάση το COI 255
9.3.3.2.Ανάλυση των πληθυσμών του *K. caucasica* με βάση το COI 258
9.3.4. Φυλογενετικές σχέσεις των υπό μελέτη πληθυσμών 260
9.3.4.1.Γένος *Economidichthys* 260
9.3.4.2.Γένος *Knipowitschia* 263
9.3.4.3.Γένος *Pomatoschistus* 268
9.3.4.4.Ομάδα 'αμμογωβιοί' 270
9.4. Συζήτηση 275
9.4.1. Γένος *Economidichthys* 275
9.4.2. Γένος *Knipowitschia* 277
9.4.3. Γένος *Pomatoschistus* 279
Κεφάλαιο 10 Γενική Συζήτηση-Συμπεράσματα 285
10. Γενική Συζήτηση-Συμπεράσματα 287
Περίληψη 297
Abstract 301
Ελληνική Βιβλιογραφία 305
Διεθνής Βιβλιογραφία 307

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Εισαγωγή

1.1. Γενικά για τους γωβιούς

Οι γωβιοί αποτελούν μια από τις επικρατέστερες ομάδες ιχθύων, αφού περιλαμβάνει περίπου το 35% των ειδών της συνολικής ιχθυοπανίδας (Winterbottom et al. 2011). Στην οικογένεια Gobiidae έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα περίπου 1.120 είδη που κατατάσσονται σε 170 γένη (Thacker 2011) Τα περισσότερα είδη έχουν παγκόσμια εξάπλωση. Απαντώνται σε τροπικές, υποτροπικές και εύκρατες περιοχές και τα είδη τους προτιμούν θαλάσσια, εκβολικά και λιμναία οικοσυστήματα. Ζουν αποκλειστικά πάνω στον πυθμένα σε πετρώδεις και αμμώδεις βυθούς, κρυμμένοι μέσα σε κελύφη οστράκων, στις φυκιάδες, ακόμα και σε κοράλλια (Winterbottom et al. 2011).

Πολλοί ερευνητές προσπάθησαν να μελετήσουν την οικογένεια των Gobiidae με βάση τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά (Miller 1973, Hoese 1984, Pezold 1993, Nelson 2006) και μοριακά δεδομένα (Akihito et al. 2000, Wang et al. 2001), αλλά παρόλα αυτά οι φυλογενετικές και ταξινομικές σχέσεις μέσα στην οικογένεια παραμένουν σε αρκετά σημεία αδιευκρίνιστες. Πρόσφατα η Thacker (2009) χρησιμοποιώντας ένα συνδυασμό μοριακών, μορφολογικών αλλά και οικολογικών δεδομένων διέκρινε στην οικογένεια Gobiidae 5 υποοικογένειες. Στον πίνακα 1.1 παρουσιάζεται συνοπτικά η ταξινόμηση της οικογένειας Gobiidae βάσει διάφορων μελετών.

Πίνακας 1.1: Φυλογενετική ταξινόμηση της οικογένειας Gobiidae σύμφωνα με διάφορους ερευνητές.
Table 1.1: Phylogenetic taxonomy of the family Gobiidae according to several researchers.

	Miller 1973	Hoese 1984	Pezold 1993	Wang 2001	Nelson 2006	Thacker 2009
Family	Gobiidae	Gobiidae	Gobiidae	Gobiidae	Gobiidae	Gobiidae
Subfamily	Eleotrinae	Oxudercinae	Amblyopinae	Gobiinae	Amblyopinae	Gobiinae
	Pirskerinae	Amplyopinae	Gobiinae	Microdesmidae	Benthophilinae	Microdesmidae
	Xenisthminae	Sicydiinae	Gobionellinae		Gobiinae	Ptereleotridae
	Gobionellinae	Gobiinae	Oxudercinae		Gobionellinae	Kraemeriidae
	Tridentgerinae		Sicydiinae		Oxudercinae	Schindleriidae
	Gobiinae				Sicydiinae	
	Kraemeriinae					

Από τις παραπάνω έρευνες προκύπτει ότι είναι εξαιρετικά δύσκολη η ταξινόμηση ενός γένους στην κατάλληλη οικογένεια ή υποοικογένεια. Η δυσκολία αυτή σύμφωνα με τους Akihito et al. (2000) οφείλεται κυρίως στο ότι δεν είναι πάντα εύκολο να

αναγνωρισθούν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που δίνουν φυλογενετικές πληροφορίες, δεδομένου ότι αρκετά χαρακτηριστικά των γωβιών έχουν υποστεί μορφολογική εξειδίκευση και εκφυλισμό.

1.2. Μορφολογικά, οικολογικά και ηθολογικά χαρακτηριστικά των γωβιών

Οι γωβιοί έχουν σχετικά μικρό μέγεθος σώματος, με την πλειονότητα των ειδών να κυμαίνεται κάτω από 10 cm (Nelson 2006). Στην οικογένεια Gobiidae συμπεριλαμβάνονται γένη που ωριμάζουν σε μήκος 8-10 mm (*Eviota, Trimma, Trimmatom*), καθώς και εκείνα που παρουσιάζουν όχι μόνο μείωση του μεγέθους τους, αλλά και μορφολογική απλοποίηση, πιθανόν ως αποτέλεσμα της παιδομόρφωσης[1] (γένος *Schindleria*: Johnson & Brothers 1993, Watson & Walker 2004, Thacker & Grier 2005, Nelson 2006). Η ύπαρξη κοινών χαρακτηριστικών στους γωβιούς όπως η απλοποίηση, η ελάττωση και η σμίκρυνση του σώματος δημιουργούν σημαντικά προβλήματα στις προσπάθειες για τον προσδιορισμό της φυλογένεσης και παρ'όλο, τη μεγάλη ποσότητα δεδομένων που έχει συγκεντρωθεί, απαιτούνται πιο ολοκληρωμένες φυλογενετικές μελέτες για να καθοριστούν οριστικά οι εξελικτικές σχέσεις μεταξύ των γωβιών.

Η οικογένεια Gobiidae χαρακτηρίζεται από είδη με ανοχές σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες. Για παράδειγμα, το είδος *Gillichthys miriabilis* είναι πολύ ανθεκτικό στην υποξία και θεωρείται ένα από τα πιο διαδεδομένα ευρύαλα είδη ψαριών (Nelson 1994). Αυτό το είδος καταπίνει αέρα και πραγματοποιεί την αναπνευστική του λειτουργία μεταξύ των περιοχών του στόματος και του φάρυγγα. Επίσης, είδη όπως τα mudskippers (*Boleophthalmus, Periophthalmus, Periophthalmodon* και *Scartelaos* spp.) είναι ημι-χερσαία, και μπορούν να περάσουν αρκετές ημέρες της ζωής τους έξω από το νερό (Polgar & Crosa 2009). Οι γωβιοί φέρουν δυο ραχιαία πτερύγια τα οποία συνήθως είναι μεγάλα και σε μικρή απόσταση μεταξύ τους. Το ραχιαίο πτερύγιο πολλών γωβιών παρουσιάζει πολλές επιμήκεις ακτίνες με έντονα χρώματα και περίτεχνους χρωματικούς σχηματισμούς. Στα περισσότερα είδη τα κοιλιακά τους πτερύγια είναι ενωμένα, σχηματίζοντας έτσι ένα στρογγυλό δίσκο (Winterbottom et al. 2011).

---

[1] Η παιδομόρφωση (paedomorphosis) έχει ώς αποτέλεσμα την διατήρηση στα ενήλικα άτομα του απογόνου, ενός χαρακτήρα που παρατηρείται στα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια του προγόνου. Η παιδομόρφωση περιλαμβάνει τις διαδικασίες της *προγένεσης* (πρώιμη παύση της σωματικής ανάπτυξης, άρα το άτομο ωριμάζει γεννητικά σε μικρότερη ηλικία, άρα ώς ενήλικο διατηρεί χαρακτήρες πρώιμων αναπτυξιακών σταδίων του προγόνου), της *νεοταινίας* (αργότερος ρυθμός ανάπτυξης, σε σχέση με τον πρόγονο, για ένα ή περισσότερα σωματικά χαρακτηριστικά) και της *μετα-αντικατάστασης* (καθυστερημένη έναρξη της αύξησης ενός χαρακτηριστικού).

Τα περισσότερα είδη παρουσιάζουν φυλετικό διμορφισμό. Τα αρσενικά φτάνουν σε μεγαλύτερο μέγεθος από τα θηλυκά και έχουν διαφορετικό χρωματισμό, ο οποίος γίνεται εντονότερος κατά την αναπαραγωγική περίοδο (Miller 1984). Ιδιαίτερο επιστημονικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν δραστηριότητες που αποτελούν μέρος της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς των γωβιών, όπως: η εδαφικότητα, η ερωτοτροπία, η ακουστική επικοινωνία και η γονική φροντίδα (Miller 1986). Συνήθως τα αρσενικά άτομα βρίσκουν μια μικρή κοιλότητα ή κατασκευάζουν μια μικρή φωλιά στην άμμο (Lindström 1988, 1992). Στη συνέχεια η φωλιά καταλαμβάνεται από το αρσενικό, με την κεφαλή του να προεξέχει από το άνοιγμα της φωλιάς (Magnhagen & Kvarnemo 1989). Με αυτόν τον τρόπο οι αρσενικοί γωβιοί 'περιφρουρούν' το χώρο που περιστοιχίζει τη φωλιά και τον υπερασπίζονται με σθένος απέναντι στους ανταγωνιστές, αλλά και σε άλλα είδη ψαριών. Κατά την τελετή της ερωτοτροπίας στην προσέλκυση των θηλυκών από τα αρσενικά χρησιμοποιούνται διάφορα δευτερεύοντα χαρακτηριστικά και τρόπους, όπως: μεγαλύτερο μέγεθος σώματος, έντονα χρώματα, ανέγερση των ραχιαίων πτερυγίων, ανοίγματα των γνάθων και των βραγχιακών επικαλυμμάτων (Gandolfi et al. 1982, 1991).

Η ακουστική επικοινωνία αποτελεί επίσης ένα ακόμη συστατικό για την προσέλκυση του θηλυκού (Torricelli et al. 1986, Lugli et al. 1996). Σε πολλά είδη γωβιών εσωτερικών υδάτων μόνο ένας τύπος ήχου παράγεται κατά την ερωτοτροπία. Εξαίρεση αποτελεί ο γωβιός *Padogobius martensii,* στον οποίο το φωνητικό 'ρεπερτόριο' διαφοροποιείται σε δύο τύπους ήχων: τον παλμικό και τον τονικό ήχο. Παράλληλα, το θηλυκό ανταποκρίνεται σε αυτές τις κινήσεις, γέρνοντας το σώμα του και επιδεικνύοντας την κοιλιά του, κάνοντας κοφτές κινήσεις πάνω από τον πυθμένα (Miller 2004). Ο σημαντικός ρόλος του 'καλέσματος' φαίνεται από την αυξανόμενη παραγωγή ήχου, καθώς το θηλυκό προσεγγίζει τη φωλιά (Torricelli et al. 1986, Lugli et al. 1997). Ακολουθώντας τους τρόπους που αναφέρθηκαν, το αρσενικό κερδίζει την προσοχή του θηλυκού και το καθοδηγεί στη φωλιά όπου λαμβάνει χώρα η ωοτοκία (Maghnagen 1998).

Συνήθως, όταν η ωοτοκία αρχίζει, η εκπομπή ήχων σταματάει απότομα (Crawford et al. 1997, Stadler 2000). Ωστόσο, έχουν παρατηρηθεί αρκετές εξαιρέσεις σε γωβιούς εσωτερικών υδάτων. Στο είδος *Knipowitschia punctatissima*, το αρσενικό είναι σιωπηλό όταν η ερωτοτροπία λαμβάνει χώρα έξω από τη φωλιά. Παρ' όλα αυτά παλμικοί ήχοι αρχίζουν να εκπέμπονται, καθώς το θηλυκό εισέρχεται στη φωλιά του αρσενικού και συνεχίζουν σε όλη τη διάρκεια της ωοτοκίας, μέχρι να ολοκληρωθεί η απόθεση των αβγών και απομακρυνθεί το θηλυκό από τη φωλιά (Lugli et al. 1997). Παρόμοια, στο είδος

P. martensii το αρσενικό άτομο εκπέμπει ήχους, γνωστούς ως 'ήχοι ωοτοκίας' (Lugli et al. 1997), όταν το θηλυκό εισέρχεται στη φωλιά και σε όλη τη διάρκεια της ωοτοκίας. Αντίθετα, τα αρσενικά άτομα του *Knipowitschia panizzae* εκπέμπουν παλμικούς ήχους, μόνο όταν το θηλυκό εισέρχεται στη φωλιά, αλλά σταματάνε απότομα μόλις αρχίσει η ωοαπόθεση από το θηλυκό (Lugli & Torricelli 1999). Το θηλυκό αποθέτει τα αβγά στην οροφή της φωλιάς. Μόλις τελειώσει, απομακρύνεται αμέσως και το αρσενικό αναλαμβάνει τη φροντίδα των αβγών (Marconato et al. 1996). Οι κινήσεις του αρσενικού περιλαμβάνουν τη φύλαξη της φωλιάς και τον αερισμό των αβγών με την βοήθεια των θωρακικών πτερυγίων του μέχρι την εκκόλαψή τους (Magnhagen & Vestergaard 1991, 1993).

1.3. Γωβιοί των εσωτερικών υδάτων της Μεσογείου

Οι γωβιοί της ευρωπαϊκής ιχθυοπανίδας προέρχονται κυρίως από Ατλαντικο-Μεσογειακά θαλάσσια, ευρύαλα είδη, καθώς επίσης και από ολιγάριθμα ενδημικά Ποντο-Κασπικά είδη, τα οποία ζούσαν σε εσωτερικά και κυρίως υφάλμυρα ύδατα από την Ανατολική Ευρώπη ώς την Κασπία θάλασσα (Economidis & Miller 1990). Τα συστήματα της Δυτικής και Βόρειας Ευρώπης σπάνια αποικίζονται από γωβιούς και μόνο το ευρύαλο είδος *Pomatoschistus microps* (Krøyer, 1838) (μικρογωβιός) εμφανίζει ευρεία εξάπλωση από τις λεκάνες της Βαλτικής, στον Ατλαντικό ωκεανό, καθώς επίσης και σε διάφορες περιοχές στο δυτικό τμήμα της λεκάνης της Μεσογείου (Freyhof 2011). Αντίθετα, οι γωβιοί των εσωτερικών υδάτων αποτελούν τα επικρατέστερα είδη σε παράκτια οικοσυστήματα, ακόμα και μακριά από τη θάλασσα, στην Ιταλία και στην Ανατολική Μεσόγειο και ιδιαίτερα στις λεκάνες της Κασπίας και της Μαύρης Θάλασσας. Σε αυτές τις περιοχές εντοπίζονται περίπου 50 είδη γωβιών, τα οποία εισέρχονται τακτικά σε 'εσωτερικά ύδατα' ή περιορίζονται σε ενδιαιτήματα 'γλυκού νερού' (Kottelat & Freyhof 2007).

Με εξαίρεση τα 2 είδη του γένους *Padogobius* (*Padogobius nigricans, Padogobius martensii*), οι υπόλοιποι γωβιοί αποτελούν μέρος της πανίδας της Παρατεθύος Θάλασσας (*Babka, Benthophiloides, Benthophilus, Caspiosoma, Mesogobius, Neogobius, Ponticola, Proterorhinus*) (Neilson & Stepien 2009) ή ανήκουν στην ομάδα 'αμμογωβιοί' (sand

gobies)[2] (*Pomatoschistus, Knipowitschia, Economidichthys*) (Πίνακας 1.2). Μέλη αυτής της ομάδας αποτελούν επίσης το γένος *Hyrcanogobius* ενδημικό της Κασπίας Θάλασσας με αντιπροσώπους σε εσωτερικά, υφάλμυρα και θαλάσσινα νερά και το μονοτυπικό είδος *Gobiusculus flavescens* (γένος *Gobiusculus*) με κατανομή στον Ανατολικό Ατλαντικό, Νήσοι Φαιρόες, Νορβηγία και Δυτική Βαλτική ώς τη Βορειο-Δυτική Ισπανία.

[2] Ως τώρα στην ελληνική βιβλιογραφία χρησιμοποιούταν η ορολογία 'sand gobies' για να περιγράψει μια ομάδα γωβιών με παρόμοια μορφολογικά, ηθολογικά και οικολογικά χαρακτηριστικά. Δεδομένης της απουσίας αντίστοιχου όρου στα ελληνικά, ο συγγραφέας της παρούσας διδακτορικής διατριβής προτείνει τη χρησιμοποίηση του όρου 'αμμογωβιοί' στο παρόν κείμενο αλλά και για τη κάλυψη του αντίστοιχου βιβλιογραφικού κενού.

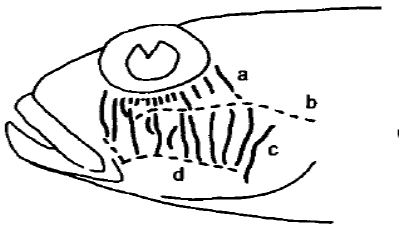
Είδος	Γεωγραφική Κατανομή	Κατάσταση	Ενδιαίτημα	Κατηγορία κινδύνου	Βιβλιογραφία
Economidichthys pygmaeus (Λουρογωβιός)*	Ήπειρος, Αιτωλοακαρνανία	Αυτόχθονο	Γλυκό	LC	1990[στ]
Economidichthys trichonis (Νανογωβιός)	Αιτωλοακαρνανία (Λ. Τριχωνίδα)	Ενδημικό	Γλυκό	EN	1990[στ]
Knipowitschia caucasica (Ποντογωβιός)	Ποντο-Κκσπική λεκάνη, Μεσόγειος	Κοσμοπολίτικο	Θαλασσινό, Υφάλμυρο	LC	1990[στ];
Knipowitschia croatica	Βοσνία/Ερζεγοβίνη, Κροατία (Π. Matica, Neretva, Λ. Bacina)	Αυτόχθονο	Γλυκό	VU	1996[ι]
Knipowitschia goerneri (Κερκυρογωβιός)	Κέρκυρα (Λ/Θ Κορισσιών)	Ενδημικό	Υφάλμυρο	DD	1991[η]
Knipowitschia milleri (Αχερονογωβιός)	Ήπειρος (Π. Αχέροντας)	Ενδημικό	Γλυκό	CR	1990[ζ]
Knipowitschia montenegrina	Μαυροβούνιο (Π. Morača)	Ενδημικό	Γλυκό	LC	2007[ιγ]
Knipowitchia mrakovcici	Κροατία (Λ. Visovac)	Ενδημικό	Γλυκό	CR	2009[ιδ]
Knipowitchia panizzae (Ευηνογωβιός)	Αδριατικές ακτές, Ιόνιο	Κοσμοπολίτικο	Υφάλμυρο	LC	1972[α]
Knipowitschia punctatissima	ΒΑ Ιταλία	Αυτόχθονο	Γλυκό	NT	1985[γ]
Knipowitschia radovici	Κροατία (Π. Neretva)	Ενδημικό	Γλυκό	VU	2005[ιβ]
Knipowitschia thessala (Θεσσαλογωβιός)	Θεσσαλία (Λ. Κάρλα)	Ενδημικό	Γλυκό	EN	1990[στ]
Knipowitschia mermere	Τουρκία (Λ. Marmara)	Ενδημικό	Γλυκό	CR	1995[ιστ]
Knipowitschia ephesi	Τουρκία (Π. Kücük Menders)	Ενδημικό	Γλυκό	CR	1995[ιστ]
Knipowitschia byblisia	Τουρκία (Λ. Köycegiz)	Ενδημικό	Γλυκό	NE	2011[ιζ]
Knipowitschia caunosi	Τουρκία (Λ. Köycegiz)	Ενδημικό	Γλυκό	NE	2011[ιζ]
Knipowitschia cameliae	Ρουμανία (Π. Danube)	Ενδημικό	Υφάλμυρο	CR	1995[ε];
Knipowitschia longecaudata	Ποντο-Κασπική λεκάνη	Αυτόχθονο	Θαλασσινό, Υφάλμυρο	LC	2004[θ]
Knipowitschia iljini	Ποντο-Κασπική λεκάνη	Αυτόχθονο	Θαλασσινό, Υφάλμυρο	NE	1965[ιη]
Knipowitschia bergi	Ποντο-Κασπική λεκάνη	Αυτόχθονο	Θαλασσινό	LC	2007[ιθ]
Pomatoschistus canestrinii	Ιταλία Βοσνία/Ερζεγοβίνη, Κροατία,	Αυτόχθονο	Γλυκό, Υφάλμυρο	LC	1982[β]
Pomatoschistus marmoratus (Μαρμαρογωβιός)	Μεσόγειος	Κοσμοπολίτικο	Υφάλμυρο, θαλασσινό	LC	1986[δ]
Pomatoschistus microps (Μικρογωβιός)	Ατλαντικός, Μεσόγειος, Βαλτική	Κοσμοπολίτικο	Θαλασσινό, Υφάλμυρο	LC	1986[δ]
Pomatoschistus minutus (Γωβιουδάκι)	Β.Ατλαντικός,Μεσόγειος,Ποντο-Κασπική λεκάνη	Κοσμοπολίτικο	Θαλασσινό, Υφάλμυρο	LC	1986[δ]
Pomatoschistus montenegrensis	Μαυροβούνιο (Λ. Skadar, Π. Morača)	Ενδημικό	Γλυκό	LC	2008[ιε]

Πίνακας 1.2: Είδη της ομάδας 'αμμογωβιοί'. Οι βιβλιογραφικές αναφορές δίνονται ως εκθέτες α: Miller 1972, β: Gandolfi et al. 1982, γ: Gandolfi et al. 1985, δ: Miller 1986, ε: Nalbant & Otel 1995, στ: Economidis & Miller 1990, ζ: Ahnelt & Bianco 1990, η: Ahnelt 1991, θ: Miller 2004, ι: Mrakovčič et al. 1996, ια: Miller 2004, ιβ: Kovačić 2005, ιγ: Kovačić & Šanda 2007, ιδ: Miller 2009, ιε: Miller & Šanda 2008, ιστ: Ahnelt 1995, ιζ: Ahnelt 2011, ιη: Berg 1965, ιθ: Kottelat & Freyhof 2007. DD: ανεπαρκώς γνωστό, EN: κινδυνεύων, LC: μειωμένου ενδιαφέροντος, VU: τρωτό, CR: κρισίμως κινδυνεύων; NT: σχεδόν απειλούμενο, NE: μη αξιολογήσιμο. *Δίνονται τα κοινά ελληνικά ονόματα για τα είδη που έχουν βεβαιωμένη παρουσία στην Ελλάδα.

Table 1.2: Species belonging to 'sand gobies' group. References are shown as superscripts α: Miller 1972, β: Gandolfi et al. 1982, γ: Gandolfi et al. 1985, δ: Miller 1986, ε: Nalbant & Otel 1995, στ: Economidis & Miller 1990, ζ: Ahnelt & Bianco 1990, η: Ahnelt 1991, θ: Miller 2004, ι: Mrakovčič et al. 1996, ια: Miller 2004, ιβ: Kovačić 2005, ιγ: Kovačić & Šanda 2007, ιδ: Miller 2009, ιε: Miller & Šanda 2008, ιστ: Ahnelt 1995, ιζ: Ahnelt 2011, ιη: Berg 1965, ιθ: Kottelat & Freyhof 2007. DD: data deficient, EN: endangered, LC: least concern VU: vulnerable CR: critically endangered; NT: near threatened, NE: not evaluated. *Common Greek names are given for species which are presented in Greece.

1.4. Φυλογένεση των 'αμμογωβιών'

Για να κατανοήσουμε την εξέλιξη των 'αμμογωβιών' είναι απαραίτητη η μελέτη της φυλογένεσής τους δηλαδή της αναπαράστασης των εξελικτικών σχέσεων των ειδών, που ανήκουν σε αυτήν την ομάδα σε συνάρτηση με το χρόνο. Ωστόσο έχει αποδειχθεί ότι η ανασύσταση των σχέσεων δεν είναι εύκολη υπόθεση. Οι 'αμμογωβιοί' είναι αναμφίβολα μονοφυλετική ομάδα. Σύμφωνα με τους (Miller 1986, 1990, Economidis & Miller 1990) η ομάδα των 'αμμογωβιών' καθορίζεται από τα ακόλουθα μορφολογικά χαρακτηριστικά (Εικόνα 1.1): (1) μια διακόγχια (infraorbital) γραμμή *a* συνήθως σε συνδυασμό με μία ως αρκετές βοηθητικές εγκάρσιες γραμμές, (2) οι υποκόγχιες (suborbital) σειρές *c* με αρκετές εγκάρσιες γραμμές, δεν συνεχίζουν με τις εγκάρσιες γραμμές από την γραμμή *a* ενώ η τελευταία γραμμή *c* είναι μακρύτερη και διαπερνάει τη γραμμή *d*, (3) μονές προκόγχιες (preorbital) γραμμές *r* και *s* στο ρύγχος μπροστά από τα πρόσθια οφθαλμικά (oculoscapular) κανάλια, (4) απουσία του πόρου *β* από το πρόσθιο οφθαλμικό (oculoscapular) κανάλι και (5) κοιλιακοί και ουραίοι σπόνδυλοι 10+16 (συμπεριλαμβανομένου του ουρόστηλου). Το σύνολο αυτών των χαρακτηριστικών έχει επανειλημμένως χρησιμοποιηθεί από διάφορους επιστήμονες που ασχολούνται με τους 'αμμογωβιούς' για τον καθορισμό των σχέσεων των ειδών και την ταξινόμησή τους στο αντίστοιχο γένος (Economidis & Miller 1990, Ahnelt 1995, McKay & Miller 1997, Turan et al. 2005, Miller 2004, Kovačić 2005, Kovačić & Šanda 2007, Miller & Šanda 2008, Miller 2009, Ahnelt 2011).

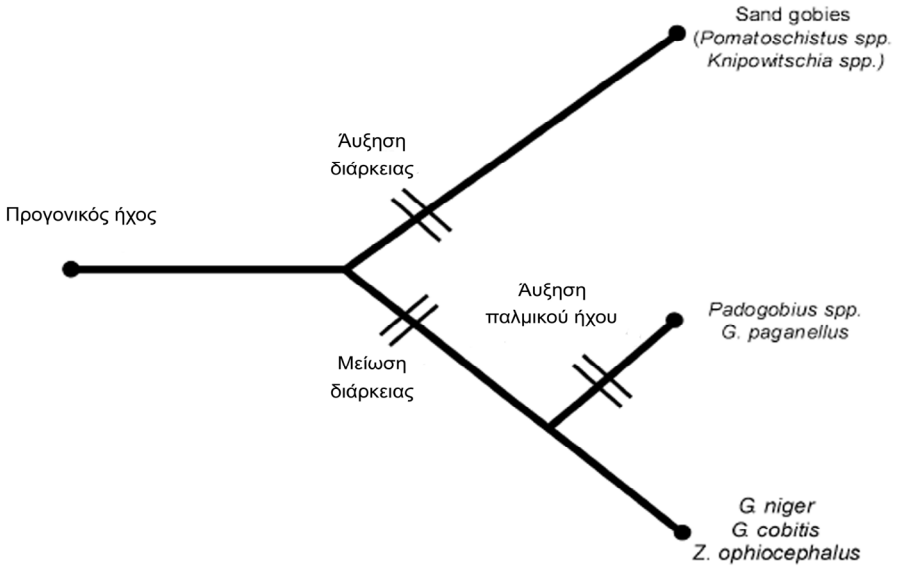


Εικόνα 1.1: Πλευρική όψη των κεφαλικών αισθητήριων οργάνων.
Figure 1.1: Lateral view of head sensory papillae.

Στην προσπάθεια διευκρίνησης των φυλογενετικών σχέσεων των 'αμμογωβιών' χρησιμοποιήθηκαν κατά καιρούς διάφορες τεχνικές, πέραν της μορφολογίας. Μια πρώτη προσπάθεια έγινε με τις μελέτες, οι οποίες περιελάμβαναν ηλεκτροφορήσεις πρωτεϊνών (Miller et al. 1994, McKay & Miller 1997, Sorice & Caputo 1999). Το συμπέρασμα αυτών των προσεγγίσεων ήταν η διαφοροποίηση των 'αμμογωβιών' από τα γένη *Gobius* και *Padogobius* και η στενή συγγενική σχέση μεταξύ των γενών *Knipowitschia* και *Pomatoschistus*.

Μια δεύτερη προσπάθεια έγινε με την ανάλυση της συμπεριφοράς (ηθολογική φυλογένεση), μελετώντας τις γενεαλογικές σχέσεις με τη βοήθεια παραγωγής ήχων και στοιχείων συμπεριφοράς. Οι ερευνητές ανέκαθεν είχαν τις ανησυχίες τους για τη

χρησιμοποίηση των ηθολογικών χαρακτηριστικών στην ανακατασκευή των φυλογενετικών σχέσεων (McLennan et al. 1988). Η ανησυχία τους αυτή βασιζόταν στην υπόθεση, ότι η συμπεριφορά επηρεάζεται πολύ εύκολα από τις διακυμάνσεις των περιβαλλοντικών και κοινωνικών παραγόντων και ως εκ τούτου να θεωρείται ότι η 'πλαστικότητα' της συμπεριφοράς δεν αποτελεί πληροφοριακό χαρακτήρα (Brooks & McLennan 1991, 2002). Τις τρεις τελευταίες δεκαετίες οι υποθέσεις αυτές έχουν ελεγχθεί με την ανακατασκευή των φυλογενετικών δένδρων με βάση τα ηθολογικά στοιχεία και τη σύγκρισή τους με αντίστοιχα δένδρα που βασίζονται σε μορφολογικά ή/και μοριακά δεδομένα. Το αποτέλεσμα αυτών των μελετών ήταν σαφές και έδειξε ότι τα ηθολογικά χαρακτηριστικά μπορεί να φανούν χρήσιμα στη φυλογένεση (de Queiroz & Wimberger 1993, Cap et al. 2008). Σε πρόσφατη φυλογενετική μελέτη από τους Malavasi et al. (2012) βασισμένη σε στοιχεία συμπεριφοράς και χαρακτηριστικά του κύκλου ζωής ενός περιορισμένου αριθμού ειδών της ομάδας 'αμμογωβιοί' υποστηρίζεται η μονοφυλετικότητα και η διάκριση της ομάδας από τα *Gobius paganellus* και *Padogobius nigricans*. Ένα άλλο παράδειγμα αφορά την εκπομπή ήχων μεταξύ των γωβιών, με τους 'αμμογωβιούς' να διατηρούν μια προγονική κατάσταση, όπου οι ήχοι μοιάζουν με γρύλισμα (grunt-like), διακρίνονται από χαμηλή παλμική συχνότητα και υψηλή διάρκεια (Εικόνα 1.2).

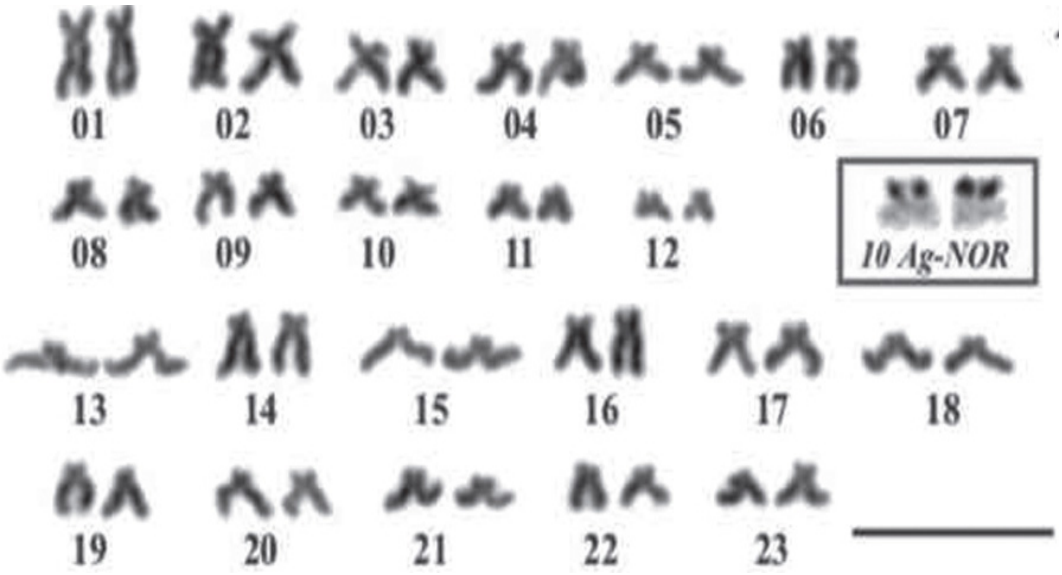


Εικόνα 1.2: Δενδρόγραμμα που αντιπροσωπεύει την υπόθεση της εξέλιξης των ακουστικών σημάτων στους γωβιούς της Μεσογείου (τροποποιημένο από Malavasi et al. 2008).

Figure 1.2: Tree diagram representing the suggested hypothesis on the evolution of acoustic signals in Mediterranean gobies (modified by Malavasi et al. 2008).

Αντίθετα, οι μεγαλύτερου μεγέθους γωβιοί εκπέμπουν τονικούς ήχους με υψηλές τιμές παλμικής συχνότητας χαμηλής διάρκειας (γένος *Padogobius*, *Gobius paganellus*) ή ήχους γρυλίσματος χαμηλής παλμικής συχνότητας και χαμηλής διάρκειας (γένη *Gobius*, *Zosterisessor*) (Malavasi et al. 2008).

Μια άλλη προσέγγιση αποτελεί η ανάλυση των καρυότυπων. Μέχρι σήμερα έχουν δημοσιευτεί λίγα αλλά πολύ ενδιαφέροντα στοιχεία που σχετίζονται με τη λεπτή δομή των χρωμοσωμάτων, τον αριθμό των χρωμοσωμάτων, τη θέση του κεντρομεριδίου και τη ζώνωση της ετεροχρωματίνης (NOR banding) (Rampin et al. 2011). Στη μελέτη των Rampin et al. (2011) παρουσιάζεται ένα καρυόγραμμα για το είδος *Economidichthys pygmaeus,* το οποίο αποτελείται από 24 υπομετακεντρικά (ζεύγη 1-12) και 22 υποτελοκεντρικά (ζεύγη 13-23) χρωμοσώματα (Εικόνα 1.3). Επιπλέον, μετά από αξιολόγηση που έκαναν οι Rampin et al. (2011) με τα βιβλιογραφικά δεδομένα που υπάρχουν, ενισχύθηκε η μονοφυλετικότητα των 'αμμογωβιών' με τη βοήθεια της παρουσίας κοινών πλησιομορφικών κυτταρογενετικών χαρακτήρων, όπως: ο κοινός αριθμός χρωμοσωμάτων (2n=46) (Klinkhardt et al. 1995) και η κοινή θέση στο άκρο της κεντρο-μερικής ζώνης στον κοντό βραχίονα ενός μονού υπομετακεντρικού ζεύγους (Caputo 1998).



Εικόνα 1.3: Καρυόγραμμα από μετάφαση ενός αρσενικού ατόμου του είδους *E. pygmaeus* από τη λίμνη Παμβώτιδα. Παρεμβάλλεται το ζεύγος 10 με χρώση AgNOR. Κλίμακα=10 μm (τροποποιημένο από Rampin et al. 2011).
Figure 1.3: Karyogram from a metaphase of a male individual of the species *E. pygmaeus* from lake Pamvotis. Inset Ag-NOR staining of pair 10. Bar=10 μm (modified by Rampin et al. 2011).

Μέχρι πρόσφατα, οι προσπάθειες διερεύνησης των σχέσεων των 'αμμογωβιών' με τη χρήση νουκλεοτιδικών αλληλουχιών περιορίζονταν σε ένα μικρό υποσύνολο των ειδών αυτής της ομάδας, προερχόμενο κυρίως από συστήματα της Δυτικής λεκάνης της Μεσογείου (Penzo et al. 1998). Η εικόνα αυτή άλλαξε την τελευταία δεκαετία με τις εργασίες των Huyse et al. (2004) και Vanhove et al. (2012), στις οποίες συμπεριελήφθηκαν περισσότερα συγγενικά είδη από διαφορετικές περιοχές της Μεσογείου. Οι μελέτες αυτές επιβεβαίωσαν τη μονοφυλετικότητα της ομάδας 'αμμογωβιοί', ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις αποσαφηνίστηκαν οι σχέσεις μεταξύ ορισμένων ειδών εντός της ομάδας. Από την άλλη πλευρά, οι παραπάνω μελέτες ανέδειξαν το πρόβλημα παραφυλετικότητας που υπάρχει στο γένος *Knipowitschia*, εξαιτίας της ομαδοποίησης του *Knipowitschia punctatissima* με το *Pomatoschistus canestrinii*.

Στο σημείο αυτό πρέπει να επισημανθεί ότι η απουσία των κεφαλικών καναλιών και η μειωμένη λέπωση (περιορισμένη στη στερνική και στην ουραία περιοχή) οδήγησε αρχικά τους Gandolfi et al. (1985) να κατατάξουν το είδος *K. punctatissima* στο γένος *Orsinigobius.* Ωστόσο περαιτέρω έρευνες αναγνώρισαν την ύπαρξη ενός αριθμού χαρακτήρων που ήταν κοινοί μεταξύ του είδους και του γένους *Knipowitschia*, δικαιολογώντας έτσι τη μορφολογική ομοιότητα του γένους *Orsinigobius* με το *Knipowitschia* (Economidis & Miller 1990, Penzo et al. 1998). Αυτό είχε ως αποτέλεσμα η απουσία των υποκόγχιων (suborbital) αισθητήριων οργάνων και των διαμηκών γραμμών να θεωρηθεί ως δευτερεύουσα απώλεια.

Το πρόβλημα με την αβέβαιη θέση που υπάρχει μέσα στα γένη *Knipowitschia* και *Pomatoschistus* οφείλεται σύμφωνα με την Huyse et al. (2004) στο γεγονός, ότι σε αυτές τις ομάδες σημειώθηκε πάρα πολύ γρήγορη ειδογένεση και διαφοροποίηση. Με τη διάνοιξη των στενών του Γιβραλτάρ (5,33 εκατ. χρ. πριν) και την επακόλουθη υπερχείλιση της λεκάνης της Μεσογείου, ο προγονικός πληθυσμός των *K. punctatissima* και *P. canestrinii* υπέστη πολύ γρήγορα διαφοροποίηση που οδήγησε στη δημιουργία του *K. punctatissima*, το οποίο διατήρησε την προτίμησή του στα εσωτερικά νερά, ενώ ο υπόλοιπος πληθυσμός οδηγήθηκε στη δημιουργία του ευρύαλου *P. canestrinii*, το οποίο προσαρμόστηκε στο θαλάσσιο περιβάλλον.

1.5. Παλαιογεωγραφία του Ελλαδικού χώρου

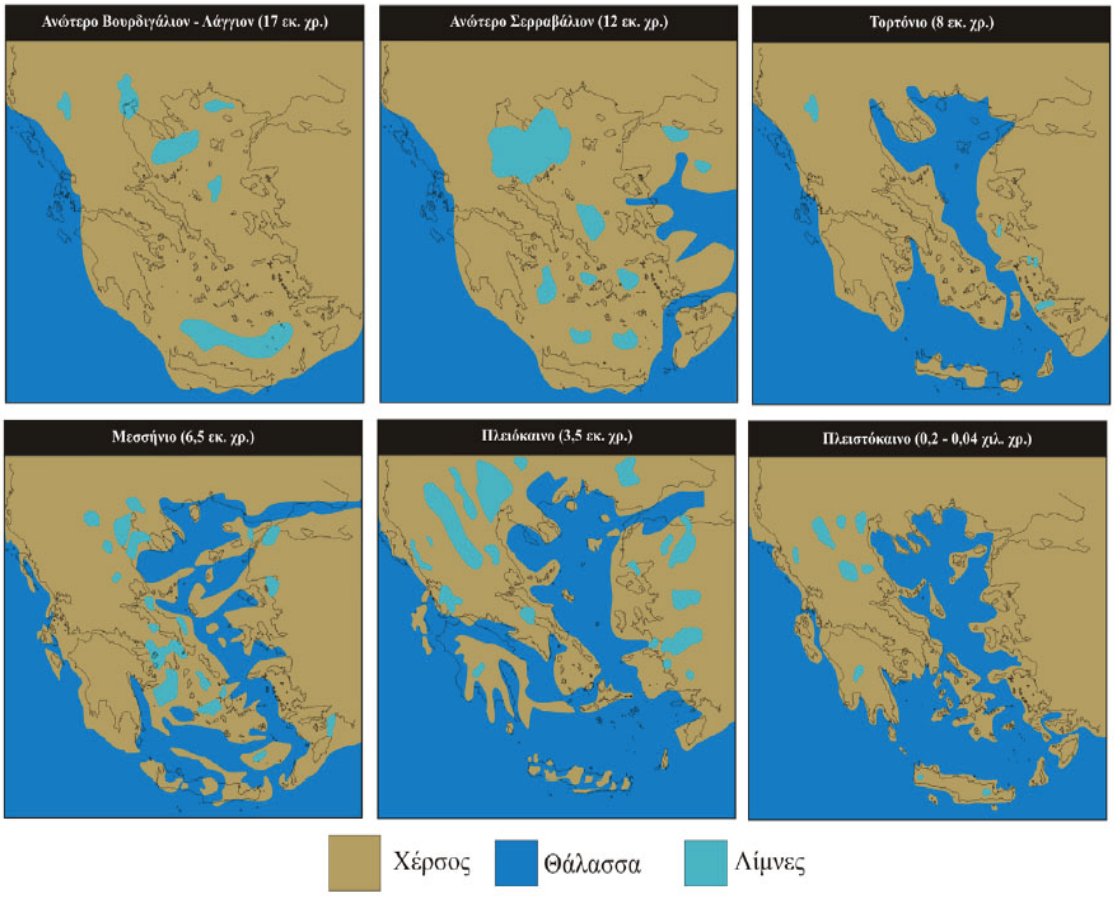
Η γεωδυναμική εξέλιξη της Μεσογείου καθορίστηκε κατά μεγάλο βαθμό από τη σύγκλιση της Ευρασιατικής και της Αφρικανικής πλάκας. Η συνολική σύγκλιση μπορεί να εκτιμηθεί σε 400-500 km στα δυτικά, ενώ στα ανατολικά φτάνει μέχρι και τα 1500 km. Η σύγκλιση αυτή έδωσε γένεση στις Άλπεις, αλλά και στο κλείσιμο της Τηθύος Θάλασσας (Krijgsman 2002).

Μέχρι σήμερα, έχουν δημοσιευτεί αρκετοί παλαιογεωγραφικοί χάρτες για τον ελληνικό χώρο, οι οποίοι, βασισμένοι στα διάφορα παλαιογεγονότα, προσπαθούν να αναπαραστήσουν όσο το δυνατόν ακριβέστερα τη γεωγραφία του ελληνικού χώρου κατά το παρελθόν (Creutzburg 1963, Dermitzakis & Papanikolaou 1981, Van Andel & Shackleton 1982, Steininger & Rögl 1984, Dermitzakis & Sondaar 1985, Dermitzakis 1990, Perissoratis & Conispoliatis 2003). Συνοπτικά, η παλαιογεωγραφική εξέλιξη του Αιγαίου κατά τη διάρκεια του ανώτερου Τριτογενούς και του Τεταρτογενούς (από 17 εκατ. χρ. ώς πριν από 40.000 χρόνια) μπορεί να περιγραφεί από μια σειρά παλαιογεωγραφικών χαρτών (Εικόνα 1.4).

Η ιστορία του Αιγαίου αρχίζει ουσιαστικά στα 12-11 εκατομμύρια χρόνια πριν από σήμερα, κατά το Μέσο Μειόκαινο. Την περίοδο εκείνη η Θάλασσα άρχισε να εισχωρεί στην ενιαία ως τότε μάζα της Αιγαιίδας, στο χώρο μεταξύ της σημερινής Κρήτης και της Κάσου-Καρπάθου προς το βορρά ώς την περιοχή του Βορείου Αιγαίου, σχηματίζοντας το φράγμα του Αιγαίου, ενώ σχεδόν παράλληλα άρχισε ισχυρή βύθιση στο χώρο της Κρητικής λεκάνης (Creutzburg 1963, Dermitzakis & Papanikolaou 1981). Αιτία της υποχώρησης αυτής ήταν η αύξηση της γωνίας υποβύθισης του πυθμένα της Τηθύος κάτω από την Αιγαιίδα (Meulenkamp et al. 1988).

Η διαδικασία αυτή συνεχιζόταν μέχρι τα τέλη του Μειοκαίνου και τις αρχές του Πλειοκαίνου (≈ 4 εκατ. χρ. πριν), σπρώχνοντας τα νότια τμήματα της Αιγαιίδας και το ηφαιστειακό τόξο προς το νότο (Creutzburg 1963, Dermitzakis & Papanikolaou 1981, Dermitzakis 1990, Ten Veen & Kleinspehn 2003).

Σε όλη τη διάρκεια του Ανώτερου Τορτονίου και πιθανά του Μεσσηνίου υπήρχε επικοινωνία μεταξύ της νεοσχηματιζόμενης Κρητικής λεκάνης και του Βόρειου Αιγαίου, χωρίς ωστόσο να αποκλείονται κάποιες γέφυρες ξηράς, τουλάχιστον στο χώρο του βόρειου Αιγαίου, μεταξύ Μικράς Ασίας και Ελλάδας (Dermitzakis & Papanikolaou 1981).



Εικόνα 1.4: Η παλαιογεωγραφική εξέλιξη του Αιγαίου από το ανώτερο Βουρδιγάλιο-Λάγγιο (17 εκατ. χρ. πριν) ώς το μέσο Πλειστόκαινο (800.000 χρ. πριν από σήμερα) (τροποποιημένο από Parmakelis et al. 2006).
Figure 1.4: Palaegeographical evolution of Aegean from Late Burdigalian-Langhian (17 Ma) to Middle Pleistocene (0.8 Ma) (modified by Parmakelis et al. 2006).

Στο τέλος του Μειοκαίνου (6-5,3 εκατ. χρ. πριν) συνέβησαν δύο άλλα σημαντικά γεγονότα που άλλαξαν τη μέχρι τότε σχετικά αδιατάρακτη εξέλιξη της περιοχής:

1. Ανατολικά του Αιγαίου, η Αραβική μικροπλάκα συγκρούστηκε με την πλάκα της Ανατολίας, η οποία άρχισε να κινείται προς τα δυτικά με ταχύτητα 25mm/yr και προκάλεσε την καμπύλωση του Αιγαίου (Westaway 1994, Doglioni et al. 2002).
2. Στα δυτικά η Μεσόγειος έκλεισε, εξαιτίας της σύγκρουσης της Αφρικανικής πλάκας με την Ευρασιατική, με αποτέλεσμα τη διακοπή της επικοινωνίας μεταξύ της Μεσογείου και του Ατλαντικού Ωκεανού. Έτσι, η Μεσόγειος μετατράπηκε σε κλειστή θάλασσα που άρχισε σταδιακά να αποξηραίνεται και να μετατρέπεται σε μια σειρά από αλμυρές λίμνες και αλμυρούς ερήμους, αυξάνοντας την έκταση των χερσαίων περιοχών και αλλάζοντας εκ νέου τη μορφή των χερσαίων συνδέσεων.

Το γεωλογικό αυτό γεγονός έγινε γνωστό ως 'κρίση της αλατότητας' του Μεσσηνίου (Lago Mare), η οποία δε διήρκεσε μεγάλο χρονικό διάστημα (Hsü 1972, Hsü et al. 1977).

Το κλίμα της 'κενής' πλέον μεσογειακής λεκάνης ήταν ξηρό και ζεστό και το περιβάλλον αυτό φαντάζει αφιλόξενο για την εποίκιση από τους διάφορους ζωικούς οργανισμούς. Όμως ένα δίκτυο 'οάσεων' με εσωτερικά νερά δημιουργήθηκε είτε από ποτάμια που εισέρρεαν στη λεκάνη, είτε από περιστασιακές βροχοπτώσεις (Hsü et al. 1977, Tsigenopoulos et al. 2003) και το οποίο χρησιμοποιήθηκε για τη διασπορά υδρόβιων οργανισμών (Tsigenopoulos et al. 2003). Σύμφωνα με τους Por & Dimentman (1985), έχουν βρεθεί απολιθώματα γωβιών καθώς και ειδών του γένους *Aphanius* που χρονολογούνται από την περίοδο του Μεσσηνίου. Περίπου 5,2 εκατ. χρόνια πριν από σήμερα, η επικοινωνία διαμέσου του Γιβραλτάρ αποκαταστάθηκε και η Μεσογειακή λεκάνη ξαναγέμισε με θαλασσινό νερό σε χρονικό διάστημα περίπου 1.000 ετών (Beerli et al. 1996, Krijgsman et al. 1999).

Κατά τη διάρκεια του Πλειοκαίνου και εξαιτίας των έντονων τεκτονικών φαινομένων, η περιοχή του Αιγαίου κατακερματίζεται και αλλάζει σημαντικά ως προς τη γεωγραφία της. Η Κρήτη απομονώνεται οριστικά από την Πελοπόννησο και τις άλλες ηπειρωτικές περιοχές. Ο Κορινθιακός δίαυλος χώρισε την Πελοπόννησο από την ηπειρωτική Ελλάδα (Dermitzakis 1989), ενώ τα Κύθηρα υποβυθίστηκαν και παρέμειναν σε αυτή τη θέση μέχρι το τέλος του Πλειόκαινου (Meulenkamp 1985). Η Κάρπαθος, αν και ήταν απομονωμένη κατά τη διάρκεια του Μειοκαίνου, φαίνεται να ενώθηκε με τη Ρόδο και την Ανατολία κατά τη διάρκεια του κατώτερου Πλειόκαινου. Η σύνδεση αυτή διατηρήθηκε μέχρι το Μέσο με Ανώτερο Πλειόκαινο (Daams & Van der Weerd 1980), οπότε και αποχωρίστηκε πλέον από τη Ρόδο.

Στο Πλειστόκαινο, η Κρήτη, η Κάρπαθος και η Ρόδος ήταν πλήρως απομονωμένα νησιά. Κατά τη διάρκεια του μέγιστου των παγετωδών περιόδων η στάθμη της θάλασσας ήταν 200 μέτρα χαμηλότερα από σήμερα (Beerli et al. 1996). Ωστόσο η θαλάσσια περιοχή μεταξύ Κρήτης και Κυκλάδων-Πελοποννήσου ήταν τόσο βαθιά που ήταν αδύνατο να υπήρχαν γέφυρες ξηράς, ώστε να είναι εφικτή η σύνδεση των εκατέρωθεν περιοχών (Schüle 1993). Αντίθετα, υπήρξαν σημαντικές συνδέσεις μεταξύ των νησιών των Κυκλάδων, ορισμένων νησιών των Δωδεκανήσων με τη Μικρά Ασία, των Κυθήρων με τα Αντικύθηρα, ενώ και η Πελοπόννησος συνδεόταν με τη Στερεά Ελλάδα (Perissoratis &

Conispoliatis 2003). Τέλος, στο Ολόκαινο, με το πέρας της τελευταίας παγετώδους περιόδου, η στάθμη της θάλασσας ανεβαίνει και η περιοχή του Αιγαίου αποκτά σταδιακά τη σημερινή της γεωγραφία. Τα νησιά του Ανατολικού Αιγαίου αποχωρίζονται από τη Μικρά Ασία, τα νησιά των Κυκλάδων απομονώνονται το ένα από το άλλο και, αντίστοιχα, τα νησιά του Αργοσαρωνικού από την Πελοπόννησο και την Αττική.

Το γεγονός ότι η Μεσόγειος είναι μια σχεδόν κλειστή θάλασσα, σε συνδυασμό με τη γεωγραφική θέση που κατέχει (γεωγραφικό πλάτος), την καθιστά ιδιαίτερα ευαίσθητη στην καταγραφή γεωλογικών γεγονότων και κλιματικών διακυμάνσεων (Krijgsman 2002). Υπάρχει γενική συμφωνία μεταξύ των επιστημόνων ότι κατά τη διάρκεια του ανώτερου Μειοκαίνου (12-5 εκατ. χρ. πριν), το κλίμα στη μεσογειακή λεκάνη ήταν υγρό και ζεστό, τροπικό ή υποτροπικό. Η βλάστηση ήταν πυκνή, μικτού μεσοφυτικού χαρακτήρα, όπως το κλίμα και η βλάστηση που επικρατούν σήμερα στη νοτιοανατολική Ασία. Κατά το Πλειόκαινο, καθώς το κλίμα άλλαζε σταδιακά από υγρό προς ξηρό, η βλάστηση εμπλουτίστηκε και με Αρκτο-Τριτογενή στοιχεία (Venitzelos & Gregor 1990). Ουσιαστικά, το τυπικό μεσογειακό κλίμα με τους ήπιους και υγρούς χειμώνες και τα ξηρά καλοκαίρια αναπτύχθηκε τα 3 τελευταία εκατομμύρια χρόνια (Dallman 1998).

Τα τελευταία 3 εκατομμύρια χρόνια έχουν καταγραφεί περίπου 30 παγετώδεις περίοδοι, κατά τη διάρκεια των οποίων οι πάγοι κάλυπταν το μεγαλύτερο μέρος της βόρειας Αμερικής και της Ευρασίας (Van Andel 1994). Οι παγετώδεις περίοδοι είχαν περιοδικότητα της τάξης των 100.000 χρόνων με τις μεσοπαγετώδεις φάσεις να διαρκούν περίπου 10.000 χρόνια. Αν και οι σημερινές περιοχές που έχουν μεσογειακό κλίμα δεν καλύφτηκαν από πάγους, η μέση θερμοκρασία τους, όπως ήταν αναμενόμενο, μειώθηκε από 2 ώς 7 ^{o}C (Dallman 1998). Οι κλιματικές διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια του Πλειστοκαίνου άλλαζαν την επικράτηση της βλάστησης από φυλλοβόλα δάση βελανιδιάς, κατά τη διάρκεια των παγετωδών περιόδων, σε κωνοφόρα, μακί και φρύγανα κατά τη διάρκεια των μεσοπαγετωδών περιόδων (Mylonas 1999).

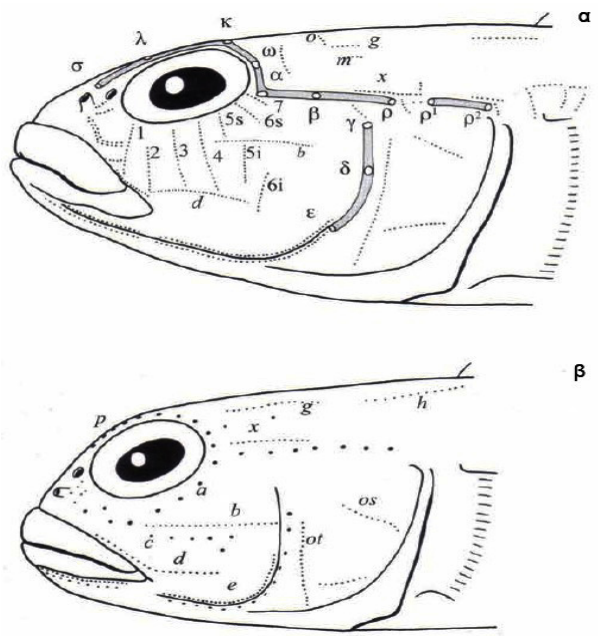
Εκτός όμως από τις έντονες διακυμάνσεις, εξαιτίας των παγετωδών και μεσοπαγετωδών περιόδων, ένα άλλο γεγονός επηρέασε σημαντικά πολλούς ζωικούς οργανισμούς. Αυτό ήταν η στρωματοποίηση των νερών της Μεσογείου που έλαβε χώρα αρκετές φορές κατά το Πλειστόκαινο, αλλά και το Ολόκαινο. Υπήρξαν περίοδοι κατά τις οποίες στην Ανατολική Μεσόγειο υπήρχε επιφανειακά ένα στρώμα νερού ή έστω ένα επιφανειακό στρώμα πολύ χαμηλής αλατότητας (Por 1989, Rossignol-Strick 1985, Cramp & O'Sullivan 1999, Geraga et al. 2005). Αυτό προκλήθηκε εξαιτίας των μεγάλων εισροών

γλυκού νερού στη Μεσόγειο είτε από το λιώσιμο των πάγων κατά τις μεσοπαγετώδεις περιόδους (Por 1989, Cramp & O'Sullivan 1999, Nijenhuis 1999, Kallel et al. 2000, Geraga et al. 2005), είτε ένεκα της υπερβολικής ροής του Νείλου την εποχή των Μουσώνων (Por 1989, Rossignol-Strick 1985, Cramp & O'Sullivan 1999, Nijenhuis 1999, Kallel et al. 2000, Krom et al. 2002, Geraga et al. 2005). Οι ισχυροί μουσώνες στην Αφρική, θεωρείται ότι αποτελούν άμεση απόκριση στους αστρονομικούς παράγοντες που καθορίζουν την τροχιά της Γης και την έκθεσή της στον ήλιο (Rossignol-Strick 1985, Krijgsman 2002).

1.6. Διαγνωστικά χαρακτηριστικά της ομάδας 'αμμογωβιοί'

Η ταξινόμηση των γωβιών βασίζεται εξ' ολοκλήρου στην παραδοσιακή εξέταση των μορφολογικών χαρακτήρων πάνω σε διατηρημένο υλικό και ένα τέτοιο χαρακτηριστικό γνώρισμα, το τροποποιημένο σύστημα πλευρικής γραμμής που υπάρχει στην κεφαλή, αποτελεί σημαντικό εργαλείο στη διάκριση γενών και ειδών (Miller 1986). Το σύστημα της πλευρικής γραμμής είναι απολήξεις μιας σειράς από μικρά βλεννώδη κανάλια που ονομάζονται πόροι και αποτελούν αισθητήρια όργανα. Η συντριπτική πλειονότητα των γωβιών έχει το σύστημα της πλευρικής γραμμής περιορισμένο στα κεφαλικά κανάλια (head canal pores), στην καλύτερη περίπτωση απλώς σε σειρές στην οφθαλμική περιοχή (oculoscapular) και στο προεπικαλυμματικό (preopercular), με την έκθεση των αισθητήριων οργάνων (sensory papillae) σε διάφορες γραμμές πάνω από την κεφαλή και το σώμα (Sanzo 1911, Te Winkel 1935, Aurich 1939, Harry 1948, Sato, 1954, 1957 Afzelius, 1956 Takagi 1957). Η χρήση στερεοσκοπίου είναι απαραίτητη για την εξέταση των πόρων και των αισθητήριων οργάνων. Στην καλύτερη παρατήρησή τους βοηθάει ο πλάγιος φωτισμός. Η ανάγνωση των κεφαλικών καναλιών και των αισθητήριων οργάνων γίνεται σύμφωνα με την ορολογία που πρότεινε ο Sanzo (1911).

Στις εικόνες 1.5α & β παρουσιάζεται η ορολογία και τα σύμβολα που χρησιμοποιούνται σε αυτό το σύστημα. Τα κανάλια σχηματίζουν κηλίδες και οι πόροι συμβολίζονται με ελληνικά γράμματα. Στην κεφαλή τα κανάλια αναπτύσσονται ποικιλοτρόπως. Στα είδη με τα περισσότερα αναπτυγμένα κανάλια υπάρχει ένα πρόσθιο οφθαλμικό (oculoscapular) κανάλι (από τους πόρους σ ώς ρ), ένα οπίσθιο οφθαλμικό (oculoscapular) κανάλι (από τους πόρους ρ1 ώς ρ2) και ένα προεπικαλυμματικό (preopercular) κανάλι (από τους πόρους γ ώς ε).



Εικόνα 1.5: Πλευρικό σύστημα στη περιοχή της κεφαλής των γωβιών (τροποποιημένο από Whitehead et al. 1986).
Figure 1.5: Cephalic lateral line system in Gobiidae (modified by Whitehead et al. 1986).

Μέρος ή σύνολο αυτών των καναλιών μπορεί να λείπει ή να διακόπτεται, και τα οπίσθια και πρόσθια οφθαλμικά (oculoscapular) κανάλια μπορεί να συνεχίζουν ή όχι. Τα πρόσθια οφθαλμικά (oculoscapular) κανάλια και των δύο πλευρών της κεφαλής μπορεί να διαχωρίζονται ή να ενώνονται στην ενδοκόγχια (interorbital) περιοχή. Το πρόσθιο οφθαλμικό (oculoscapular) κανάλι διαιρείται σε περικόγχιο (circumorbital) και μετακόγχιο (postorbital) τμήμα. Τα αισθητήρια όργανα είναι τοποθετημένα είτε σε κάθετες γραμμές (συμβολίζονται με αριθμούς στην Εικόνα 1.5α) ή σε διαμήκεις γραμμές (συμβολίζονται με γράμματα στην Εικόνα 1.5β).

1.7 Συστηματική κατάταξη της ομάδας 'αμμογωβιοί'

Οι γωβιοί εμφανίζονται να αποτελούν μέρος 3 κύριων πανιδικών συναθροίσεων (Μεσογειακή, Ποντο-Κασπική και Δυτικο-Βαλκανική), οι οποίες συνεισφέρουν σημαντικά στη μελέτη των ψαριών των εσωτερικών υδάτων της Μεσογείου (Miller 1990). Η συστηματική κατάταξη των γωβιών των εσωτερικών υδάτων ήταν αρκετά περίπλοκη στο παρελθόν, αλλά τελευταία έχει γίνει αρκετή πρόοδος για την καλύτερη κατανόηση των σχέσεων και την εξελικτική ιστορία τους (Economidis & Miller, 1990, Bianco & Miller, 1990, Penzo et al. 1998, Huyse et al. 2004, Vanhove et al. 2012). Η συστηματική

κατάταξη των Μεσογειακών ειδών της ομάδας ‘αμμογωβιοί’ έχει ως εξής (Miller 1986, 2004):

Φύλο	Chordota
Κλάση	Osteichthyes
Υποκλάση	Actinopterygii
Τάξη	Perciformes
Υποτάξη	Gobioidei
Οικογένεια	Gobiidae
Υποοικογένεια	Gobiinae
Γένη	*Pomatoschistus* Gill 1863
	Knipowitschia Ilin 1863
	Economidichthys Bianco, Bullock, Miller & Roubal, 1987

1.7.1 Γένος *Pomatoschistus* Gill, 1863

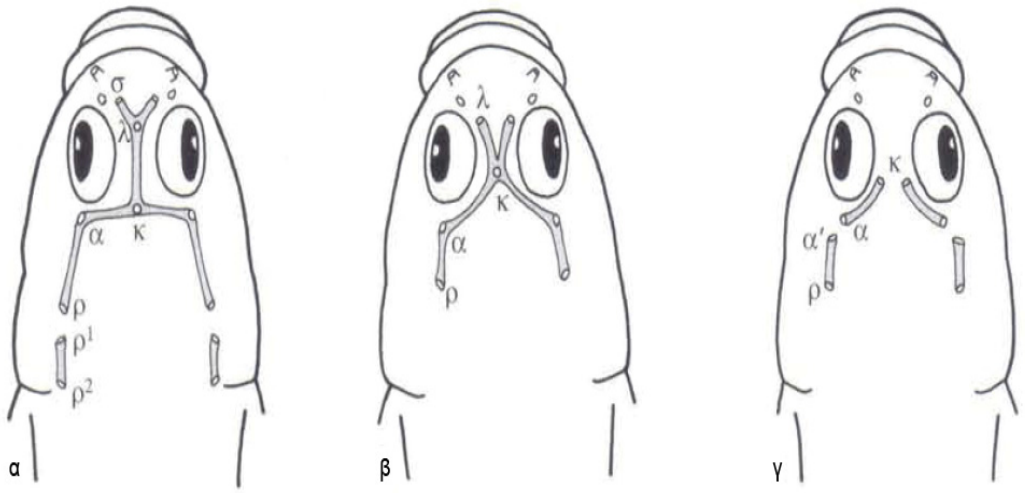
Το γένος *Pomatoschistus* συμπεριλαμβάνει 12 είδη, τα περισσότερα των οποίων είναι θαλάσσια. Υπάρχουν μόνο 5 είδη που απαντώνται σε οικοσυστήματα υφάλμυρων και εσωτερικών υδάτων (Πίνακας 1.2). Από αυτά, το *P. microps* κατανέμεται γεωγραφικά στον Ατλαντικό Ωκεανό, συμπεριλαμβανομένης της Μεσογείου Θάλασσας, και σε τμήμα της δυτικής Βαλτικής Θάλασσας, το *P. minutus* (Pallas 1770) είναι διαδεδομένο σε όλη τη Μεσόγειο, το *P. canestrinii* (Ninni 1883) είναι ενδημικό της Αδριατικής λεκάνης, ενώ το *P. marmoratus* (Risso 1890) εξαπλώνεται σε όλη τη λεκάνη της Μεσογείου ώς την Αζοφική Θάλασσα (Εικόνα 1.6). Επιπλέον, υπάρχει ακόμα ένα είδος του γένους *Pomatoschistus* αποκλειστικά των εσωτερικών υδάτων στην Ευρώπη, το *P. montenegrensis* (Miller & Šanda 2008), το οποίο είναι ενδημικό της λίμνης Skadar στο Μαυροβούνιο και την Αλβανία.

Σε όλα τα είδη του γένους *Pomatoschistus* υπάρχει ολοκληρωμένο σύστημα πλευρικής γραμμής στη κεφαλή και πλήρη κάλυψη του σώματός τους από λέπια (Miller 2004). Η αναγνώριση του Ατλαντικο-Μεσογειακού γένους γίνεται με τη βοήθεια των παρακάτω μορφολογικών χαρακτηριστικών: (1) διατήρηση του μεσαίου ενδοκόγχιου οφθαλμικού (oculoscapular) καναλιού (μονός πόρος *λ*) (Εικόνα 1.7α), (2) συνεχής λέπωση κατά μήκος των πλευρών του σώματος και (3) ακανθώδεις ακτίνες του πρώτου ραχιαίου πτερυγίου VI ή VII (Miller 1986).

Εικόνα 1.6: Κατανομή των ειδών της ομάδας 'αμμογωβιοί' στην Ελλάδα βασισμένη σε βιβλιογραφικές αναφορές (Economidis & Miller 1990, Ahnelt 1995, Ahnelt et al. 1995, Economou et al. 1999, Miller 2004, Kottelat & Freyhof 2007, Koutrakis & Tsikliras 2009, Vanhove et al. 2012, Προσωπικές παρατηρήσεις).
●*E. pygmaeus*,●*E trichonis*,●*K. caucasica*,●*K. thessala*,●*K. milleri*,●*K. panizzae*,
●*P. minutus*,●*P. marmoratus*.

Figure 1.6: Distribution of 'sand gobies' in Greece based on references (Economidis & Miller 1990, Ahnelt 1995, Ahnelt et al. 1995, Economou et al. 1999, Miller 2004, Kottelat & Freyhof 2007, Koutrakis & Tsikliras 2009, Vanhove et al. 2012, Personal observations).
●*E. pygmaeus*,●*E trichonis*,●*K. caucasica*,●*K. thessala*,●*K. milleri*,●*K. panizzae*,
●*P. minutus*,●*P. marmoratus*.

Η διάκριση των ειδών του γένους *Pomatoschistus* αποτελεί ένα δύσκολο πρόβλημα της συστηματικής μέχρι και σήμερα. Αρκετοί ερευνητές έχουν ασχοληθεί με το 'σύμπλεγμα *P. minutus*' (Webb & Miller 1975), το οποίο περιλαμβάνει το είδος *P. minutus* και άλλα δύο στενά συγγενικά είδη, το *Pomatoschistus lozanoi* (De Buen 1923) και *Pomatoschistus norvegicus* (Collett 1903) (Webb 1980, Gibson & Ezzi 1981). Σύμφωνα με τον Simonovic (1999), η καταγωγή του γένους *Pomatoschistus* εντοπίζεται εντός της Μεσογειακής λεκάνης ένεκα των απολιθωμάτων γωβιών που έχουν βρεθεί. Γνωρίζοντας ότι το *P. minutus* έχει προέλευση από τη Μεσόγειο Θάλασσα, οι Gysels et al. (2004) θεώρησαν ότι οι πρώτοι πληθυσμοί του *P. minutus* που είχαν απομονωθεί στην Αδριατική θάλασσα ακολούθησαν ανεξάρτητη εξελικτική πορεία. Οι ίδιοι συγγραφείς υποστήριξαν ότι ταυτόχρονα άλλοι πληθυσμοί του 'συμπλέγματος *P. minutus*' προκάλεσαν τη δημιουργία των 3 ειδών, *P. minutus, P. lozanoi* και *P. norvegicus*. Αυτό πρέπει να συνέβη με την πτώση του επιπέδου της θάλασσας κατά το Πλειόκαινο ή Πλειστόκαινο όταν οι πληθυσμοί ήταν απομονωμένοι σε διάφορες λεκάνες. Με την αποκατάσταση της σύνδεσης με τον Ατλαντικό Ωκεανό οι πληθυσμοί του 'συμπλέγματος *P. minutus*' μπόρεσαν να διασκορπιστούν στον Ατλαντικό Ωκεανό.



Εικόνα 1.7: Τελείωμα του πρόσθιου οφθαλμικού καναλιού: α, στο ρύγχος (πόρος *σ*) σε είδη *Pomatoschistus*, β, μπροστά από το μέσο των ματιών (πόρος *λ*) σε κάποια είδη *Knipowitschia*, γ, πίσω από το μέσο των ματιών (πόρος *κ*) σε κάποια είδη *Knipowitschia* (τροποποιημένο από Kottelat & Freyhof 2007).
Figure 1.7: Anterior oculoscapular canal ending: a, on snout (pore *σ*) in *Pomatoschistus* species, b, in front of middle of eye (pore *λ*) in some *Knipowitschia* species, c, behind middle of eye (pores *κ*) in some *Knipowitschia* species (modified by Kottelat & Freyhof 2007).

Το είδος *P. minutus* έχει αναφερθεί από το Βόρειο-Ανατολικό Ατλαντικό, τη Βαλτική και τη Μαύρη Θάλασσα. Στην περιοχή του Ατλαντικού, η κατανομή του εκτείνεται από το Tromsø (Νορβηγία) (Johnsen 1936) και τις Νησους Φαιρόες (Taning 1940), στη Βρετάνη και τη Βορειοδυτική Ισπανία (Dunker 1928). Στη Βαλτική Θάλασσα, το *P. minutus* έχει καταγραφεί από το νότιο κόλπο της Βοθνίας και τον Κόλπο της Φινλανδίας (Lawacz 1965, Tanasichuk & Trauberg 1966). Στη Μεσόγειο, το *P. minutus* εξαπλώνεται στη νότια ακτή της Ισπανίας (De Buen 1923, De Sostoa & De Sostoa 1979), κατά μήκος της ακτής κοντά στο Λιβόρνο (Ιταλία) (Stefanni 2000) και στην Αδριατική (Cavinato 1952, Kovačić 1994), ενώ έχει αναφερθεί από τη Μαύρη Θάλασσα (Slastenenko 1939) και την Αζοφική Θάλασσα (Pinchuk & Savchuk, 1982) (Εικόνα 1.6).

Αντίθετα, η γεωγραφική κατανομή του *P. lozanoi* περιορίζεται στο βόρειο τμήμα της Ευρώπης, στη Βόρεια Θάλασσα, γύρω από τις Βρετανικές Νήσους, την Ιρλανδία, και πιο νότια στις ακτές του Ατλαντικού στην Ισπανία και την Πορτογαλία (Miller 1986). Το *P. norvegicus* έχει καταγραφεί στον Ανατολικό Ατλαντικό, από τη Νορβηγία ώς το κανάλι της Μάγχης, ενώ η παρουσία του στη λεκάνη της Βαλτικής θεωρείται αμφίβολη (Collett 1903, Duncker 1928). Ωστόσο αυτό το είδος επεκτείνεται στη Μεσόγειο (De Buen 1923, Fage, 1918), στην Αδριατική (Stefanni, 2000) και στο Αιγαίο (Fage 1918).

Τα τρία είδη διαφέρουν ως προς το μέγεθος. Τα ενήλικα *P. minutus* είναι μεγαλύτερα (φτάνουν μέχρι και 9,5 cm σε συνολικό μήκος), ακολουθούμενα από το *P. lozanoi* (8 cm) και *P. norvegicus* (6,5 cm) (Miller 1986). Ο γαμήλιος χρωματισμός στα αρσενικά είναι επίσης χαρακτηριστικός: στο *P. minutus*, τα αρσενικά φέρουν 4 κάθετες πλευρικές μπάρες, στο *P. lozanoi* υπάρχουν 7-9 κάθετες σκούρες ραβδώσεις και στα αρσενικά του *P. norvegicus* οι ραβδώσεις κυμαίνονται από 10 ώς 12.

Αρκετοί μεριστικοί χαρακτήρες έχουν χρησιμοποιηθεί στη διάκριση των τριών ειδών, αν και συχνά επικαλύπτονται (Webb 1980, Miller 1986). Ο αριθμός σπονδύλων στο *P. minutus* είναι γενικά 33, και κυμαίνεται μεταξύ 32-34. Στα *P. lozanoi* και *P. norvegicus* ο συχνότερος αριθμός σπονδύλων είναι 32 και κυμαίνεται από 30 ώς 33. Οι ακτίνες στο δεύτερο ραχιαίο πτερύγιο του *P. minutus* και *P. lozanoi* κυμαίνονται από I/10 ώς I/12 αντίστοιχα ενώ για το *P. norvegicus* από I/8 ώς I/11. Παρομοίως, για το εδρικό πτερύγιο, ο αριθμός των ακτίνων κυμαίνεται μεταξύ I/9 ώς I/12 στο *P. minutus*, I/10 ώς I/12 στο *P. lozanoi* και I/8 ώς I/11 για το *P. norvegicus*. Στα θωρακικά πτερύγια οι ακτίνες κυμαίνονται από 18 ώς 21 τόσο στο *P. minutus* όσο και στο *P. lozanoi*, ενώ στο *P. norvegicus* υπάρχουν λιγότερες (16-18). Επίσης, τα είδη του 'συμπλέγματος *P. minutus*'

διαφέρουν στον αριθμό των χρωμοσωμάτων (2n=46 στο *P. minutus*, 2n=37 στο *P. lozanoi* και 2n=32 στο *P. norvegicus*) (Webb 1980).

Οι πρώτες περιγραφές των αισθητηριακών οργάνων στο *P. minutus, P. lozanoi* και *P. norvegicus* έγιναν από τους Fage (1914) και De Buen (1923). Τα ειδοδιαγνωστικά κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την αναγνώριση του *P. minutus* ήταν:

- παρουσία εγκάρσιας σειράς *a* γύρω από την κόγχη,
- αρκετές εγκάρσιες γραμμές *c* (9-12) κάτω από τον οφθαλμό,
- μια εγκάρσια γραμμή *cp* ξεκινάει κάτω από την επιμήκη σειρά *b*,
- το πρόσθιο και οπίσθιο οφθαλμικά (oculoscapular) και προεπικαλυματικό (preopercular) κανάλια εκτείνονται ώς το ρύγχος,
- κεφαλή και αυχένας είναι γυμνοί, ενώ η προραχιαία περιοχή καλύπτεται μερικώς με λέπια,
- ο ουραίος μίσχος είναι λεπτός και το ουραίο πτερύγιο είναι κοντό.

Στο γένος *Pomatoschistus* περιλαμβάνεται το είδος *P. canestrinii* το οποίο είναι ενδημικό στις Αδριατικές ακτές με την κατανομή του να εξαπλώνεται από το δέλτα του ποταμού Ρο στην Ιταλία ως τη λεκάνη του ποταμού Neretva στη Κροατία (Kovačić 2005). Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που το διακρίνουν από τους υπόλοιπους γωβιούς του γένους *Pomatoschistus* είναι τα περιορισμένα κεφαλικά κανάλια ή η πλήρης απώλειά τους και η πλήρης κάλυψη του ουραίου μίσχου από λέπια. Σύμφωνα με τον Miller (1986) το είδος είναι συναπομορφικό[3] με τα *Pomatoschistus bathi* (Miller 1982), *Pomatoschistus microps* και *Pomatoschistus tortonesei* (Miller 1969) εξαιτίας της απουσίας του πόρου *ω* από το πρόσθιο οφθαλμικό (oculoscapular) κανάλι, ενός πόρου που λείπει και από τα κεφαλικά κανάλια των *Knipowitschia*. Ο Miller (2004) παρατήρησε αυτό το κοινό στοιχείο των μειωμένων καναλιών και δήλωσε ότι το *P. canestrinii* θα μπορούσε να είναι 'αδελφή ομάδα' με το σύμπλεγμα των ειδών *Knipowitschia* από την Αδριατική, το Αιγαίο και την Ποντο-Κασπική λεκάνη. Η διαφοροποίηση του *P. canestrinii* πιθανώς προέκυψε από τα γεωλογικά γεγονότα του Τεταρτογενούς στην Αδριατική λεκάνη τα οποία έπαιξαν σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό των ενδημικών πληθυσμών των εσωτερικών υδάτων του γένους *Knipowitschia* και ενός άλλου γωβιού του *Padogobius* (Bianco & Miller 1990) (βλέπε Γένος *Knipowitschia*).

[3] Συναπομορφία ή συναπομορφικός χαρακτήρας είναι ένα χαρακτηριστικό που μοιράζονται 2 ή περισσότερα είδη και ο πρόσφατος κοινός τους πρόγονος, του οποίου ο δικός του πρόγονος με τη σειρά του δε διαθέτει το χαρακτηριστικό.

Το είδος *P. marmoratus* απαντάται στις δυτικές ακτές του Ατλαντικού, στη Μεσόγειο, στη Μαύρη Θάλασσα, την Αζοφική Θάλασσα και τη Διώρυγα του Σουέζ (Miller 1986). Η παρουσία του στην Ελλάδα έχει αναφερθεί από τη λιμνοθάλασσα του Πόρτο Λάγος (Koutrakis et al. 2005), τα εκβολικά συστήματα των ποταμών Στρυμόνα και Ρήχιου (Koutrakis & Tsikliras 2003), τη λιμνοθάλασσα της Δράνας (Koutrakis et al. 2009) και αρκετές ακτές του Αιγαίου Πελάγους (Economidis 1973, Papaconstantinou 1988) (Εικόνα 1.6).

Τα άτομα του είδους εμφανίζουν 'μαρμαρώδεις' χρωματισμούς που τους βοηθάνε στην απόκρυψη από τους θηρευτές τους. Σε σχέση με τους υπόλοιπους γωβιούς του γένους *Pomatoschistus* η κεφαλή είναι συγκριτικά πιο μικρή, ενώ το ενδοκόγχιο (interorbital) διάστημα είναι μικρότερο από τη διάμετρο των οφθαλμών. Ο κοιλιακός δίσκος είναι αρκετά μακρύς και αγγίζει ή σε ορισμένες περιπτώσεις καλύπτει την έδρα. Το στήθος είναι καλυμμένο με λέπια, ενώ το οπίσθιο τμήμα του είναι μερικώς καλυμμένο ή υπάρχει απουσία λεπιών. Η προραχιαία περιοχή μέχρι το πρώτο ραχιαίο πτερύγιο είναι χωρίς λέπια. Η περιοχή της κοιλιάς είναι επίσης γυμνή στο μέσον της, από τη βάση του κοιλιακού δίσκου μέχρι το εδρικό πτερύγιο (Apostolou et al. 2011).

Η βιογεωγραφική ιστορία του είδους είναι επίσης περίπλοκη. Υπάρχει ένας σημαντικός διαχωρισμός στις κατανομές του *P. marmoratus* ανάμεσα σε αντιπροσώπους του από τη Δυτική και Ανατολική λεκάνη της Μεσογείου (Bianchi & Morri 2000). Οι Mejri et al (2011) έδειξαν ότι το φυλογενετικό πρότυπο του είδους εξηγείται από μια σειρά γεγονότων που ξεκίνησαν με την υπερχείλιση της Μεσογείου, η οποία έβαλε τέλος στην 'κρίση της αλατότητας' του Μεσσηνίου (Huyse et al. 2004). Συγκεκριμένα, υποστήριξαν ότι η διαφοροποίηση του *P. marmoratus* είναι αποτέλεσμα ιστορικών (μεταπτώσεις του επιπέδου της θάλασσας) και περιβαλλοντικών (υδρογραφικό καθεστώς) διεργασιών .

1.7.2 Γένος *Knipowitschia* Ilin, 1863

Το γένος *Knipowitschia* αριθμεί 18 αναγνωρισμένα είδη, τα οποία κατανέμονται στην Αδριατική Θάλασσα, στο Ιόνιο Πέλαγος, Αιγαίο Πέλαγος και στις λεκάνες της Μαύρης και Κασπίας Θάλασσας (Εικόνα 1.8). Μόνο το είδος *K. iljini* (Berg 1931), είναι 'αποκλειστικά' θαλάσσιο και εντοπίζεται στην Κασπία Θάλασσα. Το γένος *Knipowitschia* απαντά στον ελλαδικό χώρο με τέσσερα είδη: *K. caucasica* (Berg 1916), *K. panizzae* (Verga 1841), *K. thessala* (Vinciguerra 1921) και *K. milleri* (Ahnelt & Bianco 1990).

Το *K. caucasica* είναι το μόνο είδος του γένους *Knipowitschia* που κατανέμεται

στις περιοχές της Μεσογείου και της Ποντο-Κασπίας. Η περιοχή εξάπλωσής του περιλαμβάνει την Ποντο-Κασπική λεκάνη (Κασπία Θάλασσα, Αζοφική Θάλασσα, Μαύρη Θάλασσα, λίμνη Αράλη) (Baimov 1963) και εκτείνεται στην Ανατολία (λίμνες Manyas και Sapanca,) (Sozer 1941, Ladiges 1964) και τις ακτές της Αδριατικής (λίμνες Prokljan, Vransko, ποταμός Cetina) (Kovačić & Palaoro 2003). Στην Ελλάδα το είδος έχει αναφερθεί στους ποταμούς Αλιάκμονα, Νέστο (Economidis et al. 1981), Ρήχιο (Economidis & Sinis 1982), Στρυμόνα (Economidis & Miller 1990), τις λίμνες Βόλβη (Economidis & Sinis 1982), Βιστωνίδα (Οικονομίδης 1973, 1974), Τριχωνίδα (Economidis & Miller 1990), Ozερό (Οικονόμου κ.α. 1999, 2001) και Παμβώτιδα (Economidis et al. 2000), καθώς και τη λιμνοθάλασσα της Δράνας (Koutrakis et al. 2009) (Εικόνες 1.6, 1.8).

Όσον αφορα τη γεωγραφική καταγωγή των υπόλοιπων ειδών, το *K. panizzae* παρουσιάζει σποραδική εξάπλωση στην Ιταλία, τη Σλοβενία και την Κροατία, ενώ έχει αναφερθεί και από τον Εύηνο (Ahnelt & Bianco 1990, Vanhove et al. 2012). Το *K. thessala* είναι ενδημικό στο σύστημα του Θεσσαλικού Πηνειού και της Κάρλας (Θεσσαλία) ενώ το *K. milleri* είναι ενδημικό του κάτω ρου του ποταμού Αχέροντα (Ήπειρος) και συγκεκριμένα των καρστικών πηγών Βορειο-Δυτικά του χωριού Αμμουδιά. (Economidis & Miller 1990, Ahnelt & Bianco 1990, Οικονομίδης & Χριστοπολίτου 2009) (Εικόνες 1.6, 1.8).

Στο γένος *Knipowitschia* υπάρχει μια ομάδα ειδών με πλήρη λέπωση κατά μήκος της πλευρικής γραμμής μέχρι τη βάση του ουραίου πτερυγίου και παρουσία πλήρες ή σχεδόν πλήρες συστήματος πλευρικής γραμμής στην κεφαλή (*K. bergi, K. cameliae, K. caucasica, K. goerneri, K. iljini, K. longecaudata* και *K. panizzae*) (Miller 2004). Όλα αυτά τα ευρύαλα είδη εντοπίζονται σε λιμνοθάλασσες και εκβολικά ποτάμια. Μια δεύτερη ομάδα ειδών χαρακτηρίζεται από ελλιπή ή ανύπαρκτη λέπωση κατά μήκος της πλευρικής γραμμής ή/και έλλειψη ή απουσία συστήματος πλευρικής γραμμής στην κεφαλή (*K. croatica, K. ephesi, K. mermere, K. milleri, K. punctatissima* και *K. thessala*) (Miller 2004). Αυτά τα είδη περιορίζονται σε ενδιαιτήματα εσωτερικών υδάτων (Stelbrink & Freyhof 2006).

Η διάκριση του Ποντο-Κασπικού γένους *Knipowitschia* γίνεται με τα παρακάτω μορφολογικά χαρακτηριστικά: (1) η διακογχική (infraorbital) σειρά *α* περιλαμβάνει τουλάχιστον δύο εγκάρσιες γραμμές, (2) μια σειρά από αισθητήρια όργανα (papillae) φτάνει μέχρι το άνω όριο της κόγχης, όταν τα ενδοκογχικά (interorbital) κανάλια

απουσιάζουν και (3) μείωση ή απώλεια κεφαλικών καναλιών, παρουσία πρόσθιων και οπίσθιων οφθαλμικών (oculoscapular) και προεπικαλυμματικών (preopercular) καναλιών. Το πρόσθιο οφθαλμικό (oculoscapular) κανάλι δεν εκτείνεται ώς το ρύγχος (πόρος *σ*) και τα ενδοκογχικά (interorbital) κανάλια αποκλίνουν πριν το πόρο *κ* (δύο πόροι *λ*) (Εικόνα 1.7β,γ).

Εικόνα 1.8: Κατανομή των ειδών του γένους *Knipowitschia* στη λεκάνη της Μεσογείου (●*K. caucasica*, ●*K. milleri*, ●*K. thessala*, ●*K. goerneri*, ●*K. longecaudata*, ●*K. mermere*,●*K. ephesi*,●*K. byblisia*,○*K. caunosi*,●*K. panizzae*,●*K. punctatissima*, ●*K. radovici*, ●*K. mrakovcici*, ●*K. croatica*).
Figure 1.8: Distribution of *Knipowitschia* species in Mediterranean basin (●*K. caucasica*, ●*K. milleri*, ●*K. thessala*, ●*K. goerneri*, ●*K. longecaudata*, ●*K. mermere*,●*K. ephesi*,●*K. byblisia*,○*K. caunosi*,●*K. panizzae*,●*K. punctatissima*, ●*K. radovici*, ●*K. mrakovcici*, ●*K. croatica*).

Εξαιτίας του μικρού εύρους κατανομής, αρκετά είδη *Knipowitschia*, χρήζουν μέτρων προστασίας ένεκα του ότι βρίσκονται σε μικρά και ευπαθή οικοσυστήματα. Για παράδειγμα, η παρουσία του ενδημικού είδους *K. goerneri*, από την πηγή Γαρδίκι νοτιοδυτικά της λιμνοθάλασσας Κορισσιών στη Κέρκυρα, δεν έχει επιβεβαιωθεί από το 1983, ενώ το *K. cameliae* δεν έχει εντοπιστεί στο ενδιαίτημά του στη Ρουμανία από το

1994 (Stelbrink & Freyhof 2006, Οικονομίδης & Χριστοπολίτου 2009).

Η διάγνωση του *K. caucasica* γίνεται από (1) τα πρόσθια οφθαλμικά (oculoscapular) κανάλια που ενώνονται στο οπίσθιο ενδοκόγχιο (interorbital), με ένα πόρο *κ*, το ζεύγος των καναλιών στο ενδοκογχικό (interorbital) και το καθένα με ένα πόρο *λ* και μονό πόρο *α*, (2) τη μη παρουσία πρόσθετων πόρων στο οριζόντιο πρόσθιο οφθαλμικό (oculoscapular) κανάλι πίσω από τον οφθαλμό, (3) τις διαμήκεις συνεχείς σειρές λεπιών πλευρικά από τη στερνική περιοχή ώς τον ουραίο μίσχο και την παρουσία οπίσθιου οφθαλμικού (oculoscapular) καναλιού και του προεπικαλυμματικού (preopercular) καναλιού. Ο κορμός του είναι σχετικά συμπαγής σε εμφάνιση, πιο επιμήκης στα θηλυκά, το ρύγχος είναι αμβλύ και το ενδοκόγχιο (interorbital) διάστημα αντιστοιχεί στη μισή διάμετρο του οφθαλμού.

Σύμφωνα με τον Ahnelt (1995) το *K. caucasica* είναι το μόνο είδος μεταξύ των *Knipowitschia* με ανεπτυγμένο το σύστημα της πλευρικής γραμμής στη κεφαλή, διακριτό χρωματισμό και αναλογίες σώματος οι οποίες παρουσιάζουν ξεχωριστή διακύμανση. Τα προηγούμενα χαρακτηριστικά αποτελούν ένδειξη του υψηλού βαθμού προσαρμογής που έδωσε στο είδος τη δυνατότητα να καταλάβει διαφορετικά ενδιαιτήματα σε συγκριτικά μεγάλες περιοχές. Αυτή η προσαρμοστικότητα είναι ο κύριος λόγος που επέτρεψε στο *K. caucasica* την επιτυχή μετανάστευση στο Αιγαίο (Economidis & Miller 1990, Ahnelt et al. 1995).

Ο Bianco (1990) πρότεινε ότι ειδικά οι περιοχές του Βόρειου Αιγαίου και σε κάποιο βαθμό του Κεντρικού Αιγαίου πρέπει να επηρεάστηκαν δραματικά από την ευστατική[4] διακύμανση της στάθμης της θάλασσας κατά την τελευταία Βούρμια παγετώδη περίοδο (18.000 χρόνια πριν), με τη μείωση της στάθμης της θάλασσας να καταγράφεται περίπου στα 200 m. Κατά την τελευταία παγετώδη περίοδο, η υπερχείλιση με 'γλυκό νερό' και η διείσδυση της θάλασσας εναλλάχτηκαν αρκετές φορές. Το περιβάλλον των *Knipowitschia*, όλα τα είδη προσαρμοσμένα σε άναλα και υπόαλα ενδιαιτήματα, άλλαζε διαδοχικά γρήγορα. Αυτός πρέπει να είναι ο κύριος λόγος που τα 3 ενδημικά είδη της περιοχής του Αιγαίου (*K. thessala*: Βορειο-Ανατολική Ελλάδα, *K. mermere, K. ephesi*: Δυτική Ανατολία) περιορίστηκαν σε ενδιαιτήματα εσωτερικών υδάτων (Ahnelt 1995). Το

[4] Η ευστατική άνοδος της στάθμης της θάλασσας είναι η αλλαγή της θαλάσσιας στάθμης που σχετίζεται με τις παγκόσμιες αλλαγές και όχι με τοπικής σημασίας αλλαγές που παράγονται από τοπικές κινήσεις της ξηράς ή του θαλάσσιου βυθού. Η σχετική άνοδος της στάθμης της θάλασσας είναι ο συνδυασμός της ευστατικής ανόδου της στάθμης της θάλασσας και της κίνησης της γης και είναι μοναδική για κάθε θέση. Ο συνδυασμός των δύο διαδικασιών προσδιορίζει το ποσοστό της βύθισης σε κάθε παράκτια περιοχή.

αποτέλεσμα της ευστατικής διακύμανσης της στάθμης της θάλασσας διαμόρφωσε τη σύγχρονη παράκτια κατανομή των *Knipowitschia* στην Αδριατική και το Βόρειο Αιγαίο.

Η θεωρία της ειδογένεσης των *Knipowitschia* στη Μεσόγειο προϋποθέτει ότι η διαφοροποίηση των ενδημικών ειδών άρχισε λίγο πριν το τέλος της 'κρίσης της αλατότητας' του Μεσσηνίου (Ahnelt 1995, Ahnelt et al. 1995). Με εξαίρεση το *K. caucasica* τα υπόλοιπα είδη εμφάνισαν περιορισμένη κατανομή. Η μείωση των κεφαλικών καναλιών και η ελλιπής λέπωση των ενδημικών ειδών σχετίζεται με τη μείωση του μεγέθους του σώματος και οφείλονται σε επιλεκτικές πιέσεις για μικρά και περιορισμένα ενδιαιτήματα (Ahnelt 1995). Η ένταση αυτών των μειώσεων διαφέρει ανά είδος.

Για τα είδη του *Knipowitschia*, οι Economidis & Miller (1990) υποστήριξαν ότι η ατελής λέπωση μπορεί να είναι ένας παράγωγος χαρακτήρας που δείχνει ένα πρώιμο κλάδο που προήλθε από τη φάση του 'Lago Mare' στις αρχές του Πλειόκαινου στη Μεσόγειο. Η εμφάνιση όμως των ίδιων χαρακτηριστικών στο *P. canestrinii* φέρνει σε αμφιβολία τη χρησιμότητα της μειωμένης λέπωσης ως αξιόπιστου δείκτη για την κοινή καταγωγή των *Knipowitschia*. Πιθανώς αυτή η ομοπλασία[5] ενισχύεται περαιτέρω από το γεγονός ότι αυτή η κατάσταση συναντάται και σε κυπρινοειδή ψάρια των Δυτικών Βαλκανίων, όπως: το *Aulopyge huegeli*, όλα τα είδη του γένους *Phoxinellus* και σε μερικά είδη του *Delminichthys* (Ladiges & Vogt 1978, Šorić & Bănărescu 1999, Bogutskaya & Zupančič 2003, Freyhof et al. 2006). Έτσι, αυτές οι οντογενετικές αλλαγές μπορεί κάλλιστα να έχουν συμβεί ανεξάρτητα σε απομονωμένους πληθυσμούς των εσωτερικών υδάτων, ίσως ως μια συγκλίνουσα απάντηση στην ιδιαιτερότητα της ιοντικής ισχύς των καρστικών υδάτων (Miller & Šanda 2008). Είναι σημαντικό να αναφερθεί, επίσης, το γεγονός ότι και άλλοι Βαλκανικοί πληθυσμοί των 'αμμογωβιών' σε υφάλμυρα και εσωτερικά ύδατα που εκπροσωπούνται από είδη των *Knipowitschia* και *Economidichthys*, μοιράζονται την τάση για μειωμένο αριθμό κεφαλικών καναλιών και σε ορισμένες περιπτώσεις την πλήρη απώλεια (Miller, 2004).

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που διακρίνουν το *K. panizzae* είναι: (1) τα πρόσθια οφθαλμικά (oculoscapular) κανάλια ενωμένα στο οπίσθιο μέρος του ενδοκόγχιου (interorbital), με μονό πόρο *κ*, τα ζεύγη καναλιών εκτείνονται πρόσθια σε δύο πόρους *λ,* (2) μονός πόρος *α* χωρίς πρόσθετους πόρους στο οριζόντιο πρόσθιο οφθαλμικό

[5] Ομοπλασία είναι η κατάσταση κατά την οποία δύο ή περισσότερες ομάδες ζώων μπορεί να διαθέτουν παρόμοιους ή ταυτόσημους μορφολογικούς χαρακτήρες (φαινοτυπικά χαρακτηριστικά), τους οποίους δεν έχουν κληρονομήσει από κοινό πρόγονο.

(oculoscapular) κανάλι πίσω από τον οφθαλμό, (3) απουσία οπίσθιου οφθαλμικού (oculoscapular) καναλιού και (4) παρουσία προεπικαλυματικού (preopercular) καναλιού. Προηγούμενες μοριακές φυλογενετικές μελέτες για τους Μεσογειακούς γωβιούς των εσωτερικών υδάτων (Penzo et al. 1998, Huyse et al. 2004) υποστήριξαν, ότι το *K. panizzae* βρίσκεται πολύ κοντά στην προγονική μορφή των 'αμμογωβιών'. Παρ' όλα αυτά θεωρείται αρκετά δύσκολη η μορφολογική διάκριση του *K. panizzae* από το *K. caucasica* (Miller 1990, Kovačić 2008).

Με βάση την παρουσία των κεφαλικών καναλιών επιβεβαιώθηκε η διάκριση του *K. thessala* (Economidis & Miller 1990) από το *K. milleri* (Ahnelt & Bianco 1990). Τα βασικά μορφολογικά χαρακτηριστικά του *K. thessala* είναι: (1) τα πρόσθια οφθαλμικά (oculoscapular) κανάλια ενωμένα στο οπίσθιο μέρος του ενδοκόγχιου (intraorbital), με μονό πόρο *κ*, με κανάλια που εκτείνονται πρόσθια στο ενδοκόγχιο σε ζεύγη πόρων *λ,* (2) απουσία οπίσθιων οφθαλμικών (oculoscapular) καναλιών, (3) σε ορισμένες περιπτώσεις έχουν κοντό προεπικαλυμματικό (preopercular) κανάλι, με τερματικούς πόρους και (4) μονός πόρος *α* και χωρίς πρόσθετους πόρους στο οριζόντιο πρόσθιο οφθαλμικό (oculoscapular) κανάλι πίσω από τον οφθαλμό. Παρουσία λεπιών στη στερνική περιοχή και ορισμένα διάσπαρτα λέπια στη μέση του σώματος μέχρι το ουραίο πτερύγιο.

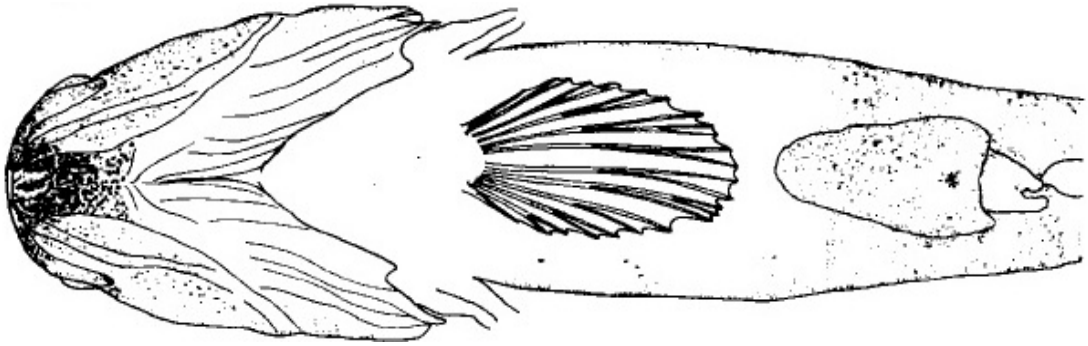
Τέλος, το είδος *K. milleri* ξεχωρίζει από τα υπόλοιπα *Knipowitschia* εξαιτίας της απουσίας των κεφαλικών καναλιών, του κοντού ζευγαριού διαμήκη σειρών (*ρ*) στο ενδοκόγχιο (intraorbital) και τις διαμήκεις συνεχείς σειρές λεπιών πλευρικά που αρχίζουν από τη στερνική περιοχή και καταλήγουν στο ουραίο πτερύγιο. Η κεφαλή, η προραχιαία περιοχή, η πίσω βάση του δεύτερου ραχιαίου πτερυγίου, το στήθος και η κοιλιά είναι γυμνά χωρίς λέπια. (Ahnelt & Bianco 1990).

1.7.3 Γένος *Economidichthys* Bianco, Bullock, Miller & Roubal, 1987

Το Δυτικο-Βαλκανικό γένος *Economidichthys* περιλαμβάνει δύο ενδημικά είδη: το *E. pygmaeus* (Holly 1929) και το *E. trichonis* (Economidis & Miller 1990) που θεωρείται το μικρότερο σπονδυλωτό ζώο της Ευρώπης (Economidis & Miller 1990, Miller 2004). Τα 2 είδη προέρχονται από τη βιογεωγραφική ζώνη του Ιονίου (Economou et al. 2007). Βασικό χαρακτηριστικό αυτής της περιοχής αποτελεί ο υψηλός βαθμός ενδημισμού και η παρουσία ειδών τα οποία κατέχουν αρχέγονη θέση σε διάφορες μοριακές αναλύσεις (Durand et al. 1999a, 1999b, Tsigenopoulos & Berrebi 2000, Tsigenopoulos et al. 2002). Το είδος *E. pygmaeus* είχε αναφερθεί για πρώτη φορά από τη νήσο Λευκάδα, τον ποταμό

Λούρο, τη λίμνη Τριχωνίδα και τη Βόνιτσα (Economidis & Miller 1990). Έπειτα, οι Νταουλάς κ.α. (2001), επεκτείνοντας τη γεωγραφική κατανομή του, το αναφέρουν από τα συστήματα του Ποταμού Αχελώου, των λιμνοθαλασσών Αιτωλικού και Μεσολογγίου, την περιοχή της Σαγιάδας καθώς επίσης και τις πηγές της Μπριάλας της Ηπείρου. Πρόσφατες μελέτες το έχουν καταγράψει στους ποταμούς Καλαμά και Άραχθο και τις λίμνες Ζηρό και Παμβώτιδα (Leonardos et al. 2008, Gkenas & Leonardos 2012). Το είδος *E. trichonis* είναι ενδημικό της λίμνης Τριχωνίδας (Εικόνα 1.6).

Η διάκριση του γένους γίνεται με την παρατήρηση μορφολογικών χαρακτηριστικών όπως: (1) την απώλεια όλων των κεφαλικών καναλιών, (2) τις εγκάρσιες σειρές φυματίων (papillae) στο υπερκόγχιο (supraorbital) και (3) την ύπαρξη του περιεδρικού οργάνου (perianal organ), μοναδικό ανάμεσα στους τελεόστεους (Εικόνα 1.9).



Εικόνα 1.9: Θηλυκό άτομο *E. pygmaeus* με το περιεδρικό όργανο.
Figure 1.9: Female individual *E. pygmaeus* with perianal organ.

Ο κορμός του *E. pygmaeus* έχει εγκάρσιες πλευρικές κηλίδες ή ραβδώσεις, όχι παραπάνω από το μισό βάθος σώματος, το περιεδρικό όργανο έχει σχήμα καρδιάς και είναι περίπου το μισό μήκος του κοιλιακού δίσκου. Το σώμα είναι καλυμμένο με λέπια από τη στερνική περιοχή μέχρι σχεδόν το ουραίο πτερύγιο, αλλά η πλάτη και η κοιλιά είναι γυμνές, χωρίς λέπια. Μορφολογικά μοιάζει πολύ με το συγγενικό είδος *E. trichonis.* Στο *E. trichonis* το περιεδρικό του όργανο είναι μικρό και είναι λιγότερο από το μισό μήκος του κοιλιακού δίσκου. Το πρώτο ραχιαίο πτερύγιο είναι χαμηλό και στα δύο φύλα, ενώ στα αρσενικά όταν αναδιπλώνεται δε φτάνει την αρχή του δεύτερου ραχιαίου. Το σώμα του έχει μονές σειρά από λέπια κατά μήκος της πλευρικής γραμμής, διάσπαρτα σε σημεία γύρω από τη στερνική περιοχή και στο πάνω μέρος του ουραίου μίσχου. Όλες οι άλλες περιοχές του σώματος και τηε κεφαλής είναι γυμνές, χωρίς λέπια.

Σύμφωνα με τους Daoulas et al. (1993) και Vanhove et al. (2012) το περιεδρικό όργανο έχει ένα αντισηπτικό ρόλο και είναι μια κοινή προσαρμογή που εμφανίζουν ψάρια τα οποία επωάζουν τα αβγά τους σε καλαμώνες. Ωστόσο και τα 2 είδη παρουσιάζουν σημαντικές εμβρυϊκές και αναπτυξιακές διαφορές, οι οποίες αποτελούν προσαρμογές σε διαφορετικούς τρόπους ζωής (Daoulas et al. 1993).

1.8 Σκοπός της έρευνας

Οι αναφορές για τα ενδημικά είδη της οικογένειας Gobiidae από τον ελλαδικό χώρο μπορεί να χαρακτηριστούν ελλιπείς. Η φυλογενετική πορεία των γωβιών των εσωτερικών υδάτων της Μεσογείου, ο ρόλος της εξέλιξης στη δημιουργία νέων ειδών, το μικρό σωματικό τους μέγεθος, η βραχύβια διάρκεια ζωής, η κρυπτική τους συμπεριφορά, η τμηματική και σχετικά μεγάλη γονιμότητα και η πατρική φροντίδα που επιδεικνύουν, φαίνεται ότι προσφέρουν σε αυτά τα είδη ενδιαφέροντα βιολογικά χαρακτηριστικά προς διερεύνηση. Επομένως, μια ολοκληρωμένη μελέτη γύρω από τη βιολογία τους και την οικολογία τους θα καλύψει το κενό που υπάρχει στην ελληνική βιβλιογραφία, θα βοηθήσει να κατανοήσουμε την αξία τους και θα επιδιώξει την αποσαφήνιση των φυλογενετικών διεργασιών που έχουν οδηγήσει στη σημερινή βιογεωγραφική κατάσταση τους γωβιούς της ομάδας ‘αμμογωβιοί’ στην Ελλάδα.

Οι επιμέρους στόχοι της παρούσας εργασίας συνοψίζονται παρακάτω:

- Ολοκληρωμένη μελέτη της στρατηγικής ζωής (life-history strategy) του είδους *E. pygmaeus* (ηλικία, αύξηση, συντελεστές φυσικής κατάστασης, γονιμότητα, πρώτη γεννητική ωρίμαση, συχνότητα ωοτοκίας, μέγεθος ωοκυττάρων) στη λίμνη Παμβώτιδα.
- Διερεύνηση των διατροφικών συνηθειών του *E. pygmaeus* (ποιοτική και ποσοτική σύνθεση της δίαιτας, τροφική αλληλοεπικάλυψη, τροφικό επίπεδο, επιλεκτικότητα λείας, διατροφική στρατηγική) στη λίμνη Παμβώτιδα.
- Καταγραφή της ακουστικής επικοινωνίας και παρατήρηση του αναπαραγωγικού ηθογράμματος του *E. pygmaeus* (εκπομπή ήχων, ερωτοτροπία).
- Διερεύνηση της μορφολογικής ποικιλομορφίας των ‘αμμογωβιών’.
- Προσδιορισμός της γενετικής δομής και των φυλογενετικών σχέσεων ειδών της ομάδας‘αμμογωβιοί’.

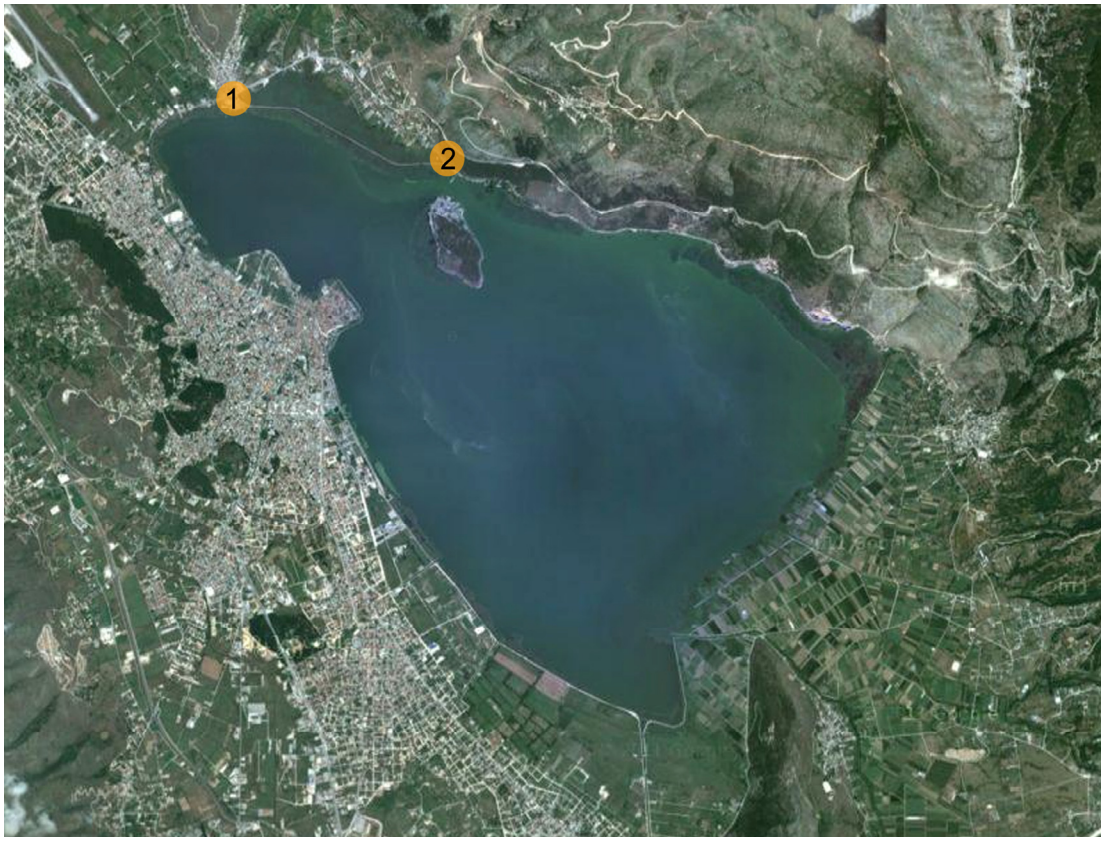
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ:

ΓΕΝΙΚΑ

2.1. Περιγραφή της περιοχής μελέτης

Η λίμνη Παμβώτιδα βρίσκεται στο Βορειο-Δυτικό τμήμα (39° 40′N, 20° 53′ E) (Εικόνα 2.1) της Ηπειρωτικής Ελλάδας σε υψόμετρο 470 m από την επιφάνεια της Θάλασσας (Kagalou et al. 2003, 2006). Το λιμναίο οικοσύστημα ορίζεται από τα δύο βασικά όρη, το όρος Μητσικέλι στο Βόρειο τμήμα και το όρος Τόμαρος στο Νοτιο-Ανατολικό τμήμα. Πρόκειται για λιμναία διαμόρφωση που δημιουργήθηκε κατά το τέλος του Μειόκαινου προς την Πλειόκαινο περίοδο (Frogley et al. 2001). Μαζί με τις Λίμνες Οχρίδα, Σκούταρη και Πρέσπα αποτελούν από παλαιογεωγραφικής άποψης τα πιο αρχέγονα οικοσυστήματα της Βαλκανικής χερσονήσου (Noveska et al. 1985, Crivelli & Catsadorakis 1997).



Εικόνα 2.1: Χάρτης της λίμνης Παμβώτιδας, Ιωάννινα με τους 2 σταθμούς δειγματοληψίας (πηγή: earth.google.com).
Figure 2.1: Map of lake Pamvotis, Ioannina indiacting the two sampling stations (source: earth.google.com).

Η λίμνη Παμβώτιδα είναι μια μεσογειακή ρηχή λίμνη, η οποία έχει επιφάνεια έκτασης περίπου 23 km^2 και μέσο βάθος 5,5 m (Romero et al. 2002, Kagalou et al. 2003). Το μεγαλύτερο μήκος της είναι 7 km (Β-ΒΔ – Ν-ΝΑ) και το μεγαλύτερο πλάτος φθάνει

τα 3 km στο νότιο τμήμα της. Ο συνολικός όγκος νερού της λίμνης κυμαίνεται από 80.000.000 m^3 το καλοκαίρι ώς 120.000.000 m^3 το χειμώνα (Σαρίκα-Χατζηνικολάου 1999).

2.2. Γεωλογικό υπόβαθρο-γεωμορφολογία

Η λεκάνη απορροής της λίμνης αποτελείται από δύο μορφολογικές μονάδες, τη Δυτική που είναι ορεινή και την Ανατολική που είναι επίπεδη. Το επίπεδο μέρος, όπου το υψόμετρο κυμαίνεται από 470 m ώς 500 m, σχηματίζει την πεδιάδα των Ιωαννίνων, η οποία περιελάμβανε τις δύο λίμνες που χωρίζονταν από ένα τυρφώδη βάλτο, τη λίμνη Παμβώτιδα και την πρώην λίμνη Λαψίστα. Το ανατολικό μέρος του ορεινού τμήματος της λεκάνης απορροής έχει υψόμετρο πάνω από 500 m και σχηματίζει το όρος Μιτσικέλι, ο ορεογραφικός άξονας του οποίου συμπίπτει με τον προσανατολισμό των κύριων γεωλογικών και τεκτονικών μονάδων (Κωνσταντινίδης 2005).

Τα πετρώματα που περιβάλλουν τη λεκάνη των Ιωαννίνων ανήκουν γεωτεκτονικά στην ασβεστολιθική σειρά της Ιονίου ζώνης (Κάγκαλου 1990). Βόρεια και Βορειο-Ανατολικά η λίμνη έρχεται σε επαφή με τους ανθρακικούς και πυριτικούς σχηματισμούς του Μιτσικελίου, ηλικίας Τριαδικού-Ανώτερου Ηώκαινου, ενώ οι υπόλοιπες παραλίμνιες περιοχές καλύπτονται από αλλουβιακές αποθέσεις και τυρφώνες (Κωνσταντινίδης 2005). Από γεωλογική άποψη το λεκανοπέδιο των Ιωαννίνων είναι μία πόλγη, το ανατολικό τμήμα της οποίας καταλαμβάνει η λίμνη παμβώτιδα. Η λίμνη είναι τεκτονοκαρστικής προέλευσης και τα όρια της σε παλαιότερες γεωλογικές εποχές εκτείνονταν πολύ περισσότερο από τα σημερινά. Ο πυθμένας της αποτελείται από Τεταρτογενείς αποθέσεις, που φθάνουν σε βάθος τα 20 μέτρα. Η ηλικία της εκτιμάται ότι υπερβαίνει οπωσδήποτε τα 1.000.000 έτη (Κάγκαλου 1990).

2.3. Στοιχεία για το φυτοπλαγκτό της λίμνης

Τα πρώτα ολοκληρωμένα στοιχεία για τη σύσταση της βιοκοινωνίας φυτοπλαγκτού της Παμβώτιδας προέκυψαν από την εργασία των Anagnostidis & Economou-Amilli (1980). Ορισμένα αντιπροσωπευτικά γένη κυανοβακτηρίων που βρέθηκαν ήταν τα *Microcystis, Aphanocapsa, Chroococcus, Coelosphaerium, Anabaena, Lyngbya,* ενώ όσον αφορά τα χλωροφύκη ορισμένα χαρακτηριστικά γένη που βρέθηκαν περιλαμβάνουν τα *Clamydomonas, Gloecystis, Characium, Scenedesmus, Ancistrodesmus, Closterium,*

Cormarium. Σχετικά με τα διάτομα αναφέρονται ενδεικτικά τα γένη *Diatoma, Synedra, Cocconeis, Navicula, Cymbella, Gomphonema.*

Η εποχική ακολουθία των ειδών φυτοπλαγκτού στη λίμνη χαρακτηρίζεται από την επικράτηση χλωροφυκών και διατόμων την άνοιξη, χλωροφυκών στις αρχές του καλοκαιριού, τα οποία τα διαδέχονται κυανοβακτήρια κατά το τέλος του καλοκαιριού ώστε να επικρατήσουν τα διάτομα το φθινόπωρο και το χειμώνα (Kagalou et al 2001, 2003, Romero et al. 2002).

2.4. Στοιχεία για το ζωοπλαγκτό της λίμνης

Όσον αφορά τη σύνθεση των ειδών του ζωοπλαγκτού της Παμβώτιδας ελάχιστα ήταν τα διαθέσιμα στοιχεία για τη λίμνη (Romero et al. 2002). Ωστόσο οι πιο σημαντικές πληροφορίες γύρω από το ζωοπλαγκτό της Παμβώτιδας προέρχονται από τους Antonopoulos et al. (2008), ο οποίος κατέγραψε συνολικά 24 είδη πλαγκτικών ασπονδύλων μεταξύ των οποίων 13 τροχόζωα, 8 κλαδόκερα και 3 κωπήποδα.

Σύμφωνα με τους Antonopoulos et al. (2008) τα τροχόζωα αντιπροσωπεύουν την επικρατέστερη ομάδα στη συνολική αφθονία του ζωοπλαγκτού της λίμνης με κυριότερα είδη τα: *Keratella cochlearis, Keratella quadrata, Brachionus calyciflorus, Brachionus forficula,* και *Brachionus diversicornis*. Τα τροχόζωα εμφάνισαν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις όλο το χρόνο με εξαίρεση την επικράτηση των κωπήποδων τον χειμώνα.

Οι κυριότεροι αντιπρόσωποι των κωπήποδων ήταν τα *Acanthocyclop robustus* και *Cyclops vicinus*. Τη μεγαλύτερη συνεισφορά στην αφθονία των κωπήποδων είχαν οι ανώριμες μορφές τους (ναύπλιοι), οι οποίοι αποτελούσαν το 93%. Τα κλαδόκερα είχαν κυριότερους εκπροσώπους τα *Diaphanosoma* sp., *Daphnia cucullata, Chydorus sphaericus, Bosmian longirostris* και *Alona rectangula*. Σχετικά με τη χρονική διακύμανση της αφθονίας των κλαδόκερων, τα *Diaphanosoma* sp., είχαν τη μεγαλύτερη συνεισφορά το καλοκαίρι ακολουθούμενα από τα *Daphnia cucullata* και *Chydorus sphaericus.*

2.5. Στοιχεία για το μακροβένθος

Ελάχιστες είναι οι πληροφορίες σχετικά με το μακροβένθος της λίμνης Παμβώτιδας (Economidis 1999). Η πιο ολοκληρωμένη μελέτη προέρχεται από τους Kagalou et al. (2006) σύμφωνα με τους οποίους οι επικρατέστερες ομάδες του βένθους στη λίμνη ήταν οι ολιγόχαιτοι με τα *Limnodrilus hoffmeisteri, Potamothrix hammoniensis, Potamothrix bavaricus, Psammoryctides* sp. και *Tubifex tubifex,* οι χειρονομίδες με τα

Chironomus plumosus, Procladius choreus και *Chaoborus flavicans*, οι προνύμφες των δίπτερων εντόμων της οικογένειας Culicidae και οι νηματώδεις. Οι ολιγόχαιτοι αποτέλεσαν το 80% της συνολικής αφθονίας της βενθικής μακροπανίδας με το *Potamothrix hammoniensis* να αντιπροσωπεύει το 61%. Από τις χειρονομίδες το *Chironomus plumosus* εμφάνισε τη μεγαλύτερη συνεισφορά με ποσοστό 19% και ακολουθούσε το *Chaoborus flavicans* με ποσοστό 6%.

2.6. Στοιχεία για την ιχθυοπανίδα της λίμνης

Η ποικιλότητα των ψαριών της λίμνης Παμβώτιδα στις αρχές του προηγούμενου αιώνα (δεκαετία του ΄20) ήταν ιδιαίτερα μικρή. Σύμφωνα με τον Στεφανίδης (1939) αποτελούνταν από 4 είδη ψαριών (*Pelasgus epiroticus, Luciobarbus albanicus, Squalius pamvoticus* και *Anguilla anguilla*). Ως σήμερα, έχουν καταγραφεί στη λίμνη Παμβώτιδα 20 αλλόχθονα ή εισαχθέντα ή μεταφερθέντα είδη τα οποία ανήκουν σε 8 οικογένειες (Πίνακας 2.1). Η προέλευση αυτών των ειδών είναι η εξής: (1) Ευρωπαϊκά 40%, (2) Βορειοαμερικανικά 10%, (3) Ασιατικά 25% και τέλος μεταφερόμενα από άλλα οικοσυστήματα των εσωτερικών υδάτων της Ελλάδας 25%.

Περίπου 71% από αυτά έχουν εισαχθεί κατά τη διάρκεια των τελευταίων 25 ετών (Leonardos et al. 2008). Οι λόγοι για τους οποίους πραγματοποιήθηκαν αυτές οι εισαγωγές ήταν: (1) η βελτίωση της εμπορικής αλιείας σε ποσοστό 62%, (2) τυχαίοι λόγοι (29%) όπως διαφυγή από μονάδες υδατοκαλλιεργειών, απρόσεκτη απελευθέρωση διακοσμητικών ψαριών, επικίνδυνη μεταφορά γονιμοποιημένων αβγών με σακούλες ή υδρόβια φυτά, μεταφορά γόνου μαζί με άλλα εισαγόμενα είδη κτλ., (3) η διαχείριση της βλάστησης και του πλαγκτού (5%) και (4) ο βιολογικός έλεγχος των κουνουπιών (5%) (Πίνακας 2.1). Σε αρκετές περιπτώσεις, τα είδη των ψαριών εισήχθησαν για περισσότερο από έναν από τους παραπάνω λόγους.

.

Πίνακας 2.1: Κατάλογος ειδών στη λίμνη Παμβώτιδα. Τα είδη ταξινομούνται ανά οικογένεια και χρονολογία καταγραφής (Leonardos et al. 2008).

Table 2.1: Fish species records in Lake Pamvotis. Species are ordered by family and by first record date (Leonardos et al. 2008).

Οικόγενεια	Είδος	Προέλευση	Σημερινή κατάσταση	Βιβλιογραφία*
Cyprinidae	*Squallius pamvoticus*	Ενδημικό	Σπάνιο ή εξαφανισμένο	1896[α], 1916[β], 1917[γ], 1939[δ]
	Luciobarbus albanicus	Ενδημικό	Σπάνιο	1896[α], 1999[στ], 2003[ι]
	Pelasgus epiroticus	Ενδημικό	Σπάνιο ή εξαφανισμένο	1896[α], 1999[στ], 2005[θ]
	Pseudophoxinus stymphalicus	Μεταφερόμενο[1]	Σπάνιο	1999[στ]
	Cyprinus carpio	Εισαγόμενο	Εξαρτάται από τους εμπλουτισμούς	1928[δ], 2000[η], 1999[στ]
	Tinca tinca	Εισαγόμενο	Σπάνιο	1928[δ], 1991[θ], 1999[στ], 2006[ιγ]
	Rutilus panosi	Μεταφερόμενο[2]	Άφθονο	1950[θ], 1991[θ], 1999[στ], 2006[ιγ]
	Hypophthalmichthys molitrix	Εισαγόμενο	Εξαρτάται από τους εμπλουτισμούς	1999[ε], 2000[η]
	Aristichthys nobilis	Εισαγόμενο	Εξαρτάται από τους εμπλουτισμούς	1999[ε], 2000[η]
	Ctonopharigodon idella	Εισαγόμενο	Εξαρτάται από τους εμπλουτισμούς	1999[ε], 2000[η]
	Carassius gibelio	Εισαγόμενο	Άφθονο	1999[στ], 1991[θ], 2006[ιγ]
	Carassius auratus	Εισαγόμενο	Άφθονο	1999[στ], 1991[θ], 2006[ιγ]
Gobiidae	*Economidichthys pygmaeus*	Μεταφερόμενο[1]	Άφθονο	1999[στ]
	Knipowitschia caucasica	Μεταφερόμενο	Άφθονο	1990[ζ,η]
Cobitidae	*Cobitis hellenica*	Μεταφερόμενο[1]	Σπάνιο	1999[στ], 2006[ιγ]
Poecillidae	*Gambusia holbrooki*	Εισαγόμενο	Άφθονο	1944
Anguillidae	*Anguilla anguilla*	Αυτόχθονο	Σπάνιο	1916[β], 1917[γ], 1939[δ]
Siluridae	*Silurus aristotelis*	Μεταφερόμενο[2]	Άφθονο	1950[θ], 2006[ιβ]
	Silurus glanis	Εισαγόμενο	Σπάνιο	1999[ε]
Mugillidae	*Mugil cephalus*	Εισαγόμενο	Εξαρτάται από τους εμπλουτισμούς	1999[ε], 2000[η]
	Liza ramada	Εισαγόμενο	Εξαρτάται από τους εμπλουτισμούς	1999[ε]
Acipenseridae	*Acipenser baeri*	Εισαγόμενο	Αμφίβολη παρουσία	1999[ε]
	Acipenser gueldenstaedtii	Εισαγόμενο	Αμφίβολη παρουσία	1999[ε]
	Polyodon spathula	Εισαγόμενο	Αμφίβολη παρουσία	1999[ε]

*Οι βιβλιογραφικές αναφορές δίνονται ως εκθέτες (α: Steindachner 1896, β: Παναγιωτόπουλος 1916, γ: Athanassopoulos 1917, δ: Στεφανίδης 1939, ε: Romero & Imberger 1999, στ: Economou et al. 1999, ζ: Economidis & Miller 1990, η: Economidis et al. 2000, θ: Economidis 1991, ι: Economidis & Herzig-Straschil 2003, ια: Leonardos et al. 2005a,b, ιβ: Leonardos et al. 2007, ιγ: Leonardos et al. 2008. [1] Εισήχθηκε από τους γειτονικούς ποταμούς Λούρο ή Καλαμά, [2]Εισήχθηκε από τη λίμνη Τριχωνίδα.

2.7. Επιλογή σταθμών δειγματοληψίας

Με στόχο την επιλογή του κατάλληλου ενδιαιτήματος για τη διενέργεια των δειγματοληψιών εξετάσθηκε προκαταρκτικά η παραλιακή ζώνη της λίμνης Παμβώτιδας (Εικόνα 2.1). Υπήρχε δυσκολία στη σύλληψη του είδους επειδή κρύβεται σε σκιερά μέρη (π.χ. κάτω από βάρκες), με πυκνή υδρόβια βλάστηση ή ανάμεσα σε καλάμια τα οποία χρησιμοποιεί για φωλιά κατά την αναπαραγωγική του περίοδο (Daoulas et al. 1993). Παρόλα αυτά εντοπίσθηκαν σε δύο κοντινά σημεία της λίμνης ικανοποιητικοί πληθυσμοί του είδους *E. pygmaeus*. Οι δύο σταθμοί που επιλέχτηκαν, περιγράφονται λεπτομερώς παρακάτω (Εικόνα 2.2 & 2.3).

Εικόνα 2.2. Γενική άποψη του σταθμού δειγματοληψίας 1 (Πέραμα).
Figure 2.2. General aspect of sampling station 1 (Perama).

Ο σταθμός 1 (Πέραμα), βρίσκεται Βορειο-Δυτικά της λίμνης (39° 41΄ 678΄΄N, 020° 51΄ 285΄΄E), 2 km από την πόλη των Ιωαννίνων. Το υπόστρωμα χαρακτηρίζεται από πέτρες και κροκάλες και το βάθος του νερού κυμαίνεται από 0 μέχρι 1,5 m. Η χαρακτηριστική βλάστηση στο σταθμό περιλαμβάνει κυρίως τα είδη *Myriophyllum spicatum* και *Phragmites australis* (Εικόνα 2.2).

Ο σταθμός 2 (Ντραμπάντοβα), βρίσκεται στα βόρεια της λίμνης (39° 41΄ 048΄΄Ν, 020° 52΄ 704΄΄Ε) και χαρακτηρίζεται από τη παρουσία μικτού υποστρώματος από ιλύ και πέτρες. Τα χαρακτηριστικά υδρόβια μακρόφυτα που κυριαρχούν είναι τα είδη του γένους *Myriophyllum.* Το μέγιστο βάθος φτάνει το 1,5 m και το ενδιαίτημα χαρακτηρίζεται από μέτριας έντασης ροής ύδατος (Εικόνα 2.3).

Εικόνα 2.3. Γενική άποψη του σταθμού δειγματοληψίας 2 (Ντραμπάτοβα).
Figure 2.3. General aspect of sampling station 1 (Drabatova).

Επισημαίνεται ότι ο κύριος όγκος των δειγμάτων (ψάρια/φιάλες νερού) συλλέγονταν από το σταθμό 1. Στις ελάχιστες περιπτώσεις που δεν βρέθηκαν αρκετά ψάρια χρησιμοποιήθηκε ο σταθμός 2 για συμπλήρωμα των δειγμάτων.

2.8. Δειγματοληψίες πεδίου

Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε μηνιαία βάση και είχαν συνολική διάρκεια ενός έτους (από τον Οκτώβριο του 2006 ώς το Σεπτέμβριο του 2007). Τα άτομα συλλέχθηκαν με τη χρήση ειδικά κατασκευασμένης απόχης με πλαίσιο διαστάσεων 30 cm x 35 cm και δίχτυ με άνοιγμα ματιού 2 mm. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιούνταν τις

πρωινές ώρες (μεταξύ 09:00 h και 10:00 h) κατά μήκος της παραλιακής ζώνης στην περιοχή μελέτης. Εξαιτίας του γεγονότος ότι οι δειγματοληψίες των οργανισμών αυτών είναι ημι-ποσοτικές, σε κάθε περιοχή μελέτης ακολουθήθηκε μια σταθερή δειγματοληπτική προσπάθεια διάρκειας 20 min σε συγκεκριμένη επιφάνεια κάλυψης (2 m^2) (τροποποιημένο από Fidalgo 1989). Αμέσως μετά τη σύλληψή τους, τα δείγματα τοποθετούνταν σε διάλυμα φορμόλης 7% (formaldeyde solution min 37%) και μεταφέρονταν στο εργαστήριο για την περαιτέρω επεξεργασία τους.

Παράλληλα, σε μηνιαία βάση συλλέγονταν τρία δείγματα ζωοπλαγκτού και βένθους από την παραλιακή ζώνη με τη βοήθεια ειδικού πυρηνολήπτη. Πρόκειται για ειδική κατασκευή από σωλήνα PVC με ύψος 130 cm και διάμετρο 10 cm (Caiola et al. 2001a) (Εικόνα 2.4). Ο πυρηνολήπτης εισχωρούσε, κάθετα, στο ίζημα 30 cm ενώ ο υπόλοιπος γέμιζε με νερό από την υδάτινη στήλη, μέχρι το επίπεδο του νερού να φθάσει τα 100 cm. Με αυτό το τρόπο διασφαλιζόταν η συλλογή σταθερού όγκου νερού και ιζήματος Στη συνέχεια, το περιεχόμενο του δειγματολήπτη κοσκινιζόταν σε ειδικά κόσκινα, στα οποία η διάμετρος των ανοιγμάτων του πλέγματος ήταν 500 μm (0,5 mm). Οι οργανισμοί που έμεναν μέσα στο κόσκινο συλλέγονταν και φυλάσσονταν χωριστά σε δοχεία με διάλυμα φορμόλης 7%.

Εικόνα 2.4: Απεικόνιση του πυρηνολήπτη για τη συλλογή ζωοπλαγκτού και βένθους.
Figure 2.4: Photo of corer for the collection of zooplankton and benthic samples.

Στην προσπάθεια διερεύνησης της διατροφικής συμπεριφοράς του είδους στη διάρκεια του ημερήσιου κύκλου πραγματοποιήθηκαν συλλήψεις σε εποχική βάση. Η συλλογή των γωβιών έγινε το Μάιο, τον Αύγουστο και τον Οκτώβριο του 2007 και τον Ιανουάριο του 2008. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιούνταν σε χρονικά διαστήματα 6 περίπου ωρών, δηλαδή το πρωί (08:00 h), το μεσημέρι (14:00 h), το απόγευμα (20:00 h) και το βράδυ (14:00 h) με τη χρήση απόχης (άνοιγμα ματιού 2 mm) σε βάθη μεταξύ 0,5 και 1 m. Κάθε συλλογή διαρκούσε περίπου 30 min. Μετά τη σύλληψή τους τα ψάρια τοποθετούνταν σε διάλυμα φορμόλης 7%, και μεταφέρονταν στο εργαστήριο.

2.9. Μετρήσεις φυσικών και χημικών παραμέτρων *in situ*

Κατά τη διάρκεια της μελέτης λαμβάνονταν σε βάθος 1 m μετρήσεις των τιμών ορισμένων φυσικών και χημικών παραμέτρων του ύδατος *in situ*, σε μια προσπάθεια συσχέτισης των μεταβολών των παραμέτρων αυτών με τις βιολογικές παραμέτρους του υπό μελέτη είδους.

Σε κάθε δειγματοληψία λαμβάνονταν οι τιμές της θερμοκρασίας του νερού, του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου, της ενεργού οξύτητας (pH) και της αγωγιμότητας. Οι μετρήσεις των φυσικών και χημικών παραμέτρων του ύδατος λαμβάνονταν πάντοτε με την έναρξη της δειγματοληψίας και πριν τη συλλογή των γωβιών, με στόχο να διατηρείται το ενδιαίτημα όσο το δυνατό αδιατάρακτο. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με φορητά όργανα μέτρησης, η συγκέντρωση του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου με το WTW Oxy340i, η αγωγιμότητα με το WTWCond340i και το pH με το YSI63.

2.10. Δείγματα νερού

Από κάθε θέση δειγματοληψίας και σε μηνιαία βάση συλλέγονταν δείγματα νερού, σε ειδικές φιάλες του ενός λίτρου, οι οποίες αποθηκεύονταν σε φορητό ψυγείο. Στη συνέχεια, τα δείγματα μεταφέρονταν στο εργαστήριο, όπου και πραγματοποιούνταν ο ποσοτικός προσδιορισμός των θρεπτικών ανόργανων ενώσεων: νιτρωδών ($N\text{-}NO_2^-$), νιτρικών ($N\text{-}NO_3^-$), αμμωνιακών ($N\text{-}NH_4^+$) και ορθοφωσφορικών ιόντων ($P\text{-}PO_4^-$).

2.11. Μέτρηση βιολογικών παραμέτρων

Η επεξεργασία των δειγμάτων και η μέτρηση των βιολογικών στοιχείων πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Ζωολογίας του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και

Τεχνολογιών του Π.Ι. και πάντοτε κάτω από τις ίδιες εργαστηριακές συνθήκες. Συνολικά μετρήθηκαν 1.698 άτομα γωβιών. Τα μηνιαία δείγματα αποτελούνταν από 46 ώς 308 άτομα (μέσος όρος 142 άτομα) ανάλογα με το μήνα. Από αυτά κρατιόταν ένας αριθμός δειγμάτων (30-40 άτομα ανά μήνα) για τη μελέτη του ηπατοσωματικού δείκτη, του γοναδοσωματικού δείκτη, του δείκτη ευρωστίας και τη μελέτη της διατροφής σύμφωνα με την επεξεργασία που περιγράφεται στη συνέχεια.

Τα ψάρια αφού ξεπλένονταν με άφθονο νερό, για την απομάκρυνση του συντηρητικού διαλύματος, στεγνώνονταν προσεκτικά σε απορροφητικό χαρτί. Μετά το στέγνωμα ακολουθούσε η ζύγιση του ολικού και καθαρού βάρους του κάθε ατόμου σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας 0,1 mg. Ως ολικό βάρος (total weight, TW) θεωρήθηκε το βάρος του ψαριού απαλλαγμένο από το διάλυμα συντήρησης και ως καθαρό βάρος (eviscerated weight, EW) θεωρήθηκε το βάρος του ψαριού μετά την αφαίρεση του πεπτικού σωλήνα και των γονάδων.

Κατόπιν, τα άτομα τοποθετούνταν σε υάλινη επιφάνεια με την αριστερή πλευρά προς τα επάνω και το ουραίο πτερύγιο σε φυσική θέση και λαμβάνονταν με τη βοήθεια ψηφιακού μικρόμετρου ακρίβειας 0,01 mm τα παρακάτω μήκη σώματος (Anderson & Gutreuter 1985):

α) Το ολικό μήκος (total length, TL), από το πρόσθιο μέρος της κεφαλής (με το ρύγχος κλειστό) ως την άκρη του ουραίου πτερυγίου και

β) Το σταθερό μήκος (standard length, SL), από το πρόσθιο μέρος της κεφαλής (με το ρύγχος κλειστό) ως το οπίσθιο άκρο του ουρόστυλου.

Στη συνέχεια γινόταν κοιλιακή τομή από την έδρα μέχρι τη βραγχιακή σχισμή και αποκάλυψη της σπλαχνικής κοιλότητας. Ο πεπτικός σωλήνας αφαιρούνταν και τοποθετούνταν σε ξεχωριστά δοχεία για κάθε άτομο για τη μελέτη της διατροφής. Για τη μελέτη του ηπατοσωματικού δείκτη το ήπαρ αφαιρούνταν προσεκτικά από το υπόλοιπο πεπτικό σύστημα και ζυγιζόταν χωριστά.

Η αναγνώριση του φύλου γινόταν από εξωτερικά χαρακτηριστικά, επειδή το *E. pygmaeus* παρουσιάζει φυλετικό διμορφισμό, αλλά συμπληρωματικά και από την εξέταση των γονάδων τους (Miller 1961). Για τον υπολογισμό της αναπαραγωγικής προσπάθειας, καθώς και της εποχικής μεταβολής του μεγέθους των γονάδων, οι γονάδες αφαιρούνταν προσεκτικά από τη κοιλιακή περιοχή ζυγίζονταν και φυλάσσονταν σε ατομικά δοχεία με φορμόλη 7%. Τα επιμέρους υλικά και μέθοδοι που αφορούν την ηλικία και την αύξηση,

την κατά μήκος σύνθεση, την αναπαραγωγική βιολογία, τη διατροφή, την ηθολογία, τη μορφομετρία και τη μοριακή ανάλυση των γωβιών παρουσιάζονται αναλυτικά στα αντίστοιχα κεφάλαια (κεφάλαια 4-9).

2.12. Στατιστική επεξεργασία

Όλες οι μετρήσεις καταγράφονταν σε ειδικά δελτία με χαρακτηριστικό κωδικό αριθμό για το κάθε άτομο και στη συνέχεια καταχωρούνταν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή για την περαιτέρω επεξεργασία τους. Ανάλογα με το αν τα δεδομένα ακολουθούσαν ή όχι την κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικοί ή μη παραμετρικοί έλεγχοι (parametric/non parametric tests). Ο έλεγχος της κανονικότητας (normality) των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη στατιστική δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov. Στις περιπτώσεις όπου το κριτήριο της κανονικότητας δεν πληρούνταν για κάποια μεταβλητή, επιχειρήσαμε να τη 'διορθώσουμε' με μετασχηματισμό (transformation) των δεδομένων. Συνήθως, γι' αυτό το σκοπό υπολογίστηκε ο λογάριθμος ή η τετραγωνική ρίζα για κάθε τιμή της μεταβλητής.

Έτσι, και μετά τους μετασχηματισμούς (όπου αυτό ήταν αναγκαίο) οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν είτε με παραμετρικούς ελέγχους (t-test, one-way ANOVA και two-way ANOVA) είτε με μη παραμετρικούς ελέγχους (οι οποίοι δεν προϋποθέτουν κανονικότητα των δεδομένων, Mann-Whitney U-test και Kruskal-Wallis ANOVA) (Zar 1999). Για τους one-way ANOVA, two-way ANOVA και Kruskal-Wallis ANOVA υπολογίστηκαν τα F και H αντίστοιχα, ενώ για το t-test και Mann-Whitney U-test τα t και z αντίστοιχα με επίπεδο σημαντικότητας p=0,05 (Zar 1999). Η ομοιογένεια των διασπορών (homogeneity of variances), η οποία αποτελεί προϋπόθεση για την ANOVA, ελεγχόταν *a posteriori* με το Levene's test (p=0.05).

Οι μαθηματικοί και στατιστικοί υπολογισμοί έγιναν με τα πακέτα των προγραμμάτων Excel και SPSS 19 για Mac OSX. Η γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων, έγινε με τη χρήση του Excel. Η στατιστική επεξεργασία αναφέρεται σε κάθε κεφάλαιο χωριστά, δεδομένου ότι οι τρόποι και οι μέθοδοι επεξεργασίας είναι ειδικοί για κάθε περίπτωση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΑΒΙΟΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

3.1. Εισαγωγή

Οι προσαρμοστικές σχέσεις των οργανισμών με το περιβάλλον τους περιλαμβάνουν τις σχέσεις με τους αβιοτικούς παράγοντες (έδαφος, νερό, διαλυμένα στο νερό αέρια και άλατα, αιωρούμενα ανόργανα σωματίδια κ.ά.) και τις σχέσεις με τους βιοτικούς παράγοντες (οργανισμοί που αποτελούν την τροφή τους, θηρευτές, παράσιτα κ.ά.) (Nikolsky 1963). Σύμφωνα με τον Wootton (1992), η επιβίωση στα ψάρια είναι δυνατή μόνο σε ένα ορισμένο εύρος για κάθε φυσικοχημικό παράγοντα, ενώ αντίθετα έξω από το εύρος ο παράγοντας μπορεί να λειτουργήσει ως θνησιγόνος και κατά συνέπεια το ψάρι να πεθάνει.

Οι φυσικοχημικοί παράγοντες της λίμνης Παμβώτιδας έχουν μελετηθεί επαρκώς στη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας από τους Kagalou et al. (2001, 2003, 2006), Romero et al. (2002), Antonopoulos et al. (2008) και Αναστασιάδου (2010). Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης τη χρονική περίοδο από τον Οκτώβριο 2006 ώς τον Σεπτέμβριο 2007 στη λίμνη Παμβώτιδα μελετήθηκαν οι παρακάτω φυσικοχημικές παράμετροι: θερμοκρασία και αγωγιμότητα και τα χημικά χαρακτηριστικά όπως: διαλυμένο στο νερό οξυγόνο, ενεργός οξύτητα (pH), ορθοφωσφορικά ($P\text{-}PO_4$) και αζωτούχες ενώσεις (νιτρώδες άζωτο ($N\text{-}NO_2$), νιτρικό άζωτο ($N\text{-}NO_3$), αμμωνιακό άζωτο ($N\text{-}NH_4$).

3.2. Υλικά και Μέθοδοι

3.2.1. Δειγματοληψία στο πεδίο

Κατά τη διάρκεια των μηνιαίων δειγματοληψιών (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007) λαμβάνονταν μετρήσεις και δείγματα νερού από το σταθμό Πέραμα (Εικόνα 3.1). Μετρήσεις θερμοκρασίας, συγκέντρωσης του διαλυμένου O_2, του pH και της αγωγιμότητας λαμβάνονταν *in situ* με τη χρήση φορητών οργάνων από την παραλιακή ζώνη. Τα δείγματα νερού λαμβάνονταν με ειδικές φιάλες του ενός λίτρου και μεταφέρονταν στο εργαστήριο για να πραγματοποιηθεί ο ποσοτικός προσδιορισμός των θρεπτικών αλάτων (βλ. κεφάλαιο υλικά & μέθοδοι: γενικά).

Εικόνα 3.1: Χάρτης της λίμνης Παμβώτιδας στον οποίο σημειώνεται ο σταθμός δειγματοληψίας (1) Πέραμα.
Figure 3.1: Map of lake Pamvotis with the sampling station (1) Perama.

3.2.2. Ποσοτικός προσδιορισμός των ανόργανων θρεπτικών ενώσεων του νερού

Μετά τη μεταφορά των φιαλών νερού στο εργαστήριο, τα δείγματα καταψύχονταν χωρίς συντηρητικά, όπως προβλέπεται από τη μεθοδολογία που

περιγράφεται στο εγχειρίδιο Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (A.P.H.A. 2002). Για όλες τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε όγκος 100 ml από κάθε δείγμα νερού το οποίο διήλθε διαμέσου ηθμών Whatman GF/C (0,45-μm) σε κενό (συσκευή διήθησης νερού KNF LAB) για την απομάκρυνση των αιωρούμενων στερεών. Κατόπιν από το διήθημα λαμβανόταν υπόδειγμα στο οποίο προσδιορίζονταν οι συγκεντρώσεις των ανόργανων θρεπτικών ενώσεων με εφαρμογή των πρωτόκολλων προσδιορισμού για κάθε ένωση ξεχωριστά και με τη χρήση φασματόμετρου HACH DR/2400.

Ορθοφωσφορικά ($P\text{-}PO_4$)

Η μέθοδος προσδιορισμού των ορθοφωσφορικών ιόντων του νερού στηρίζεται στην συμπλοκοποίηση των φωσφορικών ιόντων με μολυβδαινικά ιόντα σε όξινες συνθήκες. Παρουσία ασκορβικού οξέος λαμβάνει χώρα αναγωγή του σχηματιζόμενου συμπλόκου, δίνοντας στο διάλυμα μπλε χρωματισμό. Η ένταση του χρώματος, η οποία είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση του δείγματος σε φώσφορο, μετράται φασματοφωτομετρικά σε μήκος κύματος 890 nm (A.P.H.A. 2002). Το εύρος των συγκεντρώσεων των ορθοφωσφορικών ιόντων που ανιχνεύει η συγκεκριμένη μέθοδος είναι 0,02-2,5 mg l^{-1}.

Άζωτο Νιτρωδών ($N\text{-}NO_2$)

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των νιτρωδών ιόντων, πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια της μεθόδου διαζώτωσης. Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, τα νιτρώδη ιόντα αντιδρούν με το σουλφανιλικό οξύ σχηματίζοντας ένα διαζωνιακό άλας. Στη συνέχεια λαμβάνει χώρα αντίδραση του διαζωνιακού άλατος με χρωμοτροπικό οξύ, σχηματίζοντας ένα έγχρωμο σύμπλοκο. Η ένταση του χρώματος μετράται στα 507 nm και είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των νιτρωδών ιόντων στο δείγμα (A.P.H.A. 2002). Το εύρος των συγκεντρώσεων των νιτρωδών ιόντων που ανιχνεύει η συγκεκριμένη μέθοδος είναι 0,002-0,300 mg l^{-1}.

Άζωτο Νιτρικών ($N\text{-}NO_3$)

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των νιτρικών ιόντων πραγματοποιήθηκε βάσει της μεθόδου αναγωγής του καδμίου. Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, το κάδμιο, χρησιμοποιείται για την αναγωγή των νιτρικών ιόντων σε νιτρώδη. Στη συνέχεια, τα

νιτρώδη ιόντα αντιδρούν με το σουλφανιλικό οξύ σχηματίζοντας ένα ενδιάμεσο διαζωνικό άλας. Το διαζωνικό άλας στη συνέχεια σχηματίζει ένα έγχρωμο σύμπλοκο με το χρωμοτροπικό οξύ. Η ένταση του χρώματος μετράται στα 430 nm και είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων στο δείγμα (A.P.H.A. 2002). Το εύρος των συγκεντρώσεων των νιτρικών ιόντων που ανιχνεύει η συγκεκριμένη μέθοδος είναι 0,1-10,0 mg l^{-1}.

Αμμωνιακό άζωτο (N-NH_4)

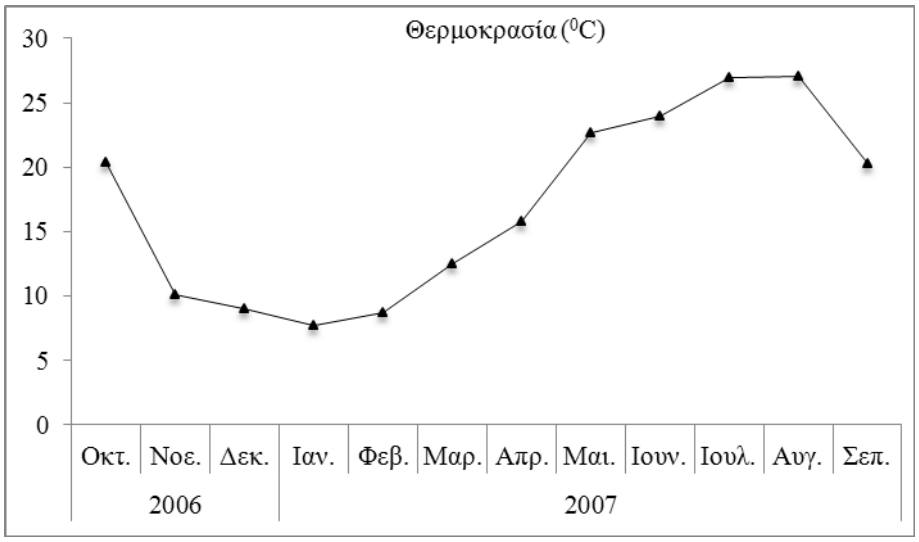
Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των αμμωνιακών ιόντων στα δείγματα του νερού χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Nessler. Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, το αντιδραστήριο Nessler (K_2HgI_4) αντιδρά υπό ισχυρά αλκαλικές συνθήκες με την αμμωνία, σχηματίζοντας έγχρωμα προϊόντα. Η ένταση του χρώματος μετράται στα 425 nm και είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της αμμωνίας στο δείγμα (A.P.H.A. 2002). Το εύρος των συγκεντρώσεων των αμμωνιακών ιόντων που ανιχνεύει η συγκεκριμένη μέθοδος είναι 0,02-2,5 mg l^{-1}.

3.3. Αποτελέσματα-Συζήτηση

3.3.1. Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία αναγνωρίζεται ως ο σημαντικότερος περιβαλλοντικός παράγοντας στα συστήματα των εσωτερικών υδάτων, επηρεάζοντας τα πρότυπα κατανομής, την ηθολογία και τους μεταβολικούς ρυθμούς των οργανισμών (Brönmark & Hansson 1998).

Η θερμοκρασία παρουσίασε τις ανάλογες μηνιαίες μεταβολές (Εικόνα 3.2). Παρατηρήθηκε ένας κύκλος με βαθμιαία αύξηση της θερμοκρασίας από το μήνα Μάρτιο και σε όλη τη διάρκεια της άνοιξης και του καλοκαιριού. Επιπροσθέτως παρατηρήθηκε ένας κύκλος βαθμιαίας μείωσης της θερμοκρασίας από το μήνα Νοέμβριο και σε όλη τη διάρκεια του χειμώνα. Η μέγιστη θερμοκρασία του νερού στο σταθμό 1 καταγράφηκε το μήνα Αύγουστο (27,1^{o} C) και η ελάχιστη το μήνα Ιανουάριο (7,7^{o} C).



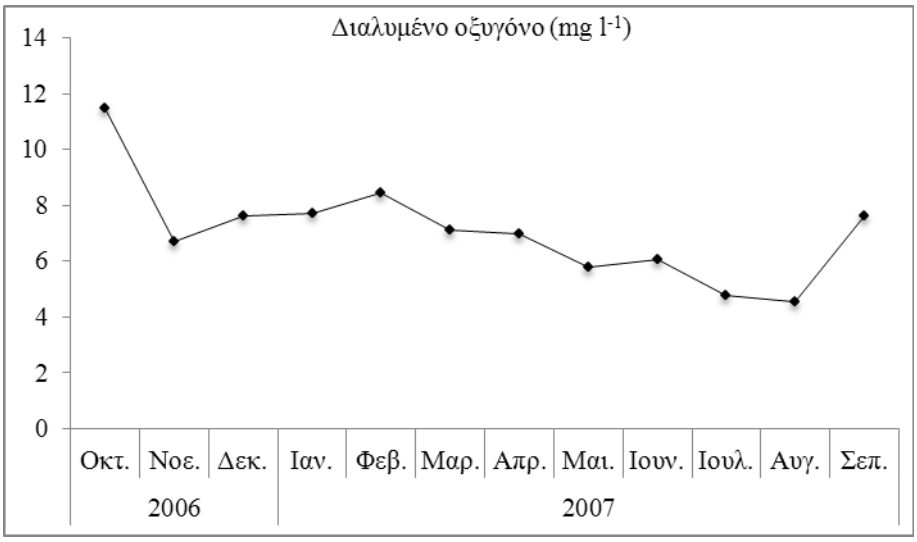
Εικόνα 3.2: Διακύμανση της θερμοκρασίας του ύδατος στη λίμνη Παμβώτιδα (σταθμός 1) (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 3.2: Variation of water temperature in lake Pamvotis (station 1) (October 2006-September 2007).

Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν οι Kagalou et al. (2001) και Romero et al. (2002). Σύμφωνα με τους παραπάνω ερευνητές, λόγω του μικρού της βάθους η λίμνη δε μπορεί να διατηρήσει εποχική στρωμάτωση ένεκα του ότι υφίσταται συχνές περιόδους πλήρους κατακόρυφης ανάμιξης με το καθεστώς της να χαρακτηρίζεται ως θερμό πολυμικτικό.

3.3.2. Διαλυμένο οξυγόνο

Η μέτρηση του διαλυμένου οξυγόνου (DO mg l^{-1}) αποτελεί διαδικασία απαραίτητη για τον άμεσο εντοπισμό των μεταβολών που τυχόν συμβαίνουν στην ποιότητα των νερών,

αφού καθορίζει σειρά βιολογικών και χημικών διεργασιών. Ο σταθμός δειγματοληψίας (Πέραμα) παρουσίασε συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου μεταξύ 4,55 ώς 11,48 mg l^{-1}. Οι υψηλότερες τιμές διαλυμένου οξυγόνου καταγράφηκαν κατά τη φθινοπωρινή-χειμερινή περίοδο ενώ οι μικρότερες στα τέλη της άνοιξης και του καλοκαιριού (Εικόνα 3.3).

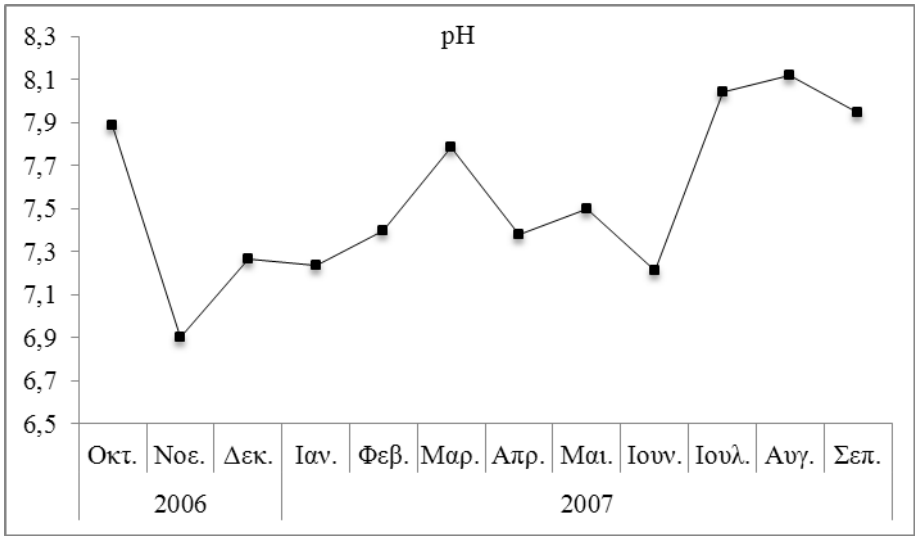


Εικόνα 3.3: Διακύμανση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου στο νερό στη λίμνη Παμβώτιδα (σταθμός 1) (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 3.3: Variation of dissolved oxygen in water in lake Pamvotis (station 1) (October 2006-September 2007).

Η διαλυτότητα του οξυγόνου στο νερό επηρεάζεται τόσο από την ατμοσφαιρική πίεση όσο και από τη θερμοκρασία. Σύμφωνα με τον Wetzel (2001), η δυναμική της κατανομής του οξυγόνου στο νερό των λιμνών περιλαμβάνει ένα ισοζύγιο ανάμεσα σε αυτό που διαλύεται από την ατμόσφαιρα ή παράγεται φωτοσυνθετικά και σε αυτό που καταναλώνεται στις βιοχημικές και χημικές διεργασίες. Οι μειωμένες τιμές στο διαλυμένο οξυγόνο κατά τη θερινή περίοδο οφείλονται στο ότι η παρόχθια ζώνη λειτουργεί ως αποδέκτης οργανικής ύλης, με αποτέλεσμα κατά την αποσύνθεσή της να απαιτείται οξυγόνο και έτσι να παρατηρούνται μικρότερα επίπεδα συγκεντρώσεων διαλυμένου οξυγόνου (Kagalou et al. 2001).

3.3.3. Ενεργός οξύτητα (pH)

Το περιβάλλον της λίμνης Παμβώτιδας χαρακτηρίζεται γενικά ως αλκαλικό με τιμές pH που κυμαίνονται από 6,90 ώς 8,12 (Εικόνα 3.4). Τους χειμερινούς μήνες ο σταθμός χαρακτηρίζεται από τιμές pH μικρότερες του 8. Αντίθετα από τον Ιούλιο μέχρι το Σεπτέμβριο ο σταθμός χαρακτηρίζεται από τιμές pH που είναι μεγαλύτερες ή πλησιάζουν το 8.

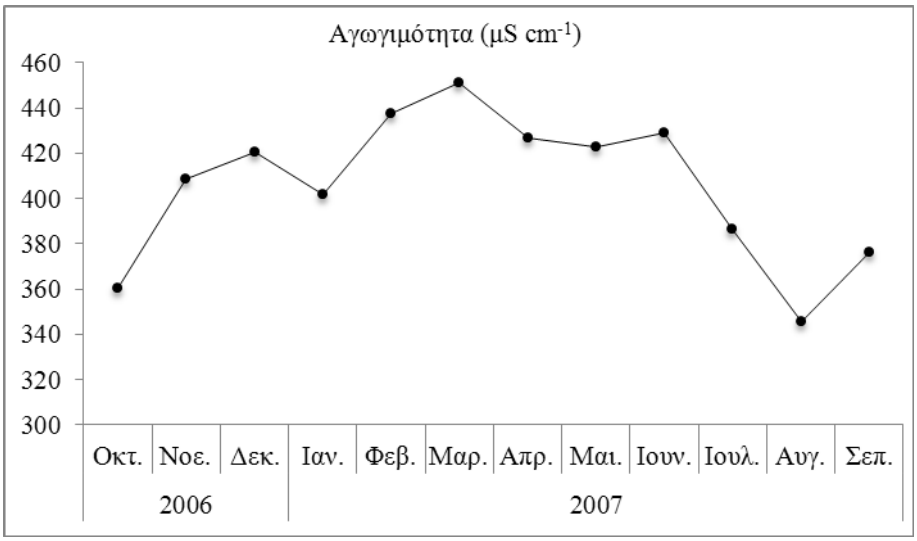


Εικόνα 3.4: Διακύμανση της συγκέντρωσης ιόντων υδρογόνου (pH) του νερού στη λίμνη Παμβώτιδα (σταθμός 1) (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 3.4: Variation of pH values in water in lake Pamvotis (station 1) (October 2006-September 2007).

Η ενεργός οξύτητα αποτελεί έναν από τους σημαντικούς αβιοτικούς παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα του υδάτινου οικοσυστήματος με άμεση συνέπεια τη βιωσιμότητα των ψαριών. Στα οικοσυστήματα των εσωτερικών υδάτων το pH κυμαίνεται συνήθως από 6 μέχρι 9, με εξαίρεση ορισμένα ηφαιστιογενών περιοχών, στις οποίες εμφανίζονται πολύ χαμηλές τιμές (Brönmark & Hansson 1998). Η αύξηση του pH τους καλοκαιρινούς μήνες ενδεχομένως οφείλεται σε αυξημένη φυτοπλαγκτική βιομάζα κατά την καλοκαιρινή περίοδο (Kagalou et al. 2003). Όπως αναφέρεται από τον Wetzel (2001), η υψηλή φυτοπλαγκτική βιομάζα έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη φωτοσυνθετική δραστηριότητα την υψηλή κατανάλωση του CO_2 και την επακόλουθη αύξηση του pH.

3.3.4. Αγωγιμότητα

Η αγωγιμότητα στην Παμβώτιδα και στο σταθμό 1 κατά τη διάρκεια της έρευνας κυμάνθηκε από 364 ώς 472 μS cm^{-1}. Η μέγιστη τιμή σημειώθηκε το Μάρτιο και η ελάχιστη τον Αύγουστο (Εικόνα 3.5). Η αγωγιμότητα του νερού αποτελεί έκφραση του περιεχομένου σε άλατα τα οποία έχουν διασταθεί σε ιόντα. Η σύνθεση του περιεχομένου του νερού σε ιόντα παίζει σημαντικό ρόλο στην παρουσία μέσα σε αυτό, ζώων και φυτών. Όσο πιο άφθονο είναι το νερό σε ηλεκτρολύτες τόσο μεγαλύτερη είναι η βιολογική του παραγωγικότητα (Ruttner 1963, A.P.H.A. 2002).



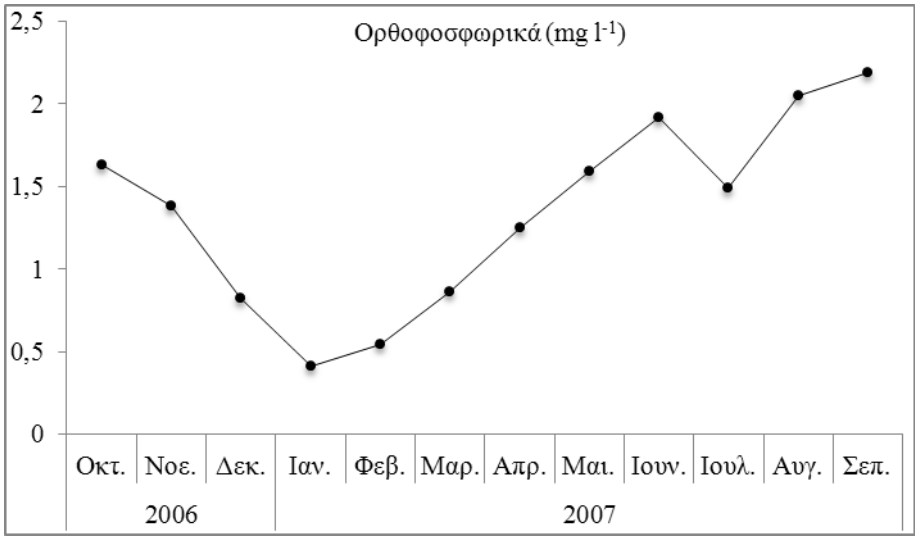
Εικόνα 3.5: Διακύμανση της αγωγιμότητας του νερού στη λίμνη Παμβώτιδα (σταθμός 1) (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 3.5: Variation of conductivity in water in lake Pamvotis (station 1) (October 2006-September 2007).

Η άνοδος της αγωγιμότητας κατά τους ανοιξιάτικους μήνες οφείλεται στις βροχοπτώσεις της περιόδου, καθώς και στη μεταφορά φερτών υλικών, η οποία αποτελεί τον τελικό αποδέκτη της λεκάνης απορροής της περιοχής.

3.3.5. Ορθοφωσφορικά

Ο ρόλος του φωσφόρου στο βιολογικό μεταβολισμό είναι σημαντικός. Σε σύγκριση με τα θρεπτικά στοιχεία που απαιτούνται από τους οργανισμούς, είναι το λιγότερο άφθονο και το πρώτο στοιχείο που περιορίζει τη βιολογική παραγωγικότητα (Wetzel 2001). Η διακύμανση των τιμών των ορθοφωσφορικών ριζών ή αλλιώς του διαλυμένου ενεργού φωσφόρου βρέθηκε μεταξύ 0,41 mg l^{-1} και 2,19 mg l^{-1}. Οι υψηλότερες τιμές καταγράφηκαν κατά τους θερινούς και ιδιαίτερα τους φθινοπωρινούς μήνες (Εικόνα 3.6).

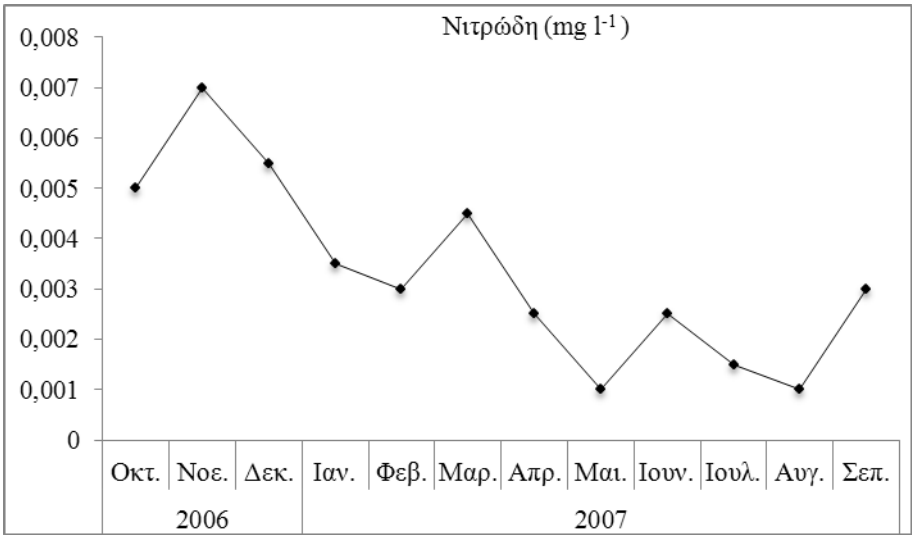
Τα αποτελέσματα λοιπόν από το Σταθμό Πέραμα αποκαλύπτουν ότι τα αυξημένα επίπεδα φωσφορικών κατά τους καλοκαιρινούς μήνες οφείλονται στην απελευθέρωση φωσφόρου από το ίζημα (Bengston 1975, Kagalou et al. 2001). Η εποχικότητα που παρατηρείται στην αύξηση της συγκέντρωσης των ορθοφωσφορικών πιθανόν να οφείλεται στην αύξηση των απορροών λυμάτων από αστικές (π.χ. εποχική αύξηση πληθυσμού) ή γεωργικές δραστηριότητες (π.χ. εντατική άρδευση το καλοκαίρι).



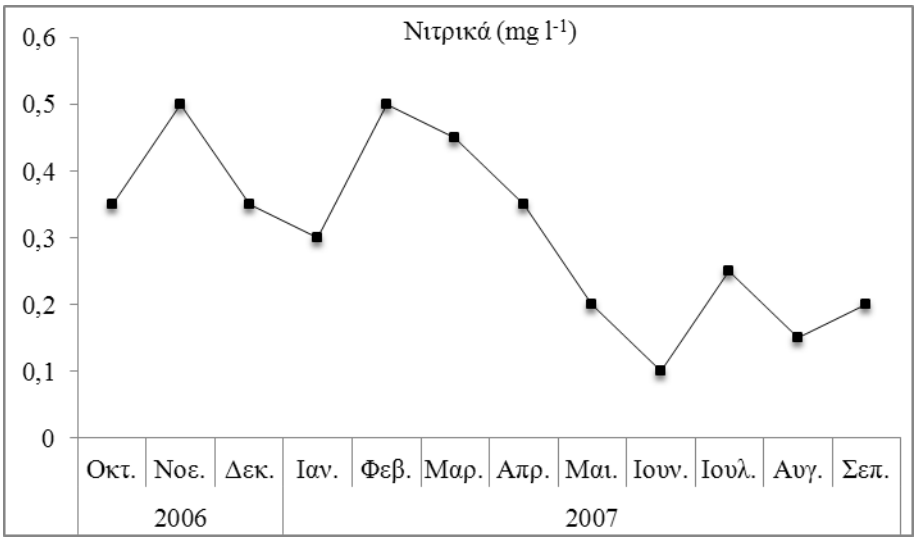
Εικόνα 3.6: Διακύμανση των ορθοφωσφωρικών ριζών του νερού στη λίμνη Παμβώτιδα (σταθμός 1) (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 3.6: Variation of of PO_4^{3-} in water in lake Pamvotis (station 1) (October 2006-September 2007).

3.3.6. Άζωτο νιτρωδών, νιτρικών και αμμωνιακών αλάτων

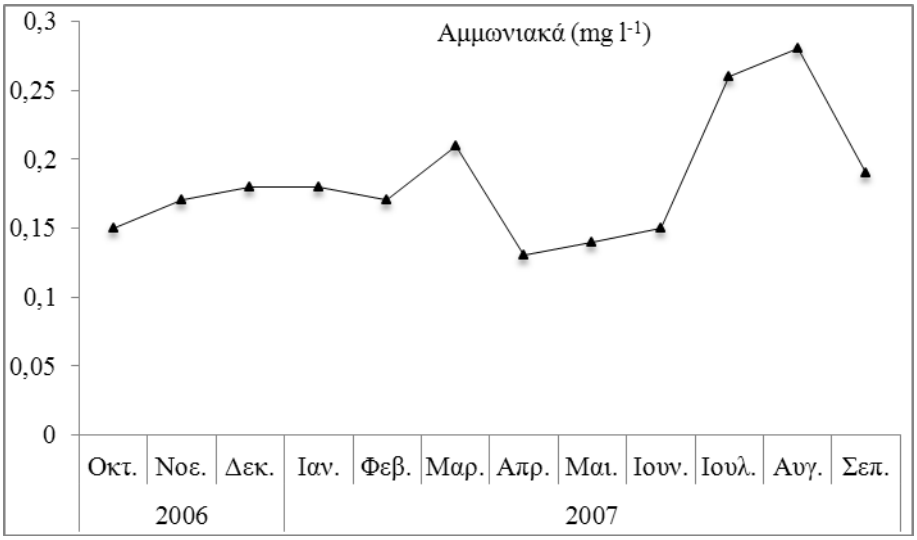
Το άζωτο είναι στοιχείο το οποίο εμφανίζεται με πολλές μορφές στα εσωτερικά ύδατα: ως διαλυμένο μοριακό N_2, συνδεδεμένο με μεγάλο αριθμό ενώσεων από αμινοξέα, αμίνες, πρωτεΐνες και χουμικές ενώσεις, ως αμμωνία (NH_4^+), ως νιτρώδη (NO_2^-) και νιτρικά (NO_3^-) (Wetzel 2001). Στη λίμνη και στο σταθμό 1 οι συγκεντρώσεις N των διαλυτών νιτρωδών διατηρήθηκαν σε χαμηλά επίπεδα με τις χαμηλότερες τιμές να παρατηρούνται την καλοκαιρινή περίοδο του 2007. Αναλυτικότερα τα επίπεδα συγκέντρωσης των νιτρωδών κυμάνθηκαν από 0,001 mg l^{-1} μέχρι 0,07 mg l^{-1} (Εικόνα 3.7). Η μηνιαία μεταβολή των τιμών των νιτρικών στην παρούσα εργασία ακολούθησε την ίδια μεταβολή με τα νιτρώδη. Η συμμετοχή των νιτρικών αλάτων στο συνολικό ποσό αλάτων N κυμάνθηκε από 0,1 mg l^{-1} μέχρι 0,5 mg l^{-1} (Εικόνα 3.8). Σε ό,τι αφορά την αμμωνία, οι τιμές της κυμάνθηκαν από 0,13 mg l^{-1} ώς 0,28 mg l^{-1} (Εικόνα 3.9).



Εικόνα 3.7: Διακύμανση των νιτρωδών ($N\text{-}NO_2$) του νερού στη λίμνη Παμβώτιδα (σταθμός 1) (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 3.7: Variation of nitrates ($N\text{-}NO_2$) in water in lake Pamvotis (station 1) (October 2006-September 2007).



Εικόνα 3.8: Διακύμανση των νιτρικών ($N\text{-}NO_3$) του νερού στη λίμνη Παμβώτιδα (σταθμός 1) (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 3.8: Variation of nitrites ($N\text{-}NO_2$) in water in lake Pamvotis (station 1) (October 2006-September 2007).



Εικόνα 3.9: Διακύμανση των αμμωνιακών ($N\text{-}NH_4$) του νερού στη λίμνη Παμβώτιδα (σταθμός 1) (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 3.9: Variation of ammonia ($N\text{-}NH_4$) in water in lake Pamvotis (station 1) (October 2006-September 2007).

Σύμφωνα με τους Chapman & Kimstach (1996) συγκεντρώσεις νιτρικών μεγαλύτερες από 0,2 mg l^{-1} τονώνουν την ανάπτυξη του φυτοπλαγκτού και είναι ενδεικτικές τροφικών καταστάσεων. Η εφαρμογή αζωτούχων λιπασμάτων στις εκτάσεις γύρω από τη λίμνη Παμβώτιδα, σε συνδυασμό με τις έντονες βροχοπτώσεις, έχουν ως αποτέλεσμα την έκπλυση του αζώτου και την εισροή ποσοτήτων αυτού μέσα στη λίμνη. Επίσης, οι υψηλές συγκεντρώσεις των νιτρωδών και νιτρικών το χειμώνα και νωρίς την άνοιξη, οφείλονται στη μειωμένη φωτοσυνθετική δραστηριότητα, τις υψηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου και την έκπλυση των εδαφών. Αντίθετα, η πτώση στις συγκεντρώσεις τους από την άνοιξη και μέχρι το φθινόπωρο έγινε εξαιτίας της αύξησης της θερμοκρασίας και της μείωσης του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου, καθώς και από την αύξηση της βιομάζας του φυτοπλαγκτού νωρίς το φθινόπωρο.

Τέλος, το ότι τα αμμωνιακά εμφανίζονται ιδιαίτερα αυξημένα το καλοκαίρι, πρέπει να αποδοθεί στις έντονες βακτηριακές δραστηριότητες και στην αφομοιωτική ικανότητα του φυτοπλαγκτού που επηρεάζεται από την υψηλή θερμοκρασία και μέσα από τη λειτουργία της φωτοσύνθεσης, της οξείδωσης και της αναγωγής των αζωτούχων ενώσεων συνεισφέρει στον κύκλο του αζώτου στο σύστημα της λίμνης (Wetzel 2001).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΗΛΙΚΙΑ-ΑΥΞΗΣΗ

4.1. Εισαγωγή

Πληροφορίες σχετικά με την ηλικία, την ανάπτυξη και την αύξηση των ψαριών αποτελούν τον ακρογωνιαίο λίθο στην αλιευτική έρευνα και διαχείριση (Magnifico 2007). Με την ανάπτυξη εννοούμε την ιεράρχηση των σταδίων της οντογένεσης, ενώ με την αύξηση τη μεταβολή του μεγέθους ολόκληρου του σώματος ή κάποιου μέρους του σώματος (Jobling 2002). Ο ρυθμός αύξησης είναι επίσης ένα μέτρο της αλλαγής του μεγέθους σε συνάρτηση με το χρόνο. Η αύξηση εξαρτάται από την ποσότητα και την ποιότητα της πρόσληψης της τροφής, αλλά και από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες, ενώ η ανεπαρκής διατροφή ευθύνεται τόσο για την καθυστέρηση στην αύξηση όσο και για το χρόνο έναρξης της πρώτης γεννητικής ωρίμασης (Jobling 2002). Όταν η τροφή είναι περιορισμένη η έναρξη της ωρίμασης μπορεί να καθυστερήσει για μήνες ή και χρόνια μέχρι να προκύψουν καλές διατροφικές συνθήκες (Magnifico 2007).

Οι ενδογενείς παράγοντες σχετίζονται με το γενότυπο και τη φυσιολογική κατάσταση του ψαριού και περιλαμβάνουν το βαθμό κληρονομικότητας και τη ρύθμιση της αύξησής τους διαμέσου της αλλαγής του τρόπου κίνησής τους (Ware 1975). Η επίδρασή τους αρχίζει από την ανάπτυξη του εμβρύου και συνεχίζεται μέχρι τη γεννητική τους ωριμότητα και ενηλικίωση. Οι εξωγενείς παράγοντες σχετίζονται με το εξωτερικό περιβάλλον (Royce 1972) και περιλαμβάνουν την τροφή (ποσότητα και ποιότητα τροφής), τη θερμοκρασία, την αλατότητα, το βάθος, τη συγκέντρωση οξυγόνου και αμμωνίας, το pH και την ταχύτητα των ρευμάτων (Wootton 1990).

Όταν ο ρυθμός κατανάλωσης τροφής είναι ικανοποιητικός, τα ψάρια εκτός της κάλυψης των ενεργειακών αναγκών διατήρησης της καλής φυσικής τους κατάστασης, συνθέτουν και νέους ιστούς. Οι ιστοί αυτοί είτε παραμένουν στο σώμα και εκδηλώνονται ως αύξηση, είτε αποβάλλονται με τη μορφή γαμετών. Σύμφωνα με τον Wootton (1990), διαμέσου της αύξησης δομείται ο απαραίτητος μεταβολικός μηχανισμός για τη σύνθεση και προστασία των γαμετών μέχρι την απελευθέρωσή τους. Η μελέτη της αύξησης, της αναπαραγωγής και της διατροφής, καθώς και η διερεύνηση των μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων αποτελούν το απαραίτητο υπόβαθρο για την απόκτηση κατά το δυνατόν ολοκληρωμένης γνώσης της βιολογίας των ιχθυοπληθυσμών.

Το μικρό μέγεθος των τελεόστεων αποτελεί πλεονέκτημα, όταν η απόδοση της διατροφής βασίζεται σε μικρές τροφές και στον αποικισμό, καθώς και την εκμετάλλευση συγκεκριμένων ενδιαιτημάτων (Miller 1979, 1996). Ιδιαίτερα, οι πολύ μικροί γωβιοί του Βορειο-Ανατολικού Ατλαντικού, της Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας αποτελούν

μέρος της επιβενθικής και κρυπτοβενθικής πανίδας (Miller 1979), συμπεριλαμβανομένου τόσο της πελαγικής όσο και υπερβενθικής. Η σμίκρυνση του σώματος ή η εξέλιξη του μικρού μεγέθους στα ενήλικα άτομα χαρακτηρίζει κυρίως πελαγικούς αλλά και βενθικούς γωβιούς, οι οποίοι εμφανίζουν μορφολογικά χαρακτηριστικά των προνυμφών διαμέσου της μείωσης και των απλοποιημένων δομών τους. Σε αυτά τα είδη, ακόμα και για τα ενήλικα άτομα, υπάρχει αυξημένος ο κίνδυνος της θήρευσης ο οποίος αντισταθμίζεται από μια πρώιμη επίτευξη της γεννητικής ωρίμασης διαμέσου της προγένεσης (Miller 1984). Η βιολογία των πολύ μικρών βενθικών γωβιών είναι ακόμα λιγότερο γνωστή από αυτή των πελαγικών ειδών, και περιορίζεται κυρίως στα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά των ειδών του γένους *Pomatoschistus* (Miller 1986, Rogers 1989, Fouda et al. 1993, Pampoulie & Bouchereau 1996, Bouchereau & Guelorget 1998, Pampoulie et al. 2000, Mazzoldi & Rasotto 2001, Bouchereau 2002, Koutrakis & Tsikliras 2009).

Ελάχιστες είναι ακόμα οι μελέτες που αφορούν είδη των *Knipowitschia* και *Economidichthys* (Economidis & Miller 1990, Kevrekidis et al. 1990, Daoulas et al. 1993, Economou et al. 1994, Miller 2004, Zanella et al. 2011). Η γνώση των βιολογικών στρατηγικών τους είναι γενικά περιορισμένη εξαιτίας του πολύ μικρού μεγέθους του σώματός τους, το οποίο κάνει αρκετά δύσκολη τη συλλογή και τη διαχείριση των γωβιών αυτών. Επίσης, ως είδη των εσωτερικών υδάτων αντιμετωπίζουν σοβαρές απειλές. Οι απειλές που οδηγούν σε μείωση ή ακόμα και εξαφάνιση είναι πολλαπλές και συχνά δρουν σε συνέργεια με άλλους παράγοντες, όπως: η ξηρασία, η υπερβολική άντληση των υδάτων, η απώλεια των ενδιαιτημάτων και η υποβάθμιση του οικοσυστήματος (π.χ. ρύπανση, ευτροφισμός) (Kottelat & Freyhof 2007). Επίσης, η εισαγωγή ξενικών ειδών σε ένα οικοσύστημα είναι μία από τις σημαντικότερες αιτίες μείωσης της βιοποικιλότητας.

Ο λουρογωβιός έχει κριθεί από την ελληνική νομοθεσία με βάση το Π. Δ. 67/1981 ως προστατευόμενο είδος. Η παρουσία του είδους σε συστήματα εσωτερικών υδάτων, ιδίως σε πηγές με μικρή παροχή νερού, το κάνει 'ευαίσθητο' σε περιβαλλοντικές αλλαγές ανθρωπογενής προέλευσης. Το είδος έχει εξαφανιστεί οριστικά από τη Ζωοδόχο Πηγή Λευκάδας (απ'όπου περιγράφηκε για πρώτη φορά), η οποία έχει στερέψει επειδή το νερό της χρησιμοποιείται για υδροδοτήσεις (Οικονομίδης 1992). Σύμφωνα με την επίσημη βάση δεδομένων της IUCN (www.iucnredlist.org) και το κόκκινο βιβλίο των απειλούμενων ζώων της Ελλάδας (Λεγάκις & Μαραγκού 2009), το είδος *E. pygmaeus* δεν αντιμετωπίζει άμεση απειλή και θεωρείται 'μειωμένου ενδιαφέροντος' (least concern). Η

εγκατάσταση του στη λίμνη Παμβώτιδα κρίνεται επιτυχημένη με το είδος να παρουσιάζει πυκνό και βιώσιμο πληθυσμό (Leonardos et al. 2008).

Για τους παραπάνω λόγους επιλέχτηκε να εξεταστεί η ηλικία, η κατά μήκος σύνθεση, η εξίσωση αύξησης του von Bertalanffy, οι σχέσεις μήκους-βάρους καθώς επίσης και η σωματική κατάσταση του υπό μελέτη οργανισμού από τη λίμνη Παμβώτιδα. Η παράθεση βιολογικών στοιχείων θα εξυπηρετήσει επιπλέον τη σύγκριση αλλά και τον εντοπισμό τυχόν διαφορών ανάμεσα στα αποτελέσματα που θα παρουσιαστούν στη συνέχεια και σε εκείνα που αναφέρονται στη βιβλιογραφία.

4.2. Υλικά και μέθοδοι

4.2.1. Προσδιορισμός της ηλικίας

Η ικανότητα του προσδιορισμού της ηλικίας των ψαριών σε συνδυασμό με τις μετρήσεις του μήκους και του βάρους είναι ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο που δίνει πληροφορίες για την αύξηση του είδους, για τη σύνθεση του πληθυσμού, την ηλικία πρώτης γεννητικής ωρίμασης και αναπαραγωγής, καθώς και για τη θνησιμότητα (Bagenal & Tensch 1978).

Όταν αναφερόμαστε στον όρο ηλικία εννοούμε την προσπάθεια να προσεγγίσουμε την ηλικία του ψαριού, χρησιμοποιώντας τη στατιστική και την ανατομική μέθοδο. Η στατιστική μέθοδος ή μέθοδος του Petersen στηρίζεται στη συχνότητα κατανομής ενός πληθυσμού ψαριών σε ένα οικοσύστημα. Η ανατομική μέθοδος βασίζεται στην εκτίμηση της ηλικίας από τα λέπια ή από άλλες σκληρές δομές του σώματος των ψαριών, όπως είναι: οι ωτόλιθοι, οι σπόνδυλοι, οι ακτίνες κτλ. (Bagenal 1974, Beamish & McFarlane 1987, Casselman 1987, DeVries & Frie 1996, Campana 2001).

Ο Nikolsky (1969) αναφέρει ότι η αύξηση είναι ποσοτική έκφραση της ανάπτυξης, μια μοναδική διαδικασία για κάθε είδος σε κάθε στάδιο της ανάπτυξής του. Τα ψάρια των εύκρατων περιοχών παρουσιάζουν μια περιοδικότητα στην αύξησή τους, η οποία απεικονίζεται στα σκελετικά τους στοιχεία με τη μορφή των δακτυλίων (Nikolsky 1969, Bagenal & Tesch 1978). Το ψάρι στη διάρκεια της αύξησής του μεγαλώνει σε μήκος αλλά και σε βάρος. Μόνο κατά την περίοδο της αναπαραγωγής μπορεί να χάσει βάρος ή να μείνει στάσιμο (Dickie 1978). Για το λόγο αυτό στις μελέτες χρησιμοποιείται το μήκος ως σημείο αναφοράς και η αύξηση του μήκους στη διάρκεια του χρόνου μας δίνει το ρυθμό αύξησης των ψαριών (Bagenal & Tesch 1978).

Ο υπολογισμός των παραμέτρων αύξησης κατέχει κεντρική θέση στη διαδικασία εκτίμησης των ιχθυοαποθεμάτων (Pauly et al 1984, Rosenberg & Beddington 1988) και μπορεί να βασίζεται είτε στην απόλυτη ή σχετική ηλικία των ψαριών ή μπορεί να προέρχεται από την ανάλυση των δεδομένων συχνοτήτων μήκους. Ο καθορισμός της ηλικίας των ψαριών με την αναγνώριση των περιοδικών σχηματισμών στις σκελετικές κατασκευές (ωτόλιθοι, λέπια σπόνδυλοι) και των πειραμάτων μαρκαρίσματος αποτελεί ιδιαίτερα δαπανηρή και χρονοβόρα διαδικασία.

Τα παραπάνω μειονεκτήματα των μεθόδων εκτίμησης ηλικίας οδήγησαν στην ανάπτυξη, ιδιαίτερα στη δεκαετία του 1980, νέων μεθόδων για την ανάλυση των δεδομένων μήκους, οι οποίες σχετίζονται με την αύξηση και την αξιολόγηση των

αποθεμάτων (Isaac 1990). Τα δεδομένα μήκους μπορούν να συλλεχθούν αρκετά εύκολα, δεν απαιτούν τη θανάτωση του οργανισμού και γενικά δε χρειάζεται εξειδικευμένο προσωπικό. Επιπλέον, πολλές βιολογικές και αλιευτικές διεργασίες π.χ. γονιμότητα, θήρευση, επιλογή αλιευτικού εργαλείου κτλ. συσχετίζονται καλύτερα με το μέγεθος (μήκος ή βάρος) παρά με την ηλικία (Magnifico 2007).

Στην παρούσα μελέτη επιχειρήθηκε ο προσδιορισμός της ηλικίας με διάφορες μεθόδους τόσο με την ανάγνωση ωτόλιθων και λεπιών όσο και με τη χρησιμοποίηση υπολογιστικών μεθόδων. Ωστόσο η εξαγωγή ωτόλιθων ήταν ιδιαίτερα δύσκολη, ενώ τα λέπια δεν ήταν αρκετά ευκρινή για τη μελέτη της ηλικίας. Με βάση τα παραπάνω, η εκτίμηση της ηλικίας του *E. pygmaeus* πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Petersen και τη μέθοδο Bhattacharya.

4.2.1.1.Μέθοδος Petersen

Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο (Petersen 1891) υπολογίζεται η συχνότητα των ατόμων ενός πληθυσμού σε διακριτές ομάδες μήκους. Οι ομάδες αυτές περιλαμβάνουν συνήθως μικρό εύρος μηκών και ονομάζονται 'κλάσεις μήκους'. Έτσι, αν το δείγμα έχει ληφθεί σε μια συγκεκριμένη στιγμή, είναι τυχαίο και η αναπαραγωγή του είδους γίνεται κατά τη διάρκεια μικρής χρονικής περιόδου, αναμένεται ότι από τη γραφική παρουσίαση των συχνοτήτων των ατόμων κατά κλάσεις μήκους, θα προκύψουν μια ή περισσότερες κανονικές κατανομές γύρω από τα μέσα μήκη της κάθε γενιάς. Με τον τρόπο αυτό, δηλαδή, θα εντοπιστεί η κάθε μια ηλικιακή κλάση γύρω από τη μέγιστη συχνότητα κατανομής των μηκών της.

Βασικές προϋποθέσεις για να είναι αξιόπιστη η μέθοδος του Petersen είναι να υπάρχουν οι παρακάτω συνθήκες: α) το δείγμα να είναι μεγάλο, β) η δειγματοληψία να έχει γίνει σε περιορισμένη χρονική περίοδο και γ) να υπάρχει καλή αντιπροσώπευση για όλα τα μήκη και τις ηλικίες του πληθυσμού που εξετάζεται.

4.2.1.2.Μέθοδος Bhattacharya

Η αναγνώριση των κορυφών με τη μέθοδο Petersen μπορεί να γίνει με το «μάτι»», όμως η χρήση μαθηματικών μεθόδων θεωρείται πιο ακριβής και αξιόπιστη. Μια από αυτές είναι η μέθοδος Bhattacharya (1967), σύμφωνα με την οποία η κατά μήκος σύνθεση ενός πληθυσμού αναλύεται σε συνισταμένες κανονικές κατανομές που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένες ηλικίες (Modal Class Progression Analysis). Ο διαχωρισμός μιας κατά

μήκος σύνθεσης σε συνισταμένες κατανομές επιτυγχάνεται με το γράφημα της σχέσης των λογάριθμων των συχνοτήτων διαδοχικών κλάσεων μήκους. Σε μαθηματικούς όρους, αν f(x) είναι η συχνότητα της κλάσης μήκους με μέσο μήκος χ, τότε σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή υπολογίζουμε το $b_i(x)$:

$$b_i(x)=Log_e\ (f(x+1)/f(x))$$

και στη συνέχεια γίνεται το γράφημα του $b_i(x)$ με το μέσο μήκος τη κλάσης x. Μια κανονική κατανομή εμφανίζεται ως μια σειρά τιμών που σχηματίζουν ευθεία με αρνητική κλίση που υπολογίζεται από τη γραμμική εξίσωση:

$$b_i(x)=a+bx$$

Το στατιστικό πρόγραμμα FISAT (FAO-ICLARM Stock Assessment Tools) περιλαμβάνει ένα εργαλείο για την εφαρμογή της μεθόδου αυτής. Ο χρήστης επιλέγει τα διαδοχικά σημεία τα οποία θεωρεί ότι αποτελούν μια κανονική κατανομή και το πρόγραμμα παρέχει τις εκτιμήσεις του μέσου μήκους και της τυπικής απόκλισης της κατανομής. Η επιτυχία του διαχωρισμού μιας κατά μήκος σύνθεσης σε συνισταμένες καμπύλες εκφράζεται από το διαχωριστικό δείκτη (separation index) που για δυο διαδοχικές συνισταμένες καμπύλες Α και Β υπολογίζεται ως εξής:

(2(μέσο μήκος Β)-(μέσο μήκος Α)) / τυπική απόκλιση Β)-(τυπική απόκλιση Α)).

Τιμές του διαχωριστικού δείκτη μεγαλύτερες από 2 υποδηλώνουν επιτυχή διαχωρισμό.

4.2.2. Μοντέλο της κατά μήκος αύξησης

Η δυνατότητα να εκφράζεται η αύξηση των ψαριών με τη μορφή μιας εξίσωσης αποτελεί σημαντική πληροφορία για τον πληθυσμό. Υπάρχει μεγάλος αριθμός εργασιών με αντικείμενο την δημιουργία όσο το δυνατόν καλύτερων μοντέλων περιγραφής του μεγέθους του ψαριού σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή, χωρίς όμως να έρχεται σε ασυμφωνία με τις παρατηρούμενες τιμές. Οι πληροφορίες μπορεί να αφορούν συγκρίσεις ειδών ή πληθυσμών σε διάφορες χρονικές στιγμές ή σε διάφορους βιοτόπους (Wooton 1990).

Η αύξηση ενός οργανισμού σε μήκος ή βάρος σε σχέση με το χρόνο περιγράφεται μαθηματικά από μια καμπύλη της οποίας την εξίσωση περιέγραψαν αρχικά οι Ford (1933) και Brody (1927) και τελειοποίησε ο von Bertalanffy (1934, 1938), η οποία έχει τη μορφή:

$$L_t=L_\infty\ [1-e^{(-k(t-t_0)}]$$

Για την εκτίμηση των παραμέτρων αύξησης του *E. pygmaeus* εφαρμόστηκε η 'ολοκληρωμένη' μέθοδος (integrated method) (Pauly 1985a, Pauly 1986, 1987, Gayanilo

et al. 1988), μια μη παραμετρική μέθοδος εκτίμησης παραμέτρων αύξησης, που αναπτύχθηκε για ηλεκτρονικούς υπολογιστές εξαιτίας των πολλών αριθμητικών πράξεων που απαιτούνται. Το ELEFAN (Electronic Length Frequent Analysis) είναι μια ομάδα προγραμμάτων τα οποία χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση βιολογικών/δυναμικών παραμέτρων των ιχθυοαποθεμάτων. Το ELEFAN I είναι κατάλληλα προσαρμοσμένο για την ανάλυση κατά μήκος συνθέσεων και την εκτίμηση των παραμέτρων αύξησης (K, L_∞) και έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία από πολλούς ερευνητές (Pauly 1985b, Dalzell 1988, Philbrick 1988, Coutin & Payne 1989, Langi 1990, Kunzel & Lowenberg 1990).

Εδώ πρέπει να σημειώσουμε ότι η ολοκληρωμένη μέθοδος στηρίζεται σε μια παραλλαγή της εξίσωσης von Bertalanffy (VBGF) γνωστή ως εποχική εξίσωση VBGF (Pauly & Gaschutz 1979):

$$L_t=L_\infty\,[1 - e^{-k(t-t_0) - (CK/2\pi)\sin[2\pi(t-t_s)]}]$$

όπου, L_t είναι το ολικό μήκος τη χρονική στιγμή t, L_∞ είναι το ασυμπτωτικό μήκος σώματος, δηλαδή το μήκος που θα αποκτούσε το ψάρι αν ζούσε απεριόριστα, K είναι η παράμετρος που εκφράζει το ρυθμό με τον οποίο το ψάρι πλησιάζει το L_∞ και μετριέται σε 1/t, t είναι η ηλικία σε έτη, t_0=ο θεωρητικός χρόνος στον οποίο το ψάρι έχει μηδενικό μήκος, C είναι το εύρος της εποχικής διακύμανσης της αύξησης και t_s είναι το 'θερινό σημείο' από το οποίο αρχίζει η ημιτονοειδής διακύμανση της αύξησης σε σχέση με το t_0. Το σημείο t_s ισούται με t_w-0,5, όπου t_w (χειμερινό σημείο) είναι το σημείο ελάχιστης αύξησης (Moreau 1987, Pauly 1998, 2000). Το t_w κυμαίνεται από 0 ώς 1 και όταν η τιμή του βρίσκεται κοντά στο 0 ή στο 1, τότε η αύξηση είναι μικρότερη το καλοκαίρι. Αν C=0, τότε δεν υπάρχει εποχική διακύμανση στην αύξηση και η εποχική εξίσωση παίρνει την κλασσική μορφή, ενώ αν C=1, η εποχική διακύμανση της αύξησης είναι μέγιστη (Longhurst & Pauly 1987). Ο χρήστης δηλώνει στην αρχή του προγράμματος την τιμή του C και έτσι επιλέγει αν θα προσαρμόσει στα δεδομένα την απλή ή την εποχική VBGF.

Η αύξηση ενός είδους μπορεί να εκφραστεί με μια παράμετρο, το δείκτη αύξησης (growth index) που βασίζεται στις παραμέτρους K και L_∞ (Moreau 1987; Longhurst & Pauly 1987; Živkov et al. 1999). Ο δείκτης με την ευρύτερη εφαρμογή, φ΄ (=logk+2log L_∞), χρησιμοποιείται για να διευκολύνει συγκρίσεις της αύξησης μεταξύ ειδών και για την αξιολόγηση της αξιοπιστίας των εκτιμούμενων παραμέτρων (Pauly 1994).

Με τον τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω υπολογίστηκε η εξίσωση που περιγράφει την αύξηση του γωβιού στη λίμνη Παμβώτιδα για τα αρσενικά και τα θηλυκά άτομα χωριστά αλλά και για το σύνολο του πληθυσμού ανεξαρτήτως φύλου.

4.2.3. Σχέση μήκους-βάρους

Ο Le Cren (1951) αναφέρει ότι η μελέτη των σχέσεων μήκους-βάρους στα ψάρια χρησιμοποιείται για δύο διαφορετικούς λόγους. Ο πρώτος είναι για τη μαθηματική περιγραφή της σχέσης που υπάρχει μεταξύ του μήκους και του βάρους κυρίως, αλλά και για να υπάρχει η δυνατότητα μετατροπής του ενός μεγέθους στο άλλο. Ο δεύτερος είναι για να υπολογιστεί η απόκλιση από το αναμενόμενο βάρος για κάποιο μήκος του ψαριού.

Η σχέση του μήκους (L) και του βάρους (W) στα ψάρια εκφράζεται από τη εκθετική εξίσωση $W=aL^b$, η οποία μετά από λογαρίθμηση παίρνει τη μορφή $\log W=\log a+b(\log L)$. Οι τιμές που παίρνει η παράμετρος *b* χαρακτηρίζουν τον τρόπο αύξησης του υπό μελέτη είδους στο συγκεκριμένο βιότοπο. Έτσι, αν η τιμή του *b* είναι ίση με 3 σημαίνει ότι η αύξηση του ατόμου είναι ισομετρική ενώ αν οι τιμή είναι διαφορετική από το 3 είναι αλλομετρική. Τιμές μικρότερες του 3 σημαίνουν ότι το ψάρι γίνεται ελαφρύτερο για το μήκος του, καθώς μεγαλώνει και τιμές μεγαλύτερες από το 3 ότι το ψάρι γίνεται βαρύτερο για το μήκος του όσο μεγαλώνει σε μέγεθος (Wootton 1990). Οι τιμές του *b* που συνήθως λαμβάνονται από τις εξισώσεις μήκους και βάρους κυμαίνονται μεταξύ 2 και 4 (Tesch 1971, Wooton 1990).

Η σχέση ολικού μήκους (TL)-ολικού βάρους (TW) προσδιορίστηκε για το σύνολο των ατόμων, για κάθε φύλο χωριστά και ξεχωριστά για κάθε μήνα έρευνας. Οι κλίσεις των λογαριθμικών εξισώσεων εξετάστηκαν με την ανάλυση της συνδιακύμανσης (ANCOVA). Σε όλες τις περιπτώσεις προκειμένου να προσδιοριστεί η ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ του συντελεστή *b* και της τιμής 3 εφαρμοζόταν το t-test, σύμφωνα με τους Sokal & Rohlf (1987), χρησιμοποιώντας το τύπο: $t=|b-3|/SE$, όπου *b* και SE είναι ο συντελεστής που προκύπτει από τη σχέση μήκους-βάρους του ψαριού και SE το τυπικό σφάλμα της παραμέτρου *b*.

4.2.4. Δείκτης ευρωστίας

Σύμφωνα με τους Bagenal & Tesch (1978) ο δείκτης ευρωστίας βασίζεται στην υπόθεση ότι τα βαρύτερα ψάρια ενός συγκεκριμένου μήκους βρίσκονται σε καλύτερη κατάσταση. Ο δείκτης ευρωστίας μας πληροφορεί για το πόσο ευτραφές είναι ένα ψάρι καθώς και για τη φυσιολογική του κατάσταση (Murphy et al. 1991).

Η μεταβολή του δείκτη ευρωστίας μπορεί να είναι ημερήσια (πληρότητα εντέρου), εποχική (π.χ. αναπαραγωγή), καθώς και να μεταβάλλεται στη διάρκεια του χρόνου (τροφικοί παράγοντες ή οικολογικοί). Είναι δυνατόν χωρίς να έχουμε μεταβολές ή

τουλάχιστον όχι έντονες μεταβολές στο ολικό βάρος του ψαριού, να παρατηρούνται εσωτερικές μεταβολές (μεταφορές ενέργεια από τον ένα ιστό σε άλλο) που δεν είναι ορατές από τους συνήθεις δείκτες και υφίστανται π.χ. στις γονάδες, στη συσσώρευση ή μη λίπους στα σπλάχνα, στο σωματικό βάρος και στο ήπαρ (Miller 1979, Bolger & Connoly 1989, Wootton 1990).

Για τη μελέτη της ευρωστίας χρησιμοποιούνται συνήθως οι εξής δείκτες:

α) Δείκτης ευρωστίας κατά Fulton: $K_c=W/L^3 * 10^5$, όπου W το βάρος του σώματος του ψαριού και L το ολικό μήκος του. Ο παραπάνω δείκτης μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις ισομετρικής αύξησης των ψαριών (b=3), αλλά ακόμη και σε περιπτώσεις αλλομετρικής αύξησης όταν τα ψάρια είναι του ίδιου σχεδόν μήκους ($b\neq3$). Σε αντίθετη περίπτωση, όπως αναφέρουν οι Bagenal και Tesch (1978), μπορεί να χρησιμοποιείται ο παρακάτω τύπος: $K=W/L^b * 10^5$, όπου b είναι ο δείκτης από την εξίσωση μήκους-βάρους που αναφέρθηκε παραπάνω.

β) Σχετικός δείκτης ευρωστίας $Kn=W/aL^b * 1000$ (Le Cren, 1951). Ο δείκτης αυτός χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Le Cren (1951) για να συγκρίνει τα αρσενικά και θηλυκά ενός πληθυσμού σε διαφορετικές εποχές. Όπου W είναι το καθαρό βάρος του σώματος, L είναι το ολικό μήκος του ψαριού και a και b οι συντελεστές που προκύπτουν από τη σχέση μήκους-βάρους του ψαριού (Anderson & Gutreuter 1983). Ο παρανομαστής της πιο πάνω σχέσης δείχνει το θεωρητικό βάρος που θα είχαν τα ψάρια που έχουν το ίδιο μήκος. Ο σχετικός δείκτης ευρωστίας παρουσιάζει την απόκλιση από το υπολογισμένο βάρος για ένα ψάρι δεδομένου μήκους από κάποιο πληθυσμό. Χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Le Cren (1951) για να συγκρίνει τα αρσενικά και τα θηλυκά άτομα ενός πληθυσμού από διαφορετικές δειγματοληψίες.

Για να γίνει καλύτερη απόδοση της σωματικής κατάστασης του ψαριού και να μην επηρεάζεται ο δείκτης από την κατάσταση ωριμότητας των γονάδων και την πληρότητα του στομάχου ο Nikolsky (1963) προτείνει τη χρήση του δείκτη ευρωστίας του Clark κατά τον οποίο στον δείκτη ευρωστίας κατά Fulton χρησιμοποιείται το καθαρό βάρος σώματος. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε ο δείκτης ευρωστίας του Clark, ώστε να είναι σαφέστερη η εποχική περιγραφή της σωματικής αύξησης των ψαριών και να μην επηρεάζεται από το βάρος των γονάδων ή το επίπεδο τροφοληψίας.

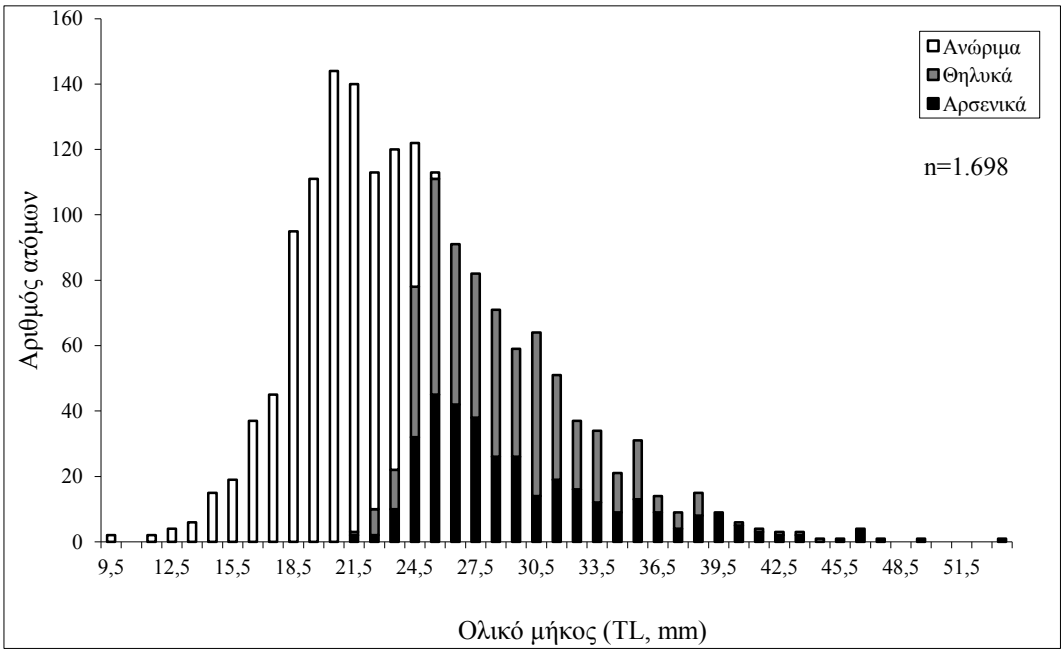
Η Ανάλυση Συσχέτισης (Correlation Analysis) κατά Spearman χρησιμοποιήθηκε για την εξεύρεση πιθανών συσχετίσεων μεταξύ των μηνιαίων τιμών του δείκτη ευρωστίας με τις αβιοτικές παραμέτρους (βλ. κεφάλαιο αβιοτικές παράμετροι). Τα δεδομένα

αναλύθηκαν με το συντελεστή συσχέτισης διατάξεων του Spearman (Spearman's rank correlation coefficient), δεδομένου ότι δεν ακολούθησαν την κανονική κατανομή που χρησιμοποιείται για παραμετρικούς ελέγχους (Siegel & Castellan 1992).

4.3. Αποτελέσματα

4.3.1. Κατά μήκος σύνθεση (μέθοδος Petersen)

Η κατά μήκος σύνθεση του *E. pygmaeus* βασίστηκε σε μετρήσεις του ολικού μήκους 1.698 ατόμων (356 αρσενικά, 480 θηλυκά και 862 ανώριμα άτομα). Η εικόνα 4.1, στην οποία αποτυπώνεται γραφικά η συνολική κατά μήκος σύνθεση του είδους, φανερώνει την ύπαρξη μεγαλύτερου εύρους μηκών σώματος στα αρσενικά (21,5 ώς 53 mm) σε σχέση με τα θηλυκά (21,5 ώς 40 mm). Η μέγιστη συχνότητα παρουσίας αρσενικών και θηλυκών βρέθηκε στα 24,5 ώς 33,5 mm. Επιπλέον, από την εικόνα 4.1 δημιουργείται σαφής εντύπωση σχετικά με την υπεροχή των θηλυκών ατόμων στα μικρότερα μήκη σώματος, σε αντίθεση με τα μεγαλύτερα μήκη και μάλιστα πέρα των 40 mm, όπου υπάρχει πλήρης κυριαρχία των αρσενικών ατόμων του πληθυσμού.



Εικόνα 4.1: Συνολική κατά μήκος σύνθεση των ατόμων του είδους *E. pygmaeus* από τη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 4.1: Total length frequency distribution of *E. pygmaeus* specimens from lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

Όσον αφορά τη διακύμανση του μέσου ολικού μήκους για το σύνολο των ατόμων κατά τη διάρκεια των μηνιαίων δειγματοληψιών, το μέσο ολικό μήκος, κυμάνθηκε από 21,00 mm, το Μάιο 2007, ώς 32,84 mm, το Φεβρουάριο 2007 (Πίνακας 4.1). Η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στα μέσα ολικά μήκη για τους 12 μήνες για το σύνολο των ατόμων ($F_{11,824}$=27,674, $p<0,001$) και το μέσο ολικό μήκος για το σύνολο των ατόμων ήταν στατιστικά μεγαλύτερο το Δεκέμβριο 2006-

Φεβρουάριο 2007 και στατιστικά μικρότερο τον Μάιο-Ιούλιο 2007 (Πίνακας 4.1).

Από τη στατιστική ανάλυση διαπιστώθηκε ότι το μέσο ολικό μήκος των αρσενικών ήταν στατιστικά μεγαλύτερο από των θηλυκών (αρσενικά: 29,44 mm, SD±5,38, θηλυκά: 28,44 mm, SD±3,88, t-test=3,124, p=0,002). Το μέσο ολικό μήκος των αρσενικών κατά τη διάρκεια των μηνιαίων δειγματοληψιών κυμάνθηκε μεταξύ 25,44 mm, τον Ιούνιο 2007 και 35,54 mm, το Φεβρουάριο 2007, ενώ για τα θηλυκά κυμάνθηκε μεταξύ 25,59 mm, τον Αύγουστο 2007 και 32,51 mm, το Μάιο 2007 (Πίνακας 4.1). Η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στα μέσα ολικά μήκη για τους 12 μήνες τόσο για τα αρσενικά ($F_{11,344}$=11,500, p<0,001) όσο και για τα θηλυκά ($F_{11,468}$=27,732, p<0,001) άτομα. Το μέσο ολικό μήκος των αρσενικών ήταν στατιστικά μεγαλύτερο το Δεκέμβριο 2006 και το Φεβρουάριο 2007, ενώ για τα θηλυκά ήταν στατιστικά μεγαλύτερο τον Απρίλιο και Μάιο 2007 και στατιστικά μικρότερο τον Αύγουστο 2007 (Πίνακας 4.1).

Στην εικόνα 4.2 δίνεται η σύνθεση του πληθυσμού του είδους *E. pygmaeus* που μελετήθηκε από τη λίμνη Παμβώτιδα για κάθε μήνα χωριστά. Τα ιστογράμματα βασίζονται στην κατανομή συχνοτήτων του ολικού μήκους (TL, mm) και απεικονίζουν τη δημογραφική πορεία του είδους. Η είσοδος των νεαρών ατόμων (9 ώς 16 mm) στον πληθυσμό ξεκινάει τον Απρίλιο (βλ. κεφάλαιο αναπαραγωγή) με αυξητική τάση μέχρι και τους καλοκαιρινούς μήνες (Ιούλιος-Αύγουστος 2007) και συμπίπτει χρονικά με τη σταδιακή μείωση του αριθμού των ώριμων ατόμων από το πληθυσμό.

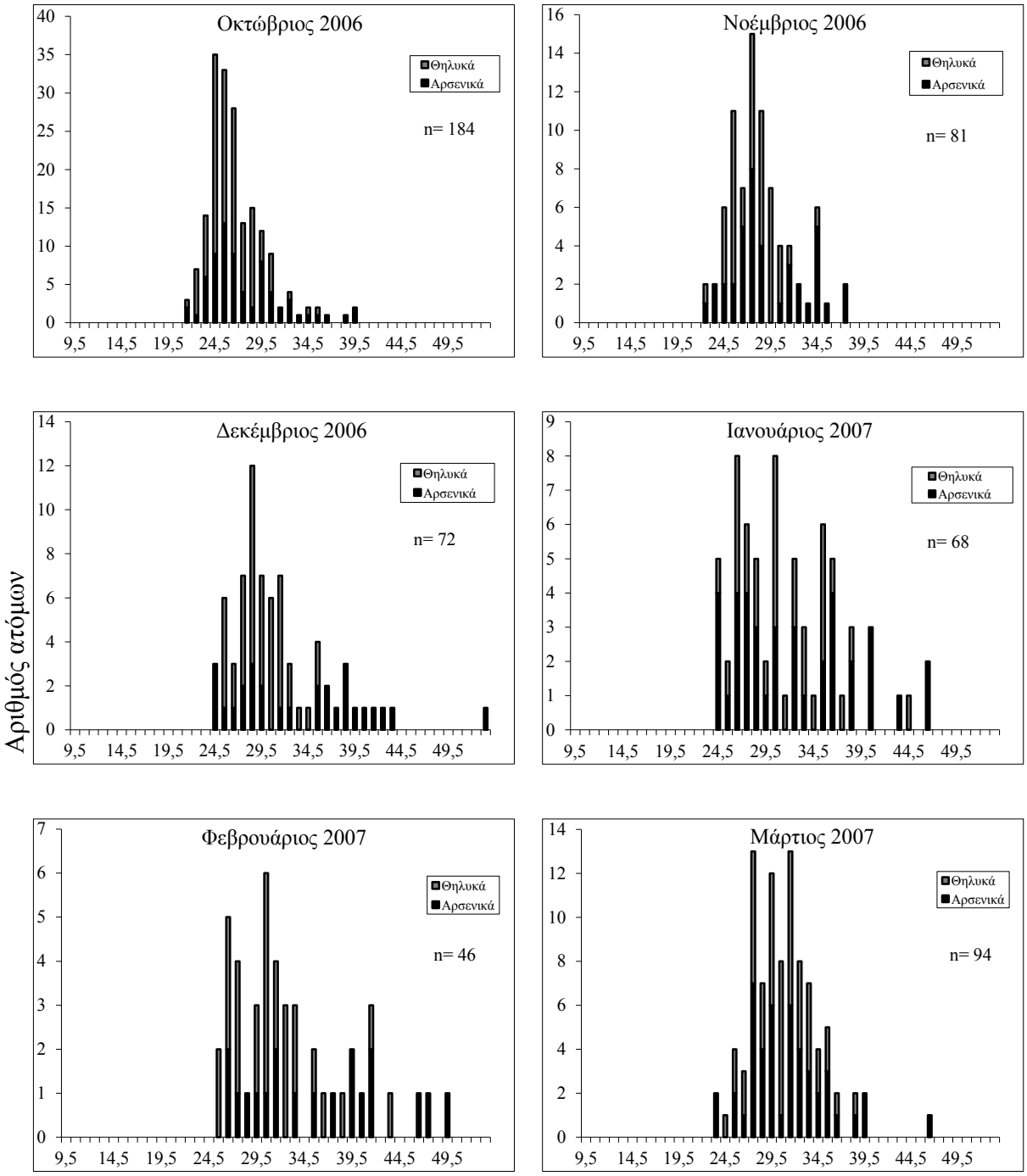
Από την προσεκτική μελέτη των γραφικών απεικονίσεων της κατά μήκος σύνθεσης του πληθυσμού του λουρογωβιού που συλλέχθηκε σε μηνιαία βάση (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007), καθίσταται φανερή η σταδιακή μετακίνηση των επιμέρους μέγιστων συχνοτήτων μήκους σε μεγαλύτερα μεγέθη, γεγονός που υποδηλώνει την κατά μήκος αύξηση του πληθυσμού κατά τη διάρκεια του έτους.

Τέλος, το μήκος του ουραίου πτερυγίου των αρσενικών και θηλυκών εξετάστηκε με t-test και διαπιστώθηκε ότι διέφερε στατιστικά μεταξύ τους. Τα αρσενικά άτομα είχαν μεγαλύτερα μήκη ουραίου πτερυγίου από τα θηλυκά (αρσενικά: 17,28 mm, SD±1,76, θηλυκά: 16,84 mm, SD±1,64, t-test=3,710, p<0,001). Η διαφορά του μεγέθους του πτερυγίου που παρατηρήθηκε μεταξύ των δύο φύλων φαίνεται ότι είναι έκφραση του διμορφισμού των φύλων του *E. pygmaeus*.

Πίνακας 4.1: Περιγραφική στατιστική ανάλυση για τα μηνιαία δείγματα των αρσενικών, θηλυκών, ανώριμων και για το σύνολο των ατόμων του *E. pygmaeus* (μέσο ολικό μήκος, TL mm) από τη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Table 4.1: Descriptive statistics for the monthly samples of males, females, immature and sexes combined of *E. pygmaeus* (mean total length, TL mm) from lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

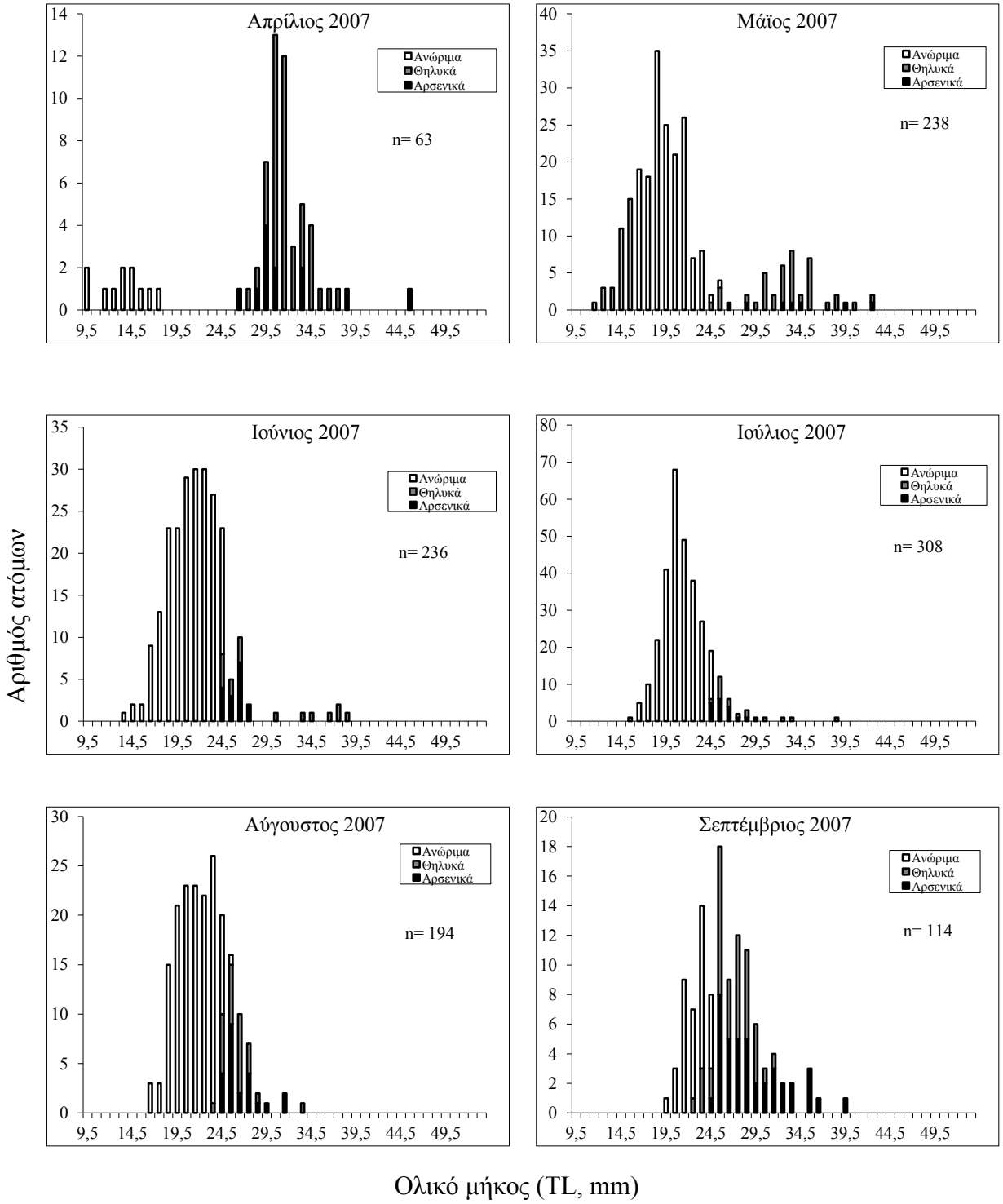
	Αρσενικά			Θηλυκά			Ανώριμα			Σύνολο		
Μήνες	n	TL	95% Ορ. Εμπιστ.	n	TL	95% Ορ. Εμπιστ.	n	TL	95% Ορ. Εμπιστ	n	TL	95% Ορ. Εμπιστ.
Οκτ. 2006	70	27,181	26,220-28,142	114	25,695	25,251-26,138				184	26,259	25,796-26,723
Νοε. 2006	39	28,782	27,496-30,069	42	27,127	26,384-27,870				81	27,924	27,187-28,660
Δεκ. 2006	28	33,331	30,566-36,097	44	28,989	28,211-29,768				72	30,677	29,437-31,918
Ιαν. 2007	38	31,796	29,718-33,875	30	31,084	29,401-32,766				68	31,481	30,134-32,829
Φεβ. 2007	19	35,537	32,086-38,988	27	30,946	29,131-32,761				46	32,842	31,014-34,670
Μαρ. 2007	46	30,669	29,361-31,977	48	30,097	29,217-30,977				94	30,376	29,607-31,146
Απρ. 2007	12	31,459	28,126-34,792	40	31,264	30,617-31,911	11	13,035	11,363-14,706	63	28,13	26,219-30,041
Μαι. 2007	7	33,414	28,296-38,532	38	32,514	31,228-33800	194	18,249	17,879-18,618	238	20,997	20,186-21,809
Ιουν. 2007	16	25,439	24,975-25,904	16	29,406	26,419-32,393	204	20,292	19,969-20,616	236	21,259	20,791-21,727
Ιουλ. 2007	18	25,476	24,807-26,145	16	27,659	25,638-29,681	274	20,469	20,253-20,686	308	21,135	20,828-21,442
Αυγ. 2007	23	26,033	25,173-26,892	26	25,589	24,827-26,350	145	20,776	20,460-21,093	194	22,061	21,650-22,472
Σεπ. 2007	40	28,809	27,620-29,998	39	26,340	25,680-27,001	35	22,115	21,682-22,548	114	25,909	25,211-26,607

*n=αριθμός ατόμων.



Εικόνα 4.2: Συνολική μηνιαία κατά μήκος σύνθεση των ατόμων του είδους *E. pygmaeus* από τη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 4.2: Total length frequency distribution of *E. pygmaeus* specimens from lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

(Συνεχίζεται)



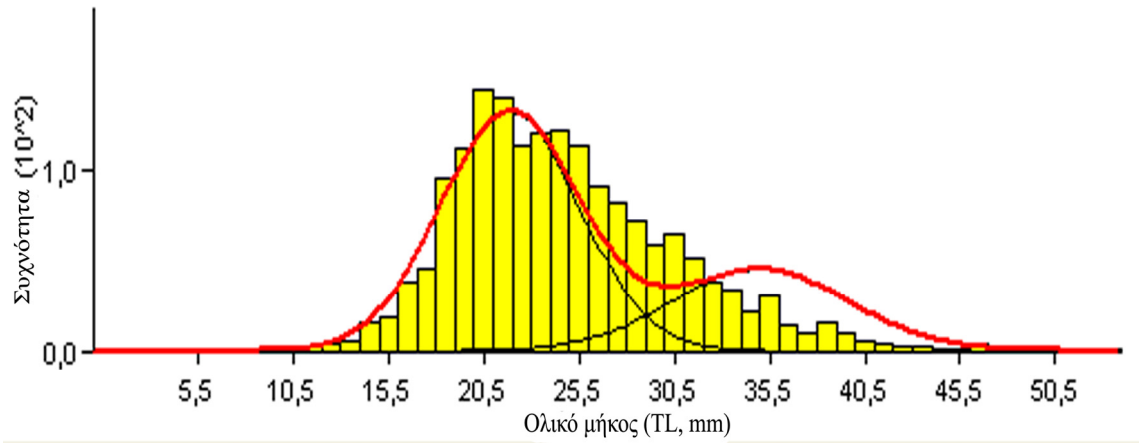
Εικόνα 4.2: Συνολική μηνιαία κατά μήκος σύνθεση των ατόμων του είδους *E. pygmaeus* από τη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).

Figure 4.2: Total length frequency distribution of *E. pygmaeus* specimens from lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

4.3.2. Μέθοδος Bhattacharya

Η μέθοδος Bhattacharya στηρίζεται στην ανάλυση των δεδομένων της κατά μήκους σύνθεσης προκειμένου να εντοπισθούν μεγαλύτερες συχνότητες παρουσίας ατόμων σε συγκεκριμένα μήκη, οι οποίες πιθανά να αντιστοιχούν στις διάφορες ηλικίες. Η μέθοδος Bhattacharya χρησιμοποιήθηκε μέσα από το στατιστικό πακέτο FISAT (Gayanillo et al. 1996) και εφαρμόστηκε ώστε να υπάρξει επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων αυτών με εκείνα από τη μέθοδο Petersen. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε η ολική κατά μήκος σύνθεση του είδους, η οποία χαρακτηρίζεται από ομοιομορφία, το συνολικό αριθμό των ατόμων, καθώς και την πλήρη αντιπροσώπευση σε όλα τα μήκη.

Η εφαρμογή της μεθόδου Bhattacharya έδειξε ότι η συνολική κατά μήκος σύνθεση του λουρογωβιού στη λίμνη Παμβώτιδα μπορεί να αναλυθεί σε δύο συνιστώσες καμπύλες κανονικής κατανομής (Εικόνα 4.3).



Εικόνα 4.3: Κατά μήκος σύνθεση των ατόμων του είδους *E. pygmaeus* σύμφωνα με τη μέθοδο Bhattacharya, στη λίμνη Παμβώτιδα.
Figure 4.3: Length frequency distribution of *E. pygmaeus* using the Bhattacharya method in lake Pamvotis.

Οι δύο συνιστώσες καμπύλες υποδηλώνουν δύο ομάδες ηλικίας που αντιστοιχούν σε μέσα ολικά μήκη 21,85 mm και 35,05 mm (Πίνακας 4.2). Το γεγονός ότι ο δείκτης διαχωρισμού είναι μεγαλύτερος από την τιμή 2, δείχνει ότι υπάρχει σημαντική διάκριση ανάμεσα στις συνιστώσες καμπύλες που αναγνωρίστηκαν στην κατά μήκος σύνθεση του είδους.

Πίνακας 4.2: Διαχωρισμός της κατά μήκος σύνθεσης του *E. pygmaeus* (TL, mm) στη λίμνη Παμβώτιδα σε συνιστώσες καμπύλες με τη μέθοδο της Bhattacharya.
Table 4.2: Seperation of the length-frequency distribution of *E. pygmaeus* (TL, mm) in lake Pamvotis into normal components using the Bhattacharya method.

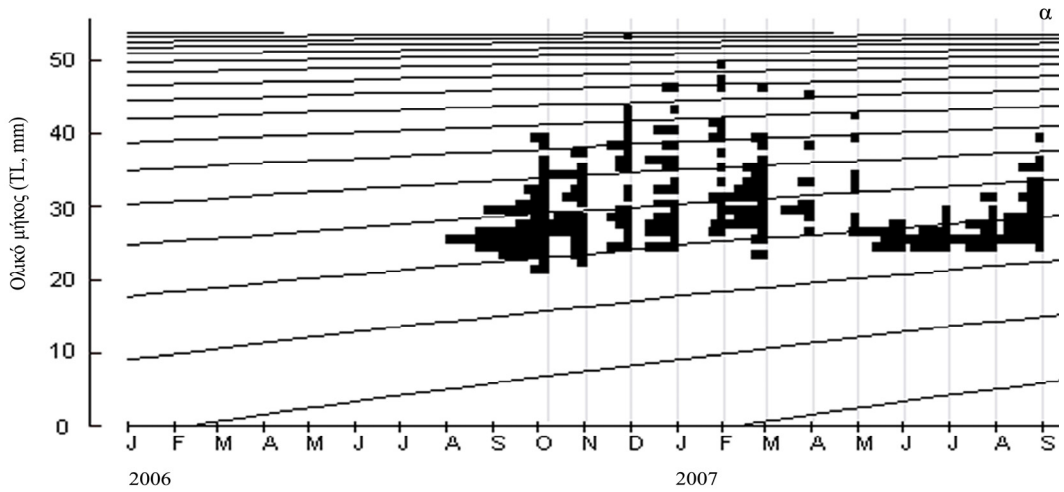
Ομάδα ηλικίας	TL	SD	n	SI
1	21,85	3,64	1182	-
2	35,05	4,64	519	3,19

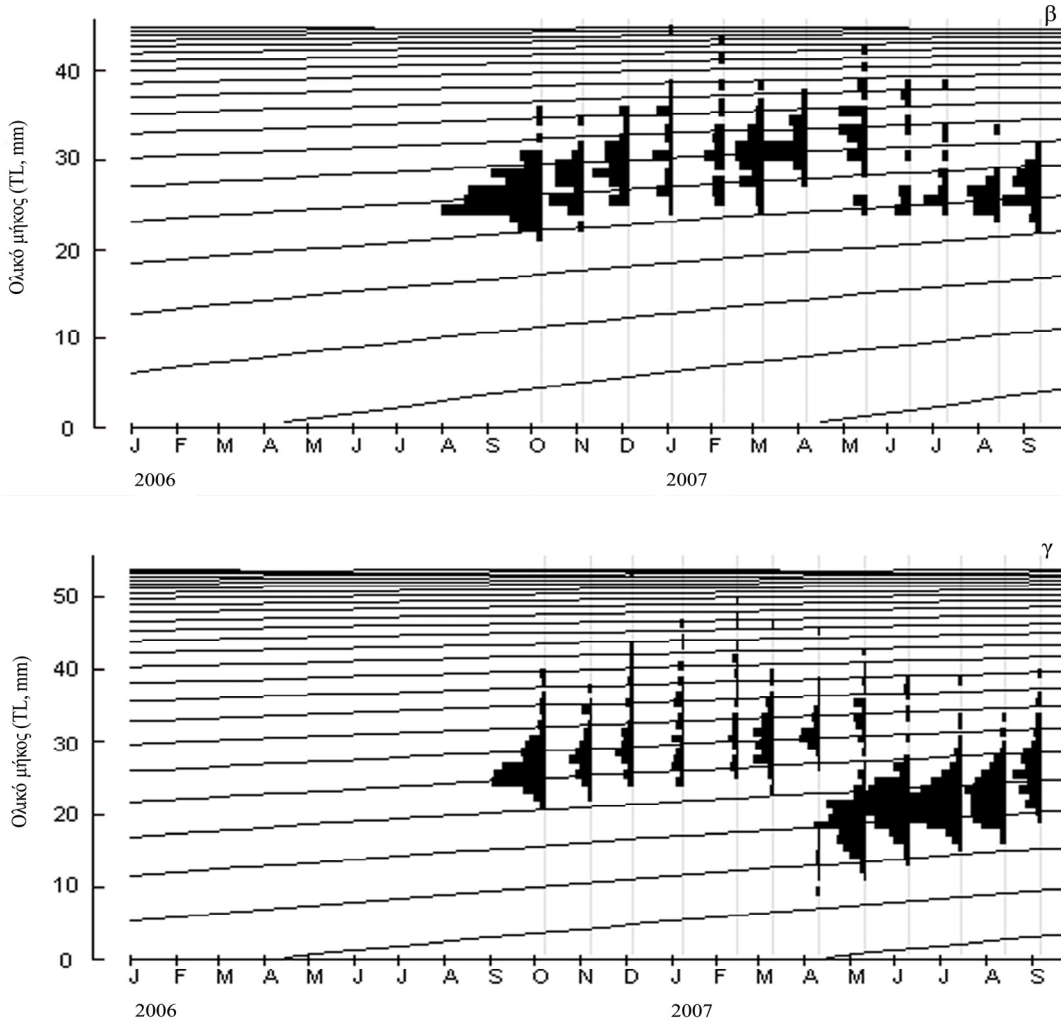
*SD=τυπική απόκλιση, SI=δείκτης διαχωρισμού, n=αριθμός ατόμων.

4.3.3. Παράμετροι αύξησης

Για την εκτίμηση των παραμέτρων αύξησης με την 'ολοκληρωμένη μέθοδο' χρησιμοποιήθηκαν οι μηνιαίες κατά μήκος συνθέσεις των αρσενικών, των θηλυκών και του συνόλου των ατόμων. Τα αποτελέσματα από την κατά μήκος σύνθεση του είδους μετασχηματίστηκαν με το πρόγραμμα ELEFAN I και παρουσιάζονται στις εικόνες 4.4α, β και γ.

Το μοντέλο αύξησης του Von Bertalanffy εφαρμόστηκε στα δεδομένα των κατά μήκος συνθέσεων των αρσενικών, θηλυκών, καθώς και του συνόλου των ατόμων με τη βοήθεια του προγράμματος FISAT για H/Y. Οι παράμετροι αύξησης L_∞ και K που υπολογίσθηκαν για κάθε φύλο χωριστά καθώς και για το σύνολο των ατόμων παρουσιάζονται στον πίνακα 4.3.





Εικόνα 4.4: Κατά μήκος συνθέσεις του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007) όπως μετασχηματίστηκαν με το ELEFAN I ('ολοκληρωμένη μέθοδος') και καμπύλες αύξησης VBGF: α) αρσενικά, β) θηλυκά και γ) σύνολο ατόμων.
Figure 4.4: Restructed length frequency distributions of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007) using ELEFAN I and superimposed growth curves: a) males, b) females and c) total specimens.

Πίνακας 4.3: Παράμετροι αύξησης του *E. pygmaeus* από τη λίμνη Παμβώτιδα και εκτίμηση της $\varphi' = \log k + 2\log L_\infty$.
Table 4.3: Growth parameters of *E. pygmaeus* from lake Pamvotis estimated and corresponding φ' values.

	L_∞ (mm)	K (χρόνια $^{-1}$)	φ΄
Αρσενικά	56,18	0,200	2,800
Θηλυκά	46,73	0,180	2,594
Σύνολο	56,18	0,130	2,613

Οι εκτιμήσεις των παραμέτρων L_∞ και K που προέκυψαν από το μοντέλο της VBGF ήταν παρόμοιες (Πίνακας 4.3). Τα αρσενικά άτομα του λουρογωβιού σε σχέση με τα θηλυκά εμφανίζουν γρηγορότερο ρυθμό αύξησης (K) και έχουν την τάση να αποκτήσουν μεγαλύτερο ασυμπτωτικό μήκος (L_∞). Η τιμή του δείκτη αύξησης φ΄ για τα αρσενικά (2,800) ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με τα θηλυκά (2,594). Το μέγιστο παρατηρούμενο μήκος σώματος (L_{max}) των αρσενικών και επομένως του συνόλου των ατόμων, της παρούσας μελέτης ήταν 52,94 mm και των θηλυκών 43,69 mm. Με βάση τις τιμές αυτές ο λόγος του μέγιστου παρατηρούμενου μήκους προς το ασυμπτωτικό μήκος (L_{max}/L_∞) βρέθηκε στο 0,942 για το σύνολο των ατόμων και τα αρσενικά και στο 0,934 για τα θηλυκά. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι στην περιοχή έρευνας το σύνολο του πληθυσμού του *E. pygmaeus*, βρίσκεται κοντά στο μέγιστο θεωρητικό μήκος, με βάση το πρότυπο αύξησης που υπολογίσθηκε για τον παρόντα ιχθυοπληθυσμό.

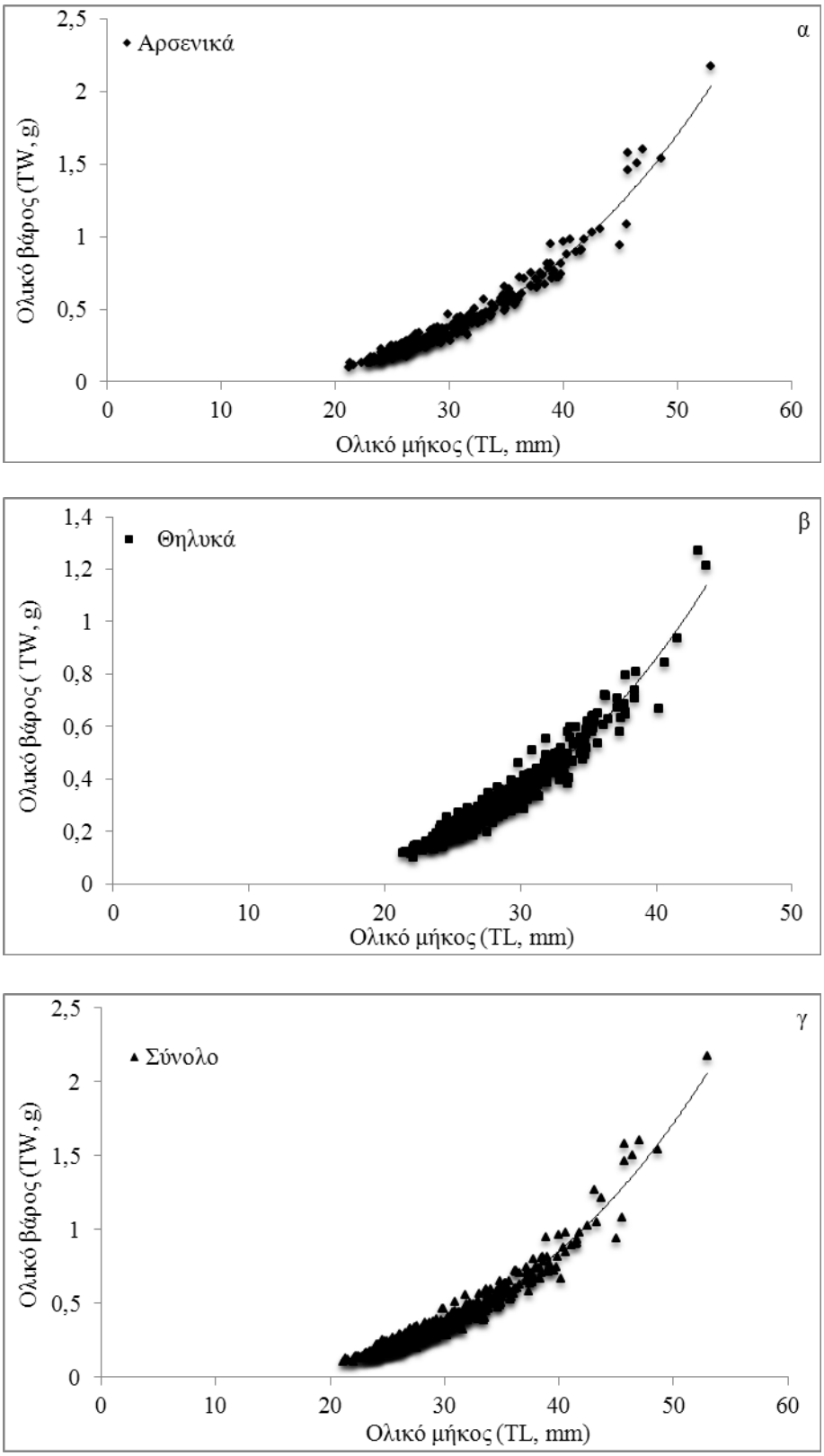
4.3.4. Σχέση μήκους-βάρους

Οι εξισώσεις ολικού μήκους (TL, mm)-ολικού βάρους (TW, g) υπολογίσθηκαν χωριστά για τα αρσενικά, τα θηλυκά αλλά και για το σύνολο των ατόμων και τα αποτελέσματα φαίνονται στο πίνακα 4.4 και απεικονίζονται γραφικά στις εικόνες 4.5α, β και γ. Όπως φαίνεται από τις τιμές που λαμβάνει η σταθερά *b*, η αύξηση του λουρογωβιού στη λίμνη Παμβώτιδα παρουσιάζει θετική αλλομετρία ($b>3$). Συγκρίνοντας τις τιμές αυτές με τη θεωρητική τιμή 3 διαπιστώνεται ότι οι τιμές του συντελεστή *b* στα αρσενικά, θηλυκά και στο σύνολο των ατόμων διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($p>0,05$). Είναι εμφανές επίσης ότι τα θηλυκά άτομα του είδους στη λίμνη παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές βάρους για το ίδιο μήκος σε σχέση με τα αρσενικά.

Πίνακας 4.4: Συντελεστές της σχέσης ολικού μήκους-ολικού βάρους για τα αρσενικά, τα θηλυκά και το σύνολο των ατόμων του *E. pygmaeus*, λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Table 4.4: Parameters of the total length-total weight relationship for males, females and both sexes of *E. Pygmaeus*, lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

	n	log *a*	*b*	95% Ορ. Εμπιστ. (*b*)	r^2	t-test
Αρσενικά	356	$8,68*10^{-6}$	3,12	3,052 - 3,179	0,96	3,63*
Θηλυκά	480	$7,39*10^{-6}$	3,16	3,094 - 3,230	0,95	4,63*
Σύνολο	836	$8,04*10^{-6}$	3,14	3,092 - 3,184	0,96	5,75*

*για $p< 0,05$ το *b* διαφέρει στατιστικά σημαντικά από το 3.



Εικόνα 4.5: Σχέση ολικού μήκους-ολικού βάρους για το *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007), α) αρσενικά, β) θηλυκά και γ) σύνολο ατόμων.

Figure 4.5: Total length-total weight relationship of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007), a) males, b) females and c) total specimens.

Οι υψηλές τιμές των συντελεστών που πλησιάζουν τη μονάδα και ο μεγάλος αριθμός των ατόμων του δείγματος, υποδηλώνουν ότι οι παραπάνω εξισώσεις περιγράφουν ικανοποιητικά τη σχέση ολικού μήκους-ολικού βάρους.

Η ανάλυση της συνδιακύμανσης (ANCOVA) εφαρμόστηκε προκειμένου να συγκριθούν οι κλίσεις των εξισώσεων ολικού μήκους (TL, mm)-ολικού βάρους (TW, g) ανάμεσα στα δύο φύλα. Στην περίπτωση της σχέσης ολικού μήκους-ολικού βάρους δεν παρουσιάστηκαν διαφορές στην κατά βάρος αύξηση των δύο φύλων ($F_{1,832}$, p=0,326) και συνέστησε την ύπαρξη ίδιων ρυθμών αύξησης ανάμεσα στα αρσενικά και στα θηλυκά.

Οι παράμετροι των εξισώσεων ολικού μήκους (TL)-ολικού βάρους (TW) του είδους για το κάθε φύλο σε σχέση με τις μηνιαίες δειγματοληψίες φαίνονται στο πίνακα 4.5. Η παράμετρος *b* των μηνιαίων εξισώσεων ολικού μήκους - ολικού βάρους για τα αρσενικά κυμάνθηκε από 2,69 (Απρίλιο 2007) ώς 3,79 (Ιούλιο 2007), ενώ για τα θηλυκά από 2,73 (Ιούλιο 2007) ώς 3,46 (Σεπτέμβριος 2007).

Πίνακας 4.5: Μηνιαίοι συντελεστές της σχέσης ολικού μήκους (TL, mm)-ολικού βάρους (TW, g) για τα αρσενικά και τα θηλυκά άτομα του *E. pygmaeus*, λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007), δίνονται το τυπικό σφάλμα της κλίσης (SE), ο συντελεστής προσδιορισμού (r^2) και ο αριθμός ατόμων (n).
Table 4.5: Monthly parameters of the total length-total weight relationship for males, females and both sexes of *E. Pygmaeus*, lake Pamvotis (October 2006-September 2007), the standard error of the slope (SE), the regression coefficient (r^2) and the sample size (n) are given.

	Αρσενικά					Θηλυκά				
	n	*a*	*b*	r^2	SE (*b*)	n	*a*	*b*	r^2	SE (*b*)
Οκτ. 2006	70	$3,99*10^{-6}$	3,34	0,96	0,085	114	$2,88*10^{-6}$	3,44	0,93	0,092
Νοε. 2006	39	$4,10*10^{-6}$	3,33	0,98	0,088	42	$7,36*10^{-6}$	3,16	0,91	0,151
Δεκ. 2006	28	$5,18*10^{-6}$	3,25	0,99	0,064	44	$1,04*10^{-6}$	3,04	0,89	0,163
Ιαν. 2007	38	$5,14*10^{-6}$	3,26	0,99	0,063	30	$7,67*10^{-6}$	3,16	0,96	0,124
Φεβ. 2007	19	$4,08*10^{-6}$	3,31	0,98	0,117	27	$5,14*10^{-6}$	3,27	0,98	0,082
Μαρ. 2007	46	$7,33*10^{-6}$	3,17	0,95	0,106	48	$2,22*10^{-6}$	2,85	0,89	0,144
Απρ. 2007	12	$3,78*10^{-6}$	2,69	0,90	0,277	40	$2,22*10^{-6}$	2,85	0,82	0,217
Μαι. 2007	7	$1,75*10^{-6}$	2,91	0,96	0,235	38	$2,83*10^{-6}$	2,83	0,93	0,128
Ιουν. 2007	16	$4,17*10^{-6}$	3,38	0,78	0,462	16	$3,25*10^{-6}$	2,75	0,97	0,132
Ιουλ. 2007	18	$1,10*10^{-6}$	3,79	0,81	0,436	16	$3,26*10^{-6}$	2,73	0,94	0,175
Αυγ. 2007	23	$3,54*10^{-6}$	3,41	0,87	0,275	26	$6,33*10^{-6}$	3,23	0,91	0,206
Σεπ. 2007	40	$6,95*10^{-6}$	3,19	0,96	0,105	39	$2,95*10^{-6}$	3,46	0,91	0,178

Η ανάλυση της συνδιακύμανσης (ANCOVA) έδειξε ότι οι κλίσεις των μηνιαίων εξισώσεων ανάμεσα στα αρσενικά και θηλυκά άτομα δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά ($p>0,05$), εκτός από το μήνα Ιούλιο 2007 όπου η κλίση των αρσενικών ήταν μεγαλύτερη ($F_{1,30}$, $p=0,029$).

4.3.5. Δείκτης Ευρωστίας κατά Clark

Η μελέτη του συντελεστή ευρωστίας έδειξε ότι μεταβάλλεται σε σχέση με το φύλο και την εποχή. Η ανάλυση διακύμανσης διπλής κατεύθυνσης (Two-way ANOVA) έδειξε ότι οι τιμές του συντελεστή ευρωστίας διέφεραν σημαντικά μεταξύ των φύλων ($F_{1,407}=303,885$, $p<0,001$) (Πίνακας 4.6). Η ανάλυση διακύμανσης διπλής κατεύθυνσης (Two-way ANOVA) έδειξε ότι υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά των τιμών του συντελεστή ευρωστίας μεταξύ των τεσσάρων εποχών ($F_{3,407}=24,725$, $p< 0,001$) (Πίνακας 4.6).

Πίνακας 4.6: Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης διπλής κατεύθυνσης (Two-way ANOVA) του συντελεστή ευρωστίας του *E. pygmaeus* στην λίμνη Παμβώτιδα ως προς το φύλο και την εποχή (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Table 4.6: Two-way ANOVA results of the condition factor of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis in relation to sex and season (October 2006-September 2007).

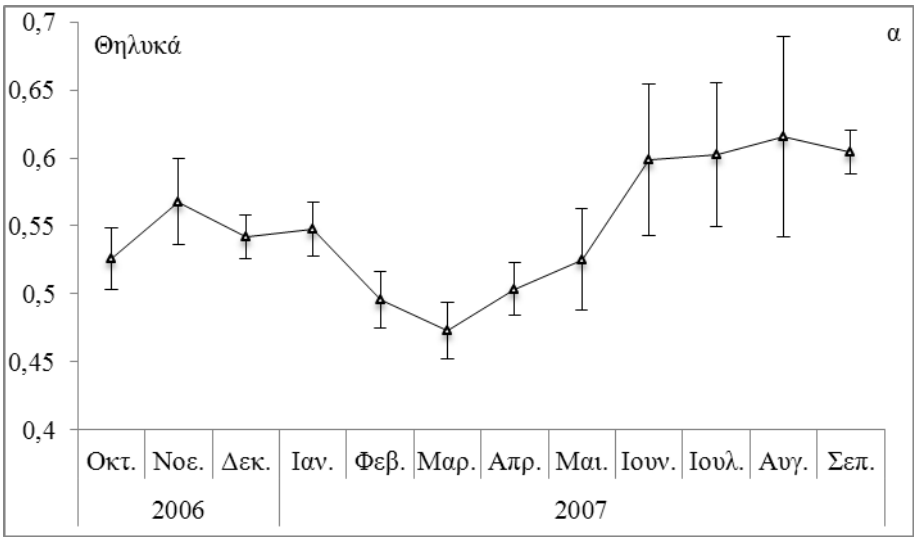
Παράγοντας	F	p
Φύλο	303,885	<0,001
Εποχή	24,725	<0,001
Φύλο * Εποχή	5,812	<0,001

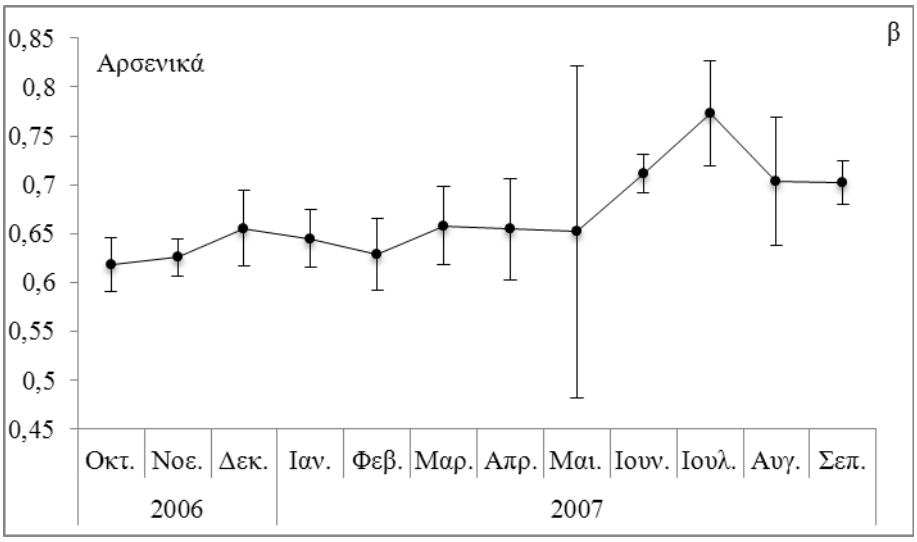
Οι τιμές του συντελεστή ευρωστίας που υπολογίστηκαν χωριστά για τα αρσενικά και τα θηλυκά άτομα κάθε μηνιαίας δειγματοληψίας παρουσιάζονται στον πίνακα 4.7 και απεικονίζονται γραφικά στις εικόνες 4.6α και β.

Πίνακας 4.7: Μηνιαίες τιμές του δείκτη ευρωστίας για τα αρσενικά και τα θηλυκά άτομα του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Table 4.7: Monthly values of condition factor for males and females of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

	Αρσενικά			Θηλυκά		
	n	CF	95% Ορ. Εμπιστ.	n	CF	95% Ορ. Εμπιστ.
Οκτ. 2006	23	0,618	0,590-0,646	25	0,525	0,503-0,549
Νοε. 2006	22	0,625	0,606-0,644	22	0,567	0,536-0,599
Δεκ. 2006	19	0,655	0,617-0,694	24	0,542	0,526-0,558
Ιαν. 2007	23	0,644	0,615-0,674	21	0,547	0,528-0,567
Φεβ. 2007	19	0,628	0,592-0,664	24	0,495	0,475-0,516
Μαρ. 2007	23	0,658	0,618-0,699	23	0,472	0,452-0,494
Απρ. 2007	11	0,654	0,602-0,706	27	0,503	0,484-0,523
Μαι. 2007	3	0,652	0,482-0,821	17	0,525	0,488-0,562
Ιουν. 2007	9	0,712	0,692-0,731	11	0,598	0,543-0,654
Ιουλ. 2007	9	0,772	0,719-0,827	9	0,602	0,550-0,655
Αυγ. 2007	8	0,704	0,638-0,770	7	0,615	0,542-0,689
Σεπ. 2007	19	0,702	0,680-0,724	17	0,604	0,588-0,620

*CF=Δείκτης ευρωστίας, 95% Ορ. Εμπιστ.=95% Όρια Εμπιστοσύνης, n=αριθμός ατόμων.





Εικόνα 4.6: Μηνιαία διακύμανση του δείκτη ευρωστίας για το *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007), α) θηλυκά και β) αρσενικά. Δίνονται μέσες τιμές και διαστήματα εμπιστοσύνης 95%.
Figure 4.6: Monhtly variation of the condition factor for the females of *E. pygmaeus* at lake Pamvotis (October 2006-September 2007), a) females and b) males. Mean values and 95% confidence intervals are given.

Από τα δεδομένα του πίνακα 4.7 φαίνεται ότι οι τιμές του δείκτη ευρωστίας των αρσενικών είναι πάντα μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες των θηλυκών. Για τα θηλυκά η υψηλότερη τιμή παρατηρήθηκε τον Αύγουστο 2007 και η χαμηλότερη το Μάρτιο 2007. Από το Μάιο και κατά τη διάρκεια των θερμών μηνών παρατηρείται μια αύξηση του δείκτη ευρωστίας και στα δύο φύλα με τη πτώση του δείκτη να συμβαίνει το φθινόπωρο. Στα θηλυκά η πτώση αυτή φαίνεται να συνεχίζεται πιο έντονα μέχρι τα μέσα της αναπαραγωγικής περιόδου. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στην κατανάλωση των ενεργειακών αποθεμάτων του σώματος των ψαριών για τη διαδικασία της αναπαραγωγής που συμβαίνει κατά το διάστημα αυτό (Εικόνα 4.6α). Αντίθετα, τα αρσενικά (Εικόνα 4.6β) φαίνεται να βρίσκονται σε καλύτερη σωματική κατάσταση για την εκτέλεση των καθηκόντων τους που σχετίζονται με την αναπαραγωγική συμπεριφορά (ερωτοτροπία, πατρική γονική φροντίδα).

Η ανάλυση συσχέτισης (Πίνακας 4.8) έδειξε μια θετική αλληλεπίδραση μεταξύ των τιμών του δείκτη ευρωστίας του αρσενικού και του θηλυκού με τη θερμοκρασία. Σημαντική αρνητική συσχέτιση εμφανίστηκε μεταξύ των θρεπτικών αλάτων και των ατόμων του *E. pygmaeus*. Συγκεκριμένα τα αρσενικά άτομα σχετίστηκαν αρνητικά με τα NO_2-N και NO_3-N ενώ τα θηλυκά με τα NO_3-N και PO_4.

Πίνακας 4.8: Ανάλυση συσχέτισης (Spearman) μεταξύ των αβιοτικών παραμέτρων και των δύο φύλων του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Table 4.8: Correlation analysis (Spearman) between the abiotic parameters and both sexes of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

	Αρσενικά	Θηλυκά
	CF	CF
pH	0,287	0,224
D.O. (mg l^{-1})	-0,574	-0,452
T (^{O}C)	0,601*	0,598*
NO_2-N (mg l^{-1})	-0,587*	-0,264
NO_3-N (mg l^{-1})	-0,661*	-0,654*
NH_4-N (mg l^{-1})	0,299	0,201
PO_4 (mg l^{-1})	0,413	0,629*
Cond (μS/cm)	-0,042	-0,027

** Συσχέτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 0,01 (2-tailed).
* Συσχέτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05 (2-tailed).

4.4. Συζήτηση

Η εκτίμηση της ηλικιακής δομής του πληθυσμού του είδους *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα έδωσε δύο ηλικιακές ομάδες, με την είσοδο των νεοεισερχομένων στο πληθυσμό ατόμων να πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου και με τα ώριμα άτομα να απομακρύνονται σταδιακά μετά το τέλος της αναπαραγωγής. Η πρώτη κορυφή που παρατηρήθηκε στο σύνολο των ατόμων του *E. pygmaeus* βρέθηκε στα 21,85 mm και φαίνεται ότι αντιπροσωπεύει την κλάση ηλικίας 1. Η δεύτερη κορυφή για το *E. pygmaeus* υπολογίστηκε στα 35,05 mm και αντιπροσωπεύει τη κλάση ηλικίας 2. Η εκτίμηση αυτή ότι πρόκειται για βραχύβιο είδος (Miller 2004) επιβεβαιώνεται από τον προσδιορισμό της ηλικίας που έγινε για το *E. pygmaeus* στο ποταμό Άγιο Δημήτριο και στις πηγές Μπαρμπανάκου και Βλυχά (19-23 μήνες) και στη λίμνη Τριχωνίδα (18-21 μήνες) για το *E. trichonis* (Daoulas et al. 1993, Economou et al. 1999).

Ο λουρογωβιός εμφάνισε φυλετικό διμορφισμό όσον αφορά την κατά μήκος σύνθεση με τη διαφορά στο ολικό μήκος σώματος ανάμεσα στα δύο φύλα να αυξάνεται προς όφελος των αρσενικών. Η απόκτηση μεγαλύτερου μεγέθους φαίνεται να ευνοείται στα αρσενικά. Στην πραγματικότητα, το σωματικό μέγεθος είναι ο περιοριστικός παράγοντας για να μπορέσουν τα αρσενικά να προσελκύσουν τα θηλυκά (Zerunian et al. 1988, Bobbio et al. 1990). Αυτός ο ενδοειδικός ανταγωνισμός θα μπορούσε να προκαλέσει την εξέλιξη του μεγαλύτερου σωματικού μεγέθους στα αρσενικά. Ωστόσο, οι επιλεκτικές πιέσεις που ενεργούν στο σωματικό μέγεθος των ενηλίκων είναι ποικίλες, πολύπλοκες και μερικές φορές δρουν συνεργατικά ή ανταγωνιστικά, με συνέπεια να αποκρύπτεται η έκφραση του φυλετικού διμορφισμού στο επίπεδο του είδους (Scalici & Gibertini 2009). Πολλοί παράγοντες μπορεί να επηρεάσουν την κατεύθυνση και την ένταση του φυλετικού διμορφισμού: το μέγεθος κατά τη γέννηση, ο ρυθμός αύξησης των ανήλικων και ενήλικων ατόμων, η ηλικία κατά τη πρώτη γεννητική ωρίμαση και η επιβίωση. Επίσης, οι περιβαλλοντικές διακυμάνσεις μπορούν να επηρεάσουν το ρυθμό αύξησης και την επιβίωση, περιπλέκοντας περισσότερο την κατάσταση (Scalici & Gibertini 2009).

Οι διαφορές στο μέγεθος των δύο φύλων μπορεί να οφείλονται στη διαφορετική συμπεριφορά που επιδεικνύει το αρσενικό άτομο κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγής όσον αφορά την εδαφικότητα και τη φύλαξη της φωλιάς από εισβολείς (Lindström & Hellström 1993). Το μέγεθος στα αρσενικά είναι σημαντικό για τον ανταγωνισμό με τα άλλα αρσενικά, γιατί συχνά τα μεγαλύτερα άτομα κερδίζουν τις μονομαχίες σε βάρος των μικρότερων για τον έλεγχο της φωλιάς (Lindström 1988, Forsgren 1997). Επιπλέον, η

προτίμηση των θηλυκών για κυρίαρχα αρσενικά έχει βρεθεί σε διάφορους ζωικούς οργανισμούς, για παράδειγμα στα θηλαστικά (Cox & Le Boeuf 1977, Horne & Ylönen 1996), στα έντομα (Breed et al. 1980), στα ψάρια (Bisazza & Marin 1991) και στα πτηνά (Alatalo et al. 1991). Γενικά θεωρείται ότι τα θηλυκά υποκινούν τον ανταγωνισμό μεταξύ των αρσενικών και ζευγαρώνουν με το αρσενικό 'νικητή' για να εξασφαλίσουν 'υψηλής ποιότητας' αρσενικά, κερδίζοντας έτσι οφέλη, όπως η καλύτερη προστασία της φωλιάς (Cox & Le Boeuf 1977, Bisazza et al. 1989). Άλλες γνωστές περιπτώσεις φυλετικού διμορφισμού που έχουν παρατηρηθεί σε αρκετά είδη γωβιών στην Ευρώπη αφορούν το μέγεθος του ουρογεννητικού πόρου στα ενήλικα άτομα και την παρουσία μεγαλύτερων ακτίνων του πρώτου ραχιαίου πτερυγίου στα αρσενικά σε σύγκριση με τα θηλυκά (Miller 1986).

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε διαφορά στο μήκος του ουραίου πτερυγίου μεταξύ των δύο φύλων του *E. pygmaeus* (αρσενικά: 17,28 mm>θηλυκά: 16,84 mm, $p<0,001$). Τα αρσενικά, εκτός της κολυμβητικής κίνησης (Adriens et al. 1993), χρησιμοποιούν το ουραίο πτερύγιο για να οξυγονώσουν με συνεχή κίνηση τα υπό εκκόλαψη γονιμοποιημένα αβγά, δημιουργώντας ρεύμα νερού πάνω τους (αερισμός) (Torricelli et al. 1985, Gkenas et al. 2010), με την κίνηση αυτή να αποτελεί μία από τις δύο κύριες δραστηριότητες της πατρικής φροντίδας (Lindström 1988). Αυτή θα μπορούσε να είναι και η εξήγηση για το μεγαλύτερο σε μήκος ουραίο πτερύγιο στα αρσενικά από τα θηλυκά άτομα του *E. pygmaeus*. Ωστόσο οι Lindström et al. (2006) υποστήριξαν ότι τα αρσενικά χρησιμοποιούν την κίνηση του ουραίου πτερυγίου είτε για τη φροντίδα των αβγών ή για επίδειξη προς τα θηλυκά. Με άλλα λόγια και οι δύο κινήσεις (αερισμός/επίδειξη) αποτελούν σημαντικά στοιχεία της ερωτοτροπίας. Πράγματι, τα αρσενικά στην προσπάθειά τους να προσελκύσουν τα θηλυκά χρησιμοποιούν εναλλακτικά αυτές τις δύο συμπεριφορές (Torricelli et al. 1985, Zerunian et al. 1988). Το αποτέλεσμα αυτό υπογραμμίζει τη δυσκολία διαχωρισμού μεταξύ της προσπάθειας προσέλκυσης του θηλυκού και της πατρικής γονικής φροντίδας και υποδηλώνει ότι η πατρική φροντίδα αποτελεί σημαντικό κομμάτι της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς του αρσενικού ατόμου για τους 'αμμογωβιούς'.

Όσον αφορά τις παραμέτρους αύξησης, το μέγιστο θεωρητικό μήκος που υπολογίστηκε για τα αρσενικά άτομα του λουρογωβιού στη λίμνη Παμβώτιδα ήταν 56,18 mm και για τα θηλυκά 46,73 mm. Στον ποταμό Farfa (Κεντρική Ιταλία), οι τιμές του μέγιστου ασυμπτωτικού μήκους που υπολογίστηκαν από τους Scalici & Gibertini (2009)

ήταν 88,5 mm για τα αρσενικά και 46,73 mm για τα θηλυκά άτομα του *Gobius nigricans*. Από τα παραπάνω καθίσταται σαφές η ύπαρξη διαφορετικού ρυθμού ανάμεσα στα δύο φύλλα, η οποία οδηγεί στην επικράτηση των αρσενικών ανάμεσα στα μεγαλύτερα άτομα. Ο διαφορετικός ρυθμός αύξησης μεταξύ των φύλων αντανακλά και στη διαφορετική τιμή του δείκτη αύξησης φ΄ (growth index). Στην παρούσα έρευνα ο δείκτης φ΄ που υπολογίστηκε στα 2,6 ήταν υψηλότερος από την τιμή 1,9 που αναφέρεται για το συγγενικό είδος *P. minutus* της ομάδας 'αμμογωβιοί' στις ακτές της Wadden Sea (Fonds 1973). Αυτή η διαφορά πιθανόν να οφείλεται στις διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες κάθε περιοχής ή στη διαφορετική γενετική σύσταση των αποθεμάτων του είδους (Wootton 1999).

Ο λόγος L_{max}/L_{∞} είναι σημαντική πληθυσμιακή παράμετρος που χαρακτηρίζει οικολογικά έναν πληθυσμό (Longhurst & Pauly 1987, Stearns 1992, Stergiou 2000). Η τιμή για το λουρογωβιό δείχνει ότι το είδος κατά τη διάρκεια της ζωής του φτάνει το 94% της δυνητικής του αύξησης (Beverton 1963) και τον κατατάσσει μεταξύ του εύρους τιμών και πολύ κοντά στη μέση τιμή των ελληνικών ψαριών (0,90) (Stergiou 2000).

Η καμπύλη που απεικονίζει τη σχέση ολικού μήκους-ολικού βάρους και για τα δύο φύλα έδειξε 'υπεραλλομετρία (θετική αλλομετρία) ($b \neq 3$, $p<0,05$), κάτι που δείχνει ότι ο λουρογωβιός γίνεται βαρύτερος όσο μεγαλώνει σε μέγεθος. Ο τρόπος με τον οποίο αυξάνεται το ψάρι είναι αποτέλεσμα της επίδρασης των περιβαλλοντικών συνθηκών (Maitland 1965), όπως η θερμοκρασία νερού, η ένταση του φωτός, το οξυγόνο, η διαθεσιμότητα τροφής και οι ενδοειδικές αλληλεπιδράσεις (Helfman et al. 1997). Οι υψηλές τιμές του συντελεστή *b* της αλλομετρικής αύξησης που καταγράφηκαν τις περιόδους καλοκαιριού-φθινοπώρου αντανακλούν στη μεγαλύτερη αύξηση του ψαριού. Με την έναρξη της αναπαραγωγής φαίνεται να επηρεάζεται η κατά βάρος αύξηση των θηλυκών, όπως αυτή εκφράζεται από τη σχέση ολικού μήκους-ολικού βάρους, και να εμφανίζεται σημαντικά μειωμένη σε σχέση με τα αρσενικά. Η μείωση αυτή πιθανόν αντανακλά τη μεγαλύτερη χρησιμοποίηση των ενεργειακών αποθεμάτων από τα θηλυκά άτομα κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου για μεγαλύτερη αναπαραγωγική προσπάθεια και υψηλότερη παραγωγή ωοκυττάρων (Vargas & de Sostoa 1996).

Η επίδραση τόσο των περιβαλλοντικών όσο και των αναπαραγωγικών παραγόντων αντικατοπτρίζεται στην φυσική κατάσταση και στην αναπαραγωγική προσπάθεια του ψαριού. Στην αρχή της αναπαραγωγικής περιόδου, μέρος της ενέργειας χρησιμοποιείται για την αύξηση του ψαριού και την ανάπτυξη των γονάδων και καθώς ο αναπαραγωγικός

κύκλος προχωρεί, περισσότερη ενέργεια επενδύεται στην ανάπτυξη των γονάδων (Weatherley & Gill 1987).

Η παρούσα μελέτη επιβεβαίωσε ότι η σωματική κατάσταση του λουρογωβιού διαφέρει σημαντικά ανάλογα με το φύλο και τη χρονική περίοδο. Στα θηλυκά οι μειωμένες τιμές κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου είναι αποτέλεσμα της επένδυσης της ενέργειας στο σχηματισμό των ωοκυττάρων (Caiola et al. 2001b). Αντίθετα, η αναπαραγωγική προσπάθεια στα αρσενικά δεν ήταν αρκετά μεγάλη για να επηρεάσει την ευρωστία τους (βλ. κεφάλαιο αναπαραγωγή). Η καλύτερη σωματική κατάσταση των αρσενικών τα επιτρέπει να παραμείνουν περισσότερο χρόνο στο χώρο επικράτειάς τους και με τον τρόπο αυτό να αυξάνεται η αναπαραγωγική τους επιτυχία (δηλ. αυξημένη αντοχή, Andersson 1994). Αυτό το πλεονέκτημα έχει προταθεί και για άλλες ομάδες τελεόστεων όπως τις Οικογένειες Cichlidae (Martin & Taborsky (1997), Labridae (Taborsky et al 1987) και Blennidae (Oliveira et al. 2002). Η μείωση του δείκτη ευρωστίας των αρσενικών κατά τους φθινοπωρινούς μήνες πιθανώς οφείλεται σε άλλους παράγοντες όπως η διατροφή και οι ενδοειδικές αλληλεπιδράσεις.

Από τη συσχέτιση των περιβαλλοντικών παραμέτρων με τις τιμές του δείκτη ευρωστίας οδηγούμεθα στο συμπέρασμα ότι η θερμοκρασία είχε σημαντική θετική επίδραση. Συνεπώς στη λίμνη Παμβώτιδα η θερμοκρασία αποτελεί ευνοϊκό παράγοντα για την κατάσταση του λουρογωβιού. Αντίθετα, η αρνητική αλληλεπίδραση των θρεπτικών αλάτων φαίνεται να επηρεάζει τις ενεργειακές απαιτήσεις κυρίως των θηλυκών για την αύξηση των γονάδων. Η επίδραση των παραγόντων ευτροφισμού στα βιολογικά χαρακτηριστικά των ψαριών έχει επισημανθεί για το *Silurus aristotelis* (Leonardos et al. 2009) από τη λίμνη Παμβώτιδα αλλά και για άλλα οικοσυστήματα εσωτερικών υδάτων (Leonardos 2004, Leonardos et al. 2005b).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

5.1. Εισαγωγή

Οι γωβιοί είναι τυπικά γονοχωριστικά είδη (Miller 1984), αν και έχουν καταγραφεί περιπτώσεις πρωτόγυνου ερμαφροδιτισμού σε ορισμένα τροπικά θαλάσσια είδη (Lassig 1976, 1977, Robertson & Justines 1982). Τα είδη αυτά παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις όσον αφορά τα αναπαραγωγικά τους χαρακτηριστικά (Miller 1984) και το σεξουαλικό τους μοτίβο (Fishelson 1989, Cole 1990). Συγκεκριμένα, σχεδόν όλοι οι γωβιοί κάνουν επιβενθικά αβγά και επιδεικνύουν πατρική γονική φροντίδα, ενώ η πρώτη γεννητική ωρίμαση, η διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου και ο αριθμός των ωοτοκιών ποικίλλουν σημαντικά (Miller 1984).

Επίσης, μπορεί να υπάρξουν ενδοειδικές διαφορές στη συμπεριφορά ζευγαρώματος των αρσενικών[6], όπως αποδεικνύεται από την παρουσία, σε αρκετά είδη, των εναλλακτικών τακτικών ζευγαρώματος, με τα 'λαθραία' αρσενικά να παραμονεύουν για να ζευγαρώσουν με το θηλυκό, όταν τα αρσενικά 'νόμιμοι κάτοικοι' είναι αφοσιωμένα στην εκδήλωση της γονικής φροντίδας και στην κατασκευή φωλιών (Miller 1984, Taborsky 1994, Scaggiante et al. 1999).

Κάθε είδος ακολουθεί μια στρατηγική αναπαραγωγής, ώστε να δώσει όσο το δυνατόν περισσότερους απογόνους. Η εκδήλωση της στρατηγικής, μέσα στα όρια εξάπλωσης του είδους, είναι δυνατόν να προσαρμόζεται ανάλογα με τις διακυμάνσεις του περιβάλλοντος που συναντά ο οργανισμός. Αυτή η φαινοτυπική πλαστικότητα που παρουσιάζει το είδος σε κάθε περιβάλλον, ονομάζεται αναπαραγωγική τακτική (Wootton 1984).

Μέσα σε μια στρατηγική, η κατανομή της αναπαραγωγικής προσπάθειας σε ένα ή περισσότερα αναπαραγωγικά γεγονότα είναι κρίσιμη. Είδη (π.χ. σολομός) που χαρακτηρίζονται από ένα και μόνο αναπαραγωγικό επεισόδιο πριν από τον θάνατο του γεννήτορα είναι γνωστά ώς 'semelparous' ενώ είδη που παρουσιάζουν ξεχωριστά αναπαραγωγικά γεγονότα κατά τη διάρκεια της ζωής τους είναι γνωστά ώς 'iteroparous' (Cole 1954).

---

[6] Η τακτική αυτή γνωστή και ώς στρατηγική δορυφόρος (satellite) ακολουθείται από 'λαθραία' (sneakers) αρσενικά τα οποία στην προσπάθειά τους να γονιμοποιήσουν τα αβγά προσεγγίζουν κρυφά τη φωλιά κατά τη διάρκεια της ωοτοκίας ανάμεσα στο αρσενικό 'νόμιμος κάτοικος' (bourgeois) και το θηλυκό. Τα 'λαθραία' αρσενικά για να καταφέρουν το στόχο τους ακολουθούν δύο διαφορετικές τακτικές για να μεγιστοποιήσουν την αναπαραγωγική τους επιτυχία: 1) να ακολουθήσουν το ώριμο θηλυκό μέχρι να συμβεί η ωοτοκία και να μπορέσουν στη συνέχεια να γονιμοποιήσουν τα αβγά και 2) να ακολουθήσουν ένα αρσενικό 'νόμιμο κάτοικο' το οποίο προτιμάται από το θηλυκό και να περιμένουν να συμβεί το αναπαραγωγικό γεγονός (Taborsky 1994, 2001).

Ο Miller (1984) αναγνώρισε δύο κατηγορίες 'iteroparity' μεταξύ των γωβιών των οποίων η αναπαραγωγή θεωρείται εποχική: (1) την τμηματική, η οποία είναι η μακρά αναπαραγωγική περίοδος που συμβαίνουν πολλά αναπαραγωγικά γεγονότα από μεμονωμένα ψάρια, τα οποία έχουν βραχύβια διάρκεια ζωής και καλύπτει συνήθως μία περίοδο αναπαραγωγής (Caputo et al. 2000) και (2) την εκτεταμένη, όπου τα ψάρια έχουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και εμφανίζουν όχι περισσότερες από δύο ωοτοκίες σε μια αναπαραγωγική περίοδο.

Οι μοναδικές πληροφορίες για την αναπαραγωγή του *E. pygmaeus* προέρχονται από τους Daoulas et al. (1993) και αφορούν την αναπαραγωγική του συμπεριφορά καθώς και τη μορφολογία των προνυμφών του. Στόχος της παρούσας μελέτης είναι να δοθεί μια κατά το δυνατόν πλήρης εικόνα της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς του μελετώμενου είδους. Για το σκοπό αυτό θα διερευνηθεί καταρχήν ο ετήσιος κύκλος ωρίμασης των γεννητικών αδένων, στα πλαίσια του οποίου θα αναλυθούν διάφορες παράμετροι, όπως τα στάδια γεννητικής ωριμότητας, ο γοναδοσωματικός και ηπατοσωματικός δείκτης, το μήκος πρώτης γεννητικής ωρίμασης και η αναλογία φύλων. Επίσης, θα υπολογιστεί η κατανομή των διαμέτρων των ωοκυττάρων, η γονιμότητα του είδους και θα εξεταστεί η σχέση της με το μήκος σώματος και το ολικό και καθαρό βάρος.

5.2. Υλικά και μέθοδοι

5.2.1. Μακροσκοπική περιγραφή γονάδων-Στάδια γεννητικής ωριμότητας

Τα στάδια γεννητικής ωριμότητας του λουρογωβιού προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τη κλίμακα του Miller (1961), κατά την οποία οι γονάδες κατατάσσονται σε πέντε στάδια (Πίνακας 5.1). Το φύλο και τα στάδια γεννητικής ωριμότητας προσδιορίστηκαν μακροσκοπικά. Ανώριμα θεωρήθηκαν όλα τα άτομα που βρίσκονταν στα στάδια I-IIIα ενώ αυτά που κατατάχθηκαν στα στάδια IIIβ-V θεωρήθηκαν ώριμα.

5.2.2. Πρώτη γεννητική ωρίμαση

Ο Wootton (1990) αναφέρει πως η αναπαραγωγική ωριμότητα αντιπροσωπεύει ένα κρίσιμο στάδιο στη ζωή ενός ατόμου. Τα ενεργειακά αποθέματα προορίζονται για την αύξηση, την επιβίωση και την αναπαραγωγή. Ως ηλικία της πρώτης ωριμότητας θεωρείται η ηλικιακή κλάση κατά την οποία ποσοστό μεγαλύτερο του 50 % του πληθυσμού ενός είδους εμφανίζεται αναπαραγωγικά ώριμο (Wootton 1990, Fox & Crivelli 2001) και ως μήκος πρώτης ωριμότητας το αντίστοιχο μήκος. Επειδή τα άτομα ενός πληθυσμού διαφέρουν ως προς το ρυθμό με τον οποίο φτάνουν στη γεννητική τους ωρίμαση, το ποσοστό των ώριμων ατόμων είναι συνήθως μια αυξητική σιγμοειδής (logistic) συνάρτηση της ηλικίας και του μήκους.

Στην παρούσα έρευνα το μήκος πρώτης γεννητικής ωρίμασης (ML_{50}) δηλαδή το μήκος σώματος στο οποίο το 50% των ατόμων βρέθηκε να είναι γεννητικά ώριμο (στάδια ωριμότητας IIIβ-V), υπολογίστηκε με τη μέθοδο της διωνυμικής λογιστικής παλινδρόμησης (binary logistic regression) με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος SPSS 19 για Mac OS X.

Όταν δεν υπάρχει επικάλυψη μεταξύ της ομάδας των μεγαλύτερων νεαρών ατόμων και των μικρότερων ώριμων ψαριών, το ML_{50} είναι ο μέσος όρος μεταξύ του μήκους των δύο ομάδων. Όταν τα μήκη των ώριμων και ανώριμων ψαριών επικαλύπτονται, η ωρίμαση σχετίζεται με το συνολικό μήκος της παλινδρόμησης και το ML_{50} είναι το μήκος της πρώτης γεννητικής ωρίμασης, όπου η πιθανότητα να είναι ώριμα τα άτομα είναι 50%. Για την αξιολόγηση των δεδομένων στο μοντέλο της διωνυμικής λογιστικής παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος καλής ποιότητας Hosmer & Lemeshow (2000).

Πίνακας 5.1: Μακροσκοπική περιγραφή των σταδίων γεννητικής ωριμότητας των αρσενικών και θηλυκών γονάδων του *E. pygmaeus*, σύμφωνα με τη κλίμακα του Miller (1961).
Table 5.1: Macroscopic description of the maturity stages of males and females of *E. pygmaeus* according to Miller's classification (1961).

Στάδιο	Κατάσταση	Περιγραφή
I	Ανώριμα	Το φύλο διακρίνεται μόνο από εξωτερικά χαρακτηριστικά. Διαφανείς, άχρωμες γονάδες σαν λεπτά νημάτια, διάμετρος ωοκυττάρων όχι μεγαλύτερη από 0,125 mm. Νηματοειδείς Όρχεις, οι σπερματοδόχες κύστεις περίπου το ⅓ του μεγέθους των όρχεων.
II	Σε ανάπαυση	Λεπτές γονάδες ημιδιαφανείς, χρώμα λαδί ώς υποκίτρινο. Τα αναπτυσσόμενα ωοκύτταρα διακρίνονται αμυδρά, χρώμα υποκίτρινο, διάμετρος 0,124-0,4 mm. Όρχεις σαν λεπτές ταινίες, χρώμα θαμπό λευκό, σπερματοδόχες κύστεις καμπυλωτοί, περίπου το ½ του μεγέθους των όρχεων, λοβοί ορατοί.
III	Ωρίμαση (α) πρώιμα	Οι γονάδες εμφανίζονται αυξημένες σε όγκο, το χρώμα τους έχει απόχρωση ωχροκίτρινο ώς κίτρινο, τα υπό ωρίμαση ωοκύτταρα έχουν το χρώμα της γονάδας, διάμετρος 0,4-0,7 mm. Το σχήμα των όρχεων έχει μορφή ευρύτερης ταινίας, λοβοί λευκοί, οι σπερματοδόχες κύστεις ίδιο μέγεθος με τους όρχεις
	(β) αργά	Γονάδες διογκωμένες, σε επαφή το μεγαλύτερο μήκος τους, χρώμα χρυσοκίτρινο, τα υπό ωρίμαση ωοκύτταρα έχουν το χρώμα της γονάδας, διάμετρος 0,7-0,95 mm.
IV	Ώριμα	Γονάδες ώριμες, πιεσμένες μαζί, χρώμα κίτρινο-πορτοκαλί, ώριμα ωοκύτταρα διαφανή, διάμετρος 0,95-1,10 mm. Όρχεις αρκετά μεγάλοι, λοβοί λευκοί, οι σπερματοδόχες κύστεις έχουν σχήμα οβάλ και είναι διπλάσιοι σε μέγεθος από τους όρχεις.
V	Εξάντληση	Τα τοιχώματα της γονάδας είναι συμπυκνωμένα, οι γονάδες εμφανίζονται πεπλατυσμένες, χρώμα κίτρινο ώς λαδί. Οι γονάδες περιέχουν απορροφημένα ωοκύτταρα μεγέθους 0,4 mm, προϊόντα αποδόμησης και ανώριμα ωοκύτταρα μικρού μεγέθους (0,125 mm). Όρχεις λεπτοί, οι λοβοί έχουν ωχρό χρώμα ή κοκκινωπό, οι σπερματοδόχες κύστεις είναι λεπτοί και μακρύτεροι από τους όρχεις.

5.2.3. Αναλογία φύλων

Ο Nikolsky (1963) αναφέρει ότι η αναλογία φύλων σε ένα πληθυσμό, διαφέρει σε σχέση με το είδος, αν και στην πλειονότητα των ειδών είναι κοντά στην αναλογία 1:1, διαφέρει σε σχέση με τους πληθυσμούς του ίδιου είδους, μπορεί να διαφέρει από έτος σε έτος, αντικατοπτρίζοντας έτσι τη σχέση του είδους με το περιβάλλον.

Ο λόγος των θηλυκών προς τα αρσενικά (F:M) προσδιορίστηκε ανά μήνα ξεχωριστά, καθώς και στο σύνολο των ατόμων που συλλέχθηκαν. Σε όλες τις περιπτώσεις

εφαρμόστηκε η ανάλυση χ^2 (Zar 1999) με σκοπό να συγκριθούν οι αναλογίες που προέκυψαν με τη θεωρητική αναλογία F:M=1, εφαρμόζοντας τη διόρθωση Yates (Zar 1999).

5.2.4. Γοναδοσωματικός δείκτης

Η χρονική διακύμανση του μεγέθους των γονάδων παρακολουθήθηκε με τη χρησιμοποίηση του γοναδοσωματικού δείκτη (GSI). Αυτός ορίζεται με βάση τη σχέση GSI=(GW/EW) * 100, όπου GW το βάρος της γονάδας και EW το καθαρό βάρος του σώματος κάθε ψαριού. Η μέση τιμή του δείκτη υπολογίστηκε σε κάθε μήνα, τόσο για τα αρσενικά, όσο και για τα θηλυκά άτομα. Θα πρέπει βέβαια να επισημανθεί ότι αν και ο GSI παρέχει έναν απλό τρόπο περιγραφής των αλλαγών του σχετικού μεγέθους των γονάδων και για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται ευρέως, επηρεάζεται από τα μειονεκτήματα που παρουσιάζουν όλοι οι ανάλογοι δείκτες και που στη συγκεκριμένη περίπτωση μπορεί να οφείλονται σε μια αλλαγή του βάρους, είτε των γονάδων, είτε του σώματος, όπως επίσης και σε μία αλλομετρική σχέση μεταξύ βάρους γονάδων και σωματικού βάρους (Wootton 1990). Για την ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis, επειδή δεν πληρούνταν οι προϋποθέσεις για τη χρήση των παραμετρικών κριτηρίων (κανονικότητα, ομοσκεδαστικότητα).

5.2.5. Ηπατοσωματικός δείκτης

Οι μηνιαίες διακυμάνσεις του βάρους του ήπατος εκτιμήθηκαν με τη χρησιμοποίηση του ηπατοσωματικού δείκτη (HSI), ο οποίος υπολογίστηκε με βάση τη σχέση HSI=(LW/EW) * 100, όπου LW το νωπό βάρος του ήπατος και EW το καθαρό βάρος του σώματος του ψαριού. Η μέση τιμή του δείκτη και το διάστημα εμπιστοσύνης 95% στο οποίο αυτή κινείται, υπολογίστηκε σε κάθε μήνα, τόσο για τα αρσενικά όσο και για τα θηλυκά άτομα. Οι διακυμάνσεις του HSI αντανακλούν τη λειτουργία του ήπατος σαν αποθηκευτικό όργανο και επομένως οι αλλαγές του βάρους του οφείλονται σε αυξημένες ενεργειακές ανάγκες, όπως η ανάγκη για τροφοληψία, η μετανάστευση και η αναπαραγωγή (Reznick & Brown 1987, Wootton 1999, Fiorin et al. 2007). Για την ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis, επειδή δεν πληρούνταν οι προϋποθέσεις για τη χρήση των παραμετρικών κριτηρίων (κανονικότητα, ομοσκεδαστικότητα).

5.2.6. Εκτίμηση γονιμότητας και μέγεθος αβγών

Με τον όρο απόλυτη γονιμότητα ορίζεται ο απόλυτος αριθμός αβγών που υπολογίζεται ότι βρίσκονται στις ωοθήκες ενός ώριμου αναπαραγωγικά θηλυκού ατόμου (Bagenal 1978). Για τον υπολογισμό της γονιμότητας χρησιμοποιήθηκε όλη η γονάδα και καταμετρήθηκαν όλα τα ωοκύτταρα που είχαν διάμετρο μεγαλύτερη των 0,7 mm. Η γονιμότητα υπολογίστηκε με την εξέταση των γονάδων των θηλυκών, πριν την έναρξη της αναπαραγωγικής περιόδου και ως γονιμότητα θεωρήθηκε το άθροισμα των ώριμων και ωριμαζόμενων ωοκυττάρων (Bagenal & Braum 1978, Zanella et al. 2011). Η γονιμότητα του γωβιού μελετήθηκε συνολικά σε 51 γονάδες που εκτιμήθηκε ότι ανήκουν στα στάδια γεννητικής ωριμότητας IIIβ-IV και είχαν αλιευθεί το Φεβρουάριο του 2007. Η σχέση μεταξύ απόλυτης γονιμότητας και ολικού μήκος, ολικού βάρους και καθαρού βάρους μελετήθηκε και βρέθηκε ότι εκφράζεται από την εκθετική σχέση:

$$F=aX^b$$

η οποία μετά από λογαριθμικό μετασχηματισμό παίρνει τη μορφή:

$$\log F=\log a + b\log X$$

όπου F=η απόλυτη γονιμότητα, X=το μήκος ή βάρος του ψαριού, a=σταθερά και b=εκθέτης.

Για τη μελέτη της σύνθεσης μεγεθών, καθώς και για τη μακροσκοπική μελέτη ωρίμασης των ωοκυττάρων, χρησιμοποιήθηκαν οι γονάδες των θηλυκών ατόμων που συλλέχθηκαν την περίοδο Δεκέμβριος 2006-Ιούνιος 2007, εκτός από την περίοδο αναπαραγωγής οπότε συλλέγονταν ανά δεκαπενθήμερο. Οι γονάδες τοποθετήθηκαν σε ατομικά δοχεία με διάλυμα Gilson (Bagenal & Braum 1978) όπου και παρέμειναν για διάστημα έξι μηνών, ώστε να επιτευχθεί διαχωρισμός, σκλήρυνση των ωοκυττάρων, καθώς και πλήρης διάλυση των μεμβρανών. Κατά τη διάρκεια της παραμονής των γονάδων στο διάλυμα Gilson και σε τακτά χρονικά διαστήματα τα δοχεία τοποθετούνταν για 5΄ σε δονητές όπου αναδεύονταν προκειμένου να διαχωριστούν τα ωοκύτταρα.

Για τον ακριβέστερο υπολογισμό της γονιμότητας και την εκτίμηση της πορείας ωρίμασης των ωοκυττάρων επιλέχθηκε η καταμέτρηση του συνόλου των ωοκυττάρων που υπήρχαν στην ωοθήκη. Η διαδικασία καταμέτρησης των ωοκυττάρων περιελάμβανε την παρακάτω διαδικασία: Αρχικά τα ωοκύτταρα απομακρυνόταν από το διάλυμα Gilson και μεταφερόταν σε ένα τριβλίο petri. Στη συνέχεια τοποθετούνταν κάτω από το στερεοσκόπιο, χωρίς να αλληλοεπικαλύπτονται, με τη βοήθεια του οποίου γινόταν φωτογράφηση όλης της γονάδας με τη χρησιμοποίηση ψηφιακής φωτογραφικής μηχανής,

κατάλληλα προσαρμοσμένης στο στερεοσκόπιο. Ακολούθως οι φωτογραφίες μεταφέρονταν στον Η/Υ για περαιτέρω επεξεργασία με το λογισμικό ανάλυσης εικόνας Image-pro Plus 4,5. Σε όλες τις φωτογραφίες γινόταν βαθμονόμιση με τη βοήθεια της κλίμακας χιλιοστών που ήταν προσαρμοσμένη στο τριβλίο petri. Από την κάθε φωτογραφία γινόταν καταμέτρηση όλων των ωοκυττάρων της κάθε ωοθήκης. Επιπλέον καταγράφονταν και η μέγιστη διάμετρός τους. Με τον τρόπο αυτό υπολογίστηκε η μέση τιμή της διαμέτρου των ωοκυττάρων του κάθε ατόμου.

5.3. Αποτελέσματα

5.3.1. Αναλογία φύλων

Το δείγμα που εξετάστηκε περιελάμβανε 836 άτομα, από τα οποία 356 ήταν αρσενικά (42,58%) και 480 (57,42%) ήταν θηλυκά. Η συνολική αναλογία φύλων F:M ήταν 1,34:1 και διέφερε στατιστικά από τη μονάδα (χ^2=18,097, p<0,001) (Πίνακας 5.2).

Πίνακας 5.2: Μηνιαία διακύμανση του αριθμού των θηλυκών (F) και αρσενικών (M) ατόμων *E. pygmaeus*, της μεταξύ τους αναλογίας (F:M) και των αποτελεσμάτων της ανάλυσης χ^2 στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Table 5.2: Monthly variation of the number of female (F) and male (M) *E. Pygmaeus*, their monthly ratio (F:M) along with the results of the χ^2 test in lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

Μήνας	F:M	χ^2	Θηλυκά	Αρσενικά	p
Οκτ 2006	1,61:1	10,049	113	70	0,002*
Νοε 2006	1,08:1	0,049	42	39	0,824
Δεκ 2006	1,57:1	3,125	44	28	0,077
Ιαν 2007	0,79:1	0,721	30	38	0,396
Φεβ 2007	1,42:1	1,065	27	19	0,302
Μαρ 2007	1,04:1	0,011	48	46	0,918
Απρ 2007	3,41:1	14,792	41	12	<0,001*
Μαι 2007	5,43:1	20,000	38	7	<0,001*
Ιουν 2007	1:1	0,031	16	16	0,860
Ιουλ 2007	0,89:1	0,029	16	18	0,864
Αυγ 2007	1,13:1	0,082	26	23	0,775
Σεπ 2007	0,98:1	0,000	39	40	1,000

*=διαφέρει στατιστικά σημαντικά (p<0,05).

Η αναλογία φύλων F:M παρουσίασε σημαντικές μηνιαίες διακυμάνσεις, από 0 το Σεπτέμβριο 2007 ώς 5,43 το Μάιο 2007. Η υπεροχή των θηλυκών σε βάρος των αρσενικών ήταν στατιστικά μεγαλύτερη τον Οκτώβριο 2006 και τους μήνες Απρίλιο-Μάιο 2007, οι οποίοι συμπίπτουν με το μέγιστο τη αναπαραγωγικής περιόδου.

5.3.2. Πρώτη γεννητική ωρίμαση

Το μήκος της πρώτης γεννητικής ωρίμασης (ML_{50}) του λουρογωβιού στη λίμνη Παμβώτιδα υπολογίστηκε με τη μέθοδο της διωνυμικής λογιστικής παλινδρόμησης (binary logistic regression). Η σιγμοειδής καμπύλη περιγράφει αρκετά καλά το ποσοστό των ώριμων αρσενικών και θηλυκών ατόμων σε συνάρτηση με το ολικό μήκος και τα αποτελέσματα φαίνονται στο πίνακα 5.3 και απεικονίζονται γραφικά στην εικόνα 5.1. Ο

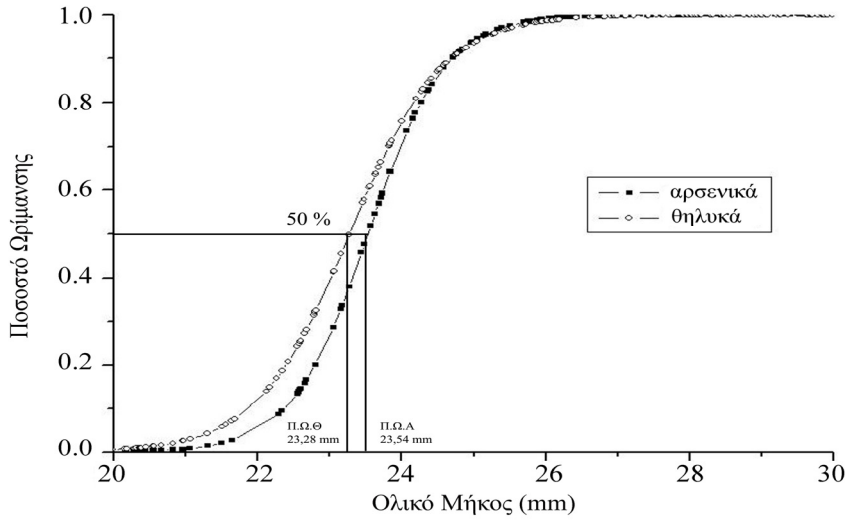
έλεγχος καλής ποιότητας Hosmer & Lemeshow (2000) προσαρμόζει άριστα τα δεδομένα πάνω στο μοντέλο της διωνυμικής λογιστικής παλινδρόμησης για τα αρσενικά (χ^2=2,105, df=8, p=0,978) και θηλυκά άτομα (χ^2=1,064, df=8, p=0,998).

Το μήκος πρώτης γεννητικής ωρίμασης (ML_{50}) βρέθηκε 23,54 mm για τα αρσενικά, ενώ από τα 30,13 mm και πάνω είναι ώριμα σε ποσοστό 100%. Στα θηλυκά άτομα το μήκος πρώτης γεννητικής ωρίμασης (ML_{50}) βρέθηκε 23,28 mm, ενώ από τα 31,20 mm και πάνω είναι ώριμα σε ποσοστό 100%. Επισημαίνεται λοιπόν με βάση και τις ηλικιακές κατανομές που παρουσιάστηκαν στο κεφάλαιο ηλικία-αύξηση ότι τα αρσενικά και τα θηλυκά άτομα ωριμάζουν γεννητικά πριν τη συμπλήρωση του πρώτου χρόνου της ζωής τους.

Πίνακας 5.3: Αποτελέσματα της ανάλυσης λογιστικής παλινδρόμησης για την πρώτη γεννητική ωρίμαση του *E. pugmaeus* σε σχέση με το ολικό μήκος (TL, mm) για κάθε φύλο στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Table 5.3: Results of logistic regression analysis of maturity status of *E. pygmaeus* versus total length (TL, mm) for each sex in lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

	Μεταβλητές	Συντελεστές (B)	Τ.Σ.	Wald	p	Exp (B)	95% Ορ. Εμπ.
Αρσενικά							
	Σταθερά	-44,421	8,751	25,766	<0,001		
	Ολικό μήκος	1,888	0,369	26,137	<0,001	6,604	3,203 – 13,618
Θηλυκά							
	Σταθερά	-36,389	6,438	31,949	<0,001		
	Ολικό μήκος	1,563	0,274	32,552	<0,001	4,755	2,791 – 8,170

*95% Ορ. Εμπιστ=95% Όρια Εμπιστοσύνης.



Εικόνα 5.1: Ποσοστό ώριμων αρσενικών και θηλυκών ατόμων *E. pygmaeus* και προσαρμοσμένη σιγμοειδής καμπύλη (Π.Ω.Θ.: ποσοστό ώριμων θηλυκών, Π.Ω.Α.: ποσοστό ώριμων αρσενικών).
Figure 5.1: Percentage of mature males and females *E. pygmaeus* and fitted logistic regression line.

5.3.3. Γοναδοσωματικός δείκτης

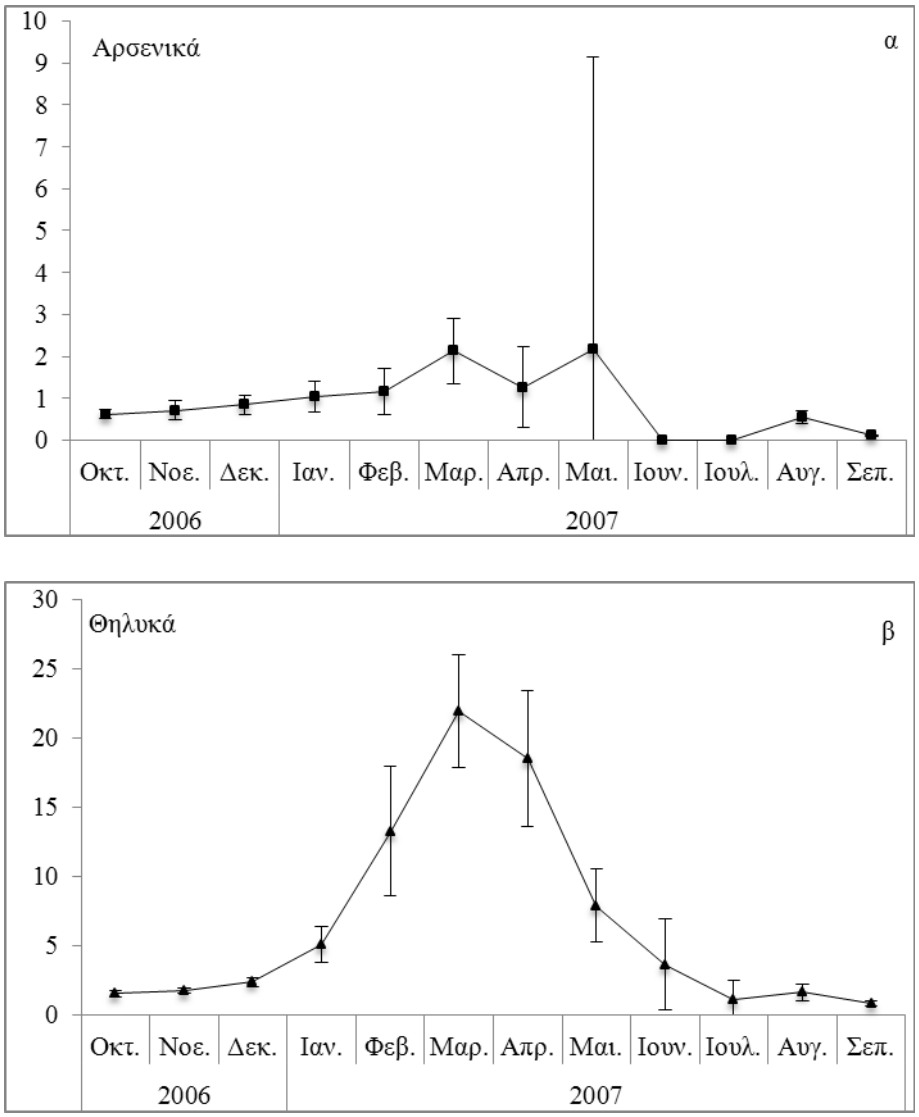
Η εφαρμογή της δοκιμασίας Kruskal-Wallis έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά των τιμών του GSI μεταξύ των τεσσάρων εποχών (Kruskal-Wallis ANOVA, n=361, $p<0.001$). Πιο αναλυτικά, οι μέσες μηνιαίες τιμές του GSI των αρσενικών και θηλυκών του *E. pygmaeus* παρουσίασαν λίγο ώς πολύ ταυτόχρονη αύξηση (Πίνακας 5.4).

Ο γοναδοσωματικός δείκτης των αρσενικών, καθώς και των θηλυκών ατόμων του *E. pygmaeus* διατηρήθηκε σε μια πολύ αργή ανάπτυξη από τον Οκτώβριο 2006 μέχρι τον Ιανουάριο 2007. Έπειτα, από το Φεβρουάριο 2007 οι γεννητικοί αδένες παρουσίασαν μια σταδιακή αύξηση εξαιτίας της πρόωρης εισόδου στην αναπαραγωγική διαδικασία ώριμων αρσενικών και θηλυκών ατόμων (Πίνακας 4.1). Το μέγιστο των τιμών του GSI παρατηρείται κατά το Μάρτιο 2007 και είναι 2,16% στα αρσενικά και 21,93% στα θηλυκά άτομα (Πίνακας 5.4, Εικόνα 5.2). Οι υψηλές τιμές του δείκτη διακόπτονται από μια απότομη μείωση τον Ιούνιο 2007 και για τα δύο φύλα. Το γεγονός αυτό ενισχύει το συμπέρασμα του καθορισμού των ανοιξιάτικων μηνών ώς της εποχής για την αναπαραγωγική δραστηριότητα του *E. pygmaeus*.

Πίνακας 5.4: Μηνιαίες τιμές του γοναδοσωματικού δείκτη (GSI) για τα αρσενικά και τα θηλυκά άτομα του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Table 5.4: Monthly values of gonadosomatic index (GSI) for males and females of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

	Αρσενικά			Θηλυκά		
	n	GSI	95% Ορ. Εμπιστ.	n	GSI	95% Ορ. Εμπιστ
Οκτ. 2006	23	0,624	0,506-0,742	25	1,532	1,289-1,774
Νοε. 2006	22	0,708	0,481-0,935	22	1,744	1,536-1,953
Δεκ. 2006	19	0,846	0,624-1,067	24	2,366	2,065-2,667
Ιαν. 2007	23	1,040	0,676-1,403	21	5,107	3,837-6,377
Φεβ. 2007	19	1,161	0,618-1,705	24	13,262	8,592-17,932
Μαρ. 2007	23	2,161	1,357-2,911	23	21,933	17,878-25,989
Απρ. 2007	10	1,257	0,294-2,220	27	18,522	13,628-23,417
Μαι. 2007	3	2,134	0,000-9,140	16	7,915	5,254-10,576
Ιουν. 2007	0	0,000	0,000-,0,000	7	3,656	0,413-6,898
Ιουλ. 2007	0	0,000	0,000-0,000	5	1,149	0,000-2,497
Αυγ. 2007	3	0,554	0,399-0,709	4	1,636	1,063-2,209
Σεπ. 2007	2	0,106	0,078-0,134	16	0,861	0,686-1,035

*95% Ορ. Εμπιστ=95% Όρια Εμπιστοσύνης, n=αριθμός ατόμων.



Εικόνα 5.2: Μηνιαία διακύμανση των τιμών του γοναδοσωματικού δείκτη (GSI) για το *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007), α) αρσενικά και β) θηλυκά. Δίνονται μέσες τιμές και διαστήματα εμπιστοσύνης 95%.
Figure 5.2: Monhtly variation of the gonadosomatic index of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007), a) males and b) females. Mean values and 95% confidence intervals are given.

5.3.4. Ηπατοσωματικός δέικτης

Οι τιμές του ηπατοσωματικού δείκτη μελετήθηκαν για κάθε φύλο ως προς την εποχή δειγματοληψίας. Η εφαρμογή της δοκιμασίας Kruskal-Wallis έδειξε ότι οι τιμές του HSI διέφεραν στατιστικά ανάμεσα στο φύλο (Kruskal-Wallis ANOVA, n=414, $p<0.001$), καθώς και στις εποχές δειγματοληψίας (Kruskal-Wallis ANOVA, n=414, $p<0.001$). Ο ηπατοσωματικός δείκτης κυμάνθηκε από 2,85 ώς 8,51 για τα αρσενικά και από 3,32 ώς 8,29 για τα θηλυκά (Πίνακας 5.5). Η υψηλότερη τιμή του HSI για τα αρσενικά

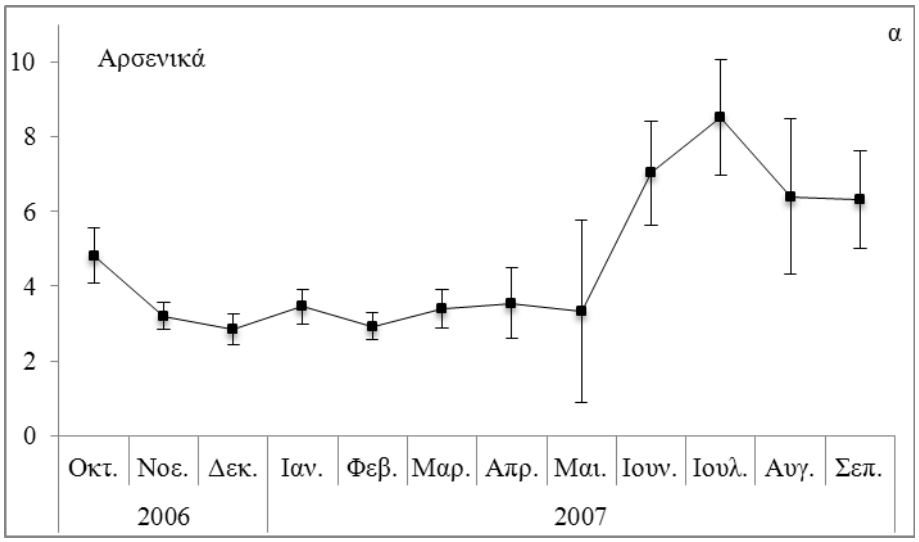
παρατηρήθηκε το Σεπτέμβριο 2007 (13,65%), ενώ για τα θηλυκά τον Ιούνιο 2007 (11,64%).

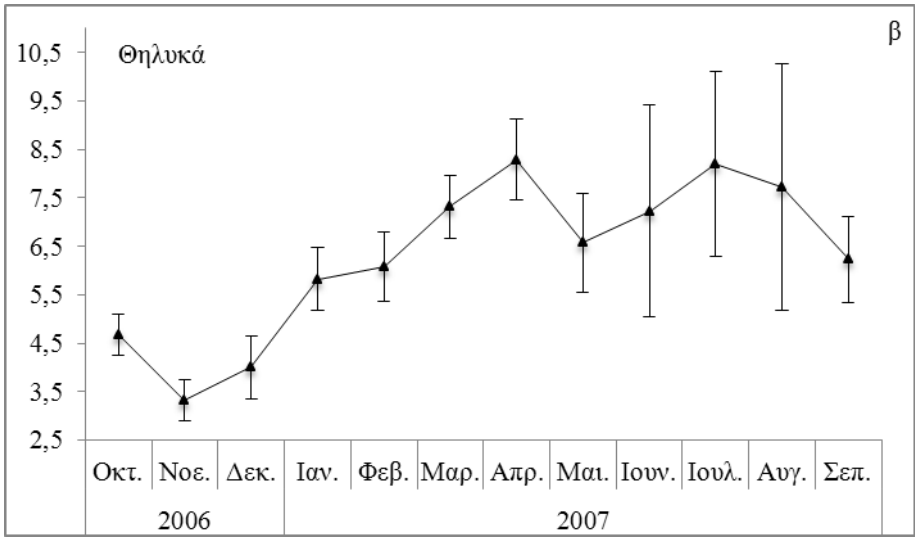
Οι μεταβολές των μέσων τιμών του ηπατοσωματικού δείκτη σε σχέση με το μήνα δειγματοληψίας για τα δύο φύλα απεικονίζονται στις εικόνες 5.3α και β. Στη λίμνη Παμβώτιδα διαπιστώθηκε αύξηση των τιμών του HSI κατά τους μήνες της άνοιξης και του καλοκαιριού, η οποία ήταν περισσότερο εμφανής στα θηλυκά. Στα αρσενικά οι σχετικά υψηλότερες τιμές εμφανίστηκαν από τον Ιούνιο ώς το Σεπτέμβριο, περίοδο που όπως αναφέρθηκε προηγουμένως οι τιμές του GSI βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα.

Πίνακας 5.5: Μηνιαίες τιμές του ηπατοσωματικού δείκτη (HSI) για τα αρσενικά και τα θηλυκά άτομα του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Table 5.5: Monthly values of hepatosomatic index (HSI) for males and females of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

	Αρσενικά			Θηλυκά		
	n	HSI	95% Ορ. Εμπιστ.	n	HSI	95% Ορ. Εμπιστ.
Οκτ. 2006	23	4,807	4,066-5,547	25	4,677	4,244-5,109
Νοε. 2006	22	3,204	2,839-3,568	22	3,322	2,889-3,755
Δεκ. 2006	19	2,850	2,442-3,257	24	4,006	3,355-4,657
Ιαν. 2007	23	3,452	2,983-3,922	21	5,822	5,164-6,481
Φεβ. 2007	19	2,931	2,579-3,283	24	6,072	5,358-6,787
Μαρ. 2007	23	3,399	2,876-3,922	23	7,320	6,667-7,973
Απρ. 2007	10	3,548	2,602-4,493	27	8,287	7,454-9,121
Μαι. 2007	3	3,316	0,883-7,515	17	6,577	5,561-7,592
Ιουν. 2007	9	7,024	5,626-8,420	11	7,223	5,033-9,413
Ιουλ. 2007	9	8,510	6,969-10,054	9	8,200	6,291-10,109
Αυγ. 2007	8	6,399	4,333-8,465	7	7,718	5,170-10,265
Σεπ. 2007	19	6,317	5,022-7,613	17	6,230	5,344-7,117

*95% Ορ. Εμπιστ=95% Όρια Εμπιστοσύνης, n=αριθμός ατόμων.





Εικόνα 5.3: Μηνιαία διακύμανση των τιμών του ηπατοσωματικού δείκτη (HSI) για το *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007), α) αρσενικά και β) θηλυκά. Δίνονται μέσες τιμές και διαστήματα εμπιστοσύνης 95%.
Figure 5.3: Monhtly variation of the hepatosomatic index (HSI) of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007), a) males and b) females. Mean values and 95% confidence intervals are given.

5.3.5. Γονιμότητα

Τα θηλυκά άτομα του *E. pygmaeus* υπολογίστηκε ότι παράγουν κατά μέσο όρο 136 ωοκύτταρα (SD±12,3). Το εύρος της απόλυτης γονιμότητας κυμάνθηκε από 59 για άτομο μήκους 24,6 mm, ώς 309 ωοκύτταρα για άτομο μήκους 40,8 mm. Οι εξισώσεις που υπολογίσθηκαν και συσχετίζουν τη γονιμότητα με το ολικό μήκος (TL, mm), ολικό βάρος (TW, g) και καθαρό βάρος (NW, g) φαίνονται στο πίνακα 5.6. Η απόλυτη γονιμότητα

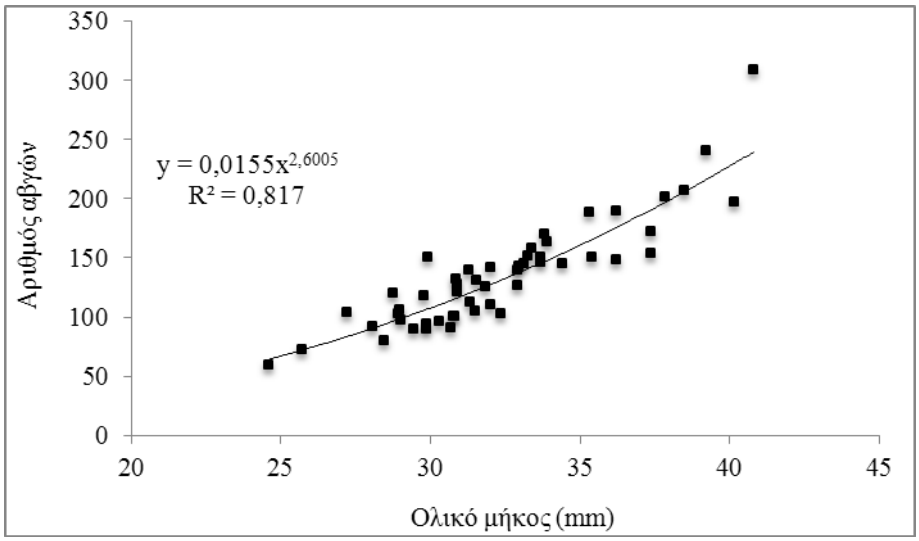
έδειξε να αυξάνεται στη συσχέτισή της με κάθε μια από τις παραμέτρους που αναφέρθηκαν (Εικόνα 5.4, 5.5 και 5.6).

Από την κλίση και τα όρια εμπιστοσύνης του συντελεστή *b* της εξίσωσης απόλυτης γονιμότητας-ολικού μήκους διαπιστώνεται ότι η κλίση *b* διαφέρει στατιστικά από την τιμή 3 (Πίνακας 5.6). Το διάστημα εμπιστοσύνης 95% στο οποίο κυμαίνεται ο εκθέτης της εξίσωσης απόλυτη γονιμότητα-καθαρό βάρος διαφέρει σημαντικά από την τιμή 1, γεγονός που υποδεικνύει ότι αριθμός των αβγών που μπορούν να γεννηθούν από ένα θηλυκό, είναι σημαντικά μικρότερος από αυτά που θα μπορούσαν να γεννηθούν από ένα άλλο του ίδιου βάρους.

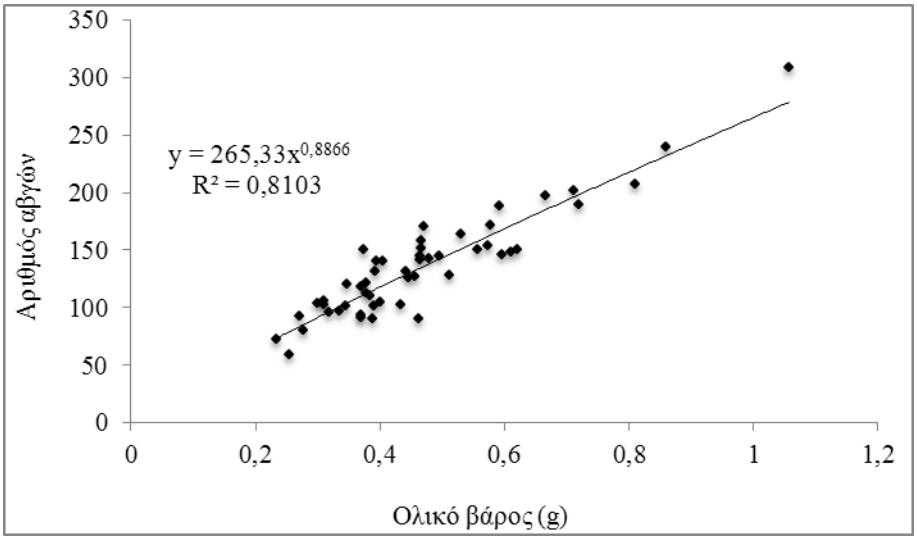
Πίνακας 5.6: Εξισώσεις απόλυτης γονιμότητας-ολικού μήκους (TL, mm) ολικού βάρους (TW, g) και καθαρού βάρους (EW, g) για το *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Table 5.6: Relationships between fecundity-total length (TL, mm), total weight (TW, g) and eviscerated weight (NW, g) for *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

Εξίσωση	95% Ορ. Εμπ. (*b*)	n	r^2	p
$0{,}016\ TL^{2{,}601}$	2,247-2,954	51	0,82	< 0,001
$265{,}32\ TW^{0{,}887}$	0,763-1,010	51	0,81	< 0,001
$345{,}42\ EW^{0{,}777}$	0,654-0,900	51	0,77	< 0,001

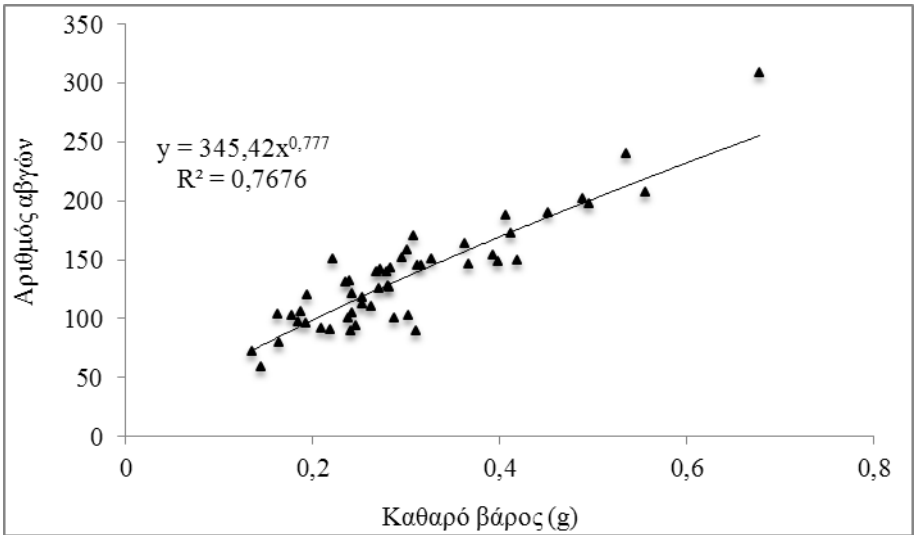
*95% Ορ. Εμπιστ=95% Όρια Εμπιστοσύνης, n=αριθμός ατόμων.



Εικόνα. 5.4: Σχέση μεταξύ απόλυτης γονιμότητας και ολικού μήκους (TL, mm) του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure. 5.4: Relationship between absolute fecundity and total length (TL, mm) of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007).



Εικόνα. 5.5: Σχέση μεταξύ απόλυτης γονιμότητας και ολικού βάρους (TW, g) του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure. 5.5: Relationship between absolute fecundity and total weight (TW, g) of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007).



Εικόνα. 5.6: Σχέση μεταξύ απόλυτης γονιμότητας και καθαρού βάρους (NW, g) του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure. 5.6: Relationship between absolute fecundity and net weight (NW, g) of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

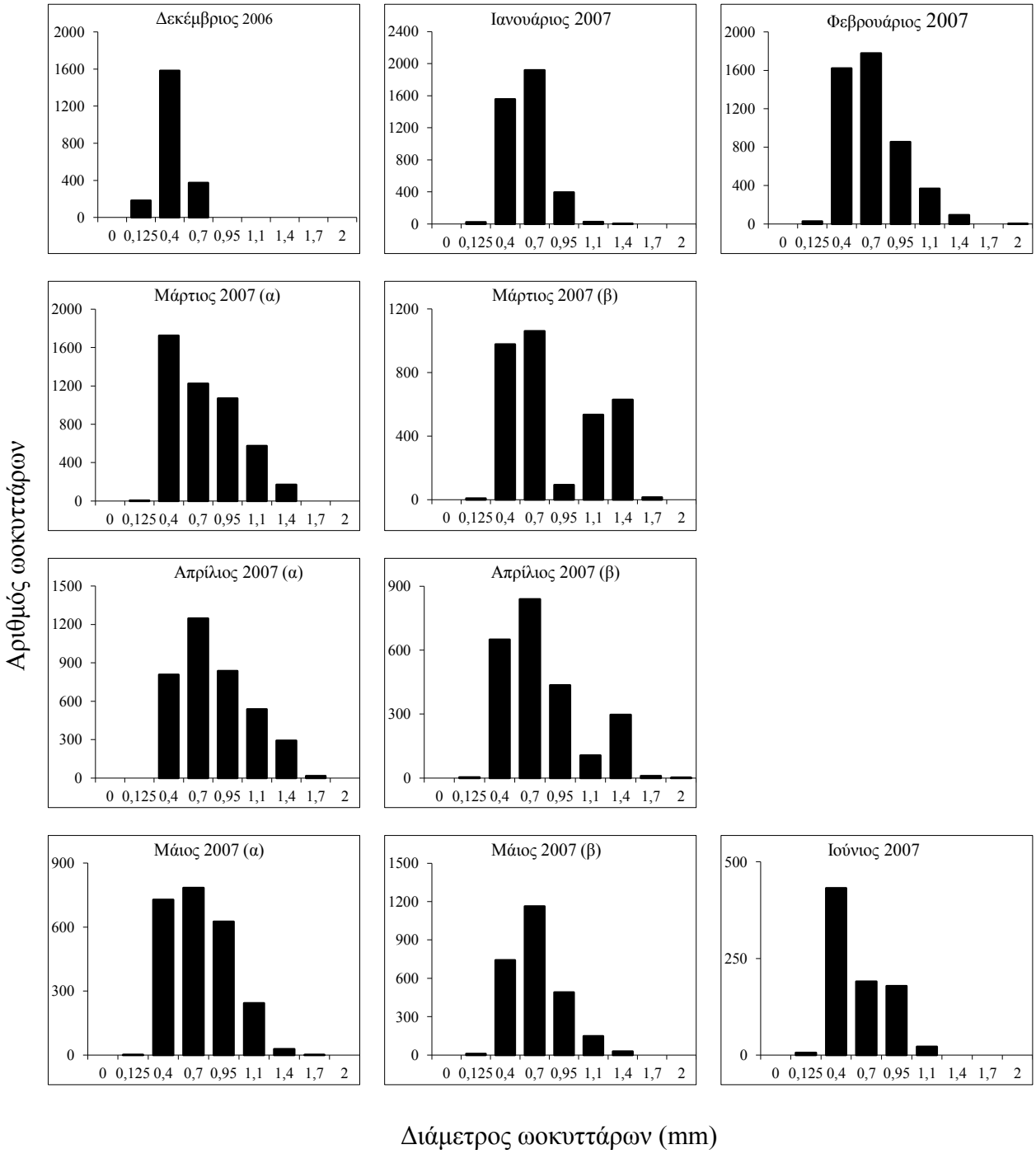
5.3.6. Μέγεθος και χαρακτηριστικά ωοκυττάρων

Οι κατανομές συχνοτήτων των διαμέτρων των ωοκυττάρων προερχομένων από τις ωοθήκες των θηλυκών γωβιών το χρονικό διάστημα Δεκέμβριος 2006-Ιούνιος 2007 παρουσιάζονται στην εικόνα 5.7. Η μέση μέγιστη διάμετρος των ωοκυττάρων του *E.*

pygmaeus ήταν 0,97 mm (SD±0,04), με το εύρος των διαμέτρων να κυμαίνεται από 0,76-1,3 mm. Το μεγαλύτερο ενυδατωμένο ώριμο ωοκύτταρο που βρέθηκε στις γονάδες που εξετάστηκαν είχε διάμετρο 1,95 mm και προερχόταν από ένα θηλυκό που αλιεύθηκε τον Απρίλιο 2007 (β) (Εικόνα 5.7).

Στις ωοθήκες των απλών ατόμων του παρατηρήθηκαν δύο βασικές κατηγορίες ωοκυττάρων, οι οποίες διαχωρίστηκαν από τα στάδια ωρίμασης που εμφάνισε η κατανομή των διαμέτρων τους. Η πρώτη κατηγορία που αποτελεί το απόθεμα της ωοθήκης, περιλαμβάνει τα ωοκύτταρα πρωτογενούς φάσης ανάπτυξης (στάδια I, II) και τα ωοκύτταρα που εμφανίζουν έναρξη της λεκιθογένεσης (στάδιο IIIα). Το μέγεθος των διαμέτρων τους κυμαίνεται ανάμεσα στα 0,125-0,7 mm. Η δεύτερη κατηγορία αφορά τα ωοκύτταρα στα οποία η λεκιθογένεση έχει προχωρήσει (στάδια IIIβ-IV) και το μέγεθος των διαμέτρων τους περιλαμβάνεται ανάμεσα στα 0,7 και 2 mm.

Με την έναρξη της αναπαραγωγικής δραστηριότητας παρατηρούνται δύο κορυφές στην κατανομή των διαμέτρων μεταξύ των λεκιθικών ωοκυττάρων και εκείνων που αποτελούν το απόθεμα της ωοθήκης. Μάλιστα φαίνεται ότι υπάρχει ένα κρίσιμο μέγεθος (<0,7 mm), το οποίο εφόσον υπερβούν τα ωοκύτταρα του αποθέματος μπαίνουν στη φάση ωρίμασης. Η παρουσία των δύο σαφώς διακριτών ομάδων, των πλήρως ωρίμων και στις αρχές της ωρίμασης ωοκυττάρων, δείχνει ότι κάθε θηλυκό αναπαράγεται περισσότερο από μία φορές κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου. Το είδος, λοιπόν εμφανίζει τμηματική ωοτοκία, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από την ύπαρξη περισσοτέρων της μιας μεγίστων συχνοτήτων στην κατανομή των διαμέτρων των ωοκυττάρων.



Εικόνα. 5.7: Κατανομή συχνότητας της διαμέτρου των ωοκυττάρων στην ωοθήκη του *E. pygmaeus* της λίμνης Παμβώτιδας κατά το διάστημα Δεκέμβριος 2006-Ιούνιος 2007.
Figure 5.7: Oocyte frequency distribution of *E. pygmaeus* at lake Pamvotis during the period December 2006-June 2007.

5.4. Συζήτηση

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τον υπολογισμό της αναλογίας φύλων στο σύνολο των ατόμων του *E. pygmaeus* φανερώνουν ότι τα θηλυκά άτομα υπερέχουν των αρσενικών. Το γεγονός αυτό μπορεί να σχετίζεται με την επίδραση του αλιευτικού εργαλείου κατά την δειγματοληψία και τη χαμηλή του ευαισθησία κατά την αλίευση (Maccagnani et al. 1985, Gandolfi et al. 1991, Malavasi et al. 2005). Το ίδιο αποτέλεσμα αναφέρεται από τους Economou et al. (1999) για τη λίμνη Τριχωνίδα και το ποταμό Άγιο Δημήτριο με τα θηλυκά να επικρατούν των αρσενικών και τη μέση ετήσια αναλογία φύλων να κυμαίνεται από 1,10 ώς 1,28 αντίστοιχα. Αντίθετα οι Daoulas et al. (1993) και Economou et al. (1999) μελετώντας το πληθυσμό του *E. trichonis* στη λίμνη Τριχωνίδα βρήκαν στατιστικά σημαντική υπεροχή των αρσενικών ατόμων (M:F=1,8:1).

Όσον αφορά την αναλογία φύλων ανά μήνα, φαίνεται ότι τους περισσότερους μήνες η αναλογία δε διέφερε στατιστικά υπέρ των θηλυκών, εκτός από τον Οκτώβριο 2006 και τους μήνες της αναπαραγωγής (Απρίλιο-Μάιο 2007), όπου η παρατηρούμενη αναλογία διέφερε στατιστικά από τη θεωρητική. Η επικράτηση αυτή μπορεί να οφείλεται στην αναπαραγωγική συμπεριφορά που εκδηλώνουν οι αρσενικοί γωβιοί με τη κατασκευή της φωλιάς και τη φύλαξη των αβγών (Pampoulie et al. 2004, Lindström et al. 2006, Gkenas et al. 2010). Επιπλέον, σε αυτό το σημείο θα πρέπει να τονιστεί, ότι σε ορισμένα είδη της ομάδας 'αμμογωβιοί' (*Pomatoschitstus minutus*, *Gobiusculus flavescens*) παρατηρείται αντιστροφή των ρόλων της σεξουαλικής επιλογής με αυξημένη κινητικότητα των θηλυκών γωβιών που ερωτοτροπούν με το ίδιο αρσενικό (Myhre et al. 2012) ή με την αποθεση των αβγών από τα θηλυκά σε φωλιά που φρουρείται από ένα αρσενικό (Forsgren et al. 1996). Αυτοί πιθανόν είναι οι λόγοι που αλιεύθηκαν λιγότερα αρσενικά άτομα στη περιοχή μελέτης κατά τη περίοδο της αναπαραγωγής.

Η ωρίμαση στα ψάρια εξαρτάται συνήθως από την επίτευξη ενός φυσιολογικού κρίσιμου μεγέθους και από την ηλικία κατά την οποία αυτό το μέγεθος επιτυγχάνεται (Meyer et al. 2003). Το μήκος της πρώτης γεννητικής ωρίμασης ποικίλλει μεταξύ των ειδών αλλά μπορεί να ποικίλλει και μεταξύ των ατόμων ενός είδους. Οι διακυμάνσεις αυτές αντανακλούν την επίδραση γενετικών και περιβαλλοντικών παραμέτρων (Wootton 1990). Τα αποτελέσματα της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του μήκους πρώτης γεννητικής ωρίμασης συνιστούν ότι το ML_{50} για τα αρσενικά και θηλυκά άτομα του *E. pygmaeus* βρίσκεται περίπου στα 23 mm (ηλικία 1). Επισημαίνεται λοιπόν και στα δύο φύλα του είδους επιτυγχάνεται γεννητική ωρίμαση στο ίδιο μέγεθος πριν

συμπληρωθεί το πρώτο έτος ζωής τους. Παρόμοιες παρατηρήσεις σχετικά με το ML_{50} του *E. pygmaeus* έχουν γίνει από τους Economidis και Miller (1990) και Economou et al. (1994). Το εύρος ωρίμασης άλλων γωβιών της Οικογένειας Gobiidae κυμαίνεται στα 20-25 mm για το *K. caucassica* και το *K. longecaudata* (Miller 2004), ενώ το συγγενικό είδος *E. trichonis*, που θεωρείται το μικρότερο ψάρι των εσωτερικών υδάτων της Ευρώπης, ωριμάζει σε ακόμα μικρότερο μήκος (18 mm, SL) (Economidis & Miller 1990). Οι μόνες αναφορές για είδη που ωριμάζουν σε μεγαλύτερο μέγεθος σώματος αφορούν το *P. canestrinii* (>30 mm) (Gandolfi et al. 1982) και το *K . croatica* (>42 mm) (Zanella et al. 2011). Η διαφοροποίηση αυτή μπορεί να οφείλεται στην πρώιμη εντατική επένδυση που ακολουθούν τα είδη του γένους *Economidichtys* για τη συνολική τους αύξηση πριν από την ωρίμαση των γονάδων.

Η αναπαραγωγική περίοδος του *E. pygmaeus* πιθανότατα διαρκεί από τις αρχές Μαρτίου και ολοκληρώνεται στα τέλη Μαϊου. Αυτό συμπεραίνεται: α) από τα αποτελέσματα της μακροσκοπικής εξέτασης των γονάδων, β) από την εμφάνιση ώριμων αρσενικών και θηλυκών ατόμων τους μήνες Ιανουάριο και Φεβρουάριο 2007, όταν δηλαδή πλησίαζε η περίοδος αναπαραγωγής και γ) από την πρώτη εμφάνιση νεαρών ατόμων που παρατηρήθηκε τον Απρίλιο 2007 (Εικόνα 4.2). Παρόμοια χρονική διάρκεια φαίνεται να παρουσιάζει ο λουρογωβιός και στη λίμνη Τριχωνίδα (Daoulas et al. 1993), όπου αναπαράγεται το ίδιο περίπου χρονικό διάστημα. Ωστόσο, η αναπαραγωγή του είδους φαίνεται να είναι πιο εκτεταμένη και να ποικίλλει ως προς την εποχή και τη διάρκειά της σε σταθερά οικοσυστήματα όπως ο ποταμός Άγιος Δημήτριος (Ιούνιο και Οκτώβριο-Νοέμβριο) και οι πηγές Μπαρμπανάκου (Μάρτιο-Μάιο και Νοέμβριο), αν και το φθινόπωρο συμμετείχαν στην ωοτοκία λίγα μεγάλα άτομα που πιστεύεται ότι είχαν επιζήσει από την προηγούμενη αναπαραγωγική περίοδο του ίδιου έτους (Economou et al. 1999). Σε σταθερά οικοσυστήματα, όπως αυτά, μια ενιαία αναπαραγωγική στρατηγική η οποία αποδεικνύεται αποτελεσματική εξακολουθεί να παρατείνεται για όσο διάστημα η περιβαλλοντική σταθερότητα διατηρείται (Balon 1990).

Η αύξηση του βάρους των γονάδων, κατά την αναπαραγωγική περίοδο, όπως αυτή εκφράστηκε από τις τιμές του γοναδοσωματικού δείκτη ήταν ιδιαίτερα σημαντική, με το GSI των θηλυκών ατόμων να είναι αρκετά υψηλότερο από τις τιμές των αρσενικών, όπως αναμένεται. Παρόμοιες διαφορές στην κλίμακα μεταξύ των δύο φύλων έχουν αναφερθεί για το *P. minutus* (Pampoulie et al. 1999), το *P. marmoratus* (Mazzoldi & Rassotto 2001) και το *K. croatica* (Zanella et al. 2011), αν και οι τιμές του GSI των αρσενικών ήταν

υψηλότερες απ΄ ότι αναφέρεται εδώ για το *E. pygmaeus*. Η απουσία διακύμανσης ή απρόβλεπτης μεταβολής των τιμών του GSI στα αρσενικά καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, υποδηλώνει την απουσία σε αυτό το είδος εναλλακτικών τακτικών, όπως η κρυφή και αθόρυβη (sneaking) είσοδος στη φωλιά. Τέτοιες συμπεριφορές υιοθετούνται κυρίως από 'λαθραίους' γωβιούς σε άλλα είδη 'αμμογωβιών' όπως τα *P. microps* και *P. minutus* (Svensson et al. 1998, Malavasi et al. 2001), οι οποίοι επενδύουν μεγαλύτερα ποσά ενέργειας στη παραγωγή γονάδας και εμφανίζουν υψηλότερες τιμές GSI (Stockley et al. 1997).

Ως προς τη μελέτη του ηπατοσωματικού δείκτη φαίνεται ότι το φύλο του ψαριού και οι εποχικοί παράγοντες επηρεάζουν τις τιμές του. Το καλοκαίρι και στην αρχή του φθινοπώρου οι σχετικά ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες, καθώς και η αφθονία της τροφής ευνοούν την απόθεση θρεπτικών συστατικών στο ήπαρ των ψαριών. Το χειμώνα που επικρατούν οι χαμηλότερες τιμές της θερμοκρασίας του νερού παρουσιάζονται και οι χαμηλότερες τιμές του ηπατοσωματικού δείκτη. Οι μικρές διακυμάνσεις του δείκτη HSI στα αρσενικά τους μήνες Φεβρουάριο ώς Μάιο οφείλονται στο χρόνο που περνούν τα ψάρια για να κατασκευάσουν τις φωλιές και να φυλάξουν τα αβγά τους (Magnhagen 1986, DeMartini 1987, Kvarnemo et al. 1998). Αντίθετα, η μη εκδήλωση γονικής φροντίδας των θηλυκών προς τα αβγά και η δυνατότητα των θηλυκών να τρέφονται κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου (Λεονάρδος 1996, Forsgren et al. 1996, Lindström et al. 2006) επιτρέπουν στο ψάρι να σχηματίζει τη γονάδα του χωρίς να επηρεάζεται ουσιαστικά η κατάσταση του συκωτιού.

Η γονιμότητα του λουρογωβιού βρέθηκε να έχει καλή συσχέτιση με το ολικό μήκος και το ολικό και καθαρό σωματικό βάρος του είδους. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ένα μεγαλύτερο θηλυκό άτομο έχει περισσότερο χώρο στην κοιλιακή του κοιλότητα, ο οποίος του επιτρέπει να σχηματίσει μια ογκώδη γονάδα που περιέχει περισσότερα αβγά (Borek & Sapota 2005). Οι τιμές της απόλυτης γονιμότητας που αναφέρουν οι Economidis & Miller (1990) για το *E. pygmaeus* στις πηγές Βλυχά, οι οποίες κυμάνθηκαν από 107-390 αβγά, συμπίπτουν με αυτές που βρέθηκαν για το είδος στη λίμνη Παμβώτιδα. Αντίστοιχα αποτελέσματα έχουν καταγράψει διάφοροι ερευνητές σχετικά με τη γονιμότητα των 'αμμογωβιών'. Έτσι, για το *P. canestrinii*, οι Gandolfi et al. (1982) αναφέρουν απόλυτη γονιμότητα 100-300, η Markova (1962) για *το K. caucasica* 97-343 αβγά για μήκη 20-35 mm στη Θάλασσα Αράλη, η Moskal'kova (1960) για το *K. longecaudata* 274-804 αβγά

στην Αζοφική Θάλασσα, ο Özcan (2009) για το *K. mermere* 100-800 αβγά στη λίμνη του Μαρμαρά και οι Zanella et al. (2011) για το *K. croatica* 188-593 αβγά στο Ποταμό Matica.

Στις ωοθήκες του λουρογωβιού, η ύπαρξη περισσοτέρων της μιας μέγιστων συγκεντρώσεων, στην κατά μήκος κατανομή των διαμέτρων των ωοκυττάρων, αποτελούν ενδείξεις ότι λαμβάνει χώρα τμηματική απελευθέρωση των αβγών του. Οι Economidis & Miller (1990) μελετώντας τη συχνότητα κατανομής της διαμέτρου των ωοκυττάρων στα θηλυκά άτομα του είδους και οι Daoulas et al. (1993) περιγράφοντας τη στρατηγική ωοτοκίας του *E. pygmaeus*, το χαρακτήρισαν πολλαπλό ωαποθέτη. Η απόθεση αβγών σε ομάδες (batches) είναι μια κοινή στρατηγική που ακολουθούν τα μικρά ψάρια για να εξασφαλιστεί η επιβίωση τουλάχιστον ενός μέρους των απογόνων τους, επιπλέον να αποφευχθεί το πρόβλημα του περιορισμού της γονιμότητας από το μικρό διαθέσιμο χώρο της κοιλιακής κοιλότητας. Το μέγεθος των ψαριών είναι ένας παράγοντας που περιορίζει τη γονιμότητα, διότι τα μικρά ψάρια σχηματίζουν κυρίως μικρές γονάδες (Byrne 1978), με αποτέλεσμα να περιορίζεται ο αριθμό των ωοκυττάρων που μπορούν να κρατήσουν (Vargas & de Sostoa 1997), Αυτό μπορεί να αντισταθμιστεί όταν η απελευθέρωση των αβγών πραγματοποιείται σε εκτεταμένη χρονική περίοδο, επιτρέποντας έτσι μεγαλύτερη γονιμότητα από ό, τι αν συνέβαινε σε μία μόνο περίοδο ωοτοκίας (Byrne 1978). Η τμηματική ωοτοκία έχει το πλεονέκτημα ότι αυξάνει την επιβίωση των απογόνων, μειώνοντας παράλληλα τον κίνδυνο θήρευσης που υπάρχει για τα αβγά και τις προνύμφες. Δηλαδή σε περίπτωση που εμφανιστούν δυσμενείς συνθήκες οποιαδήποτε στιγμή κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγής, μόνο ένα μέρος της συνολικής ωοτοκίας θα κινδυνέψει (Caiola et al. 2001b). Τέλος, μειώνει τον ενδοειδικό ανταγωνισμό καθώς τα νεαρά άτομα αυξάνονται και ωριμάζουν σταδιακά.

Όσον αφορά το μέγεθος των ωοκυττάρων, η διάμετρος των αβγών του *E. pygmaeus* είναι γενικά μεγαλύτερη από άλλα είδη των 'αμμογωβιών' των οποίων η μέση διάμετρος είναι <1 mm (*P. norvegicus*: Gibson & Ezzi 1981, *P. microps*: Bouchereau et al. 1989, *P. minutus*: Bouchereau et al. 1990). Με την αύξηση του μεγέθους του αβγού, τα θηλυκά βελτιώνουν την πρώιμη επιβίωση των προνυμφών, διότι εκκολάπτονται προνύμφες σε προχωρημένο στάδιο ανάπτυξης, καλύτερα προσαρμοσμένες στο βενθικό τρόπο ζωής (Daoulas et al. 1993) και με μεγαλύτερα αποθέματα ενέργειας (Brooks et al. 1997). Αυτό δίνει το πλεονέκτημα στις προνύμφες να είναι περισσότερο ανταγωνιστικές, όταν υπάρχει έλλειψη τροφής (Marsh 1986) και λιγότερο ευάλωτες στη παρουσία θηρευτών (Flemming & Gross 1990).

Η αύξηση τόσο της γονιμότητας όσο και του μεγέθους των αβγών μπορεί να αυξήσει την ικανότητα των θηλυκών σε σχέση με τον αριθμό των προνυμφών που θα ωριμάζουν (Lloyd 1987), αλλά παράλληλα θα μειώσει την καταλληλότητα των νεαρών ατόμων που θα είναι σε θέση να ανταγωνιστούν για την εύρεση τροφής και το ενδιαίτημα (Godfray & Parker 1991).

Συνοψίζοντας, ο πληθυσμός του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα χαρακτηρίζεται από υψηλή αναπαραγωγική προσπάθεια, τμηματική ωοτοκία και έρχεται σε γεννητική ωρίμαση κατά το πρώτο έτος της ζωής του. Πολλά από τα χαρακτηριστικά του κύκλου ζωής του είδους συναντώνται και σε άλλα είδη γωβιών των εσωτερικών οικοσυστημάτων της Μεσογείου (Kevrekidis et al. 1990, Daoulas et al. 1993, Bouchereau et al. 1990, Pampoulie et al. 1999). Ο λουρογωβιός παρουσιάζει εκτεταμένη αναπαραγωγική περίοδο η οποία αρχίζει το Μάρτιο και φτάνει ως τα τέλη Μαΐου. Κατά την περίοδο της αναπαραγωγής ο ηπατοσωματικός δείκτης μειώνεται στα αρσενικά εξαιτίας της γονικής φροντίδας που επιδεικνύουν. Την ίδια περίοδο η τιμή του HSI στα θηλυκά αυξάνεται εξαιτίας της ικανότητάς τους να τρέφονται σε όλη την αναπαραγωγική περίοδο. Το είδος αποθέτει τα αβγά του σε ομάδες για να εξασφαλίσει την επιβίωση τουλάχιστον ενός μέρους των απογόνων του.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΑΚΟΥΣΤΙΚΗ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑ ΤΟΥ *E. PYGMAEUS*: ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΑΠΩΛΕΙΑ ΗΧΩΝ ΕΝΤΟΣ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ 'ΑΜΜΟΓΩΒΙΟΙ';

6.1. Εισαγωγή

Η εκπομπή ηχητικών σημάτων κατά την αναπαραγωγική διαδικασία είναι ευρέως γνωστή σε πολλούς τελεόστεους (Fine et al. 1977, Myrberg 1981, Myrberg & Lugli 2006). Στα διάφορα είδη γωβιών που έχουν μελετηθεί, η εκπομπή του ηχητικού σήματος χαρακτηρίζεται από ποικιλομορφία, πολυπλοκότητα και εμφανίζει φυλογενετική διακύμανση (Malavasi et al. 2008), ενώ οι τύποι των μηχανισμών που χρησιμοποιούνται ποικίλλουν εξίσου και μπορούν να σχετίζονται με διαφορές στη λειτουργία της συμπεριφοράς (Kaatz 2002). Οι ήχοι των ψαριών θεωρείται ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο κατά τη διάρκεια δραστηριοτήτων που λαμβάνουν χώρα κατά την αναπαραγωγή, όπως η απομάκρυνση του εισβολέα από την κατειλημμένη περιοχή που πραγματοποιείται η ωοτοκία (Myrberg 1997), η προσέλκυση του θηλυκού ατόμου του ίδιου είδους (Lugli et al. 1996) και η επιλογή συντρόφου (Myrberg et al. 1986). Οι ήχοι κατά τη διάρκεια του ζευγαρώματος μπορεί επίσης να διεγείρουν την ανάπτυξη των γονάδων στα θηλυκά άτομα (Marshall 1972) και να βοηθήσουν στην προώθηση της σύγχρονης απελευθέρωσης των γαμετών (Hawkins & Amorim 2000). Επίσης, δυνητικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην αναγνώριση ειδών ανάμεσα στα ανώτερα σπονδυλωτά (Myrberg et al. 1978, Amorim et al. 2004.).

Μεταξύ των ψαριών που παράγουν ήχους, οι γωβιοί είναι μια από τις τέσσερις πιο καλά μελετημένες οικογένειες (συμπεριλαμβανομένων και των οικογενειών Mormyrids, Batrachoidids και Pomacentrids), με την παραγωγή ήχων να έχει καταγραφεί σε τουλάχιστον 14 είδη, τα οποία ανήκουν σε εννέα διαφορετικά γένη (Bass & McKibben 2003; Myrberg & Lugli 2006). Το τυπικό πρότυπο της παραγωγής ήχου που επιδεικνύουν οι γωβιοί κατά την αναπαραγωγή είναι παρόμοιο με αυτό που συνήθως περιγράφεται για άλλους τελεόστεους (Lugli et al. 1997), με τους ήχους να εκπέμπονται κυρίως κατά την προσυζευκτική φάση. Στην περίπτωση των Μεσογειακών γωβιών (γένη *Pomatoschistus* και *Knipowitschia*) της ομάδας των 'αμμογωβιών' η εκπομπή ήχων πραγματοποιείται μόνο όταν το θηλυκό εισέρχεται στη φωλιά του αρσενικού (Lugli & Torricelli 1999) με εξαίρεση το *Pomatoschistus pictus* το οποίο εκδηλώνει διαφορετική αναπαραγωγική συμπεριφορά και εκπέμπει ήχους όχι μόνο όταν το αρσενικό βρίσκεται στη φωλιά, αλλά και όταν προσπαθεί να προσελκύσει το θηλυκό μακριά από τη φωλιά (Amorim & Neves 2007).

Η εκπομπή κρουστικών ήχων πριν και κατά τη διάρκεια της ωοτοκίας έχει αναλυθεί για έξι είδη γωβιών της ομάδας των 'αμμογωβιών' που ανήκουν στα γένη

Pomatoschistus και *Knipowitschia* (Lugli et al. 1995, Lugli & Torricelli 1999, Lindström & Lugli 2000, Amorim & Neves 2007, Malavasi, et al. 2008). Οι Lugli & Torricelli (1999) και Lindström & Lugli (2000) έχουν προτείνει σε προηγούμενες εργασίες τους ότι τα ακουστικά σήματα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την επιλογή συντρόφου, δεδομένου ότι τα θηλυκά εισέρχονται σε αρκετές φωλιές πριν αποφασίσουν που να αποθέσουν τα αβγά τους και οι ήχοι εκπέμπονται μόνο όταν το αρσενικό είναι στη φωλιά. Επιπλέον, επειδή οι γωβιοί συχνά ζουν συμπατρικά σε παράκτιες ζώνες ή σε συστήματα εσωτερικών υδάτων (Miller 1986), θα μπορούσε οι πιθανές διαειδικές διαφορές στους αναπαραγωγικούς ήχους (π.χ. Lugli & Torricelli 1999) ενδεχομένως να χρησιμοποιηθούν στην αναγνώριση ειδών.

Περιορισμένες είναι οι μελέτες που σχετίζονται με την αναπαραγωγική συμπεριφορά της ομάδας των 'αμμογωβιών' και η βιβλιογραφία που υπάρχει δε βοηθάει στη σύνθεση μιας ολοκληρωμένης εικόνας. Τα ηθολογικά χαρακτηριστικά, ειδικά εκείνα που σχετίζονται με την σεξουαλική επιλογή και την αναπαραγωγή έχουν μελετηθεί εκτενώς σε μερικά είδη, όπως τα: *P. minutus, P. microps* και *Gobiusculus flavescens*, (Lindström & Lugli 2000, Magnhagen 1992, 1998, Magnhagen & Kvarnemo 1989, Kvarnemo et al. 1995, Lindström 1992, Lindström et al. 2006, Svensson & Kvarnemo 2003, Forsgren et al. 2004), αλλά μια μεγάλη συγκριτική ανάλυση αυτών των χαρακτηριστικών λείπει από τη βιβλιογραφία.

Σκοπός της παρούσας ενότητας είναι η εξέταση, για πρώτη φορά, της εκπομπής ηχητικών σημάτων μέσα στο αναπαραγωγικό πλαίσιο του *E. pygmaeus*, καθώς και η ποσοτική περιγραφή και ανάλυση της ερωτοτροπίας και ωοτοκίας του με τη βοήθεια της κατασκευής ενός αναπαραγωγικού ηθογράμματος. Η παράθεση αυτών των στοιχείων θα εξυπηρετήσει επιπλέον τη σύγκριση, αλλά και τον εντοπισμό τυχόν διαφορών ανάμεσα στα αποτελέσματα που θα παρουσιαστούν στη συνέχεια και σε εκείνα που αναφέρονται στις εργασίες που υπάρχουν.

6.2. Υλικά και μέθοδοι

6.2.1. Προέλευση και διατήρηση ιχθύων

Ενήλικα αρσενικά και θηλυκά άτομα του είδους *E. pygmaeus* συλλέχθηκαν, λίγο πριν την έναρξη της αναπαραγωγικής περιόδου (μέσα Ιανουαρίου), από το σταθμό Πέραμα στη λίμνη Παμβώτιδα (βλ. κεφάλαιο υλικά και μέθοδοι: γενικά, Εικόνα 2.2) με τη βοήθεια ειδικά κατασκευασμένης απόχης (30 cm x 35 cm) και δίχτυ με άνοιγμα ματιού 2 mm. Αμέσως μετά τη σύλληψη, τα ψάρια μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Ζωολογίας και Βοτανικής στο Τμήμα Περιβαλλοντικής Επιστήμης του Πανεπιστημίου Ca' Foscari (Βενετία, Ιταλία)[7], όπου και τοποθετήθηκαν σε κατάλληλα ενυδρεία. Η πειραματική διαδικασία ξεκίνησε το Φεβρουάριο 2008 και διήρκησε ώς το Μάιο 2008.

6.2.2. Πειραματική διαδικασία

Τα δύο ενυδρεία όπου διατηρούνταν ο συνολικός πληθυσμός είχαν χωρητικότητα 400 lt και ήταν συνδεδεμένα με μηχανικό φίλτρο SACEM τύπου MARATHON για συνεχή ανανέωση του νερού. Αρχικά, ο πληθυσμός αποτελούνταν από 120 άτομα, ισότιμα χωρισμένα σε 2 ενυδρεία. Καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων, η θνησιμότητα ήταν ασήμαντη (5 άτομα νεκρά). Η θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε μεταξύ 17-21 ^{o}C και η φωτοπερίοδος κατά τη διάρκεια των πειραματικών διαδικασιών ακολούθησε τις φυσικές συνθήκες (11L:13D). Το τάισμα των ψαριών γινόταν αποκλειστικά με κατεψυγμένες Χειρονομίδες, χορηγούμενες με το χέρι ώς το σημείο κορεσμού (*ad libidum*) με συχνότητα δύο φορές την ημέρα.

6.2.3. Παραγωγή ήχων κατά τη διάρκεια επιθετικής συμπεριφοράς

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η παραγωγή ήχων διαμέσου των αλληλεπιδράσεων αρσενικού-αρσενικού (επιθετική συμπεριφορά). Τα ενυδρεία των πειραμάτων είχαν όγκο 96 lt. Σε κάθε ενυδρείο ο πυθμένας ήταν καλυμμένος με ένα στρώμα άμμου 5 cm και στο μέσο υπήρχε ένας μικρός πλαστικός σωλήνας τον οποίο κάθε αρσενικό χρησιμοποιούσε ως φωλιά. Όλα τα πειραματικά ενυδρεία ήταν τοποθετημένα πάνω σε φελιζόλ για να εξασφαλισθεί η σταθερότητά τους και για να επιτευχθεί καλύτερη ηχομόνωση.

---

[7] Η παραπάνω συνεργασία μεταξύ των εργαστηρίων Ζωολογίας του τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Πανεπιστήμιου Ιωαννίνων και του εργαστηρίου Ζωολογίας και Βοτανικής του τμήματος Περιβαλλοντικής Επιστήμης του Πανεπιστημίου Ca' Foscari, Βενετία πραγματοποιήθηκε μέσα στα πλαίσια του προγράμματος Erasmus τη χρονική περίοδο Φεβρουάριος 2008-Μάιος 2008.

Η είσοδος του κάθε αρσενικού στο πειραματικό ενυδρείο γινόταν 2 μέρες πριν για να καθορίσει και να προετοιμάσει το χώρο κυριαρχίας του (territoriality). Για να μπορέσουμε να αποσπάσουμε επιθετικούς ήχους, μετά τη παρέλευση 48 ωρών, ένα αρσενικό άτομο το οποίο είχε το ρόλο του 'εισβολέα' (intruder) τοποθετούταν σε μεταλλικό κλουβί. Στη συνέχεια, το κλουβί αφηνόταν μπροστά από τη φωλιά, ώστε τα 2 αρσενικά να μπορέσουν να αλληλεπιδράσουν, χωρίς όμως να γίνει κάποια μάχη μεταξύ τους. Τα ψάρια επιτρέπονταν να αλληλεπιδράσουν για 20 min, ενώ μετά τη μεταξύ τους αλληλεπίδραση μεταφέρονταν σε διαφορετικά ενυδρεία. Σε κάθε πειραματική επανάληψη χρησιμοποιήθηκαν νέα άτομα από τον αρχικό πληθυσμό. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν 4 επαναλήψεις με αλληλεπιδράσεις αρσενικών που σχετίζονταν με την επιθετική συμπεριφορά.

Πριν από την έναρξη των πειραμάτων γινόταν διακοπή κάθε συσκευής άντλησης στο χώρο του ενυδρείου για την ελαχιστοποίηση των εξωτερικών θορύβων. Ο εξοπλισμός αποτελούνταν από ένα ειδικά κατασκευασμένο υδρόφωνο (Gulton industries: sensivity : -164 dB, re 1 μPa, frequency response ± 3 dB από 30 Hz ώς 2 kHz) το οποίο ήταν τοποθετημένο στο πίσω άνοιγμα της φωλιάς. Το υδρόφωνο ήταν συνδεδεμένο με τον ενισχυτή (B&K 2626), ο οποίος με τη σειρά του ήταν συνδεδεμένος με μια ψηφιακή φορητή συσκευή εγγραφής κασέτας ήχου (SONY D7). Το επίπεδο καταγραφής του ήχου ορίστηκε στα επίπεδα μεταξύ 4 και 6. Κάθε συσκευή ήταν κατάλληλα μονωμένη. Η εισαγωγή του υδροφώνου γινόταν 15 λεπτά πριν από την ηχογράφηση για να υπάρχει εξοικείωση του οργανισμού με την πειραματική διαδικασία.

6.2.4. Παραγωγή ήχων κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας και ωοτοκίας

Στο δεύτερο μέρος εξετάστηκε η παραγωγή ήχων διαμέσου της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς (ερωτοτροπία/ωοτοκία). Η προετοιμασία των ενυδρείων ήταν παρόμοια με αυτήν που περιγράφηκε στην παραπάνω υποενότητα. Τα αρσενικά άτομα τα οποία εμφάνιζαν έντονο γαμήλιο χρωματισμό απομακρύνονταν από τις δεξαμενές συλλογής και τοποθετούνταν ξεχωριστά σε μικρά ενυδρεία. Στη συνέχεια, μετά από 48 ώρες, γινόταν επιλογή ενός ώριμου θηλυκού ατόμου με βάση τη διόγκωση της κοιλιάς του και την ένταση του γαμήλιου χρωματισμού του. Η εισαγωγή του θηλυκού στο πειραματικό ενυδρείο γινόταν χωρίς τη χρησιμοποίηση μεταλλικού κλουβιού για να αλληλεπιδράσει ελεύθερα με το αρσενικό σύμφωνα με τους Malavasi et al. (2008). Η ηχογράφηση

διήρκεσε συνολικά 30 min, ενώ αν ακολουθούσε ωοτοκία, γινόταν καταγραφή όλου του αναπαραγωγικού γεγονότος.

Σε κάθε πειραματική επανάληψη χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικά άτομα από τον αποθεματικό πληθυσμό. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν 18 πειραματικές επαναλήψεις. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν 6 επαναλήψεις με τα αρσενικά να εκδηλώνουν συμπεριφορά ερωτοτροπίας προς τα θηλυκά, 4 επαναλήψεις όπου τα αρσενικά εμφάνισαν μόνο συμπεριφορά ωοτοκίας (στην περίπτωση αυτή το θηλυκό μπήκε γρήγορα στη φωλιά και άρχισε την απόθεση των αβγών χωρίς να υπάρχει η φάση της ερωτοτροπίας) και τέλος 8 επαναλήψεις με τα αρσενικά να δείχνουν χαρακτηριστικά και των 2 φάσεων (ερωτοτροπία/ωοτοκία). Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την καταγραφή ήχων κατά το στάδιο της ερωτοτροπίας και της ωοτοκίας ήταν ίδια με αυτή που περιγράφηκε στην προηγούμενη υποενότητα. Στο τέλος του πειράματος μετρούνταν το ολικό μήκος (TL, mm) κάθε αρσενικού με ψηφιακό μικρόμετρο ακρίβειας 0,01 mm και καταγραφόταν η θερμοκρασία του νερού με ψηφιακό θερμόμετρο (0,1 ^{o}C).

6.2.5. Ηθολογικές παρατηρήσεις

Για καλύτερη ανάλυση των αποτελεσμάτων, η αναπαραγωγική συμπεριφορά του *E. pygmaeus* χωρίσθηκε σε δύο φάσεις: 1) ερωτοτροπία εκδηλωμένη από το αρσενικό, μέχρι το σημείο που το θηλυκό μπαίνει στη φωλιά για να ακολουθήσει η απόθεση των αβγών και 2) ωοτοκία, μέχρι το σημείο που το θηλυκό βγαίνει από τη φωλιά, έχοντας ολοκληρώσει την απόθεση των αβγών και πλέον η κοιλιά του δεν είναι διογκωμένη.

Ο σκοπός της πειραματικής διαδικασίας ήταν η ανάλυση των ακολουθιών συμπεριφοράς που σχετίζονται με την παραγωγή ήχων χρησιμοποιώντας ένα βιντεο-ακουστικό σύστημα εγγραφής. Οι ακολουθίες συμπεριφοράς καταγράφηκαν με τη βοήθεια βιντεοκάμερας η οποία ήταν συνδεδεμένη με συσκευή βίντεο VHS. Το βίντεο ήταν επίσης συνδεδεμένο με ένα υδρόφωνο το οποίο ήταν τοποθετημένο στο πίσω άνοιγμα της φωλιάς. Οι ήχοι διαμέσου ενός ενισχυτή στέλνονταν στη βιντεοκάμερα και εγγράφονταν στο βίντεο (Gkenas et al. 2010). Με τον τρόπο αυτό γινόταν ακουστική και οπτική παρατήρηση των αλληλεπιδράσεων των δύο ατόμων (ερωτοτροπία, ωοτοκία) σε πραγματικό χρόνο. Η βιντεοσκόπηση των παραπάνω διαδικασιών γινόταν από εξωτερικό παρατηρητή.

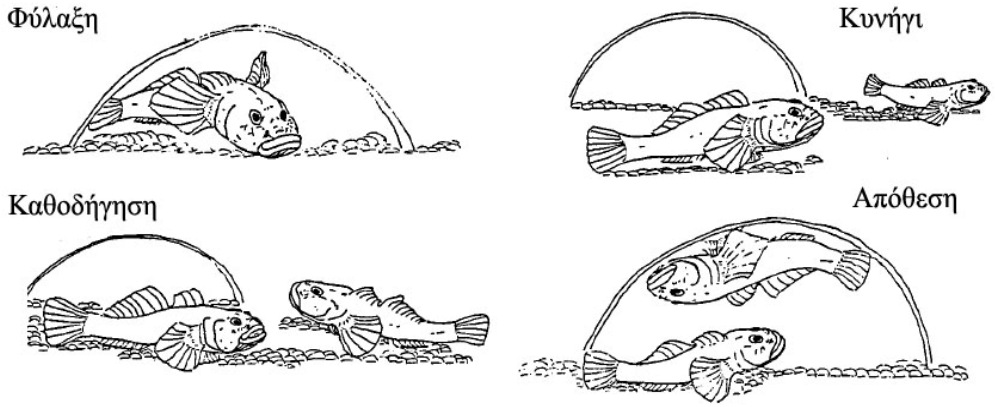
Συνολικά έγινε βιντεοσκόπηση 7 πειραματικών επαναλήψεων με τα αρσενικά και θηλυκά να εκδηλώνουν συμπεριφορές ερωτοτροπίας και ωοτοκίας. Οι ακολουθίες

συμπεριφοράς που αναγνωρίσθηκαν, κατηγοριοποιήθηκαν σε δραστηριότητες και γεγονότα (Πίνακας 6.1, Εικόνα 6.1). Η δραστηριότητα είναι μια συμπεριφορά που έχει μετρήσιμη διάρκεια και μπορεί να εκφραστεί ποσοτικά. Η ενότητα μιας δραστηριότητας ονομάζεται περίοδος (bout). Ένα γεγονός είναι μια συμπεριφορά που έχει πολύ σύντομη διάρκεια και η οποία μπορεί να θεωρηθεί στιγμιαία.

Πίνακας 6.1: Πρότυπα συμπεριφοράς που παρατηρήθηκαν κατά τη πειραματική διαδικασία (2006-2007). Δραστηριότητες και γεγονότα που διενεργούνται από το αρσενικό που υπερασπίζει το χώρο του και το θηλυκό εξετάζονται ξεχωριστά. Ένα όνομα αποδίδεται σε κάθε συμπεριφορά η οποία περιγράφεται λεπτομερώς (Δίνονται συμπληρωματικά πληροφοριές από βιβλιογραφία).
Table 6.1: Patterns in behavioural observations during the experimental procedure (2006-2007). Activities and events performed by the territorial male and the female are considered separately. A name is attributed to each behavior, that is described in detail (Additionally references are given).

Συμπεριφορά	Περιγραφή συμπεριφοράς	Φάσεις
Δραστηριότητες που διενεργούνται από το αρσενικό που υπερασπίζει το χώρο του		
Καθοδήγηση (leading)	Το αρσενικό εξέρχεται από τη φωλιά του, πλησιάζει το θηλυκό και στη συνέχεια επιστρέφει πίσω, κάνοντας κινήσεις ζιγκ-ζαγκ, οδηγώντας με αυτόν τον τρόπο το θηλυκό στο σημείο αναπαραγωγής. Τυπική συμπεριφορά ερωτοτροπίας των γωβιών (Magnhagen 1998).	Ερωτοτροπία
Φωλιά (Α) (nest)	Το αρσενικό είναι στη φωλιά όπου θα λάβει χώρα η ωοτοκία	Ερωτοτροπία/Ωοτοκία
Φύλαξη (guarding)	Το αρσενικό έχει πάρει θέση προστασίας της φωλιάς, τοποθετώντας την κεφαλή του στην είσοδό της.	Ερωτοτροπία
Αναστροφή (up-side down)	Το αρσενικό γυρίζει ανάποδα στη φωλιά, ώστε ο γεννητικός του πόρος να έρθει σ επαφή με την οροφή της φωλιάς. Σε άλλα είδη γωβιών, όπως το *Zosterisessor ophiocephalus*, η συμπεριφορά αυτή σχετίζεται με την απελευθέρωση σπέρματος (Ota et al. 1996).	Ερωτοτροπία/Ωοτοκία
Επαφή (contact)	Τα δυο ψάρια είναι κοντά μεταξύ τους.	Ωοτοκία
Δραστηριότητες που διενεργούνται από το θηλυκό		
Φωλιά (Θ) (nest)	Το θηλυκό είναι στη φωλιά όπου θα λάβει χώρα η ωοτοκία.	Ερωτοτροπία/Ωοτοκία
Απόθεση (deposition)	Το θηλυκό γυρίζει ανάποδα στη φωλιά, ώστε ο γεννητικός του πόρος να έρθει σε επαφή με την οροφή της φωλιάς και αρχίζει να αποθέτει τα αβγά τα οποία προσκολλώνται πάνω στην οροφή.	Ωοτοκία
Γεγονότα που διενεργούνται από το αρσενικό που υπερασπίζει το χώρο του		
Κυνήγι (chasing)	Το αρσενικό αρχίζει να κυνηγάει σθεναρά το θηλυκό, σκουντώντας ή δαγκώνοντας την ουρά του, κάνοντάς το να οπισθοχωρεί με ξαφνικές αλλαγές στην κατεύθυνσή του.	Ερωτοτροπία
Ανίχνευση (pointing)	Έχοντας το σώμα μέσα στη φωλιά, το αρσενικό προβάλλει την κεφαλή του έξω για να παρακολουθήσει το θηλυκό. Το γεγονός αυτό συχνά ακολουθείται από καθοδήγηση.	Ερωτοτροπία
Σπρώξιμο (prodding)	Το αρσενικό 'κουτουλάει' το θηλυκό κατά τη διάρκεια και των 2 φάσεων (Marchesan et al. 2000).	Ερωτοτροπία/Ωοτοκία
Αερισμός (fanning)	Ρυθμικές κινήσεις των θωρακικών πτερυγίων για την καλύτερη κυκλοφορία του νερού μέσα στη φωλιά. Τυπική συμπεριφορά των γωβιών κατά τη διάρκεια της γονικής φροντίδας. (Torricelli et al. 2000).	Ερωτοτροπία/Ωοτοκία
Γεγονότα που διενεργούνται από το θηλυκό		
Ελικοειδής κίνηση (sinuous swim)	Το θηλυκό προσπαθεί να προσελκύσει το αρσενικό το οποίο βρίσκεται μέσα στη φωλιά.	Ερωτοτροπία

Για να εκφραστεί ποσοτικά χρησιμοποιήθηκε η συχνότητά του (αριθμός γεγονότων/min). Οι εκδηλώσεις συμπεριφοράς εκφράστηκαν, για κάθε δραστηριότητα, ως το ποσοστό (%) του χρόνου της κάθε δραστηριότητας προς τη συνολική διάρκεια της ερωτοτροπίας ή της ωοτοκίας. Για κάθε γεγονός, η ένταση εκφράστηκε ως η αναλογία μεταξύ του αριθμού των γεγονότων και της διάρκειας (minutes) της ερωτοτροπίας και της ωοτοκίας αντίστοιχα.



Εικόνα 6.1: Απεικόνιση κύριων ηθολογικών παρατηρήσεων κατά την αναπαραγωγική συμπεριφορά του Ε. *pygmaeus* (τροποποιημένη από Zerunian et al. 1988).
Figure 6.1: Representation of major ethological observations during the reproductive behavior of *E. pygmaeus* (modified by Zerunian et al. 1988).

Οι ακολουθίες συμπεριφοράς αναλύθηκαν με τη βοήθεια ενός λογισμικού πακέτου που αναπτύχθηκε από τον καθηγητή Marco Lugli, προκειμένου να μετατραπούν αυτές οι ακολουθίες σε χρονολογικές καταχωρήσεις που περιέχουν δραστηριότητες και γεγονότα (Gkenas et al. 2010). Επειδή διαπιστώθηκαν μεγάλες διακυμάνσεις στη διάρκεια της ερωτοτροπίας σε κάθε επανάληψη, χρησιμοποιήθηκαν τα πρώτα 30 min από τη βιντεοσκόπηση κάθε δοκιμασίας. Οι ακολουθίες που σχετίζονταν με την ωοτοκία δεν είχαν τόσο μεγάλη διακύμανση και χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση όλη η διάρκεια του αναπαραγωγικού γεγονότος δηλαδή από την αρχή ώς το τέλος της απόθεσης των αβγών.

Η Ανάλυση Συσχέτισης (Correlation Analysis) κατά Spearman χρησιμοποιήθηκε για την εξεύρεση πιθανών συσχετίσεων μεταξύ της θερμοκρασίας του νερού και του μεγέθους του σώματος του ψαριού με τις εκδηλώσεις συμπεριφοράς του είδους (δραστηριότητες, γεγονότα). Η ίδια ανάλυση χρησιμοποιήθηκε για την εξεύρεση πιθανών συσχετίσεων μεταξύ των υπολοίπων εκδηλώσεων συμπεριφοράς του είδους. Τα δεδομένα αναλύθηκαν

με το συντελεστή συσχέτισης διατάξεων του Spearman (Spearman's rank correlation coefficient), δεδομένου ότι δεν ακολούθησαν την κανονική κατανομή που χρησιμοποιείται για παραμετρικούς ελέγχους (Siegel & Castellan 1992).

6.3. Αποτελέσματα

6.3.1. Παραγωγή ήχων κατά τη διάρκεια επιθετικής συμπεριφοράς

Κατά τη διάρκεια των πειραματικών διαδικασιών δεν καταγράφηκε ηχητική δραστηριότητα από τα αρσενικά που υπερασπίζονταν το χώρο κυριαρχίας τους ή τους εισβολείς (n=4). Επιπλέον, τα αρσενικά παρουσίασαν μια επιθετική συμπεριφορά η οποία εκδηλωνόταν ως:

- στιγμιαία κατευθυνόμενη κίνηση ενός ατόμου εναντίον άλλου, με στόχο τον εκφοβισμό του και με κατάληξη την υπεράσπιση του περιβάλλοντος χώρου (*απειλή*),
- κυνήγι μεταξύ των αρσενικών ατόμων σε όλο το χώρο του ενυδρείου, χωρίς σταθερή διαβάθμιση κυριαρχίας (*κυνήγι*),
- στιγμιαίο άγγιγμα των κεφαλών (συνήθως συνοδευόμενο από δάγκωμα) των 2 αρσενικών (*χτύπημα*),
- στιγμιαία απάντηση στην απειλή άλλου ατόμου (*ανταπόδοση*),
- κυκλική αντιπαράλληλη κίνηση δύο ατόμων, με ταυτόχρονη ανύψωση των ραχιαίων πτερυγίων (*επίδειξη*).

6.3.2. Παραγωγή ήχων κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας και ωοτοκίας

Όπως και στην προηγούμενη υποενότητα δεν καταγράφηκαν ηχητικά σήματα κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας και της ωοτοκίας. Σε όλες τις πειραματικές επαναλήψεις τα αρσενικά αλληλεπίδρασαν με τα θηλυκά. Κατά τη φάση της ερωτοτροπίας 6 θηλυκά (n=6) αγνόησαν τις προσπάθειες των αρσενικών και έμειναν έξω από τη φωλιά, ενώ σε άλλες 4 περιπτώσεις (n=4) τα θηλυκά εισήλθαν γρήγορα στη φωλιά και ακολούθησε η φάση της ωοτοκίας. Τέλος, υπήρξαν και 8 επαναλήψεις (n=8) που συμπεριελάμβαναν και τις 2 φάσεις μαζί. Η μέση διάρκεια της ωοτοκίας ήταν 5240 sec (±SE 630,4). Κατά τη διάρκεια των φάσεων ερωτοτροπίας και ωοτοκίας ανιχνεύθηκαν και ηχογραφήθηκαν τυχαίοι ήχοι κατά την προσπάθεια του αρσενικού να κυνηγήσει το θηλυκό, όταν το αρσενικό βρισκόταν σε επαφή με το θηλυκό (*σπρώξιμο*), όταν προσπαθούσε να δαγκώσει την ουρά του θηλυκού και κατά την επαφή των ψαριών με το υπόστρωμα.

6.3.3. Ηθολογικές παρατηρήσεις

Κατά τη βιντεοσκόπηση των παρατηρήσεων συμπεριφοράς δεν εντοπίστηκε παραγωγή ήχων που να σχετίζεται με τη φάση της ερωτοτροπίας και της ωοτοκίας. Τα αρσενικά (n=7) τα οποία συμμετείχαν στο πείραμα είχαν μέσο μέγεθος σώματος (TL) 43,7 mm (±SE 1,06). Η φάση της ερωτοτροπίας άρχιζε αμέσως μετά την απελευθέρωση του θηλυκού. Στις πρώτες προσπάθειες το αρσενικό κολυμπούσε πλάγια μπροστά ή κάνοντας κύκλους γύρω από το θηλυκό. Καθώς προσπαθούσε να το πλησιάσει, το θηλυκό κινούνταν προς τα εμπρός. Σύντομα το αρσενικό καταδίωκε πιο σθεναρά το θηλυκό, σπρώχνοντας ή δαγκώνοντας την ουρά του. Η απόκριση του θηλυκού στις κινήσεις του αρσενικού ήταν να παραμένει κοντά του και να το ακολουθεί σιγά-σιγά στη φωλιά. Εκεί το θηλυκό συνήθως παρέμενε για ένα σύντομο χρονικό διάστημα και προσπαθούσε να προσδιορίσει τα σήματα που δεχόταν από το αρσενικό, είτε παραμένοντας για τη φάση της ωοτοκίας ή για να απομακρυνθεί μακριά από τη φωλιά. Κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας υπήρχαν διαστήματα που το αρσενικό παρέμενε στη φωλιά για να φυλάξει το χώρου του και να παρατηρήσει το θηλυκό. Μερικές φορές το αρσενικό γύριζε ανάποδα στη φωλιά, ώστε ο γεννητικός του πόρος να έρθει σε επαφή με την οροφή της φωλιάς. Όταν το αρσενικό ήταν αδρανές, το θηλυκό κολυμπούσε γύρω από τη φωλιά για να τραβήξει την προσοχή από το αρσενικό. Στα τελευταία στάδια της ερωτοτροπίας το αρσενικό πλησίαζε πιο έντονα το θηλυκό για να αναγκάσει το θηλυκό να το ακολουθήσει στη φωλιά.

Όπως φαίνεται στο πίνακα 6.2, αναγνωρίσθηκαν 5 δραστηριότητες και 5 γεγονότα κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας. Οι ακολουθίες συμπεριφοράς μεταξύ αρσενικών - θηλυκών οι οποίες έλαβαν χώρα κατά τη φάση της ερωτοτροπίας παρουσιάζονται στο διάγραμμα ροής της εικόνας 6.2α. Κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας έξω από τη φωλιά, η πιο συχνή δραστηριότητα του αρσενικού ήταν η *καθοδήγηση* (leading) (13,97%), ακολουθούμενη από γεγονότα όπως *σπρώξιμο* (prodding) και *κυνήγι* (chasing) (Πίνακας 6.2). Το θηλυκό άτομο κυρίως εισερχόταν στη φωλιά μετά την *καθοδήγηση* (leading) του αρσενικού.

Όταν το αρσενικό βρισκόταν στη *φωλιά* (nest) (32,77%), οι δραστηριότητες που λάμβαναν χώρα ήταν *φύλαξη* (guarding) (11,69%), κινήσεις *αναστροφής* (up-side down) (0,38%) ή προσπάθεια *ανίχνευσης* (pointing) του θηλυκού (Πίνακας 6.2). Κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας οι πιο συχνές εκδηλώσεις που πραγματοποιούνταν μέσα στη φωλιά από το αρσενικό ήταν *σπρώξιμο*, το οποίο περιελάμβανε φυσική *επαφή* (contact) με το θηλυκό και *αερισμό* (fanning).

Η ανάλυση συσχέτισης (Πίνακας 6.3) έδειξε μια θετική αλληλεπίδραση μεταξύ του αρσενικού στη *φωλιά* (nest) και του θηλυκού στη *φωλιά* (nest) (R=0,927, p<0,01). Η ισχυρή αυτή σχέση οφείλεται στο ότι το αρσενικό *καθοδηγεί* (leading) το θηλυκό στη φωλιά, ενώ το θηλυκό δεν παραμένει εκεί χωρίς την παρουσία του αρσενικού. Σημαντική αρνητική συσχέτιση (Πίνακας 6.3) εμφανίστηκε μεταξύ των συμπεριφορών *καθοδήγηση* (leading) και *κυνήγι* (chasing) (R=-0,793, p<0.05). Το μέγεθος του σώματος δεν σχετιζόταν με καμία από τις εκδηλώσεις συμπεριφοράς (Πίνακας 6.3), ενώ η θερμοκρασία του νερού βρέθηκε να έχει θετική αλληλεπίδραση με τις κινήσεις των πτερυγίων που πραγματοποιεί το αρσενικό όταν βρίσκεται στη φωλιά (R=0,757, p<0,05). Θετική συσχέτιση (Πίνακας 6.3) σημειώθηκε επίσης και μεταξύ των συμπεριφορών *αναστροφή* (up-side down) και *αερισμός* (fanning) (R=0,885, p<0,01).

Πίνακας 6.2: Δραστηριότητες και γεγονότα που έλαβαν χώρα στη φάση της ερωτοτροπίας του *E. pygmaeus* (n=7) κάτω από πειραματικές συνθήκες.
Table 6.2: Activities and events displayed in the courtship phase of *E. pygmaeus* (n=7) under experiemental conditions.

Δραστηριότητες (%)			Γεγονότα (αριθμός γεγονότων/min)		
Συμπεριφορά	Μ.Ο.	95% Ορ. Εμπιστ.	Συμπεριφορά	Μ.Ο.	95% Ορ. Εμπιστ.
Καθοδήγηση	13,970	9,760-18,190	Κυνήγι	0,530	0,390-0,680
Φωλιά (Α)	32,770	25,240-40,290	Ανίχνευση	0,150	0,060-0,240
Φωλιά (Θ)	1,030	0,380-1,680	Σπρώξιμο	0,009	0,000-0,022
Φύλαξη	11,690	7,750-15,640	Ελικοειδής κίνηση	0,066	0,014-0.110
Αναστροφή	0,380	0,040-0,710	Αερισμός	0,033	0,006-0,061

*Μ.Ο.=Μέσοι όροι, 95% Ορ. Εμπιστ.=95% Όρια Εμπιστοσύνης, n=αριθμός ατόμων.

Η μέση διάρκεια της ωοτοκίας ήταν 4179,3 sec (±SE 583,4). Η αναπαραγωγική φάση χαρακτηρίστηκε από 5 κύριες δραστηριότητες και 2 γεγονότα (Πίνακας 6.4). Οι ακολουθίες συμπεριφοράς μεταξύ αρσενικών - θηλυκών οι οποίες έλαβαν χώρα κατά τη φάση της αναπαραγωγής παρουσιάζονται στο διάγραμμα ροής της εικόνας 6.2β.

Κατά τη διάρκεια της ωοτοκίας και τα δύο φύλα πέρασαν τον περισσότερο χρόνο στη *φωλιά* (nest) (99,9%), όπου βρίσκονταν διαρκώς σε φυσική *επαφή* (contact) (95.18%) και δεν απομακρύνθηκαν καθόλου από αυτήν (Πίνακας 6.4). Οι πιο αντιπροσωπευτικές δραστηριότητες του θηλυκού και του αρσενικού ήταν η *απόθεση* (deposition) των αβγών (33,32%) και η *αναστροφή* (up-side down) του σώματος (6,33%) αντίστοιχα.

Πίνακας 6.3: Ανάλυση συσχέτισης (Spearman) μεταξύ των συμπεριφορών που διενεργήθηκαν σε πειραματικές συνθήκες από τα αρσενικά και θηλυκά άτομα του *E. pygmaeus* κατά τη φάση της ερωτοτροπίας (n=7).

Table 6.3: Correlation analysis (Spearman) between the behavioral traits displayed by the males and the females of *E. pygmaeus* in the courtship phase under experimental conditions (n=7).

	Καθοδήγηση	Φωλιά (Α)	Φύλαξη	Φωλιά (Θ)	Αναστροφή	Κυνήγι	Ανίχνευση	Σπρώξιμο	Ελικοειδής κίνηση	Αερισμός
Μέγεθος σώματος	-0,027	0,378	0,595	0,318	-0,149	-0,400	-0,219	0,000	0,337	-0,090
Θερμοκρασία	-0,252	-0,107	-0,036	-0,259	0,571	0,107	-0,020	0,000	0,148	0,757*
Καθοδήγηση		0,198	-0,252	0,112	0,129	-0,793*	0,179	0,000	0,299	-0,180
Φωλιά (Α)	0,198		0,714	0,927**	0,493	-0,357	0,473	-0,474	0,667	0,490
Φύλαξη	-0,252	0,714		0,519	0,059	-0,214	0,433	0,000	0,704	0,356
Φωλιά (Θ)	0,112	0,927**	0,519		0,470	-0,111	0,348	-0,656	0,385	0,370
Αναστροφή	0,129	0,493	0,059	0,470		-0,197	-0,152	-0,523	0,225	0,885**
Κυνήγι	-0,793*	-0,357	-0,214	-0,111	-0,197		-0,790	-0,158	-0,630	-0,089
Ανίχνευση	0,179	0,473	0,433	0,348	-0,152	-0,079		-0,087	0,593	0,000
Σπρώξιμο	0,000	-0,474	0,000	-0,656	-0,523	-0,158	-0,087		-0,164	-0,394
Ελικοειδής κίνηση	0,299	0,667	0,704	0,385	0,225	-0,63	0,593	-0,164		0,416
Αερισμός	-0,180	0,490	0,356	0,370	0,885**	-0,089	0,000	-0,394	0,416	

** Συσχέτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 0,01 (2-tailed).

* Συσχέτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05 (2-tailed).

Πίνακας 6.4: Δραστηριότητες και γεγονότα που έλαβαν χώρα στη φάση της ωοτοκίας του *E. pygmaeus* (n=7) κάτω από πειραματικές συνθήκες.
Table 6.4: Activities and events displayed in the spawning phase of *E. pygmaeus* (n=7) under experimental conditions.

Δραστηριότητες (%)			Γεγονότα (αριθμός γεγονότων/min)		
Συμπεριφορά	Μ.Ο.	95% Ορ. Εμπιστ.	Συμπεριφορά	Μ.Ο.	95% Ορ. Εμπιστ.
Απόθεση	33,320	30,380-36,250	Σπρώξιμο	0,079	0,038-0,110
Αναστροφή	6,330	5,410-7,240	Αερισμός	2,360	2,130-2,590
Φωλιά (Α)	99,890	99,830-99,960			
Φωλιά (Θ)	99,830	99,740-99,910			
Επαφή	95,180	91,150-99,220			

*Μ.Ο.=Μέσοι όροι, 95% Ορ. Εμπιστ.=95% Όρια Εμπιστοσύνης, n=αριθμός ατόμων.

Σε όλες τις πειραματικές επαναλήψεις η κύρια κίνηση του θηλυκού ήταν να αφήνει τα αβγά στην οροφή της φωλιάς. Η *απόθεση* (deposition) των αβγών διακοπτόταν περιστασιακά από το αρσενικό, που αμέσως έκανε *αναστροφή* (up-side down) του σώματός του για να τα γονιμοποιήσει, ενώ το θηλυκό παρέμενε στο κάτω μέρος της φωλιάς. Ορισμένες φορές ακολουθούσε *σπρώξιμο* (prodding) του αρσενικού προς το θηλυκό για να ξεκινήσει η ωοτοκία και πάλι ή έκανε *αερισμό* (fanning) στα αβγά με την κίνηση των πτερυγίων του.

Σημαντικές θετικές συσχετίσεις παρουσιάστηκαν (Πίνακας 6.5) μεταξύ του χρόνου που δαπανάται στη *φωλιά* (contact) από αρσενικά και θηλυκά και του χρόνου που δαπανάται για τον *αερισμό* (fanning) αυτής ($R=0,857$, $p<0,05$). Αντίθετα, η *επαφή* (contact) εμφάνισε αρνητική συσχέτιση (Πίνακας 6.5) με την κίνηση των πτερυγίων ($R=-0,964$, $p<0,01$). Θετική συσχέτιση (Πίνακας 6.5) επίσης, διαπιστώθηκε μεταξύ της κίνησης *σπρώξιμο* (prodding) από το αρσενικό και της θερμοκρασίας του νερού ($R=0,847$, $p<0,05$). Αυτή η αλληλεπίδραση υποδηλώνει μια μηχανική διέγερση του θηλυκού από την πλευρά του αρσενικού. Στο τέλος της ωοτοκίας το θηλυκό απομακρυνόταν από τη φωλιά και το αρσενικό συνέχιζε τη φροντίδα των αβγών.

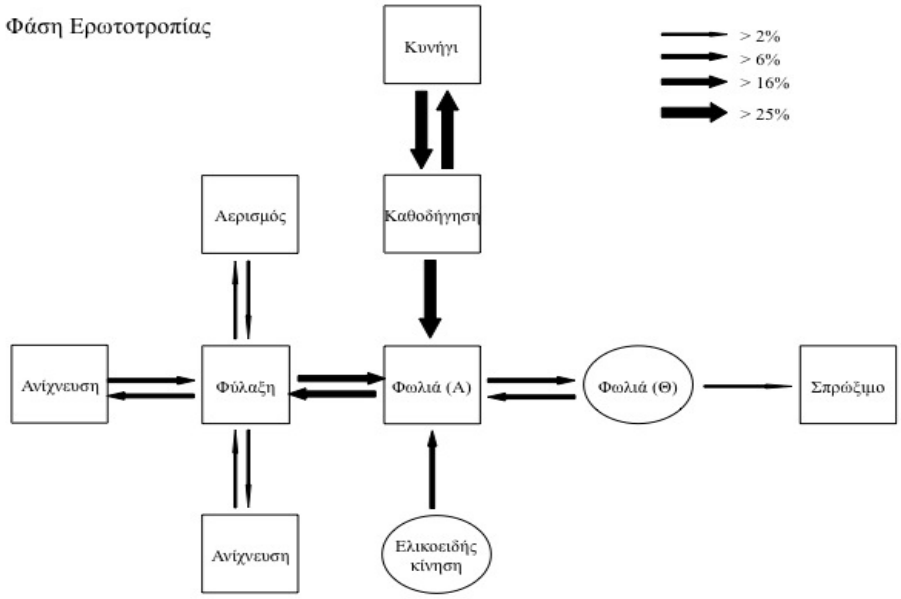
Πίνακας 6.5: Ανάλυση συσχέτισης (Spearman) μεταξύ των συμπεριφορών που διενεργήθηκαν σε πειραματικές συνθήκες από τα αρσενικά και θηλυκά άτομα του *E. pygmaeus* κατά τη φάση της ωοτοκίας (n=7).

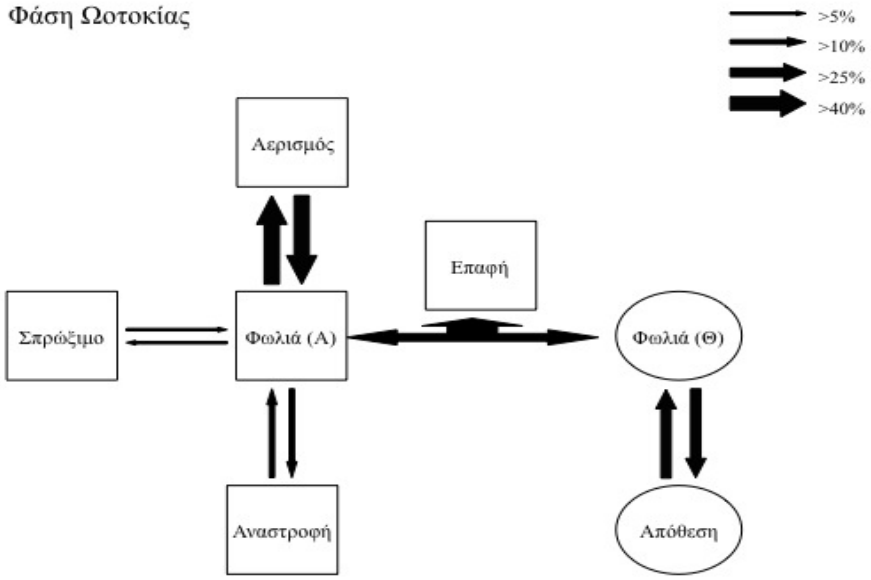
Table 6.5: Correlation analysis (Spearman) between the behavioral traits displayed by the males and the females of *E. pygmaeus* in the spawning phase under experimental conditions (n=7).

	Απόθεση	Αναστροφή	Επαφή	Φωλιά (Α)	Φωλιά (Θ)	Σπρώξιμο	Αερισμός
Μέγεθος σώματος	-0,600	-0,091	-0,436	0,309	0,309	-0,752	0,564
Θερμοκρασία	0,607	0,036	0,321	-0,393	-0,393	0,847*	-0,500
Απόθεση		0,429	0,179	-0,143	-0,143	0,613	-0,286
Αναστροφή	0,429		0,464	-0,286	-0,286	-0,036	-0,429
Επαφή	0,179	0,464		-0,750	-0,750	0,126	-0,964**
Φωλιά (Α)	-0,143	-0,286	-0,750		-	-0,108	0,857*
Φωλιά (Θ)	-0,143	-0,286	-0,750	-		-0,108	0,857*
Σπρώξιμο	0,613	-0,036	0,126	-0,108	-0,108		-0,234
Αερισμός	-0,286	-0,429	-0,964**	0,857*	0,857*	-0,234	

** Συσχέτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 0,01 (2-tailed).

* Συσχέτιση σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05 (2-tailed).





Εικόνα 6.2α: Διάγραμμα ροής που αντιπροσωπεύει τις ακολουθίες συμπεριφοράς κατά τη φάση της ερωτοτροπίας του *E. pygmaeus* κάτω από πειραματικές συνθήκες.
Εικόνα 6.2β: Διάγραμμα ροής που αντιπροσωπεύει τις ακολουθίες συμπεριφοράς κατά τη φάση της ωοτοκίας του *E. pygmaeus* κάτω από πειραματικές συνθήκες.
Τα τετράγωνα υποδηλώνουν συμπεριφορές του αρσενικού, οι κύκλοι υποδηλώνουν συμπεριφορές του θηλυκού. Τα βέλη έχουν μέγεθος ανάλογα με τις συχνότητες που περιγράφονται στους Πίνακες 6.2 και 6.4.
Figure 6.2a: Flow diagram representing the behavioral sequences of the courtship phase of *E. pygmaeus* under experimental conditions.
Figure 6.2b: Flow diagram representing the behavioral sequences of the spawning phase of *E. pygmaeus* under experimental conditions.
Squares indicate male behaviors; circles indicate female behaviors. Arrows are sized to frequency values which are described in Tables 6.2 and 6.4.

6.4. Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι το είδος *E. pygmaeus* κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας όσο και κατά την ωοτοκία δεν παράγει ήχους, όπως τα άλλα είδη της ομάδας 'αμμογωβιοί' (Lugli et al. 1995, Lugli et al. 1997, Lugli & Torricelli 1999, Lindström & Lugli 2000, Amorim & Neves 2007, Malavasi et al. 2008). Όλα τα αρσενικά παρέμεναν εντελώς αθόρυβα κατά τη φάση της ερωτοτροπίας, όταν δηλαδή το θηλυκό επισκεπτόταν τη φωλιά και μετέπειτα κατά την αναπαραγωγική φάση, όταν δηλαδή το θηλυκό παρέμενε μέσα στη φωλιά. Η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε είναι αρκετά ευαίσθητη στην ανίχνευση ήχων από γωβιούς της ομάδας 'αμμογωβιοί' και ήταν η ίδια που χρησιμοποιήθηκε επιτυχημένα από τους Malavasi et al. (2008) για την καταγραφή ήχων από το είδος *Pomatoschistus canestrinii*, ενός γωβιού που βρίσκεται στα εσωτερικά ύδατα της Ιταλίας και έχει παρόμοιο σωματικό μέγεθος με το *E. pygmaeus*. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν πειραματικές δοκιμές που έδειξαν απουσία παραγωγής ήχου στο *E. pygmaeus* ακόμη και κατά την εκδήλωση επιθετικής συμπεριφοράς. Τα παραπάνω επιβεβαιώνουν την άποψη για γενική απώλεια παραγωγής ήχου σε αυτό το είδος. Η απουσία ηχητικών σημάτων στο *E. pygmaeus* δεν μπορεί να αποδοθεί στα διαφορετικά χαρακτηριστικά του ενδιαιτήματος, δεδομένου ότι το ενδιαίτημα δεν είναι διαφορετικό από εκείνο που ζει το *Knipowitschia punctatissima* (πηγές της Βορειο-Ανατολικής Ιταλίας), το οποίο παράγει ήχους (Miller 1990).

Σύμφωνα με τον Miller (2004) το γένος *Economidichtys* θα μπορούσε να είναι ένα προϊόν της 'κρίσης της αλατότητας' του Μεσσηνίου και να θεωρείται ένα παράγωγο γένος της ομάδας των 'αμμογωβιών'. Ακολουθώντας ένα σενάριο φειδωλίας, η έλλειψη ηχητικής δραστηριότητας κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγής σε αυτό το είδος υποδηλώνει μια δευτερογενή απώλεια της ικανότητας, να εκπέμπονται ήχοι από μέλος της ομάδας 'αμμογωβιοί'. Αυτό επίσης ενισχύεται από την ευρεία παρουσία ηχητικών σημάτων σε πολλά διαφορετικά γένη της οικογένειας Gobiidae, τόσο εντός όσο και εκτός των ειδών της ομάδας της Μεσογείου. Επισημαίνεται ότι η παραγωγή ήχων έχει τεκμηριωθεί πλήρως για το γωβιό των εσωτερικών υδάτων *Odontobutis obscura* (Takemura 1984), μέλος της οικογένειας Odontobutidae, η οποία είναι 'αδελφή ομάδα' με την αρχέγονη οικογένεια Rhyacichthyidae (Thacker & Hardman 2005). Οι πειραματικές δοκιμές που έγιναν στο *O. obscura* έδειξαν ότι οι ήχοι αποτελούν πιθανώς ένα προγονικό χαρακτηριστικό μέσα στην υπόταξη των Gobioidei. Στην οικογένεια Cyprinidae η

εκπομπή ηχητικών σημάτων, κατά τη διάρκεια κοινωνικών αλληλεπιδράσεων, από το κλάδο που αποτελείται από τα γένη *Codoma-Cyprinella-Pimephales*, υποδηλώνει ότι η δημιουργία ήχων είναι ένα παράγωγο χαρακτηριστικό (Johnston & Vives 2003). Αντίθετα, στα μέλη του υπογένους *Catonotus*, τα οποία είναι γνωστά για την ικανότητά τους να παράγουν ήχους, ένας κλάδος έχει χάσει προφανώς αυτήν την ικανότητα (Gkenas et al. 2010).

Παρ 'όλα αυτά, το γενικό πρότυπο συμπεριφοράς που σχετίζεται με την ερωτοτροπία και την ωοτοκία στο *E. pygmaeus* δε διαφέρει ουσιαστικά από τα άλλα είδη των 'αμμογωβιών', όπως φαίνεται και από τις ηθολογικές παρατηρήσεις. Τα κύρια στοιχεία της συμπεριφοράς που σχετίζονται με την ερωτοτροπία, την προσυζευκτική φάση και την αναπαραγωγή του *E. pygmaeus* έχουν ήδη περιγραφεί και αναλυθεί σε άλλα είδη γωβιών, συμπεριλαμβανομένων και των 'αμμογωβιών': η *καθοδήγηση* (leading) αποτελεί το κύριο πρόωρο συστατικό της ερωτοτροπίας (Magnhagen 1998), η *ανάστροφη* (up-side down) κίνηση σχετίζεται με τη γονιμοποίηση (Tavolga 1954, Ota et al. 1996, Marconato et al. 1996, Malavasi et al. 2008), το *σπρώξιμο* (prodding) και η φυσική *επαφή* (contact) λειτουργούν ως ερεθίσματα στο ζευγάρωμα (Tavolga 1954, Zerunian et al 1988, Marchesan et al. 2000), οι κινήσεις των πτερυγίων χρησιμοποιούνται για επίδειξη προς το θηλυκό και για τον αερισμό (fanning) της φωλιάς (Torricelli et al 1985, Jones & Reynolds 1999. Lindström et al 2006), το *κυνήγι* (chasing) αποτελεί έκφραση επιθετικής συμπεριφοράς (Magnhagen 1998) και η *φύλαξη* (guarding) λειτουργεί ως αμυντικός μηχανισμός σε περίπτωση επίθεσης (Malavasi et al. 2008). Οι αρνητικές συσχετίσεις που βρέθηκαν για κάποιες συμπεριφορές υποδηλώνουν ανταλλαγές μεταξύ διαφορετικών λειτουργιών και κινήτρων, όπως αυτή μεταξύ της *καθοδήγησης* (σεξουαλικό κίνητρο) και του *κυνηγητού* (επιθετικό κίνητρο) κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας και μεταξύ της κίνησης των πτερυγίων (*αερισμός*) και της *επαφής* (διέγερση) κατά τη διάρκεια της ωοτοκίας.

Άλλες συμπεριφορές εμφανίζουν θετική αλληλεπίδραση μεταξύ τους, όπως η *αναστροφή* (up-side down) με τον *αερισμό* (fanning) κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας και ο χρόνος παραμονής στη *φωλιά* (nest) με τον *αερισμό* (fanning) κατά τη διάρκεια της ωοτοκίας. Υπήρχαν συμπεριφορές που επηρεάστηκαν θετικά από τη θερμοκρασία του νερού, όπως το *σπρώξιμο* (prodding) και η κίνηση των πτερυγίων. Η σχέση αυτή μεταξύ της θερμοκρασίας του νερού και της κίνησης των πτερυγίων είναι γνωστή ως λειτουργία εμπλουτισμού με αέρα της φωλιάς και έχει βρεθεί σε άλλα είδη γωβιών, ότι η μείωση του

ποσού του διαλυμένου οξυγόνου προκαλεί αύξησή της (Torricelli et al. 1985, Jones & Reynolds 1999).

Η κύρια διαφορά που βρέθηκε σε αυτό το είδος σε σύγκριση με τα διαθέσιμα στοιχεία που υπήρχαν για τα άλλα είδη γωβιών, είναι η πλήρης απουσία οποιασδήποτε συμπεριφοράς που σχετίζεται με το σκάψιμο και με άλλες δραστηριότητες όπως το κτίσιμο και διατήρηση της φωλιάς. Η έλλειψη αυτών των συμπεριφορών θα μπορούσε μερικώς να εξηγηθεί με βάση το διαφορετικό περιβάλλον και το υπόστρωμα που ζει το είδος *E. pygmaeus* σε σύγκριση με τα άλλα είδη *Pomatoschistus*. Το *E. pygmaeus* δείχνει να προτιμά ενδιαιτήματα που είναι χαλικώδη ή με χονδρόκοκκη άμμο, χρησιμοποιώντας τα καλάμια ως μέρος για την απόθεση των αβγών (Daoulas et al. 1993, Gkenas et al. 2010). Η προτίμηση αυτή που δείχνει το είδος φαίνεται ότι έχει οδηγήσει σε εξελικτική απώλεια όλων των συμπεριφορών που σχετίζονται με το ενεργό σκάψιμο και το κτίσιμο της φωλιάς σε αμμώδη και λασπώδη υποστρώματα.

Η παρουσία ηχητικών σημάτων πρέπει να διερευνηθεί και για άλλα είδη της ομάδας των 'αμμογωβιών', ειδικότερα σε γένη που δεν έχουν ακόμα μελετηθεί ή σε ενδημικά είδη των εσωτερικών υδάτων. Η προσπάθεια καταγραφής ήχων χρησιμοποιώντας το *E. trichonis* θα αποσαφηνίσει τη δευτερογενή απώλεια παραγωγής ήχων στο γένος *Economidichtys*. Περαιτέρω συγκρίσεις της παραγωγής ήχων με ηθολογικά, μορφομετρικά και γενετικά δεδομένα θα βελτιώσουν την κατανόηση της εξελικτικής πορείας που ακολούθησαν οι 'αμμογωβιοί', όσον αφορά την ακουστική επικοινωνία παρέχοντας επιπλέον πληροφορίες για τις ενδοειδικές σχέσεις που έχουν αναπτυχθεί μέσα σε αυτή την ομάδα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΤΡΟΦΙΚΗ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ

7.1. Εισαγωγή

7.1.1. Διατροφικές συνήθειες ψαριών

Η τροφή για τα ψάρια, όπως και για όλους τους ζωικούς οργανισμούς, είναι απαραίτητη για την εκπλήρωση βασικών λειτουργιών και για την ίδια τους την επιβίωση (Wootton 1999). Η αύξηση και η ευρωστία των ψαριών σχετίζονται άμεσα όχι μόνο με την ποσότητα αλλά και την ποιότητα της τροφής. Για παράδειγμα, ο ρυθμός αύξησης των κυπρινοειδών της λίμνης Balaton σχετίζεται άμεσα με τη διαθεσιμότητα της τροφής και τις τροφοληπτικές στρατηγικές των ψαριών (Specziár et al. 1997). Απαραίτητη είναι επίσης η τροφή και για επιτυχημένη αναπαραγωγή, για εξασφάλιση της κίνησης και τη λειτουργία της ομοιόστασης στα ψάρια (Wootton 1996).

Η κατανάλωση της τροφής από τα ψάρια καθορίζεται από τη διαθεσιμότητα της λείας και την ικανότητά της να διαφεύγει, την ορατότητα στην υδάτινη στήλη, την ενεργητική επιλογή από τα ψάρια και το μέγεθος του σώματός τους (Bohl 1982). Το είδος και κυρίως το μέγεθος της τροφής που θα καταναλώσει ένα ψάρι εξαρτάται κατά πολύ και από τα ανατομικά του χαρακτηριστικά, π.χ. μέγεθος του στόματος (Norton 1991), μήκος γαστρεντερικού σωλήνα, φυσιολογία πέψης, παρουσία και δομή φαρυγγικών ή κοινών δοντιών, σχήμα σώματος και στόματος και τις φυσιολογικές προσαρμογές που έχει, ώστε να μπορεί να καταναλώσει και να πέψει το συγκεκριμένο είδος τροφής (Welcomme 2001).

Με δεδομένη την ποικιλότητα των μεγεθών των ψαριών και των βιοτόπων όπου ζουν, είναι επόμενο και οι διατροφικές τους συνήθειες να παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλότητα (Pauly et al. 2000). Στα πρώτα στάδια της ζωής τους τα ψάρια και μετά την απορρόφηση του λεκιθικού τους σάκου συνήθως τρέφονται με ζωοπλαγκτό. Ορισμένα είδη παραμένουν ζωοπλαγκτοφάγα και στο στάδιο του ενήλικου ατόμου (π.χ. το είδος *Engraulis encrasicolus*: Froese & Pauly 2006), ενώ άλλα μεταβάλλουν τη διατροφή τους ανάλογα με τις οντογενετικές μεταβολές (π.χ. τα είδη *Gymnocephalus cernuus, Perca fluviatilis, Lepomis gibbosus*: Rezsu & Specziár 2006). Υπάρχουν είδη φυτοφάγα, θρυμματοφάγα, βενθοφάγα, ζωοπλαγκτοφάγα, ιχθυοφάγα και παμφάγα (Wootton 1999). Άλλα είδη εμφανίζουν εξειδικευμένη διατροφή, καταναλώνοντας μία κατηγορία τροφής σε μεγάλο ποσοστό (>65% του όγκου του συνόλου της τροφής) και άλλα γενικευμένη, όταν η διατροφή τους περιλαμβάνει αρκετές κατηγορίες τροφής (<35% του όγκου της τροφής) (Sibbing & Nagelkerke 2001). Τα ψάρια συχνά αλλάζουν τις διατροφικές τους συνήθειες ανάλογα με την εποχή, τον ημερήσιο κύκλο, το βιότοπο και τη διαθεσιμότητα της τροφής (Keast 1978, Wootton 1999).

7.1.2. Σημασία της γνώσης της διατροφής των ψαριών

Η γνώση της διατροφής των ψαριών είναι σημαντική σύμφωνα με τους Stergiou & Karpouzi (2002) γιατί συμβάλλει στην κατανόηση: (1) του ρόλου τους στο τροφικό πλέγμα και στο οικοσύστημα όπου αυτά ανήκουν, (2) της δομής ενός τροφικού πλέγματος, (3) των διαειδικών και συχνά ανταγωνιστικών σχέσεων και αλληλεπιδράσεων (τροφικός ανταγωνισμός και σχέσεις λείας-θηρευτή, (4) των επιπτώσεων των ξενικών ειδών που εισάγονται σε ένα οικοσύστημα, (5) των οντογενετικών μεταβολών και (6) της επιλογής ενδιαιτήματος. Ορισμένα από τα παραπάνω έχουν εφαρμοστεί και στα εσωτερικά νερά (Greenberg & Dahl 1998, García-Berthou 1999, Persson & Bronmark 2002, Rezsu & Specziár 2006 και Jang et al. 2006).

Η κατανομή των ψαριών ανάλογα με τον τύπο διατροφής τους σχετίζεται με το γεωγραφικό πλάτος (Pauly 2000), ενώ η γνώση της διατροφής των ψαριών έχει χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση των μακροπρόθεσμων επιπτώσεων της αποψίλωσης των δασών σε ποτάμια οικοσυστήματα (Bojsen 2005), αλλά και για την κατασκευή οικολογικών μοντέλων (Pauly & Christensen 2000). Όσον αφορά τα καλλιεργούμενα είδη, η γνώση της διατροφής τους είναι απαραίτητη για τον καθορισμό των διατροφικών τους απαιτήσεων και την εξασφάλιση γρηγορότερης αύξησης (Palomares & Sa-a 2000). Τέλος, οι πληροφορίες για τη διατροφή των ειδών είναι χρήσιμες για τον υπολογισμό του τροφικού τους επιπέδου (Pauly & Christensen 2000, Pauly & Sa-a 2000).

7.1.3. Σκοπός της παρούσας εργασίας

Στο παρόν κεφάλαιο θα παρουσιαστούν και θα συζητηθούν τα αποτελέσματα που προήλθαν από τη μελέτη της διατροφής του είδους *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα σε σχέση με το χρόνο δειγματοληψίας, όσο και σε σχέση με το μήκος σώματος των ατόμων και το φύλο. Επιπλέον, θα γίνει ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των ειδών λείας που βρέθηκαν στα στομάχια του είδους και θα διερευνηθούν τυχόν τροφικές διακυμάνσεις εποχικού χαρακτήρα αλλά και σχετικές με το μήκος σώματος των ατόμων και το φύλο. Επίσης, θα εκτιμηθεί το τροφικό εύρος και η τροφική επικάλυψη που εμφανίζεται ανάμεσα στις διάφορες εποχές, το φύλο και το μέγεθος των ατόμων. Ακόμη, θα γίνει περιγραφή της στρατηγικής διατροφής που χρησιμοποιεί ο λουρογωβιός σύμφωνα με την τροποποιημένη μέθοδο του Costello (Amundsen et al. 1996). Επιπλέον, θα παρουσιαστούν αποτελέσματα που προέκυψαν από την παρατήρηση του ημερήσιου διατροφικού κύκλου

του είδους. Τέλος, θα συζητηθεί το τροφικό επίπεδο[8] του είδους και οι μεταβολές ανά εποχή, φύλο και κλάσεις μεγέθους.

[8] Ο πιο απλός τρόπος για να περιγραφεί ένα οικοσύστημα ώς προς τη ροή ενέργειας και βιομάζας είναι να εκφραστεί ώς ένα τροφικό πλέγμα, χωρίζοντας για παράδειγμα τη συνολική βιομάζα σε παραγωγούς, φυτοφάγους οργανισμούς (ή 1^{ης} τάξης καταναλωτές), 1^{ης} τάξης σαρκοφάγους (ή 2^{ης} τάξης καταναλωτές) κ.ο.κ. (Lindeman 1942), όπου κάθε κρίκος αντιπροσωπεύει ένα τροφικό επίπεδο, που παίρνει τιμές ακέραιες. Επειδή όμως παρατηρήθηκε ότι οι οργανισμοί σπάνια τρέφονται μόνο με μια κατηγορία τροφής, γεννήθηκε η ιδέα του κλασματικού τροφικού επιπέδου (Odum & Heald 1975, από Stergiou & Polunin 2000) που υπολογίζεται λαμβάνοντας υπόψη τις κατηγορίες τροφής διαφορετικών τροφικών επιπέδων και τα ποσοστά με τα οποία αυτές συμμετέχουν στη διατροφή ενός είδους. (Στη συνέχεια όταν χρησιμοποιείται ο όρος 'τροφικό επίπεδο' δηλώνει 'κλασματικό τροφικό επίπεδο'). Το τροφικό επίπεδο εκφράζει τη σχετική θέση ενός είδους στο τροφικό πλέγμα. Στο θαλάσσιο περιβάλλον οι ζωικοί οργανισμοί μπορούν να έχουν τροφικό επίπεδο που κυμαίνεται από 2 μέχρι 5,5, αν και το τελευταίο είναι σπάνιο ακόμα και σε μεγάλα ψάρια και έχει σημειωθεί μόνο σε πολύ εξειδικευμένους θηρευτές, όπως τα θαλάσσια θηλαστικά, όρκα (*Orcina orca*), ρινοδέλφινο (*Tursiops truncates*) και η πολική αρκούδα (*Ursus maritimus*) (Pauly et al. 1998, Kaschner et al. 2004).

7.2. Υλικά και Μέθοδοι

7.2.1. Ανάλυση δειγμάτων στο εργαστήριο

Για την ανάλυση του στομαχικού περιεχομένου χρησιμοποιήθηκαν 40 άτομα του είδους *E. pygmaeus* για το χρονικό διάστημα Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007 από τη λίμνη Παμβώτιδα, αριθμός που θεωρείται ικανοποιητικός για την περιγραφή της διατροφής του είδους σε μηνιαία βάση (Cailliet 1978, Hansson 1980). Στο εργαστήριο τα ψάρια παρέμεναν τουλάχιστον μερικές μέρες στη φορμόλη, ώστε να σταθεροποιηθεί καλύτερα το στομαχικό τους περιεχόμενο. Έπειτα από την παραμονή τους στο διάλυμα συντήρησης τα ψάρια απομακρύνονταν και αφήνονταν για λίγα λεπτά σε διηθητικό χαρτί για την απομάκρυνση της υγρασίας. Στη συνέχεια μετρούνταν σε κάθε ψάρι το ολικό βάρος (TW) σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας 0,01 g και το ολικό μήκος (TL) με τη βοήθεια ψηφιακού μικρομέτρου και ακρίβεια 0,01 mm. Το φύλο κάθε ψαριού προσδιοριζόταν με μακροσκοπική ή σε κάποιες περιπτώσεις μικροσκοπική παρατήρηση των γονάδων, ενώ τα άτομα των οποίων οι γονάδες δεν ήταν ευδιάκριτες χαρακτηρίστηκαν ως ανώριμα. Έπειτα γινόταν μια τομή κατά μήκος της σπλαγχνικής κοιλότητας, αφαιρούνταν ο στόμαχος και το περιεχόμενό του και τοποθετούνταν σε τριβλίο petri. Συγχρόνως καταγραφόταν ο αριθμός των άδειων στομαχιών. Το στομαχικό περιεχόμενο εξεταζόταν σε στερεοσκόπιο και η ταυτοποίηση των λειών γινόταν στο κατώτερο δυνατό ταξινομικό επίπεδο. Οι κλείδες που χρησιμοποιήθηκαν για το σκοπό αυτό ήταν των: Webb & Scholl (1985), Tachet et al. (1991) και Campaioli et al. (1999).

7.2.2. Επεξεργασία δεδομένων και στατιστική ανάλυση

Για την ποσοτική περιγραφή των στομαχικών περιεχομένων ακολουθήθηκε η μεθοδολογία που προτείνεται από τους Berg (1979), Bowen (1983) και Hyslop (1980). Η ανάλυση της διατροφής πραγματοποιήθηκε με τη χρήση τριών διαφορετικών μεθόδων: 1) της συχνότητας εμφάνισης (FO), 2) της αριθμητικής μεθόδου (N) και 3) της βαρομετρικής μεθόδου (M). Κάθε μέθοδος απαιτεί διαφορετική επεξεργασία των δεδομένων για το λόγο αυτό είναι απαραίτητος ο συνδυασμός και των τριών μεθόδων για την εξαγωγή αξιόπιστων και ολοκληρωμένων αποτελεσμάτων:

1) Η συχνότητα εμφάνισης της λείας (FO) ορίζεται ως το ποσοστό του αριθμού (n_i) των στομάχων στα οποία περιέχεται το είδος τροφής *i* προς το σύνολο των μη κενών στομάχων (N), όπως περιγράφεται από τη σχέση:

$$FO=100 * n_i/N$$

Είναι μια απλή και γρήγορη μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρέως και επομένως επιτρέπει συγκρίσεις με αποτελέσματα άλλων ερευνητών. Η μέθοδος αυτή σύμφωνα με τους Palomares & Sa-a (2000) και Stergiou & Kaprouzi (2002) δεν είναι καλός δείκτης της συνεισφοράς της κάθε κατηγορίας τροφής στη διατροφή, ειδικά όταν χρησιμοποιείται μόνη της. Ωστόσο, η ποιοτική αυτή μέθοδος μπορεί να δώσει το φάσμα της διατροφής ενός είδους, καθώς και τις εποχικές διακυμάνσεις στη σύνθεση της διατροφής. (Hop et al. 1992).

2) Η αριθμητική μέθοδος (N) ορίζεται ως το ποσοστό του συνόλου (Σn_i) των ατόμων του είδους τροφής *i* προς το σύνολο του στομαχικού περιεχομένου (ΣN) όπως περιγράφεται από τη σχέση:

$$N=100 * \Sigma n_i/\Sigma N$$

Είναι μια μέθοδος η οποία δίνει πληροφορίες για το πόσα άτομα λείας υπάρχουν στη δίαιτα, υπερεκτιμώντας όμως τα μικρά άτομα που εμφανίζονται σε μεγάλους αριθμούς.

3) Η βαρομετρική μέθοδος (M) ορίζεται ως το ποσοστό του συνολικού βάρους Σm_i του είδους τροφής *i* προς το συνολικό βάρος των λειών του στομαχικού περιεχομένου (ΣM) όπως περιγράφεται από τη σχέση:

$$M=100 * \Sigma m_i/\Sigma M$$

Επειδή ήταν δύσκολο για τις κατηγορίες τροφής να πάρουμε βάρος με απευθείας ζύγιση εξαιτίας του μικρού μεγέθους τους, αυτό προέκυπτε άμεσα. Στους προσοφθάλμιους φακούς του στερεοσκοπίου είχε προσαρμοστεί μια μικρομετρική κλίμακα, ώστε να είναι δυνατή η μέτρηση διαστάσεων της λείας δηλαδή του μήκους και του πλάτους της. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν στην ίδια μεγέθυνση (10X). Με βάση τις διαστάσεις της κάθε λείας υπολογιζόταν ο όγκος. Στη συνέχεια μετατρεπόταν σε βάρος, χρησιμοποιώντας τη σχέση 1 mm^3=0,27 mg (Dumont et al. 1975, Lindegaard 1992). Η βαρομετρική μέθοδος (M%) αν και είναι πιο δύσκολη και χρονοβόρα σε σχέση με τη συχνότητα εμφάνισης της κάθε λείας και την αριθμητική μέθοδο, παρέχει πληροφορίες για τη συμμετοχή κάθε κατηγορίας τροφής στο σύνολο της τροφής. Επίσης, επειδή η αξία της κάθε τροφής είναι περίπου ανάλογη με το βάρος της (εκτός από τα μαλάκια) τα δεδομένα σε ποσοστά κατά βάρος αντιπροσωπεύουν αρκετά ικανοποιητικά τη σχετική σημασία κάθε κατηγορίας τροφής στη διατροφή ενός είδους (Bowen 1996).

Σύμφωνα με τους Mann (1973) Crisp et al. (1978) και Hyslop (1980) η αριθμητική μέθοδος υπερεκτιμά τη σημαντικότητα της λείας μικρού μεγέθους, γιατί παρ' όλο που

βρίσκεται σε μεγάλους αριθμούς έχει πολύ μικρό βάρος. Αντιθέτως, η βαρομετρική μέθοδος υπερεκτιμά τη σημαντικότητα μεγάλου μεγέθους λείας, γιατί ο χρόνος σύλληψης και κατάποσης μικρού αριθμού μεγάλης λείας επιμηκύνεται (Pinkas et al. 1971, Hyslop 1980). Για την αποφυγή αυτών των παρερμηνειών χρησιμοποιήθηκε μία σχέση που συνδυάζει τις διάφορες μεθόδους περιγραφής της δίαιτας. Ο δείκτης αυτός είναι γνωστός ως δείκτης σχετικής σπουδαιότητας (IRI) (Pinkas et al. 1971) και εκφράζεται από τη σχέση:

$$IRI=(\%N+\%M)\ (\%FO)$$

Επιπλέον υπολογίστηκε ο δείκτης κενότητας (V) ο οποίος ορίζεται ως ο λόγος των κενών στομάχων προς τον συνολικό αριθμό αυτών που εξετάστηκαν και περιγράφεται από τη σχέση (Hureau 1966):

$$V=(E/N) * 100$$

όπου E = αριθμός κενών στομαχιών και

N = συνολικός αριθμός των ατόμων που εξετάστηκαν.

Για την καλύτερη ανάλυση των εποχικών διακυμάνσεων στη διατροφή, τα δείγματα ομαδοποιήθηκαν σε εποχική βάση (φθινόπωρο: Σεπτέμβριος-Νοέμβριος, χειμώνας: Δεκέμβριος-Φεβρουάριος, άνοιξη: Μάρτιος-Μάιος, καλοκαίρι: Ιούνιος-Αύγουστος) Προκειμένου να διερευνηθεί η μεταβολή των τροφικών συνηθειών σε συνάρτηση με το μέγεθος, τα άτομα του *E. pygmaeus* χωρίστηκαν σε τρεις ηλικιακές κλάσεις: ανώριμα (TL<23 mm; όπου 23 mm είναι το μέγιστο μήκος των ανώριμων ατόμων) (Miller 2004, Gkenas & Leonardos 2012), μεσαία αρσενικά/θηλυκά (23-30 mm) και μεγάλα αρσενικά/θηλυκά (>30 mm).

Τα δείγματα ζωοβένθους που συλλέχθηκαν με τη βοήθεια του πυρηνολήπτη (βλ. κεφάλαιο υλικά & μέθοδοι: γενικά) κοσκινίζονταν με κόσκινο ανοίγματος πόρων 500 μm και κατόπιν συντηρούνταν σε διάλυμα φορμόλης 7%. Η αναγνώριση των ειδών έγινε σε στερεοσκόπιο στο κατώτερο δυνατό ταξινομικό επίπεδο.

7.2.3. Εύρος τροφικού θώκου

Το εύρος του τροφικού θώκου που χρησιμοποιεί το *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα υπολογίσθηκε με τη χρήση του δείκτη Shannon & Wiener (H′) που δίνεται από την εξίσωση (Marshall & Elliott 1997):

$$H'=-\Sigma p_i \ln p_i$$

οπού: p_i το ποσοστό της τροφικής κατηγορίας *i* στη διατροφή του είδους.

Το ποσοστό p_i μπορεί να εκφράζει αριθμητική αφθονία, βιομάζα και συχνότητα εμφάνισης (παρουσία-απουσία), ενός είδους λείας. Ο δείκτης ποικιλότητας υπολογίσθηκε λαμβάνοντας υπόψη την αριθμητική αφθονία για κάθε εποχή και κάθε ηλικιακή κλάση. Ο δείκτης αυτός θεωρείται αρκετά ευαίσθητος στην ανίχνευση μεταβολών της ποικιλότητας των ειδών και παρέχει μια γενική ένδειξη για το σχετικό μέγεθος της τροφικής εξειδίκευσης (Berg 1979).

7.2.4. Επικάλυψη τροφικών θώκων

Για την εύρεση της τροφικής επικάλυψης χρησιμοποιήθηκε ο δείκτης Schoener (Schoener's Index). Ο δείκτης Schoener (C) επιτρέπει τη σύγκριση της δίαιτας μεταξύ ειδών (διαειδικός ανταγωνισμός) αλλά και μεταξύ φύλων και κλάσεων του ίδιου είδους (ενδοειδικός ανταγωνισμός). Υπολογίζει το βαθμό στον οποίο τα είδη χρησιμοποιούν τις ίδιες τροφικές πηγές και περιγράφεται από τη σχέση:

$$C=1-0.5\ \Sigma|p_{xi} - p_{yi}|$$

όπου: p_{xi}=το ποσοστό της τροφής *i* που χρησιμοποιείται από το είδος *x*,

p_{yi}=το ποσοστό της τροφής *i* που χρησιμοποιείται από το είδος *y*.

Οι τιμές του δείκτη τροφικής επικάλυψης κυμαίνονται από 0 (εντελώς ανόμοιο διαιτολόγιο) ώς 1 (εντελώς όμοιο διαιτολόγιο). Η επικάλυψη των τροφικών θώκων μεταξύ των ειδών θεωρείται ότι έχει σημαντική βιολογική σημασία όταν η τιμή του δείκτη είναι μεγαλύτερη από 0,6 (Wallace 1981). Ο υπολογισμός του δείκτη τροφικής επικάλυψης έγινε με βάση τη βιομάζα των ειδών λείας που συμμετείχαν στη δίαιτα, διότι θεωρήθηκε ότι το βάρος της τροφής είναι περισσότερο αντιπροσωπευτικό της ενέργειας που προσλαμβάνει ο οργανισμός με τη διαδικασία της θρέψης.

7.2.5. Συντελεστής εκλεκτικότητας κατά Vanderploeg και Scavia (*E**)

Ο συντελεστής εκλεκτικότητας (E*) κατά Vanderploeg και Scavia (1979), θεωρείται από τον Lechowicz (1982) περισσότερο αξιόπιστος από άλλες μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της προτίμησης λείας. Ο δείκτης (E*) για το *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα υπολογίστηκε ως εξής:

$$E^*_i=(W_i-n^{-1})\ (W_i+n^{-1})^{-1},$$

όπου n είναι ο αριθμός των διαθέσιμων ειδών λείας και W_i υπολογίζεται ως εξής:

$$W_i=(r_i p_i^{-1})\ \Sigma[(r_i p_i^{-1})]^{-1},$$

όπου r_i και p_i είναι το ποσοστό του τύπου λείας *i* στα στομάχια των ψαριών και στο

περιβάλλον, αντίστοιχα. Ο δείκτης (E*) κυμαίνεται από -1 ώς 1. Θεωρητικά, οι αρνητικές τιμές σημαίνουν αποφυγή, οι θετικές τιμές δείχνουν προτίμηση και η τιμή 0 δεν αντιπροσωπεύει καμία επιλογή.

7.2.6. Μέθοδος Costello

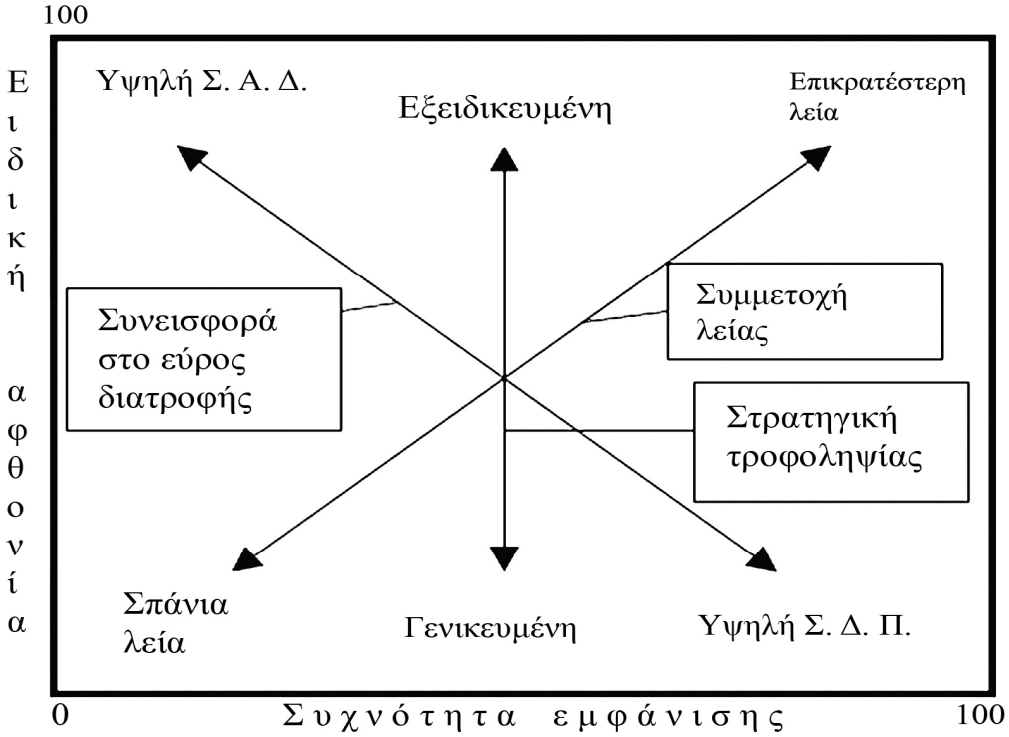
Για τη μελέτη της στρατηγικής της διατροφής ενός είδους ο Costello (1990) πρότεινε τη χρήση μιας μεθόδου, η οποία βασίζεται στη γραφική απεικόνιση σε σύστημα αξόνων, της συχνότητας εμφάνισης και της αφθονίας της λείας όπως έχει καταμετρηθεί στα στομάχια των ατόμων που εξετάστηκαν. Απεικονίζει δηλαδή τη σχετική σημασία της λείας (επικρατέστερη ή σπάνια) και το βαθμό ομοιογένειας που δείχνουν οι θηρευτές στην επιλογή της λείας. Η τροποποίηση που πρότειναν οι Amundsen et al. (1996) για να παρακάμψουν κάποια μειονεκτήματα της μεθόδου Costello (1990) που είχαν επισημανθεί από τους Costello et al. (1991), Tokeshi (1991) και Amundsen et al. (1996), εισάγει την παράμετρο της *ειδικής αφθονίας της λείας*, η οποία ορίζεται ως το ποσοστό μιας κατηγορίας τροφής στο σύνολο του στομαχικού περιεχομένου όλων των θηρευτών που έχουν καταναλώσει τη συγκεκριμένη τροφή (επεξηγηματικό διάγραμμα στην Εικόνα 7.1).

Με τη μέθοδο αυτή απεικονίζεται σε ένα διάγραμμα στον άξονα y η ειδική αφθονία κάθε κατηγορίας τροφής (prey-specific abundance %, P*i*) και στον άξονα x η συχνότητα εμφάνισης (frequency of occurrence, FO με κλίμακα 0-100). Η ειδική αφθονία P*i* κάθε κατηγορίας τροφής *i* υπολογίζεται από τη σχέση :

$$P_i=(\Sigma S_i/\Sigma S_{ti}) * 100$$

όπου, S_i το συνολικό βάρος της λείας *i* απ' όλα τα στομάχια και S_{ti} το συνολικό βάρος όλου του στομαχικού περιεχομένου μόνο των στομαχιών όπου περιλαμβάνεται η λεία *i*.

Αυτή η μέθοδος απεικόνισης δίνει πληροφορίες για τη σημασία της κάθε κατηγορίας τροφής, αλλά και για τη στρατηγική διατροφής δηλαδή αν είναι εξειδικευμένη ή γενικευμένη. Δείχνει επίσης, αν υπάρχει ποικιλία στις κατηγορίες τροφής τόσο στη διατροφή κάθε ατόμου όσο και στο σύνολο του πληθυσμού.



Εικόνα 7.1: Επεξηγηματικό διάγραμμα της τροποποιημένης μεθόδου Costello (Amundsen et al. 1996).
Figure 7.1: Explanatory diagram of the modified Costello method (Amundsen et al. 1996).

7.2.7. Τροφικό Επίπεδο

Το τροφικό επίπεδο (TROPH) ενός οργανισμού δίνεται από τον τύπο (Pauly et al. 1998, Pauly & Palomares, 2000):

$$\mathrm{TROPH}_i = 1 + \sum_{j=1}^{G} \mathrm{DC}_{ij} * \mathrm{TROPH}_j$$

όπου TROPH_i=τροφικό επίπεδο είδους *i* (*j*),

DC_{ij}=το κλάσμα της τροφικής κατηγορίας *j* στο διαιτολόγιο του είδους *i,*

TROPH_j=το κλασματικό τροφικό επίπεδο της τροφικής κατηγορίας *j* και

G=ο αριθμός των τροφικών κατηγοριών στη διατροφή του είδους *i*.

Ο δείκτης TROPH των υδρόβιων οργανισμών μπορεί να πάρει οποιαδήποτε τιμή μεταξύ 2 για φυτοφάγους/ιζηματοφάγους και 5,5 για ιχθυοφάγους/σαρκοφάγους οργανισμούς (Pauly et al. 1998, Pauly & Palomares 2000, Kaschner et al. 2004).

Το τροφικό επίπεδο του γωβιού *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα υπολογίσθηκε

ανά εποχή και κλάση μεγέθους με βάση τη βαρομετρική ανάλυση των λειών του είδους, χρησιμοποιώντας το λογισμικό TrophLab (Pauly et al. 2000). Το TrophLab είναι μια βάση δεδομένων Access που έχει καταχωρημένα τροφικά επίπεδα για διάφορες κατηγορίες τροφής και δίνει τη δυνατότητα υπολογισμού των τροφικών επιπέδων και των τυπικών σφαλμάτων τους τόσο με ποιοτικά όσο και με ποσοτικά δεδομένα. Στη δεύτερη περίπτωση μπορούν να χρησιμοποιηθούν ποσοστά βάρους, όγκου ή αριθμητικής συμμετοχής.

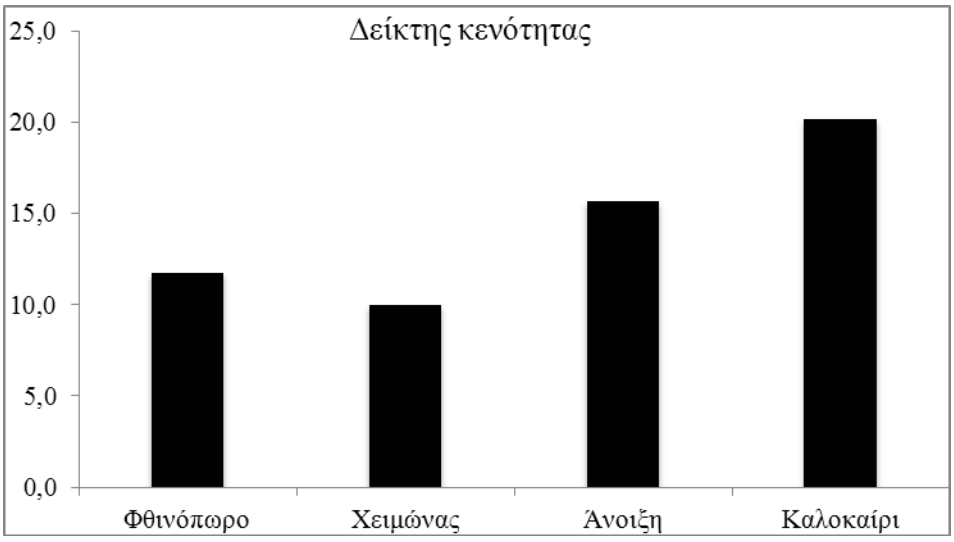
7.2.8. Τροφική δραστηριότητα κατά τον ημερήσιο κύκλο

Ο εντοπισμός του χρονικού διαστήματος κατά τον οποίο το είδος *E. pygmaeus* της λίμνης Παμβώτιδας τρέφεται έντονα στη διάρκεια του ημερήσιου κύκλου πραγματοποιήθηκε με τη χρησιμοποίηση των βαρομετρικών δεδομένων των τροφικών κατηγοριών απ' όλους τους λουρογωβιούς. Η διερεύνηση στατιστικά σημαντικών διακυμάνσεων του συνολικού βάρους του στομαχικού περιεχομένου των ψαριών στη διάρκεια του εικοσιτετραώρου κάθε εποχής πραγματοποιήθηκε με την μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis, επειδή δεν πληρούνταν οι προϋποθέσεις για τη χρήση των παραμετρικών κριτηρίων (κανονικότητα, ομοσκεδαστικότητα). Στη συνέχεια διενεργήθηκαν μη παραμετρικοί έλεγχοι Mann-Whitney για τις επιμέρους συγκρίσεις των χρονικών διαστημάτων. Εξαιτίας της διενέργειας πολλαπλών συγκρίσεων χρησιμοποιήθηκε η διόρθωση Bonferroni (0,05/του αριθμού των συγκρίσεων). Επίσης, το ποσοστό των άδειων στομαχιών μεταξύ των χρονικών διαστημάτων εξετάστηκε με το κριτήριο χ^2. Όλες οι στατιστικές δοκιμές πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 19.

7.3. Αποτελέσματα

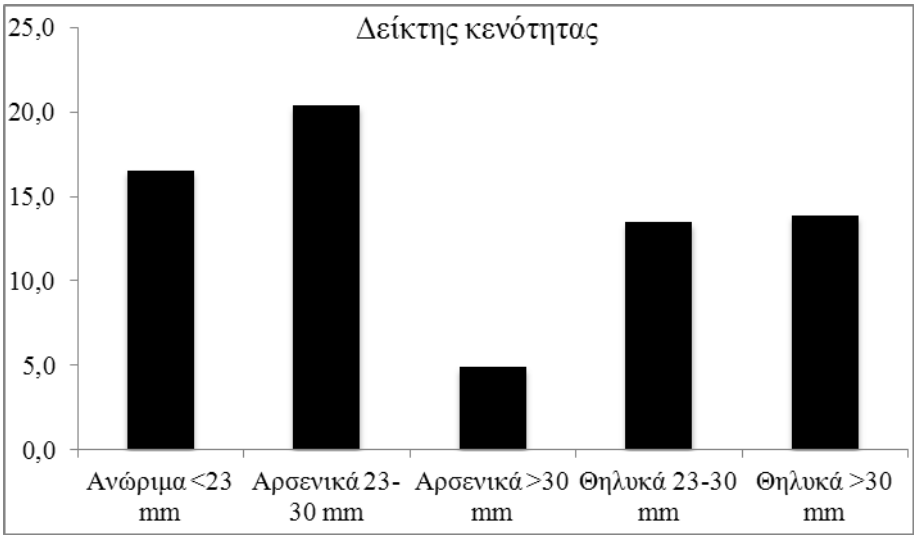
7.3.1. Τροφική δραστηριότητα

Από το σύνολο των στομαχιών (n=533) που εξετάσθηκαν, τα 457 (85,75%) περιείχαν τροφή ενώ τα 76 (14,25%) ήταν άδεια. Η εποχική διακύμανση του ποσοστού των κενών στομαχιών δεν επηρεάζει την τροφική δραστηριότητα του *E. pygmaeus* (G-test=6,333, df=3, p=0,097). Το ποσοστό των κενών στομάχων ανά εποχή ήταν 11,7% το φθινόπωρο, 10% το χειμώνα, 15,7% την άνοιξη και 20,2% το καλοκαίρι (Εικόνα 7.2).



Εικόνα 7.2: Εποχική διακύμανση του δείκτη κενότητας για το είδος *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 7.2: Seasonal variation of vacuity index for the species *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

Όσον αφορά το μέγεθος των ατόμων, το ποσοστό των άδειων στομαχιών έδειξε σημαντική διακύμανση στην τροφική δραστηριότητα του είδους (G-test=11,211, df=4, p=0,024). Τα λιγότερα κενά στομάχια εμφανίσθηκαν στα μεγάλα αρσενικά άτομα (>30 mm) (4,9%) σε σχέση με τις άλλες κλάσεις μεγέθους: ανώριμα (<23 mm) 16,5%, μεσαίου μεγέθους αρσενικά (23-30 mm) 20,4%, μεσαίου μεγέθους θηλυκά (23-30 mm) 13,4%, μεγάλου μεγέθους θηλυκά (>30 mm) 13,9% (Εικόνα 7.3).



Εικόνα 7.3: Οντογενετική διακύμανση του δείκτη κενότητας για το είδος *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 7.3: Ontogenetic variation of vacuity index for the species *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007).

7.3.2. Σύνθεση του διαιτολογίου

Συνολικά αναγνωρίσθηκαν 14 τροφικές κατηγορίες, οι οποίες ανήκουν σε 4 κύριες ομάδες: φυτικά υλικά (plants), καρκινοειδή (crustaceans): κωπήποδα (copepods), κλαδόκερα (cladocerans), οστρακώδη (ostracods), έντομα (insects): προνύμφες της οικογένειας chironomidae, προνύμφες εφημεροπτέρων και υμενοπτέρων, νύμφες διπτέρων και μαλάκια (mussels) που εκπροσωπούνται από τα γαστερόποδα (της οικογένειας Planorbidae) και δίθυρα (της οικογένειας Sphaeriidae). Οι οργανισμοί που καταναλώθηκαν συνολικά από τους λουρογωβιούς καθόλη τη διάρκεια της μελέτης φαίνονται στον πίνακα 7.1. Στον Πίνακα αυτό παρουσιάζονται οι δείκτες %F.O, %N, %M και %IRI προκειμένου να αξιολογηθεί η συνολική συνεισφορά κάθε κατηγορίας λείας στη διατροφή του είδους. Στην κατηγορία 'διάφορα' περιλαμβάνονται απροσδιόριστες λείες που πιθανόν να ανήκουν στις παραπάνω ταξινομικές κατηγορίες.

Τα είδη που παρουσίασαν τη μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης (FO) στα στομάχια του *E. pygmaeus* που αναλύθηκαν ήταν τα κωπήποδα (64,77%) και οι προνύμφες εντόμων της οικογένειας Chironomidae (56,67%). Δευτερεύοντα ρόλο στο διαιτολόγιο είχαν τα φυτικά υλικά (26,70%) και το κλαδόκερο *C. sphaericus* (23,85%). Οι υπόλοιπες λείες παρουσίασαν χαμηλά σχετικά ποσοστά εμφάνισης, με μικρότερα εκείνα του κλαδοκέρου

B. longirostris και των προνυμφών των υμενοπτέρων τα οποία περιελαμβάνονταν στο στομαχικό περιεχόμενο του 2% του συνόλου των ατόμων στα οποία βρέθηκε τροφή.

Με βάση την αριθμητική μέθοδο (N%), τα κωπήποδα αποτέλεσαν την κύρια τροφή, φθάνοντας το 50,25% του συνολικού αριθμού λειών που συμπεριελαμβάνονταν στο στομαχικό περιεχόμενο. Από τις υπόλοιπες βασικές κατηγορίες, αξιόλογη παρουσία είχαν οι προνύμφες χειρονομίδων (17,93%), ενώ μικρή συμμετοχή καταγράφηκε για τα φυτικά υλικά (8,86%), τα κλαδόκερα *A. rectangula* (7,98%) και *Daphnia* spp. (6,60%). Η συμβολή των υπόλοιπων τροφικών ομάδων στη σύνθεση του διαιτολογίου ήταν σημαντικά χαμηλότερη.

Πίνακας 7.1: Συνολική σύνθεση της δίαιτας του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007) ως προς την (%) Εμφάνιση συχνότητας (FO), την (%) αριθμητική μέθοδο (N), την % κατά βάρος (M) και το % IRI των κύριων τροφικών κατηγοριών.
Table 7.1: Overall diet composition of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007): % frequency of occurrence (FO), % number (N), % biomass (M) and % IRI of the main food items.

Τροφικές κατηγορίες	% FO	% N	% M	% IRI
Καρκινοειδή				
Κωπήποδα	64,77	50,25	19,72	57,51
Daphnia spp.	12,47	6,60	9,35	2,52
Bosmina longirostris	1,97	0,50	0,13	0,02
Alona rectangula	23,85	7,98	0,77	2,65
Chydorus sphaericus	4,60	0,85	0,09	0,05
Οστρακώδη	8,97	2,44	0,84	0,37
Έντομα				
Χειρονομίδες (πρ.)	56,67	17,93	22,44	29,03
Δίπτερα (ν.)	6,24	1,08	13,72	2,67
Εφημερόπτερα (πρ.)	3,42	0,47	6,83	0,72
Υμενόπτερα (πρ.)	1,67	0,12	2,11	0,12
Άλλα έντομα	2,13	0,20	1,41	0,09
Μαλάκια				
Δίθυρα	2,41	0,38	6,21	0,20
Γαστερόποδα	3,28	0,72	15,40	0,67
Φυτικά υλικά	26,70	8,86	0,24	3,10
Διάφορα	9,62	1,63	0,76	0,30

Μελετώντας τα αποτελέσματα υπολογισμού της μεθόδου κατά βάρος (M), παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις στη συμμετοχή της κάθε λείας σε σύγκριση με την αριθμητική μέθοδο (N). Είναι χαρακτηριστικό ότι η μείωση των κωπηπόδων (19,72%) στο

στομαχικό περιεχόμενο των ατόμων του *E. pygmaeus* έχει σαν αποτέλεσμα οι προνύμφες χειρονομίδων να αποτελέσουν την κύρια τροφή (22,44%). Επίσης, σημαντικό ρόλο έπαιξε το γεγονός ότι οι τροφικές κατηγορίες που αποτελούνται από μεγαλύτερα άτομα, των οποίων το βάρος είναι υψηλότερο από εκείνο των κωπηπόδων, όπως τα γαστερόποδα, δίπτερα, *Daphnia* spp. αύξησαν τα ποσοστά τους (Πίνακας 7.1).

Η χρησιμοποίηση του δείκτη σχετικής σπουδαιότητας υπογράμμισε για μία ακόμη φορά τη σημασία των κωπηπόδων (57,51%) στο διαιτολόγιο των ατόμων του *E. pygmaeus*. Από τις υπόλοιπες τροφικές κατηγορίες οι προνύμφες χειρονομίδων (29,03%) φάνηκε να κατέχουν μια σημαντική θέση στη διατροφή του λουρογωβιού, ενώ οι υπόλοιπες λείες υστερούν σημαντικά (Πίνακας 7.1).

7.3.3. Εποχικές διακυμάνσεις των τροφικών συνηθειών

Η σπουδαιότητα που έδειξαν οι κύριες τροφικές κατηγορίες και τις τέσσερις εποχές ήταν παρόμοια με το διατροφικό πρότυπο που ακολούθησαν τα άτομα του *E. pygmaeus* καθόλη τη διάρκεια του έτους. Οι λείες ταξινομήθηκαν σε 7 βασικές κατηγορίες και οι εποχικές διακυμάνσεις του IRI παρουσιάζονται στον πίνακα 7.2. Τα κωπήποδα μαζί με τις προνύμφες εντόμων της οικογένειας chironomidae αποτέλεσαν τις κύριες λείες το φθινόπωρο, συμμετέχοντας στη διατροφή του *E. pygmaeus* με ποσοστό 43,38% και 42,57%, αντίστοιχα. Περιορισμένη θέση στο διαιτολόγιο είχαν επίσης τα φυτικά υλικά (7,71%) και τα κλαδόκερα (4,60%). Οι υπόλοιπες τροφικές λείες (έντομα, μαλάκια, οστρακώδη) συμμετείχαν στο διαιτολόγιο με πολύ μικρά ποσοστά. Το χειμώνα, τα κωπήποδα αποτέλεσαν τη μεγάλη πλειονότητα της δίαιτας στην οποία συμμετείχαν με ποσοστό 82,35%.

Συγκριτικά με τις υπόλοιπες εποχές η συμμετοχή των προνυμφών της οικογένειας chironomidae ήταν πολύ χαμηλή (8,05%). Οι υπόλοιπες τροφικές ομάδες (κλαδόκερα, έντομα, φυτά και δίθυρα) συμμετείχαν στη δίαιτα με πολύ μικρά ποσοστά. Την άνοιξη η επικρατεστερη λεία αντικαταστάθηκε από τις χειρονομίδες που αποτέλεσαν το 39,68%, ενώ τη περίοδο αυτή καταναλώθηκαν σημαντικές ποσότητες κλαδοκέρων (24,84%) και κωπηπόδων (20,59%). Την άνοιξη τα έντομα (8,87%) αποτέλεσαν ένα σημαντικό συστατικό του στομαχικού περιεχομένου, ενώ το φθινόπωρο και το χειμώνα η συνεισφορά τους με βάση το IRI ήταν ιδιαίτερα περιορισμένη. Οι υπόλοιπες τροφικές ομάδες (δίθυρα, οστρακώδη και φυτικά υλικά) συμμετείχαν ελάχιστα στη διατροφή του λουρογωβιού. Κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού υπήρξε σαφής υπεροχή των προνυμφών της

οικογένειας chironomidae με 47,68% και ακολούθως των κωπηπώδων και κλαδοκέρων που συμμετείχαν με 25,3% και 19,81%, αντίστοιχα. Οι υπόλοιπες τροφικές ομάδες απετέλεσαν μειωμένης σημασίας συστατικά του διαιτολογίου. Αυτές οι μεταβολές της δίαιτας μπορεί να συνδέονται είτε με την αλλαγή του οικοτόπου ή με τη μεταβολή της αφθονίας των οργανισμών ανάλογα με τις εποχές.

Πίνακας 7.2: Εποχική διακύμανση της δίαιτας του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007) ως προς το % IRI των κύριων τροφικών κατηγοριών (n=αριθμός ατόμων).
Table 7.2: Seasonal diet variation of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007): % IRI of the main food items (n=number of specimens).

Τροφικές κατηγορίες	Εποχές			
	Φθινόπωρο n=145	Χειμώνας n=131	Άνοιξη n=134	Καλοκαίρι n=123
Κωπήποδα	43,38	82,35	20,59	25,30
Κλαδόκερα	4,60	4,63	24,84	19,81
Χειρονομίδες (πρ.)	42,57	8,05	39,68	47,68
Έντομα	0,85	1,29	8,87	3,93
Οστρακώδη	0,11	0,27	1,19	0,19
Μαλάκια	0,16	1,63	3,89	0,51
Φυτικά υλικά	7,71	1,73	0,68	1,93
Διάφορα	0,62	0,05	0,26	0,65

Το εύρος του τροφικού θώκου ως προς τα είδη λείας που εκμεταλλεύονται τα άτομα του *E. pygmaeus* είναι στενό, εξαιτίας της εξειδίκευσης που δείχνουν σε κωπήποδα και προνύμφες χειρονομίδων. Οι τιμές του αριθμού των διάφορων τύπων λείας, καθώς και του δείκτη ποικιλότητας Shannon-Wiener (H΄) του στομαχικού περιεχομένου του λουρογωβιού στις τέσσερις εποχές παρουσιάζονται στον πίνακα 7.3. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το χειμώνα καταναλώθηκε ο μεγαλύτερος αριθμός τύπων λείας εξαιτίας της επικράτησης των κωπηπόδων (Πίνακας 7.3). Η μεγαλύτερη τιμή του δείκτη ποικιλότητας στο διαιτολόγιο του είδους εμφανίσθηκε στα δείγματα της άνοιξης (H΄=0,56), ενώ μικρότερη ποικιλότητα εμφανίσθηκε την περίοδο του καλοκαιριού (H΄=0,44).

Πίνακας 7.3: Εύρος τροφικού θώκου του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007) σύμφωνα με το δείκτη ποικιλότητας Shannon-Wiener (H') και αριθμός των λειών που βρέθηκαν στα στομάχια ανά εποχή (n=αριθμός ατόμων).
Table 7.3: Dietary breadth of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007) expressed in terms of the Shannon-Wiener index (H') and number of prey items found in the stomachs of specimens, which were classified according to sampling season (n=number of specimens).

Εποχές	Φθινόπωρο n=145	Χειμώνας n=131	Άνοιξη n=134	Καλοκαίρι n=123
Αριθμός λειών	785	1249	671	491
H'	0,53	0,45	0,56	0,44
95% Ορ. Εμπιστ.	0,45-0,61	0,38-0,53	0,48-0,64	0,36-0,52

7.3.4. Διακυμάνσεις των τροφικών συνηθειών σε σχέση με το φύλο και το μήκος

Με σκοπό την κατανόηση των τροφικών συνηθειών του λουρογωβιού παρουσιάζονται στο πίνακα 7.4 οι μεταβολές του ποσοστού του IRI κατά κλάσεις ολικού μήκους και φύλου. Από τον πίνακα 7.4 γίνεται φανερό ότι η διατροφή του είδους για τα ανώριμα άτομα (<23 mm) βασίζεται κατά κύριο λόγο στα βενθικά μακροασπόνδυλα, με ιδιαίτερη προτίμηση στις προνύμφες της οικογένειας chironomidae (43,23%). Σημαντική συνεισφορά στη δίαιτα παρουσίασαν τα κλαδόκερα (29,07%) εξαιτίας της προτίμησης που έδειξαν τα νεαρά άτομα του είδους *E. pygmaeus* στους μικρόσωμους ζωοπλαγκτικούς οργανισμούς της παραλιακής ζώνης, όπως το *A. rectangula* και το *C. sphaericus*.

Στα μεσαίου μεγέθους αρσενικά και θηλυκά άτομα (23-30 mm) η σύνθεση του διαιτολογίου ήταν παρόμοια. Τα κωπήποδα, τα οποία αποτέλεσαν είδος τροφής χαμηλότερης σημασίας για τα νεαρά άτομα, επικρατούν στο στομαχικό περιεχόμενο των μεγαλύτερων ατόμων (>30 mm). Αντίθετα, οι χειρονομίδες παρουσιάζουν χαμηλότερη συμμετοχή, καθώς αυξάνεται το μέγεθος των θηρευτών. Η μικρή κατανάλωση των κλαδόκερων στο διαιτολόγιο των μεσαίου μεγέθους ατόμων (23-30 mm) αυξάνεται ελαφρώς στα μεγαλύτερα άτομα (>30 mm) ιδιαίτερα στα θηλυκά, εξαιτίας της προτίμησης που δείχνουν στην θήρευση μεγαλόσωμων κλαδοκέρων του γένους *Daphnia*.

Τα έντομα, τα οποία ανήκουν στην τάξη των διπτέρων, εφημεροπτέρων και υμενοπτέρων, συμμετείχαν με ελαφρά αυξημένα ποσοστά κυρίως στις μεγαλύτερες κλάσεις μήκους του *E. pygmaeus* (>30 mm), πιθανόν εξαιτίας της ικανότητας που απαιτείται για τη σύλληψη των συγκεκριμένων εντόμων. Τα μαλάκια και συγκεκριμένα τα γαστερόποδα είχαν δευτερεύοντα ρόλο στο διαιτολόγιο των ψαριών και καταγράφηκαν

στα στομάχια των μεγαλύτερων ατόμων του είδους. Τέλος, τα φυτά αποτέλεσαν συμπληρωματική τροφή για όλες τις κλάσεις μεγέθους, με τα μεγάλα αρσενικά να δείχνουν μια ελαφρά προτίμηση (8,81%).

Πίνακας 7.4: Ενδοειδική διακύμανση της δίαιτας του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007) ως προς το % IRI των κύριων τροφικών κατηγοριών (TL, mm) (n=αριθμός ατόμων, Αν: Ανώριμα, Α: Αρσενικά, Θ: Θηλυκά).
Table 7.4: Intraspecific diet variation of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007) % IRI of the main food items (TL, mm) (n=number of species, Αν: Immature, A: Males, Θ: Females).

Τροφικές κατηγορίες	Κλάσεις μήκους				
	Αν: <23 mm n=103	Α: 23-30 mm n=113	Θ: 23-30 mm n=134	Α: >30 mm n=82	Θ: >30 mm n=101
Κωπήποδα	22,48	60,87	55,58	55,76	50,55
Κλαδόκερα	29,07	5,46	6,67	8,34	11,46
Χειρονομίδες (πρ.)	43,23	22,78	34,51	17,93	26,49
Έντομα	4,35	5,1	0,1	6,5	4,81
Οστρακώδη	0,18	0,6	0,61	0,02	0,58
Μαλάκια	0,12	1,06	0,08	2,43	4,43
Φυτικά υλικά	0,33	3,59	2,2	8,81	1,48
Διάφορα	0,23	0,53	0,25	0,22	0,21

Ο υπολογισμός του δείκτη ποικιλότητας αλλά και του αριθμού των ειδών λείας που αποτέλεσαν το διαιτολόγιο των δύο φύλων παρουσιάζεται στο πίνακα 7.5. Το εύρος του τροφικού θώκου των ανώριμων (<23 mm) και των ενδιάμεσων μεγεθών (23-30 mm) τείνει να είναι πιο περιορισμένο απ' ό,τι των μεγαλύτερων ατόμων (>30 mm). Το στομαχικό περιεχόμενο των θηλυκών ατόμων μεγάλου μεγέθους (>30 mm) παρουσίασε μεγαλύτερο αριθμό λειών και υψηλότερες τιμές ποικιλότητας (H΄=0,57) σε σχέση με εκείνο των αρσενικών (H΄=0,53).

Πίνακας 7.5: Εύρος τροφικού θώκου του *E. pygmaeus* λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007) σύμφωνα με το δείκτη ποικιλότητας Shannon-Wiener (H') και αριθμός των λειών που βρέθηκαν στα στομάχια ανά κλάση μεγέθους (TL, mm) (n=αριθμός ατόμων, Αν: Ανώριμα, Α: Αρσενικά, Θ: Θηλυκά).
Table 7.5: Dietary breadth of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007) expressed in terms of the Shannon-Wiener index (H') and number of prey items found in the stomachs of specimens, which were classified according to size group (TL, mm) (n=number of species, Αν: Immature, A: Males, Θ: Females).

Κλάσεις μήκους	Αν: <23 mm n=103	Α: 23-30 mm n=113	Θ: 23-30 mm n=134	Α: >30 mm n=82	Θ: >30 mm n=101
Αριθμός λειών	421	509	719	764	783
H'	0,43	0,49	0,49	0,53	0,57
95% Ορ. Εμπιστ.	0,35-0,51	0,40-0,58	0,47-0,56	0,44-0,62	0,47-0,68

7.3.5. Τροφική επικάλυψη

Η διατροφή του είδους ανάμεσα στις διάφορες εποχές δειγματοληψίας χαρακτηρίζεται από διαφοροποίηση, όπως υποδηλώνεται από τις τιμές του δείκτη Schoener (C>0,6), οι οποίες φαίνονται στον πίνακα 7.6. Οι μοναδικές περιπτώσεις κατά τις οποίες βρέθηκε σημαντικά μεγάλη ομοιότητα του στομαχικού περιεχομένου προήλθε από τον υπολογισμό της τροφικής επικάλυψης ανάμεσα στα ζεύγη των εποχών χειμώνας-άνοιξη (C=0,65) και φθινόπωρο-καλοκαίρι (C=0,76).

Ο δείκτης τροφικής επικάλυψης έκανε εμφανή το βαθμό διαφοροποίησης της διατροφής του *E. pygmaeus* ανάμεσα στις ηλικιακές κλάσεις των δύο φύλων (Πίνακας 7.6). Οι τιμές της επικάλυψης των τροφικών θώκων μεταξύ των ανώριμων (<23 mm) και των μεγάλων αρσενικών και θηλυκών ατόμων (>30 mm) διαφέρουν ελαφρώς, ενώ ξεπερνούν το 0,60 όταν συγκρίνονται τα ανώριμα άτομα (<23 mm) με αυτά της ενδιάμεσης κατηγορίας αρσενικά και θηλυκά (23-30 mm) (Πίνακας 7.6). Η δίαιτα των αρσενικών και θηλυκών ατόμων μεγάλου μεγέθους (>30 mm) βρέθηκε πανομοιότυπη (C=0,9), κυρίως εξαιτίας της σύνθεσής της από κωπήποδα και προνύμφες χειρονομίδων και σε μικρότερο βαθμό από κλαδόκερα και γαστερόποδα. Χαμηλή διαφοροποίηση παρατηρήθηκε μεταξύ των τροφικών συνηθειών των θηλυκών μεσαίου μεγέθους (23-30 mm) με τις υπόλοιπες κατηγορίες (Πίνακας 7.6). Η διαφορά αυτή οφείλεται στην αποφυγή μικρόσωμων κλαδοκέρων (*A. rectangula. C. sphaericus*) και στη συχνή κατανάλωση

μεγαλόσωμων κλαδοκέρων (*Daphnia* spp.) και εντόμων με σκληρό σώμα από τα αρσενικά άτομα ενδιάμεσου μεγέθους (23-30 mm) και τα άτομα μεγάλου μεγέθους (>30 mm).

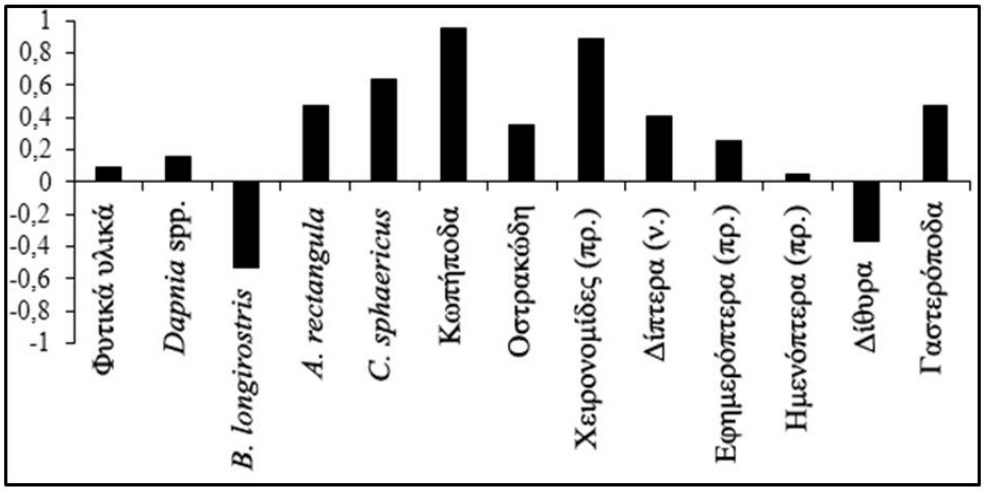
Πίνακας 7.6: Επικάλυψη του τροφικού θώκου του *E. pygmaeus* ανά εποχή και κλάση μεγέθους (TL, mm) στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007) (n=αριθμός ατόμων, Αν: Ανώριμα, Α: Αρσενικά, Θ: Θηλυκά).
Table 7.6: Dietary niche overlap of *E. pygmaeus* by season and size group (TL, mm) in lake Pamvotis (October 2006-September 2007) (n=number of specimens, Αν: Immature, A: Males, Θ: Females).

Εποχές	n	Φθινόπωρο	Χειμώνας	Άνοιξη	Καλοκαίρι
Φθινόπωρο	145	-	0,57	0,47	0,76*
Χειμώνας	131		-	0,65*	0,49
Άνοιξη	134			-	0,52
Καλοκαίρι	123				-
Κλάσεις μήκους	n	A: 23-30 mm	Θ: 23-30 mm	A: >30 mm	Θ: >30 mm
Αν: <23 mm	103	0,66*	0,58	0,66*	0,59
A: 23-30 mm	113	-	0,69*	0,51	0,74*
A: >30 mm	134		-	0,48	0,9*
Θ: 23-30 mm	82			-	0,48
Θ: >30 mm	101				-

*=σημαντική ομοιότητα για τιμές C≥ 0.60.

7.3.6. Συντελεστής εκλεκτικότητας κατά Vanderploeg και Scavia (*E**)

Οι προτιμήσεις που εκδήλωσε το υπό μελέτη είδος απέναντι στις τροφικές κατηγορίες του περιβάλλοντός του, υπολογίσθηκαν με βάση το συντελεστή εκλεκτικότητας (*E**) Vanderploeg και Scavia και παρουσιάζονται στην εικόνα 7.4. Οι υψηλές τιμές του δείκτη *E** για τα κωπήποδα (0,95) και τις χειρονομίδες (0,88) υποδηλώνουν την ισχυρή προτίμηση που έδειξαν τα ψάρια προς τις συγκεκριμένες τροφικές λείες. Τα μικρόσωμα κλαδόκερα *C. sphaericus* (0,64) και *A. rectangula* (0,47) συγκεντρώνουν τη θετική προτίμηση του λουρογωβιού, καθώς επίσης και τα γαστερόποδα της οικογένειας Planorbidae (0,47) και οι νύμφες διπτέρων (0,4). Αντίθετα, οι αρνητικές τιμές του δείκτη *E** που βρέθηκαν για το κλαδόκερο *B. longirostris* (-0,53) και τα δίθυρα της οικογένειας Sphaeriidae (-0,36) υποδηλώνουν αποφυγή. Οι χαμηλές τιμές του δείκτη *E** συνιστούν ουδέτερη προτίμηση των ατόμων του *E. pygmaeus* για τα είδη της οικογένειας Daphnidae (0,15), τα φυτικά υλικά (θρύμματα) (0,1) και τις προνύμφες εντόμων των υμενόπτερων (0,05).



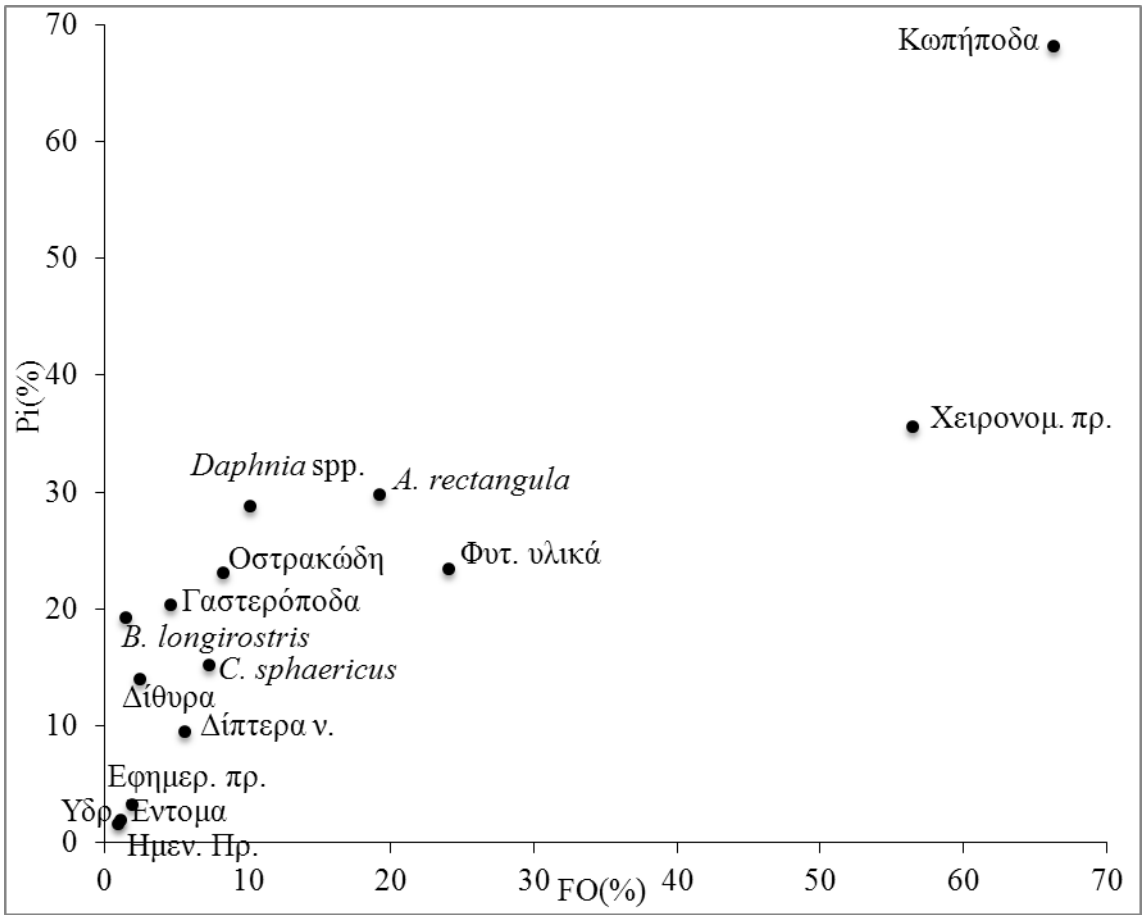
Εικόνα 7.4: Δείκτης εκλεκτικότητας Vanderploeg (*E**) για τις διάφορες τροφικές κατηγορίες που βρέθηκαν στα στομάχια του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007). Θετικές τιμές υποδηλώνουν επιλογή λείας και αρνητικές τιμές υποδηλώνουν αποφυγή λείας. Μηδενικές τιμές υποδηλώνουν καμία επιλογή.

Figure 7.4: Vanderploeg's (*E**) prey selectivity for the various food components found in the guts of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis (October 2006-September 2007). Positive values indicate prey selection and negative values indicate avoidance of prey. Non-selective feeding is indicated by values zero.

7.3.7. Στρατηγική διατροφής

Τα αποτελέσματα της γραφικής μεθόδου Costello τροποποιημένης από τον Amundsen et al. (1996) για τη περιγραφή της διατροφικής στρατηγικής του *E. pygmaeus* παρουσιάζονται στην εικόνα 7.5. Παρατηρώντας τηη παρακάτω εικόνα εμφανίζονται δύο ομάδες: Η πρώτη ομάδα αντιπροσωπεύεται κυρίως από τα κωπήποδα, ακολουθούμενα από προνύμφες της οικογένειας chironomidae. Τα κωπήποδα παρουσίασαν υψηλή ειδική αφθονία και συχνότητα εμφάνισης σε σχέση με τις άλλες λείες και μπορούν να θεωρηθούν το επικρατέστερο είδος στο διαιτολόγιο του λουρογωβιού. Η δεύτερη ομάδα απαρτίζεται από τους υπόλοιπους τύπους τροφών και υποδηλώνει την ύπαρξη σπάνιων ή λιγότερα απαντημένων λειών στο στομαχικό περιεχόμενο των ψαριών και ότι καταναλώνονται σποραδικά.

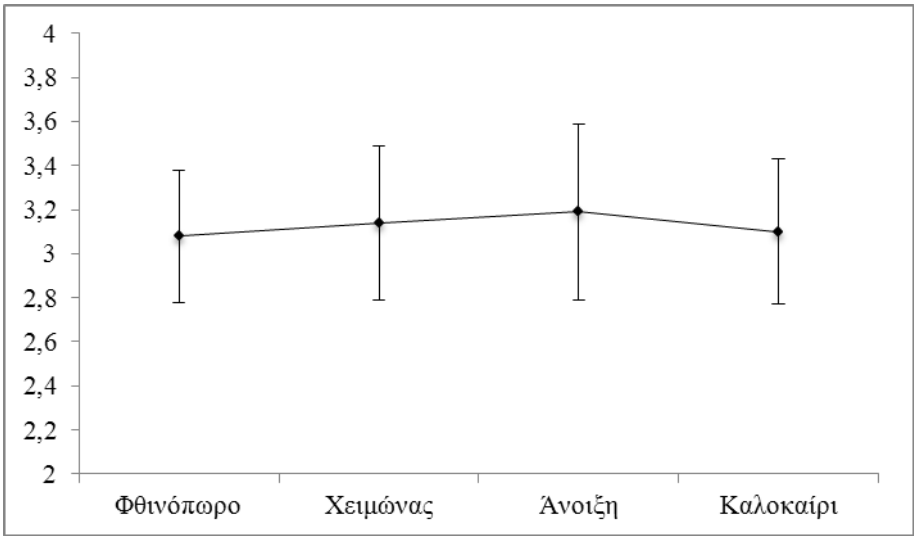
Σχετικά με τη στρατηγική στην διατροφή που ακολουθεί το είδος, εμφανίζεται να υπάρχει σε ένα μεγάλο ποσοστό εξειδίκευση στη θήρευση των ζωοπλαγκτικών καρκινοειδών (κωπήποδα) και να ακολουθεί γενικευμένη στρατηγική διατροφής για τη σύλληψη μεμονωμένων τροφικών κατηγοριών (π.χ. *A. rectangula*, *Daphnia* spp. οστρακώδη, γαστερόποδα, δίπτερα ν.).



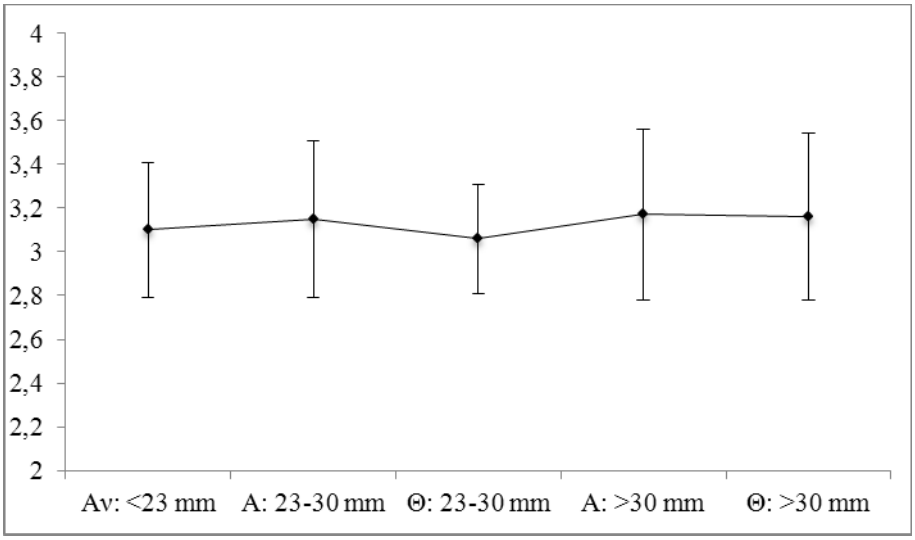
Εικόνα 7.5: Σχέση της ειδικής αφθονίας (%Pi) και της εμφάνισης συχνότητας των τροφικών κατηγοριών (%FO) που βρέθηκαν στη δίαιτα του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007). Το διάγραμμα βασίζεται στη τροποποιημένη γραφική μέθοδο Costello (Amundsen et al. 1996).
Figure 7.5: Relationship among prey specific abundance (%Pi) and frequency of occurrence (%FO) of food categories of *E. pygmaeus* diet in lake Pamvotis (October 2006-September 2007). Plots based on the modified Costello graphical method (Amundsen et al. 1996).

7.3.8. Τροφικό επίπεδο

Το τροφικό επίπεδο (TROPH) που υπολογίστηκε για το *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα με βάση τη σύνθεση του διαιτολογίου του και με τη χρήση του λογισμικού TrophLab (Pauly et al. 2000) είναι 3,13±0,34. Το TROPH του λουρογωβιού κυμάνθηκε από 3,08 το φθινόπωρο ώς 3,19 την άνοιξη (Εικόνα 7.6). Το TROPH ανά κλάση μεγέθους κυμάνθηκε από 3,05±0,23 ώς 3,17±0,39 (Εικόνα 7.7). Τα υψηλότερα TROPH παρατηρήθηκαν στις μεγαλύτερες κλάσεις μήκους.



Εικόνα 7.6: Διακύμανση του τροφικού επιπέδου (TROPH ±SE) του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα ανά εποχή (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007).
Figure 7.6: Variation of trophic level (TROPH ±SE) of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis per season (October 2006-September 2007).



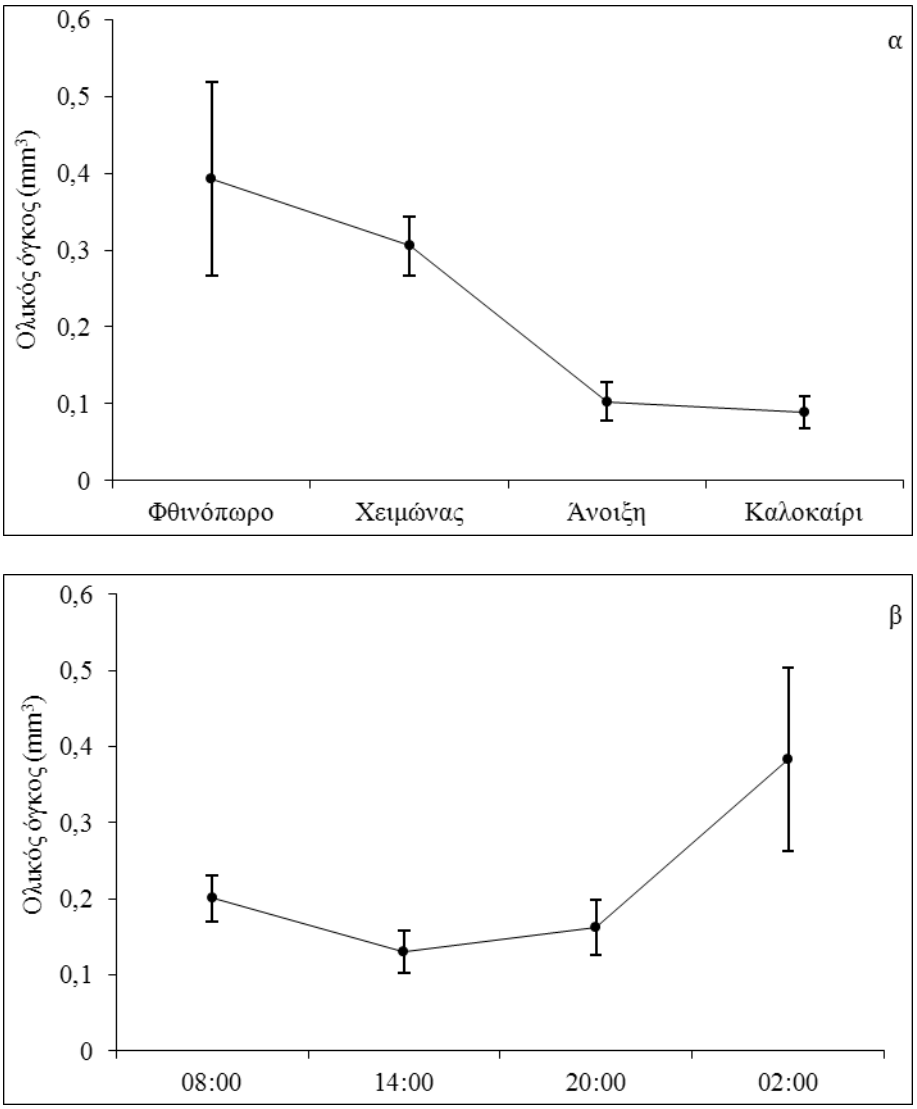
Εικόνα 7.7: Διακύμανση του τροφικού επιπέδου (TROPH ±SE) του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα ανά κλάση μήκους (TL, mm) (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007) (Αν: Ανώριμα, Α: Αρσενικά, Θ: Θηλυκά).
Figure 7.7: Variation of trophic level (TROPH ±SE) of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis per length class (TL, mm) (October 2006-September 2007) (Αν: Immature, Α: Males, Θ: Females).

7.3.9. Ημερονύκτιο πρότυπο διατροφής

Το ποσοστό των κενών στομαχιών διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των χρονικών διαστημάτων (χ^2=13,81, p<0,001). Ο υψηλότερος δείκτης κενότητας καταγράφηκε στα απογευματινά δείγματα (30%) και ακολούθησαν τα ποσοστά των

μεσημεριανών (23%), πρωινών (14%) και νυχτερινών (12%) δειγμάτων. Η εφαρμογή της δοκιμασίας Kruskal-Wallis έδειξε τη στατιστικά σημαντική επίδραση της εποχής (Kruskal-Wallis ANOVA, n=317, p<0.001) και των χρονικών διαστημάτων του εικοσιτετραώρου (Kruskal–Wallis ANOVA, n=317, p<0.001) στο συνολικό βάρος των στομαχικών περιεχομένων των θηρευτών. Οι τιμές αυτές συνιστούν την ύπαρξη διαφορών στο συνολικό βάρος των στομαχικών περιεχομένων των ατόμων ανά εποχή με τα δεδομένα να παρουσιάζουν φθίνουσα πορεία κατά τη διάρκεια των θερινών μηνών με τη μικρότερη τιμή να εμφανίζεται το καλοκαίρι (Εικόνα 7.8α.). Επίσης, οι τιμές δείχνουν ότι η ένταση της τροφικής δραστηριότητας δεν είναι ίδια καθόλη τη διάρκεια του ημερονυκτίου. Στην εικόνα 7.8β, παρατηρείται ότι το μικρότερο συνολικό βάρος των στομαχικών περιεχομένων εντοπίζεται τις μεσημεριανές ώρες. Η υψηλότερη μέση τιμή του βάρους των στομαχικών περιεχομένων δείχνει μια τάση για έντονη εκμετάλλευση των τροφικών αποθεμάτων από το *E. pygmaeus* κατά τις νυκτερινές ώρες.

Μετά τη διόρθωση Bonferroni, η δοκιμασία Mann-Whitney έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά στο συνολικό βάρος του στομαχικού περιεχομένου που κατανάλωσαν οι γωβιοί τις νυχτερινές ώρες σε σύγκριση με τα υπόλοιπα διαστήματα του ημερονυκτίου. Τα χρονικά διαστήματα διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους με τα πρωινά δείγματα να έχουν μεγαλύτερες τιμές από τα δείγματα που συλλέχθηκαν τις μεσημεριανές (Mann-Whitney *U*-test, n=154, p<0.05) και απογευματινές ώρες (Mann-Whitney *U*-test, n=160, p<0.05). Το συνολικό βάρος που καταλαμβάνουν οι λείες στα νυχτερινά δείγματα είχε στατιστικά σημαντική διαφορά με τα δείγματα των μεσημεριανών (Mann-Whitney *U*-test, n=157, p<0.05) και απογευματινών ωρών (Mann-Whitney *U*-test, n=163, p<0.05). Τα πρωινά-νυκτερινά δείγματα (Mann-Whitney *U*-test, n=163, p>0.05) και μεσημεριανά-απογεύματινά είχαν παρόμοιο βάρος στομαχικού περιεχομένου (Mann-Whitney *U*-test, n=154, p>0.05).



Εικόνα 7.8: Μέση τιμή του συνολικού βάρους των στομαχικών περιεχομένων των ατόμων του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα (Οκτώβριος 2006-Σεπτέμβριος 2007), (α) Εποχική διακύμανση της μέσης τιμής του συνολικού βάρους των στομαχικών περιεχομένων, (β) Ημερονύκτια διακύμανση της μέσης τιμής του συνολικού όγκου των στομαχικών περιεχομένων.

Figure 7.8: Mean total biomass of food in *E. pygmaeus'* stomachs in lake Pamvotis (October 2006-September 2007), (a) Seasonal variation in the mean total biomass of food in the stomachs, (b) Diel variation in the mean total biomass of food for 6-h intervals.

7.4. Συζήτηση

Η μελέτη της έντασης τροφοληψίας δεν παρουσίασε σημαντικές διακυμάνσεις στη διάρκεια του έτους. Το γεγονός ότι τα άτομα του *E. pygmaeus* διατήρησαν την ίδια τροφική δραστηριότητα στη λίμνη Παμβώτιδα μπορεί να αποδοθεί στις σταθερές κλιματικές συνθήκες που επικράτησαν εκείνη την περίοδο (Kagalou et al. 2006). Με τον τρόπο αυτό, τα ψάρια ήταν σε θέση να εκμεταλλευτούν τους διαθέσιμους τροφικούς πόρους προκειμένου να καλύψουν τις μεταβολικές τους ανάγκες. Η ανάλυση των δεδομένων έδειξε ότι τα περισσότερα άτομα *E. pygmaeus* με κενό στομάχι βρέθηκαν την άνοιξη και το καλοκαίρι. Αναπαραγωγικά γεγονότα όπως η ωοαπόθεση θα μπορούσαν να αποτελούν την κύρια αιτία για την εμφάνιση μεγαλύτερων τιμών του δείκτη κενότητας (Δ.Κ.Σ.) την άνοιξη και στις αρχές του καλοκαιριού, καθώς πολλά ψάρια που είναι πολλαπλοί ωοαποθέτες εμφανίζουν μεταβολή στην ένταση της τροφοληψίας κατά τη διάρκεια της ωρίμασης των γονάδων ή της ωοαπόθεσης (Link & Burnett 2001). Η ένταση της τροφικής δραστηριότητας αποκάλυψε μικρότερο αριθμό κενών στομαχιών στα μεγάλα αρσενικά (>30 mm) σε σχέση με τα υπόλοιπα άτομα. Σύμφωνα με τους Andersson (1994) και Lindström (1998) οι χαμηλές τιμές του δείκτη κενότητας που παρατηρήθηκαν στην ομάδα των 'αμμογωβιών' απορρέουν από το γεγονός ότι τα αρσενικά άτομα διατηρούνται σε καλή κατάσταση εξαιτίας της υψηλής τροφοληψίας που δείχνουν, με αποτέλεσμα να διαθέτουν αρκετό χρόνο για να ζευγαρώσουν με τα θηλυκά (ερωτοτροπία) και να παρέχουν γονική φροντίδα στα αβγά τους.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της σύνθεσης της διατροφής φαίνεται ότι τα άτομα του *E. pygmaeus* δείχνουν προτίμηση στη θήρευση κυρίως ζωοπλαγκτικών ειδών αλλά και βενθικών μακροασπονδύλων. Ειδικότερα, τα κωπήποδα κατείχαν πρωταγωνιστικό ρόλο στο διαιτολόγιο του λουρογωβιού, ακολουθούμενα από τις προνύμφες της οικογένειας chironomidae, τα κλαδόκερα, τα γαστερόποδα, τις υπόλοιπες κατηγορίες εντόμων και τα φυτικά υλικά. Τα κωπήποδα αποτέλεσαν την πιο συχνά εμφανιζόμενη και με μεγαλύτερη συμμετοχή στην αριθμητική μέθοδο λεία. Αντίθετα, οι προνύμφες χειρονομίδων και τα έντομα (κυρίως νύμφες διπτέρων) υπερίσχυσαν όσον αφορά την κατά βάρος σύσταση της διατροφής. Διάφοροι συγγραφείς έχουν μελετήσει τη διατροφική στρατηγική των γωβιών, όπως του *Pomatoschistus microps* (Gee et al. 1985, Pihl 1985, del Norte Campos & Temming 1994, Salgado et al. 2004, Leitão et al. 2006), του *Pomatoschistus minutus* (Hamerlynck & Cattrijsse 1994), του *Knipowitschia caucasica* (Georghiev 1964; Troitskii

& Tsunikova 1978, Kevrekidis et al. 1990) και του *Padogobius bonelli* (Bo et al. 2010). Αν και η σύνθεση του διαιτολογίου των *P. microps, P. minutus, K. caucasica* και *P. bonelli* περιλαμβάνει κυρίως πολύχαιτους, μυσιδώδη, μικρές γαρίδες, αμφίποδα και έντομα εκτός από μικρόσωμα καρκινοειδή και δίθυρα, το *E. pygmaeus* έχει αναφερθεί ότι καταναλώνει πρωταρχικά καρκινοειδή και βενθικά ασπόνδυλα (Daoulas et al. 1993), γεγονός το οποίο επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής.

Το διατροφικό φάσμα του λουρογωβιού βρέθηκε σχετικά στενό. Η δίαιτά του δεν ποικίλλει από ποιοτικής άποψης, αλλά μεταβάλλεται περισσότερο η ποσοτική της σύνθεση. Στις εποχικές διακυμάνσεις, οι οποίες παρατηρήθηκαν με βάση το IRI, κυρίαρχο λόγο φαίνεται να διαδραματίζουν τα κωπήποδα, τα οποία βρέθηκαν σε υψηλό ποσοστό στο διαιτολόγιο το φθινόπωρο και ιδιαίτερα το χειμώνα. Μάλιστα, την περίοδο της άνοιξης και του καλοκαιριού που η λεία αυτή εμφάνισε τη χαμηλότερη σημασία στο στομαχικό περιεχόμενο των ατόμων, ο λουρογωβιός μετατόπισε τις προτιμήσεις του σε τροφικές κατηγορίες όπως οι χειρονομίδες και τα κλαδόκερα. Οι μεταβολές αυτές θα μπορούσαν να συσχετιστούν με αλλαγές στην αφθονία των διαθέσιμων ομάδων λείας στο περιβάλλον παρά στις εποχικές μεταστροφές του *E. pygmaeus* στις διάφορες τροφικές κατηγορίες. Η διακύμανση αυτή του ποσοστού των κωπηπόδων στη δίαιτα μοιάζει να είναι σύμφωνη με την αντίστοιχη διακύμανση της ζωοπλαγκτικής κοινότητας στο περιβάλλον, καθώς φαίνεται ότι τα κωπήποδα επικρατούν στη σύνθεση του πληθυσμού του ζωοπλαγκτού το χειμώνα (Antonopoulos et al. 2008). Παρόμοια συμπεράσματα μπορούν να εξαχθούν για την εποχική κατανάλωση των προνυμφών της οικογένειας chironomidae και των κλαδοκέρων. Πληροφορίες από τις βενθικές κοινωνίες στην περιοχή έρευνας (Kagalou et al. 2006) μας επιτρέπουν να συσχετίσουμε την υψηλή αφθονία των χειρονομίδων στο περιβάλλον στο τέλος της άνοιξης, με τη συμμετοχή που έχουν ως λείες στο στομαχικό περιεχόμενο των ατόμων του *E. pygmaeus*. Επίσης, λαμβάνοντας υπόψη την επικράτηση των κλαδοκέρων που παρατηρείται τους καλοκαιρινούς μήνες (Antonopoulos et al. 2008) γίνεται φανερό ότι οι λουρογωβιοί ακολουθούν επιλεκτική θήρευση και τείνουν να τρώνε τις επικρατέστερες και πιο προσιτές λείες. Η χρήση του δείκτη ποικιλότητας Shannon-Wiener ανέδειξε εποχική μεταβολή της ποικιλότητας του στομαχικού περιεχομένου του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα, όπως έχει αναφερθεί στην ίδια περιοχή για το *Gambusia holbrooki* (Gkenas et al. 2012). Κατά την παρούσα μελέτη, η ποικιλότητα της τροφής παρουσίασε μεγαλύτερες τιμές την άνοιξη και μικρότερες το καλοκαίρι. Η υψηλή τιμή του δείκτη ποικιλότητας την άνοιξη δηλώνει μια

προσπάθεια του *E. pygmaeus* να αντισταθμίσει τις αυξανόμενες ενεργειακές απαιτήσεις της αναπαραγωγικής περιόδου.

Το μέγεθος της λείας που καταναλώνεται από ένα είδος ψαριού καθορίζεται από πολλούς παράγοντες που σχετίζονται με τη θηρευτική συμπεριφορά, τη δομή, τα μορφολογικά χαρακτηριστικά αλλά και με τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της λείας. Όμως, έχει βρεθεί ότι σε φυσικές συνθήκες τα ψάρια τρέφονται με οργανισμούς σημαντικά μικρότερους από το μέγιστο μέγεθος που βάσει των χαρακτηριστικών τους έχουν την ικανότητα να συλλάβουν (Bence & Murdoch 1986; Townsend & Winfield 1985). Οντογενετικές μεταβολές παρατηρήθηκαν στο διαιτολόγιο του *E. pygmaeus* μεταξύ των διαφορετικών ομάδων μήκους. Τα μικρότερα σε μέγεθος άτομα κατανάλωσαν ένα στενό φάσμα οργανισμών μικρών, κυρίως διαστάσεων, ενώ με την αύξηση του μεγέθους και των τροφικών αναγκών του λουρογωβιού το εύρος του τροφικού φάσματος και το μέγεθος των λειών μεγάλωσε. Αυτή η μεταστροφή στο διαιτολόγιο του *E. pygmaeus* θα μπορούσε επίσης να αποδοθεί στο ότι τα ανώριμα άτομα τρέφονται με οργανισμούς των οποίων το σώμα είναι μαλακό, όπως τα μικρόσωμα καρκινοειδή (*A. rectangula, C. sphaericus*) και οι προνύμφες χειρονομίδων, ενώ στη δίαιτα των ενήλικων ατόμων υπεισέρχονται μεγαλύτερες λείες με σκληρό σώμα, όπως τα γαστερόποδα, τα μεγαλόσωμα κλαδόκερα και τα έντομα (κυρίως νύμφες διπτέρων και προνύμφες εφημεροπτέρων). Όλες οι κλάσεις μεγέθους παρουσίασαν περιορισμένο τροφικό εύρος, με το μέγεθος των λειών να αυξάνεται σταδιακά, ακολουθώντας σχεδόν την αύξηση του μήκους σώματος του θηρευτή. Η μικρή κατανάλωση μεγαλύτερων τροφών από τα νεαρά άτομα οφείλεται σε μορφολογικές διαφορές του στοματικού ανοίγματος και του μήκους του στομαχιού (Bergmann & Motta 2005, Ribeiro et al. 2007). Ο υψηλός συντελεστής τροφικής ποικιλότητας που παρουσίασαν τα ενήλικα άτομα αντικατοπτρίζει το πλεονέκτημα των μεγάλων ατόμων να εκμεταλλεύονται μεγάλο φάσμα των τροφικών πόρων διαμέσου του διαιτολογίου (τροφική διάσταση) όσο και της μεγάλης κινητικότητας και υψηλής διασποράς τους στο χώρο (χωρική διάσταση) (Vassilopoulou 2006).

Τα θηλυκά παρουσίασαν ευρύτερο διαιτολογικό φάσμα σε σχέση με τα αρσενικά, όπως αυτό διαπιστώθηκε με βάση τους δείκτες ποικιλότητας του στομαχικού περιεχομένου του *E. pygmaeus*. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι τα αρσενικά, εξαιτίας της υπεράσπισης του χώρου κυριαρχίας τους και της παροχής γονικής φροντίδας στα αβγά κατά την αναπαραγωγική περίοδο (Daoulas et al. 1993, Gkenas et al. 2010) περιορίζουν τη διατροφή τους στις τροφές που είναι διαθέσιμες γύρω από τη φωλιά. Έτσι,

τα θηλυκά άτομα μεγαλύτερου μεγέθους εκμεταλλεύονται το εξειδικευμένο διαιτολόγιο των μεγάλων αρσενικών και διευρύνουν το τροφικό τους φάσμα, επιλέγοντας βενθικές λείες όπως οι χειρονομίδες, τα γαστερόποδα και τα κλαδόκερα. Μια παρόμοια αλλαγή αναφέρθηκε για το είδος *P. minutus* από τους Salgado et al. (2004), με τους γωβιούς να δείχνουν την προτίμησή τους σε τροφές με πλούσιο θερμιδικό περιεχόμενο, όπως οι πολύχαιτοι, τα ισόποδα και τα αμφίποδα σε σύγκριση με κωπήποδα για να ικανοποιήσουν τις αυξημένες ενεργειακές τους απαιτήσεις για σωματική αύξηση και αναπαραγωγή. Δεν παρατηρήθηκαν αβγά γωβιών στο στομαχικό περιεχόμενο του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα, το οποίο σύμφωνα με τους Hammerlynck & Cattrijsse (1994) μπορεί να υποδηλώνει την απουσία του φαινομένου του 'υιικού κανιβαλισμού' (filial cannibalism) δηλαδή τη θήρευση αβγών του ίδιου είδους από τα μεγαλύτερα άτομα.

Παράλληλα, σημειώθηκε η παρουσία υψηλής τροφικής αλληλοεπικάλυψης μεταξύ των ανώριμων (<23 mm)-μεσαίου μεγέθους (23-30 mm) ατόμων και μεγάλων αρσενικών-θηλυκών (>30 mm), οι οποίοι εκμεταλλεύονται τις ίδιες τροφικές κατηγορίες μέσα στο περιβάλλον που ζουν. Αντίθετα η χαμηλή τροφική αλληλοεπικάλυψη στο διαιτολόγιο των μεσαίων θηλυκών (23-30 mm), στη σύγκριση με εκείνα των μεσαίων αρσενικών (23-30 mm) και των μεγάλων ατόμων (>30 mm), ενισχύει την άποψη ότι υπάρχει κάποια διαφοροποίηση της διατροφής. Αυτός ο ενδοειδικός διαχωρισμός μπορεί να αποδοθεί στη διαφορετική τροφική στρατηγική που εμφανίζουν τα μεσαία θηλυκά (23-30 mm) με τη προτίμηση σε διαφορετικές τροφικές κατηγορίες από το ίδιο ενδιαίτημα.

Ο δείκτης επιλεκτικότητας (E*) (Vanderploeg & Scavia 1979) έδειξε ότι η επιλογή της κάθε λείας εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα των θηραμάτων και το μέγεθος των ψαριών. Συνολικά, τα μικρότερα σε μέγεθος άτομα έδειξαν θετική προτίμηση ως προς τα μικρόσωμα κλαδόκερα (*C. sphaericus* και *A. rectangula*), ενώ οι μεγαλύτερου μεγέθους θηρευτές εμφάνισαν ιδιαίτερη προτίμηση ως προς μια ευρύτερη ποικιλία θηραμάτων (μεγαλόσωμα κλαδόκερα, έντομα, γαστερόποδα). Επομένως, με όρους σωματικού μεγέθους της λείας, σκληρότητας σώματος και ευκολίας σύλληψης, η εκάστοτε δίαιτα μπορεί να χαρακτηριστεί αποδοτική για τους θηρευτές διαφορετικού μήκους σώματος (μικρόσωμοι ή μεγαλόσωμοι λουρογωβιοί). Οι υψηλές τιμές του συντελεστή *E** για ορισμένες τροφικές κατηγορίες, όπως τα κωπήποδα και οι προνύμφες της οικογένειας Chironomidae υποδηλώνουν τη σημασία αυτών των θηραμάτων ως βασική πηγή τροφών για το είδος *E. pygmaeus*. Παρόλο τη θετική προτίμηση του λουρογωβιού για τις βενθικές λείες, όπως τα γαστερόποδα (Planorbidae) και τα οστρακώδη, η αρνητική τιμή *E** για τα

δίθυρα (Sphaeriidae) φανερώνει την αποφυγή του συγκεκριμένου θηράματος. Αυτή η προτίμηση μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι τα άτομα του *E. pygmaeus* που δεν έχουν εξειδικευμένες σιαγόνες δεν καταναλώνουν συνήθως διθυρα (Zander 1979).

Αναλύοντας τη σύνθεση του διαιτολογίου, συμπεραίνουμε ότι το είδος έχει ομοιογενή διατροφική στρατηγική και περιορισμένο τροφικό εύρος. Με τη βοήθεια της τροποποιημένης μεθόδου Costello (Amundsen et al. 1996) ο πληθυσμός του λουρογωβιού εμφανίζει ένα φάσμα διατροφικών στρατηγικών που αντιστοιχεί κυρίως σε εξειδίκευση. Παρόλα αυτά, η γενικευμένη θήρευση υπάρχει για ένα σχετικά μεγάλο εύρος περιστασιακών λειών. Στην περιοχή μελέτης, τα άτομα του *E. pygmaeus* έδειξαν την προτίμησή τους στα κωπήποδα και τις προνύμφες χειρονομίδων με τις άλλες τροφικές ομάδες να εμφανίζονται στο διαιτολόγιο του είδους λιγότερο. Η τροφοληψία του *E. pygmaeus* αποκαλύπτει την εστίασή του στην προτίμηση δύο ομάδων λείας, ακολουθούμενη από μια γενικευμένη στρατηγική που την προσαρμόζει ανάλογα με την εποχική διαθεσιμότητα των θηραμάτων.

Το τροφικό επίπεδο εκφράζει τη θέση ενός οργανισμού στο τροφικό πλέγμα του οικοσυστήματος όπου διαβιεί. Σύμφωνα με την κατάταξη των ψαριών σε λειτουργικές ομάδες με βάση το TROPH τους (sensu Stergiou & Karpouzi 2002) ο λουρογωβιός μπορεί να χαρακτηριστεί ως παμφάγο είδος με προτίμηση στους ζωικούς οργανισμούς. Το τροφικό επίπεδο που υπολογίστηκε ήταν στο ίδιο εύρος με αυτό που αναφέρεται στη βιβλιογραφία για άλλα είδη 'αμμογωβιών' με το *P. minutus* και το *P. microps* να έχουν τιμές 3,2 και 3,3 αντίστοιχα (Thorman & Wiederholm 1986). Οι εποχικές διαφορές του τροφικού επιπέδου των ατόμων του *E. pygmaeus* ήταν πολύ μικρές. Η αύξηση του τροφικού επιπέδου την άνοιξη ίσως είναι απόρροια της αυξημένης εκμετάλλευσης των τροφικών πόρων από το περιβάλλον για να ικανοποιήσει τις μεταβολικές του ανάγκες. Επίσης, τα μεγάλα αρσενικά και θηλυκά άτομα του *E. pygmaeus* είχαν υψηλότερο τροφικό επίπεδο. Η αύξηση του τροφικού επιπέδου ενός είδους σε σχέση με το μήκος παρατηρείται σε πολλά είδη κατά τους Stergiou και Karpouzi (2002). Η ερμηνεία της βασίζεται στη θεωρία της επιλογής της λείας, σύμφωνα με την οποία για τα περισσότερα ψάρια το μέγεθος της λείας αυξάνεται με την ανάλογη αύξηση του μεγέθους του θηρευτή.

Η μελέτη του ημερήσιου διατροφικού κύκλου αποκάλυψε ότι η τροφική δραστηριότητα του *E. pygmaeus* αλλάζει με την εποχή, δεδομένου ότι το είδος παρουσιάζει μεταστροφή των τροφικών του συνηθειών ως αντίδραση στη μεταβαλλόμενη διαθεσιμότητα των τροφικών αποθεμάτων. Επιπλέον, η διακύμανση του στομαχικού

περιεχομένου των λουρογωβιών υποδηλώνει διαφορετικό ρυθμό όσον αφορά την ημερήσια τροφοληψία του. Το είδος εμφανίζεται να καταναλώνει τις λείες του κυρίως τη νύχτα και τις πρώτες πρωινές ώρες, όπου η ένταση του φωτός είναι χαμηλή. Η κρυπτική συμπεριφορά που επιδεικνύει ο λουρογωβιός είναι απόκριση στις εναλλαγές φωτός και σκότους κατά τη διάρκεια του εικοσιτετραώρου. Το γεγονός αυτό έχει ώς αποτέλεσμα το είδος να αναπτύσσει άλλες τακτικές εντοπισμού της λείας, όπως για παράδειγμα να κρύβεται κάτω από το ίζημα όπου παραμονεύει τα υποψήφια θηράματα (Miller, 2004). Παρόμοια παρατήρηση έγινε από τους Grabowska και Grabowski (2005) για τη διατροφή ενός άλλου θηρευτή, του *Neogobius gymnotrachelus* που έδειξε ιδιαίτερη κινητικότητα τις βραδινές ώρες και χαρακτηρίστηκε ως νυκτόβιος θηρευτής. Αντίθετα, στα είδη *P. micros* και *P. minutus* η τροφική δραστηριότητα είναι μικρή όταν επικρατεί σκοτάδι, αλλά αυξάνεται σημαντικά κατά το σούρουπο και την αυγή (del Norte Campos & Temming 1994).

Ολοκληρώνοντας τη συζήτηση των αποτελεσμάτων που προήλθαν από τη μελέτη των τροφικών συνηθειών του *E. pygmaeus*, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η διατροφή του αποτελείται κυρίως από καρκινοειδή (κωπήποδα) και διάφορα βενθικά μακροασπόνδυλα. Διαλέγοντας από μία ποικιλία θηραμάτων που μπορεί είναι να εύκολα ή δύσκολα στη σύλληψή τους, ο λουρογωβιός φαίνεται να τρέφεται χωρίς αμφιβολία με τα πιο προσιτά. Παρατηρήθηκαν κάποιες μετατοπίσεις στην προτίμηση σε μεγαλύτερους ή μικρότερους οργανισμούς ανάλογα με το μήκος σώματος και το φύλο, οι οποίες αφενός ευνοούν το μικρότερο τροφικό ανταγωνισμό, αλλά και προμηθεύουν το είδος με το απαραίτητο ενεργειακό υπόβαθρο. Η στρατηγική που ακολουθεί ο λουρογωβιός μπορεί να χαρακτηριστεί ως ‘ειδική’, αν και μερικές φορές παρατηρείται θήρευση σε περιστασιακές λείες. Το είδος τρέφεται κυρίως τη νύχτα και νωρίς το πρωί, όταν υπάρχει χαμηλή ένταση φωτός. Πιθανότατα, η διαφορετική ένταση διατροφής που εκδηλώνει το *E. pygmaeus* κατά τη διάρκεια του ημερήσιου κύκλου να σχετίζεται με τη κρυπτική του συμπεριφορά.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ

ΤΩΝ ‘ΑΜΜΟΓΩΒΙΩΝ’

8.1. Εισαγωγή

Η ανάλυση του σχήματος μιας βιολογικής δομής παίζει σημαντικό ρόλο στην επίλυση αρκετών προβλημάτων. Πολλές βιολογικές διαδικασίες όπως η οντογένεση, η προσαρμογή σε τοπικούς γεωγραφικούς παράγοντες αλλά και η εξέλιξη στο χρόνο έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση αλλαγών σε κάποιους μορφολογικούς χαρακτήρες (Zelditch et al. 2004). Η ανάλυση του σχήματος τέτοιων χαρακτήρων είναι μια προσέγγιση, ώστε να κατανοήσουμε την αιτία αυτών των μορφολογικών διαφοροποιήσεων.

Οι μορφολογικοί χαρακτήρες έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στην ιχθυολογία για τη διερεύνηση των σχέσεων και των διαφορών ανάμεσα στις ποικίλες ταξινομικές ομάδες (Turan et al. 2006, Ferrito et al. 2007). Ακόμα και σήμερα μορφολογικές μελέτες εξακολουθούν να έχουν σημαντικό ρόλο στην αναγνώριση των αποθεμάτων, ενώ οι σταθερές διαφορές στο σχήμα μεταξύ ομάδων των ψαριών μπορεί να αποκαλύψουν διαφορετικούς ρυθμούς σε αύξηση, θνησιμότητα και αναπαραγωγή που είναι απαραίτητοι για τη διάκριση των αποθεμάτων (Cadrin 2000, Turan et al. 2006).

Η φαινοτυπική πλαστικότητα είναι η ικανότητα που έχει ένας οργανισμός με δεδομένο γενότυπο να τροποποιεί το φαινότυπό του, δηλαδή το σύνολο των εμφανών χαρακτηριστικών του, τα οποία και τον χαρακτηρίζουν ως αντίδραση στις αλλαγές που πραγματοποιούνται στο περιβάλλον του (Thorpe 1987, Thompson 1991). Η μορφολογική διακύμανση μεταξύ των πληθυσμών των ψαριών συνδέεται με ένα σύνολο περιβαλλοντικών παραγόντων που περιλαμβάνει τη θερμοκρασία, την αλατότητα, το διαλυμένο οξυγόνο, το βάθος του νερού και την τρέχουσα ροή (Lindsey 1988, Turan et al. 2006).

Οι μορφομετρικοί και μεριστικοί χαρακτήρες είναι δύο τύποι μορφολογικών χαρακτηριστικών που χρησιμοποιούνται συχνά για να καθορίσουν την εξωτερική μορφολογία και να δείξουν ότι ειδικά μορφολογικά χαρακτηριστικά μπορούν να διακρίνουν πληθυσμούς από απομονωμένα οικοσυστήματα ή θαλάσσιες περιοχές (Wilde & Echelle 1997, Jerry & Caims 1998, Mamouris et al. 1998, Riffel & Schreiber 1998, Murta 2000, Brinsmead & Fox 2002, Cakic et al. 2002, Neves & Monteiro 2003, O'Reilly & Horn 2004, Ferrito et al. 2007). Οι μορφομετρικοί χαρακτήρες είναι συνεχή δεδομένα που περιγράφουν τη διακύμανση του μεγέθους και του σχήματος, ενώ οι μεριστικοί χαρακτήρες είναι διακριτά ή μη συνεχή δεδομένα, επαναλαμβανόμενα, από δομές που σταθεροποιούνται κατά την εμβρυϊκή ή λαρβική περίοδο (Ricker 1979).

Η μορφομετρική ανάλυση μπορεί να πραγματοποιηθεί με την εφαρμογή της Κλασικής Μορφομετρίας (Traditional Morphometrics) και της Γεωμετρικής Μορφομετρίας (Geometric Morphometrics). Η κλασική μορφομετρία περιλαμβάνει κυρίως την εφαρμογή πολυμεταβλητών στατιστικών αναλύσεων σε πακέτα δεδομένων μορφολογικών μεταβλητών. Χρησιμοποιούνται κυρίως γραμμικές αποστάσεις μεταξύ σημείων αλλά και αναλογίες ή ακόμη και γωνίες (Rohlf & Marcus 1993). Για την ανάλυση τέτοιων δεδομένων χρησιμοποιούνται στατιστικές αναλύσεις, όπως η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Components Analysis, PCA), η Παραγοντική Ανάλυση (Factor Analysis, FA), η Ανάλυση Κανονικών Μεταβλητών (Canonical Variates Analysis, VCA) και η Διαχωριστική Ανάλυση (Discriminant Analysis, DA).

Μετά από ανασκόπηση της βιβλιογραφίας διαπιστώθηκε ότι οι μελέτες που ασχολούνται με τη μορφομετρική ανάλυση των 'αμμογωβιών' είναι ελάχιστες (Stefanii 1997, 2000). Αν και μελέτες στη μορφολογία έχουν γίνει από αρκετούς ερευνητές (Economidis & Miller 1990, Ahnelt 1995, McKay & Miller 1997, Turan et al. 2005, Miller 2004, Kovačić 2005, Kovačić & Šanda 2007, Miller & Šanda 2008, Miller 2009, Šanda & Kovačić 2009, Ahnelt 2011), αυτές περιορίζονταν στην περιγραφή της μορφολογίας του είδους (μετρήσεις σωματικών μερών, οστεολογικές δομές, αριθμοί σπονδύλων κτλ.), καθώς και στη συστηματική κατάταξη των ειδών μέσα από την ανάγνωση των αισθητήριων οργάνων και των κεφαλικών πόρων.

Αρκετοί ερευνητές έχουν περιγράψει την ύπαρξη υψηλού επιπέδου μορφολογικής ποικιλότητας σε γενετικά ομοιογενείς πληθυσμούς (Ryman et al. 1984, Kinsey et al. 1994; Tudela 1999), επιβεβαιώνοντας κατ' αυτόν τον τρόπο τη σημαντική επίδραση του περιβάλλοντος. Με αυτή τη λογική επιλέχτηκαν διαφορετικοί πληθυσμοί των 'αμμογωβιών', προκειμένου να διερευνηθούν οι παράγοντες εκείνοι που επιδρούν στη μορφολογική τους ποικιλομορφία. Σε αυτό το κεφάλαιο, θα μελετηθεί η μορφομετρία, τα μεριστικά χαρακτηριστικά και η μορφολογική ποικιλότητα της ομάδας 'αμμογωβιοί' με τη χρήση πολυδιάστατων μεθόδων ανάλυσης. Ο στόχος είναι να διαπιστωθεί κατά πόσο οι μορφομετρικοί χαρακτήρες που χρησιμοποιήθηκαν είναι σε θέση να διακρίνουν τους πληθυσμούς μεταξύ τους και τέλος να διαπιστωθεί κατά πόσο μπορούν τα μορφομετρικά δεδομένα να ερμηνεύσουν την εξελικτική πορεία των 'αμμογωβιών'.

8.2. Υλικά και μέθοδοι

8.2.1. Συλλογή δειγμάτων

Για τη μελέτη της μορφομετρίας και της μορφολογικής ποικιλομορφίας συλλέχθηκαν δείγματα γωβιών της ομάδας 'αμμογωβιοί' από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές της Ελλάδας (Εικόνα 8.1) κατά την περίοδο 2006-2009. Επίσης δείγματα γωβιών συλλέχθηκαν από τη λιμνοθάλασσα της Βενετίας (Αδριατική). Οι δειγματοληψίες έγιναν με τη χρήση απόχης ή με τη χρήση ηλεκτραλιείας, ενώ τα άτομα θανατώνονταν αμέσως. Κατόπιν μεταφέρονταν στο εργαστήριο, όπου διατηρούνταν σε ειδικά δοχεία μέχρι τη μελέτη τους. Στο πίνακα 8.1 φαίνονται συνολικά οι περιοχές δειγματοληψίας (17), ο αριθμός ατόμων (269) που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη από κάθε περιοχή και ο κωδικός κάθε περιοχής έτσι όπως χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση της μορφομετρίας.

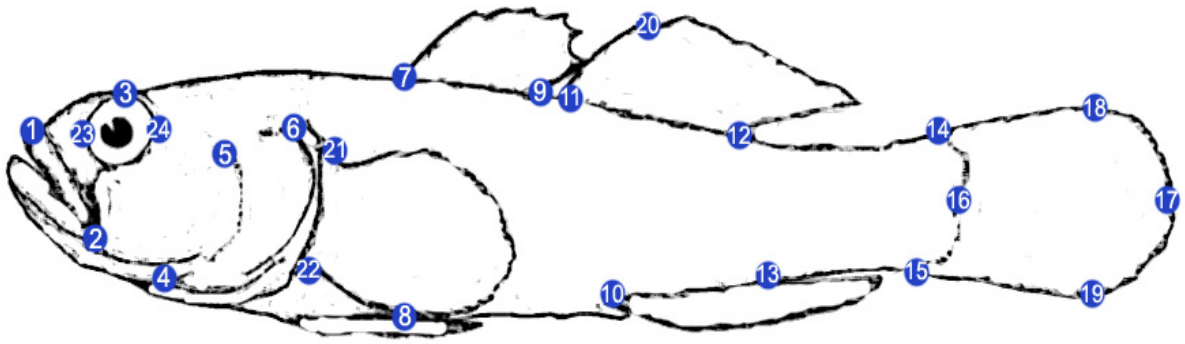
Πίνακας 8.1: Συλλεχθέντα άτομα γωβιών από κάθε περιοχή, καθώς και ο αριθμός των ατόμων που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση της μορφομετρίας κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Table 8.1: Collected goby individuals from each sampling region, as well as the number of individuals that has been used for morphometric analysis during the present study.

Κωδικός	Είδος	Περιοχή	Αριθμός ατόμων (n)
DRE	*K. caucasica*	Λ/Θ Δράνα-Π. Εβρος	13
BIS	*K. caucasica*	Λ. Βιστωνίδα	10
BANK	*K. caucasica*	Λ/Θ Βάσσοβα-Π. Νέστος	8
BOL	*K. caucasica*	Λ. Βόλβη	10
KAR	*K. thessala*	Λ. Κάρλα	15
KAF	*K. caucasica*	Λ. Καϊάφα	15
KOT	*K. caucasica*	Λ/Θ Κοτύχι	15
KAL	*K. caucasica*	Λ/Θ Καλογριά	15
TRIP	*E. pygmaeus*	Λ. Τριχωνίδα	15
AGD	*E. pygmaeus*	Π. Αγ. Δημήτριος	11
LOR	*E. pygmaeus*	Π. Λούρος	15
ARX	*E. pygmaeus*	Π. Άραχθος	15
ZHR	*E. pygmaeus*	Λ. Ζηρού	15
PAMP	*E. pygmaeus*	Λ. Παμβώτις	15
PAMK	*K. caucasica*	Λ. Παμβώτις	14
AXR	*K. milleri*	Π. Αχέροντας	15
KALP	*E. pygmaeus*	Π. Καλαμάς	7
KALK	*K. caucasica*	Π. Καλαμάς	5
VLK	*K. panizzae*	Venice Lagoon	15
VLPC	*P. canestrinii*	Venice Lagoon	15
VLPM	*P. marmoratus*	Venice Lagoon	12

Εικόνα 8.1: Χάρτης της Ελλάδας με τις περιοχές δειγματοληψίας. 1: Δράνα (DRE), 2: Βιστωνίδα (BIS), 3: Βάσσοβα (BANK), 4: Βόλβη (BOL), 5: Κάρλα (KAR), 6: Καϊάφα (KAF), 7: Κοτύχι (KOT), 8: Καλογριά (KAL), 9: Τριχωνίδα (TRI), 10: Αγ. Δημήτριος (AGD), 11: Λούρος (LOR), 12: Άραχθος (ARX), 13: Ζηρός (ZHR), 14: Παμβώτιδα (PAM), 15: Αχέροντας (AXR), 16: Καλαμάς (KAL), 17: Βενετία (VNC).
Figure 8.1: Map of Greece showing the sampling regions. 1: Drana (DRE), 2: Vistonida (BIS), 3: Vasova (BANK), 4: Volvi (BOL), 5: Karla (KAR), 6: Kaiafa (KAF), 7: Kotyhi (KOT), 8: Kalogria (KAL), 9: Trihonida (TRI), 10: Ag. Dimitrios (AGD), 11: Louros (LOR), 12: Arachthos (ARX), 13: Ziros (ZHR), 14: Pamvotida (PAM), 15: Aherontas (AXR), 16: Kalamas (KAL), 17: Venice (VNC).

8.2.2. Μετρήσεις μορφολογικών και μεριστικών χαρακτηριστικών

Στο εργαστήριο, τα ψάρια τοποθετήθηκαν με το ρύγχος του ψαριού κατευθυνόμενο προς το αριστερό χέρι του παρατηρητή. Κατόπιν φωτογραφήθηκαν με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή SONY cybershot. Οι φωτογραφίες εισήχθηκαν στο πρόγραμμα ανάλυσης εικόνας Image Pro 4.5 με τη βοήθεια του οποίου έγινε η τοποθέτηση των προκαθορισμένων οροσήμων (landmarks) (Εικόνα 8.2). Επιπρόσθετα καταγράφηκαν η διάμετρος του οφθαλμού, το ύψος του 2^{ου} ραχιαίου πτερυγίου και η απόσταση των ουραίων λοβών. Οι μεριστικοί χαρακτήρες που μετρήθηκαν ήταν: οι σκληρές και οι μαλακές ακτίνες του πρώτου (D1) και του δεύτερου ραχιαίου πτερυγίου (D2), του εδρικού (A) και του θωρακικού πτερυγίου (P).



Εικόνα 8.2: Ορόσημα που χρησιμοποιήθηκαν στη μορφομετρική ανάλυση των 'αμμογωβιών' κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Figure 8.2: Landmarks used in morphometric analysis of sand gobies' during the present study.

Σε κάθε άτομο έγιναν οι παρακάτω μετρήσεις, όπως φαίνεται στον πίνακα 8.2. Το πρωτόκολλο των μετρήσεων που τηρήθηκε, επιλέχθηκε να είναι όμοιο του πρωτοκόλλου που αναφέρεται στην εργασία του Simonovic (1999) για Ποντο-Κασπικά είδη γωβιών, ενώ τα ορόσημα τοποθετήθηκαν κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να δημιουργηθεί ένα δίκτυο αποστάσεων (Bookstein et al. 1985).

Πίνακας 8.2: Μορφολογικοί χαρακτήρες, αποστάσεις και ορόσημα που χρησιμοποιήθηκαν στην πολυμεταβλητή ανάλυση.
Table 8.2: Morphological characters, distances and landmarks used in multivariate analysis.

Απόσταση	Ορόσημα	Περιγραφή
D1	P1-P2	Ρύγχος-τέλος στόματος
D2	P1-P3	Ρύγχος-άνω μέρος κεφαλής
D3	P1-P4	Ρύγχος-κάτω άκρο βραγχιακού επικαλύμματος
D4	P1-P5	Ρύγχος-αρχή βραγχιακού επικαλύμματος
D5	P1-P6	Ρύγχος-άνω άκρο βραγχιακού επικαλύμματος
D6	P3-P4	Άνω μέρος κεφαλής-κάτω άκρο βραγχιακού επικαλύμματος
D7	P3-P7	Άνω μέρος κεφαλής-βάση 1^{ου} ραχιαίου
D8	P4-P5	Αρχή βραγχιακού επικαλύμματος-κάτω άκρο βραγχιακού επικαλύμματος
D9	P4-P6	Αρχή βραγχιακού επικαλύμματος-κάτω άκρο βραγχιακού επικαλύμματος
D10	P4-P7	Βάση 1^{ου} ραχιαίου-κάτω άκρο βραγχιακού επικαλύμματος
D11	P4-P8	Αρχή βραγχιακού επικαλύμματος-κάτω ύψος σώματος
D12	P7-P9	Πλάτος 1^{ου} ραχιαίου
D13	P7-P10	Βάση 1^{ου} ραχιαίου-βάση εδρικού
D14	P7-P11	Βάση 1^{ου} ραχιαίου-βάση 2^{ου} ραχιαίου
D15	P8-P9	Κάτω ύψος σώματος-τέλος 1^{ου} ραχιαίου
D16	P8-P10	Κάτω ύψος σώματος-βάση εδρικού
D17	P8-P11	Κάτω ύψος σώματος-τέλος εδρικού
D18	P9-P11	Τέλος 1^{ου} ραχιαίου-βάση 2^{ου} ραχιαίου
D19	P10-P11	Βάση εδρικού-βάση 2^{ου} ραχιαίου
D20	P10-P12	Βάση εδρικού-τέλος 2^{ου} ραχιαίου
D21	P10-P13	Πλάτος εδρικού
D22	P11-P12	Πλάτος 2^{ου} ραχιαίου
D23	P11-P13	Βάση 2^{ου} ραχιαίου-τέλος εδρικού
D24	P12-P13	Τέλος 2^{ου} ραχιαίου-τέλος εδρικού
D25	P12-P14	Τέλος 2^{ου} ραχιαίου-άνω βάση ουραίου
D26	P12-P15	Τέλος 2^{ου} ραχιαίου-κάτω βάση ουραίου
D27	P13-P14	Τέλος εδρικού-άνω βάση ουραίου
D28	P13-P15	Τέλος εδρικού-κάτω βάση ουραίου
D29	P14-P15	Άνω και κάτω βάση ουραίου
D30	P18-P19	Άνω και κάτω λοβός
D31	P11-P20	Ύψος 2^{ου} ραχιαίου
D32	P21-P22	Πλάτος θωρακικού
D33	P23-P24	Κάθετος διάμετρος οφθαλμού

8.2.3. Μεθοδολογία ανάλυσης

Ένα βασικό πρόβλημα που αντιμετωπίζουν οι μελέτες με μεγάλο αριθμό τάξεων/πληθυσμών είναι η αδυναμία των διαθέσιμων στατιστικών προγραμμάτων να χειριστούν τόσο μεγάλο σύνολο δεδομένων. Επιπρόσθετα, η παράθεση μεγάλου αριθμού

ατόμων σε ένα γράφημα, είτε αυτό είναι φαινόγραμμα[9] είτε οι άξονες μιας πολυμεταβλητής ανάλυσης, αν και είναι εφικτή, δημιουργεί ταυτόχρονα δυσκολίες στην εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων, εξαιτίας της πυκνότητας των ατόμων επάνω στα γραφήματα. Προκειμένου η ομαδοποίηση των πληθυσμών να μην είναι αυθαίρετη, αλλά και για να προκύψουν ομάδες πληθυσμών παραπλήσιων μορφολογικά, η προσέγγιση που πραγματοποιήθηκε ήταν παρόμοια με αυτή που ακολουθήθηκε στο κεφάλαιο της μοριακής ανάλυσης:

1) Ομάδα *E. pygmaeus*: Παμβώτιδα, Ζηρός, Τριχωνίδα, Λούρος, Άραχθος, Αχέροντας, Καλαμάς, Άγιος Δημήτριος.
2) Ομάδα *K. caucasica* (Ιόνιο): Παμβώτιδα, Καλαμάς, Καλογριά, Κοτύχι, Καϊάφας.
3) Ομάδα *K. caucasica* (Αιγαίο): Δράνα, Βιστωνίδα, Βάσσοβα Βόλβη.
4) Ομάδα *K. milleri*: Αχέροντας.
5) Ομάδα *K. thessala*: Κάρλα.
6) Ομάδα *K. panizzae*: Βενετία.
7) Ομάδα *P. canestrinii*: Βενετία.
8) Ομάδα *P. marmoratus*: Βενετία.

Για τη σύγκριση των μορφολογικών χαρακτήρων μεταξύ των πληθυσμών χρησιμοποιήθηκε η μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-wallis ANOVA για δείγματα που δεν παρουσίασαν κανονικότητα και ομοσκεδαστικότητα μεταξύ των μορφολογικών μετρήσεων. Η Ανάλυση Συσχέτισης (Correlation Analysis) κατά Spearman χρησιμοποιήθηκε για την εξεύρεση πιθανών συσχετίσεων μεταξύ του σταθερού μήκους των ψαριών με τους μορφολογικούς χαρακτήρες. Τα δεδομένα αναλύθηκαν με το συντελεστή συσχέτισης διατάξεων του Spearman (Spearman's rank correlation coefficient), δεδομένου ότι δεν ακολούθησαν την κανονική κατανομή που χρησιμοποιείται για παραμετρικούς ελέγχους (Siegel & Castellan 1992).

Στις μελέτες φυσικών πληθυσμών, τις περισσότερες φορές, η ποικιλομορφία που εμφανίζεται στις ομάδες πολυμεταβλητών μορφομετρικών δεδομένων οφείλεται στο μέγεθος των ατόμων (Lleonart et al. 2000). Στην περίπτωση της αλλομετρικής αύξησης των οργανισμών, η εμφανιζόμενη ποικιλότητα στις δομές, στα εξαρτήματα ή και στο

[9] Κάθε διάγραμμα, που δείχνει σχέση, εκφραζόμενη σε βαθμό ομοιότητας και δεν προσφέρει καμιά άλλη πληροφορία, καλείται φαινόγραμμα. Για τους οργανισμούς τα φαινογράμματα δίνουν το βαθμό ομοιότητας ανάμεσα σε μία ομάδα ειδών ή άλλη συστηματική βαθμίδα, χωρίς να προχωρούν σε φυλογενετικά συμπεράσματα. Η χρησιμοποίηση διαφορετικών συνδυασμών πρωτογενών γνωρισμάτων δίνει για την ίδια ομάδα διαφορετικά φαινογράμματα.

σύνολο του σώματος επηρεάζεται από το μέγεθος του ατόμου. Για να ελαττωθεί η επίδραση του μεγέθους εξαιτίας της αλλομετρικής αύξησης, εφαρμόζονται κατάλληλοι μετασχηματισμοί των μετρούμενων μεγεθών (Gould 1966, Lleonart et al. 2000). Όλες οι μεταβλητές που εκφράζουν μορφολογικούς χαρακτήρες μετασχηματίστηκαν λογαριθμικά και στη συνέχεια οι τιμές των μεταβλητών συσχετίστηκαν με την τιμή του σταθερού μήκους (SL). Για να ληφθεί μια πρώτη μορφή της σχέσης κάθε μετρούμενου μορφολογικού χαρακτήρα (Y σε mm), ως προς το σταθερό μήκος (SL σε mm), σε κάθε ομάδα που μελετήθηκε, προσδιορίστηκαν οι συντελεστές της γραμμικής εξίσωσης $\ln Y = a + b \ln SL$ και ελέγχθηκε η ισομετρία (b=1) της μεταβολής του κάθε χαρακτήρα Y ως προς το σταθερό μήκος SL, με τη διαδικασία του t-test σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.

Σύμφωνα με τον Reist (1985) αυτή η μετατροπή αντανακλά καλύτερα τη διακύμανση του σχήματος μεταξύ των ομάδων ανεξάρτητα από την επίδραση του μεγέθους. Γι' αυτό, το ολικό μήκος και το σταθερό μήκος του κάθε ατόμου εξαιρέθηκαν από την τελική ανάλυση. Η εξάλειψη της επίδρασης του μεγέθους του σώματος απ' όλες τις μορφομετρικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την παρακάτω σχέση:

$$M_{trans(I,j)} = \log M_{(I,j)} - b_{(j)} * (\log SL_{(ij)} - \log SL_{avj})$$

$M_{trans(I,j)}$: είναι η μετασχηματισμένη τιμή κάθε μεταβλητής του ατόμου (i) της ομάδας του δείγματος (j)

$M_{(I,j)}$: είναι η τιμή της κάθε μεταβλητής του ατόμου (i) της ομάδας του δείγματος (j)

$SL_{(ij)}$: είναι το σταθερό μήκος του ατόμου (i) της ομάδας του δείγματος (j)

SL_{avj}: είναι το μέσο σταθερό μήκος της ομάδας του δείγματος (j)

Ο συντελεστής b υπολογίστηκε ως η κλίση της παλινδρόμησης του $\log M_{(I,j)}$ με του $\log SL_{(ij)}$ χρησιμοποιώντας τα άτομα όλων των ομάδων, αλλά επιτρέποντας το σημείο τομής να διαφέρει μεταξύ των ομάδων (Lleonart et al. 2000). Επίσης, χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής διακύμανσης (coefficient of variation, CV%), ο οποίος εξετάζει αν υπάρχει ενδοπληθυσμιακή διακύμανση για κάθε μορφολογικό χαρακτήρα ξεχωριστά. Το ποσοστό του συντελεστή διακύμανσης (CV%) υπολογίστηκε για κάθε μεταβλητή σύμφωνα με τον τύπο:

$$CV\% = 100\, D_s x_{av}^{-1}$$

όπου D_s είναι η τυπική απόκλιση και x_{av} είναι ο μέσος όρος των μετασχηματισμένων μετρήσεων των μορφολογικών χαρακτήρων κάθε πληθυσμού (Zar 1999).

Προκειμένου να εντοπισθούν οι μορφομετρικοί χαρακτήρες, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τη μορφολογική ποικιλότητα των 'αμμογωβιών', χρησιμοποιήθηκε η

Ανάλυση σε Κύριες Συνιστώσες (Principal Components Analysis-PCA). Στη συνέχεια εφαρμόστηκε η Διαχωριστική Ανάλυση (Discriminant Function Analysis-DFA), προκειμένου να εκτιμηθεί ο βαθμός επίδρασης του είδους στη μορφολογική ποικιλομορφία και να εντοπισθούν χαρακτήρες με τους οποίους μπορεί να γίνει ο φυλετικός διαχωρισμός. Τέλος, το φαινόγραμμα με βάση τη μορφολογική ομοιότητα έγινε με την Ανάλυση Συστοιχιών (Cluster Analysis). Οι πολυμεταβλητές αναλύσεις εφαρμόστηκαν ξεχωριστά για το κάθε γένος (*Economidichthys*, *Knipowitschia*), εκτός από το *Pomatoschistus* επειδή περιελάμβανε μόνο 2 πληθυσμούς, καθώς επίσης και για τις ομάδες πληθυσμών που περιγράφηκαν παραπάνω. Όλες οι πολυμεταβλητές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τα στατιστικά προγράμματα SPSS v.19.0 για Mac OSX και PRIMER 6.

8.2.4. Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών

Η PCA, χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της συνεισφοράς του κάθε μορφολογικού χαρακτήρα στη διαμόρφωση της ολικής ποικιλομορφίας του σώματος. Η μέθοδος δίνει τη δυνατότητα να εντοπισθούν οι μορφολογικοί χαρακτήρες που διαμορφώνουν την ολική ποικιλομορφία με τη μείωση των μεταβλητών σε ένα μικρότερο αριθμό συνιστωσών, από τις οποίες κάθε μια αντιστοιχεί σε περισσότερες από τις αρχικές που έχουν ισχυρή συσχέτιση μεταξύ τους (James & McCulloch 1990). Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν όλες οι μετασχηματισμένες τιμές εκτός του σταθερού και ολικού μήκους.

8.2.5. Διαχωριστική Ανάλυση

Για να επιτευχθεί ο διαχωρισμός των πληθυσμών με βάση τις μεταξύ τους διαφορές και όχι με βάση την ενδοπληθυσμιακή διασπορά από τη μέση τιμή του πληθυσμού πραγματοποιήθηκε η Discriminant Function Analysis (DFA). Με αυτή την ανάλυση τα αρχικά δεδομένα μπορούν να αναπαρασταθούν σε ένα καρτεσιανό σύστημα συντεταγμένων που εξηγεί το μεγαλύτερο ποσοστό της διακύμανσης των πληθυσμών. Κάθε άτομο που συμμετέχει στην ανάλυση διάκρισης φέρει την πληροφορία του πληθυσμού από τον οποίο προέρχεται. Με αυτόν τον τρόπο προκύπτει ένας πίνακας σωστής κατάταξης των ατόμων. Ο πίνακας αυτός παραθέτει τα ποσοστά των ατόμων που με βάση τα μορφομετρικά τους χαρακτηριστικά εντάσσονται από την ανάλυση σωστά στον πληθυσμό στον οποίον ανήκουν (Hair et al. 1996, Turan et al. 2006).

8.2.6. Ανάλυση Συστοιχειών

Με την ανάλυση συστοιχιών (Cluster Analysis) οι πληθυσμοί τοποθετήθηκαν σε ομάδες σύμφωνα με ένα μέτρο ομοιότητας και τον αλγόριθμο ευκλείδειας απόστασης (Albrecht 1980). Τα αποτελέσματα συνήθως εκφράζονται σε ένα δισδιάστατο διάγραμμα ιεράρχησης που αντιπροσωπεύει τις πολύπλοκες πολυπαραγοντικές σχέσεις μεταξύ των αντικειμένων (James & McCulloch 1990).

8.3. Αποτελέσματα

8.3.1. Ανάλυση μορφολογικής ποικιλομορφίας

Μετά το μετασχηματισμό των τιμών με τη βοήθεια της αλλομετρικής εξίσωσης, όλες οι μεταβλητές υποβλήθηκαν σε έλεγχο με το μη-παραμετρικό test Kruskal-Wallis ANOVA, με σκοπό να ελεγχθεί η στατιστική σημαντικότητα κάθε μέτρησης αναφορικά με το είδος. Οι παρατηρούμενες διαφορές βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές σε σχέση με τους πληθυσμούς ($p<0,001$). Αντιθέτως, δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του σταθερού μήκους με τα μεριστικά χαρακτηριστικά ($p>0,05$). Οι τιμές του συντελεστή διακύμανσης (CV%) για όλες τις μορφολογικές μεταβλητές κυμάνθηκαν από 0,707 ώς 10,767 (Πινακας 8.3). Μόνο μία μεταβλητή, που αφορούσε την απόσταση του άνω και κάτω λοβού, παρουσίασε ελαφρώς υψηλότερη τιμή στα είδη *K. caucasica* και *K. milleri* με το ποσοστό να κυμαίνεται από 12,729 ώς 13,361 αντίστοιχα.

8.3.2. Μεριστικοί χαρακτήρες

Τα μεριστικά χαρακτηριστικά των ειδών της ομάδας 'αμμογωβιοί' που μετρήθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 8.4. Οι αριθμοί των ακτίνων του $1^{ου}$ ραχιαίου πτερυγίου δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για όλα τα είδη των 'αμμογωβιών' (Kruskal-Wallis ANOVA, $p>0,05$). Αντίθετα, η διαφοροποίηση του αριθμού των ακτίνων του $2^{ου}$ ραχιαίου, του εδρικού και του θωρακικού πτερυγίου μεταξύ των ειδών ελέγχθηκε με το μη παραμετρικό τεστ Kruskal- Wallis και βρέθηκε ότι διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους ($2^{ο}$ ραχιαίο: df=7, H=123,411, $p<0,05$, εδρικό: df=7, H=107,124, $p<0,05$, θωρακικό: df=7, H=124,696, $p<0,05$).

Πίνακας 8.3: Τιμές του συντελεστή διακύμανσης (CV) για κάθε μορφομετρικό χαρακτήρα της ομάδας των 'αμμογωβιών' από διάφορες περιοχές του Ιονίου και του Αιγαίου κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Table 8.3: Values of the coefficient of variation (CV) of each morphometric character of the 'sand gobies' group from different Ionian and Aegean regions during the present study.

	E. pygmaeus	*K. caucasica* (Ιόνιο)	*K. caucasica* (Αιγαίο)	*K. milleri*	*K. thessala*	*K. panizzae*	*P. canestrinii*	*P. marmoratus*
D1	5,765	4,234	5,330	5,237	2,450	5,354	5,151	6,031
D2	4,243	3,864	4,386	3,252	1,896	3,769	1,551	3,444
D3	2,949	2,921	5,604	3,728	2,066	3,156	1,988	3,566
D4	2,637	3,194	2,675	2,841	1,928	3,095	2,061	4,001
D5	1,983	2,065	2,014	2,223	0,982	2,489	1,215	2,772
D6	2,704	2,540	3,060	2,948	1,444	2,066	2,086	3,543
D7	1,229	1,898	1,833	1,645	1,005	1,157	0,964	1,905
D8	4,401	4,517	3,914	4,399	2,285	2,852	3,416	4,482
D9	3,068	3,657	3,882	3,290	1,152	2,345	1,972	3,402
D10	1,247	2,292	2,413	1,963	0,883	2,335	1,075	2,222
D11	3,143	4,034	3,776	3,143	1,851	4,170	2,839	3,865
D12	1,682	2,780	3,202	3,554	1,527	2,028	1,451	2,289
D13	8,421	9,658	9,538	8,749	8,026	7,922	6,746	6,739
D14	1,431	2,872	2,031	1,496	0,707	0,915	1,184	1,309
D15	2,092	2,882	3,204	3,550	1,617	2,464	1,605	2,353
D16	2,856	3,664	3,380	2,220	1,646	1,995	1,628	2,113
D17	1,782	3,895	2,551	1,852	1,053	1,939	2,144	1,901
D18	7,298	8,611	10,235	5,561	5,032	6,635	3,980	4,821
D19	1,934	2,945	2,571	2,938	1,215	2,163	1,629	2,247
D20	2,561	4,470	3,393	4,115	2,122	1,836	2,105	4,353
D21	5,598	8,777	6,759	8,018	4,790	4,266	5,542	8,262
D22	4,043	8,630	5,904	7,381	5,613	3,668	5,057	6,770
D23	2,332	5,639	2,791	3,207	3,132	1,836	2,399	3,565
D24	2,516	3,410	2,915	2,924	1,644	2,652	1,557	2,534
D25	2,870	2,781	3,031	2,840	3,310	2,665	1,706	2,475
D26	2,344	2,376	2,529	2,092	2,725	2,088	1,682	2,315
D27	2,095	2,706	2,640	1,423	2,061	1,571	1,331	2,152
D28	2,994	3,339	3,039	1,843	2,874	2,018	1,615	2,701
D29	3,193	4,954	5,034	4,125	2,164	2,098	2,532	3,271
D30	7,897	12,829	13,361	12,729	4,473	8,013	4,461	5,477
D31	6,998	10,767	9,309	10,345	6,817	5,099	6,593	6,705
D32	3,613	4,040	5,403	5,365	3,083	2,837	2,976	6,247
D33	3,243	4,766	4,458	2,863	1,969	2,444	2,278	2,493

Πίνακας 8.4: Τιμές μεριστικών χαρακτήρων, αριθμός δειγμάτων, μέσος όρος και τυπική απόκλιση για τα είδη της ομάδας 'αμμογωβιοί' από διάφορες περιοχές του Ιονίου και του Αιγαίου κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Table 8.4: Values of meristic characters, number of individuals, mean number and standard deviation for the 'sand gobies' group from different Ionian and Aegean regions during the present study.

Μεριστικοί χαρακτήρες	Είδη	*n*	Μέσος όρος	Τ.Α.
1° ραχιαίο	*E. pygmaeus*	92	6,02	0,147
	K. caucasica (Ιόνιο)	64	6,00	0,000
	K. caucasica (Αιγαίο)	41	6,02	0,273
	K. milleri	15	6,00	0,000
	K. thessala	15	6,13	0,352
	K. panizzae	15	6,00	0,000
	P. canestrinii	15	6,00	0,000
	P. marmoratus	12	6,00	0,000
2° ραχιαίο	*E. pygmaeus**	92	9,51	0,584
	K. caucasica (Ιόνιο)	64	8,17	0,767
	K. caucasica (Αιγαίο)	41	8,27	0,672
	K. milleri	15	8,73	0,799
	K. thessala	15	8,33	0,488
	K. panizzae	15	8,73	0,799
	*P. canestrinii**	15	9,07	0,799
	*P. marmoratus**	12	9,50	0,674
Εδρικό	*E. pygmaeus**	92	8,92	0,559
	K. caucasica (Ιόνιο)	64	7,70	0,810
	K. caucasica (Αιγαίο)	41	7,93	0,721
	K. milleri	15	8,13	0,640
	K. thessala	15	8,13	0,834
	K. panizzae	15	8,13	0,915
	*P. canestrinii**	15	8,00	0,655
	*P. marmoratus**	12	9,08	0,900
Θωρακικό	*E. pygmaeus**	92	16,91	0,706
	K. caucasica (Ιόνιο)	64	15,84	0,648
	K. caucasica (Αιγαίο)	41	15,61	0,833
	K. milleri	15	15,6	0,737
	K. thessala	15	16,4	0,737
	K. panizzae	15	15,8	0,676
	P. canestrinii	15	16,27	0,458
	*P. marmoratus**	12	18,00	0,603

*διέφεραν στατιστικά σημαντικά $p<0,05$ (Kruskal-Wallis), n=αριθμός των ατόμων, Τ.Α.=τυπική απόκλιση.

Οι ακτίνες του πρώτου ραχιαίου πτερυγίου κυμάνθηκαν σε όλα τα υπό εξέταση είδη από 5 ώς 7 με επικρατούσα τιμή σε όλες τις περιπτώσεις το 6. Οι ακτίνες του 2^{ου} ραχιαίου πτερυγίου κυμάνθηκαν από 8 ώς 11 για τα άτομα του *E. pygmaeus*, *P. canestrinii* και *P. marmoratus*, ενώ στα υπόλοιπα είδη κυμάνθηκαν από 7 ώς 10. Οι ακτίνες του εδρικού πτερυγίου κυμάνθηκαν σχεδόν σε όλα τα είδη από 6 ώς 9 με εξαίρεση τα άτομα του *E. pygmaeus* στα οποία ο αριθμός κυμάνθηκε από 7 ώς 10. Οι ακτίνες του θωρακικού πτερυγίου κυμάνθηκαν από 15 ώς 19 για τα άτομα του *E. pygmaeus* και *P. marmoratus* ενώ στα υπόλοιπα είδη κυμάνθηκαν από 15 ώς 17.

8.3.3. Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών

8.3.3.1.Γένος *Economidichthys*

Χρησιμοποιώντας τις μετασχηματισμένες μετρήσεις, πραγματοποιήθηκε η ανάλυση των κύριων συνιστωσών (PCA) για τα άτομα του γένους *Economidichthys*. Αυτή η ανάλυση ενσωμάτωσε το 78,497% της μεταβλητότητας των 33 αρχικών μεταβλητών σε 7 κύριες συνιστώσες. Στον πίνακα 8.5 δίνονται οι ιδιοτιμές και το ποσοστό της μεταβλητότητας που εξηγεί η κάθε κύρια συνιστώσα, καθώς και η συνολική μεταβλητότητα των μετασχηματισμένων δεδομένων που ενσωματώνουν οι νέες συνιστώσες της ανάλυσης, ενώ στον πίνακα 8.6 δίνονται οι τιμές των μεταβλητών που διατηρήθηκαν στην ανάλυση επάνω στις επτά κύριες συνιστώσες.

Πίνακας 8.5: Ιδιοτιμές των κύριων συνιστωσών και ποσοστό μεταβλητότητας των μετασχηματισμένων μεταβλητών για τα άτομα του γένους *Economidichthys* κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Table 8.5: Eigenvalues of principal components and % of variance of standardized variables for the individuals of the genus *Economidichthys* during the present study.

Κύρια συνιστώσα	Ιδιοτιμή	% Μεταβλητότητα	% Αθροιστική μεταβλητότητα
1	12,073	36,585	36,585
2	4,761	14,426	51,011
3	3,161	9,579	60,590
4	2,066	6,260	66,850
5	1,482	4,490	71,340
6	1,319	3,997	75,337
7	1,043	3,160	78,497

Στην πρώτη κύρια συνιστώσα οι μεταβλητές που έχουν μεγάλη συνεισφορά παρουσιάζουν θετικές τιμές (Πινακας 8.6). Αυτή η συνιστώσα είναι μια έκφραση της

περιοχής της κεφαλής και σχετίζεται με τις αποστάσεις ρύγχους-αρχή βραγχιακού επικαλύμματος και ρύγχους-άνω/κάτω άκρο βραγχιακού επικαλύμματος.

Πίνακας 8.6: Τιμές των μετασχηματισμένων μεταβλητών πάνω στις έξι κύριες συνιστώσες της ανάλυσης μετά από στατιστικό μετασχηματισμό 'varimax rotation' για τα άτομα του γένους *Economidichthys* κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Table 8.6: Loadings of standardized variables of the analysis of six principal components after varimax normalized rotation for the individuals of the genus *Economidichthys* during the present study.

Μεταβλητές	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7
D4	0,936	0,081	0,006	0,070	-0,060	0,040	-0,013
D5	0,884	0,178	0,135	0,157	0,036	-0,004	-0,073
D2	0,847	-0,041	0,217	0,181	-0,155	0,089	0,083
D3	0,754	0,283	0,266	-0,028	-0,034	-0,161	-0,035
D8	0,705	-0,015	0,268	0,255	0,251	0,215	-0,003
D6	0,652	0,391	0,438	0,154	0,186	-0,012	-0,033
D9	0,596	0,145	0,370	0,307	0,305	0,232	0,002
D1	0,550	0,395	0,426	0,203	0,207	-0,061	0,085
D33	0,446	0,058	0,343	0,208	0,078	0,008	0,239
D14	0,100	0,915	0,045	-0,034	0,115	0,035	0,123
D17	-0,074	0,794	-0,066	-0,510	0,170	0,053	0,116
D19	0,205	0,770	0,104	0,163	0,404	-0,053	0,110
D16	0,148	0,769	0,112	0,080	-0,260	0,077	0,207
D12	0,159	0,694	0,109	0,399	0,406	0,010	-0,079
D15	0,181	0,643	0,160	0,636	0,168	-0,006	-0,058
D24	0,368	0,631	0,180	0,152	0,222	-0,039	0,438
D31	0,303	0,220	0,774	-0,016	0,100	-0,026	-0,001
D30	0,128	-0,001	0,750	0,099	-0,125	0,040	0,176
D22	0,308	0,020	0,596	0,185	0,131	-0,022	-0,526
D21	0,354	-0,154	0,583	0,229	0,222	-0,332	-0,182
D29	0,414	0,400	0,488	0,350	-0,059	-0,029	-0,064
D32	0,449	0,271	0,453	0,371	0,291	0,123	-0,119
D20	0,406	0,110	0,412	0,333	0,107	-0,227	-0,249
D18	-0,281	0,128	-0,105	-0,738	-0,053	0,244	-0,027
D13	0,364	0,301	0,308	0,706	0,060	0,068	0,073
D10	0,052	0,278	0,141	0,271	0,822	0,178	0,029
D7	-0,145	0,313	-0,114	0,009	0,771	-0,107	-0,023
D11	0,292	-0,185	0,192	-0,176	0,636	0,177	0,303
D28	0,084	-0,019	-0,074	-0,122	0,095	0,890	0,280
D27	0,159	0,122	0,070	0,039	0,076	0,814	0,297
D23	0,264	0,393	0,414	0,277	0,104	-0,546	0,098
D26	0,078	0,297	0,042	0,036	0,069	0,295	0,853
D25	-0,096	0,195	0,001	-0,005	0,089	0,393	0,799

Η δεύτερη κύρια συνιστώσα ενσωματώνει τις υψηλές θετικές τιμές που χαρακτηρίζουν τις θέσεις των δύο ραχιαίων πτερυγίων καθώς και του εδρικού. Η τρίτη κύρια συνιστώσα ερμηνεύει μεταβλητές αποκλειστικά συσχετιζόμενες με την απόσταση των δύο λοβών του ουραίου πτερυγίου, το ύψος του 2^{ου} ραχιαίου πτερυγίου καθώς και το πλάτος του 2^{ου} ραχιαίου και του εδρικού.

8.3.3.2.Γένος *Knipowitschia*

Χρησιμοποιώντας της μετασχηματισμένες μετρήσεις πραγματοποιήθηκε η ανάλυση των κύριων συνιστωσών (PCA) για τα άτομα του γένους *Knipowitschia*. Αυτή η ανάλυση ενσωμάτωσε το 79,377% της μεταβλητότητας των 33 αρχικών μεταβλητών σε 7 κύριες συνιστώσες. Στον πίνακα 8.7 δίνονται οι ιδιοτιμές και το ποσοστό της μεταβλητότητας που εξηγεί η κάθε κύρια συνιστώσα, καθώς και η συνολική μεταβλητότητα των μετασχηματισμένων δεδομένων που ενσωματώνουν οι νέες συνιστώσες της ανάλυσης, ενώ στον πίνακα 8.8 δίνονται οι τιμές των μεταβλητών που διατηρήθηκαν στην ανάλυση επάνω στις επτά κύριες συνιστώσες.

Πίνακας 8.7: Ιδιοτιμές των κύριων συνιστωσών και ποσοστό μεταβλητότητας των μετασχηματισμένων μεταβλητών για τα άτομα του γένους *Knipowitschia* κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Table 8.7: Eigenvalues of principal components and % of variance of standardized variables for the individuals of the genus *Knipowitschia* during the present study.

Κύρια συνιστώσα	Ιδιοτιμή	% Μεταβλητότητα	% Αθροιστική μεταβλητότητα
1	12,921	39,155	39,155
2	4,431	13,427	52,582
3	2,656	8,047	60,629
4	2,038	6,176	66,805
5	1,802	5,462	72,267
6	1,266	3,838	76,104
7	1,080	3,273	79,377

Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι οι μεταβλητές που καθορίζουν τη μορφολογική ποικιλομορφία των πληθυσμών του γένους *Knipowitschia* είναι αντίστροφοι από αυτούς του *Economidichhtys* (Πίνακας 8.8). Έτσι, στην πρώτη κύρια συνιστώσα, τη μεγαλύτερη συμμετοχή έχουν οι χαρακτήρες που συνδέονται με τις θέσεις των δύο ραχιαίων πτερυγίων καθώς και του εδρικού.

Πίνακας 8.8: Τιμές των μετασχηματισμένων μεταβλητών πάνω στις έξι κύριες συνιστώσες της ανάλυσης μετά από στατιστικό μετασχηματισμό 'varimax rotation' για τα άτομα του γένους *Knipowitschia* κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Table 8.8: Loadings of standardized variables of the analysis of six principal components after varimax normalized rotation for the individuals of the genus *Knipowitschia* during the present study.

Μεταβλητές	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7
D17	0,832	0,268	-0,027	-0,042	0,073	0,384	-0,074
D14	0,818	0,246	0,057	-0,128	0,065	0,359	0,217
D23	0,721	0,260	0,227	-0,298	0,109	-0,229	-0,005
D12	0,689	0,111	0,427	0,181	0,033	0,090	0,263
D15	0,685	0,084	0,419	0,185	-0,020	0,009	0,387
D19	0,679	0,203	0,606	0,081	0,150	0,035	0,017
D20	0,628	0,349	0,341	-0,166	0,186	-0,171	0,028
D7	0,522	0,299	0,247	0,163	0,455	0,036	-0,026
D32	0,496	0,215	0,427	0,265	0,212	0,149	0,084
D4	0,125	0,911	0,061	0,006	0,072	0,027	0,045
D5	0,126	0,888	0,130	-0,002	0,142	-0,071	0,047
D2	0,205	0,756	0,134	0,088	0,211	0,047	0,072
D33	0,222	0,728	0,267	-0,082	0,193	0,222	0,007
D8	0,320	0,647	0,168	0,062	0,447	0,150	0,188
D3	0,287	0,602	0,300	0,034	-0,473	-0,105	-0,200
D6	0,410	0,577	0,511	-0,048	-0,176	-0,066	-0,037
D1	0,058	0,529	0,444	0,091	-0,018	0,084	0,387
D31	0,155	0,099	0,811	-0,193	0,094	0,155	0,198
D21	0,136	0,167	0,767	-0,246	0,113	-0,043	-0,026
D22	0,172	0,107	0,695	-0,298	0,120	0,052	0,276
D29	0,387	0,427	0,608	-0,087	0,197	0,154	0,087
D24	0,544	0,193	0,586	0,261	0,125	0,102	-0,194
D30	0,169	0,307	0,551	-0,197	0,096	-0,114	0,056
D26	0,044	-0,024	-0,110	0,923	0,064	0,044	-0,076
D27	0,004	0,033	-0,096	0,918	0,030	0,052	0,099
D25	0,039	-0,017	-0,115	0,916	0,070	0,042	-0,073
D28	-0,054	0,068	-0,133	0,911	0,019	0,091	0,107
D11	-0,047	0,152	0,133	0,080	0,867	-0,042	-0,107
D10	0,465	0,178	0,204	0,069	0,733	-0,030	0,132
D9	0,254	0,527	0,193	0,033	0,634	0,052	0,268
D18	0,113	0,073	0,076	0,229	0,025	0,873	-0,186
D16	0,563	0,062	0,112	0,037	-0,098	0,634	0,345
D13	0,312	0,201	0,346	0,037	0,123	-0,178	0,691

Η δεύτερη κύρια συνιστώσα χαρακτηρίζεται από τις υψηλά θετικές τιμές των μεταβλητών που σχετίζονται με τη περιοχή της κεφαλής, όπως οι αποστάσεις ρύγχους-αρχή/άνω άκρο βραγχιακού επικαλύμματος καθώς και η διάμετρος του οφθαλμού. Η τρίτη κύρια συνιστώσα ερμηνεύει μεταβλητές αποκλειστικά συσχετιζόμενες με, το ύψος του 2^{ου} ραχιαίου πτερυγίου και του ουραίου μίσχου καθώς και το πλάτος του 2^{ου} ραχιαίου και του εδρικού.

8.3.3.3.Ομάδα 'αμμογωβιοί'

Χρησιμοποιώντας της μετασχηματισμένες μετρήσεις πραγματοποιήθηκε η ανάλυση των κύριων συνιστωσών (PCA). Από την ανάλυση της PCA που πραγματοποιήθηκε για τα είδη της ομάδας 'αμμογωβιοί', το αποτέλεσμα ήταν η ενσωμάτωση των 33 μεταβλητών σε έξι κύριες συνιστώσες οι οποίες ερμηνεύουν το 80,495% της ολικής μεταβλητότητας. Στον πίνακα 8.9 δίνονται οι ιδιοτιμές και το ποσοστό της μεταβλητότητας που εξηγεί η κάθε κύρια συνιστώσα, καθώς και η συνολική μεταβλητότητα των μετασχηματισμένων δεδομένων που ενσωματώνουν οι νέες συνιστώσες της ανάλυσης, ενώ στον πίνακα 8.10 δίνονται οι τιμές, των μεταβλητών που διατηρήθηκαν στην ανάλυση επάνω στις έξι κύριες συνιστώσες.

Πίνακας 8.9: Ιδιοτιμές των κύριων συνιστωσών και ποσοστό μεταβλητότητας των μετασχηματισμένων μεταβλητών για τα είδη της ομάδας 'αμμογωβιοί' κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Table 8.9: Eigenvalues of principal components and % of variance of standardized variables for the species of the 'sand gobies' group during the present study.

Κύρια συνιστώσα	Ιδιοτιμή	% Μεταβλητότητα	% Αθροιστική μεταβλητότητα
1	7,850	23,789	23,789
2	5,637	17,082	40.871
3	4,708	14,266	55,137
4	3,897	11,809	66,946
5	2,962	8,977	75,923
6	1,509	4,571	80,495

Στην πρώτη κύρια συνιστώσα, τη μεγαλύτερη συμμετοχή στη διαμόρφωση της μορφολογικής ποικιλομορφίας της ομάδας 'αμμογωβιοί' έχουν οι χαρακτήρες που συνδέονται με το μήκος και τη θέση του 1^{ου} ραχιαίου πτερυγίου και δευτερευόντως με τη θέση του εδρικού πτερυγίου. Η δεύτερη κύρια συνιστώσα χαρακτηρίζεται από τις υψηλά θετικές τιμές των μεταβλητών που σχετίζονται με την περιοχή της κεφαλής, όπως οι

αποστάσεις ρύγχους-άνω/κάτω άκρο βραγχιακού επικαλύμματος καθώς και η διάμετρος του οφθαλμού.

Πίνακας 8.10: Τιμές των μετασχηματισμένων μεταβλητών πάνω στις έξι κύριες συνιστώσες της ανάλυσης μετά από στατιστικό μετασχηματισμό 'varimax rotation' για τα είδη της ομάδας 'αμμογωβιοί' κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Table 8.10: Loadings of standardized variables of the analysis of six principal components after varimax normalized rotation for the species of the 'sand gobies' group during the present study.

Μεταβλητές	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
D14	0,848	0,28	-0,205	0,120	0,122	-0,182
D12	0,816	0,182	-0,147	0,259	0,171	0,196
D15	0,812	0,194	-0,120	0,281	0,088	0,305
D17	0,809	0,253	-0,179	0,021	0,156	-0,384
D16	0,778	0,218	0,032	0,141	-0,103	-0,233
D19	0,753	0,240	-0,271	0,371	0,248	0,083
D24	0,696	0,266	0,002	0,383	0,203	0,051
D7	0,605	0,194	-0,183	0,123	0,523	0,027
D23	0,585	0,291	-0,427	0,323	0,169	0,085
D29	0,559	0,419	-0,25	0,479	0,222	0,036
D32	0,506	0,314	0,186	0,423	0,287	0,069
D20	0,487	0,380	-0,264	0,436	0,248	0,042
D13	0,456	0,327	0,055	0,407	0,111	0,448
D4	0,212	0,898	-0,083	0,077	0,150	-0,014
D5	0,202	0,886	-0,066	0,113	0,203	0,090
D2	0,116	0,793	0,234	0,232	0,143	-0,107
D3	0,351	0,695	-0,122	0,244	-0,213	0,086
D33	0,358	0,650	-0,090	0,323	0,236	-0,184
D8	0,359	0,590	-0,104	0,202	0,506	0,078
D6	0,522	0,559	-0,271	0,368	0,089	0,170
D1	0,331	0,484	-0,078	0,320	0,134	0,306
D26	-0,065	-0,037	0,930	-0,150	-0,043	-0,052
D27	-0,108	0,019	0,929	-0,113	-0,026	-0,058
D25	-0,111	-0,081	0,921	-0,152	-0,052	-0,092
D28	-0,207	-0,007	0,911	-0,156	-0,035	-0,105
D21	0,176	0,264	-0,262	0,783	0,149	0,022
D31	0,366	0,209	-0,214	0,741	0,144	0,006
D22	0,338	0,235	-0,36	0,701	0,170	0,003
D30	0,367	0,313	-0,356	0,450	0,173	0,110
D11	-0,013	0,125	0,013	0,176	0,876	-0,053
D10	0,539	0,131	-0,168	0,153	0,738	0,126
D9	0,333	0,52	-0,058	0,203	0,615	0,137
D18	0,150	0,008	0,387	0,004	-0,035	-0,807

Η τρίτη κύρια συνιστώσα ερμηνεύει μεταβλητές αποκλειστικά συσχετιζόμενες με το ύστερο τμήμα του σώματος του ψαριού δηλαδή το μέγεθος του ουραίου μίσχου και την απόστασή του από το 2^{ο} ραχιαίο πτερύγιο.

8.3.4. Διαχωριστική Ανάλυση

8.3.4.1.Γένος *Economidichthys*

Με την εφαρμογή της διαχωριστικής ανάλυσης διαπιστώθηκε ότι η ολική μεταβλητότητα των μορφομετρικών χαρακτήρων ανάμεσα στους πληθυσμούς του γένους *Economidichhtys* μπορεί να επιμεριστεί σε πέντε άξονες διαχωρισμού. Ο πρώτος άξονας με ιδιοτιμή 6,128 επεξηγεί το 37,4% της ολικής μεταβλητότητας (Wilks' λ=0,001, p<0,001) και ο δεύτερος με ιδιοτιμή 3,718 επεξηγεί το 22,7% της ολικής μεταβλητότητας (Wilks' λ=0,006, p<0,001). Στον πίνακα 8.11 συνοψίζονται τα αποτελέσματα όπου φαίνεται καθαρά ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά ως προς τον κάθε άξονα διαχωρισμού, αφού η τιμή p που υπολογίστηκε είναι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις μικρότερη του 0,003.

Πίνακας 8.11: Ιδιοτιμές των αξόνων της διαχωριστικής ανάλυσης, ποσοστό μεταβλητότητας και τιμές Wilks' λ των μετασχηματισμένων μεταβλητών για τα άτομα του γένους *Economidichthys* κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Table 8.11: Eigenvalues of the functions of the discriminant analysis, % of variance and Wilks' λ values of standardized variables for the individuals of the genus *Economidichthys* during the present study.

Άξονες	Ιδιοτιμές	% Μεταβλητότητας	Wilks' λ	χ^2	df	Sig.
1	6,128	37,4	0,001	507,114	198	<0,001
2	3,718	22,7	0,006	367,965	160	<0,001
3	3,266	19,9	0,026	257,821	124	<0,001
4	1,437	8,8	0,113	154,821	90	<0,001
5	1,063	6,5	0,275	91,580	58	0,003

Στον πρώτο άξονα διαχωρισμού (Πίνακας 8.12) τη μεγαλύτερη συμμετοχή έχουν οι μεταβλητές που συσχετίζονται με το πλάτος του ουραίου πτερυγίου (D30), το μέγεθος του ουραίου μίσχου (D26) και την περιοχή της κεφαλής (3). Στο δεύτερο άξονα, τη μεγαλύτερη συσχέτιση την εμφάνισαν μεταβλητές που αφορούν το διάστημα του 2^{ου} ραχιαίου με το εδρικό πτερύγιο (D19), το πλάτος του 1^{ου} ραχιαίου πτερυγίου (D12) και το βραγχιακό επικάλυμμα (D8).

Πίνακας 8.12: Τιμές των μορφολογικών χαρακτήρων για τους δύο πρώτους άξονες διαχωρισμού για τα άτομα του γένους *Economidichthys* κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης. Η σημαντική συσχέτιση κάθε συνιστώσας με κάποιο μορφολογικό χαρακτηριστικό σημειώνεται με έναν αστερίσκο (*).
Table 8.12: Values of morphometric characters for DFA1 and DFA2 for the individuals of the genus *Economidichthys* during the present study. The largest absolute correlation between each variable and any discriminant function indicated by an asterisk (*).

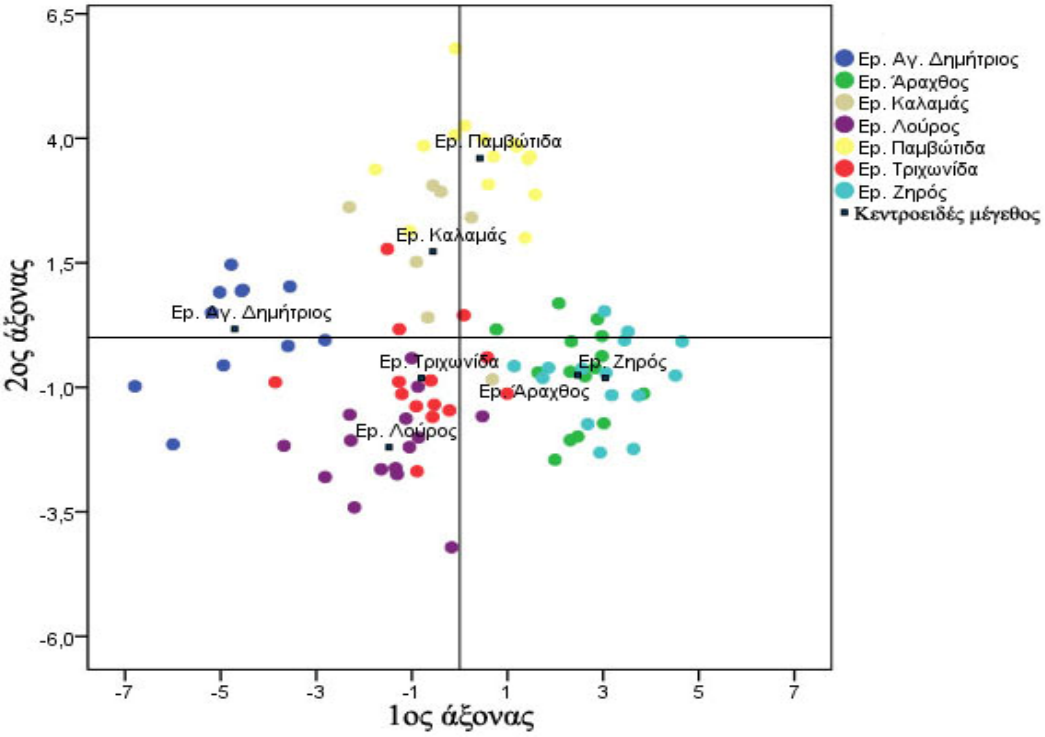
Μεταβλητές	Άξονες	
	1	2
D30	0,290*	0,149
D26	0,160*	-0,051
D3	0,118*	-0,022
D19	0,036	-0,206*
D12	-0,040	-0,190*
D8	0,097	0,155*
D21	0,044	-0,025
D9	0,092	0,016
D13	0,075	0,060
D22	0,030	0,000
D32	0,052	0,125
D5	0,085	-0,061
D15	0,003	-0,112
D6	0,106	-0,051
D10	-0,069	-0,060
D4	0,096	-0,013
D16	0,125	-0,030
D7	-0,142	-0,129
D14	0,039	-0,121
D27	0,125	-0,028
D17	0,032	-0,216
D24	0,103	-0,110
D28	0,125	-0,034
D2	0,138	0,099
D11	0,145	0,042
D25	0,136	-0,059
D1	0,081	-0,070
D31	0,181	-0,026
D29	0,033	0,045
D23	0,027	-0,033
D18	0,006	-0,074
D33	0,151	-0,053
D20	0,040	-0,027

Με βάση τους παραπάνω χαρακτήρες το 97,8% των ατόμων μπορούν να επανατοποθετηθούν σωστά στους αντίστοιχους πληθυσμούς του είδους *E. pygmaeus* (Πίνακας 8.13, Εικόνα 8.3). Σχεδόν όλοι οι πληθυσμοί διαχωρίζονται σε ποσοστό 100% εκτός των ατόμων από τη λίμνη Ζηρού που διαχωρίζονται σε ποσοστό 93,3%.

Πίνακας 8.13: Επανατοποθέτηση των πληθυσμών του γένους *Economidichthys* βάσει της διαχωριστικής ανάλυσης.
Table 8.13: Re-classification of the populations of the genus *Economidichthys* based on discriminant analysis.

	Πληθυσμοί	Άγ. Δημήτριος	Άραχθος	Καλαμάς	Λούρος	Παμβώτιδα	Τριχωνίδα	Ζηρός	Σύνολο
%	Άγ. Δημήτριος	11	0	0	0	0	0	0	11
	Άραχθος	0	15	0	0	0	0	0	15
	Καλαμάς	0	0	7	0	0	0	0	7
	Λούρος	0	0	0	15	0	0	0	15
	Παμβώτιδα	0	0	0	0	15	0	0	15
	Τριχωνίδα	0	0	0	0	1	13	0	14
	Ζηρός	0	1	0	0	0	0	14	15
	Συνολική σωστή επανατοποθέτηση 97,8%								

Αναφορικά με το διάγραμμα διασποράς (Εικόνα 8.3) της διαχωριστικής δνάλυσης συμπεραίνουμε για τον πρώτο άξονα ότι τα άτομα από τους πληθυσμούς της Ζηρού και του Άραχθου εμφανίζουν υψηλότερες θετικές τιμές σε σχέση με τις χαμηλές τιμές των ατόμων από τον Άγ. Δημήτριο. Στο δεύτερο άξονα οι πληθυσμοί από τη Παμβώτιδα και τον Καλαμά συμμετέχουν με υψηλότερες τιμές σε σχέση με τις χαμηλές τιμές του Λούρου. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι κάποια χαρακτηριστικά μπορούν να βοηθήσουν στο διαχωρισμό των πληθυσμών με τα άτομα από τη Ζηρού και τον Άραχθο να έχουν μεγαλύτερη κεφαλή, πιο πλατύ ουραίο πτερύγιο και μακρύ και λεπτό ουραίο μίσχο σε σχέση με του Αγ. Δημητρίου, όπου οι αντίστοιχοι χαρακτήρες είναι στενοί και κοντόχοντροι. Επίσης, οι πληθυσμοί της Παμβώτιδας και του Καλαμά τείνουν να έχουν μεγαλύτερο 1^{ο} ραχιαίο και εδρικό πτερύγιο από τα άτομα του Λούρου.



Εικόνα 8.3: Διάγραμμα διασποράς των τιμών της διαχωριστικής ανάλυσης για τους πληθυσμούς του γένους *Economidichhtys* (Ep: *E. pygmaeus*).
Figure 8.3: Scatter plot of discriminant analysis scores for the populations of the genus *Economidichthys* (Ep: *E. pygmaeus*).

8.3.4.2.Γένος *Knipowitschia*

Με την εφαρμογή της διαχωριστικής ανάλυσης διαπιστώθηκε ότι η ολική μεταβλητότητα των μορφομετρικών χαρακτήρων ανάμεσα στους πληθυσμούς του γένους *Economidichhtys* μπορεί να επιμεριστεί σε οκτώ άξονες διαχωρισμού. Ο πρώτος άξονας με ιδιοτιμή 5,671 επεξηγεί το 33,7% της ολικής μεταβλητότητας (Wilks' λ=0,000, p<0,001) και ο δεύτερος με ιδιοτιμή 3,678 επεξηγεί το 21,8% της ολικής μεταβλητότητας (Wilks' λ=0,001, p<0,001). Στον πίνακα 8.14 συνοψίζονται τα αποτελέσματα όπου φαίνεται καθαρά ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά ως προς τον κάθε άξονα διαχωρισμού, αφού η τιμή p που υπολογίστηκε είναι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις μικρότερη του 0,004.

Πίνακας 8.14: Ιδιοτιμές των αξόνων της διαχωριστικής ανάλυσης, ποσοστό μεταβλητότητας και τιμές Wilks' λ των μετασχηματισμένων μεταβλητών για τα άτομα του γένους *Knipowitschia* κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Table 8.14: Eigenvalues of the functions of the discriminant analysis, % of variance and Wilks' λ values of standardized variables for the individuals of the genus *Knipowitschia* during the present study.

Άξονες	Ιδιοτιμές	% Μεταβλητότητας	Wilks' λ	χ^2	df	Sig.
1	5,671	33,7	0,000	1072,653	363	<0,001
2	3,678	21,8	0,001	832,582	320	<0,001
3	2,054	12,2	0,006	637,403	279	<0,001
4	1,431	8,5	0,020	496,182	240	<0,001
5	1,096	6,5	0,048	383,804	203	<0,001
6	0,976	5,8	0,101	290,180	168	<0,001
7	0,573	3,4	0,199	204,002	135	<0,001
8	0,509	3,0	0,314	146,663	104	0,004

Στον πρώτο άξονα διαχωρισμού (Πίνακας 8.15) τη μεγαλύτερη συμμετοχή έχουν οι μεταβλητές που συσχετίζονται με την απόσταση των δύο ραχιαίων πτερυγίων (D14), το πλάτος του 1^{ου} ραχιαίου πτερυγίου (D12) και τη διάμετρο του οφθαλμού (D33). Στο δεύτερο άξονα, τη μεγαλύτερη συσχέτιση την εμφάνισαν μεταβλητές που αφορούν το πλάτος του ουραίου πτερυγίου (D30) και τη θέση του 1^{ου} ραχιαίου πτερυγίου (D15).

Με βάση τους παραπάνω χαρακτήρες το 95,3% των ατόμων μπορούν να επανατοποθετηθούν σωστά στους αντίστοιχους πληθυσμούς του γένους *Knipowitschia* (Πίνακας 8.16, Εικόνα 8.4). Οι περισσότεροι πληθυσμοί διαχωρίζονται σε ποσοστό 100%, εκτός των ατόμων από το *K. milleri* που διαχωρίζεται σε ποσοστό 93,3% και τους πληθυσμούς του *K. caucasica* από Βιστωνίδα, Βάσσοβα, Κοτύχι και Καϊάφα που διαχωρίζονται σε ποσοστά 86,7%, 87,5% 86,7% και 90% αντίστοιχα.

Αναφορικά με το διάγραμμα διασποράς (Εικόνα 8.4) της διαχωριστικής ανάλυσης συμπεραίνουμε για τον πρώτο άξονα, ότι τα άτομα του *K. caucasica* από την Καλογριά εμφανίζουν υψηλότερες θετικές τιμές σε σχέση με τις χαμηλές τιμές των ατόμων του *K. thessala*. Στο δεύτερο άξονα τα άτομα του *K. panizzae* συμμετέχουν με υψηλότερες τιμές σε σχέση με τις χαμηλές τιμές των ατόμων του *K. milleri* και *K. caucasica* από το Κοτύχι. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι κάποια χαρακτηριστικά μπορούν να βοηθήσουν στο διαχωρισμό των πληθυσμών με τα άτομα από την Καλογριά να έχουν μεγαλύτερες αποστάσεις μεταξύ των 2 ραχιαίων πτερυγίων, πιο πλατύ 1^{ο} ραχιαίο πτερύγιο και μεγαλύτερη διάμετρο οφθαλμού από το *K. thessala*, ενώ τα άτομα του *K. panizzae* έχουν πλατύ ουραίο πτερύγιο και μεγαλύτερο 1^{ο} ραχιαίο πτερύγιο σε σχέση με τα άτομα του *K. milleri* και *K. caucasica* από το Κοτύχι που είναι πιο στενοί και μικρότεροι.

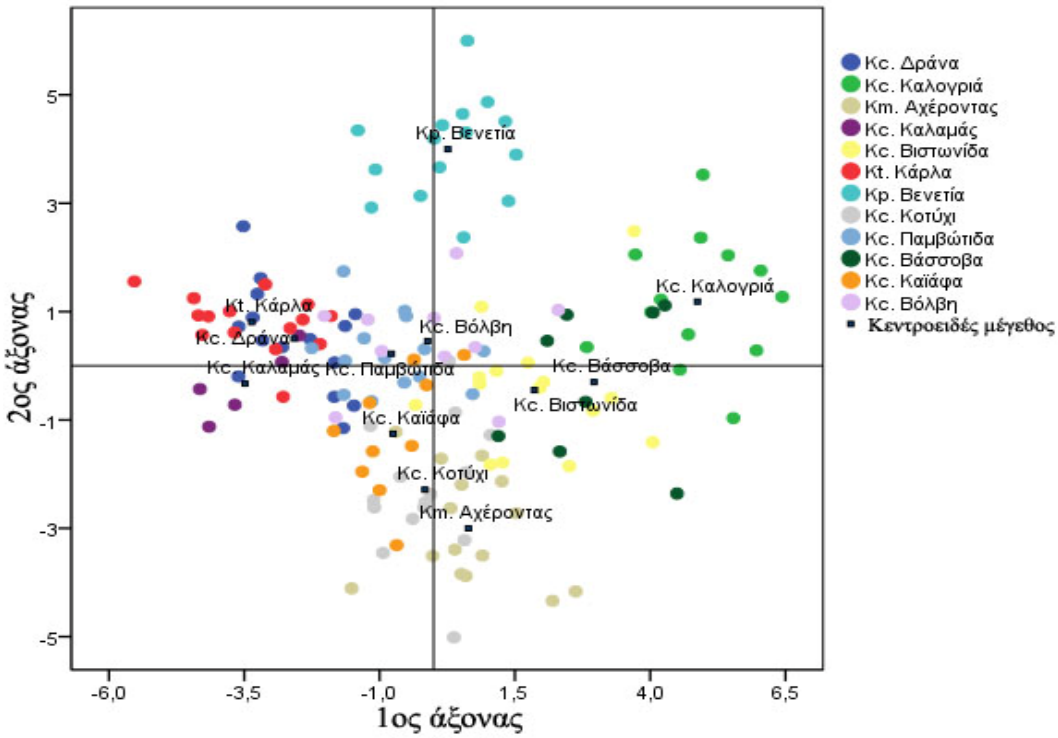
Πίνακας 8.15: Τιμές των μορφολογικών χαρακτήρων για τους δύο πρώτους άξονες διαχωρισμού για τα άτομα του γένους *Knipowitschia* κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης. Η σημαντική συσχέτιση κάθε συνιστώσας με κάποιο μορφολογικό χαρακτηριστικό σημειώνεται με έναν αστερίσκο (*).
Table 8.15: Values of morphometric characters for DFA1 and DFA2 for the individuals of the genus *Knipowitschia* during the present study. The largest absolute correlation between each variable and any discriminant function indicated by an asterisk (*).

Μεταβλητές	Άξονες	
	1	2
D14	0,475*	0,040
D12	0,460*	0,448
D33	0,446*	0,087
D16	0,443*	-0,074
D17	0,440*	0,101
D19	0,424*	0,373
D7	0,408*	0,139
D8	0,351*	0,141
D32	0,323*	0,281
D22	0,277*	0,099
D30	0,130	0,643*
D15	0,407	0,407*
D2	0,239	0,255
D4	0,250	0,169
D27	0,189	0,021
D29	0,353	0,214
D6	0,328	0,237
D25	0,143	0,103
D28	0,185	-0,016
D26	0,138	0,067
D31	0,266	0,142
D21	0,185	0,234
D24	0,344	0,245
D23	0,259	0,205
D1	0,257	0,121
D13	0,245	0,049
D18	0,271	-0,096
D3	0,170	0,134
D9	0,288	0,231
D11	0,023	0,169
D10	0,272	0,220
D20	0,285	0,236
D5	0,181	0,223

Πίνακας 8.16: Επανατοποθέτηση των πληθυσμών του γένους *Knipowitschia* βάσει της διαχωριστικής ανάλυσης.
Table 8.16: Re-classification of the populations of the genus *Knipowitschia* based on discriminant analysis.

	Είδη	Δράνα[1]	Καλογριά[1]	Αχέροντας[2]	Καλαμάς[1]	Βιστωνίδα[1]	Κάρλα[3]	Βενετία[4]	Κοτύχι[1]	Παμβώτιδα[1]	Βάσσοβα[1]	Καϊάφα[1]	Βόλβη[1]	Σύνολο
%	Δράνα	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15
	Καλογριά	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
	Αχέροντας	0	1	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15
	Καλαμάς	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	5
	Βιστωνίδα	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	15
	Κάρλα	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	15
	Βενετία	0	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	15
	Κοτύχι	0	0	1	0	0	0	0	13	0	0	1	0	15
	Παμβώτιδα	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	0	14
	Βάσσοβα	0	1	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	8
	Καϊάφα	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	9	0	10
	Βόλβη	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
	Συνολική σωστή επανατοποθέτηση 95,3%													

*εκθέτες: 1=*K. caucasica*, 2=*K. milleri*, 3=*K. thessala*, 4=*K. panizzae*.



Εικόνα 8.4: Διάγραμμα διασποράς των τιμών της διαχωριστικής ανάλυσης για τους πληθυσμούς του γένους *Knipowitschia* (Kc: *K. caucasica*, Kt: *K. thessala*, Kp: *K. panizzae*, Km: *K. milleri*).
Figure 8.4: Scatter plot of discriminant analysis scores for the populations of the genus *Knipowitschia* (Kc: *K. caucasica*, Kt: *K. thessala*, Kp: *K. panizzae*, Km: *K. milleri*).

8.3.4.3.Ομάδα 'αμμογωβιοί'

Με την εφαρμογή της διαχωριστικής ανάλυσης διαπιστώθηκε ότι η ολική μεταβλητότητα των μορφομετρικών χαρακτήρων ανάμεσα στα είδη της ομάδας των 'αμμογωβιών' μπορεί να επιμεριστεί σε επτά άξονες διαχωρισμού. Ο πρώτος άξονας με ιδιοτιμή 6,127 επεξηγεί το 52,2% της ολικής μεταβλητότητας (Wilks' λ=0,004, p<0,001) και ο δεύτερος με ιδιοτιμή 2,767 επεξηγεί το 23,6% της ολικής μεταβλητότητας (Wilks' λ=0,031, p<0,001). Στον πίνακα 8.17 συνοψίζονται τα αποτελέσματα όπου φαίνεται καθαρά ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά ως προς τον κάθε άξονα διαχωρισμού, αφού η τιμή p που υπολογίστηκε είναι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις μικρότερη του 0,003.

Πίνακας 8.17: Ιδιοτιμές των αξόνων της διαχωριστικής ανάλυσης, ποσοστό μεταβλητότητας και τιμές Wilks' λ των μετασχηματισμένων μεταβλητών για τα είδη της ομάδας 'αμμογωβιοί' κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
Table 8.17: Eigenvalues of the functions of the discriminant analysis, % of variance and Wilks' λ values of standardized variables for the species of the 'sand gobies' group during the present study.

Άξονες	Ιδιοτιμές	% Μεταβλητότητας	Wilks' λ	χ^2	df	Sig.
1	6,127	52,2	0,004	1347,102	231	<0,001
2	2,767	23,6	0,031	861,031	192	<0,001
3	1,126	9,6	0,116	532,765	155	<0,001
4	0,67	5,7	0,247	346,071	120	<0,001
5	0,483	4,1	0,413	219,122	87	<0,001
6	0,325	2,8	0,612	121,606	56	<0,001
7	0,233	2,0	0,811	51,889	27	0,003

Στον πρώτο άξονα διαχωρισμού (Πίνακας 8.18) τη μεγαλύτερη συμμετοχή έχουν οι μεταβλητές που συσχετίζονται με το διάστημα του 2^{ου} ραχιαίου με το εδρικό πτερύγιο (D19) και με το μήκος και το πλάτος του ουραίου μίσχου (D25-28), ενώ στο δεύτερο άξονα, τη μεγαλύτερη συσχέτιση την εμφάνισαν μεταβλητές που αφορούν το μέγεθος της κεφαλής (D2, D4), το διάστημα του 1^{ου} με το 2^{ο} ραχιαίο πτερύγιο (D14) καθώς και τη θέση του εδρικού πτερυγίου (D16, D17).

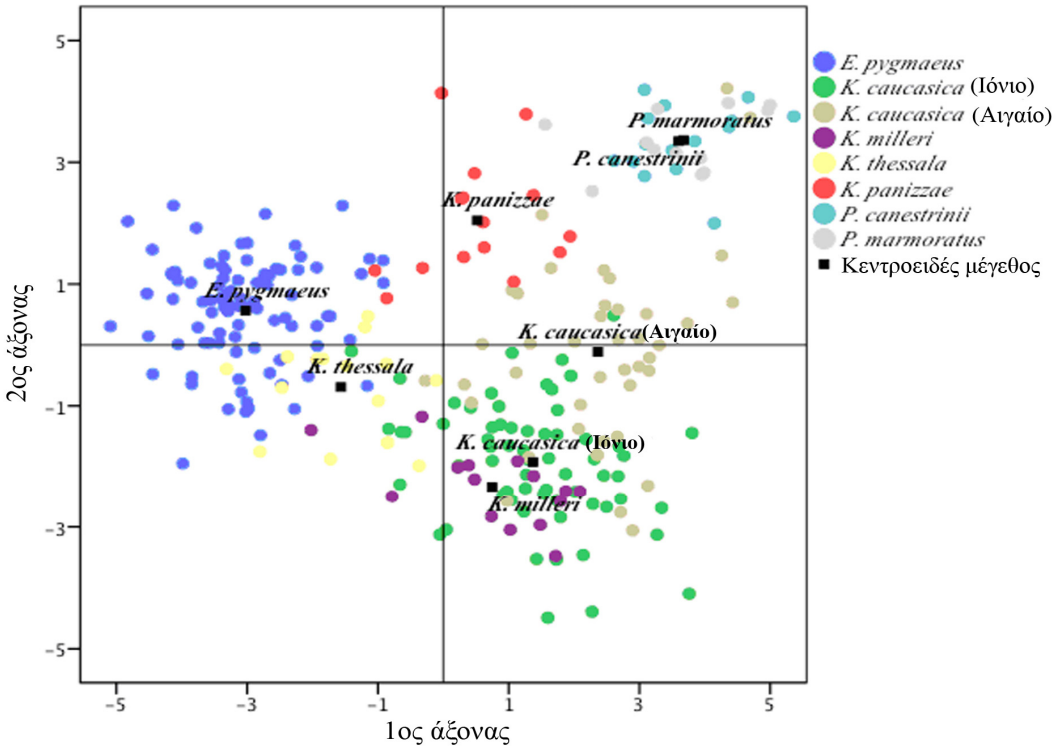
Με βάση τους παραπάνω χαρακτήρες το 90,7% των ατόμων μπορούν να επανατοποθετηθούν σωστά στο αντίστοιχο είδος (Πίνακας 8.19, Εικόνα 8.5). Το *E. pygmaeus* διαχωρίζεται σε ποσοστό 95,7%, το *K. caucasica* από Ιόνιο σε ποσοστό 89,1%, το *K. caucasica* από Αιγαίο σε ποσοστό 78%, το *K. milleri* σε ποσοστό 93,3%, το *K. thessala* σε ποσοστό 86,7%, το *K. panizzae* σε ποσοστό 100%, *το P. canestrinii* σε ποσοστό 93,3% και το *P. marmoratus* σε ποσοστό 91,7%.

Αναφορικά με το διάγραμμα διασποράς (Εικόνα 8.5) της διαχωριστικής ανάλυσης συμπεραίνουμε για τον πρώτο άξονα ότι τα άτομα του *P. canestrinii* και *P. marmoratus* εμφανίζουν πολύ υψηλές θετικές τιμές, σε αντίθεση με τους πληθυσμούς του *E. pygmaeus* που παρουσιάζουν αρνητικές τιμές. Στο δεύτερο άξονα τα άτομα του *K. panizzae* και των *P. canestrinii και P. marmoratus* συμμετέχουν με υψηλότερες τιμές σε σχέση με τις χαμηλές τιμές των *K. milleri* και *K. caucasica* από το Ιόνιο.

Πίνακας 8.18: Τιμές των μορφολογικών χαρακτήρων για τους δύο πρώτους άξονες διαχωρισμού για τα είδη της ομάδας 'αμμογωβιοί' κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης. Η σημαντική συσχέτιση κάθε συνιστώσας με κάποιο μορφολογικό χαρακτηριστικό σημειώνεται με έναν αστερίσκο (*).
Table 8.18: Values of morphometric characters for DFA1 and DFA2 for the species of the 'sand gobies' group during the present study. The largest absolute correlation between each variable and any discriminant function indicated by an asterisk (*).

Μεταβλητές	Άξονες	
	1	2
D19	-,0523*	0,386
D28	0,493*	0,250
D25	0,449*	0,249
D27	0,435*	0,338
D29	-0,416*	0,362
D26	0,401*	0,225
D6	-0,397*	0,260
D23	-0,343*	0,213
D22	-0,316*	0,289
D10	-0,286*	0,159
D2	-0,024	0,437*
D14	-0,318	0,350*
D16	-0,172	0,339*
D17	-0,270	0,339*
D24	-0,278	0,324*
D4	-0,173	0,324*
D20	-0,261	0,308*
D13	-0,156	0,260*
D3	-0,181	0,233*
D18	0,133	0,257
D33	-0,264	0,455
D15	-0,373	0,342
D12	-0,399	0,328
D30	-0,414	0,254
D31	-0,281	0,202
D21	-0,197	0,209
D1	-0,214	0,085
D7	-0,319	0,238
D5	-0,157	0,269
D11	-0,088	0,069
D32	-0,114	0,285
D9	-0,212	0,201
D8	-0,253	0,244

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι κάποιοι χαρακτήρες μπορούν να βοηθήσουν στο διαχωρισμό των ειδών με τα άτομα των *P. canestrinii και P. marmoratus* να έχουν μακρύ και λεπτό ουραίο μίσχο σε σχέση με του *E. pygmaeus* που είναι κοντόχοντρος, ενώ τα *K. panizzae*, *P. canestrinii και P. marmoratus* έχουν μεγαλύτερη κεφαλή, μεγαλύτερες αποστάσεις μεταξύ των 2 ραχιαίων πτερυγίων και μεγαλύτερο εδρικό πτερύγιο από τα *K. milleri* και *K. caucasica* του Ιονίου.



Εικόνα 8.5: Διάγραμμα διασποράς των τιμών της διαχωριστικής ανάλυσης για την ομάδα των 'αμμογωβιών'.
Figure 8.5: Scatter plot of discriminant analysis scores for the 'sand gobies' group.

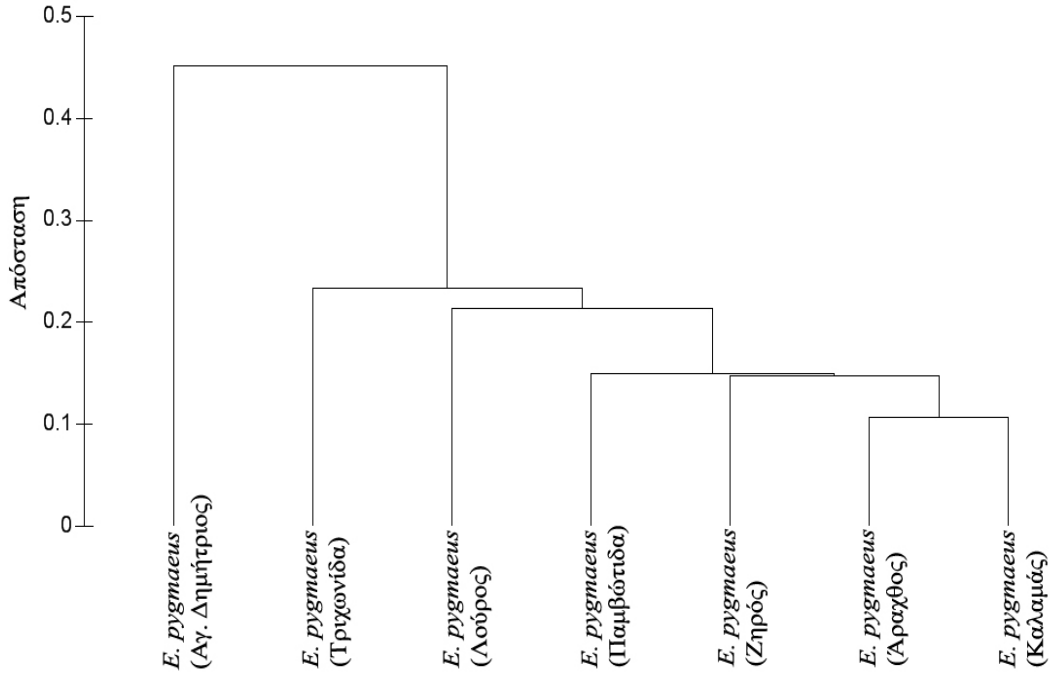
Πίνακας 8.19: Επανατοποθέτηση των ειδών της ομάδας ‘αμμογωβιοί’ βάσει της διαχωριστικής ανάλυσης.
Table 8.19: Re-classification of the species of the ‘sand gobies’ group based on discriminant analysis.

	Είδη	*E. pygmaeus*	*K. caucasica* (Ιόνιο)	*K. caucasica* (Αιγαίο)	*K. milleri*	*K. thessala*	*K. panizzae*	*P. canestrinii*	*P. marmoratus*	Σύνολο
%	*E. pygmaeus*	88	0	0	0	3	1	0	0	92
	K. caucasica (Ιόνιο)	1	57	4	2	0	0	0	0	64
	K. caucasica (Αιγαίο)	0	6	32	0	0	1	0	2	41
	K. milleri	0	1	0	14	0	0	0	0	15
	K. thessala	1	0	0	1	13	0	0	0	15
	K. panizzae	0	0	0	0	0	15	0	0	15
	P. canestrinii	0	0	0	0	0	0	14	1	15
	P. marmoratus	0	0	0	0	0	0	1	11	12
	Συνολική σωστή επανατοποθέτηση 90,7%									

8.3.5. Ανάλυση Συστοιχειών

8.3.5.1.Γένος *Economidichhtys*

Το αποτέλεσμα της ανάλυσης ομάδων φαίνεται στο δενδρόγραμμα που ακολουθεί. Ως πηγή δεδομένων χρησιμοποιήθηκαν οι μέσες μετασχηματισμένες τιμές της κάθε μεταβλητής. Στην εικόνα 8.6 χρησιμοποιήθηκε ο αλγόριθμος ευκλείδειας απόστασης. Παρατηρούμε ότι ο πληθυσμός του Αγ. Δημητρίου είναι ο περισσότερο απομακρυσμένος από τους υπόλοιπους. Οι υπόλοιποι πληθυσμοί ακολουθούν ξεχωριστά με την εξής σειρά Τριχωνίδα, Λούρος, Παμβώτιδα, Ζηρός με τους δύο τελευταίους Άραχθο και Καλαμά να σχηματίζουν ομάδα.

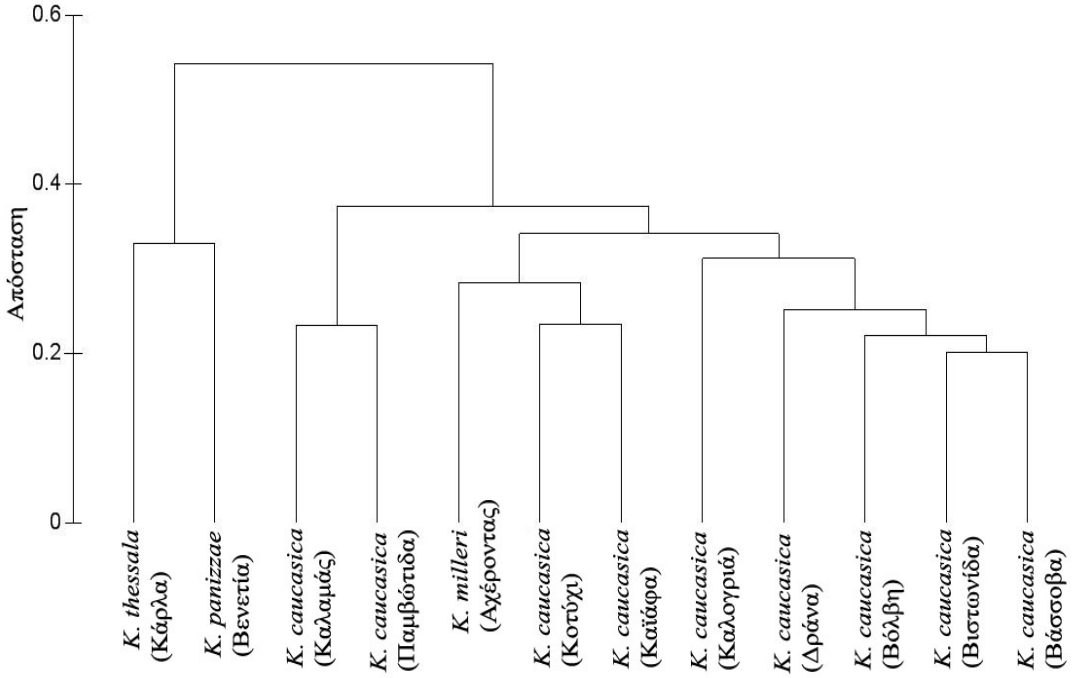


Εικόνα 8.6: Δενδρόγραμα UPGMA με την ευκλείδεια απόσταση βάσει μορφολογικών χαρακτήρων μεταξύ των πληθυσμών του γένους *Economidichthys*.
Figure 8.6: UPGMA dendrogram of the generalized distance based on morphological characters between the populations of the genus *Economidichthys*.

8.3.5.2.Γένος *Knipowitschia*

Το αποτέλεσμα της ανάλυσης ομάδων φαίνεται στο δενδρόγραμμα που ακολουθεί. Ως πηγή δεδομένων χρησιμοποιήθηκαν οι μέσες μετασχηματισμένες τιμές της κάθε μεταβλητής. Στην εικόνα 8.7 χρησιμοποιήθηκε ο αλγόριθμος ευκλείδειας απόστασης. Παρατηρούμε ότι δημιουργήθηκαν οι παρακάτω ομάδες πληθυσμών. Η πρώτη ομάδα, η

οποία είναι και η πιο απομακρυσμένη, περιλαμβάνει τους πληθυσμούς των *K. thessala* και *K. panizzae*. Η δεύτερη ομάδα περιλαμβάνει τα άτομα του *K. milleri* από τον Αχέροντα και *K. caucasica* από Κοτύχι-Καϊάφα τα οποία ενώνονται με το ζευγάρι Καλαμά-Παμβώτιδα του *K. caucasica*. Το χαρακτηριστικό αυτής της ομαδοποίησης είναι ότι οι πληθυσμοί προέρχονται από συστήματα του Ιονίου. Η τέταρτη ομάδα περιλαμβάνει πληθυσμούς του *K. caucasica* από τα συστήματα του Αιγαίου με το ζευγάρι Βιστωνίδα-Βάσσοβα να βρίσκεται αρκετά κοντά με τους ξεχωριστούς πληθυσμούς του *K. caucasica* από τη Βόλβη και τη Δράνα.

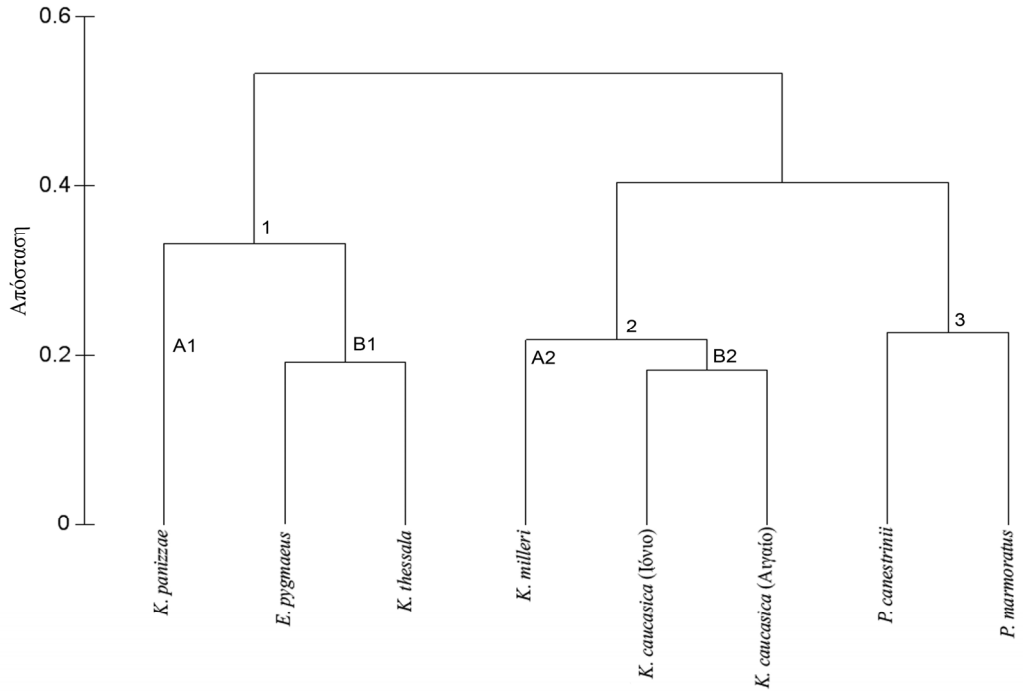


Εικόνα 8.7: Δενδρόγραμα UPGMA με την ευκλείδεια απόσταση βάσει μορφολογικών χαρακτήρων μεταξύ των πληθυσμών του γένους *Knipowitschia*.
Figure 8.7: UPGMA dendrogram of the generalized distance based on morphological characters between the populations of the genus *Knipowitschia.*

8.3.5.3.Ομάδα 'αμμογωβιοί'

Η χρησιμοποίηση ιεραρχικής διαβάθμισης που εφαρμόστηκε στους μορφολογικούς και μεριστικούς χαρακτήρες των 'αμμογωβιών' δημιούργησε το δενδρόγραμμα της εικόνας 8.8. Τα δεδομένα ομαδοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ως δείκτη ομαδοποίησης την ευκλείδεια απόσταση και ως μέθοδο ομαδοποίησης την UPGMA. Πιο συγκεκριμένα στο διάγραμμα της εικόνας 8.8 παρατηρούνται 3 βασικοί κλάδοι οι οποίοι μπορούν να διακριθούν προς επιμέρους κλάδους. Ο κλάδος 1 διακλαδίζεται προς τους κλαδους Α1 και

Β1. Ο κλάδος Α1 αποτελείται από άτομα του είδους *K. panizzae*, ενώ ο κλάδος Β1 περιλαμβάνει άτομα του *E. pygmaeus* και *K. thessala*. Ο κλάδος 2 διακλαδίζεται προς τους κλαδους Α2 και Β2. Ο κλάδος Α2 αποτελείται από τον πληθυσμό του *K. milleri* και είναι αρκετά κοντά στον κλάδο Β2, ο οποίος αποτελείται από άτομα του *K. caucasica* από τις περιοχές Ιονίου και Αιγαίου. Ο κλάδος 3 περιλαμβάνει τους πληθυσμούς των ειδών *P. canestrinii* και *P. marmoratus*, τα οποία σχηματίζουν αδελφή ομάδα.



Εικόνα 8.8: Δενδρόγραμα UPGMA με την ευκλείδεια απόσταση βάσει μορφολογικών χαρακτήρων μεταξύ των ειδών της ομάδας 'αμμογωβιοί'.
Figure 8.8: UPGMA dendrogram of the generalized distance based on morphological characters between the species of the 'sand gobies' group.

8.4. Συζήτηση

Σύμφωνα με τους Rohlf & Marcus (1993) η μορφομετρία ασχολείται με τη μεθοδολογία για τη στατιστική μελέτη της μεταβολής του σχήματος και της παραλλαγής του σχήματος με εγγενή (μορφογενετικά) και εξωγενή (οικολογικά και εξελικτικά) αίτια. Τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά θεωρείται ότι αντανακλούν τις προσπάθειες απόκρισης και την προσαρμοστικότητα του πληθυσμού στο τοπικό του περιβάλλον (Swain & Foote 1999). Σε αρκετές περιπτώσεις έχουν ανιχνευθεί διαφορές στη μορφομετρία, οι οποίες οφείλονται στην επίδραση που ασκούν οι διαφορετικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες στη φαινοτυπική πλαστικότητα των πληθυσμών (Tudela 1999). Πιο συχνά όμως, στις αλλαγές που παρατηρούνται στο σχήμα του σώματος συνεισφέρει η γενετική σύσταση εξαιτίας της εξελικτικής πλαστικότητας δηλαδή των ταχέως γενετικών αλλαγών που συμβαίνουν μέσα στη γονιδιακή δεξαμενή για την αντιμετώπιση των τοπικών επιλεκτικών πιέσεων (Hänfling & Brandl 1998, Genner et al 2007, Shao et al. 2007, Herler et al. 2010).

Το σταθερό μήκος έδειξε μη στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τα μεριστικά, το οποίο αποδίδεται στο γεγονός ότι οι μεριστικοί χαρακτήρες ολοκληρώνονται κατά την πρώιμη εμβρυϊκή περίοδο του ψαριού, η οποία αποτελεί ένα σύντομο χρονικό διάστημα κατά τη διάρκεια της ζωής του και μετά παραμένουν αμετάβλητοι (Parrish & Sharman 1958). Τα χαμηλά ποσοστά του συντελεστή διακύμανσης (% CV), που σημειώθηκαν ξεχωριστά για τις μεταβλητές του κάθε είδους, υποδηλώνουν χαμηλή ενδοπληθυσμιακή διακύμανση των μορφολογικών χαρακτήρων και δείχνουν ότι κάθε είδος αποτελείται από φαινοτυπικά ομοιογενείς ομάδες ατόμων. Επιπλέον, οι χαμηλές τιμές του συντελεστή διακύμανσης μπορεί να οφείλονται στην υψηλή κληρονομικότητα και συνεπώς η μορφολογική ποικιλομορφία να επηρεάζεται λιγότερο από τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Ferrito et al. 2007, Mamouris et al. 1998, Soule & Couzin-Roudy 1982). Εναλλακτικά, οι υψηλές τιμές των περιβαλλοντικών παραγόντων μπορεί να αποτελέσουν περιοριστικό παράγοντα που εμποδίζει την εκδήλωση μορφολογικών διαφορών εντός των πληθυσμών (Ferrito et al. 2007).

Στην παρούσα εργασία επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη διαφορών μεταξύ των μεριστικών χαρακτήρων της ομάδας 'αμμογωβιοί' με τα *E. pygmaeus* και *P. marmoratus* να παρουσιάζουν τις μεγαλύτερες τιμές. Το εύρος τιμών των μεριστικών χαρακτήρων βρέθηκε παρόμοιο με αυτό που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία (Economidis & Miller 1990, Miller 2004, Kottelat & Freyhof 2007).

Η προσέγγιση της μορφολογικής ποικιλομορφίας των πληθυσμών του γένους *Economidichthys* και *Knipowitschia* με μεθόδους πολυμεταβλητής ανάλυσης, έδειξε ότι οι χαρακτήρες που χρησιμοποιήθηκαν περιγράφουν ικανοποιητικά τη μορφολογία των πληθυσμών. Οι ομαδοποιήσεις των πληθυσμών που προέκυψαν με βάση αυτούς τους χαρακτήρες, συγκλίνανε πολύ καλά με την ταξινομική των Economidis & Miller (1990), Miller (2004) και Kottelat & Freyhof (2007). Επιπλέον, σύμφωνα με τα δενδρογράμματα των Εικόνων 8.6 και 8.7 έγινε εμφανής η ύπαρξη κάποιου γεωγραφικού πρότυπου που να χαρακτηρίζει τις σχέσεις των πληθυσμών τόσο στο γένος *Economidichhtys* όσο και στο γένος *Knipowitschia*, με μοναδική εξαίρεση τον πληθυσμό του *K. cacucasica* από την Καλογριά ο οποίος φαίνεται να διατηρεί ίσες αποστάσεις από τους πληθυσμούς Κοτύχι και Καιάφα όσο και από τη Δράνα. Αυτή η επικάλυψη των πληθυσμών πρέπει να είναι αποτέλεσμα των εκρήξεων ειδογένεσης που συνέβησαν κατά τις θερμές και ψυχρές περιόδους του Πλειστοκαίνου (Stefanni & Thorley 2003, Neilson & Stepien 2009, Larmuseau et al. 2009).

Αναφορικά με τα αποτελέσματα της Ανάλυσης των Κύριων Συνιστωσών για την ομάδα 'αμμογωβιοί' βλέπουμε ότι ο συνδυασμός των μετασχηματισμένων τιμών όλων των μεταβλητών επέτρεψε στην ανάλυση να ενσωματώσει ποσοστό 80,5% της μορφολογικής διαφοροποίησης των ατόμων στις έξι κύριες συνιστώσες. Η πρώτη κύρια συνιστώσα της ανάλυσης είναι μια έκφραση του μήκους του 1^{ου} ραχιαίου και του εδρικού πτερυγίου, ενώ η δεύτερη αποτελεί μια έκφραση του σχήματος της κεφαλής.

Σχετικά με τη Διαχωριστική Ανάλυση, παρατηρώντας τη γραφική παράσταση της Εικόνας 8.5, διαπιστώνεται ότι υπάρχουν πληθυσμοί που απέχουν πολύ μεταξύ τους με βάση τη μορφολογία του σώματος, αλλά υπάρχουν και πληθυσμοί οι οποίοι είναι μορφολογικά πολύ όμοιοι. Οι περισσότερο απομακρυσμένοι πληθυσμοί ανήκουν στα είδη *P. canestrinii* και *P. marmoratus,* τα οποία εξωθούν τα άτομα του *E. pygmaeus* στο αντίθετο άκρο του 1^{ου} άξονα. Στο 2^{ο} άξονα οι πληθυσμοί των ειδών *K. panizzae. P. canestrinii* και *P. marmoratus* εξωθούν στο αντίθετο άκρο τα άτομα του *K. caucasica* από το Ιόνιο. Οι υπόλοιποι πληθυσμοί είτε εμφανίζονται λίγο απομακρυσμένοι από τους υπόλοιπους είτε εμφανίζονται ανάμεσα στις ομάδες που αναφέρθηκαν

Σε ότι αφορά τα ποσοστά σωστής τοποθέτησης των ατόμων στα είδη που από πριν είχε οριστεί ότι ανήκουν, διαπιστώνεται ότι ο μέσος όρος ανέρχεται στο 90,7% και η πλειονότητα των πληθυσμών εμφανίζει ποσοστά σωστής ταξινόμησης μεγαλύτερα από 89,1%. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι υπάρχουν είδη με μορφομετρικά

χαρακτηριστικά που τα άτομά τους δε συγχέονται με άτομα άλλων ειδών. Για παράδειγμα, οι πληθυσμοί των *K. panizzae, E. pygmaeus, P. canestrinii* και *P. marmoratus* οι οποίοι εμφανίζουν ποσοστά σωστής τοποθέτησης από 91,7 ώς 100% και χαρακτηρίζονται από το σχήμα της κεφαλής, την απόσταση μεταξύ των 2 ραχιαίων πτερυγίων και το λεπτό και μακρύ ουραίο μίσχο αντίστοιχα. Τα παραπάνω χαρακτηριστικά σχετίζονται λειτουργικά με δευτερογενή αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά που εκδηλώνουν οι 'αμμογωβιοί'. Το μεγαλύτερο μέγεθος της κεφαλής, η ανύψωση των ραχιαίων πτερυγίων, ο αερισμός της φωλιάς με το ουραίο πτερύγιο συνδέονται άμεσα με τον εντοπισμό και το πλησίασμα του θηλυκού, καθώς και με την καλύτερη κυκλοφορία του νερού μέσα στη φωλιά (Magnhagen 1998, Jones & Reynolds 1999, Marchesan et al. 2000, Lindström et al. 2006, Malavasi et al. 2008, Gkenas et al. 2010). Κατ' επέκταση, οι παραπάνω χαρακτήρες φαίνεται ότι σχετίζονται και ότι αντανακλούν στη συμπεριφορά των ειδών της ομάδας των 'αμμογωβιών'.

Σε ότι αφορά το δενδρόγραμμα της Εικόνας 8.8, στο κλάδο 1 συμπεριλαμβάνεται το ευρύαλο είδος *K. panizzae*, το οποίο συνδέεται μορφομετρικά με τα είδη του επιμέρους κλάδου B1. Στον κλάδο B1 τα 2 ενδημικά είδη *E. pygmaeus* και *K. thessala* εμφανίζονται ως πολύ συγγενικά με βάση τη μορφολογία του σώματός τους, ενώ το είδος *E. pygmaeus* εμφανίζεται παραφυλετικό. Με βάση την καταγωγή των παραπάνω αντιπροσώπων της ομάδας 'αμμογωβιοί' και με τη βοήθεια των μορφολογικών χαρακτήρων μπορεί να περιγραφεί το παρακάτω σενάριο: Κατά το τέλος του Μειοκαίνου (5,5 εκατ. χρόνια πριν) η Μεσόγειος έχασε τελείως τη συνέχειά της με τον Ατλαντικό και μετατράπηκε σε μια σειρά από υφάλμυρες ώς υπεράλμυρες λίμνες (φάση 'Lago Mare') (Hsü et al. 1977). Αυτό το γεγονός είχε ως αποτέλεσμα οι προγονικές μορφές των 'αμμογωβιών' που είχαν ως προέλευση την Παρατεθύ (Popov et al. 2006) να μεταβούν για πρώτη φορά σε υπόαλα και άναλα οικοσυστήματα και να επιδείξουν υψηλή προσαρμοστική ικανότητα (Huyse et al. 2004, Ahnelt 2011). Όταν η Μεσόγειος άρχισε να παίρνει τη σημερινή της μορφή (5,3 εκατ. χρόνια πριν) μόνο οι απομονωμένοι πληθυσμοί που είχαν διεισδύσει σε περιορισμένες περιοχές, όπως υφάλμυρες λιμνοθάλασσες και λίμνες, κατάφεραν να επιβιώσουν και από αυτούς να προέλθουν τα είδη *K. panizzae* και *K. thessala* (Penzo et al. 1998, Huyse et al. 2004). Η αρχέγονη θέση που κατέλαβαν οι αντιπρόσωποι του γένους *Economidichthys* (*E. trichonis*, *E. pygmaeus*) σε πρόσφατη φυλογενετική μελέτη (Vanhove et al. 2012) και η προέλευσή του *E. pygmaeus* από τη ζωογεωγραφική περιφέρεια του Ιονίου, η οποία θεωρείται περιοχή με υψηλό βαθμό ενδημισμού (Economou et al. 2007,

Skoulikidis et al. 2009) συναινούν στην ομαδοποίησή του με τα πρώιμα είδη του γένους *Knipowitschia* (*K. panizzae, K. thessala*).

Σε ότι αφορά τον κλάδο 2, ο επιμέρους κλάδος Α2 ενσωματώνει ένα άλλο ενδημικό είδος του ποταμού Αχέροντα το *K. milleri* το οποίο συνδέεται στενά με πληθυσμούς του *K. caucasica* προερχόμενους από το Ιόνιο και το Αιγαίο. Η απόκλιση του *K. caucasica* από τα *K. panizzae* και *K. thessala* οφείλεται στο δεύτερο 'κύμα' εποικισμού του Ελλαδικού χώρου από το *K. caucasica* που πραγματοποιήθηκε κατά τις παγετώδεις περιόδους του Πλειστοκαίνου (Ahnelt 2011, Vanhove et al. 2012). Η ομαδοποίηση του τελευταίου με το *K. milleri* είναι αποτέλεσμα της χαμηλής γενετικής απόστασης που τα χωρίζει (Vanhove et al. 2012). Επιπλέον, στα είδη αυτά φαίνεται να είναι αδύνατη η διάκρισή τους στο στάδιο της προνύμφης χρησιμοποιώντας τη μορφολογία (Miller 2004).

Ο κλάδος 3 περιλαμβάνει τα *P. canestrinii* και *P. marmoratus* που προέρχονται από τη λιμνοθάλασσα της Βενετίας. Σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των 2 ευρύαλων ειδών έπαιξαν τα γεωλογικά γεγονότα που διαδραματίστηκαν κατά το Πλειστόκαινο (Gysels et al. 2004, Huyse et al. 2004). Οι πολύ ψυχρές θερμοκρασίες που επικρατούσαν κατά τη διάρκεια των παγετωδών περιόδων (Thiede 1978) και οι μεταβολές της στάθμης της θάλασσας συνέβαλαν στη κατάτμιση της λεκάνης της Μεσογείου σε Δυτική και Ανατολική και στην απομόνωση των πληθυσμών της Βόρειας Αδριατικής από το υπόλοιπο τμήμα της Μεσογείου (Stefanii & Thorley 2003, Mejri et al. 2011).

Εκ κατακλείδι, η χρήση της μορφομετρίας μπορεί να αποδειχθεί ένα χρήσιμο εργαλείο για την εκτίμηση των σχέσεων μεταξύ των ειδών της ομάδας 'αμμογωβιοί'. Ωστόσο, η χρησιμοποίηση αποκλειστικά μορφολογικών δεδομένων είναι μάλλον παραπλανητική και θα μπορούσε να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα ή παρερμηνεία των γεγονότων. Επομένως, απαιτείται φυλογενετική προσέγγιση, η οποία θα συμπεριλαμβάνει φυλογενετικούς δείκτες για την καλύτερη κατανόηση της εξελικτικής πορείας των 'αμμογωβιών'.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΧΕΣΕΙΣ ΕΙΔΩΝ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ‘ΑΜΜΟΓΩΒΙΟΙ’

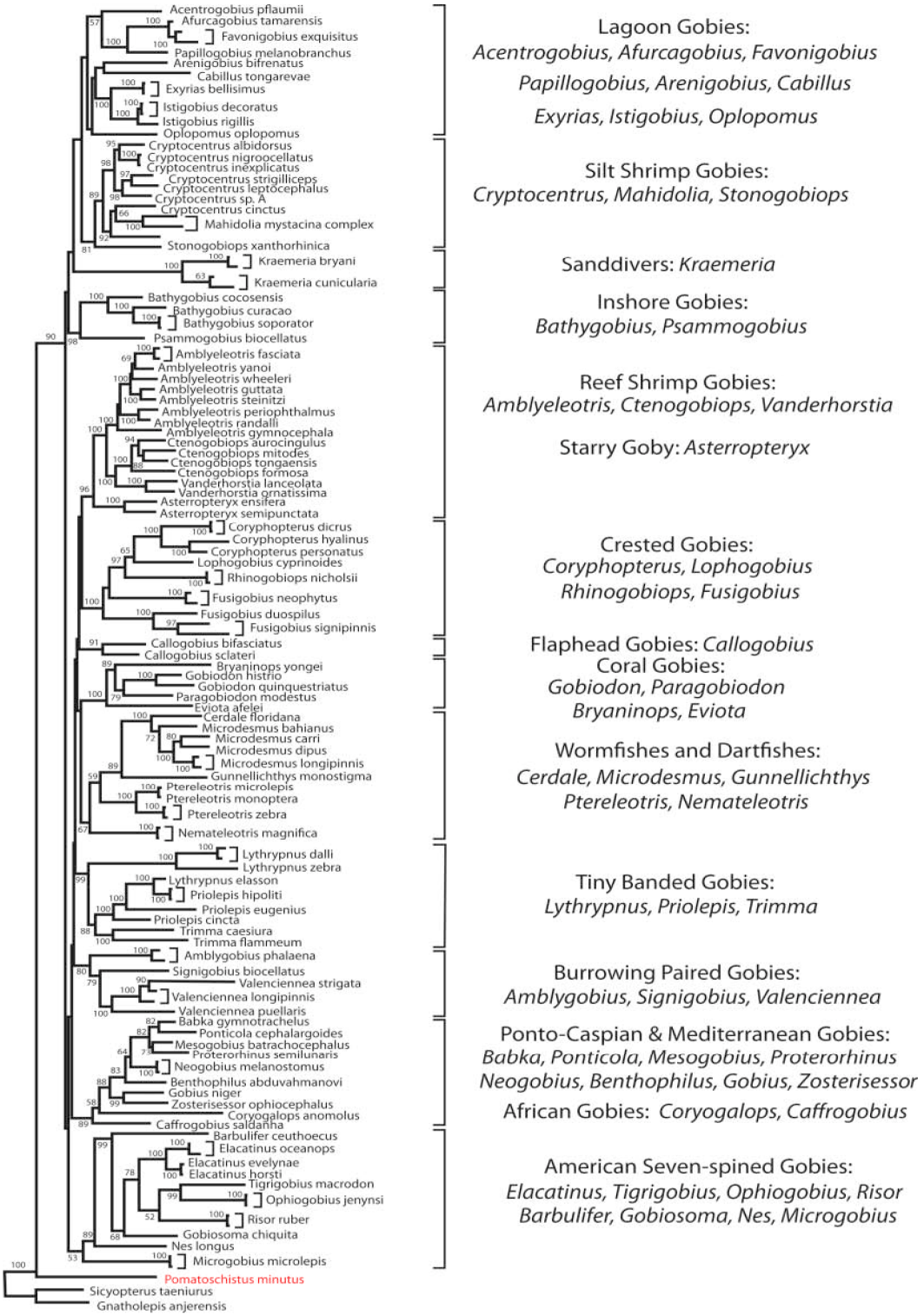
9.1. Εισαγωγή

Μια πρόσφατη εργασία φυλογένεσης σχετικά με την οικογένεια Gobiidae (Thacker & Roje 2011) υποστήριξε ότι η πλειονότητα αυτών των ειδών ομαδοποιείται σε ένα μονοφυλετικό κλάδο στον οποίο είδη με Ατλαντικό/Μεσογειακή καταγωγή, (όπως τα *Gobius* και *Zosterisessor*) σχηματίζουν αδελφή ομάδα με είδη γωβιών με Ποντο-Κασπική καταγωγή από τη Μαύρη Θάλασσα, την Κασπία, την Αζοφική και τη Θάλασσα της Αράλης (όπως τα *Mesogobius, Proterorhinus* και *Ponticola*). Από τη μονοφυλετική αυτή ομάδα, ένα είδος της ανατολικής Μεσογείου, το *Pomatoschistus minutus*, αποκλίνει νωρίτερα και εμφανίζεται ως το αρχέγονο είδος της οικογένειας Gobiidae (Εικόνα 9.1). Το *P. minutus* ήταν, ταυτόχρονα, ο μοναδικός εκπρόσωπος στη μελέτη των Thacker και Roje (2011) μιας μεγαλύτερης ομάδας, των 'αμμογωβιών' (*Pomatoschistus, Gobiusculus, Knipowitschia, Economidichthys*, Huyse et al 2004.), των οποίων οι φυλογενετικές σχέσεις αποτελούν πηγή προβληματισμού τα τελευταία χρόνια.

Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο εισαγωγή, τα τελευταία δεκαπέντε χρόνια έχουν αρχίσει να πραγματοποιούνται μελέτες που στηρίζονται σε μοριακά δεδομένα, με σκοπό να διερευνήσουν τις βιογεωγραφικές συγγένειες ειδών της ομάδας 'αμμογωβιοί' που εντοπίζονται στη δυτική λεκάνη της Μεσογείου (Penzo et al. 1998, Stefanni & Thorley 2003, Neilson & Stepien 2009, Larmuseau et al. 2009.

Πιο πρόσφατες μελέτες (Huyse et al. 2004, Vanhove et al. 2012) επικεντρώθηκαν στον ελλαδικό χώρο, εξαιτίας της μεγάλης βιοποικιλότητας η οποία είναι αποτέλεσμα τεκτονικών, γεωγραφικών και κλιματικών διεργασιών που έλαβαν χώρα κατά το γεωλογικό παρελθόν της περιοχής (Dermitzakis 1990, Dermitzakis & Papanikolaou 1981, Meulenkamp 1985, Sfenthourakis & Legakis 2001, Steininger & Rögl 1984). Όλες οι παραπάνω εργασίες οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η σημερινή κατανομή των 'αμμογωβιών' οφείλεται σε ένα βικαριανιστικό[10] μοντέλο διαφοροποίησης, το οποίο σχετίζεται άμεσα με τη γεωτεκτονική εξέλιξη της Μεσογείου. Όμως στις ίδιες εργασίες καταδεικνύεται επίσης ότι αρκετά βιογεωγραφικά σενάρια ανταγωνίζονται για την ερμηνεία των παρατηρούμενων κατανομών με αποτέλεσμα να προκύπτουν ασυμφωνίες όσον αφορά τις εξελικτικές τάσεις στη Μεσόγειο (Penzo et al. 1998, Gysels et al. 2004, Huyse et al. 2004, Mejri et al. 2011, Vanhove et al. 2012).

[10] Σύμφωνα με τον βικαριανισμό οι πληθυσμοί ή άλλες ανώτερες ταξινομικές μονάδες, διαχωρίζονται όταν η λίγο ώς πολύ συνεχής κατανομή της προγονικής μορφής κατακερματίζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως φαινόμενα ορογένεσης, αποχωρισμός ηπειρωτικών μαζών, ευστατικές ή ισοστατικές αλλαγές κτλ. (Avise 2000).



Εικόνα 9.1: Φυλογενετική ανάλυση για 100 είδη της οικογένειας Gobiidae βασισμένη στη μέθοδο της Μέγιστης Πιθανοφάνειας. Το *P. minutus* δίνεται με κόκκινο χρώμα (τροποποιημένη από Thacker & Roje 2011).

Figure 9.1: Phylogenetic analysis of 100 species of Gobiidae based on Maximum Likelihood analysis. *P. minutus* is shown by red colour (modified by Thacker & Roje 2011).

Η φυλογενετική προσέγγιση που ακολουθείται για την υπό μελέτη ομάδα εξαρτάται από τα βιολογικά της χαρακτηριστικά, το χρόνο διαφοροποίησής της και τη χρήση του κατάλληλου μοριακού δείκτη. Κατά συνέπεια, αντί να έχουν καλυφθεί τα κενά της εξελικτικής ιστορίας των 'αμμογωβιών', απαιτούνται μελέτες με περισσότερα είδη που έχουν παρόμοια φυσική ιστορία και χρησιμοποίηση περισσότερων μοριακών δεικτών για να ξεκαθαρίσει η εικόνα.

Για τη διερεύνηση του φυλογεωγραφικού προτύπου της ομάδας των 'αμμογωβιών' χρησιμοποιήθηκε το μιτοχονδριακό γονίδιο της υπομονάδας I της κυτοχρωμικής οξειδάσης C (cytochrome oxidase C subunit I-COI). Ειδικά η υπομονάδα I της κυτοχρωμικής οξειδάσης C χρησιμοποιείται αρκετά σε μελέτες φυλογένεσης, διότι (α) έχει παγκόσμιους εκκινητές που επιτρέπουν την ανάκτηση του 5΄ άκρου από εκπροσώπους σχεδόν όλων των ζωικών φύλων (Folmer et al. 1994, Zhang & Hewitt 1997) και (β) το γονίδιο αυτό φέρει μεγαλύτερο εύρος φυλογενετικού σήματος σε σύγκριση με τα υπόλοιπα μιτοχονδριακά γονίδια (Kerr et al. 2007). Στο COI, η τρίτη νουκλεοτιδική του θέση παρουσιάζει υψηλή συχνότητα υποκατάστασης βάσεων που είναι τρεις φορές μεγαλύτερη από αυτή των 12S και 16S rDNA (Knowlton & Weigt 1998). Σύμφωνα μάλιστα με ερευνητές, υποστηρικτές του DNA Barcoding[11], με τη βοήθεια αυτού του γονιδίου μπορεί να ταυτοποιηθεί στο επίπεδο του είδους το 98% των ζωικών οργανισμών (Hebert et al. 2003).

Σκοπός της παρούσας ενότητας ήταν η διερεύνηση του φυλογενετικού προτύπου καθώς και η πληθυσμιακή δομή της ομάδας των 'αμμογωβιών' από διάφορες περιοχές της Ελλάδας. Πιο συγκεκριμένα ανάμεσα στους στόχους της παρούσας έρευνας ήταν:

- Ο προσδιορισμός της γενετικής δομής των πληθυσμών και των ειδών της ομάδας των 'αμμογωβιών'.
- Η εκτίμηση του βαθμού της γενετικής διαφοροποίησης/απόστασης μεταξύ των πληθυσμών και των ειδών της ομάδας των 'αμμογωβιών'.
- Ο προσδιορισμός της φυλογενετικής ιστορίας της ομάδας των 'αμμογωβιών' και η συσχέτισή της με παλαιογεωγραφικά δεδομένα.

[11] DNA barcoding: γενετικά γραμμωτός κώδικας

9.2. Υλικά και μέθοδοι

9.2.1. Βιολογικό υλικό

Αντιπροσωπευτικά δείγματα γωβιών συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της ηπειρωτικής Ελλάδας (Εικόνα 9.2) κατά την περίοδο 2006-2009. Επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση και είδη γωβιών (*P. marmoratus*, *P. canestrinii*, *K. panizzae*) από τη λιμνοθάλασσα της Βενετίας. Η δειγματοληψία έγινε με τη χρήση απόχης ή με τη χρήση ηλεκτραλιείας, ενώ τα άτομα θανατώνονταν άμεσα σε αιθανόλη 70%. Κατόπιν μεταφέρονταν στο εργαστήριο, όπου διατηρούνταν σε θερμοκρασία -20°C μέχρι τη χρήση τους. Στον πίνακα 9.1 φαίνονται συνολικά οι περιοχές δειγματοληψίας (20), ο αριθμός ατόμων (87) που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη από κάθε περιοχή και ο κωδικός κάθε περιοχής, έτσι όπως χρησιμοποιήθηκε στη μιτοχονδριακή ανάλυση. Σε σχέση με το προηγούμενο κεφάλαιο, στη παρούσα ενότητα χρησιμοποιήθηκαν δείγματα από 3 παραπάνω σταθμούς χωρίς να επηρεάζεται η γεωγραφική ομαδοποίηση των πληθυσμών.

9.2.2. Εργαστηριακές αναλύσεις

Κατά τη διάρκεια των εργαστηριακών αναλύσεων ελήφθησαν όλες οι απαραίτητες προφυλάξεις, τόσο για την ασφάλεια του ερευνητή και του εξοπλισμού που χρησιμοποιήθηκε, όσο και για την αποφυγή μολύνσεων των δειγμάτων που θα οδηγούσαν σε λανθασμένα αποτελέσματα (γάντια, αποστείρωση των υλικών, καθαρισμός του πάγκου εργασίας μετά το πέρας των εργασιών κ.ά.). Το σύνολο των εργαστηριακών αναλύσεων περιελάμβανε συνοπτικά την ακόλουθη πορεία:

- Απομόνωση ολικού γενωμικού DNA.
- Πολλαπλασιασμός του επιθυμητού γονιδίου διαμέσου της τεχνικής της PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης).
- Προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας (sequencing).
- Επεξεργασία των αποτελεσμάτων και κατασκευή φυλογενετικών δένδρων.

Πίνακας 9.1: Αριθμός ατόμων γωβιών από κάθε περιοχή δειγματοληψίας που χρησιμοποιήθηκε για τις γενετικές αναλύσεις.
Table 9.1: Number of goby individuals from each sampling region used for genetic analyses.

Κωδικός	Είδος	Περιοχή	Αριθμός ατόμων (n)
DRE	*K. caucasica*	Λ/Θ Δράνα-Π. Εβρος	3
BIS	*K. caucasica*	Λ. Βιστωνίδα	4
BANK	*K. caucasica*	Λ/Θ Βάσσοβα-Π. Νέστος	4
BANP	*P. minutus*	Λ/Θ Βάσσοβα-Π. Νέστος	1
BANM	*P. marmoratus*	Λ/Θ Βάσσοβα-Π. Νέστος	1
RHX	*K. caucasica*	Π. Ρήχιος	2
BOL	*K. caucasica*	Λ. Βόλβη	3
AXI	*K. caucasica*	Π. Αξιός	4
KAR	*K. thessala*	Λ. Κάρλα	4
KAF	*K. caucasica*	Λ. Καϊάφα	3
KAT	*P. minutus*	Κατάκωλο	3
KOT	*K. caucasica*	Λ/Θ Κοτύχι	5
KAL	*K. caucasica*	Λ/Θ Καλογριά	6
TRIT	*E. trichonis*	Λ. Τριχωνίδα	1
TRIP	*E. pygmaeus*	Λ. Τριχωνίδα	5
AGD	*E. pygmaeus*	Π. Αγ. Δημήτριος	3
LOR	*E. pygmaeus*	Π. Λούρος	3
ARX	*E. pygmaeus*	Π. Άραχθος	1
ZHR	*E. pygmaeus*	Λ. Ζηρού	4
PAMP	*E. pygmaeus*	Λ. Παμβώτις	3
PAMK	*K. caucasica*	Λ. Παμβώτις	3
AXR	*K. milleri*	Π. Αχέροντας	3
KALP	*E. pygmaeus*	Π. Καλαμάς	3
KALK	*K. caucasica*	Π. Καλαμάς	4
VLK	*K. panizzae*	Venice Lagoon	4
VLPC	*P. canestrinii*	Venice Lagoon	4
VLPM	*P. marmoratus*	Venice Lagoon	3

Εικόνα 9.2: Χάρτης της Ελλάδας με τις περιοχές δειγματοληψίας. 1: Δράνα (DRE), 2: Βιστωνίδα (BIS), 3: Βάσσοβα (BANK), 4: Ρήχιος (RHX), 5: Βόλβη (BOL), 6: Αξιός (AXI), 7: Κάρλα (KAR), 8: Καϊάφα (KAF), 9: Κατάκολο (KAT), 10: Κοτύχι (KOT), 11: Καλογριά (KAL), 12: Τριχωνίδα (TRI), 13: Αγ. Δημήτριος (AGD), 14: Λούρος (LOR), 15: Άραχθος (ARX), 16: Ζηρός (ZHR), 17: Παμβώτιδα (PAM), 18: Αχέροντας (AXR), 19: Καλαμάς (KAL), 20: Βενετία (VNC).

Figure 9.2: Map of Greece showing the sampling regions. 1: Drana (DRE), 2: Vistonida (BIS), 3: Vasova (BANK), 4: Rihios (RHX), 5: Volvi (BOL), 6: Axios (AXI), 7: Karla (KAR), 8: Kaiafa (KAF), 9: Katakolo (KAT), 10: Kotyhi (KOT), 11: Kalogria (KAL), 12: Trihonida (TRI), 13: Ag. Dimitrios (AGD), 14: Louros (LOR), 15: Arachthos (ARX), 16: Ziros (ZHR), 17: Pamvotida (PAM), 18: Aherontas (AXR), 19: Kalamas (KAL), 20: Venice (VNC).

9.2.3. Απομόνωση DNA

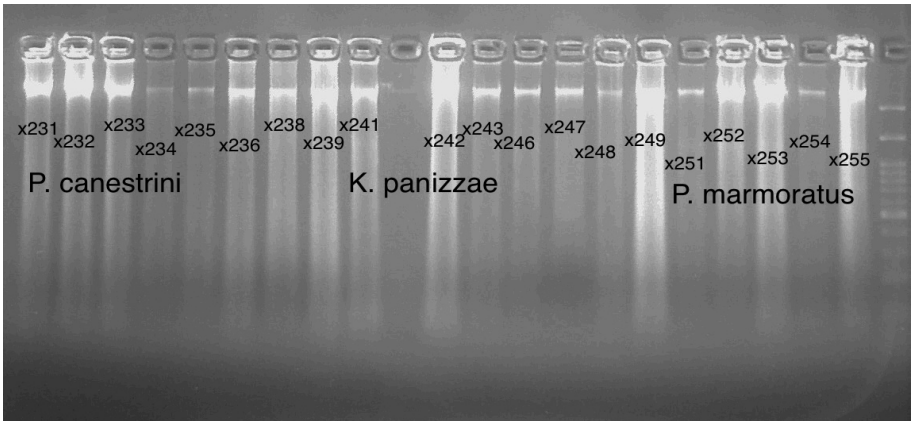
Η εξαγωγή του ολικού γονιδιωματικού DNA από δείγματα συντηρημένα σε αλκοόλη στηρίχθηκε στη χρήση του χημικού αντιδραστηρίου CTAB (hexacyltrimethylammonium bromide) (Hillis et al. 1996). Το αντιδραστήριο αυτό συμβάλλει στη διάρρηξη των κυττάρων και την καθίζηση των πρωτεϊνών.

Πριν την εφαρμογή του πρωτοκόλλου απομόνωσης κρίθηκε αναγκαίο να απομακρυνθεί η αιθανόλη από τον συντηρημένο ιστό. Έτσι προστέθηκαν 1000μl ddH_20 σε σωλήνες eppendorf και μεταφέρθηκαν περίπου 0,20 g μυϊκού ιστού σε καθέναν από αυτούς. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε περιστρεφόμενο ανακινητή για τουλάχιστον μία ώρα. Στη συνέχεια, ο ιστός θεωρήθηκε έτοιμος για την εφαρμογή του πρωτοκόλλου. Τα στάδια που ακολουθήθηκαν είναι τα παρακάτω:

1. Μεταφορά του μυϊκού ιστού σε σωλήνες eppendorf και προσθήκη 500 μl διαλύματος 2X CTAB (0,1 M Tris-HCl, 0,2 M EDTA, 1,4 M NaCl, 2% CTAB) σε καθέναν από αυτούς.
2. Προσθήκη 10 μl διαλύματος πρωτεϊνάσης K (10 mg/ml), ελαφρά ανάδευση και επώαση σε υδατόλουτρο στους 55 ^{o}C για 2-4 ώρες. Η πρωτεϊνάση K είναι πρωτεολυτικό ένζυμο που αποικοδομεί τις πρωτεΐνες του διαλύματος καθώς και τα πρωτεϊνικά σύμπλοκα των ιστονών, απελευθερώνοντας το ευκαρυωτικό DNA από τα νουκλεοσώματα.
3. Προσθήκη 500 μl διαλύματος φαινόλης-χλωροφορμίου-ισοαμυλικής αλκοόλης (250 μl φαινόλης: 250 μl διαλύματος χλωροφορμίου:ισοαμυλικής αλκοόλης) στα δείγματα, πολύ έντονη ανάδευση και στη συνέχεια ήπια περιστροφή σε ειδικό μύλο για 10 λεπτά. Η φαινόλη έχει την ιδιότητα να κατακρημνίζει τις πρωτεΐνες. Το διάλυμα χλωροφορμίου-ισοαμυλικής αλκοόλης χρησιμοποιείται για την απομάκρυνση των πρωτεϊνών από μόρια πυρηνικών οξέων και βρίσκεται σε αναλογία 24:1.
4. Φυγοκέντρηση των δειγμάτων για 10 λεπτά στις 13.000 στροφές ανά λεπτό. Προσεκτική αφαίρεση 300 μl από την υπερκείμενη (υδατική) φάση και μεταφορά σε νέους σωλήνες eppendorf.
5. Επανάληψη των σταδίων 3 και 4.
6. Προσθήκη 500 μl χλωροφορμίου στα δείγματα, πολύ έντονη ανάδευση και τοποθέτησή τους για 10 λεπτά στον περιστρεφόμενο ανακινητή. Το χλωροφόρμιο απομακρύνει τα ίχνη φαινόλης που ενδεχομένως να έχουν απομείνει και αποτελούν κίνδυνο για την ακεραιότητα του DNA.

7. Φυγοκέντρηση των δειγμάτων στις 12.000 rpm για 5 λεπτά και προσεκτική μεταφορά της υπερκείμενης (υδατικής) στιβάδας σε νέους σωλήνες eppendorf.
8. Προσθήκη 1 ml παγωμένης 100% αιθανόλης, ελαφρά ανάδευση των δειγμάτων και τοποθέτησή τους στην κατάψυξη για όλη τη διάρκεια της νύχτας. Το DNA κατακρημνίζεται. Η αιθανόλη αποτελεί ένα ισχυρό αφυδατικό παράγοντα που απομακρύνει τα μόρια νερού που εφυδατώνουν το μόριο του DNA, καθιστώντας το αδιάλυτο στο διαλυτικό μέσο.
9. Φυγοκέντρηση των δειγμάτων στις 13.000 rpm για 15 λεπτά που έχει ως αποτέλεσμα το DNA να καθιζάνει υπό τη μορφή ιζήματος.
10. Απομάκρυνση της αιθανόλης, προσθήκη 1 ml 75% αιθανόλης και ήπια περιστροφή στον ειδικό ανακινητή για τουλάχιστον 1 ώρα. Το νερό στο διάλυμα 75% αιθανόλης απομακρύνει τα άλατα από το DNA.
11. Προσεκτική απομάκρυνση της αιθανόλης από τα δείγματα και επώαση τους σε κλίβανο 37 ^{o}C, μέχρι να εξατμιστεί ολοκληρωτικά η αιθανόλη.
12. Εναιώρηση του DNA με την προσθήκη 100 μl διαλύματος TE. Τα δείγματα διατηρούνται για 1 ημέρα στο ψυγείο στους 4°C, ώς ότου ολοκληρωθεί η διάλυση του DNA και κατόπιν φυλάσσονται στην κατάψυξη στους -20°C.

Ο έλεγχος της ποιότητας του DNA γινόταν με ηλεκτροφόρηση (5 μl διαλύματος DNA) σε πηκτή αγαρόζης 1% w/v, 5X TBE ρυθμιστικό διάλυμα και 0,5 μg/ml EtBr για 30 min στα 150 V. Η πηκτή αγαρόζης εξεταζόταν σε τράπεζα υπεριώδους φωτός (Εικόνα 9.3) και εφόσον το αποτέλεσμα ήταν θετικό, ακολουθούσε η ενίσχυση με τη μέθοδο PCR.



Εικόνα 9.3: Διάφορα παραδείγματα από ζωνικά πρότυπα απομονωμένου γονιδιωματικού DNA σε πήκτωμα αγαρόζης.
Figure 9.3: Examples of different band patterns of isolated genomic DNA samples in agarose gel electrophoresis.

9.2.4. Ενίσχυση με τη μέθοδο της PCR

Στην παρούσα εργασία επιλέχθηκε για μελέτη το γονιδιακό τμήμα της υπομονάδας Ι της κυτοχρωμικής οξειδάσης C (COI), μήκους 625 ζευγών βάσεων. Για τον πολλαπλασιασμό του γενετικού τόπου χρησιμοποιήθηκαν δύο ζευγάρια παγκόσμιων εκκινητών, που πολλαπλασιάζουν το συγκεκριμένο γονίδιο σε μεγάλο εύρος ζωικών ομάδων. Οι αλληλουχίες των εκκινητών και η κωδική ονομασία τους δίνονται στον πίνακα 9.2.

Πίνακας 9.2: Παγκόσμιοι εκκινητές και ακολουθία τους (Ward et al. 2005) που χρησιμοποιήθηκαν για την ενίσχυση του COI στα είδη της ομάδας 'αμμογωβιοί'.
Table 9.2: Universal primers and their sequences (Ward et al. 2005) that enable the amplification of the COI gene in the species of the 'sand gobies' group.

Γονίδιο	Όνομα	Εκκινητές
COI	Fish F1	5΄-TCAACCAACCACAAAGACATTGGGAC΄-3
	Fish R1	5΄-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA΄-3
	Fish F2	5΄-TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC΄-3
	Fish R2	5΄-ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA΄-3

Το ζεύγος εκκινητών Fish F1 και Fish R1 λειτούργησε για τον πολλαπλασιασμό του COI σε όλους τους γωβιούς, εκτός από το *P. canestrinii* όπου χρησιμοποιήθηκαν οι εκκινητές Fish F2 και Fish R2. Οι αντιδράσεις της PCR πραγματοποιήθηκαν σε τελικό όγκο 25 μl, ενώ οι βέλτιστες συνθήκες για την ενίσχυση του μιτοχονδριακού τμήματος των ειδών της οικογένειας Gobiidae δίνονται στον πίνακα 9.3.

Πίνακα 9.3: Οι βέλτιστες συνθήκες ενίσχυσης της μιτοχονδριακής περιοχής COI.
Table 9.3: Optimum conditions for the amplification of the mitochondrial region COI.

Συστατικά	Ενισχυμένο τμήμα-COI	Συνθήκες*
Μητρικό DNA	100 ng	2,50 μl
$MgCl_2$	25 mM	0,50 μl
Εκκινητές Fish F1/F2	100 pmol	0,25 μl
Fish R1/R2	100 pmol	0,25 μl
Πολυμεράση	5U	12,50 μl

*συμπλήρωση με dH_2O 9 μl

Ο πολλαπλασιασμός του τμήματος του μιτοχονδριακού γενώματος έγινε σε προγραμματιζόμενο θερμικό κυκλοποιητή (PTC-200) της εταιρείας MJ Research. Το πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για τον γενετικό τόπο COI ήταν:

1° στάδιο: 95^oC για 2 min: αποδιάταξη των αλυσίδων του DNA.

2° στάδιο: 94^oC για 30 sec: συνέχιση της αποδιάταξης του DNA.

3° στάδιο: 53^oC για 30 sec: υβριδισμός των εκκινητών.

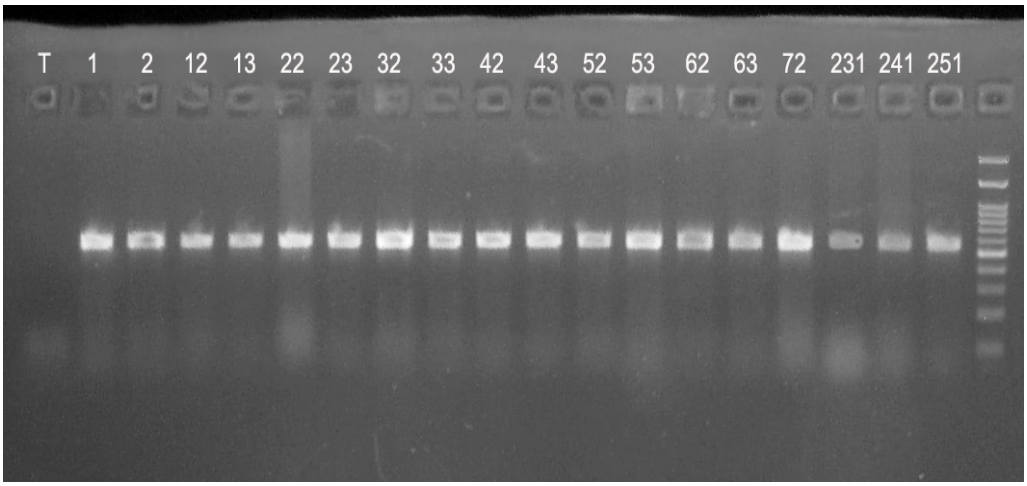
4° στάδιο: 72^oC για 1 min: σχηματισμός συμπληρωματικών αλυσίδων.

5° στάδιο: Επανάληψη των σταδίων 2,3 και 4 για 34 φορές.

6° στάδιο: 72^oC για 10 min: προσθήκη νουκλεοτιδίων σε μονόκλωνες περιοχές που εναπόμειναν.

7° στάδιο: παραμονή στους 4^oC.

Το προϊόν της κάθε αντίδρασης PCR ελεγχόταν με ηλεκτροφόρηση (2 μl διαλύματος DNA) σε πηκτή αγαρόζης 2% w/v, 5X TBE ρυθμιστικό διάλυμα και 0,5 μg/ml EtBr, για 20 λεπτά στα 150V. Με εξέταση της πηκτής αγαρόζης σε τράπεζα υπεριώδους φωτός (Εικόνα 9.4) διαπιστώθηκε το αποτέλεσμα της διαδικασίας, με εμφάνιση ή όχι ζώνης DNA χαρακτηριστικού μεγέθους. Το μέγεθος του τμήματος DNA διαπιστώνεται με τη χρήση 100 bp ladder, που εμφανίζει στην ηλεκτροφόρηση ζώνες DNA γνωστού μεγέθους. Κάθε δείγμα με θετικό αποτέλεσμα χρησιμοποιήθηκε για εύρεση της πρωτοταγούς δομής του (sequencing).



Εικόνα 9.4: Πήκτωμα αγαρόζης (2% w/v) στο οποίο φαίνονται τα ενισχυμένα τμήματα της μιτοχονδριακής περιοχής του COI. Ο μάρτυρας μοριακών μεγεθών είναι η κλίμακα των 100 bp.
Figure 9.4: Agarose gel (2% w/v) electrophoresis of the amplified mtDNA segments of COI. The marker for the molecular weights is a 100 bp ladder.

9.2.5. Καθαρισμός και προσδιορισμός της αλληλουχίας των προϊόντων της PCR (sequencing)

Στην περίπτωση που ένα τμήμα γενετικού υλικού πολλαπλασιάζεται με σκοπό την ανάλυση της αλληλουχίας του, ο καθαρισμός του προϊόντος της PCR είναι απαραίτητος,

εξαιτίας της μεγάλης ευαισθησίας που έχουν οι αναλυτές αλληλουχίας στις προσμίξεις. Η διαδικασία καθαρισμού πραγματοποιείται για την απομάκρυνση των κατάλοιπων ουσιών, όπως ένζυμα, απορρυπαντικά, άλατα ή ολιγονουκλεοτίδια που παραμένουν μέσα στο διάλυμα των νουκλεϊνικών οξέων μετά το πέρας της απομόνωσής τους ή/και της PCR. Το τελικό προϊόν καθαρίζεται, ώστε να απομακρυνθούν τα κατάλοιπα τα οποία αποτελούν πηγή θορύβου σε πολλές μεθόδους ανάλυσής του.

Στην παρούσα μελέτη ο καθαρισμός πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του kit Nucleospin® Extract II της εταιρίας Macherey-Nagel, με βάση το πρωτόκολλο της εταιρίας. Η έκλουση του DNA έγινε σε τελικό όγκο 20μl και διατηρήθηκε στους -20°C. Στη συνέχεια το καθαρό προϊόν από κάθε δείγμα ελέγχθηκε ως προς τη συγκέντρωση του DNA με ηλεκτροφόρηση 2 μl προϊόντος σε πηκτή αγαρόζης (όμοια με τον έλεγχο της PCR) και σύγκριση του αποτελέσματος με τις ζώνες γνωστής συγκέντρωσης DNA 100 bp ladder.

Η αλληλούχιση των δειγμάτων στη συγκεκριμένη εργασία πραγματοποιήθηκε από την εταιρεία VBC Biotech. Μετά από αποστολή των δειγμάτων, καθώς και ποσότητας των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν για την PCR, πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας, χρησιμοποιώντας το μοντέλο ABI Prism 3100 Capillary Sequencer.

9.2.6. Στατιστική επεξεργασία των δεδομένων της ανάλυσης αλληλουχίας

9.2.6.1.Στοίχιση αλληλουχιών

Αφού έγινε έλεγχος της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του προϊόντος της PCR (sequencing), ακολούθησε η στοίχιση (alignment) των αλληλουχιών με τη χρήση του προγράμματος Geneious 5.4 και η διόρθωση τους (Drummond et al. 2010). Η στοίχιση αποσκοπεί στον προσδιορισμό των ομόλογων θέσεων των αλληλουχιών, αφού βάσει αυτών των διαφορών υπολογίζονται οι εξελικτικές σχέσεις των υπό μελέτη αλληλουχιών. Συνεπώς, η στοίχιση των αλληλουχιών είναι μια διαδικασία ζωτικής σημασίας για την εύρεση των πραγματικών φυλογενετικών σχέσεων των υπό εξέταση ταξινομικών μονάδων (Wheeler et al. 1995, Baker & DeSalle 1997, Simmons & Ochoterenam 2000). Κριτήριο για την καλή ποιότητα της διαδικασίας είναι η στοίχιση να είναι απόλυτη, χωρίς όσο είναι δυνατόν ενθέσεις ή ελλείψεις βάσεων.

9.2.6.2.Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων

Ο απλούστερος τρόπος να εκτιμηθεί η απόσταση μεταξύ των δύο αλληλουχιών, είναι να μετρηθεί ο αριθμός των νουκλεοτιδικών θέσεων κατά τις οποίες διαφέρουν οι δύο αλληλουχίες. Αυτή η απόσταση ορίζεται ως γενετική απόσταση p (p-distance) και εκτός των περιπτώσεων αρκετά όμοιων αλληλουχιών, αποτελεί μια υποεκτίμηση του βαθμού διαφοροποίησης των δύο αλληλουχιών (Page & Holmes 1998). Αυτό συμβαίνει γιατί όσο αυξάνει ο βαθμός διαφοροποίησης μεταξύ των δύο αλληλουχιών, τόσο αυξάνει η πιθανότητα η ίδια νουκλεοτιδική θέση να έχει υποστεί πολλαπλές αλλαγές και να έχει επανέλθει στην αρχική της κατάσταση, έχοντας αποκρύψει μεγάλο βαθμό διαφοροποίησης μεταξύ των αλληλουχιών (Nei & Kumar 2000). Οι γενετικές αποστάσεις (ανά ζεύγη) των αλληλουχιών εκτιμήθηκαν με βάση το μοντέλο p-distance με τη βοήθεια του φυλογενετικού προγράμματος MEGA (v. 5.05, Tamura et al. 2011).

9.2.6.3.Επιλογή του καταλληλότερου μοντέλου εξέλιξης

Για την επιλογή του καταλληλότερου μοντέλου εξέλιξης (νουκλεοτιδικής υποκατάστασης) εφαρμόστηκε η δοκιμασία του κριτηρίου της μπεϋσιανής πληροφορίας (Bayesian Information Criterion, BIC), με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος MEGA (v. 5.05, Tamura et al. 2011) το οποίο έχει τη δυνατότητα να επιλέξει ανάμεσα σε 24 διαφορετικά μοντέλα, ποιο είναι αυτό που ταιριάζει καλύτερα με το σύνολο των αλληλουχιών. Το συγκεκριμένο πρόγραμμα εκτός του ότι προτείνει το καταλληλότερο μοντέλο, υπολογίζει το ποσοστό των αμετάβλητων θέσεων (I: invariable) και την τιμή της κατανομής G.

9.2.6.4.Μέθοδοι φυλογενετικής ανάλυσης και στατιστικός έλεγχος των φυλογενετικών δένδρων

Τα δεδομένα της παρούσας διατριβής υποβλήθηκαν σε ανάλυση Σύνδεσης Γειτόνων (ΣΓ) (Neighbor-Joining, NJ) και Μέγιστης Πιθανοφάνειας (ΜΠ) (Maximum Likelihood, ML). Όλα τα φυλογενετικά δένδρα εξετάστηκαν ως προς τη στατιστική τους ισχύ σε δοκιμασία bootstrap. Αυτή η μέθοδος μιμείται τις επαναλαμβανόμενες δειγματοληψίες, μόνο που αντί να παίρνει δείγματα από τους πληθυσμούς κάνει δειγματοληψία πάλι από τα δείγματά μας. Κάθε νέα δειγματοληψία αποτελεί ένα ψευδοδείγμα. Από το νέο ψευδοδείγμα υπολογίζεται εκ νέου η παράμετρος που μας ενδιαφέρει, που στην προκειμένη περίπτωση είναι οι συνδέσεις των αλληλουχιών επάνω

στο δένδρο (Page & Holmes 1998). Πρακτικά, 1000 νέες αναδιατάξεις των αλληλουχιών οδηγούν στην κατασκευή 1000 δένδρων (replicate trees). Στη συνέχεια καθορίζεται η τιμή bootstrap για κάθε εσωτερικό κόμβο του αρχικού δένδρου. Αυτή η τιμή υποδεικνύει τις φορές που η συγκεκριμένη τοπολογία εμφανίστηκε στα δένδρα που προέκυψαν από τα ψευδοδείγματα. Αν η τιμή bootstrap είναι μεγαλύτερη των 750/1000, τότε μπορούμε να υποστηρίξουμε πως η τοπολογία στο συγκεκριμένο κόμβο είναι αρκετά αξιόπιστη (Brown 2002). Σε απλές φυλογενετικές μεθόδους, όπως η Neighbor-Joining, η ανάλυση αυτή είναι χρονικά ανέξοδη. Όμως, σε διαδικασίες όπως η Μέγιστη Πιθανοφάνεια και η Μέγιστη Φειδωλότητα, ο μεγάλος υπολογιστικός χρόνος και ο μεγάλος αριθμός αλληλουχιών καθιστά πρακτικά αδύνατη την επιτέλεση αυτού του ελέγχου. Το φυλογενετικό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για το σκοπό αυτό ήταν το MEGA (v. 5.05, Tamura et al. 2011).

9.2.6.5.Μέθοδος Σύνδεσης-Γειτόνων (Neighbor-Joining)

Η μέθοδος Neighbor-Joining είναι μία από τις πιο δημοφιλείς μεθόδους κατασκευής φυλογενετικών δένδρων. Χρησιμοποιεί τον αλγόριθμο των Saitou & Nei (1987) για να υπολογίσει το βραχύτερο εξελικτικά δένδρο. Τα δεδομένα που χρησιμοποιεί αυτή η μέθοδος είναι ένας πίνακας γενετικών αποστάσεων και το αρχικό δένδρο που δημιουργεί είναι ένα αστεροειδές σχήμα στο οποίο όλα τα εσωτερικά κλαδιά έχουν μηδενικό μήκος. Το δέντρο κατασκευάζεται με την ένωση των κόμβων με τη μικρότερη απόσταση (ο υπολογισμός γίνεται μεταξύ όλων των δυνατών ζευγών) σε αυτόν τον τροποποιημένο πίνακα. Όταν βρει τις αλληλουχίες με τη μικρότερη απόσταση, τις ενώνει και πλέον τις αντιμετωπίζει ως μια αλληλουχία. Στη συνέχεια εξετάζει ποια είναι η αλληλουχία που είναι κοντινότερη προς το προηγούμενο ζεύγος για να την ενώσει με αυτές κατά τον ίδιο τρόπο. Η διαδικασία ολοκληρώνεται όταν απομένουν δύο κόμβοι, οι οποίοι διαχωρίζονται από έναν κλάδο (Saitou & Nei 1987).

9.2.6.6.Μέθοδος Μέγιστης Πιθανοφάνειας (Maximum Likelihood)

Η ιδέα της εφαρμογής αυτής της μεθόδου για τη διερεύνηση φυλογενετικών σχέσεων παρουσιάστηκε για πρώτη φορά από τους Cavalli-Sforza & Edwards (1967), οι οποίοι χρησιμοποίησαν συχνότητες αλληλομόρφων. Στη συνέχεια ο Felsenstein (1981) εφάρμοσε την μέθοδο αυτή σε νουκλεοτιδικές αλληλουχίες και ανέπτυξε έναν αλγόριθμο για την κατασκευή ενός φυλογενετικού δένδρου με βάση αυτήν τη μέθοδο. Κατά τη

μέθοδο αυτή υπολογίζεται η πιθανότητα που έχει το συγκεκριμένο σύνολο δεδομένων (αλληλουχιών) να παρατηρηθεί μέσα από τις σχέσεις που περιγράφει το αξιολογούμενο δένδρο, όταν οι αλληλουχίες εξελίσσονται σύμφωνα με ένα εξαρχής ορισμένο μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης (Nei & Kumar 2000). Το δένδρο με τη μεγαλύτερη τιμή πιθανοφάνειας προτείνεται ως το πιο κοντινό προς το πραγματικό.

9.2.6.7.Πληθυσμιακή ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από την ανάλυση της πρωτοδιάταξης του COI πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer 2010), με χρήση του οποίου υπολογίστηκαν τα παρακάτω:

1) Απλοτυπική ποικιλότητα (h): Ορίζεται ως η πιθανότητα δύο τυχαία επιλεγμένοι απλότυποι από τον ίδιο πληθυσμό να είναι διαφορετικοί. Υπολογίζεται από τον τύπο:

$$h=n(1-\Sigma p_i^2)/(n-1)$$

όπου n το μέγεθος του πληθυσμού, k ο αριθμός των απλοτύπων και p_i η συχνότητα του απλοτύπου *i* στο δείγμα.

2) Νουκλεοτιδική ποικιλότητα (π): Αντιπροσωπεύει το μέσο όρο νουκλεοτιδικών διαφορών ανά θέση μεταξύ δύο απλοτύπων μέσα σε έναν πληθυσμό. Υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\pi=\Sigma p_i p_j d_{ij}$$

όπου p_i η συχνότητα του απλοτύπου *i* στον πληθυσμό, p_j η συχνότητα του απλότυπου *j* στον πληθυσμό και d_{ij} το ποσοστό των νουκλεοτιδικών διαφορών ανά θέση ανάμεσα στις ακολουθίες *i* και *j*.

3) Ακριβές κριτήριο για τη διαφοροποίηση δειγμάτων: Με το Ακριβές κριτήριο (exact test) εξετάζεται η μηδενική υπόθεση της τυχαίας κατανομής των k διαφορετικών απλοτύπων σε r δείγματα (Raymond & Rousset 1995). Δημιουργείται ένας πίνακας k x r με τις συχνότητες των απλοτύπων σε όλα τα δείγματα και υπολογίζεται η πιθανότητα να διαφέρουν ανά δύο τα δείγματα. Στην περίπτωση που έγιναν πολλαπλοί έλεγχοι, το επίπεδο σημαντικότητας διορθώθηκε με τη μέθοδο Bonferroni (Rice 1989).

4) Ανάλυση μοριακής διακύμανσης (AMOVA): Η ανάλυση αυτή χρησιμοποιείται προκειμένου να διερευνηθεί η ενδοπληθυσμιακή και η διαπληθυσμιακή ποικιλότητα των υπό μελέτη πληθυσμών (Excoffier et al. 2010). Εξετάζει κατά πόσο ισχύει η μηδενική υπόθεση Ho (ότι δηλαδή όλα τα δείγματα προέρχονται από τον ίδιο πληθυσμό). Χρησιμοποιεί τη στατιστική F, η οποία μετράει το μέγεθος της γενετικής διαφοροποίησης

μεταξύ των δειγμάτων, αλλά και μέσα στα δείγματα αυτά. Λαμβάνει τιμές από 0 (απουσία διαφοροποίησης) μέχρι 1 (πλήρης διαφοροποίηση). Η στατιστική σημασία των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από τη στατιστική F ελέγχεται, πραγματοποιώντας 1000 προσομοιώσεις.

9.3. Αποτελέσματα

9.3.1. Ανάλυση των αλληλουχιών του γονιδίου COI

9.3.1.1.Γένος *Economidichthys*

Ο προσδιορισμός της πρωτοταγούς δομής πραγματοποιήθηκε για 23 δείγματα και των δύο ειδών του γένους *Economidichthys* (Εικόνα 9.5), ενώ η σύγκριση των νουκλεοτιδίων για τις πολυμορφικές θέσεις έγινε με τον μοναδικό απλότυπο Et1 του *E. trichonis*. Συνολικά ανιχνεύθηκαν 76 πολυμορφικές νουκλεοτιδικές θέσεις και προσδιορίσθηκαν 9 διαφορετικοί απλότυποι (Πίνακας 9.4). Από τους πολυμορφισμούς αυτούς 65 είναι μεταπτώσεις και 11 είναι μεταστροφές. Οι 625bp κωδικοποιούν συνολικά 207 αμινοξέα. Η μεγαλύτερη πλειονότητα των αντικαταστάσεων παρατηρήθηκε στην τρίτη θέση του κωδικονίου. Συγκεκριμένα, 68 από τις 76 αντικαταστάσεις έγιναν στην τρίτη θέση του κωδικονίου, 6 έγιναν στην πρώτη θέση (90, 159, 313, 435, 447, 495), οδηγώντας σε αντικατάσταση του αμινοξέος σερίνη σε αλανίνη (90), ισολευκίνη σε βαλίνη (159), σερίνη σε γλυκίνη (312) και αλανίνη σε θρεονίνη (435) και δύο έγιναν στη δεύτερη θέση (388, 439), οδηγώντας σε αντικατάσταση του αμινοξέος ισολευκίνη σε θρεονίνη στο *E. pygmaeus*.

```
GA  ACA GCT CTC AGC CTG CTA ATC CGT GCA GAG CTT AGC CAA CCT GGT GCT CTT   53
     T   A   L   S   L   L   I   R   A   E   L   S   Q   P   G   A   L    17
    CTC GGT GAT GAT CAA ATT TAC AAC GTA ATC GTA ACA TCC CAT GCC TTC GTA   104
     L   G   D   D   Q   I   Y   N   V   I   V   T   S   H   A   F   V    17
    ATA ATC TTC TTT ATA GTG ATG CCG ATT ATA ATT GGA GGA TTC GGC AAT TGA   155
     M   I   F   F   M   V   M   P   I   M   I   G   G   F   G   N   W    17
    TTG ATC CCC CTT ATA ATT GGA GCC CCT GAC ATA GCT TTC CCT CGA ATA AAC   206
     L   I   P   L   M   I   G   A   P   D   M   A   F   P   R   M   N    17
    AAC ATA AGC TTT TGA CTT CTA CCT CCG TCT TTT CTG CTA CTG CTC GCA TCC   257
     N   M   S   F   W   L   L   P   P   S   F   L   L   L   L   A   S    17
    TCA GGC GTT GAA GCG GGG GCG GGC ACA GGA TGA ACC GTC TAC CCC CCT CTG   308
     S   G   V   E   A   G   A   G   T   G   W   T   V   Y   P   P   L    17
    GCG AGC AAC CTG GCA CAT GCT GGA GCA TCT GTA GAT CTA ACA ATT TTT TCC   359
     A   S   N   L   A   H   A   G   A   S   V   D   L   T   I   F   S    17
    CTA CAC CTA GCG GGC ATT TCT TCA ATC CTA GGT GCT ATC AAC TTT ATT ACA   410
     L   H   L   A   G   I   S   S   I   L   G   A   I   N   F   I   T    17
    ACT ATT ATT AAC ATG AAA CCT CCC GCC ATC TCA CAA TAC CAA ACC CCT TTA   461
     T   I   I   N   M   K   P   P   A   I   S   Q   Y   Q   T   P   L    17
    TTT GTG TGA GCC GTT CTT ATT ACA GCT GTA CTA TTG CTC CTT TCG CTC CCA   512
     F   V   W   A   V   L   I   T   A   V   L   L   L   L   S   L   P    17
    GTA CTT GCC GCT GGC ATT ACA ATG CTT CTA ACC GAT CGA AAC CTG AAC ACA   563
     V   L   A   A   G   I   T   M   L   L   T   D   R   N   L   N   T    17
    ACC TTT TTT GAC CCA GCA GGA GGA GGC GAC CCT ATT CTA TAC CAA CAT CTA   614
     T   F   F   D   P   A   G   G   G   D   P   I   L   Y   Q   H   L    17
    TTT TGA TTC TT                                                       625
     F   W   F                                                            3
```

Εικόνα 9.5: Η νουκλεοτιδική αλληλουχία του ενισχυμένου τμήματος των 625bp του COI στο mtDNA. Δίνεται ακόμα η σειρά των αμινοξέων του COI. Ως ακολουθία αναφοράς θεωρήθηκε η ακολουθία του *E. trichonis*. Οι πολυμορφικές θέσεις που βρέθηκαν μετά την ανάλυση των 23 δειγμάτων και των δύο ειδών του γένους *Economidichthys* υπογραμμίστηκαν.

Figure 9.5: DNA sequence of a 625bp amplified segment of COI of mtDNA. The inferred amino acid sequence is shown in the one letter code above the nucleotide sequence. Variable positions revealed after the analysis of 23 individuals of all the two studied species of *Economidichthys* are underlined.

Πίνακας 9.4: Διαφορετικοί απλότυποι και πολυμορφικές θέσεις μεταξύ των 9 απλότυπων που προέκυψαν από την ανάλυση του COI των δύο ειδών του γένους *Economidichthys* (Et=*E. trichonis*, Ep=*E. pygmaeus*). Οι αριθμοί αντιστοιχούν στις υπογραμμισμένες θέσεις στην Εικόνα 9.5. Τα νουκλεοτίδια κάθε πολυμορφικής θέσης δίνονται για τον απλότυπο Et1 του *E. trichonis*. Για τους υπόλοιπους απλότυπους τα νουκλεοτίδια δίνονται όταν αυτά διαφέρουν από τον απλότυπο Et1, ενώ η ομοιότητα συμβολίζεται με τελείες.

Table 9.4: Genotype designation and variable nucleotide positions among 9 haplotypes revealed by the COI sequence analysis of the genus *Economidichthys* (Et=*E. trichonis*, Ep=*E. pygmaeus*). Numbers refer to underlined positions in Figure 9.5. Nucleotides at each position are given for haplotype Et1 of *E. trichonis*. For other haplotypes nucleotides are given when they are different from Et1, while identity is shown by dots.

	8	2	4	8	9	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3
		0	7	0	0	8	0	0	2	2	3	3	3	4	4	5	5	7	7	7	8	8	3	3	3	4	5	6	6	7	7	1	1	1	2	4	4	5
							1	7	5	8	1	4	7	3	6	8	9	0	6	9	5	8	0	3	6	2	1	3	6	2	8	1	2	4	0	4	7	3
Et1	T	A	T	A	T	C	C	A	G	G	T	A	T	A	C	G	A	A	A	C	C	A	T	G	T	G	C	C	T	G	G	G	A	C	G	T	A	T
Ep1	C	G	C	G	G	G	T	G	A	.	C	G	C	G	T	.	G	G	G	.	T	G	C	A	C	C	T	A	C	C	A	C	G	T	A	C	G	C
Ep2	C	G	C	G	G	G	T	G	A	.	C	G	C	G	T	.	G	G	G	.	T	G	C	A	C	C	T	A	C	C	A	C	G	T	.	C	G	C
Ep3	C	G	C	G	G	G	T	G	A	.	C	G	C	G	T	A	G	G	G	.	T	G	C	A	C	C	T	A	C	C	A	C	G	T	A	C	G	C
Ep4	C	G	C	G	G	G	T	G	A	A	C	G	C	G	T	.	G	G	G	.	T	G	C	A	C	C	T	A	C	C	A	C	G	T	A	C	G	C
Ep5	C	G	C	G	G	G	T	G	A	.	C	G	C	G	T	.	G	G	G	.	T	G	C	A	C	C	T	A	C	C	A	C	G	T	A	C	G	C
Ep6	C	G	C	G	G	G	T	.	A	.	C	G	C	G	T	.	G	G	G	T	T	G	C	A	C	C	T	A	C	C	A	C	G	T	A	C	G	C
Ep7	C	G	C	G	G	G	T	G	A	.	C	G	C	G	T	.	G	G	G	T	T	G	C	A	C	C	T	A	C	C	A	C	G	T	A	C	G	C
Ep8	C	G	C	G	G	G	T	.		.	C	G	C	G	T	.	G	G	G	T	T	G	C	A	C	C	T	A	C	C	A	C	G	T	A	C	G	C

	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6
	5	6	6	7	8	8	9	9	1	2	3	3	3	4	4	5	6	6	7	7	9	9	9	0	0	0	2	3	3	3	4	4	5	9	0	0	1	1
	9	2	8	1	6	8	5	8	9	5	4	5	9	0	7	8	1	7	0	9	4	5	7	0	3	6	7	0	6	9	2	8	7	6	2	8	1	4
Et1	C	A	A	G	C	T	T	C	T	G	C	G	T	C	T	T	A	G	A	T	A	T	G	C	T	G	C	T	G	T	A	T	G	T	A	A	T	A
Ep1	T	G	G	A	T	.	C	T	C	.	T	A	C	T	.	C	G	A	G	.	G	C	A	G	C	C	G	C	A	C	C	C	A	C	G	G	C	G
Ep2	T	G	G	A	T	.	C	T	C	.	T	A	C	T	.	C	G	A	G	.	G	C	A	G	C	C	G	C	A	C	C	C	A	C	G	G	C	G
Ep3	T	G	G	A	T	.	C	T	C	.	T	A	C	T	.	C	G	A	G	.	G	C	A	G	C	C	G	C	A	C	C	C	A	C	G	G	C	G
Ep4	T	G	G	A	T	.	C	T	C	.	T	A	C	T	.	C	G	A	G	.	G	C	A	G	C	C	G	C	A	C	C	C	A	C	G	G	C	G

Ep5	T	G	G	A	T	.	C	T	C	.	T	A	C	-	.	C	G	A	G	.	G	C	A	G	C	C	G	C	A	C	C	C	A	C	G	G	C	G
Ep6	T	G	G	A	T	C	C	T	C	T	T	A	C	T	C	C	G	A	G	C	G	C	A	G	C	C	G	C	A	C	C	C	A	C	G	G	C	G
Ep7	T	G	G	A	T	.	C	T	C	.	T	A	C	T	.	C	G	A	G	C	G	C	A	G	C	C	G	C	A	C	C	C	A	C	G	G	C	G
Ep8	T	G	G	A	T	.	C	T	C	.	T	A	C	T	.	C	G	A	G	C	G	C	A	G	C	C	G	C	A	C	C	C	A	C	G	G	C	G

9.3.1.2.Γένος *Knipowitschia*

Ο προσδιορισμός της πρωτοταγούς δομής πραγματοποιήθηκε για 52 δείγματα και των τριών ειδών του γένους *Knipowitschia* (Εικόνα 9.6), ενώ η σύγκριση των νουκλεοτιδίων για τις πολυμορφικές θέσεις έγινε με τον απλότυπο Kc1 του *K. caucasica*. Συνολικά ανιχνεύθηκαν 78 πολυμορφικές νουκλεοτιδικές θέσεις και προσδιορίσθηκαν 28 διαφορετικοί απλότυποι (Πίνακας 9.5). Από τους πολυμορφισμούς αυτούς, παρατηρήθηκαν ενδοειδικά 69 μεταπτώσεις και 7 μεταστροφές στα δείγματα του *K. caucasica*, 74 μεταπτώσεις και 4 μεταστροφές στα δείγματα του *K. thessala* και 75 μεταπτώσεις και 3 μεταστροφές στα δείγματα του *K. panizzae*. Οι 625bp κωδικοποιούν συνολικά 207 αμινοξέα. Η συντριπτική πλειονότητα των αντικαταστάσεων παρατηρήθηκε στην τρίτη θέση του κωδικονίου. Συγκεκριμένα, 75 από τις 78 αντικαταστάσεις έγιναν στην τρίτη θέση του κωδικονίου και 3 έγιναν στην πρώτη θέση (159, 477, 555), οδηγώντας σε αντικατάσταση των αμινοξέων ισολευκίνη σε βαλίνη (159) και λευκίνη σε μεθειονίνη (477) στο *K. thessala*.

```
GA  ACA GCC CTT AGC CTC CTG ATC CGT GCA GAA CTC AGC CAA CCT GGC GCT CTC   53
     T   A   L   S   L   L   I   R   A   E   L   S   Q   P   G   A   L    17
    CTC GGT GAC GAT CAA ATT TAT AAC GTA ATC GTT ACA GCC CAT GCC TTC GTA   104
     L   G   D   D   Q   I   Y   N   V   I   V   T   A   H   A   F   V    17
    ATA ATC TTT TTT ATA GTA ATA CCA ATC ATA ATT GGA GGA TTC GGC AAC TGA   155
     M   I   F   F   M   V   M   P   I   M   I   G   G   F   G   N   W    17
    CTT ATT CCT CTT ATG ATC GGA GCC CCT GAC ATG GCT TTT CCA CGG ATA AAC   206
     L   I   P   L   M   I   G   A   P   D   M   A   F   P   R   M   N    17
    AAT ATG AGC TTT TGA CTT CTC CCC CCC TCC TTC CTC CTC CTG CTC GCA TCC   257
     N   M   S   F   W   L   L   P   P   S   F   L   L   L   L   A   S    17
    TCA GGG GTC GAA GCC GGG GCG GGC ACA GGT TGA ACC GTC TAC CCC CCT CTG   308
     S   G   V   E   A   G   A   G   T   G   W   T   V   Y   P   P   L    17
    GCC GGC AAC CTA GCG CAT GCC GGC GCA TCT GTA GAC CTA ACA ATC TTT TCC   359
     A   G   N   L   A   H   A   G   A   S   V   D   L   T   I   F   S    17
    CTC CAT TTA GCA GGA ATT TCT TCA ATT CTA GGT GCT ATC AAC TTC ATC ACA   410
     L   H   L   A   G   I   S   S   I   L   G   A   I   N   F   I   T    17
    ACA ATC ATC AAC ATA AAA CCT CCC GCT ATC TCT CAA TAC CAA ACT CCG CTG   461
     T   I   I   N   M   K   P   P   A   I   S   Q   Y   Q   T   P   L    17
    TTT GTG TGA GCC GTT TTG ATT ACT GCC GTC CTA CTG CTC CTC TCT CTT CCA   512
     F   V   W   A   V   L   I   T   A   V   L   L   L   L   S   L   P    17
    GTG CTT GCC GCC GGT ATC ACC ATG CTC CTT ACA GAC CGA AAT TTG AAC ACA   563
     V   L   A   A   G   I   T   M   L   L   T   D   R   N   L   N   T    17
    ACC TTC TTT GAC CCA GCA GGA GGG GGT GAC CCC ATT CTG TAC CAG CAC CTC   614
     T   F   F   D   P   A   G   G   G   D   P   I   L   Y   Q   H   L    17
    TTC TGA TTC TT                                                       625
     F   W   F                                                            3
```

Εικόνα 9.6: Η νουκλεοτιδική αλληλουχία του ενισχυμένου τμήματος των 625bp του COI στο mtDNA. Δίνεται ακόμα η σειρά των αμινοξέων του COI. Ως ακολουθία αναφοράς θεωρήθηκε η ακολουθία του *K. caucasica*. Οι πολυμορφικές θέσεις που βρέθηκαν μετά την ανάλυση των 52 δειγμάτων και των τριών ειδών του γένους *Knipowitschia* υπογραμμίστηκαν.

Figure 9.6: DNA sequence of a 625bp amplified segment of COI of mtDNA. The inferred amino acid sequence is shown in the one letter code above the nucleotide sequence. Variable positions revealed after the analysis of 52 individuals of all the three studied species of *Knipowitchia* are underlined.

Πίνακας 9.5: Διαφορετικοί απλότυποι και πολυμορφικές θέσεις μεταξύ των 28 απλότυπων που προέκυψαν από την ανάλυση του COI των τριών ειδών του γένους *Knipowitschia* (Kc=*K. caucasica*, Kt=*K. thessala*, Kp=*K. panizzae*). Οι αριθμοί αντιστοιχούν στις υπογραμμισμένες θέσεις στην Εικόνα 9.6. Τα νουκλεοτίδια κάθε πολυμορφικής θέσης δίνονται για τον απλότυπο Kc1 του *K. caucasica*. Για τους υπόλοιπους απλότυπους τα νουκλεοτίδια δίνονται όταν αυτά διαφέρουν από τον απλότυπο Kc1, ενώ η ομοιότητα συμβολίζεται με τελείες.

Table 9.5: Genotype designation and variable nucleotide positions among 28 haplotypes revealed by the COI sequence analysis of the genus *Knipowitschia* (Kc=*K. caucasica*, Kt=*K. thessala*, Kp=*K. panizzae*). Numbers refer to underlined positions in Figure 9.6. Nucleotides at each position are given for haplotype Kc1 of *K. caucasica*. For other haplotypes nucleotides are given when they are different from Kc1, while identity is shown by dots.

	2	20	32	53	56	59	62	74	122	134	143	159	161	164	173	179	191	194	203	206	209	218	227	230	233	234	251	296	314	320	323	341	356	362	365	368	371	374	389	395
Kc1	A	G	A	C	C	T	C	T	A	A	A	A	T	T	C	C	T	T	A	C	T	T	C	C	C	G	C	C	C	A	G	A	T	C	T	A	A	A	A	T
Kc2	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kc3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	C	G	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kc4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	C	G	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.
Kc5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	C	G	T	C	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kc6	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	C	G	.	C	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kc7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	C	G	.	C	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kc8	.	.	G	T	A	A	.	C	.	.	.	.	C	C	T	.	.	C	.	.	C	C	.	T	-	A	.	.	T	.	.	G	C	.	.	G	.	.	G	C
Kc9	.	.	G	T	A	A	.	C	.	.	.	.	C	C	T	.	.	C	.	.	C	C	.	T	-	A	.	.	T	.	A	G	C	.	.	G	.	.	G	C
Kc10	.	.	G	T	A	A	.	C	.	.	.	.	C	C	T	.	.	C	.	.	C	C	.	T	-	A	.	.	T	.	-	G	C	.	.	G	.	.	G	C
Kc11	.	.	G	T	A	.	.	C	.	.	.	.	-	C	T	.	.	C	.	.	C	C	.	T	-	A	.	.	T	.	.	.	.	T	-	G	.	.	G	C
Kc12	.	A	G	T	A	.	.	C	.	.	.	.	-	C	T	.	.	C	.	.	C	C	.	T	-	A	.	.	T	.	.	.	.	T	-	G	.	.	G	C
Kc13	.	.	G	T	A	.	.	C	.	.	.	.	C	C	.	.	.	C	.	.	C	C	.	T	T	A	.	.	T	.	.	G	-	-	-	G	.	.	G	C
Kc14	.	.	G	T	A	.	.	C	.	.	.	.	C	C	.	.	.	C	.	.	C	C	.	-	T	A	.	.	T	.	.	G	-	-	-	G	.	.	G	C
Kc15	.	.	G	T	A	.	.	C	.	.	.	.	C	C	.	.	.	C	G	.	C	C	.	T	T	A	.	.	T	.	.	G	-	-	-	G	.	.	G	C
Kc16	.	.	G	T	A	.	.	C	.	.	.	.	C	C	.	.	.	C	.	.	C	C	.	-	T	A	.	.	T	.	.	G	-	-	-	G	.	.	G	C
Kc17	.	.	G	T	A	.	.	C	.	.	.	.	C	C	.	.	.	C	.	.	C	C	.	-	T	A	.	.	T	.	.	G	-	-	C	G	.	.	G	C
Kc18	.	.	G	T	A	.	.	C	.	.	.	.	C	C	.	.	.	C	.	.	C	C	.	T	T	A	.	.	T	.	.	G	-	-	-	G	.	.	G	C
Kc19	.	.	G	T	A	.	.	C	.	.	.	.	C	C	.	.	.	C	.	.	C	C	.	T	T	A	.	.	T	.	.	G	-	-	-	G	.	.	G	C
Kc20	G	.	G	T	A	.	.	C	.	.	.	.	C	C	.	.	.	C	.	.	C	C	.	T	T	A	.	.	T	.	A	G	-	-	-	G	.	.	G	C
Km1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	C	G	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.
Kt1	.	.	.	.	.	C	T	.	G	G	.	G	.	.	.	.	C	C	.	.	C	.	A	.	.	A	.	T	-	G	.	.	.	A	-	G	.	G	.	C

Kt2	.	.	.	.	.	C	T	.	G	G	.	G	.	.	.	.	C	C	.	.	C	.	A	.	.	A	.	T	-	G	.	.	.	A	-	G	.	G	.	C
Kt3	.	.	.	.	.	C	T	.	G	G	.	G	.	.	.	.	C	C	.	.	C	.	A	.	.	A	.	T	-	G	.	.	.	A	-	G	.	G	.	C
Kp1	.	.	G	.	.	.	.	.	.	G	C	.	.	.	.	T	.	C	.	.	C	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	G	C
Kp2	.	A	G	.	.	.	.	.	.	G	C	.	.	.	.	T	.	C	.	.	C	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	G	C
Kp3	.	.	G	.	.	.	.	.	.	G	C	.	.	.	.	T	.	C	.	.	C	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	G	C
Kp4	.	.	G	.	.	.	T	.	.	G	C	.	.	.	.	T	.	C	.	.	C	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	G	C

	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6
	9	0	1	1	3	4	4	5	6	6	7	7	7	7	9	9	0	0	1	2	3	3	4	4	5	5	5	6	7	7	8	8	8	9	0	0	0	1
	8	4	3	6	7	3	6	8	1	7	0	3	7	9	1	7	3	6	5	7	3	6	2	8	1	5	7	9	5	8	1	4	7	0	2	5	8	1
Kc1	C	C	A	C	T	T	A	G	G	G	A	C	T	G	C	G	C	T	G	T	C	G	T	C	A	T	G	C	C	A	A	A	G	T	G	C	G	C
Kc2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kc3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
Kc4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
Kc5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
Kc6	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
Kc7	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
Kc8	.	.	.	.	.	.	G	.	A	A	G	.	.	A	T	.	.	C	A	C	T	.	.	.	G	C	A	.	.	G	G	G	A	C	T	T	A	.
Kc9	.	.	.	.	.	.	G	.	A	A	G	.	.	A	T	.	.	C	A	C	T	.	.	.	G	C	A	.	.	G	G	G	A	C	T	T	A	.
Kc10	.	.	.	.	.	.	G	.	A	A	G	.	.	A	T	.	.	G	A	C	T	.	.	.	G	C	A	.	.	G	G	G	A	C	T	T	A	.
Kc11	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	T	.	.	.	G	C	A	.	.	.	.	G	A	C	T	T	A	.
Kc12	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	T	.	.	.	G	C	A	.	.	.	.	G	A	C	T	T	A	.
Kc13	.	.	T	.	.	.	G	A	A	A	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	T	.	.	.	G	C	A	T	.	.	.	G	A	C	T	T	A	.
Kc14	.	.	.	.	.	.	G	A	A	A	G	.	.	.	T	.	G	C	A	C	T	.	.	.	G	C	A	T	.	.	.	G	A	C	T	T	A	.
Kc15	.	.	.	.	.	.	G	A	A	A	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	T	.	.	.	G	C	A	T	.	.	.	G	A	C	T	T	A	.
Kc16	.	.	.	.	.	.	G	A	A	A	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	T	.	.	.	G	C	A	T	.	.	.	G	A	C	T	T	A	.
Kc17	.	.	.	.	.	.	G	A	A	A	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	T	.	.	.	G	C	A	T	.	.	.	G	A	C	T	T	A	.
Kc18	.	.	.	.	.	.	G	A	A	A	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	T	.	.	.	G	C	A	T	.	.	.	G	A	C	T	T	A	.
Kc19	.	.	.	.	.	.	G	A	A	A	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	T	.	.	.	G	C	A	T	T	.	.	G	A	C	T	T	A	.
Kc20	.	.	.	.	.	.	G	A	A	A	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	T	.	.	.	G	C	A	T	.	.	.	G	A	C	T	T	A	.
Km1	.	.	.	.	.	.	-	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
Kt1	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	G	G	A	.	.	C	A	C	.	C	T	.	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
Kt2	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	G	G	A	.	.	C	A	C	.	C	T	.	.	T	.	.	A	T	.	.	.	.	.	C	.	.	.	T
Kt3	.	T	.	.	C	.	G	.	.	.	G	G	A	.	.	C	A	C	.	C	T	.	.	T	.	.	-	T	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.

Kp1	.	.	.	T	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	.	A	A	.	.	C	T	.	.	.	G	G	A	C	.	T	A	.
Kp2	.	.	.	T	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	.	.	A	.	.	C	T	.	.	.	G	G	A	C	.	T	A	.
Kp3	.	.	.	T	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	.	.	A	.	.	C	T	.	.	.	G	G	A	C	.	T	A	.
Kp4	.	.	.	T	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	T	.	.	C	A	C	.	.	A	.	.	C	T	.	.	.	G	G	A	C	.	T	A	.

9.3.1.3.Γένος *Pomatoschistus*

Ο προσδιορισμός της πρωτοταγούς δομής πραγματοποιήθηκε για 12 δείγματα και των τριών ειδών του γένους *Pomatoschistus* (Εικόνα 9.7), ενώ η σύγκριση των νουκλεοτιδίων για τις πολυμορφικές θέσεις έγινε με τον απλότυπο Pm1 του *P. minutus*. Συνολικά ανιχνεύθηκαν 180 πολυμορφικές νουκλεοτιδικές θέσεις και προσδιορίσθηκαν 10 διαφορετικοί απλότυποι (Πίνακας 9.6). Από τους πολυμορφισμούς αυτούς, παρατηρήθηκαν ενδοειδικά 164 μεταπτώσεις και 16 μεταστροφές στα δείγματα του *P. minutus*, 118 μεταπτώσεις και 62 μεταστροφές στα δείγματα του *P. canestrinii* και 125 μεταπτώσεις και 55 μεταστροφές στα δείγματα του *P. marmoratus*. Οι 625bp κωδικοποιούν συνολικά 207 αμινοξέα. Η μεγαλύτερη πλειονότητα των αντικαταστάσεων παρατηρήθηκε στην τρίτη θέση του κωδικονίου. Συγκεκριμένα, 164 από τις 180 αντικαταστάσεις έγιναν στην τρίτη θέση του κωδικονίου και 16 έγιναν στη πρώτη θέση (15, 51, 156, 222, 240, 243, 306, 309, 318, 345, 366, 417, 459, 492, 540, 612), οδηγώντας σε αντικατάσταση των αμινοξέων αλανίνη σε σερίνη (309) στο *P. marmoratus* και βαλίνη σε λευκίνη (417) στο *P. minutus*.

```
GA ACT GCC CTA AGC CTA CTC ATC CGG GCC GAG CTG AGC CAA CCC GGC GCT TTA    53
 T   A   L   S   L   L   I   R   A   E   L   S   Q   P   G   A   L        17
CTC GGG GAC GAT CAG ATT TAT AAC GTA ATC GTA ACC GCC CAC GCC TTT GTA      104
 L   G   D   D   Q   I   Y   N   V   I   V   T   A   H   A   F   V        17
ATA ATT TTC TTT ATA GTA ATA CCA ATC ATA ATT  GGT GGC TTT GGA AAT TGG      155
 M   I   F   F   M   V   M   P   I   M   I   G   G   F   G   N   W        17
CTA ATT CCC CTA ATG ATC GGG GCC CCG GAC ATG GCC TTC CCC CGA ATA AAT      206
 L   I   P   L   M   I   G   A   P   D   M   A   F   P   R   M   N        17
AAC ATG AGC TTT TGA CTC CTC  CCT CCG TCC TTT TTA CTA CTC CTG GCC TCT      257
 N   M   S   F   W   L   L   P   P   S   F   L   L   L   L   A   S        17
TCA GGG GTT GAA GCA GGG GCC GGA ACA GGA TGA ACA GTA TAC CCC CCC TTG      308
 S   G   V   E   A   G   A   G   T   G   W   T   V   Y   P   P   L        17
GCG GGC AAC TTG GCA CAC GCG GGA GCC TCT GTT GAC TTA ACA ATT TTT TCT      359
 A   G   N   L   A   H   A   G   A   S   V   D   L   T   I   F   S        17
CTC  CAC CTT GCG GGG ATC TCG TCA ATT CTC GGG GCC ATT AAC TTT ATC ACC     410
 L   H   L   A   G   I   S   S   I   L   G   A   I   N   F   I   T        17
ACA ATT TTA AAT ATG AAA CCC CCT GCC ATC TCA CAA TAC CAG ACC CCC CTC      461
 T   I   L   N   M   K   P   P   A   I   S   Q   Y   Q   T   P   L        17
TTT GTT TGG GCT GTT CTA ATT ACC GCA GTC CTG CTA CTT CTC TCC CTG CCA      512
 F   V   W   A   V   L   I   T   A   V   L   L   L   L   S   L   P        17
GTA CTT GCA GCA GGT ATT ACA ATG CTT TTA ACA GAC CGA AAT CTA AAT ACC      563
 V   L   A   A   G   I   T   M   L   L   T   D   R   N   L   N   T        17
ACC TTC TTC GAC CCA GCG GGA GGG GGG GAC CCA ATT CTA TAC CAA CAC CTG      587
 T   F   F   D   P   A   G   G   G   D   P   I   L   Y   Q   H   L        17
TTC TGA TTC TT                                                           625
 F   W   F                                                               3
```

Εικόνα 9.7: Η νουκλεοτιδική αλληλουχία του ενισχυμένου τμήματος των 625bp του COI στο mtDNA. Δίνεται ακόμα η σειρά των αμινοξέων του COI. Ως ακολουθία αναφοράς θεωρήθηκε η ακολουθία του *P. minutus*. Οι πολυμορφικές θέσεις που βρέθηκαν μετά την ανάλυση των 12 δειγμάτων και των τριών ειδών του γένους *Pomatoschistus* υπογραμμίστηκαν.

Figure 9.7: DNA sequence of a 625bp amplified segment of COI of mtDNA. The inferred amino acid sequence is shown in the one letter code above the nucleotide sequence. Variable positions revealed after the analysis of 12 individuals of all the three studied species of *Pomatoschistus* are underlined.

Πίνακας 9.6: Διαφορετικοί απλότυποι και πολυμορφικές θέσεις μεταξύ των 10 απλότυπων που προέκυψαν από την ανάλυση του COI των τριών ειδών του γένους *Pomatoschistus* (Pm=*P. minutus*, Pc=*P. canestrinii*, Pmar=*P. marmoratus*). Οι αριθμοί αντιστοιχούν στις υπογραμμισμένες θέσεις στην Εικόνα 9.7. Τα νουκλεοτίδια κάθε πολυμορφικής θέσης δίνονται για τον απλότυπο Pm1 του *P. minutus*. Για τους υπόλοιπους απλότυπους τα νουκλεοτίδια δίνονται όταν αυτά διαφέρουν από τον απλότυπο Pm1, ενώ η ομοιότητα συμβολίζεται με τελείες.

Table 9.6: Genotype designation and variable nucleotide positions among 10 haplotypes revealed by the COI sequence analysis of the genus *Pomatoschistus* (Pm=*P. minutus*, Pc=*P. canestrinii*, Pmar=*P. marmoratus*). Numbers refer to underlined positions in Figure 9.7. Nucleotides at each position are given for haplotype Pm1 of *P. minutus*. For other haplotypes nucleotides are given when they are different from Pm1, while identity is shown by dots.

	5	11	157	20	26	29	35	41	44	50	51	53	56	59	65	68	71	74	77	80	86	89	92	95	98	101	110	113	125	131	134	140	143	146	149	152	155	156
Pm1	T	A	C	A	C	G	C	G	A	C	T	T	A	C	G	T	G	T	T	C	A	A	C	C	C	C	T	T	C	A	C	A	T	C	T	A	T	G	C
Pm2	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	-	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Pm3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Pm4	.	.	.	G	T	-	-	C	.	.	C	C	.	.	A	.	A	C	.	T	.	C	.	T	.	.	C	.	.	G	.	G	.	G	.	.	C	A	T
Pc1	A	T	T	G	G	T	A	C	.	T	.	C	T	A	T	C	A	.	C	.	.	.	A	T	T	T	-	C	T	.	T	G	A	G	C	C	C	A	.
Pc2	A	T	T	G	G	T	A	C	.	T	.	C	T	A	T	C	A	.	C	.	.	.	A	T	T	T	-	C	T	.	T	G	A	G	C	C	C	A	.
Pc3	A	T	T	G	G	T	A	C	.	T	.	C	T	A	T	C	A	.	C	.	.	.	A	T	T	T	-	C	T	.	T	G	A	G	C	C	C	A	.
Pmar1	A	T	T	.	G	T	G	T	G	T	.	C	T	-	T	C	A	.	C	T	G	.	A	T	T	T	-	C	.	G	.	G	A	.	.	C	C	A	.
Pmar2	A	T	T	.	G	T	G	T	G	.	.	C	T	-	T	C	A	.	C	T	G	.	A	T	T	T	-	C	.	G	.	G	A	G	.	C	C	A	.
Pmar3	A	T	T	.	G	T	G	T	G	.	.	C	T	-	T	C	A	.	C	T	G	.	A	T	T	T	-	C	.	G	.	G	A	G	.	C	C	A	.

	158	161	164	167	170	173	176	182	189	194	197	200	203	206	218	221	224	227	230	233	236	239	240	242	245	248	254	257	260	263	266	269	272	275	278	281
Pm1	A	T	C	A	G	C	G	G	C	C	C	A	A	T	T	A	C	C	C	T	G	C	T	T	A	C	A	C	G	C	T	A	G	T	A	A	G	C	A
Pm2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Pm3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Pm4	.	C	T	.	A	T	.	C	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	C	.	T	.	.	A	.	.	.	.	.	.	G	A	.	.
Pc1	.	C	.	C	.	T	A	C	T	T	.	.	G	C	C	.	T	A	T	C	C	A	C	C	.	.	T	.	C	A	A	T	A	C	.	T	A	A	T
Pc2	.	C	.	C	.	T	A	C	T	T	.	.	G	C	C	.	T	A	T	C	C	A	C	C	.	.	T	.	C	A	A	T	A	C	.	T	A	A	T
Pc3	.	C	.	C	.	T	A	C	T	T	.	.	G	C	C	.	T	A	T	C	C	A	C	C	.	.	T	.	C	A	A	T	A	C	.	T	A	A	T

Pmar1	C	C	.	T	.	.	A	C	.	T	.	.	.	C	C	G	.	T	.	C	A	.	C	C	G	.	T	G	T	.	C	G	A	.	G	G	A	T	C			
Pmar2	C	C	.	T	.	.	A	C	.	T	T	.	.	C	C	G	.	T	.	C	A	.	C	C	G	.	T	G	T	.	C	T	.	.	G	G	A	T	C			
Pmar3	C	C	.	T	.	.	A	C	T	T	T	.	.	C	C	G	.	T	.	C	A	.	C	C	G	.	T	G	T	.	C	T	.	.	G	G	A	T	C			

	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4
	8	9	9	0	0	0	0	1	1	1	2	2	2	2	3	3	4	4	4	4	5	5	5	5	6	6	6	6	7	7	7	8	8	8	8	9	9	9	0			
	7	3	6	5	6	8	9	1	7	8	0	3	6	9	2	5	1	4	5	7	0	3	6	9	2	5	6	8	1	4	7	0	3	6	9	2	5	8	4			
Pm1	A	A	A	C	T	G	G	G	C	T	G	A	C	G	A	C	T	C	T	A	A	T	T	T	C	C	C	T	G	G	C	G	A	T	C	G	C	T	T			
Pm2	-	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
Pm3	-	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
Pm4	G	-	G	.	.	.	.	A	T	.	.	G	.	A	G	.	.	T	.	.	C	C	.	.	T	.	.	.	A	A	T	.	.	C	T	.	A	C	.			
Pc1	G	C	C	G	C	A	.	C	.	C	A	G	T	T	.	A	A	.	C	G	T	C	C	.	A	T	T	G	T	T	-	T	.	.	A	.	.	C	C			
Pc2	G	C	C	G	C	A	.	C	.	C	A	G	T	T	.	A	A	.	C	G	T	C	C	.	A	T	T	G	T	T	-	T	.	.	A	.	.	C	C			
Pc3	G	C	C	G	C	A	.	C	.	C	A	G	T	T	.	A	A	.	C	G	T	C	C	.	A	T	T	G	T	T	-	T	.	.	A	.	.	C	C			
Pmar1	G	.	C	T	C	A	T	.	.	C	A	G	T	T	G	A	A	.	C	.	.	C	.	C	T	.	T	A	A	T	T	T	C	C	G	A	A	.	.			
Pmar2	G	.	C	T	C	A	T	.	.	C	A	G	T	T	G	A	A	.	C	.	.	C	.	C	T	.	.	G	A	C	T	T	C	C	G	A	A	.	.			
Pmar3	G	.	C	T	C	A	T	.	.	C	A	G	T	T	G	A	A	.	C	.	.	C	.	C	T	.	.	G	A	C	T	T	C	C	G	A	A	.	.			

	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5			
	0	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	4	4	5	5	5	6	6	6	7	7	7	8	8	8	9	9	9	9	0	0	0	0	1	1	1	2	2			
	7	0	3	6	7	9	2	5	8	4	7	0	3	6	2	8	9	1	4	7	0	6	9	2	5	8	1	2	4	7	0	3	6	9	2	5	8	1	4			
Pm1	C	C	A	T	T	A	T	G	A	T	C	C	A	A	G	C	C	C	T	T	G	T	A	T	C	A	C	C	G	A	T	C	C	G	A	A	T	A	A			
Pm2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.			
Pm3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.			
Pm4	T	A	.	.	.	.	C	.	G	C	.	T	.	G	A	.	.	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	T	G	.	T	.	.	.	.	.	.	.			
Pc1	T	A	C	.	G	.	C	.	.	.	.	T	G	.	.	A	.	A	C	G	.	G	T	.	G	.	.	.	A	C	C	T	T	C	.	C	.	C	G			
Pc2	T	A	C	.	G	.	C	.	.	.	.	T	G	.	.	.	.	A	C	G	.	G	T	.	G	.	.	.	A	C	C	T	T	C	.	C	.	C	C			
Pc3	T	A	C	.	G	.	C	.	.	.	.	T	G	.	.	A	.	A	C	G	.	G	T	.	G	.	.	.	A	-	C	T	T	C	.	C	.	C	G			
Pmar1	T	.	C	C	G	G	C	A	.	.	A	.	G	G	.	.	T	G	C	C	A	.	C	C	-	C	T	T	.	.	.	T	T	T	C	.	A	C	C			
Pmar2	T	.	C	C	G	C	C	A	.	.	A	.	G	G	.	G	.	G	C	C	A	.	C	C	-	C	T	T	.	.	.	T	T	T	C	G	A	T	C			
Pmar3	T	.	C	C	G	C	C	A	.	.	A	.	G	G	.	G	.	G	C	C	A	.	C	C	-	C	T	T	.	.	.	T	T	T	C	G	A	T	G			

	527	530	533	539	540	542	545	548	554	557	560	563	572	578	581	587	590	596	599	602	608	612	614	617
Pm1	T	T	A	T	T	A	A	C	T	A	T	C	C	A	G	G	G	A	T	A	A	C	G	C
Pm2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Pm3	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Pm4	A	.	C	.	C	G	G	.	.	.	C	T	T	C	.	A	A	G	C	C	.	T	A	.
Pc1	A	C	G	A	C	T	.	.	C	C	.	G	T	T	.	.	C	C	C	G	.	.	C	.
Pc2	A	C	G	A	C	T	.	.	C	C	.	G	T	T	.	.	C	C	C	G	.	.	C	.
Pc3	A	C	G	A	C	T	.	.	C	C	.	G	T	T	.	.	C	C	C	G	.	.	C	.
Pmar1	C	C	.	G	C	C	C	T	C	T	C	.	T	.	A	.	A	C	C	G	G	.	A	T
Pmar2	C	C	.	G	C	T	G	T	C	T	C	.	T	C	A	.	A	C	C	G	G	.	A	.
Pmar3	C	C	.	G	C	T	G	T	C	T	C	.	T	C	A	.	A	C	C	G	G	.	A	.

9.3.2. Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων των μελετημένων πληθυσμών

9.3.2.1.Γένος *Economidichthys*

Η ανάλυση των 23 αλληλουχιών του COI για το γένος *Economidichthys* που ελήφθησαν στην παρούσα μελέτη αποκάλυψε 9 διαφορετικούς απλότυπους (Πίνακας 9.7). Το μήκος των αλληλουχιών ήταν 625 ζεύγη βάσεων (bp) και όπως ήταν αναμενόμενο, αφού πρόκειται για κωδική περιοχή, δεν περιέχουν ελλείψεις (deletions), προσθήκες (insertions) και κωδικόνια λήξης της πρωτεϊνοσύνθεσης (stop codons). Συγκεκριμένα, 8 διαφορετικοί απλότυποι βρέθηκαν μετά την ανάλυση 22 ατόμων του *E. pygmaeus*, οι οποίοι κατανέμονται σε διάφορες δειγματοληπτικές περιοχές, ενώ ένας μοναδικός απλότυπος προσδιορίσθηκε για 1 άτομο *E. trichonis*.

Πίνακας 9.7: Κατανομή των απλότυπων που ανιχνεύθηκαν για την ανάλυση του COI των δύο ειδών του γένους *Economidichthys* στις διάφορες δειγματοληπτικές περιοχές.
Table 9.7: Distribution of COI haplotypes of the two *Economidichthys* species among the studied areas.

	E. trichonis	*E. pygmaeus*							
	Et1	Ep1	Ep2	Ep3	Ep4	Ep5	Ep6	Ep7	Ep8
Τριχωνίδα	1						1	3	1
Παμβώτιδα		3							
Ζηρός		4							
Άραχθος			1						
Λούρος		1		1	1				
Καλαμάς		2				1			
Άγ. Δημήτριος								3	

Ο απλότυπος που εμφανίζει τη μεγαλύτερη συχνότητα είναι ο Ep1, ο οποίος περιλαμβάνει 10 άτομα από 4 διαφορετικούς πληθυσμούς των οικοσυστημάτων της Ηπείρου. Όσον αφορά την Αιτωλοακαρνανία εμφανίστηκαν ένας μοναδικός απλότυπος του *E. trichonis* (Et1) και τρεις απλότυποι (Ep6, Ep7, Ep8) του *E. pygmaeus* με τον Ep7, να εμφανίζει τη μεγαλύτερη συχνότητα,

Η μέση γενετική απόσταση εντός του γένους *Economidichthys* είναι 0,029. Οι γενετικές αποστάσεις κυμαίνονται από 0,002 ώς 0,011 (με μέση τιμή 0,005) ανάμεσα σε άτομα του είδους *E. pygmaeus* και κοντινά σχετικών πληθυσμών (Πίνακας 9.8), ενώ όταν στις αναλύσεις συμπεριλαμβάνεται και ο απλότυπος του *E. trichonis* η μέση γενετική απόσταση είναι 0,112.

Πίνακας 9.8: Η % νουκλεοτιδική απόκλιση ανάμεσα στα 8 ζευγάρια απλότυπων που αποκαλύφθηκε ύστερα από την ανάλυση του COI για τα είδη του γένους *Economidichthys*.
Table 9.8: Matrix of pairwise percentage sequence divergence estimates among 16 haplotypes pairs revealed after the analysis of COI for the species of the genus *Economidichthys.*

	1	2	3	4	5	6	7	8
Ep1								
Ep2	0,002							
Ep3	0,002	0,003						
Ep4	0,002	0,003	0,003					
Ep5	0,002	0,003	0,003	0,003				
Ep6	0,010	0,011	0,011	0,011	0,011			
Ep7	0,003	0,005	0,005	0,005	0,005	0,006		
Ep8	0,005	0,006	0,006	0,006	0,006	0,005	0,002	
Et1	0,110	0,109	0,112	0,112	0,109	0,117	0,114	0,112

9.3.2.2.Γένος *Knipowitschia*

Ανιχνεύθηκαν συνολικά 28 απλότυποι από την ανάλυση του τμήματος του COI σε συνολικά 52 δείγματα και των τριών ειδών του γένους *Knipowitschia* (Πίνακας 9.9). Συγκεκριμένα, 20 διαφορετικοί απλότυποι προέκυψαν μετά την ανάλυση 41 δειγμάτων του είδους *K. caucasica*. Από τα υπόλοιπα δείγματα βρέθηκε ένας απλότυπος για το *K. milleri*, τα 4 άτομα του *K. thessala* που αναλύθηκαν έδωσαν 3 διαφορετικούς απλότυπους και για το *K. panizzae* προέκυψαν 4 μοναδικοί απλότυποι από τα 4 άτομα που αναλύθηκαν.

Ο απλότυπος που εμφανίζει τη μεγαλύτερη συχνότητα είναι ο Kc1, ο οποίος περιλαμβάνει 6 άτομα από 2 διαφορετικούς πληθυσμούς των οικοσυστημάτων της Ηπείρου. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι 20 από τους 28 απλότυπους είναι μοναδικοί είτε για έναν ολόκληρο πληθυσμό είτε μοναδικοί για κάποια άτομα ενός πληθυσμού.

Η μέση γενετική απόσταση εντός του γένους *Knipowitschia* είναι 0,042. Οι γενετικές αποστάσεις κυμαίνονται από 0,002 ώς 0,067 (με μέση τιμή 0,035) ανάμεσα σε άτομα του ίδιου είδους και κοντινά σχετικών πληθυσμών του *K. caucasica*, από 0,002 ώς 0,005 (με μέση τιμή 0,003) ανάμεσα σε άτομα του είδους *K. thessala* και από 0,002 ώς 0,003 (με μέση τιμή 0,002) ανάμεσα σε άτομα του είδους *K. panizzae* (Πίνακας 9.10). Όταν η σύγκριση γίνεται ανάμεσα σε άτομα διαφορετικών ειδών η μέση γενετική απόσταση είναι για το *K. caucasica-K. panizzae* 0,043, *K. caucasica-K. milleri* 0,042, *K. caucasica-K. thessala* 0,064, *K. milleri-K. thessala* 0,046, *K. milleri-K. panizzae* 0,043 και *K. thessala-K. panizzae* 0,061.

Πίνακας 9.9: Κατανομή των απλότυπων που ανιχνεύθηκαν για την ανάλυση του COI των τριών ειδών του γένους *Knipowitschia* στις διάφορες δειγματοληπτικές περιοχές.
Table 9.9: Distribution of COI haplotypes of the three *Knipowitschia* species among the studied areas.

	K. caucasica										
	Km1	Kc1	Kc2	Kc3	Kc4	Kc5	Kc6	Kc7	Kc8	Kc9	Kc10
Παμβώτις		4									
Καλαμάς		2	1								
Αχέροντας	3										
Καλογριά				5	1						
Κοτύχι						5					
Καϊάφα							2	1			
Αξιός									2	1	1

	K. caucasica									
	Kc11	Kc12	Kc13	Kc14	Kc15	Kc16	Kc17	Kc18	Kc19	Kc20
Ρήχιος	1	1								
Βόλβη		3								
Βάσσοβα			2	2						
Βιστώνις					1	1	1	1		
Δράνα								1	1	1

	K. thessala			*K. panizzae*			
	Kt1	Kt2	Kt3	Kp1	Kp2	Kp3	Kp4
Κάρλα	2	1	1				
Βενετία				1	1	1	1

Πίνακας 9.10: Η % νουκλεοτιδική απόκλιση ανάμεσα στα 27 ζευγάρια απλότυπων που αποκαλύφθηκε ύστερα από την ανάλυση του COI για τα είδη του γένους *Knipowitchia*.

Table 9.10: Matrix of pairwise percentage sequence divergence estimates among 27 haplotypes pairs revealed after the analysis of COI for the species of the genus *Knipowitschia*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Kc1																											
Kc2	0,002																										
Kc3	0,008	0,010																									
Kc4	0,010	0,011	0,002																								
Kc5	0,013	0,014	0,005	0,006																							
Kc6	0,013	0,014	0,005	0,006	0,003																						
Kc7	0,014	0,016	0,006	0,008	0,005	0,002																					
Kc8	0,064	0,064	0,062	0,064	0,066	0,066	0,067																				
Kc9	0,066	0,066	0,064	0,066	0,067	0,067	0,069	0,002																			
Kc10	0,064	0,064	0,062	0,064	0,066	0,066	0,067	0,020	0,003																		
Kc11	0,053	0,053	0,051	0,053	0,054	0,054	0,056	0,014	0,016	0,016																	
Kc12	0,054	0,054	0,053	0,054	0,056	0,056	0,058	0,016	0,018	0,018	0,002																
Kc13	0,059	0,059	0,058	0,059	0,061	0,061	0,062	0,018	0,019	0,019	0,016	0,018															
Kc14	0,061	0,061	0,059	0,061	0,062	0,062	0,064	0,016	0,018	0,018	0,014	0,016	0,005														
Kc15	0,061	0,061	0,056	0,058	0,059	0,059	0,061	0,016	0,018	0,018	0,014	0,016	0,005	0,003													
Kc16	0,058	0,058	0,056	0,058	0,059	0,059	0,061	0,016	0,018	0,018	0,014	0,016	0,002	0,003	0,003												
Kc17	0,059	0,059	0,058	0,059	0,061	0,061	0,062	0,018	0,019	0,019	0,016	0,018	0,003	0,005	0,005	0,002											
Kc18	0,059	0,059	0,058	0,059	0,061	0,061	0,062	0,014	0,016	0,016	0,013	0,014	0,003	0,002	0,002	0,002	0,003										
Kc19	0,061	0,061	0,059	0,061	0,062	0,062	0,064	0,016	0,018	0,018	0,014	0,016	0,005	0,003	0,003	0,003	0,005	0,002									
Kc20	0,062	0,062	0,061	0,062	0,064	0,064	0,066	0,018	0,016	0,019	0,016	0,018	0,006	0,005	0,005	0,005	0,006	0,003	0,005								
Km1	0,011	0,013	0,003	0,005	0,008	0,008	0,010	0,066	0,067	0,066	0,054	0,056	0,058	0,059	0,056	0,056	0,058	0,058	0,059	0,061							
Kt1	0,046	0,048	0,045	0,046	0,050	0,050	0,051	0,077	0,078	0,078	0,066	0,067	0,069	0,072	0,072	0,069	0,070	0,070	0,072	0,074	0,045						
Kt2	0,050	0,051	0,048	0,050	0,053	0,053	0,054	0,077	0,078	0,078	0,066	0,067	0,069	0,072	0,072	0,069	0,070	0,070	0,072	0,074	0,048	0,003					
Kt3	0,048	0,050	0,046	0,048	0,051	0,051	0,053	0,075	0,077	0,077	0,064	0,066	0,067	0,070	0,070	0,067	0,069	0,069	0,070	0,072	0,046	0,002	0,005				
Kp1	0,043	0,045	0,040	0,042	0,043	0,040	0,042	0,045	0,046	0,046	0,037	0,038	0,046	0,045	0,045	0,045	0,046	0,043	0,045	0,046	0,043	0,061	0,062	0,062			
Kp2	0,043	0,045	0,040	0,042	0,043	0,043	0,045	0,045	0,046	0,046	0,037	0,035	0,046	0,045	0,045	0,045	0,046	0,043	0,045	0,046	0,043	0,061	0,062	0,062	0,003		
Kp3	0,042	0,043	0,038	0,040	0,042	0,042	0,043	0,043	0,045	0,045	0,035	0,037	0,045	0,043	0,043	0,043	0,045	0,042	0,043	0,045	0,042	0,059	0,061	0,061	0,002	0,002	
Kp4	0,043	0,045	0,040	0,042	0,043	0,043	0,045	0,045	0,046	0,046	0,037	0,038	0,046	0,045	0,045	0,045	0,046	0,043	0,045	0,046	0,043	0,058	0,059	0,059	0,003	0,003	0,002

9.3.2.3.Γένος *Pomatoschistus*

Η ανάλυση των 12 αλληλουχιών του COI για το γένος *Pomatoschistus* που ελήφθησαν στην παρούσα μελέτη αποκάλυψε 10 διαφορετικούς απλότυπους (Πίνακας 9.11). Μετά την ανάλυση 4 ατόμων του *P. minutus* βρέθηκαν 4 διαφορετικοί απλότυποι, 3 διαφορετικοί απλότυποι προσδιορίστηκαν για τα 4 άτομα του *P. canestrinii* και 3 διαφορετικοί απλότυποι ανιχνεύθηκαν μετά την ανάλυση 4 ατόμων του *P. marmoratus* (Πίνακας 9.9). Αξίζει να σημειωθεί ότι 8 από τους 10 απλότυπους είναι μοναδικοί είτε για έναν ολόκληρο πληθυσμό είτε μοναδικοί για κάποια άτομα ενός πληθυσμού.

Πίνακας 9.11: Κατανομή των απλότυπων που ανιχνεύθηκαν για την ανάλυση του COI των τριών ειδών του γένους *Pomatoschistus* στις διάφορες δειγματοληπτικές περιοχές.
Table 9.11: Distribution of COI haplotypes of the three *Pomatoschistus* species among the studied areas.

	P. minutus				*P. canestrinii*			*P. marmoratus*		
	Pm1	Pm2	Pm3	Pm4	Pc1	Pc2	Pc3	Pmr1	Pmr2	Pmr3
Κατάκολο	1	1	1							
Βάσσοβα				1				1		
Βενετία					2	1	1		2	1

Η μέση γενετική απόσταση εντός του γένους *Pomatoschistus* είναι 0,148. Οι γενετικές αποστάσεις κυμαίνονται από 0,002 ώς 0,126 (με μέση τιμή 0,065) ανάμεσα σε άτομα του ίδιου είδους και κοντινά σχετικών πληθυσμών του *P. minutus*, από 0,002 ώς 0,005 (με μέση τιμή 0,011) ανάμεσα σε άτομα του είδους *P. canestrinii* και από 0,003 ώς 0,030 (με μέση τιμή 0,020) ανάμεσα σε άτομα του ίδιου είδους και κοντινά σχετικών πληθυσμών του *P. marmoratus* (Πίνακας 9.12). Όταν η σύγκριση γίνεται ανάμεσα σε άτομα διαφορετικών ειδών η μέση γενετική απόσταση *P. minutus*-*P. canestrinii* είναι 0,199, *P. canestrinii*-*P. marmoratus* είναι 0,153 και *P. minutus*-*P. marmoratus* είναι 0,204.

Πίνακας 9.12: Η % νουκλεοτιδική απόκλιση ανάμεσα στα 9 ζευγάρια απλότυπων που αποκαλύφθηκε ύστερα από την ανάλυση του COI για τα είδη του γένους *Pomatoschistus.*
Table 9.12: Matrix of pairwise percentage sequence divergence estimates among 9 haplotypes pairs revealed after the analysis of COI for the species of the genus *Pomatoschistus.*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Pm1									
Pm2	0,002								
Pm3	0,010	0,011							
Pm4	0,125	0,126	0,118						
Pc1	0,203	0,205	0,198	0,194					
Pc2	0,202	0,203	0,197	0,192	0,003				
Pc3	0,202	0,203	0,197	0,194	0,002	0,005			
Pmr1	0,206	0,205	0,208	0,202	0,155	0,152	0,154		
Pmr2	0,206	0,205	0,205	0,194	0,155	0,154	0,154	0,027	
Pmr3	0,208	0,206	0,206	0,195	0,152	0,154	0,150	0,030	0,003

9.3.3. Πληθυσμιακή μελέτη

9.3.3.1.Ανάλυση των πληθυσμών του *E. pygmaeus* με βάση το COI

Ανάλυση της σύστασης των μελετούμενων πληθυσμών για το COI πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer 2010). Στον πίνακα 9.13 παρουσιάζεται η απλοτυπική και νουκλεοτιδική ποικιλότητα που προέκυψε για τους μελετούμενους πληθυσμούς. Οι υψηλότερες τιμές της απλοτυπικής ποικιλότητας βρέθηκαν στα δείγματα του Αράχθου και του Λούρου, ενώ οι πληθυσμοί της Παμβώτιδας, Ζηρού και Αγ. Δημητρίου εμφάνισαν μηδενική τιμή. Επιπρόσθετα, οι πληθυσμοί του Καλαμά και του Λούρου εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές νουκλεοτιδικής ποικιλότητας. Οι μηδενικές τιμές στα υπόλοιπα δείγματα οφείλονται στην ύπαρξη μοναδικών απλότυπων σε αυτούς τους πληθυσμούς.

Ο έλεγχος της γεωγραφικής ετερογένειας μεταξύ των επτά πληθυσμών του *E. pygmaeus* έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στις απλοτυπικές συχνότητες μεταξύ 3 ζευγών πληθυσμών (Πίνακας 9.14), ωστόσο κανένας έλεγχος δεν ήταν στατιστικά σημαντικός μετά τη διόρθωση με τη μέθοδο bonferroni. Στα υπόλοιπα 18 ζεύγη πληθυσμών που συγκρίθηκαν δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των απλοτυπικών συχνοτήτων. Στο πίνακα 9.15 φαίνεται η παρουσία διαφοροποίησης (+) ή όχι (-) από τους κατά ζεύγη ελέγχους που έγιναν για το *E. pygmaeus*.

Πίνακας 9.13: Η απλοτυπική ποικιλότητα και η νουκλεοτιδική ποικιλότητα για τους 7 πληθυσμούς του *E. pygmaeus* στο τμήμα COI του μιτοχονδριακού γονιδιώματος. Δίνεται το τυπικό σφάλμα (±SE).
Table 9.13: Haplotype diversity and nucleotide diversity for the 7 populations of *E. pygmaeus* of the mtDNA COI. Standard error (±SE) is also given.

	Απλοτυπική ποικιλότητα (h±SE)	Νουκλεοτιδική ποικιλότητα (π±SE)
Παμβώτιδα	0,000	0,000
Ζηρός	0,000	0,000
Άραχθος	0,000	0,000
Λούρος	1,000±0,272	0,200±0,189
Καλαμάς	0,667±0,314	0,467±0,390
Άγ. Δημήτριος	0,000	0,000
Τριχωνίδα	0,700±0,218	0,140±0,119

Πίνακας 9.14: Τιμές πιθανότητας p για τη διαφοροποίηση ανάμεσα στα δείγματα ανά δύο με βάση το ακριβές κριτήριο στην περιοχή COI του μιτοχονδριακού γονιδιώματος του *E. pygmaeus*.
Table 9.14: P values of differentiation among the population samples based on the exact test, in mtDNA region COI of *E. pygmaeus*.

	Παμβώτιδα	Ζηρός	Άραχθος	Λούρος	Καλαμάς	Αγ. Δημήτριος
Ζηρός	-1,000					
Άραχθος	0,253	0,201				
Λούρος	0,399	0,139	1,000			
Καλαμάς	1,000	0,431	0,500	1,000		
Άγ. Δημήτριος	0,099	0,029*	0,250	0,098	0,098	
Τριχωνίδα	0,036*	0,025*	0,496	0,192	0,095	1,000

* στατιστικώς σημαντικές για p<0,05.

Πίνακας 9.15: Ύπαρξη (+) ή όχι (-) διαφοροποίησης ανάμεσα στα δείγματα ανά δύο με βάση το ακριβές κριτήριο στην περιοχή COI του μιτοχονδριακού γονιδιώματος του *E. pygmaeus* (στατιστικώς σημαντικές είναι οι διαφοροποιήσεις για p<0,05).
Table 9.15: Presence (+) or absence (-) of differentiation among the population samples based on the exact test, in mtDNA region COI of *E. pygmaeus* (Statistical significant differences are indicated for p<0,05).

	Παμβώτιδα	Ζηρός	Άραχθος	Λούρος	Καλαμάς	Αγ. Δημήτριος
Ζηρός	-					
Άραχθος	-	-				
Λούρος	-	-	-			
Καλαμάς	-	-	-	-		
Άγ. Δημήτριος	-	+	-	-	-	
Τριχωνίδα	+	+	-	-	-	-

Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της μοριακής διασποράς (AMOVA) στο σύνολο των παραπάνω πληθυσμών, καθώς και σε μικρότερες ομάδες ή υποθετικές ομαδοποιήσεις τους. Τα αποτελέσματα φαίνονται συνολικά στον πίνακα 9.16 που ακολουθεί και είναι στατιστικά σημαντικά ($p<0,05$ σε κάθε περίπτωση). Η ανάλυση του συνόλου των πληθυσμών έδειξε ότι υπάρχει ένας σημαντικός βαθμός γενετικής διαφοροποίησης (F_{ST}=0,525), που οφείλεται σε διαφορές μεταξύ των πληθυσμών σε ποσοστό 52,52%. Ακολούθως πραγματοποιήθηκε η ανάλυση για τα δείγματα της Ηπείρου, όπου προέκυψε μικρότερος βαθμός γενετικής διαφοροποίησης (F_{ST}=0,164), χωρίς όμως αυτή η τιμή να είναι στατιστικά σημαντική (p=0,131). Όταν πραγματοποιήθηκε η ανάλυση για τα δείγματα της Αιτωλοακαρνανίας, το ποσοστό γενετικής ποικιλότητας αποδόθηκε σε διαφορές μέσα στους πληθυσμούς (100%). Στη συνέχεια της μελέτης πραγματοποιήθηκε υποθετική ομαδοποίηση μεταξύ των πληθυσμών του *E. pygmaeus*: (1) Ήπειρος, περιλαμβάνει τους πληθυσμούς από Παμβώτιδα, Ζηρό, Άραχθο, Λούρο, Καλαμά και (2) Αιτωλοακαρνανία, περιλαμβάνει τους πληθυσμούς από Τριχωνίδα και Αγ. Δημήτριο. Με βάση αυτές τις παραμέτρους, ο μεγαλύτερος βαθμός γενετικής διαφοροποίησης οφείλεται σε διαφορές μέσα στους πληθυσμούς (F_{ST}=0,648), ενώ μεταξύ των γεωγραφικών ομάδων που ορίστηκαν υπήρξε σημαντική γενετική διαφοροποίηση (F_{CT}=0,577).

Πίνακας 9.16: Αποτελέσματα από την ανάλυση μοριακής διασποράς (AMOVA) για το *E. pygmaeus*. Το ποσοστό γενετικής διαφοροποίησης και η πιθανότητα (p) που υπολογίστηκε από τις προσομοιώσεις δίνονται για κάθε ιεραρχικό επίπεδο ανάλυσης.
Table 9.16: Results of the hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) for *E. pygmaeus*. The percentage of variation and the probability (p) estimated from permutation tests are given at each hierarchical level.

Κατανομή ποικιλότητας		% Συνολική Ποικιλότητα	Τιμές F_{ST}	p
Σύνολο των πληθυσμών	Μεταξύ των πληθυσμών	52,52	F_{ST}=0,525	<0,001
	Μέσα στους πληθυσμούς	47,48		
Πληθυσμοί Ηπείρου	Μεταξύ των πληθυσμών	16,46	F_{ST}=0,164	0,131
	Μέσα στους πληθυσμούς	83,54		
Πληθυσμοί Αιτωλοακαρνανίας	Μεταξύ των πληθυσμών	-0,96	F_{ST}=-0,009	0,733
	Μέσα στους πληθυσμούς	100		
Ηπείρου / Αιτωλοακαρνανίας	Μεταξύ ομάδων	57,79	F_{CT}=0,577	0,042
	Μεταξύ πληθυσμών μέσα στις ομάδες	7,03	F_{SC}=0,166	0,139
	Μέσα στους πληθυσμούς	35,18	F_{ST}=0,648	<0,001

9.3.3.2.Ανάλυση των πληθυσμών του *K. caucasica* με βάση το COI

Ανάλυση της σύστασης των μελετούμενων πληθυσμών για το COI πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer 2010). Στον πίνακα 9.17 παρουσιάζεται η απλοτυπική και νουκλεοτιδική ποικιλότητα που προέκυψε για τους μελετούμενους πληθυσμούς. Υψηλή απλοτυπική ποικιλότητα εμφανίζουν οι πληθυσμοί από Βιστωνίδα, Δράνα και Ρήχιο. Επιπρόσθετα οι πληθυσμοί από Βάσσοβα, Δράνα και Βιστωνίδα εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές νουκλεοτιδικής ποικιλότητας. Οι μηδενικές τιμές στα υπόλοιπα δείγματα οφείλονται στην ύπαρξη μοναδικών απλότυπων σε αυτούς τους πληθυσμούς.

Ο έλεγχος της γεωγραφικής ετερογένειας μεταξύ των έντεκα πληθυσμών του *K. caucasica* έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στις απλοτυπικές συχνότητες μεταξύ 25 ζευγών πληθυσμών (Πίνακας 9.18), ωστόσο κανένας έλεγχος δεν ήταν στατιστικά σημαντικός μετά τη διόρθωση με τη μέθοδο bonferroni. Στα υπόλοιπα 30 ζεύγη πληθυσμών που συγκρίθηκαν δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των απλοτυπικών συχνοτήτων. Στον πίνακα 9.19 φαίνεται η παρουσία διαφοροποίησης (+) ή όχι (-) από τους κατά ζεύγη ελέγχους που έγιναν για το *K. caucasica.*

Πίνακας 9.17: Η απλοτυπική ποικιλότητα και η νουκλεοτιδική ποικιλότητα για τους 11 πληθυσμούς του *K. caucasica* στο τμήμα COI του μιτοχονδριακού γονιδιώματος. Δίνεται το τυπικό σφάλμα (±SE).
Table 9.17: Haplotype diversity and nucleotide diversity for the 11 populations of *K. caucasica* of the mtDNA COI. Standard error (±SE) is given.

	Απλοτυπική ποικιλότητα (h±SE)	Νουκλεοτιδική ποικιλότητα (π±SE)
Παμβώτιδα	0,00	0,00
Καλαμάς	0,666±0,314	0,011±0,014
Καλογριά	0,333±0,215	0,005±0,007
Κοτύχι	0,00	0,00
Καϊάφα	0,666±0,314	0,011±0,014
Αξιός	0,833±0,222	0,017±0,017
Ρήχιος	1,000±0,500	0,017±0,024
Βόλβη	0,00	0,00
Βάσσοβα	0,666±0,204	0,034±0,028
Βιστωνίδα	1,000±0,176	0,028±0,025
Δράνα	1,000±0,272	0,034±0,032

Πίνακας 9.18: Τιμές πιθανότητας P για τη διαφοροποίηση ανάμεσα στα δείγματα ανά δύο με βάση το ακριβές κριτήριο στην περιοχή COI του μιτοχονδριακού γονιδιώματος του *K. caucasica*.
Table 9.18: P values of differentiation among the population samples based on the exact test, in mtDNA region COI of *K. caucasica*.

	Παμβώτιδα	Καλαμάς	Καλογριά	Κοτύχι	Καϊάφα	Αξιός	Ρήχιος	Βόλβη	Βάσσοβα	Βιστωνίδα
Καλαμάς	0,427									
Καλογριά	0,005*	0,023*								
Κοτύχι	0,007*	0,016*	0,004*							
Καϊάφα	0,028*	0,200	0,022*	0,015*						
Αξιός	0,025*	0,190	0,014*	0,009*	0,199					
Ρήχιος	0,065	0,395	0,109	0,047*	0,405	0,465				
Βόλβη	0,029*	0,100	0,012*	0,017*	0,100	0,087	0,397			
Βάσσοβα	0,028*	0,084	0,004*	0,009*	0,083	0,088	0,203	0,028*		
Βιστωνίδα	0,027*	0,426	0,022*	0,007*	0,426	0,417	1,000	0,147	0,201	
Δράνα	0,025*	0,400	0,043*	0,017*	0,403	0,439	1,000	0,099	0,204	1,000

* στατιστικώς σημαντικές για p<0,05.

Πίνακας 9.19: Ύπαρξη (+) ή όχι (-) διαφοροποίησης ανάμεσα στα δείγματα ανά δύο με βάση το ακριβές κριτήριο στην περιοχή COI του μιτοχονδριακού γονιδιώματος του *K. caucasica* (στατιστικώς σημαντικές είναι οι διαφοροποιήσεις για p<0,05).
Table 9.19: Presence (+) or absence (-) of differentiation among the population samples based on the exact test, in mtDNA region COI of *K. caucasica* (Statistical significant differences for p<0,05).

	Παμβώτιδα	Καλαμάς	Καλογριά	Κοτύχι	Καϊάφα	Αξιός	Ρήχιος	Βόλβη	Βάσσοβα	Βιστωνίδα
Καλαμάς	-									
Καλογριά	+	+								
Κοτύχι	+	+	+							
Καϊάφα	+	-	+	+						
Αξιός	+	-	+	+	-					
Ρήχιος	-	-	-	+	-	-				
Βόλβη	+	-	+	+	-	-	-			
Βάσσοβα	+	-	+	+	-	-	-	+		
Βιστωνίδα	+	-	+	+	-	-	-	-	-	
Δράνα	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-

Τέλος, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της μοριακής διασποράς (AMOVA) στο σύνολο των παραπάνω πληθυσμών, καθώς και σε μικρότερες ομάδες ή υποθετικές ομαδοποιήσεις τους. Τα αποτελέσματα φαίνονται συνολικά στον πίνακα 9.20 που ακολουθεί και είναι στατιστικά σημαντικά (p<0,05 σε κάθε περίπτωση). Η ανάλυση του συνόλου των πληθυσμών έδειξε ότι υπάρχει ένας υψηλά σημαντικός βαθμός γενετικής διαφοροποίησης (F_{ST}=0,966), που οφείλεται σε διαφορές μεταξύ των πληθυσμών σε ποσοστό 96,69%. Ακολούθως πραγματοποιήθηκε η ανάλυση για τα δείγματα του Αιγαίου όπου προέκυψε σημαντικά μεγάλος βαθμός γενετικής διαφοροποίησης (F_{ST}=0,829). Όταν πραγματοποιήθηκε η ανάλυση για τα δείγματα του Ιονίου ένα στατιστικά σημαντικό

ποσοστό γενετικής διαφοροποίησης (F_{ST}=0,946) αποδόθηκε σε διαφορές μεταξύ των πληθυσμών. Στη συνέχεια της μελέτης πραγματοποιήθηκε υποθετική ομαδοποίηση μεταξύ των πληθυσμών του *K. caucasica*: (1) Αιγαίο, περιλαμβάνει τους πληθυσμούς από Αξιό, Ρήχιο, Βόλβη, Βάσσοβα, Βιστωνίδα Δράνα και (2) Ιόνιο, περιλαμβάνει τους πληθυσμούς από Παμβώτιδα, Καλαμά, Καλογριά, Κοτύχι και Καϊάφα. Με βάση αυτές τις παραμέτρους, ο μεγαλύτερος βαθμός γενετικής διαφοροποίησης οφείλεται σε διαφορές μέσα στους πληθυσμούς (F_{ST}=0,979), ενώ μεταξύ των γεωγραφικών ομάδων που ορίστηκαν υπήρξε σημαντική γενετική διαφοροποίηση (F_{CT}=0,824), καθώς επίσης και μεταξύ των πληθυσμών μέσα στις ομάδες (F_{SC}=0,880).

Πίνακας 9.20: Αποτελέσματα από την ανάλυση μοριακής διασποράς (AMOVA) για το *K. caucasica*. Το ποσοστό γενετικής διαφοροποίησης και η πιθανότητα (p) που υπολογίστηκε από τις προσομοιώσεις δίνονται για κάθε ιεραρχικό επίπεδο ανάλυσης
Table 9.20: Results of the hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) for *K. caucasica*. The percentage of variation and the probability (p) estimated from permutation tests are given at each hierarchical level.

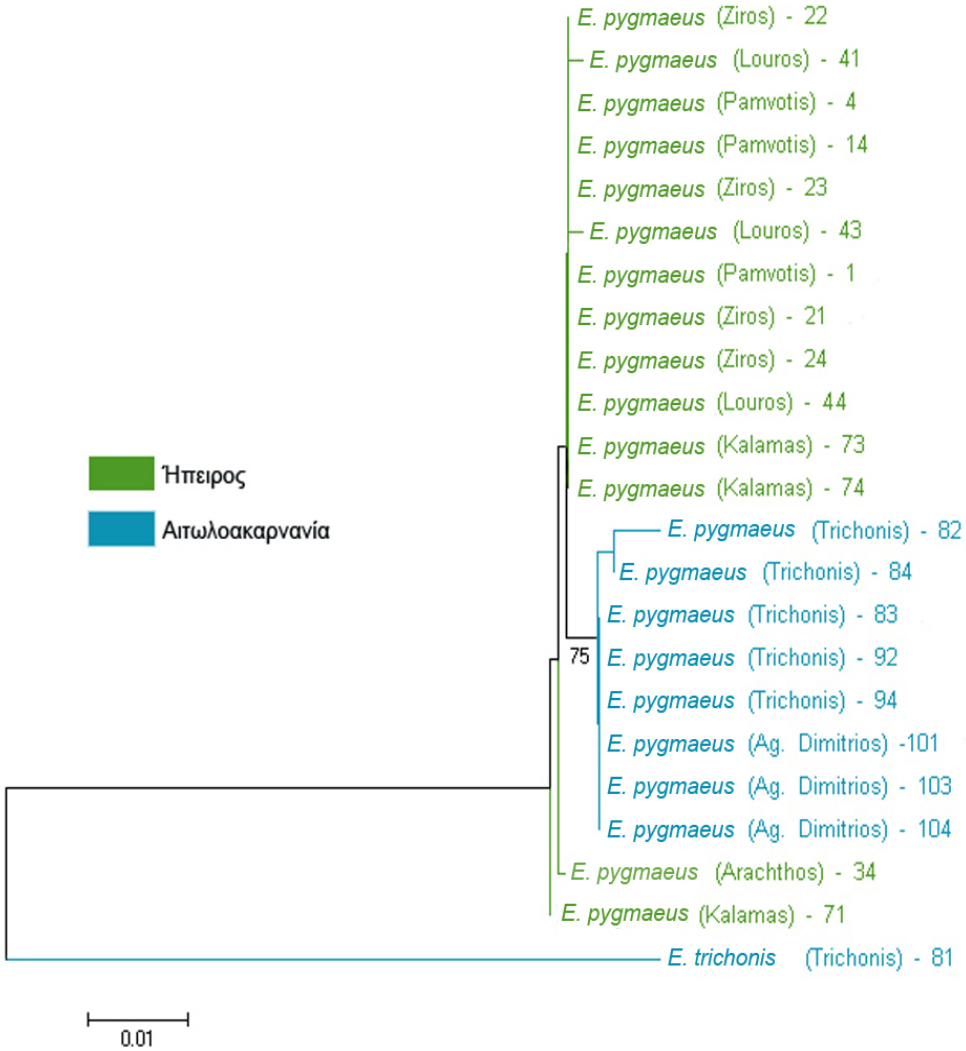
Κατανομή ποικιλότητας		% Συνολική Ποικιλότητα	Τιμές F_{ST}	p
Σύνολο των πληθυσμών	Μεταξύ των πληθυσμών	96,69	F_{ST}=0,966	<0,001
	Μέσα στους πληθυσμούς	3,31		
Πληθυσμοί Αιγαίου	Μεταξύ των πληθυσμών	82,95	F_{ST}=0,829	<0,001
	Μέσα στους πληθυσμούς	17,05		
Πληθυσμοί Ιονίου	Μεταξύ των πληθυσμών	94,69	F_{ST}=0,946	<0,001
	Μέσα στους πληθυσμούς	5,31		
Αιγαίο / Ιονίο	Μεταξύ ομάδων	82,47	F_{CT}=0,824	<0,001
	Μεταξύ πληθυσμών μέσα στις ομάδες	15,44	F_{SC}=0,880	<0,001
	Μέσα στους πληθυσμούς	2,09	F_{ST}=0,979	<0,001

9.3.4. Φυλογενετικές σχέσεις των υπό μελέτη πληθυσμών

9.3.4.1.Γένος *Economidichthys*

Για τη φυλογενετική ανάλυση των αλληλουχιών του COI χρησιμοποιήθηκαν 22 διαφορετικές αλληλουχίες του είδους *E. pygmaeus* από διαφορετικές περιοχές της ΒΔ Ελλάδας (Εικόνα 9.8). Επίσης, χρησιμοποιήθηκε ως εξωομάδα η αλληλουχία του *E. trichonis*. Το δένδρο με τη μέθοδο της Σύνδεσης Γειτόνων (NJ) (Εικόνα 9.8) κατασκευάστηκε με το πρόγραμμα Mega 5.05 (Tamura et al. 2011) με βάση το διπαραμετρικό μοντέλο K2P του Kimura (1980). Η αξιοπιστία των κλάδων ελέγχθηκε με τη δοκιμασία 1000 ψευδοεπαναλήψεων (bootstrap).

Χαρακτηριστικό της τοπολογίας αυτού του δέντρου είναι ότι οι αλληλουχίες ομαδοποιούνται σε δύο κύριους κλάδους, της Αιτωλοακαρνανίας και της Ηπείρου. Ο κλάδος της Αιτωλοακαρνανίας περιλαμβάνει τις αλληλουχίες του *E. pygmaeus* από τη λίμνη Τριχωνίδα και το ποταμό Άγ. Δημήτριο, οικοσυστήματα τα οποία ανήκουν στο σύστημα του Ποταμού Αχελώου και υποστηρίζεται από υψηλή τιμή bootstrap (b=75%).



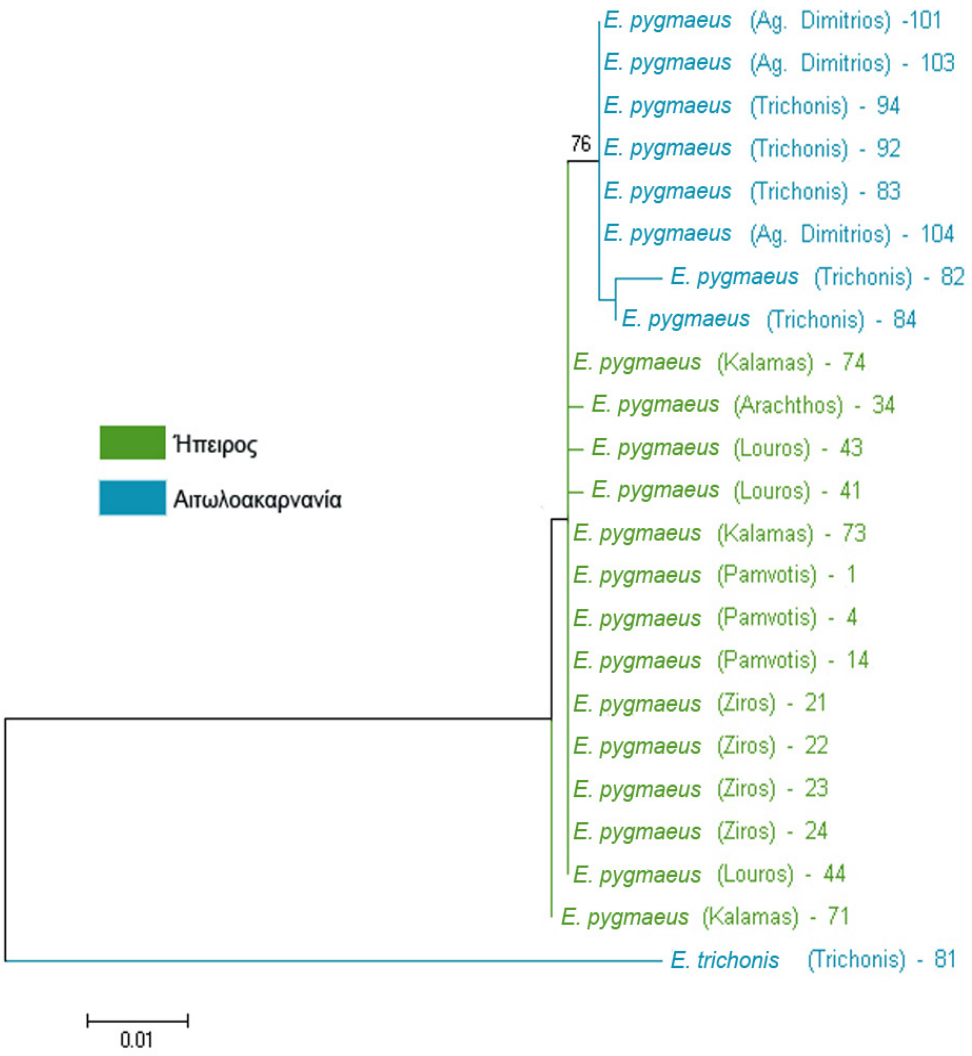
Εικόνα 9.8: Δενδρόγραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Σύνδεσης Γειτόνων με βάση το K2P μοντέλο του Kimura και απεικονίζει τις φυλογενετικές σχέσεις των αλληλουχιών που αποκαλύφτηκαν από την ανάλυση του COI του mtDNA του είδους *E. pygmaeus*. Ως εξωομάδα χρησιμοποιήθηκε το είδος *E. trichonis*. Οι αριθμοί των κλάδων αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (1000 επαναλήψεις). Μόνο τιμές bootstrap μεγαλύτερες από 75% παρουσιάζονται.

Figure 9.8: Phylogenetic tree of the sequences of *E. pygmaeus* recovered from the analysis of COI, estimated by the Neighbor-Joining method based on K2P Kimura model, using as outgroup *E. trichonis*. Only bootstrap values based on 1000 replications higher than 75% are displayed.

Ο δεύτερος μεγάλος κλάδος της Ηπείρου έχει χαμηλή στατιστική υποστήριξη και περιέχονται οι αλληλουχίες του *E. pygmaeus* από τις λίμνες Ζηρού και Παμβώτιδα και τους ποταμούς Λούρο, Καλαμά και Άραχθο. Όλες οι αλληλουχίες ομαδοποιούνται γεωγραφικά με εξαίρεση δύο αλληλουχίες από τους ποταμούς Άραχθο και Καλαμά που αποκλίνουν νωρίτερα από τις υπόλοιπες.

Η εφαρμογή της μεθόδου της Μέγιστης Πιθανοφάνειας (ML) απαιτεί την επιλογή του καταλληλότερου μοντέλου εξέλιξης νουκλεοτιδικής υποκατάστασης που εφαρμόζεται με τη δοκιμασία του κριτηρίου της μπεϋσιανής πληροφορίας (Bayesian Information Criterion, BIC) με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Mega 5.05. Το μοντέλο που επιλέχτηκε ως πιο κατάλληλο για το σύνολο των δεδομένων μας ήταν το διπαραμετρικό μοντέλο K2P του Kimura (1980). Οι συχνότητες των νουκλεοτιδίων για τις μεταβλητές θέσεις ήταν: A=0,25, C=0,25, G=0,25 και T=0,25 και οι ρυθμοί υποκαταστάσεων μεταξύ των διαφορετικών νουκλεοτιδίων ήταν [A-C]=0,0163, [A-G]=0,2174, [A-T]=0,0163, [C-G]=0,0163, [C-T]=0,2174, [G-T]=0,0163. Κατά την ML ανάλυση, για την αναζήτηση του δέντρου με τη μεγαλύτερη πιθανοφάνεια χρησιμοποιήθηκε η ευρετική μέθοδος αναζήτησης (heuristic search) με τη χρήση του αλγόριθμου αναδιάταξης κλάδων Nearest Neighbor Interchange (NNI). Το αρχικό δέντρο προέκυψε με διαδοχική προσθήκη των αλληλουχιών. Το δέντρο με τη μεγαλύτερη πιθανοφάνεια έχει τιμή -lnL=1190,43 και δίνεται στην εικόνα 9.9.

Η ομαδοποίηση των αλληλουχιών είναι παρόμοια με αυτήν του προηγούμενου δένδρου (Εικόνα 9.8), όπου οι αλληλουχίες των συστημάτων της Αιτωλοακαρνανίας διαχωρίζονται από τις αλληλουχίες της Ηπείρου. Ο κλάδος της Αιτωλοακαρνανίας υποστηρίζεται από υψηλή στατιστική τιμή (b=76%), ενώ στον κλάδο της Ηπείρου οι σχέσεις των αλληλουχιών δεν υποστηρίζονται ισχυρά.



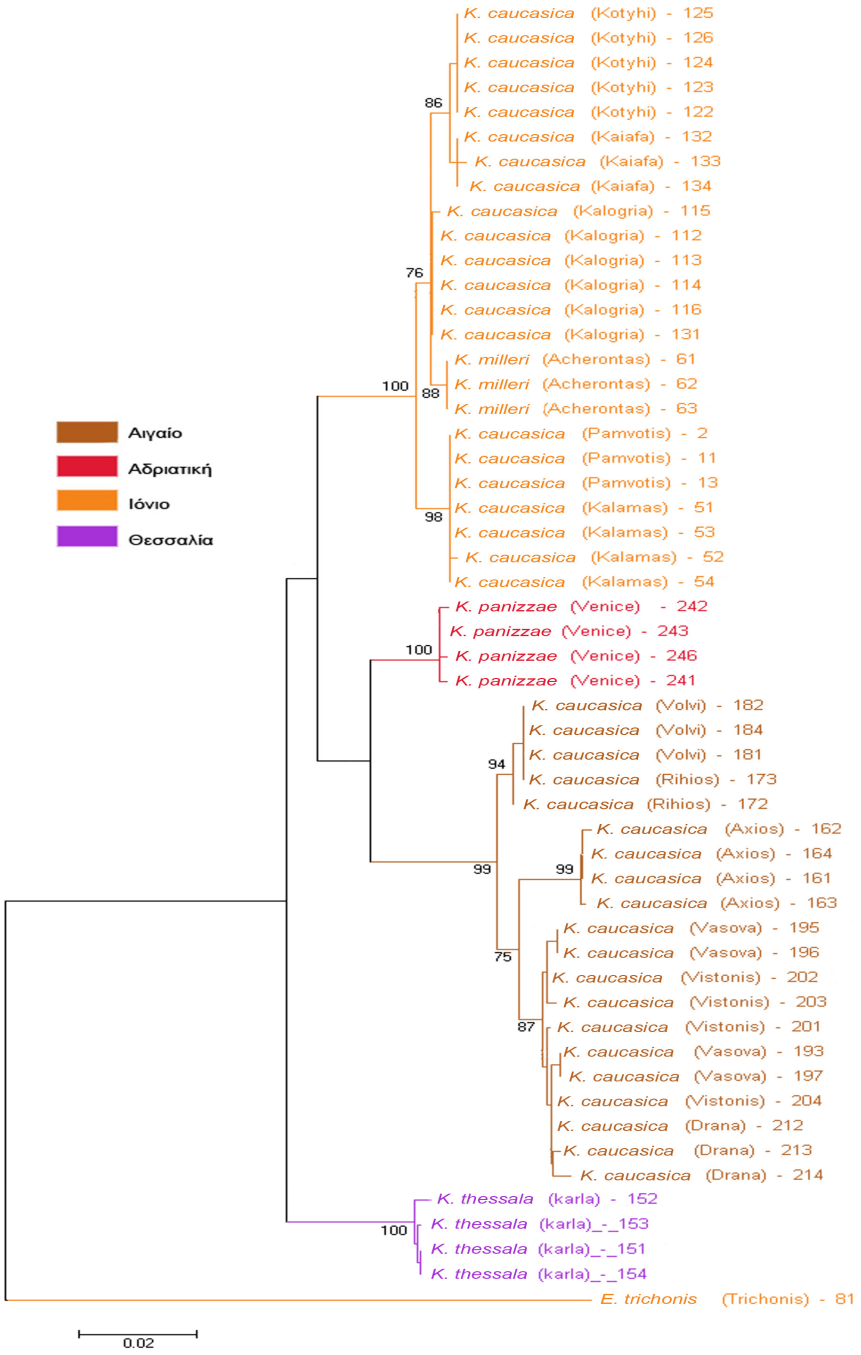
Εικόνα 9.9: Δενδρόγραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Μέγιστης Πιθανοφάνειας με βάση το K2P μοντέλο του Kimura και απεικονίζει τις φυλογενετικές σχέσεις των αλληλουχιών που αποκαλύφτηκαν από την ανάλυση του COI του mtDNA του είδους *E. pygmaeus*. Ως εξωομάδα χρησιμοποιήθηκε το είδος *E. trichonis*. Οι αριθμοί των κλάδων αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (1000 επαναλήψεις). Μόνο τιμές bootstrap μεγαλύτερες από 75% παρουσιάζονται.
Figure 9.9: Phylogenetic tree of the sequences of *E. pygmaeus* recovered from the analysis of COI, estimated by the Maximum Likelihood method based on K2P Kimura model, using as outgroup *E. trichonis*. Only bootstrap values based on 1000 replications higher than 75% are displayed.

9.3.4.2.Γένος *Knipowitschia*

Για τη φυλογενετική ανάλυση των αλληλουχιών του COI χρησιμοποιήθηκε ένα σύνολο 52 αλληλουχιών του γένους *Knipowitschia* από περιοχές της Ηπειρωτικής Ελλάδας και της λιμνοθάλασσας της Βενετίας. Επίσης, χρησιμοποιήθηκε ως εξωομάδα η αλληλουχία του *E. trichonis*. Το NJ δένδρο της εικόνας 9.10 είναι αυτό που προέκυψε,

χρησιμοποιώντας την απόσταση Tamura & Nei με ποσοστό αμετάβλητων νουκλεοτιδικών θέσεων I=0,728 και κατασκευάστηκε με το πρόγραμμα Mega 5.05 (Tamura et al. 2011). Η αξιοπιστία των κλάδων ελέγχθηκε με τη δοκιμασία 1000 ψευδοεπαναλήψεων (bootstrap).

Χαρακτηριστικό της τοπολογίας αυτού του δέντρου είναι ότι εντός του γένους *Knipowitschia* τα *K. caucasica* και *K. milleri* εμφανίζονται ως παραφυλετικά είδη. Ο πρώτος κλάδος είναι ο κλάδος του *K. thessala,* που περιλαμβάνει τα άτομα του είδους από τη λίμνη Κάρλα (Θεσσαλία) και εμφανίζεται πολύ ισχυρός με τιμή bootstrap που φθάνει το 100%. Ο δεύτερος μεγάλος κλάδος που ενσωματώνει την ομάδα του Αιγαίου και της Αδριατικής, περιλαμβάνει τα είδη: (1) *K. caucasica* με αλληλουχίες που προέρχονται από τα συστήματα της Μακεδονίας και της Θράκης (b=99%) και (2) *K. panizzae* με αλληλουχίες από τη λιμνοθάλασσα της Βενετίας (b=100%). Το *K. caucasica* χαρακτηρίζεται από την παρουσία τριών μικρότερων υποκλάδων: (α) τον υποκλάδο που περιλαμβάνει τα άτομα του *K. caucasica* από τη λίμνη Βόλβη και τον ποταμό Ρήχιο (b=94%), (β) τον υποκλάδο των αλληλουχιών του *K. caucasica* από τις λιμνοθάλασσες Βάσσοβα, Δράνα και τη λίμνη Βιστωνίδα (b=87%) και (γ) τον υποκλάδο που περιλαμβάνει τα άτομα του *K. caucasica* από τον ποταμό Αξιό (b=99%). Ο τρίτος μεγάλος κλάδος, ο κλάδος του Ιονίου, περιλαμβάνει αλληλουχίες από τα οικοσυστήματα της Πελοποννήσου και της Ηπείρου (b=100%).

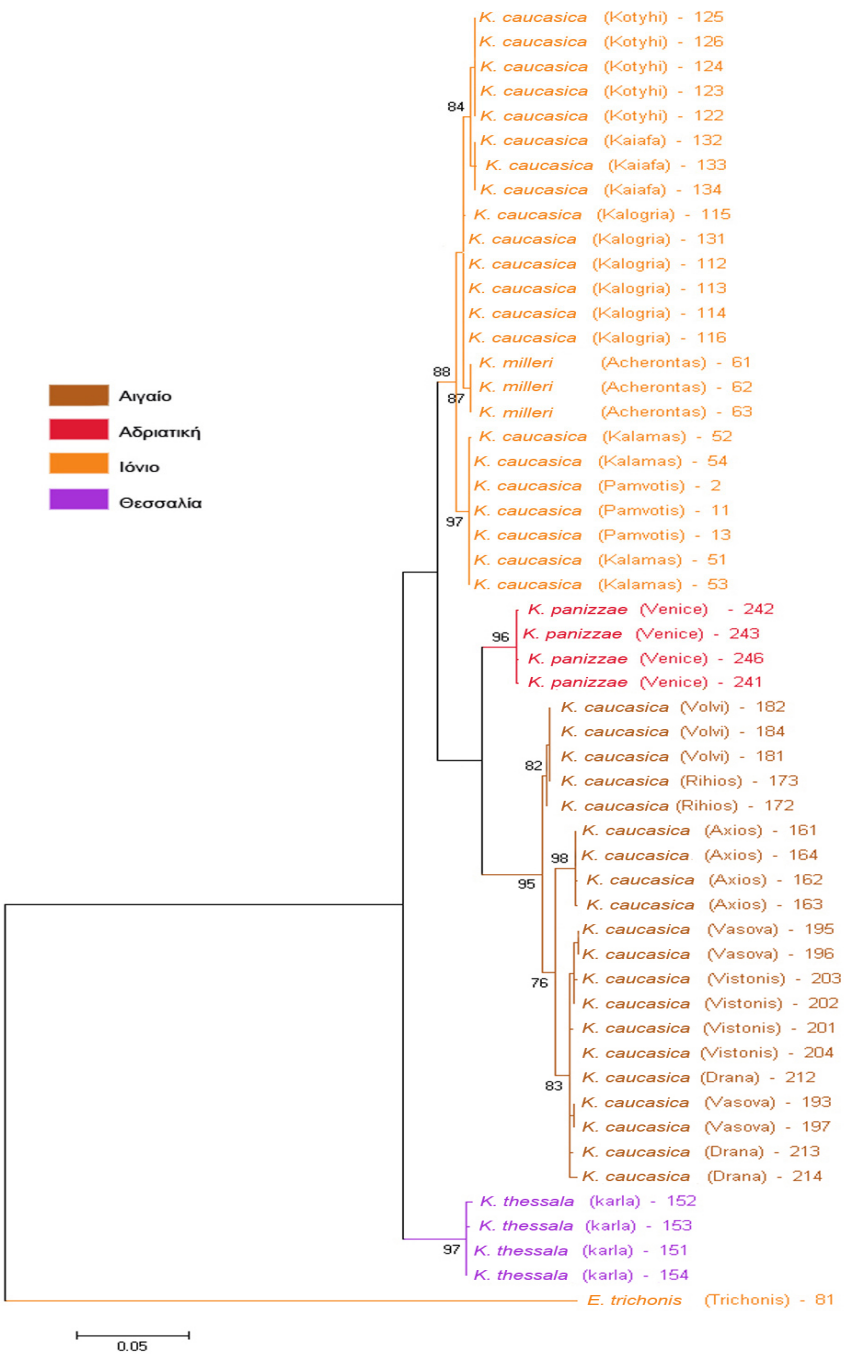


Εικόνα 9.10: Δενδρόγραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Σύνδεσης Γειτόνων με βάση το μοντέλο TN93+I και απεικονίζει τις φυλογενετικές σχέσεις των αλληλουχιών που αποκαλύφτηκαν από την ανάλυση του COI του mtDNA του γένους *Knipowitschia*. Ως εξωομάδα χρησιμοποιήθηκε το είδος *E. trichonis*. Οι αριθμοί των κλάδων αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (1000 επαναλήψεις). Μόνο τιμές bootstrap μεγαλύτερες από 75% παρουσιάζονται.

Figure 9.10: Phylogenetic tree of the sequences of *Knipowitschia* recovered from the analysis of COI, estimated by the Neighbor-Joining method based on TN93+I model, using as outgroup *E. trichonis*. Only bootstrap values based on 1000 replications higher than 75% are displayed.

Στον κλάδο του Ιονίου το είδος *K. caucasica* φαίνεται να εμφανίζει τρεις μικρότερους υποκλάδους με τον καθένα να χαρακτηρίζεται από υψηλή στατιστική υποστήριξη: ο πρώτος περιλαμβάνει αλληλουχίες από τη λίμνη Παμβώτιδα και τον ποταμό Καλαμά (b=98%), ο δεύτερος περιλαμβάνει αλληλουχίες από τη λιμνοθάλασα Κοτύχι και τη λίμνη Καϊάφα (b=86%) και ο τρίτος από τη λιμνοθάλασσα Καλογριά (b=76%).
Τέλος, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι αλληλουχίες του *K. milleri*, οι οποίες εμφανίζονται ως παραφυλετικές και ενσωματώνονται στο κλάδο του Ιονίου με υψηλή στατιστική τιμή (b=88%).

Η εφαρμογή της μεθόδου της Μέγιστης Πιθανοφάνειας (ML) απαιτεί την επιλογή του καταλληλότερου μοντέλου εξέλιξης νουκλεοτιδικής υποκατάστασης που εφαρμόζεται με τη δοκιμασία του κριτηρίου της μπεϋσιανής πληροφορίας (Bayesian Information Criterion, BIC) με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Mega 5.05. Το μοντέλο που επιλέχτηκε ως πιο κατάλληλο για το σύνολο των δεδομένων μας ήταν το μοντέλο Tamura-Nei, ενσωματώνοντας το ποσοστό αμετάβλητων θέσεων I=0,728. Οι συχνότητες των νουκλεοτιδίων για τις μεταβλητές θέσεις ήταν: A=0,2236, C=0,3187, G=0,1809 και T=0,2768 και οι ρυθμοί υποκαταστάσεων μεταξύ των διαφορετικών νουκλεοτιδίων ήταν [A-C]=0,0201, [A-G]=0,2523, [A-T]=0,0175, [C-G]=0,0114 , [C-T]=0,144, [G-T]=0,0175. Κατά την ML ανάλυση, για την αναζήτηση του δέντρου με τη μεγαλύτερη πιθανοφάνεια χρησιμοποιήθηκε η ευρετική μέθοδος αναζήτησης (heuristic search) με τη χρήση του αλγόριθμου αναδιάταξης κλάδων Nearest Neighbor Interchange (NNI). Το αρχικό δέντρο προέκυψε με διαδοχική προσθήκη των αλληλουχιών. Το δέντρο με τη μεγαλύτερη πιθανοφάνεια έχει τιμή -lnL=1767,91 και δίνεται στην εικόνα 9.11.



Εικόνα 9.11: Δενδρόγραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Μέγιστης Πιθανοφάνειας με βάση το μοντέλο TN93+I και απεικονίζει τις φυλογενετικές σχέσεις των αλληλουχιών που αποκαλύφτηκαν από την ανάλυση του COI του mtDNA του γένους *Knipowitschia*. Ως εξωομάδα χρησιμοποιήθηκε το είδος *E. trichonis*. Οι αριθμοί των κλάδων αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (1000 επαναλήψεις). Μόνο τιμές bootstrap μεγαλύτερες από 75% παρουσιάζονται.

Figure 9.11: Phylogenetic tree of the sequences of *Knipowitschia* recovered from the analysis of COI, estimated by the Maximum Likelihood method based on TN93+I model, using as outgroup *E. trichonis*. Only bootstrap values based on 1000 replications higher than 75% are displayed.

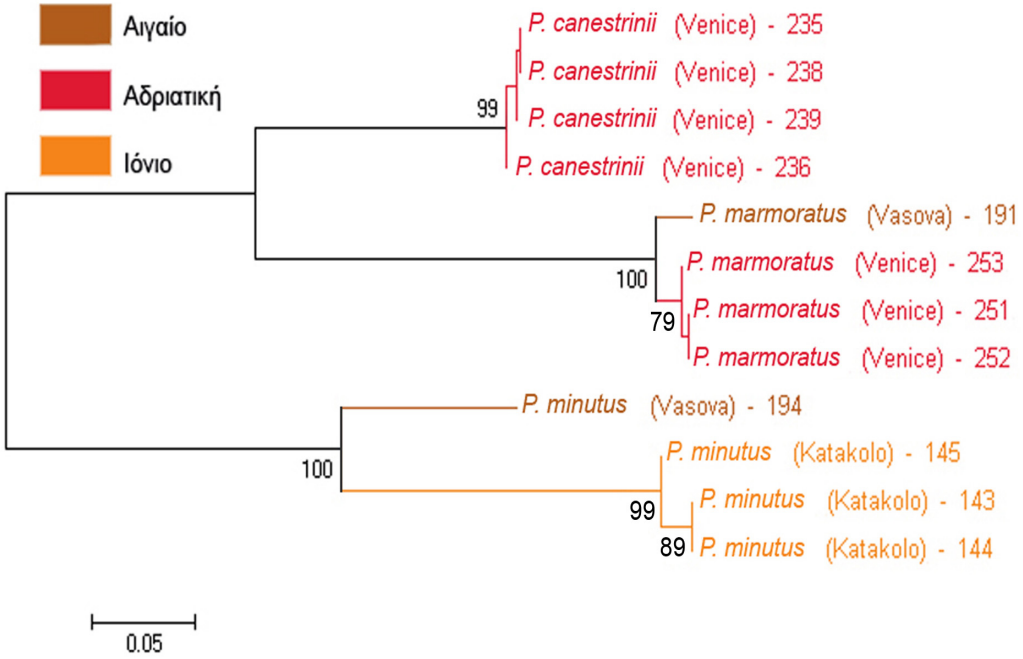
Η ομαδοποίηση των αλληλουχιών είναι παρόμοια με αυτήν του προηγούμενου δένδρου (Εικόνα 9.10). Ο κλάδος του *K. thessala,* από την ομάδα της Θεσσαλίας αποκλίνει νωρίτερα και εμφανίζεται πολύ ισχυρός (b=97%). Στο δεύτερο κλάδο το *K. panizzae* από την Αδριατική έχει ισχυρή στήριξη (b=96%) και σχηματίζει αδελφή ομάδα με το *K. caucasica* της περιοχής του Αιγαίου (b=95%). Ο κλάδος του Ιονίου συμπεριφέρεται ως μια παραφυλετική ομάδα που διαχωρίζεται ικανοποιητικά από τους υπόλοιπους κλάδους (b=88%) και ενσωματώνει τους πληθυσμούς του *K. caucasica* από τα συστήματα της Πελοποννήσου και της Ηπείρου, καθώς και την ισχυρή μονοφυλετική ομάδα του *K. milleri* (b=87%) από τον ποταμό Αχέροντα.

9.3.4.3.Γένος *Pomatoschistus*

Για τη φυλογενετική ανάλυση των αλληλουχιών του COI χρησιμοποιήθηκε ένα σύνολο 12 αλληλουχιών του γένους *Pomatoschistus* από περιοχές της Ηπειρωτικής Ελλάδας και της λιμνοθάλασσας της Βενετίας. Το NJ δένδρο της εικόνας 9.12 είναι αυτό που προέκυψε χρησιμοποιώντας το διπαραμετρικό μοντέλο K2P του Kimura με ενσωμάτωση της κατανομής G για τις μεταβλητές θέσεις α=0,216 και κατασκευάστηκε με το πρόγραμμα Mega 5.05 (Tamura et al. 2011). Η αξιοπιστία των κλάδων ελέγχθηκε με τη δοκιμασία 1000 ψευδοεπαναλήψεων (bootstrap).

Χαρακτηριστικό της τοπολογίας αυτού του δέντρου είναι ότι το γένος *Pomatoschistus* εμφανίζεται ως μια παραφυλετική ομάδα. Όσον αφορά τον πρώτο κλάδο, φαίνεται να ξεχωρίζουν δυο μικρότεροι υποκλάδοι, με τον καθένα να χαρακτηρίζεται από πολύ υψηλές τιμές στατιστικής υποστήριξης: ο πρώτος περιλαμβάνει αλληλουχίες του είδους *P. canestrinii* από τη λιμνοθάλασσα της Βενετίας (b=99%) και ο δεύτερος αλληλουχίες του είδους *P. marmoratus*, όπου φαίνεται να υπάρχει γεωγραφική διαφοροποίηση των αλληλουχιών του από την λιμνοθάλασσα της Βάσσοβας (b= 100%) και των αλληλουχιών από τη λιμνοθάλασσα της Βενετίας (b=79%). Ο δεύτερος κλάδος που περιλαμβάνει άτομα του *P. minutus* χαρακτηρίζεται από γεωγραφική διαφοροποίηση των αλληλουχιών του από τη λιμνοθάλασσα της Βάσσοβας (b=100%) και των αλληλουχιών από τη θαλάσσια περιοχή του Κατάκολου (Πελοπόννησος) (b=89-99%).

Η εφαρμογή της μεθόδου της Μέγιστης Πιθανοφάνειας (ML) απαιτεί την επιλογή του καταλληλότερου μοντέλου εξέλιξης νουκλεοτιδικής υποκατάστασης που εφαρμόζεται με τη δοκιμασία του κριτηρίου της μπεϋσιανής πληροφορίας (Bayesian Information Criterion, BIC) με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Mega 5.05.

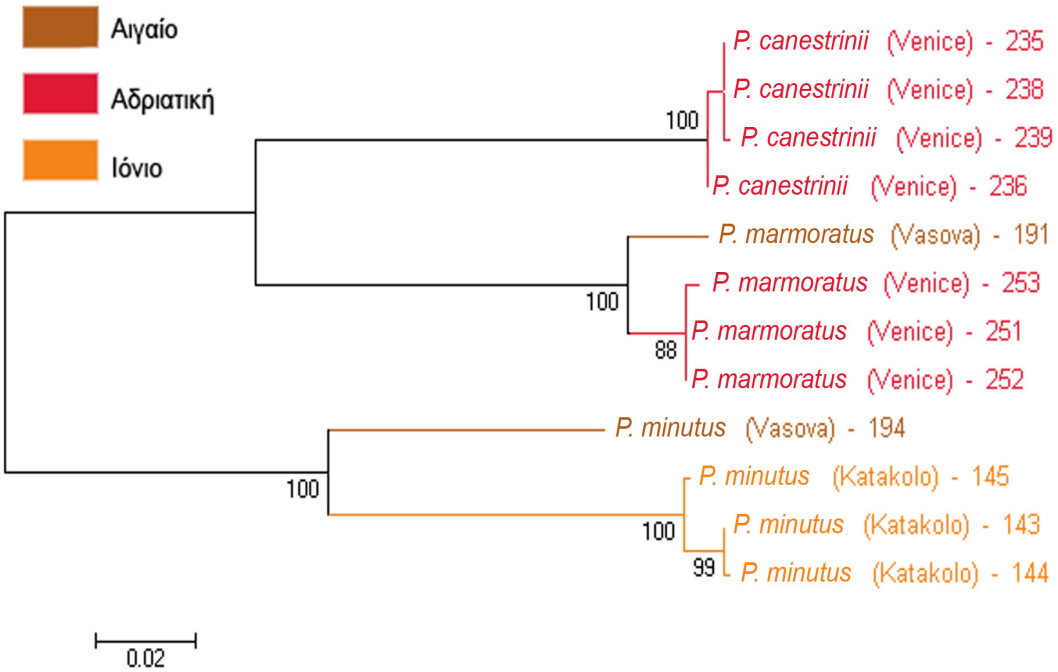


Εικόνα 9.12: Δενδρόγραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Σύνδεσης Γειτόνων με βάση το μοντέλο K2+G και απεικονίζει τις φυλογενετικές σχέσεις των αλληλουχιών που αποκαλύφτηκαν από την ανάλυση του COI του mtDNA του γένους *Pomatoschistus*. Οι αριθμοί των κλάδων αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (1000 επαναλήψεις). Μόνο τιμές bootstrap μεγαλύτερες από 75% παρουσιάζονται.
Figure 9.12: Phylogenetic tree of the sequences of *Pomatoschistus* genus recovered from the analysis of COI, estimated by the Neighbor-Joining method based on K2+G model. Only bootstrap values based on 1000 replications higher than 75% are displayed.

Το μοντέλο που επιλέχτηκε ως πιο κατάλληλο για το σύνολο των δεδομένων μας ήταν το διπαραμετρικό μοντέλο K2P του Kimura και παράμετρο για την κατανομή G των μεταβλητών θέσεων α= 0,216. Οι συχνότητες των νουκλεοτιδίων για τις μεταβλητές θέσεις ήταν: A=0,25, C=0,325, G=0,25 και T=0,25 και οι ρυθμοί υποκαταστάσεων μεταξύ των διαφορετικών νουκλεοτιδίων ήταν [A-C]=0,031, [A-G]=0,188, [A-T]=0,031, [C-G]=0,031, [C-T]=0,188, [G-T]=0,031. Κατά την ML ανάλυση, για την αναζήτηση του δέντρου με τη μεγαλύτερη πιθανοφάνεια χρησιμοποιήθηκε η ευρετική μέθοδος αναζήτησης (heuristic search) με τη χρήση του αλγόριθμου αναδιάταξης κλάδων Nearest Neighbor Interchange (NNI). Το αρχικό δέντρο προέκυψε με διαδοχική προσθήκη των αλληλουχιών. Το δέντρο με τη μεγαλύτερη πιθανοφάνεια έχει τιμή -lnL=1979,34 και δίνεται στην εικόνα 9.13.

Η ομαδοποίηση των αλληλουχιών είναι παρόμοια με αυτήν του προηγούμενου δένδρου (Εικόνα 9.12). Διακρίνονται δύο διακριτοί κλάδοι που στηρίζονται ισχυρά στην ανάλυση bootstrap. Ο πρώτος κλάδος ενσωματώνει το *P. canestrinii* από τη λιμνοθάλασσα

της Βενετίας (b=99%) και σχηματίζει αδελφή ομάδα με τις αλληλουχίες του *P. marmoratus* από τις λιμνοθάλασσες της Βάσσοβας (b=100%) και της Βενετίας (b=88%). Τέλος, ο δεύτερος κλάδος περιλαμβάνει τις αλληλουχίες του *P. minutus* από τη λιμνοθάλασσα της Βάσσοβας (b=100%) και από το Κατάκολο (Πελοπόννησος) (b=99-100%).



Εικόνα 9.13: Δενδρόγραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Μέγιστης Πιθανοφάνειας με βάση το μοντέλο K2+G και απεικονίζει τις φυλογενετικές σχέσεις των αλληλουχιών που αποκαλύφτηκαν από την ανάλυση του COI του mtDNA του γένους *Pomatoschistus*. Οι αριθμοί των κλάδων αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (1000 επαναλήψεις). Μόνο τιμές bootstrap μεγαλύτερες από 75% παρουσιάζονται.
Figure 9.13: Phylogenetic tree of the sequences of genus *Pomatoschistus* recovered from the analysis of COI, estimated by the Maximum Likelihood method based on K2+G model. Only bootstrap values based on 1000 replications higher than 75% are displayed.

9.3.4.4.Ομάδα 'αμμογωβιοί'

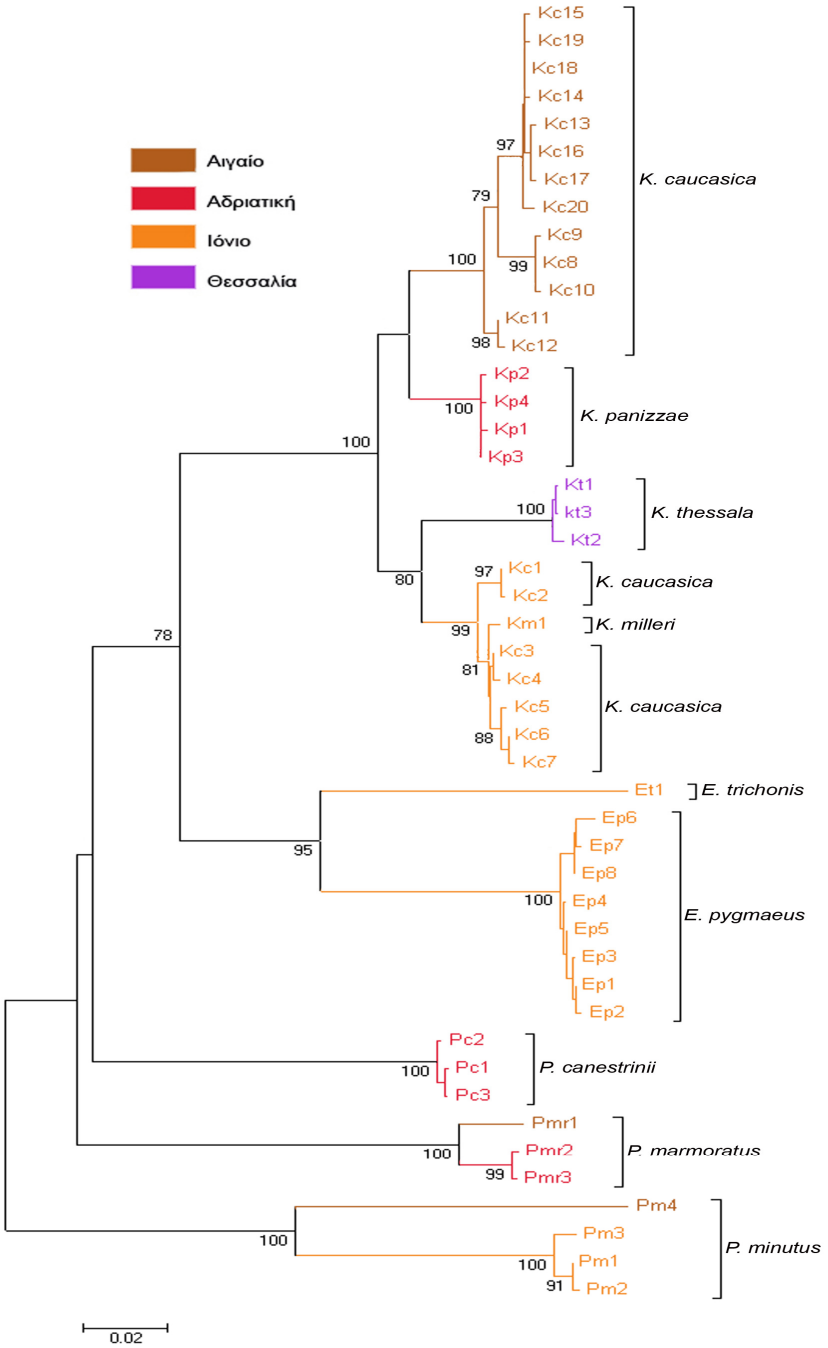
Η κατασκευή των φυλογενετικών δένδρων της ομάδας 'αμμογωβιοί' πραγματοποιήθηκε με τη χρήση όλων των απλότυπων. Τα δένδρα που προέκυψαν από τις διάφορες φυλογενετικές αναλύσεις παρουσιάζονται παρακάτω. Το δένδρο με τη μέθοδο της Σύνδεσης Γειτόνων (NJ) (Εικόνα 9.14) κατασκευάστηκε με το πρόγραμμα Mega 5.05 (Tamura et al. 2011) με βάση την απόσταση Tamura & Nei με ποσοστό αμετάβλητων νουκλεοτιδικών θέσεων I=0,614 και τη κατανομή G για τις μεταβλητές θέσεις α=1,991. Η αξιοπιστία των κλάδων ελέγχθηκε με πραγματοποίηση 1000 ψευδοεπαναλήψεων (bootstrap).

Στην εικόνα 9.15, παρατίθεται το δέντρο όπως προέκυψε από την ανάλυση της Μέγιστης Πιθανοφάνειας (ML) με τη βοήθεια του προγράμματος Mega 5.05 (Tamura et al., 2011). Το εξελικτικό μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε, ήταν το μοντέλο των Tamura & Nei (με -lnL=3227,94), με ποσοστό αμετάβλητων θέσεων I=0,614 και παράμετρο για την κατανομή G των μεταβλητών θέσεων α= 1,991. Οι συχνότητες των νουκλεοτιδίων για τις μεταβλητές θέσεις ήταν: A=0,224, C=0,312, G=0,186 και T=0,277 και οι ρυθμοί υποκαταστάσεων μεταξύ των διαφορετικών νουκλεοτιδίων ήταν [A-C]=0,028, [A-G]=0,212, [A-T]=0,024, [C-G]=0,016, [C-T]=0,166, [G-T]=0,025. Κατά την ML ανάλυση, για την αναζήτηση του δέντρου με τη μεγαλύτερη πιθανοφάνεια χρησιμοποιήθηκε η ευρετική μέθοδος αναζήτησης (heuristic search) με τη χρήση του αλγορίθμου αναδιάταξης κλάδων Nearest Neighbor Interchange (NNI).

Όλες οι φυλογενετικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν συγκλίνουν στην ίδια γενική τοπολογία. Τα κύρια χαρακτηριστικά της τοπολογίας των δύο δένδρων είναι: 1) Διάκριση πέντε κύριων κλάδων που αντιστοιχούν σε τρία διαφορετικά γένη και 2) τα είδη *K. caucasica* και *K. milleri* εμφανίζονται ως παραφυλετικά με υψηλή στατιστική υποστήριξη και στις 2 αναλύσεις.

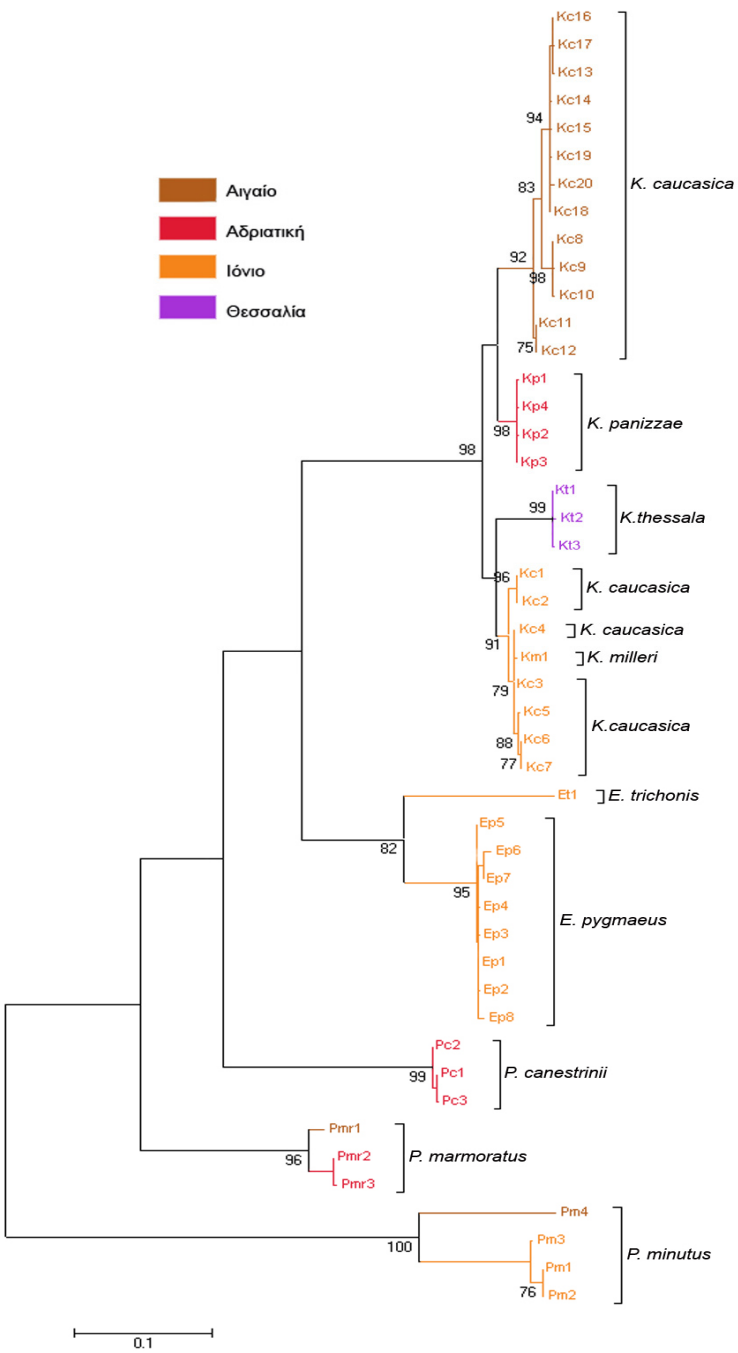
Οι τρεις πρώτοι κλάδοι περιλαμβάνουν τα είδη *P. minutus, P. marmoratus* και *P. canestrinii* που ανήκουν στην ομάδα *Pomatoschistus.* Το εντυπωσιακό στοιχείο της συγκεκριμένης ομάδας είναι ότι δεν είναι μονοφυλετική. Πιο συγκεκριμένα παρατηρείται το γένος *Pomatoschistus* να διαχωρίζεται σε τρεις κλάδους με τον καθένα να ενσωματώνει και διαφορετικό είδος: (1) *P. minutus* (NJ: b=100%, ML: b=100%), (2) *P. marmoratus* (NJ: b=100%, ML: b=96%) και (3) *P. canestrinii* (NJ: b=100%, ML: b=99%).

Ο τέταρτος κλάδος ή αλλιώς ομάδα *Economidichthys* ενσωματώνει τους απλότυπους του *E. pygmaeus* (NJ: b=100%, ML: b=95%) που αποτελούν ‘αδελφή ομάδα’ με τον απλότυπο του *E. trichonis* (NJ: b=95%, ML: b=82%).



Εικόνα 9.14: Δενδρόγραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Σύνδεσης Γειτόνων με βάση το μοντέλο TN93+G+I και απεικονίζει τις φυλογενετικές σχέσεις των απλότυπων που αποκαλύφτηκαν από την ανάλυση του COI του mtDNA της ομάδας 'αμμογωβιοί'. Οι αριθμοί των κλάδων αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (1000 επαναλήψεις). Μόνο τιμές bootstrap μεγαλύτερες από 75% παρουσιάζονται.

Figure 9.14: Phylogenetic tree of the haplotypes of 'sand gobies' recovered from the analysis of COI, estimated by the Neighbor-Joining method based on TN93+G+I model. Only bootstrap values based on 1000 replications higher than 75% are displayed.



Εικόνα 9.15: Δενδρόγραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Μέγιστης Πιθανοφάνειας με βάση το μοντέλο TN93+G+I και απεικονίζει τις φυλογενετικές σχέσεις των απλότυπων που αποκαλύφτηκαν από την ανάλυση του COI του mtDNA της ομάδας 'αμμογωβιοί'. Οι αριθμοί των κλάδων αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (1000 επαναλήψεις). Μόνο τιμές bootstrap μεγαλύτερες από 75% παρουσιάζονται.

Figure 9.15: Phylogenetic tree of the haplotypes of 'sand gobies' recovered from the analysis of COI, estimated by the Maximum Likelihood method based on TN93+G+I model. Only bootstrap values based on 1000 replications higher than 75% are displayed.

Ο πέμπτος κλάδος ή αλλιώς ομάδα *Knipowitschia* περιλαμβάνει τα είδη: (1) *K. caucassica* με απλότυπους που προέρχονται από την Ήπειρο-Πελοπόννησο (Ιόνιο) και Μακεδονία-Θράκη (Αιγαίο), (2) *K. milleri* με απλότυπο από τον ποταμό Αχέροντα (3) *K. thessala* με απλότυπους από τη λίμνη Κάρλα (Θεσσαλία) και (4) *K. panizzae* με απλότυπους από τη λιμνοθάλασσα της Βενετίας (Αδριατική). Εντός της ομάδας *Knipowitschia* παρατηρείται σαφής διαχωρισμός των πληθυσμών του *K. caucasica* από το Ιόνιο και των πληθυσμών του από το Αιγαίο σε δύο κύριους υποκλάδους. Ο πρώτος υποκλάδος περιλαμβάνει τους απλότυπους του *K. caucasica* από το Ιόνιο (NJ: b=99%, ML: b=91%), στους οποίους εισέρχεται το είδος *K. milleri* (NJ: b=81%, ML: b=79%) με τα δύο τελευταία είδη να ομαδοποιούνται με τον πληθυσμό του *K. thessala* (NJ: b=100%, ML: b=99%). Όσον αφορά τον δεύτερο υποκλάδο τα άτομα του *K. panizzae* από την Βενετία (NJ: b=100%, ML: b=98%) σχηματίζουν αδελφή ομάδα με τους απλότυπους του *K. caucasica* από το Αιγαίο με υψηλή στατιστική υποστήριξη (NJ: b=100%, ML: b=92%).

9.4. Συζήτηση

9.4.1. Γένος *Economidichthys*

Ο προσδιορισμός της πρωτοταγούς αλληλουχίας του γενετικού τόπου COI αποκάλυψε σημαντική γενετική ποικιλότητα για το σύνολο των ατόμων της ομάδας 'αμμογωβιοί' που συμπεριελήφθηκαν σε αυτή τη μελέτη. Από την ανάλυση 23 αλληλουχιών για το γένος *Economidichthys* προέκυψαν 9 διαφορετικοί απλότυποι. Ο απλότυπος με τη μεγαλύτερη συχνότητα ήταν ο Ep1, ο οποίος εμφάνισε τη μεγαλύτερη κατανομή που περιελάμβανε τις λίμνες Παμβώτιδα, Ζηρό και τα ποτάμια Λούρο, Καλαμά.

Τα ποσοστά γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών του *E. pygmaeus* για το COI κυμάνθηκαν από 0,2 ώς 1,1%. Μεγαλύτερη γενετική απόσταση ανάμεσα στους πληθυσμούς του *E. pygmaeus* παρατήρησαν οι Vanhove et al. (2012), χρησιμοποιώντας στην ανάλυση και δείγματα από τις πηγές της Χειλιαδού με την τιμή να ανέρχεται στο 1,7% για τα 12S και 16S rDNA γονίδια. Πιθανώς η διαφοροποίηση αυτή οφείλεται στην απομόνωση της λεκάνης του Μόρνου, εξαιτίας της βύθισης του Κορινθιακού κόλπου και των εναλλαγών στη στάθμη του θαλασσινού νερού κατά την περίοδο του Πλειστοκαίνου (Moretti et al. 2003, Zelilidis 2003, Lykousis et al. 2007, Lykousis 2009). Μεταξύ των ειδών του γένους *Economidichthys* φαίνεται να υπάρχει έντονη διαειδική διαφοροποίηση με τις τιμές να είναι διπλάσιες (10,9 ώς 11,4%) από αυτές που αναφέρουν στη φυλογενετική εργασία τους οι Vanhove et al (2012) (4,4-6%). Η διαφορά αυτή οφείλεται στο ότι τα 12S και 16S rDNA είναι οι πιο συντηρημένες περιοχές μεταξύ των μιτοχονδριακών γονιδίων αλλά και γιατί το COI παρουσιάζει μεγαλύτερο ρυθμό αμινοξικής υποκατάστασης (Knowlton & Weigt 1998, Hebert et al. 2003).

Για την εκτίμηση της γονιδιακής ροής μεταξύ των πληθυσμών χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές F_{ST}. Η βιολογική ερμηνεία των τιμών της F_{ST} είναι εύκολη μόνο όταν μιλάμε για τις δύο ακραίες περιπτώσεις. Όταν μεταξύ δύο πληθυσμών έχουμε τιμή F_{ST}=0 τότε ουσιαστικά έχουμε όχι δύο πληθυσμούς αλλά μια παμμικτική ομάδα. Όταν μεταξύ δύο πληθυσμών έχουμε τιμή F_{ST}=1 μιλάμε για πλήρη απομόνωση των δύο πληθυσμών (ανύπαρκτη γονιδιακή ροή μεταξύ τους). Η τιμή της F_{ST} (0,525) που βρέθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη δείχνει σημαντική γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών του είδους *E. pygmaeus*. Επιπλέον, μετά από ομαδοποίηση των πληθυσμών του *E. pygmaeus* σε δύο γεωγραφικές περιοχές, Ήπειρο και Αιτωλοακαρνανία, βρέθηκαν υψηλές τιμές γενετικής διαφοροποίησης (F_{CT}=0,577) γεγονός που υποστηρίζει την ομαδοποίηση αυτή. Η παρουσία λοιπόν συγκεκριμένης γεωγραφικής δομής μπορεί να αποδοθεί σε

ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ποτάμιων ή λιμναίων οικοσυστημάτων, τα οποία λειτουργούν ως γεωγραφικά εμπόδια στη γονιδιακή ροή. Φυσικές δομές, όπως ορεινοί όγκοι, φαράγγια κ.ά., είναι πιθανό να λειτουργήσουν ως γεωγραφικά εμπόδια, τα οποία παρεμποδίζουν τη γονιδιακή ροή μεταξύ πληθυσμών, οδηγώντας έτσι στην ανάπτυξη γενετικά διαφοροποιημένων και τοπικά προσαρμοσμένων πληθυσμών (Apostolidis et al. 1997, Triantafyllidis et al. 1999). Από την άλλη, ο κατά ζεύγη έλεγχος γεωγραφικής ετερογένειας που έγινε με βάση τα αποτελέσματα του COI για τα δείγματα του *E. pygmaeus* δεν επιβεβαίωσε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών. Ενδεχομένως το αποτέλεσμα αυτό να είναι απόρροια του μικρού δειγματοληπτικού μεγέθους.

Οι διάφορες φυλογενετικές αναλύσεις (NJ, ML) φαίνεται να συγκλίνουν σε μια συγκεκριμένη τοπολογία του δένδρου των 'αμμογωβιών' στον ελλαδικό χώρο, συμβάλλοντας σημαντικά στην επίλυση των φυλογενετικών σχέσεων των γωβιών και βοηθώντας στην αναγνώριση διάφορων φυλογενετικών κλάδων, που βάσει των παρατηρούμενων επιπέδων της γενετικής ποικιλότητας, αντιπροσωπεύουν διάφορες γενεαλογικές γραμμές που η κάθε μία κρύβει ίσως και διαφορετική εξελικτική πορεία.

Σύμφωνα με τη φυλογενετική ανάλυση του COI, ο κλάδος του *Economidichthys* περιλαμβάνει δύο είδη (*E. pygmaeus* και *E. trichonis*) των οποίων η ομαδοποίηση συμφωνεί με την τρέχουσα συστηματική (Economidis & Miller 1990, Miller 2004). Με βάση την τοπολογία των δένδρων, η παρουσία του γένους *Economidichthys* είναι ασαφής σε σχέση με την αρχέγονη θέση που προκύπτει από πρόσφατες φυλογενετικές μελέτες, βασισμένες στο γονίδιο της ροδοψίνης *RH1* (Larmuseau et al. 2010), τους γενετικούς τόπους 12S/16S rDNA (Vanhove et al. 2012) αλλά και σε στοιχεία ηθολογίας/βιολογίας ορισμένων ειδών της ομάδας 'αμμογωβιοί' (Malavasi et al. 2012). Η παρουσία του *Economidichthys* στο Ιόνιο αποτελεί μέρος της υψηλής τοπικής βιοποικιλότητας που χαρακτηρίζει την περιοχή σε σύγκριση με άλλες περιοχές μελέτης (Vanhove et al. 2012). Η περιοχή του Ιονίου θεωρείται μια από τις πιο απομονωμένες ζωογεωγραφικές περιφέρειες της Ευρώπης, εξαιτίας της παρουσίας μεγάλων ορεινών όγκων που λειτουργούν ως φράγμα και τη διατηρούν αποκλεισμένη από τα υπόλοιπα Βαλκάνια. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα διάφορα είδη από γένη όπως τα *Squalius, Scardinius, Barbus* και *Economidichthys* να παρουσιάζουν μεγάλη γενετική διαφοροποίηση από ομολόγους τους στα Βαλκάνια και την υπόλοιπη Ευρώπη και συχνά να κατέχουν αρχέγονη ή σχεδόν αρχέγονη θέση σε κατασκευές φυλογενετικών δένδρων (Durand et al. 1999a, 1999b,

Tsigenopoulos & Berrebi 2000, Tsigenopoulos et al. 2002, Vanhove et al. 2012). Με αυτό τον τρόπο ο ρόλος του 'καταφυγίου' που έπαιξαν τα Βαλκάνια κατά την παγετώδη περίοδο και η ύπαρξη αρχαίων λιμνών (λίμνη Τριχωνίδα: Economou et al. 1994) στην περιοχή, συντέλεσε στη διαμόρφωση της ιχθυοπανίδας των εσωτερικών υδάτων με υψηλό βαθμό ενδημισμού (Economou et al. 2007, Skoulikidis et al. 2009).

9.4.2. Γένος *Knipowitschia*

Στην περίπτωση του γένους *Knipowitschia* από το σύνολο των 52 αλληλουχιών που συμπεριελήφθηκαν στην ανάλυση, οι 28 αντιστοιχούν σε διαφορετικούς απλότυπους. Από αυτούς οι 20 ήταν μοναδικοί, ενδεικτικό της μεγάλης ποικιλότητας μεταξύ των ατόμων ακόμα και μέσα στον ίδιο τον πληθυσμό. Με βάση το COI, οι πληθυσμοί του *K. caucasica* από τις ομάδες του Ιονίου και του Αιγαίου παρουσίασαν χαμηλή γενετική διαφοροποίηση της τάξης του 1,6% και 2% αντίστοιχα, αλλά όταν οι τιμές της γενετικής απόστασης από τις δύο ομάδες συγκρίθηκαν μεταξύ τους, η διαφοροποίηση κυμάνθηκε από 5,1 ώς 6,7%. Όσον αφορά το *K. milleri*, η γενετική απόστασή του με το συγγενικό είδος *K. caucasica* της ομάδας του Ιονίου διατηρήθηκε σε χαμηλά επίπεδα και ήταν μέσα στα όρια της ενδοειδικής διαφοροποίησης της ομάδας (0,3-1,1%). Σύμφωνα με τους Vanhove et al. (2012) αυτό υποδηλώνει ότι η απόκλιση ήταν αρκετά πρόσφατη, ώστε να μπορέσει να συμβεί γενετική ανάμειξη. Στην ίδια παρατήρηση κατέληξαν τα αποτελέσματα από το κεφάλαιο μορφολογική ποικιλομορφία των 'αμμογωβιών' όπου παρατηρήθηκε ο πληθυσμός του *K. milleri* να εμφανίζεται μορφολογικά αδιαφοροποίητος σε σχέση με τους πληθυσμούς του *K. caucasica* από το Ιόνιο. Πρέπει να λάβουμε υπόψη ότι οι πληθυσμοί του *Knipowitschia* από το Ιόνιο δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς μορφολογικά και δεδομένου της παρατηρούμενης φαινοτυπικής ποικιλομορφίας (Miller 2004, Kovačić 2005) δεν είναι βέβαιο αν τα διακριτά χαρακτηριστικά του *K. milleri* από τον Αχέροντα είναι πραγματικά ή απλώς αντιπροσωπεύουν ενδοειδική διαφοροποίηση.

Οι συμβολές των ποτάμιων συστημάτων ως αποτέλεσμα των επικλύσεων[12] της θάλασσας στην περιοχή του Ιονίου (Chronis et al. 1991) και η πτώση της αλατότητας στην παράκτια ζώνη δημιούργησαν συνθήκες συμπάτριας[13] ειδογένεσης, οι οποίες θα μπορούσαν να εξηγήσουν την ομοιογένεια των πληθυσμών του γένους *Knipowitschia* στο

[12] Επίκλυση: άνοδος της στάθμης της θάλασσας εξαιτίας της τήξης των παγετώνων.

[13] Συμπάτρια ειδογένεση: Δημιουργία συνθηκών γενετικής απομόνωσης μέσα στα όρια εξάπλωσης ενός πληθυσμού (π.χ. σε μια λίμνη).

Ιόνιο (π.χ. *Leuciscus cephalus*, Durand et al. 1999b) (Vanhove et al. 2012). Στα υπόλοιπα είδη του γένους *Knipowitschia* η γενετική απόσταση των *K. thessala* και *K. panizzae* από το *K. caucasica* κυμάνθηκε στα ίδια επίπεδα, 4,5-7,8% και 4,2-6,2% αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης μοριακής διασποράς για το σύνολο των πληθυσμών του *K. caucasica* έδειξαν σημαντικά μεγάλο βαθμό γενετικής διαφοροποίησης (F_{ST}=0,966). Γενικά, οι τιμές F_{ST} που ανακτήθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν από τις υψηλότερες που αναφέρθηκαν σε παρόμοιες μελέτες για συγγενικά είδη (*P. minutus*: 0,864 Stefanni & Thorley 2003, *P. tortonesei*: 0,698 Mejri et al. 2009, *P. marmoratus*: 0,95 Mejri et al. 2011). Ακολούθως, μετά από ομαδοποίηση των πληθυσμών του *K. caucasica* σε δύο γεωγραφικές περιοχές, Ιόνιο και Αιγαίο, βρέθηκαν υψηλές τιμές γενετικής διαφοροποίησης (F_{CT}=0,824), γεγονός που υποστηρίζει την ομαδοποίηση αυτή. Η γενετική διαφοροποίηση που βρέθηκε μεταξύ των δειγμάτων του Ιονίου και του Αιγαίου πιθανόν οφείλεται στις κλιματικές συνθήκες δηλαδή τις εναλλαγές της θερμοκρασίας και της αλατότητας, την ύπαρξη των θαλάσσιων ρευμάτων αλλά και στα βαθυμετρικά φαινόμενα που εντοπίζονται στο Νοτιοανατολικό τμήμα της λεκάνης της Μεσογείου (Magoulas et al. 1996, Agostini & Bakun 2002). Παρόμοια με το *E. pygmaeus*, ο κατά ζεύγη έλεγχος γεωγραφικής ετερογένειας που έγινε με βάση τα αποτελέσματα του COI για τα δείγματα του *K. caucasica* δεν επιβεβαίωσε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών. Ενδεχομένως το αποτέλεσμα αυτό να είναι απόρροια του μικρού δειγματοληπτικού μεγέθους.

Η παρουσία του κλάδου του γένους *Knipowitschia,* ο οποίος περιλαμβάνει τα είδη *K. caucasica, K. milleri, K, thessala* και *K. panizzae* έρχεται να επιβεβαιώσει τις απόψεις των Economidis & Miller (1990), Ahnelt (1995) και Kottelat (1997), οι οποίοι με βάση τη μορφολογία είχαν διαπιστώσει τη συγγένεια των ειδών αυτών. Σε γενικές γραμμές, στον κλάδο του *Knipowitschia* διακρίνουμε δύο μεγάλους υποκλάδους (υποκλάδος Ιόνιο-Θεσσαλία και υποκλάδος Αιγαίο-Αδριατική) που ο καθένας με τη σειρά του διαφοροποιείται σε μικρότερες ομάδες απλότυπων, με σαφή γεωγραφική αντιστοιχία απλότυπων και προέλευσης αυτών. Η ιστορία του γένους *Knipowitschia* στη Μεσόγειο δε φαίνεται να είναι μια απλή υπόθεση εποίκισης και μετέπειτα διαφοροποίησης στα είδη που συναντάμε σήμερα στην περιοχή. Η υπόθεση της εποίκισης και της μετέπειτα διαφοροποίησης αποτελεί ίσως την ευκολότερη λύση, όμως δεν είναι σε θέση να ερμηνεύσει πολλά από τα τεκταινόμενα στον ελλαδικό χώρο, όπως τις περιορισμένες κατανομές των *K. thessala, K. milleri*, καθώς και την ενδοειδική απόσταση μεταξύ των

πληθυσμών του *K. caucasica*. Η ομαδοποίηση που αποκαλύπτει η παρούσα μελέτη ήταν σύμφωνη με αυτή που αναφέρουν οι Vanhove et al. (2012) για ελληνικούς πληθυσμούς του γένους *Knipowitschia.*

Σύμφωνα με τους Penzo et al. (1998) και Huyse et al. (2004) το χρονικό της παρουσίας ειδών του γένους *Knipowitschia* (π.χ. *K. panizzae*) σηματοδοτεί την απόσχιση από την προγονική τους μορφή κατά τη διάρκεια της 'κρίσης της αλατότητας' του Μεσσηνίου. Στη συνέχεια τα γεγονότα της κρίσης αυτής προκάλεσαν τον παραπέρα τεμαχισμό της Μεσογείου σε μικρότερες λεκάνες με ενδημικές πανίδες όπως οι εκβολές ποταμών, λιμνοθάλασσες και λίμνες (Penzo et al. 1998, Huyse et al. 2004). Ωστόσο οι Vanhove et al. (2012) χρησιμοποιώντας την εφαρμογή του μοριακού ρολογιού, χρονολόγησαν την παρουσία του γένους *Knipowitschia* αρκετά μετά τις φάσεις του 'Lago Mare'. Η ομαδοποίηση του *K. thessala* με τη φυλογενετική σειρά του *Knipowitschia* από το Ιόνιο υποδηλώνει ότι εποίκησαν τον ελλαδικό χώρο και διασκορπίστηκαν σε αυτόν κατά τη διάρκεια της περιόδου του Πλειστοκαίνου με τρεις τουλάχιστον τρόπους (α) χαμηλή αλατότητα του Ιονίου Πελάγους, (β) διακυμάνσεις της στάθμης της Θάλασσας και (γ) 'συλλήψεις' ποτάμιων συστημάτων (Durand et al. 1999b). Αντίθετα, η διαφοροποίηση των *Knipowitschia* της ομάδας Αιγαίο φαίνεται ότι ευνοήθηκε από την πτώση της αλατότητας που συνέβη στο Αιγαίο Πέλαγος κατά τη Βούρμια παγετώδη περίοδο (18,000 -15,000 χρόνια πριν), το οποίο συμφωνεί και με την υπόθεση του μοριακού ρολογιού (Vanhove et al. 2012).

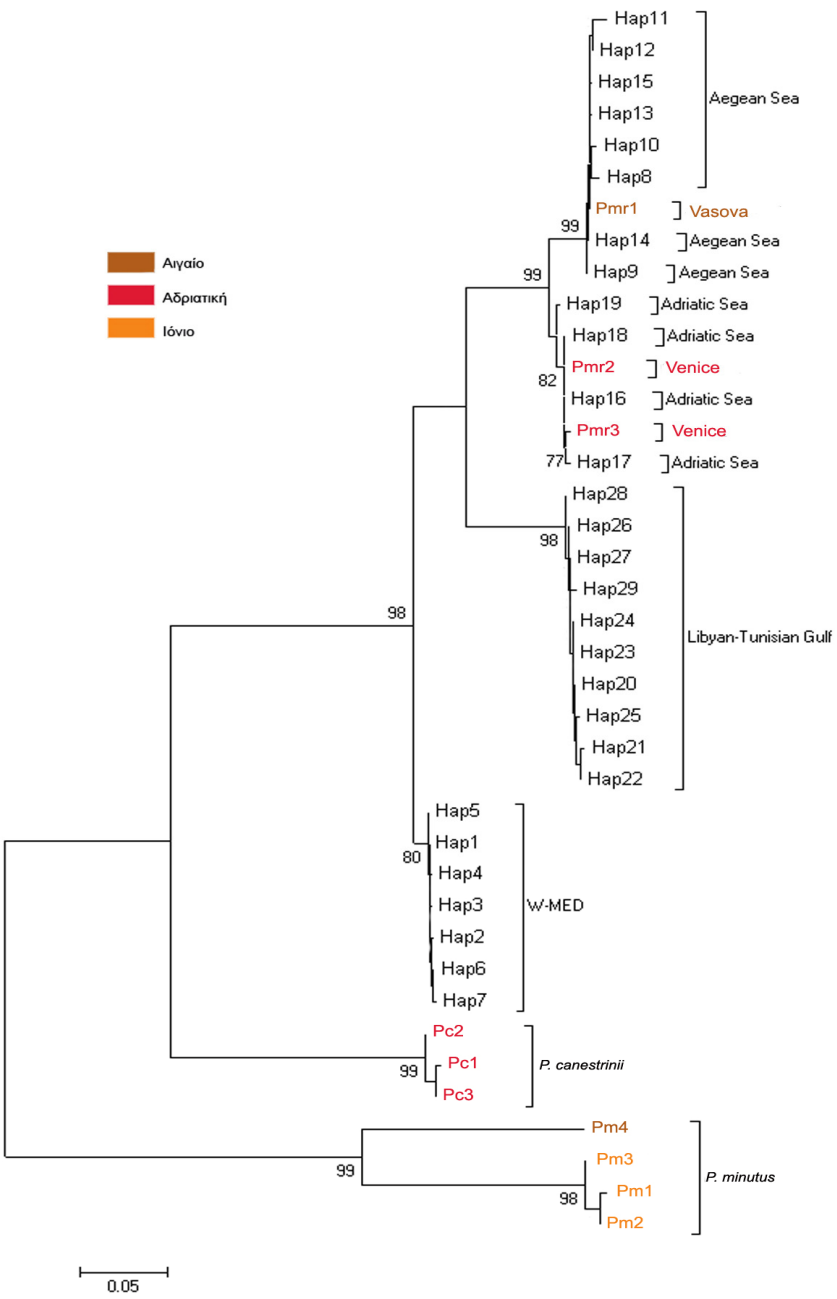
9.4.3. Γένος *Pomatoschistus*

Η μεγαλύτερη ποικιλότητα παρατηρήθηκε μεταξύ των ατόμων του γένους *Pomatoschistus* όπου η αλληλούχιση 12 ατόμων αποκάλυψε 10 διαφορετικούς απλότυπους με πολύ μικρή συχνότητα εμφάνισης (1-2 άτομα ανά απλότυπο). Όσον αφορά τις γενετικές αποστάσεις προέκυψε έντονη γενετική διαφοροποίηση τόσο σε ενδοπληθυσμιακό όσο και σε διαπληθυσμιακό επίπεδο. Συγκεκριμένα, οι πληθυσμοί του γένους απείχαν μεταξύ τους ως και 20,8%. Η γενετική απόσταση μεταξύ των ατόμων του *P. marmoratus* από τη Βενετία ήταν της τάξης του 0,3%, αλλά η διαφοροποίηση ανερχόταν στο 3% όταν συγκρίθηκαν με αντίστοιχους πληθυσμούς από τη Βάσσοβα. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα με άλλες μελέτες βλέπουμε ότι η μικρή γενετική διαφοροποίηση ήταν συχνό φαινόμενο. Με βάση τα 12S και 16S rDNA η γενετική διαφοροποίηση στο είδος *P. marmoratus* από τις ίδιες γεωγραφικές περιοχές έφτανε το 2,4% (Vanhove et al. 2012).

Στο είδος *P. minutus* το ποσοστό γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών του Κατάκολου και της Βάσσοβας κυμάνθηκε μεταξύ 11,8 εώς 12,6% και ήταν στα αντίστοιχα επίπεδα με το ποσοστό που καταγράφουν οι Gysels et al. (2004) για πληθυσμούς του *P. minutus* από την Αδριατική και την υπόλοιπη Μεσόγειο (12,2-14,7%). Τέλος, η διαειδική απόσταση του *P. canestrinii* από το *P. marmoratus* και *P. minutus* κυμάνθηκε σε υψηλά επίπεδα που φτάνουν το 15,5% και 20,5% αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα από την ομαδοποίηση των πληθυσμών του *Pomatoschistus* ήταν σε συμφωνία με την ταξινομική ταυτοποίηση των ειδών *P. minutus, P. canestrinii* και *P. marmoratus* μια και δεν υπήρξε κανένας απλότυπος που να είναι κοινός μεταξύ των ειδών. Το γεγονός αυτό σημαίνει τη διακοπή της γονιδιακής ροής για ένα μεγάλο αριθμό γενεών με αποτέλεσμα τον πλήρη διαχωρισμό των ειδών. Σημαντικό ρόλο στον ενδημισμό του γένους *Pomatoschistus* έπαιξαν οι διαδοχικές παγετώδεις περίοδοι κατά το Πλειστόκαινο (Gysels et al. 2004, Huyse et al. 2004). Η παρουσία του *P. minutus* στη βάση του δένδρου ίσως αποδεικνύει ότι το είδος αυτό διαφοροποιήθηκε νωρίτερα από τον κοινό πρόγονο απ' ότι τα άλλα είδη. Σύμφωνα με τους Stefanni & Thorley (2003) η αναπαραγωγική απομόνωση των πληθυσμών του *P. minutus* στο Αιγαίο και το Ιόνιο οφείλεται στο θερμοκρασιακό προφίλ και το διαμορφωμένο υδρογραφικό καθεστώς.

Για την περαιτέρω κατανόηση των εξελικτικών σχέσεων μεταξύ των ατόμων του *P. marmoratus* χρησιμοποιήθηκαν οι απλότυποι του γένους *Pomatoschistus* από τη δική μας μελέτη μαζί με αυτούς από την εργασία των Mejri et al. (2011). Στη νέα εικόνα που δημιουργήθηκε (Εικόνα 9.16), σύμφωνα με τη μέθοδο NJ, προσθέσαμε τη γεωγραφική προέλευση των παρατηρούμενων απλότυπων. Με βάση την τοπολογία του συγκεκριμένου δένδρου η ομάδα του *P. marmoratus* χαρακτηρίζεται από την παρουσία δύο μονοφυλετικών υποκλάδων. Ο πρώτος υποκλάδος αποτελείται από τα άτομα του *P. marmoratus* από τη Δυτική Μεσόγειο (W-MED) και ο δεύτερος υποκλάδος από τα άτομα της Ανατολικής Μεσογείου (E-MED).



Εικόνα 9.16: Δενδρόγραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Σύνδεσης Γειτόνων με βάση το μοντέλο K2+G και απεικονίζει τις φυλογενετικές σχέσεις των απλοτύπων του *P. marmoratus* (Hap1-29) από την εργασία των Mejri et al. (2011) μαζί με τους απλότυπους του γένους *Pomatoschistus* (δίνονται με διαφορετικό χρώμα). Οι αριθμοί των κλάδων αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (1000 επαναλήψεις). Μόνο τιμές bootstrap μεγαλύτερες από 75% παρουσιάζονται.

Figure 9.16: Phylogenetic tree of the haplotypes of *P. marmoratus* (Hap1-29) from the article of Mehri et al. (2011) together with the haplotypes of genus *Pomatoschistus* (shown by different colour) estimated by the Neighbor-Joining method based on K2+G model. Only bootstrap values based on 1000 replications higher than 75% are displayed.

Μέσα στον υποκλάδο E-MED διακρίνονται ομάδες απλότυπων από το κόλπο της Λιβύης και της Τυνισίας (Libyan-Tunisian Gulf), την Αδριατική Θάλασσα (Adriatic Sea) και το Αιγαίο Πέλαγος (Aegean Sea).

Η γενετική διαφοροποίηση εντός του *P. marmoratus* συμφωνεί με την αποδεκτή ζωογεωγραφική κατάτμιση της Μεσογείου σε δυο λεκάνες, τη Δυτική και Ανατολική (Bahri-Sfar et al. 2000, Bianchi & Morri 2000), με τα όρια αυτών των δύο να καθορίζονται από το στενό της Σικελίας-Τυνισίας. Αντίστοιχο παράδειγμα όπως ο διαχωρισμός του *P. marmoratus* στους δύο κλάδους W-MED και E-MED έχει αναφερθεί για το *P. minutus* (Stefanni & Thorley 2003) και για το *P. tortonesei* (Mejri et al. 2009).

Τα αποτελέσματα των γενετικών αναλύσεων αυτών των δύο γωβιών αποκάλυψαν μια υποδιαίρεση του πληθυσμού που αποδεικνύει με σαφήνεια τη δράση του στενού της Σικελίας-Τυνισίας ως σημείο διακοπής της γονιδιακής ροής μέσα στην οικογένεια Gobiidae. Το στενό της Σικελίας-Τυνισίας φαίνεται να αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για τη μετακίνηση των πληθυσμών από τα Δυτικά στα Ανατολικά και αντίστροφα και κατ' επέκταση χρησιμεύει ως απροσπέλαστο φράγμα (Mejri et al. 2011). Η κυκλοφορία του νερού στην περιοχή της Σικελίας χαρακτηρίζεται από αντικυκλωνικά ρεύματα (Hamad et al. 2006) τα οποία δημιουργούν ένα υδρογραφικό καθεστώς και λειτουργούν ως εμπόδια της φυσικής διασποράς σε ολόκληρο το στενό. Αυτό, κατά συνέπεια, επιτρέπει την προοδευτική γενετική διαφοροποίηση εντός των ειδών και ασκεί μια ισχυρή επιρροή στους μηχανισμούς που εμποδίζουν τη γονιδιακή ροή και προωθούν τη δόμηση του οικοσυστήματος στη Μεσόγειο (Bahri-Sfar et al. 2000, Perez-Losada et al. 2007). Πρόσφατες φυλογενετικές μελέτες (Huyse et al. 2004, Vanhove et al. 2012) που αφορούσαν το είδος *P. canestrinii* είχαν αποκαλύψει φαινόμενα παραφυλετικότητας, εξαιτίας της ομαδοποίησής του με το *K. punctatissima*. Ωστόσο, η απουσία του *K. punctatissima* από τη παρούσα εργασία και η ενσωμάτωση με υψηλά επίπεδα αξιοπιστίας του *P. canestrinii* στο κλάδο του *Pomatoschistus* δεν αφήνουν περιθώρια αμφισβήτησης της ταξινομικής του κατάστασης.

Συνοψίζοντας, από τα μοριακά δεδομένα που έχουμε ως τώρα στη διάθεσή μας φαίνεται ότι η γενετική σύσταση της ομάδας των 'αμμογωβιών' έχει επηρεαστεί έντονα από τα γεωλογικά συμβάντα κατά το Μειόκαινο, το Πλειόκαινο και το Πλειστόκαινο (Gysels et al. 2004, Huyse et al. 2004). Για τον καθορισμό του φυλογενετικού προτύπου της ομάδας των 'αμμογωβιών' σημαντικό ρόλο εκτός από τα βικαριανιστικά γεγονότα είχε

και ο παράγοντας της διασποράς. Συνήθως, ιστορικοί, κλιματικοί και γεωλογικοί παράγοντες δεν επηρεάζουν με τον ίδιο τρόπο διαφορετικούς οργανισμούς, έστω και αν αρχικά θα αναμέναμε κάτι τέτοιο. Αυτό εξαρτάται κυρίως από την οικολογία και την ηθολογία των οργανισμών, αλλά συχνά είναι και απόρροια τυχαίων συγκυριών (Avise 2000).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

ΓΕΝΙΚΗ ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

10. Γενική συζήτηση-συμπεράσματα

Οι 'αμμογωβιοί' αποτελούν μια μονοφυλετική ομάδα η οποία περιλαμβάνει 5 γένη τα: *Pomatoschistus, Knipowitschia, Economidichthys, Gobiusculus* και *Hyrcanogobius*. Τα μέλη της ομάδας αυτής έχουν προκύψει από θαλάσσια ή δευτερογενή ψάρια τα οποία σύμφωνα με τον Bănărescu (2004) ανήκουν στη κατηγορία ειδών που μοιάζουν με τα πρωτογενή[14] ψάρια (Primary-like fishes). Οι 'αμμογωβιοί' παρουσιάζουν ευρεία κατανομή στη Μεσόγειο και απαντώνται σε Γαλλία, Ιταλία, Κροατία, Μαυροβούνιο, Τουρκία και Αλβανία. Στην Ελλάδα είδη της ομάδας βρίσκονται στους ποταμούς: Καλαμά, Αχέροντα, Λούρο, Αξιό, Νέστο, Έβρο, Στρυμόνα, Εύηνο, στις λεκάνες του Αχελώου, σε συστήματα της Πελοποννήσου καθώς και σε λίμνες όπως: Βιστωνίδα, Βόλβη, Κάρλα, Τριχωνίδα, Ζηρό και Παμβώτιδα.

Μέσα στο πλαίσιο κάλυψης των κενών που υπάρχουν, μελετήθηκε ο βιολογικός κύκλος του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα. Το είδος εμφάνισε λιμνόφιλο χαρακτήρα. Ωστόσο φαίνεται να προτιμάει τόσο ρέοντα όσο και λιμναία ύδατα (Economidis & Miller 1990, Daoulas et al. 1993). Βρέθηκε σε περιοχές με πλούσια υδροχαρή βλάστηση και αμμώδη προς ελαφρά χαλικώδη πυθμένα. Η πλούσια υδρόβια φυτοκάλυψη παρέχει προστασία και παράλληλα εξυπηρετεί αναπαραγωγικές και τροφικές ανάγκες του είδους (Daoulas et al. 1993).

Σύμφωνα με τις φυσικοχημικές συνθήκες που επικράτησαν κατά την περίοδο των δειγματοληψιών στη λίμνη Παμβώτιδα, το θερμοκρασιακό εύρος κυμάνθηκε από 7,7-27,1 ^{o}C. Η χαμηλότερη θερμοκρασία στην επιφάνεια του νερού στη λίμνη παρατηρήθηκε το μήνα Ιανουάριο του 2007 (7,7 ^{o}C) ενώ η μεγαλύτερη τον Αύγουστο του 2007 (27,1 ^{o}C). Η θερμοκρασία δεν κατέβηκε κάτω από τους (4 ^{o}C) καθόλη τη διάρκεια του έτους και την περίοδο μελέτης δεν παρατηρήθηκε δημιουργία πάγου στην επιφάνεια της λίμνης. Οι τιμές του pH κυμάνθηκαν από 6,9 ώς 8,12. Η μέγιστη τιμή 8,12 εμφανίστηκε τον Αύγουστο του

---

[14] Πρωτογενή ψάρια (Primary fishes): Είναι τα ψάρια τα οποία κατάγονται από 'γλυκά ύδατα' και δεν αντέχουν καθόλου ή ανέχονται μόλις τη χαμηλή αλατότητα. Η διασπορά τους ακολουθεί την ιστορία του υδρογραφικού δικτύου και τις ηπειρωτικές φάσεις των νησιών Στα πρωτογενή ανήκουν όλα τα είδη της πολυπληθέστερης και κυρίαρχης στα εσωτερικά ύδατα οικογένειας Cyprinidae, όπως και όλα τα είδη των οικογενειών Cobitidae και Nemacheilidae. Είδη που μοιάζουν με τα πρωτογενή (Primary-like fishes): Στην κατηγορία αυτή ανήκουν ψάρια μη πρωτογενή, όπως τα είδη που έχουν προκύψει από θαλάσσια ή δευτερογενή ψάρια. Εμφανίζουν το ίδιο πρότυπο εξάπλωσης με τα πρωτογενή ψάρια. Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει κυρίως taxa με περιορισμένη εξάπλωση. Δευτερογενή ψάρια (Secondary fishes): Είναι είδη ευρύαλα τα οποία μπορούν να χρησιμοποιούν τη θάλασσα για τη διασπορά τους (π.χ. *Aphanius fasciatus*). Οι εξαπλώσεις τους ποικίλλουν από ευρείες ώς πολύ εντοπισμένες. Τα είδη αυτά ζουν συνήθως σε περιβάλλονται είτε μεταβατικά (υφάλμυρα νερά) είτε ακραία (υψηλές, πολύ υψηλές αλατότητες ή θερμά νερά) (Bianco 1995, Bănărescu 2004).

2007 ενώ η ελάχιστη τιμή 6,9 τον Νοέμβριο του 2006. Το pH εμφανίστηκε αυξημένο το καλοκαίρι όταν και η φωτεινή δραστηριότητα ήταν περισσότερο έντονη. Οι τιμές του διαλυμένου οξυγόνου τις πρωινές ώρες ήταν χαμηλές τους καλοκαιρινούς μήνες Ιούλιο και Αύγουστο του 2007 (4,75-4,55 mg l^{-1}). Η έντονη ανάπτυξη του φυτοπλαγκτού είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου σε περιοχές κοντά στην όχθη και στον πυθμένα εξαιτίας της αποσύνθεσης και των ανοξικών συνθηκών. Εκεί καταλήγουν μεγάλες ποσότητες νεκρής υδρόβιας βλάστησης, οι οποίες αποσυντίθενται από τα αερόβια βακτήρια, τα οποία χρησιμοποιούν το διαλυμένο οξυγόνο (Kagalou et al. 2001, Wetzel 2001).

Η αγωγιμότητα των νερών της Παμβώτιδας κυμάνθηκε από 364-472 μS cm^{-1}. Οι τιμές της ήταν αυξημένες κατά τους ανοιξιάτικους μήνες, εξαιτίας των βροχοπτώσεων της περιόδου αυτής καθώς και της μεταφοράς φερτών υλικών στη Παμβώτιδα, η οποία αποτελεί τον τελικό αποδέκτη της λεκάνης απορροής της περιοχής. Οι συγκεντρώσεις του νιτρικού αζώτου (NO_3-N) κυμάνθηκαν από 0,1-0,5 mg l^{-1}, ενώ του νιτρώδους αζώτου (NO_2-N) από 0,001-0,007 mg l^{-1}). Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις του NO_3-N και του NO_2-N εμφανίσθηκαν κατά τους φθινοπωρινούς και χειμερινούς μήνες, ενώ τους καλοκαιρινούς μήνες οι χαμηλότερες. Οι συγκεντρώσεις των αμμωνιακών ιόντων (NH_4^-) κυμάνθηκαν από 0,13-0,28 mg l^{-1}. Η αύξηση των NH_4^- στη παράκτια ζώνη τη περίοδο του καλοκαιριού αποδόθηκε στην έντονη αποικοδόμηση του οργανικού υλικού και στην επικράτηση των φυτοπλαγκτονικών οργανισμών κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, τα οποία είναι σε θέση να καθηλώνουν άζωτο και να το μετατρέπουν σε αμμωνία. Οι τιμές των ορθοφωσφορικών στα νερά της Παμβώτιδας κυμάνθηκαν 0,41-2,19 mg l^{-1}. Στη διάρκεια των καλοκαιρινών μηνών οι τιμές τους ήταν αυξημένες εξαιτίας της απελευθέρωσης φωσφόρου από το ίζημα και τις εντατικές ανθρωπογενείς δραστηριότητες (αστικές, γεωργικές).

Από τη μελέτη της κατά μήκος σύνθεσης προέκυψε πως τα άτομα του είδους *E. pygmaeus* εμφανίζουν δύο ηλικιακές κλάσεις οι οποίες αντιστοιχούν στα μέσα ολικά μήκη 21,85 mm και 35,05 mm. Ο κύριος όγκος του πληθυσμού του λουρογωβιού στη λίμνη Παμβώτιδα απαρτιζόταν από αρσενικά μήκους σώματος 21,5 ώς 53 mm και θηλυκά μήκους 21,5 ώς 40 mm. Η είσοδος των νεαρών ατόμων στο πληθυσμό πραγματοποιείται στα μέσα της αναπαραγωγικής περιόδου (Απρίλιος). Διαπιστώθηκε ότι υπάρχει διαφορά μεταξύ των δύο φύλων ως προς τα εξωτερικά χαρακτηριστικά τους. Το μήκος του ουραίου πτερυγίου των αρσενικών ατόμων ήταν μεγαλύτερο από αυτό των θηλυκών, δείχνοντας ότι

στο *E. pygmaeus* εμφανίζεται διμορφισμός των φύλων. Η διαφοροποίηση αυτή είναι αποτέλεσμα της συμπεριφοράς που εκδηλώνουν τα αρσενικά άτομα κατά την αναπαραγωγή και σχετίζεται με τη χωρική επικράτηση και τη φροντίδα των γονιμοποιημένων αβγών. Το πρότυπο της κατά βάρος αύξησης του πληθυσμού του λουρογωβιού ακολουθεί ένα θετικό αλλομετρικό ρυθμό ο οποίος είναι παρόμοιος και για τα δύο φύλα μέχρι την έλευση της πρώτης γεννητικής ωρίμασης. Στη συνέχεια, κατά την περίοδο της αναπαραγωγής, γίνεται εμφανής μια πτώση της τιμής του *b* που οφείλεται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες (θερμοκρασία, ένταση του φωτός, διαθεσιμότητα τροφής), οι οποίοι εντείνουν τις απαιτήσεις του μεταβολισμού που συνδέεται με τις αναπαραγωγικές δραστηριότητες (γονιμοποίηση, αναπαραγωγική προσπάθεια) και συντελούν στη μείωση της αύξησης.

Το μέγιστο θεωρητικό μήκος για τα αρσενικά του *E. pygmaeus* υπολογίστηκε στα 56,18 mm και για τα θηλυκά άτομα στα 46,73 mm. Από τη σύγκριση των δύο φύλων προέκυψε υψηλότερος ρυθμός αύξησης (K) για τα αρσενικά σε σχέση με τα θηλυκά άτομα του *E. pygmaeus*. Επιπλέον, η υπεροχή των αρσενικών διαπιστώθηκε και από τον μεγαλύτερο δείκτη αύξησης (φ΄). Συνολικά, ο δείκτης αύξησης για το *E. pygmaeus* ήταν από τους μεγαλύτερους που έχουν καταγραφεί σε σύγκριση με άλλους 'αμμογωβιούς' που προέρχονται από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές. Η διαφορά αυτή αποδόθηκε στη διαφορετική τροφική κατάσταση των συστημάτων και στις γενετικές διαφορές μεταξύ των ειδών. Ο συντελεστής ευρωστίας βρέθηκε να διαφέρει μεταξύ των δύο φύλων, με τα θηλυκά να παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές από τα αρσενικά. Η αιτία γι' αυτό το γεγονός φαίνεται να ήταν η σημαντική καταπόνηση των θηλυκών ατόμων ή ακόμη περισσότερο η κατανάλωση της ενέργειας που συσσωρεύουν τα θηλυκά για τη διαδικασία της αναπαραγωγής, διαδικασία που απαιτεί περισσότερη ενέργεια από τα θηλυκά σε σχέση με αυτή που απαιτείται από τα αρσενικά ψάρια.

Η συνολική αναλογία φύλων βρέθηκε να είναι 1,34:1, παρουσιάζοντας επικράτηση των θηλυκών ατόμων έναντι των αρσενικών (χ^2=18,097, $p<0,001$). Οι μηνιαίες διακυμάνσεις του λόγου F:M παρέμειναν στο ίδιο πρότυπο με ελαφρά υπεροχή των θηλυκών που όμως δε στοιχειοθετούσε στατιστική διαφορά. Στατιστικά σημαντική μεταβολή σε βάρος των αρσενικών παρατηρήθηκε κατά τους μήνες της αναπαραγωγής εξαιτίας της πατρικής φροντίδας που επιδεικνύουν.

Η γεννητική ωρίμαση και στα δυο φύλα του *E. pygmaeus* επιτεύχθηκε κατά το πρώτο έτος της ζωής τους και αποτέλεσε ένα μέσο προσαρμογής και επιβίωσης του

λουρογωβιού στο περιβάλλον της λίμνης. Οι τιμές του ηπατοσωματικού δείκτη επηρεάστηκαν σημαντικά από το φύλο και από την εποχή. Οι αυξημένες τιμές του ηπατοσωματικού δείκτη τους πρώτους φθινοπωρινούς μήνες πιθανόν οφείλεται στις ευνοϊκότερες κλιματικές συνθήκες καθώς και την εντονότερη τροφοληψία κατά την περίοδο καλοκαιριού-φθινοπώρου. Στη συνέχεια, διαπιστώθηκε πτωτική τάση των τιμών του ηπατοσωματικού δείκτη στα αρσενικά που φαίνεται ότι ήταν αποτέλεσμα της ενέργειας που δαπανούν για τις εκδηλώσεις γονικής φροντίδας, ενώ στα θηλυκά η κατάσταση παρέμεινε σταθερή εξαιτίας της συνεχής εύρεσης τροφής.

Η περίοδος ωρίμασης των γεννητικών αδένων του λουρογωβιού φαίνεται να ξεκινά το Μάρτιο και να ολοκληρώνεται το Μάιο όπως φαίνεται από τη διακύμανση των τιμών του γοναδοσωματικού δείκτη και τη μακροσκοπική παρατήρηση των γονάδων. Κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου συλλέχθηκαν σημαντικά περισσότερα θηλυκά άτομα σε σχέση με τα αρσενικά. Το γεγονός αυτό είναι πιθανό να σχετίζεται με την αυξημένη κινητικότητα που παρουσιάζουν τα αρσενικά άτομα εξαιτίας της αναπαραγωγικής τους συμπεριφοράς, αλλά και ενδεχομένως της μεγαλύτερης θνησιμότητας των αρσενικών έναντι των θηλυκών που αντικατοπτρίζεται στην αναλογία φύλων. Οι μεταβολές της απόλυτης γονιμότητας βρέθηκαν να σχετίζονται στενά με τις μεταβολές του ολικού και καθαρού σωματικού βάρους των θηλυκών. Η μέση τιμή της απόλυτης γονιμότητας ήταν 136 αβγά και ήταν από τις χαμηλότερες τιμές σε σχέση με άλλους 'αμμογωβιούς'. Η κατά μήκος κατανομή των διαμέτρων των ωοκυττάρων έδειξε την ύπαρξη περισσότερων της μιας μέγιστων συγκεντρώσεων αβγών. Η τμηματική ωοτοκία με παραπάνω από μία αποθέσεις επιτρέπει στο *E. pygmaeus* να παράγει ένα μεγαλύτερο αριθμό αβγών σχετικά με το μέγεθός του για να ξεπεράσει τον κίνδυνο της απώλειας μιας ωοτοκίας αν αυτή αποτύχει.

Το μικρότερο μέγιστο μήκος, η πρώιμη γεννητική ωρίμαση, η μικρή διάρκεια ζωής και η υψηλή αναπαραγωγική προσπάθεια συνιστούν την εικόνα ενός πληθυσμού, ο οποίος βρίσκεται πιο κοντά στο r άκρο, του r/k συνεχούς της θεωρίας για τις δημογραφικές στρατηγικές (Pianka 1970). Σύμφωνα με την επιλεκτική θεωρία της r/k στρατηγικής σε ασταθή και ευμετάβλητα οικοσυστήματα, τα οποία χαρακτηρίζονται από πυκνο-ανεξάρτητη θνησιμότητα και αφθονία τροφικών πόρων για τις προνύμφες, ευνοούνται τα είδη που δείχνουν αυξημένη αναπαραγωγική δραστηριότητα, γρήγορη ανάπτυξη και μικρό μέγεθος αβγών (Balon 1983). Αντίθετα, σε σταθερά περιβάλλοντα ευνοούνται τα είδη που είναι ανταγωνιστικά, με ικανότητα επιβίωσης, αργό ρυθμό ανάπτυξης, μεγαλύτερο

μέγεθος, ζουν περισσότερα χρόνια, γεννούν πιο πολλές φορές στη διάρκεια της ζωής τους και εμφανίζουν γονική φροντίδα ώστε να εξασφαλίσουν την επιβίωση των απογόνων που έχουν παράγει (Bruton & Merron 1990).

Με βάση τα παραπάνω θα περίμενε κανείς ότι η κατανομή του *E. pygmaeus* σε οικοσυστήματα ασταθή θα συσχετιζόταν με μικρότερο μέγεθος ωοκυττάρων αλλά φαίνεται να συμβαίνει το αντίθετο. Τα αβγά του *E. pygmaeus* είναι, μεγαλύτερα (≈1 mm) και χρειάζονται περισσότερο χρόνο για να αναπτυχθούν. Οι προνύμφες εκκολάπτονται σε πιο προχωρημένο στάδιο και είναι καλύτερα προσαρμοσμένες στον βενθοπελαγικό τρόπο ζωής (Daoulas et al. 1993). Παρόμοιες ασυμφωνίες μεταξύ των φυσικών παρατηρήσεων και προβλέψεις σχετικά με τη θεωρία της δημογραφικής στρατηγικής έχουν αναφερθεί στο παρελθόν για είδη της Οικογένειας Cottidae (Goto 1990) και Clupeidae (Whitfield 1990). Το αποτέλεσμα αυτών των μελετών είναι να δημιουργούνται αμφιβολίες για την εγκυρότητα της ευρέως διαδεδομένης υπόθεσης ότι η πρόωρη ανάπτυξη είναι το μόνο εξελικτικό μονοπάτι απέναντι στον τοπικό ανταγωνισμό (Economou 1991, Daoulas et al. 1993).

Η σύνθεση της δίαιτας του λουρογωβιού έδειξε ότι πρόκειται για παμφάγο είδος που τρέφεται κυρίως με κωπήποδα και προνύμφες χειρονομίδων καθώς και με κλαδόκερα, γαστερόποδα έντομα και μαλάκια κ.α. Η ανάλυση των στομαχικών περιεχομένων έγινε χρησιμοποιώντας την εμφάνιση συχνότητας, την αριθμητική και την βαρομετρική μέθοδο. Η συμμετοχή των κωπηπόδων και των χειρονομίδων ήταν ιδιαίτερα σημαντική, αφού βρέθηκε να επικρατούν στη δίαιτα όλους σχεδόν τους μήνες ως προς την αριθμητική και τη βαρομετρική μέθοδο αντίστοιχα. Τα κλαδόκερα, τα γαστερόποδα, τα οστρακώδη και τα έντομα συμμετείχαν στη δίαιτά του με διαφορετικά ποσοστά ανάλογα με τη μέθοδο και την εποχή που εξετάστηκαν. Το τροφικό επίπεδο του *E. pygmaeus* κυμάνθηκε από 3,08 ώς 3,19 ανάλογα με την εποχή και από 3,06 ώς 3,17 ανάλογα με το μέγεθος των ατόμων. Η ένταση τροφοληψίας παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τις κλάσεις μεγεθών του είδους χωρίς να εμφανίζει σημαντικές διαφοροποιήσεις κατά τη διάρκεια του έτους.

Οι χαμηλές τιμές του δείκτη ποικιλότητας υποδηλώνουν ότι το είδος χαρακτηρίζεται από κάποιο βαθμό εξειδίκευσης στις διατροφικές του συνήθειες, ενώ οι υψηλές τιμές επικάλυψης του τροφικού θώκου μεταξύ τις κλασεις μεγεθών του *E. pygmaeus* αντανακλά ανταγωνισμό για τους διαθέσιμους τροφικούς πόρους. Τα μικρότερα σε μέγεθος άτομα χαρακτηρίζονται από στενοφαγία και κατανάλωση οργανισμών μικρών

διαστάσεων, ενώ με την αύξηση του μεγέθους τους το εύρος του τροφικού φάσματος μεγαλώνει και εστιάζεται σε οργανισμούς μεγαλύτερου μεγέθους. Τα θηλυκά παρουσίασαν ευρύτερο διατροφικό φάσμα σε σχέση με τα αρσενικά, γεγονός που πιθανόν σχετίζεται με την ανάγκη συγκέντρωσης ικανοποιητικής ποσότητας τροφής, προκειμένου να καλύψουν τις αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις για σωματική αύξηση και αναπαραγωγή. Σύμφωνα με την τροποποιημένη μέθοδο Costello (τροποποιημένη από Amundsen et al. 1996) το είδος *E. pygmaeus* εμφάνισε εξειδίκευση στη διατροφή του με τα κωπήποδα και τις χειρονομίδες να έχουν μεγάλη συνεισφορά στη διατροφή του. Η μελέτη της ημερήσιας τροφικής δραστηριότητας σε τέσσερις εποχές εμφάνισε διακυμάνσεις, οι οποίες οφείλονταν στις αντιδράσεις του στη μεταβαλλόμενη διαθεσιμότητα των λειών. Επιπλέον, ο διατροφικός κύκλος του λουρογωβιού στη διάρκεια του εικοσιτετραώρου παρουσίασε κορύφωση στη διάρκεια της νύχτας ώς τις πρώτες πρωινές ώρες. Η τακτική αυτή είναι αποτέλεσμα της κρυπτικής συμπεριφοράς που επιδεικνύει το είδος, για να αποφεύγει τους θηρευτές του και να εντοπίζει τα θηράματά του.

Όσον αφορά την ακουστική επικοινωνία και την αναπαραγωγική συμπεριφορά του *E. pygmaeus* τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής αποτέλεσαν την πρώτη αναφορά για γωβιό στον οποίο απουσιάζει η παραγωγή ήχων. Η έλλειψη της ικανότητας παραγωγής ήχων κατά την αναπαραγωγή πιθανώς να οφείλεται σε δευτερογενή απώλεια μέσα στην ομάδα 'αμμογωβιοί'. Παρ' όλα αυτά το είδος ακολουθεί το ίδιο πρότυπο ερωτοτροπίας και αναπαραγωγικής συμπεριφοράς με τα άλλα συγγενικά του είδη. Ταυτόχρονα όμως επισημάνθηκαν και διαφορές όπως η παντελής απουσία δραστηριοτήτων που έχουν σχέση με το σκάψιμο ή την κατασκευή φωλιάς. Η διαφοροποίηση αυτή μπορεί να εξηγηθεί από τη προτίμηση που δείχνει το είδος σε διαφορετικά ενδιαιτήματα (χαλικώδες, χονδρόκοκκο ίζημα) και τη χρησιμοποίηση καλαμώνων για αναπαραγωγικά πεδία.

Οι πολυμεταβλητές αναλύσεις υπέδειξαν ότι υπάρχουν πληθυσμοί οι οποίοι διακρίνονται μεταξύ τους πολύ ικανοποιητικά. Οι μεριστικοί χαρακτήρες, εκτός των ακτίνων του 1^{ου} ραχιαίου πτερυγίου, διέφεραν μεταξύ των ειδών με το εύρος διακύμανσης να είναι αντίστοιχο των τιμών που υπάρχουν στη βιβλιογραφία (Economidis & Miller 1990, Miller 2004, Kottelat & Freyhof 2007). Σύμφωνα με τους Ota et al. (1996) και Scaggiante et al. (1999) η επιμήκυνση των ακτίνων του 2^{ου} ραχιαίου πτερυγίου παίζει σημαντικό ρόλο στην αναπαραγωγική στρατηγική των γωβιών. Τα αρσενικά άτομα των οποίων οι ακτίνες των πτερυγίων τους είναι πιο επιμηκυσμένες έχουν μεγαλύτερο μέγεθος,

υπερασπίζονται καλύτερα την επικράτειά τους από διάφορους ανταγωνιστές και παρουσιάζουν γονική φροντίδα (Ota et al. 1996, Mazzoldi et al. 2000, Torricelli et al. 2000). Αντίθετα, τα μικρότερα άτομα έχουν υψηλότερο γοναδοσωματικό δείκτη και ακολουθούν εναλλακτική αναπαραγωγική στρατηγική, προσπαθώντας να 'τρυπώσουν' κρυφά (sneaking behavior) στις φωλιές των μεγάλων αρσενικών για να γονιμοποιήσουν τα αβγά (Maghnagen 1998, Malavasi et al. 2001, Malavasi et al. 2003).

Παρόμοια, μορφολογικοί χαρακτήρες που σχετίζονται με ακολουθίες συμπεριφοράς εμφάνισαν υψηλότερες τιμές. Τη μεγαλύτερη συμμετοχή στη διαμόρφωση της μορφολογικής ποικιλομορφίας είχαν χαρακτήρες που συνδέονται με τη θέση των πτερυγίων (ραχιαία, εδρικό), το μήκος της κεφαλής και το πλάτος του ουραίου μίσχου. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί ενδεχομένως με τις εκδηλώσεις αναπαραγωγικής συμπεριφοράς από τους γωβιούς. Έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη μιας άμεσης σχέσης μεταξύ των μορφολογικών μεταβλητών και των δευτερογενών αναπαραγωγικών χαρακτήρων που εκτελούνται και από τα δύο φύλα κατά τη διάρκεια των φάσεων της ερωτοτροπίας και της ωοτοκίας (Torricelli et al. 1985, Zerunian et al. 1988). Οι χαρακτήρες που συνδέονται με αυτές τις συμπεριφορές σχετίζονται με τον ανταγωνισμό των αρσενικών για κυριαρχία και επικράτηση, τον εντοπισμό και την προσέλκυση του θηλυκού και την προστασία και φροντίδα των αβγών μέχρι την εκκόλαψή τους (Magnhagen & Kvarnemo 1989, Forsgren 1999, Svensson & Kvarnemo 2003, Svensson et al. 1998).

Η ανάλυση της γενετικής ποικιλομορφίας της ομάδας 'αμμογωβιοί' περιελάμβανε τον πολλαπλασιασμό των αλληλουχιών του μιτοχονδριακού γονιδιακού τόπου COI με τη μέθοδο PCR, τον προσδιορισμό των αλληλουχιών αυτών και ακολούθως τη στατιστική και φυλογενετική τους ανάλυση με τις μεθόδους Σύνδεσης Γειτόνων (Neighbor-Joining) και Μέγιστης Πιθανοφάνειας (Maximum Likelihood). Το τελικό μήκος των αλληλουχιών μετά την επεξεργασία ήταν 625 bp για το COI. Στο γένος *Economidichthys* προσδιορίστηκαν 8 απλότυποι για το *E. pygmaeus* και 1 απλότουπος *E. trichonis* μετά από ανάλυση 23 δειγμάτων. Για το γένος *Knipowitschia* προσδιορίστηκαν 20 απλότυποι για το *K. caucasica*., 1 απλότυπος για το *K. milleri*, 3 απλότυποι για το *K. thessala* και 4 απλότυποι για το *K. panizzae* ύστερα από την ανάλυση 52 δειγμάτων. Τέλος, για το γένος *Pomatoschistus* προσδιορίστηκαν 4 απλότυποι του *P. minutus,* 3 απλότυποι *P. canestrinii* και 3 απλότυποι του *P. marmoratus* μετά από ανάλυση 12 αλληλουχιών.

Ανάλυση της πληθυσμιακής δομής των ειδών *E. pygmaeus* και *K. caucasica* πραγματοποιήθηκε τόσο μέσα όσο και μεταξύ των περιοχών Ηπείρου-Αιτωλοακαρνανίας

και Αιγαίου-Ιονίου Πελάγους αντίστοιχα. Η F_{ST} ανάλυση αποκάλυψε σημαντική πληθυσμιακή διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών τόσο των ειδών *E. pygmaeus* και *K. caucasica* όσο και μεταξύ των γεωγραφικών τους ομάδων. Αυτή η διαφοροποίηση μπορεί να αποδοθεί στα χαμηλά επίπεδα γονιδιακής ροής εξαιτίας της παρουσίας φυσικών εμποδίων (φράγματα, θαλάσσια ρεύματα κ.α.) τα οποία οδηγούν στην ανάπτυξη γενετικά διαφοροποιημένων και τοπικά προσαρμοσμένων πληθυσμών (Triantafyllidis et al. 1999).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι περιπτώσεις όπου οι ομαδοποιήσεις με βάση τη μορφολογία σώματος και το μοριακό δέικτη COI βρίσκονται σε πλήρη συμφωνία. Μια τέτοια περίπτωση αφορά το γένος *Economidichthys* όπου η μονοφυλετικότητα του κλάδου των δύο περιοχών Ηπείρου και Αιτωλοακαρνανίας που αναδείχθηκε από τη μορφομετρία ενισχύεται και επιβεβαιώνεται με βάση τη μοριακή ανάλυση. Σε ότι αφορά τους πληθυσμούς του *Knipowitschia* από το Ιόνιο υπάρχει το παράδειγμα των *K. milleri* και *K. caucasica* όπου επικρατεί πλήρης ταύτιση μεταξύ μορφολογίας και μοριακού σημαντή. Οι πληθυσμοί των δύο ειδών εμφανίζονται πολύ στενά συνδεδεμένοι με αποτέλεσμα τόσο η μορφολογική όσο και η γενετική απόσταση να αποδίδεται στη χαμηλή ενδοειδική διαφοροποίηση. Όσον αφορά τις σχέσεις μεταξύ ειδών και σε αυτή την περίπτωση επικρατούν πολλές ομοιότητες μεταξύ μορφολογίας και μοριακής φυλογένεσης. Για παράδειγμα το είδος *K. panizzae* που με βάση τη μορφολογία του σώματος και τα μοριακά δεδομένα εμφανίζεται φυλογενετικά συγγενικότερο με τα είδη *E. pygmaeus* και *K. thessala*. Ενδεχομένως όσες απογονικές μορφές απομονώθηκαν απο τη προγονική βαθμιαία διαφοροποιήθηκαν προς διαφορετικά και διακριτά είδη.

Η σημερινή κατανομή των περισσότερων ειδών της ομάδας 'αμμογωβιοί' έχει διαμορφωθεί κυρίως από βικαριανιστικά φαινόμενα τα οποία οφείλονται στην περίπλοκη γεωλογική ιστορία της Μεσογειακής λεκάνης και ιδιαίτερα του Αιγαίου Πελάγους. Ο διαχωρισμός των ειδών όπως αποτυπώθηκε στους κύριους κλάδους των φυλογενετικών δένδρων, αντιστοιχεί σε γνωστές παλαιογεωγραφικά διαφορετικές περιοχές, οι οποίες χωρίζονται από μεγάλες σχετικά γενετικές αποστάσεις, δίνοντας την εικόνα ότι τα είδη εμφανίζουν σαφή φυλογεωγραφική δομή. Οι περιοχές αυτές είναι γνωστό από τη φυλογεωγραφία ότι διαχωρίστηκαν από θαλάσσια φράγματα σε διάφορες φάσεις από τη διάσπαση της ενιαίας ξηράς της Αιγαιίδας και η αλληλουχία αυτών των διαχωρισμών φαίνεται να ταιριάζει με τους αντίστοιχους διαχωρισμούς των κλάδων των 'αμμογωβιών'.

Η ομαδοποίηση των πληθυσμών υποδηλώνει ότι τα είδη της ομάδας 'αμμογωβιοί' ανήκουν σε τέσσερις φυλογενετικές σειρές: (α) τη φυλογενετική σειρά της Αδριατικής

(Ομάδα 1), (β) τη φυλογενετική σειρά του Ιονίου (Ομάδα 2), (γ) τη φυλογενετική σειρά της Θεσσαλίας (Ομάδα 3) και (δ) τη φυλογενετική σειρά του Αιγαίου (Ομάδα 4). Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι η παραπάνω διάκριση των πληθυσμών σε τέσσερις φυλογενετικές ομάδες είναι σε πλήρη αντιστοιχία με τις ιχθυογεωγραφικές ζώνες που αναγνωρίστηκαν από προηγούμενους ερευνητές (Economidis & Bănărescu 1991, Bănărescu 2004, Abell et al. 2008, Zogaris et al. 2009). Έτσι, η ομάδα 1 περιλαμβάνει λιμναία και ποτάμια συστήματα τα οποία σύμφωνα με τους παραπάνω ερευνητές ανήκουν στη ζώνη Νοτιο-Ανατολικής Αδριατικής, η ομάδα 2 περιλαμβάνει συστήματα της ζώνης Νοτιο-Δυτικής Ελλάδας, η ομάδα 3 αντιστοιχεί στη ζώνη Βορειο-Κεντρικής Ελλάδας και η ομάδα 4 στη ζώνη Βορειο-Ανατολικής Ελλάδας.

Συμπερασματικά λοιπόν τα είδη της ομάδας 'αμμογωβιοί' εποίκισαν και διασκορπίστηκαν στη Μεσόγειο κατά τη διάρκεια της 'κρίσης της αλατότητας' του Μεσσηνίου ('lago mare') και τις παγετώδεις περιόδους του Πλειστόκαινου σε δύο φάσεις εξάπλωσης:

- Τα είδη *E. pygmaeus, E. trichonis* και *K. panizzae* περιλαμβάνονται στις φυλογενετικές σειρές της Αδριατικής και του Ιονίου οι οποίες είναι στενά συνδεδεμένες με τα γεωλογικά γεγονότα τα οποία συνέβησαν κατά τη διάρκεια και μετά τη περίοδο του 'lago mare'. Η εξάτμιση της Μεσογειακής λεκάνης οδήγησε στον κατακερματισμό της σε μεγάλες εσωτερικές λίμνες και τον εποικισμό αυτών από είδη τα οποία αποσχίστηκαν από την προγονική μορφή των 'αμμογωβιών' (Economidis & Miller 1991, Ahnelt 1995, Huyse et al. 2004). Σύμφωνα με τους Miller (1990) και Economidis & Miller (1991) η απόσχιση του γένους *Economidichthys* από το Ποντο-Κασπικό γένος *Knipowitschia* ήταν αποτέλεσμα της 'κρίσης της αλατότητας' του Μεσσηνίου. Η διαφοροποίηση των ευρύαλων ειδών του γένους *Knipowitschia* συνέβη λίγο αργότερα στις αρχές του Άνω Πλειοκαίνου (5,3 εκατ. χρόνια πριν) με την μετάβασή τους σε λιμναία συστήματα εξαιτίας της υπερχείλισης της Μεσογείου. Η επακόλουθη πτώση της στάθμης της θάλασσας είχε ως αποτέλεσμα την απομόνωση των πληθυσμών και τη δημιουργία νέων ειδών (*K. panizzae, K. ephesi, K. mermere*) (Huyse et al. 2004, Ahnelt 2011).
- Τα υπόλοιπα είδη του γένους *Knipowitschia* εξαπλώθηκαν στη Μεσόγειο από τη Μαύρη Θάλασσα κατά το Πλειστόκαινο, όταν η αλατότητα ήταν αρκετά χαμηλή (Yanko-Hombach et al. 2007). Η μετανάστευση αυτή στο Αιγαίο πραγματοποιήθηκε με δύο τρόπους: (1) Ο εποικισμός της Βορειο-Κεντρικής

Ελλάδας από τα *Knipowitschia* έγινε δια μέσου 'σύλληψης ποταμών' ενός παραπόταμου του Αξιού που συνδεόταν αρχικά με ένα παραπόταμο του Morava του συστήματος του Δούναβη και έτσι με αυτόν το τρόπο πέρασαν οι πληθυσμοί στο ποτάμιο σύστημα του Πηνειού το οποίο οδήγησε στη δημιουργία του *K. thessala* (Economidis & Bănărescu, 1991, Durand et al. 1999b, Vanhove et al. 2012) και (2) Η κλιματική κατάσταση με τη διακύμανση της αλατότητας εξαιτίας των διαδοχικών εναλλαγών ψυχρών και θερμών περιόδων, τα βαθυμετρικά φαινόμενα και τα θαλάσσια ρεύματα που επικρατούσαν στη περιοχή του Αιγαίου συνετέλεσε στη διαφοροποίηση του *K. caucasica*. Παρόμοιο φυλογενετικό σενάριο στο οποίο διαδραμάτισαν σημαντικό ρόλο τα γεωλογικά γεγονότα του Πλειστοκαίνου έχει αναφερθεί και για τα είδη του γένους *Pomatoschistus*. Σύμφωνα με τους Stefanni & Thorley (2003) και Mejri et al. (2011) ο διαχωρισμός των πληθυσμών του *P. minutus* και *P. marmoratus* στην Ανατολική και Δυτική λεκάνη της Μεσογείου οφείλεται στη διακοπή επικοινωνίας τους εξαιτίας της ύπαρξης του Στενού Σικελίας-Τυνησίας και του ρόλου του ως φυσικό εμπόδιο της γονιδιακής ροής.

Περίληψη

Η ομάδα των ‘αμμογωβιών’ είναι μονοφυλετική και παρουσιάζει ιδιαίτερα πολύπλοκη εξελικτική πορεία. Η σημερινή κατανομή των περισσότερων ειδών της ομάδας ‘αμμογωβιοί’ έχει διαμορφωθεί τόσο από ιστορικούς βιογεωγραφικούς παράγοντες όσο και από τη σύγχρονη οικολογία και ηθολογία των υπό μελέτη οργανισμών. Μέχρι σήμερα υπάρχει περιορισμένος αριθμός μελετών για τις βιολογικές στρατηγικές και τη φυλογένεση των ενδημικών γωβιών στον ελλαδικό χώρο. Με βάση τα παραπάνω, η παρούσα έρευνα εξετάζει την οικολογία του ενδημικού είδους *Economidichthys pygmaeus* (όπως: ηλικία, αύξηση, αναπαραγωγή, διατροφή, αναπαραγωγική συμπεριφορά) καθώς και τις φυλογενετικές σχέσεις των ‘αμμογωβιών’ διαμέσου της μορφολογικής ποικιλομορφίας και του μοριακού δείκτη COI.

Από τον Οκτώβριο 2006 ώς τον Σεπτέμβριο 2007 μετρήθηκαν σε μηνιαία βάση στο σταθμό 1 (Πέραμα) στη λίμνη Παμβώτιδα οι σημαντικότεροι Φ/Χ παράγοντες του νερού (θερμοκρασία, διαλυμένο οξυγόνο, pH, αγωγιμότητα, νιτρώδη, νιτρικά, αμμωνία και ορθοφωσφορικά). Όλες οι παράμετροι παρουσίασαν έντονη εποχική διακύμανση.

Συλλέχθηκαν συνολικά 1.698 άτομα του είδους *E. pygmaeus* από τα οποία 356 ήταν αρσενικά, 480 θηλυκά ενώ 862 ήταν ανώριμα. Ο προσδιορισμός της ηλικίας έγινε διαμέσου των συχνοτήτων κατανομής μήκους και έδωσε δύο ηλικιακές κλάσεις. Τα δεδομένα έδειξαν ότι τα αρσενικά φτάνουν σε μεγαλύτερο μήκος από τα θηλυκά, ενώ η είσοδο των νεαρών ατόμων πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου. Το είδος εμφάνισε φυλετικό διμορφισμό ως προς το μέγεθος του ουραίου πτερυγίου. Το γεγονός αποδίδεται στη διαφορετική αναπαραγωγική συμπεριφορά που ακολουθεί το αρσενικό: κυρίως όσον αφορά το χωρικό ανταγωνισμό με τα άλλα αρσενικά και την ερωτοτροπία/πατρική γονική φροντίδα.

Τα αρσενικά παρουσίαζαν υψηλότερο ρυθμό αύξησης από τα θηλυκά. Οι παράμετροι αύξησης που υπολογίστηκαν από το μοντέλο Von Bertalanffy ήταν L_∞=56,18 mm και K=0,20 έτος^{-1} για τα αρσενικά, L_∞=46,73 mm και K=0,18 έτος^{-1} για τα θηλυκά και L_∞=56,18 mm και K=0,13 έτος^{-1} για το σύνολο του πληθυσμού. Το ίδιο πρότυπο αύξησης αντανακλάται και στο δείκτη αύξησης (φ΄) με τα αρσενικά (2,8) να υπερέχουν των θηλυκών (2,6).

Υψηλές συσχετίσεις βρέθηκαν ανάμεσα στις σχέσεις ολικού μήκους (TL)-ολικού βάρους (TW), αν και οι κλίσεις των παλινδρομήσεων δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά

μεταξύ των δύο φύλων. Η αύξηση του λουρογωβιού ήταν θετικά αλλομετρική αφού οι κλίσεις των παλινδρομήσεων ολικού μήκους-ολικού βάρους ήταν μεγαλύτερες από την τιμή 3 και για τα δύο φύλα. Από τον υπολογισμό του δείκτη ευρωστίας διαπιστώθηκε ότι οι τιμές των αρσενικών ήταν μεγαλύτερες από αυτές των θηλυκών. Η παρατήρηση αυτή οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα αρσενικά διατηρούνται σε καλύτερη σωματική κατάσταση για να προετοιμάσουν τη φωλιά και να προστατέψουν τα αβγά τους. Η συσχέτιση των αβιοτικών παραγόντων με το συντελεστή ευρωστίας υπογράμμισε τη θετική επίδραση της θερμοκρασίας στην αύξηση και την αρνητική επίδραση των θρεπτικών αλάτων.

Η συνολική αναλογία φύλων διέφερε στατιστικά από τη θεωρητική τιμή 1:1, ενώ παρατηρήθηκαν εποχικές μεταβολές της αναλογίας φύλων. Η επικράτηση των θηλυκών, ιδίως στην αναπαραγωγική περίοδο, είναι αποτέλεσμα της γονικής φροντίδας που επιδεικνύουν τα αρσενικά. Το μήκος της πρώτης γεννητικής ωρίμασης (ML_{50}) βρέθηκε στα 23,54 mm και 23,28 mm για τα αρσενικά και θηλυκά αντίστοιχα. Η αναπαραγωγική περίοδος του *E. pygmaeus* στη λίμνη Παμβώτιδα διαρκεί από το Μάρτιο και ολοκληρώνεται το Μάιο. Η εκτίμηση της τιμής του γοναδοσωματικού δείκτη αποκάλυψε ότι το βάρος των γονάδων παρουσίασε μέγιστο το Μάρτιο 2007 για τα αρσενικά και τα θηλυκά. Αντίθετα, αυξημένη τιμή του HSI καταγράφηκε το Σεπτέμβριο 2007 για τα αρσενικά και τον Ιούνιο 2007 για τα θηλυκά. Το *E. pygmaeus* εμφάνισε τμηματική ωοτοκία με δύο τουλάχιστον αποθέσεις. Η απόλυτη γονιμότητα κυμάνθηκε από 59 μέχρι 309, με μέση τιμή 136 αβγά/άτομο. Η μέση διάμετρος των ωοκυττάρων ήταν 0,97 mm και κυμάνθηκε από 0,76 ώς 1,3 mm. Η γονιμότητα του γωβιού φάνηκε να αυξάνει με το μήκος και το βάρος (ολικό, καθαρό) των ατόμων.

Η μελέτη της διατροφής έδειξε ότι η τροφική δραστηριότητα είναι έντονη όλη τη περίοδο του έτους με τα μεγάλα άτομα να παρουσιάζουν τους χαμηλότερους δείκτες κενότητας. Το *E. pygmaeu*s είναι ένα παμφάγο είδος που θηρεύει κυρίως κωπήποδα και προνύμφες χειρονομίδων. Μικρότερη συμμετοχή φαίνεται να έχουν τα κλαδόκερα, γαστερόποδα και τα έντομα. Η σύνθεση της δίαιτας παρουσίασε μεταβολές σε σχέση με την εποχή καθώς και με το μέγεθος του ψαριού. Δεν παρατηρήθηκαν ουσιαστικές εποχικές αλλαγές ως προς τις ομάδες λείας που καταναλώνει ο λουρογωβιός, αλλά αντίθετα, η επικράτηση κάποιων ομάδων λείας διαφοροποιούνταν ανάλογα με την εποχή. Κατά την αναπαραγωγική περίοδο το διατροφικό φάσμα των μεγάλων αρσενικών (>30 mm) εμφανίζεται περιορισμένο εξαιτίας καθηκόντων, όπως η υπεράσπιση του χώρου επικράτειάς του και η φύλαξη των αβγών. Μεταξύ των οντογενετικών σταδίων

παρατηρήθηκε μεταβολή των διατροφικών συνθηκών του ψαριού με τα μεγαλύτερα σε μήκος άτομα να καταναλώνουν λείες μεγαλύτερου μεγέθους όπως έντομα και μεγαλόσωμα κλαδόκερα. Η διατροφική στρατηγική του είδους δείχνει εξειδίκευση σε κωπήποδα και χειρονομίδες, ενώ σποραδικά καταναλώνονται άλλες ομάδες λειών (κλαδόκερα, έντομα γαστερόποδα). Η διερεύνηση του ημερήσιου διατροφικού κύκλου του *E. pygmaeus* αποκάλυψε την προτίμησή του να τρέφεται κυρίως τη νύχτα και τις πρώτες πρωινές ώρες. Το γεγονός αποδίδεται στην κρυπτική συμπεριφορά που εκδηλώνει ο λουρογωβιός.

Στο πλαίσιο της μελέτης της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς καταγράφηκε η απουσία ήχων μεταξύ των αλληλεπιδράσεων των αρσενικών ατόμων του *E. pygmaeus* και κατά τις φάσεις της ερωτοτροπίας και ωοτοκίας. Η παραγωγή ήχων από τα υπόλοιπα μέλη της ομάδας 'αμμογωβιοί' υποδηλώνει ότι ο ήχος είναι ένα προγονικό χαρακτηριστικό που χάθηκε δευτερογενώς για το *E. pygmaeus*. Η ανάλυση του ηθογράμματος αποκάλυψε ομοιότητες όσον αφορά την αναπαραγωγική συμπεριφορά του *E. pygmaeus* με τα άλλα είδη γωβιών, αλλά και διαφορές που σχετίζονται με τις απώλειες δραστηριοτήτων, όπως η κατασκευή της φωλιάς και το σκάψιμο.

Η εφαρμογή της μορφομετρικής ανάλυσης έγινε με τη μέτρηση των μεριστικών χαρακτήρων και 33 μορφομετρικών μεταβλητών. Υπήρξε επικάλυψη μεταξύ των τιμών των μεριστικών χαρακτήρων για τους περισσότερους πληθυσμούς των δειγμάτων με τα είδη *E. pygmaeus* και *P. marmoratus* να διαφέρουν και να δίνουν τις μεγαλύτερες τιμές. Η ανάλυση των κύριων συνιστωσών (Principal Component Analysis) έδειξε πως τα είδη διαφέρουν ανάλογα με το μήκος του 1^{ου} ραχιαίου και του εδρικού πτερυγίου και του μεγέθους της κεφαλής. Η διαχωριστική ανάλυση (Discriminant Analysis) υποστήριξε τη σαφή διάκριση των ειδών της ομάδας 'αμμογωβιοί', τα οποία διαχωρίστηκαν με πολύ υψηλά ποσοστά με βάση το σχήμα της κεφαλής, την απόσταση των 2 ραχιαίων πτερυγίων και το πλάτος του ουραίου μίσχου. Σε ότι αφορά στην ύπαρξη κάποιου γεωγραφικού πρότυπου που να χαρακτηρίζει τις σχέσεις των πληθυσμών, κάτι τέτοιο είναι εμφανές στην ανάλυση συστοιχιών (Cluster Analysis).

Από το σύνολο των 87 ατόμων των 'αμμογωβιών' των οποίων προσδιορίστηκε η πρωτοταγής αλληλουχία για το μιτοχονδριακό τόπο COI προέκυψαν 47 διαφορετικοί απλότυποι. Είναι ενδεικτικό ότι οι περισσότεροι πληθυσμοί περιλαμβάνουν μοναδικούς απλότυπους. Προσδιορίστηκαν 8 απλότυποι για το *E. pygmaeus* και 1 απλότουπος *E. trichonis* μετά από ανάλυση 23 δειγμάτων του γένους *Economidichthys*, 20 απλότυποι για

το *K. caucasica*., 1 απλότυπος για το *K. milleri*, 3 απλότυποι για το *K. thessala* και 4 απλότυποι για το *K. panizzae* ύστερα από την ανάλυση 52 δειγμάτων του γένους *Knipowitschia* και 4 απλότυποι του *P. minutus,* 3 απλότυποι *P. canestrinii* και 3 απλότυποι του *P. marmoratus* μετά από ανάλυση 12 αλληλουχιών του γένους *Pomatoschistus* προσδιορίστηκαν.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εφαρμογή των φυλογενετικών μεθόδων επιβεβαίωσαν τη συστηματική κατάταξη του γένους *Economidichthys* με την ομαδοποίηση των *E. pygmaeus* και *E. trichonis*. Ο διαχωρισμός των πληθυσμών του *K. caucasica* από το Ιόνιο Πέλαγος με την ενσωμάτωση του *K. milleri* από τα δείγματα του *K. caucasica* από το Αιγαίο Πέλαγος αναδεικνύει το πρόβλημα παραφυλετικότητας. Φαίνεται ότι οι πληθυσμοί του *Knipowitschia* εποίκισαν τον ελλαδικό χώρο και διασκορπίστηκαν σε αυτόν κατά τη διάρκεια της περιόδου του Πλειστοκαίνου με τρεις τουλάχιστον τρόπους (α) χαμηλή αλατότητα του Ιονίου και Αιγαίου Πελάγους, (β) μεταβολές της στάθμης της Θάλασσας και (γ) 'συλλήψεις' ποτάμιων συστημάτων. Τέλος, για το γένος *Pomatoschistus* υποδεικνύεται η ύπαρξη τριών μονοφυλετικών κλάδων που αντιστοιχούν στα είδη *P. minutus, P. marmoratus* και *P canestrinii*. Η διαφοροποίηση που παρατηρήθηκε μεταξύ των δειγμάτων της Δυτικής και Ανατολικής Μεσογειακής λεκάνης είναι αποτέλεσμα των ιδιαίτερων υδρογεωλογικών χαρακτηριστικών και των κλιματικών συνθηκών που επικρατούσαν κατά το Πλειστόκαινο.

Abstract

'Sand gobies' constitute a monophyletic group that have a complex evolutionary history. Modern distribution patterns of most sand goby species have been shaped by historical biogeographic factors as well as from contemporary ecologies and behaviors of the studied taxa. Until now, there are a limited number of studies about life-history strategies and the phylogenetic studies of endemic gobies in Greece. Based on the above considerations, the present doctorate thesis investigates the ecology of the endemic *Economidichthys pygmaeus* (age, growth, reproduction, diet, and reproductive behavior) and the phylogenetic relationships of 'sand gobies' through morphometric variability and the use of molecular marker COI.

Temperature, dissolved oxygen, pH, conductivity, nitrites, nitrates, ammonia and orthophosphates were monitored monthly from October 2006 to September 2007, in Perama station, lake Pamvotis, Greece. A strong seasonal fluctuation of all parameters was observed.

A total of 1.698 specimens of *E. pygmaeus* were captured of which 356 were males, 480 were females and 862 were immature individuals. Length frequency distribution was used for age determination and showed two age-groups. Our data indicated that males reached higher length than females while juveniles made their appearance within the reproductive period. Furthermore, the species showed sexual dimorphism in relation to length of caudal fin. This fact is attributed to the different reproductive behavior of the males: territoriality between male-male competition and courtship between paternal care.

The males exhibited a greater growth than the females. The growth parameters that were calculated from the von Bertalanffy model were L_∞=56,18 mm and K=0,200 year^{-1} for males, L_∞=46,73 mm and K=0,180 year^{-1} for females, and L_∞=56,18 mm and K=0,130 year^{-1} for the total of individuals. The growth index (φ′) revealed the same growth pattern with males (2,8) to dominate over females (2,6).

Higher correlations were obtained between total length (TL) and total weight (TW), whether the slopes of regressions were not significantly different between the sexes. The growth of the goby was positively alloemetric since the slopes of total length-total weight regressions were greater than value 3 for both sexes. The condition's factor calculation found male values to be greater than the female ones. This observation suggests that males were in better physical condition in order to prepare their nest and to protect their eggs.

The correlation of abiotic factors to the condition factor underlined the positive effect of temperature on growth and the negative effect of nutrients.

The total sex ratio differed significantly from the theoretical value 1:1, while seasonal alterations were observed in the sex ratios. The dominance of females, especially in the reproductive period, is a result of parental care displayed by males. Length at first maturity was estimated at 23,54 mm and 23,28 mm for males and females respectively. The spawning period of *E. pygmaeus* in lake Pamvotis began in March and ended in May. The estimation of the gonadosomatic index revealed that the gonad weight peaked in March 2007 both for males and females. On the contrary, the high value of the HSI recorded for males was in September 2007 and for females was in June 2007. *E. pygmaeus* appeared to be a multiple spawner showing at least two batches of eggs. The absolute fecundity varied between 59 to 309, with an average of 136 eggs per female. Mean diameter of oocytes were 0,97 mm and varied between 0,76 to 1,3 mm. Fecundity appeared to grow with total length and weight (total/net) of individuals.

Feeding activity appeared to be intensely high during the sampling period while large individuals showed higher values of vacuity index. *E. pygmaeus* is an omnivorous fish which preys on copepods and chironomidae larvae. Cladocerans, gastropods and insects had less participation on diet. The diet composition changed with season and body size. There was no noticeable seasonal variation in the dietary composition of the investigated goby when the major prey taxa were taken into consideration, but the contribution of prey items exhibited significant seasonal changes. During the reproductive season, large males (>30 mm) showed a narrow food spectrum reflecting the different activity pattern like territoriality and guarding of the eggs. Considering the diet of the ontogenetic stages, a differentiation of feeding habits was observed with large individuals consuming large sized prey such as insects and large cladocerans. According to the feeding strategy, *E. pygmaeus* can be considered as specialist with preferences on copepods and chirnomids while the other prey groups are eaten sporadically. The investigation of the diet cycle revealed that *E. pygmaeus* foraged chiefly at night and in the early morning hours. This fact is attributed to the cryptic behavior displayed by the species.

Under the frame of reproductive behavior, the lack of sound production was recorded between the male-male interactions of *E. pygmaeus* and during the courtship and spawning phases. The sound production from the rest of the ‘sand gobies’ implied that sound is an ancestral trait which *E. pygmaeus* lost secondarily. The ethogram analysis revealed

similarities of the reproductive behavior of *E. pygmaeus* with the other gobies but also differences which are related to the loss of activities like nest-building and digging.

The morphometric analysis was performed on meristic characters and on 33 morphometric variables. There was an overlap in meristic characters for most of the populations, despite whereas *E. pygmaeus* and *P. marmoratus* differed and showed the highest values. Principal Component Analysis (PCA) demonstrated a difference in length of first dorsal and anal fin and the size of the head among species. Discriminant Analysis (DA) supported a clear discrimination of 'sand gobies' which separated with high percentages based on the shape of the head, the distance between the two dorsal fins and the width of the caudal peduncle. As for the geographic pattern that characterizes the relationship of populations, the outcome is evident in the Cluster Analysis (CA).

The sequence of a segment of the COI gene of mtDNA determined by 87 'sand gobies' individuals revealed 47 different haplotypes. It is indicated that most populations include unique haplotypes. The sequence analysis revealed 8 haplotypes of *E. pygmaeus* and 1 haplotype of *E. trichonis* in total after the analysis of 23 individuals of genus *Economidichthys*, 20 haplotypes of *K. caucasica*, 1 haplotype of *K. milleri*, 3 haplotypes of *K. thessala* and 4 haplotypes of *K. panizzae* in total after the analysis of 52 individuals of genus *Knipowitschia* and 4 haplotypes of *P. minutus,* 3 haplotypes of *P. canestrinii* and 3 haplotypes of *P. marmoratus* in total after the analysis of 12 individuals of genus *Pomatoschistus*.

The results showed that these phylogenetic methods agree with the systematic classification of genus *Economidichthys* through the clustering of *E. pygmaeus* and *E. trichonis*. The split-up of *K. caucasica* populations from the Ionian Sea including *K. milleri* with the *K. caucasica* populations from the Aegean Sea demonstrate the paraphyletic problem. It appears that *Knipowitschia* populations colonized Greece and dispersed throughout the area by three ways: a) low salinity of the Aegean and the Ionian Seas, b) fluctuations of the sea level and c) the river captures. Finally, the genus *Pomatoschistus* is divided into three monophyletic clades corresponding to the species *P. minutus, P. marmoratus* and *P canestrinii.* The differentiation between the samples of the western and the eastern Mediterranean basin is a result of the special hydrogeologic characteristics and climatic conditions that existed during the Pleistocene.

Ελληνική Βιβλιογραφία

Αναστασιάδου, Χ., 2010. Βιονομική μελέτη της γαρίδας *Atyaephyra desmarestii* (Millet, 1831) *s. l.* (Decapoda, Crustacea) με έμφαση στη δυναμική πληθυσμών του είδους. Διδακτορική διατριβή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 195 σελ.

Κάγκαλου, Ιφ., 1990. Μελέτη των σχέσεων μεταξύ των φυσικοχημικών παραγόντων υγειονομικού ελέγχου και της ολικής μικροβιακής χλωρίδας υδάτινων οικοσυστημάτων – Εφαρμογή στη λίμνη Παμβώτιδα, Διδακτορική Διατριβή, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, 165 σελ.

Κωνσταντινίδης, Σ., 2005. Οικολογική έρευνα της λίμνης Παμβώτιδας: Διερεύνηση των σχέσεων της οικολογικής ποιότητας των υδάτων και της υδρόβιας βλάστησης. Μεταπτυχιακή διατριβή, Πανεπιστήμιο Πάτρας, 136 σελ.

Λεονάρδος, Ι. 1996. Δυναμική πληθυσμών της Ζαμπαρόλας (*Aphanius fasciatus* Nardo, 1827) στις λιμνοθάλασσες Μεσολογγίου και Αιτωλικού, ΑΠΘ, 198 σελ.

Λεγάκις, Α. & Μαραγκού, Π. 2009. Το Κόκκινο Βιβλίο των Απειλούμενων Ζώων της Ελλάδας. Ελληνική Ζωολογική Εταιρεία, Αθήνα, 528 σελ.

Νταουλάς, Χ., Οικονόμου, Α.Ν., Παπαδάκης, Β. & Λεονάρδος, Ι., 2001. Γεωγραφική κατανομή του λουρογωβιού (Economidichthys pygmaeus) στην Αιτωλοακαρνανία και Ήπειρο. Κίνδυνοι και πληθυσμιακή κατάσταση. Παρουσίαση σε Poster. Πρακτικά 10ου Πανελλήνιου Συνεδρίου Ιχθυολόγων, Χανιά, 18-20 Οκτωβρίου, 341-342 σελ.

Οικονομιδης, Π.Σ., 1973. Κατάλογος των ιχθύων της Ελλάδος. Ελληνική Ωκεανολογία και Λιμνολογία, Πρακτικά του Ινστιτούτου Ωκεαν. και Αλιευτ. Ερευνών 11, 421-598 σελ.

Οικονομίδης, Π.Σ., 1974. Μορφολογική, συστηματική και ζωογεωγραφική μελέτη των ιχθύων των γλυκέων υδάτων της Α. Μακεδονίας και Δ. Θράκης. Διδακτορική Διατριβή, ΑΠΘ, 179 σελ.

Οικονομίδης, Π.Σ., 1992. Ο Νανογωβιός και η παρέα του. Μέρος Β΄. Η φύση 58**,** 4-9.

Οικονομίδης, Π.Σ., 2009. Ψάρια εσωτερικών υδάτων. 86-159 σελ. *In*: Λεγάκις, Α. & Μαραγκού, Π., (eds.), Το Κόκκινο Βιβλίο των Απειλούμενων Ζώων της Ελλάδας. Επιμέλεια. Ελληνική Ζωολογική Εταιρεία, Αθήνα, 528 σελ.

Οικονόμου, Α.Ν., Μπαρμπιέρι, Ρ., Νταουλάς, Χ., Ψαρράς, Θ., Στουμπούδη, Μ., Μπερταχάς, Η., Γιακουμή, Σ. & Πατσιάς, Α., 1999. Απειλούμενα ενδημικά είδη ψαριών του γλυκού νερού της Δυτικής Ελάδας και Πελοποννήσου – κατανομή, αφθονία, κίνδυνοι και μέτρα προστασίας ΕΚΘΕ (πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ), 341 σελ. και 4 παραρτήματα.

Οικονόμου, Α.Ν., Μπαρμπιέρι, Ρ., Γιακουμή, Σ., Νταουλάς, Χ. & Στουμπούδη, Μ., 2001. Η ιχθυοπανίδα της λεκάνης απορροής του Αχελώου. Πρακτικά 10^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Ιχθυολόγων, Χανιά, 18-20 Οκτωβρίου, 261-264 σελ.

Παναγιωτόπουλος, Π., 1916. Έκθεσις περί του Υδροβιολογικού Σταθμού. Έκδοσις Υπουργείου Εθνική Οικονομίας, Αθήναι, 559-586 σελ.

Σαρίκα-Χαζηνικολάου, Μ., 1999. Χλωριδική και φυτοκοινωνική έρευνα υδάτινων οικοσυστημάτων της Ηπείρου. Διδακτορική διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 497 σελ.

Στεφανίδης, Α., 1939. Ιχθύες των γλυκέων υδάτων της Δυτικής Ελλάδος και της νήσου Κερκύρας. Διδακτορική διατριβή, Αθήνα, 44 σελ.

Διεθνής Βιβλιογραφία

Abell, R., Thieme, M.L., Revenga, C., Bryer M., Kottelat M., Bogutskaya, N., Coad, B., Mandrak, N., Contreras Balderas, S., Bussing, W., Stiassny, M.L.J., Skelton, P., Allen, G.R., Unmack, P., Naseka, A., Ng, R., Sindorf, N., Robertson, J., Armijo, E., Higgins, J.V., Heibel, T.J., Wikramanayake, E., Olson, D., López, H.L., Reis, R.E., Lundberg, J.G., Sabaj Pérez M.H. & Petry, P., 2008. Freshwater Ecoregions of the World: A new map of biogeographic units for freshwater biodiversity conservation. *BioScience*, 58: 403–413.

Adriens, D., Decleyre, D., & Verraes, W., 1993. Morphology of the pectoral girdle in *Pomatoschistus lozanoi* De Buen, 1923 (Gobiidae), in relation to pectoral fin adduction. *Belg. J. Zool.,* 123: 135–157.

Afzelius, B.A., 1956. Seitenorgane und Schleimkanalknochen bei *Periophtalmus kolreuteri* und *Gobius minutus*. *Zeitschr. Anat. Entwickl*., 119: 470-484.

Agostini, V.N., & Bakun, A., 2002. "Ocean triads" in the Mediterranean Sea: physical mechanisms potentially structuring reproductive habitat suitability (example application to European anchovy, *Engraulis encrasicolus*). *Fisheries Oceanogr*., 11: 129–142.

Ahnelt H., 1991. A new species of *Knipowitschia* (Teleostei: Gobiidae) from Corfu, Western Greece. *Ichthyol. Explor. Freshw*., 2: 265-272.

Ahnelt, H., 1995. Two new species of *Knipowitschia* Iljin, 1927 from Western Anatolia (Turkey). *Mitt. Hamb. Zool Mus. Inst.,* 92: 155–168.

Ahnelt, H., 2011. Two new sympatric *Knipowitschia* species (Teleostei: Gobiidae) from an eastern Mediterranean coastal lake – examples of different dispersal patterns? *Zootaxa*, 3114: 22-30.

Ahnelt, H. & Bianco, P.G., 1990. *Orsinigobius milleri* n. sp., a new species of fresh water goby from W-Greece (Pisces: Gobiidae). *Ann. Naturhist. Mus. Wien*, 91 B: 1-6.

Ahnelt, H., Bianco, P.G., & Schwammer, H. 1995. Systematics and zoogeography of *Knipowitschia caucasica* (Teleostei: Gobiidae) based on new records from the Aegean Anatolian area. *Ichtyol. Explor. Freshwat.,* 6: 49-60.

Akihito, Iwata, A., Ikeo, K., Imanishi, T., Ono, H., Umehara, Y., Hamamatsu, C., Sugiyama K., Ikeda, Y., Sakamoto, K., Fumihito, A., Ohno, S. & Gojobori, T., 2000. Evolutionary aspects of gobioid fishes based on a phylogenetic analysis of mitochondrial cytochrome *b* genes. *Gene,* 259: 5-15.

Albrecht, G. H., 1980. Multivariate analysis and the study of form with special reference to Canonical Variate Analysis. *Amer. Zool.*, 20: 679-693.

Amorim, M.C.P., & Neves, A.S.M., 2007. Acoustic signalling during courtship in the painted goby *Pomatoschistus pictus*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.,* 87: 1017–1023.

Amorim, M.C.P., Knight, M.E., Stratoudakis, Y. & Turner, G.F., 2004. Differences in sounds made by courting males of three closely related Lake Malawi cichlid species. *J. Fish Biol.,* 65: 1358–1371.

Amundsen, P. A, Gabler, H. M., & Staldvik, F. J., 1996. A new approach to graphical analysis of feeding strategy from stomach contents data – modification of the Costello (1990) method. *J. Fish Biol.,* 48: 607– 614.

Anagnostidis, K. & Economou-Amilli, A., 1980. Limnological studies on Lake Pamvotis (Ioannina) ,Greece. *Arch. Hydrobiol.,* 89: 313-342.

Anderson R.O. & Gutreuter, S.J., 1983. Length, weight, and associated structural indices. pp. 28-300. *In*: (Nielsen, L.A. & Johnson, D.L. (eds.), Fisheries Techniques. The American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.

Andersson, M., 1994. Sexual selection. Princeton Univ. Press, Princeton, 599 pp.
Antonopoulos, A., Kagalou, I., Michaloudi, E. & Leonardos, I. 2008. Limnological features of a shallow eutrophic lake (Lake Pamvotis, Greece) with emphasis on zooplankton community structure. *Oceanol. Hydrobiol. Stud.,* 37: 7–20.
APHA, 2002. Standard Methods for the Examination of Dairy Products: American Public Health Association, 16th edn, Washington DC, 1268 pp.
Apostolidis, A.P., Triantaphyllidism C., Kouvatsim A, & Economidis, P.S. 1997. Mitochondrial DNA sequence variation and plylogeography among *Salmo trutta* L. (Greek brown trout) populations. *Mol. Ecol.,* 6: 531-542.
Apostolou, A., Ivanova, P., Velkov, B., DoBrev, D., Vassilev, M. & Dobrovolov, I., 2011. *Pomatoschistus marmoratus* (Risso 1810), is it really a 'new' species for Bulgarian ichthyofauna? *Acta Zool. Bulg*., 63: 289-294.
Athanassopoulos, G., 1917. Qulques elements de recherches hydrobiologiques en Grece. 3. Designation de certaines especes de poisons. 2. Poissons d'eau douce. *Bull. Hydrobiol. Station (Greece),* 1: 24–25.
Aurich, H.J. 1939. Die Gobiiden. *Int. Rev. Hydrobiol.*, 38: 125-183.
Avise, J., 2000. Phylogeography: The History and Formation of Species. President and Fellows of Harvard College, 464 pp.
Bagenal T. B. 1974. Ageing of Fish, Surrey: Unwin Brothers, Surrrey, UK.
Bagenal, T.B. & Braum, E., 1978. Eggs and early life history. pp. 165–201. *In*: Bagenal, T.B. (ed.), Methods for Assessment of Fish Production in Freshwaters, IBP Handbook no. 3. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
Bagenal T. B. & F. W. Tesch. 1978. Age and growth. pp. 101-136. *In*: Bagenal, T.B. (ed.), Methods for Assessment of Fish Production in FreshWater. 3rd edn. IBP Handbook No 3. Blackwell Scientific Publications.
Bahri-Sfar, L., Lemaire, C., Ben Hassine, O.K., Bonhomme, F., 2000. Fragmentation of sea bass populations in the western and eastern Mediterranean as revealed by microsatellite polymorphism. *P. Roy. Soc. Lond. B Bio.,* 267: 929–935.
Baimov, U., 1961. On the specific composition and abundance of gobies in the Aral Sea. *Vest. Karakalpak. Fil. Akad. Nauk Uzbek. SSR*, 3: 13 (in Russian).
Baker, R.H. & DeSalle, R., 1997. Multiple Sources of Character Information and the Phylogeny of Hawaiian Drosophilids. *Syst. Biol.,* 46: 654-673.
Balon, E.K., 1983. Epigenetic mechanisms: reflections on evolutionary processes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.,* 40: 2045-2058.
Balon, E.K., 1990. Epigenesis of an epigeneticist: the development of some alternative concepts on the early ontogeny and evolution of fishes. *Guelph Ichthyol. Rev.,* 1: 1–42.
Bass, A.H. & McKibben, J.R., 2003. Neural mechanisms and behaviors for acoustic communication in teleost fish. *Prog. Neurobiol.,* 69:1–26.
Bănărescu, P. M., 2004. Distribution pattern of the aquatic fauna of the Balkan Peninsula. pp. 203–219. *In*: Griffith, H. I., Krzštufek, B. & Reed J. M. (eds), Balkan Biodiversity Pattern and Process in the European Hotspot. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.
Beamish, R.J. & McFarlane, G.A., 1987. Current trends in age determination methodology. pp. 15-42. *In*: Summerfelt, R.C. & Hall, G.A. (eds), Age and growth of fish. Iowa State, University Press, Iowa.
Beerli, P., Hotz, H. & Uzzell, T., 1996. Geologically dated sea barriers calibrate a protein clock for Aegean water frogs. *Evolution,* 50: 1676-1687.

Bence, J.R. & Murdoch, W.W., 1986. Prey size selection by the mosquitofish: Relation to optimal diet theory. *Ecology,* 67: 324-336.

Bengston, L. 1975. Phosphorus release from a highly eutrophic lake sediment. *Verh. Int. Ver. Limnol.* 19: 1107-1116.

Berg, L.S. 1965. Freshwater Fishes of the USSR and Adjacent Countries. Vol. 3, 4th edn, Israel Program for Scientific Translations Ltd., Jerusalem (Russian Version Published 1949), 510 pp.

Berg, J., 1979. Discussion of methods of investigating the food of fishes with reference to a preliminary study of the prey of *Gobiusculus flavescens* (Gobiidae). *Mar. Biol.,* 50: 263-273.

Bergmann, G.T. & Motta, P.J., 2005. Diet and morphology through ontogeny of the nonidigenous Mayan cichlid *Cichlasoma* (Nandopsis) *urophthalmus* (Gunther 1862) in southern Florida. *Environ. Biol. Fish,* 72: 205–211.

Bertalanffy, L. von, 1934. Untersuchungen über die Gesetzlichkeit des Wachstums. I. Allgemeine Grundlagen der Theorie; mathematische und physiologische Gesetzlichkeiten des Wachstums bei Wassertieren. *Arch. Entwicklungsmech.*, 131: 613-652.

Bertalanffy, L. von, 1938. A quantitative theory of organic growth (Inquiries on growth laws. II). *Hum. Biol.*, 10: 181-213.

Beverton, R.J.H., 1963. Maturation, growth and mortality of clupeid and engraulid stocks in relation to fishing. *Rapp. P.-V. Réun. CIEM,* 154: 44-67.

Bhattacharya, C.G., 1967. A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. *Biometrics*, 23: 115-135.

Bianchi, N.C. & Morri, C., 2000. Marine biodiversity of the Mediterranean Sea: situation, problems and prospects for future research. *Mar. Pollut. Bull.,* 40: 367–376.

Bianco, P.G., 1990. Potential role of the paleohistory of the Mediterranean and Paratethys basins on the early dispersal of Euro-Mediterranean freshwater fishes. *Ichthyol. Explor. Freshw.*, 1: 167–184.

Bianco, P.G., & Miller, P.J., 1990. Yugoslavian and other records of the Italian freshwater goby, Padogobius martensii, and a character polarization in gobioid fishes. *J. Nat. Hist.,* 24: 1289–1302.

Bisazza, A. & Marin, G., 1991 Male size and female mate choice in the eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*: Poeciliidae). *Copeia,* 3: 730-735.

Bisazza, A., Marconato, A. & Marin, G. 1989 Male competition and female choice in Padogobius martensi (Pisces, Gobiidae). Anim. Behav. 38, 406-413.

Bo, T., López-Rodriguez, M.J., Fenoglio, S., Cammarata, M. & Tierno de Figueroa, J.M., 2010. Feeding habits of *Padogobius bonelli* (Osteichthyes, Gobiidae) in the Curone creek (northwest Italy): territoriality influences diet? *J. Freshwater Ecol.,* 25: 367-371.

Bobbio, L., Gandolfi, G., Lugli, M. & Torricelli, P., 1990. Analisi eco-etologica del successo riproduttivo del maschio di ghiozzo padano, *Padogobius martensii* (Pisces, Gobiidae). *Boll. Mus. Reg. Sci. Nat. Torino* 7: 423–426.

Bogutskaya, N.G., & Zupančič, P., 2003. *Phoxinellus pseudalepidotus* (Teleostei: Cyprinidae), a new species from the Neretva basin with an overview of the morphology of *Phoxinellus* species of Croatia and Bosnia-Herzegovina. *Ichthyol. Explor. Freshw.*, 14: 369–383.

Bohl, E., 1982. Food Supply and Prey Selection in Planktivorous Cyprinidae. *Oecologia,* 53: 134-138.

Bojsen, B.H., 2005. Diet and condition of three fish species (Characidae) of the Andean foothills in relation to deforestation. *Environ. Biol. Fish*, 73: 61-73.

Bolger, T., & Connolly, P.L., 1989. The selection of suitable indices for measurement and analysis of fish condition. *J. Fish Biol.,* 34: 171-182.

Bookstein, F., Chernoff, B., Elder, R., Humphries, J., Smith, G. & Strauss, R., 1985. Morphometrics in evolutionary biology. The Academy of Natural Sciences of Philadelphia, Philadelphia, 277 pp.

Borek, K.W., & Sapota, M.R., 2005. Breeding characteristics of the sand goby (*Pomatoschistus minutus*) one of the most abundant goby species in the coastal waters of the Gulf of Gdansla region (Southern Baltic Sea). *Oceanol. Hydrobiol. Stud.,* 34: 47-55.

Bouchereau, J.L., Joyeux, J.L., Tomasini, J.A. & Quignard, J.P., 1989. Cycle sexuel, fécondités et condition de *Pomatoschistus microps* (Krojer, 1838) (Gobiidés) dans la lagune de Mauguio. *Bull. Ecol.,* 20: 193–202.

Bouchereau, J.L., Quignard, J.P., Tomasini, J.L., Joyeux, J.L. & Capape, C., 1990. Cycle sexuel, condition, fécondité et ponte de *Pomatoschistus minutus* (Pallas, 1770) (Gobiidae) du Golfe du Lion, France. *Cybium,* 14: 251–267.

Bouchereau, J.L., 2002. First data on the demography and growth of *Millerigobius macrocephalus* (Kolombatović, 1891) (Teleostei; Gobiidae), in Corsica (France). *Acta Adriat.*, 43: 77-85.

Bouchereau, J.L. & Guelorget, O., 1998. Comparison of three Gobiidae (Teleostei) life history strategies over their geographical range. *Oceanol. Acta*, 21: 503-517.

Bowen, S. H., 1983: Quantitative description of the diet. pp. 325–336. *In*: Nielson, L.A. & Johnson, D.L. (eds.), Fisheries Techniques. The American Fisheries Society, Bethesda, Mairyland.

Bowen, S.H., 1996. Quantitative description of the diet. pp. 513-532. *In*: Murphy, B.R. & Willis, D.W. (eds.), Fisheries Techniques. The American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.

Breed, M.D., Smith, S.K. & Gall, B.G., 1980. Systems of mate selection in a cockroach species with male dominance hierarchies. *Anim. Behav.,* 28: 130-134.

Brody, S., 1927. Growth rates. Univ. Missouri Agr. Exp. Sta., Bull. 97.

Brooks, D.R. & McLennan, D.A., 1991. Phylogeny, Ecology and Behavior: A Research Program in Comparative Biology. University of Chicago Press, Chicago, 434 pp.

Brooks, D.R,, McLennan, D.A., 2002. The nature of diversity: an evolutionary voyage of discovery. University of Chicago Press, Chicago, 668 pp.

Brooks, S,, Tyler, C.R. & Sumpter, J.P., 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? *Rev. Fish Biol. Fisher.* 7: 387-416.

Brown, J.R., 2002: Universal Tree of Life. In Encyclopedia of Life Sciences. Nature Publishing Group, Macmillan.

Brönmark, C. & Hansson, L.A., 1998. The biology of lakes and ponds. Oxford University Press. New York, NY, 216 pp.

Brinsmead, J. & Fox, M.G., 2002. Morphological variation between lake and stream dwelling rockbass and pumpkinseed populations. *J. Fish Biol.,* 61: 1619–1638.

Bruton, M.N. & Merron, G.S., 1990. The proportion of different eco-ethological sections of reproductive guilds of fishes in some African inland waters. *Environ. Biol. Fish.,* 28: 187-197.

Byrne, D.M., 1978. Life history of the spotfin killifish, *Fundulus luciae* (Pisces: Cyprinodontidae), in Fox Creek Marsh, Virginia. *Estuaries,* 1: 211–217.

Cadrin, S.X., 2000. Advances in morphometric analysis of fish stock structure. *Rev. Fish Biol. Fish.* 10: 91–112.

Cailliet, G.M., 1978. Several approaches to the feeding ecology of fishes. pp. 1-13. *In*: Lipovsky, S.J. & Simenstand, C.A. (eds), Fish food habits studies: Proceedings og the 1st Pacific Northwest Technical Workshop Sea Grant College program. University of Washington, Seattle, WA.

Caiola, N.A, Vargas, M.J. & de Sostoa, A., 2001a: Feeding ecology of the endangered Valencia toothcarp, *Valencia hispanica* (Acanthopterygii: Valenciidae). *Hydrobiologia,* 448: 97-105.

Caiola, NA, Vargas, M.J. & de Sostoa A, 2001b. Life history pattern of the endangered Valencia toothcarp, *Valencia hispanica* (Actinopterygii: Valenciidae) and its implications for conservation. *Arch. Hydrobiol.*, 150: 473-489.

Cakic, P., Lenhardt, M., Mickovic, D., Sekulic, N. & Budakov, L.J., 2002. Biometric analysis of Syngnathus abaster populations. *J. Fish Biol.,* 60: 1562–1569.

Campaioli, S., Ghetti, P.F., Minelli, A. & Ruffo, S., 1999. Manuale per il eiconoscimento dei Macroinvertebrati delle acque dolci italiane. Vol. I & II. Provincia Autonoma di Trento, pp. 127.

Campana, S.E., 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods, *J. Fish Biol.,* 59: 197-242.

Cap, H., Deleporte, P., Joachim, J. & Reby, D. 2008. Male vocal behavior and phylogeny in deer. *Cladistics,* 24: 917-931.

Caputo, V., 1998. Nucleolar organizer (NOR) location and cytotaxonomic implications in six species of gobiid fishes (Perciformes, Gobiidae). *Ital. J. Zool.,* 65: 93–99.

Caputo, V., Candi, G., La Mesa, M. & Arneri, E., 2000. Pattern of gonad maturation and the question of semelparity in the paedomorphic goby *Aphia minuta*. *J. Fish Biol.,* 58: 656–669.

Casselman, J.M., 1987. Determination of age and growth. pp. 209-242. *In*: Weatherley, A.H. & Gill, H.S. (eds.), The biology of Fish Growth. Academic Press, New York.

Cavalli-Sforza, L.L. & Edwards, W.F., 1967. Phylogenetic Analysis Models and Estimation Procedures. *Am. J. Hum. Genet.,* 19: 233-257.

Cavinato, G., 1952. Revisione dei Gobius della laguna Veneta. *Arch. Oceanogr. Limnol. Roma*, **7**: 56.

Chapman, D. & Kimstach, V., 1996. Selection of water quality variables. pp: 74-133. *In*: Chapman, D. (ed), Water quality assessment. A guide to use of biota, Sediments and water in environmental monitoring, 2nd edn. University Press, Cambridge.

Chronis, G., Piper, D.J.W. & Anagnostou, C., 1991. Late Quaternary evolution of the Gulf of Patras, Greece: tectonism, deltaic sedimentation and sea-level change. *Mar. Geol.,* 97: 191–209.

Cole, L.C., 1954. The population consequences of life history phenomena. *Q. Rev. Biol.,* 29: 103–137.

Cole, K.S., 1990. Patterns of gonad structure in hermaphroditic gobies (Teleostei: Gobiidae). *Environ. Biol. Fish.,* 28: 125–142.

Collett, R., 1903. Meddelelser om Norges Fiske I Aarene 1884-1901. I. *Forh. Vidensk Selsk. Krist.* 1902: 1-121.

Costello, M.J., Edwards, J. & Potts, G.W., 1991. The diet of the two-spot goby, *Gobiosculus flavensces* (Pisces). *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.,* 70: 329-342.

Costello, M.J., 1990 Predator feeding strategy and prey importance: a new graphical analysis. *J. Fish Biol.*, 36: 261-263.

Coutin, P.C. & Payne, A.I., 1989. The effects oflong-term exploitation of demersal fish populations off the coast of Sierra Leone, West Africa. *J. Fish Biol.,* 35: 163-167.

Cox, C.R. & Le Boeuf, B.J., 1977 Female incitation of male competition: a mechanism in sexual selection. *Am. Nat.,* 111: 317-335.

Cramp, A. & O'Sullivan, G., 1999. Neogene sapropels in the Mediterranean: a review. *Mar. Geol.,* 153, 11-28.

Crawford, J. D., Jacob, P. & Bénech, V., 1997. Sound production and reproductive ecology of strongly acoustic fish in Africa: *Pollimyrus isidori*, Mormyridae. *Behaviour,* 134: 677–725.

Creutzburg, N., 1963. Palaeographic evolution of Crete from Miocene till our days. *Cretan Annals* 15/16: 336-342.

Crisp, D.T., Mann, R.H.K. & McCormack, J.C., 1978. The effects of impoundment and regulation upon the stomach contents of fish at Cow Green, Upper Teesdale. *J. Fish Biol.,* 12: 287-310.

Crivelli, A.J. & Catsadorakis, G., (eds) 1997. Lake Prespa, Northwestern Greece, a unique Balkan wetland. *Hydrobiologia,* 351: 1-196.

Daams, R. & Van Der Weerd, A.V., 1980. Early Pliocene small mammals from the Aegean island of Karpathos 9Greece) and their palaeogeographic significance. *Geol. Mijnbouw* 59: 327-331.

Dallman, P.R., 1988. Plant life in the world's Mediterranean climates. California Native plant Society. UC Press, Berkeley, CA, 245 pp.

Dalzell, P., 1988. Small pelagic fisheries investigations in the Philippines Part II: the current status. *Fishbyte,* 6: 2-4.

Daoulas, CH., Economou, A.N., Psarras, Th. & Barbieri-Tseliki. R., 1993. Reproductive strategies and early development of three freshwater gobies. *J. Fish Biol.,* 42, 749-776.

De Buen, F., 1923. *Gobius* de la Peninsula Iberica y Baleares. Grupos *Lesueurii, Colonianus, Affinis,* y *Minitus. Mems Inst. esp. Oceanogr.,* 3: 121- 266.

De Sostoa, A. & De Sostoa, F.J., 1979. Notas sobre la ictiofauna del Delta del Ebro (NE de la Peninsula Iberica). *Inst. Mun. Cien. Nat. Misc. Zool.,* 5: 178-179.

DeMartini, E.E., 1987. Paternal defence, cannibalism and polygamy: factors influencing the reproductive success of painted greenling (Pisces, Hexagrammidae). *Anim. Behav.,* 35: 1145–1158.

Dermitzakis, D.M., 1989. The colonization of Aegean islands in relation with the paleogeographic evolution. *Biologia Gallo-Hellenica,* 14: 99-121.

Dermitzakis, D.M., 1990. Paleogeography, geodynamic processes and event stratigraphy during the Late Cenozoic of the Aegean area. International Symposium on: Biogeographical Aspects of Insularity, Roma 1987. *Accad. Naz. Lincei,* 85: 263–288.

Dermitzakis, D.M. & Papanikolaou, D.J., 1981. Paleogeography and geodynamics of the Aegean region during the Neogene. *Ann. Geol. Pays Hellen.,* 30: 245–289.

Dermitzakis, D.M. & Sondaar, P.Y., 1985. Quaternary insular fossil mammals and their palaeogeographical implications. *Biologia allo-Hellenica,* 10: 368-386.

De Queiroz, A. & Wimberger, P.H., 1993. The usefulness of behavior for phylogeny estimation: levels of homoplasy in behavioral and morphological characters. *Evolution,* 47: 46-60.

De Vries, D.R. & Frie, R.V., 1996. Determination of age and growth. pp. 483-512. *In*: Murphy, B.R. & Willis, D.W. (eds.), Fisheries Techniques. The American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.

Dickie, L.M., 1978. Mathematical models of growth. pp. 130-136. *In*: Bagenal T.B. (ed.),

Methods for Assessment of Fish Production in Fresh Waters. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
Doglioni, C., Agostini, S., Crespi, M., Innocenti, F., Manetti, P., Riguzzi, F. & Savasçin, Y., 2002. On the extension in western Anatolia and the Aegean sea. *J. Virtual Explor.,* 7: 167-181.
Drummond, A.J., Ashton, B., Buxton, S., Cheung, M., Cooper, A., Duran, C., Field, M., Heled, J., Kearse, M., Markowitz, S., Moir, R., Stones-Havas, S., Sturrock, S., Thierer, T. & Wilson, A., 2011. Geneious v5.4, Available from http://www.geneious.com/.
Dumont, H.J., Van de Velde, I. & Dumont, S., 1975. The dry weight estimate of biomass in a selection of Cladocera, Copepoda and Rotifera from the plankton, periphyton and benthos of continental waters. *Oecologia,* 19: 75–97.
Dunker, G. 1928. Teleostei Physoclisti 9. Gobiiformes. *Tierw. N.-u. Ostsee*, 12, pp. 121-148.
Durand, J.D., Persat, H. & Bouvet, Y., 1999a. Phylogeography and postglacial dispersion of the chub (*Leuciscus cephalus*) in Europe. *Mol. Ecol.,* 8: 989–997.
Durand, J.D., Templeton, A.R., Guinand, B., Imsiridou, A. & Bouvet, Y., 1999b. Nested clade and phylogeographic analyses of the chub, *Leuciscus cephalus* (Teleostei, Cyprinidae), in Greece: implications for Balkan Peninsula biogeography. *Mol. Phylogenet. Evol.,* 13: 566–580.
Economidis, G., 1999. Seasonal variation of macrobenthic abundance of Lake Pamvotis (Ioannina). pp. 355–358. *In:* Fifth Hellenic symposium on oceanography & fisheries, Kavala.
Economidis, P.S., 1991. Check List of freshwater fishes of Greece. Recent status of Threats and Protection. Bulletin of the Hellenic Society for the Protection of Nature, 48 pp.
Economidis, P.S. & Sinis, A.I., 1982. Les poisons des lacs Koronia et Volvi (Macedoine, rece). Considerations systematiques et zoogeographiques. *Biologia Gallo-Hellenica,* 9(2): 291-236.
Economidis, P.S. & Miller, P.J., 1990. Systematics of freshwater gobies from Greece (Teleostei: Gobiidae). *J. Zool.,* 221: 125–170.
Economidis, P.S. & Bănărescu, P.M., 1991. The distribution and origins of freshwater fishes in the Balkan Peninsula, especially in Greece. *Int. Rev. Ges. Hydrobiol.,* 76: 257–283.
Economidis, P.S. & Herzig-Straschil, B., 2003. *Barbus albanicus* Steindachner, 1870. pp. 23–41. *In*: Bănărescu, P. & Bogutskaya, N. (eds.), Handbook of Freshwater Fishes of Europe, 5/II. Cyprinidae 2, Part II Barbus. Wiebelsheim, Aula Verlag GmbH,.
Economidis, P.S., Kattoulas, M.E. & Stephanidis, A., 1981. Fish fauna of the Aliakmon river and the adjacent waters (Macedonia, Greece). *Cybium,* 5(1): 89-95.
Economidis, P.S., Dimitriou, E., Pagoni, R., Michaloudi, E. & Natsis, L. 2000. Introduced and translocated fish species in the inland waters of Greece. *Fisheries Manag. Ecol.,* 7: 239–250.
Economou, A.N., 1991. Is dispersal of fish eggs, embryos and larvae an insurance against density dependence? *Environ. Biol. Fish,* 31: 313-321.
Economou, A.N., Daoulas, CH., Psarras, Th. & Barbieri-Tseliki, R., 1994. Freshwater larval fish from Lake Trichonis (Greece). *J. Fish Biol.,* 45: 17–35.
Economou, AN., Barbieri, R., Daoulas, Ch., Psarras, Th., Soumboudi, M., Giakoumi, S. & Patsias, A., 1999. Endangered and threatened freshwater fish species of West Greece

and Peloponnesus – distribution, abundance dangers and protection actions. National Centre of Marine Research, Athens. Technical Report, 341 pp.

Economou, A.N., Giakoumi, S., Vardakas, L., Barbieri, R., Stoumboudi, M. & Zogaris, S., 2007. The freshwater ichthyofauna of Greece – an update based on a hydrographic basin survey. *Mediterran. Mar. Sci.,* 8: 91–166.

Excoffier, L. & Lischer, H.E.L., 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.,* 10: 564-567.

Fage, L., 1914. Sur le *Gobius minutus* Pallas et quelques formes voisines. *Bull. Soc. Zool. France*, 39: 299-314.

Fage, L., 1918. Shore-fishes. *Rep. Dan. Oceanogr. Exped. Mediterr.* 2: 1-154.

Felsenstein, J., 1981. Evolutionary trees from gene frequencies and quantitative characters: finding maximum likelihood estimates. *Evolution*, 35: 1229-1242.

Ferrito, V., Mannino, M.C., Pappalardo, A.M. & Tigano, C., 2007. Morphological variation among populations of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Teleostei, Cyprinodontidae) from the Mediterranean. *J. Fish Biol.,* 70: 1–20.

Fidalgo, M.L., 1989. Biology of the freshwater shrimp *Atyaephyra desmaresti* Millet (Crustacea, Decapoda, Natanta) in the river Douro, Portugal. I. Life cycle and individual growth. Arch. Hydrobiol. 116(1): 97-106.

Fine, M.L., Winn, H.E. & Olla, B.L., 1977. Communication in fishes. pp. 472–518. *In*: Sebeok, T.A. (ed.), How animals communicate. Indiana University Press, Bloomington.

Fiorin, R., Malavasi, S., Franco, A. & Franzoi, P., 2007. Comparative energy allocation in two sympatric, closely related gobies: the black goby *Gobius niger* and the grass goby *Zosterisessor ophiocephalus*. *J. Fish Biol.,* 70(2): 483-496.

Fishelson, L., 1989. Bisexuality and pedogenesis in gobies (Gobiidae: Teleostei) and other fish, or why so many little fish in tropical seas? *Senckenberg Marit,* 20:147–169.

Fleming, I.A. & Gross, M.R., 1990. Latitudinal clines: a trade-off between egg number and size in Pacific salmon. *Ecology,* 71:1–11.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R., 1994 DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.,* 3, 294–299.

Fonds. M., 1973, Sand gobies in the dutch Wadden Sea (Pomatoschistus, Gobiidae, Pisces). *Neth. J. Sea Res.,* 6: 417-478.

Ford, E., 1933. An account of the herring investigations conducted at Plymouth during the years from 1924–1933. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 19: 305–384.

Forsgren, E., Karlsson, A. & Kvarnemo, C., 1996. Female sand gobies gain direct benefit by choosing males with eggs in the nests. *Behav. Ecol. Sociobiol.,* 39, 91–96.

Forsgren, E., 1997. Female sand gobies prefer good fathers over dominant males. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.,* 264:1283–1286.

Forsgren, E., Amundsen, T., Borg, Å.A. & Bjelvenmark, J., 2004. Unusually dynamic sex roles in a fish. *Nature,* 429, 551-554.

Fouda, M.M., Hanna, M.Y. & Fouda, F.M., 1993. Reproductive biology of the Red Sea goby, *Silhouettea aegyptia,* and a Mediterranean goby, *Pomatoschistus marmoratus*, in Lake Timsah, Suez Canal. *J. Fish Biol*., 43: 139-151.

Fox, M.G. & Crivelli, A.J., 2001. Life history traits of pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) populations introduced into warm thermal environments. *Arch. Hydrobiol.,* 150: 561-580.

Freyhof, J., 2011. Diversity and distribution of freshwater gobies from the Mediterranean, the Black and Caspian Seas, pp. 279-288. *In*: Patzner, R. A., Van Tassell, J. L. Kovačić M. & Kapoor, B.G. (eds.), The Biology of Gobies. Science Publishers, Enfield, New Hampshire.

Freyhof, J., Lieckfeldt, D., Bogutskaya, N.G., Pitra, C. & Ludwig, A., 2006. Phylogenetic position of the Dalmatian genus *Phoxinellus* and description of the newly proposed genus *Delminichthys* (Teleostei: Cyprinidae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 38: 416–425.

Froese, R. & Pauly, D. Editors. 2006. FishBase. World Wide Web electronic publication. Froese & Pauly 2006, version (10/2006).

Frogley, M.R., Griffiths, H.I. & Heaton, T.H.E., 2001. Historical biogeography and Late Quaternary environmental change of Lake Pamvotis, Ioannina (north-western Greece): evidence from ostracods. *J. Biogeogr.,* 28: 745-756.

Gandolfi, G., Torricelli, P. & Cau, A., 1982. Observations on the biology of the black-spotted goby, *Pomatoschistus canestrinii* (Ninni). *Nova Thalass.,* 5: 97–123.

Gandolfi, G., Marconato, A. & Torricelli, P., 1985. Posizione sistematica e biologia di un ghiozzo delle aque dolci italiane: *Orsinigobius* (gen. nov.) *punctatissimus* (Canestrini, 1864) (Pisces: Gobiidae). *Boll. Mus. Civ. Stor. Nat. Verona*, 12: 367-380.

Gandolfi, G., Zerunian, S., Torricelli, P. & Marconato, A., 1991. pp. 504-509. *In*: Servizio Conservazione Natura, Unione Zoologica Italiana (ed.), I pesci delle acque interne italiane. Ministero dell'Ambiente, Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato, Roma.

García-Berthou, E., 1999. Food of introduced mosquitofish: ontogenetic diet shift and prey selection. *J. Fish Biol.,* 55: 135-147.

Gayanilo, F.C., Soriano, M. & D. Pauly., 1988. A draft guide to the complete ELEFAN. ICLARM Software Project, 2, 70 pp.

Gayanilo, F.C., Sparre, P. & Pauly, D., 1996. The FAO-ICLARM Stock Assessment Tools (FISAT) user's guide. Rome, FAO Computerized Information Series (Fisheries) 8, 126 pp.

Gee, J.M., Warwick, R.M., Davey, J.T. & George, C.L., 1985. Field experiments on the role of epibenthic predators in determining prey densities in an estuarine mud flat. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.,* 21: 429-448.

Genner, M.J., Nichols, P., Carvalho, G.R., Robinson, R.L., Shaw, P.W., Smith, A. & Turner G.F., 2007. Evolution of a cichlid fish in a Lake Malawi satellite lake. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.,* 274: 2249-2257.

Georghiev, J.M., 1964: Some new and little known bullheads (Gobiidae, Pisces) to Bulgarian ichthyofauna. *Bull. Lnst. Pisc. Pèch. Varna,* 4: 189–206.

Geraga, M., Tsaila-Monopolis, S., Ioakim, C., Papatheodorou, G. & Ferentinos, G., 2005. Short-term climate changes in the southern Aegean Sea over the last 48,000 years. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.,* 220: 311–332.

Gibson, R.N. & Ezzi, I.A., 1981. The biology of the Norway goby, *Pomatoschistus norvegicus* (Collett), on the west coast of Scotland. *J. Fish Biol.,* 19: 697–714.

Gkenas, C., Malavasi, S., Georgals, V., Leonardos, I. & Torricelli, P., 2010. The reproductive behavior of *Economidichthys pygmaeus*: secondary loss of sound production within the sand goby group? *Environ. Biol. Fish*., 87: 299-307.

Gkenas, C. & Leonardos, I., 2012a. Life cycle of a small endemic goby *Economidichthys pygmaeus* (Family: Gobiidae) in Lake Pamvotis, northwestern Greece. *J. Appl. Ichthyol.*, (online).

Gkenas, C., Oikonomou, A., Economou, A., Kiosse. F. & Leonardos, I. 2012b. Life history

pattern and feeding habits of the invasive mosquitofish, *Gambusia holbrooki*, in Lake Pamvotis (NW Greece). *J. Biol. Res.,* 17: 121-136.

Godfray, H.C.J. & Parker, G.A., 1991. Clutch size, fecundity and parent offspring conflict. *Philos. T. Roy. Soc. B.,* 332: 67– 79.

Goto, A., 1990. Alternative life-history styles of Japanese fresh-water sculpins revisited. *Environ. Biol. Fish,* 28: 101-112.

Gould, S.J., 1966. Allometry and size in ontogeny and phylogeny. *Biol. Rev,*. 41: 587-640.

Grabowska, J. & Grabowski, M., 2005. Diel feeding activity in early summer of racer goby *Neogobius gymnotrachelus* (Gobiidae) – a new invader in the Baltic basin. J. *Appl. Ichthyol.,* 21: 282–286.

Greenberg, L.A. & Dahl, J., 1998. Effect of habitat type on growth and diet of brown trout, *Salmo trutta* L., in stream enclosures. *Fisheries Manag. Ecol.,* 5: 331-348.

Gysels, E.S., Hellemans, B., Patarnello, T. & Volckaert, F.A.M., 2004. Current and historic gene flow of the sand goby *Pomatoschistus minutus* on the European Continental Shelf and in the Mediterranean Sea. *Biol. J. Linn. Soc.,* 83: 561–576.

Hair, J.R., Anderson, J.F., Tatham, R. & Black, W., 1996. Multivariate Data Analysis with Readings. Prentice Hall Inc., New Jersey, 757 pp.

Hamad, N., Millot, C. & Taupier-Letage, I., 2006. The surface circulation in the eastern basin of the Mediterranean Sea. *Sci. Mar.,* 70(3): 457–503.

Hamerlynck, O. & Cattrijsse, A., 1994. The food of *Pomatoschistus minutus* (Pisces, Gobiidae) in Belgian coastal waters, and a comparison with the food of its potential competitor *P. lozanoi*. *J. Fish Biol.,* 44: 753-771.

Hansson, S., 1980. An evaluation of different methods for the determination of food composition of fish. *ICES C.M. Doc*., No. F:28: 14.

Harry R.R., 1948. The gobies of the Indo-Malayan eleotrid genus *Bunaka*. *Proc. Calif. Zool. Club*, 1: 13-18.

Hänfling, B. & Brandl, R., 1998. Genetic differentiation of thebullhead *Cottus gobio* L. across watersheds in Central Europe: evidence for two taxa. *Heredity,* 80: 110-117.

Hawkins, A.D. & Amorim, M.C.P., 2000. Spawning sounds of the male haddock, *Melanogrammus aeglefinus*. *Environ. Biol. Fish,* 59: 29–41.

Hebert. P.D.N., Cywinska, A., Ball. S.L. & deWaard, J.R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc Biol. Sci. Ser. B,* 270: 313–321.

Helfman, G.S., Collette, B.B. & Facey, D.E., 1997. The diversity of fishes. Blackwell Science, London, England, 544 pp.

Herler, J., Kerschbaumer, M., Mitteroecker, P., Postl, L. & Sturmbauer, C., 2010. Sexual dimorphism and population divergence in the Lake Tanganyika cichlid fish genus *Tropheus*. *Front. Zool.,* 7: 4.

Hillis, D.M., Moritz, C. & Mable, B.K., 1996. Molecular Systematics. Sunderland, MA, Sinauer Associates, 655 pp.

Hoese, D.F. 1984. Gobioidei: Relationships. pp. 588-591. *In*: Moser, H.G. (ed.), Ontogeny and Systematics of Fishes. Special Publication of the American Society of Ichthyologists and Herpetologists No.1. Allen Press, Lawrence, Kansas.

Hop, H., Gjøsæter, J. & Danielssen, DS., 1992. Seasonal feeding ecology of cod (*Gadus morhua* L.) on the Norwegian Skagerrak coast. *ICES, J. Mar. Sci.,* 49: 453-461.

Horne, T.J. & Ylönen, H., 1996. Female bank voles (*Clethrionomys glareolus*) prefer dominant males; but what if there is no choice? *Behav. Ecol. Sociobiol*., 38, 401-405.

Hosmer, D.W. & Lemeshow. S., 2000. Applied logistic regression, 2nd edn. New York, NY, John Wiley & Sons.

Hsü, K.J. 1972. Origin of saline giants: a critical review after the discovery of the Mediterranean evaporates. *Earth-Sci. Rev.,* 8: 371-396.

Hsü, K.J., Montadert, L., Bernoulli, D., Biancacita, M., Erickson, A., Garrison, R.E., Kidd, R.B., Melieres, F., Muller, C. & Wright, R., 1977. History of Mediterranean salinity crisis. *Nature,* 267, 399– 403.

Hureau, J. C., 1966. Biologie comparée de quelques poissons antartique (Nototheniidae). *Bull. Inst. Oceanogr. Monaco,* 68: 1–244.

Huyse, T., Van Houdt, J., Volckaert, F.A.M., 2004. Paleoclimatic history and vicariant speciation in the 'sand goby' group (Gobiidae, Teleostei). *Mol. Phylogenet. Evol.,* 32: 324–336.

Hyslop, E.J., 1980. Stomach content analysis-a review of methods and their application. *J. Fish Biol.,* 17: 411-429

Isaac, V. J., 1990. The accuracy of some length-based methods for fish population studies. *ICLARM Technical Report*, *27:* 1-81.

James, F.C. & McCulloch, C.E., 1990. Multivariate analysis in ecology and systematics: panacea or Pandora's box? *Ann. Rev. Ecol. Syst.,* 21: 129-166.

Jang, M.H., Joo, G.L. & Lucas, M., 2006. Diet of introduced largemouth bass in Korean rivers and potential interactions with native fishes. *Ecol. Freshw. Fish,* 15: 315-320.

Jerry, D.R. & Cairns, S.C. 1998. Morphological variation in the catadromous Australian bass, from seven geographically distinct riverine drainages. *J. Fish Biol.,* 52: 829–843.

Jobling, M., 2002. Environmental factors and rates of development and growth. Pp. 97-122. *In*: (Hart, P.J.B. & Reynolds, J.D. (eds.), Handbook of fish biology and fisheries. Volume 1: Fish biology. Blackwell Science Ltd, Malden, MA, USA.

Johnson, G.D. & Brothers, E.B., 1993. *Schindleria*: a paedomorphic goby (Teleostei: Gobioidei). *Bull. Mar. Sci.,* 52: 441-471.

Johnsen, S., 1936. On the variation of fishes in relation to environment (preliminary account). *Berg. Mus. Arb.*, 1: 26.

Johnston, C.E. & Vives, S.P., 2003. Sound production in Codoma ornata. *Environ. Biol. Fish,* 68: 81–85.

Jones, J.C. & Reynolds, J.D., 1999. Costs of egg ventilation for male common gobies breeding in conditions of low dissolved oxygen. *Anim. Behav*., 57: 181–188.

Kaatz, I.M., 2002. Multiple sound producing mechanisms in teleost fishes and hypotheses regarding their behavioural significance. *Bioacoustics,* 12: 230–233.

Kagalou, I., Tsimarakis, G. & Patsias, A., 2001. Phytoplankton dynamics and physical-chemical features of a shallow lake (L. Pamvotis, Greece). *Fresen. Environ. Bull.,* 10: 845–849.

Kagalou, I., Petridis, D. & Tsimarakis, G., 2003. Seasonal variation of water quality parameters in a shallow lake (Lake Pamvotis, Greece) and effects on phytoplankton, zooplankton communities. *J. Freshwater Ecol.,* 18: 199– 206.

Kagalou, I., Economidis, E., Leonardos, I. & Papaloukas, C., 2006. Assessment of a Mediterranean shallow lentic ecosystem (Lake Pamvotis, Greece) using benthic community diversity: Response to environmental parameters. *Limnologica,* 36, 269–278.

Kallel, N., Duplessy, J.C., Labeyrie, L., Fontugne, M., Paterne, M. & Montacer, M., 2000. Mediterranean pluvial periods and sapropel formation over the last 200000 years, *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.,* 157: 45 – 58.

Kaschner K, Stergiou, K.I., Weingartner, G. & Kumagai, S., 2004. Trophic levels of marine mammals and overlap in resource utilization between marine mammals and

fisheries in the Mediterranean Sea. pp. 51-58. *In*: Briand, F. (ed.), Investigating the roles of cetaceans in marine ecosystems. CIESM Workshop Monographs 23.

Keast, A., 1978. Trophic and spatial interrelationships in the fish species of an Ontario temperate lake. *Environ. Biol. Fish*, 3: 7-31.

Kerr, K.C.R., Stoeckle, M.Y., Dove, C.J., Weigt. L.A., Francis, C.M. & Hebert, P.D.N., 2007. Comprehensive DNA barcode coverage of North American birds. *Mol. Ecol. Notes,* 7: 535-543.

Kevrekidis, T., Kokkinakis, A. & Koukouras, A., 1990. Some aspects of the biology and ecology of *Knipowitschia caucasica* (Teleostei: Gobiidae) in the Evros Delta (North Aegean Sea). *Helgol. Meeres*. 44: 173–187.

Kimura M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.,* 16: 111–120.

Klinkhardt, M., Tesche, M. & Greven, H., 1995. Database of fish chromosomes. Westarp Wissenschaften, Magdeburg, Germany, 237 pp.

Knowlton, N. & Weigt, L.A. 1998 New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. *Proc. R. Soc. Lond. B,* 265: 2257–2263.

Kottelat M., 1997. European freshwater fishes. An heuristic checklist of the freshwater fishes of Europe (exclusive of former USSR), with an introduction for non-systematists and comments on nomenclature and conservation. *Biol., Bratisl., Sect. Zool*., 52: 1-271.

Kottelat, M. & J. Freyhof. 2007. Handbook of European Freshwater Fishes. Kottelat, Cornol, Switzerland & Freyhof, Berlin Germany, 646 pp.

Koutrakis, E.T. & Tsikliras A.C., 2003: Length-weight relationships of fishes from three northern Aegean estuarine systems (Greece). *J. Appl. Ichthyol.,* 19: 258–260.

Koutrakis E.T., Tsikliras A.C., & Sinis A.I., 2005. Temporal variability of the ichthyofauna in a Northern Aegean coastal lagoon (Greece). Influence of environmental factors. *Hydrobiologia,* 543: 245–257.

Koutrakis, E.T. & Tsikliras, A.C., 2009. Reproductive biology of the marbled goby, *Pomatoschistus marmoratus* (Pisces, Gobiidae), in a northern Aegean estuarine system (Greece). *Folia Zool.,* 58: 447-456.

Kovačić, M., 1994. Contribution to the knowledge of gobies, *Gobiidae (Pisces, Perciformes)* in the Rijeka Bay, Adriatic Sea. *Period. Biol.*, 96: 463-465.

Kovačić, M., 2005. A new species of *Knipowitschia* (Gobiidae) from Dalmatia, Croatia. *Cybium,* 29: 275–280.

Kovačić, M., 2008. The key for identification of Gobiidae (Pisces: Perciformes) in the Adriatic Sea. *Acta Adriat.,* 49: 245–254.

Kovačić, M. & Pallaoro, A., 2003: Is *Knipowitschia caucasica*-like form from the Adriatic Sea a new goby species? Evidence from a morphological approach in the eastern Adriatic Sea. *Cybium,* 27: 131-136.

Kovačić, M. & Šanda, R., 2007. A new species of *Knipowitschia* (Perciformes: Gobiidae) from southern Montenegro. *J. Natl. Mus. (Prague), Nat. Hist. Ser.,* 176: 81–89.

Krijgsman, W., Hilgen, F.J., Raffi, I., Sierro, F.J. & Wilson, D.S. 1999. Chronology, causes and progression of the Messinian salinity crisis. *Nature* 400: 652-655.

Krijgsman, W., 2002. The Mediterranean: mare nostrum of earth sciences. *Earth Planet. Sci. Lett.,* 205: 1–12.

Krom, M.D., Stanley, D.J., Cliff, R.A. & Woodward, J.C., 2002. Nile River sediment fluctuations over the past 7000 yr and their key role in sapropel development. *Geology*, 30: 71-74.

Kunzel, T. & Lowenberg, U., 1990. Studie on the population dynamics of *Pellonula leonensis* (Clupeidae) in the Cross River, Nigeria. *Fishbyte,* 8: 8-13.

Kvarnemo, C, Forsgren, E. & Magnhagen, C., 1995. Effects of sex ratio on intra- and intersexual behaviour in sand gobies. *Anim. Behav*., 50: 1455- 1461.

Kvarnemo, C., Svensson, O. & Forsgren, E., 1998. Parental behaviour in relation to food availability in the common goby. *Anim. Behav*., 56: 1285–1290.

Ladiges, W., 1964. Sübwassrfische der Türkei. *Mitt. Hamburg Zool. Mus. Inst*. 61: 203-220.

Ladiges, W. & Vogt, D., 1978. Die Süsswasserfische Europas, 2nd edn. Hamburg, Paul Parey.

Langi, S., 1990. The applicability of ELEFAn for use in analyzing three species of deepwater snappers in Tonga (*Etelis coruscans, Pristipomoides flavipinnis* and *P. filamentosus*, Fam. Lutjanidae). *Fishbyte,* 8(1): 21-25.

Larmuseau, M.H.D., Freyhof, J., Volckaert, F.A.M. & Van Houdt, J.K.J., 2009. Matrilinear phylogeography and demographical patterns of *Rutilus rutilus*: implications for taxonomy and conservation. *J. Fish Biol*. 75: 332–353.

Larmuseau, M.H.D., Huyse, T., Vancampenhout, K., Van Houdt, J.K.J. & Volckaert, F.A.M., 2010. High molecular diversity in the rhodospin gene in closely related goby fishes: a role for visual pigments in adaptive speciation? *Mol. Phylogenet. Evol.* 55: 689-698.

Lassig, B.R., 1976. Socioecological strategies adopted by obligate coral dwelling fishes. *Proc. Third Int. Coral Reef Symp.,* 1: 565—570.

Lassig, B.R., 1977: Field observations on the reproductive behaviour of *Paragobiodon* spp (Gobiidae) at Heron Island Great Barrier Reef. Mar. Behav. *Physiol.,* 3: 283—293.

Lawackz, W., 1965. An analysis of variations in two populations of *Gobius microps* Kr. Depending on the salinity of the habitat. *Ekol. Polska*, 13: 125-142.

Lechowicz, M.J., 1982. The sampling characteristics of electivity indices. *Oecologia,* 52: 22–30.

Le Cren, E.D., 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *J. Anim. Ecol*., 20: 201-219.

Leitão, R., Martinho, F., Neto, J.M., Cabral, H., Marques, J.C. & Pardal, M.A., 2006. Feeding ecology, population structure and distribution of *Pomatoschistus microps* (Krøyer, 1838) and *Pomatoschistus minutus* (Pallas, 1770) in a temperate estuary, Portugal. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.,* 66: 231-239.

Leonardos, I., 2004. Life history traits of *Scardinius acarnanicus* (Stephanidis, 1939) (Pisces: Cyprinidae) in two Greek lakes (Lysimachia and Trichonis). *J. Appl. Ichthyol*., 20: 258–264.

Leonardos, I., Paschos, I. & Prassa, M., 2005a. Threatened fishes of the world: Phoxinellus epiroticus (Steindachner 1895) (Cyprinidae). *Environ. Biol. Fish*, 72: 250.

Leonardos, I., Kagalou, I., Triantafyllidis, A. & Sinis, A., 2005b. The biological adaptations of a protected fish species in two Greek lakes exhibiting different pollution degree and trophic state. *J. Freshwater Ecol.,* 20: 715–722.

Leonardos, I., Kagalou, I. & Triantafyllidis, A., 2007. Threatened fishes of the world: *Silurus aristotelis* (Agassiz, 1856) (Siluridae). *Environ. Biol. Fish,* 78: 285–286.

Leonardos, I.D., Kagalou, I., Tsoumani, M. & Economidis, P.S., 2008. Fish fauna in a protected Greek lake: biodiversity, introduced fish species over a 80-year period and their impacts on the ecosystem. *Ecol. Fresh. Fish,* 17: 165–173.

Leonardos I.D., Tsikliras, A.C., Batzakas, I., Ntakis, A. & Liousia, V., 2009. Life-history

characteristics of the endangered Aristotle's catfish (*Silurus aristotelis* Garman, 1890), Lake Pamvotis, north-western Greece. *J. Appl. Ichthyol*., 25: 746-751.
Lindegaard, C., 1992: Zoobenthos ecology of Thingvallavatn: vertical distribution, abundance, population dynamics and production. *Oikos*, 64: 257–304.
Lindeman, R.L., 1942. The trophic-dynamic aspect of ecology. *Ecology*, 23: 399-418.
Lindsey, C.C., 1988. Factors controlling meristic variation. pp. 197–274. *In*: Hoar, W.S., & Randall, D.J. (eds.), Fish Physiology, vol. 11-B. Academic Press, San Diego, CA.
Lindström, K., 1992. Female spawning patterns and male mating success in the sand goby, *Pomatoschistus minutus. Mar. Biol.,* 113:475-480.
Lindström, K., 1988. Male-male competition for larger nest sites in the sand goby, *Pomatoschistus minutus. Oikos* 53: 67-73.
Lindström, K., 1998. Effects of costs and benefits of brood care on filial cannibalism in the sand goby. *Behav. Ecol. Sociobiol.,* 42: 101-106.
Lindström, K. & Hellström, M., 1993. Male size and parental care in the sand goby, *Pomatoschistus minutus. Ethol. Ecol. Evol.* 5: 97-106.
Lindström, K. & Lugli, M., 2000. A quantitative analysis of the courtship acoustic behavior and sound patterning in male sand goby, *Pomatoschistus minutus*. *Environ. Biol. Fish,* 58: 411–424
Lindström, K., St. Mary, C.M. & Pampoulie, C., 2006. Sexual selection for male parental care in the sand goby, *Pomatoschistus minutus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.,* 60: 46-51.
Link, J.S. & Burnett, J., 2001. The relationship between stomach contents andmaturity state for major northwest Atlantic fishes: new paradigms? *J. Fish Biol*., 59: 783-794.
Lleonart, J., Salat, J., Torres, G.J., 2000. Removing Allometric Effects of Body Size in Morphological Analysis. *J. Theor. Biol*., 205: 85-93.
Lloyd, D.G., 1987. Selection of offspring size at independence and other size-versus number strategies. *Am. Nat.,* 6: 800–817.
Longhurst, A.R. & Pauly, D., 1987. Ecology of Tropical Oceans. Academic Press, San Diego, 407 pp.
Lugli, M. & Torricelli, P., 1999. Prespawning sound production in Mediterranean sand-gobies. *J. Fish Biol.,* 54: 691–694.
Lugl,i M, Pavan, G., Torricelli, P. & Bobbio, L., 1995. Spawning vocalizations in male freshwater gobies (Pisces, Gobiidae). *Environ. Biol. Fish,* 43: 219–231.
Lugli, M., Torricelli, P., Pavan, G. & Miller, P.J., 1996. Breeding sounds of male Padogobius nigricans with suggestions for further evolutionary study of vocal behavior in gobioid fishes. *J. Fish Biol.,* 49: 648–657.
Lugli, M., Torricelli, P., Pavan, G. & Mainardi, D., 1997. Sound production during courtship and spawning among freshwater gobiids (Pisces, Gobiidae). *Mar. Fresh. Behav. Physiol.,* 29: 109–126.
Lykousis, V., 2009. Sea-level changes and shelf break prograding sequences during the last 400 ka in the Aegean margins: subsidence rates and palaeogeographic implications. *Cont. Shelf Res.,* 29: 2037–2044.
Lykousis,V., Sakellariou, D., Moretti, I. & Kaberi, H., 2007. Late Quaternary basin evolution of the Gulf of Corinth: sequence stratigraphy, sedimentation, fault-slip and subsidence rates. *Tectonophysics,* 440: 29–51.
Maccagnani, R., Carrieri, A., Franzoi, P. & Rossi, R., 1985. Osservazioni sulla struttura di popolazione ed il ruolo trofico di tre specie di gobidi (*Knipowitschia panizzae, Pomatoschistus marmoratus, Pomatoschistus canestrinii*) in un ambiente del delta del Po. *Nova Thalass.,* 7: 373-378.

Magnhagen, C., 1986. Activity differences influencing food selection in the marine fish *Pomatoschistus microps*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci*., 43: 223–227.
Magnhagen, C. 1992. Alternative reproductive behaviour in the common goby, *Pomatoschistus microps*: an ontogenetic gradient? *Anim. Behav*., 44: 182–184.
Magnhagen C. 1998. Alternative reproductive tactics and courtship in the common goby. *J. Fish Biol.,* 53: 130–137.
Magnhagen, C. & Kvarnemo L., 1989. Big is better: the importance of size for reproductive success in male *Pomatoschistus minutus* (Pisces, Gobiidae). *J. Fish Biol*., 35: 755-763.
Magnhagen, C. & Vestergaard, K., 1991. Risk taking in relation to reproductive investment and future reproductive opportunities; field experiments on nest-guarding common gobies, *Pomatoschistus microps*. *Behav. Ecol*., 2: 351–359.
Magnhagen, C. & Vestergaard, K. 1993. Brood size and offspring age affecting risk-taking and aggression in nest-guarding common gobies. *Behaviour,* 125: 233–243.
Magnifico, G., 2007. New insights into fish growth parameters estimation by means of length-based methods. PhD Thesis, University of Rome 'Tor Vergata', 202 pp.
Magoulas, A., Tsimenides, N. & Zouros, E., 1996. Mitochondrial DNA phylogeny and the reconstruction of the population history of a species: the case of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Mol. Biol. Evol.,* 13: 178-190.
Maitland, P.S., 1965. The feeding relationships of Salmon, Trout, Minnows, Stone Loach and Three-spined Sticklebacks in the River Endrick, Scotland. *J. Anim. Ecol.,* 34: 109-133.
Malavasi, S., Lindström, K. & Sundström, L., 2001. Behaviour and success of sneaker males in the sand goby, *Pomatoschistus minutus. Acta Ethol.,* 4: 3-9.
Malavasi, S., Torricelli, P., Lugli, M., Pranovi, F. & Mainardi, D., 2003. Male courtship sounds in a teleost with alternative reproductive tactics, the grass goby, *Zosterisessor ophiocephalus*. *Environ. Biol. Fish* 66: 231–236.
Malavasi, S., Franco, A., Fiorin, R., Franzoi, P., Torricelli, P. & Mainardi, D., 2005. The shallow water gobiid assemblage of the Venice Lagoon: abundance, seasonal variation, and habitat partitioning. *J. Fish Biol.,* 67: 146-165.
Malavasi, S., Collatuzzo, S. & Torricelli, P., 2008. Interspecific variation of acoustic signals in Mediterranean gobies (Perciformes, Gobiidae): comparative analysis and evolutionary outlook. *Biol. J. Linn. Soc*., 93: 763-778.
Malavasi, S., Gkenas, C., Leonardos, I., Torricelli, P. & McLennan D.A., (2012). The phylogeny of a reduced "sand goby" group based on behavioural and life history characters. *Zool. J. Linn. Soc*., 165: 916-924.
Mamuris, Z., Apostolidis, A.P., Panagiotaki, P., Theodorou, A.J. & Triantaphyllidis, C., 1998. Morphological variation between red mullet populations in Greece. *J. Fish Biol.,* 52: 107–117.
Mann, R.H.K., 1973. Observations on the age, growth, reproduction and food of the roach *Rutilus rutilus* (L.), in two rivers in Southern England, *J. Fish Biol*. 5: 707-736.
Marchesan, M., Ota, D. & Ferrero, E.A., 2000. The role of mechanical stimulation during breeding in the grass goby *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei, Gobiidae). *Ital. J. Zool.,* 67: 25–30.
Marconato, A., Rasotto, M.B. & Mazzoldi, C., 1996. On the mechanism of sperm release in three gobiid fishes (Teleostei: Gobiidae). *Environ. Biol. Fish,* 46: 321–327.
Markova, E.P. 1962. Some data on the distribution of new Caspian colonizers in the Aral Sea. *Byull. Mosk. Obshch. Ispytat. Prir. Otdel. Bio.* 5(67): 130-132 (in Russian).

Marsh, E., 1986. Effect of egg size on offspring fitness and maternal fecundity in the orangethroat darter, *Etheostoma spectabile* (Pisces: Percidae). *Copeia,* 1: 18–30.

Marshall, J.A., 1972. Influence of male sound production on oviposition in female *Tilapia mossambica* (Pisces, Cichlidae). *Am. Zool*., 12: 663–664.

Marshall, S. & Elliott, M., 1997. A comparison of univariate and multivariate numerical and graphical techniques for determining inter- and intra-specific feeding relationships in estuarine fish. *J. Fish Biol*., 51: 526-545.

Martin, E. & Taborsky, M., 1997: Alternative male mating tactics in a cichlid, *Pelvicachromis pulcher*: a comparison of reproductive effort and success. *Behav. Ecol. Sociobiol*., 41: 311-319.

Mazzoldi, C. & Rasotto, M.B., 2001. Extended breeding season in the marbled goby, *Pomatoschistus marmoratus* (Teleostei: Gobiidae), in the Venetian Lagoon. *Environ. Biol. Fish.*, 61: 175-183.

Mazzoldi, C., Scaggiante, M., Ambrosin, E. & Rasotto, M.B., 2000. Mating system and alternative male mating tactics in the grass goby *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei: Gobidae). *Mar. Biol*., 13: 1041–1048.

McKay, S.I. & Miller, P.J., 1997. The affinities of European sand gobies (Teleostei: Gobiidae). *J. Nat. Hist.* 31: 1457–1482.

McLennan, D.A., Brooks, D.R. & McPhail, J.D., 1988. The benefits of communication between comparative ethology and phylogenetic systematics: A case study using gasterosteid fishes. *Can. J. Zool.,* 66: 2177-2190.

Mejri, R., Lo Brutto, S., Ben Hassine, O.K. & Arculeo, M., 2009. A study on *Pomatoschistus tortonesei* Miller 1968 (Perciformes, Gobiidae) reveals the Siculo-Tunisian Strait (STS) as a breakpoint to gene flow in the Mediterranean basin. *Mol. Phylogenet. Evol.,* 53: 596–601.

Mejri, R., Arculeo, M., Ben Hassine, O.K. & Lo Brutto, S., 2011. Genetic architecture of the marbled goby *Pomatoschistus marmoratus* (Perciformes, Gobiidae) in the Mediterranean Sea. *Mol. Phylogenet. Evol*., 58: 395-403.

Meulenkamp, J.E., 1985. Aspects of the Late Cenozoic evolution of the Aegean region. pp. 307–321. *In*: Stanley, D.J. & Wezel, F.C. (eds.), Geological evolution of the Mediterranean basin. Springer, New York.

Meulenkamp, J.E., Wortel, M.J.R., van Wamel, W.A. & Hoogerduyn Strating, E., 1988. On the Hellenic subduction zone and the geodynamic evolution of Crete since the late Middle Miocene. *Tectonophysics,* 146: 203-215.

Meyer, K.A., Schill, D.J., Elle, F.S. & Lamansky, J.A. Jr., 2003. Reproductive demographics and factors that influence length at sexual maturity of Yellowstone cutthroat trout in Idaho. *T. Am. Fish Soc.,* 132: 183-195.

Miller, P.J., 1961. Age, growth, and reproduction of the rock goby, *Gobius paganellus* L., in the Isle of Man. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.,* 41: 737–769.

Miller, P.J., 1972. Gobiid fishes of the Caspian genus *Knipo- witschia* from the Adriatic Sea. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 52: 145- 160.

Miller, P.J., 1973. The osteology and adaptive features of *Rhyacichthys aspro* (Teleostei: Gobioidei) and the classification of gobioid fishes. *J. Zool.* 171: 397-434.

Miller, P.J., 1979. Adaptiveness and implications of small size in teleosts. *Symp. Zool. Soc. Lond*., 44: 263-306.

Miller, P.J., 1984. The tokology of gobioid fishes. pp. 119–153. *In*: Potts, G.W. & Wootton, J.R. (eds.), Fish Reproduction: Strategies and Tactics. Academic Press, London.

Miller, P.J., 1986. Gobiidae. pp. 1019–1085. *In*: Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.L., Hureau,

J.C., Nielsen, J. & Tortonese, E. (eds.), Fishes of the Northeastern Atlantic and the Mediterranean, vol 3. UNESCO, Paris.
Miller, P.J., 1990. The endurance of endemism – the Mediterranean fresh-water gobies and their prospects for survival. *J. Fish. Biol.,* 37: 145–156.
Miller, P.J. 1996. The functional ecology of small fish: some opportunities and consequences. *Symp. Zool. Soc. London*., 69: 175-199.
Miller, P.J., 2004. The Freshwater Fishes of Europe Vol. 8/I (Gobiidae 2). AULA Verlag, Wiebelsheim, 478 pp.
Miller, P.J., 2009. A west Balkanian freshwater gobiid fish, *Knipowitschia mrakovcici* sp. nov. (Teleostei: Gobiidae). *J. Fish Biol*., 74: 1499–1507.
Miller, P.J. & Šanda, R., 2008. A new west Balkanian sand-goby (Teleostei: Gobiidae). *J. Fish Biol.,* 72: 259–270.
Miller, P.J., Serventi, M., Soregaroli, D., Torricelli, P. & Gandolfi, G., 1994. Isozyme genetics and the phylogeny of Italian freshwater gobies (Teleostei: Gobioidei). *J. Fish Biol.,* 44: 439-451.
Moreau, J., 1987. Mathematical and biological expression of growth in fishes: recent trends and further developments. pp. 81-113. *In*: Summerfelt, R.C. & Hall, G.E. (eds.), Age and growth of Fish. Iowa State University Press, Iowa.
Moretti, I., Sakellariou, D., Lykousis, V. & Micarelli, L., 2003. The Gulf of Corinth: an active half graben? *J. Geodyn.,* 36: 323–340.
Moskal'kova, K.I., 1960. Some pecularities of growth and development of the Knipovich□s goby in the Taganrog Bay. *Tr. Azov. Nauk-Issled. Ryb. Khoz.,* 1(1): 441-445 (in Russian).
Mrakovčić, M., Kerovec, M., Mišetić, S. & Schneider, D., 1996. Description of *Knipowitschia punctatissima croatica*, (Pisces: Gobiidae), a new freshwater goby from Dalmatia, Croatia. pp. 631-685. *In*: Kirchhofer, A. & Hefti, D. (eds.), Conservation of endangered Freshwater Fish in Europe. Basel, Birkhäuser Verlag.
Murphy, B.R., Willis, D.W. & Springer, T.A., 1991. The relative weight index in fisheries management: status and needs. *Fisheries,* 16: 30-38.
Murta, A.G., 2000. Morphological variation of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in the Iberian and North African Atlantic: implications for stock identification. *ICES J. Mar. Sci.,* 57: 1240–1248.
Myhre, L.C., de Jong, K., Forsgren, E. & Amundsen, T., 2012. Sex roles and mutual mate choice matter during mate sampling. *Am. Nat.*, 179: 741-755.
Mylonas, M., 1999. The waves of evolution. 8th International Congress on the Zoogeography and Ecology of Greece and adjancent regions. Kavala, May 1999.
Myrberg, A.A., 1981. Sound communication and interception in fishes. pp. 395–426. *In*: Poppe, A.R., & Fay, R.R. (eds.), Hearing and sound communication in fishes. Springer-Verlag, New York.
Myrberg, A.A., 1997. Sound production by a coral reef fish (*Pomacentrus partitus*): evidence for a vocal, territorial "keep-out" signal. *Bull. Mar. Sci.,* 60: 1017–1025.
Myrberg, A.A. & Lugli, M., 2006. Reproductive behavior and acoustical interactions. pp. 149–176. *In*: Ladich, F., Collin, S., Moller, P. & Kapoor, B.G. (eds.), Communication in fishes. Enfield, N.H., Science Publishers
Myrberg AA, Spanier, E. & Ha, S.J., 1978. Temporal patterning in acoustical communication. pp. 137–179. In: Reese, E.S. & Lighter, F.J. (eds.), Contrasts in behavior. Wiley, New York.
Myrberg, A.A., Mohler, M.A. & Catala, J., 1986. Sound production by males of a coral

reef fish (*Pomacentrus partitus*): Its significance to females. *Anim. Behav*., 34: 923–933.

Nalbant, T.T. & Otel, V., 1995. *Knipowitschia cameliae* (Pisces: *Gobiidae*) a new species of dwarf gobies from the panizzae group. Some problems of its protection. *Ocrotirea naturii si a mediului înconjurator. Bucuresti*, 39: 51-57.

Nei, M. & Kumar, S., 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press, New York, 333 pp.

Neilson, M.E. & Stepien, C.A., 2009. Escape from the Ponto-Caspian: Evolution and biogeography of an endemic goby species flock (Bentophilinae: Gobiidae: Teleostei). Mol. Phylogenet. Evol. 52: 84-102.

Nelson, J. S., 1994. Fishes of the World, 3rd. ed. Wiley and Sons, New York, 600 pp.

Nelson, J.S., 2006. Fishes of the World. 4th edition. Wiley, New York, 601 pp.

Neves, F.M. & Monteiro, L.R., 2003. Body shape and size divergence among populations of *Poecilia vivipara* in coastal lagoons of south-eastern Brazil. *J. Fish Biol*., 63: 928–941.

Nijenhuis, I.A., 1999. Geochemistry of eastern Mediterranean sedimentary cycles. On the origin of Miocene to Pleistocene sapropels, laminites and diatomites. Ph.D. Thesis. Department of Geochemistry, Utrecht University, The Netherlands, 168 pp.

Nikolsky, G.V., 1963. The ecology of fishes. Academic Press, INC. London and New York, 353 pp.

Nikolskii G.V., 1969. Theory of Fish Population Dynamics as the Biological Background for Rational Exploitation and Management of Fishery Resources. Oliver & Boyd, Edinburg, 323 pp.

del Norte-Campos, A.G.C. & Temming, A., 1994. Daily activity, feeding and rations in gobies and brown shrimp in the northern Wadden Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser*., 115: 41-53.

Norton, S.F., 1991. Capture success and diet of cottid fishes: the role of predator morphology and attack kinematics. *Ecology,* 72: 1807-1819.

Noveska, V., Naumovski, T., Gjorgonoska, D. & Mitić, V. (eds) 1985. Bibliography for Lake Ohrid. Station Hydrobiologique, Ohrid.

Oliveira, R.F., Natasha Carvalho, Miranda, J., Gonçalves, E.J., Grober, M. & Santos, R.S., 2002. The relationship between the presence of satellite males and nest-holders' mating success in the Azorean rock-pool Blenny *Parablennius sanguinolentus parvicornis*. *Ethology*, 108: 223-235.

O'Reilly, K.M. & Horn, M.H., 2004. Phenotypic variation among populations of *Atherinops affinis* (Atherinopsidae) with insights from a geometric morphometric analysis. *J. Fish Biol.,* 64: 1117–1135.

Ota, D., Marchesan, M. & Ferrero, E.A., 1996. Sperm release behavior and fertilisation in the grass goby. *J. Fish Biol.,* 49: 246–256.

Ozen, O., Irmak, E. & Bilecenoglu, M., 2007. Occurrence of *Pomatoschistus minutus* (Pallas, 1770) (Pisces: Gobiidae) along the North Aegean coast of Turkey. *Ann. Ser. Hist. Nat.* 17: 161–164.

Özcan, C., 2009. The status of the Freshwater Gobiid, *Knipowitschia mermere* Ahnelt, 1995: distribution ecology and threats. *Bihar. Biol*., 3(2): 139-141.

Page RDM, Holmes EC. 1998. Molecular Evolution: A Phylogenetic Approach. Blackwell Science: Oxford, 346 pp.

Palomares, M.L. & Sa-a, P., 2000. The diet table. pp. 188-193. *In*: Froese, R. & Pauly, D. (eds.), FishBase 2000: concepts, design and data sources. ICLARM, Manilla.

Pampoulie, C. & Bouchereau, J.L., 1996. Elements de systematique et de biologie de deux

gobiides (poissons teleosteens), *Chromogobius quadrivittatus* (Steindachner, 1863) et *Chromogobius zebratus zebratus* (Kolombatović, 1891), des Bouches de Bonifacio (Corse, France). *Ichthyo-Physiol. Acta*, 19: 153-178.

Pampoulie, C., Rosecchi, E., Bouchereau, J.L. & Crivelli, A.J., 1999. Life history traits of *Pomatoschistus minutus* (Teleostei, Pisces) in the Rhône Delta, France. *J. Fish Biol.,* 55: 892-896.

Pampoulie, C., Bouchereau, J.L., Rosecchi, E., Poiza, G. & Crivelli, A.J., 2000. Annual variations in the reproductive traits of *Pomatoschistus microps* in a Mediterranean lagoon undergoing environmental changes: evidence of phenotypic plasticity. *J. Fish Biol*., 57: 1441-1452.

Pampoulie, C., Gysels, E.S., Maes, G.E., Hellemans, B., Leentjes, V., Jones, A.G. & Volckaert, F.A.M., 2004. Evidence for fine-scale genetic structure and estuarine colonization in a potential high gene flow marine goby (*Pomatoschistus minutus*). *Heredity,* 92, 434–445.

Papaconstantinou, C., 1988: Fauna Graeciae IV: Check list of marine fishes of Greece. National Centre for Marine Research- Hellenic Zoological Society, Athens, 319 pp.

Parmakelis, A., Stathi, I., Spanos, L., Louis, C. & Mylonas, M., 2006. Phylogeography of Iurus dufoureius (Brullé, 1832) (Scorpiones, Iuridae). *J. Biogeogr*., 33: 251-260.

Parrish, B.B. & Sharman, D.P., 1958. Some remarks on methods used in herring "racial" investigations with special reference to otolith studies. *Rapp. P.-v. Reun. Cons. perm, int. Explor. Mer,* 143: 66-80.

Pauly, D., 1985a. On improving operation and use of the ElEFAN programs. Part I: avoiding 'drift' of K towards low values. *Fishbyte,* 3: 13-14.

Pauly, D., 1985b. The population dynamics of short-lived species, with emphasis on squids. *NAFO Sci. Coun. Stud*., 9: 143-154.

Pauly, D., 1986. On improving operation and use of the ELEFAN programs. Part II. Improving the estimation of $L\infty$. *Fishbyte*, 4: 18-20.

Pauly, D., 1987. A review of the ELEFAN system for analysis of length-frequency data in fish and aquatic invertebrates. pp. 7-34. *In*: Pauly, D. & Morgan, G.R. (eds.), Length-based methods in fisheries research. ICLARM Conference Proceedings 13.

Pauly, D., 1994. On the Sex of the Fish and the Gender of Scientists. Chapman and Hall, London, 272 pp.

Pauly, D., 2000. Herbivory as a low-latitude phenomenon. p. 179. *In*: Froese, R. & Pauly, D., (eds.), FishBase 2000: concepts, design and data sources. ICLARM, Manilla.

Pauly, D. & Gaschutz, G., 1979. A simple method for fitting oscillating length growth data with a programme for pocket calculators. ICES, C. M. 1979/G: 24: 26.

Pauly, D., Ingles, J. & Neal, R., 1984. Application to shrimp stocks of objective methods for the estimation of growth, mortality and recruitment-related parameters fro length-frequency data (ELEFAN I and II). pp. 220-234. *In*: Gulland, J.A., & Rothschild, B.J. (eds.), Penaeid shrimps – Their biology and management. Fishing News Books, Farnham, UK.

Pauly, D. & Christensen, V., 2000. Trophic level of fishes. p. 181. *In*: Froese, R. & Pauly, D., (eds.), FishBase 2000: concepts, design and data sources. ICLARM, Manilla.

Pauly, D., & Palomares. M.L, 2000. Approaches for dealing with three sources of bias when studying the fishing down marine food web phenomenon. pp. 61-66. *In*: Briand, F. (ed.), Fishing Down the Mediterranean Food Webs? Volume 12 CIESM Workshop Series, Corfu, Greece. 26 July-30 July, 2000.

Pauly, D., Froese, R. & Rius, J.F., 2000. Trophic Pyramids. pp. 203-204. *In*: Froese, R. & Pauly, D., (eds.), FishBase 2000: concepts, design and data sources. ICLARM, Manilla.

Pauly, D., Trites, A.W., Capuli, E. & Christensen, V., 1998. Diet composition and trophic levels of marine mammals. *ICES J. Mar. Sci.,* 55: 467-481.

Penzo, E., Gandolfi, G., Bargelloni, L., Colombo, L. & Patarnello, T., 1998. Messinian salinity crisis and the origin of lifestyle in Western Mediterranean gobies. *Mol. Biol. Evol*., 15: 1472–1480.

Pérez-Losada, M., Mark, J.N., Crandall, K.A. & Shaw, P.W., 2007. Testing hypotheses of population structuring in the Northeast Atlantic Ocean and Mediterranean Sea using the common cuttlefish *Sepia officinalis*. *Mol. Ecol*., 16: 2667–2679.

Perissoratis, C. & Conispoliatis, N., 2003. The impacts of sea-level changes during latest Pleistocene and Holocene times on the morphology of the Ionian and Aegean Seas (SE Alpine Europe). *Mar. Geol.,* 196: 145-156.

Persson, A. & Bronmark, C., 2002. Foraging capacities and effects of competitive release on ontogenetic diet shift in bream, *Abramis brama*. *Oikos,* 97: 271-281.

Petersen, C.G.J., 1891. Eine Methode zur Bestimmung des Alters und des Wuchses der Fisches. *Mitt. Dtsch. Seefisch. Ver.*, 11: 226-235.

Pezold, F., 1993. Evidence for a monophyletic Gobiinae. *Copeia,* 1993: 634-643.

Philbrick, C., 1988. Length-frequency analysis of pelagic fish species. *Fishbyte,* 6: 5-6.

Pianka, E.R., 1970. On 'r' and 'K' selection. *Am. Nat.,* 104: 592-597.

Pinchuk, V.I. & Savchuk, M.Ya., 1982. Species composition of the genus *Pomatoschistus* (Gobiidae) in the Seas of the USSR. *J. Ichthyol.*, 22: 7-12.

Pinkas, L.M., Oliphant, S. & Iverson, I.L., 1971. Food habits of albacore, bluefin tuna and bonito in California waters. *Calif. Fish. Game,* 152, 1-105.

Polgar, G. & Crosa, G., 2009. Multivariate characterization of the habitats of seven species of Malayan mudskippers (Gobiidae: Oxudercinae). *Mar. Biol.*, 156(7): 1475-1486.

Popov, S.V., Shcherba, I.G., Ilyina, L.B., Nevesskaya, L.A., Paramonova, N.P., Khondkarian, S.O. & Magyar, I., 2006. Late Miocene to Pliocene palaeogeography of the Paratethys and its relation to the Mediterranean. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.*, 238: 91–106.

Por, F.D., 1989. The legacy of Tethys. An aquatic biogecgraphy of the Levant. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 214 pp.

Por, F.D. & Dimentman, C., 1985. Continuity of Messinian biota in the Mediterranean basin. pp. 545-557. *In*: Stanley, D.J. & Wezel, F. (eds.), Geological evolution of the Mediterranean basin. Springer-Verlag, New York.

Rampin, M., Gkenas, C., Malavasi, S. & Libertini, A., 2011 A cytogenetical study on *Economidichthys pygmaeus* Holly, 1929 (Pisces, Gobiidae), an endemic freshwater goby from Western Greece. *Comp. Cytogen*., 5(5): 391-396.

Raymond, M. & Rousset, F., 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution,* 49: 1280-1283.

Reist, J.D., 1985. An empirical evaluation of several univariate methods that adjust for size variation in morphometric variation. *Can. J. Zool.,* 63: 1429–1439.

Reznick, D. N. & Brown, B., 1987. Fat cycling in the mosquitofish (*Gambusia affinis*): fat storage as a reproductive adaptation. *Oecologia*, 73, 401–413.

Rezsu, E. & Specziar, A., 2006. Ontogenetic diet shift profiles and size-dependent diet partitioning of ruffe *Gymnocephalus cernuus*, perch *Perca fluviatilis* and pumpkinseed *Lepomis gibbosus* in Lake Balaton. *Ecol. Freshw. Fish*, 15: 339-349.

Ribeiro, F., Orjuela, R., Megalhaes, M. & Collares-Pereira, M., 2007. Variability in feeding ecology of a South American cichlid: a reason for successful invasion in Mediterranean type rivers? *Ecol. Fresh. Fish,* 16: 559-569.

Rice, W.R., 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution,* 43: 223 –225.

Ricker, W.E., 1979. Growth rates and models. pp. 677–743. *In*: Hoar, W.S., Randall, D.J. & Brett, J.R. (eds.), Fish Physiology, vol. 8. Bionergetics and growth. Academic Press, New York.

Riffel, M. & Schreiber, A., 1998. Morphometric differentiation in populations of the Central European sculpin *Cottus gobio* L., a fish with deeply divergent genetic lineages. *Can. J. Zool.* 76: 876–885.

Robertson, D.R. & Justines, G., 1982. Protogynous hermaphroditism and gonochorism in four Caribbean reef gobies. *Environ. Biol. Fish*, 7: 137–142.

Rogers, S.I., 1989. Seasonal variations in fecundity and egg size of the common goby, *Pomatoschistus microps*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.,* 69: 535-543.

Rohlf, F.J. & Marcus, L.F. 1993. A revolution in morphometrics. Trends in Ecology and *Evolution,* 8, 129–132.

Romero, J. & Imberger, G., 1999. Final report: Lake Pamvotis project. Perth: Centre for Water Research. University of Western Australia, 190 pp.

Romero, J., Kagalou, I., Imberger, J., Hela, D., Kott, M., Bartzokas, A., Albanis, T., Evmirides, N., Karkabounas, S., Papagianiis, J. & Bithava, A., 2002. Seasonal water quality of shallow and eutrophic Lake Pamvotis, Greece: Implications for restoration. *Hydrobiologia*, 471: 91–105.

Rosenberg, A.A. & Beddington, J.R., 1988. Length-based methods of fish stock assessment. pp. 83-103. *In*: Gulland, J.A. (ed.), Fish Population Dynamics. John Wiley & Sons, London.

Rossignol-Strick, M., Nesteroff, W., Olive, P. & Vergnaud-Grazzini, C., 1982. After the deluge: Mediterranean stagnation and sapropel formation. *Nature,* 295: 105□110.

Royce, W.F., 1972. Introduction to the Fishery Sciences. Academic Press, New York, 351 pp.

Ruttner, F., 1963. Fundamentals of Limnology (Translation of Grundriss der Limnologie by D.G. Frey & F.E.D. Fry). Toronto, Univ. of Toronto Press, 295 pp.

Ryman, N., Lagercrantz, U., Anderson, L., Chakraborty, R. & Rosenberg, R., 1984. Lack of correspondence between genetic and morphologic variability patterns in Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Heredity,* 53: 687–704.

Saitou, N. & Nei, M., 1987. The Neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. *Mol. Biol. Evol*., 4: 406-425.

Salgado, J.P., Cabral, H.N. & Costa, M.J. 2004. Feeding ecology of the gobies *Pomatoschistus minutus* (Pallas, 1770) and *Pomatoschistus microps* (Krøyer, 1838) in the upper Tagus estuary, Portugal. *Sci. Mar.,* 68: 425-434.

Sanzo, L., 1911. Distribuzione delle papillae cutanee (organi ciatiformi) e suo valore sistematico nei Gobi. *Mitt. Zool. Sta. Neapel*, 20: 249-328.

Sato, M., 1954. On the sensory papillae of a Japanese goby, *Rhynogobius similis* (Gill). *Jap. J. Ichthyol*., 3: 53-55.

Sato, M., 1957. On the pit organ system of *Pseudobargus aurantiacus*, *Astroconger myriaster* and gobies. *Zool. Mag. Tokio*, 66: 332-336.

Šanda, R. & Kovačić, M., 2009. Freshwater gobies in the Adriatic drainage basin of the Western Balkans. *Annal, Ser. Hist. Nat.,* 19: 1-10.

Scaggiante, M., Mazzoldi, C., Petersen. C.W. & Rasotto, M.B., 1999. Sperm competition

and mode of fertilization in the grass goby *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei: Gobiidae). *J. Exp. Zool*., 283: 81–90.
Scalici, M. & Gilbertini, G., 2009. Freshwater goby life history in a Mediterranean stream. *Hydrobiologia,* 628: 177-189.
Schüle, W., 1993. Mammals, vegetation and the initial human settlement of the Mediterranean islands: a palaeoecological approach. *J. Biogeogr*., 20: 399-412.
Sfenthourakis, S. & Legakis, A., 2001. Hotspots of endemic terrestrial invertebrates in southern Greece. *Biodiv. Conserv.,* 10: 1387–1417.
Shao, Y., Wang, J., Qiao, Y., He, Y. & Cao, W., 2007. Morphological variability between wild populations and inbred stocks of a Chinese minnow, *Gobiocypris rarus*. *Zool. Sci.,* 24: 1094-1102.
Sibbing, F.A. & Nagelkerke, L.A.J., 2001. Resource partitioning by Lake Tana barbs predicted from fish morphometrics and prey characteristics. *Rev. Fish Biol. Fisher.,* 10: 393-437.
Siegel, S. & Castellan. Jr. N.J., 1992. Statistica Non Parametrica. McGraw-Hill, New York, 429 pp.
Simmons, M.P. & Ochoterenam, H., 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Syst. Biol.,* 49: 369-381.
Simonović P.D., 1999. Phylogenetic relationships between the Ponto-Caspian gobies and their relationship to the Atlantic-Mediterranean Gobiinae. *J. Fish Biol*. 54: 533-555.
Skoulikidis, N.T.H., Economou, A.N., Gritzalis, K.C. & Zogaris, S., 2009. Rivers of the Balkans. pp. 421–466. *In*: Tockner, K., Robinson, C.T. & Uehlinger, U. (eds.), Rivers of Europe, 1st edn. London: Academic Press.
Slastenenko, E.P., 1939. Les poissons de la Mer Noire et de la Mer d'Azov. *Ann. Sci. Univ. Jassy*, 25: 196.
Sokal. R.R. & Rohlf, F.J., 1987. Introduction to biostatistics, 2nd edn. New York, W.H. Freeman & Company, 349 pp.
Sorice, M. & Caputo, V., 1999. Genetic variation in seven goby species (Perciformes: Gobiidae) assessed by electrophoresis and taxonomic inference. *Mar. Biol*., 134: 327-333.
Soule. M. & Couzin-Roudy, J., 1982. Allometric variation. 2. Developmental instability of extreme phenotypes. *Am. Nat.,* 120: 765–786.
Sözer, F., 1941. Les Gobiides de la Turque. *Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul B,* 6: 128-169.
Specziar, A., Tolg, L. & Biró, P., 1997. Feeding strategy and growth of cyprinids in the littoral zone of Lake Balaton. *J. Fish Biol*. 51: 1109-1124.
Stadler, J.H., 2000. Species-recognition and sex-recognition by males of the notchtongue goby *Bathygobius curacao*. Ph.D Thesis, University of Miami, Miami, FL.
Stearns, S.C., 1992. The evolution of Life Histories. Oxford University Press, New York, 249 pp.
Stefanni, S. & Thorley, J.L., 2003. Mitochondrial DNA phylogeography reveals the existence of an Evolutionarily Significant Unit of the sand goby *Pomatoschistus minutus* in the Adriatic (Eastern Mediterranean). *Mol. Phylogenet. Evol*., 28: 601–609.
Steindachner, F., 1896. Beitrage zur Kenntnis der Susswasserfische der Balkan-Halbinsel. *Denkschr. Ak. der Wiss. Wien*, 63: 181–188.
Stelbrink, B. & Freyhof, J., 2006. Reduction of scales and head canals in *Pomatoschistus canestrinii* (Ninni, 1883) (Teleostei, Gobiidae). *Verhandlungen der Gesellschaft für Ichthyologie,* 5: 71-77.
Steininger F.F., Rögl, F., 1984. Paleogeography and palinspastic reconstruction of the

Neogene of the Mediterranean and Paratethys. pp. 659–668. In: Dixon, J.E. & Robertson, A.H.F. (eds.), The Geological Evolution of the Eastern Mediterranean. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Stergiou, K.I., 2000. Life-history patterns of fishes in the Hellenic Seas. *Web Ecol*., 1: 1-10.

Stergiou, K.I. & Polunin, N.V.C. 2000. Introduction. pp. 73-78. *In*: Briand, F. (ed.), Fishing Down the Mediterranean Food Webs? Vol. 12. CIESM Workshop Series.

Stergiou, K.I. & Karpouzi, V.S., 2002. Feeding habits and trophic levels of Mediterranean fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 11: 217-254.

Stockley, P., Gage, M.J.G., Parker, G.A. & Møller, A.P., 1997. Sperm competition in fishes: The evolution of testis size and ejaculate characteristics. *Am. Nat*., 149: 933–954.

Svensson, O., Magnhagen, C., Forsgren, E. & Kvarnemo, C., 1998. Parental behaviour in relation to the occurrence of sneaking in the common goby. *Anim. Behav*., 56: 175–179.

Svensson, O. & Kvarnemo, C., 2003. Sexually selected nest building – *Pomatoschistus minutus* males build smaller nest-openings in the presence of sneaker males. *J. Evol. Biol.,* 16: 896-902.

Šorić, V.M. & Bănărescu, P.M., 1999. Aulopyge Heckel, 1841. pp. 369–381. *In*: Bănărescu, P. M. (ed.), The Freshwater Fishes of Europe, Vol. 5. Wiesbaden: AULA-Verlag.

Taborsky, M., 1994. Sneakers, satellites, and helpers: parasitic and cooperative behavior in fish reproduction. *Adv. Stud. Behav.,* 23: 1–100.

Taborsky, M., 2001. The evolution of bourgeois, parasitic, and cooperative reproductive behaviors in fishes. *The Journal of Heredity,* 92: 100–110.

Taborsky, M., Hudde, B. & Wirtz, P., 1987. Reproductive behaviour and ecology of *Symphodus (crenilabrus) ocellatus*, a European wrasse with four types of male behaviour. *Behaviour*, 102: 82-118.

Tachet, H., Bournaud, M. & Richoux, P., 1991. Introduction a l'étude des macroinvertébrés des eaux douces. (Systématique élémentaire et aperçu écologique). Université Claude Bernard, Lyon, 155 pp.

Takagi, K., 1957. Descriptions of some new gobioid fishes of Japan with a proposition on the sensory line system as a taxonomic character. *J. Tokyo Univ. Fish.*, 43: 97-126.

Takemura, A., 1984. Acoustical behavior of the freshwater goby Odontobutis obscura. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish,* 50(4): 561–564.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S., 2011. MEGA 5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* 28: 2731-2739.

Tanasichuk, V.S. & Trauberg, Ye.T., 1966. The interrelationships of the larvae of the small goby *Pomatoschistus minutus* (Pallas) and the herring *Clupea harengus membras* in the Gulf of Riga. *Vopr. Ikhtiol.*, 6(2): 302-397.

Taning, A.V., 1940. Island-Faero-Omraadets Kutlinger (Gobiidae). *Vid. Medd. Dansk Naturh. Foren.*, 104: 267-282.

Tavolga, W.N., 1954. Reproductive behavior in the gobiid fish *Bathygobius soporator*. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.,* 104: 431–459.

Te Winkel, L.E., 1935. A study of *Mistichthys luzonensis* with special reference to conditions correlated with reduced size. *J. Morph.*, 58: 463-535.

Ten Veen, J.H. & Kleinspehn, K.L., 2003. Incipient continental collision and plate

boundary curvature: Late Pliocene-Holocene transtensional Hellenic forearc, Crete, Greece. *J. Geol. Soc.,* 160: 161-181.

Tesch, F.W., 191. Age and growth. pp. 98-130. In: Ricker, W.E. (ed.), Methods for Assesment of Fish Production on Freshwaters. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Thacker, C.E., 2009. Phylogeny of Gobioidei and placement within Acanthomorpha, with a new classification and investigation of diversification and character evolution. *Copeia,* 2009: 93-104.

Thacker, C.E., 2011. Systematics of Gobiidae. pp. 129-136. In: Patzner, R.A., Van Tassell, J. L., Kovačić, M., & Kapoor, B.G. (eds.), The Biology of Gobies, Science Publishers, Enfield, New Hampshire.

Thacker, C.E. & H. J. Grier. 2005. Unusual gonadal structure in the paedomorphic teleost *Schindleria*, with comparison to other gobioid fishes. *J. Fish Biol*., 66: 378-391.

Thacker, C.E. & Hardman, M.A., 2005. Molecular phylogeny of basal gobioid fishes: Rhyacichthyidae, Odontobutidae, Xenisthmidae, Eleotridae (Teleostei: Perciformes: Gobioidei). *Mol. Phylogenet. Evol.* 37: 858–871.

Thacker, C.E. & Roje, D.M.,. 2011. Phylogeny of Gobiidae and identification of gobiid lineages. *Syst. Biodiv.,* 9: 329-347.

Thiede, J., 1978. A glacial Mediterranean. *Nature,* 276: 680-683.

Thorman, S. & Wiederholm, A.M., 1986. Food, habitat and time niches in a coastal fish species assemblage in a brackish water bay in the Bothnian Sea, Sweden. *J. Exp. Marine Biol. Ecol.* 95: 57–86.

Thorpe, R. S., 1987*:* Geographic variation: a synthesis of cause, data, pattern and congruence in relation to subspecies, multivariate analysis and phylogenesis. Boll. Zool. 54, 3–11.

Thompson, J.D., 1991. Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *Trends Ecol. Evol.,* 6: 246-249.

Tokeshi, M., 1991. Graphical analysis of predator feeding strategy and prey importance. *Freshw. Forum*, 1: 179-183.

Torricelli, P., Lugli, M. & Gandolfi, G., 1985. A quantitative analysis of the fanning activity in the male *Padogobius martensii*. *Behaviour* 92: 288–301.

Torricelli, P., Lugli, M. & Gandolfi, G., 1986 . A quantitative analysis of the occurrence of visual and acoustic displays during the courtship in the freshwater goby, *Padogobius martensii* (Giinther,1961) (Pisces, Gobiidae). *Boll. Zool*., 53: 85-89 .

Torricelli, P., Malavasi, S., Novarini, N., Pravoni, F. & Mainardi, D., 2000. Elongation of fin rays in parental males of *Zosterisessor ophiocephalus*. *Environ. Biol. Fish*. 58:105–108.

Townsend, C.R. & Winfield, I.J., 1985. The application of optimal foraging theory to feeding behaviour in fish. pp. 67–98. In: Tytler, P. & Calow, P. (eds.), Fish Energetics: New Perspectives. Croom Helm, London.

Triantafyllidis, A., Abatzopoulos, T.J. & Economidis, P.S., 1999. Genetic differentiation and phylogenetic relationships among Greek Silurus glanis and Silurus aristotelis (Pisces, Siluridae) populations assessed by PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA segments. *Heredity,* 82: 5-3-509.

Troitskii, S.K. & Tsunikova, E.P., 1978. Biology of *Pomatoschistus caucasicus* (Pisces, Gobiidae) in Kuban estuaries. *Vestn. Zool*., 5: 85-87.

Tsigenopoulos, C.S. & Berrebi, P., 2000. Molecular phylogeny of North Mediterranean freshwater barbs (genus *Barbus*: Cyprinidae) inferred from cytochrome *b* sequences: biogeographic and systematic implications. *Mol. Phylogenet. Evol.* 14: 165–179.

Tsigenopoulos, C.S., Kotlik, P. & Berrebi, P., 2002. Biogeography and pattern of gene flow among *Barbus* species (Teleostei: Cyprinidae) inhabiting the Italian Peninsula and neighbouring Adriatic drainages as revealed by allozyme and mitochondrial sequences data. *Biol. J. Linn. Soc*., 75: 83-99.

Tsigenopoulos, C.S., Durand, J.D., Ünlu, E. & Berrebi, P. 2003. Rapid radiation of the Mediterranean Luciobarbus species (Cyprinidae) after the Messinian salinity crisis of the Mediterranean Sea, inferred from mitochondrial phylogenetic analysis. *Biol. J. Linn. Soc*., 80: 207–222.

Tudela, S., 1999. Morphological variability in a Mediterranean, genetically homogeneous population of the European anchovy, *Engraulis encrasicolus*. *Fish Res*., 42: 229–243.

Turan, D., Berber, S., Topkara, E.T. & Verep, B., 2005. A first record [*Knipowitschia longicaudata* (Kessler, 1877)] for the fish fauna of Lake Manyas. *Turk. J. Zool*., 29: 171–176.

Turan, C., Oral, M., Ozturk, B. & Duzgunes, E., 2006. Morphometric and meristic variation between stocks of Bluefish (*Pomatomus saltatrix*) in the Black, Marmara, Aegean and northeastern Mediterranean Seas. Fish. Res., 79: 139–147.

Van Andel, T.H., 1994. New views on an Old Planet. A history of global change. Cambridge University Press, 458 pp.

Van Andel, T.H. & Shackleton, J.C., 1982. Late paleolithic and mesolithic coastlines of Greece and the Aegean. *J. Field Archaeol.*, 9: 445–454.

Vanderploeg, H.A. & Scavia, D., 1979. Calculation and use of selectivity coefficients of feeding: zooplankton grazing. *Ecol. Model*., 7: 135–149.

Vanhove, M.P.M., Economou, A.N., Zogarism S., Larmuseau, M.H.D., Giakoumi, S., Kalogianni, E., Volckaert, F.A.M. & Huyse, T., 2012. Phylogenetics and biogeography of the Balkan 'sand gobies' (Teleostei: Gobiidae): vulnerable species in need of taxonomic revision. *Biol. J. Linn. Soc.,* 105: 73-91.

Vargas M.J. & de Sostoa, A., 1996. Life history of *Gambusia holbrooki* (Pisces, Poeciliidae) in the Ebro Delta (NE Iberian Peninsula). *Hydrobiologia*, 341: 215-224.

Vargas, M.J. & de Sostoa, A., 1997. Life history pattern of the Iberian toothcarp *Aphanius iberus* (Pisces: Cyprinodontidae) from a Mediterranean estuary, the Ebro Delta (Spain). *Neth. J. Zool.,* 47:143-160.

Vassilopoulou, V., 2006. Dietary habits of the deep-sea flatfish *Lepidorhombus boscii* in north-eastern Mediterranean waters. *J. Fish Biol*., 69: 1202–1220.

Venitzelos, E. & Gregor, H.J., 1990. Some aspects of the Neogene floral history in Greece. *Rev. Palaeobot. Palynol.,* 62: 291-307.

Wallace, R.K., 1981. An assessment of diet-overlap indexes. *Trans. Am. Fish. Soc*., 110: 72-76.

Wang, H.Y., Tsai, M.P., Dean, J. & Lee, SC., 2001. Molecular phylogeny of gobioid fi shes (Perciformes: Gobioidei) based on mitochondrial 12S rRNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.,* 20: 390-408.

Ward, R.D., Zemlak, S.Z., Innes, B.H., Last, P.R. & Hebert, P.D.N., 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 360: 1847–1857.

Ware, D.M., 1975. Growth, metabolism, and optimal swimming speed of a pelagic fish. *J.Fish. Res. Bd Can*., 32: 33-41

Watson, H. & Walker, H.J. Jr., 2004. The world's smallest vertebrate, *Schindleria brevipinguis*, a new paedomorphic species in the family Schindleriidae (Perciformes: Gobioidei). *Rec. Aust. Mus.,* 56: 139-142.

Weatherley, A.H. & Gill, H.S., 1987. The Biology of Fish Growth. Academic Press, London.
Webb, C.J., 1980. Systematics of *Pomatoschistus minutus* complex (Teleostei: Gobiidae). *Phil. Trans. R. Soc. B* 291: 201- 241.
Webb, C.J. & Scholl, A., 1985. Identification of larvae of European species of *Chironomus Meigen* (Diptera: Chironomidae) by morphological characters. *Syst. Entomol.,* 10: 353-372.
Welcomme, R.L., 2001. Inland Fisheries. Ecology and Management. Blackwell Science Press, England, 358 pp.
Westaway, R., 1994. Present-day kinematics of the middle East and eastern Mediterranean. *J. Geophys. Res.* 99: 12071-12090.
Wetzel, R.G. 2001. Limnology: Lake and River Ecosystems, 3rd edn. Academic Press, San Diego, 1006 pp.
Wheeler, W.C., Gatesy, J., DeSalle, R., 1995. Elision: A Method for Accommodating Multiple Molecular Sequence Alignments with Alignment-Ambiguous Sites. *Mol. Phylogenet. Evol.,* 4: 1-9.
Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.L., Hureau, J.C., Nielsen, J. & Tortonese, E., 1986. Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean, 3 volumes. Unesco, Paris, 1473 pp.
Whitfield, A.K., 1990. Life-history styles of fishes in South African estuaries. *Environ. Biol. Fish,* 28: 295-308.
Wilde, G.R. & Echelle, A.A., 1997. Morphological variation in intergrade pupfish populations from the Pecos River, Texas, U.S.A. J. Fish Biol. 50: 523–539.
Winterbottom, R., Alofs, K.M. & Marseu, A., 2011. Life span, growth and mortality in the western Pacific goby *Trimma benjamini*, and comparisons with *T. nasa*. *Environ. Biol. Fish,* 91: 295–301.
Wootton, R.J., 1984. Introduction: strategies and tactics in fish reproduction. pp 1–13. *In*: Potts, G.W. & Wootton, R.J. (eds.), Fish Reproduction: Strategies and Tactics. Academic Press, London.
Woottoon, R.J., 1990. Ecology of teleost fish. London: Chapman & Hall, 404 pp.
Wootton, R.J., 1992. Fish Ecology. Blackie and Son Ltd., Glasgow, 224p.
Wootton, R.J., 1996. Fish Ecology. Chapman and Hall, 212 pp.
Wootton, R. J., 1999. Ecology of Teleost Fishes. London: Kluwer Academic Publishers.
Yanko-Hombach, V., Gilbert, A.S. & Dolukhanov, P., 2007. Controversy over the great flood hypotheses in the Black Sea in light of geological, paleontological, and archeological evidence. *Quatern. Int.*, 167–168, 91–113.
Zander, C.D., 1979. On the biology and food of small-sized fish from the North and Baltic Sea areas. II. Investigation of a shallow stony ground off Møn, Denmark. *Ophelia*, 18: 179–190.
Zanella, D., Mrakovčić, M., Zanella, L.N., Miletić. M., Mustafić, P., Ċaleta, M. & Marčić, Z., 2011. Reproductive biology of the freshwater goby *Knipowitschia croatica* Mrakovčić, Kerovec, Mišetić & Schneider 1996 (Actinopterygii, Gobiidae). *J. Appl. Ichthyol*., 27: 1242-1248.
Zar, J.H., 1999. Biostatistical analysis. New Jersey, Prentice Hall, 663p.
Zelditch, M.L., Swiderski, D.L., Sheets, H.D. & Fink, W.L., 2004. Geometric Morphometrics For Biologists: A Primer. Elsevier Academic Press, London, 443 pp.
Zelilidis, A., 2003. The geometry of fan-deltas and related turbidites in narrow linear basins. *Geol. J.,* 38: 31–46.
Zerunian, S., D'Onofrio, E., Gibertini, G., 1988. The biology of *Gobius nigricans*

(Osteichthyes, Gobiidae). I. Observations on the reproductive behaviour. *Boll. Zool.* 55: 293–298

Zhang, D.X. & Hewitt, G.M., 1997 Assessment of the universality and utility of a set of conserved mitochondrial primers in insects. *Insect Mol. Biol.,* 6: 143–150.

Zogaris, S., Economou, A.N. & Dimopoulos, P., 2009. Ecoregions in the Southern Balkans: should their boundaries be revised? *Environ. Manage.,* 43: 682–697.

Živkov, M., Trichkova, T.A. & Raikova-Petrova, G.N., 1999. Biological reasons for the unsuitability of growth and indices for comparing fish growth. *Environ. Biol. Fish,* 54: 67-76.