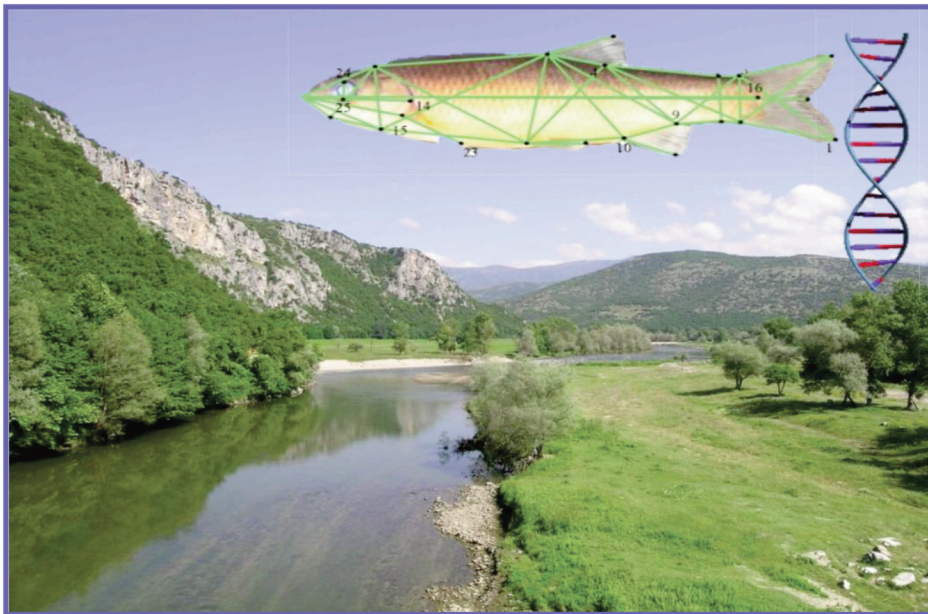




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ

## ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΩΝ ΤΗΣ ΙΧΘΥΟΠΑΝΙΔΑΣ ΤΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ ΝΕΣΤΟΥ



ΑΡΓΥΡΙΟΣ ΣΑΠΟΥΝΙΔΗΣ  
ΒΙΟΛΟΓΟΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ, MSc

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ  
ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2014



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

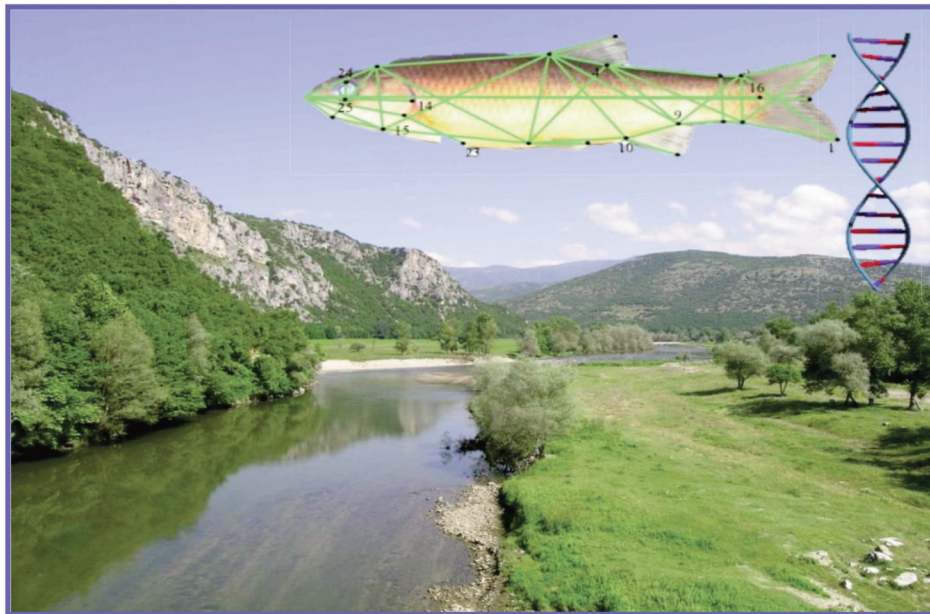






UNIVERSITY OF IOANNINA  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL APPLICATIONS  
AND TECHNOLOGIES

## MORPHOLOGICAL AND GENETIC ANALYSIS OF RIVER NESTOS' FISH FAUNA SPECIES



ARGYRIOS SAPOUNIDIS  
BIOLOGIST - BIOTECHNOLOGIST, MSc

DOCTORATE THESIS  
IOANNINA 2014



European Union  
European Social Fund



MINISTRY OF EDUCATION & RELIGIOUS AFFAIRS  
MANAGING AUTHORITY

Co-financed by Greece and the European Union



EUROPEAN SOCIAL FUND



Προτεινόμενη βιβλιογραφική αναφορά:  
Suggested citation format:

Σαπουνίδης Α. Σ., 2014. *Μορφολογική και γενετική ανάλυση ειδών του ποταμού Νέστου*. Διδακτορική διατριβή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Τμήμα Βιολογικών Επιστημών και Τεχνολογιών, Ιωάννινα. 272 σελ.

Sapounidis A. S., 2014. *Morphological and genetic analysis of River Nestos' fish fauna species*. Doctorate Thesis, University of Ioannina, Department of Biological Sciences and Technologies, Ioannina. 272 p.

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών της Σχολής Επιστημών Υγείας, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2»



**ΠΡΑΚΤΙΚΟ**  
**ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗΣ, ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ**  
**ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

Σήμερα ~~Τετάρτη 29-4-2014~~ Τετάρτη 3/7/2014 ώρα 15.00 στην αίθουσα 3 του κτηρίου Διοίκησης του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, 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. Αργύρη Σαπουνίδη**.

Την επταμελή εξεταστική επιτροπή, που συγκροτήθηκε με απόφαση της Γενικής Συνέλευσης Ειδικής Σύθεσης (212/14-03-2014) του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, αποτελούν οι:

1. Λεονάρδος Ιωάννης, Καθηγητής, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων (Επιβλέπων).
2. Κουτράκης Εμμανουήλ, Τακτικός Ερευνητής, Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας Καβάλας, ΕΛΓΟ «ΔΗΜΗΤΡΑ» (Μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής).
3. Τριανταφυλλίδης Αλέξανδρος, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (Μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής).
4. Τσίκληρας Αθανάσιος, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (Μέλος της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής).
5. Παπαλουκάς Κωνσταντίνος, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, (Μέλος της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής).
6. Κεχαγιάς Γεώργιος, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Πατρών, (Μέλος της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής). Σωτηρόπουλος Κωνσταντίνος, Λέκτορας Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, (Μέλος της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής).

Το θέμα της διατριβής που εκπόνησε και παρουσίασε σήμερα ο κ. Αργύριος Σαπουνίδης είναι:

“ Μορφολογική και γενετική ανάλυσης ειδών της ιχθυοπανίδας του ποταμού Νέστου»

Ο Πρόεδρος της εξεταστικής επιτροπής, ο κ. **Ι. Λεονάρδος**, καλεί την υποψήφια 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 της υποψήφιας και της τελικής κρίσης της διδακτορικής διατριβής.

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

1. Διαπιστώνει ότι:





- α) Η παρουσίαση και ανάπτυξη του θέματος της διδακτορικής της διατριβής ήταν άριστη.  
 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. Αργύρη Σαπουνίδη** και εισηγούνται ανεπιφύλακτα και ομόφωνα την απονομή του τίτλου του διδάκτορα με βαθμό ...αφ.16.19.....

Τα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής



Ιωάννης Λεονάρδος  
Καθηγητής  
(Επιβλέπων)

1) Λεονάρδος Ιωάννης Καθηγητής



2) Κουτάκης Εμμανουήλ, Τακτικός Ερευνητής



3) Τριανταφυλλίδης Αλέξανδρος Επίκ. Καθηγητής



4) Τσίκληρας Αθανάσιος Επίκ. Καθηγητής



5) Παπαλουκάς Κωσταντίνος Επίκ. Καθηγητής



6) Σωτηρόπουλος Κωσταντίνος, Λέκτορας



7) Κεχαγιάς Γεώργιος Επίκ. Καθηγητής





Ποταμῷ γὰρ οὐκ ἔστιν ἐμβῆναι δις  
τῷ αὐτῷ οὐδὲ θνητῆς οὐσίας δις  
ἄψασθαι κατὰ ἕξιν (τῆς αὐτῆς) ·  
ἀλλ' ὀξύτητι καὶ τάχει μεταβολῆς  
σκίδνησι καὶ πάλιν συνάγει καὶ  
πρόσεισι καὶ ἄπεισι.

Ἡράκλειτος "Τὸ Γίγνεσθαι"

Δεν μπορούμε να μπούμε δυο φορές στο ίδιο ποτάμι, ούτε ν' αγγίξουμε δυο φορές μια ουσία θνητή, γιατί σκορπίζεται και πάλι μαζεύεται με την οξύτητα και την ταχύτητα της μεταβολής και πλησιάζει κι απομακρύνεται.



*Αφιερωμένο στους γονείς μου,  
Σάββα και Δέσποινα*



Δημοσιευμένες εργασίες και εργασίες σε συνέδρια που προέκυψαν με δεδομένα από τη διδακτορική διατριβή:

Published papers and conference proceedings with data from the doctoral thesis:

Σαπουνίδης Α., Κουτράκης Μ. & Λεονάρδος Ι., 2010. Μορφολογική ανάλυση τριών ειδών της ιχθυοπανίδας του ποταμού Νέστου. *Πρακτικά 14<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Ιχθυολόγων*. Πειραιάς 14-17 Μαΐου 2010, σελ. 347-350.

Σαπουνίδης Α., Κουτράκης Μ., Καμίδης Ν. & Λεονάρδος Ι., 2011. Η επίδραση των φραγμάτων στην υδρολογία και στην ιχθυοπανίδα των ποτάμιων συστημάτων: η περίπτωση του ποταμού Νέστου. *Πρακτικά 33ου Επιστημονικού Συνεδρίου της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών Έδεσσα 19-21 Μαΐου 2011*.

Σαπουνίδης Α., Κουτράκης Μ. & Λεονάρδος Ι., 2013. Στοιχεία αναπαραγωγικού κύκλου της Μπριάνας (*Barbus strumicae* Karaman, 1955) στον ποταμό Νέστο. *Πρακτικά 15<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Ιχθυολόγων*. Θεσσαλονίκη 10-13 Οκτωβρίου 2013.

Σαπουνίδης Α., Κουτράκης Μ. & Λεονάρδος Ι., 2013. Ηλικία και αύξηση δυο διαχωρισθέντων πληθυσμών Μπριάνας (*Barbus strumicae* Karaman, 1955) στον Ποταμό Νέστο. *Πρακτικά 15<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Ιχθυολόγων*. Θεσσαλονίκη 10-13 Οκτωβρίου 2013.

Sapounidis A., Koutrakis E.T. & Leonardos I., 2011. Length – Weight relationships of 13 species from a flow regulated Balkan river. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(6): 1406–1407, DOI: 10.1111/j.1439-0426.2011.01788.x.

Sapounidis A., Koutrakis E.T. & Leonardos I., 2014. The effect of hydroelectric dams on riverine fish morphology. *Journal of Applied Ichthyology* (υπό κρίση).

Sapounidis A., Koutrakis E.T. & Leonardos I., 2014. Life history aspects of Strumica Barbel (*Barbus strumicae* Karaman, 1955) in a flow regulated river. *North-western Journal of Zoology* (υπό κρίση).





## Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	1
Περίληψη.....	3
Summary .....	9
1. Εισαγωγή .....	17
1.1. Γενικά στοιχεία.....	17
1.2. Η ιχθυοπανίδα του ποταμού Νέστου.....	25
1.3. Συστηματική κατάταξη των υπό μελέτη ειδών .....	29
1.4. Σκοπός της Διατριβής.....	35
2. Υλικά και Μέθοδοι: Γενικά.....	39
2.1. Περιγραφή της περιοχής έρευνας: Ο ποταμός Νέστος.....	39
2.2. Γεωλογία περιοχής .....	42
2.3. Καθεστώς προστασίας.....	44
2.4. Χρήσεις νερού .....	44
2.5. Πηγές ρύπανσης .....	45
2.6. Διαχρονική μεταβολή απορροής ποταμού Νέστου .....	45
2.7. Συλλογή δειγμάτων .....	49
2.8. Περιγραφή σταθμών δειγματοληψίας .....	49
2.9. Δειγματοληψίες πεδίου.....	53
2.10. Μέτρηση βιολογικών παραμέτρων.....	55
2.11. Μετρήσεις φυσικο-χημικών παραμέτρων .....	56
3. Φυσικο-χημικές παράμετροι.....	59
3.1. Θερμοκρασία .....	59
3.2. Παροχή .....	61
4. Μορφο – ανατομική ανάλυση ειδών .....	65
4.1. Εισαγωγή .....	65
4.2. Υλικά και Μεθόδοι.....	68
4.2.1. Συλλογή δειγμάτων .....	68
4.2.2. Καταγραφή μορφομετρικών δεδομένων .....	69
4.2.3. Ανάλυση μορφομετρικών δεδομένων .....	73
4.3. Αποτελέσματα .....	75
4.3.1. <i>Squalius orpheus</i> Kottelat & Economidis, 2006 .....	75
4.3.2. <i>Cobitis strumicae</i> Karaman, 1955 .....	79
4.3.3. <i>Barbus strumicae</i> Karaman, 1955 .....	79

4.3.4.	<i>Alburnoides strymonicus</i> (Bloch, 1782)	85
4.3.5.	<i>Salmo macedonicus</i> (Karaman, 1924)	90
4.4.	Συζήτηση	90
5.	Γενετική ανάλυση και σύγκριση μεταξύ ιχθυοπληθυσμών που εντοπίζονται στους ποταμούς Στρυμόνα, Νέστο και Έβρο	99
5.1.	Εισαγωγή	99
5.2.	Υλικά και μέθοδοι	101
5.2.1.	Βιολογικό υλικό	101
5.2.2.	Εργαστηριακές αναλύσεις	102
5.2.3.	Απομόνωση DNA	102
5.2.4.	Ενίσχυση με τη μέθοδο της PCR	105
5.2.5.	Καθαρισμός και προσδιορισμός της αλληλουχίας των προϊόντων της PCR (sequencing)	108
5.2.6.	Στατιστική επεξεργασία των δεδομένων της ανάλυσης αλληλουχίας	108
5.2.6.1.	Στοιχίση αλληλουχιών	108
5.2.6.2.	Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων	109
5.2.6.3.	Μέθοδοι φυλογενετικής ανάλυσης και στατιστικός έλεγχος των φυλογενετικών δένδρων	109
5.2.6.4.	Πληθυσμιακή ανάλυση	111
5.3.	Αποτελέσματα	111
5.3.1.	<i>Squalius orpheus</i>	111
5.3.2.	<i>Barbus strumicae</i>	116
5.3.3.	<i>Alburnoides strymonicus</i>	121
5.4.	Συζήτηση	124
6.	Μελέτη της βιολογίας του είδους <i>Barbus strumicae</i>	131
6.1.	Εισαγωγή	131
6.2.	Υλικά και Μέθοδοι	134
6.2.1.	Ηλικία και αύξηση του είδους <i>B. strumicae</i>	135
6.2.1.1.	Ηλικιακή δομή ιχθυοπληθυσμού	135
6.2.1.2.	Μοντέλο της κατά μήκος αύξησης	136
6.2.1.3.	Σχέση μήκους – βάρους	137
6.2.1.4.	Δείκτης ή συντελεστής ευρωστίας Fulton	137
6.2.2.	Αναπαραγωγική στρατηγική	138
6.2.2.1.	Μακροσκοπική περιγραφή γονάδων	138
6.2.2.2.	Αναλογία φύλων	138
6.2.2.3.	Γοναδοσωματικός δείκτης	138
6.2.2.4.	Πρώτη γεννητική ωρίμανση	139

6.2.2.5. Εκτίμηση γονιμότητας και μέγεθος αβγών .....	139
6.2.3. Εκτίμηση διατροφικών συνηθειών .....	140
6.2.3.1. Ποσοτική και ποιοτική περιγραφή διατροφής .....	140
6.2.3.2. Στρατηγική διατροφής κατά Costello.....	141
6.3. Αποτελέσματα.....	143
6.3.1. Ηλικία και αύξηση του είδους <i>B. strumicae</i> .....	143
6.3.1.1. Ηλικιακή δομή πληθυσμού .....	143
6.3.1.2. Παράμετροι αύξησης.....	146
6.3.1.3. Σχέση μήκους – βάρους .....	146
6.3.1.4. Δείκτης Ευρωστίας κατά Fulton.....	147
6.3.2. Αναπαραγωγική στρατηγική.....	148
6.3.2.1. Αναλογία φύλων.....	148
6.3.2.2. Γοναδοσωματικός δείκτης.....	148
6.3.2.3. Πρώτη γεννητική ωρίμαση.....	149
6.3.2.4. Γονιμότητα .....	151
6.3.3. Εκτίμηση διατροφικών συνηθειών .....	155
6.3.3.1. Ποσοτική και ποιοτική περιγραφή διατροφής .....	155
6.3.3.2. Στρατηγική διατροφής κατά Costello.....	161
6.4. Συζήτηση.....	162
7. Αξιολόγηση ποιότητας υδάτων σύμφωνα με την Οδηγία Πλαίσιο για τα Ύδατα 2000/60/ΕΚ.....	171
7.1. Εισαγωγή.....	171
7.2. Υλικά και Μέθοδοι .....	174
7.2.1. Επιλογή μετρικών .....	174
7.2.2. Βαθμονόμηση μετρικών.....	176
7.2.3. Δημιουργία πολύ-παραμετρικού δείκτη.....	176
7.3. Αποτελέσματα και Συζήτηση.....	177
7.3.1. Επιλογή μετρικών .....	177
7.3.2. Βαθμονόμηση μετρικών.....	185
7.3.3. Σύνθεση και έλεγχος του Δείκτη αξιολόγησης των υδάτων του ποταμού Νέστου.....	187
8. Γενικά Συμπεράσματα .....	195
9. Βιβλιογραφία .....	205
9.1. Ελληνική Βιβλιογραφία .....	205
9.2. Ξένη Βιβλιογραφία .....	209
Παράρτημα Ι.....	239
Παράρτημα ΙΙ .....	245



## Πρόλογος

Η παρούσα διδακτορική διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ζωολογίας του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και στο Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας (ΙΝΑΛΕ) – ΕΛΛΗΝΙΚΟΣ ΓΕΩΡΓΙΚΟΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ «ΔΗΜΗΤΡΑ» (πρώην ΕΘΙΑΓΕ – ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ) στην Νέα Πέραμο Καβάλας. Με την 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, τον Καθηγητή κ. Ιωάννη Λεονάρδο, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε από την πρώτη στιγμή, 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 καθοδήγησή του κατά τη συγγραφή και παρουσίαση της διατριβής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Τακτικό Ερευνητή Δρ. Μάνο Κουτράκη για τη αμέριστη εμπιστοσύνη που μου έδειξε όλα αυτά τα χρόνια τις συνεργασίας μας, την καθοδήγησή του, τη συνεχή παρακολούθηση του ερευνητικού μέρους, καθώς και για την αμέριστη συνεισφορά του κατά τη συγγραφή και παρουσίαση της διατριβής. Ακόμη, τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Αλέξανδρο Τριανταφυλλίδη για τη αμέριστη εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την καθοδήγησή του, τη συνεχή παρακολούθηση του ερευνητικού μέρους, καθώς και για την αμέριστη συνεισφορά και καθοδήγησή του κατά τη συγγραφή και παρουσίαση της διατριβής.

Επίσης, θερμές ευχαριστίες απευθύνω και στα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Αθανάσιο Τσίκληρα, τον Λέκτορα Κωνσταντίνο Σωτηρόπουλο, τον Επίκουρο Καθηγητή Κωνσταντίνο Παπαλουκά και τον Επίκουρο Καθηγητή Γεώργιο Κεχαγιά για τις καλοπροαίρετες παρατηρήσεις τους που συνέβαλαν στη διόρθωση και βελτίωση του παρόντος κειμένου.

Θα ήταν παράλειψή μου να μην ευχαριστήσω τον Διευθυντή του Ινστιτούτου Αλιευτικής Έρευνας, Τακτικό Ερευνητή Δρ. Αργύρη Καλλιανιώτη για την παραχώρηση του εργαστηρίου όπου πραγματοποιήθηκε ένα μεγάλο τμήμα της παρούσας διατριβής. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω και τους εργαζόμενους και συναδέλφους μου στο ΙΝΑΛΕ για την υποστήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια και ιδιαίτερα τους Νίκο Καμίδα, Φώτη Αράπογλου, Δήμητρα Πανώρα και Δημήτη Λαχουβάρη για την βοήθειά τους τόσο σε εργασίες πεδίου, όσο και σε εργαστηριακές αναλύσεις.

Πολλά «ευχαριστώ» θέλω να εκφράσω στους φίλους και συνεργάτες του Εργαστηρίου Ζωολογίας του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών. Στην πολύ καλή φίλη και υποψήφια διδάκτορα Βέρα Λιούσια για τη μεγάλη συνεισφορά της στην υλοποίηση της γενετικής ανάλυσης, αλλά και για τη συνεργασία και την υπομονή της όλα αυτά τα χρόνια. Στον Δρ. Roman Liasko για την προθυμία του να με συμβουλευσει μέσα και έξω από το εργαστήριο όσον αφορά τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων και την εκμάθηση νέων εργαστηριακών μεθοδολογιών.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον Ομότιμο Καθηγητή ΑΠΘ κ. Οικονομίδα για τις γνώσεις που μου πρόσφερε απλόχερα σχετικά με την συστηματική των ιχθύων.

Κλείνοντας, θέλω μέσα από την καρδιά μου να ευχαριστήσω τους γονείς μου Σάββα και Δέσποινα και τα αδέρφια μου Ζωή - Νίκη και Μάκη για την υπομονή, επιμονή και ηθική υποστήριξή τους που αποτέλεσαν τα πολύτιμα εφόδια για να φέρω εις πέρας αυτήν την εργασία.

*Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) - Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος II . Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.*

## Περίληψη

Τα ψάρια αποτελούν την πολυπληθέστερη ομάδα σπονδυλωτών με 32.792 ειδών, εκ των οποίων τα 14.791 είναι είδη των εσωτερικών υδάτων, τα 15.019 θαλασσινά, ενώ τα εναπομείναντα 2.982 είναι διάδρομα είδη και είδη των υφάλμυρων υδάτων. Οι ιχθύες αποτελούν αντικείμενο μελέτης σε θέματα εξέλιξης και ειδογένεσης εδώ και πολλά χρόνια. Η μεγάλη ποικιλομορφία των ειδών ιχθύων είχε ως αποτέλεσμα τη συνεχή αναθεώρηση της συστηματικής κατάταξής τους. Είναι χαρακτηριστικό ότι λόγω της μορφολογικής ποικιλομορφίας τους μερίδα ερευνητών χαρακτηρίζει κάποια είδη ως ξεχωριστά, ενώ κάποιιοι άλλοι τα χαρακτηρίζουν ως υποείδη.

Ο σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να μελετηθεί η μορφολογική και γενετική ανάλυση των ειδών ψαριών Θρακοτιληνάρι (*Squalius orpheus* Kottelat & Οικονομίδης, 2006), Μπριάνα (*Barbus strumicae* Karaman, 1955), Τσιρωνάκι (*Alburnoides strymonicus* Chichkoff, 1940) και Θρακοβελονίτσα (*Cobitis strumicae* Karaman, 1955) του ποταμού Νέστου, οι πληθυσμοί των οποίων διαχωρίστηκαν από την κατασκευή και λειτουργία των υδροηλεκτρικών έργων της ΔΕΗ. Επίσης, μελετήθηκαν τα βασικά στοιχεία της βιολογίας της Μπριάνας, ενός είδους του οποίου δεν έχει μελετηθεί η βιολογία. Τέλος, αναπτύχθηκε ένας πολύ-παραμετρικός ιχθυολογικός βιοδείκτης για την αξιολόγηση της οικολογικής κατάστασης των επιμέρους τμημάτων του ποταμού Νέστου, στο πλαίσιο της Οδηγίας 2000/60.

Κατά τη μελέτη των μορφο-ανατομικών χαρακτηριστικών των υπό μελέτη ειδών διαπιστώθηκε η ύπαρξη μορφολογικών διαφοροποιήσεων μεταξύ των ανάντη και κατάντη πληθυσμών δύο ειδών, του *B. strumicae* και του *A. strymonicus*. Τα χαρακτηριστικά που διαφοροποίησαν τους πληθυσμούς φαίνεται να επηρεάζουν τις κολυμβητικές τους ικανότητες. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι χαρακτηριστικά όπως το μήκος της κεφαλής, το ύψος του σώματος, το μήκος των πλευρικών πτερυγίων και των λοβών του ουραίου πτερυγίου και το μήκος της βάσης του ραχιαίου πτερυγίου διαφοροποιούσαν τους δύο πληθυσμούς. Ως αποτέλεσμα, τα ψάρια που εντοπίζονται κατάντη των φραγμάτων εμφανίζουν πιο επίμηκες σώμα, διαθέτοντας έτσι ένα πιο υδροδυναμικό σχήμα σώματος. Η τροποποίηση αυτή στο σχήμα του σώματος αντανακλά την προσαρμογή του συγκεκριμένου πληθυσμού στην υψηλότερη ταχύτητα του νερού, που προκαλείται από την απελευθέρωση μεγάλων ποσοτήτων νερού από τα φράγματα. Αντιθέτως, τα ψάρια στην ανάντη ομάδα υιοθετούν ένα λιγότερο υδροδυναμικό σχήμα, καθώς το ανάντη τμήμα του

ποταμού εμφανίζει λιμναία χαρακτηριστικά. Ένα από τα χαρακτηριστικά που διαφοροποίησαν τους πληθυσμούς του είδους *A. strymonicus*, ήταν το μήκος του άνω λοβού του ουραίου πτερυγίου. Η επιμήκυνση των λοβών του ουραίου πτερυγίου συμβάλλει στη βελτίωση των κολυμβητικών ικανοτήτων των ψαριών, ιδιαίτερα κατά την κολύμβηση σε συμθήκες αυξημένης ταχύτητας του νερού. Επίσης, ένα ιδιαίτερα σημαντικό εύρημα των αναλύσεων είναι η διαφορά στον αριθμό των ακτινών στο ραχιαίο και το ουραίο πτερύγιο του *A. strymonicus* μεταξύ των ανάντη και κατάντη πληθυσμών. Η διαφοροποίηση αυτή μπορεί να είναι αποτέλεσμα της διαφορετικής έκφρασης ενός ή παραπάνω γονιδίων (φαινοτυπική πλαστικότητα) εξαιτίας των διαφορετικών περιβαλλοντικών συνθηκών στο ανάντη και κατάντη τμήμα του ποταμού. Έχει διαπιστωθεί ότι τα ψάρια του είδους *Salmo trutta* όταν υπόκεινται σε διαφορετικές θερμοκρασίες νερού μετά την εκκόλασή τους, εμφανίζουν διαφορετικό αριθμό ακτινών. Για τα είδη *S. orpheus* και *C. strumicae*, η στατιστική ανάλυση δεν έδειξε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των ανάντη και κατάντη των φραγμάτων πληθυσμών τους, κάτι το οποίο μπορεί να οφείλεται στη βιολογία των ειδών. Συγκεκριμένα, τα ιχθύδια του είδους *Leuciscus cephalus* (το παλιό όνομα του είδους *Squalius cephalus*) εντοπίζονται σε σημεία με μεγάλη ροή, όπου τρέφονται με παθητικό τρόπο με λείες που παρασύρονται από το νερό. Αργότερα, όσο μεγαλώνουν μετακινούνται σε περιοχές με μειωμένη ροή του νερού και γίνονται ενεργοί θηρευτές. Έτσι, αναπτύσσουν μορφο-ανατομικά χαρακτηριστικά κατάλληλα και για τα δύο είδη ενδιαιτημάτων.

Η ανάλυση της γενετικής ποικιλομορφίας των ειδών *S. orpheus*, *B. strumicae* και *A. strymonicus* περιλάμβανε την απομόνωση και τον πολλαπλασιασμό των αλληλουχιών του μιτοχονδριακού γονιδιακού τόπου υπομονάδα I της κυτοχρωμικής οξειδάσης (COI) με τη μέθοδο PCR, τον προσδιορισμό των αλληλουχιών αυτών και ακολούθως, τη στατιστική και φυλογενετική τους ανάλυση με τη μέθοδο της Σύνδεσης Γειτόνων (Neighbor-Joining). Όσον αφορά το είδος *S. orpheus*, πραγματοποιήθηκε σύγκριση των πληθυσμών που διαβιούν στους ποταμούς Στρυμόνα, Νέστο (ανάντη και κατάντη των φραγμάτων) και Έβρο. Η ανάλυση των αλληλουχιών του COI των τεσσάρων πληθυσμών απέδωσε συνολικά 9 πολυμορφικές νουκλεοτιδικές θέσεις. Οι τιμές της Απλοτυπικής ποικιλότητας κυμάνθηκαν μεταξύ 0,400 και 0,739, ενώ οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ των πληθυσμών κυμάνθηκαν από 0,01 έως 0,04, υποδεικνύοντας την ταξινομική ομοιότητα των πληθυσμών αυτών. Η ανάλυση του συνόλου των πληθυσμών έδειξε ότι υπάρχει ένας σημαντικός βαθμός γενετικής διαφοροποίησης ( $F_{ST}=0,609$ ) που οφείλεται σε διαφορές



μεταξύ των πληθυσμών σε ποσοστό 54,72%. Το Ακριβές κριτήριο διαφοροποίησης με βάση την συχνότητα των απλοτύπων, αποκάλυψε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής γενετική διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών του είδους, συμπεριλαμβανομένης και της σύγκρισης μεταξύ των ανάντη και κατάντη πληθυσμών του Νέστου. Όσον αφορά τους πληθυσμούς του γένους *Barbus*, η ανάλυση των αλληλουχιών του COI των τεσσάρων πληθυσμών απέδωσε συνολικά τέσσερις πολυμορφικές νουκλεοτιδικές θέσεις. Οι τιμές της Απλοτυπικής ποικιλότητας κυμάνθηκαν μεταξύ 0,2222 και 0,5556, ενώ οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ των πληθυσμών του Στρυμόνα και του Νέστου (ανάντη και κατάντη) βρέθηκαν ίσες με 0,01, τη στιγμή που η γενετική απόσταση του πληθυσμού του Έβρου από τους υπόλοιπους τρεις κυμάνθηκε από 0,043 έως 0,044. Οι τιμές αυτές είναι κατά πολύ μεγαλύτερες από την απόσταση των άλλων πληθυσμών, γεγονός που υποδηλώνει την γενετική διαφοροποίηση του πληθυσμού αυτού από τους άλλους τρεις. Κατά τον έλεγχο της γεωγραφικής ετερογένειας μεταξύ των ανάντη και κατάντη πληθυσμών του Νέστου, δεν παρατηρήθηκε ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών στις απλοτυπικές συχνότητες. Η ανάλυση της μοριακής διασποράς στο σύνολο των πληθυσμών έδειξε την ύπαρξη υψηλού βαθμού γενετικής διαφοροποίησης ( $F_{ST}=0,5261$ ), που οφείλεται σε διαφορές μεταξύ των πληθυσμών σε ποσοστό 52,61%. Η υψηλή διαφοροποίηση του πληθυσμού στον Έβρο από τους υπόλοιπους τρεις θεωρείται αναμενόμενη, καθώς κατατάσσεται σε διαφορετικό είδος σε σχέση με τους υπόλοιπους τρεις πληθυσμούς, οι οποίοι ανήκουν στο είδος *Barbus cyclolepis* Heckel, 1837. Τέλος, όσον αφορά το είδος *A. strymonicus*, λόγω του γεγονότος ότι ήταν εφικτή η συγκέντρωση δειγμάτων μόνο από την περιοχή του ποταμού Νέστου, πραγματοποιήθηκε σύγκριση αποκλειστικά μεταξύ του ανάντη και του κατάντη πληθυσμού. Η ανάλυση του συνόλου των πληθυσμών έδειξε ότι δεν υπάρχει κάποια γενετική διαφοροποίηση ( $F_{ST}=0$ ) μεταξύ του ανάντη και του κατάντη πληθυσμού του είδους.

Για τη μελέτη των βιολογικών χαρακτηριστικών του *B. strumicae*, μελετήθηκαν 200 άτομα. Η απόλυτη γονιμότητα (F) προσδιορίστηκε σε δείγμα 23 ατόμων τα οποία βρίσκονταν στο στάδιο V γεννητικής ωριμότητας. Η αναλογία αρσενικών-θηλυκών προσδιορίστηκε σε 1,93:1. Ο προσδιορισμός της ηλικίας του *B. strumicae* πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 185 ατόμων, εκ των οποίων τα 61 άτομα ήταν θηλυκά και τα 124 αρσενικά. Η εφαρμογή της δοκιμασίας ANOVA έδειξε την απουσία σημαντικών στατιστικά διαφορών ως προς την ηλικιακή δομή των δύο φύλων. Η μεγαλύτερη ηλικία που προσδιορίστηκε για όλα τα δείγματα ήταν 4+ και αφορούσε πέντε θηλυκά και έξι

αρσενικά άτομα. Το 38,4% των δειγμάτων είχε ταξινομηθεί στην κατηγορία ηλικίας 1+ και το 42,2% στην κατηγορία 2+. Όσον αφορά τις παραμέτρους αύξησης του *B. strumicae*, δε διαπιστώθηκε η ύπαρξη στατιστικών σημαντικών διαφορών μεταξύ των δύο πληθυσμών. Το είδος εμφανίζει ρυθμό προσέγγισης του  $L_{\infty}$  (K) ίσο με 0,165, το μέγιστο ασυμπτωτικό μήκος φτάνει στα 214,9 mm, ενώ και η τιμή του δείκτη αύξησης  $\phi'$  υπολογίστηκε ίση με 3,883. Όσον αφορά τη σχέση μήκους-βάρους (LWR), η παράμετρος  $b$  υπολογίστηκε ίση με 2,974 με τον πληθυσμό του είδους να εμφανίζει ισομετρική αύξηση. Η γεννητική ωρίμανση και επομένως, η αναπαραγωγική περίοδος του είδους, με βάση τον γοναδοσωματικό δείκτη, διαρκεί περίπου 2 μήνες. Αρχίζει τον Απρίλιο (GSI = 2,23) και κορυφώνεται τον Μάιο (GSI = 7,204) και τον Ιούνιο (GSI = 5,12), ενώ τον Ιούλιο επανέρχεται σε επίπεδο κατά τι χαμηλότερο από αυτό του Απριλίου (GSI = 1,684). Ο συντελεστής ευρωστίας Fulton κυμάνθηκε μεταξύ 1,517 (Απρίλιος) και 0,93 (Νοέμβριος). Παρά τη μικρή διακύμανση, ο συντελεστής εμφανίζει εποχική μεταβλητότητα με δύο μέγιστα, στα μέσα της άνοιξης (Απρίλιος) και στην αρχή του φθινοπώρου (Σεπτέμβριος, 1,637). Η απόλυτη γονιμότητα (F) της θηλυκής γονάδας κυμάνθηκε μεταξύ 1.981 και 25.655 ωάρια, ενώ η σχετική γονιμότητα κυμάνθηκε μεταξύ 35,85 ωάρια/g έως 304,33 ωάρια/g. Με την εφαρμογή λογιστικής παλινδρόμησης για την περιγραφή της σχέσης μεταξύ του ολικού μήκους και του ποσοστού των ώριμων αρσενικών και θηλυκών ατόμων προσδιορίστηκε το μήκος πρώτης γεννητικής ωρίμανσης. Όσον αφορά τα αρσενικά άτομα, το μήκος πρώτης γεννητικής ωρίμανσης υπολογίστηκε ότι είναι  $95,23 \pm 4,35$  mm και αντιστοιχεί σε άτομα ηλικίας 2+. Αντίστοιχα, για τα θηλυκά άτομα το μήκος πρώτης γεννητικής ωρίμανσης υπολογίστηκε ότι είναι  $112,54 \pm 4,97$  mm και αντιστοιχεί σε θηλυκά άτομα ηλικίας 3+. Όσον αφορά την εκτίμηση των διατροφικών συνηθειών του *B. strumicae*, διαπιστώθηκε η παρουσία 12 διαφορετικών λειών. Συγκεκριμένα, οι λείες που αναγνωρίστηκαν κατατάσσονται στις εξής κατηγορίες: φυτικά τρίμματα (plant detritus), έντομα - προνύμφες της οικογένειας των χειρονομιδών (chironomidae), αμφίποδα (amphipoda), προνύμφες εφημεροπτέρων (ephemeroptera), τριχόπτερα (trichoptera), λάρβες τριχόπτερων (caddisfly larval house), λάρβες διπτέρων (similidae και crane fly larvae), λάρβες κολεόπτερων (coleoptera), ιπτάμενα έντομα (aerial insects), μυρμήγκια (ants) και μέλη της κλάσης των αραχνιδών (arachnida). Η εφαρμογή της δοκιμασίας της Ανάλυσης Ομοιοτήτων (Analysis of Similarities – ANOSIM) έδειξε την απουσία οποιασδήποτε διαφοροποίησης ως προς τη σύνθεση της διατροφής μεταξύ των δύο φύλων ( $r^2=0,00$ ,  $p=0,5$ ). Τη μεγαλύτερη συμμετοχή στη διατροφή του είδους είχαν οι προνύμφες

των χειρονομιδών (60,40 %) και ακολουθούσαν τα εφημερόπτερα (54,46 %), τα τριχόπτερα (38,61 %) και τα φυτικά τρίμματα (31,68 %).

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής έγινε προσπάθεια ανάπτυξης ενός πολύ-παραμετρικού δείκτη που χρησιμοποιήθηκε στην αξιολόγηση των επιφανειακών υδάτων του ποταμού Νέστου, ο οποίος έχει δεχτεί μεγάλες ανθρωπογενείς πιέσεις. Η δημιουργία δείκτη αξιολόγησης των υδάτων του ποταμού Νέστου πραγματοποιήθηκε, πιο συγκεκριμένα, με την αρχική επιλογή 22 μετρικών, οι οποίες αντιπροσωπεύουν ευρύτερες ιδιότητες των ιχθυοκοινωνιών, όπως είναι η «αφθονία και σύνθεση των ιχθυοκοινωνιών» (μετρικές 1 – 13) και ο οικολογικός θώκος των ειδών που απαρτίζουν τις ιχθυοκοινότητες (μετρικές 14 – 22). Από τις 22 αρχικές μετρικές, τελικά επιλέχθηκαν 13, οι οποίες σχετίζονται με την ποσοστιαία σύνθεση του ιχθυοπληθυσμού όσον αφορά αυτόχθονα, ενδημικά και ξενικά είδη, με την ισοκατανομή και αφθονία των ειδών σε ένα οικοσύστημα, την ύπαρξη ειδών που εφαρμόζουν εξειδικευμένες στρατηγικές αναπαραγωγής, τις διατροφικές συνήθειες των ειδών που συνθέτουν την ιχθυοπανίδα ενός συστήματος, την οικολογία των ειδών - συγκεκριμένα, με το είδος των ενδιαιτημάτων που προτιμούν, την ηλικιακή δομή των ιχθυοπληθυσμών και με την βιοποικιλότητα του συστήματος. Μετά την επιλογή των μετρικών, πραγματοποιήθηκε η βαθμονόμησή τους με τη θέσπιση των συνθηκών αναφοράς, σύμφωνα με τη μεθοδολογία της «καθοδηγούμενης από τα δεδομένα» βαθμονόμησης (data-driver calibration). Η εφαρμογή του δείκτη αυτού στην περίπτωση του ποταμού Νέστου κατέταξε τρεις σταθμούς στη «Μέτρια» οικολογική κατάσταση, τρεις στην «Καλή» κατάσταση και έναν στην «Υψηλή». Επίσης, παρατηρήθηκε ότι οι ανάντη σταθμοί αξιολογήθηκαν ως «Μέτριας» οικολογικής κατάστασης, ενώ οι κατάντη σταθμοί ως «Καλής» κατάστασης. Τέλος, ο σταθμός στον παραπόταμο Αρκουδόρεμα κατατάχτηκε στην «Υψηλή» κατάσταση.

Καθώς πλέον είναι κοινά αποδεκτό ότι η κατασκευή φραγμάτων έχει αρνητικές επιπτώσεις όχι μόνο στα ποτάμια οικοσυστήματα, αλλά και στα παράκτια και θαλάσσια οικοσυστήματα, απαιτείται η περαιτέρω παρακολούθηση ενδημικών και αυτόχθονων ειδών που διαβιούν σε γλυκά ύδατα. Η παρακολούθηση αυτή θα πρέπει να στοχεύει στον εμπλουτισμό των γνώσεών μας σχετικά με τη βιολογία τους και τη γενετική σύσταση των πληθυσμών τους ώστε να είναι δυνατός ο σχεδιασμός κατάλληλων διαχειριστικών σχεδίων για κάθε είδος που απειλείται.

Τέλος, η ανάπτυξη και χρήση βιοτικών δεικτών αξιολόγησης των υδάτων, στο πλαίσιο της Οδηγίας Πλαίσιο 2000/60, συμβάλλει στον εντοπισμό των υδατικών σωμάτων

που βρίσκονται σε χαμηλή οικολογική κατάσταση με αποτέλεσμα να απειλούνται οι ιχθυοπληθυσμοί που διαβιούν σε αυτά. Επομένως, απαιτείται ένας αρκετά ευαίσθητος δείκτης, που θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πολλά συστήματα ώστε να εντοπίζει όλες τις πιέσεις. Ο δείκτης που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής θα μπορούσε, σε ένα επόμενο στάδιο, να βαθμονομηθεί για χρήση και σε άλλα υδατικά συστήματα με υψηλό βαθμό ενδημισμού, όπως είναι ο ποταμός Νέστος.

## Summary

Fish are the most numerous group of vertebrates, with 32,792 species, of which 14,791 are freshwater species, 15,019 are marine species, while the remaining 2,982 are diadromous species and species of brackish water. Fish have been one of the best studied groups of organisms on issues of evolution and speciation. The great diversity of species has resulted in the continuous revision of their taxonomy. As a result, some fish species are characterized by some researchers as a separate species and others are characterizing them as subspecies.

Based on the above considerations, the present doctorate thesis investigates the morphological and genetic differentiation of the fish species Thracian chub (*Squalius orpheus* Kottelat & Economides, 2006), Thracian barbel (*Barbus strumicae* Karaman, 1955), Strymon Spirlin (*Alburnoides strymonicus* Chichkoff, 1940) and Thracian spined loach (*Cobitis strumicae* Karaman, 1955), whose populations in river Nestos were separated by the construction and operation of two hydroelectric power plants. Also, the life history traits of the species *B. strumicae* were investigated since no such data existed until now. Finally, a multi-metric fish index was developed in order to assess the ecological status of river Nestos, in the framework of the WFD 2000/60.

Statistical analyses showed that for two of the species studied (*B. strumicae* and *A. strymonicus*) significant differences in morphometric variables were observed between the upstream and downstream groups. It was observed that the differentiating characteristics seem to affect the swimming abilities of the fish. The statistical analysis revealed that characteristics such as the length of the head, the body height, the length of the pectoral fin and the length of the caudal fin lobes, the length of the base of the dorsal fin were responsible for the fish populations differentiation. As a result, fish inhabiting the downstream of part of Nestos River, exhibit more elongated body, thus offering a more streamlined body shape. It is probable that the altered shape in the downstream fishes reflects an adaptation to the higher water velocity caused by the water discharge from the dams. In contrast, fish in the upstream group adopt a less hydrodynamic shape since the upstream part of the river has lacustrine characteristics due to very low water velocity. For *A. strymonicus* in the River Nestos, a variable that distinguished upstream and downstream populations was the length of the caudal fin lobes. The elongation of the caudal fin lobes help fish to improve their swimming abilities, which might be an important factor to swim against an increased water velocity. Also significant variation was observed in the meristic

variables of *A. strymonicus*, with the downstream population having more rays in the caudal fin than the upstream population and fewer rays in the dorsal fin. This variation can be the result of phenotypic plasticity due to the differential expression of one or more genes due to the different environmental conditions prevailing in each part of the river. It has been revealed that fishes of the species *Salmo trutta*, when subjected to different water temperatures after hatching, developed fins with variable number of rays. As for the species *S. orpheus* and *C. strumicae*, the statistical analysis revealed the absence of any statistically significant differentiation between the upstream and downstream populations, which probably is the result of the variable biology of these species compared to *A. strymonicus* and *B. strumicae*. Specifically, the *Leuciscus cephalus* fries (the old name of the species *Squalius cephalus*) are located in areas with high water flow, wherein they passively fed with food entrained by the water. Later, as they grow they move to areas with lower water flow and they become active predators. Thus, they develop morphoanatomical characteristics suitable for both types of habitats.

The analysis of the genetic diversity of the species *S. orpheus*, *B. strumicae* and *A. strymonicus* included the study of the sequence of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene, followed by statistical and phylogenetic analysis using the Neighbor-Joining method. Regarding *S. orpheus*, a comparison of populations inhabiting the rivers Strymon, Nestos (upstream and downstream of dams) and Evros has taken place. The analysis of the COI sequences involved a DNA segment of 591 base pairs. A total of nine polymorphic nucleotide positions were detected, while the values of Haplotype diversity ranged between 0.400 and 0.739. The genetic distances between populations ranged from 0.01 to 0.04, indicating the similarity of the populations, which belong to the same species. The analysis of all populations showed that there is a significant degree of genetic differentiation ( $F_{ST}=0.609$ ). The Exact Test of Sample Differentiation Based on Haplotype Frequencies, revealed the existence of significant statistically genetic differentiation among populations of the species, including the comparison of upstream and downstream populations. Regarding the populations of the genus *Barbus*, the analysis of the COI sequences of the four population involved a DNA segment of 617 base pairs. A total of four polymorphic nucleotide positions were detected, while the values of Haplotype diversity ranged between 0.2222 and 0.5556. The genetic distances between Strymon and Nestos (upstream and downstream) populations were 0.01, while the genetic distance of the Evros' population from the other three ranged from 0.043 to 0.044. These

values suggest the genetic differentiation of Nestros and Strymonas populations from the Evros' population. The test of the geographical heterogeneity between the upstream and downstream Nestos populations showed the absence of significant statistical differences. AMOVA analysis showed a high degree of genetic differentiation ( $F_{ST}=0.5261$ ). The high diversification of the Evros' population was expected since taxinomically it is classified as *Barbus cyclolepis* Heckel, 1837. Finally, regarding *A. strymonicus*, due to the fact that it was possible to collect samples only from river Nestos, a comparison between the upstream and the downstream population was performed. The analysis of the two populations showed that there is no genetic differentiation ( $F_{ST}=0$ ) between the upstream and the downstream population.

For the study of *B. strumicae* life history traits, 200 individuals were collected from sampling stations along the entire length of the river Nestos. The absolute fecundity (F) was determined on a sample of 23 fish, which were at stage V of gonadal maturity. The male-female ratio was determined for the total sample to 1.93:1. The age composition of the *B. strumicae* population was determined in a sample of 185 individuals (61 females and 124 males). The application of the ANOVA test indicated the absence of significant differences between the sexes. The maximum age determined for all samples was 4+ and involved five females and six males. 38.4% of the samples were classified in age class 1+ and 42.2% in class 2+. Regarding the growth parameters, the species shows growth rate (K) equal to 0.1654, the maximum asymptotic length reaches 214.9 mm, while the growth index  $\phi'$  was 3.883. Regarding the length-weight relationship (LWR) the parameter b for the population was estimated equal to 2.974 with the population exhibiting isometric growth.

The gonadosomatic index (GSI) indicates that the spawning period lasts for almost 3 months. More specifically, there is an increase of the index, which starts on April (GSI=2.23), peaks during May (GSI=7.204) and June (GSI=5.12), while in July the index returned to a level slightly lower than in April (GSI=1.684). Regarding the condition factor Fulton (K) ranged from 0.93 (November) to 1.68 (April). Despite the slight variation of the condition factor, a seasonal fluctuation could be observed, with two maxima, in mid-spring (April, 0.00168) and early autumn (September, 1.43). The absolute fecundity ranged between 1,981 και 25,655 oocytes, As for the relative fecundity, it ranged between 35.85 eggs/g and 304.33 eggs/g. The length-maturity relationship was estimated by fitting a logistic curve to the relation between the percentages of mature fish,

which also used to estimate the length – at – age maturity for the males and females respectively. According to the logistic model all males with length greater than 120 mm were mature. The TL50 ( $\pm$  SE) of males was  $95.23 \pm 4.35$  mm, which indicates a 2+ years old male fish. As for the females, TL50 ( $\pm$  SE) was equal to  $112.54 \pm 4.97$  mm and corresponded to the age of 3+. Regarding the assessment of feeding habits of *B. strumicae*, the presence of 12 different food items were identified. Specifically, the items identified classified in the following categories: plant detritus, insects: such as larvae of the family chironomidae, amphipoda, ephemeroptera, trichoptera, caddisfly larval house, simuliidae and crane fly larvae, coleoptera, aerial insects, ants and arachnids. The analysis of similarities (ANOSIM) revealed the absence of differentiation of the diet composition between the sexes ( $r^2=0.00$ ,  $p=0.5$ ). The dominant food item was the chironomidae larvae (60.40%) and was followed by the ephemeroptera (54.46%), trichoptera (38.61%) and plant detritus (31.68%).

In the context of this thesis a fish based multi-parametric index was developed, in order to assess the water quality of river Nestos' surface waters. The development of a multi-parametric index for the evaluation of the water quality initiated with the selection of 22 metrics, which represent broader properties of the river's fishfauna, such as abundance and composition of the fish fauna and the ecological niches of the fish species. From the initial 22 metrics only 13 were kept and they were related to the percentage composition of the fish population in terms of native, endemic and alien species, the evenness distribution and abundance of species in the ecosystem, the existence of species with specialized reproductive strategies, the feeding habits of the species, the ecology of species and specific to the type of habitats they prefer, the age structure of fish populations and the biodiversity. After selecting the metrics that comprise the index, the calibration was performed by establishing reference conditions in accordance with the methodology of "data –driven" calibration. The application of this multi-parametric index in river Nestos categorized three stations in the "Moderate" ecological status, three in "Good" condition and one in "High" ecological condition. It was observed that the upstream stations were categorized at the "Moderate" ecological status, while the downstream stations were categorized at the "Good" ecological status. Finally the station in the tributary Arkoudorema was categorized in the "High" ecological status.

As it is now widely accepted, the construction of dams has negative impact not only on the hydrological properties of the rivers but also on the coastal and marine



ecosystems. Thus, it is of high importance to implement monitoring projects to monitor the status of the endemic and indigenous species populations. This monitoring should aim to enrich our knowledge on the biology and genetic composition of populations in order to be able to design the appropriate management plans for each threatened species.

Finally, the development and use of biotic indices for assessment of water quality in the framework of the Water Framework Directive 2000/60 contribute greatly on the identification of water bodies that are in poor ecological condition thus threatening the fish communities inhabiting these habitats. Therefore, there is a need on the development of an indicator that can be used on multiple ecosystems. The index that was developed in the framework of the current thesis could be calibrated in order to be used in other water bodies with high degree of endemism.



# **Κεφάλαιο 1**

## **Εισαγωγή**



## 1. Εισαγωγή

### 1.1. Γενικά στοιχεία

Τα ψάρια αποτελούν την πολυπληθέστερη ομάδα σπονδυλωτών. Ο Eschmeyer (2014) αναφέρει την ύπαρξη 32.792 ειδών, εκ των οποίων τα 14.791 είναι είδη των γλυκέων υδάτων, τα 15.019 θαλασσινά, ενώ τα εναπομείναντα 2.982 είναι διάδρομα είδη και είδη των υφάλμυρων υδάτων. Εντοπίζονται σε μια μεγάλη ποικιλία ενδιαιτημάτων τόσο θαλάσσια, όσο και γλυκών νερών και ως εκ τούτου, υπόκεινται σε μια ποικιλία περιβαλλοντικών επιδράσεων, όπως είναι η αλατότητα, η θερμοκρασία, το pH και η ταχύτητα του νερού.

Όπως αναφέρει ο Banarescu (1989), τα ψάρια είναι μία από τις ομάδες οργανισμών που αποτελούν αντικείμενο μελέτης σε θέματα εξέλιξης και ειδογένεσης εδώ και χρόνια. Η μεγάλη βιοποικιλότητα των ειδών των εσωτερικών υδάτων πιστεύεται ότι οφείλεται στο φαινόμενο του βικαριανισμού<sup>1</sup>. Το φαινόμενο αυτό είναι ιδιαίτερα έντονο στην περίπτωση των ιχθυοπληθυσμών των ποτάμιων συστημάτων, καθώς οι φραγμοί που διαχωρίζουν τα συστήματα αυτά δεν μπορούν να εξαλειφθούν, ενώ οι ιχθύες δεν μπορούν να μετακινηθούν σε άλλα διαμέσου της θάλασσας και εκ των πραγμάτων, περιορίζονται στα υδρογραφικά δίκτυα των λεκανών απορροής, όπου και εντοπίζονται (Banarescu 1989, Kottelat & Freyhof 2007, Reyjo *et al.* 2007).

Η μεγάλη ποικιλομορφία των ειδών ιχθύων είχε ως αποτέλεσμα τη συνεχή αναθεώρηση της συστηματικής κατάταξής τους (Kottelat 1998 και Kottelat & Freyhof 2007). Λόγω της μορφολογικής ποικιλομορφίας τους, κάποια είδη χαρακτηρίζονται από μερίδα ερευνητών ως ξεχωριστά είδη, ενώ κάποιοι άλλοι τα χαρακτηρίζουν ως υποείδη (Kottelat 1998, Freyhof *et al.* 2006). Όπως αναφέρει ο Kottelat (1998), παρά το γεγονός ότι η ταξινομική μελέτη των ειδών στην Ευρώπη πραγματοποιείται τα τελευταία 450-500 χρόνια, η γνώση μας ως προς τον συνολικό αριθμό ειδών που απαντώνται στην Ευρωπαϊκή ήπειρο είναι ελλιπής. Η αμφισβητήσιμη ταξινομική κατάταξη πολλών εξ αυτών είχε ως αποτέλεσμα να γνωρίζουμε ελάχιστα για την εξάπλωση και την κατάσταση των πληθυσμών, ακόμα και των βασικών βιολογικών χαρακτηριστικών για πολλά είδη (Banarescu 1989).

---

<sup>1</sup> Σύμφωνα με το βικαριανισμό, όταν ένας πληθυσμός (γενετική δεξαμενή) διαχωρίζεται σε δύο ή περισσότερες υποομάδες, είτε λόγω φυσικών γεωλογικών διεργασιών είτε λόγω ανθρώπινων δραστηριοτήτων, αυτοί υπόκεινται σε διαφορετικές περιβαλλοντικές επιδράσεις και καθώς εμποδίζεται η μεταξύ τους γονιδιακή ανταλλαγή ακολουθούν ξεχωριστή εξελικτική πορεία (Avisé 2000).

Σύμφωνα με τους Parmesan & Yohe (2003), Vogl & Lopes (2009), Buisson *et al.* (2013) Yan *et al.* (2013) και Yavno *et al.* (2013), εξαιτίας της κλιματικής αλλαγής, αλλά και της αυξανόμενης ζήτησης για εκμετάλλευση τόσο των επιφανειακών, όσο και των υπόγειων υδάτινων πόρων για την παραγωγή υδροηλεκτρικής ενέργειας, την αναψυχή, την άρδευση και την ύδρευση, πολλά είδη είτε έχουν περιορίσει την εξάπλωσή τους, είτε έχουν εξαφανιστεί μειώνοντας, έτσι, τη βιοποικιλότητα των υδατικών συστημάτων. Σύμφωνα με τους Banarescu (1989), Kottelat (1998) και Freyhof *et al.* (2006), αυτό συμβαίνει λόγω της αδυναμίας κατανόησης των βιολογικών χαρακτηριστικών των ειδών που τα οδήγησαν σ' αυτήν την κατάσταση. Οι Banarescu (1989), Kottelat (1998), Freyhof *et al.* (2006), Kottelat & Freyhof (2007) και Buisson *et al.* (2013) αναφέρουν ότι προκειμένου να προστατέψουμε ένα είδος, θα πρέπει αρχικά να γνωρίζουμε ποιο είδος είναι και έπειτα, ποια είναι η εξάπλωσή του, τα ενδιαιτήματά του και η οικολογία του.

Τις τελευταίες δεκαετίες και ιδιαίτερα, μετά την εφαρμογή αρχικά της Οδηγίας 92/43/EK για την «προστασία της βιολογικής ποικιλότητας, μέσω της διατήρησης των φυσικών οικοτόπων, καθώς και της άγριας πανίδας και χλωρίδας» και στη συνέχεια, της Οδηγίας 2000/60 της Ευρωπαϊκής Ένωσης (EC 2000) για την προστασία των επιφανειακών υδάτων και την αξιολόγησή τους με βάση τη παρουσία και απθονία ειδών της ιχθυοπανίδας (Economou 2002), παρατηρείται μία αυξανόμενη προσπάθεια επίλυσης των προβλημάτων και των αμφισβητήσεων της συστηματικής ιχθυολογίας. Αποτέλεσμα των προσπαθειών αυτών ήταν η αναθεώρηση σε μεγάλο βαθμό της λίστας των ειδών που διαβιούν στην Ευρωπαϊκή Ήπειρο, αλλά και της γεωγραφικής τους εξάπλωσης (Kottelat & Freyhof 2007). Το γεγονός αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό, ειδικά για περιοχές με υψηλό ποσοστό ενδημισμού, όπως είναι Ιβηρική χερσόνησος, η Ιταλία και η Βαλκανική χερσόνησος. Εκεί, αναγνωρίζονται είδη με πληθυσμούς σε κρίσιμη κατάσταση και μπορούν πλέον να εκπονηθούν προγράμματα προστασίας τους (Kottelat 1998, Freyhof *et al.* 2006, Kottelat & Freyhof 2007). Στην προσπάθεια επίλυσης των ταξινομικών προβλημάτων συμβάλλουν και οι σύγχρονες τεχνικές της γενετικής, αυξάνοντας την ακρίβεια διαχωρισμού ειδών ή οριοθετώντας καλύτερα τη βιογεωγραφική εξάπλωση κάποιων άλλων (Gilles *et al.* 2010).

Η Ελλάδα είναι μία από τις Βαλκανικές χώρες η οποία εμφανίζει υψηλά ποσοστά ενδημισμού, εξαιτίας των ιδιαίτερων γεωμορφολογικών της χαρακτηριστικών (Λεονάρδος & Μπόμπορη 2013). Τα τελευταία χρόνια, σημειώνεται έντονη δραστηριότητα καταγραφής της ιχθυοπανίδας των εσωτερικών υδάτων της Ελλάδας (Economou *et al.*

2007, Koutrakis *et al.* 2013, Λεονάρδος & Μπόμπορη 2013). Συνολικά, έχουν καταγραφεί 179 είδη, εκ των οποίων 69 θεωρούνται ενδημικά της Ελλάδας, ενώ 24 επιπλέον χαρακτηρίζονται ως ενδημικά της Βαλκανικής χερσονήσου (Λεονάρδος & Μπόμπορη 2013). Μόνο ο Νέστος - για τον οποίο θα γίνει ιδιαίτερη αναφορά στο επόμενο κεφάλαιο - έχει 22 είδη, εκ των οποίων τα 14 είναι αυτόχθονα και ενδημικά, ενώ τέσσερα έχουν μεταφερθεί από γειτονικά συστήματα και τα υπόλοιπα τέσσερα είναι ξενικά. Παράλληλα, η Ελλάδα διαθέτει ιδιαίτερα γεωμορφολογικά χαρακτηριστικά. Ως εκ τούτου, πολλοί ιχθυοπληθυσμοί είναι απομονωμένοι σε μικρές λίμνες, σε ρυάκια με ελάχιστο νερό, σε ποτάμια με μεγάλη ροή ή και σε συστήματα με έντονη την ανθρώπινη δραστηριότητα (Λεονάρδος 2002). Η ιχθυοπανίδα των εσωτερικών υδάτων της Ελλάδας σε σχέση με την έκταση της χώρας, όπως συμβαίνει και στα άλλα λιμνοποτάμια συστήματα της νότιας Ευρώπης, θεωρείται ιδιαίτερα πλούσια, σε αντίθεση με άλλες περιοχές της κεντρικής και βόρειας Ευρώπης. Ο υψηλός ενδημισμός που παρουσιάζουν οι υγρότοποι της Ελλάδας οφείλεται στην έντονη γεωλογική δραστηριότητα κατά το Τριτογενές και ιδιαίτερα το Τεταρτογενές (Οικονομίδης 1988). Η δραστηριότητα αυτή που αποτυπώνεται έντονα στο ανάγλυφο της χώρας, σε συνδυασμό με τις κλιματικές αλλαγές και τις ανακατατάξεις στις λίμνες και στους ποταμούς, είχα ως αποτέλεσμα με την πάροδο των αιώνων, μεταξύ άλλων, και τη δημιουργία πολλών καταφυγίων, όπου επιβίωσαν μοναδικά είδη ψαριών (Οικονομίδης 1988).

Πρόσφατα παρατηρήθηκε μεγάλη αύξηση του αριθμού των ειδών της ιχθυοπανίδας των εσωτερικών υδάτων στην Ευρώπη μετά την αποδοχή από τους Kottelat & Freyholf (2007) ως είδη όλων των υποειδών. Η ανάλυση αυτή βασίζεται στη αντίληψη για τη βιολογική έννοια του είδους, όπως αυτή διατυπώνεται από τον Kottelat (1997) και τους Kottelat & Freyholf (2007) με βάση την Εξελικτική Θεωρία των Ειδών (Evolutionary Species Concept – ESC). Η αλλαγή αυτή, βέβαια, στην ταξινομική κατάταξη των ειδών επέφερε αλλαγές και στον επίσημο κατάλογο της Οδηγίας 92/43 των προστατευόμενων ειδών. Έτσι, εκ της παραδοχής, αν ένα είδος που ήταν ακέραιο κατά την σύνταξη της Οδηγίας έχει σήμερα διαχωρισθεί σε δύο ή περισσότερα, τότε αυτά θα πρέπει να περιληφθούν αυτοδίκαια στον επίσημο κατάλογο της Οδηγίας 92/43 του κράτους μέλους.

Εκτός, όμως, από τον φυσικό διαχωρισμό των οργανισμών, υπάρχει και ο διαχωρισμός των ιχθυοπληθυσμών ως αποτέλεσμα των ανθρώπινων δραστηριοτήτων. Η πιο σημαντική μορφή ανθρώπινης δραστηριότητας και επομένως, κατακερματισμού των ιχθυοπληθυσμών είναι τα φράγματα (Jansson *et al.* 2000). Τις τελευταίες δεκαετίες,

παρατηρείται αυξανόμενη ζήτηση για την εκμετάλλευση τόσο των επιφανειακών, όσο και των υπόγειων υδάτινων πόρων για την παραγωγή υδροηλεκτρικής ενέργειας, την αναψυχή, την άρδευση και την ύδρευση (Vogl & Lopes 2009). Ωστόσο, αυτή η ζήτηση έχει αυξήσει και την πίεση στα οικοσυστήματα και σε ορισμένες περιπτώσεις έχει μη αναστρέψιμες επιπτώσεις, όχι μόνο στους υδάτινους πόρους, αλλά και στη σύνθεση της ιχθυοπανίδας, τη βιοποικιλότητα, την αφθονία και τη μορφολογία των ψαριών (Vogl & Lopes 2009, Yan *et al.* 2013, Yavno *et al.* 2013).

Τα φράγματα είναι μία από τις πιο σημαντικές επεμβάσεις του ανθρώπου στα ποτάμια συστήματα και αποτελούν, από την αρχαιότητα, μία από τις πρωταρχικές μορφές ανθρωπογενούς επέμβασης στο φυσικό περιβάλλον (Jansson *et al.* 2000). Οι κατασκευές φραγμάτων συνέβαλαν σε μεγάλο βαθμό στην ανάπτυξη της ανθρώπινης κοινωνίας. Όμως, αυτό έγινε εις βάρος του φυσικού περιβάλλοντος, καθώς προκάλεσαν τη μείωση ή και την εξαφάνιση ειδών της ιχθυοπανίδας (Dynesius & Nilsson 1994, Northcote 1998, Daniels *et al.* 2005, Harpanski *et al.* 2007). Σύμφωνα με τους Lucas & Batley (1996), Ovidio & Philippart (2002) και Harpanski *et al.* (2007), τα φράγματα, μικρά ή μεγάλα, έχουν παρόμοια αρνητική επίδραση όχι μόνο στη φυσικοχημική ποιότητα των νερών, αλλά και στους πληθυσμούς ψαριών ενός ποταμού. Αυτό προκαλείται από την παρεμπόδιση της μετανάστευσής τους, την καταστροφή των ενδιαιτημάτων τους, την αύξηση της γενετικής απομόνωσης των πληθυσμών ανάντη και κατόντη των φραγμάτων και τη μείωση της προσαρμοστικής ικανότητας των ειδών στις νέες συνθήκες (Ward & Stanford 1995, Pringle 2001). Η υδροηλεκτρική ενέργεια περιγράφεται ως «καθαρή» ενέργεια, υπό την έννοια ότι δεν εκπέμπει ρύπους. Ακόμη, περιγράφεται και ως «ανανεώσιμη», αφού θεωρείται σχεδόν αστείρευτη. Όμως, η άποψη αυτή καταρρίπτεται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας. Σε έκθεσή του (FAO 2007, άρθρο 77) δε θεωρεί την υδροηλεκτρική ενέργεια «πράσινη» πηγή ενέργειας, εξαιτίας των πολλών αρνητικών επιπτώσεων που προκαλούν τα φράγματα όχι μόνο στα ποτάμια οικοσυστήματα, αλλά και στα παράκτια και θαλάσσια οικοσυστήματα (Κουτράκης 2009).

Οι επιπτώσεις από την κατασκευή φραγμάτων στον κύριο ρουν των ποταμών μπορούν να διακριθούν σε θετικές και αρνητικές και σχετίζονται με την κατακράτηση των υδάτων σε αυτά, αλλά και με τη μεταβολή, που προκαλείται, των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών (Harrison & Whitfield 2004).

Ως θετικές επιπτώσεις θεωρούνται η εξασφάλιση της αντιπλημμυρικής προστασίας της πεδιάδας κατόντη του φράγματος, κυρίως κατά τη διάρκεια των χειμερινών μηνών.



Έτσι, αποθηκεύονται μεγάλοι όγκοι νερού σχηματίζοντας τις φραγμαλίμνες. Αυτοί είναι δυνατό να διατεθούν μελλοντικά για την κάλυψη των αρδευτικών αναγκών. Τέλος, στα θετικά περιλαμβάνεται και η συγκράτηση ρύπων στις φραγμαλίμνες, καθώς λειτουργούν ως ένα είδος φίλτρου, εμποδίζοντας την διασπορά τους στο κατάντη τμήμα των ποταμών (Emmanouiloudis *et al.* 2006, Papastergios *et al.* 2009). Τα φράγματα, καθώς ρυθμίζουν τη ροή του ποταμού, φαίνεται να βελτιώνουν τη ποιότητα του νερού και κατά συνέπεια, την οικολογική ποιότητα (Papastergios *et al.* 2009). Το φαινόμενο αυτό έχει παρατηρηθεί και σε άλλες μεσογειακές λεκάνες απορροής, όπως αναφέρουν οι Fernandez – Turiel *et al.* (2003).

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Τροφίμων (FAO 2007, άρθρο 77), οι κυριότερες αρνητικές επιπτώσεις της κατασκευής και λειτουργίας των φραγμάτων είναι:

- Η μετατροπή του φυσικού ποτάμιου συστήματος σε «ανθρωπογενές» και η αλλοίωση των φυσικών οικοσυστημάτων σε πολύ μεγάλες αποστάσεις από τα φράγματα (μετατροπή του ποτάμιου σε τεχνητό λιμναίο ανάντη και αλλοιώσεις στα κατάντη έως και τη θάλασσα).
- Η αλλαγή της υδροπεριόδου του ποταμού καθώς μεγάλοι όγκοι νερού κατακρατούνται στους ταμιευτήρες.
- Η διακοπή της μετακίνησης ορισμένων ειδών ιχθυοπανίδας από τις περιοχές ανάντη, προς τις περιοχές κατάντη των φραγμάτων και αντίστροφα, αλλά και η αλλαγή στην ποιοτική και ποσοτική σύσταση των ειδών της ιχθυοπανίδας.
- Η μείωση της τροφοδοσίας των εκβολών με φερτές ύλες, καθώς οι μεγαλύτεροι όγκοι τους κατακρατούνται στους ταμιευτήρες, με αποτέλεσμα τη διάβρωση της παράκτιας ζώνης.
- Η δημιουργία συνθηκών ευτροφισμού.

Αναλυτικότερα, η δημιουργία φραγμάτων μπορεί να έχει σοβαρές επιπτώσεις στους ιχθυοπληθυσμούς μίας περιοχής για διάφορους λόγους. Μπορεί να επιβραδύνει ή και να σταματήσει της μετακινήσεις τους, να προκαλέσει επιζήμιες αλλαγές στην ποιότητα του νερού, ενώ μέσω των αλλαγών που προξενούνται στο οικοσύστημα μπορεί ακόμη και να προκαλέσει αλλαγές στην σύνθεση των ιχθυοπληθυσμών, αυξάνοντας για παράδειγμα τους αριθμούς των αρπακτικών ειδών ή των ειδών που μπορούν να επιβιώσουν στις νέες περιβαλλοντικές συνθήκες (λιμνόφιλα είδη) και δημιουργώντας έτσι πρόβλημα στην τροφική αλυσίδα της περιοχής (Lin 2011).

Ένα μεγάλο πρόβλημα που συνδέεται άμεσα με την κατασκευή φραγμάτων είναι η μείωση των πληθυσμών των ανάδρομων ειδών. Τα είδη αυτά αναπαράγονται σε ποτάμια, αν και περνάνε την υπόλοιπη ζωή τους στην θάλασσα. Τα φράγματα εμποδίζουν τη μετανάστευση τέτοιων ειδών κατά την περίοδο της αναπαραγωγής τους (οπότε και επιστρέφουν στους ποταμούς), προκαλώντας μεγάλες μειώσεις στους πληθυσμούς, μέχρι και την εξαφάνιση τους (Lariniier 2001). Παρά το ότι πρόβλημα της ανάντη μετανάστευσης ψαριών αναγνωρίστηκε από τα πρώτα στάδια εξέλιξης των φραγμάτων και υπήρξαν προσπάθειες επίλυσης του, δε συνέβη το ίδιο και με την κατάντη και αμφίδρομη μετανάστευση. Διαχρονικά, ωστόσο, φαίνεται ότι εμπόδια που αποκλείουν την κατάντη μετανάστευση, επηρεάζουν μεγάλους ιχθυοπληθυσμούς, σχεδόν όλα τα είδη ψαριών, ακόμα και αυτά που ζουν εξ' ολοκλήρου στα ποτάμια, εμποδίζοντας την μετακίνησή τους κατά μήκος των ποταμών. Το μέγεθος της ζημιάς που μπορεί προκληθεί σχετίζεται άμεσα με τα είδη που υπάρχουν σε κάθε περιοχή. Πιο συγκεκριμένα, με το εύρος μετακίνησης των συγκεκριμένων ειδών. Συνεπώς, ενδείκνυεται να γίνεται εκτίμηση του μεγέθους του προβλήματος και των ενεργειών αντιμετώπισής αναλόγως της περιοχής (Capel *et al.* 2000, Lin 2011).

Παράλληλα, η κατασκευή φραγμάτων δεν επηρεάζει μόνο τους ιχθυοπληθυσμούς, αλλά αλλάζει δραματικά και το οικοσύστημα της περιοχής. Η συγκέντρωση μεγάλης ποσότητας νερού μετατρέπει το φυσικό ποτάμιο οικοσυστήματα σε λιμναίο μεταβάλλοντας το υδρολογικό καθεστώς του ποταμού, ένα αποτέλεσμα της ελεγχόμενης απελευθέρωσης των υδάτων (Jackson & Marmulla 2001). Η ελεγχόμενη απελευθέρωση τροποποιεί τη φυσική υδροπερίοδο. Μεταβάλλει, δηλαδή, τη φυσιολογική εναλλαγή υψηλών και χαμηλών ροών κατά τη διάρκεια του έτους (Jackson & Marmulla 2001, Hu *et al.* 2008). Οι απότομες αυξομειώσεις της ροής του νερού, σε συνδυασμό με την παρακράτησή του από τα φράγματα, είναι υπεύθυνες για τη μείωση της έκτασης των παραποτάμιων δασών, τη μείωση της βιοποικιλότητας. Επιπλέον, επηρεάζει και την τροφική αλυσίδα, δεδομένου ότι μειώνεται η αφθονία τροφής κατάντη των φραγμάτων, ενώ καταστρέφονται και τα ενδιαιτήματα και οι τόποι αναπαραγωγής (Jackson & Marmulla 2001). Συγκεκριμένα, η ρύθμιση της ροής κατά τη μεταναστευτική περίοδο μπορεί να αλλάξει την εποχιακή και την ημερησία δυναμική μετανάστευσης. Ακόμα, μπορεί να μειώσει τους μεταναστευτικούς πληθυσμούς, μέχρι και να τους εξοντώσει (Capel *et al.* 2000). Η έλλειψη νερού κατά τις μεταναστευτικές περιόδους καθιστά τον ποταμό μη ελκυστικό για τα μεταναστευτικά ψάρια, αφού υπάρχει έλλειψη τροφής, αλλά

και αναπαραγωγικών πεδίων. Κατ' αυτόν τον τρόπο, επηρεάζεται όχι μόνο η μετανάστευση ανάντη των φραγμάτων, αλλά και κατάντη αυτών (Capel *et al.* 2000, Lin 2011).

Επίσης, τα φράγματα αλλάζουν τα θερμικά και χημικά χαρακτηριστικά του νερού του ποταμού (Jackson & Marmulla 2001, Zeng *et al.* 2006). Η ποιότητα των νερών που απελευθερώνονται εξαρτάται από το είδος του φράγματος. Η απελευθέρωση επιφανειακών νερών χαρακτηρίζεται από έλλειψη θρεπτικών και υψηλή θερμοκρασία, ενώ η απελευθέρωση νερών του πυθμένα από υψηλές ποσότητες θρεπτικών και χαμηλή θερμοκρασία (Kawara *et al.* 1998, Jackson & Marmulla 2001). Οι εναλλαγές θερμοκρασίας θεωρείται ότι προκαλούν μείωση των ενδημικών ειδών, κυρίως λόγω της καταστροφής των ζωνών αναπαραγωγής (Morais *et al.* 2009).

Τα φράγματα λειτουργούν ως ένα είδος φίλτρου που εμποδίζει τη διασπορά όχι μόνο των ρύπων, αλλά και τη διασπορά ιχνοστοιχείων και θρεπτικών αλάτων με αποτέλεσμα να δημιουργούνται ιδανικές συνθήκες για την εμφάνιση του φαινομένου του ευτροφισμού. Το φαινόμενο γίνεται εντονότερο, όταν ο χρόνος ανανέωσης του νερού που συγκεντρώνεται μέσα στη φραγμαλίμνη είναι μικρός (Zeng *et al.* 2006). Σύμφωνα με τους Kawara *et al.* (1998), όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος παραμονής του νερού σε μια φραγμαλίμνη, τόσο περισσότερο αυξάνεται η βιομάζα του φυτοπλαγκτού και κατ' επέκταση, η πιθανότητα να δημιουργηθούν ανοξικές συνθήκες στα μεγαλύτερα βάθη της λίμνης.

Η ανθρώπινη παρέμβαση στη ρύθμιση της ροής του νερού, η διευθέτηση της κοίτης των ποταμών, καθώς και η κατασκευή φραγμάτων και πέδινων γεφυρών έχει ως αποτέλεσμα να τροποποιούνται τα υδροδυναμικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των νερών. Έτσι, τα ψάρια υπόκεινται σε μη κανονικές συνθήκες και ειδικότερα, στην περίπτωση των φραγμάτων, οι παλαιότερα ενιαίοι πληθυσμοί διαφόρων ειδών διαχωρίζονται και πλέον, διακόπτεται η μεταξύ τους επικοινωνία. Είναι ο διαχωρισμός των πληθυσμών ανάντη και κατάντη των φραγμάτων που κάνει τα ψάρια να υπόκεινται σε διαφορετικές περιβαλλοντικές επιδράσεις, όπως είναι η θερμοκρασία, η συγκέντρωση του οξυγόνου στο νερό, η θολρότητα, η ρύπανση και η ταχύτητα του νερού. Αυτές οι μεταβλητές συνθήκες ευθύνονται για τις διακυμάνσεις στο φαινότυπο των ιχθυοπληθυσμών (Vehanen & Huusko 2011). Οι Vehanen & Huusko (2011) ισχυρίζονται ότι η φαινοτυπική διακύμανση στη μορφολογία των ψαριών είναι ένα μέσο για την αύξηση του δυναμικού επιβίωσής τους σε ένα τροποποιημένο περιβάλλον. Ωστόσο, οι

αλλαγές που προκαλούν οι διαφορετικές περιβαλλοντικές επιδράσεις δεν περιορίζονται μόνο στη μορφολογία του σώματος. Ενδέχεται αυτές να επηρεάσουν και μεριστικά χαρακτηριστικά των ψαριών. Δηλαδή, να τροποποιηθούν διάφορα εξαρτήματα, όπως είναι τα πτερύγια και τα λέπια, προκειμένου να αντιμετωπίσουν αποτελεσματικότερα τις νέες συνθήκες, όπως την αυξομείωση της ροής του νερού. Επί παραδείγματι, οι Lindsey (1962 και 1988) και Beacham (1990) επισημαίνουν ότι ορισμένες περιβαλλοντικές μεταβλητές, όπως η θερμοκρασία, μπορούν να επηρεάσουν τον αριθμό των ακτινών στα πτερύγια.

Επιπλέον, η ρύθμιση της ροής κατά τις περιόδους μετανάστευσης των ψαριών, μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στην εποχιακή και ημερήσια δυναμική του πληθυσμού τους, ενδεχομένως και μείωση των πληθυσμών τους, οδηγώντας ίσως ακόμα και στον αφανισμό τους. Οι Blob *et al.* (2008) υποστηρίζουν ότι η υψηλή ροή του νερού έχει ως αποτέλεσμα τα ψάρια να υπόκεινται σε ακραίες συνθήκες, οι οποίες συνοδεύονται από υψηλές φυσικές απαιτήσεις. Τα ψάρια προκειμένου να αντεπεξέλθουν στις υψηλές αυτές απαιτήσεις, τροποποιούν διάφορες μορφολογικές παραμέτρους, συμπεριλαμβανομένων πολλών που επηρεάζουν το κινητικό σύστημα. Η παρατήρηση ενισχύεται από τους Webb (1982, 1984), Sagnes *et al.* (2000) και Yavno *et al.* (2012), οι οποίοι επίσης υποστηρίζουν ότι το σχήμα του σώματος των ψαριών αλλάζει κατά την οντογένεση, αλλά και κατά την εξέλιξη, προκειμένου να αποκτήσουν ένα πιο υδροδυναμικό σχήμα και να αντιμετωπίσουν αποτελεσματικότερα την αντίσταση που αναπτύσσεται κατά την κίνησή τους μέσα στο νερό.

Η διαφοροποίηση της αύξησης, ανάπτυξης και ωρίμασης μπορεί να δημιουργήσει διαφορετικά σχήματα σώματος στα άτομα ενός είδους. Σύμφωνα με τον Cadrin (2000), η επίδραση των περιβαλλοντικών συνθηκών, της φυσικής επιλογής και της γενετικής στην οντογένεση του κάθε ατόμου συμβάλλει στη δημιουργία μορφομετρικών διαφοροποιήσεων εντός του είδους. Οι Langerhans *et al.* (2003), Ferrito *et al.* (2007) και Yavno *et al.* (2012) έδειξαν ότι οι πληθυσμοί ορισμένων ειδών παρουσιάζουν διαφορετικά μορφολογικά χαρακτηριστικά, όταν αυτοί εντοπίζονται σε διαφορετικά περιβάλλοντα (όπως σε απομακρυσμένες λεκάνες απορροής, παράκτιες ζώνες και σε υπεράκτια ενδιαίτηματα), εξαιτίας της μεταβλητότητας των βιοτικών και αβιοτικών χαρακτηριστικών του κάθε ενδιαίτηματος (Goulding *et al.* 1988). Επιπλέον, σύμφωνα με τους Kerfoot and Schaefer (2006), διαφορετικοί πληθυσμοί του είδους *Cottus* εμφάνισαν σημαντικές μορφολογικές διακυμάνσεις, οι οποίες θα μπορούσαν να προκληθούν από διαφορές στο

υδρολογικό καθεστώς ενός ποταμού (διαφοροποίηση της ταχύτητας ή/και της παροχής του ποταμού).

Όπως προαναφέρθηκε, η παρουσία των φραγμάτων έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό διαφορετικών οικοσυστημάτων ανάντη και κατόντη αυτών. Χαρακτηρίζονται από χαμηλή ανανέωση του νερού (Kawara *et al.* 1998, Zeng *et al.* 2006), ενώ το νερό στην επιφάνεια των φραγμαλιμνών είναι θερμότερο συγκριτικά με αυτό σε μεγαλύτερα βάθη (Morais *et al.* 2009). Οι διαφοροποιήσεις αυτές έχουν επηρεάζουν την πλαγκτονική πανίδα του οικοσυστήματος και κατ' επέκταση, την ιχθυοπανιδική βιοποικιλότητα, εξαιτίας της μείωσης της αφθονίας των διατροφικών πόρων. Όμως, σύμφωνα με τον Mann (1991), εκτός από τις αλλαγές που επιφέρουν στην αφθονία των πληθυσμών ειδών, στα ψάρια μπορεί να τροποποιηθούν και τα βιολογικά τους χαρακτηριστικά. Κάτι τέτοιο συμβαίνει ανάλογα με τις νέες περιβαλλοντικές συνθήκες και στόχο την αύξηση των πιθανοτήτων επιβίωσής τους.

## 1.2. Η ιχθυοπανίδα του ποταμού Νέστου

Η ιχθυοπανίδα του ποταμού Νέστου έχει μελετηθεί από τον Οικονομίδη (1974), του πεδινού τμήματος από τον Kunkel (1992) και των Στενών Νέστου από τον Κουτράκη (1996). Επίσης, οι Kotellat & Freyhof (2007) δίνουν πληροφορίες για το ευρύτερο τμήμα της Νότιας Βαλκανικής. Σύμφωνα με τους παραπάνω συγγραφείς, στα είδη της ιχθυοπανίδας που ποταμού Νέστου έχουν καταγραφεί 22 είδη, τα οποία κατατάσσονται σε 10 οικογένειες (Πίνακας 1.1). Σ' αυτά περιλαμβάνονται: το Τσιρώνάκι (*Alburnoides strymonicus*), η Μπριάνα (*Barbus strumicae*), ο Γουρουνομούτης (*Chondrostoma vardarensis*), η Θρακοβελονίτσα (*Cobitis strumicae*), το Χέλι (*Anguilla anguilla*), το Τυλινάρι (*Squalius orpheus*), το Μικροσίρκο (*Leucaspis delineatus*), το Πετροχέλι (*Oxynoemacheilus bureschi*), η Μουρμουρίτσα (*Rhodeus amarus*), η Άγρια πέστροφα (*Salmo macedonicus*), το Τσιρώνι (*Rutilus rutilus*) και η Σαρδελομάνα (*Alosa fallax*), μεταναστευτικό ανάδρομο είδος που ζει στη θάλασσα και ανεβαίνει τον ποταμό για αναπαραγωγή (Bobori *et al.* 2001). Στον ποταμό έχει βρεθεί, επίσης, το περκί (*Perca fluviatilis*), η Πεταλούδα (*Carassius gibelio*), το Γριβάδι ή Κυπρίνος (*Cyprinus carpio*) και το Γυφτόψαρο (*Gobio bulgaricus*), είδη που χαρακτηρίζονται ως αλλόχθονα, δηλαδή έχουν μεταφερθεί από άλλα υδατικά συστήματα της Ελλάδας, αλλά και η Ιριδίζουσα ή Αμερικάνικη πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), η Ψευδορασμπόρα (*Pseudorasbora parva*), ο Κουνουποφάγος (*Gambusia holbrooki*) και το Ηλιόψαρο (*Lepomis gibbosus*),

που είναι ξενικά είδη. Σύμφωνα με τον Οικονομίδης (1974), δεν είναι εξακριβωμένη η παρουσία των ειδών Μαλαμίδα (*Vimba melanops*) και του είδους Τσαϊλάκι (*Petroleuciscus borysthenicus*). Επίσης, σύμφωνα με τους Economidis *et al.* (2000), ο Ευρωπαϊκός Οξύρυγχος (*Acipenser sturio*) που σήμερα έχει σχεδόν εξαφανιστεί από την Μεσόγειο, μετανάστευε για αναπαραγωγή στον ποταμό Νέστο.

Το 2005, το Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, στο πλαίσιο των ερευνητικών του έργων, ξεκίνησε την καταγραφή της ιχθυοπανίδας του ποταμού Νέστου και αυτή ολοκληρώθηκε το 2008 (Κουτράκης κ.ά 2008α, 2008β, Koutrakis *et al.* 2013). Βρέθηκαν 22 είδη ψαριών στο ελληνικό τμήμα του ποταμού. Δέκατεσσερα είδη είναι αυτόχθονα και ενδημικά είδη, τέσσερα έχουν μεταφερθεί από γειτονικά συστήματα, ενώ τα υπόλοιπα τέσσερα είναι ξενικά. Τα περισσότερα αυτόχθονα και ενδημικά είδη ανήκουν στην οικογένεια των Κυπρινοειδών. Στα μεταφερθέντα είδη, δηλαδή σ' αυτά τα οποία μεταφέρθηκαν από περιοχές της Ελλάδας - όπου χαρακτηρίζονται ως ενδημικά - σε άλλες περιοχές της Ελλάδας - όπου δε θεωρούνται ενδημικά (Copp *et al.* 2005) - περιλαμβάνονται το Περκί, ο Κυπρίνος και το Αγριοχρυσόψαρο και ο Γουλιανός. Και τα τέσσερα είδη έχουν μεταφερθεί πιθανώς για τον εμπλουτισμό του ποταμού Νέστου. Ακόμη, η Ιριδίζουσα ή Αμερικάνικη πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) προέρχεται είτε από εμπλουτισμούς, είτε από διαφυγές ιχθυδίων από τις πεστροφοκαλλιέργειες της ευρύτερης περιοχής. Επίσης, Αμερικάνικης προέλευσης είναι και το Ηλιόψαρο που προέρχεται μάλλον από τυχαία ή σκόπιμη διασπορά στην περιοχή της Βουλγαρίας. Από εμπλουτισμούς στις ελώδεις περιοχές για την καταπολέμηση των κουνουπιών προέρχεται και το Αμερικάνικο Κουνουποφάγος. Η Ψευδορασμπόρα (*Pseudorasbora parva*) έχει προέλευση από την Άπω Ανατολή και έχει εισαχθεί, άγνωστο πώς, σε πολλά ποτάμια και λιμναία οικοσυστήματα των Βαλκανίων, προκαλώντας δυσμενή οικολογικά αποτελέσματα.

**Πίνακας 1.1.** Είδη ιχθυοπανίδας των οποίων η παρουσία προκύπτει από βιβλιογραφικές πηγές (Economidis 1974; Kunkel 1992; Koutrakis, 1996 Koutrakis *et al.* 2013). Οι ορισμοί των ειδών στην κατηγορία Εξάπλωση προέρχεται από τους Koutrakis *et al.* (2013) ενώ το Κοινό Ελληνικό όνομα είναι σύμφωνα με τους Οικονομίδης κ.ά (2009).

**Table 1.1.** Fish species whose presence was reported by various authors (Economidis 1974; Kunkel 1992; Koutrakis 1996, Koutrakis *et al.* 2013). The definitions of the species in the category “Distribution” are after Koutrakis *et al.* (2013) while the Greek Common name is after Economides *et al.* (2009).

Επιστημονικό όνομα	Συνώνυμα	Κοινό Ελληνικό όνομα	Αγγλικό Όνομα	Βιβλιογραφική αναφορά		Εξάπλωση
				Οικονομίδης 1974, Kunkel 1992, Koutrakis 1996	Koutrakis <i>et al.</i> 2013	
<b>Acipenseridae</b>						
<i>Acipenser sturio</i> Linnaeus, 1758		Ευρωπαϊκός Οξύρυγχος	Sturgeon	?		
<b>Anguillidae</b>						
<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)		Χέλι	European eel	x	x	Αυτόχθονο
<b>Balitoridae</b>						
<i>Oxynoemacheilus bureschi</i> (Drensky, 1928)	<i>Noemacheilus angorae bureschi</i>	Πετροχέλι	Strymon stone loach	x	x	Ενδημικό
<b>Blenniidae</b>						
<i>Salaria fluviatilis</i> (Asso, 1801)	<i>Blennius fluviatilis</i>	Ποταμοσαλιάρα	Freshwater blenny		x	Αυτόχθονο
<b>Centrarchidae</b>						
<i>Lepomis gibbosus</i> (Linnaeus, 1758)		Ηλιόψαρο	Pumpkinseed	x	x	Ξενικό
<b>Clupeidae</b>						
<i>Alosa fallax</i> (La Cepède, 1803)		Σαρδέλοιμανα	Twaite shad	x		Αυτόχθονο
<b>Cobitidae</b>						
<i>Cobitis strumicae</i> Karaman, 1955	<i>Cobitis taenia</i>	Θρακοβελονίτσα	Thracian Spined loach	x	x	Ενδημικό
<b>Cyprinidae</b>						
<i>Alburnoides strymonicus</i> Chichkoff, 1940	<i>Alburnoides bipunctatus strymonicus</i>	Τσιφονάκι	Strymon Schneider	x	x	Ενδημικό

**Πίνακας 1.1.** Συνέχεια από σελίδα 27.  
**Table 1.1.** Continued from page 27.

9	<i>Alburnus alburnus</i> (Linnaeus, 1758)	Σίρκο	Bleak	x	x	Αυτόχθονο
10	<i>Barbus strumicae</i> Karaman, 1955	Μπριάνα	Strumica barbel	x	x	Ενδημικό
11	<i>Carassius gibelio</i> (Bloch, 1782)	Άγριοχρόψομο	Prussian carp	x	x	Ξενικό
12	<i>Chondrostoma vardarense</i> Karaman, 1928	Γουρουνόμυτης	Vardar nase	x	x	Ενδημικό
13	<i>Cyprinus carpio</i> Linnaeus, 1758	Κυπρίνος/Γριβάδι	Common carp	x	x	Μεταφερθέν
14	<i>Gobio bulgaricus</i> Drensky, 1928	Γυφτόμομο	Aegean gudgeon	x	x	Ενδημικό
15	<i>Leucaspis delineatus</i> (Heckel, 1843)	Μικρόσιρκο	Sun bleak	x	x	Αυτόχθονο
16	<i>Petroleuciscus borysthenicus</i> (Kessler, 1859)	Τσαϊλάκι	Dnieper chub	?		
17	<i>Pseudorasbora parva</i> (Temminck & Schlegel, 1842)	Ψευδορασιμπόρα	Stone moroko	x	x	Ξενικό
18	<i>Rhodeus amarus</i> (Bloch, 1782)	Μουρμουρίτσα	European bitterling	x	x	Αυτόχθονο
19	<i>Rutilus rutilus</i> (Linnaeus, 1758)	Τσιρώνι	Roach	x	x	Αυτόχθονο
20	<i>Squalius orpheus</i> Kottelat & Economidis, 2006	Θρακοτηλιανάρι	Orpheus chub	x	x	Ενδημικό
21	<i>Vimba melanops</i> (Heckel, 1837)	Μαλαμίδα	Macedonian vimba	?		
<b>Percidae</b>						
22	<i>Perca fluviatilis</i> Linnaeus, 1758	Περκι	European perch	x	x	Μεταφερθέν
<b>Poeciliidae</b>						
23	<i>Gambusia holbrooki</i> Girard, 1859	Κουνοπόμομο	Eastern mosquitofish	x	x	Ξενικό
<b>Salmonidae</b>						
24	<i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum, 1792)	Ιριδίζουσα Πέστροφα	Rainbow trout	x	x	Ξενικό
25	<i>Salmo macedonicus</i> (Karaman, 1924)	Άγρια Πέστροφα	Macedonian Trout	x	x	Αυτόχθονο
<b>Siluridae</b>						
26	<i>Silurus glanis</i> Linnaeus, 1758	Γουλιανός	Wells catfish	?	x	Μεταφερθέν



### 1.3. Συστηματική κατάταξη των υπό μελέτη ειδών

#### *Squalius orpheus* Kottelat & Economidis, 2006

Φύλο	Chordata
Κλάση	Actinopterygii
Τάξη	Cypriniformes
Οικογένεια	Cyprinidae
Υποοικογένεια	Leuciscinae
Γένος	<i>Squalius</i>

Το είδος *Squalius orpheus* Kottelat & Economidis, 2006 (Θρακοτιληνάρι) (Εικ. 1.1) είναι ένα ρεόφιλο είδος που συναντάται κυρίως σε ποτάμια και ρέματα (Kottelat & Freyhof, 2007). Το είδος χαρακτηρίζεται ως ενδημικό της ευρύτερης περιοχής της Βαλκανικής χερσονήσου. Εντοπίζεται στα υδάτινα συστήματα που εκβάλλουν στο Βόρειο Αιγαίο, με τον Έβρο να αποτελεί το ανατολικότερο άκρο της εξάπλωσής του και τον ποταμό Στρυμόνα το δυτικότερο άκρο (Kottelat & Freyhof 2007).



**Εικόνα 1.1.** Το Θρακοτιληνάρι (*S. orpheus*), ενδημικό και ρεόφιλο είδος, ένα από τα πιο άφθονα στον ποταμό Νέστο (Φωτο: ΙΝΑΛΕ)

**Figure 1.1.** The Orpheus chub (*S. orpheus*), an endemic and reophilic species, one of the most abundant of River Nestos (Photo byFRI).

Στην λεκάνη απορροής του ποταμού Νέστου, το είδος εμφανίζει μεγάλη αφθονία σε όλο το μήκος του ελληνικού τμήματος αλλά και στο βουλγάρικο τμήμα, περιλαμβανομένων και των παραποτάμων (Vassilev & Οικονομίδης 2009). Ένας μεγάλος πληθυσμός του είδους βρέθηκε στις φραγμαλίμνες του Νέστου, ιδίως στη φραγμαλίμνη

Θησαυρού (Vassilev & Οικονομίδης 2009). Είναι ένα παμφάγο είδος που μετακινείται και τρέφεται στην στήλη του νερού, κυρίως με έντομα και άλλα υδρόβια ασπόνδυλα (Kottelat & Freyhof 2007, Vassilev & Οικονομίδης 2009).

Το είδος είναι ένα από τα πιο άφθονα είδη στο Νέστο, όπως συμβαίνει και με άλλα συγγενικά του είδη στην Ευρώπη. Δεν αντιμετωπίζει σοβαρές περιβαλλοντικές πιέσεις εκτός από τις περιπτώσεις εκτροπής των ποταμών. Σύμφωνα με την λίστα της IUCN και το Κόκκινο Βιβλίο των Απειλούμενων ζώων της Ελλάδας (Λεγάκης & Μαραγκού 2009), το είδος χαρακτηρίζεται ως Μειωμένου Ενδιαφέροντος (Least Concern – LC).

### ***Barbus strumicae* Karaman, 1955**

Φύλο	Chordata
Κλάση	Actinopterygii
Τάξη	Cypriniformes
Οικογένεια	Cyprinidae
Υποοικογένεια	Barbinae
Γένος	<i>Barbus</i>

Η Θρακική Μπριάνα (*Barbus strumicae* Karaman, 1955) (Εικ. 1.2) είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα είδη στην ευρύτερη περιοχή των νοτιοανατολικών Βαλκανίων. Χαρακτηρίζεται ως ενδημικό είδος της ευρύτερης περιοχής της Βαλκανικής Χερσονήσου.



**Εικόνα 1.2.** Η Μπριάνα (*B. strumicae*), ενδημικό, ρεόφιλο και βενθικό είδος, ένα από τα πιο άφθονα στον ποταμό Νέστο (Φωτο: ΙΝΑΛΕ).

**Figure 1.2.** The Thracian Barbel (*B. strumicae*), an endemic, reophilic and benthic species, one of the most abundant of River Nestos (Photo by FRI).

Είναι ένα τυπικό ρεόφιλο, βενθικό είδος που ζει σε ποτάμια και ρυάκια με βραχώδεις ή αμμώδεις πυθμένες (Huet 1949, Baras & Cherry 1990, Kottelat & Freyhof 2007, Apostolou & Κουτράκης 2009, Britton & Pegg 2011). Σύμφωνα με τους Kottelat & Freyhof (2007), η περιοχή εξάπλωσής του εκτείνεται από τη λίμνη Βόλβη μέχρι τη λεκάνη απορροής του ποταμού Νέστου, που αποτελεί το ανατολικότερο τμήμα της εξάπλωσής του. Ιδιαίτερα στον ποταμό Νέστο εμφανίζει μεγάλη εξάπλωση σε όλο το μήκος του, καθώς και στους παραποτάμους Δεσπάτη και Αρκουδόρεμα. Ένας αρκετά μεγάλος πληθυσμός του είδους βρέθηκε στις φραγμαλίμνες που δημιουργούν τα ΥΗΕ της ΔΕΗ στον Νέστο και κυρίως, σ' αυτήν που δημιουργεί το ΥΗΕ Θησαυρού (Koutrakis *et al.* 2013).

Σύμφωνα με τη Λίστα των απειλούμενων ειδών της IUCN και το Κόκκινο Βιβλίο, το είδος κατατάσσεται στην κατηγορία Μειωμένου Ενδιαφέροντος (LC). Ωστόσο, την ίδια στιγμή περιλαμβάνεται στο Παράρτημα II της Οδηγίας 92/43/ΕΟΚ (ως *Barbus plebejus*), δηλαδή στα «Ζωικά και φυτικά είδη κοινοτικού ενδιαφέροντος των οποίων η διατήρηση επιβάλλει τον καθορισμό ειδικών ζωνών διατήρησης». Ο λόγος είναι ότι οι πληθυσμοί του είδους απειλούνται, κυρίως από την υποβάθμιση των ενδιαιτημάτων λόγω των ανθρώπινων δραστηριοτήτων, όπως η διευθέτηση της κοίτης των ποταμών και η κατακράτηση των υδάτων ενός ποταμού από την κατασκευή φραγμάτων (Kottelat & Freyhof 2007, Apostolou & Κουτράκης 2009).

#### ***Alburnoides strymonicus* (Bloch, 1782)**

Φύλο	Chordata
Κλάση	Actinopterygii
Τάξη	Cypriniformes
Οικογένεια	Cyprinidae
Υποοικογένεια	Alburninae
Γένος	<i>Alburnoides</i>

Το *Alburnoides strymonicus* Chichkoff, 1940 (Τσιρωνάκι Στρυμόνα) (Εικ. 1.3.3) είναι επίσης ένα ρεόφιλο είδος, το οποίο εντοπίζεται σε καθαρά και καλά οξυγονωμένα νερά (Pehlivanov & Λεονταράκης 2009). Είναι ενδημικό των ποταμών Στρυμόνα και Νέστου, με μεγάλη εξάπλωση στα ανώτερα και μεσαία τμήματα των εν λόγω ποταμών (Pehlivanov & Λεονταράκης 2009). Ωστόσο, απουσιάζει από όλες τις λεκάνες απορροής

ανατολικά του Νέστου μέχρι και τη λεκάνη απορροής του ποταμού Έβρου. Η παρουσία του στο ποταμό Νέστο στο ελληνικό τμήμα του ποταμού αναφέρεται από τον Οικονομίδη (1974) και στο βουλγάριο τμήμα του ποταμού από τον Apostolou (2005).



**Εικόνα 1.3.** Το Τσιρωνάκι του Στρυμόνα (*A. strymonicus*), ενδημικό είδος που ζει και στον Νέστο (Φώτο: Σαπουνίδης Α.).

**Figure 1.3.** The Strymon Spirlin (*A. strymonicus*), an endemic species of Nestos River (Photo by Sapounidis A.).

Το είδος βρέθηκε ανάντη και κατόντη των φραγμάτων του Νέστου και σε μικρή αφθονία στη φραγμαλίμνη Θησαυρού, όπως επίσης και στον παραπόταμο Αρκουδόρεμα (Κουτράκης κ.ά. 2008α και 2008β). Στην Ελλάδα, το είδος ζει επίσης στον Αγγίτη, παραπόταμο του Στρυμόνα και στο ρέμα Μαρμαρά, το οποίο διαρρέει την κοιλάδα του Παγγαίου (Maurakis & Economidis 2003).

Η IUCN και το Κόκκινο Βιβλίο κατατάσσει το είδος στην κατηγορία των ειδών Μειωμένου Ενδιαφέροντος (Lower Risk/least concern). Το συγγενικό είδος *Alburnoides bipunctatus* περιλαμβάνεται στο Παράρτημα III «Είδη υπό προστασία» της Σύμβασης της Βέρνης.

***Cobitis strumicae* Karaman, 1955**

Φύλο	Chordata
Κλάση	Actinopterygii
Τάξη	Cypriniformes
Οικογένεια	Cobitidae (Loaches)
Υποοικογένεια	Cobitinae
Γένος	<i>Cobitis</i>

Η Θρακοβελονίτσα είναι ένα ενδημικό βενθικό είδος (Εικ. 1.4), με κρυπτική συμπεριφορά, καθώς κρύβεται κατά τη διάρκεια της ημέρας στο λασπώδη ή αμμώδη πυθμένα (Apostolou & Σαπουνίδης 2009). Εντοπίζεται κυρίως σε περιοχές με χαμηλής ροής νερό (Apostolou & Σαπουνίδης 2009).



**Εικόνα 1.4.** Η Θρακοβελονίτσα (*C. strumicae*) ενδημικό βενθικό είδος που ζει και στον Νέστο (Φώτο: Σαπουνίδης Α.).

**Figure 1.4.** The Thracian Spined loach (*C. strumicae*), an endemic and benthic species of Nestos River (Photo by Sapounidis A.).

Η εξάπλωσή του περιλαμβάνει τα υδατικά συστήματα που εκβάλλουν στο Βόρειο Αιγαίο, όπως οι ποταμοί Στρυμόνας, Νέστος, Έβρος αλλά και στις λίμνες Κορώνεια και Βόλβη (Οικονομίδης 1974, Economidis 1991, Apostolou 2002, 2005, Vassilev & Pehlivanov 2002, Stefanov & Trichkova 2004, Κουτράκης κ.ά. 2008α και 2008β). Ωστόσο, οι Bohlen *et al.* (2006) αναφέρουν ότι το είδος έχει ευρύτερη διάδοση και εντοπίζεται και σε ορισμένους βουλγάρικους παραποτάμους του Δούναβη. Στον ποταμό

Νέστο το είδος εντοπίζεται κυρίως ανάντη του φράγματος Θησαυρού και κατάντη του φράγματος της Πλατανόβρυσης (Apostolou & Σαπουνίδης 2009).

Σύμφωνα με την IUCN και το Ελληνικό Κόκκινο Βιβλίο, το είδος κατατάσσεται στην κατηγορία Μειωμένου Ενδιαφέροντος (LC).

***Salmo macedonicus* (Karaman, 1924)**

Φύλο	Chordata
Κλάση	Actinopterygii
Τάξη	Salmoniformes
Οικογένεια	Salmonidae
Υποοικογένεια	Salmoninae
Γένος	<i>Salmo</i>

Η παρουσία του ενδημικού αυτού είδους στην Ελλάδα καταγράφηκε για πρώτη φορά από τον Drensky (1926, 1930) και αφορούσε δείγματα που συλλέχθηκαν από τους ποταμούς Νέστο και Στρυμόνα. Η παρουσία του στη λεκάνη απορροής του Στρυμόνα επιβεβαιώθηκε από τους Simonovitch *et al.* (2005). Ωστόσο, η συστηματική κατάταξη των πληθυσμών που εντοπίζονται στους ποταμούς Στρυμόνα, Έβρο και Νέστο παραμένει αδιευκρίνιστη (Vassilev & Οικονομίδης 2009).



**Εικόνα 1.5.** Η Άγρια Πέστροφα (*S. macedonicus*) ενδημικό είδος που ζει στον Νέστο (Φώτο: Σαπουνίδης Α.).

**Figure 1.5.** The Brown trout (*S. macedonicus*) an endemic species of Nestos River (Photo by Sapounidis A.).

Η Πέστροφα του Νέστου (Εικ. 1.5) είναι ένα τυπικό ρεόφιλο είδος, το οποίο εντοπίζεται σε υψηλής ροής καλά οξυγονωμένα ποταμάκια, με χαμηλή θερμοκρασία νερού. Συγγενικά του είδη εντοπίζονται και σε αλπικού τύπου λίμνες (Kottelat & Freyhof 2007). Τρέφεται με διάφορα ασπόνδυλα (προνύμφες εντόμων, σκουλήκια, μαλάκια,

καρκινοειδή και αεροπλαγκτό), αλλά και με ενήλικα αμφίβια, γυρίνους και ιχθύδια (Kottelat & Freyhof 2007 και Vassilev & Οικονομίδης 2009). Πληθυσμοί του είδους εντοπίζονται κυρίως σε απομονωμένα ορεινά τμήματα παραποτάμων του ποταμού Νέστου, όπως είναι τα ορεινά τμήματα των παραποτάμων Αρκουδόρεμα, Βαθύρεμα ή Μουσδάρεμα, Διαβολόρεμα και Φαρασινό. Οι κυριότερες απειλές που αντιμετωπίζει το είδος είναι η ανεξέλεγκτη και παράνομη αλιεία, ειδικά κατά τη διάρκεια της περιόδου αναπαραγωγής και η κατασκευή μικρών ιδιωτικών υδροηλεκτρικών έργων σε ορεινά τμήματα ποταμών. Μία επιπλέον απειλή είναι οι ανεξέλεγκτοι και χωρίς επιστημονική βοήθεια «εμπλουτισμοί» που πραγματοποιούνται από διάφορους τοπικούς φορείς με στόχο την ενίσχυση των πληθυσμών των ψαριών. Δυστυχώς, η ελλιπής γνώση της ιχθυοπανίδας του ποταμού οδηγεί σε λανθασμένη μεταφορά είτε ξενικών ειδών (π.χ. Αμερικάνικη πέστροφα, *Onchorhynchus mykiss*), είτε άγριας πέστροφας, διαφορετικού όμως είδους, όπως για παράδειγμα η Άγρια Πέστροφα της Δυτικής Ελλάδας (*Salmo farioides*). Ο άγριος πληθυσμός των παραποτάμων του Νέστου έχει ήδη «επιμολυνθεί» γενετικά από άστοχες εισαγωγές γόνου, ο οποίος προέρχεται από πληθυσμούς από τον Αχελώο ποταμό (λεκάνη απορροής Ιονίου Πελάγους) (Apostolidis *et al.* 1996, 1997 και Αποστολίδης κ.ά. 1999).

Το είδος χαρακτηρίζεται ως απειλούμενο, σύμφωνα με την Κόκκινη Λίστα της εν λόγω κατηγορίας ειδών της IUCN. Επίσης, περιλαμβάνεται στο Παράρτημα II της Οδηγίας 92/43/ΕΟΚ δηλαδή στα «Ζωικά και φυτικά είδη κοινοτικού ενδιαφέροντος των οποίων η διατήρηση επιβάλλει τον καθορισμό ειδικών ζωνών διατήρησης». Το Κόκκινο Βιβλίο το κατατάσσει στην κατηγορία Ανεπαρκώς Γνωστά (Data Deficient - DD), δηλαδή είναι είδος για το οποίο δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα ώστε να αξιολογηθεί η κατάσταση του με βάση την εξάπλωσή του ή και την κατάσταση των πληθυσμών του (Λεγάκης & Μαραγκού 2009).

#### 1.4. Σκοπός της Διατριβής

Ο σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η μορφολογική μελέτη ειδών της ιχθυοπανίδας του ποταμού Νέστου, των οποίων οι πληθυσμοί διαχωρίστηκαν από την κατασκευή και λειτουργία των υδροηλεκτρικών έργων της ΔΕΗ. Τα είδη που αφορά η παρούσα μελέτη είναι το *Squalius orpheus* (Kottelat & Οικονομίδης, 2006), το *Barbus strumicae* (Karaman, 1955) και το *Alburnoides strymonicus* (Chichkoff, 1940), τα οποία βρίσκονται σε μεγάλη αφθονία κατά μήκος του Βουλγάρικου και του Ελληνικού τμήματος του ποταμού και το *Cobitis strumicae* (Karaman, 1955), το οποίο εντοπίζεται μόνο στο

ελληνικό τμήμα του ποταμού. Επίσης, στον σκοπό της μελέτης περιλαμβάνεται η μορφομετρική ανάλυση πληθυσμών του είδους *Salmo macedonicus*, συμβάλλοντας στην ευρύτερη προσπάθεια ταυτοποίησης των διαφορετικών ειδών πέστροφας, αλλά και στη μελέτη ενός ενδημικού είδους που βρίσκεται σε κρίσιμο κίνδυνο στην περιοχή.

Επιπλέον, σκοπός της παρούσας διατριβής είναι να μελετηθεί η πιθανότητα ύπαρξης γενετικών διαφοροποιήσεων μεταξύ των πληθυσμών των ειδών *S. orpheus*, *B. strumicae* και *A. strymonicus* και να συγκριθούν με αντίστοιχους πληθυσμούς γειτονικών οικοσυστημάτων. Επίσης, να μελετηθούν βασικά στοιχεία της βιολογίας του *B. strumicae*, για το οποίο δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα πληροφορίες, αλλά και να καταγραφούν πιθανές διαφοροποιήσεις μεταξύ του ανάντη και του κατόντη πληθυσμού του είδους.

Τέλος, στον σκοπό της παρούσας διατριβής περιλαμβάνεται η αξιολόγηση της οικολογικής κατάστασης των επιμέρους τμημάτων του ποταμού Νέστου, στο πλαίσιο της Ευρωπαϊκής Οδηγίας 2000/60 με τη χρήση πολυ-παραμετρικού βιοδείκτη, που θα αναπτυχθεί και θα στηρίζεται στην ιχθυοπανίδα. Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχει στην Ελλάδα ανάλογος δείκτης αξιολόγησης της οικολογικής κατάστασης υδάτων, ευρύτερα αποδεκτός.



## **Κεφάλαιο 2**

### **Υλικά και Μέθοδοι: Γενικά**



## 2. Υλικά και Μέθοδοι: Γενικά

### 2.1. Περιγραφή της περιοχής έρευνας: Ο ποταμός Νέστος

Ο ποταμός Νέστος πηγάζει από το Όρος Ρίλα, μεταξύ των οροσειρών Αίμου και Ροδόπης, εκβάλλοντας στο Θρακικό Πέλαγος, απέναντι από τη Ν. Θάσο (Εικ. 2.1). Στην Ελλάδα διασχίζει μαιανδρίζοντας τους τρεις νομούς, Δράμα, Ξάνθη και Καβάλα, σε μήκος 130 km, από τα συνολικά 234 km του μήκους του, αποτελώντας το φυσικό σύνορο μεταξύ Μακεδονίας και Θράκης.



**Εικόνα 2.1.** Η θέση των πηγών και η διαδρομή του ποταμού Νέστου από τη Νότια Βουλγαρία έως το Θρακικό Πέλαγος (από Gannoulis *et al.* 2007).

**Figure 2.1.** The location of the springs and the route of river Nestos from South Bulgaria to the Thracian Sea (after Gannoulis *et al.* 2007).

Η συνολική λεκάνη απορροής έχει έκταση 5.749 km<sup>2</sup>, από τα οποία τα 2.280 km<sup>2</sup> (48% περίπου) βρίσκονται μέσα στο Ελληνικό έδαφος. Το έδαφος, σχεδόν σε όλο το μήκος της λεκάνης απορροής, είναι ορεινό, με εξαίρεση τη περιοχή του Δέλτα, η οποία καταλαμβάνει έκταση 440 km<sup>2</sup> περίπου.

**Πίνακας 2.1.** Οι σημαντικότεροι παραπόταμοι του ποταμού Νέστου με την έκταση της λεκάνης απορροής τους.

**Table 2.1.** The major tributaries of river Nestos and the area of their catchment area.

Όνομασία	Εμβαδόν Λεκάνης Απορροής (σε km <sup>2</sup> )
Διαβολόρεμα	356,4
Αρκουδόρεμα	283,3
Μουσδόρεμα (Βαθύρεμα)	203,0
Δεσπάτης	118,9*
Μυλόρεμα	93,1
Καστανιτούρεμα	60,9
Μαυροματίρεμα	46,8
Ρέμα	45,7
Διχαλόρεμα	28,5
Ψυχρόρεμα	28,4
Ξεριάς	14,1
Καμπερογλουρέμα	11,9
Μαυρόρεμα	11,4
Δροσόρεμα	11,2
Μεγαλόρεμα	10,8
Αγ. Γεωργίου	10,7
Λεύκες ρέμα	9,5
Μελισσόρεμα	7,4

\* αφορά μόνο το τμήμα της λεκάνης που βρίσκεται στο ελληνικό έδαφος

Στη λεκάνη απορροής του ποταμού Νέστου βρίσκονται συνολικά 212 κοινότητες, εκ των οποίων οι 119 βρίσκονται στην Ελλάδα (42.000 κάτοικοι) και οι 93 στη Βουλγαρία (137.000 κάτοικοι). Ο ποταμός Νέστος διαθέτει περίπου 50 παραποτάμους, από τους οποίους ο Δεσπάτης είναι ο μεγαλύτερος και ενώνεται με τη κύρια κοίτη του ποταμού Νέστου εντός του ελληνικού εδάφους. Άλλοι μεγάλοι παραπόταμοι είναι το Αρκουδόρεμα, το Διαβολόρεμα και το Μουσδόρεμα (ρέμα Λειμώνος). Το συνολικό εμβαδό των υπολεκάνων απορροής των παραποτάμων του Νέστου υπολογίζεται σε 1.350 km<sup>2</sup> περίπου (Darakas 2002). Οι υπολεκάνες των παραποτάμων του Νέστου παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.1.

Στο ελληνικό τμήμα του ποταμού εντοπίζονται και τα δύο τα φράγματα του Θησαυρού και της Πλατανόβρυσης, που σκοπό έχουν την παραγωγή ηλεκτρικού ρεύματος, την αντιπλημμυρική προστασία στα κατάντη των φραγμάτων, κυρίως στην περιοχή του Δέλτα και την κάλυψη των αρδευτικών αναγκών της περιοχής που διατρέχει το ποτάμι. Έχει γίνει η προκήρυξη έργου για την κατασκευή ενός τρίτου αναρρυθμιστικού φράγματος στην περιοχή του Τεμένους, το οποίο έχει ήδη σχεδιαστεί. Τα χαρακτηριστικά των φραγμάτων συνοψίζονται στον Πίνακα 2.2.

**Πίνακας 2.2.** Χαρακτηριστικά στοιχεία των φραγμάτων Θησαυρού και Πλατανόβρυσης στον Ποταμό Νέστο.

**Table 2.2.** Features of the Thisavros and Platanovrysis dams located in the river Nestos.

	Θησαυρός	Πλατανόβρυση
Μέσο πλάτος (m)	200	200
Μέσο βάθος (m)	40	15
Μέση παροχή (1964 – 65/1982 – 83) m <sup>3</sup> /sec	38,84	43,14
Ανώτατη στάθμη λειτουργίας (ΑΣΛ) mas	380	227,5
Κατώτατη στάθμη λειτουργίας (ΚΣΛ) mas	320	195
Όγκος στην ΑΣΛ 10 <sup>6</sup> m <sup>3</sup>	705	73
Όγκος στην ΚΣΛ 10 <sup>6</sup> m <sup>3</sup>	135	16
Επιφάνεια λίμνης στην ΑΣΛ km <sup>2</sup>	18	3
Μέγιστη διακύμανση στάθμης νερού (m)	30	2

Πηγή: Παρασκευόπουλος & Γεωργιάδης 2001.

Η ομώνυμη λίμνη του Θησαυρού που καταλαμβάνει την περιοχή από την γέφυρα των Ποταμών έως το φράγμα του Θησαυρού έχει επιφάνεια, στην ανώτατη στάθμη λειτουργίας, 18 km<sup>2</sup> και χωρητικότητα 565 x 10<sup>6</sup> m<sup>3</sup> νερό (Καμίδης 2011). Η διακύμανση της στάθμης μεταξύ υγρής και ξηρής περιόδου είναι αρκετά υψηλή και ανέρχεται στα 30m (ΔΑΥΕ – ΔΕΗ 2006). Κατά την κατάκλυση της περιοχής, η λίμνη του Θησαυρού κατέλαβε το χαμηλό ορεινό τμήμα της κοίτης του ποταμού και της απότομης στενής κοιλάδας του Νέστου. Η κοίτη αυτή περιείχε σημαντικούς μαιανδρισμούς και πολύ απότομα πρανή, καλυμμένα από δασική βλάστηση. Στον ταμιευτήρα του Θησαυρού, από τον Σεπτέμβριο του 1996, συγκεντρώνονταν τα νερά του Νέστου για 8 περίπου μήνες.

Έτσι, δεν υπήρχαν κανονικές ροές προς τα κατάντη (Καμίδης 2011). Οι εκροές ξεκίνησαν από τον Μάιο του 1997, ημερομηνία που σηματοδοτεί την λειτουργία του φράγματος.

Η φραγμαλίμη της Πλατανόβρυσης έχει χωρητικότητα  $11 \times 10^6 \text{ m}^3$ , με το εύρος της στάθμης να κυμαίνεται στα περίπου 2 μέτρα (ΔΑΥΕ – ΔΕΗ 2006). Η επιφάνεια του ταμιευτήρα στην ανώτατη στάθμη λειτουργίας είναι  $3 \text{ km}^2$  (ΔΑΥΕ – ΔΕΗ 2006). Στην περιοχή αυτή, ο Νέστος σχημάτιζε μαιάνδρο πεταλοειδούς σχήματος, όπου και συναντούσε το Διαβολόρεμμα. Αμέσως μετά την ένωση, συνέχιζε μέσα από στενό φαράγγι με απότομα πρηνή (Καμίδης 2011). Ο ταμιευτήρας άρχισε να λειτουργεί από το φθινόπωρο του 1999 (ΔΑΥΕ – ΔΕΗ 2006).

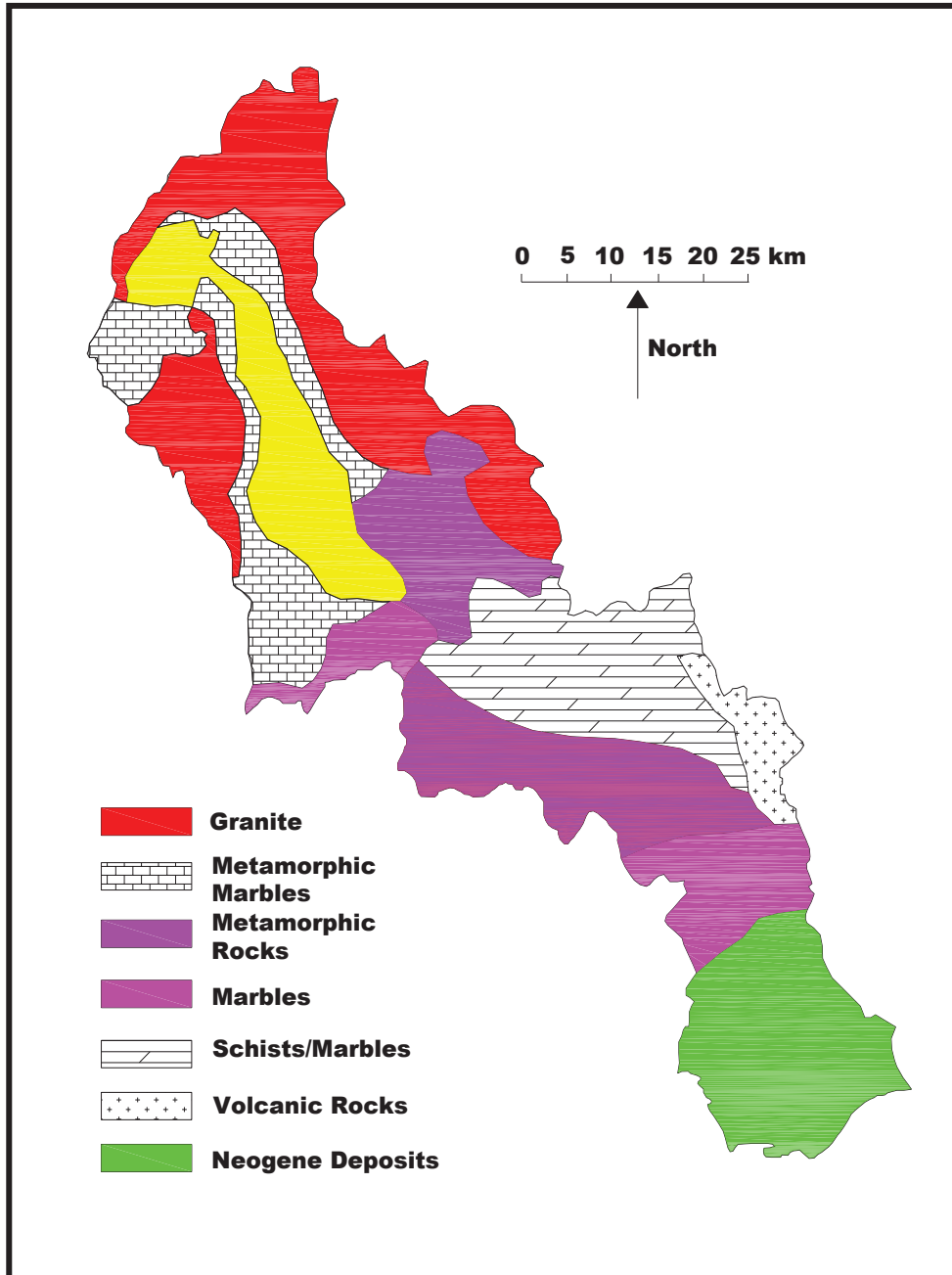
## 2.2. Γεωλογία περιοχής

Η λεκάνη απορροής του ποταμού Νέστου εντάσσεται γεωλογικά στην ευρύτερη περιοχή της γεωτεκτονικής ζώνης της Ροδόπης (Petalas *et al.* 2005). Η ζώνη αυτή αποτελείται από μεταμορφωμένα πετρώματα, κυρίως από γνεύσιους και σχιστόλιθους με εναλλαγές μαρμάρων και διεισδύσεις γρανιτών και ηφαιστειακών εκχύσεων (Zagorchev 2007, Συλαίος & Bournaski 2009) (Εικ. 2.2). Η λεκάνη απορροής του ποταμού χωρίζεται γεωλογικά, σε δύο τμήματα. Στο βουλγάρικο τμήμα, όπου κυριαρχούν οι γρανίτες, δηλαδή σχεδόν το 62% της λεκάνης που εκτείνεται έως την Οροσειρά της Ροδόπης. Εκεί, ξεκινάει στο Ελληνικό τμήμα του ποταμού (Choleev & Baltakov 1989). Η ορεινή μάζα της Ροδόπης αποτελείται από κατακερματισμένα Προκάμβρια και νεότερα Παλαιοζωϊκά κρυσταλλικά πετρώματα (Συλαίος & Bournaski 2009). Αποτελεί τμήμα μίας μεγαλύτερης σε έκταση κρυσταλλικής μάζας, η οποία ξεκίνησε να θραύεται κατά τη Παλαιοζωϊκή περίοδο και ανυψώθηκε έως και 2.000 m κατά το Πλειόκαινο – Πλειστόκαινο (Συλαίος & Bournaski 2009).

Εντός του ελληνικού εδάφους, ο Νέστος συνεχίζει να ρέει ανάμεσα σε γνεύσιους και σχιστόλιθους μέχρι τη περιοχή της Πασχαλιάς. Από την Πασχαλιά μέχρι την περιοχή των Τοξοτών, περιοχή κυριαρχείται πλέον από καρστικοποιημένα μάρμαρα, τα οποία αποτελούν το καρστικό σύστημα της Λεκάνης (Petalas *et al.* 2005, Συλαίος & Bournaski 2009).

Τα καρστικοποιημένα μάρμαρα σχηματίζουν τα εντυπωσιακά Στενά Νέστου, τα οποία εκτείνονται από τη περιοχή της Σταυρούπολη έως τους Τοξότες. Η κοιλάδα του ποταμού χαρακτηρίζεται από απότομες κλίσεις και έντονους μαιανδρισμούς (Petalas *et al.* 2005, Συλαίος & Bournaski 2009). Τέλος, η περιοχή του Δέλτα του Νέστου θεωρείται ως

το μόνο τμήμα της υδρολογικής λεκάνης που γεωλογικά ανήκει στη Τριτογενή Περίοδο Πρίνου – Νέστου (Χειδάκης *et al.* 2005). Κατά το Τεταρτογενές, η περιοχή του Δέλτα υπέστη τεκτονική καθίζηση περίπου 100 m.



Εικόνα 2.2.1. Γεωλογικές δομές στη λεκάνη απορροής ποταμού Νέστου (από Συλαίος & Βournaski 2009).

Figure 2.2.1. Geological structures in the river Nestos basin (after Sylaios & Bournaski 2009).

### 2.3. Καθεστώς προστασίας

Ο Νέστος, στο σύνολό του σχεδόν, ανήκει σε προστατευόμενες περιοχές. Μετά την είσοδό του στο ελληνικό έδαφος, ανήκει στο Εθνικό Πάρκο Οροσειράς Ροδόπης, συνολικής έκτασης 1.731.150 στρεμμάτων (Κ.Υ.Α. 40379, ΦΕΚ 445/Δ/02-10-2009) και αποτελεί μέρος του δικτύου NATURA 2000 (ΖΕΠ-Ζώνη Ειδικής Προστασίας, σύμφωνα με την Οδηγία 79/409, με κωδικό GR1140008).

Στη συνέχεια, τα Στενά Νέστου, συνολικής έκτασης 23.800 στρεμμάτων, ανήκουν στα «Αισθητικά Δάση» (ΠΔ 11.7.1977, ΦΕΚ 283Δ (περί κηρύξεως των Στενών του Νέστου ως Αισθητικού Δάσους), ενώ ανήκουν επίσης και στο δίκτυο NATURA 2000 (ΤΚΣ-Τόπος Κοινοτικής Σημασίας, σύμφωνα με την Οδηγία 92/43/ΕΟΚ, με κωδικό GR1120005, ΖΕΠ με κωδικό GR1120004).

Τέλος, το Δέλτα Νέστου και οι λιμνοθάλασσες που περιλαμβάνει αποτελούν υδροτοπικό σύμπλεγμα διεθνούς σημασίας. Σύμφωνα με τη Σύμβαση Ραμσάρ (ΦΕΚ 350/Τ.Α./20-11-1974), ανήκουν στο δίκτυο ΦΥΣΗ 2000 (ΤΚΣ με κωδικό GR1150010, ΖΕΠ με κωδικό GR1150001). Μαζί με τις λιμνοθάλασσες Ροδόπης και τις λίμνες Ισμαρίδα και Βιστωνίδα ανήκουν στο Εθνικό Πάρκο Ανατολικής Μακεδονίας και Θράκης (ΕΠ ΑΜΑΘ), συνολικής έκτασης περίπου 727.000 στρεμμάτων. Αρχικά, το ΕΠ ΑΜΑΘ θεσμοθετήθηκε με την Κ.Υ.Α. 5796/16.9.1996 (ΦΕΚ Β' 854) και ακολούθησε, το 2008, νέο νομοθετικό πλαίσιο (Κ.Υ.Α. 44549/17.10.2008, ΦΕΚ Δ' 497).

### 2.4. Χρήσεις νερού

Οι κύριες χρήσεις του νερού του ποταμού Νέστου είναι γεωργικές και παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας. Κατά μήκος του Νέστου, έχουν αναπτυχθεί τέσσερα εκτεταμένα αρδευτικά δίκτυα (δύο στη Βουλγαρία και δύο στην Ελλάδα). Σκοπό έχουν την άρδευση των παρακείμενων γεωργικών εκτάσεων. Η συνολικά αρδευόμενη ελληνική έκταση είναι 142 km<sup>2</sup>, από την οποία τα 131 km<sup>2</sup> βρίσκονται στο εκβολικό σύστημα του ποταμού (Δέλτα Νέστου) και τα 11 km<sup>2</sup> στο βόρειο και κεντρικό τμήμα του (Ντάφης 1996, Κουτράκης & Μάρκου 2007). Η συνολική αρδευόμενη έκταση στη Βουλγαρία υπολογίζεται σε 174 km<sup>2</sup>, με υδάτινες απαιτήσεις 353 εκατομμυρίων m<sup>3</sup>. Οι συνολικές απαιτήσεις για άρδευση υπερβαίνουν τα 200 εκατομμύρια km<sup>3</sup> ετησίως (Παρασκευόπουλος & Γεωργιάδης 2001).

Η άρδευση της πεδιάδας του Δέλτα του ποταμού Νέστου γίνεται μέσω ενός φράγματος παροχέτευσης – υδροληψίας στη θέση Τοξότες (συνολικό μήκος 280 m, μήκος



υπερχειλιστή 240 m, ύψος υπερχειλίσεως 2,95 m (στοιχεία από Παρασκευόπουλος & Γεωργιάδης 2001). Το δυτικό τμήμα του Δέλτα (Κάμπος Χρυσούπολης) αρδεύεται από επιφανειακό δίκτυο ανοικτής διώρυγας. Στο ανατολικό έχει ανορυχθεί και ένας μεγάλος αριθμός γεωτρήσεων, με αποτέλεσμα την εμφάνιση φαινομένου υφαλμύρωσης των υπόγειων παράκτιων υδροφόρων.

Επιπλέον, στη περιοχή του Δέλτα από το φράγμα Τοξοτών έως και την εκβολή του (17 km), ο Νέστος έχει εγκιβωτιστεί με μία σειρά αντιπλημμυρικών έργων διευθετήσεως της κοίτης του, τα οποία κατασκευάστηκαν κατά την περίοδο 1930 έως το 1952 (Γεράκης & Κουτράκης 1996).

## 2.5. Πηγές ρύπανσης

Το οικοσύστημα του ποταμού Νέστου απειλείται από ρύπανση προερχόμενη από ανθρωπογενείς παρεμβάσεις. Ανθρωπογενείς δραστηριότητες (αγροτικές και αστικές) μεταφέρουν ρύπους στο ποταμό Νέστο στο Βουλγαρικό έδαφος και είναι, ως ένα μεγάλο βαθμό, άγνωστες (Κουτράκης κ.ά. 2008). Στο ελληνικό έδαφος, ο Νέστος δέχεται ρύπους από αγροτικές και ημιαστικές απορροές. Πιο συγκεκριμένα, δέχεται ρύπους ως εξής (Κουτράκης κ.ά. 2008):

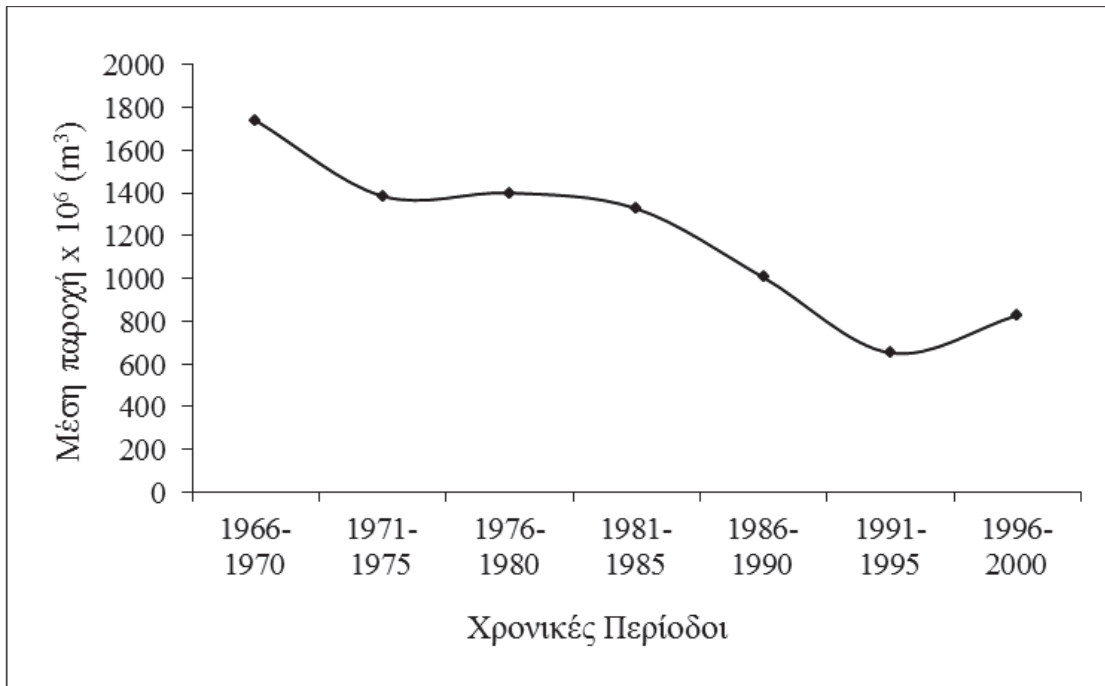
1. από αστικά λύματα (επεξεργασμένα και μη – επεξεργασμένα), τα οποία προέρχονται από μικρές πόλεις και χωριά σε όλο το μήκος της λεκάνης απορροής
2. από βιομηχανικά λύματα ενός μικρού αριθμού βιομηχανιών και βιοτεχνιών
3. από γεωργικές δραστηριότητες, οι οποίες αποτελούν μη σημειακές πηγές ρύπανσης και μεταφέρουν ποσότητες λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων στον ποταμό.

## 2.6. Διαχρονική μεταβολή απορροής ποταμού Νέστου

Οι μέσες ετήσιες απορροές του ποταμού Νέστου, εκφρασμένες ανά πενταετία καλύπτοντας την χρονική περίοδο μεταξύ των ετών 1966 και 2000, παρουσιάζονται στην Εικόνα 2.3. Όπως φαίνεται, παρουσιάζουν πτώση από την πενταετία 1966 – 1970 ( $1.740 \times 10^6 \text{ m}^3$  ανά έτος ή  $55,2 \text{ m}^3 / \text{sec}$ ) έως και την πενταετία 1981 – 1985 ( $1.326 \times 10^6 \text{ m}^3$  ανά έτος ή  $44,2 \text{ m}^3 / \text{sec}$ ). Η μείωση των μέσων ετήσιων απορροών συνεχίζεται με μεγαλύτερο ρυθμό κατά την πενταετία 1986 – 1990 ( $1.000 \times 10^6 \text{ m}^3$  ανά έτος ή  $39,0 \text{ m}^3 / \text{sec}$ ), ενώ κατά την πενταετία 1991 – 1995 η μέση απορροή μειώθηκε ακόμα περισσότερο, φτάνοντας στα  $652 \times 10^6 \text{ m}^3$  ανά έτος (Κουτρομανίδης & Συλαίος 2004). Η μείωση αυτή

συμπίπτει με τη χρονική περίοδο κατά την οποία τα φράγματα ήταν υπό κατασκευή (1986 – 1997) και η κοίτη του ποταμού Νέστου τροφοδοτείτο μόνον από τους παραποτάμους που βρίσκονται κατάντη των φραγμάτων (EKBY 1996). Μετά το πέρας της κατασκευής των φραγμάτων, η μέση ετήσια απορροή παρουσίασε μικρή αύξηση στα  $828 \times 10^6 \text{ m}^3$  ανά έτος κατά την πενταετία 1996 – 2000.

Οι Κουτρομανίδης & Συλαίος (2004) διακριτοποίησαν τη χρονοσειρά της μέσης μηνιαίας παροχής του ποταμού σε επιμέρους χρονικά τμήματα βάσει του αναθεωρημένου σωρευτικού αθροίσματος των τετραγώνων των διαφορών των παρατηρούμενων τιμών από τους κινητούς μέσους όρους (Revised Centered Cumulative Sums of Squares, RCUSUM). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Πίνακα 2.3, όπου φαίνονται οι περίοδοι σχεδόν σταθερής ροής, καθώς και οι χρονικές στιγμές έντονων μεταβολών των χαρακτηριστικών της ποτάμιας παροχής.



**Εικόνα 2.3.** Μέσες ανά πενταετία ετήσιες απορροές του Ποταμού Νέστου, κατά τη χρονική περίοδο 1966 – 2000, όπως μετρήθηκαν στη θέση Τέμενος.

**Figure 2.3.** Average five – year annual runoff of Nestos River, during the period 1966 – 2000, as measured in Temenos.

Στην Εικόνα 2.4 παρουσιάζεται η μηνιαία διακύμανση της παροχής του ποταμού Νέστου κατά τα έτη 1966, 1976, 1986, 1996 και 2005 – 2006. Οι υψηλότερες παροχές παρουσιάζονται κατά την περίοδο Δεκεμβρίου – Φεβρουαρίου, ενώ δεύτερο μέγιστο εμφανίζεται κατά τους μήνες Απρίλιο και Μάιο.

**Πίνακας 2.3.** Υδρολογικά χαρακτηριστικά των πέντε διακριτών τμημάτων της χρονοσειράς παροχών του ποταμού Νέστου (από Κουτρομανιδής & Συλαίος 2004).

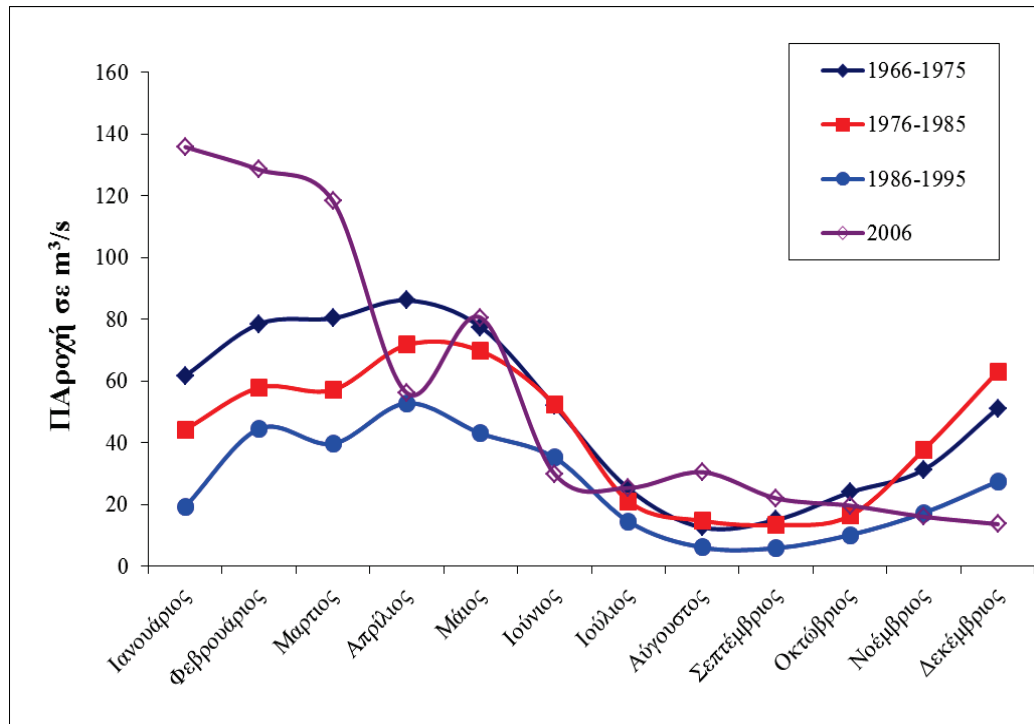
**Table 2.3.** Hydrological characteristics of the five distinct segments of the water flow time series of River Nestos (after Koutroumanidis & Sylaios 2004).

Περίοδος	Μέση ετήσια παροχή (m <sup>3</sup> /s)	Συνολική ετήσια απορροή (×10 <sup>6</sup> m <sup>3</sup> /y)	Μέση ημερήσια απορροή (×10 <sup>3</sup> m <sup>3</sup> /day)	Ποσοστό μεταβολής ετήσιας απορροής
1 Οκτώβριος 1965 – Φεβρουάριος 1971	55,15	1.715	4.699	0.00%
2 Μάρτιος 1971 – Απρίλιος 1980	44,18	1.314	3.764	- 19.90%
3 Μάιος 1980 – Δεκέμβριος 1982	48,58	1.511	4.139	- 11.91%
4 Ιανουάριος 1983 – Ιανουάριος 1986	40,46	1.258	3.447	- 26.64%
5 Φεβρουάριος 1986 – Μάιος 2000	25,37	789	2.161	- 54.00%

Οι υψηλότερες παροχές καταγράφηκαν τον Δεκέμβριο και τον Φεβρουάριο του 1966 (145 και 126 m<sup>3</sup>/sec, αντίστοιχα), τον Δεκέμβριο του 1976 (107 m<sup>3</sup>/sec) και τον Φεβρουάριο του 1986 (171 m<sup>3</sup>/sec). Κατά τους θερινούς μήνες (Ιούνιος – Αύγουστος), οι παροχές του ποταμού Νέστου κυμαίνονται μεταξύ 86 m<sup>3</sup>/sec (Ιούνιος 1966) και 3,9 m<sup>3</sup>/sec (Ιούλιος 1996).

Πολύ μικρές παροχές καταγράφηκαν, επίσης, τον Αύγουστο του 1986 και 1996 με 7,9 και 4,4 m<sup>3</sup>/sec αντίστοιχως. Οι ελάχιστες αυτές παροχές συμπίπτουν και πάλι με το χρονικό διάστημα στο οποίο τα φράγματα τελούσαν υπό κατασκευή. Το έτος 2000, η παροχή του ποταμού κατά τους θερινούς μήνες αυξήθηκε (μέση παροχή: 21,6 m<sup>3</sup>/sec). Το γεγονός υποδηλώνει τη διοχέτευση νερού από τους ταμιευτήρες για την κάλυψη των αρδευτικών αναγκών, ενώ φαίνεται ότι το σύστημα του ποταμού επανέρχεται σε ισορροπία.

Η συμβολή των παραποτάμων του ποταμού Νέστου (για τους οποίους υπάρχουν δεδομένα ετήσια επιφανειακής απορροής) στη συνολική απορροή του ποταμού παρουσιάζεται στο Πίνακα 2.4.



**Εικόνα 2.4.** Μηνιαία διακύμανση των παροχών (σε m<sup>3</sup>/sec) του Ποταμού Νέστου για τις δεκαετίες 1966 – 1975, 1976 – 1985, 1986 – 1995 και για το έτος 2006.

**Figure 2.4.** Monthly variation of water flow (in m<sup>3</sup>/sec) of Nestos River for the decades from 1966 to 1975, 1976 to 1985, 1986 to 1995 and for the year 2006.

**Πίνακας 2.4.** Μέση ετήσια απορροή και αντίστοιχη παροχή για τις υπολεκάνες του ποταμού Νέστου για τις οποίες υπάρχουν δεδομένα.

**Table 2.4.** Average annual runoff and corresponding water flow for sub – basins of river Nestos for which data are available.

Όνομασία	Μέση Ετήσια Απορροή (m <sup>3</sup> /year)	Μέση Παροχή (m <sup>3</sup> /s)
Διαβολόρεμα	116.640.000	3,7
Αρκουδόρεμα	108.864.000	3,5
Μελισσόρεμα	1.555.200	0,05
Μεγαλόρεμα	1.238.182	0,04
Μαυροματίρεμα	8.442.713	0,27
Λεύκες ρέμα	1.064.180	0,03

\* αφορά μόνο το τμήμα της λεκάνης που βρίσκεται στο ελληνικό έδαφος

## 2.7. Συλλογή δειγμάτων

Στόχος των δειγματοληψιών που πραγματοποιήθηκαν ήταν η συγκέντρωση ικανού αριθμού δειγμάτων από κάθε είδος ώστε να καταστεί δυνατή η διενέργεια των απαιτούμενων αναλύσεων. Αρχικά, για την πραγματοποίηση της μορφολογικής ανάλυσης των ιχθυοπληθυσμών συγκεντρώθηκαν από κάθε είδος 80 άτομα, 40 δείγματα από σταθμούς ανάντη των φραγμάτων και 40 κατάντη αυτών. Στην περίπτωση της Άγριας Πέστροφας, καθώς δεν θανατώθηκαν τα ψάρια που συλλέχθηκαν και απελευθερώθηκαν, έγινε προσπάθεια να συγκεντρωθεί ο μεγαλύτερος αριθμός δειγμάτων ανά σταθμό.

Όσον αφορά την γενετική ανάλυση και σύγκριση των ειδών, πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες, προκειμένου να συγκεντρωθούν 10 δείγματα κατά ελάχιστο από κάθε είδος ανά λεκάνη απορροής (Στρυμόνας, Νέστος, Έβρος). Στην περίπτωση του Νέστου, το δείγμα των 10 ατόμων μοιράστηκε στα δύο, το ίδιο και στην περίπτωση των δειγμάτων για την μορφομετρική ανάλυση.

Όσον αφορά τη μελέτη της βιολογίας του είδους *B. strumicae*, συγκεντρώθηκαν συνολικά 200 άτομα ώστε να επιτευχθεί ο προσδιορισμός της ηλικίας, της αναπαραγωγικής περιόδου και της διατροφής του. Περισσότερα στοιχεία για τη συλλογή των δειγμάτων δίνονται στα επιμέρους κεφάλαια.

## 2.8. Περιγραφή σταθμών δειγματοληψίας

Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε σταθμούς τόσο ανάντη, όσο και κατάντη των δυο υδροηλεκτρικών φραγμάτων του Νέστου. Ακόμη, δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν και σε σταθμούς στους κύριους παραπόταμους του ποταμού Νέστου. Συνολικά, πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε 11 σταθμούς, πέντε σταθμούς στον κύριο ρου του ποταμού (συμβολίζονται με το γράμμα M) και 6 σταθμούς σε παραποτάμους του Νέστου (συμβολίζονται με το γράμμα T). Στην Εικόνα 2.5 απεικονίζεται η θέση των σταθμών στον ποταμό, ενώ στον Πίνακα 2.5 παρουσιάζονται συνοπτικά τα κυριότερα χαρακτηριστικά των σημείων αυτών.

Ξεκινώντας από βόρεια, ο πρώτος σταθμός (M1) βρίσκεται κοντά στην είσοδο του ποταμού στην Ελλάδα, στην περιοχή Δέλτα Κ. Νευροκοπίου Δράμας (θέση: 24° 05' 50"E, 41° 25' 27"N) και σε υψόμετρο 390 m. Η δειγματοληψία πραγματοποιείται κατά την ανάντη διεύθυνση του ποταμού. Η βλάστηση της περιοχής αποτελείται κυρίως από δέντρα

(ιτιές και πλατάνια) και διάφορα είδη θάμνων, ενώ ο πυθμένας είναι βραχώδης χωρίς βλάστηση.



**Εικόνα 2.5.** Χάρτης του Ελληνικού τμήματος του ποταμού Νέστου και οι θέσεις των σταθμών δειγματοληψίας.

**Figure 2.5.** Map of the Greek section of river Nestos and the positions of the sampling stations.

Ο δεύτερος, κατά τοποθεσία, σταθμός (T1) βρίσκεται στο Δεσπάτη, στο ύψος του Αγ. Ραφαήλ (θέση:  $24^{\circ} 06' 25''\text{E}$ ,  $41^{\circ} 24' 38''\text{N}$ ) και σε υψόμετρο 403 m. Η δειγματοληψία πραγματοποιείται κατά την ανάντη διεύθυνση του ποταμού. Η βλάστηση της περιοχής αποτελείται κυρίως από πλατάνια, ενώ ο πυθμένας είναι βραχώδης με λίγη λάσπη και χωρίς βλάστηση.

Επόμενος σταθμός είναι στο Διαβολόρεμα (T4), στο ύψος της οδικής γέφυρας (θέση:  $24^{\circ} 28' 22''\text{E}$ ,  $41^{\circ} 26' 39''\text{N}$ ) σε υψόμετρο μεγαλύτερο των 293 m. Ο πυθμένας είναι βραχώδης, με λάσπη και λίγη βλάστηση.

**Πίνακας 2.5.** Περιγραφή των σταθμών δειγματοληψίας στον Ποταμό Νέστο και στους παραποτάμους του.  
**Table 2.5.** Description of the sampling stations in Nestos River and its tributaries.

Σταθμός	Περιοχή	Συντεταγμένες		Υψόμετρο (m)	Βλάστηση	Πυθμένας
		Γεωγραφικό μήκος	Γεωγραφικό πλάτος			
M1	Δέλτα, Κ. Νευροκόπι Δράμας	24° 05' 50"	41° 25' 27"	390	Ιτιές, πλατάνια	βραγχώδης χωρίς βλάστηση
T1	Δεσπάτη, Αγ. Ραφαήλ	24° 06' 25"	41° 24' 38"	403	Πλατάνια	βραγχώδης με λίγη λάσπη και χωρίς βλάστηση
T4	Διαβολόρεμα	24° 28' 22"	41° 26' 39"	293	Οξιές, πλατάνια	βραγχώδης, με λάσπη και αραή βλάστηση
T3	Εκβολή Φαρασινό Διαβολόρεμα	24° 28' 31"	41° 26' 37"	293	Οξιές, πλατάνια	πέτρες και άμμο χωρίς βλάστηση
T5	Αρकुδόρεμα στο σημείο εκβολής του στο Νέστο	24° 29' 02"	41° 17' 32"	172	Ιτιές, θάμνους	πετρώδης χωρίς βλάστηση και ορισμένα αμμώδη σημεία
T6	Ρέμα Μεσοχωρίου, Παρανέστι Δράμας	24° 28' 23"	41° 16' 31"	147	Ιτιές, θάμνους	αμμώδης και διάσπαρτες ρίζες δέντρων
M2	Παρανέστι Δράμας	24° 29' 19"	41° 16' 09"	147	Λεύκες, βατομουριές	αμμώδης με αραή υδρόβια βλάστηση
M3	Σταυρούπολης	24° 41' 56"	24° 41' 56"	84	Πλατάνια	πέτρες, άμμο, λίγη λάσπη και αραή υδρόβια βλάστηση
M4	Τοξότες	24° 45' 39"	41° 05' 39"	58	Λεύκες, ιτιές	αμμώδης
M5	Δέλτα Νέστου, κοντά στη Χρυσούπολη	24° 44' 40"	40° 59' 24"	27	Λεύκες, ιτιές, βελανιδιές	αμμώδης, με αραή υδρόβια βλάστηση
	Βαθυρέμα, Σιδηρόνερο, Δράμας	24° 12' 04"	41° 23' 13"	453	Ιτιές	πετρώδης χωρίς βλάστηση

Σε μικρή απόσταση από τον T4 εντοπίζεται ο σταθμός T3, ο οποίος βρίσκεται στο σημείο εκβολής του ρέματος Φαρασινό στο Διαβολόρεμα (θέση: 24° 28' 31"E, 41° 26' 37"N) σε υψόμετρο μεγαλύτερο των 293 m. Η βλάστηση της περιοχής αποτελείται κυρίως από οξιές και δευτερευόντως, από πλατάνια. Ο πυθμένας καλύπτεται από πέτρες και άμμο χωρίς βλάστηση.

Ο πρώτος σταθμός στον παραπόταμο Αρκουδόρεμα (T5) βρίσκεται στο σημείο εκβολής του στο Νέστο (θέση: 24° 29' 02"E, 41° 17' 32"N) σε υψόμετρο μεγαλύτερο των 172 m. Η βλάστηση της περιοχής αποτελείται κυρίως από ιτιές και κάποιους θάμνους. Ο πυθμένας είναι πετρώδης χωρίς βλάστηση και ορισμένα αμμώδη σημεία.

Ο σταθμός T6 βρίσκεται στο ρέμα Μεσοχωρίου στο Παρανέστι Δράμας, κοντά στην εκβολή του στον ποταμό, στο ύψος της οδικής γέφυρας (θέση: 24° 28' 23"E, 41° 16' 31"N) σε υψόμετρο μεγαλύτερο των 147 m. Η βλάστηση της περιοχής αποτελείται από δέντρα. Ο πυθμένας είναι αμμώδης με κάποιες πέτρες και διάσπαρτες ρίζες δέντρων στις όχθες.

Ο M2 βρίσκεται στην περιοχή του Παρανεστίου Δράμας (θέση: 24° 29' 19"E, 41° 16' 09"N) σε υψόμετρο 147 m. Η βλάστηση της περιοχής αποτελείται κυρίως από δέντρα (λεύκες) και βατομουριές. Ο πυθμένας είναι αμμώδης με αραιή βλάστηση.

Ο M3 βρίσκεται την περιοχή της Σταυρούπολης (θέση: 24° 41' 56"E, 41° 11' 26"N) σε υψόμετρο μεγαλύτερο των 84 m. Η βλάστηση της περιοχής αποτελείται από διάφορα δέντρα. Ο πυθμένας χαρακτηρίζεται από πέτρες, άμμο και λίγη λάσπη, ενώ είναι καλυμμένος σε σημεία από υδρόβια βλάστηση.

Ο M4 βρίσκεται στην περιοχή των Τοξοτών (θέση: 24° 45' 39"E, 41° 05' 39"N) σε υψόμετρο 58 m. Η βλάστηση στις όχθες αποτελείται από διάφορα είδη δέντρων. Ο πυθμένας είναι αμμώδης χωρίς βλάστηση.

Ο M5 βρίσκεται στην περιοχή του Δέλτα Νέστου (θέση: 24° 44' 40"E, 40° 59' 24"N, πλησίον της Χρυσούπολης) σε υψόμετρο 27 m. Η βλάστηση των οχθών αποτελείται κυρίως από λεύκες, ιτιές, βελανιδιές και φτελιές. Ο πυθμένας είναι αμμώδης με αραιή υδρόβια βλάστηση κοντά στις όχθες, όπου συναντώνται και διακλαδώσεις από τις ρίζες των δέντρων.

Επιπλέον, στο πλαίσιο της μορφομετρικής ανάλυσης της Άγριας Πέστροφας πραγματοποιήθηκε και δειγματοληψία στην παραπόταμο Βαθυρέμα, κοντά στο χωριό Σιδηρόνερο, Δράμας (θέση: 24° 12' 04"E, 41° 23' 13"N), σε υψόμετρο 453 m. Η βλάστηση αποτελείται κυρίως από δέντρα (Ιτιές). Ο πυθμένας είναι πετρώδης χωρίς βλάστηση.



## 2.9. Δειγματοληψίες πεδίου

Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις οδηγίες που καθορίζονται από το CEN (2003) και η σύλληψη των ψαριών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση φορητής συσκευής ηλεκτραλιείας (Hans Grassl Direct Pulse Current Electrofishing Device IG200/2) (Εικ. 2.6). Με τον όρο «ηλεκτραλιεία» ορίζεται η χρήση ηλεκτρισμού για την σύλληψη ψαριών, με τη χρήση της οποίας δε θανατώνονται τα ψάρια. Μόνον αναισθητοποιούνται, δίνοντας έτσι την δυνατότητα καταγραφής και μέτρησης των βιολογικών τους χαρακτηριστικών και κατόπιν, απελευθερώνονται. Η «ηλεκτραλιεία» βασίζεται στον σχηματισμό ενός τρισδιάστατου ηλεκτρικού πεδίου στο νερό, που προκαλείται λόγω της διαφοράς δυναμικού από τα ηλεκτρόδια, την άνοδο (+) και την κάθοδο (-) (Εικ. 2.7). Το πεδίο αυτό είναι ανομοιογενές και εξασθενεί με την απόσταση από τα ηλεκτρόδια, καθώς η ηλεκτρική ενέργεια διασκορπίζεται στο νερό.



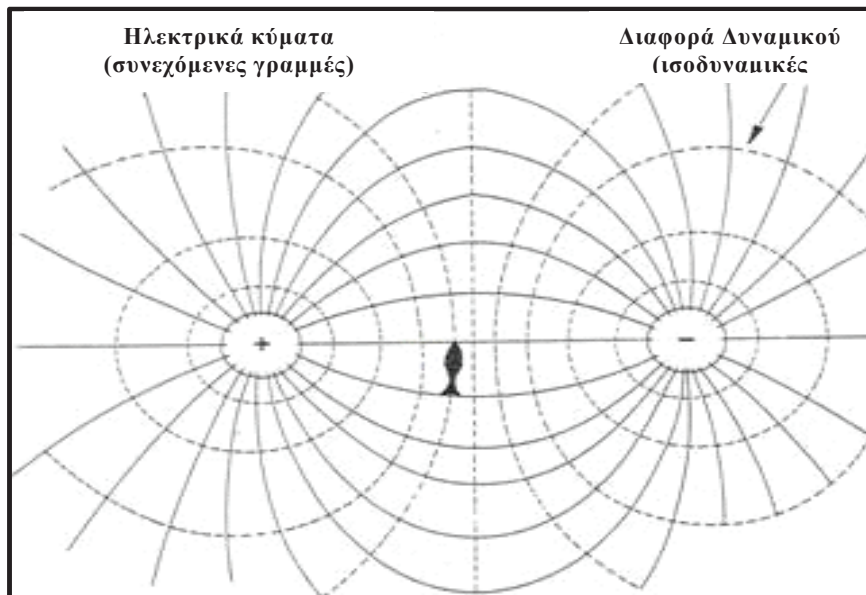
**Εικόνα 2.6.** Σύλληψη ψαριών με τη χρήση συσκευής ηλεκτραλιείας στον Ποταμό Νέστο.

**Figure 2.6.** Fish capturing using a portable electrofishing device in Nestos River.

Η αποτελεσματικότητα της ηλεκτραλιείας εξαρτάται από διάφορους παράγοντες τόσο περιβαλλοντικούς, όσο και βιολογικούς (Reynolds 1996). Από τους σημαντικότερους παράγοντες, εκτός της έντασης του παραγόμενου ρεύματος και της διαφοράς δυναμικού, είναι η αγωγιμότητα του νερού. Αναλυτικότερα, η μεταφορά ηλεκτρικής ενέργειας (το προϊόν του ρεύματος και της διαφοράς δυναμικού) από το νερό στο ψάρι εξαρτάται από τη διαφορά μεταξύ της αγωγιμότητας του νερού και της

αγωγιμότητας του ψαριού. Όταν η αγωγιμότητα του νερού είναι χαμηλότερη από αυτήν του ψαριού (π.χ. γλυκά νερά ποταμών και λιμνών), τότε το ρεύμα τείνει να διατρέχει το νερό διαπερνώντας το ψάρι, καθώς η διαφορά δυναμικού είναι υπεύθυνη για τη δημιουργία του ηλεκτρικού φαινομένου.

Αντιθέτως, όταν η αγωγιμότητα του νερού είναι υψηλότερη από αυτήν του ψαριού (π.χ. υφάλμυρα και αλμυρά νερά λιμνοθαλασσών και θάλασσας), τότε το ρεύμα τείνει να διατρέχει το νερό γύρω από το ψάρι, καθώς το ρεύμα είναι υπεύθυνο για τη δημιουργία του ηλεκτρικού φαινομένου. Στην περίπτωση που η αγωγιμότητα του νερού είναι ίση με αυτήν του ψαριού, το ηλεκτρικό πεδίο δεν παραμορφώνεται. Στη διαφορά δυναμικού και στο ρεύμα οφείλεται η δημιουργία του ηλεκτρικού φαινομένου και στην περίπτωση αυτή, το μέγιστο της ηλεκτρικής ενέργειας μεταφέρεται στο ψάρι.



**Εικόνα 2.7.** Σχηματισμός τρισδιάστατου ηλεκτρικού πεδίου στο νερό, που προκαλείται λόγω της διαφοράς δυναμικού από τα ηλεκτρόδια, την άνοδο (+) και την κάθοδο (-) (από Reynolds 1996).

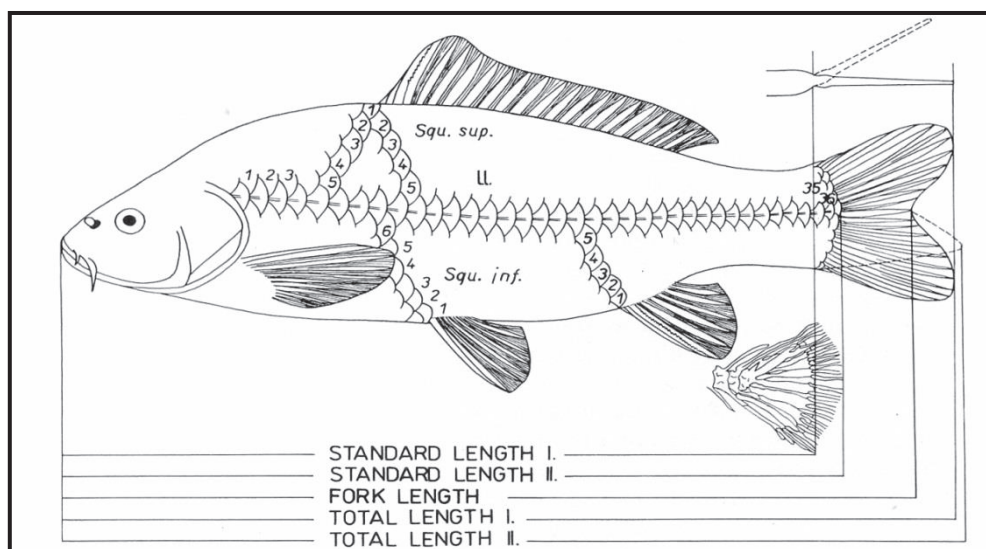
**Figure 2.7.** Formation of a three - dimensional electric field in the water, caused by the potential difference of the electrodes, the anode (+) and the cathode (-) (after Reynolds 1996).

Άλλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της ηλεκτραλιείας είναι η θερμοκρασία του νερού, καθώς επηρεάζει διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες των ψαριών (π.χ. αναπνοή, χρόνος ανάρρωσης μετά την αναισθητοποίηση), η θολερότητα, το βάθος του νερού και η συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου.

Οι βιολογικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της ηλεκτραλιείας σχετίζονται με τη φυσιολογία, τη μορφολογία και τη συμπεριφορά των ψαριών, με σημαντικότερο ίσως όλων το μέγεθος. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι για μία δεδομένη τιμή διαφοράς δυναμικού, το ολικό δυναμικό του σώματος του ψαριού αυξάνει με το μέγεθός του, προκαλώντας και μεγαλύτερης έντασης ηλεκτροπληξία στα μεγαλύτερου μεγέθους ψάρια. Παράλληλα, είναι αυτά τα μεγαλύτερα ψάρια που είναι και περισσότερο ορατά στους ηλεκτραλιείς.

### 2.10. Μέτρηση βιολογικών παραμέτρων

Μετά τη σύλληψη των ψαριών γινόταν καταγραφή των βασικών βιολογικών χαρακτηριστικών, π.χ. το ολικό μήκος σώματος (TL), το σταθερό μήκος (SL) και το ολικό βάρος (TW), όπως περιγράφονται από τους Holcik *et al.* (1989) (Εικόνα 2.8).



**Εικόνα 2.8.** Διάφορα σωματικά μήκη και μετρήσεις λεπιών (από Holcik *et al.* 1989).  
**Figure 2.8.** Different body lengths and scale measurements (after Holcik *et al.* 1989).

Όλα τα παραπάνω δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν στις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν. Συγκεκριμένα, το ολικό και το σταθερό μήκος χρησιμοποιήθηκε στην τυποποίηση των μορφομετρικών μετρήσεων, αφαιρώντας την επίδραση του μήκους από την ανάλυση των μορφομετρικών χαρακτηριστικών (περισσότερες πληροφορίες αναφέρονται στο Κεφάλαιο 3.2 «Υλικά και Μέθοδοι»). Επίσης, το ολικό μήκος και το ολικό βάρος χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των σχέσεων μήκους – βάρους, όπως περιγράφεται στο Κεφάλαιο 5.2.3 «Σχέση μήκους – βάρους».

Το φύλο του κάθε δείγματος προσδιορίστηκε με οπτική παρατήρηση των γονάδων, ενώ το στάδιο ωριμότητας προσδιορίστηκε σύμφωνα τη μεθοδολογία που προτείνει ο Nikolsky (1963). Τα δεδομένα που συγκεντρώθηκαν, χρησιμοποιήθηκαν στη μορφολογική ανάλυση, καθώς έγινε έλεγχος των δειγμάτων για ύπαρξη μορφομετρικών διαφοροποιήσεων που μπορεί να οφείλονται σε σεξουαλικό διμορφισμό. Επίσης, το φύλο των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της αναλογίας φύλων στους πληθυσμούς (Κεφάλαιο 5.3 «Υλικά και Μέθοδοι»).

Τέλος, από τα δείγματα του είδους *B. strumicae* αφαιρέθηκαν και ζυγίστηκαν το βάρος των δύο γονάδων και το βάρος του ήπατος, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό του γοναδοσωματικού και του ηπατοσωματικού δείκτη, αντιστοίχως, ώστε στη συνέχεια να προσδιοριστεί η αναπαραγωγική περίοδος του είδους (Κεφάλαιο 6.2 «Υλικά και μέθοδοι»).

### **2.11. Μετρήσεις φυσικο-χημικών παραμέτρων**

Οι φυσικές παράμετροι του νερού καταγράφηκαν στο πεδίο χρησιμοποιώντας θερμοαλατόμετρο (CTD) τύπου Seabird 19 plus. Το όργανο αυτό έχει τη δυνατότητα καταγραφής της θερμοκρασίας, της αλατότητας, της αγωγιμότητας και της πυκνότητας. Η ταχύτητα του νερού στην κοίτη του ποταμού, καθώς και στους παραποτάμους, μετρήθηκε με πόντιση 1) ρευματογράφου MODEL 105 της Valeport και 2) ρευματογράφο RCM-9 Mk II της AAndera. Κατ' αυτόν τον τρόπο, επιτυγχάνεται η μεγαλύτερη αξιοπιστία των δεδομένων ταχύτητας ροής

## **Κεφάλαιο 3**

**Αποτελέσματα: Φυσικο-χημικές παράμετροι**

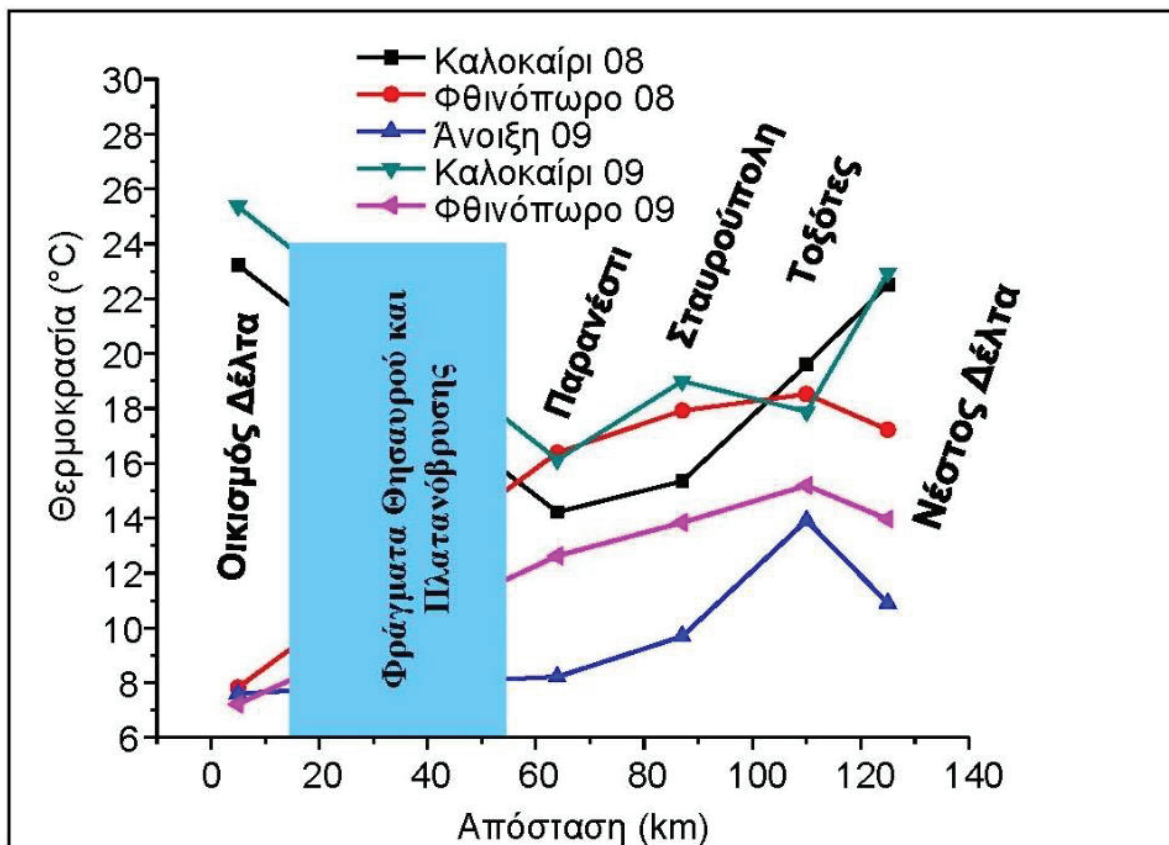


### 3. Φυσικο-χημικές παράμετροι

Παράλληλα με την διερεύνηση της ιχθυοπανίδας του Ποταμού Νέστου, πραγματοποιούνταν και καταγραφή της θερμοκρασίας και της ροής του ποταμού σε κάθε σταθμό δειγματοληψίας.

#### 3.1. Θερμοκρασία

Η μέση θερμοκρασία νερού του Ποταμού Νέστου καταγράφηκε σε 19 °C κατά το καλοκαίρι του 2008 και σημείωσε αρκετές μεταβολές κατά τη πορεία του νερού από τον Βορρά στο Νότο.



**Εικόνα 3.1.** Κατανομή της θερμοκρασίας στα ύδατα του ποτάμιου συστήματος του Νέστου για τις δειγματοληψίες του καλοκαιριού 2008, φθινοπώρου 2008, άνοιξης 2009, καλοκαιριού 2009 και φθινοπώρου 2009.

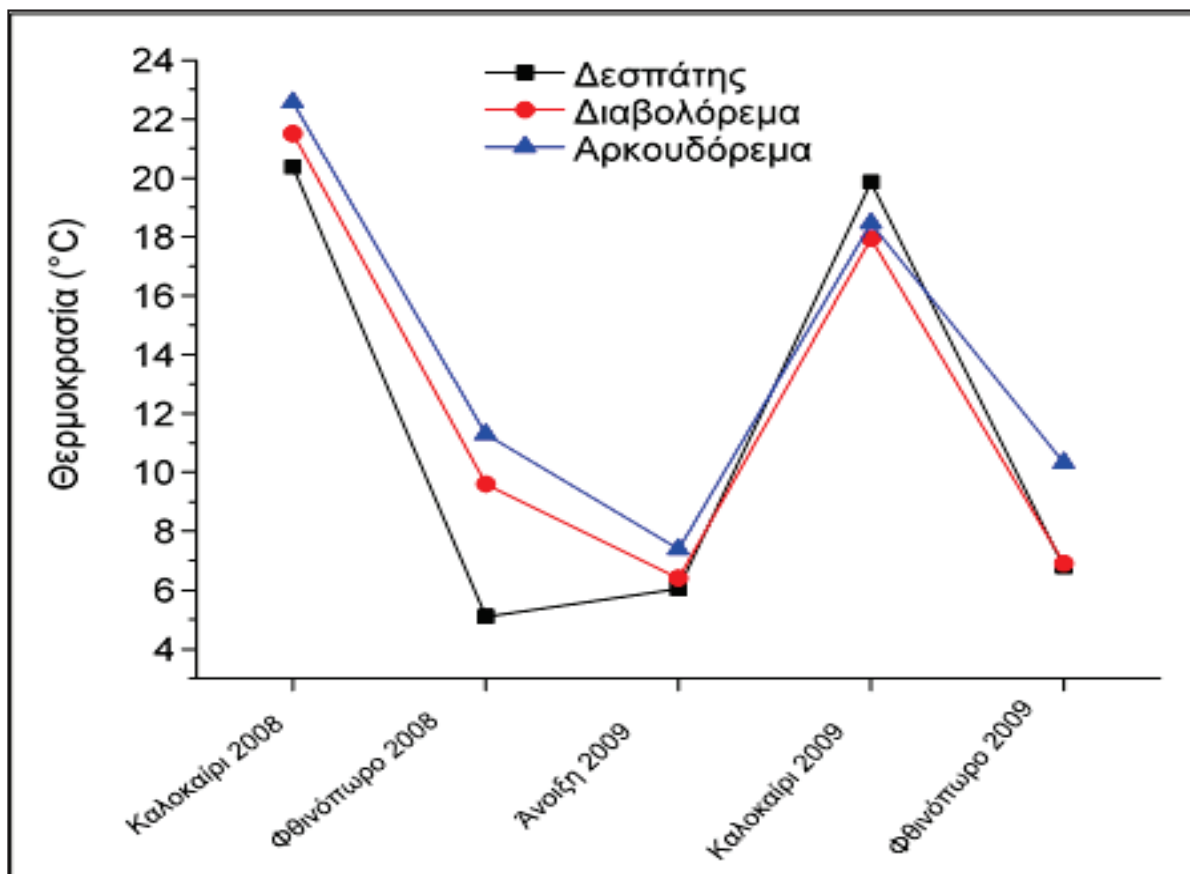
**Figure 3.1.** Spatial and seasonal variation in temperature over the entire length of River Nestos. The x axis represents the distance in kilometers from the border up to the Delta region.

Αισθητή μείωση της θερμοκρασίας καταγράφεται το καλοκαίρι του 2008 και του 2009 στο σημείο εξόδου των υδάτων από τον ταμιευτήρα της Πλατανόβρυσης (Παρανέστι), σε σύγκριση με το ανάντη των φραγμαλισμένων τμήμα. Σ' αυτό το σημείο, η θερμοκρασία μετρήθηκε στους 14,2 και 16,1 °C (καλοκαίρι 2008 και 2009), σημειώνοντας πτώση κατά 9 °C και στις δύο περιπτώσεις (Εικόνα 3.1). Στις δειγματοληψίες του φθινοπώρου του 2008 και 2009 η κατάσταση παρουσιάζεται διαφοροποιημένη. Στο ανάντη τμήμα η θερμοκρασία μετρήθηκε στους 7,8 και 7,2 °C αντιστοίχως (Εικόνα 3.1).

Στο σημείο εξόδου από τη Πλατανόβρυση (σταθμός Παρανεστίου), η θερμοκρασία αυξάνεται και μετρήθηκε στους 16,4 και 12,6 °C για το φθινόπωρο του 2006 και του 2007 αντιστοίχως (Εικόνα 3.1). Την άνοιξη του 2009 οι συνθήκες ομοιάζουν περισσότερο με την εποχή του φθινοπώρου. Κατά την έξοδο του Νέστου από τον ταμιευτήρα της Πλατανόβρυσης, η θερμοκρασία παρουσιάστηκε ελάχιστα αυξημένη σε 8,2 °C (σταθμός Παρανεστίου), συγκρινόμενη μ' αυτήν του σταθμού Οικισμός Δέλτα (7,6 °C). Καθώς κατευθυνόμαστε προς τη περιοχή των εκβολών, η θερμοκρασία σταδιακά αυξάνεται σε 9,7 °C (Σταυρούπολη), 13,9 °C (Τοξότες) και σημειώνει πτώση κοντά στις εκβολές (Εικόνα 3.1).

Σ' ό, τι αφορά τα τρία κύρια υδατορέματα (Δεσπάτης, Διαβολόρεμα, και Αρκουδόρεμα), η εποχιακή μεταβολή της θερμοκρασίας παρουσιάζεται στην Εικ. 3.2). Χαμηλές θερμοκρασίες καταγράφηκαν το φθινόπωρο του 2008 και του 2009, καθώς και την άνοιξη του 2009 και στους τρεις παραποτάμους. Ψυχρότερο νερό, όμως, μετρήθηκε στον Δεσπάτη, με θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 5,1 °C (φθινόπωρο 2008) και 6,78 °C (φθινόπωρο 2008). Το καλοκαίρι του 2008 και του 2009, η θερμοκρασία των υδάτων αυξάνεται και κυμαίνεται μεταξύ 19,8-20,4 °C για τον Δεσπάτη, 17,9-21,5 °C για το Διαβολόρεμα και 18,4-22,5 °C για το Αρκουδόρεμα.





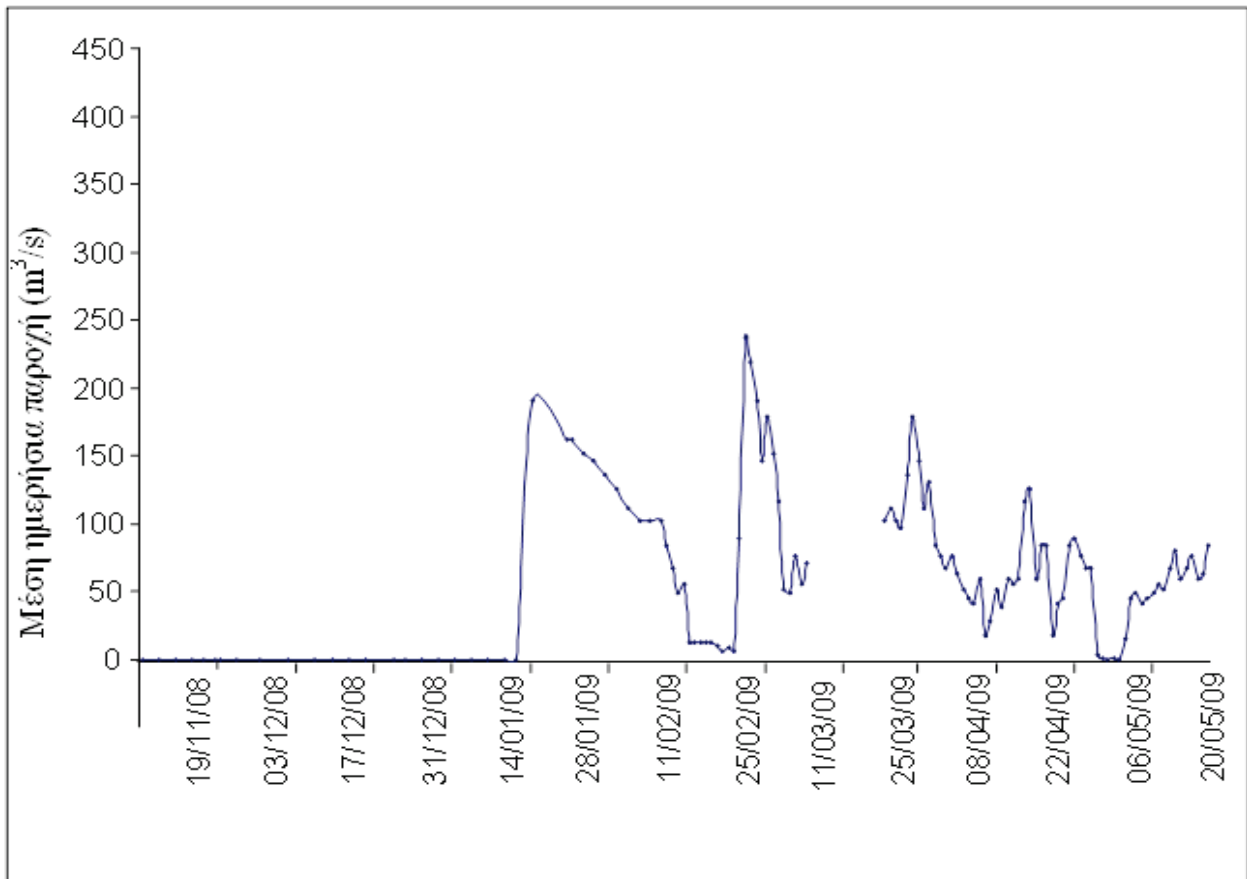
**Εικόνα 3.2.** Κατανομή της θερμοκρασίας στα τρία κύρια υδατορέματα για τις δειγματοληψίες του καλοκαιριού 2008, φθινοπώρου 2008, άνοιξης 2009, καλοκαιριού 2009 και φθινοπώρου 2009.

**Figure 3.2.** Temperature distribution in the three main tributaries for sampling of summer 2008, autumn 2008, spring 2009, summer 2009 and autumn 2009.

### 3.2. Παροχή

Η παροχή του Νέστου μετρήθηκε με πόντιση του ρευματογράφου σε κάθε σημείο δειγματοληψίας τόσο στα κατάντη όσο και στα ανάντη των φραγμάτων. Παρατηρήθηκαν έντονες αυξομειώσεις της παροχής στη περιοχή κατάντη των φραγμάτων (Εικόνα 3.3).

Πιο συγκεκριμένα, η υψηλότερη παροχή που καταγράφηκε στον ποταμό Νέστο αφορούσε τον μήνα Φεβρουάριο 2009 ( $245 \text{ m}^3/\text{s}$ ), ενώ υψηλές ταχύτητες καταγράφηκαν και κατά τον Ιανουάριο 2009 ( $197 \text{ m}^3/\text{s}$ ) και τον Μάρτιο 2009 ( $172,5 \text{ m}^3/\text{s}$ ).



**Εικόνα 3.3.** Η μέση ημερήσια διακύμανση της παροχής κατάντη του φράγματος της Πλατανόβρυσης από τον Νοέμβριο 2008 έως τον Μάιο 2009.

**Figure 3.3.** The mean daily flow fluctuation downstream the Platanovrisi dam during the period from November 2008 to May 2009.

## **Κεφάλαιο 4**

### **Μορφο – ανατομική ανάλυση ειδών**



## 4. Μορφο – ανατομική ανάλυση ειδών

### 4.1.Εισαγωγή

Η εξελικτική και ταξινομική ιχθυολογία χρησιμοποιούν ως κύρια πηγή πληροφοριών τη μορφολογία των ιχθύων, δηλαδή του σχήματος του σώματός τους (Bookstein 1982, Strauss & Fuiman 1985, Strauss & Bond 1990, Rohlf & Bookstein 1990, Turan 1999). Η συστηματική ιχθυολογία ασχολείται με την ποσοτικοποίηση των διαφορών στο σχήμα των ψαριών χρησιμοποιώντας δεδομένα που προέρχονται από την μέτρηση αποστάσεων πάνω στο σώμα το ψαριών. Για παράδειγμα, το ολικό μήκος, το μεσουραίο μήκος, το ύψος του σώματος και της κεφαλής, τη διάμετρο του ματιού και τα μήκη των πτερυγίων (Strauss & Bookstein 1982, Strauss & Fuiman 1985, Strauss & Bond 1990). Με τη χρήση μορφομετρικών τεχνικών επιτυγχάνεται η ποσοτικοποίηση της βιολογικής πληροφορίας. Από αυτήν εξάγονται πληροφορίες σχετικά με την ποικιλομορφία των ειδών και επομένως, τον διαχωρισμό ως τέτοια (Bookstein 1982, Strauss & Bond 1990). Η μορφομετρική μελέτη των ιχθυοπληθυσμών μας παρέχει επιπλέον πληροφορίες για την επίδραση διαφορετικών περιβαλλοντικών παραμέτρων, αλλά και πληροφορίες για την εξελικτική πορεία απομονωμένων πληθυσμών (Strauss & Bookstein 1982, Strauss & Fuiman 1985, Strauss & Bond 1990). Παρά την πρόοδο της τεχνολογίας, η οποία προσφέρει πολύτιμα εργαλεία στη μελέτη της εξέλιξης και ταξινόμησης των ειδών, όπως είναι η γενετική και η μοριακή βιολογία, η μορφομετρία συνεχίζει να αποτελεί ένα από τα κυριότερα εργαλεία που χρησιμοποιούν οι συστηματικοί και οι ταξινομιστές μέχρι και σήμερα (Strauss & Bookstein 1982 και Strauss & Bond 1990).

Όμως, εκτός από τη μορφολογία, η οποία ουσιαστικά περιγράφει το σχήμα και το μέγεθος του σώματος, στις μελέτες ταξινόμησης χρησιμοποιούνται και μεριστικοί χαρακτήρες, όπως ο αριθμός των ακτινών των πτερυγίων και ο αριθμός των λεπιών της πλευρικής γραμμής (Strauss & Bond 1990). Τα μεριστικά χαρακτηριστικά είναι το σύνολο το μετρήσιμων χαρακτηριστικών των ψαριών (ακτίνες των διαφόρων πτερυγίων, τα λέπια, οι βραγχιακές άκανθες). Κάθε μεριστικό χαρακτηριστικό (μετρήσιμο γνώρισμα) χρησιμοποιείται σήμερα για την περιγραφή των ειδών, αλλά και για την ταυτοποίηση των αγνώστων. Ωστόσο, θα πρέπει να αναφερθεί ότι η διαφοροποίηση των μεριστικών χαρακτήρων δεν αποτελεί πάντοτε αποτέλεσμα της έκφρασης της γενετικής πληροφορίας, καθώς μπορεί να επηρεαστεί από εξωγενείς/περιβαλλοντικούς παράγοντες, κυρίως κατά

την εμβρυική ή λαρβική περίοδο (Ricker 1979, Lindsey 1988, Langeland & Nost 1995, Turan *et al.* 2006, Murta *et al.* 2008). Τέτοιοι παράγοντες είναι η θερμοκρασία (Hubbs 1922, Taning 1952, Lindsey 1958, 1962, Beacham 1990), η ταχύτητα του νερού (McLaughlin & Grant 1994, Simonovic *et al.* 1999, Lauder *et al.* 2002) και το υπόστρωμα του ενδιαιτήματος (Kerfoot & Schaefer 2006). Επομένως, η όποια διαφοροποίηση εντοπίζεται στα μορφολογικά και μεριστικά χαρακτηριστικά των ψαριών δεν πρέπει να αποδίδεται αποκλειστικά και μόνο στη γενετική ποικιλομορφία, αλλά και στη διαφορετικότητα των περιβαλλοντικών συνθηκών που επικρατούν σε κάθε ενδιαίτημα ή σε συνδυασμό και των δύο κατηγοριών επιδράσεων (Cadrin 2000). Οι Langerhans *et al.* (2003), Ferrito *et al.* (2007) και Yavno *et al.* (2012) έδειξαν ότι οι πληθυσμοί ορισμένων ειδών παρουσιάζουν διαφορετικά μορφολογικά χαρακτηριστικά, όταν διαβιούν σε διάφορα περιβάλλοντα (όπως για παράδειγμα σε παράκτιες ζώνες, σε ενδιαιτήματα στην ανοιχτή θάλασσα), λόγω της διαφοροποίησης των βιοτικών και αβιοτικών χαρακτηριστικών του ενδιαιτήματος (Goulding *et al.* 1988). Έτσι, περιβαλλοντικές παράμετροι όπως η θερμοκρασία, η αλατότητα, το διαλυμένο οξυγόνο, η ροή του νερού και η ποσότητα και ο τύπος της τροφής (Lindsey 1988, Beacham 1990, Robinson & Wilson 1995, Imre *et al.* 2002, Turan *et al.* 2006) είναι υπεύθυνες για τη δημιουργία αυτών των διαφοροποιήσεων στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ιχθυοπληθυσμών. Επομένως, όπως επισημαίνουν και οι Turan (1999) και Yavno *et al.* (2012), οι διαφορές που εντοπίζονται πιθανόν να είναι το αποτέλεσμα της προσαρμοστικής φαινοτυπικής πλαστικότητας των ιχθύων, της προσαρμογής τους δηλαδή σε ένα περιβάλλον στο οποίο επικρατούν συνθήκες διαφορετικές από αυτές στις οποίες διαβιούν συνήθως. Γίνεται, λοιπόν, κατανοητό ότι η μελέτη της μορφολογίας είναι ένα εργαλείο σύγκρισης των πληθυσμών ενός είδους που διαβιούν σε διαφορετικά ενδιαιτήματα και κατά συνέπεια, υπόκεινται σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες (Strauss & Bond 1990, Turan 1999, Brinsmead & Fox 2002, Ferrito *et al.* 2007).

Σήμερα, η μελέτη των μορφολογικών και μεριστικών χαρακτηριστικών πραγματοποιείται με τη χρήση δύο μεθοδολογιών, της Κλασικής Μορφομετρίας και της Γεωμετρικής Μορφομετρίας. Η κλασική μορφομετρία στηρίζεται κυρίως στη μέτρηση γραμμικών αποστάσεων μεταξύ σημείων και τη χρήση πολυμεταβλητών στατιστικών αναλύσεων για την ανάλυση των δεδομένων. Αρχικά, όλες οι μελέτες που ασχολούνταν με την εφαρμογή της κλασικής μορφομετρίας στηρίζονταν σε διμεταβλητές αναλύσεις (bivariate analyses) γραμμικών αποστάσεων, οι οποίες λαμβάνονταν κυρίως κατά το

διαμήκη άξονα του σώματος (Strauss & Fuiman 1985). Οι αναλύσεις αυτές παρείχαν πληροφορίες σχετικά με την αλλομετρία σε μία μόνο κατεύθυνση. Σύμφωνα, όμως, με τους Strauss & Bookstein (1982), η πληροφορία αυτή εμφανίζει αρκετές ελλείψεις και περιορισμούς, καθώς οι περισσότεροι χαρακτήρες τείνουν να ευθυγραμμίζονται με ένα μόνο άξονα, όπως είναι ο διαμήκης. Έτσι, μια μεγάλη ποσότητα πληροφοριών αποτελούν προϊόν επανάληψης, ενώ άλλα δεδομένα δεν λαμβάνονται υπόψη (Strauss & Bookstein 1982). Επίσης, μερικά μορφολογικά ορόσημα, όπως η άκρη του ρύγχους και το οπίσθιο άκρο της σπονδυλικής στήλης, χρησιμοποιούνται κατ' επανάληψη και οποιαδήποτε αβεβαιότητα στην εύρεση των οροσίων αυτών θα οδηγήσει σε λανθασμένη εκτίμηση κάποιων μορφομετρικών τους χαρακτηριστικών (Strauss & Bookstein 1982).

Για την εξάλειψη αυτών των προβλημάτων οι Strauss & Bookstein (1982) και Bookstein (1990) εισήγαγαν την έννοια των δικτύων αποστάσεων (Truss Networks), το οποίο αποτελεί μία γεωμετρική μέθοδο ανάλυσης δύο διαστάσεων των μορφομετρικών χαρακτηριστικών. Σύμφωνα με τους παραπάνω συγγραφείς, τα δίκτυα αποστάσεων βασίζονται στην αρχή της δημιουργίας πολυγώνων. Τα πολύγωνα αυτά καλύπτουν συστηματικά το σχήμα το ψαριού, ενώ παράλληλα παρέχουν πληροφορίες για τη θέση των ομόλογων σημείων (Strauss & Bookstein 1982, Strauss & Fuiman 1985, Strauss 1987, Bookstein 1990). Οι Strauss & Bookstein (1982) αναφέρουν ότι η αναδημιουργία του σχήματος των ψαριών χρησιμοποιώντας τις μετρήσεις των αποστάσεων μεταξύ των ομόλογων σημείων μας παρέχει τις καρτεσιανές συντεταγμένες αυτών, δηλαδή τη θέση τους στις δύο διαστάσεις, αντισταθμίζοντας κατ' αυτόν τον τρόπο τα σφάλματα στις μετρήσεις.

Στην παρούσα μελέτη, με τη χρήση της Κλασικής Μορφομετρίας και των δικτύων αποστάσεων (truss networks), πραγματοποιήθηκε σύγκριση μεταξύ του ανάντη και κατάντη πληθυσμού των ειδών *S. orpheus* και *B. strumicae*, *A. strymonicus* και *C. strumicae*. Ειδικότερα, για λόγους σύγκρισης επί των ειδών *S. orpheus* και *B. strumicae*, πραγματοποιήθηκε μορφομετρική σύγκριση με δείγματα που προέρχονταν από τους αντίστοιχους πληθυσμούς των ποταμών Στρυμόνα και Έβρου. Τέλος, μορφομετρική ανάλυση πραγματοποιήθηκε και σε δείγματα του είδους *S. macedonicus*, που προέρχονταν από απομονωμένους πληθυσμούς και εντοπίστηκαν σε παραποτάμους του Νέστου. Καθώς το είδος αυτό είναι προστατευόμενο, όλα τα δείγματα απελευθερώθηκαν ζωντανά στο ποτάμι από όπου συλλέχθηκαν. Πρωτίστως, φωτογραφήθηκαν για τη μετέπειτα καταγραφή των μορφομετρικών τους χαρακτηριστικών.

## 4.2. Υλικά και Μεθόδοι

### 4.2.1. Συλλογή δειγμάτων

Για τη μελέτη της μορφολογικής ποικιλομορφίας των υπό μελέτη ειδών, 80 δείγματα από κάθε είδος συλλέχθηκαν από σταθμούς ανάντη και κατάντη των φραγμάτων (Πίνακας 4.1).

**Πίνακας 4.1.** Αριθμός δειγμάτων ανά είδος και φύλο ανά ποταμό.

**Table 4.1.** Number of specimen per species and sex per riverine system.

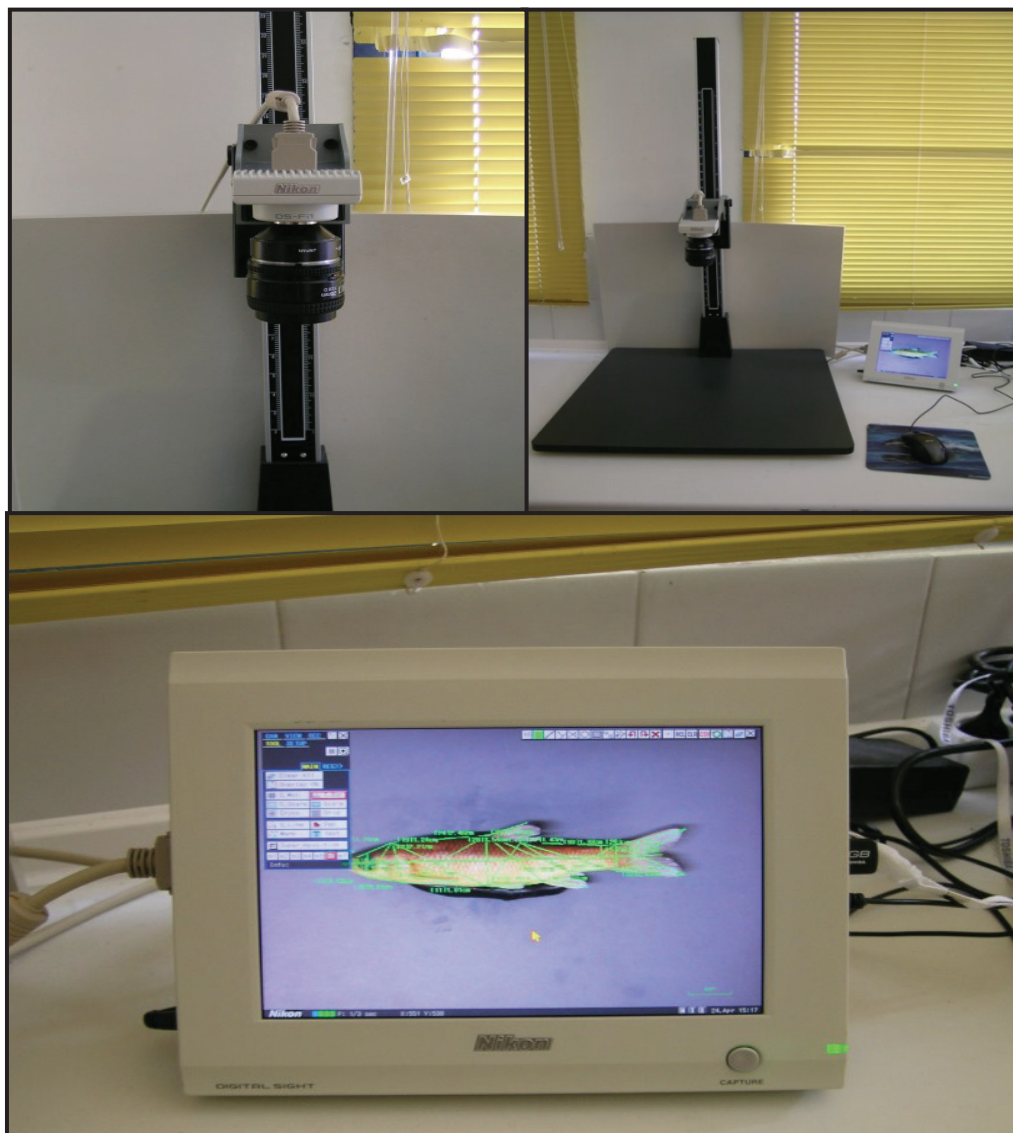
	<i>Squalius orpheus</i>	<i>Barbus strumicae</i>	<i>Alburnoides strymonicus</i>	<i>Cobitis strumicae</i>
Περιοχή	Ανάντη			
Αρσενικά	11	8	18	0
Θηλυκά	25	8	5	6
	Κατάντη			
Αρσενικά	5	3	6	12
Θηλυκά	11	0	12	0
	Έβρος			
Αρσενικά	13	16		
Θηλυκά	7	13		
	Στρυμόνας			
Αρσενικά	10	11		
Θηλυκά	10	8		

Επίσης, συλλέχθηκαν δείγματα *S. orpheus* και *B. strumicae* από τους ποταμούς Στρυμόνα (20 δείγματα από το κάθε είδος) και Έβρο (20 και 29 δείγματα αντίστοιχα). Κάθε ομάδα δειγμάτων, δηλαδή 1) ομάδα *S. orpheus* Στρυμόνα, 2) ομάδα *S. orpheus* Έβρος, 3) ομάδα *S. orpheus* Νέστος ανάντη, 4) ομάδα *S. orpheus* Νέστος κατάντη) τοποθετήθηκαν σε ξεχωριστό δοχείο και συντηρήθηκαν με διάλυμα 10% (w/v) φορμαλδεΐδης. Με σκοπό να ελαχιστοποιηθούν οι όποιες αποκλίσεις κατά τη μέτρηση των μορφομετρικών χαρακτηριστικών, λόγω συρρίκνωσης των δειγμάτων εξαιτίας του συντηρητικού, διατηρήθηκαν όλα για ίσο χρονικό διάστημα στο διάλυμα φορμαλδεΐδης, πριν από τις μετρήσεις των χαρακτηριστικών τους. Το φύλο του κάθε ατόμου προσδιορίστηκε μακροσκοπικά.



#### 4.2.2. Καταγραφή μορφομετρικών δεδομένων

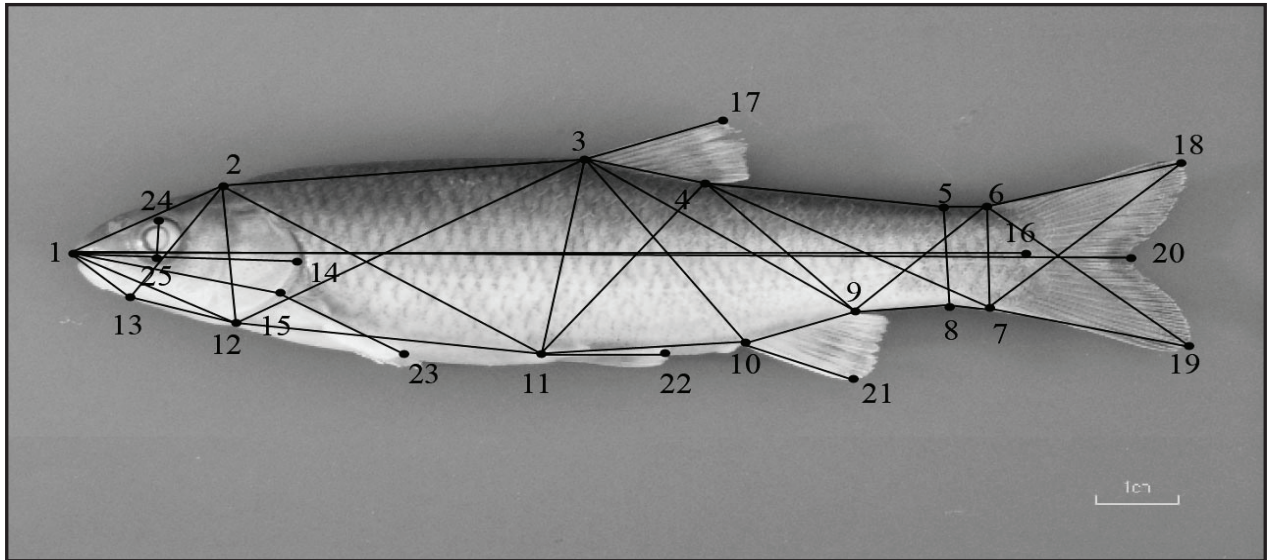
Η μέτρηση των μορφομετρικών χαρακτηριστικών χαρακτήρων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση συσκευής φωτογράφισης NIKON Digital Sight DS – L2, με κάμερα τύπου NIKON DS – Fi1 και προσαρμοσμένο φακό NIKKOR AF 1:2,8D (Εικόνα 4.1).



**Εικόνα 4.1.** Το σύστημα φωτογράφισης NIKON Digital Sight DS – L2, με κάμερα τύπου NIKON DS – Fi1 και προσαρμοσμένο φακό NIKKOR AF 1:2,8D που χρησιμοποιήθηκε στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης.

**Figure 4.1.** The photographic system NIKON Digital Sight DS – L2, fitted with a camera NIKON DS – Fi1 and lens NIKKOR AF 1:2,8 D, used during the present study.

Έτσι, επιτράπη ακρίβεια στις μετρήσεις, της τάξεως του 0,01 mm. Συνολικά, μετρήθηκαν οι αποστάσεις μεταξύ 25 ομόλογων σημείων/ορόσημων (landmarks) στο σώμα του κάθε ψαριού, αποδίδοντας συνολικά 39 αποστάσεις/μετρήσεις μορφομετρικών χαρακτήρων (D) με βάση το τροποποιημένο δίκτυο αποστάσεων (Truss Network) των Strauss & Bookstein (1982) (Εικόνα 4.2 και Πίνακας 4.2).



**Εικόνα 4.2.** Οι 39 μορφομετρικές αποστάσεις που χρησιμοποιήθηκαν κατά την μορφομετρική ανάλυση στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης.

**Figure 4.2.** The 39 morphometric distances used in the morphometric analysis during the present study.

**Πίνακας 4.2.** Τα 39 μορφομετρικά χαρακτηριστικά / αποστάσεις που μετρήθηκαν στα είδη στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης (σύμφωνα με τους Holcik *et al.* 1989).

**Table 4.2.** The 39 morphometric characteristics /distances measured in the present study (according to Holcik *et al.* 1989).

Κωδικός	Απόσταση	Περιγραφή
D1	1 – 2	Μήκος της κεφαλής
D2	2 – 3	Προραχιαία απόσταση
D3	3 – 4	Μήκος βάσης ραχιαίου πτερυγίου
D4	4 – 5	Απόσταση από το τέλος του ραχιαίου πτερυγίου στο ανώτερο σημείο του ελάχιστου ύψους σώματος
D5	5 – 6	Απόσταση από το άνω σημείο του ελάχιστου ύψους σώματος έως άνω βάση ουραίου
D6	6 – 7	Απόσταση Από από την κάτω βάση του ουραίου έως το κάτω σημείο του ελάχιστου ύψους
D7	7 – 8	Απόσταση από την κάτω βάση του ουραίου έως το κάτω σημείο του ελάχιστου ύψους.
D8	8 – 9	Απόσταση από το τέλος του εδρικού πτερυγίου έως το κάτω σημείο του ελάχιστο ύψους
D9	9 – 10	Μήκος βάσης εδρικού πτερυγίου
D10	10 – 11	Βάση κοιλιακού πτερυγίου έως τη βάση του εδρικού πτερυγίου
D11	11 – 12	Απόσταση από τη βάση του κοιλιακού πτερυγίου έως κάτω βραγχιακό επικάλυμμα
D12	12 – 13	Μήκος φάρυγγα
D13	13 – 1	Μήκος κάτω γνάθου
D14	1 – 12	Μήκος άνω γνάθου
D15	1 – 14	Απόσταση από το ρύγχος έως το βραγχιακό επικάλυμμα
D16	1 – 15	Απόσταση από το ρύγχος έως αρχή του θωρακικού πτερυγίου
D17	1 – 16	Σταθερό μήκος
D18	2 – 11	Απόσταση από το τέλος του κρανίου έως τη βάση του κοιλιακού πτερυγίου
D19	2 – 12	Ύψος κεφαλιού
D20	2 – 13	Απόσταση από το οπίσθιο άκρο του κρανίου έως το τέλος της κάτω γνάθου
D21	3 – 9	Απόσταση από την αρχή του ραχιαίου πτερυγίου έως το τέλος του εδρικού πτερυγίου.
D22	3 – 10	Απόσταση από την αρχή του ραχιαίου έως την αρχή του εδρικού πτερυγίου
D23	3 – 11	Μέγιστο ύψος σώματος
D24	3 – 12	Απόσταση από την αρχή του ραχιαίου πτερυγίου έως το τέλος του φάρυγγα
D25	3 – 17	Ύψος ραχιαίου πτερυγίου
D26	4 – 7	Απόσταση από το τέλος του ραχιαίου πτερυγίου έως την κάτω αρχή του ουραίου πτερυγίου
D27	4 – 9	Απόσταση από τέλος του ραχιαίου πτερυγίου έως το τέλος του εδρικού πτερυγίου
D28	4 – 11	Απόσταση από το τέλος του ραχιαίου πτερυγίου έως την αρχή του κοιλιακού πτερυγίου
D29	5 – 8	Ελάχιστο ύψος σώματος
D30	6 – 9	Απόσταση από την άνω αρχή του ουραίου πτερυγίου έως το τέλος του εδρικού πτερυγίου
D31	6 – 18	Μήκος άνω ουραίου λοβού
D32	6 – 19	Απόσταση από το άνω βάση του ουραίου πτερυγίου έως την άκρη του κάτω ουραίου λοβού
D33	7 – 18	Απόσταση από την κάτω βάση του ουραίου πτερυγίου έως την άκρη του άνω ουραίου λοβού
D34	7 – 19	Μήκος κάτω ουραίου λοβού
D35	1 – 20	Μεσουραίο μήκος
D36	10 – 21	Ύψος εδρικού πτερυγίου
D37	11 – 22	Μήκος κοιλιακού πτερυγίου
D38	15 – 23	Μήκος θωρακικού πτερυγίου
D39	24 – 25	Διάμετρος ματιού

Επιπλέον, πέντε μεριστικοί χαρακτήρες, όπως τα λέπια της πλευρικής γραμμής και ο αριθμός των ακτινών του ραχιαίου, του ουραίου, του εδρικού και των δύο κοιλιακών πτερυγίων, καταγράφηκαν για τρία είδη (*S orpheus*, *B. strumicae* και *A. strymonicus*) (βλέπε Εικόνα 2.8). Για το *C. strumicae*, καταγράφηκε ο αριθμός των ακτινών των ραχιαίου, ουραίου, εδρικού και των δύο κοιλιακών πτερυγίων, ενώ αντί της καταγραφής των λεπιών της πλευρικής γραμμής, καταγράφηκαν τα μαύρα στίγματα της διαμήκους ζώνης Gambetta (τρεις ζώνες).

Στην περίπτωση της Πέστροφας του Νέστου (*Salmo macedonicus*), προκειμένου να πραγματοποιηθούν οι μορφομετρικές μετρήσεις, αφού συλλαμβάνονταν τα ψάρια με τη χρήση ηλεκτραλιείας, αναισθητοποιούνταν σε διάλυμα ευγενόλης και φωτογραφίζονταν, καθένα ξεχωριστά, πάνω σε σταθερή επιφάνεια στην οποία είχε τοποθετηθεί πλαστικοποιημένο τετραγωνισμένο χαρτί (Εικόνα 4.3).



**Εικόνα 4.3.** Ατόμο Άγριας Πέστροφας (*S. macedonicus*) τοποθετημένο για φωτογράφιση

**Figure 4.3.** Wild trout (*S. macedonicus*) mounted for photography

Σημειώνεται ότι η ευγενόλη αποτελεί τη δραστική ουσία του γαρυφαλέλαιου, το οποίο αποστάζεται από τα άνθη, τους μίσχους των ανθών και τα φύλλα των δέντρων *Eugenia aromatica*. Έχει ένα ευρύτατο πεδίο εφαρμογών. Αυτό κυμαίνεται από απλή αρωματική ουσία στη μαγειρική έως τοπικό αναισθητικό στην οδοντιατρική (Anderson *et al.* 1997) και καθότι μη τοξικό, θεωρείται πρώτης τάξεως αναισθητικό στην ιχθυολογία (Anderson *et al.* 1997). Σύμφωνα με τους Hikasa *et al.* (1986), η προτεινόμενη

συγκέντρωση ευγενόλης για την αναισθητοποίηση των ψαριών είναι περίπου 40 mg/l, συγκέντρωση που αντιστοιχεί σε 1 ml διαλύματος ευγενόλης 10 % σε 5 l νερό.

Οι διαστάσεις των τετραγώνων ήταν σταθερές και γνωστές ώστε να είναι εφικτή η βαθμονόμηση του συστήματος NIKON Digital Sight DS – L2. Η φωτογραφική μηχανή που χρησιμοποιήθηκε ήταν τοποθετημένη σε τρίποδο, προκειμένου να παραμένει σε σταθερή απόσταση από την επιφάνεια φωτογράφισης και κάθετη προς αυτήν. Λόγω της συγκεκριμένης μεθοδολογίας, δεν ήταν δυνατή η καταγραφή των μεριστικών χαρακτηριστικών.

Συνολικά, μελετήθηκαν 62 άτομα, τα οποία προέρχονταν από τέσσερις παραποτάμους του ποταμού Νέστου. Από το Αρκουδόρεμα συλλέχθηκαν 15 άτομα πέστροφας, από το Διαβολόρεμα συλλέχθηκαν εννέα άτομα, από το Φαρασινό φωτογραφήθηκαν 11 άτομα και από το Βαθύρεμα ή Μουσδάρεμα συγκεντρώθηκαν 27 άτομα.

#### **4.2.3. Ανάλυση μορφομετρικών δεδομένων**

Κατά το πρώτο στάδιο της ανάλυσης των μορφομετρικών δεδομένων, πραγματοποιήθηκε έλεγχος του συνόλου των δειγμάτων για την ύπαρξη πιθανών διαφορών οι οποίες μπορεί να οφείλονται σε φυλετικό διμορφισμό. Λόγω της μη κανονικής κατανομής των δεδομένων, ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε με την εφαρμογή της μη παραμετρικής δοκιμασία ANOVA. Η δοκιμασία ANOVA δεν έδειξε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των δύο φύλων και για αυτόν τον λόγο η περαιτέρω ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε για το σύνολο των δειγμάτων ανεξαρτήτως του φύλου.

Στο επόμενο στάδιο της ανάλυσης, πραγματοποιήθηκε η τυποποίηση των δεδομένων και η αφαίρεση της επίδρασης του μεγέθους από τα μορφομετρικά δεδομένα. Σύμφωνα με τον Reist (1985), η ποικιλομορφία που παρατηρείται σε πολλούς πληθυσμούς είναι αποτέλεσμα του μεγέθους των ατόμων και της αλλομετρικής τους αύξησης. Το γεγονός αυτό ενέχει τον κίνδυνο η όποια διαφοροποίηση εντοπιστεί κατά τη στατιστική ανάλυση να οφείλεται στην επίδραση του μεγέθους. Επομένως, όλα τα δεδομένα των μορφομετρικών μετρήσεων τυποποιήθηκαν αφαιρώντας την επίδραση του μήκους από την ανάλυση (Reist 1985, Beacham 1990) ώστε οι όποιες μορφολογικές διαφορές εντοπιστούν κατά την στατιστική ανάλυση να οφείλονται αποκλειστικά στο σχήμα του σώματος και όχι

στο μέγεθος των ιχθύων (AnvariFar *et al.* 2011). Για την τυποποίηση και αφαίρεση της επίδρασης του μεγέθους χρησιμοποιήθηκε η μεθοδολογία που προτείνεται από τον Reist (1985). Αρχικά, τα δεδομένα λογαριθμίστηκαν και στη συνέχεια, τυποποιήθηκαν με τη χρήση της σχέσης:

$$D_{adj} = \log D - b * (\log SL - \log SL_{mean})$$

όπου  $D_{adj}$  είναι η τυποποιημένη τιμή,  $D$  η αρχική τιμή,  $SL$  το σταθερό μήκος,  $SL_{mean}$  η μέση τιμή του σταθερού μήκους όλων των δειγμάτων. Το  $b$  είναι η κλίση της ευθείας παλινδρόμησης που προκύπτει από τη γραμμική παλινδρόμηση των λογαριθμισμένων αρχικών τιμών ( $\log D$ ) ως προς το λογάριθμο των σταθερών μηκών ( $\log SL$ ) και δίνεται από τον τύπο  $y = a + b * x$  (Reist 1985). Μετά την τυποποίηση των δεδομένων, οι περαιτέρω αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν για το σύνολο των μεταβλητών εξαιρουμένων του ολικού και του σταθερού μήκους.

Ακολούθησε έλεγχος των δεδομένων για ύπαρξη ενδοπληθυσμιακής διακύμανσης με τη χρήση του συντελεστή διακύμανσης (Coefficient of Variation – CV), ο οποίος υπολογίζεται ως ο λόγος της τυπικής απόκλισης διαιρούμενος με τον μέσο όρο των τιμών κάθε μεταβλητής.

Λόγω της μη κανονικής κατανομής των δεδομένων, η σύγκριση των τυποποιημένων μεταβλητών για τον εντοπισμό εκείνων που διαφοροποιούσαν τους δύο πληθυσμούς πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της μη παραμετρικής ανάλυσης ANOVA. Στη συνέχεια, με τη χρήση της διαφοροποιούσας ανάλυσης (Discriminant Function Analysis, DFA) βρέθηκαν οι τάσεις αύξησης ή μείωσης των τιμών για κάθε μεταβλητή που διαχώριζε τους πληθυσμούς.

Επίσης, εξετάστηκε και το υδροδυναμικό προφίλ των ψαριών χρησιμοποιώντας το Δείκτη Λεπτότητας (Fineness Ratio – FR) (Scarnecchia 1988, Poff & Allan 1995, Sagnes & Statzner 2009). Ο Δείκτης Λεπτότητας συμβάλλει στη συσχέτιση του σχήματος του σώματος των ψαριών με τον βιότοπό τους. Ο δείκτης υπολογίζεται ως ο λόγος του συνολικού μήκους του σώματος προς το μέγιστο ύψος του σώματος, χωρίς να συμπεριλαμβάνονται και στις δύο μετρήσεις τα πτερύγια (Scarnecchia 1988). Η διακύμανση του δείκτη λεπτότητας προσδιορίστηκε με τη χρήση του συντελεστή διακύμανσης (Coefficient of Variation – CV), ο οποίος υπολογίζεται ως ο λόγος της τυπικής απόκλισης διαιρούμενος με τη μέση τιμή του δείκτη λεπτότητας. Το επίπεδο αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων της σύγκρισης του συντελεστή μεταβλητότητας μεταξύ των ανάντη και κατόντη πληθυσμών ελέγχθηκε με την δοκιμασία των πολλαπλών  $t$  – tests.

Όσον αφορά τα μεριστικά χαρακτηριστικά, εφαρμόστηκε η πολυπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (Multivariate analysis of variance – MANOVA) για την εύρεση στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των ανάντη και κατάντη πληθυσμών, καθώς και μεταξύ των φύλων. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι κάθε μεριστικό χαρακτηριστικό που καταγράφηκε θεωρήθηκε ως ξεχωριστή μεταβλητή και στο σύνολο αυτών εφαρμόστηκε η πολυπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης

Τέλος, για τη σύγκριση των πληθυσμών από τα τρία υδατικά συστήματα (Στρυμόνα, Νέστου, Έβρου) χρησιμοποιήθηκε η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Components Analysis, PCA), προκειμένου να αποκαλυφθούν οι μορφομετρικοί χαρακτήρες, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την ποικιλότητα μεταξύ των πληθυσμών (Thorpe 1988). Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν όλες οι μετασχηματισμένες τιμές εκτός του σταθερού και ολικού μήκους. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με χρήση του πακέτου στατιστικών αναλύσεων STATISTICA (Statsoft 2005).

### 4.3. Αποτελέσματα

Δείγματα κάθε είδους από κάθε τμήμα του ποταμού (ανάντη και κατάντη των φραγμάτων), αλλά και από γειτονικά ποτάμια οικοσυστήματα (ποταμοί Στρυμόνας και Έβρος) ελέγχθηκαν με τη χρήση της μη παραμετρικής ανάλυσης MANOVA για πιθανές διαφοροποιήσεις λόγω φυλετικού διμορφισμού. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα μορφομετρικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων. Συγκεκριμένα, για το *S. orpheus*, τα αποτελέσματα της ανάλυσης MANOVA ήταν Wilks'  $\lambda=0,211$ ,  $F(37, 42)=1,303$ ,  $p=0,121$ , για το *B. strumicae* Wilks'  $\lambda=0,403$ ,  $F(37, 42)=1,682$ ,  $p=0,052$ , για το *A. strymonicus* Wilks'  $\lambda=0,494$ ,  $F(37, 42)=1,162$ ,  $p=0,317$  και τέλος, για το *C. strumicae* Wilks'  $\lambda=0,481$ ,  $F(37, 42)=1,225$ ,  $p=0,261$ . Για αυτόν τον λόγο, τα δεδομένα κάθε φύλου για κάθε είδος και από κάθε περιοχή συνενώθηκαν σε ένα σύνολο, ούτως ώστε η ανάλυση να αφορά πλέον τη σύγκριση των δειγμάτων που συλλέχθηκαν από κάθε περιοχή, ανεξαρτήτως φύλου.

#### 4.3.1. *Squalius orpheus* Kottelat & Economidis, 2006

Όσον αφορά τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων που συλλέχθηκαν από σταθμούς ανάντη και κατάντη των φραγμάτων, η ανάλυση ANOVA έδειξε την

απουσία σημαντικών στατιστικά διαφορών μεταξύ των δύο πληθυσμών που εξετάστηκαν στον ποταμό Νέστο (Wilks'  $\lambda=0,465$ ,  $F(37, 42)=1,307$ ,  $p=0,199$ ). Επιπλέον, η ανάλυση MANOVA έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά τα μεριστικά χαρακτηριστικά μεταξύ των ανάντη και κατάντη πληθυσμών αλλά και μεταξύ των φύλων (Wilks'  $\lambda=0,959$ ,  $F(5, 74)=0,636$ ,  $p=0,673$ ). Ο Δείκτης Λεπτότητας (Fineness Ratio – FR) για το *S. orpheus* κυμάνθηκε από 3,98 έως 4,82, με τη μέση τιμή να διαμορφώνεται για την ανάντη ομάδα σε 4,37 ( $\pm 0,0272$  SE) και από 3,07 έως 5,04 και μέση τιμή για τη κατάντη ομάδα σε 4,35 ( $\pm 0,027$  SE). Η εφαρμογή πολλαπλών t – test για την σύγκριση των δεδομένων του δείκτη λεπτότητας δεν υπέδειξε την ύπαρξη σημαντικών διαφορών μεταξύ των δειγμάτων των ανάντη και κατάντη πληθυσμών ( $p = 0,66$ ). Όσον αφορά τη σύγκριση με τους αντίστοιχους πληθυσμούς του Στρυμόνα και του Έβρου, η ανάλυση MANOVA έδειξε ότι τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν τους τρεις πληθυσμούς (Έβρου, Νέστου και Στρυμόνα) επιμερίζονται σε δύο άξονες, οι οποίοι επεξηγούν το 49,467 % της συνολικής ποικιλότητας. Ο πρώτος άξονας επεξηγεί το 38,99% της μεταβλητότητας (Eigen value=8,669, Wilk's  $\lambda=0,0194$ ,  $p<0,0001$ ) και ο δεύτερος το 10,471 % της συνολικής μεταβλητότητας (Eigen value=2,098, Wilk's  $\lambda=0,1874$ ,  $p<0,0001$ ) (Πίνακας 4.3).

**Πίνακας 4.3.** Ιδιοτιμές των αξόνων της δοκιμασίας MANOVA, το ποσοστό μεταβλητότητας και τιμές Wilks'  $\lambda$  των μεταβλητών για τους τρεις πληθυσμούς του είδους *S. orpheus*.

**Table 4.3.** Eigenvalues of the MANOVA test, % of variance and Wilks'  $\lambda$  values of standardized variables for the three population of the species *S. orpheus*.

Άξονας	Ιδιοτιμή (Eigen value)	% Αθροιστική ποικιλότητα	Wilks' $\lambda$	$\chi^2$	df	<i>p</i>
1	8,668	38,996	0,0194	388,407	111	<0,0001
2	2,098	49,467	0,1874	164,929	72	<0,0001

Ωστόσο, η εφαρμογή της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών (PCA) έδειξε ότι μόνο ο πρώτος άξονας εξηγεί την διαφοροποίηση των πληθυσμών σε ποσοστό 80,7%. Στον Πίνακα 4.4, παρουσιάζονται οι ιδιοτιμές και το ποσοστό της μεταβλητότητας που εξηγεί η κάθε συνιστώσα, καθώς και η συνολική μεταβλητότητα των μετασχηματισμένων δεδομένων.



**Πίνακας 4.4.** Τιμές του συντελεστή συσχέτισης μεταξύ των πρώτων τεσσάρων κύριων συνιστωσών.

**Table 4.4.** Values of the correlation coefficients among the first four principal components.

	Κύριες συνιστώσες			
	1	2	3	4
Ιδιοτιμές	0,0793	0,00323	0,00269	0,00213
Ποικιλότητα (%)	80,7	3,3	2,7	2,2
Αθροιστική ποικιλότητα (%)	80,7	83,9	86,7	88,8

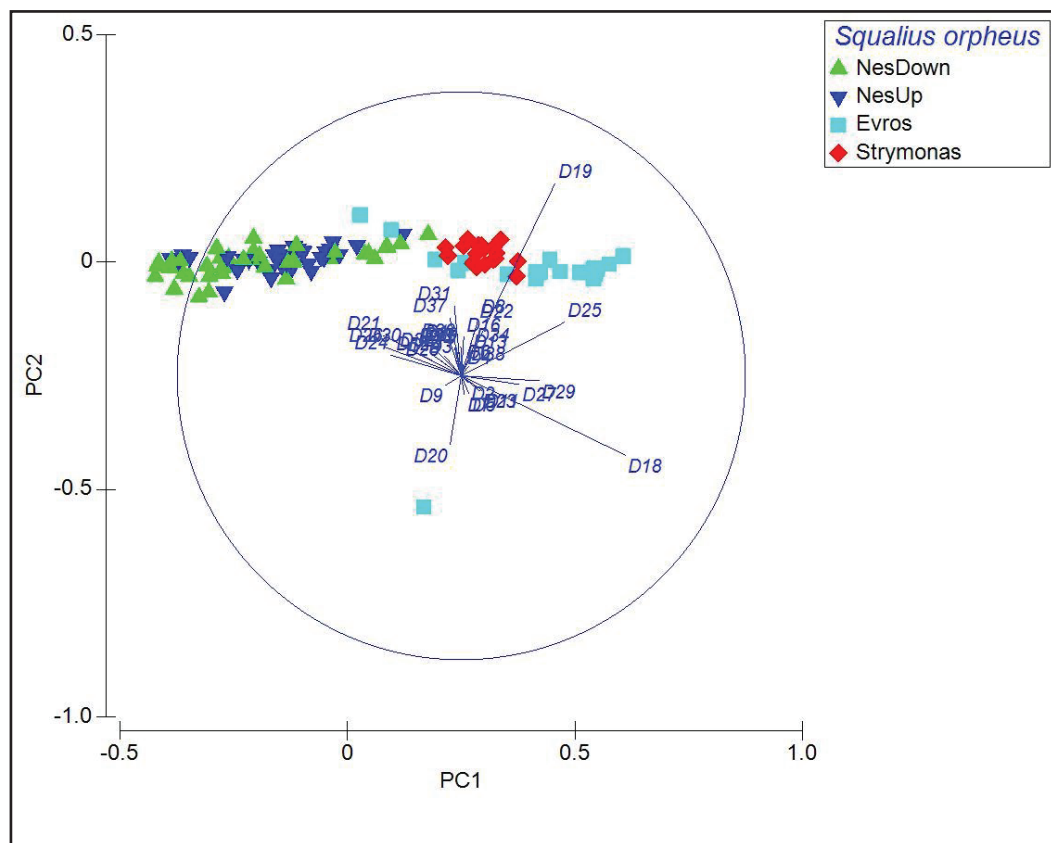
Στον Πίνακα 4.5, παρουσιάζονται οι μεταβλητές που ευθύνονται για τη διαφοροποίηση των πληθυσμών του είδους *S. orpheus*, οι οποίες είναι οι D18 (από το τέλος του κρανίου έως τη βάση του κοιλιακού περυνγίου), D19 (ύψος κεφαλιού), D24 (από την αρχή του ραχιαίου περυνγίου έως το τέλος του φάρυγγα), D25 (ύψος ραχιαίου περυνγίου), D27 (Απόσταση από τέλος του ραχιαίου περυνγίου έως το τέλος του εδρικού περυνγίου) και D29 (Απόσταση από άνω βάση έως κάτω βάση ουραίου περυνγίου).

**Πίνακας 4.5.** Τιμές των μορφολογικών χαρακτήρων για τους δύο πρώτους άξονες διαχωρισμού για τους τρεις πληθυσμούς του είδους *S. orpheus*. Η σημαντική συσχέτιση κάθε συνιστώσας με κάποιο μορφολογικό χαρακτηριστικό σημειώνεται έντονα γράμματα.

**Table 4.5.** Values of the morphometric characters for the DFA1 for the three population of *S. orpheus*. The largest absolute correlation between each variable and any discriminant function indicated with bold font.

Μεταβλητές	PC1	PC2	Μεταβλητές	PC1	PC2
D01	-0,037	0,112	D20	-0,275	-0,243
D02	0,025	-0,025	D21	0,056	0,142
D03	-0,021	0,06	D22	0,065	0,184
D04	0,011	0,021	D23	-0,248	-0,053
D05	0,027	-0,064	D24	0,364	0,073
D06	0,007	0,040	D25	<b>-0,268</b>	0,189
D07	0,011	-0,066	D26	0,205	0,100
D08	0,06	0,201	D27	<b>-0,069</b>	-0,030
D09	-0,055	-0,033	D28	0,275	0,051
D10	-0,023	0,098	D29	<b>-0,201</b>	-0,018
D11	0,073	-0,052	D30	-0,025	0,101
D12	-0,099	0,072	D31	-0,087	0,248
D13	0,033	0,078	D32	-0,018	0,086
D14	-0,058	0,069	D33	0,042	0,102
D15	-0,010	0,095	D34	-0,011	0,101
D16	0,009	0,137	D35	-0,040	0,115
D18	<b>0,331</b>	-0,280	D36	0,026	0,204
D19	<b>-0,039</b>	0,678	D37	-0,002	0,033

Προκειμένου να οπτικοποιήσουμε τα αποτελέσματα της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών, χρησιμοποιήθηκαν τα αποτελέσματα των αξόνων 1 και 2, παρά το γεγονός ότι ο δεύτερος άξονας αντιπροσώπευε μόνο το 3,3 % της συνολικής διακύμανσης. Από το γράφημα διασποράς της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών (Εικόνα 4.4) φαίνεται ότι ο διαχωρισμός των τεσσάρων πληθυσμών πραγματοποιείται μόνο στον άξονα 1. Φαίνεται ότι οι πληθυσμοί του Έβρου και του Στρυμόνα διαχωρίζονται από τους δύο πληθυσμούς του Νέστου, καθώς παρουσίαζαν θετική συσχέτιση με βάση τις μεταβλητές D18 (από το τέλος του κρανίου έως τη βάση του κοιλιακού πτερυγίου), D19 (ύψος κεφαλιού), D25 (ύψος ραχιαίου πτερυγίου), D27 (απόσταση από τέλος του ραχιαίου πτερυγίου έως το τέλος του εδρικού πτερυγίου) και D29 (απόσταση από άνω βάση έως κάτω βάση ουραίου πτερυγίου).



**Εικόνα 4.4.** Διάγραμμα διασποράς των τιμών της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών (PCA) για τους τρεις πληθυσμούς του *S. orpheus*.

**Figure 4.4.** Scatter plot of the principal components analysis for the three populations of *S. orpheus*.

Συγκεκριμένα, οι πληθυσμοί του Έβρου και του Στρυμόνα εμφανίζουν ισχυρή συσχέτιση με τις μεταβλητές αυτές. Αντιθέτως, οι πληθυσμοί του Νέστου εμφανίζουν αρνητική συσχέτιση. Επομένως, οι πληθυσμοί του Έβρου και του Στρυμόνα, σύμφωνα με τις μεταβλητές D18 και D27, διαθέτουν ένα πιο επίμηκες σχήμα σώματος σε σχέση με τους αντίστοιχους πληθυσμούς του Νέστου. Επίσης, σύμφωνα με τις τιμές των μεταβλητών D19 και D29, οι πληθυσμοί του Έβρου και του Στρυμόνα εμφανίζουν μεγαλύτερου πλάτους σώμα συγκριτικά με αυτούς του Νέστου.

#### 4.3.2. *Cobitis strumicae* Karaman, 1955

Όσον αφορά τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων που συλλέχθηκαν από σταθμούς ανάντη και κατόντη των φραγμάτων, η δοκιμασία MANOVA έδειξε την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των δύο πληθυσμών που εξετάστηκαν στον ποταμό Νέστο (Wilks'  $\lambda=0,513$ ,  $F(37, 42)=1,076$ ,  $p=0,407$ ). Επιπλέον, η ανάλυση έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά τα μεριστικά χαρακτηριστικά μεταξύ των ανάντη και κατόντη πληθυσμών, αλλά και μεταξύ των φύλων (Wilks'  $\lambda=0,904$ ,  $F(8, 71)=0,946$ ,  $p=0,485$ ).

Ο Δείκτης Λεπτότητας για το *C. strumicae* κυμάνθηκε από 2,96 έως 3,74 με τη μέση τιμή να διαμορφώνεται σε 3,30 ( $\pm 0,0245$  SE) για την ανάντη ομάδα και από 3,02 έως 3,59 και μέση τιμή 3,31 ( $\pm 0,028$  SE) για τη κατόντη ομάδα. Η εφαρμογή πολλαπλών t – tests για την σύγκριση των δεδομένων του δείκτη δεν υπέδειξε την ύπαρξη σημαντικών διαφορών μεταξύ των δειγμάτων των ανάντη και κατόντη πληθυσμών ( $p = 0,88$ ).

#### 4.3.3. *Barbus strumicae* Karaman, 1955

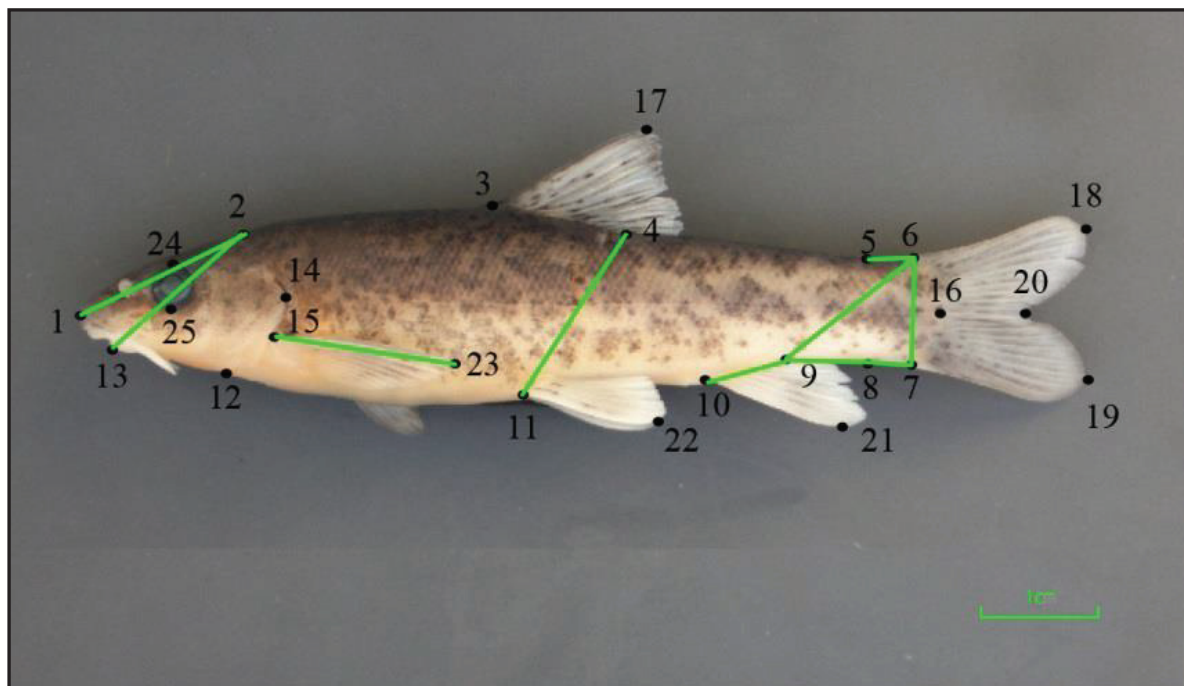
Όσον αφορά το είδος *B. strumicae*, η δοκιμασία MANOVA έδειξε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών (Wilks'  $\lambda=0,397$ ,  $F(37, 42)=1,726$ ,  $p=0,044$ ) στα μορφομετρικά χαρακτηριστικά μεταξύ των ατόμων των ανάντη και κατόντη πληθυσμών.

Με τη χρήση των τυποποιημένων συντελεστών (standardized coefficients), βρέθηκε ότι οι μεταβλητές, οι οποίες διαφοροποιούσαν τους δυο πληθυσμούς ήταν οι D1, D5, D6, D7, D8, D9, D20, D28, D30 και D38 (Εικόνα 4.5, Πίνακας 4.6).

**Πίνακας 4.6.** Τιμές των μορφολογικών χαρακτήρων για τον άξονα διαχωρισμού των πληθυσμών του είδους *B. strumicae* στον ποταμό Νέστο. Η σημαντική συσχέτιση κάθε συνιστώσας με κάποιο μορφολογικό χαρακτηριστικό σημειώνεται με έντονα γράμματα.

**Table 4.6.** Values of morphometric characters for the DFA1 for the *B. strumicae* population in river Nestos. The largest absolute correlation between each variable and any discriminant function indicated with bold font.

<b>Τιμές των τυποποιημένων συντελεστών</b>			
	Άξονας 1		Άξονας 1
D1	<b>1,34478</b>	D21	-0,22915
D2	-0,07348	D22	0,43472
D3	-0,52403	D23	0,69367
D4	-0,22475	D24	-0,01705
D5	<b>-1,19932</b>	D25	-0,07444
D6	<b>-0,70907</b>	D26	-0,05661
D7	<b>1,80589</b>	D27	-0,37220
D8	<b>2,01233</b>	D28	<b>-0,73630</b>
D9	<b>1,64163</b>	D29	0,29859
D10	0,72635	D30	<b>-0,82148</b>
D11	0,18943	D31	-0,03593
D12	-0,45668	D32	-0,21446
D13	-0,50791	D33	-0,03865
D14	-0,06896	D34	0,59184
D15	0,20936	D36	0,04000
D16	0,36121	D37	0,06410
D18	-0,01312	D38	<b>-0,82019</b>
D19	0,89060	D39	0,20706
D20	<b>-1,37013</b>		



**Εικόνα 4.5.** Φωτογραφία ατόμου μπριάνας στο οποίο φαίνονται τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν την ανάντη από την κατάντη ομάδα στον ποταμό Νέστο.

**Figure 4.5.** Photograph of a barbel indicating with green color lines the morphometric features that differentiate the upstream and the downstream populations in river Nestos.

Πιο συγκεκριμένα, η ανάντη ομάδα εμφάνιζε υψηλότερες τιμές για τις μετρήσεις D5, D6, D20, D28, D30 και D38 και χαμηλότερες τιμές για τις μετρήσεις D1, D7, D8 και D9 (Πίνακας 4.7). Την αντίστροφη τάση εμφάνιζαν τα δείγματα της κατάντη ομάδας (Πίνακας 4.7).

Παρατηρείται, λοιπόν, ότι τα ψάρια που απαρτίζουν τον ανάντη πληθυσμό διαθέτουν πιο πλατύ και κοντό σώμα σε σχέση με τον κατάντη. Αντιστοίχως, τα ψάρια του κατάντη πληθυσμού διαθέτουν πιο επίμηκες σώμα σε σχέση με τα ψάρια του ανάντη τμήματος, καθώς και λιγότερο πλατύ.

Όσον αφορά τα μεριστικά χαρακτηριστικά, η δοκιμή DFA δεν έδειξε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών (Wilks  $\lambda=0,965$ ,  $F(5, 74)=0,535$ ,  $p=0,749$ ). Ο δείκτης FR κυμάνθηκε μεταξύ 4,05 έως 5,20 (μέση  $4,61 \pm 0,038$  SE) για την ανάντη ομάδα και 4,16 έως 5,35 (μέση  $4,69 \pm 0,053$  SE) για την κατάντη ομάδα. Ωστόσο, η εφαρμογή πολλαπλών t – test δεν έδειξε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των δύο αυτών πληθυσμών ( $p=0,22$ ).

**Πίνακας 4.7.** Λίστα με τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν την ανάντη ομάδα από την κατάντη ομάδα του *B. strumicae* στον ποταμό Νέστο. Τα βέλη δηλώνουν αν οι τιμές των μεταβλητών αυξάνουν ή μειώνονται.

**Table 4.7.** List of the morphometric characteristics that distinguish the upstream population from the downstream population of *B. strumicae*. The arrows indicate whether the values of the variables increase or decrease.

Μέτρηση	Απόσταση	Περιγραφή	Ανάντη πληθυσμός	Κατάντη πληθυσμός
D1	1 – 2	Μήκος της κεφαλής	↓	↑
D5	5 – 6	Απόσταση από το ανώτερο σημείο του ελάχιστου ύψους του ουραίου μίσχου έως το ανώτερο σημείο έναρξης του ουραίου πτερυγίου	↑	↓
D6	6 – 7	Απόσταση από την κάτω βάση του ουραίου έως το κάτω σημείο του ελάχιστου ύψους.	↑	↓
D7	7 – 8	Απόσταση από το χαμηλότερο σημείο του ελάχιστου ύψους του ψαριού στο κατώτερο σημείο της αρχής του ουραίου πτερυγίου	↓	↑
D8	8 – 9	Απόσταση από το τέλος της βάσης του εδρικού πτερυγίου στο χαμηλότερο σημείο του ελάχιστου ύψους του ουραίου μίσχου	↓	↑
D9	9 – 10	Μήκος της βάσης του εδρικού πτερυγίου	↓	↑
D20	2 – 13	Απόσταση από το οπίσθιο άκρο του κρανίου έως το τέλος της κάτω γνάθου	↑	↓
D28	4 – 11	Απόσταση από το τέλος του ραχιαίου πτερυγίου στην αρχή του κοιλιακού πτερυγίου	↑	↓
D30	6 – 9	Απόσταση από το ανώτερο σημείο της αρχής του ουραίου πτερυγίου μέχρι το τέλος της βάσης του εδρικού πτερυγίου	↑	↓
D38	15 – 23	Μήκος θωρακικού πτερυγίου	↑	↓

Όσον αφορά τη σύγκριση με τους αντίστοιχους πληθυσμούς του Στρυμόνα και του Έβρου, η δοκιμασία ANOVA έδειξε ότι τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν τους τρεις πληθυσμούς (Έβρου, Νέστου και Στρυμόνα) επιμερίζονται σε δύο άξονες, οι οποίοι επεξηγούν το 49,98 % της συνολικής ποικιλότητας. Συγκεκριμένα, ο πρώτος άξονας επεξηγεί το 37,66% της ποικιλότητας (Eigen value=13,935, Wilk's  $\lambda$ =0,000756,  $p$ <0,0001) και ο δεύτερος άξονας το 12,32 % της συνολικής μεταβλητότητας (Eigen value=4,56, Wilk's  $\lambda$ =0,08444,  $p$ <0,0001) (Πίνακας 4.8).

**Πίνακας 4.8.** Ιδιοτιμές των αξόνων της δοκιμασίας MANOVA, το ποσοστό μεταβλητότητας και τιμές Wilks'  $\lambda$  των μεταβλητών για τους τρεις πληθυσμούς του είδους *B. strumicae*.

**Table 4.8.** Eigenvalues of the MANOVA test, % of variance and Wilks'  $\lambda$  values of standardized variables for the three population of the species *B. strumicae*.

Άξονας	Ιδιοτιμή (Eigen value)	% Αθροιστική ποικιλότητα	Wilks' $\lambda$	$\chi^2$	df	$p$
1	13,935	37,66	0.000756	772,653	111	<0,0001
2	4,56	12,32	0.08444	265,703	72	<0,0001

Ωστόσο, η εφαρμογή της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών έδειξε ότι μόνον ο πρώτος άξονας εξηγεί τη διαφοροποίηση των πληθυσμών σε ποσοστό 76,3%. Στον Πίνακα 4.9, παρουσιάζονται οι ιδιοτιμές και το ποσοστό της μεταβλητότητας που εξηγεί η κάθε συνιστώσα, καθώς και η συνολική μεταβλητότητα των μετασχηματισμένων δεδομένων.

**Πίνακας 4.9.** Τιμές του συντελεστή συσχέτισης μεταξύ των πρώτων τεσσάρων κύριων συνιστωσών.

**Table 4.9.** Values of the correlation coefficients among the first four principal components.

	Κύριες συνιστώσες			
	1	2	3	4
Ιδιοτιμές	0,0666	0,0048	0,0026	0,0017
Ποικιλότητα (%)	76,3	5,5	3	1,9
Αθροιστική ποικιλότητα (%)	76,3	81,8	84,8	86,6

Στον Πίνακα 4.10. παρουσιάζονται οι μεταβλητές οι οποίες ευθύνονται για τη διαφοροποίηση των πληθυσμών του είδους *B. strumicae*. Αυτές είναι οι D18 (από το τέλος του κρανίου έως τη βάση του κοιλιακού πτερυγίου), D20 (από το οπίσθιο άκρο του κρανίου έως το τέλος της κάτω γνάθου) και D25 (ύψος ραχιαίου πτερυγίου).

**Πίνακας 4.10.** Τιμές των μορφολογικών χαρακτήρων για τον άξονα διαχωρισμού για τους τρεις πληθυσμούς του είδους *B. strumicae*. Η σημαντική συσχέτιση κάθε συνιστώσας με κάποιο μορφολογικό χαρακτηριστικό σημειώνεται έντονα γράμματα.

**Table 4.10** Values of the morphometric characters for the PCA1 for the three population of *B. strumicae*. The largest absolute correlation between each variable and any discriminant function indicated with bold font.

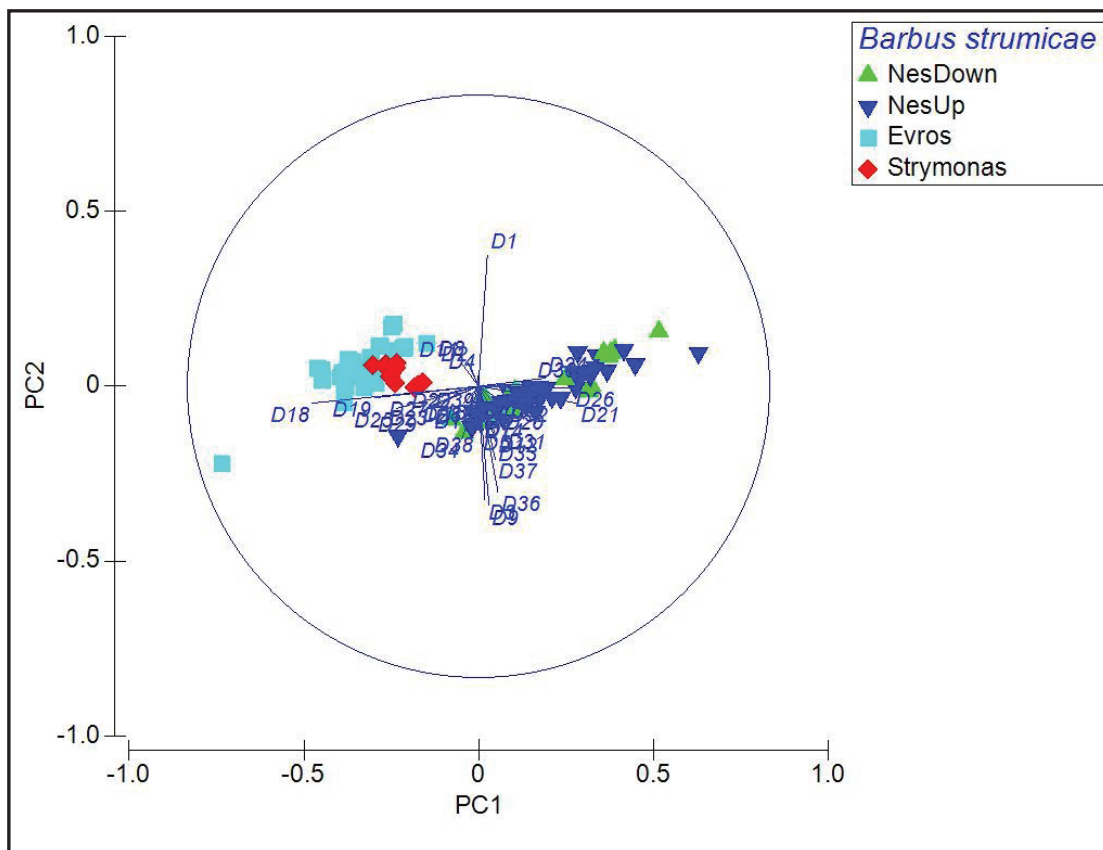
Μεταβλητές	PC1	PC2	Μεταβλητές	PC1	PC2
D1	0,031	0,451	D21	0,340	-0,058
D2	-0,025	0,063	D22	-0,086	-0,011
D3	0,022	-0,392	D23	-0,167	-0,068
D4	-0,001	0,038	D24	0,228	0,028
D5	0,007	-0,156	D25	<b>-0,284</b>	-0,077
D6	0,009	-0,083	D26	0,321	-0,005
D7	0,014	-0,108	D27	-0,164	-0,037
D8	-0,037	0,083	D28	-0,050	-0,059
D9	0,037	-0,410	D29	-0,204	-0,090
D10	0,009	-0,047	D30	0,192	0,009
D11	-0,059	0,081	D31	0,089	-0,151
D12	0,057	-0,163	D32	0,095	-0,059
D13	-0,030	-0,051	D33	0,059	-0,191
D14	0,010	-0,114	D34	-0,057	-0,182
D15	-0,010	-0,067	D36	0,067	-0,364
D16	-0,009	-0,080	D37	0,058	-0,252
D18	<b>-0,572</b>	-0,058	D38	-0,008	-0,161
D19	-0,357	-0,040	D39	-0,006	-0,008
20	<b>0,081</b>	-0,085			

Προκειμένου να οπτικοποιηθούν τα αποτελέσματα της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών χρησιμοποιήθηκαν τα αποτελέσματα των αξόνων 1 και 2 παρά το γεγονός ότι ο δεύτερος άξονας αντιπροσώπευε μόνο το 5,5 % της συνολικής διακύμανσης. Από το γράφημα διασποράς της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών (Εικόνα 4.6) φαίνεται ότι οι πληθυσμοί του Έβρου και του Στρυμόνα λαμβάνουν υψηλότερες αρνητικές τιμές για τις παραπάνω μεταβλητές ενώ ο πληθυσμός του Νέστου υψηλότερες θετικές.

Από το γράφημα διασποράς της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών (Εικόνα 4.6) φαίνεται ότι διαχωρισμός των τεσσάρων πληθυσμών εντοπίζεται μόνο στον άξονα 1. Επίσης, φαίνεται ότι οι πληθυσμοί του Έβρου και του Στρυμόνα εντάσσονται σε μία ομάδα η οποία διαχωρίστηκε από τους δύο πληθυσμούς του Νέστου. Ακόμη, στο φαίνεται διάγραμμα ότι αυτοί οι πληθυσμοί παρουσίασαν αρνητική συσχέτιση με βάση τις μεταβλητές D18 (από το τέλος του κρανίου έως τη βάση του κοιλιακού πτερυγίου), D20 (απόσταση από το οπίσθιο άκρο του κρανίου έως το τέλος της κάτω γνάθου) και D25



(ύψος ραχιαίου περυγίου). Δηλαδή, τα ψάρια που απαρτίζουν τους πληθυσμούς του Έβρου και του Στρυμόνα διαθέτουν μικρότερου μήκους και πλάτους σχήμα σώματος σε σχέση με τα αντίστοιχα του Νέστου. Ομοίως, διαθέτουν και μικρότερου ύψους ραχιαία περύγια.



**Εικόνα 4.6.** Διάγραμμα διασποράς των τιμών της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών (PCA) για τους τρεις πληθυσμούς του *B. strumicae*.

**Figure 4.6.** Scatter plot of the principal components analysis for the three populations of *B. strumicae*.

#### 4.3.4. *Alburnoides strymonicus* (Bloch, 1782)

Για το είδος *A. strymonicus*, στατιστικά σημαντικές διαφορές εντοπίστηκαν στα μορφομετρικά χαρακτηριστικά μεταξύ των ανάντη και των κατόντη δειγμάτων (Wilks'  $\lambda=0,245$ ,  $F(37, 42)=3,496$ ,  $P<0,0001$ ). Σύμφωνα με τη δοκιμασία ANOVA (Εικόνα 4.7, Πίνακας 4.10), οι μεταβλητές που διαφοροποιούσαν τους δύο πληθυσμούς ήταν οι D3 (μήκος βάσης ραχιαίου περυγίου), D4 (απόσταση από το τέλος του ραχιαίου περυγίου στο ανώτερο σημείο του ελάχιστου ύψους σώματος), D5 (απόσταση από το άνω σημείο

του ελάχιστου ύψους σώματος έως άνω βάση ουραίου), D8 (απόσταση από το τέλος του εδρικού πτερυγίου έως το κάτω σημείο του ελάχιστο ύψους), D9 (μήκος βάσης εδρικού πτερυγίου), D18 (απόσταση από το τέλος του κρανίου έως τη βάση του κοιλιακού πτερυγίου), D19 (ύψος κεφαλιού), D21 (απόσταση από την αρχή του ραχιαίου πτερυγίου έως το τέλος του εδρικού πτερυγίου), D28 (απόσταση από το τέλος του ραχιαίου πτερυγίου έως την αρχή του κοιλιακού πτερυγίου), D31 (μήκος άνω ουραίου λοβού), D33 (απόσταση από την κάτω βάση του ουραίου πτερυγίου έως την άκρη του άνω ουραίου λοβού) και D37 (μήκος κοιλιακού πτερυγίου) (Εικόνα 4.7, Πίνακας 4.11).

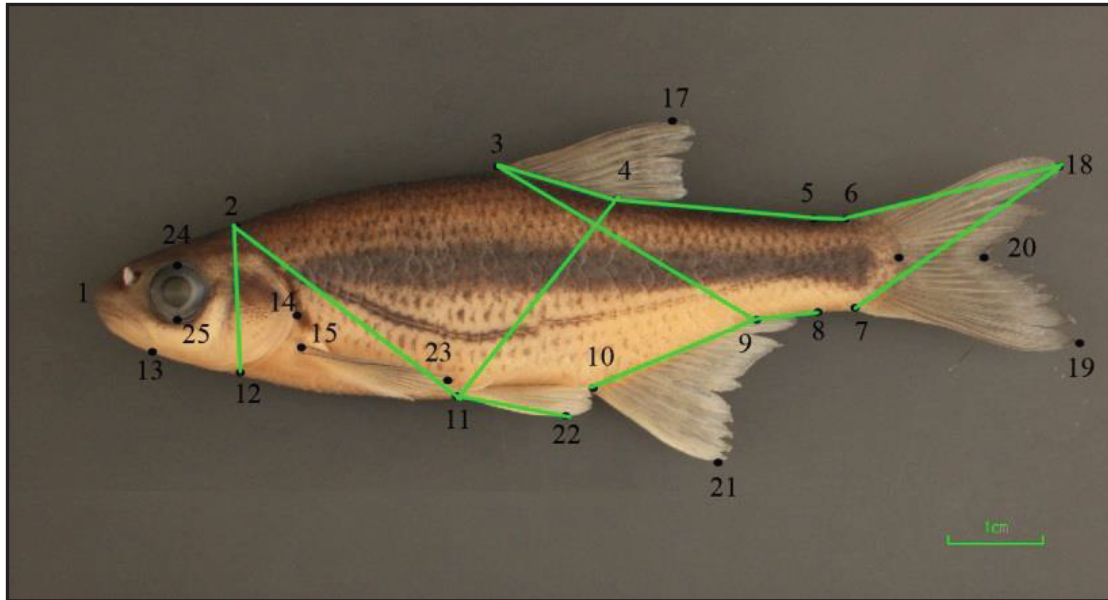
**Πίνακας 4.11.** Τιμές των μορφολογικών χαρακτήρων για τον άξονα διαχωρισμού για τους πληθυσμούς του είδους *A. strymonicus* στον ποταμό Νέστο. Η σημαντική συσχέτιση κάθε συνιστώσας με κάποιο μορφολογικό χαρακτηριστικό σημειώνεται με έντονα γράμματα.

**Table 4.11.** Values of morphometric characters for the DFA1 for the *A. strymonicus* population in river Nestos. The largest absolute correlation between each variable and any discriminant function indicated with bold font.

Τιμές των τυποποιημένων συντελεστών			
	Άξονας 1		Άξονας 1
D1	-0,187093	D20	-0,136567
D2	0,077741	D21	<b>-0,867322</b>
D3	<b>0,629694</b>	D22	0,037666
D4	<b>0,967717</b>	D23	-0,111524
D5	<b>0,694654</b>	D24	-0,091502
D6	-0,262367	D25	-0,333470
D7	-0,313367	D26	-0,199862
D8	<b>-0,899913</b>	D27	-0,327891
D9	<b>0,581366</b>	D28	<b>-0,914878</b>
D10	0,431622	D29	0,470836
D11	0,294704	D30	-0,014564
D12	0,164207	D31	<b>1,304184</b>
D13	0,320965	D32	-0,355820
D14	-0,011197	D33	-0,606343
D15	-0,061722	D34	-0,311497
D16	0,240756	D36	0,060480
D18	<b>-0,837085</b>	D37	<b>0,562902</b>
D19	<b>0,636988</b>	D38	-0,316973
D20	-0,136567	D39	-0,158595

Πιο συγκεκριμένα, η ανάντη ομάδα εμφάνιζε υψηλότερες τιμές για τις μεταβλητές D8, D18, D21, D28 και D33 και χαμηλότερες τιμές για τις μετρήσεις D3, D4, D5, D9, D19, D31 και D37. Την αντίστροφη τάση εμφάνιζαν τα δείγματα της κατάντη ομάδας

(Πίνακας 4.12). Ως εκ τούτου, διαπιστώνεται ότι τα ψάρια του ανάντη πληθυσμού εμφανίζουν σχήμα σώματος μεγαλύτερου πλάτους συγκριτικά με τα ψάρια του κατάντη πληθυσμού.



**Εικόνα 4.7.** Φωτογραφία ατόμου *A. strymonicus* στο οποίο φαίνονται τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν την ανάντη από την κατάντη ομάδα στον ποταμό Νέστο.

**Figure 4.7.** Photograph of an *A. strymonicus* specimen which shows the morphometric features that distinguish the upstream and the downstream group in river Nestos.

Για το δείκτη λεπτότητας FR, τα δείγματα της ανάντη ομάδας εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.0001$ ) σε σχέση με τα άτομα της κατάντη ομάδας. Ο δείκτης κυμάνθηκε μεταξύ 3,25 έως 4,34 (μέσος όρος  $3,65 \pm 0,048$  SE) για τα ψάρια του ανάντη πληθυσμού και 3,39 έως 4,42 (μέσος όρος  $3,89 \pm 0,031$  SE) για τα ψάρια του κατάντη πληθυσμού. Η υψηλότερη τιμή του δείκτη FR υποδηλώνει ένα επίμηκες σχήμα σώματος, συνεπώς ένα πιο υδροδυναμικό σχήμα σώματος συγκριτικά με το σχήμα του σώματος των ψαριών του ανάντηπληθυσμού.

**Πίνακας 4.12.** Λίστα με τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν την ανάντη ομάδα από την κατάντη ομάδα *A. strymonicus* στον ποταμό Νέστο. Τα βέλη δηλώνουν αν οι τιμές των μεταβλητών αυξάνουν ή μειώνονται.

**Table 4.12.** List of the morphometric characteristics that distinguish the upstream population from the downstream population of *A. strymonicus*. The arrows indicate whether the values of the variables increase or decrease.

Μέτρηση	Απόσταση	Περιγραφή	Ανάντη πληθυσμός	Κατάντη πληθυσμός
D3	3 – 4	Μήκος βάσσεως ραχιαίου πτερυγίου	↓	↑
D4	4 – 5	Απόσταση από το τέλος της βάσσεως του ραχιαίου πτερυγίου έως το ανώτερο σημείο του ελάχιστου ύψους του ουραίου μίσχου	↓	↑
D5	5 – 6	Απόσταση από το ανώτερο σημείο του ελάχιστου ύψους του ουραίου μίσχου έως το ανώτερο σημείο έναρξης του ουραίου πτερυγίου	↓	↑
D8	8 – 9	Απόσταση από το τέλος της βάσης του εδρικού πτερυγίου στο χαμηλότερο σημείο του ελάχιστου ύψους του ουραίου μίσχου	↑	↓
D9	9 – 10	Μήκος της βάσης του εδρικού πτερυγίου	↓	↑
D18	2 – 11	Απόσταση από το πίσω μέρος του κρανίου έως την αρχή του κοιλιακού πτερυγίου	↑	↓
D19	2 – 12	Ύψος κεφαλής	↓	↑
D21	3 – 9	Απόσταση από την αρχή του ραχιαίου πτερυγίου μέχρι το τέλος του εδρικού πτερυγίου	↑	↓
D28	4 – 11	Απόσταση από το τέλος του ραχιαίου πτερυγίου στην αρχή του κοιλιακού πτερυγίου	↑	↓
D31	6 – 18	Μήκος του άνω λοβού του ουραίου πτερυγίου	↓	↑
D33	7 – 18	Απόσταση από το κατώτερο σημείο της αρχής του ουραίου πτερυγίου μέχρι το τέλος του άνω λοβού του ουραίου πτερυγίου	↑	↓
D37	11 – 22	Μήκος των θωρακικών πτερυγίων	↓	↑

Εκτός από τις διαφορές που εντοπίστηκαν στα μορφομετρικά χαρακτηριστικά η δοκιμασία της διαφοροποιούσας ανάλυσης έδειξε την παρουσία σημαντικών διαφορών και στα μεριστικά χαρακτηριστικά των δύο πληθυσμών (Wilks'  $\lambda=0,759$ ,  $F(5, 74)=4,678$ ,  $p=0,001$ ) (Πίνακας 4.13). Οι τυποποιημένοι συντελεστές έδειξαν ότι οι μεταβλητές που διαφοροποιούν τις δύο ομάδες είναι ο αριθμός των ακτίνων στο ραχιαίο και ουραίο πτερύγιο (Πίνακας 4.14).

**Πίνακας 4.13.** Τα αποτελέσματα της DFA για τις μεριστικά στοιχεία του *A. strymonicus*. Οι μεταβλητές που διακρίνουν τις δύο πληθυσμούς υποδεικνύονται με έντονη γραμματοσειρά ( $p < 0,05$ ).

**Table 4.13.** The results of DFA for the meristic data of *A. strymonicus*. The variables that discriminate the two populations are indicated with bold fonts ( $p < 0.05$ ).

	Wilks' $\lambda$	F-remove (1,74)	p-level
Πλευρική γραμμή	0,772	1,222	0,273
<b>Ακτίνες ραχιαίου</b>	<b>0,837</b>	<b>7,562</b>	<b>0,007</b>
<b>Ακτίνες ουραίου</b>	<b>0,814</b>	<b>5,313</b>	<b>0,024</b>
Ακτίνες εδρικού	0,785	2,434	0,123
Ακτίνες θωρακικών	0,761	0,153	0,696

**Πίνακας 4.14.** Τιμές των μεριστικών χαρακτήρων που διαφοροποιούν τους πληθυσμούς του είδους *A. strymonicus* στον ποταμό Νέστο. Η σημαντική συσχέτιση κάθε συνιστώσας με κάποιο μορφολογικό χαρακτηριστικό σημειώνεται με έντονα γράμματα.

**Table 4.14.** Canonical means for the Upstream and Downstream populations of *A. strymonicus*. The largest absolute correlation between each variable and any discriminant function indicated with bold font.

Τιμές των τυποποιημένων συντελεστών	
Πλευρική γραμμή	0,274119
Ακτίνες ραχιαίου	<b>-0,801678</b>
Ακτίνες ουραίου	<b>0,644201</b>
Ακτίνες εδρικού	-0,421932
Ακτίνες θωρακικών	-0,104947
<b>Eigen value</b>	0,316067

Διαπιστώνεται ότι ο κατάντη πληθυσμός του είδους διαθέτει περισσότερες ακτίνες στο ουραίο πτερύγιο και λιγότερες στο ραχιαίο συγκριτικά με τα ψάρια του ανάντη πληθυσμού.

#### 4.3.5. *Salmo macedonicus* (Karaman, 1924)

Όπως προαναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 3.2 «Υλικά και Μεθόδου», δεν κρατήθηκαν δείγματα του είδους *S. macedonicus*, επομένως. Έτσι, δεν ήταν δυνατόν να ελεγχθεί το φύλο των ειδών και συνεπώς, δεν υπήρχε η δυνατότητα ελέγχου των ατόμων για ύπαρξη μορφομετρικών διαφοροποιήσεων λόγω φυλετικού διμορφισμού, καθώς και καταγραφής των μεριστικών τους χαρακτηριστικών. Επομένως, εφαρμόστηκε η δοκιμασία ANOVA στο σύνολο των ατόμων, ανεξαρτήτως του φύλου. Στην προκειμένη περίπτωση, η δοκιμασία ANOVA έδειξε την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των δύο πληθυσμών που εξετάστηκαν στον ποταμό Νέστο (Wilks'  $\lambda=0,465$ ,  $F(99,78)=2,3132$ ,  $p=0.749$ ).

Ο Δείκτης Λεπτότητας (Fineness Ratio – FR) για το *S. macedonicus* κυμάνθηκε από 4,56 έως 5,26 (μέση τιμή  $4,75 \pm 0,445$  SE) για τα δείγματα από το Αρκουδόρεμα, 4,29 έως 4,89 (μέση τιμή  $4,63 \pm 0,065$  SE) για το Διαβολόρεμα, 4,29 έως 4,89 (μέση τιμή  $4,63 \pm 0,065$  SE) για το Φαρασινό και 4,34 έως 5,08 (μέση τιμή  $4,59 \pm 0,067$  SE) για το Βαθύρεμα. Η εφαρμογή πολλαπλών  $t$  – tests για την σύγκριση των δεδομένων του Δείκτη Λεπτότητας δεν υπέδειξε την ύπαρξη σημαντικών διαφορών μεταξύ των πληθυσμών ( $p=0,72$ ).

#### 4.4. Συζήτηση

Οι στατιστικές αναλύσεις έδειξαν ότι για δύο από τα είδη που μελετήθηκαν (*B. strumicae* και *A. strymonicus*) εντοπίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα μορφομετρικά χαρακτηριστικά μεταξύ των ανάντη και κατάντη πληθυσμών. Αντιθέτως, για τα είδη *S. orpheus* και *C. strumicae* δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των πληθυσμών.

Οι μεταβλητές που διαφοροποιούν τους ανάντη και κατάντη πληθυσμούς του *B. strumicae* και του *A. strymonicus* φαίνεται να επηρεάζουν τις κολυμβητικές τους ικανότητες. Αυτές είναι χαρακτηριστικά όπως το ύψος του κεφαλιού και του σώματος, το μήκος του κοιλιακού πτερυγίου για τα δύο είδη και επιπλέον, το μήκος του άνω λοβού του ουραίου πτερυγίου για το *A. strymonicus*. Ως αποτέλεσμα, τα ψάρια που εντοπίζονται κατάντη των φραγμάτων εμφανίζουν πιο επίμηκες σώμα και ουραίο μίσχο. Τα χαρακτηριστικά αυτά σε συνδυασμό με την τροποποίηση των πλευρικών και του ουραίου πτερυγίων βελτιώνουν τα υδροδυναμικά χαρακτηριστικά των ψαριών, μειώνοντας

παράλληλα τις δυνάμεις αντίστασης που δημιουργούνται κατά την κολύμβηση αντίθετα προς την ροή του νερού (Blob *et al.* 2008). Είναι πιθανό η τροποποίηση αυτή στο σχήμα του σώματος στους κατάντη πληθυσμούς να αντανακλά μια προσαρμογή των ψαριών στην υψηλότερη ταχύτητα του νερού. Αυτή προκαλείται από την απελευθέρωση μεγάλων ποσοτήτων νερού από τα φράγματα για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας, καθώς και από την ημερήσια διακύμανση της παροχής νερού, η οποία κυμαίνεται από 12,1 m<sup>3</sup>/s έως 172,5 m<sup>3</sup>/s (Καμίδης κ.ά. 2007). Αντιθέτως, τα ψάρια στην ανάντη ομάδα υιοθετούν ένα λιγότερο υδροδυναμικό σχήμα, καθώς το ανάντη τμήμα του ποταμού εμφανίζει λιμναία χαρακτηριστικά, εξαιτίας της πολύ χαμηλής ταχύτητας του νερού, που επίσης προκαλεί η παρουσία των φραγμάτων. Η υπόθεση αυτή συμφωνεί με τα ευρήματα των McLaughlin & Grant (1994), Brinsmead & Fox (2002) και Kerfoot & Schaefer (2006), οι οποίοι κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα ψάρια που διαβιούν σε οικοσυστήματα με υψηλή ταχύτητα νερού, όπως ρέματα, τείνουν να αποκτούν πιο υδροδυναμικό και ατρακτοειδές σχήμα σώματος, συγκριτικά με ψάρια του ίδιου είδους που διαβιούν σε οικοσυστήματα με χαμηλότερη ταχύτητα νερού. Οι Brinsmead & Fox (2002) πειραματίστηκαν χρησιμοποιώντας δείγματα που συνέλεξαν από περιοχές με ταχύτητα νερού που κυμαινόταν από 0 – 1,41 m/s, ενώ οι Kerfoot & Schaefer (2006) και με δείγματα τα οποία εξέθεσαν σε ταχύτητες νερού από 0,07 έως 0,716 m/s. Σύμφωνα με τον Webb (1982, 1984), το ατρακτοειδές σχήμα βοηθά ένα ψάρι να μειώσει την οπισθέλκουσα που προκαλείται από το αντίθετης κατεύθυνσης ρεύμα. Η άποψη αυτή υποστηρίζεται και από τους McLaughlin & Grant (1994) και Yavno *et al.* (2012). Επιπλέον, οι Haas *et al.* (2010) έδειξαν ότι το σχήμα του σώματος του είδους Blacktail shiner (*Cyprinella venusta* Girard, 1856), δείγματα του οποίου συλλέχθηκαν από τον ποταμό Mobile (ΗΠΑ), διαφέρει από αυτό των ψαριών που διαβιούν στη φραγμαλίμνη και το οποίο εντοπίζεται στη λεκάνη απορροής του ποταμού. Ως εκ τούτου, τα ψάρια του ποταμού έχουν πιο υδροδυναμικό σχήμα.

Η Μπριάνα είναι ένα ρεόφιλο είδος, το οποίο προτιμάει ποτάμια με σχετικά υψηλή ροή νερού (Huet 1949, Baras & Cherry 1990, Britton & Pegg 2011) (βλέπε Κεφάλαιο 1.3. «Συστηματική κατάταξη των υπό μελέτη ειδών»). Τα ενδιαιτήματα που προτιμά το είδος *Barbus barbatus* είναι αυτά με ροή νερού η οποία μπορεί να φτάσει ή και να ξεπεράσει τα 40 m<sup>3</sup>/s (Lamouroux *et al.* 1998). Όμως, κατά τη διάρκεια της ζωής του, δεν προτιμά πάντα τα ίδια ενδιαιτήματα. Σύμφωνα με διάφορους συγγραφείς, όπως οι Watkins *et al.* (1997) και Bischoff & Freyhof (1999), τα νεαρά άτομα του είδους *B. barbatus* προτιμούν

ενδιαιτήματα με ταχύτητα νερού που δεν ξεπερνά τα 10 cm/s. Τα ιχθύδια αυτά αρχίζουν να μετακινούνται σε ενδιαιτήματα με υψηλότερη ταχύτητα, μόνον όταν ξεπεράσουν τα 50 mm ολικού μήκους. Σύμφωνα με τους Watkins *et al.* (1997), τα άτομα *B. barbuis* ηλικίας 0+ και >1+ εντοπίζονται σε περιοχές με στάσιμα νερά και κοντά στις όχθες, ενώ τα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας εντοπίζονται σε περιοχές με μεγαλύτερο βάθος και με γρήγορα νερά. Επομένως, οι όποιες αλλαγές εντοπίζονται στη μορφομετρία του είδους είναι αποτέλεσμα της επίδρασης των διαφορετικών συνθηκών που επικρατούν κατά την οντογένεση, όπως υποστηρίζουν και οι Sagnes *et al.* (1997). Οι Sagnes *et al.* (1997) παρατήρησαν την ύπαρξη μορφο – ανατομικών διαφοροποιήσεων στα άτομα του είδους *Thymallus thymallus*, οι οποίες εμφανίζονταν κατά τη μετάβαση των νεαρών ιχθυδίων από περιοχές χαμηλής ροής σε περιοχές με υψηλότερη ροή.

Παρόμοια αποτελέσματα έχουν, επίσης, παρατηρηθεί και από τους Blob *et al.* (2008). Συγκεκριμένα, παρατήρησαν ότι ο πληθυσμός του είδους *Sicyopterus stimpsoni*, που διαβιεί σε ενδιαιτήματα με υψηλής ταχύτητας νερά, έχει σχήμα σώματος καλύτερα προσαρμοσμένο στις συνθήκες αυτές. Το παραπάνω αποδίδεται στην προσπάθεια των ψαριών να μειώσουν την αντίσταση που δημιουργείται, συγκριτικά πάντα με τα άτομα που εντοπίζονται σε ενδιαιτήματα με πιο χαμηλή ταχύτητα νερού. Επιπλέον, οι Yavno *et al.* (2012) μελέτησαν τη μορφολογική διαφοροποίηση μεταξύ ενδημικών και ξενικών πληθυσμών του είδους *Lepomis gibbosus* (Linnaeus, 1758) και πρότειναν, βασιζόμενοι στη θεωρία της εισβολής, ότι οι διαφορές αυτές είναι πιθανώς το αποτέλεσμα της προσαρμοστικής φαινοτυπικής πλαστικότητας των ειδών κατά την προσαρμογή του είδους στο νέο περιβάλλον. Στην περίπτωση του ποταμού Νέστου, τα αυτόχθονα είδη προσαρμόστηκαν στις νέες συνθήκες που δημιουργήθηκαν μετά την κατασκευή των υδροηλεκτρικών έργων του ποταμού, δηλαδή στο λιμναίο περιβάλλον των φραγμαλιμνών και στο ελεγχόμενης ροής περιβάλλον στο κατάντη ποτάμιο σύστημα.

Για το είδος *A. strymonicus*, μία από τις μεταβλητές η οποία διαφοροποιεί των ανάντη πληθυσμό με τον κατάντη στον ποταμό Νέστο ήταν το μήκος του λοβού του ουραίου πτερυγίου. Η επιμήκυνση των λοβών του ουραίου πτερυγίου συμβάλλει στη βελτίωση της κολυμβητικής ικανότητας των ψαριών (Simonovic *et al.* 1999). Στην περίπτωση του *A. strymonicus* είναι πιθανόν να συμβάλλει και στη βελτίωση των κολυμβητικών ικανοτήτων του είδους ώστε να αντιμετωπίσει την αυξημένη ταχύτητα του νερού.



Οι Lauder *et al.* (2002) πρότειναν ότι τα ψάρια μπορούν να αναπτύξουν πτερύγια με διαφορετικά μορφολογικά χαρακτηριστικά, ένα είδος προσαρμογής στα διαφορετικά περιβάλλοντα στα οποία διαβιούν, βελτιώνοντας τις κολυμβητικές τους ικανότητες. Ομοίως, οι Kerfoot & Schaefer (2006) διαπίστωσαν ότι τα είδη του γένους *Cottus*, τα οποία είναι βενθικά, όπως και το *B. strumicae* και εντοπίζονται σε ενδιαιτήματα με υψηλή ροή νερού, ανέπτυξαν ένα περισσότερο υδροδυναμικό σώμα συγκριτικά με τα ψάρια άλλων πληθυσμών του είδους. Αυτό οφείλεται κατά πάσα πιθανότητα στις αυξημένες ανάγκες που έχουν τα ψάρια του είδους να διατηρήσουν τη θέση τους στο χώρο σε συνθήκες υψηλής ροής. Με βάση αυτά τα ευρήματα, η μορφολογική διαφοροποίηση που παρατηρείται μεταξύ των ανάντη και κατόντη πληθυσμών του είδους *B. strumicae* θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα της προσπάθειας των ψαριών να διατηρήσουν τη θέση τους μέσα στο ποτάμι κατά την περίοδο της απότομης αύξησης της ροής του νερού κατά την ημερήσια απελευθέρωση υδάτων από τα ΥΗΕ της ΔΕΗ κατά την έναρξη της ηλεκτροπαραγωγής και ιδιαίτερα, κατά τη θερινή περίοδο.

Η στατιστική ανάλυση δεν έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των μορφομετρικών ή μεριστικών χαρακτηριστικών για τα είδη *S. orpheus* και *C. strumicae*. Το *S. orpheus* είναι ένα τυπικά ρεόφιλο είδος, το οποίο μετακινείται και τρέφεται κυρίως στη στήλη του νερού. Όμως, μπορεί να εντοπιστεί σε μικρά ή μεγάλα ρέματα και ποτάμια με πολύ χαμηλή ροή. Δύναται να βρεθεί και σε φυσικές ή τεχνητές λίμνες (Οικονομίδης κ.ά. 2009). Η απουσία μορφολογικών διαφορών στο είδος *S. orpheus* θα μπορούσε να εξηγηθεί από τις παρατηρήσεις που έκαναν οι Allouche & Gaudin (2001). Σύμφωνα με τη μελέτη τους, τα ιχθύδια του συγγενικού είδους *Leuciscus cephalus* (το παλιό όνομα του είδους *Squalius cephalus*) εντοπίζονται σε σημεία με μεγάλη ροή, όπου τρέφονται κατά τρόπο παθητικό, με λείες που παρασύρονται από το νερό. Αργότερα, όσο μεγαλώνουν και μειώνεται η ροή του νερού, γίνονται ενεργοί θηρευτές. Επίσης, οι Hanfling & Brandl (1998) παρατήρησαν την απουσία κάθε μορφολογικής ποικιλότητας μεταξύ των πληθυσμών του *L. cephalus*, που εντοπίζονται σε τρία μεγάλα ποτάμια συστήματα, του Δούναβη, του Έλβα και του Ρήνου.

Το είδος *C. strumicae* έχει κρυπτική συμπεριφορά. Κρύβεται στην άμμο ή τη λάσπη στον πυθμένα καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας και μετακινείται μόνο για την εύρεση τροφής (Οικονομίδης κ.ά. 2009). Η συμπεριφορά του είδους αυτού θα μπορούσε να είναι ο λόγος για τον οποίο δεν εμφανίζει μορφολογικές διαφοροποιήσεις.

Επίσης, δεν πρέπει να αγνοείται το ότι οι διαφοροποιήσεις στο σχήμα του σώματος ή των διαφόρων οργάνων (πτερυγία) ενδεχομένως να οφείλονται στη διαφορετική έκφραση ενός ή παραπάνω γονιδίων. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται «φαινοτυπική πλαστικότητα» και επιτρέπει σε ένα είδος να προσαρμόζεται σε μια μεγάλη ποικιλία διαφορετικών περιβαλλοντικών συνθηκών (Schmitt 1997, Schmitt *et al.* 1999 & 2003, Agrawal 2001). Επομένως, απαιτείται μια πιο εμπειριστατωμένη διερεύνηση των παραγόντων που επηρεάζουν αυτές τις μορφο – ανατομικές αλλαγές στα δύο υπό μελέτη είδη, δεδομένου ότι υπάρχουν διάφοροι περιβαλλοντικοί παράγοντες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη μορφολογία των ψαριών. Έτσι, σύμφωνα με τον Lindsey (1962) και τον Beacham (1990), η θερμοκρασία είναι ένας παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει και ίσως, να προκαλέσει την τροποποίηση των μορφομετρικών και μεριστικών χαρακτηριστικών ιχθυδίων. Από την άλλη, οι Kerfoot & Schaefer (2006) υποστηρίζουν ότι το είδος του υποστρώματος δύναται να συμβάλλει στην τροποποίηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών βενθικών ειδών.

Πάντως, είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι ο Beacham (1990) παρατήρησε ότι κατά την εκτροφή ψαριών του είδους *Oncorhynchus keta*, η διακύμανση της θερμοκρασίας επηρεάζει όχι μόνο τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά των ιχθυδίων, αλλά και τα μεριστικά χαρακτηριστικά. Σ' αυτά υπάγεται ο αριθμός των ακτινών των πτερυγίων, όπως παρατηρήθηκε στη παρούσα μελέτη για το είδος *A. strymonicus*, όπου οι δύο ομάδες διαφοροποιούνταν με βάση τον αριθμό των ακτινών του ραχιαίου, ουραίου και εδρικού πτερυγίου. Επιπλέον, οι Karakousis *et al.* (1990) παρατήρησαν ότι οι πληθυσμοί της Άγριας Πέστροφας, *Salmo trutta* από επτά διαφορετικές περιοχές, διαχωρίστηκαν, όχι μόνο με βάση τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά αλλά και από μεριστικά τους χαρακτηριστικά, όπως ο αριθμός των βραγχιακών ακάνθων και ο αριθμός των ακτινών των κοιλιακών πτερυγίων. Σύμφωνα με τους Karakousis *et al.* (1990), αυτή η παραλλαγή θα μπορούσε να είναι το αποτέλεσμα της μεταβλητής φαινοτυπικής έκφρασης διάφορων γονιδίων, τα οποία επηρεάζονται από τις διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν σε κάθε περιοχή.

Όσον αφορά τα είδη *S. orpheus* και *B. strumicae* και τη σύγκριση των πληθυσμών τους με τους αντίστοιχους του Έβρου και του Στρυμόνα, η ανάλυση ANOVA έδειξε την ύπαρξη σημαντικών στατιστικά διαφορών μεταξύ των πληθυσμών. Συγκεκριμένα, η δοκιμασία της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών ομαδοποίησε τον πληθυσμό του Έβρου με αυτόν του Στρυμόνα, ενώ ο πληθυσμός του Νέστου αποτελούσε μια ξεχωριστή ομάδα.

Τα χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν τις δύο αυτές ομάδες, στην περίπτωση του *S. orpheus*, λαμβάνουν χαμηλές τιμές στην περίπτωση του πληθυσμού του Νέστου και ως εκ τούτου, αποκτούν πιο υδροδυναμικό σχήμα. Αντιθέτως, στην περίπτωση του *B. strumicae*, τα χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν τις δύο αυτές ομάδες λαμβάνουν υψηλές τιμές στην περίπτωση του πληθυσμού του Νέστου και χαμηλές στην περίπτωση της δεύτερης ομάδας. Όμως και στην περίπτωση αυτή, ο πληθυσμός του Νέστου αποκτά ένα πιο υδροδυναμικό σχήμα σώματος, προκειμένου να αντιμετωπίσει της αντίξοες συνθήκες από άποψη ροής νερού.

Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε ότι παρά το μικρό σχετικά χρονικό διάστημα, επήλθε ο διαχωρισμός και η απομόνωση των ιχθυοπληθυσμών από την κατασκευή και έναρξη λειτουργίας των Υδροηλεκτρικών Έργων του Νέστου (πριν από περίπου 23 έτη) και οι ανάντη και κατόντη πληθυσμοί των δύο από τα πιο άφθονα είδη στον ποταμό Νέστο, του *B. strumicae* και του *A. strymonicus*, εμφανίζουν σημαντικές διακυμάνσεις στα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους. Τα χαρακτηριστικά αυτά σχετίζονται με την υδροδυναμική ισορροπία και τις κολυμβητικές ικανότητες των ψαριών. Αυτές οι διαφορές θεωρείται ότι αντικατοπτρίζουν μία προσαρμογή των ψαριών στις τροποποιημένες νέες υδρολογικές συνθήκες, οι οποίες επικρατούν πλέον στον ποταμό Νέστο μετά την έναρξη λειτουργίας των ΥΗΕ της ΔΕΗ Α.Ε.

Θα πρέπει να αναφερθούμε και στη σύγκριση των τεσσάρων πληθυσμών του είδους *S. macedonicus*. Όπως φαίνεται από την στατιστική ανάλυση στο Κεφάλαιο 3.3.5, δεν εντοπίστηκε η ύπαρξη μορφομετρικών διαφορών μεταξύ των τεσσάρων πληθυσμών. Η μη ύπαρξη μορφομετρικής διαφοροποίησης μεταξύ των τεσσάρων αυτών απομονωμένων πληθυσμών ίσως να οφείλεται στο γεγονός ότι ως είδος η Άγρια Πέστροφα διαβιεί σε περιοχές με υψηλή ροή και χαμηλής θερμοκρασίας νερά. Τέτοιες εντοπίζονται σε ορεινές περιοχές ποταμών, όπως συμβαίνει και με τους πληθυσμούς του Νέστου (σε όλες τις περιπτώσεις ανάντη των φραγμάτων). Δηλαδή, σε ποτάμια με παρόμοια αβιοτικά χαρακτηριστικά και άρα, δεν υπόκειται σε διαφορετικές αβιοτικές συνθήκες, όπως συμβαίνει με τα είδη *B. strumicae* και *A. strymonicus*. Προκειμένου να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματα της παραπάνω ανάλυσης, απαιτείται η συνέχιση της μελέτης των πληθυσμών του είδους στις περιοχές αυτές σε συνδυασμό με τη μελέτη της γενετικής σύστασης των πληθυσμών. Η συνέχιση της παρακολούθησης του είδους πρέπει να συνεχιστεί, αφού οι απομονωμένοι αυτοί πληθυσμοί απειλούνται από την καταστροφή των ενδιαιτημάτων τους. Όπως προαναφέρθηκε, η Άγρια Πέστροφα διαβιεί σε περιοχές με

υψηλή ροή και χαμηλής θερμοκρασίας νερά. Επομένως, σε ορεινές περιοχές με μεγάλο υψόμετρο. Οι περιοχές αυτές είναι συνήθως αδιατάρακτες και απουσιάζει απ' αυτές η οποιαδήποτε ανθρώπινη δραστηριότητα. Παρόλα αυτά, τα τελευταία χρόνια οι ανθρώπινες παρεμβάσεις προκαλούν πολλαπλές πιέσεις σε αυτά τα οικοσυστήματα. Τέτοιες είναι η παράνομη αλιεία (ηλεκτραλιεία, δυναμίτης, δίχτυα, φόλες κλπ.), αλλά και η προσπάθεια εκμετάλλευσης της μεγάλης υψομετρικής διαφοράς που χαρακτηρίζει τις περιοχές αυτές για ηλεκτροπαραγωγή, όπως γίνεται με την κατασκευή μικρών υδροηλεκτρικών έργων (ΙΜΥΗΕ) που αποκόπτουν ολόκληρα τμήματα των ποταμών αυτών απειλώντας όσα είδη ιχθύων διαβιούν εκεί.

## **Κεφάλαιο 5**

### **Γενετική ανάλυση πληθυσμών ιχθύων**



## 5. Γενετική ανάλυση και σύγκριση μεταξύ ιχθυοπληθυσμών που εντοπίζονται στους ποταμούς Στρυμόνα, Νέστο και Έβρο

### 5.1.Εισαγωγή

Η ταυτοποίηση και η σωστή ταξινομική κατάταξη των ειδών που αποτελούν την ιχθυοπανίδα ενός οικοσυστήματος αποτελεί το πρώτο και βασικότερο στάδιο στη διαδικασία παρακολούθησης της βιοποικιλότητας και την εκπόνηση διαχειριστικών σχεδίων για την προστασία τους (Dayrat 2005, Persis *et al.* 2009). Όπως έχει προαναφερθεί για τους κλάδους της εξελικτικής και ταξινομικής ιχθυολογίας, η κυριότερη πηγή πληροφοριών ταυτοποίησης των ιχθύων είναι η μελέτη της μορφολογίας τους (Bookstein 1982, Strauss & Fuiman 1985, Strauss & Bond 1990, Rohlf & Bookstein 1990, Turan 1999). Ωστόσο, η ύπαρξη διαφοροποιήσεων στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ψαριών διαπληθυσμιακά ή ακόμα και ενδοπληθυσμιακά αυξάνει τη δυσκολία ταυτοποίησης ενός είδους, δυσκολεύοντας και τη μελέτη της βιογεωγραφικής εξάπλωσης τους (Strauss & Fuiman 1985, Briolay *et al.* 1998, Zardoya & Doadrio 1999, Cunha *et al.* 2002, Rüber *et al.* 2007 και Triantafyllidis *et al.* 2011). Η διαφοροποίηση των μορφομετρικών και μεριστικών χαρακτήρων οφείλεται κυρίως στην πολύπλοκη αλληλοεπίδραση εξωγενών/περιβαλλοντικών παραγόντων με τον γενότυπο, τόσο κατά την εμβρυική ή λαρβική περίοδο (Ricker 1979, Lindsey 1988, Langeland & Nost 1995, Turan *et al.* 2006, Murta *et al.* 2008), όσο και κατά την ενήλικη περίοδο (Swain & Foote 1999, Liasko *et al.* 2012). Οι σημαντικότεροι παράγοντες είναι η θερμοκρασία (Hubbs 1922, Taning 1952, Lindsey 1958, 1962, Beacham 1990), η ταχύτητα του νερού (McLaughlin & Grant 1994, Simonovic *et al.* 1999, Lauder *et al.* 2002) και το υπόστρωμα του ενδιαιτήματος (Kerfoot & Schaefer 2006).

Παρά το ότι η μορφομετρία συνεχίζει να αποτελεί το ένα από τα κυριότερα εργαλεία που χρησιμοποιούν οι συστηματικοί και οι ταξινομιστές (Strauss & Bookstein 1982 και Strauss & Bond 1990), η εμφάνιση διαφορετικών μορφομετρικών χαρακτηριστικών έχει ως αποτέλεσμα τη λανθασμένη ταυτοποίηση των ειδών (Briski *et al.* 2011). Ακολούθως, αυτή η λανθασμένη ταυτοποίηση ειδών έχει ως αποτέλεσμα να μην αναγνωρίζονται σωστά σπάνια ή απειλούμενα είδη, τα οποία τελικά εξαφανίζονται (Bax *et al.* 2001). Προκειμένου να αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά το πρόβλημα αυτό, οι Hebert & Gregory (2005) πρότειναν τη χρήση μοριακών μεθόδων στη ταυτοποίηση των ειδών. Σύμφωνα με τους ίδιους, η εφαρμογή μοριακών μεθόδων συμβάλλει στην ακριβή και

γρήγορη ταυτοποίηση των ειδών. Η χρήση συστημάτων, όπως είναι του Γραμμωτού Κώδικα DNA (DNA Barcoding), η μελέτη δηλαδή μικρών τμημάτων του DNA, επιτρέπει την αναγνώριση ειδών με υψηλή ακρίβεια (Hebert & Gregory 2005). Επιπλέον, οι μοριακές μέθοδοι μπορούν να συμβάλλουν στην επίλυση ταξινομικών προβλημάτων, βοηθώντας στην αποκάλυψη κρυπτικών ειδών και αποσαφηνίζοντας την ταξινομική κατάταξη συνώνυμων ειδών (Alroy 2002, Hebert *et al.* 2004). Όπως αναφέρουν οι Persis *et al.* (2009), οι υπάρχουσες ταξινομικές ασάφειες είναι απόρροια της μορφολογικής και μεριστικής ομοιότητας μεταξύ των ειδών. Οι Bernardi *et al.* (2000), Ward *et al.* (2005) και Persis *et al.* (2009) αναφέρουν ότι η συνδυαστική εφαρμογή των κλασικών μεθόδων μορφομετρίας και σύγχρονων μοριακών μεθόδων στην ταυτοποίηση, αλλά και τη μελέτη των φυλογενετικών σχέσεων των ιχθύων οδηγεί ως επί το πλείστον σε συγκλίνοντα αποτελέσματα.

Η ιχθυοπανίδα της Μεσογειακής λεκάνης συντίθεται από έναν μικρό αριθμό οικογενειών, με κυριότερη και πολυπληθέστερη αυτή των Κυπρινοειδών (Cyprinidae) (Banarescu & Coad 1991, Kottelat & Freyhof 2007). Τα Κυπρινοειδή είναι η οικογένεια η οποία χαρακτηρίζεται από υψηλά ποσοστά ενδημισμού εξαιτίας και της γεωγραφικής απομόνωσης των οικοσυστημάτων που αυτά διαβιούν (Banarescu & Coad 1991, Zardoya & Doadrio 1999, Durand *et al.* 2002). Η αναγνώριση και η ταξινομική κατάταξη των κυπρινοειδών αποτελούσε πάντοτε πεδίο αντιπαράθεσης μεταξύ των ιχθυολόγων, καθώς η χρήση διαφορετικών μορφολογικών χαρακτήρων οδηγούσε σε διαφορετικά αποτελέσματα (Perea *et al.* 2010).

Η δυσκολία στην ταξινομική κατάταξη των διαφόρων ειδών αυξάνεται και από τις ανθρώπινες δραστηριότητες, οι οποίες εντείνουν την πίεση στο φυσικό περιβάλλον. Είναι οι δραστηριότητες αυτές που προκαλούν διαφοροποιήσεις στα μορφομετρικά χαρακτηριστικά ψαριών και επομένως, εύκολα μπορούν να ταυτοποιηθούν λάθος. Σύμφωνα με τους Neraas & Spruell (2001), Heggenes & Roed (2006) και Haponski *et al.* (2007), η ύπαρξη εμποδίων στη μετανάστευση των ψαριών, όπως είναι τα φραγμάτα μικρής ή μεγάλης κλίμακας, διακόπτει την επικοινωνία των πληθυσμών, άρα και τη γονιδιακή ροή μεταξύ αυτών, έχοντας ως συνέπεια την ανάπτυξη μορφολογικών διαφοροποιήσεων.

Οι συνέπειες του κατακερματισμού των οικοσυστημάτων και κατ' επέκταση, της γενετικής απομόνωσης των ιχθυοπληθυσμών αποτέλεσαν αντικείμενο μελέτης των τελευταίων δεκαετιών (Barthem *et al.* 1991, Lucas & Batley 1996, Wei *et al.* 1997, Ruban



1997, Neraas & Spruell 2001, Ovidio & Philippart 2002, Yamamoto *et al.* 2004 και Harpanski *et al.* 2007). Σήμερα, υπάρχουν πολλές μελέτες σχετικά με τις επιπτώσεις που έχει ο κατακερματισμός των ποτάμιων οικοσυστημάτων από τις ανθρωπογενείς δραστηριότητες στην ενδοειδική ποικιλότητα (Barthem *et al.* 1991, Wei *et al.* 1997, Ruban 1997, Neraas & Spruell 2001, Yamamoto *et al.* 2004, Hanski & Gaggiotti 2004, Heggenes & Roed 2006). Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η εκτίμηση του βαθμού της γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των άλλοτε ενιαίων πληθυσμών των ειδών *S. orpheus*, *B. strumicae* και *A. strymonicus* που εντοπίζονται στο ανάντη και το κατόντη τμήμα του ποταμού Νέστου. Παράλληλα, έγινε διερεύνηση των σχέσεων των αντίστοιχων πληθυσμών των ειδών *S. orpheus* και *B. strumicae* που διαβιούν στους ποταμούς Έβρο και Στρυμόνα.

## 5.2. Υλικά και μέθοδοι

### 5.2.1. Βιολογικό υλικό

Για τη εκτίμηση του βαθμού της γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών των ειδών *S. orpheus*, *B. strumicae* και *A. strymonicus* που εντοπίζονται ανάντη και κατόντη των φραγμάτων, αλλά και συγκριτικά με τους αντίστοιχους πληθυσμούς, οι οποίοι εντοπίζονται στους γειτονικούς ποταμούς Στρυμόνα και Έβρο, πραγματοποιήθηκε ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA σε δείγμα δέκα (10) ατόμων ανά είδος και ανά υδατικό σύστημα. Τα εν λόγω δείγματα συγκεντρώθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής κατανεμημένα ως εξής στα τρία συστήματα:

1. Ποταμός Νέστος:
  - a. *S. orpheus*: 5 άτομα ανάντη και 10 άτομα κατόντη,
  - b. *B. strumicae*: 5 άτομα ανάντη και 5 άτομα κατόντη,
  - c. *A. strymonicus*: 9 άτομα ανάντη και 6 άτομα κατόντη
2. Ποταμός Έβρος:
  - a. *S. orpheus*: 10 άτομα,
  - b. *B. strumicae*: 10 άτομα.
3. Ποταμός Στρυμόνας:
  - a. *S. orpheus*: 10 άτομα,
  - b. *B. strumicae*: 10 άτομα.

Λαμβάνοντας όλα τα απαραίτητα μέτρα για να διασφαλιστούν ασηπτικές συνθήκες, δηλαδή καθαρίσμα επιφάνειας πάγκου και εργαλείων (νυστέρι, λαβίδα) με αλκοόλη 70%, αφαιρέθηκε μυϊκός ιστός από την περιοχή κοντά στο ραχιαίο πτερύγιο, αφαιρώντας την επιδερμίδα και τα λέπια. Ο ιστός τοποθετήθηκε σε μικροφουαλίδιο Eppendorf, που περιείχε απόλυτη αιθανόλη και συντηρήθηκε σε θερμοκρασία  $-18^{\circ}\text{C}$ , μέχρι να πραγματοποιηθεί η απομόνωση του μιτοχονδριακού DNA.

### 5.2.2. Εργαστηριακές αναλύσεις

Η ανάλυση του γενετικού υλικού (DNA) είναι ένας συνδυασμός χημικών και βιολογικών διαδικασιών, οι οποίες διαχωρίζονται σε τέσσερα στάδια:

1. Την απομόνωση του γενετικού υλικού από το δείγμα μύος από τα υπό μελέτη ψάρια
2. Ενίσχυση (πολλαπλασιασμός) συγκεκριμένου τμήματος του DNA μέσω της Αλυσιδωτής Αντίδρασης της Πολυμεράσης (PCR)
3. Προσδιορισμός της αλληλουχίας του ενισχυμένου τμήματος του γενετικού υλικού (sequencing)
4. Ανάλυση των αποτελεσμάτων της αλληλούχισης και κατασκευή των ανάλογων φυλογενετικών δέντρων

Η όλη διαδικασία της απομόνωσης και ενίσχυσης του γενετικού υλικού είναι μια διαδικασία που απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή, προκειμένου να αποφευχθούν επιμολύνσεις των δειγμάτων, οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν είτε στην απώλεια δειγμάτων, είτε σε λανθασμένα αποτελέσματα. Για αυτόν το λόγο, κατά τη διάρκεια των εργαστηριακών εργασιών λήφθηκαν όλα τα απαραίτητα μέτρα που θα εξασφάλιζαν τη διατήρηση όσο το δυνατόν περισσότερο καθαρών συνθηκών στο χώρο εργασίας. Τέτοια ήταν η χρήση γαντιών, η αποστείρωση όλων των αναλώσιμων υλικών (κρυοφιαλίδια, ρύγχοι πιπετών, κτλ.), ο καθαρισμός πάγκου εργασίας πριν και μετά το πέρας των εργασιών κοκ.

### 5.2.3. Απομόνωση DNA

Η διαδικασία εξαγωγής και απομόνωσης του γενετικού υλικού στηρίχτηκε στη μεθοδολογία των Taggart *et al.* (1992). Σύμφωνα μ' αυτήν, προτείνεται η χρήση του χημικού αντιδραστήριου Hexacyltrimethylammonium Bromide (CTAB) για την εξαγωγή του ολικού γονιδιωματικού DNA από τα δείγματα. Η συγκεκριμένη διαδικασία ακολουθήθηκε δεδομένου ότι το CTAB είναι αντιδραστήριο που βοηθά στη διάσπαση των

κυτταρικών μεμβρανών και την καθίζηση όλων των πρωτεϊνών για δείγματα που συντηρήθηκαν σε αλκοόλη.

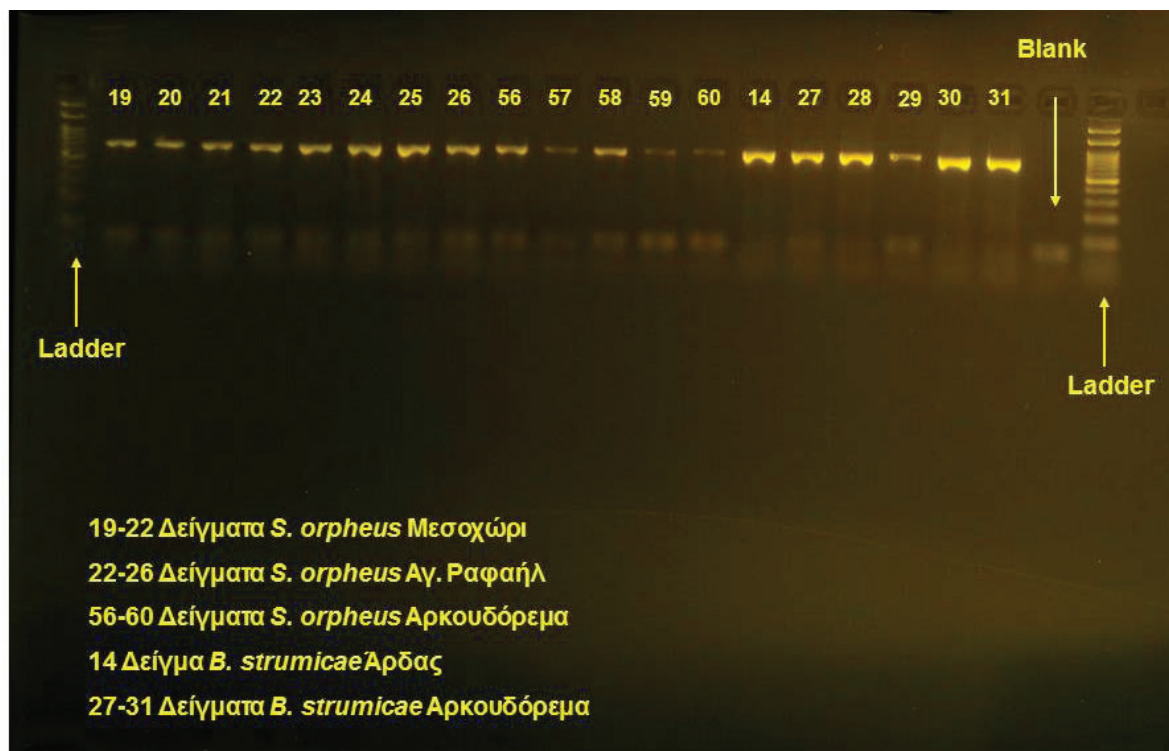
Καθώς ο ιστός διατηρήθηκε για αρκετό καιρό στην αλκοόλη, κρίθηκε απαραίτητο αυτή να απομακρυνθεί πριν την έναρξη της διαδικασίας απομόνωσης του γενετικού υλικού. Η απομάκρυνση της αλκοόλης επετεύχθη με την πλύση του ιστού με δις αποσταγμένο νερό. Για τον λόγο αυτόν, ο ιστός τοποθετήθηκε σε φιαλίδιο Eppendorf, το οποίο περιείχε 1000μl δις αποσταγμένο H<sub>2</sub>O. Τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε περιστρεφόμενο ανακινητή για μία περίπου ώρα ώστε να απομακρυνθεί η περίσσεια αλκοόλης. Μετά το πέρας της μίας ώρας, ξεκίνησε η διαδικασία απομόνωσης του γενετικού υλικού, η οποία περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

1. Ο μυϊκός ιστός του κάθε δείγματος μεταφέρθηκε από τα φιαλίδια Eppendorf με το δις απιονισμένο νερό σε καθαρά φιαλίδια, στα οποία είχαν προστεθεί 500 μl διαλύματος 2X CTAB (0,1 M Tris – HCl, 0,2 M EDTA, 1,4 M NaCl, 2% CTAB) σε καθένα από αυτά.
2. Σε κάθε φιαλίδιο προστέθηκε 10 μl διαλύματος πρωτεολυτικού ενζύμου. Τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 55°C για 2 – 4 ώρες, προκειμένου να επιτευχθεί η διάλυση των κυτταρικών πρωτεϊνών και η απελευθέρωση του DNA από τα νουκλεοσώματα.
3. Στη συνέχεια και προκειμένου να απομακρυνθούν όλα τα προϊόντα της διάσπασης των κυττάρων, προστέθηκε σε κάθε δείγμα 500 μl διαλύματος φαινόλης – αλκοόλης (250 μl φαινόλης: 250 μl διαλύματος χλωροφορμίου ισοαμυλικής αλκοόλης). Το κάθε δείγμα αναδεύτηκε έντονα και στη συνέχεια τοποθετήθηκε στον περιστροφικό αναδευτή για 10 λεπτά. Το διάλυμα φαινόλης, χλωροφορμίου – ισοαμυλικής αλκοόλης χρησιμοποιείται για τον καθαρισμό του DNA από τις πρωτεΐνες.
4. Τα δείγματα μετά το πέρας των 10 λεπτών στον περιστροφικό αναδευτή, φυγοκεντρήθηκαν για 10 λεπτά στις 13.000 στροφές ανά λεπτό.
5. Στη συνέχεια και με τη χρήση πιπέτας αφαιρέθηκε η υπερκείμενη (υδατική) φάση (300 – 400 μl) και μεταφέρθηκαν σε νέα αποστειρωμένα φιαλίδια Eppendorf.
6. Επαναλήφθηκαν τα στάδια 3, 4 και 5.
7. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η απομάκρυνση των υπολειμμάτων φαινόλης από την υπερκείμενη φάση ώστε να αποφευχθεί η καταστροφή του DNA. Γι' αυτό το

- λόγο προστέθηκαν 500 µl χλωροφορμίου σε κάθε δείγμα, και μετά από έντονη ανάδευση, τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον περιστροφικό αναδευτή για 10 λεπτά.
8. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 12.000 rpm για 10 λεπτά ώστε να καθιζάνουν τα όποια υπολείμματα πρωτεϊνών έχουν απομείνει. Η υπερκείμενη (υδατική) στιβάδα μεταφέρθηκε με τη χρήση πιπέτας σε νέα αποστειρωμένα φιαλίδια Eppendorf.
  9. Στα νέα φιαλίδια Eppendorf μαζί με την υδατική φάση προστέθηκε και 1 ml παγωμένης 100% αιθανόλης. Τα δείγματα μετά από ελαφριά ανάδευση, τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη για όλη τη διάρκεια της νύχτας. Η αιθανόλη ως ισχυρό αφυδατικό συμβάλει στην απομάκρυνση των μορίων νερού που υπάρχουν στο μόριο του DNA. Με την απομάκρυνση της υγρασίας, το DNA κατακρημνίζεται.
  10. Την επόμενη ημέρα τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 13.000 rpm για 20 λεπτά ώστε να καθιζάνει το αφυδατωμένο DNA.
  11. Αφαιρέθηκε η αιθανόλη και αντικαταστάθηκε με 1 ml αιθανόλης 75%. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον περιστροφικό ανακινητή για 1 ώρα. Το στάδιο αυτό είναι σημαντικό καθώς απομακρύνονται τα διάφορα άλατα από τα μόρια DNA.
  12. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 13.000 rpm για 5 λεπτά, ώστε να κατακρημνιστεί το DNA.
  13. Με ιδιαίτερη προσοχή και χρησιμοποιώντας πιπέτα αφαιρέθηκε η αιθανόλη. Στη συνέχεια, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν σε συσκευή Speedvac ώστε να απομακρυνθεί η αιθανόλη, πράγμα αδύνατο με τη χρήση της πιπέτας. Η λειτουργία της συγκεκριμένης φυγοκέντρου στηρίζεται στην ξήρανση των δειγμάτων υπό κενό και θερμοκρασία 37 °C. Έτσι, επιτυγχάνεται ο καθαρισμός των νουκλεϊκών οξέων από υδατικούς και μη υδατικούς διαλύτες.
  14. Εναιώρηση του DNA με την προσθήκη 100 µl διαλύματος TE. Τα δείγματα διατηρήθηκαν για 1 ημέρα στο ψυγείο στους 4°C, ωσότου ολοκληρωθεί η διάλυση του DNA και κατόπιν, τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη στους – 20 °C.

Για τον έλεγχο της ποιότητας του DNA και κατ' επέκταση, της διαδικασίας απομόνωσης του DNA πραγματοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση 5 µl διαλύματος DNA σε πηκτική αγαρόζης 1% w/v.

Η πηκτή αγαρόζης προετοιμάστηκε με την ανάμειξη 1,8 g αγαρόζης, 24 ml 5X TBE ρυθμιστικό διάλυμα, 96 ml αποσταγμένο H<sub>2</sub>O και 5 μl EtBr. Η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιήθηκε στα 112 V, για 40 λεπτά. Η πηκτή αγαρόζης, μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης, εξετάστηκε σε τράπεζα υπεριώδους φωτός (Εικόνα 5.1) και εφόσον το αποτέλεσμα ήταν θετικό, ακολούθησε η ενίσχυση με τη μέθοδο PCR.



**Εικόνα 5.1.** Παράδειγμα ηλεκτροφόρησης πηκτής αγαρόζης κατά την έκθεσή της σε τράπεζα υπεριώδους φωτός όπου διακρίνεται η ζώνη απομονωμένου γονιδιωματικού DNA.

**Figure 5.1.** Example of an agarose gel electrophoresis upon exposure to ultraviolet light, where the isolated genomic DNA is visible.

#### 5.2.4. Ενίσχυση με τη μέθοδο της PCR

Προκειμένου να επιτευχθεί η σύγκριση των πληθυσμών των ειδών *S. orpheus*, *B. strumicae* και *A. strymonicus* που εντοπίζονται στην ανάντη και την κατάντη περιοχή του ποταμού Νέστου, αλλά και με τους πληθυσμούς των *S. orpheus* και *B. strumicae* του Στρυμόνα και του Έβρου, επιλέχθηκε για μελέτη το γονιδιακό τμήμα της υπομονάδας I της οξειδάσης του κυτοχρώματος C (COI), μήκους 625 ζευγών βάσεων. Για τον πολλαπλασιασμό του γενετικού τόπου χρησιμοποιήθηκε ένα ζεύγος οικουμενικών (Universal) εκκινητών (Fish F1 και Fish R1), που πολλαπλασιάζουν το συγκεκριμένο

γονίδιο σε μεγάλο εύρος ζωικών ομάδων. Οι αλληλουχίες των εκκινητών και η κωδική ονομασία τους δίνονται στον Πίνακα 5.1.

**Πίνακας 5.1.** Οικουμενικοί εκκινητές Fish F1 και Fish R1 (Ward *et al.* 2005) που χρησιμοποιήθηκαν για την ενίσχυση του COI.

**Table 5.1.** The Universal primers Fish F1 and Fish R1 (Ward *et al.* 2005) that enable the amplification of the COI gene.

Γονίδιο	Όνομα	Εκκινητές
COI	Fish F1	5' – TCAACCAACCACAAAGACATTGGGAC' – 3
	Fish R1	5' – TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA' – 3

Οι αντιδράσεις της PCR πραγματοποιήθηκαν σε τελικό όγκο 25 µl, ενώ οι βέλτιστες συνθήκες για την ενίσχυση του μιτοχονδριακού τμήματος των ειδών που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.2. Οι αντιδράσεις πολλαπλασιασμού του γονιδιακού τμήματος πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του προγραμματιζόμενου θερμικού κυκλοποιητή (PTC – 200) της εταιρείας MJ Research.

**Πίνακας 5.2.** Οι βέλτιστες συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν για την ενίσχυση της υπομονάδας I της οξειδάσης του κυτοχρώματος C (COI).

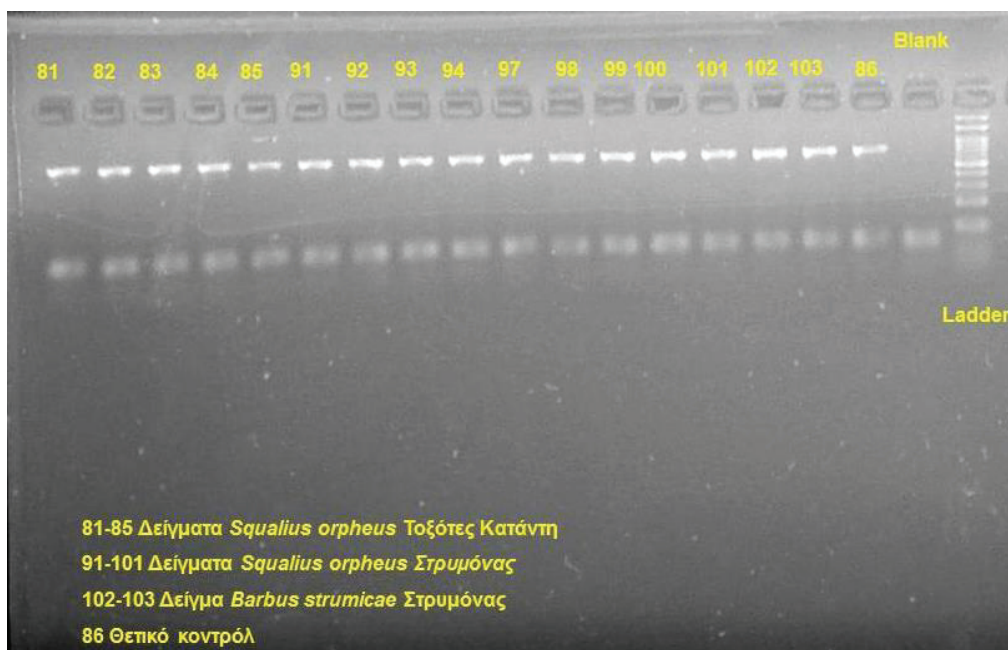
**Table 5.2.** The optimum conditions used for the amplification of the Cytochrome C oxidase subunit I (COI).

Συστατικά	Συγκέντρωση	Ποσότητες
Μητρικό DNA	100 ng	2,50 µl
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	0,50 µl
Εκκινητές Fish F1	100 pmol	0,25 µl
Εκκινητές Fish R1	100 pmol	0,25 µl
Πολυμεράση	5U	12,50 µl
Δις απεσταγμένο H <sub>2</sub> O		9µl

Ο θερμικός κυκλοποιητής προγραμματίστηκε ώστε να εκτελέσει τα εξής 7 στάδια προκειμένου να επιτευχθεί η ενίσχυση του γενετικού τόπου COI:

1. Αύξηση της θερμοκρασίας στους 95°C και παραμονή σε αυτήν για 2 min ώστε να επιτευχθεί η αποδιάταξη των αλυσίδων του DNA.
2. Μείωση της θερμοκρασίας στους 94°C και παραμονή σε αυτήν για 30 sec. Στο στάδιο αυτό συνεχίζονταν η αποδιάταξη του DNA.
3. Περαιτέρω μείωση της θερμοκρασίας στους 57°C και παραμονή σε αυτήν για 30 sec. Στο στάδιο αυτό πραγματοποιούνταν ο υβριδισμός των εκκινητών.

4. Αύξηση της θερμοκρασίας στους 72°C και παραμονή σ' αυτήν για 1 min. Στο στάδιο αυτό έχουμε την επιμήκυνση των συμπληρωματικών αλυσίδων.
5. Επανάληψη των σταδίων 2, 3 και 4 για 34 φορές.
6. Με την ολοκλήρωση των προηγούμενων 35 κύκλων, τα δείγματα παραμέναν σε θερμοκρασία 72°C για 10 min, ώστε να προστεθούν νουκλεοτίδια στις εναπομείναντες μονόκλωνες περιοχές.
7. Τέλος, μετά και την ολοκλήρωση του 6<sup>ου</sup> σταδίου τα δείγματα συντηρούνταν σε θερμοκρασία 4°C.



**Εικόνα 5.2.** Παράδειγμα ηλεκτροφόρησης πηκτής αγαρόζης κατά την έκθεσή της σε τράπεζα υπεριώδους φωτός όπου διακρίνονται τα ενισχυμένα τμήματα της μιτοχονδριακής περιοχής του COI. Στο τελευταίο δεξί κελί φαίνεται ο μάρτυρας μοριακών μεγεθών (Ladder). Η συγκεκριμένη κλίμακα είναι της τάξεως των 100 bp.

**Figure 5.2.** Example of an agarose gel electrophoresis upon exposure to ultraviolet light, where the amplified fragments of the mitochondrial region COI are visible. In the last right – hand cell the molecular weights marker can be observed. This is a 100 bp ladder.

Το προϊόν της κάθε αντίδρασης PCR ελέγχθηκε 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 120V. Η πηκτή αγαρόζης προετοιμάστηκε με την ανάμειξη 2,1 g αγαρόζης, 24 ml 5X TBE ρυθμιστικό διάλυμα, 96 ml αποσταγμένο H<sub>2</sub>O και 5 μl EtBr. Η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιήθηκε στα 112 V, για 40 λεπτά. Η πηκτή αγαρόζης μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης εξετάζονταν σε τράπεζα υπεριώδους φωτός (Εικόνα 5.2) για την ύπαρξη ζώνης DNA χαρακτηριστικού μεγέθους.

Το μέγεθος του τμήματος DNA διαπιστωνόταν με τη χρήση 100 bp ladder, που εμφανίζει στην ηλεκτροφόρηση ζώνες DNA γνωστού μεγέθους. Τα δείγματα με θετικό αποτέλεσμα αποθηκεύονταν στους  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , μέχρι να πραγματοποιηθεί ο καθαρισμός τους και η συνέχιση της διαδικασίας εύρεσης της πρωτοταγούς δομής (αλληλούχιση – sequencing) του γονιδιακού τμήματος του COI.

#### **5.2.5. Καθαρισμός και προσδιορισμός της αλληλουχίας των προϊόντων της PCR (sequencing)**

Το επόμενο στάδιο, μετά την ενίσχυση του γενετικού τόπου COI, περιλαμβάνει τη διαδικασία ανάλυσης της αλληλουχίας του τόπου COI. Όμως, προτού πραγματοποιηθεί η συγκεκριμένη διαδικασία, απαιτείται η απομάκρυνση όλων των προσμίξεων που απέμειναν στο δείγμα μετά το πέρας της απομόνωσής τους ή/και της διαδικασίας ενίσχυσης του μιτοχονδριακού τόπου (PCR), όπως ένζυμα, άλατα ή ολιγονουκλεοτίδια. Ο λόγος για τον οποίο είναι απαραίτητο το στάδιο αυτό είναι η μεγάλη ευαισθησία των αναλυτών που χρησιμοποιούνται για την αλληλούχιση.

Ο καθαρισμός των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του Nucleospin<sup>®</sup> Extract II της εταιρίας Macherey – Nagel, ακολουθώντας το πρωτόκολλο της εταιρείας. Το τελικό προϊόν του καθαρισμού κάθε δείγματος είχε όγκο 20μl και η ποιότητα καθαρισμού ελέγχθηκε με την ηλεκτροφόρηση 2 μl προϊόντος σε πηκτή αγαρόζης 2% w/v και με σύγκριση του αποτελέσματος με τις ζώνες γνωστής συγκέντρωσης DNA 100 bp ladder.

Η αλληλούχιση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε από την εταιρεία CeMIA, στην οποία στάλθηκε, εκτός από τα δείγματα προς αλληλούχιση, και ποσότητα των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν για την PCR.

#### **5.2.6. Στατιστική επεξεργασία των δεδομένων της ανάλυσης αλληλουχίας**

##### **5.2.6.1. Στοιχίση αλληλουχιών**

Η ανάλυση των δεδομένων της αλληλούχισης των δειγμάτων ξεκινάει με την στοιχίση (alignment) των αλληλουχιών. Η διαδικασία είναι απαραίτητη, καθώς συμβάλλει στον προσδιορισμό των ομόλογων θέσεων, από τις διαφορές των οποίων είναι δυνατός ο υπολογισμός των εξελικτικών σχέσεων των αλληλουχιών που μελετούνται (Simmons & Ochoterenam 2000). Η διαδικασία της διόρθωσης των όποιων ενθέσεων ή/και ελλείψεων



βάσεων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του λογισμικού Geneious v5.4 (Drummond *et al.* 2010).

#### 5.2.6.2. Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων

Η ανάλυση των αλληλουχιών συνεχίστηκε με τον υπολογισμό της διαφοροποίησης των αλληλουχιών. Η διαφοροποίηση αυτή μπορεί να υπολογιστεί με τη μέτρηση του αριθμού των νουκλεοτιδικών θέσεων. Οι τελευταίες διαφοροποιούν τις αλληλουχίες και αυτό ορίζεται ως γενετική απόσταση *p*-distance (*p*). Ο υπολογισμός των γενετικών αποστάσεων, δηλαδή, ο υπολογισμός των αποστάσεων *p* πραγματοποιήθηκε με βάση το διαπαραμετρικό μοντέλο Kimura-2-Parameters του Kimura (1980), όπως προτείνεται στο πλαίσιο του ερευνητικού προγράμματος Barcode of Life (Hebert *et al.*, 2003) και με τη χρήση του λογισμικού MEGA v5.05 (Tamura *et al.* 2011).

#### 5.2.6.3. Μέθοδοι φυλογενετικής ανάλυσης και στατιστικός έλεγχος των φυλογενετικών δένδρων

Η ανάλυση της φυλογένεσης πραγματοποιήθηκε με την υποβολή των δεδομένων σε ανάλυση Σύνδεσης Γειτόνων (Neighbor-Joining, NJ) σύμφωνα με την μεθοδολογία που προτείνεται από το πρόγραμμα Barcode of Life (Hebert *et al.*, 2003). Οι δοκιμασίες αυτές απέδωσαν φυλογενετικά δέντρα, των οποίων η στατιστική εγκυρότητα εξετάστηκε με την εφαρμογή της δοκιμασίας *bootstrap*.

Για τη φυλογενετική ανάλυση των αλληλουχιών του COI χρησιμοποιήθηκαν αλληλουχίες ειδών των οικογενειών *Squalius*, *Barbus* και *Alburnoides*, οι πληθυσμοί των οποίων διαβιούν σε οικοσυστήματα τόσο της Ελλάδας όσο και του εξωτερικού. Οι αλληλουχίες αυτές είναι διαθέσιμες μέσω της Βάσης δεδομένων Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Έτσι στην περίπτωση του είδους *S. orpheus*, 51 διαφορετικές αλληλουχίες ειδών του γένους *Squalius* από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας, αλλά και από το εξωτερικό, χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση Σύνδεσης Γειτόνων. Από τις 51 αυτές αλληλουχίες οι 19 χρησιμοποιήθηκαν ως εξωομάδες (outgroup) από τα είδη *S. prespensis* (πληθυσμός Πρέσπας), *S. orpheus* (πληθυσμός Κερκίνης), *S. cephalus* (πληθυσμός του ποταμού Sazava στην Τσεχία) και *S. vardarensis* (πληθυσμός της Λίμνης Δοϊράνης) (βλ. Παράρτημα I, Πίνακας I).

Για τη φυλογενετική ανάλυση των αλληλουχιών του COI των ειδών του γένους *Barbus* χρησιμοποιήθηκαν 38 διαφορετικές αλληλουχίες από διαφορετικές περιοχές της

Ελλάδας, αλλά και από το εξωτερικό. Συγκεκριμένα, εκτός από τα οκτώ (8) δείγματα του Νέστου, τα εννιά (9) δείγματα του Στρυμόνα και δέκα (10) του Έβρου, συμπεριλήφθηκαν πέντε (5) αλληλουχίες του πληθυσμού του είδους *B. strumicae*, του πληθυσμού που διαβιεί στη λίμνη Βόλβη, τρεις (3) αλληλουχίες του είδους *B. balcanicus*, του πληθυσμού της λίμνης Δοϊράνης και τέσσερις (4) αλληλουχίες του είδους *B. barbuis* που διαβιεί στον ποταμό Οήθε στην Τσεχίας (βλ. Παράρτημα I, Πίνακας II).

Για τη φυλογενετική ανάλυση των αλληλουχιών του COI χρησιμοποιήθηκαν 28 διαφορετικές αλληλουχίες ειδών του γένους *Alburnoides* από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας, αλλά και από το εξωτερικό. Συγκεκριμένα, εκτός από τα δέκα (10) δείγματα του Νέστου, συμπεριλήφθηκαν τρεις (3) αλληλουχίες του πληθυσμού του είδους *A. prespensis*, του πληθυσμού που διαβιεί στη λίμνη Μικρή Πρέσπα και 14 αλληλουχίες του είδους *A. bipunctatus* που διαβιεί στον ποταμό Vsetínská Bečva στην Τσεχίας (βλ. Παράρτημα I, Πίνακας III).

Η δοκιμασία *bootstrap* αποτελεί μία από τις πιο διαδεδομένες δοκιμασίες ελέγχου της στατιστικής εγκυρότητας ενός φυλογενετικού δέντρου (Felsenstein 1985). Αυτή η μέθοδος μιμείται τις επαναλαμβανόμενες δειγματοληψίες, μόνο που αντί να παίρνει νέα δείγματα από τους πληθυσμούς, κάνει δειγματοληψία εκ νέου από τα δείγματά μας. Δηλαδή, η δοκιμασία επιλέγει τυχαία νουκλεοτίδια από κάθε αλληλουχία, δημιουργώντας κατ' αυτόν τον τρόπο ένα νέο σύνολο ακολουθιών. Αυτές χρησιμοποιούνται στη δημιουργία ενός νέου δέντρου, με την ίδια μεθοδολογία που δημιουργήσαμε το αρχικό. Η διαδικασία της δημιουργίας νέων συνόλων ακολουθιών και δημιουργίας νέων δέντρων επαναλαμβάνεται αρκετές φορές, συνήθως 1.000. Στο τέλος της ανάλυσης, υπολογίζεται η τιμή *bootstrap*. Αυτή ουσιαστικά υποδεικνύει τις φορές που η συγκεκριμένη τοπολογία εμφανίστηκε σε όσα δέντρα προέκυψαν από τα 1.000 νέα σύνολα ακολουθιών. Σύμφωνα με τους Nei & Kumar (2000) και Brown (2006), εάν η τιμή *bootstrap* για μία διακλάδωση είναι ίση ή υψηλότερη του 80%, τότε η τοπολογία της διακλάδωσης χαρακτηρίζεται ως ισχυρή.

Η ανάλυση *bootstrap*, στο πλαίσιο της παρούσας μελέτη, πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού MEGA v5.05 (Tamura *et al.* 2011) και βάσει του διπαραμετρικού μοντέλου Kimura-2-Parameters του Kimura (1980). Τα φυλογενετικά δένδρα κατασκευάστηκαν με τη χρήση του λογισμικού FigTree v1.4.0 (Hebert *et al.*, 2003).

#### 5.2.6.4. Πληθυσμιακή ανάλυση

Η ανάλυση των δεδομένων ολοκληρώθηκε με την πληθυσμιακή ανάλυση.

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από την ανάλυση της πρωτοδιάταξης του COI πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer 2010). Με χρήση αυτού 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:

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

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

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

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

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

- 3) Ανάλυση μοριακής διακύμανσης (AMOVA): Η ανάλυση αυτή χρησιμοποιείται προκειμένου να διερευνηθεί η κατανομή της ενδοπληθυσμιακής και η διαπληθυσμιακής ποικιλότητας των υπό μελέτη πληθυσμών (Excoffier *et al.* 2010). Χρησιμοποιεί τη ανάλυση 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 ανάλυση F ελέγχεται, πραγματοποιώντας 1000 προσομοιώσεις.

### 5.3. Αποτελέσματα

#### 5.3.1. *Squalius orpheus*

Το είδος περιγράφηκε για πρώτη φορά στον ποταμό Έβρο από τους Kottelat & Economidis (2006), οι οποίοι υπέθεσαν ότι και οι αντίστοιχοι πληθυσμοί του γένους *Leuciscus* στον Στρυμόνα και τον Νέστο ανήκαν στο ίδιο είδος. Αργότερα, οι Kottelat &

Freyhof (2007) προσδιόρισαν την εξάπλωση του είδους από την λεκάνη απορροής του ποταμού Έβρου έως τη λεκάνη απορροής του Στρυμόνα.

Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης, έγινε ο προσδιορισμός της πρωτοταγούς δομής και η σύγκριση δειγμάτων από τέσσερις πληθυσμούς του είδους. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν δείγματα από τον πληθυσμό που διαβιεί στον ποταμό Στρυμόνα, δύο που διαβιούν στον ποταμό Νέστο (ανάντη και κατάντη των φραγμάτων) και ένα από την περιοχή του ποταμού Έβρου. Πραγματοποιήθηκε απομόνωση και ενίσχυση μιτοχονδριακού DNA από 35 συνολικά δείγματα και από τους τρεις ποταμούς. Όμως, κατά την αλληλούχιση των δειγμάτων, καλής ποιότητας πρωτοταγείς δομές ελήφθησαν από 31 δείγματα. Συγκεκριμένα, προσδιορίστηκε η δομή σε επτά δείγματα που προέρχονταν από τον πληθυσμό του Έβρου, εννέα δείγματα από τον πληθυσμό του Στρυμόνα και 15 δείγματα από τον πληθυσμό του ποταμού Νέστου, εκ των οποίων τα πέντε δείγματα προέρχονταν από τον ανάντη πληθυσμό και 10 από τον κατάντη.

Η ανάλυση των αλληλουχιών του COI των τεσσάρων πληθυσμών απέδωσε τμήματα 591 ζευγών βάσεων, ενώ στο σύνολο των δειγμάτων ανιχνεύθηκαν συνολικά εννέα πολυμορφικές νουκλεοτιδικές θέσεις. Στον Πίνακα 5.3 παρουσιάζεται η απλοτυπική και νουκλεοτιδική ποικιλότητα καθώς και ο αριθμός των απλοτύπων που βρέθηκαν κατά την ανάλυση των αλληλουχιών των δειγμάτων. Στον Πίνακα I του Παραρτήματος II παρουσιάζονται οι απλότυποι ενώ στον Πίνακα II παρουσιάζεται η κατανομή των απλοτύπων στους τρεις ποταμούς Στρυμόνα, Νέστο (ανάντη και κατάντη) και Έβρο.

**Πίνακας 5.3.** Η απλοτυπική ποικιλότητα και η νουκλεοτιδική ποικιλότητα των τεσσάρων πληθυσμών του *S. orpheus*. Όπου n ο αριθμός των ατόμων, H<sub>p</sub> οι απλότυποι, h η απλοτυπική ποικιλότητα και π η νουκλεοτιδική ποικιλότητα. Στην παρένθεση δίνεται τυπικό σφάλμα (±SE). Οι απλότυποι παρουσιάζονται στον Πίνακα I του Παραρτήματος II.

**Table 5.3.** The haplotype diversity and nucleotide diversity of the four populations of *S. orpheus* under study. Where n is the number of samples used, H<sub>p</sub> the haplotypes, h the haplotype diversity and π nucleotide diversity. In parentheses is given the standard error (± SE). The haplotypes are presented in Table 1 of the Annex II.

Υδατικό Σύστημα	n	H <sub>p</sub>	h (±SE)	π (±SE) (%)
Στρυμόνας	9	4	0,583 (±0,183)	0,179 (± 0,148)
Νέστος ανάντη	5	2	0,400 (±0,237)	0,068 (± 0,086)
Νέστος κατάντη	10	2	0,467 (±0,132)	0,079 (± 0,085)
Έβρος	7	4	0,714 (±0,181)	0,145 (± 0,132)
Συνολικά	31	7	0,739 (±0,054)	0,197 (± 0,145)

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της σύστασης των υπό μελέτη πληθυσμών με τη χρήση του λογισμικού Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer 2010). Όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.3, οι τιμές της Απλοτυπικής ποικιλότητας κυμάνθηκαν μεταξύ 0,400 και 0,739. Οι τιμές της Απλοτυπικής ποικιλότητας για τους πληθυσμούς του Νέστου υποδεικνύουν μέτρια ποικιλότητα του COI, με χαμηλή όμως νουκλεοτιδική ποικιλότητα.

Συνολικά, η απλοτυπική ποικιλότητα για όλους τους πληθυσμούς βρέθηκε ίση με 0,739. Οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ των πληθυσμών του Στρυμόνα, Νέστου και Έβρου παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.4. Όπως παρατηρείται, οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ των πληθυσμών κυμαίνονται από 0,01 έως 0,04, υποδεικνύοντας την ομοιότητα των πληθυσμών που, όπως προαναφέρθηκε, ανήκουν ταξινομικά στο ίδιο είδος.

**Πίνακας 5.4.** Οι τιμές των γενετικών αποστάσεων μεταξύ των τεσσάρων υπο μελέτη πληθυσμών του είδους *S. orpheus*.

**Table 5.4.** The genetic distances values' for the four under-study populations of the species *S. orpheus*.

	Στρυμόνας	Νέστος ανάντη	Νέστος κατάντη	Έβρος
Στρυμόνας				
Νέστος ανάντη	0,001			
Νέστος κατάντη	0,002	0,001		
Έβρος	0,003	0,003	0,004	

Το Ακριβές Κριτήριο Διαφοροποίησης με βάση τις απλοτυπικές συχνότητες (Exact Test of Sample Differentiation Based on Haplotype Frequencies) για  $p < 0,05$ , φανέρωσε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών του είδους *S. orpheus* (Πίνακας 5.5). Μεταξύ του ανάντη και του κατάντη πληθυσμού, διαπιστώνεται η ύπαρξη σημαντικής διαφοροποίησης ως προς τις συχνότητες των απλοτύπων.

**Πίνακας 5.5.** Τιμές πιθανότητας  $p$  για τη διαφοροποίηση ανάμεσα στους πληθυσμούς με βάση το ακριβές κριτήριο με βάση τις συχνότητες των απλοτύπων (στατιστικώς σημαντικές για  $p < 0,05$ ).

**Table 5.5.**  $P$  values of differentiation among the populations based on the exact test on the haplotype frequencies (statistical significant differences for  $p < 0.05$ ).

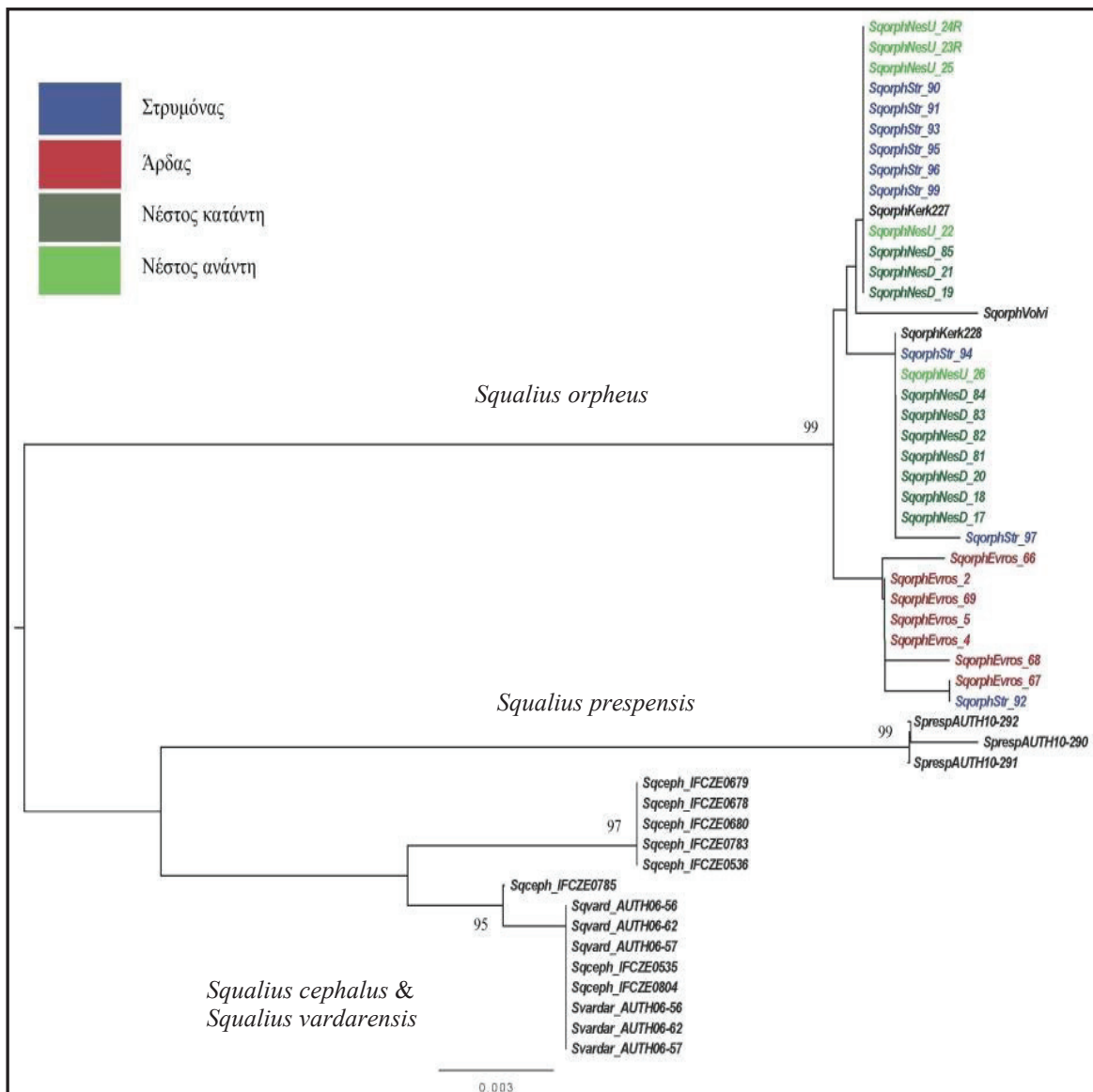
	Στρυμόνας	Νέστος ανάντη	Νέστος κατάντη	Έβρος
Στρυμόνας				
Νέστος ανάντη	0.0017 ( $\pm 0,001$ )			
Νέστος κατάντη	0,0000 ( $\pm 0,000$ )	0,0003 ( $\pm 0,001$ )		
Έβρος	0,0029 ( $\pm 0,005$ )	0,0114 ( $\pm 0,013$ )	0,0001 ( $\pm 0,000$ )	

**Πίνακας 5.6.** Αποτελέσματα από την ανάλυση μοριακής διακύμανσης (AMOVA) για το *S. orpheus*. Το ποσοστό γενετικής διαφοροποίησης και η πιθανότητα (p) που υπολογίστηκε από τις προσομοιώσεις δίνονται για κάθε ιεραρχικό επίπεδο ανάλυσης.

**Table 5.6.** Results of the hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) for *S. orpheus*. The percentage of variation and the probability (p) estimated from permutation tests are given at each hierarchical level.

	Κατανομή ποικιλότητας	% Συνολική Ποικιλότητα	Τιμές FST	P
Σύνολο των πληθυσμών	Μεταξύ των πληθυσμών	54,72	FST = 0,609	<0,05
	Εντός των πληθυσμών	39,15		

Συγκεκριμένα σημαντικές διαφορές εμφανίζει ο πληθυσμός του Έβρου με τους πληθυσμούς τόσο του Στρυμόνα όσο και με του Νέστου (ανάντη και κατάντη). Στο επόμενο στάδιο, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της μοριακής διακύμανσης (AMOVA) στο σύνολο των παραπάνω πληθυσμών. Τα αποτελέσματα φαίνονται συνολικά στον Πίνακα 4.6 και είναι στατιστικά σημαντικά για  $p < 0,05$ . Η ανάλυση του συνόλου των πληθυσμών έδειξε την ύπαρξη σημαντικού βαθμού γενετικής διαφοροποίησης ( $F_{ST}=0,609$ ), που οφείλεται σε διαφορές μεταξύ των πληθυσμών σε ποσοστό 54,72%. Χαρακτηριστικό της τοπολογίας αυτού του δέντρου (Εικόνα 5.3.) είναι ότι οι αλληλουχίες των πληθυσμών που μελετήθηκαν, δηλαδή του Έβρου, του Νέστου (ανάντη και κατάντη) και του Στρυμόνα ομαδοποιούνται στον ίδιο κλάδο.



**Εικόνα 5.3.** Δενδρόγραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Σύνδεσης Γειτόνων με βάση το μοντέλο Kimura-2-Parameters και απεικονίζει τις φυλογενετικές σχέσεις των αλληλουχιών που προέκυψαν κατά την ανάλυση του COI του mtDNA του είδους *S. orpheus*. Ως εξωομάδα χρησιμοποιήθηκαν τα είδη *S. prespensis*, *S. vardarensis* και το *S. cephalus*. Οι αριθμοί των κλάδων αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (1000 επαναλήψεις). Μόνο τιμές bootstrap μεγαλύτερες από 70% παρουσιάζονται.

**Figure 5.3.** Phylogenetic tree of the sequences of *B. strumicae* and *B. cyclolepis* recovered from the analysis of COI, estimated by the Neighbor-Joining method based on Kimura-2-Parameters model, using as outgroups the species *S. prespensis*, *S. vardarensis* and *S. cephalus*. Only bootstrap values based on 1000 replications higher than 70% are displayed.

Η ομαδοποίηση αυτή συμφωνεί με την ταξινομική κατάταξη των πληθυσμών με βάση της αναφορές των Kottelat & Economidis (2006) και Kottelat & Freyhof (2007). Επίσης, στον ίδιο κλάδο ομαδοποιούνται και οι πληθυσμοί του είδους στην Κερκίνη και τη Βόλβη. Επιπροσθέτως, παρατηρούμε τον διαχωρισμό των πληθυσμών του γένους που εντοπίζονται στη λίμνη Δοϊράνη και στη λίμνη Μικρή Πρέσπα, πληθυσμοί οι οποίοι ανήκουν στα είδη *Squalius vardarensis* και *Squalius prespensis* αντιστοίχως, αλλά και με το είδος *S. cephalus* του πληθυσμού που διαβιεί στον ποταμό Βεΐνα.

### 5.3.2. *Barbus strumicae*

Σύμφωνα με τους Kottelat & Freyhof (2007), καθώς και με τη μελέτη της φυλογένεσης του γένους *Barbus*, η οποία πραγματοποιήθηκε από τους Tsigenopoulos & Berrebi (2000), ο πληθυσμός του Έβρου ανήκει στο είδος *B. cyclolepis* ή *B. cyclolepis cyclolepis*, όπως αναφέρουν οι παραπάνω συγγραφείς. Οι πληθυσμοί τόσο του Νέστου, όσο και του Στρυμόνα ανήκουν στο είδος *B. strumicae* ή *B. cyclolepis strumicae*, σύμφωνα με τους Tsigenopoulos & Berrebi (2000). Όπως και στην περίπτωση του *S. orpheus*, έγινε ο προσδιορισμός της πρωτοταγούς δομής δειγμάτων και η σύγκριση δειγμάτων από τέσσερις πληθυσμούς του είδους. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν δείγματα από τον πληθυσμό που διαβιεί στον ποταμό Στρυμόνα, από τους δύο που διαβιούν στον ποταμό Νέστο (ανάντη και κατάντη των φραγμάτων) και τον έναν που διαβιεί στον ποταμό Έβρο. Πραγματοποιήθηκε απομόνωση και ενίσχυση μιτοχονδριακού DNA από 30 συνολικά δείγματα και από τους τρεις ποταμούς. Όμως, κατά την αλληλούχιση των δειγμάτων, καλής ποιότητας πρωτοταγείς δομές ελήφθησαν από 27 δείγματα. Αναλυτικότερα, προσδιορίστηκε η δομή σε 10 δείγματα που προέρχονταν από τον πληθυσμό του Έβρου, εννέα δείγματα από τον πληθυσμό του Στρυμόνα και οκτώ δείγματα από τον πληθυσμό του ποταμού Νέστου, εκ των οποίων τα τέσσερα δείγματα προέρχονταν από τον ανάντη πληθυσμό και τέσσερα από τον κατάντη.

Η ανάλυση των αλληλουχιών του COI των τεσσάρων πληθυσμών απέδωσε τμήματα 617 ζευγών βάσεων, ενώ στο σύνολο των δειγμάτων ανιχνεύθηκαν συνολικά τέσσερις πολυμορφικές νουκλεοτιδικές θέσεις. Στον Πίνακα 5.7 παρουσιάζεται η απλοτυπική και νουκλεοτιδική ποικιλότητα καθώς και ο αριθμός των απλοτύπων που βρέθηκαν κατά την ανάλυση των αλληλουχιών των δειγμάτων. Στον Πίνακα III του Παραρτήματος II παρουσιάζονται οι απλότυποι ενώ στον Πίνακα IV παρουσιάζεται η κατανομή των απλοτύπων στους τρεις ποταμούς Στρυμόνα, Νέστο (ανάντη και κατάντη)



και Έβρο. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της σύστασης των υπό μελέτη πληθυσμών με τη χρήση του λογισμικού Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer 2010). Όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.7, οι τιμές της Απλοτυπικής ποικιλότητας κυμάνθηκαν μεταξύ 0,2222 και 0,5556. Στην περίπτωση των πληθυσμών του ποταμού Νέστου, παρατηρείται μέτρια ποικιλότητα του COI, με χαμηλή όμως νουκλεοτιδική ποικιλότητα.

Οι γενετικές απόστασεις μεταξύ των πληθυσμών του Στρυμόνα, Νέστου και Έβρου παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.8. Όπως διαπιστώθηκε, ο πληθυσμός του Έβρου διαφοροποιήθηκε από τους άλλους τρεις πληθυσμούς (Νέστου και Στρυμόνα), καθώς η μέγιστη τιμή που λαμβάνει είναι ίση με 0,044 και 0,043. Οι τιμές αυτές είναι μεγαλύτερες από την απόσταση των άλλων πληθυσμών κατά μία τάξη μεγέθους, γεγονός που υποδηλώνει τη γενετική διαφοροποίηση του πληθυσμού από τους άλλους τρεις.

**Πίνακας 5.7.** Η απλοτυπική ποικιλότητα και η νουκλεοτιδική ποικιλότητα των τεσσάρων πληθυσμών του γένους *Barbus*. Όπου  $n$  ο αριθμός των ατόμων,  $H_p$  οι απλότυποι,  $h$  η απλοτυπική ποικιλότητα και  $\pi$  η νουκλεοτιδική ποικιλότητα. Στην παρένθεση δίνεται τυπικό σφάλμα ( $\pm SE$ ).

**Table 5.7.** The haplotype diversity and nucleotide diversity of the four populations of the genus *Barbus* under study. Where  $n$  is the number of samples used,  $H_p$  the haplotypes,  $h$  the haplotype diversity and  $\pi$  nucleotide diversity. In parentheses is given the standard error ( $\pm SE$ ).

Υδατικό Σύστημα	n	$H_p$	$h$ ( $\pm SE$ )	$\pi$ ( $\pm SE$ ) (%)
Στρυμόνας	9	2	0,222 ( $\pm 0,166$ )	0,036 ( $\pm 0,053$ )
Νέστος ανάντη	4	2	0,500 ( $\pm 0,265$ )	0,081 ( $\pm 0,100$ )
Νέστος κατάντη	4	2	0,500 ( $\pm 0,265$ )	0,081 ( $\pm 0,100$ )
Έβρος	10	2	0,556 ( $\pm 0,075$ )	0,090 ( $\pm 0,091$ )
Συνολικά	27	5	0,772 ( $\pm 0,042$ )	2,083 ( $\pm 1,079$ )

Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε έλεγχος της γεωγραφικής ετερογένειας μεταξύ των τεσσάρων πληθυσμών. Στο πλαίσιο του, παρατηρήθηκε η ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών στις απλοτυπικές συχνότητες μεταξύ των πληθυσμών του Στρυμόνα, του Νέστου και του Έβρου. Το Ακριβές Κριτήριο Διαφοροποίησης, με βάση τις απλοτυπικές συχνότητες (Exact Test of Sample Differentiation Based on Haplotype Frequencies) για  $p < 0,05$ , φανέρωσε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών του Στρυμόνα και των δύο πληθυσμών του Νέστου και του Έβρου (Πίνακας 5.9). Όσον αφορά τους πληθυσμούς του Νέστου, παρατηρείται η απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοροποίησης μεταξύ του ανάντη και κατάντη πληθυσμού του

Νέστου ( $p > 0,05$ ). Τέλος, παρατηρείται η στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση του πληθυσμού του Έβρου τόσο από τον πληθυσμό του Στρυμόνα, όσο και από τους δύο πληθυσμούς του Νέστου.

Στο επόμενο στάδιο, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της μοριακής διακύμανσης (AMOVA) στο σύνολο των παραπάνω πληθυσμών, καθώς και σε μικρότερες ομάδες. Τα αποτελέσματα φαίνονται συνολικά στον Πίνακα 5.10 και είναι στατιστικά σημαντικά για  $p < 0,05$ . Η ανάλυση του συνόλου των πληθυσμών έδειξε ότι υπάρχει υψηλός βαθμός γενετικής διαφοροποίησης ( $F_{ST} = 0,5261$ ), που οφείλεται σε διαφορές μεταξύ των πληθυσμών σε ποσοστό 52,61%.

**Πίνακας 5.8.** Οι τιμές των γενετικών αποστάσεων μεταξύ των τεσσάρων υπο μελέτη πληθυσμών του γένους *Barbus*.

**Table 5.8.** The genetic distances values' for the four under-study populations of the genus *Barbus*.

	Νέστος κατάντη	Στρυμόνας	Νέστος ανάντη	Έβρος
Νέστος κατάντη				
Στρυμόνας	0,001			
Νέστος ανάντη	0,001	0,001		
Έβρος	0,044	0,043	0,044	

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ανάλυση μεταξύ δύο ομάδων. Η μία περιελάμβανε τους πληθυσμούς του Στρυμόνα και τους δύο του Νέστου, ενώ η δεύτερη ομάδα περιελάμβανε τον πληθυσμό του Έβρου. Εδώ φαίνεται ότι οι διαφορές οφείλονται στον πληθυσμό του Έβρου, αφού από την ανάλυση προέκυψε βαθμός γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των δύο ομάδων 96,99%.

**Πίνακας 5.9.** Τιμές πιθανότητας  $p$  για τη διαφοροποίηση ανάμεσα στους πληθυσμούς με βάση το ακριβές κριτήριο με βάση τις συχνότητες των απλοτύπων (στατιστικώς σημαντικές για  $p < 0,05$ ).

**Table 5.9.**  $P$  values of differentiation among the population based on the exact test based on the haplotype frequencies (statistical significant differences for  $p < 0.05$ ).

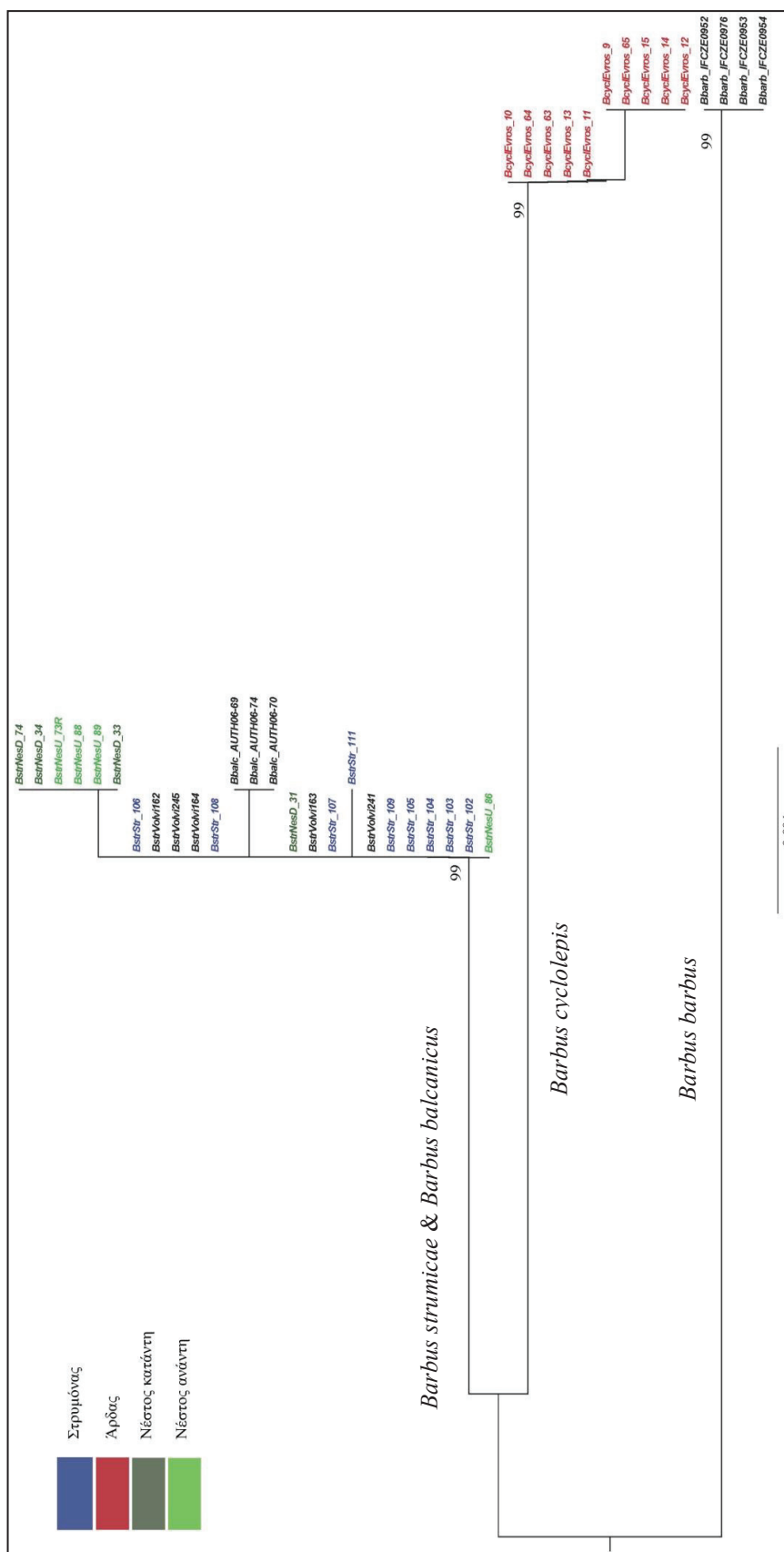
	Στρυμόνας	Νέστος ανάντη	Νέστος κατάντη	Έβρος
Στρυμόνας				
Νέστος ανάντη	0,0033 ( $\pm 0,0007$ )			
Νέστος κατάντη	0,0031 ( $\pm 0,0004$ )	0,0570 ( $\pm 0,0020$ )		
Έβρος	0,00007 ( $\pm 0,0001$ )	0,0015 ( $\pm 0,0003$ )	0,0013 ( $\pm 0,0002$ )	

Όπως παρατηρείται στην Εικόνα 5.4, οι αλληλουχίες των πληθυσμών που μελετήθηκαν, δηλαδή του Έβρου, του Νέστου (ανάντη και κατάντη) και του Στρυμόνα ομαδοποιούνται σε δύο κλάδους. Συγκεκριμένα, στον ένα κλάδο ομαδοποιούνται οι αλληλουχίες των δειγμάτων από τον Νέστο (ανάντη και κατάντη) και τον Στρυμόνα. Αντιθέτως, σε ξεχωριστό κλάδο τοποθετήθηκαν οι αλληλουχίες του πληθυσμού του Έβρου.

**Πίνακας 5.10.** Αποτελέσματα από την ανάλυση μοριακής διασποράς (AMOVA) για τους πληθυσμούς του γένους *Barbus*. Το ποσοστό γενετικής διαφοροποίησης και η πιθανότητα (p) που υπολογίστηκε από τις προσομοιώσεις δίνονται για κάθε ιεραρχικό επίπεδο ανάλυσης.

**Table 5.10.** Results of the hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) for the four populations of the genus *Barbus*. The percentage of variation and the probability (p) estimated from permutation tests are given at each hierarchical level.

	Κατανομή ποικιλότητας	% Συνολική Ποικιλότητα	Τιμές FST	p
Σύνολο των πληθυσμών	Μεταξύ των πληθυσμών	52,61	FST = 0,5261	0,000
	Εντός των πληθυσμών	47,39		
Στρυμόνας και Νέστος/ Έβρος	Μεταξύ των ομάδων	96,99	FCT = 0,9699	0,249
	Εντός των πληθυσμών	1,57	FST = 0,984	0,000



**Εικόνα 5.4.** Δενδρόγραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Σύνδεσης Γειτόνων με βάση το Kimura-2-Parameters μοντέλο και απεικονίζει τις φυλογενετικές σχέσεις των αλληλουχιών που αποκαλύφθηκαν από την ανάλυση του COI του mtDNA των ειδών *B. strumicae* και *B. cyclolepis*. Ως εξωομάδα χρησιμοποιήθηκαν τα είδη *B. balcanicus* και το *B. barbatus*. Οι αριθμοί των κλάδων αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (1000 επαναλήψεις). Μόνο τιμές bootstrap μεγαλύτερες από 70% παρουσιάζονται.

**Figure 5.4.** Phylogenetic tree of the sequences of *B. strumicae* and *B. cyclolepis* recovered from the analysis of COI, estimated by the Neighbor-Joining method based on Kimura-2-Parameters, using as outgroups the species *B. balcanicus* and *B. barbatus*. Only bootstrap values higher than 70% are displayed.

### 5.3.3. *Alburnoides strymonicus*

Τέλος, στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης έγινε ο προσδιορισμός και η σύγκριση της πρωτοταγούς δομής δειγμάτων από τους δύο πληθυσμούς του είδους *A. strymonicus* που εντοπίζονται στον ποταμό Νέστο. Πραγματοποιήθηκε απομόνωση και ενίσχυση μιτοχονδριακού DNA από 15 δείγμα συνολικά δείγματα. Όμως, κατά την αλληλούχιση των δειγμάτων, καλής ποιότητας πρωτοταγείς δομές ελήφθησαν από 10 δείγματα. Συγκεκριμένα, προσδιορίστηκε η δομή σε επτά (7) δείγματα, τα οποία προέρχονταν από τον ανάντη πληθυσμό και τρία (3) από τον κατάντη (Πίνακας 5.1).

Η ανάλυση των αλληλουχιών του COI των δύο πληθυσμών απέδωσε τμήματα 613 ζευγών βάσεων, ενώ στο σύνολο των δειγμάτων ανιχνεύθηκαν μία (1) πολυμορφική νουκλεοτιδική θέση. Στον Πίνακα 5.11 παρουσιάζεται η απλοτυπική και νουκλεοτιδική ποικιλότητα καθώς και ο αριθμός των απλοτύπων που βρέθηκαν κατά την ανάλυση των αλληλουχιών των δειγμάτων. Στον Πίνακα V του Παραρτήματος II παρουσιάζονται οι απλότυποι ενώ στον Πίνακα VI παρουσιάζεται η κατανομή των απλοτύπων στα δύο τμήματα του ποταμού Νέστου (ανάντη και κατάντη).

**Πίνακας 5.11.** Η απλοτυπική ποικιλότητα και η νουκλεοτιδική ποικιλότητα των τεσσάρων πληθυσμών του *A. strymonicus*. Όπου n ο αριθμός των ατόμων, H<sub>p</sub> οι απλότυποι, h η απλοτυπική ποικιλότητα και π η νουκλεοτιδική ποικιλότητα. Στην παρένθεση δίνεται τυπικό σφάλμα (±SE).

**Table 5.11.** The haplotype diversity and nucleotide diversity of the four populations of *A. strymonicus* under study. Where n is the number of samples used, H<sub>p</sub> the haplotypes, h the haplotype diversity and π nucleotide diversity. In parentheses is given the standard error (± SE).

Υδατικό Σύστημα	n	H <sub>p</sub>	h (±SE)	π (±SE) (%)
Νέστος ανάντη	7	2	0,286 (± 0,000)	0,047 (± 0,064)
Νέστος κατάντη	3	1	0,000 (±0,000)	0,000 (± 0,000)
Συνολικά	10	2	0,200 (± 0,154)	0,033 (± 0,050)

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της σύστασης των υπό μελέτη πληθυσμών με τη χρήση του λογισμικού Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer 2010). Όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.11, η τιμή της Απλοτυπικής ποικιλότητας για τον ανάντη πληθυσμό βρέθηκε ίση με 0,286 και για τον κατάντη 0,000.

Κατά την ανάλυση των αλληλουχιών με το Ακριβές Κριτήριο Διαφοροποίησης και βάσει των απλοτυπικών συχνοτήτων (Exact Test of Sample Differentiation Based on

Haplotype Frequencies), διαπιστώθηκε η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής γενετικής διαφοροποίησης ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των δύο πληθυσμών του Νέστου (Πίνακας 5.12). Ωστόσο, αυτή πιθανώς οφείλεται στο μικρό δείγμα.

**Πίνακας 5.12.** Τιμές πιθανότητας  $p$  για τη διαφοροποίηση ανάμεσα στους πληθυσμούς με βάση το ακριβές κριτήριο με βάση τις συχνότητες των απλοτύπων (στατιστικώς σημαντικές για  $p < 0,05$ ).

**Table 5.12.**  $P$  values of differentiation among the population based on the exact test based on the haplotype frequencies (statistical significant differences for  $p < 0.05$ ).

	Νέστος ανάντη	Νέστος κατάντη
Νέστος ανάντη		
Νέστος κατάντη	0,0085 ( $\pm 0,0005$ )	

Στο επόμενο στάδιο, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της μοριακής διασποράς (AMOVA) στους δύο παραπάνω πληθυσμούς. Τα αποτελέσματα φαίνονται συνολικά στον Πίνακα 5.13 και είναι στατιστικά σημαντικά για  $p < 0,05$ .

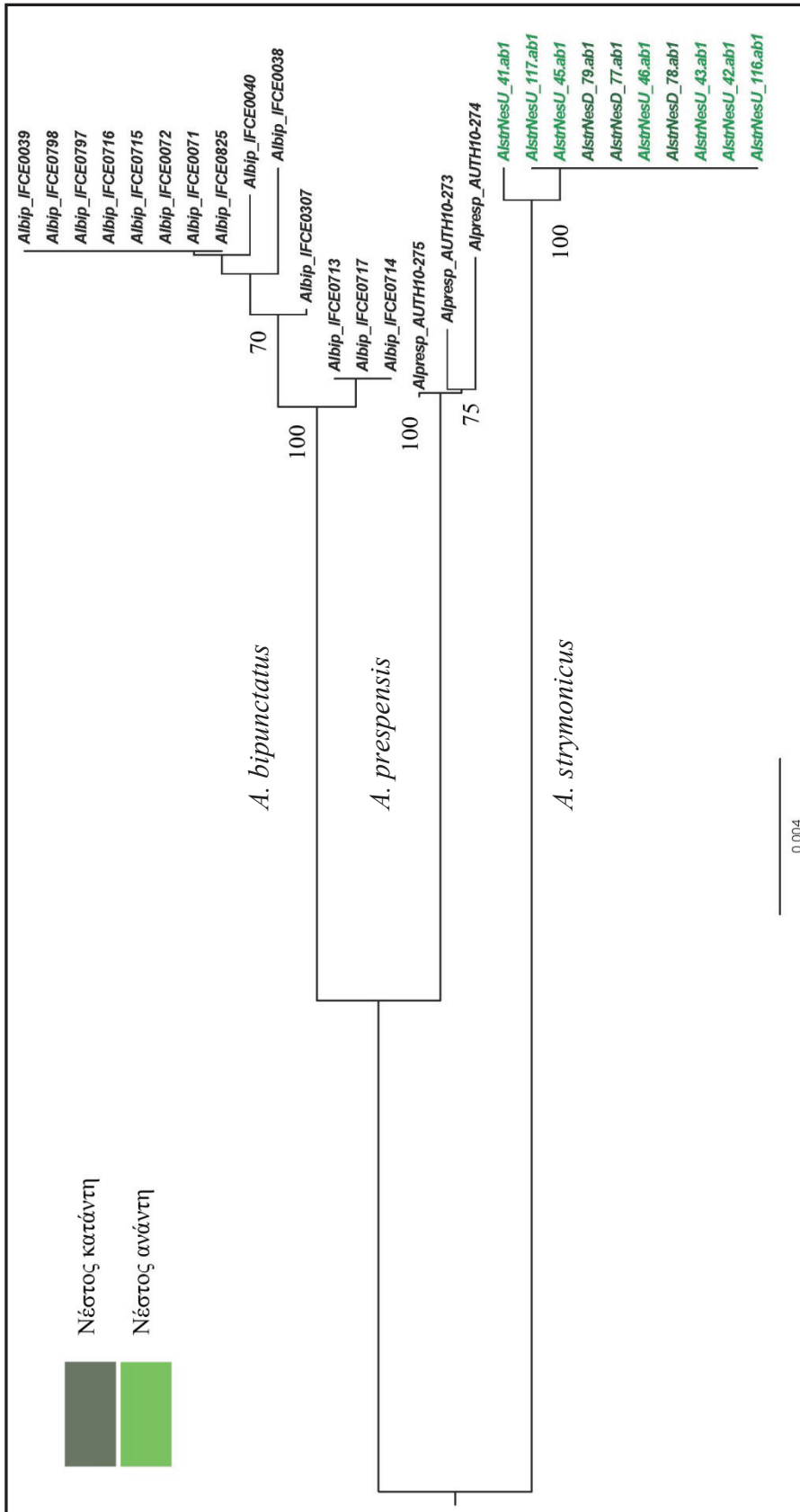
Η ανάλυση του συνόλου των πληθυσμών έδειξε ότι δεν υπάρχει κάποια γενετική διαφοροποίηση ( $F_{ST} = -0,1667$ ) μεταξύ του ανάντη και του κατάντη πληθυσμού του *A. strymonicus*.

**Πίνακας 5.13.** Αποτελέσματα από την ανάλυση μοριακής διασποράς (AMOVA) για το *A. strymonicus*. Το ποσοστό γενετικής διαφοροποίησης και η πιθανότητα ( $p$ ) που υπολογίστηκε από τις προσομοιώσεις δίνονται για κάθε ιεραρχικό επίπεδο ανάλυσης.

**Table 5.13.** Results of the hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) for *A. strymonicus*. 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	-16,67	-0,167	= 1,00
	Εντός των πληθυσμών	116,67		

Από την τοπολογία του δέντρου (Εικόνα 5.5) προκύπτει ότι οι αλληλουχίες των δύο πληθυσμών του Νέστου (ανάντη και κατάντη) ομαδοποιούνται σε έναν κλάδο και διαχωρίζονται από άλλα είδη, όπως είναι το *A. prespensis* και *A. bipunctatus*.



**Εικόνα 5.5.** Δενδρόγραμμα που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Σύνδεσης Γειτόνων με βάση το Kimura-2-Parameters μοντέλο και απεικονίζει τις φυλογενετικές σχέσεις των αλληλουχιών που αποκαλύφθηκαν από την ανάλυση του COI του mtDNA του είδους *A. strymonicus*. Ως εξωομάδα χρησιμοποιήθηκαν τα είδη *A. prespensis* και το *A. bipunctatus*. Στο δενδρόγραμμα, παρουσιάζονται οι τιμές bootstrap που προέκυψαν μετά από 1.000 επαναλήψεις και είχαν τιμή μεγαλύτερη του 70%.

**Figure 5.5.** Phylogenetic tree of the sequences of *A. strymonicus* recovered from the analysis of COI, estimated by the Neighbor-Joining method based on Kimura-2-Parameters, using as outgroups the species *A. prespensis* and *A. bipunctatus*. Only bootstrap values based on 1000 replications higher than 70% are displayed.

#### 5.4. Συζήτηση

Όπως προαναφέρθηκε στην Εισαγωγή αυτού του κεφαλαίου, το πρόβλημα της παρουσίας εμποδίων σε ένα ποτάμι και οι συνέπειες που μπορεί να έχουν αυτά στα υδρολογικά χαρακτηριστικά του, στην παρόχθια χλωρίδα και πανίδα, αλλά και στην ιχθυοπανίδα ενός υδατικού σώματος, αποτέλεσαν αντικείμενο μελέτης πολλών ερευνητών, όπως επί παραδείγματι των Barthem *et al.* (1991), Haponski *et al.* (2007), Blob *et al.* (2008) και AnvariFar *et al.* (2011).

Μία από τις επιπτώσεις λόγω της παρουσίας εγκάρσιων εμποδίων στα ποτάμια συστήματα, για την οποία μάλιστα δε δίνεται η δέουσα σημασία, είναι και η διακοπή της γονιδιακής ροής μεταξύ των πληθυσμών του ίδιου είδους, εξαιτίας της γεωγραφικής απομόνωσης των πληθυσμών ανάντη και κατόντη των φραγμάτων (Haponski *et al.* 2007, Andre *et al.* 2010, AnvariFar *et al.* 2011) με τελικό αποτέλεσμα τη γενετική διαφοροποίηση των πληθυσμών (Meldgaard *et al.* 2003). Σύμφωνα με τους Yamamoto *et al.* (2004), οι ανθρωπογενείς δραστηριότητες, οι οποίες προκαλούν τον κατακερματισμό των οικοσυστημάτων και κατ' επέκταση την απομόνωση των ιχθυοπληθυσμών, είναι πιθανό να προκαλέσουν γενετική διαφοροποίηση των υποπληθυσμών. Οι AnvariFar *et al.* (2011) και Jager *et al.* (2001) υποστηρίζουν ότι ο κατακερματισμός των ποτάμιων οικοσυστημάτων μπορεί να προκαλέσει την αλλοίωση των μεταναστευτικών μετακινήσεων μεταξύ των πληθυσμών των ψαριών και την απομόνωση των «γενετικών αποθεμάτων», απομονωμένων δηλαδή αναπαραγωγικών μονάδων με διαφορετική γενετική σύνθεση μεταξύ τους (Carvalho & Hauser 1994).

Οι Meldgaard *et al.* (2003) αναφέρουν ότι ένα φράγμα μπορεί να αποτελέσει ένα σημαντικό παράγοντα για την αύξηση της γενετικής ποικιλομορφίας, εξαιτίας της διακοπής της αμφίδρομης γονιδιακής ανταλλαγής. Οι Yamamoto *et al.* (2004) κατά τη μελέτη της γενετικής σύστασης των πληθυσμών του είδους *Salvelinus leucomaenis*, που διαβιεί σε τρεις διαφορετικούς ποταμούς, Ken-ichi, Hitozuminai και Haraki στο νησί Hokkaido της Ιαπωνίας, διαπίστωσαν την ύπαρξη υψηλής γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των ανάντη και κατόντη τμημάτων των φραγμάτων που εντοπίζονται σ' αυτούς τους ποταμούς. Τα περισσότερα από τα εντοπισμένα σ' αυτούς τους τρεις ποταμούς φράγματα κατασκευάστηκαν τη δεκαετία του 1970 και εμπόδιζαν την αμφίδρομη γονιδιακή ροή μεταξύ των ιχθυοπληθυσμών. Συγκεκριμένα, διαπίστωσαν ότι και οι πέντε μικροδορυφορικοί τόποι που μελέτησαν ήταν πολυμορφικοί, με τον συνολικό αριθμό των



αλληλομόρφων που ανιχνεύθηκαν σε κάθε γενετικό τόπο να κυμαίνεται από 2 έως 24. Επίσης, οι παραπάνω συγγραφείς αναφέρουν ότι ο ανάντη πληθυσμός του είδους παρουσίασε χαμηλή γενετική ποικιλότητα συγκριτικά με τον κατάντη πληθυσμό.

Επίσης, οι Laroche & Durand (2004), διαπίστωσαν υψηλή γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών του είδους *Zingel asper* στους ποταμούς Drome, Beaume και Durance στη Γαλλία. Η διαφοροποίηση αυτή, σύμφωνα πάντα με τους συγγραφείς, αποδόθηκε στον κατακερματισμό των ενδιαιτημάτων, λόγω των ανθρώπινων δραστηριοτήτων (κατασκευή φραγμάτων), με αποτέλεσμα τη διακοπή της γονιδιακής ροής και την εμφάνιση φαινομένων στενωπού (genetic bottleneck).

Αντιθέτως, οι Haronski *et al.* (2007), οι οποίοι μελέτησαν τη γενετική διαφοροποίηση των μη μεταναστευτικών ειδών *Etheostoma blennioides* και *Percina caprodes* στον ποταμό Cuyahoga του Οχάιο των ΗΠΑ, διαπίστωσαν την απουσία οποιασδήποτε γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών του ανάντη και του κατάντη τμήματος του ποταμού, παρά το γεγονός ότι το συγκεκριμένο φράγμα κατασκευάστηκε το 1817. Η απουσία γενετικής διαφοροποίησης των πληθυσμών αποδόθηκε από τους Haronski *et al.* (2007) στη δυνατότητα των ψαριών να μεταναστεύουν προς το κατάντη τμήμα του ποταμού και επομένως, την ύπαρξη γονιδιακής ροής.

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, έγινε προσπάθεια εκτίμησης του βαθμού της γενετικής διαφοροποίησης/απόστασης μεταξύ των άλλοτε ενιαίων πληθυσμών των ειδών *S. orpheus*, *B. strumicae* και *A. strymonicus* που εντοπίζονται στο ανάντη και το κατάντη τμήμα του ποταμού Νέστου και σύγκριση με τους αντίστοιχους πληθυσμούς των ειδών *S. orpheus* και *B. strumicae* που διαβιούν στους ποταμούς Έβρο και Στρυμόνα.

Όσον αφορά το είδος *S. orpheus*, κατά τον προσδιορισμό της πρωτοταγούς αλληλουχίας του γενετικού τόπου του κυτοχρώματος C της οξειδάσης I (COI) και βάσει των τιμών των γενετικών αποστάσεων, διαπιστώθηκε η ομοιότητα των πληθυσμών του Νέστου, του Στρυμόνα και του Έβρου, οι οποίοι, όπως προαναφέρθηκε, ταξινομικά ανήκουν στο ίδιο είδος. Μεταξύ των τεσσάρων αυτών πληθυσμών, σύμφωνα με τις τιμές FST που προέκυψαν από την ανάλυση των δεδομένων με το Διαπαραμετρικό μοντέλο Kimura (Kimura-2-parameter), διαπιστώθηκε η ύπαρξη γενετικής διαφοροποίησης. Η διαφοροποίηση αυτή, στην περίπτωση των δύο πληθυσμών του Νέστου (Ακριβές Κριτήριο Διαφοροποίησης με βάση τις απλοτυπικές συχνότητες Πίνακας 5.5), οφείλεται πιθανόν στην παρουσία των φραγμάτων, τα οποία εμποδίζουν την ελεύθερη επικοινωνία των

πληθυσμών αυτών. Στην περίπτωση της σύγκρισης των πληθυσμών των τριών ποταμών, η διαφοροποίησή τους είναι αποτέλεσμα της γεωγραφικής τους απομόνωσης, όπως διαπιστώθηκε και για το είδος *Oncorhynchus clarkii* (Loxterman & Keeley 2012). Σύμφωνα με τους Loxterman & Keeley (2012) και Via (2002), η γενετική ποικιλότητα που παρατηρήθηκε στο είδος *O. clarkii*, οφειλόταν στη γεωγραφική απομόνωση. Επομένως, στην περιορισμένη έως καθόλου γονιδιακή ροή μεταξύ των πληθυσμών. Όμως, κατά τη φυλογενετική ανάλυση του COI και οι τέσσερις πληθυσμοί κατατάσσονται στον ίδιο κλάδο, κάτι που συμφωνεί με τη συστηματική κατάταξη των πληθυσμών αυτών σε ένα είδος, όπως προτείνουν οι Kottelat & Freyhof (2007).

Όσον αφορά το είδος *B. strumicae*, οι τιμές των γενετικών αποστάσεων δείχνουν τον διαχωρισμό των τεσσάρων πληθυσμών σε δύο ομάδες. Στην πρώτη, περιλαμβάνονται οι πληθυσμοί του Νέστου (ανάντη και κατάντη) και του Στρυμόνα, ενώ στη δεύτερη ο πληθυσμός του Έβρου. Το Ακριβές Κριτήριο Διαφοροποίησης με βάση τις απλοτυπικές συχνότητες επιβεβαίωσε την ομοιότητα μεταξύ των δύο πληθυσμών του Νέστου (ανάντη και κατάντη πληθυσμοί). Αντιθέτως, η δοκιμασία διαφοροποίησε τους πληθυσμούς του Στρυμόνα και του Νέστου από τον αντίστοιχο του Έβρου. Η υψηλή διαφοροποίηση του πληθυσμού του Έβρου από τους υπόλοιπους τρεις θεωρείται αναμενόμενη, καθώς ταξινομικά αυτός ο πληθυσμός, σύμφωνα με τους Kottelat & Freyhof (2007), κατατάσσεται στο είδος *B. cyclolepis* Heckel, 1837. Εξάλλου, σύμφωνα με τη φυλογενετική ανάλυση του COI, οι τέσσερις πληθυσμοί κατατάσσονται σε δύο κλάδους, με τον πρώτο να περιλαμβάνει τους πληθυσμούς του Στρυμόνα και του Νέστου και τον δεύτερο τον πληθυσμό του Έβρου. Η ομαδοποίηση αυτή συμφωνεί με την ταξινομική κατάταξη των πληθυσμών με βάση της αναφορές των Kottelat & Freyhof (2007), αλλά και με τη μελέτη της φυλογένεσης του γένους *Barbus* που πραγματοποιήθηκε από τους Tsigenopoulos & Berrebi (2000). Σύμφωνα με τους παραπάνω συγγραφείς, ο πληθυσμός του Έβρου ανήκει στο είδος *B. cyclolepis* ή *B. cyclolepis cyclolepis*, όπως το αναφέρουν Tsigenopoulos & Berrebi (2000). Οι πληθυσμοί τόσο του Νέστου, όσο και του Στρυμόνα ανήκουν στο είδος *B. strumicae* ή *B. cyclolepis strumicae* (όπως αναφέρεται από τους Tsigenopoulos & Berrebi (2000)).

Τέλος, όσον αφορά το είδος *A. strymonicus*, λόγω του γεγονότος ότι ήταν εφικτή η συγκέντρωση δειγμάτων μόνο από την περιοχή του ποταμού Νέστου, πραγματοποιήθηκε σύγκριση αποκλειστικά μεταξύ του ανάντη και του κατάντη πληθυσμού. Η εφαρμογή του Ακριβούς Κριτηρίου Διαφοροποίησης με βάση τις απλοτυπικές συχνότητες υπέδειξε την

παρουσία σημαντικής διαφοροποίησης μεταξύ των δύο πληθυσμών. Το αποτέλεσμα της παραπάνω ανάλυσης γίνεται αποδεκτό με επιφύλαξη, καθώς η ανάλυση AMOVA δεν εντόπισε την ύπαρξη γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών. Μία πιθανή εξήγηση των αποτελεσμάτων αυτών είναι η διαφορά στο μέγεθος των δειγμάτων των δύο πληθυσμών (επτά άτομα από τον ανάντη πληθυσμό και τρία από τον κατάντη) που χρησιμοποιήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής και η ύπαρξη ελάχιστων κατάντη δειγμάτων.

Όπως αναφέρουν και πολλοί συγγραφείς, οι Taylor *et al.* (2003), Gomez-Uchida *et al.* (2009) και Faulks *et al.* (2010), η παρουσία μεγάλων ορεινών όγκων μεταξύ γειτονικών λεκανών απορροής ή ακόμα και η παρουσία εμποδίων εντός των λεκανών που απομονώνουν τους ιχθυοπληθυσμούς οδηγούν στην εμφάνιση γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των επιμέρους πληθυσμών. Καθώς προκύπτει και από τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής, μόνο για το είδος *S. orpheus* φαίνεται να υπάρχει διαφοροποίηση στους ανάντη και κατάντη πληθυσμούς ενώ για τα άλλα δύο υπό μελέτη είδη (*B. strumicae* και *A. strymonicus*) δεν υπάρχουν αρκετές ενδείξεις που να υποστηρίζουν τέτοια διαφοροποίηση. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στο μικρό χρονικό διάστημα της διακοπής της ελευθεροεπικοινωνίας τους από την ολοκλήρωση της κατασκευής του πρώτου ΥΗΕ της ΔΕΗ Α.Ε. (23 χρόνια).



## **Κεφάλαιο 6**

**Μελέτη της βιολογίας του είδους *Barbus strumicae* Karaman, 1955**



## 6. Μελέτη της βιολογίας του είδους *Barbus strumicae*

### 6.1. Εισαγωγή

Η μελέτη της βιολογίας αποτελεί μία μέθοδο περιγραφής ενός είδους χρησιμοποιώντας μια σειρά χαρακτηριστικών του, τα οποία οι Hoenig & Gruber (1990) χαρακτηρίζουν ως βιολογικά επεισόδια και αντιδράσεις (*biological episodes and responses*). Τα βιολογικά αυτά επεισόδια συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της ζωής των ατόμων του είδους και αποτελούν ένα είδος απόκρισης / στρατηγικής των οργανισμών στις μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες. Σύμφωνα με τον Horn (1978), στα χαρακτηριστικά αυτά περιλαμβάνονται η ανάπτυξη, η αύξηση και κυρίως, η αναπαραγωγή.

Σύμφωνα με τους Bagenal & Tensch (1978), Pauly (1984) και Weatherley & Gill (1987), ο προσδιορισμός της ηλικιακής δομής του πληθυσμού ενός είδους σε συνδυασμό με τα μήκη και τα βάρη των ψαριών συμβάλλει στην πλήρη κατανόησή του. Δηλαδή, της ηλικιακής σύνθεσης των πληθυσμών του είδους, της αύξησής τους, της ηλικία της πρώτης γεννητικής ωρίμανσης, αλλά ακόμα και της θνησιμότητά τους, στοιχεία απαραίτητα για τη γνώση της οικολογίας του.

Ο Nikolsky (1969) περιγράφει την αύξηση ως μία μέθοδο έκφρασης της ανάπτυξης, κατά τη διάρκεια της οποίας το ψάρι αυξάνει σε μήκος και σε βάρος. Ο συσχετισμός κατά βάρος ή κατά μήκος αύξησης με το χρόνο εκφράζει τον ρυθμό αύξησης των ψαριών και αποτελεί μία από τις πιο διαδεδομένες μεθοδολογίες μελέτης των ιχθυοπληθυσμών (Bagenal & Tesch 1978). Η μελέτη των χαρακτηριστικών αυτών δίνει απαντήσεις στα ερωτήματα σχετικά με τη σύνθεση ενός πληθυσμού, τη διάρκεια ζωής του, τη θνησιμότητα και την ηλικία κατά την πρώτη γεννητική ωριμότητα (Bagenal & Tesch 1978). Όλες αυτές οι πληροφορίες είναι ιδιαίτερα σημαντικές στον προσδιορισμό και στη διαχείριση των ιχθυοαποθεμάτων (Pauly *et al.* 1984, Winemiller & Rose 1992, Λεονάρδος 1996). Σύμφωνα με τους Balon & Noakes (1980), η ανάπτυξη περιλαμβάνει πέντε κύρια στάδια οντογένεσης: έμβρυο, προνύμφη, ανήλικο, ενήλικο και γέρικο.

Οι Pauly *et al.* (1984) επισημαίνουν τη σημαντικότητα της γνώσης του ρυθμού αύξησης στη σύγκριση πληθυσμών του ίδιου είδους που διαβιούν σε διαφορετικά οικοσυστήματα. Η σύνδεση των χαρακτηριστικών αυτών με τη μεταβλητότητα των περιβαλλοντικών συνθηκών από τους Hoenig & Gruber (1990) υποδεικνύουν την πλαστικότητα τους. Αυτή επιτρέπει τα ψάρια να προσαρμόζονται τη στρατηγική τους, κυρίως την αναπαραγωγική (Wootton 1984), με τέτοιο τρόπο ώστε να αντεπεξέρχονται

στις νέες περιβαλλοντικές συνθήκες και να θεωρηθεί αυτή επιτυχής (Bond 1979, Rochet 2000).

Οι Οικονομίδης κ.ά. (2009) αναφέρουν ότι τα ψάρια, όπως όλοι οι ποικιλόθερμοι οργανισμοί, παρουσιάζουν μία συνεχόμενη αύξηση (αυξάνονται, δηλαδή, συνεχώς καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους). Το τελικό μέγεθος ενός ψαριού καθορίζεται από την κληρονομικότητα, αλλά και από την ποσότητα και την ποιότητα της διαθέσιμης φυσικής τροφής (Wootton 1992). Οι Adams & McLean (1985) αναφέρουν ότι η αύξηση των ιχθύων εξαρτάται άμεσα από την επίδραση τόσο βιοτικών, όσο και αβιοτικών παραγόντων, όπως είναι για παράδειγμα η θερμοκρασία, η τροφή, η φωτοπερίοδος και το pH. Η επίδραση παραγόντων, όπως η θερμοκρασία, είναι ιδιαίτερα σημαντική στις εύκρατες περιοχές. Τέτοιες είναι τα ποτάμια της Μεσογειακής Λεκάνης, τα οποία χαρακτηρίζονται από συχνές μεταβολές της ροής τους και της θερμοκρασίας του νερού, επηρεάζοντας πολλές παραμέτρους της βιολογίας των ειδών που διαβιούν σ' αυτές (Adams 1980, Wootton 1984, Herrera & Fernandez – Delgado 1991, Del Mar Torralva *et al.* 1997, Vasiliou & Economidis 2005). Για παράδειγμα, σύμφωνα με τον Tesch (1968), η διακύμανση της θερμοκρασίας προκαλεί και διακύμανση του ρυθμού αύξησης. Έτσι, το καλοκαίρι, οπότε και αυξάνεται η θερμοκρασία του νερού, παρατηρείται αύξηση και του ρυθμού αύξησης των ιχθύων. Αντιθέτως, τον χειμώνα, οπότε και έχουμε πτώση της θερμοκρασίας, παρατηρείται αισθητή μείωση του ρυθμού αύξησης (Tesch 1968, Bagenal 1974).

Σημαντικό ρόλο στη μελέτη των βιολογικών χαρακτηριστικών και της δυναμικής των ιχθυοπληθυσμών ενός είδους είναι και η περιγραφή των αναπαραγωγικών στρατηγικών και η αξιολόγηση της γονιμότητάς τους (Hunter *et al.* 1992). Τα ψάρια ακολουθούν διαφορετικούς τρόπους αναπαραγωγής ή διαφορετικές αναπαραγωγικές στρατηγικές, προκειμένου να επιτύχουν υψηλή βιωσιμότητα των απογόνων τους (Bond 1979, Wootton 1984). Η κάθε αναπαραγωγική στρατηγική περιλαμβάνει όλα εκείνα τα χαρακτηριστικά τα οποία έχουν ως στόχο την αύξηση των πιθανοτήτων επιβίωσης των απογόνων (Bond 1979, Wootton 1984, Mills 1992).

Επίσης, όπως προαναφέρθηκε, η κάθε αναπαραγωγική τακτική αποτελείται από ένα σύνολο χαρακτηριστικών που συμβάλλουν στην αύξηση της βιωσιμότητας των απογόνων. Τέτοια είναι η ηλικία και το μέγεθος κατά την πρώτη αναπαραγωγή, η αναλογία φύλων, η περίοδος αναπαραγωγής, ο αριθμός και το μέγεθος των ωοκυττάρων, η σχέση του αριθμού των ωοκυττάρων με το μήκος (Bond 1979, Wootton 1984, Hunter *et*



al. 1992). Ένα ακόμα χαρακτηριστικό που συμβάλλει στην αύξηση της γονιμότητας είναι και η αναπαραγωγική συμπεριφορά των ατόμων που πρόκειται να γεννήσουν (Bond 1979). Δηλαδή, αν ένα είδος φυλάσσει τα αβγά του, όπως η Μουρμουρίτσα (*Rhodeus amarus*) ή αν δεν τα προστατεύει, όπως η Άγρια Πέστροφα (*Salmo trutta*). Στην περίπτωση της Μουρμουρίτσας, αυτή χαρακτηρίζεται από χαμηλή γονιμότητα, ενώ στη δεύτερη περίπτωση, η Άγρια Πέστροφα χαρακτηρίζεται από υψηλή γονιμότητα.

Θα πρέπει να αναφερθεί πως υπήρχε η πεποίθηση ότι στις μεσογειακές περιοχές, τα ψάρια των εσωτερικών υδάτων αναπαράγονταν μια φορά το χρόνο. Συγκεκριμένα, κατά την εαρινή περίοδο, όταν η στάθμη των υδάτων είναι υψηλή κι υπάρχει άφθονη φυσική τροφή (Bond 1979). Ωστόσο, σύγχρονες έρευνες έδειξαν ότι πολλά είδη ιχθύων εμφανίζουν πολλαπλή ωοτοκία. Απελευθερώνουν σταδιακά μικρές παρτίδες αβγών και σπέρματος, πολλάκις από την άνοιξη μέχρι το φθινόπωρο, γεγονός που τους εξασφαλίζει μεγαλύτερη βιωσιμότητα (Οικονομίδης κ.ά. 2009).

Όμως, τόσο η ανάπτυξη, όσο και η αναπαραγωγή ενός είδους επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό και από την ποιότητα αλλά και τη ποσότητα της διαθέσιμης τροφής (Wootton 1992, Adams & McLean 1985). Σύμφωνα με τον Wootton (1999), η αύξηση και η ευρωστία των ψαριών επηρεάζεται από την ποσότητα, αλλά και την ποιότητα της τροφής που συλλέγει ένα είδος. Η εποχιακή μεταβολή στις συνήθειες σίτισης είναι ένα χαρακτηριστικό που μπορεί να προκληθεί είτε από την εποχιακή μεταβολή της αφθονίας των λειών, είτε από την εποχιακή μεταβολή της συμπεριφοράς των ιχθύων (Snyder 1984, Lucena *et al.* 2000). Επομένως, η εποχιακή μετανάστευση που πραγματοποιείται από διάφορα είδη ιχθύων εντός των ορίων ενός οικοσυστήματος σε διαφορετικά ενδιαίτηματα εκτός από την περίοδο αναπαραγωγής, εξαρτάται και από τη διαθεσιμότητα της τροφής (Crowder & Cooper 1982). Επίσης, σύμφωνα με τους Tyler & Dunns (1976), η σίτιση αποτελεί μία σημαντική παράμετρο στην μεταβολή του Ηπατοσωματικού Δείκτη, ο οποίος αποτελεί βασικό δείκτη μελέτης των βιολογικών χαρακτηριστικών των ιχθύων.

Η Μπριάνα του Στρυμόνα (*B. strumicae*) είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα είδη στην ευρύτερη περιοχή της νοτιοανατολικής Βαλκανικής χερσονήσου και χαρακτηρίζεται ως ενδημικό είδος της ευρύτερης περιοχής. Σύμφωνα με Kottelat και Freyhof (2007), η περιοχή εξάπλωσης του είδους εκτείνεται από τη λίμνη Βόλβη μέχρι τη λεκάνη απορροής του Νέστου. Παρά τη μεγάλη εξάπλωση του είδους, ελάχιστες πληροφορίες υπάρχουν σχετικά με τη βιολογία του, όπως η ηλικιακή διάρθρωση των πληθυσμών του, η αναπαραγωγική στρατηγική που ακολουθεί συγκριτικά με άλλα είδη του γένους, όπως

είναι το *B. cyclolepis* και το *B. peloponnesius* (Vasiliou & Economidis 2005), το *B. sclateri* που εντοπίζεται στον ποταμό Segura (Del Mar Torralva *et al.* 1997) και το είδος *B. bocagei sclateri* που διαβιεί στον ποταμό Guadalquivir (Herrera & Fernandez – Delgado 1991), αμφότερα στην Ιβηρική χερσόνησο, καθώς και το *B. plebejus escherichi* στο ρέμα Oltu, ο οποίος εκβάλλει στον ποταμό Coruh στην Τουρκία (Yildirim *et al.* 2001).

Ελάχιστες πληροφορίες υπάρχουν ακόμα και για τη διατροφή του, συγκριτικά με άλλα είδη του γένους, όπως είναι το *B. cyclolepis* (Rodzina *et al.* 2008), το είδος *B. bocagei* που διαβιεί στον ποταμό Sorraia (Magalhaes 1992 και 1993, Collares-Pereira *et al.* 1996) και τα είδη *B. barbuis* και *B. meridionalis petenyi* από την περιοχή του ποταμού Sava στην Κροατία (Pirgia *et al.* 2005). Σύμφωνα με τους παραπάνω συγγραφείς, το είδος χαρακτηρίζεται ως βενθοφάγο – παμφάγο ψάρι, το οποίο τρέφεται με διάφορα είδη ζωοβένθους, εμφανίζοντας ιδιαίτερη προτίμηση στα Trichoptera, Chironomidae και Ephemeroptera.

Στο παρόν κεφάλαιο θα παρουσιαστούν και θα συζητηθούν τα αποτελέσματα που προήλθαν από τη μελέτη της βιολογίας του είδους *B. strumicae* στον ποταμό Νέστο. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η ηλικιακή δομή και η αύξηση του πληθυσμού, του είδους και η αναπαραγωγική στρατηγική που ακολουθεί. Επίσης, προσδιορίστηκε η ποιοτική και ποσοτική σύσταση της διατροφής του.

## 6.2. Υλικά και Μέθοδοι

Συλλέχθηκαν συνολικά 200 άτομα Μπριάνας από σταθμούς ανάντη και κατάντη των φραγμάτων (όπως περιγράφονται στο Κεφάλαιο 2.7 “Περιγραφή σταθμών δειγματοληψίας” και απεικονίζονται στην Εικόνα 2.7.1). Από κάθε άτομο, καταγράφηκαν το ολικό (Total length – TL), το μεσουραίο (Fork length – FL) και το σταθερό μήκος (Standard length – SL) με ακρίβεια 0,1 mm. Παρόλα αυτά, στις στατιστικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε μόνο το ολικό μήκος. Επιπλέον, για κάθε δείγμα μετρήθηκε το συνολικό βάρος (Total Weight –  $W_{total}$ ) με ακρίβεια 0,01 g, το βάρος των δύο γονάδων (Gonad Weight –  $W_{gonad}$ ) και το βάρος του ήπατος (Liver Weight –  $W_{liver}$ ), με ακρίβεια 0,001 g. Ο προσδιορισμός του φύλου του κάθε ψαριού έγινε με μακροσκοπική εξέταση των γονάδων. Η απόλυτη και η σχετική γονιμότητα προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας 23 θηλυκές γονάδες που ανήκουν στο IV και V στάδιο γεννητικής ωριμότητας, όπως προσδιορίζονται από τον Nikolsky (1963). Ο προσδιορισμός της ηλικίας του είδους *B. strumicae* πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας λέπια που είχαν αφαιρεθεί από την αριστερή πλευρά

των ψαριών, από την περιοχή άνω της πλευρικής γραμμής και πριν από την αρχή του ραχιαίου πτερυγίου (Bagenal & Tesch 1978).

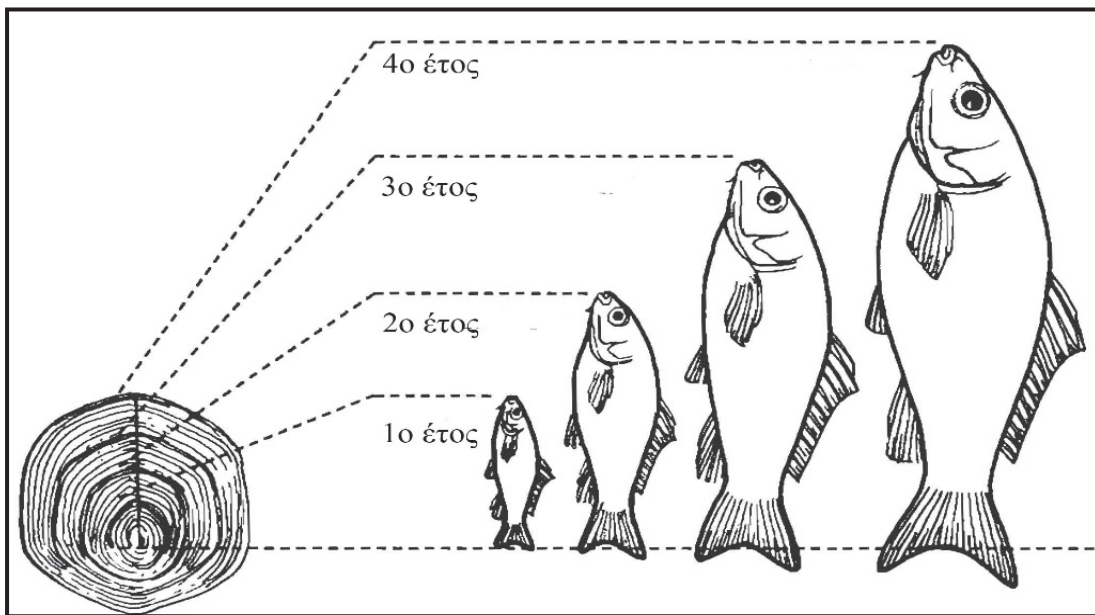
Στη συνέχεια, αφαιρούνταν με προσοχή ο πεπτικός σωλήνας και φυλασσόταν σε διάλυμα φορμαλδεΐδης 10 % μέχρι την πραγματοποίηση της μελέτης του περιεχομένου. Πριν την αφαίρεση του περιεχομένου, ο πεπτικός σωλήνας στέγνωνε σε απορροφητικό χαρτί και ζυγίζόταν με ακρίβεια 0,01 g. Στη συνέχεια, το περιεχόμενο του κάθε δείγματος αφαιρούταν και τοποθετούταν σε τριβλίο Petri, όπου και εξεταζόταν σε στερεοσκόπιο και γίνονταν η ταυτοποίηση των λειών στο κατώτερο δυνατό ταξινομικό επίπεδο. Η ταυτοποίηση των λειών πραγματοποιήθηκε με βάση τις κλείδες συστηματικής κατάταξης των Needham & Needham (1962), Macan (1959) και Streble & Krauter (2002). Μετά τη συλλογή, τα δείγματα συντηρήθηκαν σε διάλυμα φορμαλδεΐδης 10%, όπου και παρέμειναν μέχρι τη μελέτη τους. Τα λέπια τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια Eppendorf μέχρι την επεξεργασία τους. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με χρήση του λογισμικού STATISTICA (version 7.0) και του στατιστικού πακέτου StatGraphics Centurion XVI v.16.1.11.

### **6.2.1. Ηλικία και αύξηση του είδους *B. strumicae***

#### **6.2.1.1. Ηλικιακή δομή ιχθυοπληθυσμού**

Η αυξομείωση του ρυθμού αύξησης αποτυπώνεται με τη μορφή αραιών (υψηλός ρυθμός) ή πυκνών δακτυλίων (χαμηλός ρυθμός) σε σκληρές δομές του σώματος του ψαριού, όπως είναι οι ωτόλιθοι (Hickling 1933, Graynoth 1987), τα λέπια (Lea 1910, Lee 1920) και τα βραγχιακά επικαλύμματα (Le Cren 1947, Tesch 1968, Bagenal 1974, Lauzanne 1978).

Η συσχέτιση και ερμηνεία της ηλικίας και της αύξησης βασίζεται στο γεγονός ότι οι δακτύλιοι που σχηματίζονται στα λέπια ή στους ωτόλιθους έχουν σταθερή συχνότητα και η απόσταση μεταξύ των δακτυλίων είναι ανάλογη της αύξησης των ψαριών (Bagenal & Tesch 1978, Campana & Neilson 1985, Francis 1990, Maitland 2000, Campana 2001) (Εικόνα 6.1.). Με τη μέθοδο των ανάδρομα υπολογισμένων μηκών (Back – calculated lengths), είναι δυνατός ο υπολογισμός του θεωρητικού μήκους που μπορεί να έχει ένα ψάρι σε κάθε προηγούμενη ηλικιακή κλάση (Ricker 1979, Francis 1990).



**Εικόνα 6.1.** Η συσχέτιση των ετήσιων δακτυλίων στα λέπια και της ηλικίας (από Maitland 2000).

**Figure 6.1.** The correlation of annual rings on scales and age (after Maitland 2000).

#### 6.2.1.2. Μοντέλο της κατά μήκος αύξησης

Οι παράμετροι αύξησης,  $K$  and  $L_{\infty}$  υπολογίστηκαν με την εφαρμογή της εξίσωσης von Bertalanffy (von Bertalanffy 1938):

$$L_t = L_{\infty} * (1 - e^{-K*(t-t_0)})$$

όπου  $L_t$  το ολικό μήκος (σε mm) των ψαριών σε ηλικία  $t$  και  $L_{\infty}$  το ασυμπτωτικό μήκος, δηλαδή το θεωρητικό μέγιστο μήκος που θα αποκτούσε το ψάρι εφόσον ζούσε απεριόριστα. Η παράμετρος  $K$  (ανά έτος,  $\text{έτη}^{-1}$ ) είναι ο ρυθμός προσέγγισης  $L_{\infty}$  και  $t_0$  (σε έτη) είναι ο θεωρητικός χρόνος κατά τον οποίο ένα ψάρι έχει μηδενικό ολικό μήκος. Χρησιμοποιώντας τις τιμές για  $K$  και  $L_{\infty}$ , υπολογίστηκε ο συνολικός δείκτης αύξησης (overall growth rate) (Pauly & Munro 1984):

$$\varphi' = \log K + 2 \log L_{\infty}.$$

Ο δείκτης ανάπτυξης χρησιμοποιείται για τη σύγκριση της αύξησης μεταξύ των ειδών και ως μέσο αξιολόγησης της αξιοπιστίας των εκτιμώμενων παραμέτρων (Pauly 1994). Οι παράμετροι αύξησης υπολογίστηκαν με τη μέθοδο της μη γραμμικής επίλυσης της εξίσωσης von Bertalanffy χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο StatSoft STATISTICA version 7.0.

### 6.2.1.3. Σχέση μήκους – βάρους

Οι σχέσεις μήκους – βάρους (LWR) υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας την εξίσωση που παρουσιάστηκε από τον Le Cren (1951):

$$W_{\text{total}} = aTL^b$$

όπου TL είναι το ολικό μήκος του ψαριού σε cm και το  $W_{\text{total}}$  το βάρος του ψαριού σε g. Ο συντελεστής  $b$  λαμβάνει τιμές από 2 έως 4 (Tesch 1971, Wootton 1990). Όταν ο συντελεστής λαμβάνει τιμή ίση με 3, τότε το ψάρι παρουσιάζει ισομετρική αύξηση, δηλαδή αυξάνεται με τον ίδιο ρυθμό τόσο ως προς το μήκος του, όσο και ως προς το βάρος. Όταν η τιμή είναι στατιστικά διαφορετική του 3, τότε το ψάρι εμφανίζει αλλομετρική ανάπτυξη, θετική αν  $b > 3$  και αρνητική εάν  $b < 3$  (Bagenal & Tesch 1978). Η παράμετρος  $a$  αποτελεί μια ένδειξη της φυσικής κατάστασης του ψαριού και επηρεάζεται από το είδος των ενδαιτημάτων, αλλά και από την εποχή (Bagenal & Tesch 1978, Ricker 1979).

Οι παράμετροι  $a$  και  $b$  εκτιμήθηκαν με γραμμική παλινδρόμηση των ελαχίστων τετραγώνων χρησιμοποιώντας την λογαριθμισμένη μορφή της εξίσωσης του Le Cren (1951):

$$\log(W_{\text{total}}) = \log(a) + b \cdot \log(TL)$$

Προκειμένου να προσδιοριστεί εάν οι τιμές που υπολογίζονται για τον συντελεστή  $b$  διαφέρουν στατιστικά από την τιμή 3, πραγματοποιείται έλεγχος με τη χρήση της δοκιμασίας  $t$  – test, σύμφωνα με τους Tesch (1971).

### 6.2.1.4. Δείκτης ή συντελεστής ευρωστίας Fulton

Ένας σημαντικός δείκτης που χρησιμοποιείται ευρέως στην μελέτη της αύξησης των ειδών και της σύγκρισης πληθυσμών του ίδιου είδους που διαβιούν σε διαφορετικά οικοσυστήματα και άρα, υπόκεινται σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες, είναι ο δείκτης ευρωστίας  $K$  (Condition factor) (Le Cren 1951, Whetherlay 1972, Ricker 1978, Whetherlay & Gill 1987). Στη διεθνή βιβλιογραφία, αναφέρονται δύο δείκτες ευρωστίας, ο δείκτης σχετικής ευρωστίας και ο δείκτης Fulton. Ο δείκτης Fulton, που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, είναι ο πιο διαδεδομένος δείκτης. Η τιμή του σχετίζεται με το βάρος που θα είχε το ψάρι ( $b=3$ ), επιτρέποντας έτσι τη σύγκριση όχι μόνο διαφορετικών πληθυσμών, αλλά και διαφορετικών εποχών (Nikolsky 1963, Ricker 1975). Ο δείκτης ευρωστίας κατά Fulton υπολογίστηκε με τη χρήση της εξίσωσης:

$$K = W_{\text{total}}/TL^3$$

όπου  $W_{\text{total}}$  το ολικό βάρος του ψαριού (σε g) και TL το ολικό μήκος του ψαριού (σε cm).

## 6.2.2. Αναπαραγωγική στρατηγική

### 6.2.2.1. Μακροσκοπική περιγραφή γονάδων

Τα στάδια γεννητικής ωριμότητας της μπριάνας προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τη κλίμακα του Nikolsky (1963), κατά την οποία οι γονάδες κατατάσσονται σε έξι στάδια. Ο προσδιορισμός τόσο του φύλου, όσο και του σταδίου ωριμότητας πραγματοποιήθηκε με μακροσκοπική παρατήρηση των γονάδων, μετά από τομή που έγινε στην κοιλιακή χώρα.

### 6.2.2.2. Αναλογία φύλων

Σύμφωνα με τον Nikolsky (1963), η αναλογία φύλων σε έναν πληθυσμό διαφέρει σε σχέση με το είδος. Όμως, διαφοροποίηση μπορεί να υπάρχει και μεταξύ πληθυσμών του ίδιου είδους. Σύμφωνα με τους Baroiller & D'Cotta (2001), ο μηχανισμός διαφοροποίησης των γονάδων με την επίδραση εξωτερικών παραγόντων, όπως είναι οι ορμόνες, είναι γνωστός από το 1930. Έχει αποδειχτεί ότι ο κύριος περιβαλλοντικός παράγοντας που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον καθορισμό του φύλου στα ψάρια είναι η θερμοκρασία (Devlin & Nagahama 2002).

Επομένως, στην περίπτωση του Νέστου υπολογίστηκε ο λόγος Αρσενικών : Θηλυκών για το σύνολο των δειγμάτων και προκειμένου να εξεταστεί η ύπαρξη ή όχι στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των υπολογισθέντων αναλογιών και τις θεωρητικής αναλογίας 1:1, εφαρμόστηκε η δοκιμασία  $\chi^2$  (Zar 1999).

### 6.2.2.3. Γοναδοσωματικός δείκτης

Ο γοναδοσωματικός δείκτης (Gonadosomatic Index - GSI) εκφράζεται ως το ποσοστό του βάρους των γονάδων προς το συνολικό σωματικό βάρος του ψαριού (Wootton 1990):

$$GSI = (W_{\text{gonad}} / W_{\text{total}}) * 100$$

όπου  $W_{\text{gonad}}$  το ολικό βάρος των γονάδων και  $W_{\text{total}}$  το ολικό βάρος του ψαριού. Η αυξομείωση της τιμής του γοναδοσωματικού δείκτη είναι αποτέλεσμα της αυξομείωσης του μεγέθους και κατ' επέκταση, του βάρους των γεννητικών αδένων τόσο των αρσενικών όσο και των θηλυκών ατόμων. Έτσι, ο δείκτης βρίσκει εφαρμογή στον προσδιορισμό της περιόδου αναπαραγωγής, καθώς κατά την αναπαραγωγική περίοδο οι γονάδες των

θηλυκών ατόμων αυξάνονται σε μέγεθος και βάρος λίγο πριν την απελευθέρωση των αβγών (Rhodes & Sadovy 2002). Σύμφωνα με τους Rhodes & Sadovy (2002), ο χρόνος ωοτοκίας οριοθετείται, όταν η τιμή του GSI αυξάνεται και αποκτά μια μέγιστη τιμή. Η μέση τιμή του δείκτη GSI υπολογίστηκε για κάθε μήνα τόσο για τα αρσενικά, όσο και για τα θηλυκά άτομα.

#### 6.2.2.4. Πρώτη γεννητική ωρίμανση

Τα διαχειριστικά σχέδια για την προστασία των ειδών στηρίζονται όχι μόνο στην εξασφάλιση ότι οι ιχθυοπληθυσμοί τους θα μπορέσουν να αναπαραχθούν, αλλά και στο ότι τα περισσότερα ιχθύδια θα μπορέσουν να φτάσουν σε γεννητική ωριμότητα (Omitoyin *et al.* 2013). Η συγκεκριμένη γνώση απαιτεί πληροφορίες σχετικά με το μέγεθος και την ηλικία κατά την πρώτη ωρίμανση του κάθε είδους (Summerfelt & Hall 1975). Επομένως, ο προσδιορισμός του μεγέθους κατά την πρώτη γεννητική ωριμότητα ή  $L_{50}$  (δηλαδή, το μήκος κατά το οποίο το 50% των ψαριών ενός πληθυσμού είναι ώριμα) συμβάλλει στην εκπόνηση των κατάλληλων διαχειριστικών σχεδίων. Η σωστή εκτίμηση του μήκους είναι πολύ χρήσιμη για τη διαχείριση των αποθεμάτων ιχθύων.

Ο προσδιορισμός της σχέσης μήκους-ωριμότητας πραγματοποιήθηκε με τον καθορισμό της σχέσης μήκους κατά την πρώτη ωριμότητα ( $L_{50}$ ). Ο υπολογισμός της σχέσης γίνεται με τη χρήση λογιστικού μοντέλου:

$$P(x) = e^{(a+bTL)} / 1 + e^{(a+bTL)} \text{ (Echeverria 1987)}$$

όπου  $P(x)$  η ποσοστιαία αναλογία των ώριμων ατόμων στο μήκος  $x$ ,  $a$  και  $b$ , σταθερές, οι οποίες χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του ( $L_{50}$ ), σύμφωνα με τη σχέση:

$$L_{50} = -a/b$$

Όλα τα δείγματα, τα οποία κατατάχθηκαν στο στάδιο ωριμότητας III ή υψηλότερο (σύμφωνα με την κλίμακα Nikolsky), χαρακτηρίστηκαν ως ώριμα και συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση.

#### 6.2.2.5. Εκτίμηση γονιμότητας και μέγεθος αβγών

Η γνώση της γονιμότητας ενός είδους αποτελεί ίσως έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες στη διαχείριση των ιχθυοαποθεμάτων (Agger *et al.* 1974, Bagenal & Braum 1978). Σύμφωνα με τους Bagenal & Braum (1978), η γονιμότητα καθορίζεται ως ο απόλυτος αριθμός των αβγών που υπάρχουν στις θηλυκές γονάδες των ψαριών (απόλυτη γονιμότητα ή Absolute Fecundity -  $F_{abs}$ ), ενώ οι Witthames *et al.* (2009)

αναφέρουν την χρήση της σχετικής γονιμότητας (Relative Fecundity –  $F_{rel}$ ), η οποία αντιστοιχεί στον αριθμό των αβγών ανά μονάδα βάρους των θηλυκών γονάδων.

Στην παρούσα μελέτη, προσδιορίστηκε η απόλυτη και η σχετική γονιμότητα χρησιμοποιώντας 23 θηλυκές γονάδες, οι οποίες προσδιορίστηκαν ότι ανήκουν στο IV και V στάδιο γεννητικής ωριμότητας, όπως προσδιορίζονται από τον Nikolsky (1963). Οι γονάδες τοποθετήθηκαν σε υγρό Gilson, το οποίο παρασκευάστηκε σύμφωνα με τους Bagenal & Braum (1978). Το υγρό Gilson προκαλεί τη σκλήρυνση των ωοκυττάρων και τον αποχωρισμό τους από τους συνδετικούς ιστούς της ωοθήκης. Για την παρασκευή του τροποποιημένου διαλύματος Gilson απαιτήθηκαν για κάθε λίτρο:

1. 100 ml 60% αλκοόλη,
2. 800 ml νερό,
3. 15 ml 80% νιτρικό οξύ (nitric acid),
4. 18 ml ακετόνη (glacial acetic acid),
5. 20 g χλωριούχος υδράργυρος (mercuric chloride).

Κατά τη διάρκεια της παραμονής των γονάδων στο διάλυμα (από 3-4 μήνες), τα δοχεία ανακινούνται περιοδικά ώστε το υγρό Gilson να διεισδύσει στο εσωτερικό των γονάδων και να επιταχυνθεί η απελευθέρωση των αβγών.

Η μέτρηση της διαμέτρου των αβγών πραγματοποιήθηκε σε στερεοσκόπιο SMZ 1500. Σ' αυτό είχε προσαρμοστεί το σύστημα φωτογράφισης NIKON Digital Sight DS – L2 και κάμερα τύπου NIKON DS – Fi1 (Εικόνα 3.1), επιτρέποντας ακρίβεια στις μετρήσεις της τάξεως του 0,01 mm.

### **6.2.3. Εκτίμηση διατροφικών συνηθειών**

#### **6.2.3.1. Ποσοτική και ποιοτική περιγραφή διατροφής**

Η μεθοδολογία που περιγράφεται από τους Bowen (1983) και Hyslop (1980) χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να γίνει η ποσοτική περιγραφή των στομαχικών περιεχομένων. Συγκεκριμένα, η μελέτη και άρα, η εκτίμηση της διατροφής του είδους πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της συχνότητας εμφάνισης (Frequency of Occurance - FO) και την εκατοστιαία σύνθεση κατά αριθμό λειών (Percent Composition by number - N).

Η συχνότητα εμφάνισης της λείας ορίζεται ως ο λόγος του αριθμού ( $n_i$ ) των στομάχων στα οποία εντοπίζεται η λεία  $i$  ως προς το σύνολο των μη κενών στομάχων ( $S_f$ ). Η συχνότητα εμφάνισης υπολογίζεται με τη χρήση του τύπου:



$$FO=100 * n_i/S_f$$

Αν και αποτελεί μια ιδιαίτερα διαδεδομένη μεθοδολογία στη μελέτη της διατροφής των ιχθύων και συμβάλλει στην εκτίμηση του φάσματος της διατροφής (Hop *et al.* 1992), οι Stergiou & Kargouzi (2002) υποστηρίζουν ότι η συχνότητα εμφάνισης δεν είναι καλός δείκτης της συνεισφοράς της κάθε κατηγορίας λειών στη διατροφή. Επομένως, απαιτείται ο συνδυασμός και άλλων μεθόδων, προκειμένου να υπάρχουν αξιόπιστα συμπεράσματα.

Η εκατοστιαία σύνθεση ως προς τον αριθμό λειών (Percent Composition by number) ορίζεται ως ο συνολικός αριθμός των ατόμων κάθε είδους λείας ( $\Sigma n_i$ ) εκφρασμένη ως ποσοστό του συνολικού αριθμού των ειδών διατροφής ( $\Sigma N$ ) που καταμετρήθηκαν σε κάθε ψάρι και αποτυπώνεται στη σχέση:

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

Σε αντίθεση με τη μέθοδο της συχνότητας εμφάνισης της λείας, η οποία παρέχει μια ποσοτική περιγραφή για το σύνολο των δειγμάτων, η μέθοδος της εκατοστιαίας σύνθεσης ως προς τον αριθμό λειών περιγράφει την διατροφή ενός μεμονωμένου ψαριού (Bowen 1983). Σύμφωνα με τον Bowen (1983), όταν χρησιμοποιείται μόνο η μέθοδος της εκατοστιαίας σύνθεσης, τα αποτελέσματα της ανάλυσης χαρακτηρίζονται ως χαμηλής αξίας, αν και αποτελούν ένα ενδιάμεσο στάδιο για τη διενέργεια περαιτέρω αναλύσεων.

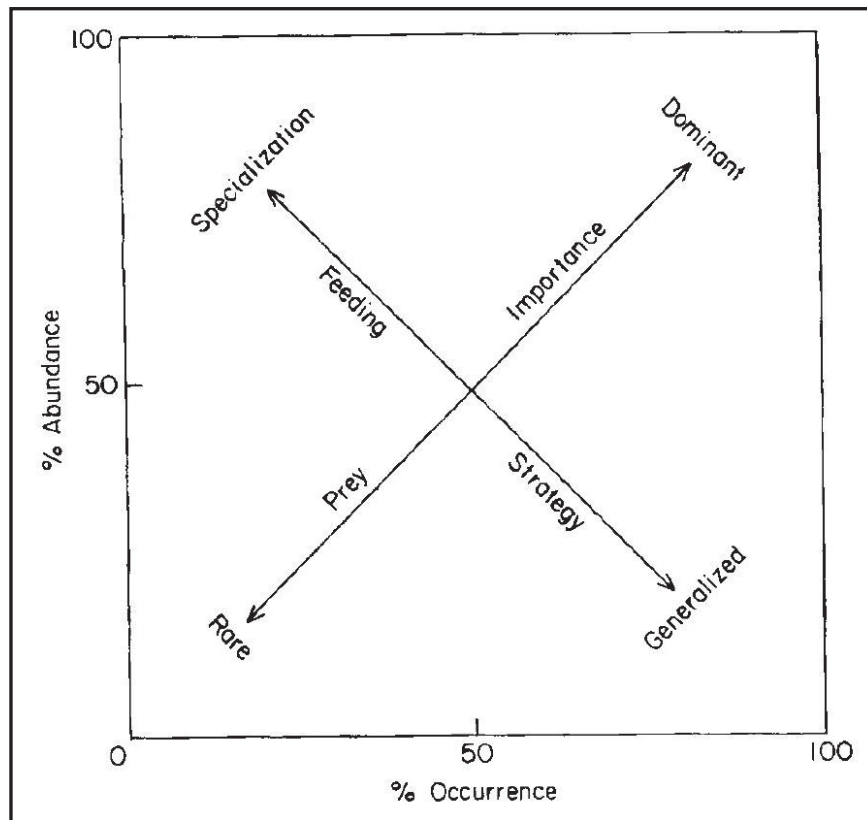
Επιπλέον, υπολογίστηκε ο δείκτης κενότητας (Vacuity Index - VI), ο οποίος ορίζεται ως ο λόγος των κενών στομάχων προς τον συνολικό αριθμό των στομάχων που εξετάστηκαν (Hureau 1966):

$$VI = (S_e/S_{tot}) * 100$$

όπου  $S_e$  = αριθμός κενών στομαχιών και  $S_{tot}$  = συνολικός αριθμός των στομάχων που εξετάστηκαν.

#### **6.2.3.2. Στρατηγική διατροφής κατά Costello**

Προκειμένου να διαπιστωθεί η σημαντικότητα των διαφόρων λειών, αλλά και η στρατηγική της διατροφής εφαρμόστηκε η μέθοδος της γραφικής απεικόνισης, όπως αυτή προτείνεται από τον Costello (1990).



**Εικόνα 6.2.** Επεξηγηματικό διάγραμμα της μεθόδου γραφικής απεικόνισης Costello (από Costello 1990).

**Table 6.2.** Explanatory diagram of the graphical presentation of the Costello method (after Costello 1990).

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, σε ένα σύστημα αξόνων απεικονίζεται η συχνότητα εμφάνισης και η αφθονία των διαφόρων λειών, όπως έχει καταμετρηθεί στα στομάχια των ατόμων που εξετάστηκαν (Εικ. 6.2). Απεικονίζει, δηλαδή, τη σχετική σημασία της λείας (επικρατέστερη ή σπάνια) και το βαθμό ομοιογένειας που δείχνουν οι θηρευτές στην επιλογή της λείας (Costello 1990).

Αυτή η μέθοδος απεικόνισης δίνει πληροφορίες για τη σημασία της κάθε κατηγορίας τροφής, αλλά και για τη στρατηγική διατροφής του είδους. Δηλαδή, εάν το είδος ακολουθεί εξειδικευμένη ή γενικευμένη στρατηγική διατροφής.

### 6.3. Αποτελέσματα

#### 6.3.1. Ηλικία και αύξηση του είδους *B. strumicae*

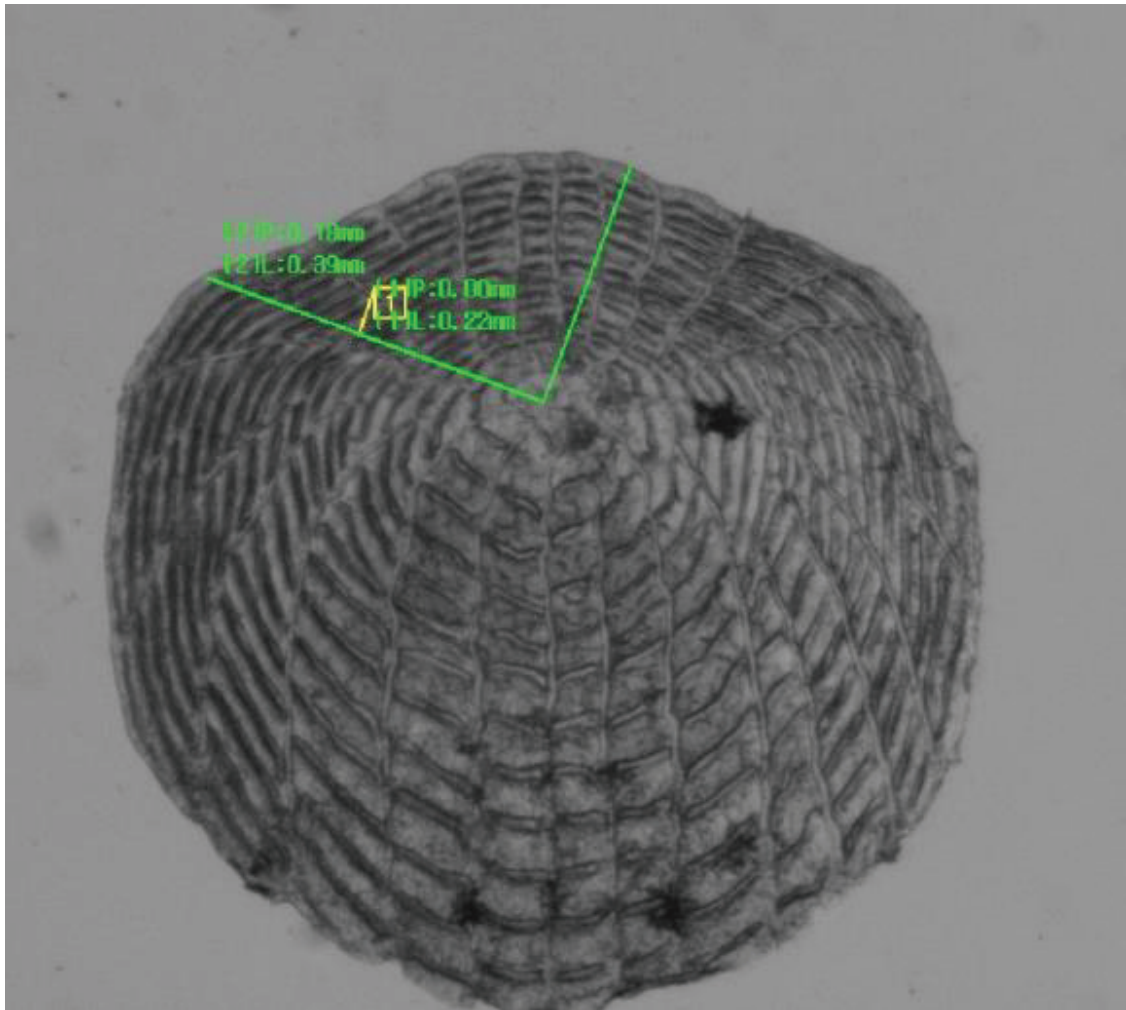
##### 6.3.1.1. Ηλικιακή δομή πληθυσμού

Ο προσδιορισμός της ηλικίας του είδους πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 200 ατόμων, τα οποία συλλέχθηκαν από σταθμούς τόσο ανάντη, όσο και κατόντη των φραγμάτων. Η «ανάγνωση» των λεπιών πραγματοποιήθηκε δύο φορές, χωρίς να λαμβάνονται υπόψη κατά τη διάρκεια της δεύτερης ανάγνωσης τα αποτελέσματα της πρώτης

Από τα 200 συνολικά παρασκευάσματα λεπιών που μελετήθηκαν, τα 15 απορρίφθηκαν, καθώς υπήρχε διαφωνία ως προς τον προσδιορισμό της ηλικίας μεταξύ της πρώτης και της δεύτερης ανάγνωσης Έτσι, ο προσδιορισμός της ηλικίας πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 185 ατόμων, εκ των οποίων τα 61 άτομα ήταν θηλυκά και τα 124 αρσενικά.

Η εφαρμογή της «ανάλυση διασποράς μίας κατεύθυνσης» (one – way ANOVA) έδειξε την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών ως προς την ηλικιακή δομή των δειγμάτων ( $p > 0,05$ ). Ως εκ τούτου, όλα τα δείγματα συνενώθηκαν σε μία ομάδα, ανεξαρτήτως του φύλου ή της περιοχής που συνελήφθησαν.

Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της ηλικίας φαίνονται στον Πίνακα 6.4. Η μεγαλύτερη ηλικία που προσδιορίστηκε για όλα τα δείγματα ήταν 4 + και αφορούσε πέντε θηλυκά και έξι αρσενικά άτομα. Το 38,4% των δειγμάτων είχε ταξινομηθεί στην κατηγορία ηλικίας 1 + και το 42,2% στην κατηγορία 2 +.



**Εικόνα 6.3.** Φωτογραφία λεπιού ατόμου *B. strumicae* από τον ποταμό Νέστο, όπου φαίνονται οι μετρήσεις των ακτινών των δακτυλίων. Στη συγκεκριμένη φωτογραφία απεικονίζεται το λέπι ατόμου ηλικίας 1+.

**Figure 6.3.** Photograph of a scale from a *B. strumicae* individual from river Nestos, showing the measurements of the radii. The particular photo shows the scale of a *B. strumicae* age 1+.

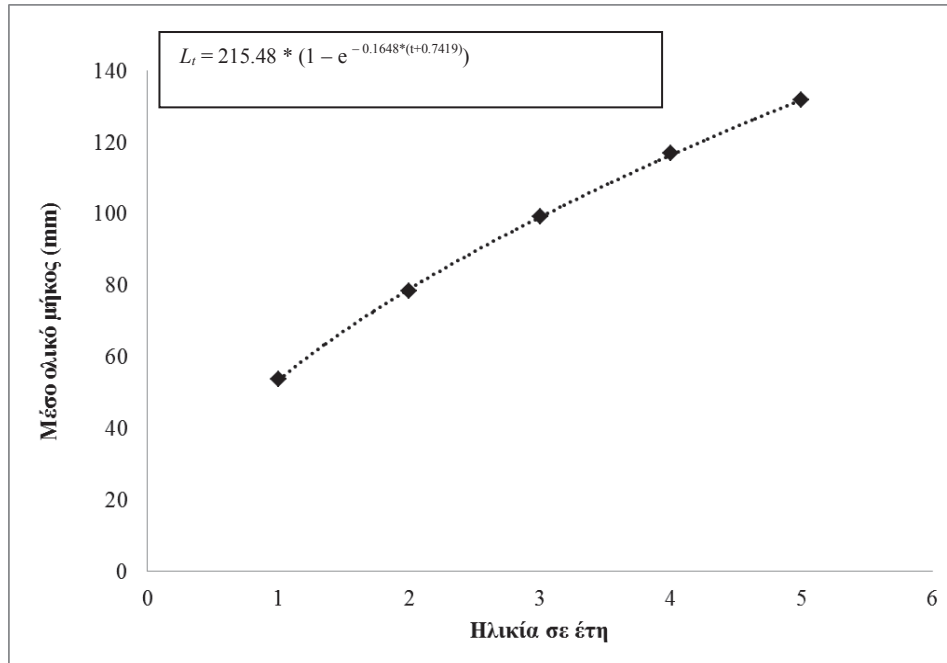
**Πίνακας 6.4.** Ανάδρομα υπολογισμένα μέσα ολικά μήκη (TL, mm) σε σχέση με την ηλικία, για τον ανάντη και τον κατάντη πληθυσμό του είδους *B. strumicae* στον ποταμό Νέστο, καθώς και οι παράμετροι αύξησης  $L_{\infty}$  (TL, mm),  $K$  (yr<sup>-1</sup>) και  $t_0$  (years) της εξίσωσης von Bertalanffy και ο δείκτης αύξησης  $\varphi'$ .

**Table 6.4.** Mean back – calculated total lengths (TL, mm) at age for the upstream and the downstream population of *B. strumicae* caught in the river Nestos, alongside the growth parameters  $L_{\infty}$  (TL, mm),  $K$  (yr<sup>-1</sup>) and  $t_0$  (years) of the von Bertalanffy growth equation and growth index  $\varphi'$ .

Ηλικία (έτη)	Αριθμός δειγμάτων	Μέσο TL(mm)	Μέσο ανάδρομα – υπολογισμένο ολικό μήκος ανά ηλικία			
			1	2	3	4
<b>Θηλυκά</b>						
1+	26	70,76	50,75			
2+	22	88,01	54,85	76,76		
3+	8	106,70	58,01	80,24	98,43	
4+	5	125,75	59,19	82,49	103,37	117,10
Συνολικός αριθμός δειγμάτων	61		61	36	14	6
Μέσο μήκος			55,70	79,83	100,90	117,10
Όρια εμπιστοσύνης 95%			50,75 – 59,19	76,76 – 82,49	98,43 – 103,37	
Ετήσια αύξηση				24,13	21,07	16,20
<b>Αρσενικά</b>						
1+	45	68,86	49,91			
2+	58	88,94	55,28	77,14		
3+	15	107,07	57,30	79,43	98,24	
4+	6	125,88	59,17	82,21	103,78	114,77
Συνολικός αριθμός δειγμάτων	124		124	79	21	6
Μέσο μήκος			55,41	79,60	101,01	114,77
Όρια εμπιστοσύνης 95%			49,91 – 59,17	77,14 – 82,21	98,24 – 103,78	
Ετήσια αύξηση				24,18	21,41	13,76
<b>Σύνολο δειγμάτων</b>						
1+	71	69,56	50,21			
2+	80	88,68	55,16	77,04		
3+	23	106,94	57,54	79,72	98,31	
4+	11	125,82	59,18	82,34	103,59	115,83
Συνολικός αριθμός δειγμάτων	185		185	114	34	11
Μέσο μήκος			55,52	79,70	100,95	115,83
Όρια εμπιστοσύνης 95%			50,21 – 59,18	77,04 – 82,34	98,31 – 103,59	
Ετήσια αύξηση				24,17	21,25	14,88
<b>Παράμετροι αύξησης της εξίσωσης von Bertalanffy</b>						
	Φύλο	$L_{\infty}$	$K$	$\varphi'$	$t_0$	
	Αρσενικά+Θηλυκά	214,90	0,1654	3,883	- 0,7401	

### 6.3.1.2. Παράμετροι αύξησης

Όσον αφορά τις παραμέτρους αύξησης του πληθυσμού του *B. strumicae*, αυτές υπολογίστηκαν με την εφαρμογή της εξίσωσης του von Bertalanffy στο σύνολο των δειγμάτων.



**Εικόνα 6.4.** Καμπύλη αύξησης του συνολικού πληθυσμού του *B. strumicae* στον ποταμό Νέστο.

**Figure 6.4.** Growth curve of the total populations of *B. strumicae* in river Nestos.

Παρατηρώντας τον Πίνακα 6.4 και την Εικόνα 6.4 βλέπουμε ότι ο πληθυσμός εμφανίζει ρυθμό αύξησης  $K = 0,1654$ , το μέγιστο ασυμπτωτικό μήκος φτάνει στα 214,9 mm, ενώ και η τιμή του δείκτη αύξησης  $\phi' = 3,883$ .

### 6.3.1.3. Σχέση μήκους – βάρους

Οι σχέσεις μήκους – βάρους (LWR) για τους δυο πληθυσμούς του είδους *B. strumicae* παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.5. Το μέγιστο μήκος που καταγράφηκε ήταν 194 mm και το ελάχιστο 57,70 mm και αφορούσαν δείγματα που συλλέχθηκαν από σταθμούς κατάντη των φραγμάτων.

**Πίνακας 6.5.** Σχέσεις μήκους – βάρους για τα δείγματα *B. strumicae* που συλλέχθηκαν από σταθμούς ανάντη και κατάντη των φραγμάτων στον ποταμό Νέστο. Όπου C.I. τα όρια εμπιστοσύνης των παραμέτρων *a* και *b*.

**Table 6.5.** Weight – length relationships (WLRs) for the upstream and the downstream populations of *Barbus strumicae* caught in the river Nestos, where C.I. indicates the confidence limits of the *a* and *b* parameters.

	Ανάντη	Κατάντη
Μήκος δειγμάτων		
Αριθμός ατόμων	100	90
Μέσος όρος μήκους (mm)	84,9	91,8
Ελάχιστο μήκος (mm)	59	57,7
Μέγιστο μήκος (mm)	166	194
Ολικό Βάρος δείγματος		
Μέσος όρος βάρους (g)	7,8	11,1
Ελάχιστο βάρος (g)	1,2	1,6
Μέγιστο βάρος (g)	54,8	88,9
Σχέση μήκους βάρους (WLR)		
$r^2$	0,809	0,842
<i>A</i>	0,00001	0,0000077
Όρια εμπιστοσύνης <i>a</i>	0,0000029 - 0,000035	0,0000022 - 0,000028
<i>B</i>	3,009	3,081
Όρια εμπιστοσύνης <i>b</i>	2,728 - 3,290	2,80 - 3,36
t-test	0,64	0,568

Η παράμετρος *b* για τον ανάντη πληθυσμό υπολογίστηκε ίση με 3,01 ενώ για τον κατάντη πληθυσμό εκτιμήθηκε ίση με 3,08. Και στις δυο περιπτώσεις, η δοκιμασία *t* – test έδειξε ότι δε διέφεραν στατιστικά από την τιμή 3 ( $p > 0,05$ ) και επομένως, σε αμφότεροι οι πληθυσμοί εμφανίζουν ισομετρική ανάπτυξη.

#### 6.3.1.4. Δείκτης Ευρωστίας κατά Fulton

Η μέση τιμή του συντελεστή ευρωστίας Fulton (*K*) κυμάνθηκε μεταξύ 1,517 (Απρίλιος) και 0,903 (Νοέμβριος) (Εικ. 5.5). Παρά τη μικρή διακύμανση, ο συντελεστής εμφανίζει εποχική μεταβλητότητα, με δύο μέγιστα, στα μέσα της άνοιξης (Απρίλιος, *K* = 1,517) και στην αρχή του φθινοπώρου (Σεπτέμβριος, *K* = 1,637). Σύμφωνα με τους Bagenal & Tesch (1978), ο συντελεστής ευρωστίας μεταβάλλεται εποχικά, όπως για

παράδειγμα κατά την αναπαραγωγική περίοδο ή κατά την διάρκεια του χρόνου και επηρεάζεται από τροφικούς ή οικολογικούς παράγοντες.

### **6.3.2. Αναπαραγωγική στρατηγική**

#### **6.3.2.1. Αναλογία φύλων**

Η αναλογία φύλων προσδιορίστηκε τόσο για κάθε ομάδα δειγμάτων, αλλά και για το σύνολο των δειγμάτων. Η αναλογία υπολογίστηκε ότι είναι 1,93:1. Αυτή ήταν, όπως και στις προηγούμενες περιπτώσεις, στατιστικά διαφορετική από την αναλογία 1:1 ( $\chi^2 = 19,32, p < 0,001$ ).

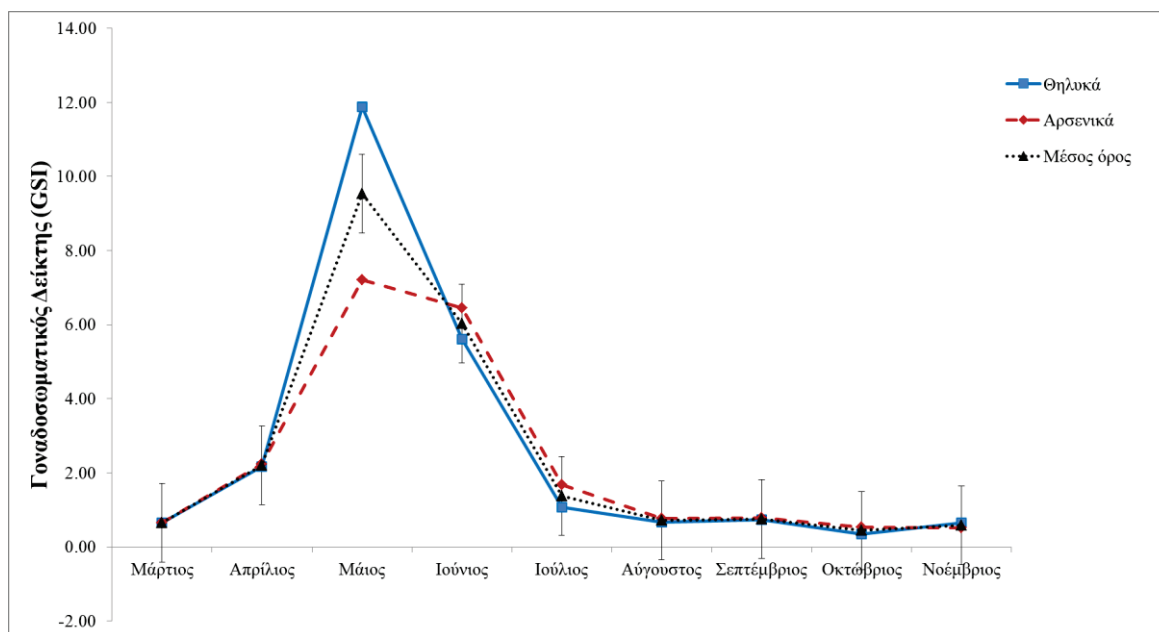
#### **6.3.2.2. Γοναδοσωματικός δείκτης**

Ο γοναδοσωματικός δείκτης (GSI) δείχνει ότι η περίοδος αναπαραγωγής του είδους διαρκεί σχεδόν 2 μήνες. Συγκεκριμένα, όπως φαίνεται στην Εικόνα 6.5, η τιμή του δείκτη GSI για τα αρσενικά άτομα αρχίζει να αυξάνει τον μήνα Απρίλιο (GSI = 2,23) και φτάνει στη μέγιστη τιμή τον μήνα Μάιο (GSI = 7,204). Τον Ιούνιο, ο δείκτης υποχωρεί ελαφρώς και αποκτά τιμή 6,451. Η τιμή του δείκτη κατά τον μήνα Ιούλιο (GSI = 1,684) υποχωρεί σε επίπεδα χαμηλότερα από αυτά του Απριλίου και διατηρείται σε σχεδόν σταθερά επίπεδα μέχρι και τον Νοέμβριο.

Στην περίπτωση των θηλυκών ατόμων ο δείκτης αυξάνει απότομα την τιμή του και αποκτά τη μέγιστη τον μήνα Μάιο (GSI=11,874). Στη συνέχεια, τον Ιούνιο ο δείκτης υποχωρεί στα ίδια επίπεδα με αυτά των αρσενικών (GSI=6,029) και τελικά, τον Ιούλιο (GSI=1,0754) υποχωρεί σε επίπεδα χαμηλότερα από αυτά του Απριλίου και διατηρείται σε σταθερά επίπεδα έως και τον Νοέμβριο.

Η διακύμανση αυτή του γοναδοσωματικού δείκτη, όπως προαναφέρθηκε, αποτελεί ένδειξη της αναπαραγωγικής δραστηριότητας ενός οργανισμού. Έτσι, παρατηρούμε ότι από τον Ιούλιο έως τον Νοέμβριο είναι η περίοδος ανάπαυσης και για τα δύο φύλα με τις τιμές του δείκτη να παραμένουν σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Στη συνέχεια, παρατηρείται η ωρίμανση των γονάδων από τον Μάρτιο έως τον Μάιο, όταν ο δείκτης αποκτά τη μέγιστη τιμή του, ενώ από τον Μάιο και μέχρι τον Ιούλιο πραγματοποιείται η αναπαραγωγή του.





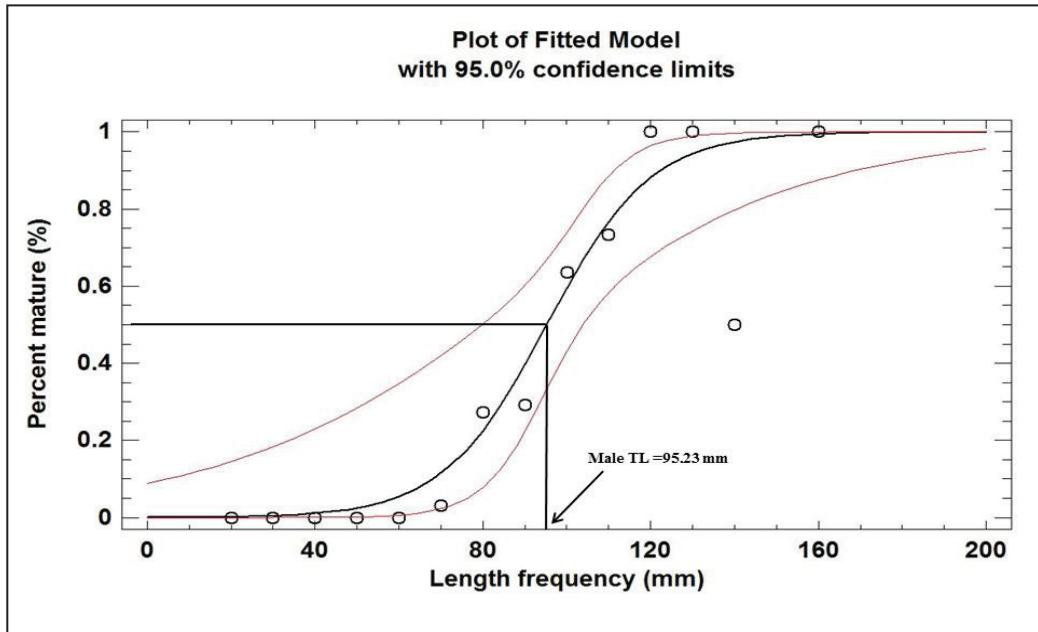
**Εικόνα 6.5.** Μηνιαία μεταβολή του γοναδοσωματικού δείκτη του είδους *B. strumicae* κατά την περίοδο μελέτης του είδους στον Νέστο.

**Figure 6.5.** Monthly variation of the gonadosomatic index (GSI) for the species *B. strumicae* during the study of species in river Nestos

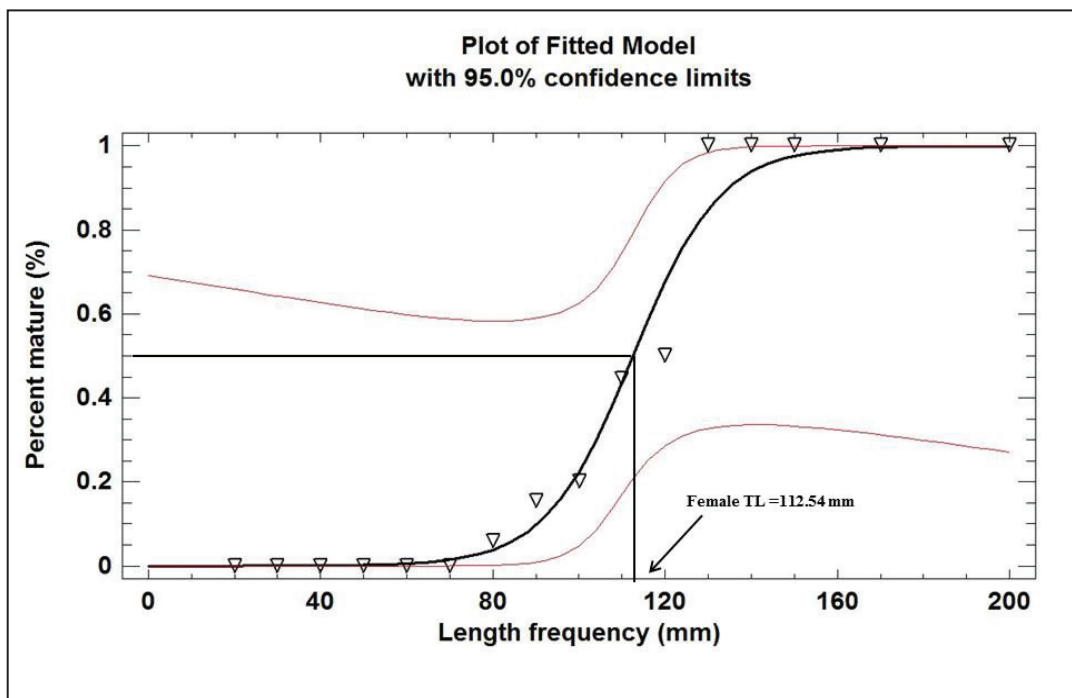
### 6.3.2.3. Πρώτη γεννητική ωρίμαση

Στις Εικόνες 6.6 και 6.7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της εφαρμογής της λογιστικής παλινδρόμησης για την περιγραφή της σχέσης μεταξύ του ολικού μήκους και του ποσοστού των ώριμων αρσενικών και θηλυκών ατόμων αντιστοίχως. Το μήκος πρώτης γεννητικής ωρίμασης ( $TL_{50} \pm SE$ ) για τα αρσενικά άτομα υπολογίστηκε ότι είναι  $95,23 \pm 4,35$  mm (Εικόνα 6.3). Σύμφωνα με το λογιστικό μοντέλο, τα άτομα με ολικό μήκος ίσο και μεγαλύτερο των 120 mm πρέπει να θεωρούνται ώριμα σε ποσοστό 100%. Με βάση τις ηλικιακές κατανομές που παρουσιάστηκαν στον Πίνακα 6.5 και στην Εικόνα 6.5 «Ηλικιακή δομή πληθυσμού», τα αρσενικά άτομα ωριμάζουν γεννητικά κατά το δεύτερο χρόνο της ζωής τους.

Το μήκος πρώτης γεννητικής ωρίμασης ( $TL_{50} \pm SE$ ) για τα θηλυκά άτομα υπολογίστηκε ότι είναι  $112,54 \pm 4,97$  mm (Εικόνα 6.4). Σύμφωνα με το λογιστικό μοντέλο, τα άτομα με ολικό μήκος ίσο και μεγαλύτερο των 130 mm πρέπει να θεωρούνται ώριμα σε ποσοστό 100%. Με βάση τις ηλικιακές κατανομές που παρουσιάστηκαν στον Πίνακα 5.3 και στην Εικόνα 5.3 στο Υποκεφάλαιο 5.3.1 (Ηλικιακή δομή πληθυσμού), τα θηλυκά άτομα ωριμάζουν γεννητικά κατά το τρίτο χρόνο της ζωής τους.



**Εικόνα 6.6** Ποσοστό ώριμων αρσενικών ατόμων *B. strumicae* ανά κλάση (10 mm) ολικού μήκους στον Ποταμό Νέστο.  
**Figure 6.6.** Proportion of mature (%) male *B. strumicae* by size class (TL, 10 mm) in river Nestos.

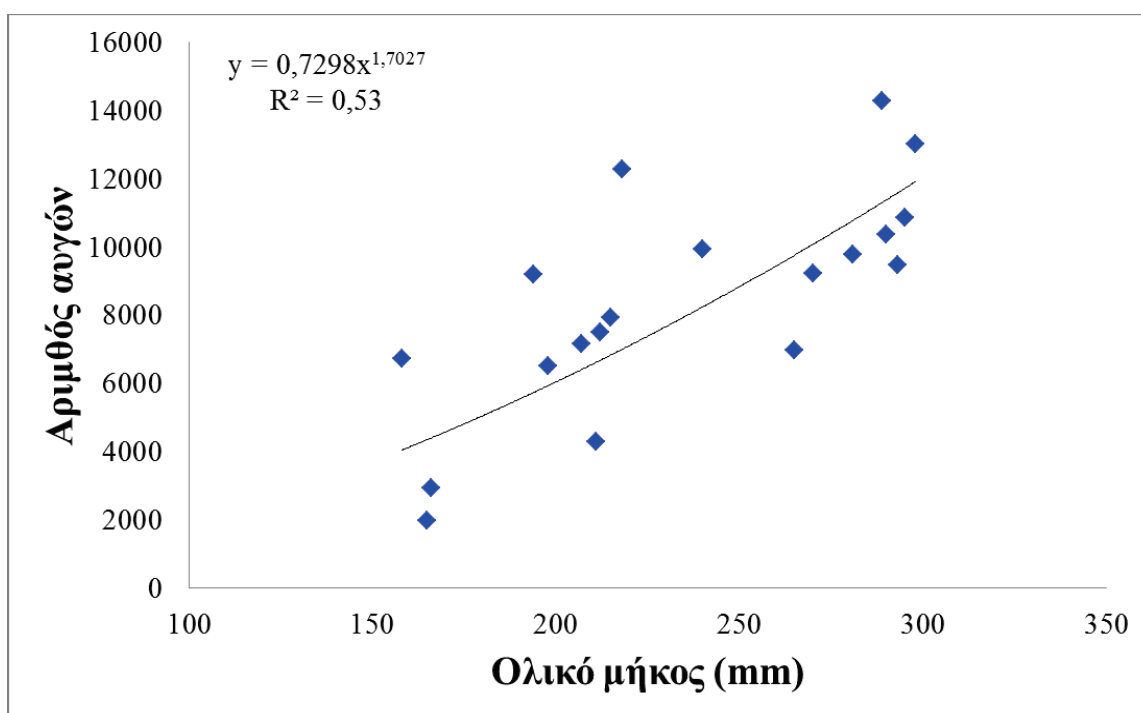


**Εικόνα 6.7.** Ποσοστό ώριμων θηλυκών ατόμων *B. strumicae* ανά κλάση (10 mm) ολικού μήκους. στον ποταμό Νέστο.  
**Figure 6.7.** Proportion of mature (%) female *B. strumicae* by size class (TL, 10 mm) in river Nestos.

#### 6.3.2.4. Γονιμότητα

Η απόλυτη γονιμότητα κυμάνθηκε μεταξύ 1.981 και 25.655 ωοκυττάρων, τα οποία προέρχονταν από τις γονάδες δύο θηλυκών ατόμων ολικού μήκους 165 mm και 211 mm, αντίστοιχα (Εικόνα 6.8). Η σχετική γονιμότητα κυμάνθηκε μεταξύ 35,85 ωοκυττάρων / g και 304,33 ωοκυττάρων / g, για δείγματα με συνολικό μήκος 293 mm και 211 mm, αντίστοιχα. Οι εξισώσεις που υπολογίσθηκαν και συσχετίζουν τη γονιμότητα με το ολικό μήκος (TL, mm), ολικό βάρος (TW, g) και καθαρό βάρος (NW, g) φαίνονται στις Εικόνες 6.8, 6.9 και 6.10. Όπως παρατηρείται, η συσχέτιση της απόλυτη γονιμότητα με καθεμία από τις παραμέτρους που αναφέρθηκαν, αυξάνεται.

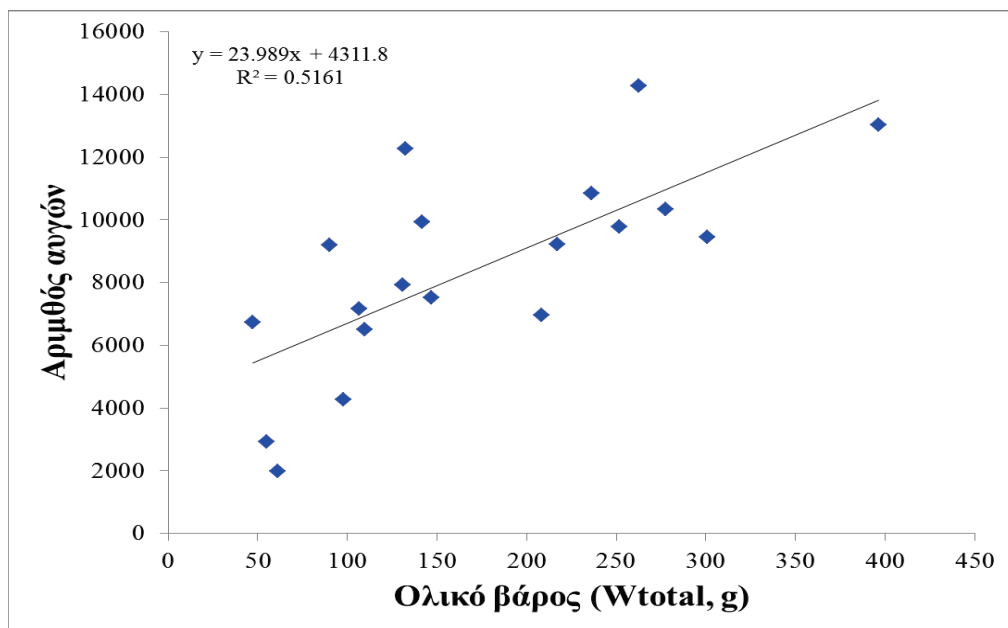
Όσον αφορά το μέσο μέγεθος των ωοκυττάρων, οι κατανομές των συχνοτήτων παρουσιάζονται στην Εικόνα 6.11. Το εύρος των διαμέτρων κυμάνθηκε από 0,04 – 2,42 mm, με τη μέση τιμή να διαμορφώνεται στα 0,99 mm και τυπική απόκλιση (Standard Deviation)  $\pm 0,44$  (Εικόνα 6.8α). Το μεγαλύτερο ωοκύτταρο είχε διάμετρο 2,42 mm και καταγράφηκε σε γονάδα θηλυκού ατόμου που συλλέχθηκε το Φθινόπωρο του 2006, στην φραγμαλίμη της Πλατανόβρυσης.



**Εικόνα 6.8.** Σχέση απόλυτης γονιμότητας ( $F_{abs}$ ) και ολικού μήκους (TL, mm) των δειγμάτων τους είδους *B. strumicae* κατά την περίοδο μελέτης του είδους στον Νέστο.

**Figure 6.8.** Relationship of Absolute fecundity ( $F_{abs}$ ) and total length (TL, mm) for the species *B. strumicae* during the study of species in river Nestos.

Γενικά, σύμφωνα με τις κατανομές των συχνοτήτων παρατηρούνται τρεις κατηγορίες και αυτές υποδηλώνουν διαφορετικά στάδια ωρίμασης των ωοκυττάρων. Η πρώτη κατηγορία, που αποτελεί το απόθεμα της ωοθήκης, περιλαμβάνει τα ωοκύτταρα πρωτογενούς φάσης ανάπτυξης με διάμετρο που κυμαίνεται 0,15 – 0,85 mm, τα ωοκύτταρα που εμφανίζουν έναρξη της λεκιθογένεσης και διάμετρο 0,9 – 1,4 mm και τέλος, τα ώριμα ωοκύτταρα, διαμέτρου 1,45 – 2,45 mm, τα οποία είναι έτοιμα για απόθεση από το θηλυκό άτομο (Εικόνα 6.8).

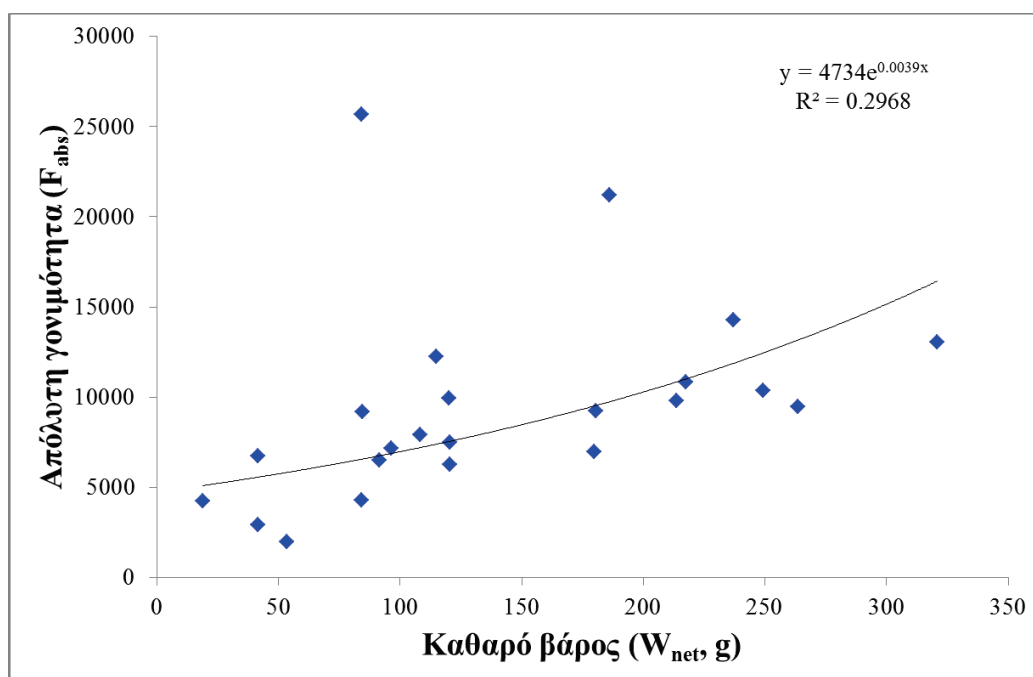


**Εικόνα 6.9.** Σχέση μεταξύ απόλυτης γονιμότητας ( $F_{abs}$ ) και ολικού βάρους ( $W_{total}$ , g) των δειγμάτων του είδους *B. strumicae* κατά την περίοδο μελέτης του είδους στον Νέστο.

**Figure 6.9.** Relationship of Absolute fecundity ( $F_{abs}$ ) and total weight ( $W_{total}$ , g) for the species *B. strumicae* during the study of species in river Nestos.

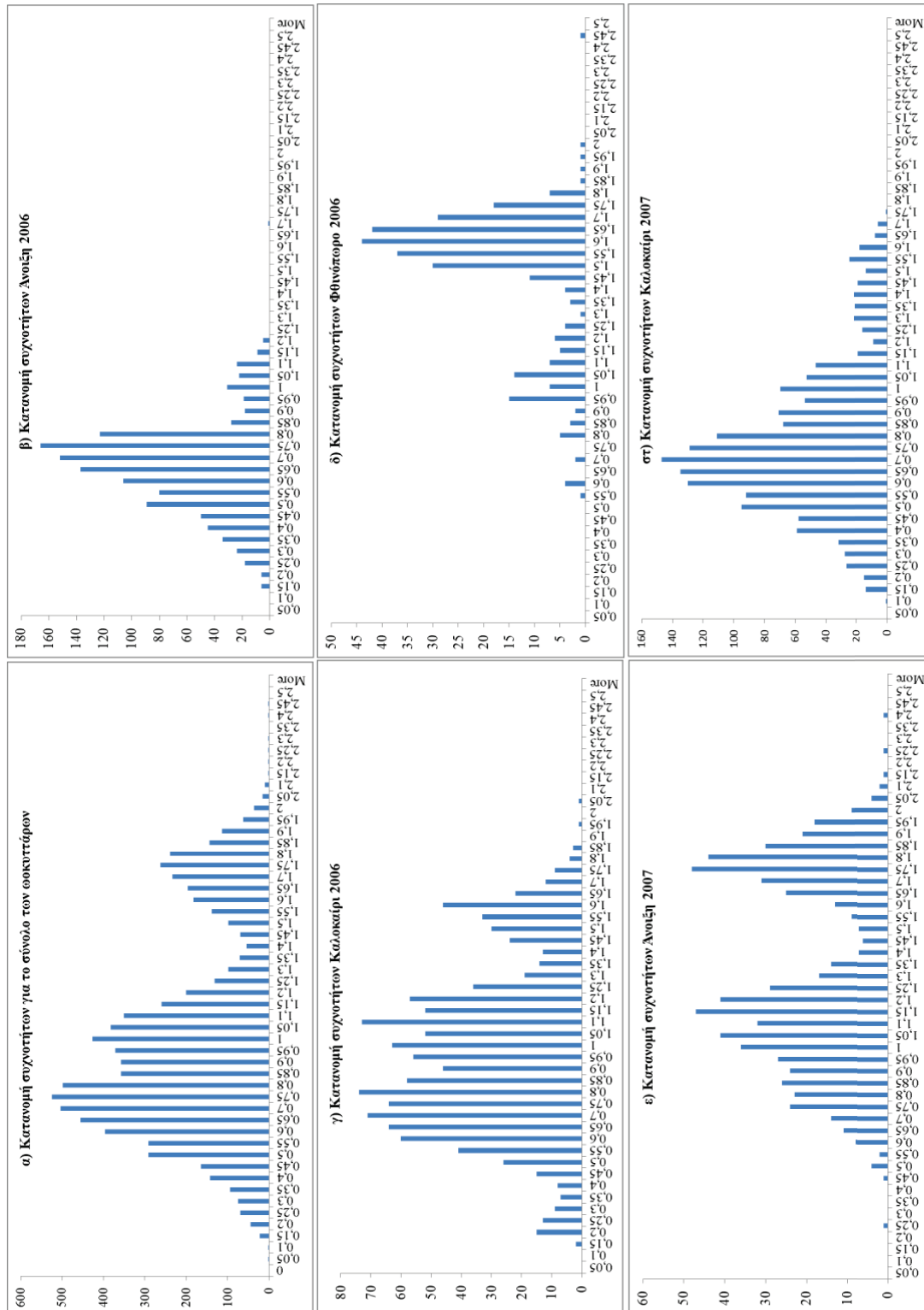
Εποχικά βλέπουμε ότι η κατανομή των ωοκυττάρων παρουσιάζει μια αντιπροσωπευτική αλληλουχία γεγονότων. Κατά την άνοιξη 2006, παρατηρούμε την παρουσία πολύ μικρών ωοκυττάρων (διάμετρος <0,5 mm) με τις διαμέτρους να κυμαίνονται από 0,11 mm έως 1,67 mm (μέση διάμετρος 0,645 ±0,194 mm) (Εικόνα 6.8). Κατά το Καλοκαίρι του 2006, αυξάνεται ο αριθμός των ωοκυττάρων με διάμετρο μεγαλύτερη των 0,5 mm και κυρίως αυτών με διάμετρο μεγαλύτερη του 1 mm (μέση διάμετρος 1,085 ±0,44 mm). Την αμέσως επόμενη εποχή (Φθινόπωρο 2006), έχουν εξαφανιστεί τα ωοκύτταρα με διάμετρο μικρότερη των 0,5 mm, ενώ συντριπτική είναι η παρουσία ωοκυττάρων με διάμετρο μεγαλύτερη των 1,35 mm (1,439 ±0,298 mm). Όμως,

αντίθετα με ό, τι συνέβη την άνοιξη του 2006, το 2007 παρατηρείται ένας σαφής διαχωρισμός των ωοκυττάρων σε δύο ομάδες. Η πρώτη ομάδα αποτελείται από ωοκύτταρα μεγέθους από 0,21 mm έως 1,44 mm, ενώ η δεύτερη ομάδα περιλαμβάνει ωοκύτταρα με διάμετρο από 1,47 mm έως 2,39 mm. Η μέση τιμή για την περίοδο αυτή διαμορφώθηκε σε  $1,288 \pm 0,413$  mm. Επίσης, το καλοκαίρι του ίδιου έτους παρατηρείται η παρουσία μίας μεγάλης ομάδας ωοκυττάρων με διάμετρο από 0,09 mm έως 1,2 mm και μίας μικρότερης ομάδας, με αβγά διαμέτρου 1,21 mm έως 1,73 mm. Η μέση τιμή διαμέτρου των αβγών διαμορφώθηκε σε  $0,754 \pm 0,317$  mm (Εικόνα 6.9).



**Εικόνα 6.10.** Σχέση απόλυτης γονιμότητας ( $F_{abs}$ ) και καθαρού βάρους ( $W_{net}$ , g) των δειγμάτων της είδους *B. strumicae* κατά την περίοδο μελέτης του είδους στον Νέστο.

**Figure 6.10.** Relationship of Absolute fecundity ( $F_{abs}$ ) and net weight ( $W_{net}$ , g) for the species *B. strumicae* during the study of species in river Nestos.



**Εικόνα 6.11.** Κατανομή των εοικυττάρων *B.strumicae* στον ποταμό Νέστο κατά το διάστημα Άνοιξη 2006 - Καλοκαίρι 2007.  
**Figure 6.11.** Oocyte frequency distribution of *B. strumicae* in river Nestos during the period Spring 2006 - Summer 2007.

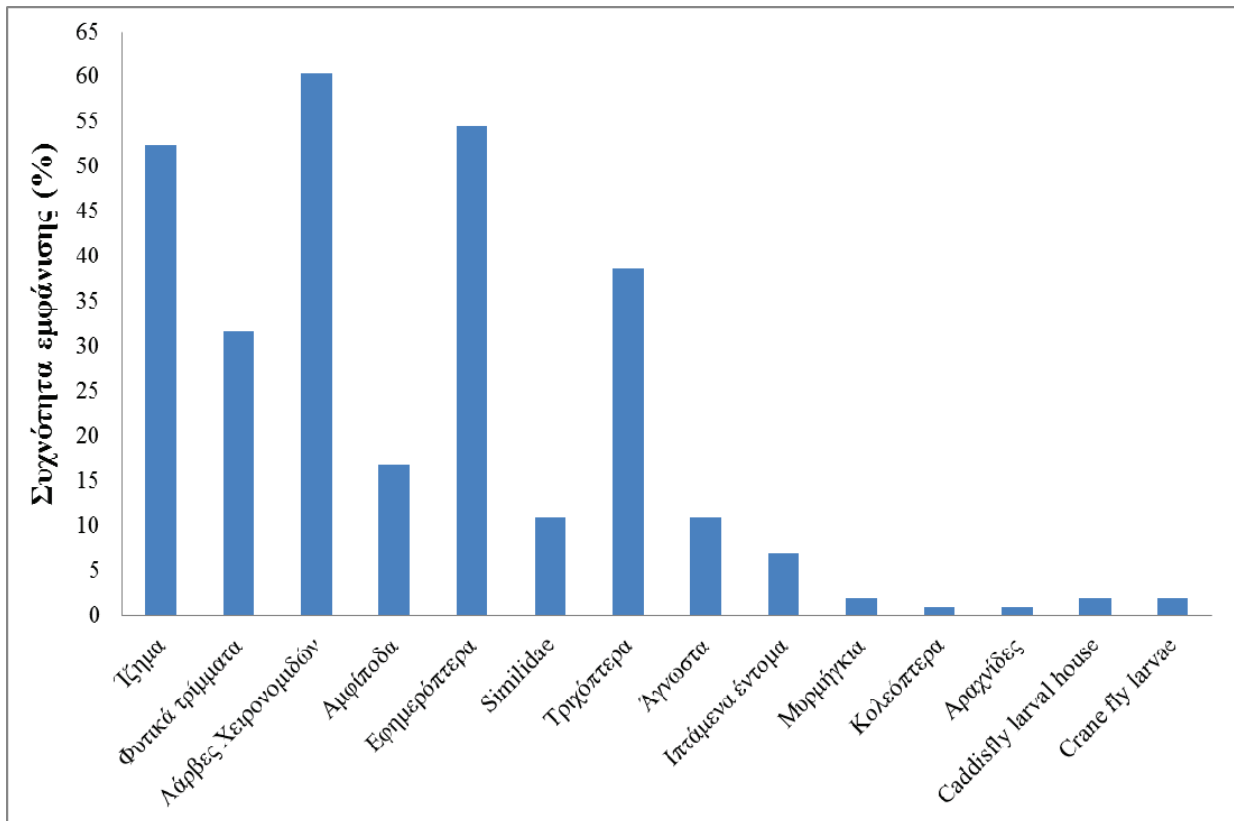
### 6.3.3. Εκτίμηση διατροφικών συνηθειών

#### 6.3.3.1. Ποσοτική και ποιοτική περιγραφή διατροφής

Από την ανάλυση του στομαχικού περιεχομένου διαπιστώθηκε η παρουσία 11 διαφορετικών λειών, οι οποίες αναγνωρίστηκαν σε επίπεδο οικογένειας. Συγκεκριμένα, οι λείες που αναγνωρίστηκαν κατατάσσονται στις εξής κατηγορίες: Φυτικά τρίμματα (plant detritus), έντομα όπως προνύμφες της οικογένειας των χειρονομιδών (chironomidae), αμφίποδα (amphipoda), προνύμφες εφημεροπτέρων (ephemeroptera), τριχόπτερα (trichoptera), λάρβες τριχόπτρων (caddisfly larval house), λάρβες διπτέρων (similidae και crane fly larvae), λάρβες κολεόπτρων (coleoptera), ιπτάμενα έντομα (aerial insects), μυρμήγκια (ants) και μέλη της κλάσης των αραχνιδών (arachnida).

Αρχικά, διερευνήθηκε η πιθανότητα της ύπαρξης διαφοροποιήσεων στη διατροφή μεταξύ των ανάντη και των κατόντη δειγμάτων, αλλά και μεταξύ αρσενικών και θηλυκών. Ο έλεγχος των δύο παραπάνω υποθέσεων πραγματοποιήθηκε με την εφαρμογή της δοκιμασίας της Ανάλυσης Ομοιοτήτων (Analysis of Similarities – ANOSIM). Η δοκιμασία και στις δύο περιπτώσεις έδειξε την απουσία οποιασδήποτε διαφοροποίησης ως προς τη σύνθεση της διατροφής μεταξύ των διαφορετικών φύλων ( $r^2 = 0,00$ ,  $p = 0,5$ ), αλλά και μεταξύ των δύο πληθυσμών ( $r^2 = 0,00$ ,  $p = 0,6$ ). Ως εκ τούτου, όλα τα δείγματα συνενώθηκαν σε μία ομάδα, ανεξαρτήτως φύλου ή της περιοχής που συνελήφθησαν. Η συμμετοχή της κάθε λείας στη διατροφή του είδους *B. strumicae* απεικονίζεται στο γράφημα της Εικόνα 6.10 και στον Πίνακα 6.6.

Από τις λείες που αναγνωρίστηκαν, αυτή με τη μεγαλύτερη συμμετοχή ήταν οι προνύμφες των χειρονομιδών (60,40 %). Ακολουθούσαν τα εφημερόπτερα (54,46 %) και τα τριχόπτερα (38,61 %) και τα φυτικά τρίμματα (31,68 %) (Εικόνα 6.10). Όσον αφορά τις υπόλοιπες λείες που αναγνωρίστηκαν, η συχνότητα εμφάνισής τους κυμάνθηκε από 0,99 % (αραχνίδες και κολεόπτερα) έως 10,89 % (λάρβες διπτέρων - similidae). Τέλος, υπήρχαν και λείες (10,89 %) οι οποίες δεν κατέστη δυνατό να αναγνωριστούν.



**Εικόνα 6.12.** Συχνότητα εμφάνισης του κάθε τύπου λείας στα στομάχια των δειγμάτων του *B.strumicae* που συλλέχθηκαν κατά το διάστημα Άνοιξη 2006 - Καλοκαίρι 2007 στον ποταμό Νέστο.

**Figure 6.12.** Frequency of occurrence of each type of food items identified in the stomachs of the species *B. strumicae*, collected during the period Spring 2006 – Summer 2007 in river Nestos.

Η κυριαρχία των χειρονομιδών στη διατροφή του είδους διαπιστώνεται και κατά τη μελέτη της εποχιακής ποσοστιαία σύνθεσης των λειών (Πίνακας 6.6 και Εικόνα 6.13). Όπως παρατηρείται στην Εικόνα 6.13, οι προνύμφες των χειρονομιδών αποτέλεσαν την κυριότερη πηγή διατροφής για το *B. strumicae* και για τις 3 εποχές. Ως δεύτερη προτιμητέα τροφή κατά την άνοιξη, ήταν τόσο τα εφημερόπτερα (9,79 %), όσο και τα αμφίποδα (8,88 %). Αντιθέτως, κατά τους καλοκαιρινούς μήνες τα αμφίποδα αντικαθίστανται από τα τριχόπτερα (12,70 %), με παράλληλη αύξηση του αριθμού των εφημερόπτερον (12,74 %).

Παρατηρώντας, τα αποτελέσματα της αριθμητικής μεθόδου (Πίνακας 6.7) βλέπουμε ότι οι λάρβες των χειρονομιδών αποτελούν την κύρια πηγή διατροφής του είδους κατά τη διάρκεια του έτους, εκτός από το μήνα Νοέμβριο (Εικόνα 6.14), οπότε ως κύρια πηγή διατροφής είναι τα τριχόπτερα.

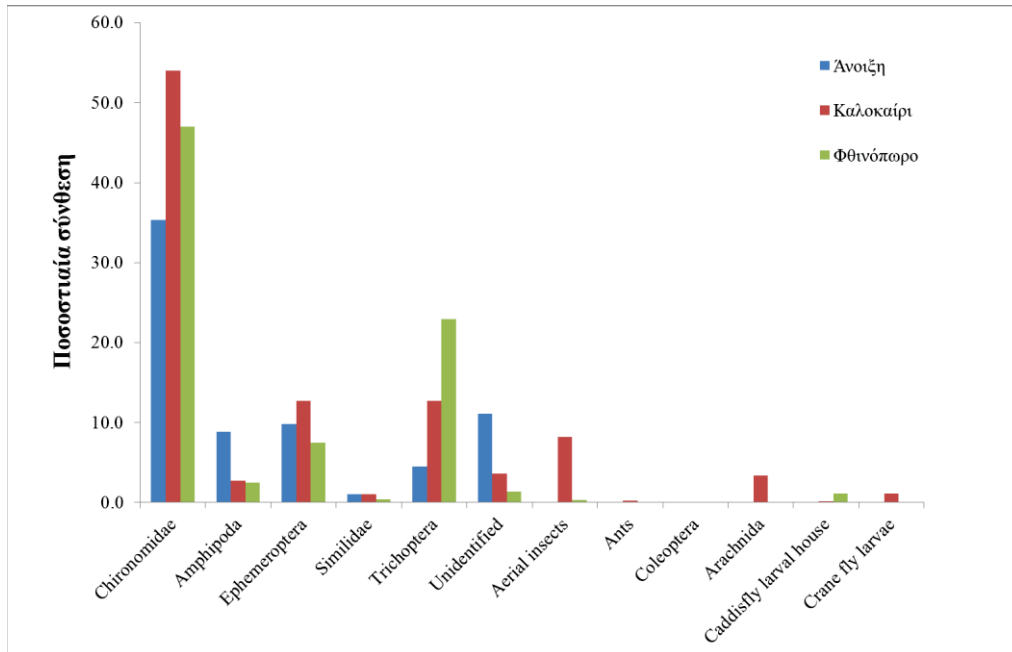


**Πίνακας 6.6.** Συνολική σύνθεση της διαίτας του *B. strumicae* ως προς την εκατοστιαία συχνότητα εμφάνισης (%FO) και την αριθμητική μέθοδο (%N).  
**Table 6.6.** Overall diet composition of *B. strumicae* presented as frequency of occurrence (%FO) and number (%N).

Τροφικές κατηγορίες		% FO	% N
Έντομα			
1	Χειρονομίδες (πρ.)	60,40	39.98
2	Αμφίποδα	16,83	4.69
3	Εφημερόπτερα (πρ.)	54,46	10.01
4	Τριχόπτερα	38,61	13.36
5	Λάρβες τριχόπτερων (caddisfly larval house)	1,98	0.42
6	Κολεόπτερα	0,99	0.03
Λάρβες διπτέρων			
7	Crane fly larvae	1,98	0.38
8	Similidae	10,89	0.84
9	Αραχνίδες	0,99	1.11
10	Μυρμήγκια	1,98	0.09
11	Ιπτάμενα έντομα	6,93	2.82
12	Φυτικά υλικά	31,68	
13	Μη αναγνωρισμένα	10,89	5.37
14	Ίζημα	52,47	

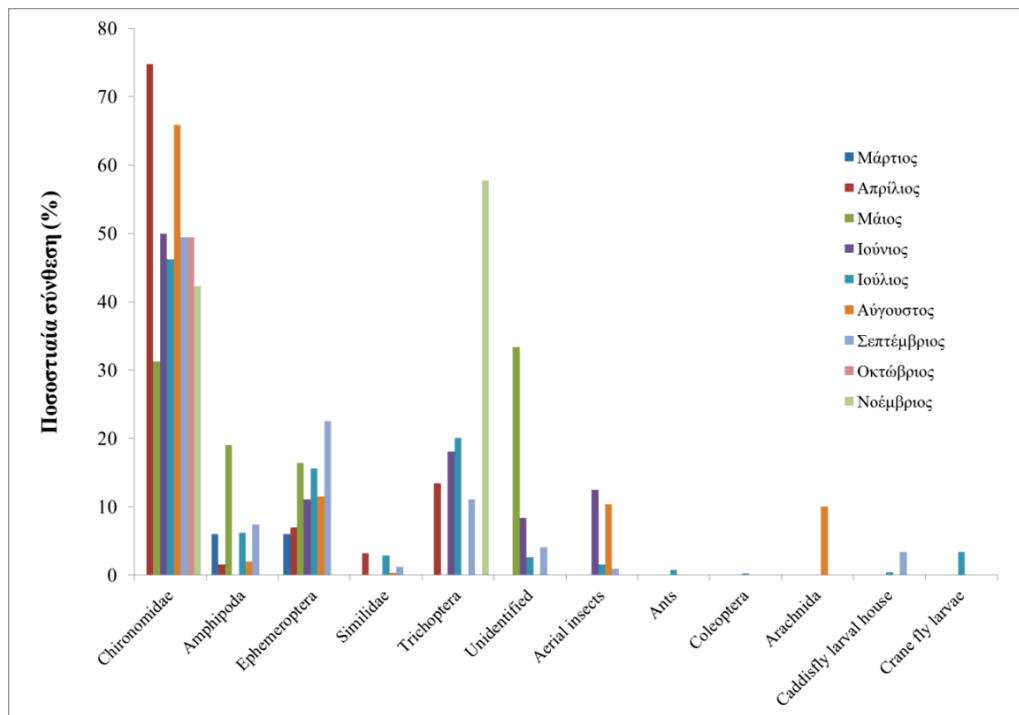
**Πίνακας 6.7.** Μέση εποχική διακύμανση της διαίτας του *B. strumicae*.  
**Table 6.7.** Seasonal variation in percentage of *B. strumicae* dietary composition.

Τροφικές κατηγορίες			
	Άνοιξη	Καλοκαίρι	Φθινόπωρο
Έντομα			
Χειρονομίδες (πρ.)	35,35	54,02	30,57
Αμφίποδα	8,88	2,72	2,47
Εφημερόπτερα (πρ.)	9,79	12,74	7,51
Τριχόπτερα	4,47	12,70	22,92
Λάρβες τριχόπτερων (caddisfly larval house)		0,13	1,13
Κολεόπτερα		0,09	
Λάρβες διπτέρων			
Crane fly larvae		1,15	
Similidae	1,06	1,05	0,39
Αραχνίδες		3,33	
Μυρμήγκια		0,26	
Ιπτάμενα έντομα		8,17	0,30
Μη αναγνωρισμένα	11,11	3,63	1,37



**Εικόνα 6.13.** Εποχική εκατοστιαία σύνθεση λειών που καταγράφηκαν στα στομάχια των δειγμάτων *B. strumicae*, κατά το διάστημα Άνοιξη 2006 - Καλοκαίρι 2007 στο ποταμό Νέστο.

**Figure 6.13.** Seasonal percent composition of each type of food items identified in the stomachs of the *B. strumicae*, collected during the period Spring 2006 – Summer 2007 in river Nestos.



**Εικόνα 6.14.** Μηνιαία εκατοστιαία σύνθεση ως προς τον αριθμό λειών που καταγράφηκαν στα στομάχια των δειγμάτων των *B. strumicae* στον ποταμό Νέστο.

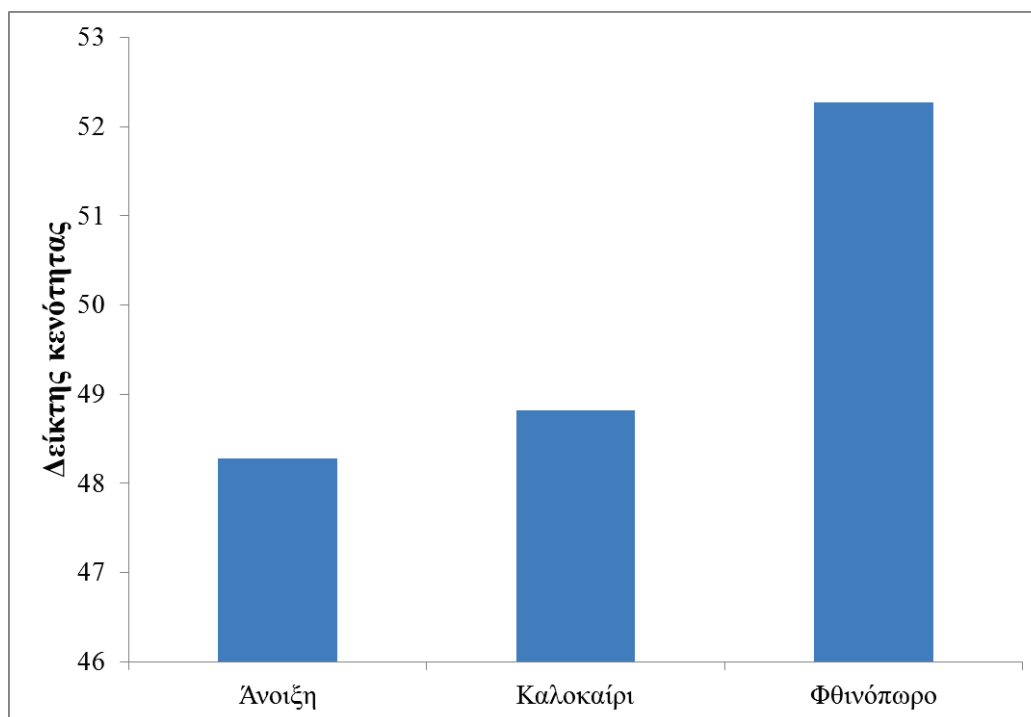
**Figure 6.14.** Monthly variation of the percent composition by number of each type of food items identified in the stomachs of *B. strumicae* in river Nestos.

Όσον αφορά τον δείκτη κενότητας, σε σύνολο 200 δειγμάτων, τα 99 στομάχια (49,5 %) δεν περιείχαν οποιοδήποτε είδος τροφής. Στον Πίνακα 6.7 και στην Εικόνα 6.15, παρουσιάζεται η κατανομή των άδειων στομάχων στις τρεις υπο-μελέτη εποχές. Συγκεκριμένα, τα περισσότερα άδεια στομάχια καταμετρήθηκαν κατά το φθινόπωρο (52,27%), ενώ κατά τις δύο προηγούμενες εποχές, το ποσοστό αυτό κυμαινόταν σε χαμηλότερο ποσό, 48,28 % κατά την άνοιξη και 48,82 % κατά το καλοκαίρι.

**Πίνακας 6.7.** Εποχική μεταβολή του δείκτη κενότητας για το είδος *B. strumicae* στον ποταμό Νέστο.

**Table 6.7.** Seasonal change of vacuity index for the species *B. strumicae* in river Nestos.

	Συνολικά δείγματα	Άδεια στομάχια	Δείκτης κενότητας
Άνοιξη	29	14	48,28
Καλοκαίρι	127	62	48,82
Φθινόπωρο	44	23	52,27



**Εικόνα 6.15.** Εποχική διακύμανση του δείκτη κενότητας για το είδος *B. strumicae* στον ποταμό Νέστο.

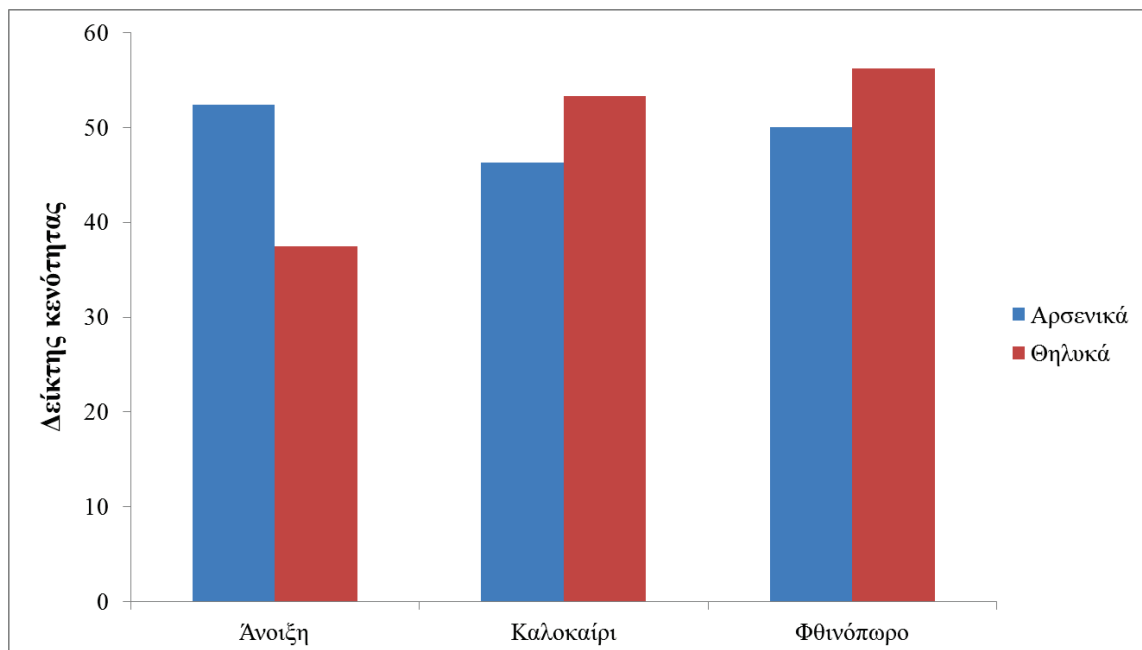
**Figure 6.15.** Seasonal variation of vacuity index for the species *B. strumicae* in river Nestos.

Στον Πίνακα 6.8 και στην Εικόνα 6.16, παρουσιάζεται η εποχική μεταβολή του δείκτη κενότητας ανά φύλο. Παρατηρείται όσον αφορά τα θηλυκά άτομα μία σταδιακή αύξηση του δείκτη κενότητας, καθώς από 37,5 % την άνοιξη, αυξάνεται σε 53,33 % το καλοκαίρι και τελικά, φτάνει στο 56,25 % το φθινόπωρο. Αντιθέτως, στα αρσενικά άτομα ο δείκτης κενότητας μειώνεται από 52,38 % την άνοιξη, σε 46,34 % το καλοκαίρι και αυξάνεται πάλι το φθινόπωρο σε 50,0 %.

**Πίνακας 6.8.** Εποχική μεταβολή του δείκτη κενότητας ανά φύλο για το είδος *B. strumicae* στον ποταμό Νέστο.

**Table 6.8.** Seasonal change of vacuity index per sex for the species *B. strumicae strumicae* in river Nestos.

	Αρσενικά			Θηλυκά		
	Δείγματα	Άδεια στομάχια	Δείκτης κενότητας	Δείγματα	Άδεια στομάχια	Δείκτης κενότητας
Άνοιξη	21	11	52,38	8	3	37,50
Καλοκαίρι	82	38	46,34	45	24	53,33
Φθινόπωρο	28	14	50,00	16	9	56,25



**Εικόνα 6.16.** Εποχική διακύμανση του δείκτη κενότητας ανά φύλο για το είδος *B. strumicae* στον ποταμό Νέστο.

**Figure 6.16.** Seasonal variation of vacuity index per sex for the species *B. strumicae strumicae* in river Nestos.

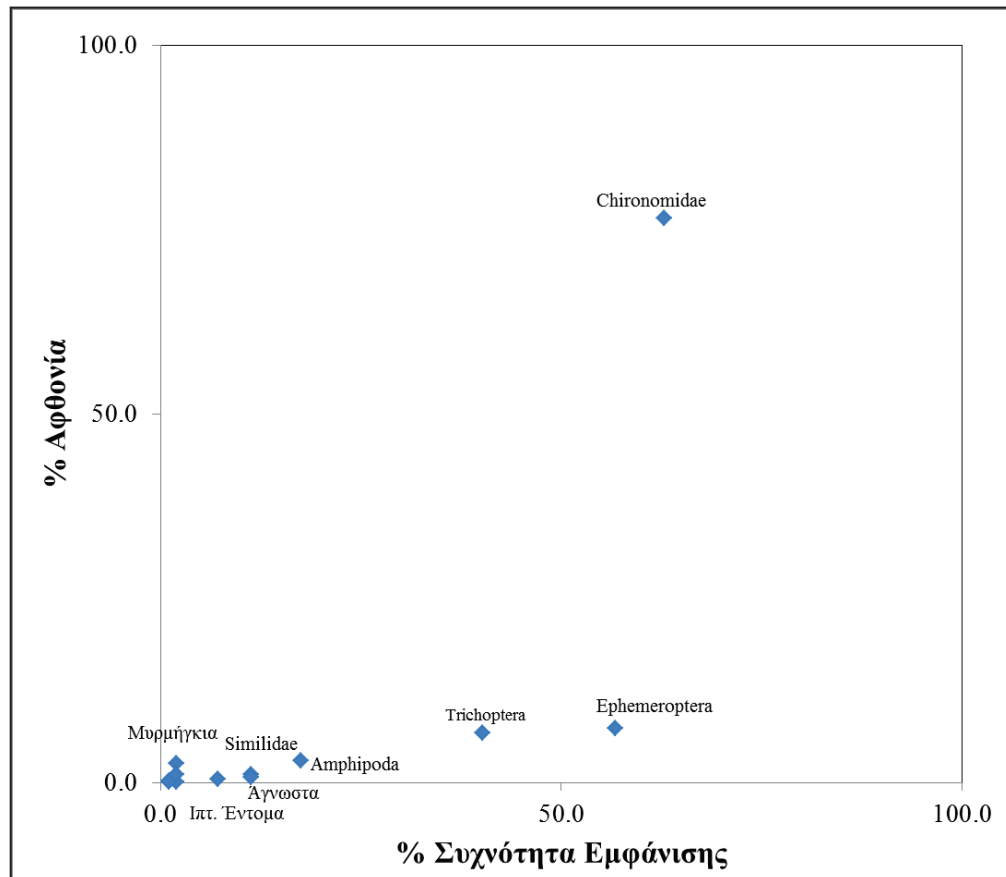
Τέλος, θα πρέπει να αναφερθεί και η παρουσία τεσσάρων διαφορετικών ειδών παρασίτων εντός του πεπτικού σωλήνα. Τα παράσιτα βρέθηκαν εντός του πεπτικού σωλήνα σε 29 άτομα Μπριάνας του Στρυμόνα. Αναγνωρίστηκαν ως λάρβες κεστωδών (cestoda larva), νηματώδη (nematodes), ακανθοκέφαλα (acanthocephalus) και τρηματώδη (trematodes). Μεγαλύτερη αφθονία εμφάνισαν τα νηματώδη, καθώς ο αριθμός τους έφτασε έως και τα 13 άτομα ανά στομάχι, ενώ το δεύτερο πιο άφθονο είδος ήταν οι λάρβες κεστωδών.

#### **6.3.3.2. Στρατηγική διατροφής κατά Costello**

Τα αποτελέσματα της γραφικής μεθόδου Costello για τη περιγραφή της διατροφικής στρατηγικής του *B. strumicae* παρουσιάζονται στην Εικόνα 7.6. Παρατηρώντας την παρακάτω εικόνα, εμφανίζονται τρεις ομάδες. Η πρώτη ομάδα αντιπροσωπεύεται από τις προνύμφες της οικογένειας chironomidae, η οποία, όπως φαίνεται στις Εικόνες 6.11 και 6.12 και στον Πίνακα 6.6, είναι η τροφή που κυριαρχεί στη διατροφή του είδους καθ' όλη τη διάρκεια του έτους.

Στη δεύτερη ομάδα συγκαταλέγονται τα εφημερόπτερα και τα τριχόπτερα, ενώ η τρίτη ομάδα ομάδα απαρτίζεται από τους υπόλοιπους τύπους τροφών και υποδηλώνει την ύπαρξη σπάνιων ή λιγότερα απαντημένων λειών, όπως είναι οι λάρβες δίπτερον (crane fly larvae και simillidae), κολεόπτερα, αραχνίδες, αμφίποδα, ιπτάμενα έντομα κ.τ.λ., η παρουσία των οποίων στο στομαχικό περιεχόμενο του είδους ενδεχομένως να οφείλεται σε τυχαία σύλληψή τους.

Τέλος, από την Εικόνα 6.17 φαίνεται ότι το είδος εμφανίζει υψηλό βαθμό εξειδίκευσης στη θήρευση των χειρονομιδών ενώ ακολουθεί πιο γενικευμένη στρατηγική διατροφής για τη σύλληψη λειών των υπολοίπων τροφικών κατηγοριών (π.χ. λάρβες δίπτερον, κολεόπτερα, αραχνίδες, αμφίποδα, ιπτάμενα έντομα).



**Εικόνα 6.17.** Διάγραμμα της γραφικής μεθόδου Costello, στο οποίο παρουσιάζεται η σχέση της ποσοστιαίας αφθονίας και της εμφάνισης συχνότητας των τροφικών κατηγοριών που βρέθηκαν στη διαίτα του *B. strumicae*.

**Figure 6.17.** Plots based on the Costello graphical method, presenting the relationship among prey abundance and the frequency of occurrence (%FO) of food categories of *B. strumicae*.

#### 6.4. Συζήτηση

Η Μπριάνα του Στρυμόνα είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα είδη στην ευρύτερη περιοχή της νοτιοανατολικής Βαλκανικής χερσονήσου και χαρακτηρίζεται ως ενδημικό είδος της ευρύτερης περιοχής. Παρόλα αυτά, ελάχιστα είναι γνωστά σχετικά με τη βιολογία του είδους, όπως είναι η ηλικιακή δομή, η αύξηση (στοιχεία απαραίτητα για την γνώση της οικολογίας του υπό μελέτη είδους (Bagenal & Tensch 1978, Pauly 1984 και Weatherley & Gill 1987), η αναπαραγωγή του και οι διατροφικές συνήθειές του, καθώς σύμφωνα με τους Adams & McLean (1985) και Wootton (1990 και 1992) η τροφή αποτελεί βασικό παράγοντα στην ανάπτυξη των ψαριών, ενώ η ποιότητα και ποσότητα της τροφής που συλλέγει ένα είδος επηρεάζει τόσο την αύξησή του, όσο και την ευρωστία του.

Κατά τον προσδιορισμό της ηλικιακής δομής του πληθυσμού του είδους *B. strumicae*, η μέγιστη ηλικία που καταγράφηκε ήταν τα 4 έτη. Συγκεκριμένα, βρέθηκαν πέντε θηλυκά άτομα και έξι αρσενικά ηλικίας 4+. Σε γειτονικές περιοχές, όπως είναι το ρέμα της Δοϊράνης, η μέγιστη ηλικία που καταγράφηκε για το είδος *B. cyclolepis* ήταν 9+ (Vasiliou & Economidis 2005), ενώ για το είδος *B. tauricus cyclolepis*, οι Dikov & Zhivkov (1985) αναφέρουν για την περιοχή του ποταμού Dzerman και του ποταμού Dospat (το βουλγάρικο τμήμα του ποταμού Δεσπάτη) άτομα ηλικίας 6+. Η ετήσια αύξηση του *B. strumicae* βρέθηκε ότι είναι παρόμοια με την αύξηση που εμφανίζουν οι πληθυσμοί του είδους *B. sclateri*, το επίσημο όνομα του οποίου σήμερα, σύμφωνα με την [www.fishbase.com](http://www.fishbase.com), είναι *Luciobarbus sclateri* (Günther 1868), ενώ βρίσκεται στους ποταμούς Segura και Guadalquivir στην Ισπανία (Del Mar Torralva *et al.* 1997, Herrera & Fernandez – Delgado 1991).

Συγκρίνοντας τις παραμέτρους αύξησης του πληθυσμού του Νέστου με τις αντίστοιχες άλλων ειδών του γένους *Barbus* από γειτονικές περιοχές παρατηρείται ότι ο πληθυσμός του Νέστου εμφανίζει υψηλότερη τιμή ( $K = 0,1654$ ) σε σχέση με το *B. cyclolepis* της Δοϊράνης ( $K = 0,112$ ) (Vasiliou & Economidis 2005), αλλά χαμηλότερη συγκριτικά με το είδος *B. tauricus cyclolepis*, που εντοπίζεται στον ποταμό Dzerman στη Βουλγαρία ( $K = 0,293$ ) (Dikov & Zhivkov 1985). Επίσης, οι Bobori *et al.* (2006) προσδιόρισαν για το είδος *B. albanicus* της Λίμνης Ταυρωπού ότι το ασυμπτωτικό μήκος ήταν 470 mm και ο συντελεστής  $K$  ίσο με 0,064. Οι παραπάνω τιμές ήταν αρκετά μικρότερες σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές που προσδιορίστηκαν στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής για τα προαναφερθέντα είδη. Ο Britton (2007) αναφέρει την ύπαρξη μεγάλων διαφορών στην αύξηση του *B. barbuis* και μεταξύ διαφορετικών ποταμών, επισημαίνοντας πως χρησιμοποιώντας δεδομένα που συλλέχθηκαν από 12 ποτάμια στην Αγγλία και χρησιμοποιώντας την εξίσωση αύξησης του von Bertalanffy, υπολόγισε ότι το ασυμπτωτικό μήκος  $L_{\infty}$  κυμαίνονταν μεταξύ 774 και 908 mm και οι τιμές του συντελεστή  $K$  μεταξύ 0,04 έως 0,13. Επίσης, οι δύο πληθυσμοί εμφανίζουν ισομετρική αύξηση. Δηλαδή, τα ψάρια αυξάνονται ταυτόχρονα τόσο σε μήκος, όσο και σε βάρος, καθώς ο συντελεστής  $b$  δεν εμφάνιζε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την τιμή 3 (Bagenal & Braum 1978, Koutrakis & Tsikliras 2003). Η ισομετρική αύξηση των ιχθύων αποτελεί επιπρόσθετη ένδειξη επίδρασης βέλτιστων συνθηκών για την ανάπτυξη του ιχθυοπληθυσμών. Αλλά, αυτή η διαφορά θα μπορούσε να εξηγηθεί, αν λάβουμε υπόψη, όπως αναφέρει ο Ricker (1979), ότι υπάρχουν διάφοροι παράγοντες που επηρεάζουν τον

υπολογισμό των σχέσεων μήκους – βάρους, όπως το μέγεθος του δείγματος, το εύρος μήκους και το μέγεθος του δείγματος που μελετήθηκε ή ακόμη, το φύλο και η γεννητική ωριμότητα των δειγμάτων (Cone 1989).

Όσον αφορά την αναπαραγωγή του είδους, τα αρσενικά άτομα του είδους *B. strumicae* κυριαρχούν στους πληθυσμούς του, με την αναλογία να υπολογίζεται σε 1,93:1. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με τις παρατηρήσεις άλλων συγγραφέων για πληθυσμούς διαφορετικών ειδών του γένους *Barbus* που εντοπίζονται σε γειτονικές περιοχές ή άλλες μεσογειακές χώρες. Συγκεκριμένα, οι Vasiliou & Economidis (2005), οι οποίοι μελέτησαν τον πληθυσμό του *B. cyclolepis* που διαβιεί στο ρέμα της Δοϊράνης, υπολόγισαν την αναλογία φύλων ίση με 1,28:1. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρουν και οι Del Mar Torralva *et al.* (1997), οι οποίοι καθόρισαν την αναλογία φύλου δύο πληθυσμών του είδους *B. sclateri*, που εντοπίζονται στον ποταμό Segura στην Ιβηρική χερσόνησο, 1,54:1 (αρσενικά:θηλυκό) για τον πληθυσμό που εντοπίζεται στο μη διευθετημένο τμήμα του ποταμού και 1,27:1 (αρσενικά: θηλυκό) για τον πληθυσμό που εντοπίζεται στο διευθετημένο τμήμα του ποταμού. Οι Herrera & Fernandez – Delgado (1991) αναφέρουν ότι στον πληθυσμό του είδους *B. bocagei sclateri* στον ποταμό Guadalquivir, τα αρσενικά άτομα επίσης κυριαρχούν έναντι των θηλυκών με την αναλογία να ανέρχεται σε 1,3:1. Τέλος, στον πληθυσμό του είδους *B. plebejus escherichi* που εντοπίζεται στο ρέμα Oltu, ο οποίος εκβάλλει στον ποταμό Coruh στην Τουρκία, τα αρσενικά άτομα κυριαρχούσαν έναντι των θηλυκών (Yildirim *et al.* 2001). Τέλος, πρέπει να αναφέρουμε ότι σύμφωνα με τους Hunt & Jones (1975), η αναλογία φύλων σε πληθυσμούς του είδους *B. barbuis* εμφανίζεται να είναι πάντοτε υπέρ των αρσενικών.

Οι Meyer *et al.* (2003) αναφέρουν ότι ένα είδος φτάνει, συνήθως, σε γεννητική ωριμότητα, όταν αυτό επιτυγχάνει ένα ελάχιστο σωματικό μέγεθος, αλλά και κατά την ηλικία που αυτό το μέγεθος επιτυγχάνεται. Όπως αναφέρει ο Wootton (1990), το μήκος πρώτης γεννητικής ωριμότητας ποικίλλει τόσο μεταξύ ειδών, όσο και μεταξύ ατόμων του ίδιου είδους. Στην παραπάνω διαπίστωση καταλήγουν και οι Herrera & Fernandez – Delgado (1991) για το είδος *B. bocagei sclateri*. Από τα αποτελέσματα για τον πληθυσμό του είδους στον Νέστο, παρατηρείται ότι τα αρσενικά άτομα τείνουν να ωριμάζουν γεννητικά κατά ένα χρόνο νωρίτερα από τα θηλυκά, όταν το μέσο μήκος των αρσενικών είναι περίπου 95,23 mm και αντιστοιχεί σε ηλικία 2+, ενώ των θηλυκών είναι 112,54 mm και αντιστοιχεί σε ηλικία 3+. Τα αποτελέσματα αυτά συμπίπτουν με τα αποτελέσματα των Herrera & Fernandez – Delgado (1991). Υπολόγισαν το μήκος πρώτης γεννητικής



ωριμότητας για το είδος *B. bocagei sclateri* στα 60 – 90 mm μεσουραίου μήκους για τα αρσενικά άτομα και αυτό αντιστοιχεί σε ηλικία 2+, ενώ τα θηλυκά άτομα ωριμάζουν γεννητικά, όταν φτάσουν σε μήκος 130 mm μεσουραίο μήκος, το οποίο όμως αντιστοιχεί σε ηλικία 4+ - 5+. Όπως αναφέρουν οι παραπάνω συγγραφείς, το ευμετάβλητο περιβάλλον του παραποτάμου του ποταμού Guadalquivir, ενδεχομένως αυξάνει τη θνησιμότητα των αρσενικών ατόμων του είδους με αποτέλεσμα το είδος να ωθείται σε αλλαγή της αναπαραγωγικής του στρατηγικής και να αναπαράγεται νωρίτερα του αναμενόμενου. Σύμφωνα με τον Pauly (1994), η ωρίμαση των αρσενικών ατόμων ενός είδους πριν από τα θηλυκά άτομα είναι ένα σύνηθες φαινόμενο σε πολλά είδη ιχθύων, ιδιαίτερα σε είδη της οικογένειας των Salmonidae.

Όσον αφορά την περίοδο αναπαραγωγής του είδους, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με τα αποτελέσματα των Vasiliou & Economidis (2005), οι οποίοι αναφέρουν ως περίοδο αναπαραγωγής για τα είδη *B. peloponnesius* και *B. cyclolepis*, στον ποταμό Αλμωπαίο και στο ρέμα της Δοϊράνης αντιστοίχως, την περίοδο από τέλη Μαρτίου αρχές Απριλίου έως τα μέσα Ιουλίου.

Η ίδια διακύμανση του GSI και επομένως, αναπαραγωγική περίοδος, παρατηρήθηκε επίσης και στην περίπτωση του *B. bocagei sclateri* (Herrera & Fernandez - Delgado 1991). Για τα είδη *B. strumicae* και *B. bocagei sclateri*, η περίοδος ωοτοκίας προσδιορίστηκε ότι πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού. Συγκεκριμένα, όπως φαίνεται και από τις τιμές του γοναδοσωματικού δείκτη, για αμφότερα τα φύλα αυτές μειώνονται από την μέγιστη τιμή που έχουν το Μάιο στην ελάχιστη τον Ιούλιο. Το γεγονός υποδεικνύει τη μείωση του βάρους των γονάδων, δηλαδή έχουμε ωοαπόθεση και σπερματογένεση.

Αντιθέτως, σύμφωνα με τους Al Mukhtar *et al.* (2006), ο δείκτης GSI για το είδος *B. sharpeyi* υποδεικνύει περίοδο αναπαραγωγής από τον Δεκέμβριο έως τον Μάρτιο (για τα θηλυκά άτομα), ενώ στα αρσενικά άτομα ο δείκτης GSI απέκτησε την μέγιστη τιμή τον Φεβρουάριο. Σύμφωνα με τους Al Mukhtar *et al.* (2006), για αμφότερα τα φύλα ο GSI αυξήθηκε λίγο πριν από την περίοδο αναπαραγωγής, η οποία προσδιορίστηκε ότι πραγματοποιείται περίπου τον μήνα Απρίλιο.

Όπως αναφέρθηκε και στο Κεφάλαιο 5 (5.3.4. Δείκτης Ευρωστίας κατά Fulton), ο συντελεστής ευρωστίας Fulton παρουσίασε εποχιακή διακύμανση, με δύο μέγιστα, ένα την άνοιξη (Απρίλιος - 1,517) και ένα στις αρχές του φθινοπώρου (Σεπτέμβριος - 1,637). Σύμφωνα με τους Bagenal & Tesch (1978), ο συντελεστής ευρωστίας μεταβάλλεται

εποχικά, όπως για παράδειγμα κατά την αναπαραγωγική περίοδο. Έτσι, σύμφωνα με τον συντελεστή ευρωστίας, η αναπαραγωγή του πληθυσμού στο Νέστο πρέπει να πραγματοποιείται τον Απρίλιο.

Παρατηρώντας τις κατανομές παρατηρούμε δύο διαφορετικές καταστάσεις. Το 2006, η εποχική κατανομή του μεγέθους των αβγών υποδεικνύει ότι ίσως να πραγματοποιήθηκε μερική απόθεση αβγών το χειμώνα του ίδιου έτους, καθώς την άνοιξη του 2007 παρατηρείται η ύπαρξη τόσο ανώριμων όσο και ώριμων αβγών. Όμως, η παρουσία ελάχιστων ώριμων αβγών το καλοκαίρι του 2007 υποδεικνύει την πραγματοποίηση της ωοτοκίας κάποια στιγμή μεταξύ της άνοιξης και του καλοκαιριού. Το παραπάνω γεγονός έρχεται σε συμφωνία μετά τα αποτελέσματα των Herrera & Fernandez-Delgado (1992) για το είδος *B. bocagei sclateri*, αλλά και των Yildirim *et al.* (2001) για τον πληθυσμό του είδους *B. plebejus escherichi* που εντοπίζεται στο ρέμα Oltu και των Vasiliou & Economidis (2005) για τα είδη *B. peloponnesius* και *B. cyclolepis*. Η διαφορετική περίοδος αναπαραγωγής, που παρατηρήθηκε κατά το έτος 2006, ίσως να οφείλεται στην επικράτηση ευνοϊκών συνθηκών που να συνέβαλαν στην πρόωρη ωοτοκία. Σύμφωνα κιόλας με τους Wootton (1984) και τους Yildirim *et al.* (2001), η περίοδος ωοτοκίας των ψαριών ποικίλλει από είδος σε είδος, αλλά και από τα οικολογικά χαρακτηριστικά του υδατικού συστήματος στο οποίο διαβιούν. Τα χαρακτηριστικά αυτά των ψαριών επηρεάζονται από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως είναι η θερμοκρασία και η ποιότητα της τροφής, χαρακτηριστικά τα οποία πρέπει να επηρέασαν την αναπαραγωγική δραστηριότητα του *B. strumicae* κατά το έτος 2006.

Όπως επεσήμαναν οι Adams & McLean (1985) και Wootton (1990 και 1992), η γνώση των διατροφικών συνηθειών ενός είδους συμβάλλει στην κατανόηση της κατάστασης ενός πληθυσμού, καθώς η τροφή αποτελεί βασικό παράγοντα στην ανάπτυξη των ψαριών και η ποιότητα και ποσότητα της τροφής που συλλέγει ένα είδος επηρεάζει τόσο την αύξησή του, όσο και την ευρωστία του. Όπως διαπιστώθηκε, η διατροφή του είδους κυριαρχείται από προνύμφες χειρονομιδών, προνύμφες εφημερόπτερων και τριχόπτερα, με την εκατοστιαία συχνότητα εμφάνισης για τα δύο πρώτα είδη να υπερβαίνει το 50 %. Η παρουσία σε μικρότερο ποσοστό άλλων λειών, όπως είναι οι λάρβες δίπτερων (crane fly larvae και simuliidae), κολεόπτερα, αραχνίδες, ιπτάμενα έντομα κ.τ.λ., ίσως να οφείλεται σε τυχαία σύλληψη τους

Παρόμοια σύνθεση διατροφής έχει βρεθεί και για άλλα είδη του γένους *Barbus*, όπως για παράδειγμα το *B. barbuis* (Piria *et al.* 2005), το *B. cyclolepis* (Rozdina *et al.* 2008)

και το *B. bocagei* (Magalhaes 1993). Σύμφωνα με τους Magalhaes (1993) και Collares-Perea *et al.* (1996), η διατροφή του είδους *B. bocagei* που διαβιεί στο σύστημα του ποταμού Sorraia της Πορτογαλίας αποτελείται κυρίως από προνύμφες χειρονομιδών και εφημερόπτερων, των οποίων η εκατοστιαία παρουσία μεταβάλλεται εποχικά όπως συμβαίνει και στην περίπτωση του *B. strumicae*. Επίσης, σε υψηλά επίπεδα κυμάνθηκε και η εκατοστιαία παρουσία των φυτικών τριμμάτων. Όσον αφορά το είδος *B. barbuis*, σύμφωνα με τους Senk & Aganoviae (1968), ο πληθυσμός του είδους στον ποταμό Vrbanjka τρέφεται κυρίως με προνύμφες χειρονομιδών και εφημερόπτερων, αλλά και πλεκόπτερα. Ωστόσο, δεν είναι αυτά που αποτελούν την κύρια πηγή τροφής για τους πληθυσμούς του είδους στον ποταμό Oslava (Adamek & Obrdlik 1977) και του ποταμού Jihlava (Loso *et al.* 1980). Στην περίπτωση του πληθυσμού στον ποταμό Oslava, κυριότερη πηγή διατροφής ήταν τα τριχόπτερα και ακολουθούσαν οι προνύμφες των χειρονομιδών και τα εφημερόπτερα. Τέλος, παρόμοια σύσταση έχει και η διατροφή του είδους που διαβιεί στον ποταμό Jihlava. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, ωστόσο, της μπριάννα, αυτή εμφανίζει μεγαλύτερο εύρος στα είδη-λειές που χρησιμοποιεί ως πηγή διατροφής. Σύμφωνα με τους Loso *et al.* (1980), η διατροφή του συγκεκριμένου πληθυσμού αποτελούταν από τριχόπτερα, εφημερόπτερα, προνύμφες διπτέρων (χειρονομιδών και simuliidae) και ολιγόχαιτους (Oligochaeta).

Όσον αφορά το είδος *B. cyclolepis*, το οποίο εντοπίζεται σε γειτονικά του ποταμού Νέστου συστήματα, όπως το σύστημα Έβρου και Κομψάτου, οι Rozdina *et al.* (2008), μελέτησαν τις διατροφικές συνήθειες του πληθυσμού του, που διαβιεί στο Βουλγάρικο τμήμα του ποταμού Έβρου. Σύμφωνα με τους παραπάνω συγγραφείς, το *B. cyclolepis* τρεφόταν κυρίως με προνύμφες χειρονομιδών, φυτικά τρίμματα και εφημερόπτερα (78,95 %, 55,79% και 50,53 % αντίστοιχα). Άλλες πηγές τροφής, των οποίων η συχνότητα εμφάνισεις τους είναι μικρότερο του 50 %, ήταν τα αμφίποδα (37,89 %) τα τριχόπτερα (36,89 %), τα ενήλικα chironomidae και simuliidae και τα ιπτάμενα έντομα.

Παρά το γεγονός ότι στο σύνολο των δειγμάτων του είδους καταμετρήθηκαν συνολικά 12 διαφορετικά είδη λειών, το εύρος του τροφικού θώκου ως προς τα είδη που εκμεταλλεύεται το *B. strumicae* είναι στενό. Αυτό οφείλεται κυρίως στην προτίμηση που δείχνει το είδος στις προνύμφες χειρονομιδών και εφημερόπτερων και στα τριχόπτερα. Η ποικιλότητα των λειών εμφανίζει υψηλές τιμές κατά την άνοιξη και στη συνέχεια, μειώνεται σταδιακά, μέχρι που τελικά το φθινόπωρο εμφανίζει τις χαμηλότερες τιμές.

Οι διακυμάνσεις της ποικιλότητας των λειών που παρατηρήθηκαν πιθανόν αντανακλούν τη μεταβολή της διαθεσιμότητας των διαφόρων λειών και όχι στην εποχιακή διαφοροποίηση των διατροφικών προτιμήσεων του είδους *B. strumicae* (Magalhaes 1992). Σύμφωνα με τους Montaiiks & Lobon-Cervia (1986) και τον Magalhaes (1992), οι αλλαγές της σύνθεσης στη διατροφή, όπως αυτή παρατηρείται σε είδη σαν το *Salmo trutta* και το *Barbus bocagei* αντιστοίχως, μπορεί να εξηγηθεί από την εποχιακή εναλλαγή της αφθονίας διαφόρων λειών. Έτσι, αυξάνεται η κατανάλωση ορισμένων λειών, όταν αυξάνεται η αφθονία τους στο περιβάλλον, ενώ μειώνεται αυτών που η αφθονία τους μειώνεται ή εξαφανίζεται κίολας (Montaiiks & Lobon-Cervia 1986). Ο Magalhaes (1992) αναφέρει χαρακτηριστικά ότι κατά την καλοκαιρινή περίοδο αυξάνεται η αφθονία των λαρβών των χειρονομιδών στη διατροφή του *B. bocagei*, καθώς αυξάνει και η συγκέντρωση τους στο περιβάλλον.

Ένα εξίσου σημαντικό γεγονός είναι και η υψηλή ποσοστιαία παρουσία των φυτικών τριμμάτων, η οποία παρατηρείται και σε άλλα είδη του γένους (*B. cyclolepis*, *B. barbuis* και *B. bocagei*). Η ικανότητα του είδους να καταναλώνει φυτική ύλη αποτελεί πλεονέκτημα καθώς μπορεί να ανταγωνιστεί άλλους βενθικούς θηρευτές ή να ανταγωνιστεί άλλα είδη σε συνθήκες χαμηλής αφθονίας σε τροφή (Magalhaes 1992). Επιπλέον, σύμφωνα με τον ίδιο συγγραφέα η επιλογή την φυτικής ύλης ως είδος διατροφής αποτελεί και έναν τρόπο μείωσης της ενέργειας που καταναλώνει ένα ψάρι για αναζήτηση τροφής.

Από τα παραπάνω, διαπιστώνουμε ότι η διατροφή του είδους *B. strumicae*, έχει περιορισμένο εύρος και απαρτίζεται κατά βάση από τέσσερις κύριες κατηγορίες λειών, όπως είναι τα φυτικά τρίμματα, οι προνύμφες χειρονομιδών και εφημεροπτέρων και τα τριχόπτερα. Η διακύμανση της αφθονίας τους οφείλεται στην αλλαγή της αφθονίας της κάθε λείας στο περιβάλλον. Οι επιπλέον λείες που εμφανίζονται εποχικά προέρχονται κυρίως από τυχαίες σύλληψεις αυτών.

## **Κεφάλαιο 7**

**Αξιολόγηση ποιότητας υδάτων σύμφωνα με την Οδηγία Πλαίσιο για τα  
Ύδατα 2000/60/ΕΚ**



## **7. Αξιολόγηση ποιότητας υδάτων σύμφωνα με την Οδηγία Πλαίσιο για τα Ύδατα 2000/60/EK**

### **7.1.Εισαγωγή**

Οι δείκτες αξιολόγησης των υδάτων έχουν μετατραπεί σε σημαντικά εργαλεία αξιολόγησης, ιδιαίτερα μετά την εφαρμογή της Οδηγίας πλαίσιο για τα επιφανειακά ύδατα 2000/60 (EU Water Framework Directive, WFD 2000/60) (Breine *et al.* 2004). Η Οδηγία 2000/60 προτείνει ως μέσο αξιολόγησης των υδάτων τα ψάρια λαμβάνοντας υπόψη παραμέτρους όπως η σύνθεση της ιχθυοπανίδας ενός υδατικού σώματος, η αφθονία των ειδών και η ηλικιακή σύνθεση του πληθυσμού ενός είδους (Economidou 2002).

Αρχικά, η αξιολόγηση της κατάστασης των υδάτινων πόρων συνδέθηκε μόνο με τις επιπτώσεις που είχε η ρύπανση των υδάτων στην ανθρώπινη υγεία. Πολλές επιρροές, όμως, της ανθρώπινης κοινωνίας στα υδροβία συστήματα δεν έχουν καμία άμεση επίπτωση στην ανθρώπινη υγεία (Karr 1981, Karr & Dudley 1981, Deegan *et al.* 1997). Η αλλαγή του τοπίου από τη γεωργία και την αστικοποίηση, η αλλαγή της ροής του νερού με την εκβάθυνση των καναλιών, η παρεκτροπή του γλυκού νερού για εναλλακτικές χρήσεις αποτελούν πηγές αύξησης της πίεσης στα υδάτινα οικοσυστήματα (Karr 1981, Karr *et al.* 1986, Deegan *et al.* 1997, Harrison & Whitfield 2004).

Οι περιβαλλοντικοί δείκτες αποτελούν χρήσιμα εργαλεία για τη μελέτη και αξιολόγηση της θεμελιώδους οικολογικής κατάστασης πολύπλοκων υδάτινων οικοσυστημάτων, αλλά χωρίς να υπάρχει η απαίτηση για τη μελέτη όλων των παραγόντων. Ιδιαίτερα σε υδατικά οικοσυστήματα, οι περιβαλλοντικοί δείκτες αναφέρονται σε χημικούς και βιολογικούς παράγοντες (Harrison & Whitfield 2004). Σύμφωνα με τους Karr (1981) και Karr & Dudley (1981), η αξιολόγηση των υδάτινων συστημάτων με τη χρήση χημικών παραγόντων δεν μπορεί να θεωρηθεί αξιόπιστη, καθώς δεν λαμβάνει υπόψη παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα ενός συστήματος, όπως η διευθέτηση και εκτροπή της κοίτης ποταμών, η ρύθμιση της ροής με την κατασκευή φραγμάτων, η κατακράτηση και η απότομη απελευθέρωση μεγάλων όγκων νερού από τα υδροηλεκτρικά έργα για την παραγωγή ρεύματος, η αποξήρανση υγροτόπων και η υπεραλίευση. Όπως γίνεται κατανοητό, τα κριτήρια που χαρακτηρίζουν τις φυσικές και χημικές ιδιότητες του νερού είναι ανεπαρκή στην επιτυχή αξιολόγηση της ποιότητας των υδάτων (Fore *et al.* 1993, Simon & Lyons 1995, Lyons *et al.* 1996, Bowen *et al.* 1996, Hughes & Oberdorff 1999) και για την περίπτωση των ποτάμιων οικοσυστημάτων, όπως ο Νέστος, χρειάζεται μια διαφορετική προσέγγιση.

Τα ψάρια αποτελούν βασικά στοιχεία των συστημάτων γλυκών υδάτων, διαθέτοντας χαρακτηριστικά που τα καθιστούν χρήσιμους δείκτες αξιολόγησης των υδατικών συστημάτων. Για παράδειγμα, η αφθονία των ψαριών σε ένα οικοσύστημα μειώνεται, όσο αυξάνεται η πίεση σε αυτά, η οποία προκαλείται από αβιοτικούς, καθώς και βιολογικούς παράγοντες, όπως είναι η υποβάθμιση ή/και καταστροφή των ενδιαιτημάτων και η υποβάθμιση της ποιότητας του νερού, η υπεραλίευση και η εσκεμμένη ή μη απελευθέρωση ξενικών ειδών (Karr 1981, Karr *et al.* 1986, Moyle & Randall 1996, Bowen *et al.* 1996, Oberdoff *et al.* 2002, Harrison & Whitfield 2004).

Οι Karr (1981), Karr *et al.* (1986), Moyle & Randall (1996) και Harrison & Whitfield (2004) περιγράφουν τα χαρακτηριστικά των ψαριών, τα οποία τα καθιστούν ιδανικούς δείκτες αξιολόγησης των επιφανειακών υδάτων, και τα οποία συνοψίζονται ως εξής: 1) τα ψάρια εντοπίζονται σε όλα τα οικοσυστήματα, εκτός από εκείνα με υψηλά επίπεδα διατάραξης, 2) η μελέτη των ψαριών μπορεί να γίνει στο πεδίο, στο χώρο δειγματοληψίας χωρίς να απαιτείται η μεταφορά τους στο εργαστήριο, 3) εμφανίζουν ευδιάκριτα παθολογικά σημάδια λόγω της παρουσίας ρύπων, 4) τα ψάρια εμφανίζουν ένα αρκετά μεγάλο εύρος ευαισθησίας σε πιέσεις, καθώς υπάρχουν είδη ιδιαίτερα ευαίσθητα στις πιέσεις και άλλα ιδιαίτερα ανθεκτικά 5) τα ψάρια εντοπίζονται σε όλες τις βαθμίδες της τροφικής πυραμίδας, τριμματοφάγα, πλαγκτονοφάγα, χορτοφάγα, σαρκοβόρα, επομένως οι αλλαγές στο οικοσύστημα μπορούν εντοπιστούν σε όλες τις βαθμίδες της τροφικής αλυσίδας και 6) καθώς έχουν σχετικά μεγάλη διάρκεια ζωής, μπορεί να γίνει μακροχρόνια αξιολόγηση των υδάτων.

Ένας ακόμα λόγος της χρήσης των ψαριών στην αξιολόγηση της οικολογικής κατάστασης των υδάτινων οικοσυστημάτων είναι και το γεγονός ότι πολλές φορές δεν είναι οικονομικά ή τεχνικά εφικτό η αξιολόγηση των επιφανειακών υδάτων με βάση τα φυσικο-χημικά τους χαρακτηριστικά. Ωστόσο, ούτε η χρήση μεμονωμένων μετρικών δεικτών μπορεί να προσφέρει αρκετές πληροφορίες σχετικά με την κατάσταση των υδάτων ή των ιχθυοπληθυσμών. Έτσι, τα προβλήματα αυτά αντιμετωπίζονται με επιτυχία με τη χρήση πολυπαραμετρικών δεικτών (Deegan *et al.* 1997).

Σήμερα έχουν αναπτυχθεί διάφοροι πολυ-παραμετρικοί δείκτες, όπως για παράδειγμα είναι ο Estuarine Biotic Integrity Index (EBII) (Deegan *et al.* 1997), ο Biological Health Index (BHI) (Cooper *et al.* 1994), ο Estuarine Fish Recruitment Index (FRI) και ο Fish-Based Index (FBI) (Oberdoff *et al.* 2002), οι οποίοι δημιουργήθηκαν με βάση τον δείκτη Index of Biotic Integrity (IBI) που αναπτύχθηκε από τον Karr (1981) και



εφαρμόστηκε στα ποτάμια συστήματα των Μεσοδυτικών ΗΠΑ στο πλαίσιο εφαρμογής της Water Quality Act Amendments to 1972.

Σύμφωνα με τους Karr (1981), Karr *et al.* (1986), Moyle & Randall (1996), Bowen *et al.* (1996), Oberdoff *et al.* (2002), Harrison & Whitfield (2004) οι πολυ-παραμετρικοί δείκτες αποτελούν πολύτιμα εργαλεία αξιολόγησης, καθώς συμβάλλουν στην πλήρη και γρήγορη αξιολόγηση συστημάτων που μπορεί να εφαρμοστεί σε σχετικά μεγάλη κλίμακα. Με τον όρο «πλήρη» οι Moyle & Randall (1996) εννοούν ότι ένας δείκτης μελετά την ιχθυοκοινότητα ενός συστήματος ως μια οντότητα.

Ο πρώτος βιοτικός δείκτης που αναπτύχθηκε από τον Karr (1981) αποτελούταν από 12 παραμέτρους – μετρικούς δείκτες, οι οποίοι χωρίζονταν σε δύο κατηγορίες. Στην πρώτη συγκαταλέγονταν οι μετρικές που σχετιζόνταν με την σύνθεση και την αφθονία των ειδών και στη δεύτερη συγκαταλέγονταν αυτές που σχετιζόνταν με οικολογικούς παράγοντες, όπως διατροφή και ασθένειες. Όμως, όπως επισημαίνει ο ίδιος συγγραφέας, ο δείκτης IBI αποτελεί ένα είδος πλαισίου, το οποίο με την κατάλληλη επιλογή μετρικών δεικτών, απαλοιφή ή εισαγωγή νέων, μπορεί να προσαρμοστεί στις εκάστοτε ανάγκες και οικοσύστημα. Τελικός στόχος είναι με την κατάλληλη τροποποίηση των δεικτών να δημιουργηθεί ένας Δείκτης στηριζόμενος στα ψάρια (Fish – Based Index), ο οποίος θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την οικολογική αξιολόγηση των επιφανειακών υδάτων.

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, η νομοθέτηση της Οδηγίας Πλαίσιο για τα Ύδατα (ΟΠΥ) 2000/60 (EC 2000) είχε ως αποτέλεσμα πολλές χώρες να αναπτύξουν τους δικούς τους δείκτες. Άλλες χώρες, πάλι, δεν έχουν ακόμη συμπεριλάβει τα ψάρια στα προγράμματα παρακολούθησης της ποιότητας των υδάτων. Η Ελλάδα μόλις πρόσφατα (2013-2014) ξεκίνησε το Εθνικό πρόγραμμα παρακολούθησης των επιφανειακών υδάτων της, εντάσσοντας και την ιχθυοπανίδα στους δείκτες παρακολούθησης. Η Ευρωπαϊκή Ένωση στην προσπάθεια για τη δημιουργία και χρήση από όλα τα κράτη – μέλη ενός κοινού δείκτη και την τυποποίηση κοινής μεθοδολογίας, σύμφωνα με την Οδηγία 2000/60, χρηματοδότησε το ερευνητικό πρόγραμμα FAME. Απόρροια αυτού του ερευνητικού προγράμματος ήταν ο δείκτης EFI (European Fish Index – Ευρωπαϊκός Δείκτης Ψαριών). Ο EFI στηρίζεται σε ένα μοντέλο πρόβλεψης το οποίο προσφέρει πληροφορίες για τις περιοχές και ποσοτικοποιεί τις αποκλίσεις μεταξύ των προβλεπόμενων και καταγεγραμμένων συνθηκών της ιχθυοπανίδας. Όμως, ο δείκτης δεν μπορεί χρησιμοποιηθεί σε συστήματα με υψηλό βαθμό ενδημισμού, όπως είναι οι χώρες τις Βαλκανικής χερσονήσου.

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής έγινε προσπάθεια ανάπτυξης ενός πολύ-παραμετρικού δείκτη. Αυτός χρησιμοποιήθηκε στην αξιολόγηση των επιφανειακών υδάτων του ποταμού Νέστου, ο οποίος έχει δεχτεί μεγάλες πιέσεις με την κατασκευή των δύο ΥΗΕ, αλλά και του αρδευτικού των Τοξοτών. Σ' αυτόν τον δείκτη χρησιμοποιήθηκαν ως δείκτες και τα τέσσερα είδη της ιχθυοπανίδας, που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη.

## 7.2. Υλικά και Μέθοδοι

Όπως προαναφέρθηκε, οι δείκτες που χρησιμοποιούνται σήμερα προήλθαν από άλλους δείκτες, με τροποποίηση (αφαίρεση ή/και προσθήκη νέων) επιμέρους μετρικών. Έτσι και η δημιουργία του δείκτη αξιολόγησης των υδάτων του ποταμού Νέστου (επιλογή μετρικών, κριτήρια βαθμολόγησης, αξιολόγηση μετρικών και ο τελικός συνδυασμός των μετρικών για τη δημιουργία του τελικού δείκτη) πραγματοποιήθηκε με επιλογή μετρικών που συμπεριλαμβάνονται σε δείκτες. Σημειώτεον ότι οι δείκτες αυτοί ήδη χρησιμοποιούνται τόσο για την αξιολόγηση συστημάτων γλυκών υδάτων, όσο και υφάλμυρων (Karr 1981, Karr *et al.* 1986, Moyle & Randall 1996, Deegan *et al.* 1997, Belpaire *et al.* 2000, Meng *et al.* 2002, Oberdoff *et al.* 2002, Whitfield and Elliott 2002, Harrison and Whitfield 2004, Breine *et al.* 2004, Franco *et al.* 2009).

Συνολικά, εξετάστηκαν 22 μετρικές, οι οποίες αντιπροσωπεύουν ευρύτερες ιδιότητες των ιχθυοκοινωνιών, όπως είναι η «αφθονία και σύνθεση των ιχθυοκοινωνιών» (μετρικές 1 – 13) και ο «οικολογικός θώκος» των ειδών που απαρτίζουν τις ιχθυοκοινότητες (μετρικές 14 – 22). Οι μετρικές αυτές, καθώς και η προβλεπόμενη απόκρισή τους στις διάφορες διαταραχές, παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.1. Με τη χρήση κατάλληλων στατιστικών αναλύσεων, που θα περιγραφούν παρακάτω, απορρίφθηκαν οι μετρικές που εμφάνιζαν τη μικρότερη απόκριση ή αλληλεπικαλύπτονταν με άλλες μετρικές.

### 7.2.1. Επιλογή μετρικών

Προκειμένου να βρεθούν οι μετρικές με τη χαμηλότερη απόκριση, αλλά και μετρικές που αλληλεπικαλύπτονται, εφαρμόστηκε η δοκιμασία της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών (Principal Components Analysis - PCA), χρησιμοποιώντας τις λογαριθμισμένες τιμές ( $\log x + 1$ ) της κάθε μετρικής.

**Πίνακας 7.1.** Οι 22 μετρικοί δυνητικοί δείκτες που εξετάστηκαν κατά την δημιουργία του πολυπαραμετρικού δείκτη αξιολόγησης των υδάτων του ποταμού Νέστου και η προβλεπόμενη απόκριση στις διάφορες διαταραχές.

**Table 7.1.** The 22 potential metric indicators that were examined during the development of the multi-parametric biotic index for the river Nestos' waters quality assesment and the predicted response to various disorders.

Δυνητικές μετρικές	Συντομογραφία	Προβλεπόμενη απόκριση στις διαταραχές	
<i>Αφθονία και σύνθεση ιχθυοκοινότητας</i>			
1	Αριθμός Αυτόχθονων και ενδημικών ειδών	NatEndSp	↓
2	% Αυτόχθονα και Ενδημικά είδη	%NatEndSp	↓
3	Αριθμός ξενικών ψαριών	AlienInd	↑
4	Συνολικός αριθμός ειδών	TotNSp	↓
5	Αριθμός οικογενειών	Nfam	↓
6	Συνολικός αριθμός ατόμων	TotInd	↓
7	Δείκτης ποικιλότητας Shannon-Wiener	H'	↓
8	Σχετική Αφθονία	Rab	↓
9	Μεταναστευτικά είδη	MigSp	↓
10	Ανθεκτικά είδη	TolSp	↑
11	% Αλλόχθονα είδη	%TranSp	↓
12	% Ξενικά είδη	%AlienSp	↑
13	Αριθμός κλάσεων μήκους-ηλικίας	AgLenCl	↓
<i>Οικολογικός θώκος</i>			
14	% αριθμός παμφάγων ειδών	NOmnSp	↑
15	% αριθμός σαρκοφάγων ειδών	%CarnSp	↓
16	% αριθμός βενθικών ειδών %	%BenthSp	↓
17	Αριθμός ειδών με εξειδικευμένη αναπαραγωγή	NSpecSp	↓
18	% ειδών με εξειδικευμένη αναπαραγωγή	%SpecSp	↓
19	Αριθμός ρεόφιλων ειδών	NReopSp	↓
20	% ρεόφιλων ψαριών	%ReopInd	↓
21	Αριθμός λιμνόφιλων ειδών	NLimnoSp	↑
22	% λιμνόφιλων ψαριών	%LimnoInd	↑

Στη συνέχεια, εφαρμόστηκε μη παραμετρική ανάλυση συσχέτισης (Spearman Rank Correlation), προκειμένου να βρεθούν οι μετρικές με τη μεγαλύτερη μεταξύ τους συσχέτιση. Για τη δημιουργία του πολύ-παραμετρικού δείκτη επιλέχθηκαν οι μετρικές εκείνες, οι οποίες μπορούν να μετρηθούν πιο εύκολα. Επίσης, επιλέχθηκαν εκείνες που παρά την ύπαρξη συσχέτισης με άλλες μετρικές, δεν υπάρχει βιολογική αλληλοεπικάλυψη (Breine *et al.* 2004, Franco *et al.* 2009).

### 7.2.2. Βαθμονόμηση μετρικών

Μετά την επιλογή των μετρικών που θα απαρτίζουν τον δείκτη, πραγματοποιήθηκε η βαθμονόμηση των μετρικών. Σύμφωνα με τον Karr (1981), κάθε μετρική μπορεί να πάρει μια μόνο τιμή, η οποία μπορεί να είναι μια εκ των 1, 3 και 5, με την τιμή 1 να αντιστοιχεί στην κακή οικολογική κατάσταση και το 5 στην καλή οικολογική κατάσταση. Η βαθμονόμηση, όμως, αποτελεί μια αρκετά δύσκολη διαδικασία, καθώς απαιτεί την ύπαρξη δεδομένων από οικοσυστήματα με καθόλου ή μικρή επιβάρυνση. Δυστυχώς, τέτοια συστήματα είτε είναι ελάχιστα, είτε δεν υπάρχουν καθόλου. Προκειμένου να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα αυτό οι Harris & Silveira (1999), USEPA (2000), Harrison and Whitfield (2004), Breine *et al.* (2007) και Franco *et al.* (2009) εφάρμοσαν την «καθοδηγούμενη από τα δεδομένα» βαθμονόμηση των μετρικών (data-driver calibration). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, οι «καλύτερες» τιμές για κάθε μετρική που εντοπίζονται στη βάση δεδομένων χρησιμοποιούνται στη θέσπιση των συνθηκών αναφοράς (Harris & Silveira 1999, USEPA 2000). Τα όρια, τα οποία καθορίζουν την βαθμολόγηση της κάθε μετρικής με μία από τις παραπάνω τιμές (1, 3 ή 5), καθορίστηκαν με βάση την απόκλιση των τιμών της κάθε μετρικής από την «τιμή αναφοράς» (Harrison και Whitfield 2004, Breine *et al.* 2007, Franco *et al.* 2009).

Η απόκλιση από την τιμή αναφοράς ελέγχθηκε με την εφαρμογή του ενδοτεταρτημοριακού εύρους (Interquantile Range) και τον υπολογισμό της απόστασης της τιμής αναφοράς (μέγιστη ή ελάχιστη τιμή) από την διάμεση τιμή και το μέγιστο ή ελάχιστο τεταρτημόριο (Zar 1999). Με βάση την κατανομή των τιμών, η κάθε μετρική βαθμολογήθηκε με 5, όταν η τιμή της μετρικής ήταν παρόμοια με την τιμή αναφοράς, με 3, όταν εμφάνιζε μικρή διαφορά και τέλος με 1, όταν υπήρχε μεγάλη διαφορά από την τιμή αναφοράς (Harrison & Whitfield 2004, Breine *et al.* 2007, Franco *et al.* 2009).

### 7.2.3. Δημιουργία πολύ-παραμετρικού δείκτη

Το τελικό στάδιο της διαδικασίας δημιουργίας του δείκτη αξιολόγησης είναι η σύνθεση των μετρικών σε ένα ενιαίο σύνολο (πολύ-παραμετρικός δείκτης) και ο υπολογισμός της τιμής του, η οποία προκύπτει από το άθροισμα των τιμών των επιμέρους μετρικών. Για την τελική κατάταξη ενός οικοσυστήματος σε μία από τις 5 οικολογικές καταστάσεις, Κακή (Bad – κόκκινος χρωματισμός), Ελλιπής (Poor – πορτοκαλί χρωματισμός), Μέτρια (moderate – κίτρινος χρωματισμός), Καλή (good – πράσινος χρωματισμός) και Υψηλή (high – μπλε χρωματισμός) που ορίζει η Οδηγία Πλαίσιο

2000/60, απαιτεί τον ορισμό ελάχιστων και μέγιστων ορίων για κάθε κατάσταση (Εικ. 7.1). Τα όρια αυτά καθορίστηκαν με βάση το εύρος των τιμών που είναι δυνατόν να λάβει ο δείκτης. Την ελάχιστη τιμή, που προκύπτει όταν το σύνολο των μετρικών βαθμολογηθούν με 1 (Κακή κατάσταση – ελάχιστη τιμή), τη μέση τιμή, όταν όλες οι μετρικές βαθμολογηθούν με 3 (Μέτρια κατάσταση) και τη μέγιστη, όταν οι μετρικές βαθμολογηθούν με 5 (Καλή κατάσταση – μέγιστη τιμή). Σύμφωνα με τους Franco *et al.* (2009), το εύρος των ορίων της μέτριας κατάστασης (Moderate) αποτελεί το 30 % του συνολικού εύρους του δείκτη και κατανέμεται ισότιμα γύρω από τη μέση τιμή του δείκτη (Εικ. 7.1).

<b>Κακή</b> (Bad – κόκκινο) (15 %)	<b>Ελλιπής</b> (Poor – πορτοκαλί) (20 %)	<b>Μέτρια</b> (Moderate – κίτρινο) (30 %)	<b>Καλή</b> (Good – πράσινο) (20 %)	<b>Υψηλή</b> (High – μπλε) (15 %)
--	---	--	--	---

**Εικόνα 7.1.** Η κατανομή του εύρους των ορίων σε κάθε οικολογική κατάσταση σύμφωνα με τους Franco *et al.* (1999) και η χρωματική κωδικοποίηση όπως ορίζεται από την Οδηγία Πλαίσιο 2000/60.

**Figure 7.1.** The distribution range of ecological limits in each state according to Franco *et al.* (1999) and the color pattern proposed by the Water Framework Directive 2000/60.

Το εύρος των ορίων της «Καλής» και της «Ελλιπούς» κατάστασης καταλαμβάνουν το 40 % του συνολικού εύρους του δείκτη και κατανέμεται ισότιμα μεταξύ των δύο καταστάσεων, ενώ τέλος η «Υψηλή» και η «Κακή» κατάσταση καταλαμβάνουν το υπόλοιπο 30 % που επίσης κατανέμεται ισότιμα (Εικ. 7.1). Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του στατιστικού πακετού StatGraphics Centurion XVI v.16.1.11.

### 7.3. Αποτελέσματα και Συζήτηση

#### 7.3.1. Επιλογή μετρικών

Όπως προαναφέρθηκε, οι δυναμικές μετρικές που εξετάστηκαν για τη δημιουργία του πολυ-παραμετρικού δείκτη ήταν συνολικά 22 και προήλθαν από δείκτες που ήδη χρησιμοποιούνται τόσο για την αξιολόγηση συστημάτων γλυκών υδάτων, όσο και υφάλμυρων. Οι μετρικές αυτές αντιπροσωπεύουν ευρύτερες ιδιότητες των ιχθυοκοινωνιών, όπως είναι η «αφθονία και σύνθεση των ιχθυοκοινωνιών» (μετρικές 1 –

13) και ο οικολογικός θώκος των ειδών που απαρτίζουν τις ιχθυοκοινότητες (μετρικές 14 – 22).

Προκειμένου να ελεγχθούν οι μετρικές και να εντοπιστούν εκείνες με μικρή απόκριση στις μεταβολές, αλλά και εκείνες που αλληλεπικαλύπτονται, εφαρμόστηκε η δοκιμασία της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών (Principal Components Analysis – PCA). Η PCA εφαρμόστηκε στο σύνολο των δεδομένων για όλες τις μετρικές, οι οποίες όμως είχαν λογαριθμηθεί σύμφωνα με το τύπο  $(\log x + 1)$ . Πριν την εφαρμογή της δοκιμασίας, αφαιρέθηκε από την ανάλυση η μετρική 9 (Μεταναστευτικά είδη), καθώς η τιμή της μετρικής για όλους του σταθμούς ήταν μηδενική και υπήρχε περίπτωση να προκληθεί σφάλμα κατά τη βαθμονόμηση των μετρικών.

**Πίνακας 7.2.** Ιδιοτιμές των κύριων συνιστωσών και ποσοστό μεταβλητότητας των μετασχηματισμένων μετρικών.

**Table 7.2.** Eigenvalues of principal components and % of variance of standardized variables for the metrics.

Κυρίες συνιστώσες	Ιδιοτιμή (Eigenvalue)	% Μεταβλητότητα	% Αθροιστική μεταβλητότητα
1	<b>6.888</b>	<b>98.404</b>	<b>98.404</b>
2	0.051	0.734	99.14
3	0.029	0.421	99.56
4	0.019	0.276	99.84
5	0.007	0.093	99.93
6	0.004	0.053	99.98
7	0.0013	0.018	100.00

Όσον αφορά τις μετρικές, η ανάλυση κύριων συνιστωσών έδειξε την ύπαρξη μετρικών με μικρή διακύμανση και επομένως μειωμένη συμμετοχή στο δείκτη αξιολόγησης. Συγκεκριμένα, όσες μετρικές είχαν παράγοντα βαρύτητας (factor loading)  $<0,7$  (Πίνακας 7.3 – οι μετρικές επισημαίνονται με αστερίσκο) απορρίπτονταν και δεν συμπεριλαμβάνονταν στη στατιστική ανάλυση. Στη συνέχεια, οι 17 μετρικές που απέμειναν υποβλήθηκαν σε δοκιμασία μη-παραμετρικής ανάλυσης συσχέτισης (*Spearman Rank correlation*), προκειμένου να βρεθούν οι μετρικές με μεγάλη συσχέτιση ή και αλληλοεπικάλυψη. Έτσι, αποφεύγεται η περίπτωση να συμπεριληφθούν στο δείκτη μετρικές που εκφράζουν τις ίδιες συνθήκες και οι οποίες θα έχουν ως αποτέλεσμα την υπερεκτίμηση του βαθμού επιβάρυνσης του συστήματος. Επίσης, μετρικές με παράγοντα

βαρύτητας  $>0,8$  ή  $<-0,8$  θεωρήθηκε ότι παρουσιάζουν ισχυρή συσχέτιση και ίσως αλληλοεπικάλυψη (Zar 1996). Από τις μετρικές που εμφάνιζαν υψηλή συσχέτιση, διατηρήθηκαν εκείνες που κρίνονταν απαραίτητες για την περιγραφή της ιχθυοκοινότητας ενός συστήματος και κατά συνέπεια, την αξιολόγηση του συστήματος.

**Πίνακας 7.3.** Τιμές των μετασχηματισμένων μεταβλητών (μετρικών) για τον 1<sup>ο</sup> άξονα της ανάλυσης κύριων συνιστωσών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη για τον Ποταμό Νέστο. Οι μετρικές με παράγοντα βαρύτητας (factor loading)  $<0,8$  (επισημαίνονται με \*) παρουσιάζουν χαμηλή συνεισφορά στη διακύμανση και αφαιρέθηκαν.

**Table 7.3.** The values of the metrics used in the current study for River Nestos obtained from the first axis of the principal component analysis. The metrics with factor loading  $<0.8$  (marked with \*) were rejected.

	Μετρικές	Άξονας 1
1	NatEndSp	-0.619*
2	%NatEndSp	-0.779
3	TotNSp	-0.599*
4	H'	-0.767
5	Nfam	-0.703
6	Rab	5.221
7	MigSp	-0.794
8	TolSp	-0.783
9	%TranSp	-0.793
10	%AlienSp	-0.792
11	AlienInd	-0.769
12	TotInd	9.694
13	AgLenCl	-0.761
14	NOmnSp	-0.789
15	%CarnSp	-0.791
16	%BenthSp	-0.785
17	NSpecSp	-0.646*
18	%SpecSp	-0.779
19	NReopSp	-0.677*
20	%ReopInd	-0.783
21	NLimnoSp	-0.717
22	%LimnoInd	-0.787

**Πίνακας 7.4.** Αποτελέσματα της ανάλυσης συσχέτισης μεταξύ των μετρικών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη για τον ποταμό Νέστο. Με έντονο μάρκο χρώμα επισημαίνονται οι ισχυρές συσχετίσεις για  $p < 0,5$  και με αστερίσκος με συντελεστή συσχέτισης  $< 0,8$  ή  $> -0,8$ .

**Table 7.4.** The results of the *Spearman Rank Correlation* analysis of the metrics used in the current study for river Nestos. With bold and red font strong correlations between the metrics are highlighted for  $p < 0.5$ , while with a “\*” the metrics with a rank correlation  $< 0.8$  ή  $> -0.8$ .

	%NatEndSp	H	Nfam	Rab	TolSp	%TranSp	%AlienSp	AlienInd	TotInd	AgLenCl
%NatEndSp										
H	-0.4084									
Nfam	<b>-0.9018</b>	0.4385								
Rab	0.4901	-0.2285	-0.3105							
TolSp	-0.4196	0.1788	0.2988	0.1292						
%TranSp	-0.6787	-0.3001	0.5083	-0.434	0.0069					
%AlienSp	<b>-0.7878 *</b>	0.5243	<b>0.8288</b>	-0.024	0.3721	0.3763				
AlienInd	<b>-0.8097</b>	0.516	<b>0.8084</b>	-0.0605	0.3962	0.4164	<b>0.9954</b>			
TotInd	<b>0.8028</b>	-0.4405	-0.6238	0.3365	-0.1472	-0.6246	-0.6334	-0.6731		
AgLenCl	<b>0.8349</b>	-0.4087	<b>-0.8203</b>	0.0127	-0.3566	-0.5348	<b>-0.8338</b>	<b>-0.8387</b>	<b>0.8623</b>	
NOmnSp	-0.2989	-0.4824	-0.0242	-0.2156	0.0107	<b>0.8075</b>	0.045	0.1181	-0.4795	-0.2496
%CarnSp	-0.5206	<b>0.799*</b>	0.6885	0.1081	0.4493	-0.1995	<b>0.7855*</b>	0.7493	-0.3331	-0.6078
%BenthSp	<b>0.8572</b>	-0.4132	-0.7524	0.0699	-0.4901	-0.5512	<b>-0.9183</b>	<b>-0.9444</b>	<b>0.8154</b>	<b>0.9155</b>
%SpecSp	<b>0.7683*</b>	0.0031	-0.6393	-0.0406	-0.5132	-0.7306	-0.7214	-0.7526	0.7209	<b>0.8552</b>
%ReopInd	0.7188	0.2578	-0.5804	0.3497	-0.2453	<b>-0.9107</b>	-0.5481	-0.5825	0.4753	0.5102
NLimnoSp	-0.8597	0.0149	0.7306	-0.2953	0.3677	<b>0.8453</b>	<b>0.7618*</b>	<b>0.794*</b>	-0.6563	-0.7245
%LimnoInd	-0.7475	-0.2088	0.6097	-0.3681	0.2595	<b>0.9031</b>	0.5812	0.6155	-0.4982	-0.5327



**Πίνακας 7.4.** Συνέχεια από σελίδα 178.  
**Table 7.4.** Continued from page 178.

	NOmnSp	%CarnSp	%BenthSp	%SpecSp	%ReopInd	NLimnoSp	%LimnoInd
%NatEndSp							
H							
Nfam							
Rab							
TolSp							
%TranSp							
%AlienSp							
AlienInd							
TotInd							
AgLenCl							
NOmnSp							
%CarnSp	-0.5317						
%BenthSp	-0.3508	-0.6058					
%SpecSp	-0.5901	-0.3011	<b>0.8952</b>				
%ReopInd	-0.6802	0.0064	0.6438	<b>0.7786*</b>			
NLimnoSp	0.5825	0.2653	<b>-0.8489</b>	<b>-0.8876</b>	<b>-0.9493</b>		
%LimnoInd	0.6594	0.036	-0.6703	<b>-0.7841*</b>	-0.9987	<b>0.9607</b>	

Από τις 17 μετρικές, σύμφωνα με την δοκιμασία Spearman Rank Correlation, οι 9 εμφάνιζαν χαμηλή μεταξύ τους συσχέτιση (Πίνακας 7.4 – επισημαίνονται με αστερίσκο), η οποία, σύμφωνα με τους Breene *et al.* (2004), είναι απαραίτητη, καθώς οι μετρικές αυτές θα χρησιμοποιηθούν για τον υπολογισμό του δείκτη (Πίνακας 7.4). Από τις υπόλοιπες 8 μετρικές, επιλέχθηκαν επιπλέον τέσσερις, οι οποίες κρίθηκαν ότι δίνουν σημαντικές πληροφορίες για την κατάσταση της ιχθυοκοινότητας ενός οικοσυστήματος (Πίνακας 7.5).

Το σύνολο των μετρικών που παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.5, αποτελούν το πολυπαραμετρικό δείκτη αξιολόγησης των επιφανειακών υδάτων του ποταμού Νέστου. Όπως έχει προαναφερθεί, οι μετρικές αυτές αντιπροσωπεύουν ευρύτερες ιδιότητες των ιχθυοκοινωνιών. Σ' αυτές συγκαταλέγονται η «αφθονία και σύνθεση των ιχθυοκοινωνιών» και ο οικολογικός θώκος των ειδών που απαρτίζουν τους ιχθυοπληθυσμούς. Οι μετρικές αυτές περιγράφονται στη συνέχεια.

**Πίνακας 7.5.** Πίνακας με τις μετρικές που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη για την σύνθεση του δείκτη. Η ομάδα Α περιλαμβάνει τις μετρικές με χαμηλή συσχέτιση, σύμφωνα με την δοκιμασία Spearman Rank correlation και η ομάδα Β τις μετρικές που παρουσίαζαν υψηλή συσχέτιση.

**Table 7.5.** List with the metrics used in the current study for the index. The group A includes the metrics with low correlation according to the *Spearman Rank Correlation* and the group B metrics that were highly correlated.

Ομάδα Α		Ομάδα Β	
1	%NatEndSp	10	%BenthSp
2	%AlienSp	11	%TranSp
3	AlienInd	12	Nfam
4	Shannon –Wiener H'	13	AgLenCl
5	%SpecSp		
6	%CarnSp		
7	NLimnoSp		
8	%LimnoInd		
9	%ReopInd		

Μετρικές «%NatEndSp» και «%AlienSp», «%TranSp», «AlienInd»

Οι μετρικές «%NatEndSp» και «%AlienSp» (για περιγραφή των συντομογραφιών βλέπε Πίνακα 7.1) σχετίζονται με την ποσοστιαία σύνθεση του ιχθυοπληθυσμού όσον αφορά αυτόχθονα, ενδημικά και ξενικά είδη. Οι μετρικές αυτές έχουν ανάστροφη συμπεριφορά, καθώς όσο αυξάνεται η υποβάθμιση ενός συστήματος μειώνεται ο αριθμός των αυτόχθονων και ενδημικών ειδών και αυξάνεται αντίστοιχα ο αριθμός των ξενικών (Karr 1981, Karr *et al.* 1986, Belpaire *et al.* 2000, Breine *et al.* 2004, Harrison & Whitfield 2004).

Η μετρική *AlienInd* χρησιμοποιείται ως συμπληρωματική της μετρικής %*AlienSp*. Η παρουσία ξενικών ειδών δε σημαίνει απαραίτητα και την ύπαρξη τοπικού πληθυσμού, καθώς τα άτομα που συλλαμβάνονται μπορεί να προέρχονται είτε από τυχαίες διαφυγές (π.χ. διαφυγή ατόμων Ιριδίζουσας Πέστροφας από μονάδες εκτροφής), είτε από εσκεμμένη απόρριψη ξενικών ειδών π.χ. από ενυδρεία. Όσο αυξάνεται ο αριθμός των ατόμων που συλλαμβάνονται, τόσο αυξάνεται η πιθανότητα για την ύπαρξη τοπικού πληθυσμού και επομένως, μεγαλώνει η ένδειξη υποβάθμισης του συστήματος (Belpaire *et al.* 2000, Breine *et al.* 2004).

Μετρική «*Shannon – Wiener H'*»

Η παρουσία πολλών ειδών ή μεγάλου αριθμού ατόμων δεν σημαίνει ότι το οικοσύστημα είναι σε καλή κατάσταση. Όπως προαναφέρθηκε, η παρουσία πολλών ειδών δε σημαίνει απαραίτητα την ύπαρξη μιας υγιούς ιχθυοκοινότητας. Στην περίπτωση που ο αριθμός των ψαριών τα οποία συλλέγονται σε κάποιο σταθμό είναι πολύ μεγάλος, τότε χρησιμοποιείται ο δείκτης ποικιλότητας Shannon-Wiener. Ο συγκεκριμένος δείκτης αποτελεί ένδειξη της ισοκατανομής και αφθονίας ειδών σε ένα οικοσύστημα. Σύμφωνα με τους Clarke & Warwick (1994), ο δείκτης αυτός αποτελεί μία ένδειξη της κατάστασης του συστήματος και όσο υψηλότερη είναι η τιμή του, τόσο καλύτερη είναι η κατάσταση του (Breine *et al.* 2004).

Μετρική «*%SpecSp*»

Η μετρική *%SpecSp* αξιολογεί την κατάσταση του συστήματος με βάση την παρουσία ειδών που εφαρμόζουν εξειδικευμένες στρατηγικές αναπαραγωγής. Για παράδειγμα η αναπαραγωγή του είδους *Rhodeus amarus* (Τσιρωνάκι) πραγματοποιείται με τη συμβολή του δίθυρου των γλυκών υδάτων *Unio* sp., καθώς το Τσιρωνάκι απελευθερώνει τα αυγά του μέσα στο δίθυρο, όπου και γίνεται η γονιμοποίηση των αβγών. Επίσης, υπάρχουν είδη που εναποθέτουν τα αυγά τους στον πυθμένα ή ανάμεσα στις πέτρες. Σύμφωνα με τους Oberdorff *et al.* (2002), οι αναπαραγωγικές στρατηγικές επηρεάζονται από την ποιότητα των ενδιαιτημάτων. Έτσι, τα λιθόφιλα είδη επηρεάζονται από την συγκέντρωση ιζήματος λόγω παρουσίας εμποδίων, όπως φράγματα, μικρά και μεγάλα, πέδιλα γεφυρών κ.τ.λ., καθώς αυτά απαιτούν υπόστρωμα με λίθους για να είναι επιτυχής η αναπαραγωγή.

Μετρικές «*%BenthSp*», «*%CarnSp*»

Οι μετρικές αυτές σχετίζονται με τις διατροφικές συνήθειες των ειδών που συνθέτουν την ιχθυοπανίδα ενός συστήματος. Όπως προαναφέρθηκε, η κατασκευή φραγμάτων έχει ως αποτέλεσμα τη συγκράτηση του ιζήματος ανάντη αυτών και την επικάλυψη των λίθων του πυθμένα (Breine *et al.* 2004). Έτσι, είδη που διατρέφονται από τα περίφουτα που αναπτύσσονται πάνω σε αυτά, όπως είναι το είδος *Chondrostoma vardarense*, να αδυνατούν να βρουν τροφή. Επίσης, στα σαρκοφάγα είδη περιλαμβάνονται αυτά που διατρέφονται με διάφορους βενθικούς ασπόνδυλους οργανισμούς, καθώς και με άλλα είδη ιχθύων που εντοπίζονται στη στήλη του νερού. Επομένως, η οποιαδήποτε

διατάραξη της βενθικής πανίδας ή και της ιχθυοπανίδας θα επηρεάσει και την παρουσία/αφθονία των ειδών αυτών (Karr 1981, Karr *et al.* 1986).

#### Μετρικές «*NLimnoSp*», «*%LimnoInd*», «*%ReopInd*»

Οι τρεις αυτές μετρικές σχετίζονται με την οικολογία των ειδών και συγκεκριμένα, με το είδος των ενδαιτημάτων που προτιμούν, δηλαδή αν προτιμούν λιμναία (λιμνόφιλα είδη) ή ποτάμια ενδαιτήματα (ρεόφιλα είδη) (Oberdoff *et al.* 2002). Σε αδιατάρακτα ποτάμια συστήματα, η ιχθυοπανίδα τους κυριαρχείται από ρεόφιλα είδη, δηλαδή είδη τα οποία εντοπίζονται σε ποτάμια ή ρυάκια με καλά οξυγονωμένα νερά. Η υποβάθμιση συστημάτων από την κατασκευή φραγμάτων που μετατρέπουν τα φυσικά οικοσυστήματα σε τεχνητά λιμναία έχει ως αποτέλεσμα την μείωση των ειδών αυτών με παράλληλη αύξηση των ξενικών ή αλλόχθονων λιμνόφιλων ειδών (Oberdoff *et al.* 2002).

#### Μετρική «*Nfam*»

Η επιλογή της μετρικής αυτής συμβάλλει στην καλύτερη κατανόηση της κατάστασης ενός συστήματος. Σε ένα σύστημα είναι δυνατόν να εντοπίζεται μεγάλος αριθμός ειδών. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των οικογενειών που εντοπίζονται σε ένα οικοσύστημα, τόσο υποδηλώνεται ότι επικρατούν συνθήκες που συμβάλλουν στην διατήρηση υψηλής βιοποικιλότητας (Oberdoff *et al.* 2002).

#### Μετρική «*AgLenCl*»

Η συγκεκριμένη μετρική συμπεριλήφθηκε στην λίστα των μετρικών, αν και παρουσίαζε υψηλή συσχέτιση καθώς προτείνεται να συμπεριληφθεί από την Οδηγία Πλαίσιο. Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 7.1, η μετρική αυτή καταγράφει τον αριθμό των κλάσεων μήκους-ηλικίας, όπως περιγράφηκε στο Κεφάλαιο 6.3.1.1 «Ηλικιακή δομή πληθυσμού» και επιδεικνύεται στον Πίνακα 6.4. Η μετρική *AgLenCl* αποτελεί μια ένδειξη της ικανότητας του οικοσυστήματος να συντηρήσει μακρόβιους πληθυσμούς αλλά και ένδειξη επιτυχούς αναπαραγωγής των ειδών στην περιοχή (EU WFD 2000, Breine *et al.* 2004). Σύμφωνα με τους Breine *et al.* (2004), για κάθε ενδημικό ή αυτόχθονο είδος αντιστοιχεί ένας αριθμός που υποδεικνύει τον μέγιστο αριθμός κλάσεων – ηλικίας που έχει ένα είδος. Η τιμή της μετρικής υπολογίζεται ως το άθροισμα των επιμέρους τιμών (περιλαμβάνει όλα τα είδη εκτός από τα ξενικά) και το άθροισμα αυτών διαιρείται από το συνολικό αριθμό ειδών που συλλέχθηκαν.

### 7.3.2. Βαθμονόμηση μετρικών

Όπως προαναφέρθηκε, η βαθμονόμηση των μετρικών πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο της «καθοδηγούμενης από τα δεδομένα» βαθμονόμησης (data-driver calibration) (Harris & Silveira 1999, USEPA 2000, Harrison and Whitfield 2004, Breine *et al.* 2007, Franco *et al.* 2009) και την εφαρμογή του ενδοτεταρτημοριακού εύρους (Πίνακας 7.6). Με βάση τα δεδομένα του Πίνακα 7.6, υπολογίστηκαν τα όρια βαθμολόγησης της κάθε μετρικής, τα οποία παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.7.

**Πίνακας 7.6.** Αποτελέσματα της ανάλυσης του ενδοτεταρτομοριακού εύρους για τις μετρικές που έχουν επιλεγεί για την αξιολόγηση της οικολογικής κατάστασης του ποταμού Νέστου. Η μέγιστη και ελάχιστη τιμή τις κάθε μετρικής, όπως και οι τιμές για το μέγιστο και ελάχιστο τεταρτημόρια χρησιμοποιήθηκαν για την βαθμονόμηση των μετρικών.

**Table 7.6.** The results of the interquartile analysis for the metrics that were chosen to be used in the assessment of river Nestos' ecological status . The maximum and minimum length, the upper quartile and the lower quartile were used to calibrate the metric.

	%NatEndSp	%AlienSp	AlienInd	%SpecSp	%LimnoInd	NLimnoSp	%CamSp	%ReopInd	%BenthSp	%TranSp	Nfam	AgLenCl	Shannon-Wiener
N	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Average	0,821	0,110	1,143	0,810	0,370	3,714	0,199	0,630	0,513	0,069	4,429	1,939	0,377
Median	0,800	0,100	1,000	0,800	0,360	4,000	0,200	0,640	0,500	0,090	4,000	1,900	0,393
Maximum	1,000	0,180	2,000	1,000	0,500	5,000	0,270	0,750	0,630	0,200	6,000	2,750	0,429
Minimum	0,700	0,000	0,000	0,640	0,250	2,000	0,100	0,500	0,450	0,000	3,000	1,090	0,313
Range	0,300	0,180	2,000	0,360	0,250	3,000	0,170	0,250	0,180	0,200	3,000	1,660	0,116
Upper quartile													
95%	0,900	0,180	2,000	1,000	0,450	5,000	0,270	0,700	0,560	0,100	6,000	2,670	0,408
Lower quartile													
25%	0,730	0,100	1,000	0,700	0,300	3,000	0,130	0,550	0,450	0,000	3,000	1,360	0,333
Interquartile range	0,170	0,080	1,000	0,300	0,150	2,000	0,140	0,150	0,110	0,100	3,000	1,310	0,075

**Πίνακας 7.7.** Τα όρια βαθμολόγησης της κάθε μετρικής που συνθέτουν τον πολύ-παραμετρικό δείκτη αξιολόγησης των επιφανειακών υδάτων του ποταμού Νέστου.

**Table 7.7.** Metric scoring thresholds that compose the multi-metric index for the assessment of the river Nestos.

	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>5</b>
1 %NatEndSp	<50%	50%-84%	>85%
2 AlienInd	>1	0-1	
3 Shanon-Wiener H'	<1.10	1.10-1.4	>1.4
4 Nfam	<2	2-3	>3
5 %TranSp	≥40%	10%-40%	<10%
6 %AlienSp	≥30%	15%-30%	<15%
7 NLengCl	<2	2-4	>4
8 %CarnSp	≤20%	20%-50%	≥50%
9 %BenthSp	<20%	20%-50%	>50% + <90%
10 %SpecSp	<50%	50%-80%	>80%
11 %ReopInd	<40%	40%-60%	>60%
12 NLimnoSp	>4	2-4	<2
13 %LimnoInd	>50%	25%-50%	<25%

### 7.3.3. Σύνθεση και έλεγχος του Δείκτη αξιολόγησης των υδάτων του ποταμού Νέστου

Ο Δείκτης αξιολόγησης των επιφανειακών υδάτων του ποταμού Νέστου υπολογίζεται ως το άθροισμα των τιμών των μετρικών. Όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 7.7, η ελάχιστη τιμή του δείκτη είναι 13 (όταν όλες οι μετρικές λάβουν τιμή 1) και η μέγιστη 63, όταν όλες οι μετρικές λάβουν τιμή 5 εκτός από την 2 που λαμβάνει τιμή 3. Τέλος, η μέση τιμή του δείκτη είναι 39 όταν όλες οι μετρικές λάβουν τιμή 3. Με βάση το εύρος τιμών που μπορεί να λάβει ο δείκτης, υπολογίστηκαν τα όρια κατάταξης της οικολογικής κατάστασης στις πέντε κατηγορίες που θέτει η Οδηγία Πλαίσιο για τα ύδατα 2000/60 (Franco *et al.* 2009). Έτσι, σύμφωνα με την κατανομή που παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.1, υπολογίστηκαν τα όρια του δείκτη για κάθε κλάση (Πίνακας 7.8).

**Πίνακας 7.8.** Η κατανομή του εύρους των ορίων σε κάθε οικολογική κατάσταση για τον δείκτη που αναπτύχθηκε για τον ποταμό Νέστο.

**Table 7.8.** The distribution range of ecological limits in each class for the Index developed for the river Nestos.

Οικολογική κατάσταση	Οικολογική κλάση
Υψηλή	54-63
Καλή	45-53
Μέτρια	30-44
Ελλιπής	21-29
Κακή	13-20

Χρησιμοποιώντας πλέον τα όρια που τέθηκαν για κάθε μετρική (Πίνακας 7.7), αλλά και τα όρια των κλάσεων οικολογικής κατάστασης (Πίνακας 7.8), έγινε εφαρμογή του δείκτη σε σταθμούς του ποταμού Νέστου. Συγκεκριμένα, ο δείκτης εφαρμόστηκε στους σταθμούς Δέλτα Κ. Νευροκοπίου (M1), Δεσπάτης στο ύψος του Αγ. Ραφαήλ (T1), στον παραπόταμο Αρκουδόρεμα στο σημείο εκβολής του στο Νέστο (T5), στην περιοχή του Παρανεστίου Δράμας (M2), στην περιοχή της Σταυρούπολης (M3), στην περιοχή των Τοξοτών (M4) και στην περιοχή του Δέλτα Νέστου (M5).

Όπως παρατηρούμε στον Πίνακα 7.9, τρεις σταθμοί αξιολογήθηκαν ως «Μέτριας» οικολογικής κατάστασης, τρεις ως «Καλής» κατάστασης και ένας σταθμός ως υψηλής κατάστασης. Από τους σταθμούς «Μέτριας» οικολογικής κατάστασης, οι δύο εντοπίζονται στον κύριο ρουν του ποταμού Νέστου και ένας σε παραπόταμο αυτού. Όσον αφορά του σταθμούς «Καλής» κατάστασης και οι τρεις εντοπίζονται στον κύριο ρουν του ποταμού, ενώ τέλος ο σταθμός με «Υψηλή» οικολογική κατάσταση εντοπίζεται στον παραπόταμο Αρκουδόρεμα.

Προκειμένου να ελεγχθεί η ορθή αξιολόγηση των σταθμών από τον δείκτη, τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα της αξιολόγησης των υδάτων που πραγματοποιήθηκε από τους ENVECO & ΔΠΘ (2008) και Κουτράκης κ.ά. (2010). Οι ENVECO & ΔΠΘ (2008) υλοποίησαν το έργο «Υπηρεσίες εφαρμογής προγράμματος παρακολούθησης επιφανειακών και υπόγειων υδάτων λεκάνης απορροής ποταμού Νέστου» και το οποίο αφορούσε την εφαρμογή του πρωτοκόλλου παρακολούθησης των επιφανειακών και υπόγειων υδάτων στη λεκάνη απορροής του ποταμού στο πλαίσιο



εφαρμογής της Οδηγίας 2000/60/EK. Η αξιολόγηση που έγινε πραγματοποιήθηκε με την χρήση τριών διαφορετικών βιολογικών δεικτών. Ο πρώτος δείκτης που χρησιμοποιήθηκε ήταν ο πολύ-παραμετρικός δείκτης *ICMi7RM* (Intercalibration Common Multimetric Index 7 River Mediterranean) για την Ευρωπαϊκή βαθμονόμηση, η οποία αξιολογεί την οικολογική κατάσταση των υδάτων με βάση τις κοινότητες των βενθικών μακροασπόνδυλων.

Ο δεύτερος δείκτης αξιολογεί την ποιότητα των υδάτων με βάση το φυτοβένθος. Ο δείκτης IPS (Pollution Sensitivity Index) σύμφωνα με τους Gomà *et al.* (2004) θεωρείται ως ένα από τους ακριβέστερους δείκτες της Μεσογειακής περιοχής.

Τέλος, ο τρίτος δείκτης που χρησιμοποιήθηκε αξιολογούσε τα επιφανειακά ύδατα με βάση τους ιχθυοπληθυσμούς. Ο δείκτης αυτός στηρίχτηκε κατά βάση στον Ευρωπαϊκό Δείκτη *EFI+* (*EFI+ Consortium* 2009). Σ' αυτόν προστέθηκαν επιπλέον μετρικές (Κουτράκης κ.ά. 2010). Η προσθήκη αυτών είχε κριθεί απαραίτητη, καθώς ο δείκτης *EFI+*, σύμφωνα με το *EFI+ Consortium* (2009), παρουσίαζε μειωμένη διακριτική ικανότητα σε ποτάμια συστήματα με υψηλό ενδημισμό, όπως συμβαίνει με τα ποτάμια συστήματα της Βαλκανικής χερσονήσου.

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 7.10, υπάρχει μια σχετική ανομοιομορφία ως προς τα αποτελέσματα της αξιολόγησης των σταθμών του κάθε δείκτη. Ο δείκτης αξιολόγησης που παρουσιάζεται στην παρούσα μελέτη κατάφερε να κατατάξει στην ίδια οικολογική κατάσταση το 28,57% των σταθμών, συγκριτικά με τον δείκτη *ICMi7RM*, ο οποίος στηρίζεται στη μελέτη των βενθικών ασπόνδυλων, ενώ σε σχέση με τον δείκτη *IPS*, ο οποίος αξιολογεί τα οικοσυστήματα σύμφωνα με το φυτοβένθος (διάτομα), κατέταξε το 42,86% των σταθμών στην ίδια κατάσταση. Τέλος, σε σχέση με τον δείκτη που ανέπτυξε το *INAΛΕ* και στηρίζεται στον δείκτη *EFI+*, ο δείκτης που παρουσιάζεται πέτυχε την κατάταξη στην ίδια οικολογική κατάσταση του 85,71% των σταθμών που μελετήθηκαν.

**Πίνακας 7.9.** Εφαρμογή του δείκτη σε σταθμούς του ποταμού Νέστου. Η κατανομή του εύρους των ορίων σε κάθε οικολογική κατάσταση για τον δείκτη που αναπτύχθηκε για τον ποταμό Νέστο.

**Table 7.9.** The distribution range of ecological limits in each class for the Index developed for the river Nestos.

Μετρικές	M1		T1		T5		M2		M3		M4		M5		Τιμή μετρικής
	Μετρική	Τιμή μετρικής	Μετρική	Τιμή μετρικής	Μετρική	Τιμή μετρικής	Μετρική	Τιμή μετρικής	Μετρική	Τιμή μετρικής	Μετρική	Τιμή μετρικής	Μετρική	Τιμή μετρικής	
1 %NatEndSp	80.0%	3	70.0%	3	88.9%	5	72.7%	3	100.0%	5	90.0%	5	72.7%	3	
2 AlienInd	1	3	1	3	1	3	2	3	0	3	1	1	2	1	
3 H'	1.56	5	1.06	1	1.50	5	1.69	5	1.15	3	1.47	5	1.33	3	
4 Nfam	5	5	4	5	4	5	6	5	3	3	3	3	6	5	
5 %Transp	10.0%	3	20.0%	3	0.0%	5	9.1%	5	0.0%	5	0.0%	5	9.1%	5	
6 %AlienSp	10.0%	5	10.0%	5	11.1%	5	18.2%	3	0.0%	5	10.0%	5	18.2%	3	
7 NLengCl	1.80	1	1.90	1	2.67	3	1.09	1	2.75	3	2.00	3	1.36	1	
8 %CamSp	20.0%	3	10.0%	1	22.2%	3	27.3%	3	12.5%	1	20.0%	3	27.3%	3	
9 %BenthSp	50.0%	3	50.0%	3	55.6%	5	45.5%	3	62.5%	5	50.0%	3	45.5%	3	
10 %SpecSp	80.0%	3	70.0%	3	100.0%	5	72.7%	3	100.0%	5	80.0%	3	63.6%	3	
11 %ReopInd	60.0%	3	50.0%	3	66.7%	5	63.6%	5	75.0%	5	70.0%	5	54.5%	3	
12 NLimnoSp	4	3	5	1	3	3	4	3	2	3	3	3	5	1	
13 %LimnoInd	40.0%	3	50.0%	3	33.3%	3	36.4%	3	25.0%	3	30.0%	3	45.5%	3	
<b>Αξιολόγηση</b>	<b>Μέτρια</b>	<b>43.00</b>	<b>Μέτρια</b>	<b>35.00</b>	<b>Υψηλή</b>	<b>55.00</b>	<b>Καλή</b>	<b>45.00</b>	<b>Καλή</b>		<b>Καλή</b>	<b>47.00</b>	<b>Μέτρια</b>	<b>37.00</b>	

**Πίνακας 7.10.** Σύγκριση αποτελεσμάτων τριών διαφορετικών δεικτών αξιολόγησης με τα αποτελέσματα του δείκτη της παρούσας μελέτης για τον Ποταμό Νέστο.

**Table 7.10.** Comparison of the results of three different Biotic indexes with the results of River Nestos' evaluation with the index proposed by the current study.

	<i>ICMi7RM</i>	<i>IPS</i>	<i>Τροποποιημένος EFI+</i>	<i>Παρών δείκτης</i>
NES-PL	Μέτρια	Μέτρια	Καλή	Μέτρια
DES-RAF	Υψηλή	Καλή	Μέτρια	Μέτρια
ARK-EKV	Ελλιπής	Υψηλή	Υψηλή	Υψηλή
GEF-PAR	Καλή	Υψηλή	Καλή	Καλή
NES-STV	Μέτρια	Υψηλή	Καλή	Καλή
NES-TOX	Ελλιπής	Καλή	Καλή	Καλή
NES-TAV	Ελλιπής	Καλή	Μέτρια	Μέτρια

Οι δείκτες αξιολόγησης των επιφανειακών υδάτων με βάση την ιχθυοπανίδα αποτελούν σήμερα ένα σημαντικό εργαλείο αξιολόγησης. Είναι αρκετά ευαίσθητοι δείκτες εξαιτίας των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών των ψαριών. Ο δείκτης που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής αποτέλεσε μια προσπάθεια ανάπτυξης ενός δείκτη προσαρμοσμένου στις συνθήκες υψηλού ενδημισμού, χαρακτηριστικό των υδατικών συστημάτων της Βαλκανικής χερσονήσου. Αν και ο δείκτης αυτός βρίσκεται στα αρχικά στάδια της ανάπτυξής του, η αξιολόγηση των υδάτων του Νέστου ήταν πιο αυστηρή σε σχέση με τους δείκτες IPS και EFI+ - INALE. Βέβαια, για να είναι περισσότερο αξιόπιστη η εφαρμογή του δείκτη, απαιτείται η εισαγωγή επιπλέον δεδομένων από διαφορετικά σημεία του Νέστου, αλλά και από διαφορετικές εποχές με σκοπό να αξιολογηθεί η απόκρισή του σε διαφορετικές συνθήκες.



**Κεφάλαιο 8**  
**Γενικά Συμπεράσματα**



## 8. Γενικά Συμπεράσματα

Σύμφωνα με το βικαριανισμό, όταν ένας πληθυσμός διαχωρίζεται σε δύο ή περισσότερες υποομάδες είτε λόγω φυσικών γεωλογικών διεργασιών, είτε λόγω ανθρώπινων δραστηριοτήτων, αυτές υπόκεινται σε διαφορετικές περιβαλλοντικές επιδράσεις και καθώς εμποδίζεται η μεταξύ τους γονιδιακή ροή, ακολουθούν ξεχωριστή εξελικτική πορεία (Avisé 2000). Επομένως, αναμένεται η εμφάνιση διαφορετικών μορφομετρικών χαρακτηριστικών μεταξύ των πληθυσμών, αλλά και η γενετική τους διαφοροποίηση.

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής πραγματοποιήθηκε μορφολογική και γενετική ανάλυση ειδών της ιχθυοπανίδας του ποταμού Νέστου, οι πληθυσμοί των οποίων διαχωρίστηκαν από την κατασκευή και λειτουργία υδροηλεκτρικών φραγμάτων, ενώ συγκρίθηκαν και με αντίστοιχους πληθυσμούς γειτονικών συστημάτων, όπως του Έβρου και του Στρυμόνα. Τα είδη που μελετήθηκαν στο πλαίσιο της διατριβής ήταν τα *Squalius orpheus* Kottelat & Οικονομίδης, 2006 (Θρακοτιληνάρι), *Barbus strumicae* Karaman, 1955 (Μπριάνα Νέστου), *Alburnoides strymonicus* Chichkoff, 1940 (Τσιρωνάκι) και *Cobitis strumicae* Karaman, 1955 (Θρακοβελονίτσα). Επιπλέον, μελετήθηκε και η μορφολογική διαφοροποίηση του είδους *Salmo macedonicus* (Karaman, 1924) (Άγρια Πέστροφα), απομονωμένοι πληθυσμοί του οποίου βρέθηκαν στον Νέστο. Οι πληθυσμοί του είδους δέχονται ισχυρές πιέσεις, λόγω των ανεξέλεγκτων και χωρίς επιστημονική βοήθεια «εμπλουτισμών», αλλά και της διευθέτησης της κοίτης των ποταμών (Koutrakis *et al.*, 2013).

Επιμέρους στόχοι της διατριβής αποτέλεσαν η μελέτη της βιολογίας του είδους *B. strumicae*, δηλαδή της αύξησης, της αναπαραγωγής, της ηλικιακής δομής και των διατροφικών συνηθειών του είδους, αλλά και η αξιολόγηση της ποιότητας των υδάτων του ποταμού Νέστου, στο πλαίσιο της Οδηγίας Πλαίσιο για τα ύδατα 2000/60, καθώς πρόκειται πλέον για ένα «διευθετημένο» ποτάμι.

Κατά τη μελέτη των μορφο-ανατομικών χαρακτηριστικών των υπό μελέτη ειδών διαπιστώθηκε η ύπαρξη μορφολογικών διαφοροποιήσεων μεταξύ των ανάντη και κατόντη πληθυσμών δύο ειδών, του *B. strumicae* και του *A. strymonicus*. Τα χαρακτηριστικά που διαφοροποίησαν τους πληθυσμούς φαίνεται να επηρεάζουν τις κολυμβητικές τους ικανότητες. Ως αποτέλεσμα, τα ψάρια που εντοπίζονται κατόντη των φραγμάτων εμφανίζουν πιο επιμηκυσμένο σώμα και ουραίο μίσχο, παρουσιάζοντας έτσι ένα πιο υδροδυναμικό σχήμα σώματος. Μια τέτοια τροποποίηση στο σχήμα του σώματος στα

κατάντη ψάρια αντανακλά μια προσαρμογή του συγκεκριμένου πληθυσμού στην υψηλότερη ταχύτητα του νερού, που προκαλείται από την απελευθέρωση μεγάλων ποσοτήτων νερού από τα φράγματα (Blob *et al.* 2008). Αντιθέτως, τα ψάρια στην ανάντη ομάδα υιοθετούν ένα λιγότερο υδροδυναμικό σχήμα, καθώς το ανάντη τμήμα του ποταμού εμφανίζει λιμναία χαρακτηριστικά.

Επίσης, ένα ιδιαίτερα σημαντικό εύρημα των αναλύσεων είναι η διαφορά στον αριθμό των ακτίνων του ραχιαίου και του ουραίου πτερυγίου του *A. strymonicus*, το οποίο μπορεί να οφείλεται στη διαφορετική έκφραση ενός ή παραπάνω γονιδίων (φαινοτυπική πλαστικότητα). Η φαινοτυπική πλαστικότητα επιτρέπει σε ένα είδος να προσαρμόζεται σε μια μεγάλη ποικιλία διαφορετικών περιβαλλοντικών συνθηκών (Schmitt 1997, Schmitt *et al.* 1999 & 2003, Agrawal 2001) Η θερμοκρασία είναι ένας παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει και ίσως να προκαλέσει την τροποποίηση των μορφομετρικών και μεριστικών χαρακτηριστικών των ιχθυδίων (Hubbs 1922, Taning 1952, Lindsey 1958, 1962, Beacham 1990), ενώ και το είδος του υποστρώματος δύναται να συμβάλλει στην τροποποίηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών βενθικών ειδών (Kerfoot & Schaefer 2006). Έχει διαπιστωθεί ότι πληθυσμοί Άγριας Πέστροφας, *Salmo trutta*, από επτά διαφορετικές περιοχές της Βόρειας Ελλάδας, διαχωρίστηκαν όχι μόνο με βάση τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά, αλλά και από μεριστικά χαρακτηριστικά, όπως ο αριθμός των βραγχιακών ακάνθων και ο αριθμός των ακτίνων των κοιλιακών πτερυγίων, γεγονός το οποίο οφείλεται πιθανόν στη διαφορετική φαινοτυπική έκφραση διαφόρων γονιδίων (Turan *et al.* 2006, Murta *et al.* 2008, Swain & Foote 1999, Liasko *et al.* 2012).

Η στατιστική ανάλυση δεν έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των μορφομετρικών ή μεριστικών χαρακτηριστικών για τα είδη *S. orpheus* και *C. strumicae*. Η διαφοροποίηση των δύο αυτών ειδών σε σχέση με τα άλλα δύο πιθανόν να οφείλεται στην ίδια τη βιολογία τους (Allouche & Gaudin 2001). Ιδιαίτερα, όσον αφορά τη βιολογία αυτή, το *S. orpheus* είναι ένα τυπικά ρεόφιλο είδος, το οποίο μετακινείται και τρέφεται κυρίως στη στήλη του νερού (Allouche & Gaudin 2001). Μπορεί να εντοπιστεί σε μικρά ή μεγάλα ρέματα και ποτάμια με πολύ χαμηλή ροή. Είναι είδος το οποίο εμφανίζει ιδιαίτερη συμπεριφορά κατά την ανάπτυξή του, καθώς τα ιχθύδια του συγγενικού είδους *Leuciscus cephalus* εντοπίζονται σε σημεία με μεγάλη ροή (Allouche & Gaudin 2001). Εκεί, τρέφονται με παθητικό τρόπο, με λείες που παρασύρονται από το νερό. Αργότερα, όσο μεγαλώνουν και μειώνεται η ροή του νερού, γίνονται ενεργοί θηρευτές. Επομένως, κατά την οντογένεση τροποποιούνται τα μορφολογικά του χαρακτηριστικά βελτιστοποιώντας το σχήμα του



σώματός του (Allouche & Gaudin 2001). Το *C. strumicae* έχει κρυπτική συμπεριφορά. Κρύβεται στην άμμο ή τη λάσπη στο πυθμένα καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας και μετακινείται μόνο για την εύρεση τροφής.

Κατά τη μελέτη της γενετικής σύστασης των ιχθυοπληθυσμών των υπό μελέτη ειδών πραγματοποιήθηκε σύγκριση των πληθυσμών που εντοπίζονται τόσο ανάντη, όσο και κατάντη των φραγμάτων στον ποταμό Νέστο, αλλά και με αντίστοιχους πληθυσμούς που εντοπίζονται στους ποταμούς Έβρου και Στρυμόνα.

Όσον αφορά το είδος *S. orpheus*, η ανάλυση του συνόλου των πληθυσμών έδειξε ότι υπάρχει ένας σημαντικός βαθμός γενετικής διαφοροποίησης ( $F_{ST}=0,609$ ) που οφείλεται σε διαφορές μεταξύ των πληθυσμών σε ποσοστό 54,72%. Το Ακριβές κριτήριο διαφοροποίησης με βάση την συχνότητα των απλοτύπων, αποκάλυψε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των πληθυσμών του είδους, συμπεριλαμβανομένης και της σύγκρισης μεταξύ των ανάντη και κατάντη πληθυσμών του Νέστου.

Όσον αφορά το είδος *B. strumicae*, οι δύο πληθυσμοί του Νέστου εμφανίζουν γενετική ομοιότητα μεταξύ τους ( $F_{ST} = 0$ ). Αντιθέτως, το *B. strumicae* του Νέστου εμφανίζει υψηλά ποσοστά διαφοροποίησης τόσο με τον πληθυσμό του Έβρου, όσο και με τον πληθυσμό του Στρυμόνα. Επίσης, υψηλή γενετική διαφοροποίηση παρατηρείται και μεταξύ του Έβρου και του Στρυμόνα. Η υψηλή διαφοροποίηση του πληθυσμού στον Έβρου από του υπόλοιπους τρεις θεωρείται αναμενόμενη, καθώς κατατάσσεται στο είδος *Barbus cyclolepis* Heckel, 1837.

Κατά τη μελέτη των βιολογικών χαρακτηριστικών του είδους *B. strumicae* δεν εντοπίστηκαν διαφοροποιήσεις μεταξύ του ανάντη και κατάντη πληθυσμού. Συγκεκριμένα, σε αμφοτέρους τους πληθυσμούς τα αρσενικά άτομα του είδους κυριαρχούν στους άλλους είτε αυτοί εντοπίζονται στα ανάντη των φραγμάτων (1,66:1 αρσενικά : θηλυκά), είτε κατάντη (2,33:1) αυτών. Τα εν λόγω αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με τις παρατηρήσεις άλλων συγγραφέων για πληθυσμούς διαφορετικών ειδών του γένους *Barbus*, που εντοπίζονται σε γειτονικές περιοχές ή άλλες μεσογειακές χώρες. Χαρακτηριστικά αναφέρονται το είδος *B. cyclolepis*, που διαβιεί στο ρέμα της Δοϊράνης (1,28:1) και οι πληθυσμοί του είδους *B. sclateri*, που διαβιεί στο μη διευθετημένο τμήμα του ποταμού Segura στην Ιβηρική χερσόνησο (1,54:1) και 1,27:1 για πληθυσμό που εντοπίζεται στο διευθετημένο τμήμα του ποταμού.

Όσον αφορά την αναπαραγωγική δραστηριότητα του είδους *B. strumicae*, διαπιστώθηκε ότι τα αρσενικά άτομα τείνουν να ωριμάζουν γεννητικά κατά ένα χρόνο νωρίτερα από τα θηλυκά, όταν τα μέσο μήκος των αρσενικών είναι περίπου 95,23 mm και αντιστοιχεί σε ηλικία 2+, ενώ των θηλυκών είναι 112,54 mm και αντιστοιχεί σε ηλικία 3+.

Όσον αφορά την περίοδο αναπαραγωγής του είδους, προσδιορίστηκε με τη χρήση του γοναδοσωματικού δείκτη (GSI) και βρέθηκε ότι διαρκεί από τα τέλη Μαρτίου με αρχές Απριλίου έως τα μέσα Ιουλίου. Επίσης, τόσο τα αρσενικά, όσο και τα θηλυκά άτομα εμφανίζουν την ίδια περίοδο αναπαραγωγής, με τα θηλυκά άτομα να εμφανίζουν υψηλότερες τιμές του δείκτη σε σχέση με τα αρσενικά άτομα.

Η αναπαραγωγική περίοδος υπολογίστηκε με τη χρήση του GSI και εμμέσως επιβεβαιώθηκε και από την χρήση του υπατοσωματικού δείκτη (HSI). Η μείωση της τιμής του HSI είναι μία ένδειξη της προετοιμασίας του ψαριού για την απόθεση των αβγών, καθώς δαπανά ενέργεια για την ανάπτυξη αυτών. Αντιθέτως, η αύξηση του δείκτη υποδεικνύει την προσπάθεια του ψαριού να αναπληρώσει την ενέργεια που δαπανήθηκε για την ανάπτυξη των αβγών και την απελευθέρωσή τους. Τέλος, ένδειξη για την έναρξη της αναπαραγωγικής περιόδου δίνεται και από τον συντελεστή ευρωστίας Fulton, ο οποίος εμφάνισε εποχιακή διακύμανση με δύο μέγιστα, ένα την άνοιξη (Απρίλιος: 1,517) και ένα στις αρχές του φθινοπώρου (Σεπτέμβριος: 1,637). Ο συντελεστής ευρωστίας μεταβάλλεται εποχικά, όπως για παράδειγμα κατά την αναπαραγωγική περίοδο. Έτσι, σύμφωνα με τον συντελεστή η αναπαραγωγή της Μπριάνας (*B. strumicae*), πρέπει να πραγματοποιείται τον Απρίλιο, οπότε και παρατηρείται η πρώτη μέγιστη τιμή του.

Όσον αφορά την απόθεση των αβγών παρατηρήθηκαν δύο διαφορετικές καταστάσεις. Το 2006, η εποχική κατανομή του μεγέθους τους υποδεικνύει ότι μερική απόθεση αβγών ίσως να πραγματοποιήθηκε τον χειμώνα του ίδιου έτους, καθώς την άνοιξη παρατηρείται η ύπαρξη τόσο ανώριμων, όσο και ώριμων αβγών. Η παρουσία, όμως, ελάχιστων ώριμων αβγών το καλοκαίρι του 2007 υποδεικνύει την πραγματοποίηση της ωοτοκίας κάποια στιγμή μεταξύ της άνοιξης και του καλοκαιριού. Η διαφορετική περίοδος αναπαραγωγής που παρατηρήθηκε κατά το έτος 2006 πιθανόν να οφείλεται στην επικράτηση ευνοϊκών συνθηκών που να συνέβαλλαν στην πρόωρη ωοτοκία. Η περίοδος ωοτοκίας των ψαριών ποικίλλει από είδος σε είδος αλλά επηρεάζεται και από τα οικολογικά χαρακτηριστικά του υδατικού συστήματος στο οποίο διαβιούν, όπως είναι η θερμοκρασία και η ποιότητα της τροφής.

Κατά τη μελέτη των διατροφικών συνηθειών του είδους, διαπιστώθηκε η απουσία διαφοροποιήσεων στη διατροφή τόσο μεταξύ του ανάντη και του κατάντη πληθυσμού, όσο και μεταξύ των δύο φύλων. Όσον αφορά τη σύνθεση της διατροφής του *B. strumicae* αυτή φαίνεται να κυριαρχείται από προνύμφες χειρονομίδων, προνύμφες εφημερόπτερων και τριχόπτερα, με την εκατοστιαία συχνότητα εμφάνισης για τα δύο πρώτα είδη να υπερβαίνει το 50 %. Η παρουσία σε μικρότερο ποσοστό άλλων λειών, όπως είναι οι λάρβες δίπτερων (crane fly larvae και simuliidae), κολεόπτερα, αραχνίδες, ιπτάμενα έντομα κ.τ.λ., πιθανόν να οφείλεται σε τυχαία σύλληψη τους. Παρόμοια σύνθεση διατροφής έχει βρεθεί και για άλλα είδη του γένους *Barbus*, όπως για παράδειγμα *B. barbus* (Piria *et al.* 2005), το *B. cyclolepis* (Rozdina *et al.* 2008) και το *B. bocagei* (Magalhaes 1993).

Παρά το γεγονός ότι στο σύνολο των δειγμάτων του είδους καταμετρήθηκαν συνολικά 12 διαφορετικά είδη λειών, το εύρος του τροφικού θώκου ως προς τα είδη που εκμεταλλεύεται το *B. strumicae* είναι στενό. Αυτό οφείλεται κυρίως στην προτίμηση που δείχνει η Μπριάνα στις προνύμφες χειρονομίδων και εφημερόπτερων και στα τριχόπτερα. Η ποικιλότητα των λειών εμφανίζει υψηλές τιμές κατά την άνοιξη και στη συνέχεια, μειώνεται σταδιακά. Τελικά, το φθινόπωρο εμφανίζει τις χαμηλότερες τιμές. Διαπιστώνουμε λοιπόν ότι κατά την άνοιξη υπάρχει μικρή ποσοτική διαφοροποίηση των λειών σε σχέση με την καλοκαιρινή και φθινοπωρινή περίοδο. Τότε είναι που παρατηρείται μεγαλύτερη διαφοροποίηση, κυρίως λόγω της κυριαρχίας των προνυμφών των chironomidae, αλλά και της εμφάνισης, έστω και σε πολύ μικρούς αριθμούς, επιπλέον λειών, οι οποίες δεν καταγράφηκαν κατά την καλοκαιρινή περίοδο. Επομένως, οι διακυμάνσεις της ποικιλότητας των λειών που παρατηρήθηκε αντανακλούν τη μεταβολή της διαθεσιμότητας των διαφόρων λειών και όχι την εποχιακή διαφοροποίηση των διατροφικών προτιμήσεων του είδους. Τέλος, σημαντική είναι και η συμμετοχή των φυτικών τριμμάτων στη διατροφή του είδους. Η ικανότητά του να καταναλώνει φυτική ύλη αποτελεί πλεονέκτημα, καθώς μπορεί να ανταγωνιστεί άλλους βενθικούς θηρευτές ή να ανταγωνιστεί άλλα είδη σε συνθήκες χαμηλής αφθονίας λείας.

Με βάση τα δεδομένα που έχουν συγκεντρωθεί κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, φαίνεται ότι ο πληθυσμός της Μπριάνας που διαβιεί στο σύστημα του Νέστου δεν απαιτεί την εφαρμογή κάποιου προγράμματος διαχείρισης και προστασίας, καθώς ο πληθυσμός φαίνεται να είναι σε καλή κατάσταση. Όπως διαπιστώθηκε, τα επιμέρους βιολογικά χαρακτηριστικά του είδους (όπως ηλικιακή δομή και αναπαραγωγική δραστηριότητα) δε διαφέρουν από τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά άλλων ειδών του γένους

που εντοπίζονται τόσο σε διευθετημένα, όσο και σε μη διευθετημένα ποτάμια γειτονικών συστημάτων ή ακόμα και άλλων χωρών. Ωστόσο, λόγω των ειδικών συνθηκών που επικρατούν στο κατάντη τμήμα του ποταμού (λειτουργία του ΥΗΕ) απαιτείται συνεχής παρακολούθηση του πληθυσμού, όχι μόνο από την άποψη της αφθονίας των πληθυσμών του, αλλά και όσον αφορά τα βιολογικά χαρακτηριστικά του.

Επιμέρους στόχος της παρούσας διατριβής ήταν η αξιολόγηση των επιφανειακών υδάτων του ποταμού Νέστου, σύμφωνα με την Οδηγία Πλαίσιο 2000/60 της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Η Οδηγία 2000/60 προτείνει ως μέσο αξιολόγησης των υδάτων την ιχθυοπανίδα λαμβάνοντας υπόψη παραμέτρους, όπως η σύνθεση της ιχθυοπανίδας ενός υδατικού σώματος, η αφθονία των ειδών, η ηλικιακή σύνθεση του πληθυσμού ενός είδους κ.τ.λ.

Οι δείκτες αξιολόγησης των επιφανειακών υδάτων με βάση την ιχθυοπανίδα αποτελούν σήμερα ένα σημαντικό εργαλείο αξιολόγησης και είναι αρκετά ευαίσθητοι, ακριβώς εξαιτίας των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών των ψαριών (Karr 1981, Karr *et al.* 1986, Moyle & Randall 1996, Harrison & Whitfield 2004). Ο συγκεκριμένος, που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, αποτέλεσε την προσπάθεια ανάπτυξης ενός δείκτη προσαρμοσμένου στις συνθήκες υψηλού ενδημισμού που χαρακτηρίζει τα υδατικά συστήματα της Βαλκανικής χερσονήσου. Από τις μετρικές που εξετάστηκαν, επιλέχθηκαν 13, οι οποίες σχετίζονται με την ποσοστιαία σύνθεση του ιχθυοπληθυσμού όσον αφορά αυτόχθονα, ενδημικά και ξενικά είδη (τέσσερις μετρικές), την ισοκατανομή και αφθονία των ειδών σε ένα οικοσύστημα (μία μετρική), την ύπαρξη ειδών που εφαρμόζουν εξειδικευμένες στρατηγικές αναπαραγωγής (μία μετρική), τις διατροφικές συνήθειες των ειδών που συνθέτουν την ιχθυοπανίδα ενός συστήματος (δύο μετρικές), με την οικολογία των ειδών και συγκεκριμένα με το είδος των ενδαιτημάτων που προτιμούν, δηλαδή αν προτιμούν λιμναία (λιμνόφιλα είδη) ή ποτάμια ενδαιτήματα (ρεόφιλα είδη) (τρεις μετρικές), με την ηλικιακή δομή των ιχθυοπληθυσμών (μία μετρική) και την βιοποικιλότητα του συστήματος (μία μετρική).

Η εφαρμογή του δείκτη αυτού στη περίπτωση του ποταμού Νέστου κατέταξε τρεις σταθμούς στην «Μέτρια» οικολογική κατάσταση, τρεις στην «Καλή» κατάσταση και έναν στην «Υψηλή». Συγκριτικά με άλλους δείκτες αξιολόγησης όπως ο ICMi7RM, ο οποίος στηρίζεται στη μελέτη των βενθικών ασπόνδυλων και ο δείκτης IPS, ο οποίος αξιολογεί τα οικοσυστήματα με βάση το φυτοβένθος (διάτομα) πέτυχε την ίδια κατάταξη στο 28,57 % και στο 42,86 %, αντίστοιχα, των σταθμών που αξιολογήθηκαν.

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, μελετήθηκε η μορφο-ανατομική και γενετική διαφοροποίηση των πληθυσμών ειδών ενός διευθετημένου ποταμού. Από τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν διαπιστώθηκε η μορφομετρική διαφοροποίηση των πληθυσμών των ειδών *B. strumicae* και *A. strymonicus*, ενώ δεν παρατηρήθηκαν άλλες διαφοροποιήσεις τόσο σε επίπεδο γενετικής, αλλά και βιολογίας. Καθώς πλέον είναι κοινά αποδεκτό ότι η κατασκευή φραγμάτων έχει αρνητικές επιπτώσεις όχι μόνο στα ποτάμια οικοσυστήματα, αλλά και στα παράκτια και θαλάσσια οικοσυστήματα, απαιτείται η περαιτέρω παρακολούθηση ενδημικών και αυτόχθονων ειδών που διαβιούν σε γλυκά ύδατα. Η παρακολούθηση αυτή θα πρέπει να στοχεύει στον εμπλουτισμό των γνώσεών μας σχετικά με τη βιολογία τους και τη γενετική σύσταση των πληθυσμών τους ώστε να είναι δυνατός ο σχεδιασμός κατάλληλων διαχειριστικών σχεδίων για κάθε είδος που απειλείται.

Σ' αυτό θα συμβάλλει και η σωστή ταξινομική κατάταξη των διαφόρων ειδών ώστε να αναγνωρίζονται είδη με πληθυσμούς σε κρίσιμη κατάσταση. Επομένως, απαιτείται η εφαρμογή κλασικών μεθόδων ταξινομίας, αλλά και σύγχρονων μεθόδων μοριακής βιολογίας για τη σωστή αναγνώριση των ενδημικών και αυτόχθονων ειδών.

Τέλος, η ανάπτυξη και χρήση βιοτικών δεικτών αξιολόγησης των υδάτων στο πλαίσιο της Οδηγίας Πλαίσιο 2000/60 συμβάλλει στον εντοπισμό των υδατικών σωμάτων που βρίσκονται σε χαμηλή οικολογική κατάσταση με αποτέλεσμα να απειλούνται οι ιχθυοπληθυσμοί που διαβιούν σε αυτά. Επομένως, απαιτείται ένας δείκτης που θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πολλά συστήματα, αρκετά ευαίσθητος ώστε να εντοπίζει όλες τις πιέσεις. Ο δείκτης που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής σε ένα επόμενο στάδιο θα μπορούσε να βαθμονομηθεί για χρήση και σε άλλα υδατικά συστήματα με υψηλό βαθμό ενδημισμού, όπως είναι ο ποταμός Νέστος.



**Κεφάλαιο 9**  
**Βιβλιογραφία**





## 9. Βιβλιογραφία

### 9.1.Ελληνική Βιβλιογραφία

- Αποστολίδης Α., Τριανταφυλλίδης Κ., Κουβάτση Α., Οικονομίδης Π.Σ. & Τσαχαλίδης Ε., 1999. Χρήση μοριακών δεικτών στη γενετική έρευνα και διαχείριση ιχθυοπληθυσμών με ιδιαίτερη έμφαση στους πληθυσμούς πέστροφας (*Salmo trutta*) της Ελλάδας. *Γεωτεχνικά* 10(VI): 350 – 359.
- Apostolou A. & Κουτράκης, 2009. *Barbus strumicae* Karaman 1955. Οικονομίδης Π.Σ., Κουτράκης Μ., Αποστόλου Α., Vassilev M. & Pehlivanov L., 2009. Άτλας της ιχθυοπανίδας του ποταμού Νέστου. Ν.Α. Δράμας – Καβάλας – Ξάνθης, Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, Βουλγαρική Ακαδημία Επιστημών, Καβάλα, σελ. 134 – 137.
- Apostolou A. & Σαπουνίδης Α., 2009. *Cobitis strumicae* Karaman, 1955. Οικονομίδης Π.Σ., Κουτράκης Μ., Αποστόλου Α., Vassilev M. & Pehlivanov L. Άτλας της ιχθυοπανίδας του ποταμού Νέστου. Ν.Α. Δράμας – Καβάλας – Ξάνθης, Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, Βουλγαρική Ακαδημία Επιστημών, Καβάλα, σελ. 150 – 153.
- Γεράκης Π.Α. & Κουτράκης Ε.Θ. (Συντονιστές έκδοσης), 1996. *Ελληνικοί Υγρότοποι*. Μουσείο Γουλανδρή Φυσικής Ιστορίας - Ελληνικό Κέντρο Βιοτόπων Υγροτόπων. Έκδοση της Εμπορικής Τράπεζας στα ελληνικά και στα αγγλικά. 384 σελ
- ΔΑΥΕ – ΔΕΗ, 2006. Νέστος – Το υδροηλεκτρικό συγκρότημα. Διεύθυνση Επικοινωνίας ΔΕΗ Α.Ε. σελ 7.
- ENVECO S.A. & Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, 2008. Υπηρεσίες εφαρμογής προγράμματος παρακολούθησης επιφανειακών και υπόγειων υδάτων λεκάνης απορροής ποταμού Νέστου. Τεχνική Έκθεση υποέργου 5 «Εφαρμογή προγράμματος για την παρακολούθηση των επιφανειακών και υπόγειων υδάτων λεκάνης απορροής ποταμού Νέστου», σελ. 164.
- Καμίδης Ν., 2011. Περιγραφή και προσομοίωση πλουμίου του ποταμού Νέστου – Διερεύνηση των επιπτώσεων στα εκβολικά συστήματα. Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος, Πολυτεχνική Σχολή Ξάνθης, σελ. 393.
- Καμίδης Ν., Γ. Συλαίος, Α. Τραγαντζόπουλος, Α. Σαπουνίδης, Δ. Λαχουβάρης, Β.Α. Τσιχριντζής & Μ. Κουτράκης, 2010. Συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στα επιφανειακά ιζήματα του ποτάμιου συστήματος του Νέστου και στην παράκτια ζώνη

των εκβολών του. *Πρακτικά 14<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Ιχθυολόγων. Πειραιάς 14 – 17 Μαΐου 2010*, σελ. 251 – 254.

Κουτράκης Μ. (Υπεύθυνος Σύνταξης). 1996. Ειδικό Διαχειριστικό Σχέδιο για την Περιοχή Στενά Νέστου (GR 1120004). Μουσείο Γουλανδρή Φυσικής Ιστορίας – Ελληνικό Κέντρο Βιοτόπων Υγροτόπων. Θέρμη. 229 σελ.

Κουτράκης Μ., 2009. Παραγωγή υδροηλεκτρικής ενέργειας και επιπτώσεις στην ιχθυοπανίδα των ποταμών. *Αμφίβιον*, **80**: 10-13.

Κουτράκης Μ. & Μάρκου Δ., 2007. Ο ποταμός Νέστος και το δέλτα του, σελ. 177-188. Στο: Γεράκης Π.Α., Τσιούρης Σ. & Τσιαούση Β. (Συντονιστές έκδοσης), *Υδατικό καθεστώς και βιωτή υγροτόπων – Προτεινόμενη ελάχιστη στάθμη λιμνών και παροχή ποταμών Μακεδονίας και Θράκης*. Μουσείο Γουλανδρή Φυσικής Ιστορίας/Ελληνικό Κέντρο Βιοτόπων-Υγροτόπων. Θέρμη. 256 σελ.

Κουτράκης Μ., Συλαίος Γ., Καμίδης Ν., Μάρκου Δ., Σαπουνίδης Α., Λεονταράκης Π. & Οικονομίδης Π.Σ. 2008α. *Δράσεις παρακολούθησης, προστασίας και ενίσχυσης της ιχθυοπανίδας ποταμού Νέστου*. Τελική Τεχνική Έκθεση έργου: «Δράσεις διαχείρισης, προστασίας και ανάδειξης ιχθυοπανίδας ποταμού Νέστου» στο πλαίσιο του μέτρου 3.2 «Προστασία, ανάδειξη και διαχείριση φυσικού περιβάλλοντος» του Επιχειρησιακού Προγράμματος «INTERREG IIIa / Phare CBC Ελλάδα – Βουλγαρία». ΕΘΙΑΓΕ – Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, Καβάλα, 168 σελ.

Κουτράκης Μ., Συλαίος Γ., Καμίδης Ν., Μάρκου Δ., Σαπουνίδης Α., Λεονταράκης Π. & Οικονομίδης Π.Σ. 2008β. *Διερεύνηση της κινητικότητας της ιχθυοπανίδας κατά μήκος του υδρογραφικού δικτύου του ποταμού Νέστου*. ΔΕΗ Α.Ε., Τελική Έκθεση. ΕΘΙΑΓΕ – Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, Καβάλα, 175 σελ.

Κουτράκης Μ., Σαπουνίδης Α., Λεονταράκης Π. & Λαχουβάρης Δ., 2010. Οικολογική εκτίμηση ποιότητας υδάτων του ποταμού Νέστου με τη χρήση πολυπαραμετρικών δεικτών ιχθυοπανίδας. *Πρακτικά 14ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ιχθυολόγων. Πειραιάς 14-17 Μαΐου 2010*, σελ. 339-342.

Λεγάκης Α. & Μαραγκού Π., 2009. *Το Κόκκινο Βιβλίο των Απειλούμενων Ζώων της Ελλάδας*. Ελληνική Ζωολογική Εταιρεία, Αθήνα. 528 σελ.

- Λεονάρδος Ι. 1996. Δυναμική πληθυσμών της Ζαμπαρόλας (*Aphanius fasciatus* Nardo, 1827) στις λιμνοθάλασσες Μεσολογγίου και Αιτωλικού. Διδακτορική διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσ\νίκης.
- Λεονάρδος Ι., 2002. Ιχθυολογία. Πανεπιστημιακό Τυπογραφείο, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.
- Λεονάρδος Ι. & Μπόμπορη, Δ., 2013. Η ιχθυοπανίδα των εσωτερικών υδάτων. Πρακτικά 15<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Ιχθυολόγων. Θεσσαλονίκη 10-13 Οκτωβρίου 2013, σελ. 439-440.
- Ντάφης Σ., 1996. Ο ποταμός Νέστος και το δέλτα του, σελ. 124-133. Στο: Γεράκης Π.Α. & Κουτράκης Μ., (Συντονιστές έκδοσης). *Ελληνικοί υγρότοποι*. Μουσείο Γουλανδρή Φυσικής Ιστορίας/Ελληνικό Κέντρο Βιοτόπων-Υγροτόπων και Εμπορική Τράπεζα της Ελλάδας. Αθήνα.
- Οικονομίδης Π.Σ. 1974. *Μορφομετρική, συστηματική και ζωογεωγραφική μελέτη των ιχθύων των γλυκέων υδάτων τη Α. Μακεδονίας και Θράκης*. Διατριβή επί Διδακτορία υποβληθείσα εις την Φυσικομαθηματική Σχολήν του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. 179 σελ.
- Οικονομίδης Π.Σ., 1988. Ιχθυοπανίδα, ιχθυοπληθυσμός και προστασία. *Αλιευτικά Νέα*, 84: 21 – 27.
- Οικονομίδης Π.Σ., Μπόμπορη Δ. & Βογιατζής Β. Π., 1997. Ψάρια. Στο Βιβλίο: *Οδηγία 92/43/ΕΟΚ. Το έργο Οικοτόπων στην Ελλάδα: Δίκτυο Φύση 2000*. Γεν. Διεύθυνση ΧΙ Επιτροπή Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων, Μουσείο Γουλανδρή Φυσικής Ιστορίας – Ελληνικό Κέντρο Βιοτόπων Υγροτόπων. 932 σελ.
- Οικονομίδης Π.Σ. & Κουτράκης Ε., 2006. Ελληνική ιχθυοπανίδα. Στο: *Διαχείριση νερού, χλωρίδας και πανίδας στους ελληνικούς υγροτόπους: Εμπειρία από τα έργα Life – Περιβάλλον III*. Συλαίος Γ. (συντονιστής έκδοσης). ΝΑ Δράμας – Καβάλας – Ξάνθης, Ξάνθη, 85 σελ.
- Οικονομίδης Π. Σ., Vassiliev M. & Κουτράκης Μ. 2009. Ψάρια: Εισαγωγή στη μελέτη τους. Οικονομίδης Π.Σ., Κουτράκης Μ., Αποστόλου Α., Vassiliev M. & Pehlivanov L. *Ατλας της ιχθυοπανίδας του ποταμού Νέστου*. Ν.Α. Δράμας – Καβάλας – Ξάνθης, Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, Βουλγαρική Ακαδημία Επιστημών, Καβάλα, σελ. 300.

- Οικονομίδης Π.Σ., Κουτράκης Μ., Apostolou Α., Vassilev Μ. & Pehlivanov L., 2009. *Άτλας της ιχθυοπανίδας του ποταμού Νέστου*. Ν.Α. Δράμας – Καβάλας – Ξάνθης, Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, Βουλγαρική Ακαδημία Επιστημών, Καβάλα, σελ. 300.
- Παρασκευόπουλος και Γεωργιάδης ΕΠΕ, 2001. Πιλοτική μελέτη της διαδικασίας προσδιορισμού συστήματος νερού ως ιδιαιτέρως τροποποιημένων – Περίπτωση Νέστου. ΔΕΗ/ΔΕΥΑΕ, Οκτώβριος 2001.
- Σαπουνίδης Α., Κουτράκης Μ., Καμίδης Ν. & Λεονάρδος Ι., 2011. Η επίδραση των φραγμάτων στην υδρολογία και στην ιχθυοπανίδα των ποτάμιων συστημάτων: η περίπτωση του ποταμού Νέστου. *Πρακτικά 33ου Επιστημονικού Συνεδρίου της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών* Έδεσσα 19-21 Μαΐου 2011.
- Συλαίος, Γ. & Bournaski, E., 2009. Ο διασυνοριακός ποταμός Νέστος: Επισκόπηση της υδρολογίας και του περιβάλλοντος. Οικονομίδης Π.Σ., Κουτράκης Μ., Αποστόλου Α., Vassilev Μ. & Pehlivanov L. (Συντ. έκδοσης). *Άτλας της ιχθυοπανίδας του ποταμού Νέστου*. Ν.Α. Δράμας – Καβάλας – Ξάνθης, Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, Βουλγαρική Ακαδημία Επιστημών, Καβάλα, σελ. 234 – 237.
- Τσίκληρας Α. 2004. Βιολογία και δυναμική του πληθυσμού ιχθύος *Sardinella aurita* Valenciennes, 1847 (φρίσα) στον κόλπο της Καβάλας. Διδακτορική διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσνίκης.
- Vassilev Μ. & Οικονομίδης Π.Σ., 2009. *Squalius orpheus* Kottelat & Economidis, 2006. Οικονομίδης Π.Σ., Κουτράκης Μ., Αποστόλου Α., Vassilev Μ. & Pehlivanov L. (Συντ. έκδοσης). *Άτλας της ιχθυοπανίδας του ποταμού Νέστου*. Ν.Α. Δράμας – Καβάλας – Ξάνθης, Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, Βουλγαρική Ακαδημία Επιστημών, Καβάλα, σελ. 234 – 237.

## 9.2. Ξένη Βιβλιογραφία

- Adamek Z. & Obrdlik P., 1977. Food of important cyprinid species in the warmed barb zone of the Oslava River. *Folia Zoologica*, **26**: 171-182.
- Adams P.B., 1980. Life history patterns in marine fishes and their consequences for fisheries management. *U.S. Fishery Bulletin*, **78**: 1 – 12.
- Adams S.M. & McLean R.B., 1985. Estimation of largemouth bass, *Micropterus salmoides* Lacepede, growth using the liver somatic index and physiological variables. *Journal of Fish Biology*, **26**: 111 – 126.
- Agrawal A.A., 2001. Phenotypic Plasticity in the Interactions and Evolution of Species. *Science*, **294**: 321-326.
- Agger P., Bagge O., Hansen O., Hoffman E., Holden M. J., Kensteven G. L., Knudsen H., Rait D. F. S., Saville A. & Williams T., 1974. *Manual of Fisheries Science Part 2: Methods of Resource Investigation and their Application*. FAO Fisheries Technical Paper - 115 Rev. 1.
- Al Mukhtar M.A., Al Noor S.S. & Saleh J.H., 2006. General Reproductive Biology of Bunnei (*Barbus sharpeyi* Gunther, 1874) in Al Huwaizah Marsh, Basra-Iraq. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **6**: 149-153.
- Alroy J., 2002. How many named species are valid? *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **99**: 3706-3711.
- Anderson W.G., McKinley R.S. & Colavecchia M., 1997. The Use of Clove Oil as an Anesthetic for Rainbow Trout and Its Effects on Swimming Performance. *North American Journal of Fisheries Management*, **17(2)**: 301-307.
- Andre L. Esguicero H. & Arcifa M.S., 2010. Fragmentation of a Neotropical migratory fish population by a century-old dam. *Hydrobiologia*, **638**: 41–53.
- AnvariFar H., Khyabani A., Farahmand H., Vatandoust S., AnvariFar H. & Jahageerdar S., 2011. Detection of morphometric differentiation between isolated up – and downstream populations of Siah Mahi (*Capoeta capoeta gracilis*) (Pisces, Cyprinidae) in the Tajan River (Iran). *Hydrobiologia*, **673**: 41 – 52. DOI: 10.1007/s10750 – 011 – 0748 – 7.

- Apostolidis A.P., Karakousis Y. & Triantaphyllidis C., 1996. Genetic differentiation and phylogenetic relationships among Greek *Salmo trutta* L. (brown trout) populations as revealed by RFLP analysis of PCR amplified mitochondrial DNA segments. *Heredity*, **77**: 608 – 618.
- Apostolidis A.P., Triantaphyllidis C., Kouvatsi A. & Economidis P.S., 1997. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogeography among *Salmo trutta* L. (Greek brown trout) populations. *Molecular Ecology*, **6**: 531 – 542.
- Apostolou A., 2002. *The ichthyofauna (morphologic, electrophoretic, taxonomic and faunistic research) from the middle and lower course of the rivers Mesta and Strouma in Bulgarian and Greek territory*. Thesis, Sofia University (In Bulgarian).
- Apostolou A., 2005. The ichthyofauna from the Bulgarian Sector of the Mesta River. *Acta zoologica bulgarica*, **57(2)**: 191 – 196.
- Avise J., 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. President and Fellows of Harvard College, 464 pp.
- Bagenal T. B. & Braum E., 1978. Eggs and Early Life History. In: Bagenal T.B. (ed.) *Methods for Assessment of Fish Production in Fresh Waters*. IBP Handbook No 3, Blackwell Scientific Publications, London, pp. 165-201.
- Bagenal T.B. & Tesch F.W., 1978. Age and growth. In: Bagenal, T.B. (ed.), *Methods for Assessment of Fish Production in FreshWater*. IBP Handbook No 3, Blackwell Scientific Publications, London, pp. 101 – 136.
- Balon E.K. & Noakes D.L.G., 1980. *Principles of Ichthyology*. University of Guelph, Canada, 285 p.
- Banarescu P., 1989. Preface. In: *The Freshwater Fishes of Europe*, Holcik J. (ed.) 1.II AULA – Verlag Wiesbaden, 18 – 147.
- Banarescu P. & Coad B.W., 1991. Cyprinidae of Eurasia. In: Winfield I.J. & Nelson J.E. (eds.), *Cyprinid fishes, Systematics, Biology and Exploitation*. London, Chapman and Hall, 127-155.
- Baras E. & Cherry B., 1990. Seasonal activities of female barbel, *Barbus barbus* (L.) in the River Ourthe (Southern Belgium), as revealed by radio tracking. *Aquatic Living Resources*, **3**: 283 – 294.

- Baroiller J.F. & D'Cotta H., 2001. Environment and sex determination in farmed fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **130(4)**: 399-409. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1532-0456\(01\)00267-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00267-8).
- Barthem R.B., Ribeiro M.B. & Petrere M., 1991. Life strategies of some long-distance migratory catfish in relation to hydroelectric dams in the Amazon Basin. *Biological Conservation*, **55**: 339–345.
- Bax N., Carlton J.T., Mathews-Amos A., Haedrich R.L., Howarth F.G., Purcell J.E., Rieser A., Gray A., 2001. The control of biological invasions in the world's oceans. *Conservation Biology*, **15**: 1234–1246.
- Beacham T.D., 1990. A genetic analysis of meristic and morphometric variation in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) at three different temperatures. *Canadian Journal of Zoology* **68**: 225 – 229. DOI: 10.1139/z90 – 033.
- Belpaire C., Smolders R., Vanden Auweele I., Ercken D., Breine J., Van Thuyne G., & Ollevier F., 2000. An Index of Biotic Integrity characterizing fish populations and the ecological quality of Flandrian waterbodies. *Hydrobiologia*, **434**: 17–33.
- 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). *Marine Biology*, **50**: 263 – 273.
- Bernardi G., Robertson D.R., Clifton K.E. & Azurro E., 2000. Molecular systematic, zoogeography and evolutionary ecology of the Atlantic parrotfish genus *Sparisoma*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **15(2)**: 292 – 300.
- Bhattacharya C.G., 1967. A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. *Biometrics*, **23**: 115 – 135.
- Bischoff A. & Freyhof J., 1999. Seasonal shifts in day – time resource use of 0+ barbel, *Barbus barbus*. *Environmental Biology of Fishes*, **56**: 199 – 212.
- Blob R.W., Bridges W.C., Ptacek M.B., Maie T., Cediell R.A., Bertolas M.M., Julius M.L. & Schoenfuss H.L., 2008. Morphological selection in an extreme flow environment, body shape and waterfall – climbing success in the Hawaiian stream fish *Sicyopterus stimpsoni*. *Integrative and Comparative Biology*, **48(6)**: 734 – 749. DOI: 10.1093/icb/icn086.

- Bobori D.C., Koutrakis E.T. & Economidis P.S., 2001. Shad species in Greek waters – an historical overview and present status. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture*, **362/363**: 1101 – 1108.
- Bobori D.C., Tsikliras A.C. & Economidis N. I., 2006. Some morphological and biological characteristics of fishes from Tavropos reservoir (western Greece). *Folia Zoologica*, **55(2)**: 199 – 210.
- Bogutskaya N.G., 1990. Morphological basics in cyprinid fish of *Leuciscinae* subfamily (Leuciscinae, Cyprinidae). *Vop Ikhtiol*, **30(6)**: 920-933.
- Bohlen J., Perdices A., Doadrio I. & Economidis P.S., 2006. Vicariance, colonization, and fast local speciation in Asia Minor and the Balcans as revealed from the phylogeny of spined loaches (Osteichthyes, Cobitidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **39**: 552 – 561.
- Bond C.E., 1979. *Biology of fishes*. W.B. Saunders Company. pp. 406-424, 514.
- Bookstein F.L., 1982. Foundations of morphometrics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **13**: 451 – 470.
- Bowen S.H., 1983. Quantitative description of the diet. In: Nielson L.A. & Johnson D.L. (eds.), *Fisheries Techniques*. The American Fisheries Society, Bethesda, Mairyland, pp. 325 – 336.
- Bowen Z.H., Freeman M.C. & Watson D.L., 1996. *Index of Biotic Integrity Applied to a Flow-Regulated River System*. Proceedings of the 50<sup>th</sup> Annual Conference of the Southeastern Association of Fish and Wildlife Agencies, 1996: U.S. Fish and Wildlife, p. 26 – 37.
- Breine J., Simoens I., Goethals P., Quataert P., Ercken D., van Liefferinghe C. & Belpaire C., 2004. A fish-based index of biotic integrity for upstream brooks in Flanders (Belgium). *Hydrobiologia* **522**: 133 – 148.
- Brinsmead J. & Fox M.G., 2002. Morphological variation between lake – and stream – dwelling rock bass and pumpkinseed populations. *Journal of Fish Biology* **61(6)**: 1619 – 1638. DOI: 10.1111/j.1095 – 8649.2002.tb02502.x.



- Briolay J., Galtier N., Brito R.M. & Bouvet Y., 1998. Molecular Phylogeny of Cyprinidae inferred from cytochrome *b* DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **9**: 100 – 108.
- Briski E., Cristescu M.E., Bailey S.A. & MacIsaac H.J., 2011. Use of DNA barcoding to detect invertebrate invasive species from diapausing eggs. *Biological Invasions*, **13**: 1325–1340.
- Britton J.R., 2007. Reference data for evaluating the growth of common riverine fishes in the UK. *Journal of Applied Ichthyology*, **23**: 555 – 560.
- Britton J.R., Cowx I.G. & Peirson G., 2004. Sources of error in the ageing of stocked cyprinids. *Fisheries Management and Ecology*, **11**: 415 – 417.
- Britton J.R. & Pegg J., 2011. Ecology of European Barbel *Barbus Barbus*: Implications for River, Fishery, and Conservation Management. *Reviews in Fisheries Science*, **19(4)**: 321 – 330, DOI: 10.1080/10641262.2011.599886
- Brown J.R., 2006. Universal Tree of Life. In: eLS. <http://www.els.net>, DOI: 10.1038/npg.els.0004125
- Buisson L., Grenouillet G., Villeger S., Canal J. & Laffaille P., 2013. Toward a loss of functional diversity in stream fish assemblages under climate change. *Global Change Biology*, **19**: 387–400.
- Cadrin S.X., 2000. Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **10**: 91 – 112.
- Cambay J.A., 1985. Early development of an endangered African barb *Barbus trevelyani* (Pisces: Cyprinidae). *International Review of Hydrobiology*, **18(1)**: 51-60.
- Campana S.E. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of Fish Biology*, **59**: 197 – 242.
- Campana S.E. & Neilson J.D., 1985. Microstructure of fish otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **42**: 1014 – 1032.
- Capel F.M., Rodriguez F.H., De Jalon Lastra D.G. & De Los Terreros M.S. 2000. Assessing Impacts of a Hydropower Plant: Ebro River, Spain. *Conference Proceedings Hungarian Journal of Industrial Chemistry Veszprem*, **2**: 1 -6.

- Carvalho G.R. & Hauser L., 1994. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Review in Fish Biology and Fisheries*, **4**: 326–350.
- CEN 2003. *Water quality – sampling of fish with electricity. European standard – EN 14011*. Brussels, European Committee for Standardization, pp. 18.
- Choleev I. & Baltakov G., 1989. Basic features of the late Cenozoic evolution of the Mesta valley system on Bulgarian territory. In: *Proceedings of International Conference “Geographica Rhodopica”*, Sofia, **1**: 14 – 17.
- Chutter F.M., 1969. The effects of silt and sand on the invertebrate fauna of streams and rivers. *Hydrobiologia*, **34(1)**: 57-76.
- Clarke K.R. & Warwick R.M., 1994. *Change in Marine Communities: An Approach to Statistical Analysis and Interpretation*. Natural Environment Research Council, Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, 144 pp.
- Collares-Pereira M.J., Martins M.J., Pires A.M., Geraldes A.M. & Coelho M.M., 1996. Feeding behaviour of *Barbus bocagei* assessed under a spatio-temporal approach. *Folia Zoologica*, **45(1)**: 65-76.
- Cone R.S., 1989. The need to reconsider the use of condition indices in fishery science. *Transactions of the American Fisheries Society*, **118**: 510 – 514.
- Cooper J.A.G., Ramm A.E.L., Harrison T.D., 1994. The estuarine health index: a new approach to scientific information transfer. *Ocean and Coastal Management*, **25**: 103 – 141.
- Copp G.H., Bianco P.G., Bogutskaya N.G., Eros T., Falka I., Ferreira M.T., Fox M.G., Freyhof J., Gozlan R.E., Grabowska J., Kovac V., Moreno-Amich R., Naseka A.M., Penaz M., Povz M., Przybylski M., Robillard M., Russell I.C., Stakenas S., Sumer S., Vila-Gispert A. & Wiesner C., 2007. To be, or not to be, a non-native freshwater fish? *Journal Applied Ichthyology*, **21**: 242–262.
- Costello M.J., 1990. Predator feeding strategy and prey importance: a new graphical analysis. *Journal of Fish Biology*, **36**: 261-263.
- Crass R.S., 1969. The effects of land use on freshwater fish in South Africa, with particular reference to Natal. *Hydrobiologia*, **34(1)**: 38-56.

- Crowder L.B. & Cooper W.E., 1982. Habitat structural complexity and the interaction between bluegills and their prey. *Ecology*, **63**: 1802–1813.
- Cunha C., Mesquita N., Dowling T.E., Gilles A. & Coelho M.M., 2002. Phylogenetic relationships of Eurasian and American cyprinids using cytochrome b sequences. *Journal of Fish Biology*, **61**: 929 – 944.
- Daniels R.A., Limburg K.E., Schmidt R.E., Strayer D.L. & Chambers R.C., 2005. Changes in fish assemblages in the Tidal Hudson River, New York. In: Rinne J.N., Hughes R.M. & Calamusso B. (eds.), *Historical changes in large river fish assemblages of the Americas*, Symposium 45. American Fisheries Society: Bethesda, Maryland; 471 – 503.
- Darakas E., 2002. The transboundary river Nestos and its water quality assessment: cross – border cooperation between Greece and Bulgaria. *The Environmentalist*, **22**: 367 – 375.
- Dayrat B., 2005. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, **85**: 407 – 415.
- De Leeuw J.J. & Winter H.V., 2008. Migration of rheophilic fish in the large rivers Meuse and Rhine, the Netherlands. *Fisheries Management and Ecology*, **15**: 409 – 415.
- Deegan L.A., Finn J.T., Ayvazian S.G., Ryder – Kieffer C.A. & Buonaccorsi J., 1997. Development and validation of an Estuarine Biotic Integrity Index. *Estuaries*, **20**: 601 – 617.
- Del Mar Torralva M., Angeles Puig M., Fernandez – Delgado C., 1997. Effect of river regulation on the life – history patterns of *Barbus sclateri* in the Segura river basin (south – east Spain). *Journal of Fish Biology* **51**: 300 – 311.
- Delling B., 2002. Morphological distinction of the marble trout, *Salmo marmoratus*, in comparison to marbled *Salmo trutta* from River Otra, Norway. *Cybium*, **26(4)**: 283 – 300.
- Devlin R.H. & Nagahama Y., 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, **208(3 – 4)**: 191 – 364.

- Dikov T.I. & Zhivkov M.T., 1985. A comparative analysis of the growth of the barbel (*Barbus tauricus cyclolepis* Heckel) in the Dzerman River and the Dospat Dam. *Hydrobiology (Sofia)*, **26**: 81 – 90 (in Bulgarian).
- Drensky P., 1926. New and rare fishes in Bulgaria. *Proceedings of the Bulgarian Natural – Historian Society*, **12**: 121 – 150 (In Bulgarian).
- Drensky P., 1930. Zur Kenntnis der Sübwasserfischfauna Bulgariens. *Zoologische Jahrbücher, Systematik*, **59**: 663 – 680.
- Durand J.D., Tsigenopoulos C.S., Ünlü E. & Berrebi P., 2002. Phylogeny and Biogeography of the family Cyprinidae in the Middle East inferred from cytochrome b DNA-Evolutionary significance of this region. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **22(1)**: 91-100.
- 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/>.
- Dynesius M. & Nilsson C., 1994. Fragmentation and flow regulation of river systems in the northern third of the world. *Science*, **266**: 753 – 762. DOI: 10.1126/science.266.5186.753.
- EC 2000. *Council Directive for a legislative frame and actions for the water policy, 2000/60/EC*. Official Journal of the European Community, 22/12/2000.
- Echeverria T.W., 1987. Thirty-four species of California rockfishes: maturity and seasonality of reproduction. *US. Fishery Bulletin*, **85**: 229-250.
- Economidis P.S., 1991. *Check list of the freshwater fishes of Greece (recent status of threats and protection)*. Hellenic Society for the Protection of Nature. Special publication. 48 p.
- Economidis P.S., 1995. Endangered Freshwater fishes of Greece. *Biological Conservation*, **72**: 201 – 211.
- Economidis P.S., Koutrakis E.T. & Bobori D.C., 2000. Distribution and conservation of *Acipenser sturio* and related species in Greek waters. *Boletin del Instituto Espanol de Oceanografia*, **16(1 – 4)**: 81 – 88.

- Economou A. (2002). Development, evaluation & implementation of a standardized fish – based assessment method for the ecological status of European Rivers. A contribution to the Water Framework Directive (FAME). Defining Reference Conditions. 5<sup>th</sup> Framework Programme, Key Action 1.
- Economou A.N., Daoulas C. & Psarras T., 1991. Growth and morphological development of chub, *Leuciscus cephalus* (L.), during the first year of life. *Journal of Fish Biology*, **39**: 393 – 408.
- 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. *Mediterranean Marine Science*, **8/1**: 91-166.
- EFI+ Consortium, 2009. Manual for the application of the new European Fish Index – EFI+. A fish-based method to assess the ecological status of European running waters in support of the Water Framework Directive, pp 76.
- Emmanouloudis D., Myronidis D., Panilas S., Efthimiou G., 2006. The role of sediments in the dynamics and preservation of the aquatic forest in the Nestos Delta (northern Greece). IAHS Publications, **306**: 214-222.
- Encina L. & Granado – Lorenzo C., 1997. Seasonal changes in condition, nutrition, gonad maturation and energy content in barbel, *Barbus sclateri*, inhabiting a fluctuating river. *Environmental Biology of Fishes*, **50**: 75 – 84.
- Eschmeyer W.N. (ed), 2014. Catalog of Fishes: Genera, Species, References. Available online: <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>
- 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. *Molecular Ecology Resources*, **10**: 564-567.
- EU Water Framework Directive, 2000. *Directive of the European parliament and of the council 2000/60/EC establishing a framework for community action in the field of water policy*. Official Journal of the European Communities 22.12.2000 L 327/1.
- FAME Consortium, 2004. *Manual for the application of the European Fish Index - EFI. A fish-based method to assess the ecological status of European rivers in support of the Water Framework Directive*. Version 1.1, January 2005.

- FAO, 2007. *Report of the twenty-fourth session of the European inland fisheries advisory commission*. No 821, Mondsee, Austria, 14–21 June 2006. 58 p.
- Faulks L.K., Gilligan D.M. & Beheregaray L.B., 2010. Islands of water in a sea of dry land: hydrological regime predicts genetic diversity and dispersal in a widespread fish from Australia's arid zone, the golden perch (*Macquaria ambigua*). *Molecular Ecology*, **19**: 4723-4737.
- Felsenstein J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, **39**:783-791.
- 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. *Journal of Fish Biology*, **70**: 1 – 20. DOI: 10.1111/j.1095 – 8649.2006.01192.x.
- Francis R.I.C.C., 1990. Back – calculation of fish length: a critical review. *Journal of Fish Biology*, **36**: 883 – 902.
- Franco A., Torricelli P., Franzoi P., 2009. A habitat-specific fish-based approach to assess the ecological status of Mediterranean coastal lagoons. *Marine Pollution Bulletin*, **58(11)**: 1704 – 1717.
- Freyhof J., Lieckfeldt D., Bogutskaya N.G., Pitra Ch. & Ludwig A., 2006. Phylogenetic position of the Dalmatian genus *Phoxinellus* and description of the newly proposed genus *Delminichthys* (Teleostei: Cyprinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **38**: 416–425.
- 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*. *Journal of Fish Biology*, **70(2)**: 483-496.
- Fore L.S., Karr J.R. & Conquest L.L., 1993. Statistical properties of an index of biological integrity used to evaluate water resources. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **51**: 1077–1087.
- Gaigher I.G., Hamman K.C.D. & Thorne S.C., 1980. The distribution, conservation status and factors affecting the survival of indigenous freshwater fishes in the Cape Province. *Koedoe*, **23**: 57-88.

- 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.
- Gilles A., Costedoat C., Barascud B., Voisin A., Banarescu P., Bianco P.G., Economidis P.S., Marić D. & Chappaz R., 2010. Speciation pattern of *Telestes souffia* complex (Teleostei, Cyprinidae) in Europe using morphological and molecular Markers. *Zoologica Scripta*, **39(3)**: 225-242.
- Gomà J., Ortiz R., Cambra J. & Ector L., 2004. Water evaluation in Catalanian Mediterranean rivers using epilithic diatoms as bioindicators. *Vie Milieu* **54**: 81–90.
- Gomez-Uchida D., Knight T.W. & Ruzzante D.E., 2009. Interaction of landscape and life history attributes on genetic diversity, neutral divergence and gene flow in a pristine community of salmonids. *Molecular Ecology*, **18**: 4854-4869.
- Goulding M., Carvalho M.L. & Ferreira E.G., 1988. *Rio Negro, rich life in poor water, Amazonian diversity and foodchain ecology as seen through fish communities*. Hague, the Netherlands: SPB Academic Publishing, 200 p.
- Graynoth E., 1987. Growth of landlocked sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, **21**: 15 – 30.
- Haas T.C., Blum M.J. & Heins D.C., 2010. Morphological responses of a stream fish to water impoundment. *Biology Letters*, **6(6)**: 803 – 806.
- Hanski I.A. & Gaggiotti O.E., 2004. *Ecology, genetics, and evolution of metapopulations*. London: Academic Press.
- Haponski A.E., Marth T.A. & Stepien C.A., 2007. Genetic divergence across a low – head dam, A preliminary analysis using log perch and Greenside Darters. *Journal of Great Lakes Research*, **33(2)**: 117 – 126.
- Harris J.H. & Silveira R., 1999. Large scale assessments of river health using an index of biotic integrity with low-diversity fish communities. *Freshwater Biology* **41**: 235–252.
- Harrison T. D. & Whitfield A. K., 2004. Multi – metric fish index to assess the environmental condition of estuaries. *Journal of Fish Biology*, **65**: 683 – 710.

- Hebert P.D.N., Penton E.H., Burns J.M., Janzen D.H. & Hallwachs W., 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrapes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **101**: 14812-14817.
- Hebert P.D. & Gregory T.R., 2005. The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic Biology*, **54**: 852 – 859.
- Heggenes J. & Røed K.H., 2006. Do dams increase genetic diversity in brown trout (*Salmo trutta*)? Microgeographic differentiation in a fragmented river. *Ecology of Freshwater Fish*, **15**: 366–375.
- Hendry A.P., Taylor E.B. & McPhail J.D., 2002. Adaptive divergence and the balance between selection and gene flow, lake and stream stickleback in the misty system. *Evolution*, **56**: 1199 – 1216. DOI: 10.1111/j.0014 – 3820.2002.tb01432.x.
- Herrera M. & Fernandez – Delgado C., 1991. The life – history patterns of *Barbus bocagei sclateri* (Gunther, 1868) in a tributary stream of the Guadalquivir River basin, southern Spain. *Ecology of Freshwater Fish*, **1**: 42 – 51.
- Hikasa Y., Takase K., Ogasawara T. and Ogasawara S.. 1986. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopemal sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. *Japanese Journal of Veterinary Science*, **48**: 341-351.
- Hickling, C.F., 1933. *The natural history of the hake. IV. Age – determination and the growth – rate*. Fishery Invest., Lond., Ser.2,**13(2)**. 120 pp.
- Hillis D.M., Moritz C. & Mable B.K., 1996. *Molecular Systematics*. Sunderland, MA, Sinauer Associates, 655 p.
- Holcik J., Banarescu P. & Evans D., 1989. General introduction to fishes. In: *The Freshwater Fishes of Europe*, Holcik J (ed) 1.II AULA – Verlag Wiesbaden; 18 – 147.
- Hoenig J. M. & Gruber S.H. 1990. Life – History Patterns in the Elasmobranchs: Implications for Fisheries Management. In: Pratt Jr. H.L, Gruber S.H. & T. Taniuchi (eds.). *Elasmobranchs as living Resources: Advances in the Biology, Ecology, Systematics, and the Status of the Fisheries*. NOAA Technical Report 90.



- Hop H., Gjøsæter J. & Danielssen DS., 1992. Seasonal feeding ecology of cod (*Gadus morhua* L.) on the Norwegian Skagerrak coast. *ICES Journal of Marine Science*, **49**: 453 – 461.
- Horn H. S. 1978. Optimal tactics of reproduction and life history. In: Krebs J.R. & Davies N.B. (eds.). *Behavioural ecology: an evolutionary approach*. p. 411 – 429. Blackwell Scientific, Oxford.
- Hu W. – W., Wang G – X., Deng W. & Li S – N., 2008. The influence of dams on ecological conditions in the Huaihe River basin, China. *Ecological Engineering* **33**, 233 – 241.
- Hubbs C.L., 1922. Variations in the number of vertebrae and other meristic characters of fishes correlated with the temperature of water during development. *American Naturalist*, **56**: 360 – 372.
- Huet M., 1949. Aperçu des relations entre la pente et les populations piscicoles des eaux courantes [Overview of the relationship between the slope and fish populations in streams]. *Schweizerische Zeitschrift Fur Hydrologie*, **11**: 333 – 351.
- Hughes R.M. & Oberdorff T., 1999. Applications of IBI Concepts and Metrics to Water Outside the United States and Canada. In: Simon T.P. (ed.), *Assessing the Sustainability and Biological Integrity of Water Resources Using Fish Communities*. CRC Press LLC, Washington DC. p.p. 62–74.
- Hunt P.C. & Jones J.W., 1974. A population study of *Barbus barbus* L. in the River Severn, England III. Growth. *Journal of Fish Biology*, **7**: 361 – 376.
- Hunter J.R., Macewicz B.J. & Kimbrell C.A., 1992. Fecundity, spawning and maturity of female Dover sole, *Microstomus pacificus*, with an evaluation of assumptions and precision. *Fisheries Bulletin US*, **90**: 101 – 128.
- Hureau J.C., 1966. Biologie comparée de quelques poissons antarctique (Nototheniidae). *Bulletin de l'Institut océanographique, Monaco*, **68**: 1 – 244.
- Hyslop E.J., 1980. Stomach content analysis-a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*, **17**: 411 – 429.
- Ighwela K.A., Ahmed A.B. & Abol – Munafi A.B., 2011. Condition Factor as an Indicator of Growth and Feeding Intensity of Nile Tilapia Fingerlings

- (*Oreochromis niloticus*) Feed on Different Levels of Maltose. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, **11(4)**: 559 – 563.
- Imre I., McLaughlin R.L. & Noakes D.L.G., 2002. Phenotypic plasticity in brook charr: changes in caudal fin induced by water flow. *Journal of Fish Biology*, **61**: 1171 – 1181.
- IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.1.
- Jackson D.C. & Marmulla G., 2001. The influence of dams on river fisheries. In: Marmulla, G. (ed), *Dams, fish and fisheries: Opportunities, challenges and conflict resolution*. FAO Fisheries Technical Paper 419. pp. 1 – 44.
- Jager H.I., Chandler J.A., Leppla K.B. & Winkle W.V., 2001. A theoretical study of river fragmentation by dams and its effect on white sturgeon populations. *Environmental Biology of Fishes*, **60**: 347–361.
- Jansson R., Nilsson C., Dynesius M. & Andersson E., 2000. Effects of river regulation on river – margin vegetation, A comparison of eight boreal rivers. *Ecological Applications*, **10**: 203 – 224.
- Karakousis Y., Triantaphyllidis C. & Economidis P.S., 1991. Morphological variability among seven populations of brown trout, *Salmo trutta* L., in Greece. *Journal of Fish Biology* **38**: 807-817.
- Karr J.R., 1981. Assessment of biotic integrity using fish communities. *Fisheries*, **6**: 21 – 27.
- Karr J.R. & Dudley D.R., 1981. Ecological perspective on water quality goals. *Environmental Management*, **5**: 55 – 68.
- Karr J.R., Faush K.D., Angermeier P.R., Yant P.R. & Schlosser I.J., 1986. *Assessing Biological Integrity in Running Waters: A Method and its Rationale*. Illinois Natural History Survey Special Publication 5, pp. 1-28.
- Kawara O., Yura E., Fujii S. & Matsumoto T., 1998. A study on the role of hydraulic retention time in eutrophication of the Asahi River dam reservoir. *Water Science and Technology*, **37(2)**: 245 – 252. DOI: 10.1016/S0273 – 1223(98)00030 – 4.

- Kerfoot J.R. & Schaefer J.F., 2006. Ecomorphology and habitat utilization of *Cottus* species. *Environmental Biology of Fishes* **76**: 1–13. DOI: 10.1007/s10641–006–9000–0.
- Kimura M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, **16**: 111–120
- Kingdom T. & Allison M.E., 2011. The Fecundity, Gonadosomatic and Hepatosomatic Indices of *Pellonula leonensis* in the Lower Nun River, Niger Delta, Nigeria. *Current Research Journal of Biological Sciences*, **3(2)**: 175–179.
- Kleanthidis P.K., Sinis A.I. & Stergiou K.J., 1999. Length – Weight Relationships of Freshwater Fishes in Greece. *Naga, the ICLARM Quarterly*, **22(4)**: 37 – 40.
- Kottelat M., 1997. A heuristic checklist of the freshwater fishes of Europe (exclusive of former USSR) with an introduction for non – systematists and comments on nomenclature and conservation. *Biologia Bratislava*, **52(5)**: 1 – 271.
- Kottelat M., 1998. Systematics, species concepts and the conservation of freshwater fish diversity in Europe. *Italian Journal of Zoology*, **65(S1)**: 65-72.
- Kottelat M. & Economidis P.S., 2006. *Squalius orpheus*, a new species of cyprinid fish from Evros drainage, Greece (Teleostei: Cyprinidae). *Ichthyological Exploration of Freshwater*, **17(2)**: 181-186.
- Kottelat M. & Freyhof J., 2007. *Handbook of European freshwater fishes*. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany, 646 p.
- Koutrakis E.T. & Tsikliras A.C., 2003: Length-weight relationships of fishes from three northern Aegean estuarine systems (Greece). *Journal of Applied Ichthyology*, **19**: 258- 260.
- Koutrakis E.T., Sapounidis A., Apostolou A., Vassilev M., Pehlivanov L., Leontarakis P., Tsekov A., Sylaios G. & Economidis P.S., 2013. An Integrated ichthyofaunal survey in a heavily-modified, cross-border watershed. *Journal of Biological Research Thessaloniki*, **20**: 326-338.
- Koutsikos N., Zogaris S., Vardakas L., Tachos V., Kalogianni E., Šanda R., Chatzinikolaou Y., Giakoumi S., Economidis P.S. & Economou A.N., 2012. Recent

- contributions to the distribution of the freshwater ichthyofauna in Greece. *Mediterranean Marine Science* **13/2**: 268-277.
- Kunkel G., 1992. *Ecological Research in the Aladjagula area near Chrysoupolis, Nestos Delta, North – East Greece*. Munster University, Institut fur Geographie, Diplomarbeit Thesis, 118 p.
- Langeland A. & Nost T., 1995. Gill raker structure and selective predation on zooplankton by particulate feeding fish. *Journal of Fish Biology*, **47**: 719 – 732.
- Langerhans B.R., Layman C.A., Langerhans A.K. & Dewitt T.J., 2003. Habitat – associated morphological divergence in two neotropical fish species. *Biological Journal of the Linnean Society* **80**: 689 – 698.
- Lamouroux N., Capra H. & Pouilly M., 1998. Predicting habitat suitability for lotic fish: Linking statistical hydraulic models with multivariate habitat use models. *Regulated Rivers*, **14**: 1 – 11.
- Larinier M., 2001. Environmental issues, dams and fish migration. In: Marmulla, G. (ed), *Dams, fish and fisheries: Opportunities, challenges and conflict resolution*. FAO Fisheries Technical Paper 419. pp. 45 – 89.
- Larochel J. & Durand J.D. 2004. Genetic structure of fragmented populations of a threatened endemic percid of the Rhone river: *Zingel asper*. *Heredity*, **92**: 329–334.
- Lauder G.V., Nauen J.C. & Drucker E.G., 2002. Experimental hydrodynamics and evolution: function of median fins in rayfinned fishes. *Integrative and Comparative Biology*, **42**: 1009 – 1017. DOI: 10.1093/icb/42.5.1009.
- Lauzanne, L. (1978). Croissance de *Sarotherodon galilaeus* (Pisces, Cichlidae) dans le lac Tchad. *Cybium 3<sup>rd</sup> ser.* **3**: 5 – 14.
- Le Cren E.D., 1947. The determination of the age and growth of the perch (*Perca fluviatilis*) from the opercular bone. *Journal of Animal Ecology*, **16**: 188 – 204.
- Le Cren, E. D., 1951: The Length – weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Animal Ecology*, **20**: 201 – 219.
- Lea E., 1910. *On the methods used in the herring – investigations*. Publ. Circonst. Cons. perm. int. Explor. Mer 53, 175 p.

- Lee R.M., 1920. *A review of the methods of age and growth determination in fishes by means of scales*. Fishery Invest., Lond., Ser. **24(2)**, 32 p.
- Liasko R., Anastasiadou C., Ntakis A., Gkenas C. & Leonardos I.D., 2012. Morphological differentiation among native trout populations in North-Western Greece. *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, **17**: 33 – 43.
- Lin Q., 2011. Influence of Dams on River Ecosystem and Its Countermeasures. *Journal of Water Resource and Protection*, **3**: 60-66.
- Lindsey C.C., 1958. Modification of meristic characters by light duration in kokanee (*Oncorhynchus nerka*). *Copeia*: 134 – 136.
- Lindsey C.C., 1962. Experimental study of meristic variation in a population of threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Canadian Journal of Zoology* **40(2)**: 271 – 312. DOI: 10.1139/z62 – 028.
- Lindsey C.C., 1988. Factors controlling meristic variation. In: Hoar W.S. & Randall DJ (eds.) *Fish Physiology*, Vol. 11B,. New York, NY, Academic Press: 197 – 273
- Losos B., Penaz M. & Kubièkova J., 1980. Food and growth of fishes of the Jihlava river. *Acta Scientiarum Naturalium Brno*, **14(1)**: 1-46.
- Loxterman J.L. & Keeley E.R., 2012. Watershed boundaries and geographic isolation: patterns of diversification in cutthroat trout from western North America. *BMC Evolutionary Biology*, **12**: 38. Available online: <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/12/38>.
- Lucas M.C. & Batley E., 1996. Seasonal movements and behaviour of adult barbel *Barbus barbus*, a riverine cyprinid fish: Implications for river management. *Journal of Applied Ecology*, **33**: 1345 – 1358.
- Lucena F.M., Vaska T., Ellis J.R. & O'Brien C.M., 2000. Seasonal variation in the diets of bluefish, *Pomatomus saltatrix* (Pomatomidae) and striped weakfish, *Cynoscion guatucupa* (Sciaenidae) in southern Brazil: implications of food partitioning. *Environmental Biology of Fish*, **57**: 423–434.
- Lucifora, L.O., Menni, R.C. & Escalante, A.H. 2002. Reproductive ecology and abundance of the sand tiger shark, *Carcharias taurus*, from the southwestern Atlantic. *ICES Journal of Marine Science*, **59(9)**: 553 – 561.

- Lyons J., Wang L. & Simonson T.D., 1996. Development and validation of an Index of Biotic Integrity for coldwater Streams in Wisconsin. *North American Journal of Fisheries Management*, **16**: 241 – 256.
- Macan T.T., 1959. *A Guide to Freshwater Invertebrate Animals*. Longmans, London.
- Maitland P.S., 2000. *Guide to freshwater fish of Britain and Europe*. Octopus Publishing Group Limited, London, 256 p.
- Magalhaes M.F., 1992. Feeding ecology of the Iberian cyprinid *Barbus bocagei* Steindachner, 1865 in a lowland river. *Journal of Fish Biology*, **40**: 123 – 133.
- Magalhaes M.F., 1993. Feeding of an Iberian stream cyprinid assemblage: seasonality of resource use in a highly variable environment. *Oecologia*, **96**: 253-260.
- Mann R.H.K., 1991. Growth and production. In: Winfield I.J. & Nelson J.S. (eds.), *Cyprinid Fishes. Systematics, Biology and Exploitation*. Chapman & Hall, London. pp. 446 – 481.
- McLaughlin R.L. & Grant J.W.A., 1994. Morphological and behavioural differences among recently – emerged brook charr, *Salvelinus fontinalis*, foraging in slow – vs. fast – running water. *Environmental Biology of Fishes* **39**: 289 – 300. DOI: 10.1007/BF00005130.
- Meldgaard, T., Nielsen E. E. & Loeschcke V., 2003. Fragmentation by weirs in a riverine system: a study of genetic variation in time and space among populations of European grayling (*Thymallus thymallus*) in a Danish River system. *Conservation Genetics*, **4**: 735–747.
- Meng L., Orphanides C.D., Powell C.J., 2002. Use of a fish index to assess habitat quality in Narragansett Bay, Rhode Island. *Transactions of the American Fisheries Society*, **131**: 731–742.
- 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. *Transactions of the American Fisheries Society*, **132**: 183-195.

- Mills C.A., 1991. Reproduction and life history. In: Winfield I.J. & Nelson J.S. (eds), *Cyprinid Fishes. Systematics, Biology and Exploitation*. Chapman & Hall, London. pp. 426 - 455.
- Montafiks C. & Lobon-Cervia J. (1986). Feeding ecology of a population of brown trout (*Salmo trutta* L.) in an aquifer-fed stream of old Castile, Spain. *Ekologiu Polska* **34**: 203-213.
- Morais P., Chicharo M.A. & Chicharo L., 2009. Changes in a temperate estuary during the filling of the biggest European dam. *Science of the Total Environment* **407**: 2245–2259. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.11.037.
- Moyle P.B. & Randall P.J., 1996. *Sierra Nevada Ecosystem Project: Final report to Congress, vol. II, Assessments and scientific basis for management options*. Davis: University of California, Centers for Water and Wildland Resources.
- Murta A.G., Pinto A.L. & Abaunza P., 2008. Stock identification of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) through the analysis of body shape. *Fisheries Research*, **89**: 152 – 158.
- Nei M. & Kumar S., 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Neraas L.P. & Spruell P., 2001. Fragmentation of riverine systems: the genetic effects of dams on bull trout (*Salvelinus confluentus*) in the Clark Fork River system. *Molecular Ecology*, **10**: 1153–1164.
- Needham J.G. & Needham P.R., 1962. *A guide to the study of freshwater biology*. Holden-Day, Inc, San Francisco.
- Nikolsky G.V., 1963. The ecology of fishes. Academic Press Inc., London. 352 p.
- Nikolsky G.V., 1969. Theory of fish population dynamics as the biological background for rational exploitation and management of fishery resources. Oliver & Boyd, Edinburgh, 323 p.
- Northcote T.G., 1998. Migratory behaviour of fish and its significance to movement through riverine fish passage facilities, In: Jungwirth M. & Weiss S. (eds.), *Fish Migration and Fish Bypasses*. Oxford, Fishing News Books – Blackwell Science. pp. 3 – 18.

- Oberdorff T. & Hughes R.M., 1992. Modification of an index of biotic integrity based on fish assemblages to characterize rivers of the Seine-Normandie basin, France. *Hydrobiologia*, **228**: 117-130.
- Oberdorff T., Pont D., Hugueny B. & Porcher J.-P., 2002. Development and validation of a fish-based index for the assessment of 'river health' in France. *Freshwater Biology*, **47**: 1720 – 1734.
- Omitoyin B.O., Salakoand A.E. & Eriegha O.J., 2013. Some ecological aspects of *Oreochromis niloticus* and *Heterotis niloticus* from Ona Lake, Asaba, Nigeria. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, **5(6)**: 641-648.
- Ovidio M. & Philippart J.C., 2002. The impact of small physical obstacles on upstream movements of six species of fish. *Hydrobiologia*, **483**: 55 – 69.
- Ovidio M., Parkinson D., Philippart J.C. & Baras E., 2007. Multiyear homing and fidelity to residence areas by individual barbel (*Barbus barbus*). *Belgian Journal of Zoology*, **13**: 183 – 190.
- Papastergios G., Fernández – Turiel J. – L., Georgakopoulos A. & Gimeno D., 2009. Natural and anthropogenic effects on the sediment geochemistry of Nestos River, Northern Greece. *Environmental Geology*, **58(6)**: 1361 – 1370
- Pauly D., 1984. *Fish population dynamics in tropical waters: a manual for use with programmable calculators*. ICLARM Studies and Reviews 8, International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines. 325 p.
- Pauly D., 1994. *On the sex of fish and the gender of scientists*. Chapman & Hall, London, 250 p.
- Pauly D., Ingles J. & Neal R., 1984. Application to shrimp stocks of objective methods for the estimation of growth, mortality and recruitment – related parameters for lengthfrequency data (ELEFAN I and II). In: Gulland J.A. & Rothschild B.J. (eds.), *Penaeid shrimps – Their biology and management*, Fishing News Books, Farnham, UK. pp. 220 – 234
- Perea S., Böhme M., Zupančič P., Freyhof J., Šanda R., Özuluğ M., Abdoli A. & Doadrio I., 2010. Phylogenetic relationships and biogeographical patterns in Circum-



- Mediterranean subfamily *Leuciscinae* (Teleostei, Cyprinidae) inferred from both mitochondrial and nuclear data. *BMC Evolutionary Biology*, **10**: 265 – 292.
- Persis M., Chandra Sekhar Reddy A., Rao L. M., Khedkar G. D., Ravinder K. & Nasruddin K., 2009. COI (cytochrome oxidase-I) sequence based studies of Carangid fishes from Kakinada coast, India. *Molecular Biology Reports*, **36**: 1733 – 1740. DOI 10.1007/s11033-008-9375-4
- Petalas C., Pliakas F., Diamantis I. & Kallioras A., 2005. Development of an integrated conceptual model for the rational management of the transboundary Nestos River, Greece. *Environmental Geology*, **48(7)**: 941 – 954.
- Petersen C.G.J., 1891. Eine Methode zur Bestimmung des Alters und des Wuchses der Fisches. *Mitt. Dtsch. Seefisch. Ver.*, **11**: 226 – 235.
- Piria M., Treer T., Aničić I., Safner R. & Odak T., 2005. The Natural Diet of Five Cyprinid Fish Species. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, **70(1)**: 21 – 28.
- Poff N.L. & Allan J.D., 1995. Functional organization of stream fish assemblages in relation to hydrological variability. *Ecology* **76(2)**: 606 – 627. DOI: 10.2307/1941217.
- Pringle C.M., 2001. Hydrologic connectivity and the management of biological reserves, a global perspective. *Ecological Applications* **11**: 981 – 998.
- Prokes M., Sovcik P., Penaz M., Barus V., Spurny P. & Vilizzi. L., 2006. Growth of barbel, *Barbus barbus*, in the River Jihlava following major habitat alteration and estimated by two methods. *Folia Zoologica*, **55**: 86 – 96.
- Psilovikos A., Margoni S. & Psilovikos A. 2006. Simulation and trend analysis of the water quality monitoring daily data in Nestos river delta. Contribution to the sustainable management and results for the years 2000 – 2002. *Environmental Monitoring and Assessment*, **116**: 543 – 562. DOI: 10.1007/s10661 – 006 – 7671 – 9.
- Ramírez-Luna V., Navia A.F. & Rubio E.A., 2008. Food habits and feeding ecology of an estuarine fish assemblage of northern Pacific Coast of Ecuador. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, **3(3)**: 361-372.

- 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. *Canadian Journal of Zoology*, **63**: 1429 – 1439. DOI: 10.1139/z85 – 213.
- Reyjo Y., Bernard Hugueny B., Pont D., Bianco R.G., Beier U., Caiola N., Casals F., Cowx I., Economou A., Ferreira T., Gertrud Haidvogel G., Noble R., de Sostoa A., Vigneron T. & Virbickas T., 2007. Patterns in species richness and endemism of European freshwater fish. *Global Ecology and Biogeography*, **16**: 65–75.
- Reynolds J.B., 1996. Electrofishing. In: Murphy B.R. & Willis D.W. (eds.), *Fisheries techniques*, American Fisheries Society, 732 p.
- Reznick D. N. & Brown B., 1987. Fat cycling in the mosquitofish (*Gambusia affinis*): fat storage as a reproductive adaptation. *Oecologia*, **73**: 401–413.
- Rhodes K.L. & Sadovy Y., 2002. Temporal and spatial trends in spawning aggregations of camouflage grouper, *Epinephelus polyphkadion* (Bleeker 1849) in Pohnpei, Micronesia. *Environmental Biology of Fishes*, **63**: 27 – 39.
- Ricker W.E., 1979. Growth rates and models. In: Hoar W.S., Randall D.J. & Brett J.R. (eds.) *Fish Physiology*, vol. 8. *Bionergetics and growth*, Academic Press, New York. pp. 677 – 743.
- Robinson B.W. & Wilson D.S., 1995. Experimentally induced morphological diversity in Trinidadian guppies (*Poecilia reticulata*). *Copeia*: 294 – 305.
- Rochet, M. – J. 2000. A comparative approach to life – history strategies and tactics among four orders of teleost fish. *ICES Journal of Marine Science*, **57**: 228 – 239. doi:10.1006/jmsc.2000.0641
- Rohlf F.J. & Bookstein F.L., 1990. Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop. The University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor.
- 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.

- Rozdina D., Raikova-Petrova G., Marinova R. & Uzunova E., 2008. Food spectrum and feeding of *Barbus cyclolepis* Heckel from the middle stream of Maritza River (Bulgaria). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, **14(2)**: 209 – 213.
- Ruban G.I., 1997. Species structure, contemporary distribution and status of the Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*. *Environmental Biology of Fishes*, **48**: 221–230.
- Rüber L., Kottelat M., Tan H.H., Ng P.K.L. & Britz R., 2007. Evolution of miniaturization and the phylogenetic position of *Paedocypris*, comprising the world's smallest vertebrate. *BMC Evolutionary Biology*, **7**: 38.
- Sagnes P., Champagne J.Y. & Morel R., 2000. Shifts in drag and swimming potential during grayling ontogenesis: relations with habitat use. *Journal of Fish Biology*, **57**: 52 – 68. DOI: 10.1111/j.1095 – 8649.2000.tb00775.x.
- Sagnes P. & Statzner B., 2009. Hydrodynamic abilities of riverine fish, a functional link between morphology and velocity use. *Aquatic Living Resources*, **22**: 79 – 91. DOI: 10.1051/alr/2009008.
- Scarnecchia D.L., 1988. The importance of streamlining in influencing fish community structure in channelized and unchannelized reaches of a prairie stream. *Regulated Rivers*, **2**: 155 – 166. DOI: 10.1002/rrr.3450020209.
- Schmitt J., 1997. Is photomorphogenic shade avoidance adaptive? Perspectives from population biology. *Plant, Cell, and Environment*, **20**: 826–830.
- Schmitt J., Dudley S.A. & Pigliucci M., 1999. Manipulative Approaches to Testing Adaptive Plasticity: Phytochrome-Mediated Shade-Avoidance Responses in Plants. *The American Naturalist*, **154**: S43-S54.
- Schmitt J., Stinchcombe J.R., Heschel S.H. & Huber H., 2003. The Adaptive Evolution of Plasticity: Phytochrome-Mediated Shade Avoidance Responses. *Integrative and Comparative Biology*, **43**: 459–469.
- Schulz G.W.C. & Schoonbee H.J., 1999. Aspects of the length, mass, fecundity, feeding habits and some parasites of the shortfin minnow, *Barbus brevipinnis* (Cyprinidae) from the Marite River, Mpumalanga Province, South Africa. *Water SA*, **25(2)**: 257-263.

- Senk O. & Aganoviae M., 1968. Prilog ispitivanju ishrane riba rijeke Vrbanje. Ribarstvo Jugoslavije, **24(4)**: 77-83.
- Simmons M.P. & Ochoterenam H., 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology*, **49**: 369-381.
- Simon T.P. & Lyons J., 1995. Application of the Index of Biotic Integrity to evaluate water resource integrity in freshwater ecosystems. In: Davis W.S. and Simon T.P. (eds.). *Biological Assessment and Criteria: Tools for Water Resource Planning and Decision Making*. CRC Press: Boca Raton. pp. 245 – 262.
- Simonovic P.D., Garner P., Eastwood E.A., Kovac V. & Copp G.H., 1999. Correspondence between ontogenetic shifts in morphology and habitat use in minnow *Phoxinus phoxinus*. *Environmental Biology of Fishes*, **56**: 117 – 128. DOI: 10.1023/A:1007541915307.
- Simonovic P., Maric S. & Nikolic V., 2005. Morphological differentiation of Salmonines (Subfamily Salmoninae) with emphasis on Trout *Salmo* spp. stocks in Serbia and adjacent regions. *Acta zoologica bulgarica*, **57(3)**: 341 – 362.
- Smith T.B., Wayne R.K., Girma D.J., Bruford M.W., 1997. A role for ecotones in generating rainforest biodiversity. *Science*, **276**: 1855 – 1857. DOI: 10.1126/science.276.5320.1855.
- Snyder R.J., 1984. Seasonal variation in the diets of threespined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, in Contra Costa County, California. *California Fishing Game*, **70**: 167–172.
- StatSoft Inc., 2005. STATISTICA (data analysis software system), version 7.1. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- Stefanov T. & Trichkova T., 2004. Fish species diversity in the Eastern Rhodope Mountains. In: Beron P., & Popov A. (eds.), *Biodiversity of Bulgaria II. Biodiversity of the Eastern Rhodopes (Bulgaria)*. National Museum of Natural History, Pensoft Publ., Sofia, 849 – 861.
- Stergiou K.I. & Karpouzi V.S., 2002. Feeding habits and trophic levels of Mediterranean fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **11**: 217 – 254.

- Storfer A., 1999. Gene flow and endangered species translocations, a topic revisited. *Biological Conservation*, **87**: 173 – 180. DOI: 10.1016/S0006 – 3207(98)00066 – 4.
- Straus R.E., 1987. The importance of phylogenetic constraints in comparisons of morphological structure among fish assemblages. In: Matthews W.J. & Heins D.C. (eds.). *Community and evolutionary ecology of North American stream fishes*. University of Oklahoma Press, pp. 136 – 142.
- Strauss R.E. & Bookstein F.L., 1982. The truss, Body form reconstruction in morphometrics. *Systematic Zoology*, **31**: 113–135. DOI: 10.1093/sysbio/31.2.113.
- Strauss R.E. & Fuiman L.A., 1985. Quantitative comparisons of body form and allometry in larval and adult Pacific sculpins (Teleostei: Cottidae). *Canadian Journal of Zoology*, **63(7)**: 1582 – 1589.
- Strauss R.E. & Bond C.E., 1990. Taxonomic methods: morphology In: Moyle P. & Schreck C. (eds.) *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society, Special Publication, pp. 109 – 140.
- Streble H. & Krauter D., 2002. *Das Leben im Wassertropfen: Mikroflora und Mikrofauna des Süßwassers*. Ein Bestimmungsbuch. Franckh-Kosmos-Verlag, Stuttgart.
- Summerfelt R.C. & Hall G.E., 1975 *Age and growth of fish*, Iowa State University Press, Ames.
- Swain D.P. & Foote C.J., 1999. Stocks and chameleons: the use of phenotypic variation in stock identification. *Fisheries Research*, **43**: 113-128.
- Sylaios G. & Bournanski E., 2009. The transboundary Nestos/Mesta river, An overview on hydrology and environment. In: Economidis P.S., Koutrakis M., Apostolou A., Vassilev M., Pehlivanov L. (eds.). *Atlas of River Nestos Fish fauna*. Prefectural Authority of Drama – Kavala – Xanthi, NAGREF – Fisheries Research Institute and Bulgarian Academy of Science, Kavala, Greece, pp. 36 – 37.
- Sylaios G.K., Kamidisa N. & Tsihrintzis V.A., 2010. Impact of river damming on coastal stratification – mixing processes: The cases of Strymon and Nestos Rivers, N. Greece. *Desalination*, **250(1)**: 302 – 312.

- Taggart J.B., Hynes R.A., Prodohl P.A. & Ferguson A., 1992. A simplified protocol for routine total DNA isolation from salmonid fishes. *Journal of Fish Biology*, **40**: 963 – 965.
- 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. *Molecular Biology and Evolution*, **28**: 2731-2739.
- Taning A.V. 1952. Experimental study of meristic characters in fishes. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, **27**: 169 – 193.
- Taylor A.A., Britton J.R., & Cowx I.G., 2004. Does the stock density of Stillwater catch and release fisheries affect the growth performance of introduced cultured barbel? *Journal Fish Biology*, **65**: 308 – 313.
- Taylor E.B., Stamford M.D. & Baxter J.S., 2003. Population subdivision in westslope cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki lewisi*) at the northern periphery of its range: evolutionary inferences and conservation implications. *Molecular Ecology*, **12**: 2609-2622.
- Tesch F.W., 1971. Age and Growth. In: Ricker W.E. (ed.). *Methods for Assessment of Fish Production in Fresh water*, Blackwell Scientific Publications, Oxford & Edinburgh, p. 98 – 130.
- Thorpe R.S., 1988. Multiple group principal components analysis and population differentiation. *Journal of Zoology*, **216**: 37–40.
- Triantafyllidis A., Bobori D.C., Koliamitra C., 2007 DNA barcoding in Greek freshwater fish: the cases of Doirani and Volvi lakes. 11th Congress of The European Society for Evolutionary Biology, Uppsala, Sweden, August 20-25: 432.
- Triantafyllidis A., Bobori D., Koliamitra C., Gbandi E., Mpanti M., Petriki O. & Karaïskou N., 2011. DNA barcoding analysis of fish species diversity in four north Greek lakes. *Mitochondrial DNA*, **22(S1)**: 37 – 42.
- 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. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **14**: 165–179.
- Turan C., 1999. A Note on The Examination of Morphometric Differentiation Among Fish Populations: The Truss System. *Turkish Journal of Zoology*, **23**: 259 – 263.
- Turan C.M., Oral B. Ozturk & Duzgunes E., 2006. Morphometric and meristic variation between stocks of Bluefish (*Pomatomus saltatrix*) in the Black, Marmara, Aegean and northeastern Mediterranean Seas. *Fisheries Research*, **79**: 139 – 147.
- Tyler A.V. & Dunns R.S., 1976. Ration, growth and measures of somatic and organ condition in relation to meal frequency in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, with hypothesis regarding population homeostasis. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **3(1)**: 63 – 75.
- USEPA, 2000. *Estuarine and Coastal Marine Waters: Bioassessment and Biocriteria Technical Guidance*. United States Environmental Protection Agency, EPA-822-B-00-024, Washington.
- Vasiliou A. & Economidis P.S., 2005. On the life – history of *Barbus peloponnesius* and *Barbus cyclolepis* in Macedonia, Greece. *Folia Zoologica*, **54(3)**: 316 – 336.
- Vassilev M.V. & Pehlivanov L.P. 2002. The ichthyofauna of the Bulgarian part of the Struma River. *Historia naturalis bulgarica*, **14**: 103 – 108. (In Bulgarian with English summary).
- Vehanen T. & Huusko A., 2011. Brown trout *Salmo trutta* express different morphometrics due to divergence in the rearing environment. *Journal of Fish Biology*, **79**: 1167 – 1181. DOI: 10.1111/j.1095 – 8649.2011.03093.x.
- Via S., 2002. The ecological genetics of speciation. *The American Naturalist*, **159**: S1-S7.
- Vila – Gispert A. & Moreno – Amich R., 2001. Mass – length relationship of Mediterranean barbel as an indicator of environmental status in South – west European stream ecosystems. *Journal Fish Biology* **59**: 824 – 832.
- Vogl A.L. & Lopes V.L., 2009. Impacts of water resources development on flow regimes in the Brazos River. *Environmental Monitoring and Assessment*, **157**: 331 – 345. DOI: 10.1007/s10661 – 008 – 0538 – 5.

- Watkins M. S., Doherty S. & Copp G.H., 1997. Microhabitat use by 0+ and older fishes in a small English chalk stream. *Journal of Fish Biology*, **50**: 1010 – 1024.
- Ward J.V. & Stanford J.A., 1995. The serial discontinuity concept: Extending the model to floodplain rivers. *Regulated Rivers: Research & Management*, **10**: 159–168.
- Ward R.D., Zemplak S.Z., Innes B.H., Last P.R. & Hebert P.D.N., 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **360**: 1847 – 1857.
- Wearhearley A.H. & Gill H.S., 1987. *The biology of fish growth*. Academic Press, London. 443 p.
- Webb P.W., 1982. Locomotor patterns in the evolution of Actinopterygian fishes. *American Zoologist*, **22**: 329 – 342. DOI: 10.1093/icb/22.2.329.
- Webb P.W., 1984. Body form, locomotion and foraging in aquatic vertebrates. *American Zoologist*, **24**: 107 – 120. DOI: 10.1093/icb/24.1.107.
- Wei Q., Ke F., Zhang J., Zhuang P., Luo J., Zhou R. & Yang W., 1997. Biology, fisheries, and conservation of sturgeons and paddlefish in China. *Environmental Biology Fishes*, **48**: 241–255.
- Wetherlay, A.H., 1972. *Growth and ecology of fish population*. Academic Press, London, 293 p.
- Wetherlay, A.H. & Gill, H.S., 1987. *The biology of fish growth*. Academic Press, London, 443 p.
- Whitfield A.K. & Elliott M., 2002. Fishes as indicators of environmental and ecological changes within estuaries: a review of progress and some suggestions for the future. *Journal of Fish Biology*, **61(A)**: 229 – 250.
- Wiley E.O., 1978. The Evolutionary Species Concept Reconsidered. *Systematic Biology*, **27(1)**: 17-26.
- Winemiller K.O. & Rose A.K., 1992. Patterns of life – history diversification in North American fishes: Implications for population regulation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **49**: 2196 – 2217.



- Witthames P.R., Thorsen A., Murua H., Saborido-Rey F., Greenwood L.N., Dominguez R., Korta M., Kjesbu O.S., 2009. Advances in methods for determining fecundity: application of the new methods to some marine fishes. *Fishery Bulletin*, **107**: 148-164.
- Wootton R.J., 1984. Introduction: Strategies and tactics in fish reproduction. In: Potts G.W. & Wootton R.J. (eds.), *Fish reproduction: Strategies and tactics*. Academic Press, London, 1 – 33.
- Wootton R.J., 1990. *Ecology of teleost fishes*. Chapman and Hall, London, 386 p.
- Wootton R.J., 1992. *Fish Ecology*. Blackie and Son Ltd, Glasgow, 224 p.
- Yamamoto S., Morita K., Koizumi I. & Maekawa K., 2004. Genetic differentiation of white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*) populations after habitat fragmentation: Spatial–temporal changes in gene frequencies. *Conservation Genetics*, **5**: 529–538.
- Yan Y., Wang H., Zhu R., Chu L., Chen Y., 2013. Influences of low – head dams on the fish assemblages in the headwater streams of the Qingyi watershed, China. *Environmental Biology of Fishes*, **96(4)**: 495 – 506. doi: 10.1007/s10641 – 012 – 0035 – 0.
- Yavno S., Fox M.G., Vila – Gispert A., Bhagat Y., 2013. Morphological differences between native and non – native pumpkinseed in traits associated with locomotion. *Environmental Biology of Fishes*, **96(4)**: 507–518. DOI: 10.1007/s10641–012–0053–y
- Yildirim A., Erdođan O. & Turkmen M. 2001. On the Age, Growth and Reproduction of the Barbel, *Barbus plebejus escherichi* (Steindachner, 1897) in the Oltu Stream of Coruh River (Artvin-Turkey). *Turkish Journal of Zoology*, **25**: 163-168.
- Zar, J.H., 1999. Biostatistical analysis. New Jersey, Prentice Hall, 663 p.
- Zardoya R. & Doadrio I., 1999. Molecular evidence of the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids. *Journal of Molecular Evolution*, **49**: 227 – 237.

- Zeng H., Song L., Yu Z. & Chen H., 2006. Distribution of phytoplankton in the Three – Gorges Reservoir during rainy and dry seasons. *Science of the Total Environment*, **367**: 999 – 1009. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2006.03.001.
- Zin T., Than A.A. & Naing T.T., 2011. Fecundity (F), Gonadosomatic Index (GSI), Hepatosomatic Index (HSI), Condition Factor (K) and Length-weight Relationship (LWR) in *Channa orientalis* Bloch & Schneider, 1801. *Universities Research Journal*, **4(2)**: 47–62.

# **Παράρτημα Ι**

## Annex I

Πίνακες αλληλουχιών εξωομάδων



**Πίνακας I.** Οι απλότυποι των ειδών του γένους *Squalius* που χρησιμοποιήθηκαν κατά την ανάλυση Σύνδεσης Γειτόνων. Στον Πίνακα δίνεται η χώρα προέλευσης του δείγματος, η Κωδική ονομασία του απλότυπου στην Βάση δεδομένων Genbank και ο Κωδικός πρόσβασης (Accession Number).

**Table I.** The haplotypes of the species of the genus *Squalius* used in the Neighbor-Joining Analysis. In the Table the country of origin of the sample, the code name of the haplotype in Genbank Database and the Accession Number.

<b>α/α</b>	<b>Χώρα</b>	<b>Είδος</b>	<b>Κωδική ονομασία</b>	<b>Accession Number</b>
1	Τσεχία	<i>Squalius cephalus</i>	IFCZE0535	HQ960687
2	Τσεχία	<i>Squalius cephalus</i>	IFCZE0536	HQ960688
3	Τσεχία	<i>Squalius cephalus</i>	IFCZE0678	HQ960809
4	Τσεχία	<i>Squalius cephalus</i>	IFCZE0679	HQ960810
5	Τσεχία	<i>Squalius cephalus</i>	IFCZE0680	HQ960811
6	Τσεχία	<i>Squalius cephalus</i>	IFCZE0783	HQ960908
7	Τσεχία	<i>Squalius cephalus</i>	IFCZE0785	HQ960909
8	Τσεχία	<i>Squalius cephalus</i>	IFCZE0804	HQ960926
9	Ελλάδα	<i>Squalius orpheus</i>	AUTH08-227	HQ600791
10	Ελλάδα	<i>Squalius orpheus</i>	AUTH08-228	HQ600790
11	Ελλάδα	<i>Squalius orpheus</i>	AUTH07-169	HQ600789
12	Ελλάδα	<i>Squalius prespensis</i>	AUTH10-290	HQ600792
13	Ελλάδα	<i>Squalius prespensis</i>	AUTH10-291	HQ600793
14	Ελλάδα	<i>Squalius prespensis</i>	AUTH10-292	HQ600794
15	Ελλάδα	<i>Squalius prespensis</i>	MNCN 1358G	HM560352
16	Ιταλία	<i>Squalius squalus</i>	MNCN AT3959	HM560357
17	Ελλάδα	<i>Squalius vardarensis</i>	AUTH06-56	HQ600797
18	Ελλάδα	<i>Squalius vardarensis</i>	AUTH06-57	HQ600796
19	Ελλάδα	<i>Squalius vardarensis</i>	AUTH06-62	HQ600795

**Πίνακας II.** Οι απλότυποι των ειδών του γένους *Barbus* που χρησιμοποιήθηκαν κατά την ανάλυση Σύνδεσης Γειτόνων. Στον Πίνακα δίνεται η χώρα προέλευσης του δείγματος, η Κωδική ονομασία του απλοτύπου στην Βάση δεδομένων Genbank και ο Κωδικός πρόσβασης (Accession Number).

**Table II.** The haplotypes of the species of the genus *Barbus* used in the Neighbor-Joining Analysis. In the Table the country of origin of the sample, the code name of the haplotype in Genbank Database and the Accession Number.

<b>α/α</b>	<b>Χώρα</b>	<b>Είδος</b>	<b>Κωδική ονομασία</b>	<b>Accession Number</b>
1	Ελλάδα	<i>Barbus balcanicus</i>	AUTH06-69	HQ600691
2	Ελλάδα	<i>Barbus balcanicus</i>	AUTH06-70	HQ600690
3	Ελλάδα	<i>Barbus balcanicus</i>	AUTH06-74	HQ600689
4	Ελλάδα	<i>Barbus strumicae</i>	AUTH07-162	HQ600694
5	Ελλάδα	<i>Barbus strumicae</i>	AUTH07-163	HQ600693
6	Ελλάδα	<i>Barbus strumicae</i>	AUTH07-164	HQ600692
7	Ελλάδα	<i>Barbus strumicae</i>	AUTH09-241	HQ600695
8	Ελλάδα	<i>Barbus strumicae</i>	AUTH09-245	HQ600696
9	Τσεχία	<i>Barbus barbuis</i>	IFCZE0952	HQ961068
10	Τσεχία	<i>Barbus barbuis</i>	IFCZE0953	HQ961069
11	Τσεχία	<i>Barbus barbuis</i>	IFCZE0954	HQ961070
12	Τσεχία	<i>Barbus barbuis</i>	IFCZE0976	HQ961091

**Πίνακας II.** Οι απλότυποι των ειδών του γένους *Alburnoides* που χρησιμοποιήθηκαν κατά την ανάλυση Σύνδεσης Γειτόνων. Στον Πίνακα δίνεται η χώρα προέλευσης του δείγματος, η Κωδική ονομασία του απλοτύπου στην Βάση δεδομένων Genbank και ο Κωδικός πρόσβασης (Accession Number).

**Table II.** The haplotypes of the species of the genus *Alburnoides* used in the Neighbor-Joining Analysis. In the Table the country of origin of the sample, the code name of the haplotype in Genbank Database and the Accession Number.

α/α	Χώρα	Είδος	Κωδική ονομασία	Accession Number
1	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0038	HQ960436
2	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0039	HQ960437
3	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0040	HQ960438
4	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0071	HQ960451
5	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0072	HQ960452
6	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0307	HQ960561
7	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0713	HQ960843
8	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0714	HQ960844
9	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0715	HQ960845
10	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0716	HQ960846
11	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0717	HQ960847
12	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0797	HQ960919
13	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0798	HQ960920
14	Τσεχία	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	IFCZE0825	HQ960945
15	Ελλάδα	<i>Alburnoides prespensis</i>	AUTH10-273	HQ600666
16	Ελλάδα	<i>Alburnoides prespensis</i>	AUTH10-274	HQ600667
17	Ελλάδα	<i>Alburnoides prespensis</i>	AUTH10-275	HQ600665





# Παράρτημα II

## Annex II

Πίνακες απλοτύπων



**Πίνακας I.** Οι απλότυποι που προέκυψαν από την ανάλυση του COI του γενετικού υλικού των τεσσάρων πληθυσμών του είδους *S. orpheus* από τα συστήματα του Στρυμόνα, Έβρου και Νέστου (ανάντη και κατάντη). Για τους απλότυπους τα νουκλεοτίδια δίνονται όταν αυτά διαφέρουν από τον απλότυπο SqorphEvros 2, ενώ η ομοιότητα συμβολίζεται με τελείες.

**Table I.** The haplotypes revealed by the COI sequence analysis of the mtDNA isolated from the four populations of *S. orpheus* from Rivers Strymon, Evros and Nestos (upstream and downstream). For other haplotypes nucleotides are given when they are different from SqorphEvros 2, while identity is shown by dots.

	1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	5	5	5	5	5	5	5	5	
	0	0	1	1	1	2	2	2	7	7	7	7	3	3	6	6	6	3	3	6	
	1	1	2	3	4	9	0	1	2	1	2	3	4	6	7	1	2	3	6	7	1
SqorphEvros 2 (Απλότυπος 1)	C	T	G	T	C	G	C	T	A	C	G	G	T	A	C	G	G	G	A	C	G
Απλότυπος 2	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Απλότυπος 3	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Απλότυπος 4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.
Απλότυπος 5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Απλότυπος 6	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.
Απλότυπος 7	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	A	.	.	.	T	A

**Πίνακας II.** Κατανομή απλοτύπων της υπομονάδας I της οξειδάσης του κυτοχρώματος C (COI) του είδους *S. orpheus* μεταξύ των τριών ποταμών.

**Table II.** Distribution of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I Haplotypes of the species *S. orpheus* among the three rivers.

	Απλότυπος						
	1	2	3	4	5	6	7
Στρυμόνας	1				1	1	1
Νέστος ανάντη	1			1			
Νέστος κατάντη	1			1			
Έβρος	1	1	1	1			
Συνολικά	4	1	1	3	1	1	1



**Πίνακας IV.** Κατανομή απλοτύπων της υπομονάδας I της οξειδάσης του κυτοχρώματος C (COI) του είδους *B. strumicae* και *B cyclolepis* μεταξύ των τριών ποταμών.

**Table IV.** Distribution of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I Haplotypes of the species *B. strumicae* and *B cyclolepis* among the three rivers.

	Απλότυπος				
	1	2	3	4	5
Στρομόνας	1	1			
Νέστος ανάντη	1		1		
Νέστος κατάντη	1		1		
Έβρος				1	1
Συνολικά	3	1	2	1	1

**Πίνακας V.** Οι απλότυποι που προέκυψαν από την ανάλυση του COI του γενετικού υλικού των πληθυσμών του είδους *A. strymonicus* από το σύστημα του Νέστου (ανάντη και κατάντη). Για τους απλότυπους τα νουκλεοτίδια δίνονται όταν αυτά διαφέρουν από τον απλότυπο AlstrNesU 42, ενώ η ομοιότητα συμβολίζεται με τελείες.

**Table V.** The haplotypes revealed by the COI sequence analysis of the mtDNA isolated from the species *A. strymonicus* from River Nestos (upstream and downstream). For other haplotypes nucleotides are given when they are different from AlstrNesU 42, while identity is shown by dots.

	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4		
	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4		
AlstrNesU 42 (Απλότυπος 1)	A	T	T	C	T	T	A	T	T	G	G	A	G	G	G	T	T	C	G
Απλότυπος 2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.

**Πίνακας VI.** Κατανομή απλοτύπων της υπομονάδας I της οξειδάσης του κυτοχρώματος C (COI) του είδους *B. strumicae* και *B. cyclolepis* μεταξύ των τριών ποταμών.

**Table VI.** Distribution of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I Haplotypes of the species *B. strumicae* and *B. cyclolepis* among the three rivers.

	Απλότυπος	
	1	2
Νέστος ανάντη	1	1
Νέστος κατάντη	2	
Συνολικά	3	1



