

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΨΑΡΙΩΝ. ΧΡΗΣΗ ΕΙΔΟΥΣ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΝΟΗΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟ-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗΣ ΠΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΣΧΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΣΩΜΑΤΟΣ

Γεώργια Ι., Χριστοδουλοπούλου Σ., Γεωργακοπούλου Ε., Κουμουνδούρος Γ.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, igeorga@upatras.gr, stachristod@upatras.gr, efigeor@upatras.gr, koumound@upatras.gr

Περίληψη

Εξετάστηκε η επίδραση της θερμοκρασίας πρώιμης ανάπτυξης στο σχήμα του σώματος των ενήλικων ψαριών, χρησιμοποιώντας ως οργανισμό μοντέλο το zebrafish [*Danio rerio* (Hamilton, 1822)]. Σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό που ακολουθήθηκε, μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας (22, 28 και 32 °C), κατά τη διάρκεια μιας πρώιμης οντογενετικής περιόδου (διάρκειας 280 d, 280-560° dpf), στο σχήμα του σώματος των ενήλικων ατόμων (160 ημέρες μετά την εφαρμογή των διαφορετικών συνθηκών). Τα αποτελέσματα της γεωμετρικής μορφομετρικής ανάλυσης έδειξαν ότι η θερμοκρασία πρώιμης ανάπτυξης επέδρασε σημαντικά ($p < 0,001$) στο σχήμα του σώματος και των δύο φύλων. Οι χαρακτήρες με τη μεγαλύτερη ευαισθησία στο ρόλο της θερμοκρασίας εντοπίστηκαν στις ανατομικές περιοχές των πτερυγίων, του βραγχιακού επικαλύμματος και της κάτω γνάθου.

Λέξεις κλειδιά: θερμοκρασία ανάπτυξης, οντογενετικός προγραμματισμός, μορφομετρία, zebrafish.

ENVIRONMENTAL BIOLOGY OF FISH. USE OF MODEL SPECIES TO BETTER UNDERSTAND THE THERMALLY INDUCED BODY-SHAPE PLASTICITY

Georga I., Christodoulou S., Georgakopoulou E., Koumoundouros G.

Biology Department, University of Patras, igeorga@upatras.gr, stachristod@upatras.gr, efigeor@upatras.gr, koumound@upatras.gr

Abstract

The present study examined the effect of early developmental temperature on adult body shape, using zebrafish [*Danio rerio* (Hamilton, 1822)] as a model species. According to the experimental design, we studied the effect of temperature (22, 28 and 32 °C) during early life (280 d duration, 280-560° dpf range), on the body shape of adult individuals (160 days after the application of the different temperature regimes). Geometric morphometric analysis revealed a significant effect ($p < 0.001$) of temperature on the shape of both sexes. The characters that were mainly affected by temperature were related to the anatomical parts of the fins, gill-cover and upper jaw.

Keywords: developmental temperature, larval programming, morphometry, zebrafish.

1. Εισαγωγή

Το φαινόμενο της φαινοτυπικής πλαστικότητας έχει μελετηθεί εκτενώς στα ψάρια, τα οποία αποτελούν μια εξαιρετικά «πλαστική» ομάδα οργανισμών, έχοντας τη δυνατότητα να τροποποιούν το φαινότυπό τους, προσαρμοζόμενα στις εκάστοτε περιβαλλοντικές συνθήκες. Οι παράγοντες που ευθύνονται για την εμφάνιση του φαινομένου στη συγκεκριμένη ομάδα οργανισμών είναι πολλοί. Ο κυριότερος από αυτούς είναι η θερμοκρασία ανάπτυξης, η οποία έχει βρεθεί ότι επιδρά στη δομή των μυών (Guderley & Johnston, 1996; Ochi & Westerfield, 2007), τους μεριστικούς χαρακτήρες (Lindsey, 1998; Georgakopoulou *et al.*, 2007), το σχήμα του σώματος (Loy *et al.*, 1996; Georgakopoulou *et al.*, 2007) και την αναλογία φύλου (Koumoundouros *et al.*, 2002).

Δεδομένης της σημασίας της φαινοτυπικής πλαστικότητας για τις λειτουργικές αποκρίσεις των ατόμων και κατ' επέκταση των πληθυσμών (π.χ. αναλογία φύλου και πληθυσμιακή δομή), η μελέτη

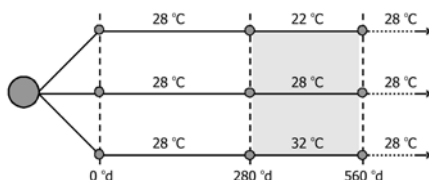
του φαινομένου στην ομάδα των ψαριών θεωρείται σημαντική σε οικολογικό ή εξελικτικό χρόνο. Η ολοκληρωμένη μελέτη της φαινοτυπικής πλαστικότητας, με έμφαση στους υποκείμενους μοριακούς και αναπτυξιακούς μηχανισμούς, μπορεί να δώσει τεκμηριωμένες απαντήσεις στα ερωτήματα που σχετίζονται με τον τρόπο δράσης του φαινομένου στην οικολογία και στην εξέλιξη των ειδών, αλλά και σε πιο πρακτικά ζητήματα, όπως στην εκτροφή ψαριών. Αυτό καθίσταται εφικτό μελετώντας το φαινόμενο της φαινοτυπικής πλαστικότητας σε είδη στα οποία είναι αναπτυγμένο το γνωστικό υπόβαθρο σε θέματα γενετικής, μοριακής και αναπτυξιακής βιολογίας. Ένα τέτοιο είδος αποτελεί και το zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton, 1822).

Το πρότυπο ανάπτυξης των zebrafish είναι παρόμοιο με αυτό της πλειονότητας των ψαριών. Η εκκόλαψη των αυγών πραγματοποιείται σε σχετικά αδιαφοροποίητο στάδιο ανάπτυξης, ακολουθείται από ένα εκτενές νυμφικό στάδιο, τη φάση της μεταμόρφωσης των νυμφών σε ιχθύδια και την παράλληλη μετάβαση από το βενθικό στον πλαγκτονικό τρόπο διαβίωσης. Τα παραπάνω, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι το zebrafish αποτελεί ένα ευρύθερμο είδος, το καθιστούν ιδανικό υποψήφιο για τη μελέτη του φαινομένου της θερμο-εξαρτώμενης φαινοτυπικής πλαστικότητας.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ

Εμβρυα και νύμφες zebrafish διατηρήθηκαν σε κοινές συνθήκες ($28 \pm 1^\circ \text{C}$) μέχρι τη 10^η ημέρα μετά τη γονιμοποίηση (dpf). Στη συνέχεια διαχωρίστηκαν σε τρεις πληθυσμούς, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε διαφορετικές θερμοκρασιακές συνθήκες (22, 28 και $32 \pm 1^\circ \text{C}$) μέχρι την 560^η dpf. Ακολούθως η ανάπτυξη πραγματοποιήθηκε σε κοινές συνθήκες ($28 \pm 1^\circ \text{C}$) (Εικ. 1). Το πείραμα πραγματοποιήθηκε εις διπλούν. Οι πειραματικοί πληθυσμοί προήλθαν από κοινό απόθεμα αυγών που λήφθηκε από την τρίτη γενεά κοινού αποθέματος γεννητόρων «άγριου τύπου». Η διατήρηση και η εκτροφή των νυμφών και των ενήλικων ψαριών πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τον Westerfield (1995).



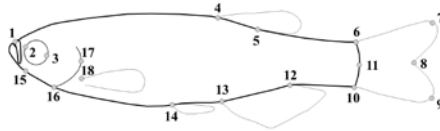
Εικ. 1: Σχηματική αναπαράσταση του πειραματικού σχεδιασμού. Τρεις πληθυσμοί ψαριών υποβλήθηκαν σε διαφορετικές θερμοκρασιακές συνθήκες (22, 28 και 32°C) για μια περίοδο 280^η d (σκιασμένη περιοχή), ενώ η ανάπτυξη πριν και μετά από αυτό το διάστημα πραγματοποιήθηκε σε κοινές συνθήκες ($28 \pm 1^\circ \text{C}$).

2.2 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΣΧΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΣΩΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΑΤΟΜΩΝ

Για τη μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας ανάπτυξης στην εξωτερική μορφολογία του σώματος των ενήλικων zebrafish, τυχαίο δείγμα 30 ατόμων ανά φύλο και πειραματικό πληθυσμό (FL = $31,9 \pm 1,7$ - $36,0 \pm 2,0$ mm) υποβλήθηκε σε ανάλυση γεωμετρικής μορφομετρίας (σε ατομικές ψηφιακές φωτογραφίες). Το φύλο των ατόμων προσδιορίστηκε μακροσκοπικά (Eaton & Farley, 1974) και επιβεβαιώθηκε ιστολογικά.

Στην ψηφιακή φωτογραφία κάθε ατόμου τοποθετήθηκαν 18 ομόλογα μορφομετρικά σημεία (tpsDig 1.37) (Εικ. 2). Ακολούθησε η εκτίμηση της μέσης διαμόρφωσης του σχήματος και του κεντροειδούς μεγέθους (CoordGen6d, Rohlf & Slice 1990). Ο πίνακας βαρύτητας (weight matrix) υπολογίστηκε με τον αλγόριθμο *thin plate spline* στο σύνολο των μορφομετρικών σημείων των

ατόμων (TpsRelw 1.07). Η ανάλυση κανονικών συνιστωσών (Statistica, 6.0) χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο των διαφορών σχήματος μεταξύ των υπό εξέταση πληθυσμών. Για τον προσδιορισμό των πλεγμάτων παραμόρφωσης, βάσει των οποίων παρουσιάζονται οι διαφορές σχήματος μεταξύ των πληθυσμών, έγινε ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης των ομοιόμορφων και μη ομοιόμορφων συνιστωσών του σχήματος, με τις μεταβλητές της ανάλυσης κανονικών συνιστωσών (tpsRegr 1.07) (Georgakopoulou *et al.*, 2007).



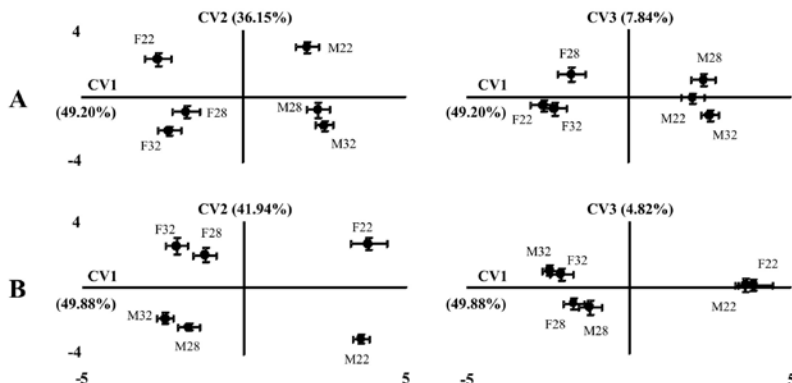
Εικ. 2: Θέση των 18 μορφομετρικών σημείων που χρησιμοποιήθηκαν στα ενήλικα άτομα zebrafish. (1) Άκρο του ρύγχους. (2) Εγγύς ως προς το ρύγχος σημείο του οφθαλμού. (3) Σημείο τομής του οφθαλμού από την ευθεία που σχηματίζεται από τα σημεία 1 και 2. (4) Βάση της πρώτης ακτίνας του ραχιαίου πτερυγίου. (5) Βάση της τελευταίας ακτίνας του ραχιαίου πτερυγίου. (6) Άνω άκρο της βάσης των ουραίων λεπίδοτριχίων. (7) Άκρο του δεύτερου λεπίδοτριχίου του άνω ουραίου λοβού. (8) Σημείο τομής της διχάλας του ουραίου πτερυγίου από τον επιμήκη άξονα του ψαριού. (9) Άκρο του δεύτερου λεπίδοτριχίου του κάτω ουραίου λοβού. (10) Κάτω άκρο της βάσης των ουραίων λεπίδοτριχίων. (11) Μέσο της βάσης των ουραίων λεπίδοτριχίων. (12) Οπίσθιο άκρο της βάσης του εδρικού πτερυγίου. (13) Πρόσθιο άκρο βάσης εδρικού πτερυγίου. (14) Πρόσθιο άκρο της βάσης του κοιλιακού πτερυγίου. (15) Κάτω άκρο γναθικού οστού. (16) Κάτω άκρο βραγχιακού επικαλύμματος. (17) Οπίσθιο άκρο βραγχιακού επικαλύμματος. (18) Βάση της πρώτης ακτίνας του θωρακικού πτερυγίου.

3. Αποτελέσματα

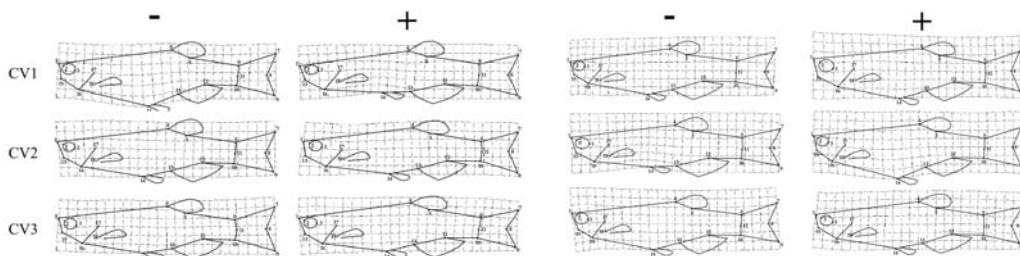
Και στις δύο πειραματικές επαναλήψεις, τα αποτελέσματα της ανάλυσης των κανονικών συνιστωσών έδειξαν ότι η θερμοκρασία πρώιμης ανάπτυξης επιδρά σημαντικά στο σχήμα του σώματος και των δύο φύλων (Wilk's $\lambda = 0,00634-0,00944$, $p < 0,001$) (Εικ. 3). Η πρώτη (CV1, 49,20 % ερμηνεία της συνολικής διακύμανσης, 1^η επανάληψη) ή η δεύτερη (CV2, 41,94% ερμηνεία της συνολικής διακύμανσης, 2^η επανάληψη) κανονική μεταβλητή, διαχώρισε τα αρσενικά από τα θηλυκά άτομα ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία ανάπτυξης (Εικ. 3). Η διαφοροποίηση του σχήματος του σώματος μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ατόμων οφειλόταν κυρίως στις μη ομοιόμορφες συνιστώσες, οι οποίες εξήγησαν το 85,6-91,0% της ποικιλομορφίας σχήματος μεταξύ των δύο φύλων.

Η δεύτερη (CV2, 36,15% ερμηνεία της συνολικής διακύμανσης, 1^η επανάληψη) ή η πρώτη (CV1, 49,88% ερμηνεία της συνολικής διακύμανσης, 2^η επανάληψη) κανονική μεταβλητή διαχώρισε πλήρως τα άτομα των 22° C από αυτά των 28 και 32° C. Η διαφοροποίηση του σχήματος του σώματος κατά μήκος των αξόνων αυτών των κανονικών μεταβλητών οφειλόταν κυρίως στις μη ομοιόμορφες συνιστώσες, οι οποίες εξήγησαν το 81,7-98,3% της ποικιλομορφίας σχήματος μεταξύ αυτών των ομάδων.

Τα θηλυκά άτομα, σε σχέση με τα αρσενικά, διαφοροποιήθηκαν από μια οπίσθια και κοιλιακή μετατόπιση της βάσης των κοιλιακών πτερυγίων (14^ο μορφομετρικό σημείο), από μια οπίσθια μετατόπιση της βάσης του ραχιαίου και του εδρικού πτερυγίου (4^ο και 13^ο μορφομετρικό σημείο), καθώς και από μια πρόσθια μετατόπιση της παρυφής του βραγχιακού επικαλύμματος (17^ο μορφομετρικό σημείο). Επιπλέον παρατηρήθηκε μια πρόσθια και κοιλιακή μετατόπιση της βάσης του θωρακικού πτερυγίου (18^ο μορφομετρικό σημείο) και μια οπίσθια και ραχιαία μετατόπιση του άκρου του ρύγχους (1^ο μορφομετρικό σημείο) (Εικ. 4).



Εικ. 3: Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης (22, 28 or 32° C) και του φύλου (F, M) στις τιμές των κανονικών μεταβλητών (CV1, CV2, CV3). Δίνονται οι μέσες τιμές \pm 2S.E. Εντός παρένθεσης δίνεται το ποσοστό της συνολικής διακύμανσης που ερμηνεύεται από κάθε κανονική μεταβλητή. Α, 1^η επανάληψη. Β, 2^η επανάληψη.



Εικ. 4: Πλέγματα παραμόρφωσης των ακραίων τιμών (-, +) των κανονικών μεταβλητών (CV1-CV3) στην πρώτη (αριστερά) και δεύτερη (δεξιά) πειραματική επανάληψη.

Ως προς την επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το σχήμα του σώματος των ομάδων των 22° C διαφοροποιήθηκε σημαντικά από αυτό των 28-32° C. Η διαφοροποίηση αφορούσε σε μια οπίσθια μετατόπιση του εδρικού πτερυγίου (13^ο μορφομετρικό σημείο), της παρυφής του βραγχιακού επικαλύμματος (17^ο μορφομετρικό σημείο), της βάσης των κοιλιακών πτερυγίων (14^ο μορφομετρικό σημείο), καθώς και από μια πρόσθια μετατόπιση του αρθρικού οστού (15^ο μορφομετρικό σημείο).

Τέλος, ένα μικρό ποσοστό της θερμο-εξαρτώμενης ποικιλομορφίας σχήματος (4.82-12.83% ερμηνεία της συνολικής διακύμανσης) εκφράστηκε από την τρίτη κανονική μεταβλητή (CV3). Τα πλέγματα παραμόρφωσης δεν έδειξαν ωστόσο κάποιο επαναλαμβανόμενο πρότυπο στη διαφοροποίηση του σχήματος.

4. Συζήτηση

Πλήθος βιολογικών διεργασιών (οντογενετική ανάπτυξη, προσαρμογές σε τοπικούς γεωγραφικούς παράγοντες, μακροπρόθεσμη εξελικτική διαφοροποίηση κ.λπ.) είναι δυνατό να προκαλέσουν ποικίλες διαφορές μεταξύ των ατόμων ή / και των δομών τους. Διαφορές στο σχήμα μπορεί να υποδηλώνουν διαφορετικούς λειτουργικούς ρόλους ίδιων δομών, αλλά και διαφορετικές διαδικασίες ανάπτυξης. Η ανάλυση του σχήματος αποτελεί διαφορετικό τρόπο προσέγγισης για την κατανόηση των αιτιών της ποικιλομορφίας σε μορφολογικό επίπεδο.

Η οντογένεση των ψαριών παρουσιάζει υψηλή εξάρτηση από τις περιβαλλοντικές συνθήκες.

Η επίδραση της θερμοκρασίας στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης (εμβρυικό και νυμφικό), φαίνεται ότι επηρεάζει σημαντικά το ρυθμό αύξησης και διαφοροποίησης και αποτελεί βασικό παράγοντα ελέγχου της οντογενετικής και φαινοτυπικής πλαστικότητας τροποποιώντας το σωματικό μέγεθος όπου επιτελούνται τα διάφορα αναπτυξιακά γεγονότα (Fuiman *et al.*, 1998; Koumoundouros *et al.*, 2001). Ένας τρόπος ελέγχου της δράσης της θερμοκρασίας στην πλαστικότητα των ψαριών, είναι η ανάλυση του σχήματος του σώματος.

Στην παρούσα μελέτη τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η θερμοκρασία ανάπτυξης επηρέασε σημαντικά το σχήμα του σώματος των ενήλικων θηλυκών και αρσενικών ατόμων. Αν και η δράση της θερμοκρασίας έχει μελετηθεί εκτενώς (Corti *et al.*, 1996; Day & McPhail, 1996; Georgakopoulou *et al.*, 2007; Koumoundouros *et al.*, 2001; Peres-Neto & Magnan 2004; Robinson & Parsons, 2002), απ' όσο γνωρίζουμε είναι η πρώτη φορά που καταγράφεται επίδραση της θερμοκρασίας πρώιμης ανάπτυξης στο σχήμα του σώματος ενήλικων ατόμων. Προηγούμενες σχετικές εργασίες τεκμηριώνουν παρόμοιες επιδράσεις της θερμοκρασίας πρώιμης ανάπτυξης στο σχήμα του σώματος των ψαριών, οι οποίες όμως εντοπίζονται σε πρώιμα στάδια, όπως για παράδειγμα μέχρι το στάδιο αμέσως μετά τη μεταμόρφωση και ποτέ μέχρι την ενηλικίωση των ατόμων (π.χ. Georgakopoulou *et al.*, 2007).

Οι διαφοροποιήσεις στο σχήμα του σώματος των zebrafish που δέχτηκαν διαφορετική θερμοκρασιακή επίδραση, μπορεί να οφείλονται σε αντίστοιχες διαφοροποιήσεις στη διαμόρφωση του σκελετού ή / και των μυών κατά την ανάπτυξη (Winberger 1993), ή / και στη διαφορετική επίδραση της θερμοκρασίας στο σχετικό ρυθμό αύξησης των διάφορων ιστών, οργάνων και τμημάτων του οργανισμού (αναπτυξιακή υπόθεση, Fuiman *et al.*, 1998; Lindsey, 1988; Murray & Beacham 1989; Spicer & Burggren, 2003).

Τα θηλυκά άτομα zebrafish είναι ογκώδη στην κοιλιακή περιοχή, ενώ τα αρσενικά έχουν επίμηκες σώμα. Τα παραπάνω χαρακτηριστικά αποτελούν στοιχεία του μορφολογικού φυλετικού διμορφισμού του είδους (Eaton & Farley, 1974). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, ο χαρακτήρας της διογκωμένης κοιλιάς των θηλυκών ατόμων συνδέεται όχι μόνο με την προς τα κάτω μετατόπιση των κοιλιακών πτερυγίων, αλλά και με ανάλογες μετατοπίσεις των υπόλοιπων πτερυγίων, καθώς και του διαφορετικού σχήματος του κρανίου (περιοχή του στόματος και της παρυφής του βραγχιακού επικαλύμματος). Η διογκωμένη κοιλιά μπορεί να θεωρηθεί ως ένας χαρακτήρας που αποσκοπεί στην αύξηση της γονιμότητας, αλλά και στη διαφοροποίηση της κολυμβητικής δραστηριότητας των θηλυκών ατόμων, σε σχέση με τα επιμήκη αρσενικά (Συμεωνίδη *et al.*, 2009). Γνωρίζοντας ότι το zebrafish παρουσιάζει μια πολύπλοκη αναπαραγωγική συμπεριφορά, βασιζόμενη σε μεγάλο βαθμό στην κολυμβητική δραστηριότητα των δύο φύλων (Spence *et al.*, 2007a; Spence *et al.*, 2007b; Spence *et al.*, 2008), κρίνεται σημαντική η μελέτη της θερμο-εξαρτώμενης φαινοτυπικής πλαστικότητας στην αναπαραγωγική ικανότητα των ατόμων. Εξίσου σημαντική κρίνεται η μελέτη των υποκείμενων μοριακών μηχανισμών, η οποία θα συμβάλει στην ολοκληρωμένη κατανόηση του φαινομένου της πλαστικότητας και σε άλλα είδη ψαριών.

5. Βιβλιογραφικές Αναφορές

- Agrawal, A.A., 2001. Ecology: Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science*, 294 (5541): 321-326.
- Bagatto, B., 2005. Ontogeny of cardiovascular control in zebrafish (*Danio rerio*): Effects of developmental environment. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 141 (4): 391-400.
- BOOKSTEIN, F.L., 1991. *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*. Cambridge University Press Cambridge, NY, Melbourne, 435p.
- Corti, M., Loy, A. & Cataudella, S., 1996. Form changes in the sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Moronidae: Teleostei), after acclimation to freshwater: An analysis using shape coordinates. *Environmental Biology of Fishes*, 47 (2): 165-175.
- Day, T. & McPhail, J.D., 1996. The effect of behavioural and morphological plasticity on foraging efficiency in the threespine

- stickleback (*Gasterosteus* sp.). *Oecologia*, 108 (2): 380-388.
- Eaton, R.C. & Farley, R.D., 1974. Growth and the reduction of depensation of zebrafish, *Brachydanio rerio*, reared in the laboratory. *Copeia*, 1974 (1): 204-209.
- Fuiman, L.A., Poling, K.R. & Higgs, D.M., 1998. Quantifying developmental progress for comparative studies of larval fishes. *Copeia*, 1998 (3): 602-611.
- Georgakopoulou, E., Sfakianakis, D.G., Kouttouki, S., Divanach, P., Kentouri, M. & Koumoundouros, G. 2007. The influence of temperature during early life on phenotypic expression at later ontogenetic stages in sea bass. *Journal of Fish Biology* 70 (1): 278-291.
- Guderley, H. and Johnston, I.A., 1996. Plasticity of fish muscle mitochondria with thermal acclimation. *The Journal of Experimental Biology*, 199 (6): 1311-1317.
- Ochi, H. & Westerfield, M., 2007. Signaling networks that regulate muscle development: Lessons from zebrafish. *Developmental Growth and Differentiation*, 49 (1): 1-11.
- Koumoundouros, G., Divanach, P., Anezaki, L. & Kentouri, M., 2001. Temperature-induced ontogenetic plasticity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Marine Biology*, 139 (5): 817-830.
- Koumoundouros, G., Pavlidis, M., Anezaki, L., Kokkari, C., Steriotti, A., Divanach, P. & Kentouri, M., 2002. Temperature sex determination in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L., 1758) (Teleostei, Perciformes, Moronidae): Critical sensitive ontogenetic phase. *Journal of Experimental Zoology*, 292 (6): 573-579.
- Lindsey, C.C., 1988. Factors controlling meristic variation. pp. 197-274. In: *Fish Physiology*, vol. XIA, W.S.Hoar & D.J.Randall (Eds), London, Academic Press.
- Loy, A., Cataudella, S. & Corti M., 1996. Changes in shape during the growth of sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Teleostei: Perciformes), in relation to different rearing conditions: an application of the Thin-Plate Splines regression analysis. p. 399-406. In: *Advances in Morphometrics*, L.F.Marcus, M.Corti, A.Loy, G.J.P.Naylor, D.E.Slice (Eds), NATO ASI series A, No 284, New York, Plenum Press.
- Murray, C.B. & Beacham, T., 1989. Responses of meristic characters in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) to temperature changes during development. *Canadian Journal of Zoology*, 67 (3): 596-600.
- Peres-Neto, P.R. & Magnan, P., 2004. The influence of swimming demand on phenotypic plasticity and morphological integration: A comparison of two polymorphic charr species. *Oecologia*, 140 (1): 36-45.
- Robinson, B.W. & Parsons, K.J., 2002. Changing times, spaces, and faces: Tests and implications of adaptive morphological plasticity in the fishes of northern postglacial lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59 (11): 1819-1833.
- Rohlf, F.J. & Marcus, L.F., 1993. A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution*, 8 (4): 129-132.
- Rohlf, F.J. & Slice, D., 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, 39 (1): 40-59.
- Spence, R., Ashton, R. & Smith, C., 2007a. Oviposition decisions are mediated by spawning site quality in wild and domesticated zebrafish, *Danio rerio*. *Behaviour*, 144 (8): 953-966.
- Spence, R., Fatema, M.K., Ellis, S., Ahmed, Z.F. & Smith, C., 2007b. Diet, growth and recruitment of wild zebrafish in Bangladesh. *Journal of Fish Biology*, 71 (1): 304-309.
- Spence, R., Gerlach, G., Lawrence, C. & Smith, C., 2008. The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. *Biological Reviews*, 83 (1): 13-34.
- Spicer, J.I. & Burggren, W.W., 2003. Development of physiological regulatory systems: Altering the timing of crucial events. *Zoology*, 106 (2): 91-99.
- Winberger, P.H., 1993. Effects of vitamin C deficiency on body shape and skull osteology in *Geophagus brasiliensis*: implications for interpretations of morphological plasticity. *Copeia*, 1993 (2): 343-351.
- Westerfield, M., 1995. *The Zebrafish Book. A Guide for the Laboratory Use of Zebrafish (Danio rerio)*. 3rd edition/. University of Oregon Press, Eugene, 385 p.
- Συμεωνίδη, Δ., Γεώργα, Ι., Αγγελοπούλου, Α. & Κουμουνδούρος, Γ., 2009. Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης στην κολυμβητική ικανότητα των ενήλικων zebrafish [*Danio rerio* (Hamilton, 1822)]. 9^ο Πανελλήνιο Συμπόσιο Ωκεανογραφίας & Αλιείας. Υποβελημένη εργασία.