Karakteristike nekih deformacija kostura mlađih lubina Dicentrachus labrax (Linnaeus, 1785) u uzgoju

Jelić, Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split / Sveučilište u Splitu**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:226:826170

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of University Department of Marine Studies

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU
SVEUČILIŠNI ODJEL ZA STUDIJE MORA
DIPLOMSKI STUDIJ MORSKO RIBARSTVO

Marija Jelić

KARAKTERISTIKE NEKIH DEFORMACIJA KOSTURA MLAĐI LUBINA *DICENTRARCHUS LABRAX* (LINNAEUS,1785) U UZGOJU

Diplomski rad

Split, lipanj 2019.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
SVEUČILIŠNI ODJEL ZA STUDIJE MORA
DIPLOMSKI STUDIJ MORSKO RIBARSTVO

KARAKTERISTIKE NEKIH DEFORMACIJA KOSTURA MLAĐI LUBINA *DICENTRARCHUS LABRAX* (LINNAEUS,1785) U UZGOJU

Diplomski rad

Kolegij: Marikultura

Mentor:
Doc. dr. sc. Vedrana Nerlović

Student:
Marija Jelić

Split, lipanj 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Splitu
Sveučilišni odjel za studije mora
Diplomski studij Morsko ribarstvo

Diplomski rad

KARAKTERISTIKE NEKIH DEFORMACIJA KOSTURA MLAĐI LUBINA *DICENTRARCHUS LABRAX* (LINNAEUS, 1785) U UZGOJU

Marija Jelić

Sažetak

Malformacije se javljaju kod uzgojnih populacija mlađi lubina, a utječu na zdravlje ribe i njezinu ekonomsku vrijednost na tržištu. Posebna pažnja u radu usmjerena je na metodologiju i proces izdvajanja deformirane mlađi lubina u uzgoju. U svrhu pravilnog načina vredovanja deformiteta napravljenje su rendgenske slike cjelokupnog kostura izdvojenih jedinki. Zbog pojavnosti deformacija na kralježnici (>3%) u drugoj mrijesnoj seriji je obavljeno izdvajanje deformiranih jedinki od zdravih. U ukupnom uzorku bile su 103 jedinke. Najveći broj jedinki je imao skoliozu (83%), dvije jedinke su imale lordozu (1,9%), dok je pet jedinki imalo kifozu (4,8%). Normalnu kralježnicu je imalo 13 jedinki, ali su iste imale oštećen operkulum (12,6%). U uzgojnoj sredini, uz dane starosti jedinki pratile su se vrijednosti abiotičkih faktora: kisik, temperatura, ugljični dioksid i amonijak.

(37 stranica, 8 slika, 1 tablica, 116 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Ključne riječi: *Dicentrarchus labrax,* malformacije, mlađ

Mentor: Doc. dr. sc. Vedrana Nerlović

Ocjenjivači: 1. Doc. dr. sc. Maja Krželj
2. Doc. dr. sc. Vedrana Nerlović
3. Prof. dr. sc. Svjetlana Krstulović Šifner

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Split
Department of Marine Studies
Graduate study Marine Fishery

MSc Thesis

CHARACTERISTICS OF SOME SKELETAL DEFORMITIES IN THE HATCHERY-REARED SEA BASS JUVENILES *DICENTRARCHUS LABRAX* (LINNEAUS, 1785)

Marija Jelić

Abstract

Malformations that occur in breeding populations are the causative agent which affects the health of the fish and its economic value. Particular attention in this thesis is focused on metodology and the process of selection of sea bass juveniles with deformities. In order to obtain a better insight into the type of deformities, X-ray images of the entire skeleton were taken. Because of the manifestation with deformities (>3%) in the second hatchery series, a selection has been made in the pools, and within this gruop healthy and deformed individuals were divided. There were 103 individuals in the sample. The largest number of fishes had a scoliosis (83.0%). There were two individuals with lordosis (1.9%), five with kifosis (4.8%), and thirteen with normal spine, but with damaged operculum (12.6%). In the breeding environment, besides the age of individuals, other values were observed such as: oxygen, temperature, carbon dioxide and ammonia.

(37 pages, 8 figures, 116 references, original in: Croatian)

Keywords: *Dicentrarchus labrax,* malformations, juveniles

Supervisor: Vedrana Nerlović, PhD / Assistant Professor

Reviewers: 1. Maja Krželj, PhD / Assistant Professor
2. Vedrana Nerlović, PhD / Assistant Professor
3. Svjetlana Krstulović Šifner, PhD / Full Professor

SADRŽAJ:

1. UVOD.....1

1.1. Dosadašnja istraživanja 2

1.2. Svrha i cilj rada.....3

1.3. *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758).....4

1.4. Tehnologija uzgoja ličinki lubina u mrjestilištu.....7

1.4.1. Životni ciklus ličinačkih stadija…….....8

1.4.2. Važni čimbenici uzgojne sredine…….....10

1.4.3. Ishrana ličinki lubina…….....12

1.5. Poremećaji razvoja ličinki lubina……..13

2. MATERIJALI I METODE……...16

2.1. Mrijestilište Cromaris.....……...16

2.2. Uzorkovanje……..17

2.3. Tehnološki postupak odvajanja deformirane mlađi……..17

3. REZULTATI……19

3.1. Deformacije kostura mlađi lubina……19

3.2. Praćenje abiotičkih čimbenika……...23

4. RASPRAVA…….25

5. ZAKLJUČCI……28

6. LITERATURA…….29

1. UVOD

Znanje o marikulturi dobiveno dugogodišnjim radom na mrijestu i uzgoju riba omogućilo je razvoj današnje marikulture (Skaramuca i sur., 1997). Sektor marikulture u Republici Hrvatskoj uključuje uzgoj plave i bijele ribe te školjkaša. Od bijele ribe najznačajniji su lubin *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) i komarča *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758), od plave ribe tuna *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758), a od školjkaša dagnja *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) i kamenica *Ostrea edulis* (Linnaeus, 1758). Prema podacima Ministarsva poljoprivrede u 2016. godini ukupna uzgojna proizvodnja u RH iznosila je 13235 tona, od čega 5310 tona lubina, 4101 t komarče, 2934 t tune, 125 t hame *Argyrosomus regius* (Asso,1801), 699 t dagnji i 64 t kamenica. Uspješnost proizvodnje je usko vezana za tehnološki način postupka uzgoja. Danas postoje različiti načini uzgoja, a jedan od njih je tzv. intezivni uzgoj. Intezivan uzgoj uključuje uzgojne tehnike čija je značajka uspostava visokog stupnja kontrole nad uzgojnom sredinom i vrstama u uzgoju, a u njega spada i proizvodnja mlađi koja uključuje uzgoj ličinačkih stadija do njihove metamorfoze, tj. trenutka kada jedinka poprima odlike odraslog organizma. Nakon metamorfoze mlađ se prebacuje u kaveze koji se nalaze u moru ili u bazene na kopnu sve do njihove konzumne veličine (Bogut i sur., 2006). Navedenim postupkom najčešće se uzgajaju karnivori među koje ubrajamo i lubina.

Ličinački uzgoj naosjetljivija je faza u uzgojnom ciklusu, jer su ličinke posebno osjetljive na sve promjene abiotičkih čimbenika kao što su temperatura, kisik, salinitet i pH (Abdel i sur., 2004; Fijan, 2006; Georgakopoulou i sur., 2007). Tijekom razvoja moguće su pojave deformacija kostura mlađi lubina. Razlozi zbog kojih dolazi do deformacija kod uzgojne populacije još nisu u potpunosti istraženi. Poremećaji u građi kostura riba u uzgoju mogu se javiti kao posljedica nasljednih, ali i nenasljednih grešaka tijekom razvoja embrija i ličinačkog stadija (Divanach i sur., 1996; Fijan, 2006). Neodgovarajući, abiotički faktori, ishrana i drugi zootehnički uvjeti uzgoja mogu izazvati različite smetnje koje uzrokuju deformacije u razvoju skeleta mlađi. Važni zootehnički uvjeti mogu utjecati na stavaranje deformacija, a prvenstveno se odnose na gustoću jedinki u bazenima i pravilnu prehranu. Kao nuspojave deformacija skeleta javljaju se smetnje u plivanju, hranjenju i daljnjem razvoju jedinki. Od samog početka životnog ciklusa treba voditi računa o biomasi u uzgojnoj sredini. Naime, prevelika gustoća jaja u bazenu za inkubaciju, kao i nedostatak nekih važnih komponeniti u prehrani, mogu utjecati na poremećaje skeleta (Abdel i sur., 2004). Činjenica je da deformirana mlađ može narasti do konzumne veličine, pri čemu se troši hrana i drugi

raspoloživi resursa, što je ekonomski neisplativo s obzirom da se takva riba ne može plasirati na tržište.

1.1. Dosadašnja istraživanja

Proučavanje malformacija kod uzgojnih populacija od presudne je važnosti za sektor marikulture. Veća pažnja istraživanju malformacija posvećena je zadnjih 20ak godina, što je dovelo do poboljšanja procesa uzgoja (Komen i sur., 2002). Promjene na skeletu riba u uzgoju predstavljaju ozbiljne neinfektivne bolesti. Deformacije kralježnice su najvažnije malformacije kostura i one su nađene kod brojnih vrsta, u uzgoju i u prirodi (Divanach i sur., 1996). Pojavnost deformiteta kod prirodnih populacija ranih razvojnih stadija je nedovoljno istražena. Kod nekih uzgojnih populacija pokazalo se da se učestalost deformiteta povećava sa starošću (Valentine, 1975). Također, nepovoljni okolišni čimbenici npr. toksični spojevi, pesticidi i drugi zagađivači mogu inducirati deformitete u bilo kojem razvojnom stadiju životnog ciklusa (Valentine, 1975; Van de Kamp, 1977). Kod uzgoja mlađi lubina lordoza se pokazala kao najozbiljnija deformacija kralježnice. Znanstvene studije koje prate izostanak formiranja plivaćeg mjehura (Chatain, 1986, 1987, 1994a) znatno su doprinijele istraživanju malformacija kostura.

Okolišni čimbenici mogu utjecati na vitelogenezu ili inkubaciju jaja što se posljedično manifestira na razvoj ličinačkih sradija (Hickey, 1973; Houde, 1973). Neka istraživanja su pokazala kako se malformacije induciraju u gustom nasadu jaja prilikom inkubacije (Hempel, 1971; Devauchelle, 1976), ili ako su jaja ili ličinke izložene mehaničkom stresu (Pommeranz, 1974). Na pojavnost malformacija mogu utjecati i drugi faktori, kao što su intezivno osvijetljenje, radijacija (Gabriel, 1944; Nash, 1977; Barahona-Fernándes, 1978), promjene tremperature (Houde, 1973) i promjene saliniteta (Doroshev i Aronovich, 1974). Norton i suradnici (1969) su otkrili kako endotoksične bakterije koje su nađene u velikoj gustoći u ustima i branhijalnoj šupljini ličinki mogu prouzrokovati okoštavanje kostura. Bakterije koje su pronađene u neposrednoj blizini mekog tkiva i kostiju usne šupljine jedinki uzrokuju gubitak koštane mase djelovanjem bakterijskih endotoksina.

Koumoundouros i suradnici (2002) su prvi zabilježili deformitete kod lubina na branhiostegalnoj regiji. Naime, deformiteti na branhiostegalnoj regiji su bili uočeni skupa s lordozom. Godine 2007. Georgakopoulou i suradnici su uočili da pri temperaturi od 15 ^{o}C

postotak deformacija branhiostegalnih kostiju je veći, dok su deformiteti pri temeraturi od 20 ^{o}C znatno manji.

Noviji radovi donose preporuke o prevenciji malformacija kod lubina i komarči u uzgoju (Zambonino-Infante i sur., 2009).

1.2. Svrha i cilj rada

Normalan tijek razvoja ikre, ličinki i mlađi lubina osnovni je preduvjet za preživljavanje i uspješan uzgoj u marikulturi. U prirodnoj sredini poremećaji se rijetko mogu uočiti, jer su jedinke s anomalijama lakše dostupne predatorima. U uzgojnoj sredini jedinke s anomalijama su češće i lako se zapažaju. Također, te jedinke u prosjeku žive duže nego u prirodi, jer nisu izložene predaciji. Upravo zbog mogućnosti veće stope preživljavanja deformirane jedinke predstavljaju veliki problem u marikulturi. Naime, zadržavanjem deformiranih jedinki u uzgoju nastaju ekonomske štete zbog usporenog rasta, slabijeg iskorištavanja hrane, manje otpornosti na bolesti i nemogućnosti plasmana na tržište. Navedeni problemi javljaju se u svim uzgojnim stadijima, a najučestaliji su u ranim razvojnim stadijima kod svih vrsta riba. Rano otkrivanje deformiteta kostura mlađi može uvelike samanjiti troškove uzgoja. Stoga je zadatak ovog rada bio u kontroliranim uvjetima detektirati karakteristike nekih deformacija kostura mlađi lubina uzimajući u obzir najvažnije parametre uzgojne sredine. Također, posebna pažnja u radu posvećena je interpretaciji mogućih razloga pojavnosti deformiteta kostura mlađi lubina. Glavni cilj je bio metodološki obraditi tijek postupka izdvajanja deformirane mlađi lubina od zdravih jedinki i utvrditi koje su najučestalije deformacije u anatomskoj građi kostura. Svrha istaživanja je proširenje spoznaja vezanih za karaktetistike nekih deformacija kod mlađi lubina.

1. 3. Lubin *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758)

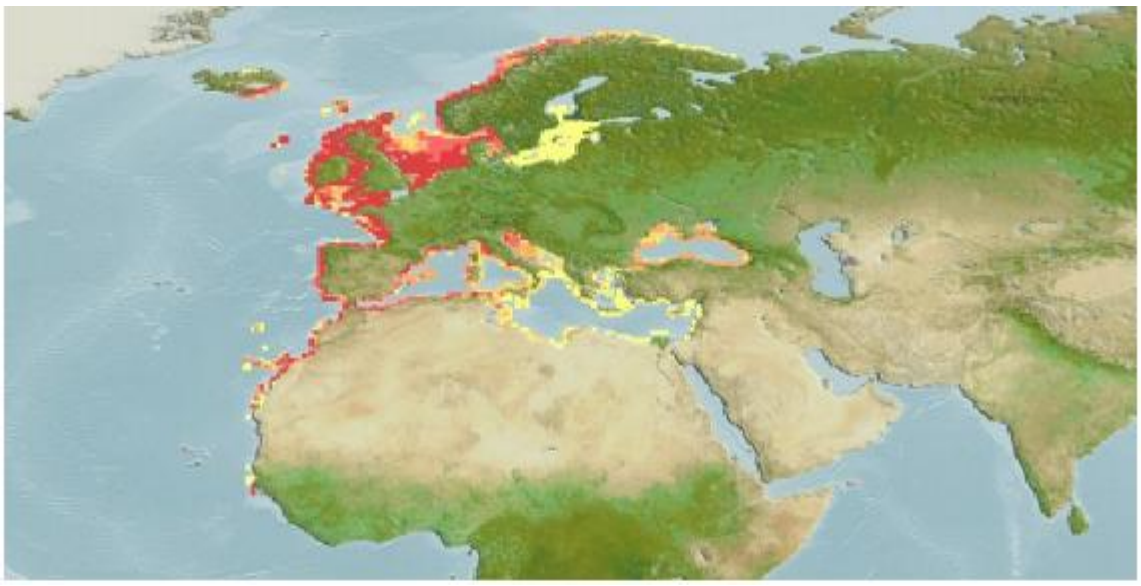
Opis: Tijelo lubina je vretenasto, snažno, blago bočno spljošteno i samo na početku leđa, tik iza glave, lagano uzdignuto (Slika 1). Može narasti do jednog metra, ali najčešće naraste u prosjeku od 22 do 55 cm i može težiti od 7 do 14 kg, a srednja lovna težina ne prelazi 0,50 kg. Ženke su u prosjeku duže i kasnije spolno sazrijevaju. Čeljusti lubina su snažne, a usta dosta velika, donja je čeljust blago ispupčena. Zubi lubina su sitni i višeredni te postoje na nepcu i jeziku. Stražnji rub škržnog pretpoklopca je pilasto nazubljen, a donji rub je s jačim i naprijed usmjerenim zubićima. Na škržnom poklopcu se nalaze dvije plosnate bodlje. S gornje strane glave lubin ima cikloidne ljuske. Perajna formula lubina je: D1: VIII-X, D2: I + 12-13, A: III + 10–12, P. 15–16, V. I + 5 šipčica; tj. lubin ima dvije dorzalne peraje, na prvoj dorzalnoj ima osam do deset tvrdih šipčica, a na drugoj jednu tvrdu plus dvanaest do trinaest mekih šipčica, jednu analnu peraju na kojoj se nalaze tri tvrde i deset do dvanaest mekih šipčica, jednu prsnu peraju na kojoj se nalazi petnaest do šesnaest mekih šipčica i trbušna peraja ima jednu tvrdu i pet mekih šipčica. Leđa lubina mogu biti srebrene, plavkaste ili zelenkaste boje, dok je trbuh srebrenkasto bijele. Kod juvenilnih jedinki uočljive su duž tijela rijetke crnkaste točke. Na gornjem dijelu škržnog poklopca nalazi se difuzna crna mrlja (Grubišić, 1967; Jardas, 1996; Turk, 2011).



Slika 1. Lubin *Dicentrarchus labrax* (izvor: FishBase).

Iskorištavanje i gospodarska vrijednost: Lubin je gospodarski važna vrsta. Najčešće se lovi mrežama potegačama, stajačicama, tramatom, parangalom, panulom, ostima i podvodnom puškom. Ulov lubina odvija se tijekom cijele godine, a u hladnijim mjesecima nešto više. Najviše se lovi u rano jutro i predvečer, ali može i noću. Izlovljava se u gospodarskom i sportskom ribolovu. U 2017. ulovljeno je 10 t (Državni zavod za statistiku RH, 2018). Trenutno ima oko 90 uzgajališta lubina i komarče u Europi, s godišnjom proizvodnjom od 1 do 5 milijuna ličinki koje koriste za vlastitu upotrebu (Büke, 2002). Prema podacima iz Nacionalnog strateškog plana razvoja akvakulture (2015) proizvodnja lubina i komarče prelazi 5.000 tona godišnje. Uzgoj u Republici Hrvatskoj odvija se na područjima gotovo svih obalnih županija, a najviše je zastupljen na području Zadarske županije. Većina uzgojene bijele ribe plasira se na domaće tržište i tržište EU, najviše u Italiju. Proizvodnja mlađi lubina i komarče kreće se oko 20.000.000 komada mlađi godišnje. Ova proizvodnja pokriva manje od 50% potreba instaliranih uzgojnih kapaciteta, pa se veliki dio mlađi uvozi iz Italije i Francuske.

Rasprostranjenost: Lubin je rasprostranjen na području istočnog Atlantika te naseljava područja od Norveške do Senegala (Slika 2), obitava po čitavom Mediteranu i uzduž cijele istočne i zapadne jadranske obale. Najgušća naselja lubina su oko riječnih ušća (Jardas, 1996).



Slika 2. Rasprostranjenost *D. labrax* u Atlantiku i Sredozemnom moru (izvor: FishBase).

Stanište i biologija: Lubin se zadržava i živi uz obalu i u bočatim vodama, tako da je čest uz podmorske izvore slatke vode ili uz ušća većih rijeka. Najčešće zalazi u ušća rijeka, ali ga se ponekad može pronaći i u dubljim riječnim tokovima. Najčešće se nalazi u dubinama od 20 m na pjeskovitim ili muljevitim dnima. Lubin se također zadržava u lukama i u blizini naseljenih područja. Predator je, hrani se ribama, rakovima, mekušcima i može biti jako grabežljiv i proždrljiv. Najaktivniji je u svitanje i pred zalazak sunca, a intezivnije se hrani noću (Grubišić, 1967; Jardas, 1996; Turk, 2011).

Mrijest: Lubin se mrijesti uz riječna ušća jednom godišnje u zimskim mjesecima od siječnja do ožujka. Mužjaci spolno sazrijevaju tijekom druge (23-30 cm), a ženke tijekom treće godine (31-40 cm). Jaja su pelagička i mala (1,02-1,39 mm), ali brojna. Ženke lubina, koje postaju spolno zrele s 3 do 4 godine života, a pri masi od 400 do 500 g, mogu dati oko 150 000 do 200 000 jaja po kilogramu svoje mase. Mužjaci sazrijevaju prije ženki, s navršene dvije godine života, i mogu imati masu oko 200 do 250 g, što ih u prosjeku čini lakšima od ženki. Jaja u sebi sadrže uljne kapi što ih održava na površini vode, a sva neoplođena i oštećena jaja padnu na dno (Treer i sur., 1995). U uzgoju se matice često drže u vanjskim bazenima površine oko 200 m^2 i dubine 1,5 m, uz dnevnu izmjenu morske vode i do pet puta. Matice koje imaju 1 do 3 kg, nasađuju se u gustoći od 0,2 do 0,4 kg m^2. Hrane se koncentriranom peletiranim hranom koja je bogata bjelančevinama i svježom ribom. Temperatura mora u uzgojnoj sredini je od 14 do 18 ^oC (Treer i sur., 1995).

Razmnožavanje i spolni život u uzgoju: Postoji nekoliko rutinskih metoda za dobivanje spolnih produkata, a jedna od njih je sakupljanje oplođenih jaja u prirodnim uvjetima pomoću planktonske mrežice ili ulovom divljih matica u sezoni mrijesta. Međutim, za komercijalnu proizvodnju i održivost uzgoja sigurnije je formiranje matičnog jata. U uzgoju se matice induciraju na mrijest, tj. potiče se gametogeneza kako bi se dobile zrele rasplodne stanice tijekom cijele godine (Devauchelle i Coves, 1988; Bogut i sur., 2006). U kontroliranom uzgoju osnova je reproduktivni kapacitet pojedine ženke koji je izražen kao broj proizvedenih jaja po jedinici mase ili relativni fekunditet.

1.4. Tehnologija uzgoja ličinki

Ličinke lubina nakon inkubacije jaja provode u mrijestilištu 3 do 4 mjeseca, ponekad i duži vremenski period. Za vrijeme razvoja u mrijestilištu potrebno je održavanje optimalnih abiotičih čimbenika koji predstavljaju preduvjet uspješne proizvodnje. Također, kvalitetan razvoj jedinki ovisi o zootehničkim uvjetima i ishrani. Mrijestilišta se obično sastoje od zone za proizvodnju fitopanktona i zooplanktona, zone za mrijest i uzgoj mlađi, sektora za logističku i infrastrukturnu podršku proizvodnje te laboratorija (Treer i sur., 1995; Bogut i sur., 2006).

Bazeni za inkubaciju oplođenih jaja su cilindrični s konusnim dnom volumena od 1 do 2 m^3. Tamno su obojeni kako bi se refleks svjetla što manje odražavao na nepigmentirane embrije. U bazenima je otvoreni protok i ambijentalna temperatura. Gustoća nasada u bazenima mora biti od 10000 do 50000 jaja/l kako bi se smanjila mogućnost pojave bolesti ili deformacije na ličinkama. Inkubacija traje 50 h na 18 ^oC te 36 h na 22 ^oC (Bogut i sur., 2006).

Nakon izvaljenja, ličinke se izbroje te prebace u uzgojne bazene. U uzgojnim bazenima ostaju nakon izvaljenja, u prosjeku od 45 do 60 dana. Uzgojni bazeni u pravilu su okrugli s konusnim dnom, s volumenom od 2 do 10 m^3 (Treer i sur., 1995; Bogut i sur., 2006). Nakon toga ličinke se prebacuju u bazene za mlađ, koji mogu biti okrugli ili četvrtasti sa zaobljenim uglovima volumena od 12 do 25 m^3, koji su izgrađeni od stakloplastike ili betona. Kružno kretanje vode omogućava koncetriranje nepojedenih ostataka hrane i metabolita u taložnik gdje se odvode kroz rešetku u centralnom dijelu bazena (Bogut i sur., 2006).

Uzimajući u obzir da za zagrijavanje mora koje ulazi u mrijestilište treba znatna količina energije, mrijestilišta imaju uređen sustav za recikliranje vode uz stalne izmjene s morem. Veliki dio metabolita i nepojedene hrane treba neutralizirati uz pomoć odgovarajućih filtera. Rad biofiltera se bazira na aktivnost bakterija koje obavljaju oksidaciju dušičnih spojeva od kojih je najopasniji amonijak. Amonijak se uklanja uz pomoć nitrificirajućih bakterija *Nitrosomonas* i *Nitrobacter*. Nitrifikacijim amonijak prelazi u nitrite (NO_2^-), a to je ujedno i prvi korak u kojem sudjeluju bakterije roda *Nitrosomonas* sp.. U daljnjem procesu nitrifikacije djeluju bakterije roda *Nitrobacter* sp., te nitriti prelaze u nitate (NO_3^-), kao krajnji produkt nitrifikacije. Kako bi postupak bio što učinkovitiji, kontroliraju se parametri kao što su protok vode, temperatura, kisik, pH i salinitet (Treer i sur., 1995).

1.4.1. Životni ciklus lubina i pojava malformacija kod mlađi lubina

Životni ciklus lubina čine oplođena jaja koja su sferičnog oblika promjera 1,1-1,25 mm (FAO, 1999), nakon čega slijede stadiji predličinke, ličinke, poslijeličinke, nedorasle ribe ili mlađi i adulti. Trajanje inkubacije jaja lubina, kao i odraslih riba ovisi o temperaturi. U uzgoju, pri temperaturi od 16 ^{o}C inkubacija može trajati 72 sata. U navedenom razdoblju provodi se aeracija, kontrolira temperatura i osvjetljenje, rade se izmjene vode svaka 1,5 do 2 sata, a prema potrebi se prati zdravstveno stanje, jer su u toj fazi jaja osjetljiva na razne bolesti (Treer i sur., 1995). Razni vanjski čimbenici mogu utjecati na jaja još dok su u fazi vitalogeneze ili inkubacije (Hickey, 1973; Houde, 1973). Malformacije se najčešće induciraju kad je velika gustoća jaja u inkubacijskom bazenu (Hempel, 1971; Devauchelle, 1976) ili kad su jaja izložena mehaničkom šoku (Pommeranz, 1974). Drugi faktori koji utječu na pojavnost malformacija su intezivno osvjetljenje ili radijacija (Gabriel, 1944; Nash, 1977; Barahona-Fernándes, 1978), toplinski šokovi (Houde, 1973) i promjene u salinitetu (Doroshev i Aronovich, 1974). U stadiju predličnke i ličinke, riba se hrani uz pomoć žumanjčane vrećice, u kojoj se nalaze rezerve hrane. U ovoj razvojnoj fazi usta nisu razvijena i oči nisu pigmentirane. Postotak izvaljivanja obično iznosi 50%, a uspješan je ako dosegne preko 70% (FAO, 1999). Ličinke su u tom razdoblju duge svega 3,5 mm, smještene uz površinu vode i povremeno mogu pokretati rep. Dužina tog perioda uvjetovana je temperaturom. Nakon 3 do 5 dana dolazi do otvaranja usta, pigmentacije očiju, aktivnog kretanja po bazenu i gubitka žumanjčane vrećice (Treer i sur., 1995). Kad se resorbira žumanjčana vrećica, kod ličinki se javlja trbušna peraja i diferencirana neparna peraja te jedinka poprima izgled male ribe. Ličinke tada dosežu dužinu tijela od oko 5 mm te započinje egzogeno hranjenje i njihov prelaz u stadij poslijeličinke. Ovo je jedna od najkritičnijih faza uzgoja, jer su mortaliteti vrlo visoki (Treer i sur., 1995) (Slika 3). Oko četrdesetog dana života jedinke dosežu približnu dužinu od 1,5 cm i masu od 30 mg. Dolazi do postupnog formiranja tijela te one ulaze u novu fazu životnog ciklusa. U navedenoj fazi jedinke poprimaju sve odlike odraslog organizma i postaju mlađ te se prebacuju u odgovarajuće bazene. U nedoraslih jedinki (mlađ) razvijaju se šipčice u perajama, kostur, organski sustavi, pigmentacija i ljuske (Treer i sur., 1995). Kritično razdoblje ove faze je početak hranjenja i aktivacija plivaćeg mjehura. Prilikom aktivacije plivaćeg mjehura može nastati i neispunjenost ili prekomjerna ispunjenost ribljeg mjehura zrakom, što može dovesti do doživotnog poremećaja u plivanju, smanjenog rasta,

deformiteta i velikog mortaliteta (Fijan, 2006). Poremećaj može nastati zbog sljedećih razloga: prevelike dubine uzgojnog prostora, slabosti ličinke da dopliva do površine i formira plivaći mjehur, nepovoljne koncentracije otopljenjih plinova u vodi npr. previsoka ili preniska koncentracja kisika u vodi. Neispunjenost mjehura može prouzrokovati pojavu lordoze kod ličinke (Fijan, 2006). Također, opisani razlozi mogu uzrokovati i druge deformitete koji negativno utječu na daljnji razvoj jedinki.



Slika 3. Razvojne faze ličinke lubina (izvor: FAO, 1999).

1.4.2. Važni čimbenici uzgojne sredine

Primarni parametri koji određuju kvalitetu u uzgoju lubina su: temperatura, salinitet, koncentracija otopljenog kisika, fotoperiod, izmjena vode, pH, dušični spojevi, produkti metabolizma kao što su amonijak, nitrati i nitriti (Bogut i sur., 2006).

Temperatura je važan katalizator termodinamičkih procesa i ima ulogu u reguliranju svih biokemiskih reakcija. Rast i preživljavanje su direkno povezani s promjenama temparature. Prilagodba na različite temperaturne uvjete, kao i na njene oscilacije ovisi o vrsti i sarosti ribe, ali i o kombinaciji čimbenika u uzgojnoj sredini kao što su koncentracija kisika i salinitet. Niža temperatura kod ranih razvojnih stadija reducira stopu rasta, ali rezultira višim postotkom preživljavanja i manjim postotkom pojave deformacija osim u slučaju lordoze gdje temperatuera od 15 ^{o}C može utjecati na njenu pojavu (Zambonino-Infante i sur., 2009). Lubin kao euritermna vrsta, može podnjeti široki raspon temperatura. Temperatura za ličinke i posljeličinke je u rasponu od 18 do 20 ^{o}C, a oscilacije u temperaturi ne smiju preći 0,5 ^{o}C u roku od 24 h (Marangos i sur., 1986; Jennings i Pawson, 1992).

Salinitet - lubin je eurihalina vrsta, dakle može podnijeti velike oscilacije saliniteta. Optimalni salinitet za lubina je između 20 i 30 ppt, a za mrijest u rasponu od 33-40 ppt. Za ličinke se preporuča morska voda saliniteta od 36 do 38 ppt. Sniženi salinitet od 25-30 ppt kod prvog hranjena može povećati stopu preživljavanja. Nagle promjene saliniteta mogu izazvati stres (Bogut i sur., 2006).

Kisik je važan parametar u proizvodnji ribe koji određuje nosivi kapacitet uzgojnog prostora. Zasićenost otopljenog kisika u vodi ispod 70 % uzrokuje usporeni rast i povećava rizik od oboljenja. Smanjeni postotak kisika dovodi do hipoksije koja u ekstremnim slučajevima može preći u anoksiju što rezultira stvaranjem metana i sumporovodika koji su jako toksični. Međutim, prezasićenost kisikom može dovesti do bolesti zračnih mjehurića koja može biti letalna. Bogut i suradnici (2006) navode da se zasićenost otopljenog kisika kod uzgoja lubina treba održavati između 80 i 100 %. Praksa je da se kisik u bazenima mjeri dva puta: jutarnje mjerenje prije hranjenja u 7:30 h i mjerenje koje se provodi nakon hranjenja u 11:00 h.

Fotoperiod - sve dok je temperatura ispod 20 ^{o}C fotoperiod bi trebao biti 16 sati svjetla i 8 sati mraka, a tek kad se temperatura poveća iznad 21 ^{o}C onda se i poveća i trajanje svjetlosti na 20 sati, i smanji trajanje mraka na 4 sata. Ličinke koje su izložene konstantnom mraku imaju smanjen metabolizam i smanjenu stopu rasta. Ukoliko je ličinka lubina izložena konstantnom svijetlu, ona brže raste, zubi i peraje se formiraju brže, ali zato su veće

mogućnosti za pojavu deformacija kralježnice i problemi koji su vezani uz plivaći mjehur (Villamizar i sur., 2009). Izmjena vode se za vrijeme svjetlosnog razdoblja pri prvom hranjenju ne provodi. Zato za vrijeme mraka se provodi od pola do jedne izmjene. Postepeno se povećava do deset izmjena prilikom metamorfoze tijekom noći.

pH vrijednost u rasponu od 7 do 9 ima zanemariv utjecaj na ribe u uzgoju. Ukoliko dođe do pada ili rasta pH vrijednosti remeti se pravilan rast i preživljavanje te reprodukcijski ciklus kod matica. Vrijednosti ispod 4 i iznad 12 su letalne (Bogut i sur., 2006).

Dusični spojevi: NH_3, NO_2^- i NO_3^- nastaju uslijed razgradnje organske tvari, prvenstveno metabolitičkih produkata i nepojedenih ostataka hrane. Amonijak je najopasniji produkt organske razgradnje, a ovisi o pH vrijednosti i temperaturi vode. Toksičnost amonijaka se povećava s povećanjem temperature i pH vrijednosti. U uzgoju vrijednost ukupnog amonijaka se kreće od 0,5 do 2,5 mg/l. Pri visokim koncentracijama amonijaka smanjuje se mogućnost krvi da transportira kisik, oštećuju se škrge, bubrezi, jetra i na koncu usporava se rast (Bogut i sur., 2006).

Svaka promjena abiotičkih faktora može uzrokovati stres koji se prvenstveno manifestira u poremećaju formiranja plivajućeg mjehura, a može uzrokovati i deformacije kostura.

1.4.3. Ishrana ličinki lubina

U ličinačkom stadiju ishrana je iznimno važan segment pravilnog razvoja. Dok jedinke nemaju razvijena usta, hrane se žumanjcem iz žumanjčane vrećice (endogena ishrana). Tek kad ličinke potroše zalihe žumanjca i formiraju se usta, započinje njihova aktivna ishrana (egzogena ishrana). Ličinke lubina inicijaciju hranjenja započinju konzumiranjem zooplanktonskog račića *Artemia salina.* Zbog visoke cijene račića *A. salina*, neka uzgajališta lubinima daju rotifere kao početnu hranu (Çoban, 2000). Ovisno o veličini i starosti ličinki, za ishranu se koristi mala, srednja, najveća te obogaćena artemija. Naime, artemija mora biti bogata bjelančevinama, ugljikohidratima, omega-3 masnim kiselinama, DHA - dokosaheksaenska i EPA - eikosapentaenska , vitaminima C i E (Sargent i sur., 1999; Han i sur., 2001). Nadalje, artemija ne smije sadržavati teške metale ni pesticide. Postoje navodi kako je moguće započeti hranjenje specijaliziranom brašnastom suhom hranom tzv. starterima (Treer i sur., 1995; Koumoundouros i sur., 2001). Hrana mora biti nutritivno bogata, pogotovo lipidima, i lako probavljiva zbog nerazvijenog probavnog sustava ličinki. Mora sadržavati masne kiseline (HUFA), jer ribe ih same ne mogu sintetizirati.

Za pravilan razvoj kostura ličinki potrebni su i dodaci u prehrani kao što su vitamini, minerali, lipidi i masne kiseline (Cahu i sur., 2003; Zambonino-Infante i sur., 2009). Vitamin A je važan za vid noću, diferencijiu stanica, kao antioksidans i u kontroli ekspresije gena koje su ključne u morfogenezi. Također, vitamin A je ključan nutrijent tijekon cijelog životnog ciklusa riba. Doziranje vitamina A trebalo bi se mijenjati sa starošću ličinki, kako bi se minimalizirale deformacije jedinki (Ross i sur., 2000; Zambonino-Infante i sur., 2009). Veće doze mogle bi uzrokovati poteškoće u razvoju, deformacije vanjskog izgleda, hiperplaziju glave i hrskavica te deformacije kostura, pojavu lordoze, spajanje kralježaka, ali i njegov manjak može prouzrokovati razne deformacije na kralježnici i perajama (Halver, 2002). Vitamin A bi trebalo kontrolirati, pogotovo u fazi hranjenja s rotiferima (Zambonino-Infante i sur., 2009). Vitamin D je važan za održavanje razine i apsorpciju kalcija, cjelokupnu zaštitu skeletnog sustava i utječe na rad paratiroidnih hormona na tkivu kostura (Halver, 2002). Visoka količina vitamina D nalazi se u živoj hrani. Niska koncentracija vitamina D manifestira se u mineralizaciji kostiju (Zambonino-Infante i sur., 2009). Vitamin C je antioksidans, važan je za sintezu kolagena, i sudjeluje u nekoliko metaboličkih sustava. Niska razina vitamina C inducira deformacije na kosturu, a visoka razina ovog vitamina utječe na formiranje kostiju i važna je u metabolizmu lipida. Razina vitamina C mora biti precizno

definirana i inkorporirana s lipidima, da bi se spriječila niska mineralizacija kostura koja je povezana s poremećajem formiranja kostiju (Zambonino-Infante i sur., 2009; Waagbø, 2010).

Postoje dvije vrste minerala u ishrani, makrominerali i mikrominerali. Makrominerali su fosfor, magmezij, kalcij, kalij, natrij, a mikrominerali željezo, jod, mangan, cink i bakar. Od mikrominerala samo fosfor, kacij i magnezij su važni u procesu skeletogeneze kod riba (Lall i Lewis-McCrera, 2007; Lewis-McCrera i Lall, 2010). Fosfor i kalcij su strukturne komponente tvrdih struktura kao što su zubi, kostur i ljuske. Direkno su povezani sa razvojem cijelokupnog skeletnog sustava. Nedostatak fosfora može dovesti do slabe mineralizacije kostiju i deformacije kostura kao što su mekane kosti, izvrnuta pleuralna rebra, skolioza i lordoza (Lall i Lewis-McCrera, 2007; Lewis-McCrera i Lall, 2010). Za razliku od kopnenih kralježnjaka najveća količna kalcija nalazi se u škrgama i perajama (Lall, 2002). Lipidi i masne kiseline jedne su od najmanje poznatih u prehrani zbog njihove složene kemijske strukture (Hamre i sur., 2013; Rønnestad i sur., 2013). Fosfolipidi su važna komponenta u prehrani zbog uloge u metabolizmu kacija. Fosfatidikolin i fosfatidilinozitol u prehrani su važni jer utječu na kvalitetu kostura mlađi lubina, i na kvalitetu zootehničkih parametara (Zambonino-Infante i sur., 2009).

1.5. Poremećaji razvoja ličinki

Normalan razvoj opođenih jaja i ličinki jedan su od osnovnih preduvjeta za preživanje vrsta u prirodnoj sredini kao i za ekonomsku isplativost proizvodnje marikulture. U prirodi su najveći problemi nizak postotak oplodnje i gubitci koje uzrokuju grabežljivci. Poremećaji u razvoju u prirodnoj sredini su rijetko evidentni, jer je preživljavanje jedinki s anatomskim anomalijama smanjeno zbog nemogućnosti bjega od predatora (Fijan, 2006). Deformiteti na mlađi u uzgoju su češći i mogu se lakše uočiti.

Postoji pet velikih grupa deformacija, a to su abnormalnosti na ustima (npr. tzv. *crossbite*), abnormalnosti kralježnice (razna savijanja kralježnice), abnormalnosti na operkulumu, rijetke abnormalnosti (npr. deformacija oka, malformacija peraja) i kombinacija više abnormalnosti. Deformacijama pogoduju neprimjereni zootehnički uvijeti i abiotički faktori ili kombinacija oboje u uzgoju (Gapasin i sur., 1998; Koumoundourus i sur., 2002, 2004; Cahu i sur., 2003; Engrola i sur., 2005). Anatomski poremećaji kod ličinki mogu ponekad biti posljedica nasljednih faktora, ali su većinom rezultat nenasljednih pogrešaka koje se javljaju u razvoju embrija i ličinki, a mogu nastati uslijed bolesti koje su prouzročili

nametnici, pogrešaka u ishrani, djelovanjem otrovnih tvari ili prilikom ranjavanja. Najupečatljivije su deformacije kostura glave tj. škržnog poklopca, čeljusti, kralježnice, hrskavice škržnih listića i drugih dijelova te peraja (nedostatak neke od peraja, promjena u obliku, veličini peraje i broja šipčica u perajama (Fijan, 2006), dupliciranje leđne peraje (Komada, 1980), konkavna leđna peraja (Matsusato, 1986). Malformacije repne peraje mogu se dogoditi kod uzgojnih vrsta i divljih, a one uključuju nedostatak repa, parcijelni rep, dvostruki ili trostruki rep (Bondari, 1983; Dunham i sur., 1991) i formiranje dodatnih šipčica (Ishikawa, 1990).

Malformacije koje se javljaju na kostoru kralježnice kod mlađi su: lordoza, kifoza i skolioza. Lordoza je zakrivljenost kralježnice u obliku slova „V“, koju prati abnomralnost u kalcifikaciji pogođenog dijela. Lordoza kralježnice je veliki problem u marikulturi i često je povezana s aktivnošću plivanja. Najučestalija je kod uzgojnih populacija (Kranenbarga i sur., 2004). Kifoza je zakrivljenost u obliku obrnutog slova „A“ (Koumoundouros i sur., 2002). Za razliku od lordoze postoji malo podataka koji opisuju kifozu (Boglione i sur., 1995). Skolioza je lateralna zakrivljenost kralježnice u obilku slova „S“ (Lim i Lovell, 1978). Ona se najčešće pojavljuje zajedno s anomalijama čeljusti i operkuluma (Barahona-Fernandes, 1981). Abnormalnosti koje se pojavljuju na kralježnici najčešće su povezane s abnormalnostima kralješaka, a uključuju: dislokacije, spajanja, skraćenje, deformacije tijela kralješka (Hattori i sur., 2003; Sawada i sur., 2006), kompresije, višak ili manjak hemalnih ili neuralnih lukova (Komada, 1980; Boglione i sur., 1995; Nguyen i sur., 2008). Najozbiljnija deformacija je ekstenzivno spajanje kralježaka, jer najviše utječe na vanjski izgled ribe. Međusobno spajanje kralježaka i promjene u broju kralježaka pripisuju se nedostatcima diferencijacije notokorda i poremećaju diferencijacije kralježnice (Hall, 2005). Anomalije koje utječu na vertebratalne lukove i rebra su male, sve dok ne utječu na unutarnju građu i potoporu same ribe. Prema Wittenu i suradnicima (2009), spajanje kralježaka za okcipitalnu regiju lubanje i urostile ne treba smatrati anomalijama, jer su to normalne pojave u koštunjača.

Malformacije koje se javljaju na glavenom dijelu česte su u uzgoju, a pojavlju se na čeljusti i škržnom poklopcu (Hickey i sur., 1977; Komada, 1980; Soliman i sur., 1986; Harris i Hulsman, 1991; Lagardère i sur., 1993; MacConnell i Barrows, 1993). Anomalije na škržnom poklopcu su uglavnom jednostrane, ali mogu biti i obostrane. Kod lubina je opisan deformitet „*pugheadness“*, koji zahvaća lubanju, čeljusti, oči i rezultira smanjenjem frontalne lubanje i gornje čeljusti (Barahona-Fernandes, 1981; Daoulas i sur., 1991; Chatain 1994b). Deformitet “*crossbite“* čine promjene donje čeljiusti koja je pomaknuta od središta ili lateralno. Zbog toga čeljust može izgledati kao da je nagnuta, tako da donja čeljust nije

jednaka gornjoj čeljusti. Prema Hickeyu i suradnicima (1977) postoje dvije vrste deformiteta *crossbite* (*full crossbite* i *semi crossbite*). Takozvani. „*sucker mouthed*" deformitet čine poremećaji raznih stupnjeva gornje čeljusti popraćeni poremećajem na operkulumu, uvijanjem branhijalnih lukova i lordozom. Deformacije na operkulumu su rezultat smanjenja ili uvijanja kosti na operkulumu ili mogu biti rezultat malformacija na škržim lukovima (Barahona-Fernandes, 1981). Najčešći deformiteti kod lubina se javljaju na glavenom dijelu tj. škrgama (tzv. *splanchocranium*). Navedene anomalije su najčešće subletalne i takve se jedinke razvijaju sporije i slabije od zdravih. Redukcija operkularne ploče ili savijanje iste, ostavlja branhijalne lukove podložnijim prema ozljedama ili napadima parazita, što može ugroziti zdravlje ili sam izgled ribe. Poremećaji koji se javljaju na operkulumu su anatomski povezani s unutrašnjim ili vanskim poklopcem, skraćivanjem ili nepravilnim pozicioniranjem operkularnih ili suboperkularnih kostiju (Koumoundouros i sur., 1997b; Galeotti i sur., 2000; Fernández i sur., 2008). Deformacije koje zahvaćaju kranium još su kompeksije od onih koje zahvaćaju kralješke, jer imaju kompleksnije poremećaje koji mogu zahvatiti više skupina kostiju lubanje. Spomenuti *pugheadness*, krivi zagriz i redukcija donje čeljusti su tipične anomalije koje se nalaze kod riba u uzgoju (Koumoundouros i sur., 2004;), pa tako i kod lubina.

Poremećaje razvoja ličinki mogu uzrokovati različiti čimbenici te njihove kombinacije. Najvažniji čimbenici koji mogu uzrokovati malformacije su: genetski tj. križanje u srodstvu, otrovne tvari u hrani ili u vodi za ličinke, postupak uzimanja ikre pri umjetnom mriješćenju, tj. tijek kontrtoliranog mrijesta i sakupljanja ikre iz vode, prezrelost ili neputpuna zrelost ikre u trenutku oplodnje, loša kvaliteta mliječi, neprikladni uvjeti i stres tijekom inkubiranja ikre i ličinaka, abiotički čimbenici, velike varijacije temperature vode, koncentracija CO_2, pH, otrovne tvari u vodi (Abdel i sur., 2004; Sfakianakis i sur., 2004; Fijan, 2006; Georgakopolou i sur., 2007), strujanje vode, osvjetljenje, vibracije, loše rukovanje, prijevoz ikre i ličinki te razlike u sastavu vode prilikom premještanja naročito temperature, vrijeme početka hranidbe, vrsta i sastav hrane te bakterije u probavnom traktu (Abdel i sur., 2004; Fijan, 2006).

Ribe koje imaju anomalije mogu dugo živjeti, ali nisu ekonomski isplative, zbog usporenog rasta, slabijeg korištenja hrane, manje otpornosti na bolesti i smanjene tržišne vrijednosti.

2. MATERIJALI I METODE

2.1. Mrijestilište Cromaris

Deformirana mlađ lubina izolirana je za analizu u mrijestilištu Cromaris, u Ninu kod Zadra. Cromaris je firma koja se bavi uzgojem, preradom i prodajom autohtonih jadranskih riba i školjki, od kojih su najznačajnije lubin i komarča. Sjedište tvrtke nalazi se u Zadru kao i pogon za sortiranje i preradu ribe. Firma Cromaris je nastala 2009. godine spajanjem pionira europske i hrvatske marikulture, a njihova riba je prisutna na europskom tržištu više od 35 godina. Spajanjem Cenmara, Marimirne i Marikulture Istra pod okriljem Adris grupe krajem 2009. godine nastao je Cromaris. Mrijestilište u Cromarisu omogućava povećanje godišnjeg kapaciteta proizvodnje s 15 milijuna na 30 milijuna komada mlađi. Tehnologija proizvodnje ribe u Cromarisu se odvija u visoko automatiziranom pogonu što omogućava kraći uzgojni ciklus uz povećanje preživljavanja i kvalitete mlađi. Mrijestilište je organizirano na način da su sve jedinice za uzgoj odvojene, sa zasebnim filtracijskim sustavima, što omogućuje kreiranje optimalnih uvjeta za planiranu veličinu i vrstu ribe. Uzgoj je proveden standardnim postupkom koji se primjenjuje u mrijestilištu Cromaris uz održavanje optimalnih zootehničkih uvjeta u svim uzgojnim volumenima. Redovito su mjereni abiotočki čimbenici: temperatura, amonijak, kisik i ugljični dioksid. Kao prvu hranu ličinke su konzumirale nauplije artemije veličine 450 μm, belgjiskog proizvođača Inve. Aktivna ishrana je uključivala najmanju artemiju 300-500 μm koja se davala do devetog dana starosti ličinki, nakon toga srednja artemija 500-800 μm do 14-19 dana i na kraju najveća metanauplij ili obogaćena artemija 800-1200 μm koja se dodatno obogaćivala do starosti ličinki od 23-25 dana. Naupliji artemije su se obogaćivali sa tzv. *red peper* emulzijom belgijskog proizvođača Bern aqua. Glavni sastojci emulzije obogačivaća su: voda, mikoalge, riblje ulje u mikrokapsulama i arhaidonično kiselo ulje. Priprema artemije za ishranu lubina je jaka aeracija, osvjetljenje od 2000 luxa, temperatura od 28^{o}C-30 ^{o}C (optimalna je 29 ^{o}C), salinitet 25-35 ppt i pH 8-8,5. Nakon 30 dana starosti ličinkama se počela davati suha hrana u vidu pudera od 150-15000 μm. S porastom jedinki povećala se granulacija peleta, a tek kada su jedinke dosegle oko 3 g, veličina peleta je bila 1,5 mm. Jedinke su se hranile ručno ili satnom hranilicom koja je namještena da ispušta hranu svakih 12 sati. Noć prije obavljana postupka izvajanja deformiranih jedinki nastupa obustava hranjenja.

2.2. Uzorkovanje

Prvo odvajanje deformiranih ličinki obavilo se pri masi od 0,08 g, a zadnje kada su jedinke bile spremne za transport u kaveze, odnosno pri masi od 3,00 g. Tijekom potonjeg izdvajanja deformiranih jedinki obavljeno je uzorkovanje. Uzorak su sačinjavale deformirane jedinke iz jednog od uzgojnih bazena. Za obradu su odvojene ukupno 103 jedinke lubina na kojima su se mogli uočiti deformiteti. Rendgenske snimke deformiranih lubina su napravljene na standardnoj aparaturi za rendgensko snimanje u Kliničkom bolničkom centru Split (KBC Split). Za prikaz vrijenosti abiotičkih parametara i pojavnosti deformiteta kod mlađi korišten je softwearski paket Grapher 8 (v. 8.2.460, 2010. golden softwaere Inc., Colorado USA).

2.3. Tehnološki postupak odvajanja deformiranih mlađi

Postupak odvajanja deformiranih jedinki započinje ograđivanjem mlađi u bazenu koja se uz pomoć janke (špurtila) prebacuje u kante u kojima je prethodno, sukladno volumenu, stavljena odgovarajuća otopina anestetika lidokaina. U kantama s izdvojenim jedinkama se kontrolira udio kisika i salinitet. Količina kisika se provjerava svakih 15-20 minuta i po potrebi se stavlja keramička ploča koja u dodiru s vodom ispušta kisik. U svrhu lakšeg izdvajanja deformiranih jedinki, prvo se eliminiraju jedinke bez plivaćeg mjehura. Naime, za uklanjanje jedinki koje nemaju formirani plivajući mjehur povećava se salinitet sa 38 ppt na 75-80 ppt. Jedinke koje nemaju formirani plivaći mjehur ostaju na dnu kante, dok ostale jedinke isplivaju na površinu. Mlađ koja prilikom postupka ispliva na površinu se pregledava ručno, pri tom obračajući posebnu pažnju na oblik kralježnice te deformacije na glavi, perajama i operkulumu. Izdvajanje deformirane mlađi se provodi na rasvjetnim stolovima koji omogućavaju lakši pregled ispravnosti kralježnice, ali tim postupkom se teže uočavaju oštećenja na operkulumu. Zdrava mlađ stavlja se u kantu sa čistom vodom koja je obogaćena kisikom, kako bi se jedinke reanimirale, a potom se smješta u drugi bazen; dok se bolesna, tj. deformirana riba, stavlja u kantu s anestetikom. Općenito, riba s malformacijama smatra se ribom treće kategorije i svrstava se kao otpad animalnog podrijetla. Postupak zbrinjavanja animalnog otpada tijekom ovog postupka provodila je firma Agroproteinka. Izdvajanje zdravih od deformiranih ličinki traje više dana. Navedena dužina trajanja provedbe postupka izdvajanja deformiranih jedinki je relativna, jer ovisi o nizu čimbenika, kao što su biomasa u

bazenu i postotak prisutnih deformacija, ali i o prakičnim uvjetima tj. o ljudstvu u mrijestilištu koje je raspoloživo za rad na odvajanju deformiranih jedinki.

3. REZULTATI

3.1. Deformacije kostura mlađi lubina

Ukupno su se pratile 3 mrijesne serije, a odvajanje deformiranih jedinki mlađi lubina se odvijalo u 2. mrijesnoj seriji, jer je ukupna procjena deformiteta na cijeloj uzgojnoj biomsi bila veća od 3% (Tablica 1).

Od ukupno 103 jedinke lubina na kojima je uočena zakrivljenost kralježnice provedena je detaljna analiza tipa deformiteta. Naime, zakrivljenjost kralježnice je uočena senzorski prilikom odvajanja bolesne, tj. deformirane, od zdrave mlađi. Slika 4 prikazuje tipične deformitete: lordozu, skoliozu i kifozu i jedan primjerak s normalno razvijenom kralježnicom. Zbog nemogućnosti da se na svim jedinkama točno definiraju deformiteti napravljena je rendgenska snimaka svih primjeraka. Slika 5 pokazuje rendgensku snimku predstavnika deformiteta svake pojedine skupine lordozu, skoliozu i kifozu. Slika 6 prikazuje tipične deformitete skolioze. Rendgenska snimka je pokazala sve navedene tipove deformacija kralježnice. U uzorku, među deformiranim jedinkama izdvojeni su primjerci s normalnom kralježnicom, ali su isti imali vidljiva oštećenja na škržnom poklopcu. Deformacije kostura glave u uzorku nisu uočene.

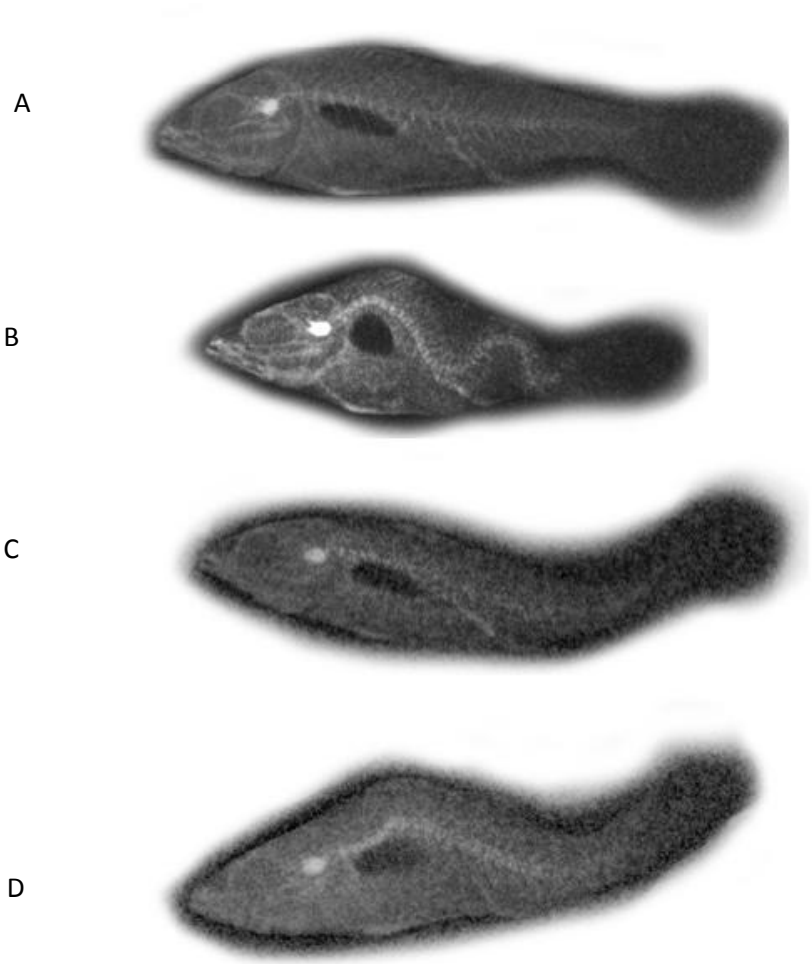
Tablica 1. Postotak deformacija u tri mrijesne serije

Vremenski period	Mrijesna serija	Posotak deformacija
2. 4. 2018.	1	<3%
11.5. 2018.	2	>3%
20. 6. 2018.	3	<3%

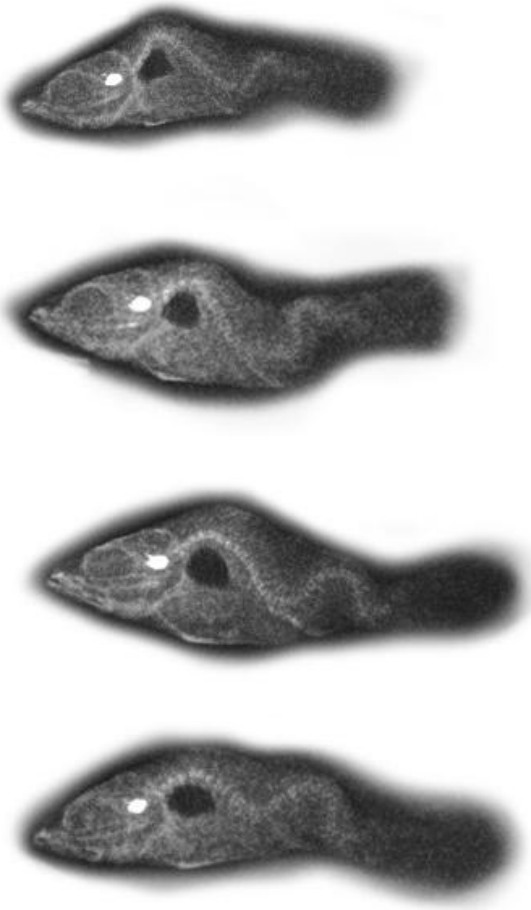
Deformiteti kralježnice na jedinkama su: skolioza (82), kifoza (5), lordoza (2) (Slika 4). Uz pomoć rendgenskih snimki napravljenih u Kliničkom bolničkom centru (KBC) Split, na Firulama, uočeno je da ličinke s deformiranom kralježnicom imaju i anomalije na plivaćem mjehuru (Slika 5 i 6). U uzorku je bilo 13 jedinki s oštećenjem na operkulumu.



Slika 4. Fotografija mlađi lubina s normalno razvijenom kralježnicom (A) i onih s deformacijama kralježnice: kifozom (B) lordozom (C) i skoliozom (D).

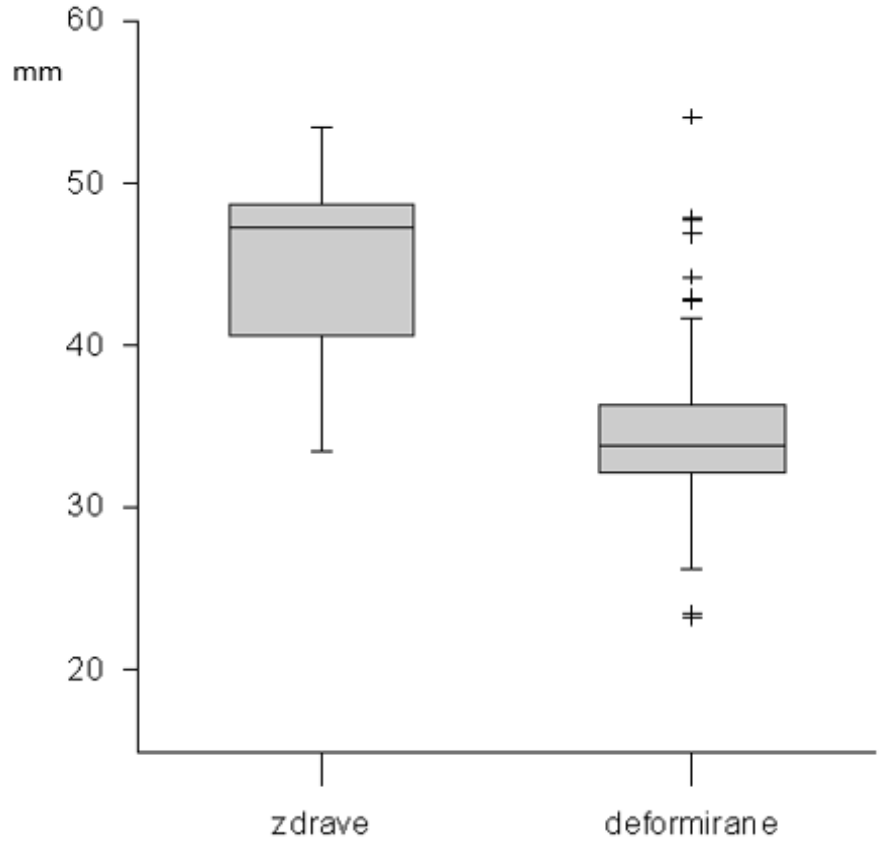


Slika 5. Rendgenska snimaka kostura mlađi lubina i plivajućeg mjehura: mlađ s normalno razvijenom kralježnicom (A) skoliozom (B) lordozom (C) i kifozom (D).



Slika 6. Rendgenski snimak kostura mlađi lubina sa skoliozom i nepravilno razvijenim plivajućim mjehurom.

Bolesna mlađ je u prosjeku manja od zdrave mlađi i njihova srednja vrijednost dužine tijela je iznosila 34,55 mm dok je zdrava mlađ imala srednju vrijednost dužine tijela 45,34 mm. Na Slici 7 nalazi se *box-plot* prikaz raspodjele veličina zdravih i deformiranih jedinki mlađi lubina prema kojem je evidentno da su zdrave jedinke veće, a deformirane jedinke znatno manje. Kod deformiranih jedinki median je iznosio 33,82 mm, a kod zdravih 47,21 mm. Kod deformiranih jedinki standardna devijacija od srednje vrijednosti je iznosila 4,98 mm, a kod zdravih jedinki standardna devijacija od srednje vrijednosti je iznosila 5,52 mm.



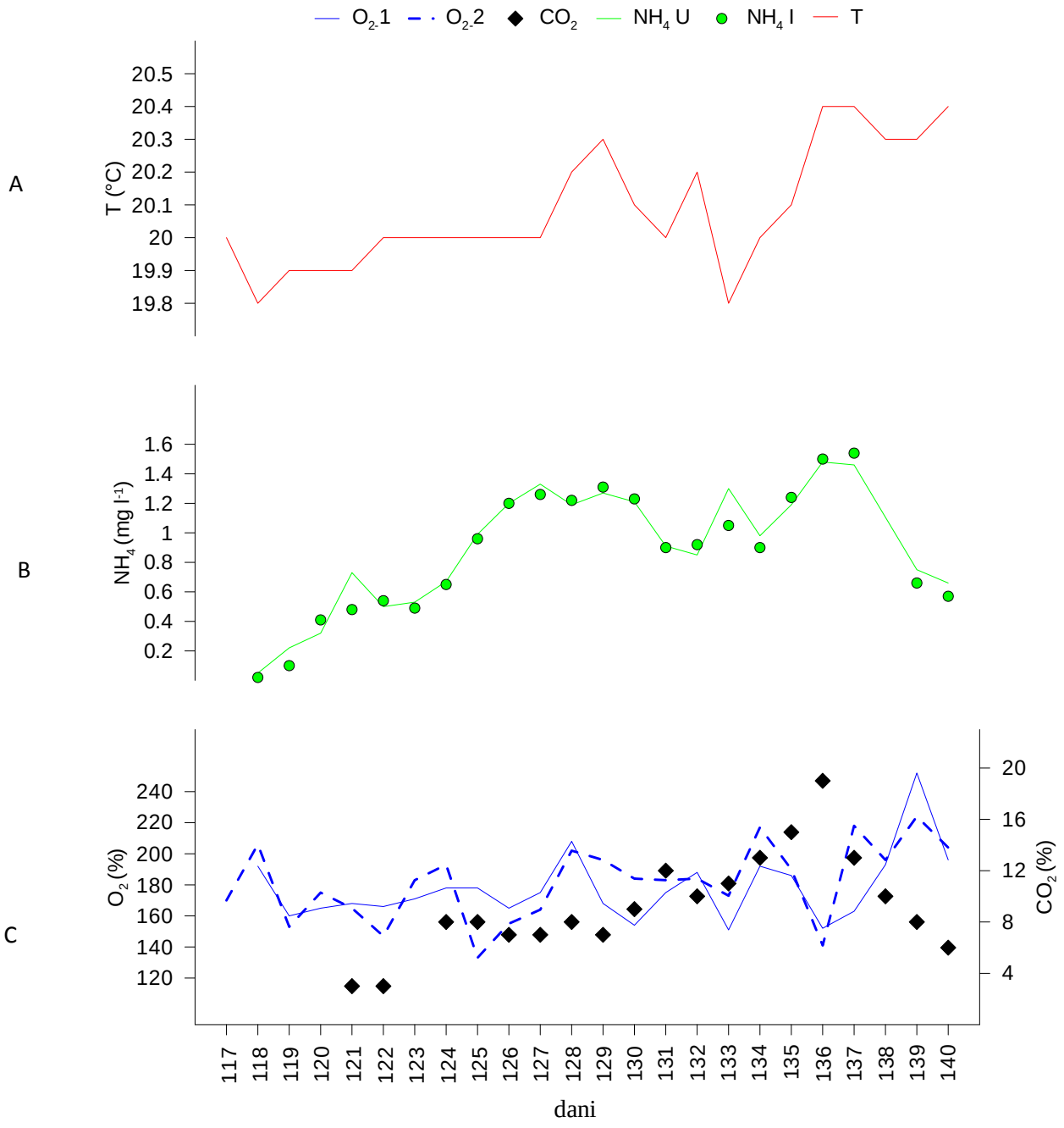
Slika 7. Box-plot prikaz raspodjele dužina zdravih i deformiranih jedinki mlađi lubina.

3.2. Praćenje abiotiskih čimbenika u uzgojnoj sredini

Uz starost jednki, praćeni su i abiotički čimbenici u uzgojnoj sredini. Od 117. do 140. dana starosti svih jedinki u uzgojnim bazenima praćeni su sljedeći abiotički čimbenici: temperatura, ugljikov dioksid, kisik i amonijak.

Prikaz vrijednosti navedenih parametara je prikazan na Slici 8 (A, B i C). Na slici 8A se može uočiti da je najveća temperatura 20,4 ^{0}C, najmanja 19,8 ^{0}C, a srednja vrijednost iznosi 20,08 ^{0}C. Na slici 8B prikazana je koncentracija amonijaka i to ulaznog (crta) i izlaznog (krug). Koncentracija izlaznog amonijaka ne bi trebala biti veća od koncentracije ulaznog. Međutim, izlazni amonijak je bio veći od ulaznog u 119., 122., 128.-130. te 135.-137. danu. Najveća koncentracija ulaznog amonijaka 1,48 mg l^{-1}, minimalna 0,05 mg l^{-1}, a kod izlaznog amonijaka maksimalna koncentracija iznosi 1,54 mg l^{-1} i minimalna 0,02 mg l^{-1} .

Na slici 8C su prikazane koncentracije kisika i ugljičnog dioksida. Na slici je vidljivo da su provedena 2 mjerenja kisika. Maksimalni udio zasićenja kisika prvog mjerenja je iznosio 252%, minimalni 151%, a u drugom mjerenju, maksimalni udio zasićenja kiskom je iznosio 224% i minimalni 133%. Udio ugljikovog dioksida bio je maksimalan 136 dana, a iznosio je 19 % Za ugljikov dioksid maksimalna koncentracija iznosila je 19 g l^{-1}, minimalna 3 g l^{-1}, a srednja vrijednost je 9,31 g l^{-1}.



Slika 8. Prikaz vrijednosti praćenih abiotičkih čimbenika: (**A**) temepratura, (**B**) amonijak, (**C**) kisik i ugljični dioksid.

4. RASPRAVA

Glavni zadatak uzgajivača je održavanje optimalnih uvjeta za maksimalni rast i preživljavanje ličinki u uzgoju. Međutim, optimalni uvjeti i nedostatak predatora eliminiraju prirodnu selekciju, koja se inače događa u prirodi, te stoga pojava deformacija jedinki u uzgoju nije iznenađujuća. Stopa deformacija kralježnice kod mlađi lubina u uzgoju najčešće iznosi 2-10%, ali može se dogoditi da u ekstreminim uvjetima dosegne i 80-100%. To je razlog zbog čega treba dobro poznavati fiziološki razvoj ličinki i nutritivne potrebe istih. Postoje navodi kako u turskim uzgajalištima godišnje ima u prosjeku od 2 do 5% deformiranih jediki (Büke, 2002). Tijekom ovog istraživanja izdvajanje deformirane mlađi se radilo na 2. mrijesnoj seriji, jer je u uzgojnom volumenu bilo > 3% deformiranih jedinki. Praksa je pokazala, da u slučaju niže postotne vrijednosti izdvajanje nije opravdano. Postotak deformiranih jedinki se može reducirati ukoliko u mrijestilištu vladaju odgovarajući zootehnički uvjeti: održavanje površina čistim, obogaćivanje žive hrane esencijalnim masnim kiselinama i vitaminima, izbjegavanje naglih promjena fizikalnih parametara vode i brzinu strujanja vode, pravilno odabranje matica (Gapasin i sur.,1998; Koumoundourus i sur. 2002, 2004; Cahu i sur. 2003; Engrola i sur., 2005). Nadalje, temperatura je najvažaniji abiotički faktor koji utječe na razvoj, rast, reprodukciju, faktor konverzije hrane i imunološki sustav ličinki. Georgakopoulou i suradnici (2007) su uočili da pri temperaturi od 15 ^{o}C postotak deformacija branhiostegalnih kostiju iznosi 27,2-33,4%, dok su deformiteti pri temeraturi od 20 ^{o}C znatno manji, i to u rasponu od 4,0-4,1%. Koumoundouros i suradnici (2002) su uz deformitete na branhiostegalnoj regiji uočili i lordozu. Tijekom našeg istraživanja najmanji broj jedinki je bio zahvaćen deformacijom lordoze. Također nisu uočeni zbirni deformiteti, tj. istovremeno nije bilo prisutno više različitih deformiteta na jedinkama. Temperatura pri kojoj je primjećen najbolji rast lubina je 22-24^{o}C (Claridge i Potter, 1983). Temperatura je tijekom ovog istraživanja bila u optimalnim granicama. Naime, u drugoj mrijesnoj seriji nisu primjećene velike temperaturne oscilacije. Najviša temperatura je bila 20,4 ^{o}C, a najmanja 19,8 ^{o}C. Takve temperature su pogodne za razvoj ranih razvojnih stadija lubina i ne odstupaju od preporučene optimalne vrijednosti temperature. Optimalna temperatura za razvoj ranih razvojnih stadija trebala bi biti u rasponu od 18 do 22 ^{o}C (Bogut i sur., 2006). Kisik uz temeraturu određuje nosivi kapacitet uzgojnog prostora. Ukoliko zasićenost kisikom padne ispod 70%, smanjuje se otpornost na razne bolesti i usporava se rast. Potrošnja kisika iznosi

200,00 % (Bogut i sur 2006.) Postotna zasićenost kisikom tijekom istraživanja je bila dostatna, srednja vrijednost kod prvog mjerenja je iznosila 178,08 %, a kod drugog 181,50 %. U intezivnom uzgoju vrijednost ukupnog amonijaka iznosi od 0,50 do 2,50 mg l^{-1} (Bogut i sur 2006). Kod visoke koncentracije amonijaka smanjuje se sposobnost prenošenja kisika, usporava se rast, oštećuju se škrge, bubrezi i jetra. U ovom istraživanju vrijedosti koncentracije ulaznog amonijaka su iznosile 0,89 mg l^{-1}, a izlaznog 0,91 mg l^{-1}. Većina abormalnosti koje pogađaju mlađ lubina, nađene su i kod divljih populacija odraslih lubina (Dahlberg, 1970; Dawson, 1971; Valentine, 1975). Kod divljih populacija, mogućnost pojavnosti deformiteta je između 0,10 i 4,00 % (Grimaldi, 1965; Gill i Fisk, 1966; Patton, 1968 Van de Kamp, 1977). Veći postotak deformacija nađen je u visoko zagađenim područnija (Meade i Harvey, 1969; Valentine, 1975). Objavljena je samo jedna studija (Nankee, 1979) o deformacijama koje se pojavljuju kod divljih populacija ranih razvojnih stadija i ona ne predstavlja kvantitativan podatak postotka deformacija prisutan *in situ.* Osim navedenih abiotičkih čimbenika, na postotak deformacije u uzgoju može utjecati i genetska komponenta, ali nasljedne osobine još uvijek nisu dostatno istražene, a dokazi o nasljedivosti skeletnih deformacija kod riba su rijetki (Divanach i sur., 1996).

Usporedbu između divljih i uzgojenih riba po pitanju deformacija kostura napravio je Stirling (1976). Lumare i Villani (1973) su smatrali da su deformiteti koji zahvaćaju kralježnicu letalni. Današnjim istraživanjima dokazano je da abnormalnosti na čeljustima mogu biti letalne kao i one koje zahvaćaju kralježnicu. Tako je npr. *pugheadness* ili „pseća glava“ česta u uzgoju lubina. Barnabe (1976) je navedeni deformitet pronašao i kod divljih vrsta lubina, a nazvao ga je *D. labrax oncocephalus.* Smatra se da je *pugheadness* najčešći oblik kod mutacije riba. Malformacije koje se nalaze na operkulumu najčešće su vanjski deformiteti mlađi koji ne utječu na kasniji rast ribe, ali zato umanjuju mogućnost prilagodbe na promjene kisika i imaju predispozicije za mikrobne infekcije škrga (Paperna i sur., 1980). Boglione i suradnici (1995) navode da se kod mlađi često pojavljuje kifoza. Kifoza je deformitet koji najčešće zahvaća 5-6 kralježak, a u lubina se razvija pri veličini od 10 do 17 mm. Kod navedenih jedinki iduća faza metamorfoze je letalna za pogođenu ribu. Također, kifoza je usko povezana s lordozom kod uzgojnih ličinki lubina (Boglione i sur., 1995). U obrađenom uzoku od 103 jedinke samo 0,048% mlađi imalo je kifozu.

Bliska veza koja je bila promatrana između deformiteta kralješaka i branhiostegalnih kostiju može se objasniti činjenicom da su ta dva skeletna elementa membranske kosti, koje se počinju razvijati u istoj ontogenetskoj fazi pri 7,50-8,50 mm ukupne dužine ličinki (Gluckmann i sur., 1999). Istraživanja su pokazala da je u navedenim slučajevima smanjeno

stvaranje kolagena i/ili je povećana kalcifikacija kostiju. Takvi histološki simptomi su najčešće vezani s nedostatkom brojnih hranjivih nutrijenata kao što su vitamin C (Sato i sur., 1983; Soliman i sur., 1986; Dabrowski i sur., 1990) i minerala (Furuichi i sur., 1997). Deformiteti na branhiostegalnim kostima povezani su s nedostatkom vitamina C i nedovoljnim obogaćenjem žive hrane masnim kiselinama (Gapasin i sur., 1988; Gapasin i Duray, 2001). Rast i preživljavanje ličinki i mlađi rezultat je poboljšanja strategije hranjenja i nutritivnog sastava žive hrane u uzgoju (Planas i Cunha, 1998). U uzgoju riba korištenih u ovom istraživanju zadovoljeni su svi potrebni parametri u ishrani mlađi lubina.

Neka istraživanja su pokazala kako mlađ sa skoliozom može narasti više i biti teža od zdravih jedinki (Bardon i sur., 2009). Međutim, to je rijetko, jer skolioza 'skraćuje' ribu, a jedinke zahvaćene skoliozom imaju smanjenu mogućnost dolaska do hrane jer im je onemogućeno normalno plivanje (McKay i Gjerde, 1986; Kause i sur., 2005; Kocour i sur., 2006). Tijekom ovog istraživanja skolioza je bila najprisutnija deformacija kod mlađi lubina (80 %).

Što se tiče lordoze, na strukturalnom nivou lordotični kralješci pokazuju više čvršćih baza te formiraju višak bočnih grebena koji idu više u visinu nego u debljinu zida kralješka. Ovakva struktura uzrokuje da lordotični kralješci imaju viši sekundarni moment područja u dorzo-ventralnom i lateralnom smjeru, nego kod normalnih kralježaka. Izgled jezgre lordotičnih kralježaka s bočnog pogleda je trapezoidan, dok kod normalnog kralješka je pravokutan (Kranenbarg i sur. 2004). Mnogo faktora je poznato da su u vezi s postotkom učestalosti lordoze u riba kao što su izostanak plivaćeg mjehura i jači protok struje (Divanach i sur., 1997; Kihara i sur., 2002). Neformirani plivaći mjehur i jak protok struje mogu utjecati na povećanu aktivnost plivanja kod mlađi. Povećana aktivnost plivanja uključuje povećanu frekvenciju rada repom i manji opseg amplitude rada repom (Bainbridge i sur., 1958; Kihara i sur., 2002) i oboje zahtjevaju povećanu mišičnu aktivnost. Sve navedeno uzrokuje povećanje u magnitudi savijajućeg momenta i tlačno opterećenje osi tako da kralježnica u konačnici postaje lordotična. Tijekom ovog istraživanja u uzorku su bile samo dvije jedinke s lordozom. Isto tako, brz rast može prouzrokovati deformitete na kralježnici lubina (Rauw i sur., 1998; Vandeppute i sur., 2009).

Prijašnje studije o abnormalnostima na kosturu uzgojnih riba jasno pokazuju da je vrlo važno provoditi kontinuirani monitoring tijekom cijelog procesa uzgoja (Koumoundouros i sur., 1997a, 1997b, 2000). Deformacije na kosturu mlađi lubina imaju ozbiljan utjecaj na kvalitetu uzgoja, stoga su istraživanja koja proučavaju razloge njihove pojavnosti izuzetno važna.

5. ZAKLJUČCI

1. Ukoliko postoji više od 3,00 % ukupne biomase deformiranih jedinki lubina u uzgojnim bazenima provodi se postupak odvajanja bolesne ribe od zdrave.

2. Izdvajanje deformirane mlađi riba u uzgoju mora se provoditi neškodljivm postupkom pazeći da se ne izazove stres zdravih jedinki.

3. U izdvojenom uzorku utvrđene su deformacije kostura kralježnice i operkuluma kod lubina, dok deformacija na repnom dijelu nije bilo.

4. Tijekom obrade uzorka od ukupno 103 jedinke utvrđene su sljedeće deformacije kralježnice mlađi lubina: skolioza (80,00 %), lordoza (1,90 %) i kifoza (4,80 %), dok je 12,60 % mlađi lubina u uzorku bilo s normalnom kralježnicom, ali oštećenim operkulumom.

5. Mlađ s deformiranom kralježnicom ima smanjeni rast i deformirani plivaći mjehur, što rezultira poteškoćama u plivanju i uzimanju hrane. Deformacije mogu dovesti do bolesti metabolizma i unutarnjih organa.

6. Mjereni abiotički čimbenici (kisik, ugljikov dioksid, temperatura i amonijak) nisu pokazali odstupanja koja bi mogla utjecati na deformacije kostura lubina.

7. Jedan od uzroka deformacija kostura može biti nepravovremeno uzimanje prve hrane, tj. artemije, koja je važna za njihov pravilan rast i razvoj.

8. Kako bi se u uzgoju izbjegli deformiteti potrebno je poznavati biologiju vrste, odabrati zdrave jedinke iz matičnog stoka, održavati optimalne uvjete u uzgojnim bazenima i pravilno provoditi zootehničke mjere.

9. Deformirane ličinke treba izdvojiti, jer troše hranu i zauzimaju prostor zdravim jedinkama, a istovremeno su ekonomski neisplative, jer se ne mogu plasirati na tržište.

6. LITERATURA

Abdel I, Abdellan E, Lopez-Albors O, Valdes P, Nortes MJ, Garcia-Alcazar A. 2004. Abnormalities in the juvenile stage of sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) reared at different temperatures: types, prevalence and effect on growth. Aquaculture International. 12: 523–538.

Bainbridge R. 1958. The speed of swimming of fish as related to size and to the frequency and amplitude of the tail beat. Journal of Experimental Biology 35: 109–133.

Barahona-Fernandes MH. 1978. L'elevage intensif des larves et des juveniles du bar *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758): donnees biologiques, zootechniques et pathologiques, These de Doctorat d'Etat, Universite Aix-Marseille 11, France. 208 str.

Barahona-Fernandes MH. 1981. Body deformation in hatchery reared European seabass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). Types, prevalence and effect on fish survival Department of Zoology, Faculty of Sciences, University of Lisbon, 1200 Lisbon, Portugal 21:239-249.

Bardon A, Vandeputte M, Dupont-Nivet M, Chavanne H, Haffray P, Vergnet A, Chatain B. 2009. What is the heritable component of spinal deformities in theEuropean seabass *Dicentrarchus labrax*? (Linnaeus, 1758). Aquaculture 294:194–201.

Barnabe G. 1976. Contribuition a la connaissance de la biologie du loup, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Poisson, Serranidae), These de I'Universite des Sciences et Techniquesdu Lanquedoc, France 228 str.

Boglione C, Marino G, Fusari A, Ferreri F, Cataudella S. 1995. Skeletal anomalies in *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) juveniles selected for functional swim bladder. ICES Marine Science Symposium 201: 163–169.

Bogut I, Horvath L, Adamek Z, Katavić I. 2006. Ribogojsvo, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, 523 str.

Bondari K. 1983. Caudal fin abnormality and growth and survival of channel catfish. Growth, 67: 361-370.

Büke E. 2002. Sea bass (Dicentrarchus labrax L.,1758) seed production. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 2: 61-69.

Cahu CL, Zambonino Infante JL, Takeuchi T. 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. Aquaculture :245–258.

Chatain B. 1986. La vessie natatoire chez *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) et *Sparus auratus* (Linnaeus, 1758): I. Aspects morphologiques du de´veloppement. Aquaculture 53:303–311.

Chatain B. 1987. La vessie natatoire chez *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) et *Sparus auratus* (Linnaeus, 1758): II. Influence des anomalies de de´veloppement sur la crois sance de la larve. Aquaculture 65: 175– 181.

Chatain B. 1994a. Abnormal swimbladder development and lordosis in sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) and seabream *Sparus auratus* (Linnaeus, 1758). Aquaculture 119: 371– 379.

Chatain B. 1994b. Estimation et amelioration des performances zootechniques de l'elevage Jarvaire de *Dicentrachus labrax* (Linnaeus, 1758) et de *Sparus auratus.* (Linnaeus, 1758) These Doctorate es Sciences, Universite d'Aix-Marseille II. 199 str.

Claridge PN i Potter IC. 1983. Movements, abundance, age composition and growth of bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), in the severn estuary and inner Bristol channel Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom Great Britain 63: 871-879.

Çoban D. 2000. Türkiye'deki akuakültur tesisllerinin levrek *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), larva yetiștricilik teknikleri. Yüksek lisans, Ege Üniversitesi Fen Bilimlari Enstitütsi, Bornova Izmir

Dabrowski K, El-Fiky N, Köck G, Frigg M, Wieser W. 1990. Requirement of ascorbic acid and ascorbic sulfate in juvenile rainbow trout. Aquaculture 91:317–337.

Dahlberg MD. 1970. Frequencies of abnormalities in Georgia estuarine fishes. Transactions of the American Fisheries Society 1:95-97.

Daoulas C, Economou AN i Bantavas I. 1991. Osteological abnormalities in laboratory reared sea-bass *Dicentrachus labrax* (Linnaeus, 1758) fingerlings. Aquaculture, 97:169-180

Dawson CE. 1971. A bibliography of anomalies of fishes. Supplement Gulf research reports 3:215-237.

Devauchelle N. 1976. Analyse quantitative et qualificative des pontes naturelles du bar *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), en captivitk. Rapports Stage Data Envelopment Analysis Oceananographique biologie. 56 str.

Devauchelle N i Coves D. 1988. The characteristics of sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), eggs: description, biochemical composition and hatching preformances

IFREMER, Centre de Brest, B.P. no 70, 29263 Ploutant' (France). DEVA-SUD, Domine de Zfajiuelone, chemin de .faguelone, 34250 Palacas-les-Flots (France).1:233-230.

Divanach P, Boglione C, Menu M, Kounoundouros G, Kentouri M, Cataudella S, 1996. Abnormalities in finfish mariculture: an overview of the problem, causes and solutions. In: Chatain B, Saroglia M, Sweetman J, Lavens P. (Eds.), Sea Bass and Sea Bream Culture: Problems and Prospects. European Aquaculture Society, Oostende, Belgium, 45–66.

Divanach P, Papandroulakis N, Anastasiadis P, Koumoundouros G, Kentouri M. 1997. Efect of water currents on the development of skeletal deformities in sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus 1758) with functional swimbladder during postlarval and nursery phase. Aquaculture 156:145–155.

Doroshev S i Aronovich TM. 1974. The effects ofsalinity on embryonic and larval development of *Eleginus navagu* (Pallas, 1776), *Boreogadus suidu* (Lepechin, 1774) and *Liopsettaglacialis* (Pallas, 1776). Aquaculture 4:3.

Dunham RA, Smitherman RO i Bondari K. 1991. Lack of inheritance of stumpbody and tail lessness in channel catfish. The Progressive Fish-Culturist 53:101-105.

Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske 2018. Dostupno sa: https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2018/01-04-01_01_2018.htm pristupljeno: 19.3.2019.

Engrola S, Conceição LEC, Gavaia PJ, Cancela ML, Dinis MT. 2005. Effects of pre weaning feeding frequency on growth, survival, and deformation of Senegalese sole, *Solea senegalensis* (Kaup, 1858). The Israeli journal of aquaculture 57 (1): 10–18.

Food and Agriculture Organization. 1999. Manual on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream – Dostupno sa: http://www.fao.org/docrep/005/x3980e/x3980e00.htm#Contents pristupljeno: 19.3.2019.

Fernández I, Hontoria F, Ortiz-Delgado JB, Kotzamanis Y, Estévez A, Zambonino-Infante JL, Gisbert E. 2008. Larval performance and skeletal deformities in farmed gilthead sea bream *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758) fed with graded levels of Vitamin A enriched rotifers *Brachionus plicatilis*. Aquaculture 283: 102–115.

Fijan N. 2006. Zaštita zdravlja riba, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, str 317-322.

FishBase: https://www.aquamaps.org/receive.php?type_of_map=regular, pristupljeno: 19.3.2019

FishBase: https://www.fishbase.se/photos/PicturesSummary.php?StartRow=0&ID=63&what=species&TotRec=15), pristupljeno: 19.3.2019.

Furuichi M, Furusho Y, Matsui S, Kitajima C. 1997. Essentiality of mineral mixture supplement to white fish meal diet for tiger puffer. Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University 42: 77– 85.

Gabriel ML. 1944. Factors affecting the number and the form of vertebrae in *Fundulus heteroclitus.*(Linnaeus, 1758) Journal of Experimental Zoology 95: 105-147.

Galeotti M, Beraldo P, de Dominis S, D'Angelo L, Ballestrazzi R, Musetti R. 2000. A preliminary histological and ultra-structural study of opercular anomalies in gilthead sea bream larvae *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758). Fish Physiology and Biochemistry 22:151–157.

Gapasin RSJ, Bombeo R, Lavens P, Sorgeloos P, Nelis H. 1998. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish *Chanos chanos* (Forsskål, 1775) larval performance. Aquaculture 162: 269–286.

Gapasin RSJ i Duray MN. 2001. Effects of DHA-enriched live food on growth, survival and incidence of opercular deformities in milkfish *Chanos chanos* (Forsskål, 1775) Aquaculture 193: 49–63.

Georgakopoulou E, Angelopoulou A, Kaspiris P, Divanach P, Koumoundouros G. 2007. Temperature effects on cranial deformities in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758.). Journal of. Applied. Ichthyology. 23: 99–103.

Gluckmann I, Huriaux F, Focant B, Vandewalle P. 1999. Postembryonic development of the cephalic skeleton in *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Pisces Perciformes, Serranidae). Bulletin of Marine Science 65:11– 36.

Gill CD i Fisk DM. 1966. Vertebral abnormalities in sockeye, pink and chim salmon. Transactions of the American Fisheries Society 95(2):177-1 82.

Grubišić F. 1967. Split, Ribe, rakovi, školjke, „Jugoriba „-Zagreb 269 str.

Grimaldi E. 1965. Frequenza della malformazione nella populazione di coregone bondella *Coregonus* sp.(Linnaeus, 1758) del lago Maggiore. Memorie dell'Istituo idrobiologia 9:93-99.

Hall BK. 2005. Bones and Cartilage: Developmental Skeletal Biology. Elsevier, London. 920 str.

Halver JE i Hardy RW. 2002. Fish Nutrition, Academic Press Incorporat., San Diego, Calofornia. 3: 182–259.

Hamre K, Yúfera M, Conceição LEC, Rønnestad I, Boglione C, Izquierdo M. 2013. Fish larval nutrition and feed formulation– knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing (a larvanet review). Reviews in Aquaculture 5: 26–58.

Han K, Geurden I i Sorgelos P. 2001. Fatty acid changes enriched and subsequently starved Artemia franciscana nauplii enriched with different sessential fatty acids. Aquaculture 199: 93-105.

Hattori M, Sawada Y, Takagi Y, Suzuki R, Okada T, Kumai H. 2003. Vertebral deformity in cultured red sea bream, *Pagrus major* (Temminck and Schlegel 1843). Aquaculture Research 23: 1129.

Harris KC i Hulsman PF. 1991. Intensive culture oflake whitefish *Coregonus clupeaformis* (Mitchill, 1818) from larvae to yearling size using dry feeds. Aquaculture 96:255-268.

Hempel G. 1971. Egg production and egg mortality in herring. In Symposium on the Biology of Early Stages and Recruitment Mechanisms of Herring (A. Saville, edition.). Rapports et procès-verbaux des réunions 160:8-11.

Hickey CR. 1973. Common abnormalities of fishes, their causes and effects. Transactions of the North American Wildlife and Natural Resources Conference 1972: 71-83

Hickey CR, Young BH i Bishop RD. 1977. Skeletal abnormalities in striped bass. New. York. Fish Game Journal. 24:69-85.

Houde ED. 1973. Some recent advances and unsolved problems in the culture of marine fish larvae. Proceedings. World Mariculture Society. 3:83-1 03.

Ishikawa Y. 1990. Development of caudal structures of a morphogenetic mutant in the teleost fish, medaka *Oryzias latipes.*(Temminck i Schlegel 1846) Journal of Morphology, 205:219-232.

Jardas I. 1996. Jadranska htiofauna, Zagreb Školska knjiga 533 str.

Jennings S; Pawson MG. 1992: The origin and recruitment of bass, *Dicentrarchus labrax,* (Linnaeus, 1758) larvae to nursery areas. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 72:199–212 .

Kause A, Ritola O, Paananen T,Wahlroos H, Mäntysaari EA. 2005. Genetic trends ingrowth, sexual maturity and skeletal deformations, and rate of inbreeding in a breeding programme for rainbow trout. Aquaculture 247: 177–187.

Koumoundouros G, Gagliardi F, Divanach P, Boglione C, Cataudella S, Kentouri M. 1997a. Normal and abnormal osteological development of caudal fin in *Sparus aurata* (Linneaus, 1758). Aquaculture 149: 215–226.

Koumoundouros G, Oran G, Divanach P, Stefanakis S, Kentouri M. 1997b. The opercular complex deformity in intensive gilthead sea bream *Sparus aurata* (Linneaus, 1758.) larviculture. Moment of apparition and description. Aquaculture 156: 165– 177.

Koumoundouros G, Divanach P, Savaki A, Kentouri M. 2000. Effects of three preservation methods on the evolution of swim bladder radiographic appearance in sea bass and sea bream juveniles. Aquaculture 182: 17–25.

Koumoundouros, G., Divanach, P., Kentouri, M., 2001. The effect of rearing conditions on development of saddleback syndrome and caudal fin deformities in *Dentex dentex* (Linneaus, 1758). Aquaculture 200:285–304.

Koumoundouros G., Maingot, E., Divanach, P., Kentouri, M., 2002. Kyphosis in reared sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linneaus 1758.): ontogeny and effects on mortality. Aquaculture 209, 49–58.

Koumoundouros G, Carrillo J, Divanach P, Kentouri M. 2004. The rearing of common dentex *Dentex dentex* (Linneaus, 1758.) during the hatchery and on-growing phases. Aquaculture 240: 165 173.

Komada N. 1980 Growth of Vertebral Centra in the Cyprinid Fish, *Tribolodon hakonensis* (Günther, 1877) Japanise Journal of Ichthyology 351-356.

Komen H, Haffray P, Kaushik S, New M, Olesen I, Liinamo AE. 2002. Defining breeding goals for the future sustainable aquaculture.World Aquaculture. Europe. 11–14.

Kocour M, Linhart O, Vandeputte M. 2006. Mouth and fin deformities in common carp: is there a genetic basis? Aquaculture Research. 37:419–422.

Kihara M, Ogata S, Kawano N, Kubota I, Yamaguchi R. 2002. Lordosis induction in juvenile red sea bream, *Pagrus major* (Temminck i Schlegel, 1843) by high swimming activity. Aquaculture 212:148–149.

Kranenbarga S, Waarsingb HJ, Mullera M, Weinansb H, van Leeuwena LJ. 2004. Lordotic vertebrae in sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus 1758) are adapted to increased loads Experimental Zoology Group, Wageningen University, Marijkeweg 40, 6709 PG Wageningen, The Netherlands Erasmus Orthopaedic ResearchLaboratory, Rotterdam, The Netherlands 1239-124.

Lall SP. 2002. The minerals. In: Halver JE, Hardy RW (eds) Fish Nutrition,. Academic Press Incorporated., San Diego, California. 3259–308.

Lall SP i Lewis-McCrea LM. 2007. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish an overview. Aquaculture 267: 3–19.

Lewis-McCrea LM, Lall SP. 2010. Effects of phosphorus and vitamin C deficiency, vitamin A toxicity, and lipid peroxidation on skeletal abnormalities in Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*.(Linnaeus 1758) Journal of Applied Ichthyology 26: 334–343.

Lagardère F, Boulhic M, i Burgin T. 1993. Anomalies in the cephalic area of laboratory-reared larvae and juveniles of the common sole, *Solea solea* (Linnaus, 1758) oral jaws apparatus, dermal papillae and pigmentation. Environmental Biology of Fishes, 36: 35-46.

Lumare F. i Villani 1973. Recherche sulla riproduzione artificiale ed allevamento delle larvae in *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus ,1758). Bollettino Pesca Piscatoria. Idrobiologia 28 : 71-75.

Lim C, Lovell RT. 1978. Pathology of the vitamin C deficiency syndrome in channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque, 1818) The Journal of Nutrition 108: 1137– 1146.

MacConnell E i Barrows FT. 1993. Pathological changes associated with vitamin C deficiency in walleyes. Journal of Aquatic and Animal Health 5: 287-293.

Marangos C, Yagi H, Ceccaldi HJ. 1986: The role of temperature and salinity on hatching rate and morphogenesis during embryo development in *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Pisces, Teleostei, Serranidae). Aquaculture 54, 287–300.

Matsusato T. 1986. Studies on the skeletal anomaly of fishes. Bulletin of National Research Institute of Aquaculture (Japan) Yoshokukenho, 10: 57-179.

McKay LR, Gjerde B. 1986. Genetic variation for a spinal deformity in Atlantic salmon, *Salmo salar*. (Linnaeus, 1758) Aquaculture 52: 263–272.

Meade TGI, Harvey JS Jr. 1969. High incidence of deformities in the Serrainidae fish, *Paralabrax nebulver*, (Girard, 1854) from Southern California. Copeia 3: 637-638.

Nash CE. 1977. The breeding and cultivation of marine fish species for mariculture.3rd Meeting of the ICES Working Group on Mariculture, Actes des Colloques American Fisheries Society 1:95-97. CNEXO 4: 1-10.

Nacionalni strateški plan razvoja akvakulture za razdoblje 2014-2020. 2015. Dostupno sa: https://ribarstvo.mps.hr/UserDocsImages/akvakultura/NSPA%202014-2020_hrv.pdf pristupljeno: 19.3.2019

Nankee R. 1979. Observations of naturally occurring anomalies in the ichthyoplankton of Long Island and Nidatic Bay, Connecticut. Symposium on the Early Life History ofFish, Woods Hole, USA., 6 str .

Norton LA, Proffit WR i Moore RR. 1969. Inhibition of bone growth in vitro by endotoxin: histamine effect. Nature, London. 221:469-471.

Nguyen VT, Satoh S, Haga Y, Fushimi H, Kotani T. 2008. Effect of zinc and manganese upplementation in Artemia on growth and vertebral deformity in red sea bream *Pagrus major* (Temminck i Schlegel, 1843) larvae. Aquaculture 285: 184–192.

Paperna I, Ross B, Colorni A i Colorni B. 1980. Disease of marine fish cultured in Eilat mariculture project. General Fisheries Councilfor the Mediterranean\Reports 57: 29-32.

Patton BG. 1968. Abnormal freshwater fishes in Washington streams. Copeia 2: 399-401.

Pommeranz T. 1974. Resistance of plaice eggs to mechanical stress and light. In *The Early History of Fish* JHS. Blaxter, edition. Berlin: Springer-Verlag. 397-416.

Planas M i Cunha I. 1998. Larviculture of marine fish problems and perspectives, Aquaculture 177: 171-190.

Rauw WM, Kanis E, Noordhuizen-Stassen EN, Grommers FJ. 1998. Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. Livestock. Production Science. 56: 15–33.

Ross SA, Caffery PJ, Draguer UC, De Luca LM. 2000. Retinoids in embryonal development. Physiological Reviews 80: 1021–1054.

Rønnestad I, Yúfera M., Ueberschär B, Ribeiro L, Sæle Ø,Izquierdo M, Boglione C. 2013. Feeding behaviour and digestion physiology in larval fish current knowledge and gaps and bottlenecks in research. Reviews in Aquaculture 5: 59–98.

Sato M, Kondo T, Yoshinaka R., Ikeda S. 1983. Effect of water temperature on the skeletal deformity in ascorbic-acid deficient rainbow trout. Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish. 49: 443– 446.

Sargent JR, McEvory LA, Estavez A, Bell G, Bell M, Henderson J i Tocker D. 1999. Lipid nutrati on of marine fish during early development: current statusand future directions Aquaculture 179: 217-229.

Sawada Y., Hattori M., Sudo N., Kato K., Takagi Y., Ura K, Kurata M, Okada T, Kumai H. 2006. Hypoxic conditions induce centrum defects in red sea bream *Pagrus major* (Temminck i Schlegel). Aquaculture Research 37: 805–812.

Soliman AK, Jauncey K, Roberts RH. 1986. The effect of varying forms of dietary ascorbic acid on the nutrition of juvenile tilapias *Oreochromis niloticus*.(Linnaeus, 1758) Aquaculture 52: 1 –10.

Sfakianakis DG, Koumoundouros G, Divanach P, Kentouri M. 2004. Osteological development of the vertebral column and of the fins in *Pagellus erythrinus* (Linnaeus,

1758). Temperature effect on the developmental plasticity and morpho-anatomical abnormalities. Aquaculture 232:407–424.

Skaramuca B, Tesekeredžić Z, Teskeredžić E. 1997. Marikultura u Hrvatskoj, povijest i perspektive. Croatian Journal of Fisheries., 26 str .

Stirling HP. 1976 Effects of experimental feeding and starvation on the proximate composition of the European bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). Marine. Biology. 34:85-91.

Treer T, Safner R, Ančic I, Lavrinov M. 1995. Ribarsvo, Nakladni zavod globus Zagreb 464 str.

Turk T. 2011. Pod površinom Mediterana, Zagreb Školska knjiga, 592 str.

Vandeppute M, Dupont-Nivet M, Haffray P, Chavanne H, Cenadelli S, Parati K,Vidal MO,Vergnet A, Chatain B. 2009. Response to domestication and selection for growth in the European sea bass Dicentrarchus labrax (Linneaus, 1758) in separate and mixed tanks. Aquaculture, 286: 20–27.

Valentine DW. 1975. Skeletal anomalies in marine fishes. In The Pathology of Fishes W. E. Ribelin and G. Migaki, eds. Madison, Wisconsin: University of Wisconsin Press 1004 str

Van de Kamp G. 1977. Vertebral deformities in herring around the British Isles and their use fulness for a pollution monitoring program. *ICES doc. 1977, CM/E:* 5.9 .744.str.

Verhaegen Y, Adriaens D, de Wolf T, Dhert P, Sorgeloos P. 2007. Deformities in larval gilthead sea bream *Sparus aurata*: (Linnaeus, 1758) a qualitative and quantitative analysis using geometric morphometrics. Aquaculture 268: 156–168.

Villamizar N, García-Alcazara A, Sánchez-Vázquez FJ. 2009. Effect of light spectrum and photoperiod on the growth, development and survival of European sea bass. Aquaculture 80-86

Waagbø R. 2010. Water-soluble vitamins in fish ontogeny. Aquaculture Research 41: 733–744 *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) larvae. Aquaculture 292: 80-86.

Witten PE, Huysseune A. 2009. A comparative view on mechanisms and functions of skeletal remodeling in teleost fish, with special emphasis on osteoclasts and their function. Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society 84:315.

Zambonino-Infante JL, Katharios P, Koumoundouros G, Tandler A. 2009. Recommendations on prevention o malformations in seabass and seabream. FEMS Belgium, 141-145.