

## Ειδικές Δράσεις «ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ»

ΜΑΓΙΑΤΙΚΟ Τ6ΥΒΠ-0068



### Παραδοτέο

<b>Αριθμός Παραδοτέου:</b>	Π1.6.1	<b>Μήνας Παράδοσης ΤΠΕ:</b>	24
<b>Τίτλος Παραδοτέου</b>	Επίδραση της διατροφής γεννητόρων μαγιάτικου στη σύσταση των αυγών ως προς την υγρασία, στάχτη, λίπος, πρωτεΐνη, ενέργεια και λιπαρά οξέα, και στη ποιότητα των αυγών.		
<b>Ενότητα Εργασίας (ΕΕ):</b>	1	<b>Συντονιστής ΕΕ:</b>	ΙΘΑΒΒΥΚ
<b>Τίτλος ΕΕ:</b>	Διαχείριση γεννητόρων και αναπαραγωγή		
<b>Αριθμός Εργασίας:</b>	1.6	<b>Υπεύθυνος Παραδοτέου:</b>	ΙΘΑΒΒΥΚ
<b>Τίτλος εργασίας:</b>	Αλλαγές στην σύσταση και ποιότητα αυγών σε σχέση με την διατροφή των γεννητόρων		
<b>Εταίροι:</b>	ΙΘΑΒΒΥΚ	ΑΡΓΟ	ΓΑΛΑΞΙΔΙ
<b>Κατάσταση:</b>	Ολοκληρωμένο	<b>Μήνας παράδοσης:</b>	20
.....			

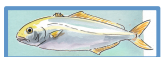
**Υπεύθυνοι ερευνητές για το παραδοτέο:** Χατζηφώτης, Σ. (ΙΘΑΒΒΥΚ), Φακριάδης, Ι. (ΙΘΑΒΒΥΚ), Μυλωνάς, Κ. (ΙΘΑΒΒΥΚ)

**Συνεργαζόμενοι ερευνητές:** Βερνάδου, Ε. (ΙΘΑΒΒΥΚ), Συγγελάκη, Ε. (ΙΘΑΒΒΥΚ) Ραφτόπουλος Τ. (ΑΡΓΟ), Τσακωνίτη, Κ. (ΓΑΛΑΞΙΔΙ), Καραπαναγιώτης, Σ. (ΓΑΛΑΞΙΔΙ)

### Σύντομη περιγραφή (ΤΠΕ):

Η έκθεση περιλαμβάνει την εκτίμηση των επιπέδων υγρασίας, στάχτης, λίπους, πρωτεΐνης, ενέργειας και λιπαρών οξέων αλλά και στοιχεία για την ποσότητα και ποιότητα των αυγών, δηλαδή της γονιμότητας και γονιμοποίησης.





## Εισαγωγή

Η διατροφή των γεννητόρων επηρεάζει τη σύνθεση της λεκίθου του αυγού και κατ' επέκταση την ποιότητά του, αλλά και την ανάπτυξη των εμβρύων τα οποία θα χρησιμοποιήσουν την λεκίθο ως τροφή (Izquierdo et al., 2001). Η μετέπειτα εμβρυϊκή ανάπτυξη και η ανάπτυξη των προνυμφών στους τελεόστεους εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τα θρεπτικά συστατικά που ενσωματώνονται στο ωάριο κατά τη διάρκεια της ωογένεσης (Brooks et al., 1997; Kjørsvik et al., 1990; Mommens et al., 2015). Συγκεκριμένα, οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια, οι βιταμίνες και τα μέταλλα μεταφέρονται στα ωοκύτταρα κατά τη διάρκεια της λεκιθογένεσης (Lubzens et al., 2010). Η έλλειψη βασικών συστατικών (π.χ. βιταμινών) για κάθε είδος στην διαίτα του ή η μειωμένη ποσότητα τροφής που τους παρέχεται οδηγεί σε σημαντικά προβλήματα της αναπαραγωγής (Izquierdo, et al., 2001). Αυτό ισχύει ιδιαίτερα για τα νέα καλλιεργούμενα είδη, για τα οποία δεν είναι ακόμα γνωστές οι ακριβείς διατροφικές τους απαιτήσεις ή δεν μπορούν ακόμα να ικανοποιηθούν σε συνθήκες εκτροφής. Έτσι κρίνεται αναγκαίο να βελτιωθεί η διαίτα των γεννητόρων για την εξασφάλιση καλής ποιότητας αυγών και βιώσιμων προνυμφών (Izquierdo, et al., 2001).

Παράλληλα, στα πλαίσια της διαφοροποίησης των ειδών εκτροφής και των νέων συστημάτων ιχθυοκαλλιέργειας που αναπτύσσονται, η ικανότητα ελέγχου της ποιότητας των αυγών παραμένει ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα (Migaud et al., 2013). Για τα είδη που χρησιμοποιούνται στην ιχθυοκαλλιέργεια και έχουν μελετηθεί αρκετά, η βελτίωση της ποιότητας των αυγών είναι ένας πιθανός τρόπος βελτίωσης της βιωσιμότητας του συστήματος εκτροφής τους (Bobe, 2015). Η εκτίμηση της ποιότητας των αυγών μέσω της παρακολούθησης της ανάπτυξής τους είναι μια χρονοβόρα και δύσκολη διαδικασία. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται ορισμένοι δείκτες για την εκτίμηση της ποιότητας, οι οποίοι βασίζονται σε ορισμένα χαρακτηριστικά των αυγών που λειτουργούν ως προγνωστικοί δείκτες για την αναπτυξιακή τους δυναμική (Bobe & Labbé, 2010). Ορισμένοι δείκτες που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της ποιότητας των αυγών έχουν να κάνουν αφενός με μορφολογικά χαρακτηριστικά, όπως οι διαστάσεις, το σχήμα και η διαφάνεια των αυγών, η κατανομή και ο όγκος της λιπιδικής σταγόνας, οι παραμορφώσεις αυγών και προνυμφών και η μορφολογία των πρώτων βλαστομεριδίων, και αφετέρου με μη μορφολογικά χαρακτηριστικά, όπως η πλευστότητα, η γονιμοποίηση, η γονιμότητα και η επιβίωση αυγών και προνυμφών (Avery et al., 2009; Mylonas et al., 2004; Pavlov & Emel'yanova, 2008; Penney et al., 2006; Roldán et al., 2013; Thorsen et al., 2003).

Μία από τις μεθόδους στηρίζεται στην συνδυαστική παρατήρηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών του αυγού και της ικανότητας επιτυχημένης ανάπτυξης των εμβρύων (Bobe & Labbé, 2010). Αν όχι σε όλες, τότε σίγουρα στις περισσότερες περιπτώσεις οι μορφολογικές παράμετροι του αυγού μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση των εξαιρετικά κακής ποιότητας αυγών, πλην όμως αυτές οι μέθοδοι δεν κρίνονται κατάλληλες για την διάκριση των αυγών που παρουσιάζουν εύρος διαφορετικών αναπτυξιακών δυνατοτήτων (Ciereszko et al., 2009). Επιπλέον, αν και είναι γνωστό ότι τα μεγαλύτερα αυγά παράγουν και μεγαλύτερες προνύμφες, η χρήση του μεγέθους των αυγών ως δείκτη αξιολόγησης της ποιότητάς τους στα εκτρεφόμενα ψάρια είναι αμφιλεγόμενος. Για παράδειγμα στην ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) ο παράγοντας αυτός φαίνεται να μην έχει σχέση με την ποιότητα των αυγών (Bromage et al., 1992). Αντίθετα, άλλοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η διάμετρος φαίνεται να είναι ένα από τα σημαντικότερα κριτήρια για τον προσδιορισμό της ποιότητας των αυγών στα ψάρια (Kamler, 2005; Kjørsvik, et al., 1990). Επίσης, η μορφολογία των πρώτων εμβρυϊκών κυττάρων (βλαστομερή), μπορεί εύκολα να παρατηρηθεί στα είδη ψαριών με διαφανή έμβρυα (Kjørsvik et al., 2003; Rideout et al., 2004), όμως η φυσιολογική διάσπασή τους δεν συνεπάγεται απαραίτητα μία επιτυχημένη και φυσιολογική ανάπτυξη (Avery, et al., 2009). Συχνά τα ανώμαλα βλαστομερή που εμφανίζουν ασυμμετρίες στα πρώτα στάδια τους αντιστοιχούν σε αυγά χαμηλής ποιότητας και βιωσιμότητας (Valdebenito et al., 2015) και ενδεχομένως θα δημιουργήσουν παραμορφωμένα έμβρυα και προνύμφες (Bobe & Labbé, 2010; Bonnet et al., 2007a). Η παρατήρηση των εμβρυϊκών ή προνυμφικών δυσμορφιών είναι πολύτιμο εργαλείο για τον χαρακτηρισμό του αναπτυξιακού δυναμικού των γονιμοποιημένων αυγών. Στην ιριδίζουσα πέστροφα έχει βρεθεί πως συγκεκριμένες συνθήκες διαχείρισης των γεννητόρων προκαλούν διάφορες δυσμορφίες στους απογόνους (Bonnet et al., 2007b). Επιπλέον, έχει επιβεβαιωθεί πως υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της μακροχρόνιας διαχείρισης των γεννητόρων και της χρήσης γηρασμένων (ageing) ωοκυττάρων με την εμφάνιση μίας συγκεκριμένης δυσμορφίας (Aegerter et al., 2005). Στα γονιμοποιημένα ωάρια μπορούν να



παρατηρηθούν ένα ή περισσότερα σταγονίδια λιπιδίου που παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιβίωση των προνυμφών (Sink & Lochmann, 2008). Συνεπώς, παρ' όλο που οι διαθέσιμες πληροφορίες που συσχετίζουν τον αριθμό των λιπιδιακών σταγονιδίων των αυγών και την ποιότητάς τους είναι περιορισμένες, η κατανομή τους μέσα στο αυγό μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης αξιολόγησής τους, ιδιαίτερα στα θαλασσινά ψάρια (Mansour et al., 2007). Ένα παράδειγμα που φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση αριθμού λιπιδιακών σταγόνων και ποιότητας αυγών είναι αυτό της ιαπωνικής τσιπούρας (*Pagrus major*), όπου τα αυγά με μεγαλύτερο αριθμό τέτοιων σταγονιδίων παρουσιάζουν ανώμαλη ανάπτυξη (Watanabe, 1995). Επίσης στα φυσιολογικά αυγά η κατανομή των λιπιδιακών σταγονιδίων είναι ομοιόμορφη, ενώ στα υπερώριμα ή κακής ποιότητας αυγά αυτές συγκεντρώνονται στον έναν πόλο του αυγού όπως παρατηρήθηκε στην ιριδίζουσα πέστροφα (Azuma et al., 2003) και στην κοινή πέστροφα (*Salmo trutta*) (Mansour, et al., 2007). Αυτές οι λιπιδιακές σταγόνες είναι υπεύθυνες για την διατήρηση της πλευστότητας των αυγών (στα θαλασσινά ψάρια) κατά τη διάρκεια της επώασης και λειτουργούν ως ενεργειακό απόθεμα και τελική πηγή θρεπτικών για την προνύμφη, μόλις καταναλωθεί η λέκιθος του αυγού (Bobe & Labbé, 2010; Vassallo-Agius et al., 2001).

Σε είδη με πελαγικά αυγά, η ποιότητα των γαμετών συνδέεται με την ικανότητα πλευστότητάς τους, που εξαρτάται κυρίως από τις σταγόνες λιπιδίων που περιέχονται στο κυτταρόπλασμα. Τα μη βιώσιμα αυγά καθιζάνουν μετά την ωοτοκία, έτσι ώστε να μπορούν να απομακρυνθούν εύκολα και να μην εισέλθουν στα συστήματα επώασης και αυτή η ποιοτική παράμετρος έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορα είδη (Valdebenito, et al., 2015). Από βιολογική άποψη, η ποιότητα των ωοκυττάρων μπορεί να οριστεί ως η ικανότητά τους να γονιμοποιηθούν και στη συνέχεια να εξελιχθούν σε ένα φυσιολογικό έμβρυο. Η επιτυχία της γονιμοποίησης είναι ίσως ένας από τους πρώτους δείκτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της ποιότητας των αυγών. Σε ορισμένα είδη, η μέτρηση του ποσοστού γονιμοποίησης είναι ένα από τα βασικά κριτήρια για την εκτίμηση της ποιότητας των γαμετών, ιδιαίτερα για τα είδη με διαφανή αυγά (Bromage, et al., 1992). Ένας άλλος μη μορφολογικός δείκτης είναι η γονιμότητα, που ορίζεται ως ο αριθμός των γαμετών που παράγονται από έναν οργανισμό. Επομένως, αποτελεί μία ποσοτική μεταβλητή ο υπολογισμός της οποίας έχει ιδιαίτερη σημασία για την εκτίμηση της αναπαραγωγικής επιτυχίας και ποιότητας των γαμετών (Αντωνοπούλου, 2015). Τέλος, η εμβρυϊκή επιβίωση σε ένα συγκεκριμένο αναπτυξιακό στάδιο είναι ένας από τους πιο συνηθισμένους τρόπους χαρακτηρισμού της ικανότητας ενός γονιμοποιημένου αυγού να αναπτυχθεί φυσιολογικά. Επομένως, η επιβίωση μπορεί να παρακολουθηθεί σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια, όπως το στάδιο ανοίγματος των ματιών (the eyed stage), της εκκόλαψης και αυτό της κατανάλωσης της λεκίθου (Bobe & Labbé, 2010). Η επιβίωση των αυγών αλλά και των προνυμφών μετά την πρώτη σίτισή τους φαίνεται να επηρεάζεται ισχυρά από την σύσταση των αυγών σε λιπαρά οξέα. Μάλιστα αυτά που αντιπροσωπεύουν σε μεγάλο βαθμό τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα είναι το λινολεϊκό οξύ [(C18:2ω-6cis)] και το εικοσιδυοεξαενοϊκό οξύ (DHA), αποτελώντας και την πλειοψηφία των ωμέγα-6 και ωμέγα-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) αντίστοιχα. Βέβαια παρατηρείται πως ισχυρότερες συσχετίσεις μεταξύ λιπαρών οξέων, εκκολαψιμότητας και επιβίωσης αυγών και προνυμφών δείχνει ο λόγος DHA: EPA (εικοσαπεντανοϊκό οξύ, C20:5ω-3) καθώς και τα συνολικά ωμέγα-6 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (Broach et al., 2017). Όπως ήδη έχει αναφερθεί, μία ακατάλληλη διατροφή των γεννητόρων, ως προς τη σύσταση της τροφής σε λιπαρά οξέα, μπορεί να οδηγήσει σε ανεπαρκείς ωοτοκίες, αναπαραγωγικές δυσλειτουργίες και τελικά κακής ποιότητας αυγά (Hauville et al., 2015; Lund et al., 2007).

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η σύγκριση της ποιότητας και της σύστασης των αυγών του μαγιάτικου (*Seriola dumerili*) που συλλέχθηκαν από δύο μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας, τις Ιχθυοκαλλιέργειες Αργοσαρωνικού Α.Ε. και Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες Α.Ε.. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε αν υπάρχουν διαφορές στα αυγά εξαιτίας της διαφορετικής διατροφής των γεννητόρων, όσον αφορά τα επίπεδα υγρασίας, στάχτης, λίπους, πρωτεΐνης, ενέργειας και λιπαρών οξέων αλλά και της ποσότητας και ποιότητας των αυγών, δηλαδή της γονιμότητας και γονιμοποίησης.

## **Υλικά και Μέθοδοι**



## Διαχείριση γεννητόρων

Οι γεννήτορες διατηρούνταν στις εγκαταστάσεις των εταιρειών Ιχθυοκαλλιέργειες Αργοσαρωνικού Α.Ε. (ARGO) και Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες Α.Ε. (GMF) σε ιχθυοκλωβούς (Πίνακας 1). Τα μαγιάτικα αλιεύθηκαν το 2011 με γρι-γρι στην περιοχή του Αστακού Αιτωλοακαρνανίας και όταν μεταφέρθηκαν στις μονάδες το 2014 είχαν βάρος 5-7 kg. Οι ιχθυοκλωβοί ήταν πλησίον της ακτής όπου βρίσκονταν οι χερσαίες εγκαταστάσεις των εταιρειών. Τα μαγιάτικα τρέφονταν είτε με ξηρή τροφή (Vitalis CAL, 22 mm, Skretting, Norway) στον Αργοσαρωνικό, είτε με νωπά ψάρια στο Γαλαξίδι.

**Πίνακας 1:** Περιγραφή των διαφορετικών ομάδων γεννητόρων που διατηρούνταν σε ιχθυοκλωβούς στις δύο εταιρείες.

Γεννήτορες	Μέθοδος εκτροφής	Όγκος (m <sup>3</sup> )	Αριθμός ατόμων (Αρσ./Θηλ.)	Βάρος (kg)	Τροφή
ARGO	ιχθυοκλωβοί	1018	14/15	10.7-23.6	ξηρή τροφή
GMF	ιχθυοκλωβοί	1018	14/14	11.8-21.5	ψάρια

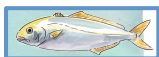
Οι γεννήτορες, κατά την εκτιμώμενη αναπαραγωγική περίοδο, αξιολογήθηκαν αναπαραγωγικά και έγινε πρόκληση ωοτοκίας με τη χρήση εμφυτευμάτων GnRH<sub>a</sub>, με δόση 64±17 μg kg<sup>-1</sup> GnRH<sub>a</sub> για τα θηλυκά και 48±12 μg kg<sup>-1</sup> GnRH<sub>a</sub> για τα αρσενικά, και μεταφέρθηκαν σε χερσαίες δεξαμενές με αναλογία φύλου 1:1. Επιλέχθηκαν τα θηλυκά που είχαν διάμετρο των μεγαλύτερων λεκιθογενών ωοκυττάρων > 600 μm και τα αρσενικά που ήταν σπερμιάζοντα (Fakriadis et al., 2019). Οι δεξαμενές ήταν όγκου 21-23-m<sup>3</sup>, στις οποίες υπήρχε παροχή θαλασσινού νερού και η θερμοκρασία κυμαινόταν από 20-24°C. Οι δεξαμενές ήταν εφοδιασμένες με παθητικό συλλέκτη αυγών στην έξοδο της δεξαμενής. Έγιναν προσπάθειες ταΐσματος των ψαριών κατά την παραμονή τους στις δεξαμενές χωρίς αποτέλεσμα. Μετά το τέλος των πειραμάτων τα ψάρια επεστράφησαν στους ιχθυοκλωβούς.

## Αξιολόγηση της ποιότητας των αυγών

Οι συλλέκτες αυγών ελέγχονταν για την παρουσία αυγών τρεις φορές την ημέρα. Για κάθε ωοτοκία η ημερομηνία, η ώρα συλλογής και το στάδιο ανάπτυξης των αυγών καταγραφόταν (Tachihara et al., 1993), με σκοπό να προσδιοριστούν διαφορετικές ωοτοκίες. Τα αυγά μεταφέρονταν σε κουβά 10-L και γινόταν εκτίμηση του αριθμού τους (γονιμότητα), μετρώντας τον ολικό αριθμό αυγών σε ένα δείγμα 10 ml, μετά από έντονη ανάδευση. Παράλληλα, το ποσοστό γονιμοποίησης υπολογίστηκε. Η ημερήσια σχετική γονιμότητα υπολογίστηκε ως ο αριθμός των αυγών κάθε ημέρας προς το βάρος των θηλυκών. Η ολική σχετική γονιμότητα υπολογίστηκε ως το σύνολο των αυγών που παράχθηκαν διαιρούμενο με το βάρος των θηλυκών. Μετά τη λήψη του δείγματος, τα αυγά μεταφέρονταν σε επωαστήρα, ο οποίος τροφοδοτούνταν με νερό ίδιας σύστασης και θερμοκρασίας με αυτή της δεξαμενής ωοτοκίας. Για την εκτίμηση της σύστασης των αυγών δείγμα αυγών 5 ml αποθηκεύονταν στους -20°C, μέχρι τη μεταφορά τους στο Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών (ΙΘΑΒΒΥΚ), όπου και μεταφέρθηκαν στους -80°C. Συνολικά συλλέχθηκαν 22 ωοτοκίες από τον Αργοσαρωνικό και 6 ωοτοκίες από το Γαλαξίδι.

## Προετοιμασία δειγμάτων για βιοχημικές αναλύσεις

Οι αναλύσεις των δειγμάτων έγιναν στο εργαστήριο διατροφής ιχθύων του ΙΘΑΒΒΥΚ. Τα δείγματα λυοφιλοποιήθηκαν (Telstar Cryodos), για διάστημα 3 ημερών, σε θερμοκρασία -50 με -80°C και σε κενό με



τη χρήση αντλίας αέρα (Varian DS 102), για την αφαίρεση της υγρασίας τους. Στη συνέχεια ακολουθήθηκαν εξειδικευμένα πρωτόκολλα για τη μέτρηση διαφορετικών παραμέτρων. Πιο αναλυτικά:

**Υγρασία:** Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε πορσελάνες ελεύθερες από υγρασία και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε κλίβανο ξήρανσης (Termarks Series TS 8000) στους 90°C για την απομάκρυνση της υγρασίας τους έως την απόκτηση σταθερού βάρους. Ο υπολογισμός της υγρασίας έγινε μέσω του τύπου:

$$\text{Υγρασία (\%)} = [(B - \Gamma) / (B - A)] * 100$$

όπου: A = βάρος πορσελάνης

B = βάρος πορσελάνης μαζί με το δείγμα

Γ = βάρος πορσελάνης μαζί με το δείγμα μετά την απομάκρυνση της υγρασίας.

**Τέφρα:** Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε πορσελάνες ελεύθερες υγρασίας και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε κλίβανο τέφρας (Heraeus M110, Heraeus Instruments) για 7 ώρες στους 700°C. Ο υπολογισμός της τέφρας έγινε μέσω του τύπου:

$$\text{Τέφρα (\%)} = [(\Gamma - A) / (B - A)] * 100$$

όπου: A = βάρος πορσελάνης

B = βάρος πορσελάνης μαζί με το δείγμα

Γ = βάρος πορσελάνης μαζί με την τέφρα.

**Λίπος:** Τα λίπη απομονώθηκαν με διάλυμα χλωροφορμίου-μεθανόλης (Folch et al., 1957) και μετρήθηκε το βάρος τους. Το ποσοστό του λίπους σε κάθε δείγμα υπολογίστηκε από τον τύπο:

$$\text{Λίπος (\%)} = [(\Gamma - B) / A] * 100$$

όπου: A = βάρος δείγματος

B = βάρος άδειας φλάσκας

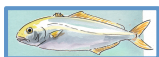
Γ = βάρος φλάσκας μαζί με το λίπος.

**Λιπαρά οξέα:** Η ανάλυση των λιπαρών οξέων έγινε μέσω σχηματισμού μεθυλεστέρων με μετεστεροποίηση σε μεθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου ως ενδιάμεση φάση πριν από τη σαπωνοποίηση. Οι μεθυλεστέρες στην συνέχεια διαχωρίστηκαν με αέρια χρωματογραφία (Shimadzu 2010). Το όργανο χρωματογραφίας ήταν εξοπλισμένο με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας και τριχοειδή στήλη (πάχος μεμβράνης 60m × 0,25 mm.d. × 0,15 μm). Το ήλιο χρησιμοποιήθηκε ως αέριο φορέας σε σταθερή ροή 2 ml/min, η αναλογία διαχωρισμού ήταν 1:50 και ο όγκος που εγχύθηκε 1.0μl. Η θερμοκή διαβάθμιση της στήλης ήταν 50°C σε 1 λεπτό, 50°C έως 175°C με 25°C –ανά λεπτό, 175°C έως 230°C με 4°C –ανά λεπτό και διατηρήθηκε στους 230°C για 15 λεπτά. Η θερμοκρασία του εγχυτήρα και του ανιχνευτή διατηρήθηκε στους 250 και 280°C, αντίστοιχα. Τα λιπαρά οξέα ταυτοποιήθηκαν σε σύγκριση με ένα γνωστό πρότυπο μείγμα (Supelco 37 Component FAME Mix). Τα περιεχόμενα μεθυλεστέρα λιπαρού οξέος εκφράστηκαν ως % του συνολικού FAME.

**Πρωτεΐνες:** Η σύσταση των δειγμάτων σε πρωτεΐνες έγινε με μέτρηση της ποσότητας του αζώτου μέσω της χρήσης αναλυτή αζώτου (Leco FP-528) μέθοδο του Dumas και ο υπολογισμός του ποσοστού της πρωτεΐνης στα δείγματα έγινε σύμφωνα με τους παρακάτω τύπους:

$$\text{N2 (\%)} = (A / B) * 100$$

όπου: A = η τιμή του αζώτου από τη μέτρηση του αναλυτή σε mg



B = βάρος δείγματος

Πρωτεΐνη (%) = N2 (%) \* F

όπου: F = ο συντελεστής μετατροπής (6.25). Οι περισσότερες πρωτεΐνες περιέχουν 16% αζώτου και έτσι το ολικό άζωτο μετατρέπεται σε ποσοστό πρωτεΐνης (100/16=6.25).

**Ενέργεια:** Για τον υπολογισμό της ενέργειας των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το θερμιδόμετρο βόμβας (Parr 6300 Calorimeter). Ο υπολογισμός της ενέργειας γίνεται μέσω του τύπου:

$HC = (W * T - e1 - e2 - e3) / m$

όπου: HC = ενέργεια που περιέχεται στο δείγμα (cal/gr) και απελευθερώνεται με την καύση του.

T = παρατηρούμενη διαφορά θερμοκρασίας του νερού (°C).

W = ενέργεια που ισοδυναμεί με τη λειτουργία του θερμιδόμετρου (cal/°C). Πρόκειται για την ενέργεια που χρειάζεται ώστε να αυξηθεί η θερμοκρασία του θερμιδόμετρου κατά ένα βαθμό. Η τυποποίηση αυτής της παραμέτρου γίνεται με βαθμονόμηση του θερμιδόμετρου χρησιμοποιώντας σβόλους βενζοϊκού οξέος.

e1 = θερμότητα που παράγεται από την καύση του αζώτου που περιέχεται στον αέρα που βρίσκεται εγκλωβισμένος μέσα στον κύλινδρο καύσης (cal).

e2 = θερμότητα που παράγεται κατά το σχηματισμό θειϊκού οξέος, από την αντίδραση του θείου που βρίσκεται στο δείγμα, υδρατμών και οξυγόνου (cal).

e3 = θερμότητα που απελευθερώνεται από το σύρμα ανάφλεξης και την καύση της κλωστής ανάφλεξης (cal).

m = βάρος δείγματος (gr).

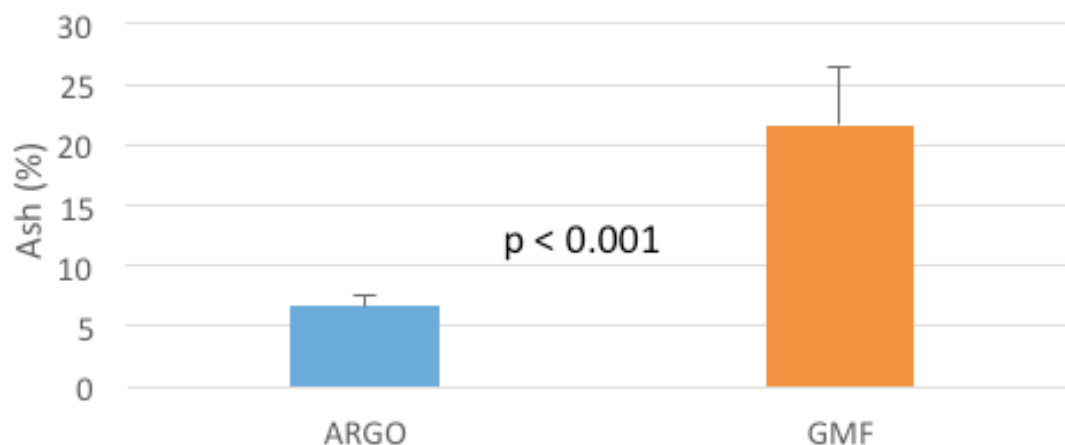
### Στατιστική ανάλυση

Όταν πληρούνταν οι προϋποθέσεις της κανονικότητας και της ομοιογένειας των διασπορών των παραμέτρων, χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) για τις συγκρίσεις των μέσων τιμών των παραμέτρων. Όταν δεν πληρούνταν μια εκ των δύο ή και οι δύο παραπάνω προϋποθέσεις, χρησιμοποιήθηκε το μη παραμετρικό Kruskal – Wallis test.

### Αποτελέσματα

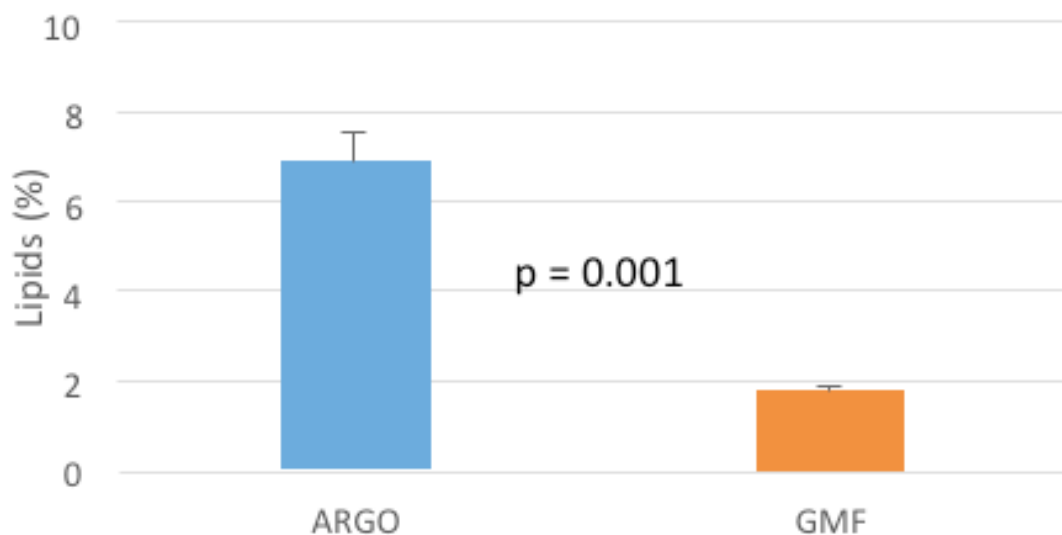
Στα παρακάτω γραφήματα εμφανίζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων ως προς τη σύσταση σε πρωτεΐνες, λίπη, στάχτη και ενέργεια.

Η σύγκριση των δεδομένων της σύστασης των αυγών σε τέφρα, έδειξε ότι τα αυγά του Γαλαξιδιού έχουν μεγαλύτερο ποσοστό ( $p = 0.001$ ) τέφρας σε σχέση με του Αργοσαρωνικού (**Γράφημα 1**).

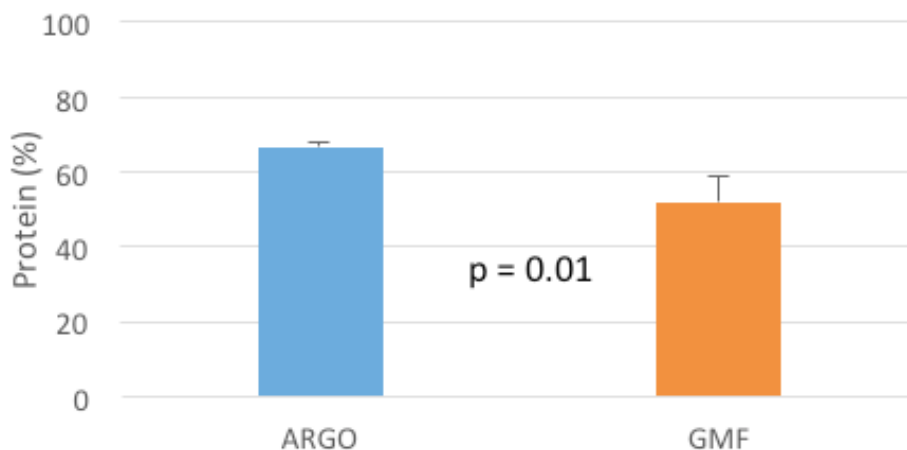


**Γράφημα 1:** Μέση ( $\pm$  τυπικό σφάλμα) περιεκτικότητα (%) τέφρας επί ξηρού βάρους, των αυγών μαγιάτικου από τις μονάδες του Αργοσαρωνικού ( $n=11$ ) και Γαλαξιδιού ( $n=3$ ). Ash = Τέφρα, ARGO = Ιχθυοκαλλιέργειες Αργοσαρωνικού Α.Ε. (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος), GMF = Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες Α.Ε. (Γαλαξίδι, Κορινθιακός Κόλπος). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αυγών των δύο μονάδων (one-way ANOVA,  $p < 0,001$ ).

Αντιθέτως, τα αυγά του Αργοσαρωνικού έχουν μεγαλύτερο ποσοστό λιπιδίων ( $p < 0.001$ ) και πρωτεΐνης ( $p = 0.01$ ) σε σχέση με του Γαλαξιδιού (**Γράφημα 2 & 3**).



**Γράφημα 2:** Μέση ( $\pm$  τυπικό σφάλμα) περιεκτικότητα (%) λιπιδίων επί ξηρού βάρους, των αυγών μαγιάτικου από τις μονάδες του Αργοσαρωνικού ( $n=11$ ) και του Γαλαξιδιού ( $n=3$ ). Lipids = Λιπίδια, ARGO = Ιχθυοκαλλιέργειες Αργοσαρωνικού Α.Ε. (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος), GMF = Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες Α.Ε. (Γαλαξίδι, Κορινθιακός Κόλπος). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αυγών των δύο μονάδων (one-way ANOVA,  $p = 0,001$ ).



**Γράφημα 3:** Μέση ( $\pm$  τυπικό σφάλμα) περιεκτικότητα (%) πρωτεΐνης επί ξηρού βάρους των αυγών μαγιάτικου από τις μονάδες του Αργοσαρωνικού (n=11) και του Γαλαξιδιού (n=3). Protein = Πρωτεΐνη, ARGO = Ιχθυοκαλλιέργειες Αργοσαρωνικού Α.Ε. (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος), GMF = Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες Α.Ε. (Γαλαξίδι, Κορινθιακός Κόλπος). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αυγών των δύο μονάδων (Kruskal - Wallis,  $p = 0,01$ ).

Τέλος, η ενέργεια των αυγών που μετρήθηκε από τα δείγματα του ΑΡΓΟ ήταν 5826,76, 5890,58 και 5745,88 cal/g (μέσος όρος  $5821,07 \pm 72,52$  cal/g ξηρού βάρους).

Πραγματοποιήθηκαν περαιτέρω αναλύσεις για τη σύσταση των λιπαρών οξέων στα αυγά, η οποία και παρουσιάζεται στον **Πίνακα 2**.

**Πίνακας 2:** Ανάλυση λιπαρών οξέων των αυγών από τον Αργοσαρωνικό και το Γαλαξίδι.

Λιπαρό οξύ	Αργοσαρωνικός (n=11)		Γαλαξίδι (n=3)		Σημαντική διαφορά
	Μέσος όρος	Σταθ. Απόκ.	Μέσος όρος	Σταθ. Απόκ.	
C 13:0	10.48	7.48	12.78	9.16	
C 14:0	7.95	1.14	11.83	1.12	*
C 15:0	nd	nd	nd	nd	
C 15:1	0.02	@	nd	nd	,
C 16:0	15.17	1.90	12.43	0.81	*
C 16:1 (n-4)					
C 16:1 (n-7)	5.08	0.27	4.13	0.39	
C 16:4 (n-3)			0.59	0.07	
C 16:3 (n-1)	1.30	0.27	1.60	0.65	
C 16:3 (n-3)	nd	nd	0.21	@	
C 17:0	nd	nd	0.58	@	
C 17:1	1.15	@	nd	nd	



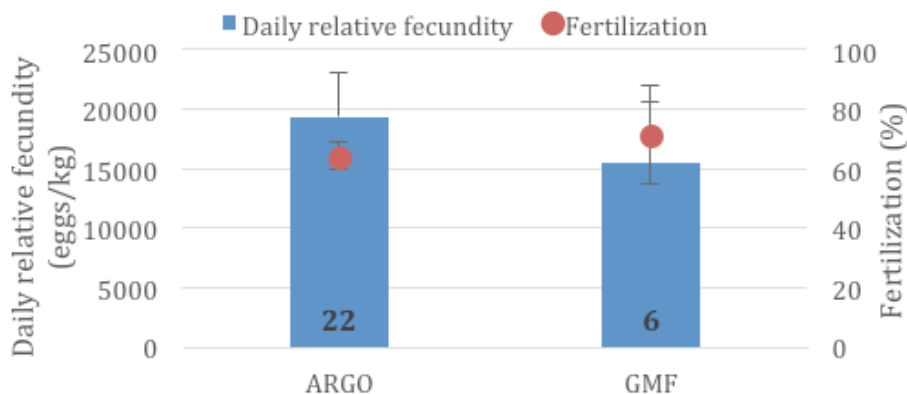


C 18:0	4.90	1.03	4.72	0.96	
C 18:1 (n-9) Oleic	24.80	1.70	24.99	0.64	
C 18:2 (n-9)	0.40	@	nd	nd	
C 18:1 (n-5)	28.50	5.17	nd	nd	*
C 18:1 (n-7)	0.33	0.20	0.58	0.13	
C 18:2 (n-6) Linoleic	8.75	0.84	9.74	0.18	
C 18:3 (n-6) Gamma	0.39	0.21	0.53	0.38	
C 18:3 (n-3) Alfa	1.06	0.11	1.10	0.17	
C 20:0	nd	nd	nd	nd	
C 20:1 (n-9)	1.13	0.13	1.64	0.26	
C 20:1 (n-7)	0.44	0.09	0.35	0.13	
C 21:0	0.10	0.02	0.21	0.08	
C 20:2	0.24	0.04	0.26	0.24	
C 20:3 (n-3)	0.22	0.02	0.24	0.02	
C 22:0	0.94	0.43	0.71	0.04	
C 20:4 (n-6) & C 22:1 (n-9)	0.98	0.34	0.38	0.23	
C 20:4 (n-3)	0.63	0.14	0.36	0.05	
IS C 23:0	0.00	0.00	2.54	@	
C 20:5 (n-3)	4.06	0.56	2.30	0.10	*
C 22:2	nd	nd	nd	nd	
C 24:0	0.31	0.07	0.29	0.05	
C 24:1 (n-9)	0.25	0.03	0.18	0.01	
C 22:5 (n-3)	1.75	0.17	1.34	0.05	
C 22:6 (n-3)	14.49	1.58	10.86	0.31	*

nd: δεν ανιχνεύθηκε, @: ανιχνεύθηκε σε ένα δείγμα, \*: σημαντική διαφορά <0,05

Ανιχνεύθηκαν σημαντικές διαφορές στα λιπαρά οξέα C 14:0, C 16:0, C 18:1 (n-5), C 20:5 (n-3) και C 22:6 (n-3). Τα αυγά από τον Αργοσαρωνικό είχαν σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα πολυακόρεστων λιπαρών, οξέων C 20:5 (n-3) και C 22:6 (n-3).

Από την αξιολόγηση του αριθμού των αυγών δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p = 0.695$ ) μεταξύ των δύο μονάδων εκτροφής γεννητόρων (**Γράφημα 4**). Από τα δεδομένα της σύστασης των αυγών σε τέφρα, προέκυψε ότι τα αυγά του Γαλαξιδίου έχουν μεγαλύτερο ποσοστό ( $p = 0.001$ ) τέφρας σε σχέση με του Αργοσαρωνικού (**Γράφημα 1**). Αντιθέτως, φαίνεται πως τα αυγά του Αργοσαρωνικού έχουν μεγαλύτερο ποσοστό λιπιδίων ( $p < 0.001$ ) και πρωτεΐνης ( $p = 0.01$ ) σε σχέση με του Γαλαξιδίου (**Γράφημα 2 & 3**).



**Γράφημα 4:** Μέση ( $\pm$  τυπικό σφάλμα) ημερήσια σχετική γονιμότητα (αριθμός αυγών ανά kg σωματικού βάρους των θηλυκών) και ποσοστό γονιμοποίησης των αυγών που παράχθηκαν από τα μαγιάτικα του Αργοσαρωνικού και του Γαλαξιδιού μετά από χορήγηση εμφυτευμάτων GnRHα. Οι αριθμοί στις μπάρες υποδηλώνουν τον αριθμό των ωοτοκίων. Daily relative fecundity = Ημερήσια σχετική γονιμότητα, Fertilization = Γονιμοποίηση, ARGO = Ιχθυοκαλλιέργειες Αργοσαρωνικού Α.Ε. (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος), GMF = Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες Α.Ε. (Γαλαξίδι, Κορινθιακός Κόλπος). Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών ( $p>0,05$ ).

## Συζήτηση

Η διατροφή των γεννητόρων επιτελεί σημαντικό ρόλο στην αναπαραγωγή των ψαριών αφού παρέχει τα συστατικά και την ενέργεια για τη γεννητική ωρίμανση, στο σχηματισμό των ωοθυλακίων, στην γονιμοποίηση των αυγών αλλά και στο κατοπινό στάδιο στην ανάπτυξη των εμβρύων και των προνυμφών. Μέσω της διατροφής παρέχονται τα απαραίτητα αμινοξέα, τα απαραίτητα λιπαρά οξέα, οι βιταμίνες και τα καροτένια που απαιτούνται για την παραγωγή καλής ποιότητας αυγών.

Οι γνώσεις που έχουμε για τη διατροφή των γεννητόρων, αν και αυξάνονται τα τελευταία χρόνια, εντούτοις απέχουν πολύ από να θεωρούνται πλήρεις. Αρκετά είναι γνωστά για το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) και την τσιπούρα (*Sparus aurata*), τα κύρια εκτρεφόμενα είδη. Όμως οι διαθέσιμες πληροφορίες υστερούν για τα νέα είδη για την ιχθυοκαλλιέργεια, όπως το μαγιάτικο. Για τα νέα αυτά είδη υπήρχε και το επιπρόσθετο πρόβλημα της δεκτικότητας της τροφής, το οποίο είναι αρκετά έντονο δεδομένου ότι οι γεννήτορες μας ήταν άγρια ψάρια που είχαν συλληφθεί από την φύση όταν ήταν ανήλικα άτομα, και δεν είχαν ποτέ στη ζωή τους καταναλώσει βιομηχανική ξηρή τροφή. Για το λόγο αυτό η πρώτη επιλογή για την τροφή των γεννητόρων του μαγιάτικου αποτέλεσε η νωπή τροφή, η οποία είναι άμεσα δεκτική από τα άγρια ψάρια και είναι πλήρης ως προς ορισμένα θρεπτικά συστατικά, αυτών των απαραίτητων λιπαρών οξέων και των απαραίτητων αμινοξέων. Σε πολλές περιπτώσεις γίνεται εμπλουτισμός της αλεσμένης νωπής τροφής με πρόσθετα στοιχεία όπως βιταμίνες και καροτένια.

Έχοντας υπόψη τα ανωτέρω, στην ενότητα αυτή συγκρίναμε δυο πληθυσμούς ψαριών που εκτρέφονταν με διαφορετικές τροφές κατά την περίοδο της αναπαραγωγής, ένας σιτιζόμενος με νωπά ψάρια και ο δεύτερος με βιομηχανική ξηρή τροφή γεννητόρων. Η βιομηχανική τροφή για γεννήτορες χαρακτηρίζεται από υψηλό ενεργειακό περιεχόμενο, βασίζεται στο ιχθυάλευρο ως πρώτη ύλη και είναι εμπλουτισμένη με βιταμίνες και ιχνοστοιχεία σε αντίθεση με τα νωπά ψάρια που περιέχουν υψηλή περιεκτικότητα υγρασίας. Ως αποτέλεσμα η υψηλή ενεργειακή τροφή αύξησε το ποσοστό των λιπών και των πρωτεϊνών στα αυγά των ψαριών καθώς τα ψάρια που εκτράφηκαν στον Αργοσαρωνικό έλαβαν βιομηχανική ξηρή τροφή σε αντίθεση με τα ψάρια του Γαλαξιδιού που έλαβαν νωπή τροφή. Από την άλλη πλευρά τα ψάρια που τράφηκαν με νωπή τροφή είχαν περισσότερη στάχτη και υγρασία. Η ανάλυση των λιπαρών οξέων έκανε εμφανή τη διαφορά στη σύσταση μεταξύ των δυο πληθυσμών. Τα αυγά που προήλθαν από τον Αργοσαρωνικό είχαν αυξημένα επίπεδα πολυακόρεστων λιπαρών οξέων C 22:6 (n-3) και C 20:5 (n-3) σε σχέση με τα αυγά του Γαλαξιδιού, γεγονός



που αποδίδεται στην εμπλουτισμένη με ιχθυέλαιο και κατ'επέκταση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων βιομηχανική ξηρή τροφή.

Συμπερασματικά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η καλής ποιότητας τροφή (βιομηχανική τροφή γεννητόρων) έχει τη δυνατότητα να επηρεάσει θετικά τη χημική σύσταση των αυγών του μαγιάτικου, τουλάχιστον όσον αφορά τη σύσταση των αυγών με λίπη, πρωτεΐνες, και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, και να δώσει αυγά με θρεπτικά συστατικά υψηλής αξίας για τις ιχθυονύμφες. Πάντως δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στην παραγωγή αυγών (αριθμό) και γονιμοποίησή τους, που σημαίνει ότι και οι δύο τροφές γεννητόρων ήταν ισότιμες όσον αφορά τη διαδικασία της ωογένεσης και σπερματογένεσης. Δυστυχώς δεν ήταν δυνατή η αξιολόγηση της επίδρασης της καλύτερης διατροφής γεννητόρων στα παραγωγικά αποτελέσματα των αυγών και ιχθυονυμφών. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας σε συνδυασμό με τα πλεονεκτήματα που παρέχει η βιομηχανική τροφή σε σύγκριση με τη νωπή τροφή, ως προς την παραγωγή, διαχείριση και αποθήκευση, την καθιστά ουσιαστικά ως την καλύτερη επιλογή για τη διατροφή των γεννητόρων του μαγιάτικου. Στα από μακρό χρόνο καλλιεργήσιμα είδη, τσιπούρα και λαβράκι, η βιομηχανική τροφή παρέχει εφάμιλλα ή και καλύτερα αποτελέσματα από τη νωπή τροφή (ψάρια+μαλάκια) (Izquierdo, et al., 2001), λόγω της γνώσης που προέκυψε από τη μακροχρόνια έρευνα. Στα είδη αυτά η βιομηχανική τροφή είναι η αποκλειστική τροφή με την οποία ταΐζονται οι γεννήτορες. Για το μαγιάτικο ως νέο είδος για την ιχθυοκαλλιέργεια, απαιτείται περισσότερη έρευνα στον τομέα της διατροφής των γεννητόρων ώστε η βιομηχανική τροφή να αντικαταστήσει πλήρως τη νωπή τροφή.

**Διαφοροποιήσεις από ΤΠΕ:** Καμία.

### **Βιβλιογραφία**

- Aegerter, S., Jalabert, B., Bobe, J., 2005. Large scale real-time PCR analysis of mRNA abundance in rainbow trout eggs in relationship with egg quality and post-ovulatory ageing. *Mol Reprod Dev.* 72, 377-385.
- Avery, T.S., Killen, S.S., Hollinger, T.R., 2009. The relationship of embryonic development, mortality, hatching success, and larval quality to normal or abnormal early embryonic cleavage in Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Aquaculture.* 289, 265-273.
- Azuma, T., Ohta, H., Oda, S., Muto, K., Yada, T., Unuma, T., 2003. Changes in fertility of rainbow trout eggs retained in coelom. *Fisheries science.* 69, 131-136.
- Bobe, J., 2015. Egg quality in fish: Present and future challenges. *Animal Frontiers.* 5, 66-72.
- Bobe, J., Labbé, C., 2010. Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology.* 165, 535-548.
- Bonnet, E., Fostier, A., Bobe, J., 2007a. Microarray-based analysis of fish egg quality after natural or controlled ovulation. *BMC Genomics.* 8, 55.
- Bonnet, E., Fostier, A., Bobe, J., 2007b. Characterization of rainbow trout egg quality: a case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic malformations. *Theriogenology.* 67, 786-794.
- Broach, J.S., Ohs, C.L., Breen, N.E., 2017. Protracted volitional spawning of pinfish *Lagodon rhomboides* and changes in egg quality and fatty-acid composition throughout the spawning season. *J Fish Biol.* 91, 806-817.
- Bromage, N., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Springate, J., Duston, J., Barker, G., 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture.* 100, 141-166.
- Brooks, S., Tyler, C.R., Sumpter, J.P., 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? *Reviews in Fish Biology and Fisheries.* 7, 387-416.
- Ciereszko, A., Wojtczak, M., Dietrich, G.J., Kuźmiński, H., Dobosz, S., 2009. A lack of consistent relationship between distribution of lipid droplets and egg quality in hatchery-raised rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture.* 289, 150-153.



- Fakriadis, I., Lisi, F., Sigelaki, I., Papadaki, M., Mylonas, C.C., 2019. Spawning kinetics and egg/larval quality of greater amberjack (*Seriola dumerili*) in response to multiple GnRHa injections or implants. *General and Comparative Endocrinology*. 279, 78-87.
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 226, 497-509.
- Hauville, M.R., Rhody, N.R., Resley, M.J., Bell, J.G., Main, K.L., Migaud, H., 2015. Comparative study of lipids and fatty acids in the liver, muscle, and eggs of wild and captive common snook broodstock. *Aquaculture*. 446, 227-235.
- Izquierdo, M., Fernandez-Palacios, H., Tacon, A., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*. 197, 25-42.
- Kamler, E., 2005. Parent-egg-progeny relationships in teleost fishes: an energetics perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 15, 399.
- Kjørsvik, E., Mangor-Jensen, A., Holmefjord, I., 1990. Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology*. 26: 71-113, egg quality, embryonic development, larvae, fertilization, water hardening.
- Kjørsvik, E., Hoehne-Reitan, K., Reitan, K., 2003. Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*. 227, 9-20.
- Lubzens, E., Young, G., Bobe, J., Cerdà, J., 2010. Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed. *General and comparative endocrinology*. 165, 367-389.
- Lund, I., Steinfeldt, S.J., Hansen, B.W., 2007. Effect of dietary arachidonic acid, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on survival, growth and pigmentation in larvae of common sole (*Solea solea* L.). *Aquaculture*. 273, 532-544.
- Mansour, N., Lahnsteiner, F., Patzner, R.A., 2007. Distribution of lipid droplets is an indicator for egg quality in brown trout, *Salmo trutta fario*. *Aquaculture*. 273, 744-747.
- Migaud, H., Bell, G., Cabrita, E., McAndrew, B., Davie, A., Bobe, J., Herraez, M.P., Carrillo, M., 2013. Gamete quality and broodstock management in temperate fish. *Reviews in Aquaculture*. 5.
- Mommens, M., Lanes, C.F., Babiak, I., 2015. Egg yolk nutritional constituents as indicators of egg quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture Research*. 46, 291-301.
- Mylonas, C.C., Papadaki, M., Pavlidis, M., Divanach, P., 2004. Evaluation of egg production and quality in the Mediterranean red porgy (*Pagrus pagrus*) during two consecutive spawning seasons. *Aquaculture*. 232, 637-649.
- Pavlov, D., Emel'yanova, N., 2008. Morphological criteria of egg quality in marine fishes: activation and cleavage of eggs of *Zebbrasoma scopas* (Acanthuridae). *Journal of Ichthyology*. 48, 533-548.
- Penney, R.W., Lush, P.L., Wade, J., Brown, J.A., Parrish, C.C., Burton, M.P., 2006. Comparative utility of egg blastomere morphology and lipid biochemistry for prediction of hatching success in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture Research*. 37, 272-283.
- Rideout, R., Trippel, E., Litvak, M., 2004. Predicting haddock embryo viability based on early cleavage patterns. *Aquaculture*. 230, 215-228.
- Roldán, B.E., Rueda, R.S., Madrid, A.U., Villalobos, E.F., Isler, I.V., 2013. Study of the first blastomeres in Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Zygote*. 21, 151-157.
- Sink, T.D., Lochmann, R.T., 2008. Effects of dietary lipid source and concentration on channel catfish (*Ictalurus punctatus*) egg biochemical composition, egg and fry production, and egg and fry quality. *Aquaculture*. 283, 68-76.
- Tachihara, K., Ebisu, R., Tukashima, Y., 1993. Spawning, eggs, larvae and juveniles of the purplish amberjack *Seriola dumerili*. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 59, 1479-1488.
- Thorsen, A., Trippel, E.A., Lambert, Y., 2003. Experimental methods to monitor the production and quality of eggs of captive marine fish. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*. 33, 55-70.
- Valdebenito, I.I., Gallegos, P.C., Effer, B.R., 2015. Gamete quality in fish: evaluation parameters and determining factors. *Zygote*. 23, 177-197.
- Vassallo-Agius, R., Watanabe, T., Yoshizaki, G., Satoh, S., Takeuchi, Y., 2001. Quality of eggs and spermatozoa of rainbow trout fed an n-3 essential fatty aciddeficient diet and its effects on the lipid and fatty acid components of eggs, semen and livers. *Fisheries Science*. 67, 818-827.
- Watanabe, T., 1995. Red sea bream (*Pagrus major*). Broodstock management and egg and larval quality, 398-413.



Αντωνοπούλου, Ε., 2015. Καλλιέργεια ιχθύων: αναπαραγωγική φυσιολογία, in: Βουλτσιάδου, Ε., Αμπατζόπουλος, Θ., Αντωνοπούλου, Ε., Γκάνιας, Κ., Γκέλης, Σ., Στάικου, Α., Τριανταφυλλίδης, Α. (Ed.), Υδατοκαλλιέργειες, Οργανισμοί, συστήματα παραγωγής, προοπτικές. Αθήνα: Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών, pp. 80-110.



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΠΑΤΡΩΝ  
UNIVERSITY OF PATRAS



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



ΠΡΩΤΟ ΒΙΟΛΟΓΙΣ



ARGOSARONIKOS  
FISHFARMS SA

