



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΕΡΕΥΝΩΝ
(ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε.) ΚΡΗΤΗΣ



ΠΜΣ: «Περιβαλλοντική Βιολογία: Διαχείριση Χερσαίων & Θαλασσιών Βιολογικών Πόρων»

Τίτλος μεταπτυχιακής διατριβής:

«Επίδραση της διατροφής και της διαχείρισης γεννητόρων μαγιάτικου (*Seriola dumerili*) στην ποιότητα και σύσταση των αυγών κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου»



Βερνάδου Εμμανουέλα

Ηράκλειο, 2018

Πίνακας Περιεχομένων

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ABSTRACT	4
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
1.1 Ιχθυοκαλλιέργεια και μαγιάτικο	5
1.2 Η αναπαραγωγή στην ιχθυοκαλλιέργεια.....	8
1.3 Ποιότητα αυγών.....	17
1.4 Σκοπός εργάσιας	22
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	23
2.1 Διαχείριση γεννητόρων.....	23
2.1.1 Μονάδα Αργοσαρωνικού.....	23
2.1.2 Μονάδα Γαλαξιδίου.....	24
2.2 Ποιότητα, συλλογή και συντήρηση αυγών	27
2.3 Προετοιμασία δειγμάτων αυγών και βιοχημικές αναλύσεις.....	28
□ Σύσταση αυγών σε υγρασία	28
□ Σύσταση αυγών σε τέφρα.....	29
□ Σύσταση αυγών σε λίπος.....	29
□ Σύσταση αυγών σε πρωτεΐνες.....	31
□ Σύσταση αυγών σε ενέργεια.....	32
2.4 Στατιστική ανάλυση.....	33
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	34
3.1 Θερμοκρασία	34
3.2 Κατανάλωση τροφής από τους γεννήτορες των δύο μονάδων	34
3.3 Σύγκριση ποιότητας αυγών από τις δύο μονάδες το έτος 2016	35
3.4 Σύγκριση ποιότητας αυγών από τις δύο μονάδες το έτος 2017	38
3.5 Μονάδα Αργοσαρωνικού, σύγκριση ποιότητας αυγών μεταξύ ετών και εβδομάδων	39
3.6 Μονάδα Γαλαξιδίου, σύγκριση ποιότητας αυγών μεταξύ θεραπειών	42
3.7 Συσχετίσεις μεταξύ της σύστασης των αυγών με την αξιολόγηση και την επιβίωσή τους.....	44
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	46
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	53

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η συλλογή και αξιολόγηση της ποιότητας των αυγών της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκαν στις μονάδες των εταιρειών Αργοσαρωνικός Ιχθυοκαλλιέργειες Α.Ε. και Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες Α.Ε., ενώ οι χημικές αναλύσεις έγιναν στο εργαστήριο διατροφής ιχθύων του Ελληνικού Κέντρου Θαλάσσιων Ερευνών (ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε.).

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Μυλωνά Κωνσταντίνο, ερευνητή Α΄ του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., για την ανάθεση του θέματος, την συνεχή επίβλεψη, την εμπιστοσύνη, την καθοδήγησή και τις χρήσιμες συμβουλές του. Στην συνέχεια, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή του Πανεπιστημίου Κρήτης Παυλίδη Μιχαήλ, ως επιβλέπων της παρούσας εργασίας. Και τέλος, τον Δρ. Χατζηφώτη Σταύρο για την παραχώρηση του εργαστηρίου για τις αναλύσεις.

Επιπλέον, ένα μεγάλο ευχαριστώ στο Φακριάδη Γιάννη, υποψήφιο διδάκτορα, για την συλλογή των δειγμάτων, τις εύστοχες υποδείξεις του και την υπομονή του όταν γκρίνιαζα. Επίσης, την Παπαδάκη Μαρία και Συγγελάκη Ειρήνη, τεχνικούς του εργαστηρίου αναπαραγωγής ιχθύων, που ήταν πάντα εκεί όταν τις χρειαζόμουν. Ένα τεράστιο ευχαριστώ στην Μαστοράκη Μαρία, υποψηφία διδάκτορα, για όλες τις αναλύσεις που μου έδειξε και που αν δεν ήταν αυτή ακόμα θα κοιτούσα τα μηχανήματα, για την ψυχολογική υποστήριξη και φυσικά για όλες τις ζαμπόν – κασέρι που φάγαμε μαζί. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Κατσίκη Λυδία επίσης για την ψυχολογική υποστήριξη, αλλά και την τεράστια βοήθεια στο γράψιμο της μεταπτυχιακής διατριβής.

Τέλος, ευχαριστώ άπειρα τους γονείς μου, τον αδελφό μου και τους φίλους μου, που όλα αυτά τα χρόνια βρίσκονται δίπλα μου να με στηρίζουν στις όποιες αποφάσεις έχω πάρει.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το μαγιάτικο (*Seriola dumerili*) είναι ένα ψάρι με πολύ καλή ποιότητα κρέατος και υψηλή εμπορική αξία, που όμως δεν έχει επιτευχθεί η παραγωγή του από την βιομηχανία ιχθυοκαλλιέργειας. Μία από τις κύριες δυσκολίες που αντιμετωπίζει η βιομηχανική εκτροφή του είναι η ανεπιτυχής και αναξιόπιστη αναπαραγωγή του, με έναν από τους σημαντικότερους περιοριστικούς παράγοντες να αποτελεί η ποιότητα των αυγών. Στην παρούσα μελέτη στόχος ήταν η σύγκριση της ποιότητας και της σύστασης των αυγών του μαγιάτικου, καθ' όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου, σε δύο μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας του Αργοσαρωνικού και του Γαλαξιδίου, στα πλαίσια πειραμάτων πρόκλησης φωτοκίας. Για τον προσδιορισμό της ποιότητας των αυγών αξιολογήθηκαν η γονιμότητα, γονιμοποίηση, επιβίωση εμβρύων και προνυμφών και η εκκολαψιμότητα των αυγών. Για την θρεπτική σύσταση των αυγών προσδιορίστηκε η σύσταση σε λίπος, πρωτεΐνες, ενέργεια και τέφρα. Οι αναλύσεις έδειξαν ότι δεν υπήρξαν διαφορές μεταξύ των τριών εβδομάδων συλλογής των αυγών σε καμία από τις παραμέτρους εκτίμησής ποιότητάς τους. Όσον αφορά τη διαφορετική διατροφή, στατιστικά σημαντικές διαφορές βρέθηκαν μόνο στη σύσταση των αυγών. Συγκεκριμένα, εμφανίστηκαν υψηλότερα ποσοστά λιπιδίων και πρωτεϊνών στα αυγά που προήλθαν από γεννήτορες που τράφηκαν με βιομηχανοποιημένη τροφή (μονάδα Αργοσαρωνικού), ενώ το ποσοστό τέφρας ήταν υψηλότερο όταν οι γεννήτορες τράφηκαν με ζωντανή τροφή (μονάδα Γαλαξιδίου). Συμπερασματικά, η βιομηχανοποιημένη τροφή φαίνεται να επηρεάζει θετικά την σύσταση των αυγών, σε αντίθεση με τον χρόνο ωοαπόθεσης που δεν ασκεί καμία επιρροή. Ωστόσο, περαιτέρω διερεύνηση που αφορά την επίδραση του χρόνου της απόθεσης των αυγών και της διατροφής των γεννητόρων στην ποιότητα των αυγών απαιτείται για την εξαγωγή τεκμηριωμένων συμπερασμάτων.

ABSTRACT

Greater Amberjack (*Seriola dumerili*) is one fish with very good quality meat and high commercial value, but it has not been produced by the industry of aquaculture. One of the bottleneck for the industrial rearing is its unsuccessful and unreliable reproduction, and one of the most important restrictive factors is the egg quality. The aim of the present study was the comparison of the quality and composition of the greater amberjack eggs, during the whole reproduction period, between two fish farms, the one of Argosaronikos and the other of Galaxidi, with experiments on spawning induction. The egg quality was evaluated from the fecundity, fertilization, embryos and larvae survival and the egg hatching. The nutritional composition of eggs was determined from the lipid, protein, energy and ash composition. The results indicated that there were no differences between the three weeks of the eggs collection in any of their quality assessment parameters. Comparing the different diet of broodstock, statistical significant differences were found only in eggs composition. Specifically, there were higher percentages of lipids and proteins in eggs derived from broodstock fed with industrialized food (farm of Argosaronikos), while the ash percentage was higher when the broodstock were fed with row fish (farm of Galaxidi). In conclusion, industrialized food seems to positively affect the composition of the eggs, in contrast with the time of egg laying which has no effect. However, further investigation into the effect of egg laying time and broodstock diet on egg quality is required to produce documented conclusions.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ιχθυοκαλλιέργεια και μαγιάτικο

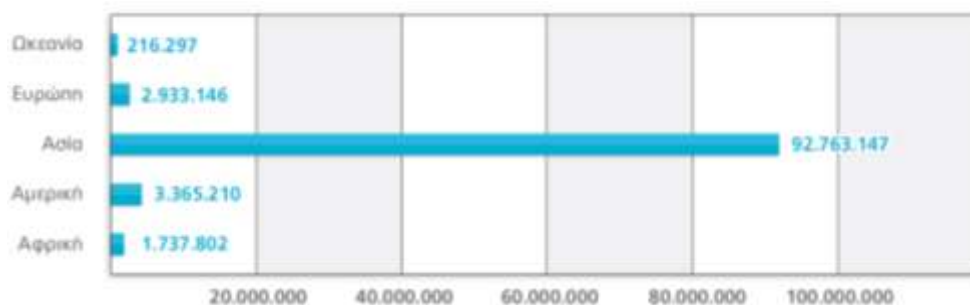
Στη ξηρά η μετάβαση από το κυνήγι στην κτηνοτροφία χρειάστηκε χιλιάδες χρόνια, σε αντίθεση με τους ωκεανούς, όπου η μετάβαση από την αλιεία στην σύγχρονη υδατοκαλλιέργεια συνέβη μόλις μέσα σε δύο γενιές (Holm *et al.*, 2017). Ο παγκόσμιος πληθυσμός τον τελευταίο μισό αιώνα έχει διπλασιαστεί και προβλέπεται να πολλαπλασιαστεί τα επόμενα χρόνια. Ταυτόχρονα, η αλίευση ιχθύων έχει σταθεροποιηθεί και οι περισσότερες από τις κύριες περιοχές αλιείας έχουν φτάσει στο μέγιστο των δυνατοτήτων τους. Επομένως, τα φυσικά αποθέματα δεν είναι σε θέση να καλύψουν την αυξανόμενη παγκόσμια ζήτηση για θαλάσσια προϊόντα διατροφής. Έτσι, ο κλάδος των υδατοκαλλιεργειών λαμβάνει την πρόκληση να γεφυρώσει το χάσμα προσφοράς και ζήτησης των θαλάσσιων προϊόντων διατροφής (FAO, 2016, Subasinghe *et al.*, 2009).

Η ιχθυοκαλλιέργεια αποτελεί τον βασικότερο τομέα στην υδατοκαλλιέργεια και γίνεται σε υδατοσυλλογές καλλιέργειας, κλωβούς και δεξαμενές, με εκτατικές ή εντατικές μεθόδους καλλιέργειας. Σκοπός της ιχθυοκαλλιέργειας είναι η παραγωγή πρωτεϊνών και απαραίτητων λιπαρών οξέων υψηλής διατροφικής αξίας για ευρεία κατανάλωση από τον άνθρωπο, η ενίσχυση των φυσικών ιχθυαποθεμάτων μέσω της παραγωγής γόνου, η βελτιστοποίηση των εκτρεφόμενων ειδών μέσω της έρευνας και η παραγωγή καλλωπιστικών ψαριών για ενυδρεία (FAO, 2016, Γκάνιας, 2015).

Η ιχθυοκαλλιέργεια αποτελεί τον ταχύτερα αναπτυσσόμενο τομέα παραγωγής τροφίμων και σήμερα προσφέρει το 50% των ψαριών του κόσμου που προορίζονται για διατροφή (FAO, 2012). Σε παγκόσμιο επίπεδο, ξεκινώντας το 1974 με ένα μικρό ποσοστό προσφοράς της (μόλις 7%) σε ψάρια προς ανθρώπινη κατανάλωση, αύξησε βαθμίδον το μερίδιό της το 1994 σε 26% και το 2004 σε 39%. Έτος ορόσημο του τομέα αποτελεί το 2014, καθώς για πρώτη φορά η συνολική παραγωγή ψαριών υδατοκαλλιέργειας ξεπέρασε εκείνη της αλιείας, με συνολική παραγωγή 49,8 εκ. τόνους ιχθύων (FAO, 2016).

Πρωτοπόρος στην παγκόσμια ιχθυοκαλλιέργεια, είναι η Ασία με μεγάλη διαφορά από τις υπόλοιπες Ηπείρους με κυρίως ψάρια του γλυκού νερού, με την Κίνα να κατέχει το 60% της παγκόσμιας παραγωγής (45,5 εκ. τόνοι ιχθύων) (Εικόνα 1). Δεύτερος μεγαλύτερος εξαγωγέας είναι η Νορβηγία (με σολομό του Ατλαντικού, *Salmo salar*) και τρίτο στη σειρά έρχεται από το 2014 το Βιετνάμ (με το γατόψαρο

Pangasius spp), ξεπερνώντας την Ταϊλάνδη. Άλλοι ισχυροί παραγωγοί είναι η Ινδία, το Μπαγκλαντές και η Αίγυπτος. Το 2014 και 2015 η Ευρωπαϊκή Ένωση ήταν με διαφορά η μεγαλύτερη αγορά ψαριών, ακολουθούμενη από τις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής και την Ιαπωνία (FAO, 2016).



Εικόνα 1: Παραγωγή υδατοκαλλιέργειας ανά ήπειρο το 2014 (τόνοι). Πηγή: FAO

Η ευρωπαϊκή ιχθυοκαλλιέργεια περιλαμβάνει μία μεγάλη ποικιλία καλλιεργούμενων ειδών, εστιάζοντας κυρίως σε είδη μέσης προς υψηλής αξίας. Η συνολική της παραγωγή έφτασε το 2014 τους 3,2 εκ. τόνους ιχθύων (αξίας 14,73 δις. δολαρίων). Το ποσοστό αυτό αντιστοιχεί στο 3,16% της παγκόσμιας παραγωγής σε μάζα και στο 8,87% σε αξία (FAO, 2016). Με βάση στοιχεία του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (2014) (www.minagric.gr) το σημαντικότερο είδος της ευρωπαϊκής ιχθυοκαλλιέργειας είναι η πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), με δεύτερο είδος ψαριού σε σειρά σημαντικότητας να είναι ο σολομός του Ατλαντικού που παρουσίασε αύξηση κατά 40 φορές περισσότερο όγκο παραγωγής μεταξύ 1984 και 2013 (<https://ec.europa.eu>). Οι ισχυρότεροι ευρωπαϊκοί παραγωγοί ιχθυοκαλλιέργειας είναι η Νορβηγία (44%), η Ισπανία (8%), το Ηνωμένο Βασίλειο και η Γαλλία (από 7%), ενώ η Ιταλία και η Ελλάδα ελέγχουν η κάθε μία περίπου το 5% της συνολικής ευρωπαϊκής παραγωγής (Γκάνιας, 2015). Σε μεσογειακό επίπεδο κυριαρχεί η καλλιέργεια κυρίως τσιπούρας (*Sparus aurata*) και του λαυρακιού (*Dicentrarchus labrax*), με πρώτες χώρες κατά σειρά σε παραγωγή την Τουρκία, Ελλάδα, την Ισπανία και την Ιταλία (www.feap.info, www.fgm.com.gr).

Η ιχθυοκαλλιέργεια στην Ελλάδα άρχισε να αναπτύσσεται την δεκαετία του 1980, ξεκινώντας από μια παραγωγή που έφτανε μόλις τους 100 τόνους. Σήμερα η παραγωγή αυτή ξεπερνά τους 100.000 τόνους, κάτι που επιτυγχάνεται με την συνεισφορά πάνω από 350 μονάδων. Το 2015 η παραγωγή ψαριών ανήλθε στους 113 τόνους αξίας 595 εκ. ευρώ, όπου σχεδόν ολόκληρο το ποσοστό παραγωγής προέρχεται από εκτρεφόμενα ψάρια στη θάλασσα και ένα πολύ μικρό ποσοστό, μόλις

το 2%, από τα γλυκά ύδατα (www.minagric.gr). Η Ελλάδα αποτελεί σημαντικό εξαγωγέα ιχθύων κυρίως στην ευρωπαϊκή ένωση και λιγότερο σε τρίτες χώρες, με κυρίαρχα είδη εκτροφής την τσιπούρα και το λαυράκι (www.fgm.com.gr). Μικρότερο ποσοστό εκτροφής, περίπου 2% συνολικά, αντιστοιχεί στα είδη μυτάκι (*Diplodus puntazzo*), φαγκρί (*Pagrus pagrus* και *Pagrus major*), λυθρίνι (*Pagellus erythrinus*), κρانيός (*Argyrosomus Regius*), συναγρίδα (*Dentex dentex*) και πολύ πρόσφατα μαγιάτικο (*Seriola dumerili*) (www.minagric.gr, www.fgm.com.gr, <http://www.statistics.gr>).

Το μαγιάτικο αποτελεί ένα νεοεισερχόμενο είδος στον τομέα της ιχθυοκαλλιέργειας και ανήκει στην οικογένεια των Carangidae (καραγκιδών) (Πίνακας 1). Πρόκειται για ένα υποτροπικό βενθοπελαγικό είδος με ευρεία γεωγραφική εξάπλωση που περιλαμβάνει τον Ειρηνικό Ωκεανό, τον Ατλαντικό και τη Μεσόγειο. Συχνά απαντάται κοντά σε υφάλους και σε νερά βάθους 18 - 72 μέτρων. Τρέφεται κυρίως με ψάρια και με ασπόνδυλα (Smith, 1997, Whitehead *et al.*, 1986) (www.fishbase.org). Όσον αφορά την αναπαραγωγική βιολογία του, είναι ένα γονοχωριστικό είδος, με ομαδική ανάπτυξη ωοθηκών και πολλαπλός ωοαποθέτης πελαγικών αυγών (Marino *et al.*, 1995, Whitehead *et al.*, 1986, Zupa *et al.*, 2017). Η αναπαραγωγική του περίοδος προσδιορίζεται από τα τέλη της άνοιξης έως τα μέσα περίπου του καλοκαιριού στην Μεσόγειο, ενώ στο Ατλαντικό ωκεανό ξεκινάει από την άνοιξη μέχρι και τις αρχές του φθινοπώρου και σε κάθε περίπτωση πραγματοποιείται σε περιοχές κοντά στην ακτή (Jerez *et al.*, 2006). Η ανάπτυξη των εμβρύων διαρκεί περίπου 40 ώρες σε 23°C και των προνυμφών 31-36 ημέρες. Το μέγεθος του αυγού είναι κατά μέσο όρο 1,9 mm και της εκκολαπτόμενης προνύμφης 2,9 mm (www.fishbase.org).

Πίνακας 1: Ταξινομική κατάταξη μαγιάτικου (*Seriola dumerili*) (A. Risso, 1810).

Kingdom:	Animalia
Phylum:	Chordata
Class:	Actinopterygii
Order:	Perciformes
Family:	Carangidae
Genus:	<i>Seriola</i>
Species:	<i>S. dumerili</i>

Το μαγιάτικο αποτελεί ένα είδος με πολλές δυνατότητες και προοπτικές στον τομέα της ιχθυοκαλλιέργειας εξαιτίας της άριστης ποιότητας σάρκας του, της ταχείας ανάπτυξής του και της παγκόσμιας ζήτησής του, χαρακτηριστικά που του προσδίδουν

ανταγωνιστικά πλεονεκτήματα στην αγορά (Whitehead *et al.*, 1986). Ωστόσο σε συνθήκες αιχμαλωσίας, το συγκεκριμένο είδος αντιμετωπίζει προβλήματα με την αναπαραγωγή του, τα οποία δυσχεραίνουν την άνοδό του στην αγορά. Εάν ένας άγριος πληθυσμός του είδους τεθεί σε συνθήκες αιχμαλωσίας, τότε συνήθως φτάνει μέχρι το σημείο της πρώιμης λεκιθογένεσης, αλλά ακόμα και εάν ολοκληρώσει το στάδιο αυτό δεν επιτυγχάνει την ωρίμανση των ωοκυττάρων του και την ωορρηξία (Micale *et al.*, 1999, Zura *et al.*, 2017). Κάποιες από τις δυσλειτουργίες της αναπαραγωγής του μαγιάτικου σε αιχμαλωσία μπορούν να ξεπεραστούν με τη χορήγηση εξωγενών αναπαραγωγικών ορμονών, όπως οι αγωνιστές της ορμόνης απελευθέρωσης της γοναδοτροπίνης (GnRHα) (Fakriadis *et al.*, 2017).

1.2 Η αναπαραγωγή στην ιχθυοκαλλιέργεια

Αναπαραγωγή είναι η βιολογική διαδικασία με την οποία παράγεται κάθε νέος οργανισμός και είναι θεμελιώδες χαρακτηριστικό της ζωής. Για την αναπαραγωγή των ιχθύων συμμετέχουν πολλά όργανα του αναπαραγωγικού συστήματος, τα οποία επικοινωνούν μεταξύ τους μέσω ορμονών. Το αναπαραγωγικό σύστημα επηρεάζεται από ενδογενής και εξωγενής (περιβαλλοντικούς) παράγοντες (Roberts and Bromage, 1995).

Η ανάπτυξη νέων τεχνικών αναπαραγωγής των ειδών εκτροφής, μπορεί να ξεπεράσει μία από τις σημαντικότερες προκλήσεις της βιομηχανίας των ιχθυοκαλλιεργειών, καθώς πλέον θα απεξαρτητοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό από την ανάγκη συλλογής άγριων πληθυσμών που χρησιμοποιούνται για πάχυνση (Nielsen *et al.*, 2014). Μάλιστα, η επίτευξη του αναπαραγωγικού ελέγχου νέων ειδών ψαριών θα οδηγήσει σε αύξηση της ευρωπαϊκής παραγωγής, και με την παραγωγή διαφορετικών ειδών ψαριών θα την καταστήσει πιο ανταγωνιστική πλέον σε παγκόσμιο επίπεδο (Quémener *et al.*, 2002). Άλλος ένας σημαντικός στόχος της αναπαραγωγικής διαχείρισης στην ιχθυοκαλλιέργεια είναι όχι μόνο η παραγωγή αυγών και γόνου καλής ποιότητας αλλά και η διαθεσιμότητά τους κατά τη διάρκεια ολόκληρου του έτους, ανεξάρτητα από την αναπαραγωγική περίοδο του είδους (Mylonas *et al.*, 2010). Τέλος, μέσω της επιτυχής αναπαραγωγικής διαδικασίας μεγάλου αριθμού γεννητόρων είναι δυνατό να αυξηθεί η γενετική ποικιλότητα των καλλιεργούμενων ειδών (Nguyen, 2016).

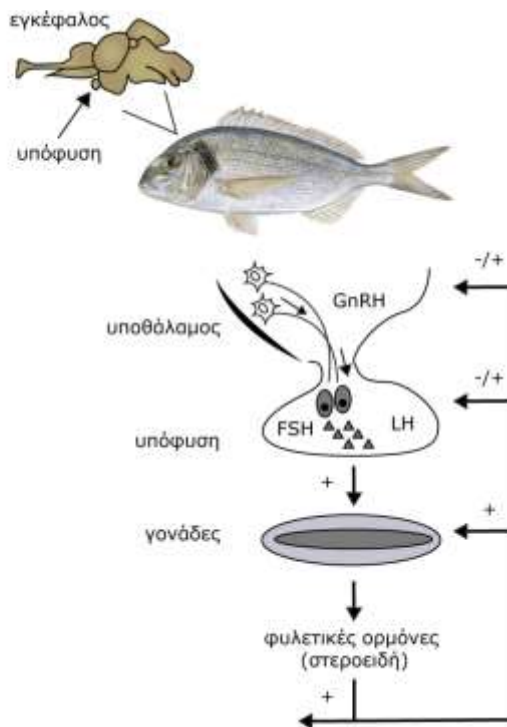
Για να υπάρξει επιτυχής αναπαραγωγή, θα πρέπει να υπάρξει πρώτα συγχρονισμός των δύο φύλων. Ο μηχανισμός συγχρονισμού έχει δύο συνιστώσες, η

πρώτη είναι ο ενδογενής κύκλος ανάπτυξης των γονάδων και η δεύτερη είναι ο μηχανισμός που συγχρονίζει αυτό τον κύκλο με βάση τις περιβαλλοντικές ενδείξεις, δηλαδή τα εξωτερικά ερεθίσματα που λαμβάνονται από τον οργανισμό (Αντωνοπούλου, 2015). Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες (π.χ. φωτοπερίοδος, θερμοκρασία, διατροφή, σεληνιακό κύκλος, ωκεάνια ρεύματα και βροχές) αλλά και “κοινωνικοί” παράγοντες (π.χ. αναλογία φύλου) μπορούν να καθορίσουν το χρονοδιάγραμμα αναπαραγωγικής ανάπτυξης (Bromage *et al.*, 2001, Mañanós *et al.*, 2008, Mylonas *et al.*, 2017). Η επίδραση που ασκούν όλοι αυτοί οι παράγοντες στον οργανισμό και τελικά το αποτέλεσμα που θα επιφέρουν στην αναπαραγωγική διαδικασία του, ρυθμίζεται από δύο συστήματα του οργανισμού αμοιβαίως εξαρτώμενα, το ενδοκρινικό και το νευρικό (Zohar *et al.*, 2010).

Πρωτού όμως φτάσουν όλα αυτά τα περιβαλλοντικά σήματα στον εγκέφαλο αναγνωρίζονται από διάφορους φωτο- και χημειοϋποδοχείς του οργανισμού. Συγκεκριμένα, ο κίρκαδικός άξονας (η αίσθηση του φωτός και η οδός εισόδου της μελατονίνης) περιλαμβάνει διάφορα συστατικά (δομές και μονοπάτια) μέσω των οποίων το φως εισέρχεται στο σώμα και μετασχηματίζεται σε ένα βιολογικό σήμα αντίληψης του χρόνου (Foster and Hankins, 2002). Όσον αφορά τα ψάρια, πλήθος στοιχείων έχει επιβεβαιώσει την πολυπλοκότητα του συστήματος σύλληψης και μετασχηματισμού του φωτός, το οποίο φαίνεται να περιλαμβάνει φωτοϋποδοχείς (όπως αμφιβληστροειδείς και κωνοειδείς αδένες), οι οποίοι μεταφέρουν την πληροφορία στον εγκέφαλο (Migaud *et al.*, 2010). Ακόμα, κύτταρα της υπόφυσης του εγκεφάλου δραστηριοποιούνται ως φωτοϋποδοχείς ανιχνεύοντας τόσο την ένταση της φωτεινότητας και ημερήσιου μήκους, με στοιχειώδη φασματική διαφοροποίηση (Vera *et al.*, 2010). Τα κύτταρα των φωτοϋποδοχέων των ψαριών παράγουν και απελευθερώνουν δύο τύπους μηνυμάτων, νευρικά και ενδοκρινικά, που ενημερώνουν τον οργανισμό για την στιγμή της ημέρας και του έτους (Migaud *et al.*, 2010). Τα νευρικά σήματα είναι διάφοροι νευροδιαβιβαστές του αμφιβληστροειδούς και της υπόφυσης, ενώ το ενδοκρινικό μήνυμα αποτελεί η μελατονίνη (Falcón *et al.*, 2007). Τελικά, τα σήματα αυτά ενεργοποιούν στον αναπαραγωγικό άξονα που περιλαμβάνει τον υποθάλαμο του εγκεφάλου, την υπόφυση και τις γονάδες (Εικόνα 2).

Συνοπτικά, ο υποθάλαμος του εγκεφάλου ελέγχει την υπόφυση ενεργοποιώντας ή αναστέλλοντας την, ανάλογα με τους χημικούς παράγοντες που συνθέτει και εκκρίνει. Η υπόφυση με τη σειρά της ελέγχει την λειτουργία των γονάδων μέσω των γοναδοτροπινών ορμονών. Οι γονάδες (ωοθήκες και όρχεις) που

είναι τα κύρια όργανα της αναπαραγωγής, είναι υπεύθυνα για την παραγωγή των στεροειδών ορμονών και την παραγωγή των γαμετών μέσω της γαμετογένεσης. Αυτές οι ορμόνες έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά την υπόφυση, τον υποθάλαμο αλλά και τις γονάδες (Roberts and Bromage, 1995).



Εικόνα 2: Ο άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων ελέγχει την αναπαραγωγή των τελεόστεων. Πηγή: (Αντωνοπούλου, 2015)

Στους γεννήτορες που βρίσκονται σε αιχμαλωσία, προκειμένου να είναι επιτυχής η αναπαραγωγή, περιβαλλοντικοί και ορμονικοί χειρισμοί γίνονται ώστε να υπερπηδηθούν αναπαραγωγικά προβλήματα, αλλά και για να ελεγχθεί η αναπαραγωγική περίοδος και η γαμετογένεση (Elakkanai *et al.*, 2015). Υπάρχουν δύο βασικές στρατηγικές που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της αναπαραγωγής. Η πρώτη είναι η παροχή ενός περιβάλλοντος παρόμοιου με εκείνο στο οποίο η ωοτοκία εμφανίζεται φυσικά. Για παράδειγμα, η παρουσία της βλάστησης και η αύξηση της θερμοκρασίας λειτουργούν ευνοϊκά συνήθως για το χρυσόψαρο. Η αλλαγή της φωτοπερίοδου μπορεί να επιταχύνει ή να καθυστερήσει την ωρίμανση και την ωορρηξία σε πολλά είδη ψαριών, και χρησιμοποιείται εκτενώς στην ιχθυοκαλλιέργεια. Η δεύτερη στρατηγική που χρησιμοποιείται εάν παρουσιάζονται προβλήματα στην γαμετογένεση και ωοτοκία είναι η έγχυση του ιχθύος με μία ή

περισσότερες φυσικές αναπαραγωγικές ορμόνες ή τα συνθετικά ανάλογά τους (Mittelmark and Kapuscinski, 1993).

Περιβαλλοντικοί και οικολογικοί παράγοντες που φαίνεται να επηρεάζουν τον χρόνο αναπαραγωγής είναι η φωτοπερίοδος, η θερμοκρασία του νερού, η ποιότητα νερού (π.χ. διαλυμένο οξυγόνο, pH, σκληρότητα, αλατότητα, αλκαλικότητα), οι πλημμύρες και τα ρεύματα, οι παλίρροιες και οι κύκλοι της σελήνης, οι κύκλοι του καιρού (π.χ. ατμοσφαιρική πίεση, βροχόπτωση), τα διαφορετικού τύπου υποστρώματα ωοτοκίας (π.χ. υδρόβια φυτά, χαλίκια, σπήλαια ωοτοκίας) και η διαθεσιμότητα οικοτόπων, η διατροφή και η διαθεσιμότητα τροφής, οι ασθένειες και τα παράσιτα, η παρουσία άλλων ειδών ψαριών και η αναλογία φύλου μέσα στο ίδιο είδος (Rottmann *et al.*, 1991). Η φωτοπερίοδος θεωρείται βασικός περιβαλλοντικός παράγοντας για την έναρξη και την ολοκλήρωση της ενηλικίωσης σε είδη ψαριών που ζουν σε μέτρια έως υψηλά γεωγραφικά πλάτη, εξασφαλίζοντας τον κατάλληλο εποχιακό χρόνο αναπαραγωγής ανάλογα με τις ευνοϊκές συνθήκες για τους απογόνους (Taranger *et al.*, 2010).

Οι τροποποιημένες εποχικές φωτοπερίοδοι έχουν αποδειχθεί ότι μεταβάλλουν τον χρόνο αναπαραγωγής σε ένα ευρύ φάσμα ειδών (σολομό, πέστροφα, μπακαλιάρο, λαβράκι, ιππόγλωσσο). Σε ορισμένα σολομοειδή τα αποτελέσματα των τροποποιημένων εποχιακών κύκλων φωτός, ο χρόνος ωοτοκίας φαίνεται να μην φέρει άμεση ή σταθερή σχέση με την επικρατούμενη διάρκεια ημέρας (Bromage *et al.*, 2001, Falcon *et al.*, 2010). Η φωτοπερίοδος επηρεάζει επίσης και τον ημερήσιο συγχρονισμό της αναπαραγωγής (Migaud *et al.*, 2010), αλλά και ο χρόνος της πρώτης σεξουαλικής ωρίμανσης μπορεί επίσης να τροποποιηθεί με χειρισμούς φωτοπεριόδου στους τελεόστεους (Rodríguez *et al.*, 2001). Για παράδειγμα, τα είδη που αναπαράγονται κοντά στο σούρουπο, το πλεονέκτημα της ωοτοκίας κατά τη διάρκεια ή λίγο πριν από την φάση σκότους θα μπορούσε να είναι η προστασία των αυγών από τους θηρευτές, καθώς και από την επιβλαβή ακτινοβολία από το υπεριώδες φως κατά την πρόιμη εμβρυογένεση. Αυτό σαφώς δεν ισχύει για τα είδη που αναπαράγονται κατά την αυγή. Επίσης, σε πολλά είδη ψαριών υπάρχουν ημερήσιες μεταβολές στα στεροειδή φύλου και την επακόλουθη ωρίμανση των ωοκυττάρων, τα οποία επηρεάζονται από την καθημερινή φωτοπερίοδο. Έτσι, οι ρυθμοί αυτοί μπορούν να συγχρονιστούν εκ νέου με τεχνητές αλλαγές στον κύκλο φωτός-σκότους, δείχνοντας την ενδογενή φύση αυτού του ρυθμού (Migaud *et al.*, 2010).

Ενώ η φωτοπερίοδος είναι σαφώς ο κυρίαρχος περιβαλλοντικός καθοριστής της αναπαραγωγικής περιόδου, οι εποχιακές αλλαγές θερμοκρασίας δεν θα πρέπει να αγνοούνται, καθώς το θερμικό καθεστώς διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της γαμετογένεσης σε πολλά είδη που ωοτοκούν την άνοιξη. Επίσης η ωρίμανση και / ή η ωορρηξία μπορεί να ανασταλούν όταν η θερμοκρασία υπερβεί ένα συγκεκριμένο όριο. Επίσης η θερμοκρασία μπορεί να λειτουργήσει ως επιτρεπτικός παράγοντας, ιδιαίτερα κατά τα τελικά στάδια της ωρίμανσης των γονάδων και κατά την ωοτοκία (Taranger *et al.*, 2010). Επίσης, η θερμοκρασία παίζει σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση της κανονικής ανάπτυξης των γονάδων, κυρίως με τη δράση της να εντοπίζεται στα μεταβολικά μονοπάτια του άξονα εγκέφαλος- υπόφυση- γονάδες. Σε συνθήκες εκτροφής, η θερμοκρασία θα πρέπει να ελέγχεται αυστηρά, ώστε τα αυγά να έχουν την βέλτιστη ποιότητα (Migaud *et al.*, 2010).

Ωστόσο, σημαντικές επιδράσεις στις διαδικασίες της αναπαραγωγής παρατηρούνται και όταν οι δύο αυτοί παράγοντες δρουν παράλληλα. Μία καθυστέρηση μεταξύ φωτοπεριόδου και μείωσης της θερμοκρασίας είναι ζωτικής σημασίας και έχειδειχθεί ότι επηρεάζουν το πρότυπο ανάπτυξης του ωοκυττάρου και την ποιότητα των αυγών σε αρκετά είδη ψαριών, όπως το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) και η πέρκα (*Perca fluviatilis*) (Mañanós *et al.*, 1997, Wang, 2006). Στα περισσότερα είδη ψαριών, υπάρχουν ελάχιστα και μέγιστα όρια θερμοκρασίας κάτω / πάνω από τα οποία τα τελικά στάδια της ωογένεσης δεν ενεργοποιούνται ή μεταβάλλονται. Οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και της φωτοπεριόδου που απαιτούνται για την επίτευξη ενός κύκλου αναπαραγωγής για τα ψάρια είναι ειδοειδικές (Wang *et al.*, 2010).

Η αναπαραγωγή είναι μια μακρόχρονη και εξαιρετικά ενεργοβόρα διαδικασία που απαιτεί την εκτροπή θρεπτικών μακριά από την σωματική αύξηση, και προς την παραγωγή αυγών. Κατά συνέπεια, η ωοτοκία είναι συνήθως μία διαδικασία που καθυστερεί την αύξηση, με την ανάγκη να βελτιωθεί η κατανομή της διαθέσιμης ενέργειας (Migaud *et al.*, 2010). Εκτός από την γνώση και την περιγραφή του αναπαραγωγικού κύκλου κάθε εκτρεφόμενου οργανισμού, απαραίτητο προϋπόθεση για μία επιτυχημένη αναπαραγωγική διαδικασία είναι η άριστη διατροφική κατάσταση των γεννητόρων. Αυτό οφείλεται στην στενή σχέση που έχει αποδειχθεί πως αναπτύσσεται μεταξύ της σύνθεσης των γονάδων (Rodríguez-Barreto *et al.*, 2012) και του διατροφικού προφίλ των εκτρεφόμενων ιχθύων προκειμένου να φτάσουν στην αναπαραγωγική τους επιτυχία (Pérez *et al.*, 2007). Επομένως, η

διαθεσιμότητα τροφίμων ή η ροή της ενέργειας έχουν αναγνωριστεί ως οι τελικοί παράγοντες που έχουν βασική σημασία για την αναπαραγωγή (Sumpter, 1990).

Τα ψάρια σε ολιγοτροφικά νερά δεν αναπαράγονται τόσο συχνά όσο οι συγγενείς τους σε πλουσιότερα περιβάλλοντα. Πειραματικά, τα επίπεδα ωρίμανσης μπορούν επίσης να μειωθούν όταν τα ψάρια τρέφονται λιγότερο από το κανονικό. Τα ψάρια έχουν κατώτατο όριο ή κρίσιμο μέγεθος ή ηλικία ή συγκεκριμένα επίπεδα ενεργειακού εφοδιασμού ή αποθήκες ενέργειας, ώστε να προχωρήσουν στην ωρίμανση και να ανταποκριθούν στις διάφορες φάσεις της φωτοπερίόδου. Συνεπώς, το μέγεθος ή η ενεργειακή κατάσταση παίζει σημαντικό ρόλο στην αναπαραγωγική ανάπτυξη. Θεωρείται ότι ένας ή περισσότεροι από αυτούς τους παράγοντες μπορεί με κάποιο τρόπο να αλληλεπιδράσουν με τους μηχανισμούς υποθαλάμου-υπόφυσης, οι οποίοι τελικά ελέγχουν την εφηβεία και την αναπαραγωγική λειτουργία (Bromage *et al.*, 2001). Επιπλέον, μια μείωση στον ρυθμό σίτισης προκαλεί αναστολή της ωρίμανσης των γονάδων (Izquierdo *et al.*, 2001). Για παράδειγμα, στο λαβράκι μετά από έξι μήνες σίτισης με μισή ποσότητα από το κανονικό, οι ρυθμοί ανάπτυξης μειώθηκαν, ο χρόνος ωοτοκίας καθυστέρησε και τα αυγά καθώς και οι προνύμφες που είχαν εκκολαφθεί πρόσφατα ήταν μικρότεροι από εκείνους που προέρχονταν από ψάρια που τράφηκαν με κανονικές ποσότητες τροφής. Αυτό σχετίστηκε με τα μειωμένα επίπεδα οιστραδιόλης στο πλάσμα των θηλυκών (Cerdá *et al.*, 1994). Συγκεκριμένα, το προφίλ των λιπαρών οξέων στην τροφή των ιχθύων είναι ένας πολύ κρίσιμος παράγοντας που μπορεί να μεταβάλλει την σύνθεση των γονάδων, καταλήγοντας τελικά να επηρεάσει την ποιότητα του σπέρματος και των αυγών, όπως έχει αποδειχθεί και στο μαγιάτικο (Izquierdo *et al.*, 2001, Rodríguez-Barreto *et al.*, 2012, Rodríguez-Barreto *et al.*, 2014, Rodríguez-Barreto *et al.*, 2017) αλλά και την σύνθεση εικοσανοειδών που αποτελούν αυτοκρινείς μεσολαβητές της αναπαραγωγικής διαδικασίας (Rodríguez-Barreto *et al.*, 2012). Για παράδειγμα, διατροφή με ωμέγα-6 λιπαρά οξέα, όπως έλαιο από συκώτι βακαλάου, παρουσίασε υψηλότερη απόδοση στον αριθμό των θηλυκών που ωοτόκησαν, στη συχνότητα αναπαραγωγής, στον αριθμό των ψαριών ανά αναπαραγωγή και στη συνολική παραγωγή γόνου σε σχέση με διατροφή με ωμέγα-3 λιπαρά οξέα. Τα μυϊκά αποθέματα λιπιδίων χρησιμοποιούνται κατά την ωρίμανση των ωοθηκών. Η σύνθεση λιπαρών οξέων της θηλυκής γονάδας επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την περιεκτικότητα της διατροφής σε λιπαρά οξέα, η οποία με τη σειρά της επηρεάζει σημαντικά την ποιότητα των αυγών (Izquierdo *et al.*, 2001).

Ο αναπαραγωγικός κύκλος χωρίζεται στην αύξηση και την ωρίμανση, διαδικασίες οι οποίες ελέγχονται από διαφορετικές αναπαραγωγικές ορμόνες, στο επίπεδο της υπόφυσης και των γονάδων. Οι διαδικασίες της αναπαραγωγής ξεκινάνε από τον υποθάλαμο όπου εκκρίνονται οι γοναδοεκλυτίνες GnRHs (gonadotropin releasing hormones), των οποίων η σύνθεση και η απελευθέρωση τους ελέγχεται από περιβαλλοντικούς και διατροφικούς παράγοντες, έπειτα ταξιδεύουν μέσω των νευρικών αξόνων και διεγείρουν τα γοναδοτροπικά κύτταρα της υπόφυσης. Στη συνέχεια αυτά τα κύτταρα παράγουν και εκκρίνουν τις δύο γοναδοτροπίνες (GtH), την ωοθυλακιοτρόπο FSH (follicle stimulating hormone) και την ωχρινοποιητική LH (luteinizing hormone). Με τη σειρά τους, αυτές δρουν στο επίπεδο της γονάδας όπου προκαλούν την στεροειδογένεση, δηλαδή παραγωγή ανδρογόνων, οιστρογόνων και προγεστερόνων, τα οποία είναι οι τελικοί παράγοντες ελέγχου της αναπαραγωγής (Taranger *et al.*, 2010).

Στα θηλυκά, το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει την ανάπτυξη των πρωτογενών ωοκυττάρων και την συσσώρευση της λεκίθου στο κυτταρόπλασμα τους, μια διαδικασία που αναφέρεται ως λεκιθογένεση. Η λεκιθογένεση είναι μια ορμονοεξαρτώμενη διαδικασία, όπου ο κύριος παράγοντας επίδρασης της είναι το οιστρογόνο 17β- οιστραδιόλης (E2). Η ωρίμανση των ωαρίων είναι η δεύτερη φάση του κύκλου γαμετογένεσης στα θηλυκά, και ρυθμίζεται από μια απότομη αύξηση της LH από την υπόφυση και την παραγωγή της ορμόνης επαγωγής της ωρίμανσης MIIH (maturation inducing hormone, προγεστερόνη) από το ωοθυλάκιο. Στα αρσενικά κατά το στάδιο της σπερματογένεσης, τα κύτταρα βρίσκονται όλα μαζί στη σπερματοκύστη και υφίστανται ταυτόχρονα εξέλιξη και ωρίμανση. Με τη ρήξη της σπερματοκύστης ξεκινά η περίοδος της σπερμίας, κατά την οποία τα σπερματοζώαρια υφίστανται ωρίμανση. Τα πρώιμα στάδια της γαμετογένεσης ελέγχονται από την FSH, ενώ η LH ρυθμίζει τη διαδικασία της σπερμίας. Τόσο στα θηλυκά όσο και στα αρσενικά, ο τελικός παράγοντας επίδρασης από τις γοναδοτροπίνες για τις αναπαραγωγικές λειτουργίες είναι τα στεροειδή (Mylonas and Zohar, 2009).

Η ωρίμανση του ωοκυττάρου και η ωορρηξία στα θηλυκά, και η σπερμία στα αρσενικά ενδεχομένως χρειάζεται τη χορήγηση εξωγενών ορμονών. Σε κάποια είδη ψαριών αυτές οι ορμόνες χρησιμοποιούνται για να ενισχύσουν την αποτελεσματικότητα της παραγωγής αυγών και να διευκολύνουν την διαδικασία της εκκόλαψης, ενώ σε άλλα η χρήση τους αποτελεί τον μοναδικό τρόπο για να

παραχθούν γονιμοποιημένα αυγά σε βιομηχανική κλίμακα (Mylonas and Zohar, 2009).

Ορμονικοί χειρισμοί για την αναπαραγωγική λειτουργία σε ψάρια εκτροφής έχουν επικεντρωθεί στη χρήση είτε εξωγενών παρασκευασμάτων LH που δρουν απευθείας στο επίπεδο των γονάδων, ή συνθετικών αγωνιστών GnRH (GnRH_a). Οι GnRH_a δρουν στο επίπεδο της υπόφυσης ώστε να διεγερθεί η απελευθέρωση των ενδογενών αποθεμάτων LH, η οποία με τη σειρά της δρα στο επίπεδο των γονάδων ώστε να ξεκινήσει η στεροειδογένεση και η διαδικασία της ωρίμανσης του ωοκυττάρου και της σπερμίας (Mylonas and Zohar, 2009).

Η πιο κοινή αναπαραγωγική δυσλειτουργία σε ψάρια υπό αιχμαλωσία είναι η αποτυχία της ωοκυτταρικής ωρίμανσης κατά την ολοκλήρωση της λεκιθογένεσης. Ως εκ τούτου, δεν υπάρχει ωορρηξία και ωοτοκία των ωαρίων. Ο κύριος λόγος αποτυχίας είναι η μη απελευθέρωση LH από την υπόφυση. Πειράματα που συγκρίνουν της ορμόνες αναπαραγωγής σε θηλυκά άτομα άγριων πληθυσμών και σε αιχμαλωσία, έχουν δείξει ότι τα άτομα υπό αιχμαλωσία παρουσιάζουν χαμηλά επίπεδα LH. Το κύριο πρόβλημα εντοπίζεται στην απελευθέρωση και όχι στην σύνθεση της LH. Άλλο ένα πρόβλημα που παρατηρείται σε ψάρια αιχμαλωσίας, είναι η αποτυχία των θηλυκών ατόμων να εισέλθουν στο στάδιο της λεκιθογένεσης. Ομοίως, στα αρσενικά παρατηρήθηκαν χαμηλότερα επίπεδα LH κατά τη διάρκεια της σπερμίας και χαμηλότερη ποσότητα και όχι καλής ποιότητας σπέρματος, και ως εκ τούτου δημιουργείται πρόβλημα στη σύνθεση ή/και στην απελευθέρωση των γοναδοτροπινών. Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος είτε γίνεται χορήγηση εξωγενούς LH η οποία δρα κατευθείαν στις γονάδες, είτε GnRH_a που δρά στο επίπεδο της υπόφυσης ώστε να ωθήσει στην απελευθέρωση της ενδογενούς LH που βρίσκεται στην υπόφυση, που θα προκαλέσει την στεροειδογένεση, την ωρίμανση των ωοκυττάρων, την ωορρηξία και την σπερμίαση (Mylonas and Zohar, 2001).

Συνεπώς, γίνεται κατανοητό ότι μια από τις σημαντικότερες ορμόνες, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της αναπαραγωγής, είναι η GnRH_a (τεχνικές 'δεύτερης γενιάς'), καθώς επηρεάζει την ανάπτυξη και την ωρίμανση των γαμετών, διαδραματίζοντας κεντρικό ρόλο στο συντονισμό του ενδοκρινικού άξονα για την αναπαραγωγή. Απελευθερώνεται από τον υποθάλαμο στον εγκέφαλο και στοχεύει στη υπόφυση ώστε να διεγείρει την παραγωγή και την απελευθέρωση της FSH και της LH. Γενικά η GnRH_a αυξάνει τα επίπεδα LH στην κυκλοφορία, επίσης

μπορεί να συγχρονίσει την ωορρηξία, να προκαλέσει την τελική ωρίμανση των ωοκυττάρων σε είδη που δεν το κάνουν σε αιχμαλωσία και σε ορισμένες περιπτώσεις να βελτιώσει τη λεκιθογένεση (Elakkanai *et al.*, 2015, Mylonas and Zohar, 2001). Σε πολλές περιπτώσεις η GnRHa χορηγείται σε συνδυασμό με αναστολείς των υποδοχέων της ντοπαμίνης αναστολέων ντοπαμίνης για την πρόκληση ωρίμανσης, (κυρίως σε κυπρινοειδή). Η GnRHa δρα στο ανώτερο επίπεδο του άξονα εγκέφαλος-υπόφυση-γονάδες, οπότε μπορεί να προσφέρει μια πιο ισορροπημένη διέγερση των αναπαραγωγικών γεγονότων και ενδεχομένως καλύτερη ενσωμάτωση με άλλες φυσιολογικές λειτουργίες, επηρεάζοντας άμεσα ή έμμεσα την απελευθέρωση άλλων ορμονών που είναι απαραίτητες για την επιτυχή ωρίμανση των ωοκυττάρων, την σπερμίαση και την ωοτοκία (Mylonas and Zohar, 2009).

Όσον αφορά τις γοναδοτροπίνες και την συμμετοχή τους στον ορμονικό έλεγχο της αναπαραγωγής, έχουν χρησιμοποιηθεί παρασκευάσματα (τεχνικές 'πρώτης γενιάς') τα οποία περιλαμβάνουν είτε ομογενοποιημένα υποφύσεων που περιέχουν LH, είτε καθαρή LH από ψάρια ή ακόμα και από ανθρώπους (human Chorionic Gonadotropin, hCG) (Zohar and Mylonas, 2001). Συνοπτικά, οι τεχνικές πρώτης γενιάς δρουν απευθείας στις γονάδες, ενώ αυτές δεύτερης γενιάς δρουν στην υπόφυση και έτσι έμμεσα στις γονάδες, μέσω της διέγερσης της ενδογενούς έκλυσης GTH (γοναδοτροπινών) της υπόφυσης, επηρεάζοντας τον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων σε υψηλό επίπεδο (Mañanós *et al.*, 2008). Η HCG είναι η πιο κοινή καθαρισμένη γοναδοτροπίνη που χρησιμοποιείται για την επαγόμενη ωοτοκία, προκαλώντας επίσης σπερμίαση στα αρσενικά άτομα πολλών ειδών που βρίσκονται σε αιχμαλωσία (π.χ. *Anguilla japonica*, *Mugil cephalus*, *Abramis brama*). Εμφυτεύματα hCG προκάλεσαν σημαντική αύξηση του GSI σε αρσενικά και θηλυκά ψάρια του είδους *Channa striata*, δημιουργία ωαρίων μεγάλου μεγέθους και σημαντική αύξηση στη γονιμότητα (Elakkanai *et al.*, 2015).

Γενικά έχει αναφερθεί πως η ακριβής και χρονικά προγραμματισμένη εφαρμογή της όποιας ορμονικής θεραπείας είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχή πρόκληση ωορρηξίας στα καλλιεργούμενα ψάρια. Ένα παράδειγμα πειράματος ωορρηξίας επαγόμενης από εξωγενή χορήγηση ορμόνης, δίνει την απόδειξη πως η βέλτιστη στιγμή χορήγησης της GnRHa είναι όταν τα ψάρια έχουν ολοκληρώσει το στάδιο της βιτελλογένεσης (Mylonas *et al.*, 1997). Αν η θεραπεία δεν γίνει τη σωστή χρονική στιγμή τότε ή δεν θα υπάρχει αναπαραγωγή ή τα αυγά που θα προκύψουν θα είναι αγονιμοποίητα ή χαμηλής ποιότητας. Ο έλεγχος για την

ανίχνευση της ετοιμότητας των θηλυκών για την αναπαραγωγή, είναι η βιοψία των ωοθηκών και η μέτρηση της διαμέτρου των ωοκυττάρων, ενώ για τα αρσενικά είναι ο έλεγχος και η εκτίμηση του σταδίου του σπέρματος (Mylonas and Zohar, 2009).

1.3 Ποιότητα αυγών

Ο έλεγχος της αναπαραγωγής των ιχθύων στις υδατοκαλλιέργειες είναι ένα καίριο ζήτημα με πολλούς περιοριστικούς παράγοντες ως προς την επιτυχία του, με έναν από τους σημαντικότερους να αποτελεί η ποιότητα των αρσενικών και των θηλυκών γαμετών (Migaud *et al.*, 2013). Η ποιότητα του αυγού ορίζεται ως η ικανότητά του να γονιμοποιηθεί και στη συνέχεια να αναπτυχθεί σε ένα φυσιολογικό έμβρυο, ενώ η ποιότητα του σπέρματος ορίζεται ως η ικανότητα του να γονιμοποιήσει επιτυχώς το αυγό (Bobe and Labbé, 2010).

Η ποιότητα των γαμετών ακόμα και στους άγριους πληθυσμούς επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς, διατροφικούς, γενετικούς παράγοντες και τη διαχείριση των γεννητόρων (Bobe and Labbé, 2010). Τα ψάρια είναι ποικιλόθερμοι οργανισμοί, άρα η θερμοκρασία του νερού επηρεάζει άμεσα την δυναμική του αναπαραγωγικού τους κύκλου. Σε ορισμένα είδη μάλιστα, η έναρξη του αναπαραγωγικού κύκλου απαιτεί απόλυτα καθορισμένο εύρος θερμοκρασιών ή μία κατώτατη θερμοκρασία για να επιτευχθεί ή για να παραχθούν υψηλής ποιότητας αυγά (Brown *et al.*, 2006, Migaud *et al.*, 2013). Έτσι, η έκθεση των θηλυκών ψαριών σε μη βέλτιστες θερμοκρασίες νερού, ακόμη και για μικρό χρονικό διάστημα, μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικά προβλήματα στην ποιότητα αυγών και εμβρύων (Bobe, 2015). Ο βασικός παράγοντας στον οποίο πολλά είδη εμφανίζουν εξάρτηση όσον αφορά την επίτευξη της αναπαραγωγής τους είναι η φωτοπερίοδος (Bromage *et al.*, 2001). Με κατάλληλους χειρισμούς αυτών των δύο παραγόντων, μπορεί να επιτευχθεί παραγωγή γαμετών εκτός της φυσικής εποχής παραγωγής και απόθεσής τους. Ενώ τέτοιου είδους τεχνικές έχουν κριθεί αρκετά χρήσιμες, μπορούν εύκολα να προκαλέσουν προβλήματα στην ποιότητα των ωαρίων (Bobe and Labbé, 2010, Migaud *et al.*, 2013).

Η διατροφή των γεννητόρων μπορεί να επηρεάσει άμεσα τη σύνθεση της λεκίθου του αυγού και επομένως και την ποιότητά του, αλλά και την ανάπτυξη των εμβρύων τα οποία θα χρησιμοποιήσουν την λέκθιο 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, Kjorsvik *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).

Εκτός όμως από τις πρωτεΐνες και τα υπόλοιπα συστατικά που αναφέρθηκαν, τα οποία συσσωρεύονται στην λέκιθο του αυγού και μπορούν να καθορίσουν την ποιότητα του, το αυγό περιέχει και πολλά άλλα συστατικά όπως τα μητρικής προέλευσης mRNAs (Pelegri, 2003) και διάφορες ορμόνες μεταξύ των οποίων η κορτιζόλη (Hwang *et al.*, 1992), θυροειδείς ορμόνες (Tagawa and Hirano, 1987) και ορισμένα φυλετικά στεροειδή (Feist, 1988). Όσον αφορά τα μητρικά mRNAs, είναι εκείνοι οι παράγοντες που υποστηρίζουν την εμβρυϊκή ανάπτυξη μέχρι την ενεργοποίηση της μεταγραφής του ζυγωτικού mRNA και επομένως φαίνεται να διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο κατά την πρόιμη εμβρυογένεση (Bobe and Labbé, 2010). Κάποιες πρόσφατες μοριακές αναλύσεις βασιζόμενες στα διαθέσιμα γονιδιωματικά εργαλεία έχουν δείξει ότι μερικά μητρικά mRNAs σχετίζονται με την διαφοροποιημένη ποιότητα των αυγών (Aegerter *et al.*, 2005, Bonnet *et al.*, 2007a).

Οι τεχνικές διαχείρισης των γεννητόρων μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα στην ποιότητα των γαμετών. Η συνολική επίπτωση που θα έχουν αυτές οι τεχνικές στην ποιότητα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το είδος του ψαριού, το είδος της κάθε πρακτικής διαχείρισης, την φυσιολογική κατάσταση των οργανισμών και τα επίπεδα στρες στα οποία βρίσκονται (Bobe, 2015). Συνδυασμός περιβαλλοντικών παραγόντων και τεχνικών μεταχείρισης των εκτρεφόμενων οργανισμών έχει βρεθεί πως συχνά προκαλεί πολλές δυσπλασίες στα αυγά (Bonnet *et al.*, 2007b). Ο συνδυασμός αυτός έχει αναφερθεί επίσης να επηρεάζει την αφθονία του μητρικού mRNA που βρίσκεται στα ωοκύτταρα και επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τα πρώτα αναπτυξιακά στάδια του εμβρύου (Bonnet *et al.*, 2007a). Επιπλέον,

εμφανίζονται διαφορές στη σύνθεση και ποιότητα των αυγών μεταξύ των πληθυσμών που παρουσιάζουν διαφορετικά επίπεδα εξημέρωσης (Crespel *et al.*, 2008).

Όπως αναφέρθηκε, η ποιότητα των αυγών επηρεάζεται από πληθώρα παραγόντων. Συγχρόνως, στα πλαίσια της παγκόσμιας κλιματικής αλλαγής, της διαφοροποίησης των ειδών εκτροφής και των νέων συστημάτων καλλιέργειας που αναπτύσσονται, η ικανότητα ελέγχου της ποιότητας των αυγών παραμένει ένα από τα σημαντικότερα θέματα στον χώρο των υδατοκαλλιεργειών (Migaud *et al.*, 2013). Για τα μέχρι τώρα καλά μελετημένα είδη υδατοκαλλιέργειας, ο έλεγχος 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 αναπτυξιακής επιτυχίας είναι μια χρονοβόρα και δύσκολη τεχνική. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται ορισμένοι δείκτες εκτίμησης της ποιότητας που βασίζονται σε ορισμένα χαρακτηριστικά των αυγών ως προγνωστικά που προβλέπουν την αναπτυξιακή τους δυναμική (Bobe and Labbé, 2010). Ορισμένα κριτήρια (δείκτες) που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της ποιότητας των αυγών είναι 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 μη μορφολογικά χαρακτηριστικά, όπως η πλευστότητα, η γονιμοποίηση, η γονιμότητα και η επιβίωση αυγών και προνυμφών (Avery *et al.*, 2009, Mylonas *et al.*, 2004a, Pavlov and Emel'yanova, 2008, Penney *et al.*, 2006, Roldán *et al.*, 2013, Thorsen *et al.*, 2003).

Μία μέθοδος στηρίζεται στην παρατήρηση μορφολογικών χαρακτηριστικών του αυγού και της σύνδεσή τους με την ικανότητα επιτυχημένης ανάπτυξης εμβρύου (Bobe and Labbé, 2010). Αν όχι σε όλες, τότε σίγουρα στις περισσότερες περιπτώσεις οι μορφολογικοί παράμετροι του αυγού μπορούν να χρησιμοποιηθούν για αναγνώριση των αυγών εξαιρετικά κακής ποιότητας (αυγά με ατρησία), όμως δεν κρίνονται κατάλληλοι για την διάκριση 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 δείκτης αξιολόγησης της ποιότητάς τους στα εκτρεφόμενα ψάρια είναι αμφιλεγόμενος. Οι Bromage *et al.* (1992) έδειξαν ότι στην ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) ο παράγοντας αυτός φαίνεται να μην έχει σχέση με την ποιότητα των αυγών. Ωστόσο, ο Kamler (2005) και οι Kjærsvik *et*

al. (1990), διαπίστωσαν ότι η διακύμανση της διαμέτρου φαίνεται να είναι ένα από τα σημαντικότερα κριτήρια για τον προσδιορισμό της ποιότητας των αυγών στα ψάρια. 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 στάδιά τους αντιστοιχούν σε αυγά χαμηλής ποιότητας και βιωσιμότητας (Valdebenito *et al.*, 2015) και ενδεχομένως θα δημιουργήσουν παραμορφωμένα έμβρυα και προνύμφες (Bobe and Labbé, 2010, Bonnet *et al.*, 2007b). Η παρατήρηση των εμβρυϊκών ή προνυμφικών δυσμορφιών είναι πολύτιμο εργαλείο για τον πλήρη χαρακτηρισμό του αναπτυξιακού δυναμικού των γονιμοποιημένων αυγών. Στην ιριδίζουσα πέστροφα έχει βρεθεί πως συγκεκριμένες συνθήκες μεταχείρισης των γεννητόρων προκαλούν διάφορες δυσπλασίες στους απογόνους (Bonnet *et al.*, 2007b). Για παράδειγμα, έχει επιβεβαιωθεί πως υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της μακροχρόνιας μεταχείρισης και χρήσης γηρασμένων (ageing) ωοκυττάρων με την εμφάνιση της δυσμορφίας ονόματι «cyclo» (Aegerter *et al.*, 2005, Bonnet *et al.*, 2007b). Στα γονιμοποιημένα ωάρια μπορούν να παρατηρηθούν ένα ή περισσότερα σταγονίδια λιπιδίου που παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιβίωση των προνυμφών (Sink and 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 (*Oncorhynchus mykiss*) (Azuma *et al.*, 2003) και στην κοινή πέστροφα (*Salmo trutta*) (Mansour *et al.*, 2007). Αυτά τα σταγονίδια είναι υπεύθυνα 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 λεκίθος του αυγού (Bobe and Labbé, 2010, Vassallo-Agius *et al.*, 2001a).

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 καταμέτρηση του ποσοστού γονιμοποίησης είναι ένα από τα βασικά κριτήρια για την εκτίμηση της ποιότητας των γαμετών, λόγω της ευκολίας, 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 εμβρυική 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 ματιών (the eyed stage), της εκκόλαψης και αυτό της κατανάλωσης της λεκίθου (Bobe and 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: 2n-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: 5n-3) καθώς και τα συνολικά ωμέγα-6 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (Broach *et al.*, 2017). Όπως ήδη έχει αναφερθεί, μία ακατάλληλη διατροφή των γεννητόρων

μπορεί να οδηγήσει σε ανεπαρκείς ωοτοκίες, αναπαραγωγικές δυσλειτουργίες και τελικά κακής ποιότητας αυγά (Hauville *et al.*, 2015, Lund *et al.*, 2007).

1.4 Σκοπός εργασίας

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η σύγκριση της ποιότητας και της σύστασης των αυγών του μαγιάτικου (*Seriola dumerili*) από δύο μονάδες, του Αργοσαρωνικού και του Γαλαξιδίου, τα έτη 2016 και 2017. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε αν υπάρχουν διαφορές στα αυγά α) εξαιτίας της διαφορετικής διατροφής των γεννητόρων και β) κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου μετά από πρόκληση της ωοτοκίας με γοναδοεκλυτίνη (GnRHα).

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Διαχείριση γεννητόρων

Τα ψάρια και στις δύο μονάδες διατηρούνταν σε πλωτούς κλωβούς μέσα στη θάλασσα καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου. Οι περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία, οξυγόνο και pH) ελέγχονταν σχεδόν καθημερινά. Κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου, τα ψάρια αναισθητοποιούνταν με clove oil, ελέγχονταν η αναπαραγωγική τους κατάσταση με βιοψία ωοκυττάρων και σπέρματος, στα θηλυκά και στα αρσενικά, αντίστοιχα. Τα άτομα που ήταν σε ώριμη αναπαραγωγική κατάσταση, τους χορηγούνταν ορμόνη (GnRHα) και μεταφέρονταν σε χειρσαίες δεξαμενές μέχρι το τέλος του πειράματος, ενώ όσα δεν ήταν επιστρέφονταν στους κλωβούς.

2.1.1 Μονάδα Αργοσαρωνικού

Η μονάδα του Αργοσαρωνικού βρίσκεται στη Σαλαμίνα, στον Σαρωνικό κόλπο και πιο συγκεκριμένα στον όρμο της Σαλαμίνας. Το απόθεμα του Αργοσαρωνικού αποτελούνταν από 29 άτομα με βιομάζα 485 kg το έτος 2016 και 587 kg το έτος 2017. Τα ψάρια και τις δύο χρονιές ταΐζονταν σχεδόν μέρα παρά μέρα με βιομηχανοποιημένη τροφή (pellet 22 mm, Vitalis Cal, Skretting, Spain). Κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου τα ψάρια τρέφονταν ελάχιστα ή καθόλου, παρ' ότι γινόταν προσπάθειες. Κάθε μήνα υπολογιζόταν η ημερήσια σχετική κατανάλωση τροφής από τα ψάρια διαιρώντας τα κιλά της τροφής που καταναλώθηκαν σε κάθε ημερήσιο τάισμα προς τα κιλά σωματικού βάρους των ψαριών προς τον αριθμό των ημερών που ταΐστηκαν κατά τη διάρκεια του μήνα.

Έτος 2016

Σε αυτό το πείραμα πραγματοποιήθηκαν 3 προκλήσεις ωοτοκίας, που σκοπό είχαν τη σύγκριση της αποτελεσματικότητας των εμφυτευμάτων σε σχέση με τις ενέσεις. Η πρώτη πρόκληση ωοτοκίας έγινε στις 7/6/2016, όπου στα θηλυκά άτομα που μπήκαν στις δεξαμενές 1 και 2 τους χορηγήθηκε GnRHα με ένεση (20 μg GnRHα kg⁻¹ ψαριού), ενώ στα αρσενικά αυτών των δεξαμενών τους έγινε χορήγηση GnRHα στη μορφή εμφυτεύματος (50 μg GnRHα kg⁻¹ ψαριού). Η δεξαμενή 1 αποτελούνταν

από 3 αρσενικά και 3 θηλυκά άτομα, ενώ η 2 από 4 αρσενικά και 4 θηλυκά. Σε όλα τα άτομα των δεξαμενών 3 και 4 χορηγήθηκε εμφύτευμα GnRHα (50 μg GnRHα kg⁻¹ ψαριού). Αντίστοιχα, στην δεξαμενή 3 μπήκαν 3 αρσενικά και 3 θηλυκά άτομα, ενώ η δεξαμενή 4 αποτελούνταν από 4 αρσενικά και 4 θηλυκά (Πίνακας 2). Η σύσταση των δεξαμενών παρέμεινε ίδια καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Στις 14/6/2016 έγινε η δεύτερη πρόκληση ωοτοκίας, όπου επαναλήφθηκε η χορήγηση της ίδιας ορμόνης με ενέσιμη μορφή στα θηλυκά άτομα των δεξαμενών 1 και 2. Η τρίτη πρόκληση ωοτοκίας με ένεση έγινε στις 21/6/2016, όπου στα θηλυκά άτομα των δεξαμενών 1 και 2 χορηγήθηκε με ένεση GnRHα, ενώ στα θηλυκά άτομα των δεξαμενών 3 και 4 έγινε η δεύτερη χορήγηση εμφυτευμάτων GnRHα. Στα αρσενικά άτομα όλων των δεξαμενών δεν έγινε καμία χορήγηση GnRHα μετά την πρώτη χορήγηση. Μετά το πέρας μιας εβδομάδας, το πείραμα ολοκληρώθηκε και τα άτομα όλων των δεξαμενών μεταφέρθηκαν στους θαλάσσιους κλωβούς.

Έτος 2017

Σε αυτό το πείραμα, σε όλα τα άτομα που προορίζονταν για τις δεξαμενές, με σκοπό την πρόκληση ωοτοκίας, χορηγήθηκε GnRHα με τη μορφή εμφυτεύματος. Στις 7/6/2017 έγινε η διαλογή των ατόμων από τους κλωβούς, όπου όσα ψάρια ήταν σε κατάλληλη αναπαραγωγική κατάσταση μπήκαν σε 4 δεξαμενές, ενώ όσα δεν ήταν επιστράφηκαν στους κλωβούς. Οι 2 από τις 4 δεξαμενές αποτελούνταν από άτομα που τους είχε χορηγηθεί χαμηλή δόση GnRHα (25 μg GnRHα kg⁻¹ ψαριού), και αυτές ήταν η δεξαμενή 1 με 3 αρσενικά άτομα και 3 θηλυκά και η δεξαμενή 3 με 2 αρσενικά και 2 θηλυκά. Αντιθέτως, στα ψάρια των δεξαμενών 2 και 4 είχε χορηγηθεί υψηλή δόση της GnRHα (75 μg GnRHα kg⁻¹ ψαριού), και αποτελούνταν από 3 αρσενικά και 3 θηλυκά, και από 2 αρσενικά και 2 θηλυκά άτομα, αντίστοιχα (Πίνακας 2). Η δεύτερη πρόκληση ωοτοκίας έγινε στις 21/6/2017. Στα ψάρια χορηγήθηκε ξανά εμφύτευμα GnRHα, χαμηλής δόσης στις δεξαμενές 1 και 3, και υψηλής στις δεξαμενές 2 και 4. Κατά το τέλος του πειράματος, στις 5/7/2017, τα ψάρια μεταφέρθηκαν από τις δεξαμενές στους κλωβούς.

2.1.2 Μονάδα Γαλαξιδίου

Η μονάδα του Γαλαξιδίου βρίσκεται στον κόλπο της Ιτέας, στον Πατραϊκό κόλπο. Στην μονάδα βρίσκονταν 27 ψάρια με συνολική βιομάζα 441 kg το έτος 2016

και 432 kg το έτος 2017. Τα ψάρια ταΐζονταν σχεδόν μέρα παρά μέρα, εκτός από τον Μάιο μέχρι τον Ιούλιο του 2016 και από τον Ιανουάριο μέχρι τον Μάρτιο του 2017 όπου ταΐστηκαν περίπου οχτώ φορές κατά τη διάρκεια κάθε μήνα. Μέχρι τον Αύγουστο του 2016 τα ψάρια τρέφονταν με ζωντανά λαυράκια και τσιπούρες, ενώ από το Σεπτέμβριο του 2016 μέχρι τον Δεκέμβριο του 2017 με βιομηχανοποιημένη τροφή (pellet 22 mm, Vitalis Cal, Skretting, Spain). Στην αρχή, η τροφή δίνονταν σε μορφή ενυδατωμένης μπάλας. Από τις τελευταίες δέκα μέρες του Οκτωβρίου του 2017 και μετά, η βιομηχανοποιημένη τροφή ήταν ξηρή, συνεπώς τα ψάρια τράφηκαν λιγότερο τον Νοέμβριο και τον Δεκέμβριο του 2017, λόγω αλλαγής της μορφής της τροφής. Τα ψάρια τρέφονταν λιγότερο από τον μηνιαίο μέσο όρο κατά τους μήνες τις αναπαραγωγικής περιόδου, παρά τις προσπάθειες που γίνονταν. Κάθε μήνα υπολογιζόταν η ημερήσια σχετική κατανάλωση τροφής από τα ψάρια διαιρώντας τα κιλά της τροφής που καταναλώθηκαν σε κάθε ημερήσιο τάισμα προς τα κιλά σωματικού βάρους των ψαριών προς τον αριθμό των ημερών που ταΐστηκαν κατά τη διάρκεια του μήνα.

Έτος 2016

Η πρώτη πρόκληση ωτοκίας έγινε στις 16/6/2016, όπου σε όλα τα άτομα χορηγήθηκε εμφύτευμα με ορμόνη GnRH_a (50 μg GnRH_a kg⁻¹ ψαριού). Τα ψάρια χωρίστηκαν σε 2 δεξαμενές και ένα κλωβό. Η δεξαμενή 1 είχε 4 αρσενικά και 3 θηλυκά, η δεξαμενή 2 είχε 3 αρσενικά και 3 θηλυκά, και ο κλωβός 7 αρσενικά και 8 θηλυκά άτομα (Πίνακας 2). Η συλλογή των αυγών από τον κλωβό πραγματοποιήθηκε με την τοποθέτηση νάυλον κουρτίνας εσωτερικά του κλωβού, και στη συνέχεια τα αυγά που συγκεντρώνονταν στην περίμετρο του κλωβού συλλέγονταν με την απόχη. Στις 30/6/2016, τα αρσενικά άτομα των δεξαμενών 1 και 2 παρέμειναν σε αυτές, ενώ τα θηλυκά επιστράφηκαν στον κλωβό. Από τον κλωβό επίσης πάρθηκαν καινούργια θηλυκά άτομα και ένα αρσενικό, τους έγινε εμφύτευση GnRH_a και τοποθετήθηκαν στις δεξαμενές 1 και 2, μαζί με τα προηγούμενα αρσενικά άτομα. Η τελική σύσταση των δεξαμενών 1 και 2 ήταν 4 αρσενικά σε κάθε μια από τις δύο δεξαμενές, 4 θηλυκά στην δεξαμενή 1 και 3 θηλυκά στη δεξαμενή 2. Στο τέλος του πειράματος όλα τα ψάρια μεταφέρθηκαν στον κλωβό.

Έτος 2017

Σε αυτό το πείραμα πραγματοποιήθηκαν τέσσερις προκλήσεις ωοτοκίας, με χρήση εμφυτευμάτων ορμόνης GnRHa (50 µg GnRHa kg⁻¹ ψαριού) σε διαφορετικά άτομα κάθε φορά και σε διαφορετικές χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου. Αναλυτικότερα, στις 30/5/2017 έγινε η πρώτη πρόκληση ωοτοκίας σε 3 αρσενικά και 3 θηλυκά, που μπήκαν σε μια δεξαμενή 18 m³. Η δεύτερη πρόκληση ωοτοκίας έγινε στις 6/6/2017, όπου άλλα 6 άτομα, 3 από κάθε φύλο, μπήκαν σε μια άλλη δεξαμενή ίδιων διαστάσεων. Τα άτομα και των δύο δεξαμενών επιστράφηκαν στη θάλασσα σε νέο κλωβό μετά από 2 - 3 βδομάδες, στις 20/6/2017. Την ίδια μέρα πραγματοποιήθηκε η τρίτη πρόκληση ωοτοκίας, κατά την οποία 3 νέα αρσενικά και 3 νέα θηλυκά άτομα τοποθετήθηκαν σε μια δεξαμενή μετά την χορήγηση των εμφυτευμάτων. Στις 4/7/2017, ημερομηνία της τέταρτης πρόκλησης ωοτοκίας, ένα αρσενικό και ένα θηλυκό από αυτή τη δεξαμενή μεταφέρθηκαν σε μια καινούργια, ενώ τα υπόλοιπα ψάρια επιστράφηκαν στον κλωβό. Στην ίδια δεξαμενή με τα ψάρια αυτά προστέθηκαν άλλα 2 άτομα, 1 αρσενικό και 1 θηλυκό, αφού τους χορηγήθηκε πρώτα GnRHa. Την ίδια μέρα, σε 3 αρσενικά και 3 θηλυκά, που μέχρι τότε βρίσκονταν σε κλωβό, έγινε χορήγηση GnRHa και μεταφέρθηκαν σε ξεχωριστή δεξαμενή. Το πείραμα ολοκληρώθηκε στις 18/7/2017, όπου όλα τα ψάρια επιστράφηκαν πίσω στον κλωβό. Η σύσταση των δεξαμενών μετά από κάθε πρόκληση φαίνεται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2: Σύσταση δεξαμενών σε αρσενικά και θηλυκά άτομα ανά θεραπεία για τις δύο μονάδες (Αργοσαρωνικού και Γαλαξιδίου) τα έτη 2016 και 2017.

Μονάδα – Έτος	Θεραπεία	Αρσενικά (κιλά)	Θηλυκά (κιλά)
Αργοσαρωνικός - 2016	Ένεση 1	3 (39.3 kg)	3 (40.1 kg)
Αργοσαρωνικός - 2016	Ένεση 2	4 (62.9 kg)	4 (70.7 kg)
Αργοσαρωνικός – 2016	Εμφύτευμα 1	3 (45.6 kg)	3 (56.8 kg)
Αργοσαρωνικός – 2016	Εμφύτευμα 2	4 (63.1 kg)	4 (76.5 kg)
Γαλαξίδι - 2016	1	4 (57.2 kg)	3 (44 kg)
Γαλαξίδι - 2016	2	3 (47.4 kg)	3 (45.8 kg)
Γαλαξίδι - 2016	Κλωβός	7 (102.1 kg)	8 (144.3 kg)
Αργοσαρωνικός - 2017	Χαμηλή δόση (25.1)	3 (57.5 kg)	3 (70.3 kg)
Αργοσαρωνικός - 2017	Χαμηλή δόση (25.2)	2 (37 kg)	2 (42.2 kg)
Αργοσαρωνικός – 2017	Υψηλή δόση (75.1)	3 (54.1 kg)	3 (67.8 kg)
Αργοσαρωνικός – 2017	Υψηλή δόση (75.2)	2 (35.8 kg)	2 (49.4 kg)
Γαλαξίδι -2017	1 ⁿ	3 (44.8 kg)	3 (58.6 kg)
Γαλαξίδι -2017	2 ⁿ	3 (49.1 kg)	3 (57.8 kg)
Γαλαξίδι -2017	3 ⁿ	3 (43.7 kg)	3 (57.2 kg)
Γαλαξίδι -2017	4 ⁿ – δεξαμενή Π1	3 (42.6 kg)	3 (46.6 kg)
Γαλαξίδι - 2017	4 ⁿ - δεξαμενή Π2	2 (29.8 kg)	2 (36.1 kg)

2.2 Ποιότητα, συλλογή και συντήρηση αυγών

Μετά από κάθε γέννα, γινόταν η συλλογή των αυγών από συλλέκτη που βρισκόταν εξωτερικά της δεξαμενής, ο οποίος τροφοδοτούνταν με όλο το εξερχόμενο νερό της κάθε δεξαμενής γεννητόρων. Μέσα στον συλλέκτη τα αυγά παγιδεύονταν σε ένα εσωτερικό φίλτρο 300 - 500 μm ανοίγματος, από όπου και μαζεύονταν με απόχη πλαγκτόν και τοποθετούνταν σε δοχείο χωρητικότητας 10 l για να γίνει η αξιολόγηση των αυγών, και μετά να μπουν σε επωαστήρα. Από αυτό το δοχείο λαμβάνονταν δείγμα 10 ml ώστε να γίνει η αξιολόγηση της ποιότητας των αυγών, εκτιμώντας το στάδιο ανάπτυξης, την γονιμότητα (αριθμός αυγών) και το ποσοστό γονιμοποίησής τους. Η σχετική γονιμότητα υπολογιζόταν διαιρώντας την ημερήσια γονιμότητα προς το βάρος των θηλυκών ατόμων, από τα οποία προήλθαν τα αυγά, και το ποσοστό γονιμοποίησης υπολογιζόνταν ως ο αριθμός των γονιμοποιημένων αυγών προς το συνολικό αριθμό αυγών που είχαν συλλεχθεί (Mylonas *et al.*, 2004a). Μετά από την αξιολόγηση, συλλέγονταν από το δοχείο δείγμα επιπλεόντων αυγών, το οποίο αποθηκεύονταν χωρίς νερό σε φιαλίδιο των 5 ml και τοποθετούνταν στους -20°C μέχρι την μεταφορά όλων των δειγμάτων στο Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών (ΕΛΚΕΘΕ), όπου εκεί διατηρήθηκε στους -80°C. Επίσης, από κάποιες γέννες λαμβάνονταν δείγμα από τα επιπλέοντα αυγά, προκειμένου να ελεγχθεί και να εκτιμηθεί η επιβίωση αυγών και προνυμφών για την κάθε γέννα. Η επιβίωση ελέγχονταν με την μέθοδο των microtiter plates (2 επαναλήψεις/ ωτοκόκκια), όπου 96 αυγά τοποθετούνταν το καθένα σε ένα ξεχωριστό κελί του microtiter plate (Panini *et al.*, 2001). Αναλυτικότερα, από το δοχείο των 10 l συλλέγονταν με απόχη τα επιπλέοντα αυγά, όπου περισσότερο από το 90% ήταν γονιμοποιημένα, και τοποθετούνταν σε δοχείο 2 l αφού είχαν ξεπλυθεί με αποστειρωμένο θαλασσινό νερό. Έπειτα, λίγα αυγά τοποθετούνταν σε τριβλίο petri με αποστειρωμένο θαλασσινό νερό και μετά κάτω από στερεοσκόπιο πάρθηκαν ένα ένα με πιπέτα ρυθμισμένη στα 200 μl και μπήκαν στα κελιά του microtiter plate (ένα αυγό/ κελί). Τα microtiter plates τοποθετούνταν σε επωαστήρα με ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) και ελέγχονταν καθημερινά για 5 συνεχόμενες μέρες ώστε να εκτιμηθεί η επιβίωση και η ανάπτυξη των αυγών και των προνυμφών. Κατά τη διάρκεια αυτών των ημερών, υπολογιζόνταν τα ζωντανά έμβρυα μια μέρα μετά τη συλλογή των αυγών (ζωντανά έμβρυα/ συνολικό αριθμό ζωντανών αυγών

που είχαν τοποθετηθεί στο microtiter plate την προηγούμενη μέρα), το ποσοστό εκκόλαψης (προνύμφες που είχαν εκκολαφθεί/ ζωντανά έμβρυα πρώτης μέρας) καθώς και τις ζωντανές προνύμφες την τέταρτη μέρα (ζωντανές προνύμφες την τέταρτη μέρα/ προνύμφες που είχαν εκκολαφθεί) και πέμπτη μέρα μετά τη συλλογή (ζωντανές προνύμφες την πέμπτη μέρα/ ζωντανές προνύμφες την τέταρτη μέρα) (Mylonas *et al.*, 2004a).

2.3 Προετοιμασία δειγμάτων αυγών και βιοχημικές αναλύσεις

Οι αναλύσεις όλων των δειγμάτων, εκτός αυτών στα οποία έγινε ανάλυση της κορτιζόλης, έγιναν στο εργαστήριο διατροφής ιχθύων του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε.. Σε όλα τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για κάθε μία από τις παρακάτω αναλύσεις έγινε λυοφιλοποίησή τους (Telstar Cryodos). Τα δείγματα παρέμειναν στο λυοφιλοποιητή για 3 μέρες, σε θερμοκρασία -50 με -80°C και σε κενό με τη χρήση αντλίας αέρα (Varian DS 102), για την αφαίρεση της υγρασίας τους. Έπειτα όλα τα δείγματα, εκτός αυτά στα οποία έγινε ανάλυση στην υγρασία και στην τέφρα, μπήκαν στον κλίβανο ξήρανσης (Termarks Series TS 8000) για 24 ώρες και σε θερμοκρασία 40°C, ώστε να τους αφαιρεθεί τυχόν υγρασία που απέμεινε μετά τη λυοφιλίωση. Τα δείγματα μετά τις 24 ώρες, ζυγίζονταν σε ζυγαριά ακριβείας (KERN ABJ 220-4M) κάθε μία ώρα μέχρι να σταθεροποιηθεί ή να αρχίσει να αυξάνεται το βάρος τους. Στη συνέχεια τα δείγματα διατηρήθηκαν στους -20°C έως την στιγμή της ανάλυσής τους.

- **Σύσταση αυγών σε υγρασία**

Η υγρασία μετρήθηκε σε 14 δείγματα από το έτος 2016, τα 11 ήταν από το μονάδα του Αργοσαρωνικού και τα υπόλοιπα 3 από το μονάδα του Γαλαξιδίου. Άδειες πορσελάνες επώαστηκαν για μια ώρα στον κλίβανο ξήρανσης (Termarks Series TS 8000) στους 90°C για την απομάκρυνση της υγρασίας τους. Μετά την μία ώρα, ζυγίστηκαν οι άδειες πορσελάνες και τους προστέθηκε 0.1 g δείγματος, σε δύο επαναλήψεις. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον κλίβανο για 2 ώρες και έπειτα ζυγίζονταν κάθε 20 λεπτά μέχρι τη σταθεροποίηση ή την αύξηση του βάρους τους (ζυγαριά ακριβείας KERN ABJ 220-4M) (Chemists and Horwitz, 1990). 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.

- **Σύσταση αυγών σε τέφρα**

Ο υπολογισμός της τέφρας έγινε στα ίδια δείγματα με αυτά για τον υπολογισμό της υγρασίας. Μετά τη σταθεροποίηση του βάρους τους στον κλίβανο ξήρανσης, οι πορσελάνες με τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε κλίβανο τέφρας (Heraeus M110, Heraeus Instruments). Εκεί παρέμειναν για 7 ώρες στους 700°C. Μετά το πέρας της μίας μέρας, έμειναν στον κλειστό κλίβανο για μία ακόμα μέρα μέχρι να φτάσουν σε θερμοκρασία δωματίου και να μπορούν να ζυγιστούν σε ζυγαριά ακριβείας (KERN ABJ 220-4M) (Chemists and Horwitz, 1990). Ο τύπος για τον υπολογισμό της τέφρας είναι:

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

όπου: A = βάρος πορσελάνης

B = βάρος πορσελάνης μαζί με το δείγμα

Γ = βάρος πορσελάνης μαζί με την τέφρα.

- **Σύσταση αυγών σε λίπος**

Η ανάλυση της σύστασης του λίπους έγινε σε 53 δείγματα, 11 δείγματα από το έτος 2016 στον Αργοσαρωνικό, 3 από το ίδιο έτος αλλά από το Γαλαξίδι, και τα υπόλοιπα 39 ήταν από το έτος 2017, όπου τα 25 ήταν από τον Αργοσαρωνικό και τα άλλα 14 από το μονάδα του Γαλαξιδίου. Από κάθε δείγμα αυγών ζυγίστηκαν σε ζυγαριά ακριβείας (KERN ABJ 220-4M) 0.2 g. Όλα τα δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν. Σε κάθε δείγμα προστέθηκε διάλυμα χλωροφορμίου : μεθανόλης (2:1), το οποίο περιείχε 0.01% w/v BHT (Βουτυλοϋδροξυτολουόλιο, 2.5-di-tert-butyl-p-Cresol), για την αποφυγή οξειδωσης των λιπιδίων. Η αναλογία διαλύματος : δείγμα

ήταν 15:1 και έπειτα παρέμεινε για 30 λεπτά στους 4°C όπου έγινε η εκχύλιση των λιπιδίων από το δείγμα. Έπειτα με τη χρήση αντλίας (Diaphragm Vacuum Pump, Vacuubrand GmbH + CO KG) έγινε η διήθηση, όπου το διάλυμα μεταφέρθηκε σε φιάλη διήθησης μέσω φίλτρου (Φίλτρα Whatman νούμερο 1 διαμέτρου 90 mm και 11 μm διάμετρος πόρου), τοποθετημένου σε φίλτρο Buchner και ξεπλυμένο με χλωροφόρμιο. Έπειτα το διάλυμα μεταφέρθηκε σε καθαρό σωλήνα φυγοκέντρισης και προστέθηκαν 10 ml χλωροφορμίου : μεθανόλης και 4 ml ένυδρου χλωριούχου μαγνήσιου (0.017% w/v). Στη συνέχεια έγινε προσθήκη αερίου αζώτου, ανάδευση με αναδευτήρα δονητικής ανάδευσης (Vortex Heidolph Reax top) και ξανά προσθήκη αερίου αζώτου. Τα παραπάνω βήματα γίνονταν προκειμένου να αποφευχθεί η οξείδωση των λιπιδίων και για τον διαχωρισμό δύο φάσεων, όπου η πάνω υδατική φάση περιέχει τις μη λιπιδικές επιμολύνσεις και η κάτω φάση το χλωροφόρμιο με τα λιπίδια. Για να επιτευχθεί ο διαχωρισμός των φάσεων, το δείγμα παρέμεινε για 24 ώρες στους 4°C. Την επόμενη μέρα, ζυγίστηκαν οι φλάσκες για τον περιστροφικό εξατμιστήρα σε ζυγαριά ακριβείας, αφού είχαν περάσει από τη συνεχή ροή αερίου αζώτου. Έπειτα στα δείγματα προστέθηκε με πιπέτα Pasteur διάλυμα χλωροφορμίου : μεθανόλης : νερού (διάλυμα Folch, 3:48:47 v/v/v) ώστε να γίνει η πλήρης απομάκρυνση των λιπιδίων από την πάνω υδατική φάση. Στη συνέχεια αφαιρέθηκε η πάνω υδατική φάση με καθαρή πιπέτα Pasteur, και η κάτω φάση μεταφέρθηκε στην φιάσκα μέσω φίλτρου (Φίλτρα Whatman νούμερο 1 διαμέτρου 90 mm και 11 μm διάμετρος πόρου), τοποθετημένου σε γυάλινο κωνικό χωνί και καθαρισμένο με χλωροφόρμιο. Οι φλάσκες τοποθετήθηκαν στον περιστροφικό εξατμιστήρα (Heidolph LABOROTA 4000 με ενσωματωμένο ψύκτη Julabo F32), στους 40°C και στις 30 rpm μέχρι να εξατμιστεί το χλωροφόρμιο και να απομονωθούν τα λιπίδια. Ο περιστροφικός εξατμιστήρας λειτουργεί σε κενό με τη χρήση αντλίας (Αντλία διήθησης Diaphragm Vacuum Pump, Vacuubrand GmbH + CO KG). Μετά την ολοκλήρωση της εξάτμισης οι φλάσκες περάστηκαν από τη συνεχή ροή αερίου αζώτου και ζυγίστηκαν σε ζυγαριά ακριβείας. Η διαδικασία άζωτο – ζύγισμα επαναλαμβάνονταν μέχρι τη σταθεροποίηση ή την αύξηση του βάρους της φιάσκας. Τέλος, σε κάθε φιάσκα προστέθηκαν 3 ml εξάνιο, για την αποκόλληση των λιπιδίων από τα τοιχώματα της φιάσκας. Το διάλυμα εξανίου – λιπιδίων μεταφέρθηκε σε αδιαφανές/ σκουρόχρωμο φιαλίδιο των 4 ml, ώστε να μην διαπερνάτε από το φως και να οξειδώνονται τα λίπη. Στο φιαλίδιο προστέθηκε αέριο άζωτο και έπειτα συντηρήθηκε στους -20°C μέχρι την ανάλυση της σύστασης των λιπαρών οξέων. Η

σύσταση των δειγμάτων σε λίπος αναλύθηκε με την τροποποιημένη μέθοδο εκχύλισης κατά Folch (Folch *et al.*, 1957). Το ποσοστό του λίπους σε κάθε δείγμα υπολογίστηκε από τον τύπο:

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

όπου: A = βάρος δείγματος

B = βάρος άδειας φλάσκας

Γ = βάρος φλάσκας μαζί με το λίπος.

- **Σύσταση αυγών σε πρωτεΐνες**

Η σύσταση των δειγμάτων σε πρωτεΐνες έγινε σε 14 δείγματα από το έτος 2016, τα 11 ήταν από το μονάδα του Αργοσαρωνικού και τα υπόλοιπα 3 από την μονάδα του Γαλαξιδίου. Από κάθε δείγμα ζυγίστηκε σε ζυγαριά ακριβείας (KERN ABJ 220-4M) 0.1 g αυγών σε δύο επαναλήψεις. Το δείγμα τοποθετήθηκε σε φύλλο αλουμινίου που δεν περιείχε άζωτο και έγινε ένα μικρό σφαιρίδιο, το οποίο εισήχθη στον αναλυτή του αζώτου (Leco FP-528). Ο αναλυτής αζώτου καίει σε υψηλές θερμοκρασίες (700°C - 1000°C) με την είσοδο καθαρού οξυγόνου όλες τις οργανικές ενώσεις και τις μετατρέπει σε CO₂ και σε συστατικά που περιέχουν N₂ και οξειδία του αζώτου. Τα τελευταία ανάγονται σε N₂ σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας (600°C) και σε μια στήλη χαλκού. Στον αναλυτή υπάρχει σύστημα απομόνωσης του απελευθερούμενου αζώτου, των νιτρικών και των νιτρωδών ιόντων από τα υπόλοιπα προϊόντα καύσης. Η ποσοτικοποίηση και η μέτρηση του συνολικού N₂ πραγματοποιείται μέσω αέριου χρωματογράφου και ενός ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας που βρίσκονται μέσα στον αναλυτή του αζώτου. Πριν την καύση των δειγμάτων απαιτείται η βαθμονόμηση του αναλυτή, η οποία γίνεται με δείγματα μάρτυρες και με άλευρο σόγιας που περιέχει συγκεκριμένο ποσοστό N₂. Μετά από την μέτρηση κάθε 5 δειγμάτων γινόταν ξέπλυμα του αναλυτή με ένα δείγμα μάρτυρα. Η σύσταση των δειγμάτων σε πρωτεΐνες έγινε με βάση τη μέθοδο του Dumas και ο υπολογισμός του ποσοστού της πρωτεΐνης στα δείγματα έγινε σύμφωνα με τους παρακάτω τύπους:

$$\text{N}_2 (\%) = (\text{A} / \text{B}) * 100$$

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

B = βάρος δείγματος

$$\text{Πρωτεΐνη (\%)} = N_2 (\%) * F$$

όπου: F = ο συντελεστής μετατροπής (6.25). Οι περισσότερες πρωτεΐνες περιέχουν 16% αζώτου και έτσι το ολικό άζωτο μετατρέπεται σε ποσοστό πρωτεΐνης ($100 / 16 = 6.25$) (Undersander *et al.*, 1993, Forage analyses procedures).

- **Σύσταση αυτών σε ενέργεια**

Για τον υπολογισμό της ενέργειας χρησιμοποιήθηκαν 3 δείγματα από την μονάδα του Αργοσαρωνικού του έτους 2016. Η ανάλυση της ενέργειας έγινε σε Θερμιδόμετρο βόμβας (Parr 6300 Calorimeter) μαζί με ένα σύστημα ανακυκλοφορίας νερού (Parr 6520A) και μια φιάλη καθαρού οξυγόνου. Από κάθε δείγμα ζυγίστηκαν σε ζυγαριά ακριβείας (Ζυγαριά ακριβείας KERN ABJ 220-4M) 0.4 g αυγά, τα οποία τοποθετήθηκαν σε μεταλλική κάψουλα από ανοξείδωτο ατσάλι. Στη συνέχεια, η κάψουλα στερεώθηκε στην κεφαλή της βόμβας. Μια βαμβακερή κλωστή ανάφλεξης (Ignition Thread 4'', Parr) συνέδεε το δείγμα με το σύρμα ανάφλεξης που βρίσκεται πάνω στην κεφαλή της βόμβας. Η κεφαλή κουμπώθηκε στον κύλινδρο καύσης (βόμβα) και έπειτα η βόμβα γέμισε με οξυγόνο και ο θάλαμος που την περιβάλλει γέμισε με νερό. Το δείγμα κάηκε μέσω μιας σπίθας που δημιουργήθηκε στο σύρμα ανάφλεξης παρουσία του οξυγόνου και μεταφέρθηκε στο δείγμα μέσω της κλωστής. Το νερό θερμάνθηκε μέσω της θερμότητας που απελευθερώθηκε από την καύση του δείγματος. Η θερμότητα – ενέργεια που απελευθερώθηκε, μετρήθηκε από το θερμιδόμετρο και εκφράστηκε σε θερμίδες. Ο υπολογισμός της ενέργειας γίνεται μέσω του τύπου:

$$HC = (W * T - e_1 - e_2 - e_3) / m$$

όπου: HC = ενέργεια που περιέχεται στο δείγμα (cal / g) 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

θερμιδόμετρον κατά ένα βαθμό. Η τυποποίηση αυτής της παραμέτρου γίνεται με βαθμονόμηση του θερμιδόμετρου χρησιμοποιώντας σβόλους βενζοϊκού οξέος.

e_1 = θερμότητα που παράγεται από την καύση του αζώτου που περιέχεται στον αέρα που βρίσκεται εγκλωβισμένος μέσα στον κύλινδρο καύσης (cal).

e_2 = θερμότητα που παράγεται κατά το σχηματισμό θειικού οξέος, από την αντίδραση του θείου που βρίσκεται στο δείγμα, υδρατμών και οξυγόνου (cal).

e_3 = θερμότητα που απελευθερώνεται από το σύρμα ανάφλεξης και την καύση της κλωστής ανάφλεξης (cal).

m = βάρος δείγματος (g).

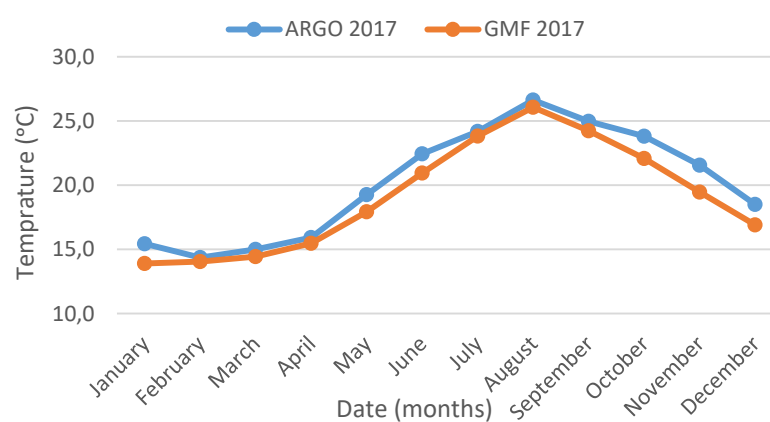
2.4 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των παραμέτρων που συγκρίθηκαν έγινε με το πρόγραμμα SigmaStat 3.5.Ink. Όταν πληρούνταν οι προϋποθέσεις της κανονικότητας και της ομοιογένειας των διασπορών, χρησιμοποιήθηκαν το one-way ANOVA test για τις συγκρίσεις παραμέτρων υπό την επίδραση ενός παράγοντα και το two-way ANOVA test για τις συγκρίσεις παραμέτρων υπό την επίδραση δύο παραγόντων, ακολουθούμενο από το post-hoc test Duncan's New Multiple Range (DNMR). Όταν δεν πληρούνταν μια εκ των δύο προϋποθέσεων (κανονικότητας και ομοιογένειας των διασπορών) ή και οι δύο, τότε η στατιστική ανάλυση ANOVA γινόταν με το Kruskal – Wallis test. Συσχετίσεις μεταξύ των μεταβλητών παραμέτρων έγιναν με το Pearson test. Οι γραφικές παραστάσεις έγιναν στο πρόγραμμα Microsoft Office Excel 2013.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Θερμοκρασία

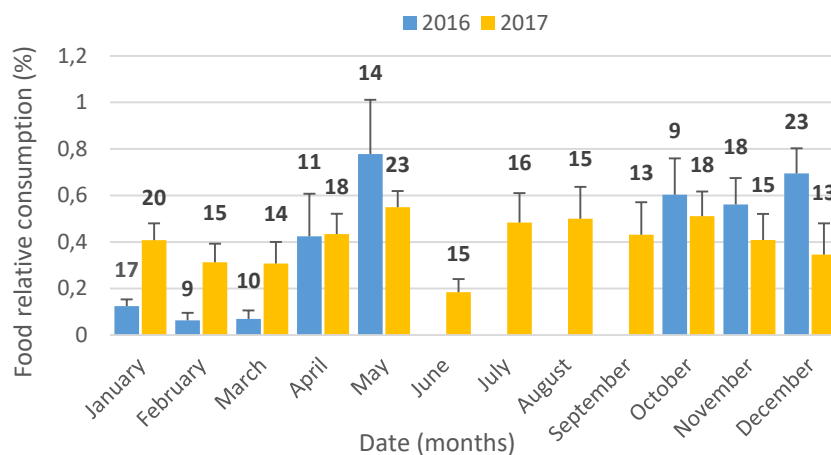
Από τις ημερήσιες μετρήσεις της θερμοκρασίας από τις δύο μονάδες στον κόλπο του Σαρωνικού (μονάδα Αργοσαρωνικού) και στον κόλπο της Ιτέας (μονάδα Γαλαξιδίου) υπολογίστηκε ο μηνιαίος μέσος όρος για τα έτη 2016 και 2017 (Εικόνα 3). Οι θερμοκρασίες το 2016 δεν αναπαραστάθηκαν καθώς παρουσίαζαν τις ίδιες διακυμάνσεις με αυτές του 2017.



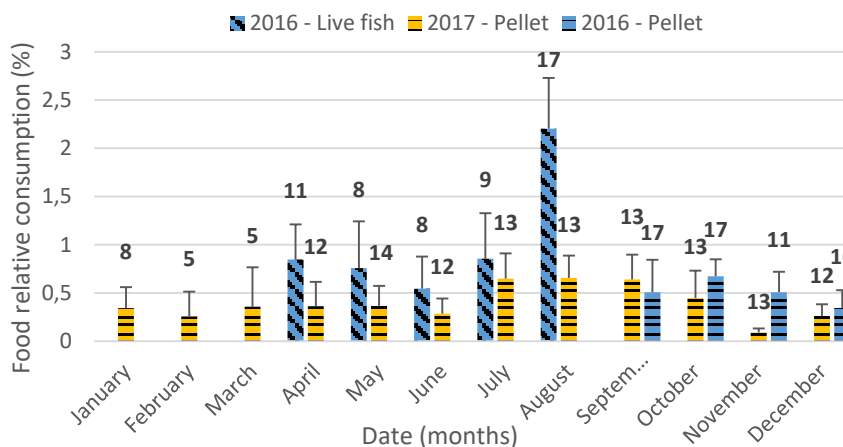
Εικόνα 3: Μηνιαία διακύμανση της θερμοκρασίας στις δύο μονάδες διαχείρισης των γεννητόρων μαγιάτικου κατά τη διάρκεια του έτους 2017. Temperature = Θερμοκρασία, Date (months) = Ημερομηνία (μήνες), ARGO = Αργοσαρωνικός Ιχθυοτροφεία (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος), GMF = Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες (Γαλαξίδι, Κορινθιακός Κόλπος).

3.2 Κατανάλωση τροφής από τους γεννήτορες των δύο μονάδων

Τα ψάρια δεν ταΐζονταν καθημερινά, αλλά τις ημέρες που ταΐζονταν η ημερήσια κατανάλωση βιομηχανικής τροφής κυμάνθηκε μεταξύ του 0.1 και 0.8% του σωματικού βάρους των ψαριών κατά τα 2 χρόνια της μελέτης (Εικόνα 4 και 5). Στον Αργοσαρωνικό και τα δύο έτη τα ψάρια ταΐζονταν με βιομηχανοποιημένη τροφή, ενώ στο Γαλαξίδι τους περισσότερους μήνες του 2016 ταΐζονταν με ζωντανό ψάρι, μέχρι που αντικαταστάθηκε από βιομηχανική τροφή τον Σεπτέμβριο του 2017 (Εικόνα 5).



Εικόνα 4: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) ημερήσια σχετική κατανάλωση τροφής (% σωματικού βάρους) από τα ψάρια της μονάδας του Αργοσαρωνικού τα έτη 2016 (για τους μήνες Ιούνιο μέχρι Σεπτέμβριο δεν υπάρχουν δεδομένα) και 2017 (βιομηχανοποιημένης τροφής). Οι αριθμοί πάνω από τις μπάρες υποδηλώνουν τις ημέρες που ταΐστηκαν κάθε μήνα. Food relative consumption = Σχετική κατανάλωση τροφής, Date (months) = Ημερομηνία (μήνες).

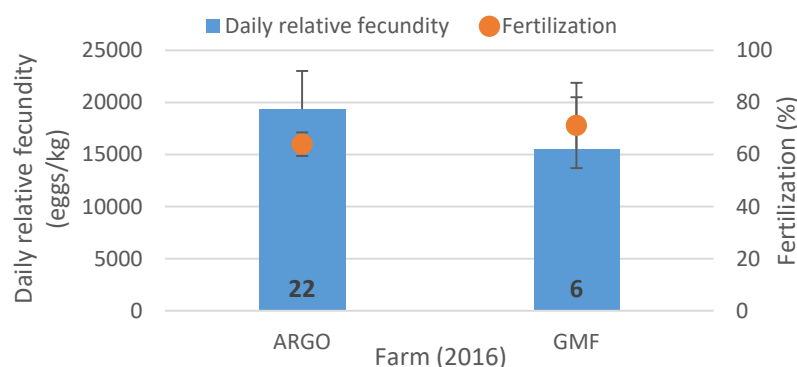


Εικόνα 5: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) ημερήσια σχετική κατανάλωση τροφής (% σωματικού βάρους) από τα ψάρια της μονάδας του Γαλαξιδίου τα έτη 2016 και 2017. Οι αριθμοί πάνω από τις μπάρες υποδηλώνουν τις ημέρες που ταΐστηκαν κάθε μήνα. Live fish = Ζωντανό ψάρι, Pellet = Βιομηχανοποιημένη τροφή, Food relative consumption = Σχετική κατανάλωση τροφής, Date (months) = Ημερομηνία (μήνες).

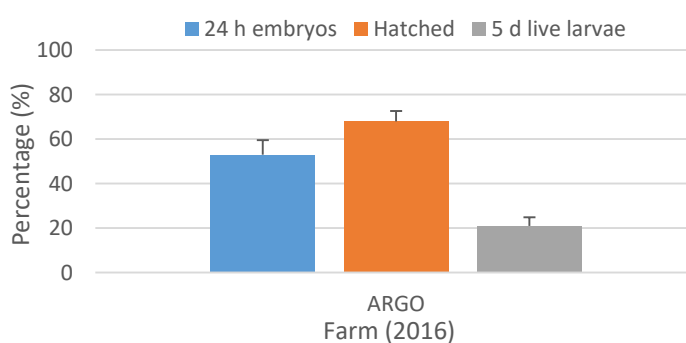
3.3 Σύγκριση ποιότητας αυγών από τις δύο μονάδες το έτος 2016

Από την αξιολόγηση της ποιότητας των αυγών προέκυψε ότι στη μονάδα του Αργοσαρωνικού η σχετική ημερήσια γονιμότητα δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά ($p = 0.695$) σε σχέση με αυτής της μονάδας του Γαλαξιδίου το 2016 (Εικόνα 6). Ομοίως μεταξύ των δύο μονάδων το έτος 2016 δεν παρατηρήθηκαν διαφορές ($p = 0.552$) στο ποσοστό γονιμοποίησης (Εικόνα 6). Από την μονάδα του Γαλαξιδίου δεν υπάρχουν δεδομένα για τα ποσοστά επιβίωσης καθώς δεν φτιάχτηκαν microtiter

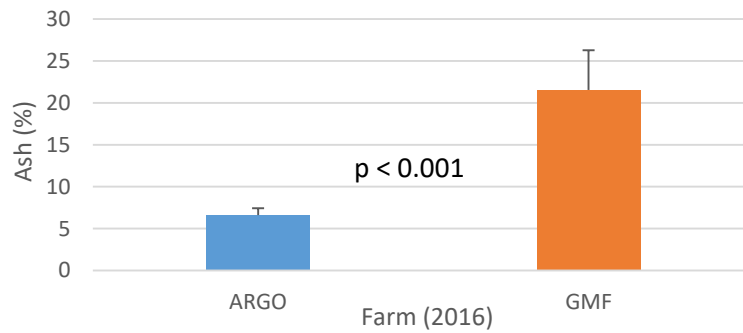
plates. Από τα microtiter plates του Αργοσαρωνικού, μεγαλύτερο ποσοστό παρουσιάζουν τα αυγά που εκκολάφθηκαν και μικρότερο οι ζωντανές προνύμφες την πέμπτη ημέρα (Εικόνα 7). Από τα δεδομένα της σύστασης των αυγών σε τέφρα, προέκυψε ότι τα αυγά του Γαλαξιδίου έχουν μεγαλύτερο ποσοστό ($p = 0.001$) τέφρας σε σχέση με του Αργοσαρωνικού (Εικόνα 8). Αντιθέτως, φαίνεται πως τα αυγά του Αργοσαρωνικού έχουν μεγαλύτερο ποσοστό λιπιδίων ($p < 0.001$) και πρωτεΐνης ($p = 0.01$) σε σχέση με του Γαλαξιδίου (Εικόνες 9 και 10).



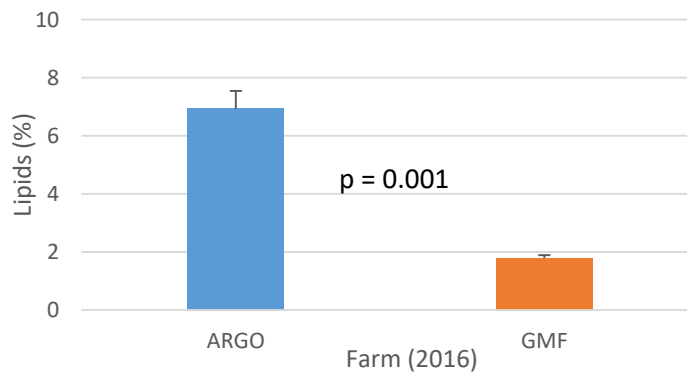
Εικόνα 6: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) ημερήσια σχετική γονιμότητα (αριθμός αυγών kg⁻¹ σωματικού βάρους των θηλυκών) και ποσοστό γονιμοποίησης των αυγών που παράχθηκαν από τα μαγιάτικα του Αργοσαρωνικού και του Γαλαξιδίου το έτος 2016 μετά από χορήγηση εμφυτευμάτων GnRHα. Οι αριθμοί μέσα στις μπάρες υποδηλώνουν τον αριθμό των ωοτοκίων, από τις οποίες προέκυψαν οι μέσες τιμές της σχετικής γονιμότητας και γονιμοποίησης. Daily relative fecundity = Ημερήσια σχετική γονιμότητα, Fertilization = Γονιμοποίηση, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικός Ιχθυοτροφεία (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος), GMF = Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες (Γαλαξίδι, Κορινθιακός Κόλπος). Δεν υπήρξε στατιστική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών (Daily relative fecundity: Kruskal - Wallis, $p = 0.695$, Fertilization: one-way ANOVA, $p = 0.552$).



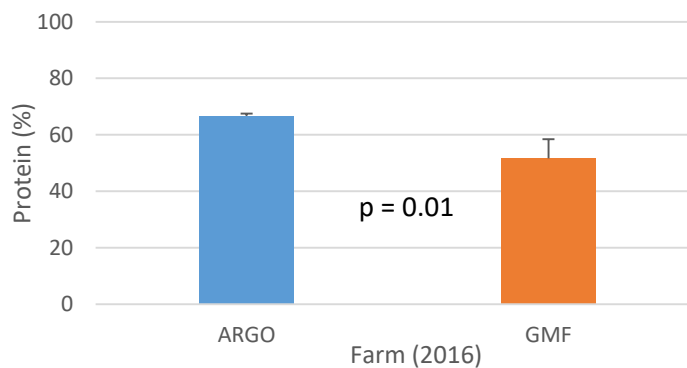
Εικόνα 7: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) επιβίωση αυγών και νυμφών μαγιάτικου που παράχθηκαν από τους γεννήτορες του Αργοσαρωνικού το έτος 2016. 24 h embryos = Έμβρυα μετά από 24 ώρες, Hatched = Αυγά που είχαν εκκολαφθεί, 5 d live larvae = Ζωντανές προνύμφες την πέμπτη ημέρα, Percentage = Ποσοστό, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικός Ιχθυοτροφεία (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος).



Εικόνα 8: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) περιεκτικότητα (%) τέφρας των αυγών μαγιάτικου από τις μονάδες του Αργοσαρωνικού και του Γαλαξιδίου το έτος 2016. Ash = Τέφρα, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικός Ιχθυοτροφεία (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος), GMF = Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες (Γαλαξίδι, Κορινθιακός Κόλπος). Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ των αυγών των δύο μονάδων (one-way ANOVA, $p < 0.001$).



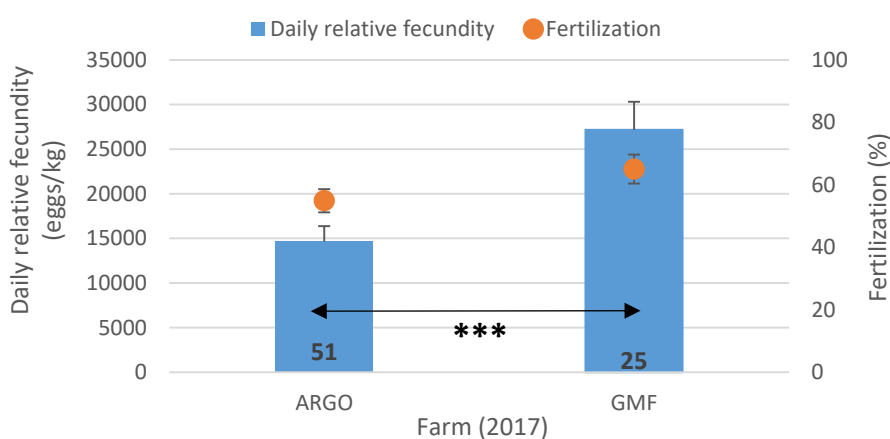
Εικόνα 9: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) περιεκτικότητα (%) λιπιδίων των αυγών μαγιάτικου από τις μονάδες του Αργοσαρωνικού και του Γαλαξιδίου το έτος 2016. Lipids = Λιπίδια, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικός Ιχθυοτροφεία (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος), GMF = Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες (Γαλαξίδι, Κορινθιακός Κόλπος). Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ των αυγών των δύο μονάδων (one-way ANOVA, $p = 0.001$).



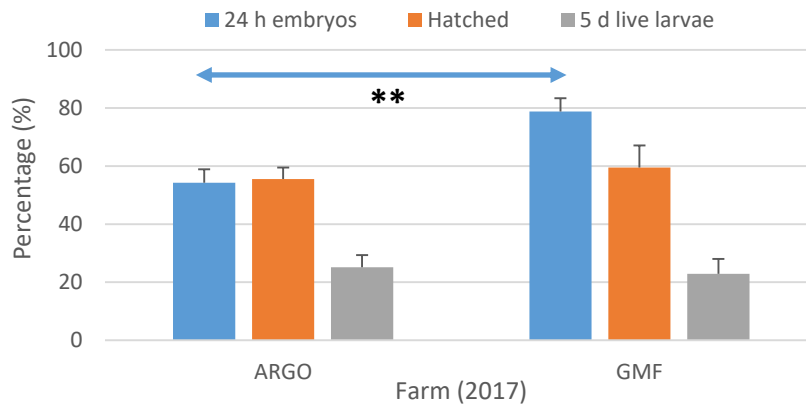
Εικόνα 10: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) περιεκτικότητα (%) πρωτεΐνης των αυγών μαγιάτικου από τις μονάδες του Αργοσαρωνικού και του Γαλαξιδίου το έτος 2016. Protein = Πρωτεΐνη, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικός Ιχθυοτροφεία (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος), GMF = Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες (Γαλαξίδι, Κορινθιακός Κόλπος). Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ των αυγών των δύο μονάδων (Kruskal - Wallis, $p = 0.01$).

3.4 Σύγκριση ποιότητας αυγών από τις δύο μονάδες το έτος 2017

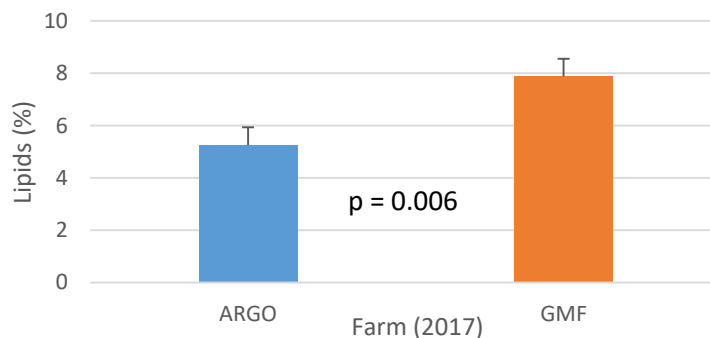
Η μονάδα του Γαλαξιδίου το 2017 είχε μεγαλύτερη ημερήσια σχετική γονιμότητα ($p < 0.001$) σε σχέση με τον Αργοσαρωνικό (Εικόνα 11), ενώ το ποσοστό γονιμοποίησης δεν διαφέρει ($p = 0.133$) μεταξύ των δύο μονάδων το 2017 (Εικόνα 11). Τα αυγά του Γαλαξιδίου παρουσίασαν μεγαλύτερο ποσοστό ζωντανών εμβρύων μετά από 24 ώρες ($p = 0.006$) σε σχέση με εκείνα του Αργοσαρωνικού (Εικόνα 12), ενώ τα αυγά που είχαν εκκολαφθεί ($p = 0.619$) και το ποσοστό των ζωντανών προνυμφών την πέμπτη ημέρα ($p = 0.94$) δεν διέφεραν μεταξύ των δύο μονάδων (Εικόνα 12). Το 2017 το ποσοστό των λιπιδίων ήταν μεγαλύτερο στα αυγά του Γαλαξιδίου σε σχέση με του Αργοσαρωνικού ($p = 0.006$) (Εικόνα 13).



Εικόνα 11: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) ημερήσια σχετική γονιμότητα (αριθμός αυγών kg^{-1} σωματικού βάρους των θηλυκών) και ποσοστό γονιμοποίησης των αυγών που παράχθηκαν από τα μαγιάτικα του Αργοσαρωνικού και του Γαλαξιδίου το έτος 2017 μετά από χορήγηση εμφυτευμάτων GnRHα. Οι αριθμοί μέσα στις μπάρες υποδηλώνουν τον αριθμό των ωοτοκιών, από τις οποίες προέκυψαν οι μέσες τιμές της σχετικής γονιμότητας και γονιμοποίησης. Daily relative fecundity = Ημερήσια σχετική γονιμότητα, Fertilization = Γονιμοποίηση, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικός Ιχθυοτροφεία (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος), GMF = Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες (Γαλαξίδι, Κορινθιακός Κόλπος). Οι αστερίσκοι υποδηλώνουν τη στατιστικά σημαντική διαφορά που παρατηρήθηκε μεταξύ της σχετικής γονιμότητας των αυγών των δύο μονάδων (Kruskal - Wallis, $p < 0.001$), ενώ δεν υπήρξε στατιστική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών του ποσοστού των γονιμοποιημένων αυγών (Kruskal - Wallis, $p = 0.133$).



Εικόνα 12: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) επιβίωση αυγών και νυμφών μαγιάτικου που παράχθηκαν από τους γεννήτορες του Αργοσαρωνικού και του Γαλαξιδίου το έτος 2017. 24 h embryos = Έμβρυα μετά από 24 ώρες, Hatched = Αυγά που είχαν εκκολαφθεί, 5 d live larvae = Ζωντανές προνύμφες την πέμπτη ημέρα, Percentage = Ποσοστό, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικός Ιχθυοτροφεία (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος), GMF = Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες (Γαλαξίδι, Κορινθιακός Κόλπος). Οι αστερίσκοι υποδηλώνουν τη στατιστικά σημαντική διαφορά που παρατηρήθηκε μεταξύ των ζωντανών αυγών μετά τις 24 ώρες ανάμεσα στις 2 μονάδες (Kruskal - Wallis, $p = 0.006$). Οι άλλες δύο παράμετροι, αυγά που είχαν εκκολαφθεί και ζωντανές προνύμφες μετά την πέμπτη ημέρα, δεν παρουσίασαν στατιστικές διαφορές (one-way ANOVA, $p = 0.619$ και Kruskal - Wallis, $p = 0.940$, αντίστοιχα).

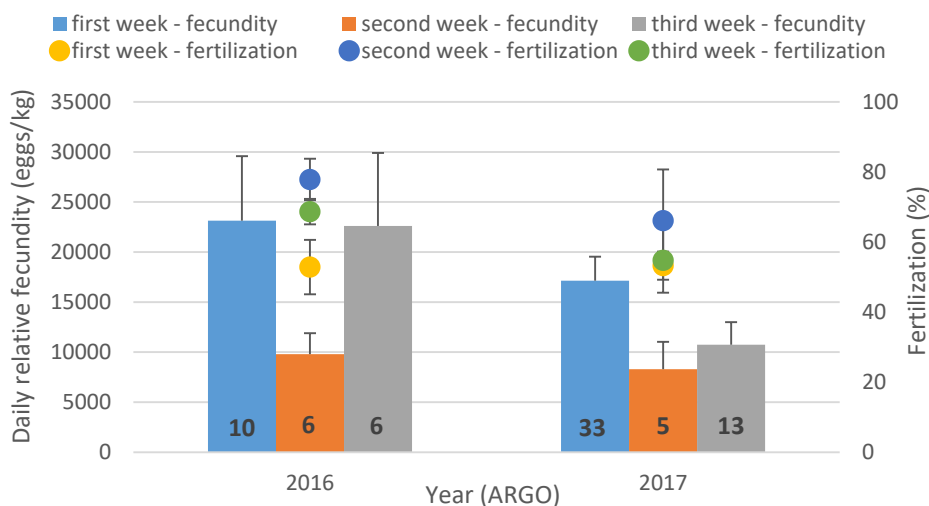


Εικόνα 13: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) περιεκτικότητα (%) λιπιδίων των αυγών μαγιάτικου από τις μονάδες του Αργοσαρωνικού και του Γαλαξιδίου το έτος 2017. Lipids = Λιπίδια, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικός Ιχθυοτροφεία (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος), GMF = Γαλαξίδι Θαλάσσιες Καλλιέργειες (Γαλαξίδι, Κορινθιακός Κόλπος). Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ των αυγών των δύο μονάδων (Kruskal - Wallis, $p = 0.006$).

3.5 Μονάδα Αργοσαρωνικού, σύγκριση ποιότητας αυγών μεταξύ ετών και εβδομάδων

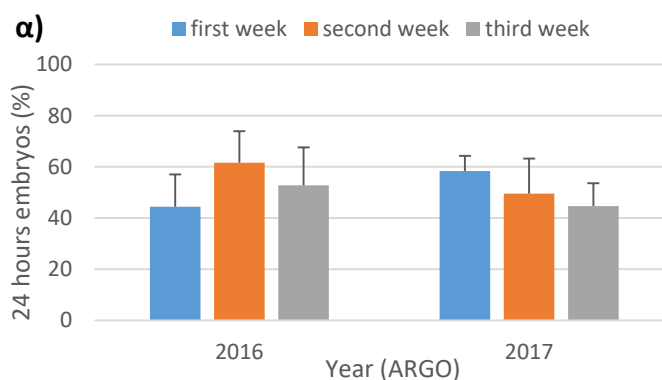
Συγκρίνοντας την ποιότητα των αυγών της μονάδας του Αργοσαρωνικού στην πάροδο του χρόνου δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε καμία από τις παραμέτρους (ημερήσια σχετική γονιμότητα, ποσοστό γονιμοποίησης και ποσοστά επιβίωσης) ούτε μεταξύ των τριών εβδομάδων που διήρκεσαν τα πειράματα ούτε μεταξύ των δύο ετών (2016 και 2017). (Εικόνες 14 και 15). Από τις αναλύσεις

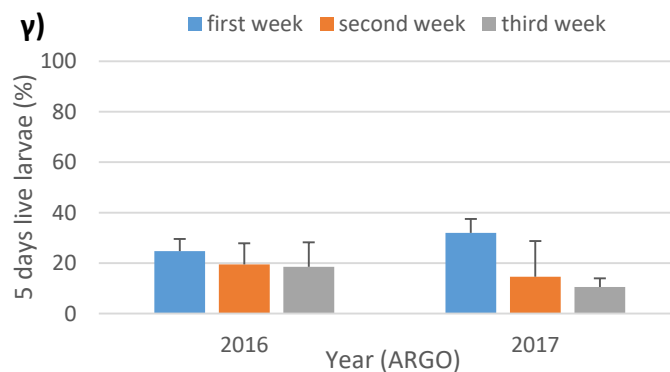
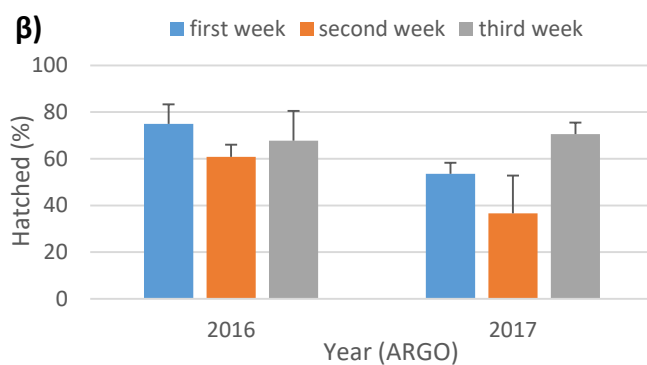
της σύστασης των αυγών σε τέφρα, λιπίδια και πρωτεΐνη δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές κατά τη διάρκεια των εβδομάδων ή των ετών (Εικόνες 16, 17 και 18).



	Year	Week	Year * Week
Daily relative fecundity	0.104	0.077	0.608
Fertilization	0.243	0.093	0.588

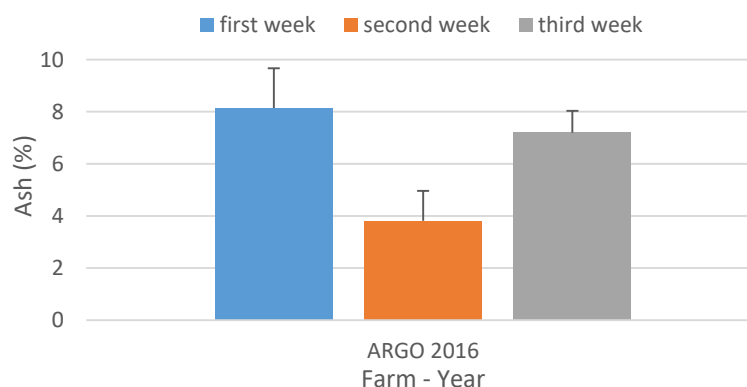
Εικόνα 14: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) ημερήσια σχετική γονιμότητα (αριθμός αυγών kg⁻¹ σωματικού βάρους των θηλυκών) και ποσοστό γονιμοποίησης των αυγών που παράχθηκαν από τα μαγιάτικα στη μονάδα του Αργοσαρωνικού τα έτη 2016 και 2017 μετά από χορήγηση εμφυτευμάτων GnRHα, ανά εβδομάδα αναπαραγωγής. Οι αριθμοί μέσα στις μπάρες υποδηλώνουν τον αριθμό των ωοτοκίων, από τις οποίες προέκυψαν οι μέσες τιμές της σχετικής γονιμότητας και γονιμοποίησης. Daily relative fecundity = Ημερήσια σχετική γονιμότητα, Fertilization = Γονιμοποίηση, First week = Πρώτη εβδομάδα, Second week = Δεύτερη εβδομάδα, Third week = Τρίτη εβδομάδα, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικός Ιχθυοτροφεία (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος). Δεν υπήρξε στατιστική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών. Ο έλεγχος της σημαντικότητας των διαφορών έγινε με two-way ANOVA test και τα p-value φαίνονται στον πίνακα κάτω από το γράφημα.





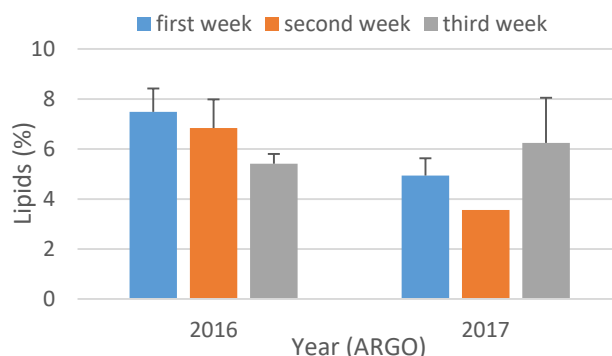
	Year	Week	Year * Week
24 hours embryos	0.825	0.859	0.440
Hatched	0.060	0.106	0.267
5 days live larvae	0.807	0.233	0.640

Εικόνα 15: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) επιβίωση αυγών και νυμφών μαγιάτικου που παράχθηκαν από τους γεννήτορες του Αργοσαρωνικού τα έτη 2016 και 2017 και κατά τη διάρκεια τριών εβδομάδων, όπου α) επιβίωση εμβρύων μετά από 24 ώρες από τη συλλογή των αυγών, β) εκκολαψημότητα και γ) επιβίωση προνυμφών 5 ημέρες μετά από τη 24 hours embryos = Έμβρυα μετά από 24 ώρες, Hatched = Αυγά που είχαν εκκολαφθεί, 5 days live larvae = Ζωντανές προνύμφες την πέμπτη ημέρα, First week = Πρώτη εβδομάδα, Second week = Δεύτερη εβδομάδα, Third week = Τρίτη εβδομάδα, Percentage = Ποσοστό, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικός Ιχθυοτροφεία (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος). Δεν υπήρξε στατιστική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών. Ο έλεγχος της σημαντικότητας των διαφορών έγινε με two-way ANOVA test και τα p-value φαίνονται στον πίνακα κάτω από το γράφημα.



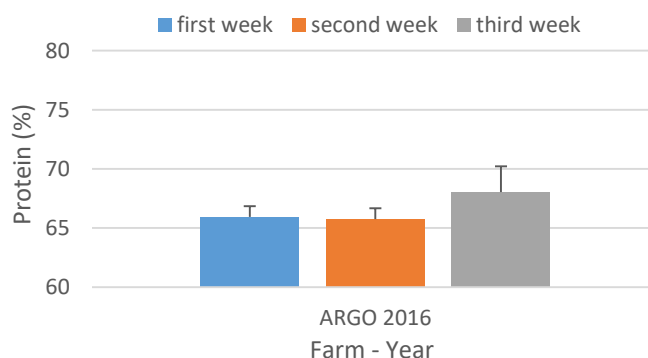
Εικόνα 16: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) περιεκτικότητα (%) τέφρας των αυγών μαγιάτικου από τη μονάδα του Αργοσαρωνικού το 2016 και κατά τη διάρκεια τριών

εβδομάδων. Ash = Τέφρα, First week = Πρώτη εβδομάδα, Second week = Δεύτερη εβδομάδα, Third week = Τρίτη εβδομάδα, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικό Ιχθυοτροφείο (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος). Δεν υπήρξε στατιστική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών (one-way ANOVA, $p = 0.075$).



	Year	Week	Year * Week
Lipids	0.296	0.866	0.484

Εικόνα 17: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) περιεκτικότητα (%) λιπιδίων των αυγών μαγιάτικου από τη μονάδα του Αργοσαρωνικού το 2016 και το 2017 και κατά τη διάρκεια τριών εβδομάδων. Lipids = Λιπίδια, First week = Πρώτη εβδομάδα, Second week = Δεύτερη εβδομάδα, Third week = Τρίτη εβδομάδα, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικό Ιχθυοτροφείο (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος). Δεν υπήρξε στατιστική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών. Ο έλεγχος της σημαντικότητας των διαφορών έγινε με two-way ANOVA test και τα p-value φαίνονται στον πίνακα κάτω από το γράφημα.

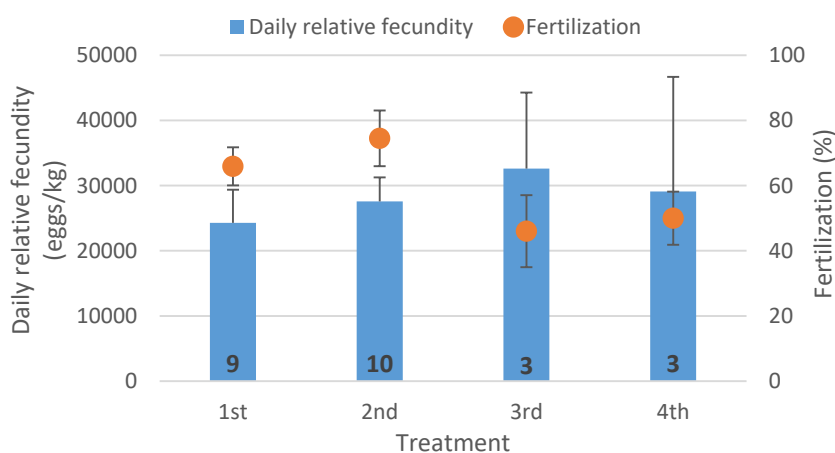


Εικόνα 18: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) περιεκτικότητα (%) πρωτεΐνης των αυγών μαγιάτικου από τη μονάδα του Αργοσαρωνικού το 2016 και κατά τη διάρκεια τριών εβδομάδων. Protein = Πρωτεΐνη, First week = Πρώτη εβδομάδα, Second week = Δεύτερη εβδομάδα, Third week = Τρίτη εβδομάδα, Farm = Μονάδα, ARGO = Αργοσαρωνικό Ιχθυοτροφείο (Σαλαμίνα, Σαρωνικός Κόλπος). Δεν υπήρξε στατιστική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών (one-way ANOVA, $p = 0.532$).

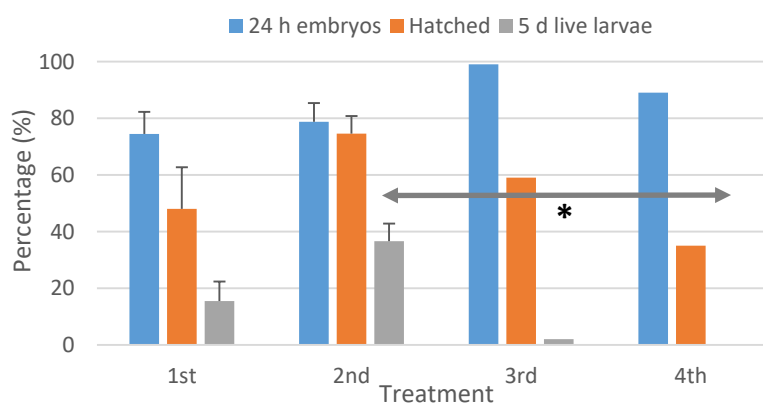
3.6 Μονάδα Γαλαξιδίου, σύγκριση ποιότητας αυγών μεταξύ θεραπειών

Από τη σύγκριση των θεραπειών στην μονάδα του Γαλαξιδίου το έτος 2017, προέκυψε ότι τόσο η σχετική ημερήσια γονιμότητα ($p = 0.885$), όσο και το ποσοστό γονιμοποίησης ($p = 0.172$), δεν διαφέρουν μεταξύ των τεσσάρων θεραπειών (Εικόνα 19). Από τα δεδομένα των microtiter plates, προέκυψε πως το ποσοστό των ζωντανών

προनुμφών την πέμπτη ημέρα για την δεύτερη θεραπεία είναι μεγαλύτερο από εκείνο που εμφανίζεται στην τέταρτη θεραπεία ($p = 0.042$) (Εικόνα 20). Όλοι οι άλλοι παράμετροι (ποσοστό εμβρύων μετά τις 24 ώρες, ποσοστό των εκολλημένων αυγών, ποσοστό των ζωντανών προνουμφών την πέμπτη μέρα) δεν εμφάνισαν διαφορές μεταξύ των τεσσάρων θεραπειών. Η σύσταση των αυγών σε λιπίδια δεν είχε διαφορές μεταξύ των διαφορετικών θεραπειών ($p = 0.856$) (Εικόνα 21).

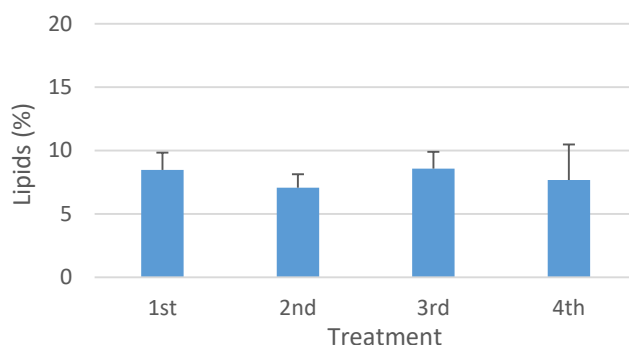


Εικόνα 19: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) ημερήσια σχετική γονιμότητα (αριθμός αυγών kg-1 σωματικού βάρους των θηλυκών) και ποσοστό γονιμοποίησης των αυγών που παράχθηκαν από τα μαγιάτικα στη μονάδα του Γαλαξιδίου το έτος 2017 μετά από χορήγηση εμφυτευμάτων GnRHα σε τέσσερις διαφορετικές περιόδους, με ενδιάμεσο διάστημα 1-2 βδομάδες. Οι αριθμοί μέσα στις μπάρες υποδηλώνουν τον αριθμό των ωοτοκίων, από τις οποίες προέκυψαν οι μέσες τιμές της σχετικής γονιμότητας και γονιμοποίησης. Daily relative fecundity = Ημερήσια σχετική γονιμότητα, Fertilization = Γονιμοποίηση, 1st = Πρώτη, 2nd = Δεύτερη, 3rd = Τρίτη, 4th = Τέταρτη, Treatment = Θεραπεία. Δεν υπήρξε στατιστική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών (Daily relative fecundity: one-way ANOVA, $p = 0.885$, Fertilization: one-way ANOVA, $p = 0.172$).



Εικόνα 20: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) επιβίωση αυγών μαγιάτικου της μονάδας του Γαλαξιδίου το έτος 2017 που παράχθηκαν μετά από διαφορετικές χορηγήσεις GnRHα. 24 h embryos = Έμβρυα μετά από 24 ώρες, Hatched = Αυγά που είχαν εκκολαφθεί, 5 d live larvae = Ζωντανές προνούμφες την πέμπτη ημέρα, 1st = Πρώτη, 2nd = Δεύτερη, 3rd = Τρίτη, 4th = Τέταρτη, Percentage = Ποσοστό, Treatment = Θεραπεία. Ο αστερίσκος υποδηλώνει τη στατιστική διαφορά μεταξύ των ζωντανών προνουμφών μετά την πέμπτη ημέρα ανάμεσα στη

δεύτερη και τέταρτη θεραπεία (one-way ANOVA, $p = 0.042$), ενώ όλες οι άλλες δύο παράμετροι, ζωντανά αυγά μετά τις 24 ώρες και αυγά που είχαν εκκολαφθεί, δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις διαφορετικές θεραπείες (Kruskal – Wallis, $p = 0.499$, Kruskal – Wallis, $p = 0.424$, αντίστοιχα).



Εικόνα 21: Μέση (\pm τυπικό σφάλμα) περιεκτικότητα (%) λιπιδίων των αυγών μαγιάτικου από τη μονάδα του Γαλαξιδίου το 2017 μεταξύ των διαφορετικών θεραπειών. Lipids = Λιπίδια, 1st = Πρώτη, 2nd = Δεύτερη, 3rd = Τρίτη, 4th = Τέταρτη, Treatment = Θεραπεία. Δεν υπήρξε στατιστική διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών (one-way ANOVA, $p = 0.856$).

3.7 Συσχετίσεις μεταξύ της σύστασης των αυγών με την αξιολόγηση και την επιβίωσή τους

Οι συσχετίσεις μεταξύ των λιπιδίων και της τέφρας με την ημερήσια σχετική γονιμότητα, τα ζωντανά έμβρυα μετά από 24 ώρες, τα αυγά που είχαν εκκολαφθεί και τις ζωντανές προνύμφες την πέμπτη ημέρα δεν φαίνεται να εμφανίζουν κάποια ισχυρή συσχέτιση. Μη ισχυρή συσχέτιση εμφανίζεται και μεταξύ της γονιμοποίησης και ποσοστού τέφρας, ενώ ισχυρή αρνητική συσχέτιση παρατηρούμε στη γονιμοποίηση με το ποσοστό λιπιδίων στα αυγά ($p = 0.009$). Επίσης, οι πρωτεΐνες δεν εμφανίζουν κάποια συσχέτιση με τη σχετική γονιμότητα και τη γονιμοποίηση. Όμοια, δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των πρωτεϊνών και ζωντανών εμβρύων μετά από 24 ώρες ($p = 0.0852$). Αντιθέτως, ισχυρή αρνητική συσχέτιση εμφανίζεται μεταξύ πρωτεϊνών, των αυγών που είχαν εκκολαφθεί ($p = 0.0364$) και ζωντανών προνυμφών την πέμπτη ημέρα ($p = 0.0242$) (Πίνακας 3).

Πίνακας 3: Συσχετίσεις μεταξύ της σύστασης των αυγών σε λιπίδια, τέφρα και πρωτεΐνη με τις παραμέτρους της αξιολόγησης και της επιβίωσης των αυγών.

Συσχετίσεις	Correlation Coefficient	p-value
Σχετική γονιμότητα - Λιπίδια	0.0436	0.757
Γονιμοποίηση - Λιπίδια	-0.355	0.009
24 ζωντανά έμβρυα - Λιπίδια	0.261	0.113

Αυγά που είχαν εκκολαφθεί - Λιπίδια	0.044	0.793
Ζωντανές προνύμφες 5 ^{ης} μέρας - Λιπίδια	0.258	0.118
Σχετική γονιμότητα - Τέφρα	0.04	0.892
Γονιμοποίηση - Τέφρα	-0.413	0.142
24 ζωντανά έμβρυα - Τέφρα	0.549	0.126
Αυγά που είχαν εκκολαφθεί - Τέφρα	0.366	0.332
Ζωντανές προνύμφες 5 ^{ης} μέρας - Τέφρα	0.317	0.405
Σχετική γονιμότητα - Πρωτεΐνη	0.00693	0.981
Γονιμοποίηση - Πρωτεΐνη	0.473	0.0872
24 ζωντανά έμβρυα - Πρωτεΐνη	-0.604	0.0852
Αυγά που είχαν εκκολαφθεί - Πρωτεΐνη	-0.698	0.0364
Ζωντανές προνύμφες 5 ^{ης} μέρας - Πρωτεΐνη	-0.735	0.0242

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η υδατοκαλλιέργεια, όπως αναφέρθηκε και στην εισαγωγή, είναι ο ταχύτερα αναπτυσσόμενος τομέας παραγωγής τροφίμων στον κόσμο. Αναπτύσσεται, επεκτείνεται και εντείνεται σε όλες σχεδόν τις περιοχές του κόσμου. Καθώς ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξάνεται, ταυτόχρονα αυξάνεται και η ζήτηση για υδρόβια προϊόντα διατροφής. Αυτό σε συνδυασμό με τον κορεσμό του τομέα της αλιείας, λόγω υπεραλίευσης και της οικοσυστημικής υποβάθμισης πολλών περιοχών (έχουν φτάσει στο μέγιστο δυναμικό τους), οδηγεί στο συμπέρασμα πως η υδατοκαλλιέργεια αποτελεί μονόδρομο στην αντιμετώπιση της παγκόσμια πείνας (Subasinghe *et al.*, 2009).

Η ανάγκη για διαφοροποίηση, με την έννοια της εισόδου νέων ειδών στον τομέα των υδατοκαλλιεργειών είναι μεγάλη (Teletchea and Fontaine, 2014). Τα νεοεισαχθέντα είδη, όπως το μαγιάτικο τα οποία προσαρμόζονται σε ικανοποιητικό βαθμό στις συνθήκες εκτροφής και είναι αποδεκτά από το αγοραστικό κοινό, μπορούν να δώσουν μεγάλες δυνατότητες επέκτασης της βιομηχανικής ιχθυοκαλλιέργειας (Sicuro and Luzzana, 2016). Σε πολλές περιπτώσεις όμως σε αρκετά εκτρεφόμενα είδη εμφανίζονται αναπαραγωγικές δυσλειτουργίες λόγω του προκαλούμενου στρες από την αιχμαλωσία, την έλλειψη περιβαλλοντικών συνθηκών κατάλληλων για αναπαραγωγή και την ακατάλληλη διατροφή (Mylonas *et al.*, 2010). Επομένως, ο έλεγχος της αναπαραγωγής και η απόκτηση ωοτοκίας υψηλής ποιότητας είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη τεχνικών παραγωγής για τα νέα είδη στην υδατοκαλλιέργεια (Fernández-Palacios *et al.*, 2015).

Η καλής ποιότητας ωοτοκία και η επαγωγή του αναπαραγωγικού κύκλου με αποτέλεσμα παραγωγή βιώσιμων αυγών, προνυμφών και εμβρύων θα μπορούσε να σχετίζεται και με την επαρκή σίτιση και την υψηλής ποιότητας διατροφή των γεννητόρων όπως έχει επιβεβαιωθεί και σε προηγούμενες μελέτες (Fernández-Palacios *et al.*, 2011, Fernández-Palacios *et al.*, 2015, Izquierdo *et al.*, 2001). Μάλιστα προηγούμενες μελέτες των Watanabe *et al.* (1984a), Watanabe *et al.* (1984b), Watanabe *et al.* (1984c) έδειξαν ότι η σύσταση της δίαιτας των γεννητόρων είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την ποιότητα των αυγών και των προνυμφών. Τα νεαρά και ενήλικα μαγιάτικα στη φύση και συγκεκριμένα στη Μεσόγειο θάλασσα, τρέφονται με είδη ψαριών πλούσια σε λίπος όπως τα *Trachurus*

trachurus, *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus* Walbaun και *Merluccius merluccius*, ακόμα με διάφορα κεφαλόποδα, καλαμάρια (*Loligo vulgaris* και *Sepiola sp*) και περιστασιακά με μαλακόστρακα όπως γαρίδες (*Squilla mantis*) (Lazzari and Barbera, 1989, Matallanas *et al.*, 1995). Από τα δεδομένα της παρούσας εργασίας για το έτος 2016 φαίνεται πως η διατροφή των γεννητόρων διαφέρει μεταξύ των δύο μονάδων εκτροφής, συγκεκριμένα στην μονάδα του Αργοσαρωνικού τα άτομα τρέφονται με βιομηχανοποιημένη τροφή, ενώ σε εκείνη του Γαλαξιδίου με ζωντανή τροφή (τσιπούρες και λαβράκια). Παρόλο τη χρήση διαφορετικής διαίτας των μονάδων για το έτος 2016, η ποιότητα της ωοτοκίας δεν φαίνεται να παρουσιάζει κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ των γεννητόρων των δύο μονάδων. Βέβαια παρατηρήθηκαν κάποιες αλλαγές στη σύσταση των αυγών μεταξύ των δύο μονάδων το 2016, γεγονός που θα μπορούσε να οφείλεται στην διαφορετική διαίτα των γεννητόρων.

Όσον αφορά τα τη σχετική ημερήσια γονιμότητα (αυγά ανά kg σωματικής μάζας), τα αποτελέσματα έδειξαν πως το έτος 2016 δεν παρατηρείται καμία διαφορά μεταξύ των δύο μονάδων εκτροφής (Αργοσαρωνικού και Γαλαξιδίου). Όμως το επόμενο έτος (2017) παρατηρήσαμε πως η σχετική ημερήσια γονιμότητα στη μονάδα του Γαλαξιδίου (27172.7 ± 3143.9 eggs * kg⁻¹) είναι σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη του Αργοσαρωνικού (14641.3 ± 1731.7 eggs * kg⁻¹). Τα αποτελέσματα του 2016 δεν φαίνεται να συμφωνούν με εκείνα παρόμοιων ερευνών, όπου στο είδος *Pseudocaranx dentex*, τα άτομα που τρέφονταν με βιομηχανοποιημένη τροφή εμφάνισαν αξιοσημείωτα μικρότερη γονιμότητα σε σχέση με άτομα του ίδιου είδους που τρέφονταν με ακατέργαστα ψάρια (Vassallo-Agius *et al.*, 1999, Watanabe *et al.*, 1998).

Το ποσοστό της γονιμοποίησης, που χρησιμοποιείται συχνά για τον προσδιορισμό της ποιότητας της αναπαραγωγής των ψαριών (Bobe and Labbé, 2010, Kjærsvik *et al.*, 1990), στην παρούσα μελέτη τα ποσοστά γονιμοποίησης (ARGO: 63.9% ±4.5, GMO: 71.1% ±16.3 το 2016 και ARGO: 54.9% ±3.7, GMO: 65% ±4.6 το 2017) είναι υψηλότερα από εκείνα που λήφθηκε σε παρόμοιες μελέτες, όπως το 43% (Laidley *et al.*, 2004) και το 22% (Mylonas *et al.*, 2004b) σε εκτρεφόμενα μαγιάτικα μετά από χορήγηση εμφυτευμάτων GnRHα. Αντιθέτως, είναι χαμηλότερα σε σχέση με άλλες μελέτες που εμφανίζουν ποσοστά γονιμοποίησης 92.56 ±5.5% (Roo *et al.*, 2014) και 92.28±10.77% (Fernández-Palacios *et al.*, 2015) και πάλι με χορήγηση GnRHα εμφυτευμάτων. Ακόμα, τα ποσοστά γονιμοποίησης που

υπολογίστηκαν μεταξύ των δύο μονάδων αλλά και μεταξύ των δύο ετών μελέτης δεν διαφέρουν και είναι πορόμοια με τα ποσοστά που βρέθηκαν σε ένα συγγενικό είδος εκτρεφόμενου μαγιάτικου (*Seriola lalandi*), ύστερα από θεραπεία με εμφυτεύματα GnRHα (Setiawan *et al.*, 2016). Τα υψηλότερα ποσοστά γινομοποίησης που εμφανίζονται σε θεραπείες με επαναλαμβανόμενες χορηγήσεις GnRHα, όπως και στο πείραμα της παρούσας εργασίας, υποδηλώνουν ότι η μέθοδος αυτή μπορεί να είναι ένα πιο αποτελεσματικό μέσο επαγωγής της αναπαραγωγής σε αυτό το γένος.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, συγκρινόμενα με ποσοστά γινομοποίησης που πετυχαίνονται από χρήση άλλων μεθόδων επαγωγής της αναπαραγωγής παρουσιάζουν επίσης κάποιες διαφορές. Συγκεκριμένα, ο μέσος ρυθμός γινομοποίησης για το ίδιο είδος (*Seriola dumerili*) όμως με χρήση ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (HCG) είναι 16–50% (Kozul *et al.*, 2001), σημαντικά χαμηλότερος από τους αντίστοιχους της παρούσας εργασίας και για τα δύο έτη μελέτης. Αντιθέτως, σε άλλες περιπτώσεις η ίδια μέθοδος (HCG) φαίνεται να πετυχαίνει και αρκετά υψηλά ποσοστά γινομοποίησης για το μαγιάτικο αγγίζοντας το 98,8% (Hamasaki *et al.*, 2009).

Σχετικά με τα ποσοστά εκκόλαψης, δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ των δύο μονάδων εκτροφής κατά τη διάρκεια και των δύο ετών (ARGO: 67.8% \pm 4.7 το 2016 και ARGO: 55.4% \pm 3.9, GMO: 59.5% \pm 7.5 το 2017). Τα ποσοστά αυτά κρίνονται σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με εκείνα που υπολογίστηκαν για το ίδιο είδος από τους Jerez *et al.* (2006) και έφταναν μόλις το 16.49%. Υψηλότερα όμως είναι και σε σχέση με αντίστοιχα ποσοστά άλλων ειδών όπως, 18.20-25.60% (Mushiake, 1996) και 36-43.1% (Mushiake, 1995) για το *Seriola quinqueradiata*. Όμως βλέπουμε πως εμφανίζονται και αρκετά υψηλότερα ποσοστά εκκόλαψης για το μαγιάτικο μετά από πολλαπλή χορήγηση GnRHα όπως το 92.58% των Fernández-Palacios *et al.* (2015), αλλά και σε άλλα είδη για παράδειγμα 79.0 \pm 11.3% για το *Seriola rivoliana* (Roo *et al.*, 2014), 77–100% (Tachihara *et al.*, 1997) και 80-90% για το *Seriola lalandi* (Sylvia *et al.*, 2006). Βέβαια, οι Kawabe *et al.* (1998) παρατήρησαν πως το ποσοστό εκκόλαψης του μαγιάτικου ύστερα από φυσική ωοτοκία φτάνει το ποσοστό των 80.1% (Kawabe *et al.*, 1998).

Συγκρίνοντας την σύσταση των αυγών μεταξύ των δύο μονάδων το έτος 2016, κατά το οποίο διέφερε και η διαίτα των γεννητόρων, παρατηρήσαμε πως τα ποσοστά λίπους και πρωτεϊνών είναι υψηλότερα στα αυγά που προέρχονται από γεννήτορες του Αργοσαρωνικού (τράφηκαν με βιομηχανοποιημένη τροφή), ενώ τα ποσοστά

τέφρας υψηλότερα στα αυγά των ατόμων από το Γαλαξίδι (τράφηκαν με τσιπούρες και λαβράκια).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, καθ' όλη την διάρκεια της ωοτοκίας δεν παρατηρήθηκε διαφορά στο ποσοστό των λιπιδίων που περιέχονται στα αυγά της μονάδας του Αργοσαρωνικού, τόσο κατά τη διάρκεια των εβδομάδων όσο και των ετών (2016 και 2017). Ομοίως, στην μονάδα του Γαλαξιδίου το έτος 2017 κατά τη διάρκεια και των τεσσάρων θεραπειών που εφαρμόστηκαν, η σύσταση των αυγών σε λιπίδια δεν μεταβλήθηκε. Παρόμοια είναι και τα αποτελέσματα των Rodríguez-Barreto *et al.* (2014), οι οποίοι δεν παρατήρησα διαφορές στην σύσταση των αυγών κατά την διάρκεια της ωοτοκίας, σε εκτρεφόμενα μαγιάτικα με θρέψη βιομηχανοποιημένης τροφής. Όσον αφορά τους δείκτες που αφορούν την ποιότητα των αυγών, οι Mylonas *et al.*, (2013) έδειξαν πως ο χρόνος ωοαπόθεσης δεν επηρέασε τη σχετική γονιμότητα στον κρανιό, όμως η γονιμότητα/ γέννα παρουσίασε ταχεία μείωση μετά την επίτευξη του μέγιστου λίγες μέρες μετά τη θεραπεία με GnRHα. Εκτός του υψηλού ποσοστού γονιμοποίησης στον κρανιό, τα αποτελέσματα της παραπάνω εργασίας έδειξαν πως τα παραγώμενα αυγά ήταν γενικά υψηλής ποιότητας, με βάση την επιβίωση των αυγών κατά την εμβρυογένεση, την εκκολαψιμότητα και την επιβίωση των προνυμφών πέντε μέρες μετά την συλλογή των αυγών. Επίσης, οι κρανιοί τρέφονταν καλά κατά την διάρκεια των πειραμάτων ωοτοκίας, επομένως μία μικρή μείωση στα ποσοστά επιβίωσης των προνυμφών την 3η εβδομάδα ήταν απίθανο να οφείλεται σε έλλειψη θρεπτικών συστατικών των αυγών. Στην παρούσα διπλωματική εργασία, η μείωση που παρατηρήθηκε στο ποσοστό επιβίωσης των προνυμφών πέντε μέρες μετά την συλλογή τους μεταξύ 2ης και 4ης θεραπείας το 2017, αλλά και το μειωμένο ποσοστό λίπους των αυγών, δεν μπορεί και πάλι να αποδοθεί στην διακοπή σίτισης των γεννητόρων. Πράγματι, κατά την αναπαραγωγική περίοδο οι γεννήτορες σταμάτησαν να τρώνε για περίπου τρεις εβδομάδες, όμως αυτό δεν μπορεί να επηρέασε την σύσταση των αυγών καθώς η διαδικασία της λεκιθογένεσης είχε ολοκληρωθεί αρκετό καιρό πριν σταματήσουν να τρέφονται.

Όμως συγκρίνοντας τα ποσοστά λίπους στα αυγά μεταξύ των δύο μονάδων βρέθηκαν διαφορές. Πιο αναλυτικά, το έτος 2016 τα ποσοστά λίπους ήταν υψηλότερα στα αυγά από την μονάδα του Αργοσαρωνικού ($6.93 \pm 0.6\%$). Το αντίστοιχο ποσοστό στα αυγά από το Γαλαξίδι ήταν μόλις $1.79 \pm 0.1\%$. Το επόμενο έτος (2017) τα αποτελέσματα είναι τα αντίθετα, δηλαδή υψηλότερα ποσοστά λίπους παρατηρήθηκαν

στην μονάδα του Γαλαξιδίου ($7.87 \pm 0.68\%$) συγκριτικά με αυτά του Αργοσαρωνικού ($5.25 \pm 0.67\%$). Παρόμοια χαμηλά ποσοστά λίπους ($7.42 \pm 4.28\%$) σε αυγά έχουν παρατηρηθεί και σε εκτρεφόμενα καλκάνια (*Scophthalmus rhombus*) που τράφηκαν με συνδυασμό από καλαμάρι (*Loligo spp*), μύδι (*Mytilus spp*) και, ψάρια όπως *Micromesistius poutasso* και σαρδέλα (*Sardina pilchardus*) καθώς και βιομηχανοποιημένη τροφή ειδική για το είδος (Cruzado *et al.*, 2011). Σε άλλα είδη όμως τα ποσοστά λίπους στα αυγά συνήθως είναι αρκετά υψηλότερα. Για παράδειγμα, σε ένα άλλο είδος καλκανιού (*Scophthalmus maximus*) τα ποσοστά λίπους στα αυγά έχουν βρεθεί $14.2-17.0\%$ (McEvoy *et al.*, 1993), στο *Senegalese sole* 11.7% (Vázquez *et al.*, 1994) και στο σαργό (*Diplodus sargus*) 16.54% (Cejas *et al.*, 2004).

Η διατροφή των γεννητόρων μπορεί να επηρεάσει εκτός από την σύσταση των αυγών (Almansa *et al.*, 1999) και τα ποσοστά γονιμοποίησης και γονιμότητας των ατόμων (Bromage, 1998, Izquierdo *et al.*, 2001, Vassallo-Agius *et al.*, 2001b), υποδηλώνοντας τη σημασία των προ-αναπαραγωγικών διατροφών. Μια κατάλληλα σχεδιασμένη δίαιτα πρέπει να ικανοποιεί όλες τις απαιτήσεις για υψηλή γονιμότητα και ποιότητα αυγών για βέλτιστη απόδοση ωοτοκίας (Watanabe and Vassallo-Agius, 2003). Έχει βρεθεί μάλιστα πως δίαιτες με ζωντανή τροφή σε γεννήτορες βελτιώνει σημαντικά την αναπαραγωγική απόδοση πολλών ειδών, όπως το *Seriola rivoliana* (Roo *et al.*, 2015). Πράγματι, το είδος αυτό περιγράφεται ως θηρευτής μικρών ψαριών (Honebrink, 2000) και δεδομένα από περιεχόμενα εντέρου άγριων πληθυσμών του, που θέλουμε να καλλιεργήσουμε καθώς και πληροφορίες για την βιολογία αυτών μπορούν να αποτελέσουν χρήσιμα εργαλεία για τον σχεδιασμό της βέλτιστης διαίτας των γεννητόρων. Ακόμα, η εύρεση της βιοχημικής σύστασης των αυγών θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση των απαραίτητων συστατικών που θα πρέπει να συμπεριλαμβάνονται στις δίαιτες των γεννητόρων αλλά και των προνυμφών (Izquierdo and Koven, 2011).

Αναλύοντας λοιπόν λεπτομερώς τις επιδράσεις της διατροφής στην ποιότητα της αναπαραγωγής, θα μπορούσαμε να τονίζουμε διάφορες πτυχές. Έχει βρεθεί πως η σίτιση των γεννητόρων του είδους *Seriola rivoliana* με δίαιτα που συμπεριελάμβανε και κατεψυγμένο σκουμπρί (*Scomber japonicus*), βελτιώνει αισθητά την γονιμότητα του είδους, διπλασιάζοντας την παραγωγή των αυγών, των αυγών που είχαν εκκολαφθεί προνυμφών και την επιβίωσή τους 3 ημέρες μετά την εκκόλαψη (Roo *et al.*, 2015). Η βελτίωση των παραμέτρων αυτών κρίθηκε σημαντική σε σχέση με μία

άλλη δίαιτα που δόθηκε σε γεννήτορες του ίδιου είδους και περιελάμβανε εμπορική τροφή για *Seriola rivoliana* με συνδυασμό από κατεψυγμένα καλαμάρια (*Illex argentines*) και μύδια (*Perna viridis*). Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συγκριτικά με την διατροφή ζωντανής τροφής (τσιπούρες και λαβράκια) και βιομηχανοποιημένης τροφής (GMF 2016-2017) δεν έδειξε διαφορές στα ποσοστά γονιμοποίησης του μαγιάτικου. Οι Callan *et al.* (2012) παρατήρησαν υψηλότερα ποσοστά γονιμοποίησης (65%) στο είδος *Centropyge loriculus* ύστερα από σίτιση με εμπορική δίαιτα ειδική για το είδος σε σχέση με άτομα που τρέφονταν με ακατέργαστη κατεψυγμένη τροφή. Ωστόσο, τα ποσοστά επιβίωσης των αυγών βρέθηκαν υψηλότερα στα άτομα με την ακατέργαστη τροφή. Στη παρούσα εργασία, το έτος 2016 μεταξύ των δύο μονάδων με διαφορετική δίαιτα (ARGO: βιομηχανοποιημένη τροφή, GMF: ακατέργαστα ψάρια) τόσο τα ποσοστά γονιμοποίησης όσο και τα ποσοστά επιβίωσης των αυγών δεν παρουσίασαν διαφορές.

Η ίδια ερευνητική ομάδα αποκάλυψε και ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού πρωτεϊνών στη δίαιτα των γεννητόρων και στον αριθμό των αυγών που αποθέτονται ανά γέννα ($y = 1263.7, x = 59793, R = 0.9856$). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν και με την αύξηση της γονιμότητας καθώς αυξάνεται το ποσοστό των πρωτεϊνών στην δίαιτα άλλων ειδών, όπως το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) (Cerdá *et al.*, 1995). Πράγματι, τα χαμηλά ποσοστά πρωτεϊνών στην διατροφή μπορούν να μεταβάλλουν την έκκριση των GnRHs και LH (Navas *et al.*, 1997) επηρεάζοντας την ωρίμανση των ωαρίων και τη ρύθμιση της ωορρηξίας (Fernández-Palacios *et al.*, 2011). Όλα αυτά υποδεικνύουν απαίτηση υψηλού ποσοστού πρωτεΐνης (πάνω από 70%) στη διατροφή των γεννητόρων *S. rivoliana*, αν και τα υψηλά επίπεδα που απαιτούνται θα μπορούσαν επίσης να σχετίζονται με τη σύσταση σε αμινοξέα ή πρωτεΐνες των διαφορετικών διατροφών. Ακόμα, διαφορές που παρατηρήθηκαν στους ρυθμούς εκκόλαψης θα μπορούσαν να σχετίζονται με τα διαφορετικά προφίλ πολυακόρεστων λιπαρών οξέων των διαφορετικών διατροφών και ειδικότερα, με την περιεκτικότητά τους σε DHA, καθώς έχει βρεθεί ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ αυτού του λιπαρού οξέος και του ποσοστού των αυγών που είχαν εκκολαφθεί ($y = 1.7086x + 69.339, R = 0.8924$) (Roo *et al.*, 2015). Αποτελέσματα άλλων ερευνών έδειξαν ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού λίπους στα αυγά του καλκανιού και το ποσοστό επιβίωσής τους (Cruzado *et al.*, 2011). Όμως η σχέση μεταξύ σύστασης λιπιδίων και άλλων ποιοτικών παραμέτρων όπως η γονιμοποίηση και η εκκόλαψη είναι ασθενέστερη από τη σχέση με τη βιωσιμότητα (Cruzado *et al.*,

2011). Τα αποτελέσματα της παραπάνω ερευνητικής ομάδας έδειξαν σημαντικά υψηλότερο ποσοστό λιπιδίων στα αυγά με υψηλότερα ποσοστά γονιμοποίησης.

Από τα αποτελέσματα για το μαγιάτικο όσον αφορά την σύσταση των αυγών και άλλους παραμέτρους εκτίμησης της αναπαραγωγής, οι συσχετίσεις δεν συμφωνούν με τις παραπάνω. Συγκεκριμένα βρέθηκε ισχυρή αρνητική συσχέτιση μεταξύ γονιμοποίησης και ποσοστού λίπους. Επίσης ισχυρή αρνητική βρέθηκε και η συσχέτιση μεταξύ ποσοστού πρωτεϊνών, αυγώνπου είχαν εκκολαφθεί και ζωντανών προνυμφών την πέμπτη μέρα μετά τη συλλογή των αυγών.

Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε πως η βιομηχανοποιημένη τροφή φάνηκε να επηρεάζει θετικά την σύσταση των αυγών συγκριτικά με την νωπή. Επομένως, η αντικατάσταση της νωπής τροφής των γεννητόρων σε μία μονάδα ιχθυοκαλλιέργειας, με μία βιομηχανοποιημένη κατάλληλης σύστασης τροφής προσαρμοσμένη σε κάθε είδος όχι μόνο δεν μειώνει την δεκτικότητάς της από τους γεννήτορες αλλά φάνηκε να ευνοεί την ποιότητα των απογόνων. Επίσης, ο χρόνος ωοαπόθεσης και ο χρόνος εφαρμογής των ορμονικών θεραπειών δεν άσκησαν καμία επιρροή στην ποιότητα και σύσταση των αυγών. Έτσι προκύπτει το συμπέρασμα ότι τα αυγά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για αύξηση οποιαδήποτε στιγμή της αναπαραγωγικής περιόδου.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 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. *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*. 72, 377-385.
- Almansa, E., Pérez, M.J., Cejas, J.R., Badía, P., Villamandos, J.E., Lorenzo, A., 1999. Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. *Aquaculture*. 170, 323-336.
- 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., Ohs, C., Breen, N., 2017. Protracted volitional spawning of pinfish *Lagodon rhomboides* and changes in egg quality and fatty-acid composition throughout the spawning season. *Journal of fish biology*. 91, 806-817.
- Bromage, N., 1998. Broodstock management and the optimisation of seed supplies. *Aquaculture Science*. 46, 395-401.
- Bromage, N., Porter, M., Randall, C., 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin, *Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture*. Elsevier, pp. 63-98.
- Bromage, N., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., 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.
- Brown, N., Shields, R., Bromage, N., 2006. The influence of water temperature on spawning patterns and egg quality in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*. 261, 993-1002.
- Callan, C.K., Laidley, C.W., Forster, I.P., Liu, K.M., Kling, L.J., Place, A.R., 2012. Examination of broodstock diet effects on egg production and egg quality in flame angelfish (*Centropyge loriculus*). *Aquaculture Research*. 43, 696-705.
- Cejas, J.R., Almansa, E., Jérez, S., Bolaños, A., Felipe, B., Lorenzo, A., 2004. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in white seabream (*Diplodus sargus*) eggs and larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 139, 209-216.
- Cerdá, J., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J., 1994. Effect of food ration on estrogen and vitellogenin plasma levels, fecundity and larval survival in captive sea bass, *Dicentrarchus labrax*: preliminary observations. *Aquatic Living Resources*. 7, 255-266.
- Cerdá, J., Zanuy, S., Carrillo, M., Ramos, J., Serrano, R., 1995. Short-and long-term dietary effects on female sea bass (*Dicentrarchus labrax*): seasonal changes in plasma profiles of lipids and sex steroids in relation to reproduction. *Comparative*

- Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology. 111, 83-91.
- Chemists, A.A., Horwitz, W., 1990. Official methods of analysis. Vol. I. 15th ed. AOAC, Arlington, VA.
- 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.
- Crespel, A., Rime, H., Fraboulet, E., Bobe, J., Fauvel, C., 2008. Egg quality in domesticated and wild seabass (*Dicentrarchus labrax*): a proteomic analysis. Cybium, Revue Internationale d'Ichtyologie. 32.
- Cruzado, I.H., Herrera, M., Quintana, D., Rodiles, A., Navas, J.I., Lorenzo, A., Almansa, E., 2011. Total lipid and fatty acid composition of brill eggs *Scophthalmus rhombus* L. relationship between lipid composition and egg quality. Aquaculture Research. 42, 1011-1025.
- Elakkanai, P., Francis, T., Ahilan, B., Jawahar, P., Padmavathy, P., Jayakumar, N., Subburaj, A., 2015. Role of GnRH, HCG and Kisspeptin on reproduction of fishes. Indian Journal of Science and Technology. 8.
- Fakriadis, I., Lisi, F., Sigelaki, I., Papadaki, M., Raftopoulos, A., Mylonas, C.C., 2017. Spawning kinetics of greater amberjack *Seriola dumerili* in response to multiple GnRH_a injections or implants. Aquaculture Europe, 16-20.
- Falcon, J., Migaud, H., Munoz-Cueto, J.A., Carrillo, M., 2010. Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. General and comparative endocrinology. 165, 469-482.
- Falcón, J., Besseau, L., Sauzet, S., Boeuf, G., 2007. Melatonin effects on the hypothalamo-pituitary axis in fish. Trends in Endocrinology & Metabolism. 18, 81-88.
- FAO, 2016. State of World Fisheries and Aquaculture 2016 (spanish). Food & Agriculture Org.
- FAO, F., 2012. yearbook 2010: Fishery and aquaculture statistics. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome. 78.
- Feist, G., 1988. Sex steroid profiles of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, during early development and sexual differentiation.
- Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D., Roo, J., Hernández-Cruz, C., Izquierdo, M., 2015. Spawn quality and GnRH_a induction efficiency in longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*) broodstock kept in captivity. Aquaculture. 435, 167-172.
- Fernández-Palacios, H., Norberg, B., Izquierdo, M., Hamre, K., 2011. Effects of broodstock diet on eggs and larvae. in: Holt, J. (Ed.), Larval fish nutrition, pp. 151-181.
- Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D., Roo, J., Hernández-Cruz, C.M., Izquierdo, M., 2015. Multiple GnRH_a injections to induce successful spawning of wild caught greater amberjack (*Seriola dumerili*) matured in captivity. Aquaculture research. 46, 1748-1759.
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J biol Chem. 226, 497-509.
- Foster, R.G., Hankins, M.W., 2002. Non-rod, non-cone photoreception in the vertebrates. Progress in retinal and eye research. 21, 507-527.
- Hamasaki, K., Tsuruoka, K., Teruya, K., Hashimoto, H., Hamada, K., Hotta, T., Mushiake, K., 2009. Feeding habits of hatchery-reared larvae of greater amberjack *Seriola dumerili*. Aquaculture. 288, 216-225.
- 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.
- Holm, P., Buck, B., H., Langan, R., 2017. New Approaches to Sustainable Offshore Food Production and the Development of Offshore Platforms. in: Buck Bela H., L.R. (Ed.), Aquaculture Perspective of Multi-Use Sites in the Open Ocean. The Untapped Potential for Marine Resources in the Anthropocene. Springer Open, pp. 1-20.

- Honebrink, R.R., 2000. A review of the biology of the family Carangidae, with emphasis on species found in Hawaiian waters. Division of Aquatic Resources, Department of Land and Natural Resources.
- Hwang, P.-P., Wu, S.-M., Lin, J.-H., Wu, L.-S., 1992. Cortisol content of eggs and larvae of teleosts. *General and comparative endocrinology*. 86, 189-196.
- Izquierdo, M., Fernandez-Palacios, H., Tacon, A., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*. 197, 25-42.
- Izquierdo, M.S., Koven, W., 2011. Lipids. in: Holt, J. (Ed.), *Larval Fish Nutrition*, pp. 47-82.
- Jerez, S., Samper, M., Santamaría, F., Villamandos, J., Cejas, J., Felipe, B., 2006. Natural spawning of greater amberjack (*Seriola dumerili*) kept in captivity in the Canary Islands. *Aquaculture*. 252, 199-207.
- Kamler, E., 2005. Parent-egg-progeny relationships in teleost fishes: an energetics perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 15, 399.
- Kawabe, K., Kimura, J., Ando, K., Kakiuchi, K., 1998. Natural spawning from 2-year-old reared amberjack, *Seriola dumerili* in Chichijima Ogasawara Islands, southern Japan. *Aquaculture Science*. 46, 31-36.
- Kjørsvik, E., Mangor-Jensen, A., Holmefjord, I., 1990. Egg quality in fishes, *Advances in Marine biology*. Elsevier, pp. 71-113.
- 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.
- Kozul, V., Skaramuca, B., Glamuzina, B., Glavic, N., Tutman, P., 2001. Comparative gonadogenesis and hormonal induction of spawning of cultured and wild Mediterranean amberjack (*Seriola dumerili*, Risso 1810). *Scientia Marina*. 65, 215-220.
- Laidley, C., Shields, R., Ostrowski, A., 2004. Progress in amberjack culture at the Oceanic Institute in Hawaii. *Glob. Aqua. Advoc.* 7, 42-43.
- Lazzari, A., Barbera, G., 1989. Farming the Mediterranean yellowtail, *Seriola dumerilii* (Risso 1810) in concrete ponds: results and perspectives.
- 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.
- Mañanós, E., Zanuy, S., Carrillo, M., 1997. Photoperiodic manipulations of the reproductive cycle of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and their effects on gonadal development, and plasma 17 β -estradiol and vitellogenin levels. *Fish Physiology and Biochemistry*. 16, 211-222.
- Mañanós, E., Duncan, N., Mylonas, C., 2008. Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. *Methods in Reproductive Aquaculture: Marine and Freshwater Species*. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, 3-80.
- 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.
- Marino, G., Mandich, A., Massari, A., Andaloro, F., Porrello, S., Finoia, M., Cevalco, F., 1995. Aspects of reproductive biology of the Mediterranean amberjack (*Seriola dumerilii* Risso) during the spawning period. *Journal of Applied Ichthyology*. 11, 9-24.
- Matallanas, J., Casadevall, M., Carrasson, M., Bolx, J., Fernandez, V., 1995. The food of *Seriola dumerili* (pisces: Carangidae) in the Catalan sea (western Mediterranean). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 75, 257-260.
- McEvoy, L., Holland, D., McEvoy, J., 1993. Effect of spawning fast on lipid and fatty acid composition of eggs of captive turbot (*Scophthalmus maximus L.*). *Aquaculture*. 114, 131-139.

- Micale, V., Maricchiolo, G., Genovese, L., 1999. The reproductive biology of the amberjack, *Seriola dumerilii* (Risso 1810). I. Oocyte development in captivity. *Aquaculture research*. 30, 349-355.
- Migaud, H., Davie, A., Taylor, J., 2010. Current knowledge on the photoneuroendocrine regulation of reproduction in temperate fish species. *Journal of Fish Biology*. 76, 27-68.
- 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.
- Mittelmark, J., Kapuscinski, A.R., 1993. Induced reproduction in fish. Minnesota Sea Grant Extension.
- 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.
- Mushiake, K., 1995. Egg collection from broodstocks of yellowtail fed commercial soft dry pellets. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 61, 540-546.
- Mushiake, K., 1996. Achieved advanced maturation and spawning in yellowtail, *Seriola quinqueradiata*, by the manipulation of photoperiod and water temperature.
- Mylonas, C., Zohar, Y., 2009. Controlling fish reproduction in aquaculture, *New Technologies in Aquaculture*. Elsevier, pp. 109-142.
- Mylonas, C., Woods III, L., Zohar, Y., 1997. Cyto-histological examination of post-vitellogenesis and final oocyte maturation in captive-reared striped bass. *Journal of Fish Biology*. 50, 34-49.
- Mylonas, C.C., Zohar, Y., 2001. Endocrine regulation and artificial induction of oocyte maturation and spermiation in basses of the genus *Morone*. *Aquaculture*. 202, 205-220.
- Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanuy, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and comparative endocrinology*. 165, 516-534.
- Mylonas, C. C., Mitrizakis, N., Castaldo, C. A., Cerviño, C. P., Papadaki, M., & Sigelaki, I., 2013. Reproduction of hatchery-produced meagre *Argyrosomus regius* in captivity II. Hormonal induction of spawning and monitoring of spawning kinetics, egg production and egg quality. *Aquaculture*, 414, 318-327.
- Mylonas, C.C., Duncan, N.J., Asturiano, J.F., 2017. Hormonal manipulations for the enhancement of sperm production in cultured fish and evaluation of sperm quality. *Aquaculture*. 472, 21-44.
- Mylonas, C.C., Papadaki, M., Pavlidis, M., Divanach, P., 2004a. Evaluation of egg production and quality in the Mediterranean red porgy (*Pagrus pagrus*) during two consecutive spawning seasons. *Aquaculture*. 232, 637-649.
- Mylonas, C.C., Papandroulakis, N., Smboukis, A., Papadaki, M., Divanach, P., 2004b. Induction of spawning of cultured greater amberjack (*Seriola dumerili*) using GnRH α implants. *Aquaculture*. 237, 141-154.
- Navas, J., Bruce, M., Thrush, M., Farndale, B., Bromage, N., Zanuy, S., Carrillo, M., Bell, J., Ramos, J., 1997. The impact of seasonal alteration in the lipid composition of broodstock diets on egg quality in the European sea bass. *Journal of Fish Biology*. 51, 760-773.
- Nguyen, N.H., 2016. Genetic improvement for important farmed aquaculture species with a reference to carp, tilapia and prawns in Asia: achievements, lessons and challenges. *Fish and Fisheries*. 17, 483-506.
- Nielsen, R., Motova, A., Rodgers, P., 2014. The economic performance of the EU aquaculture sector (STECF 14-18). Scientific, Technical and Economic Committee for Fisheries (STECF). Publications Office of the European Union.
- Panini, E.B., Mylonas, C.C., Zanuy, S., Carrillo, M., Ramos, J., Bruce, M.P., 2001. Incubation of embryos and larvae of marine fish using microtiter plates. *Aquaculture International*. 9, 189-196.

- Pavlov, D., Emel'yanova, N., 2008. Morphological criteria of egg quality in marine fishes: activation and cleavage of eggs of *Zebrasoma scopas* (Acanthuridae). *Journal of Ichthyology*. 48, 533-548.
- Pelegri, F., 2003. Maternal factors in zebrafish development. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*. 228, 535-554.
- 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.
- Pérez, M., Rodríguez, C., Cejas, J., Martín, M., Jerez, S., Lorenzo, A., 2007. Lipid and fatty acid content in wild white seabream (*Diplodus sargus*) broodstock at different stages of the reproductive cycle. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 146, 187-196.
- Quéméner, L., Suquet, M., Mero, D., Gaignon, J.-L., 2002. Selection method of new candidates for finfish aquaculture: the case of the French Atlantic, the Channel and the North Sea coasts. *Aquatic Living Resources*. 15, 293-302.
- Rideout, R., Trippel, E., Litvak, M., 2004. Predicting haddock embryo viability based on early cleavage patterns. *Aquaculture*. 230, 215-228.
- Roberts, R.J., Bromage, N.R., 1995. *Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science.
- Rodríguez-Barreto, D., Jerez, S., Cejas, J., Martín, M., Acosta, N., Bolaños, A., Lorenzo, A., 2012. Comparative study of lipid and fatty acid composition in different tissues of wild and cultured female broodstock of greater amberjack (*Seriola dumerili*). *Aquaculture*. 360, 1-9.
- Rodríguez-Barreto, D., Jerez, S., Cejas, J.R., Martín, M.V., Acosta, N.G., Bolaños, A., Lorenzo, A., 2014. Ovary and egg fatty acid composition of greater amberjack broodstock (*Seriola dumerili*) fed different dietary fatty acids profiles. *European journal of lipid science and technology*. 116, 584-595.
- Rodríguez-Barreto, D., Jerez, S., Cejas, J.R., Martín, M.V., Acosta, N.G., Bolaños, A., Lorenzo, A., 2017. Effect of different rearing conditions on body lipid composition of greater amberjack broodstock (*Seriola dumerili*). *Aquaculture Research*. 48, 505-520.
- Rodríguez, L., Zanuy, S., Carrillo, M., 2001. Influence of daylength on the age at first maturity and somatic growth in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Aquaculture*. 196, 159-175.
- 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.
- Roo, J., Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D., Hernández-Cruz, C., Izquierdo, M., 2015. Influence of hormonal induction and broodstock feeding on longfin yellowtail *Seriola rivoliana* maturation, spawning quality and egg biochemical composition. *Aquaculture nutrition*. 21, 614-624.
- Roo, J., Fernández-Palacios, H., Hernández-Cruz, C., Mesa-Rodríguez, A., Schuchardt, D., Izquierdo, M., 2014. First results of spawning and larval rearing of longfin yellowtail *Seriola rivoliana* as a fast-growing candidate for European marine finfish aquaculture diversification. *Aquaculture research*. 45, 689-700.
- Rottmann, R., Shireman, J., Chapman, F., 1991. *Hormonal control of reproduction in fish for induced spawning*. Southern Regional Aquaculture Center.
- Setiawan, A., Muncaster, S., Pether, S., King, A., Irvine, G., Lokman, P., Symonds, J., 2016. The effects of gonadotropin-releasing hormone analog on yellowtail kingfish *Seriola lalandi* (Valenciennes, 1833) spawning and egg quality. *Aquaculture Reports*. 4, 1-9.
- Sicuro, B., Luzzana, U., 2016. The state of *Seriola* spp. other than yellowtail (*S. quinqueradiata*) farming in the world. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. 24, 314-325.
- 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.

- Smith, L.C., 1997. National audubon society field guide to tropical marine fishes Caribbean, Gulf of Mexico, Florida, Bahamas, Bermuda.
- Subasinghe, R., Soto, D., Jia, J., 2009. Global aquaculture and its role in sustainable development. *Reviews in Aquaculture*. 1, 2-9.
- Sumpter, J.P., 1990. General concepts of seasonal reproduction. Reproductive seasonality in teleosts: Environmental influences, 13-31.
- Sylvia, P., Drawbridge, M., Greathouse, R., Hughes, S., Maull, K., Goldie, L., Jirsa, D., 2006. Spawning and larval rearing of california yellowtail *Seriola lalandi*, *Aquaculture America 2006 -Meeting Abstract*, World Aquaculture Society, Las Vegas, Nevada, USA.
- Tachihara, K., El-Zibdeh, M.K., Ishimatsu, A., Tagawa, M., 1997. Improved seed production of goldstriped amberjack *Seriola lalandi* under hatchery conditions by injection of triiodothyronine (T3) to broodstock fish. *Journal of the World Aquaculture Society*. 28, 34-44.
- Tagawa, M., Hirano, T., 1987. Presence of thyroxine in eggs and changes in its content during early development of chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *General and comparative endocrinology*. 68, 129-135.
- Taranger, G.L., Carrillo, M., Schulz, R.W., Fontaine, P., Zanuy, S., Felip, A., Weltzien, F.-A., Dufour, S., Karlsen, Ø., Norberg, B., 2010. Control of puberty in farmed fish. *General and comparative endocrinology*. 165, 483-515.
- Teletchea, F., Fontaine, P., 2014. Levels of domestication in fish: implications for the sustainable future of aquaculture. *Fish and fisheries*. 15, 181-195.
- 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.
- Undersander, D., Mertens, D.R., Thiex, N.J., 1993. Forage analyses procedures.
- 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., Mushiake, K., Imaizumi, H., YAMAZAKI, T., WATANABE, T., 1999. Spawning and quality of eggs of striped jack fed raw fish or dry pellets with 2% Spirulina. *Aquaculture Science*. 47, 415-422.
- Vassallo-Agius, R., Watanabe, T., Yoshizaki, G., Satoh, S., Takeuchi, Y., 2001a. Quality of eggs and spermatozoa of rainbow trout fed an n-3 essential fatty acid deficient diet and its effects on the lipid and fatty acid components of eggs, semen and livers. *Fisheries Science*. 67, 818-827.
- Vassallo-Agius, R., Imaizumi, H., Watanabe, T., Yamazaki, T., Satoh, S., Kiron, V., 2001b. The influence of astaxanthin supplemented dry pellets on spawning of striped jack. *Fisheries science*. 67, 260-270.
- Vázquez, R., González, S., Rodríguez, A., Mourente, G., 1994. Biochemical composition and fatty acid content of fertilized eggs, yolk sac stage larvae and first-feeding larvae of the Senegal sole (*Solea senegalensis* Kaup). *Aquaculture*. 119, 273-286.
- Vera, L., Davie, A., Taylor, J., Migaud, H., 2010. Differential light intensity and spectral sensitivities of Atlantic salmon, European sea bass and Atlantic cod pineal glands *ex vivo*. *General and comparative endocrinology*. 165, 25-33.
- Wang, N., 2006. Déterminisme de la qualité du cycle de reproduction chez la perche commune, *Perca fluviatilis*: approche multifactorielle. Nancy 1.
- Wang, N., Teletchea, F., Kestemont, P., Milla, S., Fontaine, P., 2010. Photothermal control of the reproductive cycle in temperate fishes. *Reviews in Aquaculture*. 2, 209-222.
- Watanabe, T., 1995. Red sea bream (*Pagrus major*). Broodstock management and egg and larval quality, 398-413.
- Watanabe, T., Vassallo-Agius, R., 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture*. 227, 35-61.
- Watanabe, T., Arakawa, T., Kitajima, C., Fujita, S., 1984a. Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 50, 495-501.

- Watanabe, T., Ohhashi, S., Itoh, A., Kitajima, C., Fujita, S., 1984b. Effect of nutritional composition of diets on chemical components of red sea bream broodstock and eggs produced. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*.
- Watanabe, T., Itoh, A., Murakami, A., Tsukashima, Y., Kitajima, C., Fujita, S., 1984c. Effect of nutritional quality of diets given to broodstock on the verge of spawning on reproduction of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 50, 1023-1028.
- Watanabe, T., Vassallo-Agius, R., Mushiake, K., Kawano, K., Kiron, V., Satoh, S., 1998. The first spawn-taking from striped jack broodstock fed soft-dry pellets. *Fisheries science*. 64, 39-43.
- Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.-L., Hureau, J.-C., Nielsen, J., Tortonese, E., 1986. *Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean*, volume 3. United Nations Educational Scientific and Cultural Organization.
- Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes, *Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture*. Elsevier, pp. 99-136.
- Zohar, Y., Muñoz-Cueto, J.A., Elizur, A., Kah, O., 2010. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. *General and comparative endocrinology*. 165, 438-455.
- Zupa, R., Rodríguez, C., Mylonas, C.C., Rosenfeld, H., Fakriadis, I., Papadaki, M., Pérez, J.A., Pousis, C., Basilone, G., Corriero, A., 2017. Comparative study of reproductive development in wild and captive-reared greater amberjack *Seriola dumerili* (Risso, 1810). *PloS one*. 12, e0169645.
- 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.
- Γκάνιας, Κ., 2015. Συστήματα παραγωγής και τάσεις στην ευρωπαϊκή και παγκόσμια υδατοκαλλιέργεια. 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. 1-28.

Ηλεκτρονική Βιοβλιογραφία

<https://ec.europa.eu>

www.fao.org

www.feap.info

www.fishbase.org

www.fgm.com.gr

www.minagric.gr

<http://www.statistics.gr>