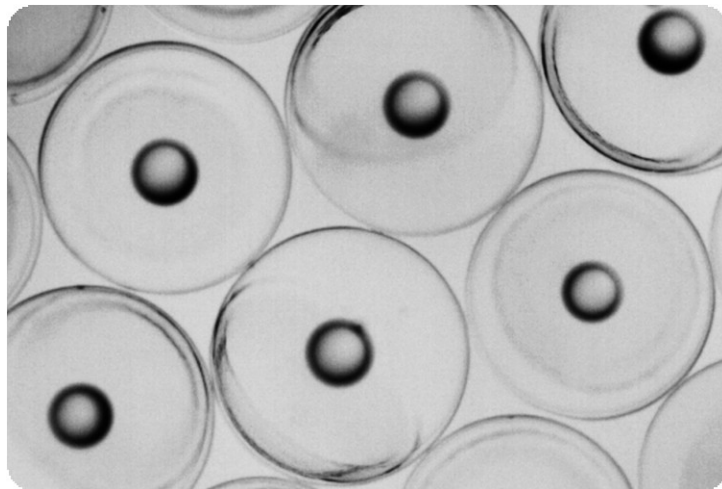


ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.) ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ & ΑΛΙΕΥΤΙΚΗΣ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Πτυχιακή Εργασία

Μελέτη της ποιότητας των αυγών της κοινής
τσιπούρας (*Sparus aurata* L. 1758) κατά τη διάρκεια
μιας περιόδου ωοτοκίας

Παπανικόλας Σωτήριος



Επιβλέπων
Καθηγητής Γεώργιος Χώτος

Αφιερώνεται,

στους γονείς και τον αδερφό μου

&

*σε όλους όσους πίστεψαν και στήριξαν
την προσπάθεια αυτή...*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Με την ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης κλείνει ένα φιλόδοξο κομμάτι της ζωής μου το οποίο, παρά τις δυσκολίες, αποδείχτηκε ως ένα από τα πιο δημιουργικά. Αυτή η δουλειά είναι το αποτέλεσμα της συνεργασίας, της υποστήριξης και του κοινού προσανατολισμού ενός συνόλου ανθρώπων. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους αυτούς που με οποιαδήποτε ιδιότητα ή αιτιολογία συνέβαλαν στην πραγματοποίησή της.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της εργασίας αυτής Καθηγητή Γ. Χώτο πρώτον για την ανάθεση του θέματος και δεύτερον γιατί μου έδωσε τη δυνατότητα να κλείσω τον κύκλο των προπτυχιακών μου σπουδών με κάτι ουσιαστικό και δημιουργικό. Οι συμβουλές, οι παρατηρήσεις και οι υποδείξεις του, κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας αλλά και κατά τη συγγραφή του κειμένου ήταν πολύτιμες.

Θα ήταν μεγάλη παράλειψη εκ μέρους μου να μην ευχαριστήσω τη Δρ. Α. Κλημογιάννη, της οποίας το ερευνητικό και επιστημονικό ενδιαφέρον, αποτέλεσαν κινητήρια δύναμη για την πραγματοποίηση της εργασίας αυτής. Την ευχαριστώ, από τα βάθη της καρδιάς μου, για τη βοήθεια που μου προσέφερε στο στήσιμο του πειραματικού σχεδιασμού, στην επεξεργασία των αποτελεσμάτων, στην αναζήτηση βιβλιογραφικών αναφορών. Η συνεργασία μας αποτέλεσε για μένα σχολείο ηθικής και ανιδιοτέλειας.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην Καθηγήτρια Εφαρμογών Β. Μπεκιάρη, χάρη στην οποία πραγματοποιήθηκε μέρος της μελέτης αυτής, αυτό των βιοχημικών αναλύσεων. Η πραγματοποίησή τους δεν θα ήταν δυνατή χωρίς την καθολική της συμπαράσταση.

Ευχαριστώ, τον Αναπληρωτή Καθηγητή Κ. Βιδάλη και την Επίκουρη Καθηγήτρια Μ. Μακρή για την ανιδιοτελή προσφορά του εργαστηριακού εξοπλισμού καθώς και την κα. Δ. Αβραμίδου για την επίλυση των τεχνικών δυσκολιών κατά τη διάρκεια του πειράματος και για το ενδιαφέρον που έδειχνε για την πορεία του.

Ευχαριστώ, επίσης, την διοίκηση της εταιρίας ΝΗΡΕΑΣ Α.Ε. για την δωρεάν διάθεση των αυγών τσιπούρας, καθώς και το προσωπικό του ιχθυογεννητικού σταθμού

της εταιρίας και ιδιαίτερα τους κ. Α. Σμπούκη και κ. Κ.Ρ.Λ Kantham, για την παροχή των σχετικών με το ιστορικό των γεννητόρων πληροφοριών.

Επίδραση σταθερή και ανυπέρβλητα ενισχυτική ήταν αυτή των φίλων μου. Τους ευχαριστώ θερμά για την προθυμία που έδειχναν όταν τους χρειαζόμουν και όχι μόνο κατά τη διάρκεια της μελέτης αυτής.

Τελευταίους, αλλά όχι λιγότερο σημαντικούς, ευχαριστώ τους γονείς και τον αδερφό μου. Τους ευχαριστώ πολύ για την συμπαράσταση όλα αυτά τα χρόνια. Τους ευχαριστώ που ήταν και θα συνεχίσουν να είναι δίπλα μου στα εύκολα και τα δύσκολα...

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια.....	2
1.2 Τσιπούρα (<i>Sparus aurata</i> L. 1758).....	4
1.2.1 Παραγωγικός κύκλος.....	5
1.4 Η ποιότητα των αυγών και η σημασία της μελέτης της	7
1.5 Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα των αυγών	7
1.5.1 Διατροφή γονητόρων.....	8
1.5.2 Ηλικία και γονίδια των γονητόρων.....	9
1.5.3 Διαχειριστικές πρακτικές.....	10
1.5.4 Περιβαλλοντικοί παράγοντες.....	11
1.4 Αντικείμενο και στόχοι της παρούσας μελέτης	13
2. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ	14
2.1 Εισαγωγικά στοιχεία.....	15
2.2 Διαδικασίες και συνθήκες	15
2.2.1 Ιστορικό γονητόρων	15
2.2.2 Συλλογή αυγών από τη δεξαμενή των γονητόρων	16
2.2.3 Αποθεματοποίηση των αυγών στις πειραματικές δεξαμενές.....	18
2.2.4 Αποθήκευση δείγματος αυγών	18
2.2.5 Λυοφιλίωση.....	19
2.3 Παράμετροι που παρατηρήθηκαν και μετρήθηκαν	20
2.3.1 Μορφομετρικοί χαρακτήρες των αυγών	20
2.3.1.1 Διάμετρος αυγού και σταγόνας λιπιδίων	20
2.3.1.2 Όγκος αυγού και σταγόνας λιπιδίων.....	20
2.3.1.3 Νωπό βάρος	21
2.3.1.4 Ξηρό βάρος.....	21
2.3.2 Μορφολογικές ανωμαλίες	21
2.3.3 Ποσοστό επίπλευσης και ρυθμός εκκόλαψης των αυγών	21
2.3.4 Βιοχημική σύσταση των αυγών.....	22
2.3.4.1 Πρωτεΐνες	22
2.3.4.2 Υδατάνθρακες	24
2.3.3.3 Ολικά λιπίδια	26

2.4 Στατιστική επεξεργασία	31
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	32
3.1 Μορφομετρικοί χαρακτήρες του αυγού	33
3.1.1 Διάμετρος του αυγού	34
3.1.2 Όγκος του αυγού	35
3.1.3 Διάμετρος της σταγόνας λιπιδίων.....	35
3.1.4 Όγκος της σταγόνας λιπιδίων.....	35
3.1.5 Νωπό βάρος του αυγού	36
3.1.6 Ξηρό βάρος του αυγού.....	36
3.1.7 Αριθμός αυγών ανά γραμμάριο	36
3.2 Μορφολογικές ανωμαλίες	39
3.2 Ποσοστό επιπλεόντων αυγών	41
3.3 Ρυθμός εκκόλαψης.....	42
3.3 Βιοχημική σύσταση	44
3.3.1 Πρωτεΐνες	44
3.3.2 Υδατάνθρακες.....	45
3.3.3 Ολικά λιπίδια	45
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	47
4.1 Κριτήρια που καθόρισαν την ποιότητα των αυγών	48
4.2 Εξέλιξη της ποιότητας των αυγών	49
4.3 Εκτίμηση της ποιότητας των αυγών.....	54
4.4 Από την έρευνα στην εφαρμογή	54
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	56
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	58
ABSTRACT	61
BIBLIOΓΡΑΦΙΑ.....	64

Κεφάλαιο 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια

Η πρακτική της εκτροφής και της καλλιέργειας υδρόβιων οργανισμών κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες, είναι ευρέως διαδεδομένη με τον όρο Υδατοκαλλιέργειες (Shields, 2001). Αν και η συστηματική καλλιέργεια υδρόβιων οργανισμών είναι μία πρόσφατη σχετικά πρακτική, υπάρχουν ενδείξεις που μαρτυρούν την εφαρμογή της από τα αρχαία χρόνια σε αρκετές παράκτιες περιοχές της Ασίας, της Αιγύπτου αλλά και της Ευρώπης (Barazi-Yeroulanos, 2010). Με την πάροδο των αιώνων αλλά και με την πρόοδο που επιτεύχθηκε με την αγροτική και βιομηχανική επανάσταση, εντάθηκε η εκμετάλλευση των πόρων του χερσαίου περιβάλλοντος και υπήρξε σημαντική αύξηση στην παραγωγή αγροκτηνοτροφικών προϊόντων, προς σίτιση του συνεχώς αυξανόμενου πληθυσμού. Οι τεχνολογικές εξελίξεις της βιομηχανικής επανάστασης βοήθησαν τον τομέα της αλιείας να περάσει από την παραδοσιακή εκμετάλλευση των θαλάσσιων πόρων στη βιομηχανική και εντατικοποιημένη παραγωγή, καθιστώντας τα αλιευτικά προϊόντα αναπόσπαστο μέρος της διατροφής του σύγχρονου ανθρώπου (ΣΕΘ, 2011).

Στην περιοχή της Μεσογείου η έναρξη της υδατοκαλλιέργειας ανιχνεύεται κατά το 2500 π.Χ. στην Αρχαία Αίγυπτο. Κατά τον 12ο αιώνα στην περιοχή της κεντρικής Ευρώπης παρατηρήθηκε αναβίωση της υδατοκαλλιέργειας γλυκού νερού. Κατά τον 15ο αιώνα ασκούνταν εκτεταμένη και μεγάλης κλίμακας υδατοκαλλιέργεια (*vallicultura*) στις λιμνοθάλασσες της Αδριατικής, η οποία θεωρείται προάγγελος της σύγχρονης θαλάσσιας μεσογειακής υδατοκαλλιέργειας (Barazi-Yeroulanos, 2010). Η παράδοση σε αυτή τη δραστηριότητα παράλληλα με τις ξεχωριστές οικολογικές συνθήκες της περιοχής ευνόησαν την ευρεία ανάπτυξη της σύγχρονης θαλάσσιας μεσογειακής υδατοκαλλιέργειας (Rigos and Troisi, 2005).

Για πολλές δεκαετίες, η υδατοκαλλιεργητική παραγωγή βρισκόταν στο περιθώριο της συνολικής παραγωγής διατροφικών προϊόντων, λόγω της έλλειψης ειδικών επιστημονικών και τεχνικών γνώσεων (ΣΕΘ, 2011). Προς τα τέλη της δεκαετίας του 1970 και στις αρχές της δεκαετίας του 1980 έλαβαν χώρα έρευνες σχετικά με την εκτροφή της τσιπούρας και του λαβρακιού (Moretti *et al.*, 1999). Οι πρώτες προσπάθειες είχαν επικεντρωθεί στην ελεγχόμενη φάση της παραγωγής η οποία πραγματοποιούταν σε χερσαία συστήματα χρησιμοποιώντας αντλούμενο θαλασσινό νε-

ρό. Καθώς όμως ο τομέας αναπτυσσόταν και η παραγωγή αυξανόταν, τα συστήματα αυτά μεταφέρθηκαν στην θάλασσα. Η σύγχρονη βιομηχανία της θαλάσσιας υδατοκαλλιέργειας κατέστη δυνατή, κατά τα τέλη της δεκαετίας του 1980, έπειτα από την αντιμετώπιση των τεχνικών δυσκολιών, που αφορούσαν την αναπαραγωγή, την καλλιέργεια των προνυμφών και την διατροφή των καλλιεργούμενων ειδών (Barazi-Yeroulanos, 2010).

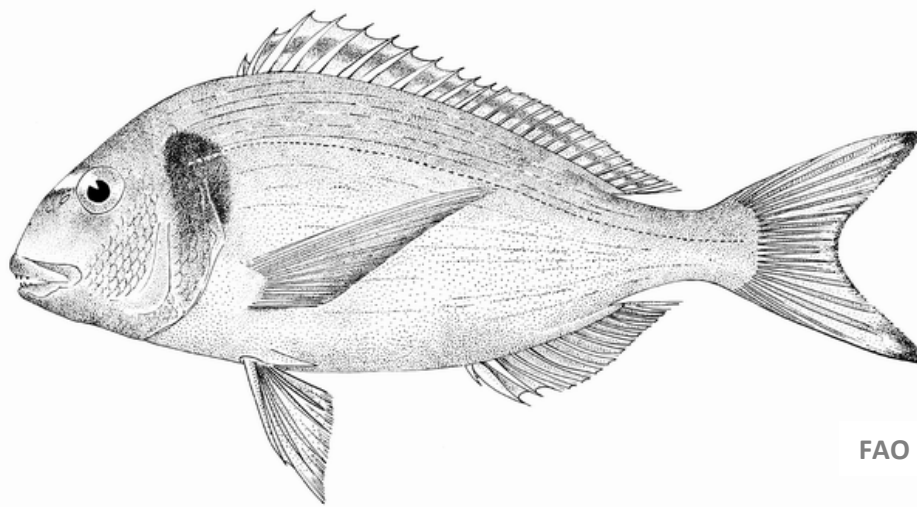
Στην Ελλάδα, η θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια ξεκίνησε την πορεία της με την εκτροφή της τσιπούρας και του λαβρακιού, από τα μέσα της δεκαετίας του 1980, και ακολούθησε ραγδαία ανάπτυξη (Moretti *et al.*, 1999 - Basurco *et al.*, 2010). Η πρώτη σύγχρονη εταιρία θαλάσσιας υδατοκαλλιέργειας ιδρύθηκε το 1981. Η εταιρία αυτή είχε αρχική ετήσια παραγωγή 90 τόνους το 1985, η παραγωγή αυξήθηκε εντυπωσιακά κατά 47% σε ετήσια βάση με μέσο όρο την παραγωγή των 145000 τόνων κατά το 2008 (Barazi-Yeroulanos, 2010). Η Ελλάδα είναι η μεγαλύτερη παραγωγός χώρα τσιπούρας και λαβρακιού της Ε.Ε. (Monfort, 2007), ενώ στους σημαντικούς παραγωγούς περιλαμβάνονται η Τουρκία, η Ισπανία και η Ιταλία (IOBE, 2011). Οι προστατευόμενες και εκτενείς ακτές της Ελλάδας, καθώς και η μικρή απόσταση από την Ιταλία, η οποία διαθέτει τη μεγαλύτερη αγορά τσιπούρας, αποτελούν πλεονέκτημα για την ανάπτυξη του κλάδου στη χώρα (Monfort, 2007). Η συνολική παραγωγή τσιπούρας και λαβρακιού στις μεσογειακές χώρες έφθασε σύμφωνα με εκτιμήσεις, στους 253000 τόνους το 2010 (IOBE, 2011).

Σύμφωνα με στοιχεία του IOBE (2011) η Ελλάδα, με εκτιμώμενη παραγωγή 123000 τόνους το 2010 και μέσο ετήσιο ρυθμό μεγέθυνσης της παραγωγής της τάξης του 7.4% από το 2000 μέχρι το 2009, αποτελεί το σημαντικότερο παραγωγό τσιπούρας και λαβρακιού σε διεθνές επίπεδο, με μερίδιο 48.6% επί της συνολικής παραγωγής. Ισχυρότερη είναι η θέση της Ελλάδας στην παραγωγή τσιπούρας, όπου συγκεντρώνει το 54% περίπου της διεθνούς παραγωγής. Η Ελλάδα αποτελεί επίσης το μεγαλύτερο εξαγωγέα τσιπούρας και λαβρακιού σε παγκόσμιο επίπεδο, με το σύνολο των εξαγωγών της να σημειώνει την περίοδο 2006 - 2009 μέσο ετήσιο ρυθμό μεγέθυνσης 11% και να φτάνει το 2009 τους 103000 τόνους, από 75600 τόνους το 2006. Οι ελληνικές εξαγωγές τσιπούρας και λαβρακιού κατευθύνονται στην πλειονότητά τους στην ιταλική αγορά. Οι επόμενες σε σημαντικότητα αγορές για τις ελληνικές εξαγωγές είναι η ισπανική και η γαλλική. Σταδιακά ο αριθμός των χωρών

προορισμού της ελληνικής παραγωγής έχει αυξηθεί από 22 στα μέσα της δεκαετίας του 1990 σε 41 το 2009.

Η σημαντική ανάπτυξη του κλάδου έχει επιφέρει αξιόλογα αποτελέσματα τόσο στην παραγωγή εγχώριων, νωπών, φθηνών και υψηλής ποιότητας ψαριών, όσο και στη δημιουργία μιας κοινωνικό-οικονομικής δομής που άμεσα και έμμεσα περιλαμβάνει χιλιάδες εργαζόμενους, κυρίως σε περιοχές που εξαρτώνται από την αλιεία (ΣΕΘ, 2011).

1.2 Τσιπούρα (*Sparus aurata* L. 1758)



- Βασίλειο: Ζώα (Animalia)
- Φύλο: Χορδωτά (Chordata)
- Κλάση: Οστεϊχθύες (Osteichthys)
- Υποκλάση: Ακτινοπτερύγιοι (Actinopterygii)
- Τάξη: Περκόμορφοι (Perciformes)
- Οικογένεια: Σπαροειδή (Sparidae)
- Γένος: *Sparus*
- Είδος: *Sparus aurata*

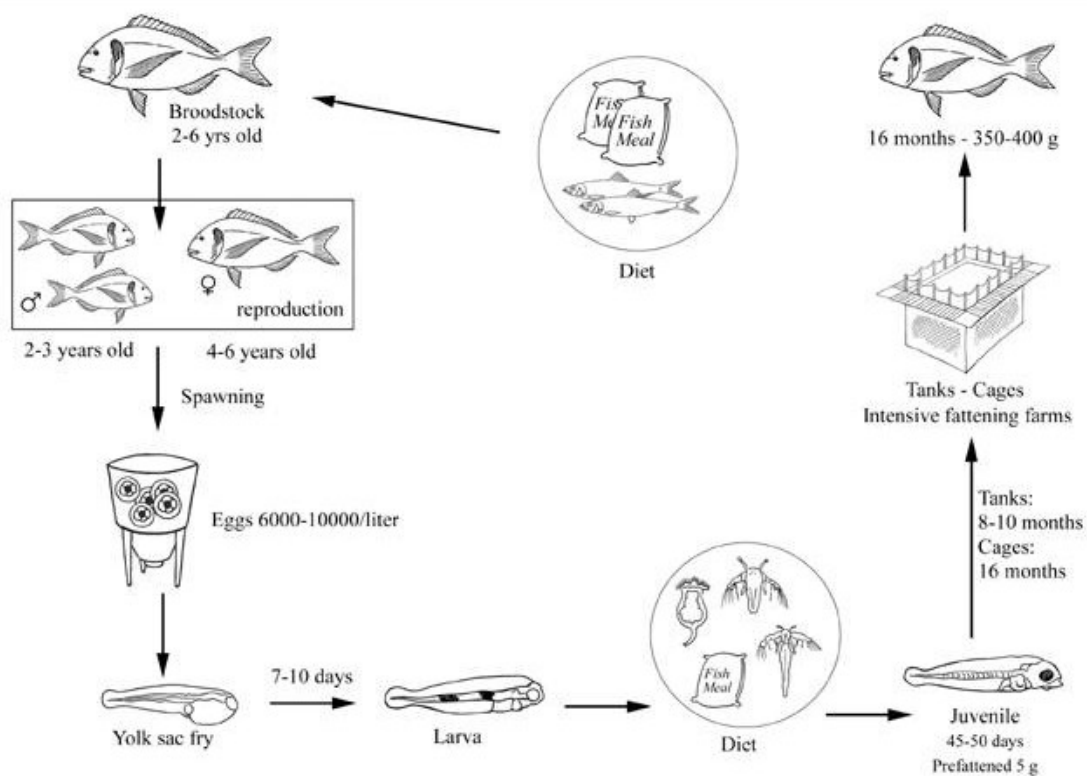
Η τσιπούρα έχει επίμηκες, υψηλό και πλευρικά πεπιεσμένο σχήμα σώματος, με μεγάλα κτενοειδή λέπια. Το ραχιαίο πτερύγιο της τσιπούρας αποτελείται από ακανθώδεις ακτίνες, ενώ το ουραίο πτερύγιο είναι διχαλωτό και εμφανίζει μαύρο χρώμα στις άκρες του. Το στόμα της είναι ελαφρά προεκτεινόμενο, με παχιά χείλη. Το γενικό χρώμα του σώματος είναι ασημένιο - γκρι, με τη ραχιαία περιοχή γκριζογάλανη και την πλευρική γραμμή κίτρινη. Μεταξύ των ματιών φέρει μια χρυσοκίτρινη λωρί-

δα, η οποία αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμά της. Πάνω στο βραγχιακό επικάλυμμα φέρει μια μελανή κηλίδα η οποία υπογραμμίζεται από κόκκινο χρώμα (Moretti *et al.*, 1999 - Basurco *et al.*, 2010). Είναι είδος κοινό στην Μεσόγειο, αλλά με περιορισμένη παρουσία στην Μαύρη θάλασσα. Στον Ατλαντικό Ωκεανό συναντάται από τις νότιες ακτές των Βρετανικών νησιών ως το Πράσινο Ακρωτήριο της Βορείου Αφρικής και τα Κανάρια νησιά αλλά με σημαντική απόκλιση ως προς την πληθυσμιακή πυκνότητα του είδους αυτού (Παπουτσόγλου, 2008). Πρόκειται για βενθοπελαγικό είδος που συναντάται σε παράκτια περιβάλλοντα και σε βάθος μέχρι 30 μέτρα, ενώ ενήλικα άτομα έχουν βρεθεί και μέχρι 150 μέτρα βάθος. Το είδος είναι ευρύαλο, ενώ συχνά εισέρχεται και σε υφάλμυρα νερά. Όσον αφορά την αναπαραγωγική του βιολογία το είδος αυτό είναι πρώτανδρο ερμαφρόδιτο. Κατά τα δύο πρώτα χρόνια της ζωής τους τα άτομα είναι αρσενικά (20 έως 30 cm) και στην συνέχεια μετατρέπονται σε θηλυκά (33 έως 40 cm) (Moretti *et al.*, 1999). Η ωοτοκία του είδους λαμβάνει χώρα συνήθως από τον Δεκέμβριο μέχρι τον Απρίλιο όταν η θερμοκρασία του νερού κυμαίνεται από 13 έως 17°C (Cataudella *et al.*, 1995).

1.2.1 Παραγωγικός κύκλος

Τα αυγά της τσιπούρας παράγονται σε χερσαία εκκολαπτήρια από επιλεγμένους γεννήτορες, διαφόρων ηλικιακών ομάδων (ενός έτους αρσενικά και έως δέκα ετών θηλυκά άτομα) τα οποία διατηρούνται σε δεξαμενές με πυκνότητα 4 έως 8 kg/m⁻³. Προκειμένου να εξασφαλιστεί ένα καλό ποσοστό γονιμοποίησης η αναλογία αρσενικών - θηλυκών ατόμων είναι 3:1 (Basurco *et al.*, 2010). Η διατροφή των γεννητόρων αποτελείται από ειδικές εμπορικές τροφές και καλαμάρια (Izquierdo *et al.*, 2001). Κάθε θηλυκό άτομο μπορεί να παράγει περισσότερα από 1 εκατομμύριο αυγά κατά τη διάρκεια μιας αναπαραγωγικής περιόδου και το σύννηθες ποσοστό γονιμοποίησης κυμαίνεται από 90 έως 95% (Sola *et al.*, 2007). Κατά τον πρώτο μήνα της ζωής τους, οι νύμφες της τσιπούρας καλλιεργούνται υπό ελεγχόμενες συνθήκες σε κυλινδροκωνικές δεξαμενές διαμέτρου 3 έως 6m. Με το πέρας 3 έως 4 ημερών μετά την εκκόλαψη, στις νύμφες χορηγούνται ζωντανά θηράματα (τροχόζωα *Brachionus plicatilis*, ακολουθούμεθα από *Artemia spp.*) μέχρι την ολοκλήρωση του σταδίου της μεταμόρφωσης. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 20 ετών τα ποσοστά επιβίωσης από την εκκόλαψη μέχρι και το στάδιο των ιχθυδίων των 2g έχουν αυξηθεί κατά

20% (De Wolf *et al.*, 2005). Υπήρξε, επίσης, σημαντική βελτίωση στη διατροφή των νυμφών αλλά και στις τεχνικές διαχείρισης. Η χρήση εμπορικών εμπλουτιστικών για τη βελτίωση της ποιότητας της ζωντανής τροφής είναι μία κοινή πρακτική για τα εκκολαπτήρια τσιπούρας με αποτέλεσμα την καλύτερη ανάπτυξη και επιβίωση του είδους (Basurco *et al.*, 2010). Τα ενήλικα άτομα εκτρέφονται συνήθως σε θαλάσσιους κλωβούς με μέση πυκνότητα 15 έως 25kg/m³ (Moretti *et al.*, 1999). Η περίοδος καλλιέργειας ποικίλλει ανάλογα με την τοποθεσία αλλά και με τη θερμοκρασία του νερού, αλλά συνήθως διαρκεί 18 έως 24 μήνες, έως ότου ο πληθυσμός να φτάσει τα 400g. Το εμπορικό μέγεθος ποικίλλει από 250g έως 1.5kg (Basurco *et al.*, 2010).



Σχήμα 1.1 Σχηματική απεικόνιση του παραγωγικού κύκλου της τσιπούρας σε εντατικά συστήματα εκτροφής (FAO αναφερόμενος από Basurco *et al.*, 2010)

Παρά την σημαντική πρόοδο που έχει παρουσιάσει ο κλάδος τα τελευταία χρόνια, η μαζική εκτροφή των ιχθυονυμφών, ιδιαίτερα κάτω από εντατικές συνθήκες, παραμένει κρίσιμη και δύσκολη. Η θνησιμότητα καθώς και η εμφάνιση μορφοανατομικών ανωμαλιών, δηλαδή μη αντιστρέψιμων αποκλίσεων από το φυσικό μορφολογικό πρότυπο, αποτελούν τα κυριότερα προβλήματα τα οποία σκιάζουν την εκτροφή των θαλάσσιων ιχθύων κατά τα πρώτα αναπτυξιακά τους στάδια (Κουμουδούρος, 1998 - Κλημογιάννη, 2004).

1.4 Η ποιότητα των αυγών και η σημασία της μελέτης της

Τα είδη της οικογένειας Sparidae είναι πολύ σημαντικά για τον κλάδο των θαλάσσιων ιχθυοκαλλιέργειών (Shields, 2001). Παρότι οι γεννήτορες αυτών είναι ικανοί να παράγουν μεγάλες ποσότητες αυγών, πολύ συχνά η ποιότητά τους ποικίλει σε μεγάλο βαθμό και με έναν μη ελεγχόμενο τρόπο (Papadaki *et al.*, 2008).

Η ποιότητα των αυγών που παράγονται στα εκκολαπτήρια αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους περιοριστικούς παράγοντες για την επιτυχή μαζική παραγωγή των ψαριών και κατά συνέπεια επηρεάζει την ανάπτυξη του κλάδου της υδατοκαλλιέργειας (Papadaki *et al.*, 2008). Η ποιότητα των αυγών μπορεί να επηρεαστεί από διάφορες παραμέτρους οι οποίες συχνά αλλάζουν κατά τη διάρκεια της περιόδου αναπαραγωγής. Είναι πολύ σημαντικό, λοιπόν, να μελετηθούν οι μεταβολές της ποιότητας των αυγών των καλλιεργούμενων ειδών, έτσι ώστε να μεγιστοποιηθεί η συλλογή και παραγωγή των αυγών στα εκκολαπτήρια (Abrehouch *et al.*, 2009)

Ως ποιότητα αυγών ορίζεται η δυνατότητα των αυγών να παράγουν βιώσιμους απογόνους (Kjorsvik *et al.*, 1990 - Brooks *et al.*, 1997). Ο όρος ποιότητα αυγών μπορεί να περιγράψει το ποσοστό των αυγών σε μια παρτίδα που ολοκληρώνει επιτυχώς την ανάπτυξη στα διαφορετικά στάδια της οντογένεσης (Lahnsteiner and Patarnello, 2005).

Οι πληθυσμοί των εκτρεφόμενων αλλά και των άγριων ψαριών, εξαρτώνται από την παραγωγή της καλής ποιότητας των αυγών (Brooks *et al.*, 1997). Γενικότερα, καλής ποιότητας θεωρούνται τα αυγά που παρουσιάζουν υψηλά ποσοστά επιβίωσης κατά τα στάδια της εμβρυακής ανάπτυξης, από τα οποία θα παραχθούν υγιείς και ταχύτατα αναπτυσσόμενες νύμφες (Aegerter and Jalabert, 2004).

1.5 Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα των αυγών

Η ποιότητα των αυγών καθορίζεται από τις εγγενείς ιδιότητές τους, από τα γονίδια και από τις μεταγραφές του mRNA, καθώς και από τα διάφορα θρεπτικά συστατικά τα οποία περιέχονται στη λέκιθο. Τόσο στον τομέα της υδατοκαλλιέργειας όσο και στη φύση, το περιβάλλον στο οποίο επωάζονται τα αυγά επίσης επηρεάζει την δυνατότητα των αυγών να παράγουν βιώσιμους απογόνους (Brooks *et al.*, 1997).

Οι παράγοντες που καθορίζουν την ποιότητα των αυγών έχει καθιερωθεί να χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη σχετίζεται με παράγοντες (διατροφικούς και μη) οι οποίοι αφορούν τους γεννητόρες, ενώ η δεύτερη σχετίζεται με τους περιβαλλοντικούς παράγοντες του μέσου στο οποίο απελευθερώνονται και επωάζονται τα αυγά. Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε εκτρεφόμενα είδη ψαριών (Bromage, 1995 - Bruce *et al.*, 1999 - Brown *et al.*, 2003), αναφέρουν ότι η ποιότητα των αυγών επηρεάζεται από τη διατροφή των γεννητόρων, τις περιβαλλοντικές συνθήκες καθώς και από τις διαχειριστικές πρακτικές.

1.5.1 Διατροφή γεννητόρων

Για αρκετά από τα καλλιεργούμενα είδη και κυρίως για τα νέα ως προς την καλλιέργειά τους, η απρόβλεπτη και μεταβλητή αναπαραγωγική ικανότητα αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για την επιτυχή μαζική παραγωγή τους. Η βελτίωση της διατροφής των γεννητόρων έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα των αυγών αλλά και του σπέρματος (Izquierdo *et al.* 2001 - Papadaki *et al.*, 2008). Η ανάπτυξη των γονάδων καθώς και η γονιμότητα, φαίνεται να επηρεάζονται από ορισμένες θρεπτικές ουσίες (Izquierdo *et al.*, 2001 - Haga *et al.*, 2008 - Sawanboonchun *et al.*, 2008). Τα συστατικά των τροφών των γεννητόρων, τα οποία είναι πολικά και μη πολικά λιπίδια (Watanabe *et al.*, 1991), λιπαρά οξέα (Almansa *et al.*, 1999 - Abrehouch *et al.*, 2010), πρωτεΐνες (Harel *et al.*, 1995), καθώς και τα συμπληρώματα όπως ασκορβικό οξύ (Blom and Dabrowski, 1995), ασταξανθίνη (Sawanboonchun *et al.*, 2008), ρετινοειδή και καροτενοειδή (Haga *et al.*, 2008) έχει αποδειχτεί ότι επηρεάζουν την ποιότητα των αυγών αλλά και την επιβίωση των απογόνων.

Σε γενικές γραμμές, τα αυγά θεωρούνται καλύτερης ποιότητας όταν η περιεκτικότητά τους σε $\omega 3$ λιπαρά οξέα είναι μεγάλη (Abrehouch *et al.*, 2010). Τα λιπίδια και τα λιπαρά οξέα που περιέχονται στη διατροφή των γεννητόρων έχουν αναγνωρισθεί ως σημαντικός διατροφικός παράγοντας, ο οποίος καθορίζει την επιτυχή αναπαραγωγή και την επιβίωση των απογόνων (Izquierdo *et al.*, 2001).

Οι πρωτεΐνες και οι υδατάνθρακες των τροφών των γεννητόρων φαίνεται ότι επηρεάζουν την ποιότητα των αυγών (Harel *et al.*, 1995). Οι πρωτεΐνες δρουν ως πηγή ενέργειας και χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια βιοσυνθετικών δραστηριοτή-

των κατά τα πρώτα στάδια της εμβρυογένεσης (Metcoff, 1986). Η επιτυχής εμβρυακή ανάπτυξη των ψαριών έχει αποδειχθεί ότι εξαρτάται από την ισορροπία των αμινοξέων που περιέχονται στο αυγό (Fyhn, 1989).

Ορισμένα ιχνοστοιχεία και βιταμίνες, συνδέονται με την ποιότητα των αυγών (Sandnes *et al.*, 1984). Μελέτες αποδεικνύουν ότι η βιταμίνη C είναι απαραίτητο στοιχείο για τη διατροφή των γεννητόρων, και ότι η έλλειψη βιταμίνης C επιφέρει υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας (Brooks *et al.*, 1997). Οι Palace and Werner, (2006) αναφέρουν πως τα συμπληρώματα της διατροφής των γεννητόρων με βιταμίνη E φαίνεται να αυξάνουν την περιεκτικότητα των αυγών σε βιταμίνη E με αποτέλεσμα τη βελτίωση της ποιότητάς τους, η βιταμίνη E επίσης, συμβάλει στην προστασία των ακόρεστων λιπαρών οξέων από την υπεροξειδωση. Μελέτες σχετικές με την επίδραση της διατροφής των γεννητόρων στην ποιότητα των αυγών των ειδών, έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι τα συμπληρώματα της διατροφής των γεννητόρων φαίνεται να βελτιώνουν την παραγωγή αλλά και την βιωσιμότητα των αυγών (Brooks *et al.*, 1997).

Έχει παρατηρηθεί ότι οι γεννήτορες που τρέφονται με φυσική διατροφή συχνά παράγουν αυγά καλύτερης ποιότητας σε σχέση με αυτούς που τρέφονται με εμπορικές τροφές, στις οποίες οι διαφορές είναι σημαντικές (Brooks *et al.*, 1997). Για παράδειγμα, μελέτες σε γεννήτορες τσιπούρας, απέδειξαν ότι τα ψάρια που είχαν τραφεί με καλαμάρια παρήγαγαν τρεις φορές περισσότερο βιώσιμα αυγά απ' ό,τι τα ψάρια που είχαν τραφεί με εμπορική τροφή βασισμένη σε σιτάλευρο-γλουτένη (Harel *et al.*, 1994).

Κατά τη διαμόρφωση των εμπορικών τροφών, θα πρέπει να εξετάζεται η φυσική διατροφή των εν λόγω ειδών, καθώς και τα θρεπτικά συστατικά που περιέχονται στα αυγά του κάθε είδους. Επειδή τα είδη των ψαριών έχουν διαφορετικές διατροφικές απαιτήσεις η διατροφή των γεννητόρων θα πρέπει να είναι ειδικά προσαρμοσμένη ώστε να εξασφαλίζεται η καλή ποιότητα των αυγών (Brooks *et al.*, 1997).

1.5.2 Ηλικία και γονίδια των γεννητόρων

Στα θηλαστικά, έχει αποδειχθεί ότι η αναπαραγωγική ηλικία των γονέων μπορεί να επηρεάσει την ποιότητα των αυγών (Navot *et al.*, 1994). Στον άνθρωπο, παρατηρείται μείωση της γονιμότητας από την ηλικία των 25 ετών και έπειτα, γεγονός που

σχετίζεται με την υποβάθμιση της ποιότητας των ωαρίων (Navot *et al.*, 1994). Στα ψάρια, έχει διαπιστωθεί ότι έπειτα από δύο ωοτοκίες τα αυγά που παράγονται είναι καλύτερης ποιότητας (Brooks *et al.*, 1997). Οι Bromage and Cumaranatunga (1988) διαπίστωσαν ότι η επιβίωση των αυγών των θηλυκών ιριδίζουσας πέστροφας που ωοτοκούσαν για δεύτερη φορά (3 ετών) ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με τα αυγά από τα θηλυκά που ωοτόκησαν για πρώτη φορά (2 ετών). Η ηλικία των γεννητόρων σχετίζεται επίσης με τις μεταβολές στη χημική σύσταση αλλά και στο μέγεθος των αυγών (Kamler, 2005).

Τα γονίδια των γεννητόρων, επίσης, επηρεάζουν έντονα και τη γονιμότητα και την ποιότητα των αυγών. Τα προϊόντα που συντίθενται *in ovo* καθώς και οι μηχανισμοί που ελέγχουν την έκφρασή τους είναι πιθανό να παίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της ποιότητας των αυγών (Brooks *et al.*, 1997). Τόσο οι μητρικές όσο και οι πατρικές επιπτώσεις, συμβάλουν στην συνολική επιβίωση των απογόνων, αλλά λειτουργούν με διαφορετικούς τρόπους και σε διαφορετικές χρονικές στιγμές (Kamler, 2005).

1.5.3 Διαχειριστικές πρακτικές

Βασικοί παράγοντες που ενδέχεται να έχουν σημαντικές επιπτώσεις στην ποιότητα των αυγών είναι, η καταπόνηση (stress) των γεννητόρων, οι τεχνικές γονιμοποίησης, η υπερωρίμανση των αυγών αλλά και ο βακτηριακός αποικισμός των αυγών (Bromage *et al.*, 1992).

Ο εγκλιματισμός και ο παραγκωνισμός των ψαριών μπορεί να επηρεάσουν την ποιότητα των αυγών (Brooks *et al.*, 1997). Οι χρονικοί περιορισμοί αλλά και η καταπόνηση, έχει αποδειχτεί ότι διαταράσσουν την ενδοκρινολογία των ψαριών, η οποία επηρεάζει την φυσιολογική αύξηση και ανάπτυξη των ωοθηκών και μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά επιβίωσης των απογόνων (Campbell *et al.*, 1994). Η καταπόνηση των γεννητόρων, μπορεί επίσης, να οδηγήσει σε ακανόνιστα χρονικά διαστήματα ωοτοκίας, χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης και αυξημένη εμφάνιση ανωμαλιών των εμβρύων (Wilson *et al.*, 1995).

Η αναπαραγωγική διαδικασία των ψαριών, εξαρτάται από πολλούς περιβαλλοντικούς παράγοντες. Στην ιχθυοκαλλιέργεια, επιτάχυνση της τελικής ωρίμανσης μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση ορμονών ή με την προτροπή του περιβάλλοντος.

Το γεγονός ότι πολλά καλλιεργούμενα είδη δεν ωτοκοούν φυσικά οδήγησε στη χρήση ορμονών για την πρόκληση πρόωρης ωτοκίας (Bonnet *et al.*, 2007). Οι τεχνικές αυτές επιτρέπουν εύκολα και οικονομικά την πραγματοποίηση αυτού του σκοπού (Donaldson and Hunter, 1983). Ο ορμονικός έλεγχος της ωτοκίας, ενδέχεται να προκαλέσει βλάβες στην ποιότητα παραγόμενων αυγών (Barbaro *et al.*, 1997 - Bonnet *et al.*, 2007).

Σε αρκετές περιπτώσεις, ψάρια τα οποία έχουν μεγαλώσει στην αιχμαλωσία δεν απελευθερώνουν τα αυγά τους, με αποτέλεσμα τα αυγά να υπερωριμάζουν στο σώμα του θηλυκού, γεγονός που οδηγεί σε αυγά χαμηλής ποιότητας (Brooks *et al.*, 1997). Η υπερωρίμανση των αυγών καθορίζεται από τη χρονική διάρκεια που περνάει από την στιγμή της ωορρηξίας μέχρι την ώρα της τεχνικής γονιμοποίησης ή της φυσικής ωορρηξίας (Bromage *et al.*, 1992). Αποτέλεσμα της υπερωρίμανσης, είναι η κατακράτηση των αυγών στο σώμα του θηλυκού, μετά την έναρξη της διαδικασίας της ωορρηξίας (Kjørsvik *et al.*, 1990) και αποτελεί ένα μεγάλο πρόβλημα στον τομέα της ιχθυοκαλλιέργειας, ειδικά σε περιπτώσεις όπου το ψάρι θα πρέπει να γονιμοποιηθεί τεχνητά (Brooks *et al.*, 1997).

Μετά την γονιμοποίηση τα νεκρά αυγά αποικούνται από βακτήρια, και αν αυτά τα αυγά δεν αφαιρεθούν από τις δεξαμενές επώασης, μπορεί να αποικηθούν και τα υπόλοιπα. Με την επώαση των αυγών σε νερό υψηλής ποιότητας και με την απομάκρυνση των αποικούμενων αυγών ανά τακτά χρονικά διαστήματα, τα ποσοστά επιβίωσης (άρα και η συνολική ποιότητα των αυγών) μπορεί να ενισχυθεί σημαντικά (Bromage *et al.*, 1994).

1.5.4 Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η φωτοπερίοδος, η θερμοκρασία, η αλατότητα, το pH του νερού, επηρεάζουν την ποιότητα των αυγών (Carrillo *et al.*, 1989 - Brown *et al.*, 1995 - Finn, 2007). Συγκρίσεις μεταξύ των άγριων ψαριών και των εκτρεφόμενων έδειξαν ότι η ποιότητα των αυγών στα άγρια ψάρια είναι υψηλότερη σε σχέση με τα εκτρεφόμενα, γεγονός που σχετίζεται με τους περιβαλλοντικούς παράγοντες (Brooks *et al.*, 1997).

Η φωτοπερίοδος χρησιμοποιείται στον τομέα της υδατοκαλλιέργειας για την προώθηση ή την καθυστέρηση της αναπαραγωγής των ψαριών, με σκοπό να εξα-

σφαλίζονται αυγά ολόκληρο το χρόνο. Κάποιοι μελετητές (Carrillo *et al.*, 1989) θεωρούν πως η διαχείριση της ωοτοκίας των ψαριών μέσω της φωτοπερίοδου επηρεάζει την ποιότητα των αυγών, σε αντίθεση με άλλους οι οποίοι καταλήγουν στο συμπέρασμα πως η φωτοπερίοδος δεν φαίνεται να επηρεάζει την ποιότητα των αυγών (Bromage *et al.*, 2001). Δεν είναι σαφές εάν η ποιότητα των αυγών επηρεάζεται από τη φωτοπερίοδο, αλλά μπορεί να εξαρτηθεί από την χρονική στιγμή του έτους όπου η αναπαραγωγή προάγεται ή καθυστερείται (Brooks *et al.*, 1997). Στις περισσότερες μελέτες, σχετικές με την επίδραση της φωτοπερίοδου στην ποιότητα των αυγών, συχνά εμπλέκονται οι επιδράσεις του συνδυασμού της φωτοπερίοδου και των αλλαγών της θερμοκρασίας, οι οποίες αναφέρονται ως φωτοθερμικές αλλαγές (Bonnet *et al.*, 2007).

Η θερμοκρασία είναι ένας από τους πιο σημαντικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες που επηρεάζει την ανάπτυξη αλλά και στην επιβίωση των ψαριών σε συνθήκες καλλιέργειας (Klimogianni *et al.*, 2004 - Brown *et al.*, 2006). Η θερμοκρασία του νερού κατά τη διάρκεια της ωοτοκίας και της επώασης των αυγών, ενδέχεται να επηρεάσει τον μεταβολισμό, την δραστηριότητα και την δομή του αναπτυσσόμενου εμβρύου και κατ' επέκταση την ποιότητά του (Kinne and Kinne, 1961) αλλά και την διαφοροποίηση του ρυθμού ανάπτυξής του (Klimogianni *et al.*, 2004). Η θερμοκρασία του νερού επηρεάζει επίσης τα ποσοστά εκκόλαψης (Hart and Purser, 1995), το μέγεθος των προνυμφών (Hansen and Falk-Petersen, 2001), το χρόνο της απορρόφησης των λεκιθικών αποθεμάτων (Pauly and Pullin, 1988), καθώς και την επιβίωση των προνυμφών (Akatsu *et al.*, 1983).

Όπως και η θερμοκρασία έτσι και η αλατότητα επηρεάζει τη φυσιολογία των αυγών και των προνυμφών, και έχει άμεση σχέση με την ανάπτυξη και την επιβίωσή τους (Gracia-Lopez *et al.*, 2004). Η αλατότητα μπορεί επίσης να επηρεάσει την ποιότητα των αυγών, (Kinne and Kinne, 1961). Οι υψηλές τιμές αλατότητας μπορεί να επιφέρουν σημαντικές επιπτώσεις στην ανάπτυξη του εμβρύου (Burg and Garcia-Perez, 1992). Η αλατότητα επηρεάζει επίσης τα ποσοστά εκκόλαψης των αυγών (Holliday, 1969), την επιβίωση των προνυμφών (Lee and Menu, 1981), την απορρόφηση των λεκιθικών αποθεμάτων (Swanson, 1996), την ανάπτυξη (Murashige *et al.*, 1991) και την πλευστότητα των αυγών (Craig and Harvey, 1987).

Τα ωκύτταρα καθώς και τα αυγά των ψαριών, είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στους περιβαλλοντικούς (ή μη) ρύπους. Υπάρχουν σημαντικές πειραματικές αποδείξεις ότι η ποιότητα των αυγών των ψαριών μπορεί να επηρεαστεί αρνητικά από τη ρύπανση. Αποτέλεσμα της έκθεσης των αυγών σε περιβαλλοντικούς (ή μη) ρύπους είναι η εμφάνιση δυσπλασιών, η ανεπαρκής ανάπτυξη και η μειωμένη βιωσιμότητα. (Brooks *et al.* 1997). Συσώρευση ρύπων σε αυγά, έχει παρατηρηθεί και όταν τα ωάρια αναπτύσσονται στην ωοθήκη, αλλά και αργότερα όταν τα αυγά απελευθερωθούν στο υδάτινο περιβάλλον (Miller, 1993).

1.4 Αντικείμενο και στόχοι της παρούσας μελέτης

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η ποιότητα των αυγών της κοινής τσιπούρας (*Sparus aurata*) μιας και η ποιότητα των αυγών καθορίζει το ποσοστό επιτυχίας της μαζικής καλλιέργειας του είδους. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση (μέσω ποιοτικών κριτηρίων) της υπόθεσης διαφοροποίησης ή όχι της ποιότητας των αυγών της κοινής τσιπούρας κατά τη διάρκεια μιας περιόδου ωοτοκίας, με απώτερο στόχο τα αποτελέσματα αυτής να καταστούν χρήσιμο διαχειριστικό εργαλείο σε έναν εμπορικό ιχθυογεννητικό σταθμό.

Κεφάλαιο 2

ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Στην παρούσα μελέτη εξετάσθηκε η ποιότητα αυγών τσιπούρας κατά τη διάρκεια μιας περιόδου ωοτοκίας. Για το σκοπό αυτό από τις αρχές του Δεκεμβρίου 2010 και κάθε μήνα μέχρι και τον Απρίλιο του 2011 συλλεγόταν δείγμα αυγών από την ίδια ομάδα γεννητόρων και μεταφερόταν στο εργαστήριο, όπου πραγματοποιούνταν οι απαραίτητες διαδικασίες για τον καθορισμό της ποιότητάς τους. Η χρονική περίοδος της εκτέλεσης της πειραματικής διαδικασίας καθορίστηκε από την περίοδο ωοτοκίας του είδους κάτω από φυσικές συνθήκες φωτοπεριόδου και θερμοκρασίας.

Η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε στην Μονάδα Καλλιέργειας Πλαγκτού του Εργαστηρίου Υδατοκαλλιεργειών, ενώ μέρος αυτής (βιοχημικές αναλύσεις) πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, εργαστήρια του τμήματος Υδατοκαλλιεργειών και Αλιευτικής Διαχείρισης του ΤΕΙ Μεσολογγίου.

Τα αυγά της τσιπούρας, που μελετήθηκαν, προέρχονταν από γεννήτορες του ιχθυογεννητικού σταθμού της εταιρείας Νηρέυς Α.Ε., ο οποίος βρίσκεται στην Χιλιάδου, Μανάγουλης, Φωκίδας.

Οι διαδικασίες καθώς και οι συνθήκες που επικρατούσαν κατά την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας ήταν ίδιες για όλους τους μήνες και αναλύονται διεξοδικά στην συνέχεια αυτού του κεφαλαίου.

2.2 Διαδικασίες και συνθήκες

2.2.1 Ιστορικό γεννητόρων

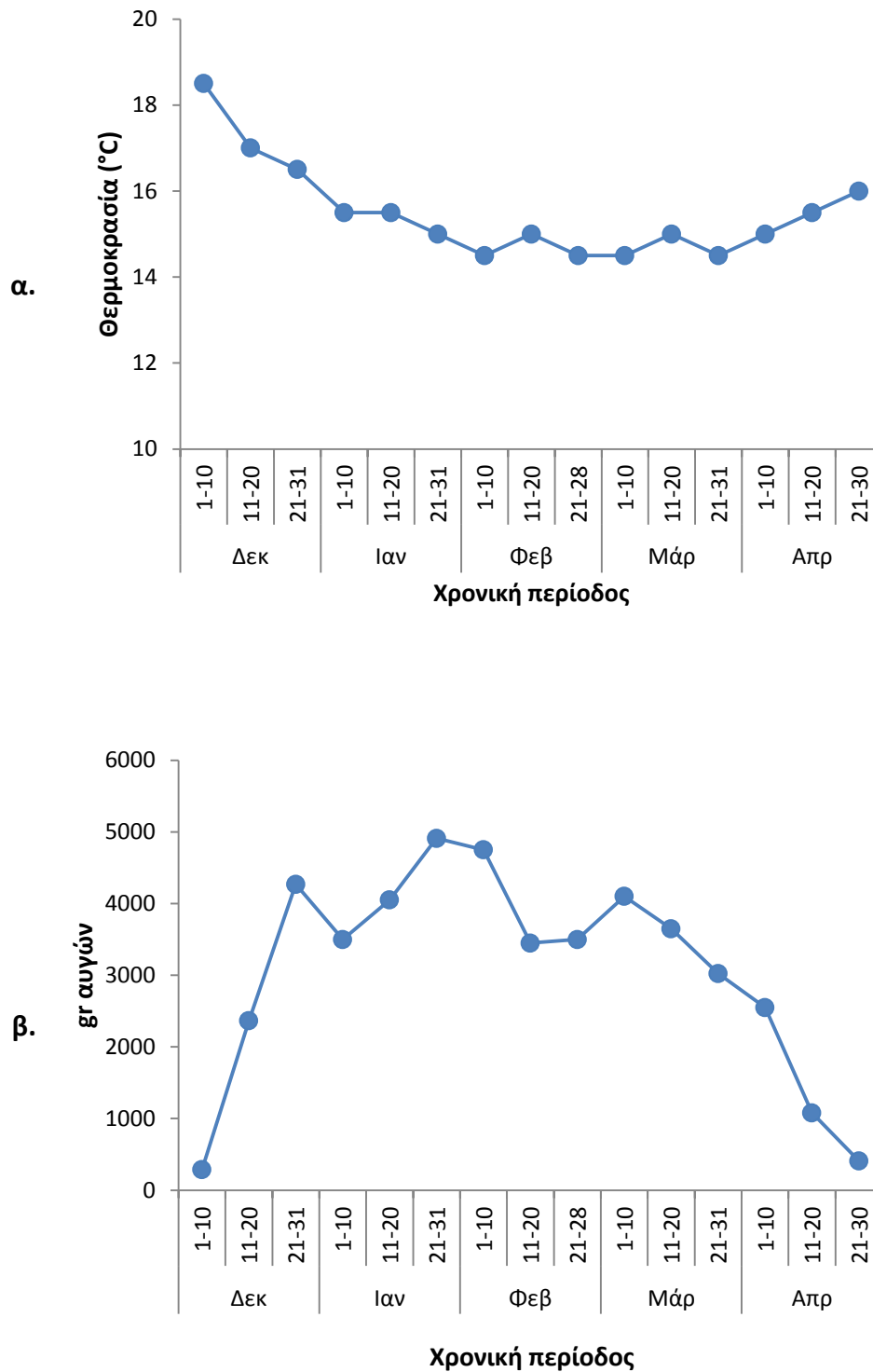
Όπως προαναφέρθηκε η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε με αυγά από γεννήτορες του ιχθυογεννητικού σταθμού της εταιρείας Νηρέυς Α.Ε. στη Χιλιάδου Μανάγουλης, Φωκίδας. Το απόθεμα των γεννητόρων απαρτιζόταν από 130 άτομα (85 θηλυκά, 45 αρσενικά) μέσου ατομικού βάρους περίπου 2.65Kg, προέλευσης F₁ εκτρεφόμενης γενιάς, τα οποία είχαν αποθεματοποιηθεί σε πολυεστερική κυλινδρική δεξαμενή χωρητικότητας 50m³. Σε όλη τη διάρκεια του έτους συντηρούνταν κάτω από φυσικές συνθήκες φωτοπεριόδου και θερμοκρασίας. Το παρεχόμενο φιλτραρισμένο και αποστειρωμένο (UV) θαλασσινό νερό (αλατότητας 38‰) υποστήριζε την δεξαμενή των γεννητόρων με ένα ρυθμό ανανέωσης περίπου 5m³ ανά ώρα. Το

νερό που διοχετεύονταν στην συγκεκριμένη δεξαμενή κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας είχε θερμοκρασία $16.5 \pm 2^\circ\text{C}$. Η διακύμανση της θερμοκρασίας της δεξαμενής των γεννητόρων κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας παρουσιάζεται διαγραμματικά στο Σχήμα 2.1α.

Η διατροφή των γεννητόρων ακολουθούσε ένα περιοδικό πρόγραμμα σε εβδομαδιαία βάση όπου καλαμάρια εναλλάσσονταν με ξηρή τροφή (pellets). Η χορήγηση της τροφής γινόταν με το χέρι και *ad libitum*.

2.2.2 Συλλογή αυγών από τη δεξαμενή των γεννητόρων

Η ωοτοκία των γεννητόρων ήταν αυθόρμητη. Τα αυγά που χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία των πειραματικών πληθυσμών προέρχονταν από 5 τυχαίες δειγματοληπτικές επαναλήψεις κατά τη διάρκεια της περιόδου ωοτοκίας (συνολικής διάρκειας 5 μηνών) του είδους κάτω από φυσικές συνθήκες φωτοπεριόδου και θερμοκρασίας. Αναλυτικότερα, συλλέχθηκαν αυγά στις 10 Δεκεμβρίου 2010, 11 Ιανουαρίου 2011, 8 Φεβρουαρίου 2011, 9 Μαρτίου 2011 και 11 Απριλίου 2011. Για τον ακριβή προσδιορισμό του χρόνου ωοτοκίας και γονιμοποίησης των αυγών κάθε μήνα, προηγούνταν μια περίοδος δειγματοληπτικού ελέγχου και διερεύνησης του νερού της δεξαμενής των γεννητόρων. Όταν αυτός προσδιοριζόταν, αυξανόταν η ανανέωση του νερού της δεξαμενής των γεννητόρων, ενώ ταυτόχρονα τοποθετούνταν στην έξοδο της υπερχειλίσσης πλαστικός σωλήνας κομμένος κατά μήκος στη μέση και με κατεύθυνση το κέντρο της δεξαμενής. Ο σωλήνας αυτός εξυπηρετούσε στη γρηγορότερη συγκέντρωση των αυγών στην έξοδο της υπερχειλίσσης του νερού. Με δεδομένο το γεγονός ότι τα γονιμοποιημένα αυγά της τσιπούρας επιπλέουν σε αλατότητα 38‰, μετά την απελευθέρωσή τους συλλέγονταν μέσω της υπερχειλίσσης και αμέσως μεταφέρονταν στο εργαστήριο. Η μηνιαία κατανομή της ωοτοκίας (γραμμάρια αυγών ανά ημέρα) παρουσιάζεται διαγραμματικά στο Σχήμα 2.1β. Η θερμοκρασία του θαλασσινού νερού την ημέρα της γονιμοποίησης των αυγών καθόρισε την επιλογή των θερμοκρασιακών συνθηκών που επιλέχθηκαν για το παρόν πείραμα, το εύρος των οποίων κυμάνθηκε στους $16.5 \pm 2^\circ\text{C}$.



Σχήμα 2.2 α. Μέση μηνιαία κατανομή της θερμοκρασίας του νερού της δεξαμενής των γεννητόρων, κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωτοκίας και β. Μέση μηνιαία κατανομή της ωτοκίας των γεννητόρων, κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωτοκίας, παρουσιάζονται τα γραμμάρια γεννητικών προϊόντων (αυγά) ανά ημέρα

2.2.3 Αποθεματοποίηση των αυγών στις πειραματικές δεξαμενές

Τα γονιμοποιημένα αυγά μεταφέρονταν στο εργαστήριο και τοποθετούνταν στις πειραματικές δεξαμενές οι οποίες είχαν πληρωθεί με νερό αλατότητας 38‰ (διάλυμα νερού βρύσης και συνθετικού αλατιού) και θερμοκρασίας $16.5 \pm 2^\circ\text{C}$ (όμοιες συνθήκες με τη δεξαμενή των γεννητόρων την ημέρα λήψης των αυγών).

Το πειραματικό σύστημα των δεξαμενών αποτελούνταν από 9 γυάλινα δοχεία, 6 των 5000ml και 3 των 1000ml (**Σχήμα 2.2**). Τα εξωτερικά τοιχώματα των γυάλινων δοχείων καλύπτονταν για την παρεμπόδιση της διέλευσης του φωτός ενώ ο φωτισμός κρατούνταν σε χαμηλά επίπεδα. Σε κάθε γυάλινο δοχείο εφαρμοζόταν ελαφρύς αερισμός από το δίκτυο παροχής αέρα του εργαστηρίου.

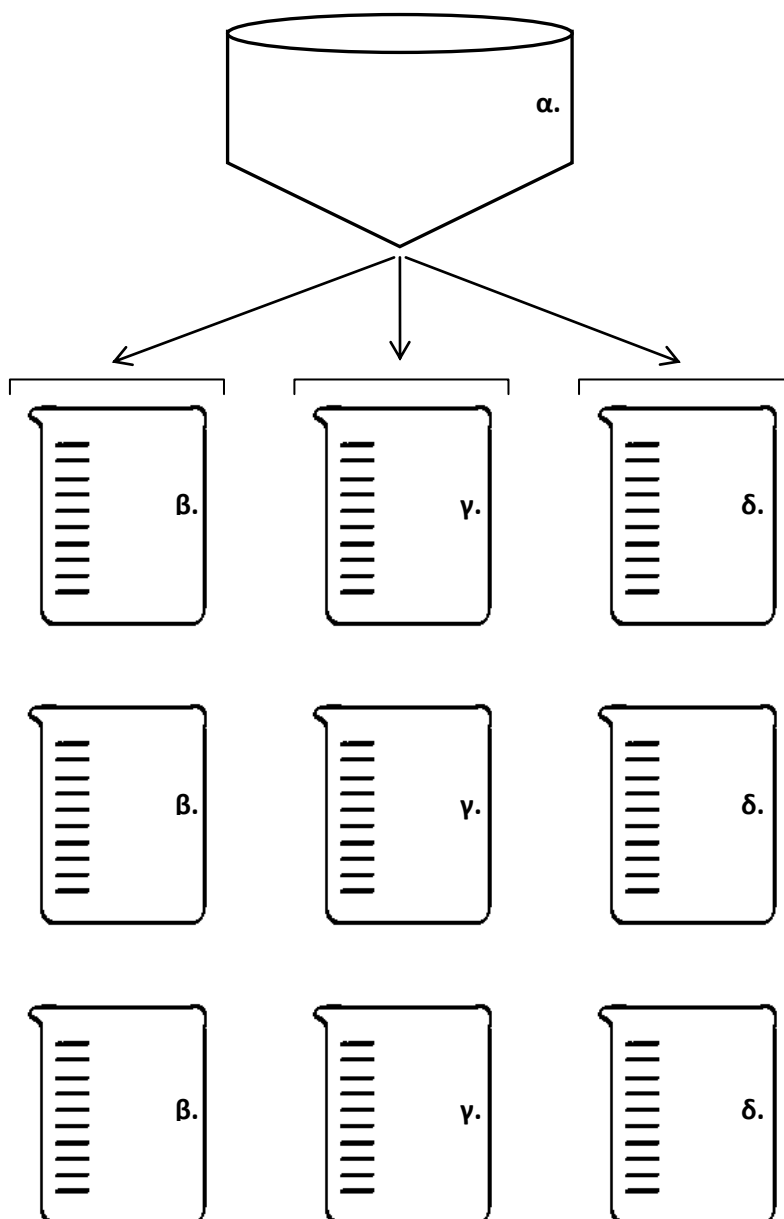
Ο αριθμός των αυγών που τοποθετούνταν σε κάθε γυάλινο δοχείο ήταν 100 αυγά στα δοχεία των 1000ml και 500 αυγά στα δοχεία των 5000ml.

Η ρύθμιση της θερμοκρασίας του νερού στα γυάλινα δοχεία γινόταν έμμεσα με την κατάλληλη ανάλογα με τις συνθήκες, ρύθμιση της θερμοκρασίας του εργαστηριακού χώρου από σύστημα κλιματισμού. Ο έλεγχος της θερμοκρασίας του νερού γινόταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα (κάθε 30 λεπτά) κατά τη διάρκεια του εικοσιτετράωρου με τη χρήση εργαστηριακού θερμομέτρου χειρός.

Μία μέρα πριν την τοποθέτηση των αυγών, τα γυάλινα δοχεία προετοιμάζονταν (πλήρωση με νερό και εφαρμογή αερισμού) για την απόκτηση της επιθυμητής θερμοκρασίας του νερού. Προηγουμένως, τα γυάλινα δοχεία καθώς και τα βοηθητικά εξαρτήματα, αποστειρώνονταν σε κλίβανο υγρής αποστείρωσης.

2.2.4 Αποθήκευση δείγματος αυγών

Από κάθε παρτίδα αυγών, συλλέγονταν δείγμα αυγών για ανάλυση. Τα αυγά τοποθετούνταν σε πλαγκτονικό δίχτυ με άνοιγμα ματιού 25 μm και ξεπλένονταν με 50ml υπερκαθαρό (αγωγιμότητας $5.5 \cdot 10^{-6}$ S/m) νερό. Το περιττό νερό του δείγματος απομακρυνόταν με την τοποθέτηση του πλαγκτονικού διχτιού πάνω σε απορροφητικό χαρτί. Ποσότητα από την κάθε ομάδα αυγών τοποθετούνταν σε προζυγισμένο φιαλίδιο. Τα δείγματα των αυγών αποθηκεύονταν στους -80°C μέχρι την ανάλυσή τους.



Σχήμα 2.3 Σχηματική απεικόνιση των δεξαμενών που χρησιμοποιήθηκαν για τις ανάγκες του πειράματος, απεικονίζονται: α. η δεξαμενή των γεννητόρων των 50m³ στην οποία απελευθερώθηκαν και γονιμοποιήθηκαν τα αυγά, β. τα γυάλινα δοχεία των 1000ml που χρησιμοποιήθηκαν για το έλεγχο του ποσοστού επίπλευσης των αυγών, γ. τα γυάλινα δοχεία των 5000ml που χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο του ρυθμού εκκόλαψης των αυγών και δ. γυάλινα δοχεία των 5000ml που χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο των αυγών για μορφολογικές δυσπλασίες

2.2.5 Λυοφιλίωση

Για τις ανάγκες της μελέτης (βιοχημική σύσταση και ξηρό βάρος των αυγών) πραγματοποιήθηκε ξήρανση των δειγμάτων των αυγών σε μηχανή λυοφιλίωσης Alpha 1-2/LD plus (Martin Christ, Germany). Η λυοφιλίωση είναι μία μέθοδος ξή-

ρανσης των δειγμάτων σε χαμηλή θερμοκρασία με εξάχνωση, που διατηρεί άθικτη τη δομή των συστατικών του δείγματος. Συνίσταται στην γρήγορη κατάψυξη των δειγμάτων σε ειδικά δοχεία σε μηχανή λυοφιλίωσης. Κατά την λυοφιλίωση το νερό των κατεψυγμένων δειγμάτων περνάει από στερεή μορφή σε αέρια (εξάχνωση) υπό συνθήκες κενού. Η διάρκεια της λυοφιλίωσης των δειγμάτων των αυγών ήταν 24 ώρες.

2.3 Παράμετροι που παρατηρήθηκαν και μετρήθηκαν

Η παρούσα μελέτη επικεντρώθηκε κυρίως στους μορφομετρικούς χαρακτήρες των αυγών στο στάδιο του βλαστιδίου, στον εντοπισμό των μορφολογικών ανωμαλιών κατά τη διάρκεια του εμβρυακού σταδίου, στα ποσοστά επίπλευσης και στους ρυθμούς εκκόλαψης των αυγών καθώς και στον προσδιορισμό της βιοχημικής τους σύστασης, τα οποία και αποτέλεσαν τα κριτήρια για τον προσδιορισμό της ποιότητάς τους.

2.3.1 Μορφομετρικοί χαρακτήρες των αυγών

2.3.1.1 Διάμετρος αυγού και σταγόνας λιπιδίων

Κάθε μήνα σε δείγμα 250 αυγών πραγματοποιούνταν μικροσκοπική παρατήρηση και φωτογράφησή του. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε οπτικό μικροσκόπιο Leica ICCA (Leica Microsystems, Germany) στο οποίο είχε προσαρμοστεί ψηφιακή κάμερα Leica DM 100 (Leica Microsystems, Germany). Η μέτρηση των διαμέτρων τόσο των αυγών όσο και των σταγόνων λιπιδίων γινόταν από το φωτογραφικό υλικό με τη χρήση του προγράμματος ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>).

2.3.1.2 Όγκος αυγού και σταγόνας λιπιδίων

Από τις διαμέτρους των αυγών και των σταγόνων λιπιδίων, υπολογίσθηκαν ο όγκος του αυγού καθώς και ο όγκος της σταγόνας λιπιδίων, χρησιμοποιώντας την εξίσωση της σφαίρας, η οποία φαίνεται παρακάτω.

$$V = \left(\frac{4}{3}\right) \cdot \pi \cdot \left(\frac{D}{2}\right)^3$$

όπου, V: ο όγκος και

D: η διάμετρος

2.3.1.3 Νωπό βάρος

Το νωπό βάρος των αυγών υπολογιζόταν μέσω 5 δειγμάτων ($n=3598-4841$ αυγά). Το κάθε δείγμα ζυγιζόταν σε αναλυτικό ζυγό ακρίβειας 0.0001g και στη συνέχεια καταμετρούνταν τα περιεχόμενα αυγά του με λαβίδα ανατομίας. Κάνοντας τις απαραίτητες αναγωγές υπολογιζόταν ο αριθμός των αυγών ανά γραμμάριο καθώς και το ατομικό νωπό βάρος του αυγού.

2.3.1.4 Ξηρό βάρος

Το ξηρό βάρος των αυγών υπολογιζόταν μέσω 3 δειγμάτων ($n=40014-67748$ αυγά). Δείγμα αυγών μεταφερόταν σε προζυγισμένο φιαλίδιο (βάρος δοχείου) και ζυγίζονταν σε αναλυτικό ζυγό ακρίβειας 0,0001g για την απόκτηση του μικτού βάρους (βάρος δοχείου + δείγμα αυγών). Αφαιρώντας το βάρος του δοχείου από το μικτό βάρος υπολογίζονταν το αρχικό βάρος του δείγματος. Τα δείγματα στη συνέχεια ξηραίνονταν σε μηχανή λυοφιλίωσης (βλ. παρ. 2.2.5) για 24 ώρες και ξαναζυγίζονταν για απόκτηση του τελικού βάρους του δείγματος. Αφαιρώντας το τελικό βάρος του δείγματος από αρχικό βάρος του δείγματος υπολογιζόταν το ξηρό βάρος του δείγματος. Κάνοντας τις απαραίτητες αναγωγές υπολογιζόταν το ατομικό ξηρό βάρος του αυγού.

2.3.2 Μορφολογικές ανωμαλίες

Για την εξέταση και αναγνώριση πιθανών αναπτυξιακών δυσπλασιών, στα αυγά της τσιπούρας, κάθε μήνα, δείγματα των περίπου 20 αυγών λαμβάνονταν κάθε 2 ώρες, σε όλη τη διάρκεια του εμβρυακού σταδίου. Για το σκοπό αυτό, σε τρία γυάλινα δοχεία των 5000ml με ελαφρύ αερισμό, αποθεματοποιούνταν από 500 αυγά (βλ. παρ. 2.2.3). Με μικροσκοπική παρατήρηση και φωτογράφιση των δειγμάτων αυτών καταγράφονταν οι πιθανές δυσπλασίες. Χρησιμοποιήθηκε οπτικό μικροσκόπιο Leica ICCA (Leica Microsystems, Germany) στο οποίο είχε προσαρμοστεί ψηφιακή κάμερα Leica DM 100 (Leica Microsystems, Germany).

2.3.3 Ποσοστό επίπλευσης και ρυθμός εκκόλαψης των αυγών

Κάθε μήνα πραγματοποιούνταν τεστ επίπλευσης των αυγών στο στάδιο του ύστερου βλαστιδίου, με σκοπό τον υπολογισμό του ποσοστού των επιπλέοντων αυ-

γών. Για το σκοπό αυτό, τοποθετούνταν σε τρία γυάλινα δοχεία των 1000ml με ελαφρύ αερισμό από 100 αυγά (βλ. παρ. 2.2.3), και μετά την έλευση μίας ώρας συλλέγονταν από τον πυθμένα τα βυθισμένα αυγά και καταμετρούνταν. Το ποσοστό των επιπλέοντων αυγών (F_e) υπολογίζονταν από την παρακάτω σχέση.

$$F_e = \frac{\text{αριθμός επιπλέοντων αυγών}}{\text{ολικός αριθμός αυγών ωστοκίας}} \cdot 100$$

Όσον αφορά τον ρυθμό εκκόλαψης των αυγών, σε τρία γυάλινα δοχεία των 5000ml με ελαφρύ αερισμό αποθεματοποιούνταν από 500 αυγά (βλ. παρ. 2.2.3) από το στάδιο του βλαστιδίου μέχρι και την ολοκλήρωση της εκκόλαψης. Ο πληθυσμός των αυγών που δεν εκκολάπτονταν συλλεγόταν με σιφωνισμό και καταμετρούνταν. Ο ρυθμός εκκόλαψης (H_e) των αυγών υπολογιζόταν από την παρακάτω σχέση.

$$H_e = \frac{\text{αριθμός εκκολαπτόμενων νυμφών}}{\text{αριθμός επιπλέοντων αυγών}} \cdot 100$$

2.3.4 Βιοχημική σύσταση των αυγών

Οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα ολικά λιπίδια που περιέχονταν στα αυγά προσδιορίστηκαν φασματοφωτομετρικά, χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-1800 (Shimadzu Corp., Japan), η διαδικασία περιγράφεται παρακάτω. Τα δείγματα των αυγών λυοφιλοποιήθηκαν (βλ. παρ. 2.2.5.) και ομογενοποιήθηκαν, στον κατάλληλο κάθε φορά διαλύτη, χρησιμοποιώντας ομογενοποιητή Ultra-Turrax T50 (IKA, Germany).

2.3.4.1 Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες που περιέχονταν στα αυγά προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας κιτ προσδιορισμού πρωτεϊνών BCA (Bicinchoninic Acid Protein Assay Kit, Sigma-Aldrich, USA). Η αρχή της μεθόδου είναι παρόμοια με την δοκιμασία των *Lowry et al.*, (1951) και βασίζεται στον σχηματισμό Cu^{2+} -πρωτεϊνικών συμπλόκων που υπό αλκαλικές συνθήκες έπεται μείωση του Cu^{2+} σε Cu^{1+} . Το ποσοστό της μείωσης είναι ανάλογο με το ποσοστό της παρούσας πρωτεΐνης στο δείγμα. Οι μακρομοριακές δομές των πρωτεϊνών, ο αριθμός των πεπτιδικών δεσμών καθώς και η παρουσία αμινοξέων (κυστεΐνη, κυστίνη, τριπτοφάνη και τυροσίνη) έχει αποδειχθεί ότι είναι υπεύθυνα

για τον σχηματισμό του χρώματος σε δείγματα που περιέχουν πρωτεΐνη, όταν προσδιορίζονται με BSA (Wiechelman *et al.*, 1988). Έχει αποδειχθεί ότι η κυστεΐνη, η κυστίνη, η τρυπτοφάνη, η τυροσίνη, και οι πεπτιδικοί τους δεσμοί μειώνουν τον Cu^{2+} σε Cu^{1+} (Wiechelman *et al.*, 1988). Το BCA σε συνδυασμό με τον Cu^{1+} σε αλκαλικό περιβάλλον σχηματίζει ένα μοβ σύμπλοκο, το οποίο εξασφαλίζει τη βάση για την παρακολούθηση της μείωσης του αλκαλικού Cu^{2+} από τις πρωτεΐνες. Το μοβ χρώμα που παράγεται από την αντίδραση σχηματίζεται από την αλληλεπίδραση δύο ιόντων του BCA με ένα ιόν του Cu^{1+} . Αυτό το σύμπλοκο είναι διαλυτό στο νερό και παρουσιάζει ισχυρή απορρόφηση στα 562nm, επιτρέποντας τον φασματοφωτομετρικό προσδιορισμό των πρωτεϊνών σε υδατικά διαλύματα.

Παρασκευή του αντιδραστήριου BCA

Το αντιδραστήριο BCA παρασκευάστηκε αναμιγνύοντας 50 μέρη από το διάλυμα BCA με 1 μέρος από το διάλυμα του ένυδρου θειικού χαλκού, τα οποία παρέχονται με το κιτ της δοκιμασίας. Πραγματοποιήθηκε ήπια ανάδευση έως ότου το αντιδραστήριο να πάρει ένα ανοιχτό πράσινο χρώμα.

Δημιουργία της πρότυπης καμπύλης βαθμονόμησης

Για τη δημιουργία της πρότυπης καμπύλης βαθμονόμησης παρασκευάστηκαν 6 διαλύματα τα οποία περιείχαν το αντιδραστήριο BCA και το πρότυπο διάλυμα πρωτεΐνης Bovine Serum Albumin (BSA) το οποίο παρέχεται με το κιτ της δοκιμασίας. Οι συγκεντρώσεις των διαλυμάτων παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.1α. Τα διαλύματα παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες και έπειτα τοποθετήθηκαν σε κυψελίδες και μετρήθηκε η απορρόφησή τους.

Προετοιμασία των δειγμάτων των αυγών

Ποσότητα λυοφιλιμένου δείγματος αυγών (0.01g) από τον κάθε μήνα της ωοτοκίας ομογενοποιήθηκε σε 3ml υπερκαθαρό νερό. Από το ομογενοποιημένο δείγμα χρησιμοποιήθηκαν 0.1ml τα οποία προστέθηκαν σε 2ml από το διάλυμα BCA. Τα διαλύματα παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες και έπειτα τοποθετήθηκαν σε κυψελίδες και μετρήθηκε η απορρόφησή τους.

Υπολογισμός

Μετρήθηκε η απορρόφηση των 6 διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης, σύμφωνα με αυτά που περιγράφονται στην διαδικασία παραπάνω, προκειμένου να κατασκευαστεί η πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης. Τα φάσματα της απορρόφησης παρουσιάζονται στο Σχήμα 2.4α. Από την μέγιστη τιμή της απορρόφησης για κάθε ένα από τα πρότυπα διαλύματα, κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης η οποία παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.5α. Από την εξίσωση της ευθείας της πρότυπης καμπύλης βαθμονόμησης, η οποία παρουσιάζεται παρακάτω,

$$C = \frac{A - b}{a} = \frac{A - 0.0557}{0.00198}$$

όπου, C: η συγκέντρωση

A: η απορρόφηση

b: η τεταγμένη επί την αρχή της ευθείας και

a: η κλίση της ευθείας

υπολογίστηκε η συγκέντρωση των πρωτεϊνών στα δείγματα των αυγών της τσιπούρας. Κάνοντας τις απαραίτητες αναγωγές υπολογίστηκε η εκατοστιαία συγκέντρωση των πρωτεϊνών στα αυγά της τσιπούρας. Το κάθε δείγμα αναλύθηκε εις τριπλούν και εξήχθη ο μέσος όρος.

2.3.4.2 Υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες των αυγών προσδιορίστηκαν με την μέθοδο φαινόλης-θεικού οξέος των *Dubois et al.*, (1956) η οποία βασίζεται στην απορρόφηση στα 490nm ενός έγχρωμου αρωματικού συμπλόκου που σχηματίζεται μεταξύ της φαινόλης και των υδατανθράκων. Τα απλά σάκχαρα, οι ολιγοσακχαρίτες, οι πολυσακχαρίτες καθώς και τα παράγωγά τους συμπεριλαμβανομένων και των ελεύθερων ή των δυνητικά ελευθέρων μειωμένων ομάδων μεθυλεστέρων, αποδίδουν πορτοκαλί χρώμα όταν αντιδράσουν με την φαινόλη και το πυκνό θειικό οξύ (*Dubois et al.*, 1956). Η αντίδραση είναι ευαίσθητη και το χρώμα που δημιουργείται σταθερό. Η ποσότητα του υπάρχοντος σακχάρου προσδιορίζεται σε σύγκριση με μια καμπύλη βαθμονόμησης με τη χρήση φασματοφωτόμετρου (*Fournier*, 2001).

Προετοιμασία των διαλυμάτων

Διάλυμα φαινόλης: για την παρασκευή του διαλύματος της φαινόλης διαλύθηκαν 40g φαινόλης σε 1000ml υπερκαθαρό νερό.

Διάλυμα γλυκόζης: για την παρασκευή του διαλύματος της γλυκόζης διαλύθηκαν 0.1g γλυκόζης σε 100ml υπερκαθαρό νερό.

Δημιουργία της πρότυπης καμπύλης βαθμονόμησης

Για τη δημιουργία της πρότυπης καμπύλης βαθμονόμησης, παρασκευάστηκαν 6 διαλύματα τα οποία περιείχαν 500ml από το διάλυμα της φαινόλης, 2.5ml θειικό οξύ (H_2SO_4) και το πρότυπο διάλυμα της γλυκόζης σε ανάλογες συγκεντρώσεις (Πίνακας 2.1β). Σε αυτό το βήμα οι γλυκοσιδικοί δεσμοί σπάζουν και το έγχρωμο σύμπλοκο σχηματίζεται (Fournier, 2001). Το τέλος της αντίδρασης σηματοδοτεί η αλλαγή του χρώματος καθώς και η παραγωγή θερμότητας. Τα δείγματα παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 15 λεπτά και έπειτα μεταφέρθηκαν σε γυάλινη κυψελίδα και μετρήθηκε η απορρόφησή τους.

Προετοιμασία των δειγμάτων των αυγών

Ποσότητα λυοφιλιμένου δείγματος αυγών (0.01g) από τον κάθε μήνα της ωοτοκίας ομογενοποιήθηκε σε 9ml υπερκαθαρό νερό. Από το διάλυμα χρησιμοποιήθηκαν 500ml στα οποία προστέθηκαν 500ml από το διάλυμα της φαινόλης και 2.5ml πυκνό θειικό οξύ. Τα δείγματα παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 15 λεπτά και έπειτα μεταφέρθηκαν σε γυάλινη κυψελίδα και μετρήθηκε η απορρόφηση τους.

Υπολογισμός

Μετρήθηκε η απορρόφηση των 6 διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης, σύμφωνα με αυτά που περιγράφονται στην διαδικασία παραπάνω, προκειμένου να κατασκευαστεί η πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης. Τα φάσματα της απορρόφησης παρουσιάζονται στο Σχήμα 2.4β. Από την μέγιστη τιμή της απορρόφησης για κάθε ένα από τα πρότυπα διαλύματα, κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης η οποία παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.5β. Από την εξίσωση της ευθείας της πρότυπης καμπύλης βαθμονόμησης, η οποία παρουσιάζεται παρακάτω,

$$C = \frac{A + b}{a} = \frac{A + 0.021}{0.0073}$$

όπου, C: η συγκέντρωση

A: η απορρόφηση,

b: η τεταγμένη επί την αρχή της ευθείας και

a: η κλίση της ευθείας

υπολογίσθηκε η συγκέντρωση των υδατανθράκων στα δείγματα των αυγών της τσιπούρας. Κάνοντας τις απαραίτητες αναγωγές υπολογίστηκε η εκατοστιαία συγκέντρωση των υδατανθράκων στα αυγά της τσιπούρας. Το κάθε δείγμα αναλύθηκε εις τριπλούν και εξήχθη ο μέσος όρος.

2.3.3.3 Ολικά λιπίδια

Τα ολικά λιπίδια που περιέχονταν στα αυγά προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της σουλφοφωσφοβανιλίνης (Sulfophosphovanillin method) των Chabrol and Charonnat (1937) όπως περιγράφεται από τους Knight *et al.*, (1972). Η αρχή της μεθόδου στηρίζεται στην αντίδραση των λιπιδίων με το θειικό οξύ για να σχηματίσουν καρβονικά ιόντα, τα οποία στην συνέχεια θα αντιδράσουν με το φωσφορικό εστέρα βανιλίνης για να προκύψει ένα μοβ σύμπλοκο που προσδιορίζεται φασματοφωτομετρικά. Η αντίδραση της σουλφοφωσφοβανιλίνης απαιτεί διπλό δεσμό άνθρακα. Αναλυτικότερα, το πυκνό θειικό οξύ αντιδρά με τα ακόρεστα λιπίδια για να σχηματισθούν καρβονικά ιόντα. Το φωσφορικό οξύ αντιδρά με την βανιλίνη για την παραγωγή φωσφορικού εστέρα, με αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητας του καρβονυλίου. Τα καρβονικά ιόντα αντιδρούν με μια ομάδα καρβονυλίων της φωσφοβανιλίνης για να σχηματίσουν ένα έγχρωμο σύμπλοκο, το οποίο σταθεροποιείται με συντονισμό.

Προετοιμασία του διαλύματος της φωσφοβανιλίνης

Για την παρασκευή του διαλύματος της φωσφοβανιλίνης (PV), διαλύθηκαν 0.3g βανιλίνης σε 50ml υπερκαθαρό νερό, στην συνέχεια προστέθηκαν 5ml απόλυτης αιθανόλης και πραγματοποιήθηκε συνεχής ανάδευση με την χρήση μαγνητικού αναδευτήρα. Τέλος προστέθηκαν 200ml πυκνό θειικό οξύ και συνεχίστηκε η ανάδευση.

Δημιουργία της πρότυπης καμπύλης βαθμονόμησης

Για τη δημιουργία της πρότυπης καμπύλης βαθμονόμησης, παρασκευάσθηκαν 6 διαλύματα τα οποία περιείχαν 5ml πυκνό θειικό οξύ (H_2SO_4) και Olive oil (Sigma-Aldrich, USA), ως πρότυπο διάλυμα σε ανάλογες συγκεντρώσεις. Οι συγκεντρώσεις των διαλυμάτων παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.1γ. Τα διαλύματα τοποθετήθηκαν

σε θερμό υδατόλουτρο (100°C) για 15 λεπτά. Στη συνέχεια απομακρύνθηκαν από το υδατόλουτρο και στο κάθε διάλυμα προστέθηκαν 6ml από το αντιδραστήριο της φωσφοβανιλίνης (PV). Με την προσθήκη του αντιδραστηρίου της φωσφοβανιλίνης παρατηρήθηκε αλλαγή του χρώματος των διαλυμάτων από σκούρο καφέ σε μοβ. Τα διαλύματα παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 15 λεπτά. Ποσότητα από τα διαλύματα μεταφέρθηκε σε γυάλινη κυψελίδα και μετρήθηκε η απορρόφησή τους.

Προετοιμασία των δειγμάτων των αυγών

Ποσότητα λυοφιλιμένου δείγματος αυγών (0.01g) από τον κάθε μήνα της ωοτοκίας ομογενοποιήθηκε σε 1ml διαλύματος χλωροφορμίου/μεθανόλης (2:1), το στέλεχος του ομογενοποιητή στην συνέχεια ξεπλύθηκε με 2ml από το διάλυμα τα οποία προστέθηκαν στο αρχικό διάλυμα των αυγών. Τέλος προστέθηκαν άλλα 7ml διαλύματος χλωροφορμίου/μεθανόλης και ο συνολικός όγκος του διαλύματος των αυγών αυξήθηκε στον τελικό όγκο των 10ml. Χρησιμοποιήθηκαν 200μl από το διάλυμα των αυγών στο οποίο προστέθηκαν 5ml πυκνού θειικού οξέος. Τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε θερμό υδατόλουτρο (100°C) για 15 λεπτά. Στη συνέχεια απομακρύνθηκαν από το υδατόλουτρο και στο κάθε διάλυμα προστέθηκαν 6ml από το αντιδραστήριο της φωσφοβανιλίνης. Τα διαλύματα παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 15 λεπτά. Ποσότητα από τα διαλύματα μεταφέρθηκε σε γυάλινη κυψελίδα και μετρήθηκε η απορρόφησή τους.

Υπολογισμός

Μετρήθηκε η απορρόφηση των πέντε διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης, σύμφωνα με αυτά που περιγράφονται στην διαδικασία παραπάνω, προκειμένου να κατασκευαστεί η πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης. Τα φάσματα της απορρόφησης παρουσιάζονται στο Σχήμα 2.4γ. Από την μέγιστη τιμή της απορρόφησης για κάθε ένα από τα πρότυπα διαλύματα, κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης η οποία παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.5γ. Από την εξίσωση της ευθείας της πρότυπης καμπύλης βαθμονόμησης, η οποία παρουσιάζεται παρακάτω,

$$C = \frac{A - b}{a} = \frac{A - 0.0163}{2.308}$$

όπου, C: η συγκέντρωση

A: η απορρόφηση

b: η τεταγμένη επί την αρχή της ευθείας και

a: η κλίση της ευθείας

υπολογίσθηκε η συγκέντρωση των ολικών λιπιδίων στα δείγματα των αυγών της τσιπούρας. Κάνοντας τις απαραίτητες αναγωγές υπολογιζόταν η εκατοστιαία συγκέντρωση των ολικών λιπιδίων στα αυγά της τσιπούρας. Το κάθε δείγμα αναλύθηκε εις τριπλούν και εξήχθη ο μέσος όρος.

Πίνακας 2.1 Συγκεντρώσεις των πρότυπων διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την δημιουργία της πρότυπης καμπύλης βαθμονόμησης, για τον προσδιορισμό των α. των πρωτεϊνών, β. των υδατανθράκων και γ. των ολικών λιπιδίων των αυγών της τσιπούρας

α.

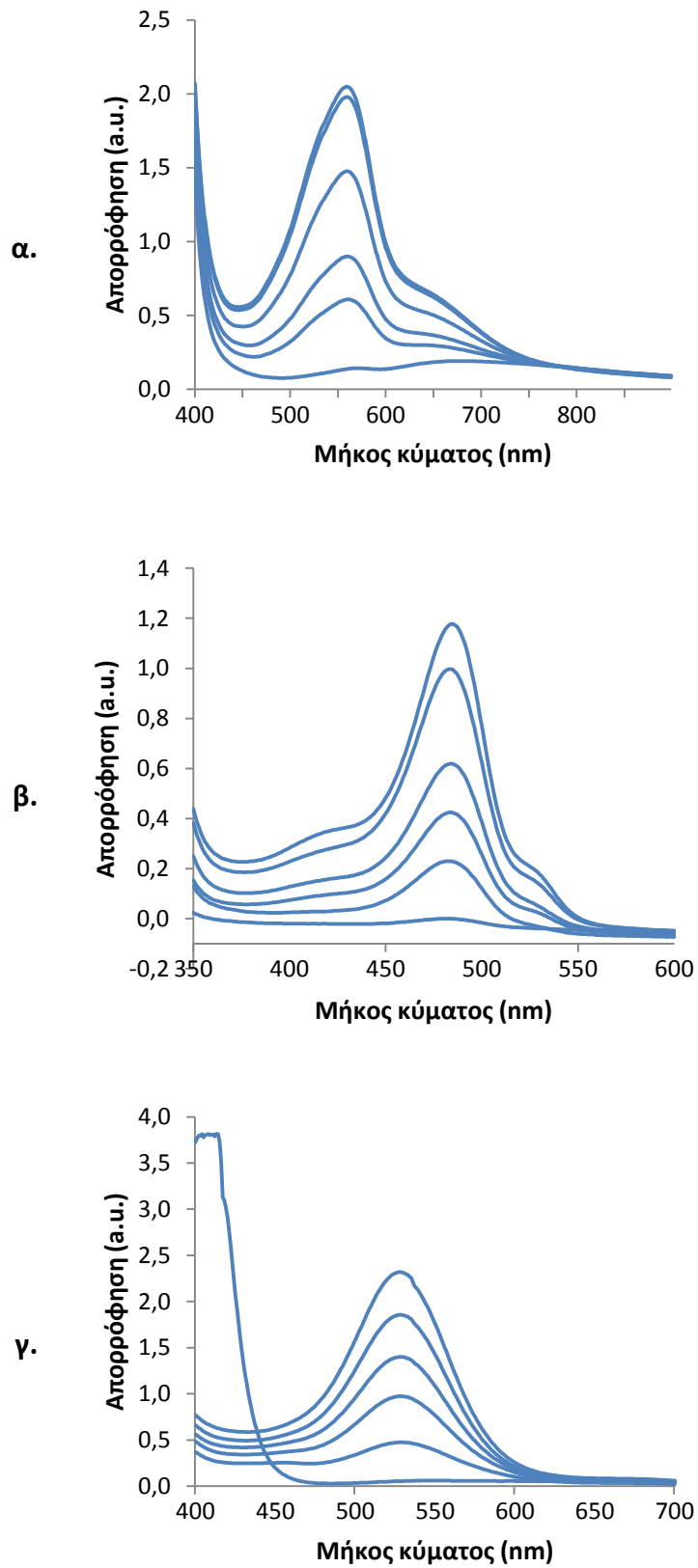
BSA (μl)	H ₂ O (μl)	BCA (μl)
0	100	2
20	80	2
40	60	2
60	40	2
80	20	2
100	0	2

β.

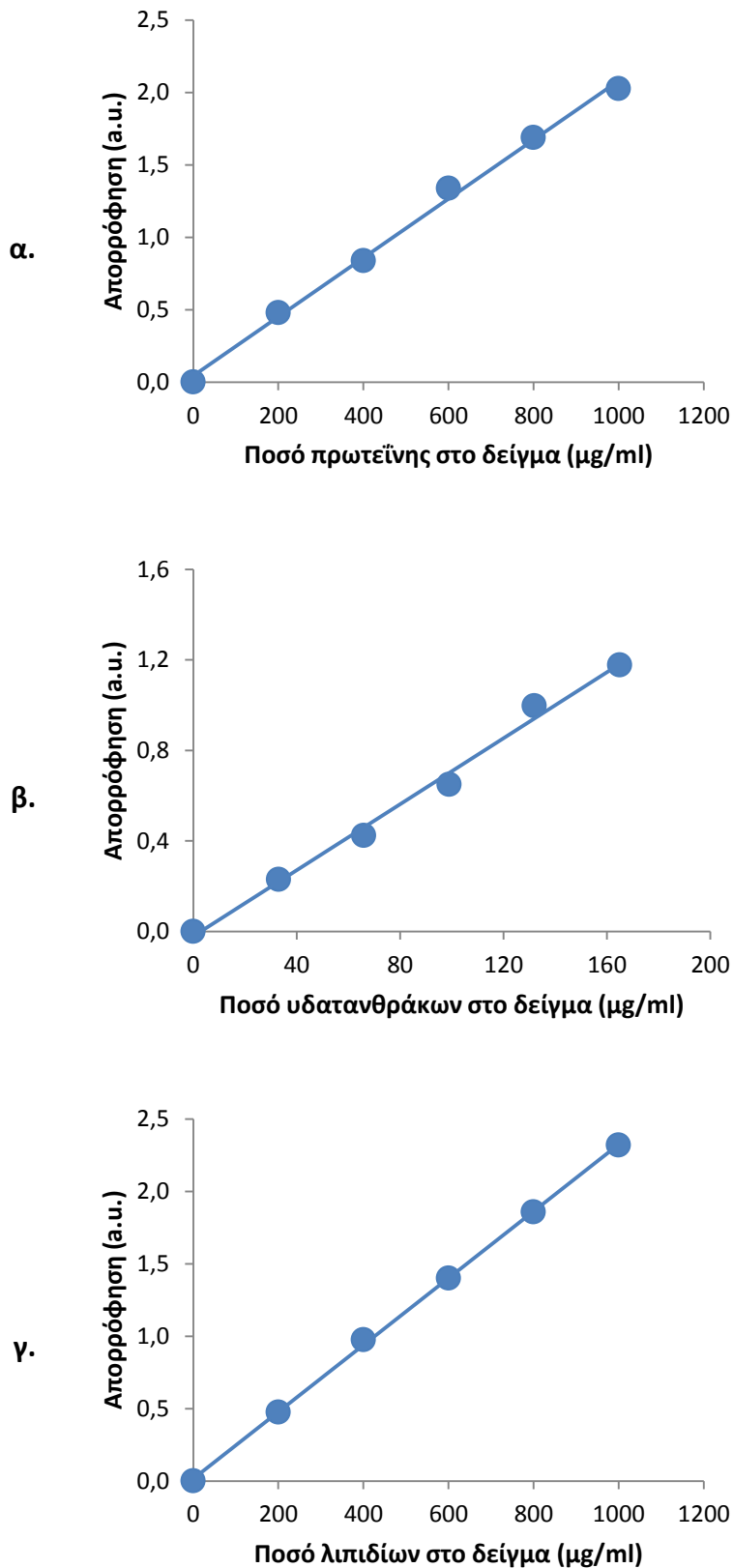
Γλυκόζη (μl)	Φαινόλη (μl)	H ₂ SO ₄ (ml)
0	500	2.5
100	500	2.5
200	500	2.5
300	500	2.5
400	500	2.5
500	500	2.5

γ.

Olive Oil (μl)	H ₂ SO ₄ (μl)	PV (ml)
0	5	6
20	5	6
40	5	6
60	5	6
80	5	6
100	5	6



Σχήμα 2.4 Φάσματα απορρόφησης των διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης α. των πρωτεϊνών, β. των υδατανθράκων και γ. των ολικών λιπιδίων



Σχήμα 2.5 Πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης α. των πρωτεϊνών, β. των υδατανθράκων και γ. των ολικών λιπιδίων

2.4 Στατιστική επεξεργασία

Για τις συγκρίσεις των μέσων τιμών των παραμέτρων που παρατηρήθηκαν και μετρήθηκαν για ανίχνευση στατιστικά σημαντικών διαφορών ανάμεσα στους μήνες της ωτοκίας του είδους, έγινε εφαρμογή της μεθόδου απλής ανάλυσης διακύμανσης σε επίπεδο σημαντικότητας 5% ($P \leq 0,05$). Οι μήνες της ωτοκίας του είδους αποτέλεσαν την ανεξάρτητη μεταβλητή ενώ τα ποιοτικά κριτήρια των αυγών την εξαρτημένη.

Η Ανάλυση της διακύμανσης (Analysis Of Variance, ANOVA) με έναν παράγοντα (One-way ANOVA), συγκρίνει τις μέσες τιμές των εξεταζόμενων μεταβλητών (Zar, 1999). Η ανάλυση της διακύμανσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε δείγματα που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή, αφού επηρεάζεται ελάχιστα από τυχόν αποκλίσεις από αυτήν και ειδικότερα στις περιπτώσεις σύγκρισης δειγμάτων με παραπλήσιο αριθμό μετρήσεων (όπως στην περίπτωση της παρούσας μελέτης, για κάθε εξεταζόμενη παράμετρο) (Zar, 1999).

Οι τιμές των παραμέτρων που παρατηρήθηκαν και μετρήθηκαν εκφράζονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση.

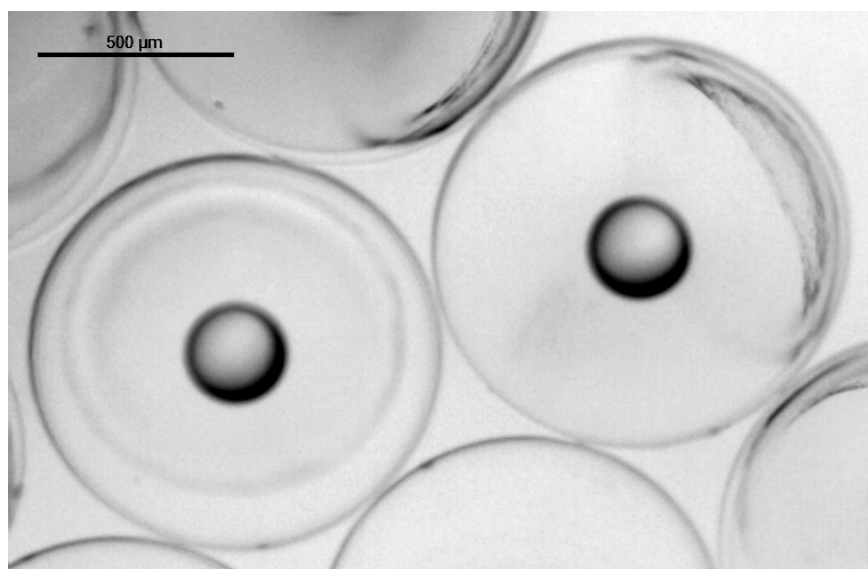
Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης IBM SPSS Statistics v.19 for Windows.

Κεφάλαιο 3

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Μορφομετρικοί χαρακτήρες του αυγού

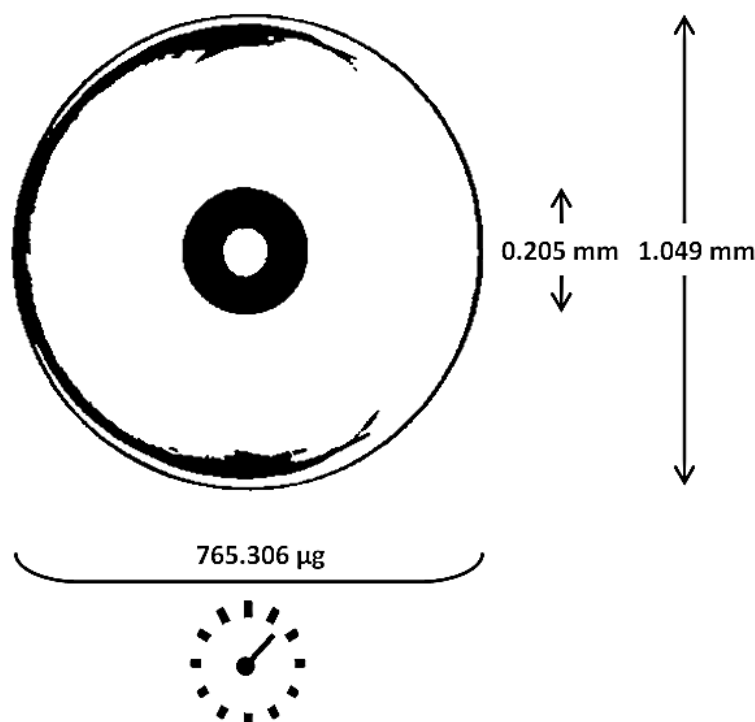
Σε συνθήκες αλατότητας 38‰ υπό τις οποίες πραγματοποιήθηκε η παρούσα μελέτη, τα αυγά της τσιπούρας επιπλέον έχουν επιφανειακή κατανομή (υπονευστονικά). Είναι τελολεκιθικά, το έμβρυο αναπτύσσεται στην κορυφή της λεκίθου (ζωικός πόλος). Έχουν σφαιρικό σχήμα και είναι διαφανή με ομογενή και άχρωμη λεκίθο. Διαθέτουν μια άχρωμη σταγόνα λιπιδίων, η οποία βρίσκεται στην περιφέρεια του αυγού. Η παρατήρησή της στο μικροσκόπιο την εμφανίζει με μαύρο δακτύλιο στην περιφέρεια εξαιτίας της μεγάλης διαθλαστικότητάς της. Εξωτερικά το αυγό περιβάλλεται από μια διπλή μεμβράνη (χόριο), της οποίας η συνοχή διακόπτεται από λεπτούς πόρους. Εσωτερικά του χορίου εντοπίζεται μια δεύτερη μεμβράνη, η λεκιθική μεμβράνη. Μετά την γονιμοποίηση το χόριο των αυγών σκληραίνει και σχηματίζεται ο περιλεκιθικός χώρος. Ο χώρος αυτός αρχίζει να διακρίνεται στον ζωικό πόλο με την εκεί συγκέντρωση του πρωτοπλάσματος και όσο εξελίσσεται η εμβρυογένεση ο περιλεκιθικός χώρος μεγαλώνει, αφού τα λεκιθικά αποθέματα σταδιακά εξαντλούνται.



Σχήμα 3.1 Φωτογραφική απεικόνιση του αυγού της τσιπούρας, κάτοψη (αριστερά) και πλάγια όψη (δεξιά), η κλίμακα ισούται με 500μm

Κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας, τα αυγά είχαν διάμετρο 1.049mm ενώ η σταγόνα λιπιδίων 0.026mm. Το νηπό βάρος των αυγών βρέθηκε 765.306μg. Οι μέσες τιμές των παραπάνω διαστάσεων απεικονίζονται σχηματικά στο Σχήμα 3.2.

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι το αυγό της τσιπούρας κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας παρουσιάζει σχετική διαφοροποίηση από μήνα σε μήνα ως προς τους μορφομετρικούς χαρακτήρες του.



Σχήμα 3.2 Σχηματική απεικόνιση των μέσων τιμών των χαρακτηριστικών διαστάσεων (διάμετρος αυγού, σταγόνας λιπιδίων και νωπό βάρος) των αυγών της τσιπούρας κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας

3.1.1 Διάμετρος του αυγού

Η διάμετρος των αυγών κατά τον πρώτο και δεύτερο (Δεκέμβριο και Ιανουάριο) μήνα της ωοτοκίας κυμάνθηκε από 0.093 έως 1.125 mm (μέση τιμή 1.029 ± 0.027 mm) και από 0.949 έως 1.110 mm (μέση τιμή 1.031 ± 0.027 mm) αντίστοιχα. Τους δύο επόμενους μήνες (Φεβρουάριο και Μάρτιο), η διάμετρος των αυγών αυξήθηκε και κυμάνθηκε από 0.996 έως 1.145 mm (μέση τιμή 1.067 ± 0.029 mm) και από 0.980 έως 1.149 mm (μέση τιμή 1.069 ± 0.030 mm) αντίστοιχα. Τον τελευταίο μήνα (Απρίλιο), παρατηρήθηκε μείωση στη διάμετρο των αυγών η οποία κυμάνθηκε από 0.965 έως 1.150 mm (μέση τιμή 1.049 ± 0.033 mm).

3.1.2 Όγκος του αυγού

Ο όγκος των αυγών κατά τους δύο πρώτους μήνες (Δεκέμβριο και Ιανουάριο) της ωοτοκίας κυμάνθηκε από 0.481 έως 0.746 mm³ (μέση τιμή 0.572±0.045 mm³) και από 0.447 έως 0.715 mm³ (μέση τιμή 0.574±0.045 mm³) αντίστοιχα. Τους δύο επόμενους μήνες (Φεβρουάριο και Μάρτιο), ο όγκος των αυγών αυξήθηκε και κυμάνθηκαν από 0.517 έως 0.786 mm³ (μέση τιμή 0.638±0.052 mm³) και από 0.493 έως 0.794 mm³ (μέση τιμή 0.641±0.054 mm³) αντίστοιχα. Τον τελευταίο μήνα (Απρίλιο), παρατηρήθηκε μείωση στον όγκο των αυγών ο οποίος κυμάνθηκε από 0.470 έως 0.796 mm³ (μέση τιμή 0.606±0.057 mm³).

3.1.3 Διάμετρος της σταγόνας λιπιδίων

Η διάμετρος της σταγόνας λιπιδίων κατά τους δύο πρώτους μήνες (Δεκέμβριο και Ιανουάριο) της ωοτοκίας κυμάνθηκε από 0.169 έως 0.235 mm (μέση τιμή 0.198±0.012 mm) και από 0.145 έως 0.216 mm (μέση τιμή 0.190±0.012 mm) αντίστοιχα. Κατά τους δύο επόμενους μήνες (Φεβρουάριο και Μάρτιο), η διάμετρος της, αυξήθηκε και κυμάνθηκε από 0.200 έως 0.255 mm (μέση τιμή 0.226±0.011 mm) και από 0.188 έως 0.259 mm (μέση τιμή 0.221b±0.013 mm) αντίστοιχα. Κατά τον τελευταίο μήνα (Απρίλιο) η διάμετρος κυμάνθηκε, σε παρόμοια επίπεδα με τους δύο πρώτους μήνες, από 0.171 έως 0.235 (μέση τιμή 0.199±0.010 mm).

3.1.4 Όγκος της σταγόνας λιπιδίων

Ο όγκος της σταγόνας λιπιδίων κατά τους δύο πρώτους μήνες (Φεβρουάριο και Μάρτιο) της ωοτοκίας κυμάνθηκε από 0.002 έως 0.005 mm³ (μέση τιμή 0.004±0.001) και από 0.002 έως 0.005 mm³ (μέση τιμή 0.004±0.001 mm³) αντίστοιχα. Κατά τους δύο επόμενους μήνες (Φεβρουάριο και Μάρτιο) ο όγκος της κυμάνθηκε από 0.004 έως 0.009 mm³ (μέση τιμή 0.006±0.001 mm³) και από 0.003 έως 0.009 mm³ (μέση τιμή 0.006±0.001 mm³) αντίστοιχα. Κατά τον τελευταίο μήνα (Απρίλιο) της ωοτοκίας ο όγκος μειώθηκε κυμάνθηκε στα ίδια επίπεδα με τους δύο πρώτους μήνες, από 0.003 έως 0.007 mm³ (μέση τιμή 0.004±0.001 mm³).

3.1.5 Νωπό βάρος του αυγού

Το νωπό βάρος των αυγών κατά τον πρώτο μήνα (Δεκέμβριο) της ωοτοκίας κυμάνθηκε από 701.36 έως 719.70 μg (μέση τιμή $709.95 \pm 8.19 \mu\text{g}$). Τους τρεις επόμενους μήνες (Ιανουάριο, Φεβρουάριο και Μάρτιο) παρατηρήθηκε αύξηση στις στο νωπό βάρους των αυγών το οποίο κυμάνθηκε από 784.91 έως 835.63 μg (μέση τιμή $807.40 \pm 18.22 \mu\text{g}$), 801.97 έως 850.00 μg (μέση τιμή $819.11 \pm 21.71 \mu\text{g}$) και 780.10 έως 800.00 μg (μέση τιμή $792.59 \pm 7.60 \mu\text{g}$) αντίστοιχα. Κατά τον τελευταίο (Απρίλιο) μήνα της ωοτοκίας το νωπό βάρος των αυγών κυμάνθηκε σε παρόμοια αλλά χαμηλότερα επίπεδα με τον πρώτο, από 669.67 έως 728.40 μg (μέση τιμή $697.49 \pm 23.22 \mu\text{g}$).

3.1.6 Ξηρό βάρος του αυγού

Το ξηρό βάρος των αυγών κατά τον πρώτο μήνα (Δεκέμβριο) της ωοτοκίας κυμάνθηκε από 57.32 έως 58.01 μg (μέση τιμή $57.55 \pm 0.39 \mu\text{g}$). Κατά τους τρεις επόμενους μήνες (Ιανουάριο, Φεβρουάριο και Μάρτιο) παρατηρήθηκε αύξηση στο ξηρό βάρος των αυγών το οποίο κυμάνθηκε από 65.61 έως 67.49 μg (μέση τιμή $66.50 \pm 0.95 \mu\text{g}$), 65.46 έως 67.26 μg (μέση τιμή $66.31 \pm 0.85 \mu\text{g}$) και από 63.63 έως 64.69 μg (μέση τιμή $63.99 \pm 0.59 \mu\text{g}$) αντίστοιχα. Τον τελευταίο (Απρίλιο) μήνα της ωοτοκίας το ξηρό βάρος των αυγών κυμάνθηκε σε παρόμοια αλλά χαμηλότερα επίπεδα με τον πρώτο, από 55.96 έως 56.85 μg (μέση τιμή $56.32 \pm 0.47 \mu\text{g}$).

3.1.7 Αριθμός αυγών ανά γραμμάριο

Ο αριθμός των αυγών ανά γραμμάριο κατά τον πρώτο μήνα (Δεκέμβριο) της ωοτοκίας κυμάνθηκε από 1389 έως 1426 αυγά (μέση τιμή 1409 ± 16 αυγά). Τους επόμενους τρεις μήνες (Ιανουάριο, Φεβρουάριο και Μάρτιο) παρατηρήθηκε μείωση του αριθμού των αυγών, ο οποίος κυμαινόταν από 1197 έως 1274 αυγά (μέση τιμή 1239 ± 28 αυγά), 1176 έως 1247 αυγά (μέση τιμή 1222 ± 32 αυγά) και από 1250 έως 1282 αυγά (μέση τιμή 1262 ± 12 αυγά) αντίστοιχα. Τον τελευταίο (Απρίλιο) μήνα της ωοτοκίας ο αριθμός των αυγών αυξήθηκε και κυμάνθηκε από 1373 έως 1493 αυγά (μέση τιμή 1435 ± 48 αυγά).

Πίνακας 3.1 Εξέλιξη των μορφομετρικών χαρακτήρων του αυγού της τσιπούρας, κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας.

Παράμετρος	Μήνες	Mean	SD	Max	Min	N
Διάμ. αυγού ή D_e (mm)	Δεκ	1.029	0.027	1.125	0.973	250
	Ιαν	1.031	0.027	1.110	0.949	250
	Φεβ	1.067	0.029	1.145	0.996	250
	Μαρ	1.069	0.030	1.149	0.980	250
	Απρ	1.049	0.033	1.150	0.965	250
Όγκος αυγού ή V_e (mm³)	Δεκ	0.572	0.045	0.746	0.481	250
	Ιαν	0.574	0.045	0.715	0.447	250
	Φεβ	0.638	0.052	0.786	0.517	250
	Μαρ	0.641	0.054	0.794	0.493	250
	Απρ	0.606	0.057	0.796	0.470	250
Διάμ. Σταγ. Λιπ. ή D_g (mm)	Δεκ	0.198	0.012	0.235	0.169	250
	Ιαν	0.190	0.012	0.216	0.145	250
	Φεβ	0.226	0.011	0.255	0.200	250
	Μαρ	0.221	0.013	0.259	0.188	250
	Απρ	0.199	0.010	0.235	0.171	250
Όγκος Σταγ. Λιπ. ή V_g (mm³)	Δεκ	0.004	0.001	0.005	0.002	250
	Ιαν	0.004	0.001	0.005	0.002	250
	Φεβ	0.006	0.001	0.009	0.004	250
	Μαρ	0.006	0.001	0.009	0.003	250
	Απρ	0.004	0.001	0.007	0.003	250
Νωπό βάρος ή WW_e (μg)	Δεκ	709.95	8.19	719.70	701.36	3901
	Ιαν	807.40	18.22	835.63	784.91	4173
	Φεβ	819.11	21.71	850.00	801.97	3633
	Μαρ	792.59	7.60	800.00	780.10	3598
	Απρ	697.49	23.22	728.40	669.67	4841
Ξηρό βάρος ή DW_e (μg)	Δεκ	57.55	0.39	58.01	57.32	45813
	Ιαν	66.50	0.95	67.49	65.61	55532
	Φεβ	66.31	0.85	67.26	65.46	56460
	Μαρ	63.99	0.59	64.69	63.63	40014
	Απρ	56.32	0.47	56.85	55.96	67748
Αρ. αυγών ανά g ή N_e/g	Δεκ	1409	16	1426	1389	3901
	Ιαν	1239	28	1274	1197	4173
	Φεβ	1222	32	1247	1176	3633
	Μαρ	1262	12	1282	1250	3598
	Απρ	1435	48	1493	1373	4841

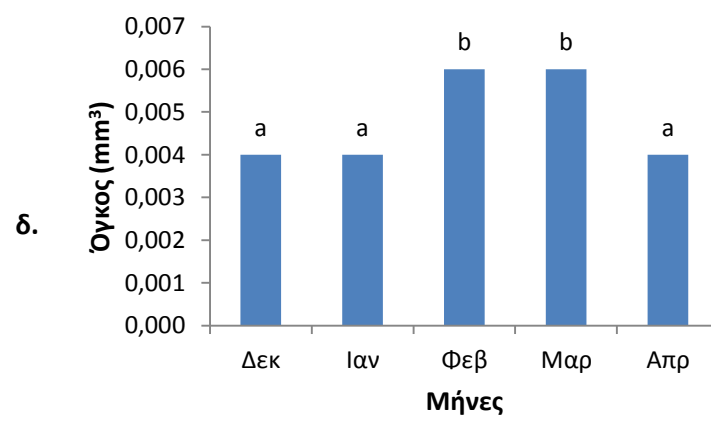
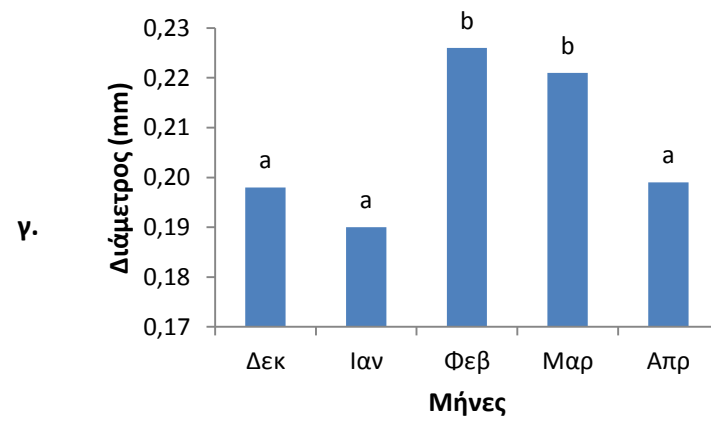
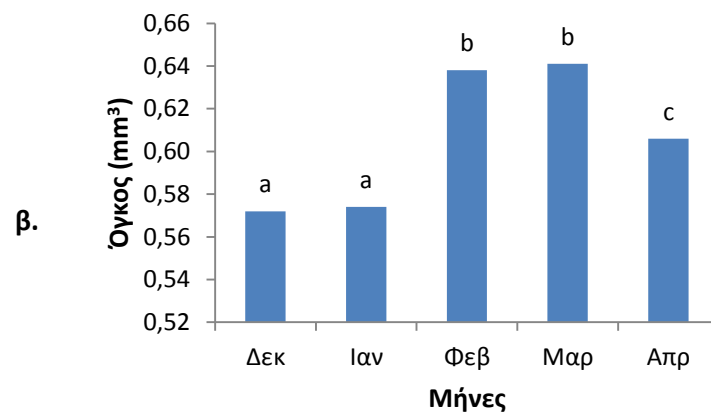
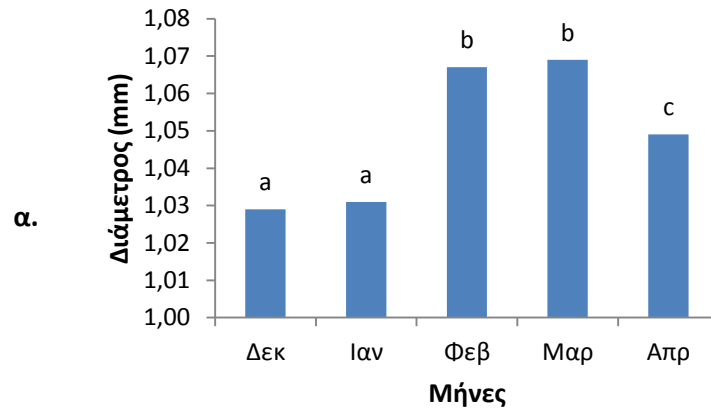
Mean: Μέση τιμή

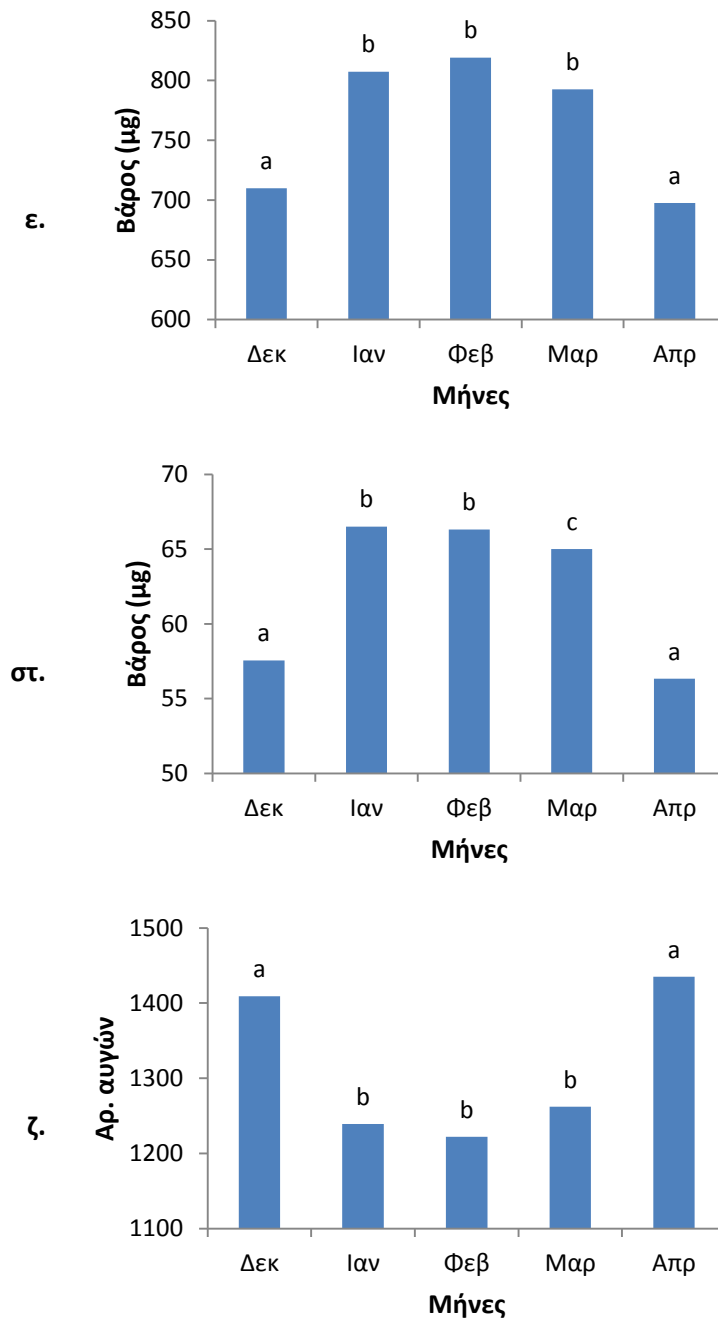
SD: Τυπική απόκλιση

Max: Μέγιστη τιμή

Min: Ελάχιστη τιμή

N: Αριθμός δείγματος



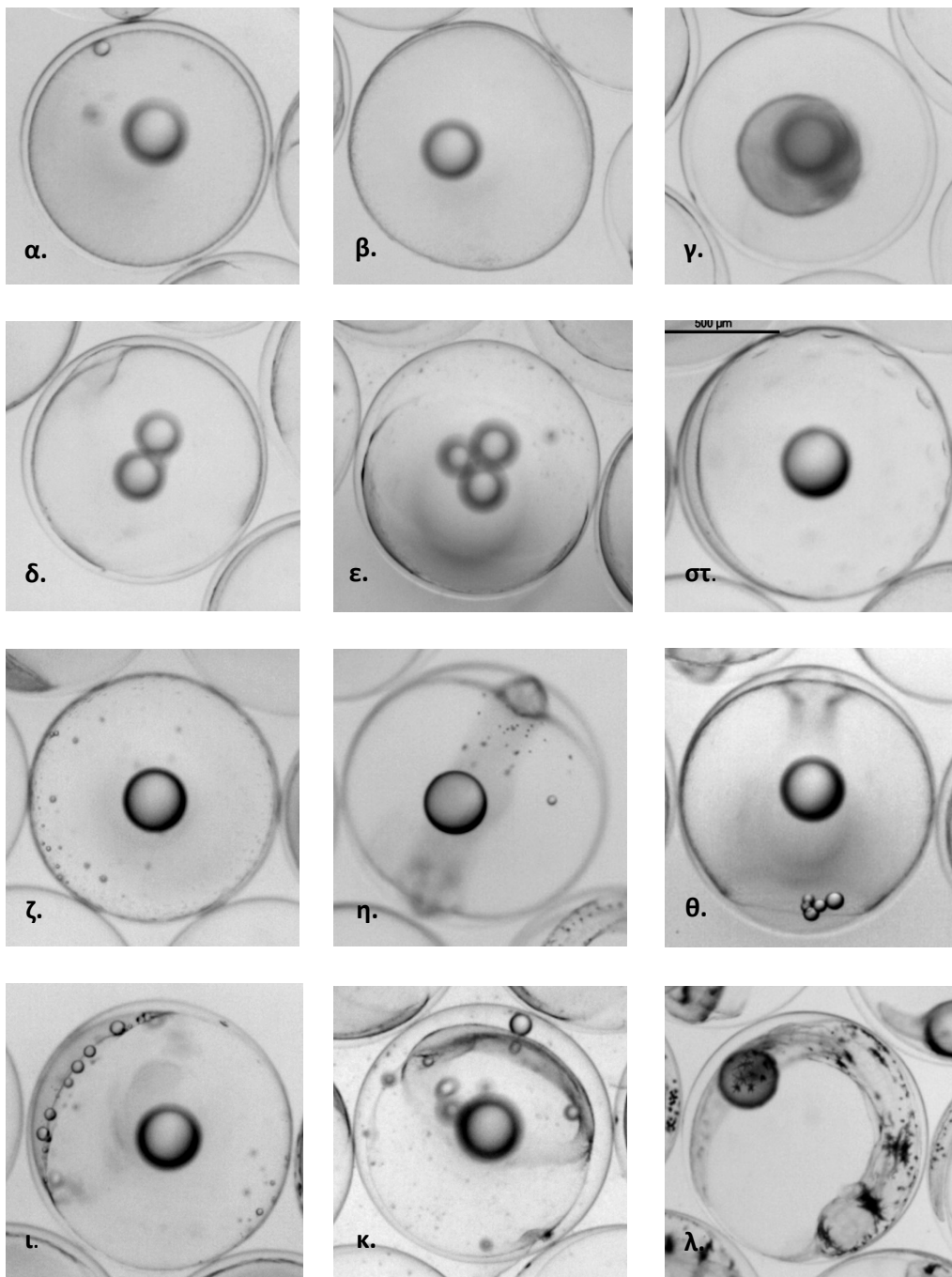


Σχήμα 3.3 Διαγραμματική απεικόνιση της εξέλιξης α. της διαμέτρου των αυγών, β. του όγκου των αυγών, γ. της διαμέτρου της σταγόνας λιπιδίων, δ. του όγκου της σταγόνας λιπιδίων, ε. του νωπού βάρους των αυγών, στ. του ξηρού βάρους των αυγών και ζ. του αριθμού των αυγών ανά γραμμάριο κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωτοκίας, ετικέτες με δείκτη όμοιου γράμματος δεν υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0.05$)

3.2 Μορφολογικές ανωμαλίες

Κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωτοκίας τα αυγά της τσιπούρας εξελίχθηκαν ομαλά, χωρίς ιδιαίτερα προβλήματα. Όμως, και στους πέντε μήνες, ε-

ντοπιστήκαν αυγά με μορφολογικές ανωμαλίες, σε τόσο μικρή συχνότητα η οποία τις καθιστά μη στατιστικά μετρήσιμες.



Σχήμα 3.4 Φωτογραφική απεικόνιση των μορφολογικών ανωμαλιών των αυγών της τσιπούρας κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας (επεξηγήσεις παρατίθενται στο κείμενο που ακολουθεί)

Οι κυριότεροι τύποι μορφολογικών ανωμαλιών, ήταν οι εξής:

- × Ο περιλεκιθικός χώρος ήταν διακριτός και σε απόσταση από την περιφέρεια του αυγού αμέσως μετά τη γονιμοποίηση (**Σχήμα 3.4α**).

- × Το σχήμα των αυγών δεν ήταν απόλυτα σφαιρικό (Σχήμα 3.4β).
- × Το βλαστόδερμα των αυγών είχε άνιση κατανομή πάχους (Σχήμα 3.4γ).
- × Εντοπίστηκαν αυγά με περισσότερες από μία σταγόνες λιπιδίων (δύο, τρεις ή και παραπάνω) (Σχήμα 3.4δ,ε).
- × Η λέκιθος δεν ήταν ομοιογενής (Σχήμα 3.4στ), ενώ ταυτόχρονα έφερε στίγματα (Σχήμα 3.4ζ,η) και φυσαλίδες (μία ή και παραπάνω) στην επιφάνειά της (Σχήμα 3.4θ,ι,κ).
- × Η λέκιθος, το σώμα του εμβρύου και η σταγόνα λιπιδίων διέθεταν μεγαλύτερο αριθμό κυττάρων χρωματισμού (Σχήμα 3.4λ).

Η συχνότητα εμφάνισης κάθε ανωμαλίας ξεχωριστά εμφανίζεται χωρίς στατιστική σημασία, λόγω της μικρής έκτασής της. Το συνολικό ποσοστό όλων των ανωμαλιών κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας κυμάνθηκε κατά μέσο όρο μεταξύ των 1% κατά τον πρώτο και δεύτερο μήνα (Δεκέμβριο και Ιανουάριο), 2% κατά τον τρίτο μήνα (Φεβρουάριο), 4% κατά τον τέταρτο και πέμπτο μήνα (Μάρτιο και Απρίλιο).

3.2 Ποσοστό επιπλεόντων αυγών

Το ποσοστό των επιπλεόντων αυγών της τσιπούρας κατά τον πρώτο μήνα (Δεκέμβριο) της ωοτοκίας βρέθηκε $76 \pm 7.5\%$. Το ποσοστό αυτό αυξήθηκε κατά το δεύτερο μήνα (Ιανουάριο) όπου βρέθηκε $88 \pm 3\%$. Το ποσοστό των επιπλεόντων αυγών συνέχισε να αυξάνεται κατά τους τρεις επόμενους μήνες της ωοτοκίας (Φεβρουάριο, Μάρτιο και Απρίλιο) οι τιμές του οποίου ήταν $95 \pm 3\%$, $98 \pm 1\%$ και $95 \pm 3\%$ αντίστοιχα.

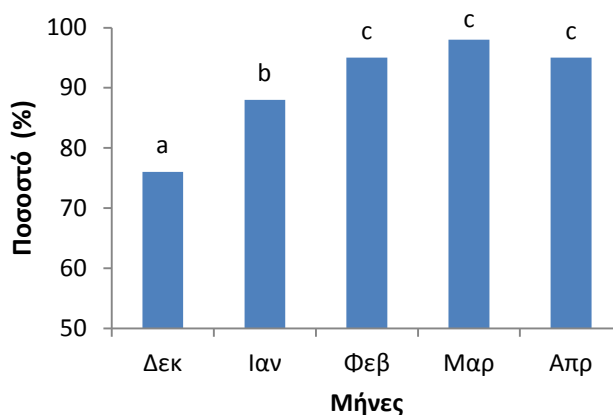
Πίνακας 3.2 Εξέλιξη του ποσοστού (%) επιπλεόντων αυγών των αυγών της τσιπούρας, κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας

Παράμετρος	Μήνες	Mean	SD	N
Ποσοστό (%) επιπλεόντων αυγών ή F_e	Δεκ	76	7.5	300
	Ιαν	88	3	300
	Φεβ	95	3	300
	Μαρ	98	1	300
	Απρ	95	3	300

Mean: Μέση τιμή

SD: Τυπική απόκλιση

N: Αριθμός δείγματος



Σχήμα 3.5 Διαγραμματική απεικόνιση της εξέλιξης του ποσοστού (%) επιπλέοντων αυγών της τσιπούρας κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωστοκίας, ετικέτες με δείκτη όμοιου γράμματος δεν υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0.05$)

3.3 Ρυθμός εκκόλαψης

Κατά την έναρξη του λεκιθοφόρου νυμφικού σταδίου, οι λεκιθοφόρες νύμφες της τσιπούρας δεν διαφέρουν από τα έμβρυα λίγο πριν από την εκκόλαψη. Έτσι, αμέσως μετά την εκκόλαψη οι νύμφες της τσιπούρας φέρουν ένα λεκιθικό σάκο, ωοειδούς σχήματος, στην πρόσθια περιοχή του σώματος, ο οποίος εκτείνεται από το ρύγχος της κεφαλής μέχρι και την έδρα, η οποία δεν διακρίνεται εύκολα εξαιτίας της στενής της επαφής με το πρόσθιο και εξωτερικό άκρο του σάκου. Ο λεκιθικός σάκος καταλαμβάνει περίπου το μισό του ολικού μήκους της νύμφης, ενώ έχει μεγαλύτερο ύψος από το σωματικό ύψος της νύμφης. Η λέκιθος είναι ομογενής, άχρωμη και διαφανής. Η σταγόνα λιπιδίων βρίσκεται στο οπίσθιο κοιλιακό όριο του λεκιθικού σάκου και σε επαφή με την εσωτερική του μεμβράνη. Όπως και στα αυγά, η περιφέρεια της σταγόνας των λιπιδίων σε μικροσκοπική παρατήρηση φέρει μαύρο δακτύλιο, εξαιτίας της υψηλής διαθλαστικότητάς της.

Το σώμα της λεκιθοφόρας νύμφης, σε όλο σχεδόν το μήκος του, από την κορυφή της κεφαλής μέχρι το ουραίο τμήμα, γύρω από αυτό και προσθίως του κορμού μέχρι το οπίσθιο άκρο του λεκιθικού σάκου, περιβάλλεται από την πρωτογενή περιφερειακή περυγιοπτυχή, η οποία είναι διαφανής και λεπτή. Το πρόσθιο τμήμα του σώματος είναι κεκαμμένο προς τα κάτω, εξαιτίας της στενής επαφής της περιοχής της κεφαλής με το λεκιθικό σάκο. Οι οφθαλμοί είναι άχρωμοι και στο κέντρο τους διακρίνονται οι καλά σχηματισμένοι φακοί κρυσταλλίνης.

Το πεπτικό σύστημα της νεοεκκολαφθείσας νύμφης αποτελείται από κλειστή στοματική κοιλότητα, αδιαμόρφωτο και ευθυτενή γαστρικό σωλήνα που εκτείνεται μέχρι πίσω από το λεκιθικό σάκο, διακόπτοντας την πτερυγιοπτυχή για να καταλήξει στην έδρα η οποία είναι ακόμα κλειστή. Η νηκτική κύστη, είναι καλά σχηματισμένη χωρίς να έχει πληρωθεί με αέρα, βρίσκεται σε στενή επαφή με το γαστρικό σωλήνα.

Η καρδιά, η οποία είναι ήδη λειτουργική από το εμβρυακό στάδιο, βρίσκεται τοποθετημένη πρόσθια και ραχιαία του λεκιθικού σάκου. Το οπίσθιο άκρο της καρδιάς, μέσω του περικαρδίου και της περιλεκιθικής μεμβράνης, επικοινωνεί με εκτεταμένο δίκτυο αγγείων το οποίο είναι ανεπτυγμένο στο εσωτερικό του λεκιθικού σάκου.

Η αναπνοή στο στάδιο αυτό, είναι δερμική και πραγματοποιείται με τη βοήθεια της πρωτογενούς περιφερειακής πτερυγιοπτυχής, μιας και τα βραγχιακά τόξα άλλα και βραγχιακά νημάτια δεν είναι πλήρως σχηματισμένα.

Οι ακουστικές κοιλότητες είναι καλά σχηματισμένες και τοποθετημένες, μία πίσω από κάθε οφθαλμό. Στο πρόσθιο τμήμα της κεφαλής και μπροστά από τους οφθαλμούς και κοντά στο ρυγχός βρίσκονται οι οσφρητικές ή ρινικές κοιλότητες.

Η νεοεκκολαφθείσα νύμφη δεν φέρει κανένα σχηματισμένο πτερύγιο, σε αυτό το στάδιο μπορεί να διακριθεί μόνο η βάση η των θωρακικών πτερυγίων. Επίσης ο συνολικός αριθμός των μυομερών είναι δύσκολο να μετρηθεί με ακρίβεια, μιας και σε μικροσκοπική παρατήρηση το οπίσθιο τμήμα του σώματος δεν είναι πάντα ευκρινές.



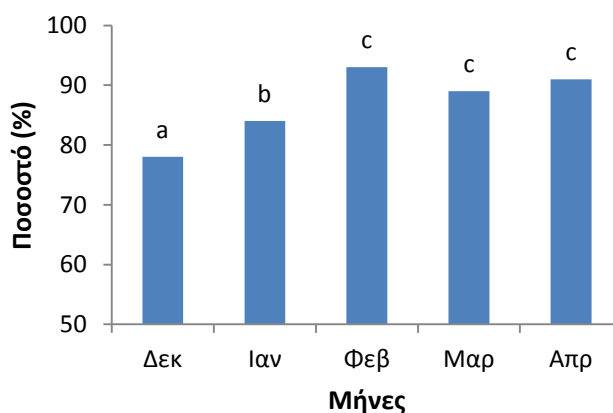
Σχήμα 3.6 Φωτογραφική απεικόνιση της λεκιθοφόρας νύμφης της τσιπούρας αμέσως μετά την εκκόλαψη, η κλίμακα ισούται με 500μm

Όσον αφορά τον ρυθμό εκκόλαψης των αυγών κατά τον πρώτο μήνα (Δεκέμβριο) της ωοτοκίας βρέθηκε $78 \pm 7.5\%$ ενώ κατά τον δεύτερο μήνα (Ιανουάριο) ο ρυθμός αυτός αυξήθηκε αισθητά και βρέθηκε $84 \pm 8\%$. Κατά τους τρεις επόμενους μήνες της ωοτοκίας, συνέχισε να αυξάνεται και να κυμαίνεται σε παρόμοια επίπεδα μεταξύ αυτών των μηνών, βρέθηκε $93 \pm 2\%$ το Φεβρουάριο, $89 \pm 2\%$ το Μάρτιο και $91 \pm 4\%$ τον Απρίλιο.

Πίνακας 3.3 Εξέλιξη του ποσοστού (%) επιπλέοντων αυγών και του ρυθμού (%) εκκόλαψης των αυγών της τσιπούρας, κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας

Παράμετρος	Μήνες	Mean	SD	N
Ρυθμός εκκόλαψης (%) ή H_e	Δεκ	78	7.5	1500
	Ιαν	84	8	1500
	Φεβ	93	2	1500
	Μαρ	89	2	1500
	Απρ	91	4	1500

Mean: Μέση τιμή
SD: Τυπική απόκλιση
N: Αριθμός δείγματος



Σχήμα 3.7 Διαγραμματική απεικόνιση της εξέλιξης του ρυθμού εκκόλαψης (%) των αυγών της τσιπούρας κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας, ετικέτες με δείκτη όμοιου γράμματος δεν υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0.05$)

3.3 Βιοχημική σύσταση

3.3.1 Πρωτεΐνες

Κατά τον πρώτο μήνα (Δεκέμβριο) της ωοτοκίας το ποσοστό των πρωτεϊνών των αυγών της τσιπούρας βρέθηκε $27.3 \pm 0.8\%$. Το ποσοστό των πρωτεϊνών τους δύο επό-

μενους μήνες (Ιανουάριο και Φεβρουάριο) μειώθηκε και βρέθηκε $13.3\pm 1.3\%$ και $14.4\pm 0.6\%$ αντίστοιχα. Κατά τον τέταρτο μήνα (Μάρτιο) το ποσοστό των πρωτεϊνών αυξήθηκε ελάχιστα και βρέθηκε $17.1\pm 0.8\%$. Τον τελευταίο μήνα της ωοτοκίας (Απρίλιο), το ποσοστό των πρωτεϊνών, συνέχισε να αυξάνεται και κυμαίνεται σε παρόμοια επίπεδα με τον πρώτο μήνα της ωοτοκίας, βρέθηκε $24.6\pm 0.5\%$.

3.3.2 Υδατάνθρακες

Κατά τον πρώτο μήνα (Δεκέμβριο) το ποσοστό των υδατανθράκων των αυγών της τσιπούρας βρέθηκε $2.4\pm 0.4\%$. Το ποσοστό των υδατανθράκων τους τρεις επόμενους μήνες (Ιανουάριο, Φεβρουάριο και Μάρτιο) βρέθηκε $1.7\pm 0.03\%$, $1.28\pm 0.08\%$ και 1.34 ± 0.04 αντίστοιχα. Κατά τον τελευταίο μήνα (Απρίλιο) το ποσοστό αυτό, το οποίο κυμάνθηκε στα ίδια επίπεδα με τον πρώτο μήνα, βρέθηκε $2.62\pm 0.03\%$.

3.3.3 Ολικά λιπίδια

Το ποσοστό των ολικών λιπιδίων των αυγών της τσιπούρας κατά τον πρώτο μήνα (Δεκέμβριο) της ωοτοκίας βρέθηκε $27.823\pm 0.417\%$. Το ποσοστό αυτό το οποίο αυξήθηκε τον δεύτερο μήνα (Ιανουάριο) βρέθηκε $36.950\pm 0.280\%$. Σε αυξημένα επίπεδα κυμάνθηκε και κατά τον τρίτο μήνα (Φεβρουάριο), και βρέθηκε $32.536\pm 0.545\%$. Τον τέταρτο μήνα (Μάρτιο) το ποσοστό των λιπιδίων βρέθηκε $27.593\pm 0.834\%$ και φάνηκε να κυμαίνεται σε παρόμοια επίπεδα με τον Δεκέμβριο. Κατά τον πέμπτο μήνα (Απρίλιο) το ποσοστό των ολικών λιπιδίων αυξήθηκε και πάλι και βρέθηκε $30.286\pm 0.513\%$.

Πίνακας 3.4 Εξέλιξη της βιοχημικής σύστασης των αυγών της τσιπούρας, κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας

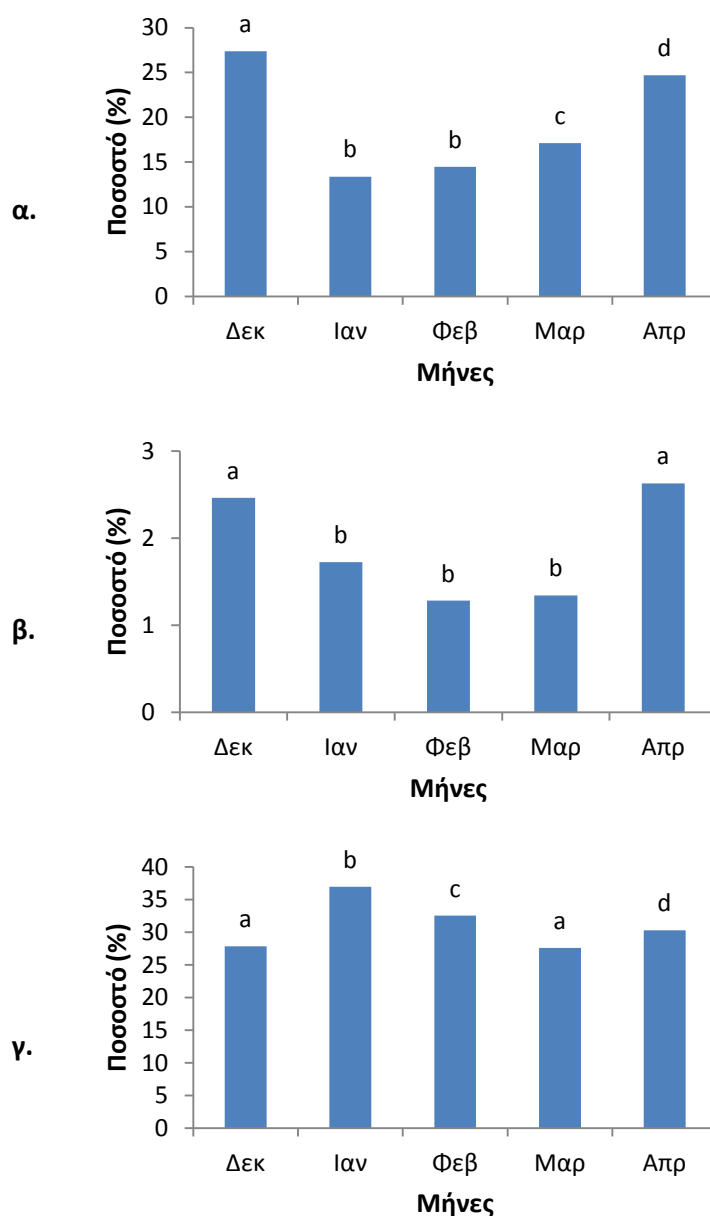
Παράμετρος	Μήνες	Mean	SD	N
Πρωτεΐνες (% ξηρού βάρους)	Δεκ	27.383	0.805	3
	Ιαν	13.380	1.335	3
	Φεβ	14.473	0.655	3
	Μαρ	17.106	0.814	3
	Απρ	24.683	0.590	3
Υδατάνθρακες (% ξηρού βάρους)	Δεκ	2.460	0.467	3
	Ιαν	1.723	0.035	3
	Φεβ	1.280	0.080	3
	Μαρ	1.340	0.040	3
	Απρ	2.626	0.035	3

Παράμετρος	Μήνες	Mean	SD	N
Ολικά λιπίδια (% ξηρού βάρους)	Δεκ	27.823	0.417	3
	Ιαν	36.950	0.280	3
	Φεβ	32.536	0.545	3
	Μαρ	27.593	0.834	3
	Απρ	30.286	0.513	3

Mean: Μέση τιμή

SD: Τυπική απόκλιση

N: Αριθμός δείγματος



Σχήμα 3.6 Διαγραμματική απεικόνιση της εξέλιξης *α.* των πρωτεϊνών, *β.* των υδατανθράκων και *γ.* των ολικών λιπιδίων των αυγών της τσιπούρας κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας, ετικέτες με δείκτη όμοιου γράμματος δεν υποδηλώνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0.05$)

Κεφάλαιο 4

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Κριτήρια που καθόρισαν την ποιότητα των αυγών

Στην παρούσα μελέτη, διερευνήθηκε η ποιότητα των αυγών της τσιπούρας κατά τη διάρκεια μιας περιόδου ωοτοκίας. Πλήθος εργασιών έχουν αποδείξει τη σπουδαιότητα της ποιότητας των αυγών, η οποία καθορίζει το ποσοστό επιτυχίας της μαζικής καλλιέργειας των καλλιεργούμενων ειδών ψαριών. Ο έλεγχος της ποιότητας των αυγών είναι απαραίτητος, ειδικότερα για τα νέα ως προς την καλλιέργειά τους είδη, των οποίων οι παραγωγικές τεχνικές βρίσκονται ακόμα σε εξέλιξη (Lahnsteiner and Patarnello, 2004a). Ο αριθμός των ποιοτικών κριτηρίων, που έχουν διατυπωθεί σε ερευνητικές εργασίες ποιοτικού ελέγχου των αυγών ειδών ψαριών, είναι μεγάλος. Τα ποιοτικά κριτήρια που ελέγχθηκαν, στην παρούσα μελέτη, επικεντρώθηκαν κυρίως στους μορφομετρικούς χαρακτήρες των αυγών στο στάδιο του βλαστιδίου, στον εντοπισμό των μορφολογικών τους ανωμαλιών κατά τη διάρκεια του εμβρυακού σταδίου, στα ποσοστά επίπλευσης και τους ρυθμούς εκκόλαψης των αυγών καθώς και στον προσδιορισμό της βιοχημικής τους σύστασης.

Γενικά, τα αυγά των θαλάσσιων ειδών ψαριών που καλλιεργούνται είναι μικρά και διαφανή, διευκολύνοντας έτσι τις προσπάθειες προσδιορισμού των μορφομετρικών χαρακτήρων τους (Kjørsvik *et al.*, 2003). Οι παραπάνω χαρακτήρες, ιδιαίτερα κατά τα πρώιμα εμβρυακά στάδια, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αξιόπιστοι δείκτες ποιότητας των αυγών (Lahnsteiner and Patarnello, 2004a - Paulsen *et al.*, 2009). Επίσης η παρατήρηση και αναγνώριση μορφολογικών ανωμαλιών, οι οποίες μπορεί να είναι ενδεικτικές της χαμηλής βιωσιμότητας των αυγών, αποτελούν χρήσιμο εργαλείο για την αξιολόγηση της ποιότητας των αυγών (Shields *et al.*, 1997 - Lahnsteiner and Patarnello, 2005).

Από την άλλη, μεγάλο πλήθος ερευνητικών εργασιών σχετικών με τον προσδιορισμό δεικτών ποιότητας των αυγών ψαριών έχουν υποδείξει το ποσοστό επίπλευσης και τον ρυθμό εκκόλαψης σαν αξιόπιστα κριτήρια ποιότητας των αυγών ψαριών (Kjørsvik *et al.*, 2003 - Giménez *et al.*, 2006 - Faulk and Holt, 2008).

Η βιοχημική σύνθεση των αυγών αποτελεί, αξιόπιστο δείκτη για την ποιότητα των αυγών (Faulk and Holt, 2008) ενώ φαίνεται να σχετίζεται άρρηκτα με τη βιωσιμότητά τους (Nguyen *et al.*, 2011) καθώς επίσης και με τα ποσοστά επίπλευσης (Faulk and Holt, 2008) και τους ρυθμούς εκκόλαψης των αυγών (Lahnsteiner and

Patarnello, 2005 - Faulk and Holt, 2008). Έχει αποδειχτεί πως η βιοχημική σύσταση των αυγών των ψαριών, εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως οι διαειδικές και ενδοειδικές γενετικές διαφορές (Watanabe and Vassallo-Agius, 2003), η διατροφή (Bell *et al.*, 1997) ή η ηλικία (Evans *et al.*, 1996) των γεννητόρων, η περίοδος της ωοτοκίας (Kamler, 2005) καθώς και από και περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η αλατότητα (Atse *et al.*, 2002). Οι μέθοδοι προσδιορισμού, της βιοχημικής σύστασης των αυγών, έχουν σαν μειονέκτημα, τη δυσκολία για συνήθη εφαρμογή σε σχέση με τα παραπάνω κριτήρια προσδιορισμού της ποιότητας των αυγών (Lahnsteiner and Patarnello, 2005).

4.2 Εξέλιξη της ποιότητας των αυγών

Η ποιότητα των αυγών, φάνηκε να διαφέρει από μήνα σε μήνα, σύμφωνα με τα κριτήρια που την καθόρισαν. Διαφορές στην ποιότητα των αυγών, έχουν δείξει και άλλες μελέτες σε καλλιεργούμενα είδη ψαριών όπως το *Gadus morhua* (Kjørsvik, 1994), το *Scophthalmus maximus* (Fauvel *et al.*, 1992), το *Hippoglossus hippoglossus* (Bromage *et al.*, 1994), το *Sparus aurata* (Fernandez-Palacios *et al.*, 1997), το *Anarhicas lupus* (Pavlov and Moksness, 1994), το *Salmo salar* (Nævdal, 1991) και το *Oncorhynchus mykiss* (Bromage *et al.*, 1992).

Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, φάνηκε ότι το αυγό της τσιπούρας κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας παρουσιάζει σχετική διαφοροποίηση από μήνα σε μήνα ως προς τους μορφομετρικούς χαρακτήρες του. Συγκεκριμένα, οι περισσότεροι χαρακτήρες δεν φάνηκε να διαφέρουν κατά τους μήνες Φεβρουάριο και Μάρτιο, ενώ παρατηρήθηκε τάση ομαδοποίησης και ανάμεσα στους μήνες Δεκέμβριο και Ιανουάριο (εκτός από τα βάρη και τον αριθμό των αυγών ανά γραμμάριο, όπου η τάση αυτή παρατηρήθηκε ανάμεσα στους μήνες Δεκέμβριο και Απρίλιο).

Τόσο η διάμετρος όσο και ο όγκος των αυγών, δεν φάνηκαν να διαφέρουν σημαντικά ούτε ανάμεσα στους μήνες Δεκέμβριο και Ιανουάριο ούτε ανάμεσα στους μήνες Φεβρουάριο και Μάρτιο. Οι δύο αυτές ομάδες μηνών, όμως, διέφεραν και μεταξύ τους αλλά και από τον μήνα Απρίλιο. Στην περίπτωση της διαμέτρου αλλά και του όγκου της σταγόνας λιπιδίων δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στους μήνες Δεκέμβριο, Ιανουάριο και Απρίλιο, αλλά ούτε και ανάμεσα στους μήνες

Φεβρουάριο και Μάρτιο. Διαφορά όμως παρατηρήθηκε ανάμεσα σε αυτές τις δύο ομάδες μηνών. Το νωπό βάρος των αυγών αλλά και ο αριθμός των αυγών ανά γραμμάριο, δεν φάνηκε να διαφέρουν σημαντικά ούτε ανάμεσα στους μήνες Δεκέμβριο και Απρίλιο αλλά ούτε ανάμεσα στους μήνες Ιανουάριο, Φεβρουάριο και Μάρτιο. Η διαφορά εντοπίστηκε ανάμεσα σε αυτές τις ομάδες μηνών. Το ξηρό βάρος των αυγών δεν φάνηκε να διαφέρει σημαντικά ανάμεσα στους μήνες Δεκέμβριο και Απρίλιο, ούτε ανάμεσα στους μήνες Ιανουάριο και Φεβρουάριο. Διαφορά εντοπίστηκε ανάμεσα σε αυτές τις δύο ομάδες μηνών, αλλά και στον μήνα Μάρτιο.

Οι μορφομετρικοί χαρακτήρες έδειξαν ότι, τα αυγά της τσιπούρας κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας, φάνηκαν να είναι μεγαλύτερα κατά τους κεντρικούς μήνες της ωοτοκίας. Το μέγεθος των αυγών ακολούθησε τάση αύξησης όσο εξελισσόταν η περίοδος ωοτοκίας, κατά τη διάρκεια της οποίας το μεγαλύτερο μέγεθος παρατηρήθηκε κατά το μήνα Φεβρουάριο. Από το μήνα Φεβρουάριο κι έπειτα το μέγεθος των αυγών άρχισε σταδιακά να μειώνεται, ώσπου έφτασε να κυμαίνεται σε παρόμοια επίπεδα με τους δύο αρχικούς μήνες. Κατά την εξέλιξη της ωοτοκίας το μέγεθος των αυγών σε μεταγενέστερες παρτίδες είναι συχνά μικρότερο, ένα φαινόμενο που συνδέεται με τη μείωση των πόρων των θηλυκών ατόμων (Hsiao *et al.*, 1994). Για παράδειγμα, οι Chambers and Waiwood (1996) αναφέρουν ότι το μέγεθος των αυγών του είδους *Gadus morhua* μειώθηκε κατά την εξέλιξη της περιόδου ωοτοκίας και σε αυτό συνέβαλε η μικρή τροφική δραστηριότητα των γεννητόρων, σε αντίθεση με τα αυγά του είδους *Rachycentron canadum* του οποίου οι γεννήτορες τρέφονταν συνεχώς κατά τη διάρκεια της περιόδου ωοτοκίας, βοηθώντας έτσι στη διατήρηση της θρεπτικής κατάστασης των γεννητόρων (Faulk and Holt, 2008). Το μέγεθος του αυγού αποτελεί μία από τις πιο σημαντικές πτυχές της ιστορίας της ζωής πολλών θαλάσσιων οργανισμών, ενώ φαίνεται να συνδέεται με μια σειρά από θεμελιώδη και προσαρμοστικά χαρακτηριστικά, όπως το μήκος της ανάπτυξης των προνυμφών, τη μορφολογία των προνυμφών, το μέγεθος των ατόμων κατά το στάδιο της μεταμόρφωσης, την ανάπτυξη και επιβίωση των νεαρών ατόμων και την αντίσταση των ατόμων στην τροφική πενία (Moran and McAlister, 2009).

Στην υδατοκαλλιέργεια, υπήρχε η αντίληψη όσον αφορά την ποιότητα, ότι τα μεγαλύτερα αυγά είναι και καλύτερης ποιότητας (Brooks *et al.*, 1997). Το μέγεθος,

όμως, ενός αυγού μπορεί να διαφέρει τόσο από είδος σε είδος όσο και μεταξύ των ατόμων ενός είδους (Moran and McAlister, 2009). Η διακύμανση των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών, όπως το μέγεθος του αυγού, γενικά οφείλονται σε έναν ή στο συνδυασμό τριών παραγόντων: περιβαλλοντικές επιδράσεις (περιβάλλον), γενετικές διαφορές μεταξύ των οργανισμών (γονότυπος), καθώς και στοχαστικά και αναπτυξιακά γνωρίσματα (Vogt *et al.*, 2008). Το μέγεθος των αυγών εξαρτάται από την ηλικία, το μέγεθος αλλά και από τη διατροφή του θηλυκού ατόμου, από τη θερμοκρασία, την αλατότητα και τις τοξικές ουσίες, την πυκνότητα του πληθυσμού, τους γενετικούς παράγοντες (Moran and McAlister, 2009).

Κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας εντοπίστηκαν αυγά με τη μορφολογία τους να διαφέρει από αυτή του συνόλου των δειγμάτων. Οι μορφολογικές αυτές αποκλίσεις (ή μορφολογικές ανωμαλίες) κυμάνθηκαν σε χαμηλά επίπεδα συχνότητας, ενώ ανάμεσα στους μήνες της ωοτοκίας του είδους, εντοπίστηκαν διαφορές στη συχνότητα εμφάνισης των μορφολογικών αυτών ανωμαλιών. Παρατηρήθηκε τάση ομαδοποίησης ανάμεσα στους μήνες Δεκέμβριο και Ιανουάριο αλλά και ανάμεσα στους μήνες Μάρτιο και Απρίλιο. Οι δύο αυτές ομάδες μηνών διαφέρουν και μεταξύ τους αλλά και από το μήνα Φεβρουάριο. Η ασυμμετρία των πρώιμων βλαστομερών (Shields *et al.*, 1997), η έλλειψη διαφάνειας της λεκίθου (Dinis, 1982), η αυξημένη παρουσία μελανοφόρων κυττάρων (Craik, 1985), το μεγαλύτερο μέγεθος του περιλεκιθικού χώρου και οι αλλαγές στη διάμετρο των αυγών μετά τη γονιμοποίηση (Kjørsvik *et al.*, 1984), έχουν παρατηρηθεί και σε άλλα είδη ψαριών. Έχει παρατηρηθεί, επίσης, ότι όσο πιο πρώιμη χρονικά είναι η έκθεση κάτω από το συγκεκριμένο ανασταλτικό παράγοντα τόσο πιο καθοριστική είναι η επίδρασή του στην μετέπειτα ανάπτυξη του εμβρύου (Kjørsvik *et al.*, 1990).

Το ποσοστό επίπλευσης καθώς και ο ρυθμός εκκόλαψης των αυγών φάνηκαν να διαφοροποιούνται τους μήνες Δεκέμβριο και Ιανουάριο από τους υπόλοιπους μήνες, όπου παρουσίασαν μικρή διακύμανση μεταξύ τους στις αποτυπωμένες τιμές τους. Οι διακυμάνσεις στο ποσοστό επίπλευσης αλλά και στον ρυθμό εκκόλαψης των αυγών, σχετίζονται με την βιοχημική σύνθεση των αυγών (Furuita *et al.*, 2002 - Giménez *et al.*, 2006 - Faulk and Holt, 2008 - Nguyen *et al.*, 2011) και ιδιαίτερα με παραμέτρους του μεταβολισμού των υδατανθράκων καθώς και με την καταλυτική δραστηριότητα των ενζύμων κατά τη διάρκεια της πρώιμης ανάπτυξης των αυγών

(Lahnsteiner and Patarnello, 2003 - Lahnsteiner, 2006). Τόσο στο ποσοστό επίπλευσης όσο και στον ρυθμό εκκόλαψης δεν παρατηρήθηκε διάφορα ανάμεσα στους μήνες Φεβρουάριο, Μάρτιο και Απρίλιο. Διαφορά εντοπίστηκε ανάμεσα στον μήνα Δεκέμβριο και Ιανουάριο οι οποίοι διαφέρουν και από την παραπάνω ομάδα μηνών. Οι δύο αυτοί δείκτες ήταν μεγαλύτεροι κατά τους τρεις τελευταίους μήνες της ωτοκίας σε σχέση με τους δύο πρώτους. Το ποσοστό επίπλευσης βρέθηκε μεγαλύτερο κατά το μήνα Μάρτιο, ενώ ο ρυθμός εκκόλαψης κατά το μήνα Φεβρουάριο.

Μεταξύ του ποσοστού επιπλεόντων αυγών και του ρυθμού εκκόλαψης των αυγών βρέθηκε μια θετική συσχέτιση. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και για άλλα θαλάσσια είδη, κατά την εξέταση του ποσοστού επίπλευσης και του ρυθμού εκκόλαψης των αυγών τους (Lahnsteiner and Patarnello, 2004b - Faulk and Holt, 2008).. Το ποσοστό των επιπλεόντων αυγών, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης του ρυθμού εκκόλαψης των αυγών, γεγονός που οφείλεται στη συσχέτιση αυτών των δύο μεταβλητών.

Η βιοχημική σύσταση των αυγών της τσιπούρας κατά τη διάρκεια της μελετούμενης περιόδου ωτοκίας, κυμάνθηκε σε παρόμοια επίπεδα με τη βιοχημική σύσταση των αυγών άλλων ειδών ψαριών, ενώ εντοπίστηκαν διαφορές στη βιοχημική σύσταση μεταξύ των μηνών της ωτοκίας.

Το περιεχόμενο ποσοστό των πρωτεϊνών των αυγών φάνηκε να διαφέρει σημαντικά σχεδόν ανάμεσα σε όλους μήνες της μελετούμενης περιόδου ωτοκίας με εξαίρεση τους μήνες Ιανουάριο και Φεβρουάριο ανάμεσα στους οποίους δεν εντοπίστηκαν διαφορές. Η περιεκτικότητα των αυγών σε πρωτεΐνες, στην παρούσα μελέτη βρίσκεται εντός του εύρους τιμών που αναφέρονται σε άλλα θαλάσσια πελαγικά αυγά. Οι Rønnestad *et al.* (1996) συγκρίνοντας την περιεκτικότητα των αυγών σε πρωτεΐνη, μεταξύ βενθοπελαγικών και πελαγικών ψαριών και μεν αναφέρουν σημαντικές διαφορές στην περιεκτικότητα των αυγών σε πρωτεΐνη μεταξύ των ειδών, δεν αναφέρουν όμως υψηλότερη περιεκτικότητα από 45% στα βενθοπελαγικά αυγά και από 30% στα πελαγικά.

Η περιεκτικότητα των αυγών σε υδατάνθρακες, δεν διέφερε σημαντικά ούτε ανάμεσα στους μήνες Δεκέμβριο και Απρίλιο αλλά ούτε ανάμεσα στους μήνες Ιανουάριο, Φεβρουάριο και Μάρτιο, οι δύο αυτές ομάδες μηνών όμως φάνηκε να δι-

αφέρουν μεταξύ τους. Κατά τους κεντρικούς μήνες της ωοτοκίας (Ιανουάριο, Φεβρουάριο και Μάρτιο) η περιεκτικότητα των αυγών σε υδατάνθρακες ήταν μικρότερη σε σχέση με τον πρώτο και τελευταίο μήνα. Λίγες είναι οι διαθέσιμες πληροφορίες, σχετικά με την περιεκτικότητα των υδατανθράκων των αυγών των θαλάσσιων ψαριών αν και έχει αποδειχτεί ότι η σύνθεση και ο μεταβολισμός τους παίζουν κάποιο ρόλο στην εμβρυακή ανάπτυξη των ειδών της οικογένειας Sparidae (Lahnsteiner and Patarnello, 2004b - Giménez *et al.*, 2006). Η περιεκτικότητα των αυγών θαλάσσιων ψαριών σε υδατάνθρακες, γενικά κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα (Guisande *et al.*, 1998 - Dayal *et al.*, 2003), παρόμοια με αυτά που αναφέρονται στην παρούσα μελέτη. Τα υψηλά ποσοστά επίπλευσης καθώς και ο μεγάλος ρυθμός εκκόλαψης των αυγών στην παρούσα μελέτη κατά τους μήνες Φεβρουάριο και Μάρτιο σχετίζονται θετικά με τη χαμηλή περιεκτικότητα των αυγών σε υδατάνθρακες. Δεν φάνηκε να ισχύει το ίδιο κατά το μήνα Απρίλιο, όπου τα ποσοστά επίπλευσης και ο ρυθμός εκκόλαψης των αυγών κυμάνθηκαν σε υψηλά επίπεδα ομοίως με την περιεκτικότητα των αυγών σε υδατάνθρακες. Γενικότερα, όμως, ισχύει ότι η χαμηλή περιεκτικότητα των αυγών σε υδατάνθρακες σχετίζεται με την καλή ποιότητα αυγών. Για παράδειγμα, στο είδος *Dentex dentex* τα χαμηλής ποιότητας αυγά περιείχαν υψηλότερα επίπεδα υδατανθράκων απ ότι τα καλής ποιότητας (Giménez *et al.*, 2006).

Διαφορά εντοπίστηκε και στην περιεκτικότητα των ολικών λιπιδίων των αυγών ανάμεσα στους μήνες της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας με εξαίρεση τους μήνες Δεκέμβριο και Μάρτιο οι οποίοι δεν διέφεραν μεταξύ τους σημαντικά. Η συνολική περιεκτικότητα των λιπιδίων των αυγών των θαλάσσιων ψαριών συχνά κυμαίνεται από 15 – 35% το ξηρού βάρους τους (Sargent, 1995 - Dayal *et al.*, 2003 - Faulk and Holt, 2003 - Faulk and Holt, 2008) όπως και στην περίπτωση της παρούσας μελέτης. Οι Furuita *et al.* (2006) εντόπισαν αρνητική συσχέτιση μεταξύ της περιεκτικότητας των αυγών σε ολικά λιπίδια και του ποσοστού επίπλευσης και εκκόλαψης των αυγών ιαπωνικών χελιών (*Anguilla japonica*) ομοίως με τα αυγά της τσιπούρας της παρούσας μελέτης.

4.3 Εκτίμηση της ποιότητας των αυγών

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι, η ποιότητα των αυγών της τσιπούρας ήταν υποβαθμισμένη κατά τους μήνες Δεκέμβριο και Ιανουάριο, λαμβάνοντας υπόψη τους μορφομετρικούς χαρακτήρες, το ποσοστό επίπλευσης και το ρυθμό εκκόλαψης των αυγών. Σύμφωνα με τα κριτήρια αυτά, τα αυγά αυτούς τους μήνες βρέθηκαν και μικρότερα και με μειωμένο ποσοστό επίπλευσης και ρυθμό εκκόλαψης. Ακολούθως, κατά τους μήνες Φεβρουάριο και Μάρτιο, η ποιότητα των αυγών βελτιώθηκε αισθητά, αυτούς τους μήνες το μέγεθος, το ποσοστό επίπλευσης και ο ρυθμός εκκόλαψης των αυγών ήταν μεγαλύτερα. Τον Απρίλιο ενώ οι μορφομετρικοί χαρακτήρες των αυγών υποβαθμίστηκαν, το ποσοστό επίπλευσης και ο ρυθμός εκκόλαψης των αυγών, εξακολούθησαν να κυμαίνονται σε υψηλά επίπεδα. Αν και κατά τους μήνες Φεβρουάριο, Μάρτιο και Απρίλιο η παρουσία μορφολογικών ανωμαλιών στα αυγά της τσιπούρας ήταν μεγαλύτερη σε σύγκριση με τους μήνες Δεκέμβριο και Ιανουάριο δεν φάνηκε να επηρεάζει την βιωσιμότητα των αυγών, άρα και την ποιότητά τους.

Η καλύτερη ποιότητα αυγών παρατηρήθηκε το μήνα Φεβρουάριο και Μάρτιο, όπου όπως προαναφέρθηκε τα αυγά κατά τους μήνες αυτούς ήταν μεγαλύτερα και είχαν υψηλότερα ποσοστά επίπλευσης και ρυθμό εκκόλαψης, γεγονός που σχετίστηκε με τη βιοχημική σύσταση των αυγών κατά τους μήνες αυτούς.

4.4 Από την έρευνα στην εφαρμογή

Τα αποτελέσματά της μελέτης αυτής θα μπορούσαν να προσφέρουν ένα κατάλληλο εργαλείο για την ορθολογικότερη διαχείριση των ιχθυοαποθεμάτων ενός ιχθυογεννητικού σταθμού, στον οποίο η παραγωγή αυγών πρέπει να είναι συνεχής.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι, η ποιότητα των αυγών της τσιπούρας εμφανίζεται υποβαθμισμένη τον πρώτο και δεύτερο μήνα μιας περιόδου ωοτοκίας ως προς το μέγεθος, τα ποσοστά επίπλευσης και τους ρυθμούς εκκόλαψης των αυγών. Ακολούθως, κατά την εξέλιξη της περιόδου ωοτοκίας η ποιότητα των αυγών βελτιώνεται αισθητά.

Από τη μία, ο βαθμός επιτυχίας της παραγωγής συνδέεται άρρηκτα με την ποιότητα των αυγών ενός είδους και για το λόγο αυτό προτείνεται, σύμφωνα με τα απο-

τελέσματα της παρούσας μελέτης, η αποθεματοποίηση αυγών από τους κεντρικούς μήνες μέχρι το τέλος της ωτοκίας ενός είδους. Από την άλλη όμως, ο καλλιεργητής θα πρέπει ακολουθήσει τον προγραμματισμό της παραγωγής του εκάστοτε είδους.

Για πιο ολοκληρωμένη απάντηση σχετικά με τη διακύμανση της ποιότητας των αυγών στην εξέλιξη μιας περιόδου ωτοκίας, κρίνεται απαραίτητη η επανάληψη της πειραματικής διαδικασίας την επόμενη αναπαραγωγική περίοδο. Επίσης, η επιλογή επιπλέον κριτηρίων (όπως ο προσδιορισμός των περιεχομένων λιπαρών οξέων, βιταμινών και ενζύμων των αυγών), θα μπορούσε να προσφέρει μεγαλύτερη ισχυροποίηση των αποτελεσμάτων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μελέτη της ποιότητας των αυγών της τσιπούρας κατά τη διάρκεια μιας περιόδου ωοτοκίας, οδήγησε στα ακόλουθα συμπεράσματα:

- ✘ Η ποιότητα των αυγών είναι μια παράμετρος η οποία μεταβάλλεται όσο εξελίσσεται η περίοδος ωοτοκίας ενός είδους. Η μεταβολή αυτή ενδέχεται να είναι είτε θετική (βελτίωση της ποιότητας) είτε αρνητική (υποβάθμιση της ποιότητας).
- ✘ Τα κριτήρια που προσδιόρισαν την ποιότητα των αυγών διαφοροποιήθηκαν από μήνα σε μήνα, ενώ ανάμεσα σε κάποιους μήνες παρατηρήθηκαν τάσεις ομαδοποίησης στις αποτυπωμένες τιμές τους.
- ✘ Η ποιότητα των αυγών της τσιπούρας φάνηκε υποβαθμισμένη τον πρώτο και δεύτερο μήνα, ενώ βελτιώθηκε αισθητά όσο εξελισσόταν η περίοδος της ωοτοκίας.
- ✘ Το μέγεθος των αυγών, το ποσοστό επίπλευσης και ο ρυθμός εκκόλαψης των αυγών ήταν μεγαλύτερα κατά τον τρίτο και τέταρτο μήνα της ωοτοκίας σε σχέση με τους δύο πρώτους.
- ✘ Κατά τον τελευταίο μήνα της ωοτοκίας αν και το μέγεθος των αυγών κυμάνθηκε σε παρόμοια επίπεδα με τους δύο αρχικούς, τα ποσοστά επίπλευσης και οι ρυθμοί εκκόλαψης των αυγών εξακολούθησαν να κυμαίνονται σε υψηλά επίπεδα.
- ✘ Οι υψηλότερες τιμές στο μέγεθος, στο ποσοστό επίπλευσης και στον ρυθμό εκκόλαψης παρατηρήθηκαν κατά τον κεντρικό μήνα της ωοτοκίας του είδους.
- ✘ Τα ποσοστά επίπλευσης καθώς και οι ρυθμοί εκκόλαψης των αυγών, φάνηκε να σχετίζονται θετικά με τη βιοχημική σύσταση των αυγών, η οποία κυμάνθηκε σε παρόμοια επίπεδα με τη βιοχημική σύσταση των αυγών άλλων ειδών ψαριών.
- ✘ Επίσης, το ποσοστό των επιπλεόντων αυγών, το οποίο σχετίστηκε θετικά με τον ρυθμό εκκόλαψης των αυγών, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης του ρυθμού εκκόλαψης των αυγών.
- ✘ Οι μορφομετρικοί χαρακτήρες, το ποσοστό επίπλευσης και ο ρυθμός εκκόλαψης, λόγω της μορφολογίας και της βιολογίας των αυγών, είναι εύκολο να προσδιοριστούν, γεγονός που ευνοεί τη συνήθη εφαρμογή του προσδιορισμού τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε με σκοπό να διερευνηθεί η υπόθεση διαφοροποίησης ή όχι της ποιότητας των αυγών της κοινής τσιπούρας (*Sparus aurata*) κατά τη διάρκεια μιας περιόδου ωοτοκίας. Τόσο στους φυσικούς όσο και στους καλλιεργούμενους πληθυσμούς των ψαριών, ο βαθμός επιτυχίας της παραγωγής τους συνδέεται άρρηκτα με την ποιότητα των αυγών τους. Μεγάλος είναι ο αριθμός των ποιοτικών κριτηρίων που έχουν διατυπωθεί σε ερευνητικές εργασίες ποιοτικού ελέγχου των αυγών ειδών ψαριών. Από την άλλη, στους παράγοντες που δύναται να επηρεάζουν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των αυγών συγκαταλέγονται ενδογενείς ιδιότητες αλλά και εξωτερικές συνθήκες. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης μπορούν να προσφέρουν ένα κατάλληλο εργαλείο για την ορθολογικότερη διαχείριση των ιχθυοαποθεμάτων ενός ιχθυογεννητικού σταθμού.

Τα αυγά, φυσικής ωοτοκίας, που μελετήθηκαν προήλθαν από γεννήτορες εμπορικού ιχθυογεννητικού σταθμού. Από τις αρχές του Δεκεμβρίου 2010 και κάθε μήνα μέχρι και τον Απρίλιο του 2011 συλλεγόταν δείγμα αυγών από τη συγκεκριμένη ομάδα γεννητόρων. Τα ποιοτικά κριτήρια που ελέγχθηκαν επικεντρώθηκαν κυρίως στους μορφομετρικούς χαρακτήρες των αυγών στο στάδιο του βλαστιδίου, στον εντοπισμό των μορφολογικών ανωμαλιών κατά τη διάρκεια του εμβρυακού σταδίου, στα ποσοστά επίπλευσης των αυγών και τους ρυθμούς εκκόλαψης καθώς και στον προσδιορισμό της βιοχημικής σύστασης των αυγών.

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι το αυγό της κοινής τσιπούρας κατά τη διάρκεια μιας περιόδου ωοτοκίας παρουσιάζει σχετική διαφοροποίηση από μήνα σε μήνα ως προς τους μορφομετρικούς χαρακτήρες του. Συγκεκριμένα, οι περισσότεροι χαρακτήρες δεν φάνηκε να διαφέρουν κατά τους μήνες Φεβρουάριο και Μάρτιο, ενώ παρατηρήθηκε τάση ομαδοποίησης και ανάμεσα στους μήνες Δεκέμβριο και Ιανουάριο (εκτός από τα βάρη και τον αριθμό των αυγών ανά γραμμάριο, όπου η τάση αυτή παρατηρήθηκε ανάμεσα στους μήνες Δεκέμβριο και Απρίλιο).

Εντοπίστηκαν, επίσης, αυγά με τη μορφολογία τους να διαφέρει από αυτή του συνόλου των δειγμάτων. Ανάμεσα στους μήνες της ωοτοκίας του είδους, εντοπίστηκαν διαφορές στη συχνότητα εμφάνισης των μορφολογικών αυτών ανωμαλιών. Παρατηρήθηκε τάση ομαδοποίησης ανάμεσα στους μήνες Δεκέμβριο και Ιανουάριο αλλά και ανάμεσα στους μήνες Μάρτιο και Απρίλιο. Οι δύο αυτές ομάδες μηνών διαφέρουν και μεταξύ τους αλλά και από το μήνα Φεβρουάριο.

Το ποσοστό επίπλευσης καθώς και ο ρυθμός εκκόλαψης των αυγών φάνηκαν να διαφοροποιούνται τους μήνες Δεκέμβριο και Ιανουάριο από τους υπόλοιπους μήνες, όπου παρουσίασαν μικρή διακύμανση μεταξύ τους στις αποτυπωμένες τιμές τους. Τόσο στο ποσοστό επίπλευσης όσο και στον ρυθμό εκκόλαψης δεν παρατηρήθηκε διάφορα ανάμεσα στους μήνες Φεβρουάριο, Μάρτιο και Απρίλιο. Διαφορά εντοπίστηκε ανάμεσα στον μήνα Δεκέμβριο και Ιανουάριο οι οποίοι διαφέρουν και από την παραπάνω ομάδα μηνών.

Όπως και τα παραπάνω κριτήρια προσδιορισμού της ποιότητας των αυγών, έτσι και η βιοχημική σύσταση των αυγών φάνηκε να διαφοροποιείται ανάμεσα στους μήνες ωοτοκίας του είδους. Το περιεχόμενο ποσοστό των πρωτεϊνών των αυγών φάνηκε να διαφέρει σημαντικά σχεδόν ανάμεσα σε όλους μήνες της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας με εξαίρεση τους μήνες Ιανουάριο και Φεβρουάριο ανάμεσα στους οποίους δεν εντοπιστήκαν διαφορές. Η περιεκτικότητα των αυγών σε υδατάνθρακες, δεν διέφερε σημαντικά ούτε ανάμεσα στους μήνες Δεκέμβριο και Απρίλιο αλλά ούτε ανάμεσα στους μήνες Ιανουάριο, Φεβρουάριο και Μάρτιο, οι δύο αυτές ομάδες μηνών όμως φάνηκε να διαφέρουν μεταξύ τους. Διαφορά εντοπίστηκε και στην περιεκτικότητα των ολικών λιπιδίων των αυγών ανάμεσα στους μήνες της μελετούμενης περιόδου ωοτοκίας με εξαίρεση τους μήνες Δεκέμβριο και Μάρτιο οι οποίοι δεν διέφεραν μεταξύ τους σημαντικά.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι, η ποιότητα των αυγών της τσιπούρας ήταν υποβαθμισμένη κατά τους μήνες Δεκέμβριο και Ιανουάριο, λαμβάνοντας υπόψη τους μορφομετρικούς χαρακτήρες, το ποσοστό επίπλευσης και το ρυθμό εκκόλαψης των αυγών. Ακολούθως, κατά τους μήνες Φεβρουάριο και Μάρτιο, η ποιότητα των αυγών βελτιώθηκε αισθητά. Τον Απρίλιο ενώ οι μορφομετρικοί χαρακτήρες των αυγών υποβαθμίστηκαν, τα ποσοστά επίπλευσης και οι ρυθμοί εκκόλαψης των αυγών, εξακολούθησαν να κυμαίνονται σε υψηλά επίπεδα. Τα υψηλά ποσοστά επίπλευσης καθώς και ο μεγάλος ρυθμός εκκόλαψης των αυγών κατά τους μήνες Φεβρουάριο και Μάρτιο σχετίστηκαν θετικά με τη χαμηλή περιεκτικότητα των αυγών σε υδατάνθρακες. Αν και κατά τους μήνες Φεβρουάριο, Μάρτιο και Απρίλιο η παρουσία μορφολογικών ανωμαλιών στα αυγά ήταν μεγαλύτερη σε σύγκριση με τους μήνες Δεκέμβριο και Ιανουάριο, δεν φάνηκε να επηρεάζεται η βιωσιμότητα των αυγών, άρα και την ποιότητά τους.

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the common's sea bream (*Sparus aurata*) egg quality during a spawning period. As on nature also on reared fish populations, the degree of production success depends a lot on the egg quality. A big number of quality criteria have been sourced in egg quality research studies. On the other hand, endogenous and exogenous factors can be affecting the quality characters. The results of the present study can offer an appropriate tool for rational management of hatchery fish stocks.

The eggs, which were studied, came from the broodstock's natural spawning of a commercial hatchery. Since early December 2010 and every month until the April 2011, a sample of eggs was collected from this group of broodstock. The investigated quality criteria have mainly focused on egg morphometric characters on blastomeric stage, on the identifying morphological abnormalities during the embryonic stage, on floating and hatching rates of eggs and in the determination of biochemical composition of eggs.

This study showed that the common's sea bream eggs appear relatively different from month to month on the morphometric characters during a spawning season. Specifically, most characters do not appear to vary during the months of February and March, while there was tension between grouping and the months of December and January (except for the weights and the number of eggs per gram, where the trend was observed between the months of December and April).

During the spawning season there were also, detected eggs with their morphology differs from that of all the samples. Between these months, there were found differences in the incidence of these morphological abnormalities. Clustering trend was observed between the months of December and January and between March and April. These two groups of months differ between them and from the month February.

The floating and hatching rates of eggs seemed to differentiate between the months of December and January than the other months, which showed little variation between them in their reflected rates. Both the floating and hatching rates did not differ between the months February, March and April. Difference was detected between December and January which differ from the above group of months.

Like the above criteria for determining the quality of eggs, the biochemical composition of eggs seemed to differentiate between the specie's spawning months. The percentage protein content of eggs appeared to differ significantly almost among all the months of the spawning period, except from the months of January and February, there were not any differences identified among them. The content of carbohydrates in eggs did not differ significantly either between the months December and April or between the months January, February and March but these two groups of months seemed to differ. In total lipid content of eggs there was a difference detected between the months of the spawning period except from the months of December and March which did not significantly differ.

The results of this study show that the quality of the eggs of sea bream was degraded during the months of December and January, taking into account the morphometric characters and the floating and hatching rates of eggs. Subsequently, during the months of February and March, egg quality has improved significantly. In the April while the morphometric characters of eggs were downgraded, floating rates and hatching rates of eggs, remained at high levels. The high floating and hatching rates of eggs during the months of February and March were associated positively with the eggs' low levels of carbohydrates. Although, during the months February, March and April the presence of morphological abnormalities in eggs was higher compared with December and January, it did not appear to affect the viability of eggs and thus their quality.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abrehouch A., Idaomar M., Ali A.A., Nhhala H., Talbaoui E.M. (2009) Broodstock feeding effects on spawning performances (fertility, eggs and larvae quality) of the Mediterranean red porgy (*Pagrus pagrus*, Linnaeus 1758) during two years. *African Journal of Food Science* 3(8), 193-200.
- Abrehouch A., Ali A.A., Chebbaki K., Akharbach H., and Idaomar M. (2010) Effect of diet (fatty acid and protein) content during spawning season on fertility, eggs and larvae quality of common porgy (*Pagrus pagrus*, Linnaeus 1758). *Agriculture and Biology Journal of North America* 1(3), 175-184.
- Aegerter S., Jalabert B., (2004) Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 231, 59-71.
- Akatsu S., Al-Abdul-Elah K.M., Teng S.K. (1983) Effects of salinity and water temperature on the survival and growth of brown-spotted grouper larvae. (*Epinephelus tauvina* Serranidae). *Journal of the World Mariculture Society* 14, 624–635.
- Almansa E., Perez M.J., Cejas J.R., Badia 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.
- Atse C.B., Audet C., De La Nouee J. (2002) Effects of temperature and salinity on the reproductive success of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.): egg composition, milt characteristics and fry survival. *Aquaculture Research* 33, 299-309.
- Barazi-Yeroulanos L. (2010) Synthesis of Mediterranean marine finfish aquaculture - a marketing and promotion strategy. *Studies and reviews*, No. 88, FAO, Rome.
- Barbaro A., Francescon A., Bozzato G., Merlin A., Belvedere P., Colombo L. (1997) Induction of spawning in gilthead seabream, *Sparus aurata* L., by a long-acting GnRH agonist and its effects on egg quality and daily timing of spawning. *Aquaculture* 154, 349-359.
- Basurco B., Lovatelli A., García B. (2011) Current Status of Sparidae Aquaculture. In: Pavlidis M.A., Mylonas C.C. (eds). *Sparidae: Biology and Aquaculture of Gilthead Sea Bream and other Species*, Wiley-Blackwell, Oxford.

- Bell J.G., Farndale B.M., Bruce M.P., Navas J.M., Carillo M. (1997) Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid compositions of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 149, 107-119.
- Blom J.H., Dabrowski K. (1995) Reproductive success of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to graded dietary ascorbyl monophosphate levels. *Biology of Reproduction* 52, 1073-1080.
- Bonnet E., Fostier A., Bobe J. (2007) Microarray-based analysis of fish egg quality after natural or controlled ovulation. *BMC Genomics* 8,55.
- Bromage N.R., Cumaranatunga R. (1988) Egg production in the rainbow trout, in: Muir J.F., Roberts R., (eds.) *Recent Advances in Aquaculture*. London and Sydney: Croom Helm, pp. 63-138.
- Bromage N.R., 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.
- Bromage N.R., Bruce M., Basavaraja N., Rana K., Shields R., Young C., Dye J., Smith P., Gillespie M., Gamble J. (1994) Egg quality determinants in finfish: the role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 25, 13-21.
- Bromage N.R. (1995) Broodstock management and seed quality - general considerations. In: Bromage N.R., Roberts R.J. (Eds.) *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell, London, pp. 1-24.
- Bromage N.R., Porter M. and Randall C. (2001) The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture*, 197, 63-98.
- 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.P., Bromage N.R., Shields R.J. (1995) The effect of spawning temperature on egg viability in the Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). In: Goetz F.W., Thomas P., (eds.) *Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. Austin, Texas, USA, p. 181.

- Brown J.A., Minkoff G., Puvanendran V. (2003) Larviculture of Atlantic cod (*Gadus morhua*): progress, protocols and problems. *Aquaculture* 227, 357-372.
- Brown N.P., Shields R.J., Bromage N.R. (2006) The influence of water temperature on spawning patterns and egg quality in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* 261, 993-1002.
- Bruce M., Oyen F., Bell J.G., Asturiano J.F., Farndale B., Carillo M., Zanuy S., Ramos J., Bromage N.R. (1999) Development of broodstock diets for the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 highly unsaturated fatty acids to reproductive performance. *Aquaculture* 177, 85-97.
- Chabrol E., Charonnat R. (1937) Une nouvelle reaction pour l'etudes des lipides: L'oleidemie. *La Presse Médicale* 45, 1713.
- Chambers R.C., Waiwood K.G. (1996) Maternal and seasonal differences in egg sizes and spawning characteristics of captive Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53, 1986-2003.
- Carrillo M., Bromage N., Zanuy S., Serrano R., Prat F. (1989) The effect of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 81, 351-365.
- Cataudella S., Crosetti D., Marino G. (1995) The sea breams. In: Nash C.E., Navotny A.J. (Eds.) *Production of Aquatic Animals. Fishes*, Elsevier, Amsterdam.
- Campbell P.M., Pottinger T.G., Sumpter J.P. (1994) Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. *Aquaculture* 120, 151-169.
- Craik J.C.A. (1985) Egg quality and pigment content in salmonid fishes. *Aquaculture* 47, 61-88.
- Craik J.C.A., Harvey S.M. (1987) The causes of buoyancy of marine teleosts. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 67, 169-182.
- Dabrowski K., Blom J.H. (1994) Ascorbic acid deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs and survival of embryos. *Comparative Biochemistry and Physiology* 108, 129-135.

- Dayal J.S., Ali S., Thirunavukkarasu A.R., Kailasam M., Subburaj R., (2003) Nutrient and amino acid profiles of egg and larvae of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch). *Fish Physiology and Biochemistry* 29, 141-147.
- De Wolf T., Lenzi F., Moretti A. (2005) Zootechnical improvements in the larviculture of European marine fish. In: Hendry C.I., Vanstappen G., Wille M., Sorgeloos P. (eds.) *European Aquaculture Society, Special Publication*, pp. 119–120. 36, Oostende, Belgium.
- Dinis, M.T., 1982. Methods of incubation Dover sole (*Solea solea* L.) eggs. *Relatorios de Actividades do Aquario Vasco da Gama* 12, 8-9.
- Donaldson E.M., Hunter GM. (1983) Induced final maturation, ovulation, and spermiation in cultured fish. In: Hoar W.S., Randall D.J., Donaldson E.M. (eds) *Fish physiology*, Vol. 9B, Academic Press, New York, pp.351-403.
- Dubois M., Giles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. (1956) Colorimetric method of determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28, 350-356.
- Evans R.P., Parrish C.C., Brown J.A., Davis P.J. (1996) Biochemical composition of eggs from repeated and first-time spawning captive Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* 139, 139-149.
- Faulk C.K., Holt G.J. (2003) Lipid nutrition and feeding of cobia *Rachycentron canadum* larvae. *Journal of the World Aquaculture Society* 34, 368-378.
- Faulk C.K., Holt G.J. (2008) Biochemical composition and quality of captive-spawned cobia *Rachycentron canadum* eggs. *Aquaculture* 279, 70-76.
- Fauvel C., Omnes M.H., Suquet M., Normant Y. (1992) Enhancement of the production of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), larvae by controlling overripening in mature females. *Aquaculture and Fisheries Management* 23, 209-216.
- Fernandez-Palacios H., Izquierdo M., Robaina L., Valencia A., Salhi M., Montero D. (1997) The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 148, 233-246.
- Finn R.N. (2007) The physiology and toxicology of salmonid eggs and larvae in relation to water quality criteria. *Aquatic Toxicology* 81, 337-354.

- Fournier E. (2001) Colorimetric Quantification of Carbohydrates. In: Wrolstad R.E., Acree T.E., Decker E.A., Penner M.H., Reid S.D., Schwartz S.J., Shoemaker C.F., Smith D.M., Sporns P. (Eds.) Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc.
- Furuita H., Unuma T., Nomura K., Tanaka H., Okuzawa K., Sugita T., Yamamoto T. (2006) Lipid and fatty acid composition of eggs producing larvae with high survival rate in the Japanese eel. *Journal of Fish Biology* 69, 1178-1189.
- Fyhn H.J. (1989) First feeding of marine fish larvae - are free amino acids the source of energy? *Aquaculture* 80: 111 - 120.
- Giménez G., Estévez A., Lahnsteiner F., Zecevic B., Bell J.G., Henderson R.J., Piñera J.A., Sanchez-Prado J.A. (2006) Egg quality criteria in common dentex (*Dentex dentex*). *Aquaculture* 260, 232–243.
- Gracia-Lopez V., Kiewek-Martinez M., Maldonado-Garcia M. (2004) Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. *Aquaculture* 237, 485-498.
- Guisande C., Riveiro I., Sola A., Valdes L. (1998) Effect of biotic and abiotic factors on the biochemical composition of wild eggs and larvae of several fish species. *Marine Ecology Progress Series* 163, 53-61.
- Haga S., Uji S., Suzuki T. (2008) Evaluation of the effects of retinoids and carotenoids on egg quality using a microinjection system. *Aquaculture* 282, 111-116.
- Hansen T.K., Falk-Petersen I.B. (2001) The influence of rearing temperature on early development and growth of spotted wolffish *Anarhichas minor* (Olafsen). *Aquaculture Research*. 32, 369-378.
- Harel M., Tandler A., Kissil G.W., Applebaum S.W. (1994) The kinetics of nutrient incorporation into body tissues of gilthead seabream (*Sparus aurata*) females and the subsequent effects on egg composition and egg quality. *British Journal of Nutrition* 72, 45-58.
- Harel M., Tandler A., Kissil G.W., Applebaum S.W., (1995) The role of broodstock dietary protein in vitellogenin synthesis and oocyte development, and its effects on reproductive performance and egg quality in gilthead sea bream *Sparus aurata*. In: Goetz F.W., Thomas P., (eds.) Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, Austin, Texas.

- Hart P.R., Purser G.J., (1995) Effects of salinity and temperature on eggs and yolk sac larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862) Aquaculture 136, 221-230.
- Holliday F.G.T. (1969). The effects of salinity on the eggs and larvae of teleosts. In: Hoar W.S., Randall D.J. (Eds.) Fish Physiology, vol. 1. Academic Press, New York, pp. 293-311.
- Hsiao S.M., Greeley M.S., Wallace R.A. (1994) Reproductive cycling in female *Fundulus heteroclitus*. Biological Bulletin 186, 271-284.
- Izquierdo M.S., Fernandez-Palacios H., Tacon A.G.J. (2001) Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture 197, 25-42.
- Kamler E. (2005) Parent–egg–progeny relationships in teleost fishes: an energetics perspective. Reviews in Fish Biology and Fisheries 15, 399-421.
- Kinne O., Kinne E.M. (1961) Rates of development in embryos of a cyprinodont fish exposed to different temperature-salinity-oxygen combinations. Canadian Journal of Zoology 40, 231-253.
- Kjørsvik E., Stene A., Lønning S., (1984) Morphological, physiological and genetical studies of egg quality in cod (*Gadus morhua* L.). In: Dahl E., Danielssen D.S., Moksness E., Solemdal P. (Eds.) The Propagation of Cod *Gadus morhua* L. Flüdevigen Rapportserie, vol. 1, pp. 67-86.
- Kjørsvik E., Mangor-Jensen A., Holmefjord I., (1990) Egg quality in fishes. Advances in Marine Biology 26, 71-113.
- Kjørsvik E., (1994) Egg quality in wild and broodstock cod *Gadus morhua* L. Journal of World Aquaculture Society 25, 22–29.
- Kjørsvik E., Hoehne-Reitan K., Reitan K.I. (2003) Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Aquaculture 227, 9-20.
- Klimogianni A., Koumoundouros G. Kaspiris P., Kentouri M. (2004) Effect of temperature on the egg and yolk-sac larval development of common pandora, *Pagellus erythrinus*. Marine Biology 145, 1015-1022.
- Knight J.A., Anderson S., Rawle J.M. (1972) Chemical basis of the sulfo-phosphovanillin reaction for estimating total serum lipids. Clinical Chemistry 18, 199-202.

- Lahnsteiner F. (2006) Carbohydrate metabolism of vitellogenic follicles and eggs of *Serranus cabrilla* (Serranidae) and *Mullus barbatus* (Mullidae) and of embryos of *Sparus aurata* (Sparidae). *Fish Physiology and Biochemistry* 32, 131-139.
- Lahnsteiner F., Patarnello P. (2003) Investigations on the metabolism of viable and nonviable gilthead sea bream (*Sparus aurata*) eggs. *Aquaculture* 223, 159-174.
- Lahnsteiner F., Patarnello P. (2004a) Egg quality determination in the gilthead sea-bream, *Sparus aurata*, with biochemical parameters. *Aquaculture* 237, 443-459
- Lahnsteiner F., Patarnello P. (2004b) Biochemical egg quality determination in the gilthead seabream, *Sparus aurata*: reproducibility of the method and its application for sharpshout bream, *Puntazzo puntazzo*. *Aquaculture* 237, 433-442.
- Lahnsteiner F., Patarnello P. (2005) The shape of the lipid vesicle is a potential marker for egg quality determination in the gilthead seabream, *Sparus aurata*, and in the sharpshout seabream, *Diplodus puntazzo*. *Aquaculture* 246, 423-435.
- Lee C.S., Menu B. (1981) Effects of salinity on egg development and hatching in grey mullet (*Mugil cephalus*). *Journal of Fish Biology* 19, 179-188.
- Lowry O.H., Rosbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J., (1951) The determination of protein in biologic samples. *Journal of Biological Chemistry* 193, 265-275.
- Metcoff J., (1986) Intracellular amino acid levels as predictors of protein synthesis. *Journal of the American College of Nutrition* 5, 107-120.
- Miller M.A., (1993) Maternal transfer of organochlorine compounds in salmonines to their eggs. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50, 1405-1413.
- Moran A.L., McAlister J.S., (2009) Egg size as a life history character of marine invertebrates: is it all it's cracked up to be? *The Biological Bulletin* 216, 226-242.
- Moretti A., Fernandez-Criado M.P., Cittolin G., Guidastrì R., (1999) Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream. Volume 1, FAO, Rome.
- Monfort M.C., (2007) Marketing of aquacultured seabass and seabream from the Mediterranean basin. *Studies and Reviews*. No. 82, FAO, Rome.
- Murashige R., Bass P., Wallace L., Molnar A., Eastham B., Sato V., Tamaru C. and Lee C.S., (1991) The effect of salinity on the survival and growth of striped mullet (*Mugil cephalus*) larvae in the hatchery. *Aquaculture* 96, 249-254.
- Navot D., Drews M.R., Bergh P.A., Guzman I., Karstaedt A., Scott R.T., Garrisi G.J., Hofmann G.E. (1994) Age-related decline in female fertility is not due to dimin-

- ished capacity of the uterus to sustain embryo implantation. *Fertility and Sterility* 61, 97-101.
- Nævdal G., (1991) Broodstock development for Norwegian salmonid aquaculture. In: Cook R.H., Pennell W. (Eds.), *Proceedings of the special session on salmonid aquaculture: February 16, 1989, Los Angeles, USA/World Aquaculture Society*, vol. 1831. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences, pp. 93-106.
- Nguyen H.Q., Reinertsen H., Rustad T., Tran T.M., Kjørsvik E., (2011) Evaluation of egg quality in broodstock cobia *Rachycentron canadum* L. *Aquaculture Research* 2011, 1-15.
- Palace V.P., Werner J. (2006) Vitamins A and E in the maternal diet influence egg quality and early life stage development in fish: a review. In: Olivar M.P., Govoni J.J. (Eds.), *Recent Advances in the Study of Fish Eggs and Larvae*, vol. 70S2 (Supplement 2). Scientia Marina, Barcelona, Spain.
- Papadaki M., Papadopoulou M., Siggelaki I., Mylonas C. (2008) Egg and sperm production and quality of sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) in captivity. *Aquaculture* 276, 187-197.
- Paulsen H., Kjesbu O.S., Buehler V., Case R.A.J., Clemmesen C., Carvalho G., Hauser L., Hutchinson W.F., Moksness E., Ottera H., Thorsen A., Svasand T. (2009). Effects of egg size, parental origin and feeding conditions on growth of larval and juvenile cod *Gadus morhua*. *Journal of Fish Biology* 75, 516-537.
- Pauly D., Pullin R.S.V. (1988) Hatching time in spherical, pelagic marine fish eggs in response to temperature and egg size. *Environmental Biology of Fishes* 22, 261-271.
- Pavlov D.A., Moksness E. (1994) Production and quality of eggs obtained from wolf-fish (*Anarhichas lupus* L.) reared in captivity. *Aquaculture* 122, 295-312.
- Rigos G., Troisi M. (2005) Antibacterial agents in Mediterranean finfish farming: A synopsis of drug pharmacokinetics in important euryhaline fish species and possible environmental implications. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 15, 53-73.
- Rønnestad I., Robertson R.R., Fyhn H.J. (1996) Free amino acids and protein content in pelagic and demersal eggs of tropical marine fishes. In: MacKinlay D.D., El-

- dridge M. (Eds.), The Fish Egg. American Fisheries Society, Physiology Section, Bethesda.
- Sandnes K., Ulgenes Y., Braekkan O.R., Utne F. (1984) The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 43, 167-177.
- Sargent J.R. (1995) Origins and functions of lipids in fish eggs: nutritional implications. In: Bromage N.R., Roberts R.R. (Eds.), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell, Oxford, United Kingdom.
- Sawanboonchun J., Roy W.J, Robertson D.A., Bell G.J. (2008) The impact of dietary supplementation with astaxanthin on egg quality in Atlantic cod broodstock (*Gadus morhua*, L.). *Aquaculture* 283, 97-101.
- Shields R.J., Brown N.P., Bromage N.R. (1997) Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture* 155, 1-12.
- Shields R.J. (2001). Larviculture of marine finfish in Europe. *Aquaculture* 200, 55-88
- Sola L., Moretti A., Crosetti D., Karaiskou N., Magoulas A., Rossi A.R., Rye M., Triantafyllidis A., Tsigenopoulos C.S. (2007) Genetic effects of domestication, culture and breeding of fish and shellfish and their impacts on wild populations. Gilthead seabream - *Sparus aurata*. In: Svasand T., Crosetti D., Garcia-Vazquez E., Verspoor E. (eds.) *Genetic Impact of Aquaculture Activities on Native Populations*. Genimpact final scientific report.
- Swanson C. (1996) Early development of milkfish: effects of salinity on embryonic and larval metabolism, yolk absorption and growth. *Journal of Fish Biology* 48, 405-421.
- Tyler C.R., Sumpter J.P. (1996) Oocyte growth and development in teleosts. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 6, 287-318.
- Vogt G., Huber M., Thiemann M., Boogaart van den G., Schmitz O. J., Shubart C.D. (2008) Production of different phenotypes from the same genotype in the same environment by developmental variation. *The Journal of Experimental Biology* 211, 510-523.
- Watanabe T., Fujimura T., Lee M.J., Fukusho K., Satoh S., Takeuchi T. (1991) Effect of polar and non polar lipids from krill on quality of eggs of red seabream *Pagrus major*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57(4), 695-698.

- Watanabe T., Vassallo-Agius R. (2003) Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture* 227, 36-61.
- Wiechelman K., Braun R., Fitzpatrick J. (1988) Investigation of the bicinchoninic acid protein assay identification of the groups responsible for color formation. *Analytical Biochemistry* 175, 231-237.
- Wilson C., Crim L., Morgan M. (1995) The effects of stress on spawning performance and larval development in the Atlantic cod, *Gadus morhua* L. In: Goetz F.W., Thomas P. (eds.) *Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. Austin, Texas.
- Zar J.H. (1999) *Biostatistical analysis*, 4th Edition. Prentice Hall, New Jersey.
- IOBE (2011) Ιχθυοκαλλιέργειες. Κλαδική μελέτη Νο. 225. Ίδρυμα Οικονομικών & Βιομηχανικών ερευνών, Αθήνα.
- Κλημογιάννη Α. (2004) Μελέτη της οντογένεσης του λιθρινιού (*Pagellus erythrinus* L. 1758) και η επίδραση της θερμοκρασίας στα επιμέρους αναπτυξιακά στάδια σε συνθήκες εντατικής εκτροφής. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών.
- Κουμουνδούρος Γ. (1998) Οντογένεση της λειτουργικής μορφολογίας και κριτήρια ποιότητας των νυμφών και ιχθυδίων της συναγρίδας *Dentex dentex* (L.1758), σε συνθήκες εκτροφής. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Κρήτης.
- Παπουτσόγλου Σ.Ε. (2008) Διατροφή ιχθύων. Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα.
- ΣΕΘ (2011) Η Ελληνική ιχθυοκαλλιέργεια και τα προϊόντα της στην παγκόσμια αγορά. Σύνδεσμος Ελληνικών Θαλασσοκαλλιεργειών, Αθήνα.