



## New species for EU aquaculture

### Technisches Handbuch – Adlerfisch (*Argyrosomus regius*)

#### Zusammenfassung in deutscher Sprache



**Species Leader:** Alicia Estevez, (IRTA, Spain),

**Other Scientists participating:** Mylonas, Constantinos C.; Papandroulakis, Nikos; Papadakis, Ioannis, Katharios, Pantelis; Fountoulaki, Eleni (HCMR, Greece); Fauvel, Christian (IFREMER, France); Duncan, Neil; Andre, Karl; Roque, Ana; Guerrero, Ramos, Sandra; Sukllon, Milton; Fatsini, Elvira; Luis; Bou, Ricard (IRTA, Spain); Rodríguez, Covadonga; Perez, Jose (Universidad de La Laguna, Spain); Afonso, Juan Manuel; Montero, Daniel; Izquierdo, Marisol (FCPCT, Spain); Tacken Gemma (SWR/DLO, Netherlands); Fontanillas, Ramón, Rosenlund, Grethe (SARC, Norway); Robles, Rocio (CTAQUA, Spain).

Dissemination Leader: Dr Rocio Robles, CT AQUA, <mailto:r.robles@ctaqua.es>

Project Coordinator: Dr Constantinos C Mylonas, HCMR, [mylonas@hcmr.gr](mailto:mylonas@hcmr.gr)



**DIVERSIFY 2018**

## 1. Einleitung

Adlerfische kommen im Mittelmeer, Schwarzen Meer und an den Küsten des Ost-Atlantiks vor. Der Adlerfische ist auf Grund seiner Größe, des hohen Ertrags nach Verarbeitung, des niedrigen Fettgehalts, des Geschmacks und der festen Textur ein attraktiver Fisch für die Vermarktung. Die biologischen Eigenschaften (schnelles Wachstum von ~1 kg pro Jahr, gute Futtermittelverwertung, leichte Larvenaufzucht, etablierte Reproduktionsprotokolle) sprechen ebenfalls für die Haltung in Aquakultur. Seit der ersten erfolgreichen Nachzucht in Frankreich im Jahr 1997 hat sich die jährliche Produktion versiebenfacht (heute 7.280 t im Jahr).

Eine Umfrage unter Adlerfisch-Produzenten ergab, dass derzeit die folgenden vier Themen limitierend für eine Steigerung der Produktion sind: (1) Wachstumsschwankungen; (2) limitierter genetischer Ursprung der Elterntiere; (3) Fischgesundheit; (4) Sozioökonomie. Im DIVERSIFY-Projekt wurden diese Engpässe bearbeitet.



Abb. Adulter Adlerfisch

## 2. Reproduktion und Genetik

### 2.1 Bestimmung der genetischen Vielfalt in Laichfischbeständen des Adlerfischs

Die genetische Vielfalt ist Grundlage für gezielte Zuchtprogramme. Eine vorangegangene Studie hat unter Wildfischen mindestens zwei unterschiedliche genetische Gruppen ausfindig gemacht: eine atlantische und eine mediterrane. Im DIVERSIFY-Projekt wurden verfügbare Laichfischbestände in Forschungszentren und Universitäten auf die genetische Vielfalt hin untersucht (insg. 432 Laichtiere). Die Ergebnisse zeigten, dass die genetische Diversität der gehaltenen Bestände im Vergleich zu Wildbeständen gleich oder geringer ist. Sie eignen sich entsprechend für Zuchtprogramme, bestimmte Bestände müssen aber aufgestockt werden. Die effektive Größe der Adlerfisch-Zuchtgruppen liegt im Mittel bei 87.

### 2.2 Entwicklung eines Protokolls zur kreuzweisen Verpaarung während des spontanen Laichvorgangs

Die gezielte Verpaarung bestimmter Individuen ist der erste Schritt auf dem Weg zu einem Zuchtprogramm. Manche Arten laichen allerdings nicht paarweise und das Abstreifen gestaltet sich mitunter schwierig. Beim Adlerfisch wird in der Regel eine Hormontherapie zur Induktion des Laichens (spontan im Becken) angewendet. Daher war das Ziel dieser Studie, die Möglichkeit eines Protokolls zur gezielten Verpaarung zu untersuchen.

Zunächst wurden Brutpaare in Einzelhaltung überführt (~21 °C) und wiederholt mit GnRH $\alpha$  behandelt (wöchentlich). Die Tiere laichten spontan im Becken ab, die Eier wurden gesammelt und die Fekundität und der Befruchtungserfolg bestimmt. Eine Unterprobe befruchteter Eier wurde weiterverfolgt. Die mit GnRH $\alpha$  behandelten Weibchen laichten über 17 Wochen hinweg, meist am zweiten oder dritten Tag nach der Injektion. Die ersten Gelege (Tag 2 nach Behandlung) waren signifikant größer als die späteren. Der Befruchtungserfolg war generell hoch (meist >90%) und stand ebenso wie die beobachtete Embryonalentwicklung in keinem erkennbaren Zusammenhang zum Behandlungsprotokoll. In freier Wildbahn laichen Adlerfische von April bis Oktober (asynchrone Ovaentwicklung). Die Anzahl der Gelege ist allerdings nicht bekannt.

In einem weiteren Experiment wurde versucht, die Anzahl der Familien bei einer bestimmte Gruppe an Elterntieren zu optimieren. Vier Brutpaare wurden mit GnRH $\alpha$  behandelt (wöchentlich). Die Männchen wurden jede Woche mit einem anderen Weibchen zusammengesetzt (Rotation). Nach der ersten

Behandlung laichten alle Weibchen an drei aufeinanderfolgenden Tagen. Erst nach der dritten Behandlung zeigten sich Unterschiede. Zwei der Weibchen hatten keine vitellogenen Oozyten mehr. Die kumulative Fekundität und die Eiqualität unterschieden sich allerdings nicht zwischen den vier Weibchen. Der „Partnertausch“ hatte keinen merklichen Effekt auf die Reproduktion.

Als Folge der wiederholten Behandlung mit GnRHa sank zwar die Größe der aufeinanderfolgenden Gelege, aber die Befruchtungsratesowie die Eiqualität und -entwicklung blieben stabil. Für die Aquakultur könnte diese Unregelmäßigkeit ein Problem darstellen. Dennoch zeigte das Experiment, dass sich viele Familien aus einer limitierten Anzahl an Elterntieren erzeugen lassen (insg. 14 Familien mit > 200.000 Eier).

### 2.3 Beschreibung der Spermiencharakteristika und Methoden der Cryokonservierung

Die Qualitätseigenschaften von Spermia können durch Charakteristika wie Konzentration, Motilität und Fruchtbarkeit beschrieben werden. Spermien von Fischen werden erst nach der Ejakulation und dem Kontakt mit der Umgebung aktiviert. Die Bewegungsfähigkeit und Geschwindigkeit der Spermien nimmt im Anschluss rapide ab. Die Spermaqualität wird von einer Vielzahl von Faktoren (z. B. Stress, physiologische Parameter) beeinflusst. Es kann vorkommen, dass sich keine Spermien zum Zeitpunkt der Ovulation gewinnen lassen. Hier kann Cryokonservierung zur Lagerung helfen. Daher wurde ein Protokoll für diese Methode beim Adlerfisch getestet.

Der Versuch hat gezeigt, dass die hormonelle Induktion bei den Männchen zu Unterschieden in bestimmten Eigenschaften der Spermien führen (Dauer der anfänglichen Motilität, Geschwindigkeit). Nach erfolgter Lagerung konnten keine signifikanten Unterschiede in der Dauer der Motilität oder der anfänglichen Geschwindigkeit festgestellt werden. Die anfängliche Motilität war jedoch bei einer 24-h-Lagerung in Leibovitz signifikant verringert.

Die Spermiacharakteristika konnten für den Adlerfisch im Detail beschrieben werden. Auf Grund vorangegangener Studien wird geschlussfolgert, dass besonders die ersten 35 Sekunden nach Spermiaaktivierung für den Befruchtungserfolg des Adlerfisches entscheidend sind. Dies muss bei *In-vitro*-Befruchtungsprotokollen berücksichtigt werden. Die Eigenschaften des Spermias lassen sich mitunter durch die Hormonbehandlung verbessern (GnRHa).

### 2.4 Entwicklung eines Protokolls zur geplanten kreuzweisen Verpaarung *in vitro*

Das Abstreifen und künstliche Befruchten kann Zuchtprogramme vereinfachen. Weibchen wurden durch die Behandlung mit GnRHa zur Ovulation gebracht, die Eier abgestreift, *in vitro* befruchtet und die Eiqualität untersucht. Bei Männchen wurde ähnlich verfahren und die Spermaqualität bestimmt. 38 bis 39 Stunden nach der Hormonbehandlung war die Eiqualität optimal (18 °C), danach nahm sie ab. Die Spermien konnten ohne Qualitätsverlust für 7 h in Leibovitz Medium gelagert werden. Ein Zusammenhang zwischen Spermaqualität und Befruchtungserfolg konnte nicht festgestellt werden. Bei der *In-vitro*-Befruchtung wurden Eier, Sperma und Meerwasser gleichzeitig vermischt (200.000 Spermien pro Ei).



Abb. Abstreifen eines Adlerfisches

Es wurden zwei Gruppen zur Einteilung der Eier erstellt: geringe Qualität (< 20% Befruchtung) und hohe Qualität (> 60% Befruchtung). Die geringe Qualität wurde wahrscheinlich durch eine unvollständige Ovulation hervorgerufen. Die Eier ließen sich bei Raumtemperatur ohne allzu drastische Qualitätseinbußen für maximal 2 h lagern.

## 3. Ernährung

## Fortschritte in der Ernährung von Larven und Juvenilen

Trotz der intensiven Auseinandersetzung mit der Larvenaufzucht bleibt die Futterumstellung ein großes Problem. Die Ziele waren daher (1) die Umstellungsfuttermittel zu verbessern und (2) die Nahrungsbedürfnisse festzustellen um die Futterverwertung, das Wachstum und das Tierwohl zu steigern. Im Futtersuch konnte gezeigt werden, dass die Anwendung von 3% langkettigen Omega-3-Fettsäuren im Futter zu einem verbesserten Wachstum der Larven führt. Die Supplementierung von antioxidativen Vitaminen erhöhte das Wachstum signifikant (unabhängig von den Omega-3-Fettsäuren). Die weitere Untersuchung des Einflusses der Vitamine (A, K und D) im Futter und ein anschließender Stresstest zeigten, dass niedrige Vitamin-K-Level zu einem hohen Vorkommen von Granulomen führt (geringer bei Vitamin A oder D). Larven aus der Kontrollgruppe (Taurin-Diät) hatten keine Granulome.

Auf Basis dieser Erkenntnisse wurde ein weiterer Versuch mit der Supplementierung von Vitamin K unternommen. Eine Steigerung des diätischen Menadions (bis 17,3 mg Menadion pro kg Futter) führte zu einer verbesserten Überlebensrate. Deformationen verringerten sich mit steigendem Menadion-Gehalt im Futter. Hohe Dosen von Vitamin A und D können wiederum das Wachstum beeinträchtigen (Hypervitaminose).

Adlerfische waren in der Lage als Antwort auf unzureichende Mengen an essentiellen Fettsäuren bestimmte Fettsäuren (DHA, ARA) gezielt zu konservieren. Die Fingerlinge benötigen einen Anteil von 2,1% langkettiger Omega-3-Fettsäuren im Futter (Trockengewicht) mit insg. 16,5% Lipiden, 0,9 EPA/DHA und 0,4% ARA (Anteil an den gesamten Fettsäuren). Defizite in der Versorgung mit Omega-3-Fettsäuren führen zum verstärkten Auftreten von Granulomen. Krankhafte Veränderungen der Leber (Fettleber) wurden mit steigendem Gehalt dieser Fettsäuren seltener.

## 4. Larvenhaltung

Optimale Haltungsbedingungen für Larven

Die Protokolle zur Larvenaufzucht für Adlerfische basieren auf den Protokollen des Wolfsbarschs und der Dorade. Aufgrund biologischer Unterschiede müssen diese allerdings für den Adlerfisch optimiert werden. Besonders die Größenverteilung der Jungtiere ist ein Problem für kommerzielle Produzenten. Hier könnte besonders eine frühe Futterumstellung zur Verbesserung beitragen. Die Ergebnisse von Experimenten zeigten, dass sich Adlerfische frühzeitig an Trockenfutter gewöhnen lassen. Allerdings müssen gleichzeitig Maßnahmen zur Reduktion des Kannibalismus getroffen werden, um hohe Verluste zu vermeiden (häufige Fütterung, Entfernung dominanter Tiere, Größensortierung, Lichtsteuerung). Die Möglichkeit, externe Nahrung zu verdauen, wird u. a. durch die Aktivität von Verdauungsenzymen bestimmt. Beim Adlerfisch wurde herausgefunden, dass auf Grund dieser Aktivitäten und der daraus resultierenden Wachstumsleistungen eine Futterumstellung ab Tag 10–12 nach dem Schlupf zu früh ist. Die Larven scheinen zu diesem Zeitpunkt noch nicht in der Lage zu sein, die Proteine zu verdauen.



Abb. Größenunterschiede bei Larven des Adlerfischs

## 5. Mast

### 5.1 Methoden zur Vermeidung von Größenunterschieden bei juvenilen Adlerfischen

Wachstumsunterschiede führen zu unterschiedlichen Größen der Individuen und machen regelmäßiges Sortieren zur Vermeidung von Kannibalismus erforderlich. In einem Versuch wurde erforscht, ob die Wachstumsunterschiede genetisch bedingt sind und ob kleinere Fische die Größenunterschiede nach dem Sortieren ausgleichen können. Letzteres war nicht der Fall. Kleine Fische wuchsen im Schnitt stets langsamer als mittlere oder große Fische. Das Sortieren führte nicht zu einem Größenausgleich über die Zeit und auch im Anschluss an die Sortierung wuchsen die großen Fische im Vergleich schneller. Die Größenvariabilität war beim Adlerfisch deutlich ausgeprägt und diese Unterschiede scheinen genetisch bedingt zu sein. Es wird empfohlen, kleine Fische auszusortieren.

### 5.2 Der Einfluss der Netzgehetiefe und der Lichtintensität auf das Wachstum



**Abb.** Experimentelle Haltung des Adlerfisches in Netzgehegen

Die Mast in Netzgehegen wurde mit zwei verschiedenen Größenklassen (200- und 800-g-Fischen) untersucht. Die Tiefe der Netzgehege (5 oder 8 m) hatte keinen Einfluss auf die Wachstumsleistung. Signifikante Unterschiede wurden für die kleinere Größenklasse bei der Sterblichkeit und der Futterumsetzungsrate (FCR) beobachtet. In tieferen Käfigen waren die Verluste und die FCR geringer. Während der zweiten Wachstumsphase (ab 800 g) ergaben sich signifikante Unterschiede beim Plasma-Cortisol und Lactat (höhere Werte in flacheren Netzgehegen). In Bezug auf immunologische Parameter zeigten sich Unterschiede zwischen den kleineren und größeren Fischen (antibakterielle Abwehr) und diese werden mitunter von der Gehegetiefe beeinflusst. Eine finale Empfehlung zur

Tiefe kann in diesem Zusammenhang jedoch nicht ausgesprochen werden. Die Lichtintensität (Beschattung der Gehege) hatte ebenfalls keinen Einfluss auf das Wachstum.

### 5.3 Entwicklung einer Fütterungsmethode

Zur Optimierung der Fütterung wurden die folgenden Methoden getestet: (1) Resonanz auf verschiedene Stimuli (mechanisch, optisch etc.); (2) Unterschiede in den Futterperioden und der Futterverteilung; (3) Vergleich der automatischen und der nachfragegesteuerten Fütterung. In den Versuchen lernten die Fische schnell, die Stimuli mit der Fütterung zu assoziieren. Sie ließen sich auch kommerziell umsetzen (unter Berücksichtigung der anderen Haltungsparameter). Verschiedene Verteilungsmuster (Oberfläche, in der Wassersäule) erzeugten keinen Effekt. Die Fische wuchsen gleich schnell unter den verschiedenen experimentellen Haltungsbedingungen. Auch die Verteilung der Fische in der Wassersäule änderte sich nicht durch den Ort der Fütterung. Die letzte getestete Methodik (automatische gegen nachfragegesteuerte Fütterung) hatte ebenfalls keinen Effekt auf das Wachstum, die Futterverwertung oder die Größenverteilung. Auch das Verhalten der Fische änderte sich nicht.



## 6. Fischgesundheit

### 6.1 Systemische Granulomatose

Die Systemische Granulomatose (SG) betrifft den Großteil der Zuchtbestände des Adlerfischs. Die SG ist durch multiple Granulome in allen weichen Geweben charakterisiert, welche mit der Zeit kalzifizieren und nekrotisch werden. Die SG führt nicht zum Tod, hat aber Konsequenzen für das Wachstum, die Physiologie und schlussendlich für die Vermarktung der Fische. Die Ursache der Krankheit ist nicht bekannt. Es wird vermutet, dass sie auf bakterielle Pathogene (*Nocardia* spp.) oder Stoffwechselstörungen (Nährstoffmangel oder suboptimale Nahrungszusammensetzung) zurückgeführt werden kann. Äußerliche Veränderungen betroffener Tiere sind Abmagerung, Flossenschäden, einseitiges Erblinden oder Exophthalmie. Die Granulome treten besonders häufig in der Leber, der Niere und der Milz auf. In Quetschpräparaten lässt sich häufig ein „zwiebelartiges“ Erscheinungsbild feststellen, da die Granulome mit faserartigem Gewebe eingekapselt werden.

Durch ausgedehnte Analysen und Futtermittelversuche wurde versucht die Ursache für SG beim Adlerfisch zu ergründen. Nocardiose (hervorgerufen durch *Nocardia* spp.) kam zwar vor, war aber nicht der Auslöser für SG. Supplementierung mit Vitamin D<sub>3</sub>, Mn oder Se hatte ebenfalls keinen Effekt. Ein hoher P-Gehalt im Futter schien den Zustand zu verbessern, wohingegen Pflanzenproteine einen negativen Einfluss auf das Voranschreiten der SG hatten. Die antioxidativen Vitamine E und C erhöhten den Anteil der Fische mit weniger ernsthaften Fällen. Obwohl die Ursache für SG nicht abschließend geklärt werden konnte, liegt die Ursache anscheinend in Stoffwechselfaktoren begründet. Eine Fütterung mit hohem Fischmehlanteil (60%), viel P (15 g pro kg) und viel Vitamin E und C wird ab einem Fischgewicht von 2 g empfohlen.

### 6.2 Chronische Ulzerative Dermatopathie (CUD) beim Adlerfisch



**Abb.** Gesunder Adlerfisch (links) und Adlerfisch mit CUD (rechts).

Das Seitenlinienorgan von Fischen dient als mechanosensorisches System zur Erkennung von Druckunterschieden und Wasserbewegungen. Die Neuromasten detektieren Wasserbewegungen und befinden sich auf dem Kopf, dem Rumpf und dem Schwanz des Fische. Die Chronische Ulzerative Dermatopathie (CUD) betrifft diese Kanäle der Seitenlinie vieler gezüchteter Süß- und Salzwasserfische. Als Sekundärfolgen sinken das Wachstum und die Vermarktbarkeit. Die Sterblichkeit steigt. Der Adlerfisch ist anfällig gegenüber CUD. Entscheidend scheint die Wasserversorgung zu sein. So zeigten in einem Versuch sämtliche Fische bei Haltung in Wasser aus einem Bohrloch CUD. Nach Überführung der Fische in natürliches Meerwasser erholten sie sich. Die Ursache wurde zunächst im höheren CO<sub>2</sub>-Gehalt des Bohrlochwassers und folglich einem niedrigeren pH-Wert gesucht.

Dies konnte in einem Folgeversuch jedoch als Ursache ausgeschlossen werden. Alternativ könnten womöglich Schwermetalle CUD auslösen. Der Urheber von CUD konnte nicht abschließend bestimmt werden. Dem verwendeten Wasser kommt definitiv eine wichtige Bedeutung zu und dies sollte dringend bei der Aquakultur des Adlerfischs beachtet werden.

### 6.3 Probleme bei der Fischgesundheit und antiparasitäre Behandlungen

Die Fischgesundheit ist der limitierende Faktor bei der nachhaltigen Entwicklung der Aquakultur. Beim Adlerfisch wurde die Ontogenese des Immunsystems detailliert untersucht und festgestellt, dass die Tiere ab einem Alter von 86 Tagen nach dem Schlupf geimpft werden könnten. Die Expression von immunologischen Genen verändert sich besonders im Zusammenhang mit der Futterumstellung, denn diese Zeit bedeutet physiologischen Stress für die Larven. Das Immunsystem wird erstmals mit neuen Antigenen aus dem Futtermittel konfrontiert. In verschiedenen Challenge-Experimenten wurden die Fische mit Eiern von *Sciaenacotyle panceri*, einem Parasiten, beimpft. Zimtöl zeigte immunstimulierende Eigenschaften und insgesamt ein klares Potential, Parasitosen zu behandeln.

## 7. Markt, Verbraucherwahrnehmung, neue Produkte und Geschäftsmodelle

Die Marktanalyse in Frankreich, Deutschland, Italien, Spanien und dem Vereinigten Königreich hat gezeigt, dass die Positionierung von neuen Arten wie dem Adlerfisch neben den bereits vorhandenen Arten sehr schwierig ist. Der Adlerfisch ist weitgehend als Produkt aus der Fischerei bekannt. Händler sind unter den folgenden Umständen bereit, neue Arten aufzunehmen: Das Produkt muss nachhaltig sein; das Produkt muss frisch (Südeuropa) und gefroren (besonders Deutschland) verfügbar sein; das Produkt muss leicht zuzubereiten oder verzehrfertig sein; das Produkt muss wettbewerbsfähig sein (Preis).

In Kooperation mit Verbrauchern wurden für die Zielländer neue Fischprodukte entworfen. Insgesamt wurden 12 Produkte entworfen (3 vom Adlerfisch) und auf die technische Durchführbarkeit und die Haltbarkeit hin untersucht.



**Abb.** Verschiedene Produktideen zur Vermarktung des Adlerfisches (v. l. Fischsalat, Filet, Frikadelle)

Neue Fischarten müssen sorgfältig in den bestehenden Markt eingeführt werden. Verschiedene Parameter (Sensorik, Komposition, Textur und physische Eigenschaften) wurden zur Charakterisierung neuer Produkte herangezogen. Hinsichtlich der Komposition war der Fettgehalt ein wichtiges Merkmal sowie die „Härte“ im Bezug auf die physischen Eigenschaften. Der Adlerfisch wurde als saftig beschrieben. Die Akzeptanz neuer Produkte beim Verbraucher wird durch die Verfügbarkeit von Information beeinflusst. Der Adlerfisch wurde als verzehrfertiger Salat und als Frikadelle in Fischform präsentiert. Insgesamt erzielten weniger stark verarbeitete Produkte ein besseres Feedback bzw. eine höhere Akzeptanz.

### Ausgewählte Referenzen

- Alasalvar, C., Taylor, K.D., Zubcov, E., Shahidi, F., Alexis, M., 2002. Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. *Food Chem.* 79, 145–150.
- Baily, J.E., Bretherton, M.J., Gavine, F.M., Ferguson, H.W., Turnbull, J.F., 2005. The pathology of chronic erosive dermatopathy in Murray cod, *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell). *J. Fish Dis.* 28, 3–12. doi:10.1111/j.1365-2761.2004.00586.x
- Bennett, H.S., Wyrick, A.D., Lee, S.W., McNeil, J.H., 1976. Science and art in preparing tissues embedded in plastic for light microscopy, with special reference to glycol methacrylate, glass knives and simple

- stains. *Stain Technol.* 51, 71–97.
- Billard R. and Cosson M.P. 1992. Some Problems Related to the Assessment of Sperm Motility in Freshwater Fish. *J. EXP. ZOOL.* 261, 122-131.
- Bleckmann, H., Zelick, R., 2009. Lateral line system of fish. *Integr. Zool.* 4, 13–25.
- Bobe J., Labbé C. 2010. Egg and sperm quality in fish. *Gen Comp Endocrinol.* 165(3), 535-48.
- Cabrera, E., Robles, V., Cuñado, S., Wallace, J. C., Sarasquete, C., Herráez, M. P. 2005. Evaluation of gilthead sea bream, *Sparus aurata*, sperm quality after cryopreservation in 5 ml macrotubes. *Cryobiology*, 50, 273-284.
- Cabrera E., Robles V., Herráez P. 2009. Sperm quality assessment. *Methods in Reproductive Aquaculture, Marine and freshwater species* pp 93-147. Cabrera, E., Robles, V. and Herráez P. eds, CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton, London New York .
- Campoverde, C., D. J. Milne, A. Estevez, N. Duncan, C. J. Secombes, K. B. Andree (2017) Ontogeny and modulation after PAMPs stimulation of b-defensin, hepcidin, and piscidin antimicrobial peptides in meagre (*Argyrosomus regius*). *Fish & Shellfish Immunology*, 69: 200-210.
- Corrales, J., Ullal, A., Noga, E.J., 2009. Lateral line depigmentation (LLD) in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *J. Fish Dis.* 32, 705–712. doi:10.1111/j.1365-2761.2009.01069.x
- Christen R., Gatti J.L., Billard R. 1987. Trout sperm motility: The transient movement of trout sperm is related to changes in the concentration of ATP following the activation of the flagellar movement. *Eur J Biochem.* 166(3), 667-671.
- Cosson J. 2008. The motility apparatus of fish spermatozoa. *Fish spermatology.* Alpha Science International Ltd Oxford (Alavi S.M.H., Cosson J., Coward K. and Rafiee G. eds) pp 281-316.
- Dagamseh, A., Wiegerink, R., Lammerink, T., Krijnen, G., 2013. Imaging dipole flow sources using an artificial lateral-line system made of biomimetic hair flow sensors. *J. R. Soc Interface* 10, 1–9.
- Dreanno C., Suquet M., Fauvel C., Le Coz J.R., Dorange G., Quémener L. & Billard R. 1999. Effect of aging process on the quality of seabass (*Dicentrarchus labrax*) semen. *Journal of Applied Ichthyology* 15, 176-180.
- Duncan, N., Estévez, A., Porta, J., Carazo, I., Norambuena, F., Aguilera, C., Gairin, I., Bucci, F., Valles, R., Mylonas, C., 2012. Reproductive development, GnRH $\alpha$ -induced spawning and egg quality of wild meagre (*Argyrosomus regius*) acclimatised to captivity. *Fish Physiol Biochem* 38, 1273–1286.
- Duncan, N.J., Estévez, A., Fernández-Palacios, H., Gairin, I., Hernández-Cruz, C.M., Roo, F.J., Schuchardt, D., Vallés, R., 2013. Aquaculture production of meagre (*Argyrosomus regius*): hatchery techniques, ongrowing and market, in: Allan, G., Burnell, G. (Eds.), *Advances in Aquaculture Hatchery Technology.* Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, pp. 519-541.
- Durán, J., Pastor, E., Grau, A., Massuti-Pascual, E., Valencia, J.M., Gil, M.M. 2009. Total replacing or Artemia by an artificial diet in larval rearing feeding protocol of meagre (*Argyrosomus regius*, Asso, 1801). *Aquaculture Europe, Trondheim August 14-17, 2009.* EAS Spec. Publi, 38.
- Eisler, R., Gardner, G.R., 1973. Acute toxicology to an estuarine teleost of mixtures of cadmium, copper and zinc salts. *J. Fish Biol.* 5, 131–142.
- Elkesh, A., K P L Kantham, A P Shinn, M Crumlish and R H Richards (2012) Systemic nocardiosis in a Mediterranean population of cultured meagre, *Argyrosomus regius* Asso (Perciformes: Sciaenidae). *J. Fish Dis.* Pp. 1-9, doi:10.1111/jfd.12015
- Falconer, D.S., Mackay, T.F.C. 2001. *Introduction to Quantitative Genetics.* Prentice Hall, Toronto, ON.
- FAO, 2012. [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Argyrosomus\\_regius/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Argyrosomus_regius/en).
- FAO, 2012. *The State of World Fisheries and Aquaculture: 2012.* Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Fauvel C., Boryshpolets S., Cosson J., Wilson Leedy J. G., Labbé C., Haffray P., Suquet M. 2012. Improvement of chilled seabass sperm conservation using a cell culture medium. *Journal of applied Ichthyology*, 28 (6), 961-966.
- Gallego V., Pérez L., Asturiano J.F., Yoshida M. 2013. Relationship between spermatozoa motility parameters, sperm/egg ratio, and fertilization and hatching rates in pufferfish (*Takifugu niphobles*). *Aquaculture*, 416-417, 238-243.



- Gil, M.D.M., Grau, A., Basilone, G., Ferreri, R., Palmer, M., 2013. Reproductive strategies and fecundity of meagre *Argyrosomus regius* Asso, 1801 (Pisces: Sciaenidae): implications for restocking programs. *Scientia Marina* 77, 105-118.
- González-Quirós, R., del Árbol, J., García-Pacheco, M., Silva-García, J., Naranjo, J.M., Morales-Nin, B., 2011. Life-history of the meagre *Argyrosomus regius* in the Gulf of Cadiz (SW Iberian Peninsula). *Fisheries Research* 109, 140-149.
- Gorshkov S, Gordin H, Gorshkova G, Knibb W, 1997. Reproductive constraints for family selection of the gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Isr J Aquacult-Bamid* 49: 124–134.
- Haffray, P., Malha, R., Sidi, M.O.T., Prista, N., Hassan, M., Castelnaud, G., Karahan-Nomm, B., Gamsiz, K., Sadek, S., Bruant, J.S., Balma, P., Bonhomme, F., 2012. Very high genetic fragmentation in a large marine fish, the meagre *Argyrosomus regius* (Sciaenidae, Perciformes): impact of reproductive migration, oceanographic barriers and ecological factors. *Aquatic Living Resources* 25, 173-183.
- Haffray, P., Mahlab, R., Bruant, J-S., Ricouxd, R. 2014. Genetic variability of french broodstocks of the meagre (*Argyrosomus regius*) compared to wild populations. *AE2014*, 538-539.
- Hamre, K., Yufera, M., Ronnestad, I., Boglione, C., Conceicao, L.E.C., Izquierdo, M.S., 2013. Fish larval nutrition and feed formulation knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing. *Reviews in Aquaculture* 5, 526–558.
- Izquierdo M.S. (1996) Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition* 2, 183-191
- Izquierdo, M.S., Koven, W.M., 2011. Lipids. In: *Larval Fish Nutrition* (Holt, J. ed.), pp. 47–82. Wiley-Blackwell, John Wiley and Sons Publisher Editor, Oxford, UK.
- Kalantzi, I., Black, K.D., Pergantis, S.A., Shimmield, T.M., Papageorgiou, N., Sevastou, K., Karakassis, I., 2013. Metals and other elements in tissues of wild fish from fish farms and comparison with farmed species in sites with oxic and anoxic sediments. *Food Chem.* 141, 680–694.
- Kalantzi, I., Pergantis, S.A., Black, K.D., Shimmield, T.M., Papageorgiou, N., Tsapakis, M., Karakassis, I., 2016. Metals in tissues of seabass and seabream reared in sites with oxic and anoxic substrata and risk assessment for consumers. *Food Chem.* 194, 659–670.
- Katharios, P., Papadaki, M., Ternengo, S., Kantham, P.K., Zeri, C., Petraki, P.E., Divanach, P., 2011. Chronic ulcerative dermatopathy in cultured marine fishes. Comparative study in sharpsnout sea bream, *Diplodus puntazzo* (Walbaum). *J. Fish Dis.* 34, 459–474
- Kime D. E., Van Look K. J., McAllister B. G., Huyskens G., Rurangwa E., Ollevier F. 2001. Computer assisted sperm analysis (CASA) as a tool for monitoring sperm quality in fish. *Comp. Biochem. physiol.* 130, 425-433.
- Manousaki, T., Tsakogiannis, A., Lagnel, J., Kyriakis, D., Duncan, N., Estevez, A., Tsigenopoulos, C.S., 2018. Muscle and liver transcriptome characterization and genetic marker discovery in the farmed meagre, *Argyrosomus regius*. *Mar Genomics* 39, 39-44.
- Merella, Paolo, Santino Cherchi, Giovanni Garippa, Maria Letizia Fioravanti, Andrea Gustinelli, Fulvio Salati (2009) Outbreak of *Sciaenacotyle panzeri* (Monogenea) on cage-reared meagre *Argyrosomus regius* (Osteichthyes) from the western Mediterranean Sea *Dis Aquat Org* Vol. 86: 169–173, 2009 doi: 10.3354/dao02115
- Milne, D.J., C. Campoverde, K.B. Andree, X. Chen, J. Zou, C.J. Secombes (2018) The discovery and comparative expression analysis of three distinct type I interferons in the perciform fish, meagre (*Argyrosomus regius*). *Developmental and Comparative Immunology*, 84: 123e132
- Milne, D.J., C. Campoverde, K.B. Andree, J. Zou, C.J. Secombes (2017) Two types of TNF $\alpha$  in meagre (*Argyrosomus regius*): Discovery, distribution and expression modulation. *Molecular Immunology*, 92: 136–145.
- Monfort, M.C., 2010. Present market situation and prospects of meagre (*Argyrosomus regius*), as an emerging species in Mediterranean aquaculture, *Studies and Reviews. General Fisheries Commission for the Mediterranean* No. 89. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, pp. 28.
- Muchlisin Z. A. 2005. Review: Current status of extenders and cryoprotectants on fish spermatozoa cryopreservation. *Biodiversitas*, 6, 12-15.

- Mylonas, C.C., Sigelaki, I., Divanach, P., Mananos, E., Carrillo, M., Afonso-Polyviou, A., 2003. Multiple spawning and egg quality of individual European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) females after repeated injections of GnRH $\alpha$ . *Aquaculture* 221, 605-620.
- Mylonas C, Zohar Y, Pankhurst N, Kagawa H, 2011. Reproduction and broodstock management, In: Sparidae: Biology and aquaculture of Gilthead Seabream and others species (Pavlidis MA, Mylonas CC, eds). Wiley-Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK, pp 95-121.
- Mylonas, C.C., Mitrizakis, N., Castaldo, C.A., Cerviño, C.P., Papadaki, M., Sigelaki, I., 2013a. Reproduction of hatchery-produced meagre *Argyrosomus regius* in captivity II. Hormonal induction of spawning and monitoring of spawning kinetics, egg production and egg quality. *Aquaculture* 414–415, 318-327.
- Mylonas, C.C., Mitrizakis, N., Papadaki, M., Sigelaki, I., 2013b. Reproduction of hatchery-produced meagre *Argyrosomus regius* in captivity I. Description of the annual reproductive cycle. *Aquaculture* 414-415, 309-317.
- Mylonas, C.C., Fatira, E., Karkut, P., Sigelaki, I., Papadaki, M., Duncan, N., 2015. Reproduction of hatchery-produced meagre *Argyrosomus regius* in captivity III. Comparison between GnRH $\alpha$  implants and injections on spawning kinetics and egg/larval performance parameters. *Aquaculture* 448, 44-53.
- Mylonas, C.C., Salone, S., Biglino, T., de Mello, P.H., Fakriadis, I., Sigelaki, I., Duncan, N., 2016. Enhancement of oogenesis/spermatogenesis in meagre *Argyrosomus regius* using a combination of temperature control and GnRH $\alpha$  treatments. *Aquaculture* 464, 323-330.
- Pankhurst NW, 1998. Reproduction. In: *Biology of Farmed Fish* (Black K, Pickering AD, eds). Sheffield Academic Press, Sheffield, UK, pp 1-26.
- Papadakis, I., Kentouri, M., Divanach, P., Mylonas, C.C., 2013. Ontogeny of the digestive system of meagre *Argyrosomus regius* reared in a mesocosm, and quantitative changes of lipids in the liver from hatching to juveniles. *Aquaculture* 388-391, 76-88.
- Person-Le Ruyet, J., 1990. Early weaning of marine fish larvae. onto microdiets: constraints and perspectives. In: *Advances in Tropical Aquaculture* (Barret, J. ed.), pp. 625–642. IFREMER, Actes de Colloque 9. Tahiti, French Polynesia.
- Person-Le-Ruyet, J., Alexandre, J.C., Thébaud, L. and Mugnier, C., 1993. Marine fish larvae feeding: Formulated diets or live prey?. *J. World Aquacult. Soc.*, 24: 211–224
- Renshaw M.A., Saillant E., Bradfield C.S., Gold J., 2006. 10 Microsatellite multiplex panels for genetic studies of three species of marine fishes: red drum (*Scianops ocellatus*), red snapper (*Lutjanus campechanus*), and cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 253, 731–735.
- Rigos, G., Katharios, P., 2010. Pathological obstacles of newly-introduced fish species in Mediterranean mariculture: A review. *Rev. Fish Biol. Fish.* 20, 47–70.
- Roo, J., Hernandez-Cruz, C.M., Borrero, C., Schuchardt, D., Fernandez-Palacios, H., 2010. Effect of larval density and feeding sequence on meagre (*Argyrosomus regius*; Asso, 1801) larval rearing. *Aquaculture* 302, 82- 88.
- Rurangwa E., Kime D. E., Ollevier F., Nash J. P. 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, 234, 1-28.
- Saillant, E., Chatain, B., Fostier, A., Przybyla, C., Fauvel, C., 2001. Parental influence on early development in the European sea bass. *Journal of Fish Biology* 58.
- Schultz, A.G., Healy, J.M., Jones, P.J., Toop, T., 2008. Osmoregulatory balance in Murray cod, *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell), affected with chronic ulcerative dermatopathy. *Aquaculture* 280, 45–52.
- Schultz, A.G., Jones, P.L., Toop, T., 2014. Rodlet cells in Murray cod, *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell), affected with chronic ulcerative dermatopathy. *J. Fish Dis.* 37, 219–228. doi:10.1111/jfd.12099
- Schultz, A.G., Shigdar, S.L., Jones, P.L., Ward, A.C., Toop, T., 2011. Groundwater pre-treatment prevents the onset of chronic ulcerative dermatopathy in juvenile Murray cod, *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell). *Aquaculture* 312, 19–25. doi:10.1016/j.aquaculture.2010.12.013

- Schiavone R., Zilli L., Storelli C., Vilella S. 2012. Changes in hormonal profile, gonads and sperm quality of *Argyrosomus regius* (Pisces, Scianidae) during the first sexual differentiation and maturation. *Theriogenology*, 77 (5), 888-898.
- Soares, F., A. Roque, P. J. Gavaia (2018) Review of the principal diseases affecting cultured meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture Research*.49:1373–1382.
- Stoss J and Holtz W.1983. Successful storage of chilled rainbow trout (*Salmo gairdnerii*) spermatozoa for up to 34 days. *Aquaculture* 31, 269.
- Suzer, C., Kamaci, H.O., Coban, D., Firat, K., Saka, S., 2013. Functional changes in digestive enzyme activities of meagre (*Argyrosomus regius*, Asso, 2801) during early ontogeny. *Fish Physiol. Biochem.*, 39: 967-977
- Tarby, M.L., Webb, J.F., 2003. Development of the supraorbital and mandibular lateral line canals in the cichlid, *Archocentrus nigrofasciatus*. *J. Morphol.* 255, 44–57. doi:10.1002/jmor.10045
- Udagawa, M. 2001 The effect of dietary vitamin K (phylloquinone and menadione) levels on the vertebral formation in mummichog *Fundulus heteroclitus*. *Fisheries Science*, 67: 104–109
- Vallés, R. and Estevez, A., 2013. Light conditions for larval rearing of meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture*, 376-379: 15-19
- Vallés, R. and Estevez, A., 2015. Effect of different enrichment products rich in docosahexaenoic acid on growth and survival of meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). *Journal of the World Aquaculture Society*, 42: 191-200
- Wada, H., Iwasaki, M., Kawakami, K., 2014. Development of the lateral line canal system through a bone remodeling process in zebrafish. *Dev. Biol.* 392, 1–14.
- Webb, J.F., 1989. Neuromast morphology and lateral line trunk canal ontogeny in two species of cichlids: an SEM study. *J. Morphol.* 202, 53–68. doi:10.1002/jmor.1052020105
- Webb, J.F., Shirey, J.E., 2003. Postembryonic Development of the Cranial Lateral Line Canals and Neuromasts in Zebrafish. *Dev. Dyn.* 228, 370–385. doi:10.1002/dvdy.10385
- Zotos, A., Vouzanidou, M., 2012. Seasonal changes in composition, fatty acid, cholesterol and mineral content of six highly commercial fish species of Greece. *Food Sci. Technol. Int.* 18, 139–49.



Co-funded by the Seventh  
Framework Programme  
of the European Union



This 5-year-long project (2013-2018) has received funding from the European Union’s Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration (KBBE-2013-07 single stage, GA 603121, DIVERSIFY). The consortium includes 38 partners from 12 European countries –including 9 SMEs, 2 Large Enterprises, 5 professional associations and 1 Consumer NGO- and is coordinated by the Hellenic Center for Marine Research, Greece. Further information may be obtained from the project site at “[www.diversifyfish.eu](http://www.diversifyfish.eu)”.