

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Επίδραση της αντικατάστασης του ιχθυελαίου και του ιχθυαλεύρου
από μίγματα των μικροφυκών *Schizochytrium sp.*, *Microchloropsis*
gaditana και *Phaeodactylum tricornutum* στην ανάπτυξη της
τσιπούρας (*Sparus aurata*)**

ΔΕΛΙΟΠΟΥΛΟΣ ΑΝΤΩΝΙΟΣ

ΒΟΛΟΣ 2023

<<Επίδραση της αντικατάστασης του ιχθυελαίου και του ιχθυαλεύρου από μίγματα των μικροφυκών *Schizochytrium* sp., *Microchloropsis* *gaditana* και *Phaeodactylum* *tricornutum* στην ανάπτυξη της τσιπούρας (*Sparus aurata*)>>

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :

- 1) Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης, Αναπληρωτής καθηγητής, Διατροφή Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιβλέπων,
- 2) Παναγιώτα Παναγιωτάκη, Καθηγήτρια, Υδατοκαλλιέργειες, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος
- 3) Ελένη Γκολομάζου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Προστασία-Ευζωία Ιχθύων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω εις πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Θα ήθελα εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κ. Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη για την πολύτιμη βοήθειά του και για τη διαρκή υποστήριξή του, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος, όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου, αποτελούμενη από την κα. Παναγιώτα Παναγιωτάκη και την κ.α. Ελένη Γκολομάζου.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους υποψήφιους διδάκτορες Ελίνα Γκαλογιάννη, Πιερ Ψωφάκη και Μαντώ Ασημάκη για την άμεση και ανιδιοτελή προσφορά τους, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Θα ήθελα να ευχαριστήσω την Κατερίνα Κατούνη για τη όλη βοήθεια της κατά τη διάρκεια του πειράματος. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένεια μου και στους δικούς μου ανθρώπους για την αμέριστη συμπαράσταση.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εξαιτίας της συνεχούς αύξησης του ανθρώπινου πληθυσμού και της στασιμότητας της παγκόσμιας αλιευτικής παραγωγής, η υδατοκαλλιέργεια γίνεται ο βασικότερος τομέας για την ανάπτυξη της παγκόσμιας παραγωγής ψαριών. Η βασική πηγή λίπους στα σιτηρέσια των εκτρεφόμενων ψαριών είναι το ιχθυέλαιο που προέρχεται από την επεξεργασία διάφορων ιχθύων, πολλά από τα οποία είναι υπεραλιευμένα. Η βιομηχανία παραγωγής ιχθυοτροφών εξαρτάται έντονα από τα ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια. Λόγω όμως της αλόγιστης χρήσης των αποθεμάτων του και καθώς η παραγωγή τους μένει στάσιμη, η τιμή τους συνεχώς αυξάνεται με αποτέλεσμα και το κόστος παραγωγής των ιχθυοκαλλιεργειών.

Πολλά μικροφύκη διαθέτουν υψηλά ποσοστά EPA, ενώ αρκετά μικροφύκη διαθέτουν υψηλή ποσότητα DHA. Τα μικροφύκη, ανάλογα το είδος, μπορεί να περιέχουν υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης. Τα μικροφύκη αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη λύση για την υποκατάσταση και την αντικατάσταση των ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων. Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου από μίγματα των μικροφυκών *Schizochytrium sp.*, *Microchloropsis gaditana* και *Phaeodactylum tricornutum* στην ανάπτυξη και επιβίωση της τσιπούρας

Ιχθύδια τσιπούρας (*Sparus aurata*), με αρχικό μέσο βάρος $8,71 \pm 0,1g$, μεταφέρθηκαν σε 9 δεξαμενές κλειστού συστήματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού.

Η θερμοκρασία διατηρούνταν σε όλη τη διάρκεια του πειράματος στους 21°C, το pH στο $8,00 \pm 0,4$ και η αλατότητα στο $30 \pm 0,5\%$. Τα ιχθύδια χωρίστηκαν σε 3 διατροφικές ομάδες (27 άτομα/δεξαμενή, 3 δεξαμενές ανά διατροφική ομάδα), στις οποίες χορηγήθηκαν 3 διαφορετικά σιτηρέσια, 2 φορές καθημερινά με το χέρι μέχρι κορεσμού για 55 ημέρες. Η τροφή του μάρτυρα (Basal) περιείχε ιχθυέλαιο σε επίπεδο 80 g/Kg τροφής και ιχθυάλευρο 250 g/Kg, ενώ στο σιτηρέσιο SM πραγματοποιήθηκε αντικατάσταση του ιχθυελαίου κατά 50% και αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου κατά 18,9% από μίγμα του *Schizochytrium sp.* με το *M. gaditana*. Στο σιτηρέσιο SP πραγματοποιήθηκε αντικατάσταση του ιχθυελαίου κατά 50% και αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου κατά 26,8% από μίγμα μικροφυκών *Schizochytrium sp.* με το *P. tricornutum*.

Το σιτηρέσιο που είχε τα μικροφύκη *Schizochytrium sp.* και *M. gaditana* δεν επηρέασε την επιβίωση και τις παραμέτρους ανάπτυξης των ιχθύων, καθώς και τις παραμέτρους αξιοποίησης της τροφής σε σχέση με το σιτηρέσιο του μάρτυρα. Αντίθετα, το σιτηρέσιο που είχε τα μικροφύκη *Schizochytrium sp.* και *P. tricornutum* είχε μειωμένες τιμές σε σχέση με τις άλλες δύο ομάδες στις παραμέτρους ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής χωρίς, ωστόσο, να έχει επηρεαστεί η επιβίωση. Αυτό οφείλεται στην χαμηλότερη αποτελεσματικότητα του μικροφύκου *P. tricornutum* συγκριτικά με το μικροφύκος *M. gaditana*. Ωστόσο, απαιτείται να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες στο μέλλον για την μελέτη εκτροφής της τσιπούρας με διάφορα μικροφύκη και σε διαφορετικά ποσοστά υποκατάστασης.

Λέξεις-κλειδιά: *S. aurata*, αντικατάσταση ιχθυάλευρου και ιχθυελαίου, *Schizochytrium sp.*, *M. gaditana*, *P. tricornutum*, EPA, DHA

Abstract

Due to the increase of the human population and the stagnation of the global fisheries production, aquaculture is becoming the main sector for the development of global fish production. The main source of fat in the diets of farmed fish is fish oil that comes from the processing of various fish, many of which are overfished. The fish feed industry is heavily dependent on fishmeals and fish oils. However, due to the thoughtless use of its stocks and as their production stagnates, their price constantly increases, resulting in the cost of production of fish farms.

Many microalgae have high levels of EPA, while many microalgae have a high amount of DHA. Microalgae, depending on the species, may contain high levels of protein. Microalgae are a very promising solution for the substitution and the replacement of fishmeals and fish oils. The aim of this study was the replacement of fishmeal and fish oil by blends of the microalgae *Schizochytrium* sp., *M. gaditana* and *P. tricornutum* in the growth and survival of gilthead seabream.

Juveniles of gilthead seabream (*S. aurata*), with initial weight 8.71 ± 0.1 g, were transferred in 9 aquariums of closed seawater circulation system. In the whole duration of the experiment, the temperature was 21°C, the pH was 8.00 ± 0.4 and the salinity was 30 ± 0.5 ‰. The juveniles were separated into three nutritional groups (27 fish/aquarium, 3 aquariums/nutritional group), to which 3 different diets were administered, 2 times daily by hand until satiety for 55 days. The control feed (Basal) contained fish oil at a level of 80 g/Kg of food and fishmeal at a level of 250 g/Kg, while the SM feed was replaced by 50% fish oil and 18.9% fishmeal by a mixture of *Schizochytrium* sp. with *M. gaditana*. A 50% replacement of fish oil and a 26,8%

replacement of fishmeal by a mixture of *Schizochytrium sp.* microalgae was carried out in the SP feed with *P. tricornutum*.

The diet that had the microalgae *Schizochytrium sp.* and *M. gaditana* did not affect the survival and growth parameters of the fish, as well as feed utilization parameters relative to the control diet. In contrast, the diet that had the microalgae *Schizochytrium sp.* and *P. tricornutum* had decreased values relative to the other two groups in the parameters of growth and food utilization without, however, affecting survival. This is due to the lower efficiency of microalgae *P. tricornutum* compared to microalgae *M. gaditana*. However, further research is needed in the future to study the rearing of gilthead seabream with various microalgae and at different substitution rates.

Key words: *S. aurata*, replacement of fish meal and fish oil, *Schizochytrium sp.*, *M. gaditana*, *P. tricornutum*, EPA, DHA.

Περιεχόμενα

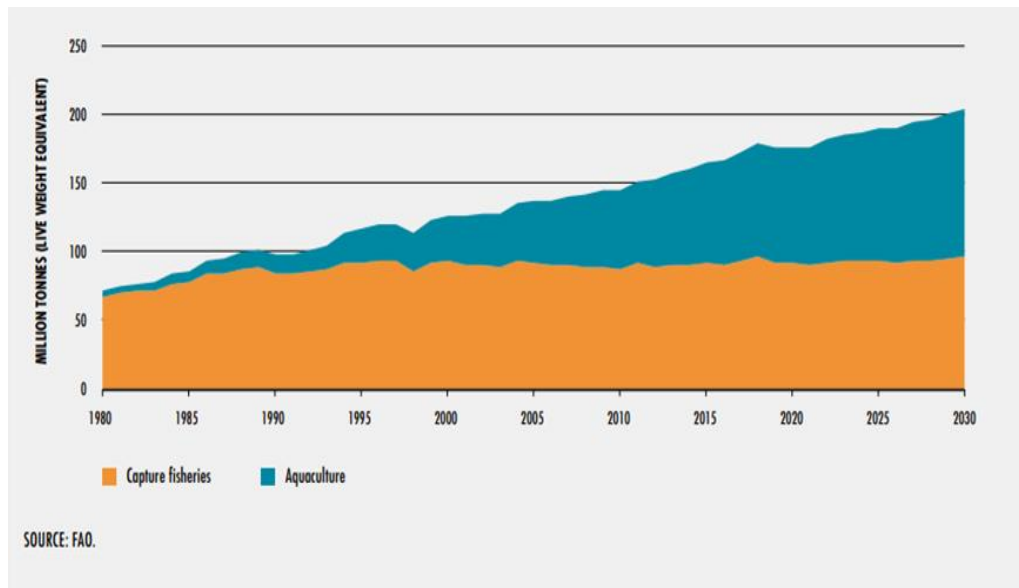
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1 Η αναγκαιότητα της υποκατάστασης ιχθυελαίου και ιχθυαλεύρου στις ιχθυοτροφές	10
1.2 Η χρήση των μικροφυκών στις ιχθυοτροφές	13
1.2.1. Το γένος <i>Schizochytrium</i> sp.....	14
1.2.2. Το γένος <i>Microchloropsis</i> sp.....	17
1.2.3. Το γένος <i>Phaeodactylum</i> sp.....	19
1.3 Βιολογία και εκτροφή της τσιπούρας (<i>Sparus aurata</i>)	20
1.4 Σκοπός	22
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	24
2.1 Αναλύσεις θρεπτικής	24
2.1.1 Προσδιορισμός υγρασίας/ξηρής ουσίας.....	24
2.1.2. Προσδιορισμός τέφρας.....	24
2.1.3. Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών	25
2.1.4. Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ουσιών	27
2.1.5. Προσδιορισμός θερμιδικής αξίας.....	29
2.2 Καταρτισμός σιτηρεσίων	30
2.3 Πειραματικός σχεδιασμός	34
2.3 Δειγματοληψίες	36
2.4 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής	36
2.4.1. Επιβίωση	36
2.4.2. Αύξηση ολικού βάρους ψαριών.....	36
2.4.3. Κατανάλωση τροφής (g/ψάρι).....	37
2.4.4. Κατανάλωση τροφής (% Σ.Β. / ημέρα)	37
2.4.5. Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης.....	37
2.4.6. Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής	38
2.4.7. Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών	38
2.4.8. Συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης.....	38
2.4.9. Συντελεστής διατήρησης λίπους.....	39
2.6 Στατιστική ανάλυση	39
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	40
3.1. Κατά την έναρξη του πειράματος	40
3.2. Αύξηση σωματικού την 56η ημέρα (ολοκλήρωση του πειράματος)	40

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	43
4.1. Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου από μίγμα μικροφυκών <i>Schizochytrium</i> sp. και <i>M. gaditana</i>.....	43
4.2 Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου από μίγμα μικροφυκών <i>Schizochytrium</i> sp. και <i>P. tricornutum</i>.	44
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	47
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	48
6.1 Ξένη Βιβλιογραφία.....	48
6.2. Ελληνική βιβλιογραφία.....	58
6.3. Ηλεκτρονική βιβλιογραφία	59

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

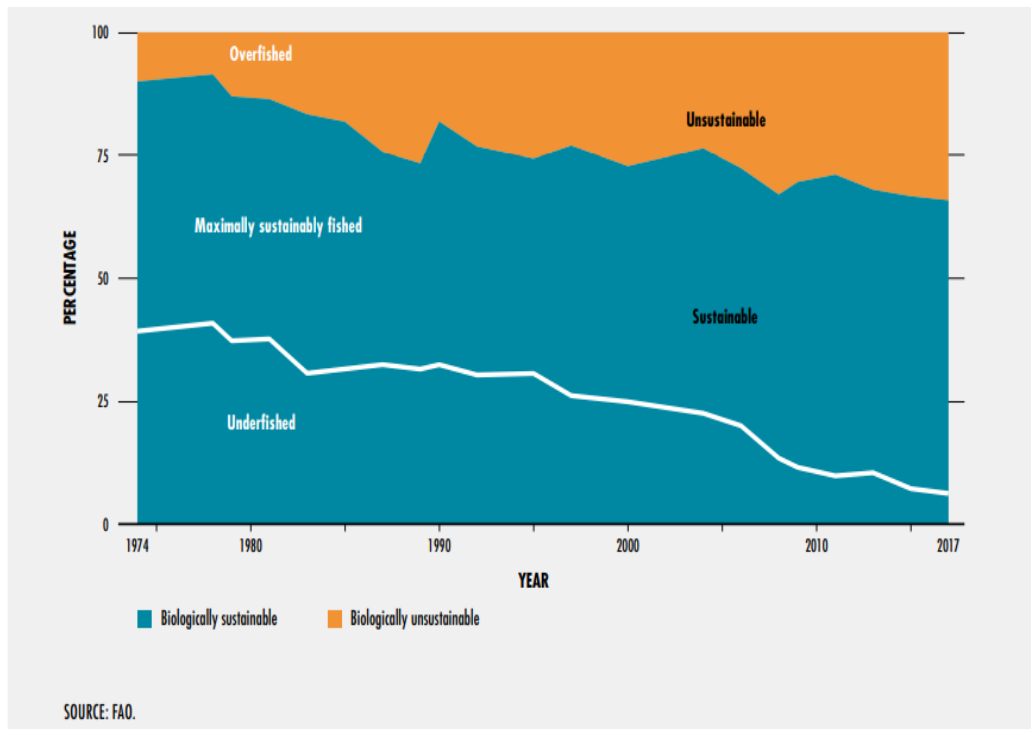
1.1 Η αναγκαιότητα της υποκατάστασης ιχθυελαίου και ιχθυαλεύρου στις ιχθυοτροφές

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει αύξηση του ανθρώπινου πληθυσμού, που αναμένεται να φτάσει τα 10 δισεκατομμύρια το 2050, δημιουργώντας έναν έντονο προβληματισμό για τον επαρκή εφοδιασμό του ανθρώπου με τρόφιμα (United Nations 2019). Λόγω της στασιμότητας της παγκόσμιας αλιευτικής παραγωγής, η υδατοκαλλιέργεια γίνεται ο βασικός τομέας για τη συνεχή ανάπτυξη της παγκόσμιας παραγωγής ψαριών (Εικόνα 1.1), εκτιμώντας ότι θα παρέχει το 60%–70% της παγκόσμιας κατανάλωσης ψαριών το 2030 (FAO 2020). Ένας από τους στόχους της υδατοκαλλιέργειας, είναι η αναζήτηση κατάλληλων διατροφικών εναλλακτικών λύσεων για τα ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια στις ιχθυοτροφές, ώστε ο κλάδος να γίνει πιο αειφορικός. Τα ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια που προέρχονται κυρίως από άγρια ψάρια (Cashion et al. 2017) ενσωματώνονται στις ιχθυοτροφές ως οι κύριες διατροφικές πηγές πρωτεΐνης και λιπιδίων, αντίστοιχα (Matos et al. 2016). Τα επίπεδα των ιχθυαλεύρων σε πρωτεΐνη κυμαίνονται από 60% έως 70% και τα επίπεδα των ιχθυελαίων σε λίπη από 4% έως 20% (Καραπαναγιωτίδης 2018).



Εικόνα 1.1: Παγκόσμια παραγωγή ιχθύων (Πηγή: FAO 2020)

Το ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια έχουν αρκετά μειονεκτήματα. Αρχικά, παράγονται κυρίως από την αλίευση συγκεκριμένων ιχθυοαποθεμάτων, τα οποία έχουν φτάσει στα όρια τους (Pike 2005). Επιπλέον, με τη σταδιακή εξάντληση των θαλάσσιων αλιευτικών πόρων τα τελευταία χρόνια (Εικόνα 1.2.), η έλλειψη πρώτης ύλης για την παραγωγή ιχθυάλευρου και ιχθυελαίου έχει γίνει σοβαρό πρόβλημα (Zhao et al. 2016). Ο συνδυασμός της στάσιμης παγκόσμιας παραγωγής αυτών των φυσικών πόρων και της αυξανόμενης ζήτησης αυξάνει μακροπρόθεσμα τις τιμές του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου (FAO 2020). Εκτός από τη μείωση των ιχθυοαποθεμάτων, υπάρχουν και ηθολογικές αντιδράσεις σχετικά με τη χρησιμοποίηση των ιχθυάλευρων και των ιχθυελαίων σε ζωοτροφές και όχι για την απευθείας κατανάλωση από τον άνθρωπο ιδιαίτερα όταν ένα κομμάτι της ανθρωπότητας υποσιτίζεται από πρωτεΐνη ζωικής προέλευσης (Καραπαναγιωτίδης 2012). Για αυτούς τους λόγους, γίνονται προσπάθειες για να μειωθεί η εξάρτηση του κλάδου από τα ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια



Εικόνα 1.2: Η παγκόσμια κατάσταση των ιχθυοαποθεμάτων (Πηγή: FAO 2020).

Για να υποστηριχθεί η αναπτυσσόμενη και βιώσιμη παραγωγή υδατοκαλλιέργειας, είναι αρκετά δύσκολο να αναπτυχθούν ιχθυοτροφές χωρίς ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια. Τα φυτικά έλαια σε αντίθεση με τα ιχθυέλαια δεν περιέχουν 20:5ω-3 (EPA) και 22:6-ω-3 (DHA) με αποτέλεσμα να μην ικανοποιούν τις απαιτήσεις των ιχθύων σε απαραίτητα λιπαρά οξέα (Καραπαναγιωτίδης 2018). Τα συστατικά των χερσαίων φυτών εμφανίζουν μη ισορροπημένη σύνθεση αμινοξέων, υψηλά επίπεδα υδατανθράκων και πιθανή παρουσία αντιθρεπτικών ενώσεων που μπορεί να έχουν δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία του εντέρου (Bakke et al. 2014). Ακόμη, οι πρώτες ύλες φυτικής προέλευσης είναι λιγότερο εύπεπτες και λιγότερο και εύγευστες σε σχέση με τα ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια (Καραπαναγιωτίδης 2018).

1.2 Η χρήση των μικροφυκών στις ιχθυοτροφές

Τα μικροφύκη αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη λύση που θα μπορούσαν να μειώσουν την εξάρτηση των ιχθυοτροφών από τα ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια. Τα φύκη είναι υδρόβιοι φυτικοί οργανισμού και ταξινομούνται ως *Rhodophyta* (κόκκινα φύκη), *Phaeophyta* (καφέ φύκη) και *Chlorophyta* (πράσινα φύκη) και ταξινομούνται ως προς το μέγεθος ως μακροφύκη ή μικροφύκη (Khan et al. 2018). Τα μακροφύκη είναι πολυκύτταρα, μεγάλου μεγέθους φύκη, ορατά με γυμνό μάτι, ενώ τα μικροφύκη είναι μικροσκοπικά μονοκύτταρα και μπορεί να είναι προκαρυωτικά ή ευκαρυωτικά. Συνολικά, 80.000 διαφορετικά είδη μικροφυκών εκτιμήθηκε ότι υπάρχουν στη γη (Khan et al. 2018). Επιπρόσθετα, τα μικροφύκη μπορούν να ευδοκιμήσουν τόσο σε υδρόβιους όσο και σε χερσαίους βιότοπους (Morais et al. 2020). Πολλά είδη μικροφυκών χρησιμοποιούνται επίσης ως τροφή για τις προνύμφες ψαριών, αν και συνήθως δεν καλλιεργούνται σε μεγάλη κλίμακα (Ahmad et al 2022). Ωστόσο, τις τελευταίες δεκαετίες, τα μικροφύκη έχουν διερευνηθεί ως ένα πιθανό συστατικό για τη διατροφή των ενήλικων ψαριών (Hodar et al. 2020)

Η περιεκτικότητα σε λίπος στα μικροφύκη κυμαίνεται συνήθως από 20% έως 50% ενώ σε κάποια μπορεί να υπερβαίνει και το 60% (Guschina & Harwood 2013). Ορισμένα είδη μικροφυκών διαθέτουν υψηλή ποσότητα DHA (*Cryptocodinium*, *Schizochytrium*), ενώ άλλα ορισμένα είδη μικροφύκη υψηλή ποσότητα EPA (*Microchloropsis*, *Phaeodactylum*) (Brown MR 2002). Ανάλογα με το είδος, τα μικροφύκη μπορεί να περιέχουν υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης (Πίνακας 1.1) που μπορεί να φτάσουν ακόμη και το 70% της ξηρής ουσίας τους και διαθέτουν ένα καλό προφίλ αμινοξέων που ταιριάζει στις απαιτήσεις των ψαριών (Becker 2013, Dineshbabu et al. 2019). Περιέχουν αρκετές βιοδραστικές ενώσεις όπως

αντιοξειδωτικά και χρωστικές που διαθέτουν αντιβακτηριακές, αντικές, αντιμυκικατικές, αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικές ιδιότητες (Michalak & Chojnacka, 2015). Έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε βιταμίνες όπως Α, Β1, Ε, βιοτίνη, φολικό οξύ κ.α. (Brown, et al. 1999) και ανόργανα στοιχεία όπως φωσφορικό, ψευδάργυρο, σίδηρο, ασβέστιο, σελήνιο, μαγνήσιο (Lubián, et al. 2000). Επιπλέον, προϊόντα υψηλής αξίας μπορούν να παραχθούν από μικροφύκη, όπως καροτενοειδή, ασταξανθίνη, αντιοξειδωτικά

Πίνακας 1.1: Χαρακτηριστική περιεκτικότητα (% ξηρής ουσίας) σε θρεπτικά συστατικά συγκεκριμένων μικροφυκών. Πηγές: (Wolker et al. 2011, Van Krimpen et al. 2013 Milledge et al. 2011, Tibbetts et al. 2015, Shuba et al. 2018)

Μικροφύκη	Πρωτεΐνες (%)	Λίπη (%)	Υδατάνθρακες (%)
<i>Chlorella vulgaris</i>	14–22	12–17	1–58
<i>Isochrysis galbana</i>	12–14	50–56	10–17
<i>Nannochloropsis granulata</i>	33,5	23,6	36,2
<i>Spirulina maxima</i>	6–7	60–71	13–16
<i>Chlamydomonas</i>	20–25	47–50	15–20

1.2.1. Το γένος *Schizochytrium* sp.

Το γένος *Schizochytrium* sp. είναι ένα γένος ετερότροφων θαλάσσιων μικροοργανισμών που ανήκει στην οικογένεια *Thraustochytriaceae* του φύλου

Heterokonta και η διάμετρος του κυττάρου είναι περίπου 9-14 μm (Vegas 2018). Η περιεκτικότητα του σε λίπη (Πίνακας 1.2) μπορεί να φτάσει περισσότερο από το 50% του ξηρού βάρους τους (Chang et al.2020 & Zeb et al.2019). Το *Schizochytrium* sp. συνθέτει πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (Πίνακας 1.3) όπως το εικοσιδιεξαενοϊκό οξύ (DHA, 22:6n-3) που αντιπροσωπεύει το 30-40% των συνολικών λιπαρών οξέων του (Yokochi et al. 1998). Το γένος *Schizochytrium* το συναντάμε ευρέως στο θαλάσσιο περιβάλλον, αλλά βρίσκεται κυρίως σε περιβάλλοντα που περιέχουν αποσυντιθέμενη οργανική ύλη, το οποίο εξηγεί την ικανότητα του να επιβιώνει σε ποικίλλες εισροές αποβλήτων (Yokoyama & Honda 2007, Leyland et al., 2017, Fossier Marchan et al., 2018) Τα είδη του παρουσιάζουν υψηλότερους ρυθμούς ανάπτυξης σε σύγκριση με άλλα είδη μικροφυκών, ενώ και η καλλιέργεια τους θεωρείται σχετικά εύκολη συγκριτικά με άλλα είδη μικροφυκών (Ganuza et al., 2008, Lewis et al. 1999).

Πίνακας 1.2: Χαρακτηριστική σύσταση του μικροφύκου *Schizochytrium sp.* σε θρεπτικά συστατικά (Πηγή: Karapanagiotidis et al. 2022).

Περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά κατά προσέγγιση (g/Kg ξηρής ουσίας)	<i>Schizochytrium sp.</i>
Υγρασία	20,9
Ολικές πρωτεΐνες	97,1
Ολικά λίπη	484,9
Υδατάνθρακες	322,1
Τέφρα	75
Ολική ενέργεια (MJ/kg)	27,34

Πίνακας 1.3: Απαραίτητα λιπαρά οξέα του *Schizochytrium sp.* (Karapanagiotidis et al. 2022).

Απαραίτητα λιπαρά οξέα (%) των συνολικών λιπαρών οξέων)	<i>Schizochytrium sp.</i>
18:2ω-6	<1,0
18:3ω-3	<1,0
20:4ω-6	<1,0
20:5ω-3	1,5
22:5ω-6	16,4
22:6ω-3	40,7

Το *Schizochytrium* παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για την αντικατάσταση του ιχθυελαίου και έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορα διατροφικά πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί σε ψάρια όπως ο σολομός του Ατλαντικού (*Salmo salar*) η τσιπούρα (*S. aurata*), η τιλάπια (*Oreochromis niloticus*), το φαγκρί (*Pagrus major*) κ.α., (Kousoulaki et al. 2020, Metsoviti et al. 2018 Sharkar et al. 2016, Seong et al. 2020).

1.2.2. Το γένος *Microchloropsis sp.*

Το *Nannochloropsis* ανήκει στη οικογένεια *Monodospidaceae* της κλάσης *Eustigmatophyceae* (Hibberd 1981). Πρόσφατες γενετικές μελέτες οδήγησαν σε μια αναθεωρημένη ερμηνεία της φυλογένεσης αυτού του γένους, με την περιγραφή ενός

νέου είδους και τη μετατόπιση του *Nannochloropsis gaditana* και του *N. Salina* στο σε νέο γένος το *Microchloropsis* (Zanella & Vianello 2020). Μέχρι στιγμής, έχουν περιγραφεί επίσημα επτά είδη συμπεριλαμβανομένων των δύο που μεταφέρθηκαν στο *Microchloropsis* και αυτά είναι το *Nannochloropsis australis*, το *N. granulata*, το *N. Limnetica*, το *N. Oceanica*, το *N. Oculata*, το *M. gaditana* και το *M. salina* (Zanella & Vianello 2020).

Το μικροφύκος *M. gaditana*, παλαιότερα γνωστό ως *Nannochloropsis gaditana* (Fawley et al., 2015), θεωρείται ένας καλός φωτοαυτοτροφικός παραγωγός υψηλής περιεκτικότητας σε λιπίδια και EPA (Ma et al., 2016). Το *M. gaditana* είναι ένα μικροφύκος που βρίσκεται κυρίως στο θαλάσσιο περιβάλλον, αλλά μπορεί να βρεθεί και σε γλυκά και υφάλμυρα νερά (Fawley, 2007). Το προφίλ θρεπτικών συστατικών (Πίνακας 1.4.) του είδους *M. gaditana* αποτελείται από λιπίδια (16–25%), πρωτεΐνες (26–32%), υδατάνθρακες (32–37%) και τέφρα (5–10%) (Cauchie et al. 2021).

Πίνακας 1.4: Χαρακτηριστική σύσταση *M. gaditana* (Cauchie et al. 2021).

Θρεπτικά συστατικά	Ποσοστό (%)
Πρωτεΐνες	26-32
Λίπη	16-25
Υδατάνθρακες	32-37
Τέφρα	5-10

Το *Microchloropsis* sp. έχει χρησιμοποιηθεί σε αρκετές μελέτες ως διατροφικό συστατικό σε διάφορα ψάρια όπως δίαιτες της νεανικής τιλάπιας του Νείλου (*Oreochromis niloticus*), στο είδος (*Sciaenops ocellatus*), στη τσιπούρα (*S. aurata*) και στο λαβράκι, (*Dicentrarchus labrax*) (Sarker et al., 2018, Patterson & Gatlin, 2013, Eryalçın et al. 2015, Pascon et al., 2021).

1.2.3. Το γένος *Phaeodactylum* sp.

Το *P. tricornutum* είναι ένα θαλάσσιο διάτομο και έχει μελετηθεί εκτενώς από τότε που απομονώθηκε το 1956 και έχει χαρακτηριστεί σε 10 διαφορετικά στελέχη με βάση γενετικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά (Martino et al. 2007). Είναι ένα μοναδικό διάτομο που μπορεί να έχει τρεις διαφορετικούς μορφότυπους (ατρακτοειδές, τριακτινικό και ωοειδές), οι οποίοι μπορούν να μεταβληθούν από τη διέγερση των περιβαλλοντικών συνθηκών (Cui et al. 2019). Το *P. tricornutum* είναι ευρέως γνωστό για το ενδιαφέρον λιπιδικό του προφίλ με σημαντικές ποσότητες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA), συμπεριλαμβανομένων των ωμέγα-3 μακράς αλύσου PUFA, ιδιαίτερα του εικοσαπεντανοϊκού οξέος (EPA). Είναι επίσης μια σημαντική πηγή αντιοξειδωτικών και χρωστικών (García, & Galán, 2017) και περιέχει υψηλές περιεκτικότητες σε φουκοξανθίνη (Kim et al. 2012). Περιέχει περίπου 34,8-39,6% ολική πρωτεΐνη, 16,8-26,1% (Πίνακας 1.5) σε βάση ξηρού βάρους (Barkia, Saari, & Manning, 2019, Kim et al., 2012).

Πίνακας 1.5: Χαρακτηριστική σύσταση του *P. tricornutum* που καλλιεργήθηκε σε φωτοαντιδραστήρες (Tibbetts et al. 2015)

Θρεπτικά συστατικά	Ποσοστό (%)
Πρωτεΐνες	39,6
Λίπη	18,2
Υδατάνθρακες	25,2
Τεφρά	17

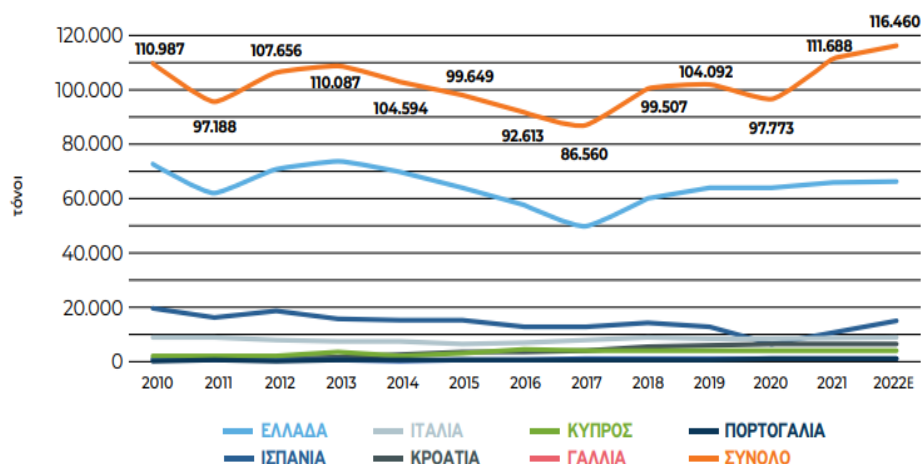
1.3 Βιολογία και εκτροφή της τσιπούρας (*Sparus aurata*)

Η τσιπούρα *S. aurata* (Linnaeus, 1758) είναι ένα από τα κύρια θαλάσσια είδη ψαριών για παραγωγή υδατοκαλλιέργειας στην περιοχή της Μεσογείου (FAO 2020). Η τσιπούρα (Εικόνα 1.3.) συναντάται στον Ατλαντικό ωκεανό, στη Μαύρη θάλασσα και στη Μεσόγειο. Είναι ένα είδος σαρκοφάγο, με προτίμηση στα οστρακοειδή και μικρά ψάρια. Η περίοδος αναπαραγωγής στο φυσικό περιβάλλον πραγματοποιείται από Οκτώβριο μέχρι Δεκέμβριο (Κλαουδάτος 2012). Είναι πρωτανδρικό είδος και τα αρσενικά γίνονται θηλυκά σε ηλικία περίπου 3 ετών (Fishbase 2023). Είναι ένα βενθοπελαγικό είδος, συναντάται σε υφάλμυρα και θαλασσινά νερά σε βάθος που φτάνει μέχρι τα 150 μέτρα (Morretti et al., 1999).



Εικόνα 1.3: *Sparus aurata*. (Πηγή Fishbase 2023)

Η τσιπούρα είναι ένα είδος που προσαρμόζεται εύκολα στις συνθήκες εκτροφής καθώς έχει τη δυνατότητα να εγκλιματίζεται ευκολότερα στην αιχμαλωσία σε σχέση με άλλα είδη (Κλαουδάτος 2012). Ο μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης επιτυγχάνεται σε θερμοκρασία από 22 έως 24 (Κλαουδάτος & Apostolopoulos 1986). Οι τσιπούρες εκτρέφονται σε εκτατικά συστήματα εκτροφής λιμνοθάλασσες ή εντατικά σε δεξαμενές ή κλωβούς. Η Ελλάδα το 2021 κατατάσσεται στην κορυφή αφού με 65.000 τόνους (Εικόνα 1.4) αντιπροσωπεύει το 65% της ευρωπαϊκής παραγωγής τσιπούρας και ακολουθούν η Ισπανία με 10.030 τόνους (9%), η Ιταλία με 9.600 τόνους (9%) η Κροατία με 7.527 τόνους (7%) η Κύπρος με 5.000 τόνους (2%) και το υπόλοιπο 8% παράγεται από τη Γαλλία, την Πορτογαλία και την Μάλτα (ΕΛΟΠΥ 2022).



Εικόνα 1.4: Παραγωγή τσιπούρας στην Ε.Ε. (ΕΛΟΠΥ 2022).

Διάφορα είδη μικροφυκών έχουν δοκιμαστεί ως συστατικά τροφής για την τσιπούρα: το *Schizochytrium* sp. (Karapanagiotidis et al. 2022), το *Phaeodactylum* sp. (Ribeiro et al. 2017), το *Nannochloropsis* sp. (Karapanagiotidis et al. 2022), το *Chlorella* sp. (Karapanagiotidis et al. 2022), το *Scenedesmus* sp (Vizcaíno et al.2014), το *Tetraselmis* sp. (Vizcaíno et al. 2016), το *Isochrysis* sp. (Palmegiano et al. 2009). Η επιλογή της τσιπούρας δικαιολογείται κυρίως από το γεγονός ότι, αν και κυρίως σαρκοφάγο, μπορεί να είναι επικουρικά φυτοφάγο, με αποτέλεσμα να δέχεται τα μικροφύκη στη διατροφή (Pereira et al. 2019).

1.4 Σκοπός

Έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές έρευνες πάνω στα μικροφύκη τα τελευταία χρόνια και έχει αποδειχθεί ότι αυτά έχουν πολλές ευεργετικές ιδιότητες που τα καθιστούν πολύ χρήσιμα στην διατροφή των ιχθύων. Δεδομένου της ταχείας

ανάπτυξης του κλάδου, η πρόσβαση σε ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια γίνεται ακόμα πιο δύσκολη. Η πρόκληση σήμερα είναι να αναπτυχθούν ιχθυοτροφές με εναλλακτικές πηγές λίπους και πρωτεΐνης, οι οποίες θα είναι οικονομικές και φιλικές προς το περιβάλλον. Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου από μίγμα μικροφυκών στην τσιπούρα και πιο συγκεκριμένα ο συνδυασμός των μικροφυκών του *Schizochytrium* sp. με το *Microchloropsis gaditana* και του *Schizochytrium* sp. με το *Phaeodactylum tricornutum*. Για αυτόν τον λόγο έγινε καταρτισμός των σιτηρεσίων που χρησιμοποιήθηκαν ώστε να ανταποκρίνονται στις διατροφικές απαιτήσεις των ιχθύων της τσιπούρας.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Αναλύσεις θρεπτικής

2.1.1 Προσδιορισμός υγρασίας/ξηρής ουσίας

Για να γίνει ο προσδιορισμός της υγρασίας και της ξηρής ουσίας των ιχθυοτροφών, το δείγμα τοποθετείται σε αεριζόμενο ισοθερμικό κλίβανο αποξήρανσης στους 105 °C για περίπου 24 ώρες. Στην συνέχεια, αφού περάσει ο χρόνος ξήρανσης, τα δείγματα τοποθετούνται σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά ώστε να ψυχθούν. Το μηχανικά παγιδευμένο νερό έχει εξατμιστεί και το δείγμα περιέχει πλέον μόνο το χημικά δεσμευμένο νερό. Η απώλεια του βάρους εκφράζει την περιεκτικότητα σε υγρασία ενώ το αποκτηθέν βάρος εκφράζει την ξηρή ουσία. Το ποσοστό της υγρασίας/ξηρής ουσίας υπολογίζεται ως εξής:

$$W_{\text{ξηρής ουσίας}} = W_{\text{δει/τος μετά την ξήρανση μαζί με το δισκίο}} - W_{\text{δισκίου}}$$

$$\text{Ξηρή ουσία \%} = (W_{\text{ξηρής ουσίας}} \times 100) / W_{\text{δει/τος}}$$

$$W_{\text{υγρασία}} = W_{\text{δει/τος}} - (W_{\text{δει/τος μετά την ξήρανση}} - W_{\text{δισκίου}})$$

$$\text{Υγρασία \%} = (W_{\text{υγρασία}} \times 100) / W_{\text{δει/τος}}$$

2.1.2. Προσδιορισμός τέφρας

Ο προσδιορισμός την τέφρας πραγματοποιείται με την εύρεση της περιεκτικότητας ενός δείγματος σε ακατέργαστη τέφρα, η οποία αντιπροσωπεύει τη συνολική ανόργανη ουσία του δείγματος. Σε πυρίμαχα δοχεία ζυγίστηκε δείγμα

βάρους 1-3g, σε ζυγαριά ακρίβειας 4 δεκαδικών ψηφίων. Έπειτά, τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον αποτεφρωτήρα, η διαδικασία πραγματοποιήθηκε στους 600 °C για 3 ώρες (AOAC 1990). Μετά το πέρας του τριώρου τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε ξηραντήρα μέχρι να κρυώσουν. Στην συνέχεια πάρθηκαν μετρήσεις βάρους των δειγμάτων. Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε τέφρα (%) υπολογίζεται με τον εξής τύπο:

$$\text{Τέφρα (\%)} = (W \text{ τέφρας (g)} \times 100) / W \text{ δείγματος (g)}$$

2.1.3. Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών στις ιχθυοτροφές που παρασκευάστηκαν έγινε με την μέθοδο εκχύλισης Soxhlet (AOAC 1995). Συγκεκριμένα σε ειδικά γυάλινα δοχεία εκχύλισης προστέθηκαν 3-4 πέτρες βρασμού οι οποίες χρησίμευαν για τον ομαλό βρασμό του δείγματος και καταγράφηκε το βάρος τους σε ζυγό ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων. Στη συνέχεια προστέθηκαν σε κάθε γυάλινο δοχείο ένας μεταλλικός υποδοχέας μαζί με ένα χάρτινο ηθμό. Ζυγίστηκε ποσότητα δείγματος περίπου 2g η οποία και μεταφέρθηκε σε κάθε ηθμό. Το δείγμα μας έπρεπε να είναι αποξηραμένο και αλεσμένο. Η ξήρανση των δειγμάτων έγινε σε φούρνο στους 105°C για περίπου 24 ώρες μέχρι το βάρος του δείγματος να σταθεροποιηθεί. Σε κάθε γυάλινο δοχείο προστέθηκαν 140 ml πετρελαϊκού και έπειτα εμβαπτίστηκαν οι ηθμοί με το δείγμα μας. Όλα τα δοχεία μας μεταφέρθηκαν και τοποθετήθηκαν σε ειδική συσκευή εκχύλισης και απόσταξης του λίπους (Soxhlet) (Εικόνα 2.1). Η διαδικασία της εκχύλισης και απόσταξης του λίπους αποτελείται από 3 στάδια. Κατά το αρχικό στάδιο το δείγμα υπόκειται σε βρασμό με πετρελαϊκό αιθέρα για τουλάχιστον 25 λεπτά. Σε αυτό το στάδιο εκχυλίζεται μια

ποσότητα λίπους, εντούτοις υπάρχει και ποσότητα που δεν εκχυλίζεται μόνο με βρασμό. Στο δεύτερο στάδιο το δείγμα υφίσταται εκχύλιση για 1 ½ ώρα. Πιο αναλυτικά ο πετρελαϊκός αιθέρας περνά από τον ηθμό που περιέχει το δείγμα εκχυλίζοντας μια ποσότητα λίπους, οδηγείται στην φιάλη όπου εξατμίζεται, συμπυκνώνεται, υγροποιείται και διέρχεται ξανά από τον ηθμό εκχυλίζοντας εκ-νέου ποσότητα λίπους επαναλαμβάνοντας την ίδια διαδικασία. Με τον τρόπο αυτό πραγματοποιείται η εκχύλιση όλων των λιπαρών ουσιών του δείγματος. Στο τρίτο και τελευταίο στάδιο ο διαλύτης εξατμίζεται και η φιάλη με το εκχυλισμένο λίπος εισέρχεται σε πυραντήριο στους 105 °C για 10-15 λεπτά και ψύχεται σε ξηραντήρα. Τέλος ζυγίζεται και η διαφορά βάρους μεταξύ της άδειας αρχικά φιάλης και της φιάλης με το λίπος δίνει την ποσότητα του λίπους στο δείγμα. Ο υπολογισμός του καθαρού βάρους των λιπαρών ουσιών δίνεται από τον τύπο:

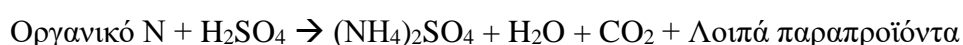
$$\text{Ολικά λιπίδια \%} = (W(\text{g})_{\text{τελικό δοχείο εκχύλισης}} - W(\text{g})_{\text{αρχικό δοχείο εκχύλισης}}) \times 100$$



Εικόνα 2.1: Συσκευή Soxhlet (προσωπικό αρχείο συγγραφέα)

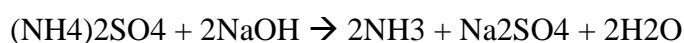
2.1.4. Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ουσιών

Ο προσδιορισμός της πρωτεΐνης των ιχθυοτροφών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC 1995). Η διαδικασία ξεκινάει με το ζύγισμα σε ζυγό ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων, ποσότητας αλεσμένου δείγματος 0,2g και 3 επαναλήψεις για κάθε δείγμα και καταγραφή του βάρους τους. Τα δείγματα μεταφέρθηκαν στους δοκιμαστικούς σωλήνες πέψης. Σε κάθε σωλήνα με δείγμα προστέθηκαν 2 ταμπλέτες καταλύτη Kjeltabs για να επιτευχθεί η αντίδραση της πέψης και 15ml πυκνού θεικού οξέος (H₂SO₄). Οι φιάλες τοποθετήθηκαν με την βάση τους στην συσκευή πέψης Kjeltec 2000 στη θέση βρασμού. Πάνω από τη βάση με τις φιάλες τοποθετείτε το ειδικό καπάκι με τις υποδοχές αναρρόφησης των αερίων. Η διαδικασία της πέψης πραγματοποιείτε στους 105 °C για 85 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της πέψης γίνεται βρασμός των δειγμάτων όπου με τη βοήθεια πυκνού θεικού οξέος γίνεται διάσπαση των αζωτούχων ενώσεων. Στο στάδιο της πέψης το αδέσμευτο άζωτο δεσμεύεται με τη μορφή θεικού αμμωνίου με βάση την παρακάτω αντίδραση:

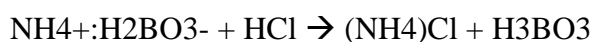


Μετά την ολοκλήρωση της πέψης ακολουθεί το στάδιο της απόσταξης. Τα δείγματα αφήνονται να κρυώσουν για 15 περίπου λεπτά πριν να μεταφερθούν στην συσκευή απόσταξης (Εικόνα 2.2). Στη συσκευή απόσταξης προστέθηκαν 100ml αποσταγμένου νερού, 80ml NaOH και 50ml H₃BO₃. Το θεικό αμμώνιο που παράχθηκε κατά την διαδικασία της πέψης αντιδρά με το υδροξείδιο του νατρίου και γίνεται αποδέσμευση της αμμωνίας (αέρια μορφή) και θεικού νατρίου. Εν συνεχεία η αμμωνία αντιδρά με το βορικό οξύ ενώ το άζωτο του δείγματος δεσμεύεται με τη

μορφή του βορικού αμμωνίου. Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά της διάρκεια της απόσταξης είναι οι εξής:



Το βορικό αμμώνιο συγκεντρώνεται σε κωνική φιάλη που περιείχε 2 σταγόνες ερυθρού του μεθυλενίου (δείκτη pH). Το τελικό στάδιο της διαδικασίας αποτελεί η τιτλοδότηση του διαλύματος βορικού αμμωνίου με αραιό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (0,1N) υπό καθεστώς συνεχής κίνησης σύμφωνα με την αντίδραση:



Η συγκέντρωση (σε moles) των ιόντων υδρογόνου που απαιτούνται για να καταλύσουν την αντίδραση έως το τελικό σημείο, ισοδυναμεί με τη συγκέντρωση του αζώτου που περιέχει το δείγμα. Η αλλαγή του χρώματος του δείκτη, από κίτρινο σε φούξια, καταδεικνύει το τελικό σημείο της αντίδρασης. Η περιεκτικότητα του δείγματος σε άζωτο (N %) υπολογίστηκε από τη σχέση:

$$\text{N \%} = [(\text{ml HCl} - \text{ml τυφλού}) \times 0,8754] / W_{\text{δείγ/τος}}$$



Εικόνα 2.2: Συσκευή Kjeldahl (προσωπικό αρχείο συγγραφέα)

2.1.5. Προσδιορισμός θερμιδικής αξίας

Κατά την πλήρη καύση ενός δείγματος έχουμε ως τελικά προϊόντα καύσης CO_2 και H_2O . Επιπλέον εκλύεται και μια ποσότητα θερμότητας η οποία αποτελεί τη θερμιδική αξία (ολική ενέργεια). Η καύση πραγματοποιείται μέσα σε ένα κλειστό δοχείο τύπου οβίδας (θερμιδόμετρο). Η θερμότητα που εκλύεται θερμαίνει ένα εξωτερικό δοχείο γνωστής θερμοκρασίας. Η αύξηση της θερμοκρασίας του εξωτερικού δοχείου καταγράφεται από ένα θερμόμετρο (Εικόνα 2.3) και έπειτα υπολογίζεται το θερμιδικό περιεχόμενο του δείγματος που κάηκε.



Εικόνα 2.3: Θερμιδόμετρο (προσωπικό αρχείο συγγραφέα)

2.2 Καταρτισμός σιτηρεσίων

Τα σιτηρέσια που χρησιμοποιήθηκαν για την εκπόνηση του συγκεκριμένου πειράματος παρασκευάστηκαν στις εγκαταστάσεις του τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος (Θεσσαλία, Βόλος) με την μέθοδο της κοινής πελλετοποίησης. Το σιτηρέσιο ήταν στην μορφή βυθιζόμενου σύμπηκτου με διάμετρο 1,5 m.m.. Η πελλετομηχανή που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του σιτηρεσίου ήταν τύπου California Pellet Mill (Εικόνα 2.4)



Εικόνα 2.4: Πελλετομηχανή τύπου California Pellet Mill. (προσωπικό αρχείο συγγραφέα).

Τα τρία σιτηρέσια καταρτίστηκαν με τέτοιο τρόπο ώστε να είναι ισοενεργειακά και ισοπρωτεϊνικά. Το σιτηρέσιο Basal ήταν ο μάρτυρας, όπου δεν διέθετε κανένα είδος μικροφύκους. Η συμμετοχή του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου στο σιτηρέσιο Basal ήταν 25% και 8% αντίστοιχα. Στις πειραματικές τροφές SM και SP το ιχθυέλαιο υποκαταστάθηκε κατά 50% και το ιχθυάλευρο υποκαταστάθηκε στην τροφή SM κατά 18,9% και στην τροφή SP κατά 26,8% από μίγμα αλεύρων μικροφυκών των ειδών *M. gaditana* *Schizochytrium sp.* και *P. tricornutum*, όπου πραγματοποιήθηκε ανάλυση της θρεπτικής σύστασής (Πίνακας 2.1). Στα σιτηρέσια, επίσης χρησιμοποιήθηκε άλευρο σίτου, ηλιάλευρο και γλουτένη καλαμποκιού ως φυτικές πρωτεΐνες. Για τον εμπλουτισμό των τροφών χρησιμοποιήθηκαν μικροσυστατικά και ήταν ένα εμπορικό πρόμιγμα βιταμινών και ανόργανων στοιχείων (Πίνακας 2.2). Σε ολόκληρη την πειραματική περίοδο των 56 ημερών, η χορήγηση της τροφής γινόταν καθημερινά με το χέρι. Η σίτιση γινόταν μέχρι

κορεσμού (*ad libitum*) και λάμβανε χώρα δύο φορές την ημέρα, στις 10:00 π.μ. και στις 17:00 μ.μ.

Πίνακας 2.1: Θρεπτική σύσταση (g kg^{-1} ξηρής ουσίας) της βιομάζας των μικροφυκών *Schizochytrium sp.*, *M. gaditana* και *P. tricornutum*).

Θρεπτική σύσταση (g kg^{-1})	<i>Schizochytrium sp.</i>	<i>M. gaditana</i>	<i>P. tricornutum</i>
Ολικές Πρωτεΐνες	90,2	326,5	328,8
Ολικά λίπη	515,5	131,6	93,9
Ολική Τέφρα	56,6	102,6	147,8
NfE ^a	305,4	409	349,5
Ολική ενέργεια (MJ kg^{-1}DM)	28,98	22,96	18,16
EPA (mg mg^{-1})	0,47	27,0	41,41
DHA (mg mg^{-1})	41,23	-	-

^aNitrogen free extract (NfE)=1000- (crude protein + crude lipid + crude ash)

Πίνακας 2.2: Συστατικά και ποσοστά συμμετοχής τους στα πειραματικά σιτηρέσια.

Πρώτες ύλες [g kg ⁻¹ DM]	Basal	SM	SP
Ιχθυάλευρο	250,0	186,6	168,4
Άλευρό σιταριού	136,0	33,3	
Ηλιάλευρο	80,0	80,0	90,0
Γλουτένη καλαμποκιού	90,0	85,0	97,9
Γλουτένη σίτου	50,0	62,0	66,0
Κραμβάλευρο	50,0	50,0	46,0
Συμπύκνωμα σόγιας	195,0	215,0	195,0
Ιχθυέλαιο	80,0	40,0	40,0
Σογιέλαιο	40,0	46,0	55,3
<i>M. gaditana</i>		133,6	
<i>Schizochytrium sp.</i>		38,8	38,8
<i>P. tricornutum</i>			173,9
Βιταμίνες, μέταλλα πρόμιγμα	10,0	10,0	10,0
Μονοασβέστιο Φωσφορικό	10,0	10,0	10,0
Βιταμίνη C	1,0	1,0	1,0
Βιταμίνη E	1,0	1,0	1,0
Λυσίνη	1,0	1,4	1,0
Μεθειονίνη	6,0	6,3	5,7
Σύσταση [g kg ⁻¹]			
Ξηρή ουσία	897,0	906,0	900,1
Ολικές πρωτεΐνες	484,3	479,5	478,8

Ολικά Λίπη			
NFE ¹			
Τέφρα	60,4	66,7	76,0

2.3 Πειραματικός σχεδιασμός

Για την διεξαγωγή του πειράματος μεταφέρθηκαν ιχθύδια τσιπούρας *Sparus aurata* με αρχικό μέσο βάρος $8,71 \pm 0,1$ g, με ειδικές δεξαμενές με παροχή οξυγόνου, από τον ιχθυογεννητικό σταθμό της εταιρίας Philosofish S.A. από τις εγκαταστάσεις τις στις Τάπιες του νομού Φθιώτιδος, στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος στο Βόλο, όπου και έλαβε χώρα το πείραμα. Από τον αρχικό αριθμό ιχθυδίων, 243 τοποθετήθηκαν σε πειραματικές δεξαμενές όπου αφέθηκαν για 15 ημέρες ώστε να εγκλιματιστούν στις συγκεκριμένες συνθήκες, όπου η σίτισή τους γινόταν μία φορά την ημέρα,. Το πείραμα διήρκησε συνολικά 56 μέρες (Νοέμβριο – Ιανουάριος 2023).

Τα ιχθύδια, μετά τον εγκλιματισμό τους, τοποθετήθηκαν σε δεξαμενές κλειστού κυκλώματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού. Συγκεκριμένα, οι πειραματικές εγκαταστάσεις αποτελούνταν από 9 ενυδρεία χωρητικότητας 120 L το καθένα και ανά δύο ενυδρεία, από ένα σύστημα μηχανικής – βιολογικής διήθησης του νερού για την απομάκρυνση της αμμωνίας, των περιττωμάτων και υπολειμμάτων τροφής (Εικόνα 2.5). Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος χρησιμοποιήθηκε νερό βρύσης στο οποίο προθέτονταν συνθετικό αλάτι ώστε η αλατότητα του νερού να είναι 30‰. Σε καθημερινή βάση πραγματοποιούνταν σιφωνισμός του πυθμένα και αντικατάσταση του νερού έως και 10% του συνολικού όγκου του ενυδρείου. Επίσης, για την απονιτροποίηση των αζωτούχων οργανικών ενώσεων, τοποθετούνταν τόσο

στο νερό του ενυδρείου όσο και μέσα στα φίλτρα, διάλυμα βακτηρίων, σε τακτά χρονικά διαστήματα.



Εικόνα 2.5: Σύστημα μηχανικής – βιολογικής διήθησης του νερού
(προσωπικό αρχείο συγγραφέα).

Σε όλη τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιούνταν έλεγχος για τις φυσικοχημικές παραμέτρους του νερού. Γινόταν εβδομαδιαία καταγραφή των μετρήσεων για τη θερμοκρασία του νερού ($21\text{ }^{\circ}\text{C}$), το pH ($8,00 \pm 0,4$), την αλατότητα ($30 \pm 0,5\%$) και το διαλυμένο οξυγόνο ($>6,5\text{ mg/l}$) με τη χρήση φορητών ηλεκτρονικών οργάνων. Ακόμη, σε τακτά χρονικά διαστήματα προσδιορίζονταν η συγκέντρωση της ολικής αμμωνίας ($<0,5\text{ mg/l}$), των νιτρικών και νιτρωδών, με τη χρήση εμπορικών test-kits. Η τεχνητή φωτοπερίοδος που εφαρμόστηκε ήταν 12 ώρες φως – 12 ώρες σκότους με την εναλλαγή να πραγματοποιείται στις 08:00 και 20:00, αντίστοιχα.

Τα ιχθύδια διαχωρίστηκαν σε 3 διατροφικές ομάδες, όπου η κάθε μία λάμβανε και διαφορετικό σιτηρέσιο. Η κάθε διατροφική ομάδα αποτελούνταν από 81 ιχθύδια, τα οποία κατανεμήθηκαν σε υποομάδες των 27 ατόμων σε 3 ενυδρεία (27 ιχθύδια ανά δεξαμενή, 3 ενυδρεία – επαναλήψεις ανά μεταχείριση, 3 διατροφικές μεταχειρίσεις).

2.3 Δειγματοληψίες

Το πείραμα διήρκησε 56 μέρες. Πριν την έναρξη της δειγματοληψίας πραγματοποιήθηκε ασιτία διάρκειας 24 ωρών. Για την αναισθητοποίηση των ψαριών χρησιμοποιήθηκε φαινοξιθανόλη σε συγκέντρωση 0,10 ml/l. Στη συνέχεια, οι ιχθύες ζυγίζονταν σε ζυγό ακριβείας 2 δεκαδικών ψηφίων (0,01 g) και μετρούνταν το μήκος με ιχθυόμετρο (ακρίβεια 0,1 cm). Στο τέλος της δειγματοληψίας τα ψάρια θανατώθηκαν παρατείνοντας την παραμονή τους στο αναισθητικό αυξανόμενης δοσολογίας και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν άμεσα σε πάγο.

2.4 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

24.1. Επιβίωση

Η καταγραφή της επιβίωσης πραγματοποιούνταν σε καθημερινή βάση για κάθε δεξαμενή ξεχωριστά. Ο τύπος υπολογισμού της είναι:

$$\text{Επιβίωση (\%)} = 100 \times \frac{\text{τελικός αριθμός ψαριού/αρχικός αριθμός ψαριού}}{\text{αρχικός αριθμός ψαριού}}$$

2.4.2. Αύξηση ολικού βάρους ψαριών

Η αύξηση του ολικού βάρους είναι το καθαρό βάρος του σώματος των ψαριών που αποκτήθηκε κατά τη διάρκεια του πειράματος και υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$\text{Αύξηση ολικού βάρους (g)} = W_t (\text{τελικό βάρος}) - W_a (\text{αρχικό βάρος})$$

2.4.3. Κατανάλωση τροφής (g/ψάρι)

Η κατανάλωση τροφής (g/ψάρι) εκφράζει τη μέση κατανάλωση της τροφής ανά ψάρι κάθε διατροφικής ομάδας και υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Κατανάλωση τροφής (g/ψάρι)} = \frac{\text{ολική κατανάλωση τροφής δεξαμενής}}{\text{αριθμός ψαριών δεξαμενής}}$$

2.4.4. Κατανάλωση τροφής (% Σ.Β. / ημέρα)

Ο τύπος της κατανάλωσης τροφής (% Σ.Β./ημέρα) είναι:

$$\text{Κατανάλωση τροφής (% Σ.Β./ημέρα)} = \frac{\text{μέσο Σωματικό Βάρος } \tau * 100}{\text{κατανάλωση τροφής ανά ημέρα}}$$

2.4.5. Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (specific growth rate, SGR) εκφράζει την ημερήσια ποσοστιαία αύξηση του ολικού βάρους του ψαριού στο χρονικό διάστημα που σιτίστηκε και δίνεται από τη σχέση:

$$\text{SGR (\% / ημέρα)} = \{100 \times [\text{Ln } (W_2) - \text{Ln } (W_1)] / \text{ημέρες σίτισης}\}$$

Όπου,

$\ln(W_2)$ = ο φυσικός λογάριθμος του τελικού ολικού βάρους

$\ln(W_1)$ = ο φυσικός λογάριθμος του αρχικού ολικού βάρους

2.4.6. Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (food conversion ratio, FCR) εκφράζει το βαθμό αξιοποίησης της τροφής από τα ψάρια και δίνεται από τον λόγο της ποσότητας της τροφής που χορηγήθηκε προς την αύξηση του ολικού βάρους τους. Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής υπολογίζεται από τη σχέση:

$$FCR = \frac{\text{τροφή που χορηγήθηκε (g)}}{\text{αύξηση βιομάζας των ζωντανών ιχθύων (g)}}$$

2.4.7. Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών

Ο συντελεστής αποδοτικότητας των πρωτεϊνών (protein efficiency ratio, PER) εκφράζει την αναλογία μεταξύ της αύξησης βάρους των ψαριών και της πρωτεΐνης που καταναλώθηκε. Ο συντελεστής υπολογίζεται από την σχέση:

$$PER = \frac{\text{αύξηση βάρους (g)}}{\text{πρωτεΐνη που καταναλώθηκε (g)}}$$

2.4.8. Συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης

Ο συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης (protein retention, PR) εκφράζει την ποσοστιαία μεταβολή της περιεκτικότητας ενός ιστού σε πρωτεΐνη σε συνάρτηση με την ποσότητα διαιτητικής πρωτεΐνης που χορηγήθηκε. Ο συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης υπολογίστηκε για το μυϊκό ιστό των ψαριών σύμφωνα με τη σχέση:

$PR (\%) = 100 \times \text{μεταβολή πρωτεΐνης στον ιστό (g)} / \text{πρωτεΐνη που καταναλώθηκε (g)},$

Όπου μεταβολή πρωτεΐνης (g) = (τελική περιεκτικότητα πρωτεΐνης,% × τελικό βάρος,g) - (αρχική περιεκτικότητα πρωτεΐνης,% × αρχικό βάρος,g)

2.4.9. Συντελεστής διατήρησης λίπους

Ο συντελεστής διατήρησης λίπους (lipid retention, LR) εκφράζει την ποσοστιαία μεταβολή της περιεκτικότητας ενός ιστού σε λίπος σε συνάρτηση με την ποσότητα διαιτητικού λίπους που χορηγήθηκε. Ο συντελεστής διατήρησης λίπους υπολογίστηκε για το μυϊκό ιστό των ψαριών σύμφωνα με τη σχέση:

$LR (\%) = 100 \times \text{μεταβολή λίπους στον ιστό (g)} / \text{λίπος που καταναλώθηκε (g)},$

Όπου μεταβολή λίπους (g) = (τελική περιεκτικότητα λίπους,% × τελικό βάρος,g) - (αρχική περιεκτικότητα λίπους,% × αρχικό βάρος,g)

2.6 Στατιστική ανάλυση

Μετά το πέρας του πειράματος συλλέχθηκαν τα δεδομένα και δημιουργήθηκαν πίνακες με τις παραμέτρους της ανάπτυξης στο υπολογιστικό φύλλο EXCEL. Το στατιστικό πακέτο SPSS 20 χρησιμοποιήθηκε για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων και η σύγκριση των μέσων όρων των διαφόρων παραμέτρων έγινε με τη μέθοδο ανάλυσης των διακυμάνσεων μονής κατεύθυνσης (one-wayANOVA. Οι διαφορές κρίθηκαν στατιστικά σημαντικές για τιμές $P < 0,05$. Για τον έλεγχο της κανονικής κατανομής, τα δεδομένα υποβλήθηκαν στη δοκιμή Shapiro-Wilk και για τον έλεγχο της ομοιογένειας της παραλακτικότητας χρησιμοποιήθηκε η δοκιμή Levene.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της επιβίωσης, των παραμέτρων ανάπτυξης των ιχθύων και των παραμέτρων αξιοποίησης της τροφής από τους ιχθύες.

3.1. Κατά την έναρξη του πειράματος

Το αρχικό μέσο βάρος των ιχθυδίων όλων των διατροφικών ομάδων Basal, SM και SP κατά την έναρξη του διατροφικού πειράματος δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές (Πίνακας 3.1).

Πίνακας 3.1: Αρχικό μέσο βάρος (g) των ιχθύων κατά την έναρξη του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση.

	Basal	SM	SP
Αρχικό βάρος (g)	8,76 \pm 0,01	8,77 \pm 0,00	8,77 \pm 0,01

Σημ.: Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων στο αρχικό μέσο βάρος των ψαριών ($P>0,05$).

3.2. Αύξηση σωματικού την 56η ημέρα (ολοκλήρωση του πειράματος)

Σε όλη τη διάρκεια του πειράματος παρατηρούνταν η επιβίωση όλων των διατροφικών ομάδων, όπου δεν παρατηρήθηκε καμία θνησιμότητα σε καμία ομάδα.

Όσον αφορά το σωματικό βάρος, η ομάδα SP είχε σημαντικά ($P<0,05$) χαμηλότερη τιμή συγκριτικά με τις άλλες δύο ομάδες (Basal & SM), τα ψάρια των

οποίων είχαν παρόμοιο ($P>0,05$) βάρος. Παρόμοια, οι ομάδες Basal και SM είχαν σημαντικά υψηλότερη αύξηση βάρους σε σχέση με τα ψάρια της ομάδας SP.

Η κατανάλωση τροφής τόσο στη μονάδα μέτρησης g/ ψάρι όσο και ως % ΣΒ/ημέρα ήταν σημαντικά υψηλότερη στα ψάρια των ομάδων Basal και SM συγκριτικά με εκείνη των ψαριών της SP. Το FCR ήταν σημαντικά υψηλότερο στο σιτηρέσιο (SP) που χρησιμοποιήθηκαν τα μικροφύκη *Schizochytrium sp.* και *Phaeodactylum* συγκριτικά με τις τιμές που παρουσίασαν οι ομάδες Basal και SM. Το SGR ήταν σημαντικά υψηλότερο στις ομάδες Basal και SM συγκριτικά με την ομάδα SP.

Στην παράμετρο αξιοποίησης της τροφής PER, η ομάδα SP είχε την σημαντικά μικρότερη τιμή από τις άλλες δύο ομάδες. Όσον αφορά στους συντελεστές διατήρησης της πρωτεΐνης PR (%) και διατήρησης λίπους LR (%) η ομάδα του μάρτυρα και της SM είχαν σημαντικά υψηλότερες τιμές συγκριτικά με τις τιμές της ομάδας SP.

Πίνακας 3.2: Αποτελέσματα του μέσου βάρους, της επιβίωσης, των παραμέτρων ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση.

Παράμετροί ανάπτυξης	Basal	SM	SP
Επιβίωση (%)	100%	100%	100%
Τελικό βάρος (g)	24,38 \pm 0,11 ^a	24,03 \pm 0,77 ^a	20,01 \pm 0,74 ^b
Αύξηση βάρους (g)	15,62 \pm 0,11 ^a	15,26 \pm 0,77 ^a	11,24 \pm 1,60 ^b
Κατανάλωση τροφής (g/ψάρι)	20,62 \pm 0,39 ^a	20,59 \pm 0,27 ^a	18,90 \pm 0,69 ^b
Κατανάλωση τροφής (% ΣΒ/ ημέρα)	37,88 \pm 0,83 ^a	37,05 \pm 2,07 ^a	29,90 \pm 3,60 ^b
FCR	1,32 \pm 0,03 ^a	1,35 \pm 0,08 ^a	1,70 \pm 0,21 ^b
SGR (% ανά ημέρα)	1,86 \pm 0,01 ^a	1,83 \pm 0,06 ^a	1,50 \pm 0,15 ^b
PER	1,56 \pm 0,03 ^a	1,53 \pm 0,09 ^a	1,23 \pm 0,15 ^b
PR (%)	26,54 \pm 0,58 ^a	26,02 \pm 1,41 ^a	20,35 \pm 2,39 ^b
LR (%)	80,44 \pm 1,63 ^a	73,32 \pm 2,76 ^a	62,66 \pm 3,76 ^b

Σημ.: Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν

στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου από μίγμα μικροφυκών *Schizochytrium* sp. και *M. gaditana*

Από τα αποτελέσματα του πειράματος αποδείχθηκε ότι το μίγμα μικροφυκών *Schizochytrium* sp. και *M. gaditana* μετά από 55 ημέρες διατροφής δεν επηρέασε σημαντικά την επιβίωση, το μέσο βάρος και τις παραμέτρους ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής των ατόμων. Αυτό σημαίνει ότι ο συνδυασμός του διαιτητικού DHA από το *Schizochytrium* sp. και του διαιτητικού EPA από το *M. gaditana* ήταν αποτελεσματικός για την ανάπτυξη και την επιβίωση του είδους *Sparus aurata*. Με άλλα λόγια το μίγμα των συγκεκριμένων μικροφυκών επιτυχώς αντικατέστησε το 50% του ιχθυελαίου και το 18,9% του ιχθυαλεύρου στο σιτηρέσιο της τσιπούρας.

Τα ευρήματα της έρευνας αυτής συμφωνούν με την έρευνα των Karapanagiotidis et al. (2022), όπου πραγματοποίησαν αντικατάσταση του ιχθυελαίου από μίγμα *Schizochytrium* sp. και *M. gaditana* κατά 50% και 100% και δεν επηρέασε σημαντικά την επιβίωση, την ανάπτυξη και τις παραμέτρους αξιοποίησης της τροφής της τσιπούρα. Οι Qiao et al. (2014) σε πείραμα 55 ημερών για το είδος *Paralichthys Olivaceus* αντικατέστησαν το ιχθυέλαιο κατά 100% από μίγμα μικροφυκών *Schizochytrium* sp. και *M. gaditana*, χωρίς να επηρεάσει την ανάπτυξη του είδους. Οι Seong et al. (2021) σε διατροφικό πείραμα 75 ημερών για το είδος *Pagrus major* συμπεριέλαβαν μίγμα *Schizochytrium* sp. και *Microchloropsis* κατά 25% του σιτηρεσίου, με αποτέλεσμα να μην παρατηρηθούν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην αύξηση βάρους, στο FCR και στο SGR.

Αυτά τα είδη μικροφυκών έχουν χρησιμοποιηθεί και μεμονωμένα για την αντικατάσταση του ιχθυελαίου και του ιχθυάλευρου. Όσον αφορά το *Schizochytrium sp.*, οι Ganuza et al. (2008) αντικατέστησαν πλήρως το ιχθυέλαιο στην τσιπούρα και ανέφεραν παρόμοια ανάπτυξη με την ομάδα ελέγχου. Επιπλέον, οι Kousoulaki et al. (2015) έδειξαν ότι η προσθήκη 5% του *Schizochytrium sp.* στο σιτηρέσιο μπορεί να αντικαταστήσει το ιχθυέλαιο, χωρίς να επιδράσει στον ρυθμό ανάπτυξης και το δείκτη FCR των ιχθύων του σολομού.

Όσον αφορά το *M. gaditana*, οι Ayala et al. (2020) συμπέραναν ότι στο τέλος του πειράματος των 90 ημερών για την τσιπούρα δεν παρατηρήθηκαν στατιστικές σημαντικές διαφορές στην επιβίωση, στο σωματικό βάρος, στο FCR και στο SGR μεταξύ της ομάδας μάρτυρα και των ομάδων που είχαν το *M. gaditana*. Αντίθετα, οι Eryalcin et al. (2015) παρατήρησαν μειωμένη ανάπτυξη στην τσιπούρα όταν το *M. gaditana* αντικατέστησε πλήρως το διαιτητικό ιχθυέλαιο.

4.2 Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου από μίγμα μικροφυκών *Schizochytrium sp.* και *P. tricornutum*.

Μετά από 55 ημέρες διατροφής τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν το μίγμα μικροφυκών *Schizochytrium sp.* και *P. tricornutum* δεν επηρέασε την επιβίωση των ατόμων. Ωστόσο, τα άτομα που διατράφηκαν με αυτό το σιτηρέσιο παρουσίασαν μειωμένο σωματικό βάρος και μειωμένες τιμές στις παραμέτρους ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής σε σχέση τόσο με τον μάρτυρα όσο και με την ομάδα που διατράφηκε με τα μικροφύκη *Schizochytrium sp.* και *M. gaditana*. Οι ιχθύες της ομάδας SP κατανάλωσαν σημαντικά χαμηλότερη ποσότητα ιχθυοτροφής που μπορεί να οφείλεται στην γευστικότητα της, με αποτέλεσμα αυτό να οδηγήσει σε σημαντικά

χαμηλότερο σωματικό βάρος και SGR σε σχέση με τις άλλες δύο ομάδες. Ταυτόχρονα, όμως, στην ομάδα αυτή ο συντελεστής μετατρεψιμότητας (FCR) και ο συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεΐνης (PER) ήταν σημαντικά χαμηλότεροι, το οποίο υποδεικνύει ότι η συγκεκριμένη τροφή δεν αξιοποιήθηκε αποτελεσματικά στον ίδιο βαθμό τόσο με την τροφή του μάρτυρα όσο και με την τροφή SM. Μιας και οι τροφές SM και SP χρησιμοποίησαν την ίδια πηγή DHA (*Schizochytrium sp.*) αλλά διέφεραν ως προς την πηγή του EPA, τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν μια χαμηλότερη αποτελεσματικότητα του μικροφύκου *P. tricornutum* συγκριτικά με το μικροφύκος *M. gaditana*. Αυτό με τη σειρά του μπορεί να οφείλεται σε διαφορές μεταξύ των δύο μικροφυκών στο κυτταρικό τους τοίχωμα μιας και είναι γνωστό ότι αυτό αποτελεί παράγοντα δυσπεψίας και μη απόδοσης των διαθέσιμων θρεπτικών συστατικών (Sarker et al. 2016, Annamalai et al. 2021, Teuling 2019). Το γεγονός ότι το *P. tricornutum* συμπεριλήφθηκε στο σιτηρέσιο σε υψηλότερο επίπεδο (173,9 g/Kg) σε σχέση με το *Microchloropsis gaditana* (133,6 g/Kg) πιθανώς να επηρέασε και αυτό τα αποτελέσματα. Επιπλέον, έχει διατυπωθεί ότι η συμπερίληψη του *Phaeodactylum tricornutum* μπορεί να είναι επιζήμια για το έντερο των ψαριών (Atalah et al. 2007).

Γενικότερα δεν έχει αξιολογηθεί από μελέτες ο συνδυασμός του *Schizochytrium sp.* και του *P. tricornutum* για την αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου. Ωστόσο, υπάρχουν λίγες έρευνες που αξιολογούν την υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου από το *P. tricornutum* ως μεμονωμένο συστατικό. Οι Cruz et al. (2018) απέδειξαν ότι η διατροφική συμπερίληψη κατά 10% με το *Phaeodactylum tricornutum* στο είδος *Morone sp.* δεν επηρέασε την επιβίωση που ήταν στο 100%, όμως ήταν μειωμένη η αύξηση του βάρους σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα. Οι Sorensen et al. (2016) απέδειξαν

ότι το *P. tricornutum* μπορεί να συμπεριληφθεί έως και 6% στο σιτηρέσιο στη διατροφή του σολομού του Ατλαντικού (*Salmo salar*), χωρίς να επηρεάσει την ανάπτυξη και τις παραμέτρους αξιοποίησης της τροφής, ενώ η συμπερίληψη κατά 12% οδήγησε σε μειωμένη πρόσληψη της τροφής. Οι Atalah et al. (2007) συμπεριέλαβαν κατά 5% το μικροφύκος *P. tricornutum* σε δίαιτες για τη νεαρή τσιπούρα με αποτέλεσμα να μην επηρεαστεί σημαντικά η επιβίωση των ατόμων της τσιπούρας, το σωματικό βάρος, η τελική βιομάζα και το SGR.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνοψίζοντας, τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εκτροφή της τσιπούρας με μίγμα μικροφυκών *Schizochytrium* sp. και *M. gaditana* και μίγμα *Schizochytrium* sp. και *P. tricornutum* είναι:

- Η συμπερίληψη των μιγμάτων αυτών στο σιτηρέσιο υποκαθιστώντας το ιχθυέλαιο κατά 50% δεν επηρέασε την επιβίωση της τσιπούρας.
- Η αντικατάσταση του ιχθυελαίου κατά 50% και του ιχθυάλευρου κατά 18,9% από μίγμα μικροφυκών *Schizochytrium* sp. και *M. gaditana* δεν επηρέασε τις παραμέτρους ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής.
- Η αντικατάσταση του ιχθυελαίου κατά 50% και του ιχθυάλευρου κατά 26,8% από μίγμα μικροφυκών *Schizochytrium* sp. και *P. tricornutum* επηρέασε αρνητικά τις παραμέτρους ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής.
- Το *M. gaditana* φάνηκε να είναι περισσότερο αποτελεσματικό από το *P. tricornutum* ως πηγή EPA στο σιτηρέσιο της τσιπούρας.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

6.1 Ξένη Βιβλιογραφία

Ahmad A., Hassan S.W., Banat F. (2022). An overview of microalgae biomass as a sustainable aquaculture feed ingredient: food security and circular economy. *BIOENGINEERED* 13:9521–9547.

Annamalai SN, Das P, Thaher MIA, et al. Nutrients and energy digestibility of microalgal biomass for fish feed applications. *Sustainability*. 2021;13(23):13211.

Apostolopoulos A.& Klaoudatos S. 1986. Effect of acclimatization and degree of hunger on the satiation amount in *sparus aurata* and satiation curve of the fish. *Thalassographica* 9(2): 69-78.

Arif M., Wang L., Salama E.S., Hussain S., Jalalah M. Microalgae isolation for nutrient removal assessment and biodiesel production. *Bioenerg. Res.*, 13 (1) (2020), pp. 1247-1259.

Atalah A., Hernandez Cruz, Robaina L. Two microalgae *Cryptocodinium cohnii* and *Phaeodactylum tricorutum* as alternative source of essential fatty acids in starter feeds for seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 2007 1-4, 178-185.

Ayala M.D., Galian C., Fernandez V., Influence of Low Dietary Inclusion of the Microalga *Nannochloropsis gaditana* (Lubián 1982) on Performance, Fish Morphology, and Muscle Growth in Juvenile Gilthead Seabream (*Sparus aurata*). *Animals* 2020, 10(12), 2270.

Bakke, A.M.; Chikwati, E.; Venold, F.F.; Sahlmann, C.; Holm, H.; Penn, M.H.; Oropeza-Moe, M.; Krogdahl, Å. Bile enhances glucose uptake, reduces

permeability, and modulates effects of lectins, trypsin inhibitors and saponins on intestinal tissue. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2014, 168, 96–109.

Barkia I., Saari N., Manning S.R. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Marine Drugs*, 17 (5) (2019), p. 304.

Becker E.W. Microalgae for aquaculture: nutritional aspects A. Richmond, Q. Hu (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology* (Second edition), John Wiley & Sons, Ltd (2013), pp. 671-691.

Borowitzka M A (2013) High-value products from microalgae—their development and commercialisation. *Journal of Applied Phycology* 25: 743-756.

Brown MR (2002) Nutritional value and use of microalgae in aquaculture. In: *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, vol 3, pp 281–292

Brown, M.R.; Mular, M.; Miller, I.; Trenerry, C.; Farmer, C. The vitamin content of microalgae used in aquaculture. *J. Appl. Phycol.* 1999, 11, 247–255.

Cashion T., Manach L.F., Zeller D., Pauly D. Most fish destined for fishmeal production are food-grade Fish., 18 (2017), 837-844.

Cauchie G., Delfau-Bonnet G., Caulier G., Hantson A.L. Comprehensive lipid profiling of *Microchloropsis gaditana* by liquid chromatography - (tandem) mass spectrometry: Bead milling and extraction solvent effects *Algal Research*, 2021 102388.

Cerezuela R., Guardiola F.A., Meseguer J., Esteban M.A. Enrichment of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) diet with microalgae: effects on the immune system. *Fish Physiol. Biochem.*, 38 (2012), pp. 1729-1739.

Chang, M., T. Zhang, X. Guo, Y. Liu, R. Liu, Q. Jin, X. Wang. 2020. Optimization of cultivation conditions for efficient production of carotenoid-rich DHA oil by *Schizochytrium* sp. S31. *Process Biochem.* 94:190–197.

Cruz C.R.D., Lubrano A., Galdim D.M. Evaluation of microalgae concentrates as partial fishmeal replacements for hybrid striped bass *Morone* sp. *Aquaculture* 2018, 130-136.

Cui Y Thomas-Hall S.R. Schenk P.M. *Phaeodactylum tricornutum* microalgae as a rich source of omega-3 oil: Progress in lipid induction techniques towards industry adoption. *Food Chemistry* 2019124937.

Dayal J.S., Muralidhar M., Ambasankar K. et.al. Fishmeal availability in the scenarios of climate change: Inevitability of fishmeal replacement in aquafeeds and approaches for the utilization of plant protein sources. *Aquaculture Research* 2019, 12:3493-3506.

Dineshbabu G, Goswami G, Kumar R, Sinha A, Das D. Microalgae–nutritious, sustainable aqua- and animal feed source *J. Funct. Foods*, 62 (2019), Article 103545.

Eryalcin K.M., E. Ganuza E., Atalah E., Hernandez-Cruz C.M. *Nannochloropsis gaditana* and *Cryptocodinium cohnii*, two microalgae as alternative sources of essential fatty acids in early weaning for gilthead seabream *Hidrobiologica*, 25 (2015), pp. 193-202.

FAO (2020). *Fisheries And Aquaculture Software. FishStatJ-Software for Fishery Statistical Time Series*. Rome: FAO Fisheries and Aquaculture Department

FAO. The state of world fisheries and aquaculture 2020. Sustainability in action. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Fawley M.W., Jameson I., Fawley K.P. The phylogeny of the genus *Nannochloropsis* (Monodopsidaceae, Eustigmatophyceae), with descriptions of *N. australis* sp. nov. and *Microchloropsis* gen.

Fawley, K.P. Observations on the Diversity and Ecology of Freshwater *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae), with Descriptions of New Taxa. *Protist* 2007, 158, 325–336.

Foster A. (ed) 1996. Proceeding of the Abolone Aquaculture Workshop. Aquaculture Development Council and fisheries Department of Western Australia. P 115.

Ganuza E., Benítez T. Santana, E. Atalah, O. Vega Orellana, R. Ganga, M.S. Izquierdo *Cryptocodinium cohnii* and *Schizochytrium* sp. as potential substitutes to fisheries-derived oils from seabream (*Sparus aurata*) microdiets. *Aquaculture*, 277 (2008), pp. 109-116.

García J.L., Vicente M.D., Galán B. Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals *Microbial Biotechnology*, 10 (5) (2017), pp. 1017-1024.

Gatlin, D.M.; Barrows, F.T.; Brown, P.; Dabrowski, K.; Gaylord, T.G.; Hardy, R.W.; Herman, E.; Hu, G.; Krogdahl, Å.; Nelson, R.; et al. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. *Aquac. Res.* 2007, 38, 551–579.

Gouveia L., Choubert G., Pereira N., Santinha J., Empis J., Gomes E. Pigmentation of gilthead seabream, *Sparus aurata* (L. 1875), using *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Volvocales) microalga. *Aquac. Res.*, 33 (2002), pp. 987-993.

Guschina IA, Harwood JL (2013) Τα λιπίδια φυκών και ο μεταβολισμός τους. Στο: Borowitzka MA, Moheimani NR (eds) *Algae for biofuels and Energy*. Springer, Dordrecht, σελ. 17–36

Hibberd D.J. Notes on the taxonomy and nomenclature of the algal classes Eustigmatophyceae and Tribophyceae (synonym Xantophyceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 82 (1981), pp. 93-99.

Hodar A, Vasava R.J. Mahadiya D.R., Joshi N.H. Fish meal and fish oil replacement for aqua feed formulation by using alternative sources: a review. *J Exp Zool India*. 2020;23(1):13–21. *International Aquafeed*, 8 (2005), pp. 38-40.

Jannathulla R., Rajaram V., Kalanjiam R., Ambasankar K., Muralidhar M, Dayal J.S. Fishmeal availability in the scenarios of climate change: inevitability of fishmeal replacement in aquafeeds and approaches for the utilization of plant protein sources. *Aquac. Res.*, 50 (2019), pp. 3493.

Karapanagiotidis I.T., Metsoviti M.N., Gkalogianni E.Z., Psoufakis P., Asimaki A. et.al. The effects of replacing fishmeal by *Chlorella vulgaris* and fish oil by *Schizochytrium* sp. and *Microchloropsis gaditana* blend on growth performance, feed efficiency, muscle fatty acid composition and liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 561 (2022) 738709.

Khan, M. I., Shin, J. H., & Kim, J. D. (2018). The promising future of microalgae: status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial cell factories*, 17(1), 36.

Kim S.M, Jung Y.-J. Kwon O.N., Cha K.H., Um B.H., Chung D., *et al.* A potential commercial source of fucoxanthin extracted from the

microalga *Phaeodactylum tricornutum* Applied Biochemistry and Biotechnology, 166 (7) (2012), pp. 1843-1855.

Knutsen, H.R.; Johnsen, I.H.; Keizer, S.; Sorensen, M.; Roques, J.A.C.; Heden, I.; Sundell, K. Fish welfare, fast muscle cellularity, fatty acid and body-composition of juvenile spotted wolffish (*Anarhichas minor*) fed a combination of plant proteins and microalgae (*Nannochloropsis oceanica*). *Aquaculture* 2019, 506, 212–223.

Kousoulaki, K., Berge, G. M., Mørkøre, T., Krasnov, A., Bæverfjord, G., Ytrestøyl, T., & Ruyter, B. (2020). Microalgal *Schizochytrium limacinum* Biomass Improves Growth and Filet Quality When Used Long-Term as a Replacement for Fish Oil, in Modern Salmon Diets.

Kousoulaki, K., Ostbye, T. K. K., Krasnov, A., Torgersen, J. S., Mørkøre, T., & Sweetman, J. (2015). Metabolism, health and fillet nutritional quality in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing n-3-rich microalgae. *Journal of nutritional Science*, 4.

Lubián, L.M.; Montero, O.; Moreno-Garrido, I.; Huertas, I.E., Sobrino, C.; González-Del Valle, M.; Parés, G. *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae) as source of commercially valuable pigments. *J. Appl. Phycol.* 2000, 12, 249–255.

Ma, X. N., Chen, T. P., Yang, B., Liu, J., & Chen, F. (2016). Lipid production from *Nannochloropsis*. *Marine drugs*, 14(4), 61.

Martino AD, Meichenin A, Shi J, Pan K, Bowler C (2007) Genetic and phenotypic characterization of *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) accessions. *J Phycol* 43:992–1009.

Matos E., Dias J., Dinis M.T., Silva T.S. Sustainability vs. quality in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) farming are trade-offs inevitable. *Rev. Aquac.*, 9 (2016), pp. 388-409.

Metsoviti M.N., Gkalogianni E.Z., Katouni A.M., Rougkas G., Savvaki E., Psoufakis P., Katsoulas N., Papapolymerou G., Karapanagiotidis I.T. (2018a). Effects of replacing fishmeal by *Chlorella vulgaris* and fish oil by *Nannochloropsis gaditana* and *Schizochytrium* sp. blend on growth and feed efficiency of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Proceedings of the European Aquaculture Society and World Aquaculture Society (AQUA 2018)*, August 25-29, Montpellier, France, p. 508.

Michalak, I., & Chojnacka, K. (2015). Algae as production systems of bioactive compounds. *Engineering in Life Sciences*, 15(2), 160-176.

Milledge JJ. Commercial application of microalgae other than as biofuels: a brief review. *Rev Environ Sci Bio/Technol.* 2011;10(1):31–41.

Morais Junior W.G, Gorgich M., Corrêa P.S, Martins A.A, Mata T.M., Caetano N.S. Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. *Aquaculture*, 528 (2020), p. 735562.

Morreti A., Pedinni M., Citolin G., Guidastrì R. 1999. *Manual of hatchery production of seabass and gilt seabream Vol. 1* FAO, Rome 194 p.

Nigam P.S., Singh A. Production of liquid biofuels from renewable resources. *Prog Energy Combust Sci*, 37 (2011), pp. 52-68.

NRC (1993) *Nutrient Requirement of fish*. Committee on Animal Nutrition. Board on Agriculture, National Research Council. National Academy Press. Washington, D.C. 1993.

Olsen R.L., Hasan M.R. A limited supply of fishmeal: impact on future increases in global aquaculture production. *Trends Food Sci. Technol.*, 27 (2012), pp. 120-128.

Palmegiano G.B., Gai F., Gasco L., Lembo G., Spedicato M.T., Trotta P., Zoccarato I. Partial replacement of fish meal by T-Iso in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles' diets *Ital. J. Anim. Sci.*, 8 (2009), pp. 869-871.

Pascon G, Messina M, Petit L., Valente L.M.P, Oliveira B., Przybyla C., Tulli F. Potential application and beneficial effects of a marine microalgal biomass produced in a high-rate algal pond (HRAP) in diets of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 28 (2021), pp. 62185-62199.

Patterson D., Gatlin D.M. Evaluation of whole and lipid-extracted algae meals in the diets of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 416–417 (2013), pp. 92-98.

Pereira V., Marques A., Rego A. Marine macroalgae as a dietary source of genoprotection in gilthead seabream (*Sparus aurata*) against endogenous and exogenous challenges. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 2019, 12-24.

Pike I. Eco-efficacy in aquaculture: global catch of wild fish used in aquaculture 2005.

Qiao H., Wang H., Song Z., Ma J., Li B., Liu X., Zhang L. Effects of dietary fish oil replacement by microalgae raw materials on growth performance, body composition and fatty acid profile of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquac. Nutr.*, 20 (2014), pp. 646-653.

Ribeiro A.R., Gonçalves A., Barbeiro M., Bandarra N., Nunes M.L., Carvalho M.L., Silva J., Navalho J., Dinis M.T., Silva T., J. Dias *Phaeodactylum tricornutum* in finishing diets for gilthead seabream: effects on skin pigmentation, sensory properties and nutritional value. *J. Appl. Phycol.*, 29 (2017), pp. 1945-1956.

Sarker P.K., Kapuscinski A.R., Bae A.Y., Donaldson E., Sitek A.J., Fitzgerald D.S., Edelson O.F. Towards sustainable aquafeeds: evaluating substitution of fishmeal with lipid-extracted microalgal co-product (*Nannochloropsis oculata*) in diets of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).

Sarker PK, Kapuscinski AR, Vandenberg G.W., Proulx E., A.J. Sitek A.J. Towards sustainable and ocean-friendly aquafeeds: evaluating a fish-free feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using three marine microalgae species. *Elementa*, 8 (2020), p. 5.

Sarker P, Gamble MM, Kelson S, et al. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) show high digestibility of lipid and fatty acids from marine *Schizochytrium* sp. and of protein and essential amino acids from freshwater *Spirulina* sp. feed ingredients. *Aquaculture Nutr.* 2016;22(1):109–119.

Seong, T., Matsutani, H., Haga, Y., Kitagima, R., & Satoh, S. (2019). First step of non-fish meal, non-fish oil diet development for red seabream, (*Pagrus major*), with plant protein sources and microalgae *Schizochytrium* sp. *Aquaculture Research*, 50(9), 2460-2468.

Singh A., Nigam P.S., Murphy J.D. Mechanism, and challenges in commercialisation of algal biofuels *Bioresour Technol*, 102 (2011), pp. 26-34.

Skrede A, Mydland L, Ahlstrom Ø, Reitan K, Gislerød H, Overland M (2011) Evaluation of microalgae as sources of digestible nutrients for monogastric animals. *J Anim Feed Sci* 20:131–142.

Sorensen M, Berge GM, Reitan KI, Ruyter B, et al. Microalga *Phaeodactylum tricornutum* in feed for Atlantic salmon (*Salmo salar*) Effect on nutrient digestibility, growth, and utilization of feed. *Aquaculture*. 2016; 460:116–123.

Tandon P, Jin Q. Microalgae culture enhancement through key microbial approaches. *Renew Sust Energ Rev*. 2017; 80:1089–1099.

Teuling E, Wierenga PA, Agboola JO, et al. Cell wall disruption increases bioavailability of *Nannochloropsis gaditana* nutrients for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 2019;499:269–282.

Tibbetts SM, Bjornsson WJ, McGinn PJ. Biochemical composition and amino acid profiles of *Nannochloropsis granulata* algal biomass before and after supercritical fluid CO₂ extraction at two processing temperatures. *Anim Feed Sci Technol*. 2015, 204:62–71.

Tibbetts SM, Milley JE, Lall SP. Chemical composition and nutritional properties of freshwater and marine microalgal biomass cultured in photobioreactors. *J Appl Phycol*. 2015;27(3):1109–1119
hotobioreactors. *J Appl Phycol*. 2015;27(3):1109–1119

United Nations. World Population Prospects. *Department of Economic and Social Affairs*; 2019.

Van Krimpen MM, Bikker P, Van der Meer IM, Van der Peet-Schwering CMC, Vereijken JM, et al. Cultivation, processing and nutritional aspects

for pigs and poultry of European protein sources as alternatives for imported soybean products. Wageningen UR Livestock Research; 2013.

Vegas A.R., Mendsoza S.R., Angulo C., Hernandez B.B. Prospects on the Use of *Schizochytrium* sp. to Develop Oral Vaccines. Front. Microbiol 2018.

Vizcaíno A.J., Saéz M.I., López G., Arizcun M., Abellán E., Martínez T.F. *Tetraselmis suecia* and *Tisochrysis lutea* meal as dietary ingredients for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fry J. Appl. Phycol., 28 (2016), pp. 2843-2855.

Vizcaíno A.J., López G., Sáez M.I., Jiménez J.A., Barros A., Hidalgo L., Camacho-Rodríguez J., Martínez T.F., Cerón-García M.C., Alarcón F.G. Effects of the microalga *Scenedesmus almeriensis* as fishmeal alternative in diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata*, juveniles Aquaculture., 431 (2014), pp. 34-43.

Wolkers H, Barbosa, M, Kleinegris, D, Bosma, R, Wijffels, RH, et al. Microalgae: the green gold of the future. Wageningen UR: 2011.

Zanella, L., & Vianello, F. (2020). Microalgae of the genus *Nannochloropsis*: Chemical composition and functional implications for human nutrition. Journal of Functional Foods, 68, 103919.

Zhao S., Lü B., Li R., Zhu A, Wu C. A preliminary analysis of fishery resource exhaustion in the context of biodiversity decline. Sci. China Earth Sci., 59 (2016), pp. 223.

6.2. Ελληνική βιβλιογραφία

Αδαμίδου Σ., Νέγκας Ι. (2012). Κεφάλαιο, 9ο. – Συστατικά ιχθυοτροφών. Στοιχεία Φυσιολογίας Θρέψεως και Εφαρμοσμένη Διατροφή Ιχθύων και Καρκινοειδών (Ε. Μεντέ & Ι. Νέγκας). Εκδόσεις Παπαζήση.

Καραπαναγιωτίδης Ι. (2012). Κεφάλαιο, 5ο. – Λιπίδια,. Στοιχεία Φυσιολογίας Θρέψεως και Εφαρμοσμένη Διατροφή Ιχθύων και Καρκινοειδών (Ε. Μεντέ & Ι. Νέγκας). Εκδόσεις Παπαζήση.

Καραπαναγιωτίδης Ι. (2018). Σημειώσεις του μαθήματος «Τεχνολογία Ιχθυοτροφών». Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας..

Κλαουδάτος Σ., Κλαουδάτος Δ. (2012). Κεφάλαιο 3. Καλλιέργειες φυτικών και εκτροφές υδρόβιων οργανισμών. Προπομπός, Αθήνα.

Νεοφύτου Ν Θεσσαλονίκη 2015 Βιολογία ιχθύων και θαλασσιών θηλαστικών. University studio press, 184-186.

6.3. Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

<https://fishfromgreece.com/kathgoria/dhlwseis-typou/ellhnikh-ydatokalliergeia-ethsia-ekthesh-2022/>

<https://www.fishbase.se/summary/Sparus-aurata.html>

