

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Η επίδραση της υποκατάστασης του ιχθυελαίου από μικροφύκη των
ειδών *Schizochytrium* sp. και *Nannochloropsis* sp. στη θρεπτική
σύσταση του σώματος και του μυϊκού ιστού του λαβρακιού
(*Dicentrarchus labrax*)**

ΔΕΛΙΟΠΟΥΛΟΥ ΟΛΓΑ

ΒΟΛΟΣ 2023

Η επίδραση της υποκατάστασης του ιχθυελαίου από μικροφύκη των ειδών *Schizochytrium* sp. και *Nannochloropsis* sp. στη θρεπτική σύσταση του σώματος και του μυϊκού ιστού του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*)

3μελής εξεταστική επιτροπή:

Επιβλέπων: Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης, Αναπληρωτής Καθηγητής - Διατροφή
Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών

Μέλος: Νικόλαος Νεοφύτου, Αναπληρωτής Καθηγητής – Υδατοκαλλιέργειες και
Περιβάλλον

Μέλος: Φωτεινή Παρλαπάνη, Επίκουρος Καθηγήτρια – Μοριακή Μικροβιολογία και
Ποιότητα Αλιευτικών Προϊόντων – Τροφίμων

Στην οικογένεια μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς τον Ι. Καραπαναγιωτίδη για τη διαρκή στήριξη, καθώς και την καθοδήγηση σε όλα τα στάδια της διπλωματικής διατριβής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Νεοφύτου Νικόλαο και την κ. Παρλαπάνη Φωτεινή για την βοήθεια τους. Θερμές ευχαριστίες δίνω στους υποψήφιους διδάκτορες κ. Ελίνα Γκαλογιάννη, κ. Μαντώ Ασημάκη και κ. Πιερ Ψωφάκη για τη βοήθεια που μου πρόσφεραν.

Επιπροσθέτως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συμφοιτητές μου κ. Ανθόπουλο Κωνσταντίνο, κ. Βασιλακόπουλο Ευάγγελο και κ. Δενδραμή Γεώργιο τόσο για την βοήθεια όσο και για τη συνεργασία που είχαμε. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένεια μου και στον αδελφό μου για τη διαρκή συμπαράσταση και βοήθεια σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια, η εντατικοποίηση της αλιευτικής δραστηριότητας αποτέλεσε ουσιώδη αιτία για την μείωση των φυσικών ιχθυαποθεμάτων, αυξάνοντας τη ζήτηση τους. Στην Ευρώπη, οι υδατοεκτροφές χρησιμοποιούν σαρκοφάγα είδη που καταναλώνουν ιχθυοτροφές, που περιέχουν μεγάλες ποσότητες ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων, μειώνοντας τα ιχθυοαποθέματα από όπου προέρχονται. Για αυτό το λόγο, έχει ξεκινήσει μια απόπειρα μείωσης της εξάρτησης του κλάδου των ιχθυοτροφών από τα ιχθυέλαια, αναζητώντας νέες πηγές ελαίων για την παρασκευή ιχθυοτροφών.

Τα μικροφύκη αποτελούν υποσχόμενες υποψήφιες τροφές λόγω των υψηλών επιπέδων πρωτεΐνης και ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων τους. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης της υποκατάστασης του ιχθυελαίου από τα μικροφύκη των ειδών *Nannochloropsis* sp. και *Schizochytrium* sp. στη θρεπτική σύσταση του σώματος και του μυϊκού ιστού του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Στην εργασία, προβάλλονται τα αποτελέσματα της θρεπτικής σύστασης ιχθύων που προήλθαν από πείραμα εκτροφής όπου είχαν διατραφεί με σιτηρέσια που περιείχαν βιομάζες μικροφυκών των *Nannochloropsis* sp. και *Schizochytrium* sp. και υποκατέστησαν το ιχθυέλαιο μιας τροφής-μάρτυρα κατά 50% και 100%.

Για τις ανάγκες της παρούσας έρευνας, μεταφέρθηκαν ιχθύδια του λαβρακιού με αρχικό μέσο βάρος $2,85 \pm 0,01$ g στις εγκαταστάσεις του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος στο Βόλο. Συγκεκριμένα, διατράφηκαν 3 ομάδες με διαφορετικό σιτηρέσιο η κάθε μία. Η ομάδα ιχθύων του μάρτυρα (FM) διατράφηκε αποκλειστικά με ιχθυέλαιο ως πηγή λίπους και ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Αντίθετα, οι υπόλοιπες ομάδες διατράφηκαν με ένα μείγμα από άλευρα μικροφυκών *Nannochloropsis* sp. και *Schizochytrium* sp. που

υποκατέστησε το ιχθυέλαιο της FM τροφής κατά 50% (SM50 τροφή) και 100% (SM100 τροφή). Στο τέλος του πειράματος, τα ψάρια θανατώθηκαν με ισχυρή αναισθητοποίηση, συλλέγοντας από κάθε ομάδα εννέα (9) άτομα για τις αναλύσεις του μυϊκού ιστού των ιχθύων.

Οι χημικές αναλύσεις ολόκληρου του σώματος και του μυϊκού ιστού πραγματοποιήθηκαν με βάση τις μεθόδους AOAC (1995) με τον εξής τρόπο: ο προσδιορισμός της υγρασίας με θέρμανση για 24 ώρες στη θερμοκρασία των 105 ° C, ο προσδιορισμός των ολικών αζωτούχων ουσιών με τη μέθοδο Kjeldahl, ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο εκχύλισης Soxhlet, ο προσδιορισμός της τέφρας με αποτέφρωση των δειγμάτων στους 600 ° C για 3 ώρες και τέλος η ολική ενέργεια με τη βοήθεια αδιαβατικού θερμιδόμετρου. Στη συνέχεια, τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 26, αξιοποιώντας τη μέθοδο της Ανάλυσης της Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (one-way ANOVA), ακολουθούμενη από το Tukey's test, κρίνοντας τις όποιες διαφορές στατιστικά σημαντικές για $P < 0,05$.

Η περιεκτικότητα του σώματος όλων των ομάδων ιχθύων σε υγρασία κυμάνθηκε από 64,41% έως 64,88%, σε ολικές αζωτούχες ουσίες από 45,62% έως 49,49%, σε ολικές λιπαρές ουσίες από 38,38% έως 40,02% και σε τέφρα από 9,86% έως 10,38%. Περαιτέρω, η περιεκτικότητα του μυϊκού ιστού όλων των ομάδων ιχθύων σε υγρασία κυμάνθηκε από 74,07% έως 75,16%, σε ολικές αζωτούχες ουσίες από 81,81% έως 85,16%, σε ολικές λιπαρές ουσίες από 6,54% έως 7,05%, σε ολική ενέργεια από 22,83% έως 23,08% και σε τέφρα από 5,17% έως 5,70%. Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι η θρεπτική σύσταση τόσο του ολικού σώματος όσο και του μυϊκού ιστού διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων ιχθύων του μάρτυρα και της ομάδας SM100. Τα αποτελέσματα της έρευνας υποδεικνύουν ότι η πλήρης αντικατάσταση του

ιχθυελαίου στην τροφή του λαβρακιού από το μίγμα *Nannochloropsis* sp. και *Schizochytrium* sp. μεταβάλλει σημαντικά τη θρεπτική σύσταση του λαβρακιού με τις μεταβολικές συνέπειες της συγκεκριμένης διατροφικής στρατηγικής να χρίζει περαιτέρω διερεύνησης.

Λέξεις κλειδιά: λαβράκι, ιχθυέλαιο, μικροφύκη, *Nannochloropsis*, *Schizochytrium*

Abstract

Over the recent years, the intensification of fishing activity has been an important cause for the decrease in wild fish stocks, increasing their demand. In Europe, aquaculture sector uses carnivore fish, which they consume aquafeeds with high amounts of fish meals and fish oils, thus reducing the fish stocks from which they are made. Because of this, it has begun an attempt to reduce the aquafeeds' dependence on fish oils, seeking new sources of dietary oils and n-3 fatty acids for aquaculture production.

Microalgae are promising potential feedstuffs due to their high levels of protein and n-3 polyunsaturated fatty acids. The aim of this study was to investigate the effect of fish oil substitution by a blend of microalgae *Nannochloropsis* sp. and *Schizochytrium* sp. on the nutrient composition of European seabass' (*Dicentrarchus labrax*) whole body and muscle tissue.

For the needs of the research, juvenile seabass, with initial weight 2.85 ± 0.01 g were transferred at the University of Thessaly's facilities in the Department of Ichthyology and Aquatic Environment. Specifically, three groups of fish were fed with three different diets. The Control group (FM) was fed exclusively with fish oil as a source of lipids and n-3 fatty acids. The remaining two groups were fed with a blend of microalgal meal *Nannochloropsis* sp. and *Schizochytrium* sp. that replaced the dietary fish oil of the FM diet at 50% (SM50) and 100% (SM100), respectively. At the end of the experiment, the fishes were killed with powerful anesthesia and for the fishes' muscle tissue analyses, nine (9) fishes were chosen from each group.

The chemical analyses of the whole body and the muscle tissue were done according to the methods of AOAC (1995) with a specific way; the determination of moisture was determined by drying for 24 hours at 105° C, the determination of the total nitrogenous

substances was carried out with the Kjeldahl method. Meanwhile, the total fatty substances were determined with the Soxhlet method of extraction, the determination of the ash was accomplished with cremation of the samples in 600° C for 3 hours and the total energy with an adiabatic calorimeter. Then, the data were processed with the statistical program SPSS 26, using the one-way analyses of variance (one-way ANOVA), which was followed by Tukey's test in order to detect statistical differences at $P < 0.05$.

The whole-body moisture content for all the nutritional groups fluctuated from 64.41% to 64.88%, for the crude protein content from 45.62% to 49.49%, for the crude lipid content from 38.38% to 40.02% and for the ash from 9.86% to 10.38%. As for the muscle tissue for all the groups, the moisture content fluctuated from 74.07% έως 75.16%, the crude protein content from 81.81% to 85.16%, the crude lipid from 6.54% to 7.05%, the total energy from 22.83% to 23.08% and the ash from 5.17% έως 5.70%. The statistical process showed that there were statistical differences between the Control group and the group of 100% at the whole body and muscle tissue composition. From the results of the research, it seems that the blend from these microalgae can replace fish oil, without affecting the whole body and the muscle tissue. In future, other replacement levels should be checked.

Key words; European seabass, fish oil, microalgae, *Nannochloropsis*, *Schizochytrium* sp.

Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1. Εκτροφή λαβρακιού.....	8
1.2. Η σημασία των ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων στις ιχθυοτροφές	11
1.3. Μικροφύκη στις ιχθυοτροφές.....	16
1.4. Θρεπτική σύσταση των ιχθύων και επίδραση των τροφών πάνω σε αυτή	23
1.5. Σκοπός της διατριβής.....	24
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	25
2.1. Δειγματοληψίες	25
2.2. Εργαστηριακές αναλύσεις.....	28
2.2.1. Προσδιορισμός υγρασίας/ξηρής ουσίας.....	28
2.2.2. Προσδιορισμός τέφρας.....	29
2.2.3. Προσδιορισμός ενέργειας.....	31
2.2.4. Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ενώσεων	32
2.2.5. Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών	35
2.3 Στατιστική ανάλυση	37
3. Αποτελέσματα.....	38
3.1. Θρεπτική σύσταση του ολικού σώματος του λαβρακιού.....	38
3.1.1 Περιεκτικότητα σε υγρασία.....	38
3.1.2 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ενώσεις	39
3.1.3 Περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες.....	40
3.1.4 Περιεκτικότητα σε τέφρα.....	40
3.2. Θρεπτική σύσταση του μυϊκού ιστού του λαβρακιού.....	42
3.2.1 Περιεκτικότητα σε υγρασία.....	42
3.2.2 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ενώσεις	42
3.2.3 Περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες.....	43
3.2.4 Περιεκτικότητα σε ενέργεια	44
3.2.5 Περιεκτικότητα σε τέφρα.....	45
4. Συζήτηση	47
5. Συμπέρασμα.....	50
6. Βιβλιογραφία	51
6.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία	51
6.2 Ελληνική βιβλιογραφία.....	60
6.3 Ηλεκτρονική βιβλιογραφία	60

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Εκτροφή λαβρακιού

Το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) (Εικόνα 1.1) είναι ένα από τα πολύ κοινά, καθώς και ευρύτατα διαδεδομένο είδος στη Μεσόγειο Θάλασσα. Είναι ένα από τα κύρια εκτρεφόμενα είδη στις εντατικές ελληνικές θαλάσσιες υδατοκαλλιέργειες, μαζί με τη τσιπούρα. Αποτελεί ένα ευρύθερμο και ευρύαλο είδος με δυνατότητα επιβίωσης σε θερμοκρασίες νερού από 2 έως 30 °C και αλατότητα από 0 έως 40 psu (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012). Είναι σαρκοφάγο είδος, το οποίο τρέφεται κυρίως με μικρού μεγέθους ψάρια όπως αφρόψαρα και μία μεγάλη ποικιλία ασπόνδυλων όπως καρκινοειδή και μαλάκια. Τα μικρότερα σε ηλικία άτομα (μικρότερα των 20 cm) τρέφονται με μικρά καρκινοειδή και προνύμφες εντόμων. Το μεγαλύτερο λαβράκι που έχει αλιευθεί είχε ολικό μήκος 103cm και βάρος 12kg, ενώ η μεγαλύτερη ηλικία που έχει αναφερθεί είναι τα 15 έτη (FAO Fishbase 2005). Είναι βενθικό είδος της υποτροπικής ζώνης, το οποίο ζει στην περιοχή της υφαλοκρηπίδας μέχρι βάθος 200m. Πολλές φορές, ανάλογα την εποχή του χρόνου, συναντάται και σε ρηχότερα νερά (Νεοφύτου 2015).

Το καλοκαίρι μεταναστεύει σε παράκτιες περιοχές όπως επίσης και σε εκβολές των ποταμών. Αντίθετα, το χειμώνα κατευθύνεται σε μεγαλύτερα βάθη, καθώς και σε πιο κρύα νερά. Ζει σε πυθμένες ποικιλόμορφων συνθέσεων, αλλά και σε λιμνοθάλασσες, εκβολές ποταμών και μερικές φορές σε ποτάμια. Τα νεαρά άτομα δημιουργούν κοπάδια, ενώ τα ενήλικα άτομα εμφανίζουν μοναχική τάση. Το συγκεκριμένο είδος είναι γονοχωριστικό, το οποίο εμφανίζει γενετικό διμορφισμό, με τα θηλυκά άτομα να αναπτύσσονται ταχύτερα από ότι τα αρσενικά. Ειδικά τον πρώτο χρόνο της ζωής τους η ανάπτυξη των θηλέων ατόμων είναι ταχύτερη των αρρένων κατά 70% και σταθεροποιείται τον δεύτερο χρόνο της ζωής τους σε ποσοστά 20 έως 30%

(Gorshkov et al. 2004). Όμως, τα άρρενα άτομα παρουσιάζουν ταχύτερη γεννητική ωρίμανση από τα θηλυκά, αφού συμπληρώσουν το πρώτο χρόνο της ζωής τους. Αντίθετα, τα θηλυκά άτομα παρουσιάζουν γεννητική ωρίμανση μετά το δεύτερο έτος. Όσο αφορά τους πυλώνες της ωρίμανσης των γονάδων και της ωοτοκίας των γενετικά ώριμων θηλέων ατόμων απαιτούν συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες θερμοκρασίας, φωτοπερίοδου και ταυτόχρονα αλατότητας. Άμεση συνέπεια της συγκεκριμένης εξάρτησης είναι η εμφάνιση μικρών διαφοροποιήσεων στο χρόνο έναρξης και ολοκλήρωσης της περιόδου αναπαραγωγής, στις γεωγραφικές περιοχές που βρίσκεται το λαβράκι. Το λαβράκι απελευθερώνει περίπου 300-400 χιλιάδες αυγά ανά σωματικού βάρους, αποθέτοντάς τα αυγά στο πέλαγος και τα ατελή ιχθύδια να διέρχονται από πλαγκτονικό στάδιο (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012). Η αναπαραγωγική διαδικασία πραγματοποιείται στη Μεσόγειο και στη Μαύρη Θάλασσα από τον Ιανουάριο έως τον Απρίλιο. Αντίθετα, στις παράκτιες περιοχές της Μεγάλης Βρετανίας λαμβάνει χώρα από την περίοδο Μαρτίου-μέσα Ιουνίου. Είναι κοινό είδος τόσο στη Μεσόγειο όσο και στη Μαύρη Θάλασσα. Παράλληλα, συναντάται στη Νορβηγία, στη θαλάσσια περιοχή της Μεγάλης Βρετανίας όπως επίσης και στην Ιρλανδία.



Εικόνα 1.1: *Dicentrarchus labrax*. Πηγή: Fishbase 2003

Το λαβράκι ήταν από τα πρώτα θαλάσσια μη σαλμονοειδή είδη, το οποίο καλλιεργήθηκε εμπορικά στην Ευρώπη, αποτελώντας ένα από τα σημαντικά εμπορικά ψάρια που καλλιεργείται πολύ στη Μεσόγειο. Η Ελλάδα, η Τουρκία, η Ιταλία, η

Ισπανία, η Ισπανία, η Κροατία και η Αίγυπτος είναι οι κυριότεροι παραγωγοί του συγκεκριμένου είδους). Το 2019 η παραγωγή λαβρακιού και τσιπούρας ανήλθε σε 120.500 τόνους (65.300 τόνοι τσιπούρας και 55.200 τόνοι λαβρακιού συνολικής αξίας 545,6 εκ. (ΣΕΘ 2019). Η επιτυχημένη εκτροφή του έχει πραγματοποιηθεί με τις τεχνικές διχτυωτών κλωβών και υποδρομιών και με την εφαρμογή ημι-εντατικών συστημάτων παραγωγής (Hellin 1986 , Barnabe 1990 , Buchet and Hussenot 1993 & Papoutsoglou et al. 1998). Αν και τα λαβράκια εισέρχονται σε λίμνες και λιμνοθάλασσες με θαλασσινό νερό, το μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής προέρχεται από την καλλιέργεια σε θαλάσσιο κλουβί (FAO 2023). Στις ιταλικές λιμνοθάλασσες, όπου τα ιχθύδια αλιεύονται εκτός των λιμνοθαλασσών και στη συνέχεια ελευθερώνονται σε αυτές, τα ιχθύδια του λαβρακιού εκτρέφονται συνήθως σε απομονωμένες περιοχές μακριά από τα άλλα ψάρια (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012). Στην εντατική εκτροφή, τα αυγά του λαβρακιού, τοποθετούνται στις ίδιες δεξαμενές, στις οποίες θα πραγματοποιηθεί η εκκόλαψη όπως επίσης και η εκτροφή των προνυμφών και νυμφών. Τα αυγά του λαβρακιού είναι σφαιρικά και η διάμετρος τους κυμαίνεται από 1100 έως 1200μm, με την εκκόλαψη να ξεκινάει 72 ώρες από την ωοτοκία σε θερμοκρασία 13-14 °C.

Τις πρώτες ημέρες από την έναρξη της τροφής, η αλλαγή του νερού είναι περιορισμένη με την αλλαγή του νερού να γίνεται τη νύχτα. Η θερμοκρασία κατά τις πρώτες ημέρες της ζωής του λαβρακιού επιδρά καθοριστικά στο ρυθμό αύξησης και στη διαμόρφωση της αναλογίας θηλέων και αρρένων ατόμων του πληθυσμού (Koumoundouros et al. 2002, Mylonas et al. 2003 & Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012). Επιπροσθέτως, στις νύμφες του λαβρακιού υπάρχει η δυνατότητα της προσφοράς εξωγενούς διατροφής ναυπλίων της *Artemia* σε μικρό μέγεθος από την 1^η ημέρα έναρξης της τροφής μέχρι τη 40^η έως τη 45^η ημέρα από την εκκόλαψη, που

πραγματοποιείται η μεταμόρφωση σε ιχθύδια, ο απογαλακτισμός, δηλαδή η αποκοπή από τις ζωντανές τροφές, καθώς και η προσαρμογή τους στα προσφερόμενα σύμπληκτα. Η προπάχυνση είναι το μεταβατικό στάδιο εκτροφής ανάμεσα στα ιχθύδια και στη μεταμόρφωση μέχρι και την απόκτηση σωματικού βάρους 1,5-2g. Οι χώροι της προπάχυνσης είναι εξωτερικοί, καλυπτόμενοι με σκέπαστρο. Στόχος της προπάχυνσης είναι η προσαρμογή και ο εγκλιματισμός των νεαρών ιχθυδίων στις φυσικές συνθήκες εκτροφής. Η τροφή που δίνεται κατά τη προπάχυνση είναι ξηρή συνθετική σε λεπτούς κόκκους και περιέχει 45-50% πρωτεΐνη, 9-15% λιπίδια και 15-18% υδατάνθρακες (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012). Αφού ολοκληρώνεται ο απογαλακτισμός, μεταφέρονται τα ιχθύδια σε ιχθυοκλωβούς προπάχυνσης μέχρι να αποκτήσουν το εμπορεύσιμο μέγεθος που είναι 400-450g και επιτυγχάνεται σε 18-24 μήνες. Οι γεννήτορες τοποθετούνται σε αναλογία 2:1 αρρένων και θηλυκών.

1.2. Η σημασία των ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων στις ιχθυοτροφές

Οι συνολικές αλιείες και η συνολική παραγωγή της ιχθυοκαλλιέργειας (εκτός των φυκών) έχουν επεκταθεί σημαντικά τις τελευταίες επτά δεκαετίες, πηγαίνοντας από τους 19 εκατομμύρια τόνους το 1950 σε ρεκόρ όλων των εποχών στους 179 εκατομμύρια τόνους το 2018, με ετήσιο ρυθμό ανάπτυξης 3,3% (FAO 2022). Στην Ευρώπη, οι ιχθυοκαλλιέργειες χρησιμοποιούν σαρκοφάγα είδη, κυρίως σολομό του Ατλαντικού, ιριδίζουσα πέστροφα, τσιπούρα και λαβράκι, οι ιχθυοτροφές των οποίων εμπεριέχουν μεγάλες ποσότητες ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων (Μεντέ & Νέγκας 2011 & Καραπαναγιωτίδης 2018). Τα βιολογικά βιώσιμα αποθέματα αποτελούνται από τα μέγιστα βιώσιμα αλιευμένα και υποαλιευμένα αποθέματα, λαμβάνοντας υπόψη αντίστοιχα το 57,3% και το 7,2% του συνολικού αριθμού των εκτιμώμενων

αποθεμάτων το 2019 (FAO 2022). Έως και σήμερα, αυτή η πρακτική θεωρούνταν ορθή, διότι το ιχθυάλευρο είναι πλούσιο σε απαραίτητα αμινοξέα. Παράλληλα, είναι ελκυστικό και συγχρόνως εύπεπτο για τους εκτρεφόμενους ιχθύες, αλλά και άμεσα διαθέσιμο και φτηνό για τους παραγωγούς, ικανοποιώντας τις υψηλές απαιτήσεις των ιχθύων για ω-3 λιπαρά οξέα και ιδιαίτερα των 20:5ω-3 και 22:6ω-3, τα οποία είναι δυσεύρετα σε άλλα συστατικά-πρώτες ύλες για ιχθυοτροφές (Καραπαναγιωτίδης 2018). Εκτός όμως από τη πιθανή μελλοντική μείωση στη προσφορά των ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων, υπάρχουν επίσης ηθολογικές αντιδράσεις σχετικά με την εφαρμογή αλιευμένων ιχθύων, στοχεύοντας στη παραγωγή ζωοτροφών και όχι για την απ' ευθείας κατανάλωση τους από τον άνθρωπο, ειδικότερα όταν ένα μεγάλο μέρος του παγκόσμιου ανθρώπινου πληθυσμού υποσιτίζεται από πρωτεΐνη ζωικής προέλευσης (Μεντέ & Νέγκας 2011 & Καραπαναγιωτίδης 2018). Επιπρόσθετα, διάφοροι οικολογικοί και μη κυβερνητικοί οργανισμοί ολοένα και περισσότερο εκφράζουν έντονα την ανησυχία τους τόσο για τη βιώσιμη εκμετάλλευση των ιχθυαποθεμάτων, προοριζόμενα για τη παραγωγή ιχθυελαίων και ιχθυαλεύρων, όσο και για τις αρνητικές επιδράσεις που έχουν υποστεί τα θαλάσσια υδάτινα οικοσυστήματα μέσω της υποβάθμισης της τροφικής αλυσίδας των θαλάσσιων θηλαστικών, αλλά και των πουλιών (Μεντέ & Νέγκας 2011 & Καραπαναγιωτίδης 2018).

Μία άλλη σημαντική ανησυχία για τα ιχθυέλαια, τα οποία αξιοποιούνται στις ιχθυοτροφές, είναι η πιθανή παρουσία οργανικών μολυσματικών παραγόντων όπως τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs), το 1,1-διχλωρο-2, 2-δις (π-χλωροφαινυλαιθυλένιο (DDE), διοξίνες κ.ά. , οι οποίοι γίνονται τοξικοί σε τοξικά επίπεδα όχι μόνο για τα εκτρεφόμενα ψάρια, αλλά και για τον άνθρωπο-καταναλωτή (Καραπαναγιωτίδης 2018), με αυτούς τους επιμόλυντες τα τελευταία χρόνια να ανιχνεύονται σε υψηλά επίπεδα σε αλιευμένα είδη της Βόρειας Ευρώπης. Έντονες

ανησυχίες τόσο για τη καθαρότητα όσο και για την ασφάλεια των τροφών σε συνδυασμό με τις βελτιώσεις στους αναλυτικούς ελέγχους για οργανικούς μολυσματικούς παράγοντες των ιχθυοτροφών και των συστατικών τους θα καταλήξουν στο μέλλον σε αυστηρότερους ελέγχους, όπου οι αρμόδιες υπηρεσίες της ΕΕ δημιουργούν νέα μειωμένα μέγιστα όρια αυτών των ουσιών, επιτρέποντας να περιέχονται στα ιχθυέλαια και σε άλλα συστατικά των ζωοτροφών. Τέλος, η προσθήκη πολύ υψηλών επιπέδων ιχθυελαίων στις ιχθυοτροφές, όπως πραγματοποιείται στις εκτροφές των περισσότερων ειδών, οδηγεί σε αλόγιστη σπατάλη των ω -3 ΠΛΟ, αφού και οι απαιτήσεις των ειδών σε αυτά είναι πολύ χαμηλότερες από τα επίπεδα που τους χορηγούνται. Τα σαρκοφάγα εκτρεφόμενα είδη αξιοποιούν τα υψηλά επίπεδα των ιχθυελαίων των τροφών τους περισσότερο ως καύσιμη ύλη προκειμένου να παράγουν ενέργεια, να αναπτυχθούν και ταυτόχρονα να αναπαραχθούν, αφού πραγματοποιηθεί αρχικά η ικανοποίηση των αναγκών τους σε απαραίτητα λιπαρά οξέα. Με αυτό τον τρόπο, η περίσσεια των ω -3 λιπαρών οξέων αποθηκεύεται στους ιστούς και σε κάποια φάση μεταβολίζεται με σκοπό τη παραγωγή ενέργειας. Για αυτό το λόγο, είναι ορθότερο να χρησιμοποιηθούν στις ιχθυοτροφές κάποια φυτικά έλαια σε κάποιο ποσοστό, ως υποκατάστατα των ιχθυελαίων, προκειμένου να παραχθεί μεταβολική ενέργεια, αλλά και να γίνει εξοικονόμηση των πολύτιμων ω -3 των ιχθυελαίων αποκλειστικά για την ικανοποίηση των αναγκών σε αυτά του οργανισμού.

Για αυτό τον λόγο, είναι αναγκαίο ο κλάδος να αμβλύνει την εξάρτηση του στα ιχθυάλευρα και στα ιχθυέλαια και να βασιστεί σε εναλλακτικές λιπιδικές και πρωτεϊνικές πηγές, με σκοπό τη παρασκευή των ιχθυοτροφών. Εφόσον η χρησιμοποίηση των λιπών και των αλεύρων από ζωικά υποπροϊόντα έχει απαγορευτεί, η έρευνα έχει κατευθυνθεί προς τις πρώτες ύλες φυτικής προέλευσης (Μεντέ & Νέγκας 2011 & Καραπαναγιωτίδης 2018). Όμως, η υποκατάσταση των ιχθυελαίων και των

ιχθυαλεύρων από φυτικά έλαια και άλευρα ελλοχεύει πολλά μειονεκτήματα. Με άλλα λόγια, τα φυτικά έλαια δεν περιέχουν C20 και C22 λιπαρά οξέα, παρόλο που τα περισσότερα από αυτά είναι πλούσια σε 18:2ω-6, είναι πολύ φτωχά σε 18:3ω-3. Κοινά έλαια που χρησιμοποιούνται ευρέως για την υποκατάσταση του ιχθυελαίου είναι το λινέλαιο, το κραμβέλαιο, το φοινικέλαιο, το σογιέλαιο και το ελαιόλαδο μεταξύ άλλων, επειδή τα συγκεκριμένα έλαια περιέχουν χαμηλότερα ποσοστά των ω-6 λιπαρών οξέων και αυξημένα ποσοστά του 18:3ω-3 σε σύγκριση με άλλα φυτικά έλαια (Μεντέ & Νέγκας 2011 & Καραπαναγιωτίδης 2018). Το χορηγούμενο 18:3ω-3 αυτών των φυτικών ελαίων μπορεί στη συνέχεια να αξιοποιηθεί από τον ιχθύ ως υπόστρωμα για τις ενδογενείς βιομετατροπές παράγοντας σε ένα βαθμό, τα μακράς αλυσίδας ω-3 ΠΛΟ στους ιστούς του. Γενικά, τα φυτικά άλευρα, σε αντίθεση με τα ιχθυάλευρα, περιέχουν χαμηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης και ορισμένων απαραίτητων αμινοξέων, αλλά και διάφορες αντιδιατροφικές ουσίες που είναι πιθανόν να προξενήσουν μείωση της ανάπτυξης, τοξικότητες και προβλήματα υγείας στους διατρεφόμενους ιχθύες, αν δεν αδρανοποιηθούν μέσω της κατάλληλης επεξεργασίας τους.

Τις τελευταίες δεκαετίες, έχουν διεξαχθεί πολυάριθμες έρευνες πάνω στη μερική ή/και στην πλήρη αντικατάσταση των ιχθυελαίων και ιχθυαλεύρων στις ιχθυοτροφές ποικίλων εκτρεφόμενων ειδών. Πολλά σημαντικά αποτελέσματα παρουσιάστηκαν και από τα ευρωπαϊκά ερευνητικά προγράμματα RAFOA, PEPPA και AQUAMAX, όπου συμμετείχαν διάφορες ερευνητικές ομάδες. Από αυτά αποδείχθηκε ότι πως τα σαλμονοειδή μπορούν να διατραφούν με σιτηρέσια στα οποία το 100 % του ιχθυελαίου έχει αντικατασταθεί από ένα φυτικό έλαιο ή από μίξη φυτικών ελαίων, και πως η υποκατάσταση έως και 60 % του ιχθυελαίου στο σιτηρέσιο της τσιπούρας και του λαβρακιού δεν οδηγεί σε μείωση της ανάπτυξης τους. Όσο αφορά το ιχθυάλευρο, η υποκατάσταση του μπορεί να επιτευχθεί έως και 75 % από φυτικά

άλευρα, χωρίς να επιφέρει μείωση στην ανάπτυξη της πέστροφας και της τσιπούρας, ενώ για το λαβράκι υπάρχουν μελέτες όπου η επιτυχία υποκατάστασης έφτασε έως και 98 % (Kaushik et al., 2004 Μεντέ & Νέγκας 2011 & Καραπαναγιωτίδης 2018). Από την άλλη, ο σολομός δείχνει να μην μπορεί στο να χρησιμοποιεί με αποτελεσματικότητα τα άλευρα φυτικής προέλευσης για να αναπτυχθεί.

Οι υποκαταστάσεις τόσο των ιχθυελαίων όσο και των ιχθυάλεων μπορεί να μην επιφέρουν πάντοτε αρνητικές συνέπειες στον πυλώνα του ρυθμού ανάπτυξης των εκτρεφόμενων ιχθύων. Ωστόσο, οδηγούν αναπόφευκτα σε πτώση των συγκεντρώσεων των 20:5ω-3 και 22:6ω-3 στο σώμα των ιχθύων. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα φυτικά έλαια και άλευρα είναι ελλιπή σε 20:5ω-3 και συγχρόνως σε 22:6ω-3, ενώ στις περιπτώσεις που περιέχουν σημαντικά ποσά του 18:3ω-3, οι εκτρεφόμενοι ιχθύες βιοσυνθέτουν ενδογενώς τα παράγωγα του, δηλαδή τα 20:5ω-3 και 22:6ω-3, σε χαμηλότερα ποσά από εκείνα που θα υπήρχαν στους ιστούς τους, εάν διατρέφονταν με ιχθυέλαια και ιχθυάλευρα (Καραπαναγιωτίδης 2018). Για παράδειγμα, η υποκατάσταση ιχθυελαίου με 60 % φυτικά έλαια επιφέρει μείωση έως και 50 % στις συγκεντρώσεις των δύο παραπάνω λιπαρών οξέων στη σάρκα της τσιπούρας (Izquierdo et al. 2005, Μεντέ & Νέγκας 2011 & Καραπαναγιωτίδης 2018).

Ένας τρόπος αντιμετώπισης αυτού είναι η χρησιμοποίηση κυρίως φυτικού ελαίου στο σιτηρέσιο κατά τη μεγαλύτερη διάρκεια της εκτροφής και μετά η χορήγηση μόνο ιχθυελαίου στο σιτηρέσιο, για ένα μικρό σχετικά μικρό χρονικό διάστημα πριν την συγκομιδή της ιχθυοπαραγωγής, επαναφέροντας με αυτό τον τρόπο τις συγκεντρώσεις των ω-3 λιπαρών οξέων στα επίπεδα που θα είχαν οι ιχθύες, εάν διατρέφονταν με αυτά τα σιτηρέσια σε όλη τη διάρκεια της εκτροφής τους. Αυτή η στρατηγική έχει εφαρμοστεί στην έρευνα σε διάφορα εκτρεφόμενα είδη με πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα (Bell et al. 2003, Izquierdo et al. 2005, Μεντέ & Νέγκας

2011 & Καραπαναγιωτίδης 2018). Ωστόσο, δεν είναι μόνο τα ω-3 λιπαρά οξέα των οποίων οι συγκεντρώσεις μειώνονται διαμέσου των υποκαταστάσεων. Ειδικότερα, η βιοδιαθεσιμότητα και η πεπτικότητα όλων των θρεπτικών συστατικών μπορεί να επηρεαστεί αρνητικά εξαιτίας κάποιων αντιδιατροφικών παραγόντων που βρίσκονται στις φυτικές ύλες. Οπότε, ο κίνδυνος μείωσης πολύτιμων ιχνοστοιχείων, αλλά και βιταμινών που είναι συνδεδεμένα με την υψηλή διατροφική αξία των ιχθύων, όπως οι βιταμίνες B12 , D και E, τα καροτενοειδή, το ιώδιο και το σελήνιο παραμονεύει από τις υποκαταστάσεις .

1.3. Μικροφύκη στις ιχθυοτροφές

Τα μικροφύκη είναι μία διαφορετική ομάδα φωτοσυνθετικών οργανισμών, τα οποία χρησιμοποιούν το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂), την φωτεινή ενέργεια, καθώς και τα ανόργανα στοιχεία προκειμένου να παράγουν οργανική βιομάζα και οξυγόνο (O₂) (Liu et al. 2022). Αναλυτικότερα, ο όρος μικροφύκη αναφέρεται αυστηρά στους ευκαρυωτικούς φωτοσυνθετικούς μικροοργανισμούς τόσο των εσωτερικών υδάτων όσο και των εξωτερικών υδάτων, αλλά χρησιμοποιείται και για τους προκαρυωτικούς όπως τα κυανοβακτήρια (Packer et al. 2016). Κάποια από αυτά μπορούν να αναπτυχθούν ετεροτροφικά με την απουσία του φωτός, χρησιμοποιώντας πηγές οργανικού άνθρακα (Liu et al. 2022). Η χρήση των μικροφυκών από τους γηγενείς πληθυσμούς συνέβαινε για αιώνες (Kay & Barton 2009 & Ansari et al. 2021). Για χιλιάδες χρόνια, οι άνθρωποι έχουν καταναλώσει μικροφύκη ως πηγή τροφής (Ansari et al. 2021) . Στη Κίνα, οι άνθρωποι τρώνε *Nostoc* και άλλα φύκη όπως *Arthrospira* (Spirulina) και *Aphanizomenon* (Milledge 2011 & Ansari et al. 2021). Πράγματι, τα βρώσιμα γαλαζοπράσινα φύκια συμπεριλαμβανομένων των ειδών *Nostoc*, *Arthrospira* (Spirulina) και *Aphanizomenon* έχει χρησιμοποιηθεί για τροφή εδώ και αρκετές

χιλιάδες χρόνια. Όμως, η καλλιέργεια μικροφυκών είναι παλιά μόλις μερικές δεκαετίες (Borowitzka 1999, Spolaore et al. 2006).

Τα μικροφύκη έχουν ποικίλες εφαρμογές στην ιχθυοκαλλιέργεια, αλλά οι κύριες εφαρμογές σχετίζονται με τη διατροφή. Ειδικότερα, χρησιμοποιούνται είτε ως μοναδικό συστατικό είτε ως πρόσθετο στα τρόφιμα για την παροχή βασικών θρεπτικών συστατικών, το χρωματισμό της σάρκας των σολομών ή για άλλες βιολογικές δραστηριότητες. Τα φύκια παρέχουν σχεδόν όλα τα απαραίτητα συστατικά όπως PUFA, αμινοξέα, βιταμίνες και μέταλλα (Benemann 1992, Becker 1994, Knuckey et al. 2005, Carneiro et al. 2020 & Ansari et al. 2021). Η ανάγκη για ασφαλέστερες διατροφικές πηγές από τα παραδοσιακά ζωικά προϊόντα έχει οδηγήσει στην ανανέωση του ενδιαφέροντος για τα φυτά και πιο συγκεκριμένα για τα φύκια. Από τα μικροφύκη τρέφονται οι προνύμφες των μαλακίων, των εχινόδερμων, των μαλακόστρακων και συγχρόνως η ζωντανή λεία ορισμένων ψαρόλυμφων.

Τα τελευταία 50 χρόνια, τα μικροφύκη έχουν ερευνηθεί σε έντονο βαθμό για τη παραγωγή ελαίων, πρωτεϊνών, υδατανθράκων, χρωστικών και άλλων προϊόντων προστιθέμενης αξίας για ποικίλους λόγους. Γνωστά ως πηγές πρωτεϊνών, λιπιδίων, βιταμινών, μετάλλων ή χρωστικών, τα μικροφύκη μπορεί να είναι πηγή n-3 LC-PUFAs (Shah et al. 2018 & Cardona et al. 2022). Πέρα από αυτό, μερικά είδη μικροφυκών περιέχουν υψηλή παραγωγικότητα ελαίων με αξιοσημείωτες ποσότητες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων όπως τα EPA και DHA (Becker 2013). Ανάλογα με το είδος και τις συνθήκες καλλιέργειας, τα μικροφύκη μπορεί να περιέχουν υψηλά επίπεδα πρωτεϊνών που μπορεί να φτάσουν ακόμη και το 70% της ξηρής ουσίας σε κάποια είδη, με ένα καλό προφίλ αμινοξέων που να ταιριάζει με τις απαιτήσεις των ψαριών (Becker

2013, Dineshbabu et al. 2019). Επιπλέον, μπορεί να περιέχουν αρκετές βιοδραστικές ουσίες όπως αντιοξειδωτικά και χρωστικές, τα οποία κατέχουν αντιβακτηριακές, αντικές, αντιμυκητιακές, αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικές ιδιότητες (Michalak and Chojnacka 2015).

Αποτελούν την κύρια πηγή τροφής για τα ψάρια στο φυσικό τους περιβάλλον, κάνοντας τα κατάλληλα συστατικά για την παραγωγή ζωοτροφών υδατοκαλλιέργειας. Χάρη στο ισορροπημένο περιεχόμενο τους, τα μικροφύκη αποκτούν ραγδαίως ενδιαφέρον ως ζωοτροφή/συμπλήρωμα ζωοτροφών, αντικαθιστώντας πιθανώς τα ιχθυάλευρα και άλλα συμβατικά συστατικά στην ιχθυοκαλλιέργεια και στις ζωοτροφές. Φύκια όπως *Spirulina*, *Chlorella sp.*, *Scenedesmus sp.*, *Dunaliella sp* και *Nannochloropsis sp.* χρησιμοποιούνται συχνά στις ιχθυοτροφές λόγω της εξαιρετικής θρεπτικής τους αξίας και της καταλληλότητάς τους (Khatoon et al. 2010 & Ansari et al. 2021). Τα μικροφύκη θεωρούνται μία υποσχόμενη λύση ως προς την αντικατάσταση του ιχθυάλευρου και ιχθυελαίου, συμβάλλοντας στη διασφάλιση των προτύπων βιωσιμότητας στην ιχθυοκαλλιέργεια. Η καλλιέργεια τους, είτε σε γλυκά, υφάλμυρα ή θαλάσσια νερά και η ανάπτυξη τους, είτε φωτοσυνθετική είτε ετεροτροφική, είναι γνωστή ότι κατέχει πολλά σημαντικά βιώσιμα χαρακτηριστικά (Vuppaladadiyam et al. 2018 & Dineshbabu et al. 2019), έτσι ώστε η εφαρμογή τους στις ιχθυοτροφές έχει τη δυνατότητα να αυξήσει την οικολογική αποτελεσματικότητα της ιχθυοκαλλιέργειας, σε περίπτωση που η προσφορά τους στην αγορά γίνει εφικτή (Tocher et al. 2019). Παράλληλα, τα μικροφύκη αποτελούν τους κύριους παραγωγούς θαλάσσιων τροφικών πλεγμάτων και η αυξημένη χρήση ειδών χαμηλού τροφικού πλέγματος στις ιχθυοτροφές θα συμβάλλει στη βελτίωση του περιβαλλοντικού αποτυπώματος στον πυλώνα της παραγωγής τροφίμων (Dineshbabu et al. 2019).

Το *Schizochytrium* sp. είναι μία υποσχόμενη θρεπτική και βιώσιμη πηγή πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) στις ιχθυοτροφές για τα σαρκοφάγα ψάρια (Πίνακας 1.2). Με άλλα λόγια, είναι ένα γένος μονοκύτταρων ετεροτροφικών πρωτίστων που ανήκουν στην οικογένεια *Thraustochytrid*, η οποία συμπεριφέρεται παρόμοια και συνήθως αναφέρεται ως μικροφύκη (Leyland et al. 2017). Το *Schizochytrium*, αναφερόμενο και ως *Aurantiochytrium*, είναι ένα γένος ετεροτροφικών θαλάσσιων μικροοργανισμών, τα οποία ανήκουν στην οικογένεια *Thraustochytriida*. Συχνά θεωρούνται ως μη φωτοσυνθετικά φύκη, τα οποία περιέχουν υψηλά επίπεδα DHA μέσω ενός βιοσυνθετικού μονοπατιού που περιλαμβάνει μια πολυκετιδική συνθετάση (Morabito et al. 2019). Αυτό το γένος είναι παντού 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 and Honda 2007, Leyland et al. 2017 & Fossier Marchan et al. 2018). Ο υψηλός ρυθμός παραγωγής του, η ανεκτικότητα του σε ένα ευρύ φάσμα συνθηκών, αλλά και η ικανότητα του να συσσωρεύει μεγάλες ποσότητες λίπους (>70%) και DHA (>50% των συνολικών λιπαρών οξέων) το καθιστά μία υποσχόμενη εναλλακτική για τα ιχθυάλευρα (Lewis et al. 1999 & Tibbetts 2018) (Πίνακας 1.3). Πολλά προϊόντα του *Schizochytrium* που είναι πλούσια σε DHA (*lifesDHA*, *DHAgold*, *Algamac*, *PureOne*) είναι τώρα διαθέσιμα σε έλαια, σκόνες ή σκόνες για διατροφικά φαρμακευτικά σκευάσματα, για βιοσυστατικά και ταυτόχρονα για την ιχθυοκαλλιέργεια και στις ζωοτροφές (Fossier Marchan et al. 2018). Η ενσωμάτωση του ελαίου και των αλεύρων από *Schizochytrium* στις ιχθυοτροφές έχει μελετηθεί σε εκτρεφόμενο σολωμό του Ατλαντικού, ιριδίζουσα πέστροφα, τιλάπια του Νείλου, γατόψαρο, γιγάντιο ροφό και μακρόπτερο μαγιάτικο (Kousoulaki et al. 2015, García-Ortega et al. 2016, Kissinger et al. 2016, Sarker et al. 2016, Bélanger-Lamonde

et al. 2018, Kousoulaki et al. 2020 & Tibbetts et al. 2020). Η βιομάζα ολόκληρων κυττάρων *Schizochytrium* είναι ιδανική σε σύγκριση με το εξαγόμενο έλαιο από οικονομικής άποψης, επειδή εξαλείφει τη διαδικασία της εξαγωγής, το οποίο είναι δαπανηρό πρόσθετο βήμα εξαγωγής. Επιπροσθέτως, τα λιπίδια είναι λιγότερα ευαίσθητα στην οξείδωση σε ολόκληρη την κυτταρική μορφή που μπορεί να επηρεάσει την ποιότητα και τη διάρκεια του προϊόντος (Balduyck et al. 2017) (Πίνακας 1.4).

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)	<i>Schizochytrium sp.</i>
Υγρασία	20,9
Ακατέργαστη πρωτεΐνη	97,1
Ακατέργαστο λίπος	484,9
NFE	322,1
Τέφρα	75
Ακαθάριστη ενέργεια	27,34

Πίνακας 1.3: Σύσταση του μικροφύκου *Schizochytrium sp.* σε απαραίτητα αμινοξέα (% της πρωτεΐνης). Πηγή: Karapanagiotidis et al. 2022.

Απαραίτητα αμινοξέα (% της πρωτεΐνης)	<i>Schizochytrium sp.</i>
Αργινίνη	1,65
Ιστιδίνη	0,24
Ισολευκίνη	0,4
Λευκίνη	0,7
Λυσίνη	0,53
Μεθειονίνη	Μη διαθέσιμο
Φαινυλανανίνη	0,42
Θρεονίνη	0,44
Τρυπτοφάνη	Μη διαθέσιμο
Τυροσίνη	0,3
Βαλίνη	0,61

Πίνακας 1.4: Σύσταση του ιχθυελαίου και του μικροφύκου *Schizochytrium sp.* σε απαραίτητα λιπαρά οξέα. Πηγή: Karapanagiotidis et al. 2022.

Απαραίτητα λιπαρά οξέα (% των συνολικών λιπαρών οξέων)	Ιχθυέλαιο	<i>Schizochytrium sp.</i>
18:2ω-6	6,7	<1,0
18:3ω-3	<1,0	<1,0
20:4ω-6	<1,0	<1,0
20:5ω-3	7,1	1,5
22:5ω-6	<1,0	16,4
22:6ω-3	12,5	40,7

Τα είδη του μικροσκοπικού μονοκύτταρου ευστιγματοφυκτικού φυκιού *Nannochloropsis* έχουν χρησιμοποιηθεί για πολλά χρόνια ως πηγή ακόρεστων λιπαρών οξέων στη διατροφή των υδατοεκτρεφόμενων θαλάσσιων ασπόνδυλων (Brown et al. 1997 & Apt & Behrens 1999) (Πίνακας 1.5). Αρκετά στελέχη του ειδών *Nannochloropsis* είναι τώρα διαθέσιμα εμπορικά είτε για καλλιέργεια είτε για

παρασκευασμένα σκευάσματα για την ιχθυοκαλλιέργεια. Πιο πρόσφατα, τα είδη του *Nannochloropsis* έχουν υποστεί έντονη έρευνα ως πιθανοί οργανισμοί βιοκαυσίμων λόγω του υψηλού ουδέτερου λιπιδικού τους περιεχομένου τους (Khozin-Goldberg & Boussiba 2011). Η δυνατότητα των ειδών *Nannochloropsis* για την παραγωγή βιοκαυσίμων έχει οδηγήσει σε μια υψηλή αύξηση στον αριθμό των μελετών για τις ακολουθίες ολόκληρου του γονιδίου των ειδών του *Nannochloropsis* (Pan et al. 2011, Radakovits et al. 2012, Vieler et al. 2012, Jinkerson et al. 2013, Carpinelli et al. 2014 & Wang et al. 2014), των συγκριτικών γονιδιωματικών των γονιδίων των πλαστιδίων και μιτοχονδρίων (Wei et al. 2013 & Starkenburg et al. 2014), των μελετών για την γονιδιακή έκφραση σε ολόκληρό το γονιδίωμα σε συνθήκες ανάπτυξης (Liang et al. 2013, Zheng et al. 2013, Carpinelli et al. 2014 & Wang et al. 2014), καθώς και των μεθόδων για τη γενετική μεταμόρφωση (Kilian et al. 2011 & Radakovits et al. 2012). Ο Hibberd (1981) περιέγραψε το γένος *Nannochloropsis*, οικογένεια *Monodopsidaceae*, σειρά *Eustigmatales*, τάξη *Eustigmatophyceae*, το οποίο αξιοποιήθηκε για την υψηλή σύνθεση PUFA, τον ευνοϊκό ρυθμό ανάπτυξης, αλλά και για υψηλή πυκνότητα κυττάρων υπό συνθήκες καλλιέργειας. Το αυξανόμενο ενδιαφέρον στο *Nannochloropsis* έχει οδηγήσει σε πληθώρα στελεχών του συγκεκριμένου γένους, τα οποία είναι τώρα διαθέσιμα είτε από πολλές συλλογές καλλιεργειών φυκιών είτε από προσωπικές συλλογές που κρατήθηκαν.

**Πίνακας 1.5: Περιεχόμενο λιπιδίων (% DW), PUFA και EPA στελεχών
Nannochloropsis (Πηγή: Zanella & Vianello 2020)**

Είδος	Ολικά Λιπίδια	PUFAs	EPA	Βιβλιογραφικές αναφορές
<i>N. oceanica</i> NIVA-2/03	-	3,8	2,3	Patil et al., 2007
<i>N. oceanica</i> CY2	-	-	3.8–5.6	Chen, Chen, Huang, Ho & Chang (2015)
<i>N. oceanica</i> IMET1	28-59		2,7-5,2	Meng et al., 2015
<i>N. sp.</i>		2,1-5,9	3,6-4,3	Chini Zittelli et al., 1999
<i>N. sp.</i>	-	-	2,3-5,7	Zou et al., 2000
<i>N. sp.</i>	15,3	5	3,7	Molino et al., 2018
<i>N. sp.</i>	21,8	4,5	3,7	Kent et al., 2015
<i>N. sp.</i>	22-31	4,6-5,8	3,8-5,1	Xu et al., 2004
<i>N. sp</i> F&M–M24	28–60			Rodolfi et al. (2009)
<i>N. sp.</i> F&M–M24 (N starved)	68,5	~9.3	~4.1	Bondioli et al., 2012
<i>N. sp.</i> CCAP211/78		4,4-6,1	4,2-4,9	Hulatt et al., 2017
<i>N. oculata</i> ST-6 (wild type)		3	2,4	Chaturvedi & Fujita, 2006
<i>N. limnetica</i> SAG18.99		0,84-12,2	0,22-5,6	Krienitz & Wirth 2006

1.4 Θρεπτική σύσταση των ιχθύων και επίδραση των τροφών σε αυτή

Τα ψάρια διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή σε παγκόσμιο επίπεδο. Αναλυτικότερα, είναι μία από τις σημαντικές ζωικές πηγές πρωτεΐνης, αντιπροσωπεύοντας το 16% ολόκληρης της ζωικής πρωτεΐνης που καταναλώνεται από τον παγκόσμιο πληθυσμό και λέγεται ότι είναι ένας εξαιρετικός προμηθευτής των σημαντικών θρεπτικών συστατικών για τη διατήρηση ενός υγιούς σώματος (FAO 2000 & Ondo-Azi et al. 2013). Οι πρωτεΐνες ψαριών κατέχουν σημαντική βιολογική σημασία, καθώς περιέχουν αρκετές ποσότητες απαραίτητων αμινοξέων (Moujahed 2015). Σύμφωνα με πολυάριθμες μελέτες, η κύρια πηγή EPA/DHA στη διατροφή του ανθρώπου έχει ληφθεί από φυσικά ψάρια θαλασσινού και γλυκού νερού (Panchal and Brown 2021). Ταυτόχρονα, τα λιπίδια των ψαριών είναι γνωστό ότι είναι πλούσια σε μακράς αλυσίδας ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (LC ω-3 PUFA), ειδικότερα σε εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA ή 20:5ω-3) και δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA ή 22:6ω-3). Αυτά τα λιπίδια παίζουν ζωτικό ρόλο στη διατροφή του ανθρώπου, στην πρόληψη των ασθενειών και στη προαγωγή της υγείας (Horrocks and Yeo 1999, Kinsella 1986, Kinsella 1987, Lees and Karel 1990, Simopoulos 1991 & Ulbricht and Southgate 1991). Η κατανάλωση ψαριών έχει συσχετιστεί με πλεονεκτήματα για την υγεία λόγω του ρόλου της μακράς αλυσίδας PUFA στην πρόληψη της στεφανιαίας νόσου στους ανθρώπους, στη βελτίωση της ανάπτυξης του αμφιβληστροειδούς και του εγκεφάλου, στη μείωση του κινδύνου του καρκίνου του μαστού, του άσθματος, της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου, της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, αλλά και στη ρύθμιση της σύνθεσης των προσταγλανδινών (Raatz et al. 2013, Islam et al. 2021 & Ullah et al. 2022). Τα LC ω-3 PUFA δεν μπορούν να συντεθούν από τους ανθρώπους και θα πρέπει να ληφθούν από τη διατροφή (Ullah et

al. 2022). Μελέτες έχουν επιβεβαιώσει ότι οι συνθέσεις λιπαρών οξέων των εκτρεφόμενων και άγριων ψαριών είναι διαφορετικές και ότι η διατροφή έχει ταυτοποιηθεί ως ο κύριος λόγος για αυτές τις παρατηρούμενες διαφορές (Chen et al. 1995, Grigorakis et al. 2002, Jahncke et al. 1988, Suzuki et al. 1986 & Van Vliet and Katan 1990). Οι υδρόβιοι οργανισμοί απορροφούν μέταλλα από τη διατροφή και το περιβάλλον νερό και τα εναποθέτουν στους σκελετικούς ιστούς και στα όργανα (Lal 1989). Ο μυϊκός ιστός των ψαριών χρησιμεύει ως καλή πηγή από απαραίτητα μέταλλα (Bodsha and Sainsby 1978, Horrocks and Yeo 1999 & Lal 1995). Επίσης, τα ψάρια είναι πλούσια σε βιταμίνες (Arino et al. 2005) (Πίνακας 1.6).

Πίνακας 1.6: Διακύμανση της περιεκτικότητας (ποσοστό % επί του υγρού βάρους σώματος) των θρεπτικών συστατικών στον εδωδιμο μυϊκό ιστό των ιχθύων. Πηγή: Love 1980, Huss 1998.

	Ελάχιστο	Συνήθης διακύμανση	Μέγιστο
Πρωτεΐνη (%)	6	16-21	28
Λίπος (%)	0,1	0,2-25	67
Υδατάνθρακες (%)		<0,5	
Τέφρα (%)	0,4	1,2-1,5	1,5
Υγρασία (%)	28	66-81	96

Διατροφικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη χημική σύσταση του σώματος των ιχθύων είναι η διαθεσιμότητα και το είδος της τροφής, η συχνότητα σίτισης, το πρωτεϊνικό και ενεργειακό επίπεδο της τροφής και η περίοδος ασιτίας (Shearer 1994). Σε συνθήκες ιχθυοκαλλιέργειας, η χημική σύσταση του σώματος των ιχθύων επηρεάζεται από τη σύσταση της ιχθυοτροφής τους (Haard 1992, Shearer 1994, Turchini et al. 2003 & 2007). Αντίθετα, σε περιόδους στέρησης τροφής, τα αποθέματα του λίπους είναι τα πρώτα που εξαντλούνται (Shearer 1994, Cui & Wang 2007).

1.5. Σκοπός της διατριβής

Εξαιτίας της αυξανόμενης ζήτησης για ψάρια και οστρακοειδή, η υδατοκαλλιέργεια διαδραματίζει ένα αυξανόμενο ρόλο στη παροχή μίας πολύτιμης πηγής πρωτεϊνών για τους ανθρώπους. Τα τελευταία 30 χρόνια, η αύξηση της παραγωγής στην υδατοκαλλιέργεια έχει αναγκάσει σε μία αλλαγή στη σύνθεση των ιχθυοτροφών, με συνέπεια τα ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια να αντικαθίστανται όλο και περισσότερο από περισσότερες διαθέσιμες φυτικές πηγές. Σκοπός της διατριβής ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της αντικατάστασης του ιχθυελαίου από τα μικροφύκη των ειδών *Nannochloropsis* sp. και *Schizochytrium* sp. στη θρεπτική σύσταση του φιλέτου και του μυϊκού ιστού του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Για αυτό το λόγο προσδιορίστηκαν οι ολικές πρωτεΐνες, τα ολικά λίπη, η ενέργεια, η τέφρα και η υγρασία τόσο στο μυϊκό ιστό των ιχθύων όσο και σε ολόκληρο το σώμα τους. Στη συγκεκριμένη εργασία παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της χημικής σύστασης τόσο στο φιλέτο όσο και σε ολόκληρο το σώμα του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*), ακολουθώντας δίαιτα με έλαια μικροφυκών από τα είδη *Nannochloropsis* sp. και *Schizochytrium* sp. σε ποσοστά αντικατάστασης 50 και 100%.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Δειγματοληψίες

Για τις ανάγκες της παρούσας μελέτης, συλλέχθηκαν ιχθύες του είδους *Dicentrarchus labrax* με μέσο βάρος 20-30g, προερχόμενοι από διατροφικό πείραμα που διεξήχθη στις πειραματικές εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος. Οι ιχθύες είχαν διαχωριστεί σε 3 διατροφικές ομάδες με την κάθε ομάδα να σιτίζεται με διαφορετικό σιτηρέσιο για χρονικό διάστημα 11 εβδομάδων.

Τα 3 σιτηρέσια ήταν ισοενεργειακά (20 MJ/Kg) και ισοπρωτεϊνικά (52% της τροφής). Η τροφή-μάρτυρας (FM) περιείχε αποκλειστικά ιχθυέλαιο ως πηγή λίπους και ω -3 και ω -6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Για την υποκατάσταση του ιχθυελαίου στις λοιπές πειραματικές τροφές SM50 και SM100 χρησιμοποιήθηκε μείγμα από άλευρα μικροφυκών των ειδών *Nannochloropsis gaditana* και *Schizochytrium* sp. σε ποσοστό αντικατάστασής 50% και 100%, αντίστοιχα. Παράλληλα, στα σιτηρέσια χρησιμοποιήθηκε επιπροσθέτως γλουτένη καλαμποκιού σογιάλευρο και ηλιάλευρο ως πρωτεϊνικές πηγές χερσαίας φυτικής προέλευσης και πηγές υδατανθράκων, σύμφωνα με τα μέσα επίπεδα χορήγησης φυτικών πρωτεϊνών σε εμπορικές τροφές του λαβρακιού σήμερα. Επιπλέον, αξιοποιήθηκε άλευρο σίτου ως ενεργειακή πηγή και συγχρόνως ως ενεργειακό αντιστάθμισμα των 3 ισοενεργειακών σιτηρεσίων. Όσο αφορά τον πυλώνα του εμπλουτισμού των τροφών, χρησιμοποιήθηκαν μικροσυστατικά, τα οποία διατηρήθηκαν σε σταθερές ποσότητες και στα 3 διαφορετικά σιτηρέσια και ήταν ένα εμπορικό πρόμιγμα βιταμινών και ανόργανων στοιχείων (για λαβράκι) με συμμετοχή 0,40%, χολίνη σε ποσοστό 0,10%, καθώς και βιταμίνες E και C σε ποσοστό 0,10%.

Η εκτροφή των ιχθυδίων διήρκησε 11 εβδομάδες. Κατά το τέλος της εκτροφής, ζυγίζονταν ατομικά κάθε ιχθυδίο σε ζυγό ακρίβειας 2 δεκαδικών ψηφίων (0,01g) και μετρούνταν το μήκος με ιχθυόμετρο (ακρίβεια 0,1cm). Στη τελική μέτρηση (76^η ημέρα), τα ψάρια θανατώθηκαν μέσω παράτασης της παραμονής τους σε αναισθητικό φαινοξιθανόλης και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν άμεσα σε πάγο.

2.2. Εργαστηριακές αναλύσεις

2.2.1. Προσδιορισμός υγρασίας/ξηρής ουσίας

Προκειμένου να γίνει ο προσδιορισμός της υγρασίας και της ξηρής ουσίας στον μυϊκό ιστό των ψαριών, πραγματοποιήθηκε με την ξήρανση των δειγμάτων σε αεριζόμενο ισοθερμικό κλίβανο αποξήρανσης (φούρνου) (Εικόνα 2.1) για 24 ώρες στους 105 °C (AOAC 1995). Κατόπιν, αφού περάσει ο χρόνος ξήρανσης, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά για να ψυχθούν. Κατά τη διάρκεια της ξήρανσης, το μηχανικά παγιδευμένη υγρασία (ελεύθερο νερό) εξατμίστηκε, με αποτέλεσμα να μείνει μόνο το χημικά δεσμευμένο νερό εντός του δείγματος. Η απώλεια του βάρους εκφράζει τη περιεκτικότητα του δείγματος σε υγρασία. Αντίθετα, το αποκτηθέν βάρος εκφράζει την ξηρή ουσία. Το ποσοστό της υγρασίας και της ξηρής ουσίας υπολογίζεται ως εξής:

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

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

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

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



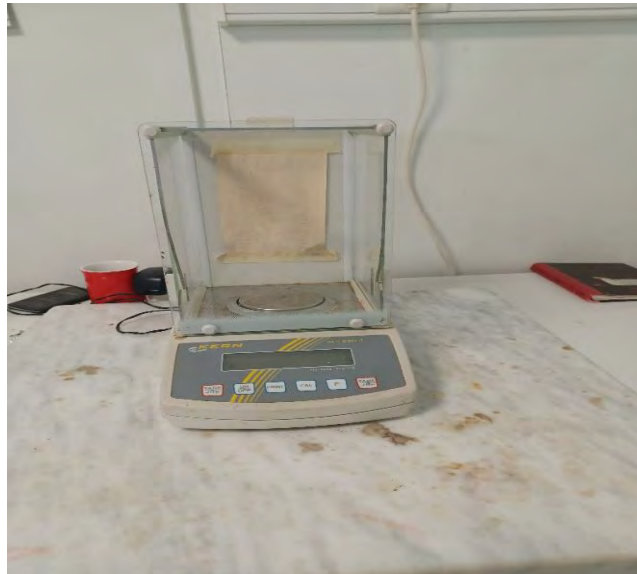
Εικόνα 2.1: Ισοθερμικός κλίβανος αποξήρανσης (φούρνος).

Πηγή: Προσωπικό αρχείο συγγραφέα.

2.2.2. Προσδιορισμός τέφρας

Για να προσδιοριστεί η τέφρα, πραγματοποιήθηκε με την εύρεση της περιεκτικότητας του δείγματος σε ακατέργαστη τέφρα. Αναλυτικότερα, η ακατέργαστη τέφρα αντιπροσωπεύει τη συνολική ανόργανη ουσία του δείγματος. Σε πυρίμαχα δοχεία, τα οποία ζυγίστηκαν και καταγράφηκαν τα βάρη τους, ζυγίστηκε επιπροσθέτως δείγμα βάρους 1-3 g σε ζυγαριά ακρίβειας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (Εικόνα 2.2). Έπειτα, τα δείγματα τοποθετήθηκαν τα δείγματα στον αποτεφρωτήρα στους 600 °C για 3 ώρες (Εικόνα 2.3). Ύστερα από 3 ώρες, τα δείγματα μεταφέρθηκαν στον ξηραντήρα μέχρι να κρυώσουν. Στη συνέχεια έγινε καταγραφή του μεικτού βάρους του δοχείου και του δείγματος και από αυτό αφαιρέθηκε το καθαρό βάρος του δοχείου. Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε τέφρα (%) υπολογίζεται ως εξής:

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



Εικόνα 2.2: Ζυγαριά ακρίβειας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων.

Πηγή: Προσωπικό αρχείο συγγραφέα.



Εικόνα 2.3: Συσκευή αποτεφρωτήρα. Πηγή:

Προσωπικό αρχείο συγγραφέα.

2.2.3. Προσδιορισμός ενέργειας

Ο προσδιορισμός της ενέργειας πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του θερμιδόμετρου (Εικόνα 2.4). Συγκεκριμένα, κατά τη πλήρη καύση ενός δείγματος, εκλύεται θερμότητα, η οποία αποτελεί τη θερμιδική αξία (ολική ενέργεια) του δείγματος. Εκτός αυτού, τα τελικά προϊόντα της καύσης είναι το CO_2 και το H_2O . Η καύση γίνεται με τη χρήση μέσα σε ένα κλειστό ανοξείδωτο δοχείο τύπου οβίδας (Εικόνα 2.5). Η θερμότητα που εκλύεται, θερμαίνει το νερό, το οποίο θερμαίνει ένα εξωτερικό δοχείο γνωστής θερμοκρασίας. Με τη βοήθεια ενός θερμιδόμετρου καταγράφεται η αύξηση της θερμοκρασίας του εξωτερικού δοχείου. Στη συνέχεια, υπολογίζεται η θερμιδική αξία στο περιεχόμενο του δείγματος που κάηκε. Τα αποτελέσματα δίνονται σε ηλεκτρονική μορφή σε Kcal/g.



Εικόνα 2.4: Θερμιδόμετρο.

Πηγή: Προσωπικό αρχείο συγγραφέα.



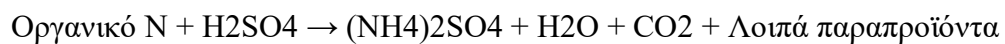
Εικόνα 2.5: Δοχείο τύπου οβίδας.

Πηγή: Προσωπικό αρχείο συγγραφέα.

2.2.4. Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ενώσεων

Απαραίτητη διεργασία για τη πραγματοποίηση του πειράματος ήταν και ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών, δηλαδή ο προσδιορισμός των ολικών αζωτούχων ενώσεων. Για να εκπονηθεί αυτή διαδικασία, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Kjeldahl (AOAC 1995). Πρώτα από όλα, ζυγίστηκαν τα δείγματα σε ζυγό ακρίβειας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων, βάρους 0,2g. Μετά, μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πέψης (Εικόνα 2.6), όπου προστέθηκαν 2 ταμπλέτες καταλύτη Kjeltabs (5g Potassium Sulphate K_2SO_4 και 5g copper (II) Sulphate $CuSO_4 \cdot 5H_2O$), με σκοπό να γίνει η επιτάχυνση της αντίδρασης της πέψης και 15 ml πυκνού θεικού οξέος (H_2SO_4). Οι δοκιμαστικοί σωλήνες πέψης με την βάση τους στη συσκευή πέψης Kjeltec 2000 στη θέση βρασμού (Εικόνα 2.7). Πάνω από τη βάση των φιαλών, τοποθετείται το ειδικό

καπάκι με τις υποδοχές αναρρόφησης αερίων. Παράλληλα, θέτουμε σε λειτουργία τον απαγωγό και την παγίδα αερίων. Η διαδικασία της πέψης έγινε στους 150 ° C για 85 λεπτά. Κατά τη διάρκεια του σταδίου της πέψης, το αδέσμευτο άζωτο δεσμεύεται υπό τη μορφή θειικού αμμωνίου σύμφωνα με τη παρακάτω αντίδραση:



Εικόνα 2.6: Δοκιμαστικοί σωλήνες πέψης.

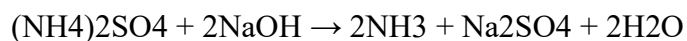
Πηγή: Προσωπικό αρχείο συγγραφέα.



Εικόνα 2.7: Συσκευή πέψης Kjelttec 2000.

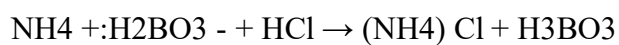
Πηγή: Προσωπικό αρχείο συγγραφέα.

Μετά την ολοκλήρωση της πέψης, τα δείγματα αφέθηκαν να κρυώσουν για 15 λεπτά. Έστερα, τα δείγματα μεταφέρθηκαν στη συσκευή απόσταξης (Εικόνα 2.8), στην οποία προστέθηκαν 100ml αποσταγμένου H_2O , 80 ml $NaOH$ και 50 ml H_3BO_3 , με τη διάρκεια της διαδικασίας να ήταν 6 λεπτά. Το θειικό αμμώνιο, το οποίο παράχθηκε κατά τη διάρκεια της πέψης, αντιδρά με το υδροξείδιο του νατρίου ($NaOH$) και αποδεσμεύεται η αμμωνία ως αέρια μορφή και θειικό νάτριο ($NaSO_4$). Κατόπιν, η αμμωνία αντιδρά με το βορικό οξύ (H_3BO_3). Το άζωτο δεσμεύεται υπό τη μορφή του βορικού αμμωνίου με βάση τις παρακάτω αντιδράσεις:



Έπειτα, το βορικό αμμώνιο συγκεντρώνεται σε κωνική φιάλη, η οποία περιέχει 3 σταγόνες ερυθρού του μεθυλενίου (δείκτη pH). Το τελικό στάδιο της διαδικασίας είναι η τιτλοδότηση του διαλύματος βορικού αμμωνίου με αραιό διάλυμα

υδροχλωρικού οξέως (0,1 N HCl) υπό καθεστώς συνεχής κίνησης σύμφωνα με τη συγκεκριμένη αντίδραση:



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

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



**Εικόνα 2.8: Συσκευή Kjeldahl. Πηγή:
Προσωπικό αρχείο συγγραφέα.**

2.2.5. Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών

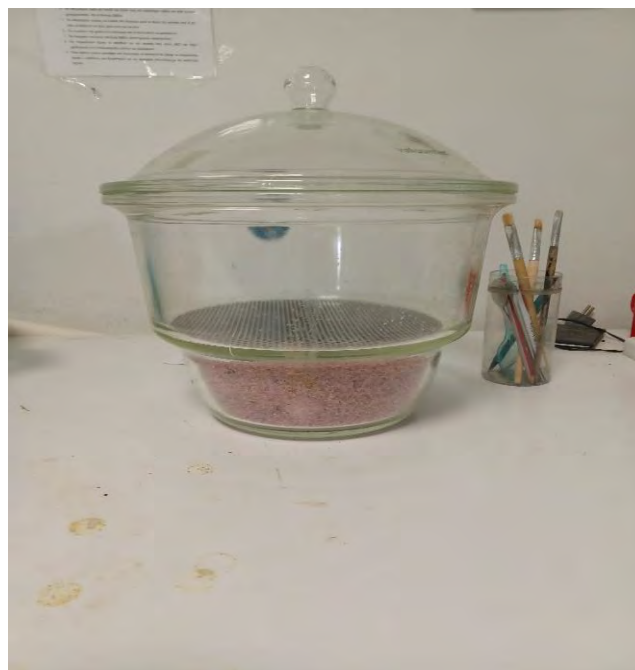
Ο προσδιορισμός του λίπους και πιο συγκεκριμένα των ολικών λιπαρών ουσιών τόσο στα σώματα όσο και στο μυϊκό ιστό των ψαριών πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια της μεθόδου εκχύλισης Soxhlet (AOAC 1995). Αρχικά σε γυάλινα δοχεία εκχύλισης προστέθηκαν 3-4 πέτρες βρασμού για τον ομαλό βρασμό του δείγματος και καταγράφηκε το βάρος τους σε ζυγό ακρίβειας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων. Κατόπιν, εφαρμόστηκαν στα δοχεία χάρτινοι ηθμοί. Ζυγίστηκε ποσότητα δείγματος βάρους 1 g και έπειτα τοποθετήθηκε στο χάρτινο δοχείο του ηθμού. Ταυτόχρονα, το δείγμα του ιστού, αλλά και της τροφής, θα πρέπει να είναι ξηραμένη και αλεσμένη. Η ξήρανση πραγματοποιείται σε φούρνο στους 105 ° C για περίπου 24 ώρες έως ότου σταθεροποιηθεί το βάρος του δείγματος. Στο γυάλινο δοχείο εκχύλισης 140ml πετρελαϊκού αιθέρα, στον οποίο είχαν εμβαπτιστεί οι χάρτινοι ηθμοί με το δείγμα. Στη συνέχεια τα γυάλινα δοχεία εκχύλισης με τους χάρτινους ηθμούς μεταφέρθηκαν και τοποθετήθηκαν σε ειδική συσκευή εκχύλισης λιπαρών ουσιών (συσκευή Soxhlet) (Εικόνα 2.9). Κατά την διάρκεια της εκχύλισης, τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 105 ° C υπό την παρουσία του οργανικού διαλύτη, λαμβάνοντας χώρα το 1^ο στάδιο της εκχύλισης. Ύστερα, ο οργανικός διαλύτης απορροφήθηκε και μετά εκπλύθηκε στο δείγμα για 1,5 ώρα, όπου έλαβε χώρα το 2^ο στάδιο της εκχύλισης. Μετά, ο διαλύτης απορροφήθηκε για 15 λεπτά, με συνέπεια τα ολικά λιπίδια του δείγματος να παραμείνουν στο πάτο του δοχείου εκχύλισης. Για να απομακρυνθούν τα υπολείμματα του πετρελαϊκού αιθέρα, τα δοχεία μεταφέρθηκαν στο φούρνο για 15 λεπτά στους 105 ° C, χωρίς τους χάρτινους ηθμούς. Στη συνέχεια, μεταφέρθηκαν και τοποθετήθηκαν σε αφυγραντήρα (Εικόνα 2.10) το λιγότερο για 1 ώρα και καταγράφηκαν τα βάρη τους. Ο υπολογισμός του καθαρού βάρους των λιπαρών ουσιών δίνεται από τον τύπο:

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



Εικόνα 2.9: Συσκευή Soxhlet.

Πηγή: Προσωπικό αρχείο συγγραφέα.



Εικόνα 2.10: Αφυγραντήρας.

Πηγή: Προσωπικό αρχείο συγγραφέα.

2.3 Στατιστική ανάλυση

Αφού ολοκληρώθηκαν οι χημικές αναλύσεις και πραγματοποιήθηκε η συλλογή των αποτελεσμάτων, τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν και δημιουργήθηκαν πίνακες σχετικά με τις θρεπτικές συστάσεις μέσω του υπολογιστικού προγράμματος EXCEL. Κατόπιν, το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 26 αξιοποιήθηκε, με στόχο τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων. Η σύγκριση των μέσων όρων των διαφόρων παραμέτρων έγινε με τη μέθοδο ανάλυσης των διακυμάνσεων μονής κατεύθυνσης (One-Way ANOVA). Στις περιπτώσεις, οι οποίες δεν ικανοποιούσαν την προϋπόθεση ομοιογένειας των παραλλακτικών, τα δεδομένα τροποποιήθηκαν. Τα δεδομένα υποβλήθηκαν στο Tukey's test, με σκοπό τον εντοπισμό διαφορών ανάμεσα στις διαφορετικές διατροφικές ομάδες.

3. Αποτελέσματα

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις αναλύσεις της χημικής σύστασης τόσο του ολικού σώματος (whole body) των ιχθύων όσο και του φιλέτου (muscle).

3.1. Θρεπτική σύσταση του ολικού σώματος του λαβρακιού

3.1.1 Περιεκτικότητα σε υγρασία

Η περιεκτικότητα σε υγρασία του ολικού σώματος του λαβρακιού, το οποίο διατράφηκε με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν $64,88 \pm 1,35\%$ για τη διατροφική ομάδα του μάρτυρα (FM), $64,82 \pm 1,95\%$ για τη διατροφική ομάδα SM50 και $64,41 \pm 1,46\%$ για τη διατροφική ομάδα SM100 (Πίνακας 3.1). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις διατροφικές ομάδες ($P \geq 0,05$).

Πίνακας 3.1: Περιεκτικότητα σε υγρασία (%) του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαια των μικροφυκών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	FM	SM50	SM100
1	63,33	64,24	63,08
2	65,64	63,24	65,97
3	65,68	67	64,18
M.O	64,88	64,83	64,41
T.A	1,35	1,95	1,46

Σημείωση: M.O.= Μέσος Όρος, T.A = Τυπική Απόκλιση

3.1.2 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ενώσεις

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη του ολικού σώματος του λαβρακιού που διατράφηκε με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν $49,49 \pm 1,85\%$ για τη διατροφική ομάδα του μάρτυρα (FM), $46,23 \pm 1,65\%$ για τη διατροφική ομάδα SM50 και $45,62 \pm 0,83\%$ για τη διατροφική ομάδα SM100 (Πίνακας 3.2). Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι η ομάδα ιχθύων FM είχε σημαντικά ($P < 0,05$) υψηλότερη περιεκτικότητα πρωτεϊνών συγκριτικά με την ομάδα SM100, ενώ οι πρωτεΐνες στο σώμα των ιχθύων της ομάδας SM50 δεν διέφεραν από τις άλλες δύο ομάδες.

Πίνακας 3.2: Περιεκτικότητα (% επί ξηράς ουσίας) σε πρωτεΐνη του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαιο των μικροφυκών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	FM	SM50	SM100
1	48,36	45,46	44,76
2	48,48	45,11	46,42
3	51,63	48,12	45,68
M.O	49,49 ^a	46,23 ^{ab}	45,62 ^b
T.A	1,85	1,65	0,83

Σημείωση: M.O. = Μέσος όρος, T.A. = Τυπική Απόκλιση. Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

3.1.3 Περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες

Η περιεκτικότητα σε λίπος στο ολικό σώμα του λαβρακιού, το οποίο διατράφηκε με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν $38,38 \pm 3,62\%$ για τη διατροφική ομάδα του μάρτυρα (FM), $37,4 \pm 2,04\%$ για τη διατροφική ομάδα SM50 και $40,02 \pm 2,64\%$ για τη διατροφική ομάδα SM100 (Πίνακας 3.3). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διατροφικών ομάδων ($P \geq 0,05$).

Πίνακας 3.3: Περιεκτικότητα (% επί ξηράς ουσίας) σε λίπος του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαια των μικροφυκών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	FM	SM50	SM100
1	42,2	38,69	36,98
2	37,93	38,46	41,73
3	35	35,04	41,36
M.O	38,38	37,40	40,02
T.A	3,62	2,04	2,64

Σημείωση: M.O. = Μέσος Όρος, T.A. = Τυπική Απόκλιση

3.1.4 Περιεκτικότητα σε τέφρα

Η περιεκτικότητα σε τέφρα στο ολικό σώμα του λαβρακιού που διατράφηκε με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν $9,86 \pm 1,90\%$ για τη διατροφική ομάδα του μάρτυρα (FM), $11,49 \pm 0,35\%$ για τη διατροφική ομάδα SM50 και $10,38 \pm 0,50\%$ για τη διατροφική ομάδα SM100 (Πίνακας 3.4). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διατροφικών ομάδων ($P \geq 0,05$).

Πίνακας 3.4: Περιεκτικότητα (% επί ξηράς ουσίας) σε τέφρα του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαια των μικροφυκών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	FM	SM50	SM100
1	10,79	11,2	10,94
2	11,12	11,4	10,01
3	7,68	11,88	10,18
M.O	9,86	11,49	10,38
T.A	1,90	0,35	0,50

Σημείωση: M.O. = Μέσος Όρος, T.A. = Τυπική Απόκλιση

Πίνακας 3.5: Συγκεντρωτικός πίνακας χημικών αναλύσεων (επί ξηράς ουσίας) του ολικού σώματος του λαβρακιού.

	FM	SM50	SM100
Υγρασία (% επί νωπού)	64,88 ± 1,35	64,82 ± 1,95	64,41 ± 1,46
Πρωτεΐνη (%)	49,49 ± 1,85 ^a	46,23 ± 1,65 ^{ab}	45,62 ± 0,83 ^b
Λίπος (%)	38,38 ± 3,62	37,4 ± 2,04	40,02 ± 2,64
Τέφρα (%)	9,86 ± 1,90	11,49 ± 0,35	10,38 ± 0,50

Σημείωση: Οι διαφορετικοί δείκτες στατιστικώς σημαντική διαφορά (P<0,05) στη σύσταση σώματος μεταξύ των διαφορετικών σιτηρεσίων (a, b).

3.2. Θρεπτική σύσταση του μυϊκού ιστού του λαβρακιού

3.2.1 Περιεκτικότητα σε υγρασία

Η περιεκτικότητα σε υγρασία του μυϊκού ιστού του λαβρακιού που διατράφηκε με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν $75,16 \pm 0,36\%$ για τη διατροφική ομάδα του μάρτυρα (FM), $75,1 \pm 0,64\%$ για τη διατροφική ομάδα SM50 και $74,07 \pm 0,27\%$ για τη διατροφική ομάδα SM100 (Πίνακας 3.6). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P \geq 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Πίνακας 3.6: Περιεκτικότητα σε υγρασία (%) του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαια των μικροφυκών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	FM	SM50	SM100
1	74,74	75,72	74,1
2	75,34	74,45	73,78
3	75,39	75,13	74,32
M.O.	75,16	75,1	74,07
T.A.	0,36	0,64	0,27

Σημείωση: M.O. = Μέσος όρος, T.A. = Τυπική Απόκλιση

3.2.2 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ενώσεις

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη του μυϊκού ιστού του λαβρακιού, το οποίο διατράφηκε με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν $81,81 \pm 2,71\%$ για τη διατροφική ομάδα του μάρτυρα (FM), $85,48 \pm 1,21\%$ για τη διατροφική ομάδα SM50 και $85,16 \pm 1,81\%$ για τη διατροφική ομάδα SM100 (Πίνακας 3.7). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P \geq 0,05$) ανάμεσα στις διατροφικές ομάδες.

Πίνακας 3.7: Περιεκτικότητα (% επί ξηράς ουσίας) σε πρωτεΐνη του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαια των μικροφυκών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	FM	SM50	SM100
1	79,47	86,6	83,27
2	81,17	84,19	85,34
3	84,78	85,66	86,87
M.O	81,81	85,48	85,16
T.A	2,71	1,21	1,81

Σημείωση: M.O. =Μέσος Όρος, T.A. =Τυπική Απόκλιση

3.2.3 Περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες

Η περιεκτικότητα σε λίπος του μυϊκού ιστού του λαβρακιού που διατράφηκε με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν $7,05 \pm 1,26\%$ για τη διατροφική ομάδα του μάρτυρα (FM), $5,66 \pm 1,38\%$ για τη διατροφική ομάδα SM50 και $6,54 \pm 1,32\%$ για τη διατροφική ομάδα SM100 (Πίνακας 3.8). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P \geq 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Πίνακας 3.8: Περιεκτικότητα (% επί ξηράς ουσίας) σε λίπος του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαια των μικροφυκών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	FM	SM50	SM100
1	8,41	4,27	8
2	5,91	7,03	6,22
3	6,83	5,68	5,41
M.O	7,05	5,66	6,54
T.A	1,26	1,38	1,32

Σημείωση: M.O. = Μέσος Όρος, T.A. = Τυπική Απόκλιση

3.2.4 Περιεκτικότητα σε ενέργεια

Η περιεκτικότητα σε ενέργεια στο μυϊκό ιστό του λαβρακιού, το οποίο διατράφηκε με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν $22,83 \pm 0,12 \text{Kj/g}$ για τη διατροφική ομάδα του μάρτυρα (FM), $22,79 \pm 0,28 \text{Kj/g}$ για τη διατροφική ομάδα SM50 και $23,08 \pm 0,38 \text{Kj/g}$ για τη διατροφική ομάδα SM100 (Πίνακας 3.9). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P \geq 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Πίνακας 3.9: Περιεκτικότητα (% επί ξηράς ουσίας) σε ενέργεια του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαια των μικροφυκών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	FM	SM50	SM100
1	22,88	22,52	23,49
2	22,7	22,77	23,03
3	22,92	23,07	22,73
M.O	22,83	22,79	23,08
T.A	0,12	0,28	0,38

Σημείωση: M.O. = Μέσος Όρος, T.A. = Τυπική Απόκλιση

3.2.5 Περιεκτικότητα σε τέφρα

Η περιεκτικότητα σε τέφρα για το μυϊκό ιστό του λαβρακιού, το οποίο διατράφηκε με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν $5,7 \pm 0,03\%$ για τη διατροφική ομάδα του μάρτυρα (FM), $5,52 \pm 0,11\%$ για τη διατροφική ομάδα SM50 και $5,17 \pm 0,26\%$ για τη διατροφική ομάδα SM100 (Πίνακας 3.10). Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι η ομάδα ιχθύων FM είχε σημαντικά ($P < 0,05$) υψηλότερη περιεκτικότητα σε τέφρα συγκριτικά με την ομάδα SM100, ενώ η τέφρα στο σώμα των ιχθύων της ομάδας SM50 δεν διέφεραν από τις άλλες δύο ομάδες.

Πίνακας 3.10: Πίνακας 3.4: Περιεκτικότητα (% επί ξηράς ουσίας) σε τέφρα του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαια των μικροφυκών *Nannochloropsis* sp. και *Schizochytrium* sp. σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	FM	SM50	SM100
1	5,67	5,6	5,08
2	5,69	5,39	4,97
3	5,73	5,56	5,47
M.O	5,70 ^a	5,52 ^{ab}	5,17 ^b
T.A	0,03	0,11	0,26

Σημείωση: M.O. = Μέσος Όρος, T.A. = Τυπική Απόκλιση

Πίνακας 3.11: Συγκεντρωτικός πίνακας χημικών αναλύσεων (επί ξηράς ουσίας) του μυϊκού ιστού του λαβρακιού.

	FM	SM50	SM100
Υγρασία (% επί νωπού)	75,16 ± 0,36	75,1 ± 0,64	74,07 ± 0,27
Πρωτεΐνη (%)	81,81 ± 2,71	85,48 ± 1,21	85,16 ± 1,81
Λίπος (%)	7,05 ± 1,26	5,66 ± 1,38	6,54 ± 1,32
Ενέργεια Kj/g	22,83 ± 0,12	22,79 ± 0,28	23,08 ± 0,38
Τέφρα (%)	5,7 ± 0,03 ^a	5,52 ± 0,11 ^{ab}	5,17 ± 0,26 ^b

Σημείωση: Οι διαφορετικοί δείκτες στατιστικώς σημαντική διαφορά (P<0,05) στη σύσταση σώματος μεταξύ των διαφορετικών σιτηρεσίων (a, b).

4. Συζήτηση

Η παρούσα εργασία αποτελεί μια προσπάθεια διερεύνησης της καταλληλότητας των μικροφυκών των ειδών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* ως εναλλακτική των ιχθυελαίων στο σιτηρέσιο του λαβρακιού. Από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας διαπιστώθηκε ότι η υποκατάσταση του ιχθυελαίου κατά 50% από μικροφύκη των ειδών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* δεν επηρέασε σημαντικά τη θρεπτική σύσταση τόσο του ολικού σώματος όσο και του μυϊκού ιστού του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Αντίθετα, η ολική αντικατάσταση (100%) του ιχθυελαίου της τροφής από το μίγμα μικροφυκών οδήγησε σε σημαντικά μειωμένες περιεκτικότητες πρωτεϊνών στο σώμα και τέφρας στο μυϊκό ιστό των λαβρακιών. Τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας δείχνουν ότι τα ψάρια της διατροφικής ομάδας του μάρτυρα (FM) είχαν μειωμένη ανάπτυξη και διαταραχές της υγείας λόγω μειωμένης πρωτεΐνης σε σχέση με τα ψάρια της διατροφικής ομάδας της ομάδας SM100, τα οποία είχαν υψηλότερη ανάπτυξη. Η αυξημένη πρωτεΐνη για τη διατροφική ομάδα του μάρτυρα (FM) υποδηλώνει ότι η μάζα των πρωτεϊνών σε αυτή τη διατροφική ομάδα των ψαριών αυξάνεται και συνεπώς η σύνθεση των πρωτεϊνών υπερβαίνει τον καταβολισμό των πρωτεϊνών. Παράλληλα, η καλύτερη αξιοποίηση της πρωτεΐνης της τροφής σημαίνει ότι τα μικροφύκη *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* είναι μια καλή πηγή πρωτεϊνών έως και 50%, με θετικά αποτελέσματα. Επιπλέον, η υψηλή τέφρα στα ψάρια της διατροφικής ομάδας του μάρτυρα (FM) υποδηλώνει ότι υπήρξαν πολλά οστά κατά την καύση των δειγμάτων.

Έως και σήμερα δεν έχουν διεξαχθεί αρκετές έρευνες σχετικά με την καταλληλότητα αντικατάστασης του ιχθυελαίου από τα μικροφύκη των ειδών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* στο λαβράκι. Όμως, ο μικρός αριθμός

μελετών που πραγματοποιήθηκαν μέχρι σήμερα σε άλλα είδη ιχθύων με την αξιοποίηση των μικροφυκών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* έχουν δείξει ποικιλόμορφα αποτελέσματα.

Το *Schizochytrium sp.* έχει χρησιμοποιηθεί ως μεμονωμένο διατροφικό συστατικό, αλλά και σε συνδυασμό με άλλα είδη μικροφυκών στην αντικατάσταση του ιχθυελαίου στις δίαιτες πολλών ειδών ψαριών. Αναλυτικότερα, οι Karapanagiotidis et al. (2022) μελέτησαν την αντικατάσταση του ιχθυελαίου από τα μικροφύκη *Schizochytrium sp.* και *Microchloropsis gaditana* σε ποσοστά 50% και 100% και ταυτόχρονα την αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από *Chlorella vulgaris* σε ποσοστά 10%, 20% και 30% για τη τσιπούρα (*Sparus aurata*), επισημαίνοντας από τα αποτελέσματα τους ότι η αντικατάσταση του ιχθυελαίου από αυτό το μίγμα ήταν επιτυχής για όλα τα ποσοστά, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση της και παρά τις ιστομορφολογικές αλλοιώσεις. Παράλληλα, οι Qiao et al. (2014) μελέτησαν την αντικατάσταση του ιχθυελαίου από τα μικροφύκη *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* στα νεαρά του είδους της κορεάτικης ιππογλώσσας (*Paralichthys olivaceus*) σε ποσοστό του 50% και 100%, συγκρίνοντας τις με την αντικατάσταση του ιχθυελαίου από το σογιάλευρο ως ομάδα μάρτυρας. Η μελέτη των Qiao et al. (2014) επισημαίνει ότι από την ολική υποκατάσταση του ιχθυελαίου από τα παραπάνω μικροφύκη, όχι μόνο διατηρήθηκαν τα επίπεδα του αραχιδονικού οξέος, των EPA και των DHA, αλλά και συγχρόνως αυξήθηκε η αναλογία n-3/n-6 παρά τις στατιστικές σημαντικές διαφορές που παρατηρήθηκαν στις πρωτεΐνες, με τη σύνθεση ολόκληρου του σώματος, τη περιεκτικότητα των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) στο ήπαρ και στους μυς και τη λιπιδική σύσταση του πλάσματος να παραμένουν ανεπηρέαστα. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν σχεδόν με την μελέτη των Qiao et al. (2014), εφόσον υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις

πρωτεΐνες μεταξύ των διατροφικών ομάδων των μικροφυκών. Η επιτυχής αντικατάσταση του ιχθυελαίου τόσο από το *Schizochytrium sp.* όσο και από το *Nannochloropsis sp.* πάνω στην ανάπτυξη των ψαριών και στην αποτελεσματικότητα της τροφής, έχει αναφερθεί σε πολλά είδη ψαριών. Για παράδειγμα, οι Kumar et al. (2018) επισημαίνουν ότι στην αντικατάσταση ιχθυελαίου από το μικροφύκος *Schizochytrium sp.* σε συνδυασμό με φυτικά έλαια (λινέλαιο και σογιέλαιο) στη διαίτα της γαρίδας της Κεντρικής Αμερικής βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές τόσο στην υγρασία όσο και στη πρωτεΐνη, το λίπος και την τέφρα σε όλες τις δίαιτες. Πέρα από αυτό, οι Haas et al. (2016) ερευνήσαν την αντικατάσταση του ιχθυελαίου από τα μικροφύκη *Pavlova viridis* και *Nannochloropsis sp.* στη διαίτα των νεαρών ιχθυδίων του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax L.*) σε ποσοστά 50% και 100% για το κάθε μικροφύκος. Από τα αποτελέσματα της έρευνας τους έδειξαν ότι η αντικατάσταση του ιχθυελαίου από τα παραπάνω μικροφύκη ήταν επιτυχής και για τα δύο ποσοστά. Ωστόσο, παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ενέργεια μεταξύ των διατροφικών ομάδων των μικροφυκών και την διατροφική ομάδα του ιχθυελαίου και τη διατροφική ομάδα του ιχθυελαίου, που ήταν σε συνδυασμό με το φυτικό έλαιο (σε ίσα μέρη κραμβόσπορος, ηλιέλαιο και λινέλαιο). Τα αποτελέσματα των Haas et al. (2016) συμφωνούν με τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας, αφού υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Περαιτέρω, οι Chen et al. (2019) μελέτησαν την αντικατάσταση του ιχθυελαίου από δύο νηματώδη μικροφύκη: τα *Oedocladium sp.* και *Tribonema sp.* στη διαίτα του πρωσικού κυπρίνου (*Carassius auratus gibelio*), με στόχο να παρατηρήσουν εάν θα βελτιωθούν τόσο η ποιότητα της σάρκας του όσο και η αντιοξειδωτική του ικανότητα και η ανοσία του από την παραπάνω αντικατάσταση. Στη συγκεκριμένη μελέτη, η υποκατάσταση του ιχθυελαίου από τα παραπάνω μικροφύκη ήταν επιτυχής, χωρίς την

εμφάνιση στατιστικών σημαντικών διαφορών, βελτιώνοντας σημαντικά τόσο την ποιότητα της σάρκας του όσο και την αντιοξειδωτική του ικανότητα και την ανοσία του. Επιπλέον, οι Perez-Velazquez et al. (2018) μελέτησαν την μερική υποκατάσταση τόσο του ιχθυαλεύρου όσο και του ιχθυελαίου από το μικροφύκος *Schizochytrium limacinum* σε ποσοστά των 10, 20, 30, 40 και 50% στη δίαιτα του στικτομυλοκόπι (*Sciaenops ocellatus*). Τα αποτελέσματα τους παρουσίασαν ότι η αντικατάσταση τόσο του ιχθυαλεύρου όσο και του ιχθυελαίου από αυτό το μικροφύκος ήταν επιτυχής για τη θρεπτική σύσταση του φιλέτου του στικτομυλοκόπι. Ωστόσο, εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη θρεπτική σύσταση του μυϊκού, όταν διεξάχθηκε η υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου και συγχρόνως του ιχθυελαίου από το μικροφύκος *Schizochytrium limacinum* για τα παραπάνω ποσοστά. Εντούτοις, η συγκεκριμένη μελέτη διαπίστωσε από τα μικροφύκη *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* έχουν την δυνατότητα να υποκαταστήσουν το ιχθυέλαιο έως και σε ποσοστό 50%, δίχως να επηρεαστούν η θρεπτική σύσταση του φιλέτου και του μυϊκού ιστού. Ωστόσο, κρίνεται αναγκαία η περαιτέρω έρευνα για το είδος του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) σχετικά με την εξακρίβωση, εάν τα μικροφύκη *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* είναι ακόμα κατάλληλα συστατικά για την υποκατάσταση του ιχθυελαίου, ακόμα και σε μεγαλύτερα ποσοστά. Τόσο οι Maisashvili et al. (2015) όσο και οι Shah et al. (2018) υποδείχνουν ότι η χρήση των μικροφυκών στις ιχθυοτροφές είναι θεωρητικά εφικτή.

5. Συμπέρασμα

Με βάση τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης εργασίας σε συνδυασμό με τα ευρήματα των μελετών που παρουσιάστηκαν στη συζήτηση, είναι επιτακτική η ανάγκη να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες σχετικά με τον πυλώνα των μικροφυκών τόσο για τα μικροφύκη του είδους *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* όσο και για τα άλλα είδη μικροφυκών στο κομμάτι των ιχθυοτροφών. Εν κατακλείδι, τα μικροφύκη, εξαιτίας της χημικής τους σύστασης που στοχεύουν στην θρεπτική αξία των συμβατικών ιχθυοτροφών, μπορούν να αξιοποιηθούν ως συστατικό στις ιχθυοτροφές. Αναλυτικότερα, η παρούσα έρευνα αποδεικνύει ότι η υποκατάσταση του ιχθυελαίου από τα μικροφύκη του είδους *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* κατά 50% δεν επηρέασε τη θρεπτική σύσταση του φιλέτου και του μυϊκού ιστού του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Όμως, στην αντικατάσταση του ιχθυελαίου από τα μικροφύκη του είδους *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* κατά 100% η ομάδα του μάρτυρα (FM) διέφερε στατιστικώς με την διατροφική ομάδα SM100 στη πρωτεΐνη για το φιλέτο και στη τέφρα για τον μυϊκό ιστό, παρόλο που ήταν επιτυχής για τις άλλες ουσίες. Μελλοντικά, θα ήταν καλό να ερευνηθούν και άλλο τα μικροφύκη ως πηγές υποκατάστασης του ιχθυελαίου, αλλά και άλλων υλών ζωικής και φυτικής προέλευσης.

6. Βιβλιογραφία

6.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

1. Ansari F. A., Bux F., Guldhe A., Gupta S.K. & Rawat I. (2021). *Environmental Science and Pollution Research: Improving the feasibility of aquaculture feed by using microalgae*. 28: 43234–43257.
2. AOAC (1995). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. Arlington, VA, USA, 16 ed.
3. Balduyck L., Bijttebier S., Bruneel C., Foubert I., Jacobs G., Muylaert K., Stock T. & Voorspoels S. (2017). *Algal Research: Integrity of the microalgal cell plays a major role in the lipolytic stability during wet storage*. 25: 516-524.
4. Becker E.W. (2007). *Biotechnology Advances: Micro-algae as a source of protein*. 25 (2): 207-210.
5. Becker E.W. (2013). *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology, Second Edition; Microalgae for Aquaculture: Nutritional Aspects*. 671-691.
6. Bélanger-Lamonde A., Sarker P.K., Ayotte P., Bailey J.L., Bureau D.P., Chouinard P.Y., Dewailly E., Leblanc A., Weber J.P. & Vandenberg G.W. (2018). *Journal of Food Quality: Algal and Vegetable Oils as Sustainable Fish Oil Substitutes in Rainbow Trout Diets: An Approach to Reduce Contaminant Exposure*. 2018.
7. Cardona E., Segret E., Cachelou Y., Vanderesse T., Larroquet L., Hermann A., Surget A., Corraze G., Cachelou F., Bobe J. & Skiba-Cassy S. (2022). *Journal of Animal Science and Biotechnology Effect of micro-algae Schizochytrium sp. supplementation in plant diet on reproduction of female rainbow trout (Oncorhynchus mykiss): maternal programming impact of progeny*. 13 (33)

8. Carpinelli C.E., Telatin A., Vitulo N., Forcato C., D'Angelo M., Schiavon R., Vezzi A., Giacometti G.M., Morosinotto T. & Valle G. (2014). *Molecular Plant: Chromosome Scale Genome Assembly and Transcriptome Profiling of Nannochloropsis gaditana in Nitrogen Depletion*. 7 (2):323-335.
9. Chen W., Han D., Han D., Hu Q., Wang Y., Xie S. & Zhu X. (2019). *Aquaculture Nutrition: Two filamentous microalgae as feed ingredients improved flesh quality and enhanced antioxidant capacity and immunity of the gibel carp (Carassius auratus gibelio)*. 25 (5): 1145-1155.
10. Dineshbabu G., Goswami G., Kumar R., Sinha A. & Das D. (2019). *Journal of Functional Foods: Microalgae–nutritious, sustainable aqua- and animal feed source*. 62: 103-545.
11. Fawley M.W., Fawley K. P. & Jameson I. (2015). *The phylogeny of the genus Nannochloropsis (Monodopsidaceae, Eustigmatophyceae), with descriptions of N. australis sp. nov. and Microchloropsis gen. nov. Phycologia*. 54 (5):545-552.
12. Fossier- Marchan L., Gutierrez T., Lee- Chang K.J., Mitchell W.J., Nichols P.D. & Polglase J.L. (2018). *Biotechnology Advances: Taxonomy, ecology, and biotechnological applications of thraustochytrids: A review*. 36 (1): 26-46.
13. García-Ortega A., Kissinger K.R. & Trushenski J.T. (2016). *Aquaculture: Evaluation of fish meal and fish oil replacement by soybean protein and algal meal from Schizochytrium limacinum in diets for giant grouper Epinephelus lanceolatus*. 452:1-8.
14. Guedes C. A., Malcata X. F. & Sousa-Pinto I. (2015). *Handbook of Marine Microalgae; Application of Microalgae Protein to Aquafeed*. 93-125.

15. Haas S., Bauer J.L., Adakli A., Meyer S., Lippemeier S., Schwarz K. & Schulz C. (2016). *Journal of Applied Phycology: Marine microalgae Pavlova viridis and Nannochloropsis sp. as n-3 PUFA source in diets for juvenile European sea bass (Dicentrarchus labrax L.)*. 28: 1011–1021.
16. Hart B., Narendranath N., Kuehnle A. & Colombo S.M. (2021). *Aquaculture: Digestibility of Schizochytrium sp. whole cell biomass by Atlantic salmon (Salmo salar)*. 533.
17. Jinkerson R.E., Posewitz M.C. & Radakovits R. (2013). *Bioengineered: Genomic insights from the oleaginous model alga Nannochloropsis gaditana*. 4 (1):37-43.
18. Karapanagiotidis I.T., Metsoviti M.N., Gkalogianni E.Z., Psoufakis P., Asimaki M., Katsoulas N., Papapolymerou G. & Zarkadas I. (2022). *Aquaculture: 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)*. 561.
19. Kay R.A. & Barton L.L. (1991). *Food Science and Nutrition: Microalgae as food and supplement*. 30 (6): 555-573.
20. Khozin-Goldberg I. & Boussiba S. (2011). *Journal of Applied Phycology: Concerns over the reporting of inconsistent data on fatty acid composition for microalgae of the genus Nannochloropsis (Eustigmatophyceae)*. 23: 933–934.
21. Kilian O., Benemann C.S.E., Niyogi K.K. & Vick B. (2011). *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America: High-efficiency homologous recombination in the oil-producing alga Nannochloropsis sp.* 108 (52): 21265-21269.

22. Kissinger K.R., García-Ortega A. & Trushenski J.T. (2016). *Aquaculture: Partial fish meal replacement by soy protein concentrate, squid and algal meals in low fish-oil diets containing Schizochytrium limacinum for longfin yellowtail Seriola rivoliana*. 452:37-44.
23. Kousoulaki K., Krasnov A., Mørkøre T., Østbye T.K.K., Sweetman J. & Torgersen J.S. (2015). *Journal of Nutritional Science: Metabolism, health, and fillet nutritional quality in Atlantic salmon (Salmo salar) fed diets containing n-3-rich microalgae*. 4 (24): 1-13.
24. Kousoulaki K., Berge G.M., Mørkøre T., Krasnov A., Baeverfjord G., Ytrestøyl T., Carlehøg M., Sweetman J.W. & Ruyter B. (2020, February 14). *Marine Fisheries, Aquaculture and Living Resources: Microalgal Schizochytrium limacinum Biomass Improves Growth and Filet Quality When Used Long-Term as a Replacement for Fish Oil, in Modern Salmon Diets*.
Retrieved from <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2020.00057/full>
25. Kumar V., Habte-Tsion H.M., Allen K.M., Bowman B.A., Thompson K.R., El-Haroun E., Filer K. & Tidwell J.H. (2018). *Aquaculture Nutrition: Replacement of fish oil with Schizochytrium meal and its impacts on the growth and lipid metabolism of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei)*. 24 (6): 1769-1781.
26. Leliaert F., Vergruggen H., Vanormelingen P., Steen F., López-Bautista J.M., Zuccarello G.C. & De Clerck O. (2014). *European Journal of Phycology: DNA-based species delimitation in algae*. 49 (2):179-196.
27. Lewis T.E., McMeekin T.A. & Nichols P.D. (1999). *Marine Biotechnology: The Biotechnological Potential of Thraustochytrids*. 1: 580-587.

28. Leyland B., Leu S. & Boussiba S. (2017). *Fungal Biology: Are Thraustochytrids algae?* 121 (10): 835-840.
29. Liang C., Cao S., Zhan X., Zhu B., Su Z., Xu D., Guang X. & Ye N. (2013). *BioEnergy Research : De Novo Sequencing and Global Transcriptome Analysis of Nannochloropsis sp. (Eustigmatophyceae) Following Nitrogen Starvation.* 6:494-505.
30. Maisashvili A., Bryant H., Richardson J., Anderson D., Wickersham T. & Drewery M. (2022). *Aquaculture: Utilization of Nannochloropsis oceanica in plant-based feeds by Atlantic salmon (Salmo salar).* 561.
31. Maisashvili A., Anderson D., Bryant H., Drewery M., Richardson J. & Wickersham T. (2015). *Algal Research: The values of whole algae and lipid extracted algae meal for aquaculture.* 9: 133-142.
32. Michalak I. & Chojnacka K. (2015). *Engineering in Life Sciences: Algae as production systems of bioactive compounds.* 15 (2):160-176.
33. Milledge J.J. (2011). *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology: Commercial application of microalgae other than as biofuels: a brief review.* 10:31–41.
34. Morabito C., Bournaud C., Maës C., Schuler M., Cigliano R.A., Dellerio Y., Maréchal E., Amato A. & Rébeillé F. (2019). *Progress in Lipid Research: The lipid metabolism in thraustochytrids.* 76.
35. Muller-Feuga A. (2000). *Journal of Applied Phycology; The role of microalgae in aquaculture: situation and trends.* 12:527-534.

36. Packer M.A., Harris G.C. & Adams S.L. (2016). *Algae Biotechnology; Food and Feed Applications of Algae*. 217-247.
37. Pan K., Qin J., Li S., Dai W., Zhu B., Jin Y., Yu W., Yang G. & Li D. (2011). *Journal of Phycology: Nuclear monoploidy and asexual propagation of Nannochloropsis oceanica (Eustigmatophyceae) as revealed by its genome sequence*. 47 (6): 1425-1432.
38. Papoutsoglou S.E., Tziha G., Vrettos X. & Athanasiou A. (1998). *Aquacultural Engineering; Effects of stocking density on behavior and growth rate of European sea bass (Dicentrarchus labrax) juveniles reared in a closed circulated system*. 18 (2):135-144.
39. Perez-Velazquez M., Gatlin III D.M., González-Félix M.L. & García-Ortega A. (2018). *Aquaculture: Partial replacement of fishmeal and fish oil by algal meals in diets of red drum Sciaenops ocellatus*. 487: 41-50.
40. Radakovits R., Jinkerson R.E., Fuerstenberg S.I., Tae H., Settlage R.E., Boore J.L. & Posewitz M.C. (2012). *Nature Communications: Draft genome sequence and genetic transformation of the oleaginous alga Nannochloropsis gaditana*. 3: 686.
41. Qiao H., Wang H., Song Z., Ma J., Li B., Liu X., Zhang S., Wang J. & Zhang L. (2014). *Aquaculture Nutrition: 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*. 20 (6): 646-653.
42. Qiao H., Hu D., Ma J., Wang X., Wu H. & Wang J. (2019). *Algal Research: Feeding effects of the microalga Nannochloropsis sp. on juvenile turbot (Scophthalmus maximus L.)*. 41.

43. Sarker P.K., Gamble M.M., Kelson S. & Kapuscinski A.R. (2016). *Aquaculture Nutrition: 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*.22 (1):109-119.
44. Sarker P.K., Kapuscinski A.R., McKuin B., Fitzgerald D.S., Nash H.M. & Greenwood C. (2020). *Scientific Reports: Microalgae-blend tilapia feed eliminates fishmeal and fish oil, improves growth, and is cost viable*. 10.
45. Shah M.R., Lutz G.A., Alam A., Sarker P., Kabir Chowdhury M.A., Parsaeimehr A., Liang Y. & Daroch M. (2018). *Journal of Applied Phycology; Microalgae in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry*. 30:197-213.
46. Shearer K.D. (1994). *Aquaculture: Factors affecting the proximate composition of culture fish with emphasis on salmonids*. 119:63-88.
47. Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E. & Isambert A. (2006). *Journal of Bioscience and Bioengineering; Commercial applications of microalgae*. 101 (2):87-96.
48. Starkenburg S.R., Kwon K.J., Jha R.K., McKay C., Jacobs M., Chertkov O., Twary S., Rocap G. & Cattolico R.A. (2014). *BMC Genomics: A pangenomic analysis of the Nannochloropsisorganellar genomes reveals novel genetic variations in key metabolic genes*.15.
49. Tibbetts S.M. (2018). *Microalgal Technology: The potential for “next-generation”, microalgae-based feed ingredients for salmonid aquaculture in context of the blue revolution*.151-175.

50. Tibbetts S.M., Scaife M.A. & Armenta R.E. (2020). *Aquaculture: Apparent digestibility of proximate nutrients, energy, and fatty acids in nutritionally balanced diets with partial or complete replacement of dietary fish oil with microbial oil from a novel Schizochytrium sp. (T18) by juvenile Atlantic salmon (Salmo salar L.)*. 520.
51. Tocher D.R., Betancor M.B., Sprague M., Olsen R.E. & Napier J.A. (2019). *Nutrients: Omega-3 Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids, EPA, and DHA: Bridging the Gap between Supply and Demand*. 11 (1):89.
52. Vieler A., Wu G., Tsai C.H., Bullard B., Cornish A.J., Harvey C., Reca I.B., Thornburg C., Achawanantakun R., Buehl C.J., Campbell M.S., Cavalier D., Childs K.L., Clark T.J., Deshpande R., Erickson E., Ferguson A.A., Handee W., Kong Q., Li X., Liu B., Lundback S., Peng C., Roston R.L., Sanjaya Simpson, J.P., Terbush A., Warakanont J., Zäuner S., Farre E.M., Hegg E.L., Jiang N., Kuo M-H., Lu Y., Niyogi K.K., Takahashi H., Yandell M., Shiu S-H. & Benning C. (2012). *PLoS Genetics: Genome, Functional Gene Annotation, and Nuclear Transformation of the Heterokont Oleaginous Alga Nannochloropsis oceanica CCMP1779.8*.
53. Vuppaladadiyam A.K., Prinsen P., Raheem A., Luque R. & Zhao M. (2018). *Biofuels Bioprod. Biorefin: Microalgae cultivation and metabolites production: a comprehensive review*. 12 (2):304-324.
54. Wang D., Ning K., Li J., Hu J., Han D., Wang H., Zeng X., Jing X., Zhou Q., Su X., Chang X., Wang A., Wang W., Jia J., Wei L., Xin Y., Qiao Y., Huang R., Chen J., Han B., Yoon K., Hill R.T., Zohar Y., Chen F., Hu Q. & Xu J. (2014). *PLOS Genetics: Nannochloropsis Genomes Reveal Evolution of Microalgal Oleaginous Traits*.10.

55. Wei L., Xin Y., Wang D., Jing X., Zhou Q., Su X., Jia J., Ning K., Chen F., Hu Q. & Xu J. (2013). *BMC Genomics: Nannochloropsis plastid and mitochondrial phylogenomes reveal organelle diversification mechanism and intragenus phylotyping strategy in microalgae*.14.
56. Yamaguchi K. (1996). *Journal of Applied Phycology: Recent advances in microalgal bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: a review*. 8: 487–502.
57. Yokoyama R. & Honda D. (2007). *Mycoscience: Taxonomic rearrangement of the genus Schizochytrium sensu lato based on morphology, chemotaxonomic characteristics, and 18S rRNA gene phylogeny (Thraustochytriaceae, Labyrinthulomycetes): emendation for Schizochytrium and erection of Aurantiochytrium and Oblongichytrium gen. nov.* .48 (4): 199-211.
58. Zheng M., Tian J., Yang G., Zheng, L. Chen J. & Wang B. (2013). *Gene: Transcriptome sequencing, annotation, and expression analysis of Nannochloropsis sp. at different growth phases*.523 (2): 117-121

6.2 Ελληνική βιβλιογραφία

1. Καραπαναγιωτίδης Ι. (2018). *Τεχνολογία Ιχθυοτροφών*. Βόλος.
2. Κλαουδάτος Σ. & Κλαουδάτος Δ. (2012). Κεφάλαιο 3 *Καλλιέργειες φυτικών και εκτροφές υδρόβιων ζωικών οργανισμών*. Προπομπός: Αθήνα. 241-252, 255.
3. Μεντέ Ε. & Νέγκας Ι. (2011). *Στοιχεία Φυσιολογίας Θρέψεως και Εφαρμοσμένη Διατροφή Ιχθύων και Καρκινοειδών*. Εκδόσεις Παπαζήση: Αθήνα. 224-228.
4. Νεοφύτου Ν. Χ. (2015). *Βιολογία ιχθύων και θαλάσσιων θηλαστικών*. University studio press: Θεσσαλονίκη, 225-226.
5. Παπουτσόγλου Σ.Ε. (2008). *Διατροφή Ιχθύων*. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης: Αθήνα

6. Χώτος Γ. & Ρογδάκης Ι. (2010). *Υδατοκαλλιέργειες Ευρύαλων Ειδών*. Εκδόσεις “ΙΩΝ”: Αθήνα

6.3 Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

1. <https://www.fishbase.se/summary/Dicentrarchus-labrax.html>
2. https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/en
3. https://www.fgm.com.gr/uploads/file/FGM_20_GR_WEB2.pdf

