

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ & ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΘΕΜΑ: «Επίδραση της υποκατάστασης του ιχθυαλεύρου από
πρόμιγμα αμινοξέων στην αναπτυξιακή απόδοση της τσιπούρας
(*Sparus aurata*)»**

Μαυρομμάτη Μαρίνα-Λυδία

ΒΟΛΟΣ 2024

**«Επίδραση της υποκατάστασης του ιχθυαλεύρου από πρόμικμα αμινοξέων στην
αναπτυξιακή απόδοση 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 εκφράσω τις ειλικρινείς ευχαριστίες μου σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω εις πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Διατριβή. Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κ. Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη, για την πολύτιμη βοήθεια, υποστήριξη και το άμεσο ενδιαφέρον του. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, κα. Παναγιώτα Παναγιωτάκη και κα. Ελένη Γκολομάζου.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους εκείνους τους ανθρώπους που συνέβαλαν ανιδιοτελώς στην διεξαγωγή και ολοκλήρωση όλης της πειραματικής διαδικασίας, και κυρίως τις υποψήφιες διδάκτορες Αδαμαντία Ασημάκη και Αικατερίνη – Μαρία Κατούνη για την άμεση και ανιδιοτελή προσφορά τους καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος. Επιπλέον, θα ήθελα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου και στους δικούς μου ανθρώπους για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και κυρίως την υπομονή και κατανόηση που έδειξαν καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον εργοδότη μου, κ. Παπακώστα Κωνσταντίνο, για την πολύτιμη βοήθεια και συνεισφορά του στην πραγματοποίηση της εν λόγω εργασίας, αλλά και για την κατανόηση που έδειξε κατά την διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο κλάδος των υδατοκαλλιεργειών αυξάνεται συνεχώς με ολοένα και μεγαλύτερους ρυθμούς. Λόγω της εξάρτησης της βιομηχανίας παραγωγής ιχθυοτροφών από τα ιχθυάλευρα, τα οποία αποτελούν την κύρια πηγή πρωτεΐνης, απειλείται η βιωσιμότητα των φυσικών ιχθυαποθεμάτων, αλλά και η περαιτέρω ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών. Ταυτόχρονα, η παγκόσμια παραγωγή τους είναι στάσιμη, αυξάνοντας έτσι το κόστος παραγωγής των ιχθυοτροφών και της ιχθυοκαλλιέργειας στο σύνολό της.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί η επίδραση που τυχόν έχει η υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από το εμπορικό σκεύασμα προμίσγματος αμινοξέων AminoPro F68, σε ποσοστό 5%, στην αναπτυξιακή απόδοση των εκτρεφόμενων ατόμων τσιπούρας (*Sparus aurata*) και στην αποδοτικότητα της εν λόγω τροφής. Το AminoPro F68 είναι ένα μίγμα αμινοξέων προέλευσης από τους οργανισμούς *Corynebacterium glutamicum* και *Saccharomyces cerevisiae*. Για το σκοπό αυτό έγινε κατάρτιση και παρασκευή δύο πειραματικών ιχθυοτροφών, από την εταιρεία ιχθυοτροφών PRAXIS AQUACULTURE, όπου η μία αποτελούσε τον μάρτυρα (ομάδα CONTROL) και η άλλη περιείχε την διατροφική επέμβαση (ομάδα AMINOPRO). Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 930 άτομα τσιπούρας αρχικού μέσου σωματικού βάρους 183g, τα οποία κατανεμήθηκαν ισομερώς σε 3 ιχθυοκλωβούς. Το πείραμα που διεξήχθη διήρκησε 70 ημέρες και έλαβε χώρα στις εγκαταστάσεις της μονάδας ιχθυοκαλλιέργειας ΣΚΑΛΩΜΑ Α.Ε., στην λωρίδα Σαγιάδας στην Ηγουμενίτσα. Οι δείκτες που μετρήθηκαν ήταν η αύξηση ολικού σωματικού βάρους (WG), το ποσοστό της αύξησης του ολικού σωματικού βάρους (%WG), ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR), ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR), ο συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών (PER), ο δείκτης κατακράτησης πρωτεΐνης

(PR), η συνολική κατανάλωση τροφής (FI), ο οικονομικός συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (e-FCR), ο δείκτης εξάρτησης των παραγόμενων ιχθυοτροφών από ιχθυάλευρα (FFDRm) και η θρεπτική σύσταση του σώματος των ιχθύων.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του παρόντος πειράματος, η ομάδα AMINOPRO είχε σημαντικά υψηλότερο WG, ποσοστό αύξησης ολικού σωματικού βάρους των ιχθύων, FI και SGR. Επιπλέον, η ομάδα AMINOPRO είχε σημαντικά χαμηλότερο FCR, e-FCR και FFDRm. Τέλος, οι δείκτες PER, PR και η θρεπτική σύσταση του σώματος των ιχθύων δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο διατροφικών ομάδων. Τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η υποκατάσταση ιχθυαλεύρου από το πρόμιγμα αμινοξέων AminoPro F68 επηρέασε θετικά την αναπτυξιακή απόδοση των ιχθύων και την αποδοτικότητα της τροφής, υποδεικνύοντας την πιθανή καταλληλότητα του προμίγματος αυτού ως υποκατάστατο του ιχθυαλεύρου στα σιτηρέσια της εκτρεφόμενης τσιπούρας. Ωστόσο, λόγω του γεγονότος ότι ο πειραματισμός χρησιμοποίησε μικρό αριθμό επαναλήψεων και πραγματοποιήθηκε σε πραγματικές συνθήκες ιχθυοκαλλιέργειας, είναι αναγκαία περαιτέρω έρευνα για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.

Λέξεις-κλειδιά: τσιπούρα, *Sparus aurata*, υποκατάσταση ιχθυαλεύρου, πρόμιγμα αμινοξέων, AminoPro F68, *Corynebacterium glutamicum*, *Saccharomyces cerevisiae*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1. Εκτροφή της τσιπούρας (<i>Sparus aurata</i>)	1
1.2. Θρεπτικές απαιτήσεις της τσιπούρας (<i>Sparus aurata</i>)	5
1.3. Τα ιχθυάλευρα ως κύριες πρωτεϊνικές πηγές στις ιχθυοτροφές και η ανάγκη υποκατάστασης τους για παραγωγή βιώσιμων ιχθυοτροφών	8
1.4. Αμινοξέα, μονοκύτταρες πρωτεΐνες και παράγωγα βακτηρίων και ζυμομυκήτων για την παραγωγή βιώσιμων ιχθυοτροφών	11
1.4.1. <i>Corynebacterium glutamicum</i>	14
1.4.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15
1.5. Σκοπός της έρευνας	19
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	20
2.1. Πειραματικός σχεδιασμός	20
2.2. Σιτηρέσια και σίτιση	21
2.3. Δειγματοληψίες	27
2.4. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής	27
2.4.1. Θνησιμότητα	27
2.4.2. Αρχικό (Initial Body Weight, IBW g), ενδιάμεσο και τελικό βάρος (Final Body Weight, FBW g) των ιχθύων	28
2.4.3. Αύξηση ολικού σωματικού βάρους (Weight Gain) των ιχθύων	28
2.4.4. Ποσοστό αύξησης ολικού βάρους ιχθύων	28
2.4.5. Συνολική κατανάλωση τροφής (Feed Intake, FI, g)	28
2.4.6. Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (Specific Growth Rate, SGR, % / ημέρα)	29
2.4.7. Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (Feed Conversion Ratio, FCR)	29
2.4.8. Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών (Protein Efficiency Ratio, PER)	29

2.4.9. Δείκτης κατακράτησης πρωτεΐνης (Protein Retention, PR, %)	29
2.4.10. Θρεπτική σύσταση της σάρκας των ιχθύων	30
2.4.11. Οικονομικός συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (e-FCR)	30
2.4.12. Δείκτης εξάρτησης των παραγόμενων ιχθυοτροφών από ιχθυάλευρα (Fishmeal Forage Fish Dependency Ratio, FFDRm)	31
2.5. Χημικές αναλύσεις	31
2.5.1. Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ουσιών	31
2.5.2 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών	33
2.5.3. Προσδιορισμός τέφρας	34
2.5.4. Προσδιορισμός υγρασίας/ξηράς ουσίας	34
2.5.5. Προσδιορισμός θερμιδικής αξίας	35
2.6. Στατιστική ανάλυση	35
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	37
3.1. Θνησιμότητα	37
3.2. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής	37
3.2.1. Μέσο βάρος κατά την έναρξη του πειράματος, την 40 ^η και την 70 ^η ημέρα	37
3.2.2. Αύξηση ολικού σωματικού βάρους (Weight Gain, g/ιχθύ) των ιχθύων	38
3.2.3. Ποσοστό αύξησης ολικού βάρους ιχθύων	39
3.2.4. Συνολική κατανάλωση τροφής (Feed Intake, FI, g)	39
3.2.5. Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (Specific Growth Rate, SGR, % / ημέρα)	40
3.2.6. Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (Feed Conversion Ratio, FCR)	41
3.2.7. Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών (Protein Efficiency Ratio, PER)	42
3.2.8. Δείκτης κατακράτησης πρωτεΐνης (Protein Retention, PR, %)	42
3.2.9. Θρεπτική σύσταση της σάρκας των ιχθύων	43

3.2.10. Οικονομικός συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (e-FCR) .	45
3.2.11. Δείκτης εξάρτησης των παραγόμενων ιχθυοτροφών από ιχθυάλευρα (Fishmeal Forage Fish Dependency Ratio, FFDRm).....	46
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	48
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	56
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	57
ABSTRACT	66

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Εκτροφή της τσιπούρας (*Sparus aurata*)

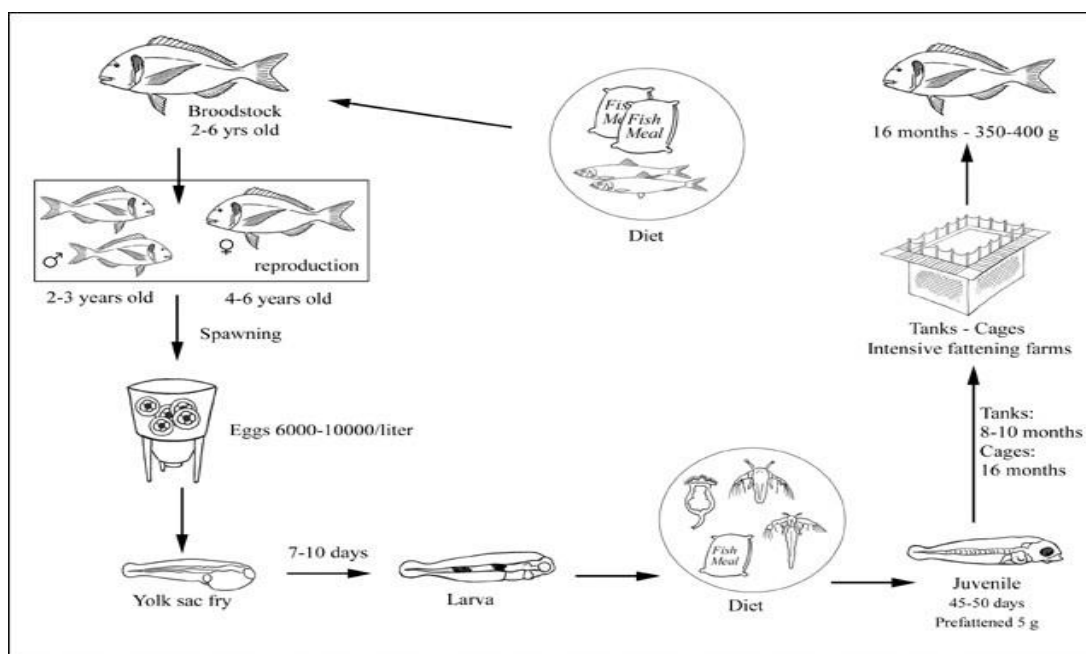
Η τσιπούρα (*Sparus aurata*) ανήκει στο γένος *Sparus* και την οικογένεια Sparidae. Είναι σαρκοφάγος ιχθύς και ανάλογα την ηλικία της τρέφεται με ζωοπλαγκτονικούς οργανισμούς, πολύχαιτους, δίθυρα μαλάκια, καρκινοειδή και ψάρια. Είναι ευρύθερμο και ευρύαλο είδος, όπου αντέχει σε θερμοκρασίες από 4 °C έως 30 °C, με την μέγιστη ανάπτυξη να παρατηρείται στους 22-24 °C, και σε τιμές αλατότητας μέχρι 40 ‰, με την μέγιστη ανάπτυξη να σημειώνεται σε τιμές από 28 ‰ έως 32 ‰. Συναντάται κυρίως σε περιοχές της Μεσογείου θάλασσας και σπανιότερα στη Μαύρη θάλασσα. Επίσης, φυσικοί πληθυσμοί της μπορούν να συναντηθούν στις νότιες ακτές των Βρετανικών νησιών, στις δυτικές ακτές της Ευρώπης και της Βορείου Αφρικής και στις ακτές των Κανάριων Νήσων. Τα νεαρά άτομα συναντώνται σε βάθη έως 30 m, ενώ τα ενήλικα σε βάθη έως 50 m (Παπουτσόγλου, 2008), αλλά έχουν γίνει αναφορές και για έως 150 m (Sola et al., 2007).

Ένα ιδιαίτερο βιολογικό χαρακτηριστικό του είδους αυτού είναι ο πρωτανδρικός ερμαφροδιτισμός, όπου η πρώτη γεννητική ωρίμανση γίνεται μόνο σε αρσενικά άτομα του είδους, κατά το πρώτο με δεύτερο έτος ηλικίας τους, όπου το μέγεθός τους φτάνει τα 20 με 30 cm, τα οποία στη συνέχεια μετατρέπονται σε θηλυκά, κατά το δεύτερο με τρίτο έτος ηλικίας, μεγέθους 30 με 40 cm. Ωστόσο, σε συνθήκες αιχμαλωσίας, η αναστροφή του φύλου επηρεάζεται από ορμονικούς παράγοντες, αλλά και από την αλληλεπίδραση με το περιβάλλον και κυρίως από την παρουσία των υπόλοιπων ιχθύων (Παπουτσόγλου 2008, FAO 2009).

Η αναπαραγωγική περίοδος της τσιπούρας ξεκινάει από τον Οκτώβριο και διαρκεί έως και τον Δεκέμβριο, όπου παρατηρείται συνεχής παραγωγή γεννητικού υλικού. Τα θηλυκά άτομα απελευθερώνουν 20.000 με 80.000 αυγά ανά ημέρα για

περίοδο μέχρι και 4 μήνες. Τα αναπαραγωγικώς ώριμα άτομα του είδους εγκαταλείπουν τις ημίκλειστες υδατοσυλλογές των λιμνοθαλασσών και κατευθύνονται σε νερά ανοιχτής θαλάσσης, σε βραχώδη ή αμμώδη μέρη και σε περιοχές με λιβάδια Ποσειδωνίας (*Posidonia oceanica*) όπου και πραγματοποιείται η διαδικασία της αναπαραγωγής. Τα νεαρά άτομα νωρίς την Άνοιξη μεταναστεύουν προς περισσότερο προστατευμένα παραλιακά νερά, όπου μπορούν να βρουν τροφή και μέτριες θερμοκρασίες νερού (ευαίσθητα σε θερμοκρασίες νερού χαμηλότερες από 4 °C). Τα αρχικά στάδια της ζωής τους τα περνάνε σε θαλασσινά και υφάλμυρα περιβάλλοντα, όπως λιμνοθάλασσες και εκβολές ποταμών (Παπουτσόγλου 2008, FAO 2009).

Τα αυγά του είδους αυτού είναι σφαιρικά και πελαγικά, με διάμετρο λίγο μικρότερη του 1 mm, ενώ περιέχουν μία σταγόνα λίπους. Το στάδιο της λάρβας διαρκεί περίπου 50 ημέρες στους 17-18 °C. Στην Εικόνα 1.1 φαίνεται ο αναπαραγωγικός κύκλος του είδους σε συνθήκες εντατικής εκτροφής.

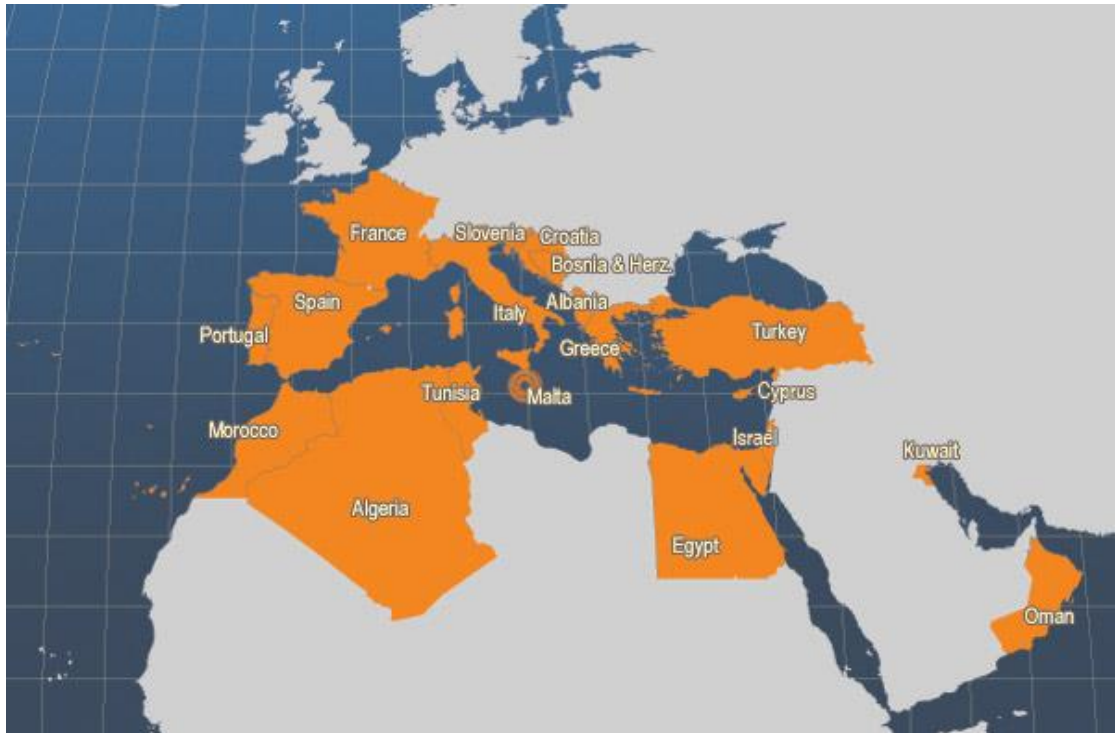


Εικόνα 1.1: Ο αναπαραγωγικός κύκλος της τσιπούρας (*Sparus aurata*) σε συνθήκες εντατικής εκτροφής (FAO, 2009).

Αρχικά η τσιπούρα εκτρεφόταν σε λιμνοθάλασσες και σταδιακά επεκτάθηκε και έγινε ένα από τα πρώτα είδη όπου έχει εφαρμοστεί επιτυχώς η εκτροφή της υπό εντατικές συνθήκες (Παπουτσόγλου, 2008). Ήδη από τις αρχές της δεκαετίας του '80, ξεκίνησε η εντατική εκτροφή του είδους στην Ιταλία, ενώ στα τέλη της ίδιας δεκαετίας ξεκίνησε η παραγωγή γόνου στην Ισπανία, Ιταλία και Ελλάδα. Η τσιπούρα αποτελεί ένα από τα πλέον κατάλληλα είδη προς εντατική εκτροφή στη Μεσόγειο, λόγω της ανθεκτικότητάς της, της υψηλής επιβίωσης που παρουσιάζει, της καλής προσαρμοστικότητας σε συνθήκες αιχμαλωσίας, των διατροφικών συνηθειών της αλλά και της καλής τιμής πώλησής της (FAO, 2009). Το 2021 η παραγωγή τσιπούρας στην Ελλάδα ανήλθε σε 73.050 τόνους, όπου σε σχέση με το 2020 σημείωσε σημαντική αύξηση 12,3%. Η τσιπούρα αντιστοιχεί στο 58% του όγκου της συνολικής παραγωγής στην Ελλάδα (ΕΛΟΠΥ, Ετήσια Έκθεση, 2022). Στην Ευρωπαϊκή Ένωση η παραγωγή τσιπούρας το 2020 ήταν 93.131 τόνοι, αποτελώντας το 17% της συνολικής ιχθυοκαλλιέργειας. Το 2021 η παγκόσμια παραγωγή τσιπούρας άγγιξε τους 302.000 τόνους (ΕΛΟΠΥ, Ετήσια Έκθεση, 2022). Το 2022 η παραγωγή τσιπούρας στην Ελλάδα έφτασε τους 72.700 τόνους, όπου παρουσίασε οριακή μείωση σε σχέση με το 2021 της τάξεως του 0,5% στον όγκο παραγωγής, αλλά παρουσίασε αύξηση της τάξεως του 6% ως προς την αξία πωλήσεων (ΕΛΟΠΥ, Ετήσια Έκθεση, 2023). Το 2023 η παραγωγή τσιπούρας στην Ελλάδα ήταν 66.000 τόνοι, όπου σημείωσε πτώση κατά 9% σε σχέση με το προηγούμενο έτος στον όγκο παραγωγής και πτώση 8% στην αξία των πωλήσεων (ΕΛΟΠΥ, Ετήσια Έκθεση, 2024).

Η εκτροφή γόνου αρχικά στηριζόταν στους άγριους πληθυσμούς, όπου κατά την μετανάστευση των νεαρών ιχθυδίων από την ανοιχτή θάλασσα προς τα παραλιακά νερά, γινόταν η σύλληψή τους. Λόγω όμως της εντατικοποίησης του κλάδου των ιχθυοκαλλιεργειών, υπήρξε ανάγκη να ξεκινήσει η παραγωγή γόνου που δεν θα

βασίζεται στους άγριους πληθυσμούς. Σήμερα, στην Ευρώπη και την Μεσόγειο οι γεννήτορες που χρησιμοποιούνται για αναπαραγωγή προέρχονται από άγριους πληθυσμούς. Οι γεννήτορες αυτοί κρατούνται για αρκετά χρόνια σε έναν ιχθυογεννητικό σταθμό. Κάθε χρόνο προστίθενται νέα αρσενικά άτομα, καθώς, όπως προαναφέρθηκε, μετατρέπονται σε θηλυκά στην ηλικία των δύο ετών. Έτσι γίνεται ανανέωση κατά 5% με 20% των αρσενικών ατόμων κάθε χρόνο. Ένα θηλυκό άτομο μπορεί να παράξει έως και 1 εκατ. αυγά με βαθμό γονιμοποίησης τους στο 90% - 95%. Το κατάλληλο βάρος για τα αρσενικά άτομα κυμαίνεται μεταξύ των 150g με 300g, ενώ για τα θηλυκά άτομα είναι γύρω στο 1,5kg (FAO, 2009). Στην Μεσόγειο οι κύριοι παραγωγοί τσιπούρας είναι η Ελλάδα, η Τουρκία, η Ισπανία και η Ιταλία (Sola et al., 2007). Στις αρχές της δεκαετίας του '90, υπήρχαν 20 μονάδες εκτροφής στην Μεσόγειο, ενώ μέχρι το 2007 ήταν περισσότερες από 65 τέτοιες μονάδες σε περισσότερες χώρες, όπως η Κροατία, Κύπρος, Γαλλία, Ελλάδα, Ιταλία, Μαρόκο, Πορτογαλία, Ισπανία και Τυνησία (FAO, 2009). Στην Εικόνα 1.2 φαίνονται οι κύριες παραγωγοί χώρες της τσιπούρας. Επιπροσθέτως, σύμφωνα με την Ετήσια Έκθεση του ΕΛΟΠΥ (2024), το 2023 παρήχθησαν 210 εκατομμύρια ιχθύδια τσιπούρας, όπου σημειώθηκε πτώση της τάξεως του 3,7% σε σχέση με το 2022. Το 90% αυτών τοποθετήθηκε σε μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας στην Ελλάδα, ενώ το υπόλοιπο 10% μεταφέρθηκε σε χώρες του εξωτερικού. Πιο συγκεκριμένα, 13 εκατομμύρια ιχθύδια εξήχθησαν στις χώρες Ιταλία, Ισπανία, Κροατία, Κύπρο και Μάλτα, και 7 εκατομμύρια ιχθύδια μεταφέρθηκαν στην Αλβανία, Τυνησία και στα Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα.



Εικόνα 1.2: Οι κύριες παραγωγόι χώρες του είδους *Sparus aurata* (FAO, Fishery Statistics, 2006).

1.2. Θρεπτικές απαιτήσεις της τσιπούρας (*Sparus aurata*)

Οι διατροφικές ανάγκες του είδους αυτού ποικίλουν και εξαρτώνται από το βιολογικό στάδιο στο οποίο βρίσκεται και μειώνονται σταδιακά όσο αυξάνονται σε μέγεθος και ηλικία. Πιο συγκεκριμένα, στο στάδιο των λεκιθοφόρων και ατελών ιχθυδίων οι απαιτήσεις σε πρωτεΐνες προκειμένου να σημειωθεί η βέλτιστη ανάπτυξη αλλά και η επιβίωση είναι 50-55% (με υγρασία τροφής 9,5-10%), στα 100g είναι στο 45-48%, στα 350g είναι στο 44-46% και από 450g και πάνω, όπου είναι και το εμπορεύσιμο μέγεθος της τσιπούρας, είναι στο 43-46% (Παπουτσόγλου, 2008).

Οι ιχθύες ωστόσο, ως μονογαστρικοί οργανισμοί, δεν έχουν συγκεκριμένες ανάγκες σε πρωτεΐνη αλλά σε αμινοξέα. Όταν λοιπόν αναφερόμαστε σε πρωτεϊνικές ανάγκες, εννοούμε τις ανάγκες σε αμινοξέα, καθώς η πρωτεΐνη περιέχει τα απαραίτητα και μη απαραίτητα αμινοξέα, τα οποία περιέχουν τις απαιτούμενες ποσότητες αζώτου

(N), το οποίο είναι απαραίτητο για την σύνθεση των διάφορων αζωτούχων ενώσεων (Oliva – Teles et al., 2012). Στον Πίνακα 1.1 και στον Πίνακα 1.2 φαίνονται οι ανάγκες των ατόμων τσιπούρας σε απαραίτητα και μη αμινοξέα και σε πεπτή ενέργεια και πρωτεΐνη αντίστοιχα.

Πίνακας 1.1: Απαιτήσεις αναπτυσσόμενων ατόμων τσιπούρας (*Sparus aurata*) σε απαραίτητα και μη αμινοξέα (Παπουτσόγλου, 2008)

AMINOΞΕΑ	ΑΝΑΓΚΕΣ (% CP της τροφής)
Αργινίνη	2,5-7,0
Λυσίνη	5,0 – 8,0
Μεθειονίνη	3,5 – 4,0
Κυστεΐνη	1,5 – 2,0
Τρυπτοφάνη	0,5 – 1,0
Ιστιδίνη	1,5 – 3,5
Ισολευκίνη	2,5 – 5,0
Λευκίνη	4,5 – 7,0
Βαλίνη	3,0 – 5,5
Φαινυλαλανίνη	3,0 – 4,0
Τυροσίνη	3,0 – 3,5
Θρεονίνη	3,0 – 4,5
Γλυκίνη	6,0 – 7,0
Γλουταμίνη	14,0 – 14,5
Σερίνη	4,0 – 4,5
Αλανίνη	6,0 – 6,5
Ασπαραγινικό οξύ	10,0 – 10,5
Απαραίτητα αμινοξέα/μη απαρ. αμινοξέα	~ 1,27 – 1,30

Πίνακας 1.2: Ανάγκες σε πεπτή ενέργεια και πρωτεΐνη της τσιπούρας (*Sparus aurata*) στα μεγέθη των 10g, 100g και 250g (Παπουτσόγλου, 2008, τροπ.)

ΑΝΑΓΚΕΣ	ZB 10g	ZB 100g	ZB 250g
Αύξηση ZB (g/ιχθύ/ημέρα)	0,25	1,0	1,82
Πεπτή Ενέργεια Συντήρησης (KJ/ιχθύ/ημέρα)	1,22	8,25	17,66
Πεπτή Ενέργεια Ανάπτυξης (KJ/ιχθύ/ημέρα)	3,33	17,36	35,19
ΠΕΣ + ΠΕΑ (KJ/ιχθύ/ημέρα)	4,55	25,61	52,85
Πεπτή Πρωτεΐνη Συντήρησης (g/ιχθύ/ημέρα)	0,034	0,172	0,326
Πεπτή Πρωτεΐνη Ανάπτυξης (g/ιχθύ/ημέρα)	0,096	0,398	0,694
ΠΠΣ + ΠΠΑ (g/ιχθύ/ημέρα)	0,130	0,570	1,020

Κατά την κατάρτιση σιτηρεσίων για τα εκτρεφόμενα ψάρια πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν ο λόγος ΠΠ/ΠΕ (Πεπτή Πρωτεΐνη/Πεπτή Ενέργεια), όπου εάν ο λόγος αυτός είναι υψηλός οι ιχθύες θα καταναλώσουν περισσότερη τροφή προκειμένου να καλύψουν τις ανάγκες για ανάπτυξη και η περίσσεια πρωτεΐνη θα χρησιμοποιηθεί προς κάλυψη των ενεργειακών τους αναγκών. Αντίθετα, εάν ο λόγος ΠΠ/ΠΕ είναι χαμηλός, οι ιχθύες θα σταματήσουν να καταναλώνουν τροφή πριν καλύψουν τις ενεργειακές ανάγκες τους και έτσι θα προκληθεί μείωση στους ρυθμούς ανάπτυξής τους (Oliva – Teles et al., 2012).

Κατά την κατάρτιση των ιχθυοτροφών πρέπει να καλύπτονται οι απαιτήσεις στα δέκα απαραίτητα αμινοξέα, ο λόγος απαραίτητα αμινοξέα προς μη απαραίτητα αμινοξέα να είναι ο κατάλληλος και να μην υπάρχουν ανισορροπίες και ανταγωνισμός μεταξύ των απαραίτητων αμινοξέων. Τέτοιου είδους ανταγωνισμός μπορεί να προκύψει εάν υπάρξουν δυσαναλογίες σε συγκεκριμένα αμινοξέα, τα οποία είναι

λευκίνη/ισολευκίνη, αργινίνη/λυσίνη και μεθειονίνη/κυστεΐνη. Κατά προσέγγιση έχει υπολογιστεί πως οι απαιτήσεις στα απαραίτητα αμινοξέα είναι κοντά στο 30% των συνολικών απαιτήσεων σε πρωτεΐνη. Ο βέλτιστος λόγος απαραίτητα/μη απαραίτητα αμινοξέα, προκειμένου να σημειωθεί η βέλτιστη ανάπτυξη, είναι στο 50-60/50-40 (Oliva – Teles et al., 2012).

1.3. Τα ιχθυάλευρα ως κύριες πρωτεϊνικές πηγές στις ιχθυοτροφές και η ανάγκη υποκατάστασης τους για παραγωγή βιώσιμων ιχθυοτροφών

Ο κλάδος των υδατοκαλλιεργειών είναι ένας συνεχώς αναπτυσσόμενος και εξελισσόμενος κλάδος, όπου το 2018 η συνολική παγκόσμια παραγωγή έφτασε τους 83.6 Mt, ξεπερνώντας συνολικά σε ανάπτυξη την αλιεία (Hodar et al., 2020). Το 2020 η συνεισφορά των υδατοκαλλιεργειών στην συνολική παραγωγή υδρόβιων οργανισμών αντιστοιχούσε στο 49,2% της συνολικής παραγωγής, η οποία ανήλθε στα 178 εκατ. τόνους. Ωστόσο, η ποσότητα αυτή δεν απευθυνόταν μόνο σε παραγωγή που αφορούσε αποκλειστικά στην ανθρώπινη κατανάλωση. Το 12% της ποσότητας αυτής αντιστοιχούσε στην παραγωγή ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου (Fernandes et al., 2024).

Το ιχθυάλευρο αποτελεί την κύρια πηγή πρωτεΐνης στα σιτηρέσια των εντατικώς εκτρεφόμενων σαρκοφάγων ειδών ιχθύων (Macusi et al., 2023). Διαθέτει υψηλής ποιότητας περιεχόμενη πρωτεΐνη, εξαιρετικό προφίλ απαραίτητων αμινοξέων και λιπαρών οξέων, είναι αρκετά εύγευστο για τους ιχθύς και εύπεπτο (Galkanda-Arachchige et al., 2019, Macusi et al., 2023). Επιπλέον, το ιχθυάλευρο αποτελεί πηγή νουκλεοτιδίων, φωσφολιπιδίων, μετάλλων, ιχνοστοιχείων αλλά και των πολύ σημαντικών υδατοδιαλυτών και λιποδιαλυτών βιταμινών (Galkanda-Arachchige et al., 2019). Σύμφωνα με αρκετές μελέτες, η περιεχόμενη πρωτεΐνη σε ένα σιτηρέσιο σαρκοφάγων ιχθύων πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ του 24% με 62% (μέσος όρος στο

42%), προκειμένου να καλυφθούν οι διατροφικές ανάγκες τους σε πρωτεΐνη και να σημειώσουν βέλτιστη ανάπτυξη (Arriaga- Hernández et al., 2020).

Ωστόσο, το ιχθυάλευρο αποτελεί το πιο ακριβό συστατικό των παραγόμενων ιχθυοτροφών, με αποτέλεσμα να αυξάνεται έτσι το συνολικό κόστος λειτουργίας κάθε μονάδας παραγωγής, καθώς το κόστος της ιχθυοτροφής αποτελεί το μεγαλύτερο λειτουργικό έξοδο (Emre et al., 2008), το οποίο φτάνει έως και το 60% με 70% του συνολικού κόστους (Macusi et al., 2023). Μέχρι το 2019 η τιμή του ιχθυαλεύρου ανερχόταν στα 1.600 US \$ (Hodar et al., 2020) και έκτοτε συνεχώς αυξάνεται (Macusi et al., 2023).

Επιπρόσθετα στα παραπάνω, λόγω του γεγονότος ότι η παγκόσμια παραγωγή υδρόβιων οργανισμών, με τα κυριότερα αυτών να είναι τα εντατικώς εκτρεφόμενα ψάρια και οι γαρίδες, συνεχώς αυξάνεται, αλλά και η εμφάνιση νέων ειδών με προοπτική να χρησιμοποιηθούν στην εντατική εκτροφή (Arriaga- Hernández et al., 2020), ασκείται πλέον μεγάλη πίεση στα διαθέσιμα ιχθυαποθέματα, από τα οποία παράγονται τα διάφορα ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή των ιχθυοτροφών, και τα οποία φυσικά δεν είναι ανεξάντλητα (Oliva-Teles et al., 2022).

Σύμφωνα με τον Hodar (2020), χρειάζονται 4 με 5 τόνοι ολόκληρων ψαριών προκειμένου να παραχθεί ένας τόνος ξηρού ιχθυαλεύρου. Επιπλέον, κάθε χρόνο τα αποθέματα ιχθυαλεύρου είναι σταθερά στα 6 με 6,5 εκατ. τόνους και το 2016 η παγκόσμια παραγωγή ιχθυαλεύρου ήταν μόλις 4,4 εκατ. τόνοι, εκ των οποίων το 1/3 είχε παραχθεί στο Περού.

Λόγω των υψηλών απαιτήσεων των σαρκοφάγων ιχθύων σε πρωτεΐνη, οι πρώτες ύλες που μπορούν να υποκαταστήσουν το ιχθυάλευρο είναι οι Μεταποιημένες Ζωικές Πρωτεΐνες μη-μηρυκαστικών ζώων (González-Rodríguez et al., 2014,

Karapanagiotidis, 2014) και υποπροϊόντα της ζωικής παραγωγής χερσαίων ζώων (πουλερικά, χοίροι) (Hernández et al., 2014, Karapanagiotidis et al., 2018, Albrektsen et al., 2022), άλευρα φυτικής προέλευσης (κυρίως συμπυκνωμένες πρωτεΐνες αυτών) (Hardy, 2010) και πρωτεΐνες προερχόμενες από μονοκύτταρους οργανισμούς (βακτήρια και μύκητες – ζύμες) (Albrektsen et al., 2022). Όμως θεωρούνται κατώτερες πηγές πρωτεΐνης λόγω της έλλειψης που παρουσιάζουν σε κάποια από τα απαραίτητα αμινοξέα, της μειωμένης πεπτικότητας που τα χαρακτηρίζει, δεν είναι εύγευστα για τους εκτρεφόμενους ιχθύς και περιέχουν αντιδιατροφικούς παράγοντες (Oliva – Teles et al., 2012).

Τα ιχθυάλευρα και τα υποπροϊόντα της ζωικής παραγωγής χερσαίων ζώων είναι πλούσια στο αμινοξύ ταυρίνη, με σημαντικό φυσιολογικό ρόλο στην ανάπτυξη και αναπαραγωγική ικανότητα των ιχθύων. Η ταυρίνη συντίθεται από το αμινοξύ κυστεΐνη. Η σύνθεση όμως αυτή δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί εάν τα ψάρια τρέφονται με σιτηρέσια τα οποία είναι ελλιπή σε ζωική πρωτεΐνη (Oliva – Teles et al., 2012). Στην τσιπούρα όταν έγινε ολική αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από φυτικής προέλευσης πρωτεΐνη, παρουσιάστηκαν αλλαγές στην ιστολογία του εντέρου. Επιπλέον, εάν γίνει υποκατάσταση σε ποσοστό μεγαλύτερο από 75% τότε έχει παρατηρηθεί μειωμένη λειτουργικότητα σε τουλάχιστον έναν από τους μηχανισμούς του ανοσοποιητικού συστήματος των ιχθύων (Oliva – Teles et al., 2012).

Σύμφωνα λοιπόν με τα παραπάνω, είναι πλέον επιτακτική ανάγκη να μειωθεί το ποσοστό συμμετοχής του ιχθυαλεύρου στα σιτηρέσια των εκτρεφόμενων σαρκοφάγων ιχθύων, χρησιμοποιώντας εναλλακτικές, αειφόρες και περισσότερο βιώσιμες πηγές πρωτεΐνης, προκειμένου να μπορέσει ο κλάδος των υδατοκαλλιεργειών να σημειώσει μία περισσότερο βιώσιμη ανάπτυξη, με σεβασμό στο περιβάλλον (Oliva-Teles et al., 2022).

1.4. Αμινοξέα, μονοκύτταρες πρωτεΐνες και παράγωγα βακτηρίων και ζυμομυκήτων για την παραγωγή βιώσιμων ιχθυοτροφών

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει προσπάθειες προκειμένου να μειωθεί η χρήση του ιχθυαλεύρου στα σιτηρέσια των εντατικώς εκτρεφόμενων ιχθύων και να αυξηθεί η χρήση των περισσότερο βιώσιμων πρώτων υλών. Οι ιχθυοτροφές με μειωμένο ιχθυάλευρο, ωστόσο, πρέπει να προάγουν την βέλτιστη ανάπτυξη και την υγεία των εκτρεφόμενων ιχθύων, οδηγώντας στην παραγωγή ενός τελικού προϊόντος το οποίο να πληροί τις απαιτούμενες διατροφικές προδιαγραφές και να είναι αποδεκτό από το ευρύ καταναλωτικό κοινό (Oliva-Teles et al., 2022), σε συνδυασμό με την δυνατότητα να μπορούν να παραχθούν σε μεγάλες ποσότητες με μειωμένο κόστος, προκειμένου να ανταπεξέρχονται στις απαιτήσεις της αγοράς (Sébastien et al., 2023).

Μία εναλλακτική πηγή πρωτεΐνης που μπορεί να υποκαταστήσει τα ιχθυάλευρα στα σιτηρέσια των εντατικώς εκτρεφόμενων σαρκοφάγων ιχθύων είναι οι πρωτεΐνες που προέρχονται από βακτήρια και μύκητες – ζύμες. Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι πλούσιοι σε πρωτεΐνη (50% - 80% επί της ξηράς ουσίας), με καλό προφίλ απαραίτητων αμινοξέων, βιταμίνες, φωσφολιπίδια και άλλα λειτουργικά σύμπλοκα (Bertini et al., 2023, Carvalho et al., 2023). Επίσης, μπορούν να αναπαραχθούν με ταχείς ρυθμούς σε διάφορες συνθήκες καλλιέργειας, χωρίς να γίνεται σπατάλη νερού και ηλεκτρικής ενέργειας, δεν επηρεάζονται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Marchi et al., 2023), μετατρέπουν τα διάφορα απόβλητα και την οργανική ουσία σε υψηλής ποιότητας πρωτεΐνη, αλλά και δεν απαιτούν εκτάσεις αρόσιμης γης. Με τον τρόπο αυτόν βοηθάνε στην μείωση των βιομηχανικών αποβλήτων (Bertini et al., 2023).

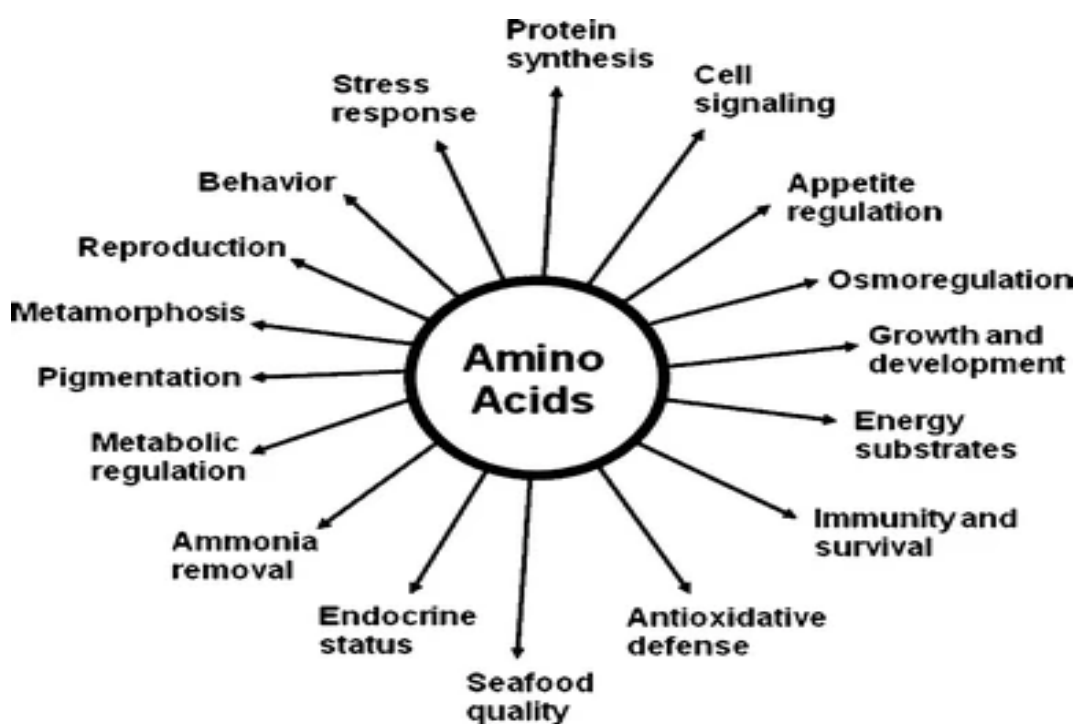
Οι μονοκύτταρες πρωτεΐνες (SCP: Single-Cell Proteins) αποτελούν εξαιρετικά καινοτόμα συστατικά, οικονομικά και παράγονται γρήγορα. Οι SCPs ουσιαστικά είναι αφυδατωμένα κύτταρα προερχόμενα από μονοκύτταρους οργανισμούς, όπως είναι οι μύκητες, οι ζύμες, τα βακτήρια και τα μικροφύκη, και παράγονται μέσω ζύμωσης.

Περιέχουν υψηλά ποσοστά πρωτεΐνης (60-82% επί της ξηράς ουσίας), διαθέτουν καλό προφίλ λιπαρών οξέων, υδατάνθρακες, βιταμίνες και μέταλλα, επομένως έχουν υψηλή διατροφική αξία σε σχέση με άλλες πιο συμβατικές πηγές πρωτεΐνης (Zerka et al., 2010, Aruna et al., 2017, Sharif et al., 2021, Marchi et al., 2023). Οι περισσότερες έρευνες υποστηρίζουν το θετικό αντίκτυπο αυτών των συστατικών στην ανάπτυξη των ιχθύων. Οι SCPs που προέρχονται από ζύμες είναι καλές πηγές πρωτεΐνης, βιταμινών και ιχνοστοιχείων, τα οποία μπορούν να αυξήσουν την ανοσολογική απόκριση, να μειώσουν το stress και να διαμορφώσουν ευεργετικά το μικροβίωμα του εντέρου, συνεισφέροντας θετικά στην ανάπτυξη των ψαριών (Marchi et al., 2023).

Όσον αφορά στα αμινοξέα, είναι χημικές ενώσεις οι οποίες διαθέτουν πληθώρα χαρακτηριστικών, όσων αφορά στην θρεπτική τους αξία και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε διάφορους τομείς, όπως ως συμπληρώματα διατροφής, ως πρόσθετα τροφών και ζωοτροφών, στη φαρμακοβιομηχανία, στην αγροτική παραγωγή, κλπ. Η ζήτηση για πρόσθετα αμινοξέα έχει αυξηθεί αρκετά τα τελευταία χρόνια, έτσι η ετήσια παραγωγή τους αυξάνεται συνεχώς, όπου το 2012 είχε ξεπεράσει τα 3,7 εκατομμύρια Mt (Ikeda και Takeno, 2013). Επιπλέον, η παγκόσμια αγοραστική τους αξία εκτιμάται ότι αναπτύσσεται κατά 8 – 10% κάθε χρόνο. Τα περισσότερα χρησιμοποιούμενα αμινοξέα είναι η L-λυσίνη, η DL-μεθειονίνη, η L-θρεονίνη και η L-τρυπτοφάνη, όπου τα περισσότερα L-αμινοξέα εξ' αυτών παράγονται μέσω της μικροβιακής ζύμωσης (Ikeda και Takeno, 2013).

Σύμφωνα με έρευνες, κάποια αμινοξέα και οι μεταβολίτες τους παίζουν ρυθμιστικό ρόλο σε διάφορες σημαντικές μεταβολικές διαδικασίες, οι οποίες είναι απαραίτητες για τη συντήρηση, την ανάπτυξη, τη πρόσληψη τροφής, το ανοσοποιητικό σύστημα, την αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών της τροφής, τη συμπεριφορά, την αναπαραγωγική διαδικασία, τη μεταμόρφωση των λαρβών, την ανθεκτικότητα έναντι

στρεσογόνων παραγόντων του περιβάλλοντος και έναντι παθογόνων μικροοργανισμών, μεταξύ πολλών άλλων λειτουργιών (Li Peng et al., 2009). Λόγω λοιπόν του σημαντικότερου ρόλου που παίζουν τα αμινοξέα στον μεταβολισμό των κυττάρων αλλά και στην φυσιολογία των ιχθύων γενικότερα, η προσθήκη τους ως πρόσθετα προμείγματα στην διατροφή των εκτρεφόμενων ιχθύων μπορεί να προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα, όπως: αύξηση της διατροφικής αξίας των ιχθυοτροφών που είναι φτωχές σε ιχθυάλευρο, αύξηση της αποδεκτικότητας της τροφής από τα ψάρια, βελτιστοποίηση του μεταβολικού ρυθμού των νεαρών και ενηλίκων ατόμων ιχθύων, μείωση επιθετικών συμπεριφορών και φαινομένων κανιβαλισμού, αύξηση επιπέδων επιβίωσης των λαρβών, αύξηση αναπαραγωγικής ικανότητας, αύξηση ανθεκτικότητας έναντι στρεσογόνων παραγόντων και βελτίωση γεύσης και υφής του φιλέτου ως τελικού προϊόντος (Li Peng et al., 2009, Li Xinyu et al., 2021). Στην Εικόνα 1.3 φαίνεται ο ρόλος των αμινοξέων στην ανάπτυξη και την υγεία των ιχθύων.



Εικόνα 1.3: Ο ρόλος των αμινοξέων στην ανάπτυξη και την υγεία των ιχθύων (Li Peng et al., 2009).

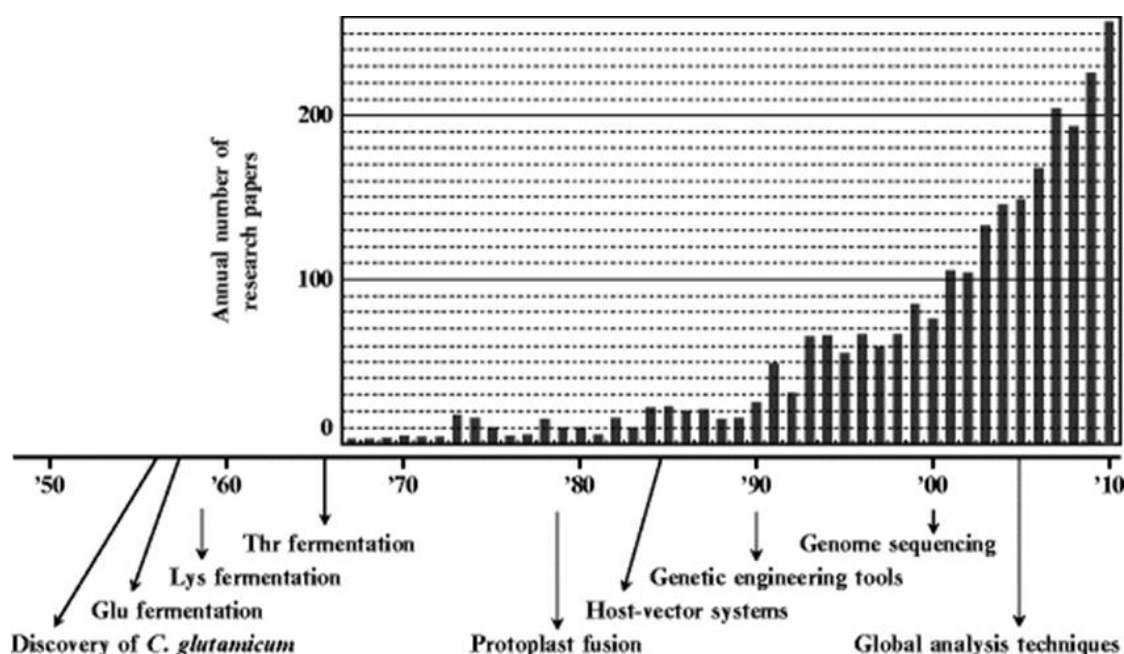
1.4.1. *Corynebacterium glutamicum*

Το είδος *Corynebacterium glutamicum* είναι ένα μη παθογόνο και μη σπορογόνο, προαιρετικά αναερόβιο, κατά Gram θετικό στέλεχος βακτηρίου, το οποίο έχει την ικανότητα να εκκρίνει τα αμινοξέα L-λυσίνη και L-γλουταμίνη, αλλά και μικροποσότητες οργανικών οξέων. Χρησιμοποιείται ευρέως από την βιομηχανία προς παραγωγή διάφορων οργανικών συμπλόκων, όπως είναι τα οργανικά οξέα, οι αλκοόλες και η πυραζίνη. Χαρακτηρίζεται από ταχείς ρυθμούς ανάπτυξης, υψηλές αποδόσεις κατά την παραγωγική διαδικασία και, λόγω της έλλειψης εξωτερικής κάψουλας, είναι ένα πολλά υποσχόμενο είδος βακτηρίου για την παραγωγή πρωτεϊνών (Shikina et al, 2022). Αρχικά είχε ταυτοποιηθεί ως βακτήριο το οποίο μπορούσε να παράξει αποκλειστικά το αμινοξύ γλουταμίνη. Πλέον κάθε χρόνο παράγονται από αυτό το είδος βακτηρίου 2,16 εκατομμύρια τόνοι L-γλουταμίνης και 1,48 εκατομμύρια τόνοι L-λυσίνης (Kant et al., 2024).

Επιπλέον, το *C. glutamicum* έχει χαρακτηριστεί ως GRAS (Genarally Regarded as Safe) οργανισμός. Το 2003 δημοσιεύτηκε για πρώτη φορά ολόκληρη η αλληλουχία του γονιδιώματος του μικροοργανισμού αυτού, ανοίγοντας έτσι νέους ορίζοντες ως προς τις πιθανές χρήσεις του (Ikeda και Nakagawa, 2003, Kalinowski et al., 2003). Λόγω όμως της χαμηλής αποδοτικότητας που παρουσιάζει κατά την διαδικασία του ανασυνδυασμού του αλλά και κατά την μεταφορά πλασμιδίων, η διαδικασία ανάπτυξης ενός κατάλληλου εργαλείου για την χρησιμοποίησή του σε τομείς της γενετικής, προχωράει με αργούς ρυθμούς σε σχέση με άλλα είδη βακτηρίων, όπως για παράδειγμα το είδος *Escherichia coli* (Kim et al., 2023).

Ένα από τα πλεονεκτήματα από την χρήση του βακτηρίου αυτού είναι το γεγονός ότι έχει αναπτυχθεί η παραγωγή των αμινοξέων σερίνη και μεθειονίνη, τα οποία δεν θα μπορούσαν να παραχθούν αποτελεσματικά από μόρια γλυκόζης. Επιπλέον, οι μικροοργανισμοί αυτοί χρησιμοποιούν ως πρώτη ύλη για τον

μεταβολισμό και τον πολλαπλασιασμό τους πηγές οι οποίες δεν ανταγωνίζονται τις αντίστοιχες που αφορούν στην ανθρώπινη κατανάλωση και δεν απαιτούν σπατάλη ενέργειας (Ikeda και Takeno, 2013). Λόγω λοιπόν, της ανακάλυψης του *C. glutamicum* μπόρεσε να πραγματοποιηθεί η παραγωγή των προαναφερθέντων αμινοξέων, αλλά και της λυσίνης, μέσω ζύμωσης (Ikeda και Takeno, 2013). Στην Εικόνα 1.4 απεικονίζεται η ιστορική αναδρομή της ανάπτυξης της τεχνολογίας που σχετίζεται με την ζύμωση αμινοξέων από το βακτήριο *C. glutamicum*.



Εικόνα 1.4: Ιστορική αναδρομή στην ανάπτυξη της τεχνολογίας αξιοποίησης του στελέχους *C. glutamicum* και ο ετήσιος αριθμός πειραματικών ερευνών που σχετίζονται με αυτό (Ikeda και Takeno, 2013).

1.4.2. *Saccharomyces cerevisiae*

Το είδος αυτό αποτελεί μονοκύτταρο είδος μύκητα. Λόγω της φύσης του σε συνδυασμό με τις λειτουργίες που διαθέτει ως ευκαρυωτικός οργανισμός, αλλά και εξαιτίας της δυνατότητας που παρέχει προκειμένου να χρησιμοποιηθεί σε γενετικό επίπεδο, το είδος *Saccharomyces cerevisiae* αποτελεί πολύτιμο εργαλείο έρευνας

(Goffeau et al., 1996). Έχει συνεισφέρει στον τομέα της βιοτεχνολογίας λόγω των μοναδικών βιολογικών χαρακτηριστικών του, όπως είναι, η ικανότητα ζύμωσης, συνοδευόμενη με την ικανότητα παραγωγής αλκοολών και CO₂ και η αντοχή που παρουσιάζει έναντι δυσμενών συνθηκών όσμωσης και χαμηλού pH (Parapouli et al., 2020). Η πλήρης αλληλουχία του γονιδιώματός του αναφέρθηκε πρώτη φορά το 1996 από τον Goffeau και τους συνεργάτες του (Goffeau et al., 1996). Έχει βρεθεί πως περιέχει περίπου 6.000 γονίδια, εκ των οποίων τα 5.570 σχετίζονται με την πρωτεϊνοσύνθεση (Wood et al., 2001). Αυτά πιθανώς να τα απέκτησε μέσω της οριζόντιας μεταβίβασης γονιδίων από διάφορους ευκαρυωτικούς αλλά και προκαρυωτικούς μικροοργανισμούς, παρά την παρουσία συμπαγών κυτταρικών τοιχωμάτων και ενδοκυτταρικών μεμβρανών (Hall et al., 2005). Αποτελεί και αυτό με την σειρά του ένα πολύ σημαντικό είδος μικροοργανισμού για την βιομηχανία (Parapouli et al., 2020).

Οι ζυμομύκητες, λόγω του ότι έχουν την ικανότητα να μετατρέπουν τα χαμηλής αξίας απόβλητα από την αγροτική παραγωγή σε υψηλής αξίας τροφή, χωρίς να εξαρτώνται από εκτάσεις καλλιεργήσιμης γης, το νερό και τις εναλλασσόμενες κλιματικές συνθήκες, θεωρούνται πολύ ικανοί ως βιώσιμα και αειφόρα συστατικά. Τα κύτταρα των μικροοργανισμών αυτών περιέχουν 40 – 55% ολικής πρωτεΐνης και άλλα βιοενεργά σύμπλοκα σημαντικά για την ανάπτυξη των ιχθύων. Έρευνες σχετικές με τα προϊόντα που προέρχονται από ζύμες στην διατροφή των ιχθύων, εστιάζουν στον ρόλο τους ως θρεπτικά και λειτουργικά πρόσθετα, με θετικά αποτελέσματα στο ανοσοποιητικό σύστημα και την υγεία του εντέρου των ψαριών (Agboola et al., 2020).

Τα κυτταρικά τοιχώματα των μυκήτων αυτών αντιπροσωπεύουν το 26 – 32% του ξηρού τους βάρους και περιέχουν ολιγοσακχαρίτες μαννάνης (MOS), β-γλυκάνες και χιτίνη. Πιο συγκεκριμένα, περιέχουν περίπου 85 – 90% πολυσακχαρίτες και 10 –

15% πρωτεΐνη. Η δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων του είδους *S. cerevisiae* περιέχει 30 – 60% γλυκάνες, 25 – 50% μαννάνες και 5 – 10% χιτίνη (Agboola et al., 2020). Όσον αφορά στην σύσταση αυτών των μικροοργανισμών σε αμινοξέα, αυτή ποικίλει ανάλογα το είδος. Τα δεδομένα από τις σχετικές έρευνες υποδεικνύουν ότι το είδος *S. cerevisiae* έχει υψηλά ποσοστά μεθειονίνης και κυστεΐνης, αλλά χαμηλά ποσοστά λυσίνης, σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη ζυμομυκήτων (Agboola et al., 2020).

Πολλές έρευνες έχουν επισημάνει τον ρόλο αυτών των ενώσεων στην προάσπιση της υγείας των ζώων, αλλά μέχρι σήμερα υπάρχουν ελάχιστες πληροφορίες ως προς τον ρόλο τους στην διατροφή των ιχθύων. Τα τελευταία χρόνια ωστόσο, τα παράγωγα που προέρχονται από τα κυτταρικά τοιχώματα των ζυμών και των μυκήτων γενικότερα, έχουν αρχίσει να συμπεριλαμβάνονται πιο συχνά στον κλάδο των ιχθυοκαλλιεργειών αλλά και της ζωικής παραγωγής στο σύνολό της. Ωστόσο, οι κανονισμοί που διέπουν όλες αυτές τις διαδικασίες είναι αρκετά αυστηροί και ελέγχονται από νόμους της Ευρωπαϊκής Ένωσης περί ασφαλών τροφίμων και πρόσθετων τροφίμων. Έτσι, χρησιμοποιούνται μόνο απενεργοποιημένα κύτταρα του *S. cerevisiae*, αλλά και των υπόλοιπων ειδών μυκήτων που χρησιμοποιούνται για τον σκοπό αυτόν. Ο μικροοργανισμός αυτός έχει χαρακτηριστεί, όπως και το βακτήριο *C. glutamicum*, ως GRAS (Agboola et al., 2020). Στον Πίνακα 1.3 φαίνεται η θρεπτική σύσταση του *S. cerevisiae* και στον Πίνακα 1.4 η περιεκτικότητά του στα απαραίτητα και μη αμινοξέα.

Πίνακας 1.3: Θρεπτική σύσταση του είδους *Saccharomyces cerevisiae* (Agboola et al., 2020).

ΘΡΕΠΤΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ	g/kg ξηρής ουσίας
Ξηρά ουσία	939
Ολική πρωτεΐνη	501
Ολικό λίπος	18
Τέφρα	75
Ακαθάριστη ενέργεια	18
Άμυλο	46
Νουκλεοξέα	48

Πίνακας 1.4: Περιεκτικότητα στα απαραίτητα και μη αμινοξέα του είδους *Saccharomyces cerevisiae* (Agboola et al., 2020).

Απαραίτητα αμινοξέα	g/16 g N
Αργινίνη	4,3
Ιστιδίνη	2,0
Ισολευκίνη	4,3
Λευκίνη	6,5
Λυσίνη	6,4
Μεθειονίνη	1,8
Φαινυλαλανίνη	3,9
Θρεονίνη	4,4
Τρυπτοφάνη	1,0
Βαλίνη	5,1
Μη Απαραίτητα αμινοξέα	g/16 g N
Αλανίνη	5,9

Ασπαρτικό οξύ	9,1
Γλυκίνη	4,2
Γλουταμικό οξύ	12,5
Κυστεΐνη	1,3
Τυροσίνη	3,5
Προλίνη	3,8
Σερίνη	4,2

1.5. Σκοπός της έρευνας

Σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν να μελετηθεί η επίδραση που τυχόν έχει η υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από ένα εμπορικό σκεύασμα προμίγματος αμινοξέων, σε ποσοστό 5%, στην αναπτυξιακή απόδοση των εκτρεφόμενων ατόμων τσιπούρας (*Sparus aurata*) και στην αποδοτικότητα της εν λόγω τροφής. Για το σκοπό αυτό έγινε κατάρτιση και παρασκευή δύο πειραματικών ιχθυοτροφών από την εταιρεία PRAXIS AQUACULTURE. Το πείραμα που διεξήχθη διήρκησε 70 ημέρες και έλαβε χώρα στις εγκαταστάσεις της μονάδας ιχθυοκαλλιέργειας ΣΚΑΛΩΜΑ Α.Ε., στην λωρίδα Σαγιάδας στην Ηγουμενίτσα.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Για την διεξαγωγή του πειράματος, 930 άτομα τσιπούρας τοποθετήθηκαν ισομερώς σε πειραματικούς κλωβούς στις εγκαταστάσεις της μονάδας ιχθυοκαλλιέργειας ΣΚΑΛΩΜΑ Σαγιάδας. Οι ιχθύες αυτοί διανεμήθηκαν τυχαία σε 3 πανομοιότυπους ιχθυοκλωβούς, διαστάσεων $3 \times 3 \text{ m}^2$ (27 m^3), και σε απόλυτα ομοιογενείς ομάδες των 310 ατόμων. Οι ομάδες αυτές ήταν η ομάδα CONTROL, στην οποία χορηγήθηκε η τροφή μάρτυρας, και η ομάδα AMINOPRO, στην οποία έγινε χορήγηση της πειραματικής τροφής, η οποία περιείχε την διατροφική παρέμβαση. Λόγω της δυσκολίας στη διαθεσιμότητα των ιχθυοκλωβών από τον παραγωγό, για τις ανάγκες του πειραματισμού χρησιμοποιήθηκαν δύο κλωβοί για την ομάδα AMINOPRO και μόνο ένας για την ομάδα του μάρτυρα. Το αρχικό βάρος των ιχθύων ήταν $183,0 \pm 0,1 \text{ g}$ (mean $\pm$ StDev) και στις δύο ομάδες.

Το πείραμα διήρκεσε 70 ημέρες (Ιούλιος – Σεπτέμβρης 2024) και πραγματοποιήθηκε υπό πραγματικές συνθήκες εντατικής εκτροφής ιχθύων. Μία εβδομάδα πριν την έναρξη του πειράματος τα ψάρια είχαν μεταφερθεί στους πειραματικούς κλωβούς προκειμένου να εγκλιματιστούν στις νέες συνθήκες, όπου κατανάλωναν μία εμπορική τροφή, με ποσοστό ολικής πρωτεΐνης 42,18% και ολικού λίπους 16,41%. Η τροφή αυτή αποτέλεσε το μάρτυρα (CONTROL) και είχε κοκκομετρία μεγέθους 4,5mm. Η πρώτη αυτή εβδομάδα αποτελούσε την προ-πειραματική περίοδο εγκλιματισμού. Μετά το πέρας αυτής της εβδομάδας ξεκίνησε η κύρια πειραματική περίοδος που περιλάμβανε τις επόμενες 10 εβδομάδες.

2.2. Σιτηρέσια και σίτιση

Τα σιτηρέσια τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την εκπόνηση του πειράματος καταρτίστηκαν και παρασκευάστηκαν από την εταιρεία ιχθυοτροφών PRAXIS AQUACULTURE, μέσω της μεθόδου εξώθησης. Η διάμετρος των συμπήκτων, λόγω του μεγέθους των ιχθύων που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα, ήταν 4,5mm.

Οι τροφές που χορηγήθηκαν κατά την κύρια πειραματική περίοδο ήταν ο μάρτυρας στην ομάδα CONTROL (ολική πρωτεΐνη 42,18% και ολικό λίπος 16,41%) και η τροφή που περιείχε ποσότητα του προμείγματος αμινοξέων ως υποκατάστατο του ιχθυαλεύρου και χορηγήθηκε στην ομάδα AMINOPRO. Η τροφή αυτή περιείχε ολική πρωτεΐνη σε ποσοστό 42,53% και ολικό λίπος σε ποσοστό 15,77%. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου η χορήγηση της τροφής, η οποία ήταν με την μορφή μικρών βυθιζόμενων συμπήκτων εξώθησης (extruded), γινόταν με το χέρι σε ποσοστό το οποίο υπολογίστηκε με βάση το σωματικό βάρος των ιχθύων και την θερμοκρασία του περιβάλλοντος νερού. Το ποσοστό αυτό αρχικά υπολογίστηκε στο 1,37 (% της βιομάζας του ιχθυοπληθυσμού), καθώς το σωματικό βάρος των ιχθύων ήταν 183g και η θερμοκρασία νερού ήταν 24°C. Έπειτα η χορήγηση της τροφής γινόταν σε κορεσμό, λόγω αύξησης του μεγέθους των ιχθύων. Οι ιχθύες ταΐζονταν μία φορά την ημέρα, έξι ημέρες την εβδομάδα (Δευτέρα έως Σάββατο). Την Κυριακή δεν γινόταν χορήγηση τροφής.

Τα δύο σιτηρέσια που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα ήταν ισοενεργειακά (21,2 MJ/kg), ισοπρωτεϊνικά (42,3%) και ισολιπιδικά (16%). Η θρεπτική σύσταση των σιτηρεσίων απεικονίζεται στον Πίνακα 2.3. Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν στα δύο σιτηρέσια ήταν κοινές, η μόνη διαφορά ήταν ότι στο σιτηρέσιο CONTROL χρησιμοποιήθηκε ως πηγή πρωτεΐνης υψηλής αξίας ιχθυάλευρο σε συνδυασμό με υποπροϊόντα επεξεργασίας ψαριών, ενώ στο σιτηρέσιο AMINOPRO, στο οποίο και

έγινε η πειραματική παρέμβαση, έγινε υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από ένα εμπορικό σκεύασμα προμίγματος αμινοξέων σε ποσοστό 5%.

Και στα δύο σιτηρέσια ως πηγή πρωτεΐνης φυτικής προέλευσης, αλλά και υδατανθράκων, χρησιμοποιήθηκαν άλευρο σόγιας, μη γενετικά τροποποιημένη (GMO), με ποσοστό πρωτεΐνης 44%, ηλιάλευρο, άλευρο από ελαιοκράμβη και γλουτένη καλαμποκιού με ποσοστό πρωτεΐνης 60%, σύμφωνα με τα επιτρεπτά επίπεδα χορήγησης πρωτεϊνών φυτικής προέλευσης που ισχύουν για την διατροφή των εντατικώς εκτρεφόμενων σαρκοφάγων ιχθύων. Επίσης, χρησιμοποιήθηκε άλευρο σίτου ως ενεργειακή πηγή.

Ως πηγή πρωτεΐνης προερχόμενη από υποπροϊόντα χερσαίων ζώων χρησιμοποιήθηκε υδρολυμένο πετράλευρο, αιματάλευρο και πτηνάλευρο, σύμφωνα πάντα με τους περιορισμούς της Ευρωπαϊκής Νομοθεσίας και τα επιτρεπτά όρια ενσωμάτωσης αυτών στα σιτηρέσια των ιχθύων. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε έλαιο από σολομό ως πηγή λίπους και λεκιθίνη σόγιας ως γαλακτωματοποιητής.

Για τον εμπλουτισμό των ιχθυοτροφών στα διάφορα ιχνοστοιχεία χρησιμοποιήθηκαν μικροσυστατικά τα οποία ήταν σε σταθερές ποσότητες και στα δύο σιτηρέσια. Τα μικροσυστατικά αυτά ήταν με την μορφή πρόσθετων σκευασμάτων ιχθυοτροφών και ήταν, ένα εμπορικό πρόμικμα βιταμινών και ανόργανων στοιχείων, το οποίο περιείχε όλες τις απαραίτητες βιταμίνες, ιχνοστοιχεία και μέταλλα για την σωστή ανάπτυξη των ιχθύων, σε ποσοστό 0,3%, φωσφορικό ασβέστιο σε ποσοστό 0,8% στην ιχθυοτροφή CONTROL και 1,5% στην AMINOPRO και χολίνη σε ποσοστό 0,15%. Η αναλυτική σύσταση και των δύο σιτηρεσίων δίδεται στον Πίνακα 2.2.

Για την υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου στην πειραματική τροφή AMINOPRO, χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα προμίγματος αμινοξέων AminoPro F68. Το προϊόν αυτό αποτελεί ένα εξαιρετικό υποκατάστατο του

ιχθυαλεύρου, σχεδιασμένο να παρέχει υψηλής πεπτικότητας και αποδεκτικότητας πρωτεΐνη σε νεαρά χερσαία ζώα και στους οργανισμούς της ιχθυοκαλλιέργειας γενικότερα (γαρίδες, σολομονοειδή και μη σολομονοειδή ψάρια). Το προϊόν αυτό παράγεται μέσω μικροβιακής ζύμωσης, από βακτήρια του είδους *Corynebacterium glutamicum*, τα οποία είναι πλούσια σε πρωτεΐνη και από ζυμομύκητες του είδους *Saccharomyces cerevisiae*, απενεργοποιημένους ή μόνο τα κυτταρικά τοιχώματα αυτών.

Το AminoPro F68 αποτελεί καλή πηγή πρωτεΐνης, καθώς είναι πλούσιο σε αμινοξέα και κυρίως στα δύο οριακά αμινοξέα για τους σαρκοφάγους ιχθύς, την λυσίνη και την μεθειονίνη. Επιπροσθέτως, το προϊόν αυτό λειτουργεί ευεργετικά στις διάφορες λειτουργίες πέψης αλλά και στο ανοσοποιητικό σύστημα των ψαριών, ιδίως σε νεαρά άτομα ή πολύ στρεσαρισμένα. Τέλος, τα νουκλεοτίδια που περιέχει, βοηθούν στην επανόρθωση των κατεστραμμένων κυττάρων, τα οποία προκύπτουν αμέσως μετά από πρόκληση οποιασδήποτε ασθένειας, και καταστρέφουν τον γαστρεντερικό βλεννογόνο. Η αναλυτική θρεπτική σύσταση και περιεκτικότητα σε αμινοξέα του AminoPro F68 απεικονίζεται στον Πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1: Θρεπτική σύσταση (% επί νωπού) του AminoPro F68 (σύμφωνα με τα δεδομένα της κατασκευάστριας εταιρείας)

ΘΡΕΠΤΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ (%)	
Ολική πρωτεΐνη	68
Ολικό λίπος	3
Ινώδεις ουσίες	0,9
Τέφρα	3
AMINOΞΕΑ	% επί της ολικής πρωτεΐνης
Λυσίνη	5,5

Μεθειονίνη	2
Θρεονίνη	2,3
Τρυπτοφάνη	0,4
Βαλίνη	2,5
Ισολευκίνη	2
Κυστεΐνη	0,45
Λευκίνη	4
Φαινυλαλανίνη	2,06
Τυροσίνη	1,68
Ιστιδίνη	1,45
Αργινίνη	2,16
Αλανίνη	6,23
Ασπαρτικό οξύ	5,16
Γλουταμικό οξύ	8,45
Γλυκίνη	2,1
Σερίνη	2,07
Προλίνη	2,22

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

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ (%)	CONTROL	AMINOPRO
Ιχθυάλευρο	20	15
Πρωτεΐνη σολομού H-pro	5	5
Σογιάλευρο	7	7
Ηλιόλευρο	8	8
Κραμβάλευρο	5	5
Γλουτένη αραβοσίτου	5	5

Άλευρο σίτου	14	12,8
Υδρολυμένο πτεράλευρο	4	4
Αιματάλευρο	5	5
Πτηνάλευρο	11	11
Σολομονέλαιο	13	13,5
Χολίνη	0,15	0,15
Φωσφορικό ασβέστιο	0,8	1,5
Μεθειονίνη	0,2	0,2
Λυσίνη	0,7	0,7
Βεταΐνη	0,2	0,2
Λεκιθίνη σόγιας	0,2	0,2
Άλατα βουτυρικού οξέος	0,1	0,1
Πρόμικτα βιταμινών	0,3	0,3
Αντιοξειδωτικά	0,1	0,1
Φυτικά εκχυλίσματα για ενίσχυση ανοσοποιητικού	0,25	0,25
AminoPro F68	-	5

Πίνακας 2.3: Θρεπτική σύσταση (% επί νωπού) και περιεκτικότητα σε αμινοξέα (% της ολικής πρωτεΐνης) των δύο πειραματικών σιτηρεσίων

ΘΡΕΠΤΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ	CONTROL	AMINOPRO
Υγρασία (%)	7,04	7,65
Ξηρά ουσία (%)	92,96	92,35
Ολική πρωτεΐνη (%)	42,18	42,53
Ολικό λίπος (%)	16,41	15,77
Ινώδεις ουσίες (%)	2,15	2,12
Τέφρα (%)	8,07	7,97

Υδατάνθρακες¹ (%)	26,3	26,08
Ακαθάρσιτη ενέργεια (MJ/kg)	21,39	21,15
EPA + DHA (%)	1,55	1,46
Βιταμίνη C (mg/kg)	298,2	298,2
Ασβέστιο (%)	1,34	1,25
Φώσφορος (%)	1,25	1,32
AMINOΞΕΑ (% της ολικής πρωτεΐνης)		
Μεθειονίνη	1,13	1,14
Μεθειονίνη + Κυστεΐνη	1,8	1,8
Λυσίνη	3,02	3,06
Αργινίνη	2,84	2,74
Ιστιδίνη	1,14	1,12
Ισολευκίνη	1,82	1,78
Λευκίνη	3,62	3,6
Φαινυλαλανίνη	2,0	1,97
Φαινυλαλανίνη + Τυροσίνη	3,65	3,57
Θρεονίνη	1,95	1,93
Τρυπτοφάνη	0,49	0,48
Βαλίνη	2,23	2,2

¹Το ποσοστό των υδατανθράκων εκτιμήθηκε με αφαίρεση από το 100 του συνόλου των ποσοστών υγρασίας, πρωτεΐνης, λιπιδίων και τέφρας.

2.3. Δειγματοληψίες

Η πειραματική εκτροφή διήρκησε συνολικά 10 εβδομάδες. Κατά τη διάρκεια αυτή πραγματοποιήθηκαν 3 δειγματοληψίες για την μέτρηση του σωματικού βάρους των ιχθύων. Η πρώτη μέτρηση έγινε στην έναρξη του πειράματος. Η δεύτερη έγινε την 40^η ημέρα του πειράματος και η τρίτη μέτρηση πραγματοποιήθηκε κατά την λήξη του πειράματος την 70^η ημέρα. Πριν από κάθε μέτρηση πραγματοποιήθηκε νηστεία 24 ωρών. Τα ψάρια μετρήθηκαν σε μικρές ομάδες των 15 ατόμων, με τη βοήθεια ζυγού ακριβείας ενός δεκαδικού ψηφίου (0,1g) και έτσι καθορίστηκε το μέσο σωματικό τους βάρος. Την 1^η και την 70^η ημέρα θανατώθηκαν 5 ιχθύες από κάθε πειραματικό κλωβό, προκειμένου να γίνουν χημικές αναλύσεις για τον προσδιορισμό κατακράτησης θρεπτικών συστατικών στο σώμα των ψαριών. Η μέθοδος θανάτωσης που χρησιμοποιήθηκε ήταν η μεταφορά τους απευθείας σε μίγμα νερού και πάγου (παγόνερο), μέθοδος η οποία χρησιμοποιείται ευρέως στις μονάδες εντατικής εκτροφής ιχθύων. Επιπλέον, κρατήθηκαν δείγματα από τις παραγόμενες ιχθυοτροφές προκειμένου να γίνουν οι απαραίτητες χημικές αναλύσεις και να υπολογισθεί η θρεπτική αξία των δύο αυτών ιχθυοτροφών.

2.4. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

2.4.1. Θνησιμότητα

Η καταγραφή της θνησιμότητας πραγματοποιούνταν κάθε μέρα για κάθε κλωβό ξεχωριστά. Ο τύπος υπολογισμού της είναι:

$$\text{Θνησιμότητα \%} = \frac{(\text{αρχικός αριθμός ιχθύων} - \text{τελικός αριθμός ιχθύων}) \times 100}{\text{αρχικός αριθμός ιχθύων}}$$

2.4.2. Αρχικό (Initial Body Weight, IBW g), ενδιάμεσο και τελικό βάρος (Final Body Weight, FBW g) των ιχθύων

Το αρχικό, ενδιάμεσο και τελικό σωματικό βάρος των ιχθύων μετρήθηκαν με την βοήθεια ζυγού ακριβείας ενός δεκαδικού ψηφίου (0,1g). Η ζύγιση των ψαριών ήταν ομαδική και εφαρμόστηκε σε πολλές παρτίδες των 15 ατόμων.

2.4.3. Αύξηση ολικού σωματικού βάρους (Weight Gain) των ιχθύων

Η αύξηση του ολικού βάρους αντιπροσωπεύει το καθαρό σωματικό βάρος που απέκτησαν οι ιχθύες κατά την διάρκεια του πειράματος. Η σχέση με την οποία υπολογίζεται είναι η εξής:

$$\text{Αύξηση ολικού βάρους (g/ιχθύ)} = \text{Τελικό βάρος (FBW)} - \text{Αρχικό βάρος (IBW)}$$

2.4.4. Ποσοστό αύξησης ολικού βάρους ιχθύων

Το ποσοστό αυτό αντιπροσωπεύει την εκατοστιαία (%) αύξηση του σωματικού βάρους των ιχθύων και δίνεται από τον τύπο:

$$\text{Ποσοστό αύξησης βάρους (\%)} = [(FBW - IBW)/IBW] \times 100$$

2.4.5. Συνολική κατανάλωση τροφής (Feed Intake, FI, g)

Αρχικά υπολογίζεται η συνολική τροφή (g) που χορηγήθηκε σε κάθε κλωβό. Στη συνέχεια γίνεται υπολογισμός της συνολικής κατανάλωσης τροφής, η οποία αντιπροσωπεύει τη μέση κατανάλωση τροφής που πραγματοποιήθηκε ανά ιχθύ κάθε διατροφικής ομάδας και υπολογίζεται μέσω της σχέσης:

$$\text{Συνολική κατανάλωση (g/ιχθύ)} = \text{ολική κατανάλωση τροφής} / \text{αριθμός ψαριών (κάθε μεταχείρισης)}$$

2.4.6. Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (Specific Growth Rate, SGR, % / ημέρα)

Μέσω αυτού του συντελεστή υπολογίζεται ο ρυθμός ανάπτυξης των ιχθύων και εκφράζει την ημερήσια ποσοστιαία αύξηση του ολικού σωματικού βάρους των ιχθύων κατά την διάρκεια σίτισης και υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{SGR (\% / ημέρα)} = 100 \times (\text{LnFBW} - \text{LnIBW}) / \text{ημέρες σίτισης}$$

Όπου,

LnFBW = ο φυσικός λογάριθμος του τελικού ολικού βάρους

LnIBW = ο φυσικός λογάριθμος του αρχικού ολικού βάρους

2.4.7. Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (Feed Conversion Ratio, FCR)

Ο συντελεστής αυτός υποδηλώνει την ποσότητα της καταναλωθείσας τροφής που μετατράπηκε σε σωματικό βάρος από το ψάρι και ουσιαστικά μετράει την αξιοποίηση μιας τροφής από τα ψάρια. Ο FCR είναι καθαρός αριθμός και δίνεται από τη σχέση:

$$\text{FCR} = \text{τροφή που χορηγήθηκε (g)} / \text{αύξηση βιομάζας ζώντων ιχθύων (g)}$$

2.4.8. Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών (Protein Efficiency Ratio, PER)

Ο συντελεστής PER εκφράζει την αναλογία μεταξύ της αύξησης του σωματικού βάρους των ιχθύων και της καταναλωθείσας πρωτεΐνης και υπολογίζεται από την σχέση:

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

2.4.9. Δείκτης κατακράτησης πρωτεΐνης (Protein Retention, PR, %)

Ο δείκτης PR εκφράζει την ποσότητα της πρωτεΐνης που κατακρατήθηκε από τον οργανισμό σε σχέση με την συνολική ποσότητα πρωτεΐνης που κατανάλωσε μέσω

της τροφής και υπολογίζεται με βάση το νωπό βάρος των ιχθύων. Το ποσοστό αυτό εκφράζεται μέσω της σχέσης:

$$PR = 100 \times PG / PI$$

Όπου,

PG (Protein Gain, g) = κατακράτηση πρωτεΐνης στη σάρκα μέσω της τροφής και υπολογίζεται από τον τύπο:

$$PG = (\text{τελικό ποσοστό πρωτεΐνης επί νωπής ουσίας} \times \text{τελικό βάρος ιχθύων (g)/100}) - (\text{αρχικό ποσοστό πρωτεΐνης επί νωπής ουσίας} \times \text{αρχικό βάρος ιχθύων (g)/100})$$

PI (Protein Intake, g) = ποσότητα πρωτεΐνης που έλαβε ο οργανισμός με βάση την ποσότητα της τροφής που κατανάλωσε και υπολογίζεται από τον τύπο:

$$PI = \text{περιεχόμενη στην τροφή πρωτεΐνη (g)} \times FI / 100$$

2.4.10. Θρεπτική σύσταση της σάρκας των ιχθύων

Στους ιχθύς που κρατήθηκαν από κάθε πειραματικό κλωβό στην αρχή και στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας, έγιναν οι κατάλληλες χημικές αναλύσεις προκειμένου να υπολογισθεί η θρεπτική τους σύσταση, σύμφωνα με τις μεθόδους που περιγράφονται στην υποενότητα 2.5.

2.4.11. Οικονομικός συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (e-FCR)

Ο συντελεστής αυτός αντιπροσωπεύει την μετατρεψιμότητα της τροφής με βάση οικονομικά κριτήρια, προκειμένου να προσδιορισθεί η περισσότερη οικονομική αλλά και αποτελεσματική τροφή. Δίνεται από την σχέση:

$$e\text{-FCR} = \text{FCR} \times \text{κόστος τροφής ανά kg}$$

2.4.12. Δείκτης εξάρτησης των παραγόμενων ιχθυοτροφών από ιχθυάλευρα

(Fishmeal Forage Fish Dependency Ratio, FFDRm)

Ο δείκτης αυτός σχετίζεται με την παραγωγή περισσότερο αειφόρων ιχθυοτροφών και εξαρτάται από το ποσοστό συμμετοχής των ιχθυαλεύρων στις διάφορες ιχθυοτροφές. Σύμφωνα με τα κριτήρια ASC (Criterion 4.2 Efficient and optimized diets, Version 1.1) ο δείκτης FFDRm πρέπει να είναι μικρότερος ή ίσος του 1,85 για την τσιπούρα και το λαβράκι, προκειμένου να θεωρηθεί εντός των αποδεκτών ορίων για αυτά τα δύο είδη. Ο δείκτης αυτός δίνεται από τον τύπο:

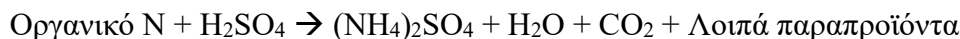
$$\text{FFDRm} = \text{συμμετοχή ιχθυαλεύρου στην τροφή (\%)} \times \text{FCR} / 24$$

2.5. Χημικές αναλύσεις

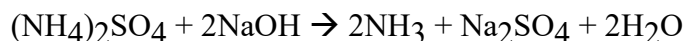
2.5.1. Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ουσιών

Ο προσδιορισμός των ολικών αζωτούχων ουσιών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC 1995). Ως δείγματα χρησιμοποιήθηκαν οι ιχθυοτροφές που παρασκευάστηκαν, αλλά και τα ψάρια που κρατήθηκαν από κάθε κλωβό στην αρχή και το τέλος της πειραματικής διαδικασίας. Η διαδικασία ξεκίνησε με το ζύγισμα σε ζυγό ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων, ποσότητας αλεσμένου δείγματος 0,2g, 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 (5g Potassium Sulphate K_2SO_4 και 5g copper (II) Sulphate $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) για να επιτευχθεί η αντίδραση της πέψης και 15ml πυκνού θειικού οξέος (H_2SO_4). Οι φιάλες τοποθετήθηκαν με την βάση τους στην συσκευή πέψης Kjeltac 2000 στη θέση βρασμού. Πάνω από τη βάση με τις φιάλες τοποθετήθηκε το ειδικό καπάκι με τις υποδοχές αναρρόφησης των αερίων. Η διαδικασία της πέψης πραγματοποιήθηκε στους 105 °C για 85 λεπτά. Κατά τη διάρκεια

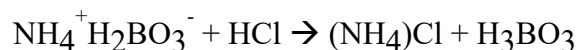
της πέψης γίνεται βρασμός των δειγμάτων όπου με τη βοήθεια πυκνού θειικού οξέος γίνεται διάσπαση των αζωτούχων ενώσεων. Στο στάδιο της πέψης το αδέσμευτο άζωτο δεσμεύεται με τη μορφή θειικού αμμωνίου με βάση την παρακάτω αντίδραση:



Μετά την ολοκλήρωση της πέψης ακολουθεί το στάδιο της απόσταξης. Τα δείγματα αφέθηκαν να κρυώσουν για 15 περίπου λεπτά πριν να μεταφερθούν στην συσκευή απόσταξης. Στη συσκευή απόσταξης προστέθηκαν 100ml απεσταγμένου νερού, 80ml NaOH και 50ml H₃BO₃. Το θειικό αμμώνιο που παράχθηκε κατά την διαδικασία της πέψης αντέδρασε με το υδροξείδιο του νατρίου όπου και έγινε αποδέσμευση της αμμωνίας (αέρια μορφή) και θειικού νατρίου. Εν συνεχεία η αμμωνία αντέδρασε με το βορικό οξύ ενώ το άζωτο του δείγματος δεσμεύτηκε με τη μορφή του βορικού αμμωνίου. Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά της διάρκεια της απόσταξης είναι οι εξής:



Το βορικό αμμώνιο συγκεντρώθηκε σε κωνική φιάλη που περιείχε 2 σταγόνες ερυθρού του μεθυλενίου (δείκτη pH). Το τελικό στάδιο της διαδικασίας αποτέλεσε η τιτλοδότηση του διαλύματος βορικού αμμωνίου με αραιό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (0,1N) υπό καθεστώς συνεχούς 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:

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

2.5.2 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών στις ιχθυοτροφές και στους ιχθύς 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 αιθέρα 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).

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:

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

2.5.3. Προσδιορισμός τέφρας

Ο προσδιορισμός της 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 ζυγό ακρίβειας 4 δεκαδικών ψηφίων. Στην συνέχεια, τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον αποτεφρωτήρα, η διαδικασία πραγματοποιήθηκε στους 600 °C για 3 ώρες (AOAC 1990). Μετά το πέρας των 3 ωρών 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:

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

2.5.4. Προσδιορισμός υγρασίας/ξηράς ουσίας

Προκειμένου να γίνει ο προσδιορισμός της υγρασίας και της ξηράς ουσίας, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε αεριζόμενο ισοθερμικό κλίβανο αποξηράνσης στους 105°C για περίπου 24 ώρες. Στην συνέχεια, αφού πέρασε ο χρόνος ξήρανσης, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά ώστε να κρυώσουν. Το μηχανικά παγιδευμένο νερό μέσω αυτής της διαδικασίας είχε εξατμιστεί και τα δείγματα περιείχαν 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/ξηράς ουσίας υπολογίζεται ως εξής:

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

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

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

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

2.5.5. Προσδιορισμός θερμιδικής αξίας

Κατά την πλήρη καύση ενός δείγματος έχουμε ως τελικά προϊόντα καύσης CO₂ και H₂O. 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 και έπειτα υπολογίζεται το θερμιδικό περιεχόμενο του δείγματος που κάηκε.

2.6. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα SPSS. Για τις ανάγκες της στατιστικής σύγκρισης, τα δεδομένα της ομάδας του μάρτυρα χρησιμοποιήθηκαν εις διπλούν, χωρίς αυτό ωστόσο να θεωρείται δόκιμο. Τα δεδομένα του πειράματος επεξεργάστηκαν με τη μέθοδο της Ανάλυσης μέσω Ανεξάρτητων μεταβλητών – δειγμάτων (Independent – Samples T test). Η επίδραση της επέμβασης θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική όταν $P < 0,05$ (επίπεδο σημαντικότητας = 95%). Ο δείκτης που λήφθηκε υπόψιν προκειμένου να βρεθούν οι στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των δεδομένων ήταν ο Δείκτης Διπλής

Πλευράς (Two – sided p). Τα δεδομένα που παρουσιάζονται στο κείμενο και στους πίνακες αφορούν μέσους όρους $\pm$ τυπική απόκλιση ($\pm$ StDev) χωρίς μετατροπές.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Θνησιμότητα

Κατά τη διάρκεια της κύριας πειραματικής εκτροφής σημειώθηκαν ελάχιστες θνησιμότητες των ιχθύων. Πιο συγκεκριμένα, στην ομάδα CONTROL δεν σημειώθηκαν θνησιμότητες, ενώ στην ομάδα AMINOPRO το ποσοστό αυτό ήταν μόλις 1,29%. Αυτές οι θνησιμότητες εμφανίστηκαν την πρώτη εβδομάδα του πειράματος. Τις υπόλοιπες εβδομάδες δεν παρουσιάστηκαν θνησιμότητες σε καμία πειραματική ομάδα.

3.2. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

3.2.1. Μέσο βάρος κατά την έναρξη του πειράματος, την 40^η και την 70^η ημέρα

Κατά την έναρξη του πειράματος το αρχικό μέσο βάρος των ιχθύων και στις δύο ομάδες ήταν 183g. Κατά την 40^η ημέρα το μέσο βάρος των ιχθύων και στις δύο ομάδες ήταν 239g. Τέλος, κατά την 70^η ημέρα, όπου ήταν και η λήξη του πειράματος, το μέσο βάρος των ιχθύων στην ομάδα CONTROL ήταν 268g, ενώ στην ομάδα AMINOPRO ήταν 276g (Πιν. 3.1). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης δεδομένων, δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μία τάση αυξημένου βάρους στα άτομα τσιπούρας της ομάδας AMINOPRO.

Πίνακας 3.1: Αρχικό, ενδιάμεσο και τελικό μέσο βάρος (g) των ιχθύων. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους $\pm$ τυπική απόκλιση.

	Σιτηρέσια	
	CONTROL	AMINOPRO
Αρχικό βάρος (g)	183 $\pm$ 0,00 ^a	183 $\pm$ 0,00 ^a
Ενδιάμεσο βάρος(g)	239 $\pm$ 0,00 ^a	239 $\pm$ 0,00 ^a
Τελικό βάρος(g)	268 $\pm$ 0,00 ^a	276 $\pm$ 2,83 ^a

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

3.2.2. Αύξηση ολικού σωματικού βάρους (Weight Gain, g/ιχθύ) των ιχθύων

Κατά την 40^η ημέρα του πειράματος, όπου έγινε η δεύτερη ζύγιση των ιχθύων, η αύξηση του ολικού σωματικού βάρους των ψαριών στην ομάδα CONTROL ήταν 55g/ιχθύ, ενώ στην ομάδα AMINOPRO ήταν 57g/ιχθύ. Συνολικά, από την 1^η ημέρα της πειραματικής εκτροφής έως και την 70^η ημέρα το WG στην ομάδα CONTROL ήταν 84g/ιχθύ, ενώ στην ομάδα AMINOPRO ήταν 94g/ιχθύ. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, η αύξηση του ολικού σωματικού βάρους παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων, όπου στην ομάδα AMINOPRO ήταν μεγαλύτερη η αύξηση αυτή. Όλα τα παραπάνω φαίνονται στον Πίνακα 3.2.

Πίνακας 3.2: Αύξηση ολικού σωματικού βάρους (Weight Gain, g/ιχθύ) των ιχθύων. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους $\pm$ τυπική απόκλιση.

	Σιτηρέσια	
	CONTROL	AMINOPRO
Ενδιάμεσο WG(g/ιχθύ)	55 $\pm$ 0,00 ^a	57 $\pm$ 0,49 ^b
Τελικό WG(g/ιχθύ)	84 $\pm$ 0,00 ^a	94 $\pm$ 2,33 ^b

Σημ.: Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων

3.2.3. Ποσοστό αύξησης ολικού βάρους ιχθύων

Κατά την μέτρηση από την 1^η μέχρι την 40^η ημέρα της πειραματικής εκτροφής το ποσοστό αύξησης του ολικού σωματικού βάρους των ιχθύων στην ομάδα CONTROL ήταν 29,68%, ενώ στην ομάδα AMINOPRO ήταν 31,36%. Στο σύνολο της πειραματικής εκτροφής το ποσοστό αυτό ήταν για την CONTROL ομάδα 45,42%, ενώ για την AMINOPRO ήταν 51,69%. Κατά την ανάλυση δεδομένων βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά και σε αυτόν τον παράγοντα (Πιν. 3.3).

Πίνακας 3.3: Ποσοστό αύξησης ολικού σωματικού βάρους των ιχθύων. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους $\pm$ τυπική απόκλιση.

	Σιτηρέσια	
	CONTROL	AMINOPRO
Ενδιάμεση τιμή (%)	29,68 $\pm$ 0,00 ^a	31,36 $\pm$ 0,36 ^b
Σύνολο (%)	45,42 $\pm$ 0,00 ^a	51,69 $\pm$ 1,14 ^b

Σημ.: Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων

3.2.4. Συνολική κατανάλωση τροφής (Feed Intake, FI, g)

Η συνολική κατανάλωση τροφής μετρήθηκε τόσο σε ενδιάμεσο χρονικό διάστημα όσο και για το σύνολο όλης της πειραματικής διαδικασίας. Κατά την 40^η ημέρα του πειράματος η κατανάλωση τροφής ανά ιχθύ ήταν για την ομάδα CONTROL 77,42g. Αντίστοιχα, για την ομάδα AMINOPRO η συνολική κατανάλωση τροφής ανά ιχθύ ήταν 77,92g. Κατά την 70^η ημέρα οι τιμές αυτές ήταν 155,16g για την CONTROL και 156,17g για την AMINOPRO. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση το FI παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές στις δύο ομάδες. Όλα αυτά τα δεδομένα δίνονται συνοπτικά στον Πίνακα 3.4.

Πίνακας 3.4: Συνολική κατανάλωση τροφής (Feed Intake, FI, g) ανά ιχθύ. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους $\pm$ τυπική απόκλιση.

	Σιτηρέσια	
	CONTROL	AMINOPRO
Ενδιάμεση τιμή (g/ιχθύ)	77,42 $\pm$ 0,00 ^a	77,92 $\pm$ 0,18 ^b
Τελική τιμή (g/ιχθύ)	155,16 $\pm$ 0,00 ^a	156,17 $\pm$ 0,36 ^b

Σημ.: Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων

3.2.5. Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (Specific Growth Rate, SGR, % / ημέρα)

Ο δείκτης αυτός υπολογίστηκε για την 40^η ημέρα και για το σύνολο της πειραματικής εκτροφής. Επιπλέον, υπολογίστηκε με βάση τις ημέρες εκτροφής και όχι τις ημέρες σίτισης, καθώς στόχος ήταν να υπολογισθεί ο SGR σε πραγματικές συνθήκες εντατικής εκτροφής. Κατά την 40^η ημέρα ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης για την ομάδα CONTROL ήταν 0,65 %/ημέρα, ενώ για την ομάδα AMINOPRO ήταν 0,68 %/ημέρα. Στο σύνολο της διαδικασίας, ο δείκτης SGR ήταν αντίστοιχα, 0,55 %/ημέρα για την ομάδα CONTROL και 0,61 %/ημέρα για την ομάδα AMINOPRO. Ο δείκτης αυτός φάνηκε να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο διαφορετικών διατροφικών ομάδων, σύμφωνα με τα αποτελέσματα από την στατιστική ανάλυση δεδομένων. (Πιν. 3.5).

Πίνακας 3.5: Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (Specific Growth Rate, SGR, %/ημέρα). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους $\pm$ τυπική απόκλιση.

	Σιτηρέσια	
	CONTROL	AMINOPRO
Ενδιάμεση τιμή (%/ημέρα)	0,65 $\pm$ 0,00 ^a	0,68 $\pm$ 0,01 ^b
Τελική τιμή (%/ημέρα)	0,55 $\pm$ 0,00 ^a	0,61 $\pm$ 0,01 ^b

Σημ.: Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων

3.2.6. Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (Feed Conversion Ratio, FCR)

Ο συντελεστής FCR κατά την 40^η ημέρα του πειράματος ήταν 1,42 για την ομάδα CONTROL και 1,37 για την AMINOPRO ομάδα. Στο σύνολο του πειράματος, από την 1^η μέχρι και την 70^η ημέρα, ο συντελεστής αυτός ήταν 1,85 για την ομάδα CONTROL και 1,66 για την AMINOPRO. Και αυτός ο συντελεστής παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο διατροφικών ομάδων. Το FCR δίνεται στον Πίνακα 3.6.

Πίνακας 3.6: Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (Feed Conversion Ratio, FCR). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους $\pm$ τυπική απόκλιση.

	Σιτηρέσια	
	CONTROL	AMINOPRO
Ενδιάμεση τιμή	1,42 $\pm$ 0,00 ^a	1,37 $\pm$ 0,01 ^b
Τελική τιμή	1,85 $\pm$ 0,00 ^a	1,66 $\pm$ 0,04 ^b

Σημ.: Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων

3.2.7. Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών (Protein Efficiency Ratio, PER)

Κατά την 40^η ημέρα του πειράματος ο συντελεστής αυτός ήταν 1,68 για την CONTROL ομάδα και 1,72 για την AMINOPRO. Στο σύνολο της πειραματικής διαδικασίας ο PER για την ομάδα CONTROL ήταν 1,28 και για την AMINOPRO ήταν 1,42. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης των δεδομένων του πειράματος ο συντελεστής αυτός δεν φάνηκε να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο διατροφικών ομάδων. (Πιν 3.7).

Πίνακας 3.7: Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών (Protein Efficiency Ratio, PER). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους $\pm$ τυπική απόκλιση.

	Σιτηρέσια	
	CONTROL	AMINOPRO
Ενδιάμεση τιμή	1,68 $\pm$ 0,00 ^a	1,72 $\pm$ 0,02 ^a
Τελική τιμή	1,28 $\pm$ 0,00 ^a	1,42 $\pm$ 0,03 ^a

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

3.2.8. Δείκτης κατακράτησης πρωτεΐνης (Protein Retention, PR, %)

Ο δείκτης κατακράτησης πρωτεΐνης υπολογίστηκε για το σύνολο της πειραματικής διαδικασίας. Στην ομάδα CONTROL ο δείκτης PR ήταν 21,57%, ενώ για την ομάδα AMINOPRO ήταν 22,98%. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα από την ανάλυση δεδομένων ο δείκτης αυτός δεν φάνηκε να επηρεάζεται στατιστικώς σημαντικά μεταξύ των δύο διατροφικών ομάδων. Ωστόσο, παρουσίασε μία αυξημένη τάση στα άτομα τσιπούρας που σιτίστηκαν με την ιχθυοτροφή AMINOPRO. Ο PR των δύο ομάδων φαίνεται στον Πίνακα 3.8.

Πίνακας 3.8: Δείκτης κατακράτησης πρωτεΐνης (Protein Retention, PR, %). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους $\pm$ τυπική απόκλιση.

	Σιτηρέσια	
	CONTROL	AMINOPRO
Τελική τιμή (%)	21,57 $\pm$ 0,00 ^a	22,98 $\pm$ 0,50 ^a

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

3.2.9. Θρεπτική σύσταση της σάρκας των ιχθύων

Η θρεπτική σύσταση της σάρκας των ιχθύων που χρησιμοποιήθηκαν στο συγκεκριμένο πείραμα μετρήθηκε σε ιχθύς που θανατώθηκαν στην αρχή του πειράματος και στο τέλος αυτού. Η θρεπτική τους σύσταση εκφράζεται σε ποσοστό επί του ξηρού βάρους και επί του νωπού βάρους. Η αναλυτική τους θρεπτική σύσταση ανά κατηγορία φαίνεται στους Πίνακες 3.9, 3.10, 3.11 και 3.12. Σύμφωνα με τη στατιστική ανάλυση δεδομένων η υγρασία, οι πρωτεΐνες, τα λίπη και η ενέργεια των ιχθύων μεταξύ των δύο ομάδων δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά. Ωστόσο, τα άτομα της ομάδας AMINOPRO παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά τέφρας σε σύγκριση με τα άτομα της ομάδας CONTROL.

Πίνακας 3.9: Θρεπτική σύσταση της σάρκας των ιχθύων στην αρχή του πειράματος μετρημένη σε ποσοστό επί του ξηρού βάρους (% Ξ.Β.).

	% του ξηρού βάρους
Αρχική μέτρηση	CONTROL
Υγρασία (N.B.)	63,16
Ξηρά ουσία (N.B.)	36,84
Πρωτεΐνη (Ξ.Β.)	41,26

Λίπος (Ξ.Β.)

41,18

Πίνακας 3.10: Θρεπτική σύσταση της σάρκας των ιχθύων στην αρχή του πειράματος μετρημένη σε ποσοστό επί του νωπού βάρους (% N.B.).

	% του νωπού βάρους
Αρχική μέτρηση	CONTROL
Υγρασία (N.B.)	63,16
Ξηρά ουσία (N.B.)	36,84
Πρωτεΐνη (N.B.)	15,20
Λίπος (N.B.)	15,17

Πίνακας 3.11: Θρεπτική σύσταση της σάρκας των ιχθύων στο τέλος του πειράματος μετρημένη σε ποσοστό επί του ξηρού βάρους (% Ξ.Β.).

	% του ξηρού βάρους	% του ξηρού βάρους
Τελική μέτρηση	CONTROL	AMINOPRO
Υγρασία (N.B.)	65,46	64,11
Ξηρά ουσία (N.B.)	34,54	35,89
Πρωτεΐνη (Ξ.Β.)	45,50	43,34
Λίπος (Ξ.Β.)	38,12	37,78
Τέφρα	12,28	11,06
Ενέργεια (KJ/g)	26,16	25,49

Πίνακας 3.12: Θρεπτική σύσταση της σάρκας των ιχθύων στο τέλος του πειράματος μετρημένη σε ποσοστό επί του νωπού βάρους (% N.B.).

	% του νωπού βάρους	% του νωπού βάρους
Τελική μέτρηση	CONTROL	AMINOPRO
Υγρασία (N.B.)	65,46	64,11
Ξηρά ουσία (N.B.)	34,54	35,89
Πρωτεΐνη (N.B.)	15,72	15,55
Λίπος (N.B.)	13,17	13,56

3.2.10. Οικονομικός συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (e-FCR)

Ο συντελεστής αυτός μετρήθηκε για το σύνολο της πειραματικής διαδικασίας. Ο e-FCR στην ομάδα CONTROL υπολογίστηκε στο 1,93 ενώ για την ομάδα AMINOPRO ήταν 1,73. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στους δείκτες αυτούς μεταξύ των δύο ομάδων (Πιν. 3.13).

Πίνακας 3.13: Οικονομικός συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (e-FCR). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους $\pm$ τυπική απόκλιση.

	Σιτηρέσια	
	CONTROL	AMINOPRO
Συνολική τιμή	1,93 $\pm$ 0,00 ^a	1,73 $\pm$ 0,04 ^b

Σημ.: Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων

3.2.11. Δείκτης εξάρτησης των παραγόμενων ιχθυοτροφών από ιχθυάλευρα (Fishmeal Forage Fish Dependency Ratio, FFDRm)

Ο δείκτης FFDRm μετρήθηκε για το σύνολο της πειραματικής εκτροφής και ήταν 1,54 για την ομάδα CONTROL και 1,04 για την AMINOPRO ομάδα. Η στατιστική ανάλυση δεδομένων έδειξε πως υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά στον δείκτη αυτόν μεταξύ των δύο ομάδων (Πιν. 3.14).

Όλα τα παραπάνω δεδομένα φαίνονται συγκεντρωτικά στον Πίνακα 3.15.

Πίνακας 3.14: Δείκτης εξάρτησης των παραγόμενων ιχθυοτροφών από ιχθυάλευρα (Fishmeal Forage Fish Dependency Ratio, FFDRm). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους $\pm$ τυπική απόκλιση.

	Σιτηρέσια	
	CONTROL	AMINOPRO
Συνολική τιμή	1,54 $\pm$ 0,00 ^a	1,04 $\pm$ 0,02 ^b

Σημ.: Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων

Πίνακας 3.15: Μέσο βάρος (g), WG (g/ιχθύ), ποσοστό του WG (%), FI (g/ιχθύ), SGR (% / ημέρα), FCR, PER, PR (%), e-FCR, FFDRm ανά διατροφικό σιτηρέσιο και ανά ημέρα δειγματοληψίας (αρχή, 40^η ημέρα και 70^η ημέρα). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους $\pm$ τυπική απόκλιση.

	CONTROL	AMINOPRO
Αρχικό βάρος (g)	183 $\pm$ 0,00	183 $\pm$ 0,00
Ενδιάμεσο βάρος(g)	239 $\pm$ 0,00	239 $\pm$ 0,00
Τελικό βάρος(g)	268 $\pm$ 0,00	276 $\pm$ 2,83
Ενδιάμεσο WG(g/ιχθύ)	55 $\pm$ 0,00	57 $\pm$ 0,49
Συνολικό WG(g/ιχθύ)	84 $\pm$ 0,00	94 $\pm$ 2,33

Ενδιάμεσο % WG	29,68 ± 0,00	31,36 ± 0,36
Τελικό % WG	45,42 ± 0,00	51,69 ± 1,14
Ενδιάμεσο FI (g/ιχθύ)	77,42 ± 0,00	77,92 ± 0,18
Τελικό FI(g/ιχθύ)	155,16 ± 0,00	156,17 ± 0,36
Ενδιάμεσο SGR (% / ημέρα)	0,65 ± 0,00	0,68 ± 0,01
Τελικό SGR (% / ημέρα)	0,55 ± 0,00	0,61 ± 0,01
Ενδιάμεσο FCR	1,42 ± 0,00	1,37 ± 0,01
Τελικό FCR	1,85 ± 0,00	1,66 ± 0,04
Ενδιάμεσο PER	1,68 ± 0,00	1,72 ± 0,02
Τελικό PER	1,28 ± 0,00	1,42 ± 0,03
Τελικό PR (%)	21,57 ± 0,00	22,98 ± 0,50
Συνολικό e-FCR	1,93 ± 0,00	1,73 ± 0,04
Συνολικό FFDRm	1,54 ± 0,00	1,04 ± 0,02

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας δεν παρατηρήθηκαν θνησιμότητες στην ομάδα που σιτίστηκε με το σιτηρέσιο CONTROL, ενώ στην ομάδα AMINOPRO παρουσιάστηκαν θνησιμότητες αλλά σε ποσοστό μόλις 1,29% και μόνο κατά την πρώτη εβδομάδα του πειράματος. Αυτό πιθανόν να ήταν τυχαίο γεγονός ή να μην κατάφεραν οι συγκεκριμένοι ιχθύες να εγκλιματισθούν στις νέες συνθήκες. Αυτά τα πολύ χαμηλά ποσοστά θνησιμοτήτων γενικά μιλώντας δεν θεωρούνται ως διατροφικές θνησιμότητες και το γεγονός ότι δεν παρατηρήθηκαν κατά την πορεία του πειράματος πιστοποιούν αυτό το θεώρημα. Άλλωστε, σύμφωνα με έρευνες, δεν έχει φανεί πως η υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από μονοκύτταρες πρωτεΐνες μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την επιβίωση των εκτρεφόμενων ιχθύων. Πιο συγκεκριμένα, έρευνες που έχουν γίνει σε άτομα τσιπούρας (*Sparus aurata*) οδήγησαν στο συμπέρασμα πως μπορεί να γίνει υποκατάσταση ιχθυαλεύρου στο χορηγούμενο σιτηρέσιο από μονοκύτταρες παραγόμενες από διάφορα είδη βακτηρίων σε ποσοστό έως και 50% (Solé-Jiménez et al., 2021), στην ιριδίζουσα πέστροφα 5%-20% (Hardy et al., 2018), στο γατόψαρο 30% (Adeoye et al., 2021), στον σολομό του Ατλαντικού 4%-36% (Aas et al., 2006) και στην τιλάπια του Νείλου έως και 50% (Smáráson et al., 2019), χωρίς να επηρεαστούν τα επίπεδα επιβίωσης των ιχθύων. Επιπλέον, σύμφωνα με τον Agboola και τους συνεργάτες του (2020), μπορεί να γίνει υποκατάσταση ιχθυαλεύρου από μονοκύτταρες πρωτεΐνες προερχόμενες από ζυμομύκητες σε άτομα σολομού του Ατλαντικού (*Salmo salar*) και ιριδίζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) επηρεάζοντας θετικά την υγεία, αλλά και τα ποσοστά επιβίωσης των ιχθύων. Οι ζυμομύκητες που χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτη ύλη στην παραπάνω έρευνα ήταν τα είδη *Saccharomyces cerevisiae*, *Cyberlindnera jadinii*, *Kluyveromyces marxianus*, *Blastobotrys adeninivorans* και *Wickerhamomyces*

anomalus. Επιπροσθέτως, η δημιουργία περισσότερο λειτουργικών ιχθυοτροφών, μέσω προσθήκης σε αυτές προμιγμάτων αμινοξέων, μπορεί να οδηγήσει στη μείωση των ποσοστών θνησιμοτήτων στους εκτρεφόμενους ιχθύς, καθώς τα απαραίτητα αμινοξέα που εμπεριέχονται στα εν λόγω προμείγματα, σχετίζονται με πολλές σημαντικές μεταβολικές διαδικασίες, τόσο στους υδρόβιους όσο και στους χερσαίους οργανισμούς, παίζοντας σημαντικότατο ρόλο στη συντήρηση, ανάπτυξη, αναπαραγωγική διαδικασία, επιβίωση και στην ανοσολογική απόκριση των οργανισμών αυτών (Li Peng et al., 2009). Τέλος, η χρήση προμιγμάτων αμινοξέων μπορεί να συνεισφέρει στην βελτίωση της υγείας των ιχθύων, στον χρωματισμό των ιστών τους, να μειώσει τις ανωμαλίες στην συμπεριφορά τους και να βελτιώσει τη κατανάλωση της ιχθυοτροφής (Li Xinyu et al., 2021).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του παρόντος πειράματος οι παράμετροι που σχετίζονται με την ανάπτυξη των ιχθύων, όπως είναι η αύξηση του ολικού βάρους (WG), το ποσοστό του WG και ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR), ήταν στατιστικά υψηλότερες στα άτομα της ομάδας που σιτίστηκε με την ιχθυοτροφή AMINOPRO σε σχέση με τα άτομα της ομάδας CONTROL. Αυτό συμφωνεί με τα ευρήματα αρκετών σχετικών ερευνών. Σύμφωνα με τους Al-Hafedh και Aftab (2013), η υποκατάσταση ιχθυαλεύρου από μίξη πρωτεϊνών προερχόμενες από τα είδη *Saccharomyces cerevisiae* και *Candida utilis* σε ποσοστά 25% και 50% αύξησε τον ρυθμό ανάπτυξης των νεαρών ατόμων της τιλάπιας του Νείλου (*Oreochromis niloticus*), αλλά σε ποσοστά άνω του 75% η ανάπτυξη επηρεάστηκε αρνητικά.

Αρκετά είδη βακτηρίων έχουν χρησιμοποιηθεί ως πρώτες ύλες για την παραγωγή υποκατάστατων του ιχθυαλεύρου στα σιτηρέσια των εντατικώς εκτρεφόμενων ιχθύων. Το είδος *Methylococcus capsulatus* έχει βρεθεί πως μπορεί να ενσωματωθεί στην τροφή του σολομού του Ατλαντικού σε ποσοστό 52% και της

ιριδίζουσας πέστροφας σε ποσοστό 38% (Øverland et al., 2010) χωρίς να επηρεάζει τους ρυθμούς ανάπτυξης των ειδών αυτών. Σύμφωνα με αποτελέσματα έρευνας που αφορούσε στην διατροφή ατόμων τσιπούρας, η υποκατάσταση ιχθυαλεύρου από πρωτεΐνη προερχόμενη από το βακτήριο αυτό σε ποσοστά ενσωμάτωσής του 5% και 10% και συνολικής υποκατάστασης του ιχθυαλεύρου σε ποσοστό έως και 66%, δεν επηρέασε στατιστικώς σημαντικά την ανάπτυξη των ιχθύων, τους δείκτες SGR, FCR και PER, αλλά ούτε και την πρόσληψη τροφής (Carvalho et al., 2023).

Επιπροσθέτως, μετά από έρευνα που έγινε στην διατροφή νεαρών ατόμων του είδους *Acanthopagrus schlegelii*, όπου έγινε ενσωμάτωση πρωτεΐνης παραγόμενη από το είδος βακτηρίου *Clostridium autoethanogenum* σε διάφορα ποσοστά, βρέθηκε πως η υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου σε ποσοστό 58,2% δεν επηρέασε την ανάπτυξη και τη πρόσληψη τροφής των ψαριών (Chen et al., 2019). Τα ευρήματα των ερευνών αυτών συμφωνούν με τα αποτελέσματα του παρόντος πειράματος, καθώς, πέρα από τις βελτιωμένες παραμέτρους που σχετίζονται με την ανάπτυξη των ιχθύων που αναφέρθηκαν παραπάνω, βρέθηκε πως και οι παράμετροι που σχετίζονται με την αξιοποίηση της τροφής από τα ψάρια, είτε ήταν εμφανώς βελτιωμένες στα άτομα της ομάδας AMINOPRO, είτε δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά με τα άτομα της ομάδας CONTROL, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι, η προσθήκη του εμπορικού προμίγματος αμινοξέων στο σιτηρέσιο τσιπούρας και η υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από το πρόμιγμα αυτό, δεν επηρεάζει αρνητικά την αποδοτικότητα της ιχθυοτροφής.

Σύμφωνα με τον Zhang και τους συνεργάτες του (2013), αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία παραγωγής αμινοξέων μέσω βακτηριακής ζύμωσης από το είδος *C. glutamicum*, η μάζα που απομένει περιέχει υψηλά ποσοστά πρωτεΐνης, περισσότερο από 70%, και κατάλληλο προφίλ αμινοξέων, καθιστώντας τα προϊόντα αυτά ικανά να

υποκαταστήσουν τις περισσότερες συμβατικές πηγές πρωτεΐνης, όπως τα ιχθυάλευρα, για την θρέψη των ψαριών. Σε άτομα τσιπούρας η υποκατάσταση από αυτά τα προϊόντα, ακόμα και σε υψηλά ποσοστά, έχει δώσει πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα (Marchi et al., 2023). Ο βαθμός αποτελεσματικότητας ωστόσο εξαρτάται από το γένος του βακτηρίου που θα χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη, από το είδος του ιχθύος και από την μέθοδο λύσης των κυτταρικών τοιχωμάτων του βακτηρίου που θα χρησιμοποιηθεί κατά την διαδικασία παραγωγής (αυτόλυση ή υδρόλυση). Σε γενικές γραμμές όμως τα βακτήρια και τα προϊόντα που προέρχονται από αυτά, θεωρούνται αρκετά εύπεπτα για τους ιχθύς και η περιεκτικότητα των ιχθυοτροφών σε αυτά δεν έχει φανεί να επηρεάζει αρνητικά την ανάπτυξη αλλά και την υγεία αρκετών ιχθύων (Bertini et al., 2023).

Επιπροσθέτως, σε έρευνα που έγινε σε άτομα τσιπούρας, και σχετιζόταν με την υποκατάσταση σογιάλευρου από μονοκύτταρες πρωτεΐνες προερχόμενες από το είδος βακτηρίου *C. glutamicum* σε ποσοστά μέχρι και 20%, δεν επηρέασε αρνητικά την ανάπτυξη των ιχθύων και την αποδοτικότητα της τροφής. Επιπλέον, μέσω αυτής της υποκατάστασης προκλήθηκε αλλαγή στη δομή του εντερικού μικροβιώματος των ψαριών, καθώς αυξήθηκε η ανάπτυξη του είδους *Bacillus spp.*, το οποίο υποστηρίζει το ανοσοποιητικό σύστημα των ιχθύων, τη θρέψη και την ανθεκτικότητα αυτών έναντι των διάφορων ασθενειών. Επίσης, δεν φάνηκε να επηρεάζεται αρνητικά ο δείκτης WG, η πρόσληψη τροφής (FI), οι δείκτες FCR, SGR, PER και η φαινομενική πεπτικότητα πρωτεΐνης (Marchi et al., 2023).

Οι περισσότερες έρευνες που σχετίζονται με την προσθήκη αυτών των προϊόντων στα σιτηρέσια που προορίζονται για εκτρεφόμενα είδη ιχθύων, αφορούν περισσότερο στις επιδράσεις που μπορεί να έχουν στην υγεία των ιχθύων και λιγότερο στην διατροφική τους αξία ως πηγή πρωτεΐνης. Πράγματι, λόγω του γεγονότος ότι προσπαθεί ο κλάδος να αποδесμευτεί από την αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών ουσιών

ως μέσω προφύλαξης ή θεραπείας έναντι των διάφορων παθογόνων μικροοργανισμών, έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον ως προς την χρήση προϊόντων προερχόμενων από ζύμωση βακτηρίων και κυρίως ζυμομυκήτων, προκειμένου να υποστηριχθεί η υγεία των ψαριών και η βέλτιστη ανάπτυξή τους (Agboola et al., 2020).

Σύμφωνα με αποτελέσματα ερευνών, οι β-γλυκάνες, που προέρχονται από τα κυτταρικά τοιχώματα των ζυμομυκήτων, προάγουν την υγεία και την ανοσολογική απόκριση των ιχθύων, την αυξημένη ανθεκτικότητα αυτών έναντι παθογόνων μικροοργανισμών και την υψηλή επιβίωση των ψαριών μετά από κάποια μόλυνση (Vecchiarelli, 2000, Agboola et al., 2020). Οι έρευνες αυτές αφορούσαν σε άτομα σολομού του Ατλαντικού (Bridle et al., 2005), ιριδίζουσας πέστροφας (Siwicki et al., 2004, Guselle et al., 2007) και ευρωπαϊκού λαβρακιού (Bonaldo et al., 2007). Επιπλέον, οι MOS από τα κυτταρικά τοιχώματα των ζυμομυκήτων, έχει αποδειχθεί πως επηρεάζουν θετικά την υγεία και την ανάπτυξη των ιχθύων, ίσως λόγω του γεγονότος ότι οι ουσίες αυτές έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τα παθογόνα εντεροβακτήρια, αποτρέποντας την αύξηση του πληθυσμού τους στον ξενιστή (Agboola et al., 2020).

Μία ακόμα πιθανή χρήση των ζυμομυκήτων και των προϊόντων που προέρχονται από αυτούς, η οποία τείνει να πάρει μεγάλες διαστάσεις λόγω της αποδοτικότητάς της, είναι η χρήση τους ως προβιοτικά (Balcazar et al., 2006). Πιο συγκεκριμένα, έγινε έρευνα στον πιθανό ρόλο του ζυμομύκητα *S. cerevisiae* ως ολόκληρου κυττάρου (προβιοτικό) (Balcazar et al., 2006), των ουσιών που διαθέτει (MOS) (Esteban et al., 2004) και ενός μίγματος προβιοτικού με πρεβιοτικά (συνβιοτικά) (Gatesoupe, 2005), ως μικροοργανισμού που μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη ανάπτυξη και ως ανοσοδιεγερτικό σε άτομα τιλάπιας του Νείλου (Abu-Elala et al., 2013). Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής έδειξαν πως αυτό το πρόσθετο τροφής μπορεί να προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα στον μεταβολισμό και την

ανάπτυξη των ιχθύων και να αυξήσει τους δείκτες FI, WG, SGR και PER. Επιπλέον, το είδος *S. cerevisiae* προάγει την υγεία του εντέρου πολλών ειδών εκτρεφόμενων ιχθύων, συμπεριλαμβανόμενης και της τσιπούρας (Ortuño et al., 2001), βελτιώνει τη σύσταση και την ακεραιότητα του εντερικού βλεννογόνου και αυξάνει την πυκνότητα και το μήκος των λαχνών του εντερικού επιθηλίου. Αυτό έχει ως επακόλουθο τη βελτίωση της πέψης και απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών της τροφής (Ortuño et al., 2001, Abu-Elala et al., 2013), οδηγώντας σε αυξημένη ανάπτυξη των ιχθύων.

Σύμφωνα με τον Ozório και τους συνεργάτες του (2012), η κατακράτηση πρωτεΐνης (PR) δεν φάνηκε να επηρεάζεται στατιστικά σημαντικά σε άτομα τιλάπιας, έπειτα από υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από μονοκύτταρες πρωτεΐνες προερχόμενες από τον ζυμομύκητα *S. cerevisiae* σε ποσοστό 15%. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με τα αποτελέσματα του παρόντος πειράματος, όπου ο δείκτης PR δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο διατροφικών ομάδων. Επιπλέον, η σύσταση του σώματος των ιχθύων δεν επηρεάστηκε από την υποκατάσταση αυτή. Επίσης, υποκατάσταση σε ποσοστό 10% οδήγησε σε αύξηση του PR, και δεν επηρέασε την θρεπτική σύσταση του σώματος των ιχθύων και τον ρυθμό ανάπτυξής τους. Ωστόσο, ποσοστά υποκατάστασης μεγαλύτερα του 15% δεν φάνηκε να προσφέρουν θετικά αποτελέσματα.

Τα αποτελέσματα του παρόντος πειράματος συμβαδίζουν με τα αποτελέσματα που πάρθηκαν από την έρευνας της Oliva-Teles και της Gonçalves (2001) όπου, άτομα ευρωπαϊκού λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*), τα οποία διατράφηκαν με σιτηρέσια που περιείχαν τον ζυμομύκητα *S. cerevisiae* σε ποσοστά από 10% έως και 30%, παρουσίασαν θετικά αποτελέσματα ως προς τους δείκτες PR, FCR, WG, PER, την σύσταση του σώματος των ιχθύων και δεν φάνηκε να επηρεάζουν στατιστικά

σημαντικά το FI. Τέλος, σύμφωνα με την Aragão και τους συνεργάτες της (2019), σε άτομα τσιπούρας όπου έγινε προσθήκη μονοκύτταρων πρωτεϊνών προερχόμενων από ζυμομύκητες, δεν επηρεάστηκε η σύσταση του σώματος των ιχθύων, ο δείκτης PR, ενώ παράλληλα αυξήθηκε το FI. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του παρόντος πειράματος, η θρεπτική σύσταση του σώματος των ιχθύων των δύο διατροφικών ομάδων ήταν παρόμοια, εκτός από το ποσοστό της τέφρας το οποίο ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερο στα άτομα της ομάδας AMINOPRO, γεγονός το οποίο υποδηλώνει μεγαλύτερη μάζα μυϊκού ιστού στο σώμα των ιχθύων αυτών.

Εν αντιθέσει με τα παραπάνω ωστόσο, σύμφωνα με την Bertini και τους συνεργάτες της (2023), όταν έγινε υποκατάσταση σογιάλευρου, πτηνάλευρου και ιχθυαλεύρου από μονοκύτταρες πρωτεΐνες προερχόμενες από το βακτήριο *C. glutamicum* σε ποσοστά 10% και 20% σε ενήλικα άτομα κέφαλου (*Mugil cephalus*), προκλήθηκε σημαντική μείωση στην ανάπτυξη, στον δείκτη SGR και αύξηση στον δείκτη FCR. Αυτό ενδεχομένως να είχε αποφευχθεί εάν γινόταν μερική υποκατάσταση μόνο στο ιχθυάλευρο, χωρίς να αλλάξει το ποσοστό ενσωμάτωσης του σογιάλευρου και του πτηνάλευρου. Επιπλέον, παρατηρήθηκε και αύξηση στο FI, ίσως λόγω της υψηλής περιεκτικότητας που χαρακτηρίζει τις SCPs στα νουκλεοτίδια ινοσινικό οξύ και ινοσίνη, τα οποία δρουν και ως ελκυστικές ουσίες (Gamboa-Delgado και Marquez-Reyes, 2018, Hossain et al., 2020). Ωστόσο, σε άτομα τσιπούρας η υποκατάσταση αυτή προσέφερε θετικά αποτελέσματα και παρείχε προβιοτική δράση στο μικροβίωμα του εντέρου των ιχθύων, ακόμα και σε υψηλά ποσοστά ενσωμάτωσης (Marchi et al., 2023). Ίσως τα άτομα του είδους *Mugil cephalus* σημείωσαν μειωμένη ανάπτυξη λόγω της ανεπαρκούς απορρόφησης και πέψης των θρεπτικών συστατικών της τροφής εξαιτίας τυχόν ατελούς λύσης του κυτταρικού τοιχώματος του βακτηρίου αυτού, το οποίο είναι

αρκετά παχύ και αποτελείται από πεπτιδογλυκάνες και αραβινογαλακτάνες (Eggeling και Sahm, 2001, Cheng et al., 2021).

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά λοιπόν, η διαιτητική υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου κατά 5% από το πρόμιγμα αμινοξέων AminoPro F68 δεν επηρέασε τα ποσοστά επιβίωσης της τσιπούρας, ενώ οδήγησε σε αυξημένη κατανάλωση τροφής, σε σημαντικά βελτιωμένη αναπτυξιακή απόδοση των ιχθύων και σε αυξημένη αποδοτικότητα τροφής. Παράλληλα, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χρήση του προμίγματος AminoPro F68 στο σιτηρέσιο της ενήλικης τσιπούρας, πέραν της βελτίωσης των παραγωγικών δεικτών των ιχθύων, συνεισφέρει τόσο στην αειφορία όσο και στην οικονομική βιωσιμότητα της εκτροφής όπωςδείχθηκε από τους χαμηλότερους δείκτες FFDRm και e-FCR, αντίστοιχα. Ωστόσο, λόγω του γεγονότος ότι ο πειραματισμός χρησιμοποίησε μικρό αριθμό επαναλήψεων και πραγματοποιήθηκε σε πραγματικές συνθήκες ιχθυοκαλλιέργειας, όπου οι συνθήκες δεν είναι πανομοιότυπες, είναι αναγκαία περαιτέρω έρευνα για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. Επίσης, λόγω της περιορισμένης διαθέσιμης βιβλιογραφίας, τα παρόντα αποτελέσματα υποδηλώνουν την ανάγκη περαιτέρω έρευνας στο συγκεκριμένο επιστημονικό πεδίο.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξερόγλωσση βιβλιογραφία

- Aas Turid Synnøve , Grisdale-Helland Barbara, Terjesen Bendik F. , Helland Ståle J. (2006) Improved growth and nutrient utilisation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing a bacterial protein meal Volume 259, Issues 1–4, 8 September 2006, Pages 365-376 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.05.032>
- Abu-Elala Nermeen, Marzouk Mohamed , Moustafa Mohamed (2013) Use of different *Saccharomyces cerevisiae* biotic forms as immune-modulator and growth promoter for *Oreochromis niloticus* challenged with some fish pathogens. International Journal of Veterinary Science and Medicine Volume 1, Issue 1, June 2013, Pages 21-29 <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.05.001>
- Adeoye Ayodeji A. , Akegbejo-Samsons Yemi, Fawole Femi J., Olatunji Paul O., Muller Niall, Wan Alex H.L., Davies Simon J. (2020) From waste to feed: Dietary utilisation of bacterial protein from fermentation of agricultural wastes in African catfish (*Clarias gariepinus*) production and health Volume 531, 30 January 2021, 735850 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735850>
- Agboola Jeleel Opeyemi, Øverland Margareth, Skrede Anders, Hansen Jon Øvrum (2020) Yeast as major protein-rich ingredient in aquafeeds: a review of the implications for aquaculture production <https://doi.org/10.1111/raq.12507>
- Albrektsen Sissel, Kortet Raine, Skov Peter Vilhelm, Ytteborg Elisabeth, Gitlesen Susanne, Kleinegris Dorinde, Mydland Liv-Torunn, Hansen Jon Øvrum, Lock Erik-Jan, Mørkøre Turid, James Philip, Wang Xinxin, Whitaker Ragnhild Dragøy, Vang Birthe, Hatlen Bjarne, Daneshvar Ehsan, Bhatnagar Amit, Jensen Linda B., Øverland Margareth (2022) Future feed resources in sustainable salmonid production: A review <https://doi.org/10.1111/raq.12673>
- Alfonso Sébastien, Mente Elena, Fiocchi Eleonora, Manfrin Amedeo, Dimitroglou Arkadios, Papaharisis Leonidas, Barkas Dimitris, Toomey Lola, Boscarato Marilena, Losasso Carmen, Peruzzo Arianna, Stefani Annalisa, Zupa Walter, Spedicato Maria Teresa, Nengas Ioannis, Lembo Giuseppe & Carbonara Pierluigi (2023) Growth performance, gut microbiota composition, health and welfare of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed an environmentally and economically sustainable low marine protein diet in

sea cages *Scientific Reports* volume 13, Article number: 21269
 PMID: 38042956 PMCID: PMC10693626 [DOI: 10.1038/s41598-023-48533-3](https://doi.org/10.1038/s41598-023-48533-3)

- Al-Hafedh Yousef S., Aftab Alam. (2013) Replacement of Fishmeal by Single Cell Protein Derived from Yeast Grown on Date (*Phoenix dactylifera*) Industry Waste in the Diet of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fingerlings Pages 346-358 <https://doi.org/10.1080/10454438.2013.852419>
- Aragão Cláudia, Cabano Miguel, Colen Rita, Fuentes Juan, Dias Jorge (2019). Alternative formulations for gilthead seabream diets: Towards a more sustainable production [DOI: 10.1111/anu.13007](https://doi.org/10.1111/anu.13007)
- Arriaga-Hernández Daniela, Hernández Crisantema, Martínez-Montaña Emmanuel, Ibarra-Castro Leonardo, Lizárraga-Velázquez Esmeralda, Leyva-López Nayely, Chávez-Sánchez María Cristina. (2020) Fish meal replacement by soybean products in aquaculture feeds for white snook, *Centropomus viridis*: Effect on growth, diet digestibility, and digestive capacity <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735823>
- Aruna T.E. , Aworh O.C. , Raji A.O. , Olagunju A.I. (2017) Protein enrichment of yam peels by fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* (BY4743) *Ann. Agric. Sci.*, 62 (2017), pp. 33-37, [10.1016/j.aos.2017.01.002](https://doi.org/10.1016/j.aos.2017.01.002)
- Balcazar Jose Luis, Blas Ignacio, Ruiz-Zarzuela Imanol, Cunningham David, Vendrell Daniel, Muzquiz Jose Luis (2006) The role of probiotics in aquaculture Volume 114, Issues 3-4, Pages 173-186 <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.01.009>
- Bertini Andrea, Natale Silvia, Gisbert Enric, Andrée Karl B., Concu Danilo , Dondi Francesco, De Cesare Alessandra, Indio Valentina, Gatta Pier Paolo, Bonaldo Alessio, Parma Luca (2023) Exploring the application of *Corynebacterium glutamicum* single cell protein in the diet of flathead grey mullet (*Mugil cephalus*): effects on growth performance, digestive enzymes activity and gut microbiota Volume 10 – 2023 <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1172505>
- Bonaldo A, Thompson K, Manfrin A, Adams A, Murano E, Mordenti AL *et al.* (2007) The influence of dietary β -glucans on the adaptive and innate immune responses of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) vaccinated against vibriosis. *Italian Journal of Animal Science* 6: 151–164.
- Bridle A, Carter C, Morrison R, Nowak B (2005) The effect of β -glucan administration on macrophage respiratory burst activity and Atlantic salmon, *Salmo salar* L.,

- challenged with amoebic gill disease—evidence of inherent resistance. *Journal of Fish Diseases* 28: 347–356. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2005.00636.x>
- Carvalho Marta, Torrecillas Silvia, Montero Daniel, Sanmartín Antonio, Fontanillas Ramon, Farías Ana, Moutou Katerina, Hernández Velásquez Jorge, Izquierdo Marisol. (2023) Insect and single-cell protein meals as replacers of fish meal in low fish meal and fish oil diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.739215>
- Chen Ying, Sagada Gladstone, Xu Bingying, Chao Wei, Zou Fangqi, Wing-Keong Ng, Sun Yuxiao, Wang Lei, Zhong Zhiwen, Shao Qingjun. (2019) Partial replacement of fishmeal with *Clostridium autoethanogenum* single-cell protein in the diet for juvenile black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) <https://doi.org/10.1111/are.14446>
- Cheng Y.-C., Duarte M. E., Kim S. W. (2021). Nutritional and functional values of lysed corynebacterium glutamicum cell mass for intestinal health and growth of nursery pigs. *J. Anim. Sci.* 99, skab331. [doi: 10.1093/jas/skab331](https://doi.org/10.1093/jas/skab331)
- Eggeling L., Sahm H. (2001). The cell wall barrier of *Corynebacterium glutamicum* and amino acid efflux. *J. Biosci. Bioeng.* 92, 201–213. [doi: 10.1016/S1389-1723\(01\)80251-6](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(01)80251-6)
- Emre Yilmaz, Sevgili Huseyin και Sanli Murat (2008) The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh 60(3):198 60(3):198 Partial Replacement of Fishmeal with Hazelnut Meal in Diets for Juvenile Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*) [DOI:10.46989/001c.20488](https://doi.org/10.46989/001c.20488)
- Esteban M.A., Rodríguez A., Meseguer J. (2004) Glucan receptor but not mannose receptor is involved in the phagocytosis of *Saccharomyces cerevisiae* by seabream (*Sparus aurata* L.) blood leucocytes *Fish & Shellfish Immunology* 16 447–451
- FAO. 2009. *Sparus aurata*. In Cultured aquatic species fact sheets. Text by Colloca, F. & Cerasi, S. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New. CD-ROM (multilingual).
- Fernandes Ana M., Caldach-Giner Josep Àlvar, Pereira Gabriella V., Gonçalves Ana Teresa, Dias Jorge, Johansen Johan, Silva Tomé, Naya-Català Fernando, Piazzon Carla, Sitjà-Bobadilla Ariadna, Costas Benjamin, Conceição Luís E.

- C., Fernandes Jorge M. O. και Pérez-Sánchez Jaume. (2024) Sustainable Fish Meal-Free Diets for Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*): Integrated Biomarker Response to Assess the Effects on Growth Performance, Lipid Metabolism, Antioxidant Defense and Immunological Status. <https://doi.org/10.3390/ani14152166>
- Galkanda-Arachchige Harsha S.C., Wilson Alan E., Davis Donald A. (2019) Success of fishmeal replacement through poultry by-product meal in aquaculture feed formulations: a meta-analysis <https://doi.org/10.1111/raq.12401>
- Gamboa-Delgado J., Márquez-Reyes J. M. (2018). Potential of microbial-derived nutrients for aquaculture development. *Rev. Aquac.* 10, 224–246. [doi: 10.1111/raq.12157](https://doi.org/10.1111/raq.12157)
- Gatesoupe Joel (2005) Probiotics and prebiotics for fish culture, at the parting of the ways Aqua Feeds: Formulation & Beyond (Feedware), Vol. 2, N. 3, P. 3-5 ID 6479
- Goffeau A, Barrell BG, Bussey H, et al. Life with 6000 genes. *Science*. 1996;274:563–547.
- González-Rodríguez, A., Celada, J. D., Carral, J. M., Sáez-Royuela, M., García, V., & Fuertes, J. B. (2014). Evaluation of poultry by-product meal as partial replacement of fish meal in practical diets for juvenile tench (*Tinca tinca* L.) *Aquaculture Research*, 47, 1612-1621. <https://doi.org/10.1111/are.12622>
- Guselle N, Markham R, Speare DJ (2007) Timing of intraperitoneal administration of β -1, 3/1, 6 glucans to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), affects protection against the microsporidian *Loma salmonae*. *Journal of Fish Diseases* 30: 111–116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2007.00781.x>
- Hall C, Brachat S, Dietrich FS. Contribution of horizontal gene transfer to the evolution of *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryot Cell*. 2005;4:1102–1115.
- Hardy Ronald W (2010) Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02349.x>
- Hardy Ronald W, Patro Biswamitra, Pujol-Baxley Catherine, Marx Christopher J, Feinberg Lawrence (2018) Partial replacement of soybean meal with *Methylobacterium extorquens* single-cell protein in feeds for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) <https://doi.org/10.1111/are.13678>

- Hernández, C., Sanchez-Gutierrez, Y., Hardy, R. W, Benitez-Hernández, A., Domínguez-Jimenez, P., González-Rodríguez, B., Osuna-Osuna, L., & Tortoledo, O. (2014). The potential of pet-grade poultry by-product meal to replace fish meal in the diet of the juvenile spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Aquaculture Nutrition*, 20, 623–631. <https://doi.org/10.1111/anu.12122>
- Hodar Ashish Rameshbhai, Vasava Rajesh, Mahavadiya D R, Joshi Nilesh H. (2020) FISH MEAL AND FISH OIL REPLACEMENT FOR AQUA FEED FORMULATION BY USING ALTERNATIVE SOURCES : A REVIEW.
- Hossain M., Koshio S., Kestemont P. (2020). Recent advances of nucleotide nutrition research in aquaculture: a review. *Rev. Aquac.* 12, 1028–1053. [doi: 10.1111/raq.12370](https://doi.org/10.1111/raq.12370)
- Ikeda Masato, Nakagawa S. (2003) The *Corynebacterium glutamicum* genome: features and impacts on biotechnological processes *Appl Microbiol Biotechnol*, 62 (2003), pp. 99-109 <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1328-1>
- Ikeda Masato, Takeno Seiki (2013) Amino Acid Production by *Corynebacterium glutamicum* Part of the book series: Microbiology Monographs ((MICROMONO, volume 23)) pp 107–147
- Kalinowski J., et al. (2003) The complete *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 genome sequence and its impact on the production of L-aspartate-derived amino acids and vitamins. *J Biotechnol*, 104, pp. 5-25 [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(03\)00154-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(03)00154-8)
- Kant Gaurav, Pandey Ashutosh, Hasan Ariba, Bux Faizal, Kumari Sheena, Srivastava Sameer (2024). Cell factories for methylerythritol phosphate pathway mediated terpenoid biosynthesis: An application of modern engineering towards sustainability *Process Biochemistry* Volume 139, April 2024, Pages 146-164 <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2024.01.027>
- Karapanagiotidis I.T. (2014). The Re-Authorization of Non-Ruminant Processed Animal Proteins in European Aqua feeds. *Fisheries and Aquaculture Journal* 5:4
- Karapanagiotidis I.T., Psoufakis P., Mente E., Malandrakis E., Golomazou E. (2018). Effect of fishmeal replacement by poultry by-product meal on growth performance, proximate composition, digestive enzyme activity, haematological parameters and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Nutrition* 25:3–14. DOI:[10.1111/anu.12824](https://doi.org/10.1111/anu.12824)

- Kim Gi Yeon , Kim Jinyoung , Park Geunyoung , Kim Hyeon Jin , Yang Jina , Sang Woo Seo (2023) Synthetic biology tools for engineering *Corynebacterium glutamicum* Computational and Structural Biotechnology Journal Volume 21, 2023, Pages 1955-1965 <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.03.004>
- Lara-Flores Maurilio , Olvera-Novoa Miguel , Guzmán-Méndez Beatriz , López-Madrid Wilberth (2002) Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) Volume 216, Issues 1–4, 10 February 2003, Pages 193-201 [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00277-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00277-6)
- Li Peng, Mai Kangsen, Trushenski Jesse & Wu Guoyao (2009) New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds Volume 37, pages 43–53
- Li Xinyu, Zheng Shixuan & Wu Guoyao (2021) Nutrition and Functions of Amino Acids in Fish pp 133–168
- Macusi Edison D., Cayacay Melanie A., Borazon Elaine Q., Sales Anthony C., Habib Ahasan, Fadli Nur και Santos Mudjekeewis D.. (2023) Protein Fishmeal Replacement in Aquaculture: A Systematic Review and Implications on Growth and Adoption Viability <https://doi.org/10.3390/su151612500>
- Marchi Arianna, Bonaldo Alessio, Scicchitano Daniel, Candela Marco, De Marco Antonina, Falciglia Salvatore, Mazzoni Maurizio, Lattanzio Giulia, Clavenzani Paolo, Dondi Francesco, Gatta Pier Paolo, Parma Luca (2023) Feeding gilthead sea bream with increasing dietary bacterial single cell protein level: Implication on growth, plasma biochemistry, gut histology, and gut microbiota Volume 565, 739132 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.739132>
- Oliva-Teles Aires , Gonçalves Paula (2001) Partial replacement of fishmeal by brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in diets for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles Volume 202, Issues 3–4, 1 November 2001, Pages 269-278 [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00777-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00777-3)
- Oliva – Teles A. (2012), Nutrition and health of aquaculture fish. Journal of Fish Diseases, 35, 83 – 108. [doi:10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x)
- Oliva-Teles A., Enes P. , Couto A. , Peres H. . (2022) 8 - Replacing fish meal and fish oil in industrial fish feeds <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821598-2.00011-4>

- Ortuño Jesús , Cuesta Alberto, Rodríguez Alejandro, Esteban M. Angeles , Meseguer José (2001) Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology* 85 (2002) 41 – 50
[https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(01\)00406-8](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(01)00406-8)
- Øverland Margareth, Tauson Anne-Helene, Shearer Karl, Skrede Anders (2010) Evaluation of methane utilising bacteria products as feed ingredients for monogastric animals *Arch. Anim. Nutr.*, 64 (3) (2010), pp. 171-189
<https://doi.org/10.1080/17450391003691534>
- OZÓRIO R.O.A., TURINI B.G.S., MÔRO G.V., OLIVEIRA L.S.T., PORTZ L., CYRINO J.E.P. (2010) Growth, nitrogen gain and indispensable amino acid retention of pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg 1887) fed different brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) levels <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00662.x>
- Ozório Rodrigo O. A., Portz Leandro, Borghesi Ricardo και Cyrino José E. P. (2012) Effects of Dietary Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Supplementation in Practical Diets of Tilapia (*Oreochromis niloticus*)
<https://doi.org/10.3390/ani2010016>
- Parapouli Maria, Vasileiadis Anastasios, Afendra Amalia-Sofia, Hatziloukas Efsthios (2020) *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications doi: [10.3934/microbiol.2020001](https://doi.org/10.3934/microbiol.2020001)
- Rumsey G.L., Hughes S.G., Smith R.R. , Kinsella J.E. και Shetty K.J. (1990) Digestibility and energy values of intact, disrupted and extracts from brewer's dried yeast fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Animal Feed Science and Technology*, 33 (1991) 185-193 Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam
- Rumsey G.L. Kinsella , J.E. , Shetty K.J. , Hughes S.G. (1990) Effect of high dietary concentrations of brewer's dried yeast on growth performance and liver uricase in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Volume 33, Issues 3–4, June 1991, Pages 177-183 [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(91\)90058-Z](https://doi.org/10.1016/0377-8401(91)90058-Z)
- Sharif M., Zafar M.H., Aqib A.I., Saeed M., Farag M.R., Alagawany M. (2021) Single cell protein: sources, mechanism of production, nutritional value and its uses in aquaculture nutrition *Aquaculture*, 531, [10.1016/j.aquaculture.2020.735885](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735885)

- Shikina E.V. , Kovalevsky R.A. , Shirkovskaya A.I. , Toukach Ph.V. ,
in Computational and Structural Biotechnology Journal, (2022) Prospective
bacterial and fungal sources of hyaluronic acid: A review Computational and
Structural Biotechnology Journal Volume 20, 2022, Pages 6214-6236
<https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.11.013>
- Siwicki AK, Kazuń K, Głabski E, Terech-Majewska E, Baranowski P, Trapkowska
S (2004) The effect of beta-1,3/1,6-glucan in diets on the effectiveness of anti-
Yersinia ruckeri vaccine-an experimental study in rainbow trout (*Oncorhynchus
mykiss*). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 13: 59–61.
- Smárason Birgir Örn , Alriksson Björn, Jóhannsson Ragnar (2019) Safe and
sustainable protein sources from the forest industry – The case of fish feed
Volume 84, February 2019, Pages 12-14
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.005>
- Sola L., Moretti A., Crosetti D., Karaïskou N., Magoulas A., Rossi A.R., Rye M.,
Triantafyllidis A. και Tsigenopoulos C.S. (2007) Gilthead seabream - *Sparus
aurata* Biology, ecology and genetics 6th Framework plan of the European
Commission Genimpact- Evaluation of genetic impact of aquaculture activities
on native populations. A European network (EU contract n. RICA-CT-2005-
022802).
- Solé-Jiménez Paula, Naya-Català Fernando, Piazzon M. Carla, Estensoro Itziar,
Calduch-Giner Josep À., Sitjà-Bobadilla Ariadna, Van Mullem Danny, Pérez-
Sánchez Jaume (2021) Reshaping of Gut Microbiota in Gilthead Sea Bream Fed
Microbial and Processed Animal Proteins as the Main Dietary Protein Source
<https://doi.org/10.3389/fmars.2021.705041>
- Tacon A. g. j. (1985) Utilization of conventional and unconventional protein sources in
practical fish feed. A review
- Vecchiarelli A. (2000) Immunoregulation by capsular components of *Cryptococcus
neoformans* Med. Mycol., 38 (2000), pp. 407-417
<https://doi.org/10.1080/mmy.38.6.407.417>
- Wood V, Rutherford KM, Ivens A, et al. A re-annotation of the *Saccharomyces
cerevisiae* genome. *Comp Funct Genomics*. 2001;2:143–154.
<https://doi.org/10.1002/cfg.86>
- Zepka L.Q., Jacob-Lopes E., Goldbeck R., Souza-Soares L.A., Queiroz M.I. (2010)
Nutritional evaluation of single-cell protein produced by *Aphanothece*

microscopica Nägeli Bioresour. Technol., 101 (18), pp. 7118-7122, [10.1016/j.biortech.2010.04.001](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.001)

Zhang H. Y., Piao X. S., Li P., Yi J. Q., Zhang Q., Li Q. Y., et al. (2013). Effects of single cell protein replacing fish meal in diet on growth performance, nutrient digestibility and intestinal morphology in weaned pigs. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 26, 1320–1328. [doi: 10.5713/ajas.2013.13200](https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13200)

Ελληνική βιβλιογραφία

ΕΛΟΠΥ, Ετήσια Έκθεση (2022) <https://fishfromgreece.com/wp-content/flipbook/2022new/> HAPO 2022

ΕΛΟΠΥ, Ετήσια Έκθεση (2023) HAPO 2023

ΕΛΟΠΥ, Ετήσια Έκθεση (2024) https://fishfromgreece.com/wp-content/uploads/2024/10/HAPO_AR24_Spreads.pdf HAPO 2024

Παπουτσόγλου Σωφρόνιος Ε., (2008) «Διατροφή Ιχθύων» – Κωδικός Βιβλίου στον Εύδοξο: 22695, ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΣΤΑΜΟΥΛΗ ΑΕ

ABSTRACT

The aquaculture industry is constantly growing. Due to the dependence of the fish feed production industry on fishmeal, which is the main source of protein, the sustainability of natural fish stocks is threatened, as well as the further development of aquaculture. At the same time, the global production of fishmeal is stagnant, thus increasing the production costs of fish feeds and fish farming in general.

The aim of this study was to investigate the potential effect of the partial substitution of fishmeal by the commercial amino acid premix AminoPro F68, at a rate of 5%, on the growth performance of sea bream (*Sparus aurata*) and on the efficiency of the fish feed. The AminoPro F68 premix is a mixture of amino acids from the microorganisms *Corynebacterium glutamicum* and *Saccharomyces cerevisiae*. Two experimental diets were prepared for this purpose, from the fish feed manufacturing company PRAXIS AQUACULTURE, the CONTROL and the AMINOPRO diet. A total of 930 sea bream individuals of initial body weight 183g were used for the needs of the experiment, which were equally distributed among 3 fish cages. The experimental procedure that was carried out lasted 70 days and took place in the facilities of the fish farming unit SKALOMA A.E., on the Sagiada lane in Igoumenitsa. The indicators measured were the Weight Gain (WG), the percentage of the Weight Gain (%WG), Specific Growth Rate (SGR), Feed Conversion Ratio (FCR), Protein Efficiency Ratio (PER), Protein Retention (PR), Feed Intake (FI), the economic ratio of the Feed Conversion Ratio (e-FCR), Fishmeal Forage Fish Dependency Ratio (FFDRm) and the body composition of fish.

According to the results of the present study, the AMINOPRO group showed significantly higher rates of WG, %WG, FI and SGR, and lower rates of FCR, e-FCR and FFDRm. The PER and PR indicators, as well as the body composition, were similar

between the two dietary groups. The results suggest that fishmeal substitution by the amino acid premix AminoPro F68 positively affected fish growth parameters and feed efficiency, indicating the potential suitability of this premix as a fishmeal substitute in the diets of sea bream. However, due to the fact that, during the experimental procedure were used only few replicates and it was carried out under real fish farming conditions, further investigation is needed.

Keywords: sea bream, *Sparus aurata*, fish meal substitution, amino acid premix, AminoPro F68, *Corynebacterium glutamicum*, *Saccharomyces cerevisiae*