



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Χαμηλή υποκατάσταση της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου με
πτηνάλευρο και υδρολυμένο πτεράλευρο στο σιτηρέσιο της
τσιπούρας (*Sparus aurata*)»**

**Μάστορα Αικατερίνη
Κινδύνης Κωνσταντίνος**

Βόλος 2016

«Χαμηλή υποκατάσταση της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου με πτηνάλευρο και υδρολυμένο πτεράλευρο στο σιτηρέσιο της τσιπούρας (*Sparus aurata*)»

Εξεταστική Επιτροπή:

1. **Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης**, Επίκουρος καθηγητής, Διατροφή Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Επιβλέπων*,
2. **Παναγιώτα Παναγιωτάκη**, Αναπληρώτρια καθηγήτρια, Υδατοκαλλιέργειες, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος*.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ειλικρινείς μας ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρουμε εις πέρας την παρούσα Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κ. Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη για την πολύτιμη βοήθειά του και τη διαρκή υποστήριξή του, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος, όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και την κυρία Παναγιώτα Παναγιωτάκη, μέλος της εξεταστικής μας επιτροπής.

Ακόμη, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τον κ. Πιέρ Ψωφάκη, υποψήφιο διδάκτορα, την κα. Ευανθία Δασκαλοπούλου, τον κ. Κων/νο Αλεξίου και τον κ. Ιωάννη Βογιατζή για την πολύτιμη βοήθεια τους και την άψογη συνεργασία κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Τέλος, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τους δικούς μας ανθρώπους, για τη συνεχή στήριξη, συμπαράσταση και βοήθεια σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια οι ιχθυοτροφές έχουν εξαρτηθεί σε μεγάλο βαθμό από τα ιχθυάλευρα ως πηγή πρωτεϊνών. Ωστόσο, η βιομηχανία των ιχθυοτροφών αντιμετωπίζει αρκετές ελλείψεις τα τελευταία χρόνια, όσον αφορά τη διαθεσιμότητα του ιχθυαλεύρου, λόγω της μείωσης των φυσικών αποθεμάτων. Ως εκ τούτου, γίνονται προσπάθειες για την εξεύρεση εναλλακτικών πηγών πρωτεϊνών, τα οποία είναι λιγότερο κοστοβόρα και άμεσα διαθέσιμα. Η επανεισαγωγή των Μεταποιημένων Ζωικών Πρωτεϊνών σε ιχθυοτροφές στην ΕΕ, από την 1η Ιουλίου 2013, πρόκειται να βοηθήσει την υδατοκαλλιέργεια στην Ευρώπη για την επίλυση μέρους των προβλημάτων των πρώτων υλών.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας χρησιμοποίησης πτηνάλευρου και υδρολυμένου πετράλευρου ως κύρια συστατικά των ιχθυοτροφών της εκτρεφόμενης τσιπούρας (*Sparus aurata*, L). Για τον σκοπό αυτό, ιχθύδια του είδους *Sparus aurata* με αρχικό μέσο βάρος 2,97 g, αφού εγκλιματίστηκαν για 10 ημέρες στις πειραματικές συνθήκες, διαχωρίστηκαν σε 3 διατροφικές ομάδες, (3 δεξαμενές - επαναλήψεις ανά μεταχείριση, 25 ιχθύδια ανά ενυδρείο). Τα τρία πειραματικά σιτηρέσια καταρτίστηκαν ώστε να είναι ισοενεργειακά (23,5 M/Kg τροφής) και ισοπρωτεϊνικά (50% της τροφής). Η πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου (FM ομάδα) αντικαταστάθηκε από πρωτεΐνη είτε πτηνάλευρου (PM25 ομάδα) είτε από υδρολυμένο πετράλευρο (FeM25 ομάδα) σε ποσοστό 25%. Η χορήγηση της τροφής ήταν με το χέρι, 2 φορές την ημέρα, καθημερινά και η σίτιση ήταν μέχρι φαινομένου κορεσμού.

Η επιβίωση των ιχθύων δεν επηρεάστηκε από τη μερική αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου. Η αύξηση του βάρους (31,54 - 38,45 g) και το SGR (3,95 - 4,25) των ιχθύων διέφερε μεταξύ των ομάδων, με σημαντικά χαμηλότερες τιμές να εμφανίζονται στην ομάδα FeM25 και υψηλότερες στην ομάδα FM, ενώ το FCR και το PER δε διέφεραν σημαντικά ($P > 0,05$). Δε παρατηρήθηκαν διαφορές στη θρεπτική σύσταση ολόκληρου του σώματος των ιχθύων όλων των ομάδων, ενώ στη θρεπτική σύσταση του μυϊκού ιστού υπήρξαν διαφορές στο ποσοστό των αζωτούχων ουσιών, των λιπιδίων και της τέφρας, με τις χαμηλότερες τιμές να εμφανίζονται στην ομάδα FeM25 ($P < 0,05$).

Συμπερασματικά, η πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου των ιχθυοτροφών της τσιπούρας μπορεί επιτυχώς να υποκατασταθεί κατά 25% από πτηνάλευρο χωρίς να επιφέρει κάποια μείωση στην ανάπτυξη των ψαριών και την αξιοποίηση της τροφής από αυτά. Η χρήση του υδρολυμένου πετράλευρου επιδρά αρνητικά στη σωματική ανάπτυξη της τσιπούρας.

Αποτελέσματα της παρούσας εργασίας ανακοινώθηκαν στο 30^ο Ετήσιο Επιστημονικό Συνέδριο της Ελληνικής Ζωοτεχνικής Εταιρείας, 14-16 Οκτωβρίου, Γιαννιτσά.

Λέξεις κλειδιά: *Sparus aurata*, πτηνάλευρο, υδρολυμένο πετράλευρο, αντικατάσταση ιχθυαλεύρου, διατροφή ιχθύων.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1. Εκτροφή της τσιπούρας, <i>Sparusaurata</i>	1
1.2. Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους.....	2
1.3. Χρήση του ιχθυαλεύρου ως κύρια πηγή των ιχθυοτροφών	3
1.4. Προβληματισμοί χρήσης του ιχθυαλεύρου στις ιχθυοτροφές.....	3
1.5. Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεΐνες φυτικής και ζωικής προέλευσης.....	5
1.6. Η πρωτεΐνη του πτηναλεύρου και του υδρολυμένου περαλεύρου ως συστατικών των ιχθυοτροφών	6
1.7. Σκοπός της έρευνας.....	9
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	10
2.1. Πειραματικός σχεδιασμός	10
2.2. Σιτηρέσια – Σίτιση	12
2.3. Δειγματοληψίες.....	17
2.4. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής.....	18
2.4.1. Θνησιμότητα	18
2.4.2. Αύξηση ολικού βάρους ψαριών	18
2.4.3. Ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους.....	18
2.4.4. Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης.....	19
2.4.5. Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής	19
2.4.6. Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών	19
2.4.7. Συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης.....	20
2.4.8. Σωματομετρικοί δείκτες.....	20
2.5. Χημικές αναλύσεις.....	20
2.5.1. Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών	20
2.5.2. Προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων	21

2.5.3.	Προσδιορισμός τέφρας	23
2.5.4.	Προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας	23
2.6.	Στατιστική ανάλυση.....	24
3.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	25
3.1.	Θνησιμότητα	25
3.2.	Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής.....	25
3.2.1.	Κατά την έναρξη του πειράματος.....	25
3.2.2.	Κατά την 30 ^η ημέρα πειράματος	26
3.2.3.	Κατά την 62 ^η ημέρα πειράματος	27
3.2.4.	Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος.....	28
3.2.5.	Σωματομετρικοί δείκτες.....	30
3.3.	Χημικές αναλύσεις σώματος.....	31
4.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	35
4.1.	Θνησιμότητα	35
4.2.	Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής.....	36
4.3.	Χημικές αναλύσεις σώματος.....	39
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	40
6.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	41
7.	ABSTRACT.....	45

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Εκτροφή της τσιπούρας, *Sparus aurata*

Η τσιπούρα *Sparus aurata* (Linnaeus 1758) είναι είδος της Μεσογείου και ένα από τα δύο κυριότερα εκτρεφόμενα είδη στις μεσογειακές και ελληνικές θαλάσσιες υδατοκαλλιέργειες (Κλαουδάτος, 2012). Στο φυσικό περιβάλλον συχνά συναντάται σε υφάλμυρα και θαλασσινά νερά, σε περιοχές με θαλάσσια λιβάδια Ποσειδωνίας, υφάλους και αμμώδη βενθικά υποστρώματα, σε βάθος που φτάνει μέχρι και τα 150 μέτρα (Morretti *et al.* 1999). Η τσιπούρα είναι ένα πελαγικό, ευρύθερμο και ευρύαλο είδος, όπου εκτρέφεται εκτατικά και εντατικά. Η εκτροφή της τσιπούρας πραγματοποιούνταν παραδοσιακά είτε στις μεσογειακές παράκτιες λιμνοθάλασσες είτε σε λίμνες υφάλμυρων και αλμυρών νερών, ειδικά στη βόρεια Αδριατική θάλασσα στην Ιταλία (Παπουτσόγλου 2008). Η Ελληνική παραγωγή από τη συλλεκτική αλιεία και τις λιμνοθάλασσες την δεκαετία του 1980 δεν υπερέβαινε τους 400 τόνους. Στα μέσα της δεκαετίας αυτής άρχισε και η προσπάθεια εντατικής εκτροφής της τσιπούρας και στην Ελλάδα, για να εξελιχθεί στο κυριότερο εκτρεφόμενο είδος με σημερινή παραγωγή πάνω από 50.000 τόνους σε ετήσια βάση (FAO 2012). Οι τσιπούρες εκτρέφονται σε εκτατικά συστήματα εκτροφής σε λιμνοθάλασσες ή εντατικά σε δεξαμενές ή θαλάσσιους κλωβούς. Το μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής προέρχεται από την εντατική εκτροφή, με μέση πυκνότητα 20-100 kgm³ και FCR 1,5 – 2 (FAO 2012). Η εκτατική εκτροφή παραμένει μια παραδοσιακή δραστηριότητα σε ορισμένες περιοχές, αλλά με πολύ χαμηλό αντίκτυπο στην αγορά (Sola *et al.* 2006).

1.2. Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους

Οι θρεπτικές απαιτήσεις του είδους συνοψίζονται στον εξής πίνακα

(Παπουτσόγλου 2008, FAO 2012):

Θρεπτική σύσταση (%)	Στάδιο ζωής	
	Ιχθύδια	Ενήλικα άτομα
Πρωτεΐνη	50-60	45-50
Λίπος	12-25	12-25
Ινώδεις ουσίες	1,2	1,2
Υδατάνθρακες	20	20
Πρωτεΐνη/Ενέργεια (mg/Kj)	20,8/22,4	21,5/28,1
Φώσφορος	0,65	-
Αμινοξέα (% της πρωτεΐνης της τροφής)		
Αργινίνη	5,4	5,4
Ιστιδίνη	1,7	1,7
Ισολευκίνη	2,6	2,6
Λευκίνη	4,5	4,5
Λυσίνη	5,0	5,0
Μεθειονίνη	2,4	2,4
Φαινυλαλανίνη	2,9	2,9
Θρεονίνη	2,8	2,8
Τρυπτοφάνη	0,6	0,6
Βαλίνη	3,0	3,0

1.3. Χρήση του ιχθυαλεύρου ως κύρια πηγή των ιχθυοτορφών

Τα ιχθυάλευρα περιέχουν υψηλά επίπεδα πρωτεϊνών (60- 85% επί της ξηράς ουσίας) και πλούσιο σε απαραίτητα αμινοξέα, που δε μπορούν οι ιχθύες να συνθέσουν από μόνοι τους ή έχουν μερική ικανότητα σύνθεσης, σε ποσοστό μικρότερο από αυτό που αξιοποιεί τις διατροφικές ανάγκες τους (Tacon & Metian 2008). Επίσης, είναι ελκυστικό και εύπεπτο για τα εκτρεφόμενα είδη, άρα και λιγότερο ρυπογόνο για το περιβάλλον. Περιέχουν φυσικές χρωστικές, βιταμίνη A, B12, D, χολίνη, καθώς και Ca, P, Mg, Se και άλλα ανόργανα στοιχεία. Η απουσία αντι-διατροφικών παραγόντων καθώς και άπεπτων υδατανθράκων κατατάσσει το ιχθυάλευρο ως τη σημαντικότερη πρωτεϊνική πηγή που περιλαμβάνεται στις ιχθυοτροφές. Σημαντικό είναι επίσης, πως το ιχθυάλευρο είναι άμεσα διαθέσιμο για τους παραγωγούς (Jackson 2009). Η διατροφική πρωτεΐνη είναι σημαντική ως κύρια πηγή απαραίτητων αμινοξέων για την παραγωγή νέας πρωτεΐνης ιστού και τη διατήρηση αυτού. Συγκριτικά με άλευρα διαφορετικής προέλευσης, όπως για παράδειγμα το αιματάλευρο, που περιέχουν υψηλά ποσοστά πρωτεϊνών (> 80% επί της ξηράς ουσίας), αλλά τα επίπεδα των απαραίτητων αμινοξέων τους δεν είναι υψηλά, η χρήση ιχθυαλεύρων προσδίδει καλύτερη ανάπτυξη στα ψάρια που τα καταναλώνουν, ιδιαίτερα στα σαρκοφάγα (Tacon & Metian 2008).

1.4. Προβληματισμοί χρήσης του στις ιχθυοτροφές

Η παγκόσμια αλιευτική παραγωγή ανέρχεται (2014) σε 90,5 εκατομμύρια τόνους ετησίως, ενώ η θαλάσσια αλιεία σε 79 εκατομμύρια τόνους (FAO 2012). Με βάση την αξιολόγηση των αποθεμάτων, το 28% παγκοσμίως βρίσκεται σε εξάντληση λόγω της υπεραλίευσης, το 52% υπόκειται σε πλήρη εκμετάλλευση, με αποτέλεσμα να μην αποδίδει περισσότερο, ενώ το 20% των αποθεμάτων πιθανότατα θα αποδώσει περισσότερο μελλοντικά (Tacon & Metian 2008). Από τους ιχθύες που αλιεύονται, ένα

σημαντικό μερίδιο, εκτός από την ανθρώπινη κατανάλωση και την υπόλοιπη ζωική παραγωγή, πηγαίνει στην υδατοκαλλιέργεια και πιο συγκεκριμένα στην παραγωγή ιχθυοτροφών.

Τα δεδομένα αυτά αντικατοπτρίζουν την αυξημένη ζήτηση ψαριών στην αγορά, ιδιαίτερα στις ανεπτυγμένες χώρες. Με βάση τα στοιχεία του FAO (Food and Agriculture Organization of The United Nations), η ραγδαία αυτή αύξηση οφείλεται κυρίως στην Κίνα, εξαιτίας του αυξανόμενου πληθυσμού της. Επακόλουθο της αυξημένης ζήτησης στην αγορά, ήταν η ραγδαία αύξηση της παγκόσμιας παραγωγής υδατοκαλλιεργειών, συνεπώς και η ζήτηση των ιχθυοτροφών. Για αρκετά εκτρεφόμενα είδη ψαριών υψηλής εμπορικής αξίας, οι τεχνητές ιχθυοτροφές περιέχουν μεγάλες ποσότητες ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων. Την τελευταία δεκαετία, η παγκόσμια παραγωγή των ιχθυαλεύρων έχει μείνει στάσιμη, με αποτέλεσμα η τιμή τους ολοένα να αυξάνεται (Alan 2006). Αυτό συμβαίνει καθώς πλέον η αλιεία πολλών φυσικών ιχθυοπληθυσμών με σκοπό την παραγωγή ιχθυελαίων και ιχθυαλεύρων, δε θεωρείται βιώσιμη δημιουργώντας οικολογικούς προβληματισμούς (Tacon *et al.* 2011). Ένα ακόμη οικολογικό πρόβλημα που δημιουργείται από τη χρήση ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων είναι κάποιες λιπόφιλες τοξικές ουσίες που περιέχουν, όπως είναι τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs), που εκτός από περιβαλλοντικοί ρύποι, έχουν βλαβερές επιδράσεις στα ζώα, αλλά και τον άνθρωπο (Easton *et al.* 2002). Ακόμη, έχουν κατατεθεί απόψεις σχετικά με το πόσο ηθολογικά καίριο είναι να χρησιμοποιούνται τα αλιευμένα ψάρια για την παραγωγή αλεύρων-ζωοτροφών και όχι για απευθείας κατανάλωση (Goldburg & Naylor 2005).

1.5. Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεΐνες φυτικής και ζωικής προέλευσης

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη ενότητα, η συνολική παραγωγή ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων τα τελευταία χρόνια, παραμένει σταθερή. Κυριότερος λόγος είναι η εξάντληση των φυσικών αποθεμάτων που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τους, εξαιτίας της υπεραλίευσης τους. Καθώς όμως η συνολική παραγωγή της ιχθυοκαλλιέργειας αυξάνεται, κρίθηκε απαραίτητο να βρεθούν εναλλακτικές πηγές αντικατάστασης των δύο κύριων συστατικών των ιχθυοτροφών (Tacon 1997). Αρχικά, χρησιμοποιήθηκαν φυτικές ύλες σε διάφορες αναλογίες, καθώς η πλήρης αντικατάσταση των ιχθυαλεύρων δεν έφερε τα ανάλογα αποτελέσματα (Tacon 1997). Απαραίτητη προϋπόθεση για τη χρήση τους, είναι η παρουσία ενός ευνοϊκού προφίλ αμινοξέων για τις διατροφικές απαιτήσεις των εκτρεφόμενων ιχθύων, η υψηλή πεπτικότητα τους, καθώς και οι ελάχιστες περιβαλλοντικές επιπτώσεις που πρέπει να έχουν. Τα προϊόντα φυτικής προέλευσης είναι επίσης φθηνότερα, έχουν συγκολλητικές ιδιότητες, λόγω της ύπαρξης ινωδών ουσιών και περιέχουν αρκετές βιταμίνες του συμπλέγματος Β. Η σόγια, είναι το συστατικό που χρησιμοποιείται περισσότερο, αυξάνοντας την παραγωγή της σε μεγάλο βαθμό τα τελευταία χρόνια, καθώς παρουσιάζει ένα αρκετά ισορροπημένο προφίλ αμινοξέων. Βέβαια, οι συγκεντρώσεις των 10 απαραίτητων αμινοξέων στη σόγια είναι μικρότερες από αυτές του ιχθυαλεύρου. Τα φυτικά προϊόντα, περιέχουν επίσης υψηλή ποσότητα υδατανθράκων και άπεπτων ουσιών, όπως η κυτταρίνη που δεν αφομοιώνονται από τους ιχθύες, δεν είναι το ίδιο εύπεπτα και εύγεστα σε σχέση με τα ζωικά, ιδιαίτερα στα σαρκοφάγα ψάρια. Περιέχουν επίσης, αντιδιατροφικούς παράγοντες που έχουν αρνητικές επιδράσεις για τους ιχθύες (Gatlin 2007).

Πέραν των φυτικών προϊόντων, σε αρχικά στάδια βρίσκεται η έρευνα για τη χρήση αλεύρων ζωικής προέλευσης, όπως κρεατάλευρα, αιματάλευρα, πτηνάλευρα και άλλα είδη που η χρήση τους είναι ύπο διερεύνηση. Το επίπεδο των πρωτεϊνών είναι υψηλό, ενώ το προφίλ των αμινοξέων τους, είναι αρκετά ικανοποιητικό. Έχουν υψηλή γευστικότητα και πεπτικότητα, είναι πλούσια σε βιταμίνη Α ενώ δεν περιέχονται αντι-διατροφικοί παράγοντες. Δυνητικά μπορεί να αποδώσουν καλύτερη και ταχύτερη ανάπτυξη στα ψάρια σε σχέση με άλλες φυτικές πρωτεΐνες, ενώ το κόστος τους είναι χαμηλό καθώς αποτελούν υποπροϊόντα των αντίστοιχων βιομηχανιών. Ένα σημαντικό ζήτημα που τίθεται είναι πλέον η ασφάλεια κατά τη μεταποίηση τους και η τεχνολογία, όπως και το κόστος παραγωγής κατά την επεξεργασία τους.

Μια ακόμη εναλλακτική πηγή θα μπορούσαν να αποτελούν οι φυτοπλαγκτονικοί και ζωοπλαγκτονικοί οργανισμοί ή φύκη, χωρίς βέβαια ακόμη η τεχνολογία να έχει προχωρήσει στη μαζική παραγωγή τους σε ευρεία κλίμακα (Kibria *et al.* 1997). Οι ζωοπλαγκτονικοί οργανισμοί είναι εύκολο να εμπλουτιστούν με θρεπτικά για την καλύτερη ανάπτυξη των ιχθύων. Εκτός από την τεχνολογική γνώση, πρέπει να υπάρχει οικονομική διαχείριση, αποδοχή από τον καταναλωτή και το κυριότερο, να πληρούνται όλες οι προϋποθέσεις για τις διαιτητικές απαιτήσεις των ιχθύων. Τα τελευταία κυρίως χρόνια διεξάγονται έρευνες γύρω από έντομα (Khusro *etal.* 2012), όπως για παράδειγμα το είδος μύγας *Hermetia illuscenes* , για το επίπεδο της πρωτεΐνης που περιέχουν. Μια ακόμη εναλλακτική ιδέα, είναι η εκτροφή ψαριών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ιχθυαλεύρων σε εκτατικές καλλιέργειες, δηλαδή χωρίς τη χορήγηση επιπλέον τροφής, αλλά με αποκλειστική διατροφή από το φυσικό περιβάλλον. Τέλος, τα παραπροϊόντα φιλλετοποίησης ή οποιασδήποτε άλλης επεξεργασίας των ιχθύων και κυρίως τα σπλάχνα, αποτελούν κύριες πηγές ελαίων και

αλεύρων, καθώς έχουν αρκετά χαμηλό έως και μηδενικό κόστος. Σημαντικό είναι πως τα ψάρια αυτά δεν πρέπει να είναι ίδιου είδους με τα εκτρεφόμενα, για την αποφυγή κανιβαλισμού, καθώς και διάφορων ασθενειών.

1.6. Η πρωτεΐνη του πτηναλεύρου και του υδρολυμένου πτεραλεύρου ως συστατικών των ιχθυοτροφών

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη ενότητα η στασιμότητα της παραγωγής του ιχθυαλεύρου αποτελεί κύριο πρόβλημα, καθώς η υψηλότερη ζήτηση οδήγησε σε αύξηση των τιμών. Επιπρόσθετα, το πρόβλημα είναι ότι μελλοντικά δεν θα επαρκούν οι διαθέσιμες ποσότητες για να καλύψουν την παγκόσμια ζήτηση σε ιχθυάλευρα. Ως αποτέλεσμα η σύγχρονη παραγωγή στράφηκε σε εναλλακτικές πηγές πρωτεΐνης, με τις φυτικές πηγές να είναι άμεσα διαθέσιμες, παρουσιάζοντας όμως ελλείψεις στο προφίλ των αμινοξέων, χαμηλή πεπτικότητα, παρουσία αντιδιατροφικών παραγόντων και φυτικών ινών, όπως και χαμηλή διαθεσιμότητα σε φώσφορο (El Sayed 1998). Οι «μεταποιημένες ζωικές πρωτεΐνες (PAP)» είναι πολύτιμες πηγές πρωτεϊνών και θεωρούνται ως εναλλακτικές πηγές πρωτεϊνών στα σιτηρέσια των εκτρεφόμενων ιχθύων. Από την κρίση της σπογγώδους εγκεφαλοπάθειας των βοοειδών (ΣΕΒ) στα τέλη του 2001 στην ΕΕ, η χρήση των μεταποιημένων ζωικών πρωτεϊνών σε ιχθυοτροφές που προορίζονταν για την υδατοκαλλιέργεια και την κτηνοτροφία, είχε απαγορευθεί. Η επανεισαγωγή των PAP σε τροφές στην ΕΕ, από την 1η Ιουλίου 2013, πρόκειται να βοηθήσει την υδατοκαλλιέργεια στην Ευρώπη για την επίλυση μέρους των προβλημάτων των πρώτων υλών. Αξίζει να σημειωθεί, πως τα σημερινά PAP διαφέρουν από τα κρεατάλευρα που χρησιμοποιούνταν πριν το 2001. Με βάση τη

σχετική νομοθεσία τα PAP χαρακτηρίζονται ως υλικά τρίτης κατηγορίας, ενώ τα κρεατάλευρα που χρησιμοποιούνταν παλαιότερα ως υλικά δεύτερης κατηγορίας.

Το υδρολυμένο πετράλευρο είναι μία υψηλής βιολογικής αξίας ζωική πρωτεΐνη που παράγεται από φρέσκα φτερά πουλερικών κρεοπαραγωγής με τη μέθοδο της υδρόλυσης. Είναι κατάλληλο για την παραγωγή ζωοτροφών, ιχθυοτροφών και τροφών κατοικίδιων ζώων. Συγκεκριμένα, το υδρολυμένο πετράλευρο, έχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και ενέργεια. Είναι ελλιπές σε μεθειονίνη, λυσίνη και ιστιδίνη σε σχέση με το ιχθυάλευρο, αλλά περιέχει μεγάλη ποσότητα κυστίνης. Είναι πλούσιο σε νερό και σε διαλυτά αμινοξέα όπως αργινίνη, προλίνη, γλυκίνη και ασπαρτικό οξύ. Η χαμηλή περιεκτικότητα φωσφόρου στο υδρολυμένο πετράλευρο επιτρέπει την προσθήκη περισσότερων επαρκών πηγών φωσφόρου με αποτέλεσμα την καλύτερη πεπτικότητα του και τη χαμηλότερη περιεκτικότητα του στα περιττώματα και λύματα. (Davies *et al.* 2009)

Το πτηνάλευρο παράγεται από υποπροϊόντα πουλερικών, και περιέχει σημαντικές ποσότητες πρωτεϊνών, με τη μορφή πεπτιδίων ή μακρύτερων αλυσίδων. Αυτές οι υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες είναι ιδιαίτερα εύπεπτες, αλλά βελτιώνουν επίσης την ελκυστικότητα και τη γευστικότητα της τροφής. Η παρουσία εύπεπτου P και Ca (η διαθεσιμότητα P μειώνει τη ρύπανση σε ιχθυοκλωβούς) αποτελούν ένα πολύ σημαντικό πλεονέκτημα. Κατά συνέπεια, τα κόπρανα των ψαριών που τρέφονται περισσότερο με ζωικές πρωτεΐνες θα περιέχουν λιγότερο φώσφορο που θα αποβληθεί στο περιβάλλον μειώνοντας την πιθανότητα πρόκλησης ευτροφισμού (Negas *et al.* 1999).

1.7. Σκοπός της έρευνας

Η παρούσα μελέτη στοχεύει στην εξεύρεση εναλλακτικών διατροφικών πηγών, με βάση την πρωτεΐνη του πτηνάλευρου και του υδολυμένου πετράλευρου, για την εκτροφή ψαριών στις ιχθυοκαλλιέργειες. Σκοπός της μελέτης είναι η διερεύνηση της δυνατότητας χρησιμοποίησης των δύο αυτών εναλλακτικών πηγών πρωτεΐνης ως κύρια συστατικά των ιχθυοτροφών της εκτρεφόμενης τσιπούρας (*Sparus aurata*, L).

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Ιχθύδια του είδους *Sparus aurata* με αρχικό μέσο βάρος 2,97g μεταφέρθηκαν, σε ειδικές συσκευασίες με οξυγόνο, από τον ιχθυογεννητικό σταθμό «ΔΙΑΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ Α.Β.Ε.Ε» (Πελασγία Φθιώτιδος) στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος στο Βόλο, όπου και έλαβε χώρα το πείραμα. Από τον αρχικό αριθμό, 1000 ιχθύδια τοποθετήθηκαν σε πειραματικές δεξαμενές και αφέθηκαν να εγκλιματιστούν στις συνθήκες, ενώ ένας αριθμός 100 ιχθυδίων θανατώθηκαν για την πραγματοποίηση χημικών αναλύσεων τόσο στο σώμα, καθώς και στο μυϊκό ιστό αυτών (αρχικό δείγμα). Τα ιχθύδια αφέθηκαν να εγκλιματιστούν στις πειραματικές συνθήκες για 10 ημέρες, όπου σιτίζονταν μία φορά την ημέρα. Το πείραμα διήρκεσε συνολικά 110 ημέρες.

Τα ιχθύδια μετά τον εγκλιματισμό τοποθετήθηκαν σε δεξαμενές κλειστού κυκλώματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού. Οι πειραματικές εγκαταστάσεις αποτελούνταν από 9 γυάλινα ενυδρεία χωρητικότητας 125L το καθένα (διαστάσεων 50x50x50 cm), καθώς επίσης και από 5 συστήματα μηχανικής-βιολογικής διήθησης του νερού (διαστάσεων 30x70x50 cm) για την απομάκρυνση της συνολικής αμμωνίας, των περιττωμάτων και υπολειμμάτων τροφής. Κάθε κλειστό σύστημα, αποτελούνταν από 2 ενυδρεία με ένα φίλτρο τύπου SUB. Το πρώτο στάδιο του φίλτρου (μηχανικό φίλτρο), αποτελούνταν από τμήματα σφουγγαριού και υαλοβάμβακα, με σκοπό την απομάκρυνση των αιωρούμενων στερεών σωματιδίων. Το αμέσως επόμενο στάδιο (βιολογικό φίλτρο), περιείχε μεγάλου μεγέθους και επιφάνειας υλικά, κεραμικής προέλευσης, για την νιτροποίηση του νερού. Το τρίτο και τελευταίο στάδιο

αποτελούνταν από συσκευές Skimmer, όπου επιτελείται η διάσπαση δεσμών των μορίων του νερού από αζωτούχες ενώσεις. Χρησιμοποιήθηκαν ακόμη οξονιστές, (5h / ημέρα) για την καλύτερη δυνατή αποστείρωση του νερού και την απομάκρυνση των βακτηρίων. Σε καθημερινή βάση πραγματοποιούνταν σιφωνισμός του πυθμένα και αντικατάσταση του νερού έως και 10% του συνολικού όγκου των ενυδρείων. Επιπλέον, ανά τακτά χρονικά διαστήματα τοποθετούνταν, τόσο στο νερό του ενυδρείου όσο και μέσα στα φίλτρα, διάλυμα βακτηρίων για τη νιτροποίηση των αζωτούχων οργανικών ενώσεων. Η διάταξη των δεξαμενών καθώς και των φίλτρων απεικονίζεται στην Εικόνα 2.1.



Εικόνα 2.1:Διατάξη δεξαμενών και φίλτρων.

Τα ιχθύδια διαχωρίστηκαν σε 3 διατροφικές ομάδες, λαμβάνοντας η κάθε μία διαφορετικό σιτηρέσιο. Η κάθε διατροφική ομάδα αποτελούνταν από ιχθύδια τα οποία κατανεμήθηκαν σε υπο-ομάδες των 25 ατόμων σε ενυδρεία (3 διατροφικές μεταχειρίσεις, 3 δεξαμενές-επαναλήψεις ανά μεταχείριση, 25 ιχθύδια ανά ενυδρείο).

Οι φυσικοχημικές παράμετροι του νερού ελέγχονταν καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Σε εβδομαδιαία βάση καταγράφονταν μετρήσεις για τη θερμοκρασία του

νερού ($21\text{ }^{\circ}\text{C}$), το pH($8,00 \pm 0,4$), την αλατότητα ($33 \pm 0,5\text{‰}$) και το διαλυμένο οξυγόνο ($>6,5\text{ mg/l}$) με τη χρήση φορητών ηλεκτρονικών οργάνων. Επίσης, σε τακτά χρονικά διαστήματα προσδιορίζονταν η συγκέντρωση της ολικής αμμωνίας ($<0,2\text{ mg/l}$), των νιτρικών και νιτρωδών με χρήση εμπορικών test-kits. Η τεχνητή φωτοπερίοδος που εφαρμόστηκε ήταν 12 ώρες φως – 12 ώρες σκότους με την εναλλαγή να πραγματοποιείται στις 08:00 και 20:00, αντίστοιχα.

2.2. Σιτηρέσια – σίτιση

Τα πειραματικά σιτηρέσια παράχθηκαν με την μέθοδο της κοινής πελλετοποίησης στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος (Θεσσαλία, Βόλος) με τη χρήση πελλετομηχανής τύπου California Pellet Mill και ήταν στη μορφή βυθιζόμενου σύμπηκτου διαμέτρου 1,5 mm. (Εικόνα 2.2).



Εικόνα 2.2: Πειραματικά σιτηρέσια.

Τα τέσσερα πειραματικά σιτηρέσια που χορηγήθηκαν στα ιχθύδια καταρτίστηκαν ώστε να είναι ισοενεργειακά ($23,5\text{ MJ/Kg}$ τροφής) καθώς και ισοπρωτεϊνικά (50% της τροφής). Ως βασική πρωτεϊνική πηγή ζωικής προέλευσης

χρησιμοποιήθηκε υψηλής ποιότητας ιχθυάλευρο (FM), πρωτεΐνης 60%. Το ποσοστό αντικατάστασης της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου ήταν 25%. Για την υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου χρησιμοποιήθηκε πτηνάλευρο και υδρολυμένο πετράλευρο της εταιρίας Darling Ingredients International (Ολλανδία-Βέλγιο) η θρεπτική σύσταση των οποίων δείχνεται στον Πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1: Θρεπτική σύσταση (% νωπής ουσίας) του υδρολυμένου πετράλευρου (FeM) και του πτηναλεύρου (PM).

ΘΡΕΠΤΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ	FeM	PM
	Προφίλ Συστατικού (%)	Προφίλ Συστατικού (%)
Υγρασία	3,70	4,66
Ξηρά Ουσία	96,30	95,34
Πρωτεΐνη	81,49	67,60
Λίπος	7,19	5,48
Υδατάνθρακες	5,84	7,57
Ινώδεις Ουσίες*	0,90	0,00
Τέφρα	1,78	14,69
Ολική Ενέργεια (KJ/g)	23,07	19,42
Kcal/g	5,515	4,641
KJ/g	23,074	19,418
KJ/g (literature)	23,50	24,40

*Οι ινώδεις ουσίες είναι κατ'εκτίμηση από τη βιβλιογραφία.

Πίνακας 2.2: Περιεκτικότητα αμινοξέων (% της πρωτεΐνης) του υδρολυμένου πτεράλευρου και του πτηναλεύρου. (Darling Ingredients Internatiolnal, 2016).

Αμινοξέα	Πτηνάλευρο (%)	Υδρολυμένο πτεράλευρο (%)
Αργινίνη	6,7	6,88
Ιστιδίνη	1,8	0,74
Ισολευκίνη	3,5	4,80
Λευκίνη	6,3	8,21
Λυσίνη	5,7	2,12
Βαλίνη	4,9	7,54
Μεθειονίνη	3	0,70
Φαινυλαλανίνη	3,6	4,91
Θρεονίνη	3,6	4,58
Κυστίνη	3	5,47
Τρυπτοφάνη	0,9	0,57
Αλανίνη		4,38
Γλουταμίνη		10,03

Πίνακας 2.3: Συστατικά και χημική σύσταση (% επί της νωπής ουσίας) των πειραματικών σιτηρεσίων.

Συστατικά (%)	FM	PM25	FeM25
Ιχθυάλευρο	58,0	43,5	43,5
Πτηνάλευρο	0	13,6	0
Πτεράλευρο,υδρολυμένο	0	0	10,8
Γλουτένη καλαμποκιού	19,5	19,3	18,4
Σιτάρι, αλεύρι	10,4	11,6	16,8
Ιχθυέλαιο	11,1	11,0	9,5
Βιταμίνες & ανόργανα στοιχεία	0	0	0,55
Φωσφορικό μονοασβέστιο	0	0	0,25
Βιταμίνη E	0,3	0,3	0,3
Βιταμίνη C	0,3	0,3	0,3
Χημική σύσταση (%)			
Ξηρά ουσία	92,6	92,6	92,0
Ολικές αζωτούχες ουσίες	50,8	50,0	49,9
Ολικές λιπαρές ουσίες	18,4	18,0	15,7
Υδατάνθρακες ¹	14,2	16,1	19,1
Τέφρα	9,2	8,5	7,3
Ενέργεια (MJ/Kg)	23,3	23,2	23,2

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

Μικροσυστατικά που χρησιμοποιήθηκαν ως εμπλουτιστικά των τροφών και διατηρήθηκαν σε σταθερές ποσότητες στα τέσσερα διαφορετικά σιτηρέσια ήταν ένα εμπορικό πρόμιγμα βιταμινών και ανόργανων στοιχείων (για τσιπούρα και λαβράκι) με συμμετοχή 0,6% (Πιν. 2.2) καθώς και οι βιταμίνες E και C σε ποσοστό 0,1%. Παράλληλα, προστέθηκε αντιμυκητιακή ουσία κατά 0,3%, για την αποφυγή ενδεχόμενης ανάπτυξης μυκήτων στις τροφές.

Η χορήγηση της τροφής ήταν με το χέρι , 2 φορές την ημέρα, καθημερινά καιλάμβανε χώρα στις 11 π.μ. και στις 17μ.μ.Η σίτιση ήταν μέχρι φαινόμενου κορεσμού (*ad libitum*).

Πίνακας 2.4: Η σύσταση του προμίσματος βιταμινών και ανόργανων στοιχείων.

Συστατικά	Ποσότητα (mg) / Kg προμίσματος
Βιταμίνες	
Βιταμίνη E (90% α-τοκοφερολη)	58.333
Βιταμίνη K3	3.333
Βιταμίνη B1	3.333
Βιταμίνη B2	6.666
Βιταμίνη B6	3.333
Βιταμίνη B12	10
Νικοτινικό οξύ	16.666
Παντοθενικό οξύ	13.333
Φολικό οξύ	3.333
Βιοτίνη	100
Βιταμίνη C (μορφή StayC)	33.333

Ανόργανα στοιχεία	
Μαγγάνιο (οξείδιο)	10.000
Ψευδάργυρος (οξείδιο)	33.333
Ιωδιούχο ασβέστιο (62% Ca)	400
Σεληνιώδες νάτριο (1% σελήνιο)	84
Ανθρακικό κοβάλτιο (51% κοβάλτιο)	333
Άλλες ουσίες	
Αντιοξειδωτικό BHT E321	333
Άλευρο για μίξη	416.666

2.3 Δειγματοληψίες

Η εκτροφή των ιχθυδίων διήρκησε 109 ημέρες. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου πραγματοποιήθηκαν 4 μετρήσεις βάρους: στην έναρξη του πειράματος, την 30^η, την 62^η και μία τελική την 109^η ημέρα. Το ολικό μήκος των ιχθύων μετρήθηκε μόνο την πρώτη και την τελευταία ημέρα του πειράματος. Για την αναισθητοποίηση των ψαριών χρησιμοποιήθηκε φαινοξυαιθανόλη σε συγκέντρωση 0,10 ml/l. Στη συνέχεια, ζυγίζονταν ατομικά κάθε ιχθύδιο σε ζυγό ακριβείας 2 δεκαδικών ψηφίων (0,01 g) και μετρούνταν το ολικό μήκος με ιχθυόμετρο (ακρίβεια 0,1 cm). Στην τελική μέτρηση (110^η ημέρα) τα ψάρια θανατώθηκαν παρατείνοντας την παραμονή τους στο αναισθητικό αυξανόμενης δοσολογίας και άμεσης τοποθέτησης τους σε πάγο. Πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις βάρους και μήκους και στη συνέχεια επιλέχθηκαν τυχαία 4 ψάρια από κάθε δεξαμενή (12 ψάρια συνολικά), αποθηκεύτηκαν και συντηρήθηκαν στους -20°C με σκοπό τη χημική ανάλυση της θρεπτικής σύστασης του

σώματος τους (ολόκληρο σώμα). Επίσης πραγματοποιήθηκε φιλετοποίηση 10 ατόμων ανά σιτηρέσιο με σκοπό την χημική ανάλυση του μυϊκού ιστού.

Ακολούθησε τομή στην κοιλιακή χώρα 2 ατόμων από κάθε δεξαμενή (6 άτομα ανά σιτηρέσιο) με σκοπό την ζύγιση και συλλογή του ήπατος για πραγματοποίηση των χημικών αναλύσεων αυτού (αποθήκευση και ψύξη στους -20°C).

2.4 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

2.4.1 Θνησιμότητα

Η καταγραφή της θνησιμότητας πραγματοποιούνταν σε καθημερινή βάση για κάθε δεξαμενή ξεχωριστά και συνολικά έως το τέλος του διατροφικού πειράματος. Ο τύπος υπολογισμού της είναι:

$$\text{Θνησιμότητα \%} = (\text{αρχικός αριθμός ψαριών} + \text{τελικός αριθμός ψαριών}) / 2 * 100$$

2.4.2 Αύξηση ολικού βάρους ψαριών

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

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

2.4.3 Ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους

Το ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους αντιπροσωπεύει την εκατοστιαία (%) αύξηση του βάρους σώματος και υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Ποσοστό αύξησης βάρους (\%)} = [(W_{\text{τελικό}} - W_{\text{αρχικό}}) / W_{\text{αρχικό}}] * 100$$

2.4.4 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

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

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

Όπου,

$\text{Ln}(W_2)$ = ο φυσικός λογάριθμος του τελικού ολικού βάρους

$\text{Ln}(W_1)$ = ο φυσικός λογάριθμος του αρχικού ολικού βάρους

2.4.5 Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής

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

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

2.4.6 Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών

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

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

2.4.7 Συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης

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

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

$$\begin{aligned} \text{Όπου μεταβολή πρωτεΐνης (g)} &= (\text{τελική περιεκτικότητα πρωτεΐνης, \%} \times \text{τελικό βάρος, g}) \\ &- (\text{αρχική περιεκτικότητα πρωτεΐνης, \%} \times \text{αρχικό βάρος, g}). \end{aligned}$$

2.4.8 Σωματομετρικοί δείκτες

Οι σωματομετρικοί δείκτες που υπολογίστηκαν ήταν: ο ηπατοσωματικός δείκτης (Hepatosomatic index, HSI), ο ενδοσπλαχνικός δείκτης (Viscerosomatic index, VSI) και ο δείκτης ευρωστίας (K):

$$HSI = \text{Βάρος ήπατος} \times 100 / \text{Βάρος σώματος (εκτός εντόσθιων, ήπατος)}$$

$$VSI = \text{Βάρος εντόσθιων} \times 100 / \text{Βάρος σώματος (εκτός εντόσθιων, ήπατος)}$$

$$K = \text{Ολικό βάρος σώματος} \times 100 / \text{Ολικό μήκος}^3$$

2.5 Χημικές αναλύσεις

2.5.1 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών στα πειραματικά σιτηρέσια, στον μυϊκό ιστό και ολόκληρο το σώμα των ψαριών έγινε με την μέθοδο εκχύλισης Soxhlet (AOAC 1995) Σε γυάλινα δοχεία εκχύλισης προστέθηκαν 3 πέτρες βρασμού και καταγράφηκε το βάρος τους σε ζυγό ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων. Στην συνέχεια

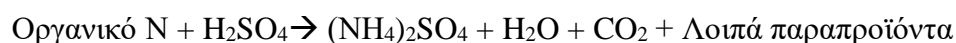
εφαρμόστηκαν στα δοχεία χάρτινοι ηθμοί. Ζυγίστηκε ποσότητα δείγματος βάρους 2g και μεταφέρθηκε στο χάρτινο δοχείου ηθμού. Το δείγμα του ιστού, και της τροφής σε κάποιες περιπτώσεις, πρέπει να είναι ξηραμένη και αλεσμένη. Η ξήρανση πραγματοποιείται σε φούρνο στους 105°C για περίπου 24h (μέχρι σταθεροποίησης του βάρους του δείγματος). Στο γυάλινο δοχείο εκχύλισης προστέθηκαν 150ml πετρελαϊκού αιθέρα, στον οποίο εμβαπτίστηκαν τα χάρτινα δοχεία ηθμού με το δείγμα. Τα γυάλινα δοχεία εκχύλισης μαζί με τους χάρτινους ηθμούς μεταφέρθηκαν σε ειδική συσκευή εκχύλισης λιπαρών ουσιών (συσκευή Soxhlet). Κατά τη διαδικασία της εκχύλισης, τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 150 °C υπό την παρουσία του οργανικού διαλύτη, όπου έλαβε χώρα το πρώτο στάδιο της εκχύλισης. Έπειτα, ο οργανικός διαλύτης απορροφήθηκε και εκπλύθηκε στο δείγμα για 1,5h, όπου έλαβε χώρα το δεύτερο στάδιο της εκχύλισης. Κατόπιν, απορροφήθηκε ο διαλύτης για 15min με αποτέλεσμα τα ολικά λιπίδια του δείγματος να παραμείνουν στον πάτο του δοχείου εκχύλισης. Για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων πετρελαϊκού αιθέρα τα δοχεία (χωρίς τους χάρτινους ηθμούς) μεταφέρθηκαν στο φούρνο για 15min στους 105°C. Στην συνέχεια τοποθετήθηκαν σε αφυγραντήρα για 1h το λιγότερο και πάρθηκαν οι μετρήσεις βάρους. Το καθαρό βάρος των λιπαρών ουσιών δίνεται από τον τύπο:

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

2.5.2 Προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων

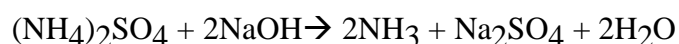
Ο προσδιορισμός των ολικών αζωτούχων ουσιών των πειραματικών σιτηρεσίων, του μυϊκού ιστού και ολόκληρου του σώματος των ψαριών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC 1995) Η διαδικασία προσδιορισμού των αζωτούχων ενώσεων έχει ως εξής:

Σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων ζυγίστηκαν δείγματα τροφών - μυϊκών ιστών βάρους 0,2g (3 επαναλήψεις για κάθε δείγμα) και μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πέψης. Προστέθηκαν 2 ταμπλέτες καταλύτη Kjeltabs (5gPotassiumSulphateK₂SO₄ και 5gcopper (II) SulphateCuSO₄, 5H₂O) για να επιταχυνθεί η αντίδραση της πέψης. Στην συνέχεια, προστέθηκαν στα δείγματα 15ml πυκνού θεικού οξέως (H₂SO₄) και τοποθετούνται στην συσκευή πέψης Kjelttec 2000. Η διαδικασία της πέψης πραγματοποιείται στους 150°C για 85min. Με την συσκευή πέψης επιτυγχάνεται το βράσιμο των δειγμάτων και με την βοήθεια του πυκνού θεικού οξέως πραγματοποιείται διάσπαση των αζωτούχων ενώσεων. Το αδέσμευτο άζωτο (N) δεσμεύεται με την μορφή θεικού αμμωνίου (άλας), με την εξής αντίδραση:



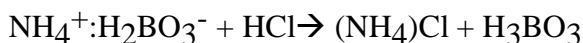
Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία της πέψης τα δείγματα αφήνονται να κρυσώσουν για 15min

Κατόπιν, τα δείγματα τοποθετούνται σε συσκευή απόσταξης, στην οποία προστίθενται 100 ml αποσταγμένου H₂O, 80 ml NaOH και 50 ml H₃BO₃. Η διαδικασία διαρκεί 6min. Το θεικό αμμώνιο, που είχε παραχθεί κατά την διαδικασία της πέψης, αντιδρά με υδροξείδιο του νατρίου (NaOH) και αποδεσμεύεται αμμωνία (σε αέρια μορφή) και θεικό νάτριο (Na₂SO₄). Η αμμωνία (NH₄) έπειτα αντιδρά με βορικό οξύ (H₃BO₄) και το άζωτο του δείγματος δεσμεύεται σε μορφή βορικού αμμωνίου, σύμφωνα με τις εξής αντιδράσεις:



Το βορικό αμμώνιο συγκεντρώνεται σε κωνική φιάλη που περιείχε 4 σταγόνες ερυθρού του μεθυλενίου (δείκτη pH).

Το τελικό στάδιο της διαδικασίας αποτελεί η τιτλοδότησης του διαλύματος βορικού αμμωνίου με αραιό διάλυμα υδροχλωρικού οξέως (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:

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

2.5.3 Προσδιορισμός τέφρας

Σε πυρίμαχα δοχεία ζυγίστηκε δείγμα (ιστού ή τροφής) βάρους 1,5g, σε ζυγαριά ακρίβειας 4 δεκαδικών ψηφίων. Στην συνέχεια τοποθετούνται τα δείγματα στον αποτεφρωτήρα, η διαδικασία πραγματοποιείται στους 600°C για 24h. (AOAC 1990) Μετά το πέρας του εικοσιτετραώρου τα δείγματα μένουν για 1h ώστε να κρυώσουν. Στην συνέχεια πάρθηκαν μετρήσεις βάρους των δειγμάτων. Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε τέφρα (%) υπολογίζεται με τον εξής τύπο:

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

2.5.4 Προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας

Ο προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας στα πειραματικά σιτηρέσια, στο μυϊκό ιστό και ολόκληρο το σώμα των ψαριών πραγματοποιήθηκε με την συλλογή δειγμάτων, αντίστοιχα, βάρους 1,5g και ακολούθως την ξήρανση των δειγμάτων σε φούρνο για 24 ώρες στους 105°C. (AOAC 1995) Στην συνέχεια, αφού πέρασε ο χρόνος

ξηράνσης, τα δείγματα βγήκαν από το φούρνο και τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 5min ώστε να ψυχθούν. Το ποσοστό της υγρασίας/ ξηρής ουσίας υπολογίζεται ως εξής:

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

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

Όμοια,

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

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

2.6 Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα των παραμέτρων ανάπτυξης των ψαριών, αξιοποίησης της τροφής καθώς και των μεταβολών στη χημική σύσταση του μυϊκού ιστού και ολόκληρου του σώματος των ψαριών ελέγχθηκαν ως προς την κανονικότητα των κατανομών τους μέσω του Shapiro-Wilk test και για την ομοιομορφία των παραλλακτικότητων των μέσων όρων τους μέσω του Levene's test. Κατόπιν, επεξεργάστηκαν με τη μέθοδο της Ανάλυσης της Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (one-wayANOVA) και οι διαφορές κρίθηκαν στατιστικά σημαντικές για τιμές $P < 0,05$. Στις περιπτώσεις όπου η ANOVA έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές, τα δεδομένα υποβλήθηκαν στο Tukey's test για τον εντοπισμό των διαφορών μεταξύ των διαφορετικών μεταχειρίσεων (Zar 1999).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Θνησιμότητα:

Σε όλη τη διάρκεια του πειράματος, σημειώθηκαν θνησιμότητες, οι οποίες δε σχετίζονται με τα πειραματικά σιτηρέσια (Πίνακας 3.1). Καταγράφηκε ποσοστό θνησιμοτήτων $8,0 \pm 4,0\%$ για την ομάδα FM, ενώ $1,33 \pm 2,31\%$ για την ομάδα PM25 και $4,0 \pm 4\%$ για την ομάδα FeM25. Η στατιστική επεξεργασία με την μέθοδο one-way ANOVA έδειξε ότι η θνησιμότητα των ψαριών δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών ομάδων ($P < 0,05$).

Πίνακας 3.1: Θνησιμότητα (%) των 3 διατροφικών ομάδων. (Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση).

	FM	PM25	FeM25
Θνησιμότητα %	$8,0 \pm 4,0^a$	$1,33 \pm 2,31^a$	$4,0 \pm 4,0^a$

3.2. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

3.2.1. Κατά την έναρξη του πειράματος:

Στην αρχή του πειράματος τα ιχθύδια της ομάδας FM είχαν αρχικό μέσο βάρος $2,97 \pm 0,01$ g , ενώ στη διατροφική ομάδα PM25 είχαν $2,97 \pm 0,00$ g και στην ομάδα FeM25 $2,98 \pm 0,02$ g (Πιν. 3.2.1). Αντίστοιχα, το αρχικό μήκος ήταν $6,3 \pm 0,00$ για την ομάδα FM, $6,4 \pm 0,00$ για την ομάδα PM25 και $6,3 \pm 0,00$ για την ομάδα FeM25.

Πίνακας 3.2.1: Αρχικό μέσο βάρος (g) και μέσο μήκος (cm) των ιχθυδίων ανά διατροφική ομάδα. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους και τυπικές αποκλίσεις.

	FM	PM25	FeM25
Αρχικό βάρος (g)	2,97 ± 0,01	2,97 ± 0,00	2,98 ± 0,02
Αρχικό μήκος (cm)	6,3 ± 0,00	6,4 ± 0,00	6,3 ± 0,00

3.2.2. Κατά την 30^η ημέρα πειράματος

Η μέση αύξηση του βάρους (Πιν 3.2.2) κατά την 30^η ημέρα του πειράματος ήταν $9,57 \pm 0,25$ g για τα άτομα της ομάδας FM, $10,03 \pm 1,08$ g για τα άτομα της δεύτερης διατροφικής μεταχείρισης PM25 και $8,54 \pm 0,39$ g για τα άτομα της ομάδας FeM25. Να σημειωθεί πως δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$) μεταξύ των ομάδων. Αναφορικά με τον συντελεστή της μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR), η μέση τιμή του για την πρώτη διατροφική μεταχείριση (FM) μετρήθηκε $1,23 \pm 0,02$. Για τη διατροφική ομάδα PM25 η τιμή του FCR ήταν $1,19 \pm 0,12$ ενώ για την ομάδα FeM25 ήταν $1,34 \pm 1,12$. Οι τιμές δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ($P > 0,05$), ενώ τη μικρότερη τιμή FCR παρατηρήθηκε στην ομάδα PM25. Η μέση τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR) ήταν $3,91 \pm 0,10$ g/ημέρα για τη διατροφική ομάδα FM, $4,04 \pm 0,38$ g/ημέρα για τη διατροφική ομάδα PM25 ενώ για τη διατροφική ομάδα FeM25 ήταν $3,51 \pm 0,15$ g/ημέρα. Οι τιμές δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ($P > 0,05$) μολονότι η τιμή της ομάδας FeM25 ήταν εμφανώς χαμηλότερη.

Πίνακας 3.2.2: Αύξηση βάρους και παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής ανα διατροφική ομάδα την 30^η ημέρα πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους και τυπικές αποκλίσεις.

	FM	PM25	FeM25
Αύξηση Βάρους (g)	9,57 ± 0,25 ^a	10,03 ± 1,08 ^a	8,54 ± 0,39 ^a
FCR	1,23 ± 0,02 ^a	1,19 ± 0,11 ^a	1,34 ± 0,12 ^a
SGR (g/ημέρα)	3,91 ± 0,10 ^a	4,04 ± 0,38 ^a	3,51 ± 0,15 ^a

3.2.3. Κατά την 62^η ημέρα του πειράματος

Κατά την 62^η ημέρα του πειράματος (Πιν. 3.2.3.), η μέση τιμή του βάρους της ομάδας FM ήταν $20,00 \pm 2,30$ g, ενώ της ομάδας PM25 ήταν $22,06 \pm 2,64$ g και της ομάδας FeM25 ήταν $8,54 \pm 0,39$ g. Το τελικό βάρος ήταν παρόμοιο ($P > 0,05$) μεταξύ των ομάδων, με την ομάδα FeM25 να παρουσιάζει ελαφρώς χαμηλότερη τιμή. Η μέση τιμή του συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) κατά την 62^η ημέρα του πειράματος, εκτιμήθηκε για την ομάδα FM για $1,28 \pm 0,12$, ενώ για την ομάδα PM25 υπολογίστηκε για $1,21 \pm 0,09$ και τέλος για την ομάδα FeM 25 ήταν $1,39 \pm 0,18$. Οι τιμές δε διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους, ενώ η χαμηλότερη τιμή FCR ανήκει στην ομάδα PM25. Η μέση τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR) για την ομάδα FM ήταν $3,07 \pm 0,19$, ενώ για την ομάδα PM25 η τιμή υπολογίστηκε για $3,22 \pm 0,20$ και τέλος για την ομάδα FeM25 ήταν $2,88 \pm 0,19$. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι οι τιμές δε διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους.

Πίνακας 3.2.3: Αύξηση βάρους και παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής ανα διατροφική ομάδα την 62^η ημέρα πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους και τυπικές αποκλίσεις. (Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων).

	FM	PM25	FeM25
Τελικό βάρος (g)	20,00 \pm 2,30 ^a	22,06 \pm 2,64 ^a	17,82 \pm 2,10 ^a
FCR	1,28 \pm 0,12 ^a	1,21 \pm 0,09 ^a	1,39 \pm 0,18 ^a
SGR	3,07 \pm 0,19 ^a	3,22 \pm 0,20 ^a	2,88 \pm 0,19 ^a

3.2.4. Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος

Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος (Πιν. 3.2.4), η μέση αύξηση του βάρους (WG), για την ομάδα FM ήταν $38,45 \pm 1,16$, ενώ για την ομάδα PM25 ήταν $37,68 \pm 3,54$ και τέλος για την ομάδα FeM25 ήταν $31,54 \pm 2,75$. Έπειτα από τη στατιστική ανάλυση, η μεγαλύτερη τιμή ήταν στην ομάδα FM και διέφερε σημαντικά με την ομάδα FeM25. Η ομάδα PM25 δε διέφερε σημαντικά με καμία από τις δύο ομάδες. Το ολικό μήκος (TL) ήταν συγκριτικά παρόμοιο και στις τρεις ομάδες, καθώς δε διέφεραν στατιστικά. Η ομάδα FM είχε μέσο ολικό μήκος $13,8 \pm 0,2$ cm, για την διατροφική ομάδα PM25 ήταν $13,8 \pm 0,1$ cm και τέλος για την ομάδα FeM25 ήταν $13,1 \pm 0,3$ cm. Το μέσο βάρος της διατροφικής ομάδας FM κατά την ολοκλήρωση του πειράματος υπολογίστηκε για $41,42 \pm 1,17$ g και διέφερε στατιστικά από την διατροφική ομάδα του FeM25 όπου το τελικό μέσο βάρος ήταν $41,47 \pm 2,76$ g. Η ομάδα PM25 δε διέφερε σημαντικά με καμία από τις δύο ομάδες ενώ το τελικό μέσο βάρος των ιχθύων αυτής της ομάδας υπολογίστηκε για $40,66 \pm 3,54$.

Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος, υπολογίστηκε επίσης η μέση τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης και για τις τρεις διατροφικές ομάδες. Για την ομάδα FM το SGR ήταν $4,25 \pm 0,04$ g/ημέρα, ενώ για την ομάδα PM25 ήταν $4,21 \pm 0,14$ g/ημέρα και τέλος για την ομάδα FeM25 ήταν $4,26 \pm 0,12$ g/ημέρα. Η ομάδα FM και FeM25 διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους με βάση τη στατιστική ανάλυση που έγινε. Η ομάδα PM25 δε διέφερε στατιστικά με τις άλλες δύο ομάδες. Η μέση τιμή του συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής για την διατροφική ομάδα FM υπολογίστηκε για $1,26 \pm 0,01$. Για την ομάδα PM25 ήταν $1,29 \pm 0,07$ και για την ομάδα FeM25 ήταν $1,28 \pm 0,13$. Η στατιστική ανάλυση δεν έδειξε σημαντικές στατιστικές διαφορές, ενώ η μικρότερη τιμή άνηκε στην ομάδα FM και η μεγαλύτερη στην ομάδα PM25.

Ο συντελεστής αποδοτικότητας της πρωτεΐνης (PER), καθώς και ο συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης (PR) ήταν μικρότεροι για τα ψάρια της ομάδας FeM25 σε σχέση με τις άλλες ομάδες.

Πίνακας 3.2.4: Παράμετροι ανάπτυξης, κατανάλωσης και αξιοποίησης τροφής των τριών διαφορετικών ομάδων κατά την ολοκλήρωση του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση.

	FM	PM25	FeM25
Ολική βιομάζα (g)	952,17 \pm 34,90 ^{ab}	1001,89 \pm 71,94 ^a	828,21 \pm 72,53 ^b
Αύξηση βάρους (g)	38,45 \pm 1,16 ^a	37,68 \pm 3,54 ^{ab}	31,54 \pm 2,75 ^b
Ολικό μήκος (cm)	13,8 \pm 0,2 ^a	13,8 \pm 0,1 ^a	13,1 \pm 0,3 ^a
Ολικό βάρος (g)	41,42 \pm 1,17 ^a	40,66 \pm 3,54 ^{ab}	34,52 \pm 2,76 ^b
SGR (g/ημέρα)	4,25 \pm 0,04 ^a	4,21 \pm 0,14 ^{ab}	3,95 \pm 0,12 ^b
FCR	1,26 \pm 0,01 ^a	1,29 \pm 0,07 ^a	1,43 \pm 0,13 ^a
PER	1,46 \pm 0,01 ^a	1,44 \pm 0,08 ^a	1,29 \pm 0,11 ^a
Διατήρηση πρωτεΐνης (PR %)	28,46 \pm 0,21 ^a	26,96 \pm 1,50 ^{ab}	23,91 \pm 1,96 ^b

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

3.2.5. Σωματομετρικοί δείκτες:

Ο ηπατοσωματικός δείκτης (HSI) υπολογίστηκε στο τέλος του διατροφικού πειράματος για το σύνολο των ιχθυδίων (Πιν. 3.2.5). Στην διατροφική ομάδα FMο ηπατοσωματικός δείκτης ήταν $1,92 \pm 0,36$. Για την διατροφική ομάδα PM25 ο δείκτης ήταν $1,11 \pm 0,40$, για την διατροφική ομάδα FeM25 η τιμή του δείκτη ήταν $1,76 \pm 0,36$. Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι η τιμή του δείκτη για την ομάδα PM25 είναι σημαντικά μικρότερη ($P < 0,05$) σε σχέση με τις τιμές των λοιπών μεταχειρίσεων, ενώ η μέγιστη τιμή καταγράφηκε για την ομάδα FM.

Ο ενδοσπλαχνικός δείκτης (VSI) υπολογίστηκε στο τέλος του διατροφικού πειράματος για το σύνολο των ιχθυδίων (Πιν. 3.2.5). Η τιμή του δείκτη για τα ψάρια της ομάδας FM ήταν $7,02 \pm 0,88$, για την ομάδα PM25 ήταν $6,41 \pm 0,97$ και τέλος για την ομάδα FeM25 ήταν $7,14 \pm 0,70$. Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι η τιμή του δείκτη για την ομάδα PM25 είναι η στατιστικά μικρότερη ($P < 0,05$) σε σχέση με τις άλλες δύο ομάδες, ενώ οι τιμές δε διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους.

Η τιμή για τον δείκτη ευρωστίας των ψαριών που διατράφηκαν με FM ήταν $1,58 \pm 0,06$, για την ομάδα PM25 ήταν $1,55 \pm 0,05$ και για την ομάδα FeM25 ήταν $1,54 \pm 0,05$. Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι οι τιμές δε διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους.

Πίνακας 3.2.5: Ηπατοσωματικός δείκτης (HSI), ενδοσπλαχνικός δείκτης (VSI) και δείκτης ευρωστίας (K) των ιχθύων ανά διατροφική ομάδα. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους και τυπικές αποκλίσεις.

	FM	PM25	FeM25
HSI	$1,96 \pm 0,36^a$	$1,11 \pm 0,40^b$	$1,76 \pm 0,36^a$
VSI	$7,02 \pm 0,88^a$	$6,41 \pm 0,97^a$	$7,14 \pm 0,70^a$
K	$1,58 \pm 0,06^a$	$1,55 \pm 0,05^a$	$1,54 \pm 0,05^a$

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

3.3. Θρεπτική σύσταση μυϊκού ιστού και σώματος

Οι θρεπτικές συστάσεις του μυϊκού ιστού (Πιν. 3.3.1) και ολόκληρου του σώματος (Πιν. 3.3.2) υπολογίστηκαν στο τέλος του πειράματος. Σχετικά με τις αναλύσεις του μυϊκού ιστού των ιχθύων, η μέση τιμή για τις ολικές αζωτούχες ουσίες για την ομάδα FM ήταν $75,22 \pm 2,10\%$ και δε διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ

των άλλων ομάδων που διέφεραν μεταξύ τους. Για την ομάδα PM25 υπολογίστηκε $78,36 \pm 3,31\%$, ενώ για την FeM25 $72,91 \pm 3,86\%$. Η μέση περιεκτικότητα του λίπους για την ομάδα FM ήταν $21,08 \pm 2,24\%$, για την ομάδα PM25 ήταν $16,35 \pm 4,62\%$ και τέλος για την ομάδα FeM25 ήταν $20,32 \pm 4,40\%$. Οι τιμές διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους, ενώ η μεγαλύτερη τιμή άνηκε στην ομάδα FM και η μικρότερη στην ομάδα PM25. Η μέση περιεκτικότητα του μυϊκού ιστού των ιχθύων σε υγρασία ήταν για την ομάδα των FM $71,88 \pm 1,52\%$, ενώ για την ομάδα PM25 ήταν $73,19\%$ και τέλος για την ομάδα των FeM25 ήταν $73,21 \pm 0,79\%$. Οι τιμές δε διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους. Υπολογίστηκαν επίσης οι τιμές της ενέργειας, όπου οι ομάδες δε διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους. Αναφορικά με τις μετρήσεις της τέφρας παρατηρήθηκαν διαφορές με τη διατροφική ομάδα των FM να παρουσιάζει τη χαμηλότερη τιμή και την ομάδα των FeM25, την υψηλότερη.

Πίνακας 3.3.1: Θρεπτική σύσταση του μυϊκού ιστού των ιχθύων, ανά διατροφική ομάδα στο τέλος του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους και τυπικές αποκλίσεις. Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Θρεπτική σύσταση μυϊκού ιστού	FM	PM25	FeM25
Πρωτεΐνη (%)	$75,22 \pm 2,10^{ab}$	$78,36 \pm 3,31^a$	$72,91 \pm 3,86^b$
Λίπος (%)	$21,08 \pm 2,24^a$	$16,35 \pm 4,62^b$	$20,32 \pm 4,40^{ab}$
Υγρασία (%)	$71,88 \pm 1,52^a$	$73,19 \pm 1,41^a$	$73,21 \pm 1,81^a$
Ενέργεια (%)	$25,09 \pm 0,58^a$	$24,33 \pm 1,07^a$	$25,21 \pm 0,79^a$
Τέφρα (%)	$4,95 \pm 0,20^b$	$5,42 \pm 0,32^a$	$5,14 \pm 0,28^a$

Η μέση περιεκτικότητα των ολικών αζωτούχων ουσιών σε ολόκληρο το σώμα των ιχθύων ήταν παρόμοια και στις τρεις διατροφικές ομάδες. Στην ομάδα FM το ποσοστό υπολογίστηκε $54,67 \pm 6,75\%$, στην ομάδα PM25 ήταν $50,62\%$ και τέλος στην ομάδα FeM25 ήταν $50,34 \pm 5,10\%$. Και οι μέσες τιμές του λίπους των τριών ομάδων δε διέφεραν στατιστικά. Για την ομάδα FM υπολογίστηκε ποσοστό $35,66 \pm 4,18\%$, για τη διατροφική ομάδα των PM25 $63,02 \pm 5,23\%$ και τέλος για την ομάδα FeM25 $34,12 \pm 6,25\%$. Η μεγαλύτερη τιμή άνηκε στην ομάδα των PM25, ενώ η μικρότερη στη FeM25. Η μέση τιμή της υγρασίας των ολικών σωμάτων ήταν για τη διατροφική ομάδα των FM $67,41 \pm 1,59\%$, για την ομάδα των PM25 $66,43 \pm 1,66\%$ και τέλος για την ομάδα των FeM25 $66,96 \pm 1,56\%$. Οι τιμές δε διέφεραν μεταξύ των ομάδων σημαντικά.

Στον πίνακα 3.3.2 υπολογίστηκαν οι τιμές της ενέργειας και της τέφρας των ολικών σωματών των ιχθύων και των τριών διατροφικών ομάδων, χωρίς να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.

Πίνακας 3.3.2: Θρεπτική σύσταση ολόκληρου του σώματος των ιχθύων, ανά διατροφική ομάδα στο τέλος του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους και τυπικές αποκλίσεις. Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Θρεπτική σύσταση ολόκληρου του σώματος	FM	PM25	FeM25
Πρωτεΐνη (%)	54,67 ± 6,75 ^a	50,62 ± 4,52 ^a	50,34 ± 5,10 ^a
Λίπος (%)	35,66 ± 4,18 ^a	36,02 ± 5,23 ^a	34,12 ± 6,25 ^a
Υγρασία (%)	67,41 ± 1,59 ^a	66,43 ± 1,66 ^a	66,96 ± 1,56 ^a
Ενέργεια (%)	26,20 ± 0,76 ^a	26,25 ± 1,03 ^a	26,51 ± 0,78 ^a
Τέφρα (%)	10,87 ± 1,23 ^a	11,32 ± 2,34 ^a	10,24 ± 0,88 ^a

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. Θνησιμότητα

Με βάση τα αποτελέσματα του πειράματος, τα δύο πειραματικά σιτηρέσια αντικατάστασης ιχθυαλεύρου με 25% πτηνάλευρο (PM 25%) και 25% υδρολυμένο πετράλευρο (FeM 25%) δεν επηρέασαν την επιβίωση των ατόμων. Από εδώ συμπεραίνουμε πως και οι δύο αυτές μεταποιημένες πρωτεΐνες μπορούν να αντικαταστήσουν την πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου στο σιτηρέσιο τσιπούρας σε ποσοστό 25% , χωρίς να επιφέρουν διατροφικές θνησιμότητες. Σε παρόμοιες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σε άλλα είδη, τα αποτελέσματα έδειξαν πως η χαμηλή υποκατάσταση ιχθυαλεύρου δεν επηρεάζει σημαντικά την επιβίωση των ιχθύων που σιτίστηκαν με αυτά.

Ο El Sayed (1998), αντικατέστησε σε ποσοστό 30% το ιχθυάλευρο με υποπροϊόντα πτηνάλευρου, αιματάλευρου και οστεο-κρεατάλευρου χωρίς να υπάρξουν επιπτώσεις στην επιβίωση της Τιλάπιας του Νείλου (*Oreochromis niloticus*, L.). Οι Rossi & Davis (2012), εξέτασαν την υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου με υποπροϊόντα πτηναλεύρου σε ποσοστό 85%, 90%, 95% και 100% στο είδος *Trachinotus carolinus*. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως το ποσοστό επιβίωσης δεν επηρεάστηκε από τη χρήση του πτηνάλευρου σε όλα τα ποσοστά αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου. Οι Fuertes *et al.* (2014), σε πείραμα με νεαρά άτομα караβίδας (*P. lenisculus*) αντικατέστησαν το ιχθυάλευρο με υδρολυμένο πετράλευρο σε ποσοστό 15%, 25% και 35%. Η προτεινόμενη από τους συγγραφείς αντικατάσταση ήταν σε ποσοστό 15%, ενώ οι θνησιμότητες στο τέλος του πειράματος δε διέφεραν σημαντικά με σιτηρέσιο ελέγχου (100% FM).

4.2. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

Οι παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής της τσιπούρας δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τη διαφορετική πηγή ζωικής πρωτεΐνης κατά τους δύο πρώτους μήνες του διατροφικού πειράματος. Ωστόσο, έπειτα από 110 ημέρες σίτισης, οι ιχθύες που διατράφηκαν με υδρολυμένο πετράλευρο (FeM25) παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερη αύξηση βάρους και ειδικό ρυθμό ανάπτυξης, αν και ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής παρέμεινε ανεπηρέαστος. Πιθανώς, το γεγονός αυτό οφείλεται στη χαμηλότερη περιεκτικότητα των αμινοξέων ιστιδίνης, λυσίνης και μεθειονίνης στο υδρολυμένο πετράλευρο, συγκριτικά με τις απαιτήσεις της τσιπούρας, όπως δείχθηκε στον Πίνακα 2.2. Η αντικατάσταση της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου κατά 25% από πτηνάλευρο στο σιτηρέσιο τσιπούρας δεν οδήγησε σε μειωμένο ρυθμό ανάπτυξης των ιχθύων και σε υποβάθμιση της αποδοτικότητας της τροφής από αυτά, καθώς το ποσοστό των αμινοξέων του πτηνάλευρου ικανοποιεί τις απαιτήσεις του είδους στα απαραίτητα αμινοξέα.

Η διατήρηση της πρωτεΐνης στα άτομα που διατράφηκαν με υδρολυμένο πετράλευρο ήταν χαμηλότερη, παρά το γεγονός ότι και τα τρία σιτηρέσια ήταν ισοπρωτεϊνικά, με τον συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής να παραμένει σταθερός. Από την άλλη ο συντελεστής αποδοτικότητας των πρωτεϊνών δε παρουσίασε διαφορές μεταξύ των ομάδων. Είναι λοιπόν πιθανό, η πεπτικότητα του υδρολυμένου πετράλευρου να είναι χαμηλότερη σε σχέση με την πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου και του πτηνάλευρου. Για να αποσαφηνιστεί το συγκεκριμένο συμπέρασμα χρειάζονται περαιτέρω μελέτες. Ακόμη, τα άτομα που διατράφηκαν με FeM25 αναβολίζουν με χαμηλότερο ρυθμό την πρωτεΐνη της τροφής σε σχέση με τις άλλες ομάδες.

Ο ηπατοσωματικός δείκτης (HSI), είναι ενδεικτικός της παρουσίας γλυκογόνου στο ήπαρ ή συσσώρευσης λιποσταγονιδίων αντίστοιχα. Το ήπαρ είναι χαρακτηριστικό όργανο-δείκτης για την διατροφική κατάσταση των εκτρεφόμενων ιχθύων και έχει χρησιμοποιηθεί σε αρκετές διατροφικές έρευνες. Στο συγκεκριμένο πείραμα ο HSI εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών διατροφικών ομάδων. Παρόλο που τα τρία σιτηρέσια καταρτίστηκαν ώστε να έχουν περίπου το ίδιο ποσοστό λίπους, η ομάδα PM25 εμφάνισε τη μικρότερη τιμή τόσο στη μέτρηση του HSI, όσο και στην περιεκτικότητα λίπους στο μυϊκό ιστό. Οδηγούμαστε στο συμπέρασμα πως τα ψάρια της ομάδας PM25, αξιοποίησαν όλο το ποσοστό λίπους της τροφής για τον ενεργειακό μεταβολισμό τους.

Η συγκεκριμένη μελέτη έδειξε ότι για να διαφανεί η επίδραση της αντικατάστασης της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου χρειάζεται χρόνος επίδρασης ανώτερος των 60 ημερών. Συνεπώς, σε μελλοντικά πειράματα θα πρέπει να δίνεται ικανός χρόνος διάρκειας του πειράματος για την σωστή μελέτη της αντικατάστασης της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου στην τσιπούρα. Αξίζει να σημειωθεί, πως υπάρχουν περιορισμένες έρευνες σχετικά με την επίδραση των Μεταποιημένων Ζωικών Πρωτεϊνών στην τσιπούρα (*Sparus aurata*, L.).

Οι Robaina *et al.* (1997), αντικατέστησαν το ιχθυάλευρο με όστεο-κρεατάλευρο σε ποσοστό 20, 30 και 40% στην τσιπούρα (*Sparus aurata*, L.). Τα αποτελέσματα συγκριτικά με την ομάδα ιχθύων που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο που περιείχε 100% ιχθυάλευρο, δε παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στην αύξηση του βάρους των ιχθύων μεταξύ των τριών πειραματικών σιτηρεσίων. Με βάση τα αποτελέσματα, καταλήγουμε ότι η χαμηλή υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από κρεατάλευρα σε

ποσοστό 20 - 30%, δεν επιφέρει σημαντικές αλλαγές στην αύξηση του βάρους της τσιπούρας (*Sparus aurata*, L.)

Σε έρευνα των Negas *et al.* (1999), χρησιμοποίησαν μίγμα πτηναλεύρου και πτεράλευρου σε ποσοστό αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου 75% και 100% και πτηνάλευρο με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, σε ποσοστό αντικατάστασης 35% 50% , 75% και 100%, σε άτομα τσιπούρας (*Sparus aurata*, L.). Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η αντικατάσταση 100% και στις δυο περιπτώσεις ήταν επιτυχής, χωρίς να επηρεαστεί η ανάπτυξη και η θρεπτική σύσταση του σώματος των ιχθύων. Το γεγονός αυτό, μπορεί να οφείλεται στην προέλευση και τη σύσταση των αλεύρων που καταρτίθηκαν πειραματικά. Συγκριτικά με τα αποτελέσματα του πειράματός μας, ο συνδυασμός πτηναλεύρου και πτεράλευρου σε χαμηλή υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου σε σιτηρέσιο τσιπούρας, φαίνονται να είναι αποδεκτά για μελλοντική χρήση.

Σε έρευνα των Psoufakis *et.al* (2015), η προσθήκη αμινοξέων στα σιτηρέσια χαμηλής υποκατάστασης του ιχθυαλεύρου από πτηνάλευρο και υδρολυμένο πτεράλευρο σε σιτηρέσιο τσιπούρας, δεν οδήγησε σε διαφορές τόσο στην επιβίωση, όσο και στην ανάπτυξη των ιχθύων. Ακόμη και σε μεγαλύτερα ποσοστά (έως και 50%) αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου από τις δύο αυτές ζωικές πηγές πρωτεϊνών, η προσθήκη αμινοξέων συνέβαλε στην ανάπτυξη των ιχθύων, χωρίς να παρουσιάζονται διαφορές μεταξύ των ομάδων. Συνεπώς, η χρήση του πτηνάλευρου και του υδρολυμένου πτεράλευρου σε σιτηρέσιο αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου στην τσιπούρα, σε συνδυασμό με την προσθήκη συγκεκριμένων απαραίτητων αμινοξέων δε μεταβάλλει τις παραμέτρους ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής των ιχθύων.

4.3. Χημικές αναλύσεις σώματος

Η θρεπτική σύσταση ολόκληρου του σώματος των εκτρεφόμενων ατόμων δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τη διαφορετική πηγή ζωικής πρωτεΐνης. Συνεπώς, η θρεπτική αξία της τσιπούρας δε μεταβάλλεται από τη χρήση των δύο ζωικών πρωτεϊνών στο σιτηρέσιό της, σε χαμηλό ποσοστό αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν και στην πέστροφα όταν διατράφηκε με οστεο-κρεατάλευρα (Bureau *et al.* 1999). Σε αντίστοιχο πείραμα, των Robaina *et al.* 1997, η μερική αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από οστεο-κρεατάλευρα σε σιτηρέσιο τσιπούρας, δεν εμφάνισε διαφορές στην ολική θρεπτική σύσταση του σώματος των ιχθύων.

Στον μυϊκό ιστό των ιχθύων, η αντικατάσταση της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου κατά 25% είτε από πτηνάλευρο είτε από πετράλευρο δεν διαφοροποίησε σημαντικά τη θρεπτική του σύσταση. Ωστόσο, η διατροφική ομάδα PM25 είχε σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό πρωτεΐνης σε σχέση με την ομάδα FeM25. Αυτό σε συνδυασμό με το χαμηλό συντελεστή διατήρησης της πρωτεΐνης στην ομάδα των FeM25, δείχνει πως η συγκεκριμένη ομάδα αναβολίζει σε μικρότερο βαθμό την πρωτεΐνη. Το μεγαλύτερο ποσοστό ολικών λιπιδίων στον μυϊκό ιστό μετρήθηκε στην ομάδα FM, ενώ η ομάδα PM25 είχε τη χαμηλότερη λιποπεριεκτικότητα. Η θρεπτική σύσταση του μυϊκού σώματος των ιχθύων της ομάδας PM25, είναι ενδεικτική της πλήρους αφομοίωσης των θρεπτικών ουσιών της τροφής και της ολικής αξιοποίησης τους, από τα ψάρια, για τη σωματική τους ανάπτυξη, γεγονός που εμπορικά έχει υψηλό ενδιαφέρον.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας συνοψίζονται στα εξής:

- Η αντικατάσταση της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου κατά 25% με πρωτεΐνη είτε πτηναλεύρου είτε υδρολυμένου πετραλεύρου δεν οδηγεί σε διατροφικές θνησιμότητες.
- Η αντικατάσταση της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου κατά 25% με πρωτεΐνη υδρολυμένου πετραλεύρου οδηγεί σε μειωμένο ρυθμό ανάπτυξης, αν και όχι αποδοτικότητα της τροφής, στην τσιπούρα. Η επίδραση των αντικαταστάσεων εμφανίζεται έπειτα από 62 ημέρες σίτησης.
- Η θρεπτική αξία ολόκληρου του σώματος της τσιπούρας δε μεταβάλλεται με τη χρήση των δύο εναλλακτικών ζωικών πρωτεϊνών στο σιτηρέσιό της, αν και διαφοροποιεί τη θρεπτική αξία του εδώδιμου μυϊκού ιστού της.
- Συνεπώς, η πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου των ιχθυοτροφών της τσιπούρας μπορεί επιτυχώς να υποκατασταθεί κατά 25% από πτηνάλευρο χωρίς να επιφέρει κάποια μείωση στην ανάπτυξη των ψαριών και την αξιοποίηση της τροφής από αυτά.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

- AOAC (1995). Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International, (16th edition) AOAC, Arlington, VA, USA.
- Allan G. (2006). The growing fishmeal shortage. *Aquaculture*,14: 28.
- Bureau D. P., Harris A. M., & Cho C. Y. (1999). Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).*Aquaculture*, 180 (3), 345-358.
- Davies S. J., Gouveia A., Laporte J., Woodgate S. L., & Nates S. (2009). Nutrient digestibility profile of premium (category III grade) animal protein by-products for temperate marine fish species (European sea bass, gilthead sea bream and turbot). *Aquaculture Research*, 40(15), 1759-1769.
- Easton M.D.L., Luszniak D. and Von der Geest E. (2002). Preliminary examination of contaminantloadings in farmed salmon, wild salmon and commercial salmon feed.*Chemosphere*,46:1053–1074.
- El-Sayed A. F. (1998). Total replacement of fish meal with animal protein sources in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), feeds. *Aquaculture Research*, 29(4), 275-280.
- FAO (2000) The State of World Fisheries and Aquaculture 2000. FAO, Rome, Italy.
- FAO (2012) The state of the world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

- Fuertes J. B., Celada J. D., Carral J. M., Sáez-Royuela M., & González-Rodríguez Á. (2014). Effects of fishmeal replacement by feather meal in practical diets for juvenile crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana, Astacidae). *Aquaculture Nutrition*, 20 (1), 36-43.
- Gatlin D. M., Barrows F. T., Brown, P., Dabrowski K., Gaylord T. G., Hardy R. W., & Overturf K. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*, 38 (6), 551-579.
- Goldburg R. and Naylor R. (2005). Future escapes, fishing, and fish farming. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 3: 21–28.
- Jackson A. (2009). The continuing demand for sustainable fishmeal and fish oil in aquaculture diets. *International Aquafeed*, 12: 32 – 33.
- Khusro M., Andrew N.R. and Nicholas A. (2012). Insects as poultry feed: a scoping study for poultry production systems in Australia. *World's Poultry Science Journal*, 68: 435 - 446
- Kibria G., Nugegoda D., Fairclough, R., Lam P., & Bradley A. (1997). Zooplankton: its biochemistry and significance in aquaculture. *NAGA, The Iclarm Quarterly*.
- Morretti A. (1999). Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream (Vol. 1). Food & Agriculture Org., 20(2), 8-14.
- Nengas I., Alexis M. N., & Davies S. J. (1999). High inclusion levels of poultry meals and related byproducts in diets for gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 179(1), 13-23.
- Psafakis P., Daskalopoulou E., Theodorou A., Mente E., Karapanagiotidis I.T. (2015). Effect of replacing fishmeal with poultry meal and hydrolysed feather meal on

growth and feed efficiency of gilthead seabream (*Sparus aurata*). European Aquaculture Society, Rotterdam, The Netherlands, 20-23 October.

Robaina L., Moyano F. J., Izquierdo M. S., Socorro J., Vergara J. M., & Montero D.

(1997). Corn gluten and meat and bone meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*): nutritional and histological implications. *Aquaculture*, 157(3), 347-359.

Rossi W. and Davis D. A. (2012). Replacement of fishmeal with poultry by-product meal in the diet of Florida pompano *Trachinotus carolinus* L. *Aquaculture*, 338, 160-166.

Sola L., Moretti A., Crosetti D., Karaïskou N., Magoulas A., Rossi A.R., Rye M., Triantafyllidis A. and Tsigenopoulos C.S. (2006). Gilthead seabream - *Sparus aurata*. In: "Genetic effects of domestication, culture and breeding of fish and shellfish, and their impacts on wild populations." D. Crosetti, S. Lapègue, I. Olesen, T. Svaasand (eds). GENIMPACT project: Evaluation of genetic impact of aquaculture activities on native populations. A European network. Viterbo, Italy, pp. 6.

Tacon A.G.J. (1997). Feeding tomorrow's fish: keys for sustainability. In: Tacon A.G.J., Basurco B. (eds.), Feeding tomorrow's fish. Cahiers options Méditerranéennes, Zaragoza, Spain, 22: pp.11–33.

Tacon A.G.J. and Metian M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 285: 146 – 158.

Zar J.H. (1999). Biostatistical analysis, 4th edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs. pp 663.

Ελληνική βιβλιογραφία

Κλαουδάτος Σ.Ε. (2012). Καλλιέργειες φυτικών και εκτροφές υδρόβιων ζωικών οργανισμών. Εκδόσεις Προπομπός, Αθήνα, σελ. 228-238.

Παπουτσόγλου Σ.Ε. (2008). Διατροφή ιχθύων. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα, σελ. 846 – 863.

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

FAO (2006) FishStat.<http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS.asp>

7. ABSTRACT

Over the last years fish feeds have greatly depended on fishmeal that is used as the main source for protein. However, fish feed industry fronts quite many deficiencies as far as fish meal availability is concerned due to lack of natural resources. For that reason big efforts are being made in order to find alternative sources of protein that cost less and are readily obtainable. Reintroduction of Processed Animal Protein, as an ingredient used in fish feed, in the European Union, starting from the 1st of July 2013, has definitely been of great aid in the field of aquaculture in Europe, in order to confront problems concerning raw materials. The aim of this study was to look into the capability of using poultry meal and hydrolyzed feather meal as ingredients of fish feeds used in farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*, L).

Fish with an average weigh of averagely 2,97, were put into fish tanks and after acclimating on to experimental conditions for ten days were separated into three dietary groups (3 tanks per treatment, 25 fish per tank). Three experimental diets were formulated isoenergetic (23,5Mj/Kg) and isoproteinic (50%). Fishmeal was substituted by 25 % with poultry meal and 25% with hydrolized feather meal. The fish were fed two times a day until saturation. The survival of fish was not affected in any way by this partial substitution of fish meal. Weight gain (31,54 - 38,45 g) and SGR (3,95 - 4,25)differed between groups marking lower rates on the FeM25 group and higher on the PM25 group, while FCR and PER were not significant different (P-value > 0,05). Moreover there were no differences in any of the groups as far as proximate composition of the whole-body of fish is concerned, while on the composition of the

muscle tissue few differences were observed in protein, lipids and ash with FeM25 group showing statistically significant difference ($P < 0,05$).

As a result of the whole study it can be stated that fishmeal protein for farmed gilthead seabream (*Sparu aurata*, L.) can be successfully substituted by 25% with poultry meal without decreasing fish growth and feed efficiency. On the contrary the substitution with hydrolized feather meal had negative results on fish growth.

Keywords: *Sparus aurata*, Poultry Meal, Hydrolized Feather Meal, Fish Meal substitution, fish nutrition.