



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ**  
**ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**"Χρήση του αλεύρου *Chlorella vulgaris* για την  
αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου στο σιτηρέσιο της  
τσιπούρας (*Sparus aurata*)"**

**Γκαλογιάννη Έλλη-Ζαφειρία**

**Κατούνη Αικατερίνη Μαρία**

**Ρούγκας Γεώργιος**

**Σαββάκη Ελένη**

**Βόλος 2018**

**"Χρήση του αλεύρου *Chlorella vulgaris* για την αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου  
στο σιτηρέσιο της τσιπούρας (*Sparus aurata*)"**

**Διμελής 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 Προπτυχιακή 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 κα. Παναγιώτα Παναγιωτάκη μέλος της εξεταστικής μας επιτροπής

Ακόμη, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά τον υποψήφιο διδάκτορα Πιερ Ψωφάκη για την άμεση και ανιδιοτελή προσφορά του, όσον αφορά τη βοήθειά του στη διαχείριση των συστημάτων εκτροφής. Επιπλέον, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε την Μετσοβίτη Μαρία για την βοήθειά της κατά την διεξαγωγή του πειράματος.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ιχθυοτροφές των εκτρεφόμενων ειδών στην Ευρώπη εμπεριέχουν μεγάλες ποσότητες ιχθυάλευρων. Το ιχθυάλευρο είναι ένα υψηλής ποιότητας, πολύ εύπεπτο συστατικό των ιχθυοτροφών που ευνοεί τη διατροφή των ψαριών. Λόγω όμως της αλόγιστης χρήσης των αποθεμάτων του και καθώς η παραγωγή τους μένει στάσιμη, η τιμή τους συνεχώς αυξάνεται με αποτέλεσμα και το κόστος παραγωγής των ιχθυοκαλλιεργειών.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της δυνατότητας χρησιμοποίησης αλεύρου *Chlorella vulgaris* ως κύριο συστατικό των ιχθυοτροφών, σε συνδυασμό με την προσθήκη απαραίτητων αμινοξέων (μεθειονίνης και λυσίνης), στην εκτροφή της τσιπούρας (*Sparus aurata*).

Ιχθύδια του είδους *Sparus aurata* με αρχικό μέσο βάρος  $1,11 \pm 0,01$ g μεταφέρθηκαν στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος στο Βόλο, όπου και έλαβε χώρα το πείραμα. Στο κλειστό σύστημα κυκλοφορίας θαλασσινού νερού η θερμοκρασία ήταν  $21^{\circ}\text{C}$ , το pH  $8,00 \pm 0,4$  και η αλατότητα ήταν  $32 \pm 0,5\%$ . Τα ιχθύδια χωρίστηκαν σε 4 διατροφικές ομάδες (25 άτομα/δεξαμενή, 3 επαναλήψεις/διατροφική ομάδα), στις οποίες χορηγήθηκαν 4 διαφορετικά σιτηρέσια, 2 φορές καθημερινά με το χέρι μέχρι κορεσμού για 85 ημέρες. Στο πρώτο σιτηρέσιο, η πηγή πρωτεΐνης αποτέλεσε αποκλειστικά το ιχθυάλευρο. Στα υπόλοιπα τρία, πραγματοποιήθηκε αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με άλευρο *Chlorella vulgaris* σε ποσοστά 10,20 και 30% με προσθήκη των αμινοξέων μεθειονίνης και λυσίνης. Τα σιτηρέσια του πειράματος καταρτίστηκαν ώστε να είναι ισοενεργειακά (21 MJ/Kg) και ισοπρωτεϊνικά (52% της τροφής). Η μερική αντικατάσταση του ιχθυάλευρου με άλευρο *Chlorella vulgaris* από 10% έως 30% (με προσθήκη

απαραίτητων αμινοξέων) δεν επηρέασε την επιβίωση των ψαριών που σιτίστηκαν με αυτά. Επίσης δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ομάδες όσον αφορά τις τιμές των SGR, FCR, PER και της προσλαμβανόμενης τροφής.

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης έδειξαν ότι το άλευρο *Chlorella vulgaris* αποτελεί ένα κατάλληλο υποκατάστατο (έως και 30% με προσθήκη απαραίτητων αμινοξέων) του ιχθυαλεύρου αναφορικά με την ανάπτυξη της τσιπούρας. Πρέπει παρόλα αυτά να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες στο μέλλον για την μελέτη εκτροφής του είδους διότι οι γνώσεις είναι ακόμα ελλιπείς.

**Λέξεις – Κλειδιά:** τσιπούρα, *Sparus aurata*, αντικατάσταση ιχθυαλεύρου, *Chlorella vulgaris*, ιχθυοκαλλιέργειες, διατροφή, μικροφύκη

## Περιεχόμενα

1.1 Εκτροφή Τσιπούρας .....	1
1.2 Η χρήση των ιχθυαλεύρων στις ιχθυοτροφές.....	2
1.3 Αντικατάσταση ιχθυαλεύρων με πρωτεϊνικές πηγές φυτικής και χερσαίας ζωικής προέλευσης.....	3
1.4 Περί μικροφυκών .....	6
1.5 Η χρήση των μικροφυκών στη διατροφή των εκτρεφόμενων ιχθύων.....	8
1.6 Σκοπός της εργασίας .....	9
<b>2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....</b>	<b>11</b>
2.1 Πειραματικός σχεδιασμός .....	11
2.2 Σιτηρέσια-Σίτιση .....	13
2.3 Δειγματοληψίες .....	16
2.4 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής .....	16
2.4.1 Θνησιμότητα .....	16
2.4.2 Αύξηση ολικού βάρους ψαριών .....	17
2.4.3 Ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους.....	17
2.4.4 Συνολική κατανάλωση τροφής.....	17
2.4.5 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης.....	17
2.4.6 Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής.....	18
2.4.7 Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών .....	18
2.4.8 Συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης.....	18
2.4.9 Συντελεστής διατήρησης λίπους.....	18
2.4.10 Σωματομετρικοί δείκτες.....	19
2.5 Χημικές αναλύσεις.....	19
2.5.1 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών .....	19
2.5.2 Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ουσιών.....	20
2.5.3 Προσδιορισμός τέφρας.....	22
2.5.4. Προσδιορισμός θερμιδικής αξίας.....	23
2.5.5. Προσδιορισμός υγρασία-ξηρής ουσίας.....	23
2.6 Στατιστική ανάλυση .....	24
<b>3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>25</b>
3.1 Θνησιμότητα .....	25
3.2 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης τροφής.....	25

3.2.1 Κατά την έναρξη του πειράματος .....	25
3.2.2 Κατά την 30η ημέρα πειράματος .....	26
3.2.3 Κατά την 60η ημέρα πειράματος .....	28
3.2.4 Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος.....	29
<b>4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>	<b>31</b>
<b>5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>34</b>
5.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία.....	34
5.2 Ελληνική βιβλιογραφία .....	39
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>40</b>



# 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Εκτροφή Τσιπούρας

Η τσιπούρα (*Sparus aurata*) είναι είδος της Μεσογείου, το οποίο συναντάται από τις ανατολικές ακτές του Ατλαντικού ως τη Σενεγάλη και αποτελεί ένα από τα κυριότερα είδη εκτροφής στις Μεσογειακές και ελληνικές υδατοκαλλιέργειες (Παπουτσόγλου 2008). Διαβιεί σε υφάλμυρα και θαλασσινά νερά, τα νεαρά άτομα βρίσκονται σε βάθη 30 μέτρων, ενώ τα ενήλικα φτάνουν μέχρι 150 μέτρα βάθος. Είναι ανθεκτικό είδος καθώς αντέχει σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών (4-30°C) και αλατότητας (έως και 40‰) με βέλτιστο ρυθμό ανάπτυξης σε θερμοκρασίες μεταξύ 22-24°C (Παπουτσόγλου 2008) και αλατότητα από 28‰ έως 32‰. Επίσης προσαρμόζεται εύκολα στην αιχμαλωσία, έχει γρήγορη ανάπτυξη και παρέχει καλή ποιότητα κρέατος (Klaoudatos & Apostolopoulos 1986). Για όλα τα παραπάνω, η τσιπούρα έχει μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον και επιλέγεται για εντατική εκτροφή.

Η τσιπούρα αποτελούσε από αιώνες εκτρεφόμενο είδος στις ελληνικές εκτατικές εκτροφές των λιμνοθαλασσών αλλά και άλλων μεσογειακών περιοχών. Οι εκτροφές στις λιμνοθάλασσες του Μεσολογίου, των ιταλικών <<vallicoltura>> και των αιγυπτιακών <<hosha>> απέδιδαν για αιώνες τσιπούρες ανάμεσα στα άλλα εκτρεφόμενα είδη. Η εκτατική εκτροφή της τσιπούρας παραμένει μια παραδοσιακή δραστηριότητα σε ορισμένες περιοχές, αλλά με πολύ χαμηλό αντίκτυπο στην αγορά (Sola et al. 2006). Σήμερα, εκτρέφονται κατά το πλείστον σε εκτατικά συστήματα εκτροφής σε λιμνοθάλασσες ή εντατικά σε δεξαμενές ή κλωβούς. Προς το παρόν, το μεγαλύτερο μέρος της εκτροφής προέρχεται από την εντατική εκτροφή, με μέση πυκνότητα 20–100 kg/m<sup>2</sup> και FCR 1,5 – 2 (FAO 2016). Το 2013, η παγκόσμια παραγωγή της υδατοκαλλιέργειας ήταν περίπου 173.000 τόνοι, με την Ελλάδα, την

Τουρκία, την Ισπανία και την Ιταλία, να αποτελούν τους κύριους παραγωγούς τσιπούρας στην Μεσόγειο (FAO 2016).

## **1.2 Η χρήση των ιχθυαλεύρων στις ιχθυοτροφές**

Το ιχθυάλευρο αποτελεί κύριο συστατικό μιας ιχθυοτροφής, καθώς είναι η σημαντικότερη πηγή πρωτεΐνης. Παρασκευάζεται από ψάρια ή παραπροϊόντα ψαριών που δεν προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση. Όλα τα είδη ιχθύων που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα παρουσιάζουν απαιτήσεις στα ίδια δέκα απαραίτητα αμινοξέα. Το ιχθυάλευρο χρησιμοποιείται επειδή μπορεί να καλύψει τις πρωτεϊνικές απαιτήσεις των ψαριών και είναι πλούσιο σε απαραίτητα αμινοξέα, ενέργεια, και ιχνοστοιχεία. Είναι υψηλής βιολογικής αξίας, καθώς επίσης είναι εύγεστο για τα ψάρια (NRC 1993). Περίπου 4 έως 5 τόνοι ολόκληρων ψαριών απαιτούνται για την παραγωγή 1 τόνου ξηρού ιχθυαλεύρου. Το Περού παράγει σχεδόν το ένα τρίτο της παγκόσμιας προσφοράς ιχθυαλεύρων (FAO 2016). Άλλες κύριες χώρες παραγωγής ιχθυαλεύρων είναι η Χιλή, η Κίνα, η Ταϊλάνδη, οι ΗΠΑ, η Ισλανδία, η Νορβηγία, η Δανία και η Ιαπωνία. Ωστόσο όμως, δεν παύουν να υπάρχουν και προβληματισμοί σχετικά με την χρήση τους στις ιχθυοτροφές. Συγκεκριμένα έχει παρατηρηθεί πως τα ιχθυαποθέματα των ψαριών που χρησιμοποιούνται για τα ιχθυάλευρα έχουν φτάσει στα όρια της βιωσιμότητας. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της προσφοράς τους, ενώ παράλληλα τα τελευταία χρόνια, η υδατοκαλλιέργεια χρησιμοποίησε περίπου το 46% της συνολικής ετήσιας παραγωγής ιχθυαλεύρων, ποσοστό που αναμένεται να αυξηθεί μελλοντικά, καθώς η ζήτηση για προϊόντα υδατοκαλλιέργειας θα αυξηθεί κατά την επόμενη δεκαετία (Karapanagiotidis). Επιπλέον υπάρχουν και θέματα ηθολογικής φύσης που σχετίζονται με την χρήση των αλιευμένων ψαριών για την παραγωγή ιχθυοτροφών και όχι την

απευθείας κατανάλωση τους από υποσιτισμένους ανθρώπινους πληθυσμούς (Goldbur & Naylor 2005). Ακόμα, ανησυχία εκφράζεται από πολλούς οικολογικούς και μη κυβερνητικούς οργανισμούς σχετικά με την εκμετάλλευση των ιχθυαποθεμάτων για την παραγωγή ιχθυαλεύρων λόγω της υποβάθμισης των θαλάσσιων υδάτινων οικοσυστημάτων, αφού οδηγεί στην υπερεκμετάλλευση ορισμένων ειδών αλιείας, με συνακόλουθα αποτελέσματα στα αποθέματα άλλων άγριων ψαριών (Naylor et al. 2000). Για τους λόγους αυτούς λοιπόν, είναι αναγκαίο να μειωθεί η χορηγούμενη ποσότητα ιχθυαλεύρων στις τροφές και να αντικατασταθούν μερικώς με εναλλακτικές πρωτεϊνικές πηγές.

### **1.3 Αντικατάσταση ιχθυαλεύρων με πρωτεϊνικές πηγές φυτικής και χερσαίας ζωικής προέλευσης**

Η υποκατάσταση ή και η πλήρης αντικατάσταση των ιχθυαλεύρων στις ιχθυοτροφές με προϊόντα ζωικής και φυτικής προέλευσης θα πρέπει να γίνεται ύστερα από προσεκτική έρευνα και μελέτη αφού ληφθούν υπόψιν διάφορα κριτήρια επιλογής που υπάρχουν. Τα κύρια είναι: η διαθεσιμότητα τους, η ευκολία καλλιέργειας τους (στην περίπτωση φυτικής προέλευσης), η θρεπτική σύνθεση, η πεπτικότητα και η απουσία τοξινών ή άλλων επιβλαβών ουσιών (Tredici et al. 2009, Anon. 2010, Guedes & Malcata 2012).

Φυτικά άλευρα που χρησιμοποιούνται συχνά είναι το σογιάλευρο, το κραμβάλευρο, το φοινικάλευρο, το βαμβακάλευρο, το φυστικάλευρο, το ηλιάλευρο, το σουσαμάλευρο, το καρυδάλευρο, η γλουτένη αραβοσίτου, η γλουτένη σιταριού κ.α. (Μεντέ & Νέγκας 2011). Η χρησιμοποίηση πρωτεϊνών στις ιχθυοτροφές από φυτικά άλευρα μπορεί όμως να επιφέρει και αρνητικά αποτελέσματα, καθώς υπάρχουν ανησυχίες σχετικά με την παρουσία των γενετικά τροποποιημένων προϊόντων που

χρησιμοποιούνται σήμερα στη γεωργία και ιδιαίτερα εκείνων που προέρχονται από σόγια και καλαμπόκι (Pusztai & Bardocz 2006). Επίσης τα φυτικά άλευρα δεν έχουν το ίδιο προφίλ αμινοξέων σε σχέση με τα ζωικά άλευρα που είναι πιο επαρκή. Επιπλέον, περιέχουν διάφορες αντιδιατροφικές ουσίες που είναι αναγκαίο να αδρανοποιηθούν μέσω κατάλληλης επεξεργασίας, αλλιώς είναι δυνατόν να προκαλέσουν τοξικότητες, μείωση της ανάπτυξης και προβλήματα υγείας στους διατρεφόμενους ιχθύες (Francis et al 2001).

Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει για την τσιπούρα (*Sparus aurata*) ότι περίπου το ένα τρίτο των ιχθυαλεύρων τα μπορούσε να αντικατασταθεί χωρίς να μειώνονται τα επίπεδα των απαραίτητων αμινοξέων στο σώμα των ιχθύων ή ο ρυθμός ανάπτυξης της (Gomez-Requeni *et al.* 2003). Μια άλλη μελέτη δείχνει ότι οι σπόροι μπιζελιού μπορούν να αντικαταστήσουν μέχρι και το 20% της πρωτεΐνης των ιχθυαλεύρων στη διατροφή των ιχθυδίων τσιπούρας χωρίς να επηρεάζεται η απόδοση των ψαριών (Pereira & Oliva-Teles 2002). Σε μια άλλη μελέτη, η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου κατά 75% από διάφορες φυτικές πρωτεΐνες (άλευρο γλουτένης καλαμποκιού, γλουτένη σιταριού, αλεσμένα μπιζέλια, άλευρο ελαιοκράμβης) οδήγησε σε μικρή μείωση της ανάπτυξης, ενώ η ένταξη φυτικής πρωτεΐνης σε ποσοστό 100% συνδέθηκε με σημαντική μείωση στην ανάπτυξη και με μια σημαντική μείωση στην πρόσληψη τροφής (Gomez-Requeni *et al.* 2004). Από την άλλη πλευρά, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι μέχρι και το 75% την ενσωμάτωσης φυτικών πρωτεϊνών (όπως γλουτένη καλαμποκιού, σιταριού και άλευρου ελαιοκράμβης) δεν οδήγησε σε μείωση της ανάπτυξης των ιχθυδίων τσιπούρας (Sitja-Bobadilla *et al.* 2005). Τις τελευταίες δεκαετίες η ποιότητα των συστατικών έχει βελτιωθεί σημαντικά (Nogueira *et al.* 2012) μειώνοντας έτσι τις ανησυχίες σχετικά με την προέλευση των πρώτων υλών καθώς και την πεπτικότητα τους.

Η χρήση πρωτεϊνών από άλευρα ζωικής προέλευσης παρουσιάζει επίσης ενδιαφέρον, καθώς τα άλευρα αυτά (π.χ. κρεατάλευρα, οστεάλευρα) αποτελούν μια σχετικά οικονομική πηγή ζωικών πρωτεϊνών και έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν επιτυχώς για να αντικαταστήσουν εν μέρει τα ιχθυάλευρα στα σιτηρέσια αρκετών ειδών εκτρεφόμενων ιχθύων (Allan *et al.* 2000, Kikuchi *et al.* 1997) χωρίς να εμφανίζονται σημαντικές δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξή τους.

Διάφορες μελέτες έχουν αποδείξει πως η αντικατάσταση ακόμα και του 80% του ιχθυαλεύρου με κρεατάλευρο και αιματάλευρο (από χερσαία ζώα) στο σιτηρέσιο της τσιπούρας, δεν επηρέασε την ανάπτυξη και την επιβίωση των εκτρεφόμενων ιχθυδίων (Millamena 2002). Πιο πρόσφατη έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο σολομό έδειξε ότι το ιχθυάλευρο μπορεί να αντικατασταθεί σε ποσοστό 20% με ζωικές πρωτεϊνικές πηγές χωρίς να παρουσιαστούν δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη και στην βιωσιμότητα των εκτρεφόμενων ιχθύων (Hartviksen *et al.* 2014). Για την τσιπούρα, πρόσφατα δείχθηκε ότι η πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου μπορεί να υποκατασταθεί κατά 50% από πτηνάλευρο (Karapanagiotidis *et al.* 2018) ή κατά 25% από υδρολυμένο πετράλευρο (Psoufakis *et al.* 2015) χωρίς να μειωθεί ο ρυθμός ανάπτυξης των ιχθύων και η αποδοτικότητα της τροφής.

Μια οικονομική αξιολόγηση (Nogueira *et al.* 2012) έδειξε ότι με την ενσωμάτωση των αιματάλευρων και των πετράλευρων ως υποκατάστατο ιχθυαλεύρων μειώθηκε σημαντικά το κόστος των ζωοτροφών, γεγονός που οδηγεί σε μελλοντικές προοπτικές καθώς οι ιχθυοτροφές αποτελούν το μεγαλύτερο κόστος σε μία μονάδα εκτροφής. Έπειτα και από την πρόσφατη (2013) άρση της απαγόρευσης των μεταποιημένων ζωικών πρωτεϊνών στις ιχθυοτροφές στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, δημιουργούνται νέες προοπτικές χρησιμοποίησης των πρωτεϊνικών πηγών ζωικής προέλευσης (Karapanagiotidis I.T. 2014).

#### 1.4 Περί μικροφυκών

Τα μικροφύκη αποτελούν μια τεράστια ομάδα φωτοσυνθετικών ή ετερότροφων οργανισμών που έχουν εξαιρετική δυνατότητα καλλιέργειας ως ενεργειακές καλλιέργειες. Μπορούν να καλλιεργηθούν υπό δύσκολες αγρο-κλιματικές συνθήκες και είναι σε θέση να παράγουν ένα ευρύ φάσμα εμπορικά ενδιαφερόντων παραπροϊόντων όπως λιπών, ελαίων, σακχάρων και λειτουργικών βιοδραστικών ενώσεων. Ως ομάδα, παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη μελλοντικών λύσεων ως ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Τα μικροφύκη είναι γνωστό ότι περιέχουν μεγάλες ποσότητες σημαντικών μακροθρεπτικών ουσιών 25 έως 40% πρωτεΐνη (επί ξηράς ουσίας), 5 έως 30% υδατάνθρακες και 10 έως 30% λιπίδια και μικροθρεπτικών συστατικών που περιλαμβάνουν χρωστικές ουσίες (καροτενοειδή και ασταξανθίνη), βιταμίνες (A, B1, B2, B6, C, E), απαραίτητα αμινοξέα και ιδιαίτερα απαραίτητα μακράς αλυσίδας πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (LC-PUFA) συμπεριλαμβανομένου του σημαντικού εικοσαπεντανοϊκού (EPA, 20:5n-3) και εικοσιδιεξαενοϊκού οξέος (DHA, 22:6n-3) (Becker 2004, Pakravan *et al.* 2017). Αυτά τα λιπαρά οξέα είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των προνυμφών θαλάσσιων ιχθύων. Τα χλωροφύκη τείνουν να είναι κακές πηγές αυτών των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ενώ τα φύκη με πράσινο χρωματισμό έχουν μέτριες ποσότητες 22:6n-3 (4-10%), ενώ τα χλωρόφυτα είναι ανεπαρκή και στα δύο οξέα (0-3%).

Οι αναλογίες κάθε θρεπτικής ουσίας μπορούν να τροποποιηθούν με προσεκτική επιλογή των συνθηκών ανάπτυξης ή με τη συγκομιδή των μικροφυκών σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης (Bendy *et al.* 2017). Η σύνθεση σακχάρων των πολυσακχαριτών είναι πιο μεταβλητή, αλλά τα περισσότερα φύκη έχουν υψηλές αναλογίες γλυκόζης (21-87%). Επίσης ορισμένοι τύποι βιομάζας φυκιών μπορεί να απαιτούν πρόσθετα

στάδια επεξεργασίας (πέραν εκείνων που εφαρμόζονται στις συμβατικές ζωοτροφές), που προσθέτουν περαιτέρω το κόστος τους.

Η *Chlorella vulgaris* είναι ένα μονοκύτταρο φύκος που απαντάται σε γλυκό νερό και έχει υψηλή διατροφική αξία (Πιν. 1.1). Έχει υψηλή απόδοση φωτοσύνθεσης και τα κύτταρα είναι πλούσια σε χλωροφύλλη, πρωτεΐνες, λιπίδια πολυσακχαρίτες, βιταμίνες, μέταλλα και άλλες θρεπτικές ουσίες με μεγάλη βιοδραστικότητα (Rahimnejad *et al.* 2016). Η παραγωγή αυτών των μακρομορίων διαφέρει ανάλογα με την τεχνική που χρησιμοποιείται για την δημιουργία της βιομάζας (Pribyl *et al.* 2012) Υπό μη κατάλληλες συνθήκες, η βιομάζα τους μπορεί να μειώνεται αλλά ταυτόχρονα να αυξάνονται τα λιπίδια και η περιεκτικότητα τους σε άμυλο. Υπό ευνοϊκές συνθήκες, η περιεκτικότητα τους σε πρωτεΐνες αυξάνεται μαζί με την βιομάζα (Chisti 2001). Πειραματική έρευνα με την τσιπούρα απέδειξε πως η προσθήκη ποσότητας *C. vulgaris* στις ιχθυοτροφές, λόγω των καροτενοειδών που περιέχουν, θα μπορούσε να βοηθήσει στην ελκυστικότητα του είδους στην αγορά (Gouneia *et al.* 2002). Μια άλλη έρευνα σε Rotifers *Brachionus* απέδειξε πως η χρήση *C. vulgaris* αύξησε την πυκνότητα του είδους και ευνόησε την καλλιέργεια του (Maruyama *et al.* 1997).

Πίνακας 1.1. Διατροφική Σύνθεση της *Chlorella vulgaris* (Πηγή: algomed.de-Roquette Klötze GmbH & Co.)

Μακροθρεπτικά συστατικά	Ποσοστά (% επί νωπής ουσίας)
Πρωτεΐνες	58,4
Λίπη	9,3
Υδατάνθρακες	23,2
Ίνες	0,3
Τέφρα	4,2
Υγρασία	4,6
Ολικές ενέργεια	4111/100g

## 1.5 Η χρήση των μικροφυκών στη διατροφή των εκτρεφόμενων ιχθύων

Ο ρόλος των μικροφυκών στις υδατοκαλλιέργειες ως συμπλήρωμα για την ενίσχυση της διατροφικής αξίας των ιχθυοτροφών είναι πολύ σημαντικός. Τα μικροφύκη μπορούν να αποτελέσουν είτε ως κύρια, είτε ως συμπληρωματική πηγή λιπαρών οξέων, πρωτεϊνών, χρωστικών, βιταμινών και ανόργανων αλάτων. (Pulz, Gross 2004, Becker 2004, Gouveia et al. 2008). Ακόμα και όταν χρησιμοποιούνται σε μικρές ποσότητες στις ιχθυοτροφές έχει διαπιστωθεί ότι έχουν θετική επίδραση στη βελτίωση του ανοσοποιητικού συστήματος των ιχθύων (Turner et al. 2002), στο μεταβολισμό των λιπιδίων (Nakagawa 1997, Güroy et al. 2011), στη λειτουργία του εντέρου, στην αντοχή στο stress (Nath et al. 2012, Sheikhzadeh et al. 2012) καθώς και ότι έχουν αντιβακτηριακή και αντι-υική δράση (Michiels et al. 2011).

Τα εκτρεφόμενα ψάρια, εξαιτίας της προσθήκης ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου στα σιτηρέσια τους, αποτελούν πλούσια πηγή των μακράς αλύσου, υψηλώς πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, τα οποία είναι ζωτικής σημασίας για την ανθρώπινη υγεία και παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη και θεραπεία φλεγμονωδών και αυτοάνοσων διαταραχών. Λόγω της παγκόσμιας στασιμότητας ιχθυελαίου και ιχθυαλεύρου, οι ερευνητές αναζητούν όλο και περισσότερο εναλλακτικές πηγές λιπιδίων με τα μικροφύκη να αποτελούν μια από αυτές. Τα μικροφύκη είναι ικανά να συνθέσουν πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όπως το αραχιδονικό οξύ (AA, 20:4n-6), το εικοσιπεντανοϊκό οξύ (EPA, 20:5n-3) και το εικοσιδυοεξενικό οξύ (DHA, 22:6n-3) που είναι απαραίτητα λιπαρά οξέα στη διατροφή των ιχθύων. Ωστόσο, μέχρι σήμερα οι έρευνες για την αξιολόγηση των λιπιδίων των μικροφυκών στις ιχθυοτροφές είναι αρκετά περιορισμένες.

Τα μικροφύκη είναι μια ευρέως διαδεδομένη πηγή καροτενοειδών στη βιομηχανία παραγωγής ιχθυοτροφών. Τα καροτενοειδή αποτελούν φυσικές χρωστικές τις οποίες οι



ανώτεροι οργανισμοί, όπως τα ψάρια, αδυνατούν να συνθέσουν αλλά τα προσλαμβάνουν μέσω της τροφικής αλυσίδας στη φύση και μέσω της τροφής τους στις καλλιέργειες. Τα εκτρεφόμενα σολομοειδή έχουν απαίτηση για συμπλήρωση διατροφικής ασταξανθίνης προκειμένου να επιτευχθεί το ροζ χρώμα στη σάρκα τους. Η ασταξανθίνη που παράγεται από το είδος *Haematococcus pluvialis* χρησιμοποιείται στις τροφές των βιολογικά παραγόμενων σολομών (Shields & Lupatsch 2012). Το ίδιο είδος έχει αποδειχθεί ότι συμβάλει στην ενίσχυση του κόκκινου χρώματος του φαγκριού *Pagrus pagrus* (Chatzifotis *et al.* 2011) και της γαρίδας *Litopenaeus vannamei* (Parisenti *et al.* 2011). Επίσης, η *Chlorella* sp. και η *Spirulina* sp. ενσωματώνονται πολύ συχνά στις τροφές διακοσμητικών ψαριών, όπου το χρώμα και η υγιής εμφάνιση αποτελούν το κύριο κριτήριο αγοράς.

## 1.6 Σκοπός της εργασίας

Το ιχθυάλευρο χρησιμοποιείται εδώ και πάρα πολλά χρόνια ως πηγή πρωτεϊνών στα σιτηρέσια των εκτρεφόμενων ιχθύων συμβάλλοντας στην γρήγορη ανάπτυξη αυτών. Ωστόσο, λόγω της περιορισμένης διαθεσιμότητάς του, καθώς και του αυξανόμενου κόστους του είναι απαραίτητη η αναζήτηση εναλλακτικών πηγών πρωτεϊνών. Η πρόκληση λοιπόν στις μέρες μας για τη βιομηχανία των ιχθυοκαλλιεργειών είναι να ερευνήσει και εφαρμόσει εναλλακτικές του ιχθυαλεύρου πρωτεϊνικές πηγές για τα εκτρεφόμενα ψάρια, η παραγωγή των οποίων θα είναι οικονομικά βιώσιμη και φιλική προς το περιβάλλον.

Η παρούσα προτεινόμενη μελέτη κινείται προς την κατεύθυνση εξεύρεσης εναλλακτικών πρωτεϊνικές πηγών, με βάση την πρωτεΐνη μικροφυκών, για την εκτροφή ψαριών στις ιχθυοκαλλιέργειες. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να

μελετηθεί η επίδραση που έχει η αντικατάσταση του διαιτητικού ιχθυαλεύρου από άλευρο *Chlorella vulgaris* στην ανάπτυξη της τσιπούρας (*Sparus aurata*). Για το σκοπό αυτό, διεξήχθη διατροφικό πείραμα 12 εβδομάδων.

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Πειραματικός σχεδιασμός

Για την διεξαγωγή του πειράματος, μεταφέρθηκαν ιχθύδια του είδους *Sparus aurata* με αρχικό μέσο βάρος  $1,11 \pm 0,01$  g σε ειδικές δεξαμενές με παροχή οξυγόνου, από τον ιχθυογεννητικό σταθμό «ΙΧΘΥΟΤΡΟΦΕΙΑ ΜΑΝΤΕ Ι.Κ.Ε.» που έχει τις εγκαταστάσεις του στη Χελώνα Πελασγίας Φθιώτιδος, στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος στο Βόλο, όπου και έλαβε χώρα το πείραμα. Από τον αρχικό αριθμό ιχθυδίων, 360 τοποθετήθηκαν σε πειραματικές δεξαμενές όπου αφέθηκαν για 10 ημέρες ώστε να εγκλιματιστούν στις συγκεκριμένες συνθήκες, όπου η σίτισή τους γινόταν 2 φορές την ημέρα, ενώ 100 θανατώθηκαν για την πραγματοποίηση χημικών αναλύσεων τόσο στο σώμα όσο και στον μυϊκό ιστό (αρχικό δείγμα). Το πείραμα διήρκησε συνολικά 84 ημέρες (Ιανουάριος-Απρίλιος 2017).

Τα ιχθύδια μετά τον εγκλιματισμό τους, τοποθετήθηκαν σε δεξαμενές κλειστού κυκλώματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού. Συγκεκριμένα, οι εγκαταστάσεις αποτελούνταν από 12 ενυδρεία χωρητικότητας 120 L το καθένα και ανά 2 ενυδρεία, από ένα σύστημα μηχανικής-βιολογικής διήθησης του νερού (6 συστήματα), για την απομάκρυνση της αμμωνίας, των περιττωμάτων και των υπολειμμάτων της τροφής. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος χρησιμοποιήθηκε νερό βρύσης στο οποίο προσθέτονταν συνθετικό αλάτι, ώστε η αλατότητα του νερού να είναι 32‰. Σε καθημερινή βάση πραγματοποιούνταν σιφωνισμός του πυθμένα και αντικατάσταση του νερού έως και 10% του συνολικού όγκου του ενυδρείου. Για την νιτροποίηση των αζωτούχων οργανικών ενώσεων, τοποθετήθηκε τόσο στο νερό του ενυδρείου όσο και

μέσα στα φίλτρα, διάλυμα βακτηρίων. Η διάταξη των ενυδρείων καθώς και των φίλτρων απεικονίζεται στην Εικόνα 2.1.



**Εικόνα 2.1:** Διάταξη δεξαμενών και απεικόνιση του συστήματος φιλτραρίσματος-αποστείρωσης.

Σε όλη την διάρκεια του πειράματος πραγματοποιούνταν έλεγχοι για τις φυσικοχημικές παραμέτρους του νερού. Εβδομαδιαία καταγράφονταν οι μετρήσεις της θερμοκρασίας του νερού ( $21\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), του pH ( $8,0 \pm 0,4$ ), της αλατότητας ( $32 \pm 0,5\%$ ) και του διαλυμένου οξυγόνου ( $>6,5\text{ mg/l}$ ) με την χρήση φορητών ηλεκτρονικών οργάνων. Επιπρόσθετα, σε τακτά χρονικά διαστήματα προσδιορίζονταν η συγκέντρωση της αμμωνίας ( $<0,5\text{ mg/l}$ ), των νιτρικών και νιτρωδών, με την χρήση εμπορικών test-kits. Η τεχνητή φωτοπερίοδος που εφαρμόστηκε ήταν 12 ώρες φως – 12 ώρες σκότους με την εναλλαγή να πραγματοποιείται στις 8.00 και 20.00, αντίστοιχα.

Τα ιχθύδια χωρίστηκαν σε 4 διατροφικές ομάδες, όπου η κάθε μια λάμβανε διαφορετικό σιτηρέσιο. Η κάθε διατροφική ομάδα αποτελούνταν από 90 ιχθύδια, τα οποία κατανεμήθηκαν σε υποομάδες των 30 ιχθυδίων σε 3 ενυδρεία (30 ιχθύδια ανά ενυδρείο, 3 ενυδρεία-επαναλήψεις ανά διατροφική ομάδα, 4 διατροφικές ομάδες).

## 2.2 Σιτηρέσια-Σίτιση

Τα σιτηρέσια που χρησιμοποιήθηκαν για την εκπόνηση του συγκεκριμένου πειράματος παρασκευάστηκαν στις εγκαταστάσεις του τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος (Θεσσαλία, Βόλος) με την μέθοδο της κοινής πελλετοποίησης. Το σιτηρέσιο ήταν στην μορφή βυθιζόμενου σύμπηκτου με διάμετρο 1 mm. Η πελλετομηχανή που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του σιτηρεσίου ήταν τύπου California Pellet Mill. (Εικ. 2.2)



Εικόνα 2.2: Πελλετομηχανή τύπου California Pellet Mill.

Τα σιτηρέσια του πειράματος καταρτίστηκαν ώστε να είναι ισοενεργειακά (21 MJ/Kg) και ισοπρωτεϊνικά (52% της τροφής) (Πιν. 2.1). Η βασική πηγή πρωτεϊνών ήταν ζωικής προέλευσης καθώς χρησιμοποιήθηκε υψηλής ποιότητας ιχθυάλευρο. Η τροφή μάρτυρας (FM) περιείχε αποκλειστικά ιχθυάλευρο ως πηγή ζωικής πρωτεΐνης, ενώ στα σιτηρέσια CM10, CM20 και CM30 η πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου υποκαταστάθηκε κατά 10%, 20% και 30%, αντίστοιχα από άλευρο *C. vulgaris* και παράλληλη προσθήκη λυσίνης και μεθειονίνης σε ποσοστά συμμετοχής τέτοια που εκτιμήθηκαν ότι εξισορροπούν τη μείωση των αμινοξέων λόγω υποκατάστασης του ιχθυαλεύρου. Στα σιτηρέσια, επίσης χρησιμοποιήθηκε γλουτένη καλαμποκιού ως πρωτεϊνική πηγή χερσαίας φυτικής προέλευσης σύμφωνα με τα μέσα επίπεδα χορήγησης φυτικών πρωτεϊνών σε εμπορικές τροφές της τσιπούρας σήμερα. Ως κύρια πηγή ενέργειας, ω3 και ω6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων χρησιμοποιήθηκε το ιχθυέλαιο.

**Πίνακας 2.1 Συστατικά και θρεπτική σύσταση (% επί της νωπής ουσίας) των πειραματικών σιτηρεσίων.**

Συστατικά (%)	FM	CM10	CM20	CM30
<i>Chlorella vulgaris</i> , άλευρο	0	6,35	12,70	19,00
Ιχθυάλευρο	53,70	48,35	42,95	37,60
Σιτάρι, αλεύρι	10,40	10,44	10,54	10,67
Γλουτένη καλαμποκιού	24,50	24,30	24,10	23,90
Ιχθυέλαιο	10,60	9,60	8,60	7,55
Βιταμίνες & ανόργανα στοιχεία	0,30	0,30	0,30	0,30
Φωσφορικό μονοασβέστιο	0,30	0,30	0,30	0,30
Βιταμίνη C	0,10	0,10	0,10	0,10
Βιταμίνη E	0,10	0,10	0,10	0,10
Λυσίνη	0	0,12	0,23	0,35
Μεθειονίνη	0	0,04	0,08	0,13
<b>Θρεπτική σύσταση (%)</b>				
Υγρασία	8,18	8,19	7,99	8,09
Ολικές αζωτούχες ουσίες	52,73	52,48	51,97	51,90
Ολικές λιπαρές ουσίες	15,83	14,78	13,62	13,02
Υδατάνθρακες <sup>1</sup>	13,59	15,60	18,08	18,84
Τέφρα	9,68	8,96	8,34	8,15
Ινώδεις ουσίες <sup>2</sup>	0,38	1,15	1,92	2,68
Ενέργεια (MJ/Kg)	21,65	21,41	21,40	21,43

<sup>1</sup> Το ποσοστό των υδατανθράκων εκτιμήθηκε με αφαίρεση από το 100 του συνόλου των ποσοστών πρωτεΐνης, λιπιδίων και τέφρας. Τα περισσότερα συστατικά (εκτός του αλεύρου σίτου) ήταν μια ευγενική χορηγία της εταιρίας BioMar Hellenic ABEEI. Το άλευρο *Chlorella vulgaris* (organic powder, 59% ολικών πρωτεϊνών) προμηθεύτηκε από την Raw Living (Southampton, UK).

<sup>2</sup> Η περιεκτικότητα των σιτηρεσίων σε ινώδεις ουσίες εκτιμήθηκε από γνωστές περιεκτικότητες των επί μέρους συστατικών (NRC 1993).

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) με συμμετοχή 0,3%, καθώς και οι βιταμίνες E και C σε ποσοστό 0,1% η κάθε μία. Συγκεκριμένα αμινοξέα, όπως λυσίνη και μεθειονίνη, προστέθηκαν σε ποσοστά 0,12% και 0,04% για

την CM10, 0,23% και 0,08% για την CM20 και τέλος 0,35% και 0,13% για την CM30 για να διασφαλίσουν τυχόν ανεπάρκεια των ιχθυδίων σε αυτά τα στοιχεία. Η χορήγηση της τροφής ήταν με το χέρι καθημερινή, 2 φορές την ημέρα και λάμβανε χώρα στις 10 π.μ. και στις 17 μμ. Η σίτιση ήταν μέχρι κορεσμού (ad libitum).

### **2.3 Δειγματοληψίες**

Η εκτροφή των ιχθυδίων διήρκησε 12 εβδομάδες. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου πραγματοποιήθηκαν 4 μετρήσεις βάρους: στην έναρξη του πειράματος, την 30<sup>η</sup>, την 60<sup>η</sup> και μία τελική την 85<sup>η</sup> ημέρα. Το μήκος των ιχθύων μετρήθηκε μόνο την πρώτη και την τελευταία ημέρα του πειράματος. Για την αναισθητοποίηση των ψαριών χρησιμοποιήθηκε φαινοξιθανόλη σε συγκέντρωση 0,10 ml/l. Στη συνέχεια, ζυγίζονταν ατομικά κάθε ιχθύδιο σε ζυγό ακριβείας 2 δεκαδικών ψηφίων (0,01 g) και μετρούνταν το μήκος με ιχθυόμετρο (ακρίβεια 0,1 cm). Στην τελική μέτρηση (85<sup>η</sup> ημέρα) τα ψάρια θανατώθηκαν παρατείνοντας την παραμονή τους στο αναισθητικό αυξανόμενης δοσολογίας και άμεσης τοποθέτησης τους σε πάγο.

### **2.4 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής**

#### **2.4.1 Θνησιμότητα**

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

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



#### 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:

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

#### 2.4.4 Συνολική κατανάλωση τροφής

Η συνολική κατανάλωση τροφής εκφράζει τη μέση κατανάλωση της τροφής ανά ψάρι κάθε διατροφικής ομάδας και υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Συν. Κατανάλωση} = \text{ολική κατανάλωση τροφής} / \text{αριθμός ψαριών (κάθε μεταχείρισης)}$$

#### 2.4.5 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

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

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

Όπου,

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

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

#### **2.4.6 Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής**

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

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

#### **2.4.7 Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών**

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

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

#### **2.4.8 Συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης**

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

$$\text{PR (\%)} = 100 \times \text{μεταβολή πρωτεΐνης στον ιστό (g)} / \text{πρωτεΐνη που καταναλώθηκε (g)}, \text{Όπου μεταβολή πρωτεΐνης (g)} = (\text{τελική περιεκτικότητα πρωτεΐνης, \%} \times \text{τελικό βάρος, g}) - (\text{αρχική περιεκτικότητα πρωτεΐνης, \%} \times \text{αρχικό βάρος, g})$$

#### **2.4.9 Συντελεστής διατήρησης λίπους**

Ο συντελεστής διατήρησης λίπους (lipid retention, LR) εκφράζει την ποσοστιαία μεταβολή της περιεκτικότητας ενός ιστού σε λίπος σε συνάρτηση με την ποσότητα

διαιτητικού λίπους που χορηγήθηκε. Ο συντελεστής διατήρησης λίπους υπολογίστηκε για το μυϊκό ιστό των ψαριών σύμφωνα με τη σχέση:

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

$$\text{Όπου μεταβολή λίπους (g)} = (\text{τελική περιεκτικότητα λίπους, \%} \times \text{τελικό βάρος, g}) - (\text{αρχική περιεκτικότητα λίπους, \%} \times \text{αρχικό βάρος, g})$$

#### **2.4.10 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):

$$HSI = \text{Βάρος ήπατος} \times 100 / \text{Βάρος σώματος}$$

$$VSI = \text{Βάρος εντόσθιων} \times 100 / \text{Βάρος σώματος}$$

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

## **2.5 Χημικές αναλύσεις**

### **2.5.1 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών**

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών στα συστατικά των ιχθυοτροφών και στις ιχθυοτροφές που παρασκευάστηκαν στην συνέχεια έγινε με την μέθοδο εκχύλισης Soxhlet (AOAC 1995). Συγκεκριμένα σε ειδικά γυάλινα δοχεία εκχύλισης προσθέσαμε 3-4 πέτρες βρασμού οι οποίες χρησιμεύουν για τον ομαλό βρασμό του δείγματος και καταγράψαμε το βάρος τους σε ζυγό ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων. Συνεχίσαμε προσθέτοντας σε κάθε γυάλινο δοχείο έναν μεταλλικό υποδοχέα μαζί με ένα χάρτινο ηθμό. Ζυγίσαμε ποσότητα δείγματος περίπου 2g την οποία και μεταφέραμε σε κάθε ηθμό. Το δείγμα μας πρέπει να είναι αποξηραμένο και αλεσμένο. Η ξήρανση των δειγμάτων έγινε σε φούρνο στους 105 °C για περίπου 24h μέχρι το βάρος του

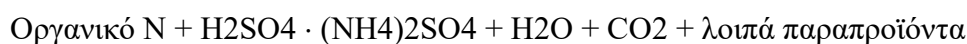
δείγματος να σταθεροποιηθεί. Σε κάθε γυάλινο δοχείο προστέθηκα 140 ml πετρελαϊκού και έπειτα εμβαπτίζονται οι ηθμοί με το δείγμα μας. Όλα τα δοχεία μας μεταφέρονται και τοποθετούνται σε ειδική συσκευή εκχύλισης και απόσταξης του λίπους (Soxhlet). Η διαδικασία της εκχύλισης και απόσταξης του λίπους αποτελείται 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 ξηραντήριο. Τέλος ζυγίζεται και η διαφορά βάρους μεταξύ της άδειας αρχικά φιάλης και της φιάλης με το λίπος δίνει την ποσότητα του λίπους στο δείγμα. Ο υπολογισμός του καθαρού βάρους των λιπαρών ουσιών δίνεται από τον τύπο:

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

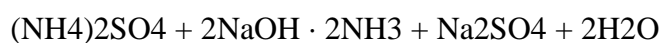
### **2.5.2 Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ουσιών**

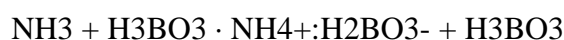
Απαραίτητη διαδικασία για την εκπόνηση του πειράματος ήταν και ο υπολογισμός των ολικών αζωτούχων ουσιών. Ο προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC 1995). Όπως και στον προσδιορισμό των ολικών λιπαρών ουσιών τα δείγματα προέρχονται από τα συστατικά των ιχθυοτροφών και τις ιχθυοτροφές που παρασκευάσαμε. Η διαδικασία ξεκινάει με το ζύγισμα σε ζυγό

ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων, ποσότητας αλεσμένου δείγματος 0,2g και 3 επαναλήψεις για κάθε δείγμα και καταγραφή του βάρους τους. Τα δείγματα μεταφέρονται στους δοκιμαστικούς σωλήνες πέψης. Σε κάθε σωλήνα με δείγμα προσθέτουμε 2 ταμπλέτες καταλύτη Kjeldahl (ταμπλέτες της Tecator, Kjeltabs Se/3,5) για να επιτευχθεί η αντίδραση της πέψης και 15ml πυκνού θειικού οξέως H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Οι φιάλες τοποθετούνται με την βάση τους στην συσκευή πέψης Kjeltec 2000 στη θέση βρασμού. Πάνω από τη βάση με τις φιάλες τοποθετείτε το ειδικό καπάκι με τις υποδοχές αναρρόφησης των αερίων. Η διαδικασία της πέψης πραγματοποιείτε στους 105 °C για 85 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της πέψης γίνεται βρασμός των δειγμάτων όπου με τη βοήθεια πυκνού θειικού οξέως 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. Αφήνουμε τα δείγματα να κρυώσουν για 15 περίπου λεπτά πριν τα μεταφέρουμε στην συσκευή απόσταξης. Στη συσκευή απόσταξης προσθέτουμε 100ml αποσταγμένου νερού, 80ml NaOH και 50ml H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>. Το θειικό αμμώνιο που παράχθηκε κατά την διαδικασία της πέψης αντιδρά με το υδροξείδιο του νατρίου και γίνεται αποδέσμευση της αμμωνίας (αέρια μορφή) και θειικού νατρίου. Εν συνεχεία η αμμωνία αντιδρά με το βορικό οξύ ενώ το άζωτο του δείγματος δεσμεύεται με τη μορφή του βορικού αμμωνίου. Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά της διάρκεια της απόσταξης είναι οι εξής:





Σε μια κωνική φιάλη ρίχνουμε 4 σταγόνες ερυθρού του μεθυλενίου. Το τελικό στάδιο για τον προσδιορισμό των ολικών αζωτούχων ενώσεων είναι η τιτλοδότηση. Σε αυτό το στάδιο τιτλοδοτείτε το διάλυμα βορικού αμμωνίου με αέριο διάλυμα υδροχλωρικού οξέως (0,1N) με βάση την παρακάτω 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 ορίζει και το τελικό σημείο της αντίδρασης. Η περιεκτικότητα του δείγματός μας σε N (%) υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{N}\% = \frac{(\text{ml HCl}) \times 0,0014007}{\text{Βάρος Δείγματος, g}} \times 100$$

Η περιεκτικότητα του δείγματός μας σε πρωτεΐνη (%) υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{Πρωτεΐνη \%} = \text{N \%} \times 6,25$$

Όπου, ο συντελεστής 6,25 προκύπτει από την παραδοχή ότι οι πρωτεΐνες περιέχουν 16% N. Συνεπώς:

$$\text{Πρωτ. \%} = \frac{(\text{ml HCl}) \times 0,0014007 \times 100}{\text{Βάρος Δείγματος, g}} \times 6,25$$

### 2.5.3 Προσδιορισμός τέφρας

Ο προσδιορισμός την τέφρας πραγματοποιείται με την εύρεση της περιεκτικότητας ενός δείγματος σε ακατέργαστη τέφρα, η οποία αντιπροσωπεύει τη συνολική ανόργανη ουσία του δείγματος. Η επίσημη μέθοδος για τον προσδιορισμό της τέφρας είναι η Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). Συγκεκριμένα χρησιμοποιούμε προζυγισμένα πυρίμαχα δοχεία στα οποία τοποθετείται

ποσότητα δείγματος 1-3g. Τα δοχεία τοποθετούνται σε συσκευή αποτέφρωσης στους 600°C για 3 ώρες. Μετά το πέρας της αποτέφρωσης τα δοχεία τοποθετούνται σε ξηραντήρα μέχρι να σταθεροποιηθεί το βάρος τους. Ο τύπος για τον προσδιορισμό της τέφρας είναι ο εξής:

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

#### **2.5.4. Προσδιορισμός θερμιδικής αξίας**

Κατά την πλήρη καύση ενός δείγματος έχουμε ως τελικά προϊόντα καύσης CO<sub>2</sub> και H<sub>2</sub>O. 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.

#### **2.5.5. Προσδιορισμός υγρασία-ξηρής ουσίας**

Για να γίνει ο προσδιορισμός της υγρασίας και της ξηρής ουσίας βασιζόμαστε στην ξήρανση του δείγματος. Το δείγμα τοποθετείτε σε αεριζόμενο ισοθερμικό κλίβανο αποξήρανσης στους 105 °C για περίπου 20 ώρες, μέχρι το δείγμα να αποκτήσει σταθερό βάρος. Το μηχανικά παγιδευμένο νερό εξατμίζεται. Το δείγμα περιέχει πλέον μόνο το χημικά δεσμευμένο νερό. Η απώλεια του βάρους εκφράζει την περιεκτικότητα σε υγρασία ενώ το αποκτηθέν βάρος εκφράζει την ξηρή ουσία. Το ποσοστό της υγρασίας/ ξηρής ουσίας υπολογίζεται ως εξής:

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

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

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

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

## 2.6 Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα της θνησιμότητας, των παραμέτρων ανάπτυξης των ψαριών και αξιοποίησης της τροφής επεξεργάστηκαν με τη μέθοδο της Ανάλυσης της Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (one-way ANOVA) 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 των ιχθυδίων όλων των διατροφικών ομάδων σε ποσοστό 12,5% (45 άτομα στο σύνολο των 360). Πιο αναλυτικά (Πιν. 3.1), για την FM διατροφική ομάδα καταγράφηκε ποσοστό θνησιμοτήτων  $6,11 \pm 5,85\%$ , για την CM10 διατροφική ομάδα  $4,44 \pm 3,47\%$ , για την CM20 διατροφική ομάδα καταγράφηκε ποσοστό θνησιμοτήτων  $10,00 \pm 7,26\%$  και τέλος για τη CM30 διατροφική ομάδα  $5,00 \pm 0,00$ .

**Πίνακας 3.1:** Ποσοστό θνησιμοτήτων (% του συνολικού αρχικού πληθυσμού). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους  $\pm$  τυπική απόκλιση.

Σιτηρέσια				
	FM	CM10	CM20	CM30
<b>Θνησιμότητα %</b>	$6,11 \pm 5,85$	$4,44 \pm 3,47$	$10,00 \pm 7,26$	$5,00 \pm 0,00$

#### 3.2 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης τροφής

##### 3.2.1 Κατά την έναρξη του πειράματος

Το αρχικό μέσο βάρος και μήκος των ιχθυδίων κατά την έναρξη του διατροφικού πειράματος για τα άτομα που τοποθετήθηκαν στα ενυδρεία με το CM10 και το CM20 σιτηρέσιο ήταν  $1,10 \pm 0,00\text{g}$  και  $4,6 \pm 0,0\text{cm}$  (Πιν. 3.2). Για αυτά που τοποθετήθηκαν στα ενυδρεία με το FM σιτηρέσιο ήταν  $1,11 \pm 0,01\text{g}$  και  $4,7 \pm 0,1\text{cm}$  αντίστοιχα ενώ για αυτά που τοποθετήθηκαν στα ενυδρεία με το CM30 σιτηρέσιο ήταν  $1,10 \pm 0,01\text{g}$  και  $4,6 \pm 0,0\text{cm}$ . Δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο αρχικό βάρος και το αρχικό μήκος των ατόμων ( $P > 0,05$ ) μεταξύ των ομάδων.

**Πίνακας 3.2:** Αρχικό μέσο βάρος (g) και αρχικό μέσο ολικό μήκος (cm) των ιχθύων κατά την έναρξη του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους  $\pm$  τυπική απόκλιση.

	FM	CM10	CM20	CM30
<b>Αρχικό Βάρος (g)</b>	1,11 $\pm$ 0,01	1,10 $\pm$ 0,00	1,10 $\pm$ 0,00	1,10 $\pm$ 0,01
<b>Αρχικό Μήκος (cm)</b>	4,7 $\pm$ 0,1	4,6 $\pm$ 0,0	4,6 $\pm$ 0,0	4,6 $\pm$ 0,0

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

### 3.2.2 Κατά την 30η ημέρα πειράματος

Το μέσο βάρος των ψαριών (Πιν. 3.3) κατά την 30η ημέρα του διατροφικού πειράματος ήταν 3,62  $\pm$  0,17g για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο FM, 4,36  $\pm$  0,08g για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο CM10, 4,34  $\pm$  0,85g για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο CM20 και 3,58  $\pm$  0,24g για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο CM30. Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης έδειξαν ότι δεν υπάρχουν διαφορές στις τιμές για το μέσο βάρος των ψαριών όλων των μεταχειρίσεων ( $P > 0,05$ ). Ελαφρώς μειωμένο βρέθηκε το μέσο βάρος των ψαριών που διατράφηκαν με CM30.

**Πίνακας 3.3:** Σωματικό βάρος (g) και αύξηση βάρους (g) των ιχθύων, SGR (%/ημ) και FCR κατά την 31<sup>η</sup> ημέρα του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους  $\pm$  τυπική απόκλιση.

	<b>FM</b>	<b>CM10</b>	<b>CM20</b>	<b>CM30</b>
<b>Μέσο βάρος</b>	3,62 $\pm$ 0,17	4,36 $\pm$ 0,8	4,34 $\pm$ 0,85	3,58 $\pm$ 0,24
<b>Μέσο βάρος/ ψάρι</b>	2,52 $\pm$ 0,17	3,26 $\pm$ 0,08	3,24 $\pm$ 0,85	2,48 $\pm$ 0,23
<b>SGR (%/ημέρα)</b>	3,95 $\pm$ 0,14	4,60 $\pm$ 0,06	4,53 $\pm$ 0,68	3,92 $\pm$ 0,19
<b>Συνολική Κατανάλωση</b>	85,06 $\pm$ 2,80	95,68 $\pm$ 0,63	92,56 $\pm$ 16,81	81,59 $\pm$ 2,70
<b>Κατανάλωση/ψάρι</b>	2,87 $\pm$ 0,09	3,26 $\pm$ 0,03	3,21 $\pm$ 0,55	2,78 $\pm$ 0,08
<b>FCR</b>	1,14 $\pm$ 0,06	1,00 $\pm$ 0,03	1,01 $\pm$ 0,10	1,13 $\pm$ 0,07
<b>Πρωτεΐνη τροφής (%)</b>	52,01 $\pm$ 0,00	52,02 $\pm$ 0,00	52,01 $\pm$ 0,00	52,02 $\pm$ 0,00
<b>PER</b>	1,69 $\pm$ 0,08	1,92 $\pm$ 0,06	1,92 $\pm$ 0,19	1,71 $\pm$ 0,11

Σημ.: Δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές των τιμών ( $P>0,05$ ) μεταξύ των διατροφικών ομάδων σε όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν.

Η συνολική πρόσληψη τροφής της κάθε διατροφικής ομάδας και η πρόσληψη τροφής ανά ψάρι υπολογίστηκαν αντίστοιχα ως 85,06 $\pm$ 2,80g και 2,87 $\pm$ 0,09g για την ομάδα με διατροφή FM, 95,68 $\pm$ 0,63g και 3,26 $\pm$ 0,03g για την ομάδα με διατροφή CM10, 92,56 $\pm$ 16,81g και 3,21 $\pm$ 0,55g για την ομάδα με διατροφή CM20 και τέλος 81,59 $\pm$ 2,70g και 2,78 $\pm$ 0,08g για την ομάδα με διατροφή CM30.

Τέλος, ο δείκτης PER υπολογίστηκε αντίστοιχα ως 1,69 $\pm$ 0,08 για την ομάδα με διατροφή FM, 1,92 $\pm$ 0,06 για την ομάδα με διατροφή CM10, 1,92 $\pm$ 0,19 για την ομάδα με διατροφή CM20 και τέλος 1,71 $\pm$ 0,11 για την ομάδα με διατροφή CM30. Δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ( $P>0,05$ ) μεταξύ των ομάδων σε όλες τις παραπάνω παραμέτρους.

### 3.2.3 Κατά την 60η ημέρα πειράματος

Το μέσο βάρος των ψαριών κατά την 60η ημέρα του διατροφικού πειράματος (Πιν. 3.4) ήταν  $6,78 \pm 1,04$ g για τα άτομα που διατράφηκαν με FM,  $9,19 \pm 0,52$ g για τα άτομα που διατράφηκαν με CM10,  $9,10 \pm 2,68$ g για τα άτομα που διατράφηκαν με CM20 και  $7,40 \pm 0,59$ g για τα άτομα που διατράφηκαν με CM30. Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης έδειξαν ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις τιμές για το μέσο βάρος των ψαριών όλων των μεταχειρίσεων ( $P > 0,05$ ). Μειωμένο βρέθηκε το μέσο βάρος των ψαριών που διατράφηκαν με FM και CM30, αλλά όπως ειπώθηκε δεν ήταν σημαντικό.

**Πίνακας 3.4:** Σωματικό βάρος (g) και αύξηση βάρους (g) των ιχθύων, SGR (%/ημ) και FCR κατά την 60<sup>η</sup> ημέρα του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους  $\pm$  τυπική απόκλιση.

	FM	CM10	CM20	CM30
Μέσο βάρος	$6,79 \pm 1,04$	$9,19 \pm 0,52$	$9,10 \pm 2,68$	$7,40 \pm 0,59$
Αύξηση βάρους/ψάρι	$5,68 \pm 0,85$	$8,10 \pm 0,51$	$8,00 \pm 2,68$	$6,30 \pm 0,59$
SGR (%/ημέρα)	$0,31 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,05$	$0,33 \pm 0,01$
Συνολική κατανάλωση	$212,95 \pm 20,02$	$258,25 \pm 14,95$	$235,61 \pm 48,32$	$225,41 \pm 24,60$
Κατανάλωση/ψάρι	$7,45 \pm 0,85$	$9,00 \pm 0,32$	$8,70 \pm 1,79$	$7,81 \pm 0,71$
FCR	$1,32 \pm 0,12$	$1,11 \pm 0,03$	$1,13 \pm 0,17$	$1,24 \pm 0,01$
πρωτεΐνη τροφής (%)	$52,73 \pm 0,00$	$52,48 \pm 0,00$	$51,97 \pm 0,00$	$51,90 \pm 0,00$
PER	$1,44 \pm 0,13$	$1,71 \pm 0,05$	$1,74 \pm 0,27$	$1,55 \pm 0,01$

Σημ.: Δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές των τιμών ( $P > 0,05$ ) μεταξύ των διατροφικών ομάδων σε όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν.

Οι δείκτες SGR και FCR υπολογίστηκαν αντίστοιχα σε  $0,31 \pm 0,02$  και  $1,32 \pm 0,12$  για την ομάδα FM,  $0,37 \pm 0,01$  και  $1,11 \pm 0,03$  για την ομάδα CM10,  $0,36 \pm 0,05$  και  $1,13 \pm 0,17$  για την ομάδα CM20 και τέλος  $0,33 \pm 0,01$  και  $1,24 \pm 0,01$  για την ομάδα CM30.

Η συνολική πρόσληψη τροφής της κάθε διατροφικής ομάδας και η πρόσληψη τροφής ανά ψάρι υπολογίστηκαν αντίστοιχα ως  $212,95 \pm 20,01\text{g}$  και  $7,45 \pm 0,85\text{g}$  για την ομάδα με διατροφή FM,  $258,25 \pm 14,95\text{g}$  και  $9,00 \pm 0,32\text{g}$  για την ομάδα με διατροφή CM10,  $235,61 \pm 48,32\text{g}$  και  $8,70 \pm 1,79\text{g}$  για την ομάδα με διατροφή CM20 και τέλος  $225,41 \pm 24,60\text{g}$  και  $7,81 \pm 0,71\text{g}$  για την ομάδα με διατροφή CM30.

Τέλος, ο δείκτης PER υπολογίστηκαν αντίστοιχα  $1,44 \pm 0,13$  για την ομάδα με διατροφή FM,  $1,71 \pm 0,05$  για την ομάδα με διατροφή CM10,  $1,74 \pm 0,27$  για την ομάδα με διατροφή CM20 και  $1,55 \pm 0,01$  για την ομάδα με διατροφή CM30. Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $P > 0,05$ ) μεταξύ των ομάδων σε όλες τις παραπάνω παραμέτρους.

#### **3.2.4 Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος**

Στο τέλος του πειράματος (Πιν. 3.5), το μέσο βάρος και μήκος των ψαριών ήταν  $11,88 \pm 2,37\text{g}$  και  $9 \pm 0,6\text{cm}$  για τα άτομα της FM μεταχείρισης,  $15,89 \pm 2,05\text{g}$  και  $10 \pm 0,3\text{cm}$  για τα άτομα της μεταχείρισης CM10,  $15,24 \pm 4,89\text{g}$  και  $9,8 \pm 1,1\text{cm}$  για τα άτομα της μεταχείρισης CM20 και τέλος  $13,15 \pm 2,94\text{g}$  και  $9,4 \pm 0,7\text{cm}$  για τα άτομα της μεταχείρισης CM30 (Πιν. 3.5). Η συνολική κατανάλωση τροφής για την ομάδα FM ήταν  $392,99 \pm 44,42\text{g}$ , για την ομάδα CM10 ήταν  $472,34 \pm 52,85\text{g}$ , για την ομάδα CM20 ήταν  $420,54 \pm 96,06\text{g}$  ενώ για την ομάδα CM30 έφτασε τα  $429,01 \pm 79,27\text{g}$ . Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR) και ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) των ψαριών ήταν  $2,81 \pm 0,24$  και  $1,32 \pm 0,10$  για τα άτομα που διατράφηκαν με το FM σιτηρέσιο,  $3,18 \pm 0,15$  και  $1,12 \pm 0,06$  για την CM10,  $3,08 \pm 0,42$  και  $1,15 \pm 0,18$  για την CM20 και τέλος  $2,93 \pm 0,27$  και  $1,53 \pm 0,10$  αντίστοιχα για την CM30. Ο συντελεστής αποδοτικότητας της πρωτεΐνης (PER) ήταν  $1,47 \pm 0,12$  για τα ψάρια της ομάδας FM,  $1,72 \pm 0,08$  για τα ψάρια της διατροφής CM10,  $1,70 \pm 0,25$  για τα ψάρια της διατροφής

CM20 και  $1,53 \pm 0,10$  για τα ψάρια της διατροφής CM30. Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $P > 0,05$ ) μεταξύ των ομάδων σε όλες τις παραπάνω παραμέτρους.

**Πίνακας 3.5:** Μέσο βάρος (g), μέσο ολικό μήκος (cm) και παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης τροφής των ιχθυδίων ανά διατροφικό σιτηρέσιο κατά την ολοκλήρωση του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους  $\pm$  τυπική απόκλιση.

	<b>FM</b>	<b>CM10</b>	<b>CM20</b>	<b>CM30</b>
<b>Τελ. μήκος (cm)</b>	$9 \pm 0,6$	$10 \pm 0,3$	$9,8 \pm 1,1$	$9,4 \pm 0,7$
<b>Τελ. βάρος (g)</b>	$11,88 \pm 2,37$	$15,89 \pm 2,05$	$15,24 \pm 4,89$	$13,15 \pm 2,94$
<b>Συν. κατανάλωση (g)</b>	$392,99 \pm 44,42$	$472,34 \pm 52,85$	$420,54 \pm 96,06$	$429,01 \pm 79,27$
<b>SGR (%/ημ.)</b>	$2,81 \pm 0,24$	$3,18 \pm 0,15$	$3,08 \pm 0,42$	$2,93 \pm 0,27$
<b>FCR</b>	$1,32 \pm 0,10$	$1,12 \pm 0,06$	$1,15 \pm 0,18$	$1,26 \pm 0,08$
<b>PER</b>	$1,47 \pm 0,12$	$1,72 \pm 0,08$	$1,70 \pm 0,25$	$1,53 \pm 0,10$
<b>πρωτεΐνη τροφής (%)</b>	$52,73 \pm 0,00$	$52,48 \pm 0,00$	$51,97 \pm 0,00$	$51,90 \pm 0,00$

Σημ.: Δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές των τιμών ( $P > 0,05$ ) μεταξύ των διατροφικών ομάδων σε όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν.

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τα αποτελέσματα του πειράματος δείχθηκε ότι η μερική αντικατάσταση της πρωτεΐνης του ιχθυάλευρου από άλευρο *Chlorella vulgaris* σε ποσοστά 10%, 20% και 30% με προσθήκη λυσίνης και μεθειονίνης για την εξισορρόπηση των συγκεκριμένων απαραίτητων αμινοξέων, δεν επηρέασε την επιβίωση των ψαριών που σιτίστηκαν με αυτά. Αυτό δείχνει ότι η *C. vulgaris* δεν προκαλεί διατροφικές θνησιμότητες στην τσιπούρα. Επίσης, η μερική αντικατάσταση της πρωτεΐνης του ιχθυάλευρου από άλευρο *C. vulgaris* δεν επέδρασε αρνητικά στην ανάπτυξη της τσιπούρας και την αξιοποίηση της τροφής από αυτήν. Είναι αξιοσημείωτο δε, ότι οι τσιπούρες που διατράφηκαν με άλευρο *C. vulgaris* επέδειξαν ελαφρώς καλύτερους, αν και όχι σημαντικά υψηλότερους, συντελεστές συγκριτικά με τους ιχθύες που διατράφηκαν με την τροφή-μάρτυρα. Από τα αποτελέσματα της έρευνας, λοιπόν, διαπιστώνεται ότι το άλευρο *C. vulgaris* μπορεί επιτυχώς να υποκαταστήσει το ιχθυάλευρο μέχρι και 30% (της πρωτεΐνης αυτού) στο σιτηρέσιο της τσιπούρας (*S. aurata*).

Μέχρι σήμερα, δεν έχουν πραγματοποιηθεί άλλες έρευνες που να διερευνούν την καταλληλότητα αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου από άλευρο *C. vulgaris* στην τσιπούρα. Ωστόσο, ο μικρός αριθμός μελετών που πραγματοποιήθηκαν μέχρι σήμερα σε άλλα είδη ιχθύων με τη χρήση αλεύρου *C. vulgaris*, έχουν δείξει ποικίλα αποτελέσματα. Συγκεκριμένα στην έρευνα αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου με άλευρο *C. vulgaris* σε ποσοστά 5%, 10% και 15% για την διατροφή του είδους *Paralichthys olivaceus* δεν επηρέασε την θνησιμότητα, ενίσχυσε την ανάπτυξη, το μεταβολισμό των λιπιδίων και την αντιοξειδωτική ενζυματική δραστηριότητα, ενώ παράλληλα μείωσε τη συγκέντρωση της χοληστερόλης στο πλάσμα (Rahimnejad & Lee 2016). Μια ακόμα έρευνα που πραγματοποιήθηκε με αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από άλευρο *C. vulgaris* για το είδος *Oreochromis niloticus* σε ποσοστά

10%, 25%, 50% και 75% έδειξε ότι η αντικατάσταση ήταν επιτυχής μέχρι και 50% (Badwy *et al.* 2008). Παρόμοια μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Khani *et al.* (2017) για το είδος *Cyprinus carpio* έδειξε ότι η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από *C. vulgaris* σε ποσοστό 2%, 5%, 7% και 10% είχε καλύτερα αποτελέσματα στο 5% της αντικατάστασης. Συγκεκριμένα υπήρχε αύξηση στους δείκτες SGR και PER, καθώς και σημαντική ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος. Οι Shi *et al.* (2016) αντικατέστησαν το ιχθυάλευρο με *C. vulgaris* στο είδος *Carassius auratus* σε ποσοστά 75% και 100% προτείνοντας πως η *C. vulgaris* μπορεί να αντικαταστήσει έως και 100% το ιχθυάλευρο. Παρεμφερή αποτελέσματα εμφανίζονται και σε έρευνες που έχουν γίνει σε καρκινοειδή. Για παράδειγμα στην εκτροφή της γαρίδας *Macrobrachium rosenbergii* παρατηρήθηκε αύξηση της ανάπτυξης της όταν διατράφηκε με *C. vulgaris* υποκαθιστώντας μέχρι και 50% το ιχθυάλευρο, ενώ στα ποσοστά 75% και 100% υπήρχε ελαφριά μείωση.

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη διαπίστωσε ότι το άλευρο *C. vulgaris* μπορεί επιτυχώς να υποκαταστήσει το ιχθυάλευρο μέχρι και 30% (της πρωτεΐνης αυτού) στο σιτηρέσιο της τσιπούρας (*S. aurata*) χωρίς να μειώνει την ανάπτυξη των ψαριών και την αποδοτικότητα της τροφής από αυτά, αλλά ούτε και αποφέρει διατροφικές θνησιμότητες. Το γεγονός ότι οι τσιπούρες που διατράφηκαν με σιτηρέσια που περιείχαν άλευρο *C. vulgaris* επέδειξαν ελαφρώς υψηλότερη κατανάλωση τροφής και ανάπτυξη από τους ιχθύες μάρτυρες, ενισχύει περισσότερο τη διαπίστωση περί της καταλληλότητας του συγκεκριμένου μικροφύκου στη διατροφή της τσιπούρας. Απαραίτητη όμως κρίνεται η περαιτέρω έρευνα στο είδος της τσιπούρας για την εξακρίβωση, εάν η *C. Vulgaris* εξακολουθεί να αποτελεί κατάλληλο συστατικό για αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου και σε μεγαλύτερα ποσοστά από τα παρόντα που δοκιμάστηκαν στην παρούσα μελέτη. Επίσης, μελλοντικά θα πρέπει να μελετηθούν και



άλλες παράμετροι που ενδέχεται να επηρεάζονται από τη διατροφή της τσιπούρας με *C. vulgaris* όπως για παράδειγμα η θρεπτική της σύσταση και η πεπτικότητα της τροφής μεταξύ άλλων.

## 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 5.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Allan G.L., Rowland S.J., Mifsud C., Glendenning D., Stone D.A.J. and Ford A. (2000) Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: V. Least-cost formulation of practical diets. *Aquaculture*,
- Atalah, E. et al. (2007) ‘Two microalgae *Cryptocodinium cohnii* and *Phaeodactylum tricornutum* as alternative source of essential fatty acids in starter feeds for seabream (*Sparus aurata*)’, *Aquaculture*, 270(1–4), pp. 178–185. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.009.
- Becker, E. W., (2004) The nutritional value of microalgae for aquaculture
- Bendy E., Dacheng R. and Radhakrishna S., (2017) Cultivation and energy efficient harvesting of microalgae using thermoreversible sol-gel transition
- Cerezuela, R. et al. (2012) ‘Enrichment of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) diet with microalgae: Effects on the immune system’, *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(6), pp. 1729–1739. doi: 10.1007/s10695-012-9670-9.
- Daniel, N. (2016) ‘A Review on Microalgae as Potential Fish Feed Ingredient’, *Journal of the Andaman Science Association*, 21(January).
- Eryalçin, K. M. et al. (2013) ‘Fish oil replacement by different microalgal products in microdiets for early weaning of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.)’, *Aquaculture Research*, 44(5), pp. 819–828. doi: 10.1111/j.1365-2109.2012.03237.x.
- Fountoulaki, E. et al. (2009) ‘Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile. Recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuati’, *Aquaculture. Elsevier B.V.*, 289(3–4), pp. 317–326. doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.01.023.
- Francis G., Makkar H.P.S. and Becker K. (2001) Antinutritional factors present in plant derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*
- Ganuza, E. et al. (2008) ‘*Cryptocodinium cohnii* and *Schizochytrium* sp. as potential substitutes to fisheries-derived oils from seabream (*Sparus aurata*) microdiets’, *Aquaculture*, 277(1–2), pp. 109–116. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.02.005.
- Giner, F. Médale, S. A. M. Martin, D.F. Houlihan S. Kaushik, J. Pérez-Sánchez (2004) Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*)

- Gomez-Requeni P., Mingarro M., Kirchner S., Calduch-Giner J.A., Medale F., Corraze G., Panserat S., Martin S.A.M., Houlihan D.F., Kaushik S.J. and Perez-Sanchez J. (2003) Effects of dietary amino acid profile on growth performance, key metabolic enzymes and somatotrophic axis responsiveness of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*
- Gómez-Requenia P., Mingarroa M., Calduch-Ginera J. A, Médale F., Martin S.A.M, Houlihan D. F. F., Kaushik S., Pérez-Sánchez J. (2004) Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotrophic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*)
- Gonzalo Rodríguez Rodríguez, R. B. R. (2015) ‘Market Differences between Wild and Farmed Major European Marine Fish Species. Evidence from the Spanish Seafood Market’, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15, pp. 711–722. doi: 10.4194/1303-2712-v15.
- Gouveia L. and Rema P., (2002) Effect of microalgal biomass concentration and temperature on ornamental goldfish (*Carassius auratus*) skin pigmentation
- Guedes A.C. and Malcata F.X. (2012) Nutritional Value and Uses of Microalgae in Aquaculture
- Guedes, A. C., Sousa-Pinto, I. and Malcata, F. X. (2015) Application of Microalgae Protein to Aquafeed, *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances*. doi: 10.1016/B978-0-12-800776-1.00008-X.
- Hardy, R. W. (2010) ‘Utilization of plant proteins in fish diets: Effects of global demand and supplies of fishmeal’, *Aquaculture Research*, 41(5), pp. 770–776. doi: 10.1111/j.1365-2109.2009.02349.x.
- Harel, M. et al. (2002) ‘Advanced DHA, EPA and ArA enrichment materials for marine aquaculture using single cell heterotrophs’, *Aquaculture*, 213(1–4), pp. 347–362. doi: 10.1016/S0044-8486(02)00047-9.
- Hartviksen M., Vecino J.G., Bakke A.M., Ringo E. and Krogdahl A. (2014). Evaluation of the effect of commercially available plant and animal protein sources in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): digestive and metabolic investigations. *Fish Physiol Biochem*
- Hemaiswarya, S. et al. (2011) ‘Microalgae: A sustainable feed source for aquaculture’, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(8), pp. 1737–1746. doi: 10.1007/s11274-010-0632-z.
- Jackson, A., Fishmeal, I. and Organisation, O. (2009) ‘Sustainable Fishmeal and Fish’, (October).
- Karapanagiotidis I.T., V. Karalazos, N. Kougioumtzis, V. Tsiamis, V. Tsiaras, C. Neofitou, I. Karacostas and I. Nengas (2014). Growth and Feed Utilization of

Golden Grey Mullet (*Liza aurata*) in a Coastal Lagoon Ecosystem Fed Compound Feeds with Varying Protein Levels.

Karapanagiotidis I.T. (2014). The Re-Authorization of Non-Ruminant Processed Animal Proteins in European Aqua feeds. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 5:4 <http://dx.doi.org/10.4172/2150-3508.1000e111>.

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*, 1-12 <https://doi.org/10.1111/anu.12824>

Kikuchi K., Sato T., Furuta T., Sakaguchi I. and Deguchi Y. (1997) Use of meat and bone meal as a protein source in the diet of juvenile Japanese flounder. *Fisheries Science*

Li, M. H. et al. (2009) 'Effects of dried algae *Schizochytrium* sp., a rich source of docosahexaenoic acid, on growth, fatty acid composition, and sensory quality of channel catfish *Ictalurus punctatus*', *Aquaculture*. Elsevier B.V., 292(3–4), pp. 232–236. doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.04.033.

Madeira, M. S. et al. (2017) 'Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: A review', *Livestock Science*. Elsevier B.V., 205, pp. 111–121. doi: 10.1016/j.livsci.2017.09.020.

Maruyama A., Taniguchi R., Tanaka H., Ishiwata H. and Higashihara T. (1997) Low-temperature adaptation of deep-sea bacteria isolated from the Japan Trench.

Millamena O.M. (2002). Replacement of fish meal by animal by-product meals in a practical diet for grow-out culture of grouper *Epinephelus coioides*.

Mustafa, M. et al. (1995) 'Effects of algae meal as feed additive on growth, feed efficiency, and body composition in red sea bream', *Fisheries Science*, 61(1), pp. 25–28. doi: 10.2331/fishsci.61.25.

Navarro, N. and Sarasquete, C. (1998) 'Use of freeze-dried microalgae for rearing gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae. I. Growth, histology and water quality', *Aquaculture*, 167(3–4), pp. 179–193. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00311-1.

Nogueira N., Cordeiro N., Andrade C., and Aires T. (2012) Inclusion of low levels of blood and feathermeal in practical diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*

Pakravan, S. et al. (2017) '*Chlorella vulgaris* meal improved growth performance, digestive enzyme activities, fatty acid composition and tolerance of hypoxia and ammonia stress in juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*', *Aquaculture Nutrition*, (May), pp. 1–11. doi: 10.1111/anu.12594.

- Palmegiano, G. B. et al. (2010) 'Partial replacement of fish meal by T-Iso in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles diets', Italian Journal of Animal Science, 8(2s), p. 869. doi: 10.4081/ijas.2009.s2.869.
- Pátkai, G. (2007) 'Fruit as an Ingredient in A Fruit Product', Handbook of Fruits and Fruit Processing, (February), pp. 217–230. doi: 10.1002/9780470277737.ch13.
- Patterson, D. and Gatlin, D. M. (2013) 'Evaluation of whole and lipid-extracted algae meals in the diets of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*)', Aquaculture. Elsevier B.V., 416–417, pp. 92–98. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.08.033.
- Pavel Pribyl P., Cepak V. and Zachleder V. (2012) Production of lipids in 10 strains of Chlorella and Parachlorella, and enhanced lipid productivity in *Chlorella vulgaris*
- Pereira T.G. and Oliva-Teles A. (2002) Preliminary evaluation of pea seed meal in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. Aquaculture Research
- Pierre Psafakis, Evanthia Daskalopoulou, Alexandros Theodorou, Elena Mente, Ioannis T. Karapanagiotidis (2015). Effect of replacing fishmeal with poultry meal and hydrolysed feather meal on growth and feed efficiency of gilthead seabream (*Sparus aurata*).
- Pike, I. H. (1999) 'Health Benefits From Feeding Fish Oil and Fish Meal', Ifoma Technical Bulletin, (28), pp. 3–6.
- Pusztai A. and Bardocz S. (2006) Chapter 17 GMO in animal nutrition: potential benefits and risks
- Rahimnejad, S. et al. (2017) 'Effects of Dietary Inclusion of *Chlorella vulgaris* on Growth, Blood Biochemical Parameters, and Antioxidant Enzyme Activity in Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*', Journal of the World Aquaculture Society, 48(1), pp. 103–112. doi: 10.1111/jwas.12320.
- Robin, J. H. and Vincent, B. (2003) 'Microparticulate diets as first food for gilthead sea bream larva (*Sparus aurata*): study of fatty acid incorporation', Aquaculture, 225(1–4), pp. 463–474.
- Rohit Sharma R., Chisti Y. and Banerjee U.C., (2001) Production, purification, characterization, and applications of lipases
- Roy, S. Sen and Pal, R. (2015) 'Microalgae in Aquaculture: A Review with Special References to Nutritional Value and Fish Dietetics', Proceedings of the Zoological Society, 68(1), pp. 1–8. doi: 10.1007/s12595-013-0089-9.
- Sarker, P. K. et al. (2016) 'Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) show high digestibility of lipid and fatty acids from marine Schizochytrium sp. and of protein and essential amino acids from freshwater Spirulina sp. feed ingredients', Aquaculture Nutrition, 22(1), pp. 109–119. doi: 10.1111/anu.12230.

- Sergejevová, M. and Masojídek, J. (2012) 'Chlorella biomass as feed supplement for freshwater fish: Sterlet, *Acipenser ruthenus*', *Aquaculture Research*, 44(1), pp. 157–159. doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.03011.x.
- Shi, X., Chen, F., et al. (2017) 'Fishmeal can be totally replaced by a mixture of rapeseed meal and Chlorella meal in diets for crucian carp (*Carassius auratus gibelio*)', *Aquaculture Research*, 48(11), pp. 5481–5489. doi: 10.1111/are.13364.
- Shi, X., Luo, Z., et al. (2017) 'Effect of fish meal replacement by Chlorella meal with dietary cellulase addition on growth performance, digestive enzymatic activities, histology and myogenic genes' expression for crucian carp *Carassius auratus*', *Aquaculture Research*, 48(6), pp. 3244–3256. doi: 10.1111/are.13154.
- Shields, R. J. and Lupatsch, I. (2012) 'Algae for Aquaculture and Animal Feeds', *Technikfolgenabschätzung – Theorie und Praxis* 21., 21(1), pp. 23–37.
- Sitja-Bobadilla A., Pena-Llopis S., Gomez-Requeni P., Medale F., Kaushik S. and Perez Sanchez J. (2005) Effect of fishmeal replacement by plant protein sources on nonspecific defence mechanisms and oxidative stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*
- 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*. Elsevier B.V., 285(1–4), pp. 146–158. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.08.015.
- Tartiel, M. B., Ibrahim, E. M. and Zeinhom, M. M. (2008) 'Partial replacement of fish meal with dried microalgae (*Chlorella* SPP and *Scenedesmus* SPP) in Nile Tilapia', 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, (2004), pp. 801–811. Available at: [https://ag.arizona.edu/azaqua/ista/ISTA8/FinalPapers/11 Nutrition/PDF/8. TARTIEL.pdf](https://ag.arizona.edu/azaqua/ista/ISTA8/FinalPapers/11%20Nutrition/PDF/8.%20TARTIEL.pdf).
- Tredici M. R., Biondi N., Chini Zittelli G., Ponis E. and Rodolfi L. (2009) New Technologies in Aquaculture, Advances in microalgal culture for aquaculture feed and other uses
- Vizcaíno, A. J. et al. (2014) 'Effects of the microalga *Scenedesmus almeriensis* as fishmeal alternative in diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata*, juveniles', *Aquaculture*. Elsevier B.V., 431, pp. 34–43. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.05.010.
- Watson, A. M. (2013) 'Taurine supplemented plant protein-based diets with alternative lipid sources for juvenile gilthead sea bream, *Sparus aurata*', *J. Fish. Aquac.*, 4(1), pp. 59–66.

## **5.2 Ελληνική βιβλιογραφία**

Μεντέ Ε. και Νέγκας Ι. (2011) Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα.

Παπουτσόγλου Σ. Ε. (2008) Διατροφή ιχθύων. Εκδόσεις Σταμούλη. Αθήνα.

Χρηστάκη Ε. και Φλώρου-Πανέρη Π. (2015) Ζωοτροφές και καταρτισμός σιτηρεσίων παραγωγικών. Εκδόσεις Τζιόλα. Θεσσαλονίκη.

## ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the potential use of plant proteins and specifically of algae *Chlorella vulgaris*, as a fishmeal replacement in the diet of gilthead seabream (*Sparus aurata*).

Juvenile sea breams, initial average weight of  $1,11 \pm 0,01$ g, were transferred in the facilities of University of Thessaly, where the experiment took place. The temperature was maintained at 21 °C, pH  $8,00 \pm 0,4$  and salinity was kept at  $32 \pm 0,5$  ‰. The juveniles were divided into four dietary groups (25 individuals/tank, 3 reps/food group), which were offered four different diets, by hand at saturation, two times per day for 110 days. For the first diet, the protein source was fishmeal (100%). In the other three diets, fishmeal was replaced by chlorella meal protein at 10%, 20% and 30% with the addition of methionine and lysine. All four diets were iso-energetic (21 MJ/kg of diet) and iso-nitrogenous (52% of diet).

The partial replacement of fish meal with chlorella meal from 10% to 30% with the addition of the amino acids methionine and lysine did not affect survival, weight gain, SGR, FCR, PER, protein and lipid retention in the gilthead seabream.

The results of the present study, showed that a 30% chlorella meal supplemented with essential amino acids is a suitable dietary fishmeal replacement for *S. aurata*. Further investigation is needed for various species and also in terms of chlorella meal digestibility in order to ensure the suitability of this algae meal for the aquaculture industry.