



**ΠΑΝΕΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Υποκατάσταση ιχθυάλευρου από άλευρο του μικροφύκου *Chlorella vulgaris* στο σιτηρέσιο του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*):
Επίδραση στις παραμέτρους ανάπτυξης των ιχθύων»**

ANNA ΜΟΥΣΤΟΓΙΑΝΝΗ

ΒΟΛΟΣ, 2021

**«Υποκατάσταση ιχθυάλευρου από άλευρο του μικροφύκου *Chlorella vulgaris* στο σιτηρέσιο του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*):
Επίδραση στις παραμέτρους ανάπτυξης των ιχθύων»**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :

- 1) **Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης, Αναπληρωτής Καθηγητής** - Διατροφή Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιβλέπων
- 2) **Παναγιώτα Παναγιωτάκη, Καθηγήτρια** - Υδατοκαλλιέργειες, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος
- 3) **Νικόλαος Κατσούλας, Καθηγητής** – Γεωργικές Κατασκευές με έμφαση στα θερμοκήπια, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος

Στον Γεώργιο Βαρβατσούλη
&
στην Δρ. Άννα Μακρή
με τη σκέψη μου να είναι πάντοτε εκεί!

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στη «Μεσογειακή Υδατοκαλλιέργεια», υπό τη χρηματοδότηση της εταιρίας «ΖΩΟΝΟΜΗ Α.Β.Ε.Ε.- Βιομηχανία Εξειδικευμένων Ιχθυοτροφών και Ζωοτροφών».

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη, για τις πολύτιμες συμβουλές του και την καθοδήγησή του σε όλη την πορεία των πειραμάτων αλλά και για τη μεταλαμπάδευση των γνώσεων του σε ζητήματα διατροφής ιχθύων, καθιστώντας τον έναν άξιο «Ακαδημαϊκό Πατέρα».

Επιπρόσθετα θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτρια Παναγιώτα Παναγιωτάκη και τον καθηγητή Νικόλαο Κατσούλα που δέχτηκαν να συμμετέχουν στην τριμελή επιτροπή.

Ένα ακόμα ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στους υποψήφιους διδάκτορες Πιερ Ψωφάκη, Μαντώ Ασημάκη και Ελίνα Γκαλογιάννη για την άψογη συνεργασία που είχαμε κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

Νοιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω θερμά τη ΖΩΟΝΟΜΗ Α.Β.Ε.Ε. η οποία ενσαρκώνεται από την κα Ειρήνη Δημάκη (Διευθύνουσα Σύμβουλο), για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου, τη βοήθεια και τη συνεχή στήριξή της σε επαγγελματικό και κυρίως σε προσωπικό επίπεδο. Επίσης, ευχαριστώ θερμά τον κ. Χρήστο Σπύρου (Οικονομικό Σύμβουλο) για την εμπιστοσύνη και τις χειμαρρώδεις ιδέες του που με προκαλούν να προοδεύω. Τέλος, ευχαριστώ τον σύντροφο της ζωής μου, τον Γιάννη Κουμέλη για τη στήριξη και την αγάπη που μου δίνει όλα αυτά τα χρόνια.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η συνεχής αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού σε συνδυασμό με τη στασιμότητα των αλιευμάτων κατά τις τελευταίες δεκαετίες, έχει οδηγήσει στην εντατικοποίηση της ιχθυοκαλλιέργειας και στη συνεχή ανάπτυξή της με αποτέλεσμα την αυξημένη ζήτηση των ιχθυοτροφών. Τα τελευταία χρόνια έχει ξεκινήσει η προσπάθεια μείωσης της εξάρτησης του κλάδου των ιχθυοτροφών από τα ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια και η εύρεση νέων εναλλακτικών πρωτεϊνικών πηγών για την παρασκευή των ιχθυοτροφών.

Η παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία, είχε ως στόχο την διερεύνηση της υποκατάστασης του ιχθυάλευρου από το άλευρο του μικροφύκου *Chlorella vulgaris* και την μελέτη της επίδρασης της ενέργειας αυτής στις παραμέτρους της ανάπτυξης και της αξιοποίησης της τροφής των ιχθυδίων λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*).

Ιχθύδια λαβρακιού, αρχικού μέσου βάρους $2,85 \pm 0,27$ g, μεταφέρθηκαν σε 12 υάλινα ενυδρεία χωρητικότητας 125 L, κλειστού κυκλώματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού, όπου η θερμοκρασία ήταν 21 °C, το pH $8,0 \pm 0,4$ και η αλατότητα $30 \pm 0,5\%$. Τα ιχθύδια χωρίστηκαν σε 4 διατροφικές ομάδες (35 άτομα/δεξαμενή, 3 επαναλήψεις/διατροφική ομάδα) στις οποίες χορηγήθηκαν 4 ισοπρωτεϊνικά (56,4% επί ξηρής ουσίας) και ισοενεργειακά σιτηρέσια (22,4 MJ/kg ξηρής ουσίας) για 77 ημέρες. Η τροφή μάρτυρας (FM) περιείχε αποκλειστικά ιχθυάλευρο ως κύρια πηγή πρωτεϊνών, ενώ στις τροφές CM10, CM20, CM30, έγινε υποκατάσταση της πρωτεΐνης του ιχθυάλευρου κατά 10%, 20% και 30% αντίστοιχα από άλευρο *Chlorella vulgaris*.

Μετά το πέρας της πειραματικής εκτροφής, η επιβίωση των ιχθυδίων δεν επηρεάστηκε από την υποκατάσταση του ιχθυάλευρου από το άλευρο του μικροφύκου *C. vulgaris*. Η αύξηση βάρους (19,86-21,06 g) και οι συντελεστές FCR (1,38-1,45), SGR

(2,73-2,80 %/ημέρα) και PER (1,34-1,40) δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Τα αποτελέσματα της παρούσας ερευνητικής εργασίας έδειξαν ότι το άλευρο του μικροφύκου *C. vulgaris* αποτελεί κατάλληλο υποκατάστατο του ιχθυάλεου σε ποσοστό υποκατάστασης της πρωτεΐνης του έως 30% αναφορικά με την ανάπτυξη του λαβρακιού. Αυτό με τη σειρά του δείχνει ότι είναι εφικτό διατροφικά να παρασκευαστούν περαιτέρω βιώσιμες ιχθυοτροφές κάνοντας χρήση του *C. vulgaris* και μειώνοντας τα επίπεδα χορήγησης ιχθυαλεύρων στις ιχθυοτροφές του λαβρακιού. Αν και τα στοιχεία αυτά είναι άκρως ενθαρρυντικά, κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω έρευνα για την πλήρη αποτύπωση της καταλληλότητας του *C. vulgaris* στη διατροφή του λαβρακιού και περαιτέρω έρευνες με άλλα είδη μικροφυκών. Προκειμένου η βιομηχανία ιχθυοτροφών να κάνει χρήση αυτών των συστατικών θα πρέπει μελλοντικά να συνεκτιμηθεί η οικονομική βιωσιμότητα της χρήσης μικροφυκών στις ιχθυοτροφές.

Λέξεις – Κλειδιά: λαβράκι, *Dicentrarchus labrax*, αντικατάσταση ιχθυάλεου, μικροφύκη, *Chlorella vulgaris*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1 Βιολογία και εκτροφή του είδους <i>Dicentrarchus labrax</i>	10
1.2 Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους	11
1.3 Η χρήση του ιχθυάλευρου στις ιχθυοτροφές.....	13
1.4. Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεϊνικές πηγές φυτικής και ζωικής προέλευσης	16
1.5 Η χρήση των μικροφικών στην ιχθυοκαλλιέργεια	19
1.7 Σκοπός.....	21
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	22
2.1 Πειραματικός σχεδιασμός.....	22
2.2 Δειγματοληψίες.....	26
2.3 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής	27
2.3.1 Θνησιμότητα	27
2.3.2 Αύξηση ολικού βάρους ψαριών	27
2.3.3 Ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους	27
2.3.4 Συνολική κατανάλωση τροφής.....	27
2.3.5 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης	28
2.3.6 Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών.....	28
2.4 Χημικές αναλύσεις.....	29
2.4.1 Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ενώσεων	30
2.4.2 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών	30
2.4.3. Προσδιορισμός τέφρας.....	31
2.4.4 Προσδιορισμός υγρασίας - ξηρής ουσίας	32
2.4.5 Προσδιορισμός ενέργειας.....	32
2.5 Στατιστική ανάλυση.....	32
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	34
3.1 Θνησιμότητα	34
3.2 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής	34
3.2.1 Κατά την έναρξη του πειράματος	35
3.2.2 Κατά την 33 ^η ημέρα του πειράματος	37
3.2.3 Κατά την 63 ^η ημέρα του πειράματος	38

3.2.4 Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος (78 ^η ημέρα).....	38-
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	40
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	43
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	44
ABSTRACT	52

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Βιολογία και εκτροφή του είδους *Dicentrarchus labrax*

Το λαβράκι *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus 1758) είναι ψάρι που ανήκει στην οικογένεια *Moronidae*, (τάξη: *Perciformes*, Ομοταξία: *Actinopterygii*, συνομοταξία: *Chordata*) και αποτελεί ένα από τα κυριότερα εκτρεφόμενα είδη για την υδατοκαλλιέργεια τόσο της Ελλάδας όσο και της Μεσογείου (Παπουτσόγλου 2008). Έχει σώμα επίμηκες, χρώματος ασημί, με τα νεαρά ιχθύδια να φέρουν μικρά μαύρα στίγματα στη ράχη και τα πλευρά. Ο ασημένιος χρωματισμός είναι περισσότερο σκούρος ραχιαία και λιγότερο κοιλιακά. Το μέσο μήκος του είναι 50 cm, με το μέγιστο να αγγίζει τα 103 cm και το μέσο βάρος του είναι 5-7 kg, ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι το μέγιστο βάρος που έχει παρατηρηθεί φτάνει τα 12 kg.

Το είδος κατανέμεται γεωγραφικά στον Ανατολικό Ατλαντικό από τη Νορβηγία ως το Μαρόκο, τις Κανάριες Νήσους και τη Σενεγάλη, όπως επίσης στη Μεσόγειο και τη Μαύρη Θάλασσα. Τα άτομα του είδους είναι βενθοπελαγικά και διαβιούν σε εύκρατα και υποτροπικά κλίματα, με τα ενήλικα άτομα να εντοπίζονται σε παράκτια ύδατα με μικρά βάθη. Είναι ευρύαλο και ευρύθερμο είδος. Προσαρμόζεται εύκολα και μπορεί να αναπτυχθεί ακόμα και σε γλυκά νερά, αφού εντοπίζεται σε εκβολές ποταμών, λιμνοθάλασσες και περιστασιακά σε ποτάμια. Ιδανικές συνθήκες αλατότητας για την άριστη ανάπτυξή τους είναι 20-30 ‰, ενώ η θερμοκρασία στην οποία διατρέφεται είναι 7-30 °C, αφού κάτω από τους 7 °C σταματά να τρέφεται και κάτω από τους 2 °C πεθαίνει (Χώτος και Ρογδάκης 2010). Είναι σαρκοφάγο και ιδιαίτερα αδηφάγο είδος, τα νεαρά ιχθύδια τρέφονται με ασπόνδυλα, ενώ οι διατροφικές συνήθειες των ενήλικων ατόμων περιλαμβάνουν κυρίως γαρίδες, μαλάκια και ψάρια.

Η καλλιέργεια του λαβρακιού ξεκίνησε την δεκαετία του 1970, όπου βασίστηκε στη συλλογή άγριων νεαρών ιχθυδίων και την περαιτέρω καλλιέργειά τους (Vanderputte et. al. 2019). Η ανάπτυξη των τεχνικών αναπαραγωγής του είδους σηματοδότησε την ανάπτυξη της βιομηχανικής εκτροφής του (Coves et al. 1991, Divanach & Kentouri 2000). Μέχρι τη δεκαετία του 1990, η καλλιέργεια του λαβρακιού προερχόταν από άγριου τύπου γεννήτορες, ενώ αργότερα αναπτύχθηκαν προγράμματα αναπαραγωγής, ώστε το 2006 περίπου το 20% της παραγωγής προερχόταν από γόνο που προέκυψε από επιλεγμένους γεννήτορες δεύτερη και τρίτης γενιάς εκτροφής (Vanderputte et. al. 2019).

Η παγκόσμια παραγωγή λαβρακιού το 2019 κυμάνθηκε στους 213.677 τόνους, σημειώνοντας αύξηση 8,8% συγκριτικά με το 2018, με κύριες χώρες-παραγωγούς την Τουρκία (35,1%), την Ελλάδα (25,8%) και την Ισπανία (12,8%). Στην Ελλάδα, ο όγκος παραγωγής του λαβρακιού αποτέλεσε 46% της ολικής παραγωγής τσιπούρας-λαβρακιού, παρουσιάζοντας αύξηση 4,1% σε σχέση με το προηγούμενο έτος. Ωστόσο, η μέση τιμή πώλησής του κυμάνθηκε στα 4,55 €/kg, σημειώνοντας μείωση 8,5% (ΣΕΘ 2020).

1.2. Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους *Dicentrarchus labrax*

Από τις διάφορες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα και αφορούν στη θρεπτική σύσταση των τροφών για την εκτροφή του *D. labrax*, προτείνονται προδιαγραφές που αφορούν σε εναρκτήρια σιτηρέσια, σιτηρέσια κύριας εκτροφής και σιτηρέσια γεννητόρων. Οι διατροφικές απαιτήσεις του λαβρακιού για το στάδιο του ιχθυδίου, του ενήλικου ατόμου και των γεννητόρων συνοψίζονται στους πίνακες 1.1, 1.2 και 1.3 (FAO 2020, Παπουτσόγλου 2008).

Πίνακας 1.1: Προτεινόμενη θρεπτική σύσταση σιτηρεσίων που απαιτείται για τη διατροφή του *D. labrax*.

Θρεπτική σύσταση (%)	Στάδιο Ζωής	
	Ιχθύδια	Ενήλικα άτομα
Πρωτεΐνη	50-58	43-50
Λίπος	12-16	16-20
Ινώδεις ουσίες	0,4-1,4	1,4-2
Ολική Ενέργεια (MJ/kg)	20-21	20,5-22
Πρωτεΐνη/Ενέργεια (mg/KJ)	25	25
Φόσφορος	0,8	0,8

Πηγή: Παπουτσόγλου 2008, FAO 2021 (τροποποιημένο)

Πίνακας 1.2: Ελάχιστες απαιτήσεις σε απαραίτητα αμινοξέα (g/16N) που προτείνονται στη διατροφή του *D. labrax*.

Αμινοξέα (g/16N)	Στάδιο ζωής	
	Ιχθύδια	Ενήλικα άτομα
Αργινίνη (Arg)	4,6	4,6
Ιστιδίνη (His)	-	1,6
Ισολευκίνη (Ileu)	-	2,6
Λευκίνη (Leu)	-	4,3
Λυσίνη (Lys)	4,8	4,8
Μεθειονίνη (Meth)	-	2,3
Μεθειονίνη + Κυστεΐνη (Meth+Cys)	4	-
Φαινυλαλανίνη (Phe)	-	2,6
Θρεονίνη (Thre)	2,6	2,7
Τρυπτοφάνη (Trp)	0,7	0,6
Βαλίνη (Val)	-	2,9

Πηγή: FAO 2021 (τροποποιημένα)

Πίνακας 1.3: Προτεινόμενα επίπεδα βιταμινών και ανόργανων στοιχείων σε εναρκτήρια σιτηρέσια και σιτηρέσια κύριας εκτροφής του *D. labrax*.

Βιταμίνες και ανόργανα στοιχεία	Ποσότητες/ kg τροφής (υγρασίας 10%)	
	Εναρκτήρια σιτηρέσια	Σιτηρέσια κύριας εκτροφής
Βιταμίνη Α	25.000 IU	20.000 IU
Βιταμίνη D	3.000 IU	3.000 IU
Βιταμίνη Ε	300 mg	250 mg
Βιταμίνη Κ	30 mg	25 mg
Βιταμίνη C	250 mg	200 mg
Θειαμίνη (B1)	60 mg	35 mg
Ριβοφλαβίνη (B2)	65 mg	35 mg
Παντοθενικό οξύ (B5)	150 mg	130 mg
Πυριδοξίνη (B6)	35 mg	30 mg
Κυανοκοβαλαμίνη (B12)	~0,1 mg	~0,1 mg
Νιασίνη	600 mg	450 mg
Βιοτίνη	2,0 mg	1,0-1,5 mg
Χολίνη	2.500 mg	2.400 mg
Φυλλικό οξύ	10 mg	6-8 mg
Ινισιτόλη	250 mg	250 mg
Παραμινοβενζοϊκό οξύ	40 mg	30 mg
Χαλκός	6 mg	4 mg
Ιώδιο	3 mg	2 mg
Σίδηρος	60 mg	50 mg
Μαγγάνιο	80 mg	70 mg
Ψευδάργυρος	100 mg	80 mg
Κοβάλτιο	~2,5 mg	~2,0 mg
Σελήνιο	0,2-0,3 mg	0,2 mg

Πηγή: Παπουτσόγλου 2008 (τροποποιημένο)

1.3. Η χρήση του ιχθυάλευρου στις ιχθυοτροφές

Η συνεχής αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού σε συνδυασμό με τη στασιμότητα των αλιευμάτων κατά τις τελευταίες δεκαετίες, οδήγησε στην εντατικοποίηση της ιχθυοκαλλιέργειας και στη συνεχή ανάπτυξή της, με σκοπό την κάλυψη των διατροφικών αναγκών. Η παγκόσμια παραγωγή ιχθύων το 2016 ανήλθε στους 171 εκατομμύρια τόνους, με τα προϊόντα υδατοκαλλιέργειας να αντιπροσωπεύουν περίπου το 47% (FAO 2018). Εκτιμάται επίσης ότι μέχρι το 2030, πάνω από το 50% των ψαριών που καταναλώνονται παγκοσμίως θα προέρχεται από την ιχθυοκαλλιέργεια, η οποία θα συνεχίσει να αυξάνεται αποτελώντας τον κύριο παραγωγό ψαριών για την ανθρώπινη κατανάλωση (FAO 2018). Η ταχεία αύξηση της

βιομηχανίας της ιχθυοκαλλιέργειας έχει ως επακόλουθο την αύξηση της ζήτησης των ιχθυοτροφών, με αποτέλεσμα την αυξανόμενη πίεση των ιχθυοαποθεμάτων που προορίζονται για ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια (Tidwell & Allan 2002).

Τα ιχθυάλευρα αποτελούν την κυριότερη πρωτεϊνική πηγή για τα ψάρια, αφού είναι ιδιαίτερα εύπεπτα, εύγεστα και περιέχουν υψηλό ποσοστό πρωτεϊνών και απαραίτητων αμινοξέων. Επίσης, είναι πλούσια σε ταυρίνη, ιχνοστοιχεία (π.χ. φωσφόρο), βιταμίνες (π.χ. χολίνη) και δεν περιέχουν αντιδιατροφικούς παράγοντες (Hardy 2010).

Παράγονται, κατόπιν επεξεργασίας, από κύρια αλιεύματα όπως ο γάυρος του Περού (*Engraulis ringens*). Ένα σημαντικό και αυξανόμενο ποσοστό ιχθυαλεύρων προέρχεται από υποπροϊόντα που προκύπτουν από τη φιλετοποίηση και την κονσερβοποίηση, καθώς και από την παρεμπύπτουσα αλιεία. Εκτιμάται ότι το 25-30% του συνολικής ποσότητας ιχθυάλευρου και ιχθυέλαιου προέρχεται από υποπροϊόντα ψαριών (FAO 2020). Λόγω της ποικιλίας των ειδών που χρησιμοποιούνται, η σύστασή τους μπορεί να ποικίλει, καθώς μπορεί να περιέχουν ολικές αζωτούχες ενώσεις από 55% έως 72%, ολικές λιπαρές ουσίες από 6% έως 12%, τέφρα από 10% έως 22% και υγρασία που δεν ξεπερνά το 10% (Feedipedia 2020). Τα ιχθυάλευρα στα οποία συμμετέχουν σε υψηλό ποσοστό τα υποπροϊόντα, χαρακτηρίζονται από χαμηλό ποσοστό πρωτεϊνών και παράλληλα από υψηλό ποσοστό τέφρας, υποδεικνύοντας ότι μπορεί να είναι φτωχά σε πρωτεΐνες, αλλά είναι πλούσια σε ιχνοστοιχεία (FAO 2020).

Στις ιχθυοτροφές που παράγονται στην Ευρώπη, χρησιμοποιούνται ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια σε υψηλό ποσοστό τόσο για τα σαρκοφάγα, όσο και για τα παμφάγα και φυτοφάγα ψάρια, αποτελώντας τη βασικότερη πηγή πρωτεϊνών και λιπαρών οξέων (Tacon & Metian, 2008). Ωστόσο, η παγκόσμια ετήσια παραγωγή ιχθυάλευρου και ιχθυελαίου είναι περίπου 6 εκ. τόνοι και 1 εκ. τόνοι, αντίστοιχα (Hardy 2010). Η διαθεσιμότητά τους είναι σχεδόν σταθερή για περίπου 30 χρόνια, με κάποιες

διακυμάνσεις που οφείλονται στο φαινόμενο El Nino, που συμβαίνει στον Ανατολικό Ειρηνικό Ωκεανό, επηρεάζοντας το Περού και σε μικρότερο βαθμό τη Χιλή, μειώνοντας τα αλιεύματα και κατ' επέκταση το διαθέσιμο ιχθυάλευρο και ιχθυέλαιο (Hardy 2010). Κατά το έτος 2010, το 63% του παραγόμενου ιχθυαλεύρου και το 80% του παραγόμενου ιχθυελαίου χρησιμοποιήθηκαν στην υδατοκαλλιέργεια (Tacon et al. 2011). Η μειωμένη διαθεσιμότητά τους σε συνδυασμό με την συνεχή ανάπτυξη του κλάδου της ιχθυοκαλλιέργειας, έχει οδηγήσει στην εκτόξευση της τιμής τους, με αποτέλεσμα την ανάγκη εύρεσης οικονομικά βιώσιμων εναλλακτικών πηγών (Tacon & Metian 2008, Shepherd & Jackson 2013). Εκτός από τη μειωμένη διαθεσιμότητα του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου, υπάρχουν έντονοι ηθικοί προβληματισμοί για τη χρησιμοποίηση των ιχθυοαποθεμάτων στην απευθείας κατανάλωση από τον άνθρωπο αντί στις ζωοτροφές (Goldburg & Naylor 2005). Επιπρόσθετα, υπάρχει έντονη ανησυχία από δημόσιες και μη κυβερνητικές οργανώσεις που σχετίζονται με την αιφορική διαχείριση των ιχθυοαποθεμάτων και τις επιπτώσεις που μπορεί αυτή να έχει στα θαλάσσια οικοσυστήματα και κυρίως στην τροφική αλυσίδα των θαλάσσιων πτηνών και θηλαστικών (Huntington et al. 2004).

Το 2018, περίπου το 88% της παγκόσμιας παραγωγής ιχθύων χρησιμοποιήθηκε για ανθρώπινη κατανάλωση, σημειώνοντας αλματώδη πρόοδο συγκριτικά με τη δεκαετία 1960, όπου μόνο το 67% της παραγωγής χρησιμοποιούνταν για αντίστοιχη χρήση (FAO 2020). Επίσης, σημαντική μείωση παρατηρήθηκε στη χρήση των αλιευμάτων για την παραγωγή ιχθυάλευρων και ιχθυέλαιων, αφού το 2018 χρησιμοποιήθηκαν 18 εκατομμύρια τόνοι ψαριού, ενώ το 1994 είχαν χρησιμοποιηθεί 30 εκατομμύρια τόνοι ψαριού (FAO 2020). Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι τα υψηλά επίπεδα πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (PCBs) και διοξινών (PCDD/PCDF), καθώς και τοξικών μετάλλων (Hg, As, Pb και Cd) που έχουν ανιχνευτεί κατά καιρούς σε

αλιεύματα που προέρχονται από τις θάλασσες της Β. Ευρώπης, ξεπερνούν τα όρια που έχει θέσει η Ευρωπαϊκή Νομοθεσία και θεωρούνται επικίνδυνα (Easton et al. 2002, Bell & Waagbo 2008, Καραπαναγιωτίδης 2011) με αποτέλεσμα πολλές ποσότητες ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων να απορρίπτονται ή να απαιτείται η κοστοβόρα διαύγαση τους. Για τους παραπάνω λόγους υπάρχει έντονη ερευνητική προσπάθεια και σημαντική πρόοδος για την εύρεση όλο και περισσότερων εναλλακτικών πηγών πρωτεϊνών που θα αντικαταστήσουν τα ιχθυάλευρα, προάγοντας τη σταθερότητα και τη βιωσιμότητα.

1.4. Αντικατάσταση του ιχθυάλευρου με πρωτεϊνικές πηγές φυτικής και ζωικής προέλευσης

Παρόλο που η αντικατάσταση των ιχθυαλεύρων από φυτικά άλευρα είναι εφικτό να πραγματοποιηθεί στα παμφάγα και φυτογάγα είδη, το ενδιαφέρον των ερευνητών έχει στραφεί στο πώς και σε τί ποσοστό τα φυτικά άλευρα μπορούν να αντικαταστήσουν τα ιχθυάλευρα στα εκτρεφόμενα σαρκοφάγα είδη, συμπεριλαμβανομένης της τσιπούρας, του λαβρακιού, του σολομού και της πέστροφας. Προκειμένου τα φυτικά άλευρα να χρησιμοποιηθούν ως υποκατάστατα του ιχθυαλεύρου και να ενσωματωθούν στα σιτηρέσια, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κάποιοι παράγοντες, όπως είναι η τιμή, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και η σύστασή τους σε αμινοξέα, οι αντιδιατροφικοί παράγοντες, η πτητικότητα και η γευστικότητά τους (Gatlin et al. 2007, Hardy 2010, Oliva-Teles 2015). Τα φυτικά άλευρα υστερούν σε σχέση με τα ιχθυάλευρα, λόγω της περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες, την έλλειψή τους σε κάποια απαραίτητα αμινοξέα, την χαμηλότερη γευστικότητά τους και την ύπαρξη αντιδιατροφικών παραγόντων, όπου χρειάζεται να πραγματοποιηθεί περαιτέρω επεξεργασία (θερμική επεξεργασία) προκειμένου να ενσωματωθούν στα σιτηρέσια,

χωρίς να επηρεάσουν την ανάπτυξη και την υγεία των ιχθύων (Dias et al. 1997, Oliva-Teles 2015).

Τέτοια φυτικά άλευρα είναι το σογιάλευρο, το φοινικάλευρο, το κραμβάλευρο, το ηλιάλευρο, τα άλευρα από όσπρια όπως τα μπιζέλια, τα λούπινα και η φάβα. Έχουν χαμηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο που κυμαίνεται από 38% έως 52%, με εξαίρεση την περίπτωση των οσπρίων (22-30%), έχουν χαμηλές τιμές αγοράς και έλλειψη στα απαραίτητα αμινοξέα, όπως μεθειονίνη (κυρίως το σογιάλευρο) και λυσίνη (κυρίως το σογιάλευρο και ηλιάλευρο). Μπορούν να ενσωματωθούν στα σιτηρέσια των σαρκοφάγων εκτρεφόμενων ειδών σε ποσοστό συνήθως από 10% έως 20% (σογιάλευρο, κραμβάλευρο) και στην περίπτωση του ηλιάλευρου σε ποσοστό κάτω από 10% (Oliva-Teles 2015). Αξίζει να αναφερθεί ότι άλλες φυτικές πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται και μπορούν να αντικαταστήσουν ή/και να υποκαταστήσουν τα ιχθυάλευρα, είναι τα συμπυκνώματα φυτικών πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένης της γλουτένης σίτου, της γλουτένης αραβοσίτου, του συμπυκνώματος πρωτεϊνών σόγιας, του συμπυκνώματος πρωτεϊνών μπιζελιού κ.λ.π. Αυτές οι πρώτες ύλες, παρά το σχετικά υψηλό τους κόστος και τον περιορισμό τους στα αμινοξέα μεθειονίνη, λυσίνη και θρεονίνη, μπορούν να ενσωματωθούν στα σιτηρέσια σε μεγαλύτερο ποσοστό, διότι περιέχουν πρωτεΐνες από 60% έως 80% και είναι αρκετά εύπεπτες λόγω της χαμηλής τους παρουσίας σε αντιδρατροφικές ουσίες (Gatlin et al. 2007, Tacon et al. 2011, Oliva-Teles 2015).

Γενικά, οι φυτικές πρώτες ύλες μπορούν να υποκαταστήσουν το ιχθυάλευρο σε ένα ποσοστό περίπου 30% έως 50%, ανάλογα με το είδος της πρώτης ύλης και το ηλικιακό στάδιο του ψαριού, χωρίς αυτό να έχει κάποια επίπτωση στην ανάπτυξη των ιχθύων (Bell & Waagbo 2008, Hardy 2010). Οι Sitja-Bobadilla *et al.*, (2005), σε πειράματα που έκαναν υποκαθιστώντας κατά 75% το ιχθυάλευρο με φυτικές πρωτεΐνες

(γλουτένη αραβοσίτου, γλουτένη σίτου και άλευρο ελαιοκράμβης) σε ιχθύδια τσιπούρας, παρατήρησαν ότι δεν επηρεάστηκε αρνητικά η ανάπτυξή τους. Επιπρόσθετα, οι Kaushik *et al.* (2004) κατάφεραν να επιτύχουν σχεδόν πλήρη αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου της τάξεως του 98%, σε λαβράκια που τράφηκαν για 12 εβδομάδες με φυτικές πρωτεΐνες (σογιάλευρο, γλουτένη αραβοσίτου, γλουτένη σίτου και άλευρο ελαιοκράμβης), χωρίς να παρατηρηθεί μείωση στην ανάπτυξή τους. Αξίζει να σημειωθεί ότι και στις δύο περιπτώσεις, χρησιμοποιήθηκε ιχθυέλαιο ως πηγή ω-3 λιπαρών οξέων.

Η άρση της απαγόρευσης της χρήσης μεταποιημένων ζωικών πρωτεϊνών (ΜΖΠ) μονογαστρικών χερσαίων ζώων στις ιχθυοτροφές, μέσω του ΕΚ αριθ. 56/2013, καθώς και η χρήση ΜΖΠ εντόμων, μέσω του ΕΚ αριθ. 893/2017, έθεσε νέες προοπτικές για την ενσωμάτωσή τους στις ιχθυοτροφές και την αντικατάσταση των ιχθυαλεύρων. Στις ΜΖΠ μη μηρυκαστικών ζώων, περιλαμβάνονται το πτηνάλευρο, το πτεράλευρο και το αιματάλευρο πουλερικών και χοίρων, ενώ στο παρελθόν είχαν επικρατήσει ως οστεάλευρα και κρεατάλευρα (Karapanagiotidis 2014). Ως χερσαία ζώα, παράγονται ως υποπροϊόντα που ανήκουν στην κατηγορία 3 (για όχι κατανάλωση από τον άνθρωπο), αποτελούνται από υψηλής περιεκτικότητας πρωτεΐνες, με περισσότερο ευνοϊκή σύσταση αμινοξέων και λιγότερους υδατάνθρακες συγκριτικά με τα φυτικά άλευρα, δεν περιέχουν αντιδιατροφικούς παράγοντες και έχουν χαμηλότερο κόστος σε σχέση με τα ιχθυάλευρα (Naylor *et al.* 2009). Ωστόσο, η υψηλή περιεκτικότητά τους σε κορεσμένα λίπη και τέφρα, εμποδίζει την ενσωμάτωσή τους σε υψηλές συγκεντρώσεις στις ιχθυοτροφές, καθώς ελλοχεύει ο κίνδυνος υποβάθμισης της ποιότητας των φιλέτων (Oliva-Teles 2015).

Αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί υποκαθιστώντας μερικώς το ιχθυάλευρο, με πτηνάλευρο και πτεράλευρο. Ειδικότερα, οι Campos *et al.*, (2017),

κατάφεραν να ενσωματώσουν το πτεράλευρο σε ποσοστό 12,5%, αντικαθιστώντας το ιχθυάλευρο κατά 75% σε σιτηρέσιο λαυρακιού (*D. labrax*), με την ταυτόχρονη προσθήκη των κρυσταλλικών αμινοξέων λυσίνης και μεθειονίνης, χωρίς να επηρεάσει την ανάπτυξη, το ανοσοποιητικό σύστημα ή το προφίλ του EPA και DHA στους μυς του ψαριού. Επίσης, το υδρολυμένο πτεράλευρο κατάφερε να αντικαταστήσει κατά 25% το ιχθυάλευρο σε ιχθύδια τσιπούρας (*S. aurata*), με ή χωρίς την προσθήκη των αμινοξέων λυσίνης και μεθειονίνης, χωρίς να επηρεαστεί η πρόσληψη, η ανάπτυξη και η σύστασή τους (Psofakis et al. 2020).

Όσον αφορά στο πτηνάλευρο, έχει πραγματοποιηθεί αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου σε ιχθύδια τσιπούρας κατά 50%, με την ταυτόχρονη προσθήκη κρυσταλλικής μεθειονίνης και λυσίνης δεν επηρέασε την ανάπτυξη και τη σύστασή τους (Karapanagiotidis et al. 2018).

1.5. Η χρήση των μικροφυκών στην ιχθυοκαλλιέργεια

Τα μικροφύκη αποτελούν μια ευρεία ομάδα αυτότροφων ή ετερότροφων οργανισμών και θεωρούνται ότι έχουν υψηλή διατροφική αξία, λόγω της ικανότητας τους να συνθέτουν όλα τα αμινοξέα, περιέχουν υψηλό ποσοστό πρωτεϊνών (από 30% έως 70%), λίπους (από 10% έως 20%), το οποίο περιέχει ω3 και ω6 λιπαρά οξέα, όπως το αραχιδονικό οξύ (ARA), το EPA, το DHA και το DPA. Επίσης, αποτελούν καλές πηγές βιταμινών (A, B1, B2, B6, B12, C, E, βιοτίνη, φολικό οξύ και παντοθενικό οξύ) και ιχνοστοιχείων (φωσφόρο, ψευδάργυρο, σίδηρο, ασβέστιο, σελήνιο και μαγνήσιο), όπως επίσης και αντιοξειδωτικών ουσιών και χρωστικών (Shah et al. 2018, Messina et al. 2019). Οι αναλογίες κάθε θρεπτικής ουσίας μπορούν να τροποποιηθούν με προσεκτική επιλογή των συνθηκών καλλιέργειας ή με τη συγκομιδή των μικροφυκών σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης (Bendy et al. 2017). Επίσης, μικρές συγκεντρώσεις

αυτών μπορεί να βελτιώνουν το ανοσοποιητικό σύστημα των ιχθύων, να έχουν θετική επίδραση στο μεταβολισμό των λιπιδίων, στην αντοχή στο stress, όπως επίσης μπορεί να έχουν αντιμικροβιακή και αντι-ική δράση.

Λόγω της υψηλής διατροφικής τους αξίας και των ευεργετικών ιδιοτήτων που έχουν σε συνδυασμό με την ικανότητά τους να αναπτύσσονται σε διάφορα περιβάλλοντα, να πολλαπλασιάζονται με υψηλό ρυθμό παράγοντας υψηλά ποσοστά βιομάζας και να συσσωρεύουν δευτερογενή προϊόντα του μεταβολισμού τους (χρωστικές, ω-3 λιπαρά οξέα, κ.α.) με ιδιαίτερο βιοτεχνολογικό ενδιαφέρον, τα μικροφύκη έχουν τη δυνατότητα να μειώσουν την εξάρτηση της ιχθυοκαλλιέργειας από τις συμβατικές πρώτες ύλες, όπως είναι τα ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια (Becker 2004, Hemaiswarya et al. 2011).

Τα μικροφύκη χρησιμοποιούνται ήδη στην ιχθυοκαλλιέργεια, ως εμπλουτιστικά για τα τροχόζωα και την *Artemia*, καθώς αποτελούν σημαντική πηγή ω3 και ω6 λιπαρών οξέων (Shields & Lupatsch 2012). Λόγω των ευεργετικών ιδιοτήτων τους, καθώς και της υψηλής διατροφικής τους αξίας, έρευνες με διαφορετικά είδη μικροφυκών έχουν διεξαχθεί επιτυχώς, με στόχο την αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου στα σιτηρέσια διαφόρων εκτρεφόμενων ειδών, συμπεριλαμβανομένης της τσιπούρας (Palmegiano et al. 2009, Vizcaíno et al. 2014) και του λαυρακιού (Tibaldi et al. 2015).

Στα μειονεκτήματα και στις προκλήσεις της χρήσης των μικροφυκών στην βιομηχανία της ιχθυοκαλλιέργειας συμπεριλαμβάνεται το υψηλό κόστος παραγωγής τους (Becker 2007, Sarker et al. 2016), το γεγονός ότι κάποια είδη μπορεί να φέρουν δύσπεπτα κυτταρικά τοιχώματα (Skrede et al. 2011), ενώ η διαθεσιμότητα των υψηλών ποσοστών βιομάζας μπορεί να επηρεαστεί από διάφορες επιμολύνσεις (Hannon et al. 2010).

Το μικροφύκος *Chlorella vulgaris*, είναι ένα μονοκύτταρο ευκαρυωτικό πράσινο φύκος, με υψηλή φωτοσυνθετική ικανότητα και τη δυνατότητα να αυξάνεται με γρήγορους ρυθμούς, πλεονεκτήματα που το κατέστησαν το πρώτο μικροφύκος που παρήχθη σε βιομηχανική κλίμακα για εμπορικούς σκοπούς (Borowitzka 2018). Είναι μονοκύτταρο φύκος (μπορεί να σχηματίζει αποικίες που δεν ξεπερνούν τα 64 κύτταρα), έχει διάμετρο 2-5 μm, σχήμα σφαιρικό ή ελλειψοειδές και φέρει έναν χλωροπλάστη με ή χωρίς την παρουσία πυρηνοειδών, σωματιδίων που αποθηκεύουν άμυλο (Garcia 2012). Η χρήση του *C. vulgaris* σε ιχθυοτροφές μείωσε τη θνησιμότητα σε ψάρια και γαρίδες ενισχύοντας το ανοσοποιητικό τους σύστημα (Maliwat et al. 2016) και βελτίωσε τον χρωματισμό του δέρματος διακοσμητικών ψαριών και τον χρωματισμό ψαριών για ανθρώπινη κατανάλωση (Gouveira et al. 2003).

1.6. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας υποκατάστασης του ιχθυαλεύρου από το άλευρο του μικροφύκου *Chlorella vulgaris*, ως εναλλακτική πηγή πρωτεϊνών στο σιτηρέσιο του λαβρακιού- *D. labrax*.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Πειραματικός Σχεδιασμός

Για τις ανάγκες της διεξαγωγής του πειράματος, νεαρά ιχθύδια του είδους *Dicentrarchus labrax*, αρχικού μέσου βάρους $2,85 \pm 0,27$ g, μεταφέρθηκαν στις εγκαταστάσεις του τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, σε ειδικές συσκευασίες με παροχή οξυγόνου από τον ιχθυογεννητικό σταθμό «Philosofish (πρώην ΣΕΛΟΝΤΑ και ΔΙΑΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ Α.Β.Ε.Ε)», που έχει τις εγκαταστάσεις του στην Πελασγία Φθιώτιδας. Στη συνέχεια, συνολικά 420 ιχθύδια τοποθετήθηκαν σε πειραματικές δεξαμενές και αφέθηκαν για περίπου 10 ημέρες, όπου σιτίζονταν περίπου μία φορά την ημέρα με την τροφή μάρτυρα (επεξηγείται παρακάτω), με σκοπό τον εγκλιματισμό τους σε συγκεκριμένες συνθήκες πριν την έναρξη των πειραμάτων.

Τα ιχθύδια, μετά τον εγκλιματισμό τους τοποθετήθηκαν σε δεξαμενές κλειστού κυκλώματος κυκλώματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού (Εικόνα 2.1). Ειδικότερα, οι εγκαταστάσεις αποτελούνταν από δώδεκα ενυδρεία χωρητικότητας 120 L ανά ενυδρείο και από ένα σύστημα μηχανικής- βιολογικής διήθησης νερού (ένα σύστημα ανά δύο ενυδρεία/ συνολικά έξι συστήματα), για την απομάκρυνση των περιττωμάτων, της αμμωνίας και των υπολειμμάτων τροφής. Καθόλη τη διάρκεια του πειράματος χρησιμοποιήθηκε τεχνητό θαλασσινό νερό, αλατότητας $30 \pm 0,5$ ‰, διάλυμα αποτελούμενο από νερό βρύσης κατόπιν ώσμωσης και συνθετικό αλάτι. Καθημερινά, πραγματοποιούνταν σιφωνισμός του πυθμένα και αντικατάσταση του νερού περίπου 10% ή/ και περισσότερο (όπου χρειαζόταν) του συνολικού όγκου του ενυδρείου. Για τη νιτροποίηση των αζωτούχων οργανικών ενώσεων και την ισορροπία του συστήματος, τοποθετούνταν σε τακτά χρονικά διαστήματα, τόσο στα φίλτρα του

συστήματος όσο και στο νερό των ενυδρείων εναιώρημα νιτροποιητικών βακτηρίων (BioS, Aquaforest).

Οι φυσικοχημικές παράμετροι του νερού ελέγχονταν σε τακτά χρονικά διαστήματα και παρέμεναν σταθερές καθόλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Ειδικότερα, σε εβδομαδιαία βάση ελέγχονταν και καταγράφονταν μετρήσεις της θερμοκρασίας του νερού (21 ± 1 °C), του pH ($8 \pm 0,4$), της αλατότητας ($30 \pm 0,5$ ‰) και του διαλυμένου οξυγόνου ($>6,5$ mg/l), με τη χρήση ειδικών οργάνων. Επίσης, σε καθημερινή βάση προσδιοριζόταν η συγκέντρωση της αμμωνίας ($<0,5$ mg/l), των νιτρικών (<1 mg/l) και νιτρικών (<1 mg/l) με τη χρήση εμπορικών βιοχημικών τεστ. Η τεχνητή φωτοπερίοδος που εφαρμόστηκε ήταν 12 ώρες φως- 12 ώρες σκότους, με την εναλλαγή να εφαρμόζεται καθημερινά στις 8.00 και 20:00 αντίστοιχα.

Τα ιχθύδια χωρίστηκαν σε 4 διαφορετικές διατροφικές ομάδες, με την κάθε μία να λαμβάνει διαφορετικό σιτηρέσιο. Η κάθε διατροφική ομάδα αποτελούνταν από 105 ιχθύδια, τα οποία κατανεμήθηκαν σε υποομάδες των 35 ιχθυδίων σε 3 ενυδρεία-επαναλήψεις (35 ιχθύδια/ ενυδρείο, 3 επαναλήψεις/ διατροφική ομάδα, 4 διατροφικές ομάδες).



Εικόνα 2.1: Διάταξη δεξαμενών και απεικόνιση του συστήματος φιλτραρίσματος-αποστείρωσης. Πηγή: προσωπικό αρχείο

Σιτηρέσια και Σίτιση. Τα σιτηρέσια που χρησιμοποιήθηκαν παρασκευάστηκαν στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος (Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας), με τη μέθοδο της απλής πελλετοποίησης. Το σιτηρέσιο ήταν υπό μορφή συμπήκτου, διαμέτρου 1,5 mm. Για την παρασκευή των συμπήκτων χρησιμοποιήθηκε η πελλετομηχανή τύπου California Pellet Mill (Εικόνα 2.2).



Εικόνα 2.2: Πελλετομηχανή τύπου California Pellet Mill. Πηγή: προσωπικό αρχείο

Τα πειραματικά σιτηρέσια που χρησιμοποιήθηκαν, καταρτίστηκαν με τέτοιο τρόπο ώστε να είναι ισοπρωτεϊνικά (56,4% επί ξηράς ουσίας τροφής) και ισοενεργειακά (22,4 MJ/kg ξηράς ουσίας τροφής). Ως βασική πηγή ζωικών πρωτεϊνών, χρησιμοποιήθηκε υψηλής ποιότητας ιχθυάλευρο. Η τροφή μάρτυρας (FM) περιείχε αποκλειστικά ιχθυάλευρο ως κύρια πηγή πρωτεϊνών, ενώ στις τροφές CM10, CM20 και CM30 έγινε υποκατάσταση του ιχθυάλευρου κατά 10%, 20% και 30%, αντίστοιχα από άλευρο *Chlorella vulgaris*. Τόσο στην τροφή μάρτυρα όσο και στις υπόλοιπες τροφές προστέθηκε κρυσταλλική μεθειονίνη σε ποσότητες ικανές να καλύψουν τις απαιτήσεις του είδους στο συγκεκριμένο στάδιο ανάπτυξης αλλά και να εξισορροπήσουν την απώλειά της που προέκυψε από τις υποκαταστάσεις του ιχθυάλευρου. Επίσης χρησιμοποιήθηκαν χερσαίας φυτικής προέλευσης πρωτεϊνικές πηγές, όπως το ηλιάλευρο, το σογιάλευρο και η γλουτένη αραβοσίτου. Ως πηγές ενέργειας, ω-6 και ω-3 λιπαρών οξέων χρησιμοποιήθηκαν ιχθυέλαιο και σογιέλαιο, με το ιχθυέλαιο να καλύπτει τις απαιτήσεις του είδους σε ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα. Σε όλα τα σιτηρέσια και σε σταθερές ποσότητες χρησιμοποιήθηκαν μικροσυστατικά ως εμπλουτιστικά των τροφών. Ειδικότερα, προστέθηκαν 0,4% εμπορικό πρόμιγμα βιταμινών και ανόργανων στοιχείων, ειδικό για το συγκεκριμένο στάδιο ανάπτυξης του λαβρακιού, 1,4% φωσφορικό μονοασβέστιο, 0,05 % βιταμίνες E και C, καθώς και 0,1% χλωριούχος χολίνη (Πίνακας 2.1).

Η χορήγηση της τροφής γινόταν καθημερινά με το χέρι, δύο φορές την ημέρα (11:00 π.μ. και 17:00 μ.μ.), ενώ μία ημέρα την εβδομάδα (Κυριακή) η χορήγηση της τροφής πραγματοποιούνταν μία φορά την ημέρα (11:00 π.μ.). Η σίτιση λάμβανε χώρα μέχρι τον κορεσμό των ιχθυδίων (*ad libitum*).

Πίνακας 2.1: Συστατικά και θρεπτική σύσταση των πειραματικών σιτηρεσιών.

	FM	CM10	CM20	CM30
Ιχθυάλευρο	53,00	47,70	42,40	37,10
Άλευρο <i>Chlorella vulgaris</i>	0,00	6,50	12,97	19,45
Σιτάλευρο	4,97	4,55	4,21	3,87
Γλουτένη αραβοσίτου	10,90	10,94	10,97	11,00
Σογιάλευρο	7,00	7,00	7,00	7,00
Ηλιάλευρο	10,90	10,90	10,90	10,90
Ιχθυέλαιο	8,45	8,45	8,45	8,45
Σογιέλαιο	2,65	1,80	0,90	0,00
Πρόμιγμα ιχνοστοιχείων & βιταμινών	0,40	0,40	0,40	0,40
Φωσφορικό μονοασβέστιο	1,40	1,40	1,40	1,40
Βιταμίνη C	0,05	0,05	0,05	0,05
Βιταμίνη E	0,05	0,05	0,05	0,05
Μεθειονίνη	0,13	0,16	0,20	0,23
Χλωριούχος χολίνη	0,10	0,10	0,10	0,10

Θρεπτική σύσταση (% Ξηρής Ουσίας)

Πρωτεΐνη	56,3	56,5	56,7	56,2
Λίπος	16,2	15,6	14,3	13,6
Υδατάνθρακες	15,4	16,2	18,2	20,0
Τέφρα	12,1	11,7	10,9	10,2
Ενέργεια (KJ/g)	22,4	22,4	22,4	22,3

2.2. Δειγματοληψίες

Η εκτροφή των ιχθυδίων διήρκησε συνολικά 77 ημέρες. Στη διάρκεια αυτής της περιόδου πραγματοποιήθηκαν τέσσερις μετρήσεις βάρους, στην έναρξη του πειράματος (ημέρα 0), την 33^η, την 63^η και την 78^η ημέρα. Το ολικό μήκος των ιχθυδίων μετρήθηκε την πρώτη και την τελευταία ημέρα του πειράματος. Για την αναισθητοποίηση των ψαριών χρησιμοποιήθηκε διάλυμα βενζοκαΐνης, συγκέντρωσης 0,5 ml/l. Μετά την αναισθητοποίηση, τα ιχθύδια ζυγίζονταν ατομικά σε ζυγό ακριβείας τύπου Kern, ακριβείας δύο δεκαδικών ψηφίων ($d=0,01$ g) και το ολικό τους μήκος μετρούνταν με ιχθυόμετρο ακριβείας 0,1 cm. Μετά την ολοκλήρωση των μετρήσεων τα ιχθύδια τοποθετούνταν σε ειδική δεξαμενή με παροχή οξυγόνου για ανάνηψη και στη συνέχεια μεταφέρονταν στα πειραματικά ενυδρεία.

2.3. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

2.3.1 Θνησιμότητα

Η καταγραφή της θνησιμότητας πραγματοποιούνταν καθημερινά για κάθε ενυδρείο ξεχωριστά και υπολογίστηκε βάσει του παρακάτω τύπου:

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

2.3.2 Αύξηση ολικού βάρους

Η αύξηση του ολικού βάρους είναι το καθαρό βάρος του σώματος των ιχθυδίων που αποκτήθηκε κατά τη διάρκεια των πειραματικών δοκιμών και υπολογίστηκε βάσει της παρακάτω σχέσης:

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

2.3.3 Ποσοστό αύξησης ολικού βάρους

Το ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους εκφράζει την εκατοστιαία (%) αύξηση του σωματικού βάρους των ιχθυδίων και υπολογίστηκε βάσει της σχέσης:

$$\text{Ποσοστό αύξησης βάρους, (\%)} = \frac{(W_{\text{τελικό}} - W_{\text{αρχικό}}) * 100}{W_{\text{αρχικό}}}$$

2.3.4 Συνολική κατανάλωση τροφής

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

$$\text{Συνολική κατανάλωση τροφής, (g)} = \frac{\text{Ολική κατανάλωση τροφής (g)}}{\text{Αριθμός ψαριών κάθε μεταχείρισης}}$$

2.3.5 Συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (**Feed Conversion Ratio, FCR**) είναι ο λόγος της ποσότητας της τροφής που χορηγήθηκε προς την αύξηση του ολικού σωματικού βάρους και εκφράζει το βαθμό αξιοποίησης της τροφής από τα ψάρια. Το FCR υπολογίστηκε από τη σχέση:

$$FCR = \frac{\text{τροφή που χορηγήθηκε}(g)}{\text{αύξηση σωματικού βάρους ιχθυδίων}(g)}$$

2.3.6 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (**Specific Growth Rate, SGR**) εκφράζει την ημερήσια ποσοστιαία (%) αύξηση του ολικού βάρους του ιχθυδίου στο χρονικό διάστημα που σιτίστηκε και υπολογίστηκε από τη σχέση:

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

Όπου,

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

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

2.3.7 Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών

Ο συντελεστής αποδοτικότητας των πρωτεϊνών (**Protein Efficiency Ratio, PER**) εκφράζει την αναλογία μεταξύ της αύξησης του σωματικού βάρους των ψαριών και της πρωτεΐνης που καταναλώθηκε και υπολογίστηκε από τη σχέση:

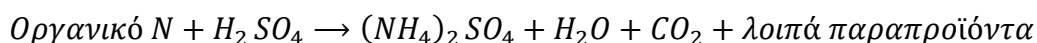
$$PER = \frac{\text{αύξηση βάρους}(g)}{\text{πρωτεΐνη που καταναλώθηκε}(g)}$$

2.4. Χημικές Αναλύσεις

2.4.1. Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ενώσεων

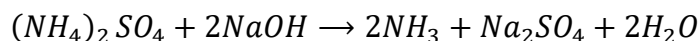
Ο προσδιορισμός των ολικών αζωτούχων ενώσεων των πρώτων υλών που χρησιμοποιήθηκαν για την κατάρτιση των πειραματικών σιτηρεσίων και των πειραματικών σιτηρεσίων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC 1995). Η μέθοδος Kjeldahl περιλαμβάνει τρία στάδια, την πέψη των οργανικών ενώσεων και ελευθέρωση των αζωτούχων ενώσεων, την απόσταξη του αζώτου και την τιτλοδότησή του.

Για το στάδιο της πέψης, ζυγίστηκαν δείγματα πρώτων υλών/τροφών βάρους 0,2 g σε ζυγό ακριβείας (Kern, d=0,0001g) και μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πέψης. Για να επιταχυνθεί η αντίδραση της πέψης, προστέθηκαν δύο ταμπλέτες καταλύτη Kjeltabs (5g K₂SO₄, 5g CuSO₄·5H₂O). Έπειτα, 15ml πυκνού θειικού οξέος (H₂SO₄, 95-97% v/v) προστέθηκαν στα δείγματα, τα οποία αφού τοποθετήθηκαν στη συσκευή πέψης τύπου Kjeltec 2000, ολοκληρώθηκε η αντίδραση της πέψης στους 150 °C για 85 min. Κατά την πέψη τα δείγματα βράζουν και με τη βοήθεια του H₂SO₄ πραγματοποιείται διάσπαση των αζωτούχων ενώσεων και ελευθέρωση του αζώτου (N⁺). Το αδέσμευτο άζωτο δεσμεύεται με τη μορφή αλάτων θειικού αμμωνίου, ως εξής:

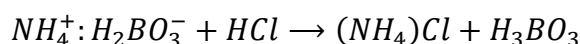


Μετά το πέρας της πέψης των δειγμάτων, έπειτα από παραμονή τους για 15 min έως ότου έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ακολούθησε το στάδιο της απόσταξης. Ειδικότερα, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε συσκευή απόσταξης τύπου Behr Labor-Technick GmbH, στην οποία προτέθηκαν 100 ml απεσταγμένου H₂O, 80 ml NaOH συγκέντρωσης 10N και 50 ml H₃BO₃. Η διαδικασία της απόσταξης είχε

διάρκεια 6 min. Στο στάδιο αυτό πραγματοποιούνται δύο αντιδράσεις. Αρχικά, το θειικό αμμώνιο αντιδρά με το υδροξείδιο του νατρίου και παράγεται αμμωνία (αποδεσμεύεται) και θειικό νάτριο, ενώ στη συνέχεια η αμμωνία αντιδρά με το βορικό οξύ, δεσμεύοντας το άζωτο υπό μορφή αλάτων βορικού αμμωνίου, ως εξής:



Το βορικό αμμώνιο συγκεντρώθηκε σε κωνική φιάλη που περιείχε 2 σταγόνες ερυθρό του μεθυλενίου, ως δείκτη pH και ακολούθησε το στάδιο της τιτλοδότησης του βορικού αμμωνίου με αραιό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (0,1 N), υπό συνεχή ανάδευση, σύμφωνα με την αντίδραση:



Η συγκέντρωση (σε mole) των ιόντων υδρογόνου που απαιτούνται για να ολοκληρωθεί η παραπάνω αντίδραση, ισοδυναμεί με τη συγκέντρωση του αζώτου που περιέχεται στο δείγμα. Η αλλαγή του χρώματος του δείκτη, από κίτρινο σε φούξια, καταδεικνύει το τέλος της αντίδρασης.

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε ολικές αζωτούχες ενώσεις υπολογίστηκε από την εξίσωση:

$$\text{Ολικές Αζωτούχες ενώσεις (\%)} = \frac{[(ml\ HCl - ml\ τυφλού) * 0,8754]}{\text{βάρος δείγματος, g}}$$

2.4.2. Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών στις πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν για τον καθαρισμό των σιτηρεσιών αλλά και στα πειραματικά σιτηρέσια έγινε με τη μέθοδο εκχύλισης Soxhlet (AOAC 1995).

Αναλυτικά, σε υάλινα δοχεία εκχύλισης προστέθηκαν πέτρες βρασμού και καταγράφηκε το βάρος τους σε ζυγό ακριβείας (Kern, d=0,0001g). Αφού

τοποθετήθηκαν χάρτινοι ηθμοί στα δοχεία, ζυγίστηκε ποσότητα δείγματος βάρους 2 g εντός του χάρτινου ηθμού. Ακολούθησε προσθήκη 140ml πετρελαϊκού αιθέρα, με ταυτόχρονη εμπότιση των ηθμών που έφεραν τα δείγματα και τοποθέτηση των δοχείων σε συσκευή εκχύλισης τύπου Soxtherm Multistat/SX PC. Τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 150°C υπό την παρουσία του οργανικού διαλύτη (1^η εκχύλιση), στη συνέχεια ο διαλύτης απορροφήθηκε και εκπλύθηκε στο δείγμα για 1,5h (2^η εκχύλιση) και τελικά ο διαλύτης απορροφήθηκε για 15min, με αποτέλεσμα οι ολικές λιπαρές ουσίες να παραμείνουν στον πυθμένα των δοχείων. Αφού απομακρύνθηκε η περίσσεια του πετρελαϊκού αιθέρα (παραμονή στους 105 °C για 10min) και τα δείγματα κρύωσαν σε αφυγραντήρα, μετρήθηκε το βάρος τους. Τα ολικά λιπίδια προσδιορίστηκαν από τη σχέση:

$$\text{Ολικές λιπαρές ουσίες, \%} = (W(g)_{\text{τελικό δοχείο εκχύλισης}} - W(g)_{\text{αρχικό δοχείο εκχύλισης}}) * 100$$

2.4.3. Προσδιορισμός τέφρας

Στις πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν για την κατάρτιση των σιτηρεσίων, καθώς και στα πειραματικά σιτηρέσια προσδιορίστηκε το ποσοστό της τέφρας. Ειδικότερα, σε πυρίμαχα καψίδια ζυγίστηκε 1 g σε ζυγό ακριβείας για κάθε δείγμα και ακολούθησε τοποθέτηση των πυρίμαχων καψιδίων σε αποτεφρωτήρα τύπου Nabertherm L9/12/ C6, όπου παρέμειναν για 5h στους 600 °C (AOAC 1990). Μετά το πέρας της διαδικασίας αποτέφρωσης, εφόσον τα καψίδια ήρθαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, μετρήθηκε το βάρος τους και η περιεκτικότητα (%) των δειγμάτων σε τέφρα υπολογίστηκε από την εξίσωση:

$$\text{Τέφρα (\%)} = \frac{[(\text{Βάρος τέφρας (g)}) * 100]}{\text{Βάρος δείγματος (g)}}$$

2.4.4. Προσδιορισμός υγρασίας-ξηρής ουσίας

Στις πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν για τον καταρτισμό των σιτηρεσιών αλλά και στα πειραματικά σιτηρέσια προσδιορίστηκε η υγρασία-ξηρή ουσία τους.

Για κάθε δείγμα ζυγίστηκε σε ζυγό ακριβείας ποσότητα ίση με 1g, η οποία τοποθετήθηκε σε φούρνο στους 105°C για 24h (AOAC 1995). Στη συνέχεια, εφόσον ήρθε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ζυγίστηκε το βάρος του και η υγρασία/ ξηρή ουσία υπολογίστηκε ως εξής:

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

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

Όμοια,

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

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

2.4.5. Προσδιορισμός ενέργειας

Η ολική ενέργεια των δειγμάτων προσδιορίστηκε με τη βοήθεια θερμιδόμετρου τύπου C5000, IKA Werke GmbH. Κατά την πλήρη καύση ενός δείγματος, η θερμότητα που εκλύεται αποτελεί τη θερμιδική αξία (ολική ενέργεια) του δείγματος. Η καύση πραγματοποιείται σε κλειστό ανοξειδωτο δοχείο τύπου οβίδας. Η θερμότητα που παράγεται μεταφέρεται στο νερό και στη συνέχεια σε εξωτερικό δοχείο γνωστής θερμοκρασίας. Η αύξηση της θερμοκρασίας του εξωτερικού δοχείου καταγράφεται και υπολογίζεται η θερμιδική αξία του δείγματος. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε KJ/g.

2.5. Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα των παραμέτρων ανάπτυξης των ψαριών και αξιοποίησης της

τροφής επεξεργάσθηκαν με τη μέθοδο της Ανάλυσης της Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (one-way ANOVA, SPSS20) 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

Καθόλη τη διάρκεια του πειράματος σημειώθηκαν θνησιμότητες στα ιχθύδια όλων των διατροφικών ομάδων, συνολικού ποσοστού ίσου με 9,76% (41 άτομα στο σύνολο 470). Ειδικότερα, στη διατροφική ομάδα CM10 καταγράφηκε το μεγαλύτερο ποσοστό θνησιμότητας ($14,29 \pm 14,85\%$), ακολουθούμενη από τις διατροφικές ομάδες FM, CM20 και CM30 με ποσοστά θνησιμότητας $12,38 \pm 5,95\%$, $6,67 \pm 3,30\%$ και $5,71 \pm 2,66\%$, αντίστοιχα (Πίν. 3.1). Ωστόσο, τα αποτελέσματα δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$), μεταξύ των διατροφικών ομάδων που εξετάστηκαν.

Πίνακας 3.1: Θνησιμότητες (N, αριθμός τελικών ατόμων) και ποσοστό θνησιμοτήτων (% του συνολικού αρχικού πληθυσμού).

	ΣΙΤΗΡΕΣΙΑ			
	FM	CM10	CM20	CM30
N	$4,33 \pm 2,08$	$5,00 \pm 5,20$	$2,33 \pm 1,15$	$2,00 \pm 1,00$
%	$12,38 \pm 5,95$	$14,29 \pm 14,85$	$6,67 \pm 3,30$	$5,71 \pm 2,86$

Σημείωση: Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέροςους όρους \pm τυπική απόκλιση ($n=3$). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων ($P > 0,05$).

3.2 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

3.2.1 Κατά την έναρξη του πειράματος

Το αρχικό μέσο βάρος και μήκος των ιχθυδίων κατά την έναρξη του πειράματος ήταν $2,85 \pm 0,00$ g και $6,94 \pm 0,13$ cm, αντίστοιχα για τη διατροφική ομάδα FM, $2,84 \pm 0,00$ g και $6,93 \pm 0,00$ g, αντίστοιχα για τη διατροφική ομάδα CM10, $2,85 \pm 0,00$ g

και $6,87 \pm 0,09$ g για τη διατροφική ομάδα CM20 και $2,85 \pm 0,00$ g και $6,86 \pm 0,08$ cm, αντίστοιχα για τη διατροφική ομάδα CM30 (Πίν. 3.2).

Πίνακας 3.2: Αρχικό μέσο βάρος (g) και αρχικό μέσο μήκος (cm) των ιχθύων κατά την έναρξη του πειράματος.

	ΣΙΤΗΡΕΣΙΑ			
	FM	CM10	CM20	CM30
Αρχικό μέσο βάρος (g)	$2,85 \pm 0,00$	$2,84 \pm 0,00$	$2,85 \pm 0,00$	$2,85 \pm 0,00$
Αρχικό μέσο μήκος, (cm)	$6,94 \pm 0,13$	$6,93 \pm 0,00$	$6,87 \pm 0,09$	$6,86 \pm 0,08$

Σημείωση: Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τους μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση. 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 32^η ημέρα του πειράματος

Στον Πίνακα 3.3 απεικονίζονται οι παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής έπειτα από 32 ημέρες εκτροφής για όλες τις διατροφικές ομάδες. Η ομάδα που διατράφηκε με την τροφή μάρτυρα είχε το υψηλότερο μέσο βάρος και αύξηση βάρους συγκριτικά με τις άλλες ομάδες, ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε ότι το αυξανόμενο επίπεδο χορήγησης του *C. vulgaris* οδήγησε σε μειωμένο σωματικό βάρος των ιχθύων. Ωστόσο, οι διαφορές αυτές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ($P > 0,05$).

Όσον αφορά στον ειδικό ρυθμό αύξησης (SGR), η ομάδα που διατράφηκε με την τροφή μάρτυρα είχε την υψηλότερη τιμή, ενώ το αυξανόμενο επίπεδο χορήγησης του *C. vulgaris* οδήγησε σε μειωμένη τιμή SGR, που ωστόσο δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($P > 0,05$).

Η μέγιστη κατανάλωση τροφής παρατηρήθηκε στην ομάδα CM10, στην οποία είχε πραγματοποιηθεί υποκατάσταση του ιχθυάλευρου κατά 10% από άλευρο *C. vulgaris* και ακολούθησε η ομάδα μάρτυρας. Η υψηλότερη από 10% χορήγηση του *C.*

vulgaris, οδήγησε σε μειωμένη κατανάλωση τροφής. Οι διαφορές μεταξύ των διατροφικών ομάδων ως προς την κατανάλωση της τροφής δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ($P>0,05$).

Όσον αφορά στον συντελεστή αποδοτικότητας της τροφής (FCR), η ελάχιστη τιμή παρατηρήθηκε στην ομάδα με την υψηλότερη χορήγηση του *C. vulgaris* (υποκαθιστώντας το ιχθυάλευρο κατά 30%). Ακολούθησε η τροφή μάρτυρας και οι ομάδες CM20 και CM10. Μεταξύ των υποκαταστάσεων, η αυξανόμενη χορήγηση του μικροφύκου *C. vulgaris*, οδήγησε σε χαμηλότερο FCR, ωστόσο οι διαφορές αυτές ήταν στατιστικά μη σημαντικές.

Τέλος, ο συντελεστής αποδοτικότητας της πρωτεΐνης (PER) είχε τη μέγιστη τιμή στην ομάδα με την υψηλότερη υποκατάσταση του ιχθυάλευρου από άλευρο *C. vulgaris* και ακολούθησε η τροφή μάρτυρας. Μεταξύ των υποκαταστάσεων παρατηρήθηκε ότι η αυξανόμενη χορήγηση του μικροφύκου στα σιτηρέσια οδήγησε σε υψηλότερες τιμές PER, οι οποίες δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

Πίνακας 3.3: Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής του *D. labrax*, διατρεφόμενου για 32 ημέρες με τα πειραματικά σιτηρέσια.

	ΟΜΑΔΕΣ			
	FM	CM10	CM20	CM30
Επιβίωση (%)	92,38 ± 1,65	87,62 ± 14,09	96,19 ± 3,30	95,24 ± 1,65
Σωμ/κό βάρος (g)	9,67 ± 0,90	9,47 ± 1,11	9,03 ± 0,88	8,98 ± 0,30
Αύξηση βάρους (g)	6,82 ± 0,90	6,63 ± 1,11	6,18 ± 0,88	6,13 ± 0,29
Κατανάλωση τροφής (g/ιχθύ)	10,16 ± 0,21	10,38 ± 0,37	9,30 ± 0,56	9,07 ± 0,25
SGR (%/ ημέρα)	3,93 ± 0,30	3,87 ± 0,38	3,71 ± 0,32	3,70 ± 0,11
FCR	1,51 ± 0,22	1,59 ± 0,22	1,52 ± 0,16	1,48 ± 0,04
PER	1,29 ± 0,18	1,22 ± 0,17	1,27 ± 0,13	1,31 ± 0,04

Σημείωση: Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διατροφικών ομάδων, για όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν ($P> 0,05$).

3.2.3. Κατά την 62^η ημέρα του πειράματος

Στον Πίνακα 3.4 απεικονίζονται οι παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής έπειτα από 62 ημέρες εκτροφής, για όλες τις διατροφικές ομάδες.

Το μέγιστο σωματικό βάρος καθώς και η μέγιστη αύξηση σωματικού βάρους παρατηρήθηκαν στην ομάδα με τη χαμηλότερη υποκατάσταση και ακολούθησε η ομάδα μάρτυρας. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η αυξανόμενη υποκατάσταση του ιχθυάλευρου από άλευρο *C. vulgaris* οδήγησε σε χαμηλότερη αύξηση του μέσου σωματικού βάρους και της κατανάλωσης της τροφής. Οι διαφορές στις τιμές τόσο του σωματικού βάρους όσο και της κατανάλωσης της τροφής για όλες τις διατροφικές ομάδες δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

Η μέγιστη τιμή κατανάλωσης της τροφής παρατηρήθηκε στην ομάδα μάρτυρα, ενώ η αυξανόμενη υποκατάσταση του ιχθυάλευρου από άλευρο *C. vulgaris*, οδήγησε σε μειωμένη κατανάλωση τροφής, υποδηλώνοντας την προτίμηση των ιχθυδίων λαβρακιού στο ιχθυάλευρο. Ωστόσο, οι τιμές για όλες τις ομάδες που εξετάστηκαν δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

Η μέγιστη τιμή SGR παρατηρήθηκε στην ομάδα με τη χαμηλότερη υποκατάσταση του ιχθυάλευρου με άλευρο *C. vulgaris* και η αύξηση της υποκατάστασης οδήγησε σε μείωση του SGR, η οποία δεν ήταν στατιστικά σημαντική για $P > 0,05$. Αντίθετα, η ελάχιστη τιμή FCR παρατηρήθηκε στην ομάδα με τη χαμηλότερη υποκατάσταση και η αυξανόμενη χορήγηση με το άλευρο *C. vulgaris* οδήγησε σε αύξηση των τιμών FCR. Όσον αφορά στις τιμές PER, οι μέγιστες παρατηρήθηκαν στις ομάδες στις οποίες το ιχθυάλευρο υποκαταστάθηκε κατά 10% και 20% από άλευρο *C. vulgaris*, ενώ τόσο η τροφή μάρτυρα όσο και η τροφή με την υψηλότερη υποκατάσταση είχαν μειωμένες τιμές. Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν

μεταξύ των ομάδων στις παραμέτρους SGR, FCR και PER δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ($P>0,05$).

Πίνακας 3.4: Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής του *D. labrax*, διατρεφόμενου για **62 ημέρες** με τα πειραματικά σιτηρέσια.

	ΟΜΑΔΕΣ			
	FM	CM10	CM20	CM30
Επιβίωση (%)	89,52 ± 4,36	85,71 ± 14,85	93,33 ± 3,30	94,29 ± 2,86
Σωμ/κό βάρος (g)	18,90 ± 1,57	19,09 ± 1,37	18,33 ± 1,56	17,53 ± 0,64
Αύξηση βάρους (g)	16,05 ± 1,57	16,24 ± 1,37	15,48 ± 1,56	14,68 ± 0,63
Κατανάλωση τροφής (g/ιχθύ)	22,53 ± 0,37	22,41 ± 1,01	21,58 ± 0,82	20,86 ± 0,42
SGR (%/ημέρα)	6,10 ± 0,27	6,14 ± 0,23	6,00 ± 0,28	5,86 ± 0,11
FCR	1,41 ± 0,12	1,38 ± 0,06	1,40 ± 0,10	1,42 ± 0,07
PER	1,37 ± 0,11	1,38 ± 0,06	1,38 ± 0,10	1,36 ± 0,07

Σημείωση: Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διατροφικών ομάδων, για όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν ($P> 0,05$).

3.2.4 Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος (77^η ημέρα)

Στον Πίνακα 3.5 παρουσιάζονται οι παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής κατά την ολοκλήρωση του πειράματος (77^η ημέρα) για όλες τις διατροφικές ομάδες.

Το μέγιστο σωματικό βάρος καθώς και η μέγιστη αύξηση σωματικού βάρους, παρατηρήθηκε στην ομάδα με τη χαμηλότερη υποκατάσταση του ιχθυάλευρου από το άλευρο *C. vulgaris*, ενώ σε παρόμοια επίπεδα κινήθηκαν και οι κατά 20% και 30% υποκατάσταση του ιχθυάλευρου, παρουσιάζοντας παρόμοιες τιμές, μη στατιστικά σημαντικές ($P>0,05$) τόσο μεταξύ τους όσο και με την τροφή μάρτυρα.

Η κατανάλωση της τροφής συνεχίστηκε ακολουθώντας την ίδια τάση όπως παρατηρήθηκε κατά την 32^η ημέρα και την 62^η ημέρα σίτισης. Ειδικότερα, η αυξανόμενη υποκατάσταση του ιχθυάλευρου από άλευρο *C. vulgaris* οδήγησε σε

μειωμένη κατανάλωση της τροφής από τα ιχθύδια, η οποία δεν ήταν στατιστικά σημαντική για $P > 0,05$.

Όσον αφορά στην τιμή SGR, η μέγιστη παρατηρήθηκε στην ομάδα με τη χαμηλότερη υποκατάσταση. Η τιμές του SGR μεταξύ όλων των διατροφικών ομάδων, συμπεριλαμβανομένου και του μάρτυρα, ήταν παρόμοιες και δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$). Η υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου κατά 10%, 20% και 30% οδήγησε στις βέλτιστες αποδόσεις μετατρεψιμότητας της τροφής συγκρινόμενες με την τροφή μάρτυρα, εφόσον στην πρώτη περίπτωση οι τιμές FCR ήταν χαμηλότερες. Ωστόσο, οι τιμές του FCR μεταξύ των διατροφικών ομάδων ήταν παρόμοιες και δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$).

Τέλος, όσον αφορά στις τιμές PER, οι υποκαταστάσεις του ιχθυαλεύρου από άλευρο *C. vulgaris* κατά 10%, 20% και 30% έδωσαν ίδιες ή και υψηλότερες τιμές PER συγκριτικά με την ομάδα μάρτυρα, οι οποίες δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ($P > 0,05$).

Πίνακας 3.5: Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής του *D. labrax*, διατρεφόμενου για **77 ημέρες** με τα πειραματικά σιτηρέσια.

	ΣΙΤΗΡΕΣΙΑ			
	FM	CM10	CM20	CM30
Επιβίωση (%)	90,00 ± 0,60	81,43 ± 18,18	91,43 ± 3,30	95,71 ± 2,02
Τελικό μήκος (cm)	13,64 ± 0,43	13,29 ± 0,50	13,67 ± 0,26	13,42 ± 0,14
Σωμ/κό βάρος (g)	23,82 ± 0,31	23,91 ± 0,05	22,71 ± 0,66	23,18 ± 0,05
Αύξηση βάρους (g)	20,97 ± 3,67	21,06 ± 0,78	19,86 ± 1,19	20,33 ± 0,91
Κατανάλωση τροφής (g/ιχθύ)	30,05 ± 1,40	29,02 ± 1,38	28,36 ± 0,86	28,10 ± 0,25
SGR (%/ημέρα)	2,79 ± 0,20	2,80 ± 0,05	2,73 ± 0,07	2,76 ± 0,05
FCR	1,45 ± 0,19	1,38 ± 0,04	1,43 ± 0,04	1,39 ± 0,07
PER	1,34 ± 0,17	1,39 ± 0,01	1,34 ± 0,04	1,40 ± 0,08

Σημείωση: Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διατροφικών ομάδων, για όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν ($P > 0,05$).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία μελετήθηκε η μερική υποκατάσταση του ιχθυάλευρου από άλευρο του μικροφύκου *Chlorella vulgaris* και η επίδραση αυτής της υποκατάστασης στις παραμέτρους ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής του *D. labrax*. Τα αποτελέσματα των παραμέτρων της ανάπτυξης και της αξιοποίησης της τροφής των πειραματικών σιτηρεσιών δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές συγκριτικά με την τροφή-μάρτυρα (FM), υποδηλώνοντας ότι η υποκατάσταση του ιχθυάλευρου σε ποσοστό μέχρι και 30% από το άλευρο *Chlorella vulgaris* είναι εφικτό να πραγματοποιηθεί στο *D. labrax*.

Μέχρι σήμερα δεν έχουν πραγματοποιηθεί παρόμοιες μελέτες υποκαθιστώντας το ιχθυάλευρο από άλευρο *Chlorella vulgaris* στο λαβράκι. Ωστόσο, το άλευρο *C. vulgaris* ως υποκατάστατο του ιχθυαλεύρου έχει δοκιμαστεί σε άλλα είδη ψαριών, τόσο σαρκοφάγων όσο φυτοφάγων και παμφάγων ιχθύων αλλά και καρκινοειδών. Ειδικότερα, μελέτη με υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από άλευρο *Chlorella vulgaris*, έχει πραγματοποιηθεί στην τσιπούρα- *Sparus aurata* (Metsoviti et al. 2018). Η συγκεκριμένη μελέτη κινήθηκε στο ίδιο πλαίσιο πειραματικών δοκιμών με την παρούσα μελέτη και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μπορεί να πραγματοποιηθεί υποκατάσταση ιχθυαλεύρου από άλευρο *Chlorella vulgaris* έως και 30%, χωρίς να επηρεαστούν οι παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής στο είδος *Sparus aurata*. Επιπρόσθετα, οι Tibbets et al., (2017) σε πειράματα που πραγματοποίησαν στο σολομό του Ατλαντικού (*Salmo salar* L) χρησιμοποιώντας άλευρα με ολόκληρα κύτταρα του *Chlorella vulgaris* και επεξεργασμένα (χωρίς κυτταρικό τοίχωμα) σε ποσοστά 6-30%, παρατήρησαν ότι και οι δύο τύποι αντικατέστησαν το ιχθυάλευρο χωρίς να επηρεαστούν αρνητικά οι παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής.

Ωστόσο στο επεξεργασμένο άλευρο παρατηρήθηκε υψηλότερη πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών συγκριτικά με το μη επεξεργασμένο.

Αναφορικά με τα παμφάγα ψάρια, έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες που έχουν οδηγήσει στην πλήρη αντικατάσταση του ιχθυάλευρου από άλευρο *Chlorella vulgaris*. Ειδικότερα, η πλήρης αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από άλευρο *Chlorella* sp., με προσθήκη του ενζύμου κυτταρινάση προώθησε την ανάπτυξη του κυπρίνου (*Carassius auratus*) και την αξιοποίηση της τροφής (Shi et al. 2016), ενώ προηγούμενη μελέτη έδειξε ότι η βέλτιστη υποκατάσταση του ιχθυάλευρου από άλευρο *Chlorella* sp. για τον κυπρίνο κυμαίνεται σε ποσοστό μεταξύ 47% και 50% (Shi et al. 2015). Επίσης, υποκατάσταση του ιχθυάλευρου με άλευρο *Chlorella vulgaris* σε ποσοστό 50% και 75% στο αφρικανικό γατόψαρο (*Clarias gariepinus*) ενίσχυσε την ανάπτυξή του (SGR) και βελτίωσε τις τιμές FCR και PER (Raji et al, 2008). Αντίθετα στην τιλάπια του Νείλου, η υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από συνδυασμό αλεύρων *Chlorella* sp. και *Scenedesmus* sp., σε ποσοστό μεγαλύτερο από 50% μείωσε την πρόσληψη της τροφής και τις παραμέτρους ανάπτυξης, γεγονός που δε συνέβη σε χαμηλότερα ποσοστά υποκατάστασης (Bawdy et al. 2008).

Αντίστοιχη μελέτη υποκατάστασης του ιχθυάλευρου από άλευρο *Chlorella vulgaris* πραγματοποιήθηκε στο καρκινοειδές *Marobrachium rosenbergii* από τους Radhakrishnan *et al.*, (2015). Στην περίπτωση αυτή, έγινε υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από το άλευρο του μικροφύκου κατά 25%, 50%, 75% και 100% και οι μέγιστες τιμές επιβίωσης, SGR και FCR παρουσιάστηκαν στην περίπτωση της κατά 50% υποκατάστασης του ιχθυάλευρου.

Η κοστολόγηση των σιτηρεσίων της παρούσας μελέτης με βάση τις τρέχουσες τιμές των πρώτων υλών, έδειξε ότι αυξάνοντας την υποκατάσταση του ιχθυάλευρου κατά 10% τριπλασιάζεται το κόστος του σιτηρεσίου. Παρά τα πλεονεκτήματα της χρήσης

των μικροφυκών στην υδατοκαλλιέργεια, το υψηλό τους κόστος στην παρούσα κατάσταση οδηγεί σε μία μη οικονομικά βιώσιμη κατάσταση που εμποδίζει την ένταξή τους στις εμπορικές ιχθυοτροφές, ως υποκατάστατα του ιχθυάλευρου.

Με στόχο τη μείωση του κόστους των μικροφυκών, έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες υποκατάστασης του ιχθυαλεύρου από επεξεργασμένα μικροφύκη (απολιπασμένα-defatted) που προέρχονται από τη βιομηχανία παραγωγής βιοντήζελ, ώστε η υποκατάσταση από μικροφύκη σε σιτηρέσια των εκτρεφόμενων ειδών να είναι οικονομικά βιώσιμη. Σύμφωνα με τους Valente *et al.*, (2019) πραγματοποιήθηκε 15% υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από απολιπασμένο άλευρο του μικροφύκου *Nannochloropsis* sp., που προερχόταν από τη βιομηχανία παραγωγής βιοντήζελ σε σιτηρέσιο λαβρακιού (*D. labrax*), χωρίς να επηρεαστούν οι παράμετροι ανάπτυξης.

Η ετήσια παραγωγή του *Chlorella* sp. είναι μικρή και σταθερή τα τελευταία χρόνια (~2000 τόνοι) λόγω του υψηλού κόστους παραγωγής (Brennan & Ownde 2010). Για να πραγματοποιηθεί υποκατάσταση ή/και αντικατάσταση του ιχθυάλευρου από άλευρο *Chlorella* sp., θα πρέπει να μειωθεί η τιμή του, ώστε να είναι ανταγωνιστική αυτής του ιχθυάλευρου, αλλά και άλλων φυτικών πρώτων υλών υψηλής πρωτεϊνικής σύστασης. Η ανάπτυξη νέων βιοτεχνολογικών διεργασιών χαμηλού κόστους αποτελεί σημαντικό στοιχείο στη βιομηχανική παραγωγή των μικροφυκών με στόχο την ενσωμάτωσή τους στα σιτηρέσια των εκτρεφόμενων ειδών.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, η υποκατάσταση της πρωτεΐνης του ιχθυάλευρου κατά 10%, 20% και 30% από άλευρο *Chlorella vulgaris* στο σιτηρέσιο του λαβρακιού (*D. labrax*), δεν επηρέασε την επιβίωση των ψαριών, αλλά και τις παραμέτρους ανάπτυξης και της αξιοποίησης της τροφής, που σημαίνει ότι είναι εφικτό να υποκατασταθεί το ιχθυάλευρο από το άλευρο αυτού του μικροφύκου σε ιχθυοτροφές που προορίζονται για το λαβράκι.

Ωστόσο, το υψηλό κόστος παραγωγής των μικροφυκών αποτελεί τροχοπέδη στην ενσωμάτωσή τους στη βιομηχανία παραγωγής ιχθυοτροφών παρά τα πλεονεκτήματα που επιφέρει η χρήση τους τόσο στην ανάπτυξη, την υγεία και την ευζωία των εκτρεφόμενων ιχθύων όσο και στην περιβαλλοντικά βιώσιμη πολιτική αειφορίας.

Απαραίτητη κρίνεται η περαιτέρω έρευνα του μικροφύκου *Chlorella vulgaris* στο σιτηρέσιο του λαβρακιού, ώστε να διευκρινιστεί εάν το μικροφύκος αυτό εξακολουθεί να αποτελεί κατάλληλο συστατικό σε μια υψηλότερου ποσοστού υποκατάσταση. Τέλος, στο μέλλον αξίζει να μελετηθεί εάν και σε ποιο βαθμό η ενσωμάτωση του μικροφύκου στη διατροφή του λαβρακιού επηρεάζει τη θρεπτική του σύσταση, τη γενικότερη φυσιολογία θρέψης του, καθώς και την πεπτικότητα του σιτηρεσίου.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

❖ Ξενόγλωση 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.
- Bawdy M., Ibrahim E.M., Zeinhom M.M., (2008). Partial replacement of fishmeal with dried microalga (*Chlorella* spp. and *Scenedesmus* spp) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture.
- Becker, E.W., (2004). The nutritional value of microalgae for aquaculture. In: Rochmond, A. (Ed). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, Backwell Publishing Ltd: 380-291.
- Becker E.W., (2007). Micro-algae as a source of protein. Biotechnology advances, 25, 207-210.
- Bell J.G. and Waagbo R., (2008). Safe and nutritious aquaculture produce: benefits and risks of alternative sustainable aquafeeds. Pp 185-225 in Aquaculture in the Ecosystem, M. Holmer, K. D. Black, C. M. Duarte, N. Marba and I. Karakassis, eds London, UK: Springer Verlag BV.
- Bendy E., Dacheng R., Radhakrishna S. (2017). Cultivation and energy efficient harvesting of microalgae using thermoreversible sol-gel transition. Scientific Reports, 7, <https://doi.org/10.1038/srep40725>.

- Brennan, L., & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae– A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*,14, 557–577.
- Borowitzka M.A. (2018). *Biology of Microalgae*. In: *Microalgae in Health and Disease Prevention*, Academic Press, pp 23-72.
- Campos I., Matos E., Marques A., Valente L.M.P., (2017). Hydrolyzed feather meal as a partial fishmeal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 476, 152-159.
- Coves D., Demavrin G., Breuil G. and Devauchelle N., (1991). Culture of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *CRC Handbook of Mariculture*, 11, 3-20.
- Dias J., Gomes E.F., Kaushik S.J. (1997). Improvement of feed intake through supplementation with an attractant mix in European seabass fed plant-protein rich diets. *Aquatic Living Resources*, 10, 385-389.
- Divanach P., Kentouri M., (2000). Hatchery techniques for specific diversification on Medirreanean finfish larviculture. *Cahiers Options Meditrrtaneennes*, 47, 75-88.
- Easton M.D.L., Luszniak D., Von der Geest E. (2002). Preliminary examination of contaminants loadings in farmed salmon, wild salmon and commercial salmon feed. *Chemosphere* 46, 1053-1074.
- FAO (2018). *The state of the world fisheries and aquaculture- Meeting the sustainable development goals*, Rome.
- FAO (2020). *The state of the world fisheries and aquaculture- Sustainability in action*, Rome.
- Garcia, L. C. (2012). The promises of *Chlorella vulgaris* the best alternative for biodiesel: A review. *Journal of Nature Studies*,11, 103–123.

- Gatlin D.M., Barrows F.T., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T.G., Hardy R.W., Herman E., Hu G.S., Krogdahl A., Nelson R., Overtrurf K., Rust M., Sealey W., Skonberg D., Souza E.J., Stone D., Wilson R., Wurtele E. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*, 38, 551-579.
- Goldburg R., Naylor R. (2005). Future escapes, fishing and fish farming. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 3, 21-28.
- Gouveia, L., Rema, P., Pereira, O., & Empis, J., (2003). Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. *Aquaculture Nutrition*, 9, 123–129.
- Hannon M., Gimpel J., Tran M., Rasala B., Mayfield S., (2010). Biofuels from algae: challenges and potential., 1, 763-784.
- Hardy R.W. (2010). REVIEW ARTICLE: Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research* 41, 770-776.
- Hemaiswarya R., Raja R., Ravi K.V., Ganesan C., (2011). Microalgae: a sustainable feed source for aquacultures. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 27, 1737-1746.
- Huntington T., Frid C., Banks R., Scott C, Paramor O. (2004). Assessment of the sustainability of industrial fisheries producing fishmeal and fish oil. *Poseidon Aquatic Resource Management Ltd*, 62.
- Karapanagiotidis I.T. (2014). The Re-Authorization of Non-Ruminant Processed Animal Proteins in European Aqua feeds. *Fisheries and Aquaculture Journal* 5:4.
- Karapanagiotidis I.T., Psofakis 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* 2018; 00:1–12.

Kaushik S.J., Coves D., Blanc D. (2004). Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*, *Aquaculture*, 230, 391-404.

Maliwat G.C., Velasquez S., Robil J.L., Chan M., Trailfalgar R. F., Tayamen M. & Ragaza J.A. (2016). Growth and immune response of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae fed diets containing *Chlorella vulgaris*. *Aquaculture Research*, 48, 1666–1676.

Messina M., Bulfon C., Tibaldi E., Cardinaletti G. (2019). Intestinal morphophysiology and innate immune status of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in response to diets including a blend of two marine microalgae, *Tisochrysis lutea* and *Tetraselmis suecica*. *Aquaculture*, 500, 660-669.

Metsoviti M.N., Lachanidou G., Manolios A., Berillis P., Katsoulas N., Papapolymerou G., Karapanagiotidis I.T. (2018). The effect of fishmeal and fish oil replacement by dietary microalgae species on liver histology in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Hydromedit* 2018, 8-11 November 2018, Volos, Greece.

Naylor R.L., Hardy R.W., Bureau D.P., Chiu A., Elliott M., Farrell A.P., Forster I., Gatlin D.M., Goldberg R.J., Hua K., Nichols P.D., (2009). Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 15103-15110.

Oliva-Teles A., Enes P., Peres H. (2015). Replacing fishmeal and fish oil in industrial aquafeeds for carnivorous fish. *Woodhead Publishing Series in food Science. Technology and Nutrition*, 203-233.

- Palmegiano G.B., Gai F., Gasco L., Lembo G., Spedicato M.T., Trotta P., Zoccarato I. (2009). Partial replacement of fish meal by T-Iso in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles' diet. Italian Journal of Animal Science, 8, 869-871.
- Psafakis P., Karapanagiotidis I.T., Malandrakis E.E., Golomazou E., Exadactylos A., Mente E. (2020). Effect of fishmeal replacement by hydrolyzed feather meal on growth performance, proximate composition, digestive enzyme activity, haematological parameters and growth-related gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata*), Aquaculture, doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735006.
- Raji A.A., Alaba P.A., Yusuf H., Bakar N., Taufek N.M., Muin H., Alias Z., Milow P., Razak S.A. (2018). Fish replacement with *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* in African catfish (*Clarias gariepinus*) diet: Effect on antioxidant enzyme activities and haematological parameters. Research in Veterinary Science, 119, 67-75.
- Radhakrishnan S., Saravana Bhavan P., Seenivasan C., Muralisankar T., (2015). Effect of dietary replacement of fishmeal with *Chlorella vulgaris* on growth performance, energy utilization and digestive enzymes in *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. International Journal of Fisheries and Aquaculture, 5, 62-70.
- Sarker P.K., Gamble M.M., Kelson S., Kapuncinski A.R., (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, 109-119.
- Shah AR, Lutz G.A., Alam A., Sarker P., Kabir Chowdhury M.A., Parsaeimehr A., Liang Y., Daroch M., (2018). Journal of Applied Phycology, 30, 197-213.

- Shi X., Luo Z., Huang C., Zhu X.M. and Liu X. (2015). Effect of fishmeal replacement by *Chlorella* sp. on growth performance, body composition, hepatic lipid metabolism and histology in crucian carp *Carassius auratus*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 39, 498-506.
- Shi X., Luo Z., Chen F., Wei C.C., Wu K., Zhu Z.M., Liu X. (2016). 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*, 2016, 1-13.
- Shepherd C.J., Jackson A.J. (2013). Global fishmeal and fish-oil supply: inputs, outputs and markets. *Journal of Fish Biology* 83, 1046-1066.
- Shields, R. J. and Lupatsch, I. (2012) 'Algae for Aquaculture and Animal Feeds', *Technikfolgenabschätzung –Theorie und Praxis* 21., 2,23–37.
- Sitja-Bobadilla A., Pena-Llopis S., Gomez-Requeni P., Medale F., Kaushik S., Perez Sanchez J. (2005). Effect of fishmeal replacement by plant protein sources on non specific defences mechanisms and oxidative stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 249, 387-400.
- Skrede A., Mydland L.T., Ahlstrom O., Reitan K.I., Gislerod H.R., Overland M., (2011). Evaluation of microalgae as sources of digestible nutrients for monogastric animals. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 20, 131-142.
- Tacon A.G.J., Hasan M.R., Metian M. (2011). Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans. Trends and prospects, In: *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*.
- Tacon A.G.J., 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.

- Tibaldi E., Shini Zittelli G., Parisi G., et al., (2015). Growth performance and quality traits of European sea bass (*D. labrax*) fed diets including increasing levels of freeze-dried *Isochrysis* sp.(T-ISO) biomass as a source of protein and n-3 long chain PUFA in partial substitution of fish derivatives. *Aquaculture*, 440, 60-68.
- Tibbets S.M., Mann J., Dumas A., (2017). Apparent digestibility nutrients, energy, essential amino acids of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) diets containing whole-cell or cell-reptured *Chlorella vulfaris* meals at five dietary inclusion levels. *Aquaculture*, 481, 25-39.
- Tidwell J.H. and Allan G.L. (2002) Fish as food: Aquaculture's contribution. *World Aquaculture*, 33: 44 – 48.
- Valente L.M.P., Custodio M., Batista S., Fernandes H., Kiron V., (2019). Defatted microalgae (*Nannochloropsis* sp.) from biorefinery as a potential feed protein source to replace fishmeal in European sea bass diets. *Fish Physiology and Biochemistry*, doi.org/10.1007/s10695-019-00621-w.
- Vandeputte M., Gagnaire P-A., Allal F., (2019). The European sea bass: a key marine fish model in the wild and in aquaculture. *Animal Genetics*, 50, 195-206.
- Vizcaino A.J., Lopez M.I., Saez J.A, Jimenez A., Barros L., Hidalgo J., Camacho-Rodriguez, Martinez T.F., Ceron-Garcia M.C, Alarcon J. (2014). Effect of microalgal *Scenedesmus almeriensis* as fishmeal alternative in diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata*, juveniles. *Aquaculture*, 431, 34-43.
- Zar J.H. (1999). *Biostatistical analysis*, 4th edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs. pp 663.

❖ Ελληνική Βιβλιογραφία:

Κανονισμός της Ευρωπαϊκής Επιτροπής (56/2013). Κανονισμός της Ευρωπαϊκής Επιτροπής για τη θέσπιση κανόνων πρόληψης, καταπολέμησης και εξάλειψης ορισμένων μεταδοτικών σπογγωδών εγκεφαλοπαθειών.

Κανονισμός της Ευρωπαϊκής Επιτροπής 2017/893 για την τροποποίηση των παραρτημάτων I και IV του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 999/2001 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου και των παραρτημάτων X, XIV και XV του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 142/2011 της Επιτροπής όσον αφορά τις διατάξεις για τη μεταποιημένη ζωική πρωτεΐνη.

Καραπαναγιωτίδης Ι.Θ. (2011). ΛΙΠΙΔΙΑ. Κεφάλαιο 5.10 “Η χρησιμοποίηση των ιχθυαλεύρων και των ιχθυελαίων στις ιχθυοτροφές. Κεφάλαιο στο βιβλίο «Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών», (Μεντέ Έ. & Νέγκας Ι.), Εκδόσεις Παπαζήση, σελ.224-228.

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

Σύνδεσμος Ελληνικών Θαλασσοκαλλιέργειών (ΣΕΘ) (2021). Ελληνική υδατοκαλλιέργεια.

Χώτος Γ., Ρογδάκης Ι. 2010. Υδατοκαλλιέργειες ευρύαλων ψαριών λαβράκι & τσιπούρα. Εκδόσεις ΙΩΝ.2 42-43.

❖ Ηλεκτρονική Βιβλιογραφία:

http1: www.fishbase.org (Ημερομηνία: 30/01/2021)

http2: [Feedipedia: An on-line encyclopedia of animal feeds | Feedipedia](http://www.feedipedia.com/) (Ημερομηνία: 30/01/2021)

http3: [FAO: Nutritional requirements](http://www.fao.org/nr/) (Ημερομηνία: 30/01/2021)

ABSTRACT

In order for aquaculture to satisfy the increasing demand for farmed fish, it is essential that the sector continues searching for suitable alternatives to fishmeal (FM) that are both cost-effective and widely available.

The aim of the present study has focused to study the feasibility of partial replacement of fishmeal by *Chlorella* meal and the effect on growth parameters and feed utilization by sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*).

Juveniles sea bass, initial mean weight of 2.85 ± 0.27 g, were transferred in 12 glass aquariums (125 L) in a closed artificial seawater circulation system. The temperature was kept at 21°C , pH 8.0 ± 0.4 and salinity at 30 ± 0.5 ‰. The juveniles were divided into 4 dietary groups (35 individuals/ tank, 3 repeats/ dietary group), which fed by hand *ad libitum* with 4 different iso-nitrogenous (56,4% of dry weight) and iso-energetic (22,4 MJ/kg of dry weight) diets for 77 days.

The control feed (FM) contained fishmeal as the sole animal protein source, while in the feed CM10, CM20 and CM30 took place a partial replacement of fishmeal by *Chlorella vulgaris* meal at the percentage of 10%, 20% and 30% respectively.

The partial replacement of fishmeal by *Chlorella* meal at the percentage of 30% did not affect the survival rate, weight gain, SGR, FCR and PER of sea bass. Especially, the weight gain (19.86-21.06 g), FCR (1.38-1.45), SGR (2.73-2.80 %/day) και PER (1.34-1.40) did not have any significant differences among the dietary groups examined.

To sum up, the results of the present study showed that *Chlorella* meal is a suitable substitute for fishmeal (30%) concerning the growth parameters and feed utilization by juveniles sea bass. Because of the lack of knowledge, a further study

should be occurred in sea bass diet, concerning the use of economical and environmental sustainable microalgae.

Key words: European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, fishmeal replacement, microalgae, *Chlorella vulgaris*