



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

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Υποκατάσταση ιχθυελαίου από μικροφύκη των ειδών
Nannochloropsis sp. και *Schizochytrium sp.* στο σιτηρέσιο του
λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*): Επίδραση στη θρεπτική σύσταση
των ιχθύων»**

ΕΥΓΕΝΙΑ ΚΑΖΟΠΙΔΗ

ΒΟΛΟΣ, 2021

«Υποκατάσταση ιχθυελαίου από μικροφύκη των ειδών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* στο σιτηρέσιο του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*): Επίδραση στη θρεπτική σύσταση των ιχθύων»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :

- 1) Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης, Επίκουρος Καθηγητής** - Διατροφή Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Επιβλέπων,*
- 2) Ιωάννης Μποζιάρης, Καθηγητής** - Υγιεινή και Συντήρηση Ιχθυηρών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος,*
- 3) Ελένη Γκολομάζου, Επίκουρη Καθηγήτρια** - Προστασία-Ευζωία Ιχθύων, Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος.*

Στον πατέρα μου,

Μανώλη

και

Στη μητέρα μου,

Λευκή

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλλαν στο να φέρω εις πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω 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 τον υποψήφιο διδάκτορα Πιέρ Ψωφάκη για τις συμβουλές και τη βοήθεια του. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον συνάδελφο Στέφανο Κλειτσογιάννη για την άψογη συνεργασία σε όλη τη διάρκεια του πειράματος, όπως επίσης και την οικογένεια μου για την άπλετη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή σε όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί η παραγωγή στις ιχθυοκαλλιέργειες, γεγονός που έχει οδηγήσει σε αυξημένη ζήτηση ιχθυοτροφών. Εξαιτίας, αυτής της αύξησης της ζήτησης, έχει παρατηρηθεί μείωση των αποθεμάτων του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου. Το ιχθυέλαιο χρησιμοποιείται εδώ και πάρα πολλά χρόνια ως κύρια πηγή λίπους στα σιτηρέσια των εκτρεφόμενων οργανισμών από τις βιομηχανίες των ιχθυοτροφών, εξαιτίας την υψηλής θρεπτικής του αξίας. Ωστόσο, η πρόσβαση στο ιχθυέλαιο γίνεται ολοένα και πιο περιορισμένη, εξαιτίας των πεπερασμένων πόρων από τους οποίους προέρχεται. Για το λόγο αυτό, έχει ξεκινήσει η προσπάθεια μείωσης της εξάρτησης του κλάδου των ιχθυοτροφών από τα ιχθυέλαια και η εύρεση νέων εναλλακτικών πρωτεϊνικών πηγών για την παρασκευή ιχθυοτροφών.

Η παρούσα προτεινόμενη μελέτη κινείται προς την κατεύθυνση εξερεύνησης εναλλακτικών διατροφικών πηγών, με βάση τα έλαια από μικροφύκη των ειδών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.*, για την εκτροφή ιχθύων στις ιχθυοκαλλιέργειες. Στην εργασία παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τη χημική σύσταση ολόκληρου του σώματος του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*), η οποία ακολούθησε δίαιτα με έλαια από μικροφύκη των ειδών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.*, σε ποσοστά αντικατάστασης 50 και 100%.

Για τις ανάγκες της παρούσας μελέτης, συλλέχθηκαν ιχθύες του είδους *Dicentrarchus labrax* με μέσο βάρος 23g, οι οποίοι προέρχονταν από διατροφικό πείραμα και είχαν διαχωριστεί σε 3 διατροφικές ομάδες με την κάθε ομάδα να σιτίζεται με διαφορετικό σιτηρέσιο. Ως βασική πρωτεϊνική πηγή ζωικής προέλευσης χρησιμοποιήθηκε υψηλής ποιότητας ιχθυάλευρο. Η τροφή μάρτυρας, CONTROL,

περιείχε αποκλειστικά ιχθυέλαιο και σογιέλαιο, ενώ οι υπόλοιπες τροφές περιείχαν ιχθυέλαιο, σογιέλαιο και έλαια από μικροφύκη. Το μίγμα ελαίων, το οποίο προέρχεται από τα μικροφύκη *Schizochytrium sp.* και *Nannochloropsis sp.*, αντικατέστησε το ιχθυέλαιο κατά SN50% (*Schizochytrium – Nannochloropsis* 50%) και SN100% (*Schizochytrium – Nannochloropsis* 100%).

Στο τέλος του διατροφικού πειράματος τα ψάρια θανατώθηκαν με πρωτόκολλο θανάτωσης. Για την αναισθητοποίηση τους χρησιμοποιήθηκε διάλυμα βενζοκαΐνης, συγκέντρωσης 0,5 ml/l. Έπειτα, καταψύχθηκαν στους -40°C . Από κάθε διατροφική ομάδα συλλέχθηκαν έξι (6) άτομα για τις αναλύσεις της θρεπτικής σύστασης ολόκληρου του σώματος (wholebody).

Οι χημικές αναλύσεις της θρεπτικής σύστασης των σωμάτων των ιχθύων πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις μεθόδους AOAC (1995) ως εξής: ο προσδιορισμός της υγρασίας με θέρμανση για 24 ώρες στους 105°C , ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών έγινε με την μέθοδο εκχύλισης Soxhlet, ο προσδιορισμός των ολικών αζωτούχων ουσιών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl, ο προσδιορισμός της τέφρας με αποτέφρωση των δειγμάτων στους 600°C για 3 ώρες και η ολική ενέργεια μέσω αδιαβατικού θερμιδόμετρου. Τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (v.20) χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της Ανάλυσης της Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (one-way ANOVA) ακολουθούμενη από Tukey's test και οι όποιες διαφορές κρίθηκαν στατιστικά σημαντικές για τιμές $P < 0,05$.

Η περιεκτικότητα του ολικού σώματος, όλων των ομάδων ιχθύων, σε ολική πρωτεΐνη κυμάνθηκε από 46,34% έως 50,73%, σε ολικές λιπαρές ουσίες από 35,47% έως 36,05%, σε τέφρα από 10,28% έως 11,60%, σε ολική ενέργεια από 25,71% έως 26,60% και σε υγρασία από 63,669% έως 65,67%. Η στατιστική επεξεργασία των

δεδομένων έδειξε ότι η θρεπτική σύσταση των ιχθύων σε ολόκληρο το σώμα όλων των ομάδων δε διέφερε μεταξύ τους. Από τα αποτελέσματα, φαίνεται ότι το μίγμα από τα έλαια των μικροφυκών *Schizochytrium sp.* και *Nannochloropsis sp.* δυνητικά θα μπορούσε να αποτελέσει αξιόπιστο υποκατάστατο του ιχθυελαίου. Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση για διάφορα είδη και επίσης, όσον αφορά στη θρεπτική σύσταση του μυϊκού ιστού, την εναπόθεση λιπαρών οξέων στο μυϊκό ιστό και την ιστολογική ανάλυση των ψαριών, καθώς επίσης, και την πεπτικότητα των μικροφυκών προκειμένου να διασφαλιστεί η καταλληλότητα αυτής της πρώτης ύλης για τη βιομηχανία υδατοκαλλιέργειας.

Λέξεις – Κλειδιά: λαβράκι, *Dicentrarchus labrax*, αντικατάσταση ιχθυελαίου, μικροφύκη, *Nannochloropsis*, *Schizochytrium*, ιχθυοκαλλιέργειες, διατροφή, DHA, EPA

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	- 1 -
1.1 Βιολογία και εκτροφή του λαβρακιού (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	- 1 -
1.2 Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους <i>Dicentrarchus labrax</i>	- 4 -
1.3 Θρεπτική σύσταση των ιχθύων και παράγοντες που την επηρεάζουν.....	- 6 -
1.3.1 Θρεπτική σύσταση ιχθύων	- 6 -
1.3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν τη θρεπτική σύσταση των ιχθύων	- 8 -
1.4 Η χρήση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου στις ιχθυοτροφές.....	- 12 -
1.5 Αντικατάσταση του ιχθυελαίου με έλαια φυτικής προέλευσης.....	- 16 -
1.6 Η χρήση των μικροφυκών στις ιχθυοτροφές	- 19 -
1.7 Τα έλαια από μικροφύκη των ειδών <i>Nannochloropsis sp.</i> και <i>Schizochytrium sp.</i> ως συστατικά ιχθυοτροφών	- 22 -
1.7.1 Το γένος <i>Nannochloropsis sp.</i> ως συστατικό ιχθυοτροφών.....	- 22 -
1.7.2 Το γένος <i>Schizochytrium sp.</i> ως συστατικό ιχθυοτροφών	- 23 -
1.8 Σκοπός της εργασίας.....	- 24 -
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	- 26 -
2.1 Δειγματοληψίες.....	- 26 -
2.2 Χημικές αναλύσεις	- 27 -
2.2.1 Προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας	- 28 -
2.2.2 Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ουσιών	- 29 -
2.2.3 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών	- 30 -
2.2.4 Προσδιορισμός τέφρας.....	- 31 -
2.2.5 Προσδιορισμός ενέργειας.....	- 32 -
2.3 Στατιστική ανάλυση.....	- 32 -
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	- 33 -
3.1 Θρεπτική σύσταση ολικού σώματος λαβρακιού	- 33 -
3.1.1 Περιεκτικότητα σε υγρασία	- 33 -
3.1.2 Περιεκτικότητα σε ενέργεια	- 34 -
3.1.3 Περιεκτικότητα σε τέφρα	- 34 -
3.1.4 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ουσίες.....	- 35 -
3.1.5 Περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες.....	- 36 -
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	- 38 -

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	- 41 -
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	- 42 -
ABSTRACT	- 48 -

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Βιολογία και εκτροφή του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*)

Το λαβράκι είναι ένα είδος ωκεανόδρομο που απαντάται στην Μεσόγειο, τη Μαύρη Θάλασσα και τον Ατλαντικό, από τη Νορβηγία μέχρι τη Σενεγάλη (FAO 1973, UNESCO 1986, Κλαουδάτος 2012). Ζει σε παραλιακά ύδατα, σε βάθος μέχρι 100 μέτρων. Είναι ψάρι ευρύαλο (εύρος αντοχής 0-40ppt) και ευρύθερμο (εύρος αντοχής 2-30° C), καθώς προσαρμόζεται και αναπτύσσεται εύκολα, ακόμη και σε υφάλμυρα και γλυκά νερά, όπως σε λιμνοθάλασσες και εκβολές ποταμών (Παπουτσόγλου, 2008). Στη βιβλιογραφία αναφέρεται κυρίως ως *European seabass* (UNESCO 1986) (Εικ. 1.1).



Εικόνα 1.1. Απεικόνιση του είδους.

Πηγή: <https://www.fishbase.de/photos>

Είναι ψάρι μεσαίου μεγέθους με επίμηκες σχήμα σώματος και ανήκει στην κατηγορία των σαρκοφάγων και αρπακτικών ειδών. Ο τύπος πέψης, τα είδη των ενζύμων που εκκρίνονται στον πεπτικό σωλήνα και ο τύπος των δοντιών, ερμηνεύουν απόλυτα αυτό το χαρακτηριστικό. Το διαιτολόγιο του περιλαμβάνει μεγάλη ποικιλία ψαριών. Κυρίως αποτελείται από είδη της οικογένειας Clupeidae, καθώς και από άλλα είδη μικρών κοπαδιάρικων ψαριών, όπως αθερίνες, σαρδέλες και μικρά κεφαλόπουλα.

Επιπλέον, τρέφεται με καλαμάρια, σουπιές, διάφορα είδη οστρακοειδών και άλλα μαλάκια (Νεοφύτου 2015).

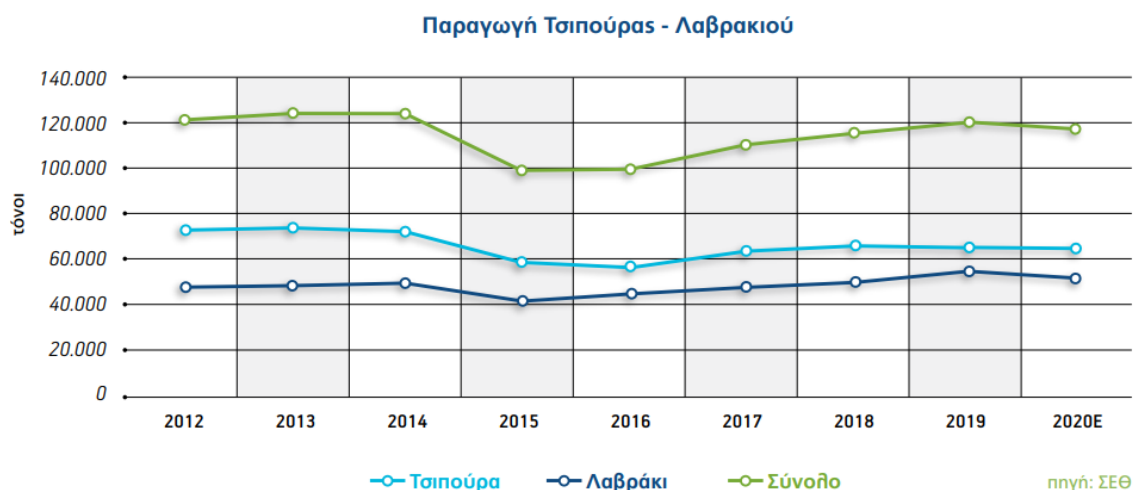
Σε αντίθεση με την τσιπούρα, είναι γονοχωριστικό είδος. Οι γεννήσεις ξεκινούν τον Νοέμβριο και ο γόνος του λαβρακιού εμφανίζεται κατά ομάδες σε ακτές τους μήνες Νοέμβριο και Ιανουάριο (Κλαουδάτος και Αποστολόπουλος 1984, Νεοφύτου 2015), γεγονός που οφείλεται σε μειωμένη αλατότητα (εκβολές ποταμών) και αφθονία τροφής (ζωοπλαγκτόν) (Κλαουδάτος και Αποστολόπουλος 1984, Κονίδης 1992).

Το λαβράκι εισέρχεται στις λιμνοθάλασσες μαζί με τα ιχθύδια των άλλων ευρύαλων ειδών ιχθύων από τον Μάρτιο έως τον Μάιο, δεν θεωρείται, όμως, κατάλληλο είδος για εκτατική εκτροφή στις λιμνοθάλασσες, ούτε και εκτρέφεται σε πολυκαλλιέργειες, λόγω της έντονης επιθετικής του τάσης (Νεοφύτου 2015). Η εντατική εκτροφή του είδους περιλαμβάνει τη χρήση πλωτών κλωβών ή δεξαμενών. Προσαρμόζεται εύκολα στην αιχμαλωσία, ωστόσο είναι είδος ευαίσθητο σε περιόδους stress. Παρουσιάζει πολύ καλή ανθεκτικότητα σε μεταβολές της ποιότητας του νερού και είναι είδος με εξαιρετική ποιότητα φιλέτου. Το εμπορεύσιμο μέγεθος του κυμαίνεται από 300 έως 500gr, βάρος για το οποίο χρειάζονται από ενάμιση έως δύο χρόνια ανάλογα με τη θερμοκρασία του νερού (Χώτος και Ρογδάκης, 1992). Προς το παρόν, η εκτροφή του είδους γίνεται εντατικά, με τελική μέση πυκνότητα 10 - 20kg/m² και FCR 1,8 – 2,3 (FAO 2016, Κλαουδάτος 2012).

Στην Ευρώπη η εκτροφή του λαβρακιού έχει αναπτυχθεί έντονα την τελευταία δεκαετία. Η παραγωγή εξάγεται κυρίως στην Ιταλία και την Ισπανία. Βασική εξαγωγική χώρα ήταν η Ελλάδα με περίπου το 70% της εγχώριας παραγωγής να εξάγεται. Η Ιταλία ήταν αρχικά σχεδόν η μόνη εξαγωγική αγορά για την ελληνική παραγωγή, αλλά, ως αποτέλεσμα των προσπαθειών ανάπτυξης της αγοράς, οι εξαγωγές της έχουν πλέον

επεκταθεί σε νέες αγορές, όπως το Ηνωμένο Βασίλειο, η Γερμανία, η Γαλλία, καθώς και η Ισπανία για ορισμένα μεγέθη.

Στην Ελλάδα το 2019, η παραγωγή τσιπούρας και λαβρακιού ανήλθε σε 120.500 τόνους (65.300 τόνοι τσιπούρας και 55.200 τόνοι λαβρακιού) συνολικής αξίας 545,6 εκ. ευρώ (Εικ. 1.2). Σε σχέση με το 2018 παρατηρείται αύξηση σχεδόν 3% ως προς τον όγκο παραγωγής (λόγω της αυξημένης παραγωγής λαβρακιού) και οριακή μείωση 1% ως προς την αξία πωλήσεων λόγω της μειωμένης τιμής και για τα δύο είδη. Η τσιπούρα αντιστοιχεί στο 54% του όγκου παραγωγής και το λαβράκι στο 46%. Ανά είδος, η παραγωγή τσιπούρας παρουσίασε αύξηση 4,6% και του λαβρακιού 4,1% σε σχέση με το έτος 2018 (ΣΕΘ 2020).



Εικόνα 1.2. Εξέλιξη παραγωγής (τόνοι σε χιλιάδες) τσιπούρας και λαβρακιού.

Πηγή: ΣΕΘ, 2020

1.2 Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους *Dicentrarchus labrax*

Από τις διάφορες σχετικές έρευνες που πραγματοποιήθηκαν μέχρι σήμερα και αφορούσαν τη θρεπτική σύσταση της τροφής, οι προτεινόμενες προδιαγραφές αφορούν σιτηρέσια εναρκτήρια, κύριας εκτροφής και σιτηρέσια γεννητόρων. Οι απαιτήσεις του λαβρακιού για το στάδιο του ιχθυδίου και του ενήλικου ατόμου συνοψίζονται στους Πίνακες 1.1, 1.2 και 1.3 (FAO 2013, Παπουτσόγλου 2008).

Πίνακας 1.1: Θρεπτικές ανάγκες (% τροφής) του λαβρακιού ανάλογα το στάδιο ανάπτυξης.

Θρεπτική Σύσταση (%)	Στάδιο ζωής	
	Ιχθύδια	Ενήλικα άτομα
Πρωτεΐνη	50 - 60	45 - 50
Λίπος	8 - 12	15 - 20
Ινώδεις Ουσίες	0,8 - 1	0,8 - 1
Υδατάνθρακες	15 - 18	15 - 18
Πρωτεΐνη/Ενέργεια (mg/Kj)	22/23,5	20/21,5
Φώσφορος	0,8	0,8

Πηγή: Παπουτσόγλου (2008), FAO (2016).

Πίνακας 1.2: Ποσοτικές ανάγκες (% τροφής) του λαβρακιού σε απαραίτητα αμινοξέα

Αμινοξέα (%)	Στάδιο ζωής	
	Ιχθύδια	Ενήλικα άτομα
Αργινίνη	4.6	4.6
Ιστιδίνη	1.6	1.6
Ισολευκίνη	2.6	2.6
Λευκίνη	4.3	4.3
Λυσίνη	4.8	4.8
Μεθειονίνη	2.3	2.3
Φαινυλαλανίνη	2.6	2.6
Θρεονίνη	2.7	2.7
Τρυπτοφάνη	0.6	0.6
Βαλίνη	2.9	2.9

Πηγή: Παπουτσόγλου (2008), FAO (2016).

Πίνακας 1.3: Ενδεικτικά προτεινόμενα επίπεδα βιταμινών και ανόργανων στοιχείων σε εναρκτήρια και σε σιτηρέσια κύριας εκτροφής και γεννητόρων λαβρακιού (ποσότητες/Kg τροφής με 10% υγρασία).

Βιταμίνες και ανόργανα στοιχεία	Εναρκτήρια σιτηρέσια	Σιτηρέσια κύριας εκτροφής	Σιτηρέσια γεννητόρων
Βιταμίνη Α (IU)	25.000	20.000	27.000
Βιταμίνη D (IU)	3.000	3.000	3.500
Βιταμίνη E (mg)	300	250	500
Βιταμίνη K (mg)	30	25	35
Βιταμίνη C (mg)	250	200	400
Θειαμίνη (βιταμίνη B ₁) (mg)	60	35	60
Ριβοφλαβίνη (βιταμίνη B ₂) (mg)	65	35	65
Παντοθενικό οξύ (βιταμίνη B ₃) (mg)	150	130	150
Πυριδοξίνη (βιταμίνη B ₆) (mg)	35	30	40
Κυανοκοβαλαμίνη (βιταμίνη B ₁₂) (mg)	~ 0,1	~ 0,1	~ 0,1
Νιασίνη (mg)	600	450	600
Βιοτίνη (mg)	2	1 - 1,5	1,5
Χολίνη (mg)	2.500	2.400	2500
Φυλλικό οξύ (mg)	10	6 - 8	10
Ινισιτόλη (mg)	250	250	350
Παραμινοβενζοϊκό οξύ (mg)	40	30	40
Φώσφορος (mg)	-	-	-
Χαλκός (mg)	6	4	5
Ιώδιο (mg)	3	2	2.5
Σίδηρος (mg)	60	50	60
Μαγγάνιο (mg)	80	70	75
Ψευδάργυρος (mg)	100	80	100
Κοβάλτιο (mg)	~ 2,5	~ 2	2.5
Σελήνιο (mg)	0,2 - 0,3	0,2	0.2 -0.3

Πηγή: Παπουτσόγλου (2008).

1.3 Θρεπτική σύσταση των ιχθύων και παράγοντες που την επηρεάζουν

1.3.1 Θρεπτική σύσταση ιχθύων

Η εκτροφή θαλάσσιων μεσογειακών ιχθύων αποτελεί εδώ και 30 χρόνια τη βασική δραστηριότητα υδατοκαλλιέργειας της Ελλάδας, αλλά και πολλών ευρωπαϊκών χωρών. Από το 1981 που δημιουργήθηκαν οι πρώτες πειραματικές μονάδες, ο κλάδος

έφτασε να κατέχει την πρώτη θέση σε ευρωπαϊκό επίπεδο και τη δεύτερη θέση σε διεθνές στην εκτροφή μεσογειακών ιχθύων. Η παραγωγή κυμαίνεται μεταξύ 110.000 - 120.000 τόνων ετησίως συμβάλλοντας στην κοινωνική και οικονομική ανάπτυξη των τοπικών κοινωνιών και στην προσφορά τροφίμων υψηλής διατροφικής αξίας με χαμηλό περιβαλλοντικό αποτύπωμα (FAO 2020).

Τα ψάρια διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή, παρέχοντας τουλάχιστον το 20% πρόσληψης πρωτεΐνης για το 1/3 του παγκόσμιου πληθυσμού και η εξάρτηση είναι υψηλότερη στις αναπτυσσόμενες χώρες (Bene, Macfadyen, & Allison 2007). Ανήκουν στις υγιεινές τροφές και η κατανάλωσή τους παρουσιάζει σημαντική αύξηση τα τελευταία χρόνια, λόγω του ότι έχει ευρέως αναγνωριστεί η υψηλή θρεπτική τους αξία (Alasalvar & Taylor 2002).

Ο μυϊκός ιστός των ιχθύων χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας, εξαιρετικά ποικίλλουσα περιεκτικότητα σε λίπη και πολύ μικρή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες (Πίν. 1.4). Η κύρια ιδιαιτερότητα των ιχθύων συνίσταται στην ποιότητα του λιπιδικού περιεχομένου τους, καθώς αποτελούν πολύτιμη πηγή ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ενώ έχουν μικρές ποσότητες κορεσμένων λιπιδίων και χοληστερόλης. Επίσης, αποτελούν πλούσια πηγή βιταμινών και ανόργανων στοιχείων (Agiño *et al.* 2005).

Πίνακας 1.4 Διακύμανση της περιεκτικότητας (ποσοστό % επί υγρής βάσης) των θρεπτικών συστατικών στον εδώδιμο μυϊκό ιστό των ιχθύων.

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

Πηγή: Love 1980, Huss 1998.

1.3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν τη θρεπτική σύσταση των ιχθύων

Η χημική σύσταση των ιχθύων επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, οι οποίοι μπορούν να διαχωριστούν σε δυο κατηγορίες: τους **ενδογενείς** και τους **εξωγενείς** παράγοντες (Love 1980, Shearer 1994).

Ενδογενείς παράγοντες

- **Είδος**

Η χημική σύσταση των ιχθύων ποικίλλει σημαντικά στα διάφορα είδη (Love 1980, Shearer 1994, Huss 1998). Οι μεγαλύτερες μεταβολές παρατηρούνται στη λιποπεριεκτικότητα. Τα διάφορα είδη ιχθύων διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες σύμφωνα με την περιεκτικότητα του σώματος τους σε λίπος: λιπαρά, ημιλιπαρά χαμηλά λιπαρά και άπαχα (Hui *et al.* 2006). Η υγρασία έχει και αυτή διακυμάνσεις ανάμεσα στα διάφορα είδη αφού εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη λιποπεριεκτικότητα.

Τέλος, σημαντικές διαφορές παρατηρούνται στην περιεκτικότητα των βιταμινών στα διάφορα είδη και ιδίως των λιποδιαλυτών βιταμινών, των οποίων η συγκέντρωση εξαρτάται άμεσα από την λιποπεριεκτικότητα (Lall & Parazzo 1995).

- **Στάδιο ανάπτυξης**

Πολλοί ερευνητές έχουν μελετήσει τις μεταβολές της χημικής σύστασης των ιχθύων σε σχέση με το στάδιο ανάπτυξής τους (Dumas *et al.* 2007) και τον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (Holdway & Beamish 1984). Γενικά, το επίπεδο της υγρασίας και η περιεκτικότητα στις σωματικές πρωτεΐνες των ιχθύων μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας και του μεγέθους τους (Παπουτσόγλου 2008), ενώ παράλληλα αυξάνεται το επίπεδο των λιπών (Love 1980, Griffiths & Kirkwood 1995).

- **Αναπαραγωγικό στάδιο**

Οι θρεπτικές και ενεργειακές ανάγκες των ιχθύων μεταβάλλονται σύμφωνα με το στάδιο γεννητικής ωριμότητας (Love 1980, Zaboukas *et al.* 2006). Η κάλυψη των ενεργειακών τους αναγκών, επιτυγχάνεται κυρίως μέσω της κατανάλωσης των αποθεμάτων λίπους του οργανισμού (Henderson & Tocher 1987).

- **Ιστοί και μέρη του σώματος**

Η παραλλακτικότητα της χημικής σύστασης ανάμεσα στους διάφορους ιστούς του σώματος των ιχθύων, όπως ο μυϊκός ιστός, το ηπατοπάγκρεας και οι γονάδες, έχει μελετηθεί αρκετά και παρουσιάζει διαφορές (Dawson & Grimm 1980, Eliasson & Vahl 1982).

Γενικά, στους περισσότερους ιχθύες, το περισπλαχνικό-περιεντερικό λίπος (λιπώδης ιστός) είναι το κύριο μέρος αποθήκευσης του λίπους. Ακολουθεί κατά σειρά το ήπαρ (κύριο όργανο μεταβολισμού των λιπών) και ο ερυθρός μυϊκός ιστός (Sheridan 1988). Η πρωτεϊνοσύνθεση λαμβάνει χώρα αρχικά στο ήπαρ ακολούθως στα βράγχια, τον πεπτικό σωλήνα, τον ερυθρό μυϊκό και τέλος στο λευκό μυϊκό ιστό, όπου πραγματοποιείται κυρίως η εναπόθεση των σωματικών πρωτεϊνών.

- **Φύλο**

Διαφορές στη λιποπεριεκτικότητα ανάμεσα στα δύο φύλα έχουν βρεθεί σε αρκετά είδη τόσο στο μυϊκό ιστό όσο και στο ήπαρ και τις γονάδες (Larson 1991, Robards *et al.* 1999).

Εξωγενείς παράγοντες

- **Εποχικότητα**

Η χημική σύσταση των ιχθύων, λόγω της μεταβολής των ενεργειακών αποθεμάτων και των ενεργειακών απαιτήσεων τους κατά τη διάρκεια ενός ετήσιου κύκλου, παρουσιάζει εποχιακές διακυμάνσεις. Βασικοί παράγοντες που σχετίζονται με το γεγονός αυτό είναι ο αναπαραγωγικός κύκλος (ενδογενής παράγοντας), η διαθεσιμότητα της τροφής και η μεταβολή της θερμοκρασίας (εξωγενείς παράγοντες) (Chellara *et al.* 1989).

Γενικά, την άνοιξη και το φθινόπωρο η λιποπεριεκτικότητα φτάνει τις μέγιστες τιμές και αυτό συσχετίζεται με τη διατροφή, λόγω της αυξημένης αφθονίας

φυτοπλαγκτού (Παπαναστασίου 1990). Επίσης, η περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες είναι μεγαλύτερη το χειμώνα και μικρότερη το καλοκαίρι.

- **Διατροφή**

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

- **Υδάτινο περιβάλλον**

Συνήθως, τα θαλάσσια είδη ιχθύων έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες συγκριτικά με τα είδη του γλυκού νερού (Παπαναστασίου 1990). Αναφορικά με τη λιποπεριεκτικότητα, τα είδη των θαλάσσιων υδάτων έχουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις λίπους στο ήπαρ συγκριτικά με τα είδη του γλυκού νερού. Επίσης, τα πρώτα αποτελούν πλουσιότερη πηγή ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (ΠΛΟ) από τα δεύτερα. Τέλος, διαφορές υπάρχουν και στην περιεκτικότητα των ανόργανων στοιχείων (Henderson & Tocher 1987). Τα θαλάσσια είδη ιχθύων περιέχουν μεγαλύτερη ποσότητα χλωριούχου νατρίου και ασβεστίου, ενώ τα είδη του γλυκού νερού έχουν μεγαλύτερη ποσότητα φωσφορικού καλίου (Παπαναστασίου 1990).

Το βάθος της υδάτινης στήλης που διαβιεί ένα είδος αποτελεί, επίσης, παράγοντα επηρεασμού της χημικής σύστασης του σώματος του. Σύμφωνα με τους Childress *et al.* (1990) και Drazen (2007) τα ψάρια που διαβιούν σε μεγαλύτερα βάθη παρουσιάζουν μειωμένη λιποπεριεκτικότητα.

1.4 Η χρήση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου στις ιχθυοτροφές

Η υδατοκαλλιέργεια αποτελεί τον ταχύτερα αναπτυσσόμενο τομέα παραγωγής τροφίμων σε όλο τον κόσμο. Συνεισφέρει σχεδόν κατά το ήμισυ στην παγκόσμια κατανάλωση ψαριών. Αυτή τη στιγμή εκτιμάται ότι το 50% από τις ανάγκες κατανάλωσης ψαριών καλύπτονται από την υδατοκαλλιέργεια και αναμένεται ότι ο αριθμός αυτός θα πλησιάσει το 60-70% έως το 2030 (Subasinghe *et al.* 2009).

Η ανάπτυξη της παγκόσμιας παραγωγής στην υδατοκαλλιέργεια έχει αυξήσει σημαντικά τη ζήτηση σε ιχθυοτροφές. Οι ιχθυοτροφές αποτελούν τη βασικότερη πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται στην παραγωγική διαδικασία, καθώς αντιπροσωπεύουν το 57% - 59% του συνολικού λειτουργικού κόστους παραγωγής (ΣΕΘ 2018) και εμπεριέχουν μεγάλες ποσότητες ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων (Tacon & Metian, 2008). Το 2019 οι πωλήσεις τροφών ανήλθαν σε περίπου 258.000 τόνους παρουσιάζοντας αύξηση 2% σε σχέση με το 2018 (ΣΕΘ 2020).

Είναι γνωστό πως οι ιχθυοτροφές πρέπει να καλύπτουν τις διατροφικές ανάγκες των ιχθύων για την ομαλή ανάπτυξή τους. Αυτό επιτυγχάνεται με τη παροχή τροφής, η οποία καλύπτει πλήρως τις ανάγκες των ιχθύων σε πρωτεΐνες, λίπη και άλλα ιχνοστοιχεία. Ως πηγή πρωτεϊνών και λιπών, η ιχθυοκαλλιέργεια βασίζεται κατά κύριο λόγο στο ιχθυάλευρο και το ιχθυέλαιο. Τα συστατικά αυτά αποτελούν κύρια συστατικά των ιχθυοτροφών, εξαιτίας της υψηλής θρεπτικής τους αξίας.

Το υψηλό επίπεδο πρωτεΐνης σε συνδυασμό με το ιδανικό προφίλ αμινοξέων, την υψηλή πεπτικότητα (άρα και λιγότερο ρυπογόνο προς το περιβάλλον), την υψηλή γευστικότητα, την έλλειψη διατροφικών παραγόντων και το γεγονός ότι μέχρι πριν λίγα χρόνια ήταν άμεσα διαθέσιμο και οικονομικό για τους παραγωγούς, κατέστησαν το ιχθυάλευρο ως το σημαντικότερο συστατικό στις ιχθυοτροφές. Επίσης, περιέχει μεγάλη ποσότητα σε ολικές πρωτεΐνες και απαραίτητα αμινοξέα, είναι πλούσια πηγή ολικής ενέργειας, καθώς και λιπιδίων, ανόργανων στοιχείων και βιταμινών (Jackson 2009). Ανέκαθεν, η ιχθυοκαλλιέργεια έκανε χρήση ιχθυαλεύρων για τροφή, τόσο σαρκοφάγων και παμφάγων ιχθύων όσο και φυτοφάγων, κυρίως στα πρώτα στάδια της ζωής τους, που τα απαιτούμενα επίπεδα πρωτεΐνης και απαραίτητων αμινοξέων είναι υψηλά.

Επιπλέον, το ιχθυέλαιο αποτελεί μία εξαιρετική πηγή λιπιδίων, καθώς ικανοποιεί τις υψηλές απαιτήσεις των ιχθύων για ω-3 λιπαρά οξέα, και ιδιαίτερα των 20:5ω-3 και 22:6ω-3, τα οποία είναι δυσεύρετα σε άλλα συστατικά-πρώτες ύλες για ιχθυοτροφές (Καραπαναγιωτίδης 2012, Rice 2009). Είναι πλούσιο σε τριακυλογλυκερόλες (TAGS), οι οποίες περιλαμβάνουν το κύριο συστατικό των αποθηκευμένων λιπών, συμβάλλοντας γενικά κατά 90% στη συνολική σύνθεση των λιπαρών οξέων. Η θρεπτική σύσταση των ιχθυελαίων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη σύνθεση των λιπαρών οξέων, ιδιαίτερα στα σιτηρέσια της υδατοκαλλιέργειας (A. R. Hodar *et al.* 2020).

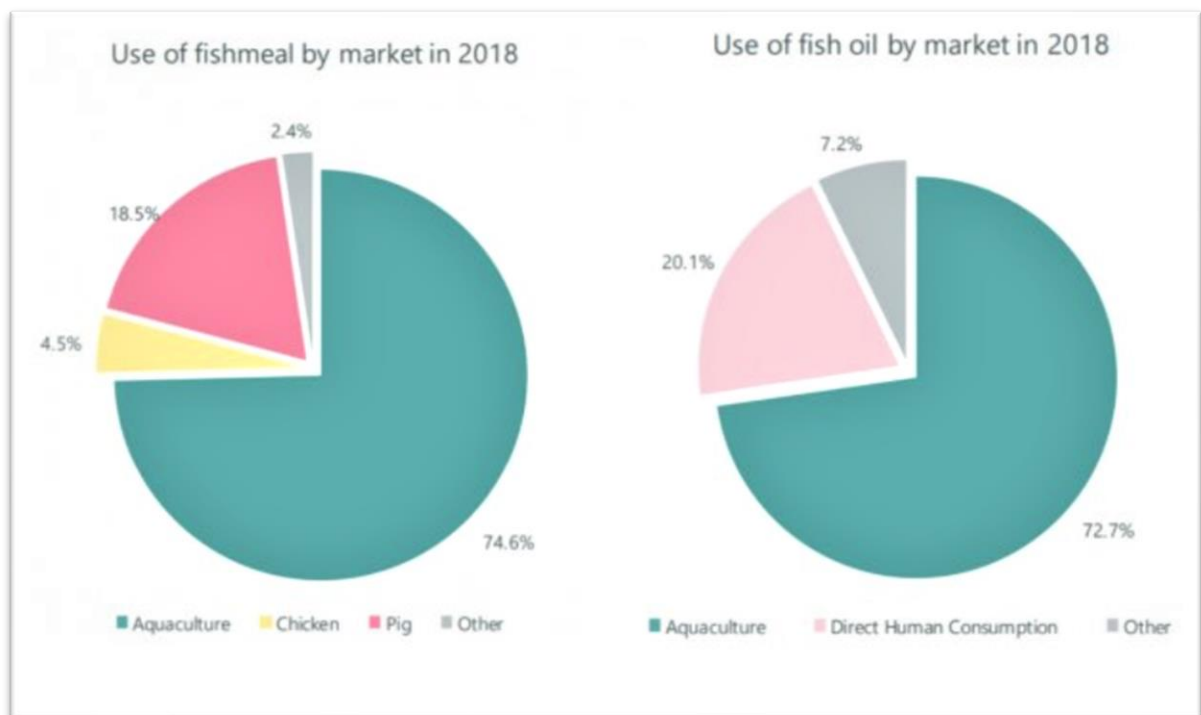
Τα συστατικά αυτά παρασκευάζονται κυρίως, από μικρά θαλασσινά ψάρια με υψηλό ποσοστό οστών και ελαίων που συνήθως θεωρούνται ότι δεν είναι κατάλληλα για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο και έχουν σύσταση που ποικίλει πάρα πολύ, γιατί εξαρτάται από το είδος των ψαριών και των υπολειμμάτων που χρησιμοποιούνται κάθε φορά. Ένα μικρό ποσοστό των ιχθυαλεύρων και των ιχθυελαίων αποδίδεται στα παρεμπύπτοντα αλιεύματα, και στα υποπροϊόντα που δημιουργούνται κατά την

επεξεργασία (π.χ. φιλέτα ψαριών και κονσερβοποιία) των διαφόρων θαλασσινών προϊόντων που προορίζονται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο (Miles & Charman, 2006). Σε αυτά ανήκουν μικρά θαλασσινά ψάρια όπως ρέγγα, γάυρος, σαρδέλα, σκουμπρί, φρίσσα, καπελάνος κ.α. (Σπαής 2002).

Τα διάφορα ιχθυάλευρα περιέχουν ολικές πρωτεΐνες από 55,5% έως 72,5%, λιπαρές ουσίες από 3,5% έως 12%, τέφρα από 10% έως 22,5% και υγρασία από 7% έως 13%. Η ποιότητα του ιχθυαλεύρου εξαρτάται από την εποχή της αλίευσης, το γεωγραφικό πλάτος της περιοχής, τη θερμοκρασία, την ώρα που τα ψάρια αλιεύονται, το χρόνο αποθήκευσης πριν από την επεξεργασία, τον τρόπο αλιείας και τη σύνθεση των αλιευμάτων. Οι δύο αυτές βασικές πρώτες ύλες εισάγονται στο μεγαλύτερο ποσοστό τους από τη Νότια Αμερική, τη Βόρεια Ευρώπη και την Αφρική (A. R. Hodar *et al.* 2020). Η επεξεργασία πρέπει να γίνεται το συντομότερο μετά την αλίευση. Υπάρχουν δυο βασικοί τρόποι παραγωγής ιχθυαλεύρων: άμεση ξήρανση, που είναι η παλαιότερη μέθοδος και θερμική επεξεργασία πριν από την ξήρανση. Η δεύτερη μέθοδος δίνει προϊόντα υψηλότερης ποιότητας (Hertampf & Piedad – Pascal, 2000).

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί η παραγωγή στις ιχθυοκαλλιέργειες, γεγονός που έχει οδηγήσει σε αυξημένη ζήτηση ιχθυοτροφών και επομένως, σε ραγδαία αύξηση της αλιευτικής προσπάθειας (Asche & Tveteras, 2005). Ακόμη, έχει παρατηρηθεί μείωση των αποθεμάτων του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου, λόγω εξάντλησης των ιχθυοαποθεμάτων που προορίζονται για αυτά (Tidwell & Allan, 2002). Η υπεραλίευση αποτελεί την κύρια αιτία αυτής της μείωσης των ιχθυοαποθεμάτων, όπως επίσης προκαλεί στασιμότητα στην παγκόσμια παραγωγή του ιχθυαλεύρου (περίπου 1 εκ. τόνοι ετησίως) εδώ και 20-25 χρόνια, καθώς και αύξησης της τιμής του (Καραπαναγιωτίδης, 2018).

Οι ιχθυοκαλλιέργειες εντατικοποιήθηκαν ταχέως την τελευταία δεκαετία με ένα ρυθμό περίπου 8–10% το χρόνο (Parés-Sierra *et al.* 2014). Από το 2013 η παραγωγή υδατοκαλλιέργειας παγκοσμίως έχει ξεπεράσει τον όγκο των αλιευμάτων από την ελεύθερη αλιεία, η οποία τα τελευταία δέκα χρόνια είχε σταθεροποιηθεί μεταξύ 90 – 93 εκ. τόνους. Ωστόσο, το 2018 αξίζει να σημειωθεί πως οι εκφορτώσεις από την αλιεία αυξήθηκαν κατά 5,4 % σε σχέση με το 2017 και ανήλθαν σε 97,4 εκ. τόνους, φτάνοντας στο υψηλότερο σημείο που έχει καταγραφεί ποτέ. Σύμφωνα με τον IFFO, το 2018 η χρήση του ιχθυαλεύρου στον τομέα της ιχθυοκαλλιέργειας κυμάνθηκε στο 74,6%, ενώ η χρήση του ιχθυελαίου στο 72,7% (Εικ. 1.3).



Εικόνα 1.3. Χρήση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου σε διαφορετικές αγορές.

Πηγή: IFFO, Global Food Security 2019.

Η συνεχιζόμενη αύξηση της ζήτησής των συστατικών αυτών και η μέχρι πρότινος αλόγιστη χρήση των αποθεμάτων τους στις ιχθυοτροφές σε συνδυασμό με το ότι η

διαθεσιμότητα τους παρέμεινε στο ίδιο επίπεδο, έχει οδηγήσει στην συνεχόμενη αύξηση της τιμής με αποτέλεσμα το συνεχώς αυξανόμενο κόστος παραγωγής για τις επιχειρήσεις του κλάδου των υδατοκαλλιεργειών (Alan 2006). Η μεγάλη ζήτηση προκαλεί πιέσεις στα αλιευτικά αποθέματα που κινδυνεύουν με κατάρρευση εξαιτίας της αυξανόμενης αλιευτικής προσπάθειας. Σύμφωνα με τα παραπάνω μπορούμε να εξάγουμε το συμπέρασμα ότι η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου κρίνεται απαραίτητη (Saoud *et al.* 2008).

1.5 Αντικατάσταση του ιχθυελαίου με έλαια φυτικής προέλευσης

Καθώς η συνολική παραγωγή της ιχθυοκαλλιέργειας αυξάνεται, κρίθηκε απαραίτητο να βρεθούν εναλλακτικές πηγές αντικατάστασης των δύο κύριων συστατικών των ιχθυοτροφών (Tacon 1997).

Η τεχνολογία των ιχθυοτροφών έχει στραφεί στην εξεύρεση κατάλληλων εναλλακτικών συστατικών των ιχθυελαίων. Η επιλογή των φυτικών ελαίων που θα χρησιμοποιηθούν στις ιχθυοτροφές γίνεται με τα ίδια κριτήρια που χρησιμοποιούνται και για όλα τα υπόλοιπα συστατικά: τιμή, διαθεσιμότητα, θρεπτική αξία και ποιότητα, που καθορίζονται με χημικούς ελέγχους (Fountoulaki *et al.* 2009). Κοινά έλαια που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υποκατάστατα του ιχθυελαίου είναι το λινέλαιο, το έλαιο ελαιοκράμβης, το φοινικέλαιο, το σογιέλαιο και το ελαιόλαδο μεταξύ άλλων, μιας και αυτά τα έλαια περιέχουν, συγκριτικά με άλλα φυτικά έλαια, χαμηλότερα ποσοστά των ω-6 λιπαρών οξέων και αυξημένα ποσοστά του 18:3ω-3.

Τα έλαια φυτικής προέλευσης έχουν αυξημένη χρήση στην παραγωγή τροφών που προορίζονται για την υδατοκαλλιέργεια, λόγω υψηλής διαθεσιμότητας και

καλύτερης οικοδομικής αξίας. Μερική αντικατάσταση του ιχθυελαίου από έλαια φυτικής προέλευσης θα ήταν δυνατή, εάν τα λιπαρά οξέα που υπάρχουν στα σιτηρέσια βρίσκονται σε επαρκείς ποσότητες, ώστε να ικανοποιήσουν τις βασικές τους ανάγκες σε απαραίτητα λιπαρά οξέα.

Επιπλέον, τα διάφορα έλαια χρησιμοποιούνται στις ιχθυοτροφές για δύο κυρίως λόγους. Πρώτον, για να αυξήσουν το ενεργειακό περιεχόμενο της ιχθυοτροφής, διότι αποτελούν τις πιο πλούσιες ενεργειακά θρεπτικές ουσίες μαζί με τα λίπη, και δεύτερον για να ικανοποιήσουν τις διατροφικές απαιτήσεις των ιχθύων σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Επειδή τα ψάρια έχουν υψηλές διατροφικές απαιτήσεις σε ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, τα οποία σπανίζουν στα φυτικά προϊόντα, για την παρασκευή των ιχθυοτροφών χρησιμοποιούνται εκείνα τα οποία έχουν τουλάχιστον ένα κάποιο επίπεδο σε ω-3 λιπαρά οξέα.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η αντικατάσταση του ιχθυελαίου από φυτικά έλαια σε ιχθυοτροφές σε ποσοστό αντικατάστασης μεγαλύτερο από 50% για όλα τα είδη ιχθύων ή η πλήρης αντικατάσταση του, στην περίπτωση του σολομού του Ατλαντικού (*Salmo salar*), είναι εφικτή χωρίς να επηρεάζεται η ανάπτυξη των ιχθύων, αλλά έχοντας σημαντική επίδραση στη σύνθεση των λιπαρών οξέων του ιστού των ιχθύων και στον μεταβολισμό (Bransden *et al.* 2003, Torstensen *et al.* 2005, Izquierdo *et al.* 2005, Pratoomyot *et al.* 2008, Petropoulos *et al.* 2009).

Η αντικατάσταση του ιχθυελαίου σε ποσοστό 50-60% από έλαια φυτικής προέλευσης μπορεί να έχει παρόμοια αποτελέσματα με σιτηρέσια που περιέχουν ιχθυέλαιο σε ποσοστό 100% κατά το στάδιο της πάχυνσης του σολομού του Ατλαντικού στη θάλασσα (El-Kerdawy & Salama 1997, Figueiredo-Silva *et al.* 2005, Rosenlund, 2001). Επίσης, το σογιέλαιο φαίνεται να είναι μία καλύτερη πηγή φυτικών ελαίων, όσον

αφορά στην ανάπτυξη της τσιπούρας (*Sparus aurata*), ενώ σημαντική εξοικονόμηση στο κόστος των ιχθυοτροφών θα μπορούσε να επιτευχθεί, εάν γινόταν μερική υποκατάσταση του ιχθυελαίου εντός των ιχθυοτροφών. Το ίδιο ισχύει για το λινέλαιο και το κραμβέλαιο, αλλά σε μικρότερο βαθμό (El-Kerdawy & Salama 1997, Wassef *et al.* 2009).

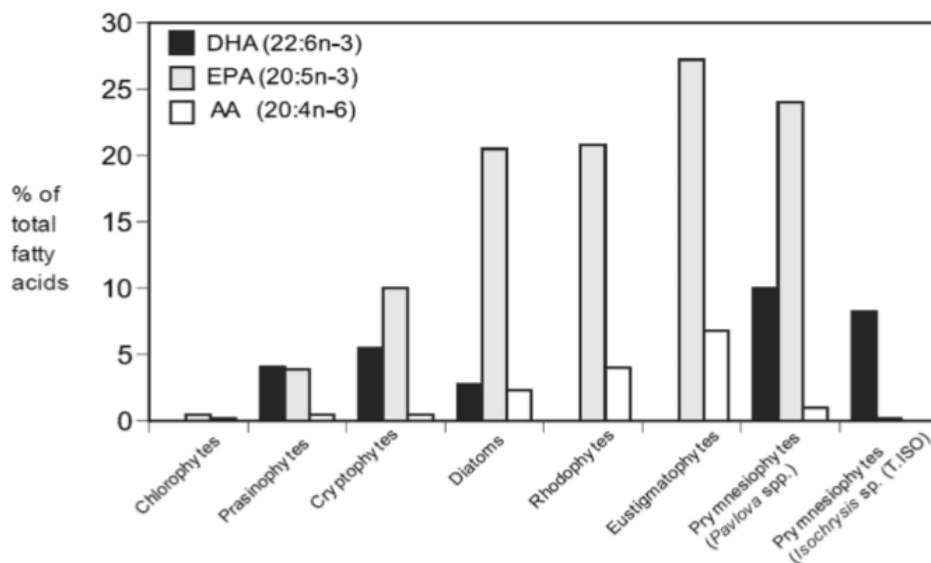
Η χρήση του φοινικέλαιου σε δίαιτες του σολομού του Ατλαντικού και της ιριδίζουσας πέστροφας έχει δείξει ότι έχει αποδοτικότητα στην ανάπτυξη και την αξιοποίηση της τροφής σε σύγκριση με άτομα που σιτίστηκαν με ισοδύναμα επίπεδα ιχθυελαίου (Caballero *et al.* 2002, Rosenlund 2001, Torstensen *et al.* 2000). Το ελαιόλαδο θα μπορούσε επίσης, να χρησιμοποιηθεί ως μερικό υποκατάστατο του ιχθυελαίου στην εκτροφή του είδους *Dicentrarchus labrax* κατά το στάδιο της πάχυνσης (Mourente *et al.* 2005), στο σολομό του Ατλαντικού (Torstensen *et al.* 2004) και στην ιριδίζουσα πέστροφα (Caballero *et al.* 2002) με δεδομένα που δείχνουν παρόμοιο ρυθμό ανάπτυξης, όταν τα άτομα σιτίστηκαν με ιχθυέλαιο σε ποσοστό 100%.

Επιπλέον, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε από τους Toyes-Vargas E.A. *et al.* (2020), έγινε αντικατάσταση του ιχθυελαίου από έλαιο από το φυτό *Camelina sativa* στην τιλάπια (*Oreochromis niloticus*). Η αντικατάσταση αυτή είχε θετικά αποτελέσματα στην θρεπτική σύσταση του σώματος της και δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με τον τροφή μάρτυρα που σιτίστηκε μόνο με ιχθυέλαιο. Σε άλλη μελέτη που διεξήχθη από τους Betancor *et al.* (2021) στο λαβράκι *D. labrax*, το έλαιο από το φυτό *Camelina sativa* βρέθηκε ότι βελτίωσε τη θρεπτική σύσταση του φιλέτου του είδους, ενώ παράλληλα διατήρησε στη σάρκα του ψαριού τα απαραίτητα λιπαρά οξέα EPA και DHA στα ίδια επίπεδα, όπως στα άτομα που σιτίστηκαν με τα σιτηρέσια που περιείχαν ιχθυέλαιο. Άλλα φυτικά προϊόντα που υπόσχονται αντικατάσταση του ιχθυελαίου στις ιχθυοτροφές είναι η κάνναβη, η οποία είναι πλούσια σε ω3 λιπαρά οξέα (Cargill 2020).

1.6 Η χρήση των μικροφυκών στις ιχθυοτροφές

Τα μικροφύκη συναντώνται στα νερά, γλυκά και αλμυρά, και εμφανίζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω των πλεονεκτημάτων που παρουσιάζουν. Αυτά είναι η ευκολία στην καλλιέργειά τους, στον χειρισμό τους, στην πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών τους και στην παραγωγή διάφορων τοξινών. Τα μικροφύκη καλλιεργούνται σε παγκόσμιο επίπεδο κυρίως ως ζωντανή τροφή στις υδατοκαλλιέργειες.

Τα κυριότερα στελέχη που καλλιεργούνται ανήκουν στα γένη *Chlorella*, *Dunaliella*, *Arthrospira*, *Nannochloropsis*, *Isochrysis*, *Haematococcus* και *Schizochytrium* (Brennan & Owende 2010, Harun *et al.* 2010, Pulz & Gross 2004). Τα μικροάλγη είναι μία πολλά υποσχόμενη εναλλακτική λύση, καθώς μπορούν να αντικαταστήσουν το ιχθυάλευρο και το ιχθυέλαιο και να διασφαλίσουν τα πρότυπα βιωσιμότητας στην υδατοκαλλιέργεια. Είναι πλούσιες πηγές πρωτεϊνών (30-40%), λιπιδίων (10-20%), υδατανθράκων (5-15%) βιταμινών, ανόργανων συστατικών, χρωστικών ουσιών, επομένως είναι θρεπτικά, έχουν θετική επίδραση στον ρυθμό ανάπτυξης των ιχθύων λόγω της αυξημένης απόθεσης τριγλυκεριδίων και πρωτεϊνών στους μυς, βελτιώνουν την αντοχή στις ασθένειες, αποβάλλουν μειωμένη ποσότητα αζώτου στο περιβάλλον, ενώ παράλληλα περιέχουν ποσότητες ω-3 λιπαρών οξέων (Εικ. 1.4). Τα περισσότερα είδη μικροφυκών έχουν μέτρια ως υψηλά ποσοστά EPA της τάξης του 7-34% και ανήκουν στα γένη *Nannochloropsis*, *Phaeodactylum*, *Nitzschia*, *Isochrysis* και *Diacronema* (Brown 2002, Shah *et al.* 2018). Ενώ αρκετά, όπως το γένος *Pavlova*, *Isochrysis*, *Traustochytrium* και *Schizochytrium* είναι πλούσια σε DHA με ποσοστό 40-45% για τα δυο πρώτα και 30-40% για τα δύο τελευταία (Adarme-Vega *et al.* 2012, Ryckebosch *et al.* 2014).



Εικόνα 1.4 Μέση ποσοστιαία σύνθεση των PUFA, EPA, DHA καθώς και του ARA των μικροφυκών που χρησιμοποιούνται συνήθως στην υδατοκαλλιέργεια.

Πηγή: Brown, 2002

Υπάρχουν πολλά άλλα πλεονεκτήματα όσον αφορά στη χρήση των μικροφυκών. Αρχικά, μπορούν να καλλιεργηθούν σε ένα ευρύ φάσμα οικοτόπων, ενώ πολλά είδη από αυτά έχουν αρκετά υψηλότερη παραγωγή βιομάζας από τα φυτά. Επιπλέον, έχουν απλές διατροφικές απαιτήσεις για την ανάπτυξη τους, μπορούν να συσσωρεύσουν χρήσιμους μεταβολίτες, ενώ βασικό προτέρημά τους είναι το γεγονός πως η διαθεσιμότητά τους δεν εξαρτάται από την συγκομιδή άγριων πληθυσμών ψαριών για ιχθυάλευρα (Hemaiswarya *et al.* 2011). Άλλη μια χρήση τους είναι η λεγόμενη τεχνική του πράσινου νερού, δηλαδή χρησιμοποιούνται για την βελτίωση της ποιότητας του νερού των εκτρεφόμενων οργανισμών μέσω παραγωγής οξυγόνου, σταθεροποίησης του pH και μείωσης του βακτηριακού πληθυσμού, μεταξύ άλλων (Mueller-Feuga 2013). Ακόμη, χρησιμοποιούνται ευρέως και για τον χρωματισμό της σάρκας των σολομοειδών αλλά και του δέρματος αρκετών ψαριών όπως το φαγκρί (*Pagrus pagrus*), καθώς αποτελούν

πλούσια πηγή φυσικών χρωστικών όπως καροτενοειδή και χλωροφύλλες (Spolaore *et al.* 2006, Chatzifotis *et al.* 2011).

Ωστόσο, υπάρχουν και κάποια μειονεκτήματα ως προς την χρήση των μικροφυκών για αντικατάσταση. Σε αυτά συγκαταλέγονται το υψηλό κόστος παραγωγής τους (Becker 2007; Sarker *et al.* 2016), η ύπαρξη, σε μερικά μικροφύκη, αρκετά εύπεπτων κυτταρικών τοιχωμάτων (Skrede *et al.* 2011), καθώς και η πιθανότητα να επηρεαστεί από μόλυνση μία τόσο μεγάλη βιομάζα (Hannon *et al.* 2010). Μέχρι πρόσφατα, η τεχνολογική εξέλιξη και οι εμπορικές εφαρμογές έχουν επικεντρωθεί κυρίως στα μικροφύκη ως μικροσυστατικό στις τροφές, ενώ μελέτες έδειξαν πως η χρήση αυτών ως πιθανό συστατικό στις ιχθυοτροφές για διάφορα είδη ψαριών έχει αυξηθεί εκθετικά.

Μελέτες έχουν δείξει την ικανότητα σαρκοφάγων ιχθύων να μπορούν να αξιοποιήσουν την πρωτεΐνη των μικροφυκών. Η αποξηραμένη βιομάζα του άλγους *T. Suecica* αποδείχθηκε ότι μπορεί να αντικαταστήσει έως και 20% την πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου χωρίς να εμποδίζει την ανάπτυξη του ευρωπαϊκού λαβρακιού (Tulli *et al.* 2012). Παράλληλα, νεαρά ιχθύδια τσιπούρας δεν επηρεάστηκαν από την σίτιση με 38% μικροφύκος *Scenedesmus almeriensis* (Vizcaíno *et al.* 2014), ενώ οι ίδιοι το 2016 έδειξαν ότι έως και 5% *T. Suecica* και *Tisochrysis* θα μπορούσαν να προστεθούν στην δίαιτα της τσιπούρας. Επιπλέον, σε πρόσφατη έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Taekyoung *et al.* το 2019 στο φαγκρί (*Pagrus major*) βρέθηκε ότι η προσθήκη 11% του μικροφύκου *Schizochytrium* θα μπορούσε να αντικαταστήσει πλήρως το ιχθυέλαιο χωρίς κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά στην σωματική αύξηση.

1.7 Τα έλαια από μικροφύκη των ειδών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* ως συστατικά ιχθυοτροφών

1.7.1 Το γένος *Nannochloropsis sp.* ως συστατικό ιχθυοτροφών

Το *Nannochloropsis* ανήκει στη οικογένεια Monodospidaceae της κλάσης Eustigmatophyceae (Hibberd 1981). Η συστηματική του γένους είναι εξαιρετικά δύσκολη λόγω της απλής και ελάχιστα μεταβλητής μορφολογίας του. Μέχρι στιγμής έχουν περιγραφεί επίσημα επτά είδη και αυτά είναι το *Nannochloropsis australis*, *N. granulata*, *N. limnetica*, *N. oceanica*, *N. oculata*, *Microchloropsis gaditana* και *M. salina* (Zanella & Vianello 2020).

Το *Nannochloropsis* είναι ένα από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα μικροφύκη στην υδατοκαλλιέργεια εξαιτίας τη υψηλής παραγωγικότητας, της έλλειψης τοξικότητας, αλλά και του σχετικά εύπεπτου κυτταρικού τοιχώματός του (Khatoon *et al.* 2014, Ma *et al.* 2016). Η παραγωγικότητα του επηρεάζεται από τον τύπο καλλιέργειας, τις περιβαλλοντικές συνθήκες και το καλλιεργούμενο στέλεχος, αλλά σε γενικές γραμμές η πυκνότητα της βιομάζας του κυμαίνεται από 0,7-2,6g/L DW, ενώ σε ακραίες πειραματικές συνθήκες (1000-3000 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$) μπορεί να φτάσει και το 40,6-67,3g/L DW (Zou *et al.* 2000, Ashour & El-Wahab 2017). Η σημασία του όμως στην παραγωγή ιχθυοτροφών έγκειται στην υψηλή περιεκτικότητά του σε λιπίδια και ειδικότερα σε EPA.

Αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί προκειμένου να εξετάσουν την χρήση του συγκεκριμένου μικροφύκους στις ιχθυοτροφές με τις περισσότερες να επικεντρώνονται στην αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου (Walker & Berlinsky 2011, Patterson *et al.* 2013, Sørensen *et al.* 2017, Qiao *et al.* 2019). Ωστόσο, υπάρχουν και αυτές που εξετάζουν την αντικατάσταση του ιχθυελαίου με θετικά αποτελέσματα. Σε

διατροφικό πείραμα που έγινε με το είδος *Paralichthys olivaceus* οι Qiao *et al.* (2014) έδειξαν ότι η πλήρης αντικατάσταση του ιχθυελαίου δεν είχε καμία αρνητική επίδραση στον ρυθμό ανάπτυξης και στην ποιότητα της σάρκας των ψαριών. Σε αντίστοιχο πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο λαβράκι, η αντικατάσταση σε επίπεδο 50% δεν είχε αρνητικές επιδράσεις ούτε στον ρυθμό ανάπτυξης αλλά ούτε και στην αξιοποίηση της τροφής (Haas *et al.* 2016).

1.7.2 Το γένος *Schizochytrium sp.* ως συστατικό ιχθυοτροφών

Το γένος *Schizochytrium* ανήκει στην οικογένεια Thraustochytriaceae του φύλου Heterokonta (Yokoyama & Honda 2007). Πρόκειται για μονοκύτταρα ετερότροφα δινομαστιγωτά πρώτιστα του θαλάσσιου περιβάλλοντος που είναι ευρέως γνωστά για την ικανότητα τους να παράγουν ω-3 PUFA και ιδιαίτερα DHA. Τα μικροφύκη του γένους *Schizochytrium* παρουσιάζουν αρκετά μεγάλο ενδιαφέρον για την αντικατάσταση του ιχθυελαίου στην παραγωγή ιχθυοτροφών, εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε λιπίδια, τα οποία συνιστούν μέχρι και το 77% της συνολικής βιομάζας, με τη συγκέντρωση σε DHA να αποτελεί μέχρι το 49% του ολικού κλάσματος των λιπαρών οξέων (Chisti 2007, Ren *et al.* 2010). Ωστόσο, αξίζει να αναφερθεί ότι είναι φτωχά σε EPA, με τη συγκέντρωση του να είναι μικρότερη του 1%, ποσότητα που δεν ικανοποιεί τις ανάγκες των ιχθύων. Παράλληλα, τα είδη του παρουσιάζουν υψηλότερους ρυθμούς ανάπτυξης σε σύγκριση με άλλα είδη μικροφυκών (4 φορές πιο γρήγορα από το *Cryptocodinium cohnii*), ενώ και η καλλιέργεια τους θεωρείται σχετικά εύκολη συγκριτικά με άλλα ετερότροφα μικροφύκη, δίνοντας υψηλή παραγωγικότητα DHA (Cohen & Ratledge 2005, Ganuza *et al.* 2008, Patil & Gogate 2015).

Το *Schizochytrium* παρουσιάζει μεγάλες προοπτικές στην αντικατάσταση του ιχθυελαίου, καθώς έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορα διατροφικά πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί σε ψάρια όπως ο σολομός του Ατλαντικού (*Salmo salar*), η τσιπούρα (*Sparus aurata*), η τιλάπια (*Oreochromis niloticus*), το φαγκρί (*Pagrus major*), η ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) και άλλα (Kousoulaki *et al.* 2015, Kousoulaki *et al.* 2020, Sharkar *et al.* 2016, Sharkar *et al.* 2020, Metsoviti *et al.* 2018, Seong *et al.* 2019).

Διάφορες πειραματικές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί με αντικατάσταση του ιχθυελαίου από το μικροφύκος *Schizochytrium*. Τα αποτελέσματα πειράματος 12 εβδομάδων που πραγματοποιήθηκαν σε σολομό αρχικού βάρους 200g, έδειξαν ότι άλευρο από βιομάζα *Schizochytrium* μπορεί να αντικαταστήσει επιτυχώς το ιχθυέλαιο, ακόμα και σε ποσοστό 100% χωρίς να επηρεάσει αρνητικά τον ρυθμό ανάπτυξης ή τον συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (Kousoulaki *et al.* 2015). Επίσης, πείραμα επίσης 12 εβδομάδων που πραγματοποιήθηκε σε ιχθύδια τσιπούρας, έδειξε ότι η αντικατάσταση του ιχθυελαίου σε ποσοστό 100% από μείγμα *Schizochytrium* και *Nannochloropsis* είχε ως αποτέλεσμα καλύτερη, αν και όχι στατιστικώς σημαντική, ανάπτυξη και μετατρεψιμότητα της τροφής, χωρίς να επηρεάσει αρνητικά την ιστολογική δομή από το συκώτι (Metsoviti *et al.* 2018a, Metsoviti *et al.* 2018b).

1.8 Σκοπός της εργασίας

Το ιχθυέλαιο χρησιμοποιείται εδώ και πάρα πολλά χρόνια ως κύρια πηγή λίπους στα σιτηρέσια των εκτρεφόμενων οργανισμών από τις βιομηχανίες των ιχθυοτροφών, εξαιτίας την υψηλής θρεπτικής του αξίας. Ωστόσο, η πρόσβαση στο ιχθυέλαιο γίνεται

ολοένα και πιο περιορισμένη, εξαιτίας των πεπερασμένων πόρων από τους οποίους προέρχεται.

Η παρούσα προτεινόμενη μελέτη κινείται προς την κατεύθυνση εξερεύνησης εναλλακτικών διατροφικών πηγών, με βάση τα έλαια από μικροφύκη των ειδών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.*, για την εκτροφή ιχθύων στις ιχθυοκαλλιέργειες. Στην εργασία παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τη χημική σύσταση ολόκληρου του σώματος του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*), η οποία ακολούθησε δίαιτα με έλαια από μικροφύκη των ειδών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.*, σε ποσοστά αντικατάστασης 50 και 100%.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Δειγματοληψίες

Το πείραμα έλαβε χώρα στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος στο Βόλο. Για την πραγματοποίηση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 210 ιχθύδια του είδους *Dicentrarchus labrax* (λαβράκι), με μέσο βάρος 23g, τα οποία προέρχονταν από διατροφικό πείραμα, όπου είχαν διαχωριστεί σε 3 διατροφικές ομάδες με την κάθε ομάδα να σιτίζεται με διαφορετικό σιτηρέσιο. Ως βασική πρωτεϊνική πηγή ζωικής προέλευσης χρησιμοποιήθηκε υψηλής ποιότητας ιχθυάλευρο. Η τροφή μάρτυρας, CONTROL, περιείχε αποκλειστικά ιχθυέλαιο και σογιέλαιο, ενώ οι υπόλοιπες τροφές περιείχαν ιχθυέλαιο, σογιέλαιο και έλαια από μικροφύκη. Τα έλαια, τα οποία προέρχονται από τα μικροφύκη *Schizochytrium sp.* και *Nannochloropsis sp.*, αντικατέστησαν το ιχθυέλαιο κατά SN50% (*Schizochytrium* – *Nannochloropsis* 50%) και SN100% (*Schizochytrium* – *Nannochloropsis* 100%). 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.

Οι ομάδες αποτελούνταν από 35 άτομα, από τρεις επαναλήψεις η κάθε μία, και τοποθετήθηκαν στις πειραματικές δεξαμενές του τμήματος, όπου και δόθηκε χρονικό διάστημα 10 ημερών για την προσαρμογή τους. Τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν ισοενεργειακά (21,5 MJ/kg τροφής) και ισοπρωτεϊνικά (52,5% της τροφής).

Η εκτροφή διήρκησε 78 ημέρες και 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

η χορήγηση της τροφής πραγματοποιούνταν μία φορά την ημέρα (11:00 π.μ.). Η σίτιση λάμβανε χώρα μέχρι τον κορεσμό των ιχθυδίων (*ad libitum*).

Τα ψάρια θανατώθηκαν με πρωτόκολλο θανάτωσης. Για την αναισθητοποίηση τους χρησιμοποιήθηκε διάλυμα βενζοκαΐνης, συγκέντρωσης 0,5 ml/l. Έπειτα, καταψύχθηκαν στους -40°C .

Στη συνέχεια, ξεκίνησε η διαδικασία των χημικών αναλύσεων της θρεπτικής σύστασης στα σώματα των ψαριών. Μετρήσεις για την υγρασία, την πρωτεΐνη, το λίπος, την τέφρα, τους υδατάνθρακες και την ενέργεια πραγματοποιήθηκαν για τη σύγκριση της κάθε διατροφικής ομάδας ως προς την θρεπτική της σύσταση ολόκληρου του σώματος (wholebody).

2.2 Χημικές αναλύσεις

Αφού οι ιχθύες θανατώθηκαν με ισχυρή αναισθητοποίηση, έπειτα συλλέχθηκαν από κάθε διατροφική ομάδα έξι άτομα για τις αναλύσεις της θρεπτικής σύστασης ολόκληρου του σώματος (Εικ. 2.1).



Εικόνα 2.1 Απεικόνιση δειγμάτων από τις διατροφικές ομάδες CONTROL (FM), SN50 και SN100.

Πηγή: Προσωπικό αρχείο συγγραφέα.

2.2.1 Προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας

Ο προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας σε ολόκληρο το σώμα των ψαριών πραγματοποιήθηκε με την ξήρανση των δειγμάτων σε φούρνο για 24 ώρες στους 105° C (AOAC 1995). Στην συνέχεια, αφού πέρασε ο χρόνος ξήρανσης, τα δείγματα βγήκαν από το φούρνο και τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 5min ώστε να ψυχθούν. Το ποσοστό της υγρασίας/ ξηρής ουσίας υπολογίζεται ως εξής:

Wξηρής ουσίας = Wδειγματος μετά την ξήρανση μαζί με το δισκίο – Wδισκίου

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

Όμοια,

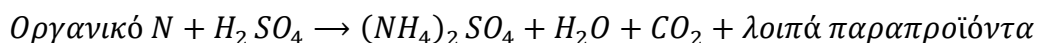
$$W_{\text{υγρασία}} = W_{\text{δει/τος}} - (W_{\text{δει/τος μετά την ξήρανση}} - W_{\text{δισκίου}})$$

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

2.2.2 Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ουσιών

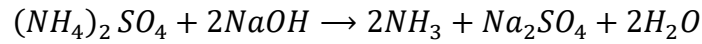
Ο προσδιορισμός των ολικών αζωτούχων ουσιών των σωμάτων των ψαριών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC 1995). Η διαδικασία προσδιορισμού των αζωτούχων ενώσεων έχει ως εξής:

Σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων ζυγίστηκαν δείγματα βάρους 0,2g και μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πέψης. Προστέθηκαν 2 ταμπλέτες καταλύτη Kjeltabs (5g Potassium Sulphate K_2SO_4 και 5g copper (II) Sulphate $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) για να επιταχυνθεί η αντίδραση της πέψης. Στην συνέχεια, προστέθηκαν στα δείγματα 15ml πυκνού θειικού οξέως (H_2SO_4) και τοποθετούνται στην συσκευή πέψης Kjeltec 2000. Η διαδικασία της πέψης πραγματοποιείται στους $150^\circ C$ για 85min. Με την συσκευή πέψης επιτυγχάνεται το βράσιμο των δειγμάτων και με την βοήθεια του πυκνού θειικού οξέως πραγματοποιείται διάσπαση των αζωτούχων ενώσεων. Το αδέσμευτο άζωτο (N) δεσμεύεται με την μορφή θειικού αμμωνίου (άλας), με την εξής αντίδραση:



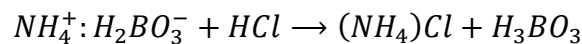
Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία της πέψης, τα δείγματα αφήνονται να κρυσώσουν για 15min. Κατόπιν, τα δείγματα τοποθετούνται σε συσκευή απόσταξης, στην οποία προστίθενται 100 ml αποσταγμένου H_2O , 80 ml NaOH και 50 ml H_3BO_3 . Η διαδικασία διαρκεί 6min. Το θειικό αμμώνιο, που είχε παραχθεί κατά την διαδικασία της πέψης, αντιδρά με υδροξείδιο του νατρίου (NaOH) και αποδεσμεύεται αμμωνία (σε αέρια

μορφή) και θειικό νάτριο (Na_2SO_4). Η αμμωνία (NH_4) έπειτα αντιδρά με βορικό οξύ (H_3BO_4) και το άζωτο του δείγματος δεσμεύεται σε μορφή βορικού αμμωνίου, σύμφωνα με τις εξής αντιδράσεις:



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

Το τελικό στάδιο της διαδικασίας αποτελεί η τιτλοδότηση του διαλύματος βορικού αμμωνίου με αραιό διάλυμα υδροχλωρικού οξέως (0,1N) υπό καθεστώς συνεχής κίνησης σύμφωνα με την αντίδραση:



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

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

2.2.3 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών στα σώματα των ψαριών έγινε με την 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:

$$\text{Ολικές λιπαρές ουσίες, \%} = \frac{W(g)}{W(g)_{\text{τελικό δοχείο εκχύλισης}}}$$

2.2.4 Προσδιορισμός τέφρας

Σε πυρίμαχα καψίδια ζυγίστηκε σε ζυγό ακριβείας, 1,5g από τα δείγματα των σωμάτων των ψαριών 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:

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

2.2.5 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 ανοξείδωτο 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.

2.3 Στατιστική ανάλυση

Αφού ολοκληρώθηκαν οι αναλύσεις και η συλλογή δεδομένων, τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν και δημιουργήθηκαν πίνακες με θρεπτικές συστάσεις χρησιμοποιώντας το υπολογιστικό πρόγραμμα EXCEL. Το στατιστικό πακέτο SPSS 17 χρησιμοποιήθηκε για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων και η σύγκριση των μέσων όρων των διαφόρων παραμέτρων έγινε με τη μέθοδο ανάλυσης των διακυμάνσεων μονής κατεύθυνσης (one-way ANOVA) και οι διαφορές κρίθηκαν στατιστικά σημαντικές για τιμές $P < 0,05$. Στις περιπτώσεις που δεν ικανοποιούσαν την προϋπόθεση ομοιογένειας των παραλλακτικότητων, τα δεδομένα τροποποιήθηκαν. Τα δεδομένα υποβλήθηκαν στο Tukey's test για τον εντοπισμό των διαφορών μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών μεταχειρίσεων (Zar 1999).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις αναλύσεις της χημικής σύστασης ολόκληρου του σώματος (wholebody) των ιχθύων.

3.1 Θρεπτική σύσταση ολικού σώματος λαβρακιού

3.1.1 Περιεκτικότητα σε υγρασία

Η περιεκτικότητα σε υγρασία του ολικού σώματος του λαβρακιού διατρεφόμενο με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν 63,66% για τα άτομα της ομάδας CONTROL, 65,29% για τα άτομα της ομάδας SN50 και 65,67% για τα άτομα της ομάδας SN100 (Πίνακας 3.1). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Πίνακας 3.1 Περιεκτικότητα (%) σε υγρασία του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαιο από τα μικροφύκη *Schizochytrium sp.* και *Nannochloropsis sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	CONTROL	SN50	SN100
1	64,67	63,65	63,28
2	65,58	62,36	67,20
3	66,12	64,18	66,86
4	62,56	63,71	64,60
5	67,62	64,40	66,42
6	65,21	-	-
M.O.	65,29	63,66	65,67
T.A.	1,68	1,58	1,67

Σημείωση: M.O.= μέσος όρος, T.A.= τυπική απόκλιση.

3.1.2 Περιεκτικότητα σε ενέργεια

Η περιεκτικότητα σε ενέργεια στο ολικό σώμα του λαβρακιού διατρεφόμενο με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν 25,78% για τα άτομα της ομάδας CONTROL, 25,54% για τα άτομα της ομάδας SN50 και 25,85% για τα άτομα της ομάδας SN100 (Πίνακας 3.2). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Πίνακας 3.2 Περιεκτικότητα (% επί ξηράς ουσίας) σε ενέργεια του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαιο από τα μικροφύκη *Schizochytrium sp.* και *Nannochloropsis sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	CONTROL	SN50	SN100
1	25,86	25,71	26,60
2	25,86	23,39	25,31
3	26,31	26,76	25,36
4	26,67	25,52	26,48
5	24,56	25,87	26,70
6	25,42	26,0	24,67
M.O.	25,78	25,54	25,85
T.A.	0,73	1,14	0,85

Σημείωση: M.O.= μέσος όρος, T.A.= τυπική απόκλιση.

3.1.3 Περιεκτικότητα σε τέφρα

Η περιεκτικότητα σε τέφρα στο ολικό σώμα του λαβρακιού διατρεφόμενο με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν 11,60% για τα άτομα της ομάδας CONTROL, 10,63% για τα άτομα της ομάδας SN50 και 10,28% για τα άτομα της ομάδας SN100 (Πίνακας 3.3). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Πίνακας 3.3 Περιεκτικότητα (% επί ξηράς ουσίας) σε τέφρα του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαιο από τα μικροφύκη *Schizochytrium sp.* και *Nannochloropsis sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	CONTROL	SN50	SN100
1	12,02	9,10	10,91
2	9,78	10,81	11,36
3	12,45	10,27	10,26
4	10,63	12,42	9,68
5	13,93	10,54	9,80
6	10,82	10,63	9,66
M.O.	11,60	10,63	10,28
T.A.	1,49	1,07	0,71

Σημείωση: M.O.= μέσος όρος, T.A.= τυπική απόκλιση.

3.1.4 Περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ουσίες

Η περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ουσίες στο ολικό σώμα του λαβρακιού διατρεφόμενο με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν 50,73% για τα άτομα της ομάδας CONTROL, 46,34% για τα άτομα της ομάδας SN50 και 49,00% για τα άτομα της ομάδας SN100 (Πίνακας 3.4). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Πίνακας 3.4 Περιεκτικότητα (% επί ξηράς ουσίας) σε ολικές αζωτούχες βάσεις του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαιο από τα μικροφύκη *Schizochytrium sp.* και *Nannochloropsis sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	CONTROL	SN50	SN100
1	54,21	44,66	43,39
2	46,84	46,49	53,97
3	46,77	45,33	50,41
4	54,34	47,13	48,47
5	51,50	44,09	46,12

6	-	50,30	51,66
M.O.	50,73	46,34	49,00
T.A.	3,76	2,25	3,84

Σημείωση: M.O.= μέσος όρος, T.A.= τυπική απόκλιση.

3.1.5 Περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες

Η περιεκτικότητα σε ολικές λιπαρές ουσίες στο ολικό σώμα του λαβρακιού διατρεφόμενο με τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν 35,47% για τα άτομα της ομάδας CONTROL, 35,81% για τα άτομα της ομάδας SN50 και 36,05% για τα άτομα της ομάδας SN100 (Πίνακας 3.5). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Πίνακας 3.5 Περιεκτικότητα (% επί ξηράς ουσίας) σε ολικές λιπαρές ουσίες του λαβρακιού διατρεφόμενο με ιχθυέλαιο ή έλαιο από τα μικροφύκη *Schizochytrium sp.* και *Nannochloropsis sp.* σε διάφορα επίπεδα αντικατάστασης.

A/A	CONTROL	SN50	SN100
1	36,65	31,24	42,78
2	37,33	32,25	31,78
3	36,76	42,80	39,16
4	39,51	37,08	34,41
5	30,48	34,66	32,14
6	31,76	38,22	-
7	36,38	34,41	-
8	34,88	-	-
M.O.	35,47	35,81	36,05
T.A.	2,99	3,94	4,78

Σημείωση: M.O.= μέσος όρος, T.A.= τυπική απόκλιση.

Πίνακας 3.6 Συγκεντρωτικός πίνακας χημικών αναλύσεων (επί ξηράς ουσίας) για το ολικό σώμα του λαβρακιού.

	CONTROL	SN50	SN100
Υγρασία (% επί νωπού)	65,29 ± 1,68	63,66 ± 1,58	65,67 ± 1,67
Ενέργεια (%)	25,78 ± 0,73	25,54 ± 1,14	25,85 ± 0,85
Τέφρα (%)	11,60 ± 1,49	10,63 ± 1,07	10,28 ± 0,71
Πρωτεΐνη (%)	50,73 ± 3,76	46,34 ± 2,25	49,00 ± 3,84
Λίπος (%)	35,47 ± 2,99	35,81 ± 3,94	36,05 ± 4,78

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τα αποτελέσματα της έρευνας δείχθηκε ότι η αντικατάσταση του διαιτητικού λίπους ιχθυελαίου από τα έλαια των μικροφυκών *Schizochytrium sp.* και *Nannochloropsis sp.* σε όλα τα εξετασθέντα επίπεδα δεν επηρέασε σημαντικά την θρεπτική σύσταση ολόκληρου του σώματος του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Δεδομένου ότι όλες οι διατροφικές ομάδες ψαριών είχαν παρόμοια ανάπτυξη, πρόσληψη τροφής και μετατρεψιμότητας τροφής (τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζονται), τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι τα έλαια των μικροφυκών *Schizochytrium sp.* και *Nannochloropsis sp.* κρίνονται κατάλληλα ως συστατικά για τις ιχθυοτροφές που προορίζονται για το είδος *D. Labrax*, καθώς μεταβολίζονται και εναποτίθενται στους ιστούς του σε επίπεδο παρόμοιο με το ιχθυέλαιο.

Μέχρι σήμερα δεν έχουν πραγματοποιηθεί άλλες έρευνες που να διερευνούν την καταλληλότητα της εξ ολοκλήρου αντικατάστασης του ιχθυελαίου από τον συνδυασμό των μικροφυκών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* στο σιτηρέσιο του λαβρακιού. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας έχουν δείξει ότι, ακόμα και το μεγαλύτερο ποσοστό ένταξης του συνδυασμού των συγκεκριμένων μικροφυκών που ερευνήθηκε δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές στη θρεπτική σύσταση του σώματος σε σύγκριση με την τροφή μάρτυρα.

Ωστόσο αρκετές μελέτες με έλαια από μικροφύκη έχουν πραγματοποιηθεί και σε άλλα είδη ιχθύων με θετικά αποτελέσματα. Μίγμα μικροφυκών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* έχει αποδειχθεί ότι θα μπορούσαν να αντικαταστήσουν σε ποσοστό 100% το ιχθυέλαιο σε σιτηρέσια που προορίζονται για το είδος *Paralichthys olivaceus* χωρίς καμία αρνητική επίπτωση στην ανάπτυξη, στην απόδοση της τροφής ή στην ποιότητα των θρεπτικών (Qiao *et al.* 2019). Θετικά αποτελέσματα έχουν παρατηρηθεί

και στην τιλάπια (*Oreochromis niloticus*), στην οποία από την πλήρη αντικατάσταση του ιχθυελαίου παρατηρήθηκε σημαντικά υψηλότερη αύξηση βάρους, χαμηλότερη τιμή FCR και καλύτερη εναπόθεση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στον μυϊκό ιστό (Sarket *et al.* 2016). Επίσης, η διατροφή του είδους *Colossoma macropomum* εμπλουτισμένη με 5% από το μικροφύκος *Schizochytrium sp.* δεν παρουσίασε στατιστικές διαφορές στη θρεπτική σύσταση της σάρκας ($P>0,05$), γεγονός που οφείλεται στην ισοπρωτεϊνική και ισοενεργειακή σύσταση των σιτηρεσίων (Cortegano *et al.* 2019).

Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε από τους Seong *et al.* (2020) στο είδος *Pagrus major* έγινε υποκατάσταση του ιχθυελαίου από το έλαιο του μικροφύκου *Schizochytrium sp.* σε ποσοστά 5, 10 και 15% και βρέθηκε ότι τα άτομα που διατράφηκαν με τις ομάδες αυτές είχαν χαμηλότερη εναπόθεση λίπους στη σάρκα τους από την τροφή μάρτυρα. Επιπλέον, η αντικατάσταση του ιχθυελαίου από το μικροφύκος *Nannochloropsis salina* σε ποσοστό 15% παρουσίασε σημαντική μείωση ενδοπεριτοναϊκή αναλογία λίπους και στο λίπος της σάρκας (Patterson and Gatlin 2013). Σε άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη γαρίδα *Marsupenaeus japonicus*, η περιεκτικότητα σε DHA αυξήθηκε στον ιστό της, υποδεικνύοντας την ενεργοποίηση του μεταβολισμού και τη συσσώρευση των απαραίτητων λιπαρών οξέων του *Nannochloropsis sp.*. Το συγκεκριμένο μικροφύκος θα μπορούσε να αντικαταστήσει το ιχθυέλαιο έως και 140gr/kg σε σιτηρέσια γαρίδας χωρίς να θέτεται σε κίνδυνο η ανάπτυξη και το προφίλ των λιπαρών οξέων (Adissin *et al.* 2019). Ακόμη, σε πείραμα που έγινε από τους Valente *et al.* (2019) στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) βρέθηκε ότι η αντικατάσταση της πρωτεΐνης ιχθυαλεύρου με άλευρο από το μικροφύκος *Nannochloropsis sp.* σε ποσοστό 15% δεν είχε στατιστικά σημαντικές διαφορές στη

θρεπτική σύσταση του σώματος σε σύγκριση με το μάρτυρα που σιτίστηκε αποκλειστικά με ιχθυάλευρο.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις αναλύσεις της θρεπτικής σύστασης ολόκληρου του σώματος του λαβρακιού με βιομάζα των μικροφυκών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* συνοψίζονται στα εξής:

Η υποκατάσταση του ιχθυελαίου από μίγμα μικροφυκών των ειδών *Nannochloropsis sp.* και *Schizochytrium sp.* δεν επηρέασε ($P>0,05$):

- Την περιεκτικότητα των ολικών πρωτεϊνών στο σώμα του λαβρακιού, αν και παρατηρήθηκαν ελαφρώς μειωμένα ποσοστά πρωτεϊνών.
- Την λιποπεριεκτικότητα στο σώμα του λαβρακιού.
- Την υγρασία στο σώμα του λαβρακιού.
- Την περιεκτικότητα σε ολική ανόργανη ουσία (τέφρα) στο σώμα του λαβρακιού.
- Την περιεκτικότητα σε ενέργεια στο σώμα του λαβρακιού.

Απαραίτητη όμως, κρίνεται η περαιτέρω έρευνα στο είδος του λαβρακιού όσον αφορά τη θρεπτική αξία, την εναπόθεση λιπαρών οξέων στο μυϊκό ιστό και την ιστολογική αξιολόγηση των ψαριών. Επίσης, μελλοντικά θα πρέπει να μελετηθεί και η πεπτικότητα των μικροφυκών προκειμένου να διασφαλιστεί η καταλληλότητα αυτής της πρώτης ύλης για τη βιομηχανία υδατοκαλλιεργειών.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ο Ξενογλώσση Βιβλιογραφία

- Adissin T.O.O., Manabu I., Shunsuke K., Saichiro Y., Moss A.S., Dossou S. (2019) Effects of dietary *Nannochloropsis sp.* powder and lipids on the growth performance and fatty acid composition of larval and postlarval kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture Nutrition*, 00: 1-15.
- Álvarez A., Fontanillas R., Hernández C.A., Hernández M.D. (2020) Partial replacement of fish oil with vegetal oils in commercial diets: The effect on the quality of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Animal Feed Science and Technology*, 265.
- AOAC (1995) Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. Arlington, VA, USA, 16th ed.
- Becker W. (2004). 21 Microalgae for Aquaculture. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*, 380.
- Betancor M. B., MacEwan, A., Sprague, M., Gong X., Montero, D., Han, L., Napier J.A., Norambuena F., Izquierdo M., Tocher D. R. (2021). Oil from transgenic *Camelina sativa* as a source of EPA and DHA in feed for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 530, 735759.
- Betancor M. B., Sprague M., Sayanova O., Usher S., Campbell P. J., Napier J. A., Tocher, D. R. (2015a). Evaluation of a high-EPA oil from transgenic *Camelina sativa* in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar L.*): Effects on tissue fatty acid composition, histology and gene expression. *Aquaculture*, 444, 1-12.
- Brignol F. D., Fernandes V. A., Nobrega R. O., Corrêa C. F., Filler K., Pettigrew J., & Fracalossi, D. M. (2019). *Aurantiochytrium sp.* meal as DHA source in Nile tilapia diet, part II: Body fatty acid retention and muscle fatty acid profile. *Aquaculture Research*, 50(3), 707-716.
- Castro C., Coutinho F., Iglesias P., Oliva-Teles A., Couto A. (2020). *Chlorella sp.* and *Nannochloropsis sp.* Inclusion in Plant-Based Diets Modulate the Intestine and Liver Antioxidant Mechanisms of European Sea Bass Juveniles. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 1094.

- Chellapa S., Huntingford F., Strang R.H., Thompson R.Y. (1989) Annual variation in energy reserves in male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. (Pisces, Gasterosteidae). *Journal of Fish Biology* 35:275-286.
- Childress J.J., Price M.H., Favuzzi J., Cowles D. (1990) Chemical composition of midwater fishes as a function of depth of occurrence off the Hawaiian Islands: food availability as a selective factor? *Marine Biology* 105:235-246.
- Cortegano C. A. A., de Alcântara A. M., da Silva A. F., Epifânio C. M. F., Bentes S. P. C., Dos Santos V. J., Visentainer J. V., Gonçalves L. U. (2019). Finishing plant diet supplemented with microalgae meal increases the docosahexaenoic acid content in *Colossoma macropomum* flesh. *Aquaculture Research*, 50(4), 1291-1299.
- Cui Z., Wang Y. (2007) Temporal changes in body mass, body composition and metabolism of gibel carp *Carassius auratus gibelio* during food deprivation. *Journal of Fish Biology* 23:215-220.
- Dawson A.S., Grimm A.S. (1980) Quantitative seasonal changes in the protein, lipid and liver of adult female plaice, *Pleuronectes platessa* L. *Journal of Fish Biology* 16:493-504.
- Dernekbaşı S., Karayücel I., Karataş E., Akyüz A.P. (2020) Potential of Using Peanut Oil as Alternative to Fish Oil for European Seabass Diets (*Dicentrarchus Labrax*) in Recirculated Systems. *Alinteri Journal of Agriculture Science* 36(1): 109-121.
- Dineshbabu, G., Goswami, G., Kumar, R., Sinha, A., & Das, D. (2019). Microalgae–nutritious, sustainable aqua-and animal feed source. *Journal of Functional Foods*, 62, 103545.
- Drazen J.C. (2007) Depth related trends in proximate composition of demersal fishes in the eastern North Pacific. *Deep-Sea Research I* 54: 203-219.
- Dumas A., Lange C.F.M., France J., Bureau D.P. (2007) Quantitative description of body composition and rates of nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 273:165-181.
- Eliasson J.E., Vahl O. (1982) Seasonal variation in biochemical composition and energy content of liver, gonad, and muscle of mature and immature cod, *Gadus morhua*, from Balsfjoren, northern Norway. *Journal of Fish Biology* 20:707-716.

- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2015. Fishstat J. FAO global fishery and aquaculture statistics. FAO (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in Action.
- Griffiths D., Krikwood R.C. (1995) Seasonal variation in growth, mortality and fat stores of roach and perch in Lough Neagh, Northern Ireland. *Journal of Fish Biology* 47:537-554.
- Haard N. (1992) Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Research International* 25:289-307.
- Henderson R.J., Tocher D.R. (1987) The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid Res* 26:281-347.
- Hodar A. R., Vasava R. J., Mahavadiya D. R., Joshi N. H. (2020). Fish meal and fish oil replacement for aqua feed formulation by using alternative sources: A review. *J. Exp. Zool. India*, 23(1), 13-21.
- Holdway D.A., Beamish F.W.H. (1984) Specific growth rate and proximate body composition of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 81(2)147-170.
- Hui H.H., Gross N., Kristinsson H.G., Lin M.H., Nip W.K., Siow L.F., Stanfield P.S. (2006) Biochemistry of Sea Food Processing. In: Hui Y.H. (ed) Food biochemistry and food processing, Blackwell Publishers, USA, pp. 351-366.
- Kousoulaki K., Østbye T. K. K., Krasnov A., Torgersen J. S., Mørkøre T., Sweetman J. (2015). Metabolism, health and fillet nutritional quality in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing n-3-rich microalgae. *Journal of nutritional science*, 4.
- Lall S.P., Parazzo M.P. (1995) Vitamins in fish and shellfish. In: Ruitter (ed) Fish and fishery products, composition, nutritive properties and stability. Cab International, Wallingford, United Kingdom pp. 157-186.
- Larson R.G. (1991) Seasonal cycles of reserves in relation to reproduction in Sebastes. *Environmental Biology of fishes* 30:57-70.
- Mohanty B. P., Mahanty A., Ganguly S., Mitra, T. Karunakaran, D. Anandan, R. (2019). Nutritional composition of food fishes and their importance in providing food and nutritional security. *Food chemistry*, 293, 561-570.
- Miles R.D. and Chapman F.A. (2006) The Benefits of Fish Meal in Aquaculture Diets. Institute of Food and Agricultural Sciences, pp: 1 – 6.

- Metsoviti M. N., Papapolymerou G., Karapanagiotidis I. T., Katsoulas N. (2019). Comparison of growth rate and nutrient content of five microalgae species cultivated in greenhouses. *Plants*, 8(8), 279.
- Patterson D., Gatlin III D. M. (2013). Evaluation of whole and lipid-extracted algae meals in the diets of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 416, 92-98.
- Seong T., Kitagima R., Haga Y., Satoh, S. (2020). Non-fish meal, non-fish oil diet development for red sea bream, *Pagrus major*, with plant protein and graded levels of *Schizochytrium sp.*: Effect on growth and fatty acid composition. *Aquaculture Nutrition*, 26(4), 1173-1185.
- Seong T., Matsutani H., Haga Y., Kitagima R., & Satoh S. (2019). First step of non-fish meal, non-fish oil diet development for red seabream, (*Pagrus major*), with plant protein sources and microalgae *Schizochytrium sp.* *Aquaculture Research*, 50(9), 2460-2468.
- Shah M. R., Lutz G. A., Alam A., Sarker P., Chowdhury M. K., Parsaeimehr A., Liang Y., Daroch M. (2018). Microalgae in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry. *Journal of applied phycology*, 30(1), 197-213.
- Sheridan M.A. (1988) Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comp. Biochemistry and Physiology* 90(4): 679-690.
- Turchini G.M., Mentasti T., Froyland L., Orban E., Caprino F., Moretti V.M., Valfre F. (2003) Effects of alternative dietary lipid sources on performance, tissue chemical composition, mitochondrial fatty acid oxidation capabilities and sensory characteristics in brown trout (*Salmo trutta* L.). *Aquaculture* 225:251–267.
- Toyes-Vargas E. A., Parrish C. C., Viana M. T., Carreón-Palau L., Magallón-Servín P., Magallón-Barajas F. J. (2020). Replacement of fish oil with camelina (*Camelina sativa*) oil in diets for juvenile tilapia (var. GIFT *Oreochromis niloticus*) and its effect on growth, feed utilization and muscle lipid composition. *Aquaculture*, 523, 735177.
- Valente L. M. P., Custódio 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*, 45(3), 1067-1081.

Zaboukas N., Miliou H., Megalofonou P., Moraitou- Apostolopoulou M. (2006) Biochemical composition of the Atlantic bonito *Sardasarda* from the Aegean Sea (eastern Mediterranean Sea) in different stages of sexual maturity. *Journal of Fish Biology* 69: 347–362.

ο **Ελληνική Βιβλιογραφία**

Καρακατσούλη Ν. Παραγωγή Υδρόβιων Οργανισμών, Κύρια Εκτροφή Ιχθύων – Εκτροφή τσιπούρας και λαβρακιού, Ηλεκτρονική παρουσίαση, Αθήνα.

Καραπαναγιωτίδης Ι. (2012). Κεφάλαιο, 5ο. – Λιπίδια,. Στοιχεία Φυσιολογίας Θρέψεως και Εφαρμοσμένη Διατροφή Ιχθύων και Καρκινοειδών (Ε. Μεντέ & Ι. Νέγκας). Εκδόσεις Παπαζήση, σελ. 163-250

Καραπαναγιωτίδης Ι. (2018). Τεχνολογία Ιχθυοτροφών, σελ. 39-50

Καραπαναγιωτίδης Ι. (2018). Σημειώσεις μαθήματος Διατροφής Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών.

Κόκκαλη Μ.Ε. (2017). Τα μικροφύκη ως πηγή λίπους και λιπαρών οξέων στις ιχθυοτροφές. Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία.

Νεοφύτου Ν. Χ. (2015) Βιολογία Ιχθύων & Θαλάσσιων Θηλαστικών. University Studio Press, Θεσσαλονίκη.

Παπουτσόγλου Σ. (2008), Διατροφή Ιχθύων, Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα

Σπάης Α. Β., Φλωρου-Πανέρη, Π. Χρηστάκη, Ε. (2002) Ζωοτροφές και σιτηρέσια. Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη.

Σύνδεσμος Ελληνικών Θαλασσοκαλλιεργειών (ΣΕΘ) (2019). Ελληνική υδατοκαλλιέργεια [www.fgm.com.gr/uploads/file/FGM_19_GR\(4\).pdf](http://www.fgm.com.gr/uploads/file/FGM_19_GR(4).pdf)

Σύνδεσμος Ελληνικών Θαλασσοκαλλιεργειών (ΣΕΘ) (2018). Ελληνική υδατοκαλλιέργεια [www.fgm.com.gr/uploads/file/FGM_18_GR\(2\).pdf](http://www.fgm.com.gr/uploads/file/FGM_18_GR(2).pdf)

Σύνδεσμος Ελληνικών Θαλασσοκαλλιεργειών (ΣΕΘ) (2020). Ελληνική υδατοκαλλιέργεια www.fgm.com.gr/uploads/file/FGM_20_GR.pdf

○ Ηλεκτρονική Βιβλιογραφία

http1: <https://www.iffco.com/global-food-security>

http2: www.fishbase.org

http4: http://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/Dicentrarchus_labrax/faqs/en/

http5: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/e.c

http6: <http://www.luxresearchinc.com/aquaculture/2020> (Future Fish Feed: Forecasting Alternative Aqua Feed Ingredients)

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the potential use of microalgal biomass and specifically of *Nannochloropsis sp.* and *Schizochytrium sp.* as a fish oil substitution in the diet of European seabass (*Dicentrarchus labrax*).

Juvenile sea bass with an average weight of 23g, which came from nutritional experiment, were collected and divided into 3 feeding groups with each group being fed a different diet. High quality fishmeal was used as the main animal protein source. The CONTROL feeding group contained only fish and soybean oil, while the other feeding groups contained fish, soybean and a biomass of microalgae oil. This biomass, that comes from the microalgae *Nannochloropsis sp.* and *Schizochytrium sp.*, replaced fish oil by SN50% (*Nannochloropsis sp.* - *Schizochytrium sp.* 50%) and SN100% (*Nannochloropsis sp.* - *Schizochytrium sp.* 100%).

At the end of the nutritional experiment, six (6) samples were collected from each feeding group for the analysis of the nutritional composition of the whole body. Statistical processing of the data showed that the partial and total replacement of fish oil with microalgal biomass from 50% to 100% did not affect body proximate composition of fish.

The results of the present study showed that a mixture *Nannochloropsis sp.* - *Schizochytrium sp.* biomass is suitable for total dietary fish oil substitution for European seabass. Further investigation is needed for various species and also in terms of muscle proximate composition, fatty acid deposition in muscle tissue and histological evaluation of fish and also microalgae digestibility in order to ensure the suitability of this raw material for the aquaculture industry.

Keywords: European seabass, *Dicentrarchus labrax*, fish oil substitution, microalgae, *Nannochloropsis*, *Schizochytrium*, DHA, EPA