

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ & ΥΔΑΤΙΝΟΥ**  
**ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**«ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ»**

**“Χρήση πρωτεΐνης εντόμων για την υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου  
στο σιτηρέσιο της τσιπούρας (*Sparus aurata*)”**

**Νεοφύτου Μαρίνα**

**Βόλος 2016**

**«Χρήση πρωτεΐνης εντόμων για την υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου  
στο σιτηρέσιο της τσιπούρας (*Sparus aurata*)»**

**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) Παναγιώτα Παναγιωτάκη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια** - Υδατοκαλλιέργειες, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος,

**3) Ελένη Γκολομάζου, Λέκτορας** - Ιχθυοπαθολογία, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος.

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Μετά το πέρας αυτής της κοπιαστικής δουλειάς, θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω εις πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω 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 τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής αποτελούμενη από τις κ.κ. Π. Παναγιωτάκη και Ε. Γκολομάζου για τις χρήσιμες συμβουλές τους και την καθοδήγησή τους σε όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Δρ. Χ. Ρούμπο για αμέριστη βοήθειά του, όσον αφορά τη συλλογή του φυσικού πληθυσμού της μύγας από την περιοχή του Νοτίου Πηλίου (Μετόχι Αργαλαστής). Επίσης, θα ήθελα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στον διδακτορικό φοιτητή Πιέρ Ψωφάκη που ήταν παρών καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος δίνοντας μου τις συμβουλές και τη βοήθεια του, όπως επίσης και στην οικογένεια μου και στον σύντροφό μου Αναγνωστόπουλο Δημήτρη για την άπλετη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή σε όλο το χρονικό διάστημα του πειράματος.

Τέλος, θα ήθελα να αφιερώσω την μεταπτυχιακή διπλωματική μου εργασία στον φίλο μας Μιχάλη Τριανταφύλλου, ο οποίος αν και έφυγε νωρίς, θα είναι πάντα στις καρδιές μας.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της καταλληλότητας του απολιπασμένου αλεύρου μύγας του είδους *Hermetia illuscens* υποκαθιστώντας την πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου στο σιτηρέσιο της τσιπούρας (*Sparus aurata*).

Ιχθύδια τσιπούρας μέσου βάρους  $2,40 \pm 0,27$  g τοποθετήθηκαν σε 12 υάλινα ενυδρεία (125L) κλειστού κυκλώματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού και διαχωρίστηκαν σε 4 διατροφικές ομάδες (25 άτομα/ενυδρείο, 3 ενυδρεία/διατροφική ομάδα) σιτιζόμενες η κάθε μια με διαφορετικό σιτηρέσιο. Το σιτηρέσιο Α περιείχε απολιπασμένο άλευρο *H. illuscens* σε ποσοστό συμμετοχής ίσο με 5,8% της τροφής, ενώ στα σιτηρέσια Β και Γ ενσωματώθηκε απολιπασμένο άλευρο *H. illuscens* σε ποσοστά συμμετοχής 11,6% και 17,4%, αντίστοιχα, υποκαθιστώντας την πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου. Τα τρία αυτά σιτηρέσια ήταν μεταξύ τους ισοενεργειακά (21,6 MJ/Kg τροφής) και ισοπρωτεϊνικά (47% της τροφής). Παράλληλα, χρησιμοποιήθηκε ένα τέταρτο σιτηρέσιο (Δ) που περιείχε μηδενικά επίπεδα αλεύρου *H. illuscens* με αποκλειστική πηγή ζωικής πρωτεΐνης το ιχθυάλευρο. Το σιτηρέσιο αυτό είχε ελαφρώς χαμηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (42,5%) και ελαφρώς αυξημένα επίπεδα ολικής ενέργειας (22,4 MJ/Kg) συγκριτικά με τα υπόλοιπα τρία σιτηρέσια. Η σίτιση γίνονταν έξι ημέρες την εβδομάδα, μια φορά την ημέρα μέχρι φαινόμενου κορεσμού για συνολικά 10 εβδομάδες.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αυξημένα επίπεδα συμμετοχής (17,4 %) του απολιπασμένου αλεύρου *H. illuscens* στο σιτηρέσιο οδηγούν σε μειωμένη κατανάλωση τροφής, σωματική ανάπτυξη και αποδοτικότητα της τροφής και αυξημένες θνησιμότητες ιχθύων συγκριτικά με χαμηλότερα επίπεδα συμμετοχής του αλεύρου (5,8% και 11,6%). Αντίθετα, χαμηλά επίπεδα ενσωμάτωσης του αλεύρου αυτού στο σιτηρέσιο (5,8% και 11,6%) οδηγούν σε παρόμοιες παραμέτρους

ανάπτυξης των ιχθύων και αποδοτικότητας της τροφής με εκείνες του σιτηρεσίου που περιείχε αποκλειστικά ιχθυάλευρο. Ωστόσο, η απολίπανση του αλεύρου *H. illuscens* δεν οδηγεί σε σημαντική βελτίωση της αποδοτικότητας του ώστε να χρησιμοποιηθεί σε υψηλά επίπεδα συμμετοχής στο σιτηρέσιο της τσιπούρας. Πρέπει παρόλα αυτά να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες στο μέλλον για την μελέτη εκτροφής του είδους με διάφορα έντομα, διότι οι γνώσεις είναι ακόμα ελλιπείς.

**Λέξεις κλειδιά:** Διατροφή, *Sparus aurata*, αντικατάσταση ιχθυαλεύρου, *Hermetia illucens*, πρωτεΐνες εντόμων

## Περιεχόμενα

1.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1	Βιολογία και εκτροφή της τσιπούρας ( <i>Sparus aurata</i> ) .....	1
1.2	Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους <i>Sparus aurata</i> .....	4
1.3	Το ιχθυάλευρο ως κύρια πηγή ζωικής πρωτεΐνης των ιχθυοτροφών .....	4
1.4	Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεϊνικές πηγές φυτικής προέλευσης.....	6
1.5	Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεϊνικές πηγές ζωικής προέλευσης.....	8
1.6	Η πρωτεΐνη των εντόμων ως συστατικό των ιχθυοτροφών.....	9
1.7	Το είδος <i>Hermetia illucens</i> .....	15
1.8	Σκοπός .....	17
2.	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	18
2.1	Πειραματικός σχεδιασμός.....	18
2.2	Σιτηρέσια – Σίτιση.....	20
2.3	Δειγματοληψίες.....	23
2.4	Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής .....	23
2.4.1	Θνησιμότητα.....	23
2.4.2	Αύξηση ολικού βάρους ψαριών.....	24
2.4.3	Ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους.....	24
2.4.4	Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης.....	24
2.4.5	Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής .....	24
2.4.6	Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών .....	25
2.5	Χημικές αναλύσεις.....	25
2.5.1	Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών .....	25
2.5.2	Προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων.....	26
2.5.3	Προσδιορισμός τέφρας.....	28
2.5.4	Προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας.....	28
2.6	Στατιστική ανάλυση.....	29
3.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	30
3.1	Θνησιμότητα .....	30
3.2	Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής .....	30
3.2.1	Κατά την έναρξη του πειράματος .....	30
3.2.2	Κατά την 30 <sup>η</sup> ημέρα πειράματος .....	31
3.2.3	Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος.....	33
4.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	36

<b>5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> .....	41
<b>6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	42
<b>6.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία</b> .....	42
<b>6.2 Ελληνική βιβλιογραφία</b> .....	47




## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Βιολογία και εκτροφή της τσιπούρας (*Sparus aurata*)

Πίνακας 1. Συστηματική κατάταξη του *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758)

<b>Βασίλειο:</b>	Ζώα ( <i>Animalia</i> )
<b>Συνομοταξία:</b>	Χορδωτά ( <i>Chordata</i> )
<b>Ομοταξία:</b>	Ακτινοπτερύγια ( <i>Actinopterygii</i> )
<b>Τάξη:</b>	Περκόμορφα ( <i>Perciformes</i> )
<b>Οικογένεια:</b>	Σπαρίδες ( <i>Sparidae</i> )
<b>Γένος:</b>	Σπάρος ( <i>Sparus</i> )
<b>Είδος</b>	<i>aurata</i>



Το είδος τσιπούρα (*Sparus aurata*), του οποίου η συστηματική κατάταξη παρουσιάζεται στον Πίνακα 1, συναντάται στη Μεσόγειο Θάλασσα, κατά μήκος των ανατολικών ακτών του Ατλαντικού, από τη Μεγάλη Βρετανία έως τη Σενεγάλη, και σπάνια στη Μαύρη Θάλασσα (Εικ. 1). Προτιμά, θαλάσσια και υφάλμυρα περιβάλλοντα όπως είναι οι παράκτιες λιμνοθάλασσες και οι περιοχές εκβολών ποταμών, ιδίως κατά τα αρχικά στάδια του κύκλου ζωής της. Η ανάπτυξή της μέσα σε αυτά τα οικοσυστήματα είναι πιο γρήγορη από εκείνα της θάλασσας. Μια τσιπούρα τριών ετών μπορεί να φτάσει το μέγεθος των 43 cm στη λιμνοθάλασσα, ενώ εκείνη της θάλασσας δεν ξεπερνάει τα 25 cm (FAO 2009).

Πρόκειται για ένα κατεξοχήν ευρύαλο και ευρύθερμο είδος. Παρουσιάζει μεγάλη αντοχή στις μεταβολές της θερμοκρασίας και της αλατότητας. Στην πράξη μπορεί να ζήσει σε αλατότητες 5-44 ‰ και σε θερμοκρασίες 3-36 °C. Είναι σαρκοφάγο είδος και τρέφεται συνήθως με διάφορα μαλάκια (δίθυρα και γαστερόποδα), καρκινοειδή, εχινόδερμα, τελεόστεους και πολύχαιτους. Γενικά, η τροφή του ποικίλλει και εξαρτάται κυρίως από το μέγεθος του ψαριού και τη διαθεσιμότητά της τροφής. Όταν δεν είναι διαθέσιμη η τροφή, η τσιπούρα στρέφεται προς εναλλακτικές πηγές τροφής περιορίζοντας έτσι την οποιαδήποτε επίδραση από την σπανιότητα της τροφής

(Wassef 1991). Σε σχέση με το μέγεθος έχει αποδειχθεί ότι τα μικρότερου μεγέθους ψάρια καταναλώνουν μικρούς και σχετικά μαλακής σάρκας οργανισμούς, όπως πολύχαιτους και μικρά καρκινοειδή. Καθώς το μέγεθος της αυξάνει, η τσιπούρα τείνει να διατραφεί με μεγαλύτερου είδους ζώα που έχουν πιο σκληρή σάρκα, όπως είναι τα οστρακόδερμα, τα δίθυρα και οι ιχθύες.



**Εικόνα 1.** Γεωγραφική εξάπλωση του είδους *Sparus aurata*

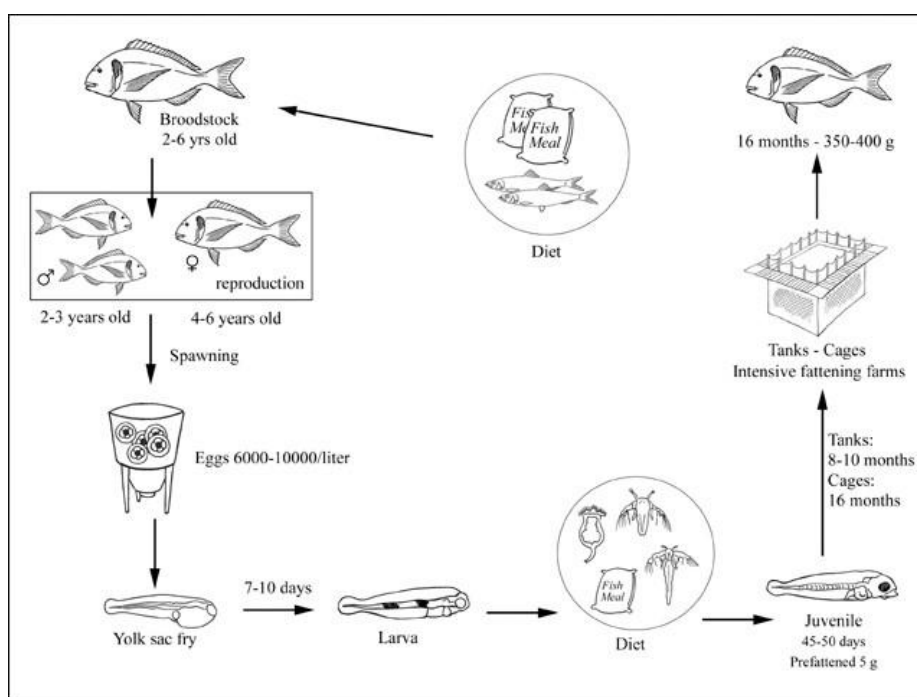
(Πηγή: FISHBASE)

Οι πιο συνήθεις μέθοδοι παραγωγής τσιπούρας είναι ο εντατικός (Εικ. 2) και ο εκτατικός τρόπος. Προς το παρόν, το μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής προέρχεται από την εντατική εκτροφή, με μέση πυκνότητα 20 - 100 kg m<sup>3</sup> και FCR 1,5 – 2 (FAO 2013). Η εκτατική εκτροφή παραμένει μια παραδοσιακή δραστηριότητα σε ορισμένες περιοχές, αλλά με πολύ χαμηλό αντίκτυπο στην αγορά (Sola *et al.* 2006).

Το 2013, η παγκόσμια παραγωγή της υδατοκαλλιέργειας της τσιπούρας ήταν 170.000 τόνοι (FAO 2013). Στη Μεσόγειο, οι κύριοι παραγωγοί τσιπούρας είναι η Ελλάδα, η Τουρκία, η Ισπανία και η Ιταλία. Στις αρχές της δεκαετίας του 1990, λειτουργούσαν περίπου είκοσι εκκολαπτήρια τσιπούρας στη Μεσόγειο. Μέχρι το

2006 πάνω από 65 εκκολαπτήρια διανέμονταν στην Κροατία, την Κύπρο, τη Γαλλία, την Ελλάδα, την Ιταλία, το Μαρόκο, την Πορτογαλία, την Ισπανία και στην Τυνησία (FAO 2006).

Στην Ελλάδα, με τη χρήση πλωτών κλωβών, η τσιπούρα φτάνει στο εμπορικό βάρος των 300 – 350 gr σε περίπου 14 – 16 μήνες. Η μέθοδος αυτή είναι απλή και οικονομική και αποτελεί το σύστημα εκτροφής που χρησιμοποιείται κυρίως στη λεκάνη της Μεσογείου. Αν και οι πυκνότητες (10-15 kg/m<sup>3</sup>) είναι χαμηλότερες σε σχέση με την εκτροφή σε δεξαμενές, υπάρχουν πολλά πλεονεκτήματα που καθιστούν τους κλωβούς πιο κερδοφόρους. Ωστόσο, δεν είναι δυνατόν να ελεγχθεί η θερμοκρασία, κατά την εκτροφή σε κλωβούς, με αποτέλεσμα μεγαλύτερη περίοδος επίτευξης του εμπορεύσιμου μεγέθους (FAO 2010).



**Εικόνα 2.** Παραγωγικός κύκλος εντατικής εκτροφής της τσιπούρας

(Πηγή: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus\\_aurata/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en))

## 1.2 Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους *Sparus aurata*

Από τις διάφορες έρευνες που πραγματοποιήθηκαν μέχρι σήμερα, οι απαιτήσεις της τσιπούρας για το στάδιο του ιχθυδίου και του ενήλικου ατόμου συνοψίζονται στον Πίνακα 2 (FAO 2013).

Πίνακας 2.Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους *Sparus aurata*

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

## 1.3 Το ιχθυάλευρο ως κύρια πηγή ζωικής πρωτεΐνης των ιχθυοτροφών

Ο τομέας των ιχθυοκαλλιεργειών αναπτύσσεται, με υψηλούς ετήσιους ρυθμούς αύξησης τις τελευταίες δεκαετίες και με σημαντικές προοπτικές ανάπτυξης στο άμεσο μέλλον (Nogueira *et al.* 2012). Εκτιμάται ότι μέχρι το 2030, πάνω από το ήμισυ των ψαριών που καταναλώνονται, θα παράγονται από την υδατοκαλλιέργεια. Η συνολική παραγωγή αυξήθηκε από 10 εκατ. τόνους ψαριών το 1984, σε 74 εκατ. τόνους το 2014 (FAO 2016). Η μεγάλη ανάπτυξη των ιχθυοκαλλιεργειών συνοδεύτηκε από μια εξίσου μεγάλη αύξηση της ζήτησης για τεχνητές ιχθυοτροφές,

μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την παραγωγή συγκεκριμένων ιχθυαποθεμάτων που προορίζονται για ιχθυάλευρα (Tidwell & Allan 2002).

Το ιχθυάλευρο, είναι η σημαντικότερη πρωτεϊνική πηγή που περιλαμβάνεται στις ιχθυοτροφές. Όταν τα ιχθυάλευρα παρασκευάζονται από ολόκληρα ψάρια αποτελούν μια από τις υψηλότερης πρωτεϊνικής αξίας πρώτες ύλες. Η πρωτεΐνη κυμαίνεται από 56 % έως 76 %, ποσοστό που καθορίζει και την ποιότητα του ιχθυαλεύρου. Το πλεονέκτημα του είναι ότι είναι πλούσιο σε ενέργεια, σε απαραίτητα λιπαρά οξέα, σε ιχνοστοιχεία και είναι υψηλής βιολογικής αξίας και ιδιαίτερα εύγευστο και εύπεπτο για τα ψάρια (NRC 1993, Jackson 2009).

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. Η επεξεργασία πρέπει να γίνεται το συντομότερο μετά την εξαλίευση. 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).

Σύμφωνα με έρευνες, το 2003 στην ιχθυοκαλλιέργεια χρησιμοποιήθηκε το 42% της παγκόσμιας παραγωγής ιχθυαλεύρου, ενώ το 2010 το ποσοστό αυξήθηκε σημαντικά στο 60% της παγκόσμιας παραγωγής (Tacon 2004). Ως εκ τούτου, η συνεχιζόμενη αύξηση της ζήτησής του για την ιχθυοκαλλιέργεια δεν είναι πλέον βιώσιμη, δεδομένου ότι η διαθεσιμότητα του ιχθυαλεύρου παρέμεινε στο ίδιο επίπεδο, 6,5 εκατομμύρια τόνους ετησίως, για περίπου 10 χρόνια (Tacon & Metian 2008, Hardy 2010).

#### **1.4 Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεϊνικές πηγές φυτικής προέλευσης**

Είναι πλέον γεγονός, ότι η παραγωγή των υδατοκαλλιεργειών θα αυξηθεί περισσότερο τα επόμενα χρόνια και αυτό θα οδηγήσει σε υψηλότερη παραγωγή ιχθυοτροφών (FAO 2010). Η συμμετοχή των φυτικών πρωτεϊνών στις ιχθυοτροφές έχει αυξηθεί λόγω περιορισμένης χρήσης ποσοτήτων ιχθυαλεύρου στις τροφές που προορίζονται για τους ιχθύες (Gatlin *et al.* 2007, Glencross *et al.* 2005, Naylor *et al.* 2009). Ένας από τους μεγαλύτερους στόχους της βιομηχανίας παραγωγής ιχθυοτροφών είναι να μειώσει τα επίπεδα ιχθυαλεύρου, αυξάνοντας τις φυτικές πρωτεΐνες στα συστατικά των ιχθυοτροφών που καταναλώνονται από σαρκοφάγα ψάρια.

Έχουν ληφθεί αξιοσημείωτα αποτελέσματα από διατροφικά πειράματα σε τσιπούρες, στα οποία περίπου το ένα τρίτο των ιχθυαλεύρων θα μπορούσε να αντικατασταθεί χωρίς να μειώνονται τα επίπεδα των απαραίτητων αμινοξέων στο σώμα των ιχθύων ή ο ρυθμός ανάπτυξής τους (Gomez-Requeni *et al.* 2003). Τα ψάρια διατράφηκαν με πειραματικά σιτηρέσια που περιείχαν άλευρο από μεταποιημένους σπόρους μπιζελιού, άλευρο γλουτένης καλαμποκιού και σογιάλευρο. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών δείχνουν ότι οι σπόροι μπιζελιού μπορούν να αντικαταστήσουν μέχρι και το 20% της πρωτεΐνης των ιχθυάλευρων στη διατροφή των ιχθυδίων τσιπούρας (Robaina *et al.* 1995, Pereira & Oliva-Teles 2004), το άλευρο της γλουτένης καλαμποκιού μπορεί να αντικαταστήσει από 40 - 60% (Robaina *et al.* 1997, Pereira & Oliva-Teles 2003), και το σογιάλευρο από 20 - 40% (Kissil *et al.* 2000, Martínez-Llorens *et al.* 2007) χωρίς να επηρεάζεται η απόδοση των ψαριών (Pereira & Oliva-Teles 2002).

Παρ' όλα αυτά, τα αποτελέσματα από άλλες έρευνες υποκατάστασης του ιχθυαλεύρου με πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης, και συγκεκριμένα με σογιάλευρο,

στην διατροφή της τσιπούρας (*Sparus aurata*) και του λαυρακιού (*Dicentrarchus labrax*) δείχνουν ότι το μέγιστο επίπεδο ενσωμάτωσης φυτικής πρωτεΐνης στα δύο είδη διαφέρει μεταξύ των ερευνών (Alexis & Nengas 2001). Αυτό ίσως σχετίζεται με την ποιότητα των συστατικών, την επεξεργασία των προϊόντων σόγιας, τη μεταβολή της σύνθεσης στη δίαιτα ή / και διαφορές στο μέγεθος των ιχθύων και το σύστημα εκτροφής. Αν και μερικές μελέτες αναφέρουν ότι υψηλά επίπεδα σογιάλεου μπορούν να συμπεριληφθούν στις δίαιτες των δύο ειδών (Tibaldi *et al.* 2006, Venou *et al.* 2006), εξακολουθεί να υπάρχει μερική ανησυχία, ότι αυτό μπορεί να θέσει σε κίνδυνο την υγεία των ψαριών λόγω του ότι δεν έχουν δημοσιευθεί μέχρι στιγμής έρευνες που να αναφέρονται στην ιστολογία του εντέρου των δύο αυτών ειδών που τρέφονταν με βάση το σογιάλεο (Bonaldo *et al.* 2008).

Οι πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης αποτελούν πολύ υποσχόμενα συστατικά για την αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου στις ιχθυοτροφές. Τέτοια φυτικά άλευρα είναι το σογιάλεο, το κραμβάλεο, το φοινικάλεο, το βαμβακάλεο, το φυστικάλεο, το ηλιάλεο, το σουσαμάλεο, το καρυδάλεο, η γλουτένη αραβοσίτου, η γλουτένη σιταριού κ.α. (Μεντέ και Νέγκας 2011). Το σογιάλεο αποτελεί την πιο συνηθισμένη χρησιμοποιούμενη εναλλακτική πηγή πρωτεΐνης, η οποία περιλαμβάνει το 10 με 50 % της πρωτεΐνης στη δίαιτα (Tacon & Akiyama 1997, Hardy 2002). Ωστόσο, τα φυτικά άλευρα, συγκριτικά με τα ιχθυάλευρα, περιέχουν χαμηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης και ορισμένων απαραίτητων αμινοξέων, αλλά και διάφορες αντιδιατροφικές ουσίες που, αν δεν αδρανοποιηθούν, μέσω της κατάλληλης επεξεργασίας τους, μπορεί να προκαλέσουν μείωση της ανάπτυξης, τοξικότητες και προβλήματα υγείας στους διατρεφόμενους ιχθύς (Francis *et al.* 2001, Guroy *et al.* 2013).

Μια επιπλέον σημαντική ανησυχία σχετικά με τις φυτικές πρωτεΐνες είναι η παρουσία των γενετικά τροποποιημένων προϊόντων, που χρησιμοποιούνται σήμερα στη γεωργία, ιδιαίτερα εκείνων που προέρχονται από σόγια και καλαμπόκι (Pusztai & Bardocz 2006).

### **1.5 Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεϊνικές πηγές ζωικής προέλευσης**

Οι ζωικές πρωτεΐνες θεωρούνται προϊόντα υψηλής διατροφικής αξίας. Συνήθως χρησιμοποιούνται για να αυξήσουν το περιεχόμενο της διαίτας σε πρωτεΐνη και στην περίπτωση των ψαριών αποτελούν τις κύριες πηγές διαιτητικής πρωτεΐνης. Η γενική σύνθεση των αμινοξέων τους είναι διαφορετική από αυτή των φυτικών υποπροϊόντων (Αδαμίδου & Νέγκας 2011). Συνήθως, είναι πλούσια σε λυσίνη, ενώ πρώτο οριακό αμινοξύ τους είναι η μεθειονίνη και η κυστίνη. Επίσης, περιέχουν μεγάλη ποσότητα ισολευκίνης. Το περιεχόμενό τους σε πρωτεΐνες κυμαίνεται από 50 – 85 % και το λίπος τους από 0 – 15 %. Η μεγάλη περιεκτικότητά τους σε λίπος είναι μειονέκτημα καθώς το λίπος τους μπορεί να οξειδωθεί με την αποθήκευση, με αποτέλεσμα τη μείωση της δεκτικότητάς τους από τα άλλα ζώα, αλλά και την καταστροφή άλλων περιεχόμενων συστατικών, όπως των βιταμινών Α και Β. Το περιεχόμενό τους σε τέφρα, ασβέστιο και φώσφορο είναι γενικά υψηλό. Ενώ τα φυτικά προϊόντα περιέχουν λιγότερο από 1 % από οποιοδήποτε από αυτά τα στοιχεία και κυμαίνονται γύρω στο 0,25 %, τα ζωικά υποπροϊόντα έχουν 5 – 11 % ασβέστιο και 3 – 5 % φώσφορο. Γενικά, όσο περισσότερη πρωτεΐνη έχουν τόσο το ασβέστιο και ο φώσφορος είναι χαμηλότερα. Τέτοια άλευρα είναι το άλευρο πουλερικών (poultry or poultry by-product meal), το άλευρο κρέατος χοίρων, το αιματάλευρο, το πτεράλευρο, η αιμογλοβίνη κ.α. (Καραπαναγιωτίδης 2011).



Εκτός από τα ιχθυάλευρα που χρησιμοποιούνται ευρέως και μάλιστα σε υψηλά ποσοστά στις ιχθυοτροφές, οι υπόλοιπες πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης χρησιμοποιούνταν παλαιότερα κατά κόρον ως συστατικά των ιχθυοτροφών. Η συντριπτική πλειοψηφία αυτών των αλεύρων είχε απαγορευθεί στην ΕΕ από το 2001 έως το 2013 λόγω ανησυχιών που πρόεκυψαν μετά την εμφάνιση της νόσου της σπογγώδους εγκεφαλοπάθειας στα βοοειδή, που διατρέφονταν με άλευρα αυτού του τύπου (Καραπαναγιωτίδης 2015). Όπως αποδείχτηκε, η νόσος δεν οφειλόταν στα άλευρα καθ' αυτά αλλά στη μη κατάλληλη επεξεργασία κατά την παρασκευή τους. Πλέον, από τη 1/6/2013, η ΕΕ έχει άρει την απαγόρευση της χρησιμοποίησης των προϊόντων αυτών στις ιχθυοτροφές θέτοντας, παράλληλα, αυστηρότερα κριτήρια για την παρασκευή και τη χρησιμοποίησή τους. Συγκεκριμένα, τα προϊόντα αυτά ονομάζονται Μεταποιημένες Ζωικές Πρωτεΐνες από μη μηρυκαστικά ζώα (ΜΖΠ) (non ruminant Processed Animal Proteins) που αυστηρά προέρχονται από μονογαστρικά εκτρεφόμενα ζώα (χοιρινά, πουλερικά) και όχι μηρυκαστικά (βοοειδή) (Καραπαναγιωτίδης 2015).

### **1.6 Η πρωτεΐνη των εντόμων ως συστατικό των ιχθυοτροφών**

Τα έντομα θα μπορούσαν να αποτελέσουν μια εναλλακτική λύση για την κάλυψη ενός μέρους των διατροφικών αναγκών των εκτρεφόμενων ψαριών διότι πολλές φορές τρέφονται με αυτά στο φυσικό τους περιβάλλον και επιπλέον, περιέχουν υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης (40%) και λίπους (30%), γεγονός που θα μπορούσε να παρέχει κατάλληλες ποσότητες θρεπτικών συστατικών στη διατροφή των ιχθύων (Barroso *et al.* 2014, Henry *et al.* 2015). Επιπλέον, κάποια είδη εντόμων περιέχουν ικανοποιητικά επίπεδα σε ω-3 και ω-6 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και ανόργανα

στοιχεία, όπως σίδηρο. Λόγω του ότι τα έντομα περιέχουν σημαντικές ποσότητες αμινοξέων και λιπαρών οξέων, διάφοροι ερευνητές έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα, ότι είναι τεχνικώς εφικτό, να γίνει χρήση τους ως εναλλακτική πηγή πρωτεΐνης στις ζωοτροφές (Sanchez-Muros *et al.* 2014). Υπάρχουν έρευνες που υποστηρίζουν, ότι πολλά έντομα έχουν αντιμυκητιακή δράση και/ή αντιβακτηριακά πεπτίδια (Ravi *et al.* 2011) που με τη σειρά τους αυξάνουν τη διάρκεια ζωής της τροφής, στην οποία περιέχεται άλευρο εντόμου (Zhao *et al.* 2010).

Εκτός από τα θρεπτικά οφέλη τους, η εκτροφή εντόμων φαίνεται να είναι πιο φιλική προς το περιβάλλον σε σχέση με την παραγωγή αερίων του θερμοκηπίου, την κατανάλωση νερού και την απαίτηση της γης που χρειάζεται σε άλλου είδους εκτροφές (Oonincx & de Boer, 2012). Πιο συγκεκριμένα, η εκτροφή τους πραγματοποιείται συνήθως σε αποθήκες, χωρίς να απαιτούνται μεγάλες εκτάσεις ή πολύ νερό συγκριτικά με τις καλλιέργειες φυτικής παραγωγής (Sanchez-Muros *et al.* 2014). Επιπλέον, η καλλιέργεια εντόμων συμβάλλει στην ανακύκλωση των αποβλήτων, καθώς οι προνύμφες εντόμων μπορούν να μετατρέψουν τα χαμηλής ποιότητας οργανικά απόβλητα σε καλής ποιότητα λίπασμα (van Huis *et al.* 2013), μειώνοντας, έτσι, την τελική μάζα της κοπριάς κατά 50%, των αποβλήτων του αζώτου κατά 30-50%, καθώς και των αποβλήτων του φωσφόρου κατά 61-70% (Newton *et al.* 2005, Diener *et al.* 2009, van Huis *et al.* 2013). Τέλος, έχουν την ικανότητα να μειώνουν το φορτίο των παθογόνων βακτηρίων στη μικροχλωρίδα της κοπριάς (Erickson *et al.* 2004, Liu *et al.* 2008).<sup>3</sup> Ως εκ τούτου, το τελικό προϊόν αυτής της πολύ αποτελεσματικής βιομετατροπής, της κοπριάς, είναι μια άφθονη ποσότητα σε προνύμφες εντόμων οι οποίες είναι πλούσιες σε πρωτεΐνες (40%) και λιπίδια (30%) (Sheppard *et al.* 1994, Newton *et al.* 2005).

Η μαζική εκτροφή των εντόμων έχει εξαπλωθεί σε όλο τον κόσμο, ειδικά για την παραγωγή μεταξίου, τη χρήση δολωμάτων αλιείας, την διατροφή διαφόρων ζώων (ψάρια, πουλιά, ερπετά) και για τον βιολογικό έλεγχο των παρασίτων (Schabel, 2010, FAO 2013). Μικρές μονάδες παραγωγής μύγας, κίτρινων σκαθαριών, ακριδών, και τριζονιών έχουν δημιουργηθεί σε όλη την Ευρώπη και τον υπόλοιπο κόσμο (Ynsect – Γαλλία, Protix – Ολλανδία, Hermetia – Γερμανία, Insagri – Ισπανία, Enviroflight, Next Millenium Farm – ΗΠΑ, Enterra Feed – Καναδά, Entologics - Βραζιλία) (Kroeckel *et al.* 2012, Rumpold & Schlüter 2013), καθώς και μια πολύ μεγάλη μονάδα παραγωγής σκουληκιού έχει ήδη συσταθεί στη Νότια Αφρική (AgriProtein). Επιπλέον, η παραγωγή του σκαθαριού είναι ήδη πολύ σημαντική στην Κίνα (Haocheng) και στην Ινδία (Veldkamp *et al.* 2012, Ji *et al.* 2013, Van Huis *et al.* 2013). Η παραγωγή του μεταξοσκώληκα στην Κίνα αντιπροσωπεύει περίπου το 80% της παγκόσμιας παραγωγής, με την ετήσια δυναμικότητα παραγωγής αποξηραμένων νυμφών να είναι περίπου 200.000 τόνοι (Dong & Wu 2010).

Οι παραγωγοί σε όλο τον κόσμο οργανώνονται (VENIK, IPIFF) προκειμένου να αυξηθεί το ενδιαφέρον χρήσης των εντόμων στις ζωοτροφές ή στα τρόφιμα. Δεδομένου ότι οι τιμές των ιχθυαλεύρων αυξάνει τακτικά (FAO 2014), η τιμή του αλεύρου από έντομα που λαμβάνονται από μεγάλες μονάδες παραγωγής, θα μπορούσε πολύ γρήγορα να γίνει ανταγωνιστική (Drew *et al.* 2014).

Σύμφωνα με διάφορες έρευνες, κάποια από τα είδη των εντόμων όπως, τα κοινά κουνούπια, ο μαύρος στρατιώτης (*black soldier fly*), οι κοινές μύγες και το κίτρινο σκαθάρι, έχουν δοκιμαστεί ολόκληρα ή ψιλοκομμένα, ζωντανά ή κατεψυγμένα σε διάφορα είδη ψαριών όπως, στο λασπόψαρο (mudfish), στο γατόψαρο (*Clarias anguillaris*, στο αφρικάνικο γατόψαρο (*Clarias gariepinus*), στη μπλε τιλάπια (*Oreochromis aureus*), στην τιλάπια του Νείλου (*Oreochromis niloticus*), στην

πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) και στο σολομό (*Oncorhynchus keta*) (Πίν. 3). Έχει παρατηρηθεί ότι, η διατροφή των ψαριών με ζωντανά ή ψιλοκομμένα σκουλήκια ή κίτρινα σκαθάρια, είναι μια καλή επιλογή, ιδίως σε χώρες όπου οι διαθέσιμες τροφές είναι κακής ποιότητας (Henry *et al.* 2015).

**Πίνακας 3.** Ενδεικτικός πίνακας με τις πειραματικές συνθήκες και την προσθήκη Ορθόπτερων, Κολεόπτερων, Λεπιδόπτερων και Δίπτερων στη διατροφή ιχθύων παρέχοντας βελτιωμένη, παρόμοια ή μειωμένη αύξηση συγκριτικά με τα ψάρια μάρτυρες (Υιοθετημένο και τροποποιημένο από τους Henry *et al.* 2015).

Έντομο	Διαδικασία	Ψάρι	Αρχ. – Τελ. Βάρος (g)	Διάρκεια Σίτισης (εβδομάδες)	% Ι.Α στο μάρτυρα	% Α.Π στο μάρτυρα	Απαιτήσεις πρωτεΐνης	% Διαιτητική προσθήκη (που αντιστοιχεί σε % αντικατάσταση Ι.Α)			Αναφορές
								Α.Β συγκριτικά με ψάρια που τρέφονταν με Ι.Α	Α.Β παρόμοια με ψάρια που τρέφονταν με Ι.Α	Μ.Β συγκριτικά με ψάρια που τρέφονταν με Ι.Α	
<b>Ορθόπτερα</b>											
<i>Z. variegatus</i>	Βράσιμο, αποξήρανση στον ήλιο	Αφρικανικό γατόψαρο	1.2–5.7	8	31	30	50	-	13, 16, 25% (25, 50, 75% αντικ. Ι.Α)	35 % (100 % αντικ. Ι.Α)	(Alegbeleye <i>et al.</i> 2012)
<i>P. pictus</i>	Αποξήρανση	Βαδιστικό γατόψαρο	8.0–9.7	8.5	Μ.Δ	Μ.Δ	Μ.Δ	-	-	(100 % αντικ. Ι.Α)	(Johri <i>et al.</i> 2011)
<b>Κολεόπτερα</b>											
<i>T. molitor</i>	Αποξήρανση στον ήλιο	Αφρικανικό γατόψαρο	5.1–32	7	35	40	40–50	9% (20% αντικ. Ι.Α)	17, 26% (40, 60% αντικ. Ι.Α)	35, 43% (80,100% αντικ. Ι.Α)	(Ng <i>et al.</i> 2001)

<i>O. rhinoceros</i>	Αποξήρανση στο φούρνο	Αφρικανικό γατόψαρο	0.7–6	12	50	39	50	-	14, 33, 57, 80% (16, 35, 62, 100% αντικ. I.A)	-	(Fakayode & Ugwumba 2013)
<b>Λεπιδόπτερα</b>											
<i>B. mori</i> (SWP)		Ινδικός κυπρίνος	2–140	13	54	35	25–30	-	8, 15, 26, 43% SWP (25, 50, 75, 100% αντικ. I.A)	-	(Begun <i>et al.</i> 1994)
<i>B. mori</i> (SWP)	Αποξήρανση	Κοινό καβούρι	12–25	12	11	21	30–38	100% SWP	-	-	(Jeyachandran & Raj 1976)
<i>B. mori</i> (SWP)	Αποξήρανση	Πράσινη χωματίδα	14.5	6	60	55	45	-	6, 12% (10, 20% αντικ. I.A)	-	(Lee <i>et al.</i> 2012)
<b>Δίπτερα</b>											
Black soldier fly ( <i>Hermetia illucens</i> )	Ολήκληρο ή κομμένο	Γατόψαρο	120–	13	M.Δ.	37.5	25–36	-	-	100%	(Bondari & Sheppard, 1987)
<i>Hermetia illucens</i>	Αλεσμένα στον πάγο	Ιριδίζουσα πέστροφα	146 – 250	8	29	46	42	-	18–36% (25–50% αντικ. I.A)	-	(Sealey <i>et al.</i> 2011)
<i>Hermetia illucens</i>	Αφαίρεση υψηλής ποσότητας λίπους, ξήρανση	Σολωμός Ατλαντικού	250– 550	15	20	46	42–48	-	-	5, 25% (25– 100% αντικ. I.A)	(Lock <i>et al.</i> 2014)

**Συνοπτομογραφίες:** Α.Π: ακατέργαστη πρωτεΐνη, % αντικ. I.A: ποσοστό αντικατάστασης ιχθυάλευρου, Μ.Δ: μη διαθέσιμο, αρχ. Βάρος: αρχικό βάρος ιχθύων, τελ. Βάρος: τελικό βάρος ιχθύων. **Με έντονα γράμματα** δίνονται τα ιδανικά διατροφικά επίπεδα προσθήκης που δίνουν την υψηλότερη ανάπτυξη στα ψάρια.

Ωστόσο, τα κύρια μειονέκτημα της χρήσης των εντόμων στις ιχθυοτροφές είναι ότι δεν περιέχουν σημαντικές ποσότητες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) (Sachez-Muros *et al.* 2014), αποτελούν βιοσυσσωρευτές εντομοκτόνων, βαρέων μετάλλων και φυσικών τοξινών (van der Spiegel *et al.* 2013). Επιπλέον, δεν έχει βρεθεί αποτελεσματικός τρόπος πέψης της χιτίνης, που περιέχεται στα κελύφη των εντόμων, από τα ψάρια (Rust 2002, Shahidi 2005). Τα επιπλέον προβλήματα που εμφανίζει η χρησιμοποίηση των εντόμων ως συστατικά των ιχθυοτροφών είναι η διαθεσιμότητα τους στις ποσότητες που απαιτούνται, η μη διαθέσιμη προς το παρόν κατάλληλη τεχνολογία παρασκευής αλεύρου εντόμων, καθώς και το κόστος της εκτροφής τους, το οποίο πρέπει να είναι ανταγωνιστικό (Monentcham *et al.* 2009).

### **1.7 Το είδος *Hermetia illucens***

Το *Hermetia illucens* ή μαύρος στρατιώτης (Black Soldier Fly - BSF) (Εικ. 4), όπως είναι γνωστό, είναι ένα ενδημικό Δίπτερο έντομο, κοινό στις νοτιοανατολικές Ηνωμένες Πολιτείες. Τα ενήλικα άτομα του είδους ζουν και ζευγαρώνουν κοντά στα ενδαιτήματα των προνυμφών. Το συγκεκριμένο είδος δεν θεωρείται παράσιτο, διότι τα ενήλικα άτομα δεν έλκονται από την ανθρώπινη κατοίκηση ή τα τρόφιμα. Οι ενήλικες μπορούν να παραμείνουν αρκετό καιρό χωρίς να διατραφούν, διότι περιέχουν μεγάλο ποσοστό σωματικού λίπους, το οποίο αποθηκεύεται από το στάδιο της προνύμφης και τους βοηθάει στην επιβίωσή τους. Περιέχουν περίπου 42% πρωτεΐνη και 35% λίπος (Newton *et al.* 1977).

Η πρωτεΐνη BSF, που περιέχουν, έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία ως συστατικό ζωοτροφών στα χερσαία ζώα (Calvert *et al.* 1969, Newton *et al.* 1977) και σε εμπορικά εκτρεφόμενα ψάρια που δεν ήταν τόσο επιτυχή όσο αναμενόταν (Makkar *et*

al. 2014). Είναι γεγονός ότι η προσθήκη του BSF στις ιχθυοτροφές δεν έχει επιφέρει τόσο καλές αποδόσεις στα ψάρια συγκριτικά με τις άριστες επιδόσεις που είχε η προσθήκη ιχθυάλευρων στη διατροφή των ψαριών. Ωστόσο, σύμφωνα με έρευνες, η ορισμένη προσθήκη προνυμφών του BSF στην ιχθυοτροφή έδειξε αύξηση του βάρους των ψαριών, παρόμοια, με εκείνη που είχαν τα ψάρια που τρέφονταν με ιχθυάλευρο: 6 % και 15 % αντίστοιχα, προσθήκη στη διατροφή του γατόψαρου (Newton *et al.* 2005, St-Hilaire *et al.* 2007), 18 - 36 % προσθήκη στην διατροφή της ιριδίζουσας πέστροφας (Sealey *et al.* 2011), με βελτιωμένα ω-3, όπως βελτίωση παρατηρήθηκε και στο περιεχόμενο των φιλέτων των ψαριών που διατράφηκαν με BSF (Sealey *et al.* 2011) και 5 – 25 % προσθήκη στο σολομό του Ατλαντικού (*Salmo salar*), όπου οι ιχθυοτροφές συμπληρώθηκαν με απαραίτητα αμινοξέα (Lys και Met) (Lock *et al.* 2014). Η υψηλότερη προσθήκη BSF (12-30%), οδήγησε σε μειωμένη ανάπτυξη των ψαριών (γατόψαρο, ιριδίζουσα πέστροφα, καλκάνι - *Psetta maxima*) (Newton *et al.* 2005, St-Hilaire *et al.* 2007, Kroeckel *et al.* 2012). Τα νεαρά άτομα του καλκανιού αποδέχτηκαν τις τροφές που περιείχαν έως και 33 % εντομάλευρου BSF, χωρίς σημαντικές επιπτώσεις στον FI. Ωστόσο, ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης ήταν σημαντικά χαμηλότερος σε όλα τα επίπεδα ενσωμάτωσης που δοκιμάστηκαν. Αντιθέτως, η πεπτικότητα των πρωτεϊνών και των λιπιδίων από τη διατροφή του σολομού του Ατλαντικού ήταν πολύ καλή (Lock *et al.*, 2014). Η αγοραία αξία αυτού του είδους υπολογίζεται στα 330\$/τόνο (Newton *et al.* 2005).





**Εικόνα 3.** Το είδος *Hermetia illucens*

### **1.8 Σκοπός**

Υπάρχει περιορισμένη βιβλιογραφία σχετικά με τη χρήση εντόμων στη διατροφή των ψαριών και την αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με πρωτεΐνες εντόμων στη διατροφή της τσιπούρας. Έτσι, στόχος της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας χρησιμοποίησης πρωτεΐνης εντόμων και συγκεκριμένα του είδους *Hermetia illucens* σε αυξανόμενα επίπεδα στο σιτηρέσιο της εκτρεφόμενης τσιπούρας (*Sparus aurata*), υποκαθιστώντας την πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου.

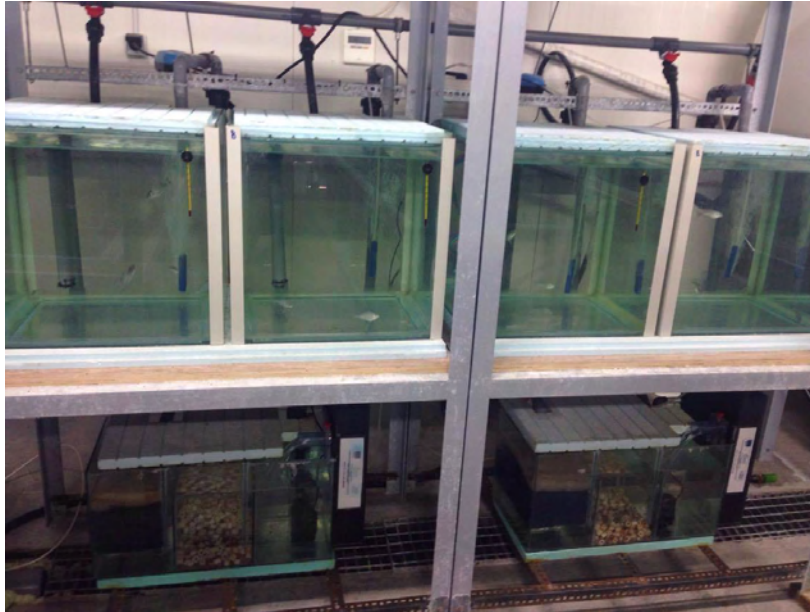
## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Πειραματικός σχεδιασμός

Ιχθύδια του είδους *Sparus aurata* με αρχικό μέσο βάρος  $2,40 \pm 0,27$  g και αρχικό μέσο μήκος  $5,99 \pm 0,05$  cm μεταφέρθηκαν, σε ειδικές συσκευασίες με οξυγόνο, από τον ιχθυογεννητικό σταθμό «ΔΙΑΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ Α.Β.Ε.Ε» (Πελασγία Φθιώτιδος) στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος στο Βόλο, όπου και έλαβε χώρα το πείραμα. Από τον αρχικό αριθμό, 300 ιχθύδια τοποθετήθηκαν σε πειραματικές δεξαμενές και αφέθηκαν να εγκλιματιστούν στις συνθήκες για συνολικά 3 ημέρες, ενώ ένας αριθμός 100 ιχθυδίων θανατώθηκαν για την πραγματοποίηση χημικών αναλύσεων στο σώμα, αυτών (αρχικό δείγμα). Τα ιχθύδια αφέθηκαν να εγκλιματιστούν στις πειραματικές συνθήκες για 10 ημέρες, όπου σιτίζονταν μία φορά την ημέρα. Το πείραμα διήρκεσε συνολικά δέκα εβδομάδες (70 μέρες), 6 Ιουνίου – 16 Αυγούστου.

Τα ιχθύδια μετά τον εγκλιματισμό τοποθετήθηκαν σε δεξαμενές κλειστού κυκλώματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού. Οι πειραματικές εγκαταστάσεις αποτελούνταν από 12 γυάλινα ενυδρεία χωρητικότητας 125L το καθένα, καθώς επίσης και από ένα σύστημα μηχανικής-βιολογικής διήθησης του νερού για την απομάκρυνση της συνολικής αμμωνίας, των περιττωμάτων και υπολειμμάτων τροφής. Για την πλήρωση των ενυδρείων χρησιμοποιήθηκε νερό βρύσης συνθετικής αλατότητας 35‰. Σε καθημερινή βάση πραγματοποιούνταν σιφωνισμός του πυθμένα και αντικατάσταση του νερού έως και 10% του συνολικού όγκου των ενυδρείων. Επιπλέον, ανά τακτά χρονικά διαστήματα τοποθετούνταν, τόσο στο νερό του ενυδρείου όσο και μέσα στα φίλτρα, διάλυμα βακτηρίων για τη νιτροποίηση των αζωτούχων οργανικών ενώσεων. Η διάταξη των δεξαμενών καθώς και των φίλτρων απεικονίζεται στην Εικόνα 4. Τα ιχθύδια διαχωρίστηκαν σε 4 διατροφικές ομάδες,

λαμβάνοντας η κάθε μία διαφορετικό σιτηρέσιο. Η κάθε διατροφική ομάδα αποτελούνταν από 75 ιχθύδια τα οποία κατανεμήθηκαν σε υποομάδες των 25 ατόμων σε 3 ενυδρεία (4 διατροφικές μεταχειρίσεις, 3 δεξαμενές-επαναλήψεις ανά μεταχείριση, 25 ιχθύδια ανά δεξαμενή).



**Εικόνα 4.** Διάταξη δεξαμενών και απεικόνιση του συστήματος φιλτραρίσματος-αποστείρωσης (φωτογραφία συγγραφέα).

Οι φυσικοχημικές παράμετροι του νερού ελέγχονταν καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Σε εβδομαδιαία βάση καταγράφονταν μετρήσεις για τη θερμοκρασία του νερού ( $21\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), το pH ( $8,00 \pm 0,4$ ), την αλατότητα ( $30 \pm 0,5\%$ ) και το διαλυμένο οξυγόνο ( $>6,5\text{ mg/l}$ ) με τη χρήση φορητών ηλεκτρονικών οργάνων. Επίσης, σε τακτά χρονικά διαστήματα προσδιορίζονταν η συγκέντρωση της ολικής αμμωνίας ( $<1\text{ mg/l}$ ), των νιτρικών και νιτρωδών με χρήση εμπορικών test-kits. Η τεχνητή φωτοπερίοδος που εφαρμόστηκε ήταν 12 ώρες φως – 12 ώρες σκότους με την εναλλαγή να πραγματοποιείται στις 08:00 και 20:00, αντίστοιχα.

## 2.2 Σιτηρέσια – Σίτιση

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

Το σιτηρέσιο Α περιείχε απολιπασμένο άλευρο *H. illuscens* σε ποσοστό συμμετοχής ίσο με 5,8% της τροφής, ενώ στα σιτηρέσια Β και Γ ενσωματώθηκε απολιπασμένο άλευρο *H. illuscens* σε ποσοστά συμμετοχής 11,6% και 17,4%, αντίστοιχα, υποκαθιστώντας την πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου. Τα τρία αυτά σιτηρέσια ήταν μεταξύ τους ισοενεργειακά (21,6 MJ/Kg τροφής) και ισοπρωτεϊνικά (47% της τροφής). Παράλληλα, χρησιμοποιήθηκε ένα τέταρτο σιτηρέσιο (Δ) που περιείχε μηδενικά επίπεδα αλεύρου *H. illuscens* με αποκλειστική πηγή ζωικής πρωτεΐνης το ιχθυάλευρο. Το σιτηρέσιο αυτό είχε ελαφρώς χαμηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (42,5%) και ελαφρώς αυξημένα επίπεδα ολικής ενέργειας (22,4 MJ/Kg) συγκριτικά με τα υπόλοιπα τρία σιτηρέσια.

Στα σιτηρέσια, επίσης χρησιμοποιήθηκε γλουτένη καλαμποκιού, ως πρωτεϊνική πηγή φυτικής προέλευσης και πηγή υδατανθράκων σύμφωνα με τα μέσα επίπεδα χορήγησης φυτικών πρωτεϊνών στις εμπορικές τροφές της τσιπούρας σήμερα. Το άλευρο σίτου χρησιμοποιήθηκε ως ενεργειακή πηγή και ως ενεργειακό αντιστάθμισμα των σιτηρεσίων. Ως κύρια πηγή ενέργειας,  $\omega_3$  και  $\omega_6$  πολυακόρεστων λιπαρών οξέων χρησιμοποιήθηκε το ιχθυέλαιο (Πιν. 4).

Μικροσυστατικά που χρησιμοποιήθηκαν ως εμπλουτιστικά των τροφών και διατηρήθηκαν σε σταθερές ποσότητες στα τέσσερα διαφορετικά σιτηρέσια ήταν ένα εμπορικό πρόμιγμα βιταμινών και ανόργανων στοιχείων (για τσιπούρα και λαβράκι)

με συμμετοχή 0,6% (Πιν. 5) καθώς και οι βιταμίνες E και C σε ποσοστό 0,1%. Τέλος, προστέθηκε και αντιμυκητιακή ουσία κατά 0,3%, για την αποφυγή ενδεχόμενης ανάπτυξης μυκήτων στις τροφές.

**Πίνακας 4:** Συστατικά και χημική σύσταση (% επί της νωπής ουσίας) των πειραματικών σιτηρεσίων.

<b>Συστατικά (%)</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>Γ</b>	<b>Δ</b>
Ιχθυάλευρο	37,4	33,2	29,0	41,5
Άλευρο <i>H. illuscens</i>	5,80	11,6	17,4	0,0
Γλουτένη καλαμποκιού	26,6	27,1	27,6	26,0
Σιτάρι, αλεύρι	14,7	11,8	8,90	17,8
Ιχθυέλαιο	14,1	14,9	15,7	13,3
Βιταμίνες & ανόργανα στοιχεία	0,60	0,60	0,60	0,60
Φωσφορικό μονοασβέστιο	0,30	0,30	0,30	0,30
Βιταμίνη E	0,10	0,10	0,10	0,10
Βιταμίνη C	0,10	0,10	0,10	0,10
Αντιμυκητιακή ουσία	37,4	33,2	29,0	0,30
<b>Θρεπτική σύσταση (%)</b>				
Υγρασία	8,7	10,9	9,8	6,96
Ολικές αζωτούχες ουσίες	46,8	46,5	47,0	42,5
Ολικές λιπαρές ουσίες	19,4	18,5	18,3	22,1
Υδατάνθρακες <sup>1</sup>	14,4	13,7	13,7	20,1
Τέφρα	10,7	10,4	11,1	8,1
Ενέργεια (MJ/Kg)	21,7	21,6	21,6	22,4

<sup>1</sup> Το ποσοστό των υδατανθράκων εκτιμήθηκε με αφαίρεση από το 100 του συνόλου των ποσοστών πρωτεΐνης, λιπιδίων και τέφρας. Τα περισσότερα συστατικά (εκτός του μυγάλειου και αλευρου σίτου) ήταν μια ευγενική χορηγία της εταιρίας BioMar Hellenic ABEEI.

Η προνύμφη της μύγας *Hermetia illucens*, προήλθε από φυσικό πληθυσμό της μύγας, που συλλέχθηκε στην περιοχή του Νοτίου Πηλίου (Μετόχι Αργαλαστής) με τη βοήθεια του Δρ. Χ. Ρούμπου. Η εκτροφή διατηρήθηκε σε συνθήκες θερμοκηπίου, στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ενώ ως υπόστρωμα εκτροφής χρησιμοποιήθηκαν οργανικά (κυρίως φυτικά και κατά δεύτερο λόγο ζωικά) υπολείμματα. Μετά τη συλλογή των προνυμφών, αυτές αποθηκεύτηκαν στους -20 °C μέχρι την έναρξη της επεξεργασία τους σε μορφή

άλευρου. Για το σκοπό αυτό, οι προνύμφες ομογενοποιήθηκαν και αποξηράνθηκαν σε φούρνο, και κατόπιν αλέστηκαν σε κοκκομετρία <0,5 mm.

**Πίνακας 5:** Η σύσταση του προμίγματος βιταμινών και ανόργανων στοιχείων.

<b>Συστατικά</b>	<b>Ποσότητα (mg) / Kg προμίγματος</b>
<b><u>Βιταμίνες</u></b>	
Βιταμίνη E (90% α-τοκοφερολη)	58.333
Βιταμίνη K3	3.333
Βιταμίνη B1	3.333
Βιταμίνη B2	6.666
Βιταμίνη B6	3.333
Βιταμίνη B12	10
Νικοτινικό οξύ	16.666
Παντοθενικό οξύ	13.333
Φολικό οξύ	3.333
Βιοτίνη	100
Βιταμίνη C (μορφή Stay C)	33.333
<b><u>Ανόργανα στοιχεία</u></b>	
Μαγγάνιο (οξειδίο)	10.000
Ψευδάργυρος (οξειδίο)	33.333
Ιωδιούχο ασβέστιο (62% Ca)	400
Σεληνιώδες νάτριο (1% σελήνιο)	84
Ανθρακικό κοβάλτιο (51% κοβάλτιο)	333
<b><u>Άλλες ουσίες</u></b>	
Αντιοξειδωτικό BHT E321	333
Άλευρο για μίξη	416.666

Επιπλέον, έγινε μείωση του ποσοστού του λίπους του μυγάλευρου στο 3% με τη μέθοδο της εκχύλισης με πετρελαϊκό αιθέρα, διότι το συγκεκριμένο είδος εντόμου περιέχει μεγάλο ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων, το οποίο αποτελεί μειονέκτημα, διότι επιφέρει μειωμένα ποσοστά ανάπτυξης στην τσιπούρα. Πιο συγκεκριμένα, τοποθετούνταν περίπου 200g μυγάλευρου σε 1L αιθέρα, όπου στη συνέχεια το διάλυμα τοποθετήθηκε σε αναδευτήρα τύπου για μια ώρα, σε θερμοκρασία 40 °C. Έπειτα, το μίγμα έμεινε στον επαγωγό για 24 ώρες προκειμένου να εξατμιστεί πλήρως το ποσοστό του αιθέρα και να είναι έτοιμο για χρήση. Η διαδικασία της εκχύλισης πραγματοποιήθηκε δυο φορές για κάθε 200g δείγματος. Η

τελική θρεπτική σύσταση του απολιπασμένου αλεύρου *H. illuscens* ήταν 1,7% υγρασία, 50,6% ολικές πρωτεΐνες, 3,0% ολικά λίπη, 16,2% τέφρα και 16,2 MJ/Kg ολική ενέργεια.

Η χορήγηση της τροφής γινόταν με το χέρι καθημερινά, 1 φορά την ημέρα και λάμβανε χώρα στις 11 π.μ., ενώ μια μέρα τη βδομάδα πραγματοποιούνταν νηστεία. Η σίτιση ήταν μέχρι κορεσμού (*ad libitum*).

### **2.3 Δειγματοληψίες**

Η εκτροφή των ιχθυδίων διήρκησε 70 ημέρες. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου πραγματοποιήθηκαν 3 μετρήσεις βάρους: στην έναρξη του πειράματος, την 30<sup>η</sup>, και μία τελική την 71<sup>η</sup> ημέρα. Το ολικό μήκος των ιχθύων μετρήθηκε μόνο την πρώτη και την τελευταία ημέρα του πειράματος. Για την αναισθητοποίηση των ψαριών χρησιμοποιήθηκε φαινοξυθανόλη σε συγκέντρωση 0,10 ml/l. Στη συνέχεια, ζυγίζονταν ατομικά κάθε ιχθύδιο σε ζυγό ακριβείας 2 δεκαδικών ψηφίων (0,01 g) και μετρούνταν το ολικό μήκος με ιχθυόμετρο (ακρίβεια 0,1 cm).

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

#### **2.4.1 Θνησιμότητα**

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

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

#### 2.4.2 Αύξηση ολικού βάρους ψαριών

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

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

#### 2.4.3 Ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους

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

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

#### 2.4.4 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

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

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

Όπου,

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

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

#### 2.4.5 Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (food conversion ratio, FCR) εκφράζει το βαθμό αξιοποίησης της τροφής από τα ψάρια και δίνεται από τον λόγο



της ποσότητας της τροφής που χορηγήθηκε προς την αύξηση του ολικού βάρους τους.

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής υπολογίζεται από τη σχέση:

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

#### **2.4.6 Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών**

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

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

### **2.5 Χημικές αναλύσεις**

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

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών στα συστατικά των σιτηρεσιών και στα πειραματικά σιτηρέσια έγινε με την μέθοδο εκχύλισης Soxhlet (AOAC 1995). Σε γυάλινα δοχεία εκχύλισης προστέθηκαν 3 πέτρες βρασμού και καταγράφηκε το βάρος τους σε ζυγό ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων. Στην συνέχεια εφαρμόστηκαν στα δοχεία χάρτινοι ηθμοί. Ζυγίστηκε ποσότητα δείγματος βάρους 2g και μεταφέρθηκε στο χάρτινο δοχείου ηθμού. Το δείγμα του ιστού, και της τροφής σε κάποιες περιπτώσεις, πρέπει να είναι ξηραμένη και αλεσμένη. Η ξήρανση πραγματοποιείται σε φούρνο στους 105°C για περίπου 24h (μέχρι σταθεροποίησης του βάρους του δείγματος). Στο γυάλινο δοχείο εκχύλισης προστέθηκαν 140ml πετρελαϊκού αιθέρα, στον οποίο εμβαπτίστηκαν τα χάρτινα δοχεία ηθμού με το δείγμα. Τα γυάλινα δοχεία εκχύλισης μαζί με τους χάρτινους ηθμούς μεταφέρθηκαν σε ειδική συσκευή εκχύλισης λιπαρών ουσιών (συσκευή Soxhlet). Κατά τη

διαδικασία της εκχύλισης, τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 150 °C υπό την παρουσία του οργανικού διαλύτη, όπου έλαβε χώρα το πρώτο στάδιο της εκχύλισης. Έπειτα, ο οργανικός διαλύτης απορροφήθηκε και εκπλύθηκε στο δείγμα για 1,5h, όπου έλαβε χώρα το δεύτερο στάδιο της εκχύλισης. Κατόπιν, απορροφήθηκε ο διαλύτης για 15min με αποτέλεσμα τα ολικά λιπίδια του δείγματος να παραμείνουν στον πάτο του δοχείου εκχύλισης. Για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων πετρελαϊκού αιθέρα τα δοχεία (χωρίς τους χάρτινους ηθμούς) μεταφέρθηκαν στο φούρνο για 15min στους 105°C. Στην συνέχεια τοποθετήθηκαν σε αφυγραντήρα για 1h το λιγότερο και πάρθηκαν οι μετρήσεις βάρους. Το καθαρό βάρος των λιπαρών ουσιών δίνεται από τον τύπο:

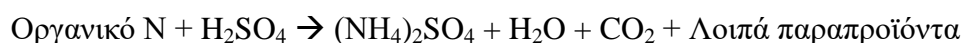
$$\text{Ολικά λιπίδια \%} = (W(\text{g})_{\text{τελικό δοχείο εκχύλισης}} - W(\text{g})_{\text{αρχικό δοχείο εκχύλισης}}) * 100$$

### 2.5.2 Προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων

Ο προσδιορισμός των ολικών αζωτούχων ουσιών στα συστατικά των σιτηρεσιών και στα πειραματικά σιτηρέσια πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC 1995) Η διαδικασία προσδιορισμού των αζωτούχων ενώσεων έχει ως εξής:

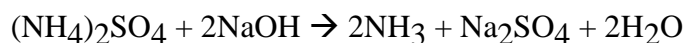
Σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων ζυγίστηκαν δείγματα τροφών - μυϊκών ιστών βάρους 0,2g (3 επαναλήψεις για κάθε δείγμα) και μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πέψης. Προστέθηκαν 2 ταμπλέτες καταλύτη Kjeltabs (5g Potassium Sulphate  $K_2SO_4$  και 5g copper (II) Sulphate  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) για να επιταχυνθεί η αντίδραση της πέψης. Στην συνέχεια, προστέθηκαν στα δείγματα 15ml πυκνού θεικού οξέως ( $H_2SO_4$ ) και τοποθετούνται στην συσκευή πέψης Kjeltac 2000. Η διαδικασία της πέψης πραγματοποιείται στους 150°C για 85min. Με την συσκευή πέψης επιτυγχάνεται το βράσιμο των δειγμάτων και με την βοήθεια του πυκνού θεικού οξέως πραγματοποιείται διάσπαση των αζωτούχων ενώσεων. Το αδέσμευτο

άζωτο (N) δεσμεύεται με την μορφή θειικού αμμωνίου (άλας), με την εξής αντίδραση:



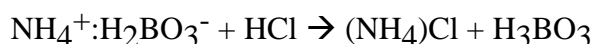
Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία της πέψης τα δείγματα αφήνονται να κρυώσουν για 15min

Κατόπιν, τα δείγματα τοποθετούνται σε συσκευή απόσταξης, στην οποία προστίθενται 100 ml αποσταγμένου  $\text{H}_2\text{O}$ , 80 ml  $\text{NaOH}$  και 50 ml  $\text{H}_3\text{BO}_3$ . Η διαδικασία διαρκεί 6min. Το θειικό αμμώνιο, που είχε παραχθεί κατά την διαδικασία της πέψης, αντιδρά με υδροξείδιο του νατρίου ( $\text{NaOH}$ ) και αποδεσμεύεται αμμωνία (σε αέρια μορφή) και θειικό νάτριο ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Η αμμωνία ( $\text{NH}_4$ ) έπειτα αντιδρά με βορικό οξύ ( $\text{H}_3\text{BO}_4$ ) 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 τιτλοδότησης 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:

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

### 2.5.3 Προσδιορισμός τέφρας

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

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

### 2.5.4 Προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας

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

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

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

Όμοια,

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

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

## 2.6 Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα των παραμέτρων ανάπτυξης των ψαριών, αξιοποίησης της τροφής καθώς και των μεταβολών στη χημική σύσταση του μυϊκού ιστού επεξεργάστηκαν με τη μέθοδο της Ανάλυσης της Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (one-way ANOVA) και οι διαφορές κρίθηκαν στατιστικά σημαντικές για τιμές  $P < 0,05$ . Στις περιπτώσεις όπου η ANOVA έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές, τα δεδομένα υποβλήθηκαν στο Tukey's test για τον εντοπισμό των διαφορών μεταξύ των διαφορετικών μεταχειρίσεων (Zar 1999).

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1 Θνησιμότητα

Σε όλη τη διάρκεια του πειράματος σημειώθηκαν θνησιμότητες των ιχθυδίων όλων των διατροφικών ομάδων. Πιο αναλυτικά (Πιν. 6), το ποσοστό θνησιμοτήτων για την Α διατροφική ομάδα ήταν  $16,0 \pm 0,0\%$ , για την Β διατροφική ομάδα ήταν  $24,0 \pm 8,0\%$ , για την Γ ομάδα ήταν  $50,0 \pm 2,8\%$  και τέλος για τη Δ διατροφική ομάδα ήταν  $21,3 \pm 6,1\%$ . Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε ότι το ποσοστό θνησιμοτήτων της ομάδας Γ ήταν σημαντικά ( $P < 0,05$ ) υψηλότερο σε σχέση με τις άλλες τρεις ομάδες, των οποίων τα ποσοστά ήταν παρόμοια μεταξύ τους ( $P > 0,05$ ).

**Πίνακας 6.** Θνησιμότητες (N, αριθμός τελικών ατόμων) και ποσοστό (% του συνολικού αρχικού πληθυσμού). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους  $\pm$  τυπική απόκλιση.

Σιτηρέσια	N	%
A	$4,0 \pm 0,0$	$16,0 \pm 0,0^a$
B	$6,0 \pm 2,0$	$24,0 \pm 8,0^a$
Γ	$12,5 \pm 0,7$	$50,0 \pm 2,8^b$
Δ	$5,3 \pm 1,5$	$21,3 \pm 6,1^a$

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

#### 3.2 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

##### 3.2.1 Κατά την έναρξη του πειράματος

Το αρχικό μέσο βάρος και ολικό μήκος των ιχθυδίων κατά την έναρξη του διατροφικού πειράματος για τα άτομα της Α ομάδας ήταν  $2,40 \pm 0,01\text{g}$  και  $6,01 \pm 0,07\text{cm}$ , αντίστοιχα, για τα άτομα της Β ομάδας ήταν  $2,41 \pm 0,01\text{g}$  και  $6,01 \pm 0,05\text{cm}$ , για τα άτομα της Γ ομάδας ήταν  $2,40 \pm 0,01\text{g}$  και  $6,02 \pm 0,01\text{cm}$  και για τα άτομα του Δ σιτηρεσίου ήταν  $2,40 \pm 0,02\text{g}$  και  $5,93 \pm 0,03\text{cm}$  (Πιν. 7). Όλες οι ομάδες ιχθύων είχαν παρόμοιο ( $P > 0,05$ ) αρχικό βάρος και μήκος.

**Πίνακας 7.** Αρχικό μέσο βάρος (g) και αρχικό μέσο ολικό μήκος (cm) των ιχθύων κατά την έναρξη του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους  $\pm$  τυπική απόκλιση.

	A	B	Γ	Δ
Αρχικό βάρος (g)	2,40 $\pm$ 0,01	2,41 $\pm$ 0,01	2,40 $\pm$ 0,01	2,40 $\pm$ 0,02
Αρχικό μήκος (cm)	6,01 $\pm$ 0,07	6,01 $\pm$ 0,05	6,02 $\pm$ 0,01	5,93 $\pm$ 0,03

### 3.2.2 Κατά την 30<sup>η</sup> ημέρα πειράματος

Το μέσο βάρος των ψαριών κατά την 30<sup>η</sup> ημέρα του διατροφικού πειράματος (Πιν. 8) ήταν  $4,79 \pm 0,16$ g για τα άτομα που διατράφηκαν με το Α σιτηρέσιο,  $4,99 \pm 0,11$ g για τα άτομα που διατράφηκαν με το Β σιτηρέσιο,  $3,38 \pm 0,10$ g για τα άτομα που διατράφηκαν με το Γ σιτηρέσιο και  $4,39 \pm 0,05$ g για τα άτομα που διατράφηκαν με το Δ σιτηρέσιο. Με βάση τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, οι ομάδες Α και Β είχαν σημαντικά υψηλότερο σωματικό βάρος σε σχέση με τις άλλες δύο ομάδες, ενώ η ομάδα Γ παρουσίασε τις πιο χαμηλές ( $P < 0,05$ ) τιμές.

**Πίνακας 8.** Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής της τσιπούρας (*S. aurata*) διατρεφόμενη για 30 ημέρες με τα πειραματικά σιτηρέσια.

	A	B	Γ	Δ
Επιβίωση (%)	96,00 $\pm$ 4,00 <sup>a</sup>	96,00 $\pm$ 4,00 <sup>a</sup>	82,67 $\pm$ 6,11 <sup>a</sup>	93,33 $\pm$ 6,11 <sup>a</sup>
Τελ. βάρος (g)	4,79 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>	4,99 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	3,38 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>	4,39 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>
Αυξ. βάρους (WG, g)	2,39 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>	2,58 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	0,98 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>	2,00 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>
Καταν. τροφής (g/ιχθύ)	2,73 $\pm$ 0,11 <sup>a,b</sup>	2,97 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>	1,51 $\pm$ 0,13 <sup>c</sup>	2,66 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>
SGR (%/ημέρα)	2,30 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	2,42 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	1,14 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>	2,02 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>
FCR	1,14 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	1,15 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	1,54 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	1,33 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
PER	1,88 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	1,83 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	1,39 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	1,84 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>

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

Η μέση αύξηση του σωματικού βάρους (Πιν. 8) κατά την 30<sup>η</sup> ημέρα του πειράματος ήταν  $2,39 \pm 0,16$ g για τα άτομα της Α μεταχείρισης,  $2,58 \pm 0,10$ g για τα

άτομα της Β μεταχείρισης,  $0,98 \pm 0,10\text{g}$  για τα άτομα της Γ μεταχείρισης και  $2,00 \pm 0,06\text{g}$  για τα άτομα της Δ μεταχείρισης. Σύμφωνα με τη στατιστική ανάλυση η μέση αύξηση του σωματικού βάρους των ψαριών της Α και Β μεταχείρισης ήταν σημαντικά υψηλότερη ( $P < 0,05$ ) σε σχέση με τις τιμές των υπόλοιπων μεταχειρίσεων. Επιπλέον, η μεταχείριση Γ παρουσίασε τη μεγαλύτερη σημαντική μείωση σε σχέση με τις υπόλοιπες τρεις μεταχειρίσεις ( $P < 0,05$ ).

Η συνολική κατανάλωση των ψαριών μέχρι την 30<sup>η</sup> ημέρα του πειράματος (Πιν. 8) ήταν  $2,73 \pm 0,11\text{g}$  για αυτά της Α διατροφικής ομάδας,  $2,97 \pm 0,16\text{g}$  για τα ψάρια της Β διατροφικής ομάδας,  $1,51 \pm 0,13$  για τα άτομα της Γ διατροφικής ομάδας, και τέλος  $2,66 \pm 0,07\text{g}$  για τα άτομα της Δ διατροφικής ομάδας. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι τα ψάρια που σιτίστηκαν με σιτηρέσια τα οποία περιείχαν ποσοστά συμμετοχής μυγαλεύρου της τάξης του 5,8% και 11,6%, καθώς και το σιτηρέσιο που περιείχε αποκλειστικά ιχθυάλευρο είχαν σημαντικά μεγαλύτερη ( $P < 0,05$ ) κατανάλωση τροφής συγκριτικά με τα ψάρια της ομάδας Γ, το σιτηρέσιο του οποίου περιείχε το μεγαλύτερο ποσοστό μυγαλεύρου.

Η μέση τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR) (Πιν. 8) ήταν  $2,30 \pm 0,12$  %/ημέρα για τα ψάρια της Α διατροφικής ομάδας,  $2,42 \pm 0,06$  %/ημέρα για τα ψάρια της Β διατροφικής ομάδας,  $1,14 \pm 0,10$  %/ημέρα για τα ψάρια της Γ διατροφικής ομάδας και  $2,02 \pm 0,05$  %/ημέρα για τα ψάρια της Δ διατροφικής ομάδας. Η τιμή του SGR για τα ψάρια που διατράφηκαν με τα σιτηρέσια Α και Β ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη των ψαριών που διατράφηκαν με τα Γ και Δ σιτηρέσια. Επιπλέον, η μεταχείριση Γ παρουσίασε τον χαμηλότερο δείκτη SGR σε σχέση με τις υπόλοιπες τρεις μεταχειρίσεις ( $P < 0,05$ ).

Η μέση τιμή για τον συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) (Πιν. 8) εκτιμήθηκε  $1,14 \pm 0,04$  για τα άτομα της Α διατροφικής ομάδας,  $1,15 \pm 0,04$  για τα



άτομα της Β διατροφικής ομάδας,  $1,54 \pm 0,05$  για τα άτομα που διατράφηκαν με το Γ σιτηρέσιο και  $1,33 \pm 0,01$  για τα άτομα της Δ διατροφικής ομάδας. Η τιμή του FCR για τα ψάρια που διατράφηκαν με τα σιτηρέσια Α και Β ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη των ψαριών που διατράφηκαν με τα Γ και Δ σιτηρέσια. Η μεταχείριση Γ παρουσίασε τον υψηλότερο δείκτη FCR σε σχέση με τις υπόλοιπες τρεις μεταχειρίσεις ( $P < 0,05$ ).

Η μέση τιμή για τον συντελεστή αποδοτικότητας πρωτεϊνών (PER) ήταν  $1,88 \pm 0,06$  για τα ψάρια της Α διατροφικής ομάδας,  $1,83 \pm 0,06$  για τα ψάρια της Β διατροφικής ομάδας,  $1,39 \pm 0,05$  για τα ψάρια της διατροφικής ομάδας Γ και  $1,84 \pm 0,01$  για τα ψάρια της Δ διατροφικής ομάδας. Η τιμή του PER για τα ψάρια που διατράφηκαν με τα σιτηρέσια Α, Β και Δ ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη των ψαριών που διατράφηκαν με το Γ σιτηρέσιο ( $P < 0,05$ ).

### **3.2.3 Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος**

Στο τέλος του πειράματος, το μέσο βάρος και μήκος των ψαριών που διατράφηκαν με το Α σιτηρέσιο ήταν  $10,83 \pm 0,26\text{g}$  και  $9,03 \pm 0,34\text{cm}$ , αντίστοιχα. Για τα άτομα που διατράφηκαν με το Β σιτηρέσιο ήταν  $10,72 \pm 0,44\text{g}$  και  $9,08 \pm 0,29\text{cm}$ , για τα άτομα που διατράφηκαν με το Γ σιτηρέσιο ήταν  $5,76 \pm 1,20\text{g}$  και  $7,51 \pm 0,50\text{cm}$ , και για τα άτομα που διατράφηκαν με το Δ σιτηρέσιο ήταν  $8,58 \pm 0,14\text{g}$  και  $8,36 \pm 0,03\text{cm}$  αντίστοιχα. Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων με την μέθοδο one-way ANOVA έδειξε ότι, τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο που περιείχε το μεγαλύτερο ποσοστό πρωτεΐνης μυγαλεύρου (σιτηρέσιο Γ) απέκτησαν το μικρότερο μήκος, με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα ψάρια των άλλων τριών μεταχειρίσεων (Πιν. 9). Επιπλέον, το τελικός μήκος των ψαριών των Α και Δ μεταχειρίσεων, όπως και των Α και Β δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική

διαφορά μεταξύ τους ( $P>0,05$ ). Βέβαια, αξίζει να σημειωθεί ότι το μεγαλύτερο τελικό μήκος παρουσίασαν τα ψάρια εκείνα, τα οποία διατράφηκαν με τα σιτηρέσια Α και Β.

Η αύξηση βάρους των ψαριών των Α και Β ομάδων ήταν σημαντικά μεγαλύτερη ( $P<0,05$ ) από τα ψάρια που διατράφηκαν με τα άλλα δύο σιτηρέσια, τα οποία διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους. Την μικρότερη αύξηση βάρους σημείωσαν τα ψάρια που διατράφηκαν με το Γ σιτηρέσιο (Σχ.1).

Η συνολική κατανάλωση της τροφής διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των τεσσάρων διατροφικών ομάδων (Πιν. 9) Συγκεκριμένα, οι ομάδες Α και Β είχαν την υψηλότερη κατανάλωση τροφής, που υπολογίστηκε σε  $9,70 \pm 0,13\text{g}$  και  $10,19 \pm 0,16$  αντίστοιχα, ενώ τις χαμηλότερες καταναλώσεις έδειξαν οι ομάδες Δ ( $8,82 \pm 0,41\text{g}$ ), και Γ ( $5,03 \pm 0,49\text{g}$ ). Σημαντικό αποτελεί το γεγονός ότι, οι μεταχειρίσεις Α και Β δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους, όπως επίσης και η Δ με τη Α.

**Πίνακας 9.** Μέσο βάρος (g), μέσο ολικό μήκος (cm) και παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης τροφής των ιχθυδίων ανά διατροφικό σιτηρέσιο κατά την ολοκλήρωση του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους  $\pm$  τυπική απόκλιση.

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>Γ</b>	<b>Δ</b>
<b>Τελ. μήκος (cm)</b>	$9,03 \pm 0,34^{a,b}$	$9,08 \pm 0,29^a$	$7,51 \pm 0,50^c$	$8,36 \pm 0,03^b$
<b>Τελ. βάρος (g)</b>	$10,83 \pm 0,26^a$	$10,72 \pm 0,44^a$	$5,76 \pm 1,20^c$	$8,58 \pm 0,14^b$
<b>Αυξ. βάρους (WG, g)</b>	$8,42 \pm 0,26^a$	$8,31 \pm 0,44^a$	$3,35 \pm 1,21^c$	$6,18 \pm 0,13^b$
<b>Καταν. τροφής (g/ιχθύ)</b>	$9,70 \pm 0,13^{a,b}$	$10,19 \pm 0,16^a$	$5,03 \pm 0,49^c$	$8,82 \pm 0,41^b$
<b>SGR (%/ημ.)</b>	$2,15 \pm 0,04^a$	$2,14 \pm 0,06^a$	$1,06 \pm 0,07^b$	$1,82 \pm 0,01^a$
<b>FCR</b>	$1,15 \pm 0,03^a$	$1,23 \pm 0,09^a$	$1,81 \pm 0,30^b$	$1,43 \pm 0,06^a$
<b>PER</b>	$1,86 \pm 0,04^a$	$1,80 \pm 0,12^a$	$1,18 \pm 0,19^b$	$1,65 \pm 0,07^a$
<b>Επιβίωση (%)</b>	$84,0 \pm 0,0^a$	$76,0 \pm 8,0^a$	$50,0 \pm 2,8^b$	$78,7 \pm 6,1^a$

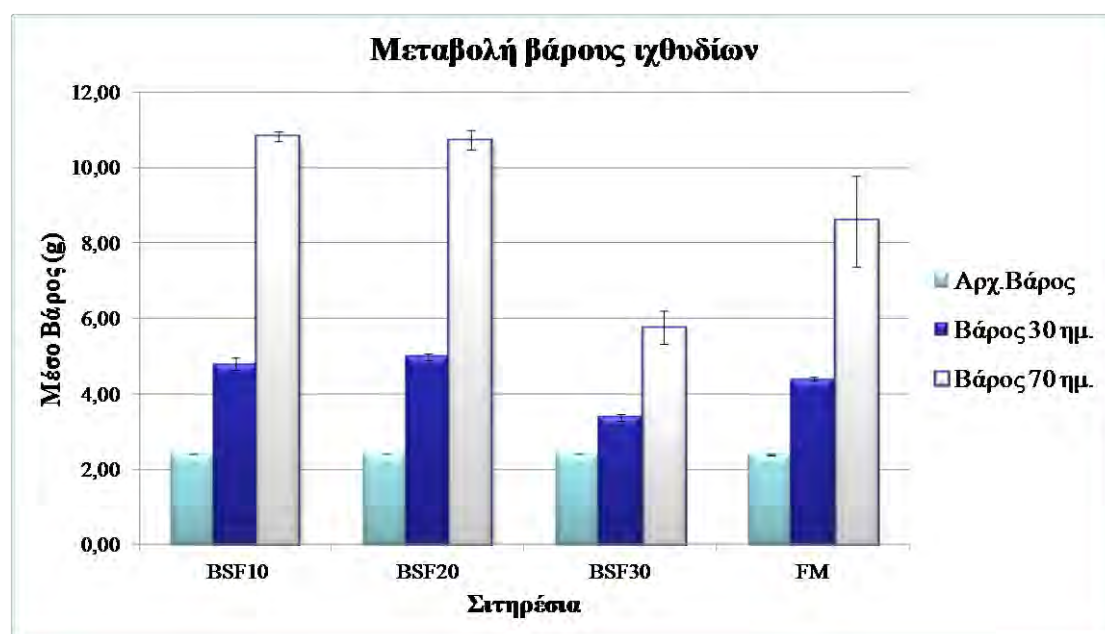
**Σημείωση:** Τιμές που δεν αντιπροσωπεύονται από τον ίδιο εκθέτη δείχνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά ( $P<0,05$ ) μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR%/ημέρα) για τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο Γ ήταν ( $P<0,05$ ) ο χαμηλότερος με τιμή  $1,06 \pm 0,07\%/ημέρα$ . Οι

μεγαλύτερες τιμές του SGR καταγράφηκαν για τα ψάρια της Α, Β και Δ μεταχειρίσεων, οι οποίες δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους.

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) παρουσιάζει μεγαλύτερη τιμή στα ψάρια που διατράφηκαν με το BSF30 σιτηρέσιο και υπολογίστηκε  $1,81 \pm 0,30$ , ενώ η μικρότερη τιμή του συντελεστή καταγράφηκε για τα ψάρια που διατράφηκαν με το BSF10 σιτηρέσιο,  $1,15 \pm 0,03$ , χωρίς όμως να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τεσσάρων διατροφικών μεταχειρίσεων.

Ο συντελεστής αποδοτικότητας της πρωτεΐνης (PER) καταγράφηκε μικρότερος για τα ψάρια της BSF30 μεταχείρισης, συγκριτικά με τις άλλες μεταχειρίσεις, χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ η μέγιστη τιμή του καταγράφηκε για τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο BSF10, αν και δεν ήταν σημαντικά μεγαλύτερη ( $P>0,05$ ) από τις τιμές των μεταχειρίσεων FM, BSF20 και BSF30.



**Σχήμα 1:** Μεταβολή του μέσου βάρους των ψαριών, των τεσσάρων σιτηρεσίων καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους  $\pm$  τυπική απόκλιση.

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία μελετήθηκε η καταλληλότητα διαφόρων επιπέδων συμμετοχής ενός απολιπασμένου αλεύρου του είδους εντόμου *Hermetia illuscens* στο σιτηρέσιο της τσιπούρας (*Sparus aurata*), υποκαθιστώντας την πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου.

Τα αποτελέσματα, έπειτα από 10 εβδομάδες διατροφικού πειράματος, έδειξαν ότι αυξημένα επίπεδα συμμετοχής του απολιπασμένου αλεύρου *H. illuscens* στο σιτηρέσιο της τάξης του 17% (σιτηρέσιο Γ) οδηγούν σε μειωμένη ( $P < 0,05$ ) κατανάλωση τροφής. Αυτό δείχνει ότι υψηλά επίπεδα συμμετοχής του απολιπασμένου αλεύρου *H. illuscens* στο σιτηρέσιο αποφέρουν μειωμένη γευστικότητα στην τροφή. Τα σιτηρέσια που περιείχαν χαμηλά ποσοστά του μυγαλεύρου (5,8% και 11,6%) έδειξαν γενικά υψηλότερη κατανάλωση τροφής συγκριτικά με το σιτηρέσιο που περιείχε αποκλειστικά ιχθυάλευρο, το οποίο δείχνει ότι αυτά τα επίπεδα δεν μειώνουν την γευστικότητα της τροφής. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί πως το σιτηρέσιο Δ (αποκλειστικά ιχθυάλευρο) ήταν πιο πλούσιο ισοενεργειακά με τα άλλα σιτηρέσια, γεγονός που πιθανόν να οδήγησε σε μειωμένη κατανάλωση τροφής, μιας και είναι γνωστό ότι αυξημένα διαιτητικά επίπεδα ενέργειας μειώνουν την κατανάλωση τροφής (Καραπαναγιωτίδης 2015). Μειωμένη γευστικότητα στην τροφή είχε παρατηρηθεί και σε προηγούμενη μελέτη με την τσιπούρα χρησιμοποιώντας πλήρες σε λιπαρά άλευρο *H. illuscens* ακόμα και σε ποσοστό συμμετοχής 9,5% στο σιτηρέσιο (Karapanagiotidis *et al.* 2015). Σε μελέτη με το καλκάνι (*Psetta maxima*), ωστόσο, έχει δειχθεί ότι η κατανάλωση τροφής και η γευστικότητα της έμειναν ανεπηρέαστες όταν το απολιπασμένο άλευρο *H. illuscens* ενσωματώθηκε σε ποσοστό έως και 33% επί του σιτηρεσίου αν και σε υψηλότερα

επίπεδα συμμετοχής η κατανάλωση τροφής μειώθηκε από τα ψάρια (Kroeckel *et al.* 2012).

Αυξημένα επίπεδα συμμετοχής του απολιπασμένου αλεύρου *H. illuscens* στο σιτηρέσιο της τάξης του 17% οδήγησαν, επίσης, σε αυξημένες θνησιμότητες της τσιπούρας συγκριτικά με χαμηλότερα επίπεδα συμμετοχής του αλεύρου στο σιτηρέσιο. Αυξημένες θνησιμότητες έχουν παρατηρηθεί και σε μελέτες με το γατόψαρο (*Ictalurus punctatus*) και την μπλε τιλάπια (*Oreochromis aureus*) όταν διατράφηκαν με σιτηρέσια όπου η πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου υποκαταστάθηκε κατά 10% και 100% από πλήρες σε λιπαρά άλευρο *H. illuscens* (Bondari & Sheppard 1987).

Παράλληλα, η ομάδα ψαριών που διατράφηκε με το υψηλά επίπεδα του μυγαλεύρου είχε σημαντικά χαμηλότερο τελικό βάρος, ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR) και συντελεστή αποδοτικότητας πρωτεϊνών (PER), και σημαντικά αυξημένο συντελεστή μετατρεψιμότητας τροφής (FCR) συγκριτικά με τα ψάρια που διατράφηκαν με χαμηλότερα ποσοστά συμμετοχής του μυγαλεύρου στην τροφή. Αυτό δείχνει ότι αυξημένα επίπεδα συμμετοχής του απολιπασμένου αλεύρου *H. illuscens* στο σιτηρέσιο της τάξης του 17% οδηγούν σε μειωμένη ανάπτυξη της τσιπούρας και μειωμένη αξιοποίηση της τροφής από αυτήν.

Δυστυχώς, η απευθείας σύγκριση της ανάπτυξης των ομάδων ψαριών που διατράφηκαν με μυγάλευρο με την ομάδα ψαριών που διατράφηκε αποκλειστικά με ιχθυάλευρο δεν μπορεί να γίνει μιας και τα σιτηρέσια τους δεν ήταν ισοπρωτεϊνικά και ισοενεργειακά. Τεχνικά προβλήματα κατά την κατάρτιση, πελλετοποίηση και αξιολόγηση της θρεπτικής σύστασης της τροφής Δ, οδήγησαν στη επίτευξη σιτηρεσίων μη ισοπρωτεϊνικών και ισοενεργεικών και επομένως η στατιστική σύγκριση δεν μπορεί να γίνει στον παρόν στάδιο. Παρόλα αυτά, προέκυψαν

συμπεράσματα, τα οποία έδωσαν αποτελέσματα που αξίζει να εκτιμηθούν συγκρίνοντας τις αποδόσεις των ψαριών που διατράφηκαν με μυγάλευρο με εκείνη των ψαριών που διατράφηκαν αποκλειστικά με ιχθυάλευρο. Παρατηρήθηκε, λοιπόν, ότι η ενσωμάτωση απολιπασμένου μυγαλεύρου σε χαμηλά ποσοστά (5,8% και 11,6%) οδήγησε σε ελαφρώς καλύτερους δείκτες ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής στα ψάρια, σε σύγκριση με τα ψάρια που διατράφηκαν αποκλειστικά με ιχθυάλευρο. Πιθανότατα, αυτό μπορεί να οφείλεται στη μειωμένη περιεκτικότητα πρωτεΐνης στην ομάδα ιχθυαλεύρου, αλλά λαμβάνοντας υπόψη τον συντελεστή αποδοτικότητας πρωτεΐνης (PER) μεταξύ των ομάδων, διαφαίνεται ότι η πρωτεΐνη του μυγάλευρου μεταβολίστηκε σε υψηλό βαθμό οδηγώντας σε υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης στις ομάδες Α και Β. Οι αναλύσεις της θρεπτικής σύστασης της σάρκας των ψαριών (δεν παρουσιάζονται εδώ) θα διαφωτίσουν περαιτέρω αυτού του είδους τα ευρήματα. Επίσης, ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) και των τεσσάρων σιτηρεσίων διατηρήθηκε σε αρκετά χαμηλά επίπεδα (1,15 – 1,60), παρά το γεγονός ότι τα ψάρια σιτίζονταν σε «φαινόμενο κορεσμό» που θα μπορούσε να οδηγήσει σε υψηλές τιμές του συντελεστή. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα πως το άλευρο από *Hermetia illucens* αξιοποιείται μεταβολικά σε πολύ μεγάλο βαθμό για την αύξηση του σωματικού βάρους από τα νεαρά ιχθύδια της τσιπούρας.

Λαμβάνοντας υπόψη, τα αποτελέσματα της προηγούμενης μελέτης της ερευνητικής ομάδας Karapanagiotidis *et al.* (2015) όπου είχε χρησιμοποιηθεί το πλήρες σε λιπαρά άλευρο *H. illucens*, φαίνεται ότι, η απολίπανση του αλεύρου δεν οδηγεί σε σημαντική βελτίωση της αποδοτικότητας του αλεύρου, ώστε να χρησιμοποιηθεί σε υψηλά επίπεδα συμμετοχής στο σιτηρέσιο της τσιπούρας. Η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη προσπάθεια αξιολόγησης του απολιπασμένου αλεύρου από *Hermetia illucens*, ως συστατικού στην ιχθυοτροφή της τσιπούρας.

Είναι γεγονός ότι, έχουν διεξαχθεί ποικίλες έρευνες στην αντικατάσταση της πρωτεΐνης του ιχθυάλευρου με πρωτεΐνη μύγας (BSF), που αφορούν τη διαίτα διαφόρων ιχθύων. Στην πληθώρα των περιπτώσεων, ανεξαρτήτως του είδους των ιχθύων, έχει αποδειχθεί ότι καμία από τις αντικαταστάσεις του ιχθυάλευρου δεν αποδίδει καλύτερα αποτελέσματα από αυτά που δίνει το ίδιο το ιχθυάλευρο (Karapanagiotidis *et. al* 2015, Kroeckel *et. al* 2012, Bondari & Seppard 1987). Βέβαια, το γεγονός αυτό, ρυμουλκεί σωρεία αντικρουόμενων απόψεων και συμπερασμάτων τόσο από κάποιες ερευνητικές ομάδες, όσο και από τις ίδιες επιχειρήσεις υδατοκαλλιέργειών, καθώς η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με άλλη πηγή πρωτεΐνης αποτελεί το κύριο παράγοντα βιωσιμότητας της ίδιας της επιχείρησης. Για του λόγου το αληθές, έχει βρεθεί ότι η μερική αντικατάσταση (25%) με μυγάλευρο (BSF) σε εκτροφή γατόψαρου φέρει πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα, όσον αφορά τον παράγοντα που σχετίζεται με την αύξηση του βάρους, γεγονός που συμφωνεί πλήρως με την παρούσα έρευνα (Newton *et. al* 2005). Αντιστοίχως, σε εκτροφή πέστροφας που δοκιμάστηκε αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με 0%, 25% και 50% απολιπασμένου μυγάλευρου, τα αποτελέσματα δεν έδειξαν στατιστικές διαφορές σε καμία από τις περιπτώσεις συγκριτικά με το μάρτυρα (Gasco *et. al* 2015). Και στις δυο προαναφερθείσες περιπτώσεις, οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η μερική αντικατάσταση του ιχθυάλευρου με μυγάλευρο είναι τόσο εφικτή όσο και αποτελεσματικότερη σε σχέση με το μάρτυρα. Αντιθέτως, σύμφωνα με έρευνα που πραγματοποιήθηκε προκειμένου να προσδιοριστεί το προφίλ των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) στον ιστό της τσιπούρας, αναφέρεται ότι, έγιναν αντικαταστάσεις της πρωτεΐνης του ιχθυαλεύρου με πρωτεΐνη μη απολιπασμένης πράσινης μύγας (*Lucilia sericata*), της τάξεως του 25 και 50% στο σιτηρέσιο του

συγκεκριμένου είδους και δεν παρατηρήθηκαν στατιστικές διαφορές στην ανάπτυξη του (Hano *et. al* 2015).

Περαιτέρω έρευνες με τη χρήση πρωτεϊνών εντόμων, τόσο του είδους *H. illuscens* όσο και άλλων ειδών εντόμων, στα σιτηρέσια των εκτρεφόμενων ιχθύων είναι αναγκαίες ώστε να διαφανεί η καταλληλότητα και τα μέγιστα επίπεδα συμμετοχής τους στις ιχθυοτροφές. Η υψηλή διατροφική αξία των εντόμων και η δυνατότητα χρησιμοποίησης τους ως φθηνά και αειφορικά παραγόμενα συστατικά ιχθυοτροφών, τα καθιστούν μια αρκετά υποσχόμενη προοπτική ως προς την αειφορία του κλάδου των υδατοκαλλιεργειών, τόσο στη χώρα μας όσο και παγκοσμίως.



## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εκτροφή της τσιπούρας με το απολιπασμένο άλευρο *Hermetia illucens* συνοψίζονται στα εξής:

- Αυξημένα επίπεδα συμμετοχής του απολιπασμένου αλεύρου *H. illucens* στο σιτηρέσιο της τάξης του 17% οδηγούν σε χαμηλότερη κατανάλωση και σε αυξημένες θνησιμότητες της τσιπούρας συγκριτικά με χαμηλότερα επίπεδα συμμετοχής του αλεύρου στο σιτηρέσιο.
- Αυξημένα επίπεδα συμμετοχής του απολιπασμένου αλεύρου *H. illucens* στο σιτηρέσιο της τάξης του 17% οδηγούν σε μειωμένη ανάπτυξη της τσιπούρας και μειωμένη αξιοποίηση της τροφής από αυτήν.

## 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 6.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- **Alegbeleye W.O.**, Obasa S.O., Olude O.O., Otubu K., Jimoh, W. (2012) Preliminary evaluation of the nutritive value of the variegated grasshopper (*Zonocerus variegatus* L.) for African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell. 1822) fingerlings. *Aquac. Res.* 43, 412–420.
- **Barroso F.G.**, deHaro C., Sanchez-Muros M.J., Venegas E., Martinez-Sanchez A., Perez-Ban C. (2014) The potential of various insect species for use as food
- **Begun N.N.**, Chakraborty S.C., Zaher M., Abdul M.M., Gupta M.V., (1994) Replacement of fishmeal by low cost animal protein as a quality fish feed ingredients for the Indian major carp, *Labeo rohita*, fingerlings. *J.Sci. Food Agric.* 64, 191–197.
- **Blonk H.**, Kool A., Luske B. (2008) Milieueffecten van Nederlandse consumptie van eiwitrijke producten (Environmental Effects of Dutch Consumption of Protein-rich Products). BMA/VRM, Gouda, Nederland (in Dutch).
- **Bondari K.** & Sheppard D.C. (1987) Soldier fly *Hermetia illucens* L., as feed for channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), and blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner). *Aquaculture and Fisheries Management*, 18: 209 - 220.
- **Diener S.**, Zurbrugg C., Tockner K. (2009) Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. *Waste Manage. Res.* 27, 603–610
- **Dong Y.P.**, Wu Q.Y. (2010) Research status of development and utilization for silkworm chrysalis protein. *Acad. Period. Farm Prod. Process.* 211, 17–20.
- **Drew D.J.W.**, Drew J.J., Kotze J.A., Pieterse E., Richards C.S., Rudolphe R., Watson P.R., Claims D. (2014) Agriprotein: Building the World's Largest Insect Rearing Protein Farm – A History Vision. *Insects to Feed The World*, Ede-Wageningen, The Netherlands, pp. 60.
- **Erickson M.C.**, Islam M., Sheppard C., Liao J., Doyle M.P. (2004) Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in chicken manure by larvae of the black soldier fly. *J. Food Prot.* 67, 685–690
- **Fakayode O.S.**, Ugwumba A.A.A. (2013) Effects of replacement of fishmeal with palm grub (*Oryctes rhinoceros* (Linnaeus, 1758) meal on the growth of *Clarias*

- garipepinus* (Burchell, 1822) and *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840) fingerlings. *Fish. Aquat. Sci.* 8,101–107.
- **FAO (2013)** Food Outlook, Biannual Report on Global Food Markets. FAO, Rome, Italy, pp.134.
  - **FAO (2014)** In: Graziano da Silva, J. (Ed.), The state of World Fisheries and Aquaculture, Opportunities and Challenges. FAO, Rome, p.3. for fish. *Aquaculture* 422-423,193–201.
  - **Francis G.,** Makkar H.P.S. and Becker K. (2001) Antinutritional factors present in plant derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*,199: 197–227.
  - **Gasco L.,** Stas M., Schiavone A., Rotolo L., De Marco M., Dabbou S., Renna M., Malfatto V., Lussiana C., Katz H., Zoccarato I., Gai F. (2015) USE OF BLACK SOLDIER FLY (*HERMETIA ILLUCENS*) MEAL IN RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) FEEDS. *Aquaculture Europe 2015*, Rotterdam, Netherlands.
  - **Gatlin D.M.,** FT,B., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T.G., Hardy R.W., Herman E., Hu G.S., Krogdahl A., Nelson R., Overturf 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. *Aquac. Res.* 38,551–579.
  - **Gomez-Requeni P.,** Mingarro M., Kirchner S., Caldach-Giner J.A., Medale F., Corraze G., Panserat S., Martin S.A.M., Houlihan D.F., Kaushik S.J. and Perez-Sanchez J. (2003) Effects of dietary amino acid profile on growth performance, key metabolic enzymes and somatotrophic axis responsiveness of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*,220: 749 – 767.
  - **Hardy R.W.** (2002) Rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. In: Webster, C.D., Lim,C.E.(Eds.), *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*. Harworth Press, Binghampton, New York, USA, pp.184–202.
  - **Henry M.,** Gasco L., Piccolo G., Fountoulaki E. (2015) Review on the use of insects in the diet of farmed fish: past and future. *Animal Feed Science and Technology*. 203: 1- 22.
  - **Jackson A.** (2009) The continuing demand for sustainable fishmeal and fish oil in aquaculture diets. *International Aquafeed*, 12: 32 – 33.
  - **Jeyachandran P.,** Raj S.P. (1976) Experiments with artificial feeds on *Cyprinus carpio* fingerlings. *J.Inland Fish.Soc.India*8,33–37.

- **Ji, H.**, Zhang J.L., Huang J.Q., Cheng X.F., Liu C. (2013) Effect of replacement of dietary fishmeal with silkworm pupae meal on growth performance, body composition, intestinal protease activity and health status in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var Jian). *Aquac. Res.*, 1–13 (Early view on inervation).
- **Johri R.**, Singh R., Johri P.K. (2011) Impact of formulated plant and animal supplemented diets on nutritional efficiency, growth and body composition in juveniles of *Clarias batrachus* in experimental tanks. *J. Exp. Zool. India* 14,59–68.
- **Karapanogiotidis I.**, Daskalopoulou E., Vogiatzis I., Rumbos C., Mente E., Athanassiou C. (2015) *Hermetia Illucens* PREPUPAE MEAL AS A PROTEIN SOURCE IN THE DIET OF GILTHEAD SEABREAM (*Sparus aurata*). *Aquaculture Europe 2015*, Rotterdam, Netherlands
- **Kroeckel S.**, Harjes A.G.E., Roth I., Katz H., Wuertz S., Susenbeth A., Schulz C. (2012) When a turbot catches a fly: evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fishmeal substitute –growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 364-365, 345–352.
- **Lee, J.**, Choi, I.C., Kim, K.T., Cho, S.H., Yoo, J.Y., 2012. Response of dietary substitution of fishmeal with various protein sources on growth, body composition and blood chemistry of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*, Temminck&Schlegel,1846). *Fish Physiol. Biochem.* 38,735–744.
- **Liu Q.**, Tomberlin J.K., Brady J.A., Sanford M.R., Yu Z. (2008) Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae reduce *Escherichia coli* in dairy manure. *Environ. Entomol.* 37, 1525–1530.
- **Lock E.-J.**, Arsiwalla T., Waagbo R. (2014) Insect meal: a promising source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmon salar*). In: Vantomme P., Munke C., van Huis A. (Eds.), 1<sup>st</sup> International Conference “Insects to Feed the World”. Wageningen University, Ede - Wageningen, The Netherlands, p. 67.
- **Makkar H.P.S.**, Tran G., Heuze V., Ankers P. (2014) Stat – of – the –art on use of insects as animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* 197 (0), 1–33, <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>.
- **Naylor R.L.**, Hardy R.W., Bureau D.P., Chiu A., Elliott M., Farrell A.P., Forster I., Gatlin D.M., Goldburg R.J., Hua K., Nichols P.D. (2009) Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proc. Natl. Acad. Sci. India Sect. B: Biol. Sci.* 106,15103–15110.

- **Newton G.L.**, Sheppard D.C. ,Watson D.W., Burtle G.J., Dove C.R., Tomberlin J.K., Thelen E.E. (2005) The black soldier fly, *Hermetia illucens* as a manure management / resource recovery tool. In: Symposium on the State of the Science of Animal Manure and Waste Management, San Antonio, TX, USA.
- **Ng W-K.**, Liew F-L., Ang L-P., Wong K.-W. (2001) Potential of meal worm (*Tenebrio molitor*) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquac.Res.*32, 273–280.
- **Nogueira N.**, Cordeiro N., Andrade C., and Aires T. (2012) Inclusion of low levels of blood and feathermeal in practical diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 12: 641 – 650.
- **Oonincx, D.G.A.B.**, de Boer, I.J.M. (2012) Environmental impact of the production of mealworms as a protein source for humans – a life cycle assessment. *PLoS ONE*, 7.
- **Piccolo G.**, Marono S., Gasco L., Iannaccone F., Bovera F., Nizza A. (2014) Use of *Tenebrio molitor* larvae meal in diets for gilthead sea bream *Sparus aurata* juveniles. In: *Insects to Feed The World*, The Netherlands, 14–17 May 2014. p. 76.
- **Pusztai A.** & Bardocz S. (2006) GMO in animal nutrition: potential benefits and risks. In: Mosenthin R., Zentek J., Zebrowska T. (eds.), *Biology of nutrition in growing animals*. Elsevier, Edinburgh, UK, pp. 513–540.
- **Ravi C.**, Jeyashree A., Renuka Devi K. (2011) Antimicrobial peptides from insects: an overview. *Res.Biotechnol.*2, 1–7.
- **Rumpold B.A.**, Schluter O.K. (2013) Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 17, 1–11.
- **Rust, M.B.** (2002) Nutritional physiology. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.) ,*Fish Nutrition*. The Academic Press, New York, USA, pp. 368 – 446.
- **Sanchez - Muros M. - J.**, Barroso F.G., Manzano –Agugliaro F. (2014) Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review .*J. Clean. Prod.* 65, 16–27, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.11.068>.
- **Schabel H.G.** (2010) Forests insects as food: a global review. In: Durst, P.B., Johnson D.V., Leslie R.N., Shono K. (Eds.), *Forests Insects as food: Humans Bite Back*. FAO, Bangkok, Thailand, pp.37–64.
- **Sealey W.M.**, Gaylord T G., Barrows F.T., Tomberlin J.K., McGuire M.A., Ross C. and St-Hilaire S. (2011) Sensory Analysis of Rainbow Trout,

- Oncorhynchus mykiss, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia illucens*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42: 34–45.
- **Shahidi, F.** (2005) Chitin, Chitosan, and Co-products: Chemistry, Production, Applications, and Health effects, *Advances in food and nutrition research*, vol 49.
  - **Sheppard C.,** Newton G.L., Thompson S.A., Savage S. (1994) A value added manure management system using the black soldier fly. *Bioresour. Technol.* 50, 275–279.
  - **St-Hilaire S.,** Sheppard C., Tomberlin J.K., Irving S., Newton L., McGuire M.A., Mosley E.E., Hardy R. and Sealey W. (2007a) Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 38:5 9– 67.
  - **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.
  - **Tacon A.G.J.** (1997) Feeding tomorrow's fish: keys for sustainability. In: Tacon A.G.J., Basurco B. (eds.), *Feeding tomorrow's fish. Cahiers options Mediterraneennes*, Zaragoza, Spain, 22: pp.11–33.
  - **Tacon A.G.J.** (2004) Use of fish meal and fish oil in aquaculture: a global perspective. *Aquatic Resources, Culture & Development*, 1: 3–14.
  - **Tidwell J.H. & Allan G.L.** (2002) Fish as food: Aquaculture's contribution. *World Aquaculture*, 33: 44–48.
  - **van der Spiegel M.,** Noordam M.Y., van der Fels-Klerx H.J. (2013) Safety of novel protein sources (insects, microalgae, seaweed, duckweed, and rapeseed) and legislative aspects for their application in food and feed production. *Compr.Rev.FoodSci.FoodSaf.* 12, 662–678.
  - **van Huis A.** (2013) Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annu. Rev. Entomol.* 58, 563–583.
  - **Veldkamp T.,** van Duinkerken G., van Huis A., Lakemond C.M.M., Ottevanger E., Bosch G., van Boekel M.A.J.S. (2012). Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets –a feasibility study. *Wageningen UR Live stock Production*, report 638, pp.1–48.
  - **Zhao W.,** Lu L. Tang Y. (2010) Research and application progress of insect antimicrobial peptides on food industry. *Int. J. Food. Eng.* 6, Article 10.

## 6.2 Ελληνική βιβλιογραφία

- **Καραπαναγιωτίδης Ι.** (2011) Τεχνολογία Ιχθυοτροφών. Σημειώσεις μαθήματος, σελ 39 – 40.
- **Καραπαναγιωτίδης Ι.** (2015) Τεχνολογία Ιχθυοτροφών. Σημειώσεις μαθήματος, σελ 44 – 45.
- **Μεντέ Ε. & Νέγκας Ι.** (2011) Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, σελ. 224 – 228.

## ABSTRACT

The effects of fishmeal protein replacement of a de-fatted meal from the black soldier fly *Hermetia illuscens* in the diet of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) was studied. *S. aurata* fingerlings of  $2.40 \pm 0.27$  g mean weight were allocated into 12 glass aquarium (125L) within a closed recirculation seawater system and divided into 4 dietary groups (25 fish/aquarium, 3 aquariums/dietary group), each feeding on a different diet. Diets A, B and C contained 5.8 %, 11.6 % and 17.4 % of de-fatted *H. illuscens* meal, respectively. These three diets were isoenergetic (21.6 MJ/Kg diet) and iso-nitrogenous (47% of diet). The fourth group was fed with a diet (D) contained fishmeal as the exclusive animal dietary protein and compared to the other three diets, its protein content was a little bit lower (42.5%) and its total energy level was slightly higher (22.4 MJ / Kg) than the other ones. Feeding was six days per week, once daily, *ad libitum*.

Results of the present study demonstrated that the highest level of de-fatted *H. illuscens* meal replacement (17.4 %) leads to lower growth, reduced food consumption and feed efficiency, as well as, higher mortality rates compared to the diets contained 5.8% and 11.6% of de-fatted *H. illuscens*, respectively. In contrast, these low levels of replacement showed similar growth rates and feed efficiency with the diet that contained only fishmeal. However, de-fatted *H. illuscens* meal does not significantly improve the efficiency of sea bream's feed and it cannot be used in high levels. Nevertheless, there are various insects that should be tested in sea bream breeding and further research is required to be done because the data is still incomplete.

**Key-words:** *fish nutrition, Sparus aurata, replacement of fishmeal, Hermetia illucens, insect proteins.*