

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

**ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Ανάλυση πεπτικού ενζύμου πεψίνης σε τσιπούρες *Sparus aurata*  
εκτρεφόμενες με διαφορετικά σιτηρέσια**

**Πέρτσαλης Αθανάσιος**

**Βόλος 2017**

**«Ανάλυση πεπτικού ενζύμου πεψίνης σε τσιπούρες *Sparus aurata* εκτρεφόμενες με διαφορετικά σιτηρέσια»**

### **Διμελής Εξεταστική Επιτροπή**

- 1) **Έλενα Μεντέ**, Καθηγήτρια, Φυσιολογία θρέψης ιχθύων, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, *Επιβλέπουσα*.
- 2) **Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης**, Επίκουρος Καθηγητής, Διατροφή Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, *Μέλος*.

*Στην οικογένειά μου*

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επιβλέπουσα της εργασίας αυτής, Καθηγήτρια κα Ε. Μεντέ για την πολύτιμη βοήθειά της και τη διαρκή υποστήριξή της, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και το μέλος της εξεταστικής επιτροπής μου, τον κ. Ι. Καραπαγιωτίδη για τις χρήσιμες συμβουλές του και την καθοδήγησή του καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά το επιστημονικό προσωπικό του Εργαστηρίου Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και ιδιαίτερα την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα Α. Μούτου, όπου έγιναν οι αναλύσεις του ενζύμου, για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθειά τους, όσον αφορά την προμήθεια εργαστηριακού υλικού. Επίσης, την κα Ι. Χατζηπλάτων, τον κ. Π. Ψοφάκη και την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα Π. Παναγιωτάκη για την αμέριστη συμπαράστασή τους κατά τη διάρκεια του πειράματος. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα ιχθυοαποθέματα που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή των ιχθυαλεύρων με τα οποία σιτίζονται τα ψάρια των ιχθυοεκτροφών συνεχώς μειώνονται, δημιουργώντας έτσι την ανάγκη για την χρησιμοποίηση εναλλακτικών πηγών πρώτων υλών, όπως είναι τα υποπροϊόντα μεταποίησης ζωικής πρωτεΐνης από πουλερικά. Στην παρούσα μελέτη μετρήθηκε η δραστηριότητα του πεπτικού ενζύμου πεψίνης, σε 24 άτομα του είδους *Sparus aurata* τα οποία διατράφηκαν είτε με σιτηρέσιο που περιείχε ιχθυάλευρο ως αποκλειστική ζωική πρωτεΐνη (100% ιχθυάλευρο) (FM), είτε με σιτηρέσιο στο οποίο αντικαταστάθηκε η πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου με πρωτεΐνη πτηναλεύρου κατά 50% (PM50), είτε με σιτηρέσιο στο οποίο αντικαταστάθηκε η πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου με πρωτεΐνη υδρολυμένου περαλεύρου κατά 50% (FeM50). Παρατηρήθηκαν υψηλότερες στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P < 0,05$ ) στα επίπεδα της πρωτεολυτικής δραστηριότητας της πεψίνης στη διατροφική μεταχείριση PM50 σε σχέση με τις μεταχειρίσεις FeM50 και FM. Εντοπίστηκαν, επίσης, στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P < 0,05$ ) ανάμεσα στην πρωτεΐνη στο στομάχο όπου ήταν υψηλότερη στη διατροφική μεταχείριση του FM σε σχέση με τις διατροφικές μεταχειρίσεις PM50 και FeM50. Ως προς το βάρος του στομάχου δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $P > 0,05$ ). Η διατροφή με 50% ιχθυάλευρο και 50% πτηνάλευρο στις τσιπούρες μεγέθους 30 γρ. προκαλεί μεγαλύτερη δραστηριότητα της πεψίνης στο στομάχι με αποτέλεσμα την μεγαλύτερη αποικοδόμηση (πέψη) των πρωτεϊνών της ιχθυοτροφής.

**Λέξεις κλειδιά:** Τσιπούρα, εναλλακτικές πηγές πρωτεΐνης, υποπροϊόντα πουλερικών, πεψίνη

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ</b> .....	
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	i
<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	1
1.1. Συστηματική κατάταξη και βιολογία της τσιπούρας.....	1
1.2. Φυσιολογία θρέψης ιχθύων.....	5
1.3. Μορφολογία πεπτικού συστήματος.....	7
1.4. Πέψη .....	8
1.4.1. Πέψη πρωτεϊνών .....	10
1.5. Τροφές .....	11
1.5.1. Ιχθυάλευρα.....	13
1.5.2. Πτηνάλευρα και πτεράλευρα.....	14
1.6. Διατροφή εκτρεφόμενης τσιπούρας .....	15
1.7. Σκοπός.....	16
<b>2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b> .....	17
2.1. Πειραματικά ζώα.....	17
2.2. Στόμαχος .....	17
2.3. Μέτρηση ενζυμικής δραστηριότητας .....	18
2.4. Στατιστική επεξεργασία.....	19
<b>3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b> .....	20
<b>4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b> .....	25
<b>5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	45
5.1. ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	45
5.2. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	45
5.3. ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	46
<b>6. ABSTRACT</b> .....	51

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1. Συστηματική κατάταξη και βιολογία τσιπούρας

Βασίλειο: Animalia

Συνομοταξία: Chordata

Υποσυνομοταξία: Vertebrata

Υπερομοταξία: Gnathostomata

Ομοταξία: Osteichthyes

Υπέρταξη: Teleostei

Τάξη: Perciformes

Υπόταξη: Percoidei

Οικογένεια: Sparidae

Γένος: Sparus

Είδος: *S. Aurata*

Η τσιπούρα, *Sparus aurata*, ένα από τα κυριότερα εκτρεφόμενα είδη της θάλασσας, έχει μέγεθος που κυμαίνεται, συνήθως, μεταξύ 30-40 cm (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012). Παρόλα αυτά έχει παρατηρηθεί άτομο με μήκος 76 cm. Αν και το μέγιστο βάρος ψαριού που έχει δημοσιευτεί για το είδος αγγίζει τα 17,2 kg , συνήθως το βάρος του κυμαίνεται γύρω στα 300 g με 600 g ([www.helfish.gr/el/products/bream/](http://www.helfish.gr/el/products/bream/)). Το σώμα της είναι επίμηκες, πεπλατυσμένο και συμπιεσμένο πλευρικά. Φέρει κυρτή ράχη, μεγάλο, κυρτό ρύγχος με χοντρά χείλη και στόμα μικρό με 6 κυνόδοντες με την κάτω γνάθο του να διαθέτει πολλά μικρά στρογγυλεμένα δόντια σε 5-6 σειρές τα οποία χρησιμεύουν για να συνθλίβει την τροφή του. Οι ακτίνες του ραχιαίου και του εδρικού πτερυγίου είναι μαλακές και σκληρές με αριθμό DXI/13-14 και AIII/11-12, αντίστοιχα. Έχει μεγάλο μεγέθους κτενοειδή λέπια και θωρακικά πτερύγια. Ο αριθμός των λεπιών



της πλευρικής γραμμής είναι 73-85 και φτάνουν μέχρι την βάση του ουραίου πτερυγίου. Έχει ασημί-γκρι σώμα με σκούρα ράχη και ανοιχτόχρωμες πλευρές και κοιλιά. Στην αρχή της πλευρικής γραμμής, καλύπτοντας και μέρος από το άνωθεν τμήμα του βραγχιοκαλύμματος, εντοπίζεται μια μαύρη κηλίδα, ενώ στο τέλος του βραγχιοκαλύμματος υπάρχει μια κόκκινη γραμμή. Στο μέτωπο, ανάμεσα στα μάτια της βρίσκεται μία κίτρινη γραμμή σχήματος V (Sola et al. 2006, Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012).

Πρόκειται για είδος βενθικό που ζει κυρίως σε βραχώδεις πυθμένες με φύκια αλλά απαντάται και σε αμμώδη μέρη, σε παράκτιες περιοχές και σε βάθη 1-30 m. Ωστόσο, τα ενήλικα άτομα είναι πιθανό να εντοπιστούν ακόμη και σε βάθη έως 150 m. Συχνά εισέρχεται σε υφάλμυρα οικοσυστήματα (λιμνοθάλασσες, δέλτα ποταμών). Ζει μοναχικά ή σε μικρά κοπάδια (Sola et al. 2006, Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012). Είναι σαρκοφάγο και τρέφεται κυρίως με ζωοβένθος. Η διατροφή της περιλαμβάνει ζωοπλαγκτόν (κωπήποδα, αμφίποδα, νύμφες καρκινοειδών), μικρά καρκινοειδή (καβούρια, γαρίδες), σκουλήκια (πολύχαιτους), μαλάκια (γαστερόποδα), έντομα, οστρακοειδή (μύδια, στρείδια), μικρά ψάρια και κεφαλόποδα. Η διατροφή του κάθε ατόμου διαφέρει ανάλογα με το μέγεθος του και τη διαθεσιμότητα της τροφής (Wassef & Abu Wafaa 1985). Τα ιχθύδια μικρής ηλικίας τρέφονται κυρίως με πολύχαιτους και μικρού μεγέθους καρκινοειδή. Τα μεγαλύτερα με μύδια, γαστερόποδα, καρκινοειδή (Χώτος & Ρογδάτης 2010).

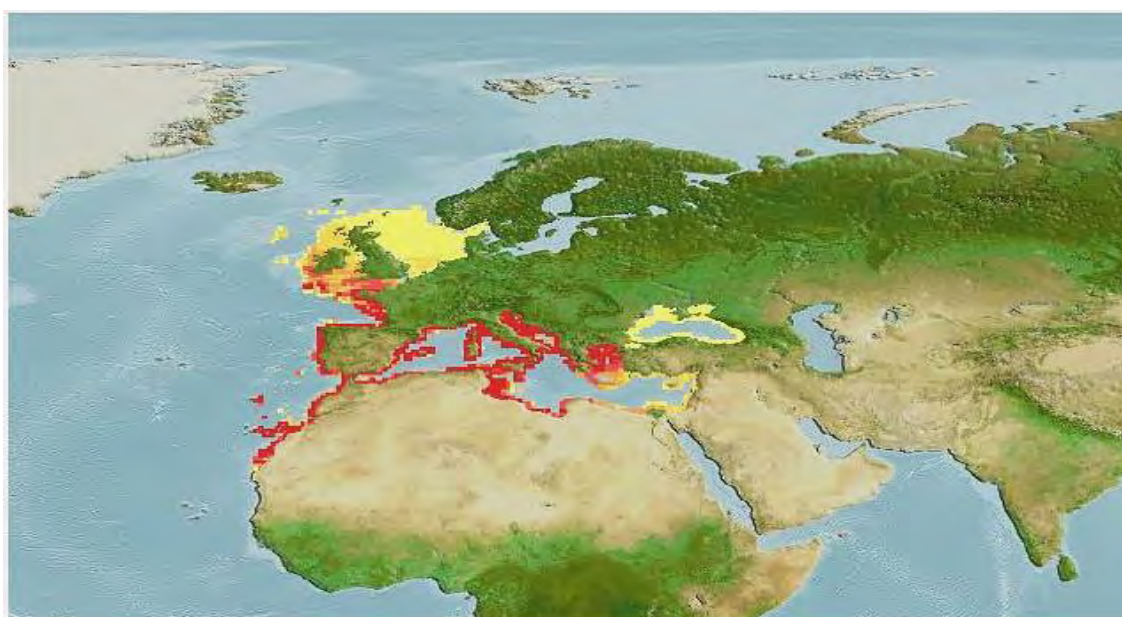
Η τσιπούρα είναι πρωτανδρικός ιχθύς, δηλαδή γεννιέται ως αρσενικό και μετά το πέρας περίπου 2-3 χρόνων κάνει αναστροφή φύλου και γίνεται θηλυκό. Πρώτα ωριμάζει αναπαραγωγικά ως αρσενικό στο 1<sup>ο</sup>-2<sup>ο</sup> έτος, όπου το ολικό της μήκος είναι 20-30 cm και έπειτα ως θηλυκό στο 2<sup>ο</sup>-3<sup>ο</sup> έτος με σύνηθες μήκος 30-40 cm. Στα

αρσενικά το βάρος είναι 350-400 γραμμάρια, ενώ στα θηλυκά περίπου 600 γραμμάρια. Η ωοτοκία διαρκεί από τον Οκτώβριο μέχρι το Δεκέμβριο. Κάθε θηλυκό, έχοντας διαδοχικές ωοτοκίες, γεννά 20.000 με 80.000 αυγά την ημέρα τα οποία και εναποθέτει σε υπόστρωμα ή τα απελευθερώνει στην υδάτινη στήλη. Η εκκόλαψη διαρκεί δύο ημέρες σε θερμοκρασίες που σε ιδανικές συνθήκες κυμαίνονται στους 16-17° C. Το μέγεθος των αυγών είναι 0,9-1,1 mm και της ιχθυονύμφης 2,5-3 mm, η οποία υφίσταται πλήρη μεταμόρφωση εντός πενήντα ημερών. Τα ιχθύδια γεννιούνται στα ανοικτά νερά και στη συνέχεια κολυμπούν την άνοιξη μέχρι τα ρηχά νερά, όπου είναι πιο ασφαλή και η τροφή πιο άφθονη. Μένουν εκεί μέχρι τον Οκτώβριο. Μετά ενσωματώνονται στο αρχικό κοπάδι και λαμβάνουν μέρος στην αναπαραγωγή. Κάτι αξιοσημείωτο για την τσιπούρα είναι ότι ενώ μπορεί να είναι σε διαδικασία αλλαγής φύλου από αρσενικό σε θηλυκό, μπορεί να τη διακόψει, και να ξαναπαράγει σπέρμα για την ερχόμενη αναπαραγωγική περίοδο (Παπουτσόγλου 1994, Sola et al. 2006).

Το *S. aurata* έχει ευρύαλες και ευρύθερμες συνήθειες. Ζει σε υποτροπικά κλίματα (60°N – 14°N, 26°W – 36°E) και είναι πολύ ευαίσθητο στις χαμηλές θερμοκρασίες με το χαμηλότερο θανατηφόρο όριο να είναι στους 4°C (<http://www.helfish.gr/el/products/bream/>). Λόγω των παραπάνω, το *S. aurata* είναι κοινό στη Μεσόγειο, ιδίως στο κεντρικό και ανατολικό τμήμα της, είναι παρόν κατά μήκος των ανατολικών ατλαντικών ακτών από τη Μεγάλη Βρετανία στη Σενεγάλη, και είναι σπάνιο στη Μαύρη Θάλασσα. Αντιπρόσωποι του είδους βρίσκονται και γύρω από τα Κανάρια Νησιά (Sola et al. 2006).

Η μέση ηλικία στην οποία βρίσκονται τα ψάρια στο φυσικό τους περιβάλλον είναι μεταξύ 1,4 και 4,4 χρόνων. Παρόλα αυτά σε συνθήκες αιχμαλωσίας μπορούν να διπλασιάσουν αυτό το χρόνο καθώς ξεπερνούν τα 10 χρόνια με μέγιστη δημοσιευμένη

ηλικία τα 11 χρόνια. Σχετικά με την εκτροφή της τσιπούρας οι πρώτες προσπάθειες πρόκλησης γεννητικής ωρίμανσής της, ξεκίνησαν στην Γαλλία και στην Ιταλία και αργότερα στην Ισπανία. Πλέον, η τεχνητή αναπαραγωγή της τσιπούρας πραγματοποιείται με επιτυχία μεγαλύτερη του 95%. Για την ανάπτυξη των νεαρών ιχθυδίων, χρησιμοποιούνται διάφορες φυσικές τροφές όπως κωπήποδα, τεμαχισμένα μύδια και τεμάχια ιχθύων ανάλογα με την ηλικία. Στο τελικό στάδιο της πάχυνσης τα νεαρά άτομα τσιπούρας μεταφέρονται σε πλωτούς ιχθυοκλωβούς επιτυγχάνοντας το εμπορεύσιμο βάρος σε 18 με 20 μήνες (Παπουτσόγλου 1994, Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012).



**Εικόνα 1.** Γεωγραφική εξάπλωση της τσιπούρας ([www.fishbase.org](http://www.fishbase.org))



**Εικόνα 2.** Τσιπούρα *S.aurata* ([www.fishbase.org](http://www.fishbase.org))

## **1.2. Φυσιολογία θρέψης ιχθύων**

Τα ψάρια με το στόμα τους προσλαμβάνουν μεγάλη ποικιλία τροφών ανάλογα με το ενδιαίτημά τους και τις διατροφικές τους προτιμήσεις και η πέψη ξεκινά από το στόμα και τον φάρυγγα με τη μηχανική διάσπαση των τροφών, χωρίς την έκκριση πεπτικών ενζύμων. Ο οισοφάγος επιτρέπει το πέρασμα της τροφής και προωθεί την τροφή προς το στομάχι όπου γίνεται η ανάμειξη και η πρωτογενής χημική πέψη της τροφής. Τα πεπτικά ένζυμα στα ψάρια παράγονται στο στομάχι, στο πάγκρεας και το έντερο (Μεντέ και Νέγκας, 2011), (Πίνακας 1.1). Γεγονός αποτελεί το ότι δεν παρουσιάζονται σε όλα τα ψάρια όλα τα πεπτικά ένζυμα. Έτσι, η πεψίνη απουσιάζει

στα ψάρια εκείνα τα οποία δεν έχουν στόμαχο και η χιτινάση εντοπίστηκε σε συγκεκριμένα είδη. Κάποια κύρια πεπτικά ένζυμα που εκκρίνονται υπό μορφή προενζύμων στα ψάρια είναι η πεψίνη, η θρυψίνη, η χιτίνη, η χυμοθρυψίνη, η ελαστίνη, η αμυλάση, η λιπάση, η εστεράση, η χιτινάση, η πρωτεάση, η χοληστερόλη, η αμινοπεπτιδάση και η λεκιθινάση (Naz et al. 2009).

**Πίνακας 1.** Προέλευση και συμμετοχή διαφόρων πεπτικών ενζύμων στις διεργασίες της χημικής πέψης (τροποποιημένο, μόνο για πεπτικά ένζυμα από Παπουτσόγλου 2008).

	<b>Πρωτεάσες</b>	<b>Εστεράσες</b>	<b>Καρβοϋδράσες</b>
<b>Συντίθενται- εκκρίνονται και ενεργούν στον στόμαχο</b>	πεψίνη	Λιπάσες	χιτινάσες, α-αμυλάση
<b>Συντίθενται- εκκρίνονται και ενεργούν στο έντερο</b>	αμινοπεπτιδάσες, διπεπτιδάσες, τριπεπτιδάσες	Λιπάσες	α-αμυλάση, α-γλυκοσιδάση, β-γλυκοσιδάση, λαμιναρινάση, χιτινάση, μαλτάση
<b>Συντίθενται- εκκρίνονται και ενεργούν στα πυλωρικά τυφλά ή μεταφέρονται σε αυτά με τον χυμό του αυλού του εντέρου</b>	γλουταμυλοπεπτιδάση, θρυψίνη, ελαστάση	αλκαλική φωσφατάση, φωσφολιπάση	α-γλυκοσιδάση, σουρκόζη, συνθάση
<b>Συντίθενται- εκκρίνονται στο πάγκρεας και ενεργούν στο έντερο και στην εσωτερική επιφάνεια της μεμβράνης των μικρολαχμών των απορροφητικών κυττάρων του επιθηλίου του εντερικού βλεννογόνου</b>	θρυψίνη, χυμοθρυψίνη, ελαστάση, καρβοξυπεπτιδάση	Λιπάσες	α-αμυλάση, χιτινάσες
<b>Δεσμεύονται από τον εντερικό αυλό και ενεργούν στις μεμβράνες των απορροφητικών κυττάρων</b>	Αμινοπεπτιδάσες, διπεπτιδάσες, τριπεπτιδάσες, θρυψίνη, χυμοθρυψίνη, καρβοπεπτιδάσες	Λιπάσες	α-αμυλάση, β-αμυλάση, μαλτάση

### 1.3. Μορφολογία πεπτικού συστήματος

Το πεπτικό σύστημα της τσιπούρας είναι τυπικό των σαρκοφάγων ιχθύων και αποτελείται από το στόμα, τον οισοφάγο, τον στομάχο, τον πυλωρό, τα πυλωρικά τυφλά, το έντερο, το οποίο χωρίζεται σε πρόσθιο, μεσαίο και οπίσθιο τμήμα και την έδρα, καθώς και από τους πεπτικούς αδένες που το απαρτίζουν. Το στόμα αποτελεί το όργανο εκείνο μέσω του οποίου το νερό και η τροφή εισέρχονται στον οργανισμό του ιχθύ. Οι σιαγόνες, η γλώσσα, ο ουρανίσκος και τα βραγχοκαλλύματα είναι συντονισμένα μεταξύ τους. Όσον αφορά τα δόντια, στις περιπτώσεις που υπάρχουν, χρησιμοποιούνται για σύνθλιψη της τροφής και λειοτρίβιση της με τα φαρυγγικά δόντια. Ο οισοφάγος στους ιχθείς στην πλειοψηφία των περιπτώσεων είναι βραχύς και ευρύς. Επίσης, είναι ευδιάκριτος χάρη στους μύες του, είναι πλήρως ή εν μέρη ραβδοειδής και έχει την ιδιότητα να συσπάται εθελούσια, γεγονός που βοηθάει στη προώθηση της τροφής στο στομάχι. Η ιστολογική δομή του στομάχου χαρακτηρίζεται από την παρουσία τριών διακριτών χιτώνων (βλεννογόνος, μυϊκός και ορογόνος) όπου συνθέτουν ή συμβάλουν στη σύνθεση διαφόρων εξειδικευμένης δράσεως ουσιών (HCl, πεψινογόνο, πεψίνη). Το πεψιγόνο (προένζυμο) ενεργοποιείται σε όξινες συνθήκες και μετατρέπεται σε απόσπαση μέρους του μορίου του στο πρωτεολυτικό ένζυμο πεψίνη (καρβοξυλο-οξύ-πρωτεϊνάση) του οποίου η ενεργότητα ποικίλει ανάλογα με τη τιμή του pH του αυλού του στομάχου. Το pH του στομάχου είναι πάντοτε χαμηλό (pH 2-3). Ο πυλωρός ταυτίζεται με το τέλος του στομάχου. Ανατομικά και ιστολογικά ανήκει στον στομάχο και πρόκειται περί ισχυρού, κυκλικού σχήματος μυός, ο οποίος ενεργώντας ως σφιγκτήρας ελέγχει τη διέλευση της επεξεργασμένης τροφής από τον στομάχο στο λεπτό έντερο και συγχρόνως αποτρέπει την αντίθετη ροή.

Στη συνέχεια από τον πυλωρό, στον πεπτικό σωλήνα βρίσκεται το έντερο, το οποίο μπορεί να διακριθεί σε πρόσθιο τμήμα, μεσαίο, οπίσθιο τμήμα και έδρα. Στο πρόσθιο τμήμα του εντέρου που ακολουθεί μετά τον πυλωρό βρίσκονται τα πυλωρικά τυφλά, τα οποία είναι αποφύσεις του λεπτού εντέρου η παρουσία των οποίων χαρακτηρίζει την τσιπούρα. Τα πυλωρικά τυφλά δε διαφέρουν ιστολογικά από το έντερο του οποίου η δομή περιλαμβάνει βλεννογόνο, υποβλεννογόνο, μυικό και ορογόνο χιτώνα. Το ήπαρ είναι ένας μεγάλος αδένας που σε ορισμένα είδη μπορεί να φτάσει το 20% του σωματικού του βάρους και βρίσκεται είτε πάνω είτε γύρω από τον στόμαχο (Νεοφύτου 1997). Είναι υπεύθυνο για την έκκριση της χολής, την αποθήκευση του γλυκογόνου και άλλες βιοχημικές λειτουργίες. Το πάγκρεας, συνήθως, δε διαμορφώνεται ως ιδιαίτερο όργανο στους ιχθείς και είναι μια διάχυτη συγκέντρωση κυττάρων (Νεοφύτου 1997, Παπουτσόγλου 2008, Μεντέ και συν. 2011).

#### **1.4. Πέψη**

Πέψη ονομάζεται το σύνολο των φυσικών και χημικών διεργασιών που λαμβάνουν χώρα στον πεπτικό σωλήνα των ζωικών οργανισμών προκειμένου να αποδομηθεί η προσληφθείσα τροφή και να καταστεί εφικτή η απορρόφηση και κατ' επέκταση αξιοποίηση των κατάλληλων συστατικών της (Παπούτσογλου 2008). Η θρεπτική αξία ενός σιτηρεσίου και των συστατικών του εξαρτάται από τη χημική τους σύσταση και την ποσότητα των θρεπτικών συστατικών και της ενέργειας που δύναται να απορροφήσει και να αξιοποιήσει το ψάρι ύστερα από την κατανάλωσή τους. Η ποσοτικοποίηση της πέψης, δηλαδή η πεπτικότητα, εξαρτάται από πλήθος παραγόντων της ίδιας της τροφής, αλλά και του ψαριού και είναι βαρύνουσα σημασίας για την

ορθή διατροφική διαχείριση των εκτρεφόμενων οργανισμών. Από την προσληφθείσα τροφή, μόνο ένα ποσοστό πέπτεται και απορροφάται, ενώ το υπόλοιπο αποβάλλεται μέσω των περιττωμάτων (Βουλτσιάδου και συν. 2015). Θεωρείται, επίσης, σημαντικό να αναφερθεί ότι η ενεργότητα των ποικίλων ενζύμων που συμμετέχουν στη διαδικασία της πέψεως είναι δυνατόν να διαφοροποιείται μεταξύ των διαφόρων ειδών των ιχθύων, ακόμα και στη περίπτωση που δεν εντοπίζεται καμία διαφορά όσον αφορά το διατροφικό τους τύπο. Γενικά, η ενεργότητα των ενζύμων αυτών επηρεάζεται και ενδέχεται να μεταβάλλεται σε συνάρτηση με την τιμή του pH που επικρατεί στον πεπτικό σωλήνα του μικροοργανισμού, αλλά και την επίδραση ποικίλων παραγόντων του περιβάλλοντος που διαβιούν (Παπουτσόγλου 2008).

Στα περισσότερα είδη ψαριών τα πυλωρικά τυφλά είναι η κυριότερη περιοχή έκκρισης πεπτικών ενζύμων, ενώ ταυτόχρονα η αύξηση της επιφάνειας τους συμβάλλει στη μεγιστοποίηση της απορρόφησης των θρεπτικών. Καθώς οι πρωτεΐνες μετακινούνται κατά μήκος του εντέρου η διάσπασή τους συνεχίζεται σε pH 7-9. Τα ένζυμα που συμμετέχουν στην εντερική πέψη προέρχονται από δύο κυρίως πηγές, το πάγκρεας και τα εκκριτικά κύτταρα του εντερικού επιθηλίου. Το πάγκρεας παράγει μεγαλύτερη ποικιλία και ποσότητα πεπτικών ενζύμων σε σχέση με τα εκκριτικά κύτταρα του εντερικού επιθηλίου. Τα σημαντικότερα πρωτεολυτικά ένζυμα που παράγονται και εκκρίνονται από τα κυψελιδικά κύτταρα του παγκρέατος είναι η θρυψίνη, η χυμοθρυψίνη και η καρβοξυπεπτιδάση, ενώ από τα εκκριτικά κύτταρα του εντερικού επιθηλίου η αμινοπεπτιδάση, οι διπεπτιδάσες και οι τριπεπτιδάσες (Jobling 1995). Τέλος, σημαντικό ρόλο στη διεργασία της πέψης των ψαριών διαδραματίζει και η περισταλτική κίνηση του εντέρου, καθώς, επίσης, και τα εξωγενή ένζυμα της προσλαμβανόμενης λείας τους, όπως τα απομονωμένα ένζυμα βακτηριδίων ή άλλων



οργανισμών που προστίθενται στα σιτηρέσια των εκτρεφόμενων ψαριών, αλλά και η εντερική χλωρίδα του ίδιου του οργανισμού (Αντωνοπούλου, 2015).

Τα ένζυμα που συμμετέχουν στη χημική πέψη των ιχθύων είναι υδρολάσες (πρωτεϊνικής δομής, υδατοδιαλυτά ένζυμα) που καταλύουν την υδρόλυση πρωτεϊνών (πρωτεολυτικά ένζυμα-πρωτεάσες, πεπτιδάδες και πρωτεϊνάσες), εστέρων (λιπολυτικά ένζυμα-εστεράσες, λιπάσες) και υδατανθράκων (αμυλολυτικά ένζυμα, καρβοϋδράσες). Η χημική πέψη των τροφών ξεκινά από το στομάχι, όπως στην τσιπούρα, με το πρόσθιο τμήμα του εντέρου και τα πυλωρικά τυφλά, εφόσον υπάρχουν, να ακολουθούν. Η ποσοτική και ποιοτική συμμετοχή των ενζύμων στη χημική πέψη των ιχθύων σχετίζεται με το είδος και με τις διατροφικές συνήθειες του κάθε ψαριού (Παπούτσογλου 2008, Καραπαναγιωτίδης 2015).

#### **1.4.1. Πέψη πρωτεϊνών**

Οι πρωτεΐνες αποτελούν πολύπλοκες οργανικές ενώσεις που υπάρχουν σε όλα τα ζωντανά κύτταρα, φυτικά και ζωικά, και είναι συστατικά των διαφόρων ιστών και των οργάνων. Αποτελούνται από C, H, O και N (12-19%), S και συχνά και P. Διακρίνονται σε απλές πρωτεΐνες στις οποίες περιλαμβάνονται αλβουμίνες, σφαιρίνες ή γλοβουλίνες, γλουτελίνες, προλαμίνες, ιστόνες, πρωταμίνες κ.α. και σε σύνθετες πρωτεΐνες στις οποίες περιλαμβάνονται νουκλεοπρωτεΐνες, φωσφοροπρωτεΐνες, γλυκοπρωτεΐνες και λιποπρωτεΐνες (Καραπαναγιωτίδης 2015). Τα ψάρια έχουν καθημερινές διαιτητικές ανάγκες σε πρωτεΐνες προκειμένου να επιτελέσουν τις διάφορες μεταβολικές τους διεργασίες, όπως είναι η συντήρηση, ο καταβολισμός και ο αναβολισμός. Τις ανάγκες αυτές μπορούμε να τις κατηγοριοποιήσουμε σε ποσοτικές, δηλαδή ανάγκες των ψαριών σε συγκεκριμένα επίπεδα πρωτεΐνης που πρέπει να

προσλαμβάνουν καθημερινά από την τροφή τους και σε ποιοτικές, δηλαδή ανάγκες των ψαριών σε συγκεκριμένα αμινοξέα που πρέπει να περιέχονται στην τροφή τους. Τα αμινοξέα αποτελούν τις δομικές μονάδες των πρωτεϊνών και διακρίνονται σε απαραίτητα, τα οποία ο οργανισμός δε μπορεί να συνθέσει σε επαρκείς ποσότητες και έτσι αναγκαστικά θα πρέπει να τα προσλαμβάνει από την τροφή του και σε μη απαραίτητα τα οποία συντίθενται από τον οργανισμό και επομένως δεν υφίσταται η ανάγκη πρόσληψής τους από την τροφή (Καραπαναγιωτίδης 2015). Η πέψη των πρωτεϊνών, αναλόγως τη μορφολογία του πεπτικού συστήματος, ξεκινά στον στόμαχο ή το εμπρόσθιο τμήμα του πεπτικού σωλήνα με την υδρόλυση των πεπτιδικών δεσμών μέσω της δράσης της πεψίνης, της τρυψίνης και της χυμοτρυψίνης. Ακολουθεί η δράση της καρβοξυπεπτιδάσης η οποία προσβάλλει την καρβοξυλική άκρη της αλυσίδας των πολυπεπτιδίων, ολοκληρώνοντας, έτσι, την πέψη των πρωτεϊνών πριν την απορρόφησή τους από το έντερο (Βουλτιάδου και συν. 2015).

## **1.5. Τροφές**

Η τροφή που προορίζεται για τη διατροφή των ιχθύων ονομάζεται ιχθυοτροφή και ανήκει στην ευρύτερη κατηγορία των ζωοτροφών. Οι θρεπτικές ουσίες είναι κάθε ουσία της τροφής (χημικό στοιχείο ή χημική ένωση ή ομάδα χημικών ενώσεων), η οποία δύναται να χρησιμοποιηθεί από τον οργανισμό προκειμένου να υποστηρίξει τις φυσιολογικές λειτουργίες του. Υπάρχουν πέντε ομάδες θρεπτικών ουσιών που απαιτούνται στη διατροφή των ιχθύων. Αυτές είναι οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια, οι υδατάνθρακες, οι βιταμίνες και τα ανόργανα στοιχεία.

Οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια και οι υδατάνθρακες κρίνονται απαραίτητες σε σχετικά μεγάλες ποσότητες. Αντίθετα, οι βιταμίνες και τα ανόργανα στοιχεία απαιτούνται σε

μικροποσότητες. Επίσης οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια, οι υδατάνθρακες αποτελούν δομικές ουσίες για τον οργανισμό. Αυτό σημαίνει πως απαιτούνται για τη δόμηση των σωματικών κυττάρων, ιστών και οργάνων του. Αντίθετα, ο ρόλος των βιταμινών και των ανόργανων στοιχείων δεν είναι δομικός αλλά δυναμικός. Απαιτούνται, δηλαδή, για να επιτελέσουν σημαντικότερες φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού. Είναι γεγονός ότι η πέψη των πρωτεϊνών, λιπιδίων και υδατανθράκων παρέχει επίσης την απαραίτητη ενέργεια στον οργανισμό για τις διάφορες μεταβολικές του διεργασίες, εν αντιθέσει με τις βιταμίνες και τα ανόργανα στοιχεία που δεν παρέχουν ενέργεια (Παπουτσόγλου 2008, Καραπαναγιωτίδης 2015). Έτσι, οι διαιτητικές ανάγκες των ιχθύων πρέπει να ικανοποιούνται μέσω της καθημερινής διατροφής τους.

Οι παράγοντες που είναι σε άμεση αλληλεπίδραση με τη χρήση των πρώτων υλών στη βιομηχανία των ιχθυοτροφών είναι το είδος του ψαριού προς εκτροφή (σαρκοφάγο-παμφάγο-φυτοφάγο), η οικονομικότητά τους και η προτίμηση των ψαριών. Οι πρώτες ύλες εκείνες των οποίων υφίσταται συχνότερη χρήση για την παραγωγή ιχθυοτροφών είναι τα ιχθυάλευρα, υποπροϊόντα της βιομηχανίας των ιχθύων, πτηνάλευρα και πτεράλευρα, άλευρα που προέρχονται από ελαιούχους καρπούς (βαμβακόσπορος, αραχιδάλευρο, ηλιάλευρο, σησαμάλευρο, άλευρο σπόρων ελαιοκράμβης, φοινικάλευρο, λινάλευρο), λίπη και έλαια (ιχθυέλαια, φυτικά έλαια, ζωικά λίπη), όσπρια (φασόλια, κουκιά, ρεβίθια, μπιζέλια, σόγια) που θεωρούνται από τις καλύτερες φυτικές πρωτεϊνικές πηγές, φυτικά υποπροϊόντα (βίτες, γλουτένη σίτου, γλουτένη καλαμποκιού), δημητριακοί καρποί (σιτάρι, αραβόσιτος, σίκαλη, ρύζι, βρώμη), ζωντανή τροφή (φυτοπλαγκτόν, ζωοπλαγκτόν, κωπήποδα, αρτέμια), διατροφικά συμπληρώματα (μείγματα βιταμινών, μείγματα ιχνοστοιχείων,

συγκολλητικές ουσίες, χρωστικές ουσίες, προβιοτικά και ένζυμα) (Παπουτσόγλου 2008, Saleh et al. 2013, Καραπαναγιωτίδης 2015).

### **1.5.1. Ιχθυάλευρα**

Τα άλευρα που παρασκευάζονται από την επεξεργασία διαφόρων ειδών ψαριών, ονομάζονται ιχθυάλευρα. Τα ψάρια που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή τους είναι κυρίως πελαγικά όπως γάδος, ρέγγα, καπελάνος, φρίσσα κ.λπ. Για την παρασκευή των ιχθυαλεύρων χρησιμοποιούνται είτε ολόκληρα ψάρια, είτε υπολείμματα της φιλλετοποίησης και μεταποίησης των ψαριών. Κατά την παρασκευή ιχθυαλεύρων τα ψάρια ή/και τα υπολείμματά τους υποβάλλονται πρώτα σε αποστείρωση με άτμιση (υγρή μέθοδος κατεργασίας) ή με απλό βρασμό (ξηρή μέθοδος κατεργασίας). Κατά την υγρή μέθοδο χρησιμοποιούνται υδρατμοί με πίεση, ενώ κατά τη ξηρή πραγματοποιείται βρασμός με πίεση ή και χωρίς πίεση (απουσία νερού). Η πρώτη μέθοδος εφαρμόζεται όταν τα ψάρια ή τα υπολείμματά τους είναι πλούσια σε λίπος, ενώ η δεύτερη όταν είναι φτωχά σε λίπος. Μετά το πέρας της αποστείρωσης ακολουθούν διαδοχικά η συμπίεση ή συμπύκνωση, η αφυδάτωση και η άλεση. Τα ιχθυάλευρα περιέχουν υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης και κυμαίνονται από 60-72 %. Τα επίπεδα των απαραίτητων αμινοξέων βρίσκονται σε ισορροπία και η περιεκτικότητά τους σε λιπίδια κυμαίνεται από 4 ως 20% (Καραπαναγιωτίδης 2015).

### 1.5.2. Πτηνάλευρα και πτεράλευρα

Στη συγκεκριμένη κατηγορία ανήκουν τα άλευρα που παρασκευάζονται από ζωικά υποπροϊόντα και πιο συγκεκριμένα από προϊόντα της επεξεργασίας (σφαγή, μεταποίηση) πουλερικών. Τα άλευρα αυτά αποτελούσαν στο παρελθόν σε μεγάλες ποσότητες πρώτες ύλες των ιχθυοτροφών. Ωστόσο, η πλειοψηφία των αλεύρων αυτών είχε απαγορευτεί στην ΕΕ από το 2001 ως το 2013, κατόπιν των έντονων ανησυχιών που προέκυψαν έπειτα από την εμφάνιση της νόσου της σπογγώδους εγκεφαλοπάθειας στα βοοειδή που διατρέφονταν με άλευρα αυτού του τύπου. Όπως αποδείχτηκε, όμως, η νόσος δεν οφείλονταν στα άλευρα αυτά καθ' αυτά. Το σφάλμα εντοπίστηκε στη μη κατάλληλη επεξεργασία κατά την παρασκευή τους. Από τις 1/6/2013 η Ε.Ε. έχει άρει την απαγόρευση της χρησιμοποίησης των προϊόντων αυτών στις ιχθυοτροφές θέτοντας παράλληλα πιο αυστηρά κριτήρια για την παρασκευή και χρησιμοποίησή τους. Πιο συγκεκριμένα, τα προϊόντα αυτά εντάσσονται στη γενικότερη κατηγορία των Μεταποιημένων Ζωικών Πρωτεϊνών (ΜΖΠ) μη μηρυκαστικών ζώων, οι οποίες προέρχονται μόνο από μονογαστρικά εκτρεφόμενα ζώα (χοιρινά, πουλερικά). Τα πτηνάλευρα και πτεράλευρα αποτελούν υποπροϊόντα πουλερικών που προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο και γίνεται λήψη τους κατά τη στιγμή της σφαγής τους. Για την παρασκευή τους απαγορεύεται ρητά η χρησιμοποίηση υλών από άρρωστα ή υποπτευόμενα ως άρρωστα ζώα, υπολείμματα ζωικών τροφίμων για άνθρωπο, εντόσθια, κοπριές και απορριπτόμενα προϊόντα για ανθρώπινη κατανάλωση. Το υδρολυμένο πτεράλευρο παρασκευάζεται από την υδρόλυση της πρωτεΐνης των φτερών των πουλερικών, υπό πίεση με την παρουσία  $\text{Ca(OH)}_2$  και ξήρανση. Έχει περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες 80-85%. Η πεπτικότητα του, ωστόσο, από τα ψάρια είναι χαμηλή (50-70%) και το προφίλ των απαραίτητων αμινοξέων του δεν είναι κατάλληλο.

Το άλευρο υποπροϊόντων πουλερικών παρασκευάζεται από υπολείμματα επεξεργασίας των πουλερικών χωρίς να συμπεριλαμβάνονται φτερά ή περιεχόμενα του στομάχου και των εντέρων. Η περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνες είναι περίπου 58% και σε λιπίδια 13% (Καραπαναγιωτίδης 2015). Κάποια πειράματα με πέστροφα έδειξαν ότι αν συνδυαστεί το περάλευρο με το πτηνάλευρο στο σιτηρέσιο τότε η αποδοτικότητα τους είναι συγκρίσιμη με εκείνη του ιχθυάλευρου (Bureau et al. 2000).

### **1.6. Διατροφή εκτρεφόμενης τσιπούρας**

Οι διατροφικές ανάγκες σε πρωτεΐνες στη τσιπούρα σχετίζονται άμεσα με το βιολογικό στάδιο στο οποίο βρίσκεται (Παπουτσόγλου 2008). Στα αναπτυσσόμενα άτομα του είδους, οι απαιτήσεις είναι υψηλές. Για το λόγο αυτό, οι δίαιτες που χρησιμοποιούνται στην εκτροφή της πρέπει να περιέχουν 45-55 % πρωτεΐνη (σε ξηρές τροφές με υγρασία 9,5-10 %) (Olivia-Teles 2000). Όσον αφορά τις ποιοτικές απαιτήσεις σε αμινοξέα, τα δέκα απαραίτητα αμινοξέα (AA) είναι αργινίνη, ιστιδίνη, ισολευκίνη, λεύκίνη, λυσίνη, μεθειονίνη, φαινυλαλανίνη, θρεονίνη, τρυπτοφάνη, βαλίνη (Καραπαναγιωτίδης 2015). Γεγονός είναι πως έχει καταστεί ανάγκη χορήγησης ξηρών τροφών στην τσιπούρα με εμπλουτισμό απαραίτητων και μη αμινοξέων, σε συγκεκριμένα ποσοστά (Παπουτσόγλου 2008). Αν και το ιχθυάλευρο, λόγω της θρεπτικής σύνθεσής του, αποτελεί την καλύτερη πρωτεϊνική πηγή για τα σιτηρέσια των ιχθύων, η υψηλή τιμή του και η μειωμένη διαθεσιμότητά του στην αγορά επιβάλει την αντικατάστασή του με εναλλακτικές πρωτεϊνικές πηγές (Olivia-Teles, 2000). Τα κύρια μειονεκτήματα της αντικατάστασης αυτής, αφορούν την μείωση της ελκυστικότητας των χορηγούμενων τροφών, της πιθανότητας παρουσίασης αντιδιατροφικών

παραγόντων καθώς και την πιθανότητα προκαλούμενης ανισορροπίας και ελλείψεως απαραίτητων αμινοξέων (π.χ. μεθειονίνη) (Παπουτσόγλου 2008).

Όπως στην περίπτωση των πρωτεϊνών, έτσι και στα λίπη οι ανάγκες της τσιπούρας διαφοροποιούνται ανάλογα με το βιολογικό τους στάδιο (Παπουτσόγλου 2008). Τα σπονδυλωτά έχουν απαιτήσεις για ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα. Στις νεαρές τσιπούρες, οι απαιτήσεις στην διατροφή τους για λιπαρά οξέα υπολογίστηκαν στο 0,9 % πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και καλύτερη σχέση για την ανάπτυξη τους σε εικοσιπεντανοϊκό/ εικοσιδιοξανοϊκό οξύ εκτιμάται στο επίπεδο 2:1. Στη διατροφή της τσιπούρας είναι επιθυμητό να συμπεριλαμβάνονται 15-16 % λιπίδια και επίσης να συμπεριλαμβάνεται σημαντική ποσότητα ιχθυελαίου ώστε να καλυφθούν οι ανάγκες σε απαραίτητα λιπαρά οξέα, δεδομένου ότι είναι μόνη διαιτητική πηγή με ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Επίσης, για την παραγωγή καλής ποιότητας αυγών απαιτείται 0,42 % πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Oliva-Teles, 2000).

## 1.7. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανάλυση του πεπτικού ενζύμου πεψίνης του στόμαχου σε τσιπούρες *Sparus aurata* των οποίων η εκτροφή έγινε με διαφορετικά σιτηρέσια. Οι τροφές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

1. 100% ιχθυάλευρο (FM)
2. αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου κατά 50% με πτηνάλευρο (PM50)
3. αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου κατά 50% με υδρολυμένο πετράλευρο (FeM50)

## **2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.1. Πειραματικά ζώα**

Στα πλαίσια της πειραματικής διαδικασίας ελήφθησαν δείγματα από τσιπούρες που είχαν ταϊστεί για 100 ημέρες με τρία διαφορετικά σιτηρέσια. Η πρώτη ομάδα αποτελούταν από 8 άτομα των οποίων η εκτροφή πραγματοποιήθηκε με τροφές που περιείχαν 50% ιχθυάλευρο και 50% πτηνάλευρο (PM50), η δεύτερη ομάδα από 8 άτομα που ταϊστήκαν με 100% ιχθυάλευρο (FM) και η τρίτη ομάδα από 8 άτομα που ταϊστήκαν με τροφές που περιείχαν 50% ιχθυάλευρο και 50% υδρολυμένο πτεράλευρο (FeM50). Τα ψάρια αναισθητοποιήθηκαν με χρήση διαλύματος φαινοξυθανόλης, μετρήθηκε το μήκος τους και ζυγίστηκαν. Στη συνέχεια, αποκόψαμε το πεπτικό σύστημα, το καθαρίσαμε από τα περιεχόμενά του, κρατήσαμε τον στόμαχο και τον καταψύξαμε το συντομότερο στους -80 °C.

### **2.2. Στόμαχος**

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της πεψίνης έλαβε χώρα στις εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Τα δείγματα στομάχου, μετά τη λήψη τους, ομογενοποιήθηκαν σε αποσταγμένο νερό (1:10 w/v), φυγοκεντρήθηκαν στα 16,000 g για 30 λεπτά στους 4°C και το υπερκείμενο αποθηκεύτηκε στους -20°C (Alarcon et al 1998).



### 2.3. Μέτρηση ενζυμικής δραστηριότητας

Τα ένζυμα αποτελούν ουσίες πολύπλοκης δομής, οι οποίες δρουν καταλυτικά σε βιοχημικές αντιδράσεις αυξομειώνοντας την ενέργεια ενεργοποίησης μιας αντίδρασης. Η πλειοψηφία των πεπτικών ενζύμων σχηματίζονται σε μορφή ανενεργών προδρόμων, που ονομάζονται ζυμογόνα ή προένζυμα προς αποφυγή δημιουργίας ενεργών πρωτεολυτικών ενζύμων εντός του κυττάρου, γεγονός που θα οδηγούσε στη διάσπαση του ίδιου του κυττάρου. Τα ζυμογόνα μετατρέπονται σε ενεργά ένζυμα μετά από πρωτεολυτική διάσπαση. Το προένζυμο πεψιγόνο αποτελεί την πρόδρομη μορφή της πεψίνης. Η από το HCL προκαλούμενη πτώση της τιμής του pH του αυλού του στομάχου συνεπάγεται την ενεργοποίηση του ανενεργού πεψιγόνου με την μετατροπή του σε πεψίνη, η οποία χαρακτηρίζεται από τις ιδιότητες των ενδοπεπτιδασών. Μέσω της δράσης της πεψίνης στις πρωτεΐνες της προσληφθείσας τροφής, προκύπτουν κατά κύριο λόγο πολυπεπίδια ή και πεπίδια, των οποίων η δομή καθορίζεται κυρίως από το είδος των πρωτεϊνών που περιλαμβάνονται στην προσληφθείσα τροφή (Παπουτσόγλου 2008, Μεντέ και συν. 2011).

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της πεψίνης βασίστηκε στη μέθοδο του Anson (Anson et al 1938), χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα την αιμογλοβίνη (0,5%) σε ρυθμιστικό διάλυμα 0,1 mM γλυκίνη / HCl, pH=2 στους 25 °C. Η αντίδραση άρχισε με την προσθήκη 20 μl ενζυμικού εκχυλίσματος (πρωτεϊνικό περιεχόμενο 5.0-10.0 mg/ml) και συνολικό όγκο 1 ml στους 25°C. Αφήνουμε για 30 λεπτά. Κατόπιν σταματάμε την αντίδραση προσθέτοντας 0,5 ml 20% TCA και τοποθετούμε τα δείγματα σε ψυγείο (4°C) για μία ώρα. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στα 15,000 g για 20 λεπτά στους 4°C και μετρήθηκε η απορρόφηση του υπερκειμένου σε φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 280 nm. Βάση του ρυθμού υδρόλυσης του υποστρώματος, η ειδική

δραστικότητα της πεψίνης εκφράζεται σε  $\mu\text{g}$  τυροσίνης που παρήχθηκε ανα  $\text{mg}$  πρωτεΐνης ανά  $\text{min}$  (ειδικός συντελεστής απορρόφησης τυροσίνης  $0.005 \text{ ml } \mu\text{g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

#### **2.4. Στατιστική επεξεργασία**

Όλες οι μέσες τιμές δίνονται με την τυπική απόκλεισή τους (μέση τιμή  $\pm$  τυπική απόκλιση ή τυπικό σφάλμα). Πριν τη στατιστική ανάλυση των ποσοστιαίων δεδομένων έγινε έλεγχος των προϋποθέσεων της ANOVA και έλεγχος διακυμάνσεων (Levene test). Η ανάλυση παραλλακτικότητας ενός παράγοντα (one way ANOVA), χρησιμοποιήθηκε για να συγκριθούν οι μέσες τιμές των μετρούμενων παραμέτρων μεταξύ των διατροφικών μεταχειρίσεων, ενώ επίσης χρησιμοποιήθηκε το Tukey test. Επίσης, χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS. Τα αποτελέσματα θεωρούνταν στατιστικά σημαντικά στο επίπεδο  $P < 0.05$ .

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στη συγκεκριμένη εργασία έγινε έλεγχος των στατιστικών διαφορών του βάρους στομάχου, της δραστηκότητας της πεψίνης και της πρωτεΐνης του στομάχου ανά μεταχείριση. Τα δεδομένα μας ακολουθούν κανονική κατανομή. Στον έλεγχο των διακυμάνσεων με το Levene Test για το βάρος στομάχου μεταξύ των τριών διατροφικών μεταχειρίσεων η τιμή  $p = 0.495 > 0.05$  δείχνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Επιπλέον, η ανάλυση ANOVA έδειξε τιμή για το  $F = 1,997$  και το αντίστοιχο  $p = 0,161$ , συνεπώς το βάρος του στομάχου δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των τριών διατροφικών μεταχειρίσεων (Πίνακας 3.1).

**Πίνακας 2.** Βάρος στομάχου (εκφρασμένη σε g) ανά διατροφική μεταχείριση (μέση τιμή και τυπική αποκλίση).

<b>Δείγμα</b>	<b>FeM50</b>	<b>FM</b>	<b>PM50</b>
<b>1</b>	0,160	0,207	0,171
<b>2</b>	0,239	0,141	0,220
<b>3</b>	0,203	0,125	0,193
<b>4</b>	0,174	0,197	0,150
<b>5</b>	0,274	0,097	0,127
<b>6</b>	0,202	0,211	0,141
<b>7</b>	0,159	0,207	0,178
<b>8</b>	0,239	0,281	0,082
<b>Μ.Ο. ± Τυπ. Απόκλ.</b>	0,21±0,04	0,18±0,06	0,16±0,04

Στον έλεγχο των διακυμάνσεων με το Levene Test για τη δραστηκότητα της πεψίνης η τιμή  $p = 0.334 > 0.05$  δείχνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ

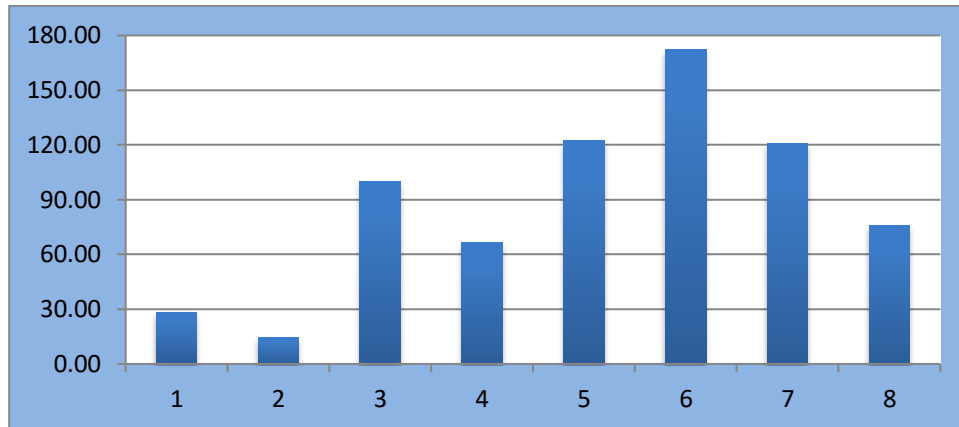
τους. Η ανάλυση ANOVA έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στις μέσες τιμές της δραστηριότητας της πεψίνης μεταξύ των τριών διατροφικών μεταχειρίσεων ( $F = 12,2$ ,  $p = 0,0004 < 0,05$ ). Περαιτέρω ανάλυση με το Multiple Comparisons (Tukey HSD) για την δραστηριότητα της πεψίνης έδειξε ότι η δραστηριότητα της πεψίνης της διατροφικής μεταχείρισης PM50 είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με τις διατροφικές μεταχειρίσεις FM και FeM50. Η δραστηριότητα της πεψίνης της μεταχείρισης FeM50 είναι υψηλότερη εκείνης της μεταχείρισης FM χωρίς, ωστόσο, να εντοπίζεται στατιστικά σημαντική διαφορά (Πίνακας 3.3). Η κατανομή των τιμών της δραστηριότητας της πεψίνης ανά διατροφική μεταχείριση, παρουσιάζεται στα διαγράμματα 3.1, 3.2 και 3.3.

**Πίνακας 3.** Δραστηριότητα πεπτικού ενζύμου πεψίνης ( εκφρασμένη σε  $\mu\text{g}$  τυροσίνης /  $\text{mg}$  πρωτεΐνης /  $\text{min}$ ) ανά διατροφική μεταχείριση.

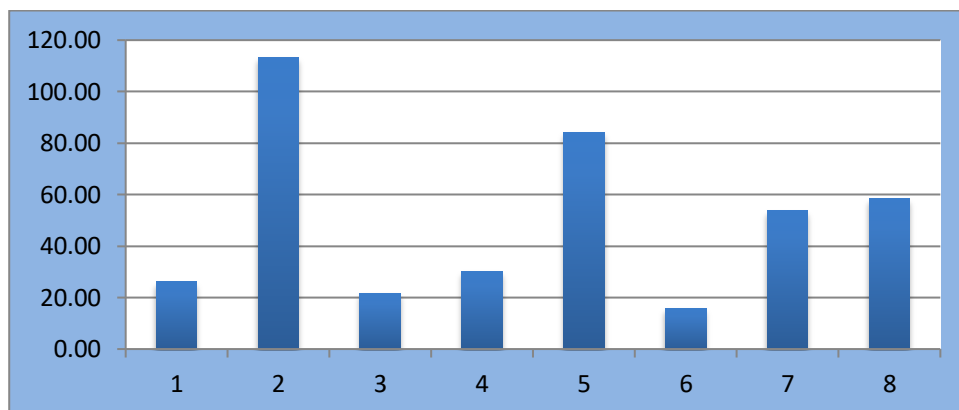
Δείγμα	FM	FeM50	PM50
1	26,10	28,37	106,75
2	113,31	14,67	168,10
3	21,74	99,83	131,40
4	30,32	66,47	170,39
5	84,09	122,34	208,50
6	15,86	172,53	196,70
7	53,83	120,98	-
8	58,29	75,85	-
<b>Μ.Ο. <math>\pm</math> Τυπ. Σφάλμα</b>	50,44 $\pm$ 12,08 <sup>a</sup>	87,63 $\pm$ 18,46 <sup>a</sup>	163,64 $\pm$ 15,75 <sup>b</sup>

Διεξάγοντας τα στατιστικά τεστ Kolmogorov – Smirnov και Shapiro – Wilk βρήκαμε στο πρώτο ότι  $p(\text{Sig.})=0,200$  για όλες τις μεταχειρίσεις και στο δεύτερο  $p(\text{Sig.})=0,903$ ,  $p(\text{Sig.})=0,274$ ,  $p(\text{Sig.})=0,712$  για τις μεταχειρίσεις FeM50, FM και

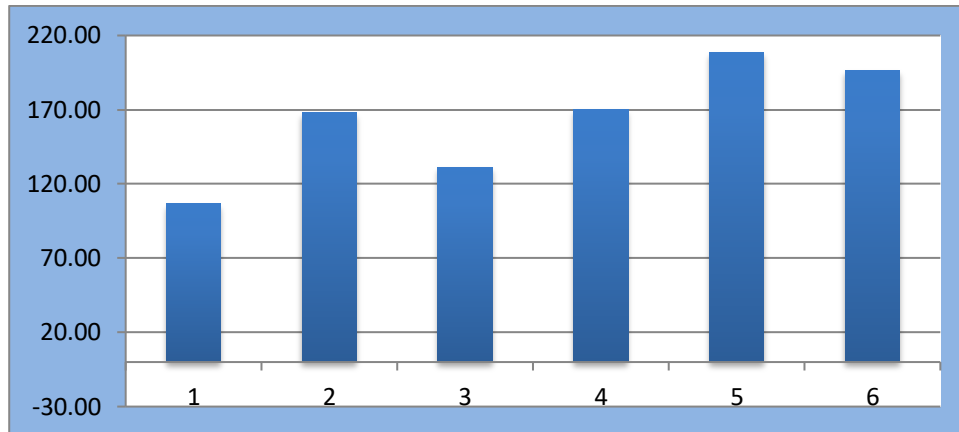
PM50 αντίστοιχα. Το γεγονός αυτό σημαίνει ότι τα δεδομένα και για τις τρεις διατροφικές μεταχειρίσεις ακολουθούν την κανονική κατανομή.



**Διάγραμμα 1.** Κατανομή τιμών δραστηρότητας της πεψίνης (μg τυροσίνης / mg πρωτεΐνης / min) στη μεταχείριση FeM50.

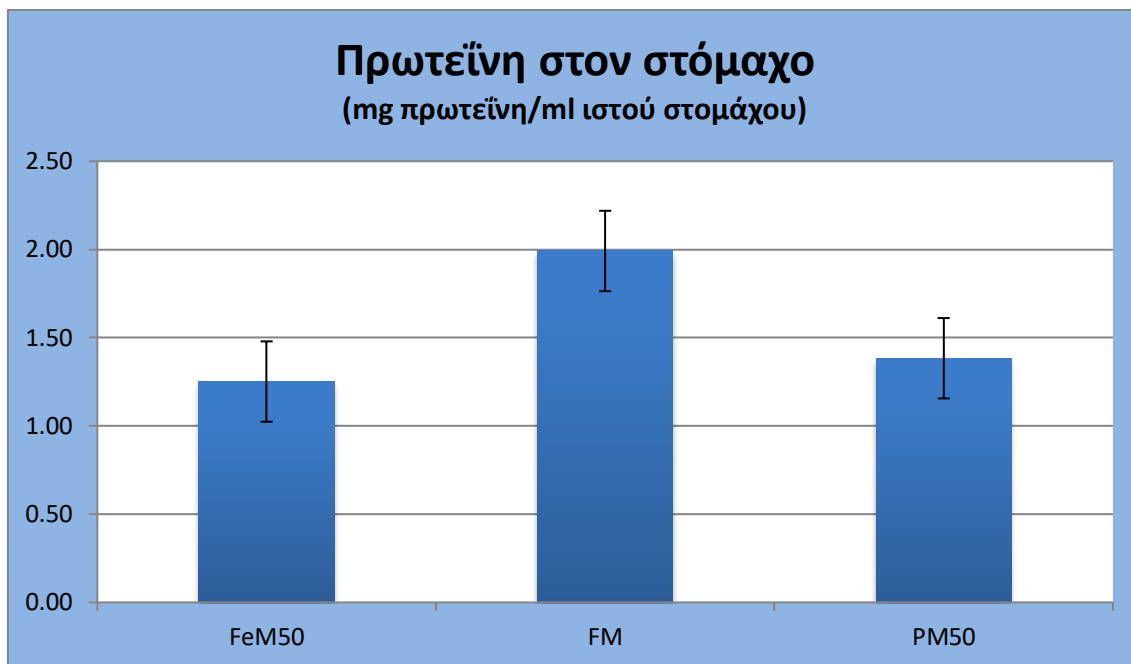


**Διάγραμμα 2.** Κατανομή τιμών δραστηρότητας της πεψίνης (μg τυροσίνης / mg πρωτεΐνης / min) στη μεταχείριση FM.



**Διάγραμμα 3.** Κατανομή τιμών δραστικότητας της πεψίνης (μg τυροσίνης / mg πρωτεΐνης / min) στη μεταχείριση PM50.

Η ανάλυση ANOVA έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στις μέσες τιμές της δραστικότητας της πρωτεΐνης μεταξύ των τριών διατροφικών μεταχειρίσεων ( $F = 3,570$ ,  $p = 0,046 < 0,05$ ). Περαιτέρω ανάλυση με το Multiple Comparisons (Tukey HSD) για την δραστικότητα της πρωτεΐνης έδειξε ότι η πρωτεΐνη στο στόμαχο της διατροφικής μεταχείρισης FM είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με τις διατροφικές μεταχειρίσεις PM50 και FeM50 (Διάγραμμα 3.4).



**Διάγραμμα 4.** Μέση τιμή πρωτεΐνης (mg πρωτεΐνη/ml ιστού) στον στόμαχο ανά μεταχείριση.

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η προπτυχιακή διπλωματική εργασία της Χατζηπλάτων (2016) μελέτησε το πεπτικό ένζυμο θρυψίνη και τον ηπατοσωματικό δείκτη σε κάθε διατροφική μεταχείριση έχοντας δεδομένα από την ίδια πειραματική διαδικασία και απέδειξε ότι το σωματικό βάρος των ιχθύων της μεταχείρισης FM ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο σε σχέση με τις άλλες δύο μεταχειρίσεις (PM50, FeM50).

Οι έρευνες και κατ' επέκταση οι βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με τα πεπτικά ένζυμα του είδους *S. aurata* είναι αρκετά περιορισμένες. Ωστόσο, ένας αριθμός ενζύμων έχουν ταυτοποιηθεί (Gutierrez et al 1985, Moyano & Sarasqueta 1993, Sarasqueta et al. 1993, Moyano et al. 1996, Munilla-Moran & Saborido-Rey 1996). Γεγονός, επίσης, αποτελεί πως η σχέση ανάμεσα στη σύνθεση των συστατικών των ιχθυοτροφών και των δραστηριοτήτων διαφόρων ενζύμων δεν έχει διερευνηθεί πλήρως και ως εκ τούτου οι γνώσεις που αφορούν την πεπτικότητα στη τσιπούρα είναι περιορισμένες (Deguara et al.2003). Έρευνες, για τον προσδιορισμό των σχετικών δραστηριοτήτων των ενζύμων στα διάφορα τμήματα του πεπτικού σωλήνα ή για τις διακυμάνσεις του pH που επικρατούν στο έντερο μετά το τάισμα, στην τσιπούρα έχουν διεξαχθεί, χωρίς, ωστόσο, να είναι πολλές σε αριθμό. Σε μελέτη των Deguara et al. (2003), παρατηρήθηκε πως όλα τα ένζυμα, εκτός της πεψίνης, ανιχνεύθηκαν σε κάθε περιοχή του εντέρου της *S. aurata*, με τις σχετικές δραστηριότητες, ωστόσο, να διαφέρουν μεταξύ περιοχών από το ένα ένζυμο στο άλλο.

Στην εργασία αυτή δεν εντοπίστηκαν σημαντικές στατιστικές διαφορές όσον αφορά το βάρος στομάχου των ιχθύων μεταξύ των τριών διατροφικών μεταχειρίσεων.



Ωστόσο, βρέθηκε ότι η δραστηριότητα πεψίνης της μεταχείρισης PM50 ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με τις μεταχειρίσεις FM και FeM50, με την FeM50 να εμφανίζει υψηλότερη δραστηριότητα πεψίνης από την FM χωρίς, όμως, σημαντική στατιστική διαφορά. Οι υψηλές τιμές δραστηριότητας πεψίνης φανερώνουν μεγαλύτερη δυσκολία πέψης του αντίστοιχου σιτηρεσίου από το συγκεκριμένο είδος ιχθύος. Ένας παράγοντας, λοιπόν, ο οποίος φανερώνει γιατί το PM50 ήταν πιο δύσπετο από το FeM50 και το FM, και το FeM50 από το FM είναι ο συνδιασμός των διαφορετικών επιπέδων πρωτεΐνης, τα οποία έχουν προαναφερθεί στην παρούσα εργασία, που εμπεριέχει το κάθε σιτηρέσιο και του προφίλ των αμινοξέων που δεν είναι παντού το κατάλληλο. Η πρωτεΐνη στον στόμαχο της μεταχείρισης FM ήταν, επίσης, στατιστικά σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με τις μεταχειρίσεις PM50 και FeM50.

Έρευνα που πραγματοποιήθηκε, έδειξε ότι η αντικατάσταση των ιχθυάλευρων από φυτικές πηγές πρωτεΐνης είχε ως αποτέλεσμα τη μειωμένη πεπτικότητα στην πέστροφα και στην τσιπούρα. Ωστόσο, και τα δύο προαναφερθέντα είδη παρουσίασαν μηχανισμούς αντιστάθμισης. Σ' αυτούς συμπεριλαμβάνονται η αύξηση στο σχετικό εντερικό μήκος (RIL), καθώς και μία ανοδική ρύθμιση της δραστηριότητας της θρυψίνης στην τσιπούρα. Το αποτέλεσμα ήταν να επιτευχθεί μια ισορροπία στο πεπτικό σύστημα και οι ρυθμοί ανάπτυξης να είναι παρόμοιοι με εκείνους που παρατηρήθηκαν για την ομάδα που ταΐστηκε με ιχθυάλευρο. Το συμπέρασμα, λοιπόν, που προέκυψε από την παραπάνω έρευνα, βάση των αποτελεσμάτων, ήταν ότι η χρήση μικτών πηγών φυτικών πρωτεϊνών στα σιτηρέσια, με αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου έως 75% με φυτικές πρωτεΐνες, μπορεί να είναι μία οικονομικά βιώσιμη λύση (Santigosa et al. 2008).

Οι Munilla-Moran and Saborido-Rey μελέτησαν το 1996 τη δράση της αμυλάσης στο έντερο της τσιπούρας (*S.aurata*), του καλκανιού (*Scophthalmus maximus*) και του κοκκινόψαρου (*Sebastes mentella*) χρησιμοποιώντας διαλυτό άμυλο ως υπόστρωμα. Βρέθηκε ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις άλατος ανέστειλαν τη δραστικότητα αμυλάσης της τσιπούρας και του καλκανιού και ενεργοποίησαν την δραστικότητα στο κοκκινόψαρο. Η σταθερότητα των τιμών των πεπτικών ενζύμων στη τσιπούρα ήταν απόλυτα εξαρτημένη από τα ιόντα ασβεστίου.

Η έρευνα των Hidalgo et al. (1999) έδειξε ότι, η πρωτεολυτική ενεργότητα που προσδιορίζεται στην πεπτική οδό μαζί με το ήπαρ ήταν υψηλότερη 100% στην πέστροφα. Η αμέσως υψηλότερη τιμή αντιστοιχούσε σε κυπρίνους 99,8%, που ακολουθείται από το γλήνι 69,8%, τα χρυσόψαρα 58,4%, τη τσιπούρα 25% και τα χέλια 13,4%. Δεν βρέθηκαν διαφορές στην πρωτεολυτική δραστηριότητα που να δικαιολογούνται από την κατάταξη των ψαριών ως παμφάγα ή σαρκοφάγα. Η δραστικότητα των πεπτικών ενζύμων λιπάσης, α-αμυλάση και δισακχαριδασών μελετήθηκε από τους Langeland et al. (2013), σε αργή ανάπτυξη και ταχέως αναπτυσσόμενες ομάδες της εκτρεφόμενης ευρασιατικής πέρκας (*Perca fluviatilis*) διαφορετικών ηλικιών.

Οι Yan-Li et al. (2012) διεξήγαγαν μελέτη για να συγκρίνουν τα αποτελέσματα της αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου (FM) από δύο τύπους αλεύρων σόγιας (soybean meals-SBMs) σχετικά με τις δραστηριότητες των πεπτικών ενζύμων, των ενζύμων στις μικρολάχνες του εντέρου και των αμινοτρανσφερασών στα ιχθύδια ιαπωνικού λαβρακίου (αρχικό βάρος  $8,3 \pm 0,2$  g). Εννέα ισοαζωτούχες (ακατέργαστη πρωτεΐνη 44%) και ισοενεργειακές ( $20 \text{ kJ g}^{-1}$ ) πειραματικές δίαιτες που αντικαθιστούν κατά 0 (δίαιτα ελέγχου), 15%, 30%, 45% και 60% την πρωτεΐνη FM με υψηλή περιεκτικότητα

σε πρωτεΐνη SBM (HSB) ή εμπορικό SBM (CSB) δημιουργήθηκαν. Οι συγκεντρώσεις των αντι-θρεπτικών παραγόντων (ANFs) στην HSB ήταν μικρότερες σε σύγκριση με την CSB ( $P < 0,05$ ). Μετά από 10 εβδομάδες σίτισης, οι δραστηριότητες των πεπτικών ενζύμων, των ενζύμων στις μικρολάχνες του εντέρου και των αμινοτρανσφερασών στο ήπαρ μειώθηκαν με την αύξηση διατροφικών SBM. Όταν το επίπεδο αντικατάστασης ήταν πάνω από 30% με CSB και 60% με HSB, οι δραστηριότητες της πεψίνης, της δισακχαριδάσης στις μικρολάχνες του εντέρου και της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST) στο ήπαρ ήταν αισθητά χαμηλότερες από την δίαιτα ελέγχου.

Οι Matos et al. (2014) διεξήγαγαν ένα πείραμα σίτισης 70 ημερών που πραγματοποιήθηκε σε ιχθύδια τσιπούρας (*S.aurata*) για να αξιολογηθεί κατά πόσον η ταυτόχρονη αντικατάσταση ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου με φυτικά συστατικά έχει επιπτώσεις στην πρωτεολυτική δύναμη του μυός. Τα ψάρια τρέφονταν είτε με δίαιτα ιχθυαλεύρου/ιχθυελαίου, είτε με δίαιτα ιχθυαλεύρου/φυτικών ελαίων, είτε με δίαιτα φυτικών πρωτεϊνών/ιχθυελαίου, είτε με δίαιτα φυτικών πρωτεϊνών/φυτικών ελαίων. Η χρήση των φυτικών πρωτεϊνών στην διατροφή οδήγησε σε μικρότερη περιεκτικότητα σε θεικές γλυκοζαμινογλυκάνες και χαμηλότερη δραστηριότητα γλυκογόνου φωσφορυλάσης στο μυ, ενώ και οι φυτικές πρωτεΐνες και τα φυτικά έλαια αύξησαν το μυϊκό pH και μείωσαν την δραστηριότητα της καθεψίνης B. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η υψηλή αντικατάσταση ιχθυαλεύρου και/ή ιχθυελαίου με φυτικά συστατικά είχαν σημαντικό αντίκτυπο στις πρόωρες μεταθανάτιες μεταβολικές διαδικασίες και στο πρωτεϊνικό δυναμικό των μυών της τσιπούρας, ιδίως όταν αντικαθίστανται και το ιχθυάλευρο και το ιχθυέλαιο.

Σε μελέτη τους οι Davies et al. (2009) έδειξαν ότι στην τσιπούρα, τα καλύτερα αποτελέσματα επιτεύχθηκαν στο ιχθυάλευρο (FM), στο αποξηραμένο με ψεκασμό

άλευρο αιμοσφαιρίνης (SDHM) και στο κρεατάλευρο πουλερικών (PMM). Ενώ οι πρωτεΐνες FM στην δίαιτα ελέγχου αφομοιώθηκαν κατά 87,5%, ο υψηλότερος συντελεστής πεπτικότητας πρωτεΐνης (ADCp) για τα υπόλοιπα συστατικά ήταν αυτός του SDHM (82,8%) και αυτός του PMM (79,2%), οι οποίοι ήταν σημαντικά υψηλότεροι ( $P < 0,05$ ) από αυτούς του υδρολυμένου πετράλευρου (HFM) (21,5%) και του ενζυμικά επεξεργασμένου πετράλευρου (EFM) (21,7%). Όλες οι δίαιτες πετράλευρων (HFM και EFM) είχαν έναν σημαντικά στατιστικά χαμηλότερο συντελεστή πεπτικότητας πρωτεΐνης (ADCp) ( $P < 0,05$ ) περίπου 22%. Οι τιμές πεπτικότητας ενέργειας (DE) που υπολογίστηκαν για τα συστατικά κατέδειξαν τις παραλλαγές στην πεπτικότητα πρωτεΐνης και λιπιδίων που εμφανίστηκαν σε κάθε συστατικό: οι τιμές ήταν 82,8%, 71,6% και 66,8% για FM, PMM και SDHM, αντίστοιχα, ενώ τα EFM και HFM παρουσίασαν σημαντικά τον χαμηλότερο συντελεστή πεπτικότητας ενέργειας ADCe, με τιμές 34,7% και 29,8% αντίστοιχα. Οι πεπτικότητες σχεδόν όλων των απαραίτητων αμινοξέων, με εξαίρεση τη λυσίνη και την τρυπτοφάνη, βελτιώθηκαν επίσης ως αποτέλεσμα της ενζυματικής επεξεργασία στα πετράλευρα. Σχετικά καλή πεπτικότητα βρέθηκε για τα απαραίτητα αμινοξέα του PMM, με όλους τους συντελεστές να είναι πάνω από 73% (εκτός από της θρεονίνης που ήταν 67,5% και της φαινυλαλανίνης που ήταν 66,5%)

Οι Xavier et al. (2014) απέδειξαν ότι το αλεύρο από κρέας και κόκαλα (MBM) είναι μια άριστη πηγή αμινοξέων (AAs) για τα ψάρια αλλά η σύνθεσή του ποικίλλει ανάλογα με την προέλευση και την επεξεργασία του. Οι συντελεστές πεπτικότητας (ADC) της ξερής ουσίας, της ακατέργαστης πρωτεΐνης, και της ακαθάριστης ενέργειας, και οι συντελεστές διαθεσιμότητας (AAC) των απαραίτητων και μη απαραίτητων αμινοξέων (EAA και NEAA, αντίστοιχα) στο MBM που περιέχει διάφορα επίπεδα

ακατέργαστης πρωτεΐνης (mbm-340, 370, 400, 430, και 460 g/kg) προσδιορίστηκαν για τα ιχθύδια του είδους Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, 32,7±4,5 g). Μια διαίτα ελέγχου που περιείχε 351,9 g/kg ακατέργαστη πρωτεΐνη και 4541,1 kcal/kg ακαθάριστη ενέργεια και εξεταζόμενες δίαιτες που περιείχαν ένα μίγμα 70:30 της διαίτας ελέγχου και του MBM χρησιμοποιήθηκαν με 5 g/kg Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ως εξωτερικός δείκτης. Οι συντελεστές πεπτικότητας της ξηράς ουσίας, η ακαθάριστη ενέργεια, και η ακατέργαστη πρωτεΐνη στα δείγματα MBM ήταν 42,9-76,2%, 71,6-89,1%, και 49,4-86,9%, αντίστοιχα. Εκτός από τα χαμηλής ποιότητας αμινοξέα των MBM-340, 370, και 400, η χρησιμοποίησή τους είναι περιορισμένη από την χαμηλή εύπεπτη ενέργεια και την υψηλή τέφρα, οι οποίες πρέπει να εξεταστούν στην παραγωγή ελάχιστου κόστους, ισορροπημένων, και βιώσιμων σιτηρεσίων για τιλάπια.

Σε έρευνα των Sugiura et al. (1998) η πεπτικότητα της πρωτεΐνης και η διαθεσιμότητα των Ca, K, P, Mg, Na, Cu, Fe, Mn, Sr, Zn στα διάφορα συστατικά τροφών προσδιορίστηκαν για το είδος coho salmon και το είδος rainbow trout χρησιμοποιώντας Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ως εξωτερικό δείκτη και δεξαμενές συλλογής περιττωμάτων. Τα συστατικά των τροφών ήταν άλευρο ρεγγών, άλευρο φρίσσας, άλευρο αντσουγιών, ξεκοκαλισμένο γεύμα λευκόσαρκου ψαριού, γεύμα υποπροϊόντων πουλερικών, γεύμα φτερών, γεύμα σόγιας, γεύμα γλουτένης καλαμποκιού, γεύμα γλουτένης σίτου, άλευρο σίτου. Η πεπτικότητα % της πρωτεΐνης και η διαθεσιμότητα % των στοιχείων προσδιορίστηκαν ως η κλασματική καθαρή απορρόφηση των θρεπτικών ουσιών από τις διατροφές. Η πεπτικότητα της πρωτεΐνης και η διαθεσιμότητας του K ήταν υψηλές (>80%) σε όλα τα συστατικά των τροφών, ενώ η πεπτικότητα της ξηράς ουσίας και η διαθεσιμότητα του Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, P, Sr και του Zn είχαν διακυμάνσεις ανάμεσα στα συστατικά. Η διαθεσιμότητα % των στοιχείων δε φαίνεται να εξαρτάται

σημαντικά από την ποσότητα των θρεπτικών που λαμβάνονται σε οποιαδήποτε διατροφή δοκιμής. Η καθαρή απορρόφηση θρεπτικών φαίνεται ότι επηρεάζεται σημαντικά ( $P < 0.05$ ) από τη λήψη θρεπτικών εκτός από το Mn, Fe και Ca. Οι απώλειες θρεπτικών στα περιττώματα φαίνεται ότι επηρεάζονται σημαντικά ( $P < 0,05$ ) από τη λήψη θρεπτικών εκτός την πρωτεΐνη, το Na, το K και το Zn.

Η μελέτη των Mente et al. (2016) είχε ως στόχο να περιγράψει τις αλλαγές στη δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων του zebra cichlid, *Archocentrus nigrofasciatus*, από την εκκόλαψη μέχρι τις 30 ημέρες μετά την εκκόλαψη (d.a.h.) και να αξιολογήσει τα αποτελέσματα των διατροφών σίτισης με τα διαφορετικά επίπεδα αντικατάστασης ιχθυαλεύρου (FM) με τις εναλλακτικές μη ζωικές πηγές πρωτεΐνης από 30 d.a.h μέχρι την ηλικία 60 d.a.h. Η 100% αντικατάσταση FM με διαφορετικές εναλλακτικές μη ζωικές πηγές πρωτεΐνης είχε αρνητικό αντίκτυπο στην ανάπτυξη των ιχθυδίων *A.nigrofasciatus*, ενώ τα ψάρια που ταΐστηκαν με δίαιτα με 50% αντικατάστασης FM με φυτικές πρωτεΐνες παρουσίασαν παρόμοια αποτελέσματα με εκείνα που ταΐστηκαν με δίαιτα με 100% FM. Τα ψάρια που παρουσίασαν το χαμηλότερο ρυθμό ανάπτυξης, παρουσίασαν επίσης τη χαμηλότερη ενζυμική δραστηριότητα, ειδικά σε σχέση με τα ένζυμα των εντερικών μικρολάχνων. Η μελέτη αυτή αξιολογεί τις πεπτικές ικανότητες και τη διατροφική κατάσταση του *A.nigrofasciatus* και παρέχει γνώσεις σχετικά με τις δυνατότητες αντικατάστασης FM στις τροφές τους.

Σε έρευνα έρευνα των Nengas et al. (1999) που πραγματοποιήθηκε σε νεαρά άτομα του είδους *Sparus aurata* τα πρωτεϊνικά συστατικά που χρησιμοποιήθηκαν προς αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου ήταν (i) Κρεατάλευρο πουλερικών (PPM) το οποίο συμπεριλήφθηκε σε δύο επίπεδα αντικατάστασης 75% και 100% της πρωτεΐνης του σιτηρεσίου, (ii) PFBM, δηλαδή μείγμα του PPM και πτεράλευρου (FeM), σε βαθμό

3/1, σε επίπεδα αντικατάστασης 75% και 100% της πρωτεΐνης, (iii) ένα πλούσιο σε λίπη γεύμα πουλερικών (PBMa) σε επίπεδο αντικατάστασης 40% της πρωτεΐνης και (iv) ένα υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη πτηναύλευρο (PBMb) σε τρία επίπεδα 35%, 50% και 75% της πρωτεΐνης. Τα αποτελέσματα όσον αφορά τις ομάδες ιχθυδίων που ταΐστηκαν με PMM, PFBM και PBMa έδειξαν περιορισμένη λήψη του απαραίτητου αμινοξέος, μεθειονίνης, ενώ για εκείνες που ταΐστηκαν με PBMb, θεωρήθηκε πως η λήψη ιστιδίνης ήταν περιορισμένη, αν και δεν υπήρχαν δεδομένα όσον αφορά τις ακριβείς τιμές ιστιδίνης που απαιτούνται από την τσιπούρα. Συμπερασματικά, η έρευνα αυτή κατέληξε στο ότι φαίνεται ότι η τσιπούρα είναι σε θέση να χρησιμοποιήσει τα γεύματα υποπροϊόντων πουλερικών καλής ποιότητας σε υψηλά επίπεδα συνυπολογισμού.

Σε έρευνά τους οι Nengas et al. (1995) συμπεριέλαβαν μεταξύ των σιτηρεσίων i) άλευρο υποπροϊόντων πουλερικών (το οποίο συμπεριλάμβανε και φτερά) από τοπικό παρασκευαστή (Ιωάννινα, Ελλάδα), ii) πτεράλευρο (Feather meal A) το οποίο είχε ακολουθήσει την ίδια διαδικασία παρασκευής όπως το προηγούμενο από τον ίδιο παρασκευαστή iii) υδρολυμένο πτεράλευρο (Feather meal B το οποίο ήταν μια πλούσια πρωτεϊνική πρώτη ύλη που παρήχθη με την υδρόλυση των φτερών πουλερικών από την εφαρμογή υψηλής θερμοκρασίας και πίεσης από διαφορετικό παρασκευαστή και iv) κρεατάλευρο πουλερικών και βρήκαν ότι οι συντελεστές πεπτικότητας μεταξύ των πρώτων υλών που χρησιμοποίησαν για την παρασκευή σιτηρεσίων τσιπούρας διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους, με τη χαμηλότερη τιμή να παρατηρείται για την FeMA (6,7%). Ανάμεσα στις υψηλότερες εντοπίζονται το γεύμα υποπροϊόντων πουλερικών (80,3%), το κρεατάλευρο πουλερικών (67,4%) και το FeMB (63,9%). Στα σιτηρέσια αυτά παρατηρούνται αντίστοιχα και υψηλές τιμές πεπτικότητας πρωτεΐνης με τις τιμές να

διαμορφώνονται για το γεύμα υποπροϊόντων πουλερικών στο 81,8%, για το κρεατάλευρο πουλερικών στο 89,9% και για το FeMB στο 57,5% σε αντίθεση με το FeMA που η τιμή του για την πεπτικότητα πρωτεΐνης είναι 24,9%. Ωστόσο, σημειώνεται ότι οι αποκλίσεις στις τιμές ανάμεσα στα δύο πτεράλευρα μπορεί να οφείλονται στη διαφορετική επεξεργασία, εξοπλισμό και της τεχνολογία που χρησιμοποιούνται από τους δύο παρασκευαστές.

Σε μια μελέτη που διεξήχθη το γεύμα υποπροϊόντων πουλερικών, το κρεατάλευρο πουλερικών και το πτεράλευρο B παρουσίασαν υψηλές τιμές συντελεστών πεπτικότητας μεγαλύτερες από 60% με εξαίρεση το γεύμα φτερών A στην περίπτωση της τσιπούρας. Ενεργειακές πεπτικότητες των ζωικών υποπροϊόντων ήταν γενικά υψηλές (η υπερβολική θερμική επεξεργασία των ζωικών υλικών κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ξήρανσης μπορεί να μειώσει σοβαρά την πρωτεϊνική πεπτικότητά τους). Διαφορές στις πεπτικότητες σημειώθηκαν επίσης για τα δύο πτεράλευρα που δοκιμάστηκαν. Το πτεράλευρο περιέχει κερατίνη που δεν αφομοιώνεται εύκολα από τα ψάρια εκτός αν οι κατάλληλοι όροι επεξεργασίας θερμότητας και πίεσης εφαρμόζονται. Η αντικατάσταση της πρωτεΐνης του ιχθυάλευρου με πρωτεΐνη πτηνάλευρου καλής ποιότητας (PMM) είχε ως αποτέλεσμα να σημειωθεί μια σημαντική αύξηση στο τελικό βάρος του ψαριού, ενώ σιτηρέσια όπως το υψηλού επιπέδου λίπους πτηνάλευρο (PM) και το πτηνάλευρο μετά την απολίπανση (DPM) έδωσαν τιμές κοντά σε εκείνη της διατας με ιχθυάλευρο. Η ίδια τάση επικράτησε και στις άλλες παραμέτρους απόδοσης που δείχνουν ότι το PMM ήταν ένα καλό προϊόν για συνυπολογισμό στα σιτηρέσια τσιπούρας μέχρι το πιο υψηλό επίπεδο που εξετάστηκε με αντικατάσταση του ιχθυάλευρου με 50% PMM. Υψηλότερα διαιτητικά επίπεδα συνυπολογισμού αυτού του προϊόντος κατά τη διάρκεια δεύτερου



πειράματος υποστήριξαν αυτό το συμπέρασμα, δεδομένου ότι η αντικατάσταση 75% και 100% της πρωτεΐνης του ιχθυάλευρου οδήγησε σε τιμές απόδοσης ελαφρώς χαμηλότερες, μη σημαντικές στατιστικά, από εκείνες της διατροφής με ιχθυάλευρο. Εντούτοις, ο συνυπολογισμός του πετράλευρου με PMM στο σιτηρέσιο είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του τελικού βάρους όταν αντικαταστάθηκε το 100% της πρωτεΐνης του ιχθυάλευρου. Το πτηνάλευρο θεωρείται γενικά κατώτερη πρωτεϊνική πηγή για τα ψάρια λόγω της χαμηλής πεπτικότητας και της περιορισμένης χορήγησης των απαραίτητων αμινοξέων. Η πηγή και ο τύπος επεξεργασίας των υποπροϊόντων πουλερικών επηρεάζουν αρκετά τη θρεπτική αξία τους και επομένως το ανώτατο όριο συνυπολογισμού τους στις διατροφές τσιπουρών. Το υψηλής ποιότητας πτηνάλευρο μπορεί να αντικαταστήσει σημαντικές ποσότητες της πρωτεΐνης ιχθυαλεύρου. Τα πετράλευρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συστατικό τροφών αλλά σε πολύ χαμηλότερη συγκέντρωση (Alexis 1997).

Είναι αναγκαία η διεξαγωγή περαιτέρω ερευνών-μελετών προκειμένου να υπάρξει δυνατή η δημιουργία μιας πιο ολοκληρωμένης εικόνας σε ότι αφορά την πεπτικότητα διαφορετικών συστατικών των τροφών για τη *S.aurata* και να διευρυνθούν οι γνώσεις σε ότι αφορά τη συνδιαστική χρήση διαφόρων διατροφικών συστατικών.

**Πίνακας 4. ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΕΠΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ**

ΤΕΧΝΙΚΕΣ	ΙΣΤΟΙ	ΠΕΠΤΙΚΑ ΕΝΖΥΜΑ	ΨΑΡΙΑ	ΜΕΓΕΘΟΣ-ΗΛΙΚΙΑΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΨΑΡΙΩΝ (cm)	ΔΙΑΙΤΕΣ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	ΠΗΓΗ
Μέθοδος της υδρόλυσης καζεΐνης του Kunitz(1947) όπως τροποποιήθηκε από τον Walter το1984. Ο προσδιορισμός έγινε σε pH= 9	Όλο το σώμα	πρωτεάση	τσιπούρα ( <i>Sparus aurata</i> )	Προνύμφες	Η εξωγενής παροχή τροφής ξεκίνησε την 4 <sup>η</sup> μέρα μετά την εκκόλαψη με προσφορά τροχόζων ( <i>Brachionus plicatilis</i> ). Ναυπλίοι αρτέμιας προστέθηκαν από τη 15 <sup>η</sup> μέρα.	Οι τιμές της δραστηριότητας πρωτεάσης, αμυλάσης, όξινης και αλκαλικής φωσφατάσης την ημέρα 30, ήταν 15, 10, 20 και 16 φορές υψηλότερες, αντίστοιχα, από εκείνες που μετρήθηκαν στα πρωταρχικά στάδια της προνύμφης. Οι προνύμφες που συμμετείχαν στο πείραμα ασιτείας πέθαναν την 9 <sup>η</sup> ή 10 <sup>η</sup> μέρα.	F.J.Moyano, M.Diaz, F.J.Alarcon and M.C.Sarasquete 1995
1% (w/w) διαλυτό άμυλο (0.25 ml) ως υπόστρωμα σε ρυθμιστικό διάλυμα (0.5 ml) με pH=7		Αμυλάση					

Χρήση 2% (w/w) 4-νιτροφαινυλοφωσφατάση (0.1 ml) ως υπόστρωμα σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος. Ο προσδιορισμός έγινε σε pH=4.8		Όξινη και αλκαλική φωσφατάση					
Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της πεψίνης διεξήχθη χρησιμοποιώντας καζεΐνη ως υπόστρωμα	πεπτικός σωλήνας	Πεψίνη	τσιπούρα ( <i>Sparus aurata</i> )	150g	Τα ψάρια που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα ήταν σε νηστεία επί 40 ώρες πριν από τη δειγματοληψία	Εκτός από την πεψίνη, οι δραστηριότητες όλων των ενζύμων δεν περιορίζονται σε ένα συγκεκριμένο τμήμα του έντερο. Η δραστηριότητα της πεψίνης που παρατηρείται στη <i>S. aurata</i> περιορίζεται στο στομάχι. Οι δραστηριότητες της θρυψίνης και της αμυλάσης ήταν σημαντικά χαμηλότερες στο στομάχι από όλες τις άλλες περιοχές στον πεπτικό σωλήνα.	Deguara S., Jauncey K., Agius C.2003
Η δραστηριότητα της θρυψίνης μετρήθηκε χρησιμοποιώντας Na-p-toluenesulphonyl-L-arginine μεθύλεστερα (TAME) ως υπόστρωμα		θρυψίνη					
Άμυλο χρησιμοποιήθηκε ως	Έντερο	αμυλάση	τσιπούρα ( <i>Sparus aurata</i> )	18-22,5	ημίξηρη τροφή	Υψηλές συγκεντρώσεις άλατος ανέστειλαν τη δραστηριότητα αμυλάσης	R. Munilla-Moran and F.

υπόστρωμα για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της αμυλάσης						της τσιπούρας και του καλκανιού και ενεργοποίησαν την δραστηριότητα στο κοκκινόψαρο. Η δραστηριότητα στη τσιπούρα ήταν απόλυτα εξαρτημένη από τα ιόντα ασβεστίου. Αντιθέτως, η δραστηριότητα στο κοκκινόψαρο ανιχνεύθηκε μόνο εν απουσία ασβεστίου.	Saborido-Rey, 1996
Διαλυτό άμυλο ως υπόστρωμα, όπως περιγράφεται από τους Munilla-Moran and Stark	Έντερο	αμυλάση	καλκάνι ( <i>Scopthalmus maximus</i> )	26,5-32	ημίξηρη τροφή		R. Munilla-Moran and F. Saborido-Rey, 1996
Bernfeld (1955) χρήση αμυλοπηκτίνης, (Sigma, U.S.A.) ως υπόστρωμα	έντερο, συκώτι	α-αμυλάση	<i>C. mrigala</i> <i>L. calbasu</i> <i>C. catla</i> <i>N. notopterus</i>	*	παμφάγο (Λεπτά μέρη των φυτών με μικρές ποσότητες λάσπης, μικρά καρκινοειδή, κάποιες προνύμφες εντόμων, τροχόζωα, φυτοπλαγκτόν)	Ο οισοφάγος και το έντερο είχαν τη μέγιστη δραστηριότητα α-αμυλάσης στα περισσότερα από τα ψάρια. Η δραστηριότητα της α-Αμυλάσης ήταν ελάχιστη στα ήπατα όλων των ψαριών	I. Chakrabarti, Md. A. Gani, K. Chaki, R. Sur and K. K. Misra, 1995
Seligman and Nachlas (1963) μεχρήση /I-naphthyllaurate (Sigma, U.S.A.) ως υπόστρωμα	έντερο, συκώτι	εστεράση	<i>C. mrigala</i> <i>L. calbasu</i>	*		Οισοφάγος και έντερο ήταν οι θέσεις της μέγιστης οστεόλυσης στα περισσότερα από τα ψάρια. Ωστόσο, υψηλότερη δραστηριότητα εστεράσης καταγράφηκε από το έντερο του <i>Cmrigala</i> . Στο στόμαχο του	I. Chakrabarti, Md. A. Gani, K. Chaki, R. Sur and K. K. Misra, 1995

						<i>Lcalbas</i> ευφάνηκε μέγιστη δραστικότητα εστεράσης μεταξύ όλων των οργάνων του πεπτικού συστήματος	
Μέθοδος της υδρόλυσης καζεΐνης του Kunitz (1947) όπως τροποποιήθηκε από τον Walter το 1984. Ο προσδιορισμός έγινε σε pH=1,5	συκώτι, πεπτικό σύστημα	αμυλάση	τσιπούρα ( <i>Sparus aurata</i> )	ενήλικο	σαρκοφάγο	Στην τσιπούρα η δραστικότητα της αμυλάσης είναι υψηλότερη (0,843 U/mg στους 37 °C και 0,413 U/mg στους 25 °C) απ' ό τι στην ιριδίζουσα πέστροφα που είναι μηδενική και στις 2 θερμοκρασίες	M.C. Hidalgo, E. Urea, A. Sanz, 1999
Μέθοδος της υδρόλυσης καζεΐνης του Kunitz (1947) όπως τροποποιήθηκε από τον Walter το 1984. Ο προσδιορισμός έγινε σε pH= 8,5	συκώτι, πεπτικό σύστημα	αμυλάση	ιριδίζουσα πέστροφα <i>Oncorhynchus mykiss</i>	ενήλικο	σαρκοφάγο		M.C. Hidalgo, E. Urea, A. Sanz, 1999
καζεΐνη ως υπόστρωμα	πυλωρικά τυφλά, στόμαχος, έντερο	πρωτεάσες	μουσμούλι ( <i>Pagellus carn e</i> )		δίαιτα πλούσια σε πρωτεΐνες	Μια διατροφή πλούσια σε πρωτεΐνες, όπως εντόσθια ψαριών, οδήγησε σε υψηλότερες ποσότητες πρωτεασών στα δείγματα που αναλύθηκαν, ενώ τα επίπεδα αμυλάσης και της λιπάσης ήταν μεγαλύτερα	G. Caruso, M.G. Denaro and L. Genovese, 2009

						στα ψάρια που η διατροφή τους περιείχε υψηλότερα ποσοστά μη-πρωτεϊνικών ενώσεων στη σύνθεσή τους.	
ανάγνωση μικροπλάκας	πάγκρεας	α-αμυλάση	Πέρκα ( <i>Percafluviatilis</i> )	ενήλικο	εμπορικές ισοαζωτούχες ιχθυοτροφές	Η δραστικότητα της α-αμυλάσης ήταν υψηλότερη στο πάγκρεας από ό,τι σε όλους τους άλλους ιστούς (P <0.001),	M. Langeland, J. E. Lindberg and T. Lundh, 2013
Για τη θρυψίνη, ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε benzoylarginine-ρ-νιτροανιλίδιο	πάγκρεας	θρυψίνη	πέρκα( <i>Percafluviatilis</i> )	ενήλικο	εμπορικές ισοαζωτούχες ιχθυοτροφές	Στη θρυψίνη και στη χυμοθρυψίνη οι δραστικότητες ήταν υψηλότερες στα πυλωρικά τυφλά από ό,τι στο έντερο (P <0,05).	M. Langeland, J. E. Lindberg and T. Lundh, 2013
Για τη χυμοθρυψίνη, ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε. N-βενζοϋλο-L-τυροσίνης αιθυλεστέρας	Συκώτι	Χυμοθρυψίνη	αρκτικός σαλβελίνος ( <i>Salvelinusfontinalis</i> )	ενήλικο	εμπορικές ισοαζωτούχες ιχθυοτροφές	Η συνολική δραστικότητα χυμοθρυψίνης (193 U/mg ανα δείγμα) ήταν σημαντικά υψηλότερη από τη συνολική δραστικότητα θρυψίνης (0.24 U/ mg ανα δείγμα).	M.Langeland, J. E. Lindberg and T. Lundh, 2013
Bezerraet al. (2005) (πρωτεάση) 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)	συκώτι, ψευδοστόμαχος, έντερο	πρωτεάση, αμυλάση, λιπάση	Τιλάπια ( <i>Tilapia nilotica</i> )	5,7 gr.	Τα ψάρια τράφηκαν για μία εβδομάδα δύο φορές την ημέρα με 28, 30 και 35% πρωτεϊνούχες	Η δραστικότητα της πρωτεάσης στο ψευδοστόμαχο, στο έντερο και στο ήπαρ ήταν υψηλότερη σε PH 9 και το επίπεδο	R. Klahan, N. Areechon, R. Yoonpundh and A. Engkagul,

method (Bernfeld, 1951) (αμυλάση). Markweg <i>et al.</i> (1995) (λιπάση)					ζωοτροφές	δραστικότητα αμυλάσης στο ήπαρ, στο ψευδοστόμαχο, στο έντερο ήταν υψηλότερη σε PH 6.	2009
Bezerra <i>et al.</i> (2005) (πρωτεάση) 3,5- dinitrosalicylic acid (DNS) method (Bernfeld, 1951) (αμυλάση). Markweg <i>et al.</i> (1995) (λιπάση)	συκώτι, ψευδοστόμαχ ος , έντερο	πρωτεάση,α μυλάση,	τιλάπια ( <i>Tilapia nilotica</i> )	35.8 gr	Τα ψάρια τράφηκαν για μία εβδομάδα δύο φορές την ημέρα με 28, 30 και 35% πρωτεϊνούχες ζωοτροφές	Η δραστικότητα της πρωτεάσης από το ψευδοστόμαχο, το έντερο και το ήπαρ ήταν υψηλότερη σε PH 8, 10, 9 και 10. Το επίπεδο δραστικότητας της αμυλάσης από αυτά τα όργανα ήταν υψηλότερη σε PH 7, 8, 6 και 7	R. Klahan, N. Areechon, R. Yoonpundh and A. Engkagul, 2009
Bezerra <i>et al.</i> (2005)(πρωτεάση ) 3,5- dinitrosalicylic acid (DNS) method (Bernfeld, 1951) (αμυλάση). Markweg <i>et al.</i> (1995)(λιπάση)	συκώτι, ψευδοστόμαχ ος , έντερο	πρωτεάση,α μυλάση,	τιλάπια ( <i>Tilapia nilotica</i> )	92,1 gr	Τα ψάρια τράφηκαν για μία εβδομάδα δύο φορές την ημέρα με 28, 30 και 35% πρωτεϊνούχες ζωοτροφές	Η δραστικότητα της πρωτεάσης στο ψευδοστόμαχο, στο έντερο και στο ήπαρ ήταν υψηλότερη σε PH 9, 10. Το επίπεδο δραστικότητας της αμυλάσης σε αυτά τα όργανα ήταν υψηλότερη σε PH=2	R. Klahan, N. Areechon, R. Yoonpundh and A. Engkagul, 2009
Οι δραστικότητες της αμυλάσης και	όλο το σώμα	αμυλάση, θρυψίνη,	τσιπούρα ( <i>Sparus</i> )	7.00±0.007	<i>Artemia Nauplii</i> Enriched with Free	Υπήρξε μικρή διαφορά στη δραστικότητα της	M. Naz and M.

της θρυψίνης προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τους Metais and Bieth (1968) and Tseng et al.(1982), leucine alanine peptidase (leu-ala προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τους Bessey et al. (1946),			<i>aurata</i> )		Histidine	αμυλάσης ανάμεσα στο control group (2.68±0.14 (U/mg protein)) και εκείνο που ταΐστηκε με εμπλουτισμένη τροφή (2.54±0.03 (U/mg protein)). Υπήρξε μικρή διαφορά στη δραστικότητα της θρυψίνης ανάμεσα στο control group (108.27±0.55 mU/mg protein) και εκείνο που ταΐστηκε με εμπλουτισμένη τροφή (109.20±0.26 mU/mg protein)	Turkmen, 2008
Οι δραστικότητες της αμυλάσης και της θρυψίνης προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τους Metais and Bieth (1968) και Tsengetal.(1982)	όλο το σώμα	αμυλάση, θρυψίνη,	τσιπούρα ( <i>Sparus aurata</i> )	7.68±0.07	<i>Artemia Nauplii</i> Enriched with Free Histidine	Υπήρξε αρκετή διαφορά στη δραστικότητα της αμυλάσης ανάμεσα στο control group (22.20±0.28 (U/mg protein) και εκείνο που ταΐστηκε με εμπλουτισμένη τροφή (7.97±0.18 (U/mg protein)). Όπως επίσης, στη δραστικότητα της θρυψίνης ανάμεσα στο control group (143.99±0.84mU/mg protein) και εκείνο που ταΐστηκε με εμπλουτισμένη τροφή	M. Naz and M. Turkmen, 2008



						(115.28±0.16mU/mg protein)	
Οι δραστηριότητες της αμυλάσης και της θρυψίνης προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τους Metais and Bieth (1968) και Tsengetal.(1982)	όλο το σώμα	αμυλάση, θρυψίνη,	τσιπούρα ( <i>Sparus aurata</i> )	10.41±0.01	<i>Artemia Nauplii</i> Enriched with Free Histidine	Υπήρξε αρκετή διαφορά στη δραστηριότητα της αμυλάσης ανάμεσα στο control group (25.84±0.6 (U/mg protein) και εκείνο που ταΐστηκε με εμπλουτισμένη τροφή (12.74±0.20 (U/mg protein). Μεγαλύτερη διαφορά στη δραστηριότητα της θρυψίνης παρατηρήθηκε ανάμεσα στο control group (159.60±1.01 mU/mg protein) και εκείνο που ταΐστηκε με εμπλουτισμένη τροφή (122.44±0.49 mU/mg protein)	M. Naz and M. Turkmen, 2008
Οι δραστηριότητες της αμυλάσης και της θρυψίνης προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τους Metais and Bieth (1968) και Tsengetal.(1982)		αμυλάση, θρυψίνη,	τσιπούρα ( <i>Sparus aurata</i> )	9.45±0.68	<i>Artemia Nauplii</i> Enriched with Free Histidine	Υπήρξε αρκετή διαφορά στη δραστηριότητα της αμυλάσης ανάμεσα στο control group (11.00±0.41 (U/mg protein) και εκείνο που ταΐστηκε με εμπλουτισμένη τροφή (2.74±0.06 (U/mg protein). Όπως επίσης, στη δραστηριότητα της	M. Naz and M. Turkmen, 2008

						θρυψίνης ανάμεσα στο control group (138.61±1.23mU/mg protein) και εκείνο που ταΐστηκε με εμπλουτισμένη τροφή (58.85±0.70mU/mg protein)	
η δραστηριότητα της α-αμυλάσης αναλύθηκε στους 20 °C χρησιμοποιώντας μια τροποποιημένη εκδοχή της μεθόδου που περιγράφεται από τον Dold et al. (1995).	Έντερο	α-αμυλάση	πέστροφα ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	FM 154.1±4.5 PP50 138.3±4.7 PP75 136.3±4.3 PP100 120.3±13.8	4 διατροφές: 1)100% ιχθυάλευρο; 2) 50% του ιχθυαλεύρου αντικαταστάθηκε με πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης 3)75% του ιχθυαλεύρου αντικαταστάθηκε με πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης 4) 100% του ιχθυαλεύρου αντικαταστάθηκε με πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης.	Η αντικατάσταση των ιχθυαλεύρων από φυτικές πρωτεΐνες προκάλεσε μείωση του ρυθμού αύξησης τόσο στην πέστροφα όσο και στην τσιπούρα. Και στα δύο είδη, η δραστηριότητα α-αμυλάσης ήταν χαμηλότερη από τις συνολικές τιμές δραστηριότητας πρωτεάσης, και ήταν υψηλότερη στη τσιπούρα απ'ό,τι στην πέστροφα για όλες τις δίαιτες που δοκιμάστηκαν.	E. Santigosa, J. Sánchez, F. Médale, S. Kaushik, J. Pérez-Sánchez, M.A. Gallardo, 2008
Το σύνολο της δραστηριότητας της αλκαλικής πρωτεάσης (TPA) μετρήθηκε φασματοφωτομετρικά στα ομογενοποιημένα υλικά σύμφωνα με Moyano et al. (1996).		αλκαλική πρωτεάση	τσιπούρα ( <i>Sparus aurata</i> )	FM 89.7±1.8 PP50 80.3±1.6 PP75 76.9±1.7 PP100 64.6±1.7			

<p>Η ανάλυση της α-αμυλάσης στα πυλωρικά τυφλά και το έντερο ακολουθώντας τη μέθοδο που περιγράφεται από τους Dold, Fleit, Χαν και Coop (1995), όπως τροποποιήθηκε από τον Santigosa κ.ά. (2008)</p>	<p>πυλωρικά τυφλά, έντερο</p>	<p>α-αμυλάση</p>	<p>τσιπούρα (<i>Sparus aurata</i>)</p>	<p>*</p>	<p>Τέσσερις πειραματικές δίαιτες το ιχθυέλαιο αντικαταστάθηκε στο 0%, 33%, 66% και 100% (FO, 33, 66 και 100VO) φυτικά έλαια (VOs? κράμβη, λιναρόσπορο και έλαια φοίνικα). Οι δίαιτες συμπληρώθηκαν με L-λυσίνη και το DHA</p>	<p>Η δραστηριότητα της α-αμυλάσης στα δείγματα από τα πυλωρικά τυφλά και το έντερο 5 ώρες μετά το τάισμα δεν τροποποιήθηκε σημαντικά από την αντικατάσταση του ιχθυελαίου από φυτικά έλαια. Δεν βρέθηκε μεταξύ των δύο εντερικών περιοχών σημαντική διαφορά στη δραστηριότητα της α-αμυλάσης σε οποιαδήποτε τροφική ομάδα.</p>	<p>E. Santigosa, I. Garcia-Meilan, J.M. Valentin, I. Navarro, J. Perez-Sanchez &amp; M.A. Gallardo, 2011</p>
<p>Η δραστηριότητα της αλκαλικής πρωτεάσης μετρήθηκε με τη χρήση 5 gL<sup>-1</sup> αζοκαζείνης σε 50 mM Tris-HCl (pH 9.0).</p>	<p>Έντερο</p>	<p>Αλκαλική πρωτεάση</p>	<p>Γλώσσα (<i>Solea senegalensis</i>)</p>	<p>22.3 ± 2.5</p>	<p>ταΐστηκαν σε πέντε δίαιτες με μερική αντικατάσταση των ιχθυάλευρων από σόγια, συμπύκνωμα πρωτεΐνης σόγιας, προϊόν απομόνωσης πρωτεΐνης σόγιας, άλευρο γλουτένης σίτου ή συμπύκνωμα πρωτεΐνης μπιζελιού.</p>	<p>Η γλώσσα δείχνει να έχει την ικανότητα να ρυθμίζει την πεπτική έκκριση πρωτεάσης όταν η συγκέντρωση ή η πηγή διαιτητικών πρωτεϊνών τροποποιείται. Η εντερική δραστηριότητα πρωτεάσης επηρεάστηκε από ποσοτικές αλλαγές στις διατροφικές πρωτεΐνες.</p>	<p>A. Rodiles, M. Herrera, I. Hachero-Cruzado, M. L. Cordero, E. Santigosa, Alarco F. J., S. Marti'nez-Llorens, S. P. Lall, 2012</p>

\*δεν υπάρχουν πληροφορίες

## 5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 5.1. ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

www.fishbase.org (25/6/2017)

www.helfish.gr/el/products/bream/ (25/6/2017)

### 5.2. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βουλτσιάδου Ε., Αμπατζόπουλος Ι.Θ., Αντωνοπούλου Ε., Γκάνιας Κ., Γκέλης Σ., Στάικου Α., Τριανταφυλλίδης Α., 2015. ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ οργανισμοί, συστήματα παραγωγής, προοπτικές. Τμήμα Βιολογίας ΑΠΘ. 3: 51-77.

Καπέλος Π. Κ., 2011. Διερεύνηση των δυνατοτήτων της χρησιμοποίησης προβιοτικών στη διατροφή της τσιπούρας *Sparus aurata*. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Καραπαναγιωτίδης Ι., 2015. Τεχνολογία ιχθυοτροφών. Πανεπιστημιακές παραδόσεις μαθήματος. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Τμήμα Ιχθυολογίας και υδάτινου περιβάλλοντος.

Κλαουδάτος Δ.Σ και Κλαουδάτος Σ.Δ., 2012. Καλλιέργειες φυτικών και εκτροφές υδρόβιων ζωικών οργανισμών. Εκδόσεις ΠΡΟΠΟΜΠΟΣ. 3:228-241.

Μεντέ Ε., Νέγκας Ι., 2011. Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση. 2:73-107, 9:377-403.

Νεοφύτου Ν.Χ., 1997. Ιχθυολογία. University Studio Press. 2:62-69.

Νεοφύτου Ν.Χ., 2014. Ιχθυολογία. Πανεπιστημιακές Σημειώσεις, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Τμήμα Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, και προσωπικές σημειώσεις στο πλαίσιο εκπαίδευσής μου στο αντικείμενο της ιχθυολογίας κατά το 4ο εξάμηνο των σπουδών μου το ακαδημαϊκό έτος 2013-2014.

Παπουτσόγλου Ε.Σ., 1994. Μαθήματα Εφαρμοσμένης Υδροβιολογίας. Ειδικό μέρος: Εκτροφές Υδρόβιων Οργανισμών. Αθήνα: Τυπογραφείο Γ.Π.Α., 1994. 93-96.

Παπουτσόγλου Ε.Σ., 2008. Διατροφή ιχθύων. Εκδόσεις Αθ.Σταμούλης. 3:128-156,225-245.

Πνευματικάτος Γ.Η., 1993. Ιχθυοτροφία και Ιχθυοπαθολογία. Αφοί Κυριακίδη. Θεσσαλονίκη. 478.

- Χατζηπλάτων Ι., 2016. Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία: Ανάλυση πεπτικών ενζύμων σε τσιπούρες *Sparus aurata* εκτρεφόμενες με μεταποιημένες ζωικές πρωτεΐνες (ΜΖΠ). Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος.
- Χώτος Γ., Ρογδάκης Ι., 2010. Υδατοκαλλιέργειες ευρύαλων ψαριών λαβράκι & τσιπούρα. Εκδόσεις ΙΩΝ. 2 42-43.

### 5.3. ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alarcon F.J., Diaz M., Moyano F.J., Abelian E., 1998. Characterization and functional properties of digestive proteases in two sparids; gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and common dentex (*Dentex dentex*). *Fish Physiology and Biochemistry* 19, 257-267.
- Alexis M.N., 1997. Fish meal and fish oil replacers in Mediterranean marine fish diets. Zaragoza: CIHEAM Cahiers options Mediterraneennes, n.22 pp 183-204.
- Anson M.L., 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. From the Laboratories of The Rockefeller Institute for Medical research, Princeton, New Jersey.
- Bureau, D.P., Azevedo, P.A., Salazar, M.T., Cuzon, T., 2000. Pattern and cost of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: potential implications and applications. *Memorias del V Simposium Internacional de Nutricion, Acunvola, Merida, Yucatan, Mexico*, 111-140.
- Caruso G., Denaro M.G., Genovese L., 2009. Digestive Enzymes in Some Teleost Species of Interest for Mediterranean Aquaculture *The Open Fish Science Journal* 2, 74-86.
- Chakrabarti I., Gani Md. A., Chaki K. K., Sur R., K.K. Misra., 1995. Digestive enzymes in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and segregation. Pergamon. Elsevier. pp 167-177.
- Deguara S., Jauncey K., Agius C., 2003. Enzyme activities and pH variations in the digestive tract of gilthead sea bream. *Journal of Fish Biology* 62, 1033–1043.
- Dong, F.M., Hardy, R.W., Haard, N.F., Barrows, F.T.B., Rasco, B.A., Fairgrieve, W.T., Forster, I.P., 1993. Chemical composition and protein digestibility of poultry by-product meals for salmonid diets. *Aquaculture*, 116, 149-158.
- FAO. 2009. The state of world fisheries and aquaculture 2008. Fisheries and aquaculture department. Rome.

- Furné M., Hidalgo M.C., López A., García-Gallego M., Morales A.E., Domezain A., Domezainé J., Sanz A., 2005. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. *Aquaculture*. Volume 250, Issues 1–2, Pages 391–398.
- Georgopoulou, U., Sire, M.F. and Vernier, J.M., 1985. Macromolecular absorption of proteins by epithelial cells of the posterior intestinal segment and their intracellular digestion in the rainbow trout. Ultrastructural and biochemical study. *Biol. Cell* 53: 269-282.
- Govoni, J.J., Boehlert, G.W. and Watanabe, Y.L., 1986. The physiology of digestion in fish larvae. *Env. Biol. Fish.* 16: 59-77.
- Gropp, J., Koops, H., Tiews, K., Beck, H., 1979. Replacement of fish meal in trout feeds by other feedstuffs. In: Pillay, T.V.R., Dill, W.A. \_Eds., *Advances in Aquaculture*. Fishing News Books, Surray, U.K. 596–601.
- Guimarães I.G., Pezzato L.E., Barros M.M., Fernandes R.N., 2012. Apparent nutrient digestibility and mineral availability of protein-rich ingredients in extruded diets for Nile tilapia. *Aquaculture*. R. Bras. Zootec., v.41, n.8, p.1801-1808.
- Hidalgo M.C., Urea E., Sanz A., 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. *Aquaculture* 170, 267-283.
- Jobling M., 1995. *Environmental Physiology of Fishes*, 1st ed..Chapman & Hall, London.
- Karasov W.H., 1992. Test of the adaptive modulation hypothesis for dietary control of intestinal transport. *Am J Physiol* 267:496–502.
- Klahan R., Areechon N., Yoonpundh R., Engkagul A., 2009. Characterization and Activity of Digestive Enzymes in Different Sizes of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 43 : 143 – 153.
- Langeland M., Lindberg J.E. and Lundh T., 2013. Digestive Enzyme Activity in Eurasian Perch (*Perca fluviatilis*) and Arctic Charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture Research & Development*.
- Lovatto N.M., Goulart F.R., Loureiro B.B., Adorian T.J., Freitas S.T., Pianesso D., Dalcin M.O., Athayde M.L., Da Silva L.P., 2017. Effects of phosphorylated protein concentrate of pumpkin seed meal on growth and digestive enzymes activity of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquaculture Nutrition*. 23: 201-209.
- Matos E., Silva T.S., Colen R., Dinis M.T., Dias J., 2014. Plant protein and vegetable oil-based diets modulate gilthead seabream (*Sparus aurata*) muscle biochemical status and proteolytic enzymes at an early postmortem stage. *Aquaculture Nutrition*. 20: 153-162.

- Mente E., Solovyev M.M., Vlahos N., Rotllant G., Gisbert E., 2016. Digestive Enzyme Activity during Initial Ontogeny and after Feeding Diets with Different Protein Sources in Zebra Cichlid, *Archocentrus nigrofasciatus*. JOURNAL OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY.
- Moreno-Arias A., Lopez-Elias J.A., Miranda-Baeza A., Rivas-Vega M.E., Martinez-Cordova L.R., Ramirez-Suarez J.C., 2016. Replacement of fishmeal by vegetable meal mix in the diets of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity biofloc system: effect on digestive enzymatic activity. *Aquaculture Nutrition*.
- Moyano F.J., Diaz M., Alarcon F.J., Sarasquete M.C., 1996. Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 15: 121-130
- Munilla-Moran R., Saborido-Rey F., 1996. Digestive Enzymes in Marine Species. II. Amylase Activities in Gut from Seabream (*Sparus aurata*), Turbot (*Scophthalmus maximus*) and Redfish (*Sebastes mentella*) *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 113B, No. 4, pp. 827-834.
- Naz M. and Turkmen M., 2008. Digestive Enzymes and Hormones in Gilthead Seabream Larvae (*Sparus aurata*) Fed *Artemia Nauplii* Enriched with Free Histidine *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh* 60(4), 230-236.
- Naz M., Turkmen M., 2009. The changes in digestive enzymes and hormones of gilthead seabream larvae (*Sparus aurata*, L 1758) fed on *Artemia nauplii* enriched with free methionine. *AquacultInt* .17:243–256.
- Nengas I., Alexis M.N., Davies S.J., Petichakis G., 1995. Investigation to determine digestibility coefficients of various raw materials in diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture Research*. 26: 185-194.
- Nengas I, Alexis M.N., Davies S.J., 1999. High inclusion levels of poultry meals and related byproducts in diets for gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquaculture*. Volume 179, Issues 1–4, Pages 13–23.
- Olivia- Teles A., 2000. Recent advances in European sea bass and gilthead sea bream nutrition, *Aquaculture International*, 8: 477-92.
- Prosser, C. Ladd, 1991. *Comparative Animal Physiology, Environmental and Metabolic Animal Physiology* (4th ed.). Hoboken, NJ: Wiley-Liss. 1–12.
- Rodiles A., Herrera M., Hachero-Cruzado I., Cordero M.L., Santigosa E., Alarcon F. J., Martinez-Lorens S., Lall S.P., 2012. Effect of dietary protein level and source on digestive proteolytic enzyme activity in juvenile Senegalese sole, *Solea senegalensis*. *Aquacult Int*.
- Romer, Alfred Sherwood, Parsons, Thomas S., 1977. *The Vertebrate Body*. Philadelphia, PA: Holt-Saunders International. 316–327.

- Rui L., 2014. Energy Metabolism in the Liver .Department of Molecular and Integrative Physiology, University of Michigan Medical School 4 (1): 177–197.
- Sabat P., J.A. Lagos, and F. Bozinovic., 1999. Test of the adaptive modulation hypothesis in rodents: dietary flexibility and enzyme plasticity. *Comp Biochem Physiol A* 123:83–87.
- Safari O., Naserizadeh M., Mohammadi Arani M., 2016. Digestibility of selected feedstuffs in subadult Caspian great sturgeon, *Huso Huso* using settlement faecal collection and stripping methods. *Aquaculture Nutrition*. 22: 293-303.
- Saleh R., Betancor M.B., Roo J., Hernandez- Cruz C.M., Moyano F-J, Inquierdo M., 2013. Optimum soybean lecithin contents in microdiets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture Nutrition*.
- Samad S. Omar, Daniel L. Merrifield, Holger Kühlwein, Peter E.V. Williams, Simon J. Davies, 2012. Biofuel derived yeast protein concentrate (YPC) as a novel feed ingredient in carp diets. *Aquaculture*. 330–333: 54–62.
- Santigosa E., Garcia-Meilan I., Valentin JM., Navarro I., Perez-Sanchez J., Gallardo MA., 2011. Plant oils inclusion in high fish meal- substituted diets: effect of digestion and nutrient absorption in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Research* 42:962-974.
- Santigosa E., Sanchez J., Medale F., Kaushik S., Perez-Sanchez J., Gallardo MA., 2008. Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and seabream (*Sparus aurata*) in response to dietary fishmeal replacement by plant protein sources. *Aquaculture* 282:68-74.
- Sarasquete M.C. , Polo A., Ydfera M., 1995. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture* 130 79-92.
- Sarasquete, M.C., Polo, A. and Conz~ilez de Canales, M.L., 1993. A histochemical and immunohistochemical study of digestive enzymes and hormones during the larval development of *Sparus aurata* L. *Histochem. J.* 24: 337-344.
- Simon J Davies, Antonio Gouveia, Jerome Laporte, Steve L.Woodgate, Sergio Nates, 2009. Nutrient digestibility profile of premium (category III grade) animal protein by-products for temperate marine fish species (European sea bass, gilthead sea bream and turbot). *AquacultureResearch*. 40: 1759-1769.
- Sola L., Moretti A. Crossetti D., Karaiskou N., Magoulas A., Rossi A.R., Rye M., Triantafyllidis A., Tsigenopoulos C.S., 2006. Gilthead seabream – *Sparus Aurata*. 47-54.
- Sourinda Nath Jana Sudesh , Sudhir Krishan Garg , Vinod Pal Sabhlok & Anita Bhatnagar, 2012. Nutritive Evaluation of Lysine- and Methionine-



Supplemented Raw Vs Heat-Processed Soybean to Replace Fishmeal as a Dietary Protein Source for Grey Mullet, *Mugil cephalus*, and Milkfish, *Chanos chano*. *Journal of Applied Aquaculture* . Volume 24, 2012 - Issue 1 pages 69-80.

Steffens, W., 1985. Poultry waste meal as a protein source in the feed of rainbow trout. *Arch. Tierernaehr.* 35, 361–368.

Stroband, H.W..1. and Dabrowski, K.R., 1979. Morphological and physiological aspects of the digestive system and feeding in fresh-water fish larvae, in *Nutrition des Poissons*. Edited by M. Fontaine. 335-374.

Sugiura S.H., Dong F.M., Rathbone C.K, Hardy R.W., 1998. Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. *Aquaculture*. Volume 159, Issues 3–4, Pages 177–202.

Sunde, J., Eiane, S.A., Rustad, A., Jensen, H.B., Opstvedt, J., Nygard, E., Venturini, G., Rungruangsak-Torrissen, K., 2004. Effect of fish feed processing conditions on digestive protease activities, free amino acid pools, feed conversion efficiency and growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition* 10: 261-277.

Tadeu O. Xavier, Mariana Michelato, and Luiz V. O. Vidal, 2014. Apparent Protein and Energy Digestibility and Amino Acid Availability of Commercial Meat and Bone Meal for Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *JOURNAL OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY*. Vol. 45, No. 4.

Tiews, K., Gropp, J., Koops, H., 1976. On the development of optimal rainbow trout pelleted feeds. *Arch. Fischereiwiss.* 27, 1–29.

Vonk H.J., Western J.R.H., 1984. *Comparative Biochemistry and Physiology of Enzymatic Digestion*. Academic Press. London.

Wassef E., Abu Wafaa M., 1985. Food and feeding habits of wild and reared gilthead bream *Sparus aurata* L. Ph.D. Thesis Cairo: Faculty of science, Cairo University. 233-241.

Yan Li, Qinghui Ai, Kangsen Mai, Wei Xu, Junming Deng, Zhenyan Cheng, 2012. Comparison of high-protein soybean meal and commercial soybean meal partly replacing fish meal on the activities of digestive enzymes and aminotransferases in juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier, 1828). *Aquaculture research*. Volume 45, Issue 6, Pages 1051–1060.

Zhidong Song, Haiyun Li, Jiyang Wang, Peiyu Li, Yongzhi Sun, Limin Zhang, 2014. Effects of fishmeal replacement with soy protein hydrolysates on growth performance, blood biochemistry, gastrointestinal digestion and muscle composition of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture*. 426–427: 96–104.

## 6. ABSTRACT

Scientific research has shown that it is possible to replace fishmeal with different types of poultry by-products in aquafeeds of farmed *Sparus aurata* seabream. Feeds derived from poultry by-products, can be used as a valuable source of animal protein in the diet of sea bream. In the present study we measured the activity of the digestive enzyme of pepsin, in 24 individual seabreams (*Sparus aurata*) fed three dietary treatments. The first dietary treatment contained 100% fishmeal diet (FM), the second a 50% fishmeal 50% poultry meal (PM50) diet and the third a 50% fish meal and 50% feather meal. The results showed statistically significant differences ( $P < 0,05$ ) between the pepsin activity levels of the PM50 group in comparison to the two other groups. Furthermore, higher statistically significant differences ( $P < 0,05$ ) were observed among the protein content of the stomach in the FM dietary treatment. Further research on digestive enzymes is needed for using poultry by-products in aquafeeds for sea bream.

**Keywords:** seabream, alternative protein, poultry by-product diets, pepsin