

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

**ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Τίτλος: Ο ρόλος των μικροοργανισμών στο έντερο της τσιπούρας  
(*Sparus aurata*)**

**ΟΝΟΜΑ: Άννα Τάμπου  
Α.Μ: 1505**

**Βόλος, Ιούνιος 2017**

**Τίτλος: Ο ρόλος των μικροοργανισμών στο έντερο της τσιπούρας  
(*Sparus aurata*)**

**Διμελής Εξεταστική Επιτροπή**

**Έλενα Μεντέ**, Καθηγήτρια, Φυσιολογία Θρέψης Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών,  
Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλίας, Επιβλέπουσα

**Κορμάς Κωνσταντίνος**, Καθηγητής, Οικολογία Υδρόβιων Μικροοργανισμών, Τμήμα  
Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

*Στην οικογένεια 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, κα Έ. 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 τον κ. Κ. Κορμά για τις χρήσιμες συμβουλές του και την καθοδήγησή του καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κα Ε. Νικούλη για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθειά της, όσον αφορά την προμήθεια εργαστηριακού υλικού, καθώς επίσης και για την αμέριστη συμπαράστασή της 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.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	8
<b>ABSTRACT</b> .....	9
<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	10
1.1 Συστηματική κατάταξη και βιολογία της τσιπούρας.....	10
1.1.1 Συστηματική κατάταξη.....	10
1.1.2 Εξωτερική μορφολογία.....	11
1.1.3 Αναπαραγωγική στρατηγική και βιολογικός κύκλος.....	12
1.1.4 Διατροφικές προτιμήσεις.....	13
1.1.5 Βιογεωγραφία και ενδιαίτημα.....	13
1.2 Φυσιολογία θρέψης ιχθύων.....	15
1.2.1 Πεπτικός σωλήνας.....	15
1.2.2 Μικροβιακές κοινότητες πεπτικού συστήματος.....	17
1.3 Υδατοκαλλιέργεια.....	20
1.3.1 Κατάσταση υδατοκαλλιέργειας.....	20
1.3.2 Η ιχθυοτροφή στις υδατοκαλλιέργειες.....	21
1.4 Σκοπός .....	25
<b>2. Υλικά και μέθοδοι</b> .....	26
<b>3. Αποτελέσματα</b> .....	28
<b>4. Συζήτηση</b> .....	34

<b>5.Βιβλιογραφία.....</b>	<b>47</b>
5.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία.....	47
5.2 Ελληνική βιβλιογραφία.....	55
5.3 Ηλεκτρονική βιβλιογραφία.....	56

## Περίληψη

Ο σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν η εξέταση των προκαρυωτικών κοινοτήτων στο έντερο της εκτρεφόμενης τσιπούρας (*Sparus aurata*), η οποία τράφηκε με άλευρο από έντομα. Οι τσιπούρες με αρχικό μέσο βάρος σώματος  $45 \pm 0,1$ g ταΐστηκαν με δύο ισοενεργειακές και ισοπρωτεϊνικές δίαιτες για 70 ημέρες. Η μεταχείριση αναφοράς ήταν δίαιτα με 100% ιχθυάλευρο και η μεταχείριση με τα έντομα ήταν δίαιτα με 50% αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από άλευρο του είδους *Tenebrio molitor*. Οι μικροοργανισμοί του εντέρου, στους ιχθύες που τράφηκαν με τις παραπάνω δίαιτες, αναλύθηκαν με βάση το 16S rRNA γονίδιο. Η ανάλυση φανέρωσε την ύπαρξη εμφανών προκαρυωτικών κοινοτήτων, με τα πιο άφθονα βακτήρια να ανήκουν στα φύλα Firmicutes, Actinobacteria και Proteobacteria. Το κυρίαρχο φύλο στην δίαιτα αναφοράς εμφανίστηκε να είναι το Firmicutes, ενώ στην δίαιτα αντικατάστασης το φύλο Actinobacteria. Στη μεταχείριση με το 100% ιχθυάλευρο βρέθηκαν 28 λειτουργικές ταξινομικές μονάδες (Operational Taxonomic Units, OTUs), ενώ στη μεταχείριση με το 50% εντομάλευρο, ο αριθμός των μικροοργανισμών ήταν αυξημένος και ανήλθε στα 55 OTUs. Επιπλέον, στη δίαιτα αντικατάστασης παρατηρήθηκε η ύπαρξη του φύλου Acidobacteria, το οποίο δεν βρέθηκε στη δίαιτα αναφοράς. Στις δύο διατροφικές μεταχειρίσεις βρέθηκαν εννέα (9) κοινά OTUs.



## **Abstract**

This study examined the gut prokaryotic communities in reared sea bream (*Sparus aurata*), fed with an insect meal diet. Sea breams with an initial mean weight of  $45\pm 0.1$ g were fed with isoenergetic and isonitrogenous diets for 70 days. The control diet contained 100% fishmeal and the insect meal diet had 50% insect meal of the Coleoptera *Tenebrio molitor* and 50% fishmeal. The gut microbiota of fish fed the two diets was analyzed with 16S rRNA gene diversity. There were distinct prokaryotic communities in these two dietary treatments and the most abundant bacteria belonged to Firmicutes, Actinobacteria and Proteobacteria. The dominant phylum in the control diet was Firmicutes, whereas in the 50% replacement of fishmeal with insect meal diet was Actinobacteria. In the 100% fishmeal treatment 28 operational taxonomic units (OTUs) were found. In the 50% insect meal treatment the number was increased, reaching 55 OTUs. Furthermore, in the 50% insect meal diet we noticed the existence of Acidobacteria, a phylum that was not detected in the control diet. Both dietary treatments had 9 OTUs in common.

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Συστηματική κατάταξη και βιολογία της τσιπούρας

#### 1.1.1 Συστηματική κατάταξη

Η τσιπούρα (*Sparus aurata*, Linnaeus 1758) ανήκει στους τελεόστεους ιχθύες και πιο συγκεκριμένα στην οικογένεια *Sparidae*. Σύμφωνα με την βάση δεδομένων του NCBI η συστηματική της κατάταξη είναι η εξής:

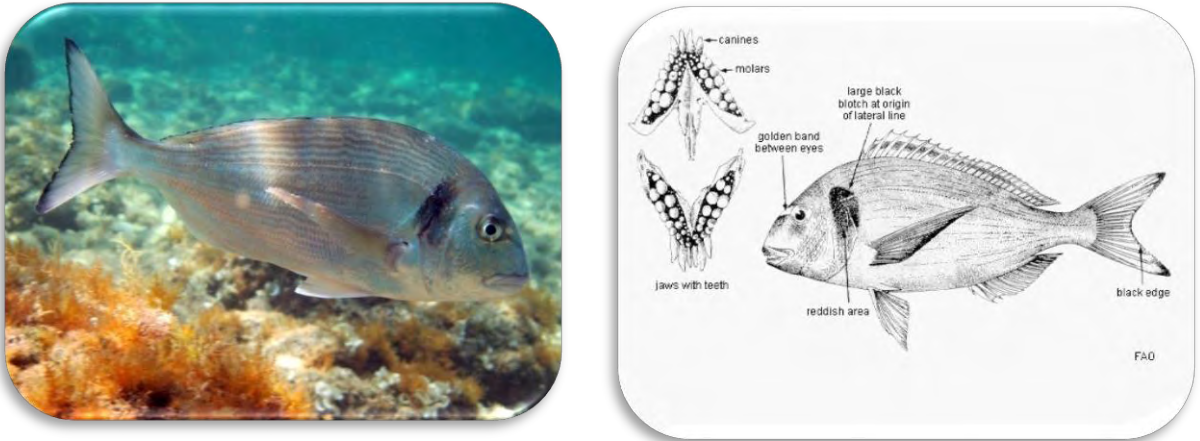
**Πίνακας 1:** Συστηματική κατάταξη τσιπούρας (*Sparus aurata*)

Συστηματική κατάταξη τσιπούρας	
<b>Υπερβασίλειο</b>	Eukarya
<b>Βασίλειο</b>	Metazoa
<b>Υποβασίλειο</b>	Bilateria
<b>Ανθυποβασίλειο</b>	Deuterostomia
<b>Συνομοταξία (Φύλο)</b>	Chordata
<b>Υποσυνομοταξία</b>	Craniata
<b>Ανθυποσυνομοταξία</b>	Vertebrata
<b>Υπερομοταξία</b>	Actinopterygii
<b>Ομοταξία</b>	Actinopteri
<b>Υφομοταξία (κλάση)</b>	Neopterygii
<b>Ανθυφομοταξία</b>	Teleostei

<b>Υπερτάξη</b>	Acanthopterygii
<b>Τάξη</b>	Perciformes
<b>Υποτάξη</b>	Percoidei
<b>Οικογένεια</b>	Sparidae
<b>Γένος</b>	Sparus
<b>Είδος</b>	<i>Sparus aurata</i>

### 1.1.2 Εξωτερική μορφολογία

Το σώμα της είναι οβάλ και ελαφρώς πλευρικά συμπιεσμένο, ενώ το προφίλ της κεφαλής εμφανίζει κύρτωση. Τα μάτια της είναι μικρά και το στόμα βρίσκεται χαμηλά της κεφαλής (FAO). Ο χρωματισμός της τσιπούρας είναι γκριζος-ασημί με μία μαύρη κηλίδα που καταλήγει σε ελαφρύ κοκκινωπό χρωματισμό σε κάθε βραγχιόκαλυμμα, στο ύψος της πλευρικής γραμμής. Συχνά παρατηρούνται σκούρες διαμήκεις γραμμές πλευρικά του σώματος και μια σκούρα ζώνη στο ουραίο πτερύγιο. Το λατινικό όνομα του συγκεκριμένου είδους (*Sparus aurata*) καθώς και η αγγλική της ονομασία (gilt-head: επίχρυσο κεφάλι) οφείλεται στην χαρακτηριστική χρυσοκίτρινη γραμμή που έχει ανάμεσα στα μάτια. Το μέσο μήκος της είναι στα 35 εκατοστά, ενώ το μέγιστο μήκος αγγίζει τα 70 εκατοστά. Το μέγιστο βάρος που έχει καταγραφεί είναι στα 17,2 κιλά και η μέγιστη ηλικία στα 11 χρόνια (Fishbase).



**Εικόνα 1:** Αριστερά, Τσιπούρα (*Sparus aurata*) στο φυσικό της περιβάλλον (<https://www.flickr.com/photos/poissons-mediterranee/7696833364>). Δεξιά ανατομία και μορφολογία δοντιών και χρώματος τσιπούρας ([www.fao.org/docrep/009/t0438e/to483proo.htm](http://www.fao.org/docrep/009/t0438e/to483proo.htm))

### 1.1.3 Αναπαραγωγική στρατηγική και βιολογικός κύκλος

Η τσιπούρα είναι ερμαφρόδιτο είδος, καθώς εμφανίζει πρωτανδρισμό. Η αναστροφή του φύλου συνήθως γίνεται στο τρίτο έτος της ζωής της. Η αναπαραγωγική ωριμότητα εμφανίζεται στο πρώτο ή στο δεύτερο έτος, η ωοτοκία είναι συνεχής, πραγματοποιείται από τον Οκτώβριο ή τον Δεκέμβριο και διαρκεί περισσότερο από 3 μήνες. Τα ενήλικα άτομα κατά την περίοδο ωοτοκίας επιλέγουν βαθύτερα νερά, ενώ τα νεαρά ιχθύδια την άνοιξη μεταναστεύουν σε παράκτιες περιοχές, σε εκβολικά συστήματα (Koven 2002) και σε λιμνοθάλασσες (Κλαουδάτος και Κλαουδάτος 2012). Τα ενδιαιτήματα αυτά προσφέρουν προστασία και άφθονη τροφή στα νεαρά άτομα της τσιπούρας. Κατά την ωοτοκία

απελευθερώνονται 20.000-80.000 αυγά από κάθε θηλυκό άτομο και είναι σφαιρικά, πελαγικά, με μία κηλίδα ελαίου (Sola et al. 2006). Η επώαση πραγματοποιείται σε 2 ημέρες σε θερμοκρασία 16-17°C, ενώ το στάδιο της λάρβας διαρκεί 50 ημέρες σε θερμοκρασία 17,5°C ή 43 ημέρες στη θερμοκρασία των 20°C. Το μέγεθος των αυγών αγγίζει τα 0,9-1,1 χιλιοστά και της λάρβας τα 2,5-3,0 χιλιοστά.

#### 1.1.4 Διατροφικές προτιμήσεις

Η τσιπούρα ανήκει στα σαρκοφάγα είδη, με ιδιαίτερη προτίμηση στα μαλάκια, κυρίως στα δίθυρα, τα οποία ανοίγει σπάζοντας το κέλυφός τους με τα ιδιαίτερα δυνατά σαγόνια της. Επίσης τρέφεται με καρκινοειδή και μικρούς ιχθύες. Περιστασιακά μπορεί να εμφανίσει φυτοφαγία, όταν το ενδιαίτημά της δεν υποστηρίζει τις διατροφικές της προτιμήσεις. Οι λάρβες έχουν υψηλές βιολογικές απαιτήσεις σε δεκαεξανοϊκό οξύ (DHA), καθώς φαίνεται ότι η παρουσία του εμπλέκεται στην οπτική οξύτητα του ιχθύος και επηρεάζει την επιτυχία της θήρευσης και την πρόληψη καθαρής ενέργειας (Koven 2002). Τα νεαρά ιχθύδια τρέφονται κυρίως με σκώληκες και μικρά καρκινοειδή, ενώ τα μεγαλύτερα άτομα αρέσκονται σε μαλάκια, γαστερόποδα, καρκινοειδή και δίθυρα μαλάκια (Κλαουδάτος και Κλαουδάτος 2012). Σύμφωνα με την διατροφική κατάταξη της βάσης δεδομένων Fishbase η τσιπούρα ανήκει στο τροφικό επίπεδο 3,3-3,5.

#### 1.1.5 Βιογεωγραφία και ενδιαίτημα

Η τσιπούρα απαντάται κυρίως στην Μεσόγειο Θάλασσα, αλλά μπορεί να βρεθεί στον Ατλαντικό Ωκεανό από τα Βρετανικά Νησιά έως το Πράσινο Ακρωτήριο και γύρω από τα Κανάρια νησιά, ενώ η παρουσία της στην Μαύρη Θάλασσα είναι σπάνια (Basurco et al. 2011). Προτιμάει τα υποτροπικά νερά με μέση θερμοκρασία τους 26°C. Μπορεί να βρεθεί σε βάθη 1-150 μέτρων, αλλά συνήθως δεν ξεπερνάει τα 30 μέτρα βάθος. Το ενδιαίτημά της αποτελείται από θαλάσσια και υφάλμυρα ύδατα με μαλακό ή κινητό υπόστρωμα. Επίσης συχνά εμφανίζεται σε λειμώνες φανερόγαμων. Απαντάται συνήθως ατομικά ή σε μικρά κοπάδια (Κλαουδάτος και Κλαουδάτος 2012).



**Εικόνα 2:** Γεωγραφική εξάπλωση της τσιπούρας (*Sparus aurata*) (Fishbase: [http://www.aquamaps.org/receive.php?type\\_of\\_map=regular](http://www.aquamaps.org/receive.php?type_of_map=regular))

## 1.2 Φυσιολογία θρέψης ιχθύων

### 1.2.1 Πεπτικός σωλήνας

Ο πεπτικός σωλήνας των ιχθύων παρουσιάζει διαφοροποιήσεις μεταξύ των ειδών, σκοπός των οποίων είναι η βέλτιστη αξιοποίηση των θρεπτικών στοιχείων που εισέρχονται στον οργανισμό (Ray & Ringø 2014). Οι διαφοροποιήσεις αυτές αντικατοπτρίζουν την προσαρμογή των ειδών στα διαφορετικά ενδιαιτήματα και στις στρατηγικές πρόσληψης τροφής (Olsson & Holmgren 2011). Ωστόσο, τα κύρια όργανα του πεπτικού συστήματος είναι κοινά στα περισσότερα είδη ιχθύων και περιλαμβάνουν το στόμα, τον οισοφάγο, το στομάχι, το έντερο, τα πλωρικά τυφλά και το πάγκρεας (Μεντέ 2011).

Πιο συγκεκριμένα, το έντερο βάση των λειτουργικών ιδιοτήτων του μπορεί να χωριστεί σε τρία τμήματα, το πρόσθιο, το οπίσθιο και την έδρα (Παπουτσόγλου 2008), ενώ με βάση των φυσιολογικών του λειτουργιών μπορεί να χωριστεί το πρόσθιο τμήμα, στο κεντρικό τμήμα του μεσεντέρου, στο ακραίο τμήμα του μεσεντέρου και στο τελικό τμήμα (Μεντέ 2011, Olsson 2011). Ως πρόσθιο τμήμα (foregut) ορίζεται το τμήμα του εντέρου, το οποίο παρουσιάζει διόγκωση, καταλήγει στην είσοδο του αγωγού της χολής και συχνά περιλαμβάνει τον οισοφάγο και τον στομάχο. Το κεντρικό και ακραίο τμήμα του μεσεντέρου (midgut) συχνά αναφερόμενο ως μικρό ή λεπτό έντερο, επιτελεί την απορρόφηση πρωτεϊνικού υλικού και την οσμωρρύθμιση, μέσω του μεγάλου αριθμού μιτοχονδρίων και της εκλεκτικής απορρόφησης μεταλλικών ιόντων. Το τελικό

τμήμα ή οπισθέντερο ή ορθό έντερο (hindgut) είναι το κομμάτι του εντέρου που ξεκινάει από το τέλος του μεσεντέρου και καταλήγει στην έδρα.

Ο ρόλος που επιτελεί ο εντερικός σωλήνας έχει διάφορες πτυχές. Η πιο σημαντική λειτουργία του είναι η μεταφορά και απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών της τροφής (Μεντέ 2011, Olsson 2011, Ray & Ringø 2014, Ringø et al. 2016). Επίσης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση των αλάτων, στην ομοιόσταση του οργανισμού και στην άμυνα εναντίων των παθογόνων μικροοργανισμών (Olsson 2011, Ringø et al. 2016). Όμως ο ρόλος του εντέρου δεν σταματάει εδώ, καθώς σύμφωνα με τους Ringø et al. (2003) η ηλεκτρολυτική ισορροπία του οργανισμού πετυχαίνεται χάρη στο όργανο αυτό, όπως και η ενδοκρινική ρύθμιση της πέψης και του μεταβολισμού.

Στην τσιπούρα διακρίνονται έντονα δύο εντερικά τμήματα (foregut και hindgut) (FAO 2017) με διαφορετικά ιστολογικά χαρακτηριστικά, από τα οποία στο δεύτερο φαίνεται να είναι πιο έντονη η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών της τροφής (Cataldi et al. 1987). Στο συγκεκριμένο είδος το πεπτικό σύστημα και ιδιαίτερα η οδοντοφυΐα αποδεικνύουν ένα ευρύ φάσμα προσαρμοστικότητας. Ο εντερικός σωλήνας είναι δομημένος με τέτοιο τρόπο ώστε ο οργανισμός να προσλαμβάνει τρόφιμα ζωικής προέλευσης και ο οισοφάγος, λόγω της μορφολογίας του, ίσως συνδέεται με την οσμωρρύθμιση του ευρύαλου αυτού οργανισμού (Cataldi et al. 1987).





**Εικόνα 3:** Πεπτικός σωλήνας της τσιπούρας ([http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/affris/img/aurataF2.jpg](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/affris/img/aurataF2.jpg)).

### 1.2.2 Μικροβιακές κοινότητες πεπτικού συστήματος

Ο πεπτικός σωλήνας των ιχθύων φιλοξενεί μια πληθώρα μικροβιακών κοινοτήτων. Οι κοινότητες αυτές αποτελούνται από βακτήρια, μύκητες, ιούς, αρχαία και πρωτόζωα (Romero et al. 2014). Ωστόσο οι μικροοργανισμοί αυτοί διαχωρίζονται στους αυτόχθονους, οι οποίοι είναι σε θέση να αποικήσουν το εντερικό επιθήλιο του ξενιστή ή σχετίζονται με τις μικρολάχνες, και στους αλλόχθονους, οι οποίοι μεταφέρονται στον γαστρεντερικό σωλήνα μέσω της τροφής ή παρουσιάζονται στον

αυλό (Ringø et al. 2016). Επίσης οι αλλόχθονοι μικροοργανισμοί που μεταφέρονται μέσω της τροφή βρίσκουν ευνοϊκές συνθήκες στον πεπτικό αγωγό και έτσι εγκαθίστανται και πολλαπλασιάζονται, αλλά η πλειονότητά τους αποβάλλεται με τα κόπρανα, ενώ οι αυτόχθονοι συμβιώτες ωφελούνται από την παροχή σταθερών συνθηκών διαβίωσης και με τη σειρά τους ωφελούν τον ξενιστή τους (Μεζίτη 2011). Αν και η παρουσία των μικροοργανισμών εμφανίζεται κατά μήκος του εντέρου, η μεγαλύτερη συγκέντρωση αυτών βρίσκεται στο οπίσθιο τμήμα του (Παπουτσόγλου 2008). Οι μικροοργανισμοί των υδρόβιων οργανισμών είναι πολύ ευαίσθητοι στις διατροφικές αλλαγές του ξενιστή, καθώς επηρεάζονται από την μορφή της τροφής (νωπή ή σύμπηκτα), τα λιπαρά οξέα (το επίπεδό τους, την πηγή τους και την ακορεστότητά τους), τις πρωτεϊνικές πηγές, τους λειτουργικούς υδατάνθρακες, τα αντιβιοτικά, τα προβιοτικά, τα πρεβιοτικά, τα συμβιωτικά, τα ανοσοκατασταλτικά, τον διατροφικό σίδηρο και το οξείδιο του χρωμίου (Ringø et al. 2016), καθώς και από τα αμινοξέα που απαρτίζουν τις πρωτεΐνες (Larsen και Arias 2014). Εικάζεται ότι οι συμβιώτες μικροοργανισμοί στο πεπτικό σύστημα των ιχθύων υπολογίζονται στους  $10^5$ - $10^8$  κύτταρα  $\text{ml}^{-1}$  σε σύγκριση με των θηλαστικών που αριθμούν τα  $10^{12}$  κύτταρα  $\text{ml}^{-1}$  (Jutfelt 2011), ενώ κατά τους Ringø et al (2003) οι κοινότητες των αερόβιων ετερόφιλων βακτηρίων αριθμούν τα  $10^5$  κύτταρα  $\text{ml}^{-1}$  έως τα  $10^7$  κύτταρα  $\text{ml}^{-1}$  στους ενήλικους ιχθύες. Επιπλέον παρατηρείται μια βαθμιαία αύξηση του πληθυσμού των μικροοργανισμών από τον στόμαχο έως το οπίσθιο τμήμα του εντέρου (Wang et al. 2017). Οι μικροοργανισμοί αυτοί επηρεάζονται επίσης από το διαθέσιμο οξυγόνο (Larsen και Arias 2014), τις εποχικές διακυμάνσεις, το στρες, τις διαφορετικές περιοχές του εντέρου που αποικίζουν, το φύλο και τα αναπτυξιακά στάδια του ξενιστή, τους μικροοργανισμούς που μεταφέρονται μέσω της τροφής, την ασιτία, την μετανάστευση

από τη θάλασσα στα εσωτερικά ύδατα, την ποιότητα του νερού, τους περιβαλλοντικούς και οικολογικούς παράγοντες, καθώς και από την οικολογία και το περιβάλλον του ξενιστή (Ringø et al. 2016). Επιπλέον φαίνεται ότι επηρεάζονται τόσο από το σύστημα εκτροφής των ιχθύων (Vatsos 2016) όσο και από τη διακύμανση της θερμοκρασίας και το επίπεδο της αλατότητας στο νερό (Ghanbari et al. 2015). Τέλος εξαρτώνται από την ανατομία του εντέρου, τους ενδογενείς μεταβολίτες, το pH, την αναλογία αλάτων και το οξειδοαναγωγικό δυναμικό (Ray & Ringø 2014). Ωστόσο δεν φαίνεται να υπάρχει διαφορά ανάμεσα στα κυρίαρχα φύλα που παρουσιάζονται στον πεπτικό σωλήνα των ιχθύων των εσωτερικών και θαλάσσιων υδάτων, καθώς παρατηρούνται εκπρόσωποι των Proteobacteria, Bacteroidetes και Firmicutes, αλλά υπάρχει διαφορά ανάμεσα στα κυρίαρχα είδη, καθώς τα είδη *Aeromonas spp.* και *Pseudomonas spp.* είναι περισσότερο άφθονα στους ιχθύες των εσωτερικών υδάτων, ενώ τα είδη *Vibrio spp.* είναι περισσότερο άφθονα σε αυτά των θαλάσσιων υδάτων (Vatsos 2016).

Οι μικροοργανισμοί του πεπτικού σωλήνα και τα μεταβολικά τους προϊόντα επηρεάζουν πολλές λειτουργίες του οργανισμού ξενιστή όπως η ομοιόσταση και η υγεία του εντέρου (Flint et al. 2014). Επίσης διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη, την πέψη, την απορρόφηση, τη διατροφή, τις ασθένειες, την αντοχή και την ανοσία του ξενιστή (Romero et al. 2014). Οι αυτόχθονοι μικροοργανισμοί αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών, όπως οι παθογόνοι, με την έκκριση ουσιών όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου, τα πεπτίδια βακτηριοσίνης και το γαλακτικό οξύ (Jutfelt 2011). Επιπλέον στους συμβιώτες του εντέρου παρατηρείται σημαντική πρωτεολυτική, αμυλολυτική και χιτινολυτική δράση, δράση της λεκιθινάσης και παραγωγή μικρού μοριακού βάρους λιπαρών οξέων έπειτα από ζυμωτική δράση

βακτηρίων σε πολυσακχαρίτες (Παπουτσόγλου 2008), ενώ είναι αξιοσημείωτη και η παραγωγή διαφόρων βιταμινών (Nayak 2010).

Η ανίχνευση και αναγνώριση των μικροοργανισμών του γαστρεντερικού σωλήνα από το 1970 έως τα τέλη του 1990 πραγματοποιούνταν με τεχνικές κυτταροκαλλιέργειας και με τη χρήση φυσιολογικών και βιοχημικών ιδιοτεροτήτων που χαρακτηρίζουν αυτές τις μικροκοινότητες, αλλά από το 2000 έως σήμερα χρησιμοποιούνται μοριακές μέθοδοι, με την ταυτόχρονη χρήση της καλλιέργειας των βακτηριακών στελεχών (Ringø et al. 2016). Οι ταχέως αναπτυσσόμενες μοριακές τεχνικές περιλαμβάνουν τεχνικές κυκλικής ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων (PCR, qPCR, rtPCR, επάλληλη PCR, multiplex PCR, broad-spectrum PCR, LCR), τεχνικές ισοθερμικών αντιδράσεων, φθορίζων εντοπισμό και εντοπισμό υβριδισμού (FISH), τεχνικές ανάλυσης γονοτύπου, φασματοσκοπία μάζας, μικροσυστοιχίες και χημικούς ιχνηθέτες πραγματικού χρόνου (Κυριαζής et al. 2013).

### 1.3 Υδατοκαλλιέργεια

#### 1.3.1 Κατάσταση υδατοκαλλιέργειας

Η ζήτηση για ιχθυηρά συνεχώς αυξάνεται με το πέρασμα του χρόνου και η παγκόσμια αλιεία δεν μπορεί πλέον να την καλύψει. Σύμφωνα με τον FAO (2016) τα προϊόντα της παγκόσμιας αλιείας το 2014 έφθασαν τους 93,4 εκατομμύρια τόνους, με αύξηση 0,8% συγκρινόμενα με προηγούμενα χρόνια. Οι άγριοι πληθυσμοί ιχθύων υπόκεινται μείωση λόγω της επίμονης αλιείας, ενώ οι καταναλωτές ζητάνε συνεχώς περισσότερα ιχθυηρά. Το κενό που δημιουργείται μεταξύ της ζήτησης και της αιχμαλωσίας των άγριων ιχθυοπληθυσμών καλείται να γεμίσει η υδατοκαλλιέργεια. Το

2014 η παραγωγή ιχθύων υδατοεκτροφής άγγιξε τους 170 εκατομμύρια τόνους (FAO 2016), με προοπτική ταχείας ανάπτυξης στα επόμενα χρόνια.

Η Ελλάδα ήταν η δεύτερη πιο σημαντική χώρα παραγωγής στην Μεσόγειο Θάλασσα με 35% (110.960,15 τόνους) παραγωγή ιχθύων θαλάσσιων υδάτων το 2015 (FEAP 2016). Σύμφωνα με την ίδια αναφορά, η παραγωγή ιχθύων θαλάσσης έφθασε τους 317.029 τόνους, με το 45% αυτών να είναι παραγωγή τσιπούρας.

### 1.3.2 Η ιχθυτροφή στις υδατοκαλλιέργειες

Οι σαρκοφάγοι ιχθύες στις υδατοκαλλιέργειες ταΐζονται κυρίως με ιχθυοτροφές παρασκευασμένες από ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια άγριων ιχθυοπληθυσμών. Ωστόσο η αυξανόμενη ζήτηση για ιχθυηρά σε συνδυασμό με την μείωση των ιχθυοπληθυσμών και την αύξηση των τιμών των ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων οδήγησαν τους επιστήμονες σε όλον τον κόσμο στην αναζήτηση εναλλακτικών και βιώσιμων πηγών πρωτεϊνών και λιπαρών οξέων για τις ιχθυοτροφές. Το μεγαλύτερο μέρος της έρευνας έχει στραφεί στην αντικατάσταση των προϊόντων ιχθύων με προϊόντα φυτικής προέλευσης (Kaushik et al. 2004, Calduch-Giner et al. 2012, Saleh et al. 2013, Gatesoupe et al. 2014, Izquierdo et al. 2015), ενώ στο στόχαστρο των επιστημόνων έχουν μπει κι άλλες πρωτεϊνικές πηγές και πηγές λιπαρών οξέων.

Ένα προτεινόμενο συστατικό για τις ιχθυοτροφές είναι το εντομάλευρο. Τα έντομα αποτελούν μέρος της φυσικής διατροφής ορισμένων ιχθύων, αφήνουν μικρό οικολογικό αποτύπωμα και η εκτροφή τους δεν απαιτεί μεγάλες εκτάσεις καλλιεργήσιμης γης (Henry et al. 2015), καθώς ούτε μεγάλα αποθέματα ενέργειας και νερού (Oonincx & de Boer 2012). Ανακυκλώνουν πολλές μορφές τροφικών αποβλήτων

και άλλων συσσωρευμένων διατροφικών στοιχείων του περιβάλλοντος (Newton et al. 2005). Επομένως αποτελούν βιώσιμη πηγή πρωτεϊνών και περιέχουν αμινοξέα και λιπαρά οξέα ανταγωνιστικά σε σχέση με το ιχθυάλευρο και το άλευρο σόγιας, ελκυστικές τιμές ποσότητας και καλή ποιότητα, καθώς και αποδεκτές διατροφικές ιδιότητες (Sánchez-Muros et al. 2013). Επιπλέον είναι πλούσια σε βιταμίνες και μέταλλα (Rumpold & Schluttre 2013, van Huis et al. 2013), ενώ φαίνεται να μειώνουν σε σημαντικό βαθμό παθογόνα βακτήρια (Erickson et al. 2004, Liu et al. 2008), εξαιτίας αντιμικροβιακών πεπτιδίων που φέρουν (Ravi et al. 2011). Αποτελούνται από ιχνοστοιχεία όπως ο χαλκός, ο σίδηρος, το μαγνήσιο, το μαγγάνιο, ο φώσφορος, το σελήνιο και ο ψευδάργυρος, αλλά και από τις βιταμίνες ριβοφλαβίνη, παντοθενικό οξύ, βιοτίνη και σε μερικές περιπτώσεις φολικό οξύ (Rumpold & Schluttre 2013). Ωστόσο, για να πραγματοποιηθεί η μαζική παραγωγή εντόμων πρέπει να τηρηθούν συγκεκριμένες συνθήκες. Τα έντομα θα πρέπει να έχουν μεγάλο ρυθμό αύξησης, μικρό κύκλο ανάπτυξης, υψηλή επιβίωση προνυμφών, μεγάλη ωοτοκία, υψηλό δυναμικό αύξησης της βιομάζας ανά ημέρα, υψηλό ποσοστό μετατροπής της τροφής τους σε βάρος, να αντέχουν στις υψηλές πυκνότητες και να είναι ανθεκτικά στις ασθένειες (van Huis et al. 2013). Τέλος τα έντομα μπορούν να συνεισφέρουν στην ανάπτυξη της αειφορικής υδατοκαλλιέργειας ([www.nifes.no/en/insects-fish-feed-future/](http://www.nifes.no/en/insects-fish-feed-future/)).

Το άλευρο από το έντομο *Tenebrio molitor* της τάξεως των Coleoptera παρουσιάζει πολλά θετικά στοιχεία, γεγονός που το καθιστά προτεινόμενο εναλλακτικό άλευρο για τις ιχθυοτροφές.



<i>Tenebrio molitor</i> (Λάρβα)	185,5±2,1 (g/kg)	151±24,0 (g/kg)	43±19,7	14	10,5±2,1	2,15±0,1 (Kcal/kg)	Finke 2002
<i>Tenebrio molitor</i> (Ενήλικο)	237	54	115	-14	12	1,378	
<i>Tenebrio molitor</i> (Λάρβα)	46,44	32,7	4,58	-	2,86	-	Ravzanaadii et al. 2012
<i>Tenebrio molitor</i> (Ενήλικο)	63,34	7,56	19,96	-	3,56	-	
<i>Tenebrio molitor</i> (Λάρβα)	48,34 ± 1,07	38,50 ± 3,31	8,48 ±4,4	4,81 ±3,9	2,82 ±0,3	557,12 ±19,0	Rumpold & Schluter 2013
<i>Tenebrio molitor</i> (Ενήλικο)	62,74 ± 3,59	17,84 ±4,1	18,26 ±2,7	1,93 ±2,7	3,00 ±0,4	403,75 ±34,1	
<i>Tenebrio molitor</i> (Λάρβα)	49,3±2,4	-	-	0,3	2,95±0,2	-	Sanchez- Muros et al. 2014
<i>Tenebrio molitor</i> (Ενήλικο)	65±1,8	-	-	3,9	3,2±0,1	-	
<i>Tenebrio molitor</i>	19,1 ±1,3	9,9 ±1,0	-	-	-	-	Yi et al. 2013
<i>Tenebrio molitor</i>	52,8 ±4,2	-	-	12,0 ±3,5	3,1 ±0,9	26,8 ±0,4 (MJ/kg)	Makkar et al. 2014



#### 1.4 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι ο προσδιορισμός τυχόν σχέσεων μεταξύ της διατροφικής μεταχείρισης και των μικροβιακών κοινοτήτων στον εντερικό σωλήνα της τσιπούρας (*Sparus aurata*) όταν έχει διατραφεί με δίαιτα βασισμένη στο έντομο *Tenebrio molitor*.

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε στο Τμήμα Κτηνιατρικής και Ζωικής Παραγωγής του Πανεπιστημίου της Νάπολης Federico II, στην Ιταλία. 300 νεαρά άτομα τσιπούρας (*Sparus aurata*), με αρχικό βάρος  $45 \pm 0,1$  g κατανεμήθηκαν σε έξι (6) δεξαμενές με θαλασσινό νερό και όγκο 500 L. Η θερμοκρασία κρατήθηκε σταθερή στους  $19,5 \pm 0,5$  °C, η αλατότητα στα 36‰ και το διαλυμένο οξυγόνο στα 6 ppm. Στα άτομα της τσιπούρας χορηγήθηκαν δύο διαφορετικές δίαιτες ισοπρωτεϊνικές και ισοενεργειακές. Η μία δίαιτα χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας και περιείχε 100% ιχθυάλευρο και ιχθυέλαιο, ενώ η άλλη δίαιτα περιείχε 50% αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με άλευρο από προνύμφες του εντόμου *Tenebrio molitor* (TM, 50% TM). Η κάθε δίαιτα χορηγήθηκε σε τρεις (3) δεξαμενές των 50 ατόμων και η πειραματική διαδικασία διήρκησε 70 ημέρες, αφού είχε προηγηθεί μία περίοδος δύο (2) εβδομάδων εγκλιματισμού των ιχθύων στις δεξαμενές και στις δίαιτες.

Κατά το πέρας του πειράματος απομονώθηκε από κάθε ιχθύ το έντερο, και αφού απομακρύνθηκαν τα κόπρανα, ο ιστός ξεπλύθηκε με απαλλαγμένο από αιωρούμενα στερεά αποστειρωμένο θαλασσινό νερό. Έπειτα το μεσαίο τμήμα του εντέρου από κάθε ιχθύ αποθηκεύτηκε στους  $-80$  °C μέχρι την περαιτέρω ανάλυσή του. Το γενετικό υλικό (DNA) απομονώθηκε απευθείας από ca. 0.25 g εντερικού ιστού με την χρήση του εμπορικού σετ απομόνωσης Power Max Soil DNA Isolation (MoBio, CA, USA), σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή. Η ανίχνευση του βακτηριακού DNA πραγματοποιήθηκε με την τεχνολογία της πυροαλληλούχισης (pyrosequencing) για την ποικιλότητα της περιοχής V3-V4 του γονιδίου 16S rRNA με τη χρήση ειδικών εκκινητών (Klindworth et al. 2012). Τα δεδομένα που προέκυψαν από την

πυροαλληλούχιση επεξεργάστηκαν με το λογισμικό MOTHUR (Schloss et al. 2009), ενώ η ταξινομική κατάταξη πραγματοποιήθηκε στην διαδικτυακή πλατφόρμα SINA (<https://www.arb-silva.de/aligner>), σύμφωνα με την τελευταία έκδοση SILVA για την μικρή (16S) υπομονάδα του ριβοσωμικού RNA. Τέλος πραγματοποιήθηκε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων με το στατιστικό πακέτο SPSS 20.0 και το πρόγραμμα Excel της Microsoft.

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Κατά την ολοκλήρωση της πειραματικής διαδικασίας το τελικό ατομικό βάρος των ιχθύων, που διατράφηκαν με τη δίαιτα αναφοράς, υπολογίστηκε στα  $245,6 \pm 0,3$  g. Αντίστοιχα το βάρος των ιχθύων που διατράφηκαν με τη δίαιτα που περιείχε *Tenebrio molitor* έφθασε τα  $238,9 \pm 0,1$  g. Όπως γίνεται αντιληπτό, οι τσιπούρες που διατράφηκαν με 50% εντομάλευρο στη δίαιτά τους είχαν απώλεια βάρους, σε σχέση με τις τσιπούρες που διατράφηκαν με 100% ιχθυάλευρο.

Τα αποτελέσματα από τη μοριακή ανάλυση που πραγματοποιήθηκε στις γαστρεντερικές βακτηριακές κοιλότητες των ιχθύων, έδειξαν ότι συνολικά, βρέθηκαν 76 λειτουργικές ταξινομικές μονάδες (Operational Taxonomic Units, OTUs) στον εντερικό σωλήνα των ιχθύων και στις δύο μεταχειρίσεις. Πιο συγκεκριμένα, στη δίαιτα αναφοράς, η οποία αποτελούνταν από 0% *Tenebrio molitor* και περιείχε 100% ιχθυάλευρο, βρέθηκαν 28 OTUs, τα οποία ανήκαν σε πέντε (5) διαφορετικά φύλα. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί ανήκαν στο φύλο Firmicutes (37,7%), το οποίο φάνηκε να είναι το κυρίαρχο φύλο για τη συγκεκριμένη μεταχείριση, με πολυπληθέστερο είδος το *Bacillus*. Το φύλο Actinobacteria (23,1%) ήταν το δεύτερο πιο άφθονο φύλο και ακολουθήθηκε από τα φύλα Proteobacteria (25,9%), Bacteroidetes (10,2%) και Cyanobacteria (2,4%). Επίσης υπήρξε ένα μικρό ποσοστό, της τάξεως του 0,3% , το οποίο ανήκε σε μη ταξινομημένα βακτήρια, όπως φαίνεται στον Πίνακα 3 και 5.

**Πίνακας 3:** Το πιο άφθονο είδος σε κάθε φύλο στην μεταχείριση αναφοράς (100% ιχθυάλευρο)

Φύλο	Κλάση	Τάξη	Οικογένεια	Είδος	Ποσοστό %
Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	26,7
Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	13,4
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	9,61
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Proteiniphilum	5,48
Cyanobacteria	Melainabacteria	Obscuribacterales			2,47
Unclassified					0,35

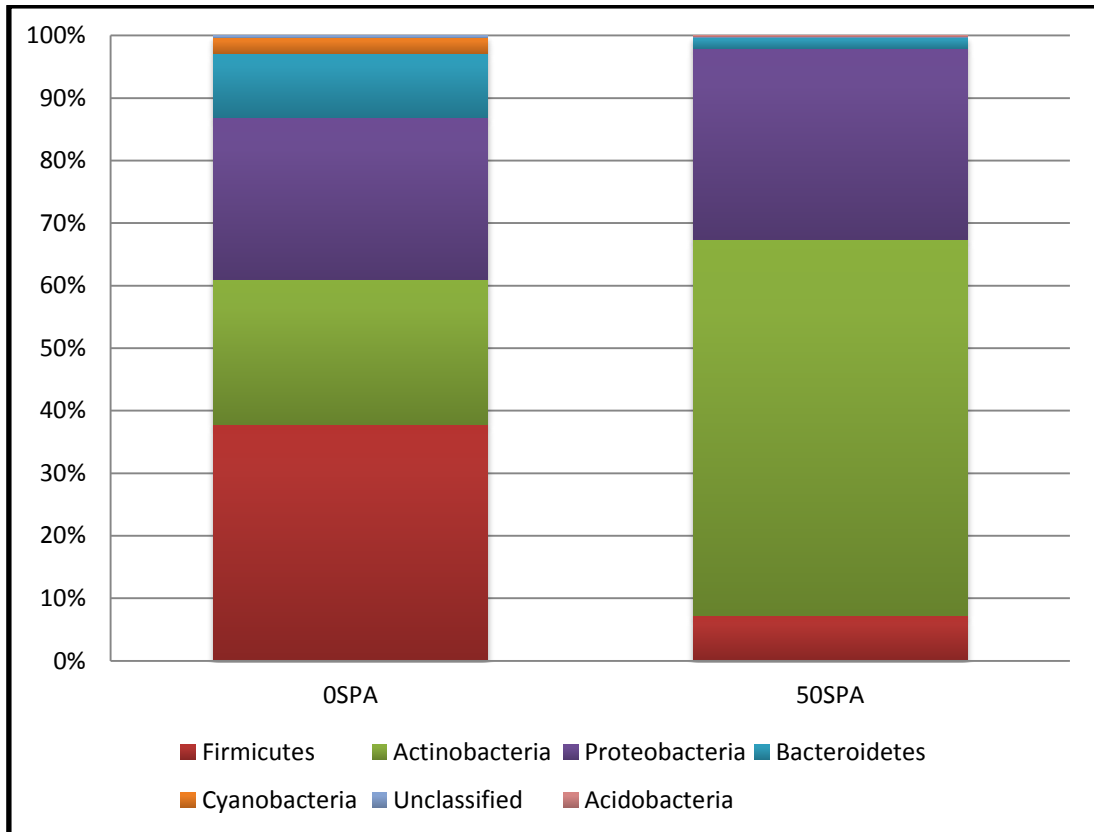
Στους ιχθύες που τράφηκαν με τη διαίτα αντικατάστασης (50% εντομάλευρο) βρέθηκαν 55 OTUs. Τα βακτήρια αυτά ανήκαν σε έξι (6) διαφορετικά φύλα. Κυρίαρχο φύλο ήταν το Actinobacteria (60,1%), με κυριότερο εκπρόσωπο το είδος *Corynebacterium*, ενώ δεύτερο πιο άφθονο φύλο ήταν το Proteobacteria (30,5%), ακολουθούμενο από τα Firmicutes (7,2%), Bacteroidetes (1,7%), Acidobacteria (0,1%) και Cyanobacteria (0,01%). Ωστόσο και εδώ υπήρξε η παρουσία μη ταξινομημένων βακτηρίων, της τάξεως του 0,1%, όπως φαίνεται στον Πίνακα 4 και 5.

**Πίνακας 4:** Το πιο άφθονο είδος σε κάθε φύλο στη μεταχείριση αντικατάστασης (50% εντομάλευρο)

Φύλο	Κλάση	Τάξη	Οικογένεια	Είδος	Ποσοστό %
Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	30,18
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae		17,7
Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	5,95
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Cloacibacterium	0,95
Acidobacteria	Acidobacteria	Subgroup 6			0,12
Unclassified					0,11
Cyanobacteria	Chloroplast				0,01

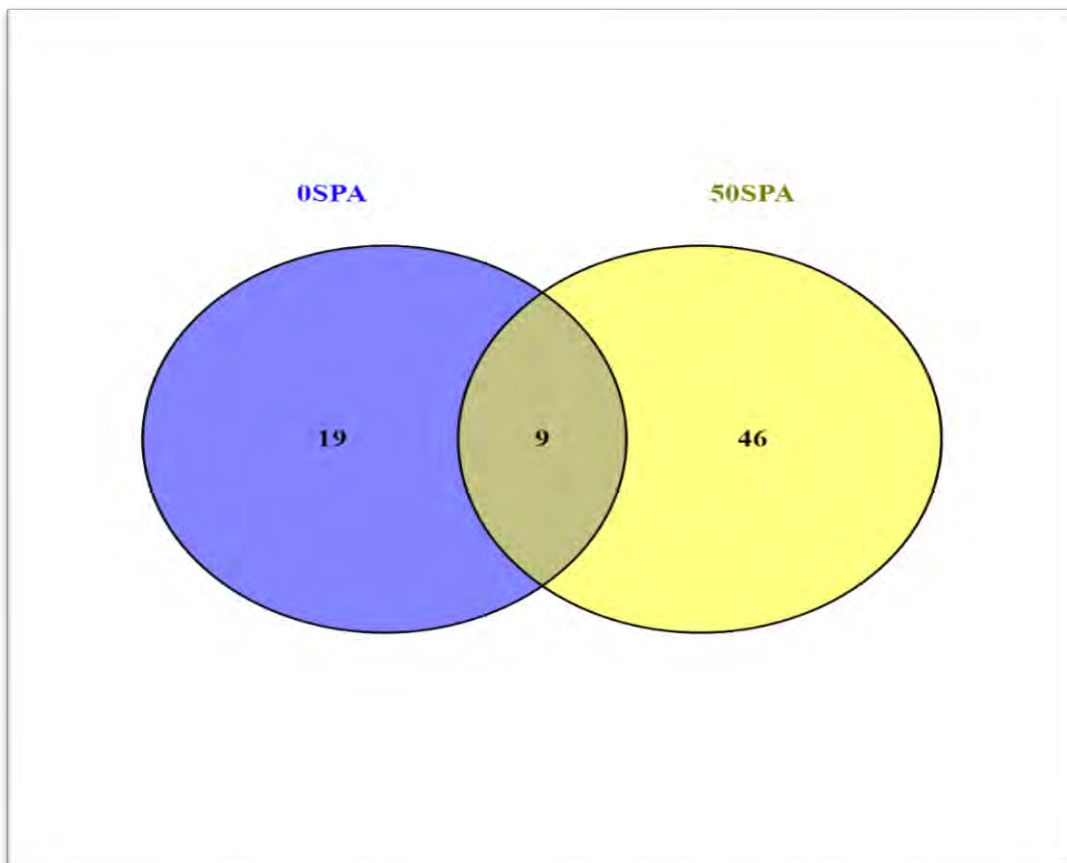
**Πίνακας 5:** Τα κυριότερα βακτηριακά φύλα που βρέθηκαν σε κάθε διατροφική μεταχείριση.

<b>100% Ιχθυάλευρο</b>		<b>50% Εντομάλευρο</b>	
<b>Φύλο</b>	<b>Ποσοστό</b>	<b>Φύλο</b>	<b>Ποσοστό</b>
Firmicutes	37,785	Actinobacteria	60,121
Proteobacteria	25,999	Proteobacteria	30,514
Actinobacteria	23,141	Firmicutes	7,278
Bacteroidetes	10,218	Bacteroidetes	1,752
Cyanobacteria	2,479	Acidobacteria	0,127
Unclassified	0,379	Unclassified	0,191
		Cyanobacteria	0,016



**Σχήμα 1:** Σχηματική απεικόνιση σε μορφή ιστογράμματος της κατανομής των βακτηριακών λειτουργικών ταξινομικών μονάδων (OTUs) στον εντερικό σωλήνα της τσιπούρας (*Sparus aurata*) κατά τις δύο μεταχειρίσεις. Ως 0SPA αναφέρεται η μεταχείριση αναφοράς, ενώ ως 50SPA η μεταχείριση με εντομάλευρο του είδους *Tenebrio molitor*.

Τα αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας αποκάλυψαν ότι οι δύο διαφορετικές μεταχειρίσεις είχαν εννέα (9) κοινά OTUs, όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.



**Σχήμα 2:** Οι κοινές λειτουργικές ταξινομικές μονάδες (OTUs) στις δύο μεταχειρίσεις. Όπου 0SPA αναφέρεται στη δίαιτα αναφοράς και 50SPA στη δίαιτα με 50% εντομάλευρο.

Η περαιτέρω ανάλυση που πραγματοποιήθηκε έδειξε ότι οι πέντε (5) λειτουργικές ταξινομικές μονάδες ανήκαν στο φύλο Proteobacteria, το οποίο φάνηκε να είναι και το πιο άφθονο. Ακολούθως, τρία (3) OTUs ανήκαν στο φύλο Bacteroidetes και ένα (1) στο φύλο Actinobacteria.

Η στατιστική ανάλυση που ακολούθησε με το στατιστικό πακέτο SPSS 20.0, έδειξε ότι τα δεδομένα δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή και συνεπώς ο συσχετισμός



των αποτελεσμάτων βασίστηκε σε μη παραμετρικά τεστ. Σύμφωνα με το μη παραμετρικό τεστ Kruskal-Wallis, εμφανίζεται στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των μικροοργανισμών που υπάρχουν στον εντερικό σωλήνα της τσιπούρας όταν έχει διατραφεί με τη δίαιτα αναφοράς (100% ιχθυάλευρο) και με τη δίαιτα αντικατάστασης (50% εντομάλευρο).

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο γονότυπος και οι διατροφικές συνήθειες των ιχθύων επηρεάζουν τους μικροοργανισμούς του εντέρου τους (Li et al. 2014). Οι μικροοργανισμοί αυτοί και τα μεταβολικά τους προϊόντα αλληλεπιδρούν, με διάφορους τρόπους, με τον οργανισμό ξενιστή (Flint et al. 2015), οι περισσότεροι από τους οποίους είναι ακόμα άγνωστοι. Φαίνεται, όμως, ότι συνεισφέρουν στην πέψη της τροφής και μπορούν να επηρεάσουν τη θρέψη, την αναπαραγωγή, την συνολική δυναμική των πληθυσμών άλλων βακτηρίων που υπάρχουν στον εντερικό σωλήνα και την ευαισθησία του ξενιστή στις διάφορες ασθένειες (Ghanbari et al. 2015). Η ποικιλομορφία των βακτηρίων διαμορφώνεται από μια ποικιλία παραγόντων, όπως ο διατροφικός χειρισμός, οι εποχικές διακυμάνσεις, η καταπόνηση, το στάδιο ανάπτυξης, η ποιότητα του νερού και η οικολογία του ξενιστή (Ringø et al. 2016).

Στη συγκεκριμένη μελέτη παρατηρήθηκε μία απώλεια βάρους στους ιχθύες που τράφηκαν με τη δίαιτα αντικατάστασης (50% *Tenebrio molitor*), σε σύγκριση με τους ιχθύες που τράφηκαν με τη δίαιτα αναφοράς. Ομοίως, απώλεια βάρους παρατηρήθηκε και στο αμερικάνικο γατόψαρο (*Clarias gariepinus*), το οποίο τράφηκε με 40% εντομάλευρο από το έντομο *Tenebrio molitor* (Ng et al. 2001). Επιπλέον, η ίδια μελέτη έδειξε ότι οι ιχθύες οι οποίοι τράφηκαν με νωπό *Tenebrio molitor* εμφάνισαν μεγαλύτερη συγκέντρωση λίπους από τους ιχθύες της μεταχείρισης αναφοράς, καθώς στο συγκεκριμένο έντομο περιέχεται μεγάλη ποσότητα λιπαρών οξέων. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Piccolo et al. (2017) παρατηρήθηκε αύξηση του σωματικού βάρους στις τσιπούρες που διατράφηκαν με 25% άλευρο από *Tenebrio*

*molitor*, ενώ οι Iaconisi et al. (2017) παρατήρησαν μια σταθερή σωματική αύξηση και εναπόθεση λινολεϊκού οξέως στη σάρκα του είδους *Pgellus bogaraveo* που διατράφηκε με 50% *Tenebrio molitor*. Οι Gasco et al. (2016) παρατήρησαν ότι η αντικατάσταση της τάξεως του 25% του ιχθυαλεύρου με άλευρο από *T. molitor* στη διατροφή του *Dicentrarchus labrax*, δεν επηρέασε την αύξηση του συγκεκριμένου ιχθύος, αλλά η αντικατάσταση με ποσοστό πάνω από 50% δημιούργησε αρνητική αύξηση. Παρατηρήθηκε, επίσης, ότι η πεπτικότητα των πρωτεϊνών ήταν υψηλότερη όταν οι ιχθύες τράφηκαν με *T. molitor*, γεγονός που ίσως οφείλεται στην χιτινολυτική δράση ορισμένων βακτηρίων του εντέρου. Να σημειωθεί ότι η χιτίνη, ένας πολυσακχαρίτης που εμφανίζεται στον εξωσκελετό των προνυμφών του εντόμου *Tenebrio molitor*, ίσως έχει σημαντικό ρόλο στην πέψη και απορρόφηση των πρωτεϊνών της διατροφής, καθώς δεν πέπτεται από τους μονογαστρικούς οργανισμούς (Sanchez-Munoz et al. 2013). Επιπλέον έρευνα που διεξήχθη από τους Μηνά και συνεργάτες (2016) έδειξε ότι η χιτίνη από το έντομο *T. molitor* δεν ευθύνεται για την καθυστέρηση της αύξησης των ατόμων της τσιπούρας που έχουν τραφεί με το συγκεκριμένο έντομο, καθώς φαίνεται ότι ο οργανισμός των ιχθύων συνθέτει μεγαλύτερα ποσά ενζύμου με εξειδίκευση στη χιτίνη του *T. molitor*.

Στο στόχαστρο των ερευνών, όμως, έχουν μπει και άλλα είδη εντόμων με ιδιαίτερα ευεργετικές ιδιότητες στον οργανισμό των ιχθύων. Καθώς οι έρευνες πληθαίνουν, τα έντομα φαίνεται να κερδίζουν έδαφος στην μερική αντικατάσταση είτε των ιχθυαλεύρων είτε των ιχθυελαίων στις ιχθυοτροφές. Παράδειγμα αποτελεί η αντικατάσταση άνω του 25% του ιχθυαλεύρου με άλευρο από το έντομο *Lucilia sericata* στη διατροφή της τσιπούρας, η οποία εμφάνισε αύξηση του αραχιδονικού οξέος στους μύες του σώματός της, καθώς το συγκεκριμένο έντομο περιέχει ποσοστό

της τάξεως του 10,6% αραχιδονικού οξέος (de Haro et al. 2015). Μία έρευνα από τους Sealey et al. (2011) έδειξε ότι η αντικατάσταση της τάξεως του 50% του ιχθυαλεύρου από άλευρο του εντόμου *Hermetia illucens* στην ιχθυοτροφή της ιριδίζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) δεν ήταν στατιστικώς σημαντική στην αύξηση του ιχθύος σε σχέση με τη δίαιτα μάρτυρα, η οποία περιείχε 100% ιχθυάλευρο. Ωστόσο, εάν και η αντικατάσταση της τάξεως του 15% του ιχθυαλεύρου με το άλευρο του εντόμου *H. illucens* δεν φανέρωσε στατιστικώς σημαντικές διαφορές στην αύξηση της ιριδίζουσας πέστροφας, η αντικατάσταση της τάξεως του 38% του ιχθυελαίου με έλαιο του συγκεκριμένου εντόμου έδειξε μείωση των ω-3 λιπαρών οξέων στη σάρκα του ιχθύος (St-Hilaire et al. 2007). Παρόμοια μελέτη για το αμερικάνικο γατόψαρο (*Clarias gariepinus*) έδειξε ότι δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ της δίαιτας αναφοράς και της δίαιτας αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου με 25% άλευρο *H. illucens* (Newton et al. 2005). Η ύπαρξη του συγκεκριμένου εντόμου στη δίαιτα του καλκανιού (*Psetta maxima*) οδήγησε σε μειωμένο SGR, ενώ η ύπαρξη του εντόμου αυτού σε ποσοστό κατώτερο του 33% φανέρωσε αυξημένο FCR (Kroeckel et al. 2012). Ομοίως, η αντικατάσταση ποσοστού μεγαλύτερου από 20% του ιχθυαλεύρου με άλευρο *H. illucens* στη διατροφή της τσιπούρας οδήγησε σε αρνητική αύξηση (Βογιατζής 2015). Η αντικατάσταση έως 50% του ιχθυαλεύρου με άλευρο από την οικιακή μύγα (*Musca domestica*) στη διατροφή της τιλάπιας (*Oreochromis niloticus*) επηρέασε θετικά την αύξηση του ιχθύος και επιπλέον είχε θετικό αντίκτυπο στην κατάσταση των υδάτων γύρω από τους ιχθύες (Wang et al. 2016), ενώ το άλευρο του ίδιου εντόμου, μετά από αφαίρεση των λιπαρών οξέων, στη δίαιτα του αμερικάνικου γατόψαρου έδρασε ως μηχανισμός αύξησης του ιχθύος (Fasakin et al. 2003). Ωστόσο, η ύπαρξη 36,1% πρωτεΐνης *Musca domestica* στη δίαιτα της τιλάπιας οδήγησε στη μείωση της

αφομοίωσης της πρωτεΐνης από τον οργανισμό του ιχθύος (Ogunji et al. 2008). Έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Alegbeleye et al. (2012) έδειξε ότι η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με 25% άλευρο από ακρίδα (*Zonocerus variegates*) οδήγησε στην αύξηση του βάρους του αμερικάνικου γατόψαρου. Επιπλέον σε ένα σύστημα πολυκαλλιέργειας ο ασημοκυπρίνος (*Hypophthalmichthys molitrix*) που τράφηκε με τροφή που περιείχε μεταξοσκώληκες που είχαν υποστεί ζύμωση, εμφάνισε αύξηση του σωματικού του βάρους (Rangacharyulu et al. 2003).

**Πίνακας 6:** Σύντομη παράθεση αποτελεσμάτων ερευνών

<b>Είδος</b>	<b>Ποσοστό %</b>	<b>Αποτελέσματα</b>	<b>Πηγή</b>
<i>Sparus aurata</i>	50% <i>Tenebrio molitor</i>	Απώλεια βάρους	Παρούσα εργασία
<i>Sparus aurata</i>	25% <i>Tenebrio molitor</i>	Αύξηση βάρους	Piccolo et al. 2017
<i>Clarias gariepinus</i>	40% <i>Tenebrio molitor</i>	Απώλεια βάρους	Ng et al. 2001
<i>Pagellus bogaraveo</i>	50% <i>Tenebrio molitor</i>	Σταθερή αύξηση, αύξηση λινολεϊκού οξέως στη σάρκα του ιχθύος	Iaconisi et al. 2017
<i>Dicentrarchus labrax</i>	50% <i>Tenebrio molitor</i>	Αρνητική αύξηση	Gasco et al. 2016

<i>Clarias gariepinus</i>	25% <i>Hermetia illucens</i>	Μη στατιστικώς σημαντικές διαφορές στην αύξηση των ιχθύων μεταξύ της διαίτας αντικατάστασης και της διαίτας αναφοράς	Newton et al. 2005
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	15% <i>Hermetia illucens</i>	Αύξηση βάρους	St-Hilaire et al. 2007
	<38% <i>Hermetia illucens</i>	Μείωση ω-3 λιπαρών οξέων	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	50% <i>Hermetia illucens</i>	Μη στατιστικώς σημαντικές διαφορές στην αύξηση των ιχθύων μεταξύ της διαίτας αντικατάστασης και της διαίτας αναφοράς	Sealey et al. 2011
<i>Psetta maxima</i>	<i>Hermetia illucens</i>	Μειωμένο SGR	Kroeckel et al. 2012
	>33% <i>Hermetia illucens</i>	Αυξημένο FCR	
<i>Sparus aurata</i>	>20% <i>Hermetia illucens</i>	Αρνητική αύξηση	Βογιατζής 2015
<i>Sparus aurata</i>	<25% <i>Lucilia sericata</i>	Αύξηση αραχιδονικού οξέος στους μύες του ιχθύος	de Haro et al. 2015
<i>Clarias gariepinus</i>	Απολιπωμέν ο άλευρο <i>Musca domestica</i>	Αύξηση βάρους	Fasakin et al. 2003
<i>Oreochromis niloticus</i>	36,1% πρωτεΐνη <i>Musca domestica</i>	Μείωση της αφομοίωσης των πρωτεϊνών	Ogunji et al. 2008
<i>Oreochromis niloticus</i>	50% <i>Musca domestica</i>	Θετική αύξηση	Wang et al. 2016
<i>Clarias gariepinus</i>	25% <i>Zonocerus variegatus</i>	Αύξηση βάρους	Alegbeleye et al. 2012
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Μεταξοσκώληκες που υπέστησαν ζύμωση	Αύξηση βάρους	Rangacharyulu et al. 2003

Η ανάλυση των μικροοργανισμών του εντέρου στις δύο διαφορετικές διαιτητικές μεταχειρίσεις έδειξε την κυριαρχία του φύλου Firmicutes στη μεταχείριση αναφοράς, η οποία αποτελούνταν από 100% ιχθυάλευρο και την κυριαρχία του φύλου Actinobacteria στην μεταχείριση αντικατάστασης (50% εντομάλευρο). Το ποσοστό του φύλου Firmicutes στη δίαιτα αναφοράς έφτασε το 37,7% των συνολικών βακτηρίων, με το πιο άφθονο γένος να είναι το *Bacillus* (26,7%). Παράλληλα το ποσοστό του φύλου Actinobacteria στη δίαιτα αντικατάστασης έφτασε το 60,1% των συνολικών βακτηρίων, με πιο άφθονο γένος το *Corynebacterium* (30,1%). Σύμφωνα με έρευνα που πραγματοποιήθηκε, τα κυρίαρχα γένη βακτηρίων που βρέθηκαν στον πεπτικό σωλήνα των ιχθύων των θαλάσσιων υδάτων ήταν τα *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium* και *Micrococcus*, ενώ αυτά των εσωτερικών υδάτων ήταν τα *Enterobacter*, *Aeromonas* και *Acinetobacter* (Cahill 1990). Πιο συγκεκριμένα για τα θαλάσσια ύδατα αναφέρεται η αφθονία των *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Alteromonas*, *Carnobacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Pseudomonas* και *Vibrio* (Perez et al. 2010). Οι Kormas et al. (2014) παρατήρησαν ότι οι διαφορετικές διατροφικές καταστάσεις αντικατοπτρίζονται στις προκαρυωτικές κοινότητες του εντέρου της τσιπούρας, είτε η τσιπούρα είναι άγρια, συμβατικής ή οργανικής εκτροφής. Ωστόσο, στην παραπάνω έρευνα οι μικροοργανισμοί με την μεγαλύτερη κυριαρχία ήταν αυτοί που άνηκαν στο φύλο Proteobacteria και ειδικά στο φύλο β-Proteobacteria. Επιπλέον, φαίνεται να υπάρχει κυριαρχία των βακτηρίων Vibrionaceae, Bacillales και Flavobacteriaceae στον πεπτικό σωλήνα και στα κόπρανα της τσιπούρας που έχει διατραφεί με δίαιτα φυτικής προέλευσης (λούπινα), ενώ στο έντερο του χρυσόψαρου που έλαβε παρόμοια μεταχείριση παρατηρήθηκε η κυριαρχία των *Aeromonas spp.*, *Shewanella putrefaciens* και *Staphylococcus sp.* (Silva et al.

2011). Επίσης, οι μικροοργανισμοί του εντέρου της τσιπούρας όταν της έχουν χορηγηθεί κάψουλες φύκους *Shewanella putrefaciens* αποτελούνται κυρίως από γ-Proteobacteria συγγενικά με τα είδη *Lactococcus lactis* και *Lactobacillus sp.* (Cordero et al. 2015). Τα βακτήρια του φύλου Proteobacteria φαίνεται να κυριαρχούν και στον πεπτικό σωλήνα του σολομού (*Salmo salar*) όταν έχει τραφεί με συμβατική τροφή και έχει εκτραφεί σε θαλάσσια ύδατα (Gajardo et al. 2016). Την κυριαρχία των Proteobacteria συναντάμε και στον εντερικό σωλήνα του άγριου είδους *Paralichthys adspersus*, ενώ όταν το συγκεκριμένο είδος εκτραφεί ο πεπτικός του σωλήνας παρουσιάζει την κυριαρχία των Firmicutes (Ramirez and Romero 2017), ενώ το συγγενικό του είδος *Scophthalmus maximus* στον πεπτικό του σωλήνα εμφανίζει την κυριαρχία των φύλων Proteobacteria και Firmicutes (Xing et al. 2013). Επιπλέον, μελέτη που έγινε στο είδος *Acanthurus shoal* των κοραλλιογενών υφάλων έδειξε τη κυριαρχία των βακτηρίων Firmicutes και πιο συγκεκριμένα του γένους *Epulopiscium* (Miyake et al. 2015). Όσον αφορά τους ιχθύες των ψυχρών θαλάσσιων υδάτων, όπως τα είδη *Notothenia coriiceps* και *Chaenocephalus aceratus*, παρατηρείται η κυριαρχία των γ-Proteobacteria και πιο συγκεκριμένα των *Vibrionaceae* (Ward et al. 2009), με παρόμοια αποτελέσματα να εμφανίζονται και στον πεπτικό αγωγό της γλώσσας (*Solea senegalensis*) όταν προηγουμένως έχει γίνει χορήγηση προβιοτικών μικροοργανισμών (Tapia-Paniagua et al. 2010). Ωστόσο, όταν η διατροφή του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) αποτελείται από χαμηλά ποσοστά ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου, και υψηλά ποσοστά αλεύρου ζωικής προέλευσης και φυτικού ελαίου η ανάπτυξη του ιχθύος είναι σταθερή, αλλά επηρεάζεται η εσωτερική μορφολογία του εντέρου και η συγκέντρωση λιπαρών οξέων σε αυτό. Επίσης οι μικροοργανισμοί που συναντώνται στον πεπτικό σωλήνα παρουσιάζουν διαφοροποιήσεις, ανάλογα με τη διατροφή που έχει προηγηθεί,



όπως για παράδειγμα διαπιστώνεται η ύπαρξη των γενών *Clostridium*, *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus* και *Roseburia faecis* στους ιχθύες που έχουν καταναλώσει πολύ χαμηλά επίπεδα ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου, ενώ κάποια μέλη των γενών *Kocuria*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Lactobacillus* και *Microbacterium* εμφανίζονται ανεξάρτητα από την οποιαδήποτε χορήγηση τροφής (Torrecillas et al. 2017).

Αντίθετα, διαπιστώνεται η κυριαρχία του φύλου *Fusobacteria* και συγκεκριμένα του είδους *Cetobacterium somerae* στο έντερο τριών ιχθύων των εσωτερικών υδάτων (*Ictalurus punctatus*, *Micropterus salmoides*, *Lepomis macrochirus*), με ακόλουθο φύλο το γ-Proteobacteria (Larsen et al. 2014). Παρόλα αυτά, οι Li et al. (2014) μελέτησαν τους μικροοργανισμούς του πεπτικού σωλήνα οχτώ (8) ιχθύων των εσωτερικών υδάτων (*Ctenopharyngodon idellus*, *Megalobrama amblycephala*, *Carassius auratus*, *Cyprinus carpio*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Hypophthalmichthys nobilis*, *Siniperca chuatsi*, *Pelteobagrus fulvidraco*) και διαπίστωσαν την κυριαρχία των φύλων *Proteobacteria* και *Firmicutes*. Επιπλέον σε έρευνα από τους Ni et al. (2014) στον πεπτικό σωλήνα του κυπρίνο του είδους (*Ctenopharyngodon idella*) βρέθηκε κυριαρχία του φύλου *Firmicutes* με ακόλουθα τα φύλα *Proteobacteria* και *Fusobacteria*. Σε παρόμοια μελέτη για τα είδη *Hypophthalmichthys molitrix* και *Dorosoma cepedianum* βρέθηκε η κυριαρχία των *Cyanobacteria* η οποία ακολουθήθηκε από τα φύλα *Proteobacteria*, *Actinobacteria* και *Bacteroidetes* (Ye et al. 2014). Επιπλέον σε ανάλυση του εντέρου των ειδών *Schizothorax zarudnyi* και *Schizocypris atidorsalis* βρέθηκε αφθονία των *Actinobacteria* και ιδιαίτερα των ειδών *Streptomyetaceae*, τα οποία απομονώθηκαν και φαίνεται να έχουν αντιμικροβιακές ιδιότητες (Jami et al. 2015). Μία διαφορετική προσέγγιση δόθηκε από τους Sylvain et al. (2016), καθώς εξέτασαν τις μεταβολές των μικροοργανισμών του εντέρου και του δέρματος του είδους

*Colossoma macropomum* μετά την έκθεσή του σε χαμηλό pH (pH 4). Οι μικροοργανισμοί του δέρματος εμφάνισαν διαταραχή της ισορροπίας τους, αλλά τα βακτήρια του πεπτικού σωλήνα εμφάνισαν δομή παρόμοια με το δείγμα αναφοράς, με κυρίαρχο φύλο τα Proteobacteria. Άλλη μία ανατρεπτική έρευνα έγινε από τους Guo et al. (2017), οι οποίοι μελέτησαν την δράση των εντερικών μικροβιακών κοινοτήτων του είδους *Danio rerio* όταν έχει διατραφεί με τροφή εμπλουτισμένη με νουκλεοτίδια. Είναι αξιοσημείωτο ότι στην μεταχείριση αναφοράς παρατηρείται η κυριαρχία των Proteobacteria, ενώ στην μεταχείριση με τα νουκλεοτίδια κυριαρχούν τα Fusobacteria, τα οποία, σε συνδυασμό με την δίαιτα των νουκλεοτιδίων, φαίνεται να συμβάλουν στον μειωμένο μεταβολικό ρυθμό, αλλά στην αύξηση του σωματικού βάρους, στη μείωση της εμφάνισης νεφρικής φλεγμονής και στη μείωση της οξείδωσης των λιπαρών οξέων, που συνδέεται με την αύξηση της μικροβιακή καταστολή του εντερικού παράγοντα λιπώσεως που προκαλείται από την ασιτία.

**Πίνακας 7:** Σύντομη παράθεση εύρεσης μικροοργανισμών στον εντερικό σωλήνα ιχθύων

Είδος	Μέθοδος	Μικροοργανισμοί	Πηγή
Ιχθύες θαλάσσιων υδάτων		<i>Vibrio</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Micrococcus</i>	Cahill 1990
Ιχθύες εσωτερικών υδάτων		<i>Enterobacter</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Acinetobacter</i>	
<i>Notothenia coriiceps</i> , <i>Chaenocephalus aceratus</i>	Αλληλούχιση 16S rRNA	Κυριαρχία γ-Proteobacteria ( <i>Vibrionaceae</i> )	Ward et al. 2009

<i>Solea senegalensis</i>	Ηλεκτροφόρηση (DGGE) του 16S rRNA	γ-Proteobacteria ( <i>Vibrio sp.</i> )	Tapia-Paniagua et al. 2010
<i>Sparus aurata</i>	Καλλιέργεια και ηλεκτροφόρηση (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE)	Vibrionaceae, Bacillales, Flavobacteriaceae	Silva et al. 2011
<i>Carassius auratus</i>		<i>Aeromonas spp.</i> , <i>Shewanella putrefaciens</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>	
<i>Scophthalmus maximus</i>	Μεταγενωμική αλληλούχιση 16S rRNA	Proteobacteria και Firmicutes	Xing et al. 2013
<i>Sparus aurata</i> (εντερικός σωλήνας άγριας, συμβατικά εκτροφόμενης και οργανικά εκτρεφόμενης)	Pyrosequencing του 16S rRNA γονιδίου	Κυριαρχία β-Proteobacteria	Kormas et al. 2014
<i>Ictalurus punctatus</i> , <i>Micropterus salmoides</i> , <i>Lepomis macrochirus</i>	Pyrosequencing του 16S rRNA γονιδίου	Κυριαρχία Fusobacteria ( <i>Cetobacterium somerae</i> ), γ-Proteobacteria	Larsen et al. 2014

<i>Ctenopharyngodon idellus</i> , <i>Megalobrama amblycephala</i> , <i>Carassius auratus</i> , <i>Cyprinus carpio</i> , <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> , <i>Hypophthalmichthys nobilis</i> , <i>Siniperca chuatsi</i> , <i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	Αλληλούχιση υψηλής απόδοσης των περιοχών V1 έως V3 του 16S RNA	Proteobacteria και Firmicutes	Li et al. 2014
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	Μεταγεωμική αλληλούχιση	Κυριαρχία Firmicutes, Proteobacteria Fusobacteria	Ni et al. 2014
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> , <i>Dorosoma cepedianum</i>	Pyrosequencing του 16S rRNA γονιδίου	Κυριαρχία Cyanobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes	Ye et al. 2014
<i>Sparus aurata</i>	PCR πραγματικού χρόνου (qPCR) και ηλεκτροφόρηση (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE)	γ-Proteobacteria	Cordero et al. 2015
<i>Schizothorax zarudnyi</i> , <i>Schizocypris altidorsalis</i>	Καλλιέργεια, PCR, μερική και ολική αλληλούχιση του 16S rRNA, φυλογενετική ανάλυση	Actinobacteria ( <i>Streptomycetaceae</i> )	Jami et al. 2015
<i>Acanthurus sohal</i>	Πυροαλληλούχιση υψηλής απόδοσης της υπομονάδας I της οξειδάσης του κυτοχρώματος C (COI)	Firmicutes, με κυρίαρχο γένος <i>Epulopiscium</i>	Miyake et al. 2015
<i>Salmo salar</i> (σε θαλασσινό νερό, διατρεφόμενος με συμβατική τροφή)	Αλληλούχιση υψηλής απόδοσης του γονιδίου 16S rRNA	Proteobacteria	Gajardo et al. 2016

<i>Colossoma macropomum</i>	Αλληλούχιση της περιοχής V4 του 16S RNA	Proteobacteria	Sylvain et al. 2016
<i>Danio rerio</i>	Αλληλούχιση 16S rRNA	Μεταχείριση αναφοράς κυριαρχία Proteobacteria, μεταχείριση με νουκλεοτίδια κυριαρχία Fusobacteria	Guo et al. 2017
<i>Paralichthys adspersus</i> (εντερικός σωλήνας άγριων και εκτρεφόμενων ιχθύων)	Αλληλούχιση περιοχής V3 του 16S rRNA	Κυριαρχία Proteobacteria στους άγριους ιχθύες και κυριαρχία Firmicutes στους εκτρεφόμενους ιχθύες	Ramirez & Romero 2017
<i>Dicentrarchus labrax</i>	PCR πραγματικού χρόνου (qPCR) στο 16S rRNA και ηλεκτροφόρηση (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE)	Ύπαρξη <i>Clostridium</i> , <i>Corynebacterium spp.</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Roseburia faecis</i> στους ιχθύες που τράφηκαν με πολύ χαμηλά ποσοστά ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου	Torrecillas et al. 2017

Τα φύλα Firmicutes, Proteobacteria και Bacteroidetes φαίνεται να συνεισφέρουν στην διαδικασία της πέψης, παρέχοντας μια πληθώρα ενζύμων. Τα είδη του φύλου Bacteroidetes φαίνεται να μπορούν να αξιοποιήσουν μια πληθώρα ενεργειακών πηγών και για αυτόν τον λόγο εμφανίζουν αύξηση του πληθυσμού τους όταν ο ξενιστής τους βρίσκεται σε ασιτία (Vatsos 2016). Το φύλο Actinobacteria εμφανίζει μια ποικιλομορφία φυσιολογικών και μεταβολικών ιδιοτήτων, όπως η παραγωγή

εξωκυττάρων ενζύμων και η δημιουργία ενός εύρους δευτερογενών μεταβολιτών (Romero et al. 2014). Επίσης είναι γνωστές οι αντιμικροβιακές ιδιότητες κάποιων δευτερογενών μεταβολιτών που παράγουν τα βακτήρια που ανήκουν στα Actinobacteria έναντι σε παθογόνους μικροοργανισμούς (Jami et al. 2015). Τα είδη *Aeromonas spp.*, τα οποία ανήκουν στα Proteobacteria έχουν σημαντικό ρόλο στην πέψη των τροφών, παράγοντας μια πληθώρα πρωτεασών (Nayak, 2010). Επιπλέον, αναφέρεται ότι τα είδη *Aeromonas spp.* και ένα είδος του γένους *Pseudomonas* παράγουν αμυλάση (Kuz'mina et al. 2011).

Το φύλο Acidobacteria, που παρατηρήθηκε αποκλειστικά στους ιχθύες που διατράφηκαν με τη διαίτα μεταχείρισης, φαίνεται να εισχώρησε στον πεπτικό σωλήνα μέσω της ίδιας της τροφής, καθώς το συγκεκριμένο φύλο ευδοκιμεί στο έδαφος και είναι ιδιαίτερα ανθεκτικό στη χαμηλή ενεργό οξύτητα (pH) (Kielak et al. 2016). Ένα πιθανό σενάριο είναι ότι τα Acidobacteria υπήρχαν στις προνύμφες του *Tenebrio molitor*, καθώς οι προνύμφες διαβιούν στο έδαφος, και μέσω της ανάμιξης του εντόμου (χωρίς θερμική επεξεργασία) με τα υπόλοιπα συστατικά της διαίτας μεταχείρισης, ενσωματώθηκαν στην τροφή. Με αυτόν τον τρόπο πέρασαν στον οργανισμό της τσιπούρας και λόγω της αντοχής τους σε χαμηλές τιμές pH μπόρεσαν να παρακάμψουν τα γαστρικά υγρά και να αποικίσουν στο εντερικό επιθήλιο, όπου και εντοπίστηκαν.

Συμπερασματικά, το άλευρο από έντομα του είδους *Tenebrio molitor* μπορεί να αντικαταστήσει το ιχθυάλευρο στη διατροφή του είδους *Sparus aurata*, καθώς φαίνεται να είναι μία αποτελεσματική εναλλακτική πηγή πρωτεΐνης.

## 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 5.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Alegbeleye W.O., Obasa S.O., Olude O.O., Otubu K., Jimoh W. (2012a) Preliminary evaluation of the nutritive value of the variegated grasshopper (*Zonocerus variegatus* L.) for African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell. 1822) fingerlings. *Aquaculture Research*, 43(3):412–420.
- Barns S.M., Cain E.C., Sommerville L., Kuske C.R. (2007) Acidobacteria phylum sequences in uranium-contaminated subsurface sediments greatly expand the known diversity within the phylum. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(9):3113–3116.
- Basurco B., Lovatelli A., Garcia B. (2011) Current status of Sparidae aquaculture. In: Pavlidis M.A., Mylonas C.C. (eds) *Sparidae, Biology and aquaculture of gilthead sea bream and other species*. Willey-Blackwell, West Sussex, p.1-50.
- Benedito-Palos L., Ballester-Lozano G.F., Simo P., Karalazos V., Ortiz A., Calduch-Giner J., Perez-Sanchez J. (2016) Lasting effects of butyrate and low FM/FO diets on growth performance, blood haematology/biochemistry and molecular growth-related markers in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 454:8–18.
- Bernard J.B., Allen M.E. (1997) Feeding captive piscivorous animals: nutritional aspects of fish as food. *Nutrition Advisory Group Handbook* 25:139–147.
- Cahill M.M. (1990) Bacterial flora of fishes: A review. *Microbial Ecology*, 19(1):21–41.
- Cataldi E., Cataudella S., Monaco G., Rossi A., Tancioni L. (1987) A study of the histology and morphology of the digestive tract of the sea bream, *Sparus aurata*. *Journal of Fish Biology*, 30:135–145.
- Cerezuela R., Fumanal M., Tapia-Paniagua S.T., Meseguer J., Morinigo M.A., Esteban M.A. (2013) Changes in intestinal morphology and microbiota caused by dietary administration of inulin and *Bacillus subtilis* in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) specimens. *Fish and Shellfish Immunology*, 34(5):1063–1070.
- Cerezuela R., Fumanal M., Tapia-Paniagua S.T., Meseguer J., Morinigo M.A., Esteban M.A. (2012) Histological alterations and microbial ecology of the intestine in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) fed dietary probiotics and microalgae. *Cell and Tissue Research*, 350(3):477–489.
- Chamberlain A. (2011) *Fishmeal and Fish Oil – The Facts, Figures, Trends, and IFFO’s Responsible Supply Standard*. International Fishmeal and Fish Oil Organization.
- Chaoui L., Kara M.H., Faure E., Quignard J.P. (2006) Growth and reproduction of the gilthead seabream *Sparus aurata* in Mellah lagoon (north-eastern Algeria). *Scientia Marina*, 70:545–552.

- Cordero H., Guardiola F.A. Tapia-Paniagua S.T., Cuesta A., Meseguer J., Balebona M.C., Morinigo M.A., Esteban M.A. (2015) Modulation of immunity and gut microbiota after dietary administration of alginate encapsulated *Shewanella putrefaciens* Pdp11 to gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology*, 45(2):608–618.
- de Haro C., Bueno R.P.R, Barroso F.G., Sánchez Muros M.J., Rincón Cervera M.A, Guil-Guerrero J.L. (2016) Insect larvae as feed ingredient selectively increase arachidonic acid content in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Research* 47(9):2881-2887.
- Demiri A., Meziti A., Papaspyrou S., Thessalou-Legaki M., Kormas K.A. (2009) Abdominal setae and midgut bacteria of the mudshrimp *Pestarella tyrrhena*. *Central European Journal of Biology*, 4(4):558–566.
- Diener S., Gutierrez F.R., Zurbrugg C., Tockner K. (2009) Are Larvae of the Black Soldier Fly -*Hermetia illucens*- a Financially viable option for Organic Waste Management in Costa Rica? Πρακτικά Twelfth International Waste Management and Landfill Symposium, Sardinia 2009, p.6.
- Dimitroglou A., Merrifield D.L., Spring P., Sweetman J., Moate R., Davies S.J. (2010) Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 300(1–4):182–188.
- EAS 2014. Performance of the sea bass and sea bream sector in the Mediterranean. Minutes of a Workshop held within Aquaculture Europe 2014, Kursaal, Donostia-San Sebastian, Spain, p.24.
- Erickson M.C., Islam M., Sheppard C, Liao J., Doyle M. (2004) Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar enteritidis in chicken manure by larvae of the black soldier fly. *Journal of Food Protection*, 67(4):685–690.
- Estruch G., Collado M.C., Penaranda D.S., Vidal A.T., Cerda M.J., Perez Martinez G., Martinez-Llorens S. (2015) Impact of fishmeal replacement in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on the gastrointestinal microbiota determined by pyrosequencing the 16S rRNA gene. *PLoS ONE*, 10(8):1–22.
- European Commission (2012) Facts and figures on the Common Fisheries Policy. Basic statistical data, p.52.
- FAO (2012) The State of World Fisheries and Aquaculture 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations, p. 209.
- FAO (2013) Edible insects. Future prospects for food and feed security. Food and Agricultural Organization of the United Nations, 171:1-201.
- FAO (2012) Fishery and Aquaculture Statistics. Food and Agricultural Organization of the United Nations, p.230.



- FAO (2015) Global Aquaculture Production statistics database updated to 2013: Summary information. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013(March 2015).
- Fasakin E.A., Balogun A.M., Ajayi O.O. (2003) Evaluation of full-fat and defatted maggot meals in the feeding of clariid catfish *Clarias gariepinus* fingerlings. *Aquaculture Research*, 34(9):733–738.
- FEAP (2015a). European Aquaculture Production Report 2005-2014. Federation of European Aquaculture Producers, p.54.
- FEAP (2015b). Annual Report. Federation of European Aquaculture Producers, p.36.
- Finke M.D. (2002) Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology*, 21(3): 269–285.
- Fisheries and Aquaculture in Europe (2012), No 59.
- Flint H.J., Duncan S.H., Scott K.P., Louis P. (2015) Links between diet, gut microbiota composition and gut metabolism. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 74(1):13–22.
- Floris R., Manca S., Fois N. (2013) Microbial ecology of intestinal tract of gilthead sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) from two coastal lagoons of Sardinia (Italy). *Transitional Waters Bulletin*, 7(2):4–12.
- Gajardo K., Rodiles A., Kortner T.M., Krogdahl A., Bakke A.M., Merrifield D.L., Sørum H. (2016) A high-resolution map of the gut microbiota in Atlantic salmon (*Salmo salar*): A basis for comparative gut microbial research. *Scientific Reports*. 6-30893.
- Gasco L., Henry M., Piccolo G., Marono S., Gai F., Renna M., Lussiana C., Antonopoulou E., Mola P. (2016) *Tenebrio molitor* meal in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles: Growth performance, whole body composition and in vivo apparent digestibility. *Animal Feed Science and Technology*, 220:34-45.
- Gatesoupe F.J., Huelvan C., Le Bayon N., Severe A., Aasen I.M., Degnes K.F., Mazurais D., Panserat S., Zambonino-Infante J.L., Kaushik S.J. (2014) The effects of dietary carbohydrate sources and forms on metabolic response and intestinal microbiota in sea bass juveniles, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 422–423:47–53.
- Ghanbari M., Kneifel W., Domig K.J. (2015) A new view of the fish gut microbiome: Advances from next-generation sequencing. *Aquaculture*, 448:464–475.
- Gomez G.D., Balcazar J.L. (2008) A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 52(2):145–154.
- Gomez-Gil B., Roque A., Turnbull J.F. (2000) The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*, 191(1–

- 3):259–270.
- Guo X., Ran C., Zhang Z., He S., Jin M., Zhou Z. (2017) The Growth-Promoting Effect of Dietary Nucleotides in Fish Is Associated with an Intestinal Microbiota-Mediated Reduction in Energy Expenditure. *The Journal of Nutrition*.
- Hasan M.R. (2001) Nutrition and Feeding for Sustainable Aquaculture Development in the Third Millennium. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, Bangkok, p.193–219.
- 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):1–22.
- Hoseinifar S.H., Sharifian M., Vesaghi M.J., Khalili M., Esteban M.A. (2014) The effects of dietary xylooligosaccharide on mucosal parameters, intestinal microbiota and morphology and growth performance of Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) fry. *Fish and Shellfish Immunology*, 39(2):231–236.
- van Huis A. (2011) Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. *Annual Review of Entomology*, 58:564-583.
- Iaconisi V., Marono S., Parisi G., Gasco L., Genovese L., Maricchiolo G., Bovera F., Piccolo G. (2017) Dietary inclusion of *Tenebrio molitor* larvae meal: Effects on growth performance and final quality traits of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*). *Aquaculture*, 476:49-58.
- Jami M., Ghanbari M., Kneifel W., Domig K.J. (2015) Phylogenetic diversity and biological activity of culturable Actinobacteria isolated from freshwater fish gut microbiota. *Microbiological Research*, 175:6-15.
- Jutfelt F. (2011) Barrier function of the gut. In: Farrell A.P. (ed.) *Encyclopedia of fish physiology, from genome to environment*. Elsevier, Oxford, p.1322-1331.
- Kaushik S.J., Coves D., Dutto G., Blanc D. (2004) Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 230(1–4):391–404.
- Kielak A.M., Barreto C.C., Kowalchuk G.A., van Vien J.A., Kuramae E.E. (2016) The ecology of Acidobacteria: Moving beyond genes and genomes. *Frontiers in Microbiology*, 7:1–16.
- Kikuchi Y., Tada A., Musolin D.L., Hari N., Hosokawa T., Fujisaki K., Fukatsu T. (2016) Collapse of insect gut symbiosis under simulated climate change. *mBio*, 7(5):1–8.
- Klindworth A., Pruesse E., Schweer T., Peplies J., Quast C., Horn M., Glockner F.O. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, 41(1):1–11.
- Kormas K.A. (2011). Interpreting diversity of Proteobacteria based on 16S rRNA gene

copy number. Nova Publishers,1-17.

- Kormas K.A., Meziti A., Mente E., Frentzos A. (2014) Dietary differences are reflected on the gut prokaryotic community structure of wild and commercially reared sea bream (*Sparus aurata*). *MicrobiologyOpen*, 3(5):718–728.
- 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 fish meal substitute - Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 364–365:345–352.
- Kuz'mina V.V., Skvorstova E.G., Zolotareva G.V., Sheptitskiy V.A. (2011) Influence of pH upon the activity of glycosidases and proteinases of intestinal mucosa, chyme and microbiota in fish. *Fish Physiological Biochemistry*, 37:345-353.
- Kuz'mina V.V., Pervushina K.A. (2004) Effects of temperature and pH on activity of proteinases of intestinal mucosa and enteral microbiota of fish. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 40(3):264-270.
- Larsen A.M., Arias C.R. (2014) More Than Mucus: The Hidden world of the Fish Microbiota. *Fisheries*, 39(4):154–154.
- Larsen A.M., Mohammed H.H. Arias C.R. (2014) Characterization of the gut microbiota of three commercially valuable warmwater fish species. *Journal of Applied Microbiology*, 116:1396-1404.
- Li J., Ni J., Li J., Wang C., Li X., Wu S., Zhang T., Yu Y., Yan Q. (2014) Comparative study on gastrointestinal microbiota of eight fish species with different feeding habits. *Journal of Applied Microbiology*, 117(6):1750–1760.
- Liu Q., Tomberlin J.K., Brady J.A., Sanford M.R., Yu Zinu. (2008) Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae Reduce *Escherichia coli* in Dairy Manure. *Environmental Entomology*, 37(6):1525–1530.
- Llewellyn M., Boutin S., Hoseinifar S.H., Derome N. (2014). Teleost microbiomes: the state of the art in their characterization, manipulation and importance in aquaculture and fisheries. *Frontiers in Microbiology*, 5:207.
- Makkar H.P.S., Tran G., Heuze V., Ankers P.(2014) State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 197:1–33.
- Mandal S., Ghosh K. (2013) Isolation of tannase-producing microbiota from the gastrointestinal tracts of some freshwater fish. *Journal of Applied Ichthyology*, 29(1):145–153.
- Merrifield D., Ringø E. (2014). *Aquaculture nutrition: Gut health, probiotics and prebiotics*. Willey Blackwell, Oxford, pp.482.
- Meziti A., Ramette A., Mente E., Kormas K.A. (2010) Temporal shifts of the Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) gut bacterial communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 74(2):472–484.

- Meziti A., Mente E., Kormas K.A. (2012) Gut bacteria associated with different diets in reared *Nephrops norvegicus*. *Systematic and Applied Microbiology*, 35(7):473–482.
- Miyake S., Ngugi D.K., Stingl U. (2015) Diet strongly influences the gut microbiota of surgeonfishes. *Molecular Ecology*, 24:656–672.
- Nayak S.K. (2010) Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research*, 41:1553–1573.
- Ng W.K., Liew F.L., Ang L.P., Wong K.W. (2001) Potential of mealworm (*Tenebrio molitor*) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture Research*, 32(273):273–280.
- Ni J., Yan Q., Yu Y., Zhang T. (2014) Factors influencing the grass carp gut microbiome and its effect on metabolism. *FEMS Microbiology Ecology*, 87(3):704–714.
- Nijhof, M., 2011. Nutrient requirements of fish. *Aquaculture*, 133(2):172–173.
- Ogunji J., Toor R.U.A.S., Schulz C., Kloas W. (2008) Growth performance, nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed housefly maggot meal (magma) diets. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 147(1):141–147.
- Olafsen J.A. (2001) Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. *Aquaculture*, 200(1–2):223–247.
- Oliva-Teles A. (2000) Recent advances in European sea bass and gilthead sea bream nutrition. *Aquaculture International*, 8(6):477–492.
- Olsson C., Holmgren S. (2011) The gastrointestinal track: an introduction. In: Farrell A.P. (ed.) *Encyclopedia of fish physiology, from genome to environment*. Elsevier, Oxford, p.1229–1231. 1268–1275.
- 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(12):1–5.
- Payne C.L.R., Dobermann D., Forkes A., House J., Josephs J., McBride, Muller A., Quilliam R.S., Soares S. (2016) Insects as food and feed: European perspectives on recent research and future priorities. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2(4):269–276.
- Pérez T., Balcazar J.L., Ruiz-Zarzuola I., Halaihel N., Vendrell D., de Blas I., Muzquiz J.L. (2010) Host–microbiota interactions within the fish intestinal ecosystem. *Mucosal Immunology*, 3(4):355–360.
- Piccolo G., Iaconisi V., Marono S., Gasco L., Loponte R., Nizza S., Bovera F., Parisi G. (2017) Effects of *Tenebrio molitor* larvae meal on growth performance, *in vivo* nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Animal Feed Science and Technology*, 226:12–20.

- Ramesh A., Venugopalan V.K. (1989) Role of luminous bacteria in chitin degradation in the intestine of fish. *MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 5(1):55–59.
- Ramirez C., Romero J. (2017). Fine flounder (*Paralichthys adspersus*) microbiome showed important differences between wild and reared specimens. *Frontiers in Microbiology*, 8:271.
- Ramos-Elorduy J., Gonzalez E.A., Hernandez A.R., Pino J.M. (2002) Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. *Journal of Economic Entomology*, 95(1):214–220.
- Rangacharyulu P.V., Giri S.S., Paul B.N., Yashoda K.P., Jagannatha Rao R., Mahendrakar N.S., Mohanty S.N., Mukhopadhyay P.K. (2003) Utilization of fermented silkworm pupae silage in feed for carps. *Bioresource Technology*, 86(1):29–32.
- Ravi C., Jeyashree A., Devi K.R. (2011) Antimicrobial Peptides from Insects: An Overview. *Research in Biotechnology*, 2(5):1–7.
- Ravzanaadii N., Kim S.H., Choi W.H., Hong S.J., Kim N.J. 2012. Nutritional Value of Mealworm, *Tenebrio molitor* as Food Source. *Int. J. Indust. Entomol*, 25(1):93–98.
- Ray A.K., Ghosh K., Ringø, E. (2012) Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: A review. *Aquaculture Nutrition*, 18(5):465–492.
- Ringø E., Zhou Z., Vecino J.L.G., Wadsworth S., Romero J., Krogdahl A., Olsen R.E., Dimitroglou A., Foey A., Davies S., Owen M., Lauzon H.L., Martinsen L.L., de Schryver P., Bossier P., Sperstad S., Merrifield D.L. (2016) Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story? *Aquaculture Nutrition*, 22(2):219–282.
- Ringø E., Olsen R.E., Mayhew T.M., Myklebust R. (2003) Electron microscopy of the intestinal microflora of fish. *Aquaculture*, 227(1–4):395–415.
- Ringø E., Birkbeck T.H. (1999) Intestinal microflora of fish larvae and fry. *Aquaculture Research*, 30(2):73–93.
- Romero J., Navarrete P. (2006) 16S rDNA-based analysis of dominant bacterial populations associated with early life stages of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Microbial Ecology*, 51(4):422–430.
- Rumpold B.A., Schlüter O.K. (2013a) Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition and Food Research*, 57(5):802–823.
- Rumpold B.A., Schlüter O.K. (2013b) Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 17:1–11.
- Sánchez-Muros M.J., Barroso F.G., Manzano-Agugliaro F. (2014) Insect meal as renewable source of food for animal feeding: A review. *Journal of Cleaner Production*, 65:16–27.

- Schloss P.D., Westcott S.L., Raybin T., Hall J.R., Hartmann M., Hollister E.B., Lesniewski R.A., Oakley B.B., Parks D.H., Robinson C.J., Sahl J.W., Stres B., Thallinger G.G., Van Horn D.J., Weber C.F. (2009) Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23):7537–7541.
- Sealey W.M., Gaylord T.G., Barrows F.T., Tomberlin J.K., McGuire M.A., Ross C., 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(1): 34–45.
- Silva F.C. de P., Nicoli J.R., Zambonino-Infante J.L., Kaushik S., Gatesoupe F.J. (2011) Influence of the diet on the microbial diversity of faecal and gastrointestinal contents in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and intestinal contents in goldfish (*Carassius auratus*). *FEMS Microbiology Ecology*, 78(2):285–296.
- Skjermo J., Salvesen I., Øie G., Olsen Y., Vadstein O. (1997) Microbially matured water : a technique for selection of a non-opportunistic bacterial flora in water that may improve performance of marine larvae. *Aquaculture International*, 5:13–28.
- Sola L., Moretti A., Magoulas A., Rossi A.R., Rye M., Triantafyllidis A., Tsigenopoulos C.S. (2006) Gilthead seabream - *Sparus aurata*. Genimpact final scientific report, pp.47–54.
- St-Hilaire S., Sheppard C., Tomberlin J.K., Irving S., Newton L., McGuire M.A., Mosley E.E., Hardy R.W., Sealey W. (2007) Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(1):59–67.
- Stanley-Samuelson D.W., Jurenka R.A., Cripps C., Blomquist G.J., de Renobales M. (1988) Fatty Acids in Insects: Composition, Metabolism, and Biological Significance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 9:1–33.
- Sylvain F.-É., Cheaib B., Liewellyn M., Correia T.G., Fagundes D.B., Val A.L., Derome N. (2016) pH drop impacts differentially skin and gut microbiota of the Amazonian fish tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Scientific Reports*, 6-32032
- Tapia-Paniagua S.T., Chabrilion M., Diaz-Rosales P., de la Banda I.G., Lobo C., Balebona M.C., Morinigo M.A. (2010) Intestinal Microbiota Diversity of the Flat Fish *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) Following Probiotic Administration. *Microbial Ecology*, 60:310-319.
- Torrecillas S., Mompel D., Caballero M.J., Montero D., Merrifield D., Rodiles A., Robaina L., Zamorano M.J., Karalazos V., Kaushik S., Izquierdo M. (2017) Effect of fishmeal and fish oil replacement by vegetable meals and oils on gut health of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 468:386-398.
- 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.

- Vatsos I.N. (2016) Standardizing the microbiota of fish used in research. *Laboratory Animals*.
- Wang A.R., Ran C., Ringø E., Zhou Z.G. (2017) Progress in fish gastrointestinal microbiota research. *Reviews in Aquaculture*, 0:1–15.
- Wang L., Li J., Zhu F., Roffeis M., Zhang X.Z. (2017) A comprehensive evaluation of replacing fishmeal with housefly (*Musca domestica*) maggot meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Growth performance, flesh quality, innate immunity and water environment. *Aquaculture Nutrition*, pp.1–11.
- Ward N.L., Steven B., Penn K., Methe B.A., Detrich W.H. (2009) Characterization of the intestinal microbiota of two Antarctic notothenioid fish species. *Extremophiles*, 13:679-685.
- Ward N.L., Challacombe J.F., Janssen P.H., Henrissat B., Coutinho P.M., Wu M., Xie G., Haft D.H., Sait M., Badger J., Barabote R.D., Bradley B., Brettin T., Brinkac L.M., Bruce D., Greasy T., Daugherty S.C., Davidsen T.M., DeBoy R.T., Detter J.C., Dodson R.J., Durkin A.S., Ganapathy A., Gwinn-Giglio M., Han C.S., Khouri H., Kiss H., Kothari S.P., Madupu R., Nelson K.E., Nelson W.C., Paulsen I., Penn K., Ren Q., Rosovitz M.J., Selengut J.D., Shrivastava S., Sullivan S.A., Tapia R., Thompson L.S., Watkins K.L., Yang Q., Yu C., Zafar N., Zhou L., Kuske C.R. (2009) Three genomes from the phylum Acidobacteria provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(7):2046–2056.
- Xing M., Hou Z., Yuan J., Liu Y., Qu Y., Liu B. (2013) Taxonomix and functional metagenomic profiling of gastrointestinal track microbiome of the farmed adult turbot (*Scophthalmus maximus*). *FEMS Microbiology Ecology*, 86:432-443.
- Ye L., Amberg J., Chapman D., Gaikowski M., Liu W.-T. (2014) Fish gut microbiota analysis differentiates physiology and behavior of invasive Asian carp and indigenous American fish. *The ISME Journal*, 8(3):541–551.
- Yen A. L. (2015) Foreword: Why a Journal of Insects as Food and Feed? *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(1):1–2.
- Yi L., Lakemond C.M.M., Sagis L.M.C., Eisner-Schadler V., van Huis A. (2013) Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. *Food Chemistry*, 141(4):3341–3348.

## 5.2 Ελληνική βιβλιογραφία

- Βογιατζής Ι. (2015). Μερική αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με προνύμφες *Hermetia illucens* στη διατροφή της τσιπούρας (*Sparus aurata*): μικρή αντικατάσταση. Προπτυχιακή διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- Κλαουδάτος Σ.Δ., Κλαουδάτος Δ.Σ. (2012) Αναπαραγωγή-εκτροφή ιχθύων θαλάσσιων

υδάτων. Κλαουδάτος Σ.Δ., Κλαουδάτος Δ.Σ. (eds) Καλλιέργειες φυτικών και εκτροφές υδρόβιων ζωικών οργανισμών. Εκδόσεις Προπομπός, Αθήνα, σελ. 228-241.

Κορμάς Α.Κ., Μεζίτη Α. (2011). Ο ρόλος των μικροοργανισμών στην εκτροφή των

δεκαπόδων. Μεντέ Ε., Νέγκας Ι. (eds) Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, σελ. 361-367.

Κυριαζής Ι.Δ., Καμπούρης Μ.Ε., Πουλιάς Κ., Πατρινός Γ.Π. (2014). Μοριακές τεχνικές για την ανίχνευση και το χαρακτηρισμό μικροοργανισμών. Αρχεία ελληνικής ιατρικής, 31(1): 23-40.

Μεζίτη Α. (2012) Μοριακή ποικιλομορφία και αφθονία προκαρυωτικών οργανισμών

του πεπτικού συστήματος της караβίδας (*Nephrops norvegicus*) σε φυσικούς και εκτρεφόμενους πληθυσμούς. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, σελ. 484.

Μεντέ Ε. (2011). Πεπτικό σύστημα και πέψη. Μεντέ Ε., Νέγκας Ι. (eds) Στοιχεία

φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, p 80-83.

Μηνά Α., Αντωνοπούλου Ε., Παπαδόπουλος Α.Ι. (2016) Διερεύνηση της

δραστικότητας του ενζύμου της χιτινάσης σε ιχθείς μετά από χορήγηση τροφής με μερική υποκατάσταση ιχθυαλεύρου από εντομάλευρο. Πρακτικά 16<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Ιχθυολόγων. Καβάλα, σελ. 425-428.

Παπουτσόγλου Σ.Ε. (2008). Πεπτικό σύστημα ιχθύων-Μορφολογία και ιδιότητες.

Παπουτσόγλου Σ.Ε. (eds) Διατροφή ιχθύων. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα, σελ. 167-169, 186-187.

### 5.3 Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

<http://www.fishbase.org/search.php>

<http://www.ipiff.org/>

<https://www.nifes.no/en/insects-fish-feed-future/>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=8175>