

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ & ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

«ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ»

**“ Χρησιμοποίηση πρωτεΐνης εντόμων στη διατροφή της τσιπούρας
(*Sparus aurata*)”**

Εγγλέζος Γεώργιος
Καρβούνη Ειρήνη
Σάββα Ευγένιος

ΒΟΛΟΣ 2017

«Χρησιμοποίηση πρωτεΐνης εντόμων στη διατροφή της τσιπούρας (*Sparus aurata*)»

Διμελής Εξεταστική Επιτροπή :

1) Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης, Επίκουρος Καθηγητής – Διατροφή Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Επιβλέπων**.

2) Έλενα Μεντέ, Καθηγήτρια - Φυσιολογία Θρέψης Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Μετά το πέρας αυτής της κοπιαστικής δουλειάς, θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ειλικρινείς μας ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρουμε εις πέρας την παρούσα Διπλωματική Εργασία. Αρχικά, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τον επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κ. Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη για την πολύτιμη βοήθειά του και τη διαρκή υποστήριξή του, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος, όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και το μέλος της εξεταστικής επιτροπής αποτελούμενη από την κ. Έλενα Μεντέ για τις χρήσιμες συμβουλές της και την καθοδήγησή της σε όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας.

Επιπλέον, θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ευχαριστίες μας στον Δρ. Χρήστο Ρούμπο για την αμέριστη βοήθειά του, όσον αφορά τη συλλογή του φυσικού πληθυσμού της μύγας από την περιοχή του Νοτίου Πηλίου (Μετόχι Αργαλαστής). Επίσης, θα θέλαμε να πούμε ένα μεγάλο ευχαριστώ στον υποψήφιο διδάκτωρ κ. Πιέρ Ψωφάκη που ήταν παρών καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος δίνοντας μας τις συμβουλές και τη βοήθεια του, καθώς και στην εταιρεία Σελόντα (πρώην «ΔΙΑΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ Α.Β.Ε.Ε.») και στη «BIOMAR Greece» για την παροχή ιχθυδίων και ιχθυοτροφών αντίστοιχα. Τέλος, στις οικογένειες μας για την άπλετη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή σε όλο το χρονικό διάστημα του πειράματος.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

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

Ιχθύδια τσιπούρας (225 στο σύνολο) μέσου βάρους $2,40 \pm 0,27$ g τοποθετήθηκαν σε 9 υάλινα ενυδρεία (125L) κλειστού κυκλώματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού και διαχωρίστηκαν σε 3 διατροφικές ομάδες (25 άτομα/ενυδρείο, 3 ενυδρεία/διατροφική ομάδα) σιτιζόμενες η κάθε μια με διαφορετικό σιτηρέσιο. Το σιτηρέσιο Α BSF-10 περιείχε απολιπασμένο άλευρο *H. illuscens* σε ποσοστό συμμετοχής ίσο με 5,8% της τροφής, ενώ στα σιτηρέσια Β BSF-20 και Γ BSF-30 ενσωματώθηκε απολιπασμένο άλευρο *H. illuscens* σε ποσοστά συμμετοχής 11,6% και 17,4%, αντίστοιχα, υποκαθιστώντας την πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου. Τα τρία αυτά σιτηρέσια ήταν μεταξύ τους ισοενεργειακά (21,6 MJ/Kg τροφής) και ισοπρωτεϊνικά (47% της τροφής). Η σίτιση γίνονταν έξι ημέρες την εβδομάδα, μια φορά την ημέρα μέχρι φαινόμενου κορεσμού για συνολικά 10 εβδομάδες.

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

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

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

Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1.1 Βιολογία και εκτροφή της τσιπούρας (<i>Sparus aurata</i>).....	8
1.2 Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους <i>Sparus aurata</i>	11
1.3 Το ιχθυάλευρο ως κύρια πηγή ζωικής πρωτεΐνης των ιχθυοτροφών.....	11
1.4 Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεϊνικές πηγές ζωικής προέλευσης.....	15
1.5 Η πρωτεΐνη των εντόμων ως συστατικό των ιχθυοτροφών.....	16
1.6 Το είδος <i>Hermetia illucens</i>	23
1.7 Σκοπός.....	25
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	26
2.1 Πειραματικός σχεδιασμός.....	26
2.2 Σιτηρέσια-Σίτιση.....	28
2.3 Δειγματοληψίες.....	31
2.4 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής.....	31
2.4.1 Θνησιμότητα.....	31
2.4.2 Αύξηση ολικού βάρους ψαριών.....	32
2.4.3 Ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους.....	32
2.4.4 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης.....	32
2.4.5 Συντελεστής μετατραφαιμότητας της τροφής.....	33
2.4.6 Συντελεστής αποδοτικότητας των πρωτεϊνών.....	33
2.5 Χημικές αναλύσεις.....	33
2.5.1 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών.....	33
2.5.2 Προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων.....	34
2.5.3 Προσδιορισμός τέφρας.....	36
2.5.4 Προσδιορισμός υγρασίας/ξηρής ουσίας.....	36
2.6 Στατιστική ανάλυση.....	37
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	38
3.1 Θνησιμότητα.....	38
3.2 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής.....	38
3.2.1 Κατά την έναρξη του πειράματος.....	38
3.2.2 Κατά της 30 ^η μέρα του πειράματος.....	39
3.2.3. Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος.....	41

3.3 Θρεπτική σύσταση ιχθύων.....	43
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	45
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	55
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	56
6.1 Ξερόγλωσση βιβλιογραφία.....	56
6.2 Ελληνική βιβλιογραφία.....	63
6.3 Ηλεκτρονική βιβλιογραφία.....	64

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

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

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

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



Εικόνα 1. Απεικόνιση *Sparus aurata*
(http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en)

Το είδος τσιπούρα (*Sparus aurata*), του οποίου η συστηματική κατάταξη δείχνεται στον Πίνακα 1, συναντάται στη Μεσόγειο Θάλασσα, κατά μήκος των ανατολικών ακτών του Ατλαντικού, από τη Μεγάλη Βρετανία έως τη Σενεγάλη, και σπάνια στη Μαύρη Θάλασσα (Εικ. 2). Προτιμά, θαλάσσια και υφάλμυρα περιβάλλοντα όπως είναι οι παράκτιες λιμνοθάλασσες και οι περιοχές εκβολών ποταμών, ιδίως κατά τα αρχικά στάδια του κύκλου ζωής της. Η ανάπτυξή της μέσα σε αυτά τα οικοσυστήματα είναι πιο γρήγορη από εκείνα της θάλασσας. Πράγματι μια τσιπούρα τριών ετών μπορεί να φτάσει το μέγεθος των 43 cm στη λιμνοθάλασσα, ενώ εκείνη της θάλασσας δεν ξεπερνάει τα 25 cm (FAO 2009).

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

διαθέσιμη η τροφή, η τσιπούρα στρέφεται προς εναλλακτικές πηγές τροφής περιορίζοντας έτσι την οποιαδήποτε επίδραση από την σπανιότητα της τροφής (Wassef 1991). Σε σχέση με το μέγεθος έχει αποδειχθεί ότι τα μικρότερου μεγέθους ψάρια καταναλώνουν μικρούς και σχετικά μαλακής σάρκας οργανισμούς, όπως πολύχαιτους και μικρά καρκινοειδή. Καθώς το μέγεθος της αυξάνει, η τσιπούρα τείνει να διατραφεί με μεγαλύτερου είδους ζώα που έχουν πιο σκληρή σάρκα, όπως είναι τα οστρακόδερμα, τα δίθυρα και οι ιχθύες.



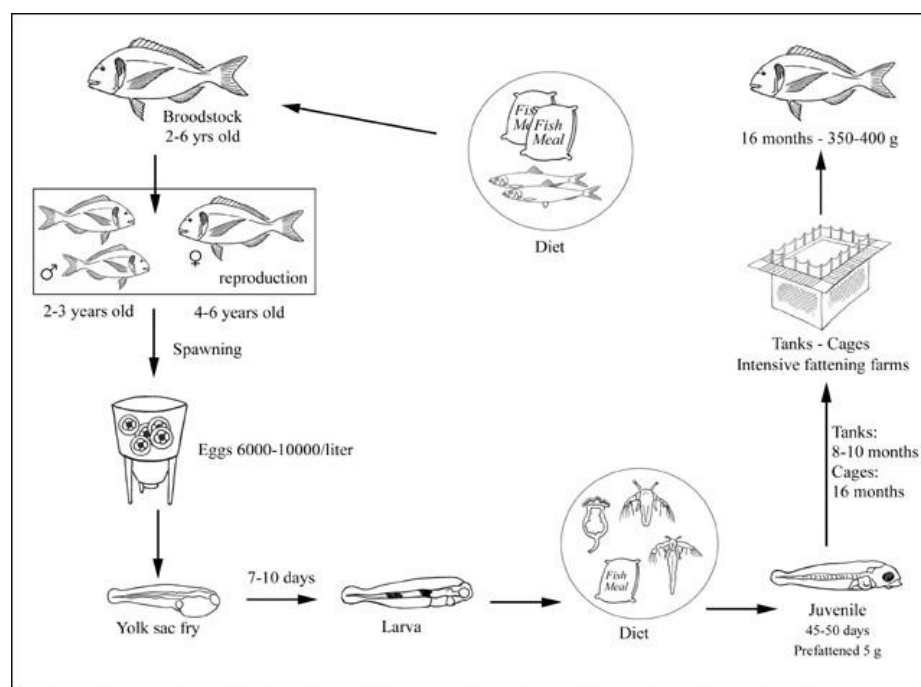
Εικόνα 2. Γεωγραφική εξάπλωση του είδους *Sparus aurata*

(Πηγή: FISHBASE)

Οι πιο συνήθεις μέθοδοι παραγωγής τσιπούρας είναι ο εντατικός (Εικ. 3) και ο εκτατικός τρόπος. Προς το παρόν, το μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής προέρχεται από την εντατική εκτροφή, με μέση πυκνότητα 20 - 100 kg m³ και FCR 1,5 – 2 (FAO 2013). Η εκτατική εκτροφή παραμένει μια παραδοσιακή δραστηριότητα σε ορισμένες περιοχές, αλλά με πολύ χαμηλό αντίκτυπο στην αγορά (Sola *et al.* 2006).

Το 2014, η παγκόσμια παραγωγή της υδατοκαλλιέργειας της τσιπούρας ήταν 159.000 τόνοι (FAO 2017). Στη Μεσόγειο, οι κύριοι παραγωγοί τσιπούρας είναι η Ελλάδα, η Τουρκία, η Ισπανία και η Ιταλία. Στις αρχές της δεκαετίας του 1990, λειτουργούσαν περίπου είκοσι εκκολαπτήρια τσιπούρας στη Μεσόγειο. Μέχρι το 2006 πάνω από 65 εκκολαπτήρια διανέμονταν στην Κροατία, την Κύπρο, τη Γαλλία, την Ελλάδα, την Ιταλία, το Μαρόκο, την Πορτογαλία, την Ισπανία και στην Τυνησία (FAO 2006).

Στην Ελλάδα, με τη χρήση πλωτών κλωβών, η τσιπούρα φτάνει στο εμπορικό βάρος των 300 – 350 gr σε περίπου 14 – 16 μήνες. Η μέθοδος αυτή είναι απλή και οικονομική και αποτελεί το σύστημα εκτροφής που χρησιμοποιείται κυρίως στη λεκάνη της Μεσογείου. Αν και οι πυκνότητες (10-15 kg/m³) είναι χαμηλότερες σε σχέση με την εκτροφή σε δεξαμενές, υπάρχουν πολλά πλεονεκτήματα που καθιστούν τους κλωβούς πιο κερδοφόρους. Ωστόσο, κατά την εκτροφή σε κλωβούς δεν είναι δυνατόν να ελεγχθεί η θερμοκρασία, με αποτέλεσμα μεγαλύτερη περίοδος επίτευξης του εμπορεύσιμου μεγέθους (FAO 2010).



Εικόνα 3. Παραγωγικός κύκλος εντατικής εκτροφής της τσιπούρας

1.2 Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους *Sparus aurata*

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

Πίνακας 2. Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους *Sparus aurata* (Πηγή: FAO, 2013)

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

1.3 Το ιχθυάλευρο ως κύρια πηγή ζωικής πρωτεΐνης των ιχθυοτροφών

Ο τομέας των ιχθυοκαλλιεργειών αναπτύσσεται με υψηλούς ετήσιους ρυθμούς αύξησης τις τελευταίες δεκαετίες και με σημαντικές προοπτικές ανάπτυξης στο άμεσο μέλλον (Nogueira *et al.* 2012). Οι υψηλοί ρυθμοί ανάπτυξης της παγκόσμιας παραγωγής των υδατοκαλλιεργειών υποδηλώνει πως και η ζήτηση για ιχθυοτροφές-σύμπληκτα έχει αυξηθεί με ανάλογο ρυθμό. Οι υδατοκαλλιέργειες στην Ευρώπη χρησιμοποιούν σαρκοφάγα είδη με τις ιχθυοτροφές που καταναλώνονται για την παραγωγή αυτών των ειδών να εμπεριέχουν μεγάλες ποσότητες ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων. Η ταχεία

ανάπτυξη της υδατοκαλλιέργειας έχει οδηγήσει σε αύξηση της ζήτησης για ιχθυάλευρο και ιχθυέλαιο, ειδικά για σαρκοφάγα είδη. Ωστόσο, η παραγωγή πρώτων υλών δεν έχει αυξηθεί ούτε και προβλέπεται να αυξηθεί στο μέλλον (Shepherd *et al.* 2005). Εκτιμάται ότι μέχρι το 2030, πάνω από το ήμισυ των ψαριών που καταναλώνονται, θα παράγονται από την υδατοκαλλιέργεια. Η συνολική παραγωγή αυξήθηκε από 10 εκατ. τόνους ψαριών το 1984, σε 74 εκατ. τόνους το 2014 (FAO 2016). Η μεγάλη ανάπτυξη των ιχθυοκαλλιεργειών συνοδεύτηκε από μια εξίσου μεγάλη αύξηση της ζήτησης για τεχνητές ιχθυοτροφές, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την παραγωγή συγκεκριμένων ιχθυαποθεμάτων που προορίζονται για ιχθυάλευρα (Tidwell & Allan 2002).

Το ιχθυάλευρο, είναι η σημαντικότερη πρωτεϊνική πηγή που περιλαμβάνεται στις ιχθυοτροφές. Το 25% της παγκόσμιας παραγωγής ιχθυαλεύρων προέρχεται από υποπροϊόντα φιλλετοποίησης αλιευμάτων (Jackson 2009). Όταν τα ιχθυάλευρα παρασκευάζονται από ολόκληρα ψάρια αποτελούν μια από τις υψηλότερης πρωτεϊνικής αξίας πρώτες ύλες. Η πρωτεΐνη κυμαίνεται από 56 % έως 76 %, ποσοστό που καθορίζει και την ποιότητα του ιχθυαλεύρου. Τα πλεονεκτήματα του ιχθυαλεύρου είναι ότι είναι πλούσιο σε απαραίτητα αμινοξέα, ελκυστικό και εύπεπτο από τους εκτρεφόμενους ιχθύες αλλά και άμεσα διαθέσιμο για τους παραγωγούς (NRC 1993, Jackson 2009). Επίσης περιέχει υψηλά πρωτεϊνικά επίπεδα, ιδανικό προφίλ αμινοξέων και έλλειψη αντι-θρεπτικών παραγόντων (Jackson 2009).

Η θρεπτική σύσταση των ιχθυαλεύρων περιλαμβάνει λιπαρές ουσίες 3,5% ως 12%, τέφρα 10% ως 22,5% και υγρασία 7% ως 13% (Σπαής 2002). Σύμφωνα με το Διεθνή Οργανισμό ιχθυαλεύρων-ιχθυελαίων (IFFO) τα διάφορα ιχθυάλευρα ταξινομούνται βάση της σύστασης τους σε πρωτεΐνες και λιπίδια ως εξής: 1) ιχθυάλευρα

υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (>68%) και μικρής σε έλαια (<9%), 2) ιχθυάλευρα κανονικής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (64-68%) και <13% ελαίου, 3) ιχθυάλευρα με κανονική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (64-68%) και περιεκτικότητα σε έλαιο μικρότερης από 6% και 4) ιχθυάλευρα με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 60-64%. Τα πιο κοινά άλευρα που χρησιμοποιούνται είναι τα άλευρα ρέγγας, γαύρου του Περού, σαρδέλας, σκουμπριού και φρίσσας.

Η ποιότητα του ιχθυαλεύρου εξαρτάται από τη θερμοκρασία, την ώρα που τα ψάρια αλιεύονται, την εποχή της αλίευσης, το γεωγραφικό πλάτος της περιοχής, τον τρόπο αλιείας, το χρόνο αποθήκευσης πριν από την επεξεργασία και τη σύνθεση των αλιευμάτων. Η επεξεργασία πρέπει να γίνεται το συντομότερο μετά την εξαλίευση. Υπάρχουν δυο βασικοί τρόποι παραγωγής ιχθυαλεύρων: άμεση ξήρανση, που είναι η παλαιότερη μέθοδος και θερμική επεξεργασία πριν από την ξήρανση. Η δεύτερη μέθοδος δίνει προϊόντα υψηλότερης ποιότητας (Hertampf & Piedad – Pascal 2000).

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

Εδώ και περίπου τρεις δεκαετίες, ο τομέας των υδατοκαλλιεργειών χρησιμοποίησε φυτικές πρωτεΐνες στις ιχθυοτροφές ως αντικατάσταση της πρωτεΐνης των ιχθυαλεύρων (Gatlin *et al.* 2007, Glencross *et al.* 2005). Οι πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης όπως το σογιάλευρο, το κραμβάλευρο, το φοινικάλευρο, το βαμβακάλευρο,

το φυσικάλευρο, το ηλιάλευρο, το σουσαμάλευρο, το καρυδάλευρο, η γλουτένη αραβοσίτου, η γλουτένη σιταριού κ.α. αποτέλεσαν επιτυχή συστατικά στην αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου (Μεντέ και Νέγκας 2011) Ωστόσο, τα άλευρα φυτικής προέλευσης, συγκριτικά με τα ιχθυάλευρα περιέχουν χαμηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης και ορισμένων απαραίτητων αμινοξέων, αλλά και διάφορες αντιδιατροφικές ουσίες, οι οποίες αν δεν αδρανοποιηθούν, μέσω της κατάλληλης επεξεργασίας τους μπορεί να προκαλέσουν μείωση της ανάπτυξης, τοξικά φαινόμενα και προβλήματα υγείας στους διατρεφόμενους ιχθύες (Francis *et al.* 2001, Μεντέ & Νέγκας,2011). Μια επιπλέον σημαντική ανησυχία σχετικά με τις φυτικές πρωτεΐνες είναι η παρουσία των γενετικά τροποποιημένων προϊόντων, που χρησιμοποιούνται σήμερα στη γεωργία, ιδιαίτερα εκείνων που προέρχονται από σόγια και καλαμπόκι (Pusztai & Bardocz 2006). Περαιτέρω, οι υποκαταστάσεις των ιχθυαλεύρων μπορεί να μην επιφέρουν πάντοτε αρνητικές επιδράσεις στο ρυθμό ανάπτυξης των εκτρεφόμενων ιχθύων, αναπόφευκτα όμως οδηγούν σε μείωση των συγκεντρώσεων 20:5ω-3 και 22:6ω-3 στο σώμα των ιχθύων, ενώ παράλληλα η βιοδιαθεσιμότητα και η πεπτικότητα όλων των θρεπτικών συστατικών μπορεί να επηρεαστεί αρνητικά λόγω των αντιδιατροφικών ουσιών που περιέχονται στα φυτικά προϊόντα. Έτσι, οι υποκαταστάσεις ελλοχεύουν τον κίνδυνο μείωσης πολύτιμων ιχνοστοιχείων και βιταμινών που έχουν συνδεθεί με την υψηλή διατροφική αξία των ιχθύων, όπως οι βιταμίνες B₁₂, D και E, τα καροτενοειδή, το ιώδιο και το σελήνιο (Μεντέ & Νέγκας 2011). Ως εκ τούτου, ο τομέας των υδατοκαλλιεργειών θα πρέπει να συνεχίσει την εξεύρεση εναλλακτικών πρωτεϊνικών πηγών των ιχθυαλεύρων.

1.4 Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεϊνικές πηγές ζωικής προέλευσης

Οι ζωικές πρωτεΐνες είναι ιδιαίτερα πολύτιμες στο πλαίσιο της αντικατάστασης των ιχθυαλεύρων. Αναμενόμενα θέματα ασφαλείας των τροφίμων, καθώς και οι περιορισμοί εισαγωγών και εξαγωγών, είναι οι κύριοι παράγοντες που περιορίζουν τη χρήση ζωικών υποπροϊόντων στις ιχθυοτροφές σήμερα (Serwata 2007). Στο παρελθόν, η χρήση των ζωικών υποπροϊόντων έχει περιοριστεί λόγω ανησυχιών για την κακή τους πεπτικότητα και τη μεταβλητή τους ποιότητα. Ωστόσο, ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει δείξει ότι η ποιότητα των συστατικών αυτών έχει βελτιωθεί σημαντικά κατά τις τελευταίες δύο με τρεις δεκαετίες (Nogueira *et al.* 2012).

Οι ζωικές πρωτεΐνες θεωρούνται προϊόντα υψηλής διατροφικής αξίας. Συνήθως χρησιμοποιούνται για να αυξήσουν το περιεχόμενο του σιτηρεσίου σε πρωτεΐνη και στην περίπτωση των ψαριών αποτελούν σημαντικές πηγές διαιτητικής πρωτεΐνης. Η γενική σύνθεση των αμινοξέων τους είναι υψηλότερης ποιότητας από αυτή των φυτικών υποπροϊόντων (Αδαμίδου & Νέγκας 2011). Συνήθως, είναι πλούσια σε λυσίνη, ενώ πρώτο οριακό αμινοξύ τους είναι η μεθειονίνη και η κυστίνη. Επίσης, περιέχουν μεγάλη ποσότητα ισολευκίνης. Το περιεχόμενό τους σε πρωτεΐνες κυμαίνεται από 50 – 85 % και το λίπος τους από 0 – 15 %. Η μεγάλη περιεκτικότητά τους σε λίπος είναι μειονέκτημα καθώς το λίπος τους μπορεί να οξειδωθεί με την αποθήκευση, με αποτέλεσμα τη μείωση της δεκτικότητάς τους από τους άλλους εκτρεφόμενους οργανισμούς, αλλά και την καταστροφή άλλων περιεχόμενων συστατικών, όπως των βιταμινών Α και Β. Το περιεχόμενό τους σε τέφρα, ασβέστιο και φώσφορο είναι γενικά υψηλό. Ενώ τα φυτικά προϊόντα περιέχουν λιγότερο από 1% από οποιοδήποτε από αυτά τα στοιχεία και κυμαίνονται γύρω στο 0,25%, τα ζωικά υποπροϊόντα έχουν 5 – 11% ασβέστιο και 3 – 5%

φώσφορο. Γενικά, όσο περισσότερη πρωτεΐνη έχουν τόσο το ασβέστιο και ο φώσφορος είναι χαμηλότερα. Τέτοια άλευρα είναι το άλευρο πουλερικών, το άλευρο κρέατος χοίρων, το αιματάλευρο, το περάλευρο, η αιμογλοβίνη κ.α. (Καραπαναγιωτίδης 2011).

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

1.5 Η πρωτεΐνη των εντόμων ως συστατικό των ιχθυοτροφών

Μέχρι το 2050, αναμένεται ότι ο παγκόσμιος πληθυσμός θα έχει υπερβεί τα 9 δισ. Ως συνέπεια αυτού, η παγκόσμια ζήτηση για τρόφιμα και ζωοτροφές προβλέπεται να αυξηθεί κατά τουλάχιστον 70%, θέτοντας σοβαρά ζητήματα στους ήδη περιορισμένους πόρους της γεωργίας (FAO, 2009). Ειδικότερα, θα υπάρξει μια συνεχόμενη αύξηση στην παγκόσμια ζήτηση κρέατος και οι αναπτυσσόμενες χώρες ήδη υφίστανται αλλαγές στις

διατροφικές συνήθειες που σχετίζονται με την ταχεία αστικοποίηση και την οικονομική ανάπτυξη. Η εκτροφή των ζώων για το κρέας θέτει ήδη μια σημαντική πίεση για την παγκόσμια χρήση γης και νερού. Επί του παρόντος το μεγαλύτερο μέρος της πρωτεΐνης που παράγεται για τη διατροφή των ζώων προέρχεται από μη αειφορικές και βλαβερές για το περιβάλλον πηγές (Bartley *et al.*, 2009).

Η αύξηση της κατανάλωσης ζωικών προϊόντων αναμένεται να αυξηθεί κατά 60-70% έως το 2050. Αυτή η αύξηση θα απαιτεί τεράστιους πόρους, δεδομένου ότι οι ζωοτροφές είναι πιο δυσεύρετες εξαιτίας της περιορισμένης διαθεσιμότητας των φυσικών πόρων, των συνεχιζόμενων κλιματικών μεταβολών και του ανταγωνισμού για καύσιμα. Το κόστος των πηγών συμβατικών ζωοτροφών, όπως το σογιάλευρο και το ιχθυάλευρο, είναι πολύ υψηλό και επιπλέον η διαθεσιμότητά τους στο μέλλον θα είναι περιορισμένη (Makkar *et al.* 2014).

Το σημερινό σύστημα υδατοκαλλιέργειας, είναι σαφώς μη αειφορικό. Όπως αναφέρθηκε από το FAO (2010), η αλιεία έχει μείνει στάσιμη ή βρίσκεται σε ύφεση σε ορισμένες χώρες, ιδίως για αποθέματα άγριων θαλάσσιων ψαριών. Εξαιτίας επίσης, της επέκτασης των υδατοκαλλιεργειών και των περιορισμένων πόρων από τη θάλασσα, είναι αναγκαίο να βρεθούν υποκατάστατα των ιχθυάλευρων για τη χρήση αυτών στις υδατοκαλλιέργειες (Barroso *et al.*, 2014). Η μείωση της διαθεσιμότητας και η αύξηση των τιμών του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου κάνουν επιτακτική την ανάγκη αναζήτησης εναλλακτικών αειφορικών λύσεων για τις ιχθυοτροφές στην υδατοκαλλιέργεια (Henry *et al.*, 2015).

Η χρήση των εντομάλευρων ως εναλλακτική πηγή ζωικής πρωτεΐνης μπορεί να είναι μια καλή επιλογή καθώς οι εκτρεφόμενοι οργανισμοί τρέφονται με αυτά στο

φυσικό τους περιβάλλον (Barroso *et al.*, 2014). Παρόλο που έχουν διεξαχθεί κάποιες μελέτες για την αξιολόγηση των εντόμων, των προνυμφών εντόμων ή του εντομάλευρου ως συστατικό στη διατροφή ορισμένων ζωικών ειδών, το πεδίο αυτό είναι σε πρώιμο στάδιο (Makkar *et al.* 2014).

Τα περισσότερα από τα είδη των εντόμων έχουν υψηλό ποσοστό πρωτεϊνών, παρόμοια με τα επίπεδα του σογιάλευρου, αλλά μικρότερο από των ιχθυαλεύρων (Barroso *et al.*, 2014). Ωστόσο, τα έντομα δεν είναι μόνο μια πηγή πρωτεΐνης, αλλά περιέχουν και μια σημαντική ποσότητα λιπιδίων (Lock *et al.*, 2015), καθώς έχουν υψηλές αναλογίες σε ω-6 και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (Barroso *et al.*, 2014). Επιπλέον, κάποια είδη εντόμων περιέχουν ικανοποιητικά επίπεδα σε ω-3 και ω-6 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και ανόργανα στοιχεία, όπως σίδηρο. Λόγω του ότι τα έντομα περιέχουν σημαντικές ποσότητες αμινοξέων και λιπαρών οξέων, διάφοροι ερευνητές έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα, ότι είναι τεχνικώς εφικτό, να γίνει χρήση τους ως εναλλακτική πηγή πρωτεΐνης στις ζωοτροφές (Sanchez-Muros *et al.* 2014). Υπάρχουν έρευνες που υποστηρίζουν, ότι πολλά έντομα έχουν αντιμυκητιακή δράση και/ή αντιβακτηριακά πεπτίδια (Ravi *et al.* 2011) που με τη σειρά τους αυξάνουν τη διάρκεια ζωής της τροφής, στην οποία περιέχεται άλευρο εντόμου (Zhao *et al.* 2010).

Εκτός από τα θρεπτικά οφέλη τους, η εκτροφή εντόμων φαίνεται να είναι πιο φιλική προς το περιβάλλον σε σχέση με την παραγωγή αερίων του θερμοκηπίου, την κατανάλωση νερού και την απαίτηση της γης που χρειάζεται σε άλλου είδους εκτροφές (Oonincx & de Boer, 2012). Ανά χιλιόγραμμο παραγόμενης βιομάζας, τα έντομα απελευθερώνουν πολύ μικρότερες ποσότητες αερίων του θερμοκηπίου και εκπομπές αμμωνίας στην ατμόσφαιρα από τα βοοειδή ή τους χοίρους (Oonincx *et al.*, 2010). Έχουν

μικρότερη ζήτηση για χρήση γης σε σύγκριση με την παραδοσιακή κτηνοτροφία και απαιτούν λιγότερους φυσικούς πόρους (π.χ. νερό, λίπασμα) από ότι η σόγια (Barroso *et al.*, 2014). Ένας άλλος λόγος είναι η χαμηλότερη κατανάλωση νερού, δεδομένου ότι έχουν αποτελεσματικά ποσοστά μετατροπής τροφής και μπορούν να εξασφαλίσουν αρκετή υγρασία μόνο από τα τρόφιμα (Rumpold & Schlüter, 2013). Τα έντομα παίζουν έναν ακόμη σημαντικό ρόλο στην ανακύκλωση αποβλήτων και άλλων συσσωρευμένων θρεπτικών ουσιών του περιβάλλοντος (Newton *et al.*, 2005). Τέλος, τα έντομα δεν ανταγωνίζονται τους ανθρώπινους πόρους και μπορούν να εκτραφούν σε παραπροϊόντα ή ανθρώπινα απόβλητα ως αποτελεσματικοί βιομετασχηματιστές για τη μετατροπή άφθονων οργανικών αποβλήτων χαμηλού κόστους σε ζωική βιομάζα πλούσια σε πρωτεΐνες και κατάλληλη για χρήση στη διατροφή των ζώων (Ramos-Elorduy, 1999, 2005).

Η μαζική εκτροφή των εντόμων έχει εξαπλωθεί σε όλο τον κόσμο, ειδικά για την παραγωγή μεταξιού, τη χρήση δολωμάτων αλιείας, την διατροφή διαφόρων ζώων (ψάρια, πουλιά, ερπετά) και για τον βιολογικό έλεγχο των παρασίτων (Schabel, 2010, FAO 2013). Στην Ευρώπη, οι προνύμφες των μυγών ήδη παράγονται σε μεγάλες ποσότητες για να χρησιμοποιηθούν ως δόλωμα για την ερασιτεχνική αλιεία ή τροφών για ζώα, αν και η παραγωγή λαμβάνει σήμερα χώρα σε μια μικρή κλίμακα και περιορίζεται από τις εντατικές μεθόδους εργασίας που χρησιμοποιούνται (ProteinInsect 2013). Μικρές μονάδες παραγωγής μύγας, κίτρινων σκαθαριών, ακριδών, και τριζονιών έχουν δημιουργηθεί σε όλη την Ευρώπη και τον υπόλοιπο κόσμο (Ynsect – Γαλλία, Protix – Ολλανδία, Hermetia – Γερμανία, Insagri – Ισπανία, Enviroflight, Next Millenium Farm – ΗΠΑ, Enterra Feed – Καναδά, Entologics - Βραζιλία) (Kroeckel *et al.* 2012, Rumpold &

Schlüter 2013), καθώς και μια πολύ μεγάλη μονάδα παραγωγής σκουληκιού έχει ήδη συσταθεί στη Νότια Αφρική (AgriProtein). Επιπλέον, η παραγωγή του σκαθαριού είναι ήδη πολύ σημαντική στην Κίνα (Haocheng) και στην Ινδία (Veldkamp *et al.* 2012, Ji *et al.* 2013, Van Huis *et al.* 2013). Η παραγωγή του μεταξοσκώληκα στην Κίνα αντιπροσωπεύει περίπου το 80% της παγκόσμιας παραγωγής, με την ετήσια δυναμικότητα παραγωγής αποξηραμένων νυμφών να είναι περίπου 200.000 τόνοι (Dong & Wu 2010).

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

Υπάρχουν αρκετοί κίνδυνοι ασφάλειας που σχετίζονται με τη χρησιμοποίηση των εντόμων στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές που πρέπει να εξεταστούν. Ίσως το πιο σημαντικό είναι το γεγονός ότι τα έντομα θέτουν μικροβιακούς κινδύνους λόγω των παθογόνων που φιλοξενούν και μπορεί να προκαλέσουν τροφικές λοιμώξεις. Τα έντομα μπορεί να είναι επισφαλής για κατανάλωση λόγω της παρουσίας των τοξινών. Ορισμένα είδη εντόμων παράγουν φυσικές τοξικές ουσίες για την προστασία από τα αρπακτικά (αν και αυτό δεν ισχύει στην περίπτωση της μύγας). Εναλλακτικά, τα έντομα μπορούν να αποκτήσουν τοξικές ιδιότητες λόγω της βιοσυσσώρευσης βαρέων μετάλλων από το περιβάλλον ή την πρόσληψη των φυτοφαρμάκων. Επιπλέον, είναι πιθανό ότι η κατανάλωση των εντόμων θα μπορούσε να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις (Belluco *et al.* 2013). Τα εντομάλευρα (π.χ. προνύμφες της μύγας «μαύρου στρατιώτη»)

περιέχουν υψηλά επίπεδα τέφρας και συνεπώς τα υψηλότερα επίπεδα συμπερίληψής τους στη διατροφή, ιδιαίτερα στα μονογαστρικά, μπορούν να μειώσουν την πρόσληψη και να προκαλέσουν άλλες δυσμενείς επιπτώσεις (Makkar *et al.*, 2014). Η παρουσία της χιτίνης μπορεί να έχει αντίκτυπο στη μείωση της πρόσληψης της τροφής και των θρεπτικών και συνεπώς μειωμένη ανάπτυξη και αξιοποίηση των θρεπτικών (Kroeckel *et al.*, 2012). Σε περιβαλλοντικό επίπεδο, η τυχαία απελευθέρωση των εκτρεφόμενων εντόμων θα μπορούσε να έχει αρνητικές επιπτώσεις στην βιοποικιλότητα της τοπικής περιοχής, ειδικά αν είναι μη ενδημικά είδη (FAO, 2013).

Αναφορικά με τη νομοθεσία που διέπει τη χρήση των εντόμων στις ζωοτροφές τα έντομα πρέπει να πληρούν τις απαιτήσεις της οδηγίας ΕΚ 2002/32 σχετικά με τις ανεπιθύμητες ουσίες στις ζωοτροφές. Αυτό ορίζει τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα ρύπων, όπως τα βαρέα μέταλλα. Επιπλέον, τα έντομα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία σύμφωνα με τον κανονισμό της ΕΕ των ζωικών υποπροϊόντων 1069/2009 για να γίνουν μεταποιημένες ζωικές πρωτεΐνες (ΜΖΠ), πριν χορηγηθούν σε ζώα. Τα εισαγόμενα έντομα από χώρες εκτός της ΕΕ πρέπει επίσης να υποβάλλονται σε επεξεργασία σύμφωνα με τον παρόντα κανονισμό (ProteinInsect 2013).

Μακροπρόθεσμα, τα έντομα ή τα προερχόμενα από πρωτεΐνες εντόμων θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως συστατικό τροφίμων για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο. Ο πιο σχετικός στην νομοθεσία για την καταλληλότητα των εντόμων που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση είναι ο κανονισμός για τα τρόφιμα (EC 258 / 1997) (ProteinInsect 2013).

Η χρήση της πρωτεΐνης των εντόμων (ζωοτροφές που εξάγονται) στις ζωοτροφές στο παρελθόν απαγορεύονταν λόγω των διαφορετικών νομοθεσιών για την ασφάλεια

και την ποιότητα των ζωοτροφών, όπως για παράδειγμα ο κανονισμός για τις ΜΣΕ (International magazine on animal nutrition, processing and feed management, 2014). Ιδιαίτερη ανησυχία προέκυπτε σχετικά με την ασφαλή χρήση υποστρωμάτων, όπως τα φυτικά και οικιακά απορρίμματα και η κοπριά, στα οποία τα έντομα μπορούν να εκτραφούν με τον πιο οικονομικό τρόπο (International magazine on animal nutrition, processing and feed management, 2014). Επίσης, υπήρξε έλλειψη επιστημονικών γνώσεων για την εκτίμηση κινδύνου με τη χρήση εντόμων ως συστατικών ζωοτροφών για την ανάπτυξη νέων κανονισμών. Τα έντομα, πρέπει να υποστούν περαιτέρω επεξεργασία προκειμένου να τα καταστήσουν σε μια μορφή στην οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη βιομηχανία ζωοτροφών. Η διάρκεια ζωής των εντόμων αυξάνεται σημαντικά με μεθόδους επεξεργασίας όπως η κατάψυξη / λυοφιλοποίηση, ωστόσο αυτές οι μέθοδοι είναι δαπανηρές (International magazine on animal nutrition, processing and feed management, 2014)

Ένας επιπλέον περιοριστικός λόγος στην δημιουργία νομοθεσίας σχετικά με χρήση εντόμων στις ζωοτροφές ήταν ότι τα έντομα αποτελούν πρώτη ύλη ζωικής προέλευσης και ως εκ τούτου υπήρχε η, μέχρι το 2013, καθολική απαγόρευση χρήσης τέτοιων προϊόντων στα σιτηρέσια των αγροτικών ζώων και ιχθύων (κανόνες ΣΕΒ). Ένα άλλο κύριο εμπόδιο που έπρεπε να αποφευχθεί ήταν ο καθορισμός κανονισμών που σχετίζονται με την εκτροφή ενός νέου είδους αγροτικού ζώου, οι οποίες αφορούν θέματα ευζωίας, υγιεινής του συστήματος παραγωγής και περιβάλλοντος (Makkar *et al.*, 2014). Η εκτροφή εντόμων για τα τρόφιμα και τις ζωοτροφές παραμένει ένας τομέας στα πρώτα στάδια της ζωής του και πιθανόν να προκύψουν σημαντικές μελλοντικές προκλήσεις καθώς εξελίσσεται ο τομέας.

Οι στάσεις απέναντι στην ιδέα της χρήσης εντόμων στις ζωοτροφές ήταν γενικά ευνοϊκές, κυρίως για τις ζωοτροφές ψαριών και πουλερικών (Verbeke *et al.* 2015). Οι αγρότες ήταν πιο επικριτικοί αλλά γενικά θετικοί σε σύγκριση με τους ενδιαφερόμενους και τους πολίτες (Verbeke *et al.* 2015). Οι πιο ευνοϊκές πεποιθήσεις, αντιλήψεις και συμπεριφορές καταγράφηκαν μεταξύ των ενδιαφερομένων στον τομέα της γεωργίας, πράγμα που σημαίνει ότι αυτή η ομάδα είναι ιδιαίτερα πεπεισμένη για την ανάγκη, την καταλληλότητα και τη σκοπιμότητα της χρήσης των εντόμων ως συστατικό στις ζωοτροφές (Verbeke *et al.* 2015).

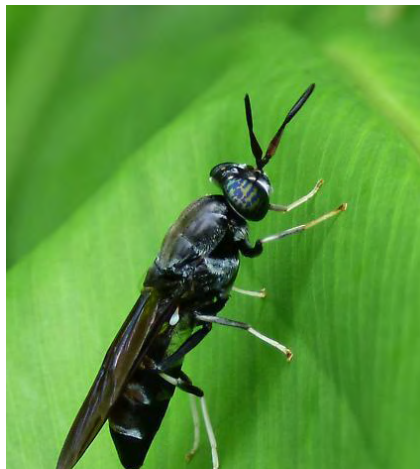
Έπειτα από μακροχρόνιες διαβουλεύσεις, οι εκπρόσωποι των κρατών μελών της ΕΕ ενέκριναν το Δεκέμβριο του 2016 πρόταση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής με την οποία αναμένεται να εγκριθεί επίσημα από την 1η Ιουλίου 2017 η χρήση των πρωτεϊνών εντόμων στις ιχθυοτροφές. Η σχετική Οδηγία αναμένεται να ανοίξει ένα νέο μεγάλο κεφάλαιο τόσο στη διατροφή των αγροτικών ζώων γενικότερα, και ιχθύων ειδικότερα, όσο και στη ζωική παραγωγή ενός νέου «αγροτικού» ζώου.

1.6 Το είδος *Hermetia illucens*

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

τους βοηθάει στην επιβίωσή τους. Περιέχουν περίπου 42% πρωτεΐνη και 35% λίπος (Newton *et al.* 1977).

Η πρωτεΐνη BSF, που περιέχουν, έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία ως συστατικό ζωοτροφών στα χερσαία ζώα (Calvert *et al.* 1969, Newton *et al.* 1977) και σε εμπορικά εκτρεφόμενα ψάρια που δεν ήταν τόσο επιτυχή όσο αναμενόταν (Makkar *et al.* 2014). Είναι γεγονός ότι η προσθήκη του BSF στις ιχθυοτροφές δεν έχει επιφέρει τόσο καλές αποδόσεις στα ψάρια συγκριτικά με τις άριστες επιδόσεις που είχε η προσθήκη ιχθυάλευρων στη διατροφή των ψαριών. Ωστόσο, σύμφωνα με έρευνες, η ορισμένη προσθήκη προνυμφών του BSF στην ιχθυοτροφή έδειξε αύξηση του βάρους των ψαριών.



Εικόνα 4. Το είδος *Hermetia illucens*

Πηγή: Samuel Ewing, 2014

1.7 Σκοπός

Λαμβάνοντας αυτό υπόψη την αναμενόμενη Οδηγία της ΕΕ που θα επιτρέπει τη χρήση πρωτεϊνών εντόμων στις ιχθυοτροφές, η παρούσα διατριβή είναι επίκαιρη όσο ποτέ. Σήμερα, υπάρχει περιορισμένη βιβλιογραφία σχετικά με τη χρήση εντόμων στη διατροφή των ψαριών και την αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με πρωτεΐνες εντόμων στη διατροφή της τσιπούρας και γενικότερα άλλων ειδών ιχθύων. Έτσι, στόχος της παρούσας πτυχιακής εργασίας ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας χρησιμοποίησης πρωτεΐνης εντόμων και συγκεκριμένα του είδους *Hermetia illucens* σε αυξανόμενα επίπεδα στο σιτηρέσιο της εκτρεφόμενης τσιπούρας (*Sparus aurata*) υποκαθιστώντας την πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου. Η παρούσα διατριβή αποτελεί συνέχεια μιας σειράς πειραματικών δοκιμών που στοχεύουν στη διαφώτιση του τομέα των ιχθυοκαλλιεργειών σχετικά με τη χρήση των πρωτεϊνών εντόμων στις ιχθυοτροφές.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Πειραματικός σχεδιασμός

Ιχθύδια του είδους *Sparus aurata* με αρχικό μέσο βάρος $2,40 \pm 0,27$ g και αρχικό μέσο μήκος $5,99 \pm 0,05$ cm μεταφέρθηκαν, σε ειδικές συσκευασίες με οξυγόνο, από τον ιχθυογεννητικό σταθμό «ΔΙΑΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ Α.Β.Ε.Ε» (Πελασγία Φθιώτιδος) στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος στο Βόλο, όπου και έλαβε χώρα το πείραμα. Από τον αρχικό αριθμό, 225 ιχθύδια τοποθετήθηκαν σε πειραματικές δεξαμενές, ενώ ένας αριθμός 100 ιχθυδίων θανατώθηκαν για την πραγματοποίηση χημικών αναλύσεων στο σώμα, αυτών (αρχικό δείγμα). Τα ιχθύδια αφέθηκαν να εγκλιματιστούν στις πειραματικές συνθήκες για 10 ημέρες, όπου σιτίζονταν μία φορά την ημέρα. Το πείραμα διήρκεσε συνολικά δέκα εβδομάδες (70 μέρες), 6 Ιουνίου – 16 Αυγούστου 2016.

Τα ιχθύδια μετά τον εγκλιματισμό τοποθετήθηκαν σε δεξαμενές κλειστού κυκλώματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού. Οι πειραματικές εγκαταστάσεις αποτελούνταν από 9 γυάλινα ενυδρεία χωρητικότητας 125L το καθένα, καθώς επίσης και από ένα σύστημα μηχανικής-βιολογικής διήθησης του νερού για την απομάκρυνση της συνολικής αμμωνίας, των περιττωμάτων και υπολειμμάτων τροφής. Για την πλήρωση των ενυδρείων χρησιμοποιήθηκε νερό βρύσης συνθετικής αλατότητας 35‰. Σε καθημερινή βάση πραγματοποιούνταν σιφωνισμός του πυθμένα και αντικατάσταση του νερού έως και 10% του συνολικού όγκου των ενυδρείων. Επιπλέον, ανά τακτά χρονικά διαστήματα τοποθετούνταν, τόσο στο νερό του ενυδρείου όσο και μέσα στα φίλτρα, διάλυμα βακτηρίων για τη νιτροποίηση των αζωτούχων οργανικών ενώσεων. Η διάταξη των δεξαμενών καθώς και των φίλτρων απεικονίζεται στην Εικόνα 5. Τα ιχθύδια

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



Εικόνα 5. Διάταξη δεξαμενών και απεικόνιση του συστήματος φιλτραρίσματος-αποστείρωσης (φωτογραφία συγγραφέα).

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

2.2 Σιτηρέσια-Σίτιση

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

Το σιτηρέσιο Α περιείχε απολιπασμένο άλευρο *H. illuscens* σε ποσοστό συμμετοχής ίσο με 5,8% της τροφής, ενώ στα σιτηρέσια Β και Γ ενσωματώθηκε απολιπασμένο άλευρο *H. illuscens* σε ποσοστά συμμετοχής 11,6% και 17,4%, αντίστοιχα, υποκαθιστώντας την πρωτεΐνη του ιχθυαλεύρου. Τα τρία αυτά σιτηρέσια ήταν μεταξύ τους ισοενεργειακά (21,6 MJ/Kg τροφής) και ισοπρωτεϊνικά (47% της τροφής).

Στα σιτηρέσια, επίσης χρησιμοποιήθηκε γλουτένη καλαμποκιού, ως πρωτεϊνική πηγή φυτικής προέλευσης και πηγή υδατανθράκων σύμφωνα με τα μέσα επίπεδα χορήγησης φυτικών πρωτεϊνών στις εμπορικές τροφές της τσιπούρας σήμερα. Το άλευρο σίτου χρησιμοποιήθηκε ως ενεργειακή πηγή και ως ενεργειακό αντιστάθμισμα των σιτηρεσίων. Ως κύρια πηγή ενέργειας, ω-3 και ω-6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων χρησιμοποιήθηκε το ιχθυέλαιο (Πιν. 3).

Μικροσυστατικά που χρησιμοποιήθηκαν ως εμπλουτιστικά των τροφών και διατηρήθηκαν σε σταθερές ποσότητες στα τρία διαφορετικά σιτηρέσια ήταν ένα εμπορικό πρόμιγμα βιταμινών και ανόργανων στοιχείων (για τσιπούρα και λαβράκι) με συμμετοχή 0,6% (Πιν. 4) καθώς και οι βιταμίνες Ε και C σε ποσοστό 0,1%. Τέλος, προστέθηκε και αντιμυκητιακή ουσία κατά 0,3%, για την αποφυγή ενδεχόμενης ανάπτυξης μυκήτων στις τροφές.

Πίνακας 3: Συστατικά και θρεπτική σύσταση (% επί της νωπής ουσίας) των πειραματικών σιτηρεσιών.

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

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

Η προνύμφη της μύγας *Hermetia illucens*, προήλθε από φυσικό πληθυσμό της μύγας, που συλλέχθηκε στην περιοχή του Νοτίου Πηλίου (Μετόχι Αργαλαστής) με τη βοήθεια του Δρ. Χ. Ρούμπου. Η εκτροφή διατηρήθηκε σε συνθήκες θερμοκηπίου, στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ενώ ως υπόστρωμα εκτροφής χρησιμοποιήθηκαν οργανικά (κυρίως φυτικά και κατά δεύτερο λόγο ζωικά) υπολείμματα. Μετά τη συλλογή των προνυμφών, αυτές αποθηκεύτηκαν στους -20 °C μέχρι την έναρξη της επεξεργασία τους σε μορφή αλεύρου. Για το σκοπό αυτό, οι προνύμφες ομογενοποιήθηκαν και αποξηράνθηκαν σε φούρνο, και κατόπιν αλέστηκαν σε κοκκομετρία <0,5 mm.

Πίνακας 4: Η σύσταση του προμίγματος βιταμινών και ανόργανων στοιχείων

Συστατικά	Ποσότητα (mg) / Kg προμίγματος
Βιταμίνες	
Βιταμίνη Ε (90% α-τοκοφερολη)	58.333
Βιταμίνη Κ3	3.333
Βιταμίνη Β1	3.333
Βιταμίνη Β2	6.666
Βιταμίνη Β6	3.333
Βιταμίνη Β12	10
Νικοτινικό οξύ	16.666
Παντοθενικό οξύ	13.333
Φολικό οξύ	3.333
Βιοτίνη	100
Βιταμίνη C (μορφή Stay C)	33.333
Ανόργανα στοιχεία	
Μαγγάνιο (οξειδίο)	10.000
Ψευδάργυρος (οξειδίο)	33.333
Ιωδιούχο ασβέστιο (62% Ca)	400
Σεληνιώδες νάτριο (1% σελήνιο)	84
Ανθρακικό κοβάλτιο (51% κοβάλτιο)	333
Άλλες ουσίες	
Αντιοξειδωτικό BHT E321	333
Άλευρο για μίξη	416.666

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

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

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

2.3 Δειγματοληψίες

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

2.4 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

2.4.1 Θνησιμότητα

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

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

2.4.2 Αύξηση ολικού βάρους ψαριών

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

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

2.4.3 Ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους

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

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

2.4.4 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

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

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

Όπου,

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

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

2.4.5 Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (food conversion ratio, FCR) εκφράζει το βαθμό αξιοποίησης της τροφής από τα ψάρια και δίνεται από τον λόγο της ποσότητας της τροφής που χορηγήθηκε προς την αύξηση του ολικού βάρους τους. Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής υπολογίζεται από τη σχέση:

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

2.4.6 Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών

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

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

2.5 Χημικές αναλύσεις

2.5.1 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών στα συστατικά των σιτηρεσιών, στα πειραματικά σιτηρέσια και στους ιχθύες έγινε με την μέθοδο εκχύλισης Soxhlet (AOAC 1995) Σε γυάλινα δοχεία εκχύλισης προστέθηκαν 3 πέτρες βρασμού και καταγράφηκε το βάρος τους σε ζυγό ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων. Στην συνέχεια εφαρμόστηκαν στα δοχεία χάρτινοι ηθμοί. Ζυγίστηκε ποσότητα δείγματος βάρους 2g και μεταφέρθηκε στο χάρτινο δοχείου ηθμού. Το δείγμα του ιστού, και της τροφής σε κάποιες περιπτώσεις, πρέπει να είναι ξηραμένη και αλεσμένη. Η ξήρανση πραγματοποιείται σε φούρνο στους 105°C για περίπου 24h (μέχρι σταθεροποίησης του

βάρους του δείγματος). Στο γυάλινο δοχείο εκχύλισης προστέθηκαν 140 ml πετρελαϊκού αιθέρα, στον οποίο εμβαπτίστηκαν τα χάρτινα δοχεία ηθμού με το δείγμα. Τα γυάλινα δοχεία εκχύλισης μαζί με τους χάρτινους ηθμούς μεταφέρθηκαν σε ειδική συσκευή εκχύλισης λιπαρών ουσιών (συσκευή Soxhlet). Κατά τη διαδικασία της εκχύλισης, τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 150 °C υπό την παρουσία του οργανικού διαλύτη, όπου έλαβε χώρα το πρώτο στάδιο της εκχύλισης. Έπειτα, ο οργανικός διαλύτης απορροφήθηκε και εκπλύθηκε στο δείγμα για 1,5h, όπου έλαβε χώρα το δεύτερο στάδιο της εκχύλισης. Κατόπιν, απορροφήθηκε ο διαλύτης για 15min με αποτέλεσμα τα ολικά λιπίδια του δείγματος να παραμείνουν στον πάτο του δοχείου εκχύλισης. Για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων πετρελαϊκού αιθέρα τα δοχεία (χωρίς τους χάρτινους ηθμούς) μεταφέρθηκαν στο φούρνο για 15min στους 105°C. Στην συνέχεια τοποθετήθηκαν σε αφυγραντήρα για 1h το λιγότερο και πάρθηκαν οι μετρήσεις βάρους. Το καθαρό βάρος των λιπαρών ουσιών δίνεται από τον τύπο:

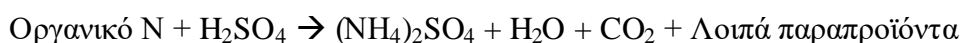
$$\text{Ολικά λιπίδια \%} = (W(\text{g})_{\text{τελικό δοχείο εκχύλισης}} - W(\text{g})_{\text{αρχικό δοχείο εκχύλισης}}) * 100$$

2.5.2 Προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων

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

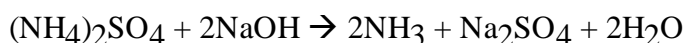
Σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων ζυγίστηκαν δείγματα τροφών - μυϊκών ιστών βάρους 0,2g (3 επαναλήψεις για κάθε δείγμα) και μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πέψης. Προστέθηκαν 2 ταμπλέτες καταλύτη Kjeltabs (5g Potassium Sulphate K_2SO_4 και 5g copper (II) Sulphate $CuSO_4, 5H_2O$) για να επιταχυνθεί

η αντίδραση της πέψης. Στην συνέχεια, προστέθηκαν στα δείγματα 15 ml πυκνού θεικού οξέως (H₂SO₄) και τοποθετούνται στην συσκευή πέψης Kjeltec 2000. Η διαδικασία της πέψης πραγματοποιείται στους 150°C για 85 min. Με την συσκευή πέψης επιτυγχάνεται το βράσιμο των δειγμάτων και με την βοήθεια του πυκνού θεικού οξέως πραγματοποιείται διάσπαση των αζωτούχων ενώσεων. Το αδέσμευτο άζωτο (N) δεσμεύεται με την μορφή θεικού αμμωνίου (άλας), με την εξής αντίδραση:



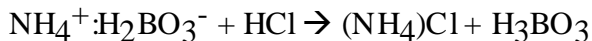
Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία της πέψης τα δείγματα αφήνονται να κρυώσουν για 15min.

Κατόπιν, τα δείγματα τοποθετούνται σε συσκευή απόσταξης, στην οποία προστίθενται 100 ml αποσταγμένου H₂O, 80 ml NaOH και 50 ml H₃BO₃. Η διαδικασία διαρκεί 6min. Το θεικό αμμώνιο, που είχε παραχθεί κατά την διαδικασία της πέψης, αντιδρά με υδροξείδιο του νατρίου (NaOH) και αποδεσμεύεται αμμωνία (σε αέρια μορφή) και θεικό νάτριο (Na₂SO₄). Η αμμωνία (NH₄) έπειτα αντιδρά με βορικό οξύ (H₃BO₄) και το άζωτο του δείγματος δεσμεύεται σε μορφή βορικού αμμωνίου, σύμφωνα με τις εξής αντιδράσεις:



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

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



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

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

2.5.3 Προσδιορισμός τέφρας

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

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

2.5.4 Προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας

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

δείγματα βγήκαν από το φούρνο και τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 5 min ώστε να ψυχθούν. Το ποσοστό της υγρασίας/ ξηρής ουσίας υπολογίζεται ως εξής:

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

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

Όμοια,

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

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

2.6 Στατιστική ανάλυση

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

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Θνησιμότητα

Σε όλη τη διάρκεια του πειράματος σημειώθηκαν θνησιμότητες των ιχθυδίων όλων των διατροφικών ομάδων. Πιο αναλυτικά (Πιν. 5), το ποσοστό θνησιμοτήτων για την Α διατροφική ομάδα ήταν $16,0 \pm 0,0\%$, για την Β διατροφική ομάδα ήταν $24,0 \pm 8,0\%$ και για την Γ ομάδα ήταν $50,0 \pm 2,8\%$. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε ότι το ποσοστό θνησιμοτήτων της ομάδας Γ ήταν σημαντικά ($P < 0,05$) υψηλότερο σε σχέση με τις άλλες δυο ομάδες, των οποίων τα ποσοστά ήταν παρόμοια μεταξύ τους ($P > 0,05$).

Πίνακας 5. Θνησιμότητες (N, αριθμός τελικών ατόμων) και ποσοστό (% του συνολικού αρχικού πληθυσμού). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση.

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

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

3.2 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

3.2.1 Κατά την έναρξη του πειράματος

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

Πίνακας 6. Αρχικό μέσο βάρος (g) και αρχικό μέσο ολικό μήκος (cm) των ιχθύων κατά την έναρξη του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση.

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

3.2.2 Κατά την 30^η ημέρα πειράματος

Το μέσο βάρος των ψαριών κατά την 30^η ημέρα του διατροφικού πειράματος (Πιν. 7) ήταν $4,79 \pm 0,16$ g για τα άτομα που διατράφηκαν με το Α σιτηρέσιο, $4,99 \pm 0,11$ g για τα άτομα που διατράφηκαν με το Β σιτηρέσιο και $3,38 \pm 0,10$ g για τα άτομα που διατράφηκαν με το Γ σιτηρέσιο. Με βάση τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, οι ομάδες Α και Β είχαν σημαντικά υψηλότερο σωματικό βάρος σε σχέση με την ομάδα Γ που παρουσίασε τις πιο χαμηλές ($P < 0,05$) τιμές.

Πίνακας 7. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής της τσιπούρας (*S. aurata*) διατρεφόμενη για 30 ημέρες με τα πειραματικά σιτηρέσια.

	A	B	Γ
Επιβίωση (%)	96,00 \pm 4,00 ^a	96,00 \pm 4,00 ^a	82,67 \pm 6,11 ^a
Τελικό βάρος (g)	4,79 \pm 0,16 ^a	4,99 \pm 0,11 ^a	3,38 \pm 0,10 ^b
Αύξηση βάρους (WG, g)	2,39 \pm 0,16 ^a	2,58 \pm 0,10 ^a	0,98 \pm 0,10 ^b
Κατανάλωση τροφής (g/ιχθύ)	2,73 \pm 0,11 ^a	2,97 \pm 0,16 ^a	1,51 \pm 0,13 ^b
SGR (%/ημέρα)	2,30 \pm 0,12 ^a	2,42 \pm 0,06 ^a	1,14 \pm 0,10 ^b
FCR	1,14 \pm 0,04 ^a	1,15 \pm 0,04 ^a	1,54 \pm 0,05 ^b
PER	1,88 \pm 0,06 ^a	1,83 \pm 0,06 ^a	1,39 \pm 0,05 ^b

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

Η μέση αύξηση του σωματικού βάρους (Πιν. 7) κατά την 30^η ημέρα του πειράματος ήταν $2,39 \pm 0,16$ g για τα άτομα της Α μεταχείρισης, $2,58 \pm 0,10$ g για τα άτομα της Β μεταχείρισης και $0,98 \pm 0,10$ g για τα άτομα της Γ μεταχείρισης. Σύμφωνα

με τη στατιστική ανάλυση η μέση αύξηση του σωματικού βάρους των ψαριών της Α και Β μεταχείρισης ήταν σημαντικά υψηλότερη ($P < 0,05$) σε σχέση με τις τιμές της μεταχείρισης Γ. Επιπλέον, η μεταχείριση Γ παρουσίασε τη μεγαλύτερη σημαντική μείωση σε σχέση με τις υπόλοιπες τρεις μεταχειρίσεις ($P < 0,05$).

Η συνολική κατανάλωση τροφής μέχρι την 30^η ημέρα του πειράματος (Πιν. 7) ήταν $2,73 \pm 0,11$ g για τα ψάρια της Α διατροφικής ομάδας, $2,97 \pm 0,16$ g για τα ψάρια της Β διατροφικής ομάδας και $1,51 \pm 0,13$ για τα άτομα της Γ διατροφικής ομάδας. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι τα ψάρια που σιτιστήκαν με σιτηρέσια τα οποία περιείχαν ποσοστά συμμετοχής μυγαλεύρου της τάξης του 5,8% και 11,6%, είχαν σημαντικά μεγαλύτερη ($P < 0,05$) κατανάλωση τροφής συγκριτικά με τα ψάρια της ομάδας Γ, το σιτηρέσιο του οποίου περιείχε το μεγαλύτερο ποσοστό μυγαλεύρου.

Η μέση τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR) (Πιν. 7) ήταν $2,30 \pm 0,12$ %/ημέρα για τα ψάρια της Α διατροφικής ομάδας, $2,42 \pm 0,06$ %/ημέρα για τα ψάρια της Β διατροφικής ομάδας και $1,14 \pm 0,10$ %/ημέρα για τα ψάρια της Γ διατροφικής ομάδας. Η τιμή του SGR για τα ψάρια που διατράφηκαν με τα σιτηρέσια Α και Β ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη των ψαριών που διατράφηκαν με το Γ σιτηρέσιο. Επιπλέον, η μεταχείριση Γ παρουσίασε τον χαμηλότερο δείκτη SGR σε σχέση με τις υπόλοιπες τρεις μεταχειρίσεις ($P < 0,05$).

Η μέση τιμή για τον συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) (Πιν. 7) εκτιμήθηκε $1,14 \pm 0,04$ για τα άτομα της Α διατροφικής ομάδας, $1,15 \pm 0,04$ για τα άτομα της Β διατροφικής ομάδας και $1,54 \pm 0,05$ για τα άτομα που διατράφηκαν με το Γ σιτηρέσιο. Η τιμή του FCR για τα ψάρια που διατράφηκαν με τα σιτηρέσια Α και Β ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη των ψαριών που διατράφηκαν με το Γ

σιτηρέσιο. Η μεταχείριση Γ παρουσίασε τον υψηλότερο δείκτη FCR σε σχέση με τις υπόλοιπες τρεις μεταχειρίσεις ($P < 0,05$).

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

3.2.3 Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος

Στο τέλος του πειράματος, το μέσο βάρος και μήκος των ψαριών που διατράφηκαν με το Α σιτηρέσιο ήταν $10,83 \pm 0,26g$ και $9,03 \pm 0,34cm$, αντίστοιχα. Για τα άτομα που διατράφηκαν με το Β σιτηρέσιο ήταν $10,72 \pm 0,44g$ και $9,08 \pm 0,29cm$ και για τα άτομα που διατράφηκαν με το Γ σιτηρέσιο ήταν $5,76 \pm 1,20g$ και $7,51 \pm 0,50 cm$, αντίστοιχα. Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων με την μέθοδο one-way ANOVA έδειξε ότι, τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο που περιείχε το μεγαλύτερο ποσοστό πρωτεΐνης μυγαλεύρου (σιτηρέσιο Γ) απέκτησαν το μικρότερο μήκος, με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα ψάρια των άλλων δυο μεταχειρίσεων (Πιν. 8). Επιπλέον, το τελικός μήκος των ψαριών της Α μεταχείρισης, όπως και των Α και Β δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($P > 0,05$). Βέβαια, αξίζει να σημειωθεί ότι το μεγαλύτερο τελικό μήκος παρουσίασαν τα ψάρια εκείνα, τα οποία διατράφηκαν με τα σιτηρέσια Α και Β.

Η αύξηση βάρους των ψαριών των Α και Β ομάδων ήταν σημαντικά μεγαλύτερη ($P < 0,05$) από τα ψάρια που διατράφηκαν με το άλλο σιτηρέσιο, το οποίο διέφερε

σημαντικά μεταξύ τους. Την μικρότερη αύξηση βάρους σημείωσαν τα ψάρια που διατράφηκαν με το Γ σιτηρέσιο.

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

Πίνακας 8. Μέσο βάρος (g), μέσο ολικό μήκος (cm) και παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης τροφής των ιχθυδίων ανά διατροφικό σιτηρέσιο κατά την ολοκλήρωση του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση.

	A	B	Γ
Τελικό μήκος (cm)	$9,03 \pm 0,34^a$	$9,08 \pm 0,29^a$	$7,51 \pm 0,50^b$
Τελικό βάρος (g)	$10,83 \pm 0,26^a$	$10,72 \pm 0,44^a$	$5,76 \pm 1,20^b$
Αύξηση βάρους (WG, g)	$8,42 \pm 0,26^a$	$8,31 \pm 0,44^a$	$3,35 \pm 1,21^b$
Κατανάλωση τροφής (g/ιχθύ)	$9,70 \pm 0,13^a$	$10,19 \pm 0,16^a$	$5,03 \pm 0,49^b$
SGR (%/ημ.)	$2,15 \pm 0,04^a$	$2,14 \pm 0,06^a$	$1,06 \pm 0,07^b$
FCR	$1,15 \pm 0,03^a$	$1,23 \pm 0,09^a$	$1,81 \pm 0,30^b$
PER	$1,86 \pm 0,04^a$	$1,80 \pm 0,12^a$	$1,18 \pm 0,19^b$

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

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR%/ημέρα) για τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο Γ ήταν ($P < 0,05$) ο χαμηλότερος με τιμή $1,06 \pm 0,07\%/ημέρα$. Οι μεγαλύτερες τιμές του SGR καταγράφηκαν για τα ψάρια της Α μεταχείρισης, οι οποίες δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους.

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) παρουσιάζει μεγαλύτερη τιμή στα ψάρια που διατράφηκαν με το BSF-30 σιτηρέσιο και υπολογίστηκε $1,81 \pm 0,30$, ενώ η μικρότερη τιμή του συντελεστή καταγράφηκε για τα ψάρια που διατράφηκαν με το BSF-10 σιτηρέσιο, $1,15 \pm 0,03$, χωρίς όμως να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών διατροφικών μεταχειρίσεων.

Ο συντελεστής αποδοτικότητας της πρωτεΐνης (PER) καταγράφηκε μικρότερος για τα ψάρια της BSF-30 μεταχείρισης, συγκριτικά με τις άλλες μεταχειρίσεις, χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ η μέγιστη τιμή του καταγράφηκε για τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο BSF-10, αν και δεν ήταν σημαντικά μεγαλύτερη ($P>0,05$) από τις τιμές των μεταχειρίσεων BSF-20 και BSF-30.

Ο συντελεστής αποδοτικότητας της πρωτεΐνης (PER) καταγράφηκε μικρότερος για τα ψάρια της BSF-30 μεταχείρισης, συγκριτικά με τις άλλες μεταχειρίσεις, χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ η μέγιστη τιμή του καταγράφηκε για τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο BSF-10, αν και δεν ήταν σημαντικά μεγαλύτερη ($P>0,05$) από τις τιμές των μεταχειρίσεων BSF-20 και BSF-30.

3.3 Θρεπτική σύσταση ιχθύων

Η θρεπτική σύσταση των φιλέτων των τριών διατροφικών ομάδων (Πιν. 9) είναι σε παρόμοια επίπεδα τόσο για την υγρασία, την πρωτεΐνη, το λίπος όσο και για την ενέργεια εκτός από τέφρα που όπως φαίνεται διαφέρει και στις τρεις ομάδες σύμφωνα με στατιστική ανάλυση.

Πίνακας 9. Θρεπτική σύσταση (% επί ξηρής ουσίας δείγματος) των φιλέτων των διαφόρων διατροφικών ομάδων (3 ιχθείς ανά διατροφική μεταχείριση) στο τέλος του πειράματος (70 ημέρες).

%	A	B	Γ
Υγρασία	74,95 ± 0,75	74,57 ± 0,76	75,69 ± 0,28
Πρωτεΐνη	74,14 ± 2,61	74,57 ± 1,48	76,96 ± 0,88
Λίπος	23,35 ± 1,97	23,54 ± 0,64	21,67
Τέφρα	6,81 ± 0,14 ^b	6,46 ± 0,05 ^a	7,28 ± 0,06 ^c
Ενέργεια (MJ/Kg)	24980,33	24883,67	23899

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

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα προπτυχιακή εργασία μελετήθηκε η καταλληλότητα διαφόρων επιπέδων συμμετοχής ενός απολιπασμένου αλεύρου του είδους εντόμου *Hermetia illuscens* στο σιτηρέσιο της τσιπούρας (*Sparus aurata*).

Τα αποτελέσματα, έπειτα από 10 εβδομάδες διατροφικού πειράματος, έδειξαν ότι αυξημένα επίπεδα συμμετοχής του απολιπασμένου αλεύρου *H. illuscens* στο σιτηρέσιο της τάξης του 17% (σιτηρέσιο Γ) οδηγούν σε μειωμένη ($P < 0,05$) κατανάλωση τροφής. Αυτό δείχνει ότι υψηλά επίπεδα συμμετοχής του απολιπασμένου αλεύρου *H. illuscens* στο σιτηρέσιο αποφέρουν μειωμένη γευστικότητα στην τροφή. Τα σιτηρέσια που περιείχαν χαμηλά ποσοστά του μυγαλεύρου (5,8% και 11,6%) έδειξαν γενικά υψηλότερη κατανάλωση τροφής.

Η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με απολιπασμένο άλευρο *H. illuscens* έως το ποσοστό 11,6% δεν επέφερε αρνητική ανάπτυξη και αξιοποίηση της τροφής από την τσιπούρα. Αντίθετα, αυξημένα επίπεδα της τάξης του 17%, μείωσαν την ανάπτυξη της τσιπούρας. Άρα, η τσιπούρα αξιοποιεί μεταβολικά την πρωτεΐνη του *H. illuscens* εξίσου όπως του ιχθυαλεύρου όταν η πρώτη συμμετέχει έως ένα ποσοστό στο σιτηρέσιο.

Η βιβλιογραφία είναι περιορισμένη σχετικά με την επίδραση του αλεύρου *H. illuscens* (BSF) στην ανάπτυξη των ιχθύων. Γενικά, τα πειράματα διατροφής με την προνύμφη *H. illuscens* σε διάφορα είδη ιχθύων έχουν δείξει μεγάλες διαφοροποιήσεις σχετικά με το επιτυχημένο ποσοστό αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου. Σε χορτοφάγα/παμφάγα είδη το BSF μπορεί να αντικαταστήσει επιτυχώς το ιχθυάλευρο σε μεγάλα ποσοστά, ενώ αντίθετα σε σαρκοφάγα είδη το BSF μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε χαμηλά ποσοστά στο σιτηρέσιο, όπως εξάλλου δείχθηκε και στην παρούσα εργασία με

την τσιπούρα. Πιο συγκεκριμένα, μερικά επίπεδα συμμετοχής των προνυμφών BSF έδειξαν παρόμοια αύξηση βάρους με αυτή των ψαριών που τρέφονται με ιχθυάλευρο: 18-36% ενσωμάτωση στην ιριδίζουσα πέστροφα (Sealey *et al.* 2011), με βελτιωμένη περιεκτικότητα σε ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) στα φιλέτα ιχθύων που τράφηκαν με BSF (Sealey *et al.* 2011) και 5-25% ενσωμάτωση στον Ατλαντικό σολομό, όπου οι δίαιτες με BSF συμπληρώθηκαν με απαραίτητα αμινοξέα (Lys και Met) (Lock *et al.*, 2014). Οι Stamer *et al* (2014) πραγματοποίησαν μια μελέτη σε ιχθύδια ιριδίζουσας πέστροφας και αντικατέστησαν το ιχθυάλευρο με μυγάλευρο από το *H. illucens* σε ποσοστό 50 και 75%. Από τα αποτελέσματα είδαν ότι τα ποσοστά θνησιμότητας ήταν ίδια σε σχέση με τα ψάρια που διατράφηκαν με τη τροφή μάρτυρα η οποία αποτελούνταν αποκλειστικά από ιχθυάλευρο. Τα αποτελέσματα αυτά αποδεικνύουν την καταλληλότητα του μυγαλεύρου στη έρευνα αυτή. Επίσης, οι ιχθυοτροφές που περιέχουν BSF μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να αντικαταστήσουν έως και 50% της ποσότητας ιχθυαλεύρου χωρίς να επηρεαστεί σημαντικά η ανάπτυξη των ψαριών ή η ποιότητα των φιλέτων της ιριδίζουσας πέστροφας. Ωστόσο, στη συγκεκριμένη μελέτη δείχθηκε η μειωμένη ανάπτυξη, αν και όχι σημαντική, των ψαριών, γεγονός που αναδεικνύει την αναγκαιότητα περαιτέρω έρευνας για τον εντοπισμό των θρεπτικών περιορισμών αυτού του συστατικού (Wedny *et al.* 2011).

Τα υψηλότερα επίπεδα ενσωμάτωσης 12-30% μείωσαν σημαντικά την ανάπτυξη στο καλκάνι, *Psetta maxima* (Kroeckel *et al* 2012). Ένα ποσοστό έως και 33% απολιπασμένου αλεύρου προνυμφών του BSF έγινε αποδεκτό από τα ιχθύδια καλκανιού, χωρίς σημαντικές επιπτώσεις στην πρόσληψη τροφής ή στη μετατροπή των τροφών και όπως αποδείχθηκε η αναπτυξιακή τους επίδοση ήταν υψηλή. Ωστόσο, ο συγκεκριμένος

ρυθμός ανάπτυξης ήταν σημαντικά χαμηλότερος για όλα τα επίπεδα συμπερίληψης που εξετάστηκαν. Σε επίπεδα ενσωμάτωσης μεγαλύτερα από 33%, η γευστικότητα και η πεπτικότητα της πρωτεΐνης μειώθηκαν και οδήγησαν σε μειωμένη πρόσληψη τροφής και χαμηλότερη απόδοση ανάπτυξης του καλκανιού (Kroeckel *et al.* 2012). Αντίθετα, τα αποτελέσματα πεπτικότητας της πρωτεΐνης και των λιπιδίων ήταν πολύ καλά στον σολομό του Ατλαντικού (Lock *et al.* 2014). Έχει βρεθεί ότι η μερική αντικατάσταση (25%) με εντομάλευρο της μύγας BSF σε εκτροφή γατόψαρου φέρει ικανοποιητικά αποτελέσματα, όσον αφορά τον παράγοντα που σχετίζεται με την αύξηση του βάρους (Newton *et al.* 2005).

Στην έρευνα των Burtle *et al.* (2012) σε ιχθύδια γατόψαρου (*Ictalurus punctatus*) που αφορούσε την αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από άλευρο που προερχόταν από νύμφες μύγας *H. Illucens* δείχθηκε ότι τα ποσοστά επιβίωσης των ψαριών ανέρχονταν σε περίπου 95%, ενώ το ποσοστό της αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου έφτανε σε 30%. Η διατροφή του γατόψαρου και της μπλε τιλάπιας σε συνθήκες μονοκαλλιέργειας με 100% προνύμφες BSF (ολόκληρες ή τεμαχισμένες) αποδείχθηκε ότι καταστέλλουν την ανάπτυξη των ψαριών σε σύγκριση με μια εμπορική διατροφή (Bondari & Sheppard 1987). Η μερική αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου, ωστόσο, δείχθηκε πιο επιτυχημένη σε περιβάλλον πολυκαλλιέργειας, όπου τα γατόψαρα και η μπλε τιλάπια διατράφηκαν επιτυχώς με ψιλοκομμένες προνύμφες BSF (50 ή 75% προνύμφες με 50 ή 25% εμπορική διατροφή) σε συνδυασμό με υψηλή πρωτεΐνη (45%) ή χαμηλής περιεκτικότητας πρωτεΐνη (30%) στην εμπορική διατροφή (Bondari & Sheppard, 1981). Οι συγγραφείς ανέφεραν ότι το BSF ήταν κατάλληλο για χρήση στις δίαιτες και στα δύο είδη ψαριών (Bondari & Sheppard, 1981).

Οι Ogunji *et al.* (2007) που ασχολήθηκαν με την τιλάπια του Νείλου αντικατέστησαν το ιχθυαλεύρου με άλευρο BSF σε ποσοστό από 15 έως 68% και διαπίστωσαν ότι καλύτερη επίδοση υπήρξε όταν το ποσοστό αντικατάστασης του ήταν 34%. Οι Bondari & Sheppaed (1987) δοκίμασαν την μερική (10%) αλλά και την πλήρη (100%) αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου της προνύμφη της μύγας *Hermetia illucens* στην εκτροφή του αμερικάνικου γατόψαρου (*Ictalurus punctatus*) και της μπλε τιλάπιας (*Tilapia aurea*) και παρατήρησαν ότι και στις δύο περιπτώσεις μειώθηκε σημαντικά το ποσοστό επιβίωσης και επομένως αμφισβητήθηκε η καταλληλότητα του συγκεκριμένου αλεύρου. Στη γαρίδα *Litopenaeus vannamei*, αντικαθιστώντας το ιχθυάλευρο με άλευρο από υδρόβια έντομα του γένους *Trichocorixa sp.*, δείχθηκε ότι η πλήρης αντικατάσταση της τροφής με υδρόβια έντομα οδηγεί σε μεγάλο ποσοστό θνησιμοτήτων, αλλά μια αντικατάσταση της τάξης του 75% έχει θετική επίπτωση στην επιβίωση (Martinez-Cordova *et al.* 2012). Επομένως, συμπεραίνεται ότι στην συγκεκριμένη περίπτωση το άλευρο εντόμων είναι πιθανών κατάλληλο υποκατάστατο του ιχθυαλεύρου στην εκτροφή της γαρίδας.

Στην παρούσα εργασία δείχθηκε ότι η χορήγηση του BSF στο σιτηρέσιο δεν επηρέασε τη σύσταση των φιλέτων της τσιπούρας σε θρεπτικά συστατικά. Ωστόσο, η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με το BSF έχει δειχθεί ότι μπορεί να αυξήσει την ποσότητα του λίπους ή να αλλάξει την ποιότητα των λιπιδίων στα ψάρια (Bondari & Sheppard 1981) και στις γαρίδες (Martinez-Cordova *et al.* 2012). Αντίθετα, οι Kroeckel *et al.* (2012) έδειξαν ότι η περιεκτικότητα σε λιπίδια στο σώμα του καλκανιού μειώθηκε με την αύξηση των επιπέδων του BSF στο σιτηρέσιο, ενώ η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη δεν επηρεάστηκε (Kroeckel *et al.* 2012). Η μεταβολή στην ποσότητα του ολικού λίπους ή

την ποιότητα του λίπους των ψαριών ενδέχεται να αλλάξει τη γεύση των φιλέτων των ψαριών. Για παράδειγμα, έχει δειχθεί μια γευστική προτίμηση στο γατόψαρο και στην τιλάπια που τρέφονται αποκλειστικά με ολόκληρες προνύμφες BSF λόγω των διαφορών στο άρωμα και στην υφή από εκείνα των ψαριών που τρέφονται με μια εμπορική τροφή ή τρέφονται εν μέρει με προνύμφες BSF (25 ή 50%) (Bondari & Sheppard 1981). Αντίθετα, στην ιριδίζουσα πέστροφα δείχθηκε ότι ενώ η διατροφή με εντομάλευρα επιφέρει αλλαγές στο προφίλ των λιπαρών οξέων των ιχθύων, δεν προκύπτει σημαντική διαφορά στη γεύση με ψάρια που τράφηκαν με συμβατική τροφή (Sealey *et al.* 2011). Ομοίως, δεν διαπιστώθηκε καμία διαφορά στις οργανοληπτικές ιδιότητες του σολομού του Ατλαντικού που τράφηκε με απολιπασμένο BSF (Lock *et al.* 2014) σε σύγκριση με τα ψάρια μάρτυρες. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η μερική ένταξη του εντομάλευρου (10-50%) στη διατροφή των ψαριών δεν επηρεάζουν το προφίλ των λιπαρών οξέων, το άρωμα ή τη γεύση που είναι ευδιάκριτα από τους καταναλωτές.

Γενικά, οι πρωτεΐνες εντόμων στη διατροφή των ιχθύων έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον των ερευνητών την τελευταία δεκαετία με τον αριθμό των σχετικών δημοσιεύσεων να είναι μεν μικρός αλλά συνεχώς αυξανόμενος. Οι Henry *et al.* (2015) παρουσίασαν μια εκτεταμένη ανασκόπηση του θέματος από μια ποικιλία εντομάλευρων σε διάφορα είδη ψαριών και τα αποτελέσματα αυτής παρουσιάζονται συνοπτικά στον Πίνακα 10.

Πίνακας 10. Ενδεικτικός πίνακας με τις πειραματικές συνθήκες και την προσθήκη Ορθόπτερων, Ισόπτερων, Κολεόπτερων, Δίπτερων και κοινής μύγας στη διατροφή ιχθύων παρέχοντας βελτιωμένη, παρόμοια ή μειωμένη αύξηση συγκριτικά με τα ψάρια μάρτυρες (υιοθετημένο και τροποποιημένο από τους Henry *et al.* 2015).

Έντομο	Διαδικασία	Ψάρι	A.B. – T.B (g)	Διάρκεια Σίτισης (εβδ.)	% ΙΑ στη τροφή μάρτυρα	% Ο.Π στη τροφή μάρτυρα	Απαιτήσας Πρωτεΐνης (%)	Αύξηση βάρους συγκριτικά με μάρτυρα	Παρόμοια αύξηση με μάρτυρα	Μείωση βάρους συγκριτικά με μάρτυρα	Αναφορές
Ορθόπτερα											
<i>Locusta migratoria</i>	Αποξήρανση	Τιλάπια του Νείλου	Νεαρά	Μ.Δ	Μ.Δ.	Μ.Δ	30–35	-	25% ΙΑ	-	Emehinaiy <i>et al.</i> 2012
Ισόπτερα											
<i>Macrotermes</i>	Αποξηραμένο στο φούρνο	Αφρικανικό γατόψαρο	12-Μ.Δ	8	56,6	39	50	5,8% (75% SBM)	4,6-8,5% (0–100% SBM)	-	Solomon <i>et al.</i> 2007
Κολεόπτερα											
<i>Tenebrio molitor</i>	Αποξηραμένο στο φούρνο	Ιριδίζουσα πέστροφα	116-313	11	75	45	42	-	19-38 (25-50% ΙΑ)	-	Gasco <i>et al.</i> 2014
<i>Oryctes rhinoceros</i>	Αποξηραμένα σε φούρνο	Αφρικανικό γατόψαρο	0,7-6	8	69	55	50	-	-	-	Fakayode & Ugwumba 2013
<i>Oryctes rhinoceros</i>	Αποξήρανση	Κοινός κυπρίνος	12-25	12	11	21	30-38	100% SWP	-	-	Jeyachandran & Raj 1976
Δίπτερα											
Black soldier fly (<i>Hermetia illucens</i>)	Ολήκληρο ή κομμένο	Γατόψαρο	120–	13	Μ.Δ.	37,5	25–36	-	-	100%	Bondari & Sheppard 1987

Black soldier fly (<i>Hermetia illucens</i>)	Ολόκληρο ή κομμένο	Μπλε τιλάπια	32-105	20	Μ.Δ	37,5	56	-	-	100% κομμένο ή ολόκληρο	Bondari & Sheppard 1987
<i>Hermetia illucens</i>	Αλεσμένα στον πάγο	Ιριδίζουσα πέστροφα	146 – 250	8	29	46	42	-	18–36% (25–50% IA)	-	Sealey <i>et al.</i> 2011
<i>Hermetia illucens</i>	Αφαίρεση υψηλής ποσότητας λίπους, ξήρανση	Σολομός Ατλαντικού	250–550	15	20	46	42–48	-	-	5, 25% (25–100% IA)	Lock <i>et al.</i> 2014
<i>Hermetia illucens</i>	Κατεψυγμένα Απολιπασμένα Αποξηραμένα σε φούρνο	Καλκάνι	55-	8	69	55	50	-	-	17, 33, 49, 64, 76% (18, 36, 52, 69, 82% IA)	(Kroeckel <i>et al.</i> , 2012)
Κοινή μύγα											
<i>Common housefly (Musca domestica)</i>	Ξήρανση	Αφρικανικό γατόψαρο	10-274	10	25	41	40-43	-	12,5–25% (50–100% IA)	-	(Aniebo <i>et al.</i> , 2009)
<i>Common housefly (Musca domestica)</i>	Αποξηρανη	Τιλάπια του Νείλου	5,8-	10	Μ.Δ	30	30-35	(50%FM)	(25, 75, 100% IA)	-	(Ajani <i>et al.</i> , 2004)

Συντομογραφίες: Ο.Π: ολική πρωτεΐνη %, αντικ. Ι.Α: ποσοστό αντικατάστασης ιχθυάλευρου, Μ.Δ: μη διαθέσιμο, Α.Β.: αρχικό βάρος ιχθύων, Τ.Β.: τελικό βάρος ιχθύων. **Με έντονα γράμματα** δίνονται τα ιδανικά διατροφικά επίπεδα προσθήκης που δίνουν την υψηλότερη ανάπτυξη στα ψάρια.

Στην τιλάπια του Νείλου έχει δειχθεί ότι η χρήση του εντόμου *Locusta migratoria* σε αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου 13-25% (Emehinaiyie 2012), ήταν επιτυχής όσον αφορά την ανάπτυξη των ψαριών. Ομοίως και σε άλλη μελέτη που έγινε πάλι με την τιλάπια του Νείλου έχει δειχθεί ότι η χρήση του αλεύρου των προνυμφών της κοινής μύγας σε αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου έως 50% βελτίωσε την ανάπτυξη των ψαριών αλλά τα επίπεδα ένταξης δεν αναφέρθηκαν στη δημοσίευση (Ajani *et al.* 2004). Αντίθετα, μια μελέτη που χρησιμοποίησε χαμηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη εντομάλευρο της κοινής μύγας (29% ακατέργαστη πρωτεΐνη) έδειξε μείωση στην ανάπτυξη της τιλάπιας του Νείλου για ένα επίπεδο διατροφής 15-30% (Ogunji *et al.* 2008c). Μια άλλη μελέτη σχετικά με τη χρήση αλεύρου τερμιτών στη διατροφή του γατόψαρου *Vundu*, έδειξε ότι ήταν πολύ εύγευστο για το ψάρι *Heterobranchus longifilis*. Όταν τράφηκαν ιχθύδια του αφρικανικού γατόψαρου, *Heterobranchus bidorsalis*, με ιχθυάλευρο συμπληρωμένο με άλευρο από τερμίτες και σογιάλευρο (SBM) σε διαφορετικές αναλογίες, βρέθηκε ότι η καλύτερη απόδοση ανάπτυξης ήταν όταν είχαν συμπεριληφθεί οι τερμίτες στο μείγμα. Ωστόσο, τα αποτελέσματα δεν ήταν πολύ αξιόπιστα, λαμβάνοντας υπόψη τα λάθη στους υπολογισμούς των ποσοστών ενσωμάτωσης των τερμιτών και της μεταβολής του σογιάλευρου και ιχθυάλευρου μεταξύ των πειραματικών διατροφών, γεγονός που καθιστούσε δύσκολη την εξακρίβωση εάν η βελτιωμένη ανάπτυξη των ψαριών οφείλεται στους τερμίτες ή στο αυξημένο διαιτητικό ιχθυάλευρο (Solomon *et al.* 2007). Για τα κολεόπτερα, μια μελέτη του είδους *Tenebrio molitor* έδειξε ότι όταν οι προνύμφες του κίτρινου σκαθαριού αποξηράνθηκαν από τον ήλιο ή σε φούρνο, τα χαμηλά επίπεδα συμπερίληψη του 9% της προνύμφης σκαθαριού (20% αντικατάσταση ιχθυαλεύρου) οδήγησαν στην βέλτιστη ανάπτυξη των αφρικανικών

γατόψαρων και επίσης έδειξε μία σημαντική βελτίωση σε σύγκριση με ιχθείς που είχαν τραφεί με ιχθυάλευρο. Το άλευρο με προνύμφες κίτρινου σκαθαριού θα μπορούσε να αντικαταστήσει μέχρι και το 60% των διατροφών ιχθυαλεύρου (26% διαιτητική ενσωμάτωση), χωρίς να επηρεάζεται σημαντικά η ανάπτυξη του αφρικανικού γατόψαρου, αλλά υψηλότερα ποσοστά (35-43%) έχουν αποδειχθεί ότι μειώνουν την ανάπτυξη των ψαριών, καθώς και την αποδοτικότητα της τροφής και της πρωτεΐνης (Ng *et al.* 2001). Το είδος *Oryctes rhinoceros* έδειξε ότι η διατροφική συμπερίληψη του 14% (αντικατάσταση 16% ιχθυαλεύρου) οδήγησε στη βέλτιστη ανάπτυξη τόσο των αφρικανικών όσο και των γατόψαρων *Vundu* (Fakayode & Ugwumba 2013) και μεγαλύτερο ποσοστό ενσωμάτωσης 33%, 57%, 80% ή ακόμη και 100% άλευρο *O. rhinoceros* δεν επηρεάζουν σημαντικά την ανάπτυξη των ψαριών (Fakayode & Ugwumba 2013). Άλλη μια μελέτη που έδειξε θετικά αποτελέσματα ήταν στην ιριδίζουσα πέστροφα, όπου οι προνύμφες κίτρινου σκαθαριού που χρησιμοποιήθηκαν θα μπορούσαν να συμπεριληφθούν σε επίπεδα διατροφής έως και 50% (Gasco *et al.* 2014) και σε σαρκοφάγα ψάρια, όπως η τσιπούρα (*Sparus aurata*) και το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*), όπου το 25% της αντικατάστασης ιχθυαλεύρου δεν επηρέασε σημαντικά την ανάπτυξη των ψαριών (Gasco *et al.*, 2014, Piccolo *et al.*, 2014). Ωστόσο, η ανάπτυξη και των δύο αυτών ψαριών επηρεάστηκε σημαντικά σε επίπεδα αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου 50% (Gasco *et al.* 2014b, Piccolo *et al.* 2014) και το λαβράκι έδειξε μειωμένη συγκέντρωση ω-3 ακόρεστων λιπαρών οξέων στα φιλέτα (Gasco *et al.* 2014). Αντίθετα, μια μελέτη για τον κυπρίνο (*Cyprinus carpio*) έδειξε σημαντικά μειωμένη ανάπτυξη στο είδος, συνοδευόμενη από μείωση της υπεροξειδικής δισμουτάσης (ένζυμο) και αυξημένη πρωτεΐνη ακόμη και για πολύ χαμηλά επίπεδα

συμπερίληψης (6-9%) μεταξοσκώληκα (Ji *et al.* 2013). Οι συγγραφείς πρότειναν ότι τα χαμηλά επίπεδα μεταξοσκώληκα προκάλεσαν οξειδωτικό στρες στον κυπρίνο (Ji *et al.* 2013). Συνολικά, η χρήση των Coleoptera ήταν επιτυχής ως μερική αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου στις δίαιτες των ψαριών, αν και η αξιοπιστία των μελετών για τον *O. rhinoceros* είναι αμφισβητήσιμη. Τα άλευρα από το *Zophobas morio* οδήγησαν στη βέλτιστη ανάπτυξη της τιλάπιας του Νείλου, όσο και οι προνύμφες του κίτρινου σκαθαριού έδειξαν θετικά αποτελέσματα στη διατροφή τόσο του γλυκού όσο και του θαλασσινού ψαριού (Henry *et al.*, 2014).

Για ένα άλλο είδους εντόμου την κοινή μύγα, στα αφρικανικά γατόψαρα που τράφηκαν με 12,5 ή 25% άλευρο προνυμφών (που αντιστοιχούν στο 50 ή 100% της αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου) για 10 εβδομάδες παρατηρήθηκε αύξηση βάρους και έδειξαν καλές τιμές πρωτεϊνικής απόδοσης (Nsofor *et al.* 2008). Τα υψηλότερα όμως επίπεδα συμπερίληψης ή παρόμοια επίπεδα μη απολιπασμένου αλεύρου προνυμφών έχουν αποδειχθεί ότι επηρεάζουν την ανάπτυξη των ψαριών και στο αφρικανικό γατόψαρο (Fasakin *et al.* 2003, Idowu *et al.* 2003, Oyelese 2007). Η μεγάλη μεταβλητότητα μεταξύ των ειδών των αποτελεσμάτων υπογραμμίζει την αδυναμία γενίκευσης ενός θετικού αποτελέσματος για το συγκεκριμένο έντομο (Henry *et al.* 2015).

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εκτροφή της τσιπούρας με το απολιπασμένο αλεύρο της προνύμφης μύγας του είδους *Hermetia illucens* συνοψίζονται στα εξής:

- Η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με απολιπασμένο αλεύρο *H. illucens* έως το ποσοστό 11,6% οδήγησε σε καλύτερους δείκτες ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής στην εκτρεφόμενη τσιπούρα καθώς έδειξε ότι μέχρι αυτό το επίπεδο δεν μειώνεται η γευστικότητα της τροφής και συνεπώς θεωρείται επιτυχημένο.
- Αυξημένα επίπεδα συμμετοχής του απολιπασμένου αλεύρου *H. illucens* στο σιτηρέσιο της τάξης του 17% οδηγούν σε χαμηλότερη κατανάλωση και σε αυξημένες θνησιμότητες της τσιπούρας συγκριτικά με χαμηλότερα επίπεδα συμμετοχής του αλεύρου στο σιτηρέσιο.
- Αυξημένα επίπεδα συμμετοχής του απολιπασμένου αλεύρου *H. illucens* στο σιτηρέσιο της τάξης του 17% οδηγούν σε μειωμένη ανάπτυξη της τσιπούρας και μειωμένη αξιοποίηση της τροφής από αυτήν.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

6.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- **Ajani, E.K.**, Nwana, L.C., Musa, B.O., (2004) Replacement of fishmeal with maggot meal in the diets of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *World Aquac.* 35, 52–54.
- **AOAC (1995)** Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International, (16th edition) AOAC, Arlington, VA, USA. aquaculture diets. *International Aquafeed*, 12: 32 – 33.
- **Barroso F.G.**, deHaro C., Sanchez-Muros M.J., Venegas E., Martinez-Sanchez A., Perez-Ban C. (2014) The potential of various insects species for use as food.
- **Bartley, J.**, Hart, K., Swales, V. et al. (2009) Exploring policy options for more sustainable livestock and feed production, IEEP. (available at www.cap2020.ieep.eu/assets/2009/6/10/Policy_options_for_more_sustainable_livestock_and_feed_production_FINAL_report.pdf).
- **Belluco, S.**, Losasso, C., Maggioletti, M., Alonzi, C., Paoletti, M., Ricci, A., 2013. Edible insects in a food safety and nutritional perspective: a critical review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 12, 296–313.
- **Bondari K.** & Sheppard D.C. (1987) Soldier fly *Hermetia illucens* L., as feed for channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), and blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner). *Aquaculture and Fisheries Management*, 18:209 - 220.
- **Bondari K.** & Sheppard D.C. (1981) Black Soldier fly larvae as a feed in commercial fish production. *Aquaculture*, 24: 103–109.
- **Burtle G**, Newton GL & Sheppard DC (2012): Mass Production of Black Soldier Fly Pre pupae for Aquaculture Diets. A Manuscript for Aquaculture International. University of Georgia, Tifton Campus, Tifton, GA.
- **Calvert, C. C.**, Martin, R. D., & Morgan, N. O. (1969) House fly pupae as food for poultry. *Journal of Economic Entomology*, 62(4).
- **Dong Y.P.**, Wu Q.Y. (2010) Research status of development and utilization for silkworm chrysalis protein. *Acad. Period. Farm Prod. Process.* 211,17–20.

- **Drew D.J.W.**, Drew J.J., Kotze J.A., Pieterse E., Richards C.S., Rudolphe R., Watson P.R., Claims D. (2014) Agriprotein: Building the World's Largest Insect Rearing Protein Farm – A History Vision. *Insects to Feed The World*, Ede-Wageningen, The Netherlands, pp.60.
- **D. Crosetti**, S. Lapègue, I. Olesen, T. Svaasand (eds). GENIMPACT project: Evaluation of genetic impact of aquaculture activities on native populations. A European network. Viterbo, Italy, pp. 6.
- **Emehinaiye, P.A.**, 2012. Growth Performance of *Oreochromis niloticus* Fingerlings Fed with Varying Levels of Migratory Locust (*Locusta migratoria*) Meal. *Aquacult. Fish. Manage.*, Federal University of Agriculture, Abeokuta, Nigeria.
- **Ezquerria-Brauer J.M.**, Martinez-Porchas M. & Cortes-Jacinto E. (2012) Evaluation of partial and total replacement of formulated feed by live insects, *Trichocorixa sp.*
- **Fakayode O.S.**, Ugwumba A.A.A. (2013) Effects of replacement of fishmeal with palm grub (*Oryctes rhinoceros* (Linnaeus, 1758) meal on the growth of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) and *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840) fingerlings. *Fish. Aquat. Sci.* 8,101–107.
- **FAO (2006)**. The state of World Fisheries and Aquaculture. Rome.
- **FAO (2013)** Food Outlook, Biannual Report on Global Food Markets. FAO, Rome, Italy, pp.134.
- **FAO (2013)** The state of the world fisheries and aquaculture.
- **FAO (2017)** Cultured Aquatic Species Information Programme. *Sparus aurata*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Colloca, F.; Cerasi, S. In: *FAO Fisheries and Aquaculture Department* [online]. Rome. Updated 8 February 2005. [Cited 17 May 2017].
http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en
- **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. *Aquac. Res.* 34, 733–738.
- **Francis G.**, Makkar H.P.S. and Becker K. (2001) Ant nutritional factors present in plant derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*,199: 197–227.

- **Gasco, L.,** Gai, F., Piccolo, G., Rotolo, L., Lussiana, C., Molla, P., Chatzifotis, S., 2014b. Substitution of fishmeal by *Tenebrio molitor* meal in the diet of *Dicentrarchus labrax* juveniles. In: Vantomme, P., Munke, C., van Huis, A. (Eds.), 1st International Conference “Insects to Feed the World”. Wageningen University, Ede-Wageningen, The Netherlands, p. 70.
- **Gatlin D.M.,** FT,B., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T.G., Hardy R.W., Herman E., Hu G.S., Krogdahl A., Nelson R., Overturf K., Rust M., Sealey W., Skonberg D., Souza E.J., Stone D., Wilson R., Wurtele E. (2007) Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds :a review. *Aquac. Res.* 38,551–579.
- **Glencross, B.,** Evans, D., Dods, K., McCafferty, P., Hawkins, W., Maas, R., & Sipsas, S. (2005) Evaluation of the digestible value of lupin and soybean protein concentrates and isolates when fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using either stripping or settlement faecal collection methods. *Aquaculture*, 245(1), 211-220.
- **Hardy, R. W.** (2010) Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research*, 41(5), 770-776.
- **Henry M.,** Gasco L., Piccolo G., Fountoulaki E. (2015) Review on the use of insects in the diet of farmed fish: past and future. *Animal Feed Science and Technology*. 203: 1- 22.
- **Henry, M.,** Fountoulaki, E., (2014) Optimal dietary protein/lipid ratio for improved immune status of a newly cultivated Mediterranean fish species, the shidrum *Umbrina cirrosa*, L. *Fish Shellfish Immunol.* 37, 215–219.
- **Hertrampf, J.W.,** Piedad-Pascal, F., (2000) Pulses. *Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 531–542. *Ingredients class in aquaculture diets. Proceeding of the 4th ISOFAR SCIENTIFIC 60 Conference: Building organic bridges at the Organic World Congress, Istanbul, Turkey.*
- **Idowu, A.B.,** Amusan, A.A.S., Oyediran, A.G., (2003) The response of *Clarias gariepinus* fingerlings (Burchell 1822) to the diet containing House fly maggot (*Musca domestica*) (L.). *Niger.J. Anim. Prod.*30, 139–144

- **International magazine on animal nutrition, processing and feed management** (2014).
- **Jackson A.** (2009) The continuing demand for sustainable fishmeal and fish oil in aquaculture diets. *International Aquafeed*, 12: 32 – 33.
- **Ji, H.**, Zhang J.L., Huang J.Q., Cheng X.F., Liu C. (2013) Effect of replacement of dietary fishmeal with silkworm pupae meal on growth performance, body composition, intestinal protease activity and health status in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var Jian). *Aquac. Res.*, 1–13 (Early view on inversion).
- **Karapanogiotidis I.**, Daskalopoulou E., Vogiatzis I., Rumbos C., Mente E., Athanassiou C. (2015) *Hermetia Illucens* PREPUPAE MEAL AS A PROTEIN SOURCE IN THE DIET OF GILTHEAD SEABREAM (*Sparus aurata*). *Aquaculture Europe 2015*, Rotterdam, Netherlands.
- **Kroeckel S.**, Harjes A.G.E., Roth I., Katz H., Wuertz S., Susenbeth A., Schulz C. (2012) When a turbot catches a fly: evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fishmeal substitute –growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 364-365, 345–352.
- **Lock E.-J.**, Arsiwalla T., Waagbo R. (2015) Insect larvae meal as a alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmon salar*) postsmolt. *Agriculture Nutrition*. 22(6), pp.1202-1213.
- **Lock E.-J.**, Arsiwalla T., Waagbo R. (2014) Insect meal: a promising source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmon salar*). In: Vantomme P., Munke C., van Huis A. (Eds.), 1st International Conference “Insects to Feed the World”. Wageningen University, Ede - Wageningen, The Netherlands, p. 67.
- **Makkar H.P.S.**, Tran G., Heuze V., Ankers P. (2014) Stat – of – the –art on use of insects as animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* 197 (0), 1–33, <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>.
- **Martinez-Cordova L.R.**, Campana-Torres A., Villareal-Colmenares H., (2012) Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia illucens*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42: 34 – 45.
- **Newton G.L.**, Sheppard D.C. ,Watson D.W., Burtle G.J., Dove C.R., Tomberlin J.K., Thelen E.E. (2005) The black soldier fly, *Hermetia illucens* as a manure management

/ resource recovery tool. In: Symposium on the State of the Science of Animal Manure and Waste Management, San Antonio, TX, USA.

- **Newton, G.L.**, Booram, C.V., Barker, R.W., Hale, O.M., (1977) Dried *Hermetia illucens* larvae meal as a supplement for swine. *J. Anim. Sci.* 44, 395-400.
- **Ng, W.K.**, Liew, F.L., Ang, L.P. and 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(s1), pp.273-280.
- **Nogueira N.**, Cordeiro N., Andrade C., and Aires T. (2012) Inclusion of low levels of blood and feathermeal in practical diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 12: 641 – 650.
- **Nsofor, C.J.**, Osayamwen, E.M., Ewuim, S.C., Etaga, H.O., (2008) Effects of varying levels of maggot and fishmeal on food utilization and growth of *Clarias gariepinus* fingerlings reared in net hopas in concrete ponds. *Nat. Appl. Sci. J.* 9, 79–84.
- **Ogunji, J.O.**, Kloas, W., Wirth, M., Neumann, N., Pietsch, C., (2008a) Effect of housefly maggot meal (magmeal) diets on the performance, concentration of plasma glucose, cortisol and blood characteristics of *Oreochromis niloticus* fingerlings. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 92, 511–518.
- **Ogunji, J.O.**, Kloas, W., Wirth, M., Schulz, C., Rennert, B., (2008b) Housefly maggot meal (magmeal) as a protein source for *Oreochromis niloticus* (Linn.). *Asian Fish. Sci.* 21, 319–331.
- **Ogunji, J.O.**, Nimptsch, J., Wiegand, C., Schulz, C., (2007) Evaluation of the influence of housefly maggot meal (magmeal) diets on catalase, glutathione S-transferase and glycogen concentration in the liver of *Oreochromis niloticus* fingerling. *Comp. Biochem. Physiol. A* 147, 942–947.
- **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. *Oreochromis niloticus* fingerlings, *J. of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 92, 2007, p.511-518.
- **Oonincx, D.G.A.B.**, van Itterbeeck, J., Heetkamp, M. J. W., van den Brand, H., van Loon, J. & van Huis, A. (2010) An exploration on greenhouse gas and ammonia

production by insect species suitable for animal or human consumption. Plos One, 5(12):e14445.

- **Piccolo G.**, Marono S., Gasco L., Iannaccone F., Bovera F., Nizza A. (2014) Use of *Tenebrio molitor* larvae meal in diets for gilthead sea bream *Sparus aurata* juveniles. In: Insects to Feed The World, The Netherlands, 14–17 May 2014. p. 76.
- **Proteinsect** (2013) Work Package 5: Pro-Insect Platform in Europe, Deliverable 5.1 - Mapping Exercise Report with regard to current Legislation & Regulation: Europe and Africa & China.
- **Pusztai A.** & Bardocz S. (2006) GMO in animal nutrition: potential benefits and risks. In: Mosenthin R., Zentek J., Zebrowska T. (eds.), Biology of nutrition in growing animals. Elsevier, Edinburgh, UK, pp. 513–540.
- **Ramos-Elorduy, J.**, (1999) Insects as intermediate biotransformers to obtain proteins. In: Dickinson-Bannack, F., Garcia-Santaella, E. (Eds.), Homo sapiens: An endangered species, towards a global strategy for survival. Proceedings of the 4th World Academic Conference on Human Ecology 1993, Yucatan, Mexico, pp. 157–165.
- **Ravi C.**, Jeyashree A., Renuka Devi K. (2011) Antimicrobial peptides from insects: an overview. Res.Biotechnol.2, 1–7.
- **Ross C.** & St-Hilaire S. (2011) Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*.
- **Rumpold B.A.**, Schluter O.K. (2013) Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 17, 1–11.
- **Samuel E.** 2014 (εικόνα).
- **Sanchez - Muros M. - J.**, Barroso F.G., Manzano –Agugliaro F. (2014) Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review .J. Clean. Prod. 65, 16–27, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.11.068>.
- **Schabel H.G.** (2010) Forests insects as food: a global review. In: Durst, P.B., Johnson D.V., Leslie R.N., Shono K. (Eds.), Forests Insects as food: Humans Bite Back. FAO, Bangkok, Thailand, pp.37–64.

- **Sealey W.M.**, Gaylord T G., Barrows F.T., Tomberlin J.K., McGuire M.A., Ross C. and St-Hilaire S. (2011) Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fed Enriched Black Soldier Fly Pre pupae, *Hermetia illucens*. Journal of the World Aquaculture Society, 42: 34–45.
- **Serwata R.D.** (2007) Nutritional evaluation of rendered animal by-products and blends as a suitable partial alternatives for fish meal in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). MSc Thesis, UK: Stirling University, pp. 150.
- **Shepherd, C. J.**, Pike, I. H., & Barlow, S. M. (2005) Sustainable feed resources of marine origin. *European Aquaculture Society Special Publication*, 35, 59-66.
- **Sola L.**, Moretti A., Crosetti D., Karaiskou N., Magoulas A., Rossi A.R., Rye M., soldier fly (*Hermetia illucens*.) larvae meal as an example of a new feeding.
- **Solomon, S.G.**, Sadiku, S.O.E., Tiamiyu, L.O., (2007) Wing reproductive termite (*Macrotermes nigeriensis*) – soybean (*Glycine max*) meals blend as dietary protein source in the practical diets of *Heterobranchus bidorsalis* fingerlings. Pak. J. Nutr. 6, 267–270.
- **Stamer A.**, Wessless S., Neidigk R. & HoerstgenSchwark G. (2014)
- **St-Hilaire S.**, Sheppard C., Tomberlin J.K., Irving S., Newton L., McGuire M.A., Mosley E.E., Hardy R. and Sealey W. (2007a) Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of the World Aquaculture Society, 38:5 9– 67.
- **Tacon A.G.J.** & Metian M. (2008) Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 285: 146 – 158.
- **Tacon A.G.J.** (2004) Use of fish meal and fish oil in aquaculture: a global perspective. *Aquatic Resources, Culture & Development*, 1: 3–14.
- **Tidwell J.H.** & Allan G.L. (2002) Fish as food: Aquaculture’s contribution. *World Aquaculture*, 33: 44–48.
- **Triantafyllidis A.** and Tsigenopoulos C.S. (2006) Gilthead seabream - Sparus Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 12: 641 – 650.

- **Van Huis, A.,** Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G. and Vantomme, P., (2013) *Edible insects: future prospects for food and feed security* (Vol. 171).
- **Veldkamp T.,** van Duinkerken G., van Huis A., Lakemond C.M.M., Ottevanger E., Bosch G., van Boekel M.A.J.S. (2012). Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets –a feasibility study. Wageningen UR Live stock Production, report 638, pp.1–48.
- **Verbeke, W.** (2015) Insects in animal feed: Acceptance and its determinants among farmers, agriculture sector stakeholders and citizens.
- **Wassef, E.A.,** (1991) Development of diets for gilthead bream *Sparus aurata* L. cultured in Egypt. *Journal of King Abdulaziz University Marine Science, Jeddah*, 2, pp.01-109.
- **Zar J.H.** (1999) *Biostatistical analysis*, 4th edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs. Pp 663.
- **Zhao W.,** Lu L. Tang Y. (2010) Research and application progress of insect antimicrobial peptides on food industry. *Int. J. Food. Eng.*6, Article 10.

6.2 Ελληνική βιβλιογραφία

- **Καραπαναγιωτίδης Ι.** (2011) *Τεχνολογία Ιχθυοτροφών*. Σημειώσεις μαθήματος, σελ 39 – 40.
- **Καραπαναγιωτίδης Ι.** (2015) *Τεχνολογία Ιχθυοτροφών*. Σημειώσεις μαθήματος, σελ 44 – 45.
- **Μεντέ Ε. & Νέγκας Ι.** (2011) Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, σελ. 224 – 228.
- **Σπάης Α. Β.,** Φλώρου-Πανέρη Π. & Χρηστάκη, Ε. (2002) *Ζωοτροφές και σιτηρέσια*. Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη.
- **Νέγκας Ι. & Αδαμίδου Σ.** (2012). Κεφάλαιο 9^ο. Συστατικά ιχθυοτροφών (Ε. Μεντέ & Ι. Νέγκας). Εκδόσεις Παπαζήση, σελ 377-461.

6.3 Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

- **FAO (2006).** FishStat. <http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS.asp>
- **FAO (2009).** <http://www.fao.org/docrep/012/i0970e/i0970e00.htm>
- **FAO (2010).** <http://www.fao.org/docrep/013/i1820e/i1820e.pdf>
- **FAO (2013).** Food and Agriculture Organization of the United Nations, <http://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/gilthead-seabream/faqs/en/>
http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en
- **FAO (2016).** <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>

ABSTRACT

The suitability of the defatted meal from the black soldier fly *Hermetia illuscens* in the diet of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) was studied. *S. aurata* fingerlings (total number of 225 juveniles) of 2.40 ± 0.27 g mean weight were allocated into 9 glass aquarium (125L) within a closed recirculation seawater system and divided into 3 dietary groups (25 fish/aquarium, 3 aquariums/dietary group), each feeding on a different diet. Diets BSF-5, BSF-11 and BSF-17 contained 5.8 %, 11.6 % and 17.4 % of de-fatted *H. illuscens* meal, respectively. The diets were isoenergetic (21.6 MJ/Kg diet) and iso-nitrogenous (47% of diet). The sea breams were hand fed, once daily, *ad libitum* for six days per week.

Results of the present study demonstrated that the highest level of de-fatted *H. illuscens* meal replacement (17.4 %) leads to lower growth, reduced feed consumption and feed efficiency, as well as, higher mortality rates compared to the diets contained 5.8% and 11.6% of de-fatted *H. illuscens*, respectively. In contrast, these low levels of replacement showed similar growth rates and feed efficiency. However, the defatting of *H. illuscens* meal does not significantly improve the efficiency of sea bream's feeding and it cannot be supplemented in high levels. Nevertheless, there are various species of insects that should be tested as diets for in sea bream farming. Further research is required since there is lack of data.

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