



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Θέμα : «Επίδραση της μερικής υποκατάστασης του διαιτητικού ιχθυαλεύρου από απολιπασμένο άλευρο εντόμων του είδους *Zorhobas morio* στην ανάπτυξη της τσιπούρας (*Sparus aurata*)»

Κουτρέλης Νικόλαος – Σώστης

Λούπας Νικόλαος

Βόλος 2020

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :

- 1) **Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης**, Αναπληρωτής 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***,
- 3) **Χρήστος Ρούμπος**, Πανεπιστημιακός Μεταδιδακτορικός Υπότροφος (Ίδρυμα Νιάρχος) του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Διδάκτωρ Εντομολογίας, ***Μέλος***.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ειλικρινείς μας ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρουμε εις πέρας την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κ. Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη για την πολύτιμη βοήθειά του και τη διαρκή υποστήριξή του, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος, όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου, αποτελούμενη από τους κα. Έλενα Μεντέ και κ. Χρήστο Ρούμπο.

Ακόμη, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά τον υποψήφιο διδάκτορα Πιέρ Ψωφάκη για την άμεση και ανιδιοτελή προσφορά του, όσον αφορά τη βοήθειά του στη διαχείριση των συστημάτων εκτροφής.

Τέλος, θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ευχαριστίες μας στις οικογένειες μας και στους δικούς μας ανθρώπους για την συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ιχθυοτροφές των εκτρεφόμενων ειδών παγκοσμίως εμπεριέχουν μεγάλες ποσότητες ιχθυάλευρων. Το ιχθυάλευρο είναι ένα υψηλής ποιότητας, πολύ εύπεπτο συστατικό των ιχθυοτροφών που ευνοεί την ανάπτυξη και υγεία των ιχθύων. Λόγω όμως της αλόγιστης χρήσης του και καθώς η παραγωγή του μένει στάσιμη, η τιμή του ολοένα και αυξάνεται με αποτέλεσμα το κόστος παραγωγής των ιχθυοκαλλιεργειών να έχει φτάσει σε δυσθεώρητα ύψη.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της μερικής υποκατάστασης του διαιτητικού ιχθυαλεύρου από απολιπασμένο άλευρο εντόμων του είδους *Zophobas morio* στην ανάπτυξη της τσιπούρας (*Sparus aurata*).

Ιχθύδια τσιπούρας, με αρχικό μέσο βάρος 3,4 g, μεταφέρθηκαν σε 12 γυάλινα ενυδρεία στο σταθμό Υδατοκαλλιεργειών του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος. Στο κλειστό σύστημα κυκλοφορίας θαλασσινού νερού η θερμοκρασία ήταν 21°C, το pH 8,00 ± 0,4 και η αλατότητα ήταν 30 ± 0,5‰. Τα ιχθύδια χωρίστηκαν σε 4 διατροφικές ομάδες (30 άτομα/δεξαμενή, 3 επαναλήψεις/διατροφική ομάδα), στις οποίες χορηγήθηκαν 4 διαφορετικά σιτηρέσια, 2 φορές καθημερινά με το χέρι μέχρι κορεσμού για 61 ημέρες. Στο πρώτο σιτηρέσιο, η πηγή πρωτεΐνης αποτελούνταν αποκλειστικά από ιχθυάλευρο. Στα υπόλοιπα σιτηρέσια πραγματοποιήθηκε αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με άλευρο του εντόμου *Z. morio* σε ποσοστό 10%, 20% και 30% με προσθήκη μεθειονίνης και λυσίνης. Συγκεκριμένα, τα σιτηρέσια ήταν ισοενεργειακά (21,8 MJ/kg τροφής) και ισοπρωτεϊνικά (56% της τροφής).

Η μερική υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου με άλευρο του εντόμου *Z. morio* από 10% έως 30% δεν επηρέασε την επιβίωση των ιχθύων που σιτίστηκαν με αυτά. Η αύξηση βάρους των ψαριών (15,69-18,64 g), ο συντελεστής SGR (2,83-3,06%/ημέρα),

ο συντελεστής FCR (1,05 – 1,17) και ο συντελεστής PER (1,52 – 1,68) δεν διαφοροποιήθηκαν σημαντικά μεταξύ των διατροφικών ομάδων.

Συνοψίζοντας, τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης έδειξαν ότι το άλευρο του *Z. moryo* αποτελεί ένα κατάλληλο υποκατάστατο (έως και 30%) του ιχθυαλεύρου αναφορικά με την ανάπτυξη της τσιπούρας. Παρόλα αυτά πρέπει να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες μελλοντικά για την μελέτη εκτροφής του είδους με διάφορα εντομάλευρα και σε διαφορετικά ποσοστά υποκατάστασης, διότι οι γνώσεις πάνω στο συγκεκριμένο γνωστικό αντικείμενο είναι ακόμα ελλιπείς.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 Βιολογία και εκτροφή της τσιπούρας (<i>Sparus aurata</i>) Error! Bookmark not defined.	
1.2 Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους.....	3
1.3 Η χρήση ιχθυαλεύρου στις ιχθυοτροφές.....	4
1.4 Η χρήση αλεύρων εντόμων στις ιχθυοτροφές.....	7
1.5 Σκοπός της μελέτης.....	12
2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	13
2.1 Πειραματικά σιτηρέσια	13
2.2 Αναλύσεις θρεπτικής σύστασης ιχθυοτροφών.....	18
2.2.1 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών.....	18
2.2.2 Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ουσιών	20
2.2.3 Προσδιορισμός τέφρας	22
2.2.4 Προσδιορισμός υγρασίας/ξηρής ουσίας	22
2.2.5 Προσδιορισμός ενέργειας	23
2.3 Πειραματικός σχεδιασμός – Συνθήκες εκτροφής.....	24
2.4 Δειγματοληψίες	26
2.5 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής.....	29
2.5.1 Θνησιμότητα.....	29
2.5.2 Αύξηση ολικού βάρους ψαριών.....	29
2.5.3 Ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους.....	29
2.5.4 Συνολική κατανάλωση τροφής	29
2.5.5 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης.....	30
2.5.6 Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής.....	30

2.5.7	Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών	30
2.5.8	Συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης.....	31
2.5.9	Συντελεστής διατήρησης λίπους.....	31
2.5.10	Σωματομετρικοί δείκτες.....	31
2.6	Στατιστική ανάλυση	32
3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ		33
3.1	Θνησιμότητα	33
3.2	Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής	33
3.2.1	Κατά την έναρξη του πειράματος	33
3.2.2	Αύξηση σωματικού βάρους την 31 ^η ημέρα εκτροφής	34
3.2.3	Αύξηση σωματικού βάρους την 61 ^η ημέρα εκτροφής(ολοκλήρωση του πειράματος)	36
4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ		40
4.1	Θνησιμότητα και παράμετροι ανάπτυξης	40
4.2	Συμπέρασμα	46
5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ		47

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Βιολογία και εκτροφή της τσιπούρας

Η τσιπούρα (*Sparus aurata*) είναι κοινό είδος στη Μεσόγειο Θάλασσα και στην ακτή του Ανατολικού Ατλαντικού από τη Μεγάλη Βρετανία μέχρι τη Σενεγάλη και σπάνια στη Μαύρη Θάλασσα. Είναι είδος ευρύαλο και ευρύθερμο (ανθεκτικό στις μεταβολές της αλατότητας και της θερμοκρασίας) και απαντάται τόσο σε θαλάσσια όσο και σε υφάλμυρα ύδατα, όπως οι παράκτιες λιμνοθάλασσες και οι εκβολές των ποταμών, ιδίως κατά τα αρχικά στάδια του κύκλου ζωής του. Τα αυγά εκκολάπτονται στην ανοιχτή θάλασσα κατά τους μήνες Οκτώβριο-Δεκέμβριο και τα νεαρά ιχθύδια μεταναστεύουν συνήθως νωρίς την άνοιξη προς προστατευόμενα παράκτια ύδατα. Τα νεαρά ψάρια παραμένουν σε σχετικά αβαθείς περιοχές (μέχρι 30 μέτρα), ενώ οι ενήλικες μπορούν να φτάσουν σε βαθύτερα νερά, γενικά όχι πάνω από 50 μέτρα. Πρόκειται για ένα πρωτανδρικό ερμαφρόδιτο είδος. Τα αρσενικά γίνονται θηλυκά σε ηλικία περίπου 3 ετών. Αρχικά ωριμάζει ως αρσενικό κατά τη διάρκεια του πρώτου ή του δεύτερου έτους της ηλικίας και μετά το δεύτερο ή το τρίτο έτος της ηλικίας, ως θηλυκό. Η αναπαραγωγή συμβαίνει γενικά από τον Οκτώβριο έως τον Δεκέμβριο, με αλληλουχίες αναπαραγωγής κατά τη διάρκεια ολόκληρης της περιόδου. Στην αιχμαλωσία, η αντιστροφή του φύλου εξαρτάται από κοινωνικούς και ορμονικούς παράγοντες (FAO 2020).

Παραδοσιακά η εκτροφή της τσιπούρας παρατηρήθηκε εκτενώς σε παράκτιες λιμνοθάλασσες και λίμνες αλμυρού νερού, έως ότου αναπτύχθηκαν συστήματα εντατικής εκτροφής κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1980. Τα ψάρια αυτά είναι κατάλληλα για την εκτεταμένη υδατοκαλλιέργεια στη Μεσόγειο, λόγω της καλής τιμής αγοράς, του υψηλού ποσοστού επιβίωσης και των διατροφικών συνηθειών.

Η τεχνητή αναπαραγωγή επιτεύχθηκε με επιτυχία στην Ιταλία το 1981-82 και η παραγωγή μεγάλης κλίμακας νεαρών ιχθυδίων τσιπούρας επιτεύχθηκε οριστικά το 1988-1989 στην Ισπανία, την Ιταλία και την Ελλάδα. Η δημιουργία του εκκολαπτηρίου και η εκτροφή αυτού του ψαριού αποτελούν μία από τις πιο επιτυχημένες επιχειρηματικές δραστηριότητες στον τομέα της υδατοκαλλιέργειας. Αυτό το είδος έδειξε πολύ γρήγορα μεγάλη προσαρμοστικότητα στις συνθήκες εντατικής εκτροφής, τόσο σε δεξαμενές όσο και σε κλωβούς, ενώ η ετήσια παραγωγή του αυξήθηκε μέχρι το 2000, όπου και έφθασε στο ανώτατο όριο των 87.000 τόνων (FAO 2020).

Η τσιπούρα είναι το κύριο εκτρεφόμενο είδος της Μεσογείου. Ενδεικτικά το 2010, η εκτροφή τσιπούρας απέφερε κέρδη 831,355 εκατομμυρίων δολαρίων, ενώ η παραγωγή ανήλθε σε περίπου 142.500 τόνους ψαριών. Η κύρια μέθοδος εκτροφής τσιπούρας στη Μεσόγειο γίνεται σε πλωτούς ή υποβρύχιους ή ημικαταδυόμενους ιχθυοκλωβούς. Ιχθύδια εισάγονται στους κλωβούς όταν έχουν βάρος 10 γραμμαρίων και φτάνουν στο εμπορεύσιμο βάρος (350-450 γραμμάρια) σε περίπου 1 χρόνο. Η γρήγορη ανάπτυξη της παραγωγής στους πλωτούς ιχθυοκλωβούς, έχει επιτρέψει στην ανάπτυξη του τομέα και τη μείωση των τιμών. Ωστόσο σήμερα τα περιθώρια κέρδους είναι μικρά και η παραγωγή μεγάλη.

Πέρα από τους ιχθυοκλωβούς υπάρχουν και άλλοι τρόποι εκτροφής. Στην Ισπανία χρησιμοποιούνται χερσαίες δεξαμενές χωρητικότητας 200 με 3000 τετραγωνικών μέτρων, γνωστές ως εστέρος (esteros). Αυτός ο τρόπος εκτροφής απαιτεί συνεχή χορήγηση οξυγόνου στο νερό της δεξαμενής. Τέλος, μπορεί να γίνει εκτατική ή ημι-εκτατική εκτροφή σε παράκτιες λιμνοθάλασσες, στις οποίες η ιχθυοπυκνότητα είναι μικρή (FAO 2020).

1.2 Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους

Σύμφωνα με τις διάφορες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με την διατροφή της τσιπούρας, οι θρεπτικές απαιτήσεις του είδους συνοψίζονται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακες 1.1 και 1.2). (FAO 2020)

Πίνακας 1.1: Θρεπτική σύσταση που απαιτείται στη διατροφή της τσιπούρας.

Θρεπτική Σύσταση (%)	Στάδιο ανάπτυξης			
	Ιχθυονύμφη	Ατελές ιχθύδιο	Ιχθύδιο	Ενήλικο άτομο
Πρωτεΐνη	-	-	50-60	45-50
Λίπος	15-20	12-24	12-25	12-25
Ινώδεις ουσίες	-	3	3	3
Υδατάνθρακες	-	20	20	20
Πρωτεΐνη/Ενέργεια (mg/Kj)	27,6-30,2	22,7-25,9	20,8-22,4	21,5-28,1
Φώσφορος	-	0,75	0,65	-

Πίνακας 1.2: Απαραίτητα αμινοξέα που απαιτούνται στη διατροφή της τσιπούρας.

Αμινοξέα(%)	Στάδιο ανάπτυξης			
	Ιχθυονύμφη	Ατελές ιχθύδιο	Ιχθύδιο	Ενήλικο άτομο
Αργινίνη	<4,7	5,55	5,4	5,4
Ιστιδίνη	-	1,89	1,7	1,7
Ισολευκίνη	-	2,55	2,6	2,6
Λευκίνη	-	4,75	4,5	4,5
Λυσίνη	5,0	5,13	5,0	5,0
Μεθειονίνη	-	2,6	2,4	2,4
Φαινυλαλανίνη			2,9	2,9
Θρεονίνη	2,6	2,98	2,8	2,8
Τρυπτοφάνη	0,6	0,75	0,6	0,6
Βαλίνη		3,21	3,0	3,0

1.3 Η χρήση ιχθυάλευρου στις ιχθυοτροφές

Τα ψάρια αποτέλεσαν βασική πηγή τροφής για τον άνθρωπο (Ayoola 2010), αλλά τα παγκόσμια αλιεύματα άγριων ψαριών μειώθηκαν κατά περίπου 3% από το 2004 έως το 2009 με ρυθμό 0,5% ετησίως (FAO 2010). Επί του παρόντος, η υδατοκαλλιέργεια διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στην αγορά θαλασσινών, ανταποκρινόμενη στη ζήτηση για ψάρια που δεν μπορούν να καλυφθούν με τα άγρια αλιεύματα. Κατά συνέπεια, τα τελευταία χρόνια (από το 2004 έως το 2009), η

παραγωγή υδατοκαλλιέργειας αυξήθηκε κατά 32%, ποσοστό ανάπτυξης περίπου 5,6% ετησίως (FAO 2010).

Το ιχθυάλευρο είναι ένα από τα κύρια συστατικά των ζωοτροφών που χρησιμοποιούνται στην υδατοκαλλιέργεια. Παράγεται ύστερα από το ψήσιμο των ψαριών, στα οποία στην συνέχεια εφαρμόζεται πίεση για να αφαιρεθεί το νερό και το λάδι και τα οποία στο τέλος υποβάλλονται σε ξήρανση. Μπορεί να προέρχεται από ένα μόνο είδος ψαριού (π.χ. ρεγγάλευρο) αλλά και μείγμα διαφόρων ψαριών. Το ιχθυάλευρο είναι η σημαντικότερη πρωτεϊνική πηγή που περιλαμβάνεται στις ιχθυοτροφές αφού η πρωτεΐνη του θεωρείται υψηλής βιολογικής αξίας. Η πρωτεΐνη κυμαίνεται από 56% έως 76%, ποσοστό που καθορίζει και την ποιότητα του ιχθυαλεύρου. Το πλεονέκτημα του είναι ότι είναι πλούσιο σε λιπαρά οξέα (ωμέγα-3), σε ιχθυοστεροΐδια και είναι ιδιαίτερα εύγευστο για τα ψάρια (NRC 1993), ενώ ενισχύει την πέψη και την απορρόφηση των θρεπτικών ουσιών (Mile & Chapman 2006). Παρ' όλα αυτά, η χημική σύσταση και κυρίως το ποσοστό των πρωτεϊνών των διαφόρων ιχθυαλεύρων παρουσιάζει μεγάλη διακύμανση.

Τα περισσότερα ιχθυάλευρα παράγονται από μείγμα διαφόρων ειδών ιχθύων, όπως, για παράδειγμα από μικρά λιπαρά ψάρια ειδών γαύρων που αλιεύονται στις θάλασσες της Χιλής και του Περού, ειδών ρέγγας που αλιεύονται σε μεγάλες ποσότητες στις ακτές της ανατολικής Αμερικής και στον κόλπο του Μεξικού και ειδών σαρδέλας που αλιεύονται στις ακτές της Σκανδιναβίας, της πρώην Σοβιετικής Ένωσης και της Ιαπωνίας. Εκτιμάται ότι περίπου το 30% των συνολικών αλιευμάτων μετατρέπεται σε ιχθυάλευρο και ιχθυέλαιο για χρήση σε ζωοτροφές και ιχθυοτροφές (Ogunji *et al.* 2006).

Η ποιότητα του ιχθυαλεύρου εξαρτάται από την εποχή της αλίευσης, το γεωγραφικό πλάτος της περιοχής, την θερμοκρασία, την ώρα που τα ψάρια αλιεύονται, τον χρόνο αποθήκευσης πριν την επεξεργασία, τον τρόπο αλιείας και την σύνθεση των αλιευμάτων.

Το ποσοστό του ιχθυαλεύρου που χρησιμοποιείται για τις ζωοτροφές υδατοκαλλιέργειας αυξήθηκε από 10% το 1988 σε περίπου 45% το 2002. Η αυξανόμενη παγκόσμια ζήτηση και η μείωση της διαθεσιμότητας ιχθυαλεύρων οδήγησε σε απότομες αυξήσεις της τιμής των ιχθυαλεύρων και επομένως το κόστος παραγωγής της υδατοκαλλιέργειας έχει αυξηθεί επίσης (Ayoola 2010). Η τιμή της παραγωγής ιχθύων μέσω της υδατοκαλλιέργειας αυξήθηκε από 600 δολάρια ΗΠΑ / μετρικό τόνο το 2005 σε 2000 δολάρια ΗΠΑ / μετρικό τόνο τον Ιούνιο του 2010 και αυτή η τάση είναι πιθανό να συνεχιστεί (Διεθνές Νομισματικό Ταμείο 2010). Ωστόσο, τίθεται υπό αμφισβήτηση η εξάρτηση των ιχθυοκαλλιεργειών από την αλιεία άγριων ιχθύων. Δεν είναι μόνο ότι τα ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια μπορεί να περιέχουν μολυσματικούς παράγοντες αλλά οι καταναλωτές ενδιαφέρονται πλέον και για μετρήσεις βιωσιμότητας, όπως ο λόγος των άγριων εισροών αλιείας με τα εκτρεφόμενα ψάρια (Naylor 2009).

Επίσης, η αστάθεια και η άνοδος των τιμών των ιχθυαλεύρων αποτελεί ζήτημα ανησυχίας για τους ιχθυοκαλλιεργητές (Olsen & Hasan 2012). Επιπλέον, ενώ το μερίδιο της υδατοκαλλιέργειας στην κατανάλωση ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίου αυξάνεται φτάνοντας το 88% μέχρι το 2007 (Tacon & Metian 2008), η παραγωγή ιχθυαλεύρων μειώθηκε μεταξύ του 1994 και του 2012 και τώρα ανέρχεται σε περίπου 5 έως 6 εκατομμύρια τόνους (Médale *et al.* 2013, FAO 2014).

1.4 Η χρήση αλεύρων εντόμων στις ιχθυοτροφές

Η σημερινή έλλειψη ιχθυαλεύρων παρακινεί τους ερευνητές να αναζητήσουν νέες πρωτεϊνικές πηγές με θρεπτική σύσταση παρόμοια με τα ιχθυάλευρα, ιδιαίτερα πηγές με παρόμοια περιεκτικότητα σε απαραίτητα αμινοξέα, φωσφολιπίδια και λιπαρά οξέα που προάγουν τη βέλτιστη ανάπτυξη και αναπαραγωγή (Ayoola 2010), που θα επιτρέψουν τη μακροπρόθεσμη διατήρηση της παραγωγής της υδατοκαλλιέργειας, έτσι ώστε αυτή να παραμείνει οικονομικά και περιβαλλοντικά βιώσιμη.

Τα έντομα είναι η πιο ποικίλη ομάδα ζώων στον κόσμο και σύμφωνα με τον Charman (2009), ο συνολικός αριθμός των ειδών εντόμων είναι περίπου ένα εκατομμύριο. Τα βρώσιμα έντομα είναι φυσικοί ανανεώσιμοι πόροι που χρησιμοποιούνται ως τρόφιμα από τους ανθρώπους (Ramos-Elorduy & Conconi 1994). Από τα αρχαία χρόνια, τα έντομα ήταν μια εναλλακτική πηγή πρωτεΐνης που χρησιμοποιείται για να αντισταθμίσει την περιοδική ή εποχιακή σπανιότητα άλλων πηγών (Ramos-Elorduy 1997). Οι περισσότερες υπάρχουσες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στα έντομα που έχουν διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή στην Αφρική, την Ασία και τη Λατινική Αμερική.

Ανάμεσα στις εναλλακτικές πηγές θρεπτικών συστατικών που έχουν αξιολογηθεί για την κάλυψη των διατροφικών αναγκών των ανθρώπων και των εκτρεφόμενων ζώων, η περίπτωση των εντόμων παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα. Αρχικά τα έντομα παρουσιάζουν πολύ καλή μετατρεψιμότητα τροφής (FCR) σε σύγκριση με τα συμβατικά εκτρεφόμενα ζώα (κοτόπουλα, χοίροι και μοσχάρια) καθώς είναι ποικιλόθερμοι οργανισμοί και δεν απαιτούν σημαντικά ποσά ενέργειας για την διατήρηση της θερμοκρασίας του σώματός τους. Για παράδειγμα ένα κιλό βιομάζας εντόμων μπορεί να παραχθεί από 2 κιλά βιομάζας ζωοτροφών κατά μέσο όρο (Collavo

et al. 2005). Επιπλέον καθώς τα έντομα ταξινομικά απέχουν κατά πολύ από τον άνθρωπο ο κίνδυνος μετάδοσης ασθενειών (ζωονόσοι) σε αυτόν περιορίζεται σημαντικά. Αξίζει να αναφερθεί ότι σε αντίθεση με τα υπόλοιπα εκτρεφόμενα ζώα τα έντομα παρουσιάζουν μικρότερο οικολογικό αποτύπωμα (μικρές απαιτήσεις σε καλλιεργήσιμα εδάφη, περιορισμένες ανάγκες σε ενέργεια και νερό) (Oonincx & de Boer 2012) ενώ οι εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου και αμμωνίας είναι περιορισμένες (van Huis 2013). Τα υποπροϊόντα της πρωτογενούς παραγωγής, όπως η κοπριά, αποτελούν την κύρια τροφή πολλών εντόμων (Sheppard D. C. *et al.* 1994). Τα έντομα αυτά έχουν την ικανότητα να ανακυκλώνουν τα χαμένα θρεπτικά συστατικά (αμινοξέα και λιπαρά οξέα), που περιέχονται στα απόβλητα γεωργικής και κτηνοτροφικής προέλευσης, ενσωματώνοντάς τα στην βιομάζα τους. Η βιομάζα που προκύπτει παρουσιάζει συνήθως υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και λίπη καθιστώντας την κατάλληλο υποκατάστατο για χρήση σε ζωοτροφές. Επιπλέον, οι προνύμφες εντόμων μπορούν να μετατρέψουν γρήγορα οργανικά απόβλητα χαμηλής ποιότητας σε ποιοτικό λίπασμα (van Huis *et al.* 2013), μειώνοντας έτσι την τελική μάζα κοπριάς κατά 50%, των αποβλήτων αζώτου κατά 30-50% και αποβλήτων φωσφόρου κατά 61-70% (Newton *et al.* 2005, Diener *et al.* 2009, van Huis *et al.* 2013). Τα έντομα ακόμη έχουν υψηλή γονιμότητα και πολύ γρήγορους ρυθμούς ανάπτυξης, παράγοντας χιλιάδες απογόνους σε σύγκριση με τους λιγιστούς που παράγονται από τα συμβατικά ζώα εκτροφής, γεγονός που ευνοεί την παραγωγή τους σε μεγάλη κλίμακα (Premalatha M. *et al.* 2011).

Τα έντομα είναι πολύτιμες πηγές πρωτεϊνών στη διατροφή των ψαριών υπό φυσικές συνθήκες λόγω του περιεχομένου τους σε πρωτεΐνες, το οποίο μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 9,3% και 76% (Finke 2002, Makkar *et al.* 2014, Sánchez –Muros *et al.* 2015), και της καλύτερης πεπτικότητας τους από τις φυτικές πρωτεΐνες (Hoffman

and Falvo 2004). Επίσης αρκετά είδη εντόμων μπορούν να χρησιμεύσουν ως σημαντικές πηγές λιπιδίων αφού η περιεκτικότητά τους σε αυτά μπορεί να κυμανθεί από 7,9% έως 40%. Τα έντομα περιέχουν σχετικά χαμηλά επίπεδα υδατανθράκων σε σύγκριση με τα φυτά, συνήθως λιγότερο από 20% (Barroso *et al.* 2014). Ο υδατάνθρακας που συναντάται περισσότερο από τα άγρια ψάρια είναι πιθανώς χιτίνη, ένα πολυμερές γλυκοζαμίνης που βρίσκεται στον εξωσκελετό των αρthropόδων (Lindsay *et al.* 1984). Ωστόσο, η ποσότητα της χιτίνης στα έντομα είναι μεταβλητή επειδή εξαρτάται από το είδος και το στάδιο της ανάπτυξης καθώς και από την μέθοδο ανάλυσης. Έχουν αναφερθεί πολύ υψηλές (> 10% της ξηράς ουσίας) καθώς και πολύ χαμηλές τιμές (<100mg/kg ξ.ο) (Finke 2007). Ακόμη έχουν αναφερθεί οφέλη από την ενσωμάτωση της χιτίνης σε δίαιτες θαλάσσιων ιχθύων, αλλά γενικά πιστεύεται ότι η χιτίνη είναι ένας από τους παράγοντες που περιορίζουν την χρήση εντόμων στις ζωοτροφές ψαριών (Ng *et al.* 2001, Sánchez–Muros *et al.* 2014).

Τα τελευταία χρόνια, τα έντομα έχουν αρχίσει να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην υδατοκαλλιέργεια ως εναλλακτικές πηγές πρωτεϊνών (Stamer 2015). Σύμφωνα με τον κανονισμό 2017/893 (2017) ο οποίος αποτέλεσε τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 999/2001 επιτράπηκε η χρήση μεταποιημένης ζωικής πρωτεΐνης από έντομα για τη σίτιση ζώων υδατοκαλλιέργειας. Συγκεκριμένα τα είδη που πληρούν τις προϋποθέσεις ασφαλείας της Ευρωπαϊκής Ένωσης για την παραγωγή εντόμων για χρήση σε ζωοτροφές είναι: το *Hermetia illucens*, το *Musca domestica*, το *Tenebrio molitor*, το *Alphitobius diaperinus*, το *Acheta domesticus*, το *Gryllobates sigillatus* και το *Gryllus assimilis*, χωρίς ωστόσο να συμπεριλαμβάνεται το είδος *Z. morio*. Αυτή η ομάδα αποτελεί μέρος της φυσικής διαίτας των σαρκοβόρων και παμφάγων ψαριών (Henry 2015) σε αντίθεση με άλλα ζώα εκτροφής.

Ωστόσο, η θρεπτική αξία των εντόμων δεν είναι σταθερή αφού θα μπορούσε να επηρεαστεί από είδη, στάδιο ανάπτυξης, τεχνολογία εκτροφής, διατροφή ή φύλο. Αν και πιστεύεται ότι η εκτροφή εντόμων για χρήση σε ζωοτροφές είναι πολλά υποσχόμενη, οι ερευνητές είναι επιφυλακτικοί όσον αφορά τους κινδύνους για την ασφάλεια των τροφών που παράγονται από έντομα. Πολλές έρευνες αναφέρονται σε πιθανούς κινδύνους χημικής και μικροβιολογικής φύσεως (όπως οι μολυσματικές ουσίες, τα βαρέα μέταλλα, οι μυκοτοξίνες, τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων και τα παθογόνα), κινδύνους από αλλεργικές αντιδράσεις σε ζώα και ανθρώπους και κινδύνους λόγω έλλειψης συγκεκριμένων αμινοξέων ή προβλήματα αφομοίωσης τους. Η αναπαραγωγή και η εκτροφή εντόμων μπορούν επίσης να επηρεάσουν την βιοποικιλότητα λαμβάνοντας υπόψη την δυνατότητα τυχαίας απελευθέρωσης μη αυτόχθονων ειδών (Van Huis *et al.* 2013 σελ. 157). Ένας ακόμη ανασταλτικός παράγοντας σχετικά με την χρήση εντόμων στις ιχθυοτροφές είναι η συνολική αύξηση του κόστους σίτισης εξαιτίας της υψηλότερης τιμής τους σε σύγκριση με αυτή των ιχθυαλεύρων (Arru *et al.* 2019).

Τα τελευταία χρόνια έχουν πραγματοποιηθεί αρκετά διατροφικά πειράματα με χρήση εντόμων σε διάφορα είδη ψαριών, όπως του *Tenebrio molitor* σε άτομα τσιπούρας (*Sparus aurata*) (Piccolo *et al.* 2017), *Acheta domesticus* και *Zophobas morio* στο είδος *Perca fluviatilis* (Khalili Tilami *et al.* 2019) και *Oncorhynchus mykiss* (Turek *et al.* 2019). Επίσης έχει γίνει χρήση του *Zophobas morio* σε ιχθύες του είδους *Oreochromis niloticus* (Jabir *et al.* 2012) καθώς και του είδους *Hermetia illucens* σε τσιπούρα (*Sparus aurata*) (Karapanagiotidis I. T. *et al.* 2014).

Ένα από τα είδη εντόμων τα οποία έχουν προσελκύσει σημαντικό ενδιαφέρον ως πηγή θρεπτικών συστατικών τόσο για ανθρώπινη κατανάλωση όσο και για χρήση στις ζωοτροφές είναι το σκαθάρι *Zophobas morio* (F.) (Κολεόπτερα: Tenebrionidae)

(Εικ. 1.1). Το σκαθάρι αυτό, επίσης γνωστός ως superworm ή kingworm εξαιτίας του μεγάλου του μεγέθους, απαντάται σε αφθονία σε τροπικές χώρες και ιδιαίτερα στην Νότια και Κεντρική Αμερική (Park *et al.* 2013). Σαν πηγή θρεπτικών συστατικών χρησιμοποιούνται οι προνύμφες του *Z. morio*, οι οποίες έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (περίπου 47%), σχετικά πολύ ακατέργαστο λίπος (περίπου 40%) και χαμηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες (περίπου 1,4%) (Araujo S. *et al.* 2019). Επίσης, οι προνύμφες του έχουν περίπου 57% περιεκτικότητα σε νερό, ενώ στην αποξηραμένη τους μορφή διαθέτουν χαμηλή περιεκτικότητα σε τέφρα (περίπου 3,5%), Ανάλογα με την τροφή (κυρίως προϊόντα φυτικής προέλευσης) που χορηγείται στις προνύμφες ενδέχεται τα παραπάνω ποσοστά να παρουσιάζουν αποκλίσεις (Van Huis *et al.* 2013).

Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του συγκεκριμένου εντόμου είναι ότι προκειμένου η προνύμφη να εξελιχθεί σε πούπα απαιτεί συνθήκες πλήρους απομόνωσης, σε συνθήκες συνωστισμού δηλαδή δεν ξεκινά η μεταμόρφωσή των προνυμφών σε πούπα. Η συμπεριφορά αυτή οφείλεται στα φαινόμενα κανιβαλισμού που συχνά παρατηρούνται από τις προνύμφες σε βάρος των πουπών (Tschinkel 1981). Οι Tschinkel & Willson (1971) έδειξαν ότι, εάν τεχνητά διατηρούνται σε συνθήκες συνωστισμού, οι προνύμφες αυξάνονται σε μέγεθος και βάρος χωρίς να προχωρούν στο επόμενο στάδιο της μεταμόρφωσής τους.

Λαμβάνοντας υπόψη την υψηλή θρεπτική αξία των προνυμφών του συγκεκριμένου εντόμου, το *Z. morio* συγκεντρώνει αρκετά πλεονεκτήματα σαν πηγή θρεπτικών συστατικών στις ιχθυοτροφές, γεγονός που καθιστά την έρευνα πάνω στην καταλληλότητα του ως συστατικό των ιχθυοτροφών ιδιαίτερα επίκαιρη και σημαντική. Ωστόσο βασικό μειονέκτημα του συγκεκριμένου είδους είναι ότι δεν

συμπεριλαμβάνεται στην λίστα των επιτρεπόμενων εντόμων για παραγωγή ζωοτροφών της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

1.5 Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να συμβάλει στην προσπάθεια εξεύρεσης εναλλακτικών διατροφικών πηγών με βάση τα έντομα για τις ιχθυοκαλλιέργειες. Συγκεκριμένα, στη μελέτη αυτή αξιολογήθηκε η καταλληλότητα του αλεύρου της προνύμφης του σκαθαριού *Z. morio* ως βασικό συστατικό των ιχθυοτροφών για την εκτροφή της τσιπούρας (*Sparus aurata*).



Εικ. 1.1 Προνύμφη και ενήλικο σκαθάρι *Zophobas morio*

2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Πειραματικά σιτηρέσια

Τα σιτηρέσια που χρησιμοποιήθηκαν για τις ανάγκες του πειράματος ήταν τέσσερα και παρήχθησαν με την μέθοδο της κοινής πελλετοποίησης στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος (Πανεπιστήμιό Θεσσαλίας, Βόλος) με τη χρήση πελλετομηχανής τύπου California Pellet Mill (Εικ. 2.1) και ήταν στη μορφή βυθιζόμενου σύμπηκτου διαμέτρου 1,5 mm.



Εικ. 2.1 Πελλετομηχανή τύπου California Pellet Mill

Τα τέσσερα αυτά σιτηρέσια καταρτίστηκαν με τέτοιο τρόπο ώστε να είναι ισοενεργειακά (21,80MJ/Kg) και ισοπρωτεϊνικά (56% της τροφής). Ως βασική πηγή πρωτεΐνης ζωικής προέλευσης χρησιμοποιήθηκε υψηλής ποιότητας ιχθυάλευρο (ολικών πρωτεϊνών 64%). Η τροφή μάρτυρας (FM) περιείχε αποκλειστικά ιχθυάλευρο ως πηγή ζωικής πρωτεΐνης. Για την υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου στις λοιπές πειραματικές τροφές χρησιμοποιήθηκε άλευρο της προνύμφης του εντόμου *Z. morio*

από το οποίο είχε αφαιρεθεί το λίπος. Το σιτηρέσιο FM περιείχε αποκλειστικά ιχθυάλευρο, το σιτηρέσιο ZLF10 περιείχε ιχθυάλευρο σε μικρότερο ποσοστό και ένα ποσοστό εντομάλευρου, τέτοιο ώστε η πρωτεΐνη του τελευταίου να υποκαθιστά την πρωτεΐνη του πρώτου κατά 10%. Αντίστοιχα, στο ZLF20 και στο ZLF30, η υποκατάσταση της πρωτεΐνης ιχθυαλεύρου με πρωτεΐνη εντομάλευρου ήταν της τάξης του 20% και 30%. Στις υποκαταστάσεις με *Z. morio* προστέθηκε λυσίνη και μεθειονίνη ώστε να ικανοποιηθεί το προφίλ αμινοξέων που απαιτεί η διατροφή της τσιπούρας.

Οι προνύμφες του *Z. morio* που χρησιμοποιήθηκαν στο διατροφικό πείραμα προέρχονταν από την εκτροφή του εντόμου στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ενώ ως υπόστρωμα εκτροφής χρησιμοποιήθηκε πίτουρο σιταριού το οποίο ενισχύθηκε με φύραμα ανάπτυξης κοτόπουλων.

Μετά τη συλλογή των προνυμφών, αυτές αποθηκεύτηκαν στους -20 °C μέχρι την έναρξη της επεξεργασίας τους σε μορφή αλεύρου. Ακολούθησε απόψυξη των προνυμφών οι οποίες στην συνέχεια τεμαχίστηκαν (3 τομές). Έπειτα, οι προνύμφες τοποθετήθηκαν ισόποσα σε ταψάκια και ψήθηκαν στον φούρνο στους 60 °C για 10 ώρες. Στις 5 ώρες οι προνύμφες αναμοχλεύτηκαν για καλύτερη αφαίρεση της υγρασίας. Μετά το πέρας των 10 ωρών οι προνύμφες πολτοποιήθηκαν με την χρήση μπλέντερ σε κοκκομετρία <0,5 mm. Επιπλέον, έγινε μείωση του ποσοστού του λίπους του εντομάλευρου στο 3% με τη μέθοδο της εκχύλισης με πετρελαϊκό αιθέρα, διότι το συγκεκριμένο είδος εντόμου περιέχει μεγάλο ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων. Πιο συγκεκριμένα, τοποθετούνταν περίπου 500g εντομάλευρου σε 3L αιθέρα και στη συνέχεια το διάλυμα τοποθετούνταν σε μαγνητικό αναδευτήρα για μια ώρα, σε θερμοκρασία 40°C (Εικ. 2.2). Έπειτα, το μίγμα παρέμενε στον απαγωγό για 24 ώρες

προκειμένου να εξατμιστεί πλήρως ο αιθέρας και να είναι έτοιμο για χρήση. Η διαδικασία της εκχύλισης πραγματοποιήθηκε δύο φορές για κάθε 500g δείγματος.

Στα σιτηρέσια, επίσης χρησιμοποιήθηκε γλουτένη καλαμποκιού (σε ποσοστό περίπου 11-14%) ως πρωτεϊνική πηγή φυτικής προέλευσης και πηγή υδατανθράκων σύμφωνα με τα μέσα επίπεδα χορήγησης φυτικών πρωτεϊνών σε εμπορικές τροφές της τσιπούρας σήμερα. Επιπλέον, η γλουτένη καλαμποκιού ήταν απαραίτητη για την συνεκτικότητα της πελλέτας (ζελατινοποίηση αμύλου). Το άλευρο σίτου και το ηλιάλευρο χρησιμοποιήθηκαν ως ενεργειακές πηγές των τεσσάρων ισοενεργειακών σιτηρεσίων. Ως κύρια πηγή ω_3 και ω_6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων χρησιμοποιήθηκε το ιχθυέλαιο και σε μικρότερο ποσοστό το σογιέλαιο (Πίνακας 2.1).

Μικροσυστατικά που χρησιμοποιήθηκαν με σκοπό τον εμπλουτισμό των τροφών και διατηρήθηκαν σε σταθερές ποσότητες στα τέσσερα διαφορετικά σιτηρέσια ήταν ένα εμπορικό πρόμιγμα βιταμινών και ανόργανων στοιχείων (για τσιπούρα και λαβράκι) με συμμετοχή 0,30% καθώς και οι βιταμίνες E και C σε ποσοστό 0,20% και 0,10% (Πίνακας 2.2). Ακόμα προστέθηκαν συγκεκριμένα αμινοξέα, όπως λυσίνη σε ποσοστό 0,32% (ZLF10), 0,64% (ZLF20) και 0,90% (ZLF30) και μεθειονίνη 0,25% (ZLF10), 0,49% (ZLF20) και 0,70% (ZLF30) για να διασφαλίσουν τυχόν ανεπάρκεια των ιχθυδίων σε αυτά τα στοιχεία. Η χορήγηση της τροφής γίνονταν με το χέρι καθημερινά, 2 φορές την ημέρα και λάμβανε χώρα στις 11 π.μ. και στις 17 μ.μ. Η σίτιση ήταν μέχρι κορεσμού.



Εικ. 2.2 Εκχύλισης με πετρελαϊκό αιθέρα του αλεύρου του *Zorhobas morio*

Πίνακας 2.1: Συστατικά και θρεπτική σύσταση (% επί της νωπής ουσίας) των πειραματικών σιτηρεσίων.

Συστατικά (%)	FM	ZLF10	ZLF20	ZLF30
<i>Zorhobas morio</i> Low Fat	0,00	6,26	12,51	18,76
Ιχθυάλευρο	66,28	60,04	53,37	46,70
Σιτάρι, αλεύρι	8,43	9,46	10,08	11,28
Γλουτένη καλαμποκιού	13,75	13,01	12,38	11,74
Ηλιάλευρο	6,78	6,78	6,78	6,78
Ιχθυέλαιο	8	8	8	8
Σογιέλαιο	3	2,46	2,20	1,50
Βιταμίνες & ανόργανα στοιχεία	0,30	0,30	0,30	0,30
MCP	0,30	0,30	0,30	0,30
Μεθειονίνη	0,00	0,25	0,49	0,70
Λυσίνη	0,00	0,32	0,64	0,90
Βιταμίνη E	0,20	0,20	0,20	0,20
Βιταμίνη C	0,10	0,10	0,10	0,10
ΣΥΝΟΛΟ	107,14	106,91	106,20	105,66

Χημική σύσταση (%)	FM	ZLF10	ZLF20	ZLF30
Υγρασία	6.58	6.53	6.44	6.41
Πρωτεΐνη	56.56	56.55	56.55	56.56
Λίπος	18,16	17.18	16.47	15.33
Υδατάνθρακες	12.77	14.30	15.54	17,23
Τέφρα	12.51	11.78	11.04	10.31
Ενέργεια (KJ/g)	21.80	21.80	21.86	21.83
Ξηρά ουσία	100	100	100	100
Ινώδεις ουσίες	0	0	0	0

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

Πίνακας 2.2: Η σύσταση του προμίγματος βιταμινών και ανόργανων στοιχείων.

Συστατικά	Ποσότητα (mg) / Kg προμίγματος
<u>Βιταμίνες</u>	
Βιταμίνη E (90% α-τοκοφερόλη)	58.333
Βιταμίνη K3	3.333
Βιταμίνη B1	3.333
Βιταμίνη B2	6.666
Βιταμίνη B6	3.333
Βιταμίνη B12	10
Νικοτινικό οξύ	16.666
Παντοθενικό οξύ	13.333
Φολικό οξύ	3.333
Βιοτίνη	100

Βιταμίνη C (μορφή StayC)	33.333
<u>Ανόργανα στοιχεία</u>	
Μαγγάνιο (οξειδίο)	10.000
Ψευδάργυρος (οξειδίο)	33.333
Ιωδιούχο ασβέστιο (62% Ca)	400
Σεληνιώδες νάτριο (1% σελήνιο)	84
Ανθρακικό κοβάλτιο (51% κοβάλτιο)	333
<u>Άλλες ουσίες</u>	
Αντιοξειδωτικό BHT E321	333
Άλευρο για μίξη	416.666

Πίνακας 2.3: Θρεπτική σύσταση (% επί της ξηράς ουσίας) των προνυμφών του είδους του *Z. morio* (Araujo S. *et al.* 2019)

%	<i>Z. morio</i>
Πρωτεΐνη	46,8 ± 1,78
Λίπος	43,64 ± 0,47
Υδατάνθρακες	1,39 ± 0,77
Τέφρα	8,17 ± 0,06

2.2 Αναλύσεις θρεπτικής σύστασης ιχθυοτροφών

2.2.1 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών

Ο προσδιορισμός των ολικών λιπαρών ουσιών στα πειραματικά σιτηρέσια και στον μυϊκό ιστό των ψαριών 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 150ml 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) (Εικ. 2.3). 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:

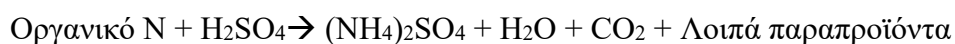
$$\text{Ολικά λιπίδια \%} = (W(g)_{\text{τελικό δοχείο εκχύλισης}} - W(g)_{\text{αρχικό δοχείο εκχύλισης}}) * 100$$



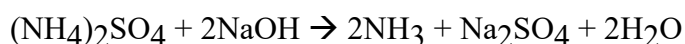
Εικ. 2.3 Συσκευή εκχύλισης λιπαρών ουσιών (συσκευή Soxhlet)

2.2.2 Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ουσιών

Ο προσδιορισμός των ολικών αζωτούχων ουσιών των πειραματικών σιτηρεσιών και του μυϊκού ιστού των ψαριών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC 1995). Η διαδικασία προσδιορισμού των αζωτούχων ενώσεων έχει ως εξής: Σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων ζυγίστηκαν δείγματα τροφών - μυϊκών ιστών βάρους 0,2g (3 επαναλήψεις για κάθε δείγμα) και μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πέψης. Προστέθηκαν 2 ταμπλέτες καταλύτη Kjeltabs (5g Potassium Sulphate K_2SO_4 και 5g copper (II) Sulphate $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) για να επιταχυνθεί η αντίδραση της πέψης. Στην συνέχεια, προστέθηκαν στα δείγματα 15ml πυκνού θειικού οξέως (H_2SO_4) και τοποθετούνται στην συσκευή πέψης Kjeltec 2000 (Εικ. 2.4). Η διαδικασία της πέψης πραγματοποιείται στους $150^\circ C$ για 85min. Με την συσκευή πέψης επιτυγχάνεται το βράσιμο των δειγμάτων και με την βοήθεια του πυκνού θειικού οξέως πραγματοποιείται διάσπαση των αζωτούχων ενώσεων. Το αδέσμευτο άζωτο (N) δεσμεύεται με την μορφή θειικού αμμωνίου (άλας), με την εξής αντίδραση:

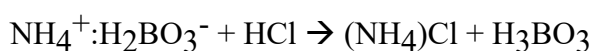


Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία της πέψης τα δείγματα αφήνονται να κρυώσουν για 15min. Κατόπιν, τα δείγματα τοποθετούνται σε συσκευή απόσταξης (Εικ. 2.5), στην οποία προστίθενται 100 ml αποσταγμένου H_2O , 80 ml NaOH και 50 ml H_3BO_3 . Η διαδικασία διαρκεί 6min. Το θειικό αμμώνιο, που είχε παραχθεί κατά την διαδικασία της πέψης, αντιδρά με υδροξείδιο του νατρίου (NaOH) και αποδεσμεύεται αμμωνία (σε αέρια μορφή) και θειικό νάτριο (Na_2SO_4). Η αμμωνία (NH_4) έπειτα αντιδρά με βορικό οξύ (H_3BO_4) και το άζωτο του δείγματος δεσμεύεται σε μορφή βορικού αμμωνίου, σύμφωνα με τις εξής αντιδράσεις:



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

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



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

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



Εικ. 2.4 Συσκευή πέψης Kjeltec 2000



Εικ. 2.5 Συσκευή απόσταξης

2.2.3 Προσδιορισμός τέφρας

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

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

2.2.4 Προσδιορισμός υγρασίας/ξηρής ουσίας

Ο προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας στα πειραματικά σιτηρέσια και στον μυϊκό ιστό των ψαριών πραγματοποιήθηκε με την συλλογή δειγμάτων, αντίστοιχα, βάρους 1,5g και ακολούθως την ξήρανση των δειγμάτων σε φούρνο για 24 ώρες στους

105°C. (AOAC 1995) Στην συνέχεια, αφού πέρασε ο χρόνος ξήρανσης, τα δείγματα βγήκαν από το φούρνο και τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 5min ώστε να ψυχθούν. Το ποσοστό της υγρασίας/ ξηρής ουσίας υπολογίζεται ως εξής:

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

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

Όμοια,

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

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

2.2.5 Προσδιορισμός Ενέργειας

Ο προσδιορισμός της ενέργειας των δειγμάτων έγινε με τη βοήθεια θερμιδόμετρου τύπου βόμβας (καθώς η καύση πραγματοποιείται μέσα σε ένα κλειστό ανοξείδωτο δοχείο αντίστοιχου σχήματος) (Εικ. 2.6). Κατά την πλήρη καύση ενός δείγματος εκλύεται θερμότητα. Η βασική αρχή είναι ότι η θερμότητα που απελευθερώνεται από το θάλαμο καύσεως αυξάνει την θερμοκρασία του νερού θερμαίνοντας με την σειρά του ένα εξωτερικό δοχείο γνωστής θερμοκρασίας. Η αύξηση της θερμοκρασίας του εξωτερικού δοχείου καταγράφεται από ένα θερμόμετρο και έπειτα υπολογίζεται η θερμιδική αξία του περιεχόμενου του δείγματος που κάηκε.

Τα αποτελέσματα δίνονται ηλεκτρονικά σε Kcal/g.



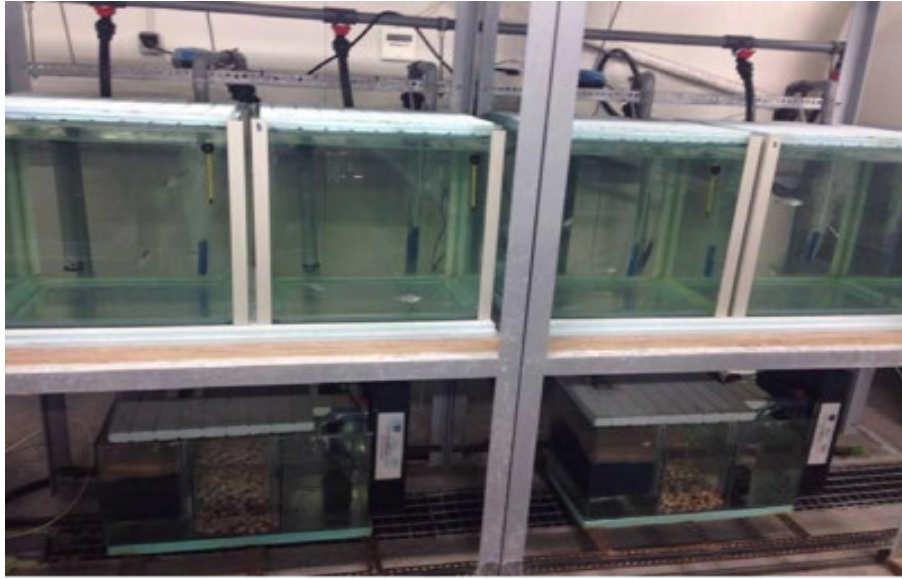
Εικ. 2.6 Θερμιδόμετρο τύπου βόμβας

2.3 Πειραματικός σχεδιασμός-συνθήκες εκτροφής

Στο παρόν πείραμα χρησιμοποιήθηκαν ιχθύδια του είδους *Sparus aurata*, η μεταφορά των οποίων έγινε σε ειδικές συσκευασίες με παροχή οξυγόνου, από τον ιχθυογεννητικό σταθμό «ΣΕΛΟΝΤΑ» που έχει τις εγκαταστάσεις του στη Πελασγία Φθιώτιδος στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος στο Βόλο, όπου πραγματοποιήθηκε το πείραμα. Από τον αρχικό αριθμό ιχθυδίων, 360 τοποθετήθηκαν σε πειραματικές δεξαμενές, όπου αφέθηκαν για 15 ημέρες με σκοπό τον εγκλιματισμό τους στις συγκεκριμένες συνθήκες. Τα ιχθύδια σιτίζονταν μια φορά την ημέρα, ενώ 50 θανατώθηκαν για την πραγματοποίηση

χημικών αναλύσεων τόσο στο σώμα όσο και στο μυϊκό ιστό (αρχικό δείγμα). Το πείραμα διήρκησε συνολικά 61 ημέρες (Ιούνιος – Ιούλιος 2019).

Τα ιχθύδια, μετά τον εγκλιματισμό τους, τοποθετήθηκαν σε δεξαμενές κλειστού κυκλώματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού. Συγκεκριμένα, οι πειραματικές εγκαταστάσεις αποτελούνταν από 12 ενυδρεία (3 ενυδρεία για κάθε σιτηρέσιο) χωρητικότητας 125L το καθένα και ανά δύο ενυδρεία, από ένα σύστημα μηχανικής – βιολογικής διήθησης του νερού (6 συστήματα), για την απομάκρυνση της αμμωνίας, των περιττωμάτων και υπολειμμάτων τροφής (Εικ. 2.7). Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος χρησιμοποιήθηκε νερό βρύσης στο οποίο γινόταν προσθήκη συνθετικού αλατιού ώστε η αλατότητα του νερού να είναι 30‰. Σε καθημερινή βάση πραγματοποιούνταν σιφωνισμός του πυθμένα και αντικατάσταση του νερού έως και 10% του συνολικού όγκου του ενυδρείου. Επίσης, για την νιτροποίηση των αζωτούχων οργανικών ενώσεων, τοποθετούνταν διάλυμα βακτηρίων σε τακτά χρονικά διαστήματα, τόσο στο νερό του ενυδρείου όσο και μέσα στα φίλτρα. Σε όλη τη διάρκεια του πειράματος γινόταν έλεγχος για τις φυσικοχημικές παραμέτρους του νερού. Κάθε εβδομάδα καταγράφονταν μετρήσεις για τη θερμοκρασία του νερού (21 °C), το pH ($8,00 \pm 0,4$), την αλατότητα ($30 \pm 0,5\%$) και το διαλυμένο οξυγόνο ($>6,5$ mg/l) με τη χρήση φορητών ηλεκτρονικών οργάνων. Επιπρόσθετα, σε τακτά χρονικά διαστήματα προσδιορίζονταν η συγκέντρωση της ολικής αμμωνίας ($<0,5$ mg/l), των νιτρικών και νιτρωδών, με τη χρήση εμπορικών test-kits. Η τεχνητή φωτοπερίοδος που εφαρμόστηκε ήταν 12 ώρες φως – 12 ώρες σκότος με την εναλλαγή να πραγματοποιείται στις 08:00 και 20:00, αντίστοιχα. Τα ιχθύδια διαχωρίστηκαν σε 4 διατροφικές ομάδες, όπου η κάθε μία λάμβανε και διαφορετικό σιτηρέσιο (FM, ZLF10, ZLF20, ZLF30). Η κάθε διατροφική ομάδα αποτελούνταν από 90 ιχθύδια, τα οποία κατανεμήθηκαν σε υποομάδες των 30 ατόμων σε 3 ενυδρεία.



Εικ. 2.7 Απεικόνιση των ενυδρείων και των συστημάτων μηχανικής και βιολογικής διήθησης.

2.4 Δειγματοληψίες

Η εκτροφή των ιχθυδίων διήρκησε 61 ημέρες εκτροφής. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου πραγματοποιήθηκαν 3 μετρήσεις βάρους: στην έναρξη του πειράματος, την 32^η (31 ημέρες εκτροφής) και την 62^η ημέρα (61 ημέρες εκτροφής) (Εικ. 2.8). Το μήκος των ιχθύων μετρήθηκε μόνο την πρώτη και την τελευταία ημέρα του πειράματος (62^η) (Εικ. 2.9). Για την αναισθητοποίηση των ψαριών χρησιμοποιήθηκε φαινοξυθανόλη σε συγκέντρωση 0,10 ml/l. Στη συνέχεια, ζυγίστηκε ατομικά κάθε ιχθύδιο σε ζυγό ακριβείας 2 δεκαδικών ψηφίων (0,01 g) και μετρήθηκε το μήκος με ιχθυόμετρο (ακρίβεια 0,1 cm). Ύστερα τα ψάρια τοποθετούνταν σε πλαστικό δοχείο με οξυγονωμένο θαλασσινό νερό όπου και ανακτούσαν τις αισθήσεις τους και επανατοποθετούνταν με απόχη στο ενυδρείο από το οποίο είχε γίνει η εξαλίευσή τους. Στην τελική μέτρηση (62^η ημέρα), τα ψάρια θανατώθηκαν

παρατείνοντας την παραμονή τους στο αναισθητικό αυξανόμενης δοσολογίας και άμεσης τοποθέτησης τους σε πάγο. Πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις βάρους και μήκους και στη συνέχεια επιλέχθηκαν τυχαία 4 ψάρια από κάθε δεξαμενή (12 ανά σιτηρέσιο) αποθηκεύτηκαν και συντηρήθηκαν στους -40°C με σκοπό τη χημική ανάλυση της θρεπτικής σύστασης του σώματος τους (ολόκληρο σώμα).

Στην συνέχεια, ακολούθησε τομή στην κοιλιακή χώρα 4 ατόμων από κάθε δεξαμενή (12 άτομα ανά σιτηρέσιο) με σκοπό την ζύγιση και συλλογή του ήπατος για πραγματοποίηση των χημικών αναλύσεων αυτού (αποθήκευση και ψύξη στους -40°C). Στα ίδια άτομα πραγματοποιήθηκε φιλετοποίηση με σκοπό την χημική ανάλυση του μυϊκού ιστού.



Εικ. 2.8 Μέτρηση βάρους με ζυγό **Εικ 2.9** Μέτρηση μήκους με ιχθυόμετρο
ακριβείας

2.5 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

2.5.1 Θνησιμότητα

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

$$\text{Θνησιμότητα \%} = \frac{(\text{αρχικός αριθμός ψαριών} - \text{τελικός αριθμός ψαριών}) * 100}{\text{αρχικός αριθμός ψαριών}}$$

2.5.2 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:

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

2.5.3 Ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους

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

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

2.5.4 Συνολική κατανάλωση τροφής

Η συνολική κατανάλωση τροφής εκφράζει τη μέση κατανάλωση της τροφής ανά ψάρι κάθε διατροφικής ομάδας και υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Συν. Κατανάλωση} = \frac{\text{ολική κατανάλωση τροφής}}{\text{αριθμός ψαριών (κάθε μεταχείρισης)}}$$

2.5.5 Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

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

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

Όπου,

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

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

2.5.6 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:

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

2.5.7 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:

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

2.5.8 Συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης

Ο συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης (protein retention, PR) εκφράζει την ποσοστιαία μεταβολή της περιεκτικότητας ενός ιστού σε πρωτεΐνη σε συνάρτηση με την ποσότητα διαιτητικής πρωτεΐνης που χορηγήθηκε. Ο συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης υπολογίστηκε για το μυϊκό ιστό των ψαριών σύμφωνα με τη σχέση:

$PR (\%) = 100 \times \text{μεταβολή πρωτεΐνης στον ιστό (g)} / \text{πρωτεΐνη που καταναλώθηκε (g)}$,

Όπου μεταβολή πρωτεΐνης (g) = (τελική περιεκτικότητα πρωτεΐνης, % \times τελικό βάρος, g) - (αρχική περιεκτικότητα πρωτεΐνης, % \times αρχικό βάρος, g)

2.5.9 Συντελεστής διατήρησης λίπους

Ο συντελεστής διατήρησης λίπους (lipid retention, LR) εκφράζει την ποσοστιαία μεταβολή της περιεκτικότητας ενός ιστού σε λίπος σε συνάρτηση με την ποσότητα διαιτητικού λίπους που χορηγήθηκε. Ο συντελεστής διατήρησης λίπους υπολογίστηκε για το μυϊκό ιστό των ψαριών σύμφωνα με τη σχέση:

$LR (\%) = 100 \times \text{μεταβολή λίπους στον ιστό (g)} / \text{λίπος που καταναλώθηκε (g)}$,

Όπου μεταβολή λίπους (g) = (τελική περιεκτικότητα λίπους, % \times τελικό βάρος, g) - (αρχική περιεκτικότητα λίπους, % \times αρχικό βάρος, g)

2.5.10 Σωματομετρικοί δείκτες

Οι σωματομετρικοί δείκτες που υπολογίστηκαν ήταν: ο ηπατοσωματικός δείκτης (Hepatosomatix index, HSI), ο ενδοσπλαχνικός δείκτης (Viscerosomatic index, VSI) και ο δείκτης ευρωστίας (K):

$HSI = \text{Βάρος ήπατος} \times 100 / \text{Βάρος σώματος}$

$VSI = \text{Βάρος εντόσθιων} \times 100 / \text{Βάρος σώματος}$

$$K = \text{Ολικό βάρος σώματος} \times 100 / \text{Ολικό μήκος}^3$$

2.6 Στατιστική ανάλυση

Όλα τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με το πρόγραμμα SPSS και τη μέθοδο της Ανάλυσης της Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (one-way ANOVA) και οι διαφορές κρίθηκαν στατιστικά σημαντικές για τιμές $P < 0,05$.

3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Θνησιμότητα

Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος σημειώθηκαν θνησιμότητες των ιχθυδίων όλων των διατροφικών ομάδων σε ποσοστό 2,5% (9 άτομα στο σύνολο των 360). Πιο συγκεκριμένα (Πιν. 3.1), για την FM διατροφική ομάδα καταγράφηκε ποσοστό θνησιμότητας $2,22 \pm 3,85\%$, για την ZLF10 διατροφική ομάδα $0,0 \pm 0,0\%$, για την ZLF20 $3,33 \pm 3,33$ και τέλος για την ZLF30 διατροφική ομάδα καταγράφηκε ποσοστό θνησιμότητας $4,44 \pm 1,92$. Το ποσοστό θνησιμότητας μεταξύ των τεσσάρων ομάδων δεν παρουσίαζε στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P > 0,05$).

Πίνακας 3.1: Θνησιμότητες (N, αριθμός τελικών ατόμων) και ποσοστό (% του συνολικού αρχικού πληθυσμού). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση.

	Σιτηρέσια			
	FM	ZLF10	ZLF20	ZLF30
N	0,67 \pm 1,15	0,0 \pm 0,0	1,0 \pm 1,0	1,33 \pm 0,58
%	2,22 \pm 3,85	0,0 \pm 0,0	3,33 \pm 3,33	4,44 \pm 1,92

3.2 Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

3.2.1 Κατά την έναρξη του πειράματος

Κατά την έναρξη του διατροφικού πειράματος το αρχικό μέσο βάρος και ολικό μήκος των ιχθυδίων για τα άτομα όλων των διατροφικών ομάδων (FM, ZLF10, ZLF20 και ZLF30) ήταν $3,40 \pm 0,0\text{g}$ και $6,7 \pm 0,0\text{cm}$ αντίστοιχα (Πιν. 3.2).

Πίνακας 3.2: 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.

	FM	ZLF10	ZLF20	ZLF30
Αρχικό Βάρος (g)	3,4 \pm 0,0	3,4 \pm 0,0	3,4 \pm 0,0	3,4 \pm 0,0
Αρχικό μήκος (cm)	6,7 \pm 0,0	6,7 \pm 0,0	6,7 \pm 0,0	6,7 \pm 0,0

Σημ.: Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων, τόσο στο αρχικό βάρος όσο και στο αρχικό μήκος των ψαριών ($P > 0,05$).

3.2.2 Κατά την 32^η ημέρα πειράματος

Το μέσο βάρος των ψαριών κατά την 32^η ημέρα του πειράματος (Πιν.3.3) ήταν 10,01 \pm 0,28g για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο FM, 10,24 \pm 0,76g για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο ZLF10, για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο ZLF20 ήταν 10,10 \pm 0,30g, ενώ για εκείνα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο ZLF30 ήταν 10,45 \pm 0,28g. Τα σωματικά βάρη των ιχθύων των τεσσάρων ομάδων δεν παρουσίαζαν σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$).

Για την 32^η ημέρα του πειράματος η μέση αύξηση του σωματικού βάρους (Πιν. 3.3) ήταν 6,61 \pm 0,28g για τα άτομα της FM μεταχείρισης, 6,84 \pm 0,76g για τα άτομα της ZLF10 μεταχείρισης, 6,70 \pm 0,30g για τα άτομα της ZLF20 μεταχείρισης και για τα άτομα της ZLF30 7,05 \pm 0,28g. Η αύξηση βάρους των ιχθύων των τεσσάρων ομάδων ήταν παρόμοια ($P < 0,05$).

Η συνολική κατανάλωση τροφής των ψαριών έως και την 32^η ημέρα του πειράματος (Πιν. 3.3) ήταν 7,61 \pm 0,12g για τα άτομα της FM διατροφικής ομάδας,

8,24 ± 0,6 g για αυτά της ZLF10 διατροφικής ομάδας, 7,43 ± 0,33g για τα ψάρια της ZLF20 διατροφικής ομάδας και για εκείνα της ZLF30 8,07 ± 0,24g. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων.

Η μέση τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR) (Πιν. 3.3) ήταν 3,48 ± 0,09%/ημέρα για τα ψάρια της διατροφικής ομάδας FM, 3,55 ± 0,25%/ημέρα για τα ψάρια της ZLF10 διατροφικής ομάδας, 3,51 ± 0,1%/ημέρα για τα ψάρια της ZLF20 διατροφικής ομάδας και για εκείνα της ZLF30 3,62 ± 0,09%/ημέρα. Δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων.

Η μέση τιμή για τον συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) (Πιν. 3.3) υπολογίστηκε 1,15 ± 0,06 για τα άτομα της FM διατροφικής ομάδας, 1,21 ± 0,06 για τα άτομα της ZLF10 διατροφικής ομάδας, για τα άτομα που τράφηκαν με το ZLF20 η τιμή του FCR ήταν 1,11 ± 0,08 ενώ για εκείνα που τράφηκαν με το σιτηρέσιο ZLF30 η τιμή ήταν 1,14 ± 0,01. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων.

Η μέση τιμή του συντελεστή αποδοτικότητας των πρωτεϊνών (PER) (Πιν.3.3) ήταν 1,54 ± 0,08 για τα άτομα της διατροφικής ομάδας FM, 1,46 ± 0,07 για τα άτομα της διατροφικής ομάδας ZLF10, για τα άτομα της διατροφικής ομάδας ZLF20 ήταν 1,60 ± 0,11 ενώ για τα άτομα της ομάδας ZLF30 ήταν 1,54 ± 0,02. Δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων.

Πίνακας 3.3: Σωματικό βάρος (g) και αύξηση βάρους (g) των ιχθύων, SGR (%/ημ) και FCR κατά την 32^η ημέρα του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση.

	FM	ZLF10	ZLF20	ZLF30
Σωματικό βάρος (g)	10,01 \pm 0,28	10,24 \pm 0,76	10,10 \pm 0,30	10,45 \pm 0,28
Αυξ. βάρους (WG, g)	6,61 \pm 0,28	6,84 \pm 0,76	6,70 \pm 0,30	7,05 \pm 0,28
Συν. κατανάλωση (g)	7,61 \pm 0,12	8,24 \pm 0,6	7,43 \pm 0,33	8,07 \pm 0,24
SGR (%/ημ.)	3,48 \pm 0,09	3,55 \pm 0,25	3,51 \pm 0,1	3,62 \pm 0,09
FCR	1,15 \pm 0,06	1,21 \pm 0,06	1,11 \pm 0,08	1,14 \pm 0,01
PER	1,54 \pm 0,08	1,46 \pm 0,07	1,60 \pm 0,11	1,54 \pm 0,02

Σημ.: Δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές των τιμών ($P > 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων σε όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν

3.2.3 Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος

Κατά την 62^η ημέρα του διατροφικού πειράματος το μέσο βάρος των ψαριών (Πιν.3.4) ήταν 19,09 \pm 0,53 g για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο FM, 22,04 \pm 1,49 g για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο ZLF10, για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο ZLF20 ήταν 20,72 \pm 1,15 g ενώ για εκείνα που τους χορηγήθηκε το σιτηρέσιο ZLF30 ήταν 20,84 \pm 0,61 g. Η στατιστική επεξεργασία με την μέθοδο one-way ANOVA έδειξε ότι το σωματικό βάρος των ψαριών στο σιτηρέσιο ZLF10 ήταν υψηλότερο σε σχέση με τα υπόλοιπα σιτηρέσια σε αντίθεση με αυτό του σιτηρεσίου FM που ήταν το χαμηλότερο ($P < 0,05$). Στα σιτηρέσια ZLF20 και

ZLF30 το σωματικό βάρος παρουσίασε ενδιάμεσες τιμές που ήταν και παρόμοιες μεταξύ τους.

Η αύξηση του σωματικού βάρους (Πιν. 3.4) για την 62^η ημέρα του πειράματος ήταν $15,69 \pm 0,53$ g για τα άτομα της FM μεταχείρισης, $18,64 \pm 1,5$ g για τα άτομα της ZLF10 μεταχείρισης, $17,32 \pm 1,15$ g για τα άτομα της ZLF20 μεταχείρισης και $17,44 \pm 0,61$ g για εκείνα της ZLF30. Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι η αύξηση του σωματικού βάρους των ψαριών στο σιτηρέσιο ZLF10 ήταν η υψηλότερη σε σχέση με τα υπόλοιπα σιτηρέσια σε αντίθεση με αυτή του σιτηρεσίου FM που ήταν η χαμηλότερη ($P < 0,05$). Στα σιτηρέσια ZLF20 και ZLF30 η αύξηση του σωματικού βάρους παρουσίασε μέτριες τιμές που ήταν και παρόμοιες μεταξύ τους.

Μετά την 62^η ημέρα του πειράματος η συνολική κατανάλωση των ψαριών (Πιν. 3.4) ήταν $18,33 \pm 0,61$ g για τα άτομα της FM διατροφικής ομάδας, $20,81 \pm 1,41$ g για αυτά της ZLF10 διατροφικής ομάδας, $18,21 \pm 1,01$ g για τα ψάρια της ZLF20 διατροφικής ομάδας και $19,82 \pm 0,15$ g για εκείνα της ZLF30. Σύμφωνα με την στατιστική επεξεργασία υπολογίστηκε ότι η συνολική κατανάλωση των ψαριών στο σιτηρέσιο ZLF10 ήταν η υψηλότερη σε σχέση με τα υπόλοιπα σιτηρέσια σε αντίθεση με αυτή του σιτηρεσίου FM και ZLF20 που ήταν οι χαμηλότερες και παρόμοιες μεταξύ τους ($P < 0,05$). Στο σιτηρέσια ZLF30 η συνολική κατανάλωση τροφής παρουσίασε ενδιάμεσες τιμές .

Η μέση τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR) (Πιν. 3.4) ήταν $2,83 \pm 0,04$ %/ημέρα για τα ψάρια της διατροφικής ομάδας FM, $3,06 \pm 0,12$ %/ημέρα για τα ψάρια της ZLF10 διατροφικής ομάδας, $2,96 \pm 0,09$ %/ημέρα για τα ψάρια της ZLF20 διατροφικής ομάδας και $2,97 \pm 0,05$ %/ημέρα για εκείνα της ZLF30. Η στατιστική επεξεργασία με την μέθοδο one-way ANOVA έδειξε ότι η μέση τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR) στο σιτηρέσιο ZLF10 ήταν η υψηλότερη σε σχέση με τα

υπόλοιπα σιτηρέσια σε αντίθεση με αυτή του σιτηρεσίου FM που ήταν η χαμηλότερη ($P < 0,05$). Στα σιτηρέσια ZLF20 και ZLF30 η μέση τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR) παρουσίασε ενδιάμεσες τιμές που ήταν και παρόμοιες μεταξύ τους.

Η μέση τιμή για τον συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) (Πιν. 3.4) υπολογίσθηκε $1,17 \pm 0,08$ για τα άτομα της FM διατροφικής ομάδας, $1,12 \pm 0,02$ για τα άτομα της ZLF10 διατροφικής ομάδας, για τα άτομα που τράφηκαν με το ZLF20 η τιμή του FCR ήταν $1,05 \pm 0,04$ ενώ για εκείνα στα οποία χορηγήθηκε το σιτηρέσιο ZLF30 ήταν $1,14 \pm 0,03$. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων.

Η μέση τιμή του συντελεστή αποδοτικότητας των πρωτεϊνών (PER) (Πιν.3.4) ήταν $1,52 \pm 0,10$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας FM, $1,58 \pm 0,02$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας ZLF10, για τα άτομα της διατροφικής ομάδας ZLF20 ήταν $1,68 \pm 0,06$ ενώ για εκείνα της ZLF30 ήταν $1,56 \pm 0,05$. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων.

Πίνακας 3.4: Σωματικό βάρος (g) και αύξηση βάρους (g) των ιχθύων, SGR (%/ημ) και FCR κατά την 62^η ημέρα του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους ± τυπική απόκλιση.

	FM	ZLF10	ZLF20	ZLF30
Σωματικό βάρος (g)	19,09 ± 0,53 ^b	22,04 ± 1,49 ^a	20,72 ± 1,15 ^{ab}	20,84 ± 0,61 ^{ab}
Αυξ. βάρους (WG, g)	15,69 ± 0,53 ^b	18,64 ± 1,5 ^a	17,32 ± 1,15 ^{ab}	17,44 ± 0,61 ^{ab}
Συν. κατανάλωση (g)	18,33 ± 0,61 ^b	20,81 ± 1,41 ^a	18,21 ± 1,01 ^b	19,82 ± 0,15 ^{ab}
SGR (%/ημ.)	2,83 ± 0,04 ^b	3,06 ± 0,12 ^a	2,96 ± 0,09 ^{ab}	2,97 ± 0,05 ^{ab}
FCR	1,17 ± 0,08	1,12 ± 0,02	1,05 ± 0,04	1,14 ± 0,03
PER	1,52 ± 0,10	1,58 ± 0,02	1,68 ± 0,06	1,56 ± 0,05

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

4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Θνησιμότητα και παράμετροι ανάπτυξης

Με βάση τα αποτελέσματα του πειράματος η μερική υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου με απολιπασμένο άλευρο *Zophobas morio* δεν επηρέασε την επιβίωση των ιχθύων που σιτίστηκαν με αυτά. Επομένως η χρησιμοποίηση του αλεύρου του *Z. morio* στην διατροφή της τσιπούρας μπορεί να θεωρηθεί κατάλληλη, καθώς δεν επηρέασε την υγεία των ιχθύων σε καμία από τις αντικαταστάσεις. Σε αντίστοιχη έρευνα οι Jabir *et al.* (2011) δοκίμασαν την μερική υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου με άλευρο του *Z. morio* σε ποσοστά 0%, 25%, 50% ,75% και 100% για την εκτροφή ιχθυδίων της τιλάπιας του Νείλου (*Oreochromis niloticus*). Με βάση τα αποτελέσματα του πειράματος η θνησιμότητα ήταν μηδενική. Οι Jabir *et al.* (2011) πραγματοποίησαν μία ακόμα έρευνα στην οποία εξετάστηκαν τα διαφορετικά ποσοστά μεθειονίνης (0%, 0,5%, 1,0%, 1,5%) διατηρώντας το ποσοστό αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου με *Z. morio* σε όλα τα σιτηρέσια στο 15%. Οι υψηλότερες θνησιμότητες παρατηρήθηκαν στην μηδενική προσθήκη μεθειονίνης λόγω έλλειψης απαραίτητων αμινοξέων. Οι Tilami *et al.* (2019) πραγματοποίησαν αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με ένα μείγμα αλεύρου εντόμων (*Acheta domestica* 50% και *Z. morio* 50%) σε ποσοστό 25% που χορηγήθηκε σε άτομα του είδους *Perca fluviatilis*. Το πειραματικό σιτηρέσιο έγινε αποδεκτό από τους ιχθύες αφού η θνησιμότητα ήταν παρόμοια με αυτή της χρήσης του ιχθυαλεύρου. Σε ένα άλλο διατροφικό πείραμα χορηγήθηκαν πέντε διαφορετικά ισοθερμικά σιτηρέσια σε ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*). Το πρώτο σιτηρέσιο (Κ μάρτυρας) αποτελούνταν εξολοκλήρου από ιχθυάλευρο, το δεύτερο από ιχθυάλευρο με αντικατάσταση 25% από το είδος *A. domestica* (C), το τρίτο με ιχθυάλευρο με αντικατάσταση 25% από το είδος *Z. morio* (L), το τέταρτο από

ιχθυάλευρο με αντικατάσταση 25% από μίγμα *A. domestica* και *Z. morio* ίσων ποσοτήτων (LC), ενώ το τελευταίο αποτελούνταν μόνο από άτομα των ειδών *A. domestica* και *Z. morio* (I) (σε αναλογία 50/50). Η επιβίωση δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές αν και παρατηρήθηκε υψηλότερη θνησιμότητα στην αντικατάσταση με *Z. morio* (Turek *et al.* 2019). Οι Karapanagiotidis *et al.* (2014) διεξήγαγαν πείραμα στο είδος *S. aurata* που αφορούσε την αντικατάσταση ιχθυαλεύρου σε ποσοστό 0%, 10%, 20% και 30% με άλευρο του είδους *Hermetia illucens*. Όσον αφορά την επιβίωση δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των σιτηρεσιών. Οι Piccolo *et al.* (2017) αντικατέστησαν ιχθυάλευρο με άλευρο εντόμων του είδους *Tenebrio molitor* σε ποσοστά 0%, 25%, 50% το οποίο χορηγήθηκε σε άτομα του είδους *S. aurata*. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα δεν καταγράφηκε θνησιμότητα κατά την διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος. Συμπερασματικά οι υποκαταστάσεις που πραγματοποιήθηκαν δεν επηρέασαν σημαντικά την υγεία των ιχθύων (οι θνησιμότητες ήταν παρόμοιες μεταξύ των σιτηρεσιών του κάθε πειράματος) καθιστώντας τα διάφορα άλευρα εντόμων κατάλληλα ως εναλλακτικά συστατικά των ιχθυοτροφών στο μέλλον.

Στην παρούσα μελέτη, η αύξηση του σωματικού βάρους (WG) και ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR) παρουσίασαν διαφορές μεταξύ των τεσσάρων διατροφικών ομάδων έπειτα από 62 ημέρες πειράματος. Το σιτηρέσιο με ποσοστό αντικατάστασης πρωτεΐνης 10% (ZLF10) οδήγησε σε υψηλότερη αύξηση σωματικού βάρους και ειδικού ρυθμού ανάπτυξης στους ιχθύες που διατράφηκαν με αυτό σε σύγκριση με το σιτηρέσιο ιχθυαλεύρου (FM), αν και η ομάδα μάρτυρας είχε παρόμοια ανάπτυξη με τις ομάδες αντικατάστασης 20% (ZLF20) και 30% (ZLF30). Αυτό οφείλεται στο ότι η ομάδα ZLF10 είχε σημαντικά υψηλότερη κατανάλωση τροφής συγκριτικά με την ομάδα FM, γεγονός που οδήγησε σε υψηλότερη εισροή θρεπτικών και ενέργειας με

αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη αύξηση βάρους στη συγκεκριμένη ομάδα ψαριών. Αυτό, επίσης, εξηγεί και το γεγονός ότι οι άλλες δύο ομάδες ιχθύων που διατράφηκαν με υψηλότερα ποσοστά ενσωμάτωσης του *Z. morio* στο σιτηρέσιο τους είχαν παρόμοια ανάπτυξη με τους ιχθύες της ομάδας FM, μιας και η κατανάλωση τροφής μεταξύ των τριών ομάδων ήταν παρόμοια. Ο λόγος που η ομάδα ZLF10 είχε υψηλότερη κατανάλωση από ότι η ομάδα FM και η ομάδα ZLF20 δεν είναι απολύτως κατανοητός. Όλες οι ομάδες ιχθύων σιτίζονταν σε επίπεδο φαινομένου κορεσμού και άρα η υψηλότερη κατανάλωση της ZLF10 τροφής δείχνει μια προτίμηση σε αυτήν. Το βέβαιο είναι ότι το άλευρο *Z. morio* αποδείχθηκε ελκυστικό για την τσιπούρα μιας και όλες οι τροφές που το περιείχαν αποδέχθηκαν από τα ψάρια εξίσου ή και περισσότερο από εκείνη που περιείχε ιχθυάλευρο. Ωστόσο, με τα παρόντα ευρήματα δεν μπορεί να ερμηνευτεί ο λόγος που οι ιχθύες της ομάδας ZLF10 είχαν υψηλότερη κατανάλωση από εκείνη της ομάδας ZLF20. Πιθανώς, η ατομικότητα των ιχθύων να έπαιξε κάποιο ρόλο. Επίσης, είναι γνωστό ότι μια τροφή που είναι λιγότερο θρεπτική καταναλώνεται περισσότερο από μία πιο πλούσια σε θρεπτικά τροφή. Αν και όλες οι τροφές του πειράματος ήταν ισοπρωτεϊνικές και ισοενεργειακές, μια ενδεχομένως χαμηλότερη πεπτικότητα των τροφών *Z. morio* ή/και πιθανές ελλείψεις απαραίτητων αμινοξέων (π.χ. μεθειονίνης, λυσίνης κ.λπ. Πιν. 4.1) να οδήγησαν σε μια υψηλότερη κατανάλωση τροφής, όπως φάνηκε για τις τροφές ZLF10 και ZLF30.

Όσον αφορά τον συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) και τον συντελεστή αποδοτικότητας πρωτεϊνών (PER), στις επιμέρους αντικαταστάσεις δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αποκλίσεις. Επομένως, τόσο η τροφή όσο και η πρωτεΐνη του *Z. morio* αφομοιώνεται εξίσου καλά με αυτή του ιχθυαλεύρου από το είδος *S. aurata*.

Πίνακας 4.1: Χαρακτηριστική σύσταση των *Z. morio* και του ιχθυαλεύρου σε απαραίτητα αμινοξέα (ως ποσοστό % της πρωτεΐνης) (Barroso *et al.* 2014)

Αμινοξέα (%)	ΕΙΔΗ	
	<i>Z. morio</i>	Ιχθυάλευρο
Αργινίνη	5,72	7,42
Ιστιδίνη	3,87	7,86
Ισολευκίνη	6,36	5,04
Λευκίνη	8,25	7,81
Λυσίνη	5,82	8,78
Μεθειονίνη	0,76	2,93
Φαινυλαλανίνη	5,00	5,38
Θρεονίνη	4,33	6,26
Τρυπτοφάνη	-	-
Βαλίνη	7,55	5,56

Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που γίνεται με τη χρήση του *Z. Morio* στη διατροφή της τσιπούρας. Ο μέχρι σήμερα μικρός αριθμός μελετών που έχει πραγματοποιηθεί σε διαφορετικά είδη ιχθύων, με τη χρήση του εντόμου *Zophobas morio* είναι περιορισμένος.

Οι Jabir *et al.* (2011) δοκίμασαν την μερική υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου με άλευρο εντόμου *Zophobas morio* σε ποσοστά 0%, 25%, 50% ,75% και 100% για την εκτροφή ιχθυδίων της τιλάπιας του Νείλου (*Oreochromis niloticus*). Με βάση τα αποτελέσματα του πειράματος η αύξηση βάρους (WG), ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR), ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) και ο συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών (PER) παρουσίασαν τις βέλτιστες τιμές στις

αντικαταστάσεις 25% και 50%. Οι συγγραφείς κατέληξαν πως οι αντικαταστάσεις 25% και 50% μπορούν να καλύψουν πλήρως τις διατροφικές απαιτήσεις της τιλάπιας.

Οι Jabir *et al.* (2011) πραγματοποίησαν μία ακόμα έρευνα στην οποία εξετάστηκαν τα διαφορετικά ποσοστά μεθειονίνης (0%, 0,5%, 1,0%, 1,5%) διατηρώντας το ποσοστό αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου με *Zophobas morio* σε όλα τα σιτηρέσια στο 15%. Μελετώντας τις παραμέτρους ανάπτυξης παρατηρήθηκε ότι η αύξηση βάρους (WG) ήταν υψηλότερη στις αντικαταστάσεις μεθειονίνης 1% και 1,5%. Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR), ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) και ο συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών (PER) στις αντικαταστάσεις 0,5% και 1% παρουσίασαν τις βέλτιστες τιμές τους. Σύμφωνα με τους συγγραφείς η προσθήκη μεθειονίνης της τάξεως του 0,5 – 1% μπορεί να καλύψει την έλλειψη απαραίτητων αμινοξέων που παρουσιάζει η αντικατάσταση με άλευρο *Zophobas morio*.

Μία ακόμα έρευνα στην όποια πραγματοποιήθηκε αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με ένα μείγμα αλεύρου εντόμων (*Acheta domestica* 50% και *Zophobas morio* 50%) σε ποσοστό 25% που χορηγήθηκε σε άτομα του είδους *Perca fluviatilis*, έδειξε ότι η αύξηση βάρους (WG), ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR) και ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) ήταν καλύτεροι στην ομάδα μάρτυρα ιχθύων (Tilami *et al.* 2019).

Σε ένα άλλο διατροφικό πείραμα χορηγήθηκαν πέντε διαφορετικά ισοθερμικά σιτηρέσια σε ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*). Το πρώτο σιτηρέσιο (Κ μάρτυρας) αποτελούνταν εξολοκλήρου από ιχθυάλευρο, το δεύτερο από ιχθυάλευρο με αντικατάσταση 25% από το είδος *Acheta domestica* (C), το τρίτο με ιχθυάλευρο με αντικατάσταση 25% από το είδος *Zophobas morio* (L), το τέταρτο από ιχθυάλευρο με αντικατάσταση 25% από μίγμα *Acheta domestica* και *Zophobas morio*

ίσων ποσοτήτων (LC), ενώ το τελευταίο αποτελούνταν μόνο από άτομα των ειδών *Acheta domestica* και *Zophobas morio* (I) (σε αναλογία 50/50). Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα του πειράματος παρατηρήθηκε ότι η αύξηση βάρους (WG) ήταν μέγιστη στο σιτηρέσιο (I) ενώ μικρότερη τιμή έλαβε στο σιτηρέσιο με *Zophobas morio*. Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) και ο συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών (PER) παρουσίασαν τις βέλτιστες τιμές τους στο σιτηρέσιο με μηδενική αντικατάσταση, ενώ η μεγαλύτερη απόκλιση παρατηρήθηκε στο σιτηρέσιο (I). Οι συγγραφείς κατέληξαν ότι τόσο το *Acheta domestica* όσο και το *Zophobas morio* μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συστατικό στην διατροφή του είδους *Oncorhynchus mykiss* χωρίς να παρουσιάζουν επιπτώσεις στην ανάπτυξη και επιβίωση των ιχθύων (Turek *et al.* 2019).

Στο παρελθόν έχουν πραγματοποιηθεί και άλλα διατροφικά πειράματα αντικατάστασης των πρωτεϊνών με άλευρο διαφορετικών ειδών εντόμων για το είδος *Sparus aurata*. Πιο συγκεκριμένα οι Karapanagiotidis *et al.* (2015) διεξήγαγαν πείραμα στο είδος *Sparus aurata* που αφορούσε την αντικατάσταση ιχθυαλεύρου σε ποσοστό 0%, 10%, 20% και 30% με την χρήση αλεύρου του είδους *Hermetia illucens*. Μελετώντας τις παραμέτρους ανάπτυξης παρατηρήθηκε ότι η αύξηση βάρους (WG), ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR), ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) και ο συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών (PER) παρουσίασαν τις βέλτιστες τιμές στο σιτηρέσιο με μηδενική αντικατάσταση. Με εξαίρεση την αύξηση βάρους (WG) οι υπόλοιπες παράμετροι δεν είχαν στατιστικά σημαντική απόκλιση με τις άλλες αντικαταστάσεις.

Άλλη μια παρόμοια έρευνα πραγματοποιήθηκε από τους Piccolo *et al.* (2017) στην οποία υπήρξε αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με άλευρο εντόμων του είδους *Tenebrio molitor* σε ποσοστά 0%, 25%, 50% και χορηγήθηκε σε άτομα του είδους *Sparus aurata*.

Με βάση τα αποτελέσματα της έρευνας παρατηρήθηκε ότι οι παράμετροι της αύξησης βάρους (WG), ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR), ο συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής (FCR) και ο συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών (PER) παρουσίασαν τις βέλτιστες τιμές τους στο σιτηρέσιο με αντικατάσταση 25%.

4.2 Συμπεράσματα

Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα από την εκτροφή του είδους *Sparus aurata*, τα σιτηρέσια που ξεχώρισαν ήταν αυτά στα οποία είχε πραγματοποιηθεί μερική αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με άλευρο εντόμου *Zophobas morio*. Οι ιχθύες που διατράφηκαν με άλευρο εντόμου σε ποσοστό 10% παρουσίασαν τον υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης σε σύγκριση με εκείνους που σιτίστηκαν με ιχθυάλευρο, λόγω της υψηλότερης κατανάλωσης τροφής. Η υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από άλευρο *Z. morio* μέχρι 30% δεν οδήγησε σε μειωμένους ρυθμούς ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής από την τσιπούρα, οπότε θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί επιτυχώς στις ιχθυοτροφές του είδους. Η παρούσα μελέτη δείχνει ότι το είδος *Z. morio* θα μπορούσε σε μια μελλοντική επικαιροποίηση του Κανονισμού να ενταχθεί στην λίστα των εντόμων τα οποία επιτρέπεται να χρησιμοποιηθούν στις ιχθυοτροφές. Αυτό το είδος των εντόμων συγκεντρώνει επαρκές προφίλ θρεπτικών συστατικών (πρωτεΐνες, λίπη, υδατάνθρακες), παρουσιάζει υψηλή μετατρεψιμότητα τροφής και μικρότερο περιβαλλοντικό αποτύπωμα σε σύγκριση με άλλες πηγές ζωικής πρωτεΐνης. Επομένως η ενδεχόμενη χρήση τόσο του *Zophobas morio* όσο και άλλων εντόμων από τις ιχθυοκαλλιέργειες θα μπορούσε να συνεισφέρει στην ενίσχυση της βιωσιμότητάς τους καθώς και στην μείωση της αλιευτικής πίεσης που ασκείται στους άγριους ιχθυοπληθυσμούς.

5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Adámková A., Kouřimská L., Borkovcová M., Kulma M., Mlček J. Nutritional values of edible Coleoptera (*Tenebrio molitor*, *Zophobas morio* and *Alphitobius diaperinus*) reared in the Czech Republic. *Potravinarstvo*, vol. 10, 2016, no. 1, p. 663-671 doi:10.5219/609
- Andersen M. S., Waagbo R., Espe M. Functional amino acids in fish health and welfare. *Frontiers in Bioscience, Elite*, 8, 143 – 169, January 1, 2016
- Arru, B., Furesi, R., Gasco, L., Madau, F., & Pulina, P. (2019). The Introduction of Insect Meal into Fish Diet: The First Economic Analysis on European Sea Bass Farming Sustainability, 11(6), 1697. doi:10.3390/su11061697
- Ayoola A.A. (2010). Replacement of Fishmeal with Alternative Protein Sources in Aquaculture Diets. Thesis Degree of Master of Science Faculty of North Carolina State University, North Carolina, USA. DOI: 10.13140/RG.2.2.31506.81606
- Barroso F. G., de Haro C., Sánchez-Muros M. J., Venegas E., Martínez-Sánchez A., Pérez-Bañón C. (2014). The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422–423 193–201
- Bukkens, S. G. F. (1997). *The nutritional value of edible insects. Ecology of Food and Nutrition*, 36(2-4), 287–319. doi:10.1080/03670244.1997.9991521

- Collavo A., Glew R.H., Huang Y.S., Chuang L.T., Bosse R., and Paoletti M.G. (2005). House cricket small-scale farming. In: M.G. Paoletti, editor, Ecological implications of mini livestock: Potential of insects, rodents, frogs and snails. Science Publishers, Enfield, NH. p. 519–544
- Diener, S., Zurbrügg, C., Tockner, K., 2009. Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. Waste Manage. Res. 27, 603–610.
- Dobermann D., Swift J. A., Field L.M. Opportunities and hurdles of edible insects for food and feed. Nutrition Bulletin 42(4):293-308 December 2017
- Finke M. D. (2002). Complete Nutrient Composition of Commercially Raised Invertebrates Used as Food for Insectivores. Zoo Biology 21:269 – 285
- Finke M. D. (2007). Estimate of chitin in raw whole insects. Zoo Biology 26:105–115
- Fontes T. V., Rodrigues Batista de Oliveira K., Gomes Almeida I. L., Orlando T. M., Rodrigues P. B., Vicente da Costa D., Vieira e Rosa P. (2019). Digestibility of Insect Meals for Nile Tilapia Fingerlings. *Animals* 2019, 9(4), 181
- Gołębiowski M., Urbanek A., Pietrzak A., Naczka A. M., Bojke A., Tkaczuk C., Stepnowski P. (2020). Effects of the entomopathogenic fungus *Metarhizium flavoviride* on the fat body lipid composition of *Zophobas morio* larvae (Coleoptera: Tenebrionidae). *The Science of Nature* 107:7

- 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
- Hoffman J.R., Falvo M.J. Protein –Which Is Best? *J Sports Sci Med.* 2004 Sep; 3(3): 118–130
- International Monetary Fund, (2010). International Monetary Fund Primary Commodity Prices
- Jabir M. D. A. R., Razak S. A. and Vikineswary. Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *African Journal of Biotechnology* Vol. 11(24), pp. 6592-6598, 22 March, 2012
- Jabir M. D. A. R., Razak S.A. and Vikineswary S. (2011). Effects of Amino Acid Supplementation in Super Worm Based Diets on Growth Performance and Feed Utilization of Juvenile Nile tilapia. *International Fisheries Symposium 2011*
- Karapanagiotidis I.T., Daskalopoulou E., Vogiatzis I., Rumbos C., Mente E., Athanassiou C.G.. Substitution of fishmeal by fly *Hermetia illucens* prepupae meal in the diet of Gilthead seabream (*Sparus aurata*). *HydroMedit 2014*, November 13-15, Volos, Greece, p 110 - 114
- Khalili Tilami S., Turek J., Červený D., Lepič P., Kozák P., Burkina V., Sakalli S., Noguchi S., Mráz J., Sampels S. (2019). Insect meal as a partial replacement for fish meal in a formulated diet for perch (*Perca fluviatilis*). 8:15945, DOI:10.1038/s41598-018-34232, p 67 – 80

- Kim S. Y., Kim H. G., Song S. H. and Kim N. J. (2015). Developmental characteristics of *Zophobas atratus* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae in different instars. *Int. J. Indust. Entomol.* 30 (2) 45-49
- Lindsay G.J.H., Walton M.J., Adron J.W., Fletcher T.C., Cho C.Y., Cowey C.B. The growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing chitin and its relationship to chitinolytic enzymes and chitin digestibility. *Aquaculture* Volume 37, Issue 4 ,1 April 1984, Pages 315-334
- Makkar H. P.S, Tran G., Heuzé V., Ankers P. (2014). State of the art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 197 1-33
- Médale F., Le Boucher R., Dupont-Nivet M., Quillet E., Aubin J., Panserat S. 2013. Des aliments à base de végétaux pour les poissons d'élevage. *INRA Prod. Anim.*26:303–316
- Mile R.D., Chapman F.A, 2006. The Benefits of Fish Meal in Aquaculture Diets. This document is FA122, one of a series of the Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. First published: May 2006. Reviewed June 2012
- National Research Council (NRC) 1993. Nutrient requirements of fish. Washington, DC: National Academy Press
- Naylor R.L., Hardy D.P. Bureau, Chiu A, Elliott M., Farrell A.P., et al. Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106 (2009), pp. 15103-15110

- Newton, G.L., Sheppard, D.C., Watson, D.W., Burtle, G.J., Dove, C.R., Tomberlin, J.K., Thelen, E.E., 2005. The black soldier fly, *Hermetia illucens* as a manure management/resource recovery tool. In: Symposium on the State of the Science of Animal Manure and Waste Management, San Antonio, TX, USA
- Ng W.K., Liew F.L., Ang L.P. & Wong K.W. Potential of mealworm (*Tenebrio molitor*) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture Research*, 2001, 32 (Suppl. 1), 273 - 280
- Ogunji J.O, Kloas W., Wirth M., Schulz C., Rennert B., 2006. Housefly Maggot Meal (Magmeal): An Emerging Substitute of Fishmeal in Tilapia Diets. Conference on International Agricultural Research for Development: Deutscher Tropentag, Bonn, Germany
- Olsen R.L., Hasan M.R. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends Food Sci. Technol.*, 27 (2) (2012), pp. 120-128
- Oonincx D.G.A.B., de Boer I.J.M. Environmental Impact of the Production of Mealworms as a Protein Source for Humans – A Life Cycle Assessment. *J Sports Sci. Med.* 2004 Sep; 3 (3): 118–130
- Park H.C., Jung B.H., Han T.M., Lee Y.B., Kim S.H., Kim N.J. (2013). Taxonomy of introduced commercial insect, *Zophobas atratus* (Coleoptera; Tenebrionidae) and a comparison of DNA barcoding with similar tenebrionids, *Promethis valgipes* and *Tenebrio molitor* in Korea. *J. Seric Entomol. Sci.* 51(2), 185-190

- Piccolo G., Iaconisi V., Marono S., L. Gasco, Loponte R., Nizza S., Bovera F., Parisi G. (2017). Effect of *Tenebrio molitor* larvae meal on growth performance, in vivo nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Animal Feed Science and Technology* 226 12–20
- Premalatha et al. 2011. Energy-efficient food production to reduce global warming and ecodegradation: The use of edible insects. *Renew Sust Energy Rev* 15, 4357– 4360.
- Quennedey A., Aribi N., Everaerts C., Delbecq J. P. Postembryonic Development of *Zophobas atratus* Fab. (Coleoptera: Tenebrionidae) under Crowded or Isolated Conditions and Effects of Juvenile Hormone Analogue Applications ANDRB. *J. Insect Physiol.* Vol. 41, No. 2, 143-152, 1995.
- Ramos-Elorduy, J. and Conconi, M. 1994. Edible Insects of the World (List of species, places of consumption and ethnos that ingested), 311 Lucknow, India: Fourth Int. Cong. Ethnobiol. Abstracts.
- Ramos-Elorduy, J. 1997. Insects: a sustainable source of food. *Ecology of Food and Nutrition*, 36: 247–276.
- Rumpold B.A., Schlüter O.K. Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* Volume 17, January 2013, Pages 1-11
- Sánchez-Muros M. J., Barroso F. G., Manzano-Agugliaro F. (2014). Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *Journal of Cleaner Production* 65 16-27

- Sánchez-Muros MJ., de Haro A., Sanz C.E. Trenzado S. Villareces, F.G. Barroso F.G. Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. *Aquaculture Nutrition* 2015 doi: 10.1111/anu. 12313
- Sealey et al. 2011. Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia illucens*. *J World Aquacult Soc* 42, 34-45.
- Sheppard et al. 1994. A value added manure management system using the black soldier flies. *Bioresour Technol* 50, 275–279.
- Soares Araújo R.R., dos Santos Benfica T.A.R, Ferraz V.P., Santos E.M. (2019). Nutritional composition of insects *Gryllus assimilis* and *Zophobas morio*: Potential foods harvested in Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis* 76. 22–26
- Stamer A. Insect proteins - a new source for animal feed. The use of insect larvae to recycle food waste in high-quality protein for livestock and aquaculture feeds is held back largely owing to regulatory hurdles. *EMBO Rep* (2015) 16:676-680
- Tacon A.G.J., Metian M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aqua feeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*. 2008; 285:146–158.
- Tschinkel, W. R. & Willson, C. D. (1971). Inhibition of pupation due to crowding in some tenebrionid beetles. *J. exp. Zool*, 176, 137-146
- Tschinkel W. R. (1981). Larval dispersal and cannibalism in a natural population of *Zophobas atratus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Anim. Behav.*, 1981, 29, 990-996

- Turek, J., Sampels S., Tilami K. S., Červený D., Kolářová J., Randak T., Mráz J., Másilko J., Steinbach, C., Burkina V., Kozak P., Zlabek V. (2019). Insects in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feed: effect on growth, fatty acid composition and sensory attributes. Czech Republic, Vodňany, p 81 - 100
- Van Broekhoven S., Oonincx D. G.A.B., Van Huis A., Van Loon J. J.A. Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: Tenebrionidae) on diets composed of organic by products. Journal of Insect Physiology January 2015.
- Van Huis, A., Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., Vantomme, P. (2013). Edible Insects: Future Prospects for Food and Feed Security Vol. 171 Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Van Huis, A., 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. Annu. Rev. Entomol. 58, 563–583
- Van Huis A. (2013). Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. Annual Review of Entomology, 58(1), 563-583. doi 10.1146/annurev-ento-120811-153704
- Zaelor J., Kitthawee S. (2018). Growth response to population density in larval stage of darkling beetles (Coleoptera; Tenebrionidae) *Tenebrio molitor* and *Zophobas atratus*. Agriculture and Natural Resources 52 603

- Μεντέ Ε. και Νέγκας Ι. (2011). Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, σελ. 384 – 386.

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

- —FAO, 2010. The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. FAO, Rome, Italy
- FAO (2014), Food and Agriculture Organization of the United Nations,
- FAO (2014). The state of world fisheries and aquaculture 2014. FAO, Rome.
- FAO (2020), Food and Agriculture Organization of the United Nations

<http://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/gilthead-seabream/faqs/en/>

<http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf>

http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en

- FISHBASE

<http://www.fishbase.org/summary/Sparus-aurata.html>

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the potential use of processed animal proteins from insects and specifically meal of larvae of the superworm *Zophobas morio* as a fishmeal replacement in the diet of gilthead seabream (*Sparus aurata*).

Juvenile sea breams, with initial average weight of 3,4g, were transferred in 12 glass aquariums in a closed seawater circulation system. The temperature was maintained at 21°C, pH 8.00 ± 0.4 and salinity was kept at 30 ± 0.5 ‰. The juveniles were divided into four dietary groups (30 individuals / tank, 3 replicates / dietary group), which were offered four different diets, by hand at satiation, two times per day for 61 days. For the first diet, the protein source was fishmeal (100%). In the other three diets, fishmeal was replaced by *Z. morio* meal protein at 10%, 20% and 30% with the addition of methionine and lysine. All four diets were iso-energetic (21,8 MJ / kg of diet) and iso-nitrogenous (56% of diet).

The partial replacement of fish meal with *Z. morio* meal from 10% to 30% with the addition of the amino acids methionine and lysine did not affect survival, weight gain, SGR, FCR, PER, protein and lipid retention in seabream.

The results of the present study showed that *Z. morio* meal (10% - 30%) supplemented with essential amino acids is a suitable dietary fishmeal replacement for seabream. Further investigation is needed for various species and also in terms of insect meal digestibility in order to ensure the suitability of this animal processed meal for the aquaculture industry.