



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ  
ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Χρήση πρωτεΐνης εντομάλευρων για την υποκατάσταση του  
ιχθυάλευρου στο σιτηρέσιο της τσιπούρας (*Sparus aurata*): Επίδραση  
σε αιματολογικές παραμέτρους»**

**Ζιάννα Θεοδώρα**

**ΒΟΛΟΣ 2022**

### **Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:**

1) Γκολομάζου Ελένη, Επίκουρη Καθηγήτρια, Προστασία - Ευζωία Ιχθύων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιβλέπουσα.

2) Παναγιώτα Παναγιωτάκη, Αν. Καθηγήτρια, Υδατοκαλλιέργειες, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος.

3) Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης, Επ. Καθηγητής, Διατροφή Υδρόβιων Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος.

### **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επιβλέπουσα της εργασίας αυτής, κα Γκολομάζου Ελένη για την πολύτιμη βοήθειά της και τη διαρκή υποστήριξή της, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και τα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου, αποτελούμενη από τους Παναγιωτάκη Παναγιώτα και Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη, για τις χρήσιμες συμβουλές τους και την καθοδήγησή τους καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κα Πανάγου Ασημίνα για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθειά της, κατά τη διάρκεια του μεταπτυχιακού. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες, ο πληθυσμός των ψαριών που εκτρέφονται με σκοπό τη χρήση τους στην παραγωγή ιχθυοτροφών μειώνεται κατακόρυφα, με αποτέλεσμα την προσπάθεια εύρεσης εναλλακτικών πηγών που να μπορούν να υποκαταστήσουν τις τροφές αυτές. Έχουν γίνει μελέτες για την υποκατάσταση ιχθυαλεύρων με εντομάλευρα, τα οποία αποτελούν ιδανική πηγή, τόσο λόγω της υψηλής θρεπτικής αξίας τους, όσο και λόγω του χαμηλού περιβαλλοντικού αποτυπώματος από την εκτροφή τους. Η ενσωμάτωση των αλεύρων εντόμων από την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία στα ιχθυάλευρα προκάλεσε ενδιαφέρον για την περαιτέρω διερεύνηση των ιδιοτήτων τους.

Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε η μερική υποκατάσταση του σιτηρεσίου σε ψάρια του είδους *Sparus aurata* με άλευρο του εντόμου *Zophobas morio*, ένα έντομο το οποίο χρησιμοποιείται ως ζωοτροφή για πτηνά, ερπετά και ψάρια με πλούσια θρεπτική αξία. Συγκεκριμένα, τα ψάρια χωρίστηκαν σε 6 ομάδες: FM, ZLF10, ZLF20, ZLF30, ZFF5 και ZFF10, όπου η FM αποτελεί την ομάδα ελέγχου η οποία τράφηκε με ιχθυάλευρο ως αποκλειστική πηγή ζωικής πρωτεΐνης και αποτέλεσε την τροφή του μάρτυρα, ενώ στις υπόλοιπες έγινε μερική υποκατάσταση σε ποσοστά 5% (ZFF5) και 10% (ZFF10) από εντομάλευρο πλήρους λιπαρών και 10% (ZLF10), 20% (ZLF20) και 30% (ZLF30) από απολιπασμένο εντομάλευρο του είδους *Z. morio*. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις αιματολογικές αναλύσεις έδειξαν ότι οι αιματολογικές παράμετροι δε διέφεραν σημαντικά μεταξύ της ομάδας ελέγχου και των ομάδων με υποκατάσταση, πράγμα που υποδεικνύει ότι η μερική υποκατάσταση των ιχθυαλεύρων από εντομάλευρο του είδους *Z. morio* δεν επιφέρει διαφοροποιήσεις στο αιματολογικό προφίλ της τσιπούρας. Βέβαια, αυτό προϋποθέτει την περαιτέρω έρευνα για την ασφαλή εξαγωγή συμπερασμάτων.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

|                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....                                                                        | 1  |
| 1.1 Η ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ.....                                                 | 2  |
| 1.1.1 ΓΕΝΙΚΑ.....                                                                       | 2  |
| 1.1.2 Η ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ.....                                                 | 6  |
| 1.2 ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ ΣΤΙΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ.....                                  | 9  |
| 1.2.1 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΡΟΦΩΝ.....                                                            | 16 |
| 1.2.2 ΤΑ ΑΛΕΥΡΑ ΕΝΤΟΜΩΝ ΣΤΙΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ.....                                     | 19 |
| 1.2.3 ΙΣΧΥΟΝΤΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΤΡΟΦΩΝ ΣΤΙΣ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ..... | 22 |
| 1.3 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....                                                            | 25 |
| 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....                                                               | 27 |
| 2.1 ΣΙΤΗΡΕΣΙΑ.....                                                                      | 27 |
| 2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΨΑΡΙΑ.....                                                              | 28 |
| 2.3 ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ/ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΕΣ.....                                                      | 28 |
| 3:ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....                                                                     | 29 |
| 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....                                                           | 30 |
| 5: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....                                                                    | 34 |
| 6: ABSTRACT.....                                                                        | 45 |

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ζήτηση για κατάλληλες πηγές θρεπτικών συστατικών που προορίζονται για ιχθυοτροφές, και με τη σταδιακή εξάντληση των μέχρι τώρα χρησιμοποιούμενων τροφών, οδήγησε στη στροφή για εναλλακτικές πηγές, οι οποίες ταυτόχρονα θα συμβάλλουν τόσο στην καλύτερη υγεία των ψαριών, όσο και των ανθρώπων, καθώς επίσης και στη μεγιστοποίηση της αειφορίας στον τομέα των ιχθυοτροφών. Μία πολλά υποσχόμενη ιχθυοτροφή που ικανοποιεί τα παραπάνω κριτήρια αποτελεί η ιχθυοτροφή από εντομάλευρα. Τα έντομα όχι μόνο περιέχουν πολύτιμα θρεπτικά συστατικά αλλά και ιδιαίτερες ενώσεις που φαίνεται να βελτιστοποιούν την υγεία των ψαριών (Wilson, 2011). Τα έντομα αποτελούν μία εναλλακτική λύση για την κάλυψη μέρους των διατροφικών αναγκών των εκτρεφόμενων ψαριών με πλεονεκτήματα, όπως τα υψηλά επίπεδα πρωτεϊνών (έως και 70% της θρεπτικής τους σύστασης), και λίπους (έως και 55%), πηγή απαραίτητων αμινοξέων, βιταμινών και ανόργανων στοιχείων, καθώς επίσης και χαμηλό οικολογικό αποτύπωμα. (Wilson, 2011)

Η δομή της παρούσας εργασίας περιλαμβάνει:

Στο πρώτο κεφάλαιο, αναλύεται το θεωρητικό υπόβαθρο, και αναφέρεται γενικά η ιχθυοκαλλιέργεια στην Ελλάδα, η ιχθυοκαλλιέργεια της τσιπούρας, οι τροφές που χρησιμοποιούνται ως ιχθυοτροφές και η δυνατότητα χρήσης εντομαλεύρων ως εναλλακτική πηγή ιχθυοτροφών.

Στο δεύτερο κεφάλαιο, αναφέρονται τα υλικά και οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό μέρος, κατά το οποίο αναλύθηκαν δείγματα αίματος από τσιπούρες μετά από συγκεκριμένη διατροφή, είτε αποκλειστικά με σιτηρέσιο, είτε με μερική υποκατάστασή του από διάφορα ποσοστά εντομαλεύρου *Zophobas sp.*

Το τρίτο κεφάλαιο περιλαμβάνει τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη μελέτη των αιματολογικών παραμέτρων και την επίπτωση της μεταβολής της διαίτας των ψαριών με υποκατάσταση εντομαλεύρου.

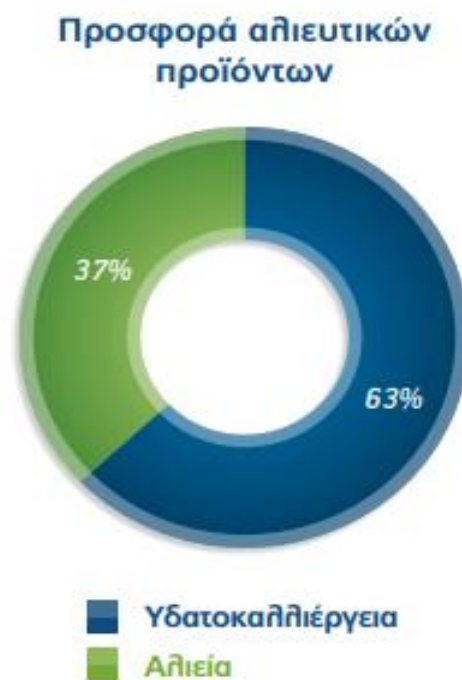
Τέλος, στο τέταρτο κεφάλαιο εξάγονται κάποια συμπεράσματα που αφορούν σε μελλοντικές προοπτικές σχετικά με τις ιχθυοτροφές και γίνονται προτάσεις για περαιτέρω έρευνα.

## **1.1 Η ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ**

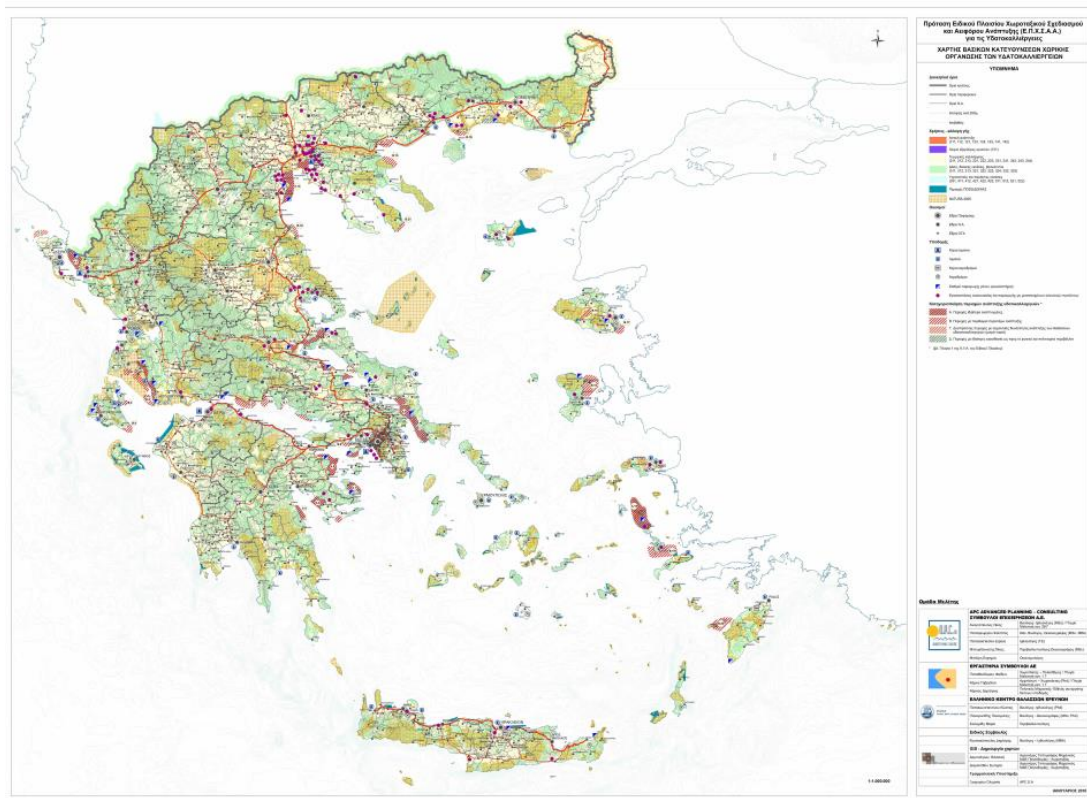
### **1.1.1 ΓΕΝΙΚΑ**

Η ιχθυοκαλλιέργεια είναι ο ταχύτερα αναπτυσσόμενος τομέας παραγωγής τροφίμων στον κόσμο (FAO 2016). Αναπτύσσεται, επεκτείνεται και εντείνεται σχεδόν σε όλες τις περιοχές του κόσμου. Ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξάνεται, επομένως η ζήτηση για υδρόβια τρόφιμα αυξάνεται επίσης. Η παραγωγή από την συλλεκτική αλιεία έχει μειωθεί και οι περισσότερες από τις κύριες αλιευτικές περιοχές έχουν φθάσει στο μέγιστο των δυνατοτήτων τους. (ΣΕΘ 2022) Συνεπώς, η διατήρηση των εφοδίων ψαριών από την αλιεία δεν θα μπορέσει να καλύψει την αυξανόμενη παγκόσμια ζήτηση για υδρόβια τρόφιμα και η υδατοκαλλιέργεια θεωρείται ευκαιρία να γεφυρωθεί το κενό προσφοράς και ζήτησης υδρόβιων τροφίμων στις περισσότερες περιοχές του κόσμου. Ωστόσο, ο τομέας θα αντιμετωπίσει σημαντικές προκλήσεις, καθώς οι βασικές τάσεις ανάπτυξης δείχνουν ότι ο τομέας συνεχίζει να εντείνεται και να διαφοροποιείται και συνεχίζει να χρησιμοποιεί νέα είδη και να τροποποιεί τα συστήματα και τις πρακτικές του. Οι αγορές, οι προτιμήσεις για το εμπόριο και την κατανάλωση επηρεάζουν έντονα την ανάπτυξη του κλάδου, με σαφείς απαιτήσεις για την παραγωγή ασφαλών και ποιοτικών προϊόντων. Κατά συνέπεια, δίνεται όλο και μεγαλύτερη έμφαση στην ενισχυμένη επιβολή των κανονιστικών ρυθμίσεων και στην καλύτερη διακυβέρνηση του τομέα. Γίνεται όλο και περισσότερο αντιληπτό ότι η βιώσιμη ανάπτυξη και η υπεύθυνη παραγωγή υδατοκαλλιέργειας, μακροπρόθεσμα, δεν μπορούν να επιτευχθούν χωρίς την πλήρη συμμετοχή των παραγωγών στη διαδικασία λήψης αποφάσεων και κανονισμών, η οποία οδήγησε σε προσπάθειες για την ενδυνάμωση των αγροτών και των ενώσεών τους προς την αύξηση της αυτορρύθμισης. Αυτοί οι παράγοντες συμβάλλουν όλοι στη βελτίωση της διαχείρισης του τομέα, συνήθως μέσω της προώθησης πρακτικών «καλύτερης διαχείρισης» των παραγωγών (Subasinghe, Soto and Jia, 2009).

Στην Ελλάδα, η ιχθυοκαλλιέργεια αποτελεί έναν πολύ σημαντικό κλάδο του πρωτογενούς τομέα ζωικής παραγωγής για την ελληνική οικονομία, καθώς συμβάλλει στην οικονομική ανάπτυξη και την κοινωνική συνοχή της χώρας. Παρατηρώντας παλαιότερα δεδομένα, η ιχθυοκαλλιέργεια είχε πολύ μικρό ποσοστό της εγχώριας αγοράς (2% το 1980) σε σχέση με την αλιεία (98%). Τα τελευταία διαθέσιμα στοιχεία δείχνουν ότι η υδατοκαλλιέργεια αποτελεί πλέον το 63% των αλιευτικών προϊόντων σε σχέση με την αλιεία (Σχ. 1.1) με τις βασικές υδατοκαλλιέργειες να φαίνονται στην Εικόνα 1.1 (ΣΕΘ, 2020).



**Σχήμα 1.1** Η υδατοκαλλιέργεια καταλαμβάνει το 63% της εγχώριας αγοράς και η αλιεία το 37% (ΣΕΘ, 2020)



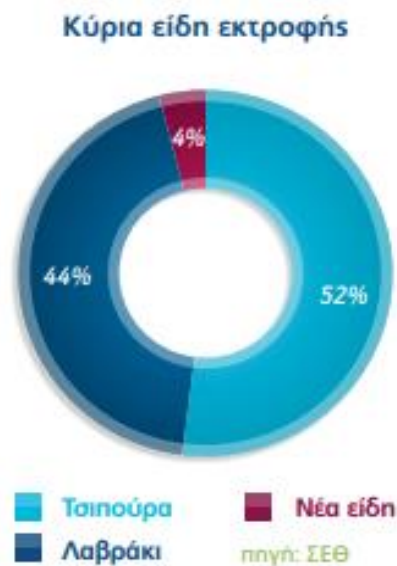
**Εικόνα 1.1** Χάρτης βασικών κατευθύνσεων χωρικής οργάνωσης των υδατοκαλλιεργειών (Υ.Π.Ε.Ν., 2010).

Η ιχθυοκαλλιέργεια χωρίζεται σε: Θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια, Ιχθυοκαλλιέργεια γλυκών υδάτων, Οστρακοκαλλιέργεια και Λιμνοθαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια.

### **Θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια**

Η θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια περιλαμβάνει τα εξής είδη, σύμφωνα με το ΥΠ.Α.Α.Τ.: Τσιπούρα (*Sparus aurata*), Λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*), φαγκρί (*Pagrus pagrus*), μυτάκι (*Diplodus puntazzo*), λυθρίνι (*Pagellus erythrinus*), σαργός (*Diplodus sargus*), συναγρίδα (*Dentex dentex*), μουρμούρα (*Lithognathus mormyrus*), μελανούρι (*Oblada melanura*), μαγιάτικο (*Seriola dumerilli*), ροφός (*Epinephelus marginatus*), κρانيός (*Argyrosomus regius*), μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*), σκυκός (*Sciaena umbra*), η γλώσσα (*Solea solea*) και το καλκάνι (*Psetta maxima*) (APC, 2016). Τα κύρια είδη που εκτρέφονται -σε ποσοστό 96%- είναι η τσιπούρα και το λαβράκι, ενώ τα υπόλοιπα είδη καταλαμβάνουν το 4% της συνολικής παραγωγικής δυναμικότητας της θαλάσσιας ιχθυοκαλλιέργειας (Σχ. 1.2) (ΣΕΘ, 2020).





**Σχήμα 1.2** Τα κύρια είδη εκτροφής θαλάσσιας ιχθυοκαλλιέργειας (ΣΕΘ, 2020)

### **Ιχθυοκαλλιέργεια γλυκών υδάτων**

Αυτός ο τύπος ιχθυοκαλλιέργειας είναι πολύ περιορισμένος στην Ελλάδα, τόσο σε εγχώριο επίπεδο όσον αφορά στον παραγόμενο όγκο, όσο και σε ευρωπαϊκό επίπεδο. Η εκτροφή ψαριών σε γλυκά ύδατα, αφορά είδη όπως η πέστροφα, ο κυπρίνος, το χέλι, ο σολομός και λοιπά είδη, με την πεστροφοκαλλιέργεια να αντιπροσωπεύει το 90% της υπόψη δραστηριότητας (APC, 2016).

### **Οστρακοκαλλιέργεια**

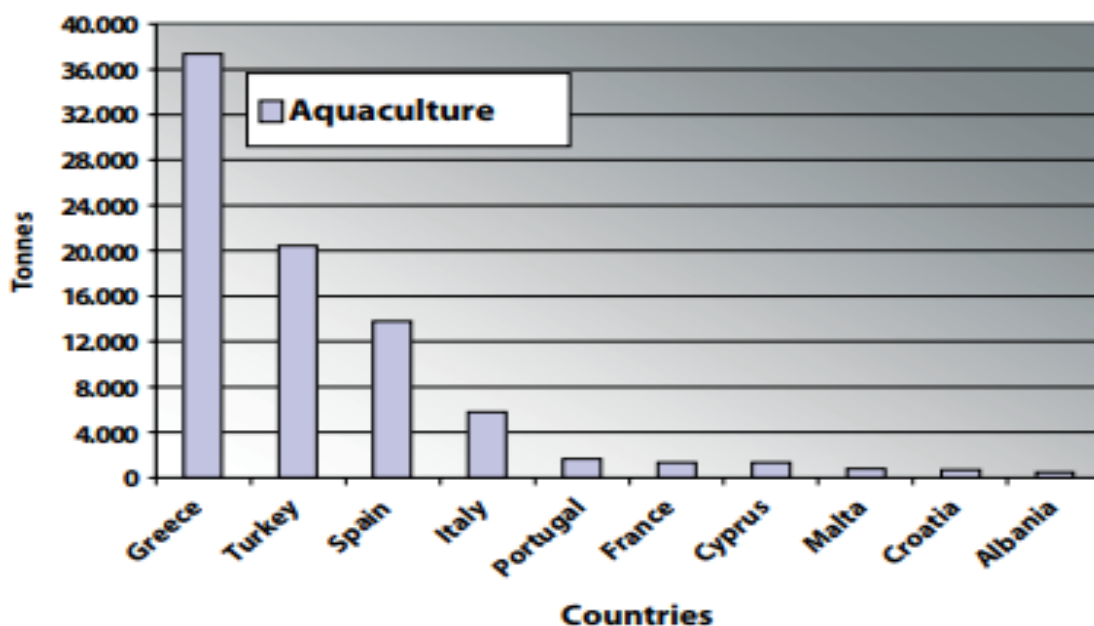
Η εκτροφή οστρακοειδών αποτελεί μια ακόμη δραστηριότητα υδατοκαλλιέργειας εντατικής μορφής ιδιαίτερου ενδιαφέροντος η οποία κατέχει τη δεύτερη θέση σε όγκο παραγωγής, μετά τη θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια, και συναντάται κυρίως στη βόρεια Ελλάδα..

### **Λιμνοθάλασσα εκτατική ιχθυοκαλλιέργεια**

Οι λιμνοθάλασσες αποτελούν παράκτια οικοσυστήματα με άμεση επίδραση από τη θάλασσα και τα εσωτερικά ύδατα. Είναι αποδέκτες θρεπτικών στοιχείων της ενδοχώρας, τα οποία δημιουργούν ευνοϊκές συνθήκες παραγωγικότητας των υδάτων. Τα παραγόμενα είδη είναι κυρίως κέφαλοι, τσιπούρες, λαβράκια, γλώσσες, σπάροι και χέλια (APC, 2016).

### 1.1.2 Η ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ

Οι τσιπούρες καλλιεργούνται εκτατικά σε λιμνοθάλασσες ή εντατικά σε δεξαμενές ή κλουβιά. Σήμερα, η μεγαλύτερη παραγωγή προέρχεται από εντατική γεωργία, με μέσες πυκνότητες 20- 100 kg/m<sup>3</sup>. Στη Μεσόγειο, οι κύριοι παραγωγοί είναι η Ελλάδα, η Τουρκία, η Ισπανία και η Ιταλία (Εικ. 1.2).

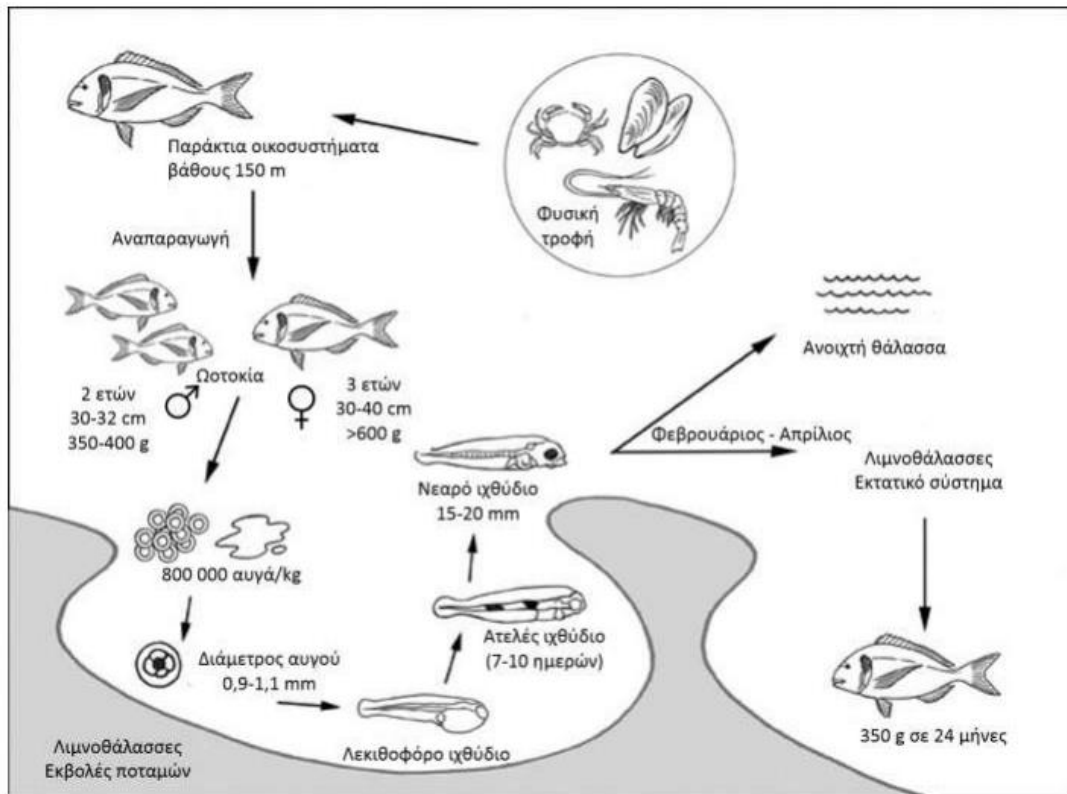


Εικόνα 1.2 Οι σημαντικότερες χώρες παραγωγής στη Μεσόγειο το 2004 (Svásand et al., 2007)

Οι τσιπούρες ζουν μεμονωμένα ή σε ομάδες λίγων ατόμων, είναι ευρύθερμο είδος (το εύρος αντοχής του είναι 4-32 °C) και είναι σαρκοφάγο. Τρέφεται κυρίως με δίθυρα μαλάκια, σκόληκες, γαστερόποδα, καρκινοειδή κ.ά.

Τα χαρακτηριστικά που τις καθιστούν ιδανικές για εντατική εκτροφή είναι η εύκολη προσαρμογή στην αιχμαλωσία, η γρήγορη ανάπτυξη, η ανθεκτικότητα σε μεταβολές της ποιότητας του νερού και η εξαιρετική ποιότητα φιλέτου.

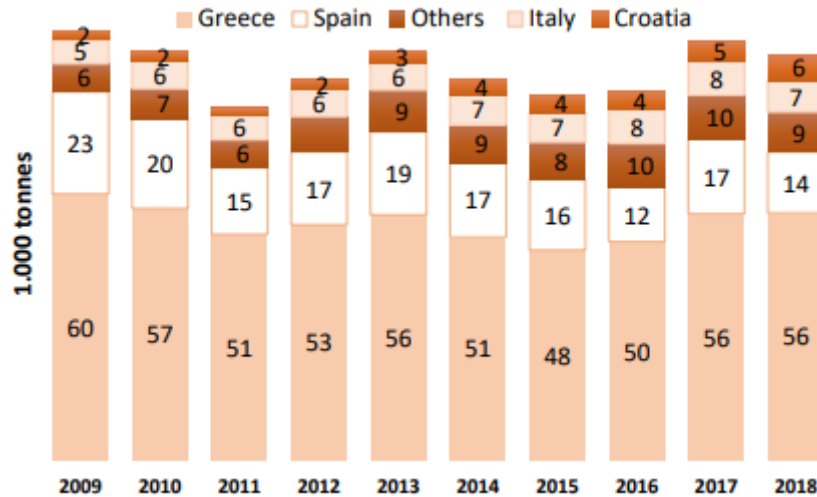
Η αναπαραγωγή τους στις ελληνικές θάλασσες γίνεται Οκτώβριο με Δεκέμβριο στους 13-17 °C σε μεγάλο βάθος. Η εκτατική εκτροφή της τσιπούρας φαίνεται στο Σχήμα 1.4 (Καρακατσούλη, 2015).



**Σχήμα 1.4** Η εκτατική εκτροφή της τσιπούρας (Καρακατσούλη, 2015).

Το 2018, η ΕΕ παρείχε το 40% της παγκόσμιας παραγωγής τσιπούρας *Sparus aurata* (gilthead seabream). Η Ισπανία και η Ελλάδα αποτελούσαν τους κύριους παραγωγούς της ΕΕ (με 76% του συνόλου της ΕΕ).

Σε αντίθεση με την παγκόσμια τάση, η παραγωγή της ΕΕ παρέμεινε σταθερή κατά τη δεκαετία 2009-2018 (EUMOFA, n.d.). σχήμα 1.5



**Σχήμα 1.5** Εξέλιξη της παραγωγής τσιπούρας στην Ε.Ε. (EUMOFA, n.d.)

Μία ιδιαίτερη κατηγορία υδατοκαλλιέργειας, η βιολογική υδατοκαλλιέργεια, έχει προσελκύσει πρόσφατα την προσοχή τόσο των ερευνητών όσο και της βιομηχανίας και των καταναλωτών, λόγω της αύξησης της παραγωγής τη δεκαετία του 1990 που οδήγησε σε ύφεση των τιμών, αυξημένη πυκνότητα αποθέματος, ανεύθυνη χρήση αντιβιοτικών και άλλων χημικών και υποβάθμιση του περιβάλλοντος που οδήγησε σε στροφή προς φιλικές για το περιβάλλον και τα ζώα πρακτικές. Τα βιολογικά παραγόμενα υδρόβια προϊόντα διατίθενται όλο και περισσότερο στους καταναλωτές και, συγκεκριμένα, τα λαβράκια και οι τσιπούρες από πιστοποιημένα αγροκτήματα στην Ελλάδα εξάγονται και διοχετεύονται σε μεγάλες αγορές λιανικής στην Ελλάδα από το 2008 (Perdikaris and Paschos, 2010).

## 1.2 ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ ΣΤΙΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Οι ανάγκες της τσιπούρας σε πρωτεΐνες διαφοροποιούνται ανάλογα με το βιολογικό της στάδιο. Οι ανάγκες των αναπτυσσόμενων ατόμων τσιπούρας (Ζωντανού Βάρους από 1-2 έως 60-70 g) για τη βέλτιστη ανάπτυξη εκτιμώνται στο 50-55%, γεγονός που επιβάλλει τη χρήση πρωτεϊνούχων πρώτων υλών, όπως για παράδειγμα προερχόμενων από το θαλάσσιο περιβάλλον (π.χ. ιχθυάλευρων θαλάσσιων ιχθύων). Ο Πίνακας 1 αναφέρει τα όρια των επιπέδων των αναγκών αναπτυσσόμενων ατόμων τσιπούρας σε αμινοξέα, ενώ ο Πίνακας 2 τις υπολογισθείσες ανάγκες σε πεπτή ενέργεια και πρωτεΐνες τσιπούρας διαφόρων μεγεθών (Παπουτσόγλου, 2008).

**Πίνακας 1.** Προσδιορισθέντα όρια των επιπέδων των αναγκών αναπτυσσόμενων ατόμων τσιπούρας σε απαραίτητα και μη αμινοξέα (Παπουτσόγλου, 2008)

| Αμινοξέα                                   | Ανάγκες (% των πρωτεϊνών της τροφής) |
|--------------------------------------------|--------------------------------------|
| Αργινίνη                                   | 2,5-7,0                              |
| Λυσίνη                                     | 5,0-8,0                              |
| Μεθειονίνη                                 | 3,5-4,0                              |
| Κυστεΐνη                                   | 1,5-2,0                              |
| Τρυπτοφάνη                                 | 0,5-1,0                              |
| Ιστιδίνη                                   | 1,5-3,5                              |
| Ισολευκίνη                                 | 2,5-5,0                              |
| Λευκίνη                                    | 4,5-7,0                              |
| Βαλίνη                                     | 3,0-5,5                              |
| Φαινυλαλανίνη                              | 3,0-4,0                              |
| Τυροσίνη                                   | 3,0-3,5                              |
| Θρεονίνη                                   | 3,0-4,5                              |
| Γλυκίνη                                    | 6,0-7,0                              |
| Γλουταμίνη                                 | 14,0-14,5                            |
| Σερίνη                                     | 4,0-4,5                              |
| Αλανίνη                                    | 6,0-6,5                              |
| Ασπαραγινικό οξύ                           | 10,0-10,5                            |
| Απαραίτητα αμινοξέα/μη απαραίτητα αμινοξέα | ~1,27-1,30                           |

**Πίνακας 2.** Υπολογισθείσες ανάγκες σε πεπτή ενέργεια και πρωτεΐνες τσιπούρας διαφόρων μεγεθών (Παπουτσόγλου, 2008)

| Ανάγκες                   | ΖΒ (g) |       |       |
|---------------------------|--------|-------|-------|
|                           | 10     | 100   | 250   |
| Αύξηση ΖΒ (g/ιχθύ/ημέρα)* | 0,25   | 1,0   | 1,82  |
| ΠΕΣ (kJ/ιχθύ/ημέρα)**     | 1,22   | 8,25  | 17,66 |
| ΠΕΑ (kJ/ιχθύ/ημέρα)***    | 3,33   | 17,36 | 35,19 |
| ΠΕΣ + ΠΕΑ (kJ/ιχθύ/ημέρα) | 4,55   | 25,61 | 52,85 |
| ΠΠΣ (g/ιχθύ/ημέρα)****    | 0,034  | 0,172 | 0,326 |
| ΠΠΑ (g/ιχθύ/ημέρα)*****   | 0,096  | 0,398 | 0,694 |
| ΠΠΣ + ΠΠΑ (g/ιχθύ/ημέρα)  | 0,130  | 0,570 | 1,019 |

| Κατάρτιση σιηρεσίων με 2 επίπεδα ΠΕ  |                    |       |      |      |      |      |
|--------------------------------------|--------------------|-------|------|------|------|------|
| Προδιαγραφές                         | Επίπεδα ΠΕ (MJ/kJ) |       |      |      |      |      |
|                                      | 16                 | 20    | 16   | 20   | 16   | 20   |
| Προσλαμβανόμενη τροφή (g/ιχθύ/ημέρα) | 0,284              | 0,228 | 1,60 | 1,28 | 3,30 | 2,69 |
| Περιεχόμενη ΠΠ (g/kg)                | 455                | 569   | 345  | 432  | 309  | 387  |
| Συντελεστής εκμεταλλεύσεως τροφής    | 1,14               | 0,91  | 1,60 | 1,28 | 1,80 | 1,44 |
| ΠΠ/ΠΕ (g/MJ)                         | 28,5               | 28,5  | 21,6 | 21,6 | 19,3 | 19,3 |

ΠΕΣ: Πεπτή Ενέργεια Συντηρήσεως. ΠΕΑ: Πεπτή Ενέργεια Αναπτύξεως. ΠΠΣ: Πεπτή Πρωτεΐνη Συντηρήσεως. ΠΠΑ: Πεπτή Πρωτεΐνη Αναπτύξεως. ΠΠ: Πεπτή Πρωτεΐνη. ΠΕ: Πεπτή Ενέργεια. \*Υπολογισθέντα επίπεδα. \*\*Απαιτούμενη ΠΕΣ: 55,8 kJ/kg ΖΒ<sup>0,83</sup>/ημέρα. \*\*\*Υπολογισθέντα επίπεδα με συντελεστή αποδόσεως της ενέργειας 0,50. \*\*\*\*Απαιτούμενη ΠΠΣ: 0,86 g/kg ΖΒ<sup>0,70</sup>/ημέρα. \*\*\*\*\*Υπολογισθέντα επίπεδα με συντελεστή αποδόσεως της πρωτεΐνης 0,47.

Ο Πίνακας 3 αναφέρει τα απαραίτητα, ημι-απαραίτητα και μη-απαραίτητα αμινοξέα που πρέπει να περιλαμβάνονται στη διατροφή των ψαριών.

**Πίνακας 3.** Απαραίτητα, μη απαραίτητα και ημι-απαραίτητα αμινοξέα στη διατροφή των ψαριών (Καραπαναγιωτίδης, 2018)

| Απαραίτητα αμινοξέα | Ημι-απαραίτητα και μη-απαραίτητα αμινοξέα |
|---------------------|-------------------------------------------|
| Αργινίνη (Arg)      | Αλανίνη (Ala)                             |
| Ιστιδίνη (His)      | Ασπαραγγίνη (Asn)                         |
| Ισολευκίνη (Ile)    | Ασπार्टικό οξύ (Asp)                      |
| Λευκίνη (Leu)       | Γλουταμίνη (Gln)                          |
| Λυσίνη (Lys)        | Γλουταμινικό οξύ (Glu)                    |
| Μεθειονίνη (Met)    | Γλυκίνη (Gly)                             |
| Φαινυλαλανίνη (Phe) | Προλίνη (Pro)                             |
| Θρεονίνη (Thr)      | Σερίνη (Ser)                              |
| Τρυπτοφάνη (Trp)    | Κυστεΐνη (Cys)                            |
| Βαλίνη (Val)        | Τυροσίνη (Tyr)                            |

Ο Πίνακας 4 αναφέρεται στις θρεπτικές απαιτήσεις του είδους *Sparus aurata* ως ιχθύδιο και ως ενήλικο άτομο.

**Πίνακας 4.** Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους *Sparus aurata* (Παπαϊωάννου και Τσουκαλά, 2020).

| Θρεπτική σύσταση %        | Στάδιο ζωής |               |
|---------------------------|-------------|---------------|
|                           | Ιχθύδια     | Ενήλικα άτομα |
| Πρωτεΐνη                  | 50-60       | 45-50         |
| Λίπος                     | 12-25       | 12-25         |
| Ινώδεις ουσίες            | 1,2         | 1,2           |
| Υδατάνθρακες              | 20          | 20            |
| Πρωτεΐνη/Ενέργεια (mg/kJ) | 20,8-22,4   | 21,5/28,1     |
| Φώσφορος                  | 0,65        | -             |

### 1.2.1 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΡΟΦΩΝ

Ο γόνος και οι ιχθυοτροφές αποτελούν τις κυριότερες πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται για την εκτροφή των ψαριών, καθώς ανεξάρτητα από το μέγεθος και την οργάνωση μιας εταιρείας ιχθυοκαλλιέργειας, αποτελούν έως και το 70% του κόστους παραγωγής. Το υπόλοιπο 30% μοιράζεται ανάλογα με το μέγεθος και την οργάνωση της κάθε εταιρείας σε εργατικά κόστη, αποσβέσεις, στο κόστος διάθεσης και συσκευασίας και σε λοιπές λειτουργικές δαπάνες (ΣΕΘ, 2020).

Οι ιχθυοτροφές είναι μία εμπλουτισμένη φόρμουλα που περιέχει πολλά θρεπτικά συστατικά, ώστε να ανταποκρίνεται στις διατροφικές ανάγκες των εκτρεφόμενων ψαριών. Τα συστατικά που χρησιμοποιούνται στις ιχθυοτροφές είναι κυρίως ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια, δημητριακά, φυτικές πρωτεΐνες, προϊόντα ελαιούχων σπόρων, βιταμίνες και ιχνοστοιχεία τα οποία εξασφαλίζουν την υγεία και ισορροπημένη ανάπτυξη των ψαριών και εν τέλει ένα υψηλής διατροφικής αξίας τελικό προϊόν. Οι βασικές πρώτες ύλες (ιχθυέλαιο και ιχθυάλευρο) εισάγονται στο μεγαλύτερο ποσοστό τους από τη Νότια Αμερική, τη Βόρεια Ευρώπη και την Αφρική (ΣΕΘ, 2020).

Το Σχήμα 1.6 δείχνει τους τύπους των ιχθυοτροφών, ενώ το Σχήμα 1.7 τη χημική τους σύσταση.



Σχήμα 1.6 Τύποι ιχθυοτροφών (Χώτος, 2001).





**Σχήμα 1.7** Χημική σύσταση ιχθυοτροφών (Χώτος, 2001).

Περίπου 28,3 εκατομμύρια μετρικοί τόνοι θαλασσινών που συγκομίστηκαν το 2003, συμπεριλαμβανομένων 5,2 εκατομμυρίων τόνων ιχθυάλευρου, χρησιμοποιήθηκαν για σκοπούς άλλους από την ανθρώπινη κατανάλωση. (Tacon et al. 2006) Περίπου το 46% αυτού του ιχθυάλευρου και περίπου το 81% του ιχθυελαίου που παρήχθη το 2002 πήγε στην υδατοκαλλιέργεια. (Tacon et al. 2006) Δεδομένων των σημερινών ρυθμών ανάπτυξης της υδατοκαλλιέργειας και της αυξανόμενης σημασίας της εντατικής υδατοκαλλιέργειας, οι προβλέψεις είναι για ακόμη υψηλότερες απαιτήσεις για ιχθυάλευρα. Για παράδειγμα, η υδατοκαλλιέργεια σολομού χρησιμοποίησε το 10,3% της παραγωγής ιχθυάλευρων το 2003 και η υδατοκαλλιέργεια γαρίδας χρησιμοποίησε το 12,1% (Tacon et al. 2006). Ωστόσο, τα ιχθυάλευρα είναι περιορισμένος πόρος και τα περισσότερα αποθέματα ψαριών είναι ήδη υπερεκμεταλλεόμενα. Επειδή το άλευρο ψαριών αποτελείται από πολλά είδη που έχουν συλληφθεί, η υπερεκμετάλλευση έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της βιοποικιλότητας. Το ιχθυάλευρο προέρχεται συνήθως από μικρά πελαγικά είδη ψαριών, των οποίων η συγκομιδή μπορεί επίσης να μειώσει την τροφή για παραγωγή για μεγαλύτερα αρπακτικά ψάρια στη θάλασσα. Για τους λόγους αυτούς, η χρήση ιχθυαλεύρων στην υδατοκαλλιέργεια πρέπει να θεωρείται αρνητική επίπτωση της βιομηχανίας. Περίπου 4 έως 5 τόνοι ολόκληρων ψαριών

απαιτούνται για την παραγωγή 1 τόνου ξηρού ιχθυάλευρου. Το Περού παράγει σχεδόν το ένα τρίτο της συνολικής παγκόσμιας προσφοράς ιχθυάλευρου. Άλλες κύριες χώρες παραγωγής ιχθυάλευρων είναι η Χιλή, η Κίνα, η Ταϊλάνδη, οι ΗΠΑ, η Ισλανδία, η Νορβηγία, η Δανία και η Ιαπωνία ( Πίνακας 5).

**Πίνακας 5.** Οι 10 χώρες μεγαλύτερες παραγωγού ιχθυαλεύρων (thefishsite.com)

| <u>Χώρα</u>           | <u>Είδος</u>                     |
|-----------------------|----------------------------------|
| Περού                 | Γαύρος                           |
| Χιλή                  | Γκριζοσαύριδο                    |
| Κίνα                  | Διάφορα είδη                     |
| Ταϊλάνδη              | Διάφορα είδη                     |
| ΗΠΑ                   | Ασπρορέγγα, Μαύρος μπακαλιάρος   |
| ΕΕ                    | Διάφορα είδη                     |
| Ισλανδία και Νορβηγία | Καπελάνος, Ρέγγα, Προσφυγάκι     |
| Δανία                 | Μπακαλιαράκι, Αμμόγελο, Παπαλίνα |
| Ιαπωνία               | Σαρδέλα                          |
| Ν.Αφρική              | Σαρδέλα                          |

Η χρήση ιχθυαλεύρων στην υδατοκαλλιέργεια γίνεται ένα σημαντικό εμπόδιο για τη μελλοντική παραγωγή σε εντατικά συστήματα λόγω του κόστους της ζωοτροφής και της περιορισμένης διαθεσιμότητάς της για μελλοντική επέκταση. Οι ζωοτροφές παράγονται επί του παρόντος χρησιμοποιώντας τα συστατικά του σφαγίου ψαριών που δεν χρησιμοποιούνται για ανθρώπινη κατανάλωση (υποπροϊόντα) για να υποκαταστήσουν το ιχθυάλευρο, με καλή επιτυχία (Diana, 2009).

### **1.2.2 ΤΑ ΑΛΕΥΡΑ ΕΝΤΟΜΩΝ ΣΤΙΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ**

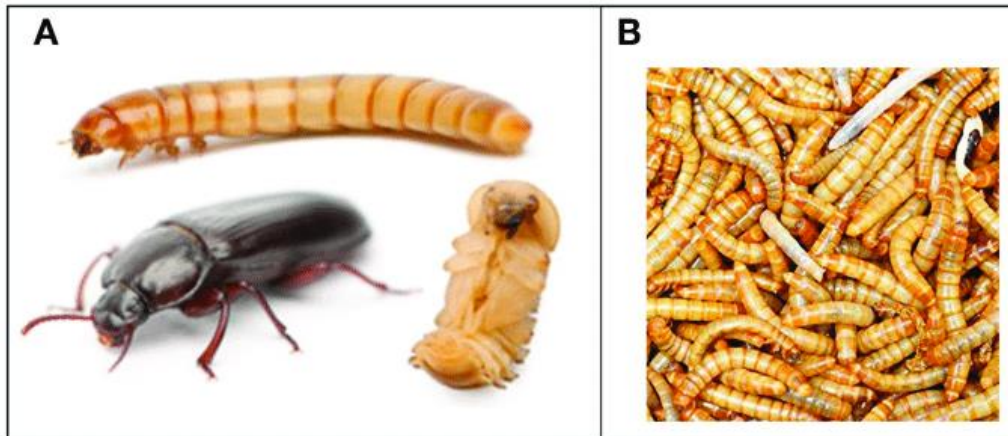
Τα έντομα είναι πολλά υποσχόμενες ζωοτροφές καθώς περιέχουν όχι μόνο πολύτιμα θρεπτικά συστατικά αλλά και ιδιαίτερες ενώσεις που φαίνεται να είναι σε θέση να τροποποιήσουν τη μικροβιακή ζώνη των ζώων και να βελτιστοποιήσουν την υγεία τους. Τα έντομα αποτελούν μία εναλλακτική λύση για την κάλυψη μέρους των

διατροφικών αναγκών των εκτρεφόμενων ψαριών με πλεονεκτήματα, όπως τα υψηλά επίπεδα πρωτεϊνών (έως και 70% της θρεπτικής τους σύστασης), και λίπους (έως και 55%), πηγή απαραίτητων αμινοξέων, βιταμινών και ανόργανων στοιχείων, καθώς επίσης και χαμηλό οικολογικό αποτύπωμα (Καραπαναγιωτίδης, 2018).

Υπάρχουν και άλλες σκέψεις που αφορούν την ανθρώπινη υγεία όταν τα έντομα χρησιμοποιούνται ως ζωοτροφές. Η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά στους ανθρώπους είναι υπεύθυνη για 23.000 και 25.000 θάνατους κάθε χρόνο στις ΗΠΑ και την Ευρώπη, αντίστοιχα, η οποία προκαλείται κυρίως από τη χρήση των αντιβιοτικών στα ζώα: εκτιμάται ότι το 2010 ήταν περίπου 63.000 τόνοι και αναμένεται να αυξηθεί κατά 67% έως το 2030 (HIPRA 2021). Περίπου τα δύο τρίτα των αντιμικροβιακών χημικών είναι που χρησιμοποιούνται στην κτηνοτροφία ως πρόσθετα ζωοτροφών για χημειοθεραπευτικούς και προφυλακτικούς σκοπούς. Η υπερβολική χρήση τους συμβάλλει στην εξάπλωση παθογόνων ανθεκτικών στα φάρμακα τόσο στα ζώα όσο και στον άνθρωπο, αποτελώντας σημαντική απειλή για τη δημόσια υγεία (Gasco et al., 2018).

Στην ιχθυοκαλλιέργεια, τα έντομα ανέρχονται σε μία νέα βιώσιμη εναλλακτική ιχθυοτροφή, δεδομένου ότι τα ιχθυαποθέματα μειώνονται και η τιμή των ιχθυαλεύρων αυξάνεται. Τα τρία είδη εντόμων που έχουν μελετηθεί ευρέως και εντάσσονται στα εγκεκριμένα από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή είδη (ΕΕ 2017/893) είναι:

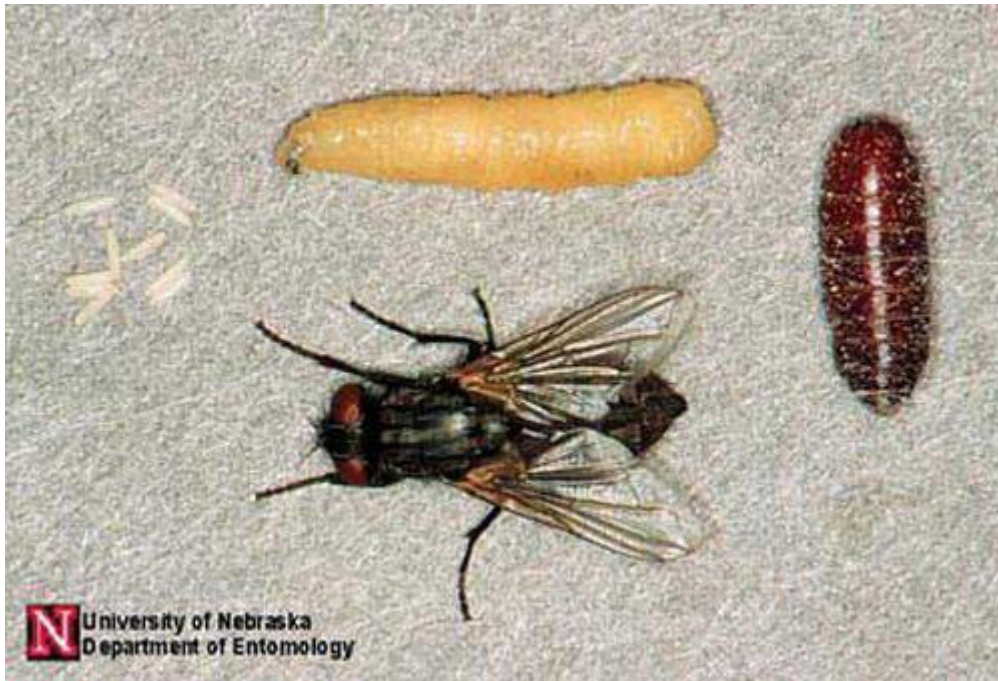
- οι προνύμφες του σκαθαριού του αλευριού (*Tenebrio molitor*, Linnaeus 1758) (Εικόνα 1.3),
- οι προνύμφες της μύγας στρατιώτη (*Hermetia illucens*, Linnaeus 1758) (Εικόνα 1.4) και
- οι προνύμφες της κοινής οικιακής μύγας (*Musca domestica*, Linnaeus 1758) (Εικόνα 1.5).



**Εικόνα 1.3** Προνύμφη του σκαθαριού του αλευριού (*Tenebrio molitor*, Linnaeus 1758) (De Loof and Schoofs, 2019).



**Εικόνα 1.4** Προνύμφη της μύγας στρατιώτη (*Hermetia illucens*, Linnaeus 1758) (van Huis and Ooninx, 2017).



**Εικόνα 1.5** Προνύμφη της κοινής οικιακής μύγας (*Musca domestica*, Linnaeus 1758) (<https://entnemdept.ufl.edu/>)

Τα παραπάνω είδη έχουν μελετηθεί ευρέως λόγω της ισορροπημένης σύστασης αμινοξέων, συγκρίσιμης με αυτήν των ιχθυαλεύρων, καθώς επίσης και λόγω της ικανότητας τους να καταναλώνουν οργανικά απόβλητα παράγοντας υψηλής ποιότητας πρωτεΐνη και συμβάλλοντας στην ανακύκλωση θρεπτικών και στην κυκλική οικονομία.

Σε μελέτη των Μαστοράκη κ.ά. (2019) χρησιμοποιήθηκαν τσιπούρες, με σκοπό τη σύγκριση των ιχθυαλεύρων με τις ιχθυοτροφές προερχόμενες από έντομα *Tenebrio molitor*, *Hermetia illucens* και *Musca domestica* και τις επιδράσεις της χρήσης τους στην αύξηση, στους σωματομετρικούς δείκτες, στην μετατρεψιμότητα και αξιοποίηση της τροφής στην τσιπούρα. Τα συμπεράσματα της παραπάνω έρευνας έδειξαν ότι η υποκατάσταση ιχθυαλεύρου με εντομοάλευρα δεν είχε δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη της τσιπούρας, κάτω από τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες.

Σε άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Lock et al. (2016), σε σολομό του Ατλαντικού, μελετήθηκαν επιλεγμένες παράμετροι θρεπτικών συστατικών μετά από 15 εβδομάδες, με σταδιακή υποκατάσταση ιχθυαλεύρου με εντομοάλευρα 2 ειδών σε βαθμιδωτές περιεκτικότητες (25%,50% και 100%), με αποτελέσματα που διέφεραν ανάλογα με το είδος του εντόμου, σε σχέση με τη διαίτα σκέτου ιχθυαλεύρου. Γενικά,

η μερική υποκατάσταση φαίνεται να είναι δυνατή, ωστόσο επηρεάζεται τόσο από το είδος των ψαριών και το ποσοστό υποκατάστασης, όσο και από το είδος του εντόμου.

Υπάρχουν πολλές μελέτες που χρησιμοποίησαν έντομα στη διατροφή των ιχθύων οι οποίες υπογράμμισαν πιθανά προβλήματα και πρότειναν κάποιες λύσεις, οι οποίες παρουσιάζονται παρακάτω:

### **Μαζική εκτροφή για να αποφευχθεί η τοξικότητα των εντόμων μέσω βιοσυσσώρευσης.**

Πιθανά εμπόδια, όπως η βιοσυσσώρευση εντομοκτόνων, βαρέων μετάλλων και φυσικών τοξινών σε έντομα που συλλέγονται από την άγρια φύση, μπορούν να παρακολουθούνται ευκολότερα στις ρυθμίσεις μαζικής εκτροφής μέσω ελέγχων των υποστρωμάτων εκτροφής τους, ειδικά όταν τα βιολογικά υποπροϊόντα προτείνονται ως διαίτες για τα έντομα. Δεδομένου ότι θα πρέπει να διατίθενται μεγάλες ποσότητες αλεύρων εντόμων πριν οι εταιρείες υδάτινων ζωοτροφών προβλέψουν την ένταξή τους στη ζωοτροφή της αλυσίδας εφοδιασμού, η αλυσίδα εφοδιασμού θα πρέπει να βασίζεται στην εκτροφή των εντόμων σε υπόστρωμα ελεγχόμενης ποιότητας, προκειμένου να αποφευχθεί οποιοδήποτε πιθανό πρόβλημα τοξικότητας. Η μαζική εκτροφή εντόμων έχει εξαπλωθεί σε όλο τον κόσμο, ειδικά για την παραγωγή μεταξιού, δολώματος και τροφών για κατοικίδια (για ψάρια, πουλιά και ερπετά) και για τον βιολογικό έλεγχο των ειδών των παρασίτων. Καθώς οι τιμές των FM αυξάνονται τακτικά, η τιμή του αλεύρου εντόμων που λαμβάνεται από μεγάλες μονάδες παραγωγής, θα μπορούσε πολύ γρήγορα να γίνει ανταγωνιστική.

### **Μείγμα διαιτητικών πρωτεϊνών ή συμπλήρωμα διατροφής για καλύτερες απαιτήσεις.**

Με βάση τις μελέτες για την αντικατάσταση των FM με φυτικές πρωτεΐνες, φαίνεται ότι η χρήση ενός μείγματος διαιτητικών πρωτεϊνών μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη των ελλείψεων που προκαλούνται από τη χρήση ενός μόνο συστατικού. Ορισμένα έντομα, όπως τα *Z. variegatus* και *M. bellicosus*, εμφανίζουν ανεπάρκειες σε απαραίτητα αμινοξέα-AA (μεθειονίνη, λυσίνη και τρυπτοφάνη). Η χρήση ενός μείγματος γευμάτων εντόμων μπορεί να εξισορροπήσει τα AA της διαίτας. Τα γεύματα εντόμων μπορούν επίσης να αναμειχθούν με άλλες πηγές πρωτεΐνης. Η συνολική αντικατάσταση της διαιτητικής πρωτεΐνης FM με ένα μείγμα πρωτεΐνης silkworm pupae-SWP (43%) και κρέας αχιβάδων (31% συμπερίληψη) έδειξε βελτιωμένη χρήση

ζωοτροφών σε σύγκριση με το 54% των FM. Η συμπλήρωση μεταλλικών στοιχείων στη διατροφή μπορεί επίσης να είναι απαραίτητη για την κάλυψη των βασικών αναγκών του ιχθύος, ιδιαίτερα για είδη γλυκού νερού που απαιτούν περισσότερα μέταλλα από είδη θαλασσινού νερού (Henry et al., 2015).

**Βελτίωση των λιπιδίων των εντόμων στις καλύτερες απαιτήσεις.** Τα χερσαία έντομα συνήθως θεωρούνται φτωχά σε HUFA (highly unsaturated fatty acids) για χρήση σε ζωοτροφές θαλάσσιων ψαριών αλλά τα επίπεδα N-3 και N-6 λιπαρών οξέων (Fatty Acids-FA) μπορούν να ενισχυθούν επεμβαίνοντας στη διατροφή των εντόμων. Η τροφοδοσία μερικών προπαρασκευασμένων black soldier fly-BSF (25 ή 50%) με εντόσθια για ένα μήνα οδήγησε σε αύξηση 25-50% της αντικατάστασης του FM στη διατροφή της ιριδίζουσας πέστροφας, χωρίς καμία μείωση ανάπτυξης. Ωστόσο, φαίνεται πιο οικονομικά βιώσιμη η χρήση συστατικών πλούσιων σε n-3 HUFA για την άμεση τροφοδοσία των ψαριών και όχι για τον εμπλουτισμό εντόμων για να τα ταΐσουμε τα ψάρια. Επίσης, η χρήση υδρόβιων εντόμων για τον εφοδιασμό των θαλάσσιων ιχθύων με επαρκείς ποσότητες n-3FAS δεδομένου ότι τα υδρόβια έντομα είναι πιο αρπακτικά από τα συνήθως φυτοφάγα ή παμφάγα χερσαία έντομα και επειδή τρώνε υδρόβιους οργανισμούς πλουσιότερους σε n-3 FA, τα υδρόβια έντομα είναι συνήθως πιο πλούσια σε n-3 HUFA (κυρίως EPA) από τα χερσαία έντομα. Αυτό τα καθιστά καλύτερους υποψήφιους για τη διατροφή θαλασσινών.

Χιτίνη. Συνήθως θεωρείται ότι τα μονογαστρικά ζώα, συμπεριλαμβανομένων των ψαριών, δεν μπορούν να αφομοιώσουν την χιτίνη. Προκειμένου να καταστεί δυνατή η ένταξη της χιτίνης στις ζωοτροφές, θα μπορούσε να αφαιρεθεί από το άλευρο εντόμων μέσω αλκαλικής εκχύλισης. Επίσης, χιτινάση ή/και χιτινολυτικά βακτήρια θα μπορούσαν να προστεθούν σε έντομα που προορίζονται για εντομάλευρα για να βελτιώσουν την πεπτικότητα των συμπλεγμάτων χιτίνης-πρωτεΐνης. Εναλλακτικά, η χιτίνη θα μπορούσε να υποβαθμιστεί με χημικές ή ενζυματικές μεθόδους προτού προστεθεί σε δίαιτες όπως χιτο-ολιγοσακχαρίτες (COS), ακετυλογλυκοζαμίνη (GlcNAc) ή χιτοζάνη. Ωστόσο, αυτές οι διεργασίες θα μπορούσαν να αυξήσουν σημαντικά τις δαπάνες του γεύματος εντόμων (Henry et al., 2015)..

Από την άλλη μεριά, πειράματα ανάπτυξης σχετικά με τη συμπερίληψη εντόμων σε δίαιτες που οδηγούν σε μείωση της ανάπτυξης του ιχθύος και η πεπτικότητα των πρωτεϊνών και των λιπιδίων έχουν συχνά κατηγορήσει την χιτίνη, χωρίς πραγματικά

στοιχεία. Η πέψη της χιτίνης απαιτεί τη δράση 3 ενζύμων, της χιτινάσης, της χιτοβιάσης και της λυσοζύμης, τα οποία είναι παρόντα τόσο σε σαρκοφάγα όσο και σε παμφάγα ψάρια. Η χιτινάση, η οποία έχει βρεθεί στο στομάχι, διαταράσσει τους χιτινούς εξωσκελετούς ενώ η χιτοβιάση, η οποία υπάρχει στο έντερο, παίζει σημαντικό ρόλο στην απορρόφηση θρεπτικών συστατικών. Η παρουσία αυτών των ενζύμων έχει αποδειχθεί τόσο στα ψάρια γλυκού νερού όσο και στα θαλάσσια.

#### **Επεξεργασία αλεύρου εντόμων για βελτίωση της γεύσης και της πεπτικότητας.**

Η χαμηλή γεύση του αλεύρου εντόμων μπορεί να προκληθεί από διαφορετικούς παράγοντες: πιθανή χημική ή μικροβιολογική μόλυνση, παρουσία αντι-θρεπτικών παραγόντων, φλαβονοειδή και τερπενοειδή στη ζωοτροφή των εντόμων και/ή τον πλουτισμό σε μονοακόρεστα FA των χερσαίων εντόμων, γεγονός που τα καθιστά ευαίσθητα στην οξειδωση, με αποτέλεσμα προβλήματα ταγγείας. (Henry et al., 2015) Η ευχάριστη γεύση, η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, η πεπτικότητα και η σύνθεση του γεύματος εντόμων μπορεί να είναι καταλληλότερες για διατροφή μετά από κάποια επεξεργασία του γεύματος, όπως ξήρανση, υδρόλυση, αποσφράγιση ή πάχυνση (Henry et al., 2015).

Ξήρανση του αλεύρου εντόμων: Η ξήρανση στον ήλιο ή στο φούρνο των κίτρινων σκουληκιών, άμεσα ή μετά από βράσιμο σε νερό, έχει βελτιώσει την γεύση τους. Η ξήρανση στο φούρνο συνιστάται συνήθως σε σχέση με την ξήρανση στον ήλιο, καθώς το τελευταίο συνήθως δίνει ένα πιο παχύρευστο γεύμα (με αυξημένο κίνδυνο οξειδωσης των λιπιδίων) που είναι φτωχότερο σε πρωτεΐνες

Αν και η υδρόλυση με χρήση οξέων έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει επιτυχώς την πρωτεΐνη και μειώνει τα λιπιδικά περιεχόμενα του γεύματος εντόμων, μπορεί επίσης να καταστρέψει μερικώς ή εντελώς μερικά AA όπως κυστίνη, μεθειονίνη and τρυπτοφάνη. Η ένωση με μελάσα, οξέα και αντιοξειδωτικά φαίνεται πολλά υποσχόμενη. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, τα βακτήρια προ-χωνεύουν τα συστατικά της τροφής και μετατρέπουν τα σάκχαρα σε οξέα, μειώνοντας έτσι το pH και ανταγωνίζοντας τα βακτήρια που μπορεί να προκαλέσουν αλλοίωση. Η βελτιστοποιημένη ενίσχυση μπορεί να βελτιώσει την ευχάριστη γεύση, όπως φαίνεται στα θηλαστικά, αλλά οι συνθήκες πρέπει να παρακολουθούνται στενά (Henry et al., 2015).

Απολίπανση. Μια πρόσφατη μελέτη για τον σολομό του Ατλαντικού έδειξε ότι η απολιπωμένη BSF, μετά από ξήρανση σε μια συμβατική θερμοκρασία, μείωσε

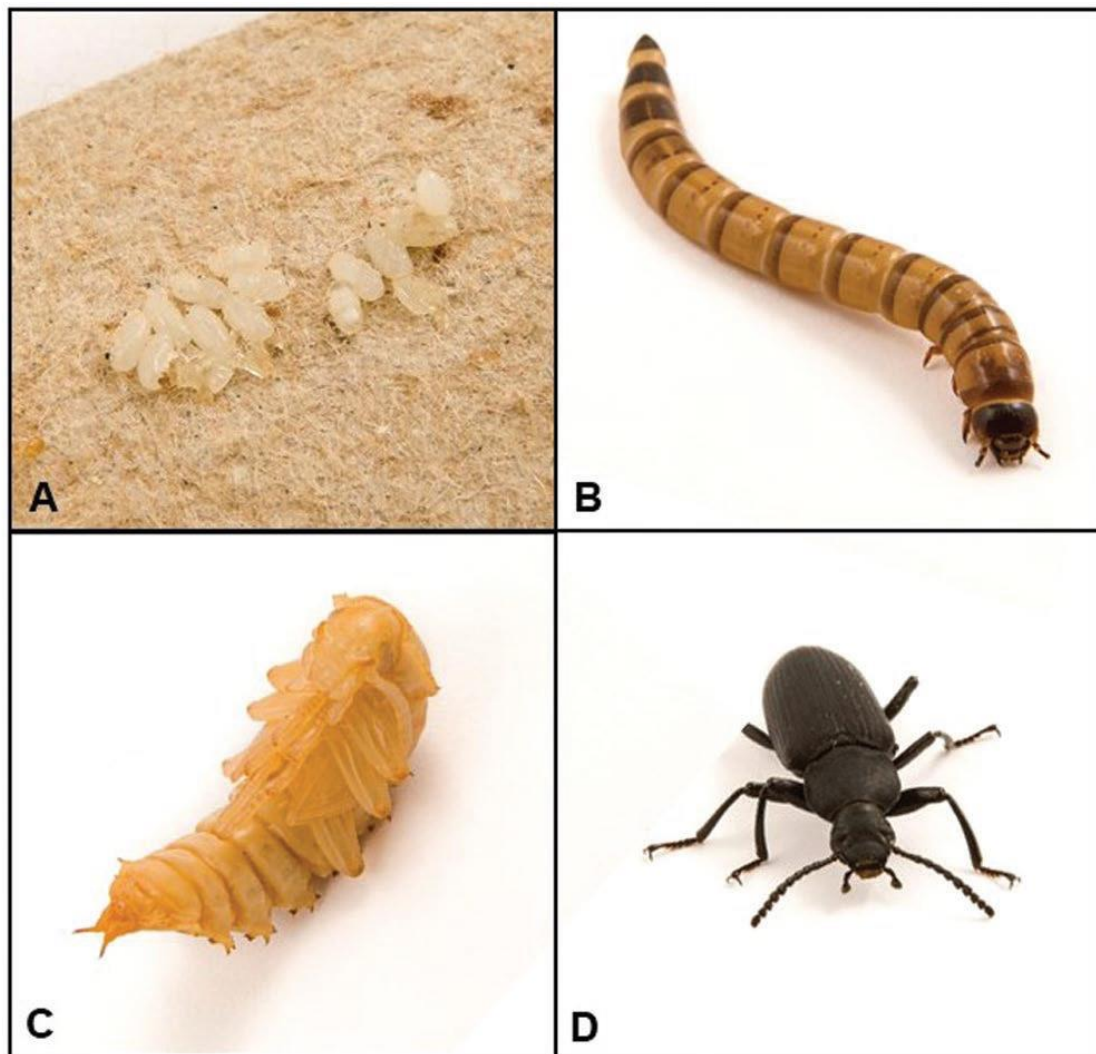


εκπληκτικά την ανάπτυξη του ψαριού σε σύγκριση με το BSF που ήταν ελαφρώς απολιπωμένο με χαμηλή θερμοκρασία. Το πρόβλημα με τα λιπίδια μπορεί να σχετίζεται περισσότερο με την οξείδωσή τους (σε υψηλή θερμοκρασία) σε σχέση με την πραγματική υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια διατροφικά. Η ακαμψία έχει προταθεί ως περιοριστικός παράγοντας στη χρήση λιπαρών τροφών εντόμων, αλλά ορισμένες μελέτες που χρησιμοποιούν το SWP έχουν δείξει καλύτερα αποτελέσματα με μη λιπαρά από ό, τι με λιπαρά έντομα. Προτάθηκε ότι τα λιπόφιλα διεγερτικά ανάπτυξης ενδέχεται να καθούν όταν απολιπανθεί το γεύμα εντόμων. Η προσθήκη αντιοξειδωτικών στο άλευρο εντόμων θα μπορούσε επομένως να αυξήσει την ευχάριστη γεύση και να μειώσει τις αρνητικές επιπτώσεις της περιεκτικότητας σε λιπίδια εντόμων στην ανάπτυξη του. Τα πλεονεκτήματα της επεξεργασίας γεύματος (πεπτικότητα/γεύση) πρέπει να σταθμίζονται έναντι του κόστους της επεξεργασίας, καθώς και της αύξησης της τιμής του τελικού γεύματος εντόμων, η οποία δεν πρέπει να υπερβαίνει τα κέρδη που παρέχει η αύξηση του βάρους του ψαριού (Henry et al., 2015).

### **Το είδος *Zophobas morio***

Το έντομο αυτό ταξινομείται ως εξής:

Φύλο: *Arthropoda*, κλάση: *Insecta*, τάξη: *Coleopteran*, οικογένεια: *Tenebrionidae*, γένος: *Zophobas*, είδος: *Z.morio* (εικόνα1.6)



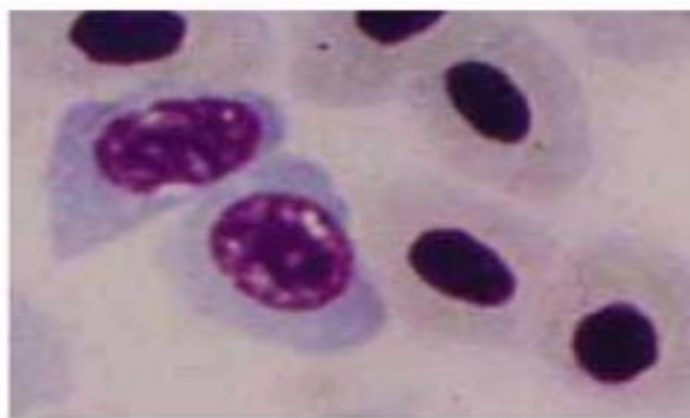
**Εικόνα 1.6 :** Τα στάδια ζωής του *Zophobas morio* (Rumbos et al 2021)1.6

Το είδος *Zophobas* αυτό ανήκει στην κατηγορία των superworms και μελέτη των Jabir et al. (2012) που πραγματοποιήθηκε σε *Oreochromis niloticus* έδειξε ότι μετά από οκτώ εβδομάδες δοκιμών σίτισης, τα ψάρια που τρέφονταν με δίαιτα μερικής υποκατάστασης ιχθυαλεύρων από το εντομάλευρο *Zophobas* κατά 25 και 50% αποκάλυψαν τις υψηλότερες τιμές για την πρόσληψη ζωντανού βάρους, συγκεκριμένους ρυθμούς ανάπτυξης, καλύτερη αναλογία μετατροπής τροφών καθώς και καλύτερη αναλογία απόδοσης πρωτεΐνης.

### 1.2.3 ΙΣΧΥΟΝΤΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΤΡΟΦΩΝ ΣΤΙΣ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ

Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί για τη σύνθεση του αίματος των ιχθύων έχουν παρουσιάσει αντιφατικά αποτελέσματα, προκαλώντας προβλήματα στην ερμηνεία. Ωστόσο, η αιματολογία, σε συνδυασμό με άλλες διαγνωστικές μεθόδους, θα μπορούσε να συμβάλει στην εκτίμηση της κατάστασης της υγείας ενός ψαριού και κατ' επέκταση, στη διάγνωση μιας νόσου. Μερικές από τις βασικές παραμέτρους που μετριοούνται για την αξιολόγηση της κατάστασης των ψαριών παρουσιάζονται παρακάτω:

**RBC (red blood cells):** Τα ερυθροκύτταρα είναι τα περισσότερα κύτταρα στο αίμα των ψαριών και αποτελούν τον πιο ευδιάκριτο τύπο κυττάρων. Περιέχουν αιμοσφαιρίνη και μεταφέρουν το οξυγόνο από τα βράγχια στους ιστούς και το CO<sub>2</sub> από τους ιστούς προς την καρδιά και τα βράγχια. Οι απαιτήσεις των ψαριών σε οξυγόνο ποικίλουν ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης και τις συνθήκες περιβάλλοντος. Ο αριθμός των ερυθροκυττάρων μεταβάλλεται σαν αποτέλεσμα του ενεργειακού κόστους παραγωγής των ερυθρών κυττάρων και της κυκλοφορίας αίματος στους ιστούς

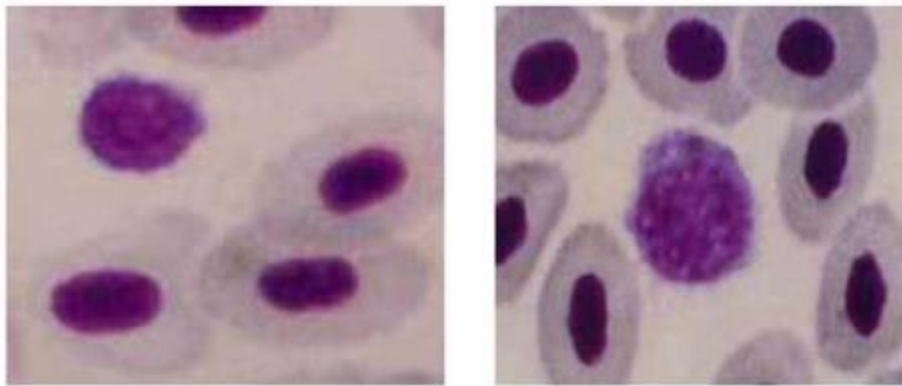


**Εικόνα 1.7** Οξεόφιλοι ερυθροβλάστες και ώριμα ερυθροκύτταρα (Lopez-Ruiz et al., 1992)

**HCT (hematocrit):** ονομάζεται η εκατοστιαία αναλογία του όγκου του αίματος που καταλαμβάνεται από τα ερυθροκύτταρα και αποτελεί δείκτη κατάστασης ενυδάτωσης, αναιμίας ή σοβαρής απώλειας αίματος καθώς και ικανότητας μεταφοράς οξυγόνου. Ο αιματοκρίτης είναι ένας αιματολογικός και μεταβολικός δείκτης δευτερογενούς απόκρισης του στρες.

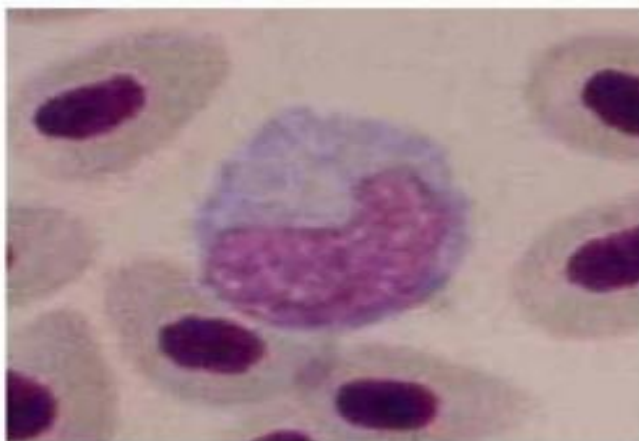
WBC (white blood cells): Τα λευκά αιμοσφαίρια των ψαριών είναι λιγότερα συγκριτικά με τα ερυθροκύτταρα και λειτουργούν με ποικίλους τρόπους προκειμένου να απαλλάξουν το αίμα από διάφορους βλαπτικούς παράγοντες. Μετρήσεις των μεταβολών του συνολικού αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων ή των ποσοστών των διαφόρων τύπων των κυττάρων αυτών οδηγούν συχνά στην αντίληψη μιας παθολογικής κατάστασης. Επίσης, η μεταβολή του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων αποτελούν δείκτη στρες. Οι κύριοι τύποι λευκοκυττάρων είναι τα λεμφοκύτταρα, τα θρομβοκύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα κοκκιοκύτταρα.

Lymphocytes: Τα λεμφοκύτταρα μπορεί να ποικίλουν σε μέγεθος μεταξύ των ειδών των ιχθύων. Πρόκειται για μικρά σφαιρικά κύτταρα, τα οποία διαθέτουν έναν μεγάλο, σφαιρικό, έκκεντρο πυρήνα και ένα ελάχιστο, σε σχήμα λεπτού δακτυλίου, γύρω από τον πυρήνα, κυτταρόπλασμα. Η παρουσία μικρού μεγέθους λεμφοκυττάρων ερμηνεύεται ως το προχωρημένο στάδιο ωριμότητας των κυττάρων αυτών.



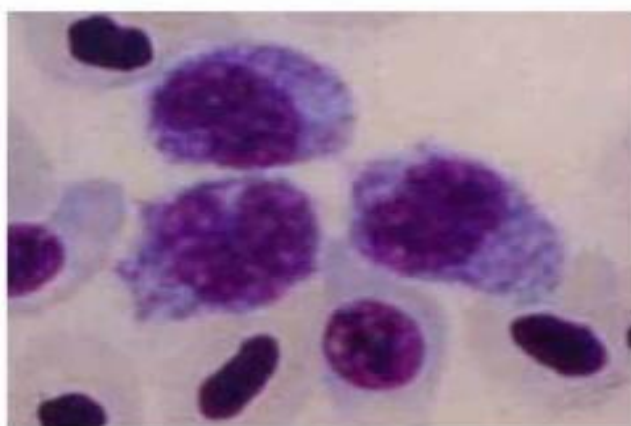
**Εικόνα 1.8** Μικρό και μεγάλο λεμφοκύτταρο σε επίχρισμα αίματος ψαριού με χρώση Giemsa (Lopez-Ruiz et al., 1992)

Monocytes: Τα μονοκύτταρα-μακροφάγα έχουν την εικόνα ενός κυττάρου με μεγάλο, στρογγυλό πυρήνα, νεφροειδούς σχήματος



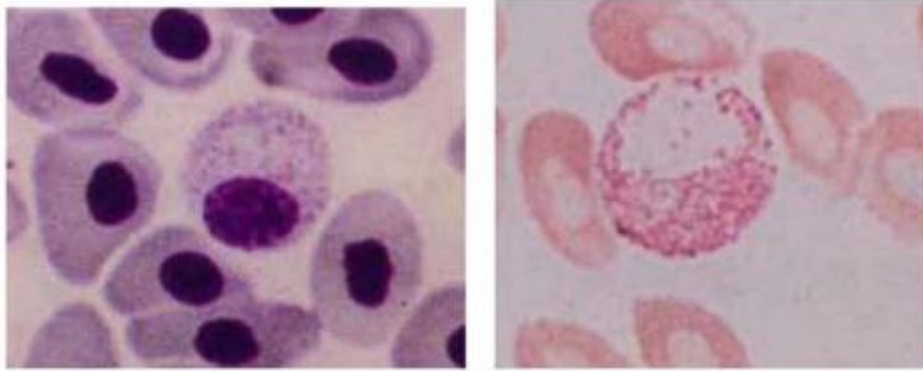
**Εικόνα 1.9** Μονοκύτταρο- μακροφάγο σε επίχρισμα αίματος ψαριού με χρώση Giemsa (Lopez-Ruiz et al., 1992)

Neutrophil: Τα ουδετερόφιλα είναι ωσειδούς ή ακανόνιστης μορφής κύτταρα που ανήκουν στην κατηγορία των κοκκιοκυττάρων μαζί με τα εωσινόφιλα. Διαθέτουν μεγάλο, δίλοβο, συνήθως, πυρήνα, ο οποίος βρίσκεται στο κέντρο του κυττάρου και περιβάλλεται από κυτταρόπλασμα.



**Εικόνα 1.10** Ουδετερόφιλα κοκκιοκύτταρα σε επίχρισμα αίματος ψαριού με χρώση Giemsa (Lopez-Ruiz et al., 1992)

Eosinophil: Τα εωσινόφιλα είναι στρογγυλά κύτταρα με έναν κεντρικό πυρήνα (Τζιρώνη, 2010).



**Εικόνα 1.11** Εωσινόφιλα κοκκιοκύτταρα σε επίχρισμα αίματος ψαριού με χρώση Giemsa και με εωσίνη (Lopez-Ruiz et al., 1992)

### 1.3 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η εύρεση και αξιοποίηση εναλλακτικών πρωτεϊνικών πηγών και ελαίων για πιθανή υποκατάσταση ή και αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου κρίνεται απαραίτητη για την διατήρηση και την ανάπτυξη του κλάδου των υδατοκαλλιεργειών.

Σκοπός της εργασίας ήταν η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο του *Z. morio* και η παρατήρηση και ανάλυση των βιοχημικών και αιματολογικών παραμέτρων των ιχθύων. Σημαντική κρίνεται και η διεύρυνση των επιπέδων αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου για την ευζωία των οργανισμών.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Σιτηρέσια

Το έντομο που χρησιμοποιήθηκε για την υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου είναι το *Zophobas morio*.

Τα δείγματα χωρίστηκαν σε 6 ομάδες, οι οποίες περιελάμβαναν τις εξής κατηγορίες:

- a) FM (Fishmeal), η οποία αποτελούσε την ομάδα ελέγχου, που τρεφόταν αποκλειστικά με ιχθυάλευρο
- b) ZLF10, στην οποία το 10% του ιχθυαλεύρου είχε υποκατασταθεί με εντομάλευρο (*Zophobas Low Fat*)
- c) ZLF20, στην οποία το 20% του ιχθυαλεύρου είχε υποκατασταθεί με εντομάλευρο (*Zophobas Low Fat*)
- d) ZLF30, στην οποία το 30% του ιχθυαλεύρου είχε υποκατασταθεί με εντομάλευρο (*Zophobas Low Fat*)
- e) ZFF5, στην οποία το 5% του ιχθυαλεύρου είχε υποκατασταθεί με εντομάλευρο (*Zophobas Full Fat*)
- f) ZFF10, στην οποία το 10% του ιχθυαλεύρου είχε υποκατασταθεί με εντομάλευρο (*Zophobas Full Fat*)

Για την παρασκευή των γευμάτων FF και LF, προνύμφες όψιμης ηλικίας συλλέχθηκαν, ξηράθηκαν στους 60°C για 12 ώρες και αλέστηκαν, για να φτιαχτεί το γεύμα FF ZM που αποτελούνταν από 11,9 % υγρασία, 41,0 % ακατέργαστη πρωτεΐνη, 39,7 % ακατέργαστο λιπίδιο και 27,2 kJ/g ακαθάριστη ενέργεια. Ενώ άλλη παρτίδα του FF ZM απολιπάνθηκε χρησιμοποιώντας εκχύλιση πετρελαϊκού αιθέρα στους 40 °C για 3 ώρες (Horwitz and Latimer, 2016) για να παραχθεί ένα γεύμα LF ZM που περιείχε 5,4 % υγρασία, 69,4 % ακατέργαστη πρωτεΐνη, 3,8 % και ακατέργαστα λιπίδια 7. kJ/g μικτή ενέργεια.

### 2.2 Πειραματικά ψάρια

Ελήφθησαν δείγματα αίματος από 27 ψάρια του είδους *Sparus aurata* από τα οποία προέκυψαν 54 πλακίδια.

Το πείραμα έλαβε χώρα στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Οι ιχθύες που χρησιμοποιήθηκαν ανήκαν στο είδος *Sparus aurata* και είχαν μέσο βάρος 200gr . Την πρώτη εβδομάδα οι ιχθύες αφέθηκαν να εγκλιματιστούν στα ενυδρεία των εγκαταστάσεων του πανεπιστημίου όπου και ταΐζονταν με τροφή του εμπορίου. Για την έρευνα χρησιμοποιήθηκαν έξι διαφορετικές τροφές, η εμπορική τροφή που χρησιμοποιήθηκε σαν μάρτυρας, και πέντε με βασικό συστατικό το ιχθυάλευρο με διαφορετικά ποσοστά υποκατάστασης.

Οι ιχθύες πριν την έναρξη του πειράματος, αφού πρώτα αναισθητοποιήθηκαν σε φαινοξυαιθανόλη, ζυγίστηκαν και τοποθετήθηκαν στα ενυδρεία. Οι ιχθύες τρέφονταν δύο φορές τη ημέρα με ποσοστό 1% του συνολικού σωματικού τους βάρους. Συνολικά η πειραματική διαδικασία διήρκεσε 6 βδομάδες .

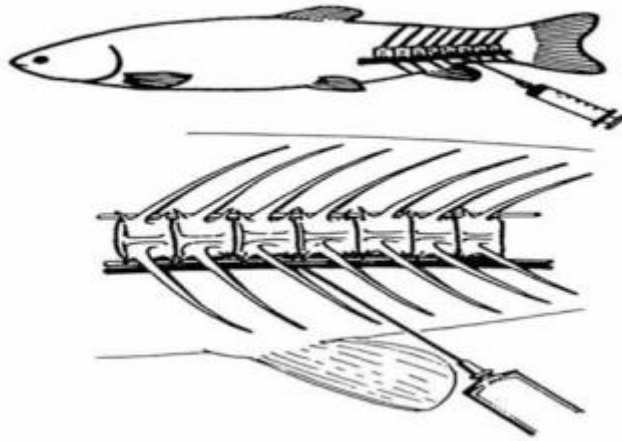
Στην παρούσα έρευνα οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν μετά το πέρας των 42 ημερών, τα ψάρια απομονώθηκαν με απόχη και τοποθετήθηκαν σε νερό με αναισθητικό. Το ιδανικό αναισθητικό για ψάρια ιχθυοκαλλιιεργειών πρέπει να εξασφαλίζει γρήγορη εγκατάσταση και ανάνηψη από την αναισθησία, για το λόγο αυτό επιλέχθηκε η φαινοξυαιθανόλη.

### **2.3 Πρωτόκολλο/ Δειγματοληψίες**

#### Πειραματικό μέρος

Η αιματοληπτική διαδικασία πραγματοποιήθηκε με τη χρήση σύριγγας 2,5 ml και βελόνας 23 G. Τα δείγματα ελήφθησαν από την ουριαία φλέβα και συγκεκριμένα η είσοδος της βελόνας έγινε στη βάση του ουριαίου μίσχου υπό γωνία 45° (Εικόνα 2.1).





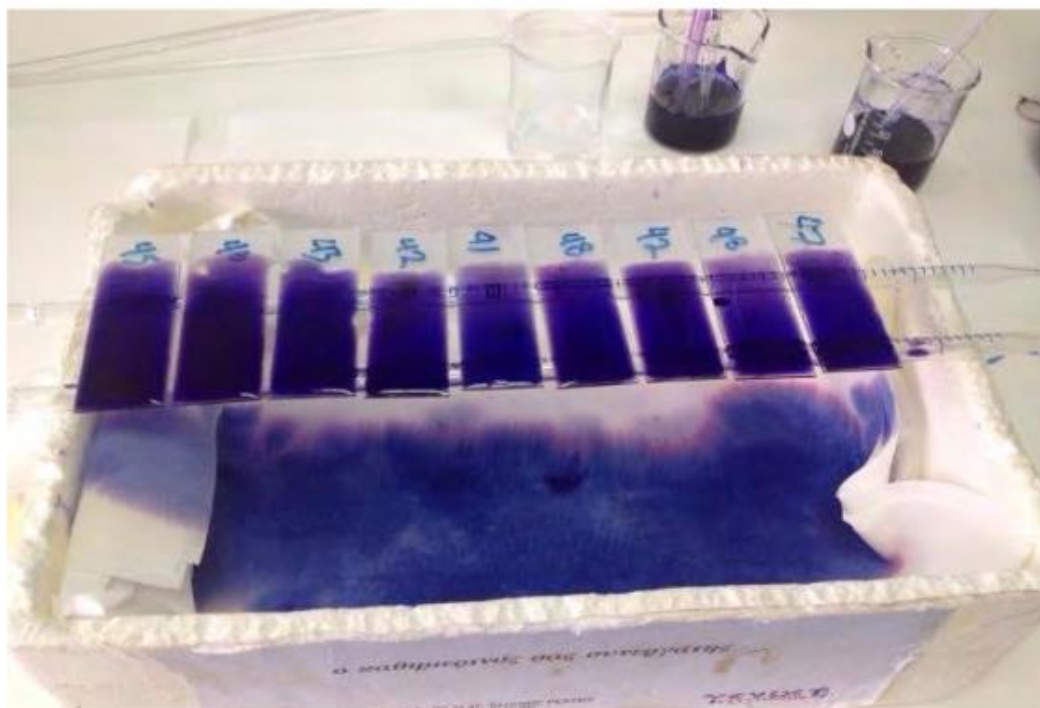
**Εικόνα 2.1** Προσέγγιση των αγγείων της ουράς για αιμοληψία (Svobodova and Vykusova, 1991).

Για τον προσδιορισμό των αιματολογικών παραμέτρων, χρησιμοποιήθηκε η χρώση May-Grunwald-Giemsa.

Η χρώση May-Grunwald περιλαμβάνει 25 ml χρώσης και 25 ml απιονισμένου νερού και χρησιμοποιείται για τη χρώση κυρίως ερυθροκυττάρων, πρωτοπλάσματος εμπύρηνων κυττάρων και αιμοπεταλίων. Η χρωστική που χρησιμοποιείται στη μέθοδο αυτή είναι το μπλε του μεθυλενίου, το οποίο βάφει μπλε τα όξινα συστατικά του κυττάρου, και η ηωσίνη, η οποία βάφει πορτοκαλί-κόκκινα τα αλκαλικά συστατικά του κυττάρου.

Η χρώση Giemsa περιλαμβάνει 5 ml χρώσης με 45 ml απιονισμένο νερό και χρησιμοποιείται για τη χρώση κυρίως του πυρήνα του κυττάρου, των πρωτογενών κοκκίων και των κοκκίων των βασεόφιλων. Η χρωστική που χρησιμοποιεί η μέθοδος είναι το κυανό (azure), που βάφει κόκκινα-μωβ τα βασικά κυτταρικά συστατικά, και η ηωσίνη.

Στα δείγματα που αναλύθηκαν χρησιμοποιήθηκε η χρώση May-Grunwald για 5 λεπτά και έπειτα προστέθηκε η χρώση Giemsa για 30 λεπτά. Στη συνέχεια, μετά από ξέπλυμα με απιονισμένο νερό και τοποθέτηση σε όρθια θέση για να στεγνώσουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε οπτικό μικροσκόπιο με καταδυτικό φακό (100x) με σταγόνα ελαίου και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται αναλυτικά στο επόμενο κεφάλαιο.



Εικόνα 2.2 Χρώση Giemsa (πηγή από προσωπικό αρχείο)

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης των δειγμάτων των 6 κατηγοριών διαίτας παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.

**Πίνακας 6.** Αιματολογικές παράμετροι που μετρήθηκαν από τις τσιπούρες που έλαβαν τις πειραματικές δίαιτες

|                                                 | ZLF10                 | ZLF20                   | ZLF30                    | ZFF5                    | ZFF10                    | FM                      |
|-------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| <b>RBC (<math>10^6 \mu\text{l}^{-1}</math>)</b> | 1.49±1.53             | 1.54±1.31               | 1.45±0.85                | 1.59±0.23               | 1.39±0.18                | 1.47±2.18               |
| <b>WBC (<math>10^3 \mu\text{l}^{-1}</math>)</b> | 54.88±0.5             | 59.65±0.19              | 59.83±0.75               | 62.04±1.19              | 58.91±0.91               | 59.04±0.10              |
| <b>HCT (%)</b>                                  | 28.13±1.07            | 26.47±0.84              | 28.6±0.63                | 28.67±1.25              | 25.87±0.54               | 28.93±0.53              |
| <b>Lymphocytes (%)</b>                          | 61.07±5.54            | 56.73±4.93              | 58.86±2.34               | 62.47±2.89              | 61.87±5.48               | 69.93±2.94              |
| <b>Neutrophil (%)</b>                           | 35±5.72 <sup>ab</sup> | 41.47±6.62 <sup>b</sup> | 38.27±2.81 <sup>ab</sup> | 33.3±2.11 <sup>ab</sup> | 34.87±5.34 <sup>ab</sup> | 26.4±2.5 <sup>a</sup>   |
| <b>Eosinophil (%)</b>                           | 3.3±0.35              | 2.47±0.18               | 2.33±0.53                | 3.87±1.07               | 2.4±0.2                  | 2.93±0.55               |
| <b>Monocytes (%)</b>                            | 0.6±0.2 <sup>ab</sup> | 0 <sup>a</sup>          | 0.53±0.13 <sup>ab</sup>  | 0.33±0.07 <sup>ab</sup> | 1±0.12 <sup>b</sup>      | 0.73±0.24 <sup>ab</sup> |

Συγκρίνοντας τις τιμές των ερυθρών αιμοσφαιρίων της ομάδας ελέγχου και των υπολοίπων κατηγοριών, δεν υπήρξε σημαντική ( $P>0,05$ ) διαφορά στα αποτελέσματα των ZLF10, ZLF 20 και ZLF 30 όπου ο μέσος όρος της τιμής των ερυθρών αιμοσφαιρίων ήταν  $1,49 \pm 0,82 (10^6 \mu\text{l}^{-1})$ , ενώ παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη τιμή των ερυθρών στη δίαιτα ZFF5 με τιμή  $1,59 \pm 0,23 (10^6 \mu\text{l}^{-1})$  και η μικρότερη στη ZFF10 με τιμή  $1,39 \pm 0,18 (10^6 \mu\text{l}^{-1})$ , αλλά και πάλι δεν υπήρξε στατιστική διαφορά με τις άλλες ομάδες.

Τα λευκά αιμοσφαίρια δεν παρουσίασαν ιδιαίτερες διαφορές στις τιμές μεταξύ της ομάδας ελέγχου και των υποκατάστατων με μέση τιμή  $59,06 \pm 0,70 (10^3 \mu\text{l}^{-1})$  με εξαίρεση την αύξηση της διαίτας ZFF5 με τιμή  $6,2 \pm 1,19 (10^3 \mu\text{l}^{-1})$ . Ο αιματοκρίτης είναι ένας αιματολογικός και μεταβολικός δείκτης δευτερογενούς απόκρισης του στρες. Κατά τον προσδιορισμό των αιματολογικών παραμέτρων υπολογίστηκε πως ο μέσος όρος της τιμής του αιματοκρίτη είναι  $27,5 \pm 0,86\%$ , ο αιματοκρίτης κυμάνθηκε στα ίδια επίπεδα σε όλες τις κατηγορίες διαίτας με μέγιστη τιμή στην ομάδα ZFF5 με τιμή  $28.67 \pm 1.25$  και ελάχιστη στην ομάδα ZFF10 με τιμή  $25.87 \pm 0.54$ .

Παρατηρώντας τα ποσοστά των λεμφοκυττάρων, φαίνεται ότι όλες οι κατηγορίες διαίτας βρισκόταν χαμηλότερα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Σε αντίθεση με τα λεμφοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα παρουσίασαν αύξηση σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Παρατηρήθηκε μια τάση ουδετεροφιλίας σε όλες τις ομάδες. Τα επίπεδα των ουδετερόφιλων αυξάνονται συνήθως μετά από μία λοίμωξη ή ένα τραυματισμό. Ωστόσο, μπορεί να παρουσιάσουν αύξηση ως απόκριση σε στρες. Πρόκειται για τα πιο συνηθισμένα κοκκιοκύτταρα στο αίμα των ψαριών, όπου το ποσοστό τους αγγίζει το 35% κατά μέσο όρο στο αίμα που αναλύθηκε. Στα εωσινόφιλα παρατηρήθηκε μεγάλη διακύμανση των τιμών, με τις ομάδες ZLF10 και ZFF5 να υπερβαίνουν τις τιμές βάσης με τιμές  $3.3 \pm 0.35$  και  $3.87 \pm 1.07$  αντίστοιχα, ενώ οι υπόλοιπες τιμές ήταν χαμηλότερες από αυτές της ομάδας ελέγχου.

Τα ποσοστά των μονοκύτταρων μακροφάγων είναι χαμηλότερα σε σχέση με της ομάδας ελέγχου, και φτάνουν μέχρι και μηδενική τιμή για την ομάδα ZLF20, με εξαίρεση την ομάδα ZFF10, με τιμή  $1 \pm 0.12$ , υψηλότερη από την αντίστοιχη FM. Οι περισσότερες μελέτες σχετικά με το αίμα των τελεόστεων ιχθύων υποδεικνύουν την απουσία των μονοκύτταρων-μακροφάγων (Catton, 1951, Jakowska, 1956, Boyar, 1962, Weinreb, 1963, Saunders, 1968). Κατά την παρατήρηση με οπτικό μικροσκόπιο

εντοπίστηκαν ελάχιστα μονοκύτταρα-μακροφάγα στο αίμα της τσιπούρας σε ποσοστό 0,5% κατά μέσο όρο.

#### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

Συνολικά, φαίνεται ότι η μερική υποκατάσταση των ιχθυοτροφών με εντομάλευρο του είδους *Zophobas morio*, σε ποσοστά που δεν ξεπερνούν το 30%, φέρουν παραπλήσια αποτελέσματα στις αιματολογικές παραμέτρους σε σύγκριση με την τροφή του μάρτυρα που δεν περιείχε μόνο εντομάλευρο. Το ίδιο ίσχυε στη μελέτη της συμπερίληψης ΖΜ στη διατροφή της τιλάπιας του Νείλου (Alves et al., 2021) και του ασιατικού λαβρακιού (Prachom et al., 2021).

Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί στην περίπτωση αντικατάστασης του FM με άλλα σιτηρέσια εντόμων, όπως το άλευρο προνυμφών BSF (μύγα στρατιώτη) στη διατροφή της τιλάπιας του Νείλου (*Oreochromis niloticus*), του αφρικανικού γατόψαρου (*Clarias gariepinus*) και του ευρωπαϊκού λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) (Fawole et al., 2020· Adeoye et al., 2020, Abdel-Tawwaba et al., 2020, Tipprayadara et al., 2021). Τα λευκά αιμοσφαίρια αυξήθηκαν σημαντικά στο αφρικανικό γατόψαρο (*C. gariepinus*) που τρέφονταν με άλευρα γρύλλου (*Gryllus bimaculatus*) και νύμφες φρουτόμυγας (*Drosophila melanogaster*) (Okore et al., 2018· Taufek et al., 2018).

Οι αιματολογικές παράμετροι θεωρούνται ως δείκτες καλής υγείας στην αξιολόγηση της φυσιολογικής κατάστασης και της μη ειδικής ανοσολογικής απόκρισης των ψαριών (Zhou et al., 2005, De Pedro et al., 2005). Οι βιβλιογραφίες ως τώρα που ερευνούν την επίδραση της αντικατάστασης πηγών πρωτεϊνούχων ιχθυαλεύρων από ζωικές πρωτεΐνες στην αιματολογία των ψαριών είναι περιορισμένες. Οι έρευνες δίνουν βάση στη χρήση φυτικών πρωτεϊνικών πηγών ως εναλλακτικές λύσεις για το ιχθυάλευρο (Sitja Bobadilla et al., 2005, Hu et al., 2014). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι η πρωτεΐνη των ψαριών μπορεί να αντικατασταθεί με πρωτεΐνη εντόμων στη διατροφή του ιχθύος, χωρίς ιδιαίτερες επιδράσεις στις αιματολογικές παραμέτρους των ψαριών. Κατά την μικροσκοπική παρατήρηση, τα ερυθρά κύτταρα

του αίματος της τσιπούρας χαρακτηρίστηκαν από μια ομαλή κυτταρική επιφάνεια, παρόμοια με αυτές που παρατηρήθηκαν σε άλλα τελεόστεα (Esteban et al., 1989).

Όσον αφορά τον αριθμό των ουδετερόφιλων, καταγράφηκαν υψηλότερες τιμές σε όλες τις ομάδες που τρέφονται με ΖΜ σε σύγκριση με την ομάδα FM. Τα ουδετερόφιλα συμβάλλουν στην βελτίωση του ιστού, στους μηχανισμούς άμυνας ενάντια στα παθογόνα και στη διέγερση των μακροφάγων, παίζοντας έτσι σημαντικό ρόλο στην ανοσολογική απόκριση (Nathan, 2006). Ο αριθμός των ουδετερόφιλων αυξήθηκε επίσης στα σιτηρέσια ΖΜ της τιλάπιας του Νείλου (Alves et al., 2021). Αυτή η ουδετεροφιλία θα μπορούσε να οφείλεται στις πιθανές ομοιότητες μεταξύ του εξωσκελετού των εντόμων και των παρασίτων προκαλώντας την αύξηση της παραγωγής ουδετερόφιλων στα ψάρια, για την καταπολέμηση αυτής της πιθανής μόλυνσης. Η ουδετεροφιλία μπορεί να εκφράζει επίσης μια μολυσματική κατάσταση των ψαριών που τράφηκαν με το άλευρο εντόμων ή την ύπαρξη στρες στα ψάρια στη διάρκεια του πειράματος.

Τα λεμφοκύτταρα είναι τα κύτταρα που παρατηρούνται πιο συχνά στο αίμα των ψαριών (Rowley et al., 1988), αυτό αποδεικνύεται με την παρουσία τους σε υψηλό ποσοστό, κατά μέσο όρο 60%, στις εκτρεφόμενες τσιπούρες που μελετήθηκαν. Κάποιοι ερευνητές περιγράφουν έναν ενιαίο τύπο λεμφοκυττάρων (Weinberg et al., 1972, Hightower et al., 1984, Roubal, 1986, Kusuda and Ikeda, 1987), αλλά συνήθως περιγράφονται μικρά και μεγάλα λεμφοκύτταρα, τα οποία δείχνουν τα διαφορετικά στάδια ωρίμανσης των κυττάρων αυτών (Barber and Westermann, 1975, Etlinger et al., 1976, Ellis, 1977, Christensen et al., 1978, Cannon et al., 1980). Τα λεμφοκύτταρα στο αίμα της τσιπούρας, που μελετήσαμε, είναι μικρά και μεγάλα λεμφοκύτταρα, παρόμοιας δομής με εκείνα που διακρίνονται και σε άλλα σπονδυλωτά, κυρίως ψάρια (Blaxhall, 1983, Savage, 1983, Cenini, 1984, Temmink και Bayne, 1987, Doggett και Harris, 1989, Fujimaki και Isoda, 1990).

Παρ' όλο που σε ορισμένες περιπτώσεις οι αιματολογικές εξετάσεις αποδεικνύονται εξαιρετικά χρήσιμες, ωστόσο δεν αποτελούν εξετάσεις ρουτίνας στη διάγνωση των ασθενειών των ψαριών. Ωστόσο, η αιματολογία, σε συνδυασμό με άλλες διαγνωστικές μεθόδους, θα μπορούσε να συμβάλει στην εκτίμηση της κατάστασης της υγείας ενός ψαριού και κατ' επέκταση, στη διάγνωση μιας νόσου ή στην ακριβέστερη ανάλυση των επιδράσεων της μεταβολής της διαίτας στις τσιπούρες.

Επιπλέον, οι διαδικασίες δειγματοληψίας αίματος αναπόφευκτα περιλαμβάνουν την εισαγωγή στρεσογόνων παραγόντων που, σε διαφορετική έκταση, επηρεάζουν τα επίπεδα των συστατικών της χημείας του αίματος.

Η διατροφή των ψαριών είναι ο κύριος παράγοντας της ανάπτυξής τους και η εύρεση λύσης στο πρόβλημα τόσο της εξάντλησης των μέχρι τώρα πόρων για την παραγωγή ιχθυοτροφών, όσο και του αυξημένου οικονομικού κόστους των ιχθυοτροφών αυτών, είναι καίριας σημασίας για τη βιωσιμότητα και την αειφορία του κλάδου της ιχθυοκαλλιέργειας. Στην παρούσα εργασία έγινε μελέτη για την μερική υποκατάσταση (σε ποσοστά από 5 έως 30%) των κλασικών ιχθυοτροφών με εντομάλευρο του είδους *Zophobas morio*, και εν συνεχεία, προσδιορίστηκαν οι βασικές αιματολογικές παράμετροι για τη σύγκριση της επίδρασης των διάφορων διατροφών (ZLF10, ZLF20, ZLF30, ZFF5, ZFF10, FM) σε αυτές.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν, έδειξαν ότι είναι εφικτή η χρήση των εντομάλευρων, σε συγκεκριμένα ποσοστά, καθώς οι τιμές δεν έδειξαν μεγάλη διακύμανση σε σχέση με την ιχθυοτροφή του εμπορίου.

Η ασφαλής εξαγωγή συμπερασμάτων, ωστόσο, απαιτεί περαιτέρω μελέτη. Οι συνθήκες δειγματοληψίας, το στάδιο ωρίμανσης των ψαριών, η εποχή (θερμή- ψυχρή περίοδος) είναι μερικές από τις παραμέτρους που επηρεάζουν τα αποτελέσματα των αναλύσεων.

Έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες, με δείγματα από διαφορετικά ψάρια, χρησιμοποιώντας διαφορετικά είδη εντόμων και με διάφορα ποσοστά υποκατάστασης. Η δημιουργία μιας όσο το δυνατόν ενιαίας βάσης δεδομένων θα μπορούσε να αποτελέσει ισχυρό εργαλείο που θα συμβάλλει στην αειφορία του κλάδου των ιχθυοκαλλιεργειών, καθώς η παρούσα κατάσταση είναι δεν είναι πια βιώσιμη.

## 5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 5.1 ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abdel-Tawwaba, M., Khalilb, R.H., Metwallyc, A.A., Shakweerd, M.S., Khallafe, M.A., Abdel-Latif, H.M.R., 2020. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal on growth performance, organs-somatic indices, body composition, and hematobiochemical variables of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquac* 522, 735136. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735136>

Adeoye, A.A., Akegbejo-Samsons, Y., Fawole, F.J., Davies, S.J., 2020. Preliminary assessment of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larval meal in the diet of African catfish (*Clarias gariepinus*): Impact on growth, body index, and hematological parameters. *J. World Aquacult. Soc.* 51 (4), 1024–1033. <https://doi.org/10.1111/jwas.12691>.

Anastasiou, S., Panta, M., Dais, E., Nathanailides, C. (2014). Economic and Marketing Parameters of the Greek Marine Aquaculture Industry during Growth and Recession. 9<sup>th</sup> MIBES INTERNATIONAL CONFERENCE 30/5-1/6, pp.102-110. Διαθέσιμο στο: <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.1040.5448&rep=rep1&type=pdf> (Πρόσβαση στις 25 Ιουλίου 2021)

Alves, A.P.C., Paulino, R.R., Pereira, R.T., da Costa, D.V., Rosa, P.V., 2021. Nile tilapia fed insect meal: growth and innate immune response in different times under lipopolysaccharide challenge. *Aquac. Res.* 52, 529–540. <https://doi.org/10.1111/are.14911>.

- Barber DL and Westermann JE (1975) Morphological and histochemical studies on a PAS-positive granular leukocyte in blood and connective tissues of *Catostomus commersonii* Lacepede (teleostei:pisces). *Am J Anat*, 142: 205-220.
- Blaxhall PC (1983) Electron microscope studies of fish lymphocytes and thrombocytes. *J Fish Biol*, 22: 223-229.
- Cannon MS, Mollenhauer HH, Eurell TE, Lewis DH, Cannon AM and Tompkins C (1980) An ultrastructural study of the leukocytes of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *J Morphol*, 64: 1-23.
- Cenini P (1984) The ultrastructure of leucocytes in carp (*Cyprinus carpio*). *J Zool (Lond)*, 204: 509-520.
- Christensen GM, Fiandt JT and Poeschl BA (1978) Cells, proteins, and certain physical-chemical properties of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) blood. *J Fish Biol*, 12: 51-60.
- De Loof, A. and Schoofs, L. (2019). Intraluminal Farnesol and Farnesal in the Mealworm's Alimentary Canal: An Unusual Storage Site Uncovering Hidden Eukaryote Ca<sup>2+</sup>-Homeostasis-Dependent “Golgicrine” Activities. *Frontiers in Endocrinology*, 10:885. doi:10.3389/fendo.2019.00885
- De Pedro N., Guijarro A.I., Lopez-Patino M.A., MartinezAlvarez R., Delgado M.J. (2005) Daily and seasonal variations in haematological and blood biochemical parameters in the tench. *Tinca tinca* Linnaeus, 1758. *Aquaculture Research*, 36, 1185–1196.
- Diana, J.S. (2009). Aquaculture Production and Biodiversity Conservation. *BioScience*, Volume 59(1):27–38. <https://doi.org/10.1525/bio.2009.59.1.7>



- Doggett TA and Harris JE (1989) Ultrastructure of the peripheral blood leucocytes of *Oreochromis mossambicus*. J Fish Biol, 33: 747-756.
- Ellis AE (1977) The leucocytes of fish: a review. J Fish Biol, 11: 453-491.
- Etlinger HM, Hodgins HO and Chiller JM (1976) Evolution of the lymphoid system. I. Evidence for lymphocyte heterogeneity in rainbow trout revealed by the organ distribution of mitogenic responses. J Immunol, 116: 1547-1553.
- Esteban MA, Munoz J and Meseguer J (2000) Blood cells of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Flow cytometric and microscopic studies. Anat Rec, 258: 80-89.
- European market observatory for fisheries and aquaculture products. (n.d.). Species profile: gilthead seabream. Διαθέσιμο στο: [https://www.eumofa.eu/documents/20178/137160/Gilthead+seabream\\_31-1.pdf](https://www.eumofa.eu/documents/20178/137160/Gilthead+seabream_31-1.pdf) (Πρόσβαση στις 10 Ιουλίου 2021)
- Fawole, F.J., Adeoyeb, A.A., Tihamiyua, L.O., Ajalaa, K.I., Obadaraa, S.O., Ganiyua, I.O., 2020. Substituting fishmeal with *Hermetia illucens* in the diets of African catfish (*Clarias gariepinus*): effects on growth, nutrient utilization, haematological response, and oxidative stress biomarker. Aquaculture 518, 734849. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734849>
- FAO, 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp
- Fujimaki Y and Isoda M (1990) Fine-structural study of leucocytes in the goldfish, *Carassius auratus*. J Fish Biol, 36: 321-831.

- Gasco, I., Finke, M. and Van Huis, A. (2018). Can diets containing insects promote animal health? *Journal of Insects as Food and Feed*, 4(1): 1-4. doi: 10.3920/JIFF2018.x001
- Henry, M.A., Gasco, L., Piccolo, G. and 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. doi:10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001
- Hightower JA, McCumber LJ, Welsh MG, Whatley DS, Hartvigsen RE and Sigel MM (1984) Blood cells of *Fundulus heteroclitus* (L.). *J Fish Biol*, 24: 587-598.
- Horwitz, W., Latimer, G. , 2016. Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) International: Gaithersburg." MD, USA.
- Hu Y., Yun Huang Y., Feng F., Zhong L., Ai Q., Xiao T. & Wen H. (2014) Effect of soybean meal replacement by cottonseed meal on growth, feed utilization and some blood physiological/biochemical indices of juvenile black carp, *Mylopharyngodon piceus*. *Aquaculture Research*, 1–11.
- Jabir, M.D.A.R., Razak, S.A. and Vikineswary, S. (2012). Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *African Journal of Biotechnology*, 11(24): 6592-6598. doi: 10.5897/AJB11.1084
- Kusuda R and Ikeda Y (1987) Studies on classification of eel leucocytes. *Bull Jpn SOCS ci Fish*, 53: 205-209.
- Lock, E., Arsiwalla, T. and Waagbo, R. (2016). Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolt. *Aquac Nutr* , 22:1202–1213. doi: 10.1111/anu.12343

- Lopez-Ruiz, A., Angeles Esteban, M. and Meseguer, J. (1992). Blood cells of the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.): light and electron microscopic studies. *Anat Rec*, 234: 161-171. <https://doi.org/10.1002/ar.1092340203>
- Nathan, C., 2006. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat. Rev. Immunol.* 6, 173–182. <https://doi.org/10.1038/nri1785>.
- OECD. (2021). Fisheries and Aquaculture in Greece. Διαθέσιμο στο: [https://www.oecd.org/agriculture/topics/fisheries-and-aquaculture/documents/report\\_cn\\_fish\\_grc.pdf](https://www.oecd.org/agriculture/topics/fisheries-and-aquaculture/documents/report_cn_fish_grc.pdf) (Πρόσβαση στις 25 Ιουλίου 2021)
- Okore, O.O., Ekedo, C.M., Obeagu, I.A., Christian, C., 2018. Growth and haematological studies of African catfish (*Clarias ariepinus*) fingerlings fed with *Drosophila melanogaster* pupa as feed supplement. *Int. J. Agric. Earth Sci.* 4 (5), 40–53. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.13131.64809>.
- Perdikaris, C. and Paschos, I. (2010). Organic aquaculture in Greece: a brief review. *Reviews in Aquaculture* Volume 2(2):102-105. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2010.01025.x>
- Prachom, N., Boonyoung, S., Hassaan, M.S., El-Haroun, E., Davies, S.J., 2021. Preliminary evaluation of superworm (*Zophobas morio*) larval meal as a partial protein source in experimental diets for juvenile Asian sea bass, *Latecalcarifer*. *Aquac. Nutr.* 27, 1304–1314. <https://doi.org/10.1111/anu.13269>
- Roubal FR (1986) Blood and other possible inflammatory cells in the sparid *Acanthopagrus australis* (Gunther). *J Fish Biol*, 28: 573-593.

- Rumbos, C.I., Athanassiou, C.G., 2021. The superworm, *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae): a 'Sleeping Giant' in nutrient sources. *J. Insect Sci.* 21 (2), 13. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieab014>. zop
- Rowley AF, Hunt TC, Page M and Mainwaring G (1988) Fish. In: *Vertebrate Blood Cells*, 1st ed. A.F. Rowley and N.A. Ratcliffe, eds. Cambridge University Press, Cambridge. p. 19-127.
- Savage AG (1983) The ultrastructure of the blood cells of the pike *Esox lucius* L. *J Morphol*, 178: 187-206.
- Sitja-Bobadilla A., Pena-Llopis S., Gomez-Requeni S., Medale F., Kaushik S., Perez-Sanchez, J. (2005) Effect of fishmeal replacement by plant protein sources on non-specific defence mechanisms and oxidative stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 249, 387–400.
- Subasinghe, R., Soto, D. and Jia, J. (2009). Global aquaculture and its role in sustainable development. *Reviews in Aquaculture*, 1(1): p. 2-9. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2008.01002.x>
- Svåsand T., Crosetti D., García-Vázquez E., Verspöor E. (eds). (2007). Genetic impact of aquaculture activities on native populations. Genimpact final scientific report (EU contract n. RICA-CT-2005-022802). 176 p. Διαθέσιμο στο: [https://www.researchgate.net/profile/Philip-McGinnity/publication/268359165\\_Research\\_Priorities\\_for\\_Modelling/links/547459fb0cf2778985abd9ef/Research-Priorities-for-Modelling.pdf#page=47](https://www.researchgate.net/profile/Philip-McGinnity/publication/268359165_Research_Priorities_for_Modelling/links/547459fb0cf2778985abd9ef/Research-Priorities-for-Modelling.pdf#page=47) (Πρόσβαση στις 10 Ιουλίου 2021)

Svobodova, Z. and Vykusova, B. (1991). Diagnostics, prevention and therapy of fish diseases and intoxications. Διαθέσιμο στο: <http://www.fao.org> (Πρόσβαση στις 25 Σεπτεμβρίου 2021)

Tacon AGJ Hasan MR Subasinghe RP . 2006. Use of Fishery Resources as Feed Inputs for Aquaculture Development: Trends and Policy Implications. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Fisheries Circular No. 1018.

Taufek, N.M., Simarani, K., Muin, H., Aspani, F., Raji, A.A., Alias, Z., Razak, S.A., 2018. Inclusion of cricket (*Gryllus bimaculatus*) meal in African catfish (*Clarias gariepinus*) feed influences disease resistance. J. Fish. 6, 623–631. <https://doi.org/10.17017/j.fish.23>.

Temmink JH and Bayne CJ (1987) Ultrastructural characterization of leucocytes in the pronephros of carp (*Cyprinus carpio*, L.). Dev Comp Immunol, 11: 125-137.

Tippayadara, N., Daawood, M.A.O., Krutmuang, P., Hoseinifar, S.H., Van Doan, H., Paolucci, M., 2021. Replacement of fish meal by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal: effects on growth, haematology, and skin mucus immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Animals 11 (1), 193. <https://doi.org/10.3390/ani11010193>.

Van Huis, A. and Ooninex, D.G.A.B. (2017). The environmental sustainability of insects as food and feed. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 37:43. doi: 10.1007/s13593-017-0452-8

Weinberg SR, Siegel CD and Gordon AS (1972) Studies on the peripheral blood cell parameters and morphology of the red paradise fish, *Macropodus opercularis*. Effect of food deprivation on erythropoiesis. *Anat Rec*, 175: 5-14.

Wilson, R. (2011). Small animals for small farms. Rome: Rural Infrastructure and Agro-Industries Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Zhou Q.C., Mai K.-S., Tan B.P., Liu Y.H. (2005) Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquacult. Nutr., 11, 175–182.

## 5.2 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Σύνδεσμος Ελληνικών Θαλασσοκαλλιέργειών. (2020). Ελληνική υδατοκαλλιέργεια.

Διαθέσιμο στο:

[https://www.fgm.com.gr/uploads/file/FGM\\_20\\_GR\\_WEB2.pdf](https://www.fgm.com.gr/uploads/file/FGM_20_GR_WEB2.pdf) (Πρόσβαση

στις 10 Ιουλίου 2021)

Advanced Planning- Consulting. (2016). Έκθεση εμπορίας των ειδών υδατοκαλλιέργειας που παράγονται στην Ελλάδα. Μέρος Α. Διαθέσιμο στο:

<https://alieia.gr/wp-content/uploads/2019/09/REPORT-SRSS-C2016019->

[PART-A.pdf](https://alieia.gr/wp-content/uploads/2019/09/REPORT-SRSS-C2016019-PART-A.pdf) (Πρόσβαση στις 15 Ιουλίου 2021)

Καρακατσούλη Ν. (2015). Παραγωγή Υδρόβιων Οργανισμών. Έκδοση: 1.0.

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και

Υδατοκαλλιέργειών, Αθήνα 2015. Διαθέσιμο στο: <http://oceclass.aua.gr/>

(Πρόσβαση στις 23 Ιουλίου 2021)

Παπαϊωάννου, Σ. και Τσουκαλά, Α. (2020). Επίδραση της μερικής υποκατάστασης του

διαιτητικού ιχθυαλεύρου από πλήρες λιπαρών άλευρο εντόμων του είδους

*Zorhobas morio* στην ανάπτυξη της τσιπούρας (*Sparus aurata*). Προπτυχιακή

διπλωματική εργασία, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Διαθέσιμο στο:

[https://ir.lib.uth.gr/xmlui/bitstream/handle/11615/54016/21802.pdf?sequence=](https://ir.lib.uth.gr/xmlui/bitstream/handle/11615/54016/21802.pdf?sequence=1)

[1](https://ir.lib.uth.gr/xmlui/bitstream/handle/11615/54016/21802.pdf?sequence=1) (Πρόσβαση στις 1 Οκτωβρίου 2021)

Τζιρώνη, Ε. (2010). Μελέτη της μορφολογίας των κυττάρων του περιφερικού αίματος τσιπούρας (*Sparus aurata*). Μεταπτυχιακή εργασία, Τμήμα Κτηνιατρικής,

Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Διαθέσιμο στο:

<https://core.ac.uk/download/pdf/132823358.pdf> (Πρόσβαση στις 27

Σεπτεμβρίου 2021)

Μαστοράκη, Μ., Κατσικά, Λ., Αντωνοπούλου, Ε. και Χατζηφώτης, Σ. (2019). Η

επίδραση της υποκατάστασης ιχθυαλεύρου με τρία διαφορετικά εντομοάλευρα στην αύξηση και αξιοποίηση τροφής στην τσιπούρα, *Sparus aurata* (Linnaeus,

1758). 17<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ιχθυολόγων με θέμα: Διαχείριση Υδάτινων

Οικοσυστημάτων: Νέες Προκλήσεις και Προοπτικές. Διαθέσιμο στο:

[http://psid.bio.auth.gr/wp-](http://psid.bio.auth.gr/wp-content/uploads/2019/11/17_Ichthyology_Proceedings_2019_Irakleio.pdf)

[content/uploads/2019/11/17\\_Ichthyology\\_Proceedings\\_2019\\_Irakleio.pdf](http://psid.bio.auth.gr/wp-content/uploads/2019/11/17_Ichthyology_Proceedings_2019_Irakleio.pdf)

(Πρόσβαση στις 25 Αυγούστου 2021)

Χώτος, Γ. (2001). Διατροφή ιχθύων. Σημειώσεις μαθήματος, Τμήμα Ιχθυοκομίας-

Αλιείας, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας ΤΕΙ Μεσολογγίου. Διαθέσιμο στο:

[http://www.tay.teiwest.gr/ghotos/wp-](http://www.tay.teiwest.gr/ghotos/wp-content/uploads/sites/11/2015/07/%CE%94%CE%99%CE%91%CE%A4%CE)

[content/uploads/sites/11/2015/07/%CE%94%CE%99%CE%91%CE%A4%CE](http://www.tay.teiwest.gr/ghotos/wp-content/uploads/sites/11/2015/07/%CE%94%CE%99%CE%91%CE%A4%CE)

[%A1%CE%9F%CE%A6%CE%97-](http://www.tay.teiwest.gr/ghotos/wp-content/uploads/sites/11/2015/07/%CE%94%CE%99%CE%91%CE%A4%CE)

[%CE%99%CE%A7%CE%98%CE%A5%CE%A9%CE%9D-2001-read-only.pdf](#) (Πρόσβαση στις 13 Ιουλίου 2021)

## **ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ**

[https://eclass.uth.gr/modules/document/file.php/DIAE\\_U\\_126/Ομαδική%20εργασία/Παπουτσόγλου%20%282008%29%20Διατροφή%20τσιπούρας.pdf](https://eclass.uth.gr/modules/document/file.php/DIAE_U_126/Ομαδική%20εργασία/Παπουτσόγλου%20%282008%29%20Διατροφή%20τσιπούρας.pdf)

[https://entnemdept.ufl.edu/creatures/urban/flies/house\\_fly.htm](https://entnemdept.ufl.edu/creatures/urban/flies/house_fly.htm)

<https://thefishsite.com/articles/the-benefits-of-fish-meal-in-aquaculture-diets>

<https://aboutsmallruminants.com/HYRPA>



## 6 ABSTRACT

In recent decades, the population of fish farmed for use in fish feed production has been declining sharply, with the result that efforts are being made to find alternative sources that can make a nutritious substitute for these foods. Studies have been done on the substitution of fish feed with insect meal, which are an ideal source, both due to their high nutritional value and due to the low environmental impact of their breeding. The incorporation of flour insects by European legislation into safe fish feed has aroused interest in further investigating their properties.

In the present study, the partial substitution of the diet of *Sparus aurata* fish with flour of the insect *Zophobas morio*, an insect used as feed for birds, reptiles and fish with rich nutritional value, was studied. Specifically, the fish were divided into 6 groups: FM, ZLF10, ZLF20, ZLF30, ZFF5 and ZFF10, where FM is the control group which was fed exclusively with diet, while in the rest it was partially substituted in various percentages with insect flour. The results of the hematological analyzes showed that the hematological parameters did not differ significantly between the control group and the substitution groups, which could mean that partial substitution of fishmeal is possible. Of course, this presupposes further research to draw safe conclusions