



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Νύμφες μύγας ως συστατικό τεχνητών ιχθυοτροφών της
τσιπούρας (*Sparus aurata*)»**

Δασκαλοπούλου Ευανθία

Βόλος 2014

**«Νύμφες μύγας ως συστατικό τεχνητών ιχθυοτροφών της τσιπούρας
(*Sparus aurata*)»**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :

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

2) Χρήστος Νεοφύτου, Ιχθυολογία-Υδροβιολογία, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***,

3) Νίκος Νεοφύτου, Λέκτορας, Υδατοκαλλιέργειες και Περιβάλλον, 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 εις πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω 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 κ. Χρήστο Νεοφύτου και κ. Νίκο Νεοφύτου.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Δρ. Χ. Ρούμπο για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθειά του, όσον αφορά τη συλλογή του φυσικού πληθυσμού της μύγας από την περιοχή του Νοτίου Πηλίου (Μετόχι Αργαλαστής). Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την προπτυχιακή συμφοιτήτριά μου Σπυριδούλα Κρέσσου για την βοήθεια της κατά την διεξαγωγή του πειράματος.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον πατέρα μου και στους δικούς μου ανθρώπους για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ιχθυοτροφές των εκτρεφόμενων ειδών στην Ευρώπη εμπεριέχουν μεγάλες ποσότητες ιχθυάλευρων. Το ιχθυάλευρο είναι ένα υψηλής ποιότητας, πολύ εύπεπτο συστατικό των ιχθυοτροφών που ευνοεί τη διατροφή των ψαριών. Όμως, λόγω της αλόγιστης χρήσης των αποθεμάτων του και καθώς η παραγωγή τους μένει στάσιμη, η τιμή τους συνεχώς αυξάνεται με αποτέλεσμα και το κόστος παραγωγής των ιχθυοκαλλιεργειών.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας χρησιμοποίησης εντόμων και συγκεκριμένα προνυμφών της μύγας *Hermetia illucens* (L.) ως κύρια συστατικά των ιχθυοτροφών της τσιπούρας *Sparus aurata* (L.).

Ιχθύδια (240 στο σύνολο) με αρχικό μέσο βάρος $1,47 \pm 0,22\text{g}$, μεταφέρθηκαν σε 12 γυάλινα ενυδρεία. Στο κλειστό σύστημα κυκλοφορίας θαλασσινού νερού η θερμοκρασία ήταν 21°C , το pH $8,00 \pm 0,4$ και η αλατότητα ήταν $34 \pm 0,5\text{‰}$. Τα ιχθύδια χωρίστηκαν σε 4 διατροφικές ομάδες (20 άτομα/δεξαμενή, 3 επαναλήψεις/διατροφική ομάδα), στις οποίες χορηγήθηκαν 4 διαφορετικά σιτηρέσια, 2 φορές με το χέρι καθημερινά μέχρι κορεσμού για 30 ημέρες και έπειτα 1 φορά τη μέρα. Συγκεκριμένα, τα σιτηρέσια ήταν ισοενεργειακά ($20,36 \text{ Mj/kg}$ τροφής) καθώς και ισοπρωτεϊνικά (46% της τροφής).

Η μερική αντικατάσταση του ιχθυάλευρου με μυγάλευρο από 10% έως 30% δεν επηρέασε την επιβίωση των ψαριών που σιτίστηκαν με αυτά. Η αύξηση βάρους των ψαριών ($16,12 - 8,88\text{g}$) και ο SGR ($10,77 - 8,37\%/ημέρα$) ήταν σημαντικά μικρότεροι στα πειραματικά σιτηρέσια, ενώ ο συντελεστής FCR ($1,12 - 1,36$), ο PER ($1,98 - 1,70$) καθώς ο συντελεστής PR% ($157,44 - 135,45$) δεν σημείωσαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διατροφικών ομάδων. Τα επίπεδα της υγρασίας, του λίπους και των

αζωτούχων ενώσεων παρέμειναν ίδια. Το ίδιο και οι σωματομετρικοί δείκτες (HSI και K) σε αντίθεση με τον ενδοσπλαχνικό που παρουσίασε σημαντική αύξηση, καθώς μεγάλωνε το ποσοστό του μυγάλευρου.

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης έδειξαν ότι το άλευρο από *Hermetia illucens* (μυγάλευρο) αποτελεί ένα κατάλληλο υποκατάστατο (έως και 30%) του ιχθυαλεύρου αναφορικά με την αξιοποίηση της τροφής όχι όμως και ως προς την σωματική ανάπτυξη της τσιπούρας. Πρέπει παρόλα αυτά να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες στο μέλλον για τη μελέτη εκτροφής του είδους με διάφορα έντομα, διότι οι γνώσεις είναι ακόμα ελλιπείς.

Λέξεις – Κλειδιά: τσιπούρα, *Sparus aurata*, αντικατάσταση ιχθυαλεύρου, *Hermetia illucens*, ανάπτυξη

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1. Εκτροφή της τσιπούρας <i>Sparus aurata</i>	1
1.2. Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους.....	2
1.3. Το ιχθυάλευρο ως κύρια πηγή των ιχθυοτροφών	3
1.4. Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεϊνικές πηγές φυτικής προέλευσης.....	5
1.5. Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεϊνικές πηγές ζωικής προέλευσης	7
1.6. Η πρωτεΐνη των εντόμων ως συστατικό των ιχθυοτροφών	8
1.7. Σκοπός της εργασίας.....	9
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	11
2.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	11
2.2. Σιτηρέσια – Σίτιση	13
2.3. Δειγματοληψίες.....	17
2.4. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής.....	17
2.4.1. Θνησιμότητα.....	17
2.4.2. Αύξηση ολικού βάρους ψαριών	18
2.4.3. Ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους	18
2.4.4. Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης	18
2.4.5. Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής	18
2.4.6. Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών.....	19
2.4.7. Συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης	19
2.4.8. Σωματομετρικοί δείκτες	19
2.5. Χημικές αναλύσεις.....	20
2.5.1. Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών.....	20
2.5.2. Προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων.....	21

2.5.3.	Προσδιορισμός τέφρας.....	22
2.5.4.	Προσδιορισμός υγρασίας/ ξηρής ουσίας.....	23
2.6.	Ιστολογική εξέταση	23
2.7.	Προσδιορισμός αμμωνίας, νιτρωδών και νιτρικών	24
2.8.	Στατιστική ανάλυση.....	25
3.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	26
3.1.	Θνησιμότητα.....	26
3.2.	Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής.....	26
3.2.1.	Κατά την έναρξη του πειράματος.....	26
3.2.2.	Κατά την 24 ^η ημέρα πειράματος	27
3.2.3.	Κατά την 50 ^η ημέρα πειράματος	30
3.2.4.	Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος	32
3.2.5.	Σωματομετρικοί δείκτες	34
3.3.	Χημικές αναλύσεις σώματος	36
3.4.	Προσδιορισμός αμμωνίας, νιτρωδών και νιτρικών	39
4.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	42
4.1.	Θνησιμότητα.....	42
4.2.	Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής.....	43
4.3.	Χημικές αναλύσεις σώματος	46
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	49
6.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	51
7.	ABSTRACT	58

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Εκτροφή της τσιπούρας *Sparus aurata*

Η εκτροφή της τσιπούρας πραγματοποιούνταν παραδοσιακά είτε στις μεσογειακές παράκτιες λιμνοθάλασσες είτε σε λίμνες υφάλμυρων και αλμυρών νερών, ειδικά στη βόρεια Αδριατική θάλασσα στην Ιταλία (Παπουτσόγλου 2008). Αυτά τα εκτατικά συστήματα εκτροφής ψαριών, ενεργούσαν ως φυσικές παγίδες εκμεταλλευόμενες τις φυσικές μεταναστεύσεις των νεαρών ατόμων από τη θάλασσα για αναζήτηση τροφής. Η επανεισαγωγή ιχθύων γινόταν συνήθως με τη χρήση άγριου γόνου και νεαρών ατόμων, που συλλέγονταν από εξειδικευμένους ψαράδες. Μέχρι τα τέλη του 1970, η μειωμένη διαθεσιμότητα του άγριου γόνου ενίσχυσε την ανάπτυξη τεχνικών αναπαραγωγής, για τη θέσπιση έως το τέλος της δεκαετίας του 1980 ενός συστήματος παραγωγής επαρκών ποσοτήτων γόνου (Dimitriou 2000).

Οι τσιπούρες εκτρέφονται σε εκτατικά συστήματα εκτροφής σε λιμνοθάλασσες ή εντατικά σε δεξαμενές ή κλωβούς. Προς το παρόν, το μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής προέρχεται από την εντατική εκτροφή, με μέση πυκνότητα 20 - 100 kg m³ και FCR 1,5 - 2 (FAO 2013). Η εκτατική εκτροφή παραμένει μια παραδοσιακή δραστηριότητα σε ορισμένες περιοχές, αλλά με πολύ χαμηλό αντίκτυπο στην αγορά (Sola *et al.* 2006).

Το 2010, η παγκόσμια παραγωγή της υδατοκαλλιέργειας ήταν 140.000 τόνοι (FAO 2013). Στη Μεσόγειο, οι κύριοι παραγωγοί τσιπούρας είναι η Ελλάδα, η Τουρκία, η Ισπανία και η Ιταλία. Στις αρχές της δεκαετίας του 1990, λειτουργούσαν περίπου είκοσι εκκολαπτήρια τσιπούρας στη Μεσόγειο. Μέχρι το 2006 πάνω από 65 εκκολαπτήρια διανέμονταν στην Κροατία, την Κύπρο, τη Γαλλία, την Ελλάδα, την Ιταλία, το Μαρόκο, την Πορτογαλία, την Ισπανία και στην Τυνησία (FAO 2006).

1.2. Θρεπτικές απαιτήσεις του είδους

Από τις διάφορες σχετικές έρευνες που πραγματοποιήθηκαν μέχρι σήμερα, οι απαιτήσεις της τσιπούρας για το στάδιο του ιχθυδίου και του ενήλικου ατόμου συνοψίζονται στον Πίν. 1.1 (επισκοπήσεις των Παπουτσόγλου 2008, FAO 2013).

Πίνακας 1.1: Θρεπτική σύσταση και απαραίτητα αμινοξέα που απαιτούνται στη διατροφή της τσιπούρας.

Θρεπτική σύσταση (%)	Στάδιο ζωής	
	Ιχθυόδια	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	-
	Αμινοξέα (%)	
Αργινίνη	5,4	5,4
Ιστιδίνη	1,7	1,7
Ισολευκίνη	2,6	2,6
Λευκίνη	4,5	4,5
Λυσίνη	5,0	5,0
Μεθειονίνη	2,4	2,4
Φαινυλαλανίνη	2,9	2,9
Θρεονίνη	2,8	2,8
Τρυπτοφάνη	0,6	0,6
Βαλίνη	3,0	3,0

1.3. Το ιχθυάλευρο ως κύρια πηγή των ιχθυοτροφών

Ο τομέας των ιχθυοκαλλιεργειών αποτελεί μια ραγδαία αναπτυσσόμενη βιομηχανία, με υψηλούς ετήσιους ρυθμούς αύξησης τις τελευταίες δεκαετίες και με σημαντικές προοπτικές ανάπτυξης στο εγγύς μέλλον (Nogueira *et al.* 2012). Εκτιμάται ότι μέχρι το 2030, πάνω από το ήμισυ των ψαριών που καταναλώνονται, θα παράγονται από την υδατοκαλλιέργεια. Η συνολική παραγωγή αυξήθηκε από 10 εκατ. τόνους ψαριών το 1984, σε 63,6 εκατ. τόνους το 2011 (FAO 2012). Η μεγάλη ανάπτυξη των ιχθυοκαλλιεργειών συνοδεύτηκε από μια εξίσου μεγάλη αύξηση της ζήτησης για τεχνητές ιχθυοτροφές, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την παραγωγή συγκεκριμένων ιχθυαποθεμάτων που προορίζονται για ιχθυάλευρα (Tidwell & Allan 2002).

Οι ιχθυοτροφές των εκτρεφόμενων ειδών στην Ευρώπη εμπεριέχουν μεγάλες ποσότητες ιχθυάλευρων (Tacon & Metian 2008). Το ιχθυάλευρο είναι ένα υψηλής ποιότητας, πολύ εύπεπτο συστατικό των ιχθυοτροφών που ευνοεί τη διατροφή των ψαριών. Περιέχει μεγάλες ποσότητες ολικής ενέργειας ανά μονάδα βάρους και είναι μια εξαιρετική πηγή πρωτεϊνών, λιπιδίων, ανόργανων στοιχείων και βιταμινών (Jackson 2009). Τα ιχθυάλευρα παρασκευάζονται κυρίως από μικρά θαλασσινά ψάρια με υψηλό ποσοστό οστών και ελαίων και συνήθως θεωρούνται ότι δεν είναι κατάλληλα για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο. Ένα μικρό ποσοστό των ιχθυαλεύρων αποδίδεται στα παρεμπόδιοντα αλιεύματα, και στα υποπροϊόντα που δημιουργούνται κατά την επεξεργασία (π.χ. φιλέτα ψαριών και κονσερβοποιία) των διαφόρων θαλασσινών προϊόντων που προορίζονται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο (Miles & Chapman 2006).

Σε όλη την πορεία της, η ιχθυοκαλλιέργεια έχει κάνει χρήση ιχθυάλευρων για την τροφή, όχι μόνο των σαρκοφάγων και των παμφάγων ιχθύων, αλλά ακόμη και των

φυτοφάγων, ιδίως στα πρώτα στάδια της ζωής τους, όταν χρειάζονται υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης. Ο λόγος για τον οποίο έχουν αποδειχθεί τόσο δημοφιλή στον συγκεκριμένο τομέα είναι οι μοναδικές θρεπτικές τους ιδιότητες. Περιλαμβάνουν ένα υψηλό επίπεδο πρωτεΐνης, ιδανικό προφίλ αμινοξέων, υψηλή πεπτικότητα, έλλειψη αντιδιατροφικών παραγόντων, υψηλή γευστικότητα και μέχρι πριν από λίγα χρόνια ήταν άμεσα διαθέσιμα και οικονομικά για τους παραγωγούς (Jackson 2009).

Το 2003, στην ιχθυοκαλλιέργεια χρησιμοποιήθηκε το 42% της παγκόσμιας παραγωγής ιχθυαλεύρου, ενώ το 2010 το ποσοστό αυξήθηκε σημαντικά στο 60% της παγκόσμιας παραγωγής. Ως εκ τούτου, δεδομένου ότι η διαθεσιμότητα του ιχθυαλεύρου παρέμεινε στο ίδιο επίπεδο, 1 εκατομμύριο τόνους ετησίως, για περίπου 20 χρόνια, η συνεχιζόμενη αύξηση της ζήτησής του για την ιχθυοκαλλιέργεια δεν είναι πλέον βιώσιμη (Tacon 2004). Επιπλέον, λόγω της μέχρι πρότινος αλόγιστης χρήσης των αποθεμάτων ιχθυαλεύρου στις ιχθυοτροφές και καθώς η παραγωγή τους παραμένει στάσιμη, η τιμή τους συνεχώς αυξάνεται με αποτέλεσμα και το ολοένα και υψηλότερο κόστος παραγωγής των ιχθυοκαλλιεργειών (Alan 2006).

Εκτός από μια πιθανή έλλειψη στη διαθεσιμότητα του ιχθυαλεύρου, επιπλέον έχουν διεγερθεί ηθολογικές αντιδράσεις σχετικά με τη χρησιμοποίηση αλιευμένων ιχθύων με σκοπό την παραγωγή ζωοτροφών και όχι για την απευθείας κατανάλωσή τους από τον άνθρωπο (Goldburg & Naylor 2005). Επιπλέον, υπάρχει αυξημένη ευαισθητοποίηση των δημόσιων και μη-κυβερνητικών οργανώσεων όσον αφορά την αειφορική διαχείριση των ιχθυαποθεμάτων και τις πιθανές επιπτώσεις στα θαλάσσια οικοσυστήματα, ιδιαίτερα στην τροφική αλυσίδα των θαλάσσιων πτηνών και θηλαστικών (Huntington *et al.* 2004).

Μία τελική αιτία για την αναζήτηση υποκατάστατων των ιχθυάλευρων συστατικών ιχθυοτροφών σχετίζεται με τα επίπεδα των πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (PCBs) και διοξινών που έχουν ανιχνευτεί κατά καιρούς σε ορισμένα ιχθυαποθέματα. Έχει γενικά αποδειχτεί, ότι τα τελευταία χρόνια, τα είδη που αλιεύονται στη Νότια Αμερική περιέχουν χαμηλά επίπεδα των συγκεκριμένων χημικών επιμολυντών σε αντίθεση με αυτά που αλιεύονται στην Βόρεια Ευρώπη, στα οποία τα ποσοστά αυτά ήταν πολύ υψηλά, με αποτέλεσμα να ξεπερνούν τα νέα όρια της Ευρωπαϊκής Ένωσης και να θεωρούνται ακατάλληλα για τις ιχθυοτροφές (Easton *et al.* 2002). Επομένως, αφού η εμπιστοσύνη για τους συγκεκριμένους θαλάσσιους πόρους μειώνεται σημαντικά, οι τεχνητές ιχθυοτροφές εδώ και τουλάχιστον μία δεκαετία παρασκευάζονται με τη χρησιμοποίηση ολοένα και περισσότερων υποκατάστατων των ιχθυαλεύρων πρωτεϊνικών πηγών, κυρίως χερσαίων φυτικών αλλά και ζωικών προϊόντων και ο κλάδος βρίσκεται σε μία διαρκή αναζήτηση νέων υποκατάστατων (Tacon 1997).

1.4. Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεϊνικές πηγές φυτικής προέλευσης

Για τα φυτικά άλευρα που χρησιμοποιούνται ως υποκατάστατα του ιχθυαλεύρου, η καταλληλότητά τους εξετάζεται με κύριο γνώμονα την ανάπτυξη που προσδίδουν στους εκτρεφόμενους ιχθύς σε συνδυασμό με τη διαθεσιμότητα και τη χαμηλή τιμή διάθεσής τους στο εμπόριο. Τέτοια φυτικά άλευρα είναι το σογιάλευρο, το κραμβάλευρο, το φοινικάλευρο, το βαμβακάλευρο, το φυστικάλευρο, το ηλιάλευρο, το σουσαμάλευρο, το καρυδάλευρο, η γλουτένη αραβοσίτου, η γλουτένη σιταριού κ.α. (Μεντέ και Νέγκας 2011). Ωστόσο, τα φυτικά άλευρα, συγκριτικά με τα ιχθυάλευρα, περιέχουν χαμηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης και ορισμένων απαραίτητων αμινοξέων,

αλλά και διάφορες αντιδιατροφικές ουσίες που, αν δεν αδρανοποιηθούν, μέσω της κατάλληλης επεξεργασίας τους, μπορεί να προκαλέσουν μείωση της ανάπτυξης, τοξικότητες και προβλήματα υγείας στους διατρεφόμενους ιχθύς (Francis *et al.* 2001). Μια σημαντική ανησυχία σχετικά με τις φυτικές πρωτεΐνες είναι η παρουσία των γενετικά τροποποιημένων προϊόντων, που χρησιμοποιούνται σήμερα στη γεωργία, ιδιαίτερα εκείνων που προέρχονται από σόγια και καλαμπόκι (Pusztai & Bardocz 2006).

Εδώ και πολλά χρόνια έχει πραγματοποιηθεί ένας μεγάλος αριθμός ερευνών για την υποκατάσταση ή και την πλήρη αντικατάσταση των ιχθυαλεύρων στις ιχθυοτροφές, με προϊόντα φυτικής προέλευσης για την κάλυψη των διατροφικών απαιτήσεων των ιχθύων σε πρωτεΐνες. Πρόσφατα, ο κύριος στόχος των ερευνών επικεντρώθηκε στην εισαγωγή πιο βιώσιμων πρακτικών ιχθυοκαλλιέργειας, παρά την επιθυμία για αποδοτικότερες πρώτες ύλες (Medale *et al.* 1998).

Ορισμένες μελέτες έχουν διεξαχθεί με δίαιτες χωρίς την παρουσία ιχθυαλεύρου, αλλά σε γενικές γραμμές έχουν ως αποτέλεσμα την απώλεια των αναπτυξιακών επιδόσεων των ιχθύων (Kaushik *et al.* 1995, Watanabe *et al.* 1998). Στην τσιπούρα (*Sparus aurata*), προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι περίπου το ένα τρίτο των ιχθυαλεύρων θα μπορούσε να αντικατασταθεί χωρίς να μειώνονται τα επίπεδα των απαραίτητων αμινοξέων στο σώμα των ιχθύων ή ο ρυθμός ανάπτυξής της (Gomez-Requeni *et al.* 2003). Ψάρια με μέσο αρχικό βάρος σώματος 5 g διατράφηκαν για 12 εβδομάδες με πειραματικά σιτηρέσια που περιείχαν 10% και 20% πρωτεΐνης από μεταποιημένους σπόρους μπιζελιού. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι οι σπόροι μπιζελιού μπορούν να αντικαταστήσουν μέχρι και το 20% της πρωτεΐνης των

ιχθυάλευρων στη διατροφή των ιχθυδίων τσιπούρας χωρίς να επηρεάζεται η απόδοση των ψαριών (Pereira & Oliva-Teles 2002).

Ωστόσο, σε μια πιο πρόσφατη μελέτη που διεξήχθη πάνω από 12 εβδομάδες, οι τσιπούρες παρουσίασαν μια μικρή μείωση της ανάπτυξής τους κατά την παροχή του 50% και 75% της πρωτεΐνης από μίγμα φυτικών πηγών (άλευρο γλουτένης καλαμποκιού, γλουτένη σιταριού, αλεσμένα μπιζέλια, άλευρο ελαιοκράμβης), αλλά παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της ανάπτυξης κατά την ένταξη της φυτικής πρωτεΐνης σε ποσοστό 100% και αυτό συνδέθηκε με μια σημαντική μείωση στην πρόσληψη της τροφής (Gomez-Requeni *et al.* 2004). Αντίθετα, μια πρόσφατη δοκιμή, σε πείραμα που διεξήχθη για 6 μήνες σε ιχθύδια τσιπούρας, έδειξε ότι μέχρι και το 75% της ενσωμάτωσης φυτικών πρωτεϊνών, όπως γλουτένη καλαμποκιού, σιταριού και άλευρου ελαιοκράμβης, δεν οδήγησε σε μείωση της ανάπτυξής τους (Sitja-Bobadilla *et al.* 2005).

1.5. Αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με πρωτεϊνικές πηγές ζωικής προέλευσης

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

Τα κρεατάλευρα και τα οστεάλευρα είναι μια σχετικά οικονομική πηγή πρωτεϊνών και έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για να αντικαταστήσουν εν μέρει τα ιχθυάλευρα στα σιτηρέσια αρκετών ειδών εκτρεφόμενων ιχθύων (Allan *et al.* 2000, Kikuchi *et al.* 1997), χωρίς σημαντικές δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξή τους.

Στην έρευνα των Nogueira *et al.* (2012) χορηγήθηκαν τρεις δίαιτες σε ιχθύδια τσιπούρας αρχικού σωματικού βάρους 41g. Η πρώτη περιείχε ιχθυάλευρο, ενώ οι άλλες δυο περιείχαν παρόμοια ποσοστά αιματάλευρου και πετεράλευρου, 10% και 5% αντίστοιχα, αλλά διέφεραν στο ποσοστό του αλεύρου σόγιας / ελαιοκράμβης. Αν και η απόδοση της ανάπτυξης ήταν παρόμοια σε όλες τις διατροφικές μεταχειρίσεις, η χημική σύσταση έδειξε ότι τα σιτηρέσια με το αιματάλευρο και το πετεράλευρο αύξησε σημαντικά, σε ολόκληρο το σώμα, την περιεκτικότητα σε λιπίδια σε σύγκριση με το σιτηρέσιο ιχθυαλεύρου. Τέλος, η οικονομική αξιολόγηση έδειξε ότι με την ενσωμάτωση των αιματάλευρων και των πετεράλευρων ως υποκατάστατο ιχθυαλεύρων μειώθηκε σημαντικά το κόστος των ζωοτροφών, γεγονός που οδηγεί σε μελλοντικές προοπτικές. Έπειτα και από την πρόσφατη (2013) άρση της απαγόρευσης των μεταποιημένων ζωικών πρωτεϊνών στις ιχθυοτροφές στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, δημιουργούνται νέες προοπτικές χρησιμοποίησης των πρωτεϊνικών πηγών ζωικής προέλευσης (Καραπαναγιωτίδης, προφορική επικοινωνία).

1.6. Η πρωτεΐνη των εντόμων ως συστατικό των ιχθυοτροφών

Τα έντομα θα μπορούσαν να αποτελέσουν μια εναλλακτική λύση για την κάλυψη ενός μέρους των διατροφικών αναγκών των εκτρεφόμενων ψαριών, με την προϋπόθεση βέβαια ότι η ανάπτυξή τους και η ποιότητα της εδώδιμης σάρκας τους δεν θα επηρεάζεται αρνητικά. Τα έντομα αποτελούν πλούσιες πηγές ζωικής πρωτεΐνης

(>40% της ολικής τους ξηρής ουσίας) με «καλό» προφίλ απαραίτητων αμινοξέων, ενώ αποτελούν και πλούσια πηγή λιπών-ενέργειας (Khusro *et al.* 2012). Στη χρησιμοποίηση των εντόμων για την εκτροφή ψαριών συνηγορεί και το γεγονός ότι τα ψάρια στη φύση καλύπτουν ένα μέρος των διατροφικών τους αναγκών με έντομα (Hill & Watson 2007), καθώς αυτά είναι πλούσια σε πρωτεΐνες, λίπη και άλλα θρεπτικά συστατικά απαραίτητα για τα ψάρια.

Τα προβλήματα που εμφανίζει αρχικά η χρησιμοποίηση των εντόμων ως συστατικά των ιχθυοτροφών είναι η διαθεσιμότητα των εντόμων στις ποσότητες που απαιτούνται, η μη διαθέσιμη προς το παρόν κατάλληλη τεχνολογία παρασκευής αλεύρου εντόμων, καθώς και το κόστος της εκτροφής των εντόμων, το οποίο πρέπει να είναι ανταγωνιστικό (Monentcham *et al.* 2009).

1.7. Σκοπός της εργασίας

Είναι πλέον αποδεκτό πως μελλοντικά τα ιχθυάλευρα θα χρησιμοποιούνται με φειδώ στις ιχθυοτροφές και ίσως τελικά αποτελέσουν συστατικά-κλειδιά μόνο για συγκεκριμένους τύπους ιχθυοτροφών (π.χ. ατελών ιχθυδίων, προπάχυνση, γεννήτορες) και μειωθούν κατά πολύ στις τροφές της κύριας ανάπτυξης (Tacon & Metian 2008). Η πρόκληση λοιπόν στις μέρες μας για τη βιομηχανία των ιχθυοκαλλιεργειών είναι να αναπτύξει εναλλακτικές διατροφικές πηγές για τα εκτρεφόμενα ψάρια, η παραγωγή των οποίων θα είναι οικονομικά βιώσιμη και φιλική προς το περιβάλλον.

Η παρούσα προτεινόμενη μελέτη κινείται προς την κατεύθυνση εξεύρεσης εναλλακτικών διατροφικών πηγών, με βάση την πρωτεΐνη των εντόμων, για την εκτροφή ψαριών στις ιχθυοκαλλιεργείες. Σκοπός της μελέτης είναι η διερεύνηση της

δυνατότητας χρησιμοποίησης εντόμων ως κύρια συστατικά των ιχθυοτροφών της εκτρεφόμενης τσιπούρας *Sparus aurata*.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Ιχθύδια του είδους *Sparus aurata* με αρχικό μέσο βάρος $1,47 \pm 0,22\text{g}$ μεταφέρθηκαν, σε ειδικές συσκευασίες με οξυγόνο, από τον ιχθυογεννητικό σταθμό «ΔΙΑΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ Α.Β.Ε.Ε» (Πελασγία Φθιώτιδος) στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος στο Βόλο, όπου και έλαβε χώρα το πείραμα. Από τον αρχικό αριθμό, 240 ιχθύδια τοποθετήθηκαν σε πειραματικές δεξαμενές και αφέθηκαν να εγκλιματιστούν στις συνθήκες για συνολικά 3 ημέρες, ενώ ένας αριθμός 100 ιχθυδίων θανατώθηκαν για την πραγματοποίηση χημικών αναλύσεων τόσο στο σώμα, καθώς και στο μυϊκό ιστό αυτών (αρχικό δείγμα). Τα ιχθύδια αφέθηκαν να εγκλιματιστούν στις πειραματικές συνθήκες για 10 ημέρες, όπου σιτίζονταν μία φορά την ημέρα. Το πείραμα διήρκεσε συνολικά δέκα εβδομάδες 70 μέρες, 1 Ιουνίου – 10 Αυγούστου.

Τα ιχθύδια μετά τον εγκλιματισμό τοποθετήθηκαν σε δεξαμενές κλειστού κυκλώματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού. Οι πειραματικές εγκαταστάσεις αποτελούνταν από 12 γυάλινα ενυδρεία χωρητικότητας 60L το καθένα, καθώς επίσης και από ένα σύστημα μηχανικής-βιολογικής διήθησης του νερού για την απομάκρυνση της συνολικής αμμωνίας, των περιττωμάτων και υπολειμμάτων τροφής. Κατά τον πρώτο μήνα του πειράματος, χρησιμοποιήθηκε θαλασσινό νερό από την περιοχή των Αλκων Βόλου, ενώ στη συνέχεια νερό βρύσης συνθετικής αλατότητας 35‰. Πριν τοποθετηθεί το θαλασσινό νερό στα ενυδρεία, περνούσε από λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) για την αποστείρωσή του από παθογόνους μικροοργανισμούς. Σε καθημερινή βάση πραγματοποιούνταν σιφωνισμός του πυθμένα και αντικατάσταση του νερού έως και 10% του συνολικού όγκου των ενυδρείων. Επιπλέον, ανά τακτά χρονικά

διαστήματα τοποθετούνταν, τόσο στο νερό του ενυδρείου όσο και μέσα στα φίλτρα, διάλυμα βακτηρίων για τη νιτροποίηση των αζωτούχων οργανικών ενώσεων. Η διάταξη των δεξαμενών καθώς και των φίλτρων απεικονίζεται στην Εικόνα 2.1. Τα ιχθύδια διαχωρίστηκαν σε 4 διατροφικές ομάδες, λαμβάνοντας η κάθε μία διαφορετικό σιτηρέσιο. Η κάθε διατροφική ομάδα αποτελούνταν από 60 ιχθύδια τα οποία κατανεμήθηκαν σε υποομάδες των 20 ατόμων σε 3 ενυδρεία (4 διατροφικές μεταχειρίσεις, 3 δεξαμενές-επαναλήψεις ανά μεταχείριση, 20 ιχθύδια ανά δεξαμενή).



Εικόνα 2.1: Διάταξη δεξαμενών και απεικόνιση του συστήματος φιλτραρίσματος-αποστείρωσης (φωτογραφία συγγραφέα).

Οι φυσικοχημικές παράμετροι του νερού ελέγχονταν καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Σε εβδομαδιαία βάση καταγράφονταν μετρήσεις για τη θερμοκρασία του νερού ($21\text{ }^{\circ}\text{C}$), το pH ($8,00 \pm 0,4$), την αλατότητα ($34 \pm 0,5\%$) και το διαλυμένο οξυγόνο ($>6,5\text{ mg/l}$) με τη χρήση φορητών ηλεκτρονικών οργάνων. Επίσης, σε τακτά χρονικά διαστήματα προσδιορίζονταν η συγκέντρωση της ολικής αμμωνίας ($<1\text{ mg/l}$), των νιτρικών και νιτρωδών με χρήση εμπορικών test-kits. Η τεχνητή φωτοπερίοδος που εφαρμόστηκε ήταν 12 ώρες φως – 12 ώρες σκότους με την εναλλαγή να πραγματοποιείται στις 08:00 και 20:00, αντίστοιχα.

2.2. Σιτηρέσια – Σίτιση

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

Τα τέσσερα πειραματικά σιτηρέσια που χορηγήθηκαν στα ιχθύδια καταρτίστηκαν ώστε να είναι ισοενεργειακά (22 MJ/Kg τροφής) καθώς και ισοπρωτεϊνικά (45% της τροφής). Ως βασική πρωτεϊνική πηγή ζωικής προέλευσης χρησιμοποιήθηκε υψηλής ποιότητας ιχθυάλευρο. Για την υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου χρησιμοποιήθηκε άλευρο από προνύμφες της μύγας *Hermetia illucens* (μυγάλευρο). Τα επίπεδα συμμετοχής του πρώτου μειώνονταν σταδιακά στα τέσσερα σιτηρέσια (Α, Β, Γ και Δ) με παράλληλη σταδιακή αύξηση του ποσοστού του δεύτερου. Έτσι, το σιτηρέσιο Α περιείχε μόνο ιχθυάλευρο και καθόλου μυγάλευρο, το Β περιείχε ιχθυάλευρο σε μειωμένο ποσοστό και ένα ποσοστό μυγάλευρου, τέτοιο ώστε η πρωτεΐνη του τελευταίου υποκαθιστούσε την πρωτεΐνη του πρώτου κατά 10% της συνολικής πρωτεΐνης του σιτηρεσίου. Αντίστοιχα, στο Γ η υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από μυγάλευρο ήταν της τάξης του 20% και στο Δ της τάξης του 30%. Στα σιτηρέσια, επίσης χρησιμοποιήθηκε γλουτένη καλαμποκιού, σε σταθερό ποσοστό (26%), ως πρωτεϊνική πηγή φυτικής προέλευσης και πηγή υδατανθράκων σύμφωνα με τα μέσα επίπεδα χορήγησης φυτικών πρωτεϊνών στις εμπορικές τροφές της τσιπούρας σήμερα. Το άλευρο σίτου χρησιμοποιήθηκε ως ενεργειακή πηγή και ως ενεργειακό αντιστάθμισμα των πέντε ισοενεργειακών σιτηρεσίων. Ως κύρια πηγή ενέργειας, ω_3 και ω_6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων χρησιμοποιήθηκε το ιχθυέλαιο (Πιν. 2.1).

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

Συστατικά (%)	A	B	Γ	Δ
Ιχθυάλευρο	45	41	37,2	34
Μυγάλευρο	0	9,5	19,4	27,6
Γλουτένη καλαμποκιού	26	26	26	26
Σιτάρι, αλεύρι	15	10	4,5	0
Ιχθυέλαιο	12	11,5	10,9	10,4
Βιταμίνες & ανόργανα στοιχεία	0,6	0,6	0,6	0,6
MCP	0,3	0,3	0,3	0,3
Χολίνη	0,3	0,3	0,3	0,3
Μεθειονίνη	0,2	0,2	0,2	0,2
Λυσίνη	0,1	0,1	0,1	0,1
Βιταμίνη E	0,1	0,1	0,1	0,1
Βιταμίνη C	0,1	0,1	0,1	0,1
Αντιμυκητιακή ουσία	0,3	0,3	0,3	0,3
Χημική σύσταση (%)				
Ξηρά ουσία	89,99	87,68	87,2	88,86
Ολικές αζωτούχες ουσίες	45,30	44,39	44,54	46,11
Ολικές λιπαρές ουσίες	16,34	17,39	19,20	20,01
Υδατάνθρακες ¹	30,07	28,86	26,44	23,51
Τέφρα	8,29	9,36	9,82	10,37
Ινώδεις ουσίες ²	1,46	1,37	1,28	1,21
Ενέργεια (MJ/Kg) ³	22,07	22,06	22,40	22,59
Πρωτεΐνη/Ενέργεια (g / MJ)	20,52	20,12	19,88	20,41

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

² Η περιεκτικότητα των σιτηρεσίων σε ινώδεις ουσίες εκτιμήθηκε από γνωστές περιεκτικότητες των επί μέρους συστατικών (NRC 1993).

³ Η ολική ενέργεια υπολογίστηκε ως άθροισμα των επιμέρους ολικών ενεργειών που προσφέρει κάθε θρεπτικό συστατικό λαμβάνοντας υπ' όψη τους συντελεστές 23,6, 38,9 και 16,7 για τις πρωτεΐνες, τα λιπίδια και τους υδατάνθρακες, αντίστοιχα (Atienza *et al.* 2004).

Μικροσυστατικά που χρησιμοποιήθηκαν ως εμπλουτιστικά 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 0,6% (Πιν. 2.2) καθώς και οι βιταμίνες E και C σε ποσοστό 0,1%. Συγκεκριμένα αμινοξέα, όπως χολίνη, λυσίνη και μεθειονίνη, προστέθηκαν σε ποσοστά 0,3%, 0,2% και 0,1% αντίστοιχα, για να διασφαλίσουν τυχόν ανεπάρκεια των ιχθυδίων σε αυτά τα στοιχεία, ενώ προστέθηκε και αντιμυκητιακή ουσία κατά 0,3%, για την αποφυγή ενδεχόμενης ανάπτυξης μυκήτων στις τροφές.

Η προνύμφη της μύγας *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae, black soldier fly), προήλθε από φυσικό πληθυσμό της μύγας, που συλλέχθηκε στην περιοχή του Νοτίου Πηλίου (Μετόχι Αργαλαστής) με τη βοήθεια του Δρ. Χ. Ρούμπου. Η εκτροφή διατηρήθηκε σε συνθήκες θερμοκηπίου, στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ενώ ως υπόστρωμα εκτροφής χρησιμοποιήθηκαν οργανικά (κυρίως φυτικά και κατά δεύτερο λόγο ζωικά) υπολείμματα. Οι προνύμφες που χρησιμοποιήθηκαν για το πείραμα της παρούσας έρευνας συλλέχθηκαν από τον Σεπτέμβριο του 2012 μέχρι τον Απρίλιο του 2013. Μετά τη συλλογή τους αποθηκεύτηκαν στους -20 °C μέχρι την έναρξη της επεξεργασία τους σε μορφή αλεύρου. Για το σκοπό αυτό, οι προνύμφες ξηράνθηκαν σε φούρνο για 5 ώρες στους 40 °C, έπειτα αφέθηκαν στον απαγωγό για 24 ώρες και κατόπιν αλέστηκαν σε κοκκομετρία <0,5 mm. Για την περεταίρω αφαίρεση της υγρασίας του αλεσμένου αλεύρου, αυτό τοποθετήθηκε για άλλες 24 ώρες στον απαγωγό μέχρι που η υγρασία του αλεύρου ήταν μικρότερη από 12%, σημείο ασφάλειας για την αποφυγή ανεπιθύμητων μυκητιακών αλλοιώσεων.

Η χορήγηση της τροφής ήταν με το χέρι καθημερινή, 2 φορές την ημέρα, για τις πρώτες 30 μέρες και λάμβανε χώρα στις 10 π.μ. και στις 16 μ.μ., ενώ μετά το πέρας του πρώτου μήνα η χορήγηση της τροφής γινόταν μόνο 1 φορά τη μέρα στις 11 π.μ. Η σίτιση ήταν μέχρι κορεσμού (*ad libitum*).

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

Συστατικά	Ποσότητα (mg) / Kg προμίγματος
<u>Βιταμίνες</u>	
Βιταμίνη E (90% α-τοκοφερολη)	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 Stay C)	33.333
<u>Ανόργανα στοιχεία</u>	
Μαγγάνιο (οξείδιο)	10.000
Ψευδάργυρος (οξείδιο)	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

2.3. Δειγματοληψίες

Η εκτροφή των ιχθυδίων διήρκησε 70 ημέρες. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου πραγματοποιήθηκαν 4 μετρήσεις βάρους: στην έναρξη του πειράματος, την 24^η, την 50^η και μία τελική την 71^η ημέρα. Το μήκος των ιχθύων μετρήθηκε μόνο την πρώτη και την τελευταία ημέρα του πειράματος. Για την αναισθητοποίηση των ψαριών χρησιμοποιήθηκε φαινοξιθανόλη σε συγκέντρωση 0,10 ml/l. Στη συνέχεια, ζυγίζονταν ατομικά κάθε ιχθύδιο σε ζυγό ακριβείας 2 δεκαδικών ψηφίων (0,01 g) και μετρούνταν το μήκος με ιχθυόμετρο (ακρίβεια 0,1 cm). Στην τελική μέτρηση (71^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 3 ψάρια από κάθε δεξαμενή, αποθηκεύτηκαν και συντηρήθηκαν στους -20⁰C με σκοπό τη χημική ανάλυση της θρεπτικής σύστασης του σώματος τους (ολόκληρο σώμα).

Ακολούθησε τομή στην κοιλιακή χώρα 3 ατόμων από κάθε δεξαμενή (9 άτομα ανά σιτηρέσιο) με σκοπό την ζύγιση και συλλογή του ήπατος για πραγματοποίηση των χημικών αναλύσεων αυτού (αποθήκευση και ψύξη στους -20⁰C). Επίσης πραγματοποιήθηκε φιλετοποίηση 3 ατόμων από κάθε δεξαμενή (9 ανά σιτηρέσιο) με σκοπό την χημική ανάλυση του μυϊκού ιστού.

2.4. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

2.4.1. Θνησιμότητα

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

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

2.4.2. Αύξηση ολικού βάρους ψαριών

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

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

2.4.3. Ποσοστό αύξησης του ολικού βάρους

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

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

2.4.4. Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης

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

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

Όπου,

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

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

2.4.5. Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (food conversion ratio, FCR) εκφράζει το βαθμό αξιοποίησης της τροφής από τα ψάρια και δίνεται από τον λόγο της

ποσότητας της τροφής που χορηγήθηκε προς την αύξηση του ολικού βάρους τους. Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής υπολογίζεται από τη σχέση:

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

2.4.6. Συντελεστής αποδοτικότητας πρωτεϊνών

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

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

2.4.7. 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:

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

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

2.4.8. Σωματομετρικοί δείκτες

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

HSI= Βάρος ήπατος \times 100 / Βάρος σώματος (εκτός εντόσθιων, ήπατος)

VSI= Βάρος εντόσθιων \times 100 / Βάρος σώματος (εκτός εντόσθιων, ήπατος)

K= Ολικό βάρος σώματος \times 100 / Ολικό μήκος³

2.5. Χημικές αναλύσεις

2.5.1. 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). Κατά τη διαδικασία της εκχύλισης, τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 150 °C υπό την παρουσία του οργανικού διαλύτη, όπου έλαβε χώρα το πρώτο στάδιο της εκχύλισης. Έπειτα, ο οργανικός διαλύτης απορροφήθηκε και εκπλύθηκε στο δείγμα για 1,5h, όπου έλαβε χώρα το δεύτερο στάδιο της εκχύλισης. Κατόπιν, απορροφήθηκε ο διαλύτης για 15min με αποτέλεσμα τα ολικά λιπίδια του δείγματος να παραμείνουν στον πάτο του δοχείου εκχύλισης. Για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων πετρελαϊκού αιθέρα τα δοχεία (χωρίς τους χάρτινους ηθμούς) μεταφέρθηκαν στο

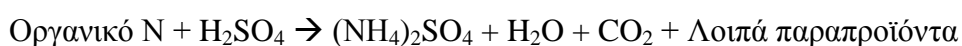
φούρνο για 15min στους 105°C. Στην συνέχεια τοποθετήθηκαν σε αφυγραντήρα για 1h το λιγότερο και πάρθηκαν οι μετρήσεις βάρους. Το καθαρό βάρος των λιπαρών ουσιών δίνεται από τον τύπο:

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

2.5.2. Προσδιορισμός αζωτούχων ενώσεων

Ο προσδιορισμός των ολικών αζωτούχων ουσιών των πειραματικών σιτηρεσίων και του μυϊκού ιστού των ψαριών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC 1995) Η διαδικασία προσδιορισμού των αζωτούχων ενώσεων έχει ως εξής:

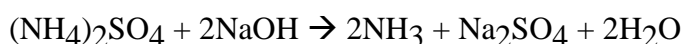
Σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων ζυγίστηκαν δείγματα τροφών - μυϊκών ιστών βάρους 0,2g (3 επαναλήψεις για κάθε δείγμα) και μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες πέψης. Προστέθηκαν 2 ταμπλέτες καταλύτη Kjeltabs (5g Potassium Sulphate K_2SO_4 και 5g copper (II) Sulphate $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 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. Η διαδικασία της πέψης πραγματοποιείται στους 150°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

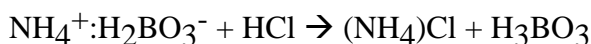
Κατόπιν, τα δείγματα τοποθετούνται σε συσκευή απόσταξης, στην οποία προστίθενται 100 ml αποσταγμένου H_2O , 80 ml NaOH και 50 ml H_3BO_3 . Η διαδικασία

διαρκεί 6min. Το θεικό αμμώνιο, που είχε παραχθεί κατά την διαδικασία της πέψης, αντιδρά με υδροξείδιο του νατρίου (NaOH) και αποδεσμεύεται αμμωνία (σε αέρια μορφή) και θεικό νάτριο (Na₂SO₄). Η αμμωνία (NH₄) έπειτα αντιδρά με βορικό οξύ (H₃BO₄) και το άζωτο του δείγματος δεσμεύεται σε μορφή βορικού αμμωνίου, σύμφωνα με τις εξής αντιδράσεις:



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

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



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

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

2.5.3. 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:

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

2.5.4. 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,

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

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

2.6. Ιστολογική εξέταση

Για τη μικροσκοπική ανατομική μελέτη του ήπατος χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές ιστολογίας οι οποίες περιλαμβάνουν τα εξής στάδια: Απομόνωση του ήπατος από τρία δείγματα τσιπούρας από κάθε ενυδρείο, μονιμοποίηση του ιστού σε διάλυμα ουδέτερης φορμόλης 10% για 48 ώρες, αφυδάτωση - διαύγαση - έγκλιση του ιστού σε παραφίνη

στην ιστοκινέτα για 15 ώρες, εμφύσηση και εγκλεισμός σε παραφίνη, τομή του ιστού στη μικροτόμο μεγέθους 6 μm , αποπαραφίνωση στη φλόγα ενός λύχνου, χρώση του ιστού σε διάλυμα χρώσης αιματοξυλίνης – εωσίνης και τέλος στερεοποίηση των τομών.

Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν μέρη του ήπατος από 3 ψάρια από κάθε δεξαμενή, συνολικά 9 ψάρια από κάθε διατροφική μεταχείριση. Οι ιστολογικές τομές μελετήθηκαν σε οπτικό μικροσκόπιο (Axiostar plus Carl Zeiss Light Microscopy, Carl Zeiss Ltd, Gottingen, Germany) σε μεγέθυνση $\times 40$. Οι απεικονίσεις κάθε παρασκευάσματος φωτογραφήθηκαν μέσω ειδικού προσαρμοσμένου στο μικροσκόπιο φωτογραφικού φακού. Οι απεικονίσεις κάθε ιστού του ήπατος χρησιμοποιήθηκαν για την ιστολογική περιγραφή της λιπώδους εκφύλισης στο ήπαρ των ψαριών.

2.7. Προσδιορισμός αμμωνίας, νιτρωδών και νιτρικών

Μετά το τέλος του πειράματος τοποθετήθηκαν 13 ψάρια παρόμοιου μεγέθους σε κάθε δεξαμενή, με απενεργοποιημένα τα φίλτρα νερού. Πάρθηκαν δείγματα νερού (100ml/δεξ.) και έπειτα τα ψάρια σιτίστηκαν με 2,00 g τροφής από τα Α, Γ και Δ διατροφικά σιτηρέσια (2 δεξ/διατροφική μεταχείριση). Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία νερού 4, 12 και 24 ώρες μετά το τσίσιμα. Με το πέρας του πρώτου 24ώρου τα ψάρια επανασιτίστηκαν και συνεχίστηκαν οι δειγματοληψίες ύστερα από 36 και 48 ώρες από την ώρα της πρώτης σίτισης. Στα δείγματα νερού των ενυδρείων προσδιορίστηκε η ολική αμμωνία ($\text{NH}_4\text{-NH}_3$), τα νιτρικά (NO_3) και νιτρώδη (NO_2) ιόντα με χρησιμοποίηση εμπορικών σκευασμάτων τύπου test-kit. Η όποια διαφοροποίηση στην ποιότητα του νερού μεταξύ των ενυδρείων των διαφορετικών διατροφικών μεταχειρίσεων αξιολογήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση διαφορών ως προς την αποβολή του αζώτου μεταξύ των διαφορετικών σιτηρεσίων.

2.8. Στατιστική ανάλυση

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

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Θνησιμότητα

Σε όλη τη διάρκεια του πειράματος σημειώθηκαν θνησιμότητες των ιχθυδίων όλων των διατροφικών ομάδων σε ποσοστό 19,58% (47 άτομα στο σύνολο των 240). Πιο αναλυτικά (Πιν. 3.1), για την Α διατροφική ομάδα καταγράφηκε ποσοστό θνησιμοτήτων $20,0 \pm 10,0\%$, για την Β διατροφική ομάδα $18,3 \pm 7,6\%$, για την Γ διατροφική ομάδα καταγράφηκε ποσοστό θνησιμοτήτων $20,0 \pm 10,0\%$ και τέλος για τη Δ διατροφική ομάδα $23,3 \pm 7,6\%$. Η στατιστική επεξεργασία με την μέθοδο one-way ANOVA έδειξε ότι η θνησιμότητα των ψαριών δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών ομάδων ($P < 0,05$).

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

Σιτηρέσια	N	%
A	$4,0 \pm 2,0$	$20,0 \pm 10,0$
B	$3,7 \pm 1,5$	$18,3 \pm 7,6$
Γ	$4,0 \pm 2,0$	$20,0 \pm 10,0$
Δ	$4,7 \pm 1,5$	$23,3 \pm 7,6$

Σημ.: Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων, τόσο στον αριθμό των θνησιμοτήτων όσο και στο ποσοστό αυτών.

3.2. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

3.2.1. Κατά την έναρξη του πειράματος

Το αρχικό μέσο βάρος και μήκος των ιχθυδίων κατά την έναρξη του διατροφικού πειράματος για τα άτομα που τοποθετήθηκαν στα ενυδρεία με το Α

σιτηρέσιο ήταν $1,47 \pm 0,00\text{g}$ και $5,1 \pm 0,03\text{cm}$ (Πιν. 3.2). Για αυτά που τοποθετήθηκαν στα ενυδρεία με το Β σιτηρέσιο ήταν $1,47 \pm 0,00\text{g}$ και $5,0 \pm 0,03\text{cm}$ αντίστοιχα. Για τα άτομα του Γ σιτηρεσίου το αρχικό βάρος ήταν $1,47 \pm 0,00\text{g}$ και το αρχικό μήκος $5,0 \pm 0,05\text{cm}$. Τέλος, για τα ιχθύδια που θα διατρέφονταν με το Δ σιτηρέσιο ήταν $1,48 \pm 0,01\text{g}$ και $5,0 \pm 0,07\text{cm}$ αντίστοιχα. Δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο αρχικό βάρος και το αρχικό μήκος των ατόμων ($P < 0,05$) κατά την έναρξη του διατροφικού πειράματος.

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.

	A	B	Γ	Δ
Αρχικό Βάρος (g)	1,47 \pm 0,00	1,47 \pm 0,00	1,47 \pm 0,00	1,48 \pm 0,01
Αρχικό Μήκος (cm)	5,1 \pm 0,03	5,0 \pm 0,03	5,0 \pm 0,05	5,0 \pm 0,07

Σημ.: Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων, τόσο στο αρχικό βάρος όσο και στο αρχικό μήκος των ψαριών.

3.2.2. Κατά την 24^η ημέρα πειράματος

Το μέσο βάρος των ψαριών κατά την 24^η ημέρα του διατροφικού πειράματος (Πιν. 3.3) ήταν $5,24 \pm 0,19\text{g}$ για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο Α, $3,50 \pm 0,29\text{g}$ για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο Β, $3,20 \pm 0,34\text{g}$ για τα άτομα που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο Γ, ενώ για αυτά που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο Δ το μέσο βάρος τους ήταν $3,11 \pm 0,44\text{g}$. Με βάση τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης το μέσο βάρος των ψαριών της Α μεταχείρισης ήταν σημαντικά μεγαλύτερο ($P < 0,05$) σε σχέση με αυτό των μεταχειρίσεων Β, Γ και Δ. Αξίζει να αναφερθεί πως παρατηρήθηκε μια τάση μείωσης του σωματικού βάρους των ψαριών με την αύξηση

του επιπέδου του μυγάλειου στο σιτηρέσιο, χωρίς ωστόσο αυτή να είναι στατιστικά σημαντική.

Η μέση αύξηση του σωματικού βάρους (Πιν. 3.3) για την 24^η ημέρα του πειράματος ήταν $4,10 \pm 0,48\text{g}$ για τα άτομα της Α μεταχείρισης, $2,03 \pm 0,29\text{g}$ για τα άτομα της Β μεταχείρισης, $1,73 \pm 0,34\text{g}$ για τα άτομα της Γ μεταχείρισης, ενώ για τα άτομα της Δ μεταχείρισης η μέση αύξηση βάρους ήταν $1,64 \pm 0,44\text{g}$. Σύμφωνα με τη στατιστική ανάλυση η μέση αύξηση του σωματικού βάρους των ψαριών της μεταχείρισης Α ήταν σημαντικά μεγαλύτερη ($P < 0,05$) σε σχέση με τις τιμές των υπόλοιπων μεταχειρίσεων.

Πίνακας 3.3: Σωματικό βάρος (g) και αύξηση βάρους (g) των ιχθύων, SGR (%/ημ) και FCR κατά την 24^η ημέρα του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση.

	A	B	Γ	Δ
Σωματικό βάρος (g)	$5,24 \pm 0,19^a$	$3,50 \pm 0,29^b$	$3,20 \pm 0,34^b$	$3,11 \pm 0,44^b$
Αυξ. βάρους (WG, g)	$4,10 \pm 0,48^a$	$2,03 \pm 0,29^b$	$1,73 \pm 0,34^b$	$1,64 \pm 0,44^b$
Συν. κατανάλωση (g)	$4,48 \pm 0,13^a$	$3,40 \pm 0,06^b$	$3,14 \pm 0,09^b$	$3,13 \pm 0,42^b$
SGR (%/ημ.)	$5,52 \pm 0,16^a$	$3,76 \pm 0,37^b$	$3,36 \pm 0,48^b$	$3,23 \pm 0,61^b$
FCR	$1,11 \pm 0,20^a$	$1,69 \pm 0,17^a$	$1,84 \pm 0,42^a$	$2,00 \pm 0,53^a$

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

Η συνολική κατανάλωση των ψαριών μέχρι την 24^η ημέρα του πειράματος (Πιν. 3.3) ήταν $4,48 \pm 0,13$ για τα άτομα της Α διατροφικής ομάδας, $3,4 \pm 0,06$ για αυτά της Β διατροφικής ομάδας, $3,14 \pm 0,09$ για τα ψάρια της Γ διατροφικής ομάδας και τέλος

ήταν $3,13 \pm 0,42$ για τα άτομα της Δ διατροφικής ομάδας. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι τα ψάρια που σιτίστηκαν με σιτηρέσια τα οποία περιείχαν κάποιο ποσοστό μυγάλευρου είχαν σημαντικά χαμηλότερη ($P < 0,05$) κατανάλωση τροφής συγκριτικά με τα ψάρια της ομάδας Α το σιτηρέσιο των οποίων περιείχε μόνο ιχθυάλευρο.

Η μέση τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR) (Πιν. 3.3) ήταν $5,5 \pm 0,2\%$ /ημέρα για τα ψάρια της διατροφικής ομάδας Α, $3,8 \pm 0,4\%$ /ημέρα για τα ψάρια της Β διατροφικής ομάδας, $3,4 \pm 0,5\%$ /ημέρα για τα ψάρια της Γ διατροφικής ομάδας και $3,2 \pm 0,61\%$ /ημέρα για τα ψάρια της διατροφικής ομάδας Δ. Η τιμή του SGR για τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο Α ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη των ψαριών που διατράφηκαν με τα Β, Γ και Δ σιτηρέσια. Παρατηρήθηκε μια τάση μείωσης του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης με την αύξηση του επιπέδου χορήγησης του μυγάλευρου στο σιτηρέσιο με τη μικρότερη τιμή να καταγράφεται για τα ψάρια της Δ μεταχείρισης. . Ωστόσο αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική..

Η μέση τιμή για τον συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) (Πιν. 3.3) εκτιμήθηκε $1,1 \pm 0,2$ για τα άτομα της Α διατροφικής ομάδας, $1,7 \pm 0,2$ για τα άτομα της Β διατροφικής ομάδας, $1,8 \pm 0,4$ για τα άτομα της Γ διατροφικής ομάδας, ενώ για τα άτομα που διατράφηκαν με το Δ σιτηρέσιο η τιμή της FCR ήταν $2,0 \pm 0,53$. Αν και παρατηρήθηκε μια τάση αύξησης του FCR με την αύξηση του επιπέδου χορήγησης του μυγάλευρου στο σιτηρέσιο, ωστόσο δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$) μεταξύ των διατροφικών ομάδων. Η χαμηλότερη τιμή του FCR ήταν για τα ψάρια που διατράφηκαν με το Α σιτηρέσιο.

3.2.3. Κατά την 50^η ημέρα πειράματος

Το μέσο βάρος των ψαριών την 50^η ημέρα του διατροφικού πειράματος (Πιν. 3.4) ήταν $12,03 \pm 0,71\text{g}$ για τα άτομα που διατράφηκαν με το Α σιτηρέσιο, $7,61 \pm 0,59\text{g}$ για τα άτομα που διατράφηκαν με το Β σιτηρέσιο, $6,45 \pm 1,0\text{g}$ για τα άτομα που διατράφηκαν με το Γ σιτηρέσιο και τέλος $6,41 \pm 0,77\text{g}$ για τα άτομα που διατράφηκαν με το Δ σιτηρέσιο. Η στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη τιμή του μέσου βάρους καταγράφηκε για τα ψάρια που διατράφηκαν με το Α σιτηρέσιο σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές των σιτηρεσίων Β, Γ και Δ που δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Αξίζει, ωστόσο, να αναφερθεί πως παρατηρήθηκε τάση μείωσης του σωματικού βάρους των ψαριών με την αύξηση του επιπέδου του μυγάλειου στο σιτηρέσιο, όπως συνέβη και κατά την 24^η ημέρα του πειράματος.

Η μέση αύξηση του σωματικού βάρους (Πιν. 3.4) ήταν $10,56 \pm 0,72\text{g}$ για τα άτομα της μεταχείρισης Α, $6,14 \pm 0,59\text{g}$ για τα άτομα της μεταχείρισης Β, $4,98 \pm 1,0\text{g}$ για τα άτομα της μεταχείρισης Γ και $4,93 \pm 0,78\text{g}$ για τα άτομα της μεταχείρισης Δ. Η στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη μέση αύξηση βάρους καταγράφηκε για τα ψάρια που διατράφηκαν με το Α σιτηρέσιο σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές των υπόλοιπων σιτηρεσίων. Η μικρότερες τιμές για την αύξηση του βάρους των ψαριών καταγράφηκαν για τις μεταχειρίσεις Γ και Δ, αν και δεν ήταν στατιστικά σημαντικές οι διαφορές.

Η συνολική κατανάλωση των ψαριών κατά την 50^η ημέρα του πειράματος (Πιν. 3.4) ήταν $11,00 \pm 0,22$ για τα άτομα της Α διατροφικής ομάδας, $7,97 \pm 0,01$ για αυτά της Β διατροφικής ομάδας, $7,19 \pm 0,05$ για τα ψάρια της Γ διατροφικής ομάδας και τέλος ήταν $7,05 \pm 0,33$ για τα άτομα της Δ διατροφικής ομάδας. Δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των σιτηρεσίων Β, Γ και Δ. Η στατιστικά μεγαλύτερη τιμή παρατηρήθηκε στην Α διατροφική ομάδα.

Η μέση τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR) (Πιν. 3.4) ήταν $9,14 \pm 0,26\%$ /ημέρα για τα ψάρια της Α διατροφικής ομάδας, $7,14 \pm 0,33\%$ /ημέρα για τα ψάρια της Β διατροφικής ομάδας, $6,39 \pm 0,71\%$ /ημέρα για τα ψάρια της Γ διατροφικής ομάδας και τέλος για τα ψάρια της Δ διατροφικής ομάδας η μέση τιμή ήταν $6,37 \pm 0,52\%$ /ημέρα. Η στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη μέση τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης καταγράφηκε για τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο Α σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές των σιτηρεσίων Β, Γ και Δ.

Πίνακας 3.4: Σωματικό βάρος (g) και αύξηση βάρους (g) των ιχθύων, SGR (%/ημ) και FCR κατά την 50^η ημέρα του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση.

	A	B	Γ	Δ
Σωματικό βάρος (g)	$12,03 \pm 0,71^a$	$7,61 \pm 0,59^b$	$6,45 \pm 1,0^b$	$6,41 \pm 0,77^b$
Αυξ. βάρους (WG, g)	$10,56 \pm 0,72^a$	$6,14 \pm 0,59^b$	$4,98 \pm 1,0^b$	$4,93 \pm 0,78^b$
Συν. κατανάλωση (g)	$11,00 \pm 0,22^a$	$7,97 \pm 0,01^b$	$7,19 \pm 0,05^b$	$7,05 \pm 0,33^b$
SGR (%/ημ.)	$9,14 \pm 0,26^a$	$7,14 \pm 0,33^b$	$6,39 \pm 0,71^b$	$6,37 \pm 0,52^b$
FCR	$1,04 \pm 0,02^a$	$1,31 \pm 0,15^{ab}$	$1,46 \pm 0,15^b$	$1,44 \pm 0,14^b$

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

Η μέση τιμή για τον συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) (Πιν. 3.4) εκτιμήθηκε $1,04 \pm 0,02$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας Α, $1,31 \pm 0,15$ για τα άτομα της διατροφικής ομάδας Β, $1,46 \pm 0,15$ για τα άτομα της Γ διατροφικής ομάδας και $1,44 \pm 0,14$ για τα άτομα της Δ διατροφικής ομάδας. Ο συντελεστής

μετατρεψιμότητας της τροφής ήταν σημαντικά χαμηλότερος ($P < 0,05$) για τα ψάρια της Α διατροφικής ομάδας σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές των ομάδων Γ και Δ, αλλά παρόμοιος ($P > 0,05$) με εκείνον της ομάδας Β. Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής για τις τρεις ομάδες ψαριών που διατράφηκαν με τα σιτηρέσια που περιείχαν μυγάλευρο ήταν παρόμοιος.

3.2.4. Κατά την ολοκλήρωση του πειράματος

Στο τέλος του πειράματος, το μέσο βάρος και μήκος των ψαριών ήταν $17,59 \pm 1,96\text{g}$ και $11,12 \pm 0,34\text{cm}$, αντίστοιχα για τα άτομα που διατράφηκαν με το Α σιτηρέσιο, $11,54 \pm 1,52\text{g}$ και $9,25 \pm 0,58\text{cm}$, αντίστοιχα με το Β σιτηρέσιο, $10,35 \pm 2,82\text{g}$ και $8,98 \pm 0,76\text{cm}$, αντίστοιχα με το Γ, $11,01 \pm 1,38\text{g}$ και τέλος $9,24 \pm 0,42\text{cm}$, αντίστοιχα με το Δ σιτηρέσιο. Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων με την μέθοδο one-way ANOVA έδειξε ότι τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο που περιείχε μόνο ιχθυάλευρο ως πηγή πρωτεΐνης (σιτηρέσιο Α) απέκτησαν το μεγαλύτερο μήκος με στατιστικά σημαντική διαφορά από τα ψάρια των άλλων τριών μεταχειρίσεων (Πιν. 3.5). Το τελικό μήκος των ψαριών των Β, Γ και Δ μεταχειρίσεων δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($P > 0,05$). Το μικρότερο τελικό βάρος και μήκος μεταξύ των ομάδων αποκτήθηκε από την Γ ομάδα, που ωστόσο δε διέφερε σημαντικά από τα τελικά βάρη και μήκη των υπόλοιπων ομάδων.

Η αύξηση βάρους των ψαριών της Α ομάδας ήταν σημαντικά μεγαλύτερη ($P < 0,05$) από τα ψάρια που διατράφηκαν με τα άλλα τρία σιτηρέσια, τα οποία δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους. Την μικρότερη αύξηση βάρους σημείωσαν τα ψάρια που διατράφηκαν με το Γ διατροφικό σιτηρέσιο, που όμως δεν διέφερε σημαντικά από τις αυξήσεις βάρους των ψαριών των διατροφικών σιτηρεσίων Β και Δ.

Η συνολική κατανάλωση της τροφής διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των πέντε διατροφικών ομάδων (Πιν. 3.5). Συγκεκριμένα, η ομάδα Α είχε την υψηλότερη κατανάλωση τροφής, που υπολογίστηκε $17,92 \pm 1,51\text{g}$, ενώ τις χαμηλότερες καταναλώσεις έδειξαν οι ομάδες Β ($12,83 \pm 0,75\text{g}$), Γ ($11,52 \pm 1,72\text{g}$) και Δ ($11,48 \pm 1,07\text{g}$), που ήταν μεταξύ τους παρόμοιες στατιστικά.

Πίνακας 3.5: Μέσο βάρος (g), μέσο ολικό μήκος (cm) και παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης τροφής των ιχθυδίων ανά διατροφικό σιτηρέσιο κατά την ολοκλήρωση του πειράματος. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσους όρους \pm τυπική απόκλιση.

	A	B	Γ	Δ
Τελ. μήκος (cm)	$11,12 \pm 0,34^a$	$9,25 \pm 0,58^b$	$8,98 \pm 0,76^b$	$9,24 \pm 0,42^b$
Τελ. βάρος (g)	$17,59 \pm 1,96^a$	$11,54 \pm 1,52^b$	$10,35 \pm 2,82^b$	$11,01 \pm 1,38^b$
Αυξ. βάρους (WG, g)	$16,12 \pm 1,96^a$	$10,07 \pm 1,52^b$	$8,88 \pm 2,83^b$	$9,53 \pm 1,39^b$
Συν. κατανάλωση (g)	$17,92 \pm 1,51^a$	$12,83 \pm 0,75^b$	$11,52 \pm 1,72^b$	$11,48 \pm 1,07^b$
SGR (%/ημ.)	$10,77 \pm 0,48^a$	$8,93 \pm 0,60^{ab}$	$8,37 \pm 1,28^b$	$8,73 \pm 0,06^b$
FCR	$1,12 \pm 0,05^a$	$1,30 \pm 0,30^a$	$1,36 \pm 0,30^a$	$1,21 \pm 0,53^a$
PER	$1,98 \pm 0,09^a$	$1,78 \pm 0,36^a$	$1,70 \pm 0,33^a$	$1,80 \pm 0,09^a$
PR (%)	$157,44 \pm 12,25^a$	$141,16 \pm 27,24^a$	$135,45 \pm 26,67^a$	$138,68 \pm 8,45^a$

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

Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR%/ημέρα) για τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο Α ήταν σημαντικά ($P < 0,05$) ο μεγαλύτερος με τιμή $10,77 \pm 0,48\%$ /ημέρα. Οι μικρότερες τιμές του SGR καταγράφηκαν για τα ψάρια της Γ και Δ μεταχείρισης, το οποίο επιβεβαιώνεται και από την στατιστική επεξεργασία. Το σιτηρέσιο Β δεν

παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές από το Α σιτηρέσιο, αλλά και ούτε από τα Γ και Δ. Όπως παρατηρήθηκε στην αύξηση βάρους, έτσι και στην περίπτωση του SGR, η τάση των τιμών των ψαριών για τα πειραματικά σιτηρέσια τείνουν να διαφοροποιηθούν από τις πρώτες 25 ημέρες του πειράματος.

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) παρουσιάζει μεγαλύτερη τιμή στα ψάρια που διατράφηκαν με το Γ σιτηρέσιο και υπολογίστηκε $1,36 \pm 0,30$, ενώ η μικρότερη τιμή του συντελεστή καταγράφηκε για τα ψάρια που διατράφηκαν με το Α σιτηρέσιο, $1,12 \pm 0,05$, χωρίς όμως να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τεσσάρων διατροφικών μεταχειρίσεων.

Ο συντελεστής αποδοτικότητας της πρωτεΐνης (PER) καθώς και ο συντελεστής διατήρησης της πρωτεΐνης (PR) καταγράφηκαν για τα ψάρια της Γ μεταχείρισης μικρότεροι από τις άλλες μεταχειρίσεις χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ η μέγιστη τιμή των συντελεστών PER και PR καταγράφηκε για τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο Α, αν και δεν ήταν σημαντικά μεγαλύτερη ($P > 0,05$) από τις τιμές των μεταχειρίσεων Β, Γ και Δ.

3.2.5. Σωματομετρικοί δείκτες

Ο ηπατοσωματικός δείκτης (HSI) υπολογίστηκε στο τέλος του διατροφικού πειράματος για το σύνολο των ιχθυδίων (Πιν. 3.6). Στην διατροφική ομάδα που σιτίστηκε με το Α σιτηρέσιο ο ηπατοσωματικός δείκτης ήταν $1,67 \pm 0,07$. Για την Β διατροφική ομάδα ο δείκτης ήταν $2,46 \pm 0,14$, για την διατροφική ομάδα Γ η τιμή του δείκτη ήταν $2,17 \pm 0,15$ και για την διατροφική ομάδα Δ ο δείκτης ήταν $2,22 \pm 0,24$. Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι η τιμή του δείκτη για την Α μεταχείριση είναι μικρότερη σε σχέση με τις τιμές των Β, Γ και Δ μεταχειρίσεων, ενώ η μέγιστη τιμή

καταγράφηκε για την Β μεταχείριση χωρίς να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τεσσάρων διατροφικών ομάδων.

Πίνακας 3.6: Ηπατοσωματικός δείκτης (HSI), ενδοσπλαχνικός δείκτης (VSI) και δείκτης ευρωστίας (K) της τσιπούρας (*Sparus aurata*).

	A	B	Γ	Δ
HSI	1,67±0,07 ^a	2,46±0,14 ^a	2,17±0,15 ^a	2,22±0,24 ^a
VSI	6,00±0,29 ^a	8,77±0,75 ^{ab}	8,39±1,24 ^{ab}	9,72±0,90 ^b
K	1,27±0,01 ^a	1,28±0,02 ^a	1,26±0,01 ^a	1,30±0,02 ^a

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

Ο ενδοσπλαχνικός δείκτης (VSI) υπολογίστηκε στο τέλος του διατροφικού πειράματος για το σύνολο των ιχθυδίων (Πιν. 3.6). Η τιμή του δείκτη για τα ψάρια που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο Α ήταν $6,00 \pm 0,29$, για το Β σιτηρέσιο ήταν $8,77 \pm 0,75$, για το Γ σιτηρέσιο ήταν $8,39 \pm 1,24$ και τέλος για το Δ σιτηρέσιο ήταν $9,72 \pm 0,90$. Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι η τιμή του δείκτη για το σιτηρέσιο Δ είναι η στατιστικά μικρότερη ($P<0,05$) σε σχέση με την τιμή του Α σιτηρεσίου, ενώ παρόμοιες τιμές καταγράφηκαν για τα σιτηρέσια Β και Γ ($P>0,05$). Παρατηρείται ότι ο ενδοσπλαχνικός δείκτης αυξάνεται καθώς μεγαλώνει το ποσοστό του μυγάλειου στα σιτηρέσια.

Η τιμή για τον δείκτη ευρωστίας των ψαριών που διατράφηκαν με το σιτηρέσιο Α ήταν $1,27 \pm 0,01$, για το σιτηρέσιο Β ήταν $1,28 \pm 0,02$, για το σιτηρέσιο Γ ήταν $1,26 \pm 0,01$ ενώ για το σιτηρέσιο Δ ήταν $1,30 \pm 0,02$. Η στατιστική επεξεργασία έδειξε ότι

δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών του δείκτη ευρωστίας των ψαριών που διατράφηκαν με τα διαφορετικά σιτηρέσια ($P>0,05$).

3.3. Χημικές αναλύσεις σώματος

Η περιεκτικότητα των ολικών σωμάτων της τσιπούρας σε υγρασία (Πιν. 3.7) στο τέλος του διατροφικού πειράματος για τα ψάρια της Α μεταχείρισης ήταν $72,57 \pm 1,40\%$, για την Β μεταχείριση ήταν $73,6 \pm 2,61\%$, για την Γ ήταν $73,36 \pm 0,84\%$ και τέλος για την μεταχείριση Δ ήταν $74,07 \pm 0,77\%$. Το ποσοστό της υγρασίας που υπολογίστηκε στα αρχικά δείγματα των ψαριών ήταν $79,62 \pm 1,38\%$. Η περιεκτικότητα σε υγρασία στο σώμα της τσιπούρας δεν επηρεάζεται σημαντικά από την βαθμιαία μείωση της ποσότητας του ιχθυαλεύρου ως πρωτεϊνική πηγή στα σιτηρέσια. Το μεγαλύτερο ποσοστό περιεκτικότητας σε υγρασία καταγράφηκε για τα ψάρια της Δ μεταχείρισης και το μικρότερο ποσοστό για την Α μεταχείριση. Αξίζει να αναφερθεί πως η περιεκτικότητα σε υγρασία των σωμάτων των ιχθύων όλων των διατροφικών ομάδων ήταν σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη του αρχικού πληθυσμού.

Ο μέσος όρος περιεκτικότητας σε αζωτούχες ενώσεις των ολικών σωμάτων της τσιπούρας στο τέλος του διατροφικού πειράματος (Πιν. 3.7) ήταν $58,04 \pm 1,84\%$ για το Α σιτηρέσιο, $58,58 \pm 3,44\%$ για το Β σιτηρέσιο, για το Γ σιτηρέσιο $57,63 \pm 3,6\%$ και για το Δ σιτηρέσιο $57,13 \pm 0,59\%$. Το ποσοστό της πρωτεΐνης που υπολογίστηκε στα αρχικά δείγματα των ψαριών ήταν $61,95 \pm 1,08\%$. Μικρή αύξηση στην περιεκτικότητα της πρωτεΐνης στο σώμα της τσιπούρας μετά το διατροφικό πείραμα, παρατηρήθηκε για το σιτηρέσιο Β, χωρίς όμως σημαντικές διαφορές. Με βάση την στατιστική επεξεργασία οι διαφορές των μετρήσεων μεταξύ αρχικού πληθυσμού και των

διατροφικών ομάδων μετά την ολοκλήρωση του πειράματος δεν παρουσιάζουν διαφορές.

Η μέση περιεκτικότητα λίπους σε ολόκληρο το σώμα της τσιπούρας στο τέλος του διατροφικού πειράματος (Πιν. 3.7) για την Α μεταχείριση ήταν $25,77 \pm 1,16\%$, για τα ψάρια της μεταχείρισης Β ήταν $26,55 \pm 3,31\%$, για την μεταχείριση Γ ήταν $26,86 \pm 0,89\%$ και για την Δ μεταχείριση το ποσοστό καταγράφηκε $25,11 \pm 0,71\%$. Το ποσοστό του λίπους που υπολογίστηκε στα αρχικά δείγματα των ψαριών ήταν $16,79 \pm 0,15\%$.

Αξίζει να αναφερθεί πως η περιεκτικότητα σε λίπος των σωμάτων των ιχθύων όλων των διατροφικών ομάδων ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνη του αρχικού πληθυσμού. Οι τιμές του λίπους για τα σώματα του τελικού πληθυσμού δεν παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων.

Πίνακας 3.7: Χημική σύσταση των ολικών σωμάτων των διαφόρων διατροφικών ομάδων στο τέλος του πειράματος (70 ημέρες).

%	Αρχ.	Α	Β	Γ	Δ
μετρήσεις					
Υγρασία	$79,62 \pm 1,38^b$	$72,57 \pm 1,40^a$	$73,6 \pm 2,61^a$	$73,36 \pm 0,84^a$	$74,07 \pm 0,77^a$
Πρωτεΐνη	$61,95 \pm 1,08^a$	$58,04 \pm 1,84^a$	$58,58 \pm 3,44^a$	$57,63 \pm 3,6^a$	$57,13 \pm 0,59^a$
Λίπος	$16,79 \pm 0,15^b$	$25,77 \pm 1,16^a$	$26,55 \pm 3,31^a$	$26,86 \pm 0,89^a$	$25,11 \pm 0,71^a$

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

Η περιεκτικότητα του μυϊκού ιστού της τσιπούρας σε υγρασία (Πιν. 3.7) στο τέλος του διατροφικού πειράματος για τα ψάρια της Α μεταχείρισης ήταν $76,59 \pm 0,36\%$, για την Β μεταχείριση ήταν $76,9 \pm 0,74\%$, για την Γ ήταν $76,89 \pm 0,61\%$ και

τέλος για την μεταχείριση Δ ήταν $76,26 \pm 0,78\%$. Το ποσοστό της υγρασίας που υπολογίστηκε στα αρχικά δείγματα των ψαριών ήταν $80,48 \pm 0,66\%$. Η περιεκτικότητα σε υγρασία στον μυϊκό ιστό της τσιπούρας δεν επηρεάζεται σημαντικά από την βαθμιαία μείωση της ποσότητας του ιχθυαλεύρου ως πρωτεϊνική πηγή στα σιτηρέσια. Το μεγαλύτερο ποσοστό περιεκτικότητας σε υγρασία καταγράφηκε για τα ψάρια της Γ μεταχείρισης και το μικρότερο ποσοστό για την Δ μεταχείριση. Αξίζει να αναφερθεί πως η περιεκτικότητα σε υγρασία του μυϊκού ιστού των ιχθύων όλων των διατροφικών ομάδων ήταν σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη του αρχικού πληθυσμού.

Πίνακας 3.8: Χημική σύσταση του μυϊκού ιστού των διαφόρων διατροφικών ομάδων στο τέλος του πειράματος (70 ημέρες).

%	Αρχ.	A	B	Γ	Δ
	μετρήσεις				
Υγρασία	$80,48 \pm 0,66^b$	$76,59 \pm 0,36^a$	$76,9 \pm 0,74^a$	$76,89 \pm 0,61^a$	$76,26 \pm 0,78^a$
Πρωτεΐνη	$80,5 \pm 0,88^a$	$79,47 \pm 2,67^a$	$79,49 \pm 1,14^a$	$79,73 \pm 1,63^a$	$77,64 \pm 0,76^a$
Λίπος	$6,12 \pm 0,05^a$	$8,88 \pm 1,31^b$	$10,93 \pm 1,2^{bc}$	$10,26 \pm 1,59^{bc}$	$11,67 \pm 0,54^c$

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

Ο μέσος όρος περιεκτικότητας σε αζωτούχες ενώσεις του μυϊκού ιστού της τσιπούρας στο τέλος του διατροφικού πειράματος (Πιν. 3.7) ήταν $79,47 \pm 2,67\%$ για το Α σιτηρέσιο, $79,49 \pm 1,14\%$ για το Β σιτηρέσιο, για το Γ σιτηρέσιο $79,73 \pm 1,63\%$ και για το Δ σιτηρέσιο $77,64 \pm 0,76\%$. Το ποσοστό της πρωτεΐνης που υπολογίστηκε στα αρχικά δείγματα των ψαριών ήταν $80,5 \pm 0,88\%$. Μείωση στην περιεκτικότητα της πρωτεΐνης στο σώμα της τσιπούρας μετά το διατροφικό πείραμα, παρατηρήθηκε για το

σιτηρέσιο Δ, χωρίς όμως σημαντικές διαφορές. Με βάση την στατιστική επεξεργασία οι διαφορές των μετρήσεων μεταξύ αρχικού πληθυσμού και των διατροφικών ομάδων μετά την ολοκλήρωση του πειράματος δεν παρουσιάζουν διαφορές.

Η μέση περιεκτικότητα λίπους στον μυϊκό ιστό της τσιπούρας στο τέλος του διατροφικού πειράματος (Πιν. 3.7) για την Α μεταχείριση ήταν $8,88 \pm 1,31\%$, για τα ψάρια της μεταχείρισης Β ήταν $10,93 \pm 1,2\%$, για την μεταχείριση Γ ήταν $10,26 \pm 1,59\%$ και για την Δ μεταχείριση το ποσοστό καταγράφηκε $11,67 \pm 0,54\%$. Το ποσοστό του λίπους που υπολογίστηκε στα αρχικά δείγματα των ψαριών ήταν $6,12 \pm 0,05\%$.

Αξίζει να αναφερθεί πως η περιεκτικότητα σε λίπος του μυϊκού ιστού των ιχθύων όλων των διατροφικών ομάδων ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνη του αρχικού πληθυσμού. Οι τιμές του λίπους για τον μυϊκό ιστό του τελικού πληθυσμού παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων. Η μικρότερη στατιστικά τιμή περιεκτικότητας λίπους ήταν για τα ψάρια της Α μεταχείρισης, ενώ η μέγιστη για αυτά της Δ μεταχείρισης. Οι Β και Γ διατροφικές ομάδες δεν διαφέρουν σημαντικά από τις Α και Δ ομάδες.

3.4. Προσδιορισμός αμμωνίας, νιτρωδών και νιτρικών

Η ολική αμμωνία δεν παρουσίασε διαφορές μεταξύ των πειραματικών σιτηρεσίων καθόλη τη διάρκεια του πειράματος. Μοναδική παρατήρηση είναι μια μικρή αύξηση με το πέρας των ωρών, η οποία είναι αναμενόμενη λόγω της μη λειτουργίας των φίλτρων νερού (Πιν. 3.9). Αντίθετα, τα νιτρικά ιόντα παρέμειναν σε πολύ χαμηλά επίπεδα (μηδενικά) τόσο μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων, όσο και με το πέρας των ωρών. Μια πολύ μικρή μεταβολή των νιτρικών ($0,5 \text{ mg/l}$) παρατηρήθηκε μετά από 48 ώρες στις Γ και Δ διατροφικές ομάδες.

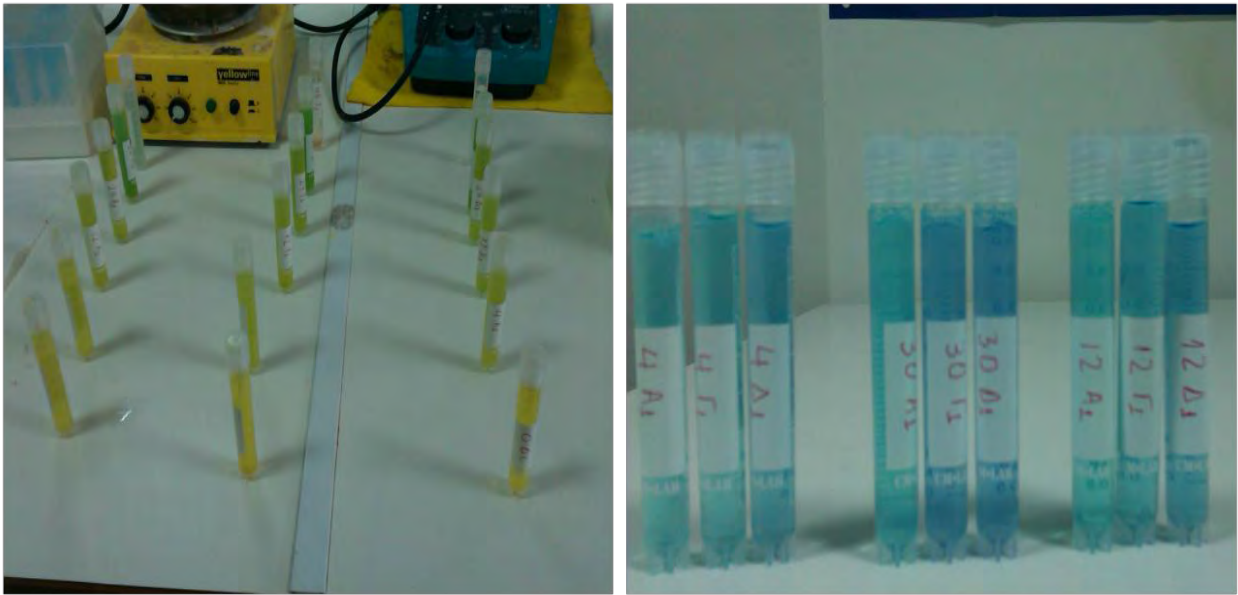
Πίνακας 3.9: Προσδιορισμός αμμωνίας (mg/l) των διαφόρων διατροφικών ομάδων μέχρι και 30 ώρες μετά το πρώτο τάισμα.

ΩΡΕΣ	A	Γ	Δ
0	0 - 0,25	0 - 0,25	0 - 0,25
4	0,25	0,25	0,25
12	0,25 – 0,50	0,25 – 0,50	0,25 – 0,50
24	0,50	0,50	0,50
30	0,75	0,75	0,75

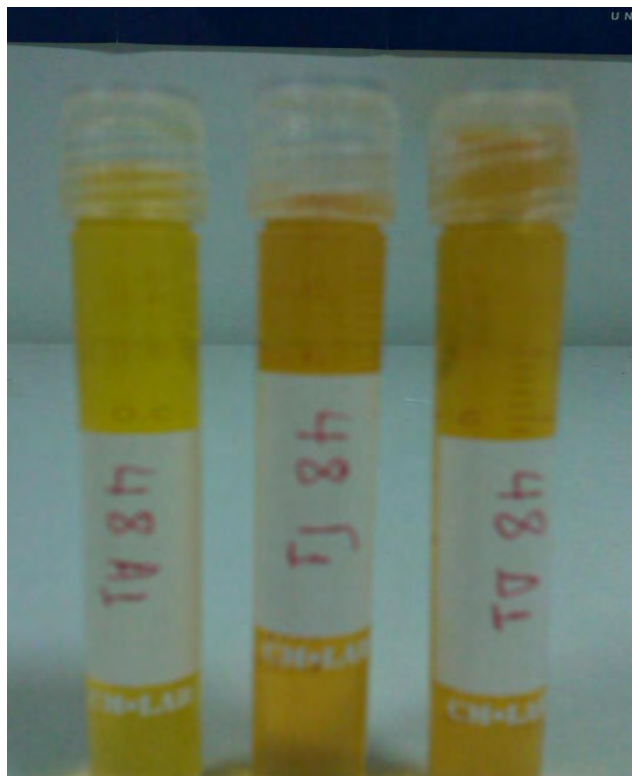
Τα νιτρώδη ιόντα παρέμειναν μηδενικά στο A σιτηρέσιο σε όλη τη διάρκεια του πειράματος (Πιν. 3.10). Στις υπόλοιπες ομάδες πραγματοποιείται σταδιακή αύξηση με το πέρας των ωρών. Στα δυο πειραματικά σιτηρέσια παρατηρείται μεγαλύτερη αποβολή νιτρωδών στο νερό, άρα η τροφή είναι πιο άπεπτη.

Πίνακας 3.10. Προσδιορισμός νιτρωδών (mg/l) των διαφόρων διατροφικών ομάδων μέχρι και 48 ώρες μετά το πρώτο τάισμα.

ΩΡΕΣ	A	Γ	Δ
0	0	0	0
4	0	0	0,10
12	0	<0,10	0,10 – 0,25
24	0	<0,10	<0,10
30	0	0,20	0,20
48	0	<0,10	<0,20



Εικόνα 3.1: Στην αριστερή εικόνα παρατηρείται η αμμωνία, ενώ στην δεξιά τα νιτρώδη μεταξύ των διατροφικών ομάδων καθώς και με το πέρας των ωρών (φωτογραφία συγγραφέα).



Εικόνα 3.2: Προσδιορισμός νιτρικών ιόντων στο τέλος του πειράματος (φωτογραφία συγγραφέα).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. Θνησιμότητα

Από τα αποτελέσματα του πειράματος δείχθηκε ότι η μερική αντικατάσταση του ιχθυάλευρου με μυγάλευρο από 10% έως 30% δεν επηρέασε την επιβίωση των ψαριών που σιτίστηκαν με αυτά. Αυτό δείχνει ότι το μυγάλευρο ως συστατικό κρίνεται κατάλληλο ως ιχθυτροφή για την τσιπούρα. Οι ελάχιστες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν μέχρι σήμερα σε άλλα είδη ιχθύων και καρκινοειδών, με τη χρησιμοποίηση μυγάλευρου καθώς και άλλων πηγών πρωτεΐνης εντόμων, έχουν δείξει ποικίλα αποτελέσματα. Χρειάζεται όμως ακόμη εκτενής έρευνα για την εξακρίβωση της καταλληλότητας τους στην εκτροφή των διαφόρων ειδών και ειδικότερα της τσιπούρας.

Οι Bondari & Sheppard (1987) δοκίμασαν την μερική (10%) αλλά και πλήρη (100%) αντικατάσταση του ιχθυάλευρου από την προνύμφη της μύγας *Hermetia illucens* στην εκτροφή του αμερικάνικου γατόψαρου (*Ictalurus punctatus*) και της μπλε τιλάπιας (*Tilapia aurea*). Παρατηρήθηκε ότι και στις δυο περιπτώσεις μειώθηκε σημαντικά το ποσοστό επιβίωσης επομένως αμφισβητήθηκε η καταλληλότητα του συγκεκριμένου άλευρου. Μια ακόμα μελέτη πραγματοποιήθηκε για την εκτροφή της γαρίδας *Litopenaeus vannamei*, αντικαθιστώντας το ιχθυάλευρο με άλευρο από υδρόβια έντομα του γένους *Trichocorixa* sp. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η πλήρης αντικατάσταση της τροφής με υδρόβια έντομα οδηγεί σε μεγάλο ποσοστό θνησιμοτήτων, αλλά μια αντικατάσταση της τάξης του 75% έχει θετική επίπτωση στην επιβίωση. Επομένως συμπεραίνεται ότι στην συγκεκριμένη περίπτωση το άλευρο εντόμων είναι πιθανώς κατάλληλο υποκατάστατο του ιχθυάλευρου στην εκτροφή της γαρίδας (Martinez-Cordova *et al.* 2012).

4.2. Παράμετροι ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής

Έπειτα από 10 εβδομάδες διατροφικού πειράματος, η αύξηση του σωματικού βάρους και ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης των ψαριών που σιτίστηκαν μόνο με ιχθυάλευρο ως κύρια πρωτεϊνική πηγή ήταν υψηλότεροι συγκριτικά με εκείνους των ψαριών που σιτίστηκαν με τροφές που περιείχαν σε ένα ποσοστό μυγάλευρο. Αυτό δείχνει ότι η χορήγηση του άλευρου *Hermetia illucens* στις τροφές της τσιπούρας μειώνει τον ρυθμό ανάπτυξης της. Η διαφοροποίηση των τιμών της αύξησης βάρους για τα ψάρια που σιτίστηκαν μόνο με ιχθυάλευρο παρατηρήθηκε ήδη από τις πρώτες 25 ημέρες. Αξίζει, ωστόσο, να σημειωθεί πως όταν η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από άλευρο *Hermetia illucens* ήταν της τάξης του 10%, ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης των ψαριών δεν μειώθηκε σημαντικά ($P>0,05$) σε σχέση με εκείνον των ψαριών που σιτίστηκαν μόνο με ιχθυάλευρο, υποδηλώνοντας πως μια αντικατάσταση αυτού του μεγέθους είναι επιτρεπτή. Πέραν αυτού του ποσοστού αντικατάστασης (δηλ. 20% ή 30%) του ιχθυαλεύρου, ωστόσο, μειώνει σημαντικά ($P<0,05$) τους ρυθμούς ανάπτυξης της τσιπούρας.

Η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη προσπάθεια αξιολόγησης του άλευρου από *Hermetia illucens*, και γενικότερα οποιουδήποτε άλευρου από πρωτεΐνη εντόμων, ως συστατικού στην ιχθυοτροφή της τσιπούρας. Οι St-Hilaire *et al.* (2007) δοκίμασαν το συστατικό αυτό, καθώς και άλευρο από προνύμφες της οικιακής μύγας *Musca domestica* στην τροφή της ιριδιζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*). Οι συγγραφείς ανέφεραν ότι η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου σε ποσοστό 25% από κάθε ένα από τα άλευρα αυτά δεν οδηγεί σε μείωση του ρυθμού ανάπτυξης της πέστροφας, αλλά σε μεγαλύτερα ποσοστά (50%) η σωματική ανάπτυξη των ψαριών ήταν χαμηλότερη. Στην έρευνα των Bondari & Sheppard (1981) πραγματοποιήθηκε εκτροφή

του *Ictalurus punctatus* και της *Tilapia aurea* με προνύμφες της μύγας *Hermetia illucens* L. για 10 εβδομάδες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το σωματικό βάρος και το συνολικό μήκος των δύο ειδών δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές σε σχέση με αυτά που σιτίστηκαν με ιχθυάλευρο. Οι συγγραφείς συνέστησαν πως οι προνύμφες της μύγας αυτής μπορεί να γίνουν μια πολύτιμη ζωοτροφή στην εκτροφή των συγκεκριμένων ειδών ιχθύων. Τέλος, οι Sun *et al.* (2012) υπολόγισαν τον ειδικό ρυθμό ανάπτυξης του είδους *Apostichopus japonicus* το οποίο σιτιζόταν με ένα είδος μεταξοσκώληκα (*Bombyx mori* L.). Παρατηρήθηκε ότι ο συντελεστής SGR (1,38 – 1,54) δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των σιτηρεσιών και επομένως μπορεί να γίνει πλήρης αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από το συγκεκριμένο άλευρο.

Στο παρόν πείραμα, ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) και των τεσσάρων σιτηρεσιών διατηρήθηκε σε αρκετά χαμηλά επίπεδα (1,12 – 1,36), παρά το ότι τα ψάρια σιτιζόνταν σε «φαινόμενο κορεσμό» που θα μπορούσε να οδηγήσει σε υψηλές τιμές του συντελεστή. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει πως το άλευρο από *Hermetia illucens* αξιοποιείται μεταβολικά σε πολύ μεγάλο βαθμό για την αύξηση του σωματικού βάρους από την τσιπούρα. Επίσης, ο FCR κατά την 24^η ημέρα δεν παρουσίασε διαφορές μεταξύ των σιτηρεσιών, ενώ την 50^η ημέρα παρουσιάστηκε μια διαφοροποίηση στις διατροφικές μεταχειρίσεις με ποσοστό αντικατάστασης 20% και 30%, η οποία όμως στο τέλος του πειράματος δεν ήταν σημαντική. Αυτό υποδηλώνει πως το άλευρο από *Hermetia illucens* αποτελεί ένα κατάλληλο υποκατάστατο (έως και 30%) του ιχθυαλεύρου αναφορικά με την αξιοποίηση της τροφής από την τσιπούρα.

Οι Sealey *et al.* (2011) δοκίμασαν την προνύμφη της μύγας *Hermetia illucens* στην τροφή της ιριδίζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) με ποσοστό αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου μέχρι και 50%. Παρατηρήθηκε ότι δεν υπήρχαν

σημαντικές διαφορές στο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (1,0 – 1,2) όπως ακριβώς και στην παρούσα εργασία, επιβεβαιώνοντας την καταλληλότητα του συγκεκριμένου μυγάλευρου και στα σιτηρέσια της πέστροφας. Στην έρευνα των Martinez – Cordoba *et al.* (2012), η υποκατάσταση του ιχθυάλευρου σε ποσοστό 25% και 50% από τα άλευρα των υδρόβιων εντόμων οδήγησε σε μείωση του συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής της γαρίδας *Litopenaeus vannamei*, πέρα από τα επιτρεπτά όρια, αλλά σε μεγαλύτερα ποσοστά (100%) ο συντελεστής FCR δεν διέφερε από αυτόν του σιτηρεσίου με το ιχθυάλευρο.

Ο συντελεστής αποδοτικότητας της πρωτεΐνης δεν παρουσίασε διαφορές στο τέλος του πειράματος μεταξύ των διαφορετικών μεταχειρίσεων. Αυτό δείχνει ότι η πρωτεΐνη του άλευρου *Hermetia illucens* αξιοποιείται σε παρόμοια μέγιστο βαθμό μεταβολικά από την τσιπούρα για την σωματική της ανάπτυξη. Το παραπάνω συμπέρασμα, δυστυχώς, δεν μπορεί να συγκριθεί με αποτελέσματα άλλων ερευνών μιας και στις μέχρι σήμερα μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί αναφορικά με τη χρησιμοποίηση πρωτεΐνης εντόμων στα σιτηρέσια εκτρεφόμενων ιχθύων και καρκινοειδών δεν έχει αξιολογηθεί η παράμετρος αυτή.

Ο ηπατοσωματικός δείκτης και ο δείκτης ευρωστίας δεν παρουσίασαν διαφορές μεταξύ των διατροφικών μεταχειρίσεων, γεγονός που υποδεικνύει πως η επίδραση του αλεύρου *Hermetia illucens* είναι παρόμοια με αυτήν του ιχθυαλεύρου. Αντίθετα, στη μελέτη των Sealey *et al.* (2011) με την ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), ο ηπατοσωματικός δείκτης μειώθηκε σημαντικά καθώς αυξανόταν το ποσοστό χορήγησης της *Hermetia illucens*. Οι διαφορές αυτές μπορεί να οφείλονται σε διαφοροποιήσεις μεταξύ των δύο ειδών (πέστροφας – τσιπούρας). Περαιτέρω, ο ενδοσπλαχνικός δείκτης της τσιπούρας παρατηρήθηκε ότι αυξανόταν σημαντικά καθώς

αυξάνονταν το ποσοστό χορήγησης του αλεύρου *Hermetia illucens*, γεγονός που υποδηλώνει πιθανές υπερπλασίες των ενδοσπλαχνικών οργάνων. Αν και ενδελεχής εξέταση των σπλαχνικών οργάνων δεν πραγματοποιήθηκε, είναι πιθανό η πλήρωση του στομάχου και του εντέρου με τροφή που περιείχε αυξημένα ποσοστά μυγάλευρου να ήταν μεγαλύτερη από εκείνη των ψαριών που σιτίζονταν είτε μόνο με ιχθυάλευρο είτε με χαμηλότερα ποσοστά μυγάλευρου. Αν αυτό συνέβη, τότε υποδηλώνει ένα μειωμένο ρυθμό μεταβολισμού (πέψης και απορρόφησης της τροφής) όσο αυξάνει το επίπεδο χορήγησης του μυγάλευρου στο σιτηρέσιο.

Πρέπει όμως να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες στο μέλλον για την μελέτη τόσο των σωματομετρικών δεικτών όσο και του συντελεστή αποδοτικότητας της πρωτεΐνης κατά την εκτροφή τους με διάφορα έντομα, διότι οι γνώσεις είναι ακόμα ελλιπείς.

4.3. Χημικές αναλύσεις σώματος

Η περιεκτικότητα σε υγρασία στο σώμα της τσιπούρας δεν επηρεάζεται σημαντικά από την βαθμιαία αλλαγή της πρωτεϊνικής πηγής στα σιτηρέσια. Παρόλα αυτά παρατηρείται μία μείωση της περιεκτικότητας σε υγρασία τόσο των ολικών σωμάτων όσο και του μυϊκού ιστού των ιχθύων στο τέλος του πειράματος συγκριτικά με τον αρχικό πληθυσμό. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην αύξηση της λιποπερικεκτικότητας τόσο στο ολικό σώμα όσο και στο μυϊκό ιστό των διατρεφόμενων με τα πειραματικά σιτηρέσια ιχθύων σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό, μιας και ως γνωστόν η περιεκτικότητα σε υγρασία είναι αντιστρόφως ανάλογη της λιποπερικεκτικότητας.

Η περιεκτικότητα σε ολικές πρωτεΐνες τόσο σε ολόκληρο το σώμα όσο και στο μυϊκό ιστό της τσιπούρας ήταν παρόμοια μεταξύ των διατροφικών ομάδων, καθώς και

με εκείνη του αρχικού πληθυσμού. Επομένως, η επίδραση τόσο του ίδιου του μυγάλειου, ως συστατικό, όσο και των αυξανόμενων επιπέδων χορήγησης του στο σιτηρέσιο δεν επιφέρει αλλαγές στην περιεκτικότητα της πρωτεΐνης των ψαριών που διατρέφονται με αυτό συγκριτικά με ψάρια που διατρέφονται μόνο με ιχθυάλευρο.

Οι τιμές του λίπους για τα ολικά σώματα της τσιπούρας δεν παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ των διαφορετικών διατροφικών ομάδων. Αυτό σημαίνει ότι η διαφορετική πηγή της πρωτεΐνης, για τις συνθήκες της συγκεκριμένης έρευνας, δεν επιφέρουν σημαντικές διαφορές στην σωματική λιποπεριεκτικότητα του είδους. Ωστόσο, η λιποπεριεκτικότητα του μυϊκού ιστού ήταν υψηλότερη στα ψάρια που διατράφηκαν με μυγάλευρο, ιδιαίτερα σε εκείνα που διατράφηκαν με αυξημένα επίπεδα (30%) μυγάλειου, από ότι στα ψάρια που σιτίστηκαν με ιχθυάλευρο. Αυτό ήταν αποτέλεσμα της αυξημένης λιποπεριεκτικότητας των σιτηρεσίων που περιείχαν μυγάλευρο (Πιν. 2.1), η οποία επέδρασε ευθέως στην αύξηση του λίπους στο μυϊκό ιστό των ψαριών. Παρόλα αυτά, ύστερα από ιστολογική μελέτη του ήπατος, δεν παρατηρήθηκε σε καμία διατροφική ομάδα λιπώδης εκφύλιση του ήπατος. Επίσης, αξίζει να αναφερθεί πως η περιεκτικότητα σε λίπος του μυϊκού ιστού των ιχθύων όλων των διατροφικών ομάδων ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνη του αρχικού πληθυσμού, υποδεικνύοντας ότι τα πειραματικά σιτηρέσια ήταν πιο πλούσια ενεργειακά από την εμπορική τροφή που χορηγούνταν στον αρχικό πληθυσμό και το οποίο οδήγησε σε γενικότερη εναπόθεση λίπους στον ιστό όλων των διατροφικών ομάδων.

Παρόμοια αποτελέσματα έδειξαν και οι χημικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στο σώμα του είδους *Apostichopus japonicus*, το οποίο σιτιζόταν με τον μεταξοσκώληκα (*Bombyx mori* L.). Το ποσοστό της υγρασίας και των αζωτούχων ενώσεων παρέμεινε ίδιο ακόμα και στην περίπτωση της πλήρους αντικατάστασης του ιχθυάλευρου (Sun *et al.* 2012). Επίσης, οι Martinez – Cordoba *et*

al. (2011) έδειξαν ότι η υγρασία και η πρωτεΐνη παραμένει ίδια στο σώμα της γαρίδας *Litopenaeus vannamei*, όμως το λίπος αυξάνεται σημαντικά κατά την αντικατάσταση του ιχθυάλευρου σε ποσοστό 75% από τα υδρόβια έντομα. Αντίθετα, στην έρευνα των St-Hilaire *et al.* (2007) η υγρασία στο σώμα της πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) αυξήθηκε, ενώ το λίπος μειώθηκε σημαντικά κατά την αντικατάσταση της τάξης του 25% από την προνύμφη της μύγας *Hermetia illucens*. Στην περίπτωση της οικιακής μύγας *Musca domestica* τα ποσοστά δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων. Το ποσοστό της πρωτεΐνης και στις δυο περιπτώσεις παρέμεινε ίδιο..

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εκτροφή της τσιπούρας με το άλευρο *Hermetia illucens* συνοψίζονται στα εξής:

- Δεν επηρεάζεται η επιβίωση των ιχθύων που διατρέφονται με αυτό.
- Τα ψάρια που διατράφηκαν με μυγάλευρο απέκτησαν μικρότερο τελικό μήκος, καθώς και χαμηλότερη αύξηση σωματικού βάρους συγκριτικά με αυτά που διατράφηκαν αποκλειστικά με ιχθυάλευρο.
- Η αντικατάσταση 10% του ιχθυαλεύρου από μυγάλευρο δεν οδηγεί σε σημαντική μείωση του ρυθμού ανάπτυξης της τσιπούρας. Ωστόσο, χορήγηση υψηλότερων επιπέδων της τάξης του 20% και 30% μειώνει σημαντικά τον ρυθμό ανάπτυξης της τσιπούρας.
- Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) των σιτηρεσίων που περιείχαν μυγάλευρο σε διάφορα επίπεδα χορήγησης παρέμεινε χαμηλός (1,21-1,36) και παρόμοιος με εκείνον των ψαριών που διατράφηκαν αποκλειστικά με ιχθυάλευρο. Επομένως, το άλευρο *Hermetia illucens* κρίνεται ως πλήρως αξιοποιήσιμο από την τσιπούρα.
- Ο συντελεστής αποδοτικότητας της πρωτεΐνης δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές μεταξύ των διατροφικών μεταχειρίσεων.
- Οι σωματομετρικοί δείκτες και ο δείκτης ευρωστίας ήταν παρόμοιοι εκτός από τον ενδοσπλαχνικό δείκτη.
- Η θρεπτική σύσταση του ολικού σώματος της τσιπούρας δεν επηρεάζεται από την αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από μυγάλευρο. Ωστόσο, η αυξανόμενη

χορήγηση μυγάλευρου στο σιτηρέσιο οδηγεί σε αυξημένη εναπόθεση λίπους στο μυϊκό ιστό.

- Στα πειραματικά σιτηρέσια παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αποβολή νιτρωδών στο νερό, επομένως η τροφή με το μυγάλευρο είναι πιο άπεπτη.
- Η παρούσα εργασία αποτέλεσε μια πρώτη προσπάθεια αξιολόγησης των πρωτεϊνών των εντόμων ως συστατικού των ιχθυοτροφών της τσιπούρας. Σε συμφωνία με τις μέχρι σήμερα μελέτες που έχουν διεξαχθεί με τη χρησιμοποίηση πρωτεϊνών εντόμων στις ιχθυοτροφές διαφόρων εκτρεφόμενων ειδών δείχνει πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα. Ως εκ τούτου είναι αναγκαία η περαιτέρω έρευνα διερεύνησης της καταλληλότητας τους ως συστατικών των ιχθυοτροφών.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη βιβλιογραφία

- Allan G.L., Rowland S.J., Mifsud C., Glendenning D., Stone D.A.J. and Ford A. (2000) Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: V. Least-cost formulation of practical diets. *Aquaculture*, **186**: 327 – 340.
- Allan G. (2006) The growing fishmeal shortage. *Aquaculture*, **14**: 28.
- AOAC (1995) Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International, (16th edition) AOAC, Arlington, VA, USA.
- AOAC (1990) Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis (15th edition) (ed. By K.Herlich). AOAC, Arlington, VA, USA.
- Atienza M.T., Chatzifotis S. and Divanach P. (2004) Macronutrient selection by sharp snout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture*, **232**: 481-491.
- Bondari K. and Sheppard D.C. (1981) Black Soldier fly larvae as a feed in commercial fish production. *Aquaculture*, **24**: 103–109.
- Bondari, K. and Sheppard D.C. (1987) Soldier fly *Hermetia illucens* L., as feed for channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), and blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner). *Aquaculture and Fisheries Management*, **18**: 209 - 220.
- Dimitriou E. (2000) Results of intentional or sporadic releases of euryhaline fish species in coastal biotopes. Book of Abstracts. *Research and Technology Forum*, Zappio, pp. 49 - 54.

- Easton M.D.L., Luszniak D. and Von der Geest E. (2002) Preliminary examination of contaminant loadings in farmed salmon, wild salmon and commercial salmon feed. *Chemosphere*, **46**: 1053 – 1074.
- FAO (2000) *The State of World Fisheries and Aquaculture 2000*. FAO, Rome, Italy.
- FAO (2012) *The state of the world fisheries and aquaculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Francis G., Makkar H.P.S. and Becker K. (2001) Antinutritional factors present in plant derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, **199**: 197 – 227.
- Goldburg R. and Naylor R. (2005) Future escapes, fishing, and fish farming. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **3**: 21–28.
- Gomez-Requeni P., Mingarro M., Kirchner S., Calduch-Giner J.A., Medale F., Corraze G., Panserat S., Martin S.A.M., Houlihan D.F., Kaushik S.J. and Perez-Sanchez J. (2003) Effects of dietary amino acid profile on growth performance, key metabolic enzymes and somatotrophic axis responsiveness of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, **220**: 749 – 767.
- Gomez-Requeni P., Mingarro M., Kirchner S., Calduch-Giner J.A., Medale F., Martin S.A.M., Houlihan D.F., Kaushik S.J. and Perez-Sanchez J. (2004) Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotrophic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, **232**: 493 – 510.
- Hill J.E. and Watson C.A. (2007) Diet of the nonindigenous Asian swamp eel in tropical ornamental aquaculture ponds in west-central Florida. *North American Journal of Aquaculture*, **69**: 139 – 146.

- Huntington T., Frid C., Banks R., Scott C. and Paramor O. (2004) Assessment of the sustainability of industrial fisheries producing fishmeal and fish oil. *Poseidon Aquatic Resource Management Ltd.*, pp. 62.
- Jackson A. (2009) The continuing demand for sustainable fishmeal and fish oil in aquaculture diets. *International Aquafeed*, **12**: 32 – 33.
- Kaushik S.J., Cravedi J.P., Lalles J.P., Sumpter J., Fauconneau B. and Laroche M. (1995) Partial or total replacement of fishmeal by soybean protein on growth, protein utilisation, potential estrogenic or antigentic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, **133**: 257 – 274.
- Khusro M., Andrew N.R. and Nicholas A. (2012) Insects as poultry feed: a scoping study for poultry production systems in Australia. *World's Poultry Science Journal*, **68**: 435 - 446
- Kikuchi K., Sato T., Furuta T., Sakaguchi I. and Deguchi Y. (1997) Use of meat and bone meal as a protein source in the diet of juvenile Japanese flounder. *Fisheries Science*, **63**: 29 – 32.
- Martinez-Cordova L.R., Campana-Torres A., Villareal-Colmenares H., Ezquerra-Brauer J.M., Martinez-Porchas M. and Cortes-Jacinto E. (2012) Evaluation of partial and total replacement of formulated feed by live insects, *Trichocorixa* sp. (Heteroptera: Corixidae) on the productive and nutritional response , and postharvest quality of shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931). *Aquaculture nutrition* **19**: 218-226.

- Medale F., Bouchard T., Vallee F., Blanc D., Mambrini M., Roem A. and Kaushik S.J. (1998) Voluntary feed intake, nitrogen and phosphorous losses in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, **124**: 117 – 126.
- Miles R.D. and Chapman F.A. (2006) The Benefits of Fish Meal in Aquaculture Diets. *Institute of Food and Agricultural Sciences*, pp: 1 – 6.
- Monentcham S.E, Pouomogne V. and Kestemont P. (2010) Influence of dietary protein levels on growth performance and body composition of African fingerlings, *Heterotis niloticus* (Cuvier, 1829). *Aquaculture Nutrition*, **16**: 144 – 162.
- Morris P.C., Gallimore P., Handley J., Hide G., Haughton P. and Black A. (2005) Full-fat soya for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in freshwater: Effects on performance, composition and flesh fatty acid profile in absence of hind gut enteritis. *Aquaculture*, **248**: 147 – 161.
- Nogueira N., Cordeiro N., Andrade C., and Aires T. (2012) Inclusion of low levels of blood and feathermeal in practical diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **12**: 641 – 650.
- Pereira T.G. and Oliva-Teles A. (2002) Preliminary evaluation of pea seed meal in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture Research*, **33**: 1183 – 1189.
- Pusztai A. and Bardocz S. (2006) GMO in animal nutrition: potential benefits and risks. In: Mosenthin R., Zentek J., Zebrowska T. (eds.), *Biology of nutrition in growing animals*. Elsevier, Edinburgh, UK, pp. 513 – 540.
- Serwata R.D. (2007) Nutritional evaluation of rendered animal by-products and blends as a suitable partial alternatives for fish meal in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *MSc Thesis*, UK: Stirling University, pp. 150.

- Sitja-Bobadilla A., Pena-Llopis S., Gomez-Requeni P., Medale F., Kaushik S. and Perez Sanchez J. (2005) Effect of fishmeal replacement by plant protein sources on non specific defence mechanisms and oxidative stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, **249**: 387 – 400.
- Sola L., Moretti A., Crosetti D., Karaiskou N., Magoulas A., Rossi A.R., Rye M., Triantafyllidis A. and Tsigenopoulos C.S. (2006) Gilthead seabream - *Sparus aurata*. In: “Genetic effects of domestication, culture and breeding of fish and shellfish, and their impacts on wild populations.” D. Crosetti, S. Lapègue, I. Olesen, T. Svaasand (eds). GENIMPACT project: Evaluation of genetic impact of aquaculture activities on native populations. A European network. Viterbo, Italy, pp. 6.
- Sealey W.M., Gaylord T G., Barrows F.T., Tomberlin J.K., McGuire M.A., Ross C. and St-Hilaire S. (2011) Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia illucens*. *Journal of the World Aquaculture Society*, **42**: 34 – 45.
- St-Hilaire S., Sheppard C., Tomberlin J.K., Irving S., Newton L., McGuire M.A., Mosley E.E., Hardy R. and Sealey W. (2007a) Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of the World Aquaculture Society*, **38**: 59 – 67.
- Sun Y., Chang A.K., Wen Z., Li Y., Du X. and Li S. (2012) Effect of replacing dietary fish meal with silkworm (*Bombyx mori L.*) caterpillar meal on growth and non-specific immunity of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). *Aquaculture Research* doi: 10.1111/are.12068 pp. 1 – 7.

- Tacon A.G.J. (1997) Feeding tomorrow's fish: keys for sustainability. In: Tacon A.G.J., Basurco B. (eds.), Feeding tomorrow's fish. *Cahiers options Mediterraneennes*, Zaragoza, Spain, 22: pp. 11 – 33.
- Tacon A.G.J. (2004) Use of fish meal and fish oil in aquaculture: a global perspective. *Aquatic Resources, Culture & Development*, **1**: 3 – 14.
- Tacon A.G.J. and Metian M. (2008) Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, **285**: 146 – 158.
- Tidwell J.H. and Allan G.L. (2002) Fish as food: Aquaculture's contribution. *World Aquaculture*, **33**: 44 – 48.
- Watanabe T., Verakunpiriya V., Watanabe K., Viswanath K. and Satoh S. (1998) Feeding rainbow trout with non-fishmeal diets. *Fisheries Science*, **63**: 258 – 266.
- Zar J.H. (1999) Biostatistical analysis, 4th edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs. pp 663.

Ελληνική βιβλιογραφία

- Μεντέ Ε. και Νέγκας Ι. (2011) Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, σελ. 224 – 228.
- Παπουτσόγλου Σ.Ε. (2008) Διατροφή ιχθύων. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα, σελ. 846 – 863.

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

- FAO (2006). FishStat. <http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS.asp>

FAO (2013), Food and Agriculture Organization of the United Nations,

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

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

7. ABSTRACT

The fish feeds of the raised species in Europe contain large quantities of fishmeal. The fishmeal is one of high quality, highly digestible ingredient of the fish feeds that favors the diet of the fish, but due to the excessive use of its stocks and since they are reducing year by year, their price will constantly be increasing with result, and the production cost of the aquaculture.

The aim of this study was to assess the feasibility of using insects and especially larvae of the fly *Hermetia illucens* as main ingredients of the fish feeds for seabream *Sparus aurata*.

A total number of 240 juveniles of $1,47 \pm 0,22$ g initial mean weight were transferred to 12 saltwater aquariums (60L) within a closed recirculation system. Temperature was maintained at 21°C, pH $8,00 \pm 4,4$ and salinity at $34 \pm 0,5$ ‰. Juveniles were divided into 4 dietary treatments in triplicates (60 fishes per treatment). They were fed 2 times a day for 30 days and then only every morning. The experimental diets were isonitrogenous (20,36 Mj / kg) and isoprotein (46%).

At the end of the feeding trial, weight gain (16,12 – 8,88 g) and SGR (10,77 – 8,37% / day) were significantly lower in fish fed the experimental diets, whereas FCR (1,12 - 1,36), PER (1,98 - 1,70) as the PR% (157,44 - 135,45) didn't show significant differences between the dietary groups. The levels of moisture, fat and protein remained the same just like HSI and K.

Summing up the results of the present study showed that the flymeal from *Hermetia illucens* constitutes of a proper substitute (up to 30%) of the fishmeal regarding the feed utilization but not in terms of the physical growth of the *Sparus aurata*. But nevertheless further researches must be held in the future about the study of

the breeding of the species with various insects, because the knowledge is still incomplete.

Key-words: sea bream, *Sparus aurata*, replacement of fishmeal, *Hermetia illucens*, growth