

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

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Αφθονία βακτηρίων σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας σε δύο
διαφορετικές αλατότητες 20 ppt και 8 ppt»**

**Μητσόπουλος Ιωάννης
Μπαμπουκλής Κωνσταντίνος**

ΒΟΛΟΣ 2019

«Αφθονία βακτηρίων σε ένα σύστημα ενυδρείοποιίας σε δύο διαφορετικές αλατότητες 20 ppt και 8 ppt»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Νικόλαος Βλάχος, Ε.ΔΙ.Π, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Φυσιολογία θρέψης διακοσμητικών ψαριών σε ενυδρεία,
Επιβλέπων.

Ελένη Μεντέ, Καθηγήτρια, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου
Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Φυσιολογία Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών,
Μέλος.

Κωνσταντίνος Αρ. Κορμάς, Καθηγητής, Οικολογία Υδρόβιων Μικροοργανισμών,
Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,
Μέλος.

Στους γονείς μας και σε όσους πίστεψαν σε εμάς

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ειλικρινείς μας ευχαριστίες στον επιβλέποντα της Προπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας κο Νικόλαο Βλάχο καθώς και στο μέλος της εξεταστικής επιτροπής, κο Κωνσταντίνο Αρ. Κορμά, για τη βοήθεια και την καθοδήγηση που μας πρόσφεραν καθ' όλη τη διάρκεια εκτέλεσης του πειράματος, αλλά και κατά τη διάρκεια της συγγραφής και παρουσίασης της εργασίας.

Τέλος, ευχαριστούμε τους γονείς και φίλους μας για την υλική και πνευματική βοήθεια που μας προσέφεραν.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ενυδραιοπονία σε υφάλμυρο νερό είναι ένας αναπτυσσόμενος κλάδος που μπορεί να παρουσιάσει ραγδαία εξέλιξη γιατί συνδυάζει την εκτροφή ευρύαλων ψαριών με αλόφυτα τα οποία παρουσιάζουν αυξημένο εμπορικό και φαρμακευτικό ενδιαφέρον. Στη παρούσα εργασία μελετήθηκε για πρώτη φορά η αφθονία του βακτηριακού πληθυσμού σε σύστημα ενυδραιοπονίας με υφάλμυρο νερό, στο βιολογικό φίλτρο σε δύο διαφορετικές αλατότητες 8 και 20 ppt, για διάρκεια 75 ημέρες.

Για τον σκοπό αυτό, κατασκευάστηκαν έξι αυτόνομα συστήματα ενυδραιοπονίας τα οποία ρυθμίστηκαν σε 2 διαφορετικές αλατότητες 8 ppt και 20 ppt αντίστοιχα. Συνολικά τοποθετήθηκαν 156 άτομα τσιπούρας (*Sparus aurata*) (26 άτομα /σύστημα) με μέσο αρχικό βάρος $2,55 \pm 0,53$ g και μήκος $5,57 \pm 0,33$ cm και 36 άτομα κρίταμου (*Crithmum maritimum*) με μέσο αρχικό ύψος $8,23 \pm 0,34$ cm (6 άτομα /σύστημα).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αρχική αφθονία των βακτηρίων κατά την έναρξη του πειράματος, σε όλες τις μεταχειρίσεις διαφοροποιήθηκε και ήταν υψηλότερη ($20,2 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$) στο 20 ppt σε σχέση με την χαμηλότερη αλατότητα (8ppt) όπου η αρχική αφθονία κυττάρων ήταν $1,08 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$. Στο τέλος του πειράματος τα βακτήρια παρουσιάζουν στατιστικά μεγαλύτερη αφθονία στην αλατότητα 20 ppt σε σχέση με εκείνη της μικρότερης αλατότητας (8 ppt).

Η διακύμανση της βακτηριακής αφθονίας, φαίνεται να οφείλεται στη διαφορά της αλατότητας μεταξύ των μεταχειρίσεων, στον λόγο C/N, στο υδραυλικό φορτίο, στον υδραυλικό χρόνο παραμονής του νερού στο φίλτρο στο οσμωτικό στρες των βακτηρίων και στο pH.

Λέξεις-κλειδιά: Ενυδραιοπονία σε υφάλμυρο νερό, αφθονία βακτηρίων, νιτροποιητικά βακτήρια, αλατότητες.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1 Εννοιολογικό περιεχόμενο Ενυδρειοπονίας.....	9
1.2 Βασική αρχή λειτουργίας ενυδρειοπονίας-βιολογικό φίλτρο.....	9
1.3 Βακτήρια στο σύστημα ενυδρειοπονίας	12
1.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την λειτουργία ενός συστήματος ενυδρειοπονίας	15
1.5 Ενυδρειοπονία και αναγκαιότητα αξιοποίησης υδάτινων πόρων	15
1.6 Σκοπός Διπλωματικής προπτυχιακής εργασίας.....	17
2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	18
2.1. Προμήθεια και προσαρμογή ατόμων τσιπούρας (<i>Sparus aurata</i>) και φυτωρίων κρίταμου (<i>Crithmum maritimum</i>)	18
2.2 Σύστημα εκτροφής-Συνθήκες εκτροφής.....	18
2.3. Μέθοδος Dapi	23
2.4. Σιτηρέσιο και χορήγηση τροφής.....	25
2.5. Μετρήσεις μορφομετρικών χαρακτηριστικών	25
2.6. Μετρήσεις φυσικοχημικών παραμέτρων	26
2.6.1. Προσδιορισμός ολικής αμμωνίας-αζώτου (T.A.N.)	27
2.6.2. Προσδιορισμός νιτρικών ιόντων ($\text{NO}_2^- \text{N}$)	27
2.6.3. Προσδιορισμός νιτρικών ιόντων ($\text{NO}_3^- \text{N}$)	28
2.7. Δείκτες υπολογισμού λειτουργικών χαρακτηριστικών φίλτρου	29
2.8. Πρόγραμμα διαχείρισης	33
2.9. Στατιστική Επεξεργασία	33
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	34
3.1. Ποιότητα νερού στα πειραματικά συστήματα εκτροφής.....	34
3.2. Αφθονία βακτηρίων	37
3.3. Λειτουργικά χαρακτηριστικά φίλτρου	41
4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ	42
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	47

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	48
6.1 ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	48
6.2 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	53
7. ABSTRACT	54

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Εννοιολογικό περιεχόμενο Ενυδρειοπονίας

Ο όρος ενυδρειοπονία περιλαμβάνει την συνδυασμένη καλλιέργεια φυτών και ψαριών σε ανακυκλούμενα συστήματα εκτροφής (RAS) και έχει ως απώτερο στόχο τη δημιουργία των βέλτιστων συνθηκών διαβίωσης και ανάπτυξης ψαριών, φυτών και βακτηρίων (Somerville et al. 2014). Η ενυδρειοπονία σύμφωνα με τον Rakocy et al. (2004) συνδυάζει την υδατοκαλλιέργεια με την υδροπονία για την ανάπτυξη των φυτών απουσία εδάφους. Τα φυτά τοποθετούνται σε ειδικά υδροπονικά γλαστράκια απευθείας στο νερό σε κατάλληλο υπόστρωμα (άργιλικά ή ηφαιστειογενή υλικά).

Η βασική αρχή λειτουργίας ενός συστήματος ενυδρειοπονίας στηρίζεται στην αμμωνία που εκλύεται από τα βράγχια των ψαριών ως μεταβολικό προϊόν σε ποσοστό της τάξης 80% και η οποία οξειδώνεται σε νιτρώδη και νιτρικά ιόντα, τα οποία απονιτροποιούνται από τα φυτά (Εικ.1) (Soto et al. 2012).

Η κίνηση και ροή του νερού σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας στηρίζεται στην βασική αρχή ανακύκλωσης του νερού και πραγματοποιείται μέσω της βαρύτητας και κατευθύνεται από τη δεξαμενή εκτροφής των ψαριών στο βιολογικό φίλτρο και στη συνέχεια διοχετεύεται στα φυτά. Μέσω της διαδικασίας αυτής τα νιτρικά ιόντα προσλαμβάνονται και απορροφούνται από τα φυτά (Rakocy et al. 2004).

Η συγκαλλιέργεια ψαριών και φυτών χαρακτηρίζεται ως ένα παραγωγικό καινοτόμο σύστημα φιλικό προς το περιβάλλον, μεγάλης οικολογικής σημασίας εξαιτίας της ελαχιστοποίησης των περιβαλλοντικών επιπτώσεων και της ελεγχόμενης χρήσης νερού (Buzby & Lin 2014, Somerville et al. 2014).

1.2 Βασική αρχή λειτουργίας ενυδρειοπονίας-βιολογικό φίλτρο

Η λειτουργία ενός συστήματος ενυδρειοπονίας στηρίζεται στην αρχή λειτουργίας των ανακυκλούμενων συστημάτων υδατοκαλλιέργειας και στον έλεγχο της ποιότητας του νερού που επιτυγχάνεται διαμέσου του βιολογικού φίλτρου (Somerville et al. 2014).

Το βιολογικό φίλτρο παρέχει ένα ιδανικό περιβάλλον για τα βακτήρια, έτσι ώστε να ενισχυθεί η αποτελεσματική τους δράση. Στη συνέχεια το νερό μεταφέρεται από το

φίλτρο διαμέσου της αντλία στα φυτά, τα οποία απορροφούν τα νιτρικά ιόντα όπου αποτελούν τα θρεπτικά τους συστατικά. Τέλος το καθαρό νερό επιστρέφει στη δεξαμενή των ψαριών (Εικ.1). Η διαδικασία πραγματοποιείται με σκοπό τον καθαρισμό του νερού από τα αμμωνιακά ιόντα με αποτέλεσμα το νερό να μην γίνεται τοξικό για τους οργανισμούς του συστήματος και να επιτυγχάνεται η βέλτιστη ισορροπία τους συστήματος και η αποτελεσματικότερη συμβίωση των βακτηρίων, ψαριών και φυτών (Somerville et al. 2014).



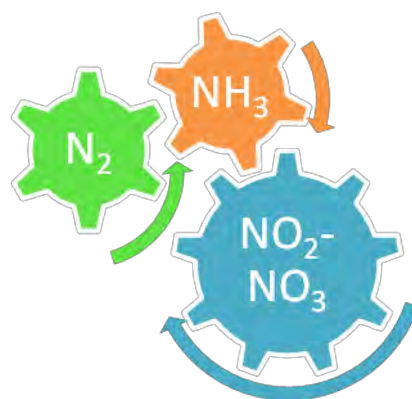
Εικόνα 1. Διαδικασία νιτροποίησης και διάγραμμα ροής νερού σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας και οι αλλαγές που υφίσταται. (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)

Η σημαντικότερη διαδικασία που λαμβάνει χώρα σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας είναι η παραγωγή των νιτρικών ιόντων (Kotzen & Appelbaum, 2010, Somerville et al. 2014) ως το τελικό προϊόν της βιοχημικής διεργασίας της νιτροποίησης. Το άζωτο (Εικ.3) είναι το συχνότερο στοιχείο στη φύση αφού αποτελεί βασικό συστατικό όλων των μακρομορίων της ζωής (πρωτείνες, υδατάνθρακες, λιπίδια και νουκλειικά οξέα), καθώς επίσης και το σημαντικότερο θρεπτικό συστατικό των φυτών (Somerville et al. 2014, Lovatelli et al. 2014, Fronte et al. 2016) (Εικ. 2).



Εικόνα 2. Η νιτροποιητική διαδικασία σε ένα σύστημα ενυδρείοπονίας. (Πηγή: Sommerville et al. 2014)

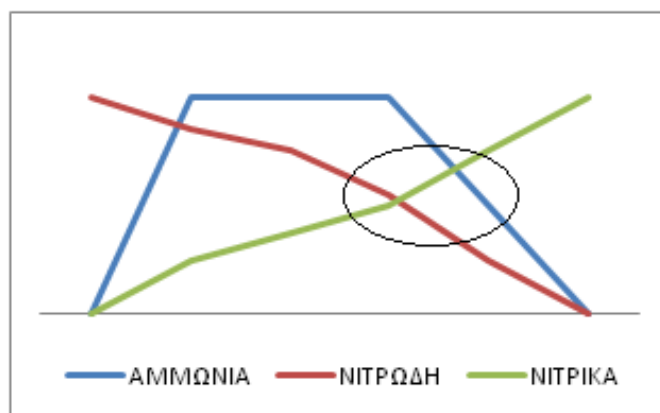
Το μοριακό άζωτο (N_2) είναι το συνηθέστερο μόριο στην γήινη ατμόσφαιρα. Αρχικά κάποια ειδικά βακτήρια, τα οποία ονομάζονται αζωτοδευσμεντικά, δεσμεύουν το ατμοσφαιρικό άζωτο και δημιουργούν την πρώτη μορφή του αζώτου, την αμμωνία. Η αμμωνία, όπως προαναφέρθηκε είναι τοξική για όλες της μορφές ζωής στον μακρόκοσμο (Harwanto et al. 2011), συνεπώς για να μπορεί να γίνει διαχειρίσιμη από τα φυτά, θα πρέπει με κάποια άλλα βακτήρια, τα οποία ονομάζονται νιτροποιητικά, να διασπαστεί με τη διαδικασία της νιτροποίησης αρχικά σε νιτρώδη ιόντα και στη συνέχεια σε νιτρικά ιόντα (Harwanto et al. 2011). Τα ιόντα αυτά μέσω των φυτών εισάγονται σε όλο το μήκος της τροφικής αλυσίδας, από τους παραγωγούς μέχρι και τους αποικοδομητές, οι οποίοι τα διασπών σε μοριακό άζωτο με τη διαδικασία της απονιτροποίησης και το επιστρέφουν στην ατμόσφαιρα.



Εικόνα 3. Οι μορφές του αζώτου στο κύκλο του αζώτου (Πηγή: προσωπικό αρχείο).

Η ρύθμιση και ενεργοποίηση του βιολογικού φίλτρου οφείλεται στην μεταβολή των αζωτούχων παραγώγων και επιτυγχάνεται όταν η αμμωνία και τα νιτρώδη ιόντα

έχουν ελαχιστοποιηθεί ή βρίσκονται σε μηδενικά επίπεδα, ενώ τα νιτρικά ιόντα είναι σε αυξημένα επίπεδα (Εικ.4).



Εικόνα 4. Διάγραμμα ρύθμισης του συστήματος ενυδραιοπονίας. (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)

1.3 Βακτήρια στο σύστημα ενυδραιοπονίας

Η σωστή λειτουργία ενός συστήματος ενυδραιοπονίας προϋποθέτει τη ρύθμιση του βιολογικού φίλτρου δηλαδή την ανάπτυξη ενός κατάλληλου αριθμού βακτηρίων, έτσι ώστε να πραγματοποιείται η παραγωγή νιτρικών ιόντων (Kotzen et al. 2010). Κατά τη διαδικασία της νιτροποίησης τα βακτήρια που ανήκουν στο γένος *nitrosomonas* (AOB) με την κατανάλωση οξυγόνου, οξειδώνουν την τοξική αμμωνία σε νιτρώδη ιόντα. Τα νιτρώδη είναι λιγότερο τοξικά από την αμμωνία, με αποτέλεσμα οι οργανισμοί που διαβιούν στο ενυδρείο να τα αντέχουν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Η αερόβια διαδικασία ακολουθεί την οξείδωση των νιτρώδων ιόντων, η οποία πραγματοποιείται από μία ομάδα αερόβιων βακτηρίων του γένους *Nitrobacter* (NOB). Τα βακτήρια οξειδώνουν τα νιτρώδη ιόντα σε νιτρικά ιόντα. Τα νιτρικά ιόντα είναι ακόμα λιγότερο τοξικά σε σχέση με τα νιτρώδη. Είναι η καλύτερη μορφή αζώτου η οποία δεσμεύεται σε μεγάλα ποσοστά και πιο εύκολα από τα φυτά (McDougald et al. 2012) (Εικ.4).

Η αποτελεσματικότητα της νιτροποίησης οφείλεται στις υγιείς βακτηριακές αποικίες. Τα νιτροποιητικά βακτήρια, είναι μικροοργανισμοί που αργούν να αποικίσουν στο υπόστρωμα του φίλτρου. Συνήθως χρειάζονται αρκετές ημέρες έως και εβδομάδες. Σε πολλά συστήματα ενυδραιοπονίας έχουν παρατηρηθεί δυσλειτουργίες λόγω της προσθήκης μεγάλου αριθμού ψαριών, πριν την δημιουργία της βακτηριακής αποικίας του

συστήματος. Οι Lovatelli et al. (2014) αναφέρουν ότι, η ανάπτυξη των βακτηρίων επηρεάζεται από παράγοντες οι οποίοι στοχεύουν στην ταχύτερη και καλύτερη αποίκηση του φίλτρου, όπως για παράδειγμα ο όγκος του φίλτρου, η καλή ποιότητα νερού, η αφθονία τροφής ($\text{NH}_3\text{-NO}_2$) και η πλούσια οξυγόνωση.

Τα βακτήρια του γένους *nitrosomonas* είναι αερόβια, σε αντίθεση με τα βακτήρια του γένους *nitrobacter* τα οποία είναι προαιρετικώς αναερόβια. Ο ρυθμός της νιτροποίησης εξαρτάται από την πληθυσμιακή ανάπτυξη των νιτροποιητικών βακτηριδίων, στο υπόστρωμα του βιολογικού φίλτρου. Απαιτείται συγκεκριμένος χρόνος ούτως ώστε ο πληθυσμός τους, να έρθει σε ισορροπία με την αμμωνία που εμπεριέχεται στο νερό του συστήματος. Από τη στιγμή όμως που θα φτάσουν σε ικανοποιητικό αριθμό τότε η νιτροποιητική διαδικασία αρχίζει να εξελίσσεται σε ικανοποιητικό βαθμό (Somerville et al. 2014).

Επίσης οι Somerville et al. (2014) αναφέρουν ότι η διαδικασία ολοκληρώνεται όταν τα νιτροποιητικά βακτήρια που καταναλώνουν αμμωνία (*nitrosomonas*-AOB) φτάσουν στον κατάλληλο αριθμό πληθυσμού και αύξησης του μεταβολικού τους ρυθμού όπου, αρχίζουν να αναπτύσσονται να νιτροποιητικά βακτήρια τα οποία οξειδώνουν τα νιτρώδη σε νιτρικά ιόντα. Η παρουσία της αμμωνίας στα αρχικά στάδια λειτουργίας του φίλτρου δρα ως περιοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη των βακτηρίων (NOB) *nitrobacter*. Η αύξηση των βακτηρίων επιτυγχάνεται με τη σημαντική μείωση της συγκέντρωσης της αμμωνίας στο σύστημα (Εικόνα 5) (Somerville et al. 2014).

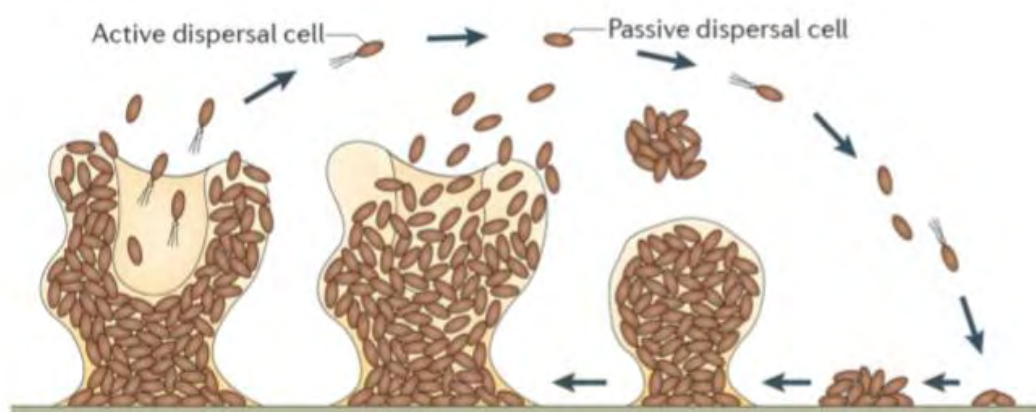
Για τη σωστή λειτουργία του βιολογικού φίλτρου απαιτείται η σωστή οξυγόνωσή του, κυρίως για δύο λόγους. Ο πρώτος είναι για την κάλυψη των αναπνευστικών αναγκών των αερόβιων βακτηρίων και ο δεύτερος λόγος είναι η μείωση της ανταγωνιστικότητας από τα αναερόβια ετερότροφα βακτήρια, τα οποία απαντούν ευνοϊκότερες συνθήκες (απουσία οξυγόνου), με αποτέλεσμα να πολλαπλασιάζονται και να καλύπτουν την ειδική επιφάνεια του φίλτρου (SSA) που προορίζονταν για τα αερόβια βακτήρια (Kamstra et al. 1998).

Στο βιολογικό καθώς και στο μηχανικό φίλτρο των συστημάτων ενυδρείοποιίας, υπάρχει και μία τρίτη ομάδα βακτηριδίων, τα ετερότροφα βακτήρια τα οποία αναπτύσσονται στις ίδιες συνθήκες με τα νιτροποιητικά βακτήρια, αλλά με μεγαλύτερη ταχύτητα. Τα νιτροποιητικά βακτήρια για παράδειγμα απαιτούν μερικές μέρες για να αποικίσουν το φίλτρο, σε σχέση με τα ετερότροφα βακτήρια που τους αρκούν μερικές

ώρες. Η διαδικασία που επιτελούν είναι πολύ απλή. Διασπούν τη διαθέσιμη στερεή οργανική ύλη που βρίσκουν σε μέγεθος μορίου, έτσι ώστε να είναι διαθέσιμος ο οργανικός άνθρακας για την απορρόφηση του από τις ρίζες των φυτών. Τα στερεά υπολείμματα είναι κατά κύριο λόγο υπολείμματα τροφής, νεκρά βακτηριακά κύτταρα, διάφοροι νεκροί φυτικοί μικροοργανισμοί, αλλά και μεταβολικές απεκκρίσεις των ψαριών (Van der Heul et al.1998).

Εν κατακλείδι τα βακτήρια σε ένα σύστημα ενυδρείοπονίας παίζουν ρόλο ζωτικής σημασίας, επειδή αν δεν υπάρχει η κατάλληλη αφθονία βακτηρίων, η αμμωνία δε θα μπορεί να διασπαστεί με τον σωστό ρυθμό, οπότε θα παρατηρούνται προβλήματα τοξικότητας στο νερό και κατ' επέκταση θα δημιουργούνται δυσάρεστες συνθήκες τόσο για τα ψάρια όσο και για τα φυτά. Εάν το μέγεθος του βιολογικού φίλτρου έρθει σε ισορροπία με το φορτίο που παράγεται από τη βιομάζα των ψαριών, τότε το σύστημα ενυδρείοπονίας ισορροπεί και θα επιτυγχάνεται αποτελεσματικότερη διάσπαση της αμμωνίας σε νιτρικά ιόντα (Somerville et al.2014).

Αν όμως το μέγεθος της φυτικής βιομάζας είναι μικρό, τότε η συσσώρευση των νιτρικών ιόντων θα είναι μικρή με αποτέλεσμα το σύστημα από την μεριά των φυτών να υπολειτουργεί (Somerville et al. 2014). Στην περίπτωση που υπάρχει μικρή βιομάζα ψαριών σε σχέση με τη βιομάζα των φυτών τότε, τα νιτρικά ιόντα που θα παράγονται από το φίλτρο δεν θα μπορούν να ικανοποιήσουν τις βασικές απαιτήσεις των φυτών (Somerville et al. 2014).



Εικόνα 5. Η δημιουργία αποικιών στο βιολογικό φίλτρο (Πηγή:McDougald et al.2012).

1.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την λειτουργία ενός συστήματος ενυδραιοπονίας

Εκτός από την αμμωνία και τα νιτρικά ιόντα, σημαντικό ρόλο σε ένα σύστημα ενυδραιοπονίας παίζουν και άλλοι παράγοντες όπως το διαλυμένο οξυγόνο, η θερμοκρασία και το pH (Somerville et al. 2014). Το οξυγόνο είναι απαραίτητο για την επιβίωση ψαριών, φυτών και βακτηρίων που συνυπάρχουν σε τέτοιου είδους συστήματα και θα πρέπει να προστίθεται σε όλα τα μέρη του συστήματος.

Η θερμοκρασία είναι σημαντικός παράγοντας, αφού τα ψάρια που συνήθως χρησιμοποιούνται καθώς και τα βακτήρια στο φίλτρο είναι μεσόφιλα και η ιδανική τους θερμοκρασία κυμαίνεται από 17 έως 34°C. Εάν η θερμοκρασία μειωθεί κάτω από τους 17 °C η παραγωγικότητα των βακτηρίων μειώνεται και στους 10°C η παραγωγικότητα έχει μειωθεί περισσότερο από 50%. (Lovatelli et al. 2014)

Το pH είναι το μέσο μέτρησης της οξύτητας και της αλκαλικότητας ενός διαλύματος. Σε συστήματα ενυδραιοπονίας με γλυκό νερό το pH κυμαίνεται από 6,5 έως 8 ενώ στο θαλασσινό νερό από 7,8-8,3. Το μειωμένο pH δημιουργεί προβλήματα στους οργανισμούς, όπως προβλήματα στους οφθαλμούς και στο δέρμα, ενώ σε αυξημένο pH δεν μπορούν να διαβιώσουν τα ψάρια και οστρακοειδή. Τα πρώτα λόγω οσμωτικών προβλημάτων ενώ τα δεύτερα λόγω καταστροφής του ασβεστολιθικού τους όστρακου.

Η ρύθμιση του pH γίνεται ώστε να μην δημιουργούνται προβλήματα στα φυτά, στα ψάρια και στα βακτήρια. Συνεπώς στην περίπτωση αλκαλικού pH τα ελεύθερα υδροξύλια εγκλωβίζονται με κάποια όξινη ουσία, ενώ σε πολύ όξινο περιβάλλον θα πρέπει να προστίθεται κάποιο άλας ώστε να καταναλώνονται τα ελεύθερα κατιόντα υδρογόνου. Τα πιο συνηθισμένα άλατα και χημικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται είναι το ανθρακικό ασβέστιο (CaCO_3), το οξείδιο του ασβεστίου (CaO), το ανθρακικό νάτριο (Na_2CO_3), το ανθρακικό μαγνήσιο (MgCO_3) και το διοξείδιο του πυριτίου (SiO_2) (Lekang 2007).

1.5 Ενυδραιοπονία και αναγκαιότητα αξιοποίησης υδάτινων πόρων

Οι Fronte et al. (2016) αναφέρουν ότι ο πληθυσμός της Γής μέχρι το 2050 αναμένεται να φθάσει τα 9 δισεκατομμύρια ανθρώπους (Bernstein 2011). Το γεγονός

αυτό υποδηλώνει ότι η παγκόσμια ζήτηση σε τρόφιμα θα αυξηθεί και ως εκ τούτου θα πρέπει να αναζητηθούν λύσεις που να καλύπτουν την αναγκαιότητα αυτή κατά 70 έως 100% (Godfray et al. 2010). Στο πλαίσιο αυτό, ο τομέας της γεωργίας και της υδατοκαλλιέργειας διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εξασφάλιση λύσεων χωρίς να δημιουργούν ιδιαίτερα σημαντικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις (Rivera et al. 2013)

Μεταξύ των γεωργικών συστημάτων παραγωγής, η υδατοκαλλιέργεια σε συνδυασμό με την υδροπονία φαίνεται να είναι η πλέον κατάλληλη για την επίλυση αυτού του προβλήματος. Οι Fronte et al. (2016), αναφέρουν ότι η ενυδρειοπονία σε γλυκό νερό καλύπτει ένα πολύ μεγάλο μέρος της παραγωγικής διαδικασίας, είναι πολύ διαδεδομένη και έχει εφαρμοστεί κατά κόρον στην αύξηση της παραγωγικής διαδικασίας των εδώδιμων και αρωματικών φυτών.

Η συνεχόμενη μείωση της χρήσης γλυκού νερού τόσο για την υδατοκαλλιέργεια όσο και τη γεωργία, καθώς και η κλιμακούμενη αύξηση της αλατότητας του εδάφους (Turcios 2014) οδήγησαν στην χρήση και αξιοποίηση υδάτινων πόρων των θαλάσσιων ή υφάλμυρων (Joesting et al. 2016).

Η ανάπτυξη της ενυδρειοπονίας με την χρήση θαλασσινού ή υφάλμυρου νερού αποτελεί από τα βασικά και καινοτόμα συστήματα ανάπτυξης στις μέρες μας (Casacuberta et al. 2013). Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται φυτά τα οποία μπορούν να διαβιούν σε μεγάλες διακυμάνσεις της αλατότητας. Σύμφωνα με μελέτες (Alessio et al. 2001) βρέθηκε ότι, τα μεσογειακά φυτά μπορούν να συνδυαστούν με ευρύαλα ψάρια, δηλαδή ψάρια που μπορούν να αναπτυχτούν σε διαφορετικές αλατότητες, και να δώσουν ικανοποιητικά αποτελέσματα. Μεταξύ των ευρύαλων ειδών που χρησιμοποιούνται κατά κόρον είναι το Ευρωπαϊκό λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) αλλά και η τσιπούρα (*Sparus aurata*).

Το φυτά που επιλέγονται και δίνουν ικανοποιητικά αποτελέσματα είναι αυτά που αντέχουν σε τιμές αλατότητας μεταξύ 10-20 ppt όπως το *Distichlis palmeri* το οποίο είναι ανθεκτικό και σε συνθήκες υπεραλατότητας (Pantanella et al. 2015).

Επίσης, διάφορα είδη αλόφιλων φυτών τα οποία είναι κατάλληλα για ένα θαλασσινό σύστημα ενυδρειοπονίας και καλλιεργούνται για την εμπορική τους αξία όπως το κρίταμο (*Chrithmim maritimum*), η αλμύρα (*Salsola soda*), αλλά και είδη του γένους *Salicornia* ή είδη όπως η κινόα ή σιτηρά, τα οποία χρησιμοποιούνται στην παραγωγή αλεύρων (Somerville et al. 2014).

Στην ενυδρειοπονία με θαλασσινό νερό, έχουν καλλιεργηθεί οπωροκηπευτικά και φυτά τα οποία αντέχουν σε αλατότητες 5-30 ppt. Πολλά από αυτά ανήκουν στην οικογένεια των *Chenopodiaceae*, όπως είναι το σέσκουλο (*Beta vulgaris var Maritima*), αλλά και το τεύτλο (*Bete vulgaris var Cycles*) που αναπτύσσονται σε αλατότητες 3,5-7 ppt. Άλλα είδη τα οποία χρησιμοποιούνται είναι οι κοινές τομάτες (*Lycopersicon esculentum*), το ντοματάκι (*Lycopersicon esculentum var. Cerasiformee*) και ο βασιλικός (*Ocimum basilicum*), τα οποία μπορούν να έχουν αξιοσημείωτη παραγωγή σε αλατότητες έως και 4 ppt.

Επίσης μία πολύ καλή εναλλακτική λύση αν δεν είναι εφικτή η χρησιμοποίηση νερού χαμηλής αλατότητας, είναι η καλλιέργεια φυτοπλαγκτονικών οργανισμών (Pantenella & Bhujel 2015) τα οποία έχουν φαρμακευτική σημασία όπως η σπιρουλίνα (*Arthospira platensis*) και η χλωρέλλα (*Chlorella spp.*).

1.6 Σκοπός Διπλωματικής προπτυχιακής εργασίας

Σκοπός της παρούσας προπτυχιακής διατριβής είναι να μελετήσει την αφθονία των βακτηρίων σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας υφάλμυρου νερού σε δυο διαφορετικές αλατότητες 8 ppt και 20 ppt, καθώς επίσης και τις αλληλεπιδράσεις των ποιοτικών χαρακτηριστικών του νερού σε σχέση με την ανάπτυξη και αφθονία των βακτηρίων.

Για το σκοπό αυτό κατασκευάστηκαν για πρώτη φορά έξι αυτόνομα συστήματα ενυδρειοπονίας εργαστηριακής κλίμακας με υφάλμυρο νερό όπου πραγματοποιήθηκε καλλιέργεια αλόφιλων φυτών, του είδους *Crithmum maritimum* (κρίταμος) και εκτροφή, του είδους *Sprarrus aurata* (τσιπούρα) για χρονικό διάστημα 75 ημερών.

2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1.Προμήθεια και προσαρμογή ατόμων τσιπούρας (*Sparus aurata*) και φυτωρίων κριτάμου (*Crithmum maritimum*)

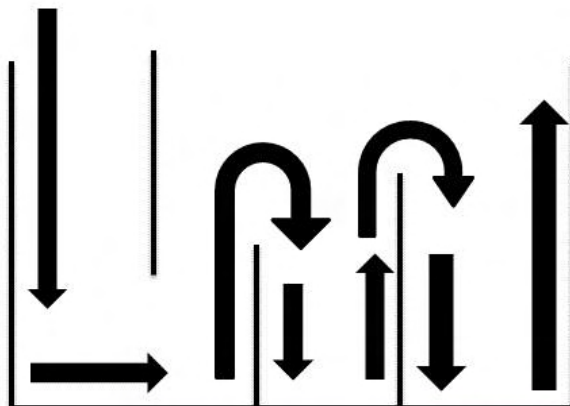
Το πείραμα έλαβε χώρα στο Τολ Ενυδρειοπονίας της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η πρόμήθεια των ατόμων τσιπούρας (*Sparus aurata*) έγινε από τον Ιχθυογεννητικό σταθμό ΣΕΛΟΝΤΑ ΑΕΓΕ και μεταφερθήκαν στο εργαστήριο, εγκλιματίστηκαν και διαμοιράσθηκαν σε δύο ενυδρεία 200 L με αλατότητα 25 ppt για χρονική περίοδο 30 ημερών ούτως ώστε τα ψάρια να προσαρμοστούν σταδιακά στις νέες συνθήκες διαφορετικής αλατότητας. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 156 ιχθύδια τσιπούρας τα οποία διαμοιράστηκαν ανά 26 άτομα σε 6 αυτόνομα ενυδρειοπονικά συστήματα. Η διαδικασία της προσαρμογής περιλάμβανε τη σταδιακή μείωση της αλατότητας κατά 5 ppt κάθε πέντε ημέρες στις αλατότητες 8 ppt και 20 ppt, αντίστοιχα για διάστημα 30 ημερών. Η διάρκεια του πειράματος ήταν 75 ημέρες.

Τα φυτά τοποθετήθηκαν στα grow bed του συστήματος 15 μέρες μετά την προσαρμογή των ψαριών σε αυτό και τα 36 άτομα κριτάμου τοποθετήθηκαν ανά έξι στα πειραματικά grow bed. Τα φυτά πριν τοποθετηθούν στα ενυδρειοπονικά συστήματα βρίσκονταν και αυτά στο στάδιο της προσαρμογής στις δύο αλατότητες, σε θερμοκήπιο, όπου ποτίζονταν με νερό των δύο αλατοτήτων.

2.2 Σύστημα εκτροφής-Συνθήκες εκτροφής

Για τις ανάγκες του πειράματος σχεδιάστηκαν και κατασκευάστηκαν έξι αυτόνομα ενυδρειοπονικά συστήματα με τη μέθοδο raft τα οποία αποτελούνταν από ένα Growbed διαστάσεων 30x30x60 cm, όγκου 36L και καλλιεργητικής επιφάνειας 180 cm², ένα ενυδρείο για τα ιχθύδια παρόμοιου όγκου και διαστάσεων και ενός εξωτερικού φίλτρου cartridge τύπου sump διαστάσεων 27x34x35 cm και συνολικού όγκου 23,8L. Το φίλτρο διαχωρίστηκε σε τρία συνδεδεμένα διαμερίσματα, στα οποία η ροή του νερού ήταν

καθοδική, στη συνέχεια γινόταν ανοδική και κατέληγε στο τρίτο τμήμα όπου είχε καθοδική πορεία (Εικ. 6).



Εικόνα 6. Διάγραμμα ροής νερού στο φίλτρο του ενυδρείου του ενυδρειοπονικού συστήματος. (Πηγή: προσωπικό αρχείο)

Το πρώτο τμήμα φιλοξενούσε το μηχανικό φίλτρο, το οποίο αποτελούνταν από τρεις στρώσεις υαλοβάμβακα που τοποθετήθηκαν σε ειδική κατασκευή ένα διάτρητο καλάθι παραλληλόγραμμου σχήματος για αποτελεσματικότερο καθαρισμό του νερού (κατακράτηση περιττωμάτων και υπολειμμάτων τροφής). Οι διαστάσεις του πρώτου τμήματος ήταν 27 x 17 x 17,5 cm καλύπτοντας συνολική επιφάνεια 472,5 cm². Το δεύτερο τμήμα του φίλτρου ήταν άμεσα συνδεδεμένο με το πρώτο και χρησιμοποιήθηκε ως βιολογικό φίλτρο, όπου καλύφθηκε με 1 L πλαστικές βιόσφαιρες (bioball) και 1,5 L κεραμικό υλικό (ceramic media). Το βιολογικό φίλτρο κάλυπτε συνολική επιφάνεια 45 cm². Τέλος το τρίτο τμήμα του φίλτρου το οποίο διαφοροποιούνταν από το δεύτερο με ένα κομμάτι γυαλί διαστάσεων 17 x 18,5 cm αποτελούσε το τελικό στάδιο του φίλτρου όπου το νερό μέσω μιας αντλίας διοχετευόταν στο grow bed κατά το μεγαλύτερο μέρος του (90%) και κατά 10% στο ενυδρείο των ψαριών (Εικ 7).

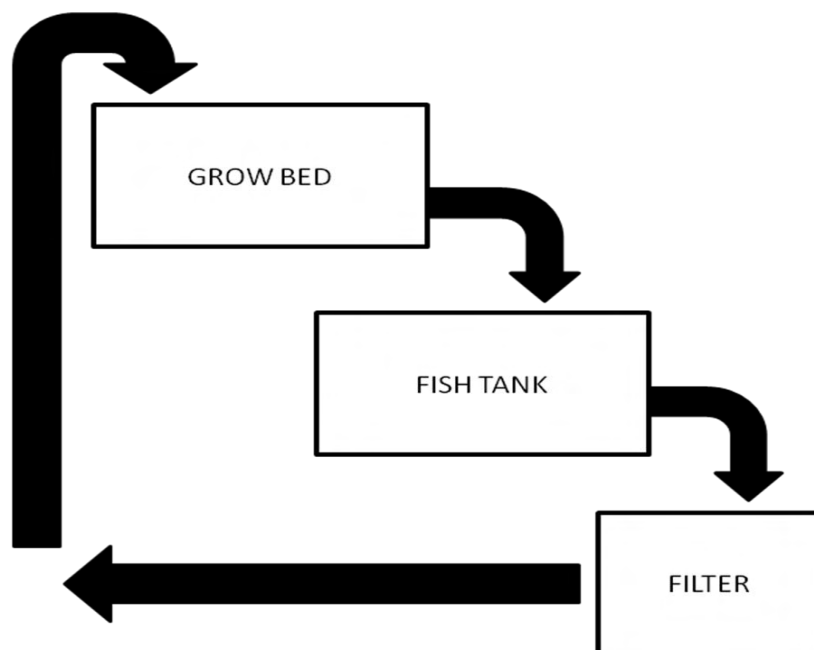


Εικόνα 7. Φίλτρο τύπου sump που χρησιμοποιήθηκε στο σύστημα ενυδρείοπονίας. (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)

Τα ενυδρείοπονικά συστήματα (Εικ.8) τοποθετήθηκαν σε παράλληλη διάταξη προκειμένου η ροή του νερού (Εικ.9) από το growbed στο ενυδρείο και στη συνέχεια στο φίλτρο να γίνεται διαμέσου της βαρύτητας (Somerville et al. 2014).



Εικόνα 8. Διάταξη αυτόνομων συστημάτων ενυδρείοπονίας που χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία. Διακρίνονται στη πάνω σειρά τα grow bed, στη κάτω σειρά τα ενυδρεία των ψαριών και στο κάτω μέρος το φίλτρο τύπου sump (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).



Εικόνα 9. Διάγραμμα ροής νερού στο σύστημα ενδρειοπονίας που χρησιμοποιήθηκε σε όλη τη διάρκεια του πειράματος (Πηγή: προσωπικό αρχείο).

Η παροχή του αέρα στα συστήματα, πραγματοποιούνταν από αεραντλία η οποία διοχέτευε ατμοσφαιρικό οξυγόνο στο ενδρείο των ψαριών και φυτών. Για να εξασφαλισθεί καλύτερη διάχυση του ατμοσφαιρικού οξυγόνου στο νερό χρησιμοποιήθηκε αερόπετρα πορόλιθου διαστάσεων 12 x 25 mm.

Η ροή του αέρα, η παροχή του νερού και η ταχύτητα φιλτραρίσματος σε κάθε σύστημα ενδρειοπονίας μετρήθηκε και ρυθμίστηκε να είναι παρόμοια (Πιν. 1). Συνεπώς σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στον Spotte (1992), υπολογίστηκαν η ροή του αέρα και η παροχή του νερού και βρέθηκαν να είναι ίσες με $2,02 \text{ cm}^3/\text{min}$, και $420 \text{ L}/\text{min}$ για την παροχή του νερού. Στη συνέχεια υπολογίστηκε η ταχύτητα φιλτραρίσματος $0.013 \text{ cm}/\text{min}$ και ρυθμίστηκε να είναι παρόμοια σε όλα τα συστήματα. Η θερμοκρασία του νερού διατηρήθηκε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος στους $26 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$.

Ο Spotte (1992) αναφέρει ότι, η βιολογική ρύθμιση ενός συστήματος επιτυγχάνεται με τους παρακάτω τρόπους:

- Εισαγωγή ψαριών
- Προσθήκη αμμωνίας
- Προσθήκη τροφής

Στο παρόν πείραμα η βιολογική ρύθμιση των ενυδρειοπονικών συστημάτων επιτεύχθηκε διαμέσου της μεθοδολογίας που περιγράφεται από τους Vlahos et al. (2004), Vlahos et al.(2013) και Vlahos et al. (2016).

Η μέθοδος συνίσταται αρχικά στην 24 ώρη λειτουργία των συστημάτων ώστε να εξατμιστεί κάθε ίχνος χλωρίου. Στην συνέχεια στο βιολογικό φίλτρο κάθε ενυδρειοπονικού συστήματος προστέθηκαν 2-3 κόκκοι υλικού πλήρωσης (πχ χαλίκι) από σύστημα που λειτουργούσε ικανοποιητικά στο εργαστήριο προκειμένου να χρησιμοποιηθεί ως μέσο ανάπτυξης των νιτροποιητικών βακτηρίων στο φίλτρο.

Η εκκίνηση του φίλτρου συνίσταται στην προσθήκη 0,2 g NH₄Cl ως πηγή ιονισμένης αμμωνίας στο φίλτρο (Vlahos et al. 2004), ενώ η ρύθμιση των συστημάτων επιτεύχθηκε μετά την πάροδο 30 ημερών. Αρχικά σε κάθε σύστημα προστέθηκαν 10 ψάρια, ενώ μετά από τη ρύθμιση ο αριθμός αυτός αυξήθηκε στα 25.

Απαραίτητη προϋπόθεση για τον έλεγχο της ρύθμισης των συστημάτων αποτέλεσε ο συχνός έλεγχος δύο φορές / εβδομάδα της ολικής αμμωνίας (Total Ammonium Nitrogen, T.A.N), των νιτρωδών ιόντων (NO₂⁻), των νιτρικών ιόντων (NO₃⁻), του pH και του διαλυμένου οξυγόνου.

Πίνακας 1. Ταχύτητα φιλτραρίσματος και παροχή νερού στο grow bed και στο fish tank (εκφρασμένα σε cm/min, mL/sec και L/min) (n=6).

ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΝΥΔΡΕΙΟΠΟΝΙΑΣ	U * (cm/min)	Q GB* (mL/sec)	Q FT* (mL/sec)	Q GB (L/min)	Q FT (L/min)
1	0,013	30	3,7	1.8	0.22
2	0,013	30	3,7	1.8	0.22
3	0,013	30	3,7	1.8	0.22
4	0,013	30	3,7	1.8	0.22
5	0,013	30	3,7	1.8	0.22
6	0,013	30	3,7	1.8	0.22

* u= ταχύτητα φιλτραρίσματος, GB: δεξαμενή φυτών, FT: δεξαμενή ψαριών, Q: παροχή νερού.

2.3. Μέθοδος Dapi

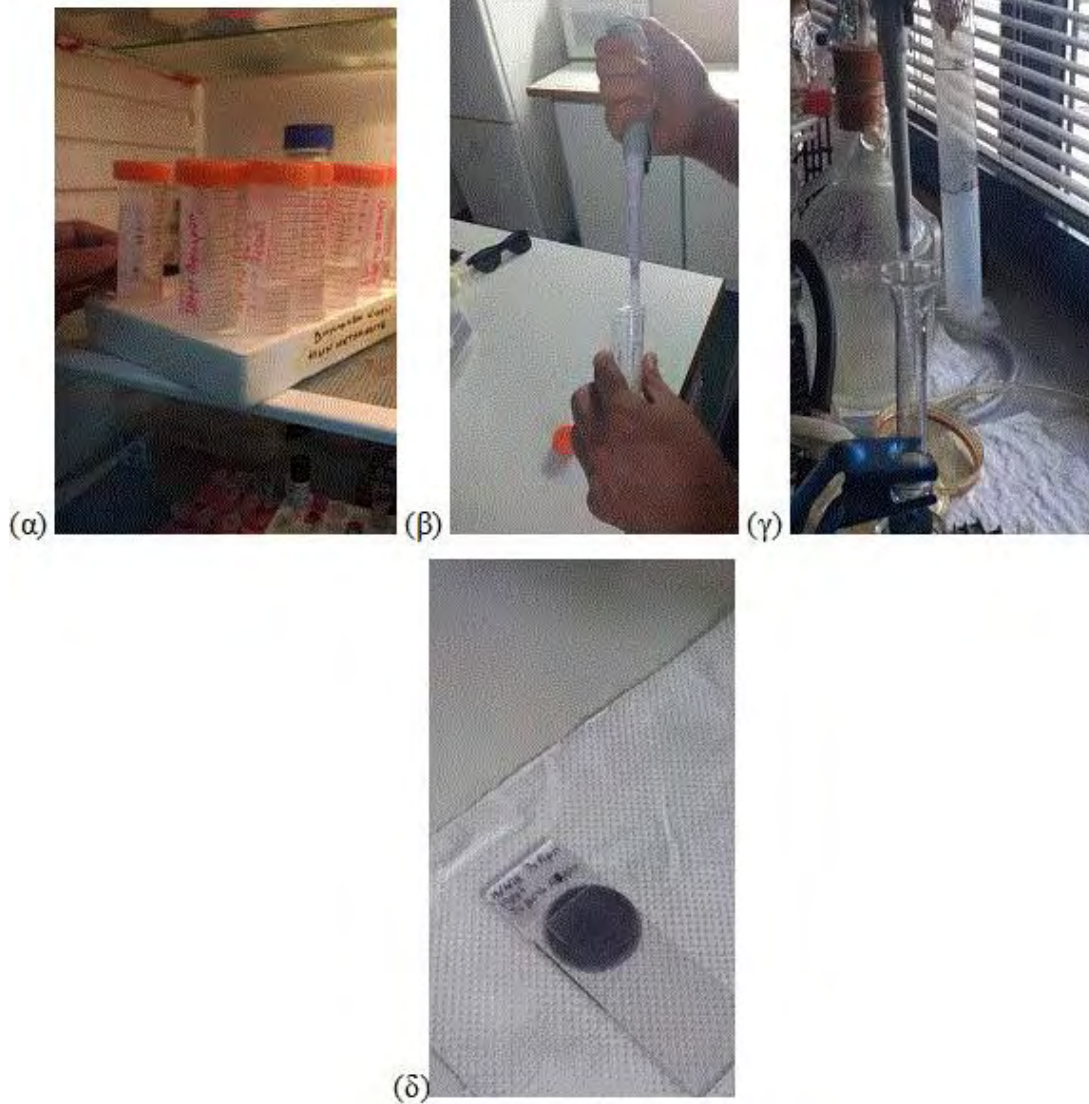
Η βακτηριακή κυτταρική αφθονία διερευνήθηκε κατά την περίοδο μείωσης των αλατοτήτων κατά τη προσαρμογή των ψαριών όπου λαμβάνονταν δείγμα 15 mL κάθε 5 ημέρες με τη μεταβολή της αλατότητας από δύο τυχαία ενυδρεία που είχαν αλατότητες 8 ppt (ST4) και 20 ppt (ST3) (Εικ.10).

Οι δειγματοληψίες για την διερεύνηση της βακτηριακής αφθονίας συνεχίστηκαν και λήφθηκαν δείγματα με την έναρξη του πειράματος (ημέρα 0), την ημέρα 3, την ημέρα 15, την ημέρα 30, την ημέρα 45, την ημέρα 60 και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 75) της περιόδου εκτροφής για τις αλατότητες 8 και 20 ppt αντίστοιχα.

Στη συνέχεια για τη μονιμοποίηση των δειγμάτων, προστίθονταν 1 mL μεθανάλη 90% (φορμόλη) και τοποθετούνταν στο ψυγείο. Μετά από μία ημέρα με πιπέτα των 1000 μ L λαμβάνονταν 2 mL δείγματος και τοποθετούνταν σε ειδική ογκομετρική φιάλη στην οποία προσαρμόζονταν ειδικό μαύρο φίλτρο Nuclepore (μέγεθος πόρων 0,2 μ m) για διήθηση του δείγματος στο κενό (Εικ.10).

Αφού αφαιρέθηκε κάθε ίχνος νερού (από το δείγμα), τα δείγματα χρωματίστηκαν με τρεις σταγόνες χρωστικής ουσίας DAPI (4',6-διαμιδινο-2-φαινυλινδόλη). Εξαιτίας της ευαισθησίας στο φως που παρουσιάζει η χρωστική ουσία, τοποθετούσαμε τα δείγματα στο σκοτάδι για περίπου 5 min. Στη συνέχεια μετά την τοποθέτηση των φίλτρων σε γυάλινες αντικειμενοφόρες πλάκες (με τη χρήση ειδικού ελαίου), τα κύτταρα μετρήθηκαν σε μικροσκόπιο επιφθορισμού AxioStar (Zeiss) σε μεγέθυνση 1.000 x (Porter & Feig, 1980) υπό υπεριώδες φως. Επειδή η χρωστική Dapi είναι φθωρίζουσα ουσία προσκολλά στο DNA των βακτηρίων, οπότε με την κατάλληλη ακτινοβολία γίνονταν η καταμέτρηση των βακτηρίων του κάθε δείγματος.

Οι καταμετρήσεις DAPI έγιναν τρεις φορές για κάθε χρονικό σημείο δειγματοληψίας από την ίδια αλατότητα και ο συντελεστής διακύμανσης ήταν πάντοτε μικρότερος από 10%.



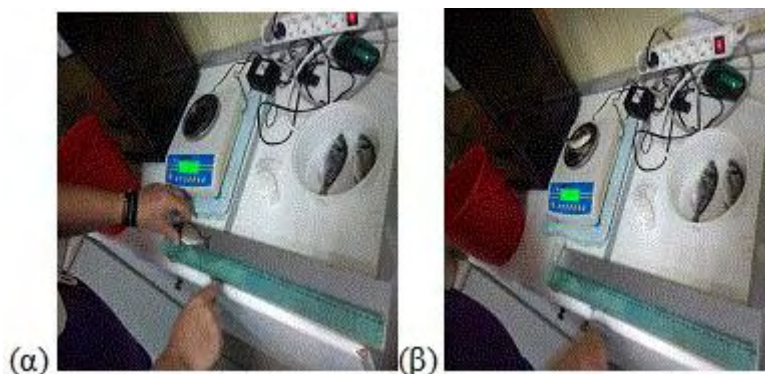
Εικόνα 10. Διαδικασία μέτρησης αφθονίας βακτηρίων: (α) δείγμα νερού τοποθετημένο σε δοχείο τύπου falcon, (β) μονιμοποίηση δείγματος με 2 mL φορμόλης, (γ) εισαγωγή στο δείγμα 2 mL χρωστικής, (δ) δείγμα έτοιμο για μικροσκοπία (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

2.4. Σιτηρέσιο και χορήγηση τροφής

Το πείραμα διήρκησε 75 ημέρες με επίπεδο διατροφής που χρησιμοποιήθηκε καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος να διαιρείται στο 5% W/W του μέσου ζώντος βάρους ψαριού. Η τροφή δινόταν με το χέρι τρεις φορές ημερησίως στις 10:00 πμ 13:00 μμ και στις 16:00 μμ από Δευτέρα έως Σάββατο. Η τροφή διατηρούνταν σε ειδικά πλαστικά δοχεία προζυγισμένου βάρους στους 4°C. Επίσης κάθε 15 ημέρες τα ψάρια αναισθητοποιούνταν σε λουτρό αναισθητικού 2-φαινο-εξυθανόλης (C₈H₁₀O₂) και σε συγκέντρωση ποσότητας 0,25 ml/L, με σκοπό τον επανυπολογισμό του ολικού βάρους (W) και του ολικού μήκους (L) των ψαριών. Μία ημέρα πριν από κάθε ζύγισμα τα ψάρια διατηρούνταν σε ασιτία προκειμένου να καθαρίσει ο εντερικός σωλήνας και τα ψάρια να μην υποστούν παλινδρομήσεις κατά την δειγματοληψία.

2.5. Μετρήσεις μορφομετρικών χαρακτηριστικών

Το ολικό βάρος (W, g) της τσιπούρας μετρήθηκε με ζυγό ακριβείας (CAS) σε ακρίβεια δεύτερου δεκαδικού ψηφίου (Εικ.11α), ενώ η μέτρηση του ολικού μήκους (L, cm) έγινε με ιχθυόμετρο (Εικ.11β). Για να μετρηθεί το μήκος και βάρος, τα ψάρια αναισθητοποιήθηκαν με φαινοεξυθανόλη σε πυκνότητα 0,25 mL/L.



Εικόνα 11. (α) μέτρηση ολικού μήκους με ιχθυόμετρο, (β) μέτρηση ολικού βάρους με ζυγό ακριβείας (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

2.6. Μετρήσεις φυσικοχημικών παραμέτρων

Για τον έλεγχο της ρύθμισης των συστημάτων ενυδρείοπονίας μετρήθηκαν οι φυσικοχημικές παράμετροι (TAN, NO₂, NO₃, pH) ανά τακτά χρονικά διαστήματα (δυο μετρήσεις/εβδομάδα) πριν την χορήγηση του πρώτου γεύματος στα ψάρια, για όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Τα ενυδρεία βρίσκονταν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χώρου (24°C), χωρίς την ύπαρξη θερμαντικών σωμάτων και καθημερινά η θερμοκρασία ελέγχονταν με ειδικά βυθιζόμενα θερμόμετρα (SUNSUN, HJS-305A). Το pH και η αλατότητα ελέγχονταν δύο φορές την εβδομάδα με ηλεκτρονικό pH μέτρο (HM Digital PH-80) και διαθλασίμετρο, αντίστοιχα (Aqua Medic refractometer). Η καταμέτρηση της ολικής αμμωνίας (T.A.N), των νιτρικών ιόντων (NO₂⁻), των νιτρικών ιόντων (NO₃⁻) και των φωσφορικών ιόντων (PO₄) γινόταν δύο φορές την εβδομάδα με ειδικά τεστ kit χρωματομετρίας (Api) (Εικ.12) Οι μετρήσεις του οξυγόνου (O₂) γινόταν με ηλεκτρονική συσκευή οξυγονόμετρου αντίστοιχα (HACH HQ 40 D).

Τα επιτρεπτά και μη επιτρεπτά των παραμέτρων του νερού παρουσιάζονται στον Πίνακα 2 (Bregnballe 2010).

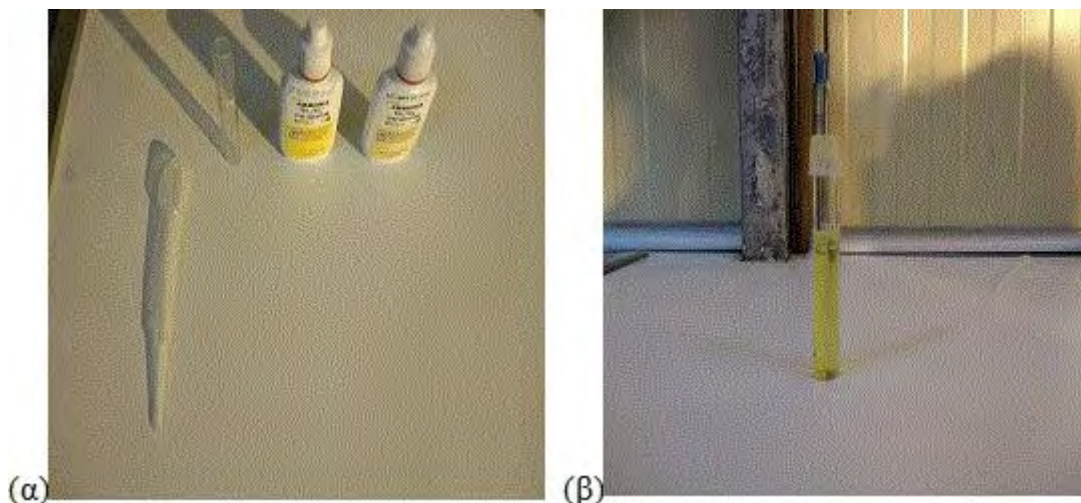
Πίνακας 2. Επιτρεπτό και μη επιτρεπτό όριο στην αμμωνία, νιτρώδη ιόντα, νιτρικά ιόντα και pH στο σύστημα ενυδρείοπονίας (Πηγή: Bregnballe 2010).

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΜΟΝΑΔΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΤΙΜΗ	ΜΗ ΕΠΙΤΡΕΠΤΟ ΟΡΙΟ
T.A.N	(NH ₃ -N) + (NH ₄ ⁺ -N)	mg/L	< 0.01 (εξαρτάται απο pH)	> 0.025
ΝΙΤΡΩΔΗ ΙΟΝΤΑ	NO ₂ ⁻	mg/L	0-0.5	> 0.5
ΝΙΤΡΙΚΑ ΙΟΝΤΑ	NO ₃ ⁻	mg/L	100-200	> 300
ΕΝΕΡΓΟΣ ΟΞΥΓΗΤΗΤΑ	pH	-	6.5-7.5	<6.2 και >8

2.6.1. Προσδιορισμός ολικής αμμωνίας-αζώτου (T.A.N.)

Η μέτρηση της ολικής αμμωνίας (T.A.N) (mg/L) (Εικ.12) έγινε με τη μέθοδο των αντιδραστηρίων φαινόλης αλκοόλης σε οξειδωτικό διάλυμα και σιδηρούχο καταλύτη (Liddicoat et al.1975) σύμφωνα με την παρακάτω διαδικασία:

1. Λήψη δείγματος από το ενυδρείο των ψαριών
2. Προσθήκη 8 σταγόνων στο δείγμα από το πρώτο διάλυμα του kit
3. Προσθήκη 8 σταγόνων στο δείγμα από το δεύτερο διάλυμα του kit
4. Ανακίνηση του δείγματος για 5 sec
5. Αναμονή 5 min
6. Σύγκριση του χρώματος του δείγματος με το χρωματικό πίνακα για προσδιορισμό του αποτελέσματος



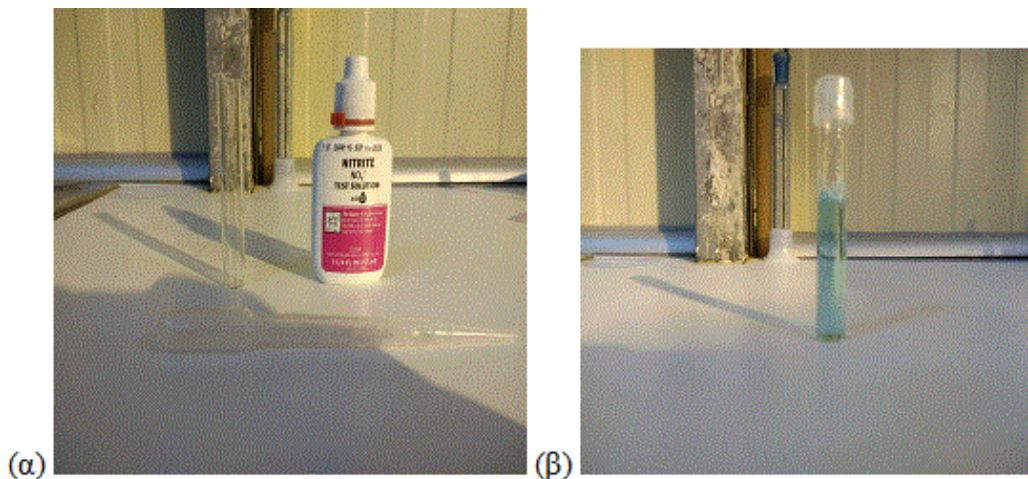
Εικόνα 12. (α) Αντιδραστήρια μέτρησης ολικής αμμωνίας, (β) τιτλοδότηση και έλεγχος χρώματος (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

2.6.2. Προσδιορισμός νιτρωδών ιόντων ($\text{NO}_2^- \text{N}$)

Τα νιτρώδη ιόντα (mg/L) (Εικ.13) μετριούνταν με τη μέθοδος των αντιδραστηρίων φαινόλης αλκοόλης σε οξειδωτικό διάλυμα και σιδηρούχο καταλύτη (Liddicoat et al.1975) σύμφωνα με την παρακάτω διαδικασία:

1. Λήψη δείγματος από το ενυδρείο των ψαριών
2. Προσθήκη 5 σταγόνων στο δείγμα από το kit
3. Ανακίνηση του δείγματος για 5 sec

4. Αναμονή 5 min
5. Σύγκριση του χρώματος του δείγματος με το χρωματικό πίνακα για προσδιορισμό του αποτελέσματος.

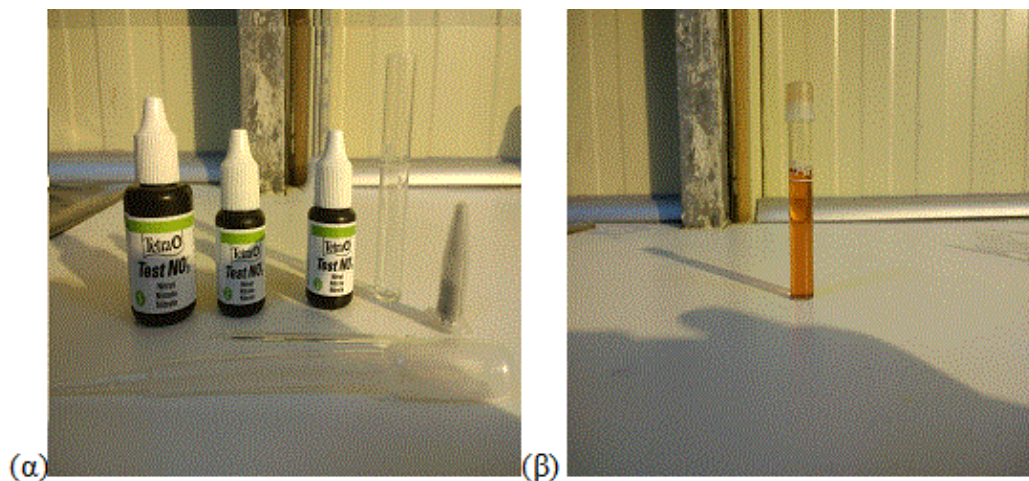


Εικόνα 13. (α). Αντιδραστήρια μέτρησης νιτρωδών ιόντων, (β) τιτλοδότηση και έλεγχος χρώματος (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

2.6.3. Προσδιορισμός νιτρικών ιόντων (NO_3^- -N)

Για τη μέτρηση των νιτρικών ιόντων (mg/L) (Εικ.14) ακολουθήθηκε η μέθοδος των αντιδραστηρίων φαινόλης αλκοόλης σε οξειδωτικό διάλυμα και σιδηρούχο καταλύτη (Liddicoat et al. 1975) σύμφωνα με την παρακάτω διαδικασία:

1. Λήψη δείγματος από το ενυδρείο των ψαριών
2. Προσθήκη 10 σταγόνων στο δείγμα από το πρώτο διάλυμα του kit
3. Ανακίνηση του δείγματος για 5 sec
4. Ανακίνηση του δεύτερου διαλύματος του kit για 30 sec
5. Προσθήκη 10 σταγόνων στο δείγμα από το δεύτερο διάλυμα του kit
6. Ανακίνηση του δείγματος για 1 min
7. Αναμονή 5 min
8. Σύγκριση του χρώματος του δείγματος με το χρωματικό πίνακα για προσδιορισμό του αποτελέσματος.



Εικόνα 14. (α) Αντιδραστήριο μέτρησης νιτρικών ιόντων, (β) Τιτλοδότηση και έλεγχος χρώματος (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

2.7. Δείκτες υπολογισμού λειτουργικών χαρακτηριστικών φίλτρου

Η ιονισμένη, μη ιονισμένη αμμωνία και το υδραυλικό φορτίο των συστημάτων ενυδρειοπονίας υπολογίστηκαν με βάση τις παρακάτω εξισώσεις (Huguenin & Colt 2002):

Η ιονισμένη και μη ιονισμένη αμμωνία υπολογίστηκε από την σχέση:

$$\text{T.A.N.} = \text{ιονισμένη μορφή αμμωνίας} + \text{μη ιονισμένη μορφή αμμωνίας} \quad \text{T.A.N.} = (\text{NH}_4^+ - \text{N}) + (\text{NH}_3 - \text{N})$$

$$\text{Μη ιονισμένη αμμωνία} = \alpha \times \text{T.A.N}$$

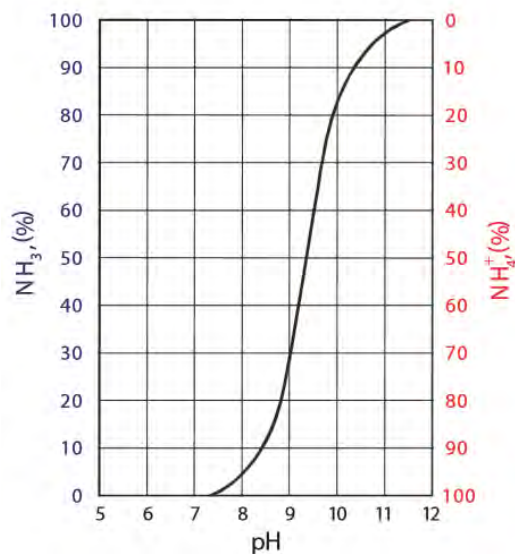
Όπου

α : το γραμμομοριακό κλάσμα διάσπασης αμμωνίας δίνεται από τον Πίνακα 3 ή μπορεί να υπολογιστεί από την Εικόνα 15.

Πίνακας 3. Γραμμομοριακό κλάσμα διάσπασης της αμμωνίας (Πηγή: Huguenin & Colt 2002).

Θερμοκρασία (°C)	pH							
	7,0	7,8	7,9	8	8,1	8,2	8,3	9
Salinity = 0gr/kg								
5	0,0012	0,0078	0,0098	0,0123	0,0154	0,0193	0,0242	0,1107
10	0,0019	0,0116	0,0145	0,0182	0,0229	0,0286	0,0357	0,1567
15	0,0027	0,0169	0,0212	0,0266	0,0332	0,0415	0,0516	0,2144
20	0,0039	0,0243	0,0304	0,0380	0,0474	0,0590	0,0731	0,2833
25	0,0056	0,0346	0,0431	0,0537	0,0667	0,0825	0,1017	0,3621
30	0,0080	0,0483	0,0600	0,0744	0,0919	0,1130	0,1382	0,4455
Salinity = 5gr/kg								
5	0,0009	0,0055	0,0070	0,0087	0,0110	0,0138	0,0173	0,0810
10	0,0013	0,0082	0,0103	0,0130	0,0163	0,0204	0,0256	0,1162
15	0,0019	0,0121	0,0151	0,0190	0,0238	0,0297	0,0371	0,1620
20	0,0028	0,0174	0,0218	0,0273	0,0341	0,0426	0,0530	0,2191
25	0,0040	0,0247	0,0310	0,0387	0,0482	0,0599	0,0743	0,2868
30	0,0057	0,0347	0,0433	0,0539	0,0669	0,0828	0,1020	0,3629

Θερμοκρασία (°C)	pH							
	7,0	7,8	7,9	8	8,1	8,2	8,3	9
Salinity = 15gr/kg								
5	0,0008	0,0051	0,0064	0,008	0,0101	0,01126	0,0159	0,0747
10	0,0012	0,0075	0,0095	0,0119	0,0149	0,0187	0,0235	0,1075
15	0,0018	0,0111	0,0139	0,0174	0,0218	0,0273	0,0342	0,1506
20	0,0026	0,016	0,02	0,0251	0,0314	0,0392	0,0489	0,2048
25	0,0037	0,0228	0,0285	0,0356	0,0444	0,0553	0,0686	0,2697
30	0,0052	0,032	0,0399	0,0497	0,0618	0,0766	0,0946	0,3436
Salinity = 35gr/kg								
5	0,0007	0,0042	0,0053	0,0067	0,0084	0,0106	0,0133	0,0631
10	0,001	0,0063	0,0079	0,01	0,0125	0,0157	0,0197	0,0915
15	0,0015	0,0093	0,0117	0,0146	0,0183	0,023	0,0288	0,1293
20	0,022	0,0134	0,0169	0,0211	0,0265	0,0331	0,0413	0,1776
25	0,0031	0,0192	0,024	0,0301	0,0376	0,0469	0,0583	0,2367
30	0,0044	0,027	0,0338	0,0422	0,0525	0,0652	0,0808	0,3057



Εικόνα 15. Συσχέτιση μεταξύ ιονισμένης και μη ιονισμένης αμμωνίας στους 20° C σε συνάρτηση με το pH (Πηγή: Bregnballe 2010).

Το υδραυλικό φορτίο, ο ρυθμός ανακύκλωσης και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής στο φίλτρο υπολογίστηκαν από τις σχέσεις (Huguenin & Colt 2002):

α) $HLR = \text{παροχή νερού (Q)} / \text{ολική επιφάνεια φίλτρου (W)}$

β) Ρυθμός ανακύκλωσης (r) = όγκος ανακύκλωσης/συνολικός όγκος νερού στο ενυδρείο

γ) Υδραυλικός χρόνος παραμονής (t) = επιφάνεια φίλτρου (W) x βάθος νερού x πορώδες υλικού φίλτρου (s)/ παροχή νερού (Q)

δ) Η παροχή του νερού μετρήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στον Spotte (1992), όπου σε ογκομετρικό κύλινδρο των 1000 mL μετρήθηκε ο όγκος του νερού που καταλάμβανε ο κύλινδρος στη μονάδα του χρόνου (10 sec). Η διαδικασία επαναλήφθηκε 3 φορές και στη συνέχεια υπολογίστηκε ο μέσος όρος της παροχής για κάθε ενυδρειοπονικό σύστημα.

$$Q = (\pi D^2/4) * V$$

Όπου: $\pi=3,14$

D: διάμετρος σωλήνα (cm)

V: όγκος νερού που εκτοπίστηκε (cm³)

ε) Ο υπολογισμός του όγκου του φίλτρου δίνεται από τον τύπο:

$$V_{\text{filter}} = a * b * c \text{ (cm}^3\text{)}$$

Όπου: a = μήκος

b = πλάτος

c = ύψος

ζ) Η ειδική επιφάνεια του φίλτρου (SSA) υπολογίζεται από τον τύπο:

$$SSA = \text{παραγωγή αμμωνίας (g/day)} / \text{μεταβολισμός αμμωνίας (m}^2\text{/day)}$$

η) Ο ρυθμός παραγωγής της αμμωνίας (P_{TAN}) (Ebeling et al.2006):

$$P_{\text{TAN}} = (\text{FA} * \text{PC} * 0,102) / t$$

Όπου:

FA= ποσότητα τροφής (gr)

PC=περιεκτικότητα της τροφής σε πρωτεΐνη

t = χρονική διάρκεια από το πρώτο στο δεύτερο γεύμα

θ) Απομάκρυνση αμμωνίας δίνεται από τον τύπο:

$$\text{Απομάκρυνση αμμωνίας (mg min}^{-1} \text{ kg}^{-1}) = (\text{X}_{\text{out}} - \text{X}_{\text{in}}) * \text{Q} / \text{Bt}$$

Όπου:

X_{out} και X_{in} : η συγκέντρωση εξόδου και εισόδου (mg L^{-1}),

Q : η ροή του νερού μέσα στη δεξαμενή (L min^{-1})

Bt : η βιομάζα των ψαριών σε κάθε δεξαμενή(kg).

ι) Η αφθονία των βακτηρίων στο βιολογικό φίλτρο δίνεται από τον τύπο:

$$\text{Αφθονία} = [(\text{average/grid}) * 12108,7] * (\text{grids/gr}) / \text{ml filterd}$$

2.8. Πρόγραμμα διαχείρισης

Η διαχείριση των συστημάτων ενυδρευσιμότητας περιλάμβανε διάφορες εργασίες που πραγματοποιούνταν σε ημερήσια βάση και διαχωρίστηκαν σε δύο κατηγορίες: τις ημερήσιες και τις εβδομαδιαίες ή μηνιαίες (Brengeballe 2010).

Οι ημερήσιες ή εβδομαδιαίες ήταν:

- Έλεγχος της συμπεριφοράς των ψαριών (παρατήρηση)
- Έλεγχος της ποιότητας του νερού
- Έλεγχος της στάθμης του νερού
- Απομάκρυνση νεκρών ψαριών
- Έλεγχος οξυγόνου στα ενυδρεία
- Έλεγχος της στάθμης του νερού στο φίλτρο/αντλία
- Έλεγχος και καθαρισμός μηχανικών φίλτρων
- Έλεγχος θερμοκρασίας
- Πραγματοποίηση μετρήσεων για αμμωνία, νιτρώδη και νιτρικά ιόντα και pH
- Καθημερινό τάισμα ψαριών
- Καθαρισμός/ σιφωνισμός ενυδρείων

Οι εβδομαδιαίες ή μηνιαίες ήταν:

- Καθαρισμός βιολογικού φίλτρου
- Ρύθμιση πεχάμετρου
- Έλεγχος όλων των αντλιών (αεραντλίες-αντλίες νερού)

2.9. Στατιστική Επεξεργασία

Τα δεδομένα των παραμέτρων ανάπτυξης των ψαριών και αξιοποίησης της τροφής επεξεργάζονται με τη βοήθεια του στατιστικού λογισμικού προγράμματος SPSS 21, κάνοντας χρήση της μεθόδου t TEST. Οι διαφορές μεταξύ των πειραματικών ομάδων κρίθηκαν στατιστικά σημαντικές για τιμές $P < 0,05$ (Zar 1999). Ο έλεγχος της ομοιογένειας της παραλλακτικότητας των μέσων όρων έγινε με τον έλεγχο του Levene's test. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται με τη μορφή $M.O \pm SEM$.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Ποιότητα νερού στα πειραματικά συστήματα εκτροφής

Ο Πίνακας 4 παρουσιάζει τις μέσες τιμές των αποτελεσμάτων των μετρήσεων των φυσικοχημικών παραμέτρων (TAN, NO_2^- , NO_3^- , pH) για το υφάλμυρο σύστημα ενυδρείοποινας με αλατότητες 8 και 20 ppt αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ολική αμμωνία, τα νιτρώδη και νιτρικά ιόντα καθώς και το pH δεν παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων (t-test, $P>0,05$).

Πίνακας 4. Ποιοτικά χαρακτηριστικά νερού στα ενυδρείοποινικά συστήματα με αλατότητα 8 ppt και 20 ppt, αντίστοιχα (n=22).

	ΑΛΑΤΟΤΗΤΕΣ	
	8 ppt	20 ppt
TAN (mg/L)	0,45 ± 0,11 ^a	0,33 ± 0,8 ^a
Ιονισμένη αμμωνία ¹	0,0078 ± 0,002	0,0052 ± 0,002
Μη ιονισμένη αμμωνία ²	0,44 ± 0.001	0,44 ± 0.001
NO_2^- (mg/L)	0,89 ± 0,3 ^a	0,82 ± 0,3 ^a
NO_3^- (mg/L)	76,4 ± 11,2 ^a	77,2 ± 11,8 ^a
pH	7,54 ± 0,05 ^a	7,73 ± 0,042 ^a

¹Η μη ιονισμένη αμμωνία υπολογίστηκε από την σχέση: Μη Ιονισμένη αμμωνία=T.A.N-Ιονισμένη αμμωνία. ² Η Ιονισμένη αμμωνία υπολογίστηκε από τη σχέση: Ιονισμένη αμμωνία = α*T.A.N. Τα δεδομένα εκφράζονται ως Μέσες Τιμές ± SEM. Οι μέσοι όροι κάθε παραμέτρου μεταξύ των μεταχειρίσεων που φέρουν τον ίδιο εκθέτη δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P>0,05$).

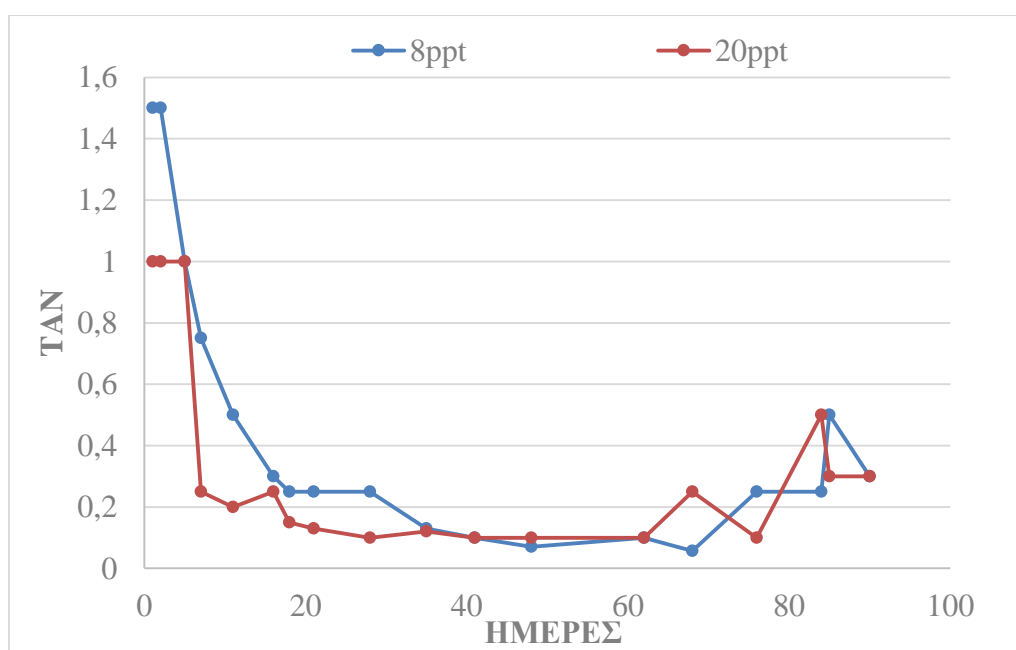
Το Σχήμα 1 αποτυπώνει τις μεταβολές της αμμωνίας καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας (75 ημέρες) με τη μέγιστη τιμή της να καταγράφεται στην αλατότητα 8 ppt και ήταν 1,5 mg/L και η ελάχιστη 0 mg/L. Επίσης στην αλατότητα 20 ppt η μέγιστη τιμή της αμμωνίας ήταν 1 mg/L και η ελάχιστη 0,25 mg/L. Επιπρόσθετα δεν υπάρχει μεγάλη μεταβολή στην διακύμανση της αμμωνίας στις δυο αλατότητες, με

τη διαφορά ότι το σύστημα ενυδρειοπονίας με αλατότητα 8 ppt παρουσιάζει υψηλότερα ποσοστά αμμωνίας στην έναρξη του πειράματος (Σχ. 1).

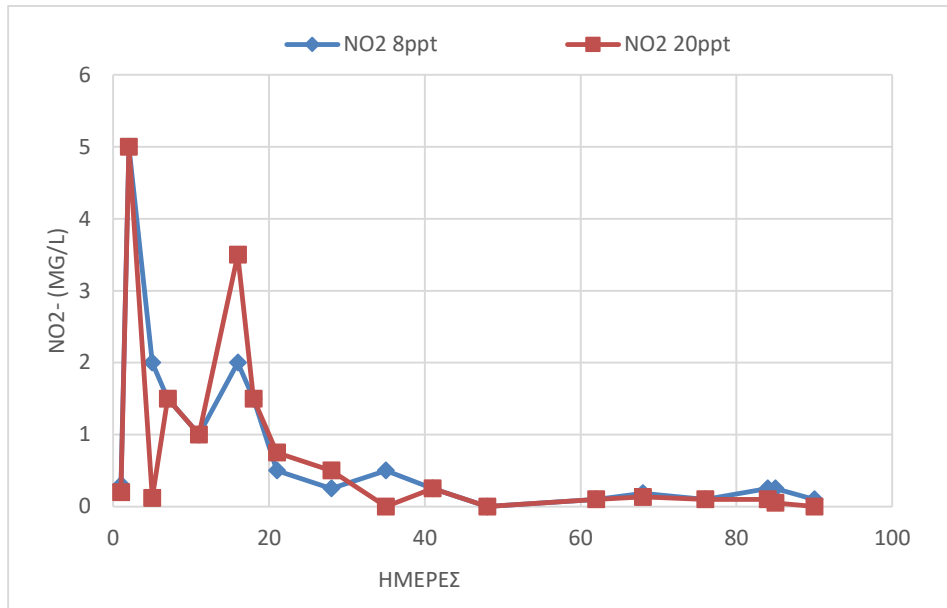
Το Σχήμα 2 παρουσιάζει τις αυξομειώσεις των νιτρωδών ιόντων σε όλες τις μεταχειρίσεις κατά την διάρκεια του πειράματος με παρόμοιες τάσεις. Η μέγιστη τιμή των νιτρωδών ιόντων ήταν 5 mg/L και η ελάχιστη ήταν 0 mg/L και στις δύο αλατότητες.

Τα νιτρικά ιόντα παρουσιάζουν μια απότομη αύξηση μέχρι τη μέγιστη τιμή. Στη συνέχεια παρατηρείται απότομη μείωση και μία μικρή περίοδο σταθεροποίησης μέχρι το τέλος της πειραματικής διαδικασίας (75 ημέρες). Η μέγιστη τιμή ήταν 160 mg/L και στις δύο αλατότητες και ελάχιστη τιμή ήταν 0,4 και 0,5 αντίστοιχα για τις αλατότητες 8 ppt και 20 ppt (Σχ. 3).

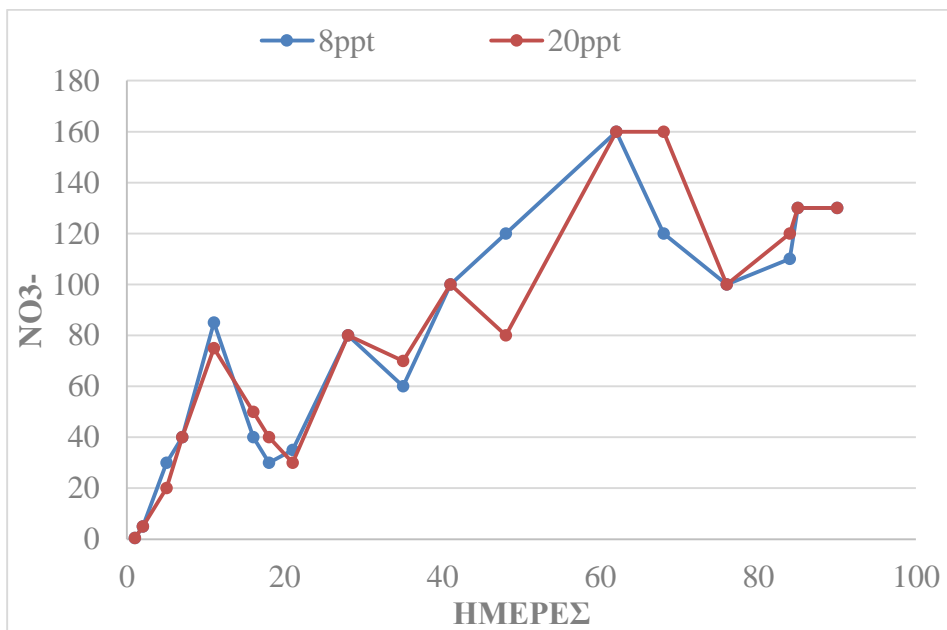
Τέλος, το pH καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος παρουσίαζε μια τάση μείωσης με τη μέγιστη τιμή να είναι στο 8,1 φθάνοντας μετά από 75 ημέρες περίπου στην ελάχιστη τιμή του (6,9) (Σχ.4).



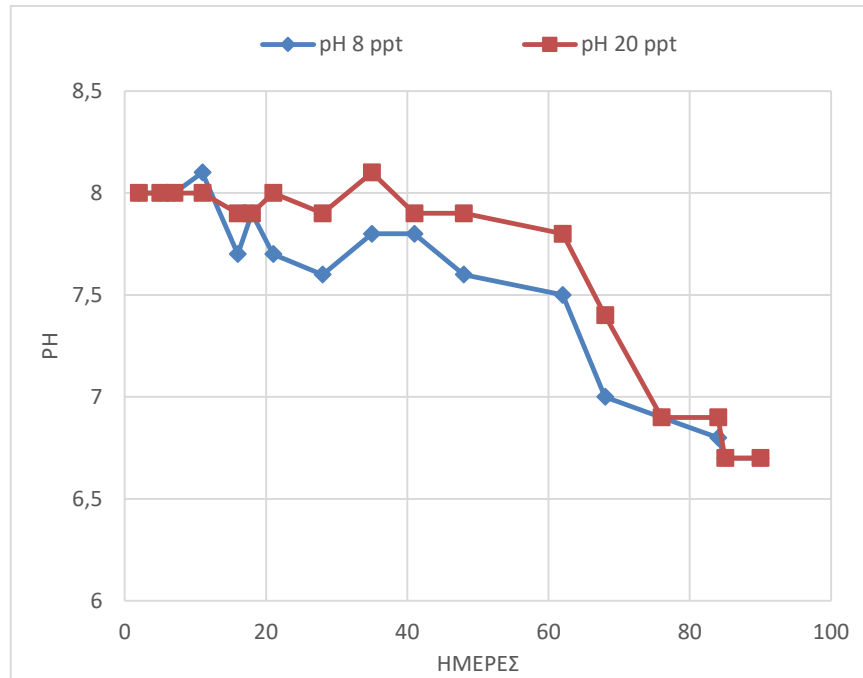
Σχήμα 1. Διάγραμμα μεταβολής της ολικής αμμωνίας στα δύο ενυδρειοπονικά συστήματα με αλατότητα 8 ppt και 20 ppt.



Σχήμα 2. Διάγραμμα μεταβολής των νιτρωδών ιόντων στα δύο ενυδρειοπονικά συστήματα με αλατότητα 8 ppt και 20 ppt.



Σχήμα 3. Διάγραμμα μεταβολής των νιτρικών ιόντων στα δύο ενυδρειοπονικά συστήματα με αλατότητα 8 ppt και 20 ppt.



Σχήμα 4. Διάγραμμα μεταβολής του pH στα δύο ενυδρειοπνικά συστήματα με αλατότητα 8 ppt και 20 ppt.

3.2. Αφθονία βακτηρίων

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων έδειξαν ότι η αφθονία των βακτηρίων και στις δύο αλατότητες (8ppt και 20 ppt) παρουσίασε σημαντική αύξηση στον αριθμό των κυττάρων των βακτηρίων (Πιν.5). Οι καταμετρήσεις των κυττάρων στα αυτόνομα υφάλμυρα συστήματα ενυδρειοπνίας παρουσίασαν αυξομείωση μέχρι το τέλος του πειράματος (Σχ. 6). Η μέγιστη τιμή των βακτηρίων ήταν $18,8 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$ και $24,2 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$ και η ελάχιστη τιμή ήταν $1,08 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$ και $13,5 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$ για τις τιμές της αλατότητας 8 και 20 ppt, αντίστοιχα.

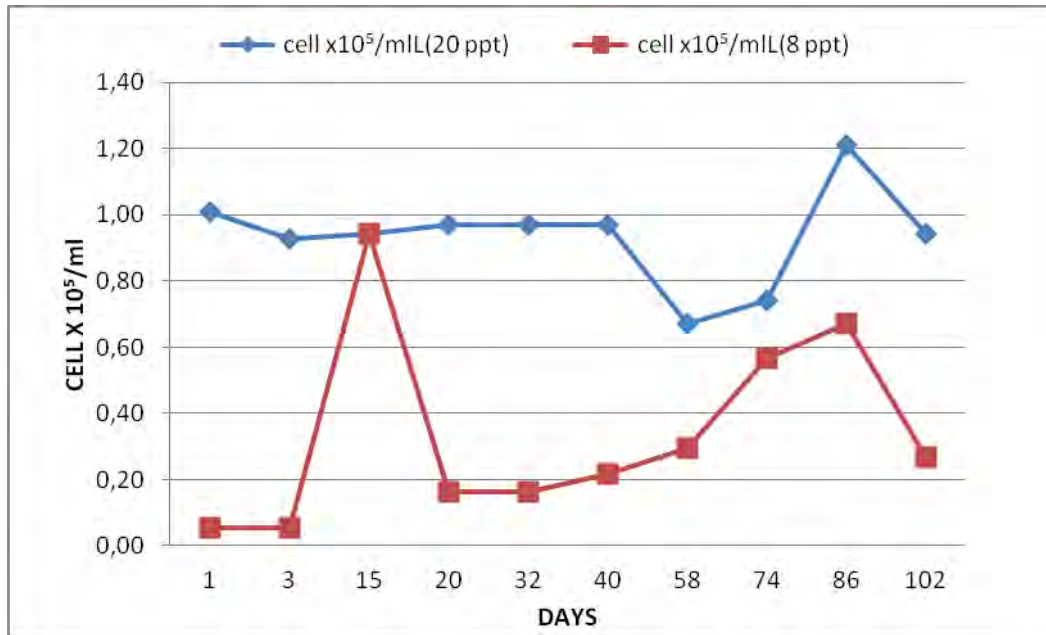
Η αρχική αφθονία κυττάρων διαφοροποιήθηκε στη υψηλότερη αλατότητα στην τιμή $20,2 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$. Στη χαμηλότερη αλατότητα η τιμή που παρουσίασε η αρχική αφθονία κυττάρων ήταν $1,08 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$. Η μέση τιμή της βακτηριακής αφθονίας παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων (t-test, $P < 0.05$).

Πίνακας 5. Αφθονία βακτηρίων στα υφάλμυρα συστήματα ενυδρείοπονίας 8 ppt και 20 ppt. Η αφθονία των βακτηρίων παρουσιάζεται ως Μ.Ο± SEM. (n=10/σύστημα)

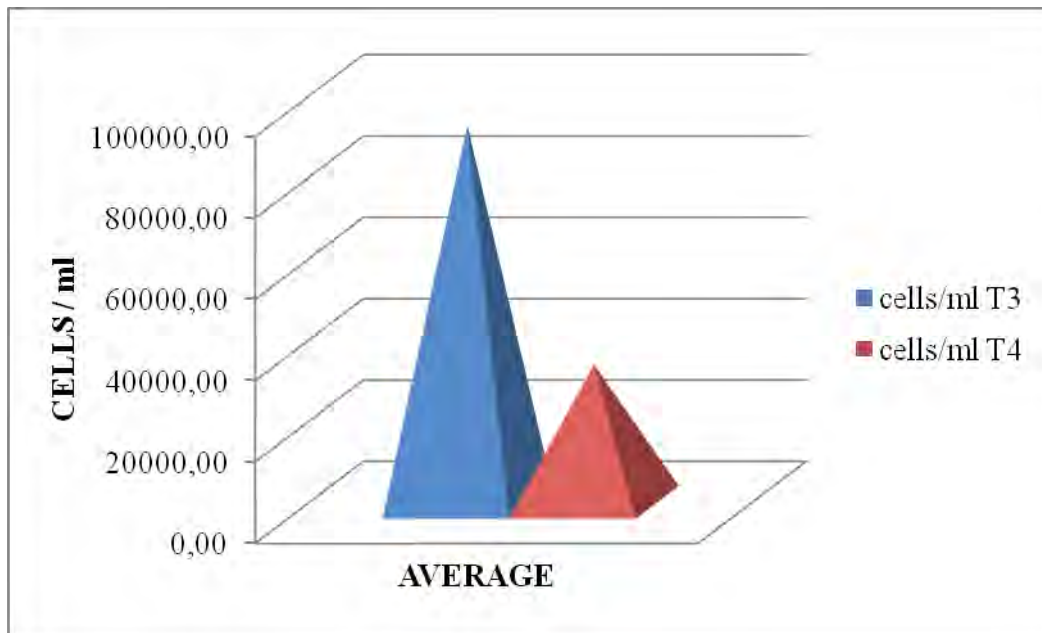
HΜΕΡΕΣ	8 ppt CELLS x 10⁵/mL	20 ppt CELLS x 10⁵/mL
1	1,08	20,2
3	1,08	18,6
15	18,8	18,8
20	3,23	19,4
32	3,23	19
40	4,31	19
58	5,92	13,5
74	11,35	14,8
86	13,45	24,2
102	5,38	18,8
Bacteria¹ cells x 10⁵ / mL	6,8 ± 1,9^a	18,6 ± 0,91^b

¹Αφθονία = [(average/grid)*12108, 7]*(grids/gr)/ml filterd. Οι τιμές δίνονται ως Μ.Ο± SEM.

Επίσης, σύμφωνα με το Σχήμα 6 κατά την 15^η ημέρα του πειράματος παρατηρήθηκε απότομη αύξηση του βακτηριακού πληθυσμού στα συστήματα ενυδρείοπονίας με αλατότητα 8 ppt σε αντίθεση με τον πληθυσμό των βακτηρίων στα συστήματα με την μεγαλύτερη αλατότητα (20 ppt).



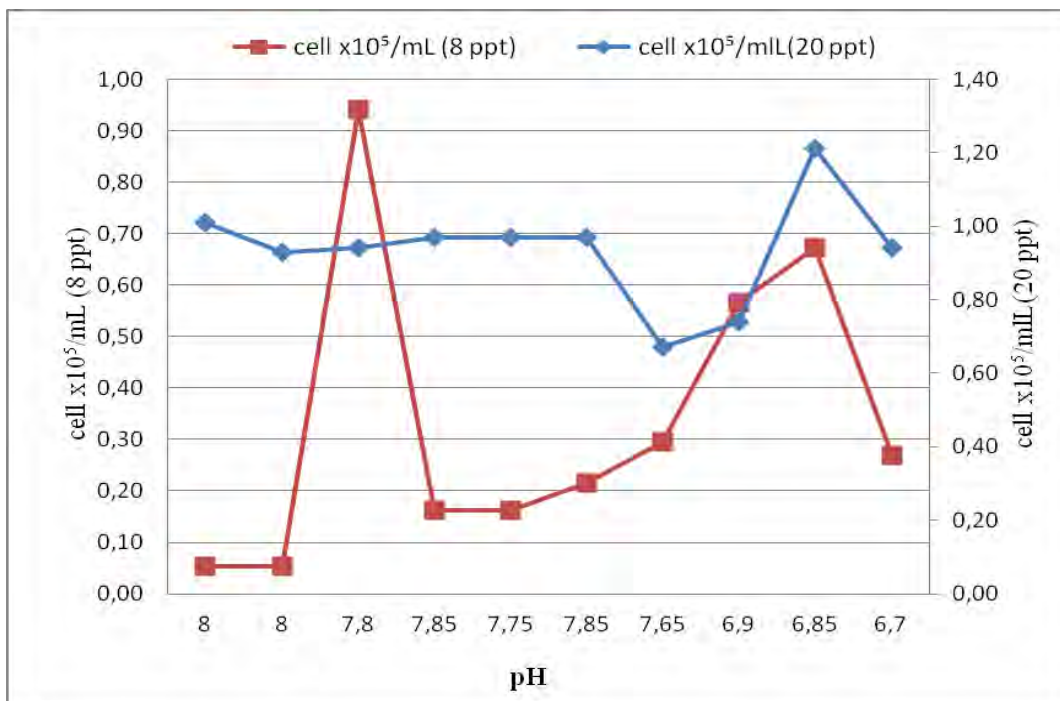
Σχήμα 6: Διάγραμμα αφθονίας βακτηρίων στις αλατότητες 8 και 20 ppt καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.



Σχήμα 7: Αθροιστικό διάγραμμα βακτηριακής αφθονίας στις αλατότητες 8 ppt (T4) και 20 ppt (T3) καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Στο Σχήμα 7 παρουσιάζονται τα βακτηριακά κύτταρα σε συνάρτηση με την μέση τιμή των βακτηριακών κυττάρων ανά mL δείγματος. Τα βακτήρια στην υψηλότερη αλατότητα 20 ppt (T3) είναι πολύ περισσότερα σε σχέση με την μικρότερη αλατότητα 8 ppt (T4).

Το Σχήμα 8 αποτυπώνει την μεταβολή των βακτηριακών κυττάρων σε συνάρτηση με το pH των συστημάτων ενυδρείοπονίας στις αλατότητες 8 ppt και 20 ppt. Παρατηρείται μια απότομη μείωση του βακτηριακού πληθυσμού με τη μείωση του pH στο 6,7.



Σχήμα 8: Η αφθονία των βακτηριακών κυττάρων σε σχέση με το pH σε όλη τη διάρκεια του πειράματος (Πηγή: Προσωπικό αρχείο).

3.3. Λειτουργικά χαρακτηριστικά φίλτρου

Το υδραυλικό φορτίο, ο ρυθμός ανακύκλωσης, ο υδραυλικός χρόνος παραμονής και ο όγκος του φίλτρου παρουσίασαν παρόμοιες τιμές και για τις δυο αλατότητες (Πιν. 6), σε αντίθεση με την ειδική επιφάνεια του φίλτρου (SSA) όπου στην μικρότερη αλατότητα (8 ppt) ήταν $16,2 \text{ cm}^2/\text{cm}^3$ και $22,38 \text{ cm}^2/\text{cm}^3$ για την αλατότητα 20 ppt.

Πίνακας 6. Ρυθμιστικοί παράγοντες του φίλτρου

Ρυθμιστικοί παράγοντες του φίλτρου	ΑΛΑΤΟΤΗΤΕΣ	
	8 ppt	20 ppt
Υδραυλικό Φορτίο (HLR)	1,85	1,85
Ρυθμός ανακύκλωσης (r) (min)	0,014	0,014
Υδραυλικός χρόνος παραμονής (min)	9.7	9.7
Ειδική επιφάνεια φίλτρου (SSA) (cm^2/cm^3)	16.2	22.38
Ρυθμός παραγωγής της αμμωνίας (P_{TAN}) (mg/ 3h)	6.73	6.94
Ρυθμός Μείωσης αμμωνίας (mg/ 3h)	0,42	0,31
Όγκος Φίλτρου (L)	32,130	32,130

4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη παρούσα εργασία μελετήθηκε για πρώτη φορά η αφθονία του βακτηριακού πληθυσμού σε σύστημα ενυδρειοπονίας με υφάλμυρο νερό, στο βιολογικό φίλτρο σε δύο διαφορετικές αλατότητες 8 και 20 ppt. Χρησιμοποιήθηκαν άτομα τσιπούρας (*Sparus aurata*) και άτομα κριτάμου (*Crithmum maritimum*) προκειμένου να μελετηθεί η αφθονία του πληθυσμού των βακτηρίων σε δυο διαφορετικές αλατότητες διάρκειας 75 ημερών. Ελάχιστες μελέτες έχουν διαξαχθεί σε ότι αφορά την ενυδρειοπονία με υφάλμυρο νερό (Kotzen & Appelbaum et al. 2010, Fronte et al. 2016).

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας σε ότι αφορά την αμμωνία, τα νιτρώδη, τα νιτρικά ιόντα, το pH καθώς και το υδραυλικό φορτίο δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική μεταβολή σε σχέση με τη αλατότητα σε όλες τις μεταχειρίσεις (t-test, $P>0.05$) και σε ότι αφορά την ποιότητα νερού, βρίσκονται εντός των ασφαλών ορίων που προτείνονται από τους Brengballe (2010) για τα κλειστά συστήματα εκτροφής σε υφάλμυρο νερό, διότι η ποιότητα του νερού σε ένα κλειστό σύστημα εκτροφής ψαριών καθορίζει τις βασικές απαιτήσεις για τη συμβίωση των εκτρεφόμενων ειδών αλλά και των βακτηρίων.

Οι Chen et al. (2006) αναφέρουν ότι η αναλογία μεταξύ της μη ιονισμένης αμμωνίας (NH_3) και της ιονισμένης αμμωνίας (NH_4^+) μεταβάλλεται με τη διακύμανση του pH. Σε υψηλές τιμές pH η τοξικότητα της μη ιονισμένης αμμωνίας (NH_3) αυξάνεται. Τιμές pH που κυμαίνονται από 6,5 έως 8 επιδρούν στην ενεργή δράση των βακτηρίων, στην αφθονία των βακτηρίων και στην βιοχημική διεργασία της νιτροποίησης. Στην παρούσα εργασία το pH και στις δυο αλατότητες 20 ppt και 8 ppt ήταν 7,73 και 7,54, αντίστοιχα και συμφωνούν με τα αποτελέσματα των Kotzen & Appelbaum (2010) και Nozzi et al. (2016) όπου αναφέρουν παρόμοια διακύμανση στο pH.

Η μέση τιμή των νιτρικών ιόντων καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος διατηρήθηκε σε υψηλά επίπεδα ($77 \pm 11,2$ mg/L) χωρίς να παρουσιάζει σημαντική στατιστική διαφορά (t-test, $P>0.05$) μεταξύ των μεταχειρίσεων. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν με εκείνα των Nozzi et al. (2016) οι οποίοι αναφέρουν ότι σε θαλασσινό σύστημα ενυδρειοπονίας με λαβράκι παρουσιάστηκαν υψηλά επίπεδα

συγκέντρωσης νιτρικών ιόντων και ήταν παρόμοια με εκείνα που καταγράφηκαν στην παρούσα πειραματική εργασία.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα της αρχικής αφθονίας των βακτηρίων κατά την έναρξη του πειράματος, σε όλες τις μεταχειρίσεις διαφοροποιήθηκε και ήταν υψηλότερη ($20,2 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$) στο 20 ppt σε σχέση με την χαμηλότερη αλατότητα (8ppt) όπου η αρχική αφθονία κυττάρων ήταν $1,08 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$. Ο Βλάχος (2014) αναφέρει ότι η αρχική αφθονία των βακτηρίων σε ενυδρεία γλυκού νερού για δύο διαφορετικά είδη διακοσμητικών ψαριών (*A. nigrofasciatus* και *P. scalare*) ήταν μικρότερη (5 και 8×10^5 κύτταρα mL^{-1}) από την βακτηριακή αφθονία του παρόντος πειράματος.

Επίσης, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος, οι τιμές της βακτηριακής αφθονίας κυμάνθηκαν από $1,08 \times 10^5 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$ έως $18,8 \times 10^5 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$ στο σύστημα ενυδρειοπονίας με τη χαμηλότερη αλατότητα (8ppt), και στο σύστημα με την υψηλότερη αλατότητα (20 ppt) κυμάνθηκε από $13,5 \times 10^5 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$ έως $24,2 \times 10^5 \text{ Cells} \times 10^5/\text{mL}$ αντίστοιχα. Ο μέσος όρος της αφθονίας των βακτηρίων στο τέλος του πειράματος στατιστικά ήταν μεγαλύτερος στην υψηλότερη αλατότητα (20 ppt) σε σχέση με την αλατότητα 8ppt.

Οι Vlahos et al. (2013), αναφέρουν ότι η βακτηριακή αφθονία σε ενυδρεία με γλυκό νερό για δύο διαφορετικά είδη διακοσμητικών ψαριών, στο τέλος του πειράματος, έφθασε σε 29×10^5 και 12×10^5 κύτταρα mL^{-1} για την κιχλιδόζεμπρα και το αγγελόψαρο, αντίστοιχα. Σε ομαδοποιημένες καλλιέργειες ειδών (batch culture-closed), η αύξηση του αριθμού των βακτηριακών κυττάρων συνήθως αποδίδεται σε ελάχιστα κυρίαρχα είδη, γεγονός το οποίο δεν αποτέλεσε αντικείμενο της παρούσας εργασίας (Vlahos et al. 2013).

Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε κλειστά συστήματα εκτροφής ψαριών έδειξαν ότι η αφθονία των βακτηρίων παρουσίασε παρόμοια τάση με την αφθονία των βακτηρίων στο παρόν πείραμα (Keuter et al. 2011, Rojas –Tirado 2018).

Οι Kotzen & Appelbaum (2010) και οι Fronte et al. (2016) μελέτησαν συστήματα ενυδρειοπονίας υφάλμυρου νερού χωρίς να μετρήσουν την αφθονία των βακτηρίων. Οι Somerville et al. (2014) αναφέρουν ότι σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας η ισορροπία του συστήματος εξαρτάται από τη συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων, την ημερήσια παροχή τροφής (ως ημερησίως τροφοδότης του συστήματος με N και αμμωνία), το υδραυλικό φορτίο, την ειδική επιφάνεια του φίλτρου (SSA), την αφθονία των βακτηρίων και το pH του νερού.

Η μείωση της βακτηριακής αφθονίας που παρατηρήθηκε στην χαμηλότερη αλατότητα (8 ppt) σε σχέση με την υψηλότερη αλατότητα (20 ppt) πιθανόν να αποδίδεται στη διαφορά της αλατότητας μεταξύ των μεταχειρίσεων (μείωση αλατότητας ανά 5 ημέρες), στον λόγο C/N, στο υδραυλικό φορτίο, στον υδραυλικό χρόνο παραμονής του νερού στο φίλτρο και στο pH.

Ο Gerardi (2006) αναφέρει ότι σε υφάλμυρο ή θαλασσίνο σύστημα ενυδρειοπονίας για τιμή pH μικρότερη από 6,8 δύναται να εντείνει την πιθανότητα παραγωγής σουλφιδίων με αυτόματη ενεργοποίηση της παραγωγής τοξικού υδροθείου από αυτότροφους οργανισμούς ακόμη και σε μη ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις. Μία ομάδα από αυτούς τους μικροοργανισμούς είναι βακτήρια παραγωγής σουλφιδίων και εντοπίζονται στα αναερόβια τμήματα του φίλτρου και παίρνουν ενέργεια από την αντίδραση οξειδοαναγωγής χρησιμοποιώντας θείο, με αποτέλεσμα να παράγεται υδρόθειο (H₂S) το οποίο είναι ιδιαίτερα τοξικό για τα ψάρια.

Οι Somerville et al. (2014), αναφέρουν ότι τα βακτήρια παραγωγής σουλφιδίων συνδέονται με τα ετερότροφα βακτήρια, τα οποία υπάρχουν στο φίλτρο και αποσυνθέτουν τα στερεά υπολείμματα της τροφής, σε οργανικά μόρια, έτσι ώστε να είναι εύπεπτα από τα φυτά. Ο συνδυασμός αυτών των δύο βακτηρίων ανοργανοποιεί τα στερεά υπολείμματα με αποτέλεσμα να παράγονται θειικά άλατα (Χώτος 2016). Γι' αυτό το λόγο σε συστήματα με μεγάλη ιχθυοπυκνότητα συνίσταται τα μηχανικά φίλτρα να καθαρίζονται συνεχώς έτσι ώστε να μην ενεργοποιούνται τα εν λόγω βακτήρια από την αύξηση του φορτίου ρύπανσης στο φίλτρο. Κατά τη διάσπαση των στερεών υπολειμμάτων απελευθερώνεται στο σύστημα μεγάλη ποσότητα υδρόθειου.

Ο λόγος C/N, σύμφωνα με τον Avnimelech (1999) επηρεάζει την απόδοση ενός βιολογικού φίλτρου. Υψηλές τιμές στο λόγο C/N, δηλώνουν ότι τα ετερότροφα βακτήρια ανταγωνίζονται τα νιτροποιητικά βακτήρια στο βιολογικό φίλτρο (Avnimelech 1999).

Οι De Beer et al (1996), οι Chen et al (2006) και οι Prehn et al. (2012) αναφέρουν ότι τα νιτροποιητικά βακτήρια επηρεάζονται από την αύξηση του λόγου C/N ενώ η μείωσή του μπορεί να επιτευχθεί με προσθήκη διαλυμένου οξυγόνου σε επίπεδα κορεσμού, με αύξηση της ροής του αέρα ή του νερού, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται καλύτερη ανάδευση και συνεπώς να μην παρεμποδίζεται η βιοχημική διεργασία της νιτροποίησης και να παραμένει σε υψηλά επίπεδα.

Οι Somerville et al. (2014) αναφέρουν ότι η «καλή» και συνεχόμενη τροφοδοσία του φίλτρου με οξυγόνο ελαχιστοποιεί την ενεργή δράση των βακτηρίων απονιτροποίησης και ως εκ τούτου επιβραδύνεται η αναγωγή των νιτρικών ιόντων σε μοριακό άζωτο με αποτέλεσμα τα φυτά να προσλαμβάνουν τα νιτρικά ιόντα, να καλύπτουν τις ανάγκες τους και να αυξάνονται σε μέγεθος.

Η συνεχής τροφοδοσία του συστήματος με άνθρακα αυξάνεται χωρίς όμως να μεταβάλλεται ο λόγος C/N και συνεπώς και τα βακτήρια να αυξάνονται. Εντούτοις, ο λόγος C/N μπορεί να αυξηθεί επικίνδυνα σε περίπτωση μη καθαρισμού του μηχανικού φίλτρου ή λανθασμένου καθαρισμού του βιολογικού φίλτρου καθώς και του υπερβολικού ταΐσματος των ψαριών. Αυτό μπορεί να εξηγήσει και το λόγο της μείωσης που εμφανίζουν τα βακτήρια στην αλατότητα 8 ppt σε σχέση με την αλατότητα 20 ppt.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι ο μέσος χρόνος παραμονής του νερού στα συστήματα ενυδρειοπονίας με υφάλμυρο νερό (8 ppt και 20 ppt) διατηρήθηκε σε σταθερά επίπεδα καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος και ήταν 9.7 min και ήταν κατά πολύ μεγαλύτερος από εκείνον που αναφέρεται από τους Mook et al. (2012), που ήταν 3.42 min, με ποσοστό απομάκρυνσης αμμωνίας 65,21%.

Οι Attramadal et al. (2014) αναφέρει ότι ο υδραυλικός χρόνος παραμονής στο φίλτρο ενός κλειστού συστήματος (RAS) επηρεάζει τη διατήρηση και ωρίμανση των βακτηρίων στο σύστημα. Μελέτες έδειξαν ότι όσο αυξάνει ο χρόνος παραμονής του νερού στο φίλτρο τόσο πιο εύκολα διατηρείται η μικροβιακή ωρίμανση καθώς και η αύξηση της βακτηριακής αφθονίας. Η επίδραση του υδραυλικού χρόνου παραμονής δεν φαίνεται να επηρεάζει την ποιότητα των μικροβιακών υδάτων μέσα σε ένα σύστημα RAS.

Οι βακτηριακές ομάδες που φιλοξενούνται σε θαλασσινό νερό εμφανίζουν τροποποιημένα φυσιολογικά και δομικά χαρακτηριστικά (όπως κυτταρική μεμβράνη, σχήμα), εξαιτίας της περιεκτικότητας του νερού σε αλάτι (Zahran et al. 1997). Συνήθως οι τροποποιήσεις που εμφανίζονται στα κύτταρα είναι η επιμήκυνση και η συρρίκνωση, καθώς και αλλαγές στον κυτταροπλασματικό τους όγκο. Τα βακτήρια μέσω της ωσμωρύθμισής τους, παράγουν συγκεκριμένες οργανικές ουσίες όπως γλουταμίνη, προλίνη και γλυκίνη. Σε σπάνιες περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί τροποποίηση στη σύνθεση των πρωτεϊνών και των λιπιδίων, λόγω της αυξημένης αλατότητας και υφίστανται στα κύτταρα σε αλατότητες μεγαλύτερες από 2 M (Zahran et al. 1997).

Οι Alleman et al. (1991), αναφέρουν ότι τα νιτροποιητικά βακτήρια παρουσιάζουν αυξημένη ανθεκτικότητα στις μεταβολές της αλατότητας και μικρό χρόνο προσαρμογής σε αυτές, ενώ έχουν ελάχιστη έως μηδενική επίδραση στην δραστηριότητα των βακτηρίων αυτών.

Τα βακτήρια σύμφωνα με τον Marquis (1968) συρρικνώνονται σε αλατότητες μεγαλύτερες από 2M λόγω της ηλεκτροστατικής συστολής του κυτταρικού τοιχώματος τους και λιγότερο στην ωσμωτική τους αντίδραση. Σε περιβάλλοντα με μειωμένα επίπεδα αλατιού (0,1 M NaCl), τα νιτροποιητικά βακτήρια και πιο συγκεκριμένα τα *nitrosomonas* δεν παρουσιάζουν καμία μεταβολή στον ρυθμό της αύξησής τους (Wood et al. 1998).

Στη παρούσα εργασία μελετήθηκε για πρώτη φορά η αφθονία του βακτηριακού πληθυσμού σε σύστημα ενυδρειοπονίας με υφάλμυρο νερό σε δύο διαφορετικές αλατότητες 8 και 20 ppt, ωστόσο απαιτούνται να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες που θα εστιάσουν κυρίως στην ταυτοποίηση των βακτηρίων και να δώσουν αποτελέσματα τα οποία θα αποτελούν τη βάση δεδομένων προκειμένου η ενυδρειοπονία σε υφάλμυρο νερό να αναδειχθεί ως μια πολύ σημαντική πολυκαλλιέργεια Μεσογειακών ειδών ψαριών και φυτών που παρουσιάζουν υψηλή εμπορική και θρεπτική αξία.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα συμπεράσματα που εξάγονται από την παρούσα μελέτη είναι τα εξής:

- Η αφθονία των βακτηρίων ήταν μεγαλύτερη στην αλατότητα 20 ppt σε σχέση με την αλατότητα 8 ppt.
- Τα βακτήρια ζούσαν στις ιδανικές συνθήκες θερμοκρασίας και pH.
- Παρατηρήθηκε αποτελεσματική μετατροπή της αμμωνίας σε νιτρικά ιόντα με αποτέλεσμα την επιτυχή ανάπτυξη του κρίταμου.
- Η ανάπτυξη και η ισορροπία ενός συστήματος ενυδρείοπονίας με υφάλμυρο νερό εξαρτάται από τη συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων, την ημερήσια παροχή τροφής, το υδραυλικό φορτίο, τον χρόνο παραμονής, την ειδική επιφάνεια του φίλτρου (SSA), την αφθονία των βακτηρίων και το pH.
- Απαιτείται περαιτέρω έρευνα προκειμένου η ενυδρείοπονία σε υφάλμυρο νερό να αναπτυχθεί ως μια πολυκαλλιέργεια για επαγγελματική χρήση χρησιμοποιώντας μεσογειακά είδη ψαριών που παρουσιάζουν αυξημένη εμπορική αξία και να αποτελέσει ένα ισχυρό πόλο έλξης για την παραγωγής ιχθύων και φυτών εξαιρετικής ποιότητας και μεγάλης εμπορικής αξίας βραχυπρόθεσμα.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

6.1 ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Alessio, G., Allegrucci, G., Angle, G. (2001). *Acquacoltura responsabile - Verso le produzioni acquatiche del terzo millennio* Roma: Unimar-Uniprom.

Alleman, J. E., & Preston, K. (1991). Behavior and physiology of nitrifying bacteria. In *Proceedings of the second annual conference on commercial aquaculture, CES* (Vol. 240, pp. 1-13).

Attramadal, K. J., Truong, T. M. H., Bakke, I., Skjermo, J., Olsen, Y., & Vadstein, O. (2014). RAS and microbial maturation as tools for K-selection of microbial communities improve survival in cod larvae. *Aquaculture*, 432, 483-490.

Attramadal, K., Wold, P. A., Holan, A. B., Øie, G., Bakke, I., Vadstein, O., & Leiknes, T. O. (2014). Effects of membrane filtration on bacterial number and microbial diversity in marine recirculating aquaculture system (RAS) for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) production. *Aquaculture*, 422, 69-77.

Avnimelech, Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176(3-4), 227-235.

Bernstein, R. J. (2011). *Praxis and action: Contemporary philosophies of human activity*. University of Pennsylvania Press.

Bregnballe J. (2010) A Guide to Recirculation Aquaculture: An introduction to the new environmentally friendly and highly productive closed fish farming systems 20-24, 53-59, 71-74.

Buzby, K. M., & Lin, L. S. (2014). Scaling aquaponic systems: Balancing plant uptake with fish output. *Aquacultural engineering*, 63, 39-44.

Casacuberta, N., Masque, P., Garcia-Orellana, J., Garcia-Tenorio, R., & Buesseler, K. O. (2013). ^{90}Sr and ^{89}Sr in seawater off Japan as a consequence of the Fukushima Dai-ichi nuclear accident. *Biogeosciences*, *10*(6), 3649-3659.

Chen, S., Ling, J., & Blancheton, J. P. (2006). Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacultural engineering*, *34*(3), 179-197.

De Beer, V. H. J., van Veen, J. R., & Niemantsverdriet, J. W. (1996). Surface science model of a working cobalt-promoted molybdenum sulfide hydrodesulfurization catalyst: characterization and reactivity. *The Journal of Physical Chemistry*, *100*(45), 17722-17724.

Ebeling, J. M., Timmons, M. B., & Bisogni, J. J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, *257*(1-4), 346-358.

Fronte B., Galliano G., Bibbiani C. (2016). From freshwater to marine aquaponic: new opportunities for marine fish species production 517-518.

Gerardi, M. H. (2006). *Wastewater bacteria* (Vol. 5). John Wiley & Sons.

Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., & Toulmin, C. (2010). Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *science*, *327*(5967), 812-818.

Harwanto D., Sung-Yong Oh., Jae-Yoon J. (2011). Comparison of the Nitrification Efficiencies of Three Biofilter Media in a Freshwater System 365-366.

Huguenin, J. E. (Eds.). & Colt, J., (2002). *Design and operating guide for aquaculture seawater systems* (Vol. 33). Elsevier.

Joesting, H. M., Blaylock, R., Biber, P., & Ray, A. (2016). The use of marine aquaculture solid waste for nursery production of the salt marsh plants *Spartina alterniflora* and *Juncus roemerianus*. *Aquaculture reports*, 3, 108-114.

Kamstra, A., Van der Heul, J. W., & Nijhof, M. (1998). Performance and optimisation of trickling filters on eel farms. *Aquacultural Engineering*, 17(3), 175-192.

Keuter, S., Kruse, M., Lipski, A., & Spieck, E. (2011). Relevance of *Nitrospira* for nitrite oxidation in a marine recirculation aquaculture system and physiological features of a *Nitrospira marina*-like isolate. *Environmental microbiology*, 13(9), 2536-2547.

Kotzen B., Appelbaum S. (2010). An Investigation of Aquaponics Using Brackish Water Resources in the Neveg Desert 306-308, 318-319.

Lekang O. (2007). Aquacultural Engineering Chapter 4: Adjustment of pH: pp 37-41

Liddicoat, M. I., Tibhitts, S., & Butler, E. I. (1975). The determination of ammonia in Seawater. *Limnology and Oceanography*, 20(1), 131-132.

Lovatelli A. Somerville, C., Cohen, M., Pantanella, E., Stankus, A. (2014). Small-scale aquaponic food production: integrated fish and plant farming. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, (589), I.

Marquis, R. E. (1968). Salt-induced contraction of bacterial cell walls. *Journal of bacteriology*, 95(3), 775-781.

McDougald, D., Rice, S. A., Barraud, N., Steinberg, P. D., & Kjelleberg, S. (2012). Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nature Reviews Microbiology*, 10(1), 39.

Mook, W. T., Chakrabarti, M. H., Aroua, M. K., Khan, G. M. A., Ali, B. S., Islam, M. S., & Hassan, M. A. (2012). Removal of total ammonia nitrogen (TAN), nitrate and total

organic carbon (TOC) from aquaculture wastewater using electrochemical technology: A review. *Desalination*, 285, 1-13.

Nozzi, V., Parisi, G., Di Crescenzo, D., Giordano, M., & Carnevali, O. (2016). Evaluation of *Dicentrarchus labrax* meats and the vegetable quality of *Beta vulgaris* var. *cicla* farmed in freshwater and saltwater aquaponic systems. *Water*, 8(10), 423.

Pantanella, E., Cardarelli, M., Di Mattia, E., & Colla, G. (2010, March). Aquaponics and food safety: Effects of UV sterilization on total coliforms and lettuce production. In *International Conference and Exhibition on Soilless Culture 1062* (pp. 71-76).

Pantanella, E., & Bhujel, C. R. (2015). Saline Aquaponics - Potential Player in Food. *Energy Production*, Global Aquaculture Advocate, 2015, pp. 42-43.

Porter, K. G., Feig, Y. S. (1980). The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora, *Limnology and oceanography*, 25(5), 943-948.

Prehn, J., Waul, C. K., Pedersen, L. F., & Arvin, E. (2012). Impact of water boundary layer diffusion on the nitrification rate of submerged biofilter elements from a recirculating aquaculture system. *Water research*, 46(11), 3516-3524.

Rakocy, J. E., Bailey, D. S., Shultz, R. C., & Thoman, E. S. (2004, September). Update on tilapia and vegetable production in the UVI aquaponic system. In *New Dimensions on Farmed Tilapia: Proceedings of the Sixth International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, Held September pp. 12-16.

Rivera, J. G., Ferrari, C., Campanella, B., Biagi, S., Onor, M., D'Ulivo, A., & Bramanti, E. (2013). Microwave Photochemical Reactor for the Online Oxidative Decomposition of p-Hydroxymercurybenzoate (p HMB)-Tagged Proteins and Their Determination by Cold Vapor Generation-Atomic Fluorescence Detection. *Analytical chemistry*, 85(24), 12152-12157.

Rojas-Tirado, P. A. (2018). Microbial water quality within Recirculating Aquaculture Systems, Ph. D. Thesis, Technical University of Denmark, National Institute of Aquatic Resources, 126p.

Somerville, C., Cohen, M., Pantanella, E., Stankus, A., Lovatelli, A. (2014). Small-scale aquaponic food production: Integrated fish and plant farming 16-18, 22-26, 75-81.

Soto, E., Illanes, O., Hilchie, D., Morales, J. A., Sunyakumthorn, P., Hawke, J. P, R. Francis-Floyd, R. (2012). Molecular and immunohistochemical diagnosis of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 24(5), 840-845.

Spotte, S. (1992). *Captive seawater fishes: science and technology*. John Wiley & Sons.

Turcios, A., & Papenbrock, J. (2014). Sustainable treatment of aquaculture effluents - what can we learn from the past for the future? *Sustainability*, 6(2), 836-856.

Van der Heul, J. W., Kamstra, A., & Nijhof, M. (1998). Performance and optimisation of trickling filters on eel farms. *Aquacultural Engineering*, 17(3), 175-192.

Vlahos, N., Akriovouli, A., Mente, E., Exadactylos, A., Nystas, T., Patsea, E., Vidalis, K., Hotos, G. (2016). The effect of three different temperatures on the growth and survival rate of *Palemon adspersus*. Proceeding of the 2nd International Congress on Applied Ichthyology & Aquatic Environment. 10-12 November 2016 Messolonghi –Greece pp:59-63. ISBN 978-618-80242-3-6.

Vlahos, N., Kormas, K. Ar., Pachiadaki, M. G., Meziti, A., Hotos, G. N., Mente, E. (2013). Changes of bacterioplankton apparent species richness in two ornamental fish aquaria SpringerPlus a Springer Open Journal 2:66, 1-9.

Vlahos, N., Hotos, G., Kapetanios, N. (2004) The effect of temperature on the conditioning of the filter bed in aquaria. 2nd International Congress on Aquaculture, Fisheries Technology and Environmental Management. Athens 18-19 June 2004.

Wood, N. J., Wold, P. A., Holan, A. B., Øie, G., Attramadal, K., Bakke, I., Vadstein, O., & Leiknes, & Sørensen, J. (1998). Osmotic stimulation of microcolony development by *Nitrosomonas europaea*. *FEMS microbiology ecology*, 27(2), 175-183.

Zahran, H. H. (1997). Diversity, adaptation and activity of the bacterial flora in saline environments. *Biology and Fertility of Soils*, 25(3), 211-223.

Zar, J. H. (1999). *Biostatistical analysis*. Pearson Education India.

6.2 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βλάχος Ν. (2014). Βιολογία και φυσιολογία θρέψης διακοσμητικών ψαριών σε ενυδρεία, Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Γεωπονίας, Σχολή Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, σελ 96-98.

Χώτος Γ. Ν. (2016). Εντατική Ιχθυοκαλλιέργεια με ανακύκλωση νερού: Θεμελιώδεις βιολογικές και τεχνικές γνώσεις, Εκπαιδευτικές σημειώσεις Τ.Ε.Ι. Δυτικής Ελλάδας, Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας-Υδατοκαλλιεργειών σελ 45-49, 82-87.

7. ABSTRACT

Brackish water Aquaponics is a sector that can show a rapid development because of the combination of euryhaline species and halophytes cultivation and have an increased commercial and pharmaceutical interest. The aim of the present study was the bacterial abundance in the biological filter of a brackish water aquaponic system, under two different salinities 8 and 20 ppt and it was studied for first time.

For this purpose, were constructed six aquaponics systems with two different salinities 8 ppt and 20 ppt. A total number of 156 individual *Sparus aurata* (26 individuals / system) were placed with an average initial weight of 2.55 ± 0.53 g and a length of 5.57 ± 0.33 cm and 36 individual *Crithmum maritimum* plants with an average initial height of 8.23 ± 0.34 cm (6 cribs / system).

The results showed that the initial abundance of bacteria at the start of the experiment in all treatments was higher ($20.2 \text{ Cells} \times 10^5 / \text{mL}$) at 20 ppt with respect to lower salinity (8ppt) where the initial abundance of cells was $1.08 \text{ Cells} \times 10^5 / \text{mL}$. The average abundance of bacteria at the end of the experiment statistically was higher in the higher salinity (20 ppt) than the 8ppt salinity.

The variation in bacterial abundance seems to be influenced from the differences in salinity between the treatments, the C / N ratio, the hydraulic load and the hydraulic retention time in the bed, ammonia removal and pH.

Key-words: Brackish water Aquaponics, bacterial abundance, nitrifying bacteria, salinities.