



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

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Επίδραση της ιχθυοπυκνότητας στην ανάπτυξη του λαβρακιού *D. labrax* και στην ανάπτυξη καλλιέργειας μαρουλιού (*L. sativa*) σε εργαστηριακό σύστημα ενυδρειοπονίας»

Σακοράφας Σωτήρης

ΒΟΛΟΣ 2021

UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF AGRICULTURAL SCIENCES
DEPARTMENT OF ICHTHYOLOGY AND AQUATIC
ENVIRONMENT

POSTGRADUATE COURSE IN MEDITERANNEAN
AQUACULTURE

POSTGRADUATE MASTER'S THESIS

**« THE EFFECT OF FISH STOCKING DENSITY ON GROWTH
PERFORMANCE OF EUROPEAN SEA BASS (*Dicentrarchus labrax*) AND
LETTUCE (*Lactuca sativa* VAR. GREEN TOWERS). »**

Sakorafas Sotiris

VOLOS 2021

«Επίδραση της ιχθυοπυκνότητας στην ανάπτυξη του λαβρακιού *D. labrax* και στην ανάπτυξη καλλιέργειας μαρουλιού (*L. sativa*) σε εργαστηριακό σύστημα ενυδρειοπονίας»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :

- 1) Παναγιώτης Βερίλλης**, Αναπληρωτής Καθηγητής, - Μικροσκοπία και Ανάλυση Εικόνας στην Ιστολογία και στους Υδρόβιους Οργανισμούς, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Επιβλέπων**,
- 2) Ελένη Μεντέ**, Καθηγήτρια, - Φυσιολογία Θρέψης Υδρόβιων Ζωϊκών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**
- 3) Λεβίζου Ευθυμία**, Επίκουρη καθηγήτρια, - Φυσιολογία φυτών, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**

*Στην συνάδελφο Κωνσταντίνα, στους γονείς μου
Δημήτρη και Γωγώ, στην αδερφή μου Ιωάννα και στους
φίλους μου*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλλαν στο να φέρω εις πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Επιβλέπουσα της εργασίας αυτής, κα. Έλενα Μεντέ για την πολύτιμη βοήθειά της και υποστήριξή της, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας. Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές κ. Παναγιώτη Βερίλλη, κ. Νίκο Βλάχο και κα Λεβίζου Έφη καθώς και τις διδακτορικούς φοιτητές της ενυδρειοπονίας Τσουμαλάκου Εύα και Σταθοπούλου Εύη για την βοήθεια τους και τις χρήσιμες συμβουλές τους καθ' όλη την διάρκεια της έρευνας μου.

Επίσης θα ήθελα θερμά να ευχαριστήσω την συνάδελφο Κωνσταντίνα Παπαευσταθίου που μαζί παλέψαμε να ολοκληρώσουμε τα πειράματα των μεταπτυχιακών διατριβών μας.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου καθώς και τους φίλους μου για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκτράφηκαν σε συστήματα ενυδρειοπονίας μικρής κλίμακας σε κλειστό χώρο εργαστηρίου λαβράκια του είδους *Dicentrarchus labrax* σε διαφορετικές ιχθυοπυκνότητες και καλλιεργήθηκαν μαρούλια του είδους *Lactuca sativa* ποικιλίας Green Towers. Το πείραμα διήρκησε 45 ημέρες συνολικά με ημέρα 0 να θεωρείται η 30/12/2020. Σκοπός της έρευνας ήταν να μελετηθεί η επίδραση της ιχθυοπυκνότητας του ψαριού, και συγκεκριμένα του λαβρακιού, στην ανάπτυξή του καθώς και στην ανάπτυξη του μαρουλιού.

Χρησιμοποιήθηκαν τρία συνολικά συστήματα με συνολικό όγκο νερού ανά σύστημα 500L και παροχή νερού $Q=6.16$ L/min. Τα συστήματα αποτελούνταν από τρία ενυδρεία, μία δεξαμενή ανάπτυξης φυτών (growbed) 1 m² με διογκωμένη άργιλο και ένα ενυδρείο με διπλό φίλτρο (μηχανικό και βιολογικό) και μια αντλία νερού το καθένα. Σε αυτά τα συστήματα εκτράφηκαν συνολικά 54 λαβράκια αρχικού μέσου βάρους ψαριού 42,45g, 42,1g και 39,78g στα αντίστοιχα συστήματα 1, 2 και 3. Το πρώτο σύστημα είχε την μικρότερη ιχθυοπυκνότητα, ενώ το τρίτο είχε την μεγαλύτερη. Η ιχθυοπυκνότητες ορίστηκαν ως συνολικά 12, 18 και 24 ψάρια στα αντίστοιχα 1, 2 και 3 συστήματα. Παράλληλα καλλιεργήθηκαν 24 μαρούλια συνολικά, 8 δηλαδή σε κάθε δεξαμενή ανάπτυξης φυτών. Τα ψάρια σιτίζονταν με στερεά κοκκομετρικού σχήματος τροφή εμπορικής προέλευσης πρωτεΐνης 55,9%. Καθημερινά πραγματοποιούνταν καθαριότητες και περισυλλογή κοπράνων στα ενυδρεία και αλλαγές και καθαριότητες των μηχανικών φίλτρων. Επίσης γινόταν μέτρηση φυσικοχημικών και θρεπτικών στοιχείων του νερού.

Ξεκινώντας από τα ψάρια στα συστήματα υπήρξε διαφορετική επιβίωση ιχθύων. Στο πρώτο και στο τρίτο σύστημα κατά την διάρκεια του πειράματος παρατηρήθηκαν

δύο θάνατοι. Η αύξηση βάρους φάνηκε να είναι καλύτερη στο πρώτο σύστημα $38,48 \pm 2,59$ με την μικρότερη ιχθυοπυκνότητα ενώ η χειρότερη στο τρίτο $30,36 \pm 1,81$ με την μεγαλύτερη. Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής FCR φαίνεται να είναι μεγαλύτερος στο σύστημα με την μεγαλύτερη ιχθυοπυκνότητα ενώ ο ημερήσιος ρυθμός ανάπτυξης SGR παρατηρήθηκε να είναι μεγαλύτερος στο σύστημα με την μικρότερη ιχθυοπυκνότητα. Καμία μέτρηση παρόλα αυτά δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά ($p > 0,05$) σε κανένα σύστημα. Σε αναλύσεις πρωτεΐνης και λίπους που έγιναν στα λαβράκια παρατηρήθηκε ότι τα καλύτερα ποσοστά πρωτεΐνης (έχοντας στατιστικές σημαντικές διαφορές, $p < 0,05$) ήταν στο δεύτερο σύστημα με την μεσαία ιχθυοπυκνότητα ενώ του λίπους στο τρίτο σύστημα.

Στις τρεις δεξαμενές ανάπτυξης φυτών δεν παρατηρήθηκε καμία θνησιμότητα φυτών. Την καλύτερη συνολική παραγόμενη φυτική βιομάζα την παρέδωσε το δεύτερο $4,09 \text{ kg/m}^2$ σύστημα ακολουθούμενο από το τρίτο $4,02 \text{ kg/m}^2$ και τέλος το πρώτο $1,27 \text{ kg/m}^2$. Τα συστήματα δύο και τρία δεν είχαν σημαντικά στατιστικές διαφορές μεταξύ τους παρόλα αυτά το σύστημα ένα είχε με τα άλλα δύο ($p < 0,05$). Στις αναλύσεις που έγιναν παρατηρήθηκε ότι τα ποσοστά πρωτεΐνης και αζώτου στα φυτά δεν είχαν στατιστικές σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) με το σύστημα δύο να ακολουθείται από τα υπόλοιπα. Τα ποσοστά λίπους και τέφρας διαφέρουν στατιστικά ($p < 0,05$) με πρώτο να είναι τα ποσοστά του συστήματος ένα ακολουθούμενα με διαφορά των υπολοίπων.

Η μελέτη επίδρασης διαφορετικών ιχθυοπυκνοτήτων στην ανάπτυξη των ψαριών και φυτών κρίνεται απαραίτητη στην ενυδρείοπονία για την καλύτερη απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών από τα φυτά.

Λέξεις κλειδιά: Ενυδρείοπονία, *Dicentrarchus labrax*, *Lactuca sativa*, ιχθυοπυκνότητα

Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Εισαγωγή στην ενυδραιοπονία	1
1.2 Ιστορικά στοιχεία	2
1.3 Βιολογικός κύκλος – νιτροποίηση	3
1.4 Εκτρεφόμενα είδη ψαριών και φυτά κατάλληλα για την ενυδραιοπονία	4
1.5 Σκοπός της παρούσας έρευνας	6
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	7
2.1 Πειραματικός σχεδιασμός-σύστημα ενυδραιοπονίας (λαβράκι-μαρούλι).....	7
2.1.1 Ενυδρεία	8
2.1.2 Υδροπονική δεξαμενή ανάπτυξης φυτών – Growbed	9
2.1.3 Τριπλό φίλτρο	12
2.2 Παροχή τροφής	13
2.2.1 Κατανάλωση τροφής.....	14
2.3 Φυσικοχημικοί και θρεπτικοί παράμετροι νερού	16
2.3.1 Χρήση API Test Kit	17
2.3.2 Παράμετροι νερού – αλλαγές νερού	20
2.4 Διαδικασία μέτρησης μορφομετρικών χαρακτηριστικών ιχθύων και φυτών, παράμετροι ανάπτυξης ιχθύων.....	21
2.4.1 Μορφομετρικά χαρακτηριστικά ιχθύων – Ζύγισμα	21
2.4.2 Μορφομετρικά χαρακτηριστικά φυτών.....	23
2.4.3 Παράμετροι ανάπτυξης ιχθύων- Δείκτες.....	25
2.5 Χημικές αναλύσεις.....	26
2.5.1 Προσδιορισμός υγρασίας/ξηρής ουσίας.....	27
2.5.2 Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ενώσεων	27
2.5.3 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών	30
2.5.4 Προσδιορισμός ενέργειας.....	32
2.5.5 Προσδιορισμός τέφρας.....	32
2.6 Στατιστική ανάλυση	33
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	34
3.1 Φυσικοχημικοί και θρεπτικοί παράμετροι νερού	34
3.2 Αναπτυξιακοί παράμετροι ιχθύων και φυτών	37
3.2.1 Αναπτυξιακοί παράμετροι Ιχθύων	37
3.2.2 Αναπτυξιακοί παράμετροι Φυτών	39
3.3 Χημικές αναλύσεις.....	44
3.3.1 Χημική ανάλυση Τροφής.....	44

3.3.2 Χημικές αναλύσεις στα ψάρια	45
3.3.3 Χημικές αναλύσεις στα περιττώματα των ψαριών.....	47
3.3.4 Χημικές αναλύσεις φυτών.....	48
4. Συζήτηση.....	51
4.1 Φυσικοχημικοί και θρεπτικοί παράμετροι νερού	51
4.2 Αναπτυξιακοί παράμετροι ιχθύων.....	53
4.3 Αναπτυξιακοί παράμετροι φυτών.....	55
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	57
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	58
6.1 Αγγλική βιβλιογραφία.....	58
6.2 Ελληνική βιβλιογραφία	69
ABSTRACT.....	70

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Εισαγωγή στην ενυδραιοπονία

Τα τελευταία χρόνια ο κόσμος αλλάζει. Κλιματική αλλαγή, φαινόμενο του θερμοκηπίου, υπεραλίευση, υπερπληθυσμιακά προβλήματα συνοδευόμενα από υποσιτισμό, είναι μερικά από τα βασικά και καθημερινά προβλήματα που μπορεί να συναντήσει οποιοσδήποτε στις μέρες μας με τον υποσιτισμό να είναι ένα από τα μεγαλύτερα και πιο κύρια. Η προσπάθεια του ανθρώπου να καλύψει τις ανάγκες του οδήγησε στην υπερεκμετάλλευση των πόρων του πλανήτη. Στο πλαίσιο λοιπόν της αειφορικής ανάπτυξης και στην προσπάθεια να βρεθεί λύση στο πρόβλημα του υποσιτισμού, βρέθηκαν νέες λύσεις με την ενυδραιοπονία να είναι μία από αυτές.

Με τον όρο ενυδραιοπονίας εννοούμε την ταυτόχρονη και διπλή καλλιέργεια φυτών και ιχθύων. Είναι μία παράλληλη εκτροφή υδρόβιων οργανισμών που θυμίζει υδατοκαλλιέργεια σε συνδυασμό με μία διαφορετική καλλιέργεια φυτών την υδροπονία η οποία βρίσκεται εκτός εδάφους χωρίς την παρουσία χώματος (Rakocy *et al.* 2004, Malorgio *et al.* 2005, Love *et al.*, 2015). Αυτή η παράλληλη καλλιέργεια απαιτεί και την «συνεργασία» βακτηρίων που βοηθούν στην υλοποίηση της. Με την σίτιση των ψαριών, παράγεται αμμωνία ως μεταβολικό προϊόν με την οποία μέσω της νιτροποίησης παράγονται νιτρικά ιόντα, η τροφή δηλαδή των φυτών. Η διαδικασία της νιτροποίησης πραγματοποιείται με την παρουσία των βακτηρίων που διαθέτουν τα συστήματα ενυδραιοπονίας. Έτσι ψάρια, φυτά και βακτήρια συνεργάζονται με σκοπό την ταυτόχρονη ανάπτυξη των φυτών παράλληλα με την ανάπτυξη των ψαριών (Rakocy *et al.* 2006, Francis-Floyd *et al.* 2012).

1.2 Ιστορικά στοιχεία

Ξεκινώντας από την πρώτη εμφάνιση της ενυδραιοπονίας φαίνεται να είναι μία αρκετά παλιά διαδικασία από την εποχή των αρχαίων Αιγυπτίων οι οποίοι συνδύαζαν την εκτροφή τιλάπιας του Νείλου με καλλιέργεια φυτών (Παπουτσόγλου, 2008) πρακτική που αργότερα απαντήθηκε και στο κεντρικό Μεξικό από τους Αζτέκους το 1150-1350 π.Χ., ονομάζοντας την Chinampas και αποτελούσε ένα σύμπλεγμα μικρών νήσων στο εσωτερικό μίας λίμνης (Turcios and Papenbrock, 2014). Στην συνέχεια παρατηρήθηκε παρόμοια τακτική και στους ορυζώνες τόσο της Κίνας όσο και της Ταϊλάνδης με την παράλληλη εκτροφή ψαριών αλλά και χελιών. Κάπου στην δεκαετία του '70 στο New Alchemy Institute North Carolina State University (USA) αναπτύχθηκε η βάση της σημερινής σύγχρονης ενυδραιοπονίας (Goddek *et al.*, 2015). Η κατασκευή των πρώτων συστημάτων ενυδραιοπονίας πραγματοποιήθηκαν από το Πανεπιστήμιο της Βόρειας Καρολίνας ακολουθώντας με την σειρά τους και άλλες χώρες όπως Βραζιλία, η Ινδία, Ολλανδία, Ισπανία, Πολωνία, Γερμανία, Δανία κ.α. (Love *et al.*, 2014). Σήμερα, στην Αμερική είναι ευρέως διαδεδομένη η μέθοδος της ενυδραιοπονίας με πολλά εγκατεστημένα συστήματα μεγάλης κλίμακας. Στον τομέα κυρίαρχοι είναι οι Καναδοί και οι Αμερικάνοι, ενώ οι Ολλανδοί φαίνεται να πρωτοπορούν στην Ευρώπη. Στις αρχές της δεκαετίας του 70' έγιναν οι πρώτες προσπάθειες σχεδιασμού συστημάτων ενυδραιοπονίας σε ινστιτούτα της Αμερικής και της Ευρώπης (Sneed *et al.*, 1975, Naegel 1977, Bohl, 1977). Από τότε έχουν διεξαχθεί πολλές έρευνες σχετικά με την ενυδραιοπονία όσο αναφορά τον τρόπο κατασκευής των μονάδων (Clarkson & Lane, 1991, Seawright *et al.*, 1998, Rakocy *et al.*, 2006, Diver, 2006, Wilson & Brian 2006, Graber & Junge, 2009, Buzby & Lin, 2014), το είδος των εκτρεφόμενων ψαριών και των καλλιεργούμενων φυτών (Goto *et al.*, 1996, Tyson *et*

al., 1999, Li & Li, 2009, Savvas *et al.*, 2006, Roosta & Hamidpour, 2013, Villarroel *et al.*, 2011), τη ποιότητα του νερού (Francis-Floyd *et al.*, 2012, Tyson *et al.*, 2004, Liang & Chien, 2013, Cerozi & Fitzsimmons, 2016, Yildiz *et al.*, 2017) και την οικονομική πτυχή της (Rakocy *et al.*, 1997, Blidariu & Grozea, 2011, Love *et al.*, 2014, Love *et al.*, 2015, König *et al.*, 2016). Το 2014 η δημιουργήθηκε η ένωση επιστημόνων καθώς και ερευνητών EU Aquaponics Hub η οποία ένωσε κόσμο ολόκληρης της Ευρώπης. Το 2016 τα μέλη της ίδιας ένωσης ίδρυσαν τον ACAC (Association of Commercial Aquaponics Companies) τον πρώτο συνεταιρισμό για τις δραστηριότητες της ενυδρειοπονίας εμπορικού επιπέδου και ενδιαφέροντος. Τέλος η Ελλάδα βρίσκεται ακόμα σε πρώιμο στάδιο με μικρές και μεμονωμένες κατασκευές συστημάτων ενυδρειοπονίας.

1.3 Βιολογικός κύκλος – νιτροποίηση

Η ενυδρειοπονία και γενικότερα τα συστήματα της στηρίζονται στην βασικότερη διαδικασία για την ολοκλήρωση της νιτροποίησης (κύκλος αζώτου). Τα ψάρια ως βασικό μεταβολικό προϊόν μετά την σίτισή τους παράγουν αμμωνία τόσο ως στερεή μορφή (περιττώματα) αλλά ως ένα ποσοστό μέσω των ούρων και μέσω των βραγχίων τους. Αμμωνία παράγεται σε ένα ενυδρείο και από άλλες οργανικές ουσίες καθώς και τροφής που δεν καταναλώθηκε από τα ψάρια. Τα ποσοστά της αμμωνίας όμως σε υψηλά επίπεδα είναι τοξικά για τους περισσότερους υδρόβιους οργανισμούς καθώς και για τα φυτά.

Με την βοήθεια των βακτηρίων που υπάρχουν στα συστήματα ενυδρειοπονίας πραγματοποιείται η διαδικασία της νιτροποίησης. Τα αυτότροφα βακτήρια *Nitrosomonas* οξειδώνουν την αμμωνία που βρίσκεται στο νερό μετατρέποντάς την σε

ιόντα νιτρωδών (NO_2^-). Έπειτα ένα νέο γένος βακτηρίων τα *Nitrobacter* λαμβάνουν τα ιόντα νιτρωδών τα οξειδώνουν και τα μετατρέπουν σε ιόντα νιτρικών (NO_3^-) (Cebbron & Garnier, 2005). Τα νιτρικά αυτά ιόντα είναι η βασική πηγή θρεπτικών ουσιών που λαμβάνουν τα φυτά για την ανάπτυξή τους. Η λήψη αυτών των θρεπτικών γίνεται από τις ρίζες των φυτών. Το νερό μετά την απορρόφηση των θρεπτικών από τα φυτά επιστρέφει στα ενυδρεία των ψαριών με σκοπό την συνέχιση του κύκλου του αζώτου (Yildiz *et al.*, 2017)

1.4 Εκτρεφόμενα είδη ψαριών και φυτά κατάλληλα για την ενυδρειοπονία

Τα ενυδρειοπονικά συστήματα μπορούν να εκτρέψουν με ευκολία αρκετά είδη ψαριών. Κυριότερα σε αυτά τα συστήματα εκτρέφονται είδη γλυκού νερού όπως και ευρύαλα είδη καθώς τα περισσότερα είδη φυτών όπως θα αναφερθούν αργότερα δεν αναπτύσσονται σε νερά με υψηλές αλατότητες. Το πιο ευρέως γνωστό ψάρι που εκτρέφεται σε συστήματα ενυδρειοπονίας είναι η τιλάπια (*Oreochromis niloticus*, *Oreochromis mossambicus*) λόγω της μεγάλης αντοχής της σε χαμηλές τιμές ποιότητας νερού (Rakocy *et al.* 2004, Rakocy *et al.* 2006, Yue and Zhou 2008). Είδη όπως κυπρίνος (*Cyprinus carpio*), το χρυσόψαρο (*Carassius* sp.), η ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) (Adler *et al.*, 2000), το μεγαλόστομο λαβράκι (*Micropterus salmoides*), το γατόψαρο (*Ictalurus punctatus*) καθώς και κάποια υβρίδια ψαριών όπως η τιλάπια (*Oreochromis urolepis hornorum* x *Oreochromis Mosambicus*) ή το υβρίδιο λαβρακιού (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) (Selock, 2003), είναι μερικοί από τους υδρόβιους οργανισμούς που χρησιμοποιούνται σε ενυδρειοπονικά συστήματα.

Τα φυτά από την άλλη που χρησιμοποιούνται στα ίδια συστήματα είναι κάποια από τα παρακάτω φυλλώδη φυτά : το μαρούλι (*Lactuca sativa*), το σπανάκι (*Spinacia*

oleracea), ο βασιλικός (*Ocimum basilicum*), η μέντα (*Mentha sp.*), το σέσκουλο (*Beta vulgaris subsp. vulgaris*) καθώς και καρποφόρα φυτά όπως η ντομάτα (*Lycopersicon lycopersicum*), η μελιτζάνα (*Solanum melongena*), η πιπεριά (*Capsicum sp.*), το μπρόκολο (*Brassica oleracea var. italica*), το κουνουπίδι (*Brassica oleracea var. botrytis*), το αγγούρι (*Cucumis sativus*) και τα φασόλια (*Phaseolus vulgaris*) (Diver 2006, Rakocy *et al.* 2006, Somerville *et al.* 2014). Το μαρούλι συγκεκριμένα είναι ένα από τα πιο βασικά καλλιεργήσιμα είδη καθώς καλλιεργείται εύκολα, βρίσκεται σε διάφορα σχήματα και χρώματα, αναπτύσσεται γρήγορα, δεν χρειάζεται να χρησιμοποιηθεί κάποια επιπλέον λίπανση καθώς τα νιτρικά που προσφέρουν τα ψάρια είναι αρκετά για αυτό και φτάνει στο εμπορεύσιμο και επιθυμητό μέγεθος αρκετά γρήγορα (περίπου 4-5 βδομάδες).

Από την δεκαετία του '80 το λαβράκι άρχισε να είναι ένα από τα σημαντικότερα εκτρεφόμενα είδη στην Ευρώπη και κυρίως στο μεσόγειο θάλασσα (Federation of Greek Maricultures 2019). Το ευρωπαϊκό λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) όπως ονομάζεται είναι ένα από τα λιγότερο χρησιμοποιημένα εκτρεφόμενα είδη στην ενυδραιοπονία παρόλο την μεγάλη του εκμετάλλευση στις ιχθυοκαλλιέργειες. Ανήκει στα ευρύαλα ψάρια, γεγονός που το καθιστά κατάλληλο για χρήση σε ενυδραιοπονικά συστήματα καθώς τα περισσότερα φυτά απαιτούν χαμηλές αλατότητες (Pickett & Pawson 1994, Nebel *et al.* 2005). Τα ευρύαλα ψάρια επηρεάζονται από την μεταφορά τους από θαλασσινό νερό σε γλυκό χαμηλότερης αλατότητας πράγμα που μπορεί να επηρεάσει την όρεξή τους για σίτιση (Stathopoulou *et al.* 2021). Οι Güroy *et al.*, (2013) αναφέρουν ότι στην θάλασσα τα λαβράκια πετυχαίνουν την καλύτερη ανάπτυξη όταν ταΐζονται 1 με 3 φορές.

1.5 Σκοπός της παρούσας έρευνας

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθεί αν, πως και πόσο επηρεάζει η ιχθυοπυκνότητα του Ευρωπαϊκού λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*), με την χρήση τροφής συγκεκριμένης ποσότητας (5% σωματικού βάρους) και συγκεκριμένης συχνότητα ταΐσματος (τρεις φορές την ημέρα):

1. Στην ανάπτυξη του ίδιου του οργανισμού
2. Στην ταυτόχρονη καλλιέργεια και ανάπτυξη του μαρουλιού (*Lactuca sativa*)
3. Στην ενίσχυση της βιβλιογραφίας όσο αφορά την ιχθυοπυκνότητα στην ενυδραιοπονία

σε ενυδραιοπονικά συστήματα μικρής κλίμακας, σε ένα κλειστό χώρο εργαστηρίου.

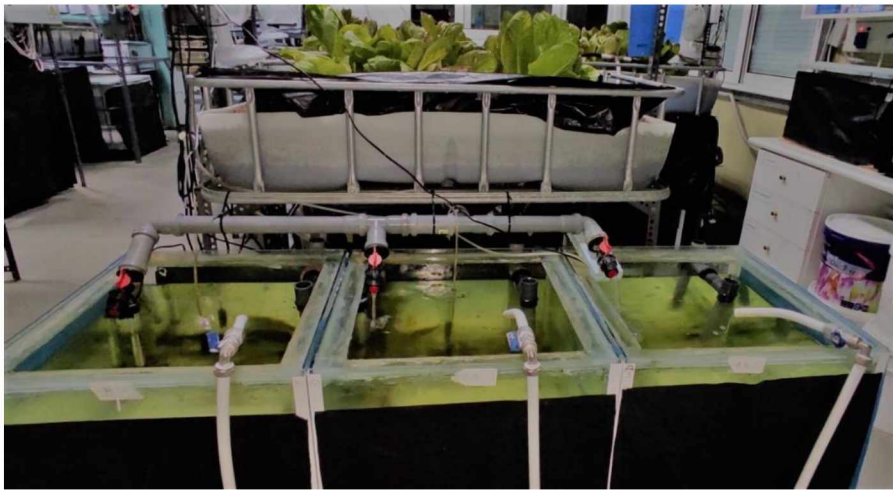
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το πείραμα διεξάχθηκε σε εγκαταστάσεις του τμήματος Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου περιβάλλοντος του πανεπιστημίου Θεσσαλίας και συγκεκριμένα στο εργαστήριο ενυδρειοπονίας. Διήρκεσε 45 μέρες (μέρα 0 η 30η Δεκεμβρίου 2020 και μέρα 45 η 13η Φεβρουαρίου 2021).

2.1 Πειραματικός σχεδιασμός-σύστημα ενυδρειοπονίας (λαβράκι-μαρούλι)

Για την διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 3 συστήματα ενυδρειοπονίας.

Το κάθε σύστημα αποτελούνταν από: 3 ενυδρεία, 1 δεξαμενή ανάπτυξης φυτών, 1 τριπλό φίλτρο.



Εικόνα 1. Σύστημα ενυδρειοπονίας παρούσας διατριβής (προσωπικό αρχείο)

Ο συνολικός όγκος νερού του συστήματος ήταν 500 L. Όλο το σύστημα περιείχε γλυκό νερό έτσι ώστε να μπορεί να αναπτυχθεί το φυτό. Τα ψάρια νωρίτερα του πειράματος είχαν περάσει από σταδιακή μείωση της αλατότητας με σκοπό την προσαρμογή τους στις προβλεπόμενες αλατότητες για την διεξαγωγή του πειράματος. Η

πορεία του νερού ξεκινάει από τα ενυδρεία, συνεχίζει στο φίλτρο, έπειτα στην δεξαμενή ανάπτυξης των φυτών και τέλος ξανά στα ενυδρεία δημιουργώντας έτσι ένα κυκλικό σύστημα ροής.

2.1.1 Ενυδρεία

Τα ενυδρεία του κάθε συστήματος είχαν διαστάσεις 50 cm × 50 cm × 50 cm χωρητικότητα 100 L το καθένα. Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκε το ευρωπαϊκό λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*). Στον πειραματικό σχεδιασμό τα λαβράκια μοιράστηκαν σε κάθε σύστημα με διαφορετικές ιχθυοπυκνότητες. Με αυτό τον τρόπο το σύστημα 1 (M1=Μεταχείριση 1) είχε 12 ψάρια συνολικά (4 ανά ενυδρείο) με τα ενυδρεία M1.1, M1.2 και M1.3 να έχουν βιομάζα 164,3 , 173,6 και 171,5 αντίστοιχα, το σύστημα 2 (M2 = Μεταχείριση 2) είχε 18 ψάρια συνολικά (6 ανά ενυδρείο) με τα ενυδρεία M2.1, M2.2 και M2.3 να έχουν βιομάζα 254,5 , 243,7 και 259,6 αντίστοιχα και το σύστημα 3 (M3 = Μεταχείριση 3) είχε 24 ψάρια συνολικά (8 ανά ενυδρείο) με τα ενυδρεία Δ2.1, Δ2.2 και Δ2.3 να έχουν βιομάζα 315,3 , 323,00 και 316,4 αντίστοιχα. Τα 54 λαβράκια προτού μοιραστούν στα συστήματα αναισθητοποιήθηκαν σε διάλυμα MS222(0,3 ml αναισθητικού σε 2 L νερό) και έπειτα ζυγίστηκαν. Τα ψάρια 10 μέρες προτού χωριστούν τοποθετήθηκαν τυχαία στα ενυδρεία αλλά με τις ίδιες ιχθυοπυκνότητες όπως στον πειραματικό σχεδιασμό με σκοπό τον εγκλιματισμό τους στα συστήματα. Το τάισμα για τις ημέρες εγκλιματισμού ήταν ίδιο με αυτό του πειράματος.

Σε κάθε ενυδρείο όλων των συστημάτων τοποθετήθηκε από μία αερόπετρα για παροχή οξυγόνου και ένας θερμοστάτης για ρύθμιση της θερμοκρασίας του νερού.

2.1.2 Υδροπονική δεξαμενή ανάπτυξης φυτών – Growbed

Η δεξαμενή ανάπτυξης φυτών κάθε συστήματος είχαν διαστάσεις 112 cm × 73 cm × 20 cm και χωρητικότητα νερού 26 L. Το καθένα ήταν γεμάτο με διογκωμένη άργιλο (στρογγυλή, ελαφριά, διάμετρο 8-20 mm (FAO, 2014)) όπως φαίνεται στην εικόνα 2 με σκοπό την χρήση της ως υπόστρωμα για την στήριξη των φυτών.



Εικόνα 2. Διογκωμένη άργιλος (προσωπικό αρχείο)

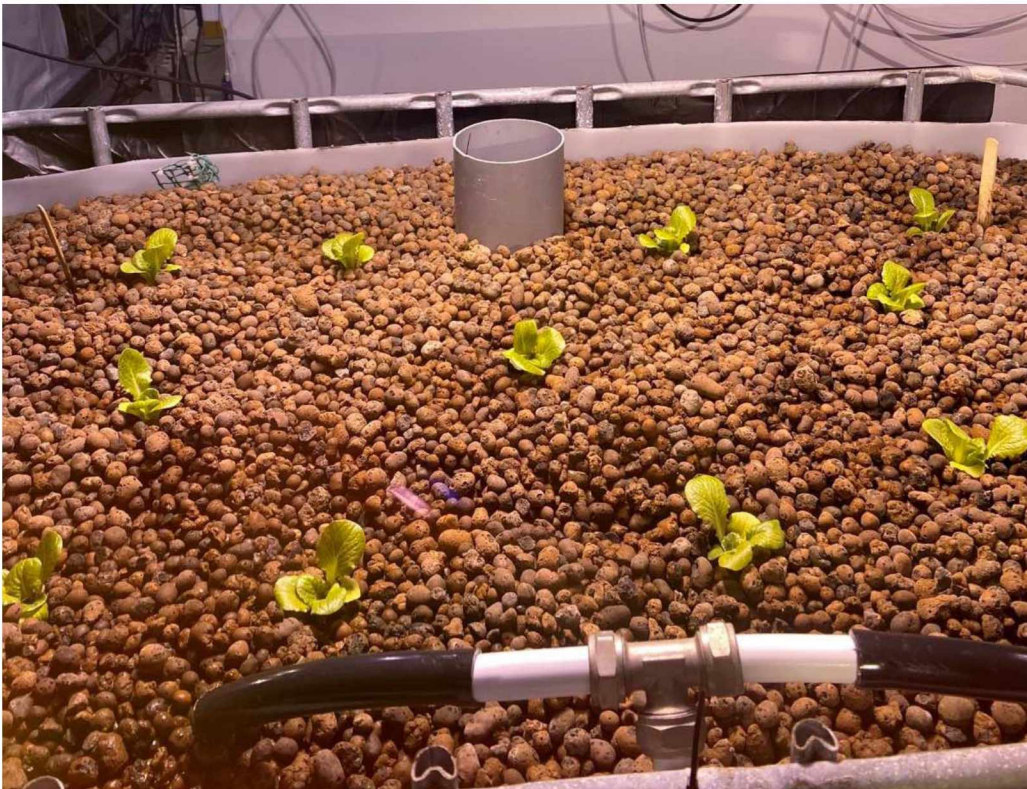
Πάνω από τις δεξαμενές ανάπτυξης φυτών τοποθετήθηκε λάμπα HPS (High Pressure Sodium) των 400W, μαζί με έναν ανακλαστήρα. Η φωτοπερίοδος ρυθμίστηκε σε 12 ώρες φως και 12 ώρες σκοτάδι. Τα φυτά που χρησιμοποιήθηκαν στον παρόν πειραματικό σχεδιασμό ήταν μαρούλια (*Lactuca sativa*) και συγκεκριμένα της ποικιλίας Green Towers τα οποία λήφθηκαν από φυτώριο της περιοχής του Βόλου. Τα μαρούλια κρατήθηκαν στο ειδικό γλαστράκι που παραλήφθηκαν για 12 ημέρες λαμβάνοντας και αυτά κάποιες μέρες εγκλιματισμού στον χώρο του εργαστηρίου. Από την 4^η έως και την 11^η μέρα χορηγήθηκε λίπανση. Η λίπανση αποτελούνταν από:

- Ασβέστιο LASTING CA, το οποίο χορηγήθηκε με ψεκάσμο, ψεκάζοντας τα φύλλα των μαρουλιών ανά 2 μέρες. Η συνολική ποσότητα που χρησιμοποιήθηκε ήταν 0,02 ml ασβεστίου σε 250 ml νερό.
- Κάλιο (potassium sulfate, CHEM-LAB) και Σίδηρος (χηλικής μορφής, DTPA 1%), τα οποία χορηγήθηκαν μαζί ως υδρολίπανση ανά 2 μέρες. Η συνολική ποσότητα ήταν 0,45 g καλίου και 0,018 g σιδήρου σε 1 L νερό.

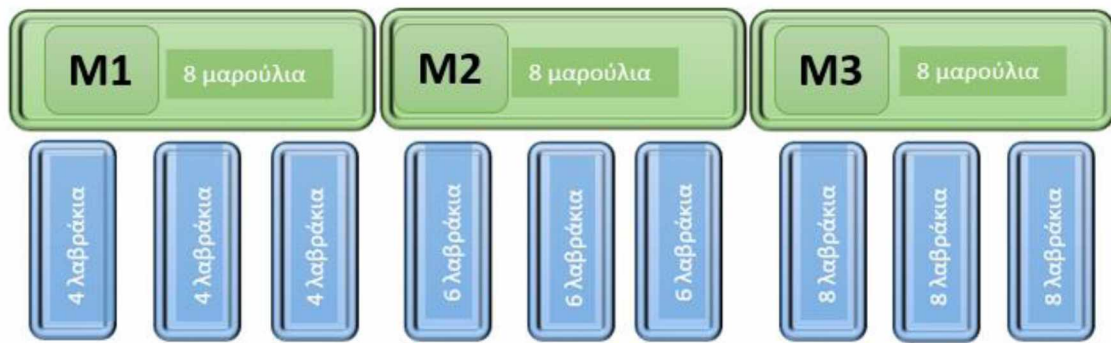
Η φύτευση έγινε στις 30/12/2020, η οποία θεωρήθηκε ημέρα 0, και στην κάθε δεξαμενή ανάπτυξης φυτών τοποθετήθηκαν 8 μαρούλια και 3 δείκτες (οι οποίοι αφαιρέθηκαν την μέρα 10 για την παρατήρηση της ανάπτυξης στους). Τα φυτά προσεκτικά αφαιρέθηκαν από τα γλαστράκια τους και χωρίς να τραυματιστούν οι ρίζες ξεπλύθηκαν (Εικ. 3) και τοποθετήθηκαν σε συγκεκριμένες θέσεις έτσι ώστε μεταξύ τους να υπάρχει απόσταση 20 εκατοστών (Εικ. 4). Δόθηκε έμφαση στο να είναι οι τιμές θερμοκρασίας και PAR (Photosynthetically Active Radiation, φωτοσυνθετικά ενεργής ακτινοβολία) παρόμοιες για όλες τις θέσεις φύτευσης και στο εύρος των τιμών που χρειάζεται το φυτό. Το εύρος των τιμών PAR ορίστηκε από 350-500 nm. Για την ρύθμιση της θερμοκρασίας πάνω στις δεξαμενές ανάπτυξης φυτών τοποθετήθηκαν μικρού μεγέθους ανεμιστήρες ενώ στον χώρο λειτουργούσαν μονάδες κλιματισμού κρατώντας την θερμοκρασία στους 21-22°C.



Εικόνα 3. Ξεπλυμένες ρίζες φυτών (προσωπικό αρχείο)



Εικόνα 4. Τοποθετημένα φυτά στις δεξαμενές ανάπτυξης φυτών (προσωπικό αρχείο)



Εικόνα 5. Απεικόνιση πειραματικού σχεδιασμού

2.1.3 Τριπλό φίλτρο

Ένα ενυδρείο διαστάσεων 100 cm × 50 cm × 48 cm χωρητικότητας νερού 184 L χρησιμοποιήθηκε ως φίλτρο και αποτελούνταν από τρία μέρη:

1. Μηχανικό φίλτρο: αποτελούμενο από στρώματα υαλοβάμβακα και σφουγγαριών με σκοπό την κατακράτηση οποιασδήποτε στερεάς ουσίας περάσει από τα ενυδρεία στο φίλτρο αφού το μηχανικό φίλτρο είναι το πρώτο σημείο που διαρρέει το νερό αφού φύγει από τα ενυδρεία (Goddek *et al.*, 2015) Το φίλτρο αυτό είναι αρκετά σημαντικό αφού βοηθάει στην απομάκρυνση των περιττών στερεών ουσιών προτού διαλυθούν και περάσουν στο βιολογικό φίλτρο καθώς και στο υπόλοιπο σύστημα (FAO, 2014)
2. Βιολογικό φίλτρο: αποτελούμενο από υλικά πλήρωσης K1 και κεραμικών, υλικά που επιτρέπουν στα βακτήρια να προσκολληθούν και να αποικίσουν εύκολα πάνω τους. Σε αυτό το φίλτρο είχαν τοποθετηθεί βακτήρια τα οποία μετατρέπουν την αμμωνία, που παράγουν τα ψάρια με τις απεκκρίσεις τους, και η οποία είναι βλαβερή για τους οργανισμούς σε υψηλά επίπεδα, σε αβλαβής νιτρικές ενώσεις. Αυτές οι νιτρικές ενώσεις είναι τα θρεπτικά συστατικά που χρειάζονται τα φυτά για να αναπτυχθούν. Στα συστήματα είχαν ήδη τοποθετηθεί βακτήρια πριν την διεξαγωγή του πειράματος. Κατά την διάρκεια του πειράματος χορηγήθηκαν επιπλέον στα

συστήματα 1 (M1) και 2 (M2) από δυο αμπούλες βακτηρίων (BioDigest, Aquarium care program) ενώ στο σύστημα 3 (M3) χρειάστηκε να χορηγηθούν 3 αμπούλες.

3. Αντλία: τρίτο και τελευταίο σημείο του φίλτρου, αποτελούμενο από μία αντλία η οποία διοχέτευε νερό στη δεξαμενή ανάπτυξης φυτών καθώς και στα ενυδρεία των ιχθύων. Μετά από την αντλία μία μικρή ποσότητα νερού γυρνούσε απευθείας στα ενυδρεία ενώ η μεγαλύτερη ποσότητα διοχετευόταν στη δεξαμενή ανάπτυξης φυτών. Η παροχή νερού ήταν $Q=6,16 \text{ L/min}$.

2.2 Παροχή τροφής

Στους ιχθύες χορηγήθηκε εμπορική τροφή που μας παρείχε εταιρεία της περιοχής. Η τροφή ήταν κόκκου 1,5 mm και αποτελούνταν από: ολικές αζωτούχες ουσίες 54,8%, ολικές λιπαρές ουσίες 14,8%, ολικές ινώδεις ουσίες 1,5%, ολική τέφρα 9,9%, φώσφορος 1,26%, ασβέστιο 1,7% και νάτριο 0,16%. Καθημερινά χορηγούνταν τροφή ανάλογα με την βιομάζα του κάθε ενυδρείου εκτός της Κυριακής η οποία θεωρήθηκε ημέρα ασιτίας. Η ποσότητα της τροφής ήταν 5% της βιομάζας. Η σίτιση γινόταν 3 φορές την ημέρα με πρώτο τάισμα στις 9:00 το πρωί, δεύτερο στις 17:00 το απόγευμα και τρίτο στη 01:00 το βράδυ (με την χρήση αυτόματων ταϊστροών). Η τροφή που αντιστοιχούσε στο κάθε τάισμα ήταν η καθημερινή ποσότητα παρεχόμενης τροφής διαιρεμένη στα 3 γεύματα. Η ημερήσια ποσότητα τροφής υπολογίστηκε σύμφωνα με τον τύπο που περιγράφεται παρακάτω:

$$(F/d) = N_{\text{fish}}W * E\Delta \text{ (gr)}$$

Όπου:

N_{fish} =Αριθμός ατόμων λαβρακιού για κάθε σύστημα ενυδρειοπονίας

W= μέσο βάρος ατόμων ιχθύων (gr)

ΕΔ= επίπεδο διατροφής (%)

Πίνακας 1. Πίνακας με καθημερινή ποσότητα τροφής σε g ανά τις μέρες

	M1.1	M1.2	M1.3	M2.1	M2.2	M2.3	M3.1	M3.2	M3.3
Ημέρες0-15	8,22	8,68	8,57	12,72	12,18	12,98	15,76	16,15	15,82
Ημέρες15-30	9,44	10,63	10,86	16,43	15,45	15,92	19,24	20,17	18,91
Ημέρες 30-45	11,59	13,53	13,83	21,20	19,30	19,46	23,45	25,25	22,58

2.2.1 Κατανάλωση τροφής

Καθημερινά λόγω της μεγάλης ποσότητας τροφής και της όχι πλήρως αξιοποίησής της από τα ψάρια έπρεπε να μετρηθεί και η κατανάλωση της τροφής. Αυτή η μέτρηση γινόταν υπολογίζοντας την ποσότητα τροφής που δινόταν καθημερινά και της τροφής που παρέμενε στον πυθμένα του κάθε ενυδρείου ξεχωριστά καθώς και τον υπολογισμό των περιττωμάτων που βρισκόταν στον πυθμένα ή επέπλεαν στο ενυδρείο. Αυτή η διαδικασία γινόταν κατά την διάρκεια του σιφωνισμού, μιας διαδικασίας που γινόταν καθημερινά για τον καθαρισμό τόσο του πυθμένα όσο και γενικότερα του ενυδρείου από τα περιττά για αυτό υπολείμματα . Στην συνέχεια τοποθετούνταν σε ειδικά κουπάκια κωδικοποιημένα με τον αριθμό του ενυδρείου που ανήκαν τα υπολείμματα. Η διαδικασία αυτή γινόταν κάθε πρωί αφού αποσκοπούσε στην καταμέτρηση της καθημερινής κατανάλωσης τροφής για όλες τις 45 ημέρες του πειράματος.

Μετά τον σιφωνισμό ακολουθεί μια διαδικασία η οποία περιλαμβάνει: α) καλό ξέπλυμα των υπολειμμάτων και περιττωμάτων με απιονισμένο νερό με σκοπό την απομάκρυνση υπολειμμάτων αλατιού που μπορεί να περιέχονται στο νερό, β)

διαχωρισμό των περιττωμάτων και τροφής (για τον διαχωρισμό αυτό χρησιμοποιήθηκε δίχτυ με σκοπό την στράγγιση του νερού από την μάζα (τροφή-περιττώματα), γ) διαλογή τροφής από περιττώματα με πιπέτα τύπου Pasteur όπου οπτικά (ανάλογα με το σχήμα και το χρώμα) γινόταν διαλογή τροφής και περιττωμάτων, δ) τοποθέτηση σε ξεχωριστά γυάλινα κουπάκια ζέσεως με σκοπό την ξήρανση τους (διαφορετικά κουπάκια ονομασμένα ανά ενυδρείο και κατανεμημένα σε τροφή και περιττώματα). Τα κουπάκια αυτά ήταν ειδικά για να αντέχουν τους 105°C, την θερμοκρασία δηλαδή που χρησιμοποιούνταν για την ξήρανση. Η διαδικασία της ξήρανσης κρατούσε 24 ώρες. Η κατανάλωση της τροφής υπολογιζόταν από την αφαίρεση της ξηράς ουσίας της τροφής που δεν καταναλώθηκε με την ξηρή ουσία της καθημερινής χορηγούμενης τροφής όπως φαίνεται στον παρακάτω τύπο

$$KT(g) \text{ λαβρακιού} = [\text{EO}_{\text{χορηγ. τροφής}} - (\text{EO}_{\text{χορηγ. τροφής}} \times \Sigma\Delta/100)] - \text{EO}_{\text{εναπομ. τροφής}}$$

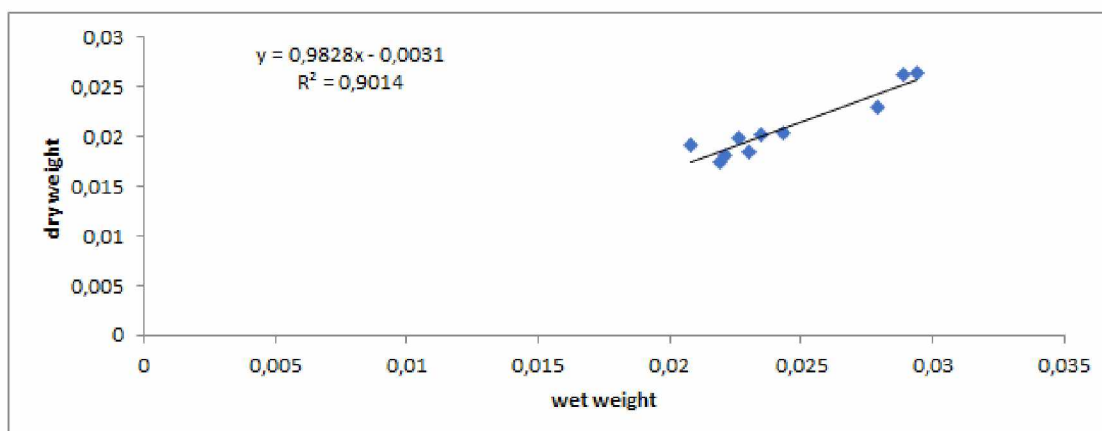
Όπου,

ΣΔ: συντελεστής διαλυτοποίησης, ο οποίος εκτιμά την ποσότητα της τροφής, η οποία χορηγήθηκε κατά τη διάρκεια τριών διαδοχικών ταϊσμάτων. Η τροφή διαλύθηκε στο νερό κατά την παραμονή της και υπολογίστηκε από προζυγισμένη ποσότητα 10 συμπήκτων τα οποία αφέθηκαν στο νερό για 24 h και επαναζυγίστηκε. Η ποσοστιαία (%) διαφοροποίηση αποτέλεσε τον συντελεστή διαλυτοποίησης (ΣΔ) και υπολογίστηκε από τον τύπο:

$$\Sigma\Delta = [100 \times (\text{EO}_{\text{χορηγούμενης τροφής}} - \text{EO}_{\text{τροφής μετά από 24 ώρες}})] / \text{EO}_{\text{χορηγούμενης τροφής}}$$

Η σχέση μεταξύ ξηρής ουσίας (EO) και υγρής ουσίας (YO) συμπήκτου καθορίστηκε μέσω γραμμικών συσχετίσεων σύμφωνα με το Σχήμα και δίνεται από τον γραμμική σχέση:

$$\text{ΞΟ}_{\text{σύμψηκτου}} (\text{g}) = 0,9828 \times \text{ΥΟ}_{\text{σύμψηκτου}} - 0,0031 \quad (R^2=0,9, n=10).$$



Σχήμα 1. Υπολογισμός της σχέσης ΞΟ και ΥΟ σύμψηκτου

2.3 Φυσικοχημικοί και θρεπτικοί παράμετροι νερού

Καθημερινά γινόταν μέτρηση των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού. Αυτές οι μετρήσεις περιλάμβαναν μετρήσεις θερμοκρασίας (T), pH, O₂, O₂% , ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC), αλατότητα (S), ολικής αμμωνίας NH₃/NH₄⁺ και μέτρηση αμμωνίας NH₃-N, ιόντα νιτρωδών NO₂⁻ και ιόντα νιτρικών NO₃⁻. Από την αρχή του πειράματος ορίστηκε το εξής πρόγραμμα μετρήσεων: Α) Μετρήσεις, ξεχωριστά για κάθε ενυδρείο, θερμοκρασίας (T), pH, O₂, O₂% , ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC), αλατότητα (S) πραγματοποιούνταν κάθε Δευτέρα, Τετάρτη, Παρασκευή και Σάββατο με την χρήση αυτόματου συστήματος μέτρησης (HQ40d, HACH). Το νερό που χρησιμοποιήθηκε ως δείγμα της μέτρησης προερχόταν από το κέντρο της υδάτινης στήλης του κάθε ενυδρείου ξεχωριστά. Β) Μετρήσεις, ξεχωριστά για κάθε σύστημα, ολική αμμωνίας NH₃/NH₄⁺ και ιόντα νιτρικών NO₃⁻ πραγματοποιούνταν κάθε Τετάρτη και Σάββατο με ειδικά χρωματομετρικά kit (API). Το νερό που χρησιμοποιούνταν ως δείγμα για αυτές τις μετρήσεις προερχόταν από την είσοδο της ροής νερού στη

δεξαμενή ανάπτυξης φυτών καθώς και από την είσοδο στα ενυδρεία. Γ) Μετρήσεις, ξεχωριστά για κάθε σύστημα, με τον ίδιο τρόπο όπως και στο Β (χρήση ειδικών χρωματομετρικών kit API test) πραγματοποιούνται και για την μέτρηση των ιόντων νιτρωδών NO_2^- κάθε Τετάρτη. Δ) Μέτρηση κάθε Τετάρτη γινόταν και για την αμμωνία $\text{NH}_3\text{-N}$ φωτομετρικά με την χρήση του φωτόμετρου HACH LANGE DR 3900. Το νερό που λαμβάνονταν για την μέτρηση αυτή ήταν από την είσοδο της δεξαμενής ανάπτυξης φυτών. Πριν την χρήση του στο φωτόμετρο φιλτραριζόταν σε ειδικά φίλτρα με διάμετρο φίλτρου 0,45 μm .

2.3.1 Χρήση API Test Kit

- Η διαδικασία μέτρησης της ολικής αμμωνίας $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ (ppm) περιγράφεται ως εξής:
 - Προσθήκη σε γυάλινο μπουκαλάκι 5 ml νερό από το ενυδρείο
 - Προσθήκη 8 σταγόνων από το αντιδραστήριο 1 (Ammonia #1)
 - Ανακίνηση για 5 δευτερόλεπτα
 - Προσθήκη 8 σταγόνων από το αντιδραστήριο 2 (Ammonia #2)
 - Ανακίνηση για 5 δευτερόλεπτα
 - Αναμονή 5 λεπτά με σκοπό τον χρωματισμό του δείγματος νερού
 - Σύγκριση του χρώματος του δείγματος στο μπουκαλάκι με την διαβαθμισμένη χρωματικά κλίμακα που υπάρχει στο kit



Εικόνα 6. Χρωματομετρικό κιτ μέτρησης ολικής αμμωνίας (προσωπικό αρχείο)

- Η διαδικασία μέτρησης των νιτρωδών ιόντων NO_2^- (ppm) περιγράφεται ως εξής:
- Προσθήκη σε γυάλινο μπουκαλάκι 5 ml νερό από το ενυδρείο
 - Προσθήκη 5 σταγόνων από το αντιδραστήριο (Nitrite)
 - Ανακίνηση για 5 δευτερόλεπτα
 - Αναμονή 5 λεπτά με σκοπό τον χρωματισμό του δείγματος νερού
 - Σύγκριση του χρώματος του δείγματος στο μπουκαλάκι με την διαβαθμισμένη χρωματικά κλίμακα που υπάρχει στο kit



Εικόνα 7. Χρωματομετρικό κιτ μέτρησης νιτρωδών (προσωπικό αρχείο)

- Η διαδικασία μέτρησης των νιτρικών ιόντων NO_3^- (ppm) περιγράφεται ως εξής:
- Προσθήκη σε γυάλινο μπουκαλάκι 5 ml νερό από το ενυδρείο
 - Προσθήκη 10 σταγόνων από το αντιδραστήριο 1 (Nitrate #1)
 - Ανακίνηση για 5 δευτερόλεπτα
 - Προσθήκη 10 σταγόνων από το αντιδραστήριο 2 (Nitrate #2)
 - Ανακίνηση για 5 δευτερόλεπτα
 - Αναμονή 5 λεπτά με σκοπό τον χρωματισμό του δείγματος νερού
 - Σύγκριση του χρώματος του δείγματος στο μπουκαλάκι με την διαβαθμισμένη χρωματικά κλίμακα που υπάρχει στο kit



Εικόνα 8. Χρωματομετρικό κιτ μέτρησης νιτρικών (προσωπικό αρχείο)

2.3.2 Παράμετροι νερού – αλλαγές νερού

Οι τιμές της θερμοκρασίας καθορίστηκαν από την αρχή του πειράματος περίπου στους 20.9 °C. Οι τιμές του pH κρατήθηκαν περίπου από 6.3 έως 6.9. Παράλληλα παρατηρούνταν οι τιμές του διαλυμένου οξυγόνου με σκοπό την αποφυγή τυχών αναερόβιων συνθηκών. Σε καθημερινή βάση γινόταν μία μικρή αλλαγή νερού περίπου 10 λίτρα. Αυτή η αλλαγή γινόταν κατά την διάρκεια του σιφωνισμού ο οποίος εκτός από την περισυλλογή των υπολειμμάτων (που βρισκόταν μέσα στο ενυδρείο), αποσκοπούσε και στην ανανέωση του νερού του συστήματος με νέο καθαρό νερό έτσι ώστε να ρυθμίζεται με αυτόν τον τρόπο και η τιμή του pH που συνεχώς άλλαζε. Πολλές φορές με σκοπό την διατήρηση των τιμών του pH στα πλαίσια που ορίστηκαν στον

πειραματικό σχεδιασμό χριζόταν αναγκαία μια μεγαλύτερη αλλαγή νερού (40 περίπου λίτρα), κυρίως στο σύστημα M3 (σύστημα με τη μεγαλύτερη ιχθυοπυκνότητα), από την συνηθισμένη. Αυτή η αλλαγή όμως οδήγησε και σε διαφορετικές τιμές αλατότητας και αγωγιμότητας ανάμεσα στα συστήματα (βλ. αποτελέσματα) καθώς το νερό της βρύσης που χρησιμοποιούνταν δεν είχε σταθερές τιμές (κάθε φορά που χρειαζόταν να γίνει αλλαγή) και ούτε υπήρχε τρόπος τροποποίησης τους.

2.4 Διαδικασία μέτρησης μορφομετρικών χαρακτηριστικών ιχθύων και φυτών, παράμετροι ανάπτυξης ιχθύων

2.4.1 Μορφομετρικά χαρακτηριστικά ιχθύων – Ζύγισμα

Κάθε 15 μέρες πραγματοποιούνταν μέτρηση των μορφομετρικών χαρακτηριστικών των ιχθύων. Ειδικά καταμετρούνταν το μήκος και το βάρος κάθε ψαριού ξεχωριστά για κάθε ενυδρείο. Οι μετρήσεις αυτές έγιναν τις ημέρες 0, 15, 30 και 45 του πειράματος. Την ημέρα 45 πραγματοποιήθηκε και δειγματοληψία ψαριών με σκοπό την λήψη ιστού-δείγμα για χημικές αναλύσεις. Την ημέρα πριν την κάθε καταμέτρηση πραγματοποιούνταν ασιτία στα ψάρια. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

- Προετοιμασία για το ζύγισμα
 - Λήψη 2 λίτρων νερού από το κάθε σύστημα και τοποθέτηση σε ξεχωριστούς κουβάδες αντίστοιχα, για την αναισθησία
 - Προσθήκη, στα 2 λίτρα νερού, απαραίτητης δοσολογίας αναισθητικού (MS222) και τοποθέτηση στον πάγκο ζυγίσματος

- Λήψη 15-16 λίτρα νερού σε κουβά ώστε να γίνει ανάνηψη των ιχθύων από την αναισθησία, τοποθέτηση αερόπετρας στον κουβά (για οξυγόνωση του νερού) και τοποθέτηση του κουβά στον πάγκο ζυγίσματος
 - Τοποθέτηση, στον πάγκο ζυγίσματος, ζυγό ακριβείας (τριών δεκαδικών ψηφίων) καθώς και ιχθυόμετρο
- Διαδικασία ζυγίσματος
- Λήψη των ιχθύων από το ενυδρείο τους με απόχη και τοποθέτηση τους σε κουβά (με 6 περίπου λίτρα νερό και προσθήκη αερόπετρας για οξυγόνο) και τοποθέτηση του στον πάγκο ζυγίσματος
 - Σταδιακή λήψη ιχθύων από τον κουβά των 6 λίτρων και εμβάπτιση τους στον κουβά με το αναισθητικό έως ότου χάσουν την σωστή τους πλευση
 - Ατομική λήψη του ψαριού (με γρήγορες αλλά σταθερές κινήσεις) και καταμέτρηση και καταγραφή βάρους (με τον ζυγό, g) και ολικού μήκους (με το ιχθυόμετρο, cm)
 - Τοποθέτηση του ψαριού στον κουβά ανάνηψης
 - Μετά το τέλος της διαδικασίας για το συγκεκριμένο ενυδρείο (μέτρηση όλων των ψαριών από τον κουβά των 6 λίτρων) επιστροφή των ιχθύων στο ενυδρείο τους
 - Επανάληψη της διαδικασίας για κάθε ενυδρείο ξεχωριστά
- Διαδικασία δειγματοληψίας
- Προετοιμασία πάγκου για ανατομία (γάντια, νυστέρια, λαβίδες, τσιμπίδες, αλκοόλης (για απολύμανση), πάγο, ζυγός ακριβείας, ιχθυόμετρο)
 - Χρήση κουβά με νερό, αναισθητικό και πάγο)

- Λήψη ιχθύων από το κάθε ενυδρείο ξεχωριστά με απόχη και εμβάπτιση τους στον κουβά με το αναισθητικό και τον πάγο
- Αναμονή έως ότου επέλθει θάνατος
- Ατομική λήψη ιχθύων
- Μέτρηση και καταγραφή βάρους (g) και μήκους (cm)
- Ανατομία του ψαριού, εύρεση και λήψη του ήπαρ
- Μέτρηση και καταγραφή βάρους του ήπαρ
- Αποθήκευση σε κωδικοποιημένο σακουλάκι και τοποθέτηση του σε πάγο έως λήξη της ανατομίας

Για την διαδικασία της δειγματοληψίας λήφθηκαν δύο ψάρια από κάθε ενυδρείο άρα έξι από κάθε σύστημα με συνολικό αριθμό δειγματοληψίας 18 ψάρια. Το ήπαρ μετά την δειγματοληψία μεταφέρθηκε στο εργαστήριο φυσιολογίας όπου και πραγματοποιήθηκε ξήρανση όπως ακολουθείται στην μέτρηση υγρασίας/ξηράς ουσίας. Μετά την ξήρανση δημιουργήθηκε ένα συνολικό δείγμα(όλοι οι αποξηραμένοι ιστοί του ίδιου συστήματος συμπύχθηκαν σε ένα δείγμα) άρα συνολικά είχαμε τρία δείγματα σκόνης ήπαρ.

2.4.2 Μορφομετρικά χαρακτηριστικά φυτών

Κάθε 15 ημέρες πραγματοποιούνταν και μετρήσεις μορφομετρικών χαρακτηριστικών και στα φυτά. Οι μετρήσεις τις τρεις πρώτες φορές ήταν οι ίδιες (μέρες 0, 15, 30, μέτρηση πριν την συγκομιδή) ενώ η τελευταία μέτρηση διέφερε (μέρα 45, μέτρηση συγκομιδής). Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε ζυγός ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων. Η διαδικασία που ακολουθήθηκαν ήταν η εξής:

- Μέτρηση πριν την συγκομιδή
 - Χρήση ειδικού οργάνου (skye) για την μέτρηση του PAR (Photosynthetically Active Radiation, φωτοσυνθετικά ενεργής ακτινοβολία) και καταγραφή του PAR για κάθε φυτό ξεχωριστά
 - Χρήση ειδικού οργάνου για την μέτρηση και καταγραφή της θερμοκρασίας κάθε φυτού
 - Μέτρηση και καταγραφή ύψους του υπέργειου φυτού
 - Μέτρηση και καταγραφή φύλλων
- Μέτρηση συγκομιδής
 - Χρήση ειδικού οργάνου (skye) για την μέτρηση του PAR (Photosynthetically Active Radiation, φωτοσυνθετικά ενεργής ακτινοβολία) και καταγραφή του PAR για κάθε φυτό ξεχωριστά
 - Χρήση ειδικού οργάνου για την μέτρηση και καταγραφή της θερμοκρασίας κάθε φυτού
 - Συγκομιδή φυτού
 - Αφαίρεση του τμήματος της ρίζας και τοποθέτηση της σε κωδικοποιημένο σακουλάκι
 - Μέτρηση και καταγραφή ύψους (cm) του υπέργειου φυτού
 - Συνολική μέτρηση και καταγραφή βάρους φυτού (βλαστός και φύλλα)
 - Μέτρηση και καταγραφή φύλλων (αριθμός)
 - Μέτρηση και καταγραφή μήκους (cm) και βάρους (g) βλαστού
 - Τοποθέτηση βλαστού σε κωδικοποιημένο σακουλάκι
 - Τοποθέτηση φύλλων σε κωδικοποιημένο σακουλάκι

Μετά την συγκομιδή τα σακουλάκια μεταφέροντουσαν σε φούρνο στους 80°C για 48 περίπου ώρες με σκοπό την αποξήρανση τους και την μετέπειτα καταμέτρηση τους (αποξηραμένο δείγμα για μετρήσεις και χημικές αναλύσεις).

Μετά την ξήρανση μετρήθηκαν και καταγράφηκαν τα:

- Ξηρό βάρος της ρίζας (g)
- Ξηρό βάρος φύλλων (g)
- Ξηρό βάρος βλαστού
- Ξηρό βάρος υπέργειου φυτού

2.4.3 Παράμετροι ανάπτυξης ιχθύων- Δείκτες

Για την παρατήρηση και την εκτίμηση της αύξησης των ιχθύων καθώς και την εκμετάλλευση της τροφής χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω δείκτες:

- Για την επιβίωση (%) (S-survival) χρησιμοποιήθηκε ο παρακάτω τύπος:

$$S = (\text{Τελικός αριθμός ψαριών} / \text{Αρχικός αριθμός ψαριών}) \times 100$$

- Για την απόλυτη αύξηση βάρους (WG-Weight Gain) χρησιμοποιήθηκε ο παρακάτω τύπος:

$$WG (g) = \text{Τελικό βάρος} - \text{Αρχικό βάρος}$$

- Για τον ημερήσιο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, Specific Growth Rate %)

χρησιμοποιήθηκε ο παρακάτω τύπος:

$$SGR (\%/ημέρα) = \{\ln(W_t) - \ln(W_i) / d\} \times 100, \text{ όπου}$$

$$W_t = \text{Τελικό βάρος (g)}$$

$$W_i = \text{Αρχικό βάρος (g)}$$

$$d = \text{Ημέρες}$$

Ο ημερήσιος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR %) χρησιμοποιείται για να εκφράσουμε την ημερήσια ποσοστιαία αύξηση του σωματικού βάρους του ψαριού για όλο το χρονικό διάστημα σίτισης του.

- Για τον συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR, Food Conversion Ratio) χρησιμοποιήθηκε ο παρακάτω τύπος:

$$FCR = KT / WG, \text{ όπου}$$

$$KT \text{ (g)} = \text{Προσφερόμενη τροφή}$$

$$WG \text{ (g)} = \text{Αύξηση βάρους}$$

Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR %) χρησιμοποιείται για να εκφράσουμε την ποσότητα της καταναλωθείσας τροφής σε gr (ξηρό βάρος) που απαιτείται για την αύξηση του σωματικού βάρους του ψαριού.

- Για τον σωματομετρικό δείκτη χρησιμοποιήθηκε ο ηπατοσωματικός δείκτης (Hepatosomatic index, HSI) ο οποίος εκφράζεται από την σχέση:

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

2.5 Χημικές αναλύσεις

Οι χημικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο φυσιολογίας του τμήματος. Για κάθε ανάλυση τηρήθηκε πιστά το πρωτόκολλο της. Για τα λαβράκια χρησιμοποιήθηκε ως δείγμα-ιστός το ήπαρ σε pool-sample (όλα μαζί) ανά σύστημα καθώς και τα κόπρανα που συλλέχθηκαν με την διαδικασία του σιφωνιού-κατανάλωση τροφής, για τα φυτά χρησιμοποιήθηκαν τα φύλλα τους. Πραγματοποιήθηκαν χημικές αναλύσεις και στην τροφή για να προσδιοριστεί το προφίλ της.

2.5.1 Προσδιορισμός υγρασίας/ξηρής ουσίας

Η πρώτη διαδικασία ήταν η μέθοδος προσδιορισμού της υγρασίας. Είναι σημαντικό να γίνει αυτή η διαδικασία πρώτη αφού όλες οι υπόλοιπες χημικές αναλύσεις χρειάζονται αποξηραμένο δείγμα σε σκόνη. Αρχικά το δείγμα που λήφθηκε (νωπός ιστός) τοποθετείτε σε ήδη ζυγισμένο αλουμινένιο δισκίο. Με αυτό τον λαμβάνουμε μέτρηση του καθαρού βάρους του ιστού. Έπειτα τα δισκία τοποθετούνται στον φούρνο στους 105 °C για 24 ώρες για να αποξηραθεί ο ιστός. Αφού περάσει το χρονικό διάστημα που απαιτείται για την αποξήρανση του ιστού τα δισκία τοποθετούνται στον ξηραντήρα, με σκοπό την σταθεροποίηση του βάρους, και έπειτα ζυγίζονται για την μέτρηση του τελικού βάρους τους. Οι μετρήσεις βάρους πραγματοποιήθηκαν σε ζυγό ακρίβειας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων. Το % ποσοστό της υγρασίας προκύπτει από της παρακάτω σχέσεις:

Wξηρού δείγματος (g) = W ξηρού (τελικού) δείγματος & δισκίου (g) – W δισκίου (g)

Υγρασία δείγματος (g) = Wνωπού δείγματος (g) - Wξηρού δείγματος (g)

Υγρασία (%) = (Υγρασία δείγματος / Wνωπού δείγματος) * 100

Τέλος οι ιστοί αλέστηκαν και σε μορφή σκόνης αποθηκεύτηκαν στο ψυγείο έως ότου να χρησιμοποιηθούν για τις υπόλοιπες χημικές αναλύσεις.

2.5.2 Προσδιορισμός ολικών αζωτούχων ενώσεων

Η συγκεκριμένη χημική ανάλυση πραγματοποιήθηκε για τον υπολογισμό ολικών αζωτούχων ενώσεων κατά Kjeldahl (AOAC 1995). Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην ολική μετατροπή των μορφών αζώτου της πρωτεΐνης σε αμμωνιακά άλατα.

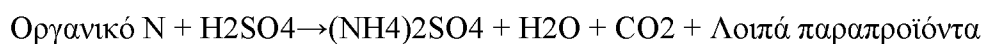
Αναπόφευκτα συνυπολογίζεται και το άζωτο άλλων αζωτούχων ενώσεων που

εμπεριέχονται στο δείγμα (μη πρωτεϊνικό άζωτο). Το πρωτεϊνικό άζωτο υπερಿಸχύει σημαντικά στη σύσταση των μυών των ιχθύων με μέση περιεκτικότητα 16,8 %. Το μη πρωτεϊνικό άζωτο, όπως το οξείδιο της τριμεθυλαμίνης (TMAO), τα αμινοξέα, τα νουκλεοτίδια, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, η κρεατίνη και η ταυρίνη, ανέρχεται σε ποσοστό μόλις 0,5-1 % () .

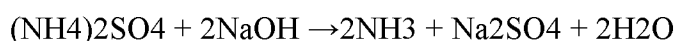
Η διαδικασία έχει 3 στάδια

1. Πέψη: σε αυτό το στάδιο πραγματοποιείται ο βρασμός του ιστού σε πυκνό θειικό οξύ με σκοπό την διάσπαση όλων των αζωτούχων ουσιών την απελευθέρωση του αζώτου και τέλος τη δέσμευσή του σε θειικό αμμώνιο. Σε αυτό το στάδιο χρησιμοποιούνται οι ειδικές φιάλες βρασμού της συσκευής Kjeldahl. Τοποθετούνται αρχικά από 2 ταμπλέτες τύπου Kjeldahl tablets (catalyst with 9% CuSO₄ – 5H₂O) της PanReac AppliChem σε κάθε φιάλη, έπειτα ρίχνουμε μέσα 0,2 g ιστού (αυτού που έχουμε σκοπό να αναλύσουμε) ο οποίος είναι όπως είπαμε και νωρίτερα αποξηραμένος και σε μορφή σκόνης. Τέλος στις φιάλες προστίθενται 15 ml πυκνού θειικού οξέος (H₂SO₄), καθαρότητας 96 %. Οι φιάλες βρασμού εισάγονταν στη συσκευή πέψεως η οποία βρίσκεται μέσα σε επαγωγό, όπου πραγματοποιείται η πέψη με θέρμανση του μείγματος για 1,5 ώρα. Η συσκευή είχε ρυθμιστεί έτσι ώστε να δουλεύει στο 100% της ισχύος της τα 5 πρώτα λεπτά, στο 55% τα επόμενα 20 λεπτά και στο 90% τα υπόλοιπα 60 λεπτά. Οι φιάλες βρασμού, μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας της χώνευσης, παρέμεναν κάτω από τον απαγωγό για περίπου 20-30 λεπτά, ώστε να ψυχθούν. Σημαντικό είναι να σημειωθεί ότι η πρώτη φιάλη παρέμενε κενή (χωρίς δείγμα) ενώ είχε όλα τα αντιδραστήρια (ταμπλέτα και H₂SO₄) όπως οι υπόλοιπες. Αυτή η κενή από δείγμα μόνο φιάλη θα

χρησιμοποιηθεί στο τέλος όλης της διαδικασίας ως συντελεστής διόρθωσης. Η χημική αντίδραση που λαμβάνει χώρα στο στάδιο αυτό είναι η παρακάτω:



2. Απόσταξη: σε αυτό το στάδιο προστίθεται βασικό διάλυμα στο όξινο διάλυμα της πέψης, γίνεται μετατροπή της αμμωνίας (NH_4) σε αμμωνιακά ιόντα (NH_3) και δέσμευση αυτών σε διάλυμα βορικού οξέος. Τοποθετείται η κάθε μία φιάλη βρασμού στην ειδική υποδοχή του μηχανήματος της απόσταξης ενώ στην διπλανή υποδοχή τοποθετείται κενή φιάλη κενή φιάλη όγκου 250 ml στην οποία έχουν ριχθεί 3 σταγόνες δείκτη ερυθρού του μεθυλίου (0,2 g methyl red διαλυμένο σε 100 ml αλκοόλης 95 %). Η συσκευή είχε ρυθμιστεί έτσι ώστε να προσθέτει 100 ml H_2O και 80 ml καυστικού νατρίου NaOH 40 % στη φιάλη βρασμού που περιείχε το δείγμα και 50 ml βορικού οξέος H_2BO_3 4% στην κενή φιάλη, όπου θα δεσμεύονταν τα αμμωνιακά ιόντα. Ο χρόνος απόσταξης του κάθε δείγματος ήταν 6 λεπτά. Οι χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στο στάδιο αυτό είναι οι ακόλουθες:



3. Τιτλοδότηση: στο τρίτο και τελευταίο στάδιο πραγματοποιείται τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,1 N HCl . Σε αυτό το στάδιο τοποθετείται φιάλη, η οποία στο προηγούμενο στάδιο βρισκόταν στην δεύτερη υποδοχή, σε μαγνητικό αναδευτήρα. Έπειτα αργά και σταθερά με τιτλοδότηση προθέεται το υδροχλωρικό οξύ μέσα στην φιάλη. Στο σημείο που το διάλυμα αλλάζει χρώμα και σταθεροποιηθεί σημαίνει ότι έχει γίνει η εξουδετέρωση άρα βρισκόμαστε στο σημείο της λήψης της μέτρησης. Το αρχικό χρώμα του

διαλύματος είναι κίτρινο, κατά την διάρκεια της τιτλοδότησης αρχίζει να γίνεται ροζ και στο τέλος είναι έντονο φούξια λόγω της παρουσίας του δείκτη που εισάχθηκε στο προηγούμενο στάδιο. Η χημική αντίδραση που λαμβάνει χώρα στο στάδιο αυτό είναι η παρακάτω: $\text{NH}_4^+ + \text{H}_2\text{BO}_3^- + \text{HCl} \rightarrow (\text{NH}_4)\text{Cl} + \text{H}_3\text{BO}_3$

Κάθε δείγμα ιστού αναλύθηκε ως εξής:

- Στα λαβράκια πραγματοποιήθηκαν 3 επαναλήψεις για κάθε σύστημα.
 - Στα φυτά δεν πραγματοποιήθηκαν περαιτέρω επαναλήψεις αφού λόγω του αριθμού φυτών που είχε κάθε σύστημα (8) θεωρήθηκαν αυτά σαν επαναλήψεις της διαδικασίας.
- Η περιεκτικότητα του δείγματος σε N (%) υπολογίστηκε από τη σχέση:
- Για την πρωτεΐνη στον ιστό των ιχθύων
- Πρωτεΐνες % = (ml HCL - ml κενού) * 0,8754 / βάρος δείγματος σε g
- Για το άζωτο στον ιστό των φυτών
- N% = (ml HCl - ml κενού) * 1,4008 * N / βάρος του δείγματος σε g

2.5.3 Προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών

Δεύτερη ανάλυση που πραγματοποιήθηκε ήταν ο προσδιορισμός ολικών λιπαρών ουσιών με την μέθοδο εκχύλισης Soxhlet (AOAC 1995). Σε αυτήν την διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν ειδικά γυάλινα δοχεία εκχύλισης στα οποία προστέθηκαν από 3 πέτρες βρασμού και καταγράφηκε το βάρος τους σε ζυγό ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων. Ακολούθησε η προσθήκη μέσα στα γυάλινα δοχεία χάρτινων ηθμών. Έπειτα έγινε προσθήκη με απόλυτη προσοχή 1 g δείγματος-ιστού (σε μορφή σκόνης) μέσα στον ηθμό και κρατήθηκε η ακριβής τιμή που φαινόταν στην ένδειξη του ζυγού. Στην συνέχεια στα γυάλινα δοχεία προστέθηκαν 140ml πετρελαϊκού αιθέρα, στον οποίο

εμβαπτίστηκαν και οι χάρτινοι ηθμοί αφού βρισκόταν μέσα στα γυάλινα δοχεία. Τα γυάλινα δοχεία εκχύλισης (με χάρτινους ηθμούς και πετρελαϊκό αιθέρα) μεταφέρθηκαν και τοποθετήθηκαν στην ειδική συσκευή εκχύλισης λιπαρών ουσιών (συσκευή Soxhlet). Κατά τη διαδικασία της εκχύλισης, τα δείγματα θερμαίνονταν στους 150 °C υπό την παρουσία του οργανικού διαλύτη, όπου έλαβε χώρα το πρώτο στάδιο της εκχύλισης. Έπειτα, ο οργανικός διαλύτης απορροφήθηκε και εκλύθηκε στο δείγμα για 1,5 ώρα, όπου έλαβε χώρα το δεύτερο στάδιο της εκχύλισης. Κατόπιν, απορροφήθηκε ο διαλύτης για 15 λεπτά με αποτέλεσμα τα ολικά λιπίδια του κάθε δείγματος να παραμείνουν στο κάτω μέρος του δοχείου εκχύλισης. Για την απομάκρυνση του πετρελαϊκού αιθέρα που πιθανά να υπάρχει στον πάτο του κάθε δοχείου τα δοχεία (χωρίς τους χάρτινους ηθμούς) μεταφέρθηκαν στο φούρνο για 15 λεπτά στους 105°C. Στην συνέχεια τοποθετήθηκαν σε επαγωγό για περίπου 10 λεπτά έως ότου δηλαδή κρυώσουν. Τέλος γινόταν η μέτρηση του βάρους του γυάλινου δοχείου μαζί με τις πέτρες.

- Η εξίσωση που δίνει τα ολικά λιπίδια του δείγματος είναι η παρακάτω:

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

Για τα λίπη του ιστού των ιχθύων

Για τα συστήματα 1,2 και 3 πραγματοποιήθηκαν 1,2 και 1 επαναλήψεις αντίστοιχα καθώς ο ιστός στα pool samples που χρησιμοποιήθηκαν δεν επαρκούσε για 3 επαναλήψεις.

Για τα λίπη-έλαια στον ιστό των φυτών

Λόγω του μεγάλου αριθμού δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκε (8 φυτά να σύστημα) θεωρήθηκαν ως επαναλήψεις οπότε το κάθε φυτό μετρήθηκε από μια φορά.

2.5.4 Προσδιορισμός ενέργειας

Στα δείγματα της τροφής πραγματοποιήθηκε και η χημική ανάλυση προσδιορισμού της ενέργειας. Για τον προσδιορισμό αυτόν έγινε χρήση θερμιδόμετρου τύπου βόμβας (ειδικό κλειστό ανοξείδωτο δοχείο όπου πραγματοποιείται η καύση). Με την πλήρη καύση του δείγματος εκλύεται θερμότητα. Αυτή η θερμότητα η οποία απελευθερώνεται από το θάλαμο καύσεως αυξάνει την θερμοκρασία του νερού θερμαίνοντας με αυτόν τον τρόπο ένα εξωτερικό δοχείο γνωστής θερμοκρασίας. Η αύξηση της θερμοκρασίας του εξωτερικού δοχείου καταγράφεται από ένα ειδικό θερμόμετρο και στην συνέχεια υπολογίζεται η θερμιδική αξία του δείγματος που θέλουμε να μετρηθεί (το οποίο κάηκε). Τα αποτελέσματα δίνονται ηλεκτρονικά σε KJ/g.

2.5.5 Προσδιορισμός τέφρας

Η διαδικασία της τέφρας ήταν η τελευταία που πραγματοποιήθηκε. Για αυτή την διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν μικρά πυρίμαχα δοχεία ικανά να αντέχουν στις πολύ υψηλές θερμοκρασίες του αποτεφρωτήρα (περίπου 600°C). Ζυγίστηκε περίπου 1 g ιστού, τοποθετήθηκε μέσα στα δοχεία τα οποία με την σειρά τους τοποθετήθηκαν στον αποτεφρωτήρα. Η διαδικασία της αποτέφρωσης διήρκησε 3 ώρες. Μετά το τέλος της αποτέφρωσης τα δοχεία αφήνονται να κρυσώσουν για 15 λεπτά περίπου σε κρύα

επιφάνεια. Τέλος μετρήθηκε το βάρος του δοχείου με το αποτεφρωμένο δείγμα. Η τέφρα (%) υπολογίζεται με τον παρακάτω τύπο.

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

Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιήθηκε μόνο στα φυτά καθώς δεν περίσσεψε δείγμα ιστού από τα ψάρια.

2.6 Στατιστική ανάλυση

Για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο IBM SPSS STATISTICS 26. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν χρησιμοποιώντας την διαδικασία της ανάλυσης διακύμανσης μονής κατεύθυνσης (one-way) ANOVA με επίπεδο σημαντικότητας 5% με σημαντικά στατιστικές διαφορές όταν $p\text{-value}, p < 0,05$. Σε κάποιες περιπτώσεις χρειάστηκε και η χρήση του μη παραμετρικού ελέγχου διατηρώντας και εδώ τις ίδιες τιμές σημαντικότητας ($p\text{-value } 5\%$). Στις στατιστικές αναλύσεις οι μετρήσεις παραθέτονται ως μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα και από δίπλα κωδικοποίηση (a, b, c) που προσδιορίζει την στατιστική διαφορά ανάμεσα στα συστήματα. Όπου δεν υπάρχει κωδικοποίηση σημαίνει ότι δεν υπάρχουν και σημαντικά στατιστικές διαφορές.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Φυσικοχημικοί και θρεπτικοί παράμετροι νερού

Στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται οι μέσοι όροι των φυσικοχημικών τιμών. Όπως βλέπουμε οι του pH κυμαίνονται από $6,26 \pm 0,03$ έως $6,93 \pm 0,59$ και οι τιμές της θερμοκρασίας κυμαίνονται από $20,73 \pm 0,09$ °C έως $20,89 \pm 0,03$ °C. Οι παραπάνω παράμετροι μαζί με το διαλυμένο οξυγόνο (από $8,30 \pm 0,09$ έως $8,67 \pm 0,09$ mg/L) δεν παρουσιάζουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των συστημάτων ($p > 0,05$). Τόσο η αγωγιμότητα (από $0,99 \pm 0,01$ mS/cm έως $1,13 \pm 0,01$ mS/cm) όσο και η αλατότητα (από $0,49 \pm 0,0003$ ppt έως $0,51 \pm 0,001$ ppt) παρουσιάζουν σημαντικά στατιστικές διαφορές μεταξύ ($p < 0,05$) τους για τους λόγους που προαναφέρθηκαν (βλ. υλικά και μεθόδους) μεταξύ όλων των συστημάτων καθώς το κάθε σύστημα λάμβανε διαφορετικές ποσότητες φρέσκου νερού από τις διαφορετικής ποσότητας αλλαγής νερού που απαιτούσε το κάθε σύστημα.

Πίνακας 2. Φυσικοχημικοί παράμετροι νερού

	M1	Δ2	M3
pH	$6,86 \pm 0,06$	$6,93 \pm 0,59$	$6,26 \pm 0,03$
T (°C)	$20,75 \pm 0,06$	$20,89 \pm 0,03$	$20,73 \pm 0,09$
O ₂ (mg/L)	$8,67 \pm 0,09$	$8,37 \pm 0,15$	$8,30 \pm 0,08$
O ₂ %	$96,51 \pm 0,85$	$93,97 \pm 1,65$	$91,65 \pm 0,38$
Αγωγιμότητα (Electrical conductivity, mS/cm)	$1,130 \pm 0,01^a$	$1,030 \pm 0,003^b$	$0,99 \pm 0,01^c$
Αλατότητα (ppt)	$0,560 \pm 0,002^a$	$0,510 \pm 0,001^b$	$0,490 \pm 0,0003^c$

Οι μετρήσεις παραθέτονται ως μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα και από δίπλα κωδικοποίηση (a, b, c) που προσδιορίζει την στατιστική διαφορά ανάμεσα στα συστήματα

Ο Πίνακας 3 αναφέρεται στους θρεπτικούς παράγοντες του νερού. Ξεκινώντας με την ολική αμμωνία στην είσοδο ($0,19 \pm 0,02$ έως $0,28 \pm 0,10$) αλλά και στην έξοδο ($0,18 \pm 0,02$ έως $0,26 \pm 0,02$) των δεξαμενών ανάπτυξης φυτών και στις τρεις

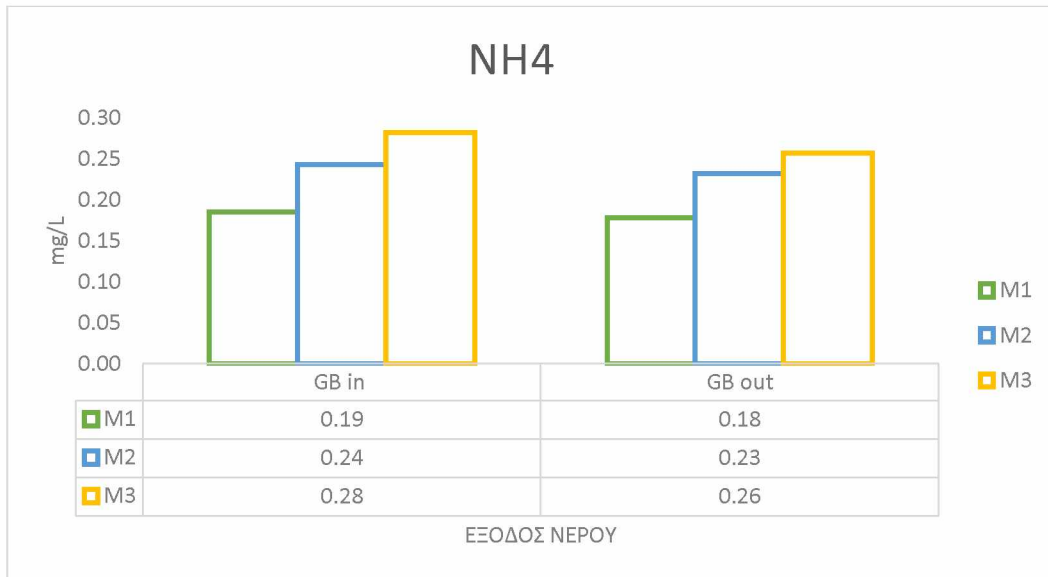
διαχειρίσεις παρατηρείται η μεγαλύτερη τιμή να βρίσκεται στο σύστημα M3 καθώς αυτή η μεταχείριση είχε και τα περισσότερα ψάρια. Το ίδιο φαίνεται και στο Σχήμα 2 όπου η μεγαλύτερη ράβδος δηλώνει το σύστημα M3. Στατιστικές διαφορές παρατηρούνται στην είσοδο της δεξαμενής ανάπτυξης φυτών και στα τρία συστήματα ενώ στην έξοδο παρατηρείται διαφορά μόνο στα συστήματα M1 και M3 ενώ το σύστημα M2 δεν παρουσιάζει διαφορές με τα άλλα δύο ($p>0,05$). Συνεχίζοντας με τα νιτρώδη παρατηρούνται μηδενικές τιμές σε όλες τις διαχειρίσεις καθώς η μέτρηση έγινε με τα χρωματομετρικά API test όπου δεν υπήρχε δεκαδικής κλίμακας τιμή πράγμα που οδήγησε σε αυτήν την ερμηνεία. Στα νιτρικά στην είσοδο παρατηρείται ότι είναι στατιστικά ίδια ($p>0,05$) τα συστήματα M2 ($275,00 \pm 11,42$) και M3 ($317,86 \pm 18,61$) ενώ στην έξοδο τα συστήματα M1 ($225,00 \pm 10,15$) και M2 ($246,43 \pm 9,76$). Αυτές οι διαφορές όπως και οι διαφορές στην αγωγιμότητα και την αλατότητα που προαναφέρθηκαν οφείλονται στις συνεχείς αλλαγές νερού που γινόντουσαν στα συστήματα με τις μεγαλύτερες ιχθυοπυκνότητες καθώς αυτά τα συστήματα χρειαζόντουσαν συχνότερη ανανέωση νερού. Τα συστήματα είχαν μεγάλη παραγωγή αμμωνίας λόγω του μεγαλύτερου αριθμού ιχθύων και της μεγαλύτερης ποσότητας τροφής που λάμβαναν. Στο Σχήμα 3 φαίνεται η μεγαλύτερη ράβδος η οποία δείχνει την μεγαλύτερη ποσότητα νιτρικών στο σύστημα M3 τόσο στην είσοδο νερού της δεξαμενής ανάπτυξης φυτών όσο και στην έξοδο της. Τέλος ελέγχοντας τις τιμές τις αμμωνίας που αναλύσαμε στο φωτόμετρο παρατηρούμε ότι υπάρχουν στατιστικές διαφορές ανάμεσα στις μεταχειρίσεις M1 και M3 παρόλα αυτά το σύστημα M2 είναι στατιστικά ίδιο και με τις άλλες δυο μεταχειρίσεις ($p>0,05$).

Πίνακας 3. Θεραπευτικοί παράμετροι νερού

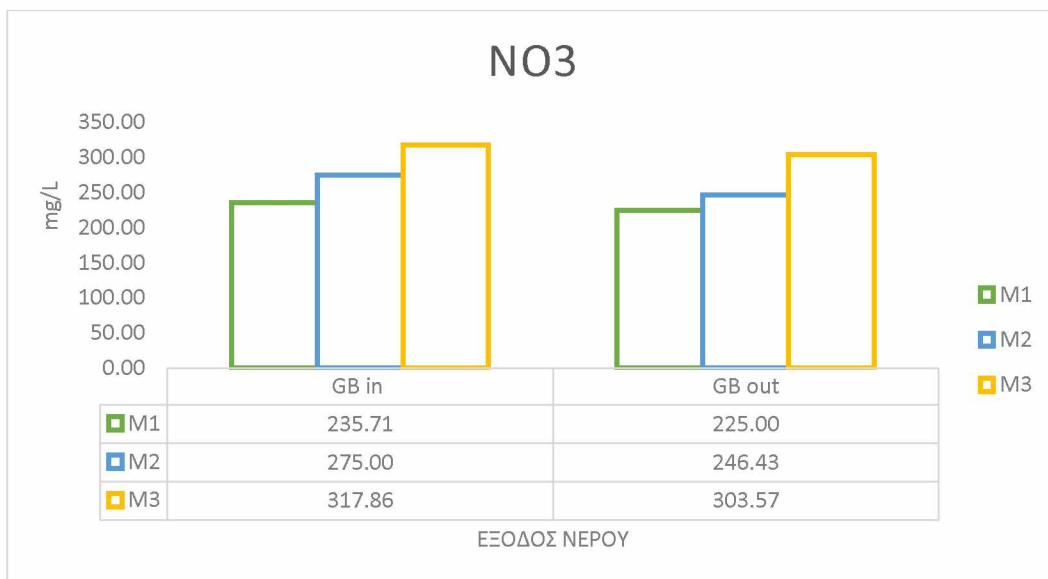
	M1	M2	M3
NH₃/NH₄⁺ (GBin)	0,19 ± 0,02 ^c	0,24 ± 0,01 ^b	0,28 ± 0,10 ^a

NH₃/NH₄⁺ (GBout)	0,18 ± 0,02 ^b	0,23 ± 0,01 ^{ab}	0,26 ± 0,02 ^a
NO₂ (in)	0	0	0
NO₂ (out)	0	0	0
NO₃ (in)	235,71 ± 11,03 ^b	275,00 ± 11,42 ^a	317,86 ± 18,61 ^a
NO₃ (out)	225,00 ± 10,15 ^b	246,43 ± 9,76 ^b	303,57 ± 19,23 ^a
NH₃ photometer	0,063 ± 0,043 ^b	0,142 ± 0,037 ^{ab}	0,245 ± 0,056 ^a

Οι μετρήσεις παραθέτονται ως μέσος όρος ± τυπικό σφάλμα και από δίπλα κωδικοποίηση (a, b, c) που προσδιορίζει την στατιστική διαφορά ανάμεσα στα συστήματα



Σχήμα 2. Αναπαράσταση ολικής αμμωνίας στα συστήματα σε σχέση με την έξοδο του νερού



Σχήμα 3. Αναπαράσταση των νιτρικών στα συστήματα σε σχέση με την έξοδο του νερού

3.2 Αναπτυξιακοί παράμετροι ιχθύων και φυτών

3.2.1 Αναπτυξιακοί παράμετροι Ιχθύων

Στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται όλα τα αναπτυξιακά δεδομένα που λήφθηκαν από τα ψάρια. Κατά την διάρκεια του πειραματικού σχεδιασμού και συγκεκριμένα κάποιες μέρες μετά την ημέρα 15 βρέθηκε ένα νεκρό ψάρι στο σύστημα M1 οπότε από τα 12 ψάρια στο σύστημα παρέμειναν 11. Το ίδιο συνέβη και στο σύστημα M3 που είχε ως αποτέλεσμα τα 24 ψάρια να γίνουν 23.

Συνεχίζοντας στο μέσο βάρος και ελέγχοντας την μέση αύξηση βάρους των ιχθύων παρατηρείτε ότι την καλύτερη ανάπτυξη την είχαν τα ψάρια του συστήματος M1 ($38,48 \pm 2,59$) που είχε και την μικρότερη ιχθυοπυκνότητα ενώ τα ψάρια του συστήματος M3 ($30,36 \pm 1,81$) με την μεγαλύτερη ιχθυοπυκνότητα παρουσίασαν την μικρότερη μέση αύξηση. Σε όλα τα συστήματα δεν παρατηρήθηκαν παρόλα αυτά σημαντικά στατιστικές διαφορές ($p > 0,05$).

Στο FCR παρατηρούνται μεγαλύτερες τιμές στην σύστημα M3 ($2,03 \pm 0,17$) και μικρότερες στο M1 ($1,75 \pm 0,13$) σε αντίθεση με τις τιμές του SGR όπου οι μεγαλύτερες τιμές βρίσκονται στο M1 ($1,40 \pm 0,06$) και οι μικρότερες στο σύστημα M3 ($1,26 \pm 0,04$). Στον ηπατοσωματικός δείκτης HIS φαίνεται ότι στο σύστημα ένα έχει την μικρότερη τιμή ενώ στο δύο και στο τρία την μεγαλύτερη. Σε κανένα σύστημα δεν παρατηρούνται στατιστικές διαφορές ($p > 0,05$).

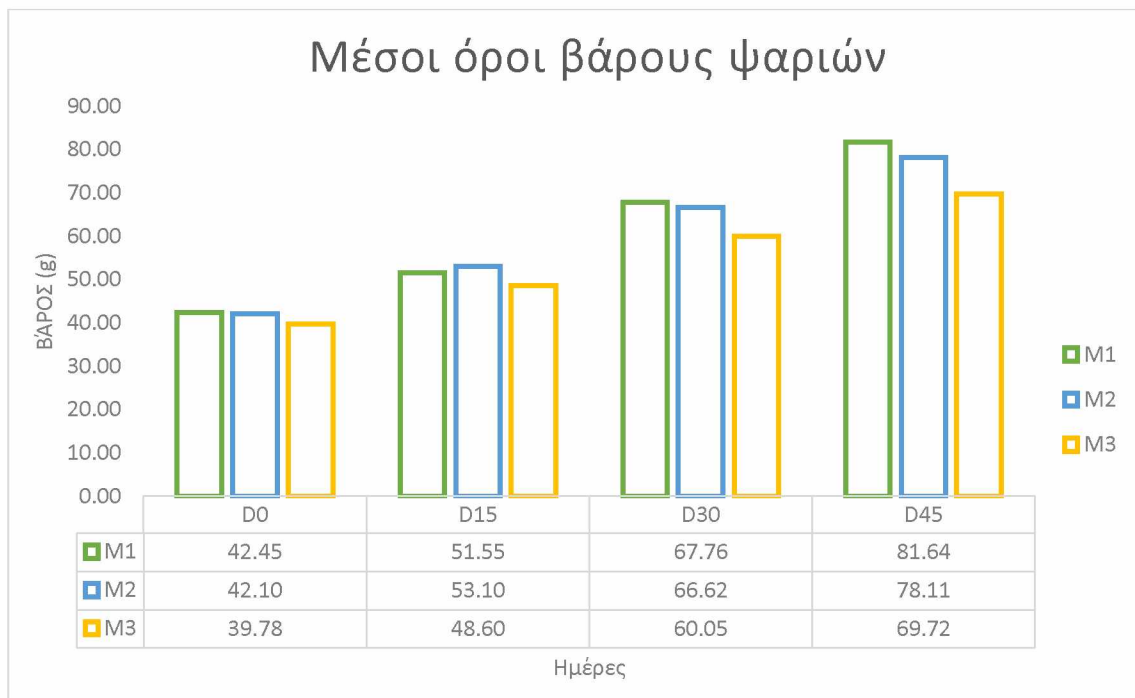
Πίνακας 4. Αναπτυξιακοί παράμετροι ψαριών και δείκτες

	M1	M2	M3
Επιβίωση (%)	91,67	100,00	95,83
Αριθμός ιχθύων	12	18	24

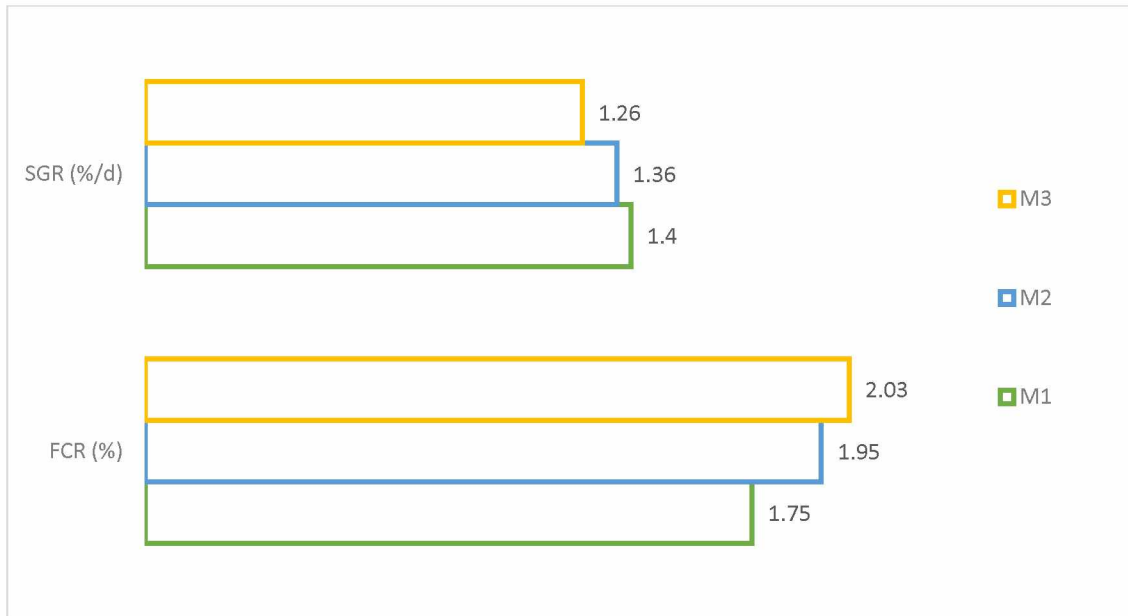
Μέσο αρχικό βάρος ιχθύων (g)	42,45 ± 2,33	42,10 ± 1,00	39,78 ± 1,80
Μέσο τελικό βάρος ιχθύων (g)	81,64 ± 4,92	78,11 ± 2,61	69,72 ± 3,47
Μέση αύξηση βάρους ιχθύων (g)	38,48 ± 2,59	36,01 ± 2,05	30,36 ± 1,81
Μέσο αρχικό μήκος (cm)	15,13 ± 0,29	15,15 ± 0,12	14,71 ± 0,24
Μέσο τελικό μήκος (cm)	18,44 ± 0,41	18,37 ± 0,18	17,74 ± 0,30
FCR (%)	1,75 ± 0,13	1,95 ± 0,24	2,03 ± 0,17
SGR (%/d)	1,40 ± 0,06	1,36 ± 0,06	1,26 ± 0,04
HIS	1,00 ± 0,24	1,23 ± 0,11	1,2 ± 0,18

Οι μετρήσεις παραθέτονται ως μέσος όρος ± τυπικό σφάλμα και από δίπλα κωδικοποίηση (a, b, c) που προσδιορίζει την στατιστική διαφορά ανάμεσα στα συστήματα

Παρατηρώντας το Σχήμα 4 φαίνεται καθαρά ότι το σύστημα με την καλύτερη ανάπτυξη καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος (μέρες 0, 15, 30, 45) είναι το σύστημα M1, αυτό δηλαδή με την μικρότερη ιχθυοπυκνότητα. Φαίνεται η λιγότερη ιχθυοπυκνότητα βοήθησε τα ψάρια να αναπτυχθούν καλύτερα αφού είχαν περισσότερο χώρο στο ενυδρείο αλλά και λιγότερη ανταγωνιστικότητα (λόγω μικρότερο αριθμό ιχθύων).



Σχήμα 4. Μέσοι όροι βάρους καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος



Σχήμα 5. Σύγκριση FCR με SGR

3.2.2 Αναπτυξιακοί παράμετροι Φυτών

Στον Πίνακα 5 αναγράφονται στοιχεία που λάβαμε από τα φυτά. Καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος και στα τρία συστήματα δεν είχαμε καμία απώλεια φυτού.

Λαμβάνοντας υπόψιν το μέσο όρο του ύψος του βλαστού κάθε συστήματος παρατηρούμε ότι το σύστημα M1 ($8,98 \pm 0,45$) και το σύστημα M3 ($8,60 \pm 0,49$) δεν εμφάνισαν σημαντικά στατιστικές διαφορές ($p > 0,05$) ενώ και τα δύο αυτά συστήματα ήταν διαφορετικά σε σχέση με το σύστημα M2 ($10,68 \pm 0,18$). Αυτό παρατηρείται και στις υπόλοιπες παρακάτω συγκρίσεις. Το σύστημα M2 εμφάνισε επίσης και τα καλύτερα αποτελέσματα όσο το νωπό ($424,94 \pm 31,28$) και ξηρό βάρος ($19,70 \pm 1,69$) φύλλων φυτού, τον αριθμό φύλλων καθώς και την συνολική παραγόμενη βιομάζα.

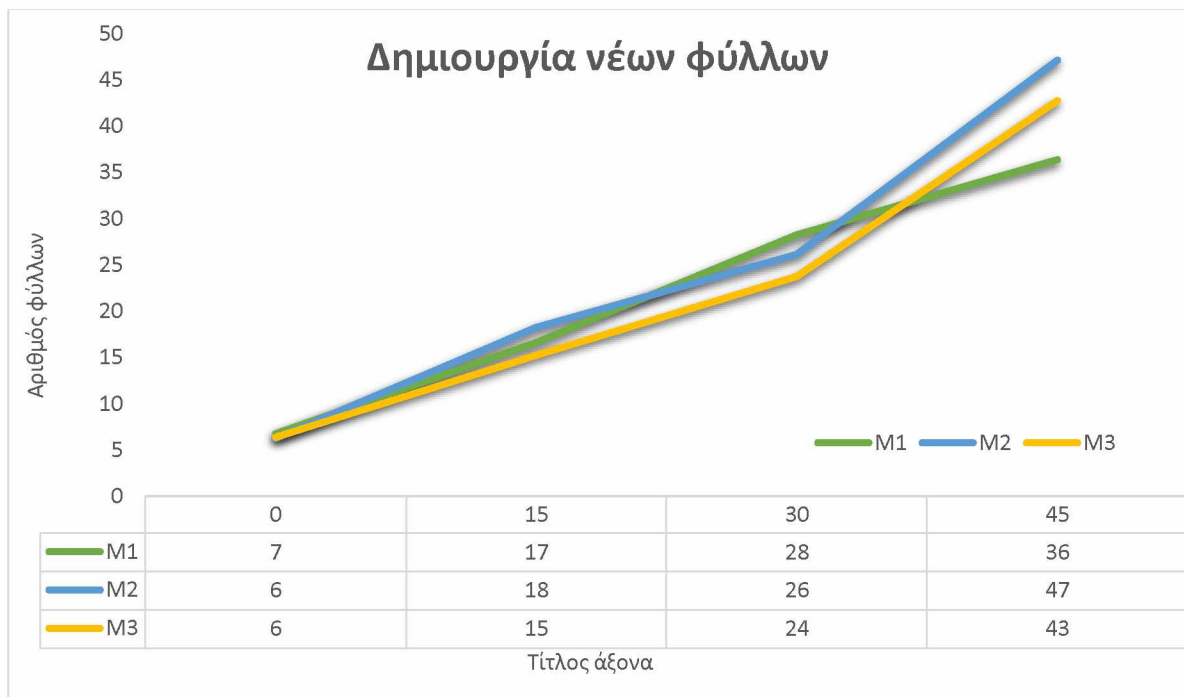
Συγκριτικά το σύστημα M2 είχε ελάχιστα καλύτερη παραγόμενη βιομάζα από το M3 με $4,09$ kg και $4,02$ kg αντίστοιχα ενώ το σύστημα M3 είχε καλύτερο ξηρό βάρος ρίζας από το M2, $2,11 \pm 0,47$ και $1,84 \pm 0,2$ αντίστοιχα.

Πίνακας 5. Αναπτυξιακοί παράμετροι φυτών

	M1	M2	M3
Επιβίωση %	100	100	100
Ύψος βλαστού (cm)	8,98 ± 0,45 ^b	10,68 ± 0,18 ^a	8,60 ± 0,49 ^b
Τελικός αριθμός φύλλων	36,38 ± 0,94 ^b	47,13 ± 1,72 ^a	42,75 ± 1,60 ^a
Νωπό βάρος φύλλων (g)	137,58 ± 7,8 ^b	424,94 ± 31,28 ^a	423,81 ± 47,66 ^a
Ξηρό βάρος φύλλων (g)	5,78 ± 0,33 ^b	19,70 ± 1,69 ^a	17,62 ± 1,74 ^a
Ξηρό βάρος ρίζας (g)	0,56 ± 0,06 ^b	1,84 ± 0,2 ^a	2,11 ± 0,47 ^a
Συνολική παραγόμενη βιομάζα φυτών (kg/m ²)	1,27	4,09	4,02

Οι μετρήσεις παραθέτονται ως μέσος όρος ± τυπικό σφάλμα και από δίπλα κωδικοποίηση (a, b, c) που προσδιορίζει την στατιστική διαφορά ανάμεσα στα συστήματα

Στο παρακάτω σχήμα παρατηρούμε ότι ενώ όλα τα συστήματα ξεκίνησαν με φυτά ίδιου αριθμού φύλλων στην πορεία του πειράματος αυτό άρχισε να διαφέρει. Το σύστημα M2 είχε φανερά την καλύτερη και την μεγαλύτερη δημιουργία φύλλων καθώς όπως φαίνεται ξεπέρασε τα δύο άλλα συστήματα.



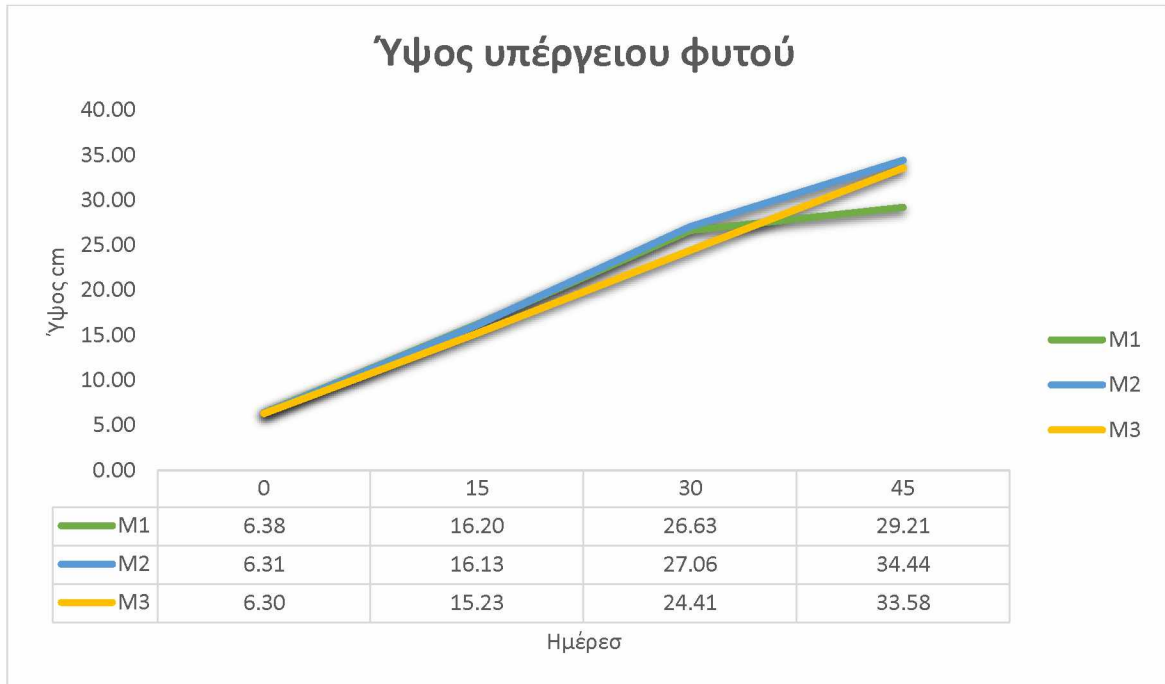
Σχήμα 6. Αναπαράσταση της δημιουργίας νέων φύλλων των φυτών σε σχέση με τις μέρες

Ως παρατήρηση αξίζει να σημειωθεί ότι και στο ύψος των φυτών υπήρχε καλύτερη ανάπτυξη στο σύστημα M2 από τα άλλα δύο δίνοντας έτσι και καλύτερες τιμές ύψους. Βέβαια οι τιμές του συστήματος M3 ήταν αρκετά κοντινές σε σχέση με το σύστημα M2. Στην τελική μέτρηση ύψους υπέργειου φυτού την ημέρα της συγκομιδής (Ημέρα 45) τα φυτά εμφάνισαν σημαντικά στατιστικές διαφορές μεταξύ τους ($p < 0,05$). Αυτό συνέβη στα φυτά του συστήματος M1 με τα άλλα δύο συστήματα καθώς τα συστήματα M2 και M3 δεν είχαν διαφορές ($p > 0,05$). Εξάλλου αυτά τα δυο συστήματα ήταν και αυτά που είχαν παρόμοια ανάπτυξη και μεγαλύτερη από το τρίτο σύστημα στο Σχήμα 7 που ακολουθεί απεικονίζεται η αύξηση του ύψους ως μέσος όρος ύψους φυτών ανά σύστημα κατά την διάρκεια των μετρήσεων σε όλο το πείραμα.

Πίνακας 6. Ύψος φυτών (cm)

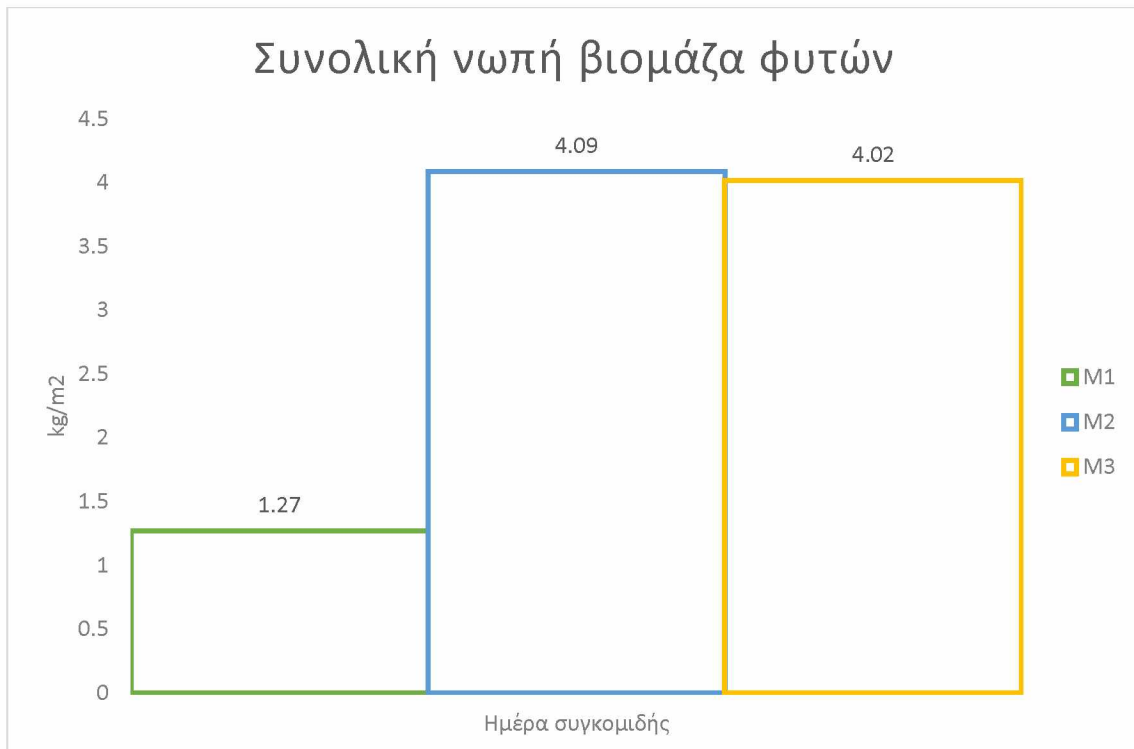
	M1	M2	M3
Ύψος φυτών Ημέρα 0	6,38 ± 0,22	6,31 ± 0,16	6,3 ± 0,19
Ύψος φυτών Ημέρα 15	16,20 ± 0,30	16,23 ± 0,26	15,23 ± 0,31
Ύψος φυτών Ημέρα 30	26,63 ± 0,34a	27,06 ± 0,24a	24,41 ± 0,51b
Ύψος φυτών Ημέρα 45	29,21 ± 0,46b	34,44 ± 1,34a	33,58 ± 0,62a

Οι μετρήσεις παραθέτονται ως μέσος όρος ± τυπικό σφάλμα και από δίπλα κωδικοποίηση (a, b, c) που προσδιορίζει την στατιστική διαφορά ανάμεσα στα συστήματα



Σχήμα 7. Αναπαράσταση ανάπτυξης φυτού ως προς το ύψος του.

Στο σχήμα 8 παρατηρείται η καλύτερη συνολική νωπή βιομάζα (σύστημα M2) σε σύγκριση με τα άλλα δύο συστήματα.



Σχήμα 8. Συνολική βιομάζα φυτών (από νωπό βάρος) την ημέρα 45 (συγκομιδή) σε kg/m²



Εικόνα 9. Απεικόνιση φυτών ημέρα 45 (σύστημα με μεσαία ιχθυοπυκνότητα M2) (προσωπικό αρχείο)



Εικόνες 10 και 11. Ρίζα και μαρούλι μετά την συγκομιδή (προσωπικό αρχείο)

3.3 Χημικές αναλύσεις

3.3.1 Χημική ανάλυση Τροφής

Η τροφή που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα προήρθε από τοπική βιομηχανία τροφών. Το προφίλ της τροφής το οποίο δίνεται από την εταιρεία αναλύθηκε ξανά στο εργαστήριο μας. Αναλύθηκαν τέσσερις παράμετροι, οι ολικές αζωτούχες ουσίες, οι ολικές λιπαρές ουσίες, η ολική τέφρα και η ενέργεια. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα δύο προφίλ τροφής με πρώτο αυτό της εταιρείας και δεύτερο αυτό με την ανάλυση από το εργαστήριο μας. Παρατηρείται μια μικρή διαφορά στις ολικές αζωτούχες ουσίες όπου η εταιρεία μας δίνει 54,8% ενώ στην δικιά μας ανάλυση προέκυψε ότι είναι $55,9 \pm 0,09 \%$, Επίσης έγινε ανάλυση ενέργειας που έδειξε ότι η ενέργεια της τροφής είναι 22 KJ

Πίνακας 7. Χημική ανάλυση προσφερόμενης τροφής από τοπική εταιρεία, INTRO Plus MT 1,5mm

ΑΝΑΛΥΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	% ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ
Ολικές αζωτούχες ουσίες	54,8
Ολικές λιπαρές ουσίες	14,8
Ολικές ινώδεις ουσίες	1,5
Ολική τέφρα	9,9
Φώσφορος	1,26
Ασβέστιο	1,7
Νάτριο	0,16

Πίνακας 8. Χημική ανάλυση προσφερόμενης τροφής μετά από δική μας ανάλυση

Τροφή	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ
Ολικές αζωτούχες ουσίες %	55,9 ± 0,09
Ολικές λιπαρές ουσίες %	14,8 ± 0,1
Ολική τέφρα %	9,8 ± 0,07
Ενέργεια (KJ/g)	22 ± 0,03

3.3.2 Χημικές αναλύσεις στα ψάρια

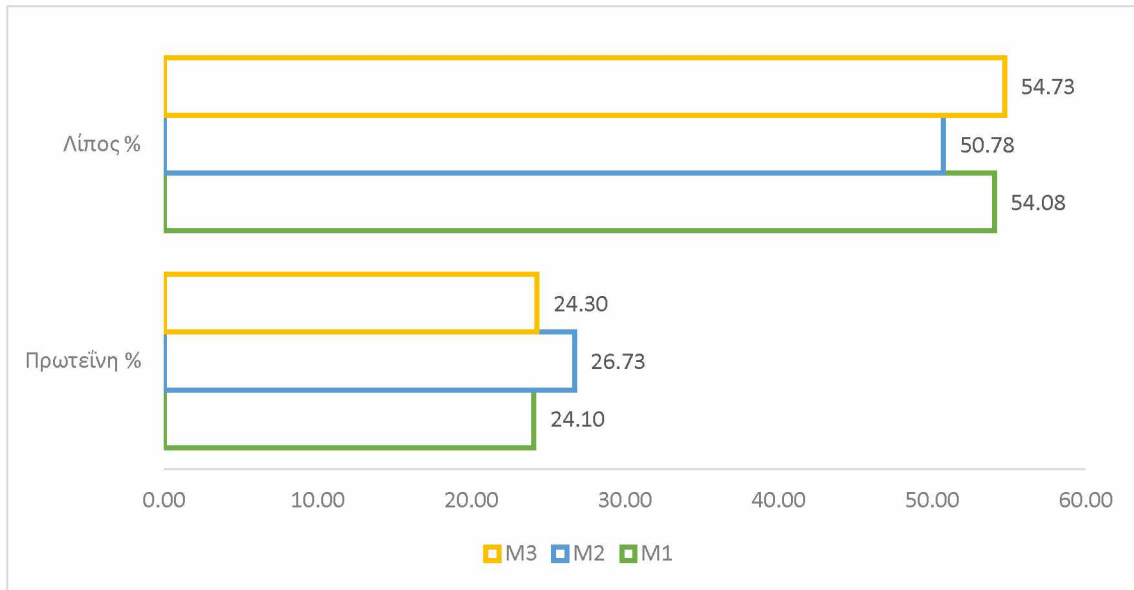
Οι χημικές αναλύσεις στα ψάρια έγιναν σε ιστό από ήπαρ ο οποίος πάρθηκε από τα ψάρια την τελευταία μέρα του πειράματος. Οι αναλύσεις που έγιναν ήταν ολικών αζωτούχων ουσιών, στην συγκεκριμένη περίπτωση πρωτεΐνης και ολικών λιπαρών ουσιών. Το δείγμα από το ήπαρ που πάρθηκε αποξηράθηκε (λαμβάνοντας τα ποσοστά υγρασίας του) και επεξεργάστηκε με σκοπό να μετατραπεί σε σκόνη. Η αρχική ποσότητα δείγματος που πάρθηκε για το κάθε σύστημα ήταν για το M1 3,97g, για το M2 5,31g και για το M3 4,72g. Μετά την ξήρανση βρέθηκαν τα παρακάτω ποσοστά υγρασίας για το κάθε σύστημα με 52,69 % ± 1,47, 56,40 % ± 1,39 και 56,07 % ± 2,38 για τα M1, M2 και M3 αντίστοιχα δίνοντας έτσι καθαρή ξηρή ουσία στο καθένα από 1,88g, 2,30g και 2,14g αντίστοιχα. Το δείγμα σε σκόνη δεν επαρκούσε για την διεκπεραίωση τριών επαναλήψεων και για τις δύο αναλύσεις, καθώς υπήρχαν και

απώλειες δείγματος μέχρι την τελική τους χρήση, πράγμα που οδήγησε σε μικρότερα σετ επαναλήψεων. Αναλυτικότερα για την πρωτεΐνη πραγματοποιήθηκαν τρία σετ επαναλήψεων για κάθε σύστημα ενώ για το λίπος μία επανάληψη για το σύστημα M1, δύο επαναλήψεις για το M2 και μία επανάληψη για το σύστημα M3. Στα πίνακα 9 και στο σχήμα 9 παρατηρούνται αυτές οι αναλύσεις. Μεταξύ των συστημάτων παρατηρούνται σημαντικά στατιστικές διαφορές ανάμεσα στο ποσοστό πρωτεΐνης του συστήματος M2 με τα άλλα δύο συστήματα ($p < 0,05$). Αυτό οφείλεται στο ότι το ήπαρ αυτών των ψαριών είχε μεγαλύτερα ποσοστά πρωτεΐνης απ' ό,τι τα άλλα δύο όπως ακριβώς φαίνεται και στο σχήμα 9. Παρόλα αυτά το συγκεκριμένο σύστημα εμφάνισε μικρότερο ποσοστό σε λίπος απ' ό,τι τα άλλα δύο.

Πίνακας 9. Ποσοστά υγρασίας, πρωτεΐνης και λίπους στα δείγματα από τον ιστό του ήπαρ των ψαριών

	M1	M2	M3
Υγρασία %	52,69 ± 1,47	56,40 ± 1,39	56,07 ± 2,38
Πρωτεΐνη %	24,10 ± 0,15 ^b	26,73 ± 0,35 ^a	24,30 ± 0,12 ^b
Λίπος %	54,08	50,78 ± 0,32	54,73

Οι μετρήσεις παραθέτονται ως μέσος όρος ± τυπικό σφάλμα και από δίπλα κωδικοποίηση (a, b, c) που προσδιορίζει την στατιστική διαφορά ανάμεσα στα συστήματα



Σχήμα 9. Σύγκριση πρωτεΐνης και λίπους από δείγμα του ήπαρ των ψαριών ανάμεσα στα συστήματα

3.3.3 Χημικές αναλύσεις στα περιττώματα των ψαριών

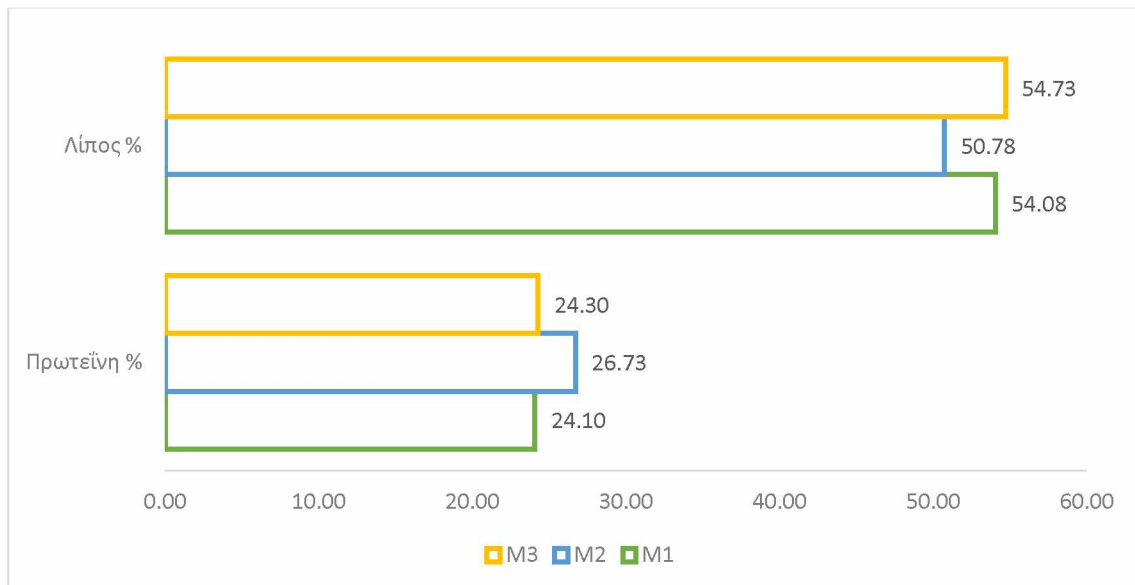
Καθημερινά μετά την διαδικασία της κατανάλωσης τροφής αποξηραινόνταν ότι υπόλειμμα περιττωμάτων παρέμενε στον πυθμένα των ενυδρείων. Τα ποσοστά υγρασίας των κοπράνων ήταν αρκετά μεγάλα και έφταναν έως το $98,59\% \pm 0,1$, $98,11\% \pm 0,04$ και $97,48\% \pm 0,15$ στα συστήματα M1, M2 και M3 αντίστοιχα. Η καθαρή ποσότητα ξηρής ουσίας που έμεινε συνολικά για όλες τις μέρες του πειράματος ήταν 83,03g για το σύστημα M1, 101,36g για το M2 και 138,82g για το M3. Αυτήν η ποσότητα μετατράπηκε σε σκόνη και χρησιμοποιήθηκε για αναλύσεις πρωτεΐνης και λίπους τα αποτελέσματα των οποίων αναγράφονται στον πίνακα 10 και στο σχήμα 10. Καμία από τις δύο αναλύσεις δεν έδειξαν στατιστικές διαφορές ανάμεσα στα συστήματα ($p > 0,05$). Στο σχέδιο 10 φαίνεται καθαρά η διαφορά στα ποσοστά τόσο της

πρωτεΐνης όσο και στο λίπος με το σύστημα M2 ($10,67 \pm 0,28$) να κατέχει το μεγαλύτερο ποσοστό όσον αφορά το λίπος ενώ το όσον αφορά την πρωτεΐνη το μεγαλύτερο ποσοστό το έχουν τα περιττώματα του συστήματος M3 ($55,78 \pm 0,39$).

Πίνακας 10. Ποσοστά υγρασίας, πρωτεΐνης και λίπους στα δείγματα περιττωμάτων ψαριών

	M1	M2	M3
Υγρασία %	$98,59 \pm 0,1$	$98,11 \pm 0,04$	$97,48 \pm 0,15$
Πρωτεΐνη %	$51,72 \pm 1,41$	$52,75 \pm 1,51$	$55,78 \pm 0,39$
Λίπος %	$10,04 \pm 0,63$	$10,67 \pm 0,28$	$10,39 \pm 0,37$

Οι μετρήσεις παραθέτονται ως μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα και από δίπλα κωδικοποίηση (a, b, c) που προσδιορίζει την στατιστική διαφορά ανάμεσα στα συστήματα



Σχήμα 10. Σύγκριση πρωτεΐνης και λίπους από δείγμα περιττωμάτων ανάμεσα στα συστήματα

3.3.4 Χημικές αναλύσεις φυτών

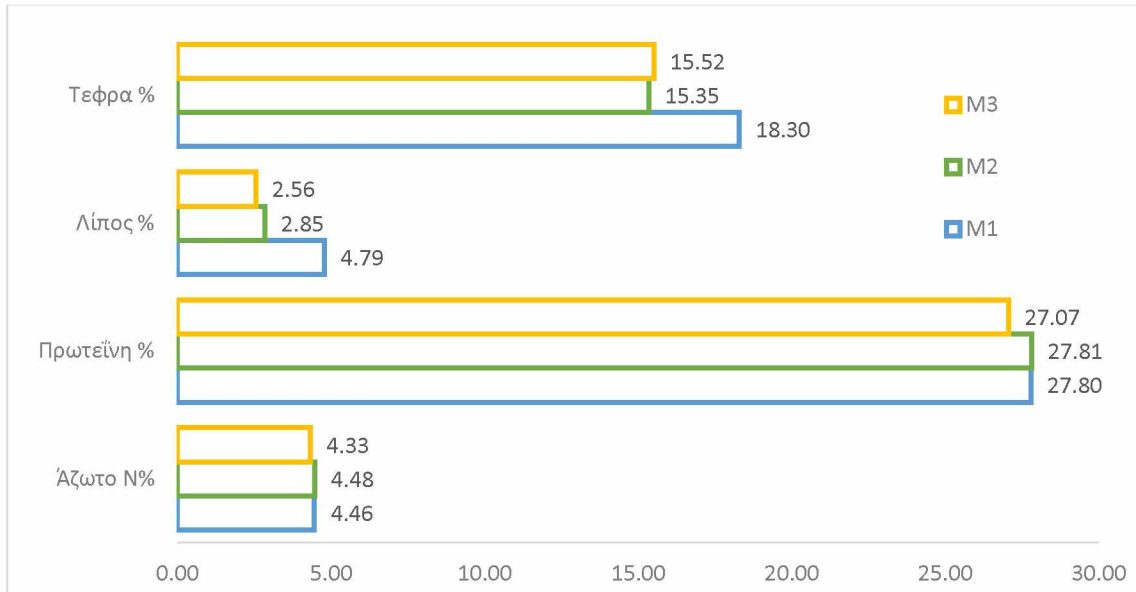
Στις αναλύσεις που έγιναν με την χρήση αποξηραμένων φυτών φαίνεται ότι στις δύο πρώτες αναλύσεις (ολικών αζωτούχων ουσιών) τα δείγματα δεν εμφανίζουν σημαντικά στατιστικές διαφορές μεταξύ των συστημάτων ($p > 0,05$). Η μεγαλύτερη τιμή και αζώτου και πρωτεΐνης εμφανίζεται στο σύστημα M2 ($4,48 \pm 0,08$ και $27,81 \pm 0,5$

αντίστοιχα) ενώ η χαμηλότερη στο σύστημα M3 ($4,33 \pm 0,1$ και $27,07 \pm 0,06$ αντίστοιχα). Το σύστημα M2 και M3 φαίνεται να έχουν αρκετά κοντινές τιμές πράγμα που φαινόταν και τις τελευταίες μέρες του πειράματος καθώς αυτά τα δύο συστήματα είχαν αρκετά ίδια οπτικά ανάπτυξη. Και στα δύο αυτά συστήματα τα μαρούλια ήταν μεγάλα, με έντονο πράσινο χρωματισμό και ήταν αρκετά ψηλά. Όσο αφορά το λίπος και την τέφρα εδώ παρατηρούμε σημαντικά στατιστικές διαφορές οι οποίες βρίσκονται ανάμεσα στο σύστημα M1 με τα άλλα δύο συστήματα ($p < 0,05$) καθώς τα συστήματα M2 και M3 μεταξύ τους δεν εμφανίζουν διαφορές ($p > 0,05$). Οι μεγαλύτερες τιμές λίπους και τέφρας εμφανίζονται στο σύστημα M1 ($4,79 \pm 0,05$ και $18,30 \pm 0,51$) με αρκετά μεγάλη διαφορά σε σχέση με τα άλλα δυο.

Πίνακας 11. Περιεκτικότητα συστατικών που απορρόφησαν τα μαρούλια

	M1	M2	M3
Άζωτο N %	$4,46 \pm 0,09$	$4,48 \pm 0,08$	$4,33 \pm 0,1$
Πρωτεΐνη %	$27,79 \pm 0,56$	$27,81 \pm 0,5$	$27,07 \pm 0,06$
Λίπος %	$4,79 \pm 0,05^a$	$2,85 \pm 0,09^b$	$2,56 \pm 0,15^b$
Τέφρα	$18,30 \pm 0,51^a$	$15,35 \pm 0,63^b$	$15,52 \pm 0,19^b$

Οι μετρήσεις παραθέτονται ως μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα και από δίπλα κωδικοποίηση (a, b, c) που προσδιορίζει την στατιστική διαφορά ανάμεσα στα συστήματα



Σχήμα 11. Σύγκριση μεταξύ ολικών αζωτούχων ουσιών (άζωτο και πρωτεΐνη) ,λίπους και τέφρας από δείγματα φυτών ανάμεσα στα συστήματα.

4. Συζήτηση

Η ενυδρειοπονία είναι ένας ταχύτατα αναπτυσσόμενος κλάδος ο οποίος συνδυάζει μια διπλή είδους καλλιέργεια μεταξύ ιχθύων και φυτών. Στην παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία ερευνήθηκε η επιρροή της ανάπτυξης του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) στην αύξηση του καθώς και στην ανάπτυξη του φυτού *Lactusa sativa*, κοινό σε όλους μαρούλι, σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας. Το πείραμα διεξάχθηκε σε τρία διαφορετικά συστήματα αποτελούμενα από τρία ενυδρεία και ένα κρεβάτι ανάπτυξης φυτών. Χρησιμοποιήθηκαν 56 λαβράκια τα οποία ταΐζονταν 5 % του σωματικού τους βάρους και 24 μαρούλια συνολικά. Στόχος ήταν η παρακολούθηση της παράλληλης ανάπτυξης των ψαριών και των φυτών σε αυτά τα συστήματα αλλά και η παράλληλη ενίσχυση της βιβλιογραφίας πάνω στον τομέα της ενυδρειοπονίας.

4.1 Φυσικοχημικοί και θρεπτικοί παράμετροι νερού

Κατά την διάρκεια του πειράματος οι τιμές των φυσικοχημικών παραμέτρων και κυρίως της θερμοκρασίας, του pH και του διαλυμένου οξυγόνου διατηρήθηκαν σε σταθερά πλαίσια. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι οι παράμετροι του νερού πρέπει να παραμένουν σταθεροί καθώς είναι σημαντικοί για την ανάπτυξη των ψαριών, όπως και των φυτών. Ο Harmon (2009) αναφέρει ότι η ποιότητα του νερού επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη και την αύξηση των ψαριών. Η θερμοκρασία στο παρόν πείραμα διατηρήθηκε στους 20,7-20,9 °C. Τα θερμοκρασιακά πλαίσια για καλύτερη ανάπτυξη λαβρακιού καθώς και για την ιδανικότερη αξιοποίηση της τροφής για το λαβράκι είναι 19 -22 °C (Zanuy & Carrillo, 1985) συνεπάγοντας ότι τα λαβράκια του πειράματος

αναπτύχθηκαν στις κατάλληλες για αυτά θερμοκρασίες. Αυτό το θερμοκρασιακό πλαίσιο είναι κατάλληλο όμως και για την ανάπτυξη των φυτών πράγμα που δεν πρέπει να παραμελείτε καθώς μιλάμε για διπλή καλλιέργεια οργανισμών. Σε ενυδρειοπονικά συστήματα όπως αναφέρουν οι Ceroci & Fitzsimmons (2016) οι σταθερές τιμές pH (6,5-7,2), στα πλαίσια που ακολουθήθηκαν και στον παρόν πειραματικό σχεδιασμό, είναι οι κατάλληλες συνθήκες για την πραγματοποίηση της διαδικασίας της νιτροποίησης, της διαδικασίας δηλαδή μετατροπής της ολικής αμμωνίας σε νιτρικά ιόντα (την «τροφή» δηλαδή των φυτών), καθώς και στην δημιουργία των κατάλληλων συνθηκών για την ανάπτυξη τόσο των ιχθύων όσο και των φυτών (Tyson et al. 2004). Σύμφωνα με τους Biswas et al. (2010) τα κατάλληλα επίπεδα οξυγόνου για το λαβράκι είναι 7-8 mg/L. Τα κατάλληλα από την άλλη επίπεδα για τα φυτά και κυρίως για τις ρίζες των φυτών φαίνεται να είναι πάνω από 5 mg/L (Rakocy et al. 2006). Και οι δύο παραπάνω εργασίες τοποθετούν την παρούσα μελέτη στα σωστά πλαίσια τιμών οξυγόνου τόσο για την ανάπτυξη του φυτού όσο και για την ανάπτυξη των ιχθύων.

Οι θρεπτικοί παράμετροι που καταγράφηκαν σε αυτό το πείραμα έδειξαν ότι ένα από τα τρία συστήματα έδωσε υψηλότερες τιμές ολικής αμμωνίας και νιτρικών απ' ότι τα άλλα δύο. Το σύστημα με την μεγαλύτερη ιχθυοπυκνότητα (M3) αποφέρει και μεγαλύτερες τιμές ολικής αμμωνίας και νιτρικών καθώς λόγω των περισσότερων ιχθύων λάμβανε και μεγαλύτερες ποσότητες τροφής απ' ότι τα άλλα δύο. Οι Rahmatullah et al. (2010), Al-Tawaha et al. (2021) και Ani et al (2021) σε έρευνες τους παρατήρησαν ότι με την αύξηση της τροφής υπάρχει και ταυτόχρονη αύξηση των θρεπτικών, ολικής αμμωνίας και νιτρικών. Η αυξημένη δόση τροφής στο συγκεκριμένο σύστημα οδήγησε και σε πτώση του pH. Ίδια ακριβώς παρατήρηση έγινε και σε άλλες έρευνες οι οποίες σε συστήματα όπου μεγάλωνε η ιχθυοπυκνότητα σημειώνονταν και απότομη πτώση του

pH (Goddek et al. 2015, Kloas et al. 2015). Για την διατήρηση σε σταθερές τιμές των φυσικοχημικών παραμέτρων έπρεπε να γίνεται τακτική αλλαγή νερού στο σύστημα και συμπλήρωσή του με καθαρό νερό. Αυτήν η διαδικασία αφαιρούσε ένα ποσοστό ολικής αμμωνίας (τοξική για τους ιχθύες σε μεγάλες τιμές) αλλά και μία ποσότητα νιτρικών χρήσιμα για την ανάπτυξη των φυτών. Τα φυτά στο σύστημα M3 παρόλο που είχαν και τα περισσότερα νιτρικά (ακόμα και μετά τις μεγάλες αλλαγές νερού) δεν είχαν την καλύτερη ανάπτυξη φυτών. Η μεγαλύτερη ανάπτυξη παρατηρείται στο σύστημα M2, το οποίο είχε και την αμέσως μικρότερη ιχθυοπυκνότητα. Αυτήν η διαφορά πιθανών να οφείλεται σε μη σωστή απορρόφηση των άφθονων νιτρικών που είχε το σύστημα M3 καθώς τα φυτά λόγω της συχνής αλλαγής σε φρέσκο νερό δεν προλάβαιναν να απορροφήσουν τα επαρκή για την ανάπτυξη τους θρεπτικά, όπως γινόταν στο σύστημα M2 που δεν πραγματοποιούνταν τόσες συχνές αλλαγές νερού.

4.2 Αναπτυξιακοί παράμετροι ιχθύων

Ξεκινώντας με την επιβίωση των ψαριών σε αυτό το πείραμα παρατηρήθηκαν δύο θάνατοι κατά την διάρκεια των 45 ημερών. Και οι δύο έγιναν κάποιες ημέρες μετά το ζύγισμα και την καταμέτρησή τους της ημέρας 15. Σε παρακολούθηση και των δύο ιχθύων φάνηκε να είναι στρεσαρισμένα (με διαφορετικούς χρωματισμούς και με χαμηλότερη όρεξη για σίτιση) παρόλο που τα υπόλοιπα ψάρια του ενυδρείου τους, τα οποία υπέστησαν την ίδια διαδικασία με αυτά, επέστρεψαν στους φυσιολογικούς τους ρυθμούς. Σε εργασία των Jesús Ortuño et al. (2002) σε μεγάλους πληθυσμούς τσιπούρας όπου χρησιμοποιήθηκε αναισθητικό για να ηρεμήσουν και να μειώσουν τα επίπεδα στρες που προκαλούνταν εξαιτίας του υπερπληθυσμού, παρατηρήθηκε ότι το

ίδιο το αναισθητικό στρέσαρε ακόμα περισσότερο τους οργανισμούς. Λαμβάνοντας υπόψιν την παραπάνω εργασία είναι πολύ πιθανό αυτά τα δύο ψάρια, τα οποία βρέθηκαν νεκρά λίγες μέρες μετά την χρήση σε αυτά αναισθητικό για το ζύγισμα, να οδηγήθηκαν στον θάνατο εξαιτίας του επιπλέον παράγοντα στρες που έδωσε το αναισθητικό.

Η συχνότητα ταΐσματος είναι αντίστοιχα μία σημαντική παράμετρος για την ανάπτυξη του ψαριού. Στον πειραματικό σχεδιασμό που ακολουθήθηκε τα λαβράκια ταΐζόντουσαν τρεις φορές την ημέρα. Οι Güroy et al. (2013) όπως και οι Kousoulaki et al. (2015) αναφέρουν ότι η καλύτερη ανάπτυξη του λαβρακιού συναντάται όταν ταΐζεται μία με τρεις φορές την ημέρα.

Τα ψάρια στο συγκεκριμένο πείραμα εμφάνισαν καλύτερη ανάπτυξη όσο αφορά το τελικό βάρος ($81,64 \text{ g} \pm 4,92$), τελικό μήκος ($18,44 \text{ cm} \pm 0,41$), αύξηση βάρους ($38,64 \text{ g} \pm 2,59$) καθώς και τον ημερήσιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης SGR (%/d) ($1,40 \pm 0,06$) στο σύστημα με την μικρότερη ιχθυοπυκνότητα (M1). Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής FCR ($2,03 \pm 0,17$) από την άλλη παρουσίασε μεγαλύτερη αύξηση στα ψάρια με την μεγαλύτερη ιχθυοπυκνότητα (M3). Αυτό είναι λογικό αφού στο συγκεκριμένο σύστημα χορηγούνταν και περισσότερη τροφή. Οι Ani et al. (2021) σε πείραμα με τιλάπιες (*Oreochromis niloticus*) διαφορετικών ιχθυοπυκνοτήτων παρατήρησαν παρόμοια καλύτερη αύξηση στα ψάρια με την μικρότερη τους ιχθυοπυκνότητα σε σχέση με τις μεγαλύτερες καθώς και πιο γρήγορη ανάπτυξη. Το SGR της παραπάνω έρευνας παρατηρήθηκε ότι συμφωνεί με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης όπως και σε άλλες παρόμοιες (Palm et al. (2014) σε έρευνα με αφρικάνικο γατόψαρο (*Clarias gariepinus*) και τιλάπια (*Oreochromis niloticus*). Αναλύοντας τα αποτελέσματα παρατηρήθηκε ότι στις παραπάνω μεταβλητές δεν

βρέθηκε καμία στατιστική διαφορά. Και άλλες έρευνες όπως των Hayat et al. (2018) καθώς και των Maucieri et al (2019) (σε ενυδρειοπονικά συστήματα) παρατηρήθηκαν αντίστοιχα αποτελέσματα FCR και SGR μεταξύ των διαφορετικών ιχθυοπυκνοτήτων σε ανατρεφόμενα ψάρια ενώ αντίθετα αποτελέσματα βρέθηκαν σε έρευνα των Tran et al. (2019). Όπως αναφέρει ο Tomo et al. (2018) σε επίπεδα με υψηλά νιτρικά παρατηρείται και αύξηση του ηπατοσωματικού και μείωση της ανάπτυξης των ιχθύων. Η παρούσα εργασία συμφωνεί αφού η μεγαλύτερες τιμές HIS βρίσκονται στα συστήματα με τα περισσότερα νιτρικά όπου παρατηρείται και η μικρότερη ανάπτυξη ιχθύων.

Σε πείραμα με ιχθυοπυκνότητες σε τιλάπια και μαρούλι ο Mohamed Abdelrahman (2018) έδειξε ότι στην μικρότερη ιχθυοπυκνότητα τα ψάρια είχαν μεγαλύτερα ποσοστά λίπους και υγρασίας ενώ όσο αφορά τα ποσοστά πρωτεΐνης και τέφρας δεν παρατηρήθηκαν διαφορές ανάμεσα στα συστήματα. Στην παρούσα έρευνα τα ποσοστά λίπους και υγρασίας δεν έδειξαν διαφορές ανάμεσα στα συστήματα ($p > 0,05$) με τις διαφορετικές ιχθυοπυκνότητες παρόλα αυτά το σύστημα M2 έδειξε τα καλύτερα ποσοστά πρωτεΐνης σε σχέση με τα άλλα δυο.

4.3 Αναπτυξιακοί παράμετροι φυτών

Η ιχθυοπυκνότητα είναι ένας από τους μεγαλύτερους παράγοντες ανάπτυξης των φυτών. Σε πολλές έρευνες παρατηρείται ότι η μικρότερες ιχθυοπυκνότητες είναι και αυτές με τις μεγαλύτερες και καλύτερες παραγωγές φυτών (Mauceri et al. 2019, Al Tawaha et al. 2021). Παρατηρώντας την ανάπτυξη των φυτών στην παρούσα μελέτη φαίνεται ότι παρόλο που το σύστημα M3 με την μεγαλύτερη ιχθυοπυκνότητα το οποίο είχε και την μεγαλύτερη παραγωγή θρεπτικών στοιχείων χρήσιμα για την ανάπτυξη των φυτών δεν ήταν αυτό το οποίο έδωσε την δυνατότητα για καλύτερη ανάπτυξη φυτών.

Παρόλο αυτά δεν ήταν και το σύστημα με την μικρότερη ιχθυοπυκνότητα όπως αναφέρουν οι προηγούμενες έρευνες καθώς το σύστημα M3 και το σύστημα M2 (μεσαία ιχθυοπυκνότητα) ήταν αυτά με τις μεγαλύτερες ιχθυοπυκνότητες του πειράματος και αυτά τα οποία έδωσαν τα καλύτερα αποτελέσματα όσο αφορά τα φυτά με πρώτο το σύστημα M2. Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα σε αυτό το σύστημα πραγματοποιούνταν μεγάλες αλλαγές νερού. Οι Delaide et al (2017) αναφέρουν ότι ακόμα και η μικρότερη αλλαγή νερού μπορεί να αποφέρει μεγάλη απώλεια θρεπτικών. Έτσι πιθανά να εξηγείτε η παρατήρηση της μικρότερης παραγωγής σε αυτό το σύστημα. Τα φυτά σε αυτά τα συστήματα δεν είχαν ελλιπής ποσότητες νιτρικών αλλά αντιθέτως βρισκόντουσαν στο παραπάνω από το πλαίσιο των απαραίτητων νιτρικών που χρειάζονται τα μαρούλια για να αναπτυχθούν σωστά, 116,42 mg/L με 185,93 mg/L όπως έχουν αναφέρει οι Rakocy et al. (2006), δίνοντας τους την δυνατότητα όσο μεγαλύτερης αξιοποίησης θρεπτικών τα ίδια τα φυτά απαιτούν.

Τα μαρούλια της μελέτης αυτής δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσο αφορά τα ποσοστά πρωτεΐνης και αζώτου αφού με μικρή διαφορά το σύστημα M2 (μεσαία ιχθυοπυκνότητα ψαριών) είχε τα καλύτερα ποσοστά. Το λίπος και η τέφρα παρουσίασαν διαφορές μεταξύ των συστημάτων και κυρίως του συστήματος M1 (μικρή ιχθυοπυκνότητα ψαριών) με τα άλλα δύο συστήματα δίνοντας μεγαλύτερα ποσοστά λίπους αλλά και τέφρας. Στην έρευνα του Mohamed Abdelrahman (2018) που προαναφέρθηκε έδειξε ότι στα φυτά του δεν υπήρχε καμία διαφορά ανάμεσα στα συστήματα ($p > 0,05$) όσο αφορά τις χημικές του αναλύσεις παρόλα αυτά η καλύτερη ανάπτυξη φυτών ήταν αυτή με την μεγαλύτερη ιχθυοπυκνότητα ψαριών.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να μελετηθεί η επίδραση της διαφορετικής ιχθυοπυκνότητας του λαβρακιού στην ανάπτυξη του καθώς και η επίδρασή του στην ανάπτυξη μαρουλιών σε συστήματα ενυδρείοπονίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι:

- Η καλύτερη ανάπτυξη ψαριών όσο αφορά την αύξηση βάρους παρουσιάστηκε στο σύστημα με την μικρότερη ιχθυοπυκνότητα
- Το καλύτερο FCR δόθηκε από την στο σύστημα με την μεγαλύτερη ιχθυοπυκνότητα ενώ το καλύτερο SGR από την μικρότερη
- Τα καλύτερα αποτελέσματα πρωτεΐνης δόθηκαν από το σύστημα με την μεσαία ιχθυοπυκνότητα ενώ λίπους από την μεγαλύτερη
- Τα καλύτερα αποτελέσματα μαρουλιών δόθηκαν από το σύστημα με την μεσαία ιχθυοπυκνότητα ακολουθούμενο από την μεγαλύτερη και έπειτα από την μικρότερη
- Η πρωτεΐνη και το άζωτο στα μαρούλια δεν είχαν διαφορές ανάμεσα στα συστήματα ενώ το σύστημα με την μικρότερη ιχθυοπυκνότητα έδωσε καλύτερα ποσοστά λίπους και τέφρας

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

6.1 Αγγλική βιβλιογραφία

Ani J.S., Manyala J.O., Masese F.O., Fitzsimmons K. (2021) Effect of stocking density on growth performance of monosex Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the aquaponic system integrated with lettuce (*Lactuca sativa*). Aquaculture and Fisheries. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.03.002>

Adler, P. R., Harper, J. K., Wade, E. M., Takeda, F., & Summerfelt, S. T. (2000). Economic analysis of an aquaponic system for the integrated production of rainbow trout and plants. International Journal of Recirculating Aquaculture, 1(1), 16 - 34.

Al-Tawaha A.R.M., Wahab P.E.M, Jaafar H.B., Zuan A.T.K., Hassan M.Z (2021). Effects of Fish Stocking Density on Water Quality, Growth Performance of Tilapia and Yield of Butterhead Lettuce Grown in Decoupled Recirculation Aquaponic Systems. Journal of Ecological Engineering. Volume 22, Issue 1, January 2021, pages 8–19 <https://doi.org/10.12911/22998993/128692>

Biswas G, Thirunavukkarasu AR, Sundaray JK, Kailasam M. 2010. Optimization of feeding frequency of Asian seabass (*Lates calcarifer*) fry reared in net cages under brackish water environment. Aquaculture 305(1–4):26-31

- Blidariu F. & Grozea A. (2011). Increasing the Economical Efficiency and Sustainability of Indoor Fish Farming by Means of Aquaponics – Review, *Animal Science and Biotechnologies*, 44(2): 1-8
- Bohl M. (1977) Some initial aquaculture experiments in recirculating water systems. *Aquaculture* 11: 323–328
- Buzby M.K., Lin L-S. (2014) Scaling aquaponic systems: Balancing plant uptake with fish output. *Aquacultural Engineering* 63: 39–44
- Cebron, A., Garnier, J., (2005). Nitrobacter and Nitrospira genera as representatives of nitrite-oxidizing bacteria: detection, quantification and growth along the lower Seine River (France). *Water Res.* 39 (20), 4979–4992
- Cerozi S. & Fitzsimmons K. (2016). The effect of pH on phosphorus availability and speciation in an aquaponics nutrient solution, *Bioresource Technology*, 219: 778–781
- Clarkson R. & Lane S. (1991). Use of a small-scale nutrient-film hydroponic technique to reduce mineral accumulation in aquarium water, *Aquatic Fish Management*, 22: 37–45

Deering M J., Fielder D.R., Hewitb D.R. (1997). Growth and fatty acid composition of juvenile leader prawns, *Penaeus monodon*, fed different lipids. *Aquaculture* Volume 151, Issues 1-4, 15 May 1997, Pages 131-141.

Delaide B., Gott J., Dermience M., Soyeurt H (2017) Plant and fish production performance, nutrient mass balances, energy and water use of the PAFF Box, a small scale aquaponic system. *European Journal of Radiology* DOI: 10.1016/j.ejrad.2017.05.043

Diver S. (2006). *Aquaponics—Integration of Hydroponics with Aquaculture*, National Sustainable Agriculture Information Service. ATTRA Publication. 28pp

Ehret, D. L., Zebarth, B. J., Portree, J., & Garland, T. (1998). Clay addition to soilless media promotes growth and yield of greenhouse crops. *HortScience*.

Endut, A., Jusoh, A., Ali, N., Nik, W. B. W., & Hassan, A. (2010). *Bioresource Technology* A study on the optimal hydraulic loading rate and plant ratios in recirculation aquaponic system, 101, 1511–1517.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.040>

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), (2014). *Small-scale aquaponic food production. Integrated fish and plant farming*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, Rome, Italy.

Federation of Greek Maricultures. 2019. Annual report 2019. Available at

<https://www.fgm.com.gr>.

Francis-Floyd R., Watson C., Petty D., Poudel D. (2012). Ammonia in Aquatic Systems, Department of Agriculture, Cooperative Extension Service, University of Florida, IFAS

Goddek, S., Delaide, B., Mankasingh, U., Ragnarsdottir, K. V., Jijakli, H., & Thorarinsdottir, R. (2015). Challenges of sustainable and commercial aquaponics. *Sustainability*, 7(4), 4199–4224.

Goto E., Both A., Albright L., Langhans R., Leed A., (1996). Effect of dissolved oxygen concentration on lettuce growth in floating hydroponics Proceedings of the International Symposium in Plant Production in Closed Systems, *Acta Horticulture*, 440: 205-210

Graber A. & Junge R. (2009). Aquaponic systems: nutrient recycling from fish wastewater by vegetable production, *Desalination*, 246: 147-156.

Greenfeld, A., Becker, N., Mcilwain, J., Fotedar, R., & Bornman, J. F. (2018). Economically viable aquaponics? Identifying the gap between potential and current uncertainties. *Reviews in Aquaculture*, 1–15.
<https://doi.org/10.1111/raq.12269>

Güroy D, İzzet Ş, Bül G, Merrifield DL, Bulut M, Tekinay AA. (2013). Replacement of fishmeal with rice protein concentrate in practical diets for European seabass *Dicentrarchus labrax* reared at winter temperatures. *Aquaculture Research* 44(3):462-471 DOI 10.1111/j.1365-2109.2011.03053.x.

Harmon, T. S. (2009). Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. *Reviews in Aquaculture*, 1(1), 58–66. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2008.01003.x>

Hayat, M., Nugroho, R. A., & Aryani, R. (2018). Influence of different stocking density on the growth, feed efficiency, and survival of Majalaya common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus 1758). *F1000Research*, 7. <https://doi.org/10.12688/f1000research.16875.1>, 1917.

Jesús Ortuño J Esteban M.A Meseguer J (2002) Effects of phenoxyethanol on the innate immune system of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) exposed to crowding stress. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 89:1–2, pp 29-36

Kloas, W., Groß, R., Baganz, D., Graupner, J., Monsees, H., Schmidt, U., Staaks, G., Suhl, J., Tschirner, M., & Wittstock, B. (2015). A new concept for aquaponic systems to improve sustainability, increase productivity, and reduce environmental impacts. *Aquaculture Environment Interactions*, 7(2), 179–192. <https://doi.org/10.3354/aei00146>

- König B., Junge R., Bittsanszky A., Villarroel M., Komives T. (2016) On the sustainability of aquaponics. *Ecocycles* 2(1): 26-32, doi: 10.19040/ecocycles.v2i1.50
- Kousoulaki K, Sæther BS, Albrektsen S, Noble C. 2015. Review on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758) nutrition and feed management: a practical guide for optimizing feed formulation and farming protocols. *Aquaculture Nutrition* 21(2):129–151 DOI 10.1111/anu.12233.
- Lennard W. (2012) *Aquaponic System Design Parameters: Basic System Water Chemistry*. Aquaponic Fact Sheet Series- System Water Chemistry. Aquaponic Solutions
- Li W. & Li Z. (2009). In situ nutrient removal from aquaculture wastewater by aquatic vegetable *Ipomoea aquatica* on floating beds, *Water Science and Technology*, 59: 1937-1943
- Liang J-Y., Chien Y-H. (2013) Effects of feeding frequency and photoperiod on water quality and crop production in a tilapia-water spinach raft aquaponics system. *International Biodeterioration & Biodegradation* 85: 693-700
- Love C.D, Fry P.J, Genello L., Hill S.E., Frederick A.J., Li X., Semmens K. (2014) An international survey of aquaponics practitioners. *PLoS ONE* 2014, 9, e102662.

Love D.C., Fry J.P., Li X., Hill E.S., Ganello L., Semmers K., Thompson R.E. (2015).

Commercial aquaponics production and profitability: Findings from an international survey, *Aquaculture*, vol. 435, pp. 67-74.

Malorgio F., Incrocci L., Dimauro B., Pardossi A. (2005). *La tecnica della coltivazione*

fuori suolo. Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, Università di Pisa, Regione Siciliana Assessorato Agricoltura e Foreste.

Maucieri, C., Nicoletto, C., Zanin, G., Birolo, M., Trocino, A., & Sambo, P. (2019).

Effect of stocking density of fish on water quality and growth performance of European Carp and leafy vegetables in a low-tech aquaponic system. *PloS One*, 14(5), Article e0217561. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217561>

Mohamed Abdelrahman AA. 2018. Effect of feeding frequency and stocking density on

Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and lettuce (*Lactuca sativa*) production in aquaponics system under the UAE condition and business enterprise analysis. *Biology Theses in Un*

Naegel, Ludwig C. A. (1977). Combined Production of Fish and Plants in Recirculating

Water. *Aquaculture* 10 (1): 17–24. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(77\)90029-1](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(77)90029-1)

Nebel C, Romestand B, Nègre-Sadargues G, Grousset E, Aujoulat F, Bacal J,

Bonhomme F, Charmantier G. 2005. Differential freshwater adaptation in

juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax*: involvement of gills and urinary system.
Journal of Experimental Biology 208(20):3859–3871 DOI 10.1242/jeb.01853.

Nitz, G. M., Schnitzler, W. H., & Ocimum, L. (2004). Effect of PAR and UV-B Radiation on the Quality and Quantity of the Essential Oil in Sweet basil (*Ocimum basilicum* L.), 375–382.

Palm, H. W., Bissa, K., & Knaus, U. (2014). Significant factors affecting the economic sustainability of closed aquaponic systems. Part II: Fish and plant growth. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 7(3), 162–175.

Pickett GD, Pawson MG. (1994). *Sea bass: biology*. Berlin: Springer Science & Business Media.

Poli B.M., Parisi G., Scappini F., Zampacavallo G. (2005) Fish welfare and quality as affected by preslaughter and slaughter management. *Aquaculture International*, 13:29–49.

Racocy J., Bailey D., Shultz C., Danaher J. (2004) *Design and Operation of the UVI Aquaponic System*. University of the Virgin Islands. Agricultural Experiment Station. St. Croix, U.S. Virgin Islands

Rahmatullah, R., Das, M., & Rahmatullah, S. M. (2010). Suitable stocking density of tilapia in an aquaponic system. *Bangladesh Journal of Fisheries Research*, 14(1–2), 29–35.

Rakocy J., Bailey D., Shultz K., Cole W., (1997). Evaluation of a commercial-scale aquaponic unit for the production of tilapia and lettuce. In: Fitzsimmons, K. (Ed.), *Tilapia Aquaculture: Proceedings of the Fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture at Orlando, Florida*. Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Ithaca, New York, USA, pp. 357-372.

Rakocy J, Master MP, Losordo TM. 2006. Recirculating aquaculture tank production system: aquaponics–integrating fish and plant culture. SRAC 454, (USDA 2006)

Roosta H. & Hamidpour M. (2013). Mineral nutrient content of tomato plants in aquaponic and hydroponic systems: Effect of foliar application of some macro- and micro-nutrients, *Journal of Plant Nutrition*, 36: 2070–2083

Savvas D., Passam H., Olympios C. (2006). Effects of ammonium nitrogen on lettuce grown on pumice in a closed hydroponic system, *HortScience*, 41: 1667–1673

Seawright D., Stickney R., Walker R. (1998). Nutrient dynamics in integrated aquaculture-hydroponics systems, *Aquaculture*, 160: 215-237

Selock, D. (2003). An introduction to aquaponics: the symbiotic culture of fish and plants. Rural enterprise and alternative agricultural development initiative report, 20, 1-6.

Sneed, K., K. Allen, and J. E. Ellis. (1975). "Fish Farming and Hydroponics." *Aquaculture and the Fish Farmer* 2 (1): 18–20

Somerville C., Cohen M., Pantanella E., Stankus A., Lovatelli A. (2014). Small-scale aquaponic food production. Integrated fish and plant farming. FAO Fisheries and Aquaculture. Technical Paper. No. 589. Rome, FAO. 262 pp.
<https://doi.org/10.1002/pssb.201300062>. Accessed 13 April 2019

Spotte S. (1991) *Captive Seawater Fishes*. John Wiley & Sons, New York, pp 94

Stathopoulou P , Berillis P, Vlahos N, Nikouli E, Kormas K.A., Levizou E, Katsoulas N, Mente E (2021). Freshwater-adapted sea bass *Dicentrarchus labrax* feeding frequency impact in a lettuce *Lactuca sativa* aquaponics system. PeerJ DOI 10.7717/peerj.11522

Torno J, Einwächter V, Schroeder J.P., Schulz C (2018). Nitrate has a low impact on performance parameters and health status of ongrowing European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) reared in RAS. Elsevier, *Aquaculture* 489: 21–27

- Turcios, A.E. and Papenbrock, J. (2014). Sustainable treatment of aquaculture effluents—What Can We Learn from the Past for the Future? *Sustainability* 6, 836-856
- Tyson R., Simonne E., White J., Lamb E. (2004). Reconciling water quality parameters impacting nitrification in aquaponics: the ph levels, *Proceedings of The Florida State Horticultural Society*, 117: 79-83
- Tyson R., White J., King K. (1999). Outdoor floating hydroponic systems for leafy salad crop and herb production. *Proceedings of The Florida State Horticultural Society*, 112: 313–315
- Villarroel J. Alvariño R., Duran J. (2011). Aquaponics: integrating fish feeding rates and ion waste production for strawberry hydroponics, *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9(2): 537-545
- Yildiz Y. H., Robaina L., Pirhonen J., Mente E., Domínguez D., Parisi G. (2017) Fish Welfare in Aquaponic Systems: Its Relation to Water Quality with an Emphasis on Feed and Faeces—A Review. *Water* 9: 13, doi:10.3390/w9010013
- Yue, Y. R., & Zhou, Q. C. (2008). Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization, and hematological indexes for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture*, 284(1), 185-189.

Zanuy S, Carrillo M. 1985. Annual cycles of growth, feeding rate, gross conversion efficiency and hematocrit levels of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) adapted to two different osmotic media. *Aquaculture* 44(1):11-25

6.2 Ελληνική βιβλιογραφία

Παπουτσόγλου Σ.Ε. (2008). Διατροφή Ιχθύων. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, Αθήνα, σελ

127

ABSTRACT

In this study bred in indoor small scale aquaponic systems fishes of the species *Dicentrarchus labrax* in different stocking densities alongside with the cultivation of lettuce plants *Lactusa sativa* var. Green Towers. The day 0 was the 30/12/2020 and lasted forty-five days. The aim was to investigate the effect of the stocking density on growth performance of sea bass and lettuce plants.

There were used three aquaponic systems with volume of water 500L and water supply velocity $Q=6.16$ L/min. There were three fish tanks, one growbed 1 m^2 and one biomechanical filter. The number of fishes that used was 54 fishes and the initial weight of the fishes were 42.45g, 42.1g and 39.78g in systems 1, 2, 3 respectively. The smallest stocking density was at systems 1 while the largest in system 3. System 1 had 12 fishes, system 2 had 18 and system 3 had 24 fishes. The lettuce plants that were used were 24 in total, 8 in every growbed. The fishes were fed commercial food with 55,9 % protein quantity. In everyday tasks every fish tank was cleaned and the remains of food and excreta gathered. The mechanical filter was cleaned too. Water physiochemical parameters was measured every day

There were 2 deaths of fishes, one in system 1 and one in system 2. The weight gain appeared to be better in system 1 (38.48 ± 2.59) with the smallest stocking density while the worst was in system 3 (30.36 ± 1.81) with the biggest stocking density. FCR appeared to be bigger in system 3 counter to SGR which was smallest in system 3 and bigger in system 1. No statistical differences were observed here ($p>0.05$). The best crude protein results showed from system 2 with statistical differences ($p<0.05$) between the systems while the best result of crude fat showed by system 3.

There was no death in plants in this study. The best lettuce plants biomass was given by system 2 (4,09 kg/m²), followed by system 3 (4,02 kg/m²) and system 1 (1,27 kg/m²). The crude protein and nitrogen showed no statistical differences between the systems. The crude fat and ash showed differences between the systems. System 1 showed better results.

Key words: Aquaponics, *Dicentrarchus labrax*, *Lactusa sativa*, stocking density