

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**«Ιστοφυσιολογία, φυσιολογία θρέψης και οικοφυσιολογία ιχθύων εκτρεφόμενων σε
συστήματα ενυδρειοπονίας»**

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΤΑΘΟΠΟΥΛΟΥ

Βόλος 2024

**«Ιστοφυσιολογία, φυσιολογία θρέψης και οικοφυσιολογία ιχθύων εκτρεφόμενων
σε συστήματα ενυδρειοπονίας»**

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

1) Παναγιώτης Βερίλλης, Καθηγητής-Μικροσκοπία και Ανάλυση Εικόνας στην Ιστολογία και στους Υδρόβιους Οργανισμούς, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, επιβλέπων.

2) Κωνσταντίνος Κορμάς, Καθηγητής-Μικροβιακή οικολογία υδάτινου περιβάλλοντος., Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, μέλος.

3) Ελένη Μεντέ, Καθηγήτρια-Φυσιολογία Θρέψης Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Κτηνιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, μέλος.

Στην υπέροχη οικογένεια μου ...

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες στους ανθρώπους που συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Διδακτορική Διατριβή. Η πραγματοποίησή της δεν θα ήταν δυνατή χωρίς την καθολική τους συμπαράσταση.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω,

Τον Καθηγητή κ. Παναγιώτη Βερίλλη, επιβλέποντα της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, για την καθοδήγηση, την ανιδιοτελή βοήθεια του, τη συμπαράσταση του καθώς και για τις χρήσιμες πληροφορίες που μου παρείχε στο εργαστηριακό κομμάτι της έρευνας. Τον ευχαριστώ βαθιά για την υποστήριξη και εμπιστοσύνη που μου έδειξε από την αρχή της συνεργασίας μας. Χωρίς τη δική του υποστήριξη και την απεριόριστη υπομονή δεν θα είχε ολοκληρωθεί αυτό το ερευνητικό έργο.

Τα δύο μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, τον Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Κορμά και την Καθηγήτρια κ. Έλενα Μεντέ για την στήριξη, τη βοήθεια, τις αμέτρητες ώρες συζητήσεων σχετικά με την λειτουργία των συστημάτων ενυδρειοπονίας αλλά και την πολύτιμη συμβολή των ιδίων στην κατανόηση της πολυπλοκότητας των συστημάτων.

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Έφη Λεβίζου για τη βοήθειά της με την προμήθεια των φυτών που χρησιμοποιήθηκαν στην έρευνα αλλά και τη συμβολή της στην κατανόηση της φυσιολογίας των φυτών καθώς και τον κ. Νίκο Βλάχο για τις πολύωρες συμβουλές και οδηγίες του σχετικά με την εκτροφή των ιχθύων αλλά και την κατανόηση των συστημάτων ενυδρειοπονίας.

Τον Καθηγητή κ. Νίκο Κατσούλα, για τη διάθεση του εργαστηρίου του στις αναλύσεις θρέψης των φυτών καθώς και την υποψήφια διδάκτορα του εργαστηρίου Γεωργικών Κατασκευών, Μαρία Ασλανίδου για την φιλοξενία σε εβδομαδιαία βάση και καλή συνεργασία για την περάτωση των αναλύσεων σχετικά με την ποιότητα των υδάτων. Την μετά διδάκτορα κ. Ελένη Νικούλη για τη βοήθεια της στο εργαστήριο Γενετικής αλλά και για τις πολύτιμες συμβουλές της.

Τον Αναπληρωτή καθηγητή κ. Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη, για τις συμβουλές του αλλά και για τη διάθεση του εργαστηρίου για τις αναλύσεις θρέψης των ιχθύων καθώς επίσης και τον ερευνητή κ. Χρήστο Ρούμπο για τη συμβολή του στην προμήθεια εντόμων και την υποψήφια διδάκτορα Στέλλα Ανδρεοπούλου για τη βοήθεια της στη παρασκευή των ιχθυοτροφών.

Το Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «Ανταγωνιστικότητα – Επιχειρηματικότητα – Καινοτομία (ΕΠΑνΕΚ) 2014-2020, Δράση Εθνικής Εμβέλειας «Ερευνώ – Δημιουργώ - Καινοτομώ», (Κωδικός Έργου Τ1ΕΔΚ-0115) με τίτλο «Ανάπτυξη και βελτιστοποίηση συστήματος ενυδρείοπονίας: ένα ακόμη βήμα για την αειφορική παραγωγή τροφής», μέσω του οποίου χρηματοδοτήθηκε η έρευνα της διδακτορικής μου διατριβής.

Τις εταιρείες BioMar ΑΕΒΕ και ΣΕΛΟΝΤΑ Α.Ε.ΓΕ για τις δωρεές σε πρώτες ύλες ιχθυοτροφών και ιχθυδίων για την διεξαγωγή των πειραμάτων μου.

Τις/τους συνεργάτες μου, Ευαγγελία Τσουμαλάκου, Αναστασία Μουραντιάν, Πιερ Ψωφάκη, Έφη Μπατάκα, Κωνσταντίνα Παπαευσταθίου για τις τεχνικές βοήθειες, τις πολύωρες συζητήσεις και την ανταλλαγή απόψεων αλλά κυρίως για τη σημαντική ψυχολογική στήριξη σε όλο αυτό το ερευνητικό ταξίδι..

Ένα τεράστιο ευχαριστώ στην οικογένεια μου και στους φίλους μου, που δεν σταμάτησαν ποτέ να με στηρίζουν και να με εμπνέουν...

Περιεχόμενα

1.	ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	11
2.	ABSTRACT	18
3.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	23
3.1	Τι είναι η Ενυδρειοπονία.....	23
3.2	Πλεονεκτήματα της ενυδρειοπονίας.....	25
3.3	Τεχνικά στοιχεία ενυδρειοπονίας - Αρχή λειτουργίας ενυδρειοπονίας (Βιολογικός κύκλος)	26
3.4	Είδη συστημάτων ενυδρειοπονίας.....	30
3.4.1	Συνεχούς ροής / τεχνική θρεπτικών ταινιών (NFT)	30
3.4.2	Σύστημα με υδροπονική δεξαμενή καλλιέργειας φυτών.....	31
3.4.3	Σύστημα με υπόστρωμα αργίλου για την ανάπτυξη των φυτών	31
3.4.4	Διάδοση της ενυδρειοπονίας παγκοσμίως.....	32
3.4.5	Ο ρόλος της ιχθυοτροφής και της συχνότητας σίτισης στην ενυδρειοπονία... ..	34
3.4.6	Το λαβράκι στην υδατοκαλλιέργεια.....	35
3.4.7	Σκοπός	36
4.	1 ^ο Πείραμα. Επίδραση μικτής συχνότητας σίτισης ατόμων λαβρακιού προσαρμοσμένα σε γλυκό νερό, στην ανάπτυξη του και στην ανάπτυξη καλλιέργειας μαρουλιού στο εργαστηριακό σύστημα ενυδρειοπονίας.....	39
4.1	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	39
4.1.1	Σύστημα ενυδρειοπονίας.....	39
4.1.2	Προσαρμογή ιχθύων.....	43
4.1.3	Υπολογισμός αριθμού ιχθύων ανά ενυδρείο και φορτίου ρύπανσης	44
4.1.4	Εκτροφή ιχθύων, πρωτόλλο σίτισης.....	46
4.1.5	Καλλιέργεια φυτών.....	51
4.1.6	Προσδιορισμός φυσιολογικών παραμέτρων	52
4.1.7	Προσδιορισμός ανάπτυξης ιχθύων	54
4.1.8	Ιστολογικές αναλύσεις ιχθύων	55
4.1.9	Προσδιορισμός ανάπτυξης φυτών.....	58
4.1.10	Στατιστική ανάλυση	59
4.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	59
4.2.1	Φυσιολογικοί παράγοντες νερού.....	59
4.2.2	Ανάπτυξη ιχθύων.....	64
4.2.1	Ιστολογική εξέταση	65
4.2.2	Ανάπτυξη φυτών	69
4.3	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	72
4.3.1	Φυσιολογικοί παράγοντες νερού.....	72

4.3.2	Ανάπτυξη ιχθύων.....	75
4.3.3	Ιστολογική εξέταση	80
4.3.4	Ανάπτυξη φυτών	81
4.4	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	84
5.	2 ^ο Πείραμα. Μελέτη της χρήσης πρωτεΐνης εντόμων για την αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου στα σιτηρέσια του λαβρακιού εκτρεφόμενο σε εργαστηριακό σύστημα ενυδρείοπονίας.	85
5.1	Εισαγωγή.....	85
5.2	Υλικά και Μέθοδοι.....	90
5.2.1	Σύστημα ενυδρείοπονίας.....	90
5.2.2	Παρασκευή εντομάλευρων.....	90
5.2.3	Υπολογισμός αριθμού ιχθύων ανά ενυδρείο και φορτίου ρύπανσης	93
5.2.4	Εκτροφή ιχθύων, πρωτόκολλο σίτισης.....	93
5.2.5	Καλλιέργεια φυτών.....	97
5.2.6	Προσδιορισμός φυσικοχημικών παραμέτρων	97
5.2.7	Προσδιορισμός ανάπτυξης ιχθύων	98
5.2.8	Ιστολογικές αναλύσεις ιχθύων	98
5.2.9	Προσδιορισμός ανάπτυξης φυτών.....	98
5.2.10	Στατιστική ανάλυση	98
5.3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	99
5.3.1	Φυσικοχημικοί παράγοντες νερού.....	99
5.3.2	Ανάπτυξη ιχθύων.....	104
5.3.3	Ιστολογική εξέταση ιχθύων.....	105
5.3.4	Ανάπτυξη φυτών	108
5.4	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	111
5.4.1	Φυσικοχημικοί παράγοντες νερού.....	111
5.4.2	Ανάπτυξη ιχθύων.....	115
5.4.3	Ιστολογική εξέταση	118
5.4.4	Ανάπτυξη φυτών	119
5.5	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	122
6.	3 ^ο Πείραμα. Επίδραση της συχνότητας σίτισης λαβρακιού προσαρμοσμένα σε γλυκό νερό, στην ανάπτυξη του και στην ανάπτυξη καλλιέργειας μαρουλιού σε εργαστηριακό σύστημα ενυδρείοπονίας	124
6.1	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	124
6.1.1	Σύστημα ενυδρείοπονίας.....	124
6.1.2	Υπολογισμός αριθμού ιχθύων ανά ενυδρείο και φορτίου ρύπανσης	124
6.1.3	Εκτροφή ιχθύων, πρωτόλλο σίτισης.....	124

6.1.4	Καλλιέργεια φυτών.....	127
6.1.5	Προσδιορισμός φυσικοχημικών παραμέτρων	128
6.1.6	Προσδιορισμός ανάπτυξης ιχθύων	128
6.1.7	Προσδιορισμός ανάπτυξης φυτών.....	128
6.1.8	Στατιστική ανάλυση	128
6.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	129
6.2.1	Φυσικοχημικοί παράγοντες νερού.....	129
6.2.2	Ανάπτυξη ιχθύων.....	136
6.2.3	Ανάπτυξη φυτών	138
6.3	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	140
6.3.1	Φυσικοχημικοί παράγοντες νερού.....	140
6.3.2	Ανάπτυξη ιχθύων.....	144
6.3.3	Ανάπτυξη φυτών	149
6.4	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	152
7.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	154
7.1	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	154
	<i>Αγγλική βιβλιογραφία.....</i>	<i>154</i>

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν να αξιολογήσει την επίδραση 3 ημερήσιων συχνοτήτων σίτισης (δύο, τέσσερα και οκτώ γεύματα ημερησίως) στην ποιότητα του νερού, την απόδοση ανάπτυξης και την ιστολογία του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) προσαρμοσμένου στο γλυκό νερό και στην ανάπτυξη φυτών μαρουλιού σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας. Επιπλέον, διερεύνησε την επίδραση 3 ημερήσιων συχνοτήτων σίτισης σε συνδυασμό με την αντικατάσταση ιχθυάλευρου (10 και 20% αντικατάσταση ιχθυάλευρου) με άλευρο εντόμων *Zophobas morio*. Για τον σκοπό της διδακτορικής διατριβής χρησιμοποιήθηκαν τρία πανομοιότυπα αυτόνομα συστήματα ενυδρειοπονίας κλειστού κυκλώματος με ανακυκλοφορία νερού. Για το κάθε ενυδρειοπονικό σύστημα κατασκευάστηκαν 3 δεξαμενές 100L η καθεμία για εκτροφή των ιχθύων, μία δεξαμενή 200L για καλλιέργεια των φυτών, ένα μηχανικό και ένα βιολογικό φίλτρο 175L. Διενεργήθηκαν 3 διαφορετικά πειράματα.

Στο πρώτο πείραμα έγινε μελέτη της επίδρασης 3 συχνοτήτων ημερήσιας σίτισης (2, 4 και 8 γευμάτων) στην επιβίωση, κατανάλωση τροφής και ανάπτυξη του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) ώστε να προσδιοριστεί η αποδοτικότερη συχνότητα σίτισης του λαβρακιού σε συστήματα ενυδρειοπονίας. Δεκαεννέα ιχθύες τοποθετήθηκαν σε κάθε γυάλινο ενυδρείο και κάθε μεταχείριση σίτισης είχε τρεις επαναλήψεις. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 9 ενυδρεία εκτροφής ιχθύων λαβρακιού. Οι ιχθύες, σιτίζονταν καθημερινά 5% του μέσου βάρους τους, με διαφορετική συχνότητα (σίτιση 2, 4 και 8 φορές/ημέρα) για χρονικό διάστημα 45ημερών. Κάθε ενυδρειοπονικό σύστημα συνολικού όγκου νερού 500L εκπροσωπούνταν και από τις τρεις μεταχειρίσεις. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 171 ιχθύδια λαβρακιού (*D. labrax*) μέσου αρχικού βάρους $6,80 \pm 1,25\text{g}$ και μέσου αρχικού μήκους $8,62 \pm 0,05\text{cm}$ τα οποία προήλθαν από το ίδιο απόθεμα γεννητόρων και διαμοιράσθηκαν ανά 19 άτομα στις

δεξαμενές εκτροφής ψαριών. Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 24 φυτά μαρουλιού (*Lactuca sativa*) αρχικού μέσου νωπού βάρους $1,45 \pm 0,05\text{g}$ και αρχικού ύψους $11,63 \pm 0,18\text{cm}$, τα οποία διαμοιράσθηκαν ανά 8 στις δεξαμενές καλλιέργειας φυτών, καλλιεργητικής έκτασης 1m^2 . Στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας, μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG, g) και ημερήσιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR, %/day) εμφάνισαν οι ιχθύες που σιτίζονταν 8 ($13,85 \pm 0,50\text{g}$, $2,36 \pm 0,02\%/ \text{ημέρα}$) και 4 φορές την ημέρα ($13,14 \pm 0,59\text{g}$, $2,23 \pm 0,03\%/ \text{ημέρα}$) εμφανίζοντας στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) με τους ιχθύες που σιτίζονταν 2 φορές ανά ημέρα ($10,66 \pm 0,40\text{g}$, $2,11 \pm 0,05\%/ \text{ημέρα}$). Υψηλότερο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) εμφάνισαν οι ιχθύες με 2 αριθμό γευμάτων ($1,87 \pm 0,08$), εμφανίζοντας στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) σε σχέση με τους ιχθύες που σιτίζονταν με 8 και 4 αριθμό γευμάτων ($1,46 \pm 0,05$, $1,56 \pm 0,07$), αντίστοιχα. Τα φυτά του συστήματος 3 ανέπτυξαν μεγαλύτερο ύψος βλαστού ($9,63 \pm 0,44\text{cm}$) διαφέροντας ($p < 0,05$) από το σύστημα 1 ($7,73 \pm 0,38\text{cm}$) και 2 ($7,64 \pm 0,35\text{cm}$). Τα φυτά των συστημάτων 1 και 3 έφεραν μεγαλύτερο αριθμό φύλλων ($43,88 \pm 2,73$ και $43,63 \pm 1,68$ αντίστοιχα) διαφέροντας ($p < 0,05$) με τα φυτά του συστήματος 2 ($34,00 \pm 0,87$). Παρά το μειωμένο αριθμό φύλλων, τα φυτά του συστήματος 2 εμφάνισαν μεγαλύτερο βάρος φύλλου χωρίς να διαφέρει ($p > 0,05$) με τα συστήματα 3 ($10,52 \pm 0,41$) και 1 ($9,60 \pm 0,66$). Το μέσο νωπό βάρος φύλλων, η μέση νωπή βιομάζα υπέργειου και η μέση ξηρή βιομάζα υπέργειου ήταν μεγαλύτερα στο σύστημα 3 ($457,45 \pm 21,39\text{g}$, $496,06 \pm 23,96\text{g}$ αντίστοιχα) χωρίς να διαφέρει ($p > 0,05$) από τα συστήματα 1 ($428,70 \pm 47,58\text{g}$, $463,04 \pm 51,02\text{g}$ αντίστοιχα) και 2 ($375,23 \pm 29,03\text{g}$, $402,52 \pm 31,66\text{g}$ αντίστοιχα). Μεγαλύτερη ξηρή βιομάζα υπέργειου παρουσίασε το σύστημα 1 ($23,20 \pm 2,42\text{g}$), χωρίς να διαφέρει ($p > 0,05$) από το 3 ($21,47 \pm 1,57\text{g}$) και το 2 ($21,47 \pm 1,57\text{g}$). Τέλος, μεγαλύτερη ξηρή βιομάζα υπόγειου εμφάνισε το σύστημα 3 ($4,64 \pm 0,91$) και τη

μικρότερη το σύστημα 2 ($2,32 \pm 0,31\text{g}$) ($p < 0,05$). Το σύστημα 1 ($3,41 \pm 0,54\text{g}$) δεν διέφερε ($p > 0,05$) με κανένα από τα άλλα δυο συστήματα ($p > 0,05$). Η τελική μέση παραγόμενη βιομάζα αντιστοιχούσε σε $3,63\text{kg/m}^2$. Ο διαμοιρασμός της ημερήσιας τροφής σε 4 και 8 φορές κατά τη διάρκεια της ημέρας είναι η ιδανικότερη συνθήκη για τη μέγιστη αξιοποίηση της τροφής από τους ιχθύες και τη μέγιστη ανάπτυξη αυτών. Η τελική παραγόμενη υπέργεια βιομάζα δεν διέφερε ($p > 0,05$) μεταξύ των συστημάτων.

Στο δεύτερο πείραμα μελετήθηκε η ανάπτυξη, η αξιοποίηση της τροφής ιχθύων λαβρακιού και η ανάπτυξη φυτών μαρουλιού μετά από αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο από *Zophobas morio*. Δέκα ιχθύες τοποθετήθηκαν σε κάθε γυάλινο ενυδρείο και κάθε μεταχείριση σίτισης είχε τρεις επαναλήψεις. Χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια ενυδρειοπονικά συστήματα με το πρώτο πείραμα. Οι ιχθύες, σιτίζονταν καθημερινά 5% του μέσου βάρους τους, με σιτηρέσια διαφορετικής αντικατάστασης ιχθυαλεύρου με άλευρο προνύμφης *Zophobas morio* (0%, 10% και 20% αντικατάσταση) για χρονικό διάστημα 45ημερών. Κάθε ενυδρειοπονικό σύστημα εκπροσωπούνταν και από τις τρεις μεταχειρίσεις. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 90 ιχθύδια λαβρακιού (*D. labrax*) μέσου αρχικού βάρους $21,55 \pm 0,28\text{g}$ και μέσου αρχικού μήκους $12,97 \pm 0,06\text{cm}$ τα οποία προήλθαν από το ίδιο απόθεμα γεννητόρων και διαμοιράσθηκαν ανά 19 άτομα στις δεξαμενές εκτροφής ψαριών. Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 24 φυτά μαρουλιού (*Lactuca sativa*) αρχικού μέσου νωπού βάρους $2,10 \pm 0,08\text{g}$ και αρχικού ύψους $8,9 \pm 0,10\text{cm}$, τα οποία διαμοιράσθηκαν ανά 8 άτομα στις δεξαμενές καλλιέργειας φυτών, καλλιεργητικής έκτασης 1m^2 . Στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας, μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG, g) παρουσίασαν οι ιχθύες που σιτίστηκαν με τα σιτηρέσια FM ($27,86 \pm 0,98\text{g}$) και ZM10 ($26,17 \pm 0,96\text{g}$), ενώ τη μικρότερη οι ιχθύες που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο ZM20 ($24,46 \pm 0,89\text{g}$). Υψηλότερο ημερήσιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα)

εμφάνισαν οι ιχθύες που σιτίζονταν με το σιτηρέσιο FM ($1,84 \pm 0,03\%$ /ημέρα) συγκριτικά με τα ZM10 ($1,75 \pm 0,02\%$ /ημέρα) και ZM20 ($1,68 \pm 0,03\%$ /ημέρα). Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής δεν διέφερε μεταξύ των μεταχειρίσεων ZM20, ZM10 και FM ($1,38 \pm 0,06$, $1,32 \pm 0,45$ και $1,24 \pm 0,05$ αντίστοιχα). Τέλος, η κατανάλωση τροφής (FC, gr/ημέρα) δεν διέφερε μεταξύ των μεταχειρίσεων ZM10, FM και ZM20 ($9,19 \pm 0,21$ gr, $8,98 \pm 0,20$ gr και $8,96 \pm 0,19$ gr αντίστοιχα). Τα φυτά των συστημάτων 3 και 2 παρουσίασαν μεγαλύτερο βάρος φύλλων ($245,32 \pm 19,66$ g και $184,47 \pm 18,63$ g αντίστοιχα), μεγαλύτερο βάρος νωπής υπέργειας βιομάζας ($274,83 \pm 22,73$ g και $215,06 \pm 19,02$ g αντίστοιχα) και μεγαλύτερο ξηρό βάρος υπέργειας ($10,48 \pm 0,85$ g και $8,50 \pm 0,53$ g) και υπόγειας βιομάζας ($1,11 \pm 0,15$ g και $0,79 \pm 0,26$ g) διαφέροντας ($p < 0,05$) από το σύστημα 1 ($141,70 \pm 9,09$ g, $162,16 \pm 10,31$ g, $7,04 \pm 0,49$ g και $0,59 \pm 0,04$ g αντίστοιχα). Το σύστημα 2 ανέπτυξε μεγαλύτερο αριθμό φύλλων και ύψος βλαστού ($43,38 \pm 3,63$ cm και $13,7 \pm 1,04$ cm αντίστοιχα). Συμπερασματικά το σύστημα 3 επέδειξε την ιδανικότερη ανάπτυξη φυτών. Η τελική μέση παραγόμενη βιομάζα αντιστοιχούσε σε $1,74 \text{kg/m}^2$. Μικρή αντικατάσταση (10%) ιχθυαλεύρου με προνύμφη εντόμου *Zophobas morio* στο σιτηρέσιο επιφέρει ικανοποιητική ανάπτυξη του λαβρακιού. Η αντικατάσταση ποσοστού ιχθυαλεύρου (10 και 20%) με εντομόλευρο δεν επηρέασε τη κατανάλωση (FC) και το συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) από τους ιχθύες.

Σκοπός του τρίτου πειράματος ήταν να μελετήσει την επίδραση 3 συχνοτήτων ημερήσιας σίτισης (2, 4 και 8 αριθμό γευμάτων) στην επιβίωση, κατανάλωση τροφής και ανάπτυξη του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) ώστε να προσδιοριστεί η αποδοτικότερη συχνότητα σίτισης του λαβρακιού σε συστήματα ενυδρείοπονίας εξασφαλίζοντας με αυτό το τρόπο τη συνδυασμένη μέγιστη ανάπτυξη ιχθύων λαβρακιού και φυτών μαρουλιού (*Lactuca sativa*). Το τρίτο πείραμα διέφερε από το

πρώτο ως προς του ότι κάθε ενυδρειοπονικό σύστημα αποτελούσε και μια ξεχωριστή μεταχείριση σίτισης. Χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια ενυδρειοπονικά συστήματα με το πρώτο πείραμα. Δώδεκα ιχθύες τοποθετήθηκαν σε κάθε γυάλινο ενυδρείο και κάθε μεταχείριση σίτισης είχε τρεις επαναλήψεις. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 9 ενυδρεία εκτροφής ιχθύων λαβρακιού. Οι ιχθύες, σιτίζονταν καθημερινά 5% του μέσου βάρους τους, με διαφορετική συχνότητα (σίτιση 2, 4 και 8 φορές/ημέρα) για χρονικό διάστημα 45ημερών. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 108 ιχθύδια λαβρακιού (*D. labrax*) μέσου αρχικού βάρους $10,84 \pm 0,16\text{g}$ και μέσου αρχικού μήκους $10,55 \pm 0,06\text{cm}$ τα οποία προήλθαν από το ίδιο απόθεμα γεννητόρων και διαμοιράσθηκαν ανά 12 άτομα στις δεξαμενές εκτροφής ψαριών. Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 24 φυτά μαρουλιού (*Lactuca sativa*) αρχικού μέσου νωπού βάρους $2,18 \pm 0,06\text{g}$ και αρχικού ύψους $7,66 \pm 0,16\text{cm}$, τα οποία διαμοιράσθηκαν ανά 8 φυτά στις δεξαμενές καλλιέργειας φυτών, καλλιεργητικής έκτασης 1m^2 . Στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας, σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) δεν παρατηρήθηκαν στα τελικά βάρη (W_{45} , g) και μήκη (L_{45} , cm) των ιχθύων. Οι ιχθύες που σιτίζονταν 2 φορές/ημέρα εμφάνισαν μεγαλύτερο τελικό βάρος $31,58 \pm 0,91\text{g}$ χωρίς όμως να διαφέρουν από τους ιχθύες που σιτίζονταν 4 φορές/ημέρα ($31,00 \pm 0,80\text{g}$) και 8 φορές/ημέρα ($31,01 \pm 0,88$). Τη μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG, g), τον υψηλότερο ημερήσιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα) και τον χαμηλότερο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) παρουσίασε η μεταχείριση FF2 ($20,70 \pm 0,63\text{g}$, $2,37 \pm 0,02\%$ /ημέρα και $1,27 \pm 0,05$ αντίστοιχα) χωρίς όμως να διαφέρει ($p > 0,05$) από τις μεταχειρίσεις FF4 ($20,19 \pm 0,52\text{g}$, $2,35 \pm 0,03\%$ /ημέρα και $1,31 \pm 0,04$ αντίστοιχα) και FF8 ($20,11 \pm 0,63\text{g}$, $2,32 \pm 0,02\%$ /ημέρα και $1,38 \pm 0,05$ αντίστοιχα). Η συχνότητα σίτισης, δεν επηρέασε την καθ' ύψος αύξηση των φυτών, τον αριθμό των φύλλων και τη τελική βιομάζα υπόγειου ($p > 0,05$). Παρόλα αυτά, έδειξε να επηρεάζει το τελικό νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος του φυτού και κατά

συνέπεια τη τελική βιομάζα και παραγωγή σημειώνοντας σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$). Μεγαλύτερο βάρος υπέργειου (νωπό και ξηρό) παρουσίασε η μεταχείριση FF4 ($292,01 \pm 19,19\text{g}$ και $11,74 \pm 0,91\text{g}$) χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά ($p > 0,05$) με τη μεταχείριση FF8 ($282,56 \pm 24,40\text{g}$ και $11,70 \pm 0,97\text{g}$). Το μικρότερο βάρος υπέργειου εμφάνισε η μεταχείριση FF2 ($158,40 \pm 12,70\text{g}$ και $6,77 \pm 0,53\text{g}$) διαφέροντας ($p < 0,05$) και από τις άλλες δυο μεταχειρίσεις. Τέλος, μεγαλύτερη υπόγεια βιομάζα, εμφάνισε η μεταχείριση FF4 ($1,57 \pm 0,21\text{g}$) και τη μικρότερη η μεταχείριση FF8 ($1,55 \pm 0,33\text{g}$) χωρίς όμως, να διαφέρουν σημαντικά ($p > 0,05$) από τη μεταχείριση FF2 ($1,03 \pm 0,21\text{g}$). Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας έδειξαν ότι οι αυξημένες συχνότητες σίτισης (4, 8 φορές/ημέρα) δεν επηρέασαν αρνητικά τη ποιότητα του νερού των συστημάτων ενυδρείοπονίας. Ο διαμοιρασμός της ημερήσιας τροφής του λαβρακιού σε πολλαπλά γεύματα δεν επηρέασε τη κατανάλωση αυτής από τους ιχθύες καθώς και την ανάπτυξή τους. Στις μεταχειρίσεις όπου οι ιχθύες σιτίζονταν ανά 6 (FF4) και ανά 3 ώρες (FF8) κατά τη διάρκεια του 24ώρου, τα φυτά παρουσίασαν καλύτερη ανάπτυξη και μεγαλύτερη τελική φυτική παραγωγή.

Η διδακτορική αυτή διατριβή υπογραμμίζει τη χρήση ευρύαλων ψαριών, όπως το λαβράκι, σε συστήματα υδροπονίας γλυκού νερού για την παραγωγή φυτών υψηλής ζήτησης, όπως το μαρούλι. Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι η αυξημένη συχνότητα σίτισης των ιχθύων μπορεί να έχει θετικό αντίκτυπο στη συνδυαστική καλλιέργεια, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε βελτιωμένες παραμέτρους ανάπτυξης των ιχθύων, αλλά και σε αυξημένη φυτική βιομάζα. Αυτή η μελέτη ενισχύει την επιστημονική γνώση παρέχοντας στοιχεία που αποδεικνύουν ότι τα εντομάλευρα μπορούν να υποκαταστήσουν μερικώς το ιχθυάλευρο σε τροφές που προσφέρονται σε ιχθύες ενυδρείοπονικών συστημάτων. Δεδομένου ότι οι παράμετροι ανάπτυξης του λαβρακιού, αλλά και του μαρουλιού, ήταν εντός των ορίων που αναφέρονται στη

βιβλιογραφία, η παρούσα μελέτη επιβεβαιώνει την καταλληλότητα της συγκαλλιέργειας λαβρακιού-μαρουλιού σε ενυδρειοπονικά συστήματα γλυκού νερού χρησιμοποιώντας άλευρο προνυμφών του εντόμου *Z. morio*.

Λέξεις κλειδιά: Ενυδρειοπονία, λαβράκι, μαρούλι, συχνότητα σίτισης, αντικατάσταση ιχθυαλείου, προνύμφη *Zophobas morio*

2. ABSTRACT

The world's population growth, climate change, soil degradation, water pollution and food security management are some of the problems related to food production for human consumption. Aquaponic culture is an innovative and sustainable method for both fish and plant production and is environment-friendly in relation to aquaculture fish and soil monocultures. In aquaponics, the most important source of nutrients is the fish feed. Its protein composition, the amount, and the feeding frequency affect the digestibility of feed and therefore the rate of ammonia production and nitrate ions. The flexibility of an aquaponic system allows it to grow a large variety of vegetables, herbs, ornamental and aquatic plants to cater a broad spectrum of consumers. Aquaponic products are organic and pesticide-free, with a small environmental footprint. In aquaponics, soil is not needed, and only a small amount of water is required as the systems do not typically discharge or exchange water under normal operation but instead recirculate and reuse water very effectively.

The aim of the first experiment was to investigate the effect of three daily fish feeding frequencies, i.e. two, four and eight times per day (FF2, FF4, and FF8, respectively) on growth performance of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and lettuce plants (*Lactuca sativa*) reared in an experimental aquaponics system. Each aquaponic system was represented by all three feeding frequencies. A total of 171 juvenile sea bass individuals with an average body weight of 6.80 ± 0.09 g were used, together with 24 lettuce plants with an average initial height of 11.78 ± 0.07 cm over a 45-day trial period. FF2 fish group showed a significantly lower final weight, weight gain and specific growth rate than the FF4 and FF8 groups. Voluntary feed intake was similar for all the three feeding frequencies treatments ($p > 0.05$). No plant mortality was observed during the 45-day study period. All three aquaponic systems resulted in a similar leaf

fresh weight and fresh and dry aerial biomass. The results of the present study showed that the FF4 or FF8 feeding frequency contributes to the more efficient utilization of nutrients for better growth of sea bass adapted to fresh water while successfully supporting plant growth to a marketable biomass.

The aim the second experiment was to investigate the effect of 10 and 20% replacement of fishmeal (FM dietary group) with the superworm *Zophobas morio* larvae meal (ZM10 and ZM20 dietary groups) on the growth performance of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and lettuce plants (*Lactuca sativa*) reared in an experimental aquaponics system. Ninety juvenile sea bass with an average body weight of 21.55 g/individual were placed in aquaponic fish tanks, together with 24 lettuce plants with an average initial height of 8.90 cm/plant and an average number of leaves of 5.75/plant over a 45-day trial period. At the end of that period, all feeding groups exhibited high survival. In fact, ZM10 and ZM20 groups showed similar fish weight gain and specific growth rate (SGR) ($p > 0.05$), but significantly lower SGR ($p < 0.05$) than the FM group. Nevertheless, final fish body weight and length were similar ($p > 0.05$) for all feeding groups. No plant mortality was observed during the 45-day study period. All three aquaponic systems resulted in similar leaf fresh weight, as well as fresh and dry aerial biomass. At the end of the experimental period, plants in the third system showed higher fresh leaf weight, total weight of fresh leaves, total dry aerial biomass, and total produced biomass compared to the other two systems. The results of the present study show that fish fed with the ZM10 diet had higher weight gain (WG) than fish fed with the ZM20 diet, while the SGRs for ZM10 and ZM20 were similar. Both ZM10 and ZM20 diets result in efficient lettuce production. This study also provides data that enlighten the feasibility of integrating insect meals as fish feeds for aquaponics which helps towards the development of an “entomo-aquaponic” approach.

The purpose of the third experiment was to study the effect of three daily feeding frequencies (2, 4 and 8 number of meals) on survival, food consumption and growth of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in order to determine the most efficient feeding frequency of sea bass in aquaculture systems ensuring the mode of the combined maximum growth of seabass fish and lettuce plants (*Lactuca sativa*). The third experiment differed from the first, as in each aquaponic system a single feeding treatment applied (FF2, FF4 or FF8). A total of 108 sea bass (*D. labrax*) fry with an average initial weight of 10.84 ± 0.16 g were used, together with 24 lettuce plants (*Lactuca sativa*) with an initial height of 7.66 ± 0.16 cm over a 45-day trial period. At the end of the experimental procedure, significant differences ($p > 0.05$) were not observed in the final weights and lengths of the fish. The weight gain (WG, g), the daily specific growth rate (SGR, %/day) and the lowest feed conversion ratio (FCR) were also similar along the treatments FF2, FF4 and FF8. Feeding frequency did not affect plant height, number of leaves and final underwater biomass ($p > 0.05$). Treatments FF4 and FF8 showed statistically higher final fresh weight of the aerial part of the plant and final biomass than FF2 treatment. The results of the present study showed that increased feeding frequencies (4 or 8 times/day) did not affect the water quality of the aquaculture systems. Dividing the daily food of sea bass into multiple meals did not affect the food consumption and the fish growth. In the treatments where the fish were fed every 6 (FF4) and every 3 hours (FF8) during the 24 hours, the plants showed better growth and higher final biomass production.

Keywords: sea bass; lettuce; feeding frequency; aquaponics; *Zophobas morio*; fishmeal replacement; water reuse.

Δημοσιεύσεις/ανακοινώσεις διδακτορικής διατριβής:

Σε επιστημονικά περιοδικά

1. Stathopoulou P, Asimaki A, Berillis P*, Vlahos N, Levizou E, Katsoulas N, Karapanagiotidis I, Rumbos C, Athanassiou C, Mente E. (2022). Aqua-entoponics: Effect of insect meal on the development of sea bass, *Dicentrarchus labrax*, in co-culture with lettuce. *Fishes*. 7, 397. <https://doi.org/10.3390/fishes7060397> (IF=3,17).
2. Stathopoulou P, Berillis P*, Vlahos N, Nikouli E, Kormas KA, Levizou E, Katsoulas N, Mente E. 2021. Freshwater-adapted sea bass *Dicentrarchus labrax* feeding frequency impact in a lettuce *Lactuca sativa* aquaponics system. *PeerJ* 9:e11522 <https://doi.org/10.7717/peerj.11522> (IF=2,98)

Σε διεθνή συνέδρια

1. Stathopoulou P., Berillis P., Levizou E., Vlahos N., Katsoulas N., Rumbos, C., Mente, E. Fishmeal protein replacement by *Zophobas morio* larvae affects *Dicentrarchus labrax* growth performance in an aquaponics system. Proceedings of HydroMedit 2021, November 4-6, Greece.

3. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

3.1 Τι είναι η Ενυδρειοπονία

Η παγκόσμια αύξηση του πληθυσμού, η κλιματική αλλαγή, η υποβάθμιση του εδάφους, η ρύπανση του υδροφόρου ορίζοντα και η διαχείριση ασφάλειας των τροφίμων (WHO, 1992) είναι τα κυριότερα προβλήματα που ήδη αντιμετωπίζει η σύγχρονη κοινωνία. Η ενυδρειοπονία είναι ένα καινοτόμο και αειφόρο σύστημα ταυτόχρονης παραγωγής ζωικών και φυτικών προϊόντων και αποτελεί τη λύση απέναντι στις αρνητικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις προερχόμενες από τον τομέα των υδατοκαλλιεργειών (Tyson et al., 2011) και των μονοκαλλιεργειών του εδάφους. Συμβάλλει στη διαχείριση των υδάτινων πόρων, στη διατήρηση της βιοποικιλότητας, στην εξοικονόμηση ενέργειας και στην ενίσχυση της οικονομίας (Buzby & Lin, 2014). Οι κύριοι υδρόβιοι οργανισμοί οι οποίοι εκτρέφονται είναι κυρίως ιχθύες του γλυκού νερού όπως είδη τιλάπιας (Rakocy et al., 2004; Villarroel et al., 2011; Hu et al., 2015), κυπρίνου (Roosta & Hamidpour, 2011; Nuwansi et al., 2016), πέρκας (Graber & Junge, 2009; Blidariu et al., 2013), γατόψαρου (Bittsanszky et al., 2016; Andriani et al., 2017), καθώς και κάποια είδη οστρακόδερμων όπως *Cherax quadricarinatus* (Diver, 2006) και *Procambarus spp.* (Saha et al., 2016; Gallardo-Collí et al., 2014). Το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο είδος είναι η τιλάπια εξαιτίας της ταχείας ανάπτυξης και ανοχής σε ποικίλες συνθήκες ποιότητας νερού (Rakocy et al., 2006). Έρευνα των Knaus & Palm (2017) προτείνει την πολυκαλλιέργεια ειδών ως πιο αποδοτική σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας (polyponics).

Η βασική αρχή της ενυδρειοπονίας είναι η βιολογική διεργασία της νιτροποίησης ή του κύκλου του αζώτου. Οι ιχθύες, εκλύουν αμμωνία μέσω του μεταβολισμού τους

(Francis-Floyd et al., 2009) η οποία οξειδώνεται μέσω της νιτροποίησης (μικροβιακή διάσπαση του οργανικού υλικού) σε νιτρικά ιόντα (Cebron & Garnier, 2005). Τα νιτρικά ιόντα, προσλαμβάνονται από τις ρίζες των φυτών για την ανάπτυξή τους κι έτσι, το νερό απαλλαγμένο από αμμωνία, νιτρώδη, νιτρικά και φωσφορικά ιόντα επαναδιοχετεύεται στους ιχθύες για τη συνέχιση του κύκλου (Yildiz et al., 2017).

Ιχθύες, φυτά και βακτήρια, είναι τα κύρια μέλη ενός συστήματος ενυδρείοπονίας τα οποία πρέπει να συνυπάρχουν σε ισορροπία. Γι' αυτό το λόγο, ο τύπος του επιλεγμένου συστήματος, το μέγεθος του φίλτρου, το είδος και η βιομάζα των ιχθύων, το είδος και η βιομάζα των φυτών θα πρέπει να επιλέγονται με προσοχή. Κατάλληλος συνδυασμός ιχθύων και φυτών με παρόμοιες απαιτήσεις (θερμοκρασία, pH, διατροφή) που καλύπτουν τις ανάγκες των ειδών (Castillo-Castellanos et al., 2016) και τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών (Liang & Chien, 2013), οδηγεί στην επιτυχή παραγωγή δίχως την επιβάρυνση της ποιότητας του νερού (Yildiz et al., 2017).

Η συνολική βιομάζα των εκτρεφόμενων ιχθύων θα πρέπει να υπολογίζεται σύμφωνα με τη βιομάζα των φυτών ή τη καλλιεργητική περιοχή καθώς και με το μέγεθος του φίλτρου (οξειδωτική ικανότητα της παραγόμενης αμμωνίας) (Endut et al., 2010). Η ημερήσια παραγόμενη αμμωνία από τους ιχθύες, επαρκεί για να καλύψει τις ανάγκες θρέψης των φυτών σε ένα ποσοστό 80% εάν οι βιομάζες ιχθύων και φυτών βρίσκονται σε αναλογία (Rakocy et al., 2004). Ανεπαρκής καλλιεργητική περιοχή θα οδηγήσει σε συσσώρευση θρεπτικών στα συστήματα. Πολύ μεγάλη καλλιεργητική περιοχή μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα του νερού, αλλά θα οδηγήσει επίσης σε βραδύτερους ρυθμούς ανάπτυξης των φυτών και μειωμένη παραγωγή φυτικών καλλιεργειών (Buzby & Lin, 2014).

3.2 Πλεονεκτήματα της ενυδρειοπονίας

Η ενυδρειοπονία συνδυάζει τα πλεονεκτήματα τόσο της υδροπονίας όσο και της ιχθυοκαλλιέργειας. Είναι ένα σύστημα παραγωγής τόσο ζωικής όσο και φυτικής πρωτεΐνης. Στην ενυδρειοπονία είναι απαραίτητη η χρήση λιγοστού νερού, λιγότερο από το 10% του νερού που χρησιμοποιείται για συμβατικές καλλιέργειες (Somerville et al., 2014). Η εξοικονόμηση νερού εξασφαλίζεται μέσω της ανακύκλωσης του νερού στα διάφορα μέρη του ενυδρειοπονικού συστήματος. Επίσης, στην ενυδρειοπονία, σε σχέση με την υδροπονία, απαιτείται η χρήση σημαντικά λιγότερων ποσοτήτων λιπασμάτων. Αυτό καθίσταται δυνατόν διότι η ενυδρειοπονία στηρίζεται στην ανάκτηση θρεπτικών στοιχείων που προκύπτουν από το μεταβολισμό της τροφής των ψαριών. Στην ενυδρειοπονία απαιτείται μόνο η προσθήκη σιδήρου και καλίου. Ταυτόχρονα, η ενυδρειοπονία διατηρεί όλα τα πλεονεκτήματα της υδροπονίας έναντι της συμβατικής καλλιέργειας. Έτσι καθίστανται δυνατές οι ακριβείς ρυθμίσεις και εξασφάλιση των βέλτιστων συνθηκών pH, θερμοκρασίας και διαθεσιμότητας θρεπτικών ουσιών σε πραγματικό χρόνο. Οι ρίζες των φυτών εισέρχονται απευθείας στο υδατικό διάλυμα χωρίς πολυπλοκές φυσικοχημικές αντιδράσεις του εδάφους να παίζουν κάποιο ρόλο (Pantarella et al., 2010). Επίσης, λόγω του ότι οι ενυδρειοπονικές καλλιέργειες λαμβάνουν χώρα εκτός εδάφους, δεν υπάρχει προσβολή από εδαφόβια παθογόνα και ανταγωνισμός με ζιζάνια. Συνεπώς υπάρχει μειωμένη, ή και μηδαμινή, χρήση φυτοφαρμάκων.

Όσον αφορά την εκτροφή ιχθύων, η ενυδρειοπονία μπορεί είναι εξαιρετικά αποδοτική σε μεγάλες κλίμακες. Σε περιοχές όπου η διαθεσιμότητα νερού ή καλλιεργήσιμων εκτάσεων είναι περιορισμένες, η ενυδρειοπονία μπορεί να αποτελέσει μία ελκυστική, αποδοτική και οικονομικώς προσοδοφόρα λύση. Πλεονεκτεί, όσον αφορά τους ιχθύες, λόγω της καλύτερης ρύθμισης των συνθηκών ανάπτυξης αλλά και

της ευχερέστερης διαχείρισης λόγω του κλειστού συστήματος. Τα δύο αυτά χαρακτηριστικά λειτουργούν θετικά ως προς την υγεία και την ποιότητα του τελικού προϊόντος. Σε συστήματα ενυδραιοπονίας, μέχρι σήμερα έχουν καλλιεργηθεί χρησιμοποιούνται και οστρακόδερμα, γαρίδες και αστακοί του γλυκού νερού, ενώ μπορούν να δοκιμαστούν και νέα είδη (Somerville et al., 2014).

Η αποτελεσματική λειτουργία του συστήματος ενυδραιοπονίας βασίζεται στην ευζωία των ιχθύων, των φυτών και των βακτηρίων (Yildiz et al., 2017). Η αλληλεξάρτηση μεταξύ αυτών είναι πολύπλοκη και έχει άμεση συνάρτηση με την ποιότητα του νερού (Endut et al., 2011). Η καλή ποιότητα νερού συντελεί στη μείωση των ασθενειών των ιχθύων και προωθεί την ανάπτυξή αυτών αλλά και των φυτών.

Όλα τα παραπάνω χαρακτηριστικά καθιστούν την ενυδραιοπονία μία πολλά υποσχόμενη μέθοδο αειφορικής παραγωγής βιοασφαλών τροφίμων με χαμηλό ενεργειακό αποτύπωμα (Somerville et al., 2014).

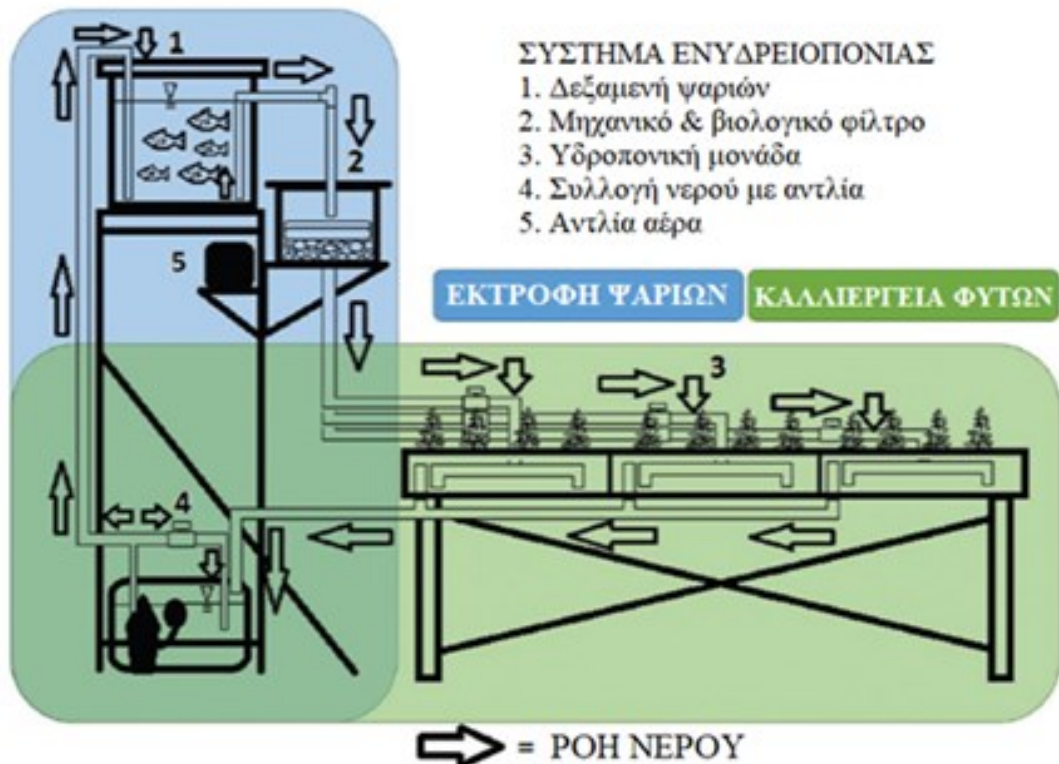
Υπάρχουν όμως και κάποια σημεία στα οποία η ενυδραιοπονία μειονεκτεί. Η εγκατάσταση και η συντήρηση ενυδραιοπονικών συστημάτων είναι σχετικά δαπανηρή, ενώ καταναλώνει πολλή ηλεκτρική ενέργεια. Προς εξάλειψη του μειονεκτήματος αυτού μπορούν να αξιοποιηθούν ανανεώσιμες μορφές ενέργειας όπως η ηλιακή και η αιολική. Τέλος, σε ενυδραιοπονικά συστήματα δεν μπορούν να καλλιεργηθούν όλα τα είδη ψαριών και φυτών.

3.3 Τεχνικά στοιχεία ενυδραιοπονίας - Αρχή λειτουργίας ενυδραιοπονίας (Βιολογικός κύκλος)

Τα απαραίτητα τεχνικά στοιχεία των συστημάτων ενυδραιοπονίας είναι οι δεξαμενές των ψαριών, οι βάσεις καλλιέργειας των φυτών (grow beds), τα μηχανικά

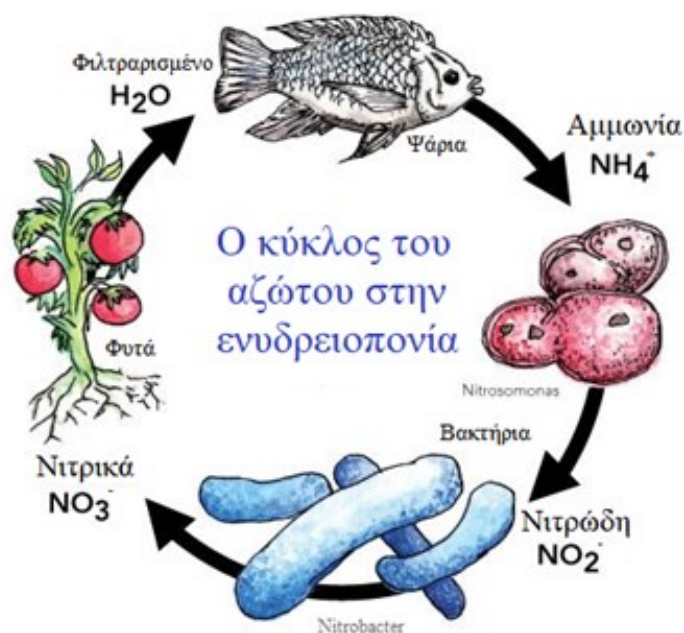
και τα βιολογικά φίλτρα. Όπως αναφέρθηκε, ενυδρειοπονία στηρίζεται στη βιολογική διεργασία της νιτροποίησης ή του λεγόμενου κύκλου του αζώτου. Τα ψάρια εκλύουν αμμωνία ως μεταβολικό προϊόν, σε ποσοστό 80%, μέσω των βραγχίων τους, των ούρων και των στερεών αποβλήτων τους. Υπολείμματα τροφής και οργανικές ουσίες που βρίσκονται σε αποσύνθεση, επίσης συμβάλλουν στην αύξηση της αμμωνίας η οποία σε υψηλές συγκεντρώσεις είναι τοξική για πολλά είδη ψαριών και υδρόβιους οργανισμούς. Η κύρια είσοδος του αζώτου και φωσφόρου σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας είναι η τροφή, συνεπώς ο ρυθμός παραγωγής αμμωνίας εξαρτάται από τη ποσότητα αυτής, τη πρωτεϊνική της σύσταση καθώς και τη συχνότητα που εισέρχεται στο σύστημα (Ballestrazzi et al., 1994; Cai & Adelman, 1996).

Από το άζωτο και φώσφορο που εμπεριέχεται στο 95% της καταναλωθείσας τροφής που πέπτει, ένα ποσοστό 30-40% χρησιμοποιείται από τους ιχθύες για το μεταβολισμό και την παραγωγή βιομάζας (Timmons et al., 2002; Khakyzadeh et al., 2015; Lennard, 2017).) ενώ το υπόλοιπο 60-70% αποβάλλεται μέσω των βραγχίων, ουρίας και κοπράνων (FAO, 2014). Τέλος, υπολογίζεται ότι το 5% της τροφής, παραμένει ως υπόλειμμα στην υδάτινη στήλη (Khakyzadeh et al., 2015; Yogev et al., 2016).



Εικόνα 1. Σχηματική απεικόνιση ενός συστήματος ενυδρείοπονίας (Pattillo, 2017).

Στην Εικόνα 1 περιγράφεται αναλυτικά ένα σύστημα ενυδρείοπονίας. Το νερό κυκλοφορεί με τη βοήθεια αντλιών, από τη δεξαμενή των ψαριών στις δεξαμενές των φίλτρων όπου αρχικά απομακρύνονται τα στερεά απόβλητα από το μηχανικό φίλτρο. Ακολουθεί το βιολογικό φίλτρο όπου τα βακτήρια μετατρέπουν την αμμωνία σε νιτρικά ιόντα. Στη συνέχεια το νερό ρέει έως το υδροπονικό σύστημα όπου τα φυτά απορροφούν τα θρεπτικά που απαιτούνται για την ανάπτυξή τους απομακρύνοντάς τα από το νερό, το οποίο καθαρισμένο πλέον ρέει προς τη δεξαμενή των ψαριών.



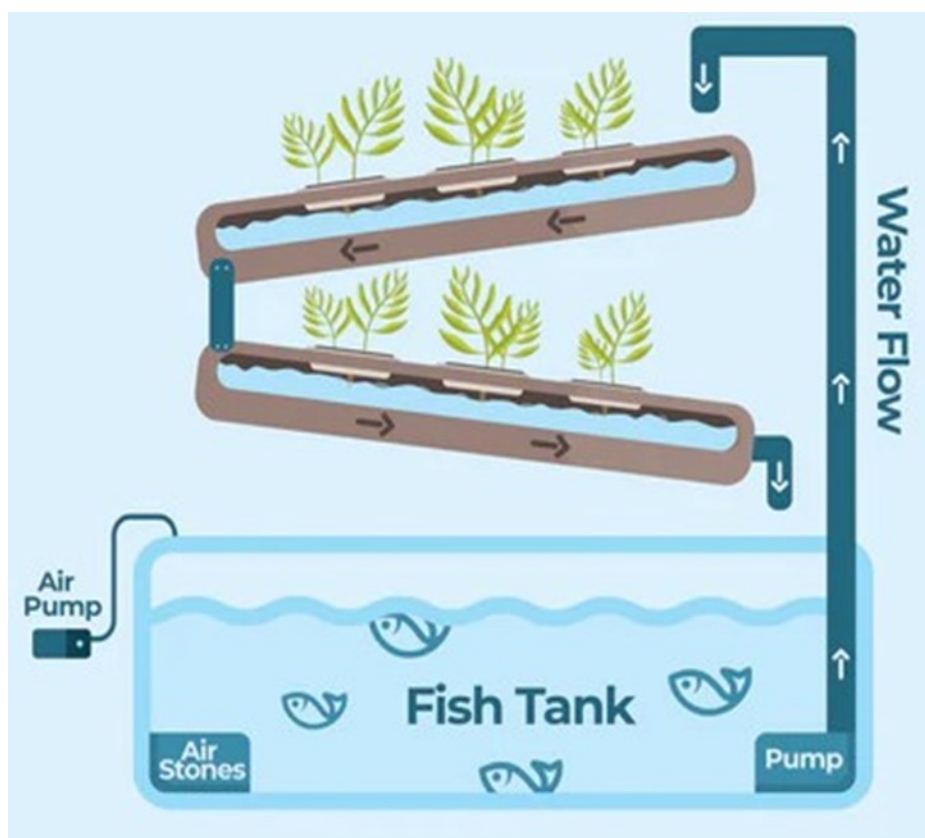
Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση για τη μετατροπή της αμμωνίας που αποβάλλεται από τα ψάρια σε νιτρικά ιόντα για την δέσμευσή τους από τα φυτά (Pattillo, 2017).

Η νιτροποιητική διαδικασία, πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Αρχικά μια ομάδα αυτότροφων βακτηρίων (*Nitrosomonas*) οξειδώνουν την αμμωνία (NH_3) σε νιτρώδη ιόντα (NO_2^-) και στη συνέχεια, ένα άλλο γένος νιτροποιητικών βακτηρίων (*Nitrobacter*) οξειδώνει τα νιτρώδη σε νιτρικά (NO_3^-) (Cebron & Garnier, 2005). Τα παραγόμενα νιτρικά ιόντα, πλούσια σε θρεπτικά συστατικά (λίπασμα), λαμβάνονται από τις ρίζες των φυτών με σκοπό την ανάπτυξή τους και έτσι, το νερό απαλλαγμένο από αμμωνία, νιτρώδη, νιτρικά και φωσφορικά ιόντα επαναδιοχετεύεται στα ψάρια για τη συνέχιση του κύκλου (Yildiz et al., 2017).

3.4 Είδη συστημάτων ενυδρειοπονίας

3.4.1 Συνεχούς ροής / τεχνική θρεπτικών ταινιών (NFT)

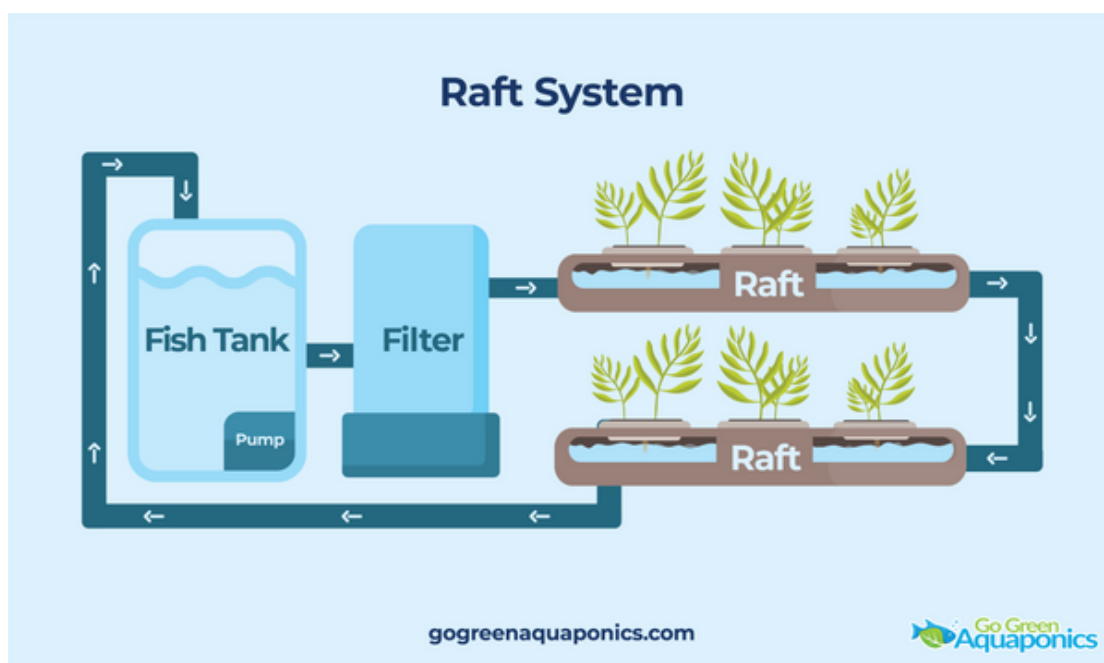
Το σύστημα αυτό χρησιμοποιεί τα λιγότερα υλικά και τον λιγότερο χώρο. Είναι εύκολο να ρυθμιστεί και επιτρέπει τον συνεχή καθαρισμό του νερού. Οι ρίζες των φυτών παραμένουν πάνω από την επιφάνεια του νερού και με αυτόν τον τρόπο αποβάλλονται καλύτερα τα αέρια και απορροφάται καλύτερα το οξυγόνο, πετυχαίνοντας καλύτερη ανάπτυξη των φυτών. Η θερμοκρασία του νερού είναι πιο δύσκολο να ελεγχθεί, ενώ οι στενοί σωλήνες που υπάρχουν είναι επιρρεπείς στο φράξιμο με ρίζες. Συνεπώς το σύστημα αυτό είναι κατάλληλο μόνο για φυτά με μικρές ρίζες.



Εικόνα 3. Ενυδρειοπονικό σύστημα συνεχούς ροής (NFT). (Πηγή: <https://gogreenaquaponics.com>).

3.4.2 Σύστημα με υδροπονική δεξαμενή καλλιέργειας φυτών

Το σύστημα αυτό είναι κατάλληλο για εμπορική παραγωγή καθώς έχει υψηλή παραγωγικότητα, είναι το φθηνότερο από τα ενυδρειοπονικά συστήματα και οι δεξαμενές καθαρίζονται εύκολα. Οι ρίζες των φυτών εκτίθενται συνεχώς στα θρεπτικά συστατικά που κυκλοφορούν στο νερό (συχνά απαιτείται αερισμός των ριζών). Τα συστήματα αυτού του είδους περιορίζονται στην καλλιέργεια μικρών φυλλωδών φυτών όπως μαρούλι και βασιλικός. Επίσης μειονεκτούν ως προς το ότι μπορεί να είναι τύπος αναπαραγωγής κουνουπιών εάν δεν έχουν σχεδιαστεί σωστά.

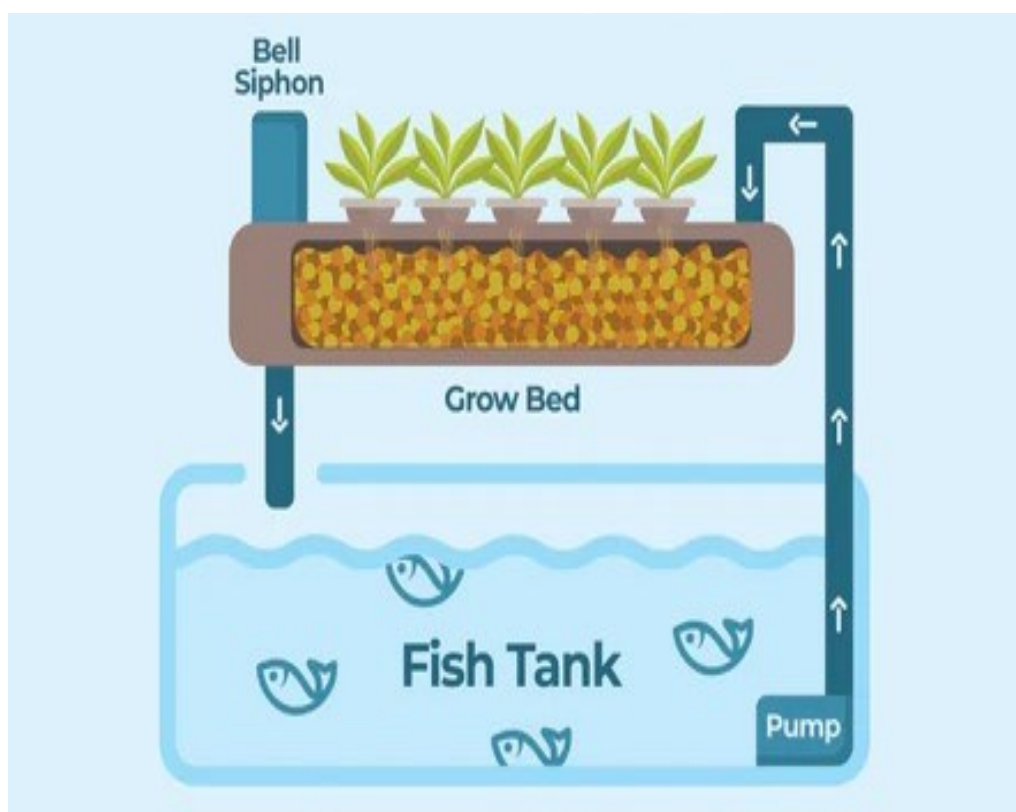


Εικόνα 4. Ενυδρειοπονικό σύστημα με υδροπονική δεξαμενή. (Πηγή: <https://gogreenaquaponics.com>).

3.4.3 Σύστημα με υπόστρωμα αργίλου για την ανάπτυξη των φυτών

Το σύστημα αυτό είναι κατάλληλο για όλα τα είδη φυτών που μπορούν να καλλιεργηθούν με την ενυδρειοπονία. Απαιτείται ελάχιστος καθαρισμός καθώς το αργιλικό υπόστρωμα λειτουργεί ως φίλτρο. Η ύπαρξη αέρα ανάμεσα στα σωματίδια

αργίλου που αποτελούν το υπόστρωμα βοηθούν στην υγεία του ριζικού συστήματος. Τα μειονεκτήματα ενός συστήματος αυτού του είδους εστιάζονται στο υψηλό κόστος κατασκευής, ένα καλής ποιότητας υπόστρωμα είναι ακριβό και στην πρόκληση αναερόβιων συνθηκών, καθώς οι χώροι πόρων στο υπόστρωμα μπορεί να φράξουν με την πάροδο του χρόνου.



Εικόνα 5. Ενυδρειοπονικό σύστημα με υπόστρωμα αργίλου. (Πηγή: <https://gogreenaquaponics.com>).

3.4.4 Διάδοση της ενυδρειοπονίας παγκοσμίως

Η ιδέα της ενυδρειοπονίας έχει τις ρίζες της στην αρχαιότητα. Στην αρχαία Αίγυπτο, το νερό από τις λίμνες με ψάρια (Nile Tilapia και Nile Perch) χρησιμοποιήθηκε για το πότισμα φυτών κήπου (οπωροφόρα δέντρα και αμπελώνες). Στην Κίνα, το ρύζι καλλιεργούνταν σε ορυζώνες σε συνδυασμό με ψάρια. Η τεχνολογία είχε μεταφερθεί από Κινέζους αποίκους που είχαν μεταναστεύσει από το Γιουνάν γύρω στο 5 μ.Χ. Αυτά

τα συστήματα πολυτροφικής εκτροφής υπήρχαν σε πολλές χώρες της Άπω Ανατολής και εκτρέφονταν ψάρια όπως το χέλι, ο κυπρίνος.

Στις αρχές της δεκαετίας του 1970 έγιναν οι πρώτες προσπάθειες σχεδιασμού συστημάτων ενυδρειοπονίας σε ινστιτούτα της Αμερικής και της Ευρώπης (Sneed et al., 1975, Naegel 1977, Bohl, 1977). Από τότε έχουν διεξαχθεί πολλές έρευνες σχετικά με την ενυδρειοπονία όσον 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), την ποιότητα του νερού (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., 2018).

Σήμερα, στην Αμερική είναι ευρέως διαδεδομένη η μέθοδος της ενυδρειοπονίας με πολλά εγκατεστημένα συστήματα μεγάλης κλίμακας. Στην Ευρώπη, τα συστήματα είναι μικρότερης κλίμακας οικιακού τύπου αλλά γίνονται επιτυχημένες προσπάθειες κατανόησης και εφαρμογής της. Σύμφωνα με τον νέο Κανονισμό (ΕΕ) 2018/848 της Επιτροπής, ο οποίος τέθηκε σε ισχύ τον Ιανουάριο του 2022, τα ενυδρειοπονικά προϊόντα δεν μπορούν να πιστοποιηθούν ως βιολογικά στην ΕΕ, λόγω του κανονισμού (ΕΕ) 2018/848. Ο μεγαλύτερος περιορισμός στην πιστοποίηση των προϊόντων ενυδρειοπονίας ως βιολογικών, τουλάχιστον από την άποψη της υδατοκαλλιέργειας, είναι η απαγορευμένη χρήση συστημάτων ανακυκλοφορίας νερού. Ένας άλλος κανόνας της ΕΕ είναι ότι τα φυτικά προϊόντα που χαρακτηρίζονται ως βιολογικά πρέπει να καλλιεργούνται στο έδαφος.

Στην Ελλάδα ακόμη τα πράγματα είναι σε εμβρυακό στάδιο με μεμονωμένες προσπάθειες κατασκευής συστημάτων ενυδρείοπονίας από οικογενειακές κυρίως επιχειρήσεις (Pappa et al., 2017).

3.4.5 Ο ρόλος της ιχθυοτροφής και της συχνότητας σίτισης στην ενυδρείοπονία

Η σύσταση και η περιεκτικότητα της παρεχόμενης τροφής σε πρωτεΐνη διαφέρει ανάμεσα στα είδη και τις ηλικίες των ιχθύων. Τροφή βέλτιστης πρωτεϊνικής σύστασης, παρουσιάζει μεγαλύτερη αύξηση και καλύτερη μετατρεψιμότητα της τροφής (Lovell, 1989; Lazo et al., 1998). Πολλά είδη ιχθύων παρουσιάζουν μειωμένη πεπτικότητα των υδατανθράκων και της κυτταρίνης που περιέχεται στα φυτικά κύτταρα (Jobling, 1995). Σε ένα σύστημα ενυδρείοπονίας, αποκλειστικά φυτικής προέλευσης τροφή (32% πρωτεΐνη & 0.04% φώσφορος) φαίνεται να αποδίδει μεγαλύτερη φυτική βιομάζα, μεγαλύτερο ύψος, αριθμό φύλλων και βλαστών φυτού καθώς και μικρότερες συγκεντρώσεις νιτρικών και ολικών διαλυτών στερεών αλλά μικρότερο ρυθμό ανάπτυξης ιχθύων συγκριτικά με ζωικής προέλευσης τροφή (40% πρωτεΐνη & 1.12% φώσφορος) (Medina et al., 2016).

Η συχνότητα σίτισης και ο διαμοιρασμός της τροφής επηρεάζει τον καταβολισμό των πρωτεϊνών από τους ιχθύες και άρα την παραγωγή της αμμωνίας στο μέσο καλλιέργειας-νερό (Kaushik, 1980), εμφανίζοντας διαφορές σε διαφορετικές ώρες της ημέρας (Gelineau et al., 1998). Ο χρόνος διέλευσης της τροφής μέσω της πεπτικής οδού επηρεάζει το ρυθμό κατανάλωσης της τροφής και την αφομοίωση των θρεπτικών συστατικών από τους ιχθύες (Μεντέ & Νέγκας, 2011). Όταν η παροχή γευμάτων πραγματοποιείται σε χρονικό διάστημα μικρότερο του χρόνου που απαιτείται για τη πέψη και την απορρόφηση της τροφής οι ιχθύες αποβάλλουν ένα μεγάλο μέρος των άπεπτων θρεπτικών συστατικών μέσω των κοπράνων. Αυξημένη συχνότητα σίτισης

μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένους ρυθμούς ανάπτυξης των ιχθύων, αλλά σε μικρότερη πεπτικότητα (Charles et al., 1984; Riche et al., 2004), γεγονός που συντελεί στη παραγωγή μεγαλύτερων ποσοτήτων απεκκριμάτων αλλά και σε υποβάθμιση της ποιότητας του νερού εκτροφής. Στην ενυδρείοπονία, τα θρεπτικά συστατικά που απελευθερώνονται στο νερό μέσω της τροφής και των απεκκριμάτων των ιχθύων αποτελούν τη κύρια πηγή θρέψης των φυτών. Συνεπώς, αυξημένη συχνότητα σίτισης συντελεί σε υψηλότερους ρυθμούς ανάπτυξης των ιχθύων (Tsevis et al., 1992; Silva et al., 2007; Tucker et al., 2006; Biswas et al., 2010) και κατ' επέκταση στην αποτελεσματικότερη θρέψη των φυτών καθώς και τη ποιότητα του νερού εκτροφής (Liang & Chien, 2013).

3.4.6 Το λαβράκι στην υδατοκαλλιέργεια

Από τα τέλη της δεκαετίας του 1980, το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) γίνεται όλο και πιο σημαντικό στην Ευρώπη, ιδιαίτερα για την περιοχή της Μεσογείου, με σταθερή αύξηση της ζήτησης (Federation of Greek Maricultures, 2019). Το λαβράκι είναι ένα ευρύαλο είδος το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί σε ελάχιστες έρευνες εκτροφής (Waller et al., 2015; Nozzi et al., 2016a; Nozzi et al., 2016b, Vlahos et al., 2023) σε συστήματα ενυδρείοπονίας και λόγω της μεγάλης εμπορικής του σημασίας κρίνεται απαραίτητη η μελέτη του. Είναι ευρύαλο είδος, γεγονός που το καθιστά ιδανικό για εκτροφή σε συνθήκες χαμηλής αλατότητας με ταυτόχρονη καλλιέργεια εδώδιμων ή αρωματικών φυτών. Διάφορες μελέτες, έχουν αποδείξει ότι το λαβράκι μπορεί να διαβιώσει σε χαμηλής αλατότητας περιβάλλον (Barnabé, 1990; Pickett & Pawson, 1994) καθώς και να προσαρμοστεί επιτυχώς σε γλυκό νερό σε κλειστά συστήματα εκτροφής (Cataudella et al., 1991; Venturini et al., 1992; Varsamos et al., 2005; Nebel et al., 2005; Stathopoulou et al. 2021) χωρίς όμως να απουσιάζουν περιπτώσεις αυξημένης

θνησιμότητας κατά τη προσαρμογή του σε γλυκό νερό (Dendrinios & Thorpe, 1985; Allegrucci et al., 1994; Jensen et al., 1998). Το περιβάλλον διαβίωσης των ιχθύων παίζει σημαντικό ρόλο στην ευζωία και την ανάπτυξή τους καθώς η μεταφορά ενός ευρύαλου ιχθύος από αλμυρό σε γλυκό νερό, μπορεί να επηρεάσει τη πεπτικότητα της τροφής (Eroldogan et al., 2004). Η συχνότητα της σίτισης μπορεί να επηρεάσει τη χρήση του αζώτου και της ενέργειας του ψαριού. Στο λαβράκι, μια συχνότητα σίτισης 1-3 γευμάτων την ημέρα προάγει καλύτερη απόδοση ανάπτυξης και ρυθμούς κατανάλωσης τροφής (FCR) (Güroy et al., 2013), αλλά αυτό μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με την εποχή του χρόνου, το μέγεθος των ψαριών, την τροφή των ψαριών και το σύστημα παραγωγής.

3.4.7 Σκοπός

Ο σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η διεξαγωγή έρευνας σε ένα σύστημα ενυδρείοπονίας σε ότι αναφορά τους φυσικούς και χημικούς παράγοντες του νερού και τον τρόπο που επιδρούν στην ανάπτυξη των φυτών και στην αξιοποίηση της τροφής από τους ιχθύες με τελικό σκοπό την ευζωία τους και τη μέγιστη παραγωγή βιοασφαλών τροφίμων. Για τον λόγο αυτό μελετήθηκε η επίδραση τριών συχνοτήτων ημερήσιας σίτισης (2, 4 και 8 αριθμό γευμάτων) στην επιβίωση, κατανάλωση τροφής και ανάπτυξη του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) ώστε να προσδιοριστεί η αποδοτικότερη συχνότητα σίτισης του λαβρακιού σε συστήματα ενυδρείοπονίας (είτε εφαρμόζοντας μια συχνότητα σίτιση ανά σύστημα, είτε συνδυάζοντας και τις τρεις συχνότητες σίτισης ανά σύστημα) εξασφαλίζοντας με αυτό το τρόπο τη συνδυασμένη μέγιστη ανάπτυξη ιχθύων λαβρακιού και φυτών μαρουλιού (*Lactuca sativa*). Με προσανατολισμό προς την κατεύθυνση της αειφορίας μελετήθηκε και η επίδραση της

υποκατάστασης ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο στην συνδυαστική ανάπτυξη λαβρακιού και μαρουλιού.

4. 1^ο Πείραμα. Επίδραση μικτής συχνότητας σίτισης ατόμων λαβρακιού προσαρμοσμένα σε γλυκό νερό, στην ανάπτυξη του και στην ανάπτυξη καλλιέργειας μαρουλιού στο εργαστηριακό σύστημα ενυδρειοπονίας

4.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1.1 Σύστημα ενυδρειοπονίας

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, χρησιμοποιήθηκαν τρία πανομοιότυπα αυτόνομα ενυδρειοπονικά συστήματα κλειστού κυκλώματος με ανακυκλοφορία νερού (Εικόνα 6) συνολικού ωφέλιμου όγκου 500L. Το κάθε σύστημα αποτελούνταν από 3 γυάλινα ενυδρεία (δεξαμενές εκτροφής ψαριών) όγκου νερού 100L το κάθε ένα, μία δεξαμενή ωφέλιμου όγκου 26L υδροπονικής καλλιέργειας φυτών έκτασης 1m² πληρωμένη με διογκωμένη άργιλο καθώς και από ένα φίλτρο τύπου SUMP ωφέλιμου όγκου 175L.

Τα φίλτρα τύπου sump τοποθετήθηκαν πάνω σε εξηλασμένη πολυστερίνη πάχους 2,5 cm στο δάπεδο. Ο ωφέλιμος όγκος του κάθε φίλτρου ήταν 175 L και χωρίστηκε σε τρία τμήματα, στο μηχανικό φίλτρο, στο βιολογικό και στο τρίτο τμήμα στο οποίο τοποθετήθηκε μια αντλία νερού. Το μηχανικό φίλτρο κάλυπτε μια επιφάνεια 1250 cm² και αποτελούνταν από τρία στρώματα υαλοβάμβακα, δημιουργώντας ένα στρώμα πάχους 30cm το οποίο συνέβαλλε στην κατακράτηση των αιωρούμενων σωματιδίων και των στερεών υπολειμμάτων (περιττώματα, υπολείμματα τροφής, αιωρούμενα σωματίδια) από τους ιχθύες.

Το βιολογικό φίλτρο αποτελούσε το μεγαλύτερο μέρος του φίλτρου δημιουργώντας μια επιφάνεια 2150 cm². Στο βιολογικό φίλτρο τοποθετήθηκαν τρία διαφορετικά υλικά πλήρωσης: α) 20L πορώδους κυλινδρικού υποστρώματος K1 με διαμέτρημα κόκκου 10mm , β) 10L κεραμικό υλικό με διαμέτρημα κόκκου 15mm και γ) 10L βιόσφαιρες

με διαμέτρημα κόκκου 30mm. Με τον τρόπο αυτό ήταν δυνατή η παροχή μεγάλης ειδικής επιφάνειας ανάπτυξης (SSA) των νιτροποιητικών βακτηρίων στο φίλτρο . Το ποσοστό κάλυψης στο βιολογικό φίλτρο ήταν 70%, 15% και 15% αντίστοιχα για το κάθε υλικό πλήρωσης.

Μια αντλία νερού (Aqua Medic OR 2500L/h, 38W, h(max) 2,6m) διοχέτευε το νερό στη καλλιεργητική περιοχή των φυτών (90% κ.ο.) καθώς και στις δεξαμενές εκτροφής των ιχθύων (10% κ.ο) Η παροχή του νερού από την αντλία προς την καλλιεργητική περιοχή ρυθμίστηκε να είναι ίση με 306L/h (Spotte, 1991). Το νερό από τη καλλιεργητική περιοχή κινούνταν στα ενυδρεία εκτροφής με τη χρήση σιφονιού και στη συνέχεια μέσω παθητικής κίνησης μεταφέρονταν στο φίλτρο. Τα κεντρικά μέρη του συστήματος τοποθετήθηκαν σε πολυεπίπεδη διάταξη για την ευχέρεια των απαιτούμενων ενεργειών (σιφωνισμός ενυδρείων, μετρήσεις φυσικοχημικών παραμέτρων νερού κτλ) και την εκμετάλλευση της παθητικής κίνησης του νερού λόγω βαρύτητας. Η διάχυση του αέρα στα συστήματα ενυδρειοπονίας και η επαρκής οξυγόνωση επιτεύχθηκε μέσω μιας αεραντλίας (HAILEA, ACO-308, 45 L/min, 20W) η οποία παρείχε ατμοσφαιρικό αέρα διατηρώντας τα επίπεδα κορεσμού του διαλυμένου οξυγόνου στο 75% - 80% μέσω 12 πετρών πωρόλιθου (HAILEA, διαστάσεων 20cm, 40mm, 150mm). Το οξυγόνο διαμοιραζόταν ισόποσα στα ενυδρεία εκτροφής των ιχθύων, στο βιολογικό φίλτρο και στο φίλτρο αντλίας. Η ροή του αέρα ρυθμίστηκε να είναι παρόμοια σε όλα τα ενυδρειοπονικά συστήματα με σκοπό τη διατήρηση της ποσότητας του οξυγόνου στις δεξαμενές των ιχθύων μεγαλύτερη από 7 mg/L (Berillis et al., 2016). Ο υπολογισμός της παροχής αέρα πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο του αντίστροφου ογκομετρικού σωλήνα (Spotte, 1991) και μετρήθηκε σε κάθε έξοδο της αεραντλίας στα $1,53 \pm 0,018$ L/min. Σε κάθε ενυδρειοπονικό σύστημα προσαρμόστηκε μηχανήμα UV (JBL AquaCristal, UV-C, 18 W) για την προληπτική αποστείρωση του

νερού (Moriarty et al., 2018). Η ημερησία ανανέωση του νερού των συστημάτων με καθαρό νερό (απουσία χλωρίου), ήταν της τάξης του 10%. Η απώλεια του ποσοστού αυτού, οφείλονταν στη φυσιολογική διαδικασία της εξατμισοδιαπνοής των φυτών, καθώς επίσης από εργασίες καθαρισμού που πραγματοποιούνταν στα συστήματα. Η περίοδος ρύθμισης των συστημάτων διήρκησε 2 μήνες (Kawai et al., 1964; Hirayama, 1974). Με σκοπό τη ρύθμιση του pH (μείωση) σε κάθε σύστημα προστέθηκαν $0,969 \times 10^{-3}\text{M}$ H_3PO_4 και $0,116 \times 10^{-2}\text{M}$ HNO_3 .

Σε κάθε δεξαμενή εκτροφής των ιχθύων, προσαρμόστηκαν βυθιζόμενοι ηλεκτρικοί θερμοστάτες (Sunsun, JRB, 200W) με σκοπό τη σταθερή διατήρηση της θερμοκρασίας του νερού. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος η θερμοκρασία και στις τρεις μεταχειρίσεις, διατηρήθηκε σταθερή στους $20,24 \pm 0,039^\circ \text{C}$.



Εικόνα 4.1. Σύστημα ενυδρείοπονίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, συνολικού ωφέλιμου όγκου νερού 500L (Προσωπικό αρχείο).

Πίνακας 4.1. Τεχνικά χαρακτηριστικά συστημάτων ενυδρειοπονίας που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα.

	Διαστάσεις		
	Διαστάσεις	σύμφωνα με το	Όγκος νερού
	(cm)	ύψος του νερού (cm)	(m ³)
Ενυδρεία	50 x 50 x 50	49 x 49 x 41	98,44
Φίλτρο	101 x 50 x 50	100 x 50 x 35	175,00
Υδροπονική δεξαμενή	114 x 74 x 24	114 x 74 x 3	25,31
Μηχανικό φίλτρο	25 x 50 x 50	25 x 50 x 35	43,75
Βιολογικό φίλτρο	43 x 50 x 50	43 x 50 x 35	75,25
Φίλτρο Αντλία	31 x 50 x 50	31 x 50 x 35	54,25
		cm²	m²
Επιφάνεια φίλτρου	100 x 50	5000	0,5
Επιφάνεια μηχανικού φίλτρου	25 x 50	1250	0,125
Επιφάνεια βιολογικού φίλτρου	43 x 50	2150	0,215
Επιφάνεια φίλτρου αντλίας	31 x 50	1550	0,155
Επιφάνεια υδροπονικής δεξαμενής	114 x 74	8436	0,8436
	Σύστημα 1	Σύστημα 2	Σύστημα 3
Παροχή Q (L/min)	6,23	6,32	6,26
Παροχή Q (cm³/min)	6226	6320	6260
Πάχος φίλτρου D (cm)	35	35	35
Ταχύτητα φιλτραρίσματος (cm/min)	1,25	1,26	1,25

Η περίοδος ρύθμισης των συστημάτων διήρκησε 2 μήνες με σκοπό το στήσιμο του βιολογικού φίλτρου καθώς σύμφωνα με τους Kawai et al. (1964) και Hirayama (1974),

40-60 ημέρες είναι απαραίτητες για την πρώτη εγκαθίδρυση των βακτηρίων και την ικανοποιητική οξείδωση της αμμωνίας σε νιτρικά ιόντα. Με σκοπό τη ρύθμιση του pH (μείωση) σε κάθε σύστημα χορηγήθηκε διάλυμα 0,001M H_3PO_4 .

4.1.2 Προσαρμογή ιχθύων

Διακόσια άτομα λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) μέσου βάρους 1-2gr μεταφέρθηκαν από τον ιχθυογεννητικό σταθμό της εταιρίας ΣΕΛΟΝΤΑ Α.Ε.ΓΕ που εδρεύει στη θέση Τάπιες–Πελασγία στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, μέσα σε ειδικούς σάκους μεταφοράς με οξυγόνωση, ακολουθώντας όλα τα απαραίτητα υγειονομικά πρωτόκολλα.

Με την έλευση των ιχθυδίων στο χώρο του εργαστηρίου, οι ιχθύες τοποθετήθηκαν σε δεξαμενές πληρωμένες με το ίδιο νερό μεταφοράς τους από το σταθμό, αλατότητας 25‰ στους οποίους αφέθηκαν για σύντομο χρονικό διάστημα με σκοπό την ηρεμία τους. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε σταδιακή μείωση της αλατότητας με απομάκρυνση θαλασσινού νερού και ταυτόχρονη προσθήκη γλυκού νερού έως την επιθυμητή αλατότητα 20‰. Η προσαρμογή σε χαμηλότερη αλατότητα πραγματοποιήθηκε αργά. Ανά μισή ώρα το νερό μειωνόταν κατά 1‰ για αποφυγή στρεσαρίσματος των ιχθυδίων. Με την επιτυχή προσαρμογή οι ιχθύες τοποθετήθηκαν σε τέσσερα καλώς οξυγονωμένα ενυδρεία υποδοχής, ωφέλιμου όγκου 190, 100, 100 και 190L αντίστοιχα, αλατότητας 20‰ στα οποία προσαρμόστηκε μηχανήμα UV για την προληπτική αποστείρωση του νερού. Ανά 7 ημέρες η αλατότητα μειώνονταν σταδιακά κατά 5 ppt. Καθ' όλη τη διάρκεια προσαρμογής, οι ιχθύες σιτίζονταν 2 φορές την ημέρα, πρωί (10:00-10:30) και απόγευμα (17:00-17:30) μέχρι κορεσμού. Καθημερινά στα ενυδρεία καταγραφόταν η θερμοκρασία και το pH καθώς και ανά 3 ημέρες η ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC). Εβδομαδιαία μετρούνταν χρωματομετρικά

(Api, TestKit) η ολική αμμωνία (mg/L), τα νιτρώδη (mg/L) και τα νιτρικά (mg/L) που περιέχονταν στην υδάτινη στήλη των ενυδρείων. Η προσαρμογή των ιχθύων σε αλατότητα <1ppt διήρκησε συνολικά 60 ημέρες. Σε κάθε ένα στάδιο, ακολουθούνταν όλα τα απαραίτητα υγειονομικά πρωτόκολλα και τα ιχθύδια μεταχειρίζονταν σύμφωνα με τους κανόνες ευζωίας.

Με την επιτυχή προσαρμογή των ιχθύων στα ενυδρεία υποδοχής, σε κάθε ενυδρείο κάθε ενυδρειοπονικού συστήματος αλατότητας $0,60 \pm 0,008$ ppt, τοποθετήθηκαν 19 ιχθύες, αντίστοιχα (Spotte, 1991; Carroza et al., 2012) και αφέθηκαν 15 ημέρες πριν την έναρξη του πειράματος με σκοπό τον εγκλιματισμό τους. Με το πέρας του εγκλιματισμού, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των ατομικών βαρών με τη χρήση ηλεκτρονικού ζυγού (ακρίβειας δυο δεκαδικών) και των ατομικών μηκών των ιχθύων με τη χρήση ιχθυομέτρου. Οι ιχθύες τοποθετήθηκαν στα ενυδρεία εκτροφής αντίστοιχα για τη κάθε μεταχείριση χωρίς να εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των αρχικών βαρών και μηκών τους.

4.1.3 Υπολογισμός αριθμού ιχθύων ανά ενυδρείο και φορτίου ρύπανσης

Ένα από τα βασικά στοιχεία υπολογισμού είναι ο υπολογισμός του αριθμού των ιχθύων που προστέθηκαν ανά ενυδρείο, αλλά και του φορτίου ρύπανσης που δημιουργείται. Ο υπολογισμός αυτός πραγματοποιήθηκε από την ανισότητα του Hirayama και στηρίζεται κυρίως στο φίλτρο του συστήματος. Μέσω αυτού του τύπου υπολογίζεται η ικανότητα (αποδοτικότητα) που έχει το βιολογικό φίλτρο ώστε να οξειδώνει δηλαδή να μετατρέπει την παραγόμενη αμμωνία (την τοξική κυρίως μορφή, $\text{NH}_3\text{-N}$) σε ακίνδυνα νιτρικά ιόντα (νιτροποίηση).

Ο τύπος περιγράφεται ως:

$$\sum_{i=1}^p \frac{10 * Wi}{0,7 \frac{1}{vi} + \frac{950}{Gi * Di}} \geq \sum_{i=1}^q (Bj^{0,544} * 0,01) + 0,051 * F$$

Το αριστερό σκέλος της σχέσης, αντιπροσωπεύει την ικανότητα του βιολογικού φίλτρου να οξειδώνει και να απενεργοποιεί τους τοξικούς μεταβολίτες που παράγονται στο σύστημα (mg O₂ /min).

Όπου:

Wi (m²) = η έκταση της επιφάνειας του φίλτρου.

Vi (cm/min)= η ταχύτητα ροής του νερού διαμέσου του φίλτρου.

Di (cm)= πάχος του στρώματος του φίλτρου.

p= ο αριθμός των φίλτρων που εξυπηρετούν το σύστημα.

Gi = συντελεστής που εκφράζει το μέγεθος των κόκκων των υλικών που αποτελούν το υλικό πλήρωσης του βιολογικού φίλτρου και εκφράζεται από τη σχέση:

$$G = \frac{1}{R1} * 100 + \frac{1}{R2} * 100 + \dots + \frac{1}{Rn} * 100$$

όπου:

R1, R2, ..., Rn = διαφορετικό μέγεθος των κόκκων του φίλτρου (mm). Το δεξιό μέρος αντιπροσωπεύει το ρυθμό ρύπανσης του νερού από τα ψάρια (mg O₂ /min).

Όπου:

B = βάρος ψαριού (g).

F = Ημερήσια χορηγούμενη ποσότητα τροφής (g).

q = Αριθμός των ψαριών.

Η ικανή και αναγκαία συνθήκη ώστε το φίλτρο των συστημάτων να λειτουργεί ικανοποιητικά, χωρίς να διαταράσσεται η ισορροπία του είναι: η οξειδωτική ικανότητα του βιολογικού φίλτρου πρέπει να είναι μεγαλύτερη ή τουλάχιστον ίση προς το ρυθμό ρύπανσης που δημιουργείται από τους ιχθύες.

(Wi) Επιφάνεια φίλτρου (m ²)	0,5
(Di) Πάχος φίλτρου (cm)	50
(Vi) Ταχύτητα ροής (cm/min)	1,79
Gi	8,5*
(B) Βάρος ψαριού (gr)	8,6
Ποσοστό διατροφής (%)	5

* 70% K1 (10mmdiameter) 15% κεραμικοί κύλινδροι (15mm) 15% βιόσφαιρες (30mm)

Όλα τα παραπάνω υπολογίστηκαν και αντικαταστήθηκαν στον τύπο του Hirayama προκύπτοντας για το πρώτο σκέλος, η τιμή της οξειδωτικής ικανότητας του φίλτρου στα 0,98 mg O₂ /min.

Για τον υπολογισμό του μέγιστου αριθμού των ψαριών βάρους 8,6 gr με επίπεδο διατροφής 5% που μπορεί να διαχειριστεί το σύστημα ώστε να οξειδώνεται πλήρως η παραγόμενη από αυτά αμμωνία χρησιμοποιήθηκε το δεύτερο σκέλος της ανισότητας του Hirayama προκύπτοντας ως ανώτερος αριθμός ψαριών τους 57 ιχθύες ανά σύστημα (19 ιχθύες ανά ενυδρείο).

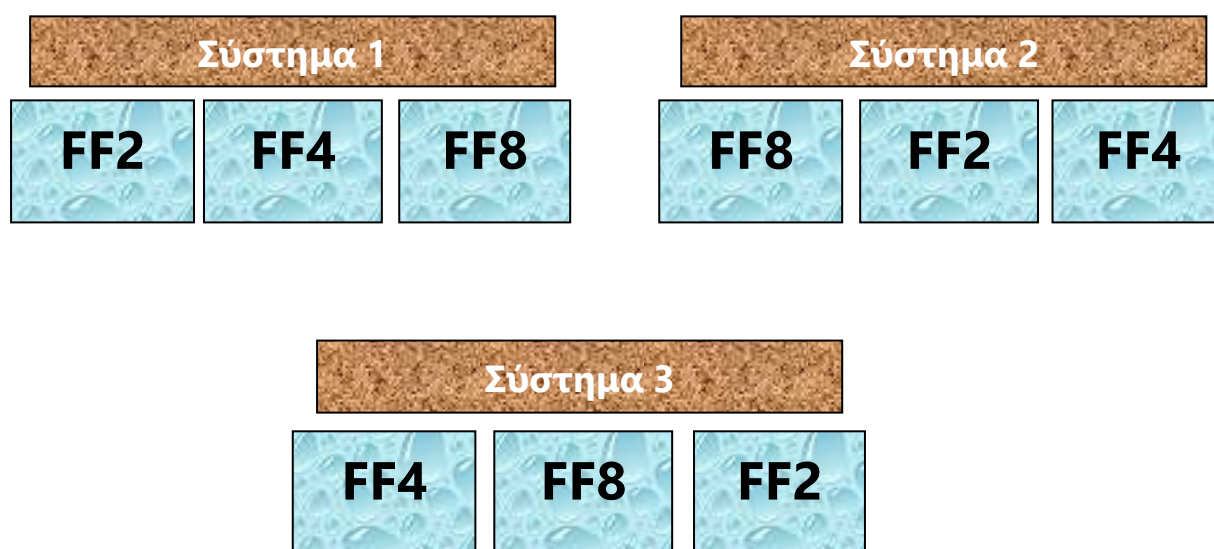
Η οξειδωτική ικανότητα του βιολογικού φίλτρου υπολογίστηκε στα 0,98 mg O₂ /min και 2,38 mg O₂ /min, ο βαθμός ρύπανσης που προκλήθηκε στο φίλτρο .

4.1.4 Εκτροφή ιχθύων, πρωτόλλο σίτισης

Συνολικά εκτράφηκαν 171 ιχθύες 6,8±0,095g αρχικού μέσου βάρους και 8,62±0,048cm μήκους για χρονικό διάστημα 45 ημερών με πυκνότητα εκτροφής 1,3 kg/m³. Όλοι οι ιχθύες σιτίζονταν καθημερινά με την ίδια εμπορική τροφή (Πίνακας

2.1) και το ίδιο ποσοστό διατροφής αθροισμένο σε 5% βάρους ιχθύος. Η συγκεκριμένη τροφή επιλέχθηκε λόγω της σύστασης της η οποία παρασκευάζεται αποκλειστικά για να ικανοποιεί τις διατροφικές απαιτήσεις του λαβρακιού, καθώς επίσης παρόμοια διατροφή ακολουθούνταν κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των ιχθυδίων στον ιχθυογεννητικό σταθμό από όπου και προήλθαν. Το ποσοστό διατροφής ορίστηκε στο 5% βάρος ιχθύος σύμφωνα με τις διατροφικές συστάσεις της ίδιας εταιρίας για το συγκεκριμένο είδος, στο συγκεκριμένο μέγεθος με τις τρέχουσες εργαστηριακές συνθήκες εκτροφής σύμφωνα με τον Πίνακα 4.2.

Η διαφορετική πρακτική σίτισης, ανά τρία ενυδρεία, πραγματοποιήθηκε στους διαφορετικούς αριθμούς γευμάτων ανά ημέρα. Τα γεύματα διαμοιράζονταν καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας (24ώρες) σε 2, 4 και 8 φορές αντίστοιχα (Εικόνα 8). Κάθε μεταχείριση σίτισης (FF2, FF4, και FF8: σίτιση 2, 4 και 8 γεύματα/ημέρα, αντίστοιχα) πραγματοποιούνταν σε κάθε σύστημα ενυδρειοπονίας (Σύστημα 1,2 και 3), χρησιμοποιώντας αντίστοιχα από ένα ενυδρείο για τη κάθε μεταχείριση (Εικόνα 4.2).



Εικόνα 4.2. Απλουστευμένη απεικόνιση συστημάτων ενυδρειοπονίας χωρίς τη παρουσία φίλτρου. Τα γράμματα FF2, FF4, FF8 αναφέρονται στους ιχθύες που σιτίζονταν 2, 4 και 8 φορές/ημέρα αντίστοιχα.

Πίνακας 4.2. Αναλυτική σύσταση παρεχόμενης εμπορικής τροφής, κοκκομετρικής διαμέτρου 1,5mm (INTROPlusMT, Biomar).

Αναλυτικά Συστατικά	Περιεκτικότητα
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 (%)
Ολική ενέργεια	21,2 (MJ/Kg)

Πίνακας 4.3. Ενδεικτικός πίνακας διατροφής (κιλά τροφής για 100κιλά ιχθύος την ημέρα) (Biomar).

Μέσο βάρος ιχθύων	Μέγεθος κόκκου	Θερμοκρασία °C			
(gr)	(mm)	18	20	22	24
3 - 8	1,5	2,67	3,08	3,4	3,59

Η σίτιση πραγματοποιούνταν ημιαυτόματα. Τα πρωινά και μεσημεριανά ταΐσματα πραγματοποιούνταν καθημερινά από τον ίδιο άνθρωπο και τα απογευματινά και βραδινά με τη χρήση αυτόματης ταΐστρας (Εικόνα 4.3).

Η ακριβής ποσότητα σίτισης, υπολογίζονταν από τη σχέση:

Προσφερόμενη τροφή (FC) (g)= Αριθμό εκτρεφόμενων ιχθύων x μέσο βάρος ιχθύων (g) x ποσοστό διατροφής μέσου βάρους ζώντος ιχθύος (%) (Σχέση 4.1)

FF2			
Ώρα		9:00	21:00
Μέθοδος σίτισης	A1	Με το χέρι	Αυτόματη Ταΐστρα
	A2	Με το χέρι	Αυτόματη Ταΐστρα
	A3	Με το χέρι	Αυτόματη Ταΐστρα

FF4					
Ώρα		9:00	15:00	21:00	3:00
Μέθοδος σίτισης	B1	Με το χέρι	Με το χέρι	Αυτόματη Ταΐστρα	Αυτόματη Ταΐστρα
	B2	Με το χέρι	Με το χέρι	Αυτόματη Ταΐστρα	Αυτόματη Ταΐστρα
	B3	Με το χέρι	Με το χέρι	Αυτόματη Ταΐστρα	Αυτόματη Ταΐστρα

FF8									
Ώρα		9:00	12:00	15:00	18:00	21:00	0:00	3:00	6:00
Μέθοδος σίτισης	C1	Με το χέρι	Με το χέρι	Με το χέρι	Με το χέρι	Αυτόματη Ταΐστρα	Αυτόματη Ταΐστρα	Αυτόματη Ταΐστρα	Αυτόματη Ταΐστρα
	C2	Με το χέρι	Με το χέρι	Με το χέρι	Με το χέρι	Αυτόματη Ταΐστρα	Αυτόματη Ταΐστρα	Αυτόματη Ταΐστρα	Αυτόματη Ταΐστρα
	C3	Με το χέρι	Με το χέρι	Με το χέρι	Με το χέρι	Αυτόματη Ταΐστρα	Αυτόματη Ταΐστρα	Αυτόματη Ταΐστρα	Αυτόματη Ταΐστρα

Εικόνα 4.3. Ώρες γευμάτων ανά μεταχείριση και τρόπος σίτισης ανά γεύμα. Τα γράμματα A,B και C αναφέρονται στους ιχθύες που σιτίζονταν 2 (FF2), 4(FF4) και 8(FF8) φορές/ημέρα αντίστοιχα. Ο αριθμός που ακολουθεί τα γράμματα (1,2 και 3) αντιστοιχεί στο εκάστοτε ενυδρείοπνικό σύστημα.

Κάθε 15 ημέρες οι ιχθύες αναισθητοποιούνταν με τη χρήση MS-222, λαμβάνονταν οι μορφομετρικές μετρήσεις (βάρος (g), ολικό μήκος (cm) και η ποσότητα της προσφερόμενης τροφής επαναπροσδιορίζονταν σύμφωνα με τα νέα βάρη των ιχθύων.

Καθημερινά, πριν το πρωινό τάισμα πραγματοποιούνταν η συλλογή των κοπράνων και της μη καταναλωθείσας τροφής με σифωνισμό από το πυθμένα των ενυδρείων. Αφού ξεπλένονταν με απεσταγμένο νερό με σκοπό την απομάκρυνση των αλάτων, τα δείγματα αποθηκεύονταν σε ειδικούς κωδικοποιημένους συλλέκτες. Κατόπιν

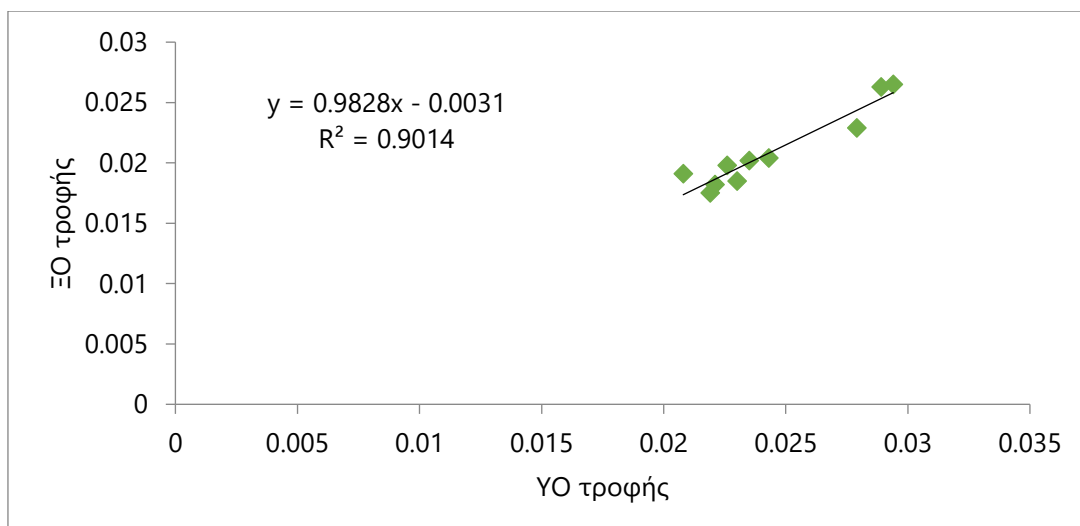
διαχωρίζονταν μακροσκοπικά τα υπολείμματα τροφής από τα κόπρανα , τοποθετώντας τα, ξεχωριστά σε αντίστοιχες κωδικοποιημένες προζυγισμένες κάψες. Τα δείγματα επαναζυγίζονταν μαζί με τις κάψες και τοποθετούνταν σε φούρνο ξήρανσης στους 105 °C για 24ώρες. Με το πέρας των 24ωρών τα δείγματα επαναζυγίζονταν, υπολογίζοντας με αυτό το τρόπο την εναπομείνουσα ξηρή ουσία. Για τον υπολογισμό της καταναλωθείσας τροφής χρησιμοποιούνταν η σχέση:

$$FC (g) = \Xi O \text{ χορηγούμενης τροφής} - \Xi O \text{ εναπομείνουσας τροφής (Σχέση 4.2)}$$

Όπου ΞO χορηγούμενης τροφής, η χορηγούμενη ποσότητα τροφής σε ξηρή ουσία αφαιρούμενη του ποσοστού υγρασίας και ΞO εναπομείνουσας τροφής, η εναπομείνουσα ποσότητα τροφής μετά τη ξήρανση.

Η ΞO της χορηγούμενης τροφής υπολογίστηκε μέσω της γραμμικής συσχέτισης ξηρής και υγρής ουσίας της τροφής. Η συσχέτιση πραγματοποιήθηκε μέσω της ζύγισης 10 τεμαχίων τροφής (πελέτας) και τοποθέτηση σε προζυγισμένες κάψες οι οποίες παρέμειναν σε φούρνο ξήρανσης στους 105 °C για 24ώρες. Με το πέρας των 24ωρών τα δείγματα επαναζυγίστηκαν, υπολογίζοντας με αυτό το τρόπο τη ξηρή ουσία. Οι σχέσεις μεταξύ ξηρής (ΞO) και υγρής ($Y O$) ουσίας της τροφής, παρουσιάζονται στο σχήμα 1 και καθορίστηκαν μέσω γραμμικής συσχέτισης από τη σχέση:

$$\Xi O \text{ τροφής (g)} = 0,9828 \times Y O \text{ τροφής} - 0,0031 (R^2=0,90, n=10) \text{ (Σχέση 4.3)}$$



Εικόνα 4.4. Γραμμική συσχέτιση ξηρής ουσίας (ΞΟ) και υγρής ουσίας (ΥΟ) παρεχόμενης τροφής.

4.1.5 Καλλιέργεια φυτών

Τα φυτώρια μαρουλιού (*Lactuca sativa* ποικιλίας Musena) προήλθαν από την Αγροπονία Σερρών Α.Ε (Planty ΕΠΕ) σε βάση φυτωρίων 300 θέσεων (0,24m²). Τα φυτά, παρέμειναν σε θερμοκήπιο με σκοπό τη σταδιακή προσαρμογή τους στο χώρο του εργαστηρίου. Πέντε ημέρες πριν τη τοποθέτηση των φυτών στα συστήματα ενυδρειοπονίας πραγματοποιήθηκε λίπανση με σίδηρο, κάλιο και ασβέστιο. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε διαφυλλική λίπανση ασβεστίου 0,12mlCa/0,24m² (LastingCA), υδρολίπανση Καλίου 0,54gr/1L (Honeywell- Fluka) και υδρολίπανση χηλικής μορφής σιδήρου 0,022gr FeDTPA. Οι ποσότητες των λιπάνσεων ακολουθούσαν τις αναγραφόμενες δοσολογίες των σκευασμάτων. Πριν τη καλλιέργεια των φυτών, επιλέχθηκαν πιο εύρωστα φυτώρια και αφού ξεπλύθηκαν προσεκτικά οι ρίζες τους από το έδαφος, τοποθετήθηκαν στα συστήματα. Ο αριθμός των φυτών μαρουλιού (*L. sativa* ποικιλίας Musena) που προστέθηκε σε κάθε βάση καλλιέργειας του ενυδρειοπονικού συστήματος, αντιστοιχούσε σε 11 φυτά/m² τρία εκ των οποίων

αποτελούσαν φυτά δείκτες τα οποία τη 10^η ημέρα πειράματος συγκομίστηκαν με σκοπό την μέτρηση και εκτίμηση του ποσοστού απορρόφησης K, Na και Ca από τους φυτικούς ιστούς. Συνολικά φυτεύτηκαν 33 φυτά μαρουλιού τα οποία δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα μορφομετρικά χαρακτηριστικά τους (ύψος, αριθμός φύλλων). Επιπλέον 8 φυτά που επίσης δεν παρουσίαζαν διαφορές με τα φυτά φύτευσης, χρησιμοποιήθηκαν με σκοπό τη μέτρηση των αρχικών βαρών φύλλων και ρίζας (νωπό και ξηρό βάρος) έτσι ώστε να υπάρχει μια πρώτη εικόνα των μορφομετρικών χαρακτηριστικών των φυτών.

Η τοποθέτηση των φυτών στο σύστημα έγινε κατά τέτοιο τρόπο ώστε να γίνεται η μέγιστη εκμετάλλευση της φωτοσυνθετικά ενεργούς ακτινοβολίας (Photosynthetically active radiation – PAR) του τεχνητού φωτισμού και επιλέχθηκαν οι θέσεις των φυτών να χαρακτηρίζονται από 400-500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$. Το κάθε άτομο φυτού απείχε από το επόμενο απόσταση ίση με 20cm. Η φωτοπερίοδος ορίστηκε στις 10 ώρες φως και 14 ώρες σκοτάδι, σύμφωνα με τις απαιτήσεις του φυτού.

Σε ύψος 65 cm επάνω από τη καλλιεργητική περιοχή, τοποθετήθηκε τεχνητός φωτισμός -λάμπα φθορισμού 400 W- (SYLVANIA, 230VHIDHighPressureSodium) με προσαρμοσμένο χρονοδιακόπτη (Legrand, 3018 W44) καθορισμού των ωρών λειτουργίας για τον ακριβή έλεγχο της φωτοπεριόδου. Κάθε 15 ημέρες πραγματοποιούνταν μέτρηση του ύψους των φυτών καθώς και του αριθμού φύλλων.

4.1.6 Προσδιορισμός φυσικοχημικών παραμέτρων

Στα ενυδρεία εκτροφής των ιχθύων καταγραφόταν *in situ* καθημερινώς η θερμοκρασία του νερού (°C) και το pH, ενώ ανά τρεις μέρες καταγραφόταν η συγκέντρωση του οξυγόνου (mg/L) με τη χρήση πολύμετρου αντίστοιχων αισθητήρων (Hach, HQ40d), η ηλεκτρική αγωγιμότητα (mS/cm) με τη χρήση πολύμετρου (Crison,

CM35) καθώς και η αλατότητα με τη χρήση οπτικού διαθλασίμετρου (ATC). Οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν στο μέσο πλάτος και βάθος του κάθε ενυδρείου παρέχοντας μια καλύτερη εικόνα της μέσης τιμής των επικρατουσών συνθηκών μέσα στα ενυδρεία εκτροφής.

Μια φορά την εβδομάδα, πριν το πρώτο πρωινό τάισμα των ιχθύων, στο σημείο εισόδου του νερού (In) στη καλλιεργητική περιοχή και στο σημείο εξόδου της καλλιεργητικής περιοχής (Out), λαμβάνονταν δείγματα νερού όπου μετρούνταν οι συγκεντρώσεις αμμωνιακών (mg/L, $\text{NH}_4\text{-N}$), νιτρικών ιόντων (mg/L, $\text{NO}_3\text{-N}$) και φωσφορικών ιόντων (mg/L, $\text{PO}_4\text{-P}$). Ο προσδιορισμός των αμμωνιακών, των νιτρικών ιόντων και των φωσφορικών ιόντων, πραγματοποιούνταν φωτομετρικά σύμφωνα με τις αντίστοιχες μεθόδους των A.P.H.A (2005) με τη χρήση του φωτομέτρου Hach DR3900. Οι μετατροπές των συγκεντρώσεων $\text{NH}_4\text{-N}$ σε NH_4 , $\text{NH}_4\text{-N}$ σε NH_3 , $\text{NO}_3\text{-N}$ σε NO_3 και $\text{PO}_4\text{-P}$ σε PO_4 υπολογίστηκαν σύμφωνα με τις παρακάτω σχέσεις, στοιχειομετρικώς:

$$\text{NH}_4 = \text{NH}_4\text{-N} \times 1,2878 \text{ (Σχέση 4.4)}$$

Όπου 1,2878 ατομικό βάρος NH_4 / ατομικό βάρος N

$$\text{NH}_3 = \text{NH}_4 \times 0,9441 \text{ (Σχέση 4.5)}$$

Όπου 0,9441 ατομικό βάρος NH_3 / ατομικό βάρος NH_4

$$\text{NO}_3 = \text{NO}_3\text{-N} \times 4,427 \text{ (Σχέση 4.6)}$$

Όπου 4,427 ατομικό βάρος NO_3 / ατομικό βάρος N

$$\text{PO}_4 = \text{PO}_4\text{-P} \times 3,066 \text{ (Σχέση 4.7)}$$

Όπου 3,066 ατομικό βάρος PO_4 / ατομικό βάρος P

4.1.7 Προσδιορισμός ανάπτυξης ιχθύων

Στην έναρξη του πειράματος (D0) καταγράφηκε το αρχικό βάρος και το αρχικό ολικό μήκος των ιχθύων. Η ανάπτυξη των ιχθύων καταγράφονταν κάθε 15 ημέρες πειράματος (D15, D30, D45) μέσω της μέτρησης του τελικού βάρους σώματος (g) των ιχθύων καθώς και του ολικού μήκους (cm) του κάθε ατόμου ξεχωριστά με τη χρήση ζυγού ακρίβειας δεύτερου δεκαδικού ψηφίου (KERN) και ιχθυόμετρου. Η μέτρηση των μορφομετρικών χαρακτηριστικών πραγματοποιούνταν έπειτα από αναισθητοποίηση των ιχθύων σε διάλυμα MS-222 πυκνότητας 0,15ml/L. Μία ημέρα πριν τη μέτρηση, οι ιχθύες παρέμεναν σε νηστεία.

Η εκτίμηση της αύξησης του βάρους των ιχθύων και ο προσδιορισμός του βαθμού εκμετάλλευσης και κατανάλωσης της χορηγούμενης τροφής από τους εκτρεφόμενους οργανισμούς κατά τη διάρκεια των 45ημερών, υπολογίστηκαν σύμφωνα με τους Houlihan et al. (2001), Παπουτσόγλου (2008) και Bahadir-Koca (2009):

Επιβίωση (%) (S-survival)

$$S = (\text{Τελικός αριθμός ψαριών} / \text{Αρχικός αριθμός ψαριών}) \times 100 \text{ (Σχέση 4.8)}$$

Απόλυτη αύξηση βάρους (weight gain, WG)

$$WG \text{ (g)} = \text{Τελικό βάρος} - \text{Αρχικό βάρος (Σχέση 4.9)}$$

Ημερήσιος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (SGR, Specific Growth Rate %/day)

$$SGR \text{ (\%/ημέρα)} = \{\ln(W_t) - \ln(W_i) / d\} \times 100 \text{ (Σχέση 4.10)}$$

W_t = Τελικό βάρος (g),

W_i = Αρχικό βάρος (g),

d = Ημέρες

Συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR, Feed Conversion Ratio)

$FCR = FC / WG$ (Σχέση 4.11)

FC (g) = Καταναλωθείσα τροφή,

WG (g) = Αύξηση βάρους

4.1.8 Ιστολογικές αναλύσεις ιχθύων

Πέντε ιχθύες ελήφθησαν ανά δεξαμενή για ιστοπαθολογική εξέταση στο τέλος του πειράματος. Αυξημένη δόση MS222 χρησιμοποιήθηκε για ευθανασία. Αμέσως μετά την ευθανασία οι ιχθύες τοποθετήθηκαν στον πάγο. Δείγματα ήπατος, εντέρου, βραγχίων και νεφρού ελήφθησαν από κάθε ιχθύ προκειμένου να εξεταστεί η αποτελεσματικότητα της συχνότητας σίτισης αλλά και η προσαρμογή των ιχθύων σε γλυκό νερό. Τα ιστοτεμαχίδια μονιμοποιήθηκαν σε σταθεροποιητικό Davidson για 24 ώρες στους 4°C και ακολουθούσε αφυδάτωση σε ανιούσα σειρά αλκοολικών διαλυμάτων (70%, 80%, 90%, 95% και 100%), εμβάπτιση σε ξυλόλη και εγκλεισμός σε παραφίνη. Λεπτές τομές 4-7 μm τοποθετήθηκαν, αποπαραφινώθηκαν, επανυδατώθηκαν, χρωματίστηκαν με Hematoxylin-Eosin, και τοποθετήθηκαν με Cristal/Mount. Οι τομές εν συνεχεία εξετάστηκαν για αλλοιώσεις με μικροσκόπιο (Axiostar plus Carl Zeiss Light Microscopy, Carl Zeiss Ltd, Gottingen, Γερμανία) συνολική μεγέθυνση 100X και 400X. Χρησιμοποιήθηκε ένα ημιποσοτικό σύστημα βαθμολόγησης προκειμένου να ποσοτικοποιηθούν οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις των εξεταζόμενων ιστών (Johnson et al., 2009; Vlachos et al., 2019). Η βαθμολόγηση σοβαρότητας χρησιμοποιούσε το ακόλουθο σύστημα: Βαθμός 0 (όχι αξιοσημείωτος), Βαθμός 1 (ελάχιστος), Βαθμός 2 (ήπιος), Βαθμός 3 (μέτρια), Βαθμός 4 (σοβαρός).

Πίνακας 4.4. Πρωτόκολλο αφυδάτωσης, διαύγασης και εγκλισμού σε παραφίνη.

Βήματα	Ουσία	Διάρκεια
1	Αιθανόλη 70%	1h
2	Αιθανόλη 80%	1h
3	Αιθανόλη 95%	1h
4	Αιθανόλη 95%	2h
5	Αιθανόλη 100%	1h
6	Αιθανόλη 100%	1h
7	Αιθανόλη 100%	2h
8	Ξυλόλη	2h
9	Ξυλόλη	2h
10	Παραφίνη	2h
11	Παραφίνη	4h

Πίνακας 4.5: Πρωτόκολλο αφυδάτωσης και χρώσης.

Βήματα	Ουσία	Διάρκεια
1	Ξυλόλη I	15min
2	Ξυλόλη II	15min
3	Αλκοόλη 100%	5min
4	Αλκοόλη 100%	5min
5	Αλκοόλη 95%	5min
6	Αλκοόλη 95%	5min
7	Αλκοόλη 70%	5min
8	H ₂ O (βρύσης)	2min
9	Αιματοξυλίνη	7min
10	H ₂ O (Τρεχούμενο βρύσης)	2min
11	Διάλυμα διαφοροποίησης	2 εμβαπτίσεις
12	H ₂ O (Τρεχούμενο βρύσης)	2min
13	Ηωσίνη	5min
14	H ₂ O (βρύσης)	30'' εμβαπτίσεις
15	Αλκοόλη 70%	1min
16	Αλκοόλη 95%	1min
17	Αλκοόλη 95%	1min
18	Αλκοόλη 100%	1min
19	Αλκοόλη 100%	1min
20	Ξυλόλη	15min

4.1.9 Προσδιορισμός ανάπτυξης φυτών

Η εκτίμηση της αύξησης των φυτών πραγματοποιήθηκε έπειτα από μετρήσεις των μορφομετρικών χαρακτηριστικών τους. Στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας, μετρήθηκαν το ύψος βλαστού (cm), ο συνολικός αριθμός και βάρος φύλλων (g), τα νωπά βάρη βλαστού (g), φύλλων και ρίζας. Τα δείγματα αφού ζυγίστηκαν σε ζυγό ακρίβειας τεσσάρων δεκαδικών, τοποθετήθηκαν σε χάρτινες σακούλες και αποξηράθηκαν στο φούρνο στους 80°C για 42 ώρες. Δυο ημέρες μετά, μετρήθηκαν τα ξηρά βάρη βλαστού, φύλλων και ρίζας. Η ίδια διαδικασία πραγματοποιήθηκε στην αρχή του πειράματος (D0).

Υπολογίστηκαν:

Επιβίωση (%) (S-survival)

$$S = (\text{Τελικός αριθμός φυτών} / \text{Αρχικός αριθμός φυτών}) \times 100 \text{ (Σχέση 4.12)}$$

$$\text{Νωπό βάρος φύλλου (gr)} = \text{Νωπό βάρος φύλλων} / \text{Αριθμό φύλλων (Σχέση 4.13)}$$

$$\text{Νωπή βιομάζα υπέργειου (gr)} = \text{Νωπό βάρος φύλλων} + \text{Νωπό βάρος βλαστού} \text{ (Σχέση 4.14)}$$

$$\text{Ξηρή βιομάζα υπέργειου (gr)} = \text{Ξηρό βάρος φύλλων} + \text{Ξηρό βάρος βλαστού (Σχέση 4.15)}$$

$$\text{Τελική παραγόμενη βιομάζα (kg/m}^2\text{)} = \text{Συνολικό Νωπό βάρος υπέργειου (kg)} / \text{καλλιεργητική περιοχή (m}^2\text{)} \text{ (Σχέση 4.16)}$$

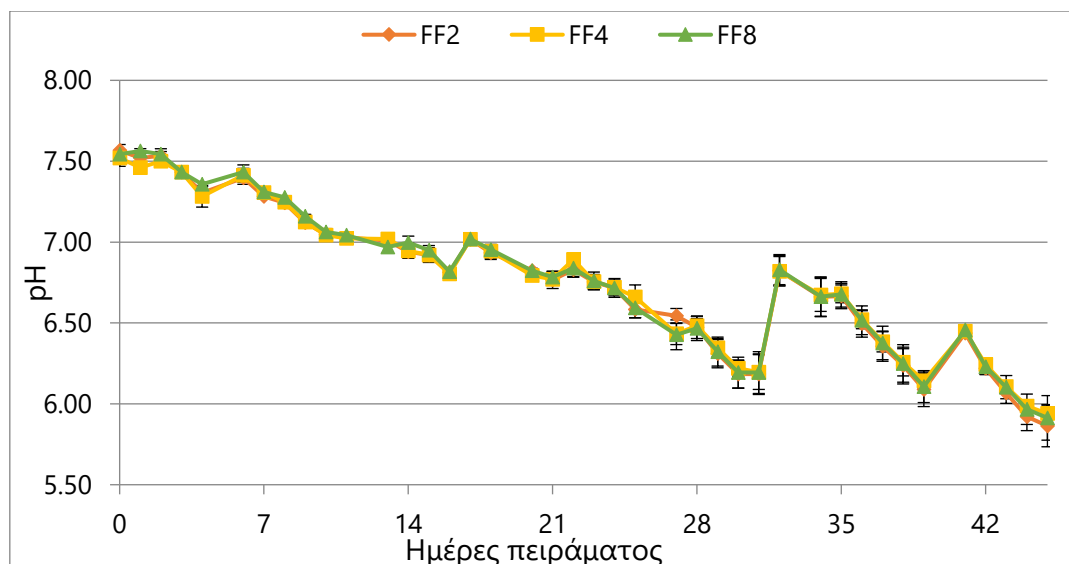
4.1.10 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων ανάπτυξης των ιχθύων και φυτών καθώς και αξιοποίησης της τροφής πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού λογισμικού προγράμματος SPSSv20.0. Τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με τη μέθοδο ανάλυσης διακύμανσης μονής κατεύθυνσης (one-way analysis of variance, ANOVA) στο επίπεδο σημαντικότητας 5%. Η πολλαπλή σύγκριση με τη χρήση του Tukey test επιλέχθηκε για την περαιτέρω ανάλυση και σύγκριση των δεδομένων που παρουσίαζαν διαφορές στην ανάλυση διακύμανσης μονής κατεύθυνσης. Ο έλεγχος της κανονικότητας και ομοιογένειας της διασποράς τους πραγματοποιήθηκε μέσω του Levene's test. Σε περιπτώσεις που δεν τηρούνταν η κανονικότητα και ομοιογένεια, πραγματοποιήθηκε μη παραμετρικός έλεγχος μέσω των Kruskal-Wallis test και Mann-Whitney test (Zar, 1999).

4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.2.1 Φυσικοχημικοί παράγοντες νερού

Η διακύμανση του pH του νερού των τριών μεταχειρίσεων παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.5. Τα επίπεδα του διαλυμένου οξυγόνου, διατηρούνταν σταθερά στα $8,54 \pm 0,03 \text{ mg/L}$. Η μέση ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC) αντιστοιχούσε σε $1,28 \pm 0,01 \text{ mS/cm}$ και η μέση αλατότητα (S) σε $0,64 \pm 0,00 \text{ ppt}$ κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, σε όλες τις μεταχειρίσεις.



Εικόνα 4.5. Διακύμανση του pH κατά τη διάρκεια του πειράματος 45 ημερών (n=40).

Στην είσοδο νερού του καλλιεργητικού μέσου η μέση ιονισμένη μορφή της αμμωνίας (NH_4^+) (Εικόνα 4.6) αντιστοιχούσε σε $0,15 \pm 0,75 \text{ mg/L}$ και δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων (Tukey, $p=0,540$). Η τιμή της μέσης μη ιονισμένης αμμωνίας (NH_3^-) (Εικόνα 4.7) αντιστοιχούσε σε $0,14 \pm 0,15 \text{ mg/L}$ και δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων (Tukey, $p=0,487$). Η μέση τιμή των νιτρικών (NO_3) (Εικόνα 4.8) αντιστοιχούσε σε $93,55 \pm 10,32 \text{ mg/L}$ και δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων (Tukey, $p=0,960$). Η μέση διαλυμένη ποσότητα του φωσφόρου (PO_4^3) (Εικόνα 4.9) αντιστοιχούσε $38,37 \pm 2,45 \text{ mg/L}$ και δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων (KruskalWallis, $p=0,474$).

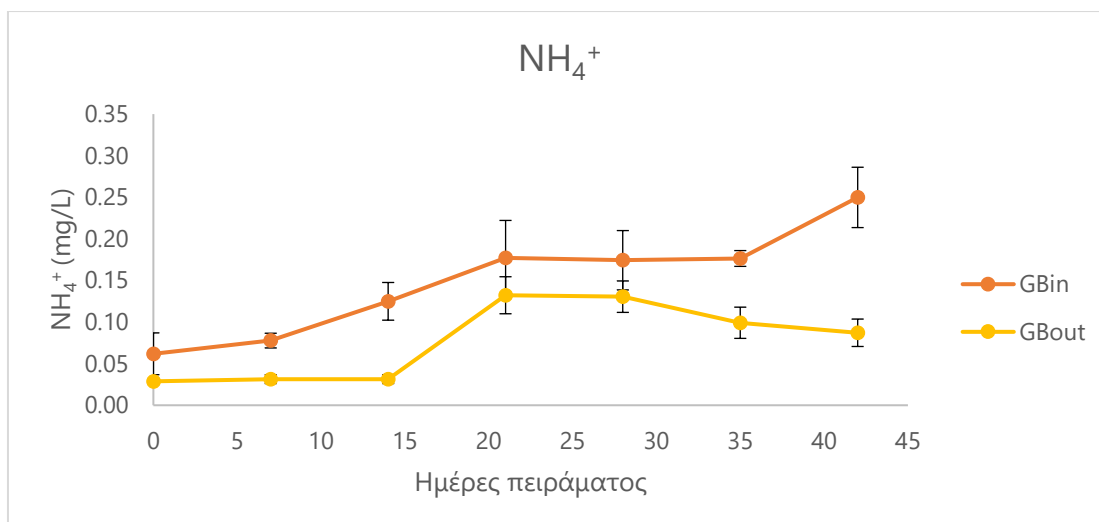
Στην έξοδο του νερού της καλλιεργητικής περιοχής η μέση ιονισμένη μορφή της αμμωνίας (NH_4^+) (Εικόνα 4.6) αντιστοιχούσε σε $0,08 \pm 0,01 \text{ mg/L}$ και δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων (Tukey, $p=0,759$). Η τιμή της μέσης μη ιονισμένης αμμωνίας (NH_3^-) (Εικόνα 4.7) αντιστοιχούσε σε $0,07 \pm 0,010 \text{ mg/L}$ και δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων (Tukey, $p=0,758$). Η μέση τιμή των νιτρικών (NO_3) (Εικόνα 4.8)

αντιστοιχούσε σε $79,88 \pm 7,36 \text{ mg/L}$ και δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων (Tukey, $p=0,734$). Η μέση διαλυμένη ποσότητα του φωσφόρου (PO_4^3) (Εικόνα 4.9) αντιστοιχούσε $40,98 \pm 2,10 \text{ mg/L}$ και δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων (KruskalWallis, $p=0,324$).

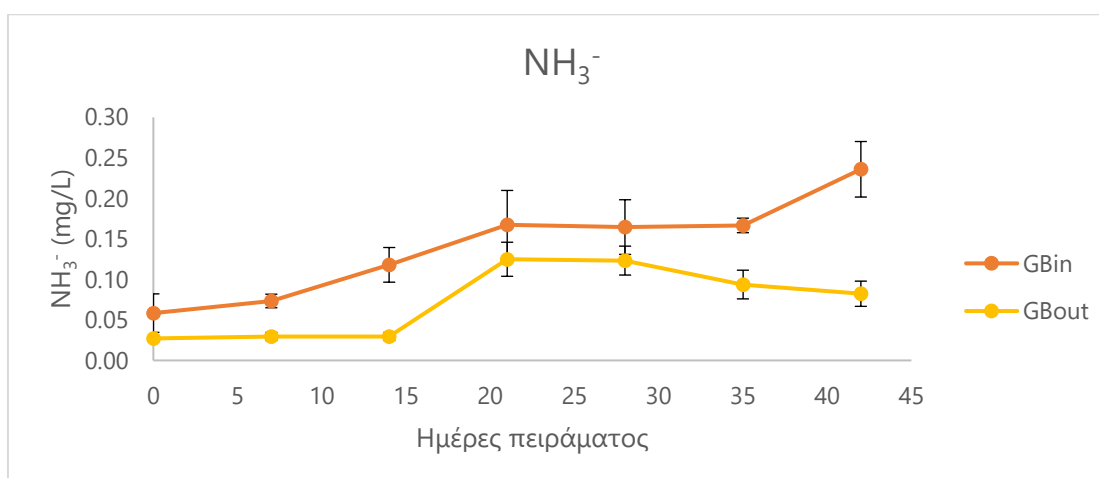
Οι τιμές τις αμμωνίας, νιτρικών και φωσφορικών ιόντων, στην είσοδο (GBin) και στην έξοδο (GBout) της καλλιεργητικής περιοχής δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους (Tukey, $p>0,061$) (Πίνακας 4.6).

Πίνακας 4.6. Φυτικοχημικοί παράγοντες στην είσοδο (GBin) και στην έξοδο (GBout) της καλλιεργητικής περιοχής αντίστοιχα για τα τρία ενυδρειοπονικά συστήματα κατά τη διάρκεια των 45 ημερών ($n=7$). Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ τυπικό σφάλμα. Όμοιοι εκθέτες ανά γραμμή, δηλώνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$)

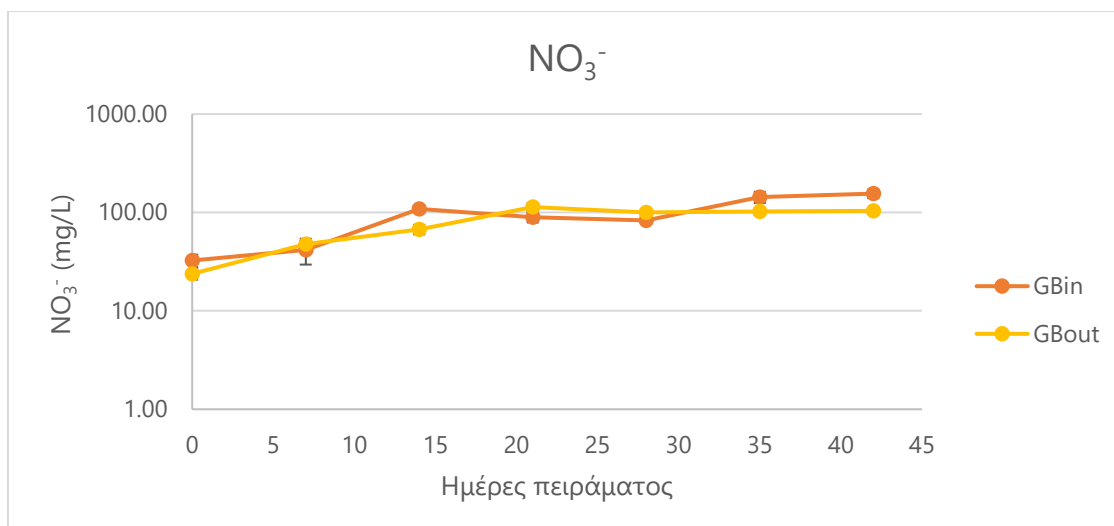
	Σύστημα 1		Σύστημα 2		Σύστημα 3	
(mg/L)	Gbin	Gbout	Gbin	Gbout	Gbin	Gbout
NH_4	$0,17 \pm 0,02^a$	$0,09 \pm 0,02^a$	$0,13 \pm 0,02^a$	$0,07 \pm 0,02^a$	$0,15 \pm 0,04^a$	$0,08 \pm 0,02^a$
NH_3	$0,16 \pm 0,02^a$	$0,08 \pm 0,02^a$	$0,12 \pm 0,02^a$	$0,06 \pm 0,02^a$	$0,14 \pm 0,03^a$	$0,07 \pm 0,02^a$
NO_3	$95,3 \pm 16,88^a$	$81,44 \pm 15,02^a$	$96,3 \pm 23,51^a$	$86,16 \pm 13,11^a$	$89,06 \pm 14,93^a$	$72,03 \pm 11,30^a$
PO_4^3	$37,27 \pm 4,65^a$	$39,62 \pm 3,61^a$	$40,4 \pm 4,30^a$	$44,52 \pm 3,48^a$	$37,44 \pm 4,33^a$	$38,78 \pm 3,98^a$



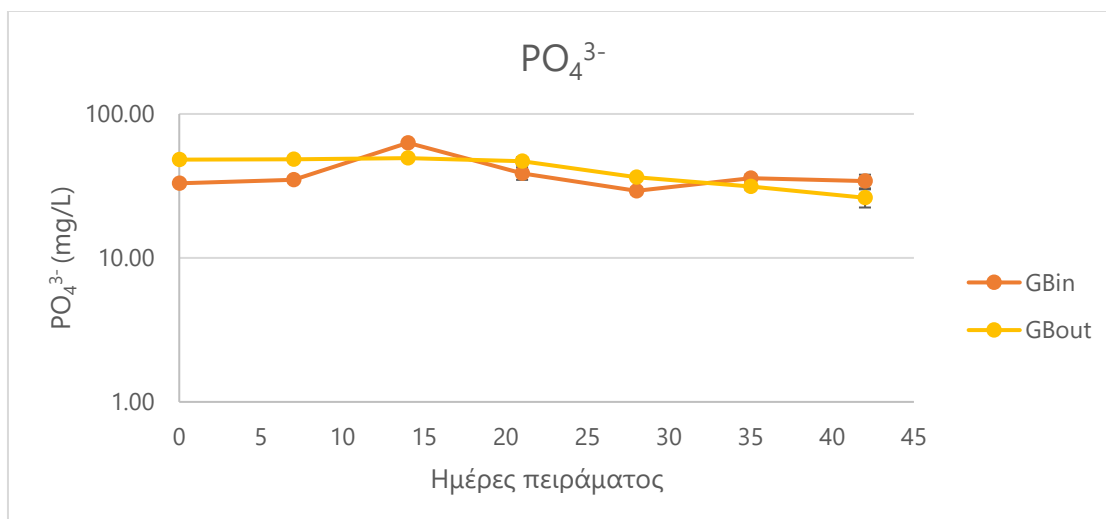
Εικόνα 4.6. Συγκεντρωτική μέση διακύμανση ιονισμένης αμμωνίας (NH_4^+) στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής (GBin) και στην έξοδο αυτής (GBout) και των τριών συστημάτων κατά τη διάρκεια του πειράματος 45ημερών ($n=7$)($\pm\text{sem}$).



Εικόνα 4.7. Συγκεντρωτική μέση διακύμανση μη ιονισμένης αμμωνίας (NH_3^-) στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής (GBin) και στην έξοδο αυτής (GBout) και των τριών συστημάτων κατά τη διάρκεια του πειράματος 45ημερών ($n=7$)($\pm\text{sem}$).



Εικόνα 4.8. Συγκεντρωτική μέση διακύμανση νιτρικών ιόντων (NO_3^-) στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής (GBin) και στην έξοδο αυτής (GBout) και των τριών συστημάτων κατά τη διάρκεια του πειράματος 45ημερών ($n=7$) ($\pm\text{sem}$). Οι τιμές παρουσιάζονται σε λογαριθμική κλίμακα.



Εικόνα 4.9. Συγκεντρωτική μέση διακύμανση φωσφόρου (PO_4^{3-}) στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής (GBin) και στην έξοδο αυτής (GBout) και των τριών συστημάτων κατά τη διάρκεια του πειράματος 45ημερών ($n=7$)($\pm\text{sem}$). Οι τιμές παρουσιάζονται σε λογαριθμική κλίμακα.

4.2.2 Ανάπτυξη ιχθύων

Οι παράμετροι ανάπτυξης των ιχθύων λαβρακιού αντίστοιχα και για τις τρεις μεταχειρίσεις, παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.7. Η επιβίωση κατά την διάρκεια των 45 ημερών ήταν 77,21%, 96,50% και 96,50%, αντίστοιχα για τις μεταχειρίσεις FF2, FF4 και FF8 φορές σίτιση ανά ημέρα. Το τελικό βάρος των ιχθύων της μεταχείρισης FF2 ήταν σημαντικά ($p < 0,05$) χαμηλότερο από εκείνο των ιχθύων των μεταχειρίσεων FF4 και FF8, οι οποίοι μεταξύ τους δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ($p > 0,05$). Στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$), παρατηρήθηκαν και στα μήκη των ιχθύων εμφανίζοντας υψηλότερη αύξηση η FF8 και τη μικρότερη η FF2. Η μεταχείριση FF4 δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά με καμία από τις άλλες δυο μεταχειρίσεις ($p > 0,05$). Οι μεταχειρίσεις FF4 και FF8 είχαν σημαντικά υψηλότερη αύξηση βάρους (WG, g) συγκριτικά με την FF2. Οι ιχθύες των μεταχειρίσεων FF8 και FF4 επέδειξαν υψηλότερο ημερήσιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα) συγκριτικά με τους ιχθύες της FF2. Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) ήταν σημαντικά χαμηλότερος στις μεταχειρίσεις FF8 και FF4 από ότι στην FF2. Η μεγαλύτερη ποσότητα τροφής καταναλώθηκε από τους ιχθύες των μεταχειρίσεων FF8 και FF4 διαφέροντας στατιστικά σημαντικά με την FF2.

Πίνακας 4.7. Παράμετροι ανάπτυξης ιχθύων αντίστοιχα για κάθε μεταχείριση σε διάστημα 45 ημερών. Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ τυπικό σφάλμα. Όμοιοι εκθέτες ανά γραμμή, δηλώνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$).

	FF2	FF4	FF8
Επιβίωση (S) (%)	77,21 $\pm$ 14,99 ^a	96,50 $\pm$ 1,75 ^b	96,50 $\pm$ 1,75 ^b
Αρχικά βάρη W ₀ (g)	6,8 $\pm$ 0,17 ^a	6,78 $\pm$ 0,17 ^a	6,81 $\pm$ 0,15 ^a
Αρχικά μήκη L ₀ (cm)	8,54 $\pm$ 0,09 ^a	8,68 $\pm$ 0,08 ^a	8,64 $\pm$ 0,07 ^a
Τελικά βάρη W ₄₅ (g)	17,44 $\pm$ 0,59 ^b	20,29 $\pm$ 0,77 ^a	21,11 $\pm$ 0,65 ^a
Τελικά μήκη L ₄₅ (cm)	11,66 $\pm$ 0,13 ^b	12,02 $\pm$ 0,13 ^{ab}	12,16 $\pm$ 0,11 ^a
Αύξηση βάρους WG (g)	10,66 $\pm$ 0,40 ^b	13,14 $\pm$ 0,59 ^a	13,85 $\pm$ 0,50 ^a
Ημερήσιος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης SGR (%/ημέρα)	2,11 $\pm$ 0,05 ^b	2,23 $\pm$ 0,03 ^a	2,36 $\pm$ 0,02 ^a
Συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής FCR	1,87 $\pm$ 0,09 ^a	1,56 $\pm$ 0,07 ^b	1,46 $\pm$ 0,05 ^b
Κατανάλωση τροφής FC (g)	5,11 $\pm$ 0,16 ^b	6,58 $\pm$ 0,15 ^a	6,62 $\pm$ 0,17 ^a

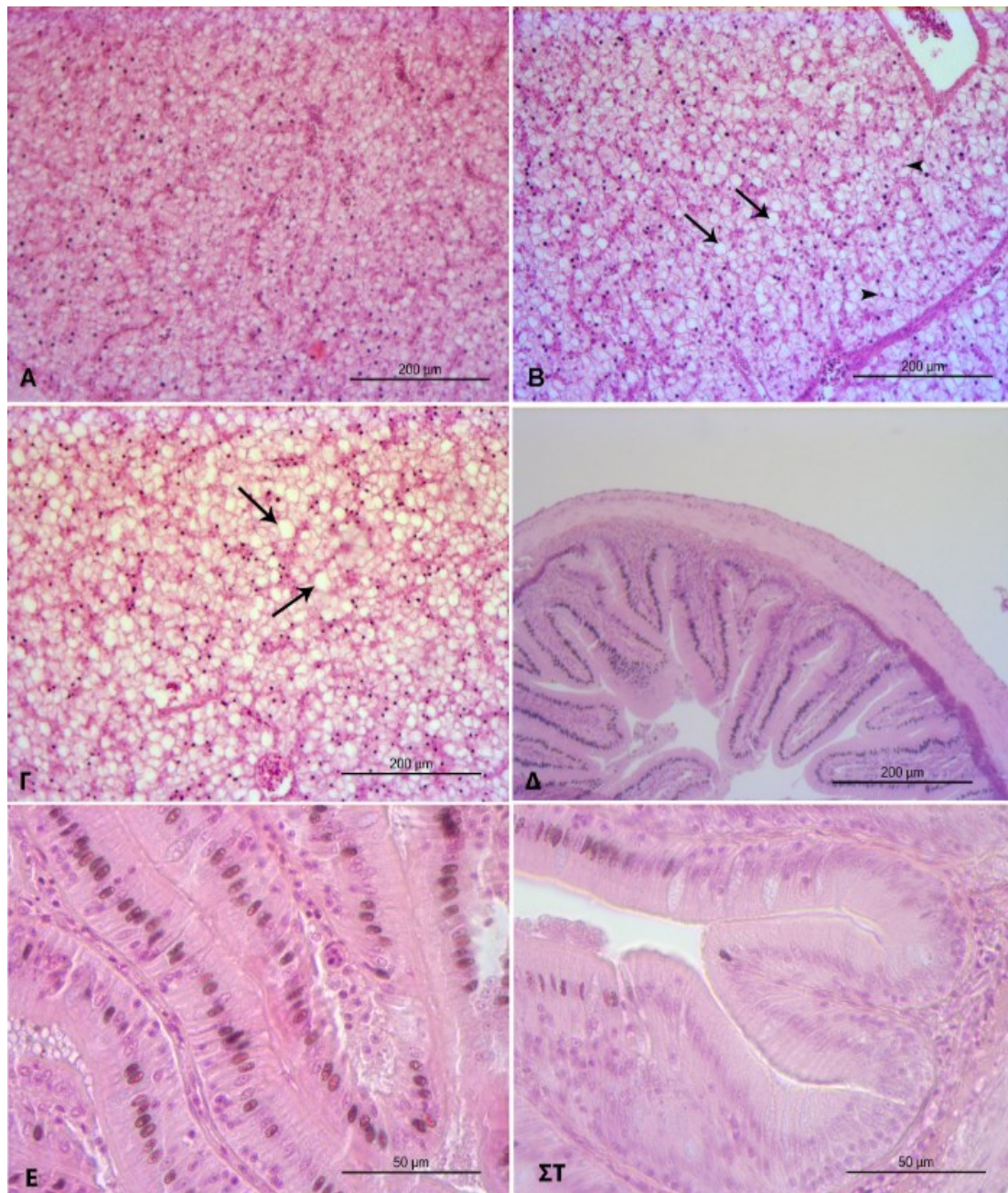
4.2.1 Ιστολογική εξέταση

Η ιστοπαθολογική εξέταση του ήπατος όλων των ομάδων συχνότητας σίτισης αποκάλυψε μια ήπια (βαθμού 2) συσσώρευση λιποσταγονιδίων στα ηπατοκύτταρα με μερικούς από τους πυρήνες των ηπατοκυττάρων να ωθούνται προς την άκρη των κυττάρων (Πίνακας 4.8, Εικόνα 4.10). Η ιστοπαθολογική εξέταση του εντέρου και του νεφρού δεν έδειξε αλλοιώσεις (βαθμός 0) σε καμία από τις ομάδες διαφορετικής συχνότητας σίτισης (Πίνακας 4.8, Εικόνα 4.10-4.11). Ελάχιστες ιστοπαθολογικές

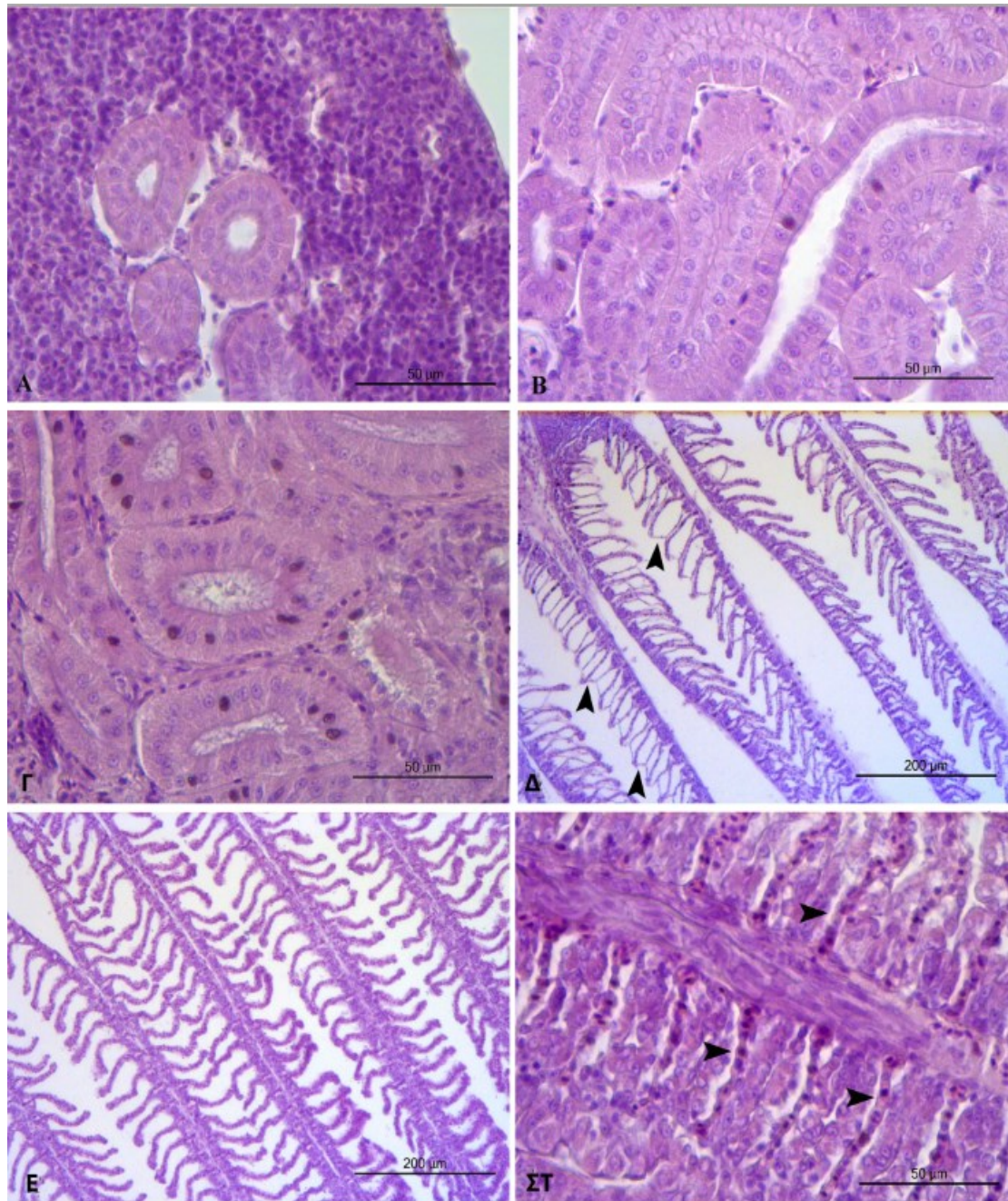
αλλοιώσεις (βαθμού 1) στα βράγχια ανιχνεύθηκαν στις ομάδες FF2 και FF4 (Πίνακας 4.8), ενώ ήπιες ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις (βαθμού 2) ανιχνεύθηκαν στην ομάδα FF8 (Πίνακας 4.8). Αποκόλληση επιθηλίου στα δευτερογενή βραγχιακά νημάτια και υπερπλασία των πρωτογενών βραγχιακών νηματίων εντοπίστηκαν σε ορισμένες περιπτώσεις και στις 3 ομάδες (Εικόνα 4.11).

Πίνακας 4.8. Βαθμός ιστοπαθολογικής αλλοίωσης εξεταζόμενων ιστών ανά συχνότητα σίτισης.

Συχνότητα σίτισης ανά ημέρα	Ήπαρ	Μεσέντερο	Νεφρός	Βράγχια
FF2	2	0	0	1
FF4	2	0	0	1
FF8	2	0	0	2



Εικόνα 4.10. Ιστοπαθολογία ήπατος και μέσου εντέρου. (Α) Ομάδα FF2. Φυσιολογική ιστολογική δομή του ήπατος. (Β) Ομάδα FF4. Ήπια συσσώρευση λιποσταγονιδίων στα ηπατοκύτταρα (βέλη). Μερικοί από τους πυρήνες των ηπατικών κυττάρων ωθούνται προς στην άκρη των κυττάρων (κεφαλές βελών). (Γ) Ομάδα FF8. Ήπια συσσώρευση λιποσταγονιδίων στα ηπατικά κύτταρα (βέλη). Φυσιολογική δομή του μέσου εντέρου. (Δ) Ομάδα FF4. Φυσιολογική δομή λαχνών του μέσου εντέρου, με φυσιολογικά εντεροκύτταρα. (Ε) Ομάδα FF2. Φυσιολογική δομή λαχνών του μέσου εντέρου, με φυσιολογικά εντεροκύτταρα. (ΣΤ) Ομάδα FF8. Φυσιολογική δομή λαχνών του μέσου εντέρου, με φυσιολογικά εντεροκύτταρα.



Εικόνα 4.11. Ιστοπαθολογία νεφρών και βραγχίων. (Α) Ομάδα FF2. Φυσιολογική δομή των νεφρών. (Β) Ομάδα FF4. Φυσιολογική δομή των νεφρών. (Γ) Ομάδα FF4. Φυσιολογική δομή των νεφρών. (Δ) Ομάδα FF2. Αποκόλληση επιθηλίου στα δευτερογενή βραγχιακά νημάτια (κεφαλές βελών). (Ε) Ομάδα FF4. Κανονική δομή βραγχίων. (F) Ομάδα FF8. Υπερπλασία πρωτογενούς βραγχιακού νηματίου. Τα δευτερογενή βραγχιακά νημάτια(κεφαλές βελών) εμφανίστηκαν εγκιβωτισμένα στο πρωτογενές βραγχιακό νημάτιο.

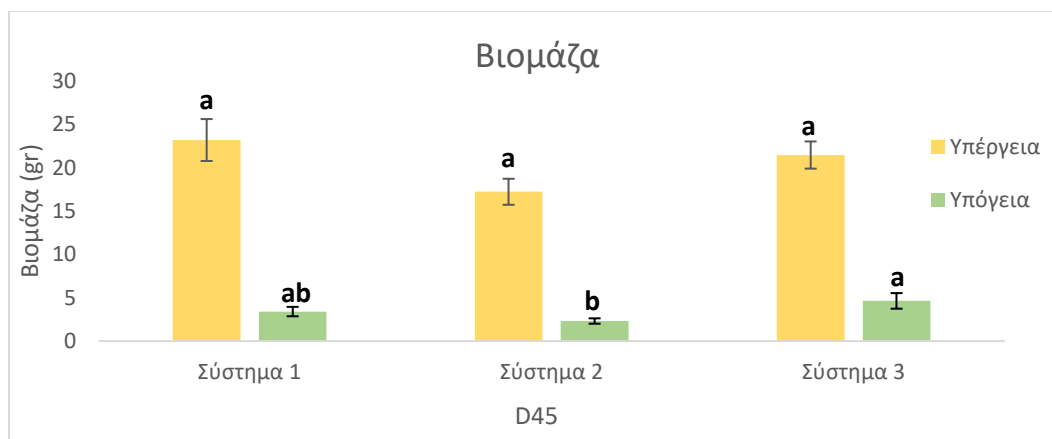
4.2.2 Ανάπτυξη φυτών

Οι παράμετροι ανάπτυξης των φυτών παρουσιάζονται αντίστοιχα και για τα τρία συστήματα στον Πίνακα 4.9. Καθ' όλη τη πειραματική διαδικασία δεν υπήρξε θνησιμότητα στα φυτά. Μεγαλύτερο ύψος βλαστού παρουσίασε το σύστημα 3 διαφέροντας στατιστικά σημαντικά από το σύστημα 1 και 2. Μεγαλύτερο αριθμό φύλλων έφεραν τα συστήματα 1 και 3 διαφέροντας στατιστικά σημαντικά με το 2. Μεγαλύτερο βάρος φύλου παρουσίασε το σύστημα 2 χωρίς όμως να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τα συστήματα 3 και 1. Το μέσο νωπό βάρος των φύλλων και η μέση νωπή βιομάζα υπέργειου ήταν μεγαλύτερα στο σύστημα 3 χωρίς να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές από τα συστήματα 1 και 2.

Μεγαλύτερη ξηρή βιομάζα υπέργειου (Εικόνα 4.12) παρουσίασε το σύστημα 1 ($23,20 \pm 2,42\text{g}$), χωρίς να διαφέρει στατιστικά από το 3 ($21,47 \pm 1,57\text{g}$) και το 2 ($21,47 \pm 1,57\text{g}$). Τέλος, μεγαλύτερη ξηρή βιομάζα υπόγειου εμφάνισε το σύστημα 3 ($4,64 \pm 0,90$) και τη μικρότερη το σύστημα 2 ($2,32 \pm 0,31\text{g}$) διαφέροντας στατιστικά σημαντικά. Το σύστημα 1 ($3,41 \pm 0,54\text{g}$) δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά με κανένα από τα άλλα δυο συστήματα.

Πίνακας 4.9. Παράμετροι ανάπτυξης φυτών αντίστοιχα για κάθε σύστημα και συνολική αύξηση σε διάστημα 45 ημερών. Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι± τυπικό σφάλμα (n=8). Όμοιοι εκθέτες ανά γραμμή, δηλώνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$).

	Σύστημα 1	Σύστημα 2	Σύστημα 3	M.O
Επιβίωση(%)	100	100	100	100
Ύψος βλαστού (cm)	7,73±0,38 ^b	7,64±0,35 ^b	9,63±0,44 ^a	8,32±0,29
Νωπό βάρος φύλλων (gr)	428,70±47,58 ^a	375,23±29,03 ^a	457,45±21,39 ^a	420,46±20,30
Αριθμός φύλλων	43,88±2,73 ^a	34±0,87 ^b	43,63±1,68 ^a	40,5±1,42
Μέσο βάρος φύλλου (gr)	9,60±0,66 ^a	10,98±0,68 ^a	10,52±0,41 ^a	10,37±0,35
Νωπή βιομάζα υπέργειου (gr)	463,04±51,02 ^a	402,52±31,66 ^a	496,06±23,96 ^a	453,87±22,12
Ξηρή βιομάζα υπέργειου (gr)	23,20±2,42 ^a	17,23±1,50 ^a	21,47±1,57 ^a	20,63±1,16
Ξηρό βάρος υπόγειου (ρίζα) (gr)	3,41±0,54 ^{ab}	2,32±0,31 ^b	4,64±0,90 ^a	10,37±0,35
Παραγόμενη βιομάζα (kg)/m ²	3,7	3,22	3,97	3,63



Εικόνα 4.12. Μέση ξηρή βιομάζα υπέργειου και υπόγειου (g) αντίστοιχα για τα τρία ενυδρειοπονικά συστήματα κατά το τέλος της πειραματικής διαδικασίας 45ημερών. Όμοια γράμματα (a), δηλώνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$).



Εικόνα 2413. Ανάπτυξη μαρουλιών Α) την 9^η ημέρα πειράματος, Β) την 27^η ημέρα πειράματος και Γ) την 44^η ημέρα πειράματος.

4.3 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.3.1 Φυσικοχημικοί παράγοντες νερού

Η θερμοκρασία σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας καθορίζεται από το εκάστοτε επιλεγόμενο προς εκτροφή είδος ιχθύος και την επιλεγόμενη καλλιέργεια. Για το λαβράκι, υψηλότερες θερμοκρασίες 22°C (Alliot et al., 1983) σε εκτροφή αλμυρού νερού και 19-20 °C σε εκτροφή υφάλμυρου νερού (Zanuy & Carrillo, 1985) εμφανίζουν το μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης και τη μέγιστη αξιοποίηση της τροφής. Οι Lanari et al. (2002) δοκιμάζοντας επτά διαφορετικές θερμοκρασίες σε πέντε κλάσεις μεγέθους λαβρακιού έδειξε μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG) μεταξύ των θερμοκρασιών 22 -28°C συμφωνώντας με προηγούμενη έρευνα του Barnabé (1990). Στη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία, η θερμοκρασία του νερού διατηρήθηκε σταθερή στους 20,24±0,039°C ικανοποιώντας ταυτόχρονα τις απαιτήσεις του λαβρακιού και του μαρουλιού .

Το pH καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας παρουσίασε μία πτωτική τάση (Σχήμα 2). Το παραπάνω γεγονός είναι αναμενόμενο, καθώς σύμφωνα με το Saeki (1963) η συσσώρευση των νιτρικών (αποτελεσματική οξείδωση της αμμωνίας) τείνει να κάνει πιο όξινο το υδάτινο περιβάλλον.

Σε προηγούμενες έρευνες των Biswas et al. (2010), Eroldogan et al. (2003) και Tsevis et al. (1992) εκτροφής λαβρακιού, οι τιμές του οξυγόνου διατηρούνταν στα 7-8, 7 και 7,7mg/L αντίστοιχα, εξασφαλίζοντας τον επαρκή αερισμό για την αναπνοή των ιχθύων. Οι τιμές που επικράτησαν στο συγκεκριμένο πείραμα 8,54±0,033mg/L συμφωνούν με τα παραπάνω αποτελέσματα. Επίπεδα οξυγόνου >5mg/L (Boyd, 1998; Graber & Junge, 2009), διασφαλίζουν την ενδυνάμωση του ριζικού συστήματος των φυτών, τη πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών καθώς και για τη διεργασία της νιτροποίησης (Goto et al., 1996; Rackocy et al., 2006).

Οι συγκεντρώσεις της αμμωνίας στην είσοδο και στην έξοδο των φυτών (μεγαλύτερες στην είσοδο και μικρότερες στην έξοδο) υποδηλώνουν την απορρόφηση αμμωνίας από το φυτά μαρουλιού κατά τη διάρκεια των 45 ημερών. Οι Von Wiren et al. (1997) υποστηρίζουν ότι σε χαμηλότερες θερμοκρασίες παρατηρείται μια προτίμηση των φυτών απορρόφησης αζώτου με τη μορφή αμμωνίας. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και από τους Buzby & Lin (2014). Αυτό το γεγονός μπορεί να παρατηρηθεί και στη διακύμανση των συγκεντρώσεων των νιτρικών στην είσοδο και στην έξοδο των φυτών (Σχήμα 5) καθώς παρατηρείται μια αύξηση στην απορρόφηση των νιτρικών (μικρότερη συγκέντρωση στην έξοδο των φυτών) από την 29 ημέρα καλλιέργειας και μετά. Αύξηση στην απορρόφηση των ορθοφωσφορικών παρατηρείται κατά τη 32 ημέρα καλλιέργειας και μετά (Σχήμα 6). Αυτό έρχεται σε αντίθεση με προηγούμενη έρευνα των Buzby & Lin (2014) όπου αυξημένη απορρόφηση ορθοφωσφορικών πραγματοποιούνταν κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης των φυτών κατά τα οποία η ανάγκη για θρεπτικά συστατικά είναι αυξημένη (Clarkson, 1985).

Μεγάλες διαφορές μεταξύ των δυο σημείων μπορεί να μην παρατηρήθηκαν λόγω της συνεχόμενης ανακύκλωσης του νερού σε συνδυασμό με το μικρό ρυθμό απορρόφησης θρεπτικών συστατικών από το μαρούλι (Buzby et al., 2016). Επίσης, το είδος του υποστρώματος στη συγκεκριμένη έρευνα (διογκωμένη άργιλος) μπορεί να επηρέασε τις συγκεντρώσεις των θρεπτικών στην έξοδο της καλλιεργητικής περιοχής καθώς σύμφωνα τον Meinken (1996) οι θρεπτικές ουσίες μπορούν να συσσωρευτούν μέσω της διάχυσης στους κόκκους της αργίλου και μπορούν να ελευθερωθούν πίσω στο διάλυμα. Παρόλα αυτά οι συγκεντρώσεις στην είσοδο και στην έξοδο της καλλιεργητικής περιοχής δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Τα νιτρικά ιόντα (NO_3^-) καθώς και τα ιόντα φωσφόρου (PO_4^{3-}) στη παρούσα εργασία, κυμάνθηκαν σε επιτρεπτά επίπεδα χωρίς να παρεμποδίζουν την ασφαλή ανάπτυξη ιχθύων, ευνοώντας την θρέψη των φυτών χωρίς να εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συστημάτων. Η σταδιακή άνοδος των νιτρικών στα συστήματα, αποδεικνύει την αποδοτικότητα του φίλτρου να οξειδώνει τη παραγόμενη αμμωνία σε νιτρικά ιόντα (Hirayama, 1974). Στη παρούσα έρευνα η ημερήσια παροχή 20-25 g τροφής ημερησίως φάνηκε να εξασφαλίζει τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για τη θρέψη των φυτών.

Η ποιότητα του νερού είναι πολύ σημαντική για την ευημερία και την αποτελεσματικότητα ενός συστήματος της ενυδρείοπονίας (König et al., 2018). Ένα ποσοστό 17% αζώτου και 37% φωσφόρου που περιέχεται στην προσφερόμενη τροφή, αποβάλλεται ως μεταβολικό προϊόν από τους ιχθύες σύμφωνα με έρευνα των Goddek et al. (2016). Το άζωτο αυτό, αποβάλλεται με τη μορφή αμμωνίας η οποία είναι τοξική για τους οργανισμούς. Για τον παραπάνω λόγο, η κίνηση του νερού μεταξύ των συστημάτων και ο ρυθμός ανανέωσης θα πρέπει να σχεδιάζεται κατάλληλα έτσι ώστε να επιτυγχάνεται η διάσπαση της αμμωνίας από τα βακτήρια, να πραγματοποιείται η σωστή οξυγόνωση σε φυτά και ιχθύες καθώς και η απορρόφηση των θρεπτικών από τα φυτά και η αποφυγή συσσώρευσης αυτών στην υδάτινη στήλη. Κατά τη διάρκεια του πειράματος η παροχή Q του νερού, ρυθμίστηκε στα 6,27 L/min και η ταχύτητα φιλτραρίσματος V σε 1,25 cm/min, διασφαλίζοντας την επιτυχή νιτροποίηση και μέγιστη αποδοτικότητα του φίλτρου (Hussain et al., 2015; Nuwansi et al., 2016; Shete et al., 2016).

4.3.2 Ανάπτυξη ιχθύων

Με σκοπό την εκτροφή των ιχθύων λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας κρίθηκε απαραίτητη η προσαρμογή των ιχθύων σε χαμηλότερες αλατότητες καθώς η ταυτόχρονη καλλιέργεια φυλλώδους λαχανικού μαρουλίου (*L. sativa*), απαιτεί μικρή περιεκτικότητα αλάτων συνεπώς χαμηλή αγωγιμότητα. Το λαβράκι είναι ιδιαίτερα προσαρμοστικό σε διάφορες αλατότητες, εμφανίζοντας όμως αυξημένες θνησιμότητες σε απευθείας μεταφορά από θαλασσινό σε γλυκό νερό (Dendrinou & Thorpe 1985; Cataudella et al., 1991). Για το παραπάνω λόγο, οι ιχθύες προσαρμόστηκαν σταδιακά, σε διάστημα ενός μήνα (Marino et al., 1994) χωρίς να εμφανίσουν θνησιμότητες. Η μέση τιμή της αλατότητας κατά τη διάρκεια του πειράματος υπολογίστηκε σε $0,64 \pm 0,003 \text{ ppt}$ σε όλες τις μεταχειρίσεις.

Η συχνότητα σίτισης δεν επηρέασε την επιβίωση των ιχθύων εμφανίζοντας 77,20%, 96,50% και 96,50% επιβίωση, αντίστοιχα για τις μεταχειρίσεις FF2, FF4 και FF8. Η θνησιμότητα στις μεταχειρίσεις, δεν οφείλονταν στο αντίστοιχο διατροφικό πρόγραμμα, αλλά σε ενδεχόμενο στρες των ιχθύων καθώς παρατηρήθηκαν λίγες ώρες μετά τη διαδικασία της ζύγισης. Σε έρευνα των Biswas et al. (2010), το ασιατικό λαβράκι που σιτίζονταν 1, 2, 3 και 4 φορές την ημέρα, εμφάνισε την υψηλότερη επιβίωση στις 3 φορές ($75,89 \pm 4.17\%$) συγκριτικά με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις.

Σε ένα κλειστό κύκλωμα εκτροφής (RAS) και κατ' επέκταση ενυδρειοπονίας, σωστά επιλεγμένη διατροφή (Ng & Romano, 2013), διαχειριζόμενη με τρόπο όπου να καλύπτονται οι διατροφικές απαιτήσεις διαφόρων ειδών ιχθύων και ποικιλιών φυτών, με συγκεκριμένες ποσότητες και συχνότητες ταΐσματος (Riche & Garling, 2003) έτσι ώστε τα προϊόντα μεταβολισμού (απεκκρίματα) να είναι μειωμένα, ευνοούν την ανάπτυξη των οργανισμών (Liang & Chien, 2013), καταλήγοντας σε εξυγίανση του νερού. Η απόθεση των θρεπτικών από τα ψάρια (μεταβολικά προϊόντα) είναι άμεσα

συνδεδεμένη με την ποσότητα (επίπεδο διατροφής, συχνότητα ταΐσματος) και την ποιότητα (τύπος, πρωτεϊνική-θρεπτική σύσταση) της παρεχόμενης τροφής (Robaina et al., 2019), καθώς η περιεκτικότητα του αζώτου στα στερεά απεκκρίματα των ιχθύων κυμαίνονται από 10 έως 40% ανάλογα με την περιεκτικότητα του αζώτου στην παρεχόμενη τροφή και το είδος του ιχθύος (Lupatsch & Kissil, 1998; Schneider et al., 2004; VanRijn, 2013).

Κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, η τροφή διαμοιράζονταν καθ' όλη τη διάρκεια του 24ωρου, καθώς το λαβράκι είναι ιδιαίτερα προσαρμοστικό σε ότι αφορά τις διατροφικές του συνήθειες (Anras, 1995; Boujard et al., 1996; Del Pozo, 2013). Έρευνες των Sanchez-Vazquez et al. (1998) παρουσίασαν ότι το λαβράκι εμφανίζει εποχιακή προτίμηση στις ώρες σίτισης διαπιστώνοντας προτίμηση στις πρωινές ώρες κατά τη διάρκεια της άνοιξης και του καλοκαιριού, ενώ τις βραδινές ώρες κατά τη διάρκεια του χειμώνα. Αντίθετα, τα τα ψάρια υδατοκαλλιέργειας σιτίζονται κατά τη διάρκεια της ημέρας και όχι της νύχτας. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με τους Azzaydi et al. (2000) οι οποίοι έδειξαν υψηλότερο SGR και χαμηλότερο FCR στη νυχτερινή σίτιση κατά τους χειμερινούς μήνες ($0,26 \pm 0,01\%$ /ημέρα και $2,65 \pm 0,08$ αντίστοιχα) σε κλειστές συνθήκες εκτροφής συγκριτικά με τη πρωινή σίτιση ($0,19 \pm 0,01\%$ /ημέρα και $3,73 \pm 0,17$ αντίστοιχα).

Η προσφερόμενη τροφή χορηγούνταν σε καθορισμένο επίπεδο σίτισης ως 5% του σωματικού βάρους των ιχθύων. Η κατανάλωση τροφής από τους ιχθύες δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των τριών μεταχειρίσεων, υποδηλώνοντας ότι το λαβράκι καταναλώνει την ίδια ποσότητα ημερήσιας τροφής ανεξάρτητα από τα πόσα γεύματα επιμερίζεται αυτή. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με αυτά των Eroldogan et al. (2004), όπου σε εκτροφή λαβρακιού αρχικού βάρους $2,6 \pm 0,3\text{g}$ σε θαλασσινό νερό (40ppm) και γλυκό νερό (0,4ppm) με έξι διαφορετικά ποσοστά διατροφής (2%, 2,5%, 3%, 3,5%,

4%, κορεσμός) παρατηρήθηκε στο γλυκό νερό μεγαλύτερη αύξηση βάρους στο 4% και σίτιση μέχρι το κορεσμό ($11,9 \pm 2,6$ και $14,1 \pm 2,9$ αντίστοιχα) και υψηλότερα SGR στις ομάδες που σιτίζονταν 3,5, 4% και κορεσμό (2,6 και 2,5 και 2,8%/ημέρα).

Τη μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG, g), τον υψηλότερο ημερήσιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα) και το μικρότερο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) παρουσίασαν οι ομάδες FF8 και FF4 εμφανίζοντας στατιστικά σημαντικές διαφορές με την FF2. Αυτό δείχνει ότι η αυξημένη συχνότητα ταΐσματος, σε συνδυασμό με τη χαμηλότερη ποσότητα της προσφερόμενης τροφής ανά μερίδα, οδήγησε σε αποδοτικότερη αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών από την τσιπούρα.

Αυξημένη συχνότητα ταΐσματος, σε συνδυασμό λιγότερης ποσότητας προσφερόμενης τροφής ανά τάισμα, προωθεί αποδοτικότερη αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών από τους ιχθύες, λιγότερα μεταβολικά προϊόντα, συνεπώς λιγότερη συσσώρευση θρεπτικών στην υδάτινη στήλη σύμφωνα με τους Liang & Chien (2013) έπειτα από διατροφικό πείραμα των 2, 4 και 6 συχνοτήτων σίτισης κόκκινης τιλάπιας μέσου μεγέθους 467 ± 30 gr σε διαστήματα των 4, 6 και 12 ωρών σε συνδυασμό καλλιέργειας υδρόβιου σπανακιού. Το παρεχόμενο ποσοστό διατροφή ήταν κυμαινόμενο καθώς αρχικά οι τιλάπιες σιτίζονταν ημερησίως 5% του σωματικού τους βάρους και κατόπιν προσαρμόστηκε σε 3%. Σε χρονικό διάστημα τεσσάρων εβδομάδων η σίτιση 6 φορές είχε 3% και 4,9% μεγαλύτερη αύξηση βάρους συγκριτικά με τις 4 και 2 αντίστοιχα.

Ασιατικό λαβράκι (*Lates calcarifer*) μέσου βάρους $25,9 \pm 0,3$ g και μήκους $203,8 \pm 4,6$ mm εκτρεφόμενο από τους Biswas et al. (2010) σε υφάλμυρο νερό με αριθμό γευμάτων 1,2,3,4 έδειξε ότι η σίτιση 3 γευμάτων με κυμαινόμενο ποσοστό διατροφής 10% για 3 εβδομάδες και 8% για 2 εβδομάδες, είχε υψηλότερο SGR ($5,07 \pm 0,03$ %/ημέρα) χωρίς να εμφανίζει διαφορές με τα 4 γεύματα ($p > 0,05$). Σε

αντίθεση το FCR ήταν πολύ υψηλότερο από όλες τις άλλες μεταχειρίσεις ($2,23 \pm 0,12$) ($p < 0,05$).

Οι Eroldogan & Kumlu (2002) σε εκτροφή λαβρακιού σε διαφορετικές αλατότητες (γλυκό νερό, 10, 20, 30 και 40ppt) απέδειξαν ότι σε συνθήκες χαμηλής αλατότητας < 20 ppt το λαβράκι είχε καλύτερη ανάπτυξη, ενώ σε δεύτερο κύκλο πειραμάτων η ημερήσια αύξηση βάρους (WG) ήταν $0,72 \text{ g/d}$ σε θαλασσινό νερό και $0,81 \text{ g/d}$ σε γλυκό νερό, παρουσιάζοντας όμως αποδοτικότερη αξιοποίηση της τροφής (FCE) οι ιχθύες που εκτράφηκαν σε αυξημένη αλατότητα SW (77%) έναντι του γλυκού νερού FW (74%).

Εκτροφή τσιπούρας (*Sparus aurata*) και καλλιέργεια κριτάμου (*Crithmum maritimum*) σε υφάλμυρο σύστημα ενυδρείοπονίας από τους Vlahos et al. (2019) εξετάζοντας την επίδραση δυο συνθηκών αλατότητας (8ppt και 20ppt) έδειξε ότι η τσιπούρα δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές στο WG ($25,36 \pm 0,83$ και $25,51 \pm 0,87 \text{ g}$ αντίστοιχα), το SGR ($3,17 \pm 0,04$ και $3,17 \pm 0,06 \%$ /ημέρα αντίστοιχα) και το FCR ($1,80 \pm 0,06$ και $1,84 \pm 0,07$ αντίστοιχα).

Η εκτροφή του λαβρακιού σε γλυκό νερό μπορεί να επηρεάσει ποικιλοτρόπως κάποιους ποιοτικούς δείκτες ή κάποιους δείκτες ευζωίας. Συγκριτική έρευνα ανάπτυξης ιχθύων λαβρακιού μέσου βάρους $20 \pm 0,5 \text{ g}$ σε θαλασσινό και γλυκό νερό από τους Nozzi et al. (2016b) έδειξε ότι το γλυκό νερό επηρέασε αρνητικά το χρώμα του φιλέτου του λαβρακιού ($p < 0,0001$) συγκριτικά με αυτό των ιχθύων που εκτράφηκαν σε θαλασσινό νερό. Σε ανάλυση της σάρκας, στους ιχθύες που εκτράφηκαν σε γλυκό νερό η παρουσία των κορεσμένων λιπαρών οξέων ήταν μειωμένη συγκριτικά με το θαλασσινό ($p = 0,0004$). Εκτρεφόμενα σε αλμυρό νερό, εμβολιασμένα λαβράκια μέσου βάρους $20 \pm 0,5 \text{ g}$ με το παράσιτο *Amyloodinium ocellatum* εμφάνισαν μικρότερο SGR ($0,59 \pm 0,15$ και $0,95 \pm 0,26 \%$ /ημέρα αντίστοιχα) και WG συγκριτικά με εμβολιασμένους που εκτράφηκαν σε γλυκό νερό με τη ταυτόχρονη καλλιέργεια

παντζαριού (*Beta vulgaris*) σε σύστημα ενυδρειοπονίας από τους Nozzi et al. (2016a). Λαβράκι (38,1gr) εκτρεφόμενο από τους Waller et al. (2015) σε σύστημα ενυδρειοπονίας με τη ταυτόχρονη καλλιέργεια τριών ειδών αλόφυτων (*Tripolium pannonicum*, *Plantago coronopus*L, *Salicornia dolichostachya*), σε νερό αλατότητας $15,8 \pm 0,5$ psu σιτιζόμενο 1% του σωματικού του βάρους μέχρι κορεσμού, σε διάστημα 35ημερών εμφάνισε SGR 1,5%/ημέρα και FCR 0,93. Τα παραπάνω αποτελέσματα αποδίδουν μικρότερο FCR από την παρούσα έρευνα γεγονός που οφείλεται στο πολύ μικρό ημερήσιο ποσοστό διατροφής των ιχθύων (1%).

Πέντε διαφορετικές στρατηγικές σίτισης εξετάστηκαν από τους Türkmen et al. (2012) σε λαβράκι μέσου βάρους $10,7 \pm 0,09$ g για 60 ημέρες. Συνεχή σίτιση μέχρι κορεσμού (60ημέρες) ($C_{satiation}$), 25% περιορισμένη σίτιση ($C_{Restricted}$), 1ημέρα νηστεία και 4ημέρες περιορισμένη σίτιση (S-R), 1 ημέρα περιορισμένη σίτιση και 4ημέρες συνεχή (R-F), 1ημέρα νηστεία και 4ημέρες συνεχή σίτιση μέχρι κορεσμού (S-F). Οι ιχθύες σιτίζονταν τρεις φορές την ημέρα με το επίπεδο διατροφής στη μεταχείριση $C_{satiation}$ να είναι κυμαινόμενο (5% του σωματικού βάρους ημερησίως στην αρχή της έρευνας και 2% στο τέλος). Οι υψηλότεροι ρυθμοί ανάπτυξης SGR παρουσιάστηκαν στις μεταχειρίσεις $C_{satiation}$, S-F και R-F ($2,5 \pm 0,06$, $2,5 \pm 0,011$ και $2,4 \pm 0,18$ %/ημέρα αντίστοιχα). Το FCR δεν διέφερε μεταξύ των μεταχειρίσεων ($p < 0,05$) και κυμαίνονταν από 1,0-1,2. Η έρευνα των Türkmen et al. 2012 συμφωνεί με την παρούσα καθώς το SGR στα αυξημένα γεύματα ανά ημέρα (4 και 8) σε παρόμοιο ποσοστό διατροφής, απέδωσαν παρόμοια αποτελέσματα.

Η κατανάλωση τροφής διέφερε μεταξύ των μεταχειρίσεων εμφανίζοντας τη μικρότερη κατανάλωση η μεταχείριση FF2 συγκριτικά των μεταχειρίσεων FF8 και FF4 οι οποίες δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Το αποτέλεσμα είναι φυσιολογικό καθώς λόγω του μικρότερου αριθμού ιχθύων της μεταχείρισης FF2, όπου

υπήρχε υψηλότερη θνησιμότητα, η ποσότητα της παρεχόμενης και συνεπώς της καταναλισκόμενης τροφής ήταν μικρότερη των άλλων δυο μεταχειρίσεων διαφέροντας στατιστικά σημαντικά.

4.3.3 Ιστολογική εξέταση

Στα ευρύαλα ψάρια, ο νεφρός παίζει σημαντικό ρόλο στην ωσμωρύθμιση. Το λαβράκι, η πέστροφα, η ρέγγα και η νεαρή τσιπούρα μπορούν να προσαρμοστούν στις αλλαγές της αλατότητας και να επιβιώσουν τόσο στο θαλασσινό όσο και στο γλυκό νερό. Σύμφωνα με τους Nebel et al. (2005), τα νεαρά λαβράκια που προσαρμόστηκαν επιτυχώς στο γλυκό νερό παρουσίασαν μικρότερης διαμέτρου ουροφόρα σωληνάρια από αυτά που καλλιεργήθηκαν στο θαλασσινό νερό. Σύμφωνα με τους Vlahos et al. (2019), κατά την προσαρμογή της τσιπούρας σε χαμηλότερη αλατότητα (8 ppt), δεν ανίχνεύθηκαν ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του μέσου εντέρου, ούτε μικρότερα ουροφόρα σωληνάρια, κοκκιώματα ή διαστολή του χώρου Bowman στο νεφρό. Επίσης η ιστοπαθολογική εξέταση των βραγχίων δεν κατέδειξε υπερπλασία πρωτογενών ή δευτερογενών βραγχιικών νηματίων ή αποκόλληση επιθηλίου των δευτερογενών βραγχιικών νηματίων, ενώ η ιστοπαθολογία του ήπατος έδειξε ύπαρξη φλεγμονών και στεάτωση. Στην παρούσα μελέτη, η μικροσκοπική εξέταση του εντέρου και του νεφρού δεν έδειξε ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις, ενώ το ήπαρ έδειξε ήπια συσσώρευση λιποσταγονιδίων. Τα βράγχια παρουσίασαν μικρού βαθμού αποκόλληση επιθηλίου των δευτερογενών βραγχιικών νηματίων και ήπια υπερπλασία των πρωτογενών βραγχιικών νηματίων. Παρόμοια αποτελέσματα για τα βράγχια αναφέρθηκαν σε προηγούμενες μελέτες (Laiz-Carrión et al., 2005; Masroor et al., 2018) υποδεικνύοντας έτσι τον υψηλό βαθμό πλαστικότητας και αναδιαμόρφωσης των βραγχίων του λαβρακιού προσαρμοσμένου από το θαλασσινό νερό στο γλυκό νερό. Η συσσώρευση

λιπιδίων στο ήπαρ φαίνεται να είναι πιο εκτεταμένη στο λαβράκι που ζει στο θαλασσινό νερό από ότι στο λαβράκι που έχει εγκλιματιστεί στο γλυκό νερό (Nozzi et al., 2016a), δείχνοντας καλύτερη ανάπτυξη για τα λαβράκια που είναι προσαρμοσμένα στο γλυκό νερό.

4.3.4 Ανάπτυξη φυτών

Η ανάπτυξη του ριζικού συστήματος και κατά συνέπεια η ανάπτυξη του υπέργειου τμήματος του φυτού επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως για παράδειγμα την ένταση του φωτός (PAR) (Goto & Takakura, 1988; Stagnari et al., 2015), τη θερμοκρασία, το pH, τον αερισμό των ριζών (Vessey et al., 1988), το είδος των βακτηρίων που αναπτύσσονται στη ρίζες (Zboralski et al., 2017), τη ροή του νερού, τη μορφή και τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών (Hopkins, 1999). Αύξηση της συγκέντρωσης του αζώτου σε ένα φυτό, προάγει τη ταυτόχρονη ανάπτυξη του υπέργειου (βλαστός, φύλλα) και του ριζικού συστήματος (Hunt, 1982). Η αύξηση αυτή συνήθως, παρουσιάζεται μεγαλύτερη, στο υπέργειο κομμάτι του φυτού και λιγότερο στο υπόγειο (Bloom, 1997). Σύμφωνα με τους Forde & Clarkson (1999) το μαρούλι ανήκει στα είδη που έχουν την ικανότητα από ένα διάλυμα NO_3/NH_4 , να απορροφούν NH_4^+ με μεγαλύτερους ρυθμούς από ότι NO_3^- . Έρευνα των Savvas et al. (2006) αποδεικνύει ότι παροχή 30% του ολικού N με τη μορφή NH_4^+-N αυξάνει τη νωπή και τη ξηρή βιομάζα υπέργειου σε φυτά μαρουλιού. Μεγαλύτερη ανάπτυξη του ριζικού συστήματος σύμφωνα με τον Bloom (1997), παρουσιάζεται όταν το φυτό απορροφά ταυτόχρονα NH_4^+ και NO_3^- .

Στη παρούσα έρευνα, οι φυσικοχημικοί παράγοντες και η ροή του νερού προς τη καλλιεργητική περιοχή, δεν διέφεραν ($p>0,05$) μεταξύ των συστημάτων. Παρόλα αυτά τα φυτά του συστήματος 2 παρουσίασαν μικρότερο μήκος βλαστού (μικρότερη καθ'

ύψος ανάπτυξη), μικρότερο αριθμό φύλλων και μικρότερο ξηρό βάρος ρίζας. Σύμφωνα με τις συγκεντρώσεις των NH_4^+ και NO_3^- στην είσοδο και στην έξοδο των φυτών (Πίνακας 3) φαίνεται ότι τα φυτά του συστήματος 2 κατά τη διάρκεια των 45 ημερών ενδέχεται να απορρόφησαν μικρότερο ποσοστό συγκριτικά με τα συστήματα 1 και 3, το οποίο μπορεί να εξηγεί τη μικρότερη ανάπτυξη του ριζικού συστήματος και μικρότερο μήκος βλαστού. Τέλος, ενώ τα φυτά του συστήματος 2 εμφάνισαν μικρότερο αριθμό φύλλων διαφέροντας στατιστικά σημαντικά από τα άλλα δυο συστήματα, παρουσίασαν μεγαλύτερο μέσο νωπό βάρος φύλλου, χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά από τα άλλα δυο, γεγονός από αποδεικνύεται ότι τα φυτά του συστήματος 2 επένδυσαν σε μικρότερο αριθμό αλλά μεγαλύτερου βάρους φύλλων παράγοντας τελική βιομάζα που δεν διέφερε από τα άλλα δυο συστήματα.

Συμπερασματικά, στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των θρεπτικών συστατικών μεταξύ των συστημάτων και μεταξύ της εισόδου και της εξόδου της καλλιεργητικής περιοχής δεν εμφανίστηκαν, παρουσιάζοντας τελικό νωπό βάρος των φύλλων και τελικό ξηρό βάρος υπέργειας βιομάζας το οποίο δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των συστημάτων.

Οι Andriani et al. (2017) σε καλλιέργεια μαρουλιού σε σύστημα ενυδρείοπονίας με διαφορετικές αναλογίες εκτροφής ιχθύων για χρονικό διάστημα 49 ημερών σιτίζοντας 4% του σωματικού τους βάρους με τροφή 31-33% πρωτεΐνης, καταμέτρησαν τη μεγαλύτερη μέση ανάπτυξη του βλαστού σε 23,81cm, το μέσο μέγιστο αριθμό φύλλων 6,29 και το τελικό νωπό βάρος υπέργειου 445,44g. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με τη παρούσα έρευνα στη τελική παραγωγή νωπής υπέργειας βιομάζας ($453,87 \pm 22,119\text{gr}$) αλλά όχι στο ύψος του βλαστού ($8,32 \pm 0,288\text{cm}$) και τον αριθμό φύλλων ($40,5 \pm 1,423$). Οι διαφορές ενδέχεται να οφείλονται σε καλλιέργεια

διαφορετικής ποικιλίας μαρουλιού συνεπώς σε διαφορετική ανάπτυξη των επιμέρους οργάνων του φυτού.

Μελέτη καλλιέργειας μαρουλιού σε συστήματα ενυδρειοπονίας με ταυτόχρονη εκτροφή τιλάπιας σε πυκνότητα 7kg/m^3 που σιτίζονταν 4 φορές την ημέρα 3,5% του σωματικού τους βάρους από τους Castillo-Castellanos et al. (2016), παρουσίασε πολύ μικρή ανάπτυξη φυτών (18,8g μέσο νωπό βάρος, 1,5g μέσο ξηρό βάρος και παραγωγή βιομάζας $47,9\text{gr/m}^2$) συγκριτικά με την παρούσα έρευνα.

Έρευνα των Lennard & Leonard (2005) σε εκτροφή ιχθύων *Maccullochella peelii* με κυμαινόμενο ποσοστό διατροφής 1-1,5% την ημέρα και τροφή περιεκτικότητα 43% ποσοστό πρωτεΐνης με ταυτόχρονη καλλιέργεια μαρουλιού για 21 ημέρες έδειξε παραγωγή μαρουλιού $4,97\text{kg/m}^2$. Τα αποτελέσματα είναι υψηλότερα από τη παρούσα έρευνα ($3,63\text{kg/m}^2$) το οποίο είναι φυσιολογικό καθώς οι Lennard & Leonard (2004) είχαν υψηλότερες θερμοκρασίες καλλιέργειας (22°C) γεγονός που ευνοεί τη μεγαλύτερη ανάπτυξη του μαρουλιού (Thompson et al., 1998).

Έρευνα των Dediu et al. (2012) καλλιέργεια μαρουλιού για χρονικό διάστημα 21 ημερών απέδωσε 3,30-3,77kg νωπού μέσου βάρους/ m^2 σε διαφορετικές ροές νερού με αρχική ιχθυοπυκνότητα 7.56 kg/m^3 όπου οι ιχθύες σιτίζονταν 2% του σωματικού του βάρους ημερησίως με τροφή 46% περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη. Στη παρούσα έρευνα το μέσο νωπό βάρος αντιστοιχούσε σε 3,63kg για χρονικό διάστημα 45 ημερών. Παρόλα αυτά η ιχθυοπυκνότητα ήταν πολύ μικρότερη ($1,3\text{ kg/m}^3$) το οποίο αντιστοιχεί με μικρότερη ποσότητα ημερήσιας χορηγούμενης τροφής.

Η φωτοπερίοδος είναι ένας παράγοντας που έχει άμεση επίδραση στην επιλεγόμενη καλλιέργεια και όχι στατιστική επίδραση στην ανάπτυξη ιχθύων σύμφωνα με έρευνα των El-Sayed & Kawanna (2004) για τιλάπιες. Παρόλα αυτά αποτελέσματα των Liang & Chien (2013) για τιλάπια και υδρόβιο σπανάκι έδειξαν ότι αυξημένη φωτοπερίοδος

(24ώρες φωτισμός) απέδωσε μεγαλύτερες αποδόσεις στην αύξηση των ιχθύων εν συγκρίσει 12ώρου φωτισμού. Συγκεκριμένα, κατέδειξαν συνολική αύξηση βιομάζας 169% με τη μεγαλύτερη αύξηση 11% να παρατηρείται σε αυξημένες συχνότητες ταΐσματος και 12% μεγαλύτερη αύξηση σε συνθήκες 24ωρού φωτισμού συγκριτικά με 12ωρού σκότους. Υψηλή ένταση φωτός (PPFD 109 $\mu\text{mol/s/m}^2$) παρατεταμένης φωτοπεριόδου (6 ώρες φωτισμός) ευνόησε την ταυτόχρονη ανάπτυξη κυπρίνου και του καλλωπιστικού φυτού *Asplenium nidus*, βελτίωσε τη ποιότητα του νερού μειώνοντας την συσσώρευση των θρεπτικών (αζώτου & φωσφόρου) στην υδάτινη στήλη σε έρευνα των Liang & Chien (2015). Στη παρούσα εργασία, η φωτοπερίοδος ρυθμίστηκε στις 10ώρες φως και 12 ώρες σκότους προσομοιώνοντας την χειμερινή περίοδο, ενισχύοντας την ανάπτυξη του μαρουλιού (LennardandLeonard 2006) καθώς και την ανάπτυξη του λαβρακιού όπως αναφέρθηκε παραπάνω (εποχιακή προτίμηση σίτισης).

4.4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο διαμοιρασμός της τροφής σε τέσσερα γεύματα, έξι ώρες μεταξύ των γευμάτων, είναι η αποδοτικότερη πρακτική καθώς οι ιχθύες παρουσίασαν τους υψηλότερους δείκτες ανάπτυξης και αξιοποίησης τροφής. Στην ανάπτυξη των φυτών, τα φυτά του συστήματος 2 παρουσίασαν μικρότερη καθ' ύψος ανάπτυξη (ύψος βλαστού), μικρότερο αριθμό φύλλων και μικρότερο βάρος υπόγειου. Συμπερασματικά, το σύστημα 3 επέδειξε την ιδανικότερη ανάπτυξη φυτών. Παρόλα αυτά το μέσο βάρος φύλλου, η μέση νωπή και ξηρή βιομάζα υπέργειου μεταξύ των συστημάτων, δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά.

Περαιτέρω έρευνα θα πρέπει να γίνει σε ότι αφορά τη πρακτική σίτισης του λαβρακιού σε ένα σύστημα ενυδρείοπονίας καθώς η τροφή που εισάγεται, θα πρέπει να καλύπτει τις απαιτήσεις θρέψης ιχθύων και φυτών.

5. 2^ο Πείραμα. Μελέτη της χρήσης πρωτεΐνης εντόμων για την αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου στα σιτηρέσια του λαβρακιού εκτρεφόμενο σε εργαστηριακό σύστημα ενυδραιοπονίας.

5.1 Εισαγωγή

Η σύγχρονη κοινωνία έχει να αντιμετωπίσει την ολοένα αυξανόμενη ζήτηση ζωικής πρωτεΐνης. Ο λόγος είναι η αύξηση του πληθυσμού και δη της αστικοποίησης που τείνει να ενταθεί στα επόμενα χρόνια φτάνοντας μέχρι το 2050 το 66% του παγκόσμιου πληθυσμού να ζει σε αστικά κέντρα (UN, 2015). Ο σύγχρονος τρόπος ζωής προβάλλει ένα πρότυπο ισορροπημένης διατροφής που στηρίζεται στη κατανάλωση προϊόντων υψηλής βιολογικής αξίας όπως το ψάρι.

Οι ιχθυοκαλλιέργειες έρχονται να καλύψουν τις παραπάνω ανάγκες συμβάλλοντας σε μεγάλο ποσοστό στη παραγωγή ζωικής πρωτεΐνης. Η συμβολή των υδατοκαλλιεργειών στην παγκόσμια παραγωγή ιχθύων ολοένα και αυξάνεται, αντιστοιχώντας σε 46,8% το έτος 2016 εν συγκρίσει του 25,7% το 2000 (FAO, 2016). Παρόλα αυτά, η ανάπτυξη των ιχθυοκαλλιεργειών φέρει αρνητικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις στο περιβάλλον μέσω της αυξημένης παραγωγής και χρήσης ιχθυοτροφών όπως η μείωση των θαλάσσιων ιχθυοαποθεμάτων (Hua et al., 2019), η υποβίβαση του υδροφόρου ορίζοντα και η εκπομπή αερίων του θερμοκηπίου.

Σύμφωνα με τους Waite et al. (2014), η εκπομπή αερίων του θερμοκηπίου που εκλύονται από τις ιχθυοκαλλιέργειες αντιστοιχεί σε ποσοστό 5% των συνολικών εκλυόμενων από το τομέα των χερσαίων καλλιεργειών γεγονός που καθιστά τις χερσαίες καλλιέργειες να συμβάλλουν με τη σειρά τους σε μεγάλο ποσοστό στην υποβίβαση του περιβάλλοντος κυρίως μέσω των μονοκαλλιεργειών και της μη

ορθολογικής χρήσης λιπασμάτων. Είναι αναγκαία λοιπόν η χρήση αειφόρων μεθόδων παραγωγής ζωικής και φυτικής βιομάζας αξιοποιώντας ορθολογικά όλους τους πόρους.

Η ενυδραιοπονία αποτελεί μια αειφόρο απάντηση (Tyson et al., 2011; Buzby & Lin, 2014) καθώς συνδυάζει τη ταυτόχρονη παραγωγή ζωικής και φυτικής βιομάζας μέσω της αξιοποίησης των μεταβολικών προϊόντων των ιχθύων για τη θρέψη και κατά συνέπεια την ανάπτυξη των φυτών με τη λιγότερη δυνατή χρήση υδάτινων πόρων.

Στην ενυδραιοπονία, η τροφή και τα παράγωγα που προκύπτουν από αυτή (μεταβολικά προϊόντα των ιχθύων -κόπρανα και ουρία-), παρέχουν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά που χρειάζονται τα φυτά (Cebron & Garnier 2005, Francis-Floyd et al., 2009; Yildiz et al., 2017). Συνεπώς, η ποιότητα της παρεχόμενης τροφής (πρωτεϊνικές πηγές), επηρεάζει άμεσα τη θρέψη των ιχθύων και κατ' επέκταση τη θρέψη των φυτών καθώς και τη ποιότητα του νερού εκτροφής, γεγονός που καθιστά τη μελέτη των πρακτικών σίτισης αναγκαία.

Η σίτιση των ιχθύων στηρίζεται σε τροφές πλούσιες σε πρωτεΐνες, λιπίδια, υδατάνθρακες, βιταμίνες και ιχνοστοιχεία. Για τη παραγωγή ιχθυοτροφών χρησιμοποιούνται ιχθυάλευρα, ιχθυέλαια καθώς και προϊόντα φυτικής προέλευσης. Το ιχθυάλευρο είναι πλούσιο σε πρωτεΐνη (56-76%) παρέχοντας στον ιχθύ τα απαραίτητα αμινοξέα ενισχύοντας την απορρόφηση και το ιχθυέλαιο είναι πλούσιο σε λιπαρά οξέα.

Αξίζει να σημειωθεί ότι σύμφωνα με τον οργανισμό IFFO (Marine Ingredients Organisation) το 75% της ετήσιας παραγωγής ιχθυελαίου, χρησιμοποιείται για τη παρασκευή ιχθυοτροφών (Auchterlonie, 2018). Το ιχθυάλευρο και το ιχθυέλαιο παράγονται από ιχθύες που εκτρέφονται από τις ίδιες τις υδατοκαλλιέργειες καθώς και από άγριους πληθυσμούς (μικρά πελαγικά ψάρια όπως ρέγγες, γαύρους, σαρδέλες) (Olsen & Hasan, 2012).

Η μεγάλη ζήτηση ιχθύων απαιτεί αυξημένη παραγωγή και χρήση ιχθυοτροφών γεγονός που έχει επιφέρει μεγάλη άνοδο στις τιμές των ιχθυελαίων και των ιχθυαλεύρων. Με σκοπό τη μείωση του κόστους παραγωγής των ιχθυοτροφών αλλά και το περιορισμό υποβίβασης του χερσαίου αλλά και του υδάτινου περιβάλλοντος, τα τελευταία χρόνια έχουν πραγματοποιηθεί προσπάθειες αντικατάστασης ποσοστών ιχθυελαίου και ιχθυαλεύρου για τη παραγωγή ιχθυοτροφών με διαφορετικές πρωτεϊνικές πηγές. Σύμφωνα με τους Hasan & Soto (2017), η μείωση ιχθυελαίου και ιχθυαλεύρου με τη ταυτόχρονη βελτίωση του συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής από τους ιχθύες (FCR), μπορεί να συμβάλει στη μείωση εκπομπής των αερίων του θερμοκηπίου.

Δημητριακά (σόγια, κριθάρι, ελαιοκράμβη) (Gatlin et al., 2007), όσπρια, φύκη (macroalgae) (Wan et al., 2019) ζωικά υπό προϊόντα (πτηνάλευρα, αιματάλευρα) (Fagbenro & Adebayo, 2005; Karapanagiotidis et al., 2019) και έντομα έχουν χρησιμοποιηθεί για τη παρασκευή τροφών αντικαθιστώντας ποσοστά ιχθυαλεύρου και ιχθυελαίου.

Η χρησιμοποίηση εντόμων (Barroso et al., 2014; Makkar et al., 2014; Sánchez-Muros et al., 2014; VanHuis, 2013) παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον το τελευταίο καιρό λόγω της υψηλής διατροφικής τους αξίας (VanHuis, 2013). Το ποσοστό ακατέργαστης πρωτεΐνης σε εντομάλευρα κυμαίνεται από 55 έως 76%, αναλόγως του είδους του εντόμου. Άρα πρόκειται για μια σημαντική εναλλακτική λύση απέναντι στη χρήση σόγιας για παροχή πρωτεΐνης. Πέρα από τη διατροφική αξία, η εκτροφή των εντόμων παρουσιάζει και χαμηλό οικολογικό αποτύπωμα. Ήδη η νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης (2017/893-24/05/2017) προβλέπει την παραγωγή επτά εντόμων για χρήση σε ζωοτροφές: τη μαύρη μύγα των απορριμμάτων (*Hermetia illucens*), τη κοινή οικιακή μύγα (*Musca domestica*), το μεγάλο σκαθάρι των αλεύρων (*Tenebrio molitor*), το μικρό

σκαθάρι των αλεύρων (*Alphitobius diaperinus*), το οικοδίαιτο γρύλλο (*Acheta domesticus*), το στικτό μαύρο γρύλλο (*Gryllodes sigillatus*) και τον αγροδίαιτο γρύλλο (*Gryllus assimilis*).

Έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί για τη διατροφή διαφόρων ειδών υδρόβιων οργανισμών όπως η τιλάπια (Ebenso & Udo, 2003; Ogunji et al., 2008; Omoyinmi & Olaoye, 2012; Jabir et al., 2012; Sanchez-Muros et al., 2016), ο κυπρίνος (Makkar et al., 2014), η πέστροφα (Ostaszewska et al., 2011; Gasco et al., 2014) και η τσιπούρα (Piccolo et al., 2014; De Haro et al., 2016) με αντικατάσταση διαφόρων ειδών εντόμων. Ποσοστά αντικατάστασης 19,5-50% ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο δεν επηρεάζουν αρνητικά την ανάπτυξη των ιχθύων (Piccolo et al., 2014; Gasco et al., 2014; Magalhães et al., 2017).

Η προνύμφη *Zophobas morio* είναι ένα είδος εντόμου το οποίο παράγεται σε μεγάλες ποσότητες στη Κίνα και χρησιμοποιείται στη παραγωγή ζωοτροφών κυρίως για ζώα συντροφιάς (Bosch et al., 2014), πουλιών και ιχθύων (Ebeling, 1975). Έχει υψηλή διατροφική αξία καθώς η προνύμφη είναι πλούσια σε πρωτεΐνες (431,3 – 516,2 g/kg ξηρής ουσίας) και λιπαρά οξέα (328,0 – 435,4 g/kg ξηρής ουσίας) (Finke, 2002; Bednářová et al., 2013; Yi et al., 2013; Van Broekhoven et al., 2015). Σίτιση τιλάπιας με σιτηρέσια υποκατάστασης ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο προνύμφης *Z. morio* σε ποσοστό 25 και 50% έφεραν ικανοποιητική ανάπτυξη. Υποκατάσταση μεγαλύτερη του 50% είχε μικρότερη αύξηση βάρους ενώ ποσοστό αντικατάστασης 75% δεν εμπόδισε την ανάπτυξη αλλά παρουσίασε μικρότερο συντελεστή πεπτικότητας (ADC) πρωτεϊνών και λιπιδίων σε σύγκριση με το ιχθυάλευρο (Jabiretal. 2012).

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η σημαντικότερη πηγή θρεπτικών συστατικών (κυρίως άζωτο και φώσφορος) σε ένα σύστημα ενυδρείοπονίας είναι η τροφή. Η πρωτεϊνική της σύσταση, η ποσότητα και η συχνότητα που εισέρχεται στο σύστημα

επηρεάζει τη πεπτικότητα αυτής (Lam et al., 2014) από τους ιχθύες συνεπώς και το ρυθμό παραγωγής της αμμωνίας (Kaushik, 1980), και κατ' επέκταση των νιτρικών ιόντων (νιτροποιητική διαδικασία).

Οι φυτικές πρωτεΐνες συνοδεύονται από μειωμένη γευστικότητα (Gatlin et al., 2007) και αρκετούς αντιδιατροφικούς παράγοντες (Jobling, 1995; Gai et al., 2012; Daprà et al., 2009; Ferrara et al., 2015) οι οποίοι εμποδίζουν τη πεπτικότητα των τροφών από τους ιχθύες. Συνεπώς η χρήση εντόμων στη παραγωγή ιχθυοτροφών και η μελέτη επίδρασης αυτών στην ανάπτυξη εμπορικών ιχθύων και φυτών σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας μπορεί να αποτελέσει μια αειφόρο και οικονομική πρόταση στη παραγωγή φυτικής και ζωικής βιομάζας με μικρό περιβαλλοντικό αποτύπωμα.

Το λαβράκι είναι ένα είδος το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί σε ελάχιστες έρευνες εκτροφής (Nozzi et al., 2016a; Nozzi et al., 2016b) σε συστήματα ενυδρειοπονίας και λόγω της μεγάλης εμπορικής του σημασίας κρίνεται απαραίτητη η μελέτη του. Είναι ευρύαλο είδος, γεγονός που το καθιστά ιδανικό για εκτροφή σε συνθήκες χαμηλής αλατότητας με ταυτόχρονη καλλιέργεια εδώδιμων ή αρωματικών φυτών. Διάφορες μελέτες, έχουν αποδείξει ότι το λαβράκι μπορεί να διαβιώσει σε χαμηλής αλατότητας περιβάλλον (Barnabé, 1980; Pickett & Pawson, 1994) καθώς και να προσαρμοστεί επιτυχώς σε γλυκό νερό σε κλειστά συστήματα εκτροφής (Cataudella et al., 1991; Venturini et al., 1992; Varsamos et al., 2005; Nebel et al., 2005) χωρίς όμως να απουσιάζουν περιπτώσεις αυξημένης θνησιμότητας κατά τη προσαρμογή του σε γλυκό νερό (Dendrinis & Thorpe 1985; Allegrucci et al., 1994; Jensen et al., 1998). Το περιβάλλον διαβίωσης των ιχθύων παίζει σημαντικό ρόλο στην ευζωία και την ανάπτυξή τους καθώς η μεταφορά ενός ευρύαλου ιχθύος από αλμυρό σε γλυκό νερό, μπορεί να επηρεάσει τη πεπτικότητα της τροφής (Eroldogan et al., 2004).

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να μελετήσει την επίδραση τριών μεταχειρίσεων διατροφής με διαφορετικές ιχθυοτροφές (0%, 10% & 20% αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο προνύμφης (*Zophobas morio*) ώστε να προσδιοριστεί η αποδοτικότερη εισερχόμενη ιχθυοτροφή σε συστήματα ενυδρειοπονίας εξασφαλίζοντας με αυτό το τρόπο τη συνδυασμένη μέγιστη ανάπτυξη ιχθύων λαβρακιού και φυτών μαρουλιού (*Lactuca sativa*).

5.2 Υλικά και Μέθοδοι

5.2.1 Σύστημα ενυδρειοπονίας

Η περιγραφή του συστήματος ενυδρειοπονίας που χρησιμοποιήθηκε στο παρόν πείραμα, δίνεται στο κεφάλαιο 4.1.1. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος η θερμοκρασία και στις τρεις μεταχειρίσεις, διατηρήθηκε σταθερή στους $20,49 \pm 0,028$ με την βοήθεια βυθιζόμενων ηλεκτρικών θερμοστατών (Sunsun, JRB, 200W).

5.2.2 Παρασκευή εντομάλεων

Με σκοπό τη διεξαγωγή του πειράματος προνύμφες του εντόμου *Zophobas morio*, μεταφέρθηκαν στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας μέσα σε ειδικά δοχεία συλλογής, ακολουθώντας όλα τα απαραίτητα υγειονομικά πρωτόκολλα. Τα δοχεία αποθηκεύτηκαν στη κατάψυξη σε θερμοκρασία -20°C για 24h (Finke et al., 1989). Με το πέρας των 24h τα έντομα διασπάστηκαν σε μύλο (KoMoFidibus, PGS, Germany) και τοποθετήθηκαν σε φούρνο για 12h στους 60°C με σκοπό την αφυδάτωσή τους. Λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας των εντόμων σε λίπος (Barroso et al., 2014) απομακρύνθηκε το έλαιο από τους ιστούς των εντόμων μέσω απολίπανσης με τη χρήση

πετρελαϊκού αιθέρα 1:4 (1 μέρος εντόμων : 4 μέρη πετρελαϊκού αιθέρα) στους 50°C για 2h.

Τρία ισοπρωτεϊνικά (520g/kg) και ισοενεργειακά (21MJ/kg) σιτηρέσια παρασκευάστηκαν με σκοπό τη σίτιση των ιχθύων όπου αντιστοιχούσαν σε 0% αντικατάσταση ιχθυαλεύρου (FM), 10% αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο (ZM10) και 20% αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο (ZM20). Η σύσταση των σιτηρεσίων παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.1. Η σύσταση του FM παρασκευάστηκε σύμφωνα με τις απαιτήσεις του λαβρακιού (Hidalgo et al., 1988; Kaushik, 1998) η οποία περιείχε μίξη πρωτεϊνών προερχόμενων από ιχθύες και φυτικές πρωτεΐνες σύμφωνα με τις προδιαγραφές σύστασης των εμπορικών τροφών για τη σίτιση λαβρακιού. Πίτουρο σίτου, γλουτένη καλαμποκιού και ηλιάλευρο χρησιμοποιήθηκαν ως πηγή φυτικών πρωτεϊνών και υδατανθράκων με σκοπό να καλύψουν τις ανάγκες του λαβρακιού καθώς και να προσδώσουν σταθερότητα στο σύμπηκτο. Ιχθυέλαιο και σογιέλαιο χρησιμοποιήθηκαν ως πηγή λιπών με σκοπό να καλύψουν τις ανάγκες του λαβρακιού σε ω-3 λιπαρά οξέα. Λυσίνη και μεθειονίνη προστέθηκε στα σιτηρέσια ZM10 και ZM20 λόγω έλλειψης του εντομαλεύρου στα συγκεκριμένα αμινοξέα (Barroso et al., 2014; da Cunha Pedrosa, 2016). Σε όλα τα σιτηρέσια προστέθηκαν μείγμα βιταμινών και ιχνοστοιχείων, πολυφωσφορικά, βιταμίνη C και βιταμίνη D.

Τα άλευρα αλέσθηκαν σε μύλο (KoMoFidibus, PGS, Germany) με σκοπό την επίτευξη ομοιόμορφης κοκκομετρικής σύστασης. Η ανάμειξη των πρώτων υλών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μίξερ (BoschMaxxiMUMMUMXL20G) και η παρασκευή ενός συμπαγούς μίγματος επιτεύχθηκε με τη σταδιακή προσθήκη των ελαίων και ζεστού νερού. Πελετομηχανή (CL-2, IRMECOGmbH, TheNetherlands) χρησιμοποιήθηκε για τη παραγωγή των σύμπηκτων 1,5mm κοκκομετρικής διαμέτρου. Τα σύμπηκτα μετά τη παρασκευή τους αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 24h

με σκοπό τη φυσική τους ξήρανση και κατόπιν τοποθετήθηκαν σε ειδικά δοχεία στους 4°C μέχρι τη περαιτέρω χρησιμοποίησή τους.

Πίνακας 5.1. Σύσταση σιτηρεσιών (g/kg τροφής) για τις τρεις μεταχειρίσεις σίτισης FM, ZM10 (10% αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο) και ZM20 (20% αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο) αντίστοιχα.

Σιτηρέσια	FM	ZM10	ZM20
Σύσταση (g/kg τροφής)			
Ιχθυάλευρο	618,6	558,6	497,2
Άλευρο Zophobas	0,0	58,2	116,5
Πίτουρο σίτου	78,7	88,0	93,9
Γλουτένη καλαμποκιού	128,4	121,1	115,3
Ηλιάλευρο	63,2	63,1	63,1
Ιχθυέλαιο	74,7	74,4	74,5
Σογέλαιο	28,0	22,9	20,5
Προμείγμα βιταμινών και ιχνοστοιχείων	2,8	2,8	2,8
Πολυφωσφορικά (MCP)	2,8	2,8	2,8
Βιταμίνη C	0,9	0,9	0,9
Βιταμίνη E	1,9	1,9	1,9
Λυσίνη	0,0	3,0	6,0
Μεθειονίνη	0,0	2,3	4,6
Σχετική σύνθεση (% DM)			
Υγρασία	9,1	12,4	11,7
Ακατέργαστη πρωτεΐνη	57,3	57,0	55,9
Ακατέργαστο λίπος	16,6	14,2	14,5
Τέφρα	12,4	11,3	10,6
Ενέργεια (MJ/kg)	22,3	22,2	22,3

5.2.3 Υπολογισμός αριθμού ιχθύων ανά ενυδρείο και φορτίου ρύπανσης

Ο υπολογισμός του αριθμού ιχθύων ανά ενυδρείο και του φορτίου ρύπανσης περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.3.

5.2.4 Εκτροφή ιχθύων, πρωτόκολλο σίτισης

Διακόσια άτομα λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) μέσου βάρους 1-2gr μεταφέρθηκαν από τον ιχθυογεννητικό σταθμό της εταιρίας ΣΕΛΟΝΤΑ Α.Ε.ΓΕ που εδρεύει στη θέση Τάπιες–Πελασγία στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, μέσα σε ειδικούς σάκους μεταφοράς με οξυγόνωση, ακολουθώντας όλα τα απαραίτητα υγειονομικά πρωτόκολλα.

Η προσαρμογή των ιχθύων σε γλυκό νερό έγινε σύμφωνα με την διαδικασία που περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.2.

Οι ιχθύες μετά την επιτυχή προσαρμογή σε αλατότητα <1ppt και πριν την εισαγωγή στα συστήματα ενυδρειοπονίας διαβιούσαν σε ενυδρεία 100L γλυκού νερού για χρονικό διάστημα 5μηνών και σιτίζονταν 2 φορές την ημέρα, πρωί (10:00-10:30) και απόγευμα (17:00-17:30) μέχρι κορεσμού. Σε κάθε στάδιο, ακολουθούνταν όλα τα απαραίτητα υγειονομικά πρωτόκολλα και τα ιχθύδια μεταχειρίζονταν σύμφωνα με τους κανόνες ευζωίας.

Σε κάθε ενυδρείο κάθε ενυδρειοπονικού συστήματος αλατότητας $0,67 \pm 0,001$ ppt, τοποθετήθηκαν 10 ιχθύες, αντίστοιχα (Spotte, 1991; Carroza et al., 2012) και αφέθηκαν 10 ημέρες πριν την έναρξη του πειράματος με σκοπό τον εγκλιματισμό τους. Με το πέρας του εγκλιματισμού, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των ατομικών βαρών με τη χρήση ηλεκτρονικού ζυγού (ακρίβειας δυο δεκαδικών) και των ατομικών μηκών των ιχθύων με τη χρήση ιχθυόμετρου. Οι ιχθύες τοποθετήθηκαν στα ενυδρεία εκτροφής αντίστοιχα για τη κάθε μεταχείριση χωρίς να εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των αρχικών βαρών και μηκών τους. Συνολικά

εκτράφηκαν 90 ιχθύες αρχικού μέσου βάρους $21,55 \pm 0,283\text{g}$ και $12,97 \pm 0,064\text{cm}$ αρχικού μέσου μήκους για χρονικό διάστημα 45 ημερών με πυκνότητα εκτροφής $2,16\text{ kg/m}^3$.

Κάθε σιτηρέσιο FM, ZM10, ZM20 (0% αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο, 10% αντικατάσταση με εντομάλευρο και 20% αντικατάσταση με εντομάλευρο αντίστοιχα) παρέχονταν στους ιχθύες κάθε συστήματος ενυδρείοποινας (Σύστημα 1,2 και 3), χρησιμοποιώντας αντίστοιχα από ένα ενυδρείο για τη κάθε μεταχείριση (Εικόνα 5.1).



Εικόνα 5.1. Απλουστευμένη απεικόνιση συστημάτων ενυδρείοποινας χωρίς τη παρουσία φίλτρου. Τα γράμματα FM, ZM10, ZM20 αναφέρονται στα σιτηρέσια 0% αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο, 10% αντικατάσταση εντομάλευρου και 20% αντικατάσταση εντομάλευρου αντίστοιχα

Όλοι οι ιχθύες σιτίζονταν καθημερινά τέσσερις φορές την ημέρα (10:00-16:00-22:00-04:00) καθ' όλη τη διάρκεια του 24ώρου και τα γεύματα διαμοιράζονταν ημιαυτόματα. Τα πρωινά και μεσημεριανά ταΐσματα πραγματοποιούνταν καθημερινά

από τον ίδιο άνθρωπο και τα απογευματινά και βραδινά με τη χρήση αυτόματης ταϊστρας. Το ποσοστό διατροφής ορίστηκε στο 5% βάρος ιχθύος σύμφωνα με τις διατροφικές απαιτήσεις του είδους.

Η ακριβής ποσότητα σίτισης, υπολογίζονταν από τη Σχέση 4.1

Κάθε 15 ημέρες οι ιχθύες αναισθητοποιούνταν με τη χρήση αναισθητικού MS-222, λαμβάνονταν οι μορφομετρικές μετρήσεις (βάρος (g), ολικό μήκος (cm) και η ποσότητα της προσφερόμενης τροφής επαναπροσδιορίζονταν (Σχέση 2.1) σύμφωνα με τα νέα βάρη των ιχθύων.

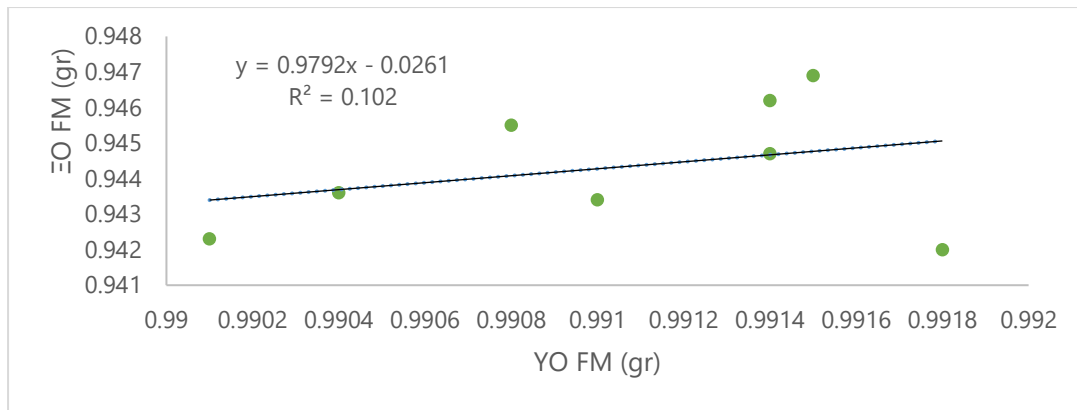
Για 30 ημέρες (ημέρα 15-ημέρα 45), πριν το πρωινό τάισμα πραγματοποιούνταν η συλλογή των κοπράνων και της μη καταναλωθείσας τροφής με σιφωνισμό από το πυθμένα των ενυδρείων. Η διαδικασία για τον υπολογισμό της καταναλωθείσας τροφής περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.4.

Οι σχέσεις μεταξύ ξηρής (ΞΟ) και υγρής (ΥΟ) ουσίας της τροφής, παρουσιάζονται στις εικόνες 5.2, 5.3 και 5.4 αντίστοιχα για το κάθε σιτηρέσιο FM, ZM10 και ZM20 και καθορίστηκαν μέσω γραμμικής συσχέτισης από τις σχέσεις 3, 4, 5 αντίστοιχα για το κάθε σιτηρέσιο:

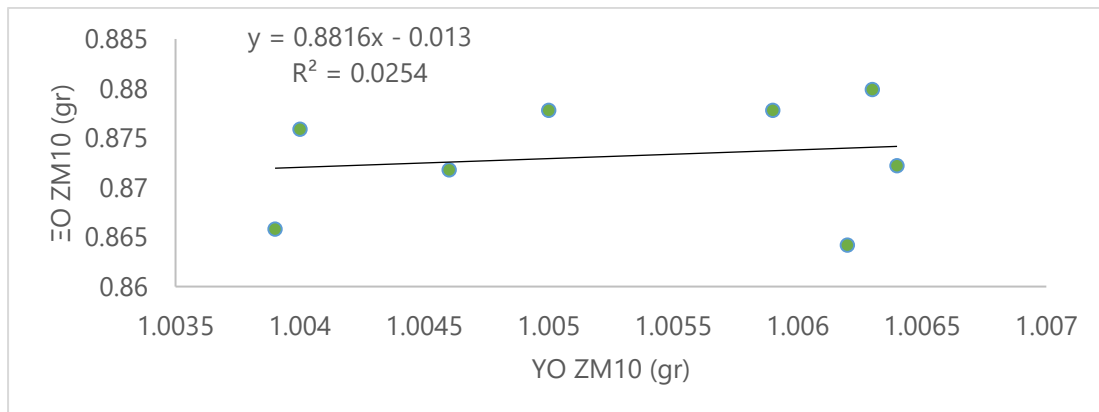
$$\text{ΞΟ FM (g)} = 0,9792 \times \text{ΥΟ τροφής FM} - 0,0261 \quad (\text{Σχέση 5.1})$$

$$\text{ΞΟ ZM10 (g)} = 0,8816 \times \text{ΥΟ τροφής ZM10} - 0,013 \quad (\text{Σχέση 5.2})$$

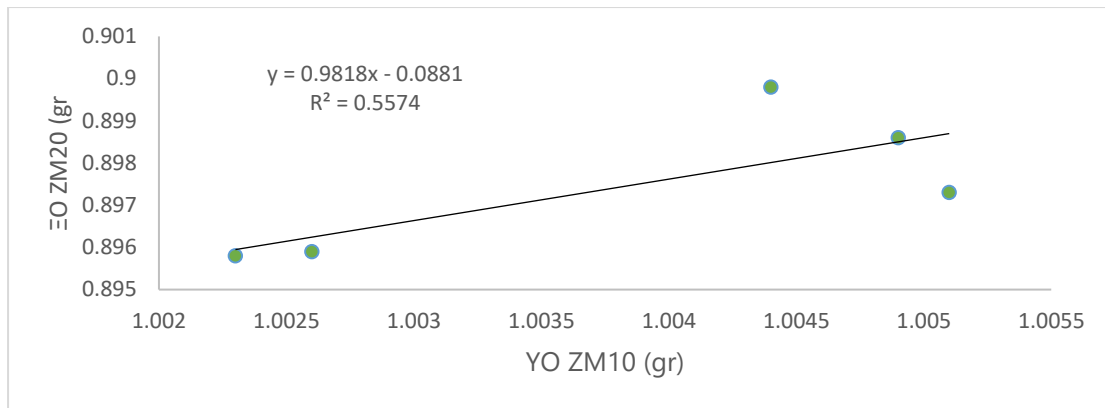
$$\text{ΞΟ ZM20 (g)} = 0,9818 \times \text{ΥΟ τροφής ZM20} - 0,0881 \quad (\text{Σχέση 5.3})$$



Εικόνα 5.2. Γραμμική συσχέτιση ξηρής ουσίας (ΞΟ) και υγρής ουσίας (ΥΟ) σιτηρεσίου FM.



Εικόνα 5.3. Γραμμική συσχέτιση ξηρής ουσίας (ΞΟ) και υγρής ουσίας (ΥΟ) σιτηρεσίου ZM10.



Εικόνα 5.4. Γραμμική συσχέτιση ξηρής ουσίας (ΞΟ) και υγρής ουσίας (ΥΟ) σιτηρεσίου ZM20.

5.2.5 Καλλιέργεια φυτών

Τα φυτάρια μαρουλιού (*Lactuca sativa* ποικιλίας Romana) προήλθαν από τοπικό φυτώριο σε βάση φυτάρων. Τα φυτά, παρέμειναν σε θερμοκήπιο με σκοπό τη σταδιακή προσαρμογή τους στο χώρο του εργαστηρίου. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε μέχρι και την τοποθέτησή τους στα συστήματα ενυδρείοποινας περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.5.

5.2.6 Προσδιορισμός φυσικοχημικών παραμέτρων

Στα ενυδρεία εκτροφής των ιχθύων καταμετρούνταν *insitu* καθημερινώς η θερμοκρασία του νερού (°C) και το pH, ενώ ανά τρεις μέρες καταμετρούνταν η συγκέντρωση του οξυγόνου (mg/L), η ηλεκτρική αγωγιμότητα (mS/cm) καθώς και η αλατότητα. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.6.

Μια φορά την εβδομάδα, πριν το πρώτο πρωινό τάισμα των ιχθύων, στο σημείο εισόδου του νερού (GBin) στη καλλιεργητική περιοχή, στο σημείο εξόδου της καλλιεργητικής περιοχής (GBout) και στο σημείο εξόδου των δεξαμενών των ιχθύων

(FTout) λαμβάνονταν δείγματα νερού όπου μετρούνταν οι συγκεντρώσεις αμμωνιακών (mg/L, $\text{NH}_4\text{-N}$), νιτρικών ιόντων (mg/L, $\text{NO}_3\text{-N}$) και φωσφορικών ιόντων (mg/L, PO_4^3). Η διαδικασία μετρήσεων περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.6.

5.2.7 Προσδιορισμός ανάπτυξης ιχθύων

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για το προσδιορισμό της ανάπτυξης των ιχθύων περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.7.

5.2.8 Ιστολογικές αναλύσεις ιχθύων

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τις ιστολογικές αναλύσεις των ιχθύων περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.8.

5.2.9 Προσδιορισμός ανάπτυξης φυτών

Η εκτίμηση της αύξησης των φυτών πραγματοποιήθηκε όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.9.

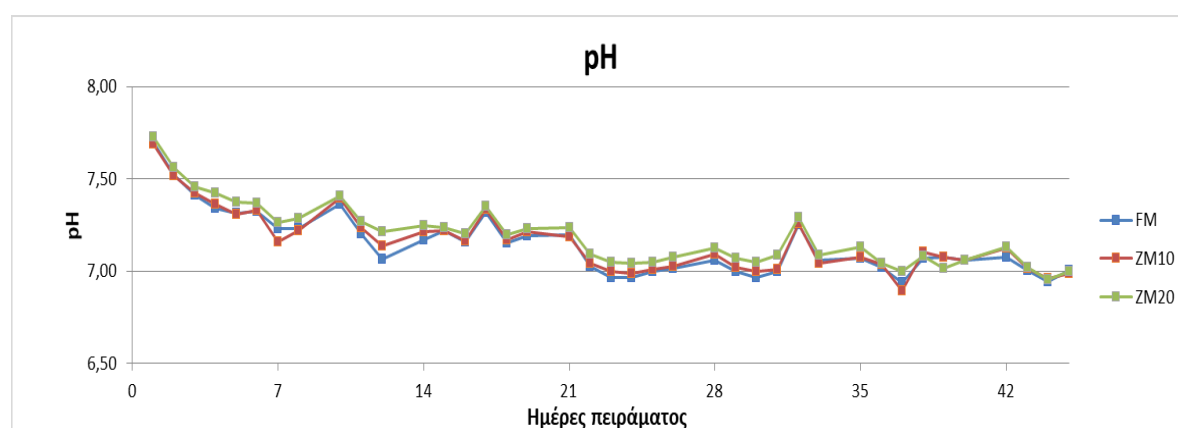
5.2.10 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων ανάπτυξης των ιχθύων και φυτών καθώς και αξιοποίησης της τροφής πραγματοποιήθηκε όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.10.

5.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.3.1 Φυσικοχημικοί παράγοντες νερού

Η διακύμανση του pH παρουσιάζεται στην Εικόνα 5.5 αντίστοιχα και για τρεις μεταχειρίσεις. Οι φυσικοχημικοί παράγοντες για τις τρεις μεταχειρίσεις σίτισης, αντιστοιχούσαν σε μέση θερμοκρασία νερού (T) $20,49 \pm 0,028^{\circ}\text{C}$, μέση ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC) $1,59 \pm 0,010 \text{ mS/cm}$, μέση τιμή του διαλυμένου οξυγόνου $7,38 \pm 0,041 \text{ mg/L}$ και μέση τιμή κορεσμένου οξυγόνου $82,50 \pm 0,472\%$.



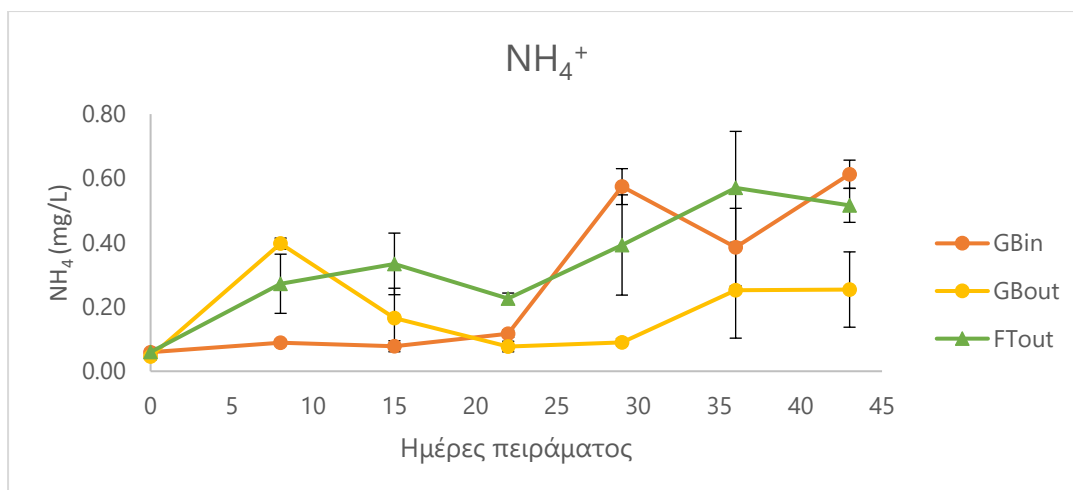
Εικόνα 5.5. Διακύμανση του pH κατά τη διάρκεια του πειράματος 45 ημερών (n=40) ($\pm \text{sem}$).

Οι τιμές τις αμμωνίας, νιτρικών και φωσφορικών ιόντων, μεταξύ των δειγματοληπτικών σημείων (είσοδο καλλιεργητικής περιοχής, έξοδο καλλιεργητικής περιοχής, έξοδο ενυδρείων εκτροφής) δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ($p=0,657$) (Πίνακας 5.2).

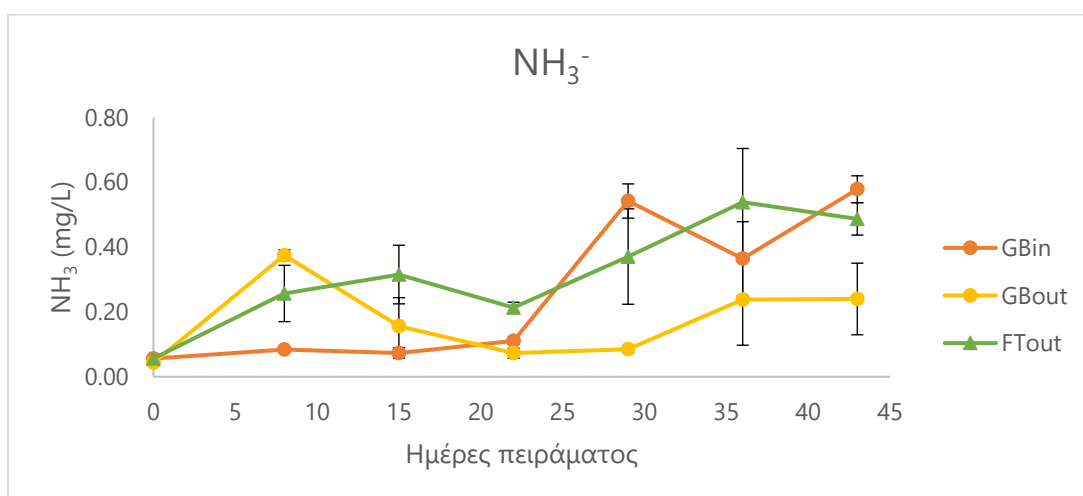
Στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής η μέση ιονισμένη μορφή της αμμωνίας (NH_4^+) (Πίνακας 5.2) και η μέσης μη ιονισμένης αμμωνίας (NH_3^-) δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων ($p=0,871$ και $p=0,887$ αντίστοιχα). Η μέση τιμή των νιτρικών (NO_3^-) και η μέση διαλυμένη ποσότητα του φωσφόρου (PO_4^{3-}) (Πίνακας 5.2) επίσης δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων ($p=0,856$ και $p=0,279$ αντίστοιχα).

Στην έξοδο της καλλιεργητικής περιοχής η μέση ιονισμένη μορφή της αμμωνίας (NH_4^+) και η μέση μη ιονισμένης αμμωνίας (NH_3^-) (Πίνακας 5.2) δεν διέφεραν μεταξύ των συστημάτων ($p=0,904$ και $p=0,908$ αντίστοιχα). Η μέση τιμή των νιτρικών (NO_3^-) (Πίνακας 5.2) επίσης δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων ($p=0,656$). Η μέση διαλυμένη ποσότητα του φωσφόρου (PO_4^{3-}) (Πίνακας 5.2) αντιστοιχούσε διέφερε στατιστικά σημαντικά ($p=0,02$) μεταξύ των συστημάτων 3 \ και 1 . Το σύστημα 2 δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά με το σύστημα 1 ($p=0,054$) και 3 ($p=0,877$).

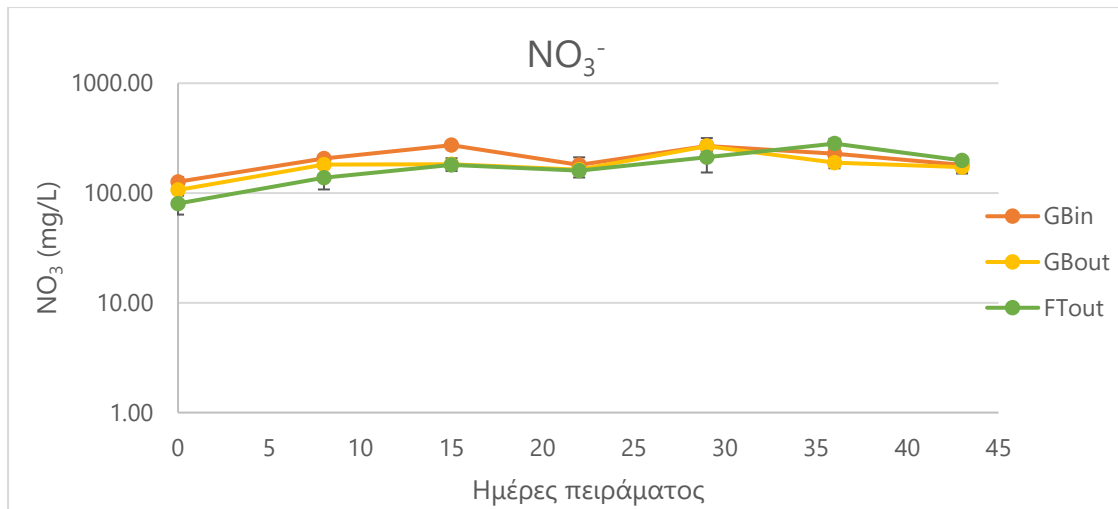
Στην έξοδο των ενυδρείων εκτροφής η μέση ιονισμένη μορφή της αμμωνίας (NH_4^+) και η τιμή της μέσης μη ιονισμένης αμμωνίας (NH_3^-) (Πίνακας 5.2) αντιστοιχούσε δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων ($p=0,979$ και $p=0,981$ αντίστοιχα). Η μέση τιμή των νιτρικών (NO_3^-) (Πίνακας 5.2) δεν διέφερε μεταξύ των συστημάτων ($p=0,769$). Η μέση διαλυμένη ποσότητα του φωσφόρου (PO_4^{3-}) (Πίνακας 5.2) αντιστοιχούσε διέφερε στατιστικά σημαντικά ($p=0,007$) μεταξύ των συστημάτων 3 και 1, Το σύστημα 2 δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά με το σύστημα 1 ($p=0,145$) και 3 ($p=0,264$).



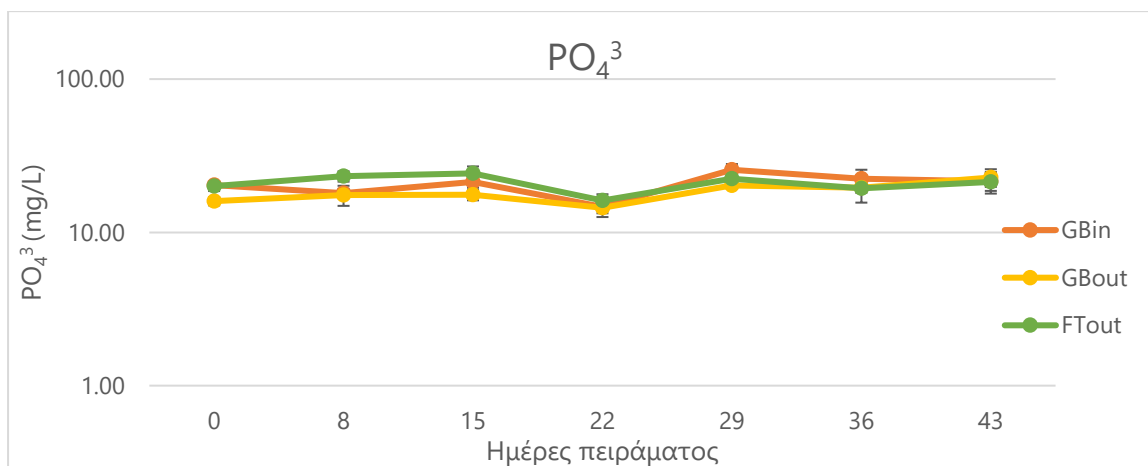
Εικόνα 5.6. Συγκεντρωτική μέση διακύμανση ιονισμένης αμμωνίας (NH_4^+) στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής (GBin) στην έξοδο αυτής (GBout) και στην έξοδο των ενυδρείων εκτροφής (FTout) και των τριών συστημάτων κατά τη διάρκεια του πειράματος 45ημερών ($n=7$) ($\pm\text{sem}$).



Εικόνα 5.7. Συγκεντρωτική μέση διακύμανση μη ιονισμένης αμμωνίας (NH_3^-) στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής (GBin) στην έξοδο αυτής (GBout) και στην έξοδο των ενυδρείων εκτροφής (FTout) και των τριών συστημάτων κατά τη διάρκεια του πειράματος 45ημερών ($n=7$) ($\pm\text{sem}$).



Εικόνα 5.8. Συγκεντρωτική μέση διακύμανση νιτρικών ιόντων (NO₃⁻) στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής (GBin), στην έξοδο αυτής (GBout) και στην έξοδο των ενυδρείων εκτροφής (FTout) και των τριών συστημάτων κατά τη διάρκεια του πειράματος 45ημερών (n=7) ($\pm$ sem). Οι τιμές παρουσιάζονται σε λογαριθμική κλίμακα.



Εικόνα 5.9. Συγκεντρωτική μέση διακύμανση φωσφόρου (PO₄³⁻) στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής (GBin), στην έξοδο αυτής (GBout) και στην έξοδο των ενυδρείων εκτροφής (FTout) και των τριών συστημάτων κατά τη διάρκεια του πειράματος 45ημερών (n=7) ($\pm$ sem). Οι τιμές παρουσιάζονται σε λογαριθμική κλίμακα.

Πίνακας 5.2. Φυσικοχημικοί παράγοντες στην είσοδο (GBin), στην έξοδο (GBout) της καλλιεργητικής περιοχής και στην έξοδο των ενυδρείων εκτροφής (FTout) αντίστοιχα για τα τρία ενυδρειοπονικά συστήματα κατά τη διάρκεια των 45 ημερών (n=7). Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι± τυπικό σφάλμα. Όμοιοι εκθέτες ανά γραμμή, δηλώνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές (p>0,05).

	Σύστημα 1			Σύστημα 2			Σύστημα 3		
	Ftout (mg/L)	Gbin (mg/L)	Gbout (mg/L)	Ftout (mg/L)	Gbin (mg/L)	Gbout (mg/L)	Ftout (mg/L)	Gbin (mg/L)	Gbout (mg/L)
NH ₄	0,33±0,10 ^a	0,26±0,08 ^a	0,16±0,05 ^a	0,35±0,08 ^a	0,31±0,11 ^a	0,17±0,06 ^a	0,33±0,08 ^a	0,25±0,09 ^a	0,22±0,08 ^a
NH ₃	0,31±0,09 ^a	0,25±0,08 ^a	0,15±0,05 ^a	0,33±0,08 ^a	0,30±0,11 ^a	0,16±0,06 ^a	0,31±0,08 ^a	0,23±0,08 ^a	0,21±0,07 ^a
NO ₃	162,88±21,03 ^a	219,52±21,74 ^a	183,94±22,37 ^a	192,64±38,054 ^a	200,92±20,79 ^a	163,20±11,94 ^a	179,61±24,87 ^a	206,30±29,14 ^a	193,87±32,52 ^a
PO ₄ ³	17,68±1,07 ^a	18,52±2,11 ^a	14,77±1,02 ^a	21,17±1,05 ^{a,b}	20,77±0,98 ^a	19,61±1,22 ^{a,b}	24,03±1,55 ^b	22,38±1,67 ^a	20,55±1,75 ^b

5.3.2 Ανάπτυξη ιχθύων

Οι παράμετροι ανάπτυξης των ιχθύων λαβρακιού αντίστοιχα και για τις τρεις μεταχειρίσεις, παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.3. Η επιβίωση μέχρι το πέρας της πειραματικής διαδικασίας ήταν 97, 100 και 97% αντίστοιχα για τις μεταχειρίσεις που οι ιχθύες σιτίζονταν με τροφή 0% αντικατάστασης ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο προνύμφης *Zophobas* (FM), τροφή 10% αντικατάστασης με εντομάλευρο (ZM10) και τροφή 20% αντικατάστασης με εντομάλευρο (ZM20). Σε όλους τους ιχθύες διατηρήθηκε το ίδιο ποσοστό διατροφής 5%. Τα τελικά βάρη των ιχθύων δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p=0,229$) μεταξύ των μεταχειρίσεων FM, ZM10 και ZM20 όπως και τα τελικά μήκη ($p=0,496$). Τη μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG, g), παρουσίασε το FM διαφέροντας στατιστικά σημαντικά ($p=0,034$) με το ZM20 ενώ το ZM10 δεν διέφερε στατιστικά με κάποια από τις άλλες δυο μεταχειρίσεις. Οι ιχθύες που σιτίζονταν με FM, παρουσίασαν υψηλότερο ημερήσιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα) διαφέροντας στατιστικά σημαντικά ($p=0,001$) με τις άλλες δυο μεταχειρίσεις ZM10 και ZM20. Τον υψηλότερο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) παρουσίασαν οι ιχθύες που σιτίζονταν με ZM20 χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά ($p=0,190$) από τους ιχθύες που σιτίζονταν με ZM10 και FM. Οι ιχθύες που σιτίζονταν με το σιτηρέσιο ZM10 κατανάλωσαν μεγαλύτερη ποσότητα τροφής ανά ημέρα από τους ιχθύες που σιτίζονταν με FM και ZM20 χωρίς όμως να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($p=0,851$).

Πίνακας 5.3. Παράμετροι ανάπτυξης ιχθύων αντίστοιχα για κάθε μεταχείριση σε διάστημα 45 ημερών. Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι± τυπικό σφάλμα. Όμοιοι εκθέτες ανά γραμμή, δηλώνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$).

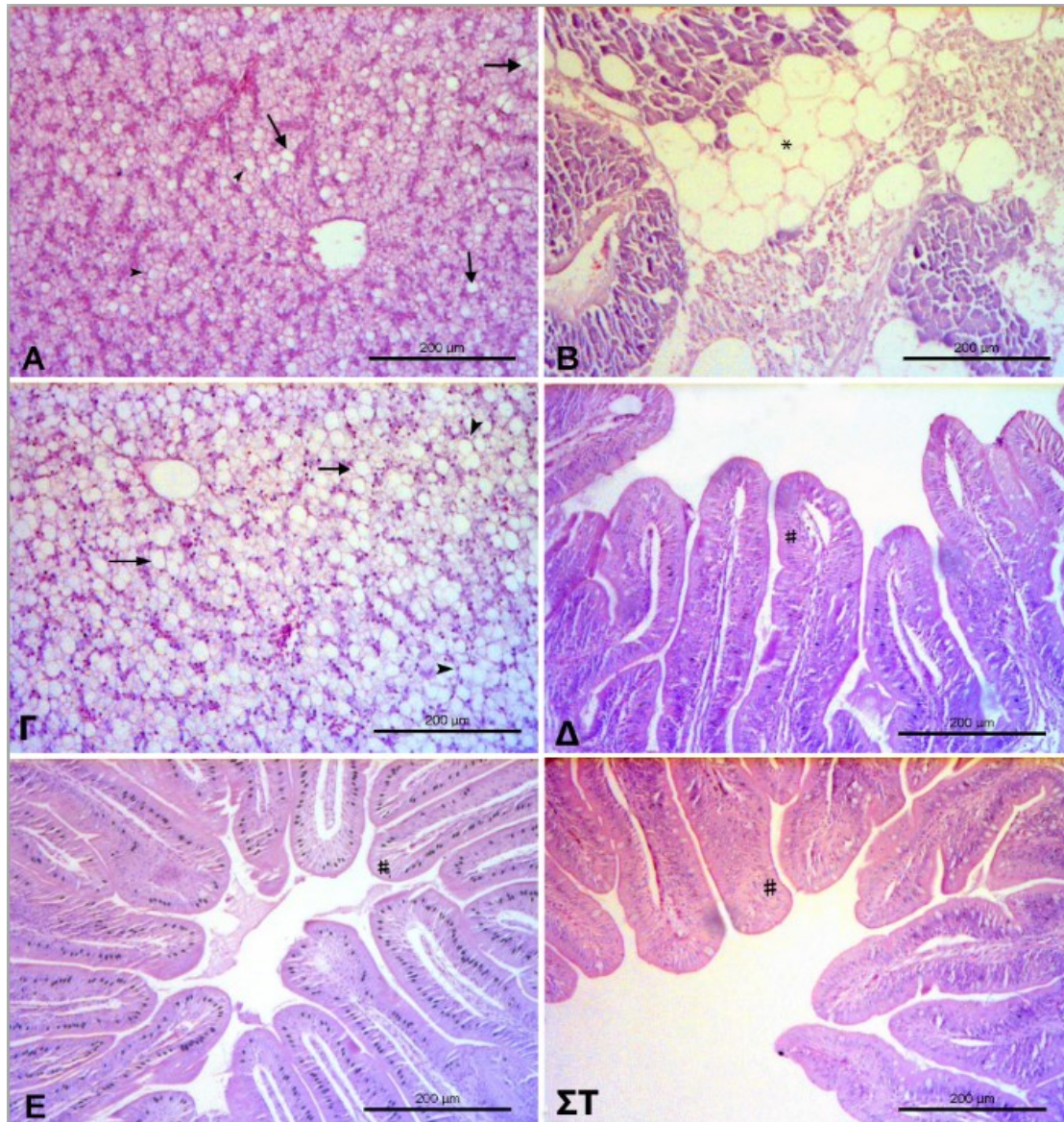
	FM	ZM10	ZM20
Επιβίωση (S) (%)	97	100	97
Αρχικά βάρη W_0 (g)	21,54±0,47 ^a	21,55±0,50 ^a	21,55±0,52 ^a
Αρχικά μήκη L_0 (cm)	12,98±0,11 ^a	13,02±0,12 ^a	12,9±0,10 ^a
Τελικά βάρη W_{45} (g)	49,27±1,37 ^a	47,73±1,43 ^a	45,86±1,34 ^a
Τελικά μήκη L_{45} (cm)	16,20±0,15 ^a	16,17±0,14 ^a	15,98±0,14 ^a
Αύξηση βάρους WG (g)	27,86±0,98 ^a	26,17±0,96 ^{ab}	24,46±0,89 ^b
Ημερήσιος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης SGR (%/ημέρα)	1,84±0,03 ^a	1,75±0,02 ^b	1,68±0,03 ^b
Συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής FCR	1,24±0,05 ^a	1,32±0,45 ^a	1,38±0,06 ^a
Κατανάλωση τροφής FC (gr/ημέρα)	8,98±0,20 ^a	9,19±0,21 ^a	8,96±0,19 ^a

5.3.3 Ιστολογική εξέταση ιχθύων

Η ιστοπαθολογική εξέταση του ήπατος των τριών διαιτητικών ομάδων ψαριών αποκάλυψε ήπια (Βαθμού 2) έως μέτρια (Βαθμού 3) συσώρευση λιποσταγονιδίων στα ηπατοκύτταρα των ψαριών που σιτίστηκαν με τις δίαιτες FM και ZM10. Παρατηρήθηκε ότι ορισμένοι από τους πυρήνες των ηπατικών κυττάρων εξωθούνται προς την άκρη των ηπατοκυττάρων με λιποσταγονίδια (Πίνακας 5.4). Μακροστεάτωση ανιχνεύθηκε σε δύο ιχθύες από την ομάδα ZM10. Η μικροσκοπική εξέταση του μεσεντέρου δεν κατέδειξε ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις (Βαθμός 0) σε καμία από τις διαιτητικές ομάδες (Πίνακας 5.4, Εικόνα 5.10).

Πίνακας 5.4. Βαθμός ιστοπαθολογικής αλλοίωσης εξεταζόμενων ιστών ανά δίαιτα.

Δίαιτα	Ήπαρ	Μεσέντερο
FM	2	0
ZM10	2	0
ZM20	3	0



Εικόνα 5.10. Ιστοπαθολογία ήπατος και μέσου εντέρου. (Α) Ομάδα FM. Ήπια συσσώρευση λιποσταγονιδίων (βέλος) στα ηπατοκύτταρα. Μερικοί από τους πυρήνες (αιχμή βέλους) των ηπατοκυττάρων ωθούνται στην άκρη των κυττάρων. (Β) Ομάδα ZM10. Μακροστεάτωση (*) γύρω από παγκρεατικά νησίδια. (Γ) ZM20 ομάδα. Μέτρια συσσώρευση λιποσταγονιδίων (βέλος) στα ηπατοκύτταρα. Μερικοί από τους πυρήνες (αιχμή βέλους) των ηπατοκυττάρων ωθούνται στην άκρη των κυττάρων. (Δ) ομάδα FM. Φυσιολογική δομή λαχνών του μέσου εντέρου με φυσιολογικά εντεροκύτταρα (#). (Ε) Ομάδα ZM10. Φυσιολογική δομή λαχνών του μέσου εντέρου με φυσιολογικά εντεροκύτταρα (#). (ΣΤ) Ομάδα ZM20. Φυσιολογική δομή λαχνών του μέσου εντέρου με φυσιολογικά εντεροκύτταρα (#).

5.3.4 Ανάπτυξη φυτών

Οι παράμετροι ανάπτυξης των φυτών παρουσιάζονται αντίστοιχα και για τα τρία συστήματα στον Πίνακα 5.5. Καθ' όλη τη πειραματική διαδικασία δεν υπήρξε θνησιμότητα στα φυτά.

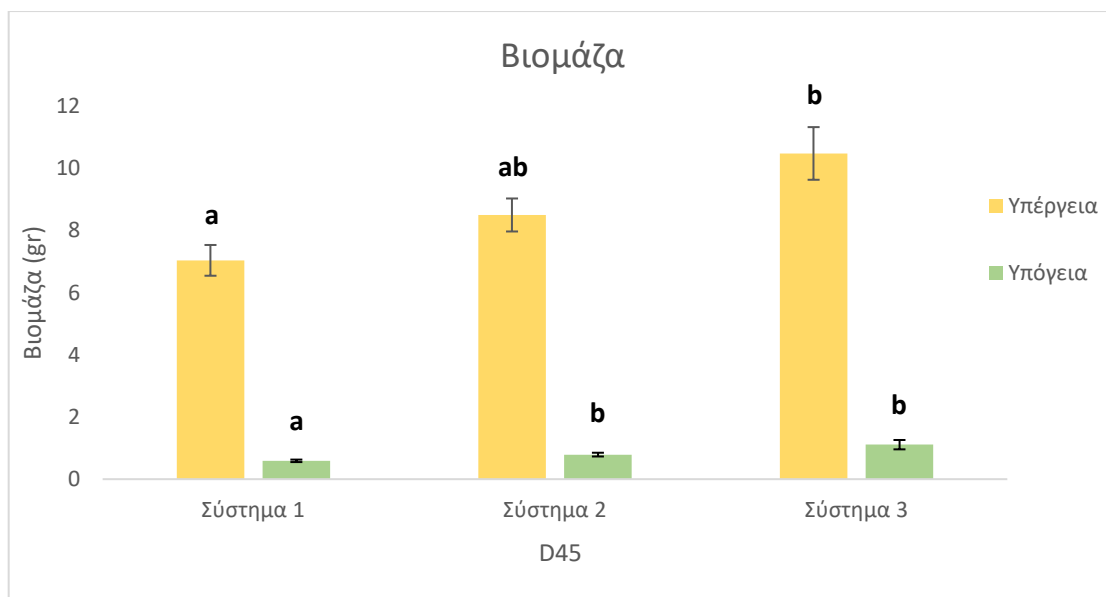
Μεγαλύτερο ύψος βλαστού παρουσίασε το σύστημα 2 διαφέροντας στατιστικά σημαντικά ($p=0,001$) από το σύστημα 3. Το σύστημα 1 δεν διέφερε σημαντικά από το σύστημα 2 ($p=0,204$) και το σύστημα 3 ($p=0,060$). Μεγαλύτερο αριθμό φύλλων έφερε το σύστημα 2 διαφέροντας στατιστικά σημαντικά ($p=0,005$) με τα συστήματα 1 και 3. Όσο αφορά το μέσο βάρος φύλλου δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συστημάτων 1 και 2 ($p=0,052$). Μεγαλύτερο βάρος παρουσίασε το σύστημα 3 και το μικρότερο το σύστημα 1. Το μέσο νωπό βάρος των φύλλων και η μέση νωπή βιομάζα υπέργειου ήταν μεγαλύτερα στο σύστημα 3 χωρίς να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p=0,105$, $p=0,073$) από το σύστημα 2. Το σύστημα 1 διέφερε στατιστικά σημαντικά ($p=0,001$) και με τα δυο συστήματα στο νωπό βάρος φύλλων ενώ δεν διέφερε σημαντικά ($p=0,122$) με το σύστημα 2 στη μέση βιομάζα υπέργειου.

Μεγαλύτερη ξηρή βιομάζα υπέργειου (Εικόνα 5.11) παρουσίασε το σύστημα 3 ($10,48 \pm 0,85\text{g}$) χωρίς να διαφέρει στατιστικά ($p=0,100$) με το 2 ($8,50 \pm 0,53\text{g}$). Το σύστημα 1 ($7,04 \pm 0,49\text{g}$) έφερε τη μικρότερη ξηρή βιομάζα υπέργειου χωρίς να διαφέρει στατιστικά ($p=0,267$) σημαντικά με το 2. Τα συστήματα 3 και 2 εμφάνισαν το μεγαλύτερο ξηρό βάρος ρίζας ($1,11 \pm 0,15\text{g}$ και $0,79 \pm 0,06\text{g}$ αντίστοιχα) χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ($p=0,130$) ενώ διαφέροντας σημαντικά

($p=0,006$) και με τα δύο, το σύστημα 1 είχε το μικρότερο ξηρό βάρος ρίζας ($0,59\pm0,04\text{g}$).

Πίνακας 5.5. Παράμετροι ανάπτυξης φυτών αντίστοιχα για κάθε μεταχείριση σε διάστημα 45 ημερών. Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ τυπικό σφάλμα (n=8). Όμοιοι εκθέτες ανά γραμμή, δηλώνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$)

	Σύστημα 1	Σύστημα 2	Σύστημα 3	Συνολικός Μ.Ο
Επιβίωση (%)	100	100	100	100
Ύψος βλαστού (cm)	11,45 $\pm$ 1,08 ^{ab}	13,7 $\pm$ 1,04 ^a	8,36 $\pm$ 0,43 ^b	11,17 $\pm$ 0,67
Νωπό βάρος φύλλων (gr)	141,70 $\pm$ 9,09 ^a	184,47 $\pm$ 18,63 ^b	245,32 $\pm$ 19,66 ^b	190,50 $\pm$ 12,70
Αριθμός φύλλων	35,13 $\pm$ 1,72 ^a	43,38 $\pm$ 3,63 ^b	34,88 $\pm$ 0,72 ^a	37,79 $\pm$ 1,54
Μέσο βάρος φύλλου (gr)	4,03 $\pm$ 0,17 ^a	4,55 $\pm$ 0,56 ^a	6,99 $\pm$ 0,46 ^b	5,19 $\pm$ 0,36
Νωπή βιομάζα υπέργειου (gr)	162,16 $\pm$ 10,31 ^a	215,06 $\pm$ 19,02 ^{ab}	274,83 $\pm$ 22,73 ^b	217,35 $\pm$ 13,86
Ξηρή βιομάζα υπέργειου (gr)	7,04 $\pm$ 0,49 ^a	8,50 $\pm$ 0,53 ^{ab}	10,48 $\pm$ 0,85 ^b	8,67 $\pm$ 0,46
Ξηρό βάρος υπόγειου (ρίζα) (gr)	0,59 $\pm$ 0,04 ^a	0,79 $\pm$ 0,26 ^b	1,11 $\pm$ 0,15 ^b	0,83 $\pm$ 0,07
Παραγόμενη βιομάζα (kg)/m ²	1,3	1,72	2,2	1,74



Εικόνα 5.11. Μέση ξηρή βιομάζα υπέργειου και υπόγειου (g) αντίστοιχα για τα τρία ενυδρειοπονικά συστήματα κατά το τέλος της πειραματικής διαδικασίας 45ημερών. Όμοια γράμματα (a), δηλώνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$)

5.4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.4.1 Φυσικοχημικοί παράγοντες νερού

Σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας η θερμοκρασία θα πρέπει να επιλέγεται και να προσαρμόζεται ανάλογα με τα προς εκτροφή και καλλιέργεια είδη. Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης του λαβρακιού σε αλμυρό νερό κυμαίνεται από 22-28°C (Alliot et al., 1983; Barnabé, 1990; Lanari et al., 2002) ενώ για την αντίστοιχη αύξηση βάρους σε υφάλμυρο νερό αντιστοιχεί σε 19-20 °C (Zanuy & Carrillo, 1985). Θερμοκρασία νερού 24°C προάγει την ανάπτυξη φυτών μαρουλιού σύμφωνα με τους Thompson et al. (1998), ενώ χαμηλότερη θερμοκρασία προκαλεί μείωση νωπού και ξηρού βάρους υπέργειας βιομάζας (Economakis & Said, 2000). Στη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία, η θερμοκρασία του νερού ρυθμίστηκε στους 20,50±0,04°C ικανοποιώντας ταυτόχρονα τις απαιτήσεις του λαβρακιού και του μαρουλιού.

Διαλυμένο οξυγόνο 7-8mg/L εξασφαλίζει τον επαρκή αερισμό για την αναπνοή του λαβρακιού (Biswas et al., 2010; Eroldogan et al., 2004; Tsevis et al., 1992). Στο συγκεκριμένο πείραμα τα επίπεδα οξυγόνου και στις τρεις μεταχειρίσεις διατηρήθηκαν $7,38 \pm 0,07 \text{mg/L}$, διασφαλίζοντας την αναπνοή των ιχθύων, την ενδυνάμωση του ριζικού συστήματος των φυτών, τη πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών καθώς και τη διεργασία της νιτροποίησης (Goto et al., 1996; Rackocy et al., 2006).

Το pH μεταξύ των διατροφικών μεταχειρίσεων δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά και κυμάνθηκε μέσα στα φυσιολογικά όρια ανάπτυξης του λαβρακιού (Lemarié et al., 2000). Παρ' όλα αυτά, το pH μεταξύ των συστημάτων εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$). Σύμφωνα με μελέτη των Tyson et al (2004) διαφορετικός ρυθμός διάσπασης της αμμωνίας από το βιολογικό φίλτρο οδηγεί σε διαφορετικό pH. Η διαφορά στο pH που παρατηρήθηκε μεταξύ των συστημάτων μπορεί να εξηγηθεί κατ' αυτόν τον τρόπο, μιας και το βιολογικό φίλτρο του κάθε συστήματος ήταν ένα δυναμικό σύστημα (ο αριθμός των βακτηρίων στο κάθε φίλτρο δεν μπορεί να προσδιοριστεί) προκαλώντας διαφορετικό ρυθμό διάσπασης της αμμωνίας σε κάθε φίλτρο. Η οξείδωση της αμμωνίας σε νιτρικά ιόντα έχει τη τάση να κάνει πιο όξινο το περιβάλλον (Saeiki, 1963). Η παρατηρούμενη διαφορά του pH μεταξύ των συστημάτων ενδέχεται να επηρέασε την ανάπτυξη των φυτών (White, 2012).

Η αγωγιμότητα παρέχει μια εικόνα για τον αριθμό των ιόντων που κυκλοφορούν στην υδάτινη στήλη. Τα όρια ανοχής του μαρουλιού σε υδροπονική καλλιέργεια κυμαίνονται από 1,4-2,0mS/cm (Faquin & Furlani, 1999). Σε συστήματα ενυδρειοπονίας έχουν καταγραφεί από 0,3-1,1mS/cm (Graber & Junge, 2009; Pantanella et al., 2012). Στη συγκεκριμένη έρευνα η μέση τιμή της αγωγιμότητας ήταν $1,59 \pm 0,01 \text{mS/cm}$. Η τιμή αυτή συμφωνεί με τα όρια της υδροπονικής καλλιέργειας και είναι λίγο μεγαλύτερη από τις τιμές αγωγιμότητας για την ενυδρειοπονία που δίνουν οι

Graber & Junge (2009) και Pantanella et al. (2012). Οι τιμές της αγωγιμότητας του πειράματος ικανοποιούν ταυτόχρονα το καλλιεργούμενο μαρούλι και το εκτρεφόμενο λαβράκι το οποίο όντας ευρύαλο είδος, μπορεί να επιζήσει και να έχει ικανοποιητική ανάπτυξη σε γλυκό νερό (χαμηλή αγωγιμότητα). Επιτυχής εκτροφή του λαβρακιού σε χαμηλές αλατότητες μπορεί να επιτευχθεί μέσω της σταδιακής του προσαρμογής (Marino et al., 1994; Nozzi et al., 2016). Άμεση μετάβαση από αλμυρό σε γλυκό νερό μπορεί να φέρει μαζικές θνησιμότητες (Dendrinis & Thorpe, 1985; Cataudella et al., 1991). Στη παρούσα έρευνα οι ιχθύες εκτράφηκαν χωρίς να παρουσιαστούν θνησιμότητες εξαιτίας διακυμάνσεων της αλατότητας.

Οι συγκεντρώσεις της αμμωνίας (ιονισμένης NH_4^+ και μη ιονισμένης NH_3^-) δεν διέφεραν μεταξύ των δειγματοληπτικών σημείων σε κανένα από τα τρία συστήματα. Η διακύμανση της αμμωνίας (Σχήματα 5, 6) παρουσιάζει μια ανοδική τάση η οποία είναι φυσιολογική καθώς η αύξηση του βάρους των ιχθύων κατά τη διάρκεια του πειράματος συνοδεύονταν με αύξηση στη προσφερόμενη τροφή συνεπώς αύξηση και στη τελική ποσότητα της παραγόμενης αμμωνίας.

Σε συστήματα ενυδρειοπονίας έχουν καταγραφεί συγκεντρώσεις ιονισμένης αμμωνίας (NH_4^+) 0,47-2,8mg/L (Rakocy, 2004; Dediu et al., 2012; Danaher et al., 2013; Delaide, 2016). Στη παρούσα έρευνα η συγκέντρωση της αμμωνίας κυμάνθηκε μέσα στα ασφαλή αυτά όρια για την ανάπτυξη των ιχθύων.

Η αμμωνία στη μη ιονισμένη μορφή της (NH_3^-), κάτω από συνθήκες αυξημένου pH και θερμοκρασίας είναι τοξική για τους ιχθύες (Meade, 1985; Randall & Tsui, 2002). Σε κλειστό κύκλωμα εκτροφής ιχθύων, συγκέντρωση αμμωνίας NH_3^- 2,79mg/L για είδη θαλασσινού νερού και 1,86mg/L για είδη του γλυκού νερού μπορεί να προβεί τοξική για τα ψάρια (USEPA, 1998; USEPA, 1999). Η συγκέντρωση μη ιονισμένης αμμωνίας στη παρούσα έρευνα κυμάνθηκε κάτω από αυτά τα όρια τοξικότητας.

Οι συγκεντρώσεις των νιτρικών (NO_3^-) δεν διέφεραν μεταξύ των δειγματοληπτικών σημείων σε κανένα από τα τρία συστήματα. Σε συστήματα ενυδρείοπονίας, οι παρατηρούμενες συγκεντρώσεις των νιτρικών κυμαίνονται από 10-250mg/L (Villarroel et al., 2011; Roosta & Hamidpour, 2013; Hussain et al., 2014; Wahyuningsih et al., 2015; Cerozi & Fitzsimmons, 2016; Baßmann et al., 2020). Οι συγκεντρώσεις της παρούσας έρευνας συμφωνούν με τα παραπάνω χωρίς να επηρεάζουν αρνητικά την ανάπτυξη των ιχθύων (Camargo et al., 2005).

Οι συγκεντρώσεις της διαλυμένης ποσότητας φωσφόρου (PO_4^{3-}) δεν διέφεραν μεταξύ των δειγματοληπτικών σημείων σε κανένα από τα τρία συστήματα. Σε προηγούμενες έρευνες ενυδρείοπονίας οι συγκεντρώσεις των φωσφορικών κυμαίνονται μεταξύ 3-52mg/L (Rakocy, 2004; Lennard & Leonard, 2006; Delaide, 2016; Bittsanszky et al., 2016) το οποίο συμφωνεί με τη παρούσα έρευνα. Διαφορές μεταξύ των συστημάτων βρέθηκαν στην έξοδο των ενυδρείων εκτροφής και στην έξοδο της καλλιεργητικής περιοχής με τη μικρότερη συγκέντρωση να βρίσκεται στο σύστημα 1 το οποίο και παρουσίασε τη μικρότερη ανάπτυξη. Ο φωσφόρος συνδέεται με πολλά κατιόντα που υπάρχουν στο νερό ενυδρείοπονικών συστημάτων, αφήνοντας λιγότερα ελεύθερα φωσφορικά ιόντα διαθέσιμα για πρόσληψη από φυτά (da Silva Cerozi & Fitzsimmons, 2016).

Η ποιότητα του νερού είναι πολύ σημαντική για την ευημερία και την αποτελεσματικότητα ενός συστήματος της ενυδρείοπονίας (König et al., 2018). Από το άζωτο και φώσφορο που εμπεριέχεται στο 95% της καταναλωθείσας τροφής που πέπτει, ένα ποσοστό 30-40% χρησιμοποιείται από τους ιχθύες για τον μεταβολισμό τους και την ανάπτυξη τους (Timmons et al., 2002; Khakyzadeh et al., 2015; Lennard, 2017) ενώ το υπόλοιπο 60-70% αποβάλλεται μέσω των βραγχίων, ουρίας και κοπράνων (FAO, 2016). Για το παραπάνω λόγο, η κίνηση του νερού μεταξύ σε ένα

σύστημα ενυδρειοπονίας και ο ρυθμός ανανέωσης του θα πρέπει να σχεδιάζεται κατάλληλα έτσι ώστε να επιτυγχάνεται η διάσπαση της αμμωνίας από τα βακτήρια, να πραγματοποιείται η σωστή οξυγόνωση σε φυτά και ιχθύες καθώς και η απορρόφηση των θρεπτικών από τα φυτά και η αποφυγή συσσώρευσης αυτών στην υδάτινη στήλη. Κατά τη διάρκεια του πειράματος η παροχή Q του νερού, ρυθμίστηκε στα 6,27L/min και η ταχύτητα φιλτραρίσματος V σε 1,25 cm/min, διασφαλίζοντας την επιτυχή νιτροποίηση και μέγιστη αποδοτικότητα του φίλτρου (Hussain et al., 2015; Nuwansi et al., 2016; Shete et al., 2016). Στη παρούσα έρευνα παροχή νερού 6,27L/min και ταχύτητα φιλτραρίσματος V σε 1,25 cm/min εξασφάλιζε τη διάσπαση της αμμωνίας από τα βακτήρια, συντελούσε στην οξυγόνωση των ριζών των φυτών και ενίσχυε την απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών (Khater et al., 2015; Diem et al., 2017) προωθώντας την αποτελεσματικότητα του συστήματος ενυδρειοπονίας (König et al., 2016).

5.4.2 Ανάπτυξη ιχθύων

Στη παρούσα έρευνα, η τροφή παρέχονταν καθ' όλη τη διάρκεια του 24ώρου (ανά 6ώρες) καθώς το λαβράκι είναι ιδιαίτερα προσαρμοστικό σε ότι αφορά τις διατροφικές τους συνήθειες (Anras, 1995; Boujard et al., 1996; Del Pozo, 2013) εμφανίζοντας εποχιακή προτίμηση στις ώρες σίτισης, με υψηλότερους δείκτες ανάπτυξης να μετρούνται κατά τη νυκτερινή σίτιση τους χειμερινούς μήνες συγκριτικά με τη πρωινή σίτιση κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού (Sanchez-Vazquez et al., 1998; Azzaydi et al., 2000).

Ο διαμοιρασμός της τροφής πραγματοποιούνταν σε τέσσερα ισόποσα γεύματα ημερησίως. Αυξημένος αριθμός γευμάτων σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας, προωθεί την αποδοτικότερη αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών από τους ιχθύες και

συντελεί στη καλύτερη ποιότητα νερού (Liang & Chien, 2013). Σε κλειστά κυκλώματα εκτροφής, αυξημένος αριθμός γευμάτων (>5) ευνοεί την ανάπτυξη των ιχθύων (Craig et al., 2017). Ασιατικό λαβράκι (*Lates calcarifer*), εκτρεφόμενο σε κλειστό κύκλωμα εκτροφής, αυξημένη συχνότητα σίτισης 3-4 γεύματα ανά ημέρα παρουσιάζει υψηλότερο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR) από συχνότητα σίτισης 1-2 γεύματα ημερησίως αλλά υψηλότερο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) (Biswas et al., 2010). Σε προηγούμενη έρευνά μας (Stathopoulou et al., 2021), αυξημένη συχνότητα σίτισης 4 ή 8 φορές ημερησίως έδειξε μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG), υψηλότερο ημερήσιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR) και μικρότερο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) συγκριτικά με τη σίτιση 2 φορές ημερησίως.

Το ποσοστό διατροφής ορίστηκε 5% του σωματικού βάρους των ιχθύων λαβρακιού. Λαβράκι ($2,6 \pm 0,3$ g) εκτρεφόμενο σε γλυκό νερό έφερε μεγαλύτερη αύξηση βάρους σε ποσοστό διατροφής 4% συγκριτικά με μικρότερα επίπεδα διατροφής (Eroldogan et al., 2004). Σε προηγούμενη έρευνα μας (Stathopoulou et al., 2021), ποσοστό διατροφής 5% του σωματικού βάρους του λαβρακιού φάνηκε να καλύπτει τις διατροφικές απαιτήσεις του απαιτήσεις και ταυτόχρονα τις απαιτήσεις θρέψης των φυτών μαρουλιού.

Τα διαφορετικά σιτηρέσια δεν επηρέασαν την επιβίωση των ιχθύων όπως φαίνεται από το μεγάλο ποσοστό επιβίωσης. Οι θνησιμότητες 3% που παρατηρήθηκαν στους ιχθύες που σιτίζονταν με τα σιτηρέσια FM και ZM20 ενδεχομένως προήλθαν από στρες των ιχθύων κατά τις διαδικασίες ζύγισης καθώς πραγματοποιήθηκαν λίγες ώρες μετά τη διαδικασία. Τα αποτελέσματά αυτά συμβάλλουν στην απόδειξη της καταλληλότητας του εντομάλευρου από *Zophobas morio* στην εκτροφή λαβρακιού. Χαμηλά ποσοστά θνησιμοτήτων σε λαβράκι έχουν καταγραφεί και σε άλλες διατροφικές έρευνες με εντομάλευρα (Magalhães et al., 2017; Wang et al., 2019; Abdel-Tawwab et al., 2020). Έρευνα των Henry et al. (2018) υποστηρίζει ότι παροχή

σιτηρεσίων στο λαβράκι με προσθήκη μικρών ποσοτήτων προνύμφης *Tenebrio molitor* μπορεί να επηρεάσει θετικά τη λειτουργία του ανοσοποιητικού έχοντας ως αποτέλεσμα μικρότερο ποσοστό θνησιμοτήτων.

Στη παρούσα έρευνα, μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG, g) παρουσίασαν οι ιχθύες που σιτίστηκαν με τα σιτηρέσια FM και ZM10 ενώ τη μικρότερη οι ιχθύες που σιτίστηκαν με το σιτηρέσιο ZM20. Υψηλότερο ημερήσιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα) εμφάνισαν οι ιχθύες που σιτίζονταν με το σιτηρέσιο FM συγκριτικά με τα ZM10 και ZM20. Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής δεν διέφερε μεταξύ των μεταχειρίσεων ZM20, ZM10 και FM. Τέλος, η κατανάλωση τροφής (FC, gr/ημέρα) δεν διέφερε μεταξύ των μεταχειρίσεων ZM10, FM και ZM20. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η υποκατάσταση του ιχθυαλεύρου από άλευρο του *Z. morio* σε ποσοστό 10% και 20% οδήγησε σε σημαντικά μειωμένο ρυθμό ανάπτυξης και χαμηλότερη, αν και όχι σημαντικά, αποδοτικότητα της τροφής. Αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στα χαμηλότερα επίπεδα αιμονξέων του *Z. Morio*, αλλά και σε μειωμένη πεπτικότητα τροφής και θρεπτικών.

Εκτρεφόμενη τσιπούρα από τους Piccolo et al. (2014) σε 25-50% αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο προνύμφης *T. Molitor* παρουσίασε υψηλότερο WG, SGR και μικρότερο FCR σε αντίθεση με τη σίτιση σιτηρεσίου αντικατάστασης >50%. Σίτιση τιλάπιας ($5,57 \pm 0,15$ g) με σιτηρέσια διαφορετικών ποσοστών αντικατάστασης ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο προνύμφης *Z. Morio* (0, 25, 50, 75 & 100%) συνολικής πρωτεΐνης 32% από τους Jabir et al. (2012) έδειξαν υψηλότερο WG, SGR και FCR στη σίτιση με αντικατάσταση ιχθυαλεύρου 25% ($4,39 \pm 0,11$ g, $1,02 \pm 0,41$ %/ημέρα και $1,25 \pm 0,02$ αντίστοιχα) και 50% ($4,43 \pm 0,15$ g, $1,01 \pm 0,29$ %/ημέρα και $1,36 \pm 0,03$ αντίστοιχα). Παρόλα αυτά, οι παρατηρούμενες τιμές ανάπτυξης είναι πολύ μικρότερες από τη παρούσα έρευνα. Αυτό πιθανό να οφείλεται στο μικρότερο ποσοστό πρωτεΐνης

των τροφής καθώς επίσης και στο διαφορετικό είδος ιχθύος. Λαβράκι ($5,22 \pm 0,822\text{g}$) εκτρεφόμενο σε νερό αλατότητας 36ppt το οποίο σιτίζονταν με σιτηρέσια αντικατάστασης 0-50% ιχθυαλεύρου με προνύμφη εντόμου *T. Molitor* συνολικής πρωτεΐνης 545g/kg και 21MJ/kg ενέργειας εμφάνισε μεγαλύτερη ανάπτυξη στις υποκαταστάσεις 0% και 25%. Συγκριτικά με τη παρούσα έρευνα, οι ιχθύες παρουσίασαν μικρότερο WG (16,80g και 15,43g), υψηλότερο SGR (1,99% και 1,89%/ημέρα) και μικρότερο FCR (0,90 και 0,91) για τις μεταχειρίσεις 0% και 25% αντικατάσταση αντίστοιχα. Ποσοστό 19,5% αλεύρου νύμφης μαύρης μύγας (*Hermetia illucens* (αντιστοιχώντας σε 22,5% πρωτεΐνης) μπορεί να υποκαταστήσει 45% ιχθυαλεύρου με σκοπό τη σίτιση ιχθύων λαβρακιού μέσου βάρους $50 \pm 0,13\text{g}$ χωρίς να επηρεάζει αρνητικά την αξιοποίηση της τροφής και την φυσιολογική ανάπτυξή τους σύμφωνα με τους Magalhães et al. (2017).

5.4.3 Ιστολογική εξέταση

Η ιστολογική εξέταση του ήπατος και του εντέρου είναι σημαντική κατά την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας μιας νέας δίαιτας ψαριών. Η ενσωμάτωση εντομάλευρων στις ιχθυοτροφές δεν φαίνεται να επηρεάζουν τη μορφολογία του εντέρου των ιχθύων. Σε πέστροφες (*O. mykiss*) που τράφηκαν με ιχθυοτροφές στις οποίες υπήρχε αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου έως και 25% με εντομάλευρο από το έντομο *Z. morio*, δεν ανιχνεύτηκαν ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του ήπατος ή του εντέρου (Doğankaya, 2017; Turek et al., 2020). Στην τιλάπια της Μοζαμβίκης (*Oreochromis mossambicus*), η χρησιμοποίηση του σκουληκιού *Imbrasia belina* ως πηγή πρωτεΐνης στη διατροφή της, επίσης δεν επηρέασε την ιστολογία του ήπατος και του εντέρου (Rapatsa & Moyo, 2017). Η χρησιμοποίηση αποκλειστικά και μόνο εντομάλευρων ως πηγή πρωτεΐνης μπορεί να επιφέρει σημαντικές αλλοιώσεις. Έτσι,

όταν ο σολομός του Ατλαντικού, (*Salmo salar* L.), τράφηκε με δίαιτα που περιελάμβανε εξ ολοκλήρου εντομάλευρα, παρατηρήθηκαν τυπικά σημάδια εντερίτιδας (Li et al., 2020). Στην παρούσα μελέτη, δεν ανιχνεύθηκαν ιστολογικές αλλοιώσεις στο μέσο έντερο των ομάδων ZM10 και ZM20, ενώ περισσότερα λιποσταγονίδια ανιχνεύθηκαν στο ήπαρ των ψαριών στην ομάδα ZM20. Δεδομένου ότι το επίπεδο λιπιδίων της δίαιτας ZM20 δεν ήταν υψηλότερο από τις υπόλοιπες δίαιτες και δεδομένου ότι η πρόσληψη τροφής των ψαριών ήταν παρόμοια μεταξύ των ομάδων, ο αυξημένος αριθμός λιποσταγονιδίων στους ιχθύες της διατροφικής ομάδας ZM20 συνεπάγεται χαμηλότερη πεπτικότητα των λιπιδίων που περιέχονται στο *Z. morio* όταν περιλαμβάνεται σε αυξημένα επίπεδα στη διατροφή. Αυτή είναι μια ενδιαφέρουσα παρατήρηση λαμβάνοντας υπόψη ότι είχε προηγηθεί απολίπανση του εντομάλευρου *Z. morio*.

5.4.4 Ανάπτυξη φυτών

Καθ' όλη τη πειραματική διαδικασία, η φωτοπερίοδος ρυθμίστηκε στις 10 ώρες φως και 12 ώρες σκότους προσομοιώνοντας την χειμερινή περίοδο, ενισχύοντας την ανάπτυξη του μαρουλιού (Lennard & Leonard, 2006) καθώς και την ανάπτυξη του λαβρακιού. Η φωτοπερίοδος είναι ένας παράγοντας που έχει άμεση επίδραση στην επιλεγόμενη καλλιέργεια και όχι στατιστική επίδραση στην ανάπτυξη ιχθύων σύμφωνα με έρευνα των El-Sayed & Kawanna (2004) για τιλάπιες.

Τα φυτά για την ανάπτυξη τους χρειάζονται ένα πλήθος μακροστοιχείων και ιχνοστοιχείων. Στην ενυδρείοπονία, η πλειοψηφία αυτών των θρεπτικών συστατικών προέρχονται από την ιχθυοτροφή και από τα μεταβολικά προϊόντα των ιχθύων (Rakocy & Hargreaves, 1993; Lennard, 2017; COSTFA1305, 2017). Στη παρούσα έρευνα η μοναδική εισαγωγή θρεπτικών συστατικών πραγματοποιούνταν αποκλειστικά από τη

τροφή που παρέχονταν στους ιχθύες. Τεχνική λίπανση δεν πραγματοποιήθηκε, με μόνη εξαίρεση την αρχική προσθήκη HNO_3 με σκοπό τη ρύθμιση του pH.

Τα φυτά μεταξύ των συστημάτων εμφάνισαν μορφολογικές διαφορές μεταξύ τους και από την ημέρα 8 και μετά εμφανίστηκαν τα πρώτα συμπτώματα τροφοπενιών. Πιο εύρωστη εικόνα φυτών παρουσιάστηκε στο σύστημα 3, ακολουθώντας το σύστημα 2 τα οποία έφεραν μεγαλύτερο νωπό βάρος φύλλων, νωπό βάρος υπέργειας βιομάζας και ξηρό βάρος ρίζας διαφέροντας ($p < 0,05$) από το σύστημα 1. Το σύστημα 1 ενώ εμφάνισε μεγαλύτερο μήκος βλαστού από το σύστημα 3 χωρίς να διαφέρει ($p > 0,05$) από το σύστημα 2 έφερε τη μικρότερη ανάπτυξη παρουσιάζοντας έντονη συστροφή των φύλλων. Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε σε μικρότερο βαθμό και στο σύστημα 2.

Τις πρώτες 10 ημέρες τα φυτά του συστήματος 3 ήταν μικρότερα σε ύψος. Τα φυτά του συστήματος αυτού άργησαν να αναπτυχθούν το οποίο φαίνεται στον τελικό αριθμό φύλλων, στο τελικό ύψος βλαστού τα οποία διέφεραν ($p < 0,05$) με το σύστημα 2 ενώ αντίστοιχα με το σύστημα 1 δεν διέφεραν ($p > 0,05$). Σύμφωνα με τον Schwarz (2012) έλλειψη αζώτου μπορεί να οδηγήσει σε μικρότερη ανάπτυξη του βλαστού. Σε κανένα από τα τρία συστήματα δεν παρουσιάστηκε έλλειψη αζώτου παρόλα αυτά, μικρότερες αρχικές συγκεντρώσεις των νιτρικών κατά την έναρξη της διαδικασίας στο σύστημα 3 ενδέχεται να τα επηρέασε στα πρώτα στάδια ανάπτυξης (Bugbee. 2003). Όταν αργότερα οι συγκεντρώσεις αυξήθηκαν το φυτό επένδυσε σε λιγότερα αλλά βαρύτερα φύλλα διαφέροντας στατιστικά σημαντικά από τα άλλα δυο συστήματα.

Επίσης, οι διαφορές μεταξύ της ανάπτυξης των φυτών πολύ πιθανόν να οφείλονται στις διαφορετικές τιμές pH μεταξύ των συστημάτων κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας (όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 2.5.1). Σε πιο όξινο περιβάλλον ($\text{pH}=6,5$) η διαθεσιμότητα και η τελική απορρόφηση συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών βελτιστοποιείται (Bugbee, 2003; White, 2012). Υψηλό pH ($>7,5$) μειώνει τη

διαθεσιμότητα του σιδήρου και άλλων μικροστοιχείων οδηγώντας σε μικρότερη ανάπτυξη φυτού σύμφωνα με τους Islam et al. (1980). Σύμφωνα με τα παραπάνω θα μπορούσε να εξηγηθεί η μικρότερη ανάπτυξη των φυτών του συστήματος 1 καθώς παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές pH. Επίσης σύμφωνα με έρευνες (Schwarz, 2012; Bugbee, 2003; Samarakoon et al., 2006) η ανισορροπία των θρεπτικών συστατικών, οδηγεί σε μείωση του ξηρού βάρους υπέργειας βιομάζας. Τέλος, στη μικρότερη κατανάλωση τροφής από τους ιχθύες (η οποία όμως δεν διέφερε ($p>0,05$) από τα άλλα δυο συστήματα) ενδέχεται να οφείλεται η μικρότερη συγκέντρωση φωσφορικών στην έξοδο των ενυδρείων εκτροφής του συστήματος 1. Μειωμένη συγκέντρωση του φωσφόρου επηρεάζει την ανάπτυξη του υπέργειου τμήματος του φυτού και της ρίζας ιδιαίτερα κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης (Clarkson, 1985; Buzby et al., 2014).

Καλλιέργεια μαρουλιού (*Lactuca sativa*) σε σύστημα ενυδρειοπονίας από τους Lennard & Leonard (2005) απέδωσε βιομάζα $4,97\text{kg/m}^2$ σε χρονικό διάστημα 21 ημερών όπου οι ιχθύες (*Maccullochella peelii*) σιτίστηκαν 215,0g τροφής 43% πρωτεΐνης. Τα αποτελέσματα είναι πολύ υψηλότερα από τη παρούσα έρευνα ($1,74\text{kg/m}^2$) όπου οι ιχθύες σιτίστηκαν 325,52gr τροφής 52% πρωτεΐνης. Αυτό το γεγονός ενδέχεται να οφείλεται στη διαφορετική τροφή όπου σιτίζονταν οι ιχθύες καθώς η ποιότητα της τροφής επηρεάζει τη άμεσα τη πεπτικότητά της (Lam et al., 2014; Robaina et al., 2019) συνεπώς και των μεταβολικών προϊόντων των ιχθύων. Μεγαλύτερη μέση ανάπτυξη του βλαστού (23,81cm) και μεγαλύτερο τελικό νωπό βάρος υπέργειου (445,44g) συγκριτικά με τη παρούσα έρευνα παρατηρήθηκαν από τους Andriani et al. (2017) σε διάστημα 49 ημερών όταν οι ιχθύες σιτίζονταν τροφή 31-33% πρωτεΐνης. Σε σύστημα ενυδρειοπονίας από τους Medina et al. (2016), όταν οι ιχθύες (*Oreochromis aureus*) εκτρέφονταν με σιτηρέσιο αποκλειστικά φυτικής πρωτεϊνικής προέλευσης (32% φυτική πρωτεΐνη), τα φυτά βρώσιμου αμάραντου

(*Amaranthus tricolor*) απέδωσαν μεγαλύτερη φυτική βιομάζα, μεγαλύτερο ύψος, αριθμό φύλλων και βλαστών φυτού συγκριτικά με τα σιτηρέσια ζωικής προέλευσης πρωτεΐνη (40% συνολική πρωτεΐνη).

Συγκριτικά με τη παρούσα έρευνα, μεγαλύτερους δείκτες ανάπτυξης των φυτών απέδωσε καλλιέργεια μαρουλιού σε σύστημα ενυδρειοπονίας με τη ταυτόχρονη εκτροφή λαβρακιού ($6,8 \pm 1,25\text{g}$) κάτω από διαφορετικές συχνότητες σίτισης όταν οι ιχθύες σιτίζονταν εμπορική τροφή 54,8% πρωτεΐνης (Stathopoulou et al., 2021).

5.5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μικρή αντικατάσταση (10%) ιχθυαλεύρου με προνύμφη εντόμου *Z. morio* στο σιτηρέσιο φαίνεται να μην επηρεάζει την ανάπτυξη του λαβρακιού. Παρόλα αυτά ο ημερήσιος ειδικός ρυθμός αύξησης (SGR) μειώθηκε με την αντικατάσταση ιχθυαλεύρου με εντομάλευρο. Μεγαλύτερη αντικατάσταση (20%) παρουσίασε τη μικρότερη ανάπτυξη του λαβρακιού. Η αντικατάσταση ποσοστού ιχθυαλεύρου (10% και 20%) με εντομάλευρο δεν επηρέασε τη κατανάλωση (FC) και το συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) από τους ιχθύες. Τα φυτά του συστήματος 1 παρουσίασαν συνολικά τη μικρότερη ανάπτυξη (αριθμό φύλλων, νωπό βάρος φύλλων, νωπό βάρος υπέργειας βιομάζας, ξηρό βάρος υπέργειας και υπόγειας βιομάζας). Συμπερασματικά το σύστημα 3 επέδειξε την ιδανικότερη ανάπτυξη φυτών. Περαιτέρω έρευνα θα πρέπει να γίνει σε ότι αφορά τη πρακτική σίτισης του λαβρακιού σε ένασύστημα ενυδρειοπονίας καθώς η τροφή που εισάγεται, θα πρέπει να καλύπτει τις απαιτήσεις θρέψης ιχθύων και φυτών.

6. 3^ο Πείραμα. Επίδραση της συχνότητας σίτισης λαβρακιού προσαρμοσμένα σε γλυκό νερό, στην ανάπτυξη του και στην ανάπτυξη καλλιέργειας μαρουλιού σε εργαστηριακό σύστημα ενυδρείοπονίας

6.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

6.1.1 Σύστημα ενυδρείοπονίας

Η περιγραφή του συστήματος ενυδρείοπονίας που χρησιμοποιήθηκε στο παρόν πείραμα, δίνεται στο κεφάλαιο 4.1.1. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος η θερμοκρασία και στις τρεις μεταχειρίσεις, διατηρήθηκε σταθερή στους $20,44 \pm 0,027^{\circ}$ C. Η περίοδος ρύθμισης των συστημάτων διήρκησε 2 μήνες με σκοπό το στήσιμο του βιολογικού φίλτρου καθώς σύμφωνα με τους Kawai et al. (1964) και Hirayama (1974), 40-60 ημέρες είναι απαραίτητες για την πρώτη εγκαθίδρυση των βακτηρίων και την ικανοποιητική οξείδωση της αμμωνίας σε νιτρικά ιόντα. Με σκοπό τη ρύθμιση του pH (μείωση) σε κάθε σύστημα χορηγήθηκε διάλυμα $0,001\text{MH}_3\text{PO}_4$.

6.1.2 Υπολογισμός αριθμού ιχθύων ανά ενυδρείο και φορτίου ρύπανσης

Ο υπολογισμός του αριθμού ιχθύων ανά ενυδρείο και του φορτίου ρύπανσης περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.3.

6.1.3 Εκτροφή ιχθύων, πρωτόλλο σίτισης

Διακόσια άτομα λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) μέσου βάρους 1-2gr μεταφέρθηκαν από τον ιχθυογεννητικό σταθμό της εταιρίας ΣΕΛΟΝΤΑ Α.Ε.ΓΕ που εδρεύει στη θέση Τάπιες-Πελασγία στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, μέσα σε ειδικούς σάκους μεταφοράς με οξυγόνωση, ακολουθώντας όλα τα απαραίτητα υγειονομικά πρωτόκολλα.

Η προσαρμογή των ιχθύων σε γλυκό νερό έγινε σύμφωνα με την διαδικασία που περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.2. Καθ' όλη τη διάρκεια προσαρμογής, οι ιχθύες σιτίζονταν 2 φορές την ημέρα, πρωί (10:00-10:30) και απόγευμα (17:00-17:30) μέχρι κορεσμού.

Με την επιτυχή προσαρμογή των ιχθύων στα ενυδρεία υποδοχής, σε κάθε ενυδρείο κάθε ενυδρειοπονικού συστήματος αλατότητας $0,60 \pm 0,008 \text{ppt}$, τοποθετήθηκαν 12 ιχθύες, αντίστοιχα (Spotte, 1991; Carroza et al., 2012) και αφέθηκαν 15 ημέρες πριν την έναρξη του πειράματος με σκοπό τον εγκλιματισμό τους. Με το πέρας του εγκλιματισμού, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των ατομικών βαρών με τη χρήση ηλεκτρονικού ζυγού (ακρίβειας δυο δεκαδικών) και των ατομικών μηκών των ιχθύων με τη χρήση ιχθυομέτρου. Οι ιχθύες τοποθετήθηκαν στα ενυδρεία εκτροφής αντίστοιχα για τη κάθε μεταχείριση χωρίς να εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των αρχικών βαρών και μηκών τους.

Συνολικά εκτράφηκαν 108 ιχθύες $10,84 \pm 0,157 \text{g}$ αρχικού μέσου βάρους και $10,55 \pm 0,0590 \text{cm}$ μήκους για χρονικό διάστημα 45 ημερών με πυκνότητα εκτροφής $1,3 \text{ kg/m}^3$. Όλοι οι ιχθύες σιτίζονταν καθημερινά με την ίδια εμπορική τροφή (Πίνακας 4.1) και το ίδιο ποσοστό διατροφής αθροισμένο σε 5% βάρους ιχθύος. Η συγκεκριμένη τροφή επιλέχθηκε λόγω της σύστασης της η οποία παρασκευάζεται αποκλειστικά για να ικανοποιεί τις διατροφικές απαιτήσεις του λαβρακιού καθώς επίσης παρόμοια διατροφή ακολουθούνταν κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των ιχθυδίων στον ιχθυογεννητικό σταθμό από όπου και προήλθαν.

Η διαφορετική πρακτική σίτισης, ανά τρία ενυδρεία, πραγματοποιήθηκε στους διαφορετικούς αριθμούς γευμάτων ανά ημέρα. Τα γεύματα διαμοιράζονταν καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας (24 ώρες) σε 2, 4 και 8 φορές αντίστοιχα. Κάθε ενυδρειοπονικό σύστημα, αποτελούσε και μια μεταχείριση σίτισης (FF2, FF4, και FF8 σίτιση 2, 4 και

8 γεύματα/ημέρα αντίστοιχα). Η σίτιση πραγματοποιούνταν ημιαυτόματα. Τα πρωινά και μεσημεριανά ταΐσματα πραγματοποιούνταν καθημερινά από τον ίδιο άνθρωπο και τα απογευματινά και βραδινά με τη χρήση αυτόματης ταΐστρας.

Η ακριβής ποσότητα σίτισης, υπολογίζονταν από τη Σχέση 4.1

Κάθε 15 ημέρες οι ιχθύες αναισθητοποιούνταν με τη χρήση MS-222, λαμβάνονταν οι μορφομετρικές μετρήσεις (βάρος (g), ολικό μήκος (cm) και η ποσότητα της προσφερόμενης τροφής επαναπροσδιορίζονταν (Σχέση 4.1) σύμφωνα με τα νέα βάρη των ιχθύων.

Πίνακας 6.1. Αναλυτική σύσταση παρεχόμενης εμπορικής τροφής, κοκκομετρικής διαμέτρου 1,5 mm (INTRO Plus MT, Biomar).

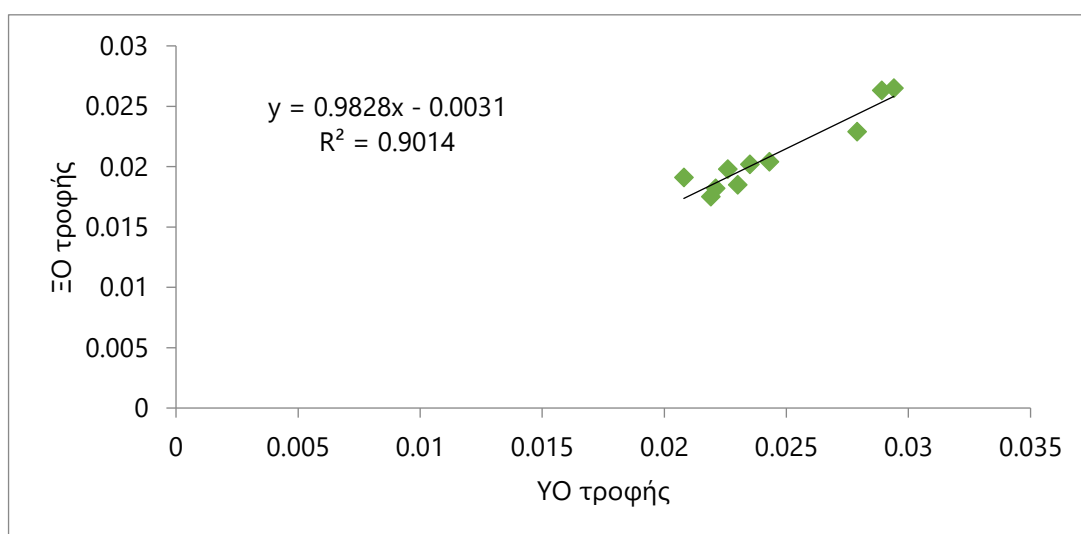
Αναλυτικά Συστατικά	Περιεκτικότητα
Ολικές αζωτούχες ουσίες	54,8 (%)
Ολικές λιπαρές ουσίες	14,8 (%)
Ολικές ινώδεις ουσίες	1,5 (%)
Ολική τέφρα	9,9 (%)
Φώσφορος	1,26 (%)
Ασβέστιο	1,7 (%)
Νάτριο	0,16 (%)
Ολική ενέργεια	21,2 (MJ/Kg)

Καθημερινά, πριν το πρωινό τάισμα πραγματοποιούνταν η συλλογή των κοπράνων και της μη καταναλωθείσας τροφής με σιφωνισμό από το πυθμένα των ενυδρείων. Η

διαδικασία για τον υπολογισμό της καταναλωθείσας τροφής περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.4.

Οι σχέση μεταξύ ξηρής (ΞΟ) και υγρής (ΥΟ) ουσίας της τροφής, παρουσιάζονται στην εικόνα 6.1 και καθορίστηκαν μέσω γραμμικής συσχέτισης από τη σχέση:

$$\text{ΞΟ τροφής (g)} = 0,9828 \times \text{ΥΟ τροφής} - 0,0031 \quad (R^2=0,90, n=10) \quad (\text{Σχέση 6.1})$$



Εικόνα 6.1: Γραμμική συσχέτιση ξηρής ουσίας (ΞΟ) και υγρής ουσίας (ΥΟ) παρεχόμενης τροφής

6.1.4 Καλλιέργεια φυτών

Τα φυτώρια μαρουλιού (*Lactuca sativa* ποικιλίας Musena) προήλθαν από το τοπικό αγροτικό εργαστήριο Αργυράκης, Β & Δ., ΕΠΕ σε βάση φυτώριων 60 θέσεων. Τα φυτά, παρέμειναν προστατευμένα, σε θερμοκήπιο με σκοπό τη σταδιακή προσαρμογή τους στο χώρο του εργαστηρίου. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε μέχρι και την τοποθέτησή τους στα συστήματα ενυδρείοπονίας περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.5.

6.1.5 Προσδιορισμός φυσικοχημικών παραμέτρων

Στα ενυδρεία εκτροφής των ιχθύων καταμετρούνταν *in situ* καθημερινώς η θερμοκρασία του νερού (°C) και το pH, ενώ ανά τρεις μέρες καταμετρούνταν η συγκέντρωση του οξυγόνου (mg/L), η ηλεκτρική αγωγιμότητα (mS/cm) καθώς και η αλατότητα. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.6.

Μια φορά την εβδομάδα, πριν το πρώτο πρωινό τάισμα των ιχθύων, στο σημείο εισόδου του νερού (In) στη καλλιεργητική περιοχή και στο σημείο εξόδου της καλλιεργητικής περιοχής (Out), λαμβάνονταν δείγματα νερού όπου μετρούνταν οι συγκεντρώσεις αμμωνιακών (mg/L, NH₄-N), νιτρικών ιόντων (mg/L, NO₃-N) και φωσφορικών ιόντων (mg/L, PO₄-P). Η διαδικασία μετρήσεων περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.6.

6.1.6 Προσδιορισμός ανάπτυξης ιχθύων

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για το προσδιορισμό της ανάπτυξης των ιχθύων περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.7.

6.1.7 Προσδιορισμός ανάπτυξης φυτών

Η εκτίμηση της αύξησης των φυτών πραγματοποιήθηκε όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.9.

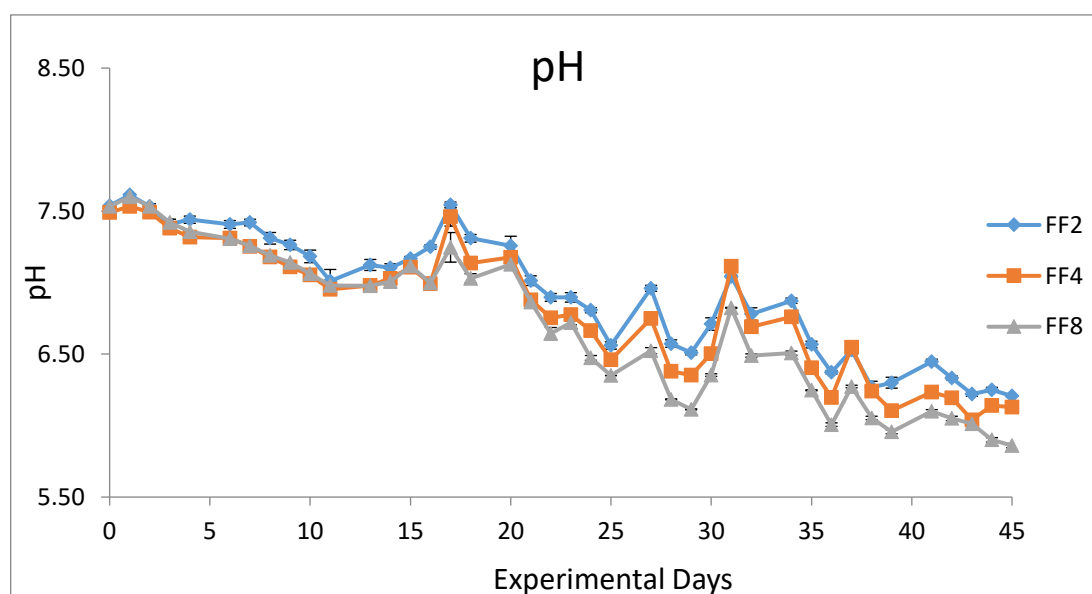
6.1.8 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων ανάπτυξης των ιχθύων και φυτών καθώς και αξιοποίησης της τροφής πραγματοποιήθηκε όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.1.10.

6.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.2.1 Φυσικοχημικοί παράγοντες νερού

Η θερμοκρασία του νερού, διατηρήθηκε σταθερή στους $20,44 \pm 0,03^\circ \text{C}$. Τα επίπεδα του διαλυμένου οξυγόνου, διατηρούνταν σταθερά στα $7,40 \pm 0,03 \text{mg/L}$. Η μέση ηλεκτρική αγωγιμότητα (EC) αντιστοιχούσε σε $1,27 \pm 0,11 \text{mS/cm}$ και η μέση αλατότητα (S) σε $0,63 \pm 0,01 \text{ppt}$ κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, σε όλες τις μεταχειρίσεις. Η διακύμανση του pH παρουσιάζεται στην εικόνα 6.2 αντίστοιχα και για τρεις μεταχειρίσεις. Το υψηλότερο pH παρουσίασε η μεταχείριση FF2 αντιστοιχώντας σε $6,92 \pm 0,04$ διαφέροντας σημαντικά ($p < 0,05$) από τις μεταχειρίσεις FF4 ($6,81 \pm 0,04$) και FF8 ($6,71 \pm 0,05$) αντίστοιχα.



Εικόνα 6.2. Διακύμανση του pH αντίστοιχα για τις τρεις μεταχειρίσεις σίτισης (FF2, FF4, FF8) κατά τη διάρκεια του πειράματος 45 ημερών ($n=40$) ($\pm \text{sem}$).

Η διακύμανση της αμμωνίας (ιονισμένη (NH_4^+) και μη ιονισμένη μορφή (NH_3^-)) στην είσοδο (GBin) και στην έξοδο (GBout) της καλλιεργητικής περιοχής, παρουσιάζεται στις εικόνες 6.3 και 6.4 αντίστοιχα για τις τρεις μεταχειρίσεις σίτισης

(FF2, FF4, FF8). Οι συγκεντρώσεις της αμμωνίας, για τα δυο δειγματοληπτικά σημεία αντίστοιχα για τις τρεις μεταχειρίσεις παρουσιάζονται στο πίνακα 6.2 και δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ($p>0,05$).

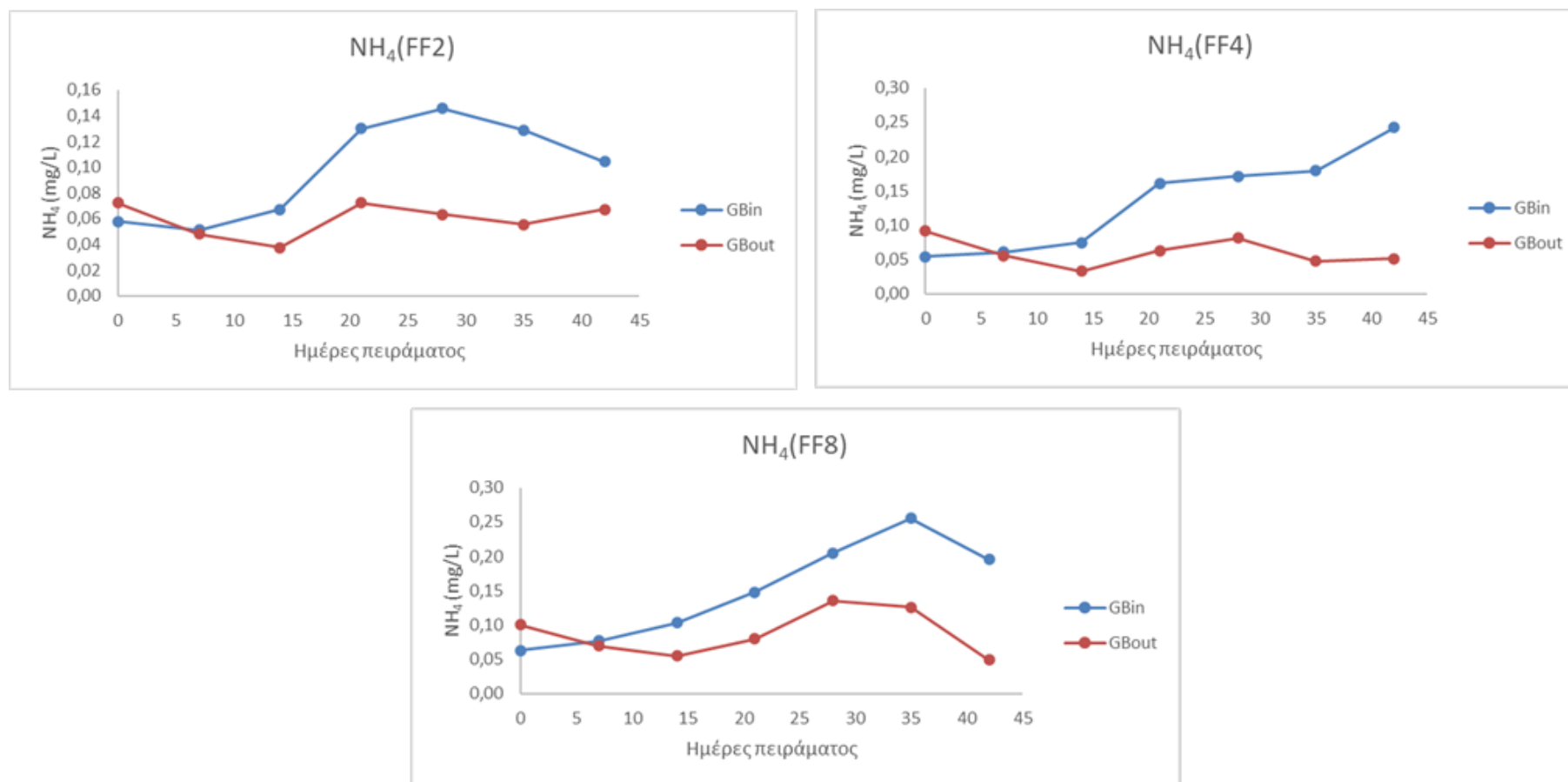
Η διακύμανση των νιτρικών (NO_3) κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας παρουσιάζεται στην εικόνα 6.5 αντίστοιχα για τις μεταχειρίσεις σίτισης FF2, FF4 και FF8 για τα δειγματοληπτικά σημεία GBin και GBout. Οι συγκεντρώσεις των νιτρικών παρουσιάζονται στον πίνακα 4.2 αντίστοιχα για κάθε μεταχείριση και δειγματοληπτικό σημείο οι οποίες δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ($p>0,05$).

Η διακύμανση των φωσφορικών ιόντων (PO_4^{3-}) στην είσοδο και στην έξοδο της καλλιεργητικής περιοχής, παρουσιάζονται στην εικόνα 6.6 αντίστοιχα για τις τρεις μεταχειρίσεις σίτισης. Στον πίνακα 6.2 παρουσιάζονται οι μέσες συγκεντρώσεις ανά δειγματοληπτικό σημείο, αντίστοιχα για τις τρεις μεταχειρίσεις οι οποίες δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ($p>0,05$).

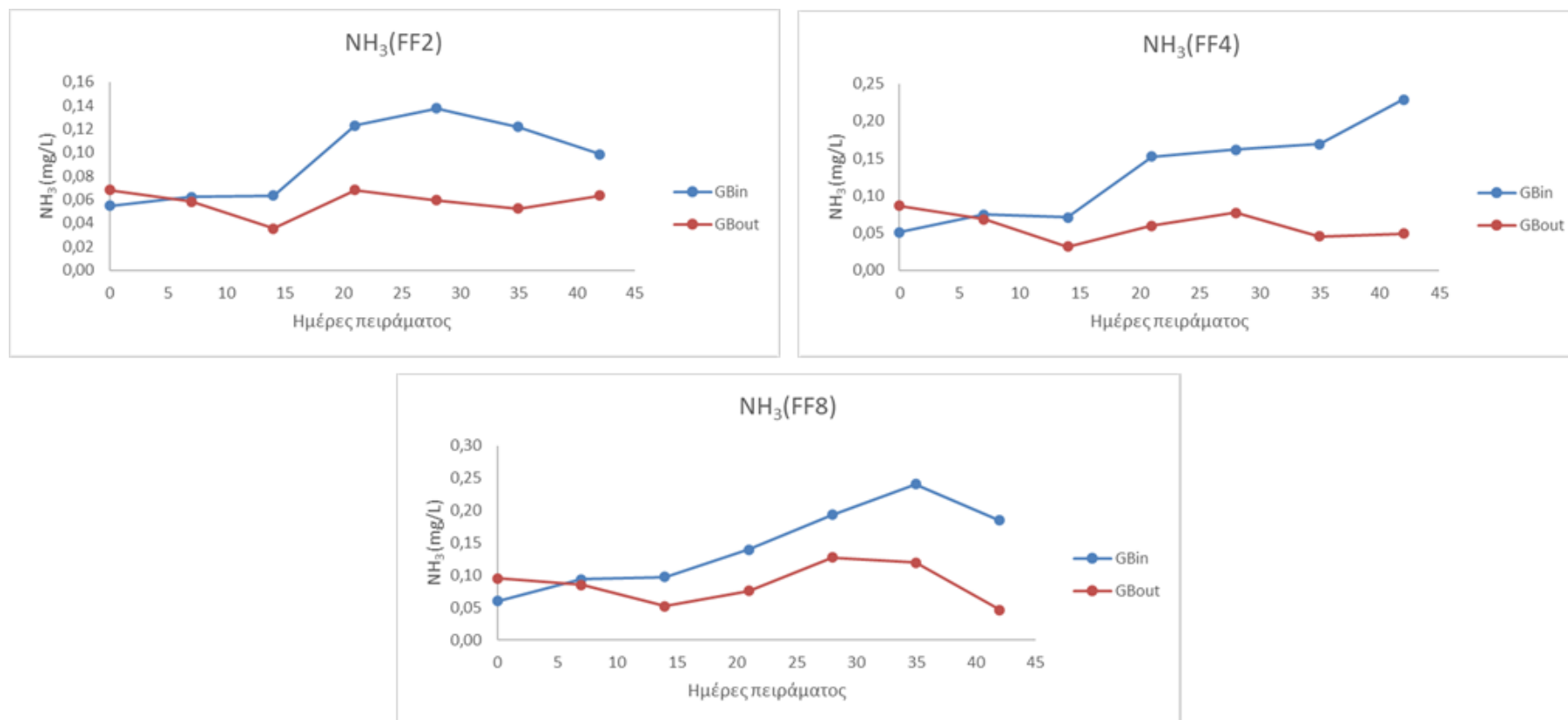
Οι συγκεντρώσεις της αμμωνίας, των νιτρικών και των φωσφορικών ιόντων, μεταξύ των τριών μεταχειρίσεων δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ($p>0,05$) (Πίνακας 6.2).

Πίνακας 6.2. Φυσικοχημικοί παράμετροι στην είσοδο (GBin) και στην έξοδο (GBout) της καλλιεργητικής περιοχής αντίστοιχα για τις τρεις μεταχειρίσεις σίτισης (FF2, FF4, FF8) κατά τη διάρκεια των 45 ημερών (n=7). Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι± τυπικό σφάλμα. Όμοιοι εκθέτες ανά γραμμή, δηλώνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές (p>0,05).

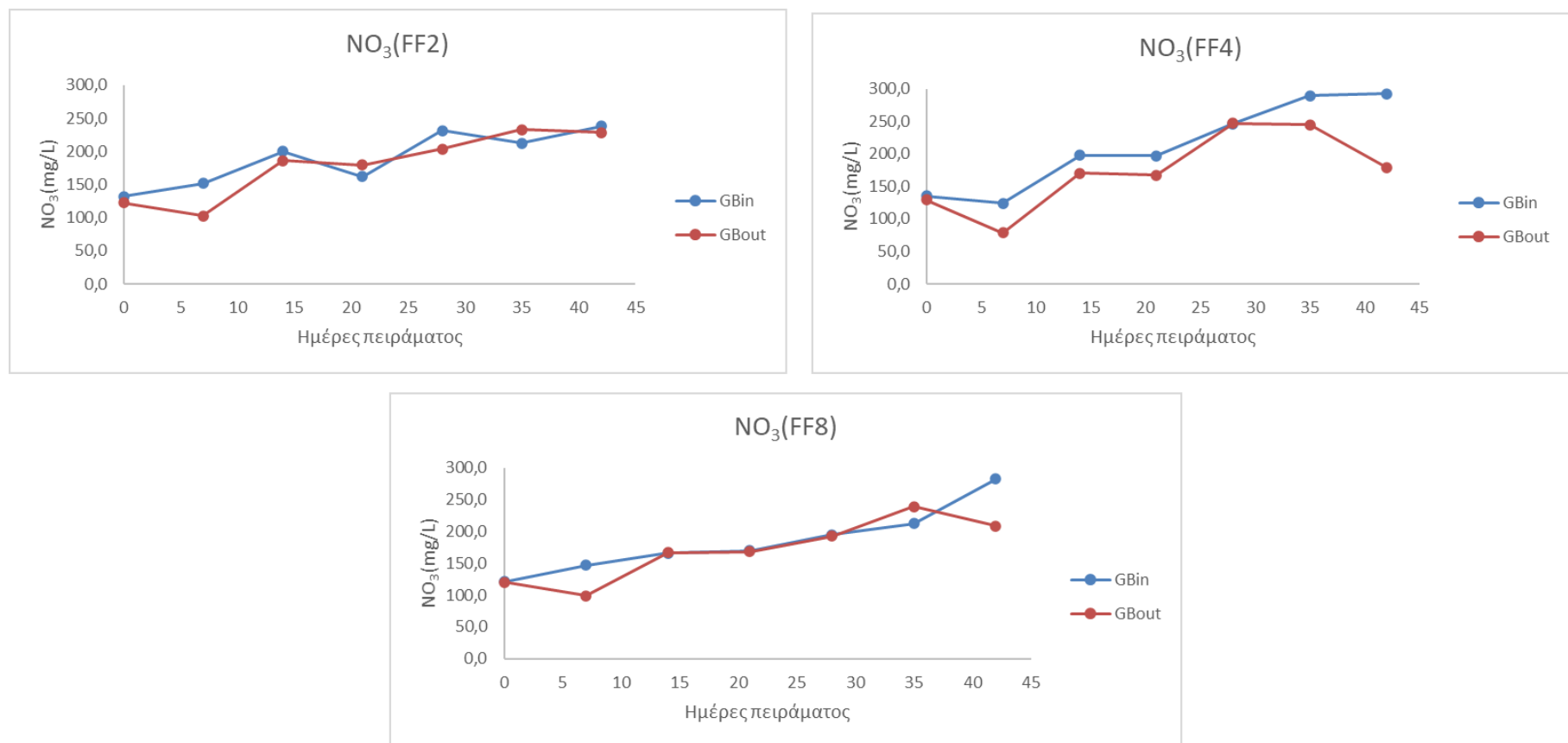
Φυσικοχημικοί παράμετροι						
	FF2		FF4		FF8	
(mg/L)	GBin	GBout	GBin	GBout	GBin	GBout
NH ₄	0,10±0,01 ^a	0,06±0,00 ^a	0,13±0,03 ^a	0,06±0,01 ^a	0,15±0,03 ^a	0,09±0,01 ^a
NH ₃	0,09±0,01 ^a	0,06±0,00 ^a	0,13±0,02 ^a	0,06±0,01 ^a	0,14±0,02 ^a	0,09±0,01 ^a
NO ₃	189,42±15,60 ^a	179,29±18,90 ^a	211,67±25,65 ^a	173,66±22,61 ^a	184,92±19,82 ^a	170,83±18,43 ^a
PO ₄ ³	24,07±2,01 ^a	24,52±2,14 ^a	29,79±2,31 ^a	29,58±2,92 ^a	30,23±3,01 ^a	30,17±2,99 ^a



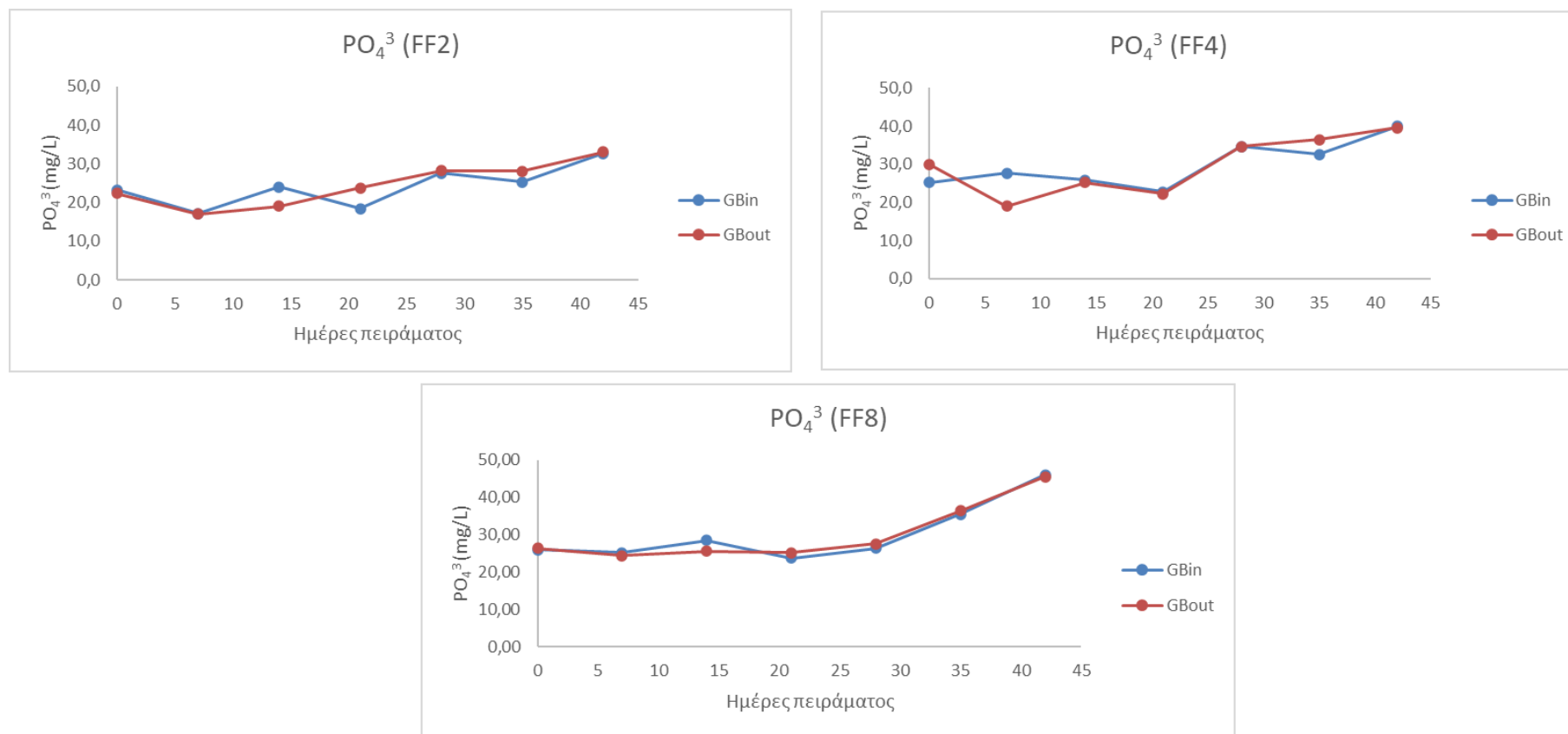
Εικόνα 6.3. Διακύμανση ιονισμένης αμμωνίας (NH_4^+) στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής (GBin) και στην έξοδο αυτής (GBout) αντίστοιχα για τις τρεις μεταχειρίσεις σίτισης (FF2, FF4, FF8) κατά τη διάρκεια του πειράματος 45ημερών ($n=7$) ($\pm \text{sem.}$).



Εικόνα 6.4. Διακύμανση μη ιονισμένης αμμωνίας (NH₃⁻) στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής (GBin) και στην έξοδο αυτής (GBout) αντίστοιχα για τις τρεις μεταχειρίσεις σίτισης (FF2, FF4, FF8) κατά τη διάρκεια του πειράματος 45ημερών (n=7) (±sem).



Εικόνα 6.5. Διακύμανση νιτρικών ιόντων (NO_3^-) στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής (GBin) και στην έξοδο αυτής (GBout) αντίστοιχα για τις τρεις μεταχειρίσεις σίτισης (FF2, FF4, FF8) κατά τη διάρκεια του πειράματος 45ημερών ($n=7$) ($\pm\text{sem}$).



Εικόνα 6.6. Διακύμανση φωσφόρου (PO_4^{3-}) στην είσοδο της καλλιεργητικής περιοχής (GBin) και στην έξοδο αυτής (GBout) αντίστοιχα για τις τρεις μεταχειρίσεις σίτισης (FF2, FF4, FF8) κατά τη διάρκεια του πειράματος 45ημερών ($n=7$) ($\pm \text{sem}$).

6.2.2 Ανάπτυξη ιχθύων

Οι παράμετροι ανάπτυξης των ιχθύων λαβρακιού αντίστοιχα και για τις τρεις μεταχειρίσεις, παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.3. Κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας δεν παρουσιάστηκε θνησιμότητα σε καμία από τις τρεις μεταχειρίσεις. Οι ιχθύες σιτίζονταν με εμπορική τροφή και το ποσοστό διατροφής, αντιστοιχούσε σε 5%. Η ποσότητα της καταναλωθείσας τροφής δεν διέφερε μεταξύ των μεταχειρίσεων ($p>0,05$) FF2, FF4 και FF8. Σημαντικές διαφορές ($p>0,05$) δεν παρατηρήθηκαν στα τελικά βάρη (W_{45} , g) και μήκη (L_{45} , cm) των ιχθύων. Οι ιχθύες που σιτίζονταν 2 φορές/ημέρα εμφάνισαν μεγαλύτερο τελικό βάρος και μήκος χωρίς όμως να διαφέρουν από τους ιχθύες που σιτίζονταν 4 φορές/ημέρα και 8 φορές/ημέρα. Τη μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG, g), έφερε η μεταχείριση FF2 χωρίς να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές με την FF4 και FF8. Παρομοίως, ο ημερήσιος ειδικός ρυθμός αύξησης (SGR, %/ημέρα) δεν διέφερε μεταξύ των μεταχειρίσεων FF2, FF4 και FF8. Ο συντελεστής μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) δεν διέφερε σημαντικά ($p>0,05$) μεταξύ των μεταχειρίσεων FF2, FF4 και FF8.

Πίνακας 6.3: Παράμετροι ανάπτυξης ιχθύων αντίστοιχα για κάθε μεταχείριση σίτισης σε διάστημα 45 ημερών. Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ τυπικό σφάλμα. Όμοιοι εκθέτες ανά γραμμή, δηλώνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$).

	FF2	FF4	FF8
Επιβίωση (S) (%)	100	100	100
Αρχικά βάρη W_0 (g)	10,85 $\pm$ 0,28 ^a	10,82 $\pm$ 0,29 ^a	10,84 $\pm$ 0,25 ^a
Αρχικά μήκη L_0 (cm)	10,58 $\pm$ 0,10 ^a	10,60 $\pm$ 0,11 ^a	10,48 $\pm$ 0,10 ^a
Τελικά βάρη W_{45} (g)	31,58 $\pm$ 0,91 ^a	31,00 $\pm$ 0,80 ^a	31,01 $\pm$ 0,88 ^a
Τελικά μήκη L_{45} (cm)	14,54 $\pm$ 0,14 ^a	14,38 $\pm$ 0,12 ^a	14,26 $\pm$ 0,14 ^a
Αύξηση βάρους WG (g)	20,70 $\pm$ 0,63 ^a	20,19 $\pm$ 0,52 ^a	20,11 $\pm$ 0,63 ^a
Ημερήσιος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης SGR(%/ημέρα)	2,37 $\pm$ 0,02 ^a	2,35 $\pm$ 0,03 ^a	2,32 $\pm$ 0,02 ^a
Συντελεστής μετατρεψιμότητας τροφής FCR	1,27 $\pm$ 0,05 ^a	1,31 $\pm$ 0,04 ^a	1,38 $\pm$ 0,05 ^a
Κατανάλωση τροφής FC (g)	246,90 $\pm$ 7,50 ^a	242,95 $\pm$ 0,85 ^a	250,08 $\pm$ 5,33 ^a

6.2.3 Ανάπτυξη φυτών

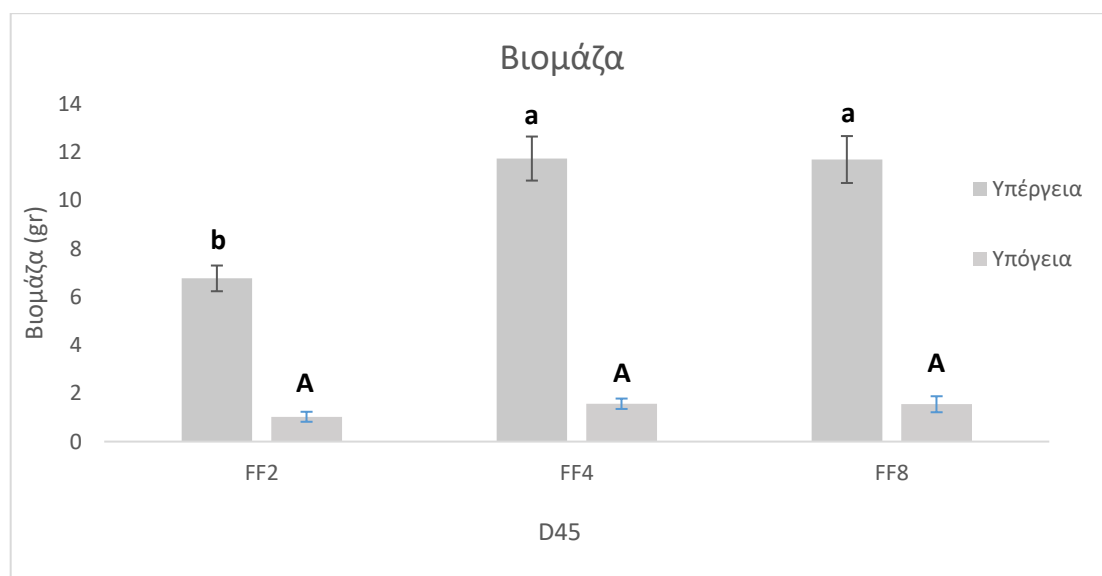
Οι παράμετροι ανάπτυξης των φυτών παρουσιάζονται αντίστοιχα για τις τρεις μεταχειρίσεις, στον Πίνακα 6.4. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, δεν υπήρξε θνησιμότητα στα φυτά. Τον υψηλότερο βλαστό εμφάνισε η μεταχείριση FF2 χωρίς όμως να διαφέρει ($p>0,05$) από τις μεταχειρίσεις FF4 και FF8. Περισσότερα φύλλα μετρήθηκαν στη μεταχείριση FF8, χωρίς όμως να διαφέρει στατιστικά σημαντικά ($p>0,05$) από τις μεταχειρίσεις FF4 και FF2. Μεγαλύτερο νωπό βάρος φύλλων, μετρήθηκε στη μεταχείριση FF4 χωρίς όμως να διαφέρει στατιστικά σημαντικά ($p>0,05$) από τη μεταχείριση FF8. Το μικρότερο βάρος εμφάνισε η μεταχείριση FF2 διαφέροντας σημαντικά ($p<0,05$) από τις δυο άλλες μεταχειρίσεις. Μεγαλύτερο βάρος υπέργειου (νωπό και ξηρό) παρουσίασε η μεταχείριση FF4 χωρίς να διαφέρει στατιστικά σημαντικά ($p>0,05$) με τη μεταχείριση FF8. Το μικρότερο βάρος υπέργειου εμφάνισε η μεταχείριση FF2 διαφέροντας ($p<0,05$) και από τις άλλες δυο μεταχειρίσεις.

Τη μεγαλύτερη βιομάζα υπέργειου (Εικόνα 6.7) και συνολική παραγωγή είχε η μεταχείριση όπου οι ιχθύες σιτίζονταν 4 φορές/ημέρα (FF4) και αντιστοιχούσαν σε $11,74\pm0,91$ και $2,18\text{kg/m}^2$ αντίστοιχα. Η μεταχείριση όπου οι ιχθύες σιτίζονταν 8 φορές/ημέρα εμφάνισαν παρόμοια αποτελέσματα ($p>0,05$), με τη μεταχείριση FF4 και αντιστοιχούσαν σε $11,70\pm0,97\text{g}$ και $2,12\text{ kg/m}^2$ αντίστοιχα. Η μικρότερη βιομάζα και παραγωγή μετρήθηκε στη μεταχείριση όπου οι ιχθύες σιτίζονταν 2 φορές/ημέρα αντιστοιχώντας σε $6,77\pm0,53\text{g}$ και $1,18\text{ kg/m}^2$ διαφέροντας στατιστικά με τις άλλες δυο ($p<0,05$).

Πίνακας 6.4. Παράμετροι ανάπτυξης φυτών αντίστοιχα για κάθε μεταχείριση σε διάστημα 45 ημερών. Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι± τυπικό σφάλμα (n=8). Όμοιοι εκθέτες ανά γραμμή, δηλώνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές (p>0,05).

	FF2	FF4	FF8
Επιβίωση (%)	100	100	100
Αρχικό ύψος D0 (cm)	7,76±0,14 ^a	7,74±0,14 ^a	7,94±0,15 ^a
Τελικό ύψος D45 (cm)	30,05±0,65 ^a	30,58±0,56 ^a	31,45±0,45 ^a
Ύψος βλαστού (cm)	7,30±0,57 ^a	7,24±0,36 ^a	6,94±0,34 ^a
Αριθμός φύλλων D45	30,05±0,65 ^a	30,58±0,56 ^a	31,45±0,45 ^a
Νωπό βάρος φύλλων D45 (g)	147,23±12,40 ^b	272,79±18,23 ^a	265,55±22,87 ^a
Νωπό βάρος υπέργειου (g)	158,40±12,70 ^b	292,01±19,19 ^a	282,56±24,40 ^a
Βιομάζα (g)	6,77±0,53 ^b	11,74±0,91 ^a	11,70±0,97 ^a
Παραγωγή (kg)/m ²	1,18	2,18	2,12

Τέλος, μεγαλύτερη υπόγεια βιομάζα (Εικόνα 6.7), εμφάνισε η μεταχείριση FF4 ($1,57 \pm 0,21$ g) και τη μικρότερη η μεταχείριση FF8 ($1,55 \pm 0,33$ g) χωρίς όμως, να διαφέρουν σημαντικά ($p > 0,05$) από τη μεταχείριση FF2 ($1,03 \pm 0,21$ g).



Εικόνα 6.7. Βιομάζα υπέργειου και υπόγειου (g) αντίστοιχα για τα τρία ενυδρείονικα συστήματα κατά το τέλος της πειραματικής διαδικασίας 45ημερών. Όμοια γράμματα (A, a), δηλώνουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$).

6.3 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.3.1 Φυτικοχημικοί παράγοντες νερού

Η θερμοκρασία σε ένα σύστημα ενυδρείονικας καθορίζεται από το εκάστοτε επιλεγόμενο προς εκτροφή είδος ιχθύος και την επιλεγόμενη καλλιέργεια. Για το λαβράκι, σε εκτροφή υφάλμυρου νερού, θερμοκρασίες 19-20 °C (Zanuy & Carrillo, 1985) εμφανίζουν το μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης και τη μέγιστη αξιοποίηση της τροφής. Καλλιέργεια μαρουλιού σε θερμοκρασία 20°C φαίνεται να εμφανίζει αυξημένο νωπό

και ξηρό βάρος υπέρχειας βιομάζας συγκριτικά με τη καλλιέργεια σε θερμοκρασίες 10-15°C σύμφωνα με τον Economakis & Said (2000). Στη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία, η θερμοκρασία του νερού διατηρήθηκε σταθερή στους $20,44 \pm 0,027$ °C ικανοποιώντας ταυτόχρονα τις απαιτήσεις του λαβρακιού και του μαρουλιού .

Το pH καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, κυμάνθηκε μέσα στα φυσιολογικά όρια ανάπτυξης του λαβρακιού (Lemarié et al., 2000). Η πτωτική τάση που παρουσίασε στη πάροδο του χρόνου (Σχήμα 2) είναι αποτέλεσμα της αποτελεσματικής οξείδωσης της αμμωνίας που τείνει να κάνει πιο όξινο το υδάτινο περιβάλλον (Saeki, 1963). Η αυξημένη συχνότητα σίτισης, 4 και 8 φορές/ημέρα, έδειξε να μειώνει με ποιο ταχύ ρυθμό το pH γεγονός που είναι φυσιολογικό, καθώς υψηλότερος αριθμός γευμάτων, οδηγεί σε μεγαλύτερο ρυθμό παραγωγής της αμμωνίας (Kaushik, 1980).

Επίπεδα οξυγόνου των $8,49 \pm 0,0264$ mg/L μεταξύ των τριών μεταχειρίσεων, διασφάλιζαν επαρκή αερισμό με σκοπό την αναπνοή των ιχθύων (Biswas et al., 2010, Eroldogan et al., 2003 & Tsevis et al., 1992), την ενδυνάμωση του ριζικού συστήματος των φυτών, τη πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών (Boyd, 1998; Graber & Junge, 2009), καθώς και τη διεργασία της νιτροποίησης (Goto et al., 1996; Rackocy et al., 2006).

Η αγωγιμότητα παρέχει μια εικόνα για τον αριθμό των ιόντων που κυκλοφορούν στην υδάτινη στήλη. Τα όρια ανοχής του μαρουλιού σε συστήματα ενυδρειοπονίας έχουν καταγραφεί από 0,3-1,1 mS/cm (Graber & Junge, 2009; Pantanella et al., 2012). Στη συγκεκριμένη έρευνα η τιμή της αγωγιμότητας κυμάνθηκε μέσα στα παραπάνω όρια με τις τιμές να ικανοποιούν ταυτόχρονα το καλλιεργούμενο μαρούλι και το εκτρεφόμενο λαβράκι καθώς όντας ευρύαλο είδος, μπορεί να επιζήσει και να φέρει ικανοποιητική ανάπτυξη σε γλυκό νερό (χαμηλή αγωγιμότητα). Επιτυχής εκτροφή του

λαβρακιού σε χαμηλές αλατότητες μπορεί να επιτευχθεί μέσω της σταδιακής του προσαρμογής (Marino et al., 1994; Nozzi et al., 2016). Άμεση μετάβαση από αλμυρό σε γλυκό νερό μπορεί να φέρει μαζικές θνησιμότητες (Dendrinou & Thorpe, 1985; Cataudella et al., 1991). Στη παρούσα έρευνα, δεν παρουσιάστηκαν θνησιμότητες κατά τη μετάβαση των ιχθύων από υψηλότερες σε χαμηλότερες αλατότητες.

Τα φυτά για την ανάπτυξη τους χρειάζονται ένα πλήθος μακροστοιχείων και ιχνοστοιχείων. Στην υδροπονία τα θρεπτικά συστατικά παρέχονται στα φυτά μέσω τεχνητής λίπανσης ενώ αντίθετα, στην ενυδρείοπονία, η πλειοψηφία αυτών των θρεπτικών συστατικών προέρχονται από την ιχθυοτροφή και από τα μεταβολικά προϊόντα των ιχθύων (Rakocy & Hargreaves, 1993; Lennard, 2017; FACOST 1305, 2017). Ένα ποσοστό 30-40% του αζώτου που περιέχεται στη τροφή, χρησιμοποιείται από τους ιχθύες για τον μεταβολισμό τους και την ανάπτυξη τους, ενώ το υπόλοιπο αποβάλλεται ως μεταβολικό προϊόν (Timmons et al., 2002; Khakyzadeh et al., 2015; Lennard, 2017). Το άζωτο αυτό, αποβάλλεται με τη μορφή αμμωνίας (NH_4^+ , NH_3^-) (Wongkiew et al., 2017).

Σε συστήματα ενυδρείοπονίας οι συγκεντρώσεις της αμμωνίας (NH_4^+) που έχουν καταγραφεί αντιστοιχούν σε 0,47-2,8mg/L (Rakocy, 2004; Dediu et al., 2012; Danaher et al., 2013; Delaide, 2016) οι οποίες είναι πολύ χαμηλότερες αυτών των υδροπονικών καλλιεργειών 23,45-32,20mg/L (Σάββας, 2012; Resh, 2012; Delaide et al., 2016).

Σε κλειστά κυκλώματα εκτροφής ιχθύων, η αμμωνία στη μη ιονισμένη μορφή της (NH_3^-), κάτω από συνθήκες αυξημένου pH και θερμοκρασίας είναι τοξική για τους ιχθύες (Meade, 1985; Randall & Tsui, 2002). Συγκεκριμένα, σε κλειστό κύκλωμα εκτροφής ιχθύων, συγκέντρωση αμμωνίας NH_3^- 2,79mg/L για είδη θαλασσινού νερού και 1,86mg/L για είδη του γλυκού νερού μπορεί να προβεί τοξική για τα ψάρια (USEPA, 1998; USEPA, 1999).

Στη παρούσα έρευνα, παροχή νερού 6,27L/min και ταχύτητα φιλτραρίσματος V σε 1,25 cm/min εξασφάλιζε την αποτελεσματική οξείδωση της παραγόμενης αμμωνίας σε νιτρικά ιόντα (Khater et al., 2015; Shete et al., 2016; Diem et al., 2017). Οι χαμηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας (NH_4^+), των νιτρωδών (NO_2^-) που μετρήθηκαν υποδηλώνουν την αποτελεσματικότητα του φίλτρου (Wongkiew et al., 2017).

Οι συγκεντρώσεις NH_4^+ και NH_3^- δεν διέφεραν μεταξύ των δειγματοληπτικών σημείων (είσοδο και έξοδο καλλιεργητικής περιοχής) και μεταξύ των μεταχειρίσεων. Αξίζει όμως να σημειωθεί, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 3, η προτίμηση που έχει το μαρούλι να απορροφά άζωτο σε μορφή NH_4^+ . Η παραπάνω διαπίστωση συμφωνεί με τους Forde & Clarkson (1999) όπου αναφέρουν ότι το μαρούλι ανήκει στα είδη που έχουν την ικανότητα από ένα διάλυμα $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, να απορροφούν NH_4^+ με μεγαλύτερους ρυθμούς από ότι NO_3^- .

Στην υδροπονική καλλιέργεια, οι συγκεντρώσεις των νιτρικών κυμαίνονται από 730,40-1016,88mg/L (Σάββας, 2012; Resh, 2012; Delaide et al., 2016). Σε συστήματα ενυδρειοπονίας, οι παρατηρούμενες συγκεντρώσεις των νιτρικών κυμαίνονται από 10-250mg/L (Villarroel et al., 2011; Roosta & Hamidpour, 2013; Hussain et al., 2014; Wahyuningsih et al., 2015; Cerozi & Fitzsimmons, 2016; Baßmann et al., 2020). Οι συγκεντρώσεις της παρούσας έρευνας (Πίνακας 6.2) συμφωνούν με τα παραπάνω χωρίς να επηρεάζουν αρνητικά την ανάπτυξη των ιχθύων (Camargo et al., 2005; Torno et al., 2018). Οι συγκεντρώσεις των νιτρικών (NO_3^-) δεν διέφεραν ($p>0,05$) μεταξύ των δειγματοληπτικών σημείων (GBin και GBout) σε καμία από τις τρεις μεταχειρίσεις. Επίσης, στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$), δεν παρατηρήθηκαν ούτε μεταξύ των μεταχειρίσεων παρόλα αυτά, στο Σχήμα 5 παρατηρείται ένας μεγαλύτερος ρυθμός απορρόφησης (μικρότερη διαφορά μεταξύ των συγκεντρώσεων στην είσοδο και την έξοδο της καλλιεργητικής περιοχής) στη μεταχείριση FF2.

Οι συγκεντρώσεις του φωσφόρου (PO_4^3) στην υδροπονία αντιστοιχούν σε 50-156,18mg/L (Σάββας, 2012; Resh, 2012; Delaide et al., 2016). Σε προηγούμενες έρευνες ενυδρειοπονίας, κυμαίνονται μεταξύ 3-52mg/L (Rakocy, 2004; Lennard & Leonard, 2006; Delaide, 2016; Bittsanszky et al., 2016) το οποίο συμφωνεί τις συγκεντρώσεις της παρούσας έρευνας (Πίνακας 6.2). Οι συγκεντρώσεις των φωσφορικών δεν διέφεραν ($p>0,05$) μεταξύ των δειγματοληπτικών σημείων, ούτε μεταξύ των μεταχειρίσεων. Μεγάλες διαφορές μεταξύ των δυο σημείων ενδέχεται να μην παρατηρήθηκαν λόγω της συνεχόμενης ανακύκλωσης του νερού. Επίσης, το είδος του υποστρώματος στη συγκεκριμένη έρευνα (διογκωμένη άργιλος) μπορεί να επηρέασε τις συγκεντρώσεις των θρεπτικών στην έξοδο της καλλιεργητικής περιοχής καθώς σύμφωνα τον Meinken (1997) οι θρεπτικές ουσίες μπορούν να συσσωρευτούν μέσω της διάχυσης στους κόκκους της αργίλου και μπορούν να ελευθερωθούν πίσω στο διάλυμα. Παρόλα αυτά οι συγκεντρώσεις στην είσοδο και στην έξοδο της καλλιεργητικής περιοχής δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

6.3.2 Ανάπτυξη ιχθύων

Σε ένα κλειστό κύκλωμα εκτροφής (RAS) και κατ' επέκταση ενυδρειοπονίας, σωστά επιλεγμένη διατροφή (Ng & Romano, 2013), διαχειριζόμενη με τρόπο όπου να καλύπτονται οι διατροφικές απαιτήσεις διαφόρων ειδών ιχθύων και ποικιλιών φυτών, με συγκεκριμένες ποσότητες και συχνότητες τάϊσματος (Riche & Garling, 2003) έτσι ώστε τα προϊόντα μεταβολισμού (απεκκρίματα) να είναι μειωμένα, ευνοούν την ανάπτυξη των οργανισμών (Liang & Chien, 2013), καταλήγοντας σε εξυγίανση του νερού. Η αποβολή των θρεπτικών συστατικών από τα ψάρια (μεταβολικά προϊόντα) είναι άμεσα συνδεδεμένη με την ποσότητα (επίπεδο διατροφής, συχνότητα τάϊσματος)

και τη ποιότητα (είδος, πρωτεϊνική σύσταση) της παρεχόμενης τροφής (Robaina et al., 2019).

Στη παρούσα έρευνα, η τροφή διαμοιράζονταν καθ' όλη τη διάρκεια του 24ώρου, καθώς το λαβράκι είναι ιδιαίτερα προσαρμοστικό σε ότι αφορά τις διατροφικές του συνήθειες (Anras, 1995; Boujard et al., 1996; Del Pozo, 2013) εμφανίζοντας εποχιακή προτίμηση στις ώρες σίτισης, με υψηλότερους δείκτες ανάπτυξης να μετρούνται κατά τη νυκτερινή σίτιση τους χειμερινούς μήνες συγκριτικά με τη πρωινή σίτιση κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού (Sanchez-Vazquez et al., 1998; Azzaydi et al., 2000). Το ποσοστό διατροφής ορίστηκε 5% του σωματικού βάρους των ιχθύων λαβρακιού. Ποσοστό διατροφής 4%, συγκριτικά με μικρότερα επίπεδα διατροφής έφερε μεγαλύτερη αύξηση βάρους σε λαβράκι ($2,6 \pm 0,3g$) εκτρεφόμενο σε γλυκό νερό ($0,4ppm$) (Eroldogan et al., 2004).

Η συχνότητα σίτισης και η χαμηλή αλατότητα δεν επηρέασε την επιβίωση των ιχθύων, εμφανίζοντας 100% επιβίωση αντίστοιχα για όλες τις μεταχειρίσεις. Σε έρευνα των Biswas et al. (2010) ασιατικό λαβράκι που σιτίζονταν 1, 2,3,4 φορές την ημέρα, εμφάνισε την υψηλότερη επιβίωση στις 3 φορές ($75,89 \pm 4.17\%$) συγκριτικά με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις.

Τη μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG, g), τον υψηλότερο ημερήσιο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης (SGR, %/ημέρα) και το μικρότερο συντελεστή μετατρεψιμότητας της τροφής (FCR) παρουσίασε η μεταχείριση FF2 χωρίς όμως να διαφέρει ($p > 0,05$) από τις μεταχειρίσεις FF4 και FF8. Αυτό υποδυκνείει ότι ο διαμοιρασμός της ημερήσιας ποσότητας τροφής σε περισσότερα από δυο γεύματα την ημέρα δεν επηρέασε την ανάπτυξη του λαβρακιού. Παρόμοιοι ρυθμοί ανάπτυξης στο λαβράκι εκτρεφόμενο σε θαλασσινό νερό βρέθηκαν από τους Türkmen et al. (2012) όταν σιτίζονταν τρεις φορές την ημέρα υπό τις μεταχειρίσεις, συνεχή σίτιση μέχρι κορεσμού για 60ημέρες, 1ημέρα

νηστεία και 4ημέρες συνεχή σίτιση μέχρι κορεσμού και 1 ημέρα περιορισμένη σίτιση και 4ημέρες συνεχή . Λαβράκι αρχικού βάρους $5,31 \pm 0,21\text{g}$ σε κλειστό κύκλωμα εκτροφής, αλατότητας (26 ppt) για 30ημέρες σύμφωνα με τους Islam et al. 2020, έφερε $\text{SGR} 2,39 \pm 0,43\%/ \text{ημέρα}$ όταν σιτίζονταν δυο φορές την ημέρα μέχρι κορεσμό, σε θερμοκρασία 24°C συμφωνώντας με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας. Οι Eroldogan & Kumlu (2000) σε εκτροφή λαβρακιού ($9,5 \pm 0,5\text{g}$) σε διαφορετικές αλατότητες (γλυκό νερό, 10, 20, 30 και 40ppt) απέδειξαν ότι σε συνθήκες χαμηλής αλατότητας <20 ppt το λαβράκι εμφάνισε υψηλότερους ρυθμούς ανάπτυξης ($\text{SGR} 1,37$ $1,41$ και $1,39\%/ \text{ημέρα}$ αντίστοιχα σε γλυκό, 10 και 20ppt νερό) . Σε δεύτερο κύκλο πειραμάτων, παρομοίως οι ιχθύες που εκτράφηκαν σε θαλασσινό νερό είχαν μικρότερη ημερήσια αύξηση βάρους (WG, $0,72\text{g/d}$) αλλά παρουσίασαν αποδοτικότερη αξιοποίηση της τροφής (FCE) (77%) συγκριτικά με αυτούς του γλυκού νερού ($0,81\text{g/d}$ και 74% αντίστοιχα). Μεταγενέστερη έρευνα των Eroldogan et al. (2004), αναφέρει 20-30% μεγαλύτερη την ανάπτυξη του λαβρακιού (βάρους $2.6 \pm 0.3\text{g}$) σε θαλασσινό νερό, συγκριτικά με το γλυκό νερό ($\text{SGR } 3,1 \pm 0,0$ και $2,5 \pm 0,0\%/ \text{ημέρα}$ αντίστοιχα) υπογραμμίζοντας, ότι οι ιχθύες που διαβιούν σε χαμηλές αλατότητες, καταναλώνουν περισσότερη ενέργεια για την ωσμωρύθμιση. Εκτρεφόμενα σε θαλασσινό νερό, εμβολιασμένα λαβράκια μέσου βάρους $20 \pm 0,5\text{g}$ με το παράσιτο *Amyloodinium ocellatum* εμφάνισαν μικρότερη αύξηση βάρους ($\text{SGR } 0,59 \pm 0,15$ και $0,95 \pm 0,26\%/ \text{ημέρα}$ αντίστοιχα) συγκριτικά με εμβολιασμένους που εκτράφηκαν σε γλυκό νερό σε σύστημα ενυδρείοπονίας από τους Nozzi et al. (2016a). Ο ρυθμός αύξησης διαφέρει αρκετά με τη παρούσα έρευνα, λόγω του χαμηλού ποσοστού σίτισης ($1,5\%\text{bw}$) και του διαμοιρασμού της τροφής μια φορά/ημέρα. Μειωμένη παρουσία κορεσμένων λιπαρών οξέων στη σάρκα φέρεται να έχουν οι ιχθύες λαβρακιού οι οποίοι εκτράφηκαν σε γλυκό νερό σύμφωνα με τους Nozzi et al. (2016b). Εκτροφή τσιπούρας

και καλλιέργεια κριτάμου (*Crithmum maritimum*) σε υφάλμυρο σύστημα ενυδρειοπονίας από τους Vlahos et al. (2019) υπό την επίδραση δυο συνθηκών αλατότητας (8ppt και 20ppt) δεν εμφάνισε σημαντικές διαφορές στην ανάπτυξη (SGR $3,17 \pm 0,04$ και $3,17 \pm 0,06\%$ /ημέρα αντίστοιχα) και την αξιοποίηση της τροφής (FCR $1,80 \pm 0,06$ και $1,84 \pm 0,07$ αντίστοιχα).

Η συχνότητα που παρέχεται η τροφή στους ιχθύες, επηρεάζει τη πεπτικότητά της (Lovell, 1989; Lee et al., 2000; Craig et al., 2017). Ο χρόνος διέλευσης της τροφής μέσω της πεπτικής οδού, επηρεάζει το ρυθμό κατανάλωσής της και την αφομοίωση των θρεπτικών συστατικών από τους ιχθύες (Μεντέ & Νέγκας, 2011; Robaina et al., 2019).

Στη παρούσα έρευνα, φαίνεται ότι ο διαμοιρασμός των γευμάτων ανά 12, 6 και 3 ώρες κατά τη διάρκεια του 24ώρου, δεν επηρέασε σημαντικά ($p > 0,05$) την ανάπτυξη του λαβρακιού. Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν από τους Riche et al. 2004 στην ανάπτυξη και την αξιοποίηση της τροφής τιλάπιας βάρους $34,4 \pm 5,4\text{g}$ σιτιζόμενη 2,3,4,5 φορές/ημέρα. Ο υψηλότερος ρυθμός ανάπτυξης, μετρήθηκε στη σίτιση 3 φορές την ημέρα (SGR $1,62 \pm 0,09\%$ /ημέρα) διαφέροντας σημαντικά μόνο από τη σίτιση που πραγματοποιούνταν 1φορά/ημέρα. Ασιατικό λαβράκι (*L. Calcarifer*) σε διάστημα 45ημερών, παρουσίασε μεγαλύτερη αύξηση βάρους/ημέρα ($1,32 \pm 0,03\text{g}$) και μικρότερο FCR ($2,43 \pm 0,06$) όταν σιτιζόνταν 2φορές/ημέρα εμφανίζοντας διαφορές με τα συχνότερα γεύματα (3,4 φορές/ημέρα). Αντίθετα, σύμφωνα με τους Liang & Chien (2013) αυξημένες συχνότητες σίτισης (4 και 6/ημέρα) οδηγούν σε αποδοτικότερη αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών από τη τιλάπια συγκριτικά με τη σίτιση 2 φορές/ημέρα παρουσιάζοντας 3% και 4,9% μεγαλύτερη αύξηση βάρους στα 6 γεύματα/ημέρα για χρονικό διάστημα 4 εβδομάδων. Ασιατικό λαβράκι (*Lates calcarifer*) μέσου βάρους $25,9 \pm 0,3\text{mm}$, εκτρεφόμενο από τους Biswas et al. (2010) σε

υφάλμυρο νερό με αριθμό γευμάτων 1,2,3,4 έδειξε ότι ο διαμοιρασμός της τροφής σε τρία γεύματα με ποσοστό διατροφής 10% για 3 εβδομάδες και 8% για 2 εβδομάδες, είχε υψηλότερο SGR ($5,07 \pm 0,03\%$ /ημέρα) συγκριτικά με 1,2 γεύματα, χωρίς να εμφανίζει διαφορές με τα 4. Παρόλα αυτά, το FCR ήταν πολύ μεγαλύτερο από όλες τις άλλες μεταχειρίσεις ($2,23 \pm 0,12$). Μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG) και μικρότερο (FCR) εμφάνισε πέρκα (*Sander lucioperca*) μέσου βάρους 6,4g, εκτρεφόμενη σε 20°C, όταν σιτίζονταν 4 (6.6 ± 0.4 και 8.8 ± 0.3 αντίστοιχα) και 6 φορές την ημέρα ($6,9 \pm 0,4$ και $1,3 \pm 0,07$ αντίστοιχα) συγκριτικά με τη 1 φορά/ημέρα (5.6 ± 0.4 και 1.1 ± 0.07 αντίστοιχα) από τους Wang et al. (2009).

Όταν η παροχή γευμάτων πραγματοποιείται σε χρονικό διάστημα μικρότερο του χρόνου που απαιτείται για τη πέψη και την απορρόφηση της τροφής οι ιχθύες αποβάλλουν ένα μεγάλο μέρος των άπεπτων θρεπτικών συστατικών μέσω των κοπράνων (Robaina et al., 2019). Αποτέλεσμα είναι η μειωμένη αξιοποίηση της τροφής (Liu & Liao, 1999). Τα παραπάνω, θα μπορούσαν να αποτελούν εξήγηση στο γεγονός ότι δεν εμφανίστηκαν διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων.

Η συχνότητα σίτισης, δεν επηρέασε ($p > 0,05$) τη συνολική κατανάλωση τροφής μεταξύ των μεταχειρίσεων, αντιστοιχώντας υψηλότερη στη μεταχείριση FF8 ($250,08 \pm 5,331$ g) και μικρότερη στη μεταχείριση FF4 ($242,95 \pm 0,852$ g). Η ποσότητα της τροφής που κατανάλωσαν οι ιχθύες της μεταχείρισης FF2 καταγράφηκε σε $246,90 \pm 7,501$ g. Φαίνεται λοιπόν, ότι ενώ οι ιχθύες κατανάλωναν την ίδια ποσότητα τροφής διαμοιρασμένη σε μικρότερα γεύματα, δεν κατάφεραν να την αφομοιώσουν με υψηλότερους ρυθμούς. Αξίζει τέλος να σημειωθεί, ότι σύμφωνα με τους Johansen & Jobling (1998), σίτιση ανά τακτά χρονικά διαστήματα, αυξάνει τη κολυμβητική δραστηριότητα των ιχθύων (με σκοπό τη σύλληψη της τροφής) το οποίο έχει ως

αποτέλεσμα τη δαπάνη περισσότερης ενέργειας καταλήγοντας μακροπρόθεσμα σε χαμηλότερους ρυθμούς ανάπτυξης.

Η φωτοπερίοδος είναι ένας παράγοντας που έχει άμεση επίδραση στην επιλεγόμενη καλλιέργεια και όχι στατιστική επίδραση στην ανάπτυξη τιλάπιας σύμφωνα με έρευνα των El-Sayed & Kawanna (2004). Καθ' όλη τη πειραματική διαδικασία, η φωτοπερίοδος ρυθμίστηκε στις 10 ώρες φως και 12 ώρες σκότους προσομοιώνοντας την χειμερινή περίοδο, ενισχύοντας την ανάπτυξη του μαρουλιού (Lennard & Leonard, 2006) καθώς και την ανάπτυξη του λαβρακιού.

6.3.3 Ανάπτυξη φυτών

Στη παρούσα έρευνα η μοναδική εισαγωγή θρεπτικών συστατικών (κυρίως άζωτο και φώσφορος) πραγματοποιούνταν αποκλειστικά από τη τροφή που παρέχονταν στους ιχθύες και τεχνική λίπανση δεν πραγματοποιήθηκε, με μόνη εξαίρεση την αρχική προσθήκη H_3PO_4 (όπως αναφέρεται στο κεφάλαιο 1.3.1) με σκοπό τη ρύθμιση του pH. Ποσότητα των 29gr την ημέρα, ανά μεταχείριση, φάνηκε να καλύπτει τις ανάγκες των φυτών σε θρεπτικά συστατικά, καθώς αναπτύχθηκαν κανονικά χωρίς να εμφανίσουν σημάδια τροφοπενίας.

Η συχνότητα σίτισης, δεν επηρέασε την καθ' ύψος αύξηση των φυτών, τον αριθμό των φύλλων και τη τελική βιομάζα υπόγειου ($p>0,05$). Παρόλα αυτά, έδειξε να επηρεάζει το τελικό νωπό βάρος του υπέργειου τμήματος του φυτού και κατά συνέπεια τη τελική βιομάζα και παραγωγή σημειώνοντας σημαντικές διαφορές ($p<0,05$).

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, παρεχόμενα γεύματα σε σύντομα χρονικά διαστήματα (πριν την επιστροφή της όρεξης), ενδέχεται να οδηγήσουν σε μειωμένη απορρόφηση της τροφής από τους ιχθύες καταλήγοντας σε παραγωγή μεγαλύτερων ποσοτήτων απεκκριμάτων. Κατά συνέπεια, μεγαλύτερο ποσοστό άπεπτων θρεπτικών

συστατικών, κυρίως αζώτου και φωσφόρου, διαλυτοποιούνται στο νερό αυξάνοντας έτσι το ρυθμό απορρόφησής τους από τα φυτά (Goddek et al., 2016). Αυξημένη απορρόφηση αζώτου από το φυτό, προάγει τη ταυτόχρονη ανάπτυξη του υπέργειου (βλαστός, φύλλα) και του ριζικού συστήματος σύμφωνα με τον Hunt (1982). Η αύξηση αυτή συνήθως, παρουσιάζεται μεγαλύτερη, στο υπέργειο κομμάτι του φυτού και λιγότερο στο υπόγειο (Bloom, 1997) εξηγώντας, τις διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων μόνο στην υπέργεια και όχι στην υπόγεια (ρίζα) βιομάζα. Ταυτόχρονα, αυξημένη συχνότητα σίτισης, συντελεί σε συχνότερη παραγωγή αμμωνίας από τους ιχθύες (Liang & Chien, 2013; Wongkiew et al., 2017), με αποτέλεσμα τον μεγαλύτερο ρυθμό απορρόφησης αυτής από τα φυτά. Έρευνα των Savvas et al. (2006) αποδεικνύει ότι παροχή 30% του ολικού N με τη μορφή $\text{NH}_4^+\text{-N}$ αυξάνει τη νωπή και τη ξηρή βιομάζα υπέργειου σε φυτά μαρουλιού. Ένδειξη του παραπάνω, θα μπορούσε να είναι η μεγαλύτερη διαφορά της συγκέντρωσης της αμμωνίας μεταξύ της εισόδου και της εξόδου της καλλιεργητικής περιοχής ($p>0,05$) στη μεταχείριση FF4 (Σχήμα 3) όπου τελικά εμφάνισε και τη μεγαλύτερη παραγωγή συγκριτικά με τη μεταχείριση FF2 ($p<0,05$). Αξίζει να σημειωθεί, ότι η μειωμένη τιμή του pH ($p<0,05$) στις μεταχειρίσεις FF4 και FF8, συγκριτικά με την FF2, μαρτυρά την αυξημένη παραγωγή της αμμωνίας και κατ' επέκταση των νιτρικών ιόντων στις συγκεκριμένες μεταχειρίσεις. Επίσης, καθ' όλη τη διάρκεια των 45ημερών, φαίνεται τα φυτά να απορροφούν, με υψηλότερο ρυθμό τα παραγόμενα νιτρικά (μεγαλύτερη διαφορά της συγκέντρωσης των νιτρικών μεταξύ της εισόδου και της εξόδου της καλλιεργητικής περιοχής). Παρόλα αυτά στατιστικά, όπως αναφέρθηκε, δεν υπήρξαν διαφορές στις συγκεντρώσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων ($p>0,05$). Παρόμοια αποτελέσματα με τη παρούσα έρευνα, έφερε συχνότητα σίτισης 6 φορές την ημέρα, από τους Liang & Chien (2013) σε φυτά σπανακιού καλλιεργούμενα σε σύστημα ενυδραιοπονίας. Συγκεκριμένα, διαμοιρασμός

των γευμάτων 6 φορές/ημέρα, παρουσίασε στο σπανάκι 11% και 6% μεγαλύτερη αύξηση βάρους (WG) συγκριτικά με τις 2 και 4 φορές/ημέρα αντίστοιχα.

Σύμφωνα με τον Licamele (2009) σε χρονικό διάστημα 35 ημερών με συνθήκες pH 8,1-7,7 σε σύστημα ενυδρείοπονίας συνολικής βιομάζας ιχθύων τιλάπιας 2kg/m³ και παρεχόμενη τροφή 2% του σωματικού βάρους ιχθύων (40gr τροφής διαμοιρασμένη σε 1φορά/ημέρα), το μαρούλι (*Lactuca sativa* cv. rex) παρουσίασε τελική νωπή βιομάζα υπέργειου 145gr και ξηρή βιομάζα υπέργειου 6,2gr. Συγκριτικά με τη παρούσα έρευνα, με μικρότερη ποσότητα ημερήσιας παροχής τροφής, το μαρούλι της μεταχείρισης FF2 εμφάνισε μεγαλύτερη τελική βιομάζα (νωπή 158,40±12,699g και ξηρή 6,77±0,533g αντίστοιχα). Μεγαλύτερη βιομάζα υπέργειου ($p<0,05$) παρουσίασε μαρούλι όταν καλλιεργήθηκε σε σύστημα ενυδρείοπονίας με συμπληρωματική λίπανση (pH 6,8), συγκριτικά με την καλλιέργεια σε υδροπονία (pH 6,5) από τον ίδιο ερευνητή, για χρονικό διάστημα 35ημερών. Συγκεκριμένα, η βιομάζα στο ενυδρείοπονικό σύστημα αντιστοιχούσε σε 176,75±31,04g διαφέροντας από την υδροπονική καλλιέργεια (148,55±21,71g). Παρόλα αυτά, η τελική ξηρή βιομάζα, δεν διέφερε και αντιστοιχούσε σε 4,60±0,60g για την υδροπονία και 4,36±0,78g για την ενυδρείοπονία. Η ανάπτυξη μαρουλιού (*Lactuca sativa* cv. Integral) σε ενυδρείοπονικό σύστημα με χαμηλή ιχθυοπυκνότητα (LD) (4,8kg/m³) και υψηλή ιχθυοπυκνότητα (HD) (8kg/m³) αξιολογήθηκε συγκριτικά με την ανάπτυξη σε σύστημα υδροπονίας από τους Pantanella et al. (2012). Παρόμοια παραγωγή βιομάζας ($p>0,05$) μετρήθηκε μεταξύ υδροπονίας (2,84g) και HD (2,71g) και μικρότερη στη LD (2,37g). Μεγαλύτερο βάρος νωπής και ξηρής υπέργειας βιομάζας παρατηρήθηκε στην υδροπονική καλλιέργεια (142,2g και 8,19g αντίστοιχα) διαφέροντας από τις καλλιέργειες σε ενυδρείοπονικά συστήματα υψηλής (135,3g και 6,96g αντίστοιχα) και χαμηλής ιχθυοπυκνότητας (118,6g και 6,30g αντίστοιχα). Συγκριτική έρευνα καλλιέργειας μαρουλιού (*Lactuca*

Sativa cv. Sucrine) σε υδροπονική καλλιέργεια (pH 5,37) και σε καλλιέργεια σε ενυδρειοπονικό σύστημα (pH 7,32) ταυτόχρονης εκτροφής τιλάπιας (σίτιση τροφής 40% πρωτεΐνης) για χρονικό διάστημα 36 ημερών πραγματοποιήθηκε από τους Delaïde et al. (2016). Το τελικό νωπό βάρος υπέργειου τμήματος του φυτού δεν διέφερε μεταξύ της υδροπονικής καλλιέργειας (98,17g) και της καλλιέργειας σε ενυδρειοπονία (80,55g). Μεγαλύτερο ξηρό βάρος υπέργειας βιομάζας παρατηρήθηκε στην υδροπονική καλλιέργεια (5,80g) διαφέροντας με την ενυδρειοπονία (3,58g). Σε χρονικό διάστημα 35 ημερών, μεγαλύτερο βάρος νωπού και ξηρού υπέργειου τμήματος μαρουλιού (*Lactuca sativa* cv. Frandria) μετρήθηκε από τους Anderson et al. (2017) σε υδροπονική καλλιέργεια με συνθήκες pH 5 (H5) (178 ± 2 g και $6,9 \pm 0,08$ g αντίστοιχα) διαφέροντας ($p < 0,05$) με την ανάπτυξη του μαρουλιού σε υδροπονική καλλιέργεια με συνθήκες pH 7 (H7) (137 ± 3 g και $6,3 \pm 0,11$ g αντίστοιχα). Ωστόσο, σε σύστημα ενυδρειοπονίας με βιομάζα ιχθύων (koi) 10 kg/m^3 οι οποίοι σιτίζονταν 1% του σωματικού τους βάρους με τροφή 38% πρωτεΐνης σε συνθήκες pH 7 (A7) τα νωπά και ξηρά βάρη υπέργειου (169 ± 2 g και $6,9 \pm 0,16$ g αντίστοιχα) δεν διέφεραν ($p > 0,05$) από τα φυτά της μεταχείρισης H5. Τα φυτά της μεταχείρισης H7 ($0,42 \pm 0,016$ g) απέδειξαν μεγαλύτερη ξηρή βιομάζα υπόγειου συγκριτικά με τα φυτά των μεταχειρίσεων H5 ($0,32 \pm 0,006$ g) και A7 ($0,32 \pm 0,011$ g). Ο αριθμός των φύλλων δεν παρουσίασε διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων H5 (39,5), H7 (38,4) και A7 (37,2).

6.4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το μαρούλι μπορεί να παρουσιάσει εξίσου καλή ανάπτυξη σε συστήματα ενυδρειοπονίας όπου η μεγαλύτερη πηγή των θρεπτικών συστατικών είναι η τροφή και τα μεταβολικά προϊόντα των ιχθύων κάτω υπό συγκεκριμένες συνθήκες σίτισης. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας έδειξαν ότι ο διαμοιρασμός της ημερήσιας

τροφής του λαβρακιού σε πολλαπλά γεύματα (4 και 8/ημέρα), απέδωσε καλύτερη ανάπτυξη των φυτών και μεγαλύτερη τελική φυτική παραγωγή. Διαφορές στην ανάπτυξη των ιχθύων μεταξύ των συχνοτήτων σίτισης δεν παρουσιάστηκαν. Παρόλα αυτά, οι ιχθύες αναπτύχθηκαν ικανοποιητικά, παρουσιάζοντας αυξημένους ημερήσιους ρυθμούς ανάπτυξης και αξιοποίησης της τροφής συγκριτικά με άλλες έρευνες. Περαιτέρω έρευνα των πρακτικών σίτισης των ιχθύων είναι απαραίτητη με σκοπό τη μεγιστοποίηση της παραγωγής ζωικής αλλά και φυτικής βιομάζας.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

7.1 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Αγγλική βιβλιογραφία

1. Abdel-Tawwab, M., Khalil, R. H., Metwally, A. A., Shakweer, M. S., Khallaf, M. A., & Abdel-Latif, H. M. (2020). Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal on growth performance, organs-somatic indices, body composition, and hemato-biochemical variables of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 522, 735136.
2. Allegrucci, G. C., Fortunato, C. S. and Sbordoni, V. (1994). Acclimatation to fresh water of the seabass: evidence of selective mortality of allozyme genotypes. In *Genetics and Evolution of Aquatic Organism* (ed. A. R. Beaumont), pp. 487-502. London: Chapman & Hall.
3. Alliot, E., Pastoureaud, A., & Thebault, H. (1983). Influence of temperature and salinity on growth and body composition of sea bass fingerlings, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 31(2), 181-194.
4. American Public Health Association. APHA. (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st ed. American Public Health Association, Washington DC, 1220p.
5. Anderson, T. S., De Villiers, D., & Timmons, M. B. (2017). Growth and tissue elemental composition response of butterhead lettuce (*Lactuca sativa*, cv. Flandria) to hydroponic and aquaponic conditions. *Horticulturae*, 3(3), 43.
6. Andriani, Y., Dhahiyat, Y., Zahidah, Z., & Zidni, I. (2017). The effect of stocking density ratio of fish on water plant productivity in aquaponics culture system. *Nusantara Bioscience*, 9(1), 31-35.

7. Anras, M. L. B. (1995). Demand-feeding behaviour of sea bass kept in ponds: diel and seasonal patterns, and influences of environmental factors. *Aquaculture International*, 3(3), 186-195.
8. Auchterlonie, N. (2018). The continuing importance of fishmeal and fish oil in aquafeeds. Presented at the Aquafarm Conference, Pordenone, Italy.
9. Azzaydi, M., Martinez, F. J., Zamora, S., Sánchez-Vázquez, F. J., & Madrid, J. A. (2000). The influence of nocturnal vs. diurnal feeding under winter conditions on growth and feed conversion of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Aquaculture*, 182(3-4), 329-338.
10. Baßmann, B., Harbach, H., Weißbach, S., & Palm, H. W. (2020). Effect of plant density in coupled aquaponics on the welfare status of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(1), 183-199.
11. Bahadır Koka, S., Diler, I., Dulluc, A., Yigit, N. O., & Bayrak, H. (2009) Effect of different feed types and feed conversion ratio of angelfish (*Pterophyllum scalare*, Lichtenstein 1823). *Journal of Applied Biological Sciences*, 3: 6-10.
12. Ballestrazzi, R., Lanari, D., D'agaro, E., & Mion, A. (1994). The effect of dietary protein level and source on growth, body composition, total ammonia and reactive phosphate excretion of growing sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 127(2-3), 197-206.
13. Barnabé, R. C. and Derivaux, J. (1980). Reprodução dos animais domésticos. Acribia.
14. Barnabé, G. (1990). Rearing bass and gilthead bream. *Aquaculture*, 2, 647-686.
15. Barroso, F. G., de Haro, C., Sánchez-Muros, M. J., Venegas, E., Martínez-Sánchez, A., & Pérez-Bañón, C. (2014). The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture*, 422, 193-201.

16. Bednářová, M., Borkovcová, M., Mlček, J., Rop, O., & Zeman, L. (2013). Edible insects-species suitable for entomophagy under condition of Czech Republic. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 61(3), 587-593.
17. Berillis, P., Mente, E., Nikouli, E., Makridis, P., Grundvig, H., Bergheim, A., & Gausen, M. (2016). Improving aeration for efficient oxygenation in sea bass sea cages. Blood, brain and gill histology. *Open Life Sciences*, 11(1), 270-279.
18. Biswas, G., Thirunavukkarasu, A. R., Sundaray, J. K., & Kailasam, M. (2010). Optimization of feeding frequency of Asian seabass (*Lates calcarifer*) fry reared in net cages under brackishwater environment. *Aquaculture*, 305(1-4), 26-31.
19. Bittsanszky, A., Uzinger, N., Gyulai, G., Mathis, A., Junge, R., Villarroel, M. & Kőmives, T. (2016). Nutrient supply of plants in aquaponic systems. *Ecocycles*, 2(2), 17-20.
20. 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.
21. Blidariu, F., Alexandru, D., Adrian, G., Isidora, R., & Dacian, L. (2013). Evolution of nitrate level in green lettuce conventional grown under natural conditions and aquaponic system. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 46(1), 244-250.
22. Bloom, A. J. (1997). Interactions between inorganic nitrogen nutrition and root development. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 160(2), 253-259.
23. Bohl, M. (1977). Some initial aquaculture experiments in recirculating water systems. *Aquaculture*, 11(4), 323-328.

24. Bosch, G., Zhang, S., Oonincx, D. G., & Hendriks, W. H. (2014). Protein quality of insects as potential ingredients for dog and cat foods. *Journal of nutritional science*, 3.
25. Boujard, T., Jourdan, M., Kentouri, M., & Divanach, P. (1996). Diel feeding activity and the effect of time-restricted self-feeding on growth and feed conversion in European sea bass. *Aquaculture*, 139(1-2), 117-127.
26. Boyd, C. E. (1998). Pond water aeration systems. *Aquacultural Engineering*, 18(1), 9-40.
27. Bugbee, B. (2003). Nutrient management in recirculating hydroponic culture. In *South Pacific Soilless Culture Conference-SPSCC 648* (pp. 99-112).
28. Buzby M.K., Lin L-S. (2014) Scaling aquaponic systems: Balancing plant uptake with fish output. *Aquacultural Engineering* 63: 39–44.
29. Buzby, K. M., Waterland, N. L., Semmens, K. J., & Lin, L. S. (2016). Evaluating aquaponic crops in a freshwater flow-through fish culture system. *Aquaculture*, 460, 15-24.
30. Cai, Y. W. J. & Adelman, J. (1996). Ammonia excretion indicates protein adequacy for fish. *Prog Fish Cult*, 58, 124-127.
31. Camargo, J. A., Alonso, A., & Salamanca, A. (2005). Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. *Chemosphere*, 58(9), 1255-1267.
32. Carroza. C., Hurtado F., & Gutierrez, X. (2012). Nitrogen compounds' biofiltration under bacterium fixation substrates. *Lat. Am.J.Aquatic. Res.*, 40 (3):772-785.
33. Castillo-Castellanos, D., Zavala-Leal, I., Ruiz-Velazco, J. M. J., Radilla-García, A., Nieto-Navarro, J. T., Romero-Bañuelos, C. A., & González-Hernández, J.

- (2016). Implementation of an experimental nutrient film technique-type aquaponic system. *Aquaculture international*, 24(2), 637-646.
34. Cataudella, S., Allegrucci, G., Bronzi, P., Cataldi, E., Cioni, C., Corti, M., Crosetti, D., De Merich, D., Fortunato, C., Garibaldi, L. et al. (1991). Multidisciplinary approach to the optimisation of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) rearing in freshwater – Basic morpho-physiology and osmoregulation. *Aquacult. Env.* 14, 56-57.
 35. Cebon, 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.
 36. Cerozi S. & Fitzsimmons K. (2016). The effect of pH on phosphorus availability and speciation in an aquaponics nutrient solution, *Bioresource Technology*, 219: 778–781.
 37. Charles, P. M., Sebastian, S. M., Raj, M. C. V., & Marian, M. P. (1984). Effect of feeding frequency on growth and food conversion of *Cyprinus carpio* fry. *Aquaculture*, 40(4), 293-300.
 38. Clarkson, D. T. (1985). Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants. *Annual review of plant physiology*, 36(1), 77-115.
 39. 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
 40. Craig, S., Helfrich, L. A., Kuhn, D., & Schwarz, M. H. (2017). Understanding fish nutrition, feeds, and feeding.
 41. da Cunha Pedrosa R. (2016). Potential of prepupae meal of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute in European sea bass juveniles

- (*Dicentrarchus labrax*): Implication in flesh quality. Master thesis, Department of Biology, University of Porto, Portugal. pp. 48.
42. da Silva Cerozi, B., & Fitzsimmons, K. (2016). The effect of pH on phosphorus availability and speciation in an aquaponics nutrient solution. *Bioresource technology*, 219, 778-781.
 43. Danaher, J. J., Shultz, R. C., Rakocy, J. E., & Bailey, D. S. (2013). Alternative solids removal for warm water recirculating raft aquaponic systems. *Journal of the World Aquaculture Society*, 44(3), 374-383.
 44. Daprà, F., Gai, F., Costanzo, M. T., Maricchiolo, G., Micale, V., Sicuro, B., Caruso, G., Genovese, L. & Palmegiano, G. B. (2009). Rice protein-concentrate meal as a potential dietary ingredient in practical diets for blackspot seabream *Pagellus bogaraveo*: a histological and enzymatic investigation. *Journal of fish biology*, 74(4), 773-789.
 45. Dediu, L., Cristea, V., & Xiaoshuan, Z. (2012). Waste production and valorization in an integrated aquaponic system with bester and lettuce. *African Journal of Biotechnology*, 11(9), 2349-2358.
 46. de Haro, C., Ramos Bueno, R. P., Barroso, F. G., Sánchez Muros, M. J., Rincón Cervera, M. Á., & Guil-Guerrero, J. L. (2016). Insect larvae as feed ingredient selectively increase arachidonic acid content in farmed gilthead sea bream (*Scorpaenopsis aurata* L.). *Aquaculture Research*, 47(9), 2881-2887.
 47. Del Pozo, A., Vera, L. M., Montoya, A., & Sanchez-Vazquez, F. J. (2013). Daily rhythms of blood glucose differ in diurnal and nocturnal European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) undergoing seasonal phase inversions. *Fish physiology and biochemistry*, 39(3), 695-699.

48. Delaide, B., Goddek, S., Gott, J., Soyeurt, H., & Jijakli, M. H. (2016). Lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *Sucrine*) growth performance in complemented aquaponic solution outperforms hydroponics. *Water*, 8(10), 467.
49. Dendrinou, P. and Thorpe, J. P. (1985). Effects of reduced salinity on growth and body composition in the European bass *Dicentrarchus labrax* (L.). *Aquaculture* 49, 333-358.
50. Diem, T. N. T., Konnerup, D., & Brix, H. (2017). Effects of recirculation rates on water quality and *Oreochromis niloticus* growth in aquaponic systems. *Aquacultural Engineering*, 78, 95-104.
51. Diver S. (2006). Aquaponics—Integration of Hydroponics with Aquaculture, National Sustainable Agriculture Information Service. ATTRA Publication. 28pp.
52. Doğankaya, L. (2017). Effects of fish meal substitution with super worm (*Zophobas morio*) meal on growth performance of rainbow trout fingerlings. *Aquatic Sciences and Engineering*, 32(1), 1-7.
53. Ebeling, W. (1975). Urban entomology, pest of stored food products. *Division of Agriculture Sciences, University of California. Berkeley, USA*, 275-309.
54. Ebenso, I. E., & Udo, M. T. (2003). Effect of live maggot on growth of the Nile perch, *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) in South Eastern Nigeria. *Global Journal of Agricultural Sciences*, 2(2), 72-73.
55. Economakis, C. D., & Said, M. (2000). Effect of solution temperature on growth and shoot nitrate content of lettuce grown in solution culture. In *II Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes* 579 (pp. 411-415).
56. El-Sayed, A. F. M., & Kawanna, M. (2004). Effects of photoperiod on the performance of farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: I. Growth, feed

- utilization efficiency and survival of fry and fingerlings. *Aquaculture*, 231(1-4), 393-402.
57. Endut, A., Jusoh, A., Ali, N., Nik, W. W., & Hassan, A. (2010). A study on the optimal hydraulic loading rate and plant ratios in recirculation aquaponic system. *Bioresource technology*, 101(5), 1511-1517.
 58. Endut, A., Jusoh, A., Ali, N. A., & Wan Nik, W. B. (2011). Nutrient removal from aquaculture wastewater by vegetable production in aquaponics recirculation system. *Desalination and water treatment*, 32(1-3), 422-430.
 59. Eroldogan, O. T., & Kumlu, M. (2002). Growth performance, body traits and fillet composition of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) reared in various salinities and fresh water. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26(5), 993-1001.
 60. Eroldogan, O. T., Kumlu, M., & Aktas, M. (2003). Acclimation of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to freshwater and determination of its optimal feeding rates in freshwater (Doctoral dissertation, Ph. D. thesis, Univ. Cukurova, Adana, Turkey).
 61. Eroldoğan O.T.; Kumlu M., Aktas M. (2004). Optimum feeding rates for European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. reared in seawater and freshwater. *Aquaculture*, 231, 501–515.
 62. Fagbenro, O. A., & Adebayo, O. T. (2005). A review of the animal and aquafeed industries in Nigeria. *A synthesis of the formulated animal and industry in sub-Saharan Africa*, 25-36.
 63. FA1305, C. A. (2017). Report on a Workshop with representatives from DG MARE, DG AGRI and DG RTD. 5 p.
 64. FAO (2016). The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Rome.

65. Ferrara, E., Gustinelli, A., Fioravanti, M. L., Restucci, B., Quaglio, F., Marono, S., & Piccolo, G. (2015). Histological and micro-/macro-morphological evaluation of intestine in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) fed soybean meal-based diets added with MOS and inulin as prebiotics. *Aquaculture international*, 23(6), 1525-1537.
66. Finke, M. D., DeFoliart, G. R., & Benevenga, N. J. (1989). Use of a four-parameter logistic model to evaluate the quality of the protein from three insect species when fed to rats. *The Journal of nutrition*, 119(6), 864-871.
67. Finke, M. D. (2002). Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology: Published in Affiliation with the American Zoo and Aquarium Association*, 21(3), 269-285.
68. Forde, B. G., & Clarkson, D. T. (1999). Nitrate and ammonium nutrition of plants: physiological and molecular perspectives. In *Advances in botanical research* (Vol. 30, pp. 1-90). Academic Press.
69. Francis-Floyd R., Watson C., Petty D., Pouder D. (2009). Ammonia in Aquatic Systems, Department of Agriculture, Cooperative Extension Service, University of Florida, IFAS.
70. Gai, F., Gasco, L., Daprà, F., Palmegiano, G. B., & Sicuro, B. (2012). Enzymatic and Histological Evaluations of Gut and Liver in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fed with Rice Protein Concentrate-based Diets. *Journal of the World Aquaculture Society*, 43(2), 218-229.
71. Gallardo-Collí, A., Hernández-Vergara, M. P., Pérez-Rostro, C. I., & Ramírez-Gutiérrez, S. C. (2014). Biculture tilapia/crayfish in aquaponic system Biculture of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and crayfish (*Procambarus acanthophorus*)

- and production of green corn fodder (*Zea mays*) in an aquaponic system. *Glob. Adv. Res. J. Agric. Sci*, 3(8), 233-244.
72. Gasco, L., Belforti, M., Rotolo, L., Lussiana, C., Parisi, G., Terova, G., Roncarati, A. & Gai, F. (2014). Mealworm (*Tenebrio molitor*) as a potential ingredient in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In *Abstract book Conference "Insects to Feed The World" The Netherlands* (pp. 14-17).
 73. Gatlin III, D. M., Barrows, F. T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T. G., Hardy, R. W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza E. J., Stone, D., Wilson, R., & Wurtele, E. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture research*, 38(6), 551-579.
 74. Gelineau A, Medale F, Boujard T. (1998) Effect of feeding time on postprandial nitrogen excretion and energy expenditure in rainbow trout. *J Fish Biol* 52:655–664.
 75. G lineau, A., Corraze, G., & Boujard, T. (1998). Effects of restricted ration, time-restricted access and reward level on voluntary food intake, growth and growth heterogeneity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed on demand with self-feeders. *Aquaculture*, 167(3-4), 247-258.
 76. Goddek, S., Schmautz, Z., Scott, B., Delaide, B., Keesman, K. J., Wuertz, S., & Junge, R. (2016). The effect of anaerobic and aerobic fish sludge supernatant on hydroponic lettuce. *Agronomy*, 6(2), 37.
 77. Goto, E., & Takakura, T. (1988). The effect of artificial light on the growth of lettuce. In *Symposium on High Technology in Protected Cultivation* 230 (pp. 313-318).

78. 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
79. Graber, A., & Junge, R. (2009). Aquaponic Systems: Nutrient recycling from fish wastewater by vegetable production. *Desalination*, 246(1-3), 147-156.
80. Güroy, D., İzzet, Ş., Bül, G., Merrifield, D. L., Bulut, M., Tekinay, A. A. (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.
81. Hasan, M. R., & Soto, D. (2017). Improving feed conversion ratio and its impact on reducing greenhouse gas emissions in aquaculture. Improving feed conversion ratio and its impact on reducing greenhouse gas emissions in aquaculture.
82. Henry, M. A., Gasco, L., Chatzifotis, S., & Piccolo, G. (2018). Does dietary insect meal affect the fish immune system? The case of mealworm, *Tenebrio molitor* on European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Developmental & Comparative Immunology*, 81, 204-209.
83. Hidalgo, F., & Alliot, E. (1988). Influence of water temperature on protein requirement and protein utilization in juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 72(1-2), 115-129.
84. Hirayama, K. (1974). Water control by filtration in closed culture systems. *Aquaculture*, 4, 369-385.
85. Hopkins, W. G. (1999). *Introduction to plant physiology* (No. Ed. 2). John Wiley and Sons.

86. Houlihan, D., Boujard, T., & Jobling, M. (2001). Food Intake in Fish. 2nd Edition, In: Published by Blackwell Science Ltd, London.
87. Hu, Z., Lee, J. W., Chandran, K., Kim, S., Brotto, A. C., & Khanal, S. K. (2015). Effect of plant species on nitrogen recovery in aquaponics. *Bioresource technology*, 188, 92-98.
88. Hua, K., Cobcroft, J. M., Cole, A., Condon, K., Jerry, D. R., Mangott, A., Praeger, C., Vucko, M. J., Zeng, C., Zenger, K., & Strugnell, J. M. (2019). The Future of Aquatic Protein: Implications for Protein Sources in Aquaculture Diets. *One Earth*, 1(3), 316-329.
89. Hunt, R. (1982). Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis. Edward Arnold Ltd.
90. Hussain, T., Verma, A. K., Tiwari, V. K., Prakash, C., Rathore, G., Shete, A. P., & Saharan, N. (2015). Effect of water flow rates on growth of *Cyprinus carpio* var. koi (*Cyprinus carpio* L., 1758) and spinach plant in aquaponic system. *Aquaculture international*, 23(1), 369-384.
91. Islam, A. K. M. S., Edwards, D. G., & Asher, C. J. (1980). pH optima for crop growth: results of a flowing solution culture experiment with six species. *Plant and soil*, 54, 339-357.
92. Islam, M. J., Kunzmann, A., Bögner, M., Meyer, A., Thiele, R., & Slater, M. J. (2020). Metabolic and molecular stress responses of European seabass, *Dicentrarchus labrax* at low and high temperature extremes. *Ecological Indicators*, 112, 106118.
93. Jabir, M. A. R., Jabir, S. A. R., & Vikineswary, S. (2012). Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of Nile tilapia

- (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *African Journal of Biotechnology*, 11(24), 6592-6598.
94. Jensen, K., Madsen, S. S. and Kristiansen, K. (1998). Osmoregulation and salinity effects on the expression and activity of Na⁺, K⁺-ATPase in the gills of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). *J. Exp. Zool.* 282, 290-300.
 95. Jobling, M. (1995). Fish bioenergetics. *Oceanographic Literature Review*, 9(42), 785.
 96. Johansen, S. J. S., & Jobling, M. (1998). The influence of feeding regime on growth and slaughter traits of cage-reared Atlantic salmon. *Aquaculture International*, 6, 1-17.
 97. Johnson, R., Wolf, J., Braunbeck, T. (2009). OECD guidance document for the diagnosis of endocrine-related histopathology of fish gonads. Organization for Economic Co-operation and Development, 96.
 98. Karapanagiotidis, I. T., Psafakis, P., Mente, E., Malandrakis, E., & Golomazou, E. (2019). Effect of fishmeal replacement by poultry by-product meal on growth performance, proximate composition, digestive enzyme activity, haematological parameters and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture nutrition*, 25(1), 3-14.
 99. Kaushik, S.J. (1980) Influence of the nutritional status on the daily pattern of nitrogen excretion in the carp (*Cyprinus carpio* L.) and the rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Reprod Nut Develop* 20:1751–1765.
 100. Kaushik, S.J. (1998). Whole body amino acid composition of European seabass (*Dicentrarchus labrax*), gilthead seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Psetta maxima*) with an estimation of their IAA requirement profiles. *Aquatic Living Resources*, 11(5), 355-358.

101. Kawai, A., Yoshida, Y. and Kimata, M. (1964). Biochemical studies on the bacteria in aquarium with circulating system - I. Change of the qualities of breeding water and bacterial population of the aquarium during fish cultivation. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 30: 55-62
102. Khakyzadeh, V., Luque, R., Zolfigol, M. A., Vahidian, H. R., Salehzadeh, H., Moradi, V., Soleymani, A. R., Moosavi-Zare, A. R., & Xu, K. (2015). Waste to wealth: a sustainable aquaponic system based on residual nitrogen photoconversion. *Royal Society of Chemistry* 5:3917–3921.
103. Khater, E. S. G., & Ali, S. A. (2015). Effect of flow rate and length of gully on lettuce plants in aquaponic and hydroponic systems. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 6(3), 1.
104. Knaus, U., & Palm, H. W. (2017). Effects of the fish species choice on vegetables in aquaponics under spring-summer conditions in northern Germany (Mecklenburg Western Pomerania). *Aquaculture*, 473, 62-73.
105. 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.
106. König, B., Janker, J., Reinhardt, T., Villarroel, M., & Junge, R. (2018). Analysis of aquaponics as an emerging technological innovation system. *Journal of Cleaner Production*, 180, 232-243.
107. Laiz-Carrión, R., Guerreiro, P. M., Fuentes, J., Canario, A. V., Martín Del Río, M. P., & Mancera, J. M. (2005). Branchial osmoregulatory response to salinity in the gilthead sea bream, *Sparus auratus*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 303(7), 563-576.

108. Lam, S. S., Ma, N. L., Jusoh, A., & Ambak, M. A. (2014). A study on the optimal tank design and feed type to the growth of marble goby (*Oxyeleotris marmorata* Bleeker) and reduction of waste in a recirculating aquaponic system. *Desalination and Water Treatment*, 52(4-6), 1044-1053.
109. Lanari, D., D'Agaro, E., & Ballestrazzi, R. (2002). Growth parameters in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): effects of live weight and water temperature. *Italian Journal of Animal Science*, 1(3), 181-185.
110. Lazo, J. P., Davis, D. A., & Arnold, C. R. (1998). The effects of dietary protein level on growth, feed efficiency and survival of juvenile Florida pompano (*Trachinotus carolinus*). *Aquaculture*, 169(3-4), 225-23.
111. Lee, S., Hwang, U., & Cho, S. H. (2000). Effects of feeding frequency and dietary moisture content on growth, body composition and gastric evacuation of juvenile Korean rock Φ sh (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture* 187, 399^409.
112. Lemarié, G., Dutto, G., Le Roux, A., Lemoalle, J., Maxime, V., & Person-Le Ruyet, J. (2000). Long-term effects of pH and carbon dioxide on growth and feed efficiency in European seabass. *Aqua*, 384.
113. Lennard, W. A., & Leonard, B. V. (2004). A comparison of reciprocating flow versus constant flow in an integrated, gravel bed, aquaponic test system. *Aquaculture International*, 12(6), 539-553.
114. Lennard, W. A., & Leonard, B. V. (2006). A comparison of three different hydroponic sub-systems (gravel bed, floating and nutrient film technique) in an aquaponic test system. *Aquaculture International*, 14(6), 539-550.
115. Lennard, W. (2017). Commercial aquaponic systems: integrating recirculating fish culture with hydroponic plant production. Wilson Lennard.

116. 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
117. Li, Y., Kortner, T. M., Chikwati, E. M., Belghit, I., Lock, E. J., & Krogdahl, Å. (2020). Total replacement of fish meal with black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal does not compromise the gut health of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 520, 734967.
118. 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.
119. Liang, J. Y., & Chien, Y. H. (2015). Effects of photosynthetic photon flux density and photoperiod on water quality and crop production in a loach (*Misgurnus anguillicandatus*) nest fern (*Asplenium nidus*) raft aquaponics system. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 102, 214-222.
120. Licamele, J. D. (2009). Biomass production and nutrient dynamics in an aquaponics system.
121. Liu, F. G., & Liao, I. C. (1999). Effect of feeding regimen on the food consumption, growth, and body composition in hybrid striped bass *Morone saxatilis* × *M. chrysops*. *Fisheries science*, 65(4), 513-519.
122. Love D., Fry J., Genello L., Hill E., Frederick A., Li X., Semmens K. (2014). An international survey of aquaponics practitioners, *PloS One* 9(7): e102662.
123. Love D., Fry J., Li X., Hill E., Genello L., Semmens K., Thompson R. (2015). Commercial aquaponics production and profitability: Findings from an international survey, *Aquaculture* 435: 67–74.

124. Lovell, T. (1989). Nutrition and feeding of fish (Vol. 260). New York: Van Nostrand Reinhold.
125. Lupatsch, I., & Kissil, G. W. (1998). Predicting aquaculture waste from gilthead seabream (*Sparus aurata*) culture using a nutritional approach. *Aquatic Living Resources*, 11(4), 265-268.
126. Magalhães, R., Sánchez-López, A., Leal, R. S., Martínez-Llorens, S., Oliva-Teles, A., & Peres, H. (2017). Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 476, 79-85.
127. Makkar, H. P., Tran, G., Heuzé, V., & Ankers, P. (2014). State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 197, 1-33.
128. Marino, G., Cataldi, E., Pucci, P., Bronzi, P., & Cataudella, S. (1994). Acclimation trials of wild and hatchery sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fry at different salinities. *Journal of applied ichthyology*, 10(1), 57-63.
129. Masroor, W., Farcy, E., Gros, R., & Lorin-Nebel, C. (2018). Effect of combined stress (salinity and temperature) in European sea bass *Dicentrarchus labrax* osmoregulatory processes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 215, 45-54.
130. Meade, J. W. (1985). Allowable ammonia for fish culture. *The Progressive Fish-Culturist*, 47(3), 135-145.
131. Medina, M., Jayachandran, K., Bhat, M. G., & Deoraj, A. (2016). Assessing plant growth, water quality and economic effects from application of a plant-based aquafeed in a recirculating aquaponic system. *Aquaculture international*, 24(1), 415-427.

132. Meinken, E. (1996). Accumulation of nutrients in expanded clay used for indoor plantings. In International Symposium Growing Media and Plant Nutrition in Horticulture 450 (pp. 321-328).
133. Moriarty, M. J., Semmens, K., Bissonnette, G. K., & Jaczynski, J. (2018). Inactivation with UV-radiation and internalization assessment of coliforms and *Escherichia coli* in aquaponically grown lettuce. LWT, 89, 624-630.
134. Naegel, L. C. (1977). Combined production of fish and plants in recirculating water. Aquaculture, 10(1), 17-24.
135. Nebel, C., Romestand, B., Nègre-Sadargues, G., Grousset, E., Aujoulat, F., Bacal, J., & 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.
136. Ng, W. K., & Romano, N. (2013). A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. Reviews in Aquaculture, 5(4), 220–254. <https://doi.org/10.1111/raq.12014>.
137. Nozzi, V., Strofaldi, S., Piquer, I. F., Di Crescenzo, D., Olivotto, I., & Carnevali, O. (2016a). *Amyloodinium ocellatum* in *Dicentrarchus labrax*: Study of infection in salt water and freshwater aquaponics. Fish & shellfish immunology, 57, 179-185.
138. Nozzi, V., Parisi, G., Di Crescenzo, D., Giordano, M., & Carnevali, O. (2016b). Evaluation of *Dicentrarchus labrax* meats and the vegetable quality of *Beta vulgaris* var. *cicla* farmed in freshwater and saltwater aquaponic systems. Water, 8(10), 423.
139. Nuwansi, K. K. T., Verma, A. K., Prakash, C., Tiwari, V. K., Chandrakant, M. H., Shete, A. P., & Prabhath, G. P. W. A. (2016). Effect of water flow rate on

- polyculture of koi carp (*Cyprinus carpio* var. koi) and goldfish (*Carassius auratus*) with water spinach (*Ipomoea aquatica*) in recirculating aquaponic system. *Aquaculture international*, 24(1), 385-393.
140. Ogunji, J., Schulz, C., & Kloas, W. (2008). Growth performance, nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed housefly maggot meal (magma) diets. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8(1), 141-147.
 141. Ostaszewska, T., Dabrowski, K., Kwasek, K., Verri, T., Kamaszewski, M., Sliwinski, J., & Napora-Rutkowski, L. (2011). Effects of various diet formulations (experimental and commercial) on the morphology of the liver and intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Aquaculture Research*, 42(12), 1796-1806.
 142. Olsen, R. L., & Hasan, M. R. (2012). A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends in Food Science & Technology*, 27(2), 120-128.
 143. Omoyinmi, G. A. K., & Olaoye, O. J. (2012). Growth Performance of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* Fed Diets Containing Different Sources of Animal Protein. *Libyan Agriculture Research Center Journal International* 3, 1, 18-23.
 144. Pantanella, E., Cardarelli, M., Colla, G., Rea, E., & Marcucci, A. (2010). Aquaponics vs. hydroponics: production and quality of lettuce crop. In XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): International Symposium on 927 (pp. 887-893).
 145. Pantanella, E., Cardarelli, M., Colla, G., Rea, E., & Marcucci, A. (2012). Aquaponics vs. Hydroponics: production and quality of lettuce crop. *Acta Hort*, 927.

146. Pappa, V. A., Kapsis, P., Mente, E., & Berillis, P. (2017). Aquaponics Software in Greece. *Journal of Fisheries Sciences. com*, 11(3), 1.
147. Patillo, D.A. An Overview of Aquaponic Systems: Hydroponic Components (2017). *NCRCTechnicalBulletins*.
19.http://lib.dr.iastate.edu/ncrac_techbulletins/19.
148. Piccolo, G., Marono, S., Gasco, L., Iannaccone, F., Bovera, F., & Nizza, A. (2014). Use of *Tenebrio molitor* larvae meal in diets for Gilthead seabream *Sparus aurata* juveniles. In 1st International conference “Insects to Feed the World” (pp. 68-68).
149. Pickett, G. D., & Pawson, M. G. (1994). *Sea Bass: Biology* (Vol. 12). Springer Science & Business Media.
150. Rakocy, J. E., & Hargreaves, J. A. (1993). Nutrient accumulation in a recirculating aquaculture system integrated with hydroponic vegetable production (Vol. 3495).
151. 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.
152. Rakocy, J.E., Shultz, R.C., Bailey, D.S. and Thoman, E.S. (2004) Aquaponic production of tilapia and basil: comparing a batch and staggered cropping system. *Acta Horticulturae (ISHS)* 648:63-69.
153. Rakocy J., Master M.P., Losordo T.M. (2006) Recirculating aquaculture tank production system : Aquaponics – integrating fish and plant culture. SRAC publication no. 454. USDA

154. Randall, D. J., & Tsui, T. K. N. (2002). Ammonia toxicity in fish. *Marine pollution bulletin*, 45(1-12), 17-23.
155. Rapatsa, M. M., & Moyo, N. A. (2017). Evaluation of Imbrasia belina meal as a fishmeal substitute in *Oreochromis mossambicus* diets: Growth performance, histological analysis and enzyme activity. *Aquaculture Reports*, 5, 18-26.
156. Resh, H. M. (2012). *Hydroponic food production: a definitive guidebook for the advanced home gardener and the commercial hydroponic grower*. CRC Press.
157. Riche, M., & Garling, D. (2003). Feeding Tilapia in Intensive Recirculating Systems. North Central Regional Aquaculture Center, (August), 0–3.
158. Riche, M., Oetker, M., Haley, D. I., Smith, T., & Garling, D. L. (2004). Effect of feeding frequency on consumption, growth, and efficiency in juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*).
159. Robaina, L., Pirhonen, J., Mente, E., Sánchez, J., & Goosen, N. (2019). Fish Diets in Aquaponics. In *Aquaponics Food Production Systems* (pp. 333-352). Springer, Cham.
160. Roosta, H. R., & Hamidpour, M. (2011). Effects of foliar application of some macro-and micro-nutrients on tomato plants in aquaponic and hydroponic systems. *Scientia Horticulturae*, 129(3), 396-402.
161. 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.
162. Saeki, A. (1963). The composition and some chemical control of the sea water of the closed circulation aquarium. *Bulletin of the Marine Biology Station. Asamushi, Tohoku University*, 11, 99-104.

163. Saha, S., Monroe, A., & Day, M. R. (2016). Growth, yield, plant quality and nutrition of basil (*Ocimum basilicum* L.) under soilless agricultural systems. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(2), 181-186.
164. Samarakoon, U. C., Weerasinghe, P. A., & Weerakkody, W. A. P. (2006). Effect of electrical conductivity (EC) of the nutrient solution on nutrient uptake, growth and yield of leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) in stationary culture.
165. Sánchez-Vázquez, F. J., Azzaydi, M., Martinez, F. J., Zamora, S., & Madrid, J. A. (1998). Annual rhythms of demand-feeding activity in sea bass: evidence of a seasonal phase inversion of the diel feeding pattern. *Chronobiology international*, 15(6), 607-622.
166. Sánchez-Muros, M. J., Barroso, F. G., & Manzano-Agugliaro, F. (2014). Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *Journal of Cleaner Production*, 65, 16-27.
167. Sánchez-Muros, M. J., Barroso, F. G., & De Haro, C. (2016). Brief summary of insect usage as an industrial animal feed/feed ingredient. In *Insects as Sustainable Food Ingredients* (pp. 273-309). Academic Press.
168. Savvas, D., Passam, H. C., Olympios, C., Nasi, E., Moustaka, E., Mantzos, N., & Barouchas, P. (2006). Effects of ammonium nitrogen on lettuce grown on pumice in a closed hydroponic system. *HortScience*, 41(7), 1667-1673.
169. Schneider, O., Amirkolaie, A. K., Vera-Cartas, J., Eding, E. H., Schrama, J. W., & Verreth, J. A. (2004). Digestibility, faeces recovery, and related carbon, nitrogen and phosphorus balances of five feed ingredients evaluated as fishmeal alternatives in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research*, 35(14), 1370-1379.

170. Schneider, O., Sereti, V., Eding, E. H., & Verreth, J. A. J. (2004). Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquac Eng* 32:379–401.
171. Schwarz, M. (2012). *Soilless culture management* (Vol. 24). Springer Science & Business Media.
172. Seawright D., Stickney R., Walker R. (1998). Nutrient dynamics in integrated aquaculture-hydroponics systems, *Aquaculture*, 160: 215-237
173. Shete, A. P., Verma, A. K., Chadha, N. K., Prakash, C., Peter, R. M., Ahmad, I., & Nuwansi, K. K. T. (2016). Optimization of hydraulic loading rate in aquaponic system with Common carp (*Cyprinus carpio*) and Mint (*Mentha arvensis*). *Aquacultural engineering*, 72, 53-57.
174. Silva, C. R., Gomes, L. C., & Brandão, F. R. (2007). Effect of feeding rate and frequency on tambaqui (*Colossoma macropomum*) growth, production and feeding costs during the first growth phase in cages. *Aquaculture*, 264(1-4), 135-139.
175. Sneed, K., Allen, K., & Ellis, J. E. (1975). Fish farming and hydroponics. *Aquaculture and the fish farmer*, 1(1), 11-18.
176. Somerville, C., Cohen, M., Pantanella, E., Stankus, A. and Lovatelli, A. (2014). Small-scale aquaponic food production: integrated fish and plant farming. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, (589), p.I.
177. Spotte S. (1991) *Captive Seawater Fishes*. John Wiley & Sons, New York, pp 94
178. Stagnari, F., Galieni, A., & Pisante, M. (2015). Shading and nitrogen management affect quality, safety and yield of greenhouse-grown leaf lettuce. *Scientia Horticulturae*, 192, 70-79.

179. 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*, 9, e11522.
180. Thompson, H. C., Langhans, R. W., Both, A. J., & Albright, L. D. (1998). Shoot and root temperature effects on lettuce growth in a floating hydroponic system. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123(3), 361-364.
181. Timmons, M. B., Ebeling, J. M., Wheaton, F. W., Summerfelt, S. T., & Vinci, B. J. (2002). *Recirculating Aquaculture Systems*, 2nd Editions. Cayuga Aqua Ventures, LLC., Ithaca, NY, 760.
182. Torno, J., Einwächter, V., Schroeder, J. P., & Schulz, C. (2018). Nitrate has a low impact on performance parameters and health status of on-growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) reared in RAS. *Aquaculture*, 489, 21-27.
183. Tsevis, N., Klaoudatos, S., & Conides, A. (1992). Food conversion budget in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, fingerlings under two different feeding frequency patterns. *Aquaculture*, 101(3-4), 293-304.
184. Tucker, B. J., Booth, M. A., Allan, G. L., Booth, D., & Fielder, D. S. (2006). Effects of photoperiod and feeding frequency on performance of newly weaned Australian snapper *Pagrus auratus*. *Aquaculture*, 258(1-4), 514-520.
185. Turek, J., Sampels, S., Tilami, S. K., Červený, D., Kolářová, J., Randák, T., Mráz, J., Másilko, J., Steinbach, C., Burkina, V., Kozák, P., & Žlábek, V. (2020). Insects in the feed of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Actinopterygii, Salmonidae): Effect on growth, fatty acid composition, and sensory attributes. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 50(2), 171-181.

186. Türkmen, S., Eroldoğan, O. T., Yılmaz, H. A., Ölçülü, A., Inan, G. A. K., Erçen, Z., & Tekelioğlu, N. (2012). Compensatory growth response of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under cycled starvation and restricted feeding rate. *Aquaculture Research*, 43(11), 1643-1650.
187. 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
188. 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
189. Tyson, R. V., Treadwell, D. D., & Simonne, E. H. (2011). Opportunities and challenges to sustainability in aquaponic systems. *HortTechnology*, 21(1), 6-13.
190. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. (2015). *World Urbanization Prospects: The 2014 Revision*, (ST/ESA/SER. A/366). United Nations Population Division.
191. USEPA (1998). Addendum to “Ambient water quality criteria for ammonia—1984”. National Technical Information Service, Springfield, VA.
192. USEPA (1999). Update of Ambient Water Quality Criteria for Ammonia—Technical Version—1999. EPA-823-F-99-024. USEPA, Washington DC, USA.
193. Van Broekhoven, S., Oonincx, D. G., Van Huis, A., & Van Loon, J. J. (2015). Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: Tenebrionidae) on diets composed of organic by-products. *Journal of insect physiology*, 73, 1-10.

194. Van Huis, A., Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., & Vantomme, P. (2013). Edible insects: future prospects for food and feed security (No. 171). Food and Agriculture Organization of the United Nations.
195. Van Rijn, J. (2013). Waste treatment in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 53, 49-56.
196. Varsamos, S., Nebel, C. and Charmantier, G. (2005). Ontogeny of osmoregulation in post-embryonic fish: a review. *Comp. Biochem. Physiol.* 141A, 401-429.
197. Venturini, G., Cataldi, E., Marino, G., Pucci, P., Garibaldi, L., Bronzi, P. and Cataudella, S. (1992). Serum ions concentration and ATPase activity in gills, kidney and oesophagus of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Pisces, Perciformes) during acclimation trials to fresh water. *Comp. Biochem. Physiol.* 103A, 451-454.
198. Vessey, J. K., Walsh, K. B. and Layzell, D. B. (1988). Oxygen limitation of N₂ fixation in stem-girdled and nitrate-treated soybean. *Physiol. Plant.* 73, 113-121.
199. Villarroel, M., Rodriguez Alvariño, J. M., & Duran Altisent, J. M. (2011). Aquaponics: integrating fish feeding rates and ion waste production for strawberry hydroponics. *Spanish journal of agricultural research*, 9(2), 537-545.
200. Vlahos, N., Levizou, E., Stathopoulou, P., Berillis, P., Antonopoulou, E., Bekiari, V., Krigas, N., Kormas, K. and Mente, E. (2019). An Experimental Brackish Aquaponic System Using Juvenile Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) and Rock Samphire (*Crithmum maritimum*). *Sustainability*, 11(18), 4820.
201. Vlahos, N., Levizou, E., Patsea, E., Tasiou, K., Berillis, P., Antonopoulou, E., ... & Mente, E. (2023). Salinity affects the efficiency of a brackish aquaponics

- system of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rock samphire (*Crithmum maritimum*). *Aquaculture*, 571, 739-493.
202. Von Wiren, N., Gazzarrini, S., Frommer, W.B., 1997. Regulation of mineral nitrogen uptake in plants. *Plant Soil* 196, 191–199.
 203. Wahyuningsih, S., Effendi, H., & Wardiatno, Y. (2015). Nitrogen removal of aquaculture wastewater in aquaponic recirculation system. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 8(4), 491-499.
 204. Waite, R., Malcolm, B.R., Brummett, S., Castine, N., Chaiyawannakarn, S., M. Kaushik, R.M., Nawapakpilai, & Phillips, M. (2014). Improving productivity and environmental performance of aquaculture. *WorldFish*.
 205. Waller, U., Buhmann, A. K., Ernst, A., Hanke, V., Kulakowski, A., Wecker, B., Orellana, J., Papenbrock, J. (2015). Integrated multi-trophic aquaculture in a zero-exchange recirculation aquaculture system for marine fish and hydroponic halophyte production. *Aquac Int* 23(6):1473–1489.
 206. Wan, A. H., Davies, S. J., Soler-Vila, A., Fitzgerald, R., & Johnson, M. P. (2019). Macroalgae as a sustainable aquafeed ingredient. *Reviews in Aquaculture*, 11(3), 458-492.
 207. Wang, N., Xu, X., & Kestemont, P. (2009). Effect of temperature and feeding frequency on growth performances, feed efficiency and body composition of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*). *Aquaculture*, 289(1-2), 70-73.
 208. Wang G., Peng K., Hu J., Yi C., Chen X., Wu H., Huang Y. (2019). Evaluation of defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as an alternative protein ingredient for juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) diets. *Aquaculture*, 507, 144-154.

209. White, P. J. (2012). Ion uptake mechanisms of individual cells and roots: short-distance transport. In Marschner's mineral nutrition of higher plants (pp. 7-47). Academic Press.
210. Wilson L. & Brian L. (2006). A Comparison of Three Different Hydroponic Sub-systems (gravel bed, floating and nutrient film technique) in an Aquaponic Test System, *Aquaculture International*, 14(6): 539-550
211. Wongkiew, S., Hu, Z., Chandran, K., Lee, J. W., & Khanal, S. K. (2017). Nitrogen transformations in aquaponic systems: A review. *Aquacultural Engineering*, 76, 9-19.
212. World Health Organization. (1993). World health statistics annual 1992. World health organization.
213. Yi, L., Lakemond, C. M., Sagis, L. M., Eisner-Schadler, V., van Huis, A., & van Boekel, M. A. (2013). Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. *Food chemistry*, 141(4), 3341-3348.
214. Yildiz 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: 1-17.
215. Yogev, U., Barnes, A., & Gross, A. (2016). Nutrients and energy balance analysis for a conceptual model of a three loops off grid, aquaponics. *Water*, 8(12), 589.
216. 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.
217. Zar, J. H. (1999). *Biostatistical Analysis*. New Jersey: Prentice-Hall Inc.

218. Zboralski, A., Biessy, A., & Fillion, M. (2017). Rhizosphere colonization by plant-beneficial *Pseudomonas* spp.: thriving in a heterogeneous and challenging environment. *Advances in PGPR Research*, 197-217.

Ελληνική και ηλεκτρονική Βιβλιογραφία

1. Μεντέ, Ε. και Νέγκας Ι.(2011). Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, σελ, 224-228.
2. Παπουτσόγλου Σ.Ε. (2008). Διατροφή Ιχθύων. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, Αθήνα, σελ 127
3. Σάββας, Δ. (2012). Καλλιέργειες εκτός εδάφους: υδροπονία, υποστρώματα. *Εκδόσεις ΑγροΤύπος*, σελ, 528.
4. <https://gogreenaquaponics.com>