

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

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Μικροβιολογική ποιότητα νερού της λίμνης Κάρλας»**

**Μαρία Μπανταβάνη**

**ΒΟΛΟΣ 2014**

**«Μικροβιολογική ποιότητα νερού της λίμνης Κάρλας»**

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:**

- 1) **Ιωάννης Μποζιάρης**, Μόνιμος Επίκουρος Καθηγητής, Υγιεινή και Συντήρηση Ιχθυηρών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Επιβλέπων***,
- 2) **Κωνσταντίνος Κορμάς**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Οικολογία Υδρόβιων Μικροοργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***,
- 3) **Βαφείδης Δημήτριος**, Καθηγητής, Βιοποικιλότητα των Θαλάσσιων Βενθικών Ασπονδύλων και άμεση-έμμεση χρησιμότητά τους, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***,

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους όσους βοήθησαν να φέρω εις πέρας την Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία μου. Τον επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κ. Μποζιάρη Ιωάννη για την πολύτιμη βοήθειά του, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος, όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, την κα. Φαίη Παρλαπάνη για την υποστήριξη καθόλη τη διάρκεια της μεταπτυχιακής μου διατριβής, τα μέλη της εξεταστικής μου επιτροπής, τον κ. Κορμά Κωνσταντίνο για την άμεση πληροφόρηση και βοήθεια όσες φορές χρειάστηκε καθώς και τον κ. Βαφείδη Δημήτριο για την πολύτιμη συμμετοχή του.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα Δότη Παπαδημητρίου για την άμεση βοήθειά της καθώς και το Φορέα Διαχείρισης της Περιοχής Οικοανάπτυξης Κάρλας – Μαυροβουνίου – Κεφαλόβρυσου – Βελεστίνου για τα πολύτιμα στοιχεία που μου έδωσαν.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου για την συμπαράσταση, βοήθεια και κατανόηση για όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής ήταν η διερεύνηση της μικροβιολογικής ποιότητας των υδάτων της Λίμνης Κάρλας με τη χρήση μικροβιακών δεικτών. Επιμέρους στόχοι της ήταν: α) να διαπιστωθεί πώς μεταβάλλονται ο αριθμός των ειδών και οι πληθυσμοί των βακτηρίων σε συγκεκριμένες περιόδους του έτους, β) να εντοπιστούν πιθανές σημειακές ή μη, πηγές μόλυνσης των υδάτων της Λίμνης Κάρλας και γ) να μελετηθεί η αντίδραση των συγκεκριμένων μικροοργανισμών σε διαφορετικές συνθήκες αλατότητας. Οι μικροβιακοί δείκτες που μελετήθηκαν ήταν: 1) η Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX), 2) η οικογένεια *Enterobacteriaceae*, 3) *Salmonella* spp., 4) το *E. coli* σε συνδυασμό με τα Coliforms, 5) τα *Enterococcus* spp., 6) τα *Vibrio* spp., 7) τα *Aeromonas* spp. και 8) τα yeast/moulds. Η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν η καλλιέργεια σε εκλεκτικά ή μη εκλεκτικά εργαστηριακά υλικά με την μέθοδο των διαδοχικών αραιώσεων, ενώ η στατιστική ανάλυση που διεξήχθη ήταν αυτή της ανάλυσης διακύμανσης (one way ANOVA), ο έλεγχος των μέσων όρων έγινε με την εφαρμογή του ελέγχου του κριτηρίου του Tukey, ενώ χρησιμοποιήθηκε και το t-paired test. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν τους μήνες Μάρτιο, Ιούνιο, Ιούλιο και Σεπτέμβριο του 2014. Οι θέσεις δειγματοληψίας ήταν: α) το σημείο εισόδου της αποστραγγιστικής τάφρου (κωδικός 2T), β) πλησίον του βυθομετρητή (κωδικός KRL), γ) η έξοδος Κάρλας (κωδικός X), και δ) η έξοδος της αποστραγγιστικής τάφρου (κωδικός XS). Λόγω του ότι τα νερά της λίμνης είναι υφάλμυρα και κινδυνεύουν να καταστούν ακόμη πιο αλμυρά στο μέλλον διεξήχθησαν δυο πειράματα. Το πρώτο έλαβε χώρα το Μάρτιο, χρησιμοποιήθηκε αραιωμένο (1/10) νερό από τη θέση KRL, το οποίο υποβλήθηκε σε τρία διαφορετικά επίπεδα αλατότητας. Στο δεύτερο πείραμα που

πραγματοποιήθηκε τον Ιούνιο, χρησιμοποιήθηκαν αραιωμένα (1/10) δείγματα νερού από τις θέσεις 2T, KRL και XS στα οποία προστέθηκε αποστειρωμένο θαλασσινό νερό. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων έδειξαν πως τα *Enterococcus* spp., τα *Aeromonas* spp., το *E. coli* και τα yeast/moulds ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml σε όλα τα δείγματα. Τα *Salmonella* spp. ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml στη θέση 2T τον Ιούνιο, το ίδιο συνέβη σε αυτή τη θέση και τον Ιούλιο, ενώ το Σεπτέμβριο βρέθηκε σε μικρούς πληθυσμούς. Τα *Vibrio* spp. ήταν άνω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml μόνο στο δείγμα της θέσης KRL τον μήνα Ιούνιο, ενώ δεν εξετάστηκαν τους μήνες Ιούλιο και Σεπτέμβριο. Όσον αφορά τους υπόλοιπους μικροβιακούς δείκτες, οι μέσοι όροι του καθενός βρέθηκε να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στις θέσεις αλλά και ανάμεσα στους μήνες. Στα πειράματα της αλατότητας, στο πρώτο πείραμα παρατηρήθηκε αύξηση των μικροοργανισμών, ενώ στο δεύτερο δεν συνέβη το ίδιο για όλα τα βακτήρια. Πιο ειδικά δε τα *Vibrio* spp., στο πείραμα αλατότητας του Ιουνίου εμφανίστηκαν σε θέσεις που πριν ήταν κάτω του ορίου των 2 log cfu/ml. Δεν καταγράφηκε κάποια σημειακή πηγή μόλυνσης. Περιφερειακά της λίμνης Κάρλας λειτουργούν πάρα πολλές κτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις, τα βακτήρια μεταφέρονται από τα κόπρανα των ζώων στο έδαφος και μέσω της επιφανειακής απορροής στη λίμνη. Η μέθοδος των διαδοχικών αραιώσεων δεν μπορεί να υπολογίσει τα βακτήρια που εισέρχονται σε κατάσταση VBNC (Viable But Not Culturable).

**Λέξεις κλειδιά:** μικροβιακοί δείκτες, κοπρανώδης μόλυνση, λιμνιαία οικοσυστήματα, λίμνη Κάρλα.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	1
1.1. Η λίμνη Κάρλα.....	1
1.2. Η γεωγραφική θέση και η τοπογραφία.....	1
1.3. Τα υδρολογικά χαρακτηριστικά.....	3
1.4. Η γεωλογία της.....	6
1.5. Μετεωρολογικά στοιχεία.....	6
1.6. Πανίδα – Χλωρίδα - Ιχθυοπανίδα .....	7
1.7. Οι κτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις.....	9
1.8. Η χρήση των υπόγειων υδάτων από τις αγροτικές εκμεταλλεύσεις .....	12
1.9. Πρόσφατες δημοσιευμένες εργασίες για την λίμνη Κάρλα.....	14
1.10. Μικροοργανισμοί σε υδάτινα οικοσυστήματα .....	16
1.11. Μικροοργανισμοί σε λιμναία οικοσυστήματα.....	17
1.12. Μικροοργανισμοί ως δείκτες της ποιότητας των υδάτων .....	18
1.13. Μικροβιακοί δείκτες.....	19
1.14. Σκοπός .....	22
<b>2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b> .....	23
2.1. Δειγματοληψίες.....	23
2.2. Οι καιρικές συνθήκες τις εβδομάδες των δειγματοληψιών .....	24
2.3. Μικροβιακή ανάλυση .....	27
2.3.1. Η μέθοδος των διαδοχικών αραιώσεων .....	27
2.3.2. Επιβίωση μικροοργανισμών σε διαφορετικά επίπεδα αλατότητας .....	28
2.3.3. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων .....	28

<b>3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b> .....	31
3.1. Οι πληθυσμοί των μικροοργανισμών .....	31
3.2. Αποτελέσματα των πειραμάτων αλατότητας.....	38
<b>4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b> .....	43
<b>5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> .....	62
<b>6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	64
<b>7. ABSTRACT</b> .....	73
<b>8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ</b> .....	1



## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Η λίμνη Κάρλα

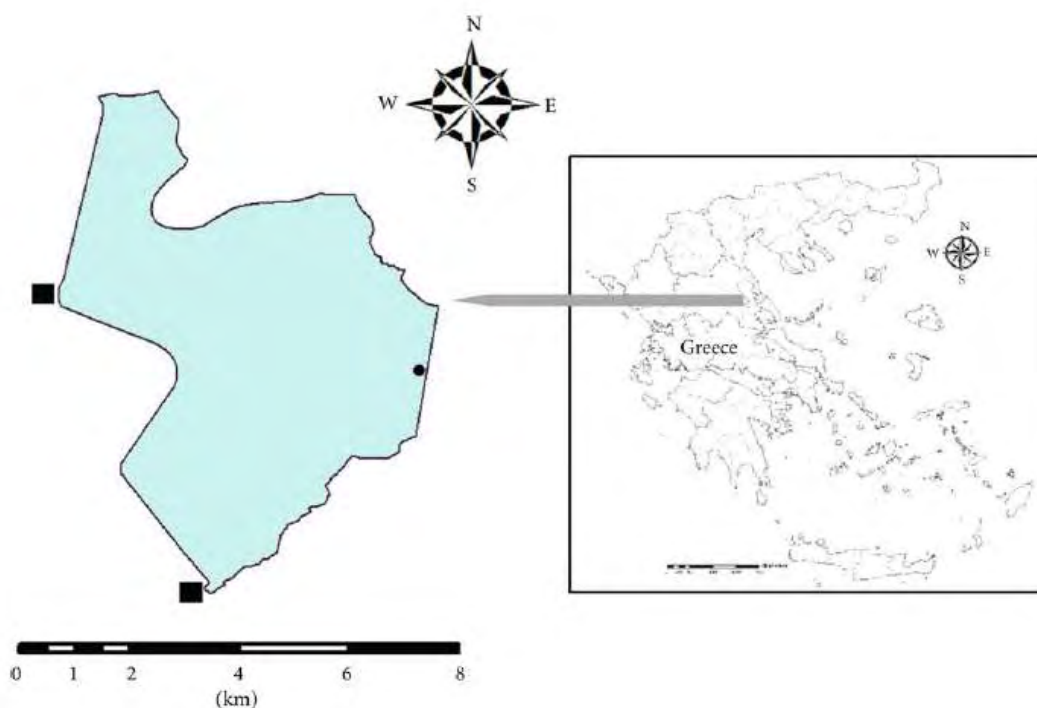
Αυτό που χαρακτηρίζει την ιστορία της λίμνης Κάρλας, είναι η αποξήρανση που έλαβε χώρα το 1962 (Papadimitriou *et al* 2012). Το ιστορικό της περιοχής χαρακτηρίζεται από την απόφαση του Ελληνικού Κράτους να την αποξηράνει λόγω των πλημμυρών που κατέστρεφαν τις γειτονικές καλλιέργειες αλλά και των κινδύνων που ελλόχευαν από τους μεγάλους πληθυσμούς εντόμων που διαβιούσαν σε ορισμένα βαλτώδη σημεία της.

Τις επόμενες δεκαετίες μετά την αποξήρανση της λίμνης λόγω των συνεπειών που είχε η παραπάνω ενέργεια, άρχισαν να δημιουργούνται οι πρώτες σκέψεις για μια πιθανή ανασύσταση της εν λόγω λίμνης οι οποίες κατέληξαν στην μελέτη του ΥΠΕΧΩΔΕ (2002) η οποία παραδόθηκε στο φορέα διαχείρισης της συγκεκριμένης περιοχής. Το 2009 ξεκίνησε η πλήρωση της περιοχής που ορίστηκε ότι θα καταλαμβάνει η «νέα» λίμνη Κάρλα με ύδατα (Nikouli *et al* 2013).

### 1.2. Η γεωγραφική θέση και η τοπογραφία

Η λίμνη Κάρλα βρίσκεται στην περιοχή της Θεσσαλίας και πιο συγκεκριμένα νοτιοανατολικά της πόλης της Λάρισας και βορειοανατολικά αυτής του Βόλου. Η λίμνη υφίστατο από την αρχαιότητα και ήταν γνωστή με το όνομα Βοϊβηίς λόγω της ομώνυμης πόλης (Βοϊβηίδα) που βρισκόταν πλησίον της, κατά τον μεσαίωνα άλλαξε το όνομα και έγινε Κάρλα (Ρούσκας 2001).

Η λίμνη ανατολικά και βορειοανατολικά συνορεύει με το όρος Μαυροβούνι, νοτιοανατολικά με το όρος του Πηλίου, νότια με το όρος Μεγαβούνι, δυτικά με τη λοφώδη ζώνη που εκτείνεται στο κέντρο του θεσσαλικού κάμπου. Τέλος σε ότι αφορά τα βόρεια σύνορα της λίμνης είναι ο Πηνειός ποταμός και το όρος Όσσα (Loukas *et al* 2003). Βέβαια όπως τονίζεται από Μούμου (2007), τα βόρεια σύνορα δεν ήταν ποτέ σαφώς καθορισμένα αλλά επηρεάζονταν από τις παροχές του Πηνειού ποταμού. Στην εικόνα 2 παρουσιάζεται η θέση της στον Ελλαδικό χώρο (Εικ. 1).



**Εικόνα 1:** Γενικός χάρτης προσανατολισμού της λίμνης Κάρλα, τα δυο μαύρα τετράγωνα και κύκλος είναι οι θέσεις δειγματοληψίας της εργασίας που αναφέρεται ως πηγή της εικόνας (πηγή: Nikouli *et al* 2013).

Η λίμνη Κάρλα από ανέκαθεν ήταν και παραμένει μια ρηχή λίμνη (Ananiadis 1956 από Οικονομου *et al.* 2012, Nikouli *et al* 2013), οι Papadimitriou *et al* (2013) στην εργασία τους υποστηρίζουν πως το μέγιστο βάθος της λίμνης είναι 4,5 m και πως το μέσο βάθος είναι περίπου 2 m. Η συνολική της έκταση ανέρχεται σε 38 km<sup>2</sup>, ενώ η

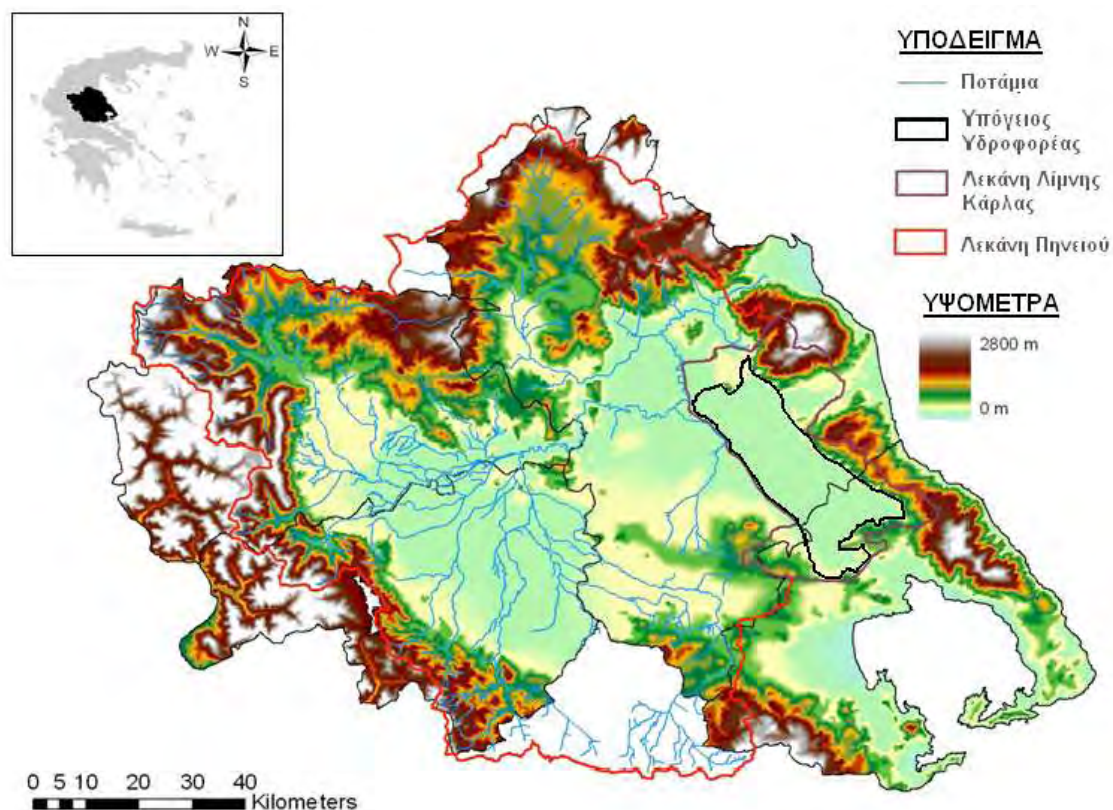
περίμετρός της υπολογίζεται σε 228 km (Papadimitriou *et al* 2013). Η ίδια πηγή αναφέρει πως το υψόμετρο εντός της λεκάνης απορροής κυμαίνεται από 50 m έως 2.000 m, με τη μέση τιμή να βρίσκεται στα 230 m. Οι κλίσεις εντός του χώρου που καταλαμβάνει η λίμνη είναι πολύ μικρές και γι' αυτό δημιουργούνταν κατάκλιση των γειτονικών γεωργικών εδαφών όποτε συνέβαινε πλημμυρικό φαινόμενο, πέραν όμως αυτού του προβλήματος, οι μικρές κλίσεις δημιουργούν προβλήματα αποστράγγισης και αλατότητας (Loukas *et al* 2003).

### **1.3. Τα υδρολογικά χαρακτηριστικά**

Η λεκάνη απορροής της λίμνης Κάρλας έχει έκταση 1171 km<sup>2</sup> (Papadimitriou *et al* 2013), ενώ σύμφωνα με Σιδηρόπουλο (2008) η έκταση της φυσικής λεκάνης απορροής ανέρχεται στα 1.663 km<sup>2</sup>, τη δε έκταση του υπόγειου υδροφορέα την υπολογίζει ο συγκεκριμένος ερευνητής σε 500 km<sup>2</sup> (Εικ. 2).

Η διαφορά που ανακύπτει μεταξύ των δυο παραπάνω βιβλιογραφικών πηγών σχετικά με την έκταση της λεκάνης απορροής της λίμνης ερμηνεύεται στην μελέτη Γκατζιούρα (2012), πιο συγκεκριμένα εκεί αποσαφηνίζεται ότι η συνολική έκταση της λίμνης πριν γίνει η αποξήρανση υπολογίζεται σε 1.663 km<sup>2</sup>, σήμερα όμως η συνολική έκταση που αποστραγγίζεται ανέρχεται στα 1.171 km<sup>2</sup>.

Όπως επισημαίνεται στη διαχειριστική μελέτη που συντάχθηκε από το ΥΠΕΧΩΔΕ (2002) ο υπόγειος υδροφόρος ορίζοντας πριν την αποξήρανση βρισκόταν σε βάθος 1,5-2 m, την εποχή που συντασσόταν η εν λόγω μελέτη, το βάθος είχε φτάσει στα 150 m.



**Εικόνα 2:** Στο χάρτη απεικονίζονται τα όρια της λεκάνης απορροής καθώς και του υπόγειου υδροφορέα (πηγή: Σιδηρόπουλος, 2008).

Όσον αφορά τα λιμνολογικά χαρακτηριστικά, αυτά αναφέρονται από Ananiadis (1956) στην μεταπτυχιακή διατριβή Γκατζιούρα (2012) ως εξής: α) είναι εύκρατη λίμνη με υψηλή θολερότητα, β) παρουσιάζει χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου κοντά στον πυθμένα, γ) επίσης χαρακτηρίζεται από υψηλές συγκεντρώσεις θρεπτικών ουσιών και δ) σύμφωνα με τα δεδομένα της τροφικής της κατάστασης πρόκειται για μια ευτροφική λίμνη.

Επίσης οι χειμάρροι που καταλήγουν στην λεκάνη απορροής της λίμνης Κάρλας, είναι σύμφωνα με τη μελέτη του φορέα διαχείρισης ΥΠΕΧΩΔΕ (2002) οι ακόλουθοι: 1) Αμύρου – Αγιάς, 2) Καστρίου, Καλαμακίου και Ελάφου, 3) Πετροκάναλου, 4) Βαθυρέματος και Κουμασίου.

Οι συγκεκριμένοι χείμαρροι σε συνδυασμό με την επιφανειακή απορροή από τις καλλιεργήσιμες εκτάσεις που περιβάλλουν την λίμνη την τροφοδοτούν με νερό και φερτά υλικά. Κύριος όμως προμηθευτής είναι ο Πηνειός ποταμός (Paradimitriou *et al* 2013). Τα έργα που κατασκευάστηκαν μετά την αποξήρανση και χρησιμοποιούνται μέχρι και σήμερα είναι τα παρακάτω: α) αναχώματα, αυτά κατασκευάστηκαν στο τμήμα του Πηνειού από τη Λάρισα μέχρι τη Γυρτώνη, με σκοπό την προστασία της πεδιάδας Λάρισας – Κάρλας από τις πλημμύρες του ποταμού β) Τάφρος 1Τ: συλλέγει τα νερά των χαμηλών εκτάσεων της πεδιάδας με σκοπό να τα διοχετεύσει στη σήραγγα Κάρλας. Στο αρχικό τμήμα της τάφρου 1Τ, συμβάλλουν και οι τάφροι 8Τ και 9Τ, γ) Τάφρος 2Τ: συλλέγει τα νερά των νοτιοδυτικών μεσαίων εκτάσεων της πεδιάδας με σκοπό να τα διοχετεύσει στη σήραγγα Κάρλας. Στην τάφρο 2Τ, καταλήγουν και οι τάφροι 3Τ έως 7Τ, δ) Σήραγγα Κάρλας: διοχετεύει τα νερά της πεδιάδας Λάρισας – Κάρλας στον Παγασητικό κόλπο, ε) Συλλεκτήρας Σ1: συλλέγει τα νερά των περισσότερων ρευμάτων της νοτιοδυτικής λεκάνης και τα διοχετεύει στον Πηνειό, στ) ο ταμιευτήρας Κάρλας διαμορφώνεται από την κατασκευή δύο αναχωμάτων, ενός δυτικού και ενός ανατολικού, η) Συλλεκτήρες: οι συλλεκτήρες κατασκευάστηκαν για την τροφοδοσία της λίμνης με νερά από την απορροή των ορεινών λεκανών και την αντιπλημμυρική προστασία των πεδινών περιοχών. Οι συλλεκτήρες που εκβάλλουν στον ταμιευτήρα είναι ο Σ3, Σ4, Σ6 και Σ7. Ο συλλεκτήρας Σ3, συλλέγει νερά από τις ανατολικές και νοτιοανατολικές, ορεινές και ημιορεινές λεκάνες απορροής, αλλά και της λεκάνης του Αλμυρού. Ο συλλεκτήρας Σ4, συλλέγει νερά από τις νότιες και νοτιοδυτικές ορεινές και ημιορεινές λεκάνες απορροής, καθώς και τα νερά της Κύριας Τάφρου 2Τ. Ο συλλεκτήρας Σ6, συλλέγει νερά από τις λεκάνες απορροής των υψωμάτων, νοτιοδυτικά της Κοινότητας Κερασιάς και εκβάλλει στον ταμιευτήρα. Ο

συλλεκτήρας Σ7, συλλέγει νερά από τις λεκάνες απορροής των υψωμάτων που εκτείνονται γύρω από την Κοινότητα Καναλίων και εκβάλλει στον ταμιευτήρα, θ) Αντλιοστάσια: DP1 Πέτρας και DP2 της περιοχής Καναλίων-Κερασιάς με σκοπό την άντληση των ομβρίων υδάτων των χαμηλών περιοχών γύρω από την λίμνη για την περαιτέρω τροφοδοσία της και την αντιπλημμυρική προστασία της.

Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί πως η συγκεκριμένη λίμνη δεν έχει φυσική σύνδεση με τη θάλασσα, αυτό που υπάρχει είναι μια κατασκευασμένη σήραγγα που οδηγεί τα ύδατά της στον Παγασητικό.

#### **1.4. Η γεωλογία της**

Η περιοχή της λίμνης Κάρλας γεωτεκτονικά ανήκει στην ομάδα των εσωτερικών Ελληνίδων και πιο συγκεκριμένα στην Πελαγονική Ζώνη ενώ υπάρχουν ασύμφωνα τοποθετημένα ιζήματα της Νεογενούς και Τεταρτογενούς (Μουντράκης 1985 από Μούμου 2007). Για τις τεταρτογενείς αποθέσεις ο Σιδηρόπουλος (2008) αναφέρει χαρακτηριστικά πως καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο τμήμα της συγκεκριμένης περιοχής έρευνας, ενώ σε ότι αφορά την κοκκομετρία τους την χαρακτηρίζει ποικίλη και την προέλευσή της ποτάμια ή λιμνιαία. Τέλος η συγκεκριμένη βιβλιογραφική πηγή τονίζει πως το γεωλογικό υπόβαθρο αποτελείται από μάρμαρα και σχιστόλιθους και χαρακτηρίζεται ως αδιαπέρατο.

#### **1.5. Μετεωρολογικά στοιχεία**

Τα μετεωρολογικά στοιχεία που επηρεάζουν το κλίμα μιας περιοχής είναι τα κατακρημνίσματα, η θερμοκρασία και ο άνεμος. Όπως αναφέρεται στις βιβλιογραφικές πηγές (ΥΠΕΧΩΔΕ 2002, και Γκατζιούρα 2012), το κλίμα της συγκεκριμένης περιοχής χαρακτηρίζεται ως εύκρατο Μεσογειακού τύπου. Αυτά που χαρακτηρίζουν τον εν λόγω τύπο είναι: α) τα ξηρά και θερμά καλοκαίρια και β) οι ήπιοι και συνάμα βροχεροί χειμώνες. Σύμφωνα με Μούμου (2007) το κλίμα της Λίμνης Κάρλας μετά την αποξήρανση της έγινε πιο ηπειρωτικό.

Η Μέση Θερμοκρασία κυμαίνεται μεταξύ 16-17°C και η Μέση Βροχόπτωση 500-700 mm/έτος (Σιδηρόπουλος 2008). Σύμφωνα με Γκατζιούρα (2012): α) «Το ύψος των μέσων ετήσιων κατακρημνίσεων της περιοχής μελέτης, ανέρχεται στα 560 mm, ανομοιόμορφα κατανεμημένο στο χώρο και το χρόνο» και β) «Η μέση ετήσια εξατμισοδιαπνοή είναι της τάξης των 775 mm και η μέση ετήσια θερμοκρασία 14,3 °C». Η σχετική υγρασία υπολογίζεται ότι κυμαίνεται στο 67 – 72% (Sidiropoulos *et al* 2012).

### **1.6. Πανίδα – Χλωρίδα – Ιχθυοπανίδα**

Η λίμνη Κάρλα πριν αποξηρανθεί χαρακτηριζόταν από τη μεγάλη παραγωγή της σε ψάρια, όπως αναφέρουν οι Papadimitriou *et al* (2013), την περίοδο 1945-48 υπολογίζεται ότι η μέση παραγωγή αλιευμάτων από τη λίμνη κυμάνθηκε μεταξύ των 62 και των 225 tn. Σύμφωνα με Γκατζιούρα (2012) στην λίμνη διαβιούν 143 είδη ορνιθοπανίδας, από τα οποία, τα 55 προστατεύονται από την Ευρωπαϊκή οδηγία 79/409 (Zalidis *et al* 2005)

Σε ότι αφορά την χλωρίδα της περιοχής, αυτή μπορεί να διακριθεί αναλόγως με τη χρήση της γης. Στα καλλιεργούμενα εδάφη συνήθως συναντούνται δενδρώδεις καλλιέργειες (κυρίως αμυγδαλιές), φυτά μεγάλης καλλιέργειας (σχεδόν αποκλειστικά βαμβάκι), λίγες ροδιές, μερικές μικτές καλλιέργειες και ορισμένες αγροδοασικές εκτάσεις.

Η αυτοφυής βλάστηση της λίμνης αποτελείται κυρίως από είδη των γενών *Typha* sp. και *Juncus* sp. (Zalidis *et al* 2005)

Ακόμη στην περιοχή της τέως λίμνης Κάρλα έχουν επισημανθεί τρεις ζώνες βλάστησης: 1) *Ostryo-carpinion* (βορειοδυτικά έως και το Μαυροβούνι), 2) *Quercion ilicis* (νότιο τμήμα) και 3) *Fagion moesiaca* (ορεινό τμήμα Μαυροβουνίου) (ΥΠΕΧΩΔΕ 2002 και Γκατζιούρα 2012).

Είδη αμφίβιων και ερπετών που αναφέρονται ότι μπορεί να συναντήσει κάποιος στην περιοχή Κάρλα – Μαυροβούνι – Κεφαλόβρυσο – Βελεστίνο σύμφωνα με την εργασία του ΥΠΕΧΩΔΕ (2002) είναι τα παρακάτω: α) *Monachus monachus*, β) *Bombina variegata*, γ) *Testudo hermanni*, δ) *Testudo marginata*, ε) *Emys orbicularis*, στ) *Cobitis taenia*.

Μερικά από τα είδη ζώων που επισημαίνονται στην παραπάνω μελέτη του ΥΠΕΧΩΔΕ (2002) για την περιοχή της Λίμνης είναι τα ακόλουθα: α) *Erinaceus europaeus*, β) *Talpa caeca*, γ) *Neomys anomalus*, δ) *Myotis myotis*, ε) *Pipistrelus kuhll*, στ) *Lepus europaeus*, η) *Mus musculus*, θ) *Martes foina*, ι) *Sus scrofa*, κ) *Cervus elaphus* και λ) *Capreolus capreolus*.

Τα είδη των ιχθύων που έχουν εντοπιστεί στη νέα λίμνη Κάρλα παρατίθενται στη λίστα που ακολουθεί: α) *Lepomis gibbosus*, β) *Knipowitschia thessala*, γ) *Cobitis* sp. δ) *Alburnus thessalicus* ε) *Carassius gibelio*, στ) *Cyprinus carpio*, η) *Rutilus*



*rutilus*, θ) *Scardinius erythrophthalmus*, ι) *Gambusia holbrooki* (Χαμόγλου 2013). Όπως αναφέρεται σύμφωνα με (Χαμόγλου 2013) από τα συνολικά 9 είδη, τα 2 είναι ενδημικά του Πηνειού (*Knipowitschia thessala* και *Alburnus thessalicus*) και τα 2 είναι ξενικά (*Lepomis gibbosus* και *Gambusia holbrooki*).

### 1.7. Οι κτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις πέριξ της λίμνης Κάρλας

Σε ολόκληρη την Θεσσαλία ένα μεγάλο τμήμα του πληθυσμού ασχολείται με την κτηνοτροφία. Η περιοχή της λίμνης Κάρλας έχει έντονη κτηνοτροφική δραστηριότητα και αυτό φαίνεται χαρακτηριστικά στην αποτύπωση όλων των κτηνοτροφικών μονάδων στο χάρτη της περιοχής από την αρμόδια υπηρεσία (Εικ. 3). Παράλληλα στον πίνακα 1 παρουσιάζονται όλες οι κτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις με τον τύπο των εγκαταστάσεων που διαθέτουν αλλά και την δυναμικότητά τους. Όπως διαπιστώνεται δεν έχουν καταθέσει όλες τον απαιτούμενο φάκελο όπως προβλέπεται σύμφωνα με την πρόσφατη νομοθεσία ώστε να λάβουν την απαιτούμενη άδεια. Εκείνο που θα πρέπει να σημειωθεί είναι πως βιολογικό καθαρισμό δεν διαθέτει καμία από αυτές (Απάντηση της Διεύθυνσης Αγροτικής Οικονομίας και Κτηνιατρικής, Περιφέρεια Θεσσαλίας – Περιφερειακές Ενότητες Μαγνησίας και Σποράδων σε ερώτηση για τις κτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις πέριξ της λίμνης Κάρλας).

**Πίνακας 1:** Οι κτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις πέριξ της λίμνης Κάρλας με βάση τον τύπο της εγκατάστασης, τα φιλοξενούντα ζώα, την δυναμικότητα και την ύπαρξη άδειας (πηγή: Φορέας Διαχείρισης Περιοχής Οικοανάπτυξης Κάρλας – Μαυροβουνίου – Κεφαλόβρυσου – Βελεστίνου και Δήμος Ρήγα Φεραίου).

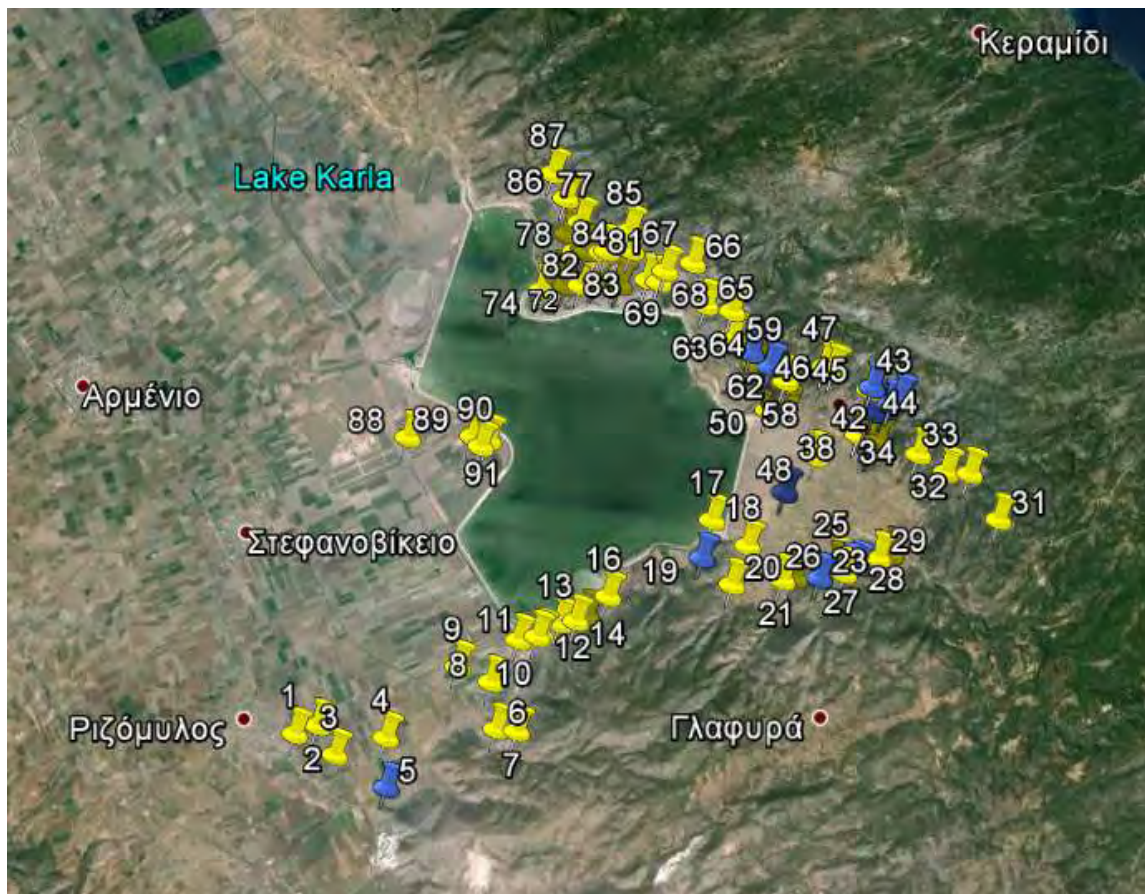
Α/Α	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ	ΖΩΑ	ΔΥΝΑΜΙΚΟΤΗΤΑ	ΑΔΕΙΑ
1	Μόνιμο Μαντρί			
2	Ανενεργό Μαντρί			
3	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		

4	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
5	Κτηνοτροφική Μονάδα	Αιγοπρόβατα	295	ναι
6	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
7	Μόνιμο Μαντρί	Γίδια		
8	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
9	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
10	Καλοκαιρινό Μαντρί	Πρόβατα		
11	Στάβλος	Βοοειδή		
12	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
13	Ανενεργό Μαντρί/Πούλησε τα Ζώα			
14	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα και Κατσίκες	Λίγα	
15	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα	Λίγα	
16	Στάβλος Μόνιμος	Βοοειδή		
17	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
18	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα και βοοειδή		
19	Κτηνοτροφική Μονάδα	Αιγοπρόβατα	495	ναι
20	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
21	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
22	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
23	Κτηνοτροφική Μονάδα	Κατσίκια	340/50	ναι
24	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα και Κατσίκες		
25	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
26	Μόνιμο Μαντρί	Κατσίκια		
27	Κτηνοτροφική Μονάδα	Αιγοπρόβατα	450	ναι
28	Κτηνοτροφική Μονάδα	Κατσίκια	450	ναι
29	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
30	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα και Κατσίκες		
31	Μόνιμο Μαντρί	Κατσίκια		
32	Καλοκαιρινό Μαντρί			
33	Μόνιμο Στάβλος	Βοοειδή		
34	Μόνιμο Στάβλος	Βοοειδή		
35	Κτηνοτροφική Μονάδα	Αιγοπρόβατα	190	ναι
36	Μόνιμο Στάβλος	Βοοειδή		
37	Μόνιμο Μαντρί	Κατσίκια		
38	Μόνιμο Μαντρί			
39	Μόνιμο Μαντρί			
40	Κτηνοτροφική Μονάδα	Αιγοπρόβατα		ναι
41	Κτηνοτροφική Μονάδα	Αιγοπρόβατα	490	ναι
42	Κτηνοτροφική Μονάδα	Αιγοπρόβατα	270	ναι
43	Κτηνοτροφική Μονάδα	Αιγοπρόβατα	400	ναι

44	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
45	Κτηνοτροφική Μονάδα	Πρόβατα, Γίδια		ναι
46	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
47	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
48	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
49	4 Κτηνοτροφικές Μονάδες	Πρόβατα	280	ναι
50	Καλοκαιρινό Μαντρί	Πρόβατα		
51	Κτηνοτροφική Μονάδα	Αιγοπρόβατα	300	ναι
52	Καλοκαιρινό Μαντρί	Πρόβατα		
53	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα και Βοοειδή		
54	Μόνιμο Μαντρί	Γουρούνια και 4 Βοοειδή		
55	Μόνιμο Μαντρί	Αιγοπρόβατα	400	ναι
56	Μόνιμο Μαντρί	Χοίροι		
57	Μόνιμο Μαντρί	Αλογα		
58	Μόνιμο Μαντρί	Χοίροι		
59	2 Κτηνοτροφικές Μονάδες	Αιγοπρόβατα	660/950	ναι
60	Κτηνοτροφική Μονάδα	Βοοειδή	95	ναι
61	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
62	Κτηνοτροφική Μονάδα	Αιγοπρόβατα	415	ναι
63	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
64	Μόνιμος Στάβλος	Βοοειδή		
65	Μόνιμο Μαντρί	Κατσίκια		
66	Μόνιμο Μαντρί	Κατσίκια		
67	Μόνιμο Μαντρί	Κατσίκια		
68	Χειμερινός Στάβλος	Βοοειδή		
69	Μόνιμο Μαντρί	Κατσίκια		
70	Μόνιμος Στάβλος	Βοοειδή		
71	Μόμιμος Στάβλος	Βοοειδή		
72	Μόμιμος Στάβλος	Βοοειδή		
73	Μόμιμος Στάβλος	Βοοειδή		
74	Μόμιμος Στάβλος			
75	Μόμιμος Στάβλος	Βοοειδή		
76	Μόμιμος Στάβλος			
77	Κτηνοτροφική Μονάδα			
78	Κτηνοτροφική Μονάδα			
79	Κτηνοτροφική Μονάδα			
80	Κτηνοτροφική Μονάδα			
81	Κτηνοτροφική Μονάδα			
82	Στάνη			
83	Στάνη			
84	Στάνη			
85	Στάνη			

86	Κτηνοτροφική Μονάδα			
87	Κτηνοτροφική Μονάδα			
88	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα		
89	Καλοκαιρινό Μαντρί	Πρόβατα		
90	Μόνιμο Μαντρί	Πρόβατα και Γουρούνια		
91	Καλοκαιρινό Μαντρί	Πρόβατα	600	

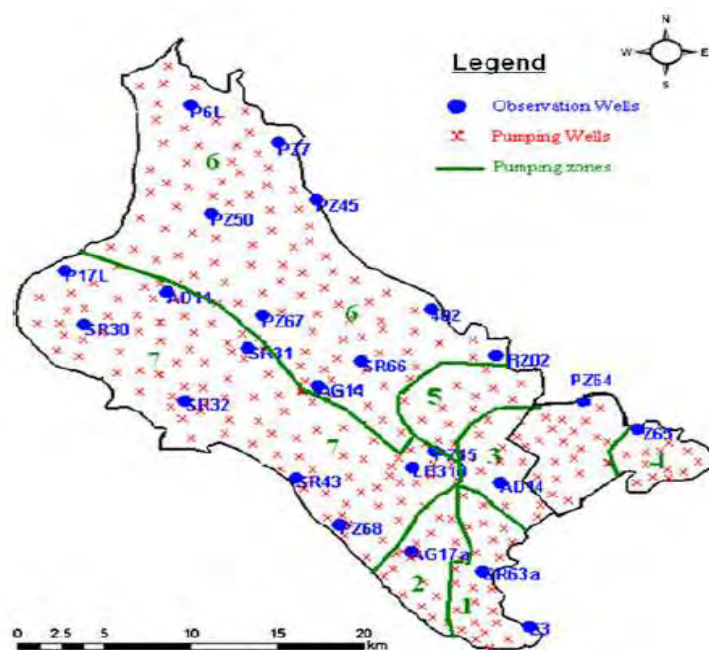
Όπως γίνεται σαφές από τα κενά του πίνακα δεν μπορεί να υπάρξει ξεκάθαρη εικόνα του πλήθους των ζώων αλλά και των ειδών που αυτά ανήκουν.



**Εικόνα 3:** Οι κτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις περίξ της λίμνης Κάρλας (πηγή: Φορέας Διαχείρισης Περιοχής Οικοανάπτυξης Κάρλας – Μαυροβουνίου – Κεφαλόβρυσου – Βελεστίνου).

### 1.8. Η χρήση των υπόγειων υδάτων από τις αγροτικές εκμεταλλεύσεις

Οι Sidiropoulos *et al* (2012) μελέτησαν τον υπόγειο υδροφορέα της λίμνης προκειμένου να εφαρμόσουν ένα μοντέλο υδρολογικής προσομείωσης και να εξακριβώσουν ποια θα είναι η κατάσταση της περιοχής αν δεν παρθούν μέτρα προστασίας των υπόγειων υδάτων. Αυτό που αναφέρουν είναι πως η στάθμη των υπόγειων υδάτων της περιοχής έχει κατέβει κατά 80 m σε σχέση με το 1987. Το δε σύστημα προσομοίωσης που εφαρμόσαν έδειξε πως μέχρι το 2044 η περιοχή θα έχει πολύ μεγάλο πρόβλημα σε συνδυασμό πάντοτε και με την Κλιματική Αλλαγή που αναμένεται να αυξήσει τα φαινόμενα ξηρασίας στην περιοχή. Καταλήγουν δε στο ότι θα πρέπει να μειωθεί σημαντικά ο αριθμός των γεωτρήσεων που λειτουργούν αυτή τη στιγμή εντός της λεκάνης απορροής της λίμνης Κάρλας. Στην εικόνα 4 παρουσιάζονται όλες οι γεωτρήσεις της περιοχής τη χρονιά που έλαβε χώρα η έρευνα των συγκεκριμένων επιστημόνων.



**Εικόνα 4:** Η λεκάνη απορροής της Κάρλας με όλες τις γεωτρήσεις (κόκκινα χ) που ήταν σε λειτουργία εντός της, την εποχή σύνταξης της έρευνας των Sidiropoulos *et al* (2011).

### 1.9. Πρόσφατες δημοσιευμένες εργασίες για την λίμνη Κάρλα

Η πρώτη χρονολογικά εργασία είναι αυτή των Οικονομου *et al* (2012) οι οποίοι εξέτασαν τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς που διαβιούσαν στην λίμνη Κάρλα την πρώτη χρονιά της λειτουργίας της η οποία σηματοδεύτηκε από μαζικούς θανάτους ψαριών. Οι εν λόγω επιστήμονες ανακάλυψαν είδη μικροοργανισμών που θα μπορούσαν να σχετίζονταν με τους θανάτους των ψαριών. Ακόμη, η παρουσία των ειδών που βρήκαν είναι χαρακτηριστική των υπέρ- ευτροφικών λιμνών.

Οι Paradimitriou *et al* (2013) εξέτασαν την λίμνη Κάρλα για την παρουσία μικροκυστινών (microcystins) στο νερό της αλλά και για το εάν συσσωρεύονταν στους ιστούς του εμπορικού είδους *Cyprinus carpio*. Πέραν των μικροκυστινών μελέτησαν και την κοινότητα του φυτοπλαγκτόν στην λίμνη. Σε ότι αφορά το φυτοπλαγκτόν εντοπίστηκαν 66 είδη, τα περισσότερα (31) άνηκαν στα Χλωρόφυτα, στην δεύτερη θέση ήταν τα Κυανοβακτήρια (14), στην Τρίτη τα Ευγλενόφυτα (8), στην τέταρτη τα Διάτομα (7), στην πέμπτη τα Κρυπτόφυτα μαζί με τα Απτόφυτα (2) και στην έκτη θέση τα Δινόφυτα με τα Ξανθόφυτα (1). Οι όποιες εξάρσεις σημειώνονταν στον πληθυσμό του φυτοπλαγκτόν την περίοδο Ιουνίου – Σεπτεμβρίου γινόντουσαν αποκλειστικά από τα κυανοβακτήρια. Γενικά τα κυανοβακτήρια αποτελούσαν όλο το διάστημα το 75% της μάζας του φυτοπλαγκτόν. Πρέπει να σημειωθεί πως μεταξύ των μηνών καταγράφηκαν αλλαγές στα κυριαρχούντα είδη στην κοινότητα του φυτοπλαγκτόν.

Οι μικροκυστίνες υπήρχαν σε όλα τα δείγματα του νερού και η συγκέντρωσή τους αυξήθηκε κατά τους θερινούς μήνες για να φτάσει την υψηλότερη τιμή τον Οκτώβριο. Η χαμηλότερη τιμή που καταγράφηκε ήταν 0,75 mg/L, ενώ η υψηλότερη

3,90 mg/L. Το μεγαλύτερο ποσοστό μικροκυστινών στο σώμα των ψαριών βρέθηκε τον μήνα Αύγουστο, ενώ σε ότι αφορά τα όργανα στο συκώτι.

Αυτά που επισημαίνουν για την λίμνη είναι πως: α) λόγω του ότι η υδρολογία της λίμνης δεν έχει ακόμη σταθεροποιηθεί μεταβάλλονται τα μορφομετρικά της χαρακτηριστικά, η θολρότητά της και οι συγκεντρώσεις των θρεπτικών ουσιών και β) ο Πηγεϊός ασκεί πολύ μεγάλη επιρροή στη λίμνη.

Στην εργασία τους οι Nikouli *et al* (2013) εξέτασαν τους πλαγκτονικούς οργανισμούς της λίμνης Κάρλας μετά την πρώτη της χρονιά που αναδημιουργήθηκε. Όλοι οι οργανισμοί που εντοπίστηκαν ανήκαν στα φύλα Mesomycetozoa, Chlorophyta, Fungi, Alveolata, Cercozoa, Cryptophyta και Stramenopiles. Ορισμένα δε από αυτά βρέθηκαν και πολύ νωρίς την άνοιξη. Όπως επισημαίνουν οι ερευνητές οι ευκαρυώτες που εντοπίστηκαν είναι τοξικοί – παρασιτικοί για τα ψάρια και υποδεικνύουν ότι η λίμνη βρίσκεται σε κατάσταση υπερτροφισμού. Αυτό που μελέτησαν ήταν η παρουσία των ευκαρυωτών σε σχέση με την ακμή και την πτώση των πληθυσμών των κυανοβακτηρίων στην λίμνη. Επίσης, κατέγραψαν τα είδη και μελέτησαν την ποικιλότητα των ευκαρυωτών στην λίμνη. Την άνοιξη επικρατούσαν τα Fungi (μύκητες) μαζί με τα Chlorophyta.

Το καλοκαίρι δεν κυριαρχούσε κάποιο συγκεκριμένο φύλο έναντι των υπολοίπων, αυτά που βρέθηκαν ήταν τα Fungi, Chlorophyta, Mesomycetozoa και τα Stramenopiles. Τέλος το φθινόπωρο το μεγαλύτερο ποσοστό άνηκε στα Alveolata και Cercozoa. Τα είδη που αναγνώρισαν είναι κυρίως παρασιτικοί – σαπροφυτικοί οργανισμοί και όχι τόσο βακτηριοφάγοι. Κλείνοντας όμως αυτό που επισημαίνουν είναι πως θα πρέπει να ελεγχθεί η λίμνη συστηματικά για τους ευκαρυώτες και τα επόμενα

χρόνια προκειμένου να καθοριστεί αν αυτά τα είδη που αναφέρονται στη συγκεκριμένη εργασία θα διατηρηθούν και στο μέλλον ή αν θα πάρουν τη θέση τους άλλα.

Στην εργασία των Chamoglou *et al* (2014) γίνεται μια παρουσίαση των χαρακτηριστικών της λίμνης έτσι όπως προέκυψαν μέσα από μια δωδεκάμηνη παρακολούθηση (Ιανουάριος 2012 – Δεκέμβριος 2012). Η χαμηλότερη θερμοκρασία των υδάτων της λίμνης ήταν 7°C τον Φεβρουάριο και η μεγαλύτερη 31,5 °C τον Αύγουστο. Αντίστοιχα ελάχιστη και η μέγιστη τιμή για το διαλυμένο οξυγόνο (Dissolved Oxygen) ήταν 2,24 mg/L τον Οκτώβριο 18,0 mg/L τον Ιανουάριο. Το pH ήταν βασικό (7,43 – 9,12), ενώ η αγωγιμότητα ήταν σχετικά αυξημένη σύμφωνα με τους ερευνητές (2,11 – 3,68 mS/cm).

Η διαύγεια των υδάτων της λίμνης τους ζεστούς μήνες του έτους είναι πάρα πολύ μικρή (0,19 m σύμφωνα με τον δίσκο Secchi) με τη μέγιστη τιμή να μην ξεπερνάει τα 0,5 m. Η μεγάλη θολερότητα της λίμνης οφείλεται στην εισαγωγή μεγάλων ποσοτήτων οργανικών ενώσεων στην λίμνη, στις εξάρσεις των φυκών, στο πλαγκτόν και γενικά στις συνθήκες ευτροφισμού που επικρατούν εντός της.

Η εργασία των Berillis *et al* (2014) είναι σε συνέχεια της εργασίας των Papadimitriou *et al* (2013) όπου καταδείχθηκε η παρουσία ιχθυοτοξικών κυανοβακτηρίων στο νερό της Κάρλα. Στην συγκεκριμένη εργασία εξετάστηκαν δείγματα ψαριών του είδους *Carassius gibelio* και τα οποία βρέθηκαν θετικά σε διάφορα σημεία του σώματός τους για τους τοξικούς μικροοργανισμούς με εξαίρεση τον εγκέφαλο.

### **1.10. Μικροοργανισμοί σε Υδάτινα Οικοσυστήματα**



Οι μικροοργανισμοί διαβιούν σε υδάτινα οικοσυστήματα, θαλάσσια και γλυκέων υδάτων. Ορισμένοι από τους λόγους που ευνοούν την ανάπτυξή τους σε αυτά τα ενδιαιτήματα είναι οι εξής: α) η πρόσβαση σε τρισδιάστατο χώρο, β) η μεγαλύτερη ευκολία στο να στηρίζουν το σώμα τους, δεν χρειάζονται εσωτερικό σκελετό και άκρα, αλλά μπορούν πολύ πιο εύκολα απλά να επιπλέουν, γ) είναι προστατευμένοι από ακραίες τιμές της θερμοκρασίας και της ακτινοβολίας, δ) απελευθερώνουν τους γαμέτες τους σε υγρό περιβάλλον, ε) ιδίως στα περιβάλλοντα των γλυκέων υδάτων δεν κινδυνεύουν από αφυδάτωση και τέλος ε) στα υδάτινα οικοσυστήματα υπάρχει άμεση διαθεσιμότητα σε οργανικά και ανόργανα συστατικά απαραίτητα για την ανάπτυξή τους (Sigeo 2005). Ωστόσο, υπάρχουν και ορισμένα μειονεκτήματα: α) ενδέχεται να υπάρξει διαφορά ωσμωτικής πίεσης μεταξύ του οργανισμού και του φυσικού περιβάλλοντος και β) επηρεάζονται άμεσα από οποιαδήποτε διατάραξη υπάρξει στο υδάτινο οικοσύστημα που διαβιούν (Sigeo 2005).

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη αυτών των οργανισμών στα συγκεκριμένα περιβάλλοντα, σύμφωνα με Hogg (2013) είναι: α) η θερμοκρασία, β) το pH, γ) το οξυγόνο, δ) το διοξείδιο του άνθρακα, ε) η ωσμωτική πίεση και στ) το φως.

### **1.11. Μικροοργανισμοί σε Λιμναία Οικοσυστήματα**

Τα λιμναία οικοσυστήματα αποτελούν ένα τμήμα των υδάτινων οικοσυστημάτων. Τα συγκεκριμένα ενδιαιτήματα χαρακτηρίζονται από τις δικές τους ιδιαίτερες συνθήκες. Οι παράγοντες κατά Sigeo (2005) που επιδρούν στην αύξηση των μικροοργανισμών σε αυτά είναι οι παρακάτω: α) τα χαρακτηριστικά της ίδιας της λίμνης, δηλαδή η μορφολογία της (π.χ. το βάθος της, η θολότητα της και η είσοδος

ανόργανων συστατικών), το υδατικό της ισοζύγιο και η αλληλεπίδρασή της με τα γειτονικά της οικοσυστήματα, β) το κλίμα της περιοχής, πιο αναλυτικά η προσπίπτουσα ηλιακή ακτινοβολία, η θερμοκρασία, οι βροχοπτώσεις και γ) η απομόνωσή της από άλλα υδάτινα οικοσυστήματα. Το τελευταίο έχει πολύ σοβαρή επίδραση στην ποικιλότητα της εκάστοτε λίμνης (αριθμός ενδημικών ειδών).

### **1.12. Μικροοργανισμοί ως Δείκτες της Ποιότητας των Υδάτων**

Στα υδάτινα οικοσυστήματα υπάρχει μεγάλη ποικιλότητα όσον αφορά τους μικροοργανισμούς. Λόγω όμως της ιδιαίτερης αξίας που έχει το νερό για τον ανθρώπινο οργανισμό, αλλά και για την βελτίωση του τρόπου ζωής, οι επιστήμονες κατέληξαν μετά από έρευνες σε ορισμένα είδη ή γένη μικροοργανισμών που τα χρησιμοποιούν ως δείκτες της ποιότητας των υδάτων.

Η κάθε χώρα έχει ορίσει αρμόδιους φορείς για την παρακολούθηση και την διαχείριση των υδατικών πόρων. Η ελληνική νομοθεσία σε ότι αφορά το πόσιμο νερό, όπως αναφέρεται στο βιβλίο των Παπαπετροπούλου και Μαυρίδου (1995), έχει εναρμονιστεί πλήρως με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία. Κύρια σημεία σύμφωνα με την ίδια πηγή, σε ότι αφορά τις μικροβιολογικές παραμέτρους, είναι τα ακόλουθα: α) δεν επιτρέπεται η παρουσία ολικών και κοπρανωδών κολοβακτηριδίων, οι στρεπτόκοκκοι κοπράνων και τα θειοαναγωγικά κλωστρίδια, β) οφείλεται να γίνεται παρακολούθηση των υδάτων για τυχόν ύπαρξη σαλμονέλας, παθογόνων σταφυλόκοκκων, εντεροϊών, βακτηριοφάγων κοπράνων, παρασιτικών οργανισμών, φυκών, καθώς και μορφοποιημένων στοιχείων και γ) το νερό «πρέπει να έχει (ενδεικτικό) όριο ολικού

αριθμού μεσόφιλων (37°C/24h) βακτηρίων 10/ml, και ψυχρόφιλων (22°C/72h) βακτηρίων 100/ml».

Τα χαρακτηριστικά που έχουν οι παραπάνω μικροοργανισμοί και τους καθιέρωσαν ως ιδανικούς δείκτες της ποιότητας των υδάτων είναι: α) ότι η αυξημένη παρουσία τους στα ύδατα μπορεί να συσχετιστεί με κινδύνους της ανθρώπινης υγείας, β) επιδεικνύουν παρόμοια αντοχή με τους παθογόνους μικροοργανισμούς σε περιβαλλοντικά στρες και γ) μπορούν να ανιχνευτούν με εύκολες και οικονομικές μεθόδους (Kinzelman *et al* 2003).

Τα υδάτινα οικοσυστήματα λειτουργούν ως «δεξαμενές» για τους μικροοργανισμούς και αυτοί που λειτουργούν ως παθογόνοι για τον άνθρωπο ανήκουν στα βακτήρια, στα πρωτόζωα, στους ιούς, στις έλμινθες (Bitton 2005). Σύμφωνα με Hynds *et al* (2014) η παρακολούθηση των υδάτων είναι πολύ σημαντική, δεδομένου ότι οι ασθένειες που προκαλούνται από την κατανάλωση ή ακόμη και με την απλή επαφή μολυσμένων υδάτων, είναι ιδιαίτερος σοβαρές και μάλιστα σε ορισμένες ευπαθείς ομάδες του πληθυσμού όπως είναι τα παιδιά και οι ηλικιωμένοι μπορεί να οδηγήσουν ακόμη και στο θάνατο.

### 1.13. Μικροβιακοί δείκτες

Ένα από τα πιο μελετημένα είδη στον κόσμο είναι το προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο *Escherichia coli*. Το βακτήριο αυτό είναι μέλος της οικογένειας των Enterobacteriaceae, στην οποία ανήκουν και άλλα αρνητικά κατά Gram βακτήρια. Υπάρχουν πολλά στελέχη, τα οποία διαφέρουν ως προς το πόσο παθογόνα μπορούν να είναι (Schaechter 2009). Ο χώρος που συναντάται είναι στο παχύ έντερο (ανθρώπων

και λοιπών θηλαστικών) και κατ' επέκταση στα κόπρανα, ο πληθυσμός του σε αριθμούς, μπορεί να φτάνει και  $10^7$ - $10^8$  ανά γραμμάριο κοπράνων και μέσω αυτών καταλήγει στο έδαφος και στο νερό (Schaechter, 2009).

Άλλα σημαντικά είδη είναι τα coliforms. Πρόκειται για αρνητικά κατά Gram βακτήρια, μέλη της οικογένειας Enterobacteriaceae, που ζουν στο παχύ έντερο του ανθρώπου και των θηλαστικών και διασπείρονται στο περιβάλλον με τα κόπρανα (Niamsiri & Batt 2009). Στα coliforms ανήκουν το *Escherichia coli* που προαναφέρθηκε, το *Enterobacter aerogenes*, το γένος *Citrobacter* και το γένος *Klebsiella* (Fung 2009).

Άλλα είδη που παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον είναι αυτά του γένους *Salmonella*. Το γένος *Salmonella* ανήκει και αυτό στην ίδια οικογένεια με το *Escherichia coli*, είναι και αυτά βακτήρια αρνητικά κατά Gram και διαβιούν στο παχύ έντερο θερμόαιμων ζώων (Niamsiri & Batt 2009). Μεταδίδεται κυρίως μέσω του νερού και των τροφίμων, ενώ η μετάδοσή της από άνθρωπο σε άνθρωπο είναι σπάνια. (Cohen & Gangarosa 1978 από Παπαπετροπούλου & Μαυρίδου 1995). Τα πιο συχνά είδη *Salmonella* που προκαλούν γαστρεντερίτιδες είναι η *S. enteritidis* και η *S. typhimurium* ( Παπαπετροπούλου & Μαυρίδου 1995)

Μία ακόμη σημαντική ομάδα, είναι αυτή των εντερόκοκκων (*Enterococcus* spp.). Η ομάδα των εντερόκοκκων είναι υποομάδα των κοπρανωδών στρεπτόκοκκων. Είναι θετικά κατά Gram βακτήρια και απομονώνονται συνήθως από τα κόπρανα ανθρώπων και ζώων. Παρόλο που η νομοθεσία αναφέρεται στην καταμέτρηση των κοπρανωδών στρεπτόκοκκων όσον αφορά το πόσιμο νερό στα υπάρχοντα θρεπτικά υλικά αναπτύσσονται οι εντερόκοκκοι (Παπαπετροπούλου & Μαυρίδου 1995). Η Γραμμένου (2005) στη διδακτορική της διατριβή αναφέρει τα ακόλουθα στοιχεία για

τους εντερόκοκκους, βασισμένη στις εργασίες των Ostrolenk (1947) και Burton (1949): α) δεν πολλαπλασιάζονται στο νερό, β) η ανίχνευσή τους στο νερό ερμηνεύεται ως «παλιά» μόλυνση και γ) έχουν μικρότερους πληθυσμούς από αυτούς των coliforms και μπορούν να επιβιώσουν στα υδάτινα περιβάλλοντα για περισσότερο χρόνο σε σχέση με αυτά.

Άλλα σημαντικά βακτήρια των υδάτινων οικοσυστημάτων, είναι αυτά του γένους *Vibrio*, είναι αρνητικά κατά Gram βακτήρια τα οποία ανήκουν στην οικογένεια Vibrionaceae (Ward *et al.* 2009). Αυτό που ξεχωρίζει είναι το *Vibrio cholerae*, το οποίο αποικίζει το λεπτό έντερο και προκαλεί λοίμωξη με την εντεροτοξίνη του, με αποτέλεσμα την παραγωγή εκκριτικής διάρροιας όταν εισέρχεται στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω του πόσιμου νερού (Αρσένη 1994 από Παπαπετροπούλου & Μαυρίδου 1995). Στα νερά αναψυχής το *Vibrio cholerae* που εισέρχεται στις θάλασσες μέσω των αποβλήτων, μπορεί να προκαλέσει χολέρα μετά από κατανάλωση οστρακοειδών (Παπαπετροπούλου & Μαυρίδου 1995).

Επιπλέον, τα *Aeromonas* αποτελούν ένα ακόμη σημαντικό γένος. Το συγκεκριμένο γένος ανήκει στην οικογένεια των Aeromonadaceae, πρόκειται για αρνητικά κατά Gram βακτήρια (Ingbiniosa *et al* 2012), ψυχρόφιλα έως μεσόφιλα και τα οποία απαντώνται σε όλους τους τύπους υδάτινων οικοσυστημάτων (Nawaz *et al* 2010). Σε παλιότερη εργασία αναφέρεται πως το γένος *Aeromonas* ανήκει στην οικογένεια Vibrionaceae (Burke & Gracey 1986). Όπως επισημαίνεται από τους Ingbiniosa *et al* (2012), οι φυλογενετικές αναλύσεις που έγιναν στην πορεία των ετών έδειξαν πως οι *Aeromonas* διαφέρουν από τα *Vibrios*. Τα είδη που κυρίως απασχολούν τους επιστήμονες είναι τα *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas cavia* και το *Aeromonas sobria* (Janda & Abbott 2010).

Επίσης, ένας ακόμη δείκτης που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση των υδάτων είναι η Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX). Δεν αποδίδει ακριβή στοιχεία για την μικροβιολογική ποιότητα των υδάτων, αλλά μια εικόνα της αποτελεσματικότητας της χλωρίωσης στο νερό ή μια ένδειξη ότι υπάρχει επιμόλυνση, όταν η ανάλυση αφορά πόσιμο νερό (Νικολαΐδη και Κωνσταντινίδη 2009).

Από τα είδη των μυκήτων υπολογίζεται πως μόνο ένα μικρό τμήμα έχει μελετηθεί και καλλιεργηθεί σε εργαστηριακές συνθήκες. Ο όρος που έχει επικρατήσει να αποκαλούνται είναι “*yeasts*”, προέρχεται από την αντίστοιχη γερμανική λέξη “*gischt*”, η οποία σημαίνει ζύμωση (Kutty & Philip 2008).

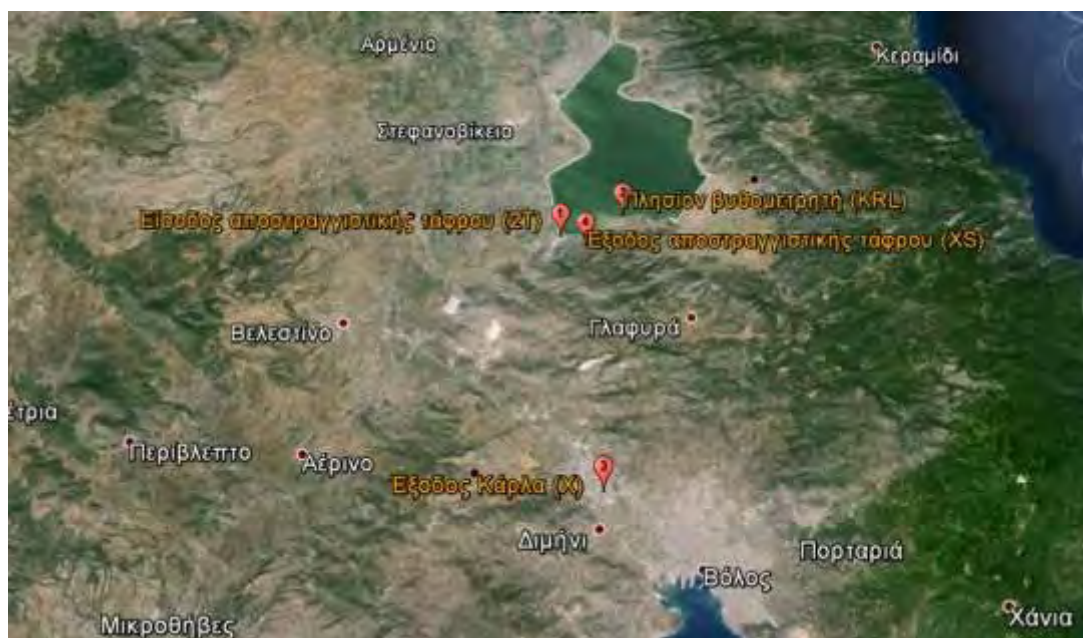
#### **1.14. Σκοπός**

Σκοπός της εργασίας είναι η διερεύνηση της μικροβιολογικής ποιότητας των υδάτων της Λίμνης Κάρλας με τη χρήση μικροβιακών δεικτών. Επιμέρους στόχοι της είναι: α) να διαπιστωθεί πώς μεταβάλλονται ο αριθμός των ειδών και οι πληθυσμοί των βακτηρίων σε συγκεκριμένες περιόδους του έτους, β) να εντοπιστούν πιθανές σημειακές ή μη, πηγές μόλυνσης των υδάτων της Λίμνης Κάρλας και γ) να μελετηθεί η αντίδραση των συγκεκριμένων μικροοργανισμών σε διαφορετικές συνθήκες αλατότητας.

## 2. ΥΔΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Δειγματοληψίες

Στην παρούσα μελέτη έλαβαν χώρα τέσσερις δειγματοληψίες κατά τους μήνες Μάρτιο, Ιούνιο, Ιούλιο και Σεπτέμβριο 2014. Τα σημεία υδροληψίας ήταν τα ακόλουθα: 1) Είσοδος αποστραγγιστικής τάφρου (κωδικός 2T), 2) πλησίον βυθομετρητή (κωδικός KRL), 3) Έξοδος Κάρλας (κωδικός X) και 4) Έξοδος αποστραγγιστικής τάφρου (κωδικός XS) (Εικ. 5). Το μήνα Μάρτιο συλλέχθηκαν δείγματα νερού από τα σημεία KRL, 2T και X, τον Ιούνιο από τα σημεία KRL, 2T και XS, τον Ιούλιο από το σημείο 2T και τον Σεπτέμβριο από τα σημεία KRL και 2T.



**Εικόνα 5:** Η περιοχή έρευνας με σημειωμένες τις θέσεις από τις οποίες λήφθηκαν τα δείγματα (πηγή: Google Earth).

Τα δείγματα από κάθε σημείο υδροληψίας ελήφθησαν εις τριπλούν ( $n=3$ ). Το κάθε δείγμα νερού τοποθετούνταν σε αποστειρωμένο φιαλίδιο μιας χρήσης και χωρητικότητας 50 ml. Κατόπιν τα φιαλίδια μεταφέρονταν στον εργαστηριακό χώρο Μικροβιολογίας και Υγιεινής Αλιευτικών Προϊόντων του Τμήματος, προκειμένου να ακολουθήσει η εργαστηριακή ανάλυση των δειγμάτων, εντός δύο ωρών από τη στιγμή της δειγματοληψίας.

## **2.2. Οι καιρικές συνθήκες τις εβδομάδες των δειγματοληψιών**

Τα στοιχεία των καιρικών συνθηκών για τις ημέρες των δειγματοληψιών ελήφθησαν από την Εθνική Μετεωρολογική Υπηρεσία και αφορούν τους μετεωρολογικούς σταθμούς της Λάρισας και της Αγχιάλου.

Την εβδομάδα της δειγματοληψίας του πειράματος του Μαρτίου σύμφωνα με τα στοιχεία από το σταθμό της Λάρισας, έπνεαν σχετικά ασθενείς άνεμοι έως ασθενείς άνεμοι με μοναδική εξαίρεση τις μεσημεριανές ώρες της 02/03/2014. Την ίδια ημέρα σημειώθηκε μικρής έντασης βροχή, όπως επίσης και την επομένη. Για τις ίδιες ημέρες ο σταθμός της Αγχιάλου ανέφερε μεγαλύτερες τιμές σε ότι αφορά την ταχύτητα του ανέμου, ενώ κατεγράφη βροχόπτωση στις 03/03/2014. Η θερμοκρασία νερού της λίμνης ήταν  $14,6^{\circ}\text{C}$

Αντίστοιχα την εβδομάδα της δειγματοληψίας του πειράματος του Ιουνίου ο σταθμός της Λάρισας ανέφερε και πάλι ασθενείς ανέμους και μια μικρή βροχόπτωση στις 25/05/2014. Ο δε σταθμός της Αγχιάλου κατέγραψε ασθενείς ανέμους και σχεδόν μηδενικά κατακρημνίσματα. Η θερμοκρασία των υδάτων της λίμνης την ημέρα της δειγματοληψίας ήταν  $22,3^{\circ}\text{C}$ .



Η Τρίτη δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε στο τέλος Ιουλίου. Το μοναδικό σημείο στο οποίο υπήρχε αντιπροσωπευτική ποσότητα ύδατος ήταν το σημείο 2Τ. Οι άνεμοι σύμφωνα με τον σταθμό της Λάρισας ήταν σχεδόν όλες τις ημέρες μέτριοι προς ασθενείς. Την ημέρα της δειγματοληψίας έπνεαν μέτριοι άνεμοι. Αντίστοιχες τιμές έδωσε και ο σταθμός της Αγχιάλου. Τον μήνα Ιούλιο δεν σημειώθηκαν βροχοπτώσεις. Η θερμοκρασία νερού της λίμνης στις 28/07/2014 ήταν 28,1°C.

Τέλος, την εβδομάδα της τέταρτης δειγματοληψίας του Σεπτεμβρίου ο σταθμός της Λάρισας ανέφερε μέτριους προς ισχυρούς ανέμους. Ο σταθμός της Αγχιάλου κατέγραψε αντίστοιχες τιμές για τους ανέμους μόνο την 01/09/2014 ενώ τις υπόλοιπες ημέρες οι άνεμοι ήταν πολύ ήπιοι. Να αναφερθεί πως την προηγούμενη ημέρα πριν την δειγματοληψία σημειώθηκε βροχόπτωση. Η θερμοκρασία των υδάτων στις 07/09/2014 ήταν 27,6°C.

Στους πίνακες 2, 3, 4 και 5 παρουσιάζονται οι ώρες ηλιοφάνειας για τους σταθμούς Λάρισας και Αγχιάλου τις ημέρες πλησίον της κάθε δειγματοληψίας.

**Πίνακας 2:** Οι ώρες ηλιοφάνειας όπως καταγράφηκαν από τους μετεωρολογικούς σταθμούς Λάρισας και Αγχιάλου τις ημέρες κατά την πρώτη δειγματοληψία (πηγή: Ε.Μ.Υ.).

ΕΤΟΣ	ΜΗΝΑΣ	ΗΜΕΡΑ	ΩΡΕΣ ΗΛΙΟΦΑΝΕΙΑΣ (ΛΑΡΙΣΑ)	ΩΡΕΣ ΗΛΙΟΦΑΝΕΙΑΣ (ΑΓΧΙΑΛΟΣ)
2014	2	28	7,5	9,3
2014	3	1	0	0
2014	3	2	0	0
2014	3	3	5,7	6,8
2014	3	4	0	0
2014	3	5	4,9	5,3
2014	3	6	7,1	7,9

**Πίνακας 3:** Οι ώρες ηλιοφάνειας όπως καταγράφηκαν από τους μετεωρολογικούς σταθμούς Λάρισας και Αγχιάλου τις ημέρες κατά την δεύτερη δειγματοληψία (πηγή: Ε.Μ.Υ.).

ΕΤΟΣ	ΜΗΝΑΣ	ΗΜΕΡΑ	ΩΡΕΣ ΗΛΙΟΦΑΝΕΙΑΣ (ΛΑΡΙΣΑ)	ΩΡΕΣ ΗΛΙΟΦΑΝΕΙΑΣ (ΑΓΧΙΑΛΟΣ)
2014	5	28	9,8	12,2
2014	5	29	11,2	12,7
2014	5	30	2,9	
2014	5	31	2,3	3,6
2014	6	1	9,5	8,7
2014	6	2	9,2	10,1
2014	6	3	11,8	10

**Πίνακας 4:** Οι ώρες ηλιοφάνειας όπως καταγράφηκαν από τους μετεωρολογικούς σταθμούς Λάρισας και Αγχιάλου τις ημέρες κατά την τρίτη δειγματοληψία (πηγή: Ε.Μ.Υ.).

ΕΤΟΣ	ΜΗΝΑΣ	ΗΜΕΡΑ	ΩΡΕΣ ΗΛΙΟΦΑΝΕΙΑΣ (ΛΑΡΙΣΑ)	ΩΡΕΣ ΗΛΙΟΦΑΝΕΙΑΣ (ΑΓΧΙΑΛΟΣ)
2014	7	23	11,1	12,5
2014	7	24	7,7	10,4
2014	7	25	11,4	12,6
2014	7	26	7,2	10,2
2014	7	27	10,5	
2014	7	28	11,6	12,1
2014	7	29	12,1	12,4

**Πίνακας 5:** Οι ώρες ηλιοφάνειας όπως καταγράφηκαν από τους μετεωρολογικούς σταθμούς Λάρισας και Αγχιάλου τις ημέρες κατά την τέταρτη δειγματοληψία (πηγή: Ε.Μ.Υ.).

ΕΤΟΣ	ΜΗΝΑΣ	ΗΜΕΡΑ	ΩΡΕΣ ΗΛΙΟΦΑΝΕΙΑΣ (ΛΑΡΙΣΑ)	ΩΡΕΣ ΗΛΙΟΦΑΝΕΙΑΣ (ΑΓΧΙΑΛΟΣ)
2014	9	2	10,4	
2014	9	3	2,9	5,6
2014	9	4	10,5	8,8
2014	9	5	10,1	9,9
2014	9	6	9,5	8,7

2014	9	7	6,6	7,5
2014	9	8	5,1	5,4

### 2.3. Μικροβιακή ανάλυση

#### 2.3.1. Η μέθοδος των διαδοχικών αραιώσεων

Η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν αυτή των «διαδοχικών αραιώσεων», ώστε να μπορεί να γίνει η καταμέτρηση των αποικιών από την κατάλληλη αραιώση, σε αυτήν που οι αποικίες στα τρυβλία θα είναι κάτω από 300 και πάνω από 30.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε έχει ως εξής: 1 ml από το αρχικό δείγμα τοποθετούνταν σε αποστειρωμένο σωλήνα μαζί με 9 ml αποστειρωμένης σαλίνης (0.85% NaCl) και ακολουθούσαν οι δεκαδικές αραιώσεις. Στη συνέχεια, ακολούθησε μεταφορά 100 μl δείγματος, τα οποία επιστρώθηκαν στην επιφάνεια των θρεπτικών υλικών R2A, Ειδικό χρωμογόνο υλικό για διαφοροποίηση *E. coli*/coliform, XLD, Slanentz&Baltley (SB), TCBS, RBC, *Pseudomonas/Aeromonas* Agar (τεχνική επίστρωσης), ενώ 1 ml δείγματος μεταφέρθηκε σε άδεια τρυβλία όπου στη συνέχεια προστέθηκαν 15-20 ml θρεπτικού υλικού VRBGA (τεχνική ενσωμάτωση με σκοπό την απαρίθμηση των μικροοργανισμών μετά από επώαση αυτών σύμφωνα με τον Πίνακα 6.

**Πίνακας 6:** Οι μικροβιακοί δείκτες που μελετήθηκαν, σε αντιστοιχία με το θρεπτικό υπόστρωμα, τη θερμοκρασία και χρόνο επώασής τους.

Μικροβιακός δείκτης	Θρεπτικό υπόστρωμα	Θερμοκρασία και Χρόνος Επώασης
OMX (ολική)	R2A	25°C/24-48h
<i>E. coli</i> & coliforms	Ειδικό χρωμογόνο υλικό	37°C/24h
<i>Salmonella</i> (εκτός <i>S. typhi</i> )	XLD	37°C/24h
<i>Enterococcus</i> spp.	Slanentz&Baltley (SB)	37°C/4h και 44°C/44h
<i>Vibrio</i> spp.	TCBS	37°C/24-48h

<i>Yeast/moulds</i>	RBC	25°C/72h
<i>Aeromonas spp.</i>	Pseudomonas/Aeromonas Agar	25°C/72h
Enterobacteriaceae	VRBGA	37°C/24h

### 2.3.2. Επιβίωση μικροοργανισμών σε διαφορετικά επίπεδα αλατότητας

Πραγματοποιήθηκαν δυο πειραματικές διαδικασίες προκειμένου να εξεταστεί η σχέση των υπό εξέταση μικροοργανισμών με την αλατότητα. Στην πρώτη έλαβαν χώρα τα ακόλουθα γεγονότα: α) Λήφθησαν τρία δείγματα νερού στις 05/03/2014, το πρώτο θαλασσινό νερό ( κωδικός s1), το δεύτερο νερό από τη Λίμνη Κάρλα ( κωδικός κ3) και το τρίτο νερό από το σημείο εξόδου (κωδικός x), και κατόπιν αποστειρώθηκαν, β) προστέθηκε σε κάθε δείγμα, νερό της λίμνης Κάρλας προερχόμενο από τη θέση «πλησίον βυθομετρητή» σε αναλογία 1/10 και γ) έμειναν για επώαση στους 17° για 7 ημέρες προκειμένου να διαπιστωθεί η επιβίωσή τους.

Στην δεύτερη περίπτωση: α) λήφθηκαν στις 02/06/2014 δείγματα νερού από τρία σημεία, το πρώτο από την λίμνη Κάρλα (κωδικός K1), το δεύτερο από την είσοδο αποστραγγιστικής τάφρου (κωδικός 2T) και το τρίτο από την έξοδο αποστραγγιστικής τάφρου (κωδικός xs), β) από τα συγκεκριμένα δείγματα λήφθηκαν 100 ml νερού και προστέθηκαν σε 900 ml αποστειρωμένου θαλασσινού νερού, με αποτέλεσμα να προκύψουν τρία καινούργια δείγματα με τους αρχικούς πληθυσμούς να βρίσκονται σε αναλογία 1/10 και γ) η επώαση έγινε στους 22° C για 7 ημέρες.

### 2.3.3. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων

Οι στατιστικές μέθοδοι που εφαρμόστηκαν είναι η ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA), το t – test και το κριτήριο του Tukey. Ακολουθεί μια σύντομη αναφορά και περιγραφή των τριών αυτών μεθόδων.

Η ανάλυση της διακύμανσης γνωστή και ως ANOVA (ANalysis Of VAriance), εφαρμόζεται για παράδειγμα όταν ο ερευνητής έχει μονοπαραγοντικά (univariate) δεδομένα τριών ή περισσότερων δειγμάτων, τα οποία δείγματα προέρχονται από διαφορετικές τοποθεσίες και επιθυμεί να εξετάσει την εξής υπόθεση: «Οι μέσοι όροι των πληθυσμών από τους οποίους προέρχονται τα συγκεκριμένα δείγματα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ή  $\mu_1=\mu_2=\mu_3=\mu_4$ » (McKillup 2005).

Τα t – tests χρησιμοποιούνται εφόσον γίνουν οι τρεις βασικές παραδοχές (McKillup 2005): 1) οι υπο εξέταση πληθυσμοί ακολουθούν την κανονική κατανομή, 2) κάθε δείγμα επιλέχθηκε εντελώς τυχαία από τον εκάστοτε πληθυσμό και 3) πως για ένα ανεξάρτητο τεστ δειγμάτων, οι διακυμάνσεις είναι οι ίδιες. Υπάρχουν δυο τύποι t – test, τα ανεξάρτητα (independent) και αυτά που αφορούν ζεύγη (paired) (Berthouex & Brown 2002), στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εφαρμόστηκαν τα δεύτερα. Η υπόθεση που κάνει ο ερευνητής εφαρμόζοντας τα paired t – tests δύναται να διατυπωθεί ως εξής «ο μέσος όρος δυο δειγμάτων δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά ή  $\mu_1=\mu_2$ » (Berthouex & Brown 2002).

Το κριτήριο του Tukey ή Tukey test, λειτουργεί κατά παρόμοιο τρόπο με τα t – test (McKillup 2005). Συγκεκριμένα έστω ότι υπάρχουν δυο δείγματα, το εν λόγω κριτήριο υπολογίζεται αν από τους δυο αριθμητικούς μέσους των δυο δειγμάτων, αφαιρεθεί ο μικρότερος από τον μεγαλύτερο (ώστε το πρόσημο να παραμένει πάντα θετικό) και το αποτέλεσμα διαιρεθεί με το τυπικό σφάλμα των στοιχείων που γίνεται η

επεξεργασία (McKillup 2005). Αν για παράδειγμα υπάρχουν πολλοί μέσοι όροι η διαδικασία ξεκινάει με τον μεγαλύτερο ο οποίος συγκρίνεται με όλους τους μικρότερους, μόλις ολοκληρωθεί αυτή η εξέταση ξεκινάει με τον αμέσως μεγαλύτερο και συνεχίζεται έως ότου γίνουν όλες οι συγκρίσεις και διαπιστωθεί ποιοι μέσοι όροι διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους (Berthouex & Brown 2002). Όλες οι στατιστικές αναλύσεις που αναφέρονται έγιναν με το λογισμικό πρόγραμμα SPSS έκδοση 17.

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1 Οι πληθυσμοί των μικροοργανισμών

Στους παρακάτω πίνακες (Πίν. 7-8) παρουσιάζονται οι πληθυσμοί των μικροοργανισμών της OMX, Enterobacteriaceae, *Enterococcus* spp., *Salmonella* spp., *E. coli*/Coliforms, *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp., yeast/moulds που αντιστοιχούν στα σημεία δειγματοληψίας κατά τους μήνες Μάρτιο, Ιούνιο, Ιούλιο και Σεπτέμβριο. Σημειώνεται πως όταν δυο μέσοι όροι της ίδιας μικροβιακής παραμέτρου, στις τρεις διαφορετικές θέσεις, δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους κατατάσσονται στην ίδια ομάδα και έχουν τον ίδιο εκθέτη.

**Πίνακας 7:** Οι μέσοι όροι (log cfu/ml) και οι τυπικές αποκλίσεις 3 επαναλήψεων των μικροοργανισμών ανά θέση στην δειγματοληψία του Μαρτίου.

	KRL	2T	X
<b>OMX</b>	3,60± 0,05 <sup>a</sup>	3,87±0,03 <sup>β</sup>	4,47±0,07 <sup>γ</sup>
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	1,76±0,15 <sup>a</sup>	2,47±0,04 <sup>β</sup>	2,93±0,03 <sup>γ</sup>
<b>coliforms</b>	1,77±0,07 <sup>a</sup>	2,07±0,09 <sup>β</sup>	2±0,04 <sup>β</sup>
<b>Enterobacteriaceae</b>	1,76±0,03 <sup>a</sup>	1,87±0,03 <sup>β</sup>	1,9±0,03 <sup>β</sup>
<b><i>Vibrio</i> spp.</b>	<2	<2	<2
<b><i>Enterococcus</i> spp.</b>	<2	<2	<2
<b>yeasts/moulds</b>	<2	<2	<2

Παρατηρείται ότι ο πληθυσμός της OMX εμφάνισε τις υψηλότερες τιμές μεταξύ των μικροοργανισμών, 3,60 (σημείο KRL), 3,87 (σημείο 2T), 4,47 log cfu/ml (σημείο X) και διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ( $p < 0.05$ ). Οι τιμές του *Salmonella* spp. βρέθηκαν στα επίπεδα των 1,76, 2,47 και 2,93 log cfu/ml στα σημεία KRL, 2T και X αντίστοιχα και διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ( $p < 0.05$ ). Οι τιμές των

coliforms στα σημεία 2T και X δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους ( $p>0.05$ ), διέφεραν όμως με τη θέση KRL ( $p<0.05$ ) που παρουσίασε τη χαμηλότερη τιμή. Το ίδιο ισχύει και για τα Enterobacteriaceae. Τα *Vibrio* spp., *Enterococcus* spp. και yeast/moulds (ζύμες-μύκητες) βρέθηκαν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml (Πίνακας 8).

**Πίνακας 8:** Οι μέσοι όροι (cfu/ml) και οι τυπικές αποκλίσεις 3 επαναλήψεων των μικροοργανισμών έτσι όπως υπολογίστηκαν στα δείγματα του Ιουνίου.

	KRL	2T	XS
<b>OMX</b>	4,89±0,02 <sup>a</sup>	5,49±0,01 <sup>β</sup>	4,81±0,01 <sup>γ</sup>
<b>yeasts/moulds</b>	<2	<2	<2
<b>Salmonella spp.</b>	1,63±0,06 <sup>a</sup>	<2	2,26±0,02 <sup>β</sup>
<b>coliforms</b>	3,22±0,04 <sup>a</sup>	3,34±0 <sup>β</sup>	3,1±0,01 <sup>γ</sup>
<b>Enterococcus spp.</b>	<2	<2	<2
<b>Enterobacteriaceae</b>	2,45±0,04 <sup>a</sup>	2,58±0,02 <sup>β</sup>	2,61±0,01 <sup>β</sup>
<b>Vibrio spp.</b>	2,58±0,01	<2	<2
<b>Aeromonas spp.</b>	<2	<2	<2

Παρατηρείται ότι η OMX εμφάνισε την υψηλότερη τιμή μεταξύ των μικροοργανισμών στο σημείο 2T (5,49 log cfu/ml), τη χαμηλότερη τιμή στο σημείο XS (4,81 log cfu/ml) και στο σημείο KRL η τιμή βρέθηκε (4,89 log cfu/ml), και οι μέσοι όροι της διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ( $p<0.05$ ). Το *Salmonella* spp. βρέθηκε κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml στην θέση 2T ενώ παρουσίασε τη χαμηλότερη τιμή (1,63 log cfu/ml) στο σημείο KRL και την υψηλότερη (2,26 log cfu/ml) στο σημείο XS. Οι τιμές των coliforms κυμάνθηκαν από 3,1 log cfu/ml στο σημείο (XS) ως 3,34 log cfu/ml στο σημείο (2T) ενώ στο σημείο (KRL) εμφάνισαν την τιμή 3,22 log cfu/ml και οι μέσοι όροι των τιμών τους διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους ( $p<0.05$ ). Το *Vibrio* spp. βρέθηκε πάνω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml μόνο στη θέση



KRL και εμφάνισε την τιμή των 2,58 log cfu/ml. Τα *Enterococcus* spp., yeast/ moulds (ζύμες-μύκητες) και *Aeromonas* spp., ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml. Οι μέσοι όροι των Enterobacteriaceae για τις θέσεις 2T και XS δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους ( $p>0.05$ ), διέφεραν όμως με τη θέση KRL ( $p<0.05$ ), η οποία παρουσίασε τη χαμηλότερη τιμή (2,45 log cfu/ml).

Τον μήνα Ιούλιο λόγω μη αντιπροσωπευτικής στάθμης νερού συλλέχθηκε δείγμα μόνο από τη θέση 2T, τα περιγραφικά στατιστικά του οποίου παρουσιάζονται στον πίνακα 9.

**Πίνακας 9:** Οι μέσοι όροι (log cfu/ml) και αποκλίσεις των απαριθμημένων αποικιών της δειγματοληψίας του Ιουλίου.

	M.O. (log cfu.ml)
<b>OMX</b>	5,48±0,07
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	<2
<b>coliforms</b>	3,816666667±0,06
<b><i>Enterococcus</i> spp.</b>	<2
<b>Enterobacteriaceae</b>	3,1±0,1

Παρατηρείται ότι η τιμή της OMX εμφανίστηκε υψηλή (5,48 log cfu/ml). Το *Enterococcus* spp. βρέθηκε κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml. Το ίδιο ισχύει και για το *Salmonella* spp.. Τα coliforms εμφάνισαν την τιμή 3,81 log cfu/ml και τα Enterobacteriaceae 3,1 log cfu/ml. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 10) φαίνονται τα περιγραφικά στατιστικά στοιχεία της τέταρτης και τελευταίας δειγματοληψίας που έγινε τον μήνα Σεπτέμβριο.

**Πίνακας 10:** Οι μέσοι όροι (cfu/ml) και οι τυπικές αποκλίσεις των μικροοργανισμών όπως υπολογίστηκαν στα δείγματα του Σεπτεμβρίου.

	KRL	2T

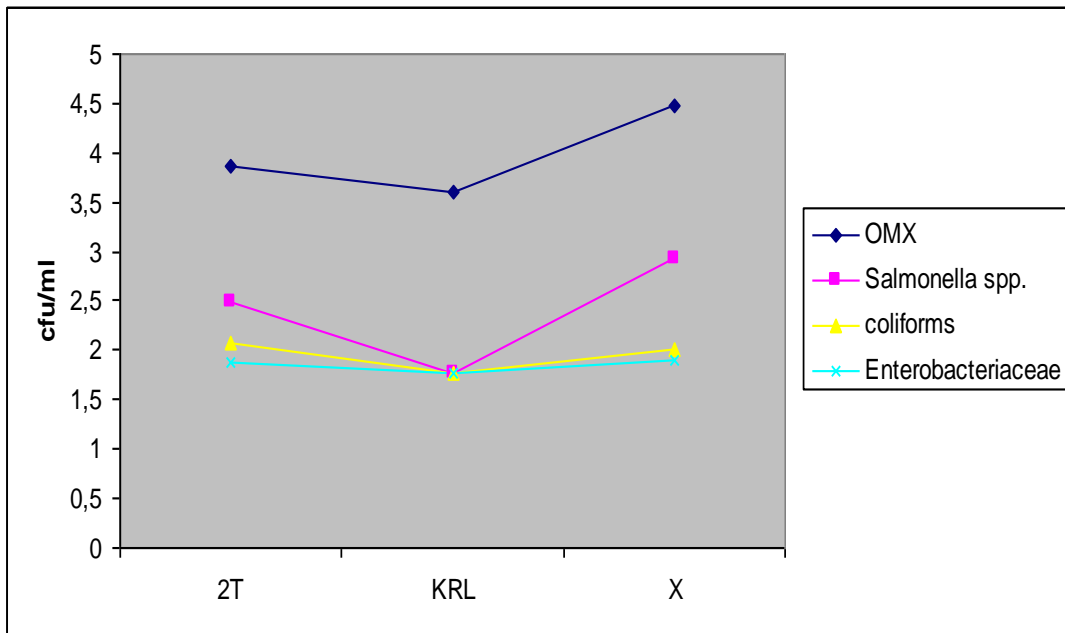
<b>OMX</b>	4±0,02	4,43±0,01
<b><i>Enterococcus spp.</i></b>	<2	<2
<b><i>Salmonella spp.</i></b>	1,3±0	1,7±0,21
<b>coliforms</b>	3,44±0,04	3,65±0,05
<b>Enterobacteriaceae</b>	2,33±0,03	3±0,01

Παρατηρείται ότι η τιμή της OMX βρέθηκε υψηλότερη (4,43 log cfu/ml) στο σημείο 2T και χαμηλότερη (4 log cfu/ml) στο σημείο KRL. Το *Enterococcus spp.* ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml. Οι μικροί πληθυσμοί της σαλμονέλλας που καταγράφηκαν με τιμές 1,3 log cfu/ml στο σημείο (KRL) και 1,7 log cfu/ml στο σημείο (2T).

Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης που έγινε μεταξύ των μέσων όρων των μικροοργανισμών ανάμεσα στους σταθμούς των δειγματοληψιών Μαρτίου και Ιουνίου, καθώς επίσης και ανάμεσα στους μήνες για τις θέσεις KRL και 2T.

Με την εφαρμογή της ανάλυσης διακύμανσης των μέσων όρων των μικροοργανισμών για την πρώτη δειγματοληψία του Μαρτίου εξετάστηκε η μηδενική υπόθεση ότι οι μέσοι όροι του κάθε μικροοργανισμού μεταξύ των διαφορετικών θέσεων είναι ίσοι (παράδειγμα: M.O. OMX (KRL) = M.O. OMX (2T) = M.O. OMX (X)). Το αποτέλεσμα της one way ANOVA για επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$  ήταν  $p < 0,05$  συνεπώς η μηδενική υπόθεση απορρίφθηκε. Με βάση το κριτήριο του Tukey, βρέθηκε ποιοι μέσοι όροι διαφέρουν σημαντικά στατιστικά μεταξύ τους.

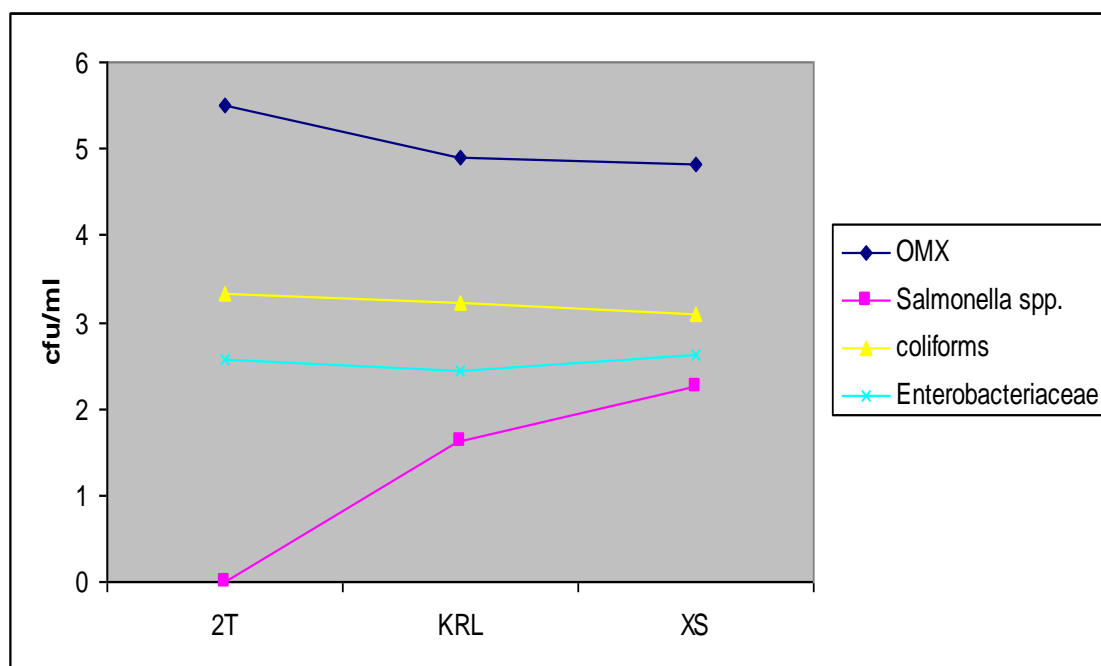
Στο σχήμα 1 απεικονίζονται οι μέσοι όροι ανά θέση. Αυτά που διακρίνονται είναι ότι οι πληθυσμοί της OMX και της σαλμονέλλας ακολούθησαν το ίδιο μοτίβο, ενώ το ίδιο ισχύει και για αυτούς των coliforms με τα Enterobacteriaceae.



**Σχήμα 1:** Η μεταβολή των μέσων όρων των πληθυσμών των βακτηρίων ανά θέση στη δειγματοληψία του Μαρτίου.

Μέσω της εφαρμογής one way ANOVA για την δειγματοληψία του Ιουνίου εξετάστηκε η μηδενική υπόθεση ότι οι μέσοι όροι του κάθε μικροοργανισμού για τις τρεις θέσεις δειγματοληψίας είναι ίσοι. Το αποτέλεσμα έδειξε ότι υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων και απορρίφθηκε η μηδενική υπόθεση,  $p < 0,05$ . Μέσω του κριτηρίου του Tukey επισημάνθηκαν οι στατιστικά σημαντικά διαφορετικοί μέσοι όροι. Στην ανάλυση δεν συμπεριλήφθηκαν τα *Vibrio* spp. διότι βρέθηκαν μόνο σε μια θέση.

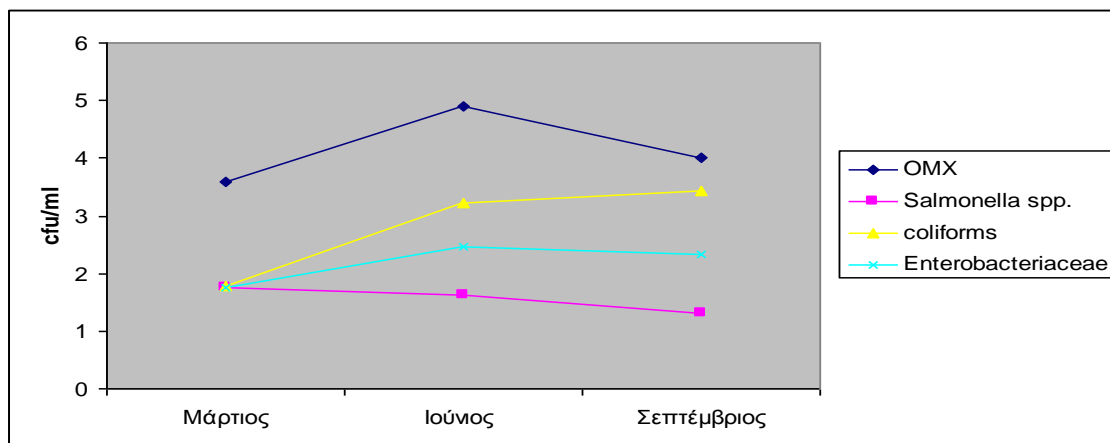
Στο σχήμα 2 απεικονίζονται οι μεταβολές των βακτηρίων ανα θέση για τη δειγματοληψία του Ιουνίου. Όπως παρατηρείται το κοινό μοτίβο της OMX με τη σαλμονέλλα έπαψε να ισχύει τον Ιούνιο αλλά των coliforms με τα Enterobacteriaceae διατηρήθηκε αν και μεγάλωσε η διαφορά των μέσων όρων τους. Αυτό που ξεχωρίζει είναι πως μόνο οι μέσοι όροι των Enterobacteriaceae για τις θέσεις 2T και XS δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους  $p > 0,05$ .



**Σχήμα 2:** Η μεταβολή των μέσων όρων των πληθυσμών των βακτηρίων ανά θέση στη δειγματοληψία του Ιουνίου.

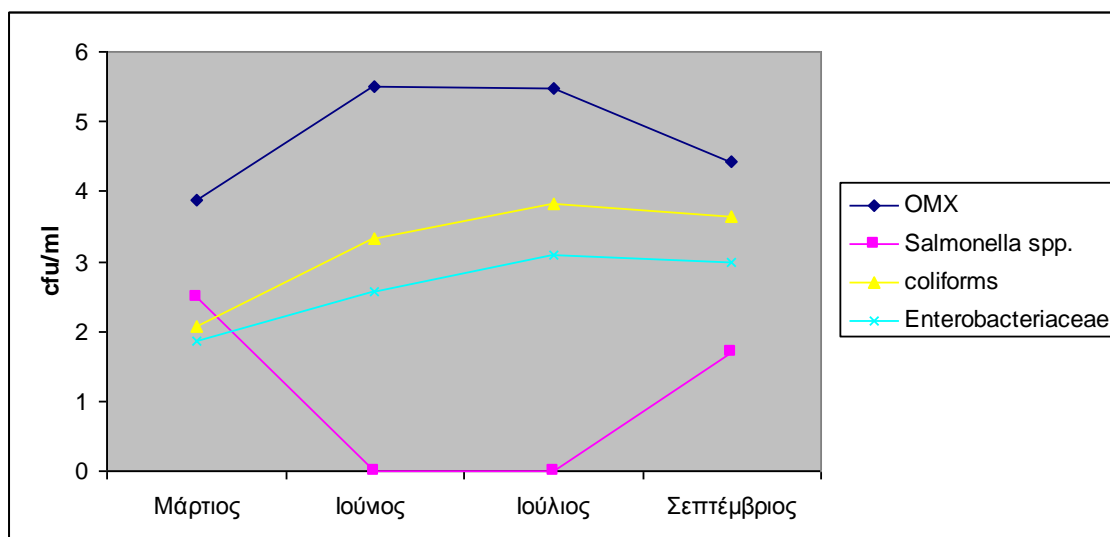
Ακολουθούν τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις αναλύσεις διακύμανσης που έγιναν για τους μέσους όρους των μικροοργανισμών ανάμεσα στους μήνες. Λόγω της έλλειψης δειγμάτων για τις θέσεις X και XS η σύγκριση των μέσων όρων σε ότι αφορά την χρονική μεταβολή έγινε για τις άλλες δυο θέσεις.

Η ανάλυση διακύμανσης έδειξε ότι υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων των μικροοργανισμών ως προς τους μήνες για την θέση KRL  $p < 0,05$ . Με την εφαρμογή του κριτηρίου του Tukey βρέθηκε ότι μόνο οι μέσοι όροι του *Salmonella* spp. για τους μήνες Μάρτιο και Ιούνιο δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά  $p > 0,05$ . Ακόμη παρατηρώντας το σχήμα 3 διαπιστώνεται ότι οι πληθυσμοί των coliforms και των Enterobacteriaceae ακολούθησαν ένα παρόμοιο πρότυπο ενώ οι πληθυσμοί της OMX και της σαλμονέλλας ακολούθησαν ξεχωριστές πορείες.



**Σχήμα 3:** Η μεταβολή των μέσων όρων των πληθυσμών για τη θέση KRL ανά μήνα.

Για την θέση 2T η ανάλυση διακύμανσης έδειξε ότι υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων των μικροοργανισμών ως προς τους μήνες  $p < 0,05$ . Με την εφαρμογή του κριτηρίου του Tukey βρέθηκαν οι στατιστικές διαφορές των μέσων όρων. (Σχ. 4)



**Σχήμα 4:** Η μεταβολή των μέσων όρων των πληθυσμών των βακτηρίων ανά μήνα για τη θέση 2T.

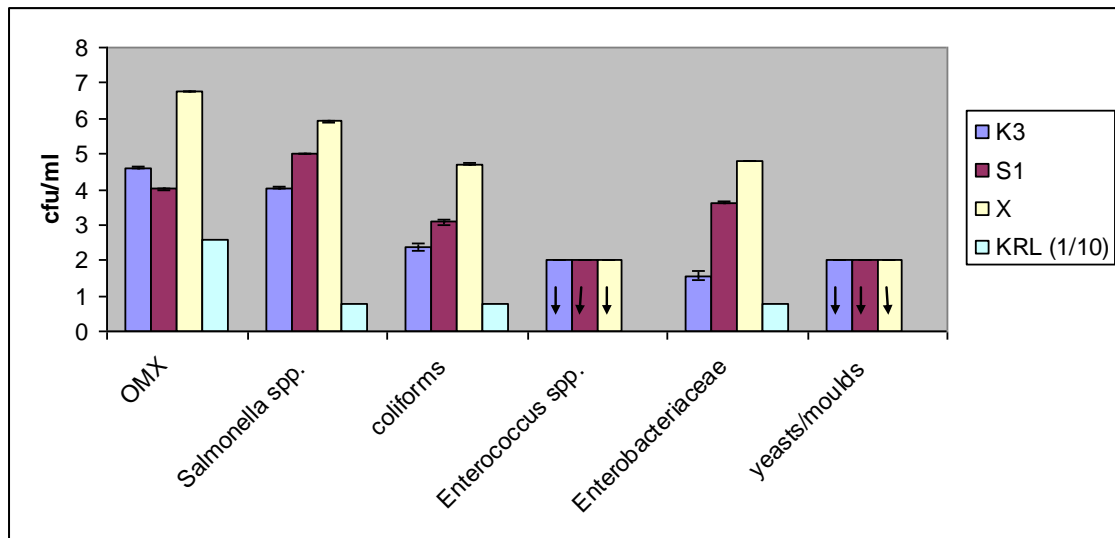
Οι μέσοι όροι της OMX για τους μήνες Ιούνιο και Ιούλιο δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά  $p > 0,05$ , η OMX αυξήθηκε από την άνοιξη μέχρι τον Ιούνιο και

έπειτα σταθεροποιήθηκε στην τιμή των 5,5 log cfu/ml περίπου για τους θερινούς μήνες. Το *Salmonella* spp. κατά τους καλοκαιρινούς μήνες ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml, τον Μάρτιο είχε τους μεγαλύτερους πληθυσμούς. Όλοι οι μέσοι όροι των coliforms διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ( $p < 0,05$ ), ο πληθυσμός τους μεγάλωνε από την άνοιξη μέχρι και τον Ιούλιο ενώ μειώθηκε ελαφρά τον Σεπτέμβριο. Οι πληθυσμοί των Enterobacteriaceae τους μήνες Ιούλιο και Σεπτέμβριο δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ( $p > 0,05$ ), η πορεία τους ήταν ανοδική με την μέγιστη τιμή τον Ιούλιο.

### **3.2 Αποτελέσματα των πειραμάτων αλατότητας**

Πέραν της χρονικής και χωρικής μεταβολής των μικροοργανισμών, μελετήθηκε και η συμπεριφορά τους σε διαφορετικά επίπεδα αλατότητας. Στο πρώτο πείραμα που έλαβε χώρα τον Μάρτιο, επιλέχθηκαν 3 δείγματα 100 ml νερού από τη θέση KRL και προστέθηκαν σε 900 ml αποστειρωμένων υδάτων διαφορετικής αλατότητας (κωδικός S1 για το θαλασσινό νερό, κωδικός K3 για το γλυκό νερό και κωδικός X για το υφάλμυρο. Η ανάλυση διακύμανσης έδειξε πως υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων των μικροοργανισμών για κάθε τύπο ύδατος και το κριτήριο του Tukey κατέδειξε ότι δεν υπάρχει κανένας μέσος όρος που να μην διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τους υπόλοιπους για κάθε μικροοργανισμό ( $p < 0,05$ ).

Στο σχήμα που ακολουθεί απεικονίζονται οι μέσοι όροι των μικροοργανισμών πριν και μετά την αλατότητα καθώς και οι τυπικές αποκλίσεις (σχ. 5 )

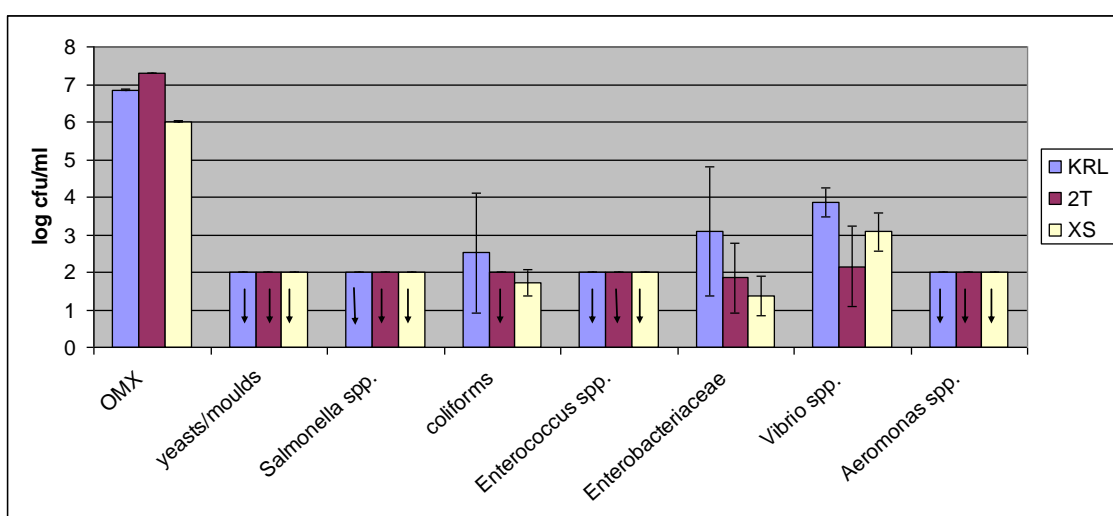


**Σχήμα 5:** Οι μέσοι όροι μαζί με τις τυπικές αποκλίσεις των μικροοργανισμών όπως υπολογίστηκαν μετά την απαρίθμηση των αποικιών και τους κατάλληλους υπολογισμούς (λογαρίθμηση). Οι τιμές του KRL (1/10) είναι αυτές που υπολογίστηκαν για τους πληθυσμούς των μικροοργανισμών στο πείραμα της χρονικής και χωρικής μεταβολής, μειωμένοι κατά ένα λογάριθμο διότι έλαβε χώρα μια αραίωση κάτω. Τα βέλη υποδηλώνουν ότι οι τιμές ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml.

Παρατηρείται η μικρή απόκλιση των μικροοργανισμών και ότι όλοι οι μικροοργανισμοί σε συνθήκες μέτριας αλατότητας (υφάλμυρα ύδατα) εμφάνισαν την μεγαλύτερη τιμή. Σε ότι αφορά το θαλασσινό νερό μόνο η OMX είχε χαμηλότερη τιμή σε σύγκριση με την αντίστοιχη για το γλυκό νερό. Οι τιμές των *Enterococcus* spp. και yeast/ moulds (ζύμες-μύκητες) ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml, Αν και τα *Vibrio* spp. συμπεριλαμβάνονταν στην ανάλυση παρατηρήθηκε σημαντικά μεγάλη αύξηση αποικιών στη (-1) αραίωση με αποτέλεσμα να μην γίνει καταμέτρηση.

Τον Ιούνιο πραγματοποιήθηκε ακόμη ένα πείραμα για να εξακριβωθεί η συμπεριφορά των μικροοργανισμών σε σχέση με την αλατότητα. Σε αυτή την περίπτωση επιλέχθηκαν 100 ml (1/10 αραίωση) από τα δείγματα και των τριών θέσεων της δειγματοληψίας του Ιουνίου (KRL, 2T και XS). Τα 100 ml αναμείχθηκαν με 900 ml αποστειρωμένου θαλασσινού νερού. Οι αρχικοί πληθυσμοί θεωρήθηκε πως ήταν οι πληθυσμοί που βρέθηκαν στις μετρήσεις του Ιουνίου μειωμένοι κατά ένα λογάριθμο. Οι

τελικοί πληθυσμοί ήταν αυτοί που καταμετρήθηκαν μετά την αραιώση στο θαλασσινό νερό. Για την σύγκριση των μέσων όρων πριν και μετά την επέμβαση (αραιώση σε θαλασσινό νερό) επιλέχθηκε το  $t - \text{paired test}$ . Στην συνέχεια παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των μικροοργανισμών μαζί με τις τυπικές αποκλίσεις μετά την προσθήκη αλατότητας (σχ. 6) αλλά και τα δεδομένα από τα οποία προέκυψαν (πίνακες 11, 12, 13, 14 και 15).



**Σχήμα 6:** Οι μέσοι όροι και οι τυπικές αποκλίσεις των μικροοργανισμών όπως προέκυψαν στο πείραμα αλατότητας του Ιουνίου. Τα βέλη υποδηλώνουν ότι οι τιμές ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml.

Παρατηρείται ότι οι τυπικές αποκλίσεις των μικροοργανισμών όπου η τιμή του ορίου απαρίθμησης ήταν πάνω του 2 log cfu/ml παρουσίασαν μεγάλες αποκλίσεις εκτός από την OMX. Οι τιμές των *Salmonella* spp., *Aeromonas* spp., *Enterococcus* spp. και yeast/ moulds (ζύμες-μύκητες) ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml ενώ η τιμή των coliforms ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml μόνο στη θέση 2T.

**Πίνακας 11:** Οι μέσοι όροι των πληθυσμών των δειγμάτων της OMX, έτσι όπως προέκυψαν από τις απαριθμήσεις των τρυβλίων μετά την αραιώση με το



θαλασσινό νερό αλλά και με την μείωση κατά ένα λογάριθμο των τιμών του Ιουνίου πριν την αραίωση.

OMX KRL (1/10)	OMX KRL (salinity test)	OMX 2T (1/10)	OMX 2T (salinity test)	OMX XS (1/10)	OMX XS (salinity test)
3,89	6,85	4,49	7,3	3,81	6,01

Και στις τρεις περιπτώσεις η τιμή  $p < 0,05$  συνεπώς οι μέσοι όροι της OMX πριν και μετά την αλατότητα διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Παρατηρείται ότι οι τιμές της OMX στα δείγματα με το θαλασσινό νερό ήταν μεγαλύτερες.

Στον πίνακα 12 είναι τα στοιχεία που προέκυψαν για το *Salmonella* spp.. Οι πληθυσμοί του συγκεκριμένου βακτηρίου εντοπίστηκαν μόνο στις δυο θέσεις (KRL και XS). Με την μείωση κατά ένα λογάριθμο οι πληθυσμοί με τους οποίους εισήλθαν σε κατάσταση αλατότητας ήταν μικρότεροι αλλά όχι μηδενικοί. Στις απαριθμήσεις των τρυβλίων μετά την αλατότητα δεν βρέθηκε ο πληθυσμός του *Salmonella* spp., συνεπώς δεν μπορούσε να διεξαχθεί κάποιου είδους τεστ των μέσων όρων αφού δεν υπήρχαν τιμές (Πιν. 12).

**Πίνακας 12:** Οι πληθυσμοί του *Salmonella* spp. όπως προέκυψαν από τη μείωση κατά ένα λογάριθμο των τιμών του Ιουνίου και αυτών της αλατότητας (μηδενικές αποικίες).

<i>Salmonella</i> spp. KRL (1/10)	<i>Salmonella</i> spp. KRL (salinity test)	<i>Salmonella</i> spp. 2T (1/10)	<i>Salmonella</i> spp. 2T (salinity test)	<i>Salmonella</i> spp. XS (1/10)	<i>Salmonella</i> spp. XS (salinity test)
0,63	0	0	0	1,26	0

Οι μέσοι όροι των coliforms πριν και μετά την αύξηση της αλατότητας διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους διότι δυο από τις τρεις περιπτώσεις που ήταν εφικτό να γίνει το t test η τιμή  $p < 0,05$ .

**Πίνακας 13:** Οι πληθυσμοί των coliforms όπως προέκυψαν από τη μείωση κατά ένα λογάριθμο των τιμών του Ιουνίου και αυτών της αλατότητας.

coliforms KRL (1/10)	coliforms KRL (salinity test)	coliforms 2T (1/10)	coliforms 2T (salinity test)	coliforms spp. XS (1/10)	coliforms XS (salinity test)
2,22	1,43	2,34	0	2,10	1,31

Στον επόμενο πίνακα 14 είναι τα δεδομένα για τα Enterobacteriaceae. Οι μέσοι όροι δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.  $p > 0,05$ . Στις θέσεις KRL και 2T δεν αυξήθηκαν σημαντικά και στη θέση XS μειώθηκαν ελάχιστα.

**Πίνακας 14:** Οι τιμές για τους πληθυσμούς των Enterobacteriaceae πριν και μετά την επέμβαση της αλατότητας.

Enterobacteriaceae KRL (1/10)	Enterobacteriaceae KRL (salinity test)	Enterobacteriaceae 2T (1/10)	Enterobacteriaceae 2T (salinity test)	Enterobacteriaceae XS (1/10)	Enterobacteriaceae XS (salinity test)
1,44	3,08	1,58	1,85	1,61	1,37

Τελευταίο βακτήριο για το οποίο πραγματοποιήθηκε το t test ήταν το *Vibrio* spp. και μόνο για τη θέση KRL γιατί στα αρχικά δείγματα δεν είχαν εντοπιστεί αποικίες του. Στα δείγματα όμως με την υψηλή αλατότητα απαριθμήθηκαν σε όλες τις θέσεις.

**Πίνακας 15:** Οι τιμές για τους πληθυσμούς των *Vibrio* spp. πριν και μετά την επέμβαση της αλατότητας.

<i>Vibrio</i> spp. KRL (1/10)	<i>Vibrio</i> spp. KRL (salinity test)	<i>Vibrio</i> spp. 2T (1/10)	<i>Vibrio</i> spp. 2T (salinity test)	<i>Vibrio</i> spp. XS (1/10)	<i>Vibrio</i> spp. XS (salinity test)
1,58	3,86	0	2,15	0	3,08

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η ποιότητα των υδάτων της Λίμνης Κάρλας με τη χρήση μικροβιακών δεικτών. Για την επίτευξη του σκοπού αυτού απαριθμήθηκαν οι πληθυσμοί της OMX, Enterobacteriaceae, *Enterococcus* spp., *Salmonella* spp., *E. coli*/coliforms, *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp., yeast/moulds κατά τους μήνες Μάρτιο, Ιούνιο, Ιούλιο και Σεπτέμβριο, στα ανάλογα σημεία που υπήρχε αντιπροσωπευτικό δείγμα νερού 1) Είσοδος αποστραγγιστικής τάφρου (κωδικός 2T), 2) πλησίον βυθομετρητή (κωδικός KRL), 3) Έξοδος Κάρλας (κωδικός X) και 4) Έξοδος αποστραγγιστικής τάφρου (κωδικός XS) έτσι ώστε να μελετηθεί ο πληθυσμός των παραπάνω μικροοργανισμών και να εντοπιστούν πιθανές σημειακές ή μη, πηγές μόλυνσης των υδάτων της Λίμνης Κάρλας. Ακόμη, μελετήθηκε η αντίδραση των συγκεκριμένων μικροοργανισμών σε διαφορετικές συνθήκες αλατότητας.

Τα βακτήρια της οικογένειας Enterobacteriaceae βρέθηκαν σε όλα τα δείγματα που ελήφθησαν από τη λίμνη. Οι πληθυσμοί τους κυμαίνονταν από 1,76 έως 3,1 log cfu/ml, με μικρότερη τιμή τον μήνα Μάρτιο (1,76 log cfu/ml) και μεγαλύτερη τιμή τον μήνα Ιούλιο (3,1 log cfu/ml) στα σημεία KRL και 2T, αντίστοιχα. Πρόκειται για μια πολύ μεγάλη οικογένεια που αποτελείται από 44 γένη και 176 είδη, τα μέλη της οποίας διαβιούν σε μεγάλη ποικιλία ενδιαιτημάτων (Brenner *et al* 2005). Κάποια από τα βακτήρια της οικογένειας έχουν εντοπιστεί σε ύδατα ενώ πολλά βρίσκονται σε έντομα ή στη ζώνη της ριζόσφαιρας των φυτών (Szentés *et al* 2013, Hou & Oluranti 2013), κάτι που τα καθιστά πολύ εύκολα στο να μεταφερθούν μέσω της επιφανειακής απορροής σε ένα υδάτινο περιβάλλον (Brenner *et al* 2005).

Από όλους τους μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν ήταν εκείνα τα βακτήρια με την μεγαλύτερη σταθερότητα, αλλά και ως προς τους μέσους όρους: α) οι μέσοι όροι τους στις θέσεις 2T και X τον Μάρτιο δεν διέφεραν στατιστικά, β) όμοια για τις θέσεις 2T και XS τον Ιούνιο και γ) οι μέσοι όροι των μηνών Ιουλίου και Σεπτεμβρίου στην θέση 2T επίσης δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Στην βιβλιογραφία δεν υπάρχει κάποια εργασία που να ταιριάζει απόλυτα με τα παραπάνω. Υπάρχουν όμως μια σειρά από εργασίες που εξετάζουν μεμονωμένα γένη της οικογένειας ως προς την παρουσία τους σε συγκεκριμένα υδάτινα περιβάλλοντα και οι οποίες μπορούν να δώσουν μια πιθανή εικόνα της συμπεριφοράς των συγκεκριμένων βακτηρίων. Πέραν της επιφανειακής απορροής άλλες πηγές εισόδου των βακτηρίων στα νερά της λίμνης μπορούν να είναι τα ψάρια που διαβιούν εντός της (Astarya *et al* 2007, Maiti *et al* 2009, Meredith *et al* 2012) και τα αποχετευτικά συστήματα (Egoz *et al* 1990, Falcao *et al* 2004).

Στις εργασίες των Aldova *et al* (1988), Niemi *et al* (2001) και Grigoryan *et al* (2014) τα εν λόγω βακτήρια βρέθηκαν σε υπόγεια ύδατα, αυτό το στοιχείο, σε συνδυασμό με την εργασία των Kehoe *et al* (2004), στην οποία απέδειξαν πως είδη της οικογένειας Enterobacteriaceae (*Shigella dysenteriae*) είναι πολύ ευαίσθητα στην ηλιακή ακτινοβολία και πως θα ήταν δυνατό να απολυμαίνονται τα ύδατα με την έκθεσή τους σε ηλιακό φως, γίνεται κατανοητό ότι η υψηλή θολότητα της λίμνης Κάρλα (Chamoglou *et al* 2014) ευνοεί την παρουσία των συγκεκριμένων βακτηρίων.

Τα νερά της λίμνης είναι υφάλμυρα, στη βιβλιογραφία υπάρχουν αναφορές για την παρουσία μελών της οικογένειας σε τέτοιου τύπου νερά σύμφωνα με de Mondino *et al* (1995) και Miller *et al* (2006). Αυτά τα στοιχεία είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των πειραμάτων με την αυξημένη αλατότητα, διότι οι πληθυσμοί των

συγκεκριμένων βακτηρίων έδειξαν να προτιμούν τις υφάλμυρες συνθήκες έναντι των υπολοίπων. Εκείνο που παρατηρείται είναι ότι οι μικρότεροι πληθυσμοί καταγράφηκαν σε συνθήκες γλυκών υδάτων, γιατί όπως αναφέρεται από τους Brenner *et al* (2005) το μόνο γένος της οικογένειας που είναι αλοφιλικό είναι το *Alterococcus*.

Μια πιθανή εξήγηση της αντοχής των βακτηρίων είναι ότι λόγω του ευτροφισμού της λίμνης υπάρχουν μεγάλες ποσότητες θρεπτικών ουσιών και όπως αναφέρουν οι Looney *et al* (2010) το γένος *Serratia* της οικογένειας Enterobacteriaceae και πιο συγκεκριμένα το είδος *Serratia marcescens*, το οποίο δεν είναι καλά προσαρμοσμένο για να αντέχει στο θαλασσινό νερό, αλλά όταν υπάρχουν μεγάλες συγκεντρώσεις οργανικών ουσιών όπως είναι αυτές που προέρχονται από υπονόμους τότε του δίνεται αρκετός χρόνος επιβίωσης για να εποικίσει στα κοράλια τα οποία μολύνονται και πεθαίνουν.

Ακόμη όσον αφορά τα Enterobacteriaceae δυο σημεία τα οποία χρίζουν αναφοράς είναι ότι: α) οι πληθυσμοί των Enterobacteriaceae αυξήθηκαν από την άνοιξη προς το καλοκαίρι κάτι που συμβαδίζει με τα αποτελέσματα των Miller *et al* (2006) και β) είναι πολύ πιθανό να μην κατέστη εφικτό να καταμετρηθούν όλα τα βακτήρια, διότι όπως επισημαίνεται στις εργασίες των Du *et al* (2007) για το είδος *Edwardsiella tarda* και των Hsu *et al* (2007) για το γένος *Shigella*, τα συγκεκριμένα βακτήρια μπορούν και εισέρχονται σε κατάσταση VBNC (Viable But Not Culturable) με αποτέλεσμα να μην μπορούν να καλλιεργηθούν και να μην λαμβάνονται υπόψη στους υπολογισμούς.

Το *Escherichia coli* βρέθηκε κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml σε όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν και είναι ένα γεγονός που προκαλεί μεγάλη εντύπωση διότι ως γνωστόν υπερτερεί σε πολύ μεγάλο ποσοστό έναντι των coliforms (Edberg *et al* 2000). Όλες οι πιθανές αιτίες εισόδου του βακτηρίου στα νερά της λίμνης

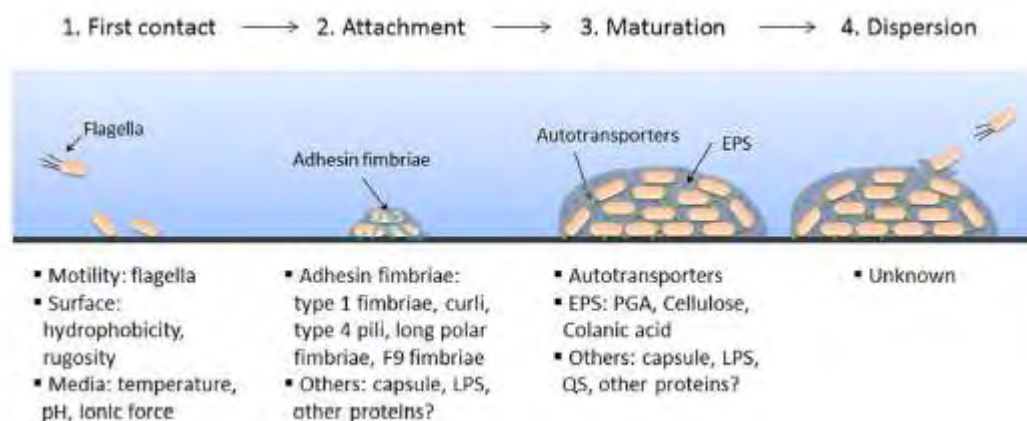
που αναφέρονται στη βιβλιογραφία ((Beutin 1998, Guan *et al* 2002, Sayah *et al* 2005, Belanger *et al* 2011, Kiefer *et al* 2012, Osogui *et al* 2014), υφίστανται στην περιοχή έρευνας. Πιο αναλυτικά, υπάρχουν οικόσιτα ζώα, άγρια πανίδα και ανθρώπινη παρουσία πλησίον της λίμνης.

Αν και δεν βρέθηκε βιβλιογραφία η οποία να αναφέρει κάτι παρόμοιο με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας υπάρχουν αναφορές για την συμπεριφορά του βακτηρίου εντός των υδάτινων οικοσυστημάτων που να μπορούν να ερμηνεύσουν τα δεδομένα που προέκυψαν.

Από τη στιγμή που τα βακτήρια εξέρχονται του σώματος του ζώου ή του ανθρώπου βρίσκονται σε ένα περιβάλλον στο οποίο δεν είναι προσαρμοσμένα να ζουν και να αναπτύσσονται, εντούτοις όμως επιδεικνύουν διάφορες τεχνικές επιβίωσης αναμένοντας την ευκαιρία να βρεθούν ξανά στο σώμα κάποιου ξενιστή. Μια από τις τεχνικές αυτές είναι η δημιουργία των βιουμενίων (biofilms) (Maal – Bared *et al* 2012).

Οι Cooper *et al* (2006) έδειξαν πως το συγκεκριμένο βακτήριο σχημάτιζε biofilms στις πέτρες του πυθμένα του ποταμού της περιοχής ερευνάς τους και όπως σημειώνουν τα biofilms των βακτηρίων στα ύδατα, λειτουργούν ως «δεξαμενές» γι' αυτά. Συνεπώς δεν πρέπει να αποκλειστεί το γεγονός να υπάρχει το *Escherichia coli* στη λίμνη, αλλά να διατηρεί προστατευμένους πληθυσμούς σε βιουμένια (biofilms) στον πυθμένα της λίμνης.

Πέραν όμως των biofilms που είναι ένας μηχανισμός προστασίας, δεν καλύπτεται πλήρως το γεγονός ότι δεν καταμετρήθηκε στα δείγματα, γιατί τα βακτήρια κάποια στιγμή απελευθερώνονται από τα βιουμένια (biofilms) (Εικ. 6).



**Εικόνα 6:** Τα τέσσερα στάδια σχηματισμού των βιομενίων (biofilm) στην *Escherichia coli* αλλά και γενικά τα βακτήρια (πηγή: Vogeleer *et al* 2014).

Συνεπώς θα πρέπει να αναζητηθεί και σε άλλες αιτίες, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Λόγω του ότι ορισμένα στελέχη του συγκεκριμένου βακτηρίου μπορούν να αποτελέσουν σοβαρή πηγή κινδύνου για τον άνθρωπο, υπάρχουν πολλές εργασίες που αφορούν το θέμα της αδρανοποίησης του (inactivation).

Η ακτινοβολία είναι ένας βασικός παράγοντας που προκαλεί αδρανοποίηση, διότι όπως έχει αποδειχτεί στην εργασία των Oguma *et al* (2001) επιδρά φωτοχημικά στο DNA των κυττάρων των βακτηρίων. Μεγάλος αριθμός εργασιών εξετάζουν το φαινόμενο της αδρανοποίησης των βακτηρίων με τη χρήση ακτινοβολιών και φωτοκαταλυτών, όπως το  $\text{TiO}_2$  (Rengifo-Herrera *et al* 2008, Chung *et al* 2009).

Οι παραπάνω εργασίες καταδεικνύουν την επίδραση του φωτός στο *E. coli* αλλά όλες αφορούσαν τεχνητό φως και συνθήκες εργαστηρίου. Στην εργασία των Sinton *et al* (2002) χρησιμοποιήθηκε νερό από ποταμό, από υπονόμους, υφάλμυρο νερό και αλμυρό θαλασσίνο νερό. Οι δεξαμενές του πειράματος εκτέθηκαν στο άμεσο ηλιακό φως, ενώ οι μάρτυρες βρίσκονταν στο σκοτάδι. Όπως επισημαίνουν βάσει του πειράματός τους δεν είναι σε όλα τα βακτήρια ίδια η επίδραση του φωτός καθώς εξαρτάται και από το μήκος κύματος του.

Η ηλιακή ακτινοβολία αν και είναι σημαντική στην περιοχή της λίμνης Κάρλας εντούτοις δεν μπορεί να δικαιολογήσει πλήρως τα αποτελέσματα της μη καταμέτρησης του *E. coli*, διότι η λίμνη παρουσιάζει υψηλή θολότητα.

Ένα σημαντικό πρόβλημα που αντιμετωπίζει το *E. coli* στο φυσικό περιβάλλον είναι αυτό της έλλειψης τροφής (starvation). Οι Ozkanca & Flint (1997) απέδειξαν πως οι υψηλές θερμοκρασίες σε συνδυασμό με την ασιτία, οδηγούν σε ταχεία και μεγάλη μείωση του πληθυσμού του βακτηρίου σε νερά προερχόμενα από λίμνη ή τα οδηγούσε να εισέλθουν σε κατάσταση VBNC. Ένα ακόμη ενδιαφέρον στοιχείο είναι ότι σε συνθήκες ασιτίας το μέγεθος του βακτηρίου γίνεται μικρότερο (Ozkanca και Flint 2002). Τα δυο αυτά στοιχεία μπορεί να αποτέλεσαν πιο βασικές αιτίες της μη επισήμανσης του βακτηρίου στη λίμνη Κάρλα.

Οι Lothigius *et al* (2009) έδειξαν πως το *E. coli* μπορεί να επιβιώσει μέχρι και τρεις μήνες σε κατάσταση VBNC και η υψηλή αλατότητα προκαλεί το θάνατο του εν λόγω βακτηρίου με ταχύτερο ρυθμό. Το δεύτερο έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των πειραμάτων της αλατότητας που δεν διαπιστώθηκε κάποια μεταβολή σε σχέση με τους αρχικούς πληθυσμούς όπως συνέβη με το *Vibrio spp.* Τα βακτήρια εισερχόμενα σε κατάσταση VBNC επί της ουσίας καθίστανται «αόρατα» στα μάτια των ελεγκτών της ποιότητας των υδάτων.

Πέραν των δυσμενών περιβαλλοντικών συνθηκών στις οποίες καλούνται τα βακτήρια *E. coli* να επιβιώσουν υπάρχει ένας ακόμη κίνδυνος γι' αυτά εντός των υδάτινων σωμάτων. Όπως έχει επισημανθεί κατά Menon *et al* (2003) το *E. coli* παρουσίαζε σχεδόν διπλάσιο ρυθμό θανάτωσης έναντι των αυτόχθονων βακτηρίων στην περιοχή ερευνάς τους και η αιτία ήταν η παρουσία των πρωτόζωων (ζωοπλαγκτόν). Τα δε ποσοστά θανάτωσης σε αλμυρά ύδατα ήταν ακόμη μεγαλύτερα.



Η προτίμηση των πρωτόζωων για το *E. coli* επισημαίνεται στην εργασία των Iriberry *et al* (1994) και των Dominguez *et al* (2012), ενώ ως κύρια αιτία θανάτου του βακτηρίου σε αυτή των McCabridge και McMeekin (1978). Τέλος, οι Davies *et al* (1995) αναφέρουν πως: α) η παρουσία πρωτόζωων επιταχύνει την μείωση των συγκεκριμένων βακτηρίων και β) το μικροπεριβάλλον του πυθμένα των υδάτινων σωμάτων επιτρέπει στα βακτηρίδια όπως το *E. coli* να επιβιώσουν για περισσότερο χρονικό διάστημα. Συνεπώς το *E. coli* μπορεί να βρίσκεται στον πυθμένα της λίμνης και να μην μπορεί να βρεθεί σε μεγάλους πληθυσμούς εντός της υδάτινης στήλης εξαιτίας των πρωτόζωων.

Όπως προαναφέρθηκε σε συνθήκες αστίας το βακτήριο μειώνει το μεγέθος του, αυτό στην περίπτωση της λίμνης Κάρλας είναι πιθανό ότι ευνοεί ακόμη περισσότερο τα πρωτόζωα απεναντί του, διότι όπως έχει βρεθεί η λίμνη είναι ευτροφική και παρουσιάζει μεγάλους πληθυσμούς κυανοβακτηρίων (Chamoglou *et al* 2014). Σε τέτοιες συνθήκες είναι κοινά αποδεκτό ότι το ζωοπλαγκτόν δεν ασκεί καλό έλεγχο πάνω στο φυτοπλαγκτόν και πως τα ψάρια που τρέφονται με ζωοπλαγκτόν απομακρύνουν τα μεγάλα μεγέθους είδη (Gulati *et al* 2008). Συνεπώς, αν επιβιώνουν τα μικρότερου μεγέθους πρωτόζωα είναι πολύ πιθανό ότι και αυτά θα κυνηγήσουν το «μικρότερο» και πιο «χωνεύσιμο» *E. coli*.

Τα coliforms βρέθηκαν σε όλα τα δείγματα και οι τιμές τους κυμαίνονταν από 1,77 έως 3,81 log cfu/ml, με μικρότερη τιμή τον μήνα Μάρτιο (1,77 log cfu/ml) και μεγαλύτερη τιμή τον μήνα Ιούλιο (3,81 log cfu/ml) στα σημεία KRL και 2T αντίστοιχα. Οι πληθυσμοί τους ήταν δεύτεροι σε σύγκριση με αυτούς της OMX για τους μήνες Ιούνιο, Ιούλιο και Σεπτέμβριο, ενώ στη δειγματοληψία του Μαρτίου ήταν στην τρίτη θέση, με τους πληθυσμούς του *Salmonella* spp. να υπερτερούν στις θέσεις 2T και X

από τις τρεις θέσεις της δειγματοληψίας. Το μεγάλο ερωτηματικό αρχικά ήταν πως ενώ η παρουσία τους συνδέεται άμεσα με αυτή του *E. coli* (Payment *et al* 2003), εκείνο δεν βρισκόταν στις καλλιέργειες, ενώ αυτά βρέθηκαν δεύτερα σε πληθυσμούς.

Η περίπτωση να μην προέρχονται από κοπρανώδη μόλυνση σε εύκρατες περιοχές ακόμη δεν έχει επιβεβαιωθεί, όπως έχει συμβεί για τροπικές και υποτροπικές περιοχές (Payment *et al* 2003), άρα ένα τέτοιο ενδεχόμενο θα πρέπει να αποκλειστεί.

Οι πληθυσμοί των coliforms αυξήθηκαν κατά τους θερινούς μήνες στο παρόν πείραμα και αυτό έρχεται σε αντίθεση με τους ισχυρισμούς των Scraber *et al* (2004), οι οποίοι υποστηρίζουν ότι δεν αντέχουν τόσο στις χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα όσο και στις υψηλές των καλοκαιρινών μηνών.

Τα coliforms έχουν τις ίδιες πιθανές αιτίες εισόδου στα υδάτινα οικοσυστήματα όπως και το *E. coli*. Σε αυτό το σημείο κρίνεται σκόπιμο να αναφερθεί πως γύρω από τη λίμνη Κάρλα λειτουργούν πάρα πολλές κτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις. Εφόσον τα κολοβακτηρίδια βρίσκονται στο παχύ έντερο των ζώων είναι ευνόητο ότι βρίσκονται και στην κοπριά που αυτά παράγουν, το πρόβλημα προκύπτει όταν μέσω της επιφανειακής απορροής οι παθογόνοι μικροοργανισμοί φτάνουν στους υδατικούς πόρους.

Η επιβίωση των συγκεκριμένων βακτηρίων στην κοπριά και κατ' επέκταση στο χωράφι εξαρτάται από την θερμοκρασία περιβάλλοντος, την υγρασία, την ακτινοβολία και την μέθοδο εφαρμογής της στον αγρό, (Saunders *et al* 2012). Παράλληλα όταν η χρήση γης είναι αγροτική και υπάρχει άσκηση κτηνοτροφίας, οι πληθυσμοί των coliforms είναι σημαντικά μεγαλύτεροι, επίσης από τις κτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις εκείνες που οδηγούν σε μεγάλους πληθυσμούς των συγκεκριμένων μικροοργανισμών είναι αυτές που εκτρέφουν βοοειδή (Sigua *et al* 2010).

Τα κοπρανώδη κολοβακτηρίδια συσχετίζονται ισχυρά θετικά με τα κατακρημνίσματα, (Love *et al* 2010) αυτό εξηγεί τις υψηλές τιμές στις δειγματοληψίες Ιουνίου και Σεπτεμβρίου, διότι την προηγούμενη μέρα είχαν προηγηθεί έντονες βροχοπτώσεις. Παράλληλα συσχετίζονται ισχυρά αρνητικά με το διαλυμένο οξυγόνο, αλλά στην λίμνη Κάρλα επικρατούν σχεδόν ανοξικές συνθήκες (θανάτωση ψαριών) (Chamoglou *et al* 2014) και αυτός είναι ένας παράγοντας που μάλλον ενισχύει την παρουσία τους στην λίμνη. Τα ολικά κολοβακτηρίδια έχουν βρεθεί να συσχετίζονται θετικά με τον φώσφορο (Hong *et al* 2010) και επειδή οι υψηλότερες τιμές του στη λίμνη Κάρλα είναι τους θερινούς μήνες (Papadimitriou *et al* 2013), εξηγείται η αντίστοιχη αύξηση των βακτηρίων.

Η μεγάλη θετική συσχέτιση των κοπρανωδών κολοβακτηριδίων με τα κατακρημνίσματα και την επιφανειακή απορροή επισημαίνεται και στην εργασία των Crabill *et al* (1999). Οι συγκεκριμένοι επιστήμονες βρήκαν ότι τα βακτήρια ήταν πολύ περισσότερα στα ύδατα ενός ποταμού αμέσως μετά από βροχόπτωση, ακόμη διαπίστωσαν ότι οι πληθυσμοί των εν λόγω μικροοργανισμών στο έδαφος ήταν στο αποκορύφωμά τους πριν από την έλευση των βροχών. Η παρουσία κατασκηνωτών στις ακτές του ποταμού δεν ήταν η κύρια πηγή μόλυνσης των υδάτων διότι όταν αυτοί απουσίαζαν αλλά υπήρχε βροχή, τα ύδατα βρίσκονταν επιβαρυμένα με κοπρανώδη κολοβακτηρίδια. Ακόμη, σημειώνουν ότι τα αποτελέσματά τους επιβεβαιώνουν αποτελέσματα άλλων ερευνητών ότι οι πληθυσμοί των συγκεκριμένων μικροοργανισμών στο έδαφος μπορούν να είναι ακόμη και 100 φορές μεγαλύτεροι από αυτούς που καταμετρούνται σε γειτονικά ύδατα.

Επίσης βρέθηκε ότι τα ολικά κολοβακτηρίδια συσχετίζονται περισσότερο με τους φυσικοχημικούς παράγοντες που επικρατούν στον υδάτινο πόρο, ενώ τα

κοπρανώδη κολοβακτηρίδια συσχετίζονται περισσότερο με την εξωτερική πηγή (Hong *et al* 2010). Το συμπέρασμα της εργασίας των Mitch *et al* (2010) είναι σε συμφωνία με τα ανωτέρω για την σχέση κοπρανωδών κολοβακτηριδίων και εξωτερικής πηγής προέλευσης. Στην περιοχή που μελέτησαν διαπίστωσαν πως όταν σταματούσαν το χειμώνα την επεξεργασία των λυμάτων το εργοστάσιο βιολογικού καθαρισμού με την δικαιολογία πως οι χαμηλές θερμοκρασίες κρατούν χαμηλά τους πληθυσμούς των κοπρανωδών κολοβακτηριδίων, αυτοί αποδείχτηκαν πάρα πολύ υψηλοί. Όταν αντίθετα τους θερινούς μήνες οι βιολογικοί καθαρισμοί λειτουργούσαν τότε στα ύδατα υπήρχαν μικρότεροι πληθυσμοί.

Όσον αφορά, στο πείραμα της αλατότητας του Μαρτίου της παρούσας εργασίας, τα coliforms αυξήθηκαν και αυτό δεν έρχεται σε πλήρη συμφωνία με δεδομένα άλλων ερευνητών (Love *et al* 2010). Ενώ στο πείραμα της αλατότητας του Ιουνίου μειώθηκαν και έρχεται σε πλήρη συμφωνία.

Τα βακτήρια του γένους *Salmonella* spp. δεν καταμετρήθηκαν σε όλες τις θέσεις και σε μεγάλους πληθυσμούς. Οι τιμές τους κυμαίνονταν από 1,3 έως 2,93 log cfu/ml, με μικρότερη τιμή τον μήνα Σεπτέμβριο (1,3 log cfu/ml) και μεγαλύτερη τιμή τον μήνα Μάρτιο (2,93 log cfu/ml) στα σημεία KRL και X αντίστοιχα. Πιο συγκεκριμένα, μόνο στην δειγματοληψία του Μαρτίου οι μέσοι όροι του υπερέιχαν αυτούς των coliforms και βρέθηκε στην δεύτερη θέση μετά την OMX. Τον Ιούνιο στην θέση 2T ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml, κάτι που επαναλήφθηκε και τον Ιούλιο. Στην δειγματοληψία του Σεπτεμβρίου καταμετρήθηκαν αποικίες αλλά οι μέσοι όροι κρίνονται χαμηλοί, 1,3 και 1,7 log cfu/ml για τις θέσεις KRL και 2T αντίστοιχα. Σε ότι αφορά τους πληθυσμούς του βακτηρίου, στο πείραμα της αλατότητας του Μαρτίου της παρούσας διατριβής, οι πληθυσμοί των υφάλμυρων και θαλασσινών υδάτων ήταν

μεγαλύτεροι έναντι των γλυκών υδάτων, κάτι που έρχεται σε αντίθεση με την εργασία των Morinigo *et al* (1989) οι οποίοι ισχυρίζονται ότι η σαλμονέλλα έχει μικρή αντοχή στο θαλασσινό νερό.

Τα υδάτινα οικοσυστήματα (θάλασσες, ποτάμια, λίμνες), παράλληλα με το έδαφος δέχονται την κοπριά ή απλώς τα περιττώματα των μολυσμένων ζώων και πτηνών, με αποτέλεσμα να λειτουργούν ως δεξαμενές της σαλμονέλλας (Jacobsen & Bech 2012). Οι Gaertner *et al* (2009) αναφέρουν πως η επιφανειακή απορροή μπορεί να παρασύρει βακτήρια σαλμονέλλας που βρίσκονται στο έδαφος σε παρακείμενες περιοχές και να τα οδηγήσει εντός ενός υδάτινου σώματος (στην προκειμένη περίπτωση μια λίμνη).

Τα δε βακτήρια μπορούν να οφείλονται είτε στην άγρια πανίδα, είτε σε οικόσιτα ζώα ή ακόμη και στον άνθρωπο και στην ουσία να συνιστούν μια μη σημειακή πηγή μόλυνσης. Στην κοπριά έχει βρεθεί πως μέχρι και την τέταρτη μέρα ο πληθυσμός του βακτηρίου αυξάνεται αλλά από εκεί και έπειτα μειώνεται σταθερά (You *et al* 2006). Πρακτικά αν μεσολαβούν πολλές μέρες μεταξύ της απόθεσης των κοπράνων ή της κοπριάς στο έδαφος μέχρι την επόμενη βροχόπτωση δεν επιβιώνουν πολλά βακτήρια προκειμένου να φτάσουν στο υδάτινο σώμα (Semenov *et al* 2009).

Το συγκεκριμένο γένος θεωρείται πως δεν έχει πολύ μεγάλη αντοχή επιβίωσης στα υδάτινα οικοσυστήματα (Domingo *et al* 2000). Ένας επιπλέον λόγος που δεν βρίσκονται βακτήρια του γένους *Salmonella* spp. στις αναλύσεις που χρησιμοποιούν με την τεχνική της καλλιέργειας αποικιών σε τρυβλία, είναι ότι ένας σημαντικός αριθμός βακτηρίων εισέρχεται σε κατάσταση VBNC (Domingo *et al* 2000). Πέραν όμως της κατάστασης VBNC άλλοι λόγοι που πιθανόν συνηγόρησαν στο να μην βρεθούν μεγάλοι πληθυσμοί *Salmonella* spp. στα δείγματα της παρούσας εργασίας ήταν οι ήπιοι

σχετικά άνεμοι που επικρατούσαν τις ημέρες πριν την δειγματοληψία αλλά και η υψηλή ηλιοφάνεια σύμφωνα με (Martinez – Urtaza *et al* 2004) οι οποίοι υποστηρίζουν ότι το *Salmonella* spp. συσχετίζεται αρνητικά με τους παραπάνω παράγοντες. Η πολύ ισχυρή αρνητική επίδραση που έχει η ακτινοβολία στο συγκεκριμένο βακτήριο έχει επισημανθεί και από άλλους ερευνητές (Morinigo *et al* 1989, Chadra & Hatha 2005).

Οι Chadra και Hatha (2005) αναφέρουν πως σε συνθήκες αποστειρωμένου υφάλμυρου ύδατος οι πληθυσμοί του *Salmonella* Typhimurium αυξήθηκαν, κάτι που έρχεται σε απόλυτη συμφωνία με τα αποτελέσματα του πειράματος της αλατότητας του Μαρτίου της παρούσας εργασίας. Οι Morinigo *et al* (1989) αναφέρουν ότι η αντοχή του βακτηρίου στην αλατότητα είναι χαμηλή, αλλά στην ουσία επιβεβαιώνουν τα αποτελέσματα των δειγματοληψιών διότι τα ύδατα της λίμνης είναι υφάλμυρα, συνεπώς δικαιολογείται να μην βρίσκονται μεγάλοι πληθυσμοί στα δείγματα.

Παρόμοια στοιχεία για την αντοχή του *Salmonella* Typhimurium επισημαίνουν και οι Mezrioui *et al* (1994), πιο συγκεκριμένα όταν οι συνθήκες αλατότητας αλλάζουν απότομα το βακτήριο αδυνατεί να προσαρμοστεί, ενώ όταν αυτή η μεταβολή γίνεται με πιο αργό ρυθμό ανταποκρίνεται καλύτερα. Ο πιθανότερος λόγος για τον οποίο δεν βρέθηκε *Salmonella* spp. στο πείραμα της αλατότητας του Ιουνίου, είναι ότι στο αρχικό δείγμα η παρουσία της ήταν πάρα πολύ μικρή (4-20 αποικίες/lit στα δείγματα), οπότε με την 1/10 αραιώση ο πληθυσμός της εκμηδενίστηκε.

Τέλος, ένας ακόμη παράγοντας που πιθανόν οδήγησε στο να μην εντοπιστούν μεγάλοι πληθυσμοί του εν λόγω βακτηρίου στα δείγματα είναι η παρουσία θηρευτών (πρωτόζωα), όπως έχει αποδειχθεί, όταν βρίσκονται αυτοί οι μικροοργανισμοί στα γλυκά ύδατα η μείωση των πληθυσμών του *Salmonella* spp. είναι ραγδαία (Morinigo *et al* 1989, Mezrioui *et al* 1994, Chadra & Hatha 2005).

Το *Enterococcus* spp. σε όλα τα δείγματα ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml. Τα συγκεκριμένα βακτήρια αναφέρονται ως δείκτες μόλυνσης των υδάτων (Sinton *et al* 1993). Συνεπώς το ερώτημα που τίθεται είναι γιατί δεν εντοπίστηκαν πληθυσμοί των *Enterococcus* spp. στα ύδατα της λίμνης Κάρλας. Ένας πιθανός λόγος είναι η ηλιακή ακτινοβολία. Υπάρχει μεγάλος αριθμός εργασιών που πιστοποιούν την ικανότητα της ακτινοβολίας στο να αδρανοποιεί τους εν λόγω μικροοργανισμούς (Sinton *et al* 2001, Schultz-Fademrecht *et al* 2008, del Mar Lleo *et al* 2005, Fisher *et al* 2012, Michael *et al* 2012). Αυτός όμως δεν πρέπει να θεωρείται ο κύριος λόγος μη επισήμανσης των *Enterococcus* spp. διότι η λίμνη παρουσιάζει υψηλή θολότητα.

Μια άλλη πιθανή αιτία είναι να υπάρχουν στον πυθμένα της λίμνης σε βιουμένια (biofilms) (Schultz-Fademrecht *et al* 2008). Όμως και σε αυτή την περίπτωση θεωρείται αναμενόμενο έστω ένας μικρός αριθμός βακτηρίων να εντοπιστεί. Βέβαια δεν θα πρέπει να αποκλείεται το ενδεχόμενο μόλις τα βακτήρια αποδεσμεύονται από τα biofilms λόγω των αντίξοων περιβαλλοντικών συνθηκών εντός της λίμνης να εισέρχονται σε κατάσταση αδρανοποίησης. Ο κύριος λόγος που θα μπορούσε να επιβάλλει στα βακτήρια να βρεθούν σε κατάσταση αδρανοποίησης είναι η αλατότητα των υδάτων της λίμνης Κάρλας (Kay *et al* 2004, Korajkic *et al* 2013, Chamoglou *et al* 2014).

Στην εργασία των Bordalo *et al* (2002) επισημαίνεται πως η αλατότητα από μόνη της δεν δύναται να μειώσει τους πληθυσμούς των *Enterococcus* spp., αλλά όταν συνδυάζεται με την ακτινοβολία αυξάνει την αρνητική της επίδραση κατά πολύ. Συνεπώς η αλατότητα αλλά και οι συνθήκες έλλειψης τροφής μπορούν να οδηγήσουν

τους *Enterococcus* spp. σε κατάσταση ασιτίας ή VBNC (del Mar Lleo *et al* 2005), αλλά όχι να τους εξολοθρεύσουν.

Ένας ακόμη λόγος για τον οποίο θα μπορούσαν να μην εντοπίζονται τα *Enterococcus* spp. είναι η κατανάλωσή τους από τα πρωτόζωα (Menon *et al* 2003), όμως και σε αυτή την περίπτωση τα εν λόγω βακτήρια δεν είναι ιδιαίτερα επιθυμητά από το ζωοπλαγκτόν και σε σχέση με τα άλλα εντερικά βακτήρια καταναλώνονται τελευταία, εφόσον σαν θετικοί κόκκοι είναι δυσκολοχώνευτοι για τα πρώτιστα ( Iriberrí *et al* 1994).

Βρέθηκε όμως ότι τα συγκεκριμένα βακτήρια δεν μπορούν να πολλαπλασιαστούν στο νερό, ακόμη και αν βρίσκονταν θα θεωρούνταν παλιά μόλυνση σύμφωνα με Ostrolenk (1947) και Burton (1949) από Γραμμένου (2005), αλλά αυτό δεν ερμηνεύει την μη καταγραφή τους, διότι θα μπορούσαν κάλλιστα να βρίσκονται εντός της λίμνης άσχετα εάν δεν θα πολλαπλασιάζονταν.

Εν κατακλείδι οι λόγοι που μπορούν να εξηγήσουν τα αποτελέσματα είναι ότι τα *Enterococcus* spp. βρίσκονται στον πυθμένα με τη μορφή biofilms, στην υδάτινη στήλη εισέρχονται σε κατάσταση VBNC και παραμένουν «αόρατα» ή δεν υφίσταται μόλυνση της λίμνης Κάρλας με *Enterococcus* spp. σε ανιχνεύσιμο βαθμό.

Το *Vibrio* spp. αρχικά στην δειγματοληψία του Μαρτίου βρέθηκε να είναι κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml, κάτι που επαναλήφθηκε για τις δυο από τις τρεις θέσεις στην δειγματοληψία του Ιουνίου, εξαίρεση ήταν η θέση KRL στην οποία η τιμή της ήταν 2,58 log cfu/ml. Εκείνο όμως που κάνει εντύπωση είναι ότι στο πείραμα της αλατότητας του Ιουνίου στα αλμυρά ύδατα εμφανίστηκαν αποικίες *Vibrio* spp. και στο νερό των άλλων δυο θέσεων που αρχικά δεν είχαν καταμετρηθεί. Στο αντίστοιχο πείραμα αλατότητας του Μαρτίου τα *Vibrio* spp. συμπεριλαμβάνονταν στην ανάλυση,



όμως παρατηρήθηκε σημαντικά μεγάλη αύξηση αποικιών στη (-1) αραίωση με αποτέλεσμα να μην γίνει καταμέτρηση.

Οι Singleton *et al* (1982) αναφέρουν πως το βακτήριο αναπτύσσεται καλύτερα σε ποσοστά αλατότητας 25‰ και γενικά απαιτεί ένα ποσοστό αλατότητας για την άριστη αναπτυξή του. Ομοίως και οι Fukushima και Seki (2004) επισημαίνουν την θετική συσχέτιση της υψηλής αλατότητας με τα *Vibrio* spp.. Αυτά έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του πειράματος της αλατότητας του Ιουνίου. Η αυξημένη αλατότητα, οδήγησε αρκετά βακτήρια στο να καλλιεργηθούν ενώ πριν ήταν «αόρατα» γιατί είχαν εισέλθει σε κατάσταση VBNC. Το ότι μπορούν να εισέρχονται σε κατάσταση VBNC αναφέρεται από τους Oliver *et al* (1991).

Τα βακτήρια εποχιακά εμφανίζουν μεγαλύτερους πληθυσμούς κατά τους θερινούς μήνες (Gurbanov *et al* 2011), αυτό πιθανώς ερμηνεύει γιατί εντοπίστηκε πιο εύκολα στη δειγματοληψία του Ιουνίου έναντι του Μαρτίου. Παράλληλα έχει βρεθεί πως είδη όπως το *V. anguillarum* όταν βρεθεί σε μηδενικά επίπεδα αλατότητας χάνει την ικανότητά του να δημιουργεί αποικίες και αδυνατεί να καλλιεργηθεί στο εργαστήριο (Eguchi *et al* 2000).

Δυο άλλοι παράγοντες που ευνοούν την ανάπτυξη των *Vibrio* spp. στη λίμνη Κάρλα είναι οι ανοξικές συνθήκες και το αλκαλικό pH (Urdaci *et al* 1988, Nair *et al* 1988, Blackwell και Oliver 2008, Papadimitriou *et al* 2013, Chamoglou *et al* 2014). Εκτός όμως αυτών τα βακτήρια έχουν την ικανότητα να δημιουργούν βιουμένια (biofilms) στον πυθμένα λιμνών (Eguchi *et al* 2000, Hammer & Bassler 2003, Yildiz & Visick 2009). Συνεπώς δεν μπορεί να αποκλειστεί το ενδεχόμενο να συμβαίνει το ίδιο και στην λίμνη Κάρλα.

Το *Aeromonas* spp. ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml σε όλες τις θέσεις κατά τη δειγματοληψία του Ιουνίου που εξετάστηκε ο πληθυσμός του στα ύδατα.. Τα *Aeromonas* θεωρούνται ως κατ' εξοχήν βακτήρια όλων των τύπων των υδάτινων οικοσυστημάτων, όπως είναι τα γλυκά ύδατα ρεμάτων και λιμνών, τα υφάλμυρα δέλτα των ποταμών, στη θάλασσα αλλά και σε ύδατα προερχόμενα από υπονόμους (Janda & Abbott 2010). Συνεπώς δημιουργούνται ερωτηματικά για τον λόγο που δεν εντοπίστηκαν στα νερά της λίμνης Κάρλας.

Γενικά όσο πιο μολυσμένα και βρώμικα είναι τα ύδατα τόσο πιο μεγάλοι πληθυσμοί *Aeromonas* spp. εντοπίζονται (Miranda & Castillo 1996). Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας εφόσον η Λίμνη Κάρλα χαρακτηρίζεται για τη θολότητά της. Επίσης βρέθηκε σύμφωνα με Miranda και Castillo (1996) σε δείγματα νερού προοριζόμενο για αρδεύσεις και σε νερό προερχόμενο από επιφανειακή απορροή που κατέληγαν λύματα από υπονόμους ότι το *Aeromonas* spp. δεν παρουσιάζει συσχέτιση με τους κοπρανώδεις δείκτες. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με την παρούσα διατριβή που δεν βρέθηκαν *Aeromonas* spp. αλλά βρέθηκαν κοπρανώδεις δείκτες.

Αν και όλα τα στοιχεία ευνοούν την υπαρξή τους στη λίμνη αυτά δεν επισημάνθηκαν. Η αλατότητα δεν τα επηρεάζει (Nakano et al 1990), αλλά εκείνο που ξεχωρίζει σύμφωνα με την βιβλιογραφία είναι ότι εντοπίζονται κυρίως στα ύδατα των αποχετευτικών συστημάτων Janda και Abbott (2010), οπότε είναι πολύ πιθανό τα λύματα των οικισμών να μην φτάνουν στην λίμνη και άρα αυτή να μην μολύνεται με σημαντικό πληθυσμό *Aeromonas* spp.

Οι ζύμες - μύκητες ήταν κάτω του ορίου απαρίθμησης των 2 log cfu/ml σε όλες τις θέσεις και σε όλες τις δειγματοληψίες στις οποίες εξετάστηκαν. Οι μύκητες έχουν

εντοπιστεί σε όλα τα υδάτινα οικοσυστήματα, ενώ η αλατότητα δεν φαίνεται να τους δημιουργεί πρόβλημα, παράλληλα, εκεί που φαίνεται να έχουν μεγάλη οικολογική σημασία μέσω της συμμετοχής τους στην αποσύνθεση της οργανικής ύλης, είναι στις εκβολές των ποταμών (δέλτα ποταμών) και γενικά κοντά στις ακτές (Kutty & Philip 2008).

Η ύπαρξη πληθυσμών των συγκεκριμένων μικροοργανισμών στα υδάτινα οικοσυστήματα συνδέεται άμεσα με την εισαγωγή λυμάτων από το αποχετευτικό σύστημα (Cooke & Matsuura 1963, Taysi & van Uden 1964, Ahearn *et al* 1968, Woolett και Hedrick 1970). Συνεπώς το ότι δεν κατέστη δυνατό να εντοπιστούν στα δείγματα της λίμνης Κάρλας είναι πολύ πιθανό ότι δεν δέχεται λύματα από τα αποχετευτικά συστήματα των γειτονικών οικισμών. Αυτό έρχεται σε κάποιο βαθμό σε συμφωνία με τα αποτελέσματα για τα *Enterococcus* spp. και *Aeromonas* spp..

Τέλος, άλλοι λόγοι που δεν εντοπίστηκαν ζύμες-μύκητες στα ύδατα της λίμνης πιθανόν να είναι ότι: α) το θρεπτικό υπόστρωμα και οι περιβαλλοντικές συνθήκες (ιδίως η θερμοκρασία) λειτουργούν εκλεκτικά και μπορούν να ευνοήσουν ή όχι την ανάπτυξη των μυκήτων στο εργαστήριο, β) δεν υπάρχει επιμόλυνση των υδάτων της λίμνης Κάρλας με ανθρωπογενή λύματα σε βαθμό που να επιτρέπει τον εντοπισμό τους (Kutty & Philip 2008).

Η OMX είχε τους μεγαλύτερους πληθυσμούς σε όλες τις δειγματοληψίες και οι τιμές τους κυμαίνονταν από 3,60 έως 5,49 log cfu/ml, με μικρότερη τιμή τον μήνα Μάρτιο (3,60 log cfu/ml) και μεγαλύτερη τιμή τον μήνα Ιούνιο (5,49 log cfu/ml) στα σημεία KRL και 2T, αντίστοιχα. Οι μέσοι όροι των δειγματοληψιών Ιουνίου και Ιουλίου στην θέση 2T δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Εποχιακά οι πληθυσμοί αυξήθηκαν τους θερινούς μήνες ενώ φαίνεται να μειώνονται κατά τους

φθινοπωρινούς και εαρινούς. Στα πειράματα της αλατότητας ο μεγαλύτερος μέσος όρος καταγράφηκε στις υφάλμυρες συνθήκες και γενικά έδειξε να ευνοείται από την αλατότητα.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της OMX έχει διάφορα μειονεκτήματα, το πρώτο από αυτά είναι ότι αδυνατεί να αναδείξει όλα τα βακτήρια αλλά μόνον αυτά που μπορούν να καλλιεργηθούν (Prevost *et al* 1998, Defives *et al* 1999). Το δεύτερο μειονέκτημά της είναι πως αργεί να δώσει γρήγορα αποτελέσματα και γενικά θεωρείται χρονοβόρα (Edberg & Edberg 1988). Θα πρέπει λοιπόν να θεωρείται σχεδόν σίγουρο πως ο πραγματικός αριθμός της OMX είναι μεγαλύτερος από αυτόν που καταγράφηκε.

Η αύξηση που παρατηρήθηκε κατά τους θερινούς μήνες στην παρούσα εργασία δεν συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Anacleto *et al* (2013), συμφωνεί όμως με τα αποτελέσματα των Staley *et al* (1980) και Das και Acharya (2003), οι οποίοι αναφέρουν ότι η OMX συσχετιζόταν θετικά με τους θερινούς μήνες. Επίσης βρέθηκε ότι η OMX παρουσιάζει θετική συσχέτιση με τις βροχοπτώσεις σύμφωνα με τους Staley *et al* (1980) και Das και Acharya (2003), κάτι που έρχεται σε αντίθεση με τα ευρήματα της παρούσας εργασίας εφόσον ο μέσος όρος της OMX κατά τη δειγματοληψία του Σεπτεμβρίου που είχε προηγηθεί βροχόπτωση, διέφερε στατιστικά σημαντικά με αυτούς των θερινών μηνών.

Ένα άλλο στοιχείο που αναφέρεται στην εργασία των Das και Acharya (2003) είναι ότι όταν εισέρχονται λύματα από το αποχετευτικό σύστημα οι πληθυσμοί της OMX αυξάνονται κατά πολύ. Το γεγονός πως οι μέσοι όροι της OMX στη λίμνη Κάρλα ήταν μεγαλύτεροι έναντι των άλλων μικροοργανισμών αλλά όχι με τεράστιες διαφορές

είναι μια ακόμη ένδειξη ότι η λίμνη δεν δέχεται επιβάρυνση από τα λύματα αποχετευτικού συστήματος.

Όταν τα δείγματα πέρχονται από υπερτροφικές λίμνες οι τιμές της OMX όταν υπολογίζονται με την μέθοδο της καλλιέργειας σε τρυβλία βρίσκονται αυξημένες (Staley *et al* 1980, Porter *et al* 2004). Η λίμνη Κάρλα τείνει να είναι υπερτροφική λίμνη, επομένως είναι αναμενόμενο να προκύψουν αρκετές αποικίες στα τρυβλία κατά τη διάρκεια των αναλύσεων.

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται αρκετές περιπτώσεις που βρέθηκαν ετερότροφα βακτήρια στον πυθμένα λιμνών σε ακραία περιβάλλοντα (Takii *et al* 1986, Rothfuss *et al* 1997, Gaidos *et al* 2004). Οπότε θα πρέπει να υπάρχουν βακτήρια και στον πυθμένα της λίμνης Κάρλας που δεν υπολογίστηκαν στην παρούσα εργασία.

Δεν είναι πάγια τακτική των ερευνητών να υπολογίζουν την OMX ιδίως όταν τα ύδατα που μελετούν δεν αφορούν πόσιμο νερό, αλλά και όταν την υπολογίζουν δεν την αναλύουν διεξοδικά. Ενδεικτική είναι η εργασία των Rodrigues *et al* (2011) οι οποίοι μελέτησαν την περίοδο 2002 – 2007 τα ύδατα στις κεντροδυτικές ακτές της Ινδίας, αν και υπολόγισαν την OMX εντούτοις στη συζήτηση και στα αποτελέσματα αποφεύγουν να κάνουν τον οποιαδήποτε σχολιασμό και να την συσχετίσουν με κάποιο από τους άλλους παράγοντες (αβιοτικούς και βιοτικούς).

Ακόμη σύμφωνα με την εργασία των Edberg και Smith (1989) δεν φαίνεται να υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της OMX και των ολικών βακτηρίων και αυτός είναι ο βασικός λόγος που οδήγησε μια μεγάλη μερίδα ερευνητών με την εξεύρεση νέων μεθόδων υπολογισμού της μόλυνσης των υδάτων.

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η λίμνη Κάρλα είναι ένα οικοσύστημα που βρίσκεται στην αρχή του και είναι αναμενόμενο να μην έχει σταθεροποιηθεί. Προκειμένου να υποστηριχθούν και να αναδειχθούν όσο γίνεται περισσότερες αξίες της λίμνης (αναψυχική, εκπαιδευτική, βιολογική, αλιευτική, αρδευτική) είναι βασικό να γνωρίζουν οι επιστήμονες τα επίπεδα μικροβιακής μόλυνσης των νερών της λίμνης, καθώς επίσης και τις πηγές προέλευσης. Επίσης, λόγω του ότι τα ύδατα της λίμνης είναι σχετικά αλμυρά είναι σημαντικό να εξακριβωθεί η σχέση των μικροοργανισμών με την αλατότητα.

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκαν τα νερά της λίμνης Κάρλας ως προς τους μικροβιακούς οργανισμούς. Τα σημαντικά στοιχεία που προέκυψαν είναι: 1) οι κάτω του ορίου των  $2 \log \text{ cfu/ml}$  πληθυσμοί των *Enterococcus* spp., *Aeromonas* spp. και μυκήτων οδηγούν στο συμπέρασμα πως η λίμνη Κάρλα δεν μολύνεται σημαντικά από το αποχετευτικό σύστημα κάποιου εκ των οικισμών που βρίσκονται στην περιοχή, 2) κύρια πηγή μόλυνσης της λίμνης είναι πιθανόν οι κτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις πέριξ της λίμνης, 3) τα *Vibrio* spp. όταν αυξάνεται η αλατότητα καθίστανται «ορατά» 4) ο κύριος παράγοντας που επιδρά στον ρυθμό θανάτου των βακτηρίων στη λίμνη Κάρλα είναι πιθανόν τα πρωτόζωα, 5) με την μέθοδο της καλλιέργειας δεν είναι εφικτό να εντοπιστούν οι πραγματικοί πληθυσμοί των βακτηρίων διότι όταν αυτά εισέρχονται σε κατάσταση VBNC καθίστανται «αόρατα», 6) σημαντικοί αριθμοί βακτηρίων πιθανόν να βρίσκονται στον πυθμένα της λίμνης σχηματίζοντας βιουμένια (biofilms), 7) τα *Enterobacteriaceae*, τα coliforms και η OMX ευνοούνται από τις υψηλές θερμοκρασίες, 8) η χαμηλή στάθμη νερού που είναι στις θέσεις των εξόδων δείχνει πως πρακτικά η λίμνη δεν παροχετεύει σημαντικές ποσότητες προς την περιοχή της Μαγνησίας, ιδίως

κατά τους πιο θερμούς μήνες του έτους, 9) μια πιθανή αύξηση της αλατότητας των υδάτων της λίμνης θα πρέπει να αναμένεται ότι θα επηρεάσει θετικά την ΟΜΧ και τα *Vibrio* spp., ενώ δεν μπορεί να εξαχθεί με τα μέχρι στιγμής δεδομένα ασφαλές συμπέρασμα για τους άλλους μικροοργανισμούς.

Στο μέλλον θα πρέπει να γίνουν συστηματικές καταγραφές των μικροβιακών δεικτών και με την χρήση και άλλων μεθόδων προκειμένου να υπολογιστούν στο μέγιστο δυνατό βαθμό οι πραγματικοί πληθυσμοί των βακτηρίων. Πέραν του παραπάνω θα πρέπει να ενημερωθούν οι κάτοικοι και κυρίως οι αγρότες - κτηνοτρόφοι της περιοχής, για το πώς μπορούν να μην επιβαρύνουν μικροβιακά την λίμνη.

## 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Γραμμένου Π. (2005) Εντερόκοκκοι υδάτινου περιβάλλοντος: ταυτοποίηση, ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά και κλωνική ανάλυση. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών, σελ. 116
- Γκατζιούρα Α. (2012) Ανάλυση πιέσεων στη «Νεα» λίμνη Κάρλα με τη μεθοδολογία DPSIR: Εφαρμογή της οδηγίας 2000/60/EC. Μεαταπτυχιακή διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, σελ. 108.
- Μούμου Χ. (2007) Η δράση των χειμάρρων της λεκάνης της Κάρλας σε φυσικό και ανθρωπογενές περιβάλλον. Διδακτορική διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, σελ.164.
- Νικολαΐδη Χ., Κωνσταντινίδη Θ.Γ. (2009) Υγειονομική σημασία και ρόλος των ποιοτικών χαρακτηριστικών του πόσιμου νερού στον άνθρωπο από τη σκοπιά της δημόσιας υγείας. Στο: Κωνσταντινίδης Θ.Κ. (eds) Χρήσεις του νερού και επιπτώσεις στην υγεία των πολιτών από τη σκοπιά της υγιεινής περιβάλλοντος. Περιφερειακό Εργαστήριο Δημόσιας Υγείας Ανατολικής Μακεδονίας και Θράκης, Αλεξανδρούπολη, σελ. 15-26.
- Παπαπετροπούλου Μ., Μαυρίδου Α. (1995) Μικροβιολογία του υδάτινου περιβάλλοντος βασικές αρχές. Τραυλός, Αθήνα, σελ. 222
- Ρούσκας Γ. (2001) Η επιστροφή της λίμνης Κάρλα. Αθήνα, σελ. 182
- Σιδηρόπουλος Π. (2008) Στοχαστική προσομοίωση του υπόγειου υδροφορέα της λίμνης Κάρλα. Δίκτυο Υδρομέδων, Βόλος.
- Χαμόγλου Μ. (2013) Παρακολούθηση της ιχθυοπανίδας της περιοχής ευθύνης του Φορέα Διαχείρισης Περιοχής Οικοανάπτυξης Κάρλας Μαυροβουνίου Κεφαλόβρυσου Βελεστίνου.
- ΥΠΕΧΩΔΕ (2002) Μελέτη Επαναδημιουργίας Λίμνης Κάρλα: Περιβαλλοντική - Τεχνική Έκθεση, Μελέτη Κόστους Οφέλους και Υποστηρικτικές Μελέτες. Περιβαλλοντική – Τεχνική Έκθεση, Αθήνα.

### ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Acharya M., Maiti N.K., Mohanty S., Mishra P, Samanta M. (2007) Genotyping of *Edwardsiella tarda* isolated from freshwater fish culture system. *Comparative Limnology Microbiology & Infectious Diseases*, 30:33–40.
- Ahearn D.G., Roth F.J., Meyers S.P. (1968) Ecology and characterization of yeasts from aquatic regions of South Florida. *Marine Biology*, 1: 291-308.
- Aldova, E., Hausner O., Brenner D.J., Kocmoud Z., Schindler J., Potuznikova B., Petras P. (1988) *Pragia fontium* gen. nov., sp. of the family Enterobacteriaceae, Isolated from Water. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 38(2):183–189.
- Miller W.A., Miller M.A., Gardner I.A., Atwill E.R., Byrne B.A., Jang S., Harris M.,



- Anacleto P., Pedro S., Nunes M.L., Rosa R., Marques A. (2013) Microbiological composition of native and exotic clams from Tagus estuary: Effect of season and environmental parameters. *Marine Pollution Bulletin*, 74:116–124.
- Berillis P., Papadimitriou T., Petridou E., Konstantinos K. (2014) Brain and liver histopathological examination of *Carassius gibelio* from a newly reconstructed lake with toxic Cyanobacteria. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 219:213–219.
- Beutin L. (1998) *Escherichia coli* as a pathogen in dogs and cats. *Veterinary Res*, 30: 285-298.
- Bitton G. (2005) *Wastewater microbiology*-3<sup>rd</sup> ed. John Wiley and Sons, New Jersey, pp. 750
- Blackwell K.D., Oliver J.D. (2008) The ecology of *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* in North Carolina Estuaries. *The Journal of Microbiology*, 46(2):146–153.
- Belanger L., Garenaux A., Harel J., Boulianne M., Nadeau E., Dozois C.M. (2011) *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. *Immunology and Medical Microbiology*, 62:1–10.
- Berthouex P.M., Brown L.C. (2002) *Statistics for environmental engineers*-2<sup>nd</sup> ed. Lewis Publishers, Boca Raton, pp.464.
- Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T. () Enterobacteriaceae. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*-2<sup>nd</sup> ed. Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria. Springer, Berlin, pp.1128.
- Burke V., Gracey M. (1986) Alimentary tract and pancreas *Aeromonas* species in human diarrhoeal disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 1:237–249.
- Chandran A., Hatha M.A.A. (2005). Relative survival of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in a tropical estuary. *Water Research*, 39:1397–1403.
- Chamoglou M., Papadimitriou T., Kagalou I. (2014) Key-Descriptors for the functioning of a Mediterranean Reservoir: The Case of the New Lake Karla-Greece. *Environment Processing*, 1(2):127–135.
- Chung C., Lin H., Chou C., Hsieh P., Hsiao C., Shi Z.Y., He J.L. (2009) Surface & Coatings Technology Inactivation of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* under various light sources on photocatalytic titanium dioxide thin film. *Surface & Coatings Technology*, 2009;203(8):1081–1085.
- Cooke W.B., Matsuura G.S., (1962) A study of yeast populations in a waste stabilization pond system.
- Cooper I.R., Taylor H.D., Hanlon G.W. (2007) Virulence traits associated with verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 recovered from freshwater biofilms. *Journal of Applied Microbiology*, 102:1293–1299.
- Crabill C., Donald R., Snelling J., Foust R., Southam G. (1999) The impact of sediment fecal coliform reservoirs on seasonal water quality in Oak Creek, Arizona. *Water Research*, 33(9):2163–2171.
- Das J., Acharya B.C. (2003) Hydrology and assesment of lotic water quality in Cuttack

City, India. *Water, Air & Soil Pollution*, 50:163–175.

Davies CM, Long JA, Donald M, Ashbolt N.J. (1995) Survival of fecal microorganisms in marine and freshwater sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(5):1888-1896.

Defives C., Guyard S., Oulare M.M., Mary P., Hornez J.P. (1999) Total counts, culturable and viable, and non-culturable microflora of a French mineral water : a case study. *Journal of Applied Microbiology*, 86:1033–1038.

Domingo J.W.S., Harmon S., Bennett J. (2000) Survival of *Salmonella* species in river water. *Current Microbiology*, 40:409–417.

Domínguez M.S., Escalante A.H., Folabella A.M., Zamora Á.S. (2012) Selective grazing by protists upon enteric bacteria in an aquatic system. *Revista Argentina de Microbiología*, 44:43-48.

Du M., Chen J., Zhang X., Li A., Li Y., Wang Y. (2007) Retention of virulence in a Viable but Nonculturable *Edwardsiella tarda* isolate. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(4):1349-1354.

Edberg S.C., Edberg Ph. D., Edberg M.M. (1988) A defined substrate technology for the enumeration of microbial indicators of environmental pollution. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 61:389-399.

Edberg S.C., Smith D.B. (1989) Heterotrophic and total coliform bacteria from a absence of association between Total Heterotrophic and Total Coliform Bacteria from a Public Water Supply. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(2):380-384.

Edberg S.C., Rice E.W., Karlin R.J., Allen M.J. (2000) *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*, 88:106S-116S.

Egoz N., Shmilovitz M., Kretzer B., Lucian M. (1991) An outbreak of *Shigella sonnei* infection due to contamination of a municipal water supply in Northern N Israel. *Journal of Infection*, 22:87-93.

Eguchi M., Fujiwara E., Miyamoto N. (2000) Survival of *Vibrio anguillarum* in freshwater environments: adaptation or debilitation? *Journal of Infectious Chemotherapy*, 6:126–129.

Falcao, D.P., Brochi M., Proenca-Modena J.L., Acrani G.O., Correia E.F., Falcao D.P. (2004) Virulence characteristics and epidemiology of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia* other than *Y. pseudotuberculosis* and *Y. pestis* isolated from water and sewage Bacterial strains. *Journal of Applied Microbiology*, 96:1230–1236.

Fisher M.B., Iriarte M., Nelson K.L. (2011) Solar water disinfection ( SODIS ) of *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., and MS2 coliphage: Effects of additives and alternative container materials. *Water Research*, 46(6):1745–1754.

Fukushima H., Seki R. (2004) Ecology of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in brackish environments of the Sada River in Shimane. *FEMS Microbiology Ecology*, 48:221–229.

Fung D.Y.C. (2009) Food spoilage, preservation and quality control. In: Schaechter M. (Ed) *Encyclopedia of microbiology*-3<sup>rd</sup> ed. Elsevier, p 54-79

- Gaertner J.P., Hahn D., Rose F.L., Forstner M.R.J. (2008) Detection of Salmonellae in Different Turtle Species within a Headwater Spring Ecosystem. *Journal of Wildlife Diseases*, 44(2):519–526.
- Gaidos E, Lanoil B, Thorsteinsson T, Graham A., Skidmore M., Han S.K., Rust T., Popp B. (2004) A viable microbial community in a Subglacial Volcanic Crater Lake, Iceland. *Astrobiology*, 4(3):327-334.
- Grigoryan K., Badalyan G., Sargsyan M., Harutyunyan A. (2014) Assessment of microbiological safety of ground water used in rainbow trout farms. *LWT - Food Science Technoogy*, 58(2):360–363.
- Guan S., Xu R., Chen S., Odumeru J., Gyles C. (2002) Development of a procedure for discriminating among *Escherichia coli* isolates from animal and human sources. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(6):2690-2698.
- Gulati D.R., Pires L.M.D., Van Donk E. (2008) Lake restoration studies: failures, bottlenecks and prospects of new ecotechnological measures. *Limnologica*, 38:233-247.
- Gurbanov S., Akhmadov R., Shamkhalova G., Akhmadova S., Haley B.J., Colwell R.R., Huq A. (2011) Occurrence of *Vibrio cholerae* in municipal and natural waters and incidence of cholera in Azerbaijan. *EcoHealth*, 8:468–477.
- Hammer B.K., Bassler B.L. (2003) Quorum sensing controls biofilm formation in *Vibrio cholerae*. *Molecular Microbiology*, 50:101–114.
- Hong H., Qiu J., Liang Y. (2010) Environmental factors influencing the distribution of total and fecal coliform bacteria in six water storage reservoirs in the Pearl River Delta Region, China. *Journal of Environmental Science*, 22(5):663–668.
- Hogg S. (2013) *Essential microbiology-2<sup>nd</sup> ed.* John Wiley and Sons, Oxford, pp. 511
- Hou M.P., Oluranti B.O. (2013) Evaluation of plant growth promoting potential of four rhizobacterial species for indigenous system. *Journal of Central South University*, 20:164–171.
- Hsu W., Wang J., Chen P., Lu Y., Chen J. (2007) Detecting low concentrations of *Shigella sonnei* in environmental water samples by PCR. *FEMS Microbiology Letters*, 270:291-298.
- Igbinosa H.I., Okoh A.I. (2012) Detection and distribution of putative virulence associated genes in *Aeromonas* species from freshwater and wastewater treatment plant, *Journal of Basic Microbiology*, 53:895-901.
- Iriberi J., Azua I., Labirua-Iturburu A., Artolozaga I., Barcina I. (1994) Differential elimination of enteric bacteria by protists in a freshwater system. *Journal of Applied Bacteriology*, 77:476-483.
- Jacobsen C.S., Bech T.B. (2012) Soil survival of *Salmonella* and transfer to freshwater and fresh produce. *Food Research International*, 45(2):557–566.
- Janda J.M., Abbott S.L. (2010) The Genus *Aeromonas* : Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1):35-73.

- Kehoe S.C., Barer M.R., Devlin L.O., Mcguigan K.G. (2004) Batch process solar disinfection is an efficient means of disinfecting drinking water contaminated with *Shigella dysenteriae* type I. *Letters in Applied Microbiology*, 38:410–414.
- Kiefer L.A., Shelton D.R., Pachepsky Y., Blaustein R., Santin-Duran M. (2012) Persistence of *Escherichia coli* introduced into streambed sediments with goose, deer and bovine animal waste. *Letters in Applied Microbiology*, 55:345–353.
- Kinzelman J., Clement N., Jackson E., Gradus S., Bagley R. (2003) Enterococci as indicators of Lake Michigan recreational water quality: Comparison of two methodologies and their impacts on public health regulatory events. *Applied and Environmental Microbiology*, 69:92–96.
- Korajkic A., McMinn BR, Harwood VJ, Orin C., Shanks G., Fout S., Ashbolt N.J. (2013) Differential decay of Enterococci and *Escherichia coli* originating from two fecal pollution sources. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(7):2488–2492.
- Kutty S.N., Philip R. (2008) Marine yeasts — a review. *Yeast*, 25:465–483.
- Lapidou C., Kakoulidis I., Loukas A. (2011) Ecosystem simulation modeling of nitrogen dynamics in the restored lake Karla in Greece. *Desalination Water Treatment*, 33(1-3):61–67.
- Lleo M., Bonato B, Benedetti D, Canepari P. (2005) Survival of enterococcal species in aquatic environments. *FEMS Microbiology Ecology*, 54:189–196.
- Looney E.E., Sutherland K.P., Lipp E.K. (2010) Effects of temperature, nutrients, organic matter and coral mucus on the survival of the coral pathogen, *Serratia marcescens* PDL 100. *Environmental Microbiology*, 12(9):2479–2485.
- Lothigius A., Sjöling A., Svennerholm A.M., Bolin I. (2010) Survival and gene expression of enterotoxigenic *Escherichia coli* during long-term incubation in sea water and freshwater. *Journal of Applied Microbiology*, 108:1441–1449.
- Loukas A., Mylopoulos N., Moustaka E. (2003) A GIS water resources management procedure for the restored lake Karla. *Geographical Information Systems and Remote Sensing: Environmental Applications*, (Proceedings of the International Symposium held at Volos, Crece, 7-9 November 2003).
- Love D.C., Lovelace G.L., Money E.S., Sobsey M.D. (2010) Microbial fecal indicator concentrations in water and their correlation to environmental parameters in nine geographically diverse estuaries. *Water Quality Expo Health*, 2:85–95.
- Maal-Bared R., Bartlett K.H., Bowie W.R., Hall E.R. (2013) Science of the total environment phenotypic antibiotic resistance of *Escherichia coli* and *E. coli* O157 isolated from water, sediment and biofilms in an agricultural watershed in British Columbia. *Science Total Environment*, 443:315–323.
- Maiti N.K., Mandal A., Mohanty S., Mandal R.N. (2009) Phenotypic and genetic characterization of *Edwardsiella tarda* isolated from pond sediments. *Comparative Immunology Microbiology & Infectious Diseases*, 32:1–8.
- Martinez-Urtaza J., Saco M., Novoa J De., Perez-Pineiro P., Peiteado J., Lozano-leon A., Garcia-Martin O. (2004) Influence of environmental factors and human activity on the presence of *Salmonella* serovars in a marine environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(4):2089–2097.

- McCambridge J., McMeekin T.A. (1979) Protozoan predation of *Escherichia coli* in estuarine waters. *Water Research*, 13:659–663.
- McKillup S. (2005) *Statistics explained an introductory guide for life scientists*, Cambridge University Press, Edinburgh, pp. 281.
- Menon P., Billen G., Servais P. (2003) Mortality rates of autochthonous and fecal bacteria in natural aquatic ecosystems. *Water Research*, 37:4151–4158.
- Meredith MM, Parry EM, Guay JA, Markham N.O., Danner R.G., Johnson K.A., Barkay T., Fekete F.A. (2012) Concomitant antibiotic and mercury resistance among gastrointestinal microflora of feral Brook Trout, *Salvelinus fontinalis*. *Current Microbiology*, 65:574–582.
- Mezrioui N., Baleux B., Troussellier M. (1995) A microcosm study of the survival of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in brackish waters. *Water Research*, 29(2):459–465.
- Michael I, Hapeshi E, Michael C, Varela A.C. Kyriakou S., Manaia C.M., Fatta-Kasinos D. (2012) Solar photo-Fenton process on the abatement of antibiotics at a pilot scale: Degradation kinetics, ecotoxicity and phytotoxicity assessment and removal of antibiotic resistant enterococci. *Water Research*, 46(17):5621–5634.
- Miller J.D., Schoonover J.E., Williard K.W.J., Hwang C.R. (2011) Whole catchment land cover effects on water quality in the Lower Kaskaskia River Watershed. *Water Air Soil Pollution*, 221:337–350.
- Miranda C.D., Castillo G. (1996) Isolation and characterization of motile *Aeromonads* from Chilean freshwaters and their potential use as water quality indicators. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal*, 11:91–98.
- Mitch A.A., Gasner K.C., Mitch W.A. (2010) Fecal coliform accumulation within a river subject to seasonally-disinfected wastewater discharges. *Water Research*, 44(16):4776–4782.
- Mondino S.S., Nunes M.P., Ricciardi I.D. (1995) Occurrence of *Plesiomonas shigelloides* in water environments of Rio de Janeiro City. *Memorial Institute Oswaldo Cruz*, 90(1):1–4.
- Morifiigo M.A., Cornax R., Munioz M.A., Romero P., Borrego J.J. (1989) Viability of *Salmonella* species in natural waters. *Current Microbiology*, 18:267–273.
- Nair B.G., Sarkar B.L., De S.P., Chakrabarti M.K., Bhadra R.K., Pal S.C. (1988) Ecology of *Vibrio cholerae* in the freshwater environs of Calcutta, India. *Microbiology Ecology*, 15:203–215.
- Nakano H, Kameyama T, Venkateswaran K, Kawakami H, Hashimoto H. (1990) Distribution and characterization of haemolytic and enteropathogenic motile *Aeromonas* in aquatic environments. *Microbiology Immunology*, 34(5):447–458.
- Nawaz M, Khan SA, Khan AA, Sung K., Tran Q., Kerdahi K., Steele R. (2010) Detection and characterization of virulence genes and integrons in *Aeromonas veronii* isolated from catfish. *Food Microbiology*, 27(3):327–331.
- Niamsiri N., Batt C.A. (2009) Dairy products. In: Schaechter M. (Ed) *Encyclopedia of microbiology-3<sup>rd</sup> ed.* Elsevier, p 34–44

- Niemi R.M., Heikkilä M.P., Lahti K., Kalso S., Niemela S.I. (2001) Comparison of methods for determining the numbers and species distribution of coliform bacteria in well water samples. *Journal of Applied Microbiology*, 90:850–858.
- Nikouli E., Kormas K.A., Berillis P., Karayanni H., Moustaka-Gouni M. (2013) Harmful and parasitic unicellular eukaryotes persist in a shallow lake under reconstruction (L. Karla, Greece). *Hydrobiologia*, 718(1):73–83.
- Oguma K, Katayama H, Mitani H., Morita S., Hirata T., Ohgaki S. (2001) Determination of pyrimidine dimers in *Escherichia coli* and *Cryptosporidium parvum* during UV Light inactivation, photoreactivation, and dark repair. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(10):4630-4637.
- Oikonomou A., Katsiapi M., Karayanni H., Moustaka-Gouni M., Kormas K.A. (2012) Plankton microorganisms coinciding with two consecutive mass fish kills in a newly reconstructed lake. *ScientificWorldJournal*, Article ID :504135.
- Oliver J.D., Nilsson L., Kjelleberg S. (1991) Formation of nonculturable *Vibrio vulnificus* cells and its relationship to the starvation state. *American Society for Microbiology*, 57(9):2640–2644.
- Osgui L., Castro A.F.P. De, Iovine R., Irino K., Carvalho V.M. (2014) Virulence genotypes, antibiotic resistance and the phylogenetic background of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections of dogs and cats in Brazil. *Veterinary Microbiology*, 171(1-2):242–247.
- Ozkanca R., Flint K.P. (1997) Relationship between respiratory enzymes and survival of *Escherichia coli* under starvation stress in lake water. *Journal of Applied Microbiology*, 82:301–309.
- Ozkanca R., Flint K.P. (2002) The effect of starvation stress on the porin protein expression of *Escherichia coli* in lake water. *Letters in Applied Microbiology*, 35:533–537.
- Papadimitriou T., Katsiapi M., Kormas K.A., Moustaka-Gouni M., Kagalou I. (2013) Artificially-born “killer” lake: phytoplankton based water quality and microcystin affected fish in a reconstructed lake. *Science Total Environment*, 452-453:116–24.
- Payment P., Waite M., Dufour A. (2003) Introducing parameters for the assessment of drinking water quality. In *Assessing microbial safety of drinking water*. IWA Publishing, p.1-291.
- Porter J., Morris S.A., Pickup R.W. (2004) Effect of trophic status on the culturability and activity of bacteria from a range of lakes in the English Lake District. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(4): 2072-2078.
- Prevost M., Rompre A., Coallier J., Servais P., Laurent P., Clement B., Lafrance P. (1998). Suspended Bacterial Biomass and activity in full-scale drinking water distribution systems: impact of water treatment. *Water Reservoir*, 32(5):1393–1406.
- Rengifo-Herrera J.A., Mielczarski E., Mielczarski J., Castillo N.C., Kiwi J., Pulgarin C. (2008) Applied Catalysis B: Environmental *Escherichia coli* inactivation by N, S co-doped commercial TiO<sub>2</sub> powders under UV and visible light. *Applied Catalysis B: Environmental*, 84:448–456.

- Rodrigues V., Ramaiah N., Kakti S., Samant D. (2011) Long-term variations in abundance and distribution of sewage pollution indicator and human pathogenic bacteria along the central west coast of India. *Ecological Indicators*, 11(2):318–327.
- Rothfuss F., Bender M., Conrad R. (1997) Survival and activity of bacteria in a deep, aged Lake Sediment. *Microbial Ecology*, 33:69–77.
- Saunders O., Harrison J., Fortuna A.M., Whitefield E., Bary A. (2012) Effect of anaerobic digestion and application method on the presence and survivability of *E. coli* and Fecal Coliforms in dairy waste applied to soil. *Water Air Soil Pollution*, 223:1055–1063.
- Sayah R.S., Kaneene J.B., Johnson Y., Miller R. (2005) Patterns of antimicrobial resistance observed in *Escherichia coli* isolates obtained from domestic- and wild-animal fecal samples, human septage, and surface water. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(3):1394-1404.
- Schaechter M. (2009) *Escherichia coli*. In: Schaechter M. (Ed) *Encyclopedia of microbiology-3<sup>rd</sup> ed.* Elsevier, p 125-132
- Schultz-Fademrecht C., Wichern M., Horn H. (2008) The impact of sunlight on inactivation of indicator microorganisms both in river water and benthic biofilms. *Water Research*, 42(19):4771–4779.
- Semenov A.V., Overbeek L. van, Bruggen A.H.C. van. (2009) Percolation and survival of *Escherichia coli* O157 : H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in soil amended with contaminated dairy manure or slurry. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(10):3206–3215.
- Sidiropoulos P., Mylopoulos N., Loukas A. (2012) Optimal Management of an overexploited aquifer under Climate Change: The Lake Karla case. *Water Resources Management*, 27(6):1635–1649.
- Sigee D.C. (2005) *Freshwater microbiology biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment.* John Wiley and Sons, West Sussex, pp. 524
- Sigua G.C., Palhares P.C.J., Kich J.D., Mulinari M.R., Mattei R.M., Klein J.B., Muller S., Plieske G. (2010) Microbiological quality assessment of watershed associated with animal-based agriculture in Santa Catarina, Brasil. *Water, Air Soil Pollution*, 210:307–316.
- Singleton F.L., Attwell R.W., Jangi M.S., Colwell R.R. (1982) Influence of salinity and organic nutrient concentration on survival and growth of *Vibrio cholerae* in aquatic microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 43(5):1080–1085.
- Sinton L.W., Hall C.H., Lynch P.A., Davies-Colley R.J. (2002) Sunlight inactivation of fecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilization pond effluent in fresh and saline waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(3):1122-1131.
- Skraber S., Gassilloud B., Schwartzbrod L., Gantzer C. (2004) Survival of infectious Poliovirus-1 in river water compared to the persistence of somatic coliphages, thermotolerant coliforms and Poliovirus-1 genome. *Water Research*, 38:2927–2933.
- Staley J.T., Marshall K.C., Skerman V.B.D. (1980) Budding and prostheate bacteria from freshwater habitats of various trophic states. *Microbiology Ecology*, 251:245–251.

- Szentes S., Radu G., Laslo É., Lányi S., Mara G. (2013) Selection and evaluation of potential biocontrol rhizobacteria from a raised bog environment. *Crop Protection*, 52:116–124.
- Taysi I., van Uden N. (1962) Occurrence and population densities of yeast species in an estuarine-marine area. :42–45.
- Urdaci M.C., Stal L.J., Marchand M. (1988) Occurrence of nitrogen fixation among *Vibrio* spp. *Archives of Microbiology*, 150:224–229.
- Vogeleer P., Tremblay Y.D.N., Mafu A.A., Jacques M., Harel J. (2014) Life on the outside: role of biofilms in environmental persistence of Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. *Frontiers of Microbiology*, 5:1–12.
- Ward O.P., Singh A., Van Hamme J.D., Voordouw G. (2009) Petroleum microbiology. In: Schaechter M. (Ed) *Encyclopedia of microbiology*-3<sup>rd</sup> ed. Elsevier, p 443-456
- Woollett L.L., Hedrick L.R. (1970) Ecology of yeasts in polluted water. *Antonie van Leeuwenhoek*, 36:427–435.
- Yildiz F.H., Visick K.L. (2009) *Vibrio* biofilms: so much the same yet so different. *Trends in Microbiology*, :109–118.
- You Y, Rankin SC, Aceto HW, Benson C.E., Toth J.D., Dou Z. (2006) Survival of *Salmonella enterica* serovar Newport in manure and manure-amended soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(9):5777–5783.
- Zalidis G.C., Takavakoglou V., Panoras A., Bilas G., Katsavouni S. (2004) Re-establishing a sustainable wetland at former Lake Karla, Greece, using Ramsar restoration guidelines. *Environment Management*, 34(6):875–86.
- Zalidis G., Gerakis A. (1999) Evaluating sustainability of watershed resources management through wetland functional analysis. *Environmental Management*, 24(2):193–207.



## 7. ABSTRACT

The aim of this postgraduate thesis was the determination of microbiological quality of water of the Lake Karla with the use of microbial indicators. Secondary aims were a) to monitor population changes of various bacteria at specific periods of the year, b) to determine the potential sources of contamination of the water of the Lake Karla, c) to study the behavior of the microorganisms under different salinity. The microbial parameters that were studied, were 1) the Total Viable Count (TVC), 2) Enterobacteriaceae, 3) presumptive *Salmonella* spp., 4) *E. coli* and coliforms, 5) *Enterococcus* spp., 6) presumptive *Vibrio* spp., 7) the *Aeromonas* spp. and 8) yeast/mould. Microbiological monitoring was carried out using culture media with the serial dilution methods, while the statistical analysis employed analysis of variance (one way ANOVA), the comparison of means was carried out with the application of Tukey criterion, while t-paired tests was also applied. The sampling took place in March, June, July and September of 2014. The locations where the samples were taken, were a) the entrance point of the drainage ditch (code 2T), b) near the depth ammeter (code KRL), c) the exit of the drainage ditch (code XS). Because of the water of the lake which is brackish and the danger of becoming more saline in the future, two experiments were conducted. In the first which took place in March, dilute water was used (1/10) from the point KRL which was submitted in three different salinity levels. In the second experiment which was conducted in June, dilute water (1/10) samples of water were used from the points 2T, KRL and XS in which sterile sea water was added. The analysis' results showed that the *Enterococcus* spp., the *Aeromonas* spp., *E.coli* and yeast/mould were below the threshold of 2 log cfu/ml on the point 2T in June. The same happened on this point also in July, whereas in September the presumptive

*Salmonella* spp. found in low populations. The *Vibrio* spp. was above the threshold of 2 log cfu/ml per month only in the sample of the point KRL in June, whereas they weren't examined either in July or September. With respect to the remaining microbiological parameters, it was found that the average of each one of these indicators differ significantly in statistics between the locations and the months. In the experiments of the salinity, in the first, the increase of microorganisms was noticed and in the second, the same happened to all bacteria. More specifically, the *Vibrio* spp. in June's experiment of salinity, they appeared on locations which were below the threshold of 2 log cfu/ml. No specific source of pollution was recorded. In the periphery of the Lake Karla there are many livestock farms from which the bacteria are transferred from ordure to the soil and through the runoff to the lake. The method of the repeated dilutions cannot calculate the bacteria that enter a VBNC (Viable but Not Culturable) state.

**Key words: macrobiotic indicators, ordure pollution, lacustrine ecosystems, lake Karla.**

## 8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

**Πίνακας 16:** Εφαρμογή του κριτηρίου του Tukey για τους μέσους όρους της OMX μεταξύ των τριών σταθμών της δειγματοληψίας του Μαρτίου. Οι μέσοι όροι διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

### OMX

Tukey HSD<sup>a</sup>

Location	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
KRL	3	3,5998		
2T	3		3,8741	
X	3			4,4736
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 17:** Εφαρμογή του κριτηρίου του Tukey για τους μέσους όρους της *Salmonella* spp. μεταξύ των τριών σταθμών της δειγματοληψίας του Μαρτίου. Οι μέσοι όροι διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

### Salmonella\_spp

Tukey HSD<sup>a</sup>

Locatio n	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
KRL	3	1,7611		
2T	3		2,4757	
X	3			2,9286
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 18:** Εφαρμογή του κριτηρίου του Tukey για τους μέσους όρους των

coliforms μεταξύ των τριών σταθμών της δειγματοληψίας του Μαρτίου. Οι μέσοι όροι των θέσεων 2T και X δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους αλλά διαφέρουν με αυτόν του σημείου KRL.

#### coliforms

Tukey HSD<sup>a</sup>

Locatio n	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
KRL	3	1,7741	
X	3		1,9985
2T	3		2,0725
Sig.		1,000	,470

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 19:** Εφαρμογή του κριτηρίου του Tukey για τους μέσους όρους των *Enterobacteriaceae* μεταξύ των τριών σταθμών της δειγματοληψίας του Μαρτίου. Οι μέσοι όροι των θέσεων 2T και X δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους αλλά διαφέρουν με αυτόν του σημείου KRL.

#### Enterobacteriaceae

Tukey HSD<sup>a</sup>

Locatio n	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
KRL	3	1,7629	
2T	3		1,8746
X	3		1,9025
Sig.		1,000	,451

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 20:** Η σύγκριση των μέσων όρων της OMX για τις τρεις θέσεις δειγματοληψίας του Ιουνίου.

### OMX

Tukey HSD<sup>a</sup>

Locatio n	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
XS	3	4,8133		
KRL	3		4,8900	
2T	3			5,4933
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 21:** Η σύγκριση των μέσων όρων της *Salmonella* spp. για τις τρεις θέσεις δειγματοληψίας του Ιουνίου.

### Salmonella\_spp

Tukey HSD<sup>a</sup>

Locatio n	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2T	3	,0000		
KRL	3		1,6333	
XS	3			2,2600
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 22:** Η σύγκριση των μέσων όρων των *coliforms* spp. για τις τρεις θέσεις δειγματοληψίας του Ιουνίου.

### coliforms

Tukey HSD<sup>a</sup>

Location	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
XS	3	3,1033		
KRL	3		3,2200	
2T	3			3,3400
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 23:** Η σύγκριση των μέσων όρων των Enterobacteriaceae για τις τρεις θέσεις δειγματοληψίας του Ιουνίου.

#### Enterobacteriaceae

Tukey HSD<sup>a</sup>

Location	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
KRL	3	2,4467	
2T	3		2,5800
XS	3		2,6067
Sig.		1,000	,423

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 24:** Η σύγκριση των μέσων όρων της OMX ανάμεσα στους μήνες για τη θέση KRL.

#### OMX

Tukey HSD<sup>a</sup>

Months	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Μάρτιος	3	3,5998		
Σεπτέμβριος	3		3,9933	
Ιούνιος	3			4,8900

Sig.		1,000	1,000	1,000
------	--	-------	-------	-------

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 25:** Η σύγκριση των μέσων όρων της *Salmonella* spp. ανάμεσα στους μήνες για τη θέση KRL.

#### Salmonella\_spp

Tukey HSD<sup>a</sup>

Months	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Σεπτέμβριος	3	1,3000	
Ιούνιος	3		1,6333
Μάρτιος	3		1,7611
Sig.		1,000	,289

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 26:** Η σύγκριση των μέσων όρων των *coliforms* ανάμεσα στους μήνες για τη θέση KRL.

#### coliforms

Tukey HSD<sup>a</sup>

Months	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Μάρτιος	3	1,7741		
Ιούνιος	3		3,2200	
Σεπτέμβριος	3			3,4367
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 27:** Η σύγκριση των μέσων όρων των Enterobacteriaceae ανάμεσα στους μήνες για τη θέση KRL.

#### Enterobacteriaceae

Tukey HSD<sup>a</sup>

Months	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Μάρτιος	3	1,7629		
Σεπτέμβριος	3		2,3333	
Ιούνιος	3			2,4467
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 28:** Η σύγκριση των μέσων όρων της OMX ανάμεσα στους μήνες για την θέση 2T.

#### OMX

Tukey HSD<sup>a</sup>

Months	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Μάρτιος	3	3,8741		
Σεπτέμβριος	3		4,4333	
Ιούλιος	3			5,4800
Ιούνιος	3			5,4933
Sig.		1,000	1,000	,974

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 29:** Η σύγκριση των μέσων όρων της *Salmonella* spp. ανάμεσα στους μήνες για την θέση 2T.

#### Salmonella\_spp

Tukey HSD<sup>a</sup>

Months	N	Subset for alpha = 0.05
--------	---	-------------------------



		1	2	3
Ιούνιος	3	,0000		
Ιούλιος	3	,0000		
Σεπτέμβριος	3		1,6933	
Μάρτιος	3			2,4757
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 30:** Η σύγκριση των μέσων όρων των *coliforms* ανάμεσα στους μήνες για την θέση 2Τ.

#### Coliforms

Tukey HSD<sup>a</sup>

Months	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Μάρτιος	3	2,0725			
Ιούνιος	3		3,3400		
Σεπτέμβριος	3			3,6500	
Ιούλιος	3				3,8167
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**Πίνακας 31:** Η σύγκριση των μέσων όρων των *Enterobacteriaceae* ανάμεσα στους μήνες για την θέση 2Τ.

#### Enterobacteriaceae

Tukey HSD<sup>a</sup>

Months	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Μάρτιος	3	1,8746		
Ιούνιος	3		2,5800	
Σεπτέμβριος	3			3,0000
Ιούλιος	3			3,1000
Sig.		1,000	1,000	,173

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 32:** Όλοι οι μέσοι όροι για την OMX διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, στο πείραμα της αλατότητας του Μαρτίου.

### OMX

Tukey HSD<sup>a</sup>

Τύπος_ύδατος	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
KRL (1/10)	3	2,6000			
S1	3		4,0099		
K3	3			4,6017	
X	3				6,7489
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 33:** Όλοι οι μέσοι όροι για τη *Salmonella* spp. διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, στο πείραμα της αλατότητας του Μαρτίου.

### Salmonella\_spp

Tukey HSD<sup>a</sup>

Τύπος_ύδατος	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
KRL (1/10)	3	,7800			
K3	3		4,0402		
S1	3			5,0055	
X	3				5,9058
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 34:** Όλοι οι μέσοι όροι για τα *coliforms* διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, στο πείραμα της αλατότητας του Μαρτίου.

#### Coliforms

Tukey HSD<sup>a</sup>

Τύπος_ύδατο ς	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
KRL (1/10)	3	,7800			
K3	3		2,3597		
S1	3			3,0751	
X	3				4,7152
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 35:** Όλοι οι μέσοι όροι για τα *Enterobacteriaceae* διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους, στο πείραμα της αλατότητας του Μαρτίου.

#### Enterobacteriaceae

Tukey HSD<sup>a</sup>

Τύπος_ύδατο ς	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
KRL (1/10)	3	,7600			
K3	3		1,6250		
S1	3			3,6190	
X	3				4,7782
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**Πίνακας 36:** Τα αποτελέσματα του t paired test για την OMX και στις τρεις θέσεις.

Paired Samples Test					
		Paired Differences	t	Df	Sig. (2-tailed)

		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean			
Pair 1	OMX_KRL - OMX_KRL_salinity_test	2,95667	,00577	,00333	887,000	2	,000
Pair 2	OMX_2T - OMX_2T_salinity_test	2,81000	,01732	,01000	281,000	2	,000
Pair 3	OMX_XS - OMX_XS_salinity_test	2,19333	,00577	,00333	658,000	2	,000

**Πίνακας 37:** Τα αποτελέσματα του t paired test για τα coliforms. Για τη θέση 2T δεν μπορούσε να γίνει σύγκριση λόγω των μηδενικών τιμών.

Paired Samples Test							
		Paired Differences					
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	t	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	coliforms_KRL - coliforms_KRL_salinity_test	,79333	,07506	,04333	18,308	2	,003
Pair 3	coliforms_XS - coliforms_XS_salinity_test	,79333	,01155	,00667	119,000	2	,000

**Πίνακας 38:** Τα αποτελέσματα του t paired test για τα Enterobacteriaceae.

Paired Samples Test							
		Paired Differences					
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	t	Df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	Enterobacteriaceae_KRL - Enterobacteriaceae_KRL_salinity_test	1,63000	1,54881	,89420	1,823	2	,210

Pair 2	Enterobacteriaceae_2T - Enterobacteriaceae_2T_salinity_test	-,26667	1,33960	,77342	-,345	2	,763
Pair 3	Enterobacteriaceae_XS - Enterobacteriaceae_XS_salinity_test	,24000	,91804	,53003	,453	2	,695

**Πίνακας 39:** Οι μέσοι όροι, οι τυπικές αποκλίσεις και το μέσο τυπικό σφάλμα για τις μετρήσεις των *Vibrio* spp. στη θέση KRL.

**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 Vibrio_spp_KRL	2,5767	3	,00577	,00333
Vibrio_spp_KRL_salinity_test	3,8600	3	,37987	,21932

**Πίνακας 40:** Τα αποτελέσματα του t test για τους μέσους όρους των *Vibrios* spp.

Paired Samples Test							
		Paired Differences					
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	t	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	Vibrio_spp_KRL - Vibrio_spp_KRL_salinity_test	- 1,28333	,37421	,21605	-5,940	2	,027