

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

**ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Δομή κοινοτήτων βακτηριοπλαγκτού μετά από τεχνητή  
ανάμιξη παράκτιου νερού από την ανατολική και δυτική  
Μεσόγειο Θάλασσα»**

**Κριστίνα Βόρκαπιτς**

**ΒΟΛΟΣ 2014**

**«Δομή κοινοτήτων βακτηριοπλαγκτού μετά από τεχνητή ανάμιξη  
παράκτιου νερού από την ανατολική και δυτική Μεσόγειο Θάλασσα»**

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:**

- 1) **Κωνσταντίνος Κορμάς**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Οικολογία Υδρόβιων Μικροοργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Επιβλέπων*.
- 2) **Δημήτριος Καρπούζας**, Επίκουρος Καθηγητής, Περιβαλλοντική Μικροβιολογία και Βιοτεχνολογία, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Μέλος*.
- 3) **Ήρα Καραγιάννη**, Λέκτορας, Υδροβιολογία, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, *Μέλος*.

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω εις πέρας την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου σ τον Επιβλέποντα Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Κορμά, για την πολύτιμη βοήθειά του και τη διαρκή υποστήριξή του κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και τα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου, τον κ. Δημήτρη Καρπούζα και την κα Έρα Καραγιάννη, για την συνεχή καθοδήγηση σε όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας και τις πολύτιμες συμβουλές τους.

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

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διατριβή γίνεται μια προσπάθεια να εξεταστεί η ορθότητα της υπόθεσης του Baas-Becking (1934) “Everything is everywhere, but the environment selects”, σύμφωνα με την οποία όλοι οι μικροοργανισμοί έχουν μεγάλη ικανότητα διασποράς και εμφανίζουν κοσμοπολίτικη κατανομή, ενώ στα επιμέρους ενδιαιτήματα παρατηρείται η επικράτηση διαφορετικών μικροβιακών κοινοτήτων ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Για την εξέταση της υπόθεσης αυτής έγινε σύγκριση της ποικιλότητας των μικροοργανισμών σε δείγματα νερού από τον Παγασητικό Κόλπο (Ανατολική Μεσόγειο) και την Banuyls (Δυτική Μεσόγειο). Τα δείγματα επώαστηκαν σε μικρόκοσμους και στις δύο ομάδες μελέτης εφαρμόστηκαν ίδιες συνθήκες περιβάλλοντος. Η ποικιλότητα προσδιορίστηκε μέσω πυραλληλούχισης. Οι οργανισμοί ταξινομήθηκαν σε OTU (Operational Taxonomic Unit, Λειτουργική Ταξινομική Μονάδα). Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι το 61% των OTUs εντοπίστηκαν και στις δύο ομάδες μελέτης. Επιπλέον, το 81,25% των ειδών που κυριάρχησαν έναντι των άλλων κατά την διάρκεια της διεξαγωγής του πειράματος ήταν είδη που εντοπίστηκαν και στις δύο ομάδες μικρόκοσμων. Από το 39% των ειδών που εντοπίστηκαν σε μία μόνο από τις δύο ομάδες μικρόκοσμων, το 14% εντοπίστηκε αποκλειστικά στις δεξαμενές που περιείχαν νερό προερχόμενο από τον Παγασητικό, ενώ το 25% εντοπίστηκε αποκλειστικά στις δεξαμενές που περιείχαν νερό προερχόμενο από την Banuyls. Παρά το γεγονός ότι τα συμπεράσματα που εξήχθησαν έρχονται σε συμφωνία με την υπόθεση “everything is everywhere, but the environment selects”, η περιορισμένη χρονική διάρκεια του πειράματος και η εξέταση των κοινοτήτων στο επίπεδο μιας μόνο ταξινομικής κλίμακας δεν επιτρέπει την εξαγωγή σαφών συμπερασμάτων

σχετικά με την διαμόρφωση των βακτηριακών κοινοτήτων στο περιβάλλον και την επίδραση της γεωγραφικής απόστασης στην δομή τους. Επομένως, απαιτούνται περαιτέρω πειράματα που θα εξετάζουν την ίδια υπόθεση μελετώντας μεγαλύτερα ταξινομικά επίπεδα και παρατηρώντας την διαμόρφωση της δομής των βακτηριακών κοινοτήτων σε μεγαλύτερο βάθος χρόνου.

Λέξεις κλειδιά: μικροβιακές κοινότητες, βιοποικιλότητα, πυραλληλούχιση.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	<b>1</b>
1.1. ΒΙΟΓΕΩΓΡΑΦΙΑ	1
1.2. ΠΥΡΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗ	3
<b>2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b>	<b>6</b>
<b>3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	<b>8</b>
3.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	8
3.2. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	20
<b>4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	<b>30</b>
<b>5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>32</b>
5.1 Ξένη Βιβλιογραφία	32
5.2 Ελληνική Βιβλιογραφία	36
<b>6. ABSTRACT</b>	<b>37</b>

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1. ΒΙΟΓΕΩΓΡΑΦΙΑ

Η βιογεωγραφία είναι η μελέτη της διασποράς της βιοποικιλότητας στον χώρο και τον χρόνο. Στόχος της βιογεωγραφίας είναι ο προσδιορισμός των περιοχών στις οποίες διαβιούν οργανισμοί, σε τί αφθονίες εντοπίζονται και γιατί εμφανίζονται στο συγκεκριμένο χώρο (Martiny et al., 2006). Παρά την αποδοχή της ύπαρξης βιογεωγραφικών προτύπων στους μικροοργανισμούς, οι γνώσεις σχετικά με τις διεργασίες που τα διαμορφώνουν είναι περιορισμένες (Hanson, 2012). Η μελέτη της βιογεωγραφίας προσφέρει επίγνωση των μηχανισμών που δημιουργούν και διατηρούν την ποικιλότητα, όπως η ειδογένεση, η εξαφάνιση, η διασπορά και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ειδών (Martiny et al., 2006).

Οι προκαρυωτικοί οργανισμοί αποτελούν μεγάλο ποσοστό της έμβιας ύλης της Γης. Το μεγαλύτερο μέρος των προκαρυωτών εντοπίζονται στους ωκεανούς, το έδαφος και το υπέδαφος, τόσο σε ωκεάνιο, όσο και σε χερσαίο περιβάλλον. Αναλύσεις της μικροβιακής ποικιλότητας έχουν αποκαλύψει τεράστια αριθμό φυλοτύπων (Keller & Zenlger, 2004), και με την ανάπτυξη γενετικών μεθόδων έγινε εμφανές ότι οι καλλιέργειες μικροοργανισμών δεν μπορούσαν να αποκαλύψουν μεγάλο μέρος της μικροβιακής ποικιλότητας. Η συνεχής βελτίωση των μοριακών μεθόδων προσφέρει μεγάλα πλεονεκτήματα για την μελέτη της βιογεωγραφίας των μικροοργανισμών (Martiny et al., 2006). Ωστόσο, ακόμα και με την ύπαρξη σύγχρονων ερευνητικών εργαλείων δεν είναι εύκολος ο προσδιορισμός της δομής των μικροβιακών κοινοτήτων, ούτε η καταγραφή της διακύμανσης τους στον χώρο και τον χρόνο (Fuhrman, 2009).



Η ποικιλότητα των μικροοργανισμών, η γεωγραφική τους διασπορά και, κυρίως, η υπόθεση ότι οι μικροοργανισμοί έχουν κοσμοπολίτικη κατανομή και μπορούν εν δυνάμει να βρεθούν σε οποιαδήποτε γεωγραφική περιοχή, αποτελούν το επίκεντρο των συζητήσεων ανάμεσα σε επιστήμονες με αντικρουόμενες απόψεις, δεδομένης της περιορισμένης κατανόησης των παραγόντων που προσδιορίζουν την κατανομή των μικροοργανισμών (Weisse, 2008). Ο σύντομος χρόνος διπλασιασμού και τα μεγάλα μεγέθη πληθυσμών θεωρούνται ως οι παράγοντες που διευκολύνουν την παγκόσμια διασπορά των μικροοργανισμών, κυρίως σε υδάτινα μέσα όπου δεν υπάρχουν γεωγραφικά εμπόδια. Επιπλέον, η υψηλή αφθονία αυξάνει τις πιθανότητες τυχαίας διασποράς (Green & Bohannan, 2006).

Στην περίπτωση των μακροοργανισμών, η γεωγραφική απομόνωση θεωρείται ο πρωταρχικός παράγοντας που εξηγεί την ύπαρξη διαφορετικών πληθυσμών με παρόμοια χαρακτηριστικά, σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές. Ωστόσο, στην περίπτωση των μικροοργανισμών, τα γεωγραφικά χαρακτηριστικά δεν φαίνεται να επηρεάζουν την δυνατότητα διασποράς των οργανισμών. Αυτό δεν υπονοεί την απουσία βιογεωγραφικών προτύπων, αλλά αντίθετα ότι επειδή οι μικροοργανισμοί έχουν απεριόριστη δυνατότητα διασποράς, οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι αυτές που θα προσδιορίσουν την παρουσία, ή μη, συγκεκριμένων ειδών μικροοργανισμών (O'Malley, 2008).

Σύμφωνα με τους Fenchel και Finlay (2004), όλοι οι οργανισμοί με μέγεθος μικρότερο από 1 mm τείνουν να έχουν κοσμοπολίτικη κατανομή. Αυτό αποτελεί συνέπεια της τεράστιας αφθονίας των πληθυσμών, και όχι εγγενών ιδιοτήτων συγκεκριμένων ταξινομικών ομάδων. Σε μικρή κλίμακα, η ποικιλότητα των μικροοργανισμών είναι μεγαλύτερη σε σχέση με την ποικιλότητα των

μακροοργανισμών. Ωστόσο, σε παγκόσμια κλίμακα, η σχέση αυτή αντιστρέφεται, καθώς οι μακροοργανισμοί εμφανίζουν μεγαλύτερη ποικιλότητα λόγω ενδημισμού. Αυτό οφείλεται στο ότι στην περίπτωση των μικροοργανισμών η διαβάθμιση της ποικιλότητας με το γεωγραφικό πλάτος είναι απύουσα ή αμελητέα.

Στις θαλάσσιες βακτηριακές κοινότητες η επίδραση του περιβάλλοντος πάνω στη βιοποικιλότητα περιορίζεται σε τοπική κλίμακα και στο επίπεδο του είδους, ενώ οι βασικές κινητήριες δυνάμεις που καθορίζουν την βιογεωγραφία σε μεγαλύτερη ταξινομική κλίμακα παραμένουν άγνωστες. Βακτηριακές κοινότητες με διαφορετικά είδη μπορούν να μοιράζονται κοινές φυλογενετικές γενεαλογίες, και η εναλλαγή των φύλων σε αυτές τις κοινότητες στις διάφορες βιογεωγραφικές και περιβαλλοντικές βαθμίδες μπορεί να είναι πολύ μικρή (Pommier et al., 2012).

## 1.2. ΠΥΡΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗ

Η πυραλληλούχιση είναι μια μέθοδος αλληλούχισης του DNA που βασίζεται στην ανίχνευση της πυροφωσφατάσης που απελευθερώνεται κατά την σύνθεση του DNA. Κατά την διάρκεια των διαδοχικών ενζυματικών αντιδράσεων παράγεται ορατό φως, η ένταση του οποίου είναι ανάλογη με τον αριθμό των νουκλεοτιδίων που ενσωματώνονται. Η διαδικασία ξεκινάει με την αντίδραση πολυμερισμού του νουκλεϊκού οξέος και την ενσωμάτωση του εκάστοτε συμπληρωματικού νουκλεοτιδίου, κατά την οποία απελευθερώνεται ανόργανη πυροφωσφατάση ως αποτέλεσμα της ενσωμάτωσης νουκλεοτιδίων από την DNA πολυμεράση. Στην συνέχεια, η πυροφωσφατάση μετατρέπεται σε ATP από την ATP σουλφουριλάση. Η ATP παρέχει την ενέργεια που απαιτείται από την λουσιφεράση για να γίνει η οξείδωση της λουσιφερίνης λόγω της οποίας παράγεται φως. Αυτή η διαδικασία ολοκληρώνεται σε 3-4 δευτερόλεπτα σε θερμοκρασία δωματίου. Η ποσότητα του φωτός που παράγεται μπορεί εύκολα να εντοπιστεί από μια φωτοδίοδο, από έναν σωλήνα φωτοπολλαπλασιαστή ή από αισθητήρες CCD (Charge-Coupled Device). Υπάρχουν δύο τρόποι πυραλληλούχισης: η πυραλληλούχιση στερεής φάσης και η πυραλληλούχιση υγρής φάσης. Η πυραλληλούχιση στερεής φάσης κάνει χρήση τριών ενζύμων (πολυμεράση-πυροφωσφατάση-λουσιφεράση) ως υπόστρωμα πάνω στο οποίο ακινητοποιείται το DNA. Μετά την προσθήκη κάθε νουκλεοτιδίου ακολουθεί έκπλυση του υποστρώματος. Στην πυραλληλούχιση υγρής φάσης δημιουργείται ένα σύστημα τεσσάρων ενζύμων με την εισαγωγή απυράσης, ενός ενζύμου που αποικοδομεί τα νουκλεοτίδια. Η προσθήκη αυτού του ενζύμου εξαλείφει την ανάγκη χρήσης στερεού υποστρώματος και ενδιάμεσης έκπλυσης, επιτρέποντας έτσι την χρήση ενός μόνο

σωλήνα για την πραγματοποίηση της πυραλληλούχισης (Ronaghi, 2001). Πρόσφατα έγινε προσθήκη της πρωτεΐνης SSB, η οποία είναι μια πρωτεΐνη που δεσμεύεται σε μονόκλωνο DNA. Η προσθήκη αυτής της πρωτεΐνης ενισχύει την ποιότητα των αλληλουχιών που λαμβάνονται μέσω πυραλληλούχισης. Η πρωτεΐνη SSB καθιστά δυνατή την ανάγνωση αλληλουχιών μεγάλου μήκους και αυξάνει την ευελιξία στο σχεδιασμό των εκκινήτων (Ahmadian et al., 2006).

Η πυραλληλούχιση αποτελεί μια γρήγορη, αξιόπιστη και οικονομικά συμφέρουσα μέθοδος αλληλούχισης του DNA που βασίζεται στην παρακολούθηση της σύνθεσης DNA σε πραγματικό χρόνο, μέσω ανίχνευσης βιοφωταύγειας. Συγκεκριμένα, δεν απαιτείται κλωνοποίηση, και κατά συνέπεια αλληλουχίες που κλωνοποιούνται δύσκολα ή που είναι ασταθείς μπορούν να αλληλουχηθούν χωρίς πρόβλημα. Επιπλέον, δεν χάνονται οι αλληλουχίες μικρού μήκους που συνήθως απομακρύνονται κατά τον διαχωρισμό ανά μέγεθος στην κατασκευή cDNA βιβλιοθηκών. Τέλος, η διαδικασία είναι πολύ γρήγορη και πολύ πιο οικονομική από τις συμβατικές μεθόδους αλληλούχισης (Weber et al., 2007).

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της υπόθεσης πιθανής επικράτησης κοινών ειδών σε διαφορετικές μικροβιακές κοινότητες προερχόμενες από απομακρυσμένες περιοχές, όταν αυτές βρεθούν κάτω από τις ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες.

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Επιφανειακό θαλασσινό νερό 7 l συλλέχτηκε από την Παραλία του Άναυρου σε αποστειρωμένα πλαστικά δοχεία και στάλθηκε με ταχυμεταφορέα εντός τριών ημερών στο Observatoire Océanologique de Banyuls sur mer, France, όπου και πραγματοποιήθηκε το πείραμα στα πλαίσια του προγράμματος ASSEMBLE. Αντίστοιχος όγκος νερού συλλέχτηκε και από τον κόλπο της Banyuls. Τα δείγματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν ως εμβόλιο για την παρασκευή των κλειστών καλλιιεργειών (βλ. παρακάτω).

Για την παρούσα εργασία παρασκευάστηκαν έξι μικρόκοσμοι σε πλαστικά αποστειρώσιμα δοχεία χωρητικότητας 20 L. Κάθε δοχείο πληρώθηκε με 18 l θρεπτικού μέσου και εμβολιάστηκε με περίπου 2 l εμβολίου. Το θρεπτικό μέσο αποτελούνταν από επιφανειακό θαλασσινό νερό από τον κόλπο της Banyuls, αφού προηγουμένως είχε διηθηθεί μέσω ηθμού Wahtman GFF (πλέγμα ινών υάλου ca. 0,7  $\mu\text{m}$ ) και αποστειρωθεί στους 121°C για 15 λεπτά. Τα εμβόλια αποτελούνταν από νερό είτε από τον Παγασητικό (P) είτε από την Banyuls (B) που είχε διηθηθεί μέσω ηθμού Wahtman GFF ώστε να παραμείνουν μόνο οι προκαρυωτικοί οργανισμοί. Σύμφωνα με τον Nybakken (2001) τα περισσότερα θαλάσσια ετερότροφα βακτήρια έχουν διάμετρο περίπου 0,4  $\mu\text{m}$ . Τρία δοχεία καλλιέργειας εμβολιάστηκαν με νερό από τον Παγασητικό (P1, P2, P3) και τρία με νερό από την Banyuls (B1, B2, B3), έτσι ώστε ο όγκος του εμβολίου να είναι 10% του τελικού όγκου.

Αμέσως μετά τον εμβολιασμό, τα δοχεία καλλιιεργειών (μικρόκοσμοι) επώαστηκαν για 21 ημέρες στο σκοτάδι, ώστε να αυξηθούν μόνο οι ετερότροφοι μικροοργανισμοί. Η επώαση έγινε στους 18°C, όσο είναι και η *in situ* θερμοκρασία στο

επιφανειακό νερό του κόλπου της Banyuls την εποχή που πραγματοποιήθηκε το πείραμα.

Δείγματα για καταμέτρηση των κυττάρων λαμβάνονταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα (Μίχας, 2012). Βάσει της κυτταρικής αφθονίας, για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας, η προκαρυωτική ποικιλότητα αναλύθηκε κατά τις ημέρες επώασης 0, 5 και 17 που αντιστοιχούσαν στην αρχή του πειράματος, το τέλος της εκθετικής φάσης αύξησης και το τέλος της αύξησης.

Σε κάθε δειγματοληψία λαμβάνονταν 1,5 l νερού από κάθε μικρόκοσμο και διηθούνταν αμέσως υπό κενό (<150 mm Hg) σε ηθμό μεμβράνης διαμέτρου ίσου πόρου 0,2 μm. Οι ηθμοί φυλάχτηκαν στους -80°C μέχρι την εκχύλιση του DNA.

Η εκχύλιση του DNA έγινε ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή του εμπορικού κιτ UltraClean® Soil DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, Inc.). Το πρωτόκολλο αυτό βασίζεται στην λύση των μικροοργανισμών του δείγματος με συνδυασμό θερμότητας, απορρυπαντικού και μηχανικής δύναμης. Τα κυτταρικά συστατικά διαλύονται με μηχανική δράση, χρησιμοποιώντας vortex. Το DNA που απελευθερώνεται δεσμεύεται σε φίλτρο “spin filter”, που περιέχει πυρίτιο. Το φίλτρο καθαρίζεται και το DNA ανακτάται σε διάλυμα Tris, που δεν περιέχει DNA. Το DNA που απομονώθηκε φυλάχτηκε στους -20°C μέχρι να αποσταλεί στην εταιρεία πυραλληλούχισης.

Η πυραλληλούχιση έγινε στην εταιρεία MRDNA, Inc (Shallowater, TX, USA), σύμφωνα με τα πρότυπα της εταιρείας. Χρησιμοποιήθηκαν οι βακτηριακοί εκκινητές 27Fmod και 519Rmodbio που καλύπτουν τις πρώτες περίπου 500 βάσεις του γονιδίου 16S rRNA. Ο έλεγχος ποιότητας των δεδομένων πυραλληλούχισης και η ανάλυση των αλληλουχιών έγινε εφαρμόζοντας την πλατφόρμα MOTHUR (Schloss et al. 2009).

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

#### 3.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μετά την ανάλυση των δεδομένων προέκυψαν οι ακόλουθες παρατηρήσεις. Αρχικά, τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης Friedman, που παρατίθενται στον Πίνακα 1, οδηγούν στο συμπέρασμα πως στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρούνται κυρίως μεταξύ των μικρόκοσμων το νερό των οποίων προέρχεται από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές (Banuyls και Παγασητικός). Αντίθετα, δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δεξαμενών που περιέχουν νερό προερχόμενο από την ίδια περιοχή. Αναλυτικά, ο Πίνακας 1 απεικονίζει τις στατιστικές διαφορές μεταξύ των δεξαμενών μετά την παρέλευση 0, 5 και 17 ημερών από την έναρξη των μετρήσεων. Συγκεκριμένα, η δεξαμενή 1 με νερό από την Banuyls (B1) παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά από τις δεξαμενές 1 και 3 που περιέχουν νερό από τον Παγασητικό (P1 και P3), ενώ σε σύγκριση με την δεξαμενή 2, με νερό από την Banuyls (B2), και την δεξαμενή 2, με νερό από τον Παγασητικό (P2), παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο για την ημέρα 0. Η δεξαμενή B2 παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο με τις δεξαμενές P1 και P2 για την ημέρα 0, ενώ για τις υπόλοιπες ημέρες και δεξαμενές δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά. Τέλος, για την δεξαμενή B 3 βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την δεξαμενή P1 για την ημέρα 5, ενώ στις δεξαμενές P2 και P3 βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά για τις ημέρες 0 και 5.

**Πίνακας 1.** Παρουσίαση της στατιστικής σημαντικότητας των διαφορών στη σύσταση των μικροβιακών πληθυσμών έξι δεξαμενών δειγματοληψίας. ns (not significant): στατιστικά μη σημαντικά

Δεξαμενή/Ημέρα δειγματοληψίας		B1			B2			B3			P1			P2		
		0	5	17	0	5	17	0	5	17	0	5	17	0	5	17
B1	0															
	5															
	17															
B2	0	<0.05														
	5		ns													
	17			ns												
B3	0	ns			ns											
	5		ns			ns										
	17			ns			ns									
P1	0	<0.001			ns			ns								
	5		<0.05			ns			<0.001							
	17			<0.05			ns			ns						
P2	0	<0.001			<0.01			<0.001			ns					
	5		ns			ns			<0.01		ns					
	17			ns			ns			ns			ns			
P3	0	<0.001			<0.05			<0.001			ns			ns		
	5		<0.05			ns			<0.001		ns				ns	
	17			<0.05			ns			ns			ns			ns

Παρατηρήθηκε η ύπαρξη ειδών μικροοργανισμών οι οποίοι κυριαρχούσαν αριθμητικά έναντι των υπολοίπων. Επιπλέον, τα κυρίαρχα είδη μικροοργανισμών διαφοροποιούνταν ανά δεξαμενή και ημέρα δειγματοληψίας. Συγκεκριμένα επιλέχθηκαν τα πέντε είδη μικροοργανισμών με την υψηλότερη αφθονία τόσο σε κάθε δεξαμενή ξεχωριστά στις διαφορετικές ημέρες δειγματοληψίας, όσο και στο σύνολο των δεξαμενών καθ ' όλη την διάρκεια των μετρήσεων. Τα κυρίαρχα είδη μικροοργανισμών διέφεραν ανάμεσα στις δεξαμενές, αλλά και ανάμεσα στις ημέρες δειγματοληψίας στις ίδιες δεξαμενές. Τα πέντε είδη μικροοργανισμών που βρίσκονταν στην υψηλότερη αφθονία, όταν λαμβάνονταν υπόψιν το σύνολο των δειγμάτων από όλες τις δεξαμενές, ήταν οι Otu0002, Otu0023, Otu0001, Otu0007 και Otu0011 με αφθονία αλληλουχιών 32873 (19%), 28108 (16%), 19766 (11%), 11778 (7%) και



10289 (6%) αντίστοιχα. Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται τα πέντε είδη μικροοργανισμών που βρίσκονταν σε υψηλότερη αφθονία καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος στις διαφορετικές δεξαμενές.

**Πίνακας 2.** Κυρίαρχα είδη μικροοργανισμών (σε φθίνουσα συγκέντρωση ατόμων) στο σύνολο των ημερών δειγματοληψίας στις ξεχωριστές δεξαμενές.

Banuyls			Παγασητικός		
B1	B2	B3	P1	P2	P3
Otu0002 (9%)	Otu0002 (10%)	Otu0002 (8%)	Otu0023 (9%)	Otu0023 (7%)	Otu0023 (21%)
Otu0001 (6%)	Otu0001 (5%)	Otu0001 (8%)	Otu0011 (4%)	Otu0002 (4%)	Otu0025 (7%)
Otu0007 (3%)	Otu0007 (3%)	Otu0014 (3%)	Otu0049 (3%)	Otu0049 (4%)	Otu0011 (4%)
Otu0014 (3%)	Otu0014 (3%)	Otu0007 (3%)	Otu1577 (2%)	Otu0011 (3%)	Otu0049 (3%)
Otu0003 (3%)	Otu0003 (3%)	Otu0003 (1%)	Otu1754 (2%)	Otu0008 (1%)	Otu0168 (2%)

Μπορεί να παρατηρηθεί ότι τα κυρίαρχα είδη διαφέρουν στις δύο ομάδες δεξαμενών (Banuyls και Παγασητικός), με το είδος Otu0002 να κυριαρχεί στις δεξαμενές B, ενώ το είδος Otu0023 να κυριαρχεί τις δεξαμενές P. Στις δεξαμενές B παρατηρείται συστηματικά η παρουσία συγκεκριμένων κυρίαρχων ειδών, ενώ στις δεξαμενές P τα κυρίαρχα είδη διαφέρουν ανά δεξαμενή. Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται τα κυρίαρχα είδη μικροοργανισμών στις ομάδες δεξαμενών από την Banuyls και τον Παγασητικό στις διαφορετικές ημέρες δειγματοληψίας.

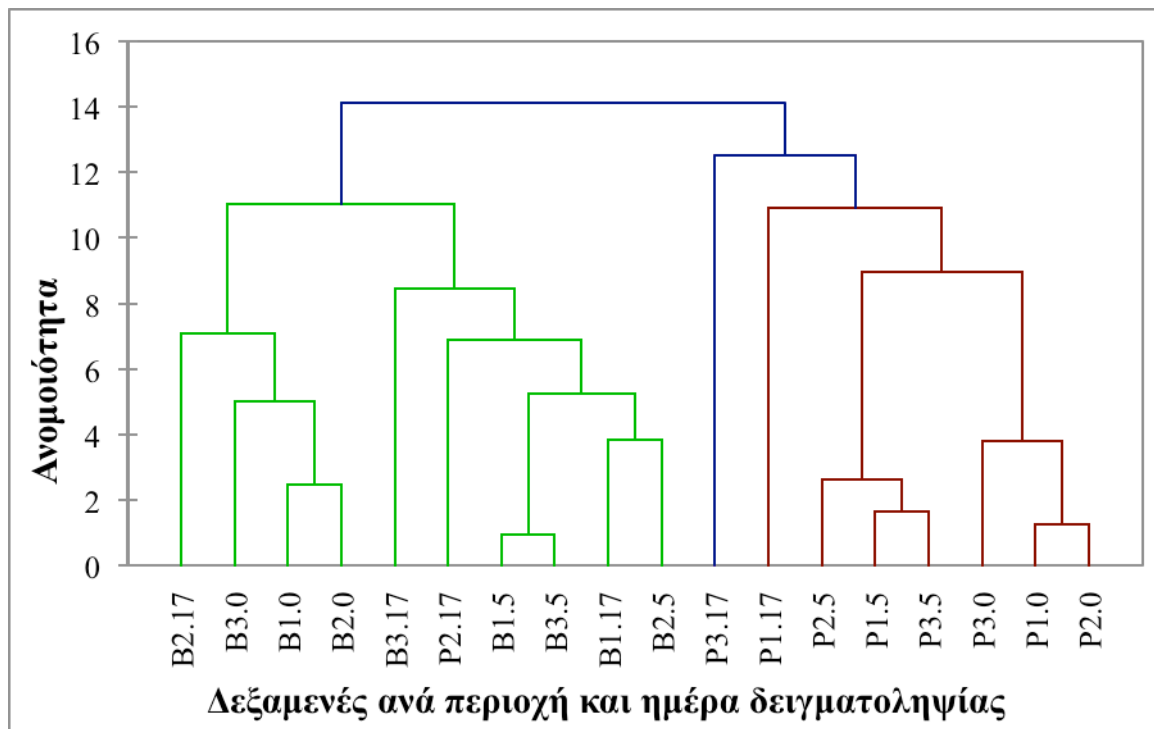
**Πίνακας 3.** Κυρίαρχα είδη μικροοργανισμών (σε φθίνουσα συγκέντρωση ατόμων) ανά ομάδα δεξαμενών (Banuyls και Παγασητικός) και ημέρα δειγματοληψίας.

Banuyls, ημέρα 0	Banuyls, ημέρα 5	Banuyls, ημέρα 17	Παγασητικός, ημέρα 0	Παγασητικός, ημέρα 5	Παγασητικός, ημέρα 17
Otu0001	Otu0002	Otu0002	Otu0011	Otu0002	Otu0025
Otu0003	Otu0007	Otu0001	Otu0023	Otu0001	Otu0023
Otu0002	Otu0014	Otu0502	Otu0049	Otu0502	Otu0002
Otu0004	Otu0011	Otu0525	Otu0008	Otu0525	Otu1577
Otu0014	Otu0001	Otu0496	Otu0003	Otu0496	Otu1754

Το είδος Otu0002 βρέθηκε σε μεγάλη αφθονία σε όλες τις ημέρες δειγματοληψίας στις δεξαμενές με νερό προερχόμενο από τον Παγασητικό, με εξαίρεση την ημέρα 0. Στις δεξαμενές με νερό προερχόμενο από τον Παγασητικό το είδος Otu0002 εμφανίστηκε πρώτο σε αφθονία την ημέρα 5, ενώ την ημέρα 17 ήταν τρίτο σε σειρά. Αντίθετα, στις δεξαμενές με νερό προερχόμενο από την Banuyls το είδος Otu0002 υπήρχε σε υψηλή αφθονία από την ημέρα 0, ενώ κυριάρχησε τις ημέρες 5 και 17. Γενικά στις δεξαμενές από την Banuyls υπήρχε μεγαλύτερη σταθερότητα ως προς την διακύμανση της αφθονίας των μικροοργανισμών, ενώ στις δεξαμενές από τον Παγασητικό τα κυρίαρχα είδη μεταβάλλονταν έντονα κατά την διάρκεια των μετρήσεων.

Στο δενδρόγραμμα που προέκυψε από την Ιεραρχική Ανάλυση κατά Συστάδες (Hierarchical Cluster Analysis) φαίνονται οι σχέσεις ομοιότητας-ανομοιότητας ανάμεσα στις δεξαμενές. Όσο μικρότερη είναι η κάθετη απόσταση ανάμεσα σε δύο δεξαμενές, τόσο μεγαλύτερη είναι η ομοιότητα που εμφάνισαν όσον αφορά την αύξηση

των μικροοργανισμών. Αντίστροφα, μεγαλύτερη απόσταση εκφράζει μικρότερη ομοιότητα, ή μεγαλύτερη ανομοιότητα. Μπορεί να παρατηρηθεί η δημιουργία ομάδων με δεξαμενές που παρουσιάζουν έντονη ομοιότητα. Οι ομάδες με μικρή κάθετη απόσταση μεταξύ τους παρουσιάζουν μεγαλύτερη ομοιότητα, ενώ οι ομάδες με μεγάλη κάθετη απόσταση μεταξύ τους παρουσιάζουν ανομοιότητα.



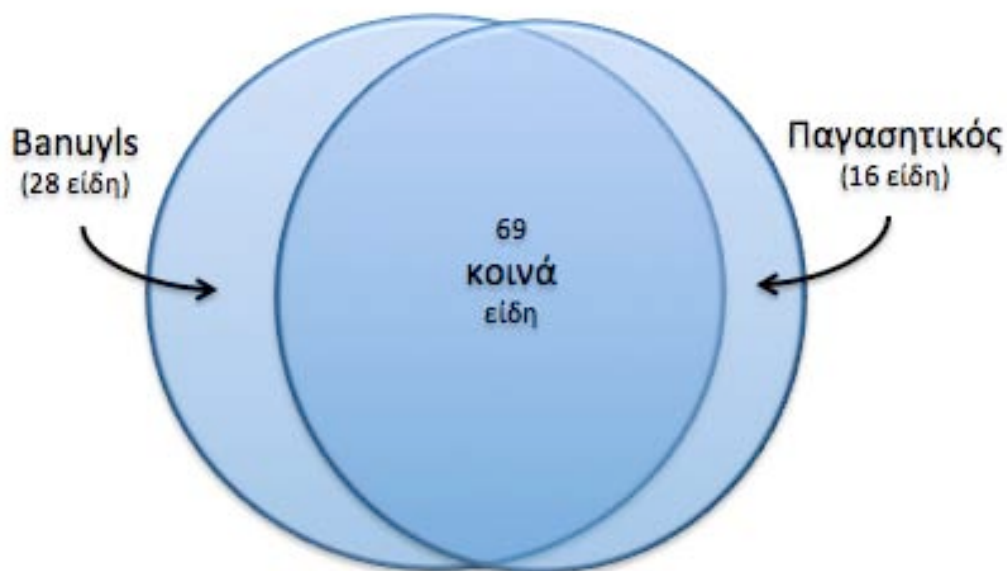
**Σχήμα 1.** Εξέταση βαθμού ομοιότητας ανάμεσα στις διαφορετικές δεξαμενές και ημέρες δειγματοληψίας με την μέθοδο της Ιεραρχικής Ανάλυσης κατά Συστάδες.

Παρατηρήθηκε ότι δεν εμφανίζονταν όλα τα είδη και στις δύο ομάδες μικρόκοσμων, αλλά αντίθετα υπήρχαν είδη που κατάφεραν να αυξηθούν μόνο σε μία από τις δύο δεξαμενές. Αυτά τα είδη παρουσιάζονται στον Πίνακα 4, μαζί με τον αριθμό των ατόμων του κάθε είδους και το εκατοστιαίο ποσοστό που αποτελούσαν σε σχέση με την συνολική αφθονία αλληλουχιών στις συγκεκριμένες δεξαμενές.

**Πίνακας 4.** Παρουσίαση των ειδών που εμφανίζονται μόνο σε μία από τις δύο ομάδες μικρόκοσμων, ο αριθμός των ατόμων του κάθε είδους και το ποσοστό που αποτελούν σε σχέση με την συνολική αφθονία αλληλουχιών της κάθε ομάδας δεξαμενών.

Είδη που εμφανίζονται μόνο στις δεξαμενές με νερό προερχόμενο από την Banuyls			Είδη που εμφανίζονται μόνο στις δεξαμενές με νερό προερχόμενο από τον Παγασητικό		
Είδος	Αφθονία αλληλουχιών	Ποσοστό %	Είδος	Αφθονία αλληλουχιών	Ποσοστό %
Otu0088	3	0.003	Otu1571	43	0.058
Otu0099	3	0.003	Otu1572	1039	1.405
Otu0112	2	0.002	Otu1573	239	0.323
Otu0167	1	0.001	Otu1576	47	0.064
Otu0203	2	0.002	Otu1577	1676	2.267
Otu0215	8	0.008	Otu1581	3	0.004
Otu0264	8	0.008	Otu1609	2	0.003
Otu0295	1	0.001	Otu1710	1	0.001
Otu0358	1	0.001	Otu1723	1	0.001
Otu0425	1	0.001	Otu1753	1	0.001
Otu0469	1	0.001	Otu1754	1193	1.614
Otu0487	14	0.014	Otu1755	211	0.285
Otu0499	91	0.091	Otu1756	252	0.341
Otu0504	77	0.077	Otu1769	14	0.019
Otu0508	33	0.033	Otu1793	3	0.004
Otu0512	5	0.005	Otu2252	31	0.042
Otu0516	4	0.004			
Otu0523	4	0.004			
Otu0525	846	0.847			
Otu0528	39	0.039			
Otu0530	18	0.018			
Otu0544	2	0.002			
Otu0588	1	0.001			
Otu0700	1	0.001			
Otu0731	2	0.002			
Otu0778	9	0.009			
Otu0781	1	0.001			
Otu1473	1	0.001			

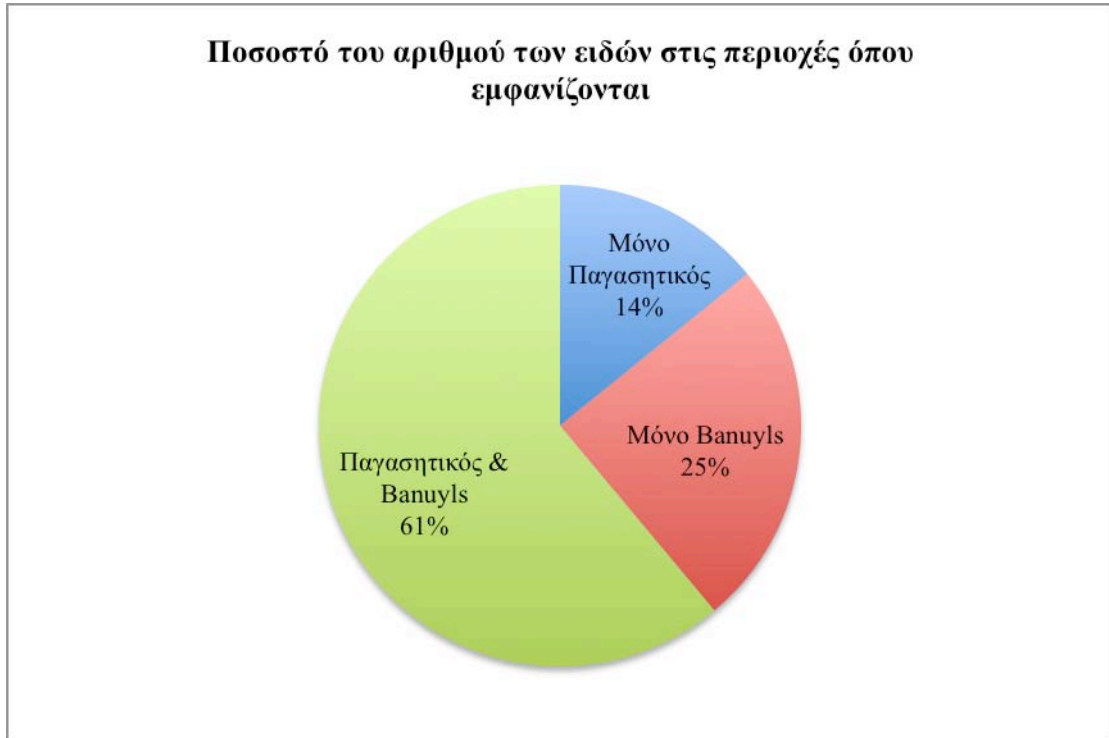
Μπορεί να παρατηρηθεί ότι πολύ περισσότερα είδη (συνολικά 28) απαντώνται μόνο στις δεξαμενές με νερό προερχόμενο από την Banuyls, ενώ μόνο 16 είδη απαντώνται αποκλειστικά στις δεξαμενές με νερό προερχόμενο από τον Παγασητικό. Αυτό το γεγονός πιθανόν να υποδεικνύει ότι οι συνθήκες διαβίωσης στον Κόλπο της Banuyls είναι πιο ευνοϊκές για την αύξηση μεγαλύτερης ποικιλότητας βακτηρίων σε σχέση με τις περιβαλλοντικές συνθήκες στον Παγασητικό Κόλπο. Ωστόσο, τα είδη που απαντώνται αποκλειστικά στο νερό προερχόμενο από τον Παγασητικό παρουσιάζουν μεγαλύτερη αφθονία όσον αφορά τον αριθμό των ατόμων κάθε είδους.



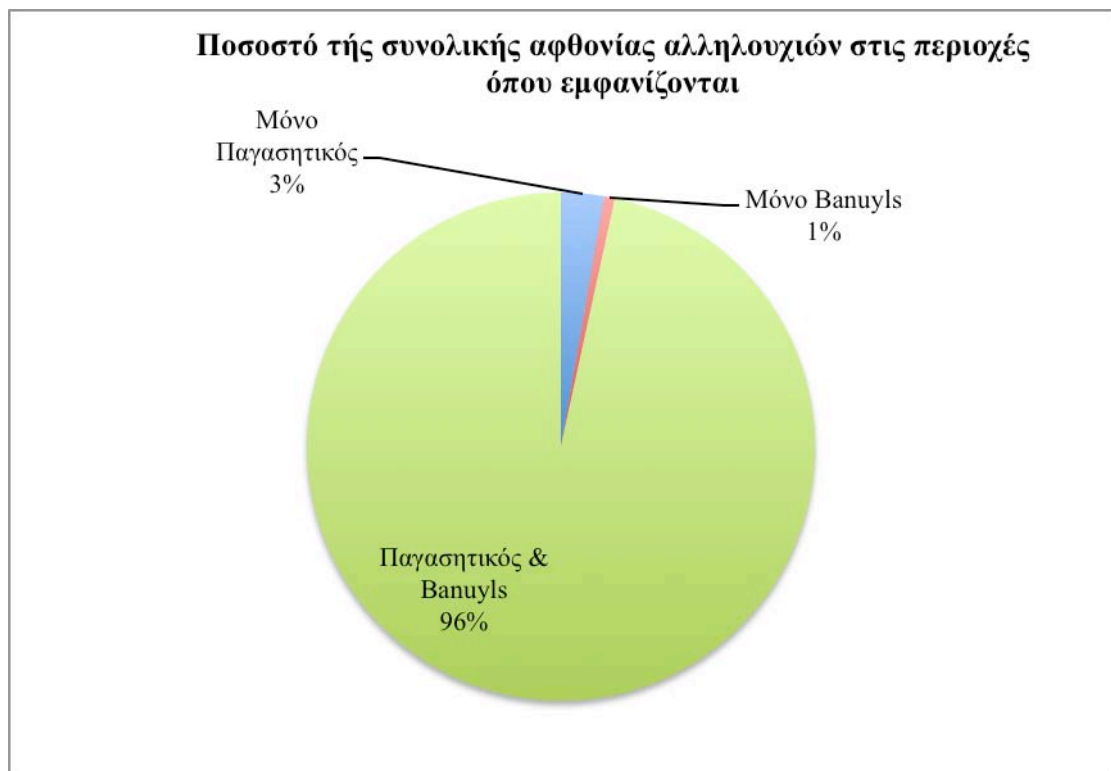
**Σχήμα 1.** Διάγραμμα Venn στο οποίο παρουσιάζεται ο αριθμός ειδών που απαντώνται αποκλειστικά στην Banuyls, των ειδών που απαντώνται αποκλειστικά στον Παγασητικό και των ειδών που απαντώνται και στις δύο περιοχές.

Στο Σχήμα 2 παρουσιάζεται το ποσοστό των ειδών στις περιοχές όπου εμφανίζονται, ενώ στο Σχήμα 3 παρουσιάζεται το ποσοστό του συνολικού αριθμού των

ατόμων που ανήκουν στα είδη που εμφανίζονται αποκλειστικά στην Banuyls, στον Παγασητικό και ο αριθμός των ατόμων που εμφανίζονται και στις δύο περιοχές.



**Σχήμα 2.** Εκατοστιαίο ποσοστό του αριθμού των ειδών στις περιοχές όπου εμφανίζονται.



**Σχήμα 3.** Ποσοστιαία συνεισφορά της αφθονίας αλληλουχιών που εμφανίζονται αποκλειστικά στην Banuyls, τον Παγασητικό ή και στις δύο περιοχές, σε σχέση με την συνολική αφθονία αλληλουχιών που καταγράφηκε.

Το 61% των ειδών εμφανίζονται και στις δύο περιοχές, ενώ το 39% του συνόλου των ειδών εμφανίζεται σε μία από τις δύο περιοχές. Είναι φανερό ότι η πλειοψηφία των ειδών εμφανίζουν κοσμοπολίτικη κατανομή μεταξύ των δύο περιοχών που μελετήθηκαν, ενώ 44 είδη από τα 113 που εντοπίστηκαν εμφανίζουν ενδημισμό. Όσον αφορά το πλήθος των ατόμων, η συντριπτική πλειοψηφία της αφθονίας εμφανίζεται και στις δύο περιοχές (96%), ενώ μικρά ποσοστά εμφανίζονται στον Παγασητικό και την Banuyls (3% και 1% αντίστοιχα).

Η συμμετοχή των κυρίαρχων ειδών στο σύνολο του πλήθους των ατόμων παρουσιάζεται στο Σχήμα 4. Μπορεί να παρατηρηθεί ότι η συνεισφορά των κυρίαρχων ειδών στην τελική αφθονία αλληλουχιών είναι ιδιαίτερα υψηλή. Συγκεκριμένα, στο 55,5% των δειγμάτων το αθροιστικό ποσοστό των κυρίαρχων ειδών ξεπερνούσε το

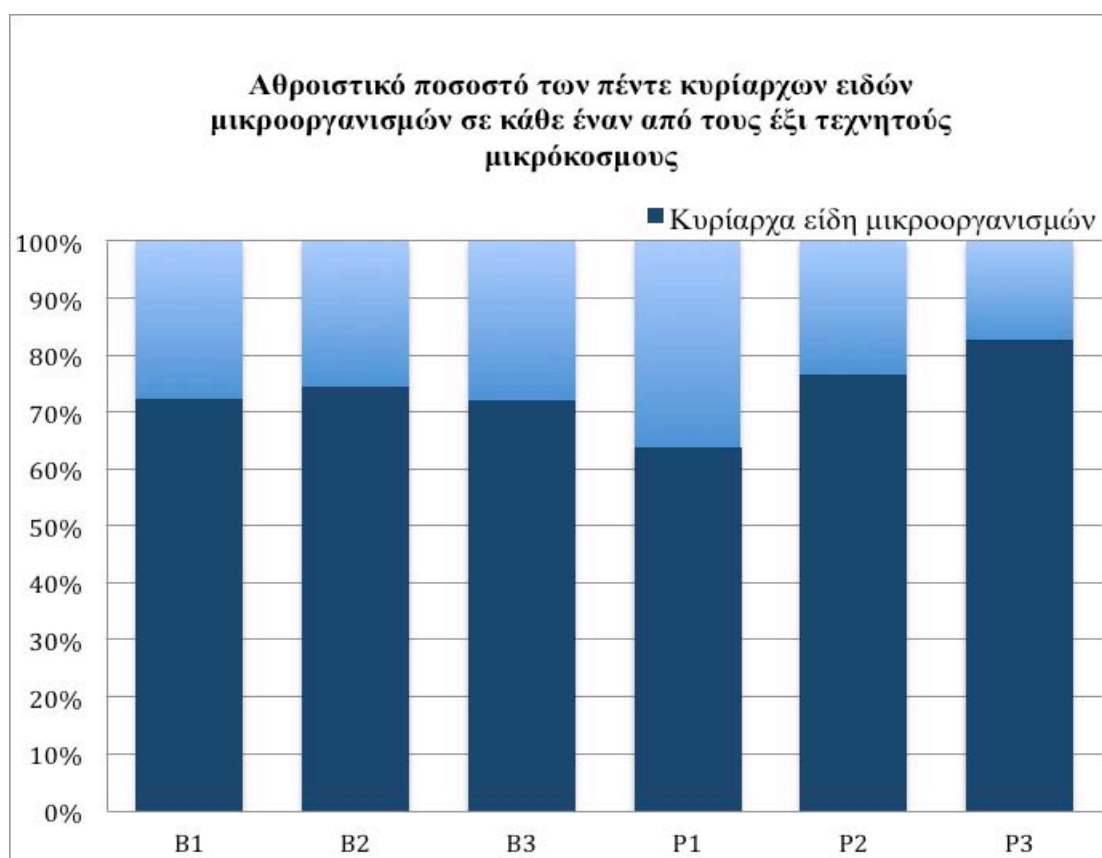
60% του συνολικού ποσοστού των ατόμων, ενώ στο δείγμα P3 (ημέρα 5) το ποσοστό έφτασε το 80%.



**Σχήμα 4.** Αθροιστικό ποσοστό των κυρίαρχων μικροοργανισμών Otu0002, Otu0023, Otu0001, Otu0007 και Otu0011 από έξι τεχνητούς μικρόκοσμους με παράθεση των αποτελεσμάτων ανά δεξαμενή και ημέρα δειγματοληψίας.



Τα χαμηλότερα ποσοστά των κυρίαρχων ειδών παρουσιάστηκαν στα δείγματα P1 (ημέρα 17) και P3 (ημέρα 17), με τιμές 36% και 30%, αντίστοιχα. Η τάση διακύμανσης των συγκέντρωσης των μικροοργανισμών στις διαφορετικές ημέρες μετρήσεων φαίνεται ξεκάθαρα (Σχήμα 4). Μπορεί να παρατηρηθεί ότι σε όλες τις δεξαμενές, πλην της B1, τα κυρίαρχα είδη μικροοργανισμών αρχικά αυξάνονται, ενώ μετά από 17 ημέρες η συγκέντρωσή τους μειώνεται. Συγκεκριμένα, στις δεξαμενές B3, P1 και P3 το ποσοστό των ατόμων την 17<sup>η</sup> ημέρα πέφτει κάτω από τον αρχικό αριθμό (ημέρα 0). Αντίθετα, στην δεξαμενή B1 το ποσοστό αυξάνεται από την ημέρα 0 μέχρι την ημέρα 5, ενώ μετέπειτα παραμένει σχετικά σταθερό (μεταβολή +1.3%).



**Σχήμα 5.** Παρουσίαση των αθροιστικών ποσοστών του μέσου όρου των πέντε κυρίαρχων μικροοργανισμών σε έξι τεχνητούς μικρόκοσμους.

Το αθροιστικό ποσοστό των κυρίαρχων ειδών σε κάθε έναν από τους έξι μικρόκοσμους, καθ' όλη την διάρκεια των μετρήσεων, παρουσιάζεται στο Σχήμα 5. Σε όλες τις δεξαμενές το ποσοστό των κυρίαρχων ειδών ξεπερνά το 60%, ενώ στην δεξαμενή P3 ξεπερνάει το 80%.

Επιπλέον, εντοπίστηκε μικρός αριθμός οργανισμών που παρουσίασαν ιδιόμορφη αύξηση. Τις ημέρες δειγματοληψίας 0 και 5 οι οργανισμοί αυτοί είτε εμφανίζονταν σε πολύ μικρούς αριθμούς, είτε δεν εντοπίστηκαν καθόλου. Ωστόσο, στην τελευταία δειγματοληψία (ημέρα 17) τα συγκεκριμένα είδη οργανισμών πέτυχαν αύξηση πάνω από το 1% της σχετικής αφθονίας των δύο ομάδων μικρόκοσμων (Banuyls και Παγασητικός). Συγκεκριμένα, τα είδη με ιδιόμορφη αύξηση ήταν τα εξής: Otu0502, Otu0525, Otu, 0037, Otu1577 και Otu1754. Εκτός από την ιδιόμορφη αύξηση, τα είδη Otu1577 και Otu1754 αποτέλεσαν τους δύο από τους πέντε κυρίαρχους οργανισμούς που εντοπίστηκαν την 17η ημέρα δειγματοληψίας στις δεξαμενές με νερό προερχόμενο από τον Παγασητικό.

**Πίνακας 5.** Μέσος όρος αφθονίας αλληλουχιών στις τρεις επαναλήψεις ανά ημέρα δειγματοληψίας και το εκατοστιαίο ποσοστό της σχετικής αφθονίας σε σχέση με τον μέσο όρο της συνολικής αφθονίας αλληλουχιών στις δύο ομάδες μικρόκοσμων, την ημέρα 17.

	Είδος οργανισμού (OTU)	Αφθονία αλληλουχιών			Ποσοστό σχετικής αφθονίας (%)
		Ημέρα 0	Ημέρα 5	Ημέρα 17	
<b>Banuyls</b>	Otu0502	0	1	417	2.8
	Otu0525	0	0	282	1.9
<b>Παγασητικός</b>	Otu0037	1	7	249	1.1
	Otu1577	2	10	546	2.3
	Otu1754	0	1	396	1.7

### 3.2. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σύμφωνα με την υπόθεση της κοσμοπολίτικης διασποράς των μικροοργανισμών, οι κοινότητες δεν περιορίζονται από εμπόδια στην διασπορά τους και οι μικρές διαφοροποιήσεις που αναμένεται να παρατηρηθούν ανάμεσα στις κοινότητες είναι αποτέλεσμα των πιέσεων στα διαφορετικά περιβάλλοντα (Vyverman et al., 2010). Για να ελεγχθεί αυτή η υπόθεση, θα πρέπει να γίνει σύγκριση της ροής γονιδίων ανάμεσα στα είδη που εμφανίζουν κοσμοπολίτικη κατανομή και τους πληθυσμούς σε όλο το εύρος της παγκόσμιας “γονιδιακής δεξαμενής”. Σύμφωνα με την Medlin (2007), όταν γίνεται μελέτη στο επίπεδο του είδους και σε περιορισμένη χωρική κλίμακα, παρατηρείται έντονη τμηματοποίηση των ειδών σε συγκεκριμένες περιοχές.

Οι Finlay et al. (2002) ανέλυσαν τα αρχεία γεωγραφικών δεδομένων από επιλεγμένα αντιπροσωπευτικά είδη διατόμων γλυκού νερού. Η έρευνα βασίστηκε στην υπόθεση ότι η συχνή εμφάνιση ενός είδους στην οικολογική βιβλιογραφία θα θεωρούνταν ένδειξη κοσμοπολίτικης κατανομής, ενώ είδη που καταγράφονται σπάνια θα έχουν περιορισμένη κατανομή. Το μοντέλο που προτάθηκε ορίζει ότι η κινητήριος δύναμη της κατανομής σε μεγάλη κλίμακα είναι η τυχαία κατανομή, ενώ το γράφημα της κατανομής έχει ισχυρή αλληλεξάρτηση από το μέγεθος του πληθυσμού. Συνεπώς, τα είδη που είναι σπάνια ή άφθονα σε τοπική κλίμακα, θα είναι σπάνια ή άφθονα σε παγκόσμια κλίμακα, αντίστοιχα.

Η έρευνα των Chu et al. (2010) παρέχει στοιχεία που φανερώνουν το γεγονός ότι οι βακτηριακές κοινότητες και η βιοποικιλότητα διαμορφώνονται ανάλογα με τις συνθήκες του περιβάλλοντος, και όχι ανάλογα με την βιοποικιλότητα των γειτονικών περιοχών. Επομένως, η περιβαλλοντική ετερογένεια επηρεάζει τις βακτηριακές

κοινότητες περισσότερο από τους περιορισμούς στην μεταφορά βακτηρίων από γειτονικές περιοχές. Επιπλέον, η σύνθεση των βακτηριακών κοινοτήτων εμφανίζεται παρόμοια σε επίπεδο ποικιλότητας, πλούτου και φυλογενετικών διαφορών ανάμεσα στα δείγματα εδάφους από διάφορα γεωγραφικά πλάτη.

Οι Fulthorpe et al. (2009) παρατήρησαν ότι σε όλες τις μοριακές μελέτες της σύνθεσης των βακτηριακών κοινοτήτων του εδάφους παρατηρήθηκαν οι ίδιες κύριες συννομοταξίες ανεξάρτητα από την περιοχή δειγματοληψίας. Οι διαφοροποιήσεις του περιβάλλοντος και η χωρική απόσταση δεν φαίνεται να επηρεάζουν την σύνθεση των βακτηρίων. Αντίθετα, άλλοι παράγοντες όπως η βιοτική διαβάθμιση και οι διαδικασίες που ευνοούν την διασπορά των μικροοργανισμών διαμορφώνουν τα πρότυπα των κοινοτήτων των βακτηρίων του εδάφους (Monroy et al., 2012).

Επιπλέον, οι Fierer & Jackson (2008) υποστήριξαν στην έρευνά τους ότι η ποικιλότητα των βακτηρίων που συναντώνται στο έδαφος δεν σχετίζονταν με την θερμοκρασία, το υψόμετρο, καθώς και άλλες μεταβλητές που αναμένονται να επηρεάσουν την βιοποικιλότητα ανώτερων οργανισμών. Η σύνθεση των βακτηριακών κοινοτήτων ήταν σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητη από την γεωγραφική απόσταση. Η ποικιλότητα και ο πλούτος των κοινοτήτων διέφεραν ανάλογα με τον τύπο του οικοσυστήματος, και αυτές οι διαφορές μπορούσαν να ερμηνευτούν από τις μεταβολές του περιβάλλοντος. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η μικροβιακή βιογεωγραφία ελέγχεται κυρίως από τις περιβαλλοντικές παραμέτρους.

Τα συμπεράσματα των εργασιών των Chu et al. (2010) και των Fierer & Jackson (2008) έρχονται μόνο εν μέρει σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, στην οποία δείγματα από διαφορετικές περιοχές επωάστηκαν σε πανομοιότυπες περιβαλλοντικές συνθήκες και από τα αποτελέσματα που εξήχθησαν

φάνηκε πως υπήρχε έντονη διαφοροποίηση στα είδη των οργανισμών που αναπτύχθηκαν, υποδεικνύοντας ότι τόσο οι περιβαλλοντικές συνθήκες, όσο και η γεωγραφική απόσταση ήταν οι παράγοντες που επηρέασαν την διαμόρφωση των προτύπων ποικιλότητας.

Σύμφωνα με τους Perez del Olmo et al. (2009) οι γεωγραφικές αποστάσεις δεν επηρεάζουν την σύνθεση των ειδών όταν το οικοσύστημα μελετάται σε υψηλότερες ταξινομικές κλίμακες. Αντίθετα, σε μικρότερες ταξινομικές κλίμακες παρατηρείται έντονη διαφοροποίηση σε διαφορετικές γεωγραφικές αποστάσεις. Παρατηρήθηκε ότι τα χωρικά πρότυπα της βιοποικιλότητας των μικροοργανισμών παραμένουν σταθερά στο χρόνο, αλλά μεταβάλλονται μεταξύ των διαφορετικών εποχών, και περιορισμένοι κλάδοι των ειδών συμβάλουν σε μεγάλο βαθμό στην διαμόρφωση των παρατηρούμενων προτύπων όσον αφορά την ομοιογένεια και την διαφοροποίηση. Αυτό φάνηκε να οφείλεται στις ισχυρές σχέσεις μεταξύ τοπικής αφθονίας και της μεταφοράς ειδών από γειτονικές περιοχές.

Είναι φανερό ότι για να ερμηνευτούν με ακρίβεια τα βιογεωγραφικά πρότυπα των μικροοργανισμών είναι απαραίτητο να γίνει μελέτη στο επίπεδο του είδους, καθώς υψηλότερες ταξινομικές βαθμίδες μπορούν να οδηγήσουν σε λανθασμένα συμπεράσματα σχετικά με την ομοιογένεια των πληθυσμών στις διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές. Στην παρούσα έρευνα οι οργανισμοί προσδιορίστηκαν στο επίπεδο του είδους, με βάση την αλληλούχιση του γονιδιώματος, και παρατηρήθηκε έντονη διαφοροποίηση στα OTU (Operational Taxonomic Unit, Λειτουργική Ταξινομική Μονάδα) που εμφανίζονταν στις διαφορετικές περιοχές δειγματοληψίας. Είναι πιθανό οι διαφορές στα είδη των μικροοργανισμών που αναπτύχθηκαν στις δύο ομάδες μικρόκοσμων να είναι αποτέλεσμα της μελέτης των μικροοργανισμών στο

επίπεδο του είδους. Για να ελεγχθεί αυτή η υπόθεση θα έπρεπε να γίνει σύγκριση των αποτελεσμάτων της μελέτης έπειτα από ο μαδοποίηση των μικροοργανισμών σε υψηλότερο ταξινομικό επίπεδο. Επομένως, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έρχονται σε συμφωνία με την υπόθεση των Pommier et al. (2006) κατά την οποία η σύνθεση και η ποικιλία των OTU διαφέρει ανάλογα με την γεωγραφική τοποθεσία. Επιπλέον, στην εργασία των Pommier et al. (2006) παρατηρήθηκε έντονος ενδημισμός, με ταυτόχρονη παρουσία ορισμένων ειδών που παρουσίαζαν κοσμοπολίτικη κατανομή. Οι κατανομές των κύριων ταξινομικών ομάδων που εντοπίστηκαν στις μικροβιακές κοινότητες ήταν παρόμοιες, και όλες οι τοπικές κοινότητες ήταν όμοια δομημένες. Τέλος, παρατηρήθηκε, η κυριαρχία λίγων OTU, τα οποία συσχετιζόνταν ταξινομικά μεταξύ τους.

Οι Pommier et al. (2010) παρατήρησαν ότι σε κάθε δείγμα κυριαρχούσαν ορισμένα OTU, ενώ το 50% των OTU εμφανίστηκαν σε ένα μόνο δείγμα, υποδεικνύοντας ότι η δομή των κοινοτήτων διέφερε έντονα ανάμεσα στις διαφορετικές περιοχές δειγματοληψίας, παρά την γεωγραφική του εγγύτητα και την φυσική σύνδεση των περιοχών. Συγκριτικά, στην εργασία του Pearce (2008), ένας μικρός αριθμός μικροβιακών κλώνων, προερχόμενος από το επιφανειακό θαλασσινό νερό της περιοχής του Southern Thule, οδήγησε στην παραγωγή σχετικά πανομοιότυπων βιβλιοθηκών, με το 50% των αλληλουχιών να είναι κοινές ανάμεσα στις βιβλιοθήκες. Συγκρίνοντας τις ανεξάρτητες γονιδιωματικές βιβλιοθήκες βρέθηκαν οχτώ αντιστοιχίες σε κάθε μια από τις 7 βιβλιοθήκες, ενώ σε μία εξ αυτών βρέθηκαν 55 αντιστοιχίες. Το τελευταίο υποδεικνύει ότι μπορεί να υπάρχει ένας σχετικά μικρός αριθμός κοινών κυρίαρχων οργανισμών που χαρακτηρίζονται από πολύ μεγαλύτερη ποικιλότητα.

Η έρευνα των Bisset et al. (2011) φανέρωσε στοιχεία σχετικά με την χωρική συνιστώσα των βακτηριακών κοινοτήτων, η οποία μεταβάλλεται ανάλογα με την έκταση και την ικανότητα επιβίωσης του οργανισμού. Η γεωγραφική απόσταση δεν επηρέασε τη δομή της κοινότητας των βακτηρίων που έχουν διαφορετικά στάδια επιβίωσης. Αντίθετα, στα βακτήρια που είναι λιγότερο ανθεκτικά η γεωγραφική απόσταση επηρέαζε την δομή της κοινότητας. Η λειτουργικότητα της κοινότητας (χρησιμοποίηση του υποστρώματος) φαίνεται επίσης να σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την δομή της κοινότητας, αλλά όχι με τους αβιοτικούς παράγοντες, γεγονός που υποδηλώνει την σημαντικότητα των παραγόντων που προσδιορίζουν την δομή των κοινοτήτων. Τα αποτελέσματα της έρευνας υποδεικνύουν ότι οι βακτηριακές κοινότητες περιορίζονται τόσο από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όσο και από την γεωγραφική απόσταση. Επιπλέον, ο βαθμός στον οποίο αυτοί οι παράγοντες θα επηρεάσουν την δομή των κοινοτήτων εξαρτάται από ταξινομική ακρίβεια της ανάλυσης, καθώς και το ιστορικό των υπό μελέτη ομάδων. Επομένως, η έρευνα των Bisset et al. (2011) έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, καθώς δεν βρέθηκε κάποιος ξεκάθαρος παράγοντας που να επιδρά στην δομή των κοινοτήτων των μικροοργανισμών, αλλά αντίθετα φάνηκε ότι τόσο η γεωγραφική απόσταση, καθώς και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρέασαν την τελική κατανομή των μικροοργανισμών.

Οι Pommier et al. (2012) μελέτησαν την επίδραση της περιβαλλοντικής πίεσης και της γεωγραφικής απόστασης πάνω στην εναλλαγή των φύλων ανάμεσα σε θαλάσσιες βακτηριακές κοινότητες που βρίσκονται σε απόσταση 8000 km μεταξύ τους και υπό διαφορετικές συνθήκες περιβάλλοντος. Η εναλλαγή των φύλων ήταν έντονη ανάμεσα στις κοινότητες και διαμορφώνονταν κυρίως από τοπικούς περιβαλλοντικούς

παράγοντες, παρά από της γεωγραφική απόσταση. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν την παρουσία γενεαλογικής επιλογής, δηλαδή την παρουσία διαφορετικών γενεαλογιών σε περιβάλλοντα που δέχονται διαφορετικές πιέσεις. Παρά την δυνατή ευρεία διασποράς στο θαλάσσιο περιβάλλον, οι βακτηριακές κοινότητες παρουσιάζουν έντονες φαινοτυπικές διαφοροποιήσεις και ισχυρή αναντιστοιχία με τα περιβάλλοντα στα οποία εντοπίζονται.

Τα φύκη παρουσιάζουν σχετικά υψηλότερη τοπική ποικιλότητα, αλλά ταυτόχρονα αυξάνονταν με χαμηλότερο ρυθμό και σε μεγαλύτερες εκτάσεις, υποδεικνύοντας συσχέτιση μεταξύ της βιοποικιλότητας και του μεγέθους του οικοτόπου. Συνεπώς, η σχέση του αριθμού των ειδών με το φυσικό τους μέγεθος εξαρτώνται από την χωρική κλίμακα: υπάρχουν πολύ περισσότερα είδη μικρότερων τάξεων μεγέθους σε οποιαδήποτε τοπική κοινότητα, αλλά η κατάσταση αλλάζει σε παγκόσμια εμβέλεια. Οι πιθανοί λόγοι συμπεριλαμβάνουν την απόδοση διασποράς, τον ρυθμό ειδογένεσης και την εξαρτώμενη από το μέγεθος περιβαλλοντική ετερογένεια (Azovsky, 2002).

Στις κοινότητες του βακτηριοπλαγκτού των γλυκών νερών, τα πρότυπα αύξησης είναι αναξιόπιστα. Η ταξινομική ποικιλότητα αυξάνεται με το μέγεθος του ενδιαιτήματος, και η σύσταση σχετίζεται με γειτονικούς υδάτινους όγκους. Ωστόσο, οι ασυνέπειες στα πρότυπα αύξησης μπορεί να οφείλονται σε διαφοροποιήσεις στις χρονικές και χωρικές κλίμακες που εξετάζονται. Για τους θαλάσσιους πλαγκτονικούς προκαρυώτες τα βιογεωγραφικά πρότυπα είναι γνωστά μόνο για ομάδες υψηλού ταξινομικού επιπέδου (πχ. τα Αρχαία είναι πιθανόν κυρίαρχο στα βαθιά ωκεάνια νερά). Ωστόσο, έρευνες πάνω σε πρότυπα μεγάλης κλίμακας υποδεικνύουν ότι



ενδεχομένως ορισμένοι ριβότυποι ή είδη μπορεί να είναι περιορισμένοι χωρικά σε συγκεκριμένες περιοχές του ωκεανού (Dolan et al., 2005).

Η εργασία των Katz et al. (2010) ενισχύει την υπόθεση του ενδημισμού (υψηλή ποικιλότητα-χαμηλή ροή γενετικού υλικού), σε αντίθεση με την υπόθεση της κοσμοπολίτικης διασποράς που υποστηρίζει την ύπαρξη έντονης ανταλλαγής γενετικού υλικού και χαμηλής ποικιλότητας. Ωστόσο, στην ανάλυση της γενετικής διαφοροποίησης των βλεφαριδοφόρων που απομονώθηκαν από εφήμερα περιβάλλοντα (νερόλακκους και λιμνάζοντα νερά παλίρροιας) βρέθηκαν ενδείξεις υψηλής ροής γενετικού υλικού σε συνδυασμό με υψηλή ποικιλότητα. Για τις δύο κυρίαρχες ομάδες βλεφαριδοφόρων (Halteria/Meseres στους νερόλακκους και Strombidium στα λιμνάζοντα νερά παλίρροιας) η γενετική απόκλιση φαίνεται να σχετίζεται με τους κύκλους δημιουργίας και απομόνωσης του εφήμερου περιβάλλοντος στο οποίο διαβιούν.

Στην εργασία των Falcon et al. (2008) γίνεται ανάλυση της σύνθεσης και των εναλλαγών στις βακτηριακές κοινότητες του επιφανειακού στρώματος νερού των ωκεανών. Ο προσδιορισμός των οργανισμών έγινε με αλληλούχιση του 16S rRNA, και συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα με βάση την γεωγραφική απόσταση, την θερμοκρασία, την συγκέντρωση χλωροφύλλης α και την αλατότητα. Φάνηκε ότι οι περιοριστικοί παράγοντες που επηρέαζαν την δομή των κοινοτήτων ήταν κυρίως η γεωγραφική απόσταση και η συγκέντρωση της χλωροφύλλης α για τα δείγματα του Βόρειου Ατλαντικού, και η θερμοκρασία για τα δείγματα των τροπικών περιοχών του Ατλαντικού και του Ειρηνικού. Είναι φανερό ότι ορισμένες βακτηριακές κοινότητες διαμορφώνονται τόσο από περιβαλλοντικούς όσο και γεωγραφικούς παράγοντες (απόσταση), ενώ άλλες μόνο από περιβαλλοντικούς. Από την έρευνα αυτή μπορεί να

εξαχθεί το συμπέρασμα ότι οι διαφορετικές βακτηριακές κοινότητες αντιδρούν διαφορετικά σε ποικίλους περιοριστικούς παράγοντες. Είναι πιθανόν τα πρότυπα ποικιλότητας που παρατηρήθηκαν στην παρούσα μελέτη να οφείλονται στην διαφορετική προσαρμογή των μικροοργανισμών και στην επιρροή των περιοριστικών παραγόντων σε καθέναν από αυτούς.

Στην έρευνα των Petz et al. (2006) μελετήθηκε *in situ* η ποικιλότητα βλεφαριδοφόρων από δείγματα θαλάσσιων και εσωτερικών υδάτων της Ανταρκτικής και της Άνω Αρκτικής. Συνολικά 389 είδη βρέθηκαν στις δύο πολικές περιοχές, με 44 είδη να είναι κοινά στην Αρκτική και την Ανταρκτική, και 19 είδη να εντοπίζονται και στα δύο περιβάλλοντα της Ανταρκτικής. Επιπλέον, διαφορετικοί βιότοποι σε μια συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή εμφάνιζαν μεγαλύτερη ομοιότητα στα είδη σε σχέση με απομακρυσμένες περιοχές με παρόμοια χαρακτηριστικά. Αυτές οι παρατηρήσεις, σε συνδυασμό με την χαμηλή αντιστοιχία στη σύνθεση των ειδών μεταξύ των δύο πολικών περιοχών, εντός της Ανταρκτικής και μεταξύ όγκων νερού σε περιοχές υψηλού και εύκρατου γεωγραφικού πλάτους, αντίστοιχα, υποδεικνύουν την περιορισμένη διασπορά των βλεφαριδοφόρων και τον τοπογραφικό περιορισμό τους.

Στο πείραμα του Warren (1996) έγινε μελέτη του ρυθμού διασποράς των πρωτίστων με την χρήση τεχνητών μικρόκοσμων που αντιπροσώπευαν διαφορετικά ενδιαίτηματα. Η διασπορά εξετάστηκε μέσω επαναληπτικής τυχαίας μεταφοράς εμβολίων μεταξύ των μικρόκοσμων-ενδιαιτημάτων. Παρατηρήθηκε ότι συχνότεροι εμβολιασμοί επηρέασαν τη σύνθεση των κοινοτήτων, ενώ τόσο ο αριθμός εμβολιασμών, όσο και το μέγεθος του μικρόκοσμου επηρέασαν την αφθονία πολλών ειδών, μέσω αλληλεπίδρασης των πληθυσμών και ανταγωνισμού. Αντίθετα με την μεθοδολογία που ακολούθησε ο Warren (2006) στην παρούσα μελέτη δεν ελέγχθηκαν παράγοντες που θα

μπορούσαν να επηρεάσουν το τελικό αποτέλεσμα, όπως το μέγεθος του μικρόκοσμου, ο αριθμός των εμβολιασμών και η αρχική αφθονία των ειδών. Θα ήταν ιδιαίτερα ενδιαφέρον να μελετηθεί ο τρόπος με τον οποίο αλλαγές σε αυτούς τους παράγοντες θα επηρεάσουν την σύνθεση των κοινοτήτων των μικροοργανισμών.

Σύμφωνα με τον Frierer (2008) η παρουσία χωρικής και χρονικής ετερογένειας στις κοινότητες των μικροοργανισμών και η αδυναμία πρόβλεψης των παγκόσμιων γεωγραφικών προτύπων με βάση περιορισμένες χωρικές και χρονικές μελέτες αποτελούν ισχυρή ένδειξη ύπαρξης βιογεωγραφικών προτύπων (Frierer biogeography book). Επιπλέον, όταν οι οργανισμοί διαχωρίζονται με βάση μορφολογικά κριτήρια, τότε πράγματι παρατηρείται έντονη η κοσμοπολίτικη κατανομή τους. Ωστόσο, οργανισμοί με διαφορετικά μορφολογικά χαρακτηριστικά πιθανόν να έχουν παρόμοια ή κοινή γενετική δεξαμενή. Χωρίς στοιχεία για την παγκόσμια γενετική δεξαμενή είναι δύσκολο να ελεγχθεί η υπόθεση για το εάν άπαντες μικροοργανισμοί βρίσκονται παντού (Medlin, 2007).

#### 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η υπόθεση “Everything is everywhere, but the environment selects”, σύμφωνα με την οποία κάτω από τις ίδιες περιβαλλοντικές πιέσεις θα επικρατήσουν κοινά είδη σε διαφορετικές μικροβιακές κοινότητες από απομακρυσμένες περιοχές. Την υπόθεση αυτή ενισχύει το γεγονός της παρατήρησης ενός μεγάλου ποσοστού κοινών μικροοργανισμών σε δεξαμενές με νερό προερχόμενο από διαφορετικές περιοχές. Συγκεκριμένα, όσον αφορά την δομή των βακτηριακών κοινοτήτων σε διαφορετικές περιοχές, τα σημαντικότερα αποτελέσματα που εξήχθησαν στην παρούσα εργασία είναι ότι 61% των ειδών εντοπίστηκαν και κατάφεραν να αναπτυχθούν και στις δύο ομάδες μικρόκοσμων με νερό προερχόμενο από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές. Επιπλέον, οι 13 από τις 16 αλληλουχίες που κυριάρχησαν ήταν κοινές στις δύο ομάδες μικρόκοσμων.

Ωστόσο, το 39% των ειδών αναπτύχθηκε μόνο σε μία από τις δύο ομάδες μικρόκοσμων. Συγκεκριμένα, 16 είδη εντοπίστηκαν μόνο στις δεξαμενές με νερό προερχόμενο από τον Παγασητικό, ενώ 28 είδη εντοπίστηκαν μόνο στις δεξαμενές με νερό προερχόμενο από την Banuyls. Αυτό ισούται με 14% και 25%, αντίστοιχα.

Εκ πρώτης όψεως τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας φαίνεται να στηρίζουν την υπόθεση της κοσμοπολίτικης κατανομής, καθώς το μεγαλύτερο ποσοστό των ειδών, αλλά και η πλειοψηφία των κυρίαρχων αλληλουχιών, εντοπίστηκαν και στις δύο ομάδες μικρόκοσμων. Δεδομένου, όμως, ότι το πείραμα διεξήχθη σε τεχνητά οικοσυστήματα δεν είναι δυνατόν να γίνει αναφορά στο είδος της κατανομής που

εμφάνισαν οι οργανισμοί. Επιπλέον, ο σύντομος χρόνος διεξαγωγής του πειράματος δεν δίνει την δυνατότητα μελέτης ή πρόβλεψης της διαμόρφωσης των κοινοτήτων σε βάθος χρόνου. Η μελέτη των μικροοργανισμών μόνο στο επίπεδο του είδους δεν επιτρέπει την διερεύνηση της διαμόρφωσης των κοινοτήτων όταν οι μικροοργανισμοί ομαδοποιούνται σε υψηλότερη ταξινομική κλίμακα. Επομένως, δεν είναι δυνατόν να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα σχετικά με την επίδραση της γεωγραφικής απόστασης στην δομή των κοινοτήτων των μικροοργανισμών.

Για την εκτενέστερη εξέταση της υπόθεσης “Everything is everywhere, but the environment selects” απαιτούνται πειράματα που θα ελέγξουν τις παραμέτρους που ενδέχεται να επηρεάσουν την δομή και την πορεία της διαμόρφωσης των κοινοτήτων στο περιβάλλον. Είναι σημαντικό να γίνουν πειράματα που θα εξετάζουν τις βακτηριακές κοινότητες σε βάθος χρόνου. Επιπλέον, καθώς η εξέταση μιας κοινότητας σε ένα μόνο ταξινομικό επίπεδο μπορεί να οδηγήσει τους ερευνητές σε λανθασμένα συμπεράσματα, θα ήταν χρήσιμο να γίνει έρευνα της δομής των κοινοτήτων σε διάφορα ταξινομικά επίπεδα, καθώς και σύγκριση των διαφορετικών αποτελεσμάτων που θα προκύψουν.

## 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Ξένη Βιβλιογραφία

- Ahmadian A., Ehn M., Hober S. (2006) Pyrosequencing: History, biochemistry and future. *Clinica Chimica Acta*, 363:83-94.
- Azovsky A. (2002) Size-dependent species-area relationships in benthos: is the world more diverse for microbes? *Ecography*, 25:273-282.
- Bissett A., Richardson A.E., Baker G., Wakelin S., Thrall P.H. (2010) Life history determines biogeographical patterns of soil bacterial communities over multiple spatial scales. *Molecular Ecology*, 19:4315-4327.
- Chu H., Fierer N., Lauber C.L., Caporaso J.G., Knight R., Grogan P. (2010) Soil bacterial diversity in the Arctic is not fundamentally different from that found in other biomes. *Environmental Microbiology*, 12(11):2998-3006.
- Dolan J.R. (2005) An introduction to the biogeography of aquatic microbes. *Aquatic Microbial Ecology*, 41:39-48.
- Falcón L.I., Noguez A.M., Espinosa-Asuar L., Eguiarte L.E., Souza V. (2008). Evidence of biogeography in surface ocean bacterioplankton assemblages. *Marine Genomics*, 1:55-61.
- Fenchel T., Finlay B.J. (2004). The Ubiquity of Small Species: Patterns of Local and Global Diversity. *BioScience*, 54:777-784.

- Fierer N. (2008). Microbial biogeography: patterns in microbial diversity across space and time. In: Zengler K. (ed) *Accessing Uncultivated Microorganisms: from the Environment to Organisms and Genomes and Back*. ASM Press, Washington DC, p 95-115.
- Fierer N., Jackson R.B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(3):626-631.
- Finlay B.J., Monaghan E.B., Maberly S.C. (2002). Hypothesis: The Rate and Scale of Dispersal of Freshwater Diatom Species is a Function of their Global Abundance. *Protist*, 153:261-273.
- Fuhrman J.A. (2009). Microbial community structure and its functional implications. *Nature*, 459:193-199.
- Fulthorpe R.R., Roesch L.F.W., Riva A., Triplett E.W. (2008). Distantly sampled soils carry few species in common. *The International Society for Microbial Ecology Journal*, 2:901-910.
- Green J., Bohannan B.J.M. (2006). Spatial scaling of microbial biodiversity. *Trends in Ecology and Evolution*, 21(9):501-507.
- Hanson C.A., Fuhrman J.A., Horner-Devine M.C., Martiny J.B.H. (2012). Beyond biogeographic patterns: processes shaping the microbial landscape. *Microbiology*, 10:497-506.
- Katz L.A., McManus G.B., Snoeyenbos-West O.L.O, Griffin A., Pirog K., Costas B., Foissner W. (2005). Reframing the 'Everything is everywhere' debate: evidence for high gene flow and diversity in ciliate morphospecies. *Aquatic Microbial Ecology*, 41:55-65.

- Keller M., Zengler K. (2004). Tapping into microbial diversity. *Microbiology*, 2:141-150.
- Martiny J.B.H., Bohannan B.J.M., Brown J.H., Colwell R.K., Fuhrman J.A., Green J.L., Horner-Devine M.C., Kane M., Krumins J.A., Kuske C.R., Morin, P.J., Naeem S., Øvreås L., Reysenbach A.L., Smith V.H., Staley J.T. (2006). Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature*, 4:102-112.
- Medlin L.K. (2007). If everything is everywhere, do they share a common gene pool? *Gene*, 406:180-183.
- Monroy F., Van der Putten W.H, Yergeau, E., Mortimer S.R., Duyts H., Bezemer T.M. (2012). Community patterns of soil bacteria and nematodes in relation to geographic distance. *Soil Biology & Biochemistry*, 45:1-7.
- Nybakken J.W. (2001). *Marine Biology, An Ecological Approach*, Addison Wesley Longman Inc. (1st edition) p. 83-84
- O'Malley M.A. (2008). 'Everything is everywhere: but the environment selects': ubiquitous distribution and ecological determinism in microbial biogeography. *Studies in History and Philosophy of Biology and Biomedical Sciences*, 39 314–325
- Pearce D.A. (2008). Biodiversity of the bacterioplankton in the surface waters around Southern Thule in the Southern Ocean. *Antarctic Science*, 20(3):291-300.
- Pérez-del-Olmo A., Fernández M., Raga J.A., Kostadinova A., Morand S. (2009). Not everything is everywhere: the distance decay of similarity in a marine host–parasite system. *Journal of Biogeography*, 36:200-209.



- Petz W., Valbonesi A., Schiffner U., Quesada A., Ellis-Evans J.C. (2007) Ciliate biogeography in Antarctic and Arctic freshwater ecosystems: endemism or global distribution of species? *FEMS Microbiology Ecology*, 59:396-408.
- Pommier T., Canbäck B., Riemann L., Boström H., Simu K., Lundberg P., Tunlid A., Hagström Å. (2007). Global patterns of diversity and community structure in marine bacterioplankton. *Molecular Ecology*, 16:857-880.
- Pommier T., Douzery E.J.P., Mouillot D. (2012). Environment drives high phylogenetic turnover among oceanic bacterial communities. *Biology Letters*, 8:562-566.
- Pommier T., Neal P.R., Gasol J.M., Coll M., Acinas S.G., Pedrós-Alió C. (2010). Spatial patterns of bacterial richness and evenness in the NW Mediterranean Sea explored by pyrosequencing of the 16S rRNA. *Aquatic Microbial Ecology*, 61:221-233.
- Ronaghi M. (2001). Pyrosequencing Sheds Light on DNA Sequencing. *Genome Research*, 11:3-11.
- Schloss P.D., Westcott S.L., Ryabin T., Hall J.R., Hartmann M., Hollister E.B., Lesniewski R.A., Oakley B.B., Parks D.H., Robinson C.J., Sahl J.W., Stres B., Thallinger G.G., Van Horn D.J., Weber C.F. (2009). Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75:7537-7541.
- Vyverman W., Veleyen E., Wilmotte A., Hogson D.A., Willems A., Peeter K., Van de Vijver B., De Wever A., Leliaert F., Sabbe K. (2010). Evidence for widespread endemism among Antarctic micro-organisms. *Polar Science*, 4:103-113.

- Warren P.H. (1996) The effects of between-habitat dispersal rate on protist communities and metacommunities in microcosms at two spatial scales. *Oecologia*, 105:132-140.
- Weber A.P.M., Weber K.L., Carr K., Wilkerson C., Ohlrogge J. (2007). Sampling the Arabidopsis Transcriptome with Massively Parallel Pyrosequencing. *Plant Physiology*, 144:32-42.
- Weisse T. (2008). Distribution and diversity of aquatic protists: an evolutionary and ecological perspective. *Biodiversity and Conservation*, 17:243-259.

### **Ελληνική Βιβλιογραφία**

- Μίχας Α . (2012). Διερεύνηση της υπόθεσης “Everything is Everywhere” (Baas-Becking, 1934) στη Μεσόγειο Θάλασσα. Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Παν/μιο Ιωαννίνων.

## 6. ABSTRACT

### **«Succession and structure of bacterioplanktic communities after artificial mixing of coastal water from the eastern and western Mediterranean Sea»**

In this study an effort was made to examine the validity of the hypothesis of Baas-Becking (1934) “Everything is everywhere, but the environment selects” according to which all microorganisms are characterised by high dispersal ability and present a cosmopolitan distribution, while different habitats are characterised by the predominance of different microbial communities, which are highly related to environmental conditions. To examine this hypothesis, the distribution of microorganisms was compared in water samples obtained from Pagasitikos and Banuyls. The same environmental conditions were applied to both test groups and the biodiversity was determined using pyrosequencing. The microorganisms were categorized as OTUs (Operational Taxonomic Unit). The analysis of the results indicated that 61% of the OTUs were found in both test groups. By comparing the predominant and non-predominant OTUs it was found that 81,25% of the predominant OTUs were present in both test groups. It was demonstrated that out of 39% of OTUs found in only one of the test groups, 14% was exclusively found in samples of water originating from Pagasitikos, while 25% of OTUs was exclusively found in samples of water originating from Banuyls. Despite the fact that the results extracted in this experiment are in accordance with the hypothesis “everything is everywhere, but the environment selects”, the short duration of the experiment and the examination of the communities solely on one taxonomic level does not allow the extraction of clear

conclusions in relation to the structure of the bacterial communities and the effect of geographical distance on their structure. Therefore, further experiments are required to examine the same hypothesis, studying higher taxonomic levels and observing the structure of the bacterial communities for longer periods of time.

**Keywords:** Microbial communities, biodiversity, pyrosequencing.