

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΠΟΛΥΤΕΧΝΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΜΗΜΑ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



Πειραματική μελέτη εισαγωγής υπεροξειδίου του
υδρογόνου ως μέθοδος αποκατάστασης ευτροφικών
λιμνών και ταμιευτήρων



υπό

Παξινού Αικατερίνη
Πουλημενάκου Βασιλική

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διπλώματος Πολιτικού Μηχανικού

ΒΟΛΟΣ, 2018

© 2018 Αικατερίνη Παξινού, Βασιλική Πουλημενάκου

Η έγκριση της διπλωματικής εργασίας από το Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών της Πολυτεχνικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ. 2).

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

- 1. Χρυσή Λασπίδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών, Πολυτεχνική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, (Επιβλέπουσα)**
- 2. Βασίλειος Κανακούδης, Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών, Πολυτεχνική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας**
- 3. Μάριος Σπηλιωτόπουλος, Διδάσκων του Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών, Πολυτεχνική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πρώτα απ' όλα, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε την επιβλέπουσα της διπλωματικής εργασίας μας, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κα. Χρυσή Λασπίδου, για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή της κατά τη διάρκεια της μελέτης μας. Ιδιαίτερες ευχαριστίες θέλουμε να απευθύνουμε, επίσης, στην Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κα. Δότη Παπαδημητρίου, η οποία στάθηκε σημαντικός αρωγός στην προσπάθειά μας και μας υποστήριξε σε κάθε φάση της πορείας μας καθώς και στη διεκπεραίωση των πειραματικών διαδικασιών. Τις ευχαριστίες μας εκφράζουμε στον Αναπληρωτή Καθηγητή και Πρόεδρο του Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Βασίλειο Κανακούδη και στον Διδάσκων του Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Μάριο Σπηλιωτόπουλο, που δέχτηκαν να είναι μέλη της τριμελούς επιτροπής αξιολόγησης της διπλωματικής εργασίας. Οφείλουμε ευχαριστίες, επίσης, στην Καθηγήτρια Υδροβοτανικής-Υδροοικολογίας του Τμήματος Βιολογίας του Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης κα. Μαρία Μουστάκα-Γούνη και στην Μεταδιδάκτορα Βιολόγο κα. Ματίνα Κατσιάπη, για την πολύτιμη βοήθεια τους στην διεκπεραίωση των μικροσκοπικών αναλύσεων. Ευχαριστούμε την φίλη μας Θεονύμφη Ξυδιανού, για την ηθική υποστήριξή της και την κατανόησή της, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια των τελευταίων μηνών της προσπάθειάς μας. Πάνω απ' όλα, ευχαριστούμε θερμά τις οικογένειες μας, Κίμων και Σταυρούλα, Γιάννη, Μάτα και Σπυριδούλα για την ολόψυχη αγάπη και υποστήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια και την ηθική συμπαράσταση τους για την ολοκλήρωση της διπλωματικής μας εργασίας. Αφιερώνουμε αυτή την εργασία στους γονείς μας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρουσία των κυανοβακτηρίων στα υδάτινα οικοσυστήματα είναι συνυφασμένη με τον ευτροφισμό των παραπάνω οικοσυστημάτων, καθώς αυτοί οι οργανισμοί αποτελούν την πιο γνωστή ταξινομική ομάδα που αναπτύσσεται κάτω από ευτροφικές συνθήκες (Codd, 2000). Στη σύγχρονη κοινωνία, οι ανθρωπογενείς επιδράσεις όπως η μη σωστή διαχείριση των οικιακών και βιομηχανικών αποβλήτων και οι αυξανόμενες γεωργικές δραστηριότητες (λιπάσματα και φυτοφάρμακα) οδηγούν στην απότομη αύξηση της αφθονίας των κυανοβακτηρίων των εσωτερικών υδάτων, η οποία ονομάζεται και άνθηση των κυανοβακτηρίων (cyanobacterial bloom or water bloom). Ο ευτροφισμός των λιμνών και κατά συνέπεια η άνθηση των κυανοβακτηρίων είναι υπεύθυνες για μια σειρά δυσάρεστων γεγονότων που διαταράσσουν την ισορροπία των λιμναίων οικοσυστημάτων (Wetzel, 2001). Τα πιο σημαντικά από αυτά είναι η μείωση της διαφάνειας του νερού, οι ανοξικές συνθήκες κατά τη διάρκεια της νύχτας, οι μεγάλες διακυμάνσεις του pH του νερού (Klapper, 1991) και η παραγωγή τοξικών ενώσεων, των κυανοτοξινών (Papadimitriou et al., 2016). Από τα παραπάνω είναι φανερό ότι η εξεύρεση μιας αποτελεσματικής οικολογικής τεχνικής μετριασμού του κυανοβακτηριακού πλήθους και των ευτροφικών φαινομένων, είναι επιτακτικής ανάγκης. Τα τελευταία χρόνια έχει αναπτυχθεί μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος εξυγίανσης του ευτροφισμού των λιμνών με την εισαγωγή- σε ελεγχόμενες ποσότητες- υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂). Η μέθοδος αυτή (μέθοδος- HP) είναι γρήγορη, αποτελεσματική και δρα με υψηλότερη ευαισθησία στα κυανοβακτήρια συγκριτικά με το υπόλοιπο φυτοπλαγκτόν, γεγονός που δρα ευεργετικά στην ευρύτερη οικολογία της λίμνης.

ΛΕΞΕΙΣ- ΚΛΕΙΔΙΑ

Υπεροξείδιο του υδρογόνου, κυανοβακτήρια, ευτροφισμός, χλωροφύλλη-α, φυκοκυανίνη, επιλεκτικότητα, αποκατάσταση λίμνης.

ABSTRACT

The presence of cyanobacteria in water ecosystems is related with the eutrophication of those systems as they consist of the most well- known species that evolves under eutrophic conditions (Codd, 2000). In modern society, anthropogenic effects such as improper management of household and industrial waste and growing farming (fertilizers and pesticides) lead to a sharp increase in the abundance of cyanobacteria in inland waters (also called cyanobacterial bloom or water bloom). The eutrophication of lakes and consequently the growth of cyanobacteria are responsible for a series of unpleasant events that disrupt the balance of lake ecosystems (Wetzel, 2001). The most important of these being the reduction of water transparency, anoxic conditions during the night, large fluctuations in water pH (Klapper, 1991) and the production of toxic compounds, cyanotoxins (Papadimitriou et al., 2016). From the above, it is clear that finding an effective ecological technique to mitigate the cyanobacterial crowd and eutrophic phenomena is an urgent need. In recent years a method has been developed to reduce lake eutrophication by introducing - in controlled amounts - hydrogen peroxide (H₂O₂). This method (HP method) is fast, efficient and acts with higher cyanobacterial sensitivity than the rest of the phytoplankton, with beneficial effects towards the general ecology of the lake.

KEYWORDS

Hydrogen peroxide, cyanobacteria, eutrophication, chlorofyll- a, phycocyanin, selectivity, lake restoration.

Πίνακας Περιεχομένων

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1. Ευτροφισμός και εσωτερικά υδάτινα οικοσυστήματα.....	1
1.1.1. Γενικά για τον ευτροφισμό.....	1
1.1.2. Πηγές ευτροφισμού.....	5
1.1.3. Αποτελέσματα του ευτροφισμού	6
1.2. Φυτοπλαγκτόν	7
1.2.1. Κυανοβακτήρια	8
1.3. Οι φυτοχρωστικές ως δείκτες ευτροφικών συνθηκών.....	12
1.4. Μέθοδοι αντιμετώπισης ευτροφισμού σε υδάτινα οικοσυστήματα.....	14
1.4.1. Μέθοδοι που Αποσκοπούν στη Μείωση Συγκεντρώσεων Θρεπτικών Ουσιών	14
1.4.1.1. Μείωση Θρεπτικών Ουσιών σε Επίπεδο Λεκάνης Απορροής.....	14
1.4.1.2. Μείωση Θρεπτικών Ουσιών Εντός της Λίμνης και Διαχείριση Ιζημάτων ...	15
1.4.2. Άλλες μέθοδοι	17
1.4.2.1. Αραίωση και έκπλυση	17
1.4.2.2. Τεχνητή κυκλοφορία (ανάμιξη- αποστρωματοποίηση).....	17
1.4.3. Βιοανάπτυξη/ βιοδιαχείριση.....	18
1.5. Οξειδωτικές μέθοδοι με τη χρήση υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂).....	19
2. ΣΚΟΠΟΣ.....	20
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	21
3.1. Περιοχές μελέτης	21
3.1.1. Ταμιευτήρας Κάρλας	21
3.1.2. Λίμνη Παμβώτιδα.....	28
3.2. Πειραματική Πορεία	29
3.2.1. Συλλογή δειγμάτων νερού από τον Ταμιευτήρα της Κάρλας και από τη Λίμνη Παμβώτιδα.....	30
3.2.2. Μεταχείριση των δειγμάτων με H ₂ O ₂ και ανάπτυξη του φυτοπλαγκτού των δειγμάτων σε θαλάμους ανάπτυξης σταθερών συνθηκών.	31
3.2.3. Λήψη υποδειγμάτων για τη μικροσκοπική μέτρηση του φυτοπλαγκτού και τον ποσοτικό προσδιορισμό των φωτοχρωστικών (χλωροφύλλη-α, φυκοκυανίνη).....	33
3.3. Μικροσκοπικός προσδιορισμός φυτοπλαγκτού	34
3.4. Ποσοτικός προσδιορισμός χλωροφύλλης-α.....	35

3.5. Ποσοτικός προσδιορισμός φυκοκυανίνης	36
4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	37
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	38
5.1 Επίδραση υπεροξειδίου του υδρογόνου στο νερό του Ταμιευτήρα Κάρλας.....	38
5.1.1 Αποτελέσματα μικροσκοπικής ανάλυσης	38
5.1.2 Δυναμική φυτοχρωστικών.....	39
5.2 Επίδραση υπεροξειδίου του υδρογόνου στο νερό της Λίμνης Παμβώτιδας.....	41
5.2.1 Αποτελέσματα μικροσκοπικής ανάλυσης	41
5.2.2 Δυναμική φυτοχρωστικών.....	48
6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	51
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	57

Πίνακας Περιεχομένων Εικόνων

Εικόνα 1: Ολιγοτροφική λίμνη, Μεγάλη πρέσπα. Oligotrophic lake, Big Prespa, Greece. (Πηγή/ Source: Richard Chew).....	4
Εικόνα 2: Μεσοτροφική λίμνη, Υλίκη (Ορχομενός). Mesotrophic lake Yliki, Greece. (Πηγή/ Source: http://www.orchomenos.gr/08mnimeia/08.17.yliki.htm).....	4
Εικόνα 3: Εικόνα της Βαλτικής Θάλασσας από δορυφόρο που δείχνει τον «ορατό» ευτροφισμό. Picture of the Baltic Sea by satellite showing "visible" eutrophication. (Πηγή/ Source: http://news.nationalgeographic.com/news/2010/02/100305-baltic-sea-algae-dead-zones-water).....	5
Εικόνα 4: Φυτοπλαγκτονικοί οργανισμοί στο μικροσκόπιο. Phytoplanktonic organisms under the microscope. (Πηγή/ Source: http://earthobservatory.nasa.gov)	8
Εικόνα 5: Μικρογραφίες κύριων επιβλαβών κυανοβακτηριακών ομάδων, με βάση κυτταρικές μορφολογίες. a- b Συγκεντρωμένα γένη κοκκοειδών μονοκυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των α Merismopedium και b Microcystis. c-d, νηματοειδή, μη ετεροκυκλικά γένη, συμπεριλαμβανομένων των c Oscillatoria sp., d Lyngbya sp., e-f νηματοειδή, ετεροκυκλικά γένη, συμπεριλαμβανομένων των ε Anabaena spp., και f Nodularia sp. Thumbnails of major cyanobacterial pests, based on cellular morphologies. a- b Aggregated granule monocyte genes, including a Merismopedium a b Microcystis. c-d, filamentous, non-heterocyclic genera, including c Oscillatoria sp., d Lyngbya sp., e-fumato, heterocyclic genera including Anabaena spp., and Nodularia sp. (Πηγή/ Source: Paerl & Otten,2013).....	9
Εικόνα 6: Εικόνα της λίμνης Παμβώτιδας ύστερα από άνθηση κυανοβακτηρίων. Picture of Lake Pamvotis after cyanobacterial growth. (Πηγή/ Source: https://www.researchgate.net/profile/Theodoti_Papadimitriou)	11
Εικόνα 7: Κύτταρα βοτανικών φυτών στο μικροσκόπιο που συνθέτουν βιομάζα χλωροφύλλης. Botanical plants in the microscope composing chlorophyll biomass. (Πηγή/ Source: stockagency.panthermedia.net/m/stock-photos/2406551)	13
Εικόνα 8: Ξεξπλισμός οξυγόνωσης σε λίμνες στη Δανία. Oxygenation equipment in Danish lakes. (Πηγή/ Source: Jeppesen et al.,2009)	16
Εικόνα 9: Αεροφωτογραφία της λίμνης Κάρλα, 1945. Aerial view of Lake Karla, 1945. (Πηγή/ Source: Ananiadis ,1956).....	22
Εικόνα 10: Η λίμνη Κάρλα μετά την αποξήρανση. Lake Karla after being dried out. (Πηγή/ Source: NCC).....	23
Εικόνα 11: Χάρτης της λεκάνης του Ταμιευτήρα Κάρλας που δείχνει τον ταμιευτήρα, τον υποκείμενο υδροφόρο ορίζοντα και τα έργα που έχουν πραγματοποιηθεί στην περιοχή. Map of the basin of the Karlas reservoir which shows the reservoir, the underlying aquifer and the works that have taken place in the area. (Πηγή/ Source: Sidiropoulos et al., 2012)	24
Εικόνα 12: Μέση ετήσια και μηνιαία βροχόπτωση (P), πιθανή εξατμισοδιαπνοή (ET) και θερμοκρασία (T) στη λεκάνη απορροής της λίμνης Κάρλα. Average annual and monthly	

rainfall (P), possible evapotranspiration (ET) and temperature (T) in the drainage basin of Lake Karla. (Πηγή/ Source: Sidiropoulos et al.,2012)	25
Εικόνα 13: Η μορφή της λίμνης Κάρλα σήμερα. The shape of Lake Karla today. (Πηγή/ Source: NCC).....	26
Εικόνα 14: Μικρογραφίες από (a) Anabaenopsis cf. elenkinii, (b) Pfiesteria sp., (c) Prymnesium cf. parvum που εντοπίστηκαν στη λίμνη Κάρλα, κλίμακα: 10μm. Thumbnails from (a) Anabaenopsis cf. elenkinii, (b) Pfiesteria sp., (c) Prymnesium cf. parvum that were found in lake Karla, scale: 10μm. (Πηγή/ Source: Oikonomou et al.,2010).....	28
Εικόνα 15: Διαγραμματική απεικόνιση της πειραματικής πορείας. Graphic depiction of the experimental course. (Πηγή: Ιδία επεξεργασία/ Archive).....	30
Εικόνα 16: Διάλυμα H ₂ O ₂ περιεκτικότητας 30% w/w. H ₂ O ₂ solution containing 30% w/w. (Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive).....	31
Εικόνα 17: Κλειστός θάλαμος υπό σταθερή θερμοκρασία. Closed chamber at constant temperature. (Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive)	32
Εικόνα 18: Δοχεία 10L αμέσως μετά την υδροληψία 10L containers right after take-off. (Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive, 17/09/17)	32
Εικόνα 19: Αντλία αέρος. Air pump. (Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive).....	33
Εικόνα 20: Φορμαλδεΐδη (αριστερά), Lugol (δεξιά). Formaldelayde (left), Lugol (right). (Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive).....	34
Εικόνα 21: Εικόνα από το μικροσκόπιο 5 ώρες μετά την έναρξη του πειράματος που απεικονίζει το φυτοπλαγκτόν της Κάρλας για το δείγμα ελέγχου (δεξιά) και το δείγμα με το H ₂ O ₂ (αριστερά). Image from the microscope taken 5 hours after the beginning of the experiment showing the phytoplankton of Karla reservoir for the control sample (right) and the sample treated with H ₂ O ₂ (left). (Πηγή/ Source: Αρχείο/ Archive).....	35
Εικόνα 22: Συσκευή πολλαπλών διηθήσεων. Multi-filtration device. (Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive).....	36
Εικόνα 23: Συσκευή φωτομέτρησης. Photometric device. (Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive)	37
Εικόνα 24: Δυναμική της βιομάζας των φυτοπλαγκτονικών ειδών του Ταμιευτήρα Κάρλας στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H ₂ O ₂ : α)Cylindrospermopsis raciborscii, b) Anabaena aphanizomenonoides και Aphanizomenon favaloroi, c) Planktolyngbya limnetica, d) Chroococcus, e) Monoraphidium (χλωρόφυτο). Biomass dynamics of phytoplankton species of the Karla reservoir in the control samples and samples treated with H ₂ O ₂ : α)Cylindrospermopsis raciborscii, b) Anabaena aphanizomenonoides και Aphanizomenon favaloroi, c) Planktolyngbya limnetica, d) Chroococcus, e) Monoraphidium (chlorophyte). (Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)	39
Εικόνα 25: Δυναμική φωτοχρωστικών α) χλωροφύλλης-α, β)φυκοκυανίνης στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H ₂ O ₂ . Photochromic Dynamic of a)	

chlorophyll- α , β) phycocyanin in the control samples and the samples treated with H_2O_2 . (Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)	40
Εικόνα 26: Οπτική διαφορά χρώματος των δειγμάτων αναφοράς και των δειγμάτων που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 , κατά τη διάρκεια του πειράματος. Visual color difference of control samples and samples treated with H_2O_2 during the experiment. (Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive).....	41
Εικόνα 27: Δυναμική της βιομάζας των ειδών του κυανοβακτηριακού γένους <i>Microcystis</i> της Λίμνης Παμβώτιδας στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 : α) <i>Microcystis Aeruginosa</i> , β) <i>Microcystis Wesenbergii</i> , γ) <i>Microcystis Panniformis</i> . Biomass Dynamics of the Cyanobacterial <i>Microcystis</i> species of Pamvotis Lake in the control samples and the samples treated with H_2O_2 . α) <i>Microcystis Aeruginosa</i> , β) <i>Microcystis Wesenbergii</i> , γ) <i>Microcystis Panniformis</i> . (Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive).....	43
Εικόνα 28: Δυναμική της βιομάζας των Α) μεμονομένων κυττάρων των <i>Microcystis</i> sp, Β) <i>Pseudanabaena musicola</i> . και των Γ) <i>Oscillatoriale</i> sp. της Λίμνης Παμβώτιδας στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 . Biomass dynamics of A) isolated cells of <i>Microcystis</i> sp, Β) <i>Pseudanabaena musicola</i> . and (C) <i>Oscillatoriale</i> sp. of Lake Pamvotis in the control samples and the samples treated with H_2O_2 . (Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive).....	45
Εικόνα 29: Δυναμική της βιομάζας των κρυπτόφυτων Α) <i>Scenedesmus communis</i> , Β) <i>Rhodomonas minuta</i> , Γ) <i>Cryptomonas</i> spp. της Λίμνης Παμβώτιδας στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 . Dynamic biomass of cryptophytes Α) <i>Scenedesmus communis</i> , Β) <i>Rhodomonas minuta</i> , Γ) <i>Cryptomonas</i> spp. of Lake Pamvotis in the control samples and the samples treated with H_2O_2 . (Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive).....	46
Εικόνα 30: Δυναμική βιομάζας των φυτοπλαγκτονικών οργανισμών Α) <i>Nitzschia</i> spp., Β) <i>Cyclotella</i> sp., Γ) <i>Aulacoseira granulate</i> , Δ) <i>Monoraphidium contortum</i> της Λίμνης Παμβώτιδας στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 . Biomass dynamics of phytoplankton organisms Α) <i>Nitzschia</i> spp. Β) <i>Cyclotella</i> sp. Γ) <i>Aulacoseira granulate</i> Δ) <i>Monoraphidium contortum</i> of Pamvotis lake in the control samples and the samples treated with H_2O_2 . (Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)	47
Εικόνα 31: Δυναμική βιομάζας κυανοβακτηρίων (πάνω) και λοιπών φυτοπλαγκτονικών μικροοργανισμών (κάτω) της Λίμνης Παμβώτιδας στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 . Biomass dynamics of cyanobacteria (top) and other phytoplankton microorganisms (bottom) of Lake Pamvotis in the reference samples and samples treated with H_2O_2 . (Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive).....	49
Εικόνα 32: Δυναμική φωτοχρωστικών α) χλωροφύλλης- α , β)φυκοκυανίνης στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 . Photochromic Dynamics of Α) Chlorophyll- α , Β) Phycocyanin in control samples and the samples treated with H_2O_2 . (Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive).....	50
Εικόνα 33: Οπτική διαφορά χρώματος των δειγμάτων αναφοράς και των δειγμάτων που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 , κατά τη διάρκεια του πειράματος. Visual color difference of	

control samples and the samples treated with H₂O₂ during the experiment. (Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)..... 50

Πίνακας Περιεχόμενων Πινάκων

Πίνακας 1: Κατάταξη των υδάτινων οικοσυστημάτων σε επίπεδα ευτροφισμού, σύμφωνα με δείκτες ευτροφισμού. Classification of aquatic ecosystems at eutrophication levels, according to eutrophication indicators. (Πηγή/ Source:Numberg 1996; Dodds et al., 1998; Hakanson 1994) 3

Πίνακας 2: Αποτελέσματα ευτροφισμού. Effects of eutrophication. (Πηγή/ Source: Smith, 1998) 7

Πίνακας 3: Οι πιο συνήθεις κυανοβακτηριακές τοξίνες που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν αρνητικά τους υδρόβιους οργανισμούς και τους καταναλωτές, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου. Παρουσιάζονται οι τύποι τοξινών, οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται επί του παρόντος για ανίχνευση / ποσοτικοποίηση και τα γένη κυανοβακτηρίων που είναι γνωστό ότι παράγουν τοξίνες. The most common cyanobacterial toxins known to adversely affect aquatic organisms and consumers, including humans. The types of toxins, the methods currently used for detection / quantification and the cyanobacterial genes known to produce toxins are presented. (Πηγή/ Source: Paerl,2014)..... 12

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Ευτροφισμός και εσωτερικά υδάτινα οικοσυστήματα

1.1.1. Γενικά για τον ευτροφισμό

Ύστερα από τη βιομηχανική επανάσταση η ανθρωπογενής δραστηριότητα έχει προκαλέσει σοβαρές αλλαγές στη δομή και τη λειτουργία του περιβάλλοντος. Ο συνεχής αυξανόμενος ανθρώπινος πληθυσμός επηρεάζει κατά πολύ τόσο υδρόβια όσο και χερσαία οικοσυστήματα και εκτιμάται ότι η επιφάνεια του εδάφους έχει μετασηματιστεί από την ανθρωπογενή επίδραση περίπου κατά το ήμισυ. Η γη έχει επηρεαστεί δραματικά από τη γεωργία, τη δασοκομία, την κτηνοτροφία και τη μαζική αστικοποίηση οδηγώντας έτσι στην αλλοίωση των υδρολογικών κύκλων αλλά και των βιοχημικών κύκλων του άνθρακα (C), του αζώτου (N) και του φωσφόρου (P) (Vitousek et al., 1997). Επιπλέον, έχουμε αλλάξει σημαντικά τη σύνθεση πολλών φυσικών βιολογικών κοινοτήτων από τις διάφορες δραστηριότητες συγκομιδής και με την ακούσια και εκούσια εισαγωγή μη ιθαγενών ειδών. (Bottsford et al., 1997; Chapin et al., 1997; Dobson et al., 1997; Matson et al., 1997; Noble and Dirzo, 1997).

Κατ' αυτόν τον τρόπο, έχουμε φτάσει στο σημείο όπου η έλλειψη καλής ποιότητας γλυκού νερού είναι ένα από τα σοβαρότερα ζητήματα που αντιμετωπίζει ο άνθρωπος σήμερα. Τόσο η ίδια η φύση όσο και η σύγχρονη, αυξανόμενη ανθρώπινη δραστηριότητα έχουν συνέπειες στα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά των υδάτινων οικοσυστημάτων. Από το μέσο του 20ου αιώνα αναγνωρίστηκε επίσημα ο ευτροφισμός των υδάτων ως πρόβλημα ρύπανσης σε πολλά ευρωπαϊκά καθώς και βορειοαμερικανικά εσωτερικά ύδατα. Το φαινόμενο αυτό προκλήθηκε από την εισροή, στα υδάτινα σώματα, τοξικών ουσιών καθώς και μεγάλης ποσότητας θρεπτικών (κυρίως φώσφορος, κάλιο και άζωτο) (Bartram et al., 1999). Από τότε, ο ευτροφισμός έχει καταστεί ένα παγκόσμιο πρόβλημα, πλήττοντας ένα μεγάλο ποσοστό της παγκόσμιας υδάτινης μάζας, που προκαλεί επιδείνωση στο υδάτινο περιβάλλον, σοβαρά προβλήματα στη χρήση του νερού και ιδιαίτερα στην επεξεργασία αυτού που προορίζεται ως πόσιμο.

Παρόλο που ο ευτροφισμός είναι μια φυσική διαδικασία κατά τη γήρανση των λιμνών, η ανθρώπινη δραστηριότητα μπορεί να αυξήσει σημαντικά τη διεργασία αυτή αυξάνοντας το ρυθμό των θρεπτικών ουσιών που παράγονται από τις γειτονικές λεκάνες απορροής. Σε αυτή την περίπτωση ο ευτροφισμός λέγεται τεχνητός ή ανθρωπογενής. Γεωργικές απορροές, αστικά λύματα και διαρροή σηπτικών

συστημάτων είναι μερικές από τις πηγές που αυξάνουν τη ροή θρεπτικών και οργανικών ουσιών στα υδάτινα οικοσυστήματα. Πολλές φορές όμως, περιέχουν και απολυμαντικά, αυξητικούς παράγοντες ή και υπολείμματα φαρμάκων, ουσίες οι οποίες είναι τοξικές για πολλούς υδρόβιους οργανισμούς (Καμαριανός, 1997).

Όπως αναφέρθηκε, η ποσότητα των θρεπτικών που εισέρχονται στους ταμιευτήρες με τα νερά ποταμών ή άλλων συλλεκτήριων συστημάτων των λιμνών επηρεάζει την παραγωγικότητά τους. Ιδιαίτερα, σε μια λίμνη μπορεί να μεταφέρονται γεωργικά, βιομηχανικά ή αστικά απόβλητα μέσω ποταμών, αποστραγγιστικών καναλιών ή χείμαρρων, αλλά είναι επίσης δυνατόν να μεταφερθούν μέσω του αέρα καθώς και των κατακρυσμνήσεων (από τον άνεμο της βροχής ή του χιονιού), στερεά ή υγρά κατακρυσμνήματα από αερολύματα εργοστασίων ή και οικιστικών περιοχών. (Whitehead et al., 1964). Ο Γερμανός γεωπόνος χημικός Justus von Liebig όρισε το 1855 το Νόμο του Ελαχίστου σύμφωνα με τον οποίο η ανάπτυξη του κάθε φυτού μπορεί να περιοριστεί από το θρεπτικό στοιχείο που είναι παρόν στο περιβάλλον και βρίσκεται στην ελάχιστη συγκέντρωση σχετικά με τις απαιτήσεις του φυτού για ανάπτυξη. Ανάμεσα στα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία που απαιτούνται για την ανάπτυξη των φυτών το άζωτο και ο φώσφορος (σε ανόργανη μορφή) αποτελούν τα κυριότερα θρεπτικά συστατικά που την περιορίζουν. Η ποσότητα αυτή των θρεπτικών δε μένει μόνο στην επιφάνεια του εδάφους αλλά καταλήγει στα υδάτινα οικοσυστήματα έρχοντας συνέπειες για τους οργανισμούς του λιμναίου οικοσυστήματος, όπου ο φώσφορος (P) θεωρείται για τις ευρωπαϊκές λίμνες ως ο παράγοντας ο οποίος ρυθμίζει την πρωτογενή παραγωγικότητα (Wetzel, 1983). Ο βαθμός παραγωγικότητας με τη σειρά του σχετίζεται με τη συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου (BOD), την ποσότητα νεκρής οργανικής ύλης που συσσωρεύεται κυρίως στο βυθό, την ένταση των εποχικών πληθυσμιακών διακυμάνσεων του φυτοπλαγκτού και του ζωοπλαγκτού, την ποικιλότητα των βιοκοινωνιών, τις ημερονύκτιες διακυμάνσεις του οξυγόνου και πλήθος άλλων χαρακτηριστικών των λιμναίων οικοσυστημάτων. Τα οικοσυστήματα μπορούν να χαρακτηριστούν αναλόγως με το βαθμό ευτροφισμού τους, χρησιμοποιώντας όρους αναφερόμενους στη συγκέντρωση των θρεπτικών, σύμφωνα με το σύστημα ταξινόμησης που φαίνεται στον Πίνακα 1. Επομένως, νερά που περιέχουν σχετικά μεγάλη ποσότητα θρεπτικών ονομάζονται ευτροφικά (eutrophic), ενώ αυτά που είναι φτωχά σε θρεπτικά χαρακτηρίζονται ως ολιγοτροφικά (oligotrophic). Τέλος, νερά με ενδιάμεσες τιμές αναφορικά με την ποσότητα των θρεπτικών ονομάζονται μεσοτροφικά (mesotrophic). Άρα, λοιπόν, ο ευτροφισμός επέρχεται με την αύξηση του θρεπτικού ανεφοδιασμού.

Η έννοια του περιορισμού των θρεπτικών συστατικών μπορεί να θεωρηθεί ο ακρογωνιαίος λίθος στην έρευνα του ευτροφισμού. Ακόμη, ο έλεγχος του ευτροφισμού πρέπει να επιτυγχάνεται με τον περιορισμό της συγκέντρωσης του θρεπτικού που παίζει το ρόλο-κλειδί για το οικοσύστημα. (Smith et al., 1999).

Πίνακας 1: Κατάταξη των υδάτινων οικοσυστημάτων σε επίπεδα ευτροφισμού, σύμφωνα με δείκτες ευτροφισμού.

Classification of aquatic ecosystems at eutrophication levels, according to eutrophication indicators.

(Πηγή/ Source: Numberg 1996; Dodds et al., 1998; Hakanson 1994)

	Επίπεδο Ευτροφισμού	TN (mg m ⁻³)	TP (mg m ⁻³)	Chl a (mg m ⁻³)	SD (m)
Λίμνες	Ολιγοτροφική	<350	<10	<3,5	>4
	Μεσοτροφική	350-650	10-30	3,5-9	2-4
	Εύτροφη	650-1200	30-100	9-25	1-2
	Υπερεύτροφη	>1200	>100	<25	<1
				Διαθέσιμη chl a (mg m ⁻³)	Βενθική chl a (mg m ⁻²)
Ποτάμια	Ολιγοτροφικό	<700	<25	<10	<20
	Μεσοτροφικό	700-1500	25-75	10-30	20-70
	Εύτροφο	>1500	>75	>30	>70
				Chl a (mg m ⁻³)	SD (m)
Θάλασσες	Ολιγοτροφική	<260	<10	<1	>6
	Μεσοτροφική	260-350	10-30	1-3	3-6
	Εύτροφη	350-400	30-40	3-5	1,5-3
	Υπερεύτροφη	>400	>40	>5	<1,5

Στις εικόνες 1,2,3 παρουσιάζονται παραδείγματα διάφορων τροφικών καταστάσεων λιμνών.



*Εικόνα 1: Ολιγοτροφική λίμνη, Μεγάλη πρέσπα.
Oligotrophic lake, Big Prespa, Greece.
(Πηγή/ Source: Richard Chew)*



*Εικόνα 2: Μεσοτροφική λίμνη, Υλίκη (Ορχομενός).
Mesotrophic lake Yliki, Greece.
(Πηγή/ Source: <http://www.orchomenos.gr/08mnimeia/08.17.yliki.htm>)*



Εικόνα 3: Εικόνα της Βαλτικής Θάλασσας από δορυφόρο που δείχνει τον «ορατό» ευτροφισμό.

Picture of the Baltic Sea by satellite showing "visible" eutrophication.

(Πηγή/ Source: <http://news.nationalgeographic.com/news/2010/02/100305-baltic-sea-algae-dead-zones-water>)

1.1.2. Πηγές ευτροφισμού

Οι εισροές αζώτου και φωσφόρου στα υδάτινα οικοσυστήματα προέρχονται από μια ευρεία ποικιλία πηγών συμπεριλαμβανομένων των υπόγειων υδάτων, των ποταμών και των ατμοσφαιρικών εισροών. Αθροιστικά αυτές οι πηγές αποτελούν το εξωτερικό φορτίο. Το φορτίο αυτό μπορεί να προέλθει είτε από σημειακές πηγές (point sources), οι οποίες είναι εντοπισμένες επομένως είναι ελεγχόμενες, είτε από nonpoint πηγές, οι οποίες είναι διάχυτες άρα δύσκολες στην παρακολούθηση και ρύθμισή τους αφήνοντας αισθητά αποτελέσματα στην υδάτινη μάζα που καταλήγουν. Η σχετιζόμενη συνεισφορά αυτών των δύο ειδών πηγών μπορεί να διαφέρει ουσιαστικά από το ένα υδάτινο οικοσύστημα στο άλλο ανάλογα με την πληθυσμιακή πυκνότητα και τη χρήση της γης.

Το 1991 διαπιστώθηκε από τους Lee and Jones ότι η αλόγιστη και μη ορθολογική χρήση λιπασμάτων στις καλλιέργειες συμβάλλει σημαντικά στον ευτροφισμό των υδάτινων αποδεκτών όταν μεταφέρονται μέσω της απόπλυσης. Συγκεκριμένα περί της απόπλυσης των εδαφών δημιουργείται σοβαρότερο πρόβλημα όταν τα πρανή των αποδεκτών δεν έχουν καλλιεργηθεί με το σωστό τρόπο. Έτσι, η αλόγιστη χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων στις καλλιέργειες -ιδιαίτερα εκείνων που βιοαποδομούνται δύσκολα και διασπώνται στις συνθήκες περιβάλλοντος και έχουν την ιδιότητα να βιοσυσσορεύονται στους οργανισμούς- αποτελεί ίσως σήμερα το μεγαλύτερο κίνδυνο για τα υδάτινα οικοσυστήματα (Kilikidis et al., 1981).

Σημαντικές προσθέσεις Ν εφαρμόζονται σε καλλιεργήσιμες εκτάσεις με τη μορφή ζωικής κοπριάς, για την οποία τα ρυθμιστικά πρότυπα είναι λιγότερο αυστηρά σε σχέση με αυτά που ορίζονται για τα ανθρώπινα λύματα (Carpenter et al., 1998). Ένα μικρό ποσοστό του συνολικού αζώτου που προέρχεται από τη γεωργία χρησιμοποιείται από τα φυτά για την ανάπτυξή τους ενώ το επιπλέον μπορεί να: α) συσσωρεύεται στο χώμα, β) μετακινείται από τη γη στα επιφανειακά ύδατα, γ) μεταπίπτει σε υπόγεια ρεύματα και δ) εισάγεται στην ατμόσφαιρα μέσω αμμωνίας ή άλλων νιτροδών οξειδίων. (Nolan et al., 1997; Vitousek et al., 1997; Carpenter et al., 1998). Η παγκόσμια παραγωγή γεωργικών λιπασμάτων αυξήθηκε από < 10 εκατομμύρια μετρικών τόνων το 1950 σε περίπου 80 εκατομμύρια μετρικών τόνων το 1990 ενώ εκτιμάται από πολλούς συγγραφείς ότι θα υπερβαίνει τα 135 εκατομμύρια μετρικών τόνων μέχρι το 2030 (Vitousek et al., 1997). Γίνεται αντιληπτό ότι η τοξικότητα των φυτοπροστατευτικών αλλά και οι βλαβερές ουσίες που περιέχουν οδηγούν τα τελευταία χρόνια σε μια συνεχή προσπάθεια αποκατάστασης των χημικών αυτών προϊόντων από άλλα πιο φιλικά προς το περιβάλλον.

Στις αγροτικές περιοχές η μόλυνση των νερών φτάνει πλέον το επίπεδο της ρύπανσης από βιομηχανικές ή άλλες μονάδες. Κρίνεται έτσι απαραίτητος όχι μόνο ο περιορισμός αλλά και ο χειρισμός των λυμάτων, των ζωικών αποβλήτων και των εκροών χημικών και λιπασμάτων αφού παίζουν καθοριστικό ρόλο στον ευτροφισμό των λιμνών. Ωστόσο, οι περιβαλλοντικές συνέπειες του υπερβολικού εμπλουτισμού σε θρεπτικά είναι σοβαρότερες σε μια πιο ευρεία κλίμακα από ότι στα φυτά που προορίζονται αρχικά. Η υποβάθμιση αυτή των νερών από το φαινόμενο του ευτροφισμού μπορεί να οδηγήσει σε απώλειες πολλών ειδών αλλά και σε απώλειες παροχών που προέρχονται από το ίδιο το οικοσύστημα. (Postel and Carpenter, 1996; US EPA 1996; Carpenter et al., 1998). Η δυσλειτουργία των υδατικών πόρων λόγω του ευτροφισμού μπορεί να προκαλέσει ακόμη και ουσιαστικά οικονομικά αποτελέσματα (Carpenter et al., 1997).

1.1.3. Αποτελέσματα του ευτροφισμού

Ο τεχνητός ευτροφισμός φανερώνεται από τη μεγάλη αύξηση των φυκών (αύξηση του ύδατος, ακμή φυκιών) και την πυκνότητα ανάπτυξης των άλλων υδρόβιων φυτών, μέσα και γύρω από τη λίμνη (Κουσούρης κ.α., 1991). Γίνεται αντιληπτό το γεγονός ότι εφόσον οι ποσότητες των θρεπτικών αλάτων και των ρύπων που μεταφέρονται στη λίμνη είναι μεγάλες, μπορούν να επηρεάσουν την τροφική δομή της λίμνης μετατρέποντάς την έτσι από oligότροφη σε εύτροφη ή ακόμη και υπερέυτροφη (π.χ. λίμνη Παμβώτιδα). Έτσι, με αυτό τον τρόπο επηρεάζεται όχι μόνο η ιχθυοπαραγωγή αλλά και η γενικότερη οικολογία της λίμνης (Gower, 1980).

Εν γένει, η αύξηση της ποσότητας των θρεπτικών αλάτων ενός ταμειυτήρα δεν είναι απαραίτητα καταστρεπτική για την υγεία του οικοσυστήματος αφού τονώνει την παραγωγικότητα της περιοχής. Όταν όμως η συγκέντρωσή τους ξεπερνά κάποια όρια η κατάσταση γίνεται ιδιαίτερα επιβλαβής διότι το φυτοπλαγκτόν που αναπτύσσεται σε μεγάλες ποσότητες, κατά την αποσύνθεσή του μετά το θάνατό του, καταναλώνει μεγάλες ποσότητες οξυγόνου επομένως οι συνθήκες γίνονται δυσμενείς για τους ζωικούς και φυτικούς οργανισμούς (Θεοδώρου, 1994) (Πίνακας 2).

Συγκεκριμένα, χωρίς φως κάτω από την επιφάνεια, οι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί πεθαίνουν προσφέροντας αρκετή τροφή σε διάφορα είδη βακτηρίων που πολλαπλασιάζονται. Έτσι, μειώνεται το διαλυμένο οξυγόνο και η διαφάνεια των νερών, ενώ η εμφάνιση της λίμνης μπορεί να είναι αποκρουστική και να παράγονται άσχημες οσμές ακόμη και δηλητηριώδη αέρια (Κουσούρης κ.α., 1985). Εξαιτίας αυτών των παραγόντων, λοιπόν, οι συνθήκες δεν καθίστανται ιδανικές για την ανάπτυξη ψαριών που λόγω έλλειψης οξυγόνου θανατώνονται, ενώ είναι δυνατόν να απειλείται ακόμα και η δημόσια υγεία από την παρουσία τοξικών μικροοργανισμών (Θεοδώρου, 1994).

Πίνακας 2: Αποτελέσματα ευτροφισμού.

Effects of eutrophication.

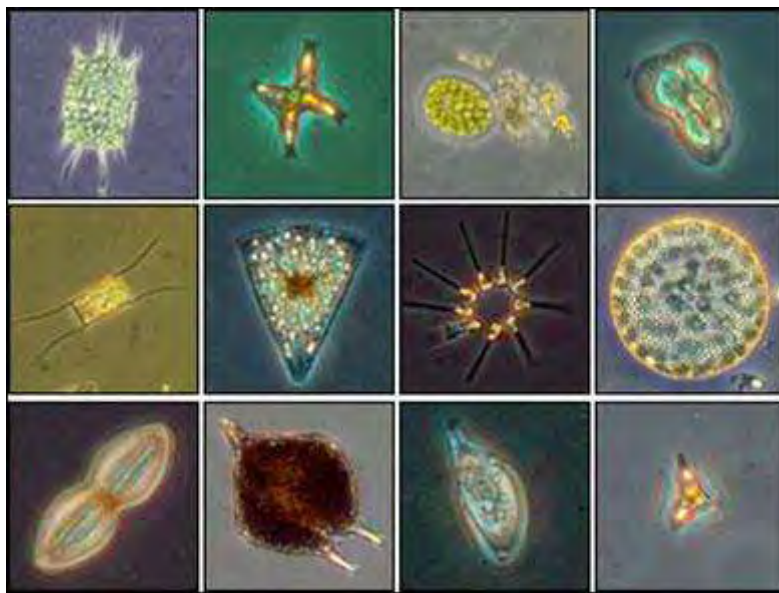
(Πηγή/ Source: Smith, 1998)

Αύξηση της βιομάζας του φυτοπλαγκτού και του περίφυτου του γλυκού νερού
Μετατοπίσεις της σύνθεσης των ειδών του φυτοπλαγκτού ταξινομικά που μπορεί να είναι τοξικά ή μη βρώσιμα (π.χ. μπλε κυανοβακτήρια)
Αλλαγές στην αγγειακή φυτική παραγωγή, βιομάζα και σύνθεση ειδών
Μειωμένη διαύγεια των νερών
Μειωμένη ορατή αισθητική αξία του υδάτινου σώματος
Προβλήματα σε γεύση, οσμή και διήθηση ύδρευσης
Πιθανά προβλήματα στη δημόσια υγεία
Αυξημένο pH και εξάντληση του διαλυμένου οξυγόνου στη στήλη νερού
Αυξημένη συγκομιδή και παραγωγή ψαριών
Μετατοπίσεις στη σύνθεση ειδών των ψαριών προς τα λιγότερο επιθυμητά είδη
Αύξηση πιθανότητας θνησιμότητας των ψαριών

1.2. Φυτοπλαγκτόν

Περιλαμβάνονται όλοι οι φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί προκαρυωτικοί και ευκαρυωτικοί που είναι προσαρμοσμένοι να ζουν αιωρούμενοι σε επιφανειακά ύδατα λιμνών, ποταμών και ωκεανών. Η μορφή του φυτοπλαγκτού θυμίζει μωσαϊκού τύπου με ακανόνιστη κατανομή. Η μωσαϊκή κατανομή διαμορφώνεται τόσο από αβιοτικούς παράγοντες- δίνες ή στρόβιλοι- όσο και βιοτικούς- βόσκηση ή κατακόρυφη μετανάστευση.

Οι οργανισμοί του φυτοπλαγκτού αν και είναι μονοκύτταροι δεν είναι απαραίτητα απλοί οργανισμοί. Παρουσιάζουν ποικίλη μορφολογική και λειτουργική ποικιλότητα και ποικίλες στρατηγικές προσαρμογής. Εκτιμάται ότι υπάρχουν περίπου 5000 είδη θαλάσσιου φυτοπλαγκτού, τα οποία προέρχονται από απομακρυσμένες φυλογενετικές ομάδες. Κυριότερες ομάδες φυτοπλαγκτού που συναντώνται είναι τα κυανοβακτήρια, τα χλωροφύκη, τα διάτομα, τα δινομαστιγωτά, τα απόφυτα, τα χρυσοφύκη και οι κρυπτομονάδες. Στην Εικόνα 4 απεικονίζονται ορισμένοι φυτοπλαγκτονικοί οργανισμοί στο μικροσκόπιο. Τα κυανοβακτήρια συνδέονται άμεσα με τα ευτροφικά φαινόμενα, καθώς αποτελούν την ομάδα που πρώτη δημιουργεί ανθίσεις κάτω από ευτροφικές συνθήκες.



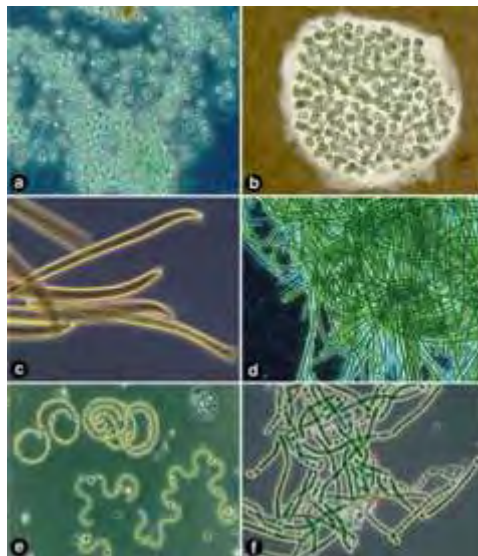
*Εικόνα 4: Φυτοπλαγκτονικοί οργανισμοί στο μικροσκόπιο.
Phytoplanktonic organisms under the microscope.
(Πηγή/ Source: <http://earthobservatory.nasa.gov>)*

1.2.1. Κυανοβακτήρια

Στη σύγχρονη κοινωνία, οι ανθρωπογενείς επιδράσεις που οδηγούν στον ευτροφισμό και που αναφέρθηκαν ήδη παραπάνω οδηγούν στην απότομη αύξηση της αφθονίας των κυανοβακτηρίων των εσωτερικών υδάτων, η οποία ονομάζεται και άνθιση των κυανοβακτηρίων (cyanobacterial bloom or water bloom) (Whitton & Potts, 2000). Η παρουσία των κυανοβακτηρίων στα υδάτινα οικοσυστήματα είναι συνυφασμένη με τον ευτροφισμό των παραπάνω οικοσυστημάτων, καθώς αυτοί οι οργανισμοί αποτελούν την πιο γνωστή ταξινομική ομάδα που αναπτύσσεται κάτω από ευτροφικές συνθήκες (Codd, 2000). Η άνθιση των κυανοβακτηρίων στα εσωτερικά

ὔδατα θεωρείται ἡ τελικὴ φάση τοῦ εὐτροφισμοῦ (Dokulil & Teubner, 2000). Τα κυανοβακτήρια ἢ κυανοφύκη (μπλε-πράσινα φύκια), εἶναι φωτοσυνθετικοὶ προκαρυωτικοὶ οργανισμοί, οἱ ὁποῖοι συμβάλουν στη δέσμευση τοῦ διοξειδίου τοῦ ἀνθρακὰ καὶ τοῦ αζώτου μέσω τῆς διαδικασίας τῆς φωτοσύνθεσης. Ορισμένα εἶδη κυανοβακτηρίων εἶναι σε θέση νὰ παράγουν τοξίνες ποὺ μποροῦν νὰ αποτελέσουν σοβαρὴ ἀπειλὴ γιὰ τὴν ποιότητα τοῦ νεροῦ (Carmichael, 1992).

Το φύλο τῶν κυανοβακτηρίων περιλαμβάνει 2000 εἶδη τὰ ὁποῖα μποροῦν νὰ χωριστοῦν σε περίπου 150 γένη (Carmichael, 2001). Ἀπὸ τὰ παραπάνω γένη περίπου τὰ 40 εἶναι τοξικά, σημαντικότερα τῶν ὁποίων εἶναι τὰ γένη: *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Oscillatoria* καὶ *Planktothrix* (Carmichael, 2001). Στὴν Εἰκόνα 5 παρουσιάζονται κάποια ἀπὸ τὰ τοξικά εἶδη κυανοβακτηρίων.



Εἰκόνα 5: Μικρογραφίες κύριων ἐπιβλαβῶν κυανοβακτηριακῶν ομάδων, με βάση κυτταρικές μορφολογίες. *a- b* Συγκεντρωμένα γένη κοκκοειδῶν μονοκυττάρων, συμπεριλαμβανομένων τῶν *a Merismopedium* καὶ *b Microcystis*. *c-d*, νηματοειδῆ, μὴ ετεροκυκλικά γένη, συμπεριλαμβανομένων τῶν *c Oscillatoria sp.*, *d Lyngbya sp.*, *e-f* νηματοειδῆ, ετεροκυκλικά γένη, συμπεριλαμβανομένων τῶν *e Anabaena spp.*, καὶ *f Nodularia sp.*

Thumbnails of major cyanobacterial pests, based on cellular morphologies. a- b Aggregated granule monocyte genes, including a Merismopedium a b Microcystis. c- d, filamentous, non-heterocyclic genera, including c Oscillatoria sp., d Lyngbya sp., e-fumato, heterocyclic genera including Anabaena spp., and Nodularia sp.

(Πηγή/ Source: Paerl & Otten, 2013)

Τα κυανοβακτήρια αποτελούν φυσικό κομμάτι του γήινου οικοσυστήματος, εδώ και 3 δισεκατομμύρια χρόνια (Golubic et al., 1995). Με την πάροδο του χρόνου έχουν αναπτύξει ποικίλους μηχανισμούς συμπεριλαμβανομένου του σχηματισμού ανθεκτικών σε θερμότητα και στην αποξήρανση κυττάρων και κύστεων, την παρουσία ανθεκτικών σε φωτοπροστασία και στην αφυδάτωση περιβλημάτων και καψουλών, των κυτταρικών χρωστικών φωτοπροστατευτικών (συμπεριλαμβανομένης της υπεριώδους ακτινοβολίας), τη δυνατότητα ολίσθησης και ρύθμισης της πλευστότητας ώστε να προσαρμόζονται και να βελτιστοποιούν τη θέση τους στη στήλη ύδατος σε απόκριση των μεταβολών της ακτινοβολίας και των θρεπτικών ουσιών (Potts et al., 2000; Reynolds, 2006). Έχουν επίσης αναπτύξει ένα ευρύ φάσμα φυσιολογικών προσαρμογών στις συνθήκες περιοδικής καταστροφής των θρεπτικών συστατικών, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας μετατροπής ή "σταθεροποίησης" του ατμοσφαιρικού αζώτου (N_2) σε βιολογικά διαθέσιμη αμμωνία (Gallon, 1992), την απομόνωση του σιδήρου (Fe) και μιας σειράς βασικών ιχνοστοιχείων (Carr et al., 1982; Whitton et al., 2000; Whitton, 2012), την αποθήκευση του φωσφόρου (P), του αζώτου και άλλων βασικών θρεπτικών (Reynolds, 2006; Healy, 1982) και της παραγωγής μεταβολιτών που ενισχύουν την ικανότητά τους να αντιμετωπίζουν δυνητικά δυσμενείς συνθήκες στο άμεσο περιβάλλον τους, συμπεριλαμβανομένης της φωτοξείδωσης (Paerl, 2014). Τέλος, τα κυανοβακτήρια έχουν μια ποικιλία αμοιβαίων και συμβιωτικών συσχετίσεων με προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά μικρόβια, φυτά και ζώα που συμβάλλουν στη διασφάλιση της επιβίωσης τους (καθώς και των συνεργατών τους) σε περιβάλλον που είναι υπερβολικά εχθρικό για τα επιμέρους μέλη να επιβιώσουν (Paerl, 1982, 1986).

Τα κυανοβακτήρια καταλαμβάνουν εξαιρετικά ευρείς γεωγραφικούς οικότοπους, από τις πολικές έως τις τροπικές περιοχές (Potts et al., 2000). Μπορούν να βρεθούν σε σχεδόν όλα τα χερσαία και υδάτινα οικοσυστήματα, που κυμαίνονται από ερήμους έως τροπικά δάση βροχής, από αλπικά και υπόγεια εδάφη και από τους υπερολιγοτροφικούς ανοικτούς ωκεανούς σε υπερευτροφικές λίμνες (Potts et al., 2000; Whitton, 2012). Συνηθέστερα ενδιαίτηματα των κυανοβακτηρίων αποτελούν τα εσωτερικά ύδατα με ποικίλα τροφικά επίπεδα (Huisman et al., 2005). Πολλά είδη κατοικούν και σε επιφανειακά επιλίμνια αλλά και σε βαθιά υπολίμνια ευτροφικά νερά (Whitton, 1973). Εκεί, έχουν μια ταχύτατη ανάπτυξη, λόγω της μεγάλης εισροής θρεπτικών ενώσεων φωσφόρου και αζώτου. Η μαζική παρουσία των τοξικών κυανοβακτηρίων σε εσωτερικά ύδατα αρκετών χωρών είναι πλέον αντικείμενο ανησυχίας πολλών επιστημόνων. Στην Εικόνα 6 φαίνεται χαρακτηριστική κυανοβακτηριακή άνθιση στη Λίμνη Παμβώτιδα.



Εικόνα 6: Εικόνα της λίμνης Παμβώτιδας ὕστερα ἀπὸ ἀνθήση κυανοβακτηρίων.

Picture of Lake Pamvotis after cyanobacterial growth.

(Πηγή/ Source: https://www.researchgate.net/profile/Theodoti_Papadimitriou)

Ἡ εὐρεία ἐξάπλωση τῶν κυανοβακτηρίων σὲ πολλὰ διαφορετικὰ περιβάλλοντα ὅπως ἀναφέρθηκε παραπάνω, σχετίζεται ἐπίσης με τὴν ικανότητα τοῦς νὰ παράγουν τοξίνες, τὶς κυανοτοξίνες (Codd et al., 1989,1999; Namikoshi & Rinehart, 1996; Carmichael, 2001) (Πίνακας 3). Ἀποτελοῦν μὴ ὁμάδα φυσικῶν τοξινῶν ποὺ ἐμφανίζει μεγάλη ποικιλομορφία ὡς πρὸς τὴν χημικὴ δομὴ καὶ ὡς πρὸς τὴν τοξικολογικὴ τὸς δράση (Duy et al., 2000; Sivonen & Jones, 1999). Οἱ κυανοβακτηριακὲς τοξίνες εἶναι επικίνδυνες γιὰ τὰ ζῶα καὶ τὸν ἄνθρωπο, καθὼς μποροῦν νὰ προκαλέσουν ἀσθένειες ἀκόμη καὶ θνησιμότητα σὲ συγκεντρώσεις ποὺ ἀπαντώνται στο φυσικὸ περιβάλλον (Falconer, 1996; Kuiper-Goodman et al., 1999; Codd et al., 2000).

Πίνακας 3: Οι πιο συνήθεις κυανοβακτηριακές τοξίνες που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν αρνητικά τους υδρόβιους οργανισμούς και τους καταναλωτές, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου. Παρουσιάζονται οι τύποι τοξινών, οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται επί του παρόντος για ανίχνευση / ποσοτικοποίηση και τα γένη κυανοβακτηρίων που είναι γνωστό ότι παράγουν τοξίνες.

The most common cyanobacterial toxins known to adversely affect aquatic organisms and consumers, including humans. The types of toxins, the methods currently used for detection / quantification and the cyanobacterial genes known to produce toxins are presented.

(Πηγή/ Source: Paerl, 2014)

Τοξίνη	Μέθοδος Προσδιορισμού	Κυανοβακτηριακά Γένη
Aeruginosin	HPLC, MS	<i>Microcystis, Planktothrix</i>
Anatoxin-a /Homoanatoxin-a	ELISA, HPLC, MS	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Lyngbya, Oscillatoria, Phormidium, Planktothrix, Raphidiopsis, Woronichinia</i>
Anatoxin-a(S)	AEIA, MS	<i>Anabaena</i>
Aplysiatoxins	MS	<i>Lyngbya, Oscillatoria, Schizothrix</i>
beta-Methylamino-L-alanine (BMAA)	ELISA, HPLC, MS	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Calothrix, Cylindrospermopsis, Lyngbya, Microcystis, Nostoc, Nodularia, Planktothrix, Phormidium, Prochlorococcus, Scytonema, Synechococcus, Trichodesmium</i>
Cyanopeptolin	HPLC, MS	<i>Anabaena, Microcystis, Planktothrix</i>
Cylindrospermopsin	ELISA, HPLC, MS	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Oscillatoria, Raphidiopsis, Umezakia</i>
Jamaicamides	MS	<i>Lyngbya</i>
Lyngbyatoxin	HPLC, MS	<i>Lyngbya</i>
Microcystin	ELISA, HPLC, MS, PPIA	<i>Anabaena, Anabaenopsis, Aphanizomenon, Aphanocapsa, Cylindrospermopsis, Gloeotrichia, Hapalosiphon, Microcystis, Nostoc, Oscillatoria, Phormidium, Planktothrix, Pseudoanabaena, Synechococcus, Woronochinia</i>
Nodularin	ELISA, HPLC, MS, PPIA	<i>Nodularia</i>
Saxitoxin	ELISA, HPLC, MS	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Lyngbya, Oscillatoria, Planktothrix</i>

1.3. Οι φυτοχρωστικές ως δείκτες ευτροφικών συνθηκών

Φυτοχρωστικές ονομάζονται όλες εκείνες οι χρωστικές ουσίες που βρίσκονται στα φυτικά κύτταρα και παίρνουν μέρος σε ζωτικές λειτουργίες τους όπως η φωτοσύνθεση. Οι φωτοσυνθετικές χρωστικές, από άποψη χημικής δομής, διακρίνονται σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: τις χλωροφύλλες, τα καροτενοειδή και τις φυκοβιλιπρωτεΐνες.

Οι χλωροφύλλες είναι μια ομάδα χρωστικών ουσιών που προσδίδουν πράσινο χρώμα σε όλα τα φυτά και εντοπίζεται στα σημεία εκείνα του φυτού που βρίσκονται εκτεθειμένα σε φυσικό/ τεχνητό φωτισμό. Χημικά η χλωροφύλλη δημιουργεί κατηγορίες ανάλογα με τις διάφορες αλυσίδες μαγνησίου που συνθέτει. Συγκεκριμένα παράγεται η χλωροφύλλη α (κυανοπράσινη), η χλωροφύλλη β (κιτρινοπράσινη), η χλωροφύλλη γ και η χλωροφύλλη δ. Οι δύο πρώτες συναντώνται στα ανώτερα φυτά (Εικόνα 7) ενώ οι δύο επόμενες βρίσκονται κυρίως στις άλγες.

Σε λειτουργικό επίπεδο η χλωροφύλλη χρησιμεύει στην απορρόφηση ενέργειας φωτός για την επιτέλεση της λειτουργίας της φωτοσύνθεσης.



Εικόνα 7: Κύτταρα βοτανικών φυτών στο μικροσκόπιο που συνθέτουν βιομάζα χλωροφύλλης.

Botanical plants in the microscope composing chlorophyll biomass.

(Πηγή/ Source: stockagency.panthermedia.net/m/stock-photos/2406551)

Η φυκοκυανίνη αποτελεί μια βοηθητική μπλε φωτοσυνθετική χρωστική που εντοπίζεται στα κυανοβακτήρια, στα ροδόφυτα και στα κρυπτόφυτα. Ανήκει σε μια ομάδα φωτοσυνθετικών πρωτεϊνών, τις φυκοβιλιπρωτεΐνες οι οποίες αποτελούνται από πρωτεΐνες ομοιοπολικά συνδεδεμένες με φυκοβιλίνες. Οι φυκοβιλιπρωτεΐνες διακρίνονται σε τρεις τύπους και δεν παράγονται από όλα τα είδη κυανοβακτηρίων. Τα είδη που ευδοκούν στα γλυκά ύδατα τείνουν να παράγουν περισσότερο φυκοκυανίνη ενώ στα θαλάσσια οικοσυστήματα αφθονεί η φυκοερυθρίνη. Στα κυανοβακτήρια και στα ροδόφυτα οι φυκοβιλιπρωτεΐνες σχηματίζουν τα φυκοβιλισώματα τα οποία εντοπίζονται στην εξωτερική επιφάνεια των θυλακοειδών μεμβρανών. Αντίθετα στις κρυπτομονάδες που μπορεί να περιέχουν φυκοκυανίνη

στο εσωτερικό των θυλακοειδών οι φυκοβιλιπρωτεΐνες δεν σχηματίζουν φυκοβιλισώματα.

Ο βασικός βιολογικός ρόλος των φυκοβιλιπρωτεϊνών είναι η απορρόφηση του φωτός σε μήκη κύματος που η χλωροφύλλη- α δεν παρουσιάζει ισχυρή απορροφητικότητα. Η διάταξη των φυκοβιλιπρωτεϊνών στα φυκοβιλισώματα μεγιστοποιεί την ικανότητα μεταφοράς ενέργειας προς την χλωροφύλλη α.

Ο προσδιορισμός των φυτοχρωστικών μας δίνει πληροφορίες για τον φυτοπλαγκτικό πληθυσμό ενός οικοσυστήματος. Η συγκέντρωση της χλωροφύλλης- α έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζεται με την αφθονία του φυτοπλαγκτού ενός υδάτινου οικοσυστήματος, ενώ η φυκοκυανίνη χρησιμοποιείται ως δείκτης της αφθονίας των κυανοβακτηρίων στα υδάτινα οικοσυστήματα.

1.4. Μέθοδοι αντιμετώπισης ευτροφισμού σε υδάτινα οικοσυστήματα

1.4.1. Μέθοδοι που Αποσκοπούν στη Μείωση Συγκεντρώσεων Θρεπτικών Ουσιών

Υπάρχει ευρεία συμφωνία ότι ο υπερβολικός εμπλουτισμός θρεπτικών ουσιών των γλυκών υδάτων και των θαλάσσιων οικοσυστημάτων από ανθρωπογενείς πηγές (αστικές, γεωργικές και βιομηχανικές) έχει προωθήσει την ανάπτυξη και επέκταση των κυανοβακτηρίων (Huisman et al.,2005; Paerl,2001). Οι περιοριστικές θρεπτικές ουσίες για την ανάπτυξη κυανοβακτηρίων είναι συνήθως ο φώσφορος (Smith, 1983) καθώς και το άζωτο, σύμφωνα με πιο πρόσφατες μελέτες. Οι μειώσεις των εισροών θρεπτικών συστατικών είναι προφανείς στόχοι, καθώς έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματικοί στη βελτίωση της ποιότητας των υδάτων, μπορούν συχνά να υποβληθούν σε χειρισμούς και ως εκ τούτου πρέπει να αποτελέσουν κεντρικό μέρος οποιασδήποτε στρατηγικής μετριασμού των κυανοβακτηρίων σε οικοσυστήματα γλυκών υδάτων (Paerl,2014).

1.4.1.1. Μείωση Θρεπτικών Ουσιών σε Επίπεδο Λεκάνης Απορροής

Στις περισσότερες ευτροφικές λίμνες που πλήττονται από κυανοβακτηριακή αφθονία, πρωταρχικό καθήκον θα πρέπει να είναι η μείωση του θρεπτικού φορτίου από τη λεκάνη απορροής. Αυτό περιλαμβάνει τον έλεγχο των σημειακών (point) και μη σημειακών (nonpoint) πηγών. Οι σημειακές πηγές αντιπροσωπεύουν ένα πολύ σημαντικό μερίδιο της φόρτωσης P και N, είναι εύκολα προσβάσιμες και από ρυθμιστική άποψη είναι ευκολότερο να ελεγχθούν. Η κύρια πρόκληση που εξακολουθεί να υφίσταται σε πολλές λεκάνες απορροής είναι ο έλεγχος των πιο διάσπαρτων μη σημειακών πηγών, οι οποίες συχνά αποτελούν τις μεγαλύτερες πηγές

θρεπτικών συστατικών. Ως εκ τούτου, οι έλεγχοι τους είναι πιθανό να διαδραματίσουν κρίσιμο ρόλο στην άμβλυνση του πληθυσμού των κυανοβακτηρίων στο πλαίσιο των περιβαλλοντικών αλλαγών που προκαλούνται από τον άνθρωπο και το κλίμα (Paerl,2014).

Οι σημαντικότερες σημειακές πηγές φωσφόρου είναι τα αστικά λύματα. Το φορτίο φωσφόρου μπορεί, συνεπώς, να μειωθεί σημαντικά με την κατασκευή νέων μονάδων επεξεργασίας λυμάτων (WWT), ή αναβαθμίζοντας τις υπάρχουσες, για παράδειγμα με την εισαγωγή καθιζήσεων και κροκίδωσης (τριτοβάθμια επεξεργασία) ή την προσαρμογή της βιολογικής επεξεργασίας σε αυξημένη αφαίρεση φωσφόρου. (Drábková,2007). Πολύ σημαντική είναι επίσης η απαγόρευση των φωσφορικών απορρυπαντικών.

Στις μη σημειακές πηγές φωσφόρου ανήκουν κυρίως η γεωργική απορροή και η διάβρωση από αστικές και αποψιλωμένες περιοχές. Στις γεωργικές και αστικές λεκάνες απορροής, οι μη σημειακές πηγές μπορούν να αντιπροσωπεύουν πάνω από το μισό των ετήσιων φορτίων P (Sharpley et al.,2010). Λόγω της διάχυτης φύσης αυτών των φορτίων, είναι συχνά δύσκολο να εντοπιστούν και να αντιμετωπιστούν. Είναι επίσης πολύ επιρρεπή στην κινητοποίηση λόγω της αύξησης των βροχοπτώσεων, των μεγάλων καταιγίδων και των τροπικών κυκλώνων (Paerl, 2014). Η απορροή του νερού και των θρεπτικών ουσιών μπορεί να αποφευχθεί με την αποκατάσταση των παραποτάμιων ζωνών και ιδιαίτερα την αποκατάσταση των υδροτόπων. Σημαντικές ποσότητες θρεπτικών ουσιών μπορούν επίσης να παγιδευτούν από λίμνες κατακράτησης και δεξαμενές και κατασκευασμένους υδροτόπους. Γενικά, όσο υψηλότερη είναι η ποικιλομορφία του τοπίου, τόσο μεγαλύτερη είναι η χωρητικότητα του (Drábková,2007). Μερική μείωση του φωσφόρου μπορεί να επιτευχθεί, τέλος, με εφαρμογή βέλτιστης γεωργικής πρακτικής και συγκεκριμένα με τη συνετή χρήση της αγροτικής γης και τη σωστή διαχείριση της κοπριάς (Cooke, 2005). Ωστόσο, η πιθανότητα να μειωθεί επαρκώς η απορροή θρεπτικών ουσιών από την λεκάνη απορροής είναι συχνά περιορισμένη ή το μέτρο αυτό μπορεί να είναι ανεπαρκές λόγω της εσωτερικής ανακύκλωσης των θρεπτικών ουσιών στη λίμνη (Drábková,2007).

1.4.1.2. Μείωση Θρεπτικών Ουσιών Εντός της Λίμνης και Διαχείριση Ιζημάτων

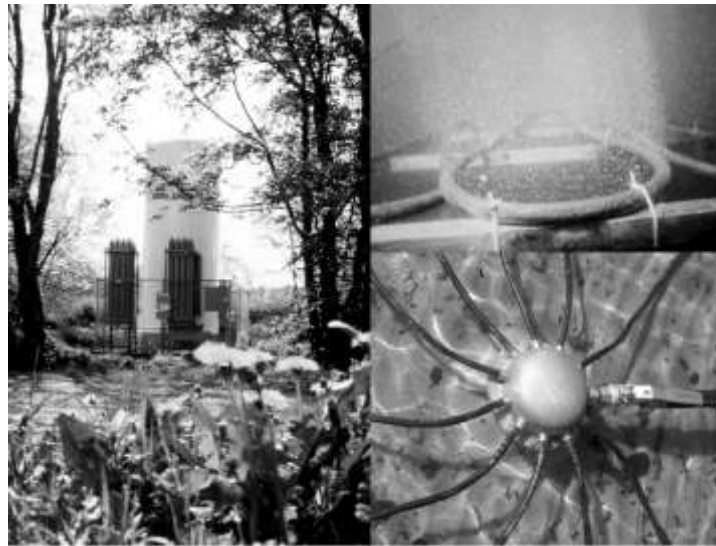
Τα ιζήματα του πυθμένα των οικοσυστημάτων γλυκών υδάτων συσσωρεύουν φωσφόρο (P) για μεγάλες χρονικές περιόδους. Επομένως, τα ιζήματα αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη εσωτερική πηγή φωσφόρου, η οποία ενδέχεται να απελευθερωθεί βραδέως στο νερό. Εξαιτίας αυτού, ένα υδατικό σύστημα μπορεί να παρουσιάζει ευτροφικές συνθήκες ακόμη και αρκετά χρόνια μετά τη μείωση του εξωτερικού φορτίου φωσφόρου. Η απελευθέρωση φωσφόρου από το ίζημα στη

στήλη νερού μπορεί να ενισχυθεί σημαντικά όταν η λίμνη στρωματοποιηθεί και ο πυθμένας της λίμνης παρουσιάζει ανοξικές συνθήκες (Drábková, 2007).

Τα ιζήματα χρησιμεύουν επίσης ως μακροπρόθεσμη προμήθεια κυανοβακτηρίων, καθώς έχουν την ικανότητα να εκμεταλλεύονται αυτό το περιβάλλον, όταν κυριαρχούν δυσμενείς συνθήκες για την επιβίωση τους. Επίσης άλλες συνθήκες, όπως η ανάμειξη ανέμου στις ρηχές λίμνες ή οι αναταράξεις από τα μηχανοκίνητα σκάφη και τα ψάρια βυθού, συμβάλλουν στην αυξημένη απελευθέρωση θρεπτικών ουσιών από τα ιζήματα πυθμένα της λίμνης στη στήλη νερού. Ως εκ τούτου, είτε η αφαίρεση των ιζημάτων είτε η κάλυψή τους έτσι ώστε να περιοριστεί η ανταλλαγή θρεπτικών στοιχείων και υδατοειδών κυττάρων ιζήματος-νερού, χρησιμοποιείται ευρέως για τον έλεγχο των κυανοβακτηρίων (Paerl, 2014).

Εναλλακτικές Μέθοδοι που αποσκοπούν στη μείωση των θρεπτικών ουσιών είναι οι εξής:

- Αφαίρεση-βυθοκόρηση ιζημάτων
- Επικάλυψη ιζημάτων
- Οξείδωση ιζημάτων – Riplox
- Υπολίμνια απόσυρση
- Υπολίμνιος αερισμός και οξυγόνωση (Εικόνα 8)



*Εικόνα 8: :Εξοπλισμός οξυγόνωσης σε λίμνες στη Δανία.
Oxygenation equipment in Danish lakes.
(Πηγή/ Source: Jeppesen et al., 2009)*

1.4.2. Άλλες μέθοδοι

1.4.2.1. Αραιώση και έκπλυση

Σε ορισμένες περιπτώσεις η ποιότητα του νερού στη λίμνη ή τη δεξαμενή μπορεί να βελτιωθεί με την προσθήκη εξωτερικού ύδατος από άλλες πηγές πέρα από την αρχική εισροή των δεξαμενών. Η αραιώση είναι η προσθήκη νερού με χαμηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά, ενώ η έκπλυση περιλαμβάνει την προσθήκη μεγάλων όγκων νερού (που ενδέχεται να είναι υψηλό σε θρεπτικά συστατικά) για την έκπλυση των κυττάρων των φυκών (Cooke et al.,1986). Η προσθήκη νερού αραιώσης χαμηλής θρεπτικής αξίας μειώνει την συγκέντρωση των περιοριστικών θρεπτικών ουσιών από την οποία εξαρτάται η μέγιστη δυνητική βιομάζα. Με την αύξηση της εισροής νερού αυξάνεται η ταχύτητα έκπλυσης, η οποία με τη σειρά της αυξάνει τον ρυθμό απώλειας των φυκών από τη λίμνη.

Η αραιώση μπορεί να είναι αποτελεσματική ακόμα και όταν η αύξηση του ρυθμού έκπλυσης είναι ανεπαρκής για να προκαλέσει σημαντική απώλεια φυκών. Από την άλλη πλευρά, η αύξηση της ταχύτητας έκπλυσης μπορεί να προκαλέσει σημαντική απώλεια χωρίς να επιτευχθεί μείωση της περιοριστικής συγκέντρωσης θρεπτικών ουσιών. Η αραιώση ενδέχεται να επιφέρει πιθανές επιδράσεις, όπως αυξημένη κάθετη ανάμιξη και μείωση της συγκέντρωσης των προϊόντων αποβολής των φυκών, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν τα είδη και την αφθονία τους.

Η τεχνική είναι πιο αποτελεσματική όταν υπάρχουν διαθέσιμες μεγάλες ποσότητες νερού με χαμηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά για μεταφορά στην πληγείσα λίμνη. Η αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας είναι μεγαλύτερη όσο χαμηλότερη είναι η συγκέντρωση του περιοριστικού θρεπτικού συστατικού στο νερό αραιώσης σε σχέση με εκείνη στη λίμνη και κατά συνέπεια στη φυσική εισροή του (Cooke et al.,1986).

Η αραιώση και η έκπλυση έχουν λειτουργήσει με επιτυχία σε διάφορες λίμνες. Σημαντική μείωση των κυανοβακτηρίων με αυτή τη μέθοδο επιτεύχθηκε, για παράδειγμα, στη λίμνη Moses στην Ουάσιγκτον (Welch και Patmond, 1990), στην οποία μειώθηκε ο χρόνος κατακράτησης νερού από 10 έως 5 ημέρες. Βέβαια παρόλο που αυτές οι θεραπείες είναι αποτελεσματικές, η διαθεσιμότητα κατάλληλης παροχής ύδατος μπορεί να περιορίσει την εφαρμογή τους (Drábková,2007).

1.4.2.2. Τεχνητή κυκλοφορία (ανάμιξη- αποστρωματοποίηση)

Η τεχνητή κυκλοφορία έχει χρησιμοποιηθεί ως τεχνική διαχείρισης λιμνών από τις αρχές της δεκαετίας του 1950 τουλάχιστον. Αρχικά χρησιμοποιήθηκε για την αποτροπή της θανάτωσης ψαριών κατά τη διάρκεια του χειμώνα σε ρηχές λίμνες που

καλύπτονται από πάγο (Halsey, 1968). Αποτελεί μια τεχνική που χρησιμοποιείται για την πρόληψη ή την εξάλειψη της θερμικής διαστρωμάτωσης μέσω της ανάμιξης μιας στήλης φυσαλίδων αέρα. Με την εφαρμογή της μεθόδου αυτής αφενός βελτιώνονται οι συνθήκες διαλυμένου οξυγόνου στις λίμνες και στις απορρίψεις δεξαμενών και αφετέρου καθίσταται εφικτός ο έλεγχος της βιομάζας των φυκών σε ορισμένες περιπτώσεις (Cooke et al., 1986).

Η συνεχής ανάμιξη της στήλης ύδατος καταστρέφει τις στρωματοποιημένες συνθήκες, επομένως το πλεονέκτημα της κυανοβακτηριακής πλευστότητας εξαλείφεται χάρη στα ταχύτερα αναπτυσσόμενα πράσινα φύκια (Reynolds et al., 1984). Η ταχύτητα ανάμιξης πρέπει να είναι αρκετά υψηλή ώστε να υπερβεί την ταχύτητα πλεύσης συγκεκριμένων κυανοβακτηριακών ειδών που υπάρχουν στη λίμνη (Visser et al., 1996; Jungo et al., 2001). Η κυκλοφορία μειώνει επίσης ολόκληρη τη βιομάζα του φυτοπλαγκτού μέσω του περιορισμού του φωτός, διότι το συνολικό φως που λαμβάνεται είναι ανεπαρκές για καθαρή φωτοσύνθεση. Τα αποτελέσματα της μεθόδου αυτής είναι κυρίως σε βαθύτερες λίμνες. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να λειτουργήσει και σε ρηχές λίμνες με υψηλότερη θολερότητα και, ως εκ τούτου, υψηλότερη εξαφάνιση φωτός. (Cooke et al., 2005).

Παρόμοια με τον υπολίμνιο αερισμό, το κύριο όφελος της τεχνητής κυκλοφορίας είναι η διεύρυνση του κατάλληλου οικοτόπου για τα αερόβια ζώα μέσω της αύξησης της περιεκτικότητας σε διαλυμένο οξυγόνο σε όλη τη λίμνη. Σε αντίθεση, βέβαια με τον υπολίμνιο αερισμό, με την εφαρμογή της μεθόδου αυξάνεται η θερμοκρασία ολόκληρης της λίμνης. Η μεγαλύτερη αύξηση της θερμοκρασίας εμφανίζεται σε βάθη που ήταν προηγουμένως μέρος του υπολιμνίου. (Cooke et al., 1986). Επιπλέον, αρκετές μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει τεχνητή κυκλοφορία για τη μείωση των πληθυσμών δυνητικά τοξικών ειδών (Visser et al., 1996; Lindenschmidt, 1999).

Αυτή η μέθοδος, ωστόσο, ελέγχει τις κυανοβακτηριακές ανωμαλίες μόνο σε κάποιο βαθμό και μπορεί να είναι επιτυχής μάλλον στην περίπτωση χαμηλότερων επιπέδων φωσφόρου στο νερό και χαμηλότερης βιομάζας κυανοβακτηρίων.

1.4.3. Βιοανάπτυξη/ βιοδιαχείριση

Ο όρος βιοανάπτυξη δημιουργήθηκε από τους Hrbáček et al. (1961) και αργότερα χρησιμοποιήθηκε από τους Shapiro et al. (1975) ως όρος για τις μεθόδους διαχείρισης της ποιότητας των υδάτινων πόρων στη λίμνη με βάση τις βιολογικές παρεμβάσεις. Η βιοδιαχείριση περιλαμβάνει διαδικασίες βελτίωσης λίμνης που μεταβάλλουν τον τροφικό ιστό για να ευνοήσουν την κατανάλωση των φυκών από το ζωοπλαγκτόν ή να εξαλείψουν τα είδη ψαριών που ανακυκλώνουν τα θρεπτικά συστατικά. Η βιοανάπτυξη περιλαμβάνει την εξάλειψη ορισμένων ειδών ιχθύων ή την αναδιάρθρωση της κοινότητας των ιχθύων με σκοπό να ευνοηθεί η κυριαρχία

των ιχθύων που τρέφονται από ιχθύες αντί των ιχθύων που τρέφονται από πλαγκτόν (Cooke et al., 1986). Θα πρέπει να είναι σαφές ότι οι χειρισμοί αυτοί θα είναι πιο επιτυχείς σε κλειστές λίμνες, όπου η εισβολή των ανεπιθύμητων ζωικών ειδών είναι σαφώς περιορισμένη.

Η βιοδιαχείριση συνήθως δεν είναι πολύ αποτελεσματική στην περίπτωση πολύ ευτροφικών λιμνών και δεξαμενών όπου η συνολική συγκέντρωση φωσφόρου υπερβαίνει τα 100 $\mu\text{g/L}$ -1 (Drábková, 2007). Τα πιο αποτελεσματικά παραδείγματα βιοδιαχείρισης ισχύουν για σχετικά μικρά υδατικά συστήματα λόγω της μεγάλης δυσκολίας συνεχούς χειρισμού των πληθυσμών των ιχθύων σε μεγάλες δεξαμενές. Επίσης, η διαδικασία βιοδιαχείρισης δεν μπορεί να θεωρηθεί ως μέθοδος ρουτίνας, αφού εξαρτάται από πολλούς παράγοντες και μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο με τη συμμετοχή ειδικευμένου λιμνογόγου. Συχνά απαιτείται συνεχής συντήρηση. (Cooke et al., 2005; Jørgensen et al., 2002).

1.5. Οξειδωτικές μέθοδοι με τη χρήση υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2)

Μια πιο σύγχρονα επανδρωμένη μέθοδος που είναι γρήγορη, αποτελεσματική και δρα με υψηλότερη ευαισθησία στα κυανοβακτήρια συγκριτικά με το υπόλοιπο φυτοπλαγκτόν φαίνεται να είναι η οξείδωση με χρήση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (Barroin and feullade, 1986; Drabkova et al., 2007).

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου - κοινώς οξυζενέ- με μοριακό τύπο H_2O_2 , είναι μια ανόργανη χημική ένωση που περιέχει υδρογόνο και οξυγόνο. Είναι ισχυρό οξειδωτικό και λίγο πιο πυκνόρρευστο από το νερό αλλά για λόγους ασφάλειας συνήθως χρησιμοποιείται με τη μορφή υδατικών διαλυμάτων (D.R. Lide, CRC Handbook of Chemistry and physics, 2008). Υπεροξείδιο του υδρογόνου υπάρχει ως φυσική ένωση σε κάθε υδάτινο οικοσύστημα. Η μέθοδος που στηρίζεται στην εισαγωγή ποσότητας υπεροξειδίου του υδρογόνου σε εύτροφα υδάτινα οικοσυστήματα πλεονεκτεί έναντι άλλων μεθόδων στο γεγονός ότι είναι επιλεκτική στην οξείδωση των κυανοβακτηριακών κυττάρων. Εντούτοις, η ποσότητα του υπεροξειδίου που θα χρησιμοποιηθεί και η χρονική διάρκεια της μεθόδου, εξαρτώνται κατά πολύ από τα ευτροφικά χαρακτηριστικά του κάθε υδάτινου οικοσυστήματος. Επιπλέον, περισσότερη μελέτη πρέπει να πραγματοποιηθεί σχετικά με την επίδραση του υπεροξειδίου σε άλλα φυτοπλαγκτονικά είδη καθώς και στο ζωοπλαγκτό.

2. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της εισαγωγής του υπεροξειδίου του υδρογόνου, ως μέθοδος μείωσης της κυανοβακτηριακής άνθησης σε δείγματα ευτροφικών εσωτερικών υδάτων. Επιπλέον, θα εκτιμηθεί και η επίδραση του H_2O_2 στη βιομάζα των υπόλοιπων φυτοπλαγκτονικών οργανισμών των παραπάνω υδάτων. Η εκτίμηση θα πραγματοποιηθεί μέσω της μικροσκοπικής παρατήρησης, αλλά και μέσω της δυναμικής των κύριων φωτοχρωστικών των φυτοπλαγκτονικών οργανισμών.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. Περιοχές μελέτης

3.1.1. Ταμιευτήρας Κάρλας

Σχηματισμός Λίμνης

Η λεκάνη της Κάρλας σχηματίστηκε από ένα τεκτονικό βύθισμα, που συνέβη κατά τη διάρκεια της Τριτογενούς Κηνοζωικής Περιόδου Tertiary of Cenozoic period (Ananiadis, 1956), στην περιοχή μεταξύ Λάρισας και Βελεστίου. Το υπάρχον βύθισμα πληρώθηκε αργότερα με λιμναία ιζήματα και προσχώσεις που προήλθαν από την αποσάθρωση των γύρω οροσειρών. Μέσα στο βύθισμα σχηματίστηκε και η λίμνη Κάρλα. Φαίνεται ότι η απόθεση των προσχώσεων έγινε συγχρόνως με την καταβύθιση της περιοχής, με αποτέλεσμα τα πάχος των ιζημάτων να είναι αρκετά μεγάλο και σε ορισμένα σημεία να ξεπερνά τα 300 m.

Λίμνη Βοιβηίδα

Η λίμνη Κάρλα, η οποία παλαιότερα έφερε το όνομα Βοιβηίδα, αποτελούσε μέρος μιας πολύ μεγαλύτερης λίμνης που κάλυπτε προϊστορικά το θεσσαλικό κάμπο. Εξαιτίας του χαμηλότερου υψομέτρου της λίμνης έναντι του Πηνειού, εκτός από τα νερά της λεκάνης απορροής της, η λίμνη δεχόταν και μέρος της πλημμυρικής παροχής του ποταμού, που έφθανε σ' αυτή μέσω του χειμάρρου Ασμάκι. Η είσοδος πλημμυρικών εκροών στη λίμνη από τον Πηνειό και τη γύρω ορεινή ζώνη, σε συνδυασμό με το βραδύ ρυθμό απομάκρυνσής τους από αυτή, με την εξάτμιση, τη βαθιά διήθηση καθώς και την υπερχειλίση μέσω των καρστικών πετρωμάτων, είχε ως αποτέλεσμα το εμβαδόν της να μεταβάλλεται, ανάλογα με τη σχέση εισροών και εκροών, από 45.000 έως 180.000 στρέμματα. Η φυσική λεκάνη της πρώην λίμνης Κάρλα κάλυπτε μια έκταση 1663 km², εκ των οποίων πάνω από 600 km² αποτελούσαν μια νότια επίπεδη πεδιάδα, ενώ το ανατολικό τμήμα περιβαλλόταν από βουνά και λόφους (Sidiroopoulos et al., 2012). Σε όρους βιοποικιλότητας, η πρώην λίμνη Κάρλα, είχε ποικίλους οικοτόπους (με πελαγική και πλωτή βλάστηση, ρηχά έλη με *Juncus* sp. και *Typha* sp., αναδυόμενη βλάστηση και βράχια), οι οποίοι της παρείχαν την δυνατότητα να στηρίζει μια πλούσια πανίδα ψαριών και πτηνών (Ananiadis et al., 1956). Απεικόνιση της τέως λίμνης Κάρλας με τη μορφή που είχε πριν την αποξήρανση ακολουθεί στην Εικόνα 9.



*Εικόνα 9: Αεροφωτογραφία της λίμνης Κάρλα, 1945.
Aerial view of Lake Karla, 1945.
(Πηγή/ Source: Ananiadis ,1956)*

Αποξήρανση Λίμνης

Η λίμνη Κάρλα αποτελούσε μια από τις σημαντικότερες ρηχές λίμνες στην Ελλάδα έως το 1962, όταν έλαβε χώρα η πλήρης ξήρανση της λίμνης, λόγω της ανάγκης για την αντιπλημμυρική προστασία της περιοχής και την απόκτηση γεωργικών εκτάσεων. Στο σχεδιασμό των αρχικών μελετών δεν προβλεπόταν η ολική αποξήρανση της λίμνης αλλά η διατήρηση 64.700 στρεμμάτων όπου θα παρέμεναν ως ταμιευτήρας (Μούμου, 2007). Η αποξήρανση της λίμνης πραγματοποιήθηκε μέσω μιας σήραγγας, η οποία κατασκευάστηκε την τριετία 1957 – 1960, είχε μήκος 10,5 km και παροχευτική ικανότητα 8,5 m³/sec (Ζαλίδης, 1995). Η εκκένωση της λίμνης ξεκίνησε το 1960 και ολοκληρώθηκε το 1962 (Εικόνα 10).

Οι αλλαγές των λειτουργιών του υγρότοπου οδήγησαν:

- στην πτώση στα επίπεδα των υπόγειων νερών
- στην παρείσφρηση νερού της θάλασσας στα στρώματα του υπόγειου υδροφόρου ορίζοντα
- στην έλλειψη του νερού άρδευσης
- στις συχνές πλημμύρες των πεδινών εκτάσεων
- στα προβλήματα αλατότητας και αλκαλικότητας στα χώματα
- στην ακαθάριστη ρύπανση των τάφρων και των υδάτινων πόρων από τα βιομηχανικά απόβλητα αποχέτευσης και από τα αγροχημικά
- στην διοχευτικότητα του μολυσμένου νερού στο Κόλπο του Παγασητικού

- στην απώλεια των βιοτόπων του υγρότοπου και
- στη μείωση της βιοποικιλότητας (Zalidis et al., 2005)



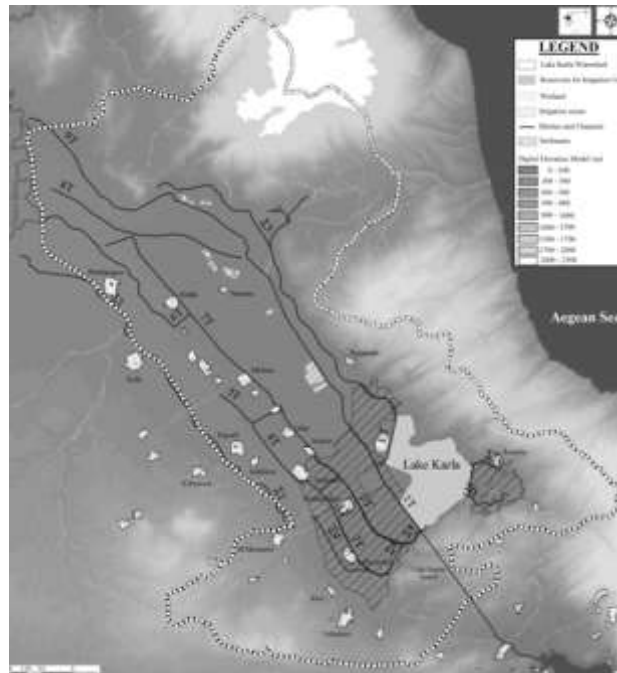
Εικόνα 10: Η λίμνη Κάρλα μετά την αποξήρανση.

Lake Karla after being dried out.

(Πηγή/ Source: NCC)

Ανασύσταση Λίμνης

Οι προσπάθειες αποκατάστασης ξεκίνησαν τη δεκαετία του '80, με την αρχική προσέγγιση της αποκατάστασης μιας δεξαμενής για άρδευση, αλλά, εν τέλει, λαμβάνοντας υπόψη τον πολυλειτουργικό ρόλο του οικοσυστήματος, υιοθετήθηκε ολιστική προσέγγιση προκειμένου να επιτευχθεί αποκατάσταση του υδάτινου οικοσυστήματος (Papadimitriou et al., 2011). Το 1982 πάρθηκε η απόφαση να αποκατασταθεί ένα μέρος της τέως λίμνης Κάρλα. Το 1999 ξεκίνησε το έργο της ανασύστασης με τελικό σχέδιο που πρότεινε τη δημιουργία ταμιευτήρα περίπου 38 km², που τροφοδοτείται από τον Πηνειό ποταμό και από τα επιφανειακά ύδατα από την λεκάνη απορροής (Χορταγιάς, 2009). Στην Εικόνα 11 παρουσιάζεται χάρτης της λεκάνης απορροής του ταμιευτήρα της Κάρλας που δείχνει τον ταμιευτήρα, τον υποκείμενο υδροφόρο ορίζοντα και τα έργα που έχουν πραγματοποιηθεί στην περιοχή. Η σημασία της αποκατάστασης της λίμνης Κάρλα και της αντιστροφής των περιβαλλοντικών συνθηκών που προκλήθηκαν από ανθρωπογενείς δραστηριότητες θεωρήθηκε πολύ σημαντική από την Ευρωπαϊκή Ένωση που προσφέρει πολυάριθμες υπηρεσίες, δηλαδή την κοινωνική, οικονομική και οικολογική αειφόρο ανάπτυξη στην περιοχή και όχι μόνο τη δημιουργία ενός νέου ταμιευτήρα (Sidiropoulos et al., 2017).



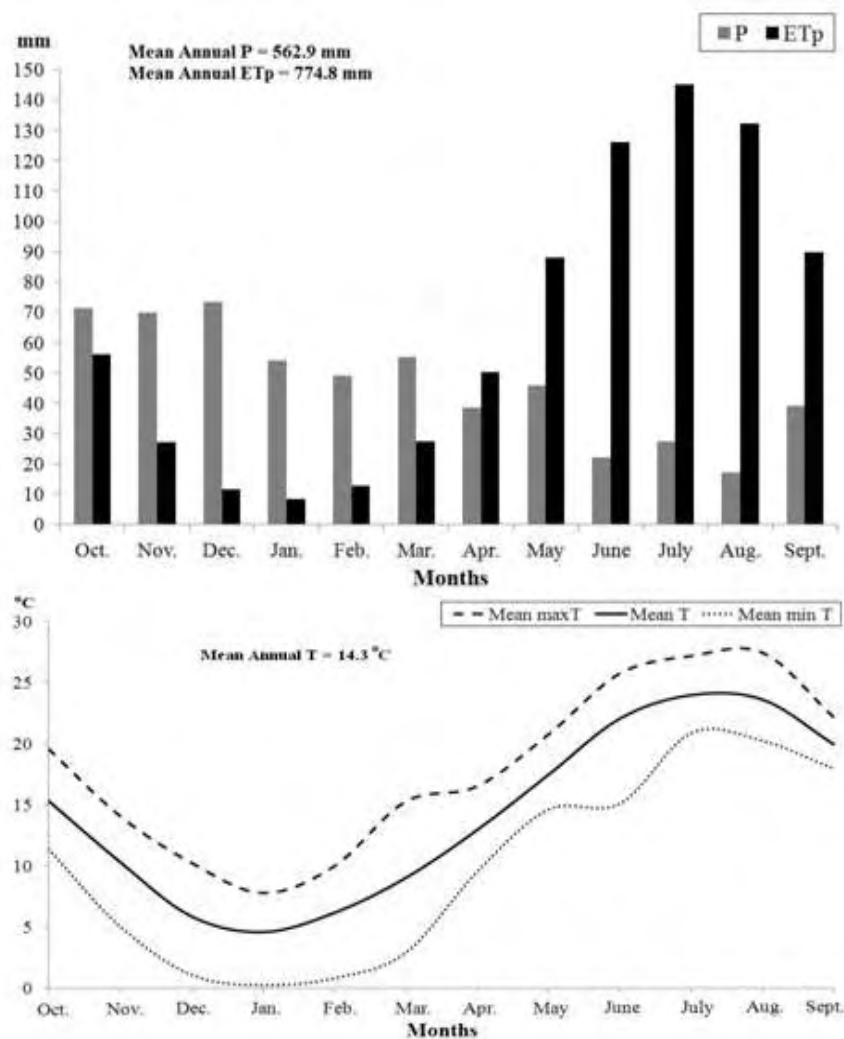
*Εικόνα 11: Χάρτης της λεκάνης του Ταμιευτήρα Κάρλας που δείχνει τον ταμιευτήρα, τον υποκείμενο υδροφόρο ορίζοντα και τα έργα που έχουν πραγματοποιηθεί στην περιοχή.
Map of the basin of the Karlas reservoir which shows the reservoir, the underlying aquifer and the works that have taken place in the area.*

(Πηγή/ Source: Sidiropoulos et al., 2012)

Ο ταμιευτήρας καταλαμβάνει το Ν.Α. άκρο της πεδιάδας της Λάρισας και το χαμηλότερο τμήμα της πρώην λίμνης Κάρλα. Η λεκάνη του ταμιευτήρα κατέχει και παρουσιάζει μορφή κλειστής επιμήκους λεκάνης μήκους 35 km και πλάτους 9-15 km. Βρίσκεται μεταξύ γεωγραφικού πλάτους 39ο26'49" έως 39ο32'03" N (Βορράς) και γεωγραφικού μήκους 22ο46'47" έως 23ο51'50" E (Ανατολή) και έχει επιφάνεια 38 km². Η λεκάνη έχει όρια στον Β. τον ποταμό Πηνειό και τον ορεινό όγκο της Όσσας (Κίσσαβο), στην Α. τους ορεινούς όγκους του Μαυροβούνιου και του Πηλίου, στο Ν. το Χαλκοδόνιο όρος (Μαυροβούνι) και το Μεγαβούνι και στη δύση το Φυλλήιον όρος (Λογατζή). Χαρακτηρίζεται από το ρηχό βάθος του με μέγιστο βάθος νερού 2 m.

Μετά την κατασκευή συμπληρωματικών έργων για τον ταμιευτήρα, η περιοχή αποστράγγισης της αναστηλωμένης λίμνης Κάρλα αυξήθηκε στα 1171 km², με περίμετρο 228 km (Loukas et al., 2008). Το υψόμετρο κυμαίνεται από 50 m έως πάνω από 2000 m και το μέσο υψόμετρο της περιοχής είναι περίπου 230 m. Το κλίμα της περιοχής είναι χαρακτηριστικό ηπειρωτικό με κρύους και υγρούς χειμώνες και ζεστά και ξηρά καλοκαίρια. Η μέση ετήσια βροχόπτωση είναι περίπου 560 mm και κατανέμεται ανομοιόμορφα στο χώρο και στο χρόνο. Η μέση ετήσια πιθανή

εξατμισοδιαπνοή είναι περίπου 775 mm και η μέση ετήσια θερμοκρασία είναι 14,3 °C, όπως φαίνεται αναλυτικά στην Εικόνα 12 (Vasiliades et al.,2009).



*Εικόνα 12: Μέση ετήσια και μηνιαία βροχοπτώση (P), πιθανή εξατμισοδιαπνοή (ET) και θερμοκρασία (T) στη λεκάνη απορροής της λίμνης Κάρλα.
Average annual and monthly rainfall (P), possible evapotranspiration (ET) and temperature (T) in the drainage basin of Lake Karla.
(Πηγή/ Source: Sidiropoulos et al.,2012)*

Σήμερα, ο Ταμιευτήρας της Κάρλας περιλαμβάνεται στο δίκτυο των ελληνικών προστατευόμενων περιοχών, καθώς θεωρείται ζωτικό υδάτινο οικοσύστημα, τόσο από άποψη βιοποικιλότητας (είναι τόπος Natura GR1420004, και SPA για τα πουλιά), αλλά και ως ένας νεοανακατασκευασμένος υδατικός πόρος που αποστραγγίστηκε στη δεκαετία του '60 (Sidiropoulos et al., 2012). Έχει χαρακτηριστεί Μόνιμο καταφύγιο άγριας ζωής (ΦΕΚ459/2010) και αποτελεί περιοχή μεγάλης σημασίας για τα μεταναστευτικά, τα διαχειμάζοντα και τα αναπαραγόμενα υδρόβια, παρυδάτια, αρπακτικά και είδη των ανοιχτών εκτάσεων

(Χριστόπουλος 2009). Παρακάτω παρατίθενται εικόνες από τη μορφή του ταμιευτήρα της Κάρλας σήμερα.



Εικόνα 13: Η μορφή της λίμνης Κάρλα σήμερα.

The shape of Lake Karla today.

(Πηγή/ Source: NCC)

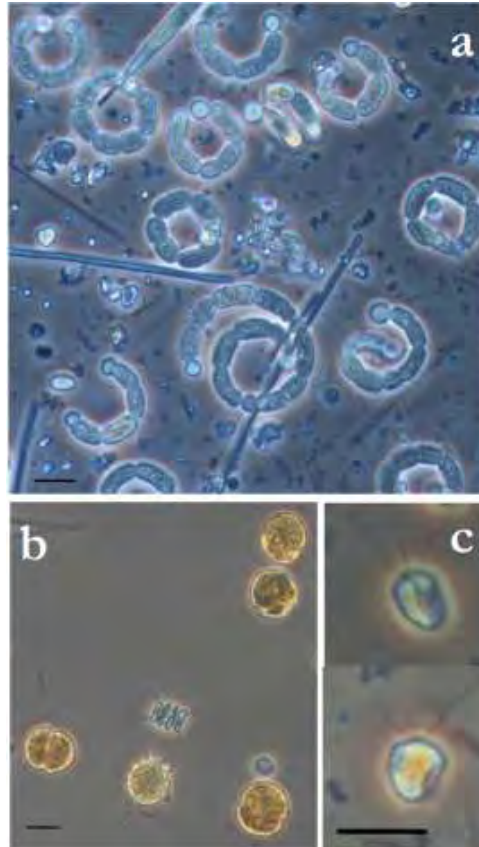
Λιμνολογικά Στοιχεία- Ευτροφισμός στη λίμνη Κάρλα

Λιμνολογικά στοιχεία για την τέως λίμνη Κάρλα παρέχονται από την αναφορά του Ananiadis (1956), όπου αρκετά βιολογικά και φυσικοχημικά στοιχεία χαρακτηρίζουν τη λίμνη ως ευτροφική. Συγκεκριμένα, η μειωμένη διαφάνεια στο νερό λόγω οργανικών υλικών και πλαγκτόν, καθώς και η συχνή εμφάνιση φυκιών (*Anabaena* sp., *Aphanizomenon* sp.) δείχνουν ότι η λίμνη ήταν ευτροφική από το 1950 τουλάχιστον (Sidiroopoulos et al., 2012). Η ανάλυση νερού μέσω της στήλης ύδατος, η οποία διεξήχθη το 1955, αποκάλυψε ότι η λίμνη Κάρλα ήταν σχετικά πλούσια σε διαλυμένα θρεπτικά συστατικά και χαμηλές συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου κοντά στον πυθμένα και συνεπώς χαρακτηρίστηκε ως ευτροφική (Ananiadis, 1956).

Όσον αφορά την υδρόβια βλάστηση, στη λίμνη Κάρλα υπήρχαν ορισμένα αναδυόμενα φυτά και μια αρκετά ισχυρή ανάπτυξη των *Potamogeton natans*, *Typha* και *Phragmites* (Sidiropoulos et al., 2012).

Σύντομα το ενδιαφέρον πολλών μελετητών επικεντρώθηκε στο νεοσυσταθέν οικοσύστημα του ταμιευτήρα της Κάρλας (Papadimitriou et al. 2011, Oikonomou et al. 2012). Οι Oikonomou et al. (2012) διερεύνησαν τον πληθυσμό των κυανοβακτηρίων και κατέγραψαν τα τοξικά κυανοβακτήρια των ειδών *Planktothrix* cf. *agardhii*, *Anabaena* sp. και *Anabaenopsis* cf. *elenkini* κατά το πρώτο έτος επαναπλήρωσης του ταμιευτήρα της Κάρλας. Σύμφωνα με τους Papadimitriou et al. (2011) κατά τη δειγματοληπτική περίοδο (Απρίλιο – Οκτώβριο του 2010) στον ταμιευτήρα της Κάρλας παρατηρήθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις θρεπτικών ουσιών, ($\text{NO}_3\text{-N}$: 0.26 mg/l - 0.8 mg/l, $\text{NH}_4\text{-N}$: 0.38 mg/l - 1.99 mg/l, SRP: 0.07 mg/l - 3.15 mg/l) υψηλές τιμές αγωγιμότητας (2,9-4,9 mS / cm) και υψηλή συγκέντρωση μικροκυστινών, ιδιαίτερα κατά τους θερινούς μήνες. Τα υψηλά επίπεδα αγωγιμότητας στη λεκάνη απορροής της λίμνης Κάρλα μπορεί να αποδοθούν στο γεωλογικό της προφίλ, αλλά και στην απορροή από τις γύρω γεωργικές εκτάσεις και τη διαδικασία εξάτμισης (Sidiropoulos et al., 2012). Κατά τη διάρκεια της ζεστής, ξηρής περιόδου, υψηλές συγκεντρώσεις διαλυτού αντιδραστικού φωσφόρου (1,5-3,15 mg / l), και επιπλέον νιτρικών (0,2-0,8 mg / l) θεωρούνται σήματα ενός πολύ ευτροφικού συστήματος. Αυτό υποστηρίζεται επίσης από τις υψηλές τιμές χλωροφύλλης-α που καταγράφηκαν κατά την ίδια περίοδο (77,97 -525,24 mg / m³).

Οι Papadimitriou et al., 2011 διαπίστωσαν ότι η μέση τιμή της αναλογίας συγκεντρώσεων αζώτου/ φωσφόρου στη λίμνη είναι μικρότερη από το όριο 10: 1 που θεωρείται ως δείκτης για ισχυρές συνθήκες περιορισμού του αζώτου, ευνοώντας έτσι την ανάπτυξη κυανοβακτηρίων σταθεροποίησης N₂ (Havens et al., 2003). Οι Oikonomou et al. (2010) επιβεβαίωσαν την εμφάνιση και την κυριαρχία των τοξικών κυανοβακτηριακών ειδών *Anabaenopsis*, *Planktothrix*, *Prymnesium* και *Pfiesteria* (Εικόνα 14) και επίσης μια ποικιλόμορφη μικροβιακή κοινότητα ενδεικτική μιας υπερτροφικής κατάστασης.



Εικόνα 14: Μικρογραφίες από (a) Anabaenopsis cf. elenkinii, (b) Pfiesteria sp., (c) Prymnesium cf. parvum που εντοπίστηκαν στη λίμνη Κάρλα, κλίμακα: 10μm.
Thumbnails from (a) Anabaenopsis cf. elenkinii, (b) Pfiesteria sp., (c) Prymnesium cf. parvum that were found in lake Karla, scale: 10μm.
(Πηγή/ Source: Oikonomou et al.,2010)

3.1.2. Λίμνη Παμβώτιδα

Η λίμνη Παμβώτιδα (Παμβώτις), (39°39'30"N 20°51'E), αρχαίο όνομα της γνωστής σήμερα και ως λίμνη των Ιωαννίνων, βρίσκεται σε ύψος 470 m από την επιφάνεια της θάλασσας. Έχει μήκος περίπου 8 km, πλάτος 5 km, μέσο βάθος 4- 5 m, μέγιστο βάθος 10 m και επιφάνεια 22,8 km² (Anagnostidis and Economou-Amilli, 1988).

Το λεκανοπέδιο Ιωαννίνων αποτελεί μια ευρεία καρστική λεκάνη που δημιουργήθηκε από τη διάβρωση των ασβεστόλιθων σε συνδυασμό με την ιδιαίτερη τεκτονική της περιοχής. Τροφοδοτείται υπόγεια με νερό από το καρστικό σύστημα του όρους Μιτσικέλι μέσω των πηγών που εκτονώνονται στις υπώρειές του (Karakitsios 2005). Το κλίμα χαρακτηρίζεται από κρύους, υγρούς χειμώνες με ημερήσιο μέσο όρο θερμοκρασίας <0°C και ζεστά, ξηρά καλοκαίρια με θερμοκρασία που ξεπερνά τους 30°C. Η ετήσια βροχόπτωση (1.1-1.2 m) με δυσκολία ανταποκρίνεται στην λιμναία επιφανειακή εξάτμιση. Κατά τη διάρκεια του έτους οι

τιμές της βροχόπτωσης είναι υψηλές με ένα εύρος από 0.7-1.5 m. Περίοδοι με μείωση βροχοπτώσεων προκαλούνται από αλλαγές στην ατμοσφαιρική κυκλοφορία πάνω από την Μεσόγειο (Bartzokas and Metaxas 1995).

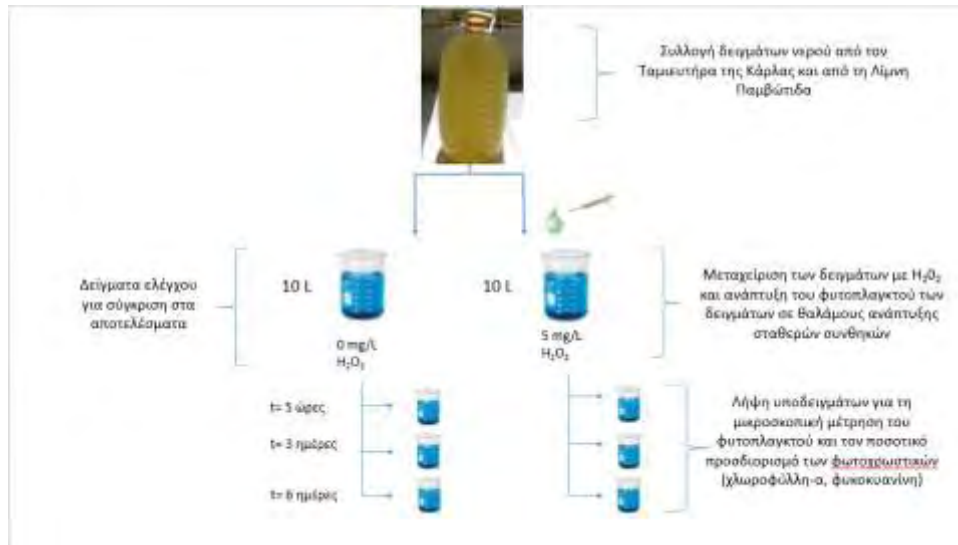
Η Παμβώτιδα είναι μια φυσική ρηχή λίμνη, η οποία έχει χαρακτηριστεί ως ευτροφική, (Anagnostidis and Economou-Amilli 1980) ενώ θεωρείται αστική ως αποτέλεσμα της γειτνίασης της με την πόλη των Ιωαννίνων όπου εκτείνεται κατά μήκος της δυτικής ακτογραμμής (Vardaka et al. 2005). Η λίμνη αποτελεί θέση αναπαραγωγής, τροφής ή πόσης της άγριας πανίδας. Σύμφωνα με την οδηγία 92/43/ΕΟΚ 1992, η λίμνη Παμβώτιδα έχει προταθεί ως σημαντική περιοχή Κοινοτικού ενδιαφέροντος του Πανευρωπαϊκού Οικολογικού Δικτύου Φύση 2000 (Dafis et al. 1996). Ωστόσο, ανθρωπογενείς παρεμβάσεις που έγιναν στη λίμνη (π.χ. παραλιακοί δρόμοι, τοιχία, μπαζώματα, οικοπεδοποίηση του πεδίου πλημμύρας της λίμνης) είχαν αρνητικές επιπτώσεις στο οικοσύστημά της και συνέβαλαν βαθμιαία στην αλλαγή της φυσικής παραλίας, στη μείωση της έκτασης της λίμνης, του συνολικού όγκου νερού της και τη δυνατότητα αυτοκαθαρισμού της. Επιπρόσθετα, οι πολλές ανθρωπογενείς δραστηριότητες που παρατηρούνται στη λίμνη, όπως για παράδειγμα άρδευση, αλιεία, γεωργία, ναυταθλητισμός, αναψυχή (Βαρδάκα, 2001), συμβάλλουν στην περαιτέρω υποβάθμιση της. Πιο επιβαρυντική είναι η άρδευση γιατί προκαλεί μείωση της στάθμης της (Karakitsios, 2005).

Η λίμνη χαρακτηρίζεται από σημαντικές συγκεντρώσεις αζώτου και φωσφόρου τόσο από τις εισροές όσο και από την εσωτερική τροφοδοσία του πυθμένα της. Οι Vardaka et al., (2005), υπολόγισαν τον βιοόγκο των κυανοβακτηρίων στη Λίμνη Παμβώτιδα ($9.507 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-3}$), αποδεικνύοντας τον αυξημένο ευτροφισμό της και την έντονη παρουσία της άνθησης των κυανοβακτηρίων στη λίμνη. Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, παρατηρήθηκε άνθηση κυανοβακτηρίων η οποία και έδωσε το χαρακτηριστικό κυανοπράσινο χρώμα στη λίμνη.

3.2. Πειραματική Πορεία

Η πειραματική πορεία της παρούσας έρευνας (Εικόνα 15) αποτελείται από τα εξής βήματα:

1. Συλλογή δειγμάτων νερού από τον Ταμιευτήρα της Κάρλας και από τη Λίμνη Παμβώτιδα.
2. Μεταχείριση των δειγμάτων με H_2O_2 και ανάπτυξη του φυτοπλαγκτού των δειγμάτων σε θαλάμους ανάπτυξης σταθερών συνθηκών.
3. Λήψη υποδειγμάτων για τη μικροσκοπική μέτρηση του φυτοπλαγκτού και τον ποσοτικό προσδιορισμό των φωτοχρωστικών (χλωροφύλλη-α, φυκοκυανίνη).



Εικόνα 15: Διαγραμματική απεικόνιση της πειραματικής πορείας.

Graphic depiction of the experimental course.

(Πηγή: Ιδία επεξεργασία/ Archive)

3.2.1. Συλλογή δειγμάτων νερού από τον Ταμιευτήρα της Κάρλας και από τη Λίμνη Παμβώτιδα.

Η δειγματοληψία στον Ταμιευτήρα της Κάρλας πραγματοποιήθηκε στις 17 Σεπτεμβρίου 2017, στην παρόχθια θέση Αριάνη η οποία βρίσκεται στη νοτιοανατολική πλευρά του Ταμιευτήρα (X=401168,Y=4369104). Η δειγματοληψία στη Λίμνη Παμβώτιδα πραγματοποιήθηκε στις 27 Οκτωβρίου 2017, στην παρόχθια θέση Ντραμπάτοβα η οποία βρίσκεται στη βορειοανατολική πλευρά της λίμνης (X=231812,Y=4397155). Και στα δυο υδάτινα συστήματα την περίοδο της δειγματοληψίας επικρατούσε έντονη κυανοβακτηριακή άνθηση. Η συλλογή γινόταν με τη βοήθεια δοχείων πολυαιθυλενίου όγκου 1500 ml, τα οποία τοποθετούνταν 10-20cm κάτω από την επιφάνεια του νερού, κάθε σταθμού. Τα δοχεία βυθίζονταν αργά στο νερό ώστε η επιφάνεια του νερού να διαταράσσεται όσο το δυνατόν λιγότερο. Σε κάθε δειγματοληψία, λαμβάνονταν οι τιμές της θερμοκρασίας του νερού (Λίμνη Παμβώτιδα=26° C, Ταμιευτήρας Κάρλας=27° C) με τη βοήθεια φορητού οργάνου μέτρησης (WTWOxy340i) Από κάθε υδάτινο σώμα συλλέχθηκαν δείγματα συνολικού όγκου 60L . Τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο Υδρομηχανικής & Περιβαλλοντικής Τεχνικής του τμήματος Πολιτικών Μηχανικών στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

3.2.2. Μεταχείριση των δειγμάτων με H_2O_2 και ανάπτυξη του φυτοπλαγκτού των δειγμάτων σε θαλάμους ανάπτυξης σταθερών συνθηκών.

Τη μεταφορά των δειγμάτων στο εργαστήριο, ακολούθησε ο διαμερισμός των δειγμάτων κάθε υδάτινου συστήματος σε 6 διαφανείς πλαστικές μπουκάλες, 10 L (Εικόνα 18) η κάθε μια, οι τρεις εκ των οποίων χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες (control). Σε κάθε μια από τις υπόλοιπες τρεις μπουκάλες προστέθηκαν 150μ L H_2O_2 30% w/w (Εικόνα 16), έτσι ώστε η τελική συγκέντρωση του H_2O_2 σε κάθε δείγμα να είναι ίση με 5mg/L. Η συγκεκριμένη συγκέντρωση του H_2O_2 , επιλέχθηκε διότι εργαστηριακά πειράματα των Papadimitriou et al., (2016) απέδειξαν ότι είναι αποδοτική στη μείωση της φυκοκυανίνης, ενώ πειράματα των Matthijs et al. (2012) απέδειξαν ότι σε αυτή τη συγκέντρωση το H_2O_2 δεν είναι επιβλαβές για οργανισμούς όπως το ζωοπλαγκτό. Τα δείγματα στα οποία προστέθηκε H_2O_2 καθώς και τα δείγματα control τοποθετήθηκαν σε κλειστούς θαλάμους υπό σταθερή θερμοκρασία (27°C) (Εικόνα 17) και φωτισμό, ενώ η φωτοπερίοδος ρυθμίστηκε σε 12h μέρα/ 12h νύχτα. Ο αερισμός των δειγμάτων πραγματοποιούνταν με την τοποθέτηση σε κάθε μπουκάλι, αντλίας αέρα (Εικόνα 19) ενώ καθημερινώς λάμβανε χώρα και ανακίνηση του κάθε δείγματος. Τα δείγματα παρέμειναν στους θαλάμους για 6 ημέρες.



Εικόνα 16: Διάλυμα H_2O_2 περιεκτικότητας 30% w/w.
 H_2O_2 solution containing 30% w/w.
(Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive)



*Εικόνα 17: Κλειστός θάλαμος υπό σταθερή θερμοκρασία.
Closed chamber at constant temperature.
(Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive)*



*Εικόνα 18: Δοχεία 10L αμέσως μετά την υδροληψία
10L containers right after take-off.
(Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive, 17/09/17)*



*Εικόνα 19: Αντλία αέρος.
Air pump.
(Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive)*

3.2.3. Λήψη υποδειγμάτων για τη μικροσκοπική μέτρηση του φυτοπλαγκτού και τον ποσοτικό προσδιορισμό των φωτοχρωστικών (χλωροφύλλη-α, φυκοκυανίνη)

Λήψη υποδειγμάτων από τα δείγματα control και τα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 πραγματοποιήθηκε τις χρονικές στιγμές $t_0=30$ λεπτά μετά την προσθήκη του H_2O_2 , $t_3=3$ ημέρες μετά την προσθήκη του H_2O_2 και $t_6=6$ ημέρες μετά την προσθήκη του H_2O_2 . Ειδικότερα, σε κάθε μια από τις παραπάνω χρονικές στιγμές λαμβάνονταν από κάθε μπουκάλια δείγμα όγκου 200 ml για τη μικροσκοπική παρατήρηση του φυτοπλαγκτού, τα οποία μεταχειρίζονταν με διαλύματα lugol¹ και φορμαλδεΰδης (Εικόνα 20) για τη συντήρησή τους, και 100 ml δείγμα για τον ποσοτικό προσδιορισμό της χλωροφύλλης-α και της φυκοκυανίνης.

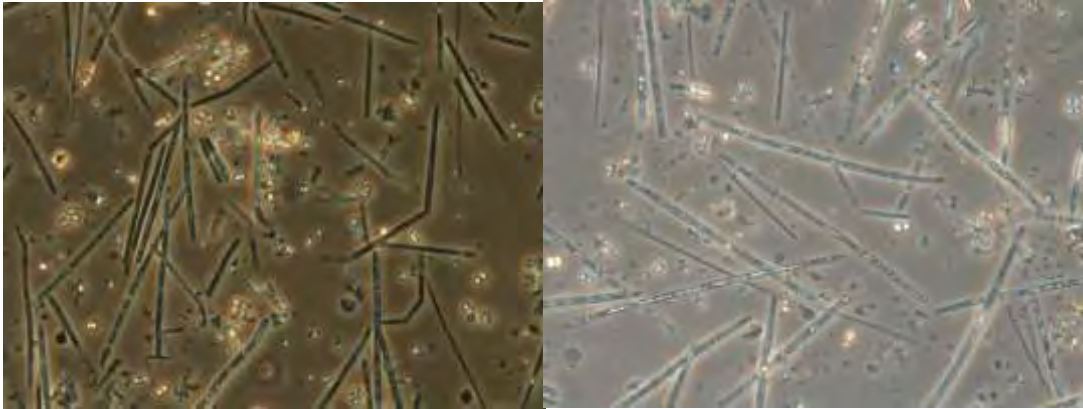
¹ Το διάλυμα Lugol, είναι ένα διάλυμα στοιχειακού ιωδίου και ιωδιούχου καλίου σε νερό, που χρησιμοποιείται ως αντισηπτικό και απολυμαντικό.



*Εικόνα 20: Φορμαλδεΰδη (αριστερά), Lugol (δεξιά).
Formaldelayde (left), Lugol (right).
(Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive)*

3.3. Μικροσκοπικός προσδιορισμός φυτοπλαγκτού

Για τον μικροσκοπικό προσδιορισμό του φυτοπλαγκτού τουλάχιστον τρία διατηρημένα υποδείγματα εξετάστηκαν σε θαλάμους καθίζησης χρησιμοποιώντας ανεστραμμένο μικροσκόπιο με αντίθεση φάσης (Nikon SE 2000). Τα είδη του φυτοπλαγκτού ταυτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ταξινομικές κλείδες (Zaromēlona et al., 2010). Οι μετρήσεις του φυτοπλαγκτού (κύτταρα, αποικίες και νημάτια) πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο καθίζησης του Utermöhl (Utermöhl, 1958) και στην *Εικόνα 21* φαίνεται η απεικόνιση του φυτοπλαγκτού της Κάρλας 5 ώρες μετά την έναρξη του πειράματος. Για την εκτίμηση της βιομάζας (mg / l), οι διαστάσεις 30 απόμων (κύτταρα, νημάτια ή αποικίες) κάθε είδους μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας κάμερα ψηφιακού μικροσκοπίου (Nikon DS-L1), ενώ ο μέσος όγκος κάθε κυττάρου ή νηματίου υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας κατάλληλες μαθηματικές φόρμουλες (Katsiapi et al., 2011).



Εικόνα 21: Εικόνα από το μικροσκόπιο 5 ὥρες μετά την έναρξη του πειράματος που απεικονίζει το φυτοπλαγκτόν της Κάρλας για το δείγμα ελέγχου (δεξιά) και το δείγμα με το H_2O_2 (αριστερά).

Image from the microscope taken 5 hours after the beginning of the experiment showing the phytoplankton of Karla reservoir for the control sample (right) and the sample treated with H_2O_2 (left).

(Πηγή/ Source: Αρχείο/ Archive)

3.4. Ποσοτικός προσδιορισμός χλωροφύλλης-α

Για τον προσδιορισμό της χλωροφύλλης-α των δειγμάτων, όγκος 50 ml από κάθε δείγμα νερού, διήλθε μέσω ηθμών Whatman GF/C (0.45-μm) σε κενό (συσκευή διήθησης νερού) που απεικονίζεται στην *Εικόνα 22*. Ακολούθησε η εκχύλιση της χλωροφύλλης-α από τον ηθμό, με διάλυμα ακετόνης 95% (Α.Ρ.Η.Α. 1989). Έπειτα, καταγράφηκε η απορρόφηση του διαλύματος στα 630 nm, 647 nm, 664 nm και 750 nm (Α.Ρ.Η.Α. 1989). Η τελική συγκέντρωση της χλωροφύλλης-α (σε μg/l) προσδιοριζόταν σύμφωνα με την εξίσωση προσδιορισμού των Jeffrey & Humphrey (1975):

$$Chla = Ca * V_{ex} * V_{sample} - 1,$$

Όπου,

V_{ex} = όγκος δείγματος που μετρήθηκε

V_{sample} = όγκος δείγματος που διηθήθηκε

και

$$Ca = 11.85 * (OD'664) - 1.54 * (OD'647) - 0.08 * (OD'630)$$

Όπου

$OD'664$ = Απορρόφηση 664- Απορρόφηση 750

$OD'647$ = Απορρόφηση 647- Απορρόφηση 750

OD'630= Απορρόφηση 630- Απορρόφηση 750



Εικόνα 22: Συσκευή πολλαπλών διηθήσεων.

Multi-filtration device.

(Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive)

3.5. Ποσοτικός προσδιορισμός φυκοκυανίνης

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της φυκοκυανίνης, που περιέχεται στα δείγματα του νερού, πραγματοποιήθηκε φωτομετρικά. Όγκος νερού (50 ml) διήλθε μέσω ηθμών υάλου (Whatman glass fiber filters) (0.22μm, 47mm) σε κενό (συσκευή διήθησης νερού). Οι ηθμοί καταψύχθηκαν μέχρι τη στιγμή της ανάλυσης. Ακολούθησε η εκχύλιση της φυκοκυανίνης από τους ηθμούς, με διάλυμα φωσφορικών αλάτων 10mM (pH=7) (Sarada et al., 1999). Η συγκέντρωση της φυκοκυανίνης υπολογίστηκε μετά τη φωτομέτρηση των δειγμάτων, σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση (Sarada et al., 1999):

$$C_{\text{phyc}} = (A_{615} - 0.474 \cdot A_{652}) / 5.34 \text{ (}\mu\text{g/l)}$$

όπου A_{615} η απορρόφηση στα 615 nm και A_{652} η απορρόφηση στα 652 nm.

Η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε για την φωτομέτρηση των δειγμάτων φαίνεται στην *Εικόνα 23*.



*Εικόνα 23: Συσκευή φωτομέτρησης.
Photometric device.
(Πηγή/ Source: Αρχείο, Archive*

4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος SPSS 20.0 for Windows. Τα δεδομένα ελέγχθηκαν ως προς την κατανομή τους, προκειμένου να εφαρμοστεί σε αυτά η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA). Όσα δεν εμφάνιζαν κανονική κατανομή, λογαριθμούνταν και έπειτα εφαρμοζόταν η ANOVA. Με την εφαρμογή της ANOVA εξετάζονταν τυχόν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα στα οποία έγινε εισαγωγή του H₂O₂, ως προς τη βιομάζα των φυτοπλακτονικών οργανισμών και τη δυναμική των φυτοχρωστικών.

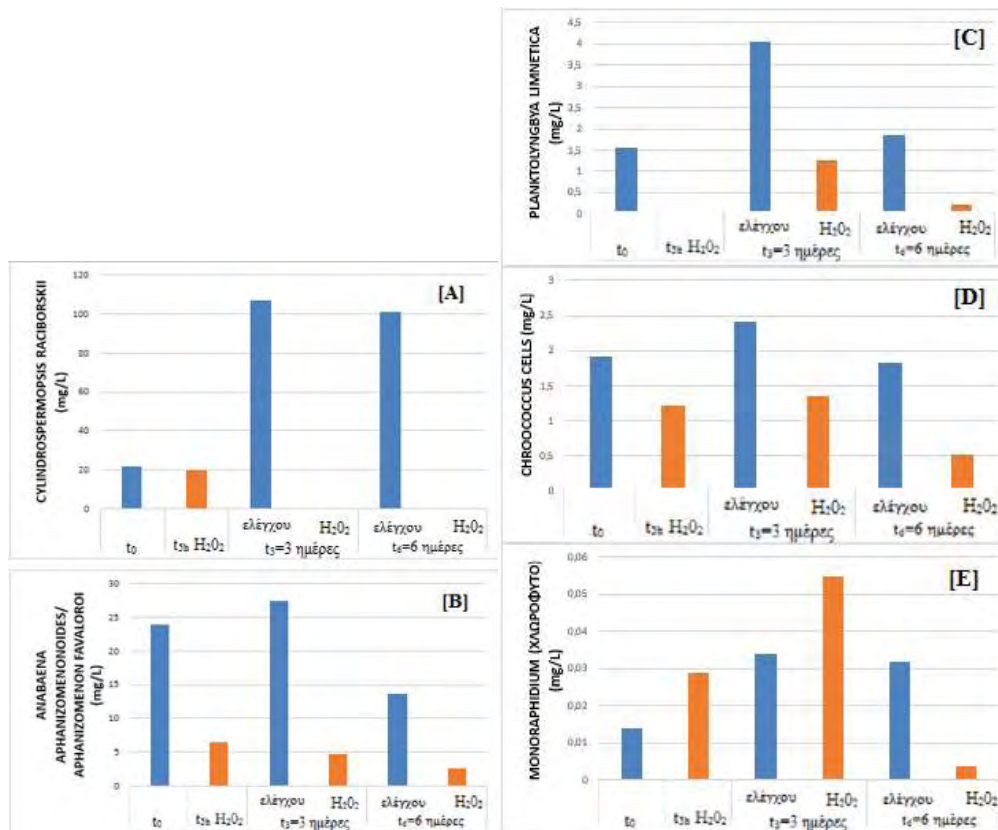
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1 Επίδραση υπεροξειδίου του υδρογόνου στο νερό του Ταμιευτήρα Κάρλας

5.1.1 Αποτελέσματα μικροσκοπικής ανάλυσης

Υδατικά δείγματα από τον ταμιευτήρα της Κάρλας που υποβλήθηκαν σε μεταχείριση με υπεροξείδιο του υδρογόνου παρουσίασαν μείωση στη συγκέντρωση της βιομάζας των κυανοβακτηριακών ειδών *Anabaena arhanizomenonoides* και *Arhanizomenon favaloroï* μόλις 5 ώρες μετά την εισαγωγή του διαλύματος H_2O_2 σε συγκέντρωση 5mg/ L. Παρόλο που στα δείγματα με το H_2O_2 η βιομάζα των κυανοβακτηρίων αυτών μειωνόταν σταθερά μέχρι και το τέλος του πειράματος (6^η ημέρα), στα δείγματα ελέγχου, ο πληθυσμός τους συνέχισε να αυξάνεται μέχρι την 3^η ημέρα όπου από εκεί και ύστερα σημειώθηκε μείωση της κυανοβακτηριακής τους βιομάζας συγκριτικά πολύ μικρότερη με την αντίστοιχη για το δείγμα στο οποίο είχε εισαχθεί H_2O_2 ($P < 0.05$, $F = 34.65$) (Εικόνα 24B). Με παρόμοιο τρόπο συμπεριφέρθηκαν τα κύτταρα του είδους *Chroococcus* ($P < 0.05$, $F = 29.67$) (Εικόνα 24D). Ακόμη, στον ταμιευτήρα οι μικροσκοπικές αναλύσεις έδειξαν ότι η κυανοβακτηριακή βιομάζα του κυανοβακτηριακού είδους *Planktolyngbya limnetica* μηδενίστηκε 5 ώρες μετά την εισαγωγή του H_2O_2 και μέχρι το τέλος του πειράματος ο πληθυσμός που αναπτύχθηκε παρέμεινε σε ιδιαίτερα μικρή συγκέντρωση (0,22 mg/ L). Σε σύγκριση με τα δείγματα ελέγχου για το ίδιο είδος (*Planktolyngbya limnetica*), παρατηρήθηκε αύξηση της βιομάζας του μέχρι και την 3^η ημέρα ενώ από εκεί και ύστερα παρουσιάστηκε μείωση (Εικόνα 24C), η οποία όμως ήταν πολύ μικρότερη από την αντίστοιχη μείωση στο δείγμα στο οποίο εισάγαμε το H_2O_2 ($P < 0.05$, $F = 78.12$). Το περισσότερο ενδιαφέρον συγκεντρώθηκε στον τρόπο αντίδρασης του κυανοβακτηριακού είδους *Cylindrospermopsis raciborskii*. Με την εισαγωγή του H_2O_2 το είδος *Cylindrospermopsis raciborskii* του οποίου η βιομάζα ενώ αναπτυσσόταν ραγδαία μέχρι και το τέλος του πειράματος στα δείγματα ελέγχου- σημειώθηκε αρχική συγκέντρωση βιομάζας 21,73 mg/ L και τελική συγκέντρωση βιομάζας 100,46 mg/ L, στα δείγματα με το H_2O_2 μέχρι την 3^η ημέρα η βιομάζα του είδους είχε εξαφανιστεί εντελώς ($P < 0.05$, $F = 91.36$) (Εικόνα 24A). Μέχρι και το τέλος του πειράματος στις 6 ημέρες, το *Cylindrospermopsis raciborskii* δεν μπόρεσε να ανακτήσει τον πληθυσμό του στα δείγματα τα οποία μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 . Τέλος, στον ταμιευτήρα ανιχνεύθηκε και ένα είδος χλωρόφυτου, το *Monoraphidium* του οποίου η βιομάζα μέχρι το τέλος του πειράματος παρουσίασε στα δείγματα ελέγχου μια αύξηση (από 0,014 σε 0,032 mg/ L) ενώ σε αντιδιαστολή, 5 ώρες μετά την εισαγωγή του H_2O_2 η βιομάζα του αυξήθηκε σε 0,029 mg/ L ($P < 0.05$, $F = 56.47$). Η αύξησή του συνεχίστηκε και την τρίτη ημέρα στα δείγματα με το H_2O_2 , ενώ (0,055 mg/ L) μειώθηκε στα 0,0038 mg/ L με το πέρας της πειραματικής διαδικασίας (Εικόνα 24E). Από τα παραπάνω

προκύπτει ότι η εισαγωγή του H₂O₂ μείωσε αρκετά τη βιομάζα όλων των κυανοβακτηριακών ειδών που ανιχνεύθηκαν στο μικροσκόπιο μέχρι το τέλος του πειράματος συγκριτικά με αυτή που μετρήθηκε από το δείγμα ελέγχου.

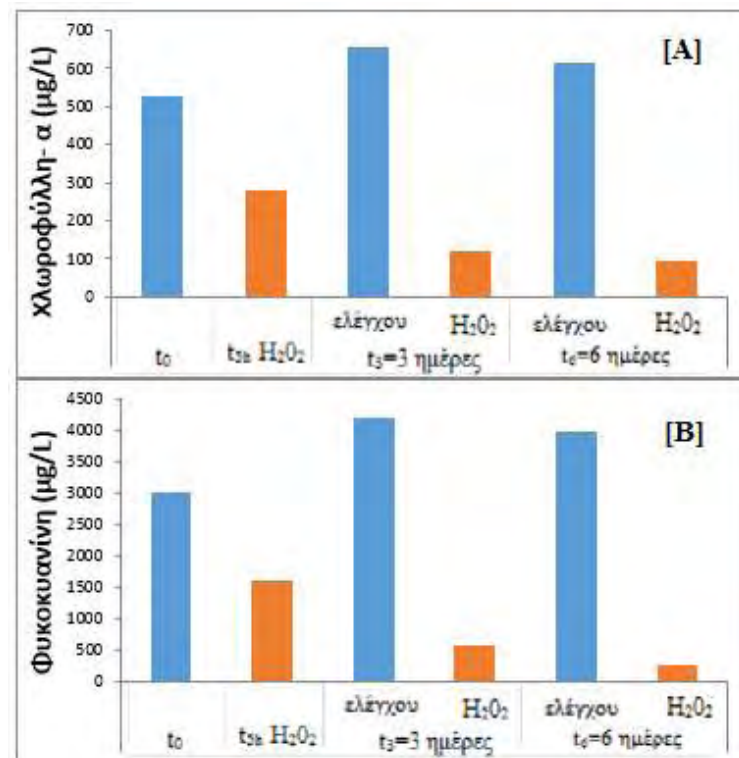


Εικόνα 24: Δυναμική της βιομάζας των φυτοπλαγκτονικών ειδών του Ταμιευτήρα Κάρλας στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H₂O₂: α) Cylindrospermopsis raciborskii, β) Anabaena aphanizomenonoides και Aphanizomenon favaloroi, γ) Planktolyngbya limnetica, δ) Chroococcus, ε) Monoraphidium (χλωροφύτο). Biomass dynamics of phytoplankton species of the Karla reservoir in the control samples and samples treated with H₂O₂: α) Cylindrospermopsis raciborskii, β) Anabaena aphanizomenonoides και Aphanizomenon favaloroi, γ) Planktolyngbya limnetica, δ) Chroococcus, ε) Monoraphidium (chlorophyte). (Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)

5.1.2 Δυναμική φυτοχρωστικών

Η συγκέντρωση και των δύο χρωστικών στα δείγματα ελέγχου σημείωσε αύξηση μέχρι την 3^η ημέρα του πειράματος όπου από εκεί και πέρα μειώθηκε σταδιακά έως την 6^η ημέρα. Στον αντίποδα, στα δείγματα που φέραν H₂O₂, οι συγκεντρώσεις της χλωροφύλλης- α αλλά και της φυκοκυανίνης μειώθηκαν σημαντικά μέχρι την 6^η ημέρα φτάνοντας σε τελική συγκέντρωση ιδιαίτερα μικρότερη σχετικά με αυτή που

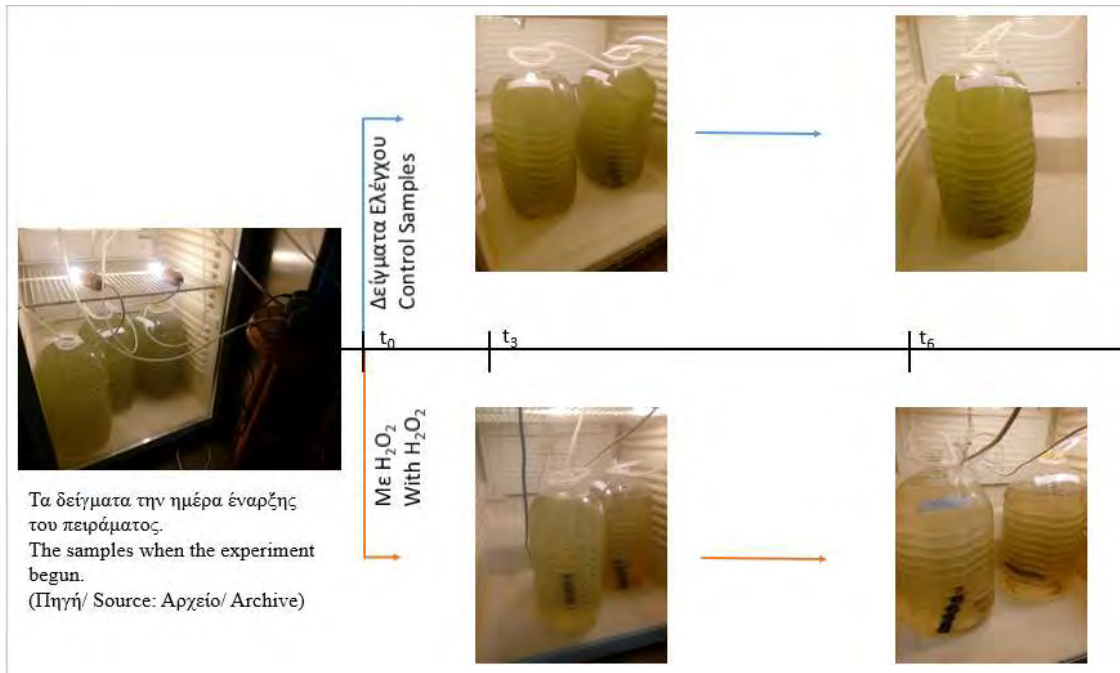
παρατηρήθηκε στο δείγμα ελέγχου για την ίδια χρονική στιγμή ($P < 0.05$, $F = 91.34$). Αυτά τα αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του μικροσκοπίου που παρουσιάστηκαν παραπάνω. Η δυναμική των χρωστικών φαίνεται και στο σχεδιάγραμμα της *Εικόνας 25* που δείχνει την οπτική διαφορά του χρώματος του νερού ανάμεσα στα δείγματα ελέγχου και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 . Είναι ξεκάθαρο ότι η εισαγωγή του H_2O_2 μειώνει σταδιακά το κυανοπράσινο χρώμα του νερού που επικρατεί στα δείγματα ελέγχου (*Εικόνα 25*).



Εικόνα 25: Δυναμική φωτοχρωστικών α) χλωροφύλλης-α, β)φυκοκυανίνης στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 .

Photochromic Dynamic of a) chlorophyll-a, β) phycocyanin in the control samples and the samples treated with H_2O_2 .

(Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)



Εικόνα 26: Οπτική διαφορά χρώματος των δειγμάτων αναφοράς και των δειγμάτων που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 , κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Visual color difference of control samples and samples treated with H_2O_2 during the experiment.

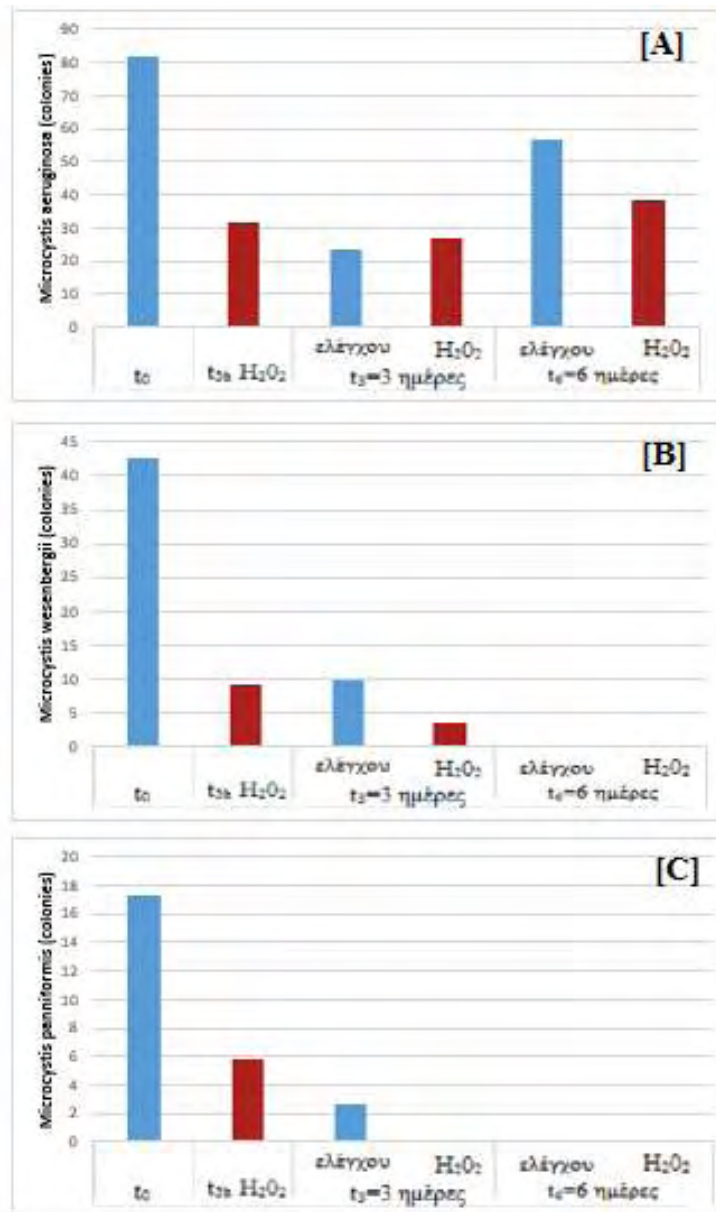
(Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)

5.2 Επίδραση υπεροξειδίου του υδρογόνου στο νερό της Λίμνης Παμβώτιδας

5.2.1 Αποτελέσματα μικροσκοπικής ανάλυσης

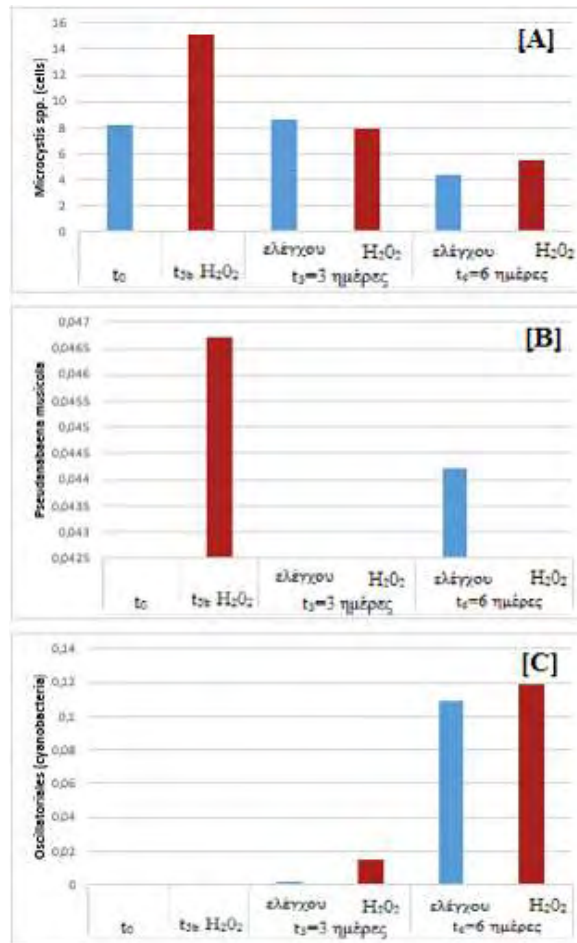
Στο φυτοπλαγκτό που εξετάστηκε μικροσκοπικά από το υδάτινο περιβάλλον της λίμνης Παμβώτιδας ανιχνεύθηκαν περισσότερα είδη μικροοργανισμών (Εικόνες 27-29). Αναλυτικότερα, τα αποτελέσματα από τα δείγματα ελέγχου την 1^η ημέρα του πειράματος έδειξαν αφθονία στις αποικίες του κυανοβακτηριακού γένους *Microcystis* και συγκεκριμένα για τα είδη *Microcystis Aeruginosa* (81,88 mg/ L), *Microcystis Wesenbergii* (42,61 mg/ L) και *Microcystis Panniformis* (17,35 mg/ L). Οι συγκεντρώσεις της βιομάζας των παραπάνω ειδών μειώθηκαν σε μεγάλο βαθμό μέχρι την 3^η ημέρα, στα δείγματα ελέγχου, το οποίο οφείλεται στο στρες που δέχθηκαν όλα τα είδη του φυτοπλαγκτού κατά τη μεταφορά τους από τα Ιωάννινα στο Βόλο. Στην υπόλοιπη διάρκεια του πειράματος, στα δείγματα αναφοράς το είδος *Microcystis aeruginosa* σημείωσε αύξηση (με τελική συγκέντρωση βιομάζας 56,62 mg/ L), το *Microcystis wesenbergii* ελλατώθηκε σημαντικά (0,32 mg/ L) ενώ το *Microcystis panniformis* αφανίστηκε. Στα δείγματα που περιείχαν H_2O_2 , στο

Microcystis aeruginosa παρατηρήθηκε δραστική μείωση της βιομάζας του 5 ὡρες μετά την εισαγωγή του H₂O₂ και στη συνέχεια σημειώθηκε μείωση ἔως την 3^η ἡμέρα ὅπου ἀπὸ ἐκεῖ και ὕστερα ἀυξήθηκε ἔως τη συγκέντρωση των 38,05 mg/ L την 6^η ἡμέρα (Εικόνα 27Α). Σε ἀντιδιαστολή, στα ὑπόλοιπα δύο κυανοβακτηριακά ἀποικιακά εἶδη η βιομάζα τους μειώθηκε με τάχιστους ρυθμούς ὥσπου οι ἀποικίες ἐξαφανίστηκαν μέχρι το τέλος του πειράματος (Εικόνες 27Β, 27C). Γενικότερα, ἐμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη βιομάζα των παραπάνω κυανοβακτηρίων, ἀνάμεσα στα δείγματα ἀναφοράς και στα δείγματα που εἰσήχθη H₂O₂ (P<0.05, F=46.13).



Εικόνα 27: Δυναμική της βιομάζας των ειδών του κυανοβακτηριακού γένους Microcystis της Λίμνης Παμβώτιδας στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H₂O₂: α) Microcystis Aeruginosa, b) Microcystis Wesenbergii, c) Microcystis Panniformis. Biomass Dynamics of the Cyanobacterial Microcystis species of Pamvotis Lake in the control samples and the samples treated with H₂O₂. a) Microcystis Aeruginosa, b) Microcystis Wesenbergii, c) Microcystis Panniformis. (Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)

Εν συνεχεία, στο οικοσύστημα της λίμνης ανιχνεύθηκαν επίσης τα μονήρη κυανοβακτηριακά είδη *Microcystis spp.*, και τα κυανοβακτηριακά είδη *Pseudanabaena musicola* και *Oscillatoriales sp.* Από αυτά, τα *Microcystis spp.* ανιχνεύθηκαν στο δείγμα ελέγχου τη χρονική στιγμή t_0 με συγκέντρωση βιομάζας 8,17 mg/ L, και σημείωσαν μείωση μέχρι την τελική συγκέντρωση των 4,33 mg/ L την 6^η ημέρα, λόγω του στρες της μεταφοράς. Στα δείγματα με το H₂O₂ σημειώθηκε ταχεία αύξηση της βιομάζας των μεμονομένων κυττάρων *Microcystis spp* μόλις 5 ώρες μετά από την εισαγωγή του H₂O₂ (15,71 mg/ L) , ενώ στο τέλος του πειράματος η βιομάζα του μειώθηκε στα 5,52 mg/ L (Εικόνα 28Α). Στο πρίσμα των λοιπών κυανοβακτηριακών ειδών το μεν *Pseudanabaena musicola* εμφανίστηκε στα δείγματα ελέγχου μόνο την 6^η ημέρα σε ιδιαίτερα χαμηλή συγκέντρωση βιομάζας και στα δείγματα με H₂O₂ αναπτύχθηκε μόνο 5 ώρες μετά την προσθήκη του H₂O₂ και ύστερα η βιομάζα του μηδενίστηκε μέχρι το τέλος του πειράματος (Εικόνα 28Β). Το δε *Oscillatoriale sp.*, στα δείγματα ελέγχου εμφανίστηκε από την 3^η ημέρα με μια συγκέντρωση βιομάζας οριακά μηδενική (0,002 mg/ L), ποσότητα που αυξήθηκε μέχρι το πέρας του πειράματος παραμένοντας όμως σε χαμηλή συγκέντρωση (0,11 mg/ L). Όμοια συμπεριφορά παρουσίασε και στα δείγματα που είχαν μεταχειρισθεί με H₂O₂ (Εικόνα 28C). Εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη βιομάζα των παραπάνω κυανοβακτηρίων, ανάμεσα στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που εισάγαμε H₂O₂ (P<0.05, F=21.44)

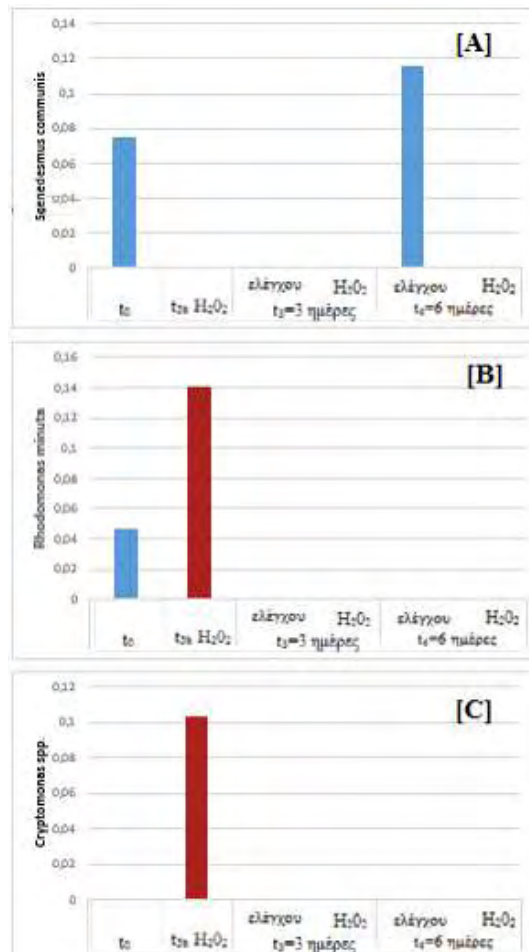


Εικόνα 28: Δυναμική της βιομάζας των Α) μεμονομένων κυττάρων των Microcystis sp, Β) Pseudanabaena musicola. και των Γ) Oscillatoriales sp. της Λίμνης Παμβώτιδας στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H₂O₂. Biomass dynamics of A) isolated cells of Microcystis sp, B) Pseudanabaena musicola. and C) Oscillatoriales sp. of Lake Pamvotis in the control samples and the samples treated with H₂O₂.

(Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)

Επίσης, στο φυτοπλαγκτό της Λίμνης Παμβώτιδας ανιχνεύθηκαν δύο είδη κρυπτόφυτων. Το ένα είναι το *Rhodomonas minuta* το οποίο σημειώθηκε μόνο στο δείγμα ελέγχου κατά τη χρονική στιγμή t₀ και στο δείγμα με το H₂O₂ 5 ώρες μετά την εισαγωγή του (Εικόνα 29B). Και στα δύο δείγματα που αναπτύχθηκε, η συγκέντρωση της βιομάζας του ήταν χαμηλή. Το άλλο κρυπτόφυτο που αναπτύχθηκε είναι το *Cryptomonas spp.* το οποίο παρουσιάστηκε μόνο 5 ώρες μετά την εισαγωγή του H₂O₂ στο δείγμα (Εικόνα 29C). Εκτός από τα κρυπτόφυτα, αναπτύχθηκε και ένα γλωρόφυτο, το *Scenedesmus communis* το οποίο βρισκόταν σε ιδιαίτερα χαμηλή συγκέντρωση όταν ξεκίνησε το πείραμα (0,08 mg/ L), μέχρι την 3^η ημέρα είχε μηδενική βιομάζα ενώ μέχρι το τέλος του πειράματος αναπτύχθηκε πάλι με μια συγκέντρωση βιομάζας 0,12 mg/ L (Εικόνα 29A). Δεν εμφανίστηκαν

στατιστικά σημαντικές διαφορές στη βιομάζα των παραπάνω φυτοπλακτονικών οργανισμών, ανάμεσα στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που εισήχθη H_2O_2 ($P>0.05$, $F=93.26$)



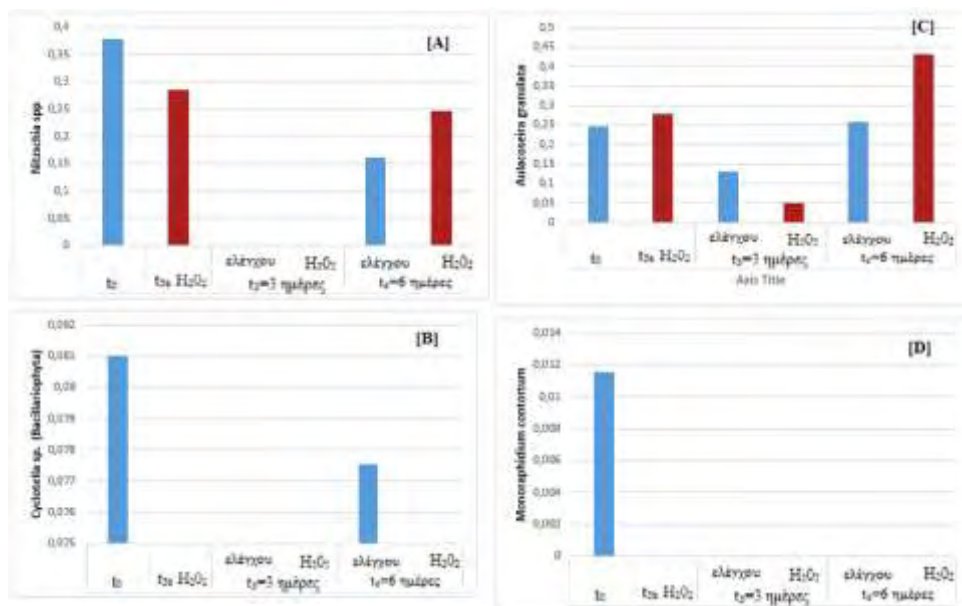
Εικόνα 29: Δυναμική της βιομάζας των κρυπτόφυτων A) Scenedesmus communis, B) Rhodomonas minuta, C) Cryptomonas spp. της Λίμνης Παμβώτιδας στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H_2O_2 .

Dynamic biomass of cryptophytes A) Scenedesmus communis, B) Rhodomonas minuta, C) Cryptomonas spp. of Lake Pamvotis in the control samples and the samples treated with H_2O_2 .

(Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)

Τέλος, στη Λίμνη Παμβώτιδα ανιχνεύθηκαν στο μικροσκόπιο σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις και άλλα είδη όπως: *Nitzschia spp.* (διάτομο), *Cyclotella sp.* (bacillariophyta), *Monoraphidium contortum* (chlorophyta) και *Aulacoseira granulate* (bacillariophyta). Οι αρχικές συγκεντρώσεις της βιομάζας στο δείγμα ελέγχου ήταν χαμηλές (0,38, 0,08, 0,01 και 0,24 mg/ L αντίστοιχα) ενώ στη συνέχεια

το *Monoraphidium contortum* μείωσε στο μηδέν τη βιομάζα του και δεν εμφανίστηκε σε άλλο δείγμα (Εικόνα 30D). Το είδος *Cyclotella sp.* μηδένισε τη βιομάζα του μέχρι την 3^η ημέρα στο δείγμα ελέγχου, ενώ αναπτύχθηκε σε μια συγκέντρωση βιομάζας της τάξης του 0,077 mg/ L μέχρι την 6^η ημέρα και δεν ανιχνεύθηκε καμία στιγμή στα δείγματα με H₂O₂ (Εικόνα 30B). Παρόμοια συμπεριφορά παρουσίασε και το διάτομο *Nitzschia spp.* με τη διαφοροποίηση ότι στα δείγματα με H₂O₂ παρουσιάστηκε 5 ώρες μετά την εισαγωγή του H₂O₂ (Εικόνα 30A). Τέλος, το είδος *Aulacoseira granulata*, στα δείγματα ελέγχου σημείωσε μείωση κατά 50% μέχρι την 3^η ημέρα, ποσοστό που ανακτήθηκε έως το πέρας του πειράματος. Η συγκέντρωση της βιομάζας αυξήθηκε κατά 0,032 mg/ L 5 ώρες ύστερα από την εισαγωγή του H₂O₂ στο δείγμα και μέχρι την 3^η ημέρα είχε μειωθεί σε μεγάλο βαθμό. Στο τέλος του πειράματος διαμορφώθηκε σε μια συγκέντρωση βιομάζας σχεδόν διπλάσια από αυτή του δείγματος ελέγχου. Δεν εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη βιομάζα των παραπάνω φυτοπλακτονικών οργανισμών, ανάμεσα στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που εισήχθη H₂O₂ (P>0.05, F=58.37) (Εικόνα 30C).



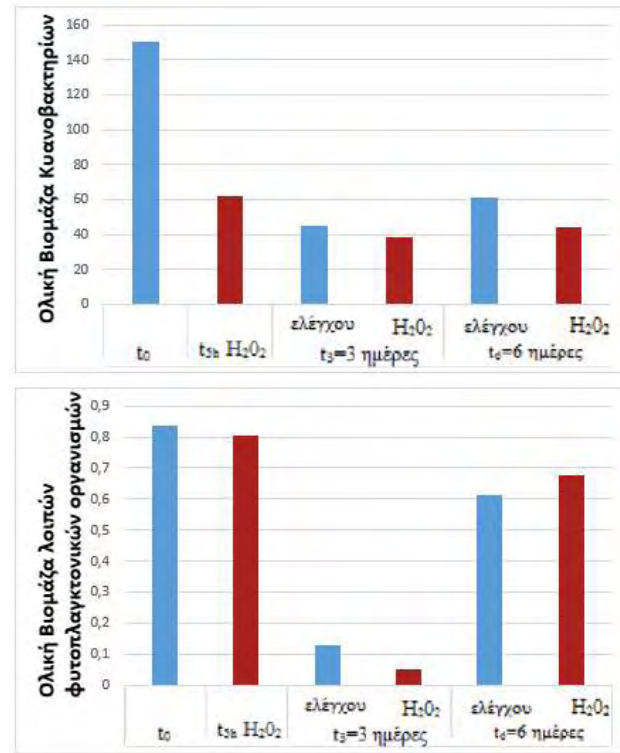
Εικόνα 30: Δυναμική βιομάζας των φυτοπλακτονικών οργανισμών A) *Nitzschia spp.*, B) *Cyclotella sp.*, C) *Aulacoseira granulata*, D) *Monoraphidium contortum* της Λίμνης Παμβώτιδας στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H₂O₂. Biomass dynamics of phytoplankton organisms A) *Nitzschia spp.* B) *Cyclotella sp.* C) *Aulacoseira granulata* D) *Monoraphidium contortum* of Pamvotis lake in the control samples and the samples treated with H₂O₂.

(Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)

5.2.2 Δυναμική φυτοχρωστικών

Και εδώ τα μικροσκοπικά αποτελέσματα παρουσιάζουν συμβατότητα με τα αποτελέσματα της δυναμικής της συγκέντρωσης των φωτοχρωστικών. Συγκεκριμένα, η χλωροφύλλη- α στα δείγματα ελέγχου έχει μια συγκέντρωση που μειώνεται μέχρι την 3^η ημέρα από 570 μg/ L σε 258 μg/ L ενώ στο τέλος του πειράματος σταθεροποιείται στα 321 μg/ L. Αντίστοιχη συμπεριφορά παρουσιάζουν και τα δείγματα στα οποία έχει γίνει εισαγωγή H₂O₂ (τελική συγκέντρωση βιομάζας 223 μg/ L) (Εικόνα 32Α). Όμοια συμπεριφορά φαίνεται να ακολουθεί και η ανάπτυξη της φυκοκυανίνης στα δείγματα με το H₂O₂ ενώ στα δείγματα ελέγχου, παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης μέχρι την 3^η ημέρα του πειράματος, αλλά μέχρι το τέλος του πειράματος η συγκέντρωση της τελικώς αυξήθηκε κατά 56 μg/ L (Εικόνα 32Β). Εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη δυναμική της χλωροφύλλης-α και της φυκοκυανίνης, ανάμεσα στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που εισάγαμε H₂O₂ (P<0.05, F=61.15), (P<0.05, F=39.03).

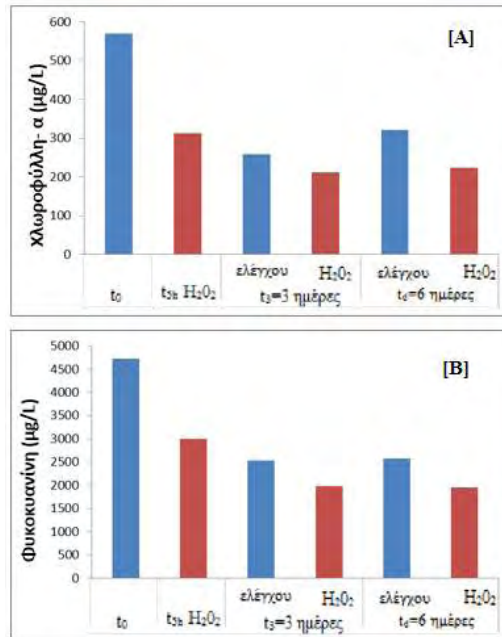
Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, διαφαίνεται και στα δείγματα της Λίμνης Παμβώτιδας η επιλεκτικότητα του H₂O₂ στα κυανοβακτήρια έναντι των λοιπών φυτοπλαγκτονικών οργανισμών αφού συνολικά η βιομάζα τους μειώνεται σε πολύ μεγαλύτερο βαθμό (Εικόνα 31). Για το λόγο αυτό με το πέρας του πειράματος παρατηρείται χαρακτηριστική μείωση του κυανοπράσινου χρώματος του νερού στα δείγματα με το H₂O₂ (Εικόνα 33).



Εικόνα 31: Δυναμική βιομάζας κυανοβακτηρίων (πάνω) και λοιπών φυτοπλαγκτονικών μικροοργανισμών (κάτω) της Λίμνης Παμβώτιδας στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H₂O₂.

Biomass dynamics of cyanobacteria (top) and other phytoplankton microorganisms (bottom) of Lake Pamvotis in the reference samples and samples treated with H₂O₂.

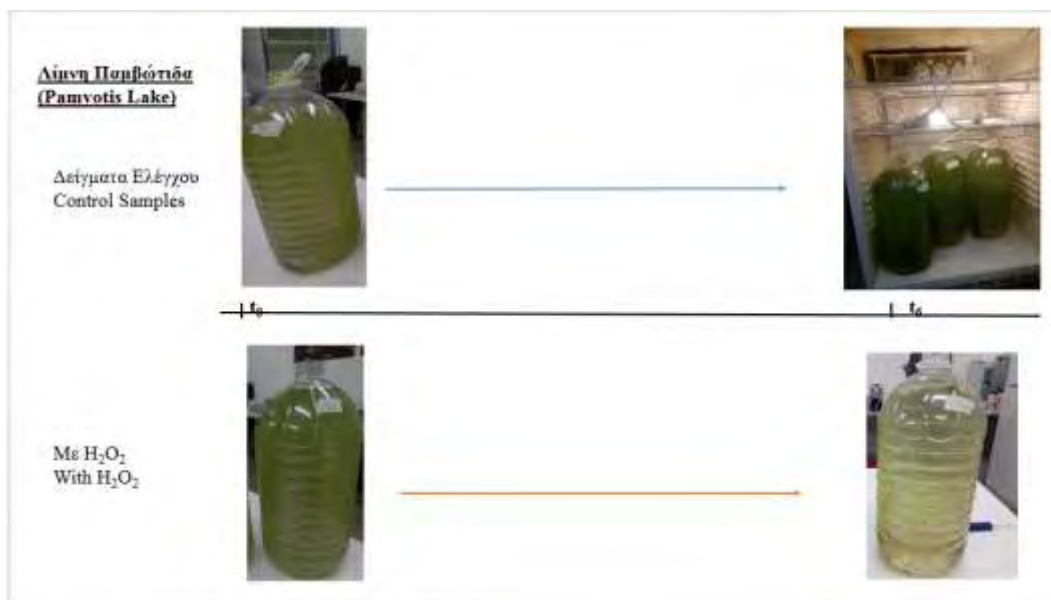
(Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)



Εικόνα 32: Δυναμική φωτοχρωστικών α) χλωροφύλλης-α, β)φυκοκυανίνης στα δείγματα αναφοράς και στα δείγματα που μεταχειρίστηκαν με H₂O₂.

Photochromic Dynamics of A) Chlorophyll-a, B) Phycocyanin in control samples and the samples treated with H₂O₂.

(Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)



Εικόνα 33: Οπτική διαφορά χρώματος των δειγμάτων αναφοράς και των δειγμάτων που μεταχειρίστηκαν με H₂O₂, κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Visual color difference of control samples and the samples treated with H₂O₂ during the experiment.

(Πηγή/ Source: Ιδία επεξεργασία/ Archive)

6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρουσία των κυανοβακτηρίων σε οικοσυστήματα γλυκών υδάτων αποτελεί πλέον έναν σοβαρό οικολογικό κίνδυνο και ταυτόχρονα κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία εξαιτίας των παραγόμενων τοξινών, όπως οι μικροκυστίνες και οι σαξιτοξίνες (El-Shehawy et al., 2012; Horst et al., 2014). Οι κυανοβακτηριακές τοξίνες μπορεί να έχουν αρνητικές επιπτώσεις σε άλλους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των πρωτόζωων, του φυτοπλαγκτού, των βακτηριδίων και του ζωοπλαγκτού, μειώνοντας τους ρυθμούς ανάπτυξης και προκαλώντας θάνατο (DeMott, 1999; Ghadouani et al., 2003, 2004; Martins et al., 2011). Επιπλέον, η άνθηση των κυανοβακτηρίων έχει αποδειχθεί ότι επιφέρει σοβαρά προβλήματα στη λειτουργία των υδάτινων οικοσυστημάτων, τα οποία συνδέονται με τη μείωση του διαλυμένου οξυγόνου και με τη μείωση της διαθεσιμότητας του φωτός στους φυτοπλαγκτονικούς οργανισμούς. Επομένως, κρίνεται απαραίτητη η ανάπτυξη μιας φιλικής προς το περιβάλλον τεχνικής μείωσης του πληθυσμού των κυανοβακτηρίων των υδάτινων οικοσυστημάτων. Η εισαγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου (μέθοδος HP) είναι μια αναδυόμενη περιβαλλοντικά φιλική αλλά αποτελεσματική μέθοδος για τον έλεγχο τους (Xu et al., 2007; Matthijs et al., 2012; Fan et al., 2013). Αρκετές μελέτες επιβεβαιώνουν ότι το H_2O_2 μπορεί να συμβάλλει στην αποτελεσματική μείωση διαφόρων ειδών κυανοβακτηρίων (Barrington and Ghadouani, 2008; Matthijs et al., 2011, 2012; Qian et al., 2010, 2012; Rositano et al., 1998; Cornish et al., 2000; Drabková et al., 2007).

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήσαμε μια σειρά πειραμάτων εισαγωγής υπεροξειδίου του υδρογόνου σε δείγματα από τον ταμιευτήρα της Κάρλας καθώς και από τη λίμνη Παμβώτιδα, με σκοπό να ελεγχθεί η δράση του στη βιομάζα των φυτοπλαγκτονικών οργανισμών των οικοσυστημάτων αυτών, με έμφαση στα κυανοβακτήρια. Η επιλογή του υπεροξειδίου του υδρογόνου έγινε καθώς αποτελεί φυσικό συστατικό στο υδάτινο περιβάλλον (Häkkinen et al., 2004), το οποίο είναι παραπροϊόν της φωτοσύνθεσης κατά την έκθεση σε υψηλή ακτινοβολία (Drabkova et al., 2007). Επιπλέον το H_2O_2 , δεν συσσωρεύεται στο περιβάλλον λόγω της ταχείας αποσύνθεσης μέσω βιολογικών, χημικών και φωτοχημικών μηχανισμών (Cooper et al., 1994; Drabková et al., 2007). Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν τη χρήση του υπεροξειδίου του υδρογόνου ως πιθανή μέθοδο (σε ελεγχόμενες συγκεντρώσεις) εξυγίανσης των ευτροφικών συνθηκών σε περιοχές που εντάσσονται στο δίκτυο

Natura 2000², όπως ο Ταμιευτήρας της Κάρλας και η Λίμνη Παμβώτιδα τις οποίες επιλέξαμε να ερευνήσουμε.

Το H₂O₂ είναι ένας πολύ γνωστός παράγοντας με ισχυρή οξειδωτική ικανότητα, ο οποίος χρησιμοποιείται συνήθως στην απολύμανση και την επεξεργασία νερού (Wang et al., 2000). Ο τρόπος τοξικής δράσης του H₂O₂ είναι ο σχηματισμός ριζών υδροξυλίου και η επακόλουθη οξείδωση βιομορίων (Ruszel, 2003). Παρόλο που πρόσφατες έρευνες υποδηλώνουν ότι μερικοί ειδικοί μηχανισμοί εμπλέκονται στη μεταφορά H₂O₂ μέσω μεμβρανών (Bienert et al., 2006), το H₂O₂ αναφέρθηκε ότι είναι πολύ κινητό στις μεμβράνες και διαχέεται σε ένα ευάλωτο μέρος μέσα στο κύτταρο (Florence, 1984). Το H₂O₂ αρχικά επηρεάζει τη σύνθεση μιας φυτοπλακτονικής κοινότητας σκοτώνοντας κυανοβακτήρια από υδατικά δείγματα λιμνών και δευτερευόντως διευκολύνει την ανάπτυξη του ευκαριωτικού φυτοπλακτού. Η αποτελεσματικότητα του H₂O₂ εξαρτάται από τη συγκέντρωση της βιομάζας του φυτοπλακτού στο αρχικό δείγμα. Η εισαγωγή του H₂O₂ πιθανώς καταπολεμεί επιτυχώς τα κυανοβακτήρια σε μια φυτοπλακτονική κοινότητα αλλά, επιπλέον, επιτελώντας αυτή τη διαδικασία, πιθανόν υποστηρίζει τον καθολισμό των ευκαριωτικών φυτοπλακτονικών ειδών, οι οποίοι αυξάνουν σημαντικά τη βιοποικιλότητα και μπορούν να στηρίξουν τις προσπάθειες για την ανάκτηση της υγείας του οικοσυστήματος (Weenink et al., 2015).

Κατά τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας, επιλέξαμε τη συγκέντρωση 5mg/L H₂O₂ ως την κατάλληλη συγκέντρωση H₂O₂ για τη μείωση των κυανοβακτηρίων. Η συγκεκριμένη συγκέντρωση του H₂O₂, επιλέχθηκε διότι εργαστηριακά πειράματα των Papadimitriou et al., (2016) απέδειξαν ότι είναι αποδοτική στη μείωση της φυκοκυανίνης σε δείγματα νερού από τον Ταμιευτήρα της Κάρλας. Σύμφωνα με την παγκόσμια βιβλιογραφία η αποτελεσματική δόση του H₂O₂ ποικίλει από 0.3 έως 5 mg/L, ανάλογα με τα ιδιαίτερα είδη κυανοβακτηρίων, τα στελέχη (μονοκύτταροι ή αποικίες), συνθήκες (εργαστηριακά ή φυσικά περιβάλλοντα) και την ένταση του φωτός. Η γνώση του βιολογικού και χημικού ρυθμού αποικοδόμησης του H₂O₂ είναι απαραίτητη για τον προσδιορισμό της κατάλληλης δόσης που πρέπει να προστεθεί στο νερό για την αποτελεσματική θανάτωση των κυανοβακτηρίων. Οι Bauzá et al. (2014) παρατήρησαν ότι τα 3,33 mg/L H₂O₂ θα μπορούσαν να οδηγήσουν στην κατάρρευση των κυανοβακτηριακών κυττάρων που απαντώνται φυσικά σε μια ρηχή λίμνη. Οι Matthijs et al. (2012) υποστήριξαν ότι η συγκέντρωση των 2,5 mg /L H₂O₂ ήταν αποτελεσματική κατά των κυανοβακτηρίων σε μια ευτροφική λίμνη, ενώ η υψηλότερη συγκέντρωση παρουσίαζε μόνο μικρές βελτιώσεις. Τέλος, οι Weenink et al (2015) ανέφεραν ότι

² Το Ευρωπαϊκό οικολογικό δίκτυο Natura 2000 είναι ένα δίκτυο ζωνών προστασίας που έχει ως στόχο να διασφαλίσει τη μακροπρόθεσμη διατήρησή των πιο πολύτιμων και των πλέον απειλούμενων ειδών και ενδιαιτημάτων της σε ικανοποιητικό επίπεδο.

δεν θεωρείται επιτρεπτή η αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης του H_2O_2 πάνω από 5 mg/ L γιατί ακόμη και σε σύντομη έκθεση του H_2O_2 στο νερό διακινδυνεύεται βλάβη σε άλλους υδρόβιους οργανισμούς (π.χ. ζωοπλαγκτόν).

Τα αποτελέσματα που λάβαμε ύστερα από την μικροσκοπική ανάλυση των δειγμάτων, έδειξαν συνολική μείωση των κυανοβακτηριακών ειδών τόσο στον Ταμιευτήρα της Κάρλας όσο και στη Λίμνη Παμβώτιδα. Αναλυτικότερα, στον ταμιευτήρα της Κάρλας παρουσιάστηκε μείωση της βιομάζας όλων των κυανοβακτηριακών ειδών που εντοπίστηκαν (*Anabaena aphanizomenonoides*, *Aphanizomenon favaloroi*, *Chroococcus*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Planktolyngbya limnetica*). Στον ταμιευτήρα εντοπίστηκαν, επίσης, τα είδη *Planktothrix* και *Anabaenopsis* τα οποία είχαν πολύ μικρότερη βιομάζα σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη, αλλά παρέμειναν μέχρι και την 6^η ημέρα της πειραματικής διαδικασίας. Τα κυανοβακτήρια *Anabaena aphanizomenonoides*, *Aphanizomenon favaloroi* παρουσίασαν αφενός μείωση σε αριθμό, όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, και αφετέρου μείωση του μεγέθους των νημάτων τους. Στο είδος *Planktolyngbya limnetica* παρατηρήθηκε μηδενισμός της συγκέντρωσης 5 ώρες μετά την εισαγωγή του H_2O_2 , ενώ στη συνέχεια αύξηση την 3^η μέρα του πειράματος στα δείγματα με H_2O_2 . Αυτό οφείλεται στην ικανότητα που έχουν αναπτύξει τα κυανοβακτήρια να παίρνουν κατάλληλες μορφές που τους επιτρέπουν να επιβιώνουν και να πολλαπλασιάζονται εκ νέου όταν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές για αυτά.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον στον τρόπο αντίδρασης μετά την εισαγωγή του H_2O_2 , παρουσίασε το είδος *Cylindrospermopsis raciborskii*, του οποίου η συγκέντρωση την 3^η μέρα μετά την εισαγωγή του H_2O_2 μηδενίστηκε εντελώς, ενώ αρχικά (στα δείγματα control) ανερχόταν στα 20 mg/L. Καταλήγουμε, λοιπόν, στο συμπέρασμα ότι το H_2O_2 επιδρά με διαφορετικό ρυθμό στο κάθε κυανοβακτηριακό είδος καθώς, μετά την εισαγωγή του, παρατηρούμε μηδενισμό της συγκέντρωσης του *Cylindrospermopsis raciborskii*, εν αντιθέσει με τα υπόλοιπα είδη στα οποία υφίσταται μερική μείωση της βιομάζας τους.

Τέλος, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων μας, η βιομάζα του χλωροφύκου *Monoraphidium*, τρεις μέρες μετά την επίδραση του υπεροξειδίου του υδρογόνου αυξήθηκε και μάλιστα η αύξηση ήταν μεγαλύτερη από την αντίστοιχη αύξηση στα δείγματα control. Εντούτοις, μετά τις 6 μέρες η βιομάζα του μειώνεται και στα δείγματα control και στα δείγματα στα οποία εισάγαμε το H_2O_2 . Αυτή η μείωση πιθανώς να οφείλεται στη μείωση των θρεπτικών συστατικών (καθώς τα δείγματα αποτελούν ένα κλειστό σύστημα στο οποίο τα θρεπτικά συστατικά δεν ανανεώνονται).

Αναφορικά με την Λίμνη Παμβώτιδα, εντοπίσαμε διαφορετικά είδη κυανοβακτηρίων, στα οποία περιλαμβάνονταν αρκετά είδη του γένους *Microcystis*, σε μορφή μονήρων κυττάρων (cells) και σε μορφή αποικιών (colonies). Τα

κυανοβακτήρια αυτά αποτελούν την μεγαλύτερη, πιο ποικιλόμορφη και ευρύτερα εξαπλωμένη ομάδα φωτοσυνθετικών προκαρυωτικών οργανισμών στον πλανήτη. Η εισαγωγή του H_2O_2 στη λίμνη μείωσε την συγκέντρωση των κυανοβακτηρίων (*Microcystis spp.*, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis wesenbergii*, *Microcystis panniformis*, *Pseudanabaena musicola*, *Oscillatoriales*) σε μεγαλύτερο βαθμό από τους υπόλοιπους φυτοπλαγκτονικούς οργανισμούς (*Nitzschia spp.*, *Cyclotella sp.*, *Scenedesmus communis*, *Monoraphidium contortum*, *Rhodomonas minuta*, *Aulacoseira granulata*, *Cryptomonas spp.*). Αυτό επιβεβαιώνεται από τα διαγράμματα ολικής βιομάζας κυανοβακτηρίων και ολικής βιομάζας λοιπών φυτοπλαγκτονικών οργανισμών. Στη Λίμνη Παμβώτιδα όπως και στον Ταμιευτήρα της Κάρλας, παρατηρήθηκε επιλεκτικότητα του H_2O_2 ανάμεσα σε διαφορετικά είδη κυανοβακτηρίων, καθώς τα είδη *Microcystis wesenbergii* και *Microcystis panniformis* της Λίμνης Παμβώτιδας, εξαφανίστηκαν από τα δείγματα στο τέλος του πειράματος. Επιπλέον, παρατηρήσαμε ότι το H_2O_2 παρουσίασε επιλεκτική δράση ανάμεσα σε αποικίες κυανοβακτηρίων και μονήρη κύτταρα.

Τα μικροσκοπικά αποτελέσματα των πειραμάτων μας συμφωνούν με τα αποτελέσματα των φωτοχρωστικών. Η φυκοκυανίνη είναι η χαρακτηριστική χρωστική των κυανοβακτηρίων (Fogg et al., 1973) και έχει χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση του κυανοβακτηριακού βιολογικού όγκου από τις λίμνες και τις δεξαμενές γλυκού νερού που περιέχουν ποικίλες συγκεντρώσεις φυτοπλαγκτού (Kasinak et al., 2015). Η χλωροφύλλη-α χρησιμοποιείται ως αντιπροσωπευτική ουσία για τη συνολική βιομάζα φυτοπλαγκτού (Rowan 1989). Η σημαντική μείωση της φυκοκυανίνης που βρέθηκε στα πειράματά μας μπορεί να εξηγηθεί από την αρνητική επίδραση του H_2O_2 στις φυσιολογικές διεργασίες των κυανοβακτηρίων (Papadimitriou et al., 2016). Οι Qian et al. (2010) έδειξαν ότι το H_2O_2 ανέστειλε την ανάπτυξη του *M. Aeruginosa* παρεμποδίζοντας τη μεταγραφή γονιδίων που σχετίζονται με τη φωτοσύνθεση ή την καταστροφή των φωτοσυνθετικών χρωστικών. Άλλοι υποθέτουν ότι το H_2O_2 μπορεί να επηρεάσει τα κύτταρα κυανοβακτηρίων παράγοντας ρίζες υδροξυλίου και υδροϋπεροξυλίου που εμποδίζουν τη φωτοσυνθετική μεταφορά ηλεκτρονίων (Samuilov et al., 2004, Drabkova et al., 2007). Τέλος, οι Qian et al. (2012) απέδειξαν ότι το H_2O_2 αναστέλλει την ανάπτυξη του *M. aeruginosa* επηρεάζοντας τα επίπεδα μεταγραφής των κερκαδικών γονιδίων.

Το πρώτο συμπέρασμα το οποίο εξήχθη από τη μελέτη μας, δηλαδή η επιλεκτική δράση του υπεροξειδίου του υδρογόνου στα κυανοβακτήρια έναντι των χλωρόφυτων επιβεβαιώνεται και από άλλες έρευνες στην παγκόσμια βιβλιογραφία. Οι Drabkova et al. (2007) διερεύνησαν τη φωτοσυνθετική απόδοση της καλλιέργειας ενός κυανοβακτηρίου (*Microcystis aeruginosa*), ενός χλωρόφυτου (*Pseudokirchneriella subcapitata*) και ενός διατόμου (*Navicula seminulum*) τρεις ώρες μετά την προσθήκη H_2O_2 και ανέφεραν ότι, αν και η φθορά ήταν εμφανής για τις ομάδες χλωροφύτων και διατόμων, ήταν πολύ πιο γρήγορη για τα κυανοβακτήρια. Οι Matthijs et al.,

(2011) εισήγαγαν 2 mg H₂O₂/ L σε μικρή περιοχή μιας εὐτροφής λίμνης και παρατήρησαν, μείωση της βιομάζας των κυανοβακτηρίων ενώ το ευκαρυωτικό φυτοπλαγκτόν παρέμεινε σε μεγάλο βαθμό ανεπηρέαστο. Οι Barrington and Ghadouani (2008) παρατήρησαν, επίσης, υψηλότερους ρυθμούς αποικοδόμησης των κυανοβακτηρίων σε σχέση με άλλους φυτοπλαγκτονικούς οργανισμούς όταν τα δείγματά τους υποβάλλονταν σε επεξεργασία με παρόμοιες συγκεντρώσεις H₂O₂, αποδεικνύοντας έτσι ότι τα κυανοβακτήρια επηρεάζονται ευκολότερα από το H₂O₂ από τα υπόλοιπα είδη του φυτοπλαγκτού, συμπέρασμα που διεξήχθη και από τους Barrington et al. (2013). Το 2009 σε μια λίμνη με έντονη κυανοβακτηριακή άνθιση όπου κυριαρχούσε το *Planktithrix agardhii* δοκιμάστηκε επιτυχώς η μέθοδος του-H₂O₂ μεσυγκέντρωση 2,3 mg/l H₂O₂. (Matthijs et al; 2012). Μέσα σε λίγες μέρες τόσο ο κυανοβακτηριακός πληθυσμός όσο και η συγκέντρωση των μικροκυστίνων ελαττώθηκαν κατά 99%. Η κυανοβακτηριακή βιομάζα παρέμεινε ιδιαίτερα χαμηλή έως και επτά εβδομάδες μετά την θεραπεία, χρόνος αρκετά μεγαλύτερος από τον αρχικά εκτιμώμενο (Matthijs et al., 2012). Σε παρόμοια αποτελέσματα έχουν καταλήξει, τέλος, οι Papadimitriou et al. (2016), Barroin & Feuillade (1986), Latifi et al. (2009) και Weenink et al. (2015).

Η εξήγηση για την επιλεκτική δράση του υπεροξειδίου του υδρογόνου στα κυανοβακτήρια έναντι των υπόλοιπων φυτοπλαγκτονικών ομάδων πιθανώς οφείλεται σε δυο βασικές αιτίες.. Αρχικά, τα προκαρυωτικά κυανοβακτήρια είναι περισσότερο ευάλωτα στο H₂O₂ σε σχέση με τα ευκαρυωτικά χλωρόφυτα, διάτομα, και κρυπτόφυτα λόγω της έλλειψης κυτταρικών μεμβρανών γύρω από το κυτταρικά οργανίδια (Barroin & Feuillade, 1986). Συγκεκριμένα, τα κυανοβακτηριακά θυλακοειδή βρίσκονται κοντά στην κυτταροπλασματική μεμβράνη που δεν είναι οργανωμένη σε χλωροπλάστες, η οποία, καθιστά την φωτοσυνθετική κυανοβακτηριακή λειτουργία πιο ευαίσθητη σε εξωτερική επίθεση από H₂O₂ (Drabkova et al., 2007). Πρόσφατα στοιχεία υποδηλώνουν ότι τα κυανοβακτήρια, σε αντίθεση με το ευκαρυωτικό φυτοπλαγκτόν, δεν παράγουν H₂O₂ ως παραπροϊόν της φωτοσυνθετικής διαδικασίας και επομένως να μην χρειάζεται να έχουν φυσικούς μηχανισμούς προστασίας σε αυτό. Όταν τα ανώτερα φυτά και τα χλωρόφυτα εκτίθενται σε υψηλή ηλιακή ακτινοβολία, το H₂O₂ παράγεται σαν βιολογικό παραπροϊόν της φωτοσύνθεσης (Asada 2000, 2006; Apel and Hirt, 2004). Για το λόγο αυτό, οι οργανισμοί είναι εφοδιασμένοι με ένζυμα που μειώνουν το H₂O₂ και αποτρέπουν τη βλάβη από τα προϊόντα διάσπασης του H₂O₂ (Drabkova et al., 2007). Τα κυανοβακτήρια δεν έχουν το ένζυμο υπεροξειδάση του ασκορβικού άλατος (ascorbate peroxidase) που είναι κοινό σε πολλούς ευκαρυωτικούς φυτοπλαγκτόνικούς οργανισμούς (Passardi et al., 2007). Στα χλωρόφυτα, το εξωτερικά προστιθέμενο H₂O₂ αποικοδομείται γρήγορα από την υπεροξειδάση του ασκορβικού άλατος σε άλλα μέρη του κυττάρου προτού φθάσει στα ευαίσθητα μέρη

της φωτοσυνθετικής μονάδας σε επαρκή συγκέντρωση, προσδίδοντας τους ανθεκτικότητα στο H_2O_2 .

Το κυριότερο συμπέρασμα που εξήχθη μετά από την μικροσκοπική ανάλυση των δειγμάτων από τον Ταμιευτήρα της Κάρλας και τη Λίμνη Παμβώτιδα, είναι η περαιτέρω επιλεκτικότητα που παρουσίασε το H_2O_2 ανάμεσα στα διαφορετικά είδη κυανοβακτηρίων και κυρίως στα κυρίαρχα νηματοειδή και σε ένα πικοπλαγκτικό κοκκοειδές. Το συγκεκριμένο συμπέρασμα δεν έχει αναφερθεί στη μέχρι τώρα παγκόσμια βιβλιογραφία και ως εκ τούτου δεν είναι συγκρίσιμο με προγενέστερες έρευνες. Οι λόγοι αυτής της επιλεκτικότητας πιθανώς να σχετίζονται με τους διαφορετικούς μηχανισμούς προστασίας από το υπεροξείδιο του υδρογόνου που ενδεχομένως να εμφανίζουν τα διαφορετικά κυανοβακτηριακά είδη. Παρόλα αυτά για την επιβεβαίωση αυτής της υπόθεσης χρειάζονται μια σειρά από μελέτες γενετικού ενδιαφέροντος.

Εν κατακλείδι, η εφαρμογή H_2O_2 συμβάλλει αποτελεσματικά στη μείωση των κυανοβακτηριακών ανθήσεων. Με τη μελέτη μας υποστηρίζουμε πως η μέθοδος αυτή μπορεί να εφαρμοστεί με επιτυχία αφενός σε φυσικές λίμνες και αφετέρου σε ταμιευτήρες, αφού βέβαια έχει προηγηθεί εργαστηριακή εφαρμογή της μεθόδου για κάθε υδάτινο οικοσύστημα, προκειμένου να αποφευχθούν δυσάρεστες συνέπειες σε άλλους οργανισμούς των υδάτινων οικοσυστημάτων. Επιπλέον, έχοντας επιβεβαιώσει την επιλεκτικότητα που παρουσιάζει το H_2O_2 ανάμεσα στα διαφορετικά κυανοβακτηριακά είδη, μπορούμε πλέον να μειώσουμε τη βιομάζα συγκεκριμένων κυανοβακτηριακών ανθήσεων. Για να καταστεί δυνατή η μόνιμη καταστολή των κυανοβακτηρίων, ορισμένες φορές απαιτείται επανειλημμένη εφαρμογή της μεθόδου για την αποφυγή ανάπτυξης ανανεωμένης κυριαρχίας κυανοβακτηρίων. Ωστόσο, οι συνέπειες των επαναλαμβανόμενων δοκιμών πρέπει να αξιολογηθούν προσεκτικά σε μελλοντικές δοκιμές μεγάλης κλίμακας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική βιβλιογραφία

Ζαλίδης Χ. Γ., Δημητριάδης Ξ. Π., Χατζηγιαννάκης Σ. Α., (1995): Ο ιδεότυπος της τέως λίμνης Κάρλας- Ως βάση αξιολόγησης των προταθείσων λύσεων κατασκευής του ομόνυμου ταμιευτήρα, Μουσείο Γουλανδρή Φυσικής Ιστορίας-Ελληνικό Κέντρο Βιοτόπων-Υγρότοπων.

Θεοδώρου Α.Ι., (1994): *Η υφιστάμενη κατάσταση του Σαρωνικού Κόλπου.* Γεωτεχνικά επιστημονικά θέματα. Τόμος 5. Τεύχος 2: 70-77

Καμαριανός Α., (1997): Υδατοκαλλιέργειες στο υδάτινο περιβάλλον. Γεωτεχνικά επιστημονικά θέματα. Τόμος 8: 70-77.

Κουσουρής Θ., Γ. Φώτης, Α. Διαπούλης, Η. Μπερταχάς, Ν. Νικολαΐδης και Κ. Γκριζάλης, (1991): Η εξυγίανση της λίμνης Καστοριάς. Θεωρητική εκτίμηση και πρακτική εφαρμογή. Γεωτεχνικά Επιστημονικά Θέματα. 2 (3):46-67.

Μούμου Χ. (2007): Η δράση των χειμάρρων της λεκάνης της Κάρλας σε φυσικό και ανθρωπογενές περιβάλλον. Διδακτορική διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 164.

Χορταργιάς Αθ., (2009): Λίμνη Κάρλα Ένα Από Τα Μεγαλύτερα Περιβαλλοντικά Έργα Στην Ευρώπη. Μέτρα για την Αντιμετώπιση της κλιματικής Αλλαγής. Τεχνικό Επιμελητήριο Ελλάδος, 19-22

Χριστόπουλος Α. (2009): Σχέδιο δράσης για τη Ζώνη Ειδικής Προστασίας «GR1430007 Περιοχή ταμιευτήρων πρώην Λίμνης Κάρλας». Πρόγραμμα επαναξιολόγησης 69 σημαντικών περιοχών για τα πουλιά για τον χαρακτηρισμό τους ως Ζωνών Ειδικής Προστασίας της Ορνιθοπανίδας, ΥΠΕΧΩΔΕ, 4-51

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

Anagnostidis K, Economou- Amilli A, Tafas T, (1988): Aphanizomenon sp. from Lake Trichonis, Hellas (Greece)- A taxonomic consideration in relation to morphological parameters. 529- 543

Ananiadis CI (1956): Limnological study of Lake Karla. Bulletin Del' Institut Oceanographique, 1083, 1-19

Anas Ghadouani A., Pinel-Alloul B., Prepas E. (2003): Effects of experimentally induced cyanobacterial blooms on crustacean zooplankton communities. *Freshwater Biology*, 48 (2) 363–381

Anas Ghadouani A., Pinel-Alloul B., Plath K., Geoffrey A. Codd G., Lampert W. (2004): Effects of *Microcystis aeruginosa* and purified microcystin-LR on the feeding behavior of *Daphnia pulicari*. *Limnology and Oceanography*, 49 (3), 666–679

Apel K, Hirt H (2004): Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol*, 55, 373–399

Asada K (2000): The water-watercycle as alternative photon and electron sinks. *Philos Trans R Soc Lond Ser B Biol Sci*, 355, 1419–1431

Asada K (2006): Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiol*, 141, 391–396

Barrington D., Ghadouani A. (2008): Application of Hydrogen Peroxide for the Removal of Toxic Cyanobacteria and Other Phytoplankton from Wastewater. *Aquatic Ecology and Ecosystem Studies*, 42, 8916–8921

Barrington D., Ghadouani A., Ivey G. (2011): Environmental Factors and the Application of Hydrogen Peroxide for the Removal of Toxic Cyanobacteria from Waste Stabilization Ponds. *Journal of environmental engineering*, 137, 952-960

Barrington D., Ghadouani A., Ivey G. (2013): Cyanobacterial and microcystins dynamics following the application of hydrogen peroxide to waste stabilisation ponds. *Hydrol. Earth Syst. Sci.*, 17, 2097–2105

Barroin, G., Feuillade, M. (1986): Hydrogen peroxide as a potential algicide for *Oscillatoria rubescens* D.C. *Water Res.* 20, 619-623.

Bartram J., Carmichael W.W., Chorus I., Jones G., Skulberg O.M. (1999): Introduction. In: *Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management.* (eds. Chorus I. & Bartram J.), WHO & E&FN Spon, London, 1-14

Bartzokas A, Metaxas D A, (1995): Factor Analysis of some climatological elements in Athens, 1931- 1992: covariability and climatic change, 52, (3- 4), 195-205

Bastien C, Cardin R, Veilleux É, Deblois C, Warren A, Laurion I (2011): Performance evaluation of phycocyanin probes for the monitoring of cyanobacteria. *Journal of Environmental Monitoring*, 13, 11–118

Bauzá L, Aguilera A, Ricardo E, Andrinolo D, Giannuzzi L (2014): Application of hydrogen peroxide to the control of eutrophic lake systems in laboratory assays. *Toxins (Basel)*, 6 (9), 2657–2675

- Bienert G.P., Schjoerring J.K., Jahn T.P. (2006):** Membrane transport of hydrogen peroxide. *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, 1758(8): 994-1003.
- Botsford LW, Castilla JC, Peterson CH (1997):** The Management of Fisheries and Marine Ecosystems. *Science*, 277(5325), 509-515
- Botsford LW, Castilla JC, Peterson CH (1997):** The Management of Fisheries and Marine Ecosystems. *Science*, 277, (5325), 509-515
- Browne R A, Cooke B M, (2005):** A comparative assessment of potential components of partial disease resistance to *Fusarium* head blight using a detached leaf assay of wheat, barley and oats, *Plant Pathology*, 112, (3), 247–258
- Carmichael WW (2001):** Health effects of toxin-producing cyanobacteria: “The CyanoHABs”. *Human and ecological risk assessment: An international Journal*, 72 (6), 1393-1407
- Carmichael WW (1992):** Cyanobacteria secondary metabolites-the cyanotoxins. *Journal of Applied Microbiology*, 72 (6), 445–459
- Carpenter S, Caraco N, Correll D, Howarth R, Sharpley A, Smith V (1998):** Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological applications*, 8 (3), 559–568
- Carpenter S, Cottingham K (1997):** Resilience and Restoration of Lakes. *Conservation ecology*
- Chapin FS, Walker BH, Hobbs RJ, Hooper DU, Lawton JH, Sala OE, Tilman D (1997):** Biotic Control over the Functioning of Ecosystems. *Science*, 277 (5325), 500-504
- Codd G A, Bell S G , Kaya K , Ward C J, Beattie K A, Metcalf J S, (1999):** Cyanobacterial toxins, exposure routes and human health, *Phycology*, 34, (4), 405-415
- Codd G, (2000):** Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control, *Ecological Engineering*, 16, (1), 51-60
- Codd M B, Sugrue D D, Gersh B J, Melton L J, (1989):** Epidemiology of idiopathic dilated and hypertrophic cardiomyopathy. A population-based study in Olmsted County, Minnesota, 1975-1984, 80, (3)
- Codd GA (2000):** Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. *Ecological engineering*, 16, (1), 51-60
- Cooke, G. D., Welch, E. B., Peterson, S. A., Nichols, S. A. (2005):** Restoration and Management of Lakes and Reservoirs. 3rd edition. Editor - Cooke, G.D., Taylor an Francis, Boca Raton, Florida. 591 p.

Cooper W.J., Shao C.W., Lean D.R.S., Gordon A.S., Scully F.E. (1994): Factors affecting the distribution of H₂O₂ in surface waters. In: Environmental Chemistry of Lakes and Reservoirs. American Chemical Society, 391

Cornish, B., Lawton, L.A., Robertson, P.K.J. (2000): Hydrogen peroxide enhanced photocatalytic oxidation of microcystin-LR using titanium dioxide. Appl. Catal. B 25, 59

DeMott W., Gulati R. (1999): Phosphorus limitation in Daphnia: Evidence from a long term study of three hypereutrophic Dutch lakes. Limnology and Oceanography, 44 (6), 1557–1564

DeMott, W.R. (1999): Foraging strategies and growth inhibition in five daphnids feeding on mixtures of a toxic cyanobacterium and a green alga. Freshw. Biol. 42, 263

Dobson AP, Bradshaw AD, Baker AJM (1997): Hopes for the Future: Restoration Ecology and Conservation Biology. *Science*, 277 (5325), 515-522

Dokulil MT, Teubner K (2000): Cyanobacterial dominance in lakes. Hydrobiologia, 438 (1–3), 1–12

Drábková M. (2007): Methods for control of the cyanobacterial blooms development in lakes. Dissertation thesis, Research Centre for Environmental Chemistry and Ecotoxicology.

Drábková M., Matthijs HCP, Admiraal W., Maršálek B (2007b): Selective effects of H₂O₂ on cyanobacterial photosynthesis. Photosynthetica, 45 (3), 363-369

Drábková, M., Admiraal, W., Marsálek, B. (2007a): Combined exposure to hydrogen peroxide and light – Selective effects on cyanobacteria, green algae, and diatoms. Environ. Sci. Technol. 41, 309

Duy T N, Lam P K S, Shaw G R, Connell D W, (2000): Toxicology and Risk Assessment of Freshwater Cyanobacterial (Blue-Green Algal) Toxins in Water, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 113-185

El-Shehawy R., E Gorokhova E., Fernandez-Pinas F., Campo F. (2012): Global warming and hepatotoxin production by cyanobacteria: What can we learn from experiments? Water Research, 46 (5), 1420-1429

Fan J., Ho L., Hobson P., Justin Brookes J. (2013): Evaluating the effectiveness of copper sulphate, chlorine, potassium permanganate, hydrogen peroxide and ozone on cyanobacterial cell integrity. Water Research, 47 (14), 5153-5164

Florence, T.M. (1984): The production of hydroxyl radical from hydrogen peroxide. J. Inorg. Biochem, 22, 221-230.

Fogg GE, Stewart WDP, Fay P, Walsby AE (1973): The bluegreen algae. Academic Press Inc. London, 459

Gao L., Pan X., Zhang D., Mu S., Lee D., Halik U. (2014): Extracellular polymeric substances buffer against the biocidal effect of H₂O₂ on the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Water research*, 6 9, 51-58

Gkelis S, Rajaniemi P, Vardaka E, Moustaka- Gouni M, Lanaras T, Sivonen K, (2005): *Limnothrix redekei* (Van Goor) Meffert (Cyanobacteria) Strains from Lake Kastoria, Greece Form a Separate Phylogenetic Group, 49, (1), 176-182

Gower A.M., (1980): Water Quality in Catchment Ecosystems. John Wiley and Sons, N.Y. Toronto. *Hydrobiologia*, 438, (1–3), 1–12

Guntherberg N, Weber M, Gruber F, Lindenschmidt G, (1999): Thermoplastic molding materials

Hakkinen P.J., Anesio A.M., Graneli W. (2004): Hydrogen peroxide distribution, production and decay in boreal lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 61(8), 1520-1527

Havens K. E., James R. T., East T. L., Smith V. H. (2003): N:P ratios, light limitation, and cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution, *Environmental Pollution*, 122, 379–390

Healy M. J. (1982): Ultrastructure of spermiogenesis of *Philippia* (*Psilaxis*) *oxytropis*, with special reference to the taxonomic position of the *architectonicidae* (*Gastropoda*), *Zoomorphology*, 101,(3) , 197–214

Huisman J (2012): Selective suppression of harmful cyanobacteria in an entire lake with hydrogen peroxide. *Water Res* 46:1460–1472

Huisman M, Kunst A, Bopp M, Borgan JK, Borrell C, Gadeyne S, Glickman M, Marinacci C, Minder C, Regidor E, Valkonen T, Mackenbach J, (2005): Educational inequalities in cause-specific mortality in middle-aged and older men and women in eight western European populations, *The Lancet*, 365, (9458), 493-500

Jeffrey S W, Humphrey G F, (1975): New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton, *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 167 (2), 191- 194

Jørgensen, S.E., Löffler, H., Rast, W., Straškraba, M. (2005): Lake and Reservoir Management. Serie - Development in water science 54. Elsevier. 502 p.

Jungo, E., Visser, P.M., Stroom, J., Mur, L.R. (2001): Artificial mixing to reduce growth of the blue-green alga *Microcystis* in Lake Nieuwe Meer, Amsterdam: an evaluation of 7 years experience. *Water Science and Technology: Water Supply*, 1, 17-23.

Kasinak J-ME, Holt BM, Chislock MF, Wilson AE (2015): Benchtop fluorometry of phycocyanin as a rapid approach for estimating cyanobacterial biovolume. *J Plankton Res*, 37 (1), 248–257

Katsiapi M, Moustaka- Gouni M, Michaloudi E, Kormas Ar, (2011): Phytoplankton and water quality in a Mediterranean drinking-water reservoir (Marathonas Reservoir, Greece), 181, (1- 4), 563- 575

Kilikidis S. D., J. E. Psomas, A. P. Kamarianos and A. G. Panetsos (1981): Monitoring of DDT, PCBs, and other organochlorine compounds in marine organisms from the North Aegean Sea, 26, (1), 496- 501

Latifi A, Ruiz M, Zhang CC (2009): Oxidative stress in cyanobacteria. *FEMS Microbiol Rev*, 33, 258–278

Lide DR (2008): CRC Handbook of Chemistry and Physics.

Lin B, Falconer R A, (1996): Numerical modelling of three-dimensional suspended sediment for estuarine and coastal waters, hydraulics on phycocyanin. *Process Biochem* 34:795–801

Loukas, A., Mylopoulos, N., Kokkinos, K., Sidiropoulos, P., Vasiliades, L. Liakopoulos A. (2008): The effect of spatial discretization in integrated modeling of surface and groundwater hydrology through OpenMI. International Interdisciplinary Conference on Predictions for Hydrology, Ecology and Water Resources Management – Using Data and Models to Benefit Society, Prague, Czech Republic.

Lu C., Lin C., Chang C., Wu S., Lo L. (2011): Nitrophenylboronic Acids as Highly Chemoselective Probes To Detect Hydrogen Peroxide in Foods and Agricultural Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 11403–11406

Martins, J., Peixe, L., Vasconcelos, V.M. (2011): Unraveling cyanobacteria ecology in wastewater treatment plants (WWTP). *Microbial Ecol.* 62, 241

Matson PA, Parton WJ, Power AG, Swift MJ (1997): Agricultural Intensification and Ecosystem Properties. *Science* , 277 (5325), 504-509

Matson PA, Parton WJ, Power AG, Swift MJ (1997): Agricultural Intensification and Ecosystem Properties. *Science*, 277, (5325), 504-509

Matthijs H., Visser P., Reeze B., Meeuse J., Slot P., Wijn G., Talens R.,

Huisman J. (2012): Selective suppression of harmful cyanobacteria in an entire lake with hydrogen peroxide. *Water Research*, 46, 1460-1472

Matthijs HC, Visser PM, Reeze B, Meeuse J, Slot PC, Wijn G, Talens R, Namikoshi M, Rinehart KL, (1996): Bioactive compounds produced by cyanobacteria, *Industrial Microbiology*, 17, (5–6), 373–384

Moldaenke C (2009): Online fluorescence measurements for monitoring of raw waters and drinking water treatment processes from algae (cyanobacteria) like waters; bbe Moldaenke GmbH: Kronshagen, Germany

Noble IR, Dirzo R (1997): Forests as Human-Dominated Ecosystems. *Science*, 277 (5325), 522-525

Oikonomou A., Katsiapi M., Berillis P., M. Moustaka-Gouni M., Kormas K. (2010): Microbial gangs are taking over the water column of a reconstructed lake, 14th International Conference on Harmful Algae, 2010, Crete, Greece

Oikonomou A., Katsiapi M., Karayanni H., Moustaka-Gouni M., Kormas K. (2012): Plankton microorgan-isms coinciding with two consecutive mass fish kills in a newly reconstructed lake. *TheScientificWorldJournal* doi:10.1100/2012/504135

Paerl H W, (1982): Blue-green algal scums: An explanation for their occurrence during freshwater blooms, *Limnology and Oceanography*, 27, (2), 212–217

Paerl H W, (2014): Mitigating Harmful Cyanobacterial Blooms in a Human- and Climatically-Impacted World, *Life*, 4, (4), 988-1012,

Paerl H W, (2014): Probabilistic Reasoning in Intelligent Systems: Networks of Plausible Inference, Morgan Kaufmann Publishers, INC. San Frasco, CA

Papadimitriou T., Kormas K., Dionysiou D., Lapidou C. (2016): Using H₂O₂ treatments for the degradation of cyanobacteria and microcystins in a shallow hypertrophic reservoir. *Environ Sci Pollut Res*, 23, 21523–21535

Papadimitriou T., Stampouli Z., and Kagalou I. (2011): Preliminary results on the cyanotoxicity in the "new" Lake Karla (Thessaly-Greece). 12th International Conference on Environmental Science and Technology, Rhodes, 1416-1423

Papadimitriou, T., Kagalou, I., Bacopoulos, V., Leonardos, I. (2010): Accumulation of microcystins in water and fish tissues: An estimation of risks associated with microcystins in most of the Greek lakes, *Environmental Toxicology* 25 (4), 418-427

Passardi F, Zamocky M, Favet J, Jakopitsch C, Penel C, Obinger C, Dunand C (2007): Phylogenetic distribution of catalase-peroxidases: are there patches of order in chaos? *Gene*, 397 (1–2), 101–113

Patel A, Mishra S, Ghosh PK (2006): Antioxidant potential of Cphycocyanin isolated from cyanobacterial species, *Lyngbya*, *Phormidium* and *Spirulina* species. *IJBB*, 43, 25–31

Philidis G A, Karakitsios, S P, Kassomenos A, (2005): BTX measurements in a medium- sized European city, *Atmospheric Environment*, 39, (33), 6051- 6065

Potts C. N, Kovalyovb M. Y., (2000): Scheduling with batching: A review, *European Journal of Operational Research* 120, (2), 228-249

Qian H, Pan X, Chen J, Zhou D, Chen Z, Zhang L, Fu Z (2012): Analyses of gene expression and physiological changes in *Microcystis aeruginosa* reveal the phytotoxicities of three environmental pollutants. *Ecotoxicology*, 21 (3), 847–859

Qian H., Yu S., Sun Z., Xie X., Liu W., Fu Z. (2010): Effects of copper sulfate, hydrogen peroxide and N-phenyl-2-naphthylamine on oxidative stress and the expression of genes involved photosynthesis and microcystin disposition in *Microcystis aeruginosa*. *Aquatic Toxicology*, 99 (3), 405-412

Reynolds C S, (1984): *The Ecology of Freshwater Phytoplankton*, Cambridge University

Reynolds C. S., (2006): *The Ecology of Phytoplankton*, EBC Ecology, Biodiversity and Conservation, Cambridge

Rositano, J., Nicholson, B.C., Pieronne, P. (1998): Destruction of cyanobacterial toxins by ozone. *Ozone Sci. Eng.* 20, 223

Rowan KS (1989): *Photosynthetic pigments of algae*. Cambridge University Press, Cambridge, 334

Russell A.D. (2003): Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. *J. Antimicrob. Chemoth.* 52 (5), 750-763

Rutger W., Pattynama P M T, M J L van Strijen, A A van den Berg-Huijsmans, Hartmann I J C, Putter H, Albert de Roos, Huisman M V, (2005): Right Ventricular Dysfunction and Pulmonary Obstruction Index at Helical CT: Prediction of Clinical Outcome during 3-month Follow-up in Patients with Acute Pulmonary Embolism, 235, (3)

S Postel, S Carpenter (1997): *Nature's Services: Societal Dependence On Natural Ecosystems*. Chapter 11. *Freshwater ecosystem services*, 195-214.

Samuilov VD, Timofeev KN, Sinitsyn SV, Bezryadnov DV (2004): H₂O₂ induced inhibition of photosynthetic O₂ evolution by *Anabaena variabilis* cells. *Biochem Mosc.* 69 (8), 926–933

Sarada R, Pillai MG, Ravishankar GA (1999): Phycocyanin from *Spirulina* sp.: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies

Sidiropoulos P., Chamoglou M., Kagalou I. (2017): Combining conflicting, economic, and environmental pressures: Evaluation of the restored Lake Karla (Thessaly-Greece). *Ecology & Hydrobiology*, 137 (1–13)

Sidiropoulos, P., Mylopoulos, N., Loukas, A. (2013): Optimal management of an overexploited aquifer under climate change: the Lake Karla case. *Water Resour. Manag.*, 27 (6), 1635–1649.

Sidiropoulos, P., Papadimitriou, T., Stabouli, Z., Loukas, A., Mylopoulos, N., Kagalou, I. (2012): Past, present and future concepts for conservation of the re-constructed lake Karla (Thessaly-Greece). *Fresenius 937 Environ. Bull.*, 21 (10–16), 938

Sivonen K., Jones G. (1999): Cyanobacterial toxins. *Encyclopedia of Microbiology*, 290-307

Sivonen. K, Schaechter M, (2009): Cyanobacterial Toxins. *Encyclopedia of Microbiology*, 290-307

Smith, V.H. (1983): Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science*, 221, 669–671.

Utermöhl, H. (1958): Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitteilungen der Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 9, 1–38.

Vasiliades, L., Loukas, A., Patsonas, G., (2009): Evaluation of a statistical downscaling procedure for the estimation of climate change impacts on droughts. *Nat. Hazards Earth Syst. Sci.* 9, 879–894.

Visser P.M., Ibelings B.W. Vanderveer B. Koedood J, Mur L R (1996). Artificial mixing prevents nuisance blooms of the cyanobacterium *Microcystis* in Lake Nieuwe Meer, the Netherlands. *Freshwat. Biology*

Vitousek P, Mooney H, Lubchenco J, Melillo J (1997a): Human Domination of Earth's Ecosystems. *Science*, 277 (5325), 494-499.

Wang G.S., Hsieh S.T., Hong C.S., (2000): Destruction of humic acid in water by UV light - Catalyzed oxidation with hydrogen peroxide. *Water Res*, 34 (15), 3882-3887

Weenink E., Luimstra V., Schuurmans J., Herk M., Visser P., Hans C. (2015): Combatting cyanobacteria with hydrogen peroxide: a laboratory study on the consequences for phytoplankton community and diversity. *Frontiers in Microbiology*, 6

Wetzel RG (1983): Attached algal-substrata interactions: fact or myth, and when and how? *Periphyton of Freshwater Ecosystems*, 207-215

Wetzel RG (1983): Attached algal-substrata interactions: fact or myth, and when and how? *Periphyton of Freshwater Ecosystems*, 207-215

Whitton BA, Potss M, (2012): Introduction to the Cyanobacteria, *Ecology of Cyanobacteria II*, 1-13

Whitton BA, Potts M (2007): The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space. Kluwer Academic Publishers.

Xu B., Gao N., Sun X., Xia S., Rui M., Simonnot M., Causserand C., Jian-Fu Zhao J., (2007): Photochemical degradation of diethyl phthalate with UV/H₂O₂. Journal of Hazardous Materials, 139 (1), 132-139

Zalidis G., Mantzavelas A. (1996): Inventory of Greek wetlands as natural resources. Wetlands, 16 (4), 548-556

Zalidis, G. C., Takavakolou, V., Panoras, A. Bilas, G. and Katsavouni, S. (2005): Re- Establishing a sustainable Wetland at Former Lake Karla, Greece, Using Ramsar Restoration Guidelines. Environmental Management, 34 (6), 875-886.