

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Επίδραση του διηθούμενου όγκου νερού στον υπολογισμό της συγκέντρωσης των
φυτοπλαγκτικών χρωστικών**

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ ΠΑΠΑ

ΒΟΛΟΣ, 2019

**«Επίδραση του διηθούμενου όγκου νερού στον υπολογισμό της συγκέντρωσης
των φυτοπλαγκτικών χρωστικών»**

Στην ανιψιά μου, Χαρά.

Εξεταστική Επιτροπή:

1. Κωνσταντίνος Κορμάς, Καθηγητής, Μικροβιακή Οικολογία Υδάτινου Περιβάλλοντος, Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, *Επιβλέπων*.
2. Ήρα Καραγιάννη, Επίκουρη Καθηγήτρια, Υδροβιολογία, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, *Μέλος*.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα καθηγητή αυτής της εργασίας, κ. Κωνσταντίνο Κορμά για την κατανόησή και τη βοήθειά του καθώς και τη διαρκή υποστήριξή του τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και την κ. Ήρα Καραγιάννη, μέλος της εξεταστικής επιτροπής μου για τις χρήσιμες συμβουλές της. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κ. Ελένη Νικούλη για την άμεση βοήθεια της κυρίως κατά την διεξαγωγή του πειράματος αυτής της εργασίας.

Επιπλέον, ευχαριστώ ειλικρινά όλους τους φίλους και τους συμφοιτητές μου που ήμασταν μαζί στο εργαστήριο για την υποστήριξη τους θα ήθελα να ευχαριστήσω ξεχωριστά την Δήμητρα Κουκουβίνου για τη συνεχή προσφορά της.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένεια μου για την απεριόριστη συμπαράσταση τους και την οικονομική υποστήριξη όλα τα χρόνια της φοίτησης μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η γνώση της συγκέντρωσης της φυτοχρωστικών σε ένα θαλάσσιο οικοσύστημα είναι σημαντική καθώς η οικολογική αξία τους είναι μεγάλη. Πιο συγκεκριμένα, μπορεί να πληροφορήσει τον βιοεπιστημόνα για την εκτίμηση της βιομάζας του φυτοπλαγκτού σε μια θαλάσσια περιοχή. Το σημαντικότερο όμως είναι, ότι διαδραματίζουν καίριο ρόλο στη φωτοσύνθεση, αφού δεσμεύουν την ηλιακή ενέργεια. Για αυτό το λόγο, οι χρησιμοποιούμενες μεθοδολογίες για την εκτίμηση της συγκέντρωσης τους είναι πολύ σημαντικές στην εφαρμοσμένη βιολογία για τη διατήρηση της ισορροπίας του οικοσυστήματος και την πρόληψη οικολογικών διαταραχών. Μια από τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την εκτίμηση της παραμέτρου αυτής είναι μέσω της διήθησης συγκεκριμένου όγκου νερού. Επειδή δύναται ο όγκος του διηθημένου όγκου νερού να αποτελεί παράγοντα παραλλακτικότητας της τιμής της παραμέτρου αυτή, στην παρούσα εργασία γίνεται μια προσπάθεια αξιολόγησης της επίδραση του διηθούμενου όγκου νερού στον υπολογισμό της συγκέντρωσης των φυτοπλαγκτικών χρωστικών. Μελετώντας δείγματα θαλασσινού νερού από τον Παγασητικό Κόλπο, η παρούσας διατριβή έδειξε ότι η διήθηση μικρού όγκου νερού (0,1 L και 0,2 L) δεν παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα για την εκτίμηση της συγκέντρωσης των φυτοχρωστικών. Η διήθηση όγκου νερού 2 L και 5 L παρουσιάζει τη μικρότερη τυπική απόκλιση σχεδόν στις περισσότερες τις τιμές των φυτοχρωστικών που προέκυψαν. Η παρούσα μελέτη προτείνει τη διήθηση όγκου νερού τουλάχιστον 0,5 L. Τέλος, αποδείχτηκε πως η εποχικότητα παίζει σημαντικό ρόλο στον όγκο νερού που χρειάζεται να διηθείται για την εκτίμηση των συγκεντρώσεων των φυτοχρωστικών.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ	8
1.1 Φυτοπλαγκτό	8
1.2 Φωτοσυνθετικές ενώσεις	8
1.3 Μέθοδοι αξιολόγησης της ανάπτυξης του φυτοπλαγκτούν	12
1.4 Σκοπός	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	15
2.1 Περιοχή δειγματοληψίας	15
2.2 Δειγματοληψία	15
2.4 Διαδικασία εκχύλισης και φωτόμετρο.....	17
2.5 Στατιστική ανάλυση	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	45
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	51
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	58
ABSTRACT.....	67

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

1.1 Φυτοπλαγκτό

Το φυτοπλαγκτό περιλαμβάνει περισσότερα από 5.000 είδη (Tett and Barton 1995) τα οποία προέρχονται από απομακρυσμένες φυλογενετικές ομάδες (κυανοβακτήρια, διάτομα, δινοφύκη, κρυπτοφύκη, πυριτιομαστιγωτά, πρυμνεσιοφύκη, ραφιδιοφύκη, πρασινοφύκη και ευγληνοφύκη). Οι πιο γνωστές ομάδες του θαλάσσιου φυτοπλαγκτού από τις πρώτες μελέτες είναι τα διάτομα και τα δινοφύκη ενώ με την εφαρμογή της μικροσκοπίας φθορισμού τις τελευταίες τρεις δεκαετίες προστίθενται τα κυανοβακτήρια των γενών *Synechococcus* και *Prochlorococcus* (Sherr and Sherr 2000).

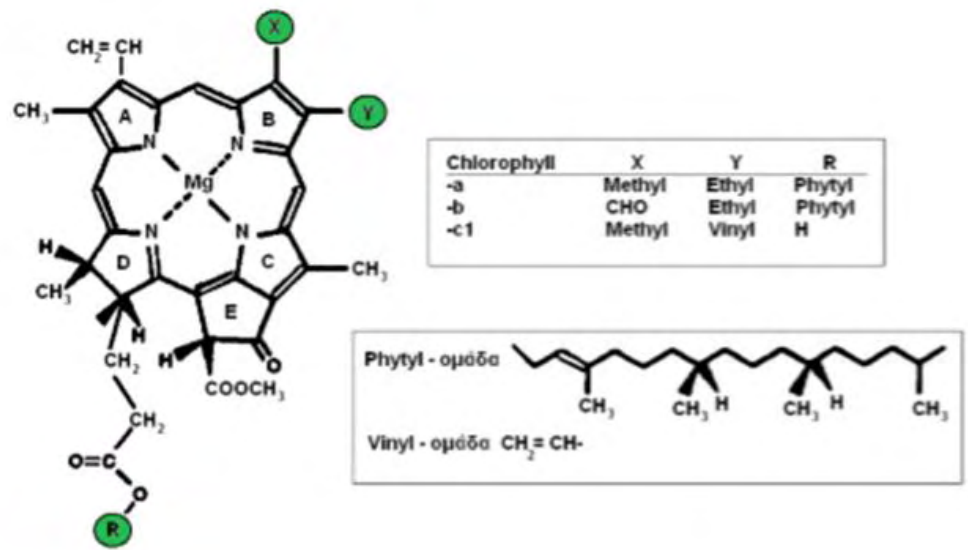
1.2 Φωτοσυνθετικές ενώσεις

Με τον όρο φωτοσυνθετικές ενώσεις ή χρωστικές χαρακτηρίζονται οι ενώσεις που έχουν ως ιδιότητα να απορροφούν ακτινοβολία στο ορατό φάσμα του φωτός. Στο υδάτινο περιβάλλον, το θαλάσσιο φυτοπλαγκτόν και τα μακροφύκη χρησιμοποιούν τις φυτικές χρωστικές και κυρίως τις χλωροφύλλες για να μετατρέπουν την ενέργεια από την φωτοσύνθεση σε χημική ή για να προκαλούν οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις (Δασενάκης 2015). Με βάση τη χημική δομή τους, οι φωτοσυνθετικές χρωστικές διαχωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες (Πίνακας 1).

Πίνακας 1: Οι τέσσερις βασικές κατηγορίες των φυτικών χρωστικών (Δασενάκης 2015).

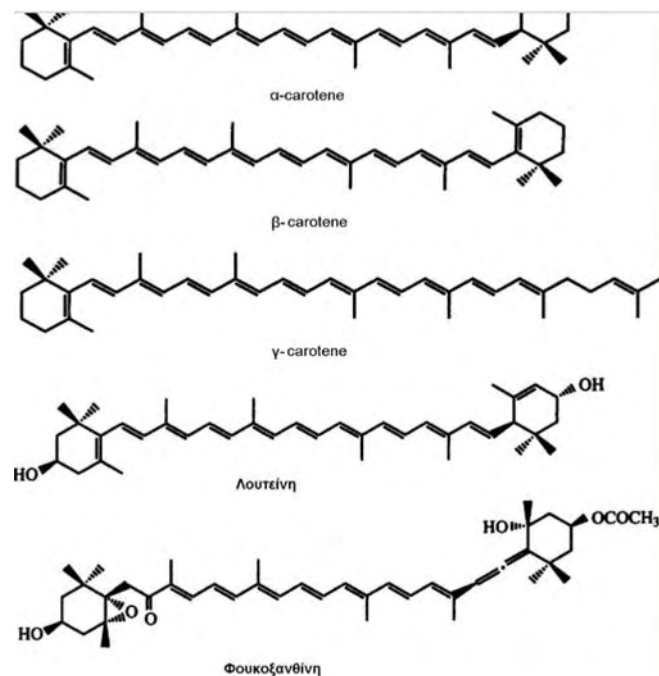
Χλωροφύλλες	Καροτένια	Ξανθοφύλλες	Βιολιπρωτεΐνες
Χλωροφύλλη α » β » c1 » c2 » c3	α ή β,ε β ή β,β γ ή β,ψ ε ή ε,ε Λυκοπένιο ή ψ,ψ	Αλλοξανθίνη Ανθεραξανθίνη Αστραξανθίνη Εχινενόνη Κανθαροξανθίνη Φουκοξανθίνη Λουτεΐνη Νεοξανθίνη Πρασινοξανθίνη Βιολαξανθίνη Ζεαξανθίνη	Αλλοφυκοκυανίνη Φυκοκυανίνη Φυκοερυθρίνη
Διβυνιλοχλωροφύλλη α » β			

Οι χλωροφύλλες είναι κυκλικές τετραπυρόλες με ένα άτομο μαγνησίου (Mg) στο κέντρο του δακτυλίου και συνδεδεμένες με μια φυτική ομάδα. (Δασενάκης 2015). Τα μέλη της ομάδας των χλωροφυλλών διαφέρουν ελάχιστα μεταξύ τους, όσον αφορά τη χημική δομή τους (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: Συντακτικός τύπος των χρωστικών της ομάδας των χλωροφυλλών (Δασενάκης 2015).

Η παρουσία των φωτοσυνθετικών χρωστικών χλωροφύλλων, καροτινοειδών και βιλιπρωτεϊνών στα φύκη αποτελεί θεμελιώδες γνώρισμά τους (Wetzel 2001). Τα καροτένια και οι ξανθοφύλλες είναι πολυισοπρενοειδείς ενώσεις με ποικιλία δομών κυρίως στο θαλάσσιο περιβάλλον.



Εικόνα 2: Ο συντακτικός τύπος των ξανθοφύλλων Λουτεΐνη και Φουκοξανθίνη (Δασενάκης 2015).

Ειδικότερα, η χλωροφύλλη α αποτελεί, για όλους τους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς που εκλύουν οξυγόνο, την κύρια φωτοσυνθετική χρωστική και είναι παρούσα σε όλα τα κυανοβακτήρια, φύκη καθώς και σε άλλους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς εκτός από τα φωτοσυνθετικά θειοβακτήρια (Πίνακας 2). Βασικά χαρακτηριστικά της ένωσης αυτής είναι τα εξής:

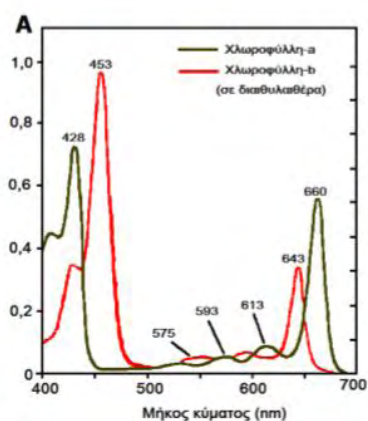
- Η χλωροφύλλη α απορροφάται σε μήκη κύματος που αντιστοιχούν περισσότερο στο κόκκινο χρώμα του φάσματος (κοντά στα 650-700 nm) και λιγότερο στο μπλε-μωβ χρώμα (κοντά στα 450 nm).
- Η χλωροφύλλη α ανευρίσκεται στους φυτοπλαγκτικούς οργανισμούς που ζουν στα κατώτερα μέρη της εύρωτης ζώνης (ζώνη που αρχίζει από την επιφάνεια του νερού και φτάνει τα 50 μέτρα βάθος) (Castro P. & Huber M 2000).
- Η χλωροφύλλη α δίνει πολύτιμες πληροφορίες για την εκτίμηση της βιομάζας του φυτοπλαγκτού σε ένα υδάτινο σύστημα διαδραματίζοντας πρωταρχικό ρόλο στη φωτοσύνθεση, αφού δεσμεύει την ηλιακή ενέργεια.
- Η συγκέντρωση της χλωροφύλλης α αποτελεί δείκτη διατάραξη ενός θαλάσσιου οικοσυστήματος από ευτροφισμό (Jorgensen & Richardson, 1996).

Πίνακας 2: Η φυσική παρουσία των κύριων χρωστικών της ομάδας των χλωροφύλλων (Δασενάκης 2015).

Χλωροφύλλη-a	Όλα τα φωτοσυνθετικά βακτήρια (εκτός από προχλωρόφυτα) και φυτά
Χλωροφύλλη-b	φυτά, πρασινοβακτήρια, συμβιωτικά προχλωρόφυτα
Χλωροφύλλη-c (6 μέλη)	χρωμοφύκη, διάφορα θαλάσσια φύκη
Χλωροφυλλίνη-a	γηρασμένοι ιστοί, διάτομα centrales, ζωοπλαγκτονικές Ψ
Χλωροφυλλίνη-b	γηρασμένοι ιστοί, ζωοπλαγκτονικές περιττωματικές πελέτες
Φαιοφυτίνη-a	Φωτοσυνθετικά κέντρα μεγάλων φυτών, υπολείμματα φυκών και φυτών
Φαιοφυτίνη-b	υπολείμματα χερσαίων φυτών, περιττωματικές πελέτες πρωτοζώων
Φαιοφορβίδιο-a	υπολείμματα θαλασσιών φυτών, περιττωματικές πελέτες πρωτοζώων και ζωοπλαγκτόν
Φαιοφορβίδιο-b	υπολείμματα χερσαίων φυτών, περιττωματικές πελέτες πρωτοζώων

Η χλωροφύλλη β είναι μια φωτοσυλλεκτική χρωστική που μεταφέρει την απορροφημένη φωτεινή ενέργεια προς τη χλωροφύλλη α για τις κύριες φωτοχημικές

αντιδράσεις (Govindjee & Braun 1974). Οι μέγιστες φασματικές ζώνες απορρόφησης κείνται στα 645 nm και στα 435 nm. (Εικόνα 2).



Εικόνα 3: Φάσμα απορρόφησης του ορατού φωτός από τη χλωροφύλλη α και β (Δασενάκης 2015).

Σύμφωνα με τους Graham & Wilcox (2011), η χλωροφύλλη β είναι από δομική άποψη παρόμοια με την χλωροφύλλη α και πιθανώς να εξελίχθηκε από αυτήν. Είναι ευρέως γνωστό ότι λειτουργεί ως επικουρική χρωστική στους χλωροπλάστες πολλών ευκαρυωτικών φυκών και ανωτέρων φυτών και απαντάται επίσης στα γένη *Prochloron*, *Prochlorococcus* και *Prochlorothrix* των κυανοβακτηρίων.

Η χλωροφύλλη γ η οποία είναι πιθανώς μια επικουρική χρωστική στο φωτοσύστημα II, αποτελείται από τρία φασματικώς διακριτά συστατικά. Κατά τον Meeks (1974) οι ζώνες μέγιστης απορρόφησης του εκχυλίσματος ανευρίσκονται στα ca. 630-635 nm, ενώ στην κυρίαρχη κυανή περιοχή του φάσματος στα 583-586 nm και 444-452 nm.

Μεταξύ των πολλών καροτινοειδών που διαθέτουν τα μικροφύκη, οι καροτίνες είναι γραμμικοί ακόρεστοι υδρογονάνθρακες, ενώ οι ξανθοφύλλες είναι οξυγονωμένα παράγωγα των καροτινών (Goodwin 1974). Όπως και στην περίπτωση της χλωροφύλλης β, η φωτεινή ενέργεια που απορροφάται από τα καροτινοειδή και τις βιλιπρωτεΐνες μεταφέρεται στη χλωροφύλλη α, με αποτέλεσμα τον φθορισμό και την διέγερση των μορίων της χλωροφύλλης α.

Η β καροτίνη είναι η ευρύτερα διαδεδομένη από όλες τις καροτίνες και αντικαθίσταται από την α-καροτίνη μόνο σε ορισμένα χλωροφύκη και στα Cryptophyceae (κρυπτοφύκη).

Οι βιλιπρωτεΐνες είναι υδατοδιαλυτά σύμπλοκα χρωστικής-πρωτεΐνης που υπάρχουν στα κυανοβακτήρια και σε μικρότερο βαθμό, σε ορισμένα κρυτοφύκη και ροδοφύκη (Wetzel 2001).

1.3 Μέθοδοι αξιολόγησης της ανάπτυξης του φυτοπλαγκτού

Η εκτίμηση της συγκέντρωσης του φυτοπλαγκτού σε κλειστές φιάλες είναι μια κοινή διαδικασία για την αξιολόγηση των επιπτώσεων μιας ή περισσότερων περιβαλλοντικών μεταβλητών στις φυσικές κοινότητες του φυτοπλαγκτού. Τα αποτελέσματα αυτών των *in vitro* εκτιμήσεων στη συνέχεια υποβάλλονται σε φυσικά συστήματα και χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψη των μεταβολών στη σύνθεση και την ανάπτυξη του φυτοπλαγκτού μετά από συγκεκριμένα περιβαλλοντικά σενάρια (Domingues et al. 2011a). Οι μικρόκοσμοι του φυτοπλαγκτού έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για να εκτιμηθεί, για παράδειγμα, ο περιορισμός θρεπτικών συστατικών σε πολλά υδατικά οικοσυστήματα (Altman and Paerl 2012, Domingues et al. 2011a, 2011b, 2011c, Quiblier et al. 2008). Οι μικρόκοσμοι είναι συνήθως μικρά πειραματικά δοχεία (όγκοι: 1-2 L), όπως οι φιάλες και οι σάκκοι, που επωάζονται για 2 έως 5 ημέρες (Domingues et al. 2011a, Duarte et al. 1997, Gobler et al. 2006, Rudek et al. 1991, Xu et al. 2010). Εντούτοις, η συγκράτηση των πλαγκτικών μικροοργανισμών μέσα σε μικρές πειραματικές μονάδες δεν αντικατοπτρίζει τις αντίστοιχες συνθήκες που επικρατούν στο φυσικό περιβάλλον. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα να υπάρχουν προβλήματα στην ερμηνεία των πειραματικών αποτελεσμάτων στη φύση (Duarte et al. 1997, Domingues et al. 2011a).

Πράγματι, οι φυσικές (π.χ. ένταση φωτός, φασματική σύνθεση, αναταράξεις), οι χημικές (π.χ. θρεπτικές ουσίες, διαλυμένα αέρια, συγκέντρωση οργανικής ύλης) και οι βιολογικές ιδιότητες των υδάτινων συστημάτων (π.χ. αφθονία θηρευτών φυτοπλαγκτού και παρασίτων) (Fahnenstiel and Scavia 1987, Venrick et al. 1977), επιδεινώνονται κατά την περίοδο επώσεως. Επιπλέον, οι διαλυμένες ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων των ανόργανων θρεπτικών ουσιών, των οργανικών ουσιών και των διαλυμένων αερίων (CO_2 , O_2) που παράγονται από μη πλαγκτικές πηγές (π.χ. βενθικοί οργανισμοί) ή εισάγονται στην περιοχή μελέτης, αποκλείονται από τα πειράματα εμπλουτισμού θρεπτικών ουσιών (Prins and Smaal 1994, Treguer and De La Rocha 2013).

Η ύπαρξη στερεών επιφανειών μπορεί επίσης να προάγει την προσρόφηση της οργανικής ύλης και τη δραστικότητα και προσκόλληση συγκεκριμένων

μικροοργανισμών εντός των πειραματικών φιαλών (Zobell 1943). Συνολικά, οι *in vitro* προσεγγίσεις αξιολογούνται ως επιπτώσεις επί του ίδιου του δοχείου, και αυτές, ονομάζονται συλλογικά "φαινόμενα φιάλης" (Robinson and Williams 2005).

Ένα μεγάλο μέρος της βιβλιογραφίας σχετικά με τα "φαινόμενα φιάλης" δίνει ιδιαίτερη έμφαση στα ογκομετρικά "αποτελέσματα της φιάλης", δηλαδή στις επιδράσεις του μεγέθους (ή της αναλογίας επιφάνειας προς όγκο) της πειραματικής μονάδας. Θεωρείται συνήθως ότι όσο μικρότερος είναι ο όγκος που χρησιμοποιείται, τόσο μεγαλύτερες είναι οι επιδράσεις της φιάλης στις βιολογικές δοκιμασίες ανάπτυξης (Hammes et al. 2010). Στην πραγματικότητα, αρκετές μελέτες ανέφεραν σημαντικά αποτελέσματα του όγκου της φιάλης στην παραγωγή φυτοπλαγκτού ή την ανάπτυξη μικρόκοσμων μικρού μεγέθους, στην περιοχή από 0,3 L έως 4 L (Gieskes et al. 1979). Ωστόσο, μερικές μελέτες δεν έδειξαν στοιχεία για σημαντικές επιπτώσεις ογκομετρικής φιάλης κατά την ανάπτυξη ετερότροφων βακτηρίων (όγκοι μικροκοσμών: 0,02 L-1 L: Hammes et al. 2010), πρωτογενούς παραγωγής φυτοπλαγκτού (όγκοι μικροκοσμών: 0,05 L-8 L: Fogg & Calvario -Martinez 1989, Williams & Purdie, 1991), καθαρής αύξησης φυτοπλαγκτού και αναπνοή πλαγκτού (όγκοι μικροκοσμών: 0,05 L-0,57 L: Garcia-Martin et al. 2011).

Μια διαδικασία που μερικές φορές συνδέεται με μικρόκοσμους φυτοπλαγκτού είναι ένα στάδιο προ-φιλτραρίσματος δείγματος (Duarte et al. 1997, Venrick et al. 1977), πριν από την έναρξη του πειράματος. Αυτή η διαδικασία στοχεύει στην απομάκρυνση των θηρευτών φυτοπλαγκτού που υπάρχουν στο δείγμα και στην ελαχιστοποίηση της θνησιμότητας του φυτοπλαγκτού που προκαλείται από τους θηρευτές (βοσκητές), επιτρέποντας έτσι μια πιο ακριβή αξιολόγηση των άμεσων επιδράσεων στους ρυθμούς ανάπτυξης του φυτοπλαγκτού (Carrillo et al. 1990, Tang et al. 2009). Ωστόσο, οι σημαντικότεροι θηρευτές του φυτοπλαγκτού είναι φαγότροι οργανισμοί, οι οποίοι μπορούν να απομακρύνουν κατά μέσον όρο το 67% της καθημερινής παραγωγής φυτοπλαγκτού (Calbet & Landry, 2004). Αυτοί οι οργανισμοί δεν μπορούν να απομακρυνθούν πλήρως χρησιμοποιώντας αυτήν τη στρατηγική (Hansen & Bjornsen 1994, Naustvoll 2000): Σε μερικές περιπτώσεις, οι θηρευτές είναι ακόμη μικρότεροι από το φυτοπλαγκτονικό θήραμά τους, όπως συμβαίνει με ορισμένα ετερότροφα δινωμαστιγτά (Naustvoll 2000). Η ύπαρξη αρκετών μικτοτροφικών ομάδων (Hammer & Pitchford 2005 και αναφορές σε αυτό) περιπλέκει περαιτέρω τον φυσικό διαχωρισμό του φυτοπλαγκτού και των θηρευτών του. Επιπλέον της διαφορετικής απομάκρυνσης ορισμένων θηρευτών φυτοπλαγκτού, η

διήθηση δειγμάτων αφαιρεί επίσης το φυτοπλαγκτόν μεγάλου μεγέθους, όπως αποικιακά διάτομα, ενώ μπορεί να καταστρέψει την αποικιακή δομή φυτοπλαγκτικών κυττάρων και μπορεί επίσης να επηρεάσει την φυσιολογική κατάσταση των κυττάρων (Domingues et al. 2011b). Η απομάκρυνση μεγαλύτερων κυττάρων μπορεί να προκαλέσει κατάρρευση του τροφικού πλέγματος, διακόπτοντας την κανονική λειτουργία των μικροβιακών τροφικών ιστών και οδηγώντας σε αλλαγές στην κοινότητα φυτοπλαγκτού (Carpenter et al. 1985, Bell et al. 2003, Ellis et al. 2011).

1.4 Σκοπός

Βασικός σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης του διηθούμενου όγκου νερού στον υπολογισμό της συγκέντρωσης των φυτοπλαγκτικών χρωστικών (χλωροφύλλη α, χλωροφύλλη β, χλωροφύλλη γ, καροτενοειδή και φαιοφυτίνες). Για την πιο αξιόπιστη μελέτη του παράγοντα αυτού, έγιναν μετρήσεις των φυτοχρωστικών σε διάφορες χρονικές περιόδους στο λιμάνι του Βόλου κατά τα έτη, 2016, 2017, και 2018.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Περιοχή δειγματοληψίας

Η περιοχή που πραγματοποιήθηκαν οι δειγματοληψίες είναι στο λιμάνι του Βόλου, συγκεκριμένα κοντά στην περιοχή του Αγίου Κωνσταντίνου το οποίο βρίσκεται στο Παγασητικό Κόλπο. Ο Παγασητικός Κόλπος είναι ένας ημίκλειστος κόλπος που βρίσκεται στο δυτικό Αιγαίο Πέλαγος, βόρεια της Εύβοιας και περιβάλλεται από τις ορεινές περιοχές του Πηλίου.

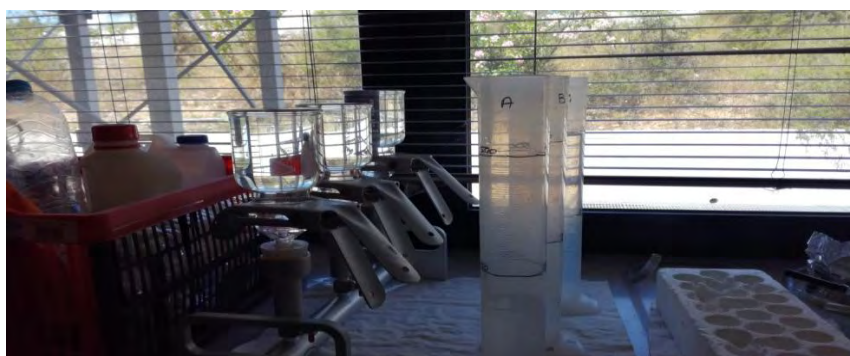
Ο κόλπος χαρακτηρίζεται σχετικά αβαθής αφού το μέσο βάθος του ισούται με 69 m και το μεγαλύτερο βάθος του είναι 180 m, το οποίο βρίσκεται στο ανατολικό τμήμα του κόλπου. Η συνολική έκτασή του είναι 520 km² και ο συνολικός όγκος είναι περίπου 36 km³. Ο Παγασητικός Κόλπος συνδέεται με το Αιγαίο Πέλαγος μέσω ενός καναλιού Τρίκερι με πλάτος 5,5 km και βάθος 80 m (Petihakis et. al 2005). Σύμφωνα με τους Korres et. al (2012), η ποιότητα των υδάτων του κόλπου επηρεάζεται από τις ανθρώπινες δραστηριότητες καθώς και από την ανταλλαγή νερού μέσω του καναλιού του Τρικεριού. Επιπλέον, με την αποστράγγιση της λίμνης Κάρλας προστεθήκαν στον κόλπο μεγάλες ποσότητες θρεπτικών μέσω ενός υδάτινου αγωγού. Στην περιοχή δεν υπάρχουν μεγάλα ποτάμια ωστόσο υπάρχει είσοδος θρεπτικών συστατικών στο σύστημα από δίκτυα μικρών χείμαρρων (Petihakis et. al 2005). Ο Παγασητικός Κόλπος στο εσωτερικό μέρος του χαρακτηρίζεται από ευτροφικές συνθήκες ενώ το κεντρικό και εξωτερικό μέρος του ως μέσο-ολιγοτροφικό (Korras et al. 2014).

2.2 Δειγματοληψία

Συνολικά έλαβαν χώρα πέντε δειγματοληψίες, μια για κάθε εποχή στην διάρκεια ενός έτους (2016-2017), ξεκινώντας από το μήνα Σεπτέμβριο (14/9/2016) και μια τον μήνα Μάρτιο του έτους 2018 (9/3/2018). Στην πρώτη δειγματοληψία έγινε συνολική λήψη θαλασσινού νερού 11,4 L ενώ στις υπόλοιπες 26,4 L σε ειδικά πλαστικά δοχεία σκούρου χρώματος για την εξασφάλιση της παύσης της διαδικασίας της φωτοσύνθεσης. Κατά τη διάρκεια αυτής, καταγράφονταν η ώρα της δειγματοληψίας, η θερμοκρασία του νερού, οι καιρικές συνθήκες και τυχόν άλλες παρατηρήσεις όπως η ύπαρξη διαφόρων αντικειμένων στην επιφάνεια της θάλασσας. Στην συνέχεια, τα δοχεία μεταφέρονταν στο εργαστήριο για τη συνέχεια του πειράματος.

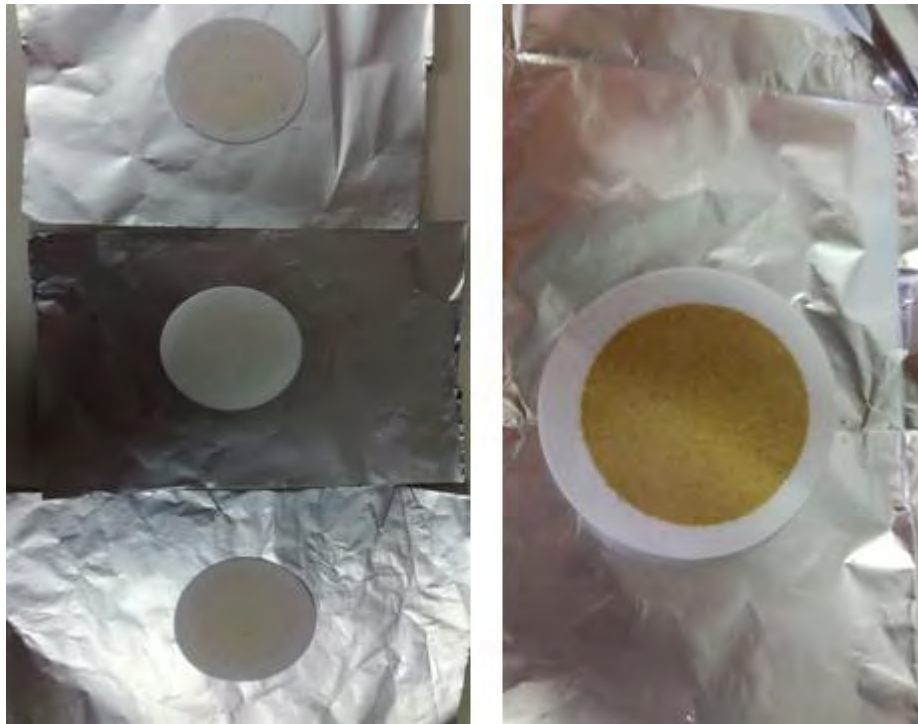
2.3 Διήθηση και αποθήκευση δειγμάτων

Στο εργαστήριο γινόταν μέτρηση του pH με πεχαμετρικό χαρτί, μέτρηση της αγωγιμότητας και της θερμοκρασίας με φορητή συσκευή μέτρησης της αγωγιμότητας. Στη συνέχεια ξεκινούσε η διαδικασία της διήθησης με αντλία κενού σε χαμηλό κενό που δεν ξεπερνούσε τα 100-150 mmHg και χρησιμοποιήθηκαν φίλτρα GF/F διαμέτρου 47 mm και άνοιγμα πλέγματος ιών υάλου 0,7 μm. Πραγματοποιήθηκε διήθηση 0,1 L, 0,2 L, 0,5 L, 1 L, 2 L και 5 L επί τρεις φορές αντίστοιχα για τον κάθε όγκο (Εικόνα 4).

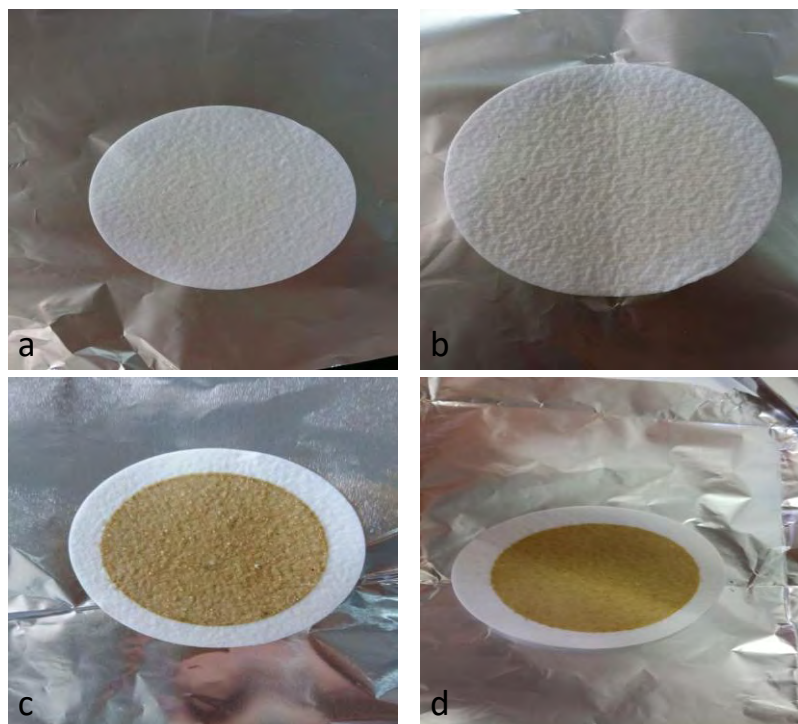


Εικόνα 4: Συσκευή διήθησης (προσωπικό αρχείο)

Μόνο στη πρώτη δειγματοληψία δεν έγινε η διήθηση των 5 L. Οπότε, υπήρχαν συνολικά σε κάθε δειγματοληψία 18 δείγματα ενώ μόνο στην πρώτη 15 δείγματα. Στο τέλος κάθε διήθησης ξεπλενόταν η συσκευή της διήθησης και το φίλτρο με απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια το φίλτρο τοποθετούνταν σε ένα κομμάτι αλουμινόχαρτου και διπλώνονταν με προσοχή στη μέση με τη βοήθεια λαβίδας (Εικόνα 5 και 6). Έπειτα αναγραφόταν με ανεξίτηλο μαρκαδόρο ο κωδικός και ο όγκος του δείγματος. Τέλος αφού είχε τελειώσει η διαδικασία της διήθησης για όλα τα δείγματα, αποθηκεύονταν στη κατάψυξη στους -20°C .



Εικόνα 5: Φίλτρα διήθησης έπειτα από διήθηση 0,2 L (αριστερά) και φίλτρο μετά από διήθηση 5 L (δεξιά) (προσωπικό αρχείο)



Εικόνα 6: Φίλτρα διήθησης μετά από διήθηση 0,1 L (a), 0,2 L (b), 2 L (c) και 5 L (d) (προσωπικό αρχείο)

2.4 Διαδικασία εκχύλισης και φωτόμετρο

Στα χρονικά διαστήματα μεταξύ των δειγματοληψιών πραγματοποιούνταν η φωτομετρική ανάλυση των δειγμάτων. Αρχικά, κάθε φίλτρο τοποθετούνταν σε

σωλήνα φυγοκέντρησης των 10 ml, όπου προστέθηκαν 5 ml ακετόνης 90% και με τη βοήθεια μιας γυάλινης ράβδου γινόταν διάλυση του φίλτρου για να προκύψει η εκχύλιση της χλωροφύλλης (Εικόνα 7). Στη συνέχεια, το στόμιο του σωλήνα σφραγιζόταν με parafilm και τα δείγματα αφήνονταν σε κατάσταση ηρεμίας στο ψυγείο στις 4°C για 24 ώρες. Την επομένη μέρα τα δείγματα αφού αποκτήσουν τη θερμοκρασία δωματίου, τοποθετούνται στη φυγόκεντρο για φυγοκέντρηση στις 4000 στροφές/λεπτό για 20 λεπτά. Με το τέλος της φυγοκέντρησης, τα δείγματα απομακρύνονται με ήρεμες κινήσεις ώστε να μην υπάρξει ανάμειξη του υπερκείμενου υγρού με το φίλτρο που έχει κατακαθίσει στον πάτο του σωλήνα και ξεκάνει η διαδικασία της φωτομέτρησης. Απομακρύνεται το parafilm και με πιπέτα Pasteur αφαιρείται το υπερκείμενο υγρό και μεταφέρεται σε κυψελίδα φωτομέτρησης χαλαζία του 1 cm. Τα δείγματα φωτομετρήθηκαν έναντι καθαρής ακετόνης στα παρακάτω μήκη κύματος: 750, 664, 647, 630, 510 και 480 nm. Τα 750 nm είναι για την θολερότητα, τα 664 nm για την χλωροφύλλη α, τα 647 nm για την χλωροφύλλη β, τα 630 nm για την χλωροφύλλη γ, τα 510 nm και τα 480 nm για τα καροτενοειδή. Στη συνέχεια προστίθεται στο δείγμα δύο σταγόνες υδροχλωρίου (HCl) 10%, ανακατεύετε καλύπτοντας με ένα κομμάτι parafilm την κυψελίδα και γίνεται φωτομέτρηση στα 750 nm και 664 nm για τον υπολογισμό των φαιοφυτινών. Με το πέρας όλων των δειγμάτων υπολογίζονται με τη χρήση προγράμματος υπολογιστικών φύλλων Excel οι συγκεντρώσεις των φυτοχρωστικών σύμφωνα με τους τύπους που δίνονται στον Πίνακα 3. Επίσης, βρέθηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση των δειγμάτων και κατασκευάστηκαν τα διαγράμματα των φυτοχρωστικών με τον όγκο διήθησης του δείγματος.

Πίνακας 3: Εξισώσεις υπολογισμού φυτοχρωστικών.

Χρωστική	Τύπος
Χλωροφύλλη α	$\{[11,85*(E664)-1,54*(E647)-0,08*(E630)]*v\}/V*$
Χλωροφύλλη β	$\{[21,03*(E647)-5,43*(E664)-2,66*(E630)]*v\}/V*I$
Χλωροφύλλη γ	$\{[24,52*(E630)-1,67*(E664)-7,60*(E647)]*v\}/V*I$
Ολικά καροτενοειδή	$\{[7,6*(E480)-(1,49*510)]*v\}/V*I$
Φαιοφυτίνες	$\{26,7*[1,7*(E664,HCl)]-(E664)\}*v/V*$

- Όπου:

E750 = απορρόφηση στα 750 nm

E664, 647, 630, 510, 480 = απορρόφηση στα αντίστοιχα μήκη κύματος 664 nm, 647 nm, 630 nm,

E510 = απορρόφηση στα 510 nm

E480 = απορρόφηση 480 nm

E664,HCl = απορρόφηση στα 664nm μετά την προσθήκη του οξέως

v = όγκος της ακετόνης που χρησιμοποιήθηκε (ml)

V = όγκος του θαλασσινού νερού που διηθήθηκε (L)

I = το μήκος της κυψελίδας που χρησιμοποιήθηκε (cm)



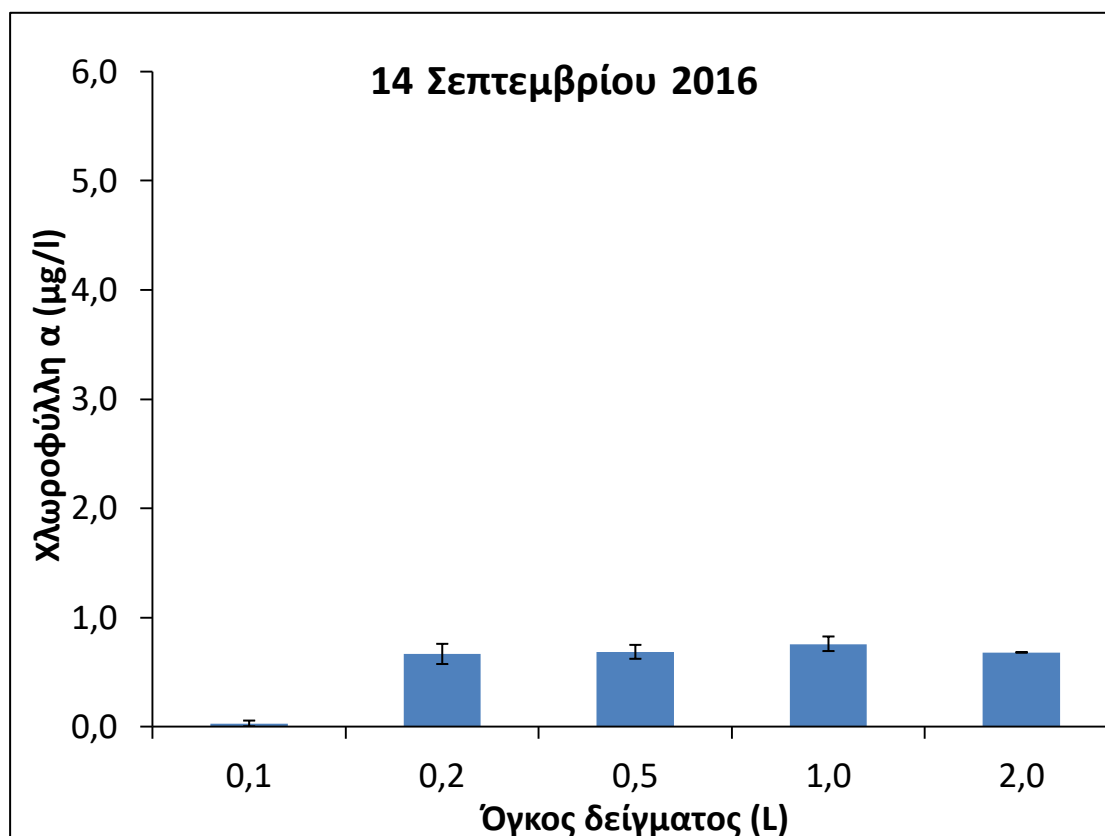
Εικόνα 7: Προετοιμασία δειγμάτων κατά τη διαδικασία της εκχύλισης (προσωπικό αρχείο)

2.5 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα S.P.S.S. με τη μέθοδο της ανάλυσης της διακύμανσης (Analysis of Variance - ANOVA). Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση της διακύμανσης για να ελέγχουν πως διαφοροποιούνται οι τιμές των φυτοχρωστικών ανάλογα με τον όγκο νερού που διηθήθηκε. Επίσης, έγιναν και κριτήρια πολλαπλών συγκρίσεων (Tukey HSD τεστ) για τη σύγκριση όλων των πιθανών ζευγών σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας που ορίστηκε στο $p < 0.05$.

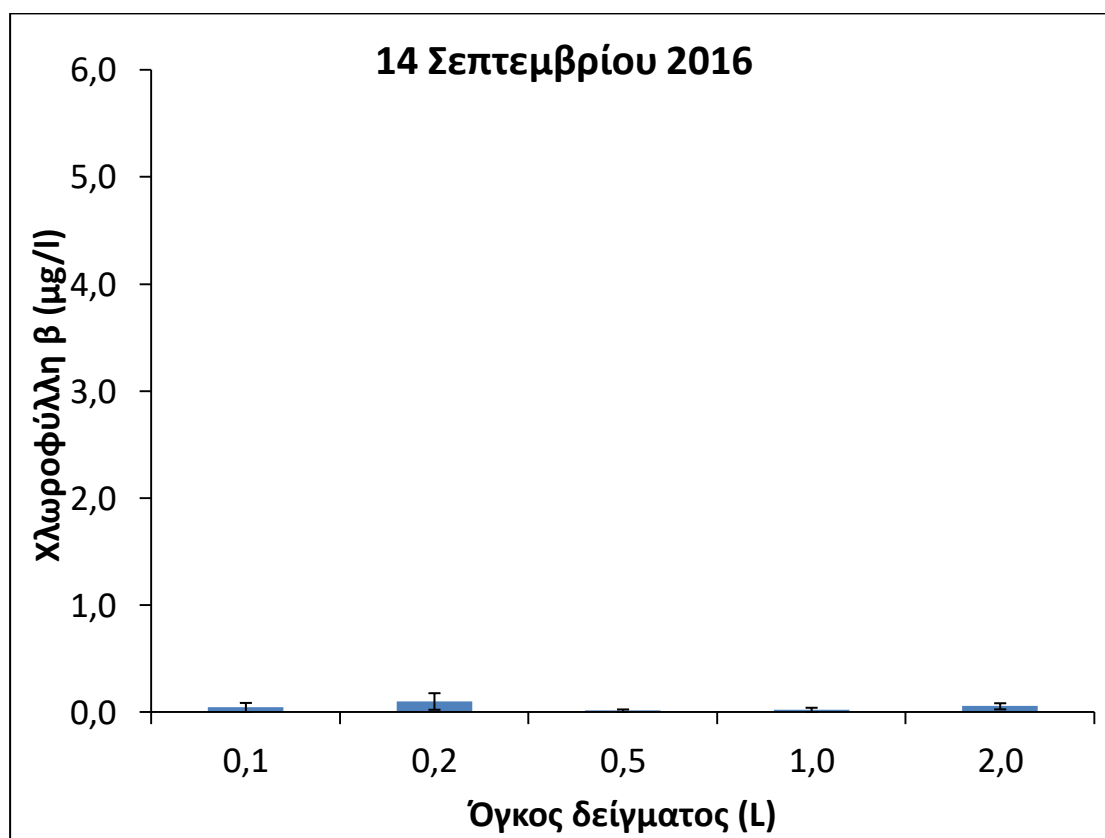
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στο Σχήμα 1 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές της χλωροφύλλης α στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Σεπτεμβρίου. Η μεγαλύτερη μέση τιμή της χλωροφύλλης α κατά την πρώτη δειγματοληψία (14/09/2016) που παρατηρήθηκε είναι $0,8 \pm 0,116$ $\mu\text{g/l}$ η οποία αντιστοιχεί στον διηθημένο όγκο 1 L, ενώ η μικρότερη μέση τιμή της βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,1 L και είναι ίση με $0,0 \pm 0,046$ $\mu\text{g/l}$.



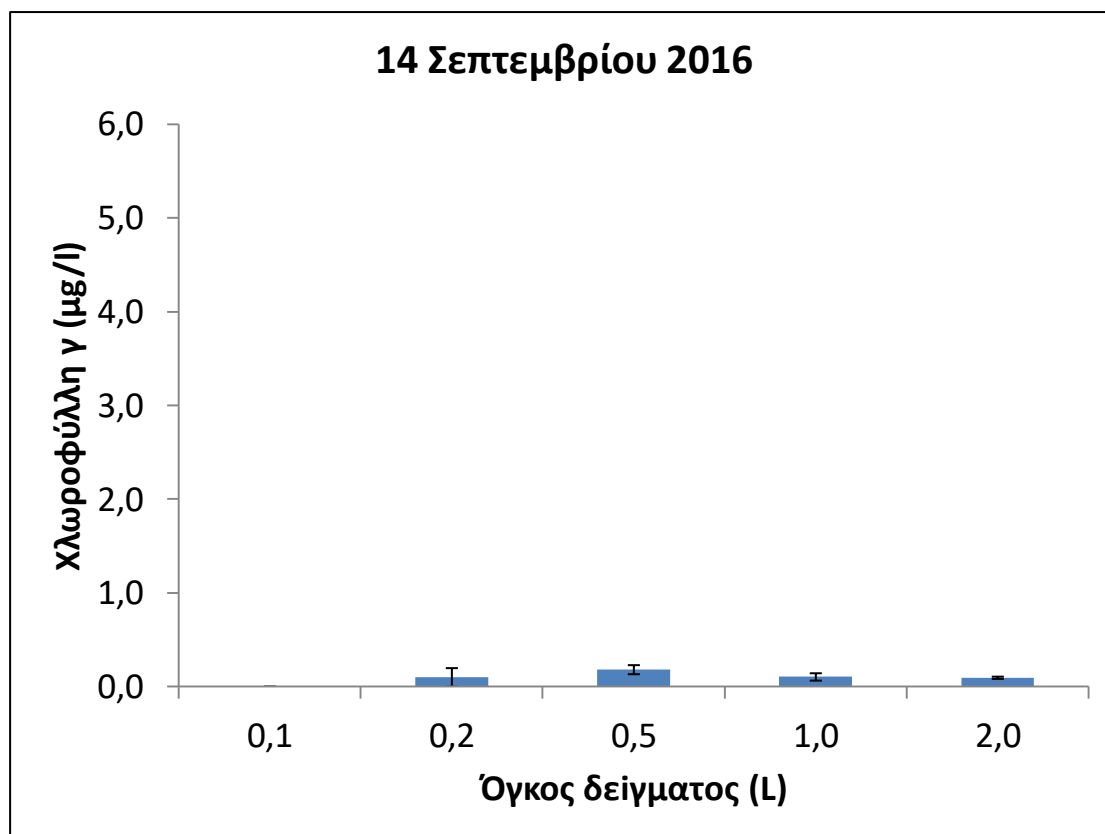
Σχήμα 1: Διακύμανση της χλωροφύλλης α στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Σεπτεμβρίου.

Η μεγαλύτερη τιμή της χλωροφύλλης β που παρατηρήθηκε κατά την πρώτη δειγματοληψία είναι ίση με $0,1 \pm 0,134$ $\mu\text{g/l}$ που βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,2 L (Σχήμα 2).

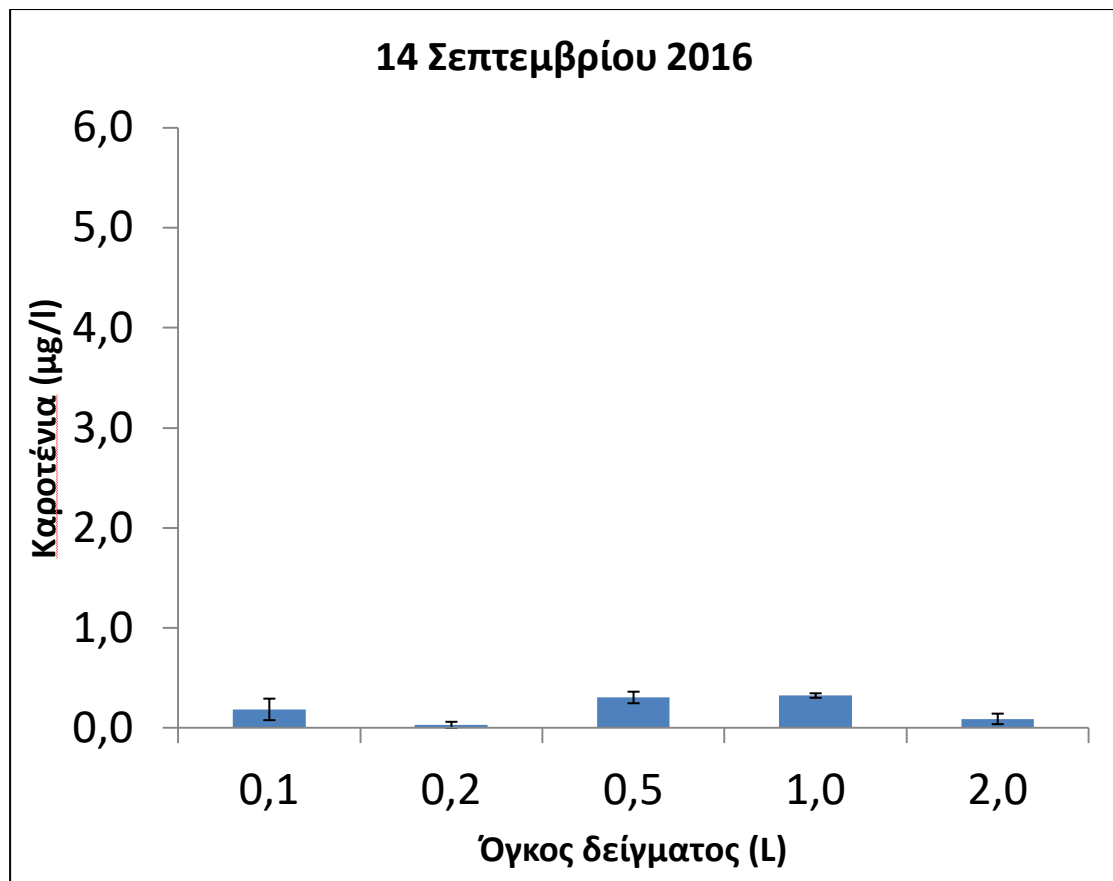


Σχήμα 2: Διακύμανση της χλωροφύλλης β στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Σεπτεμβρίου.

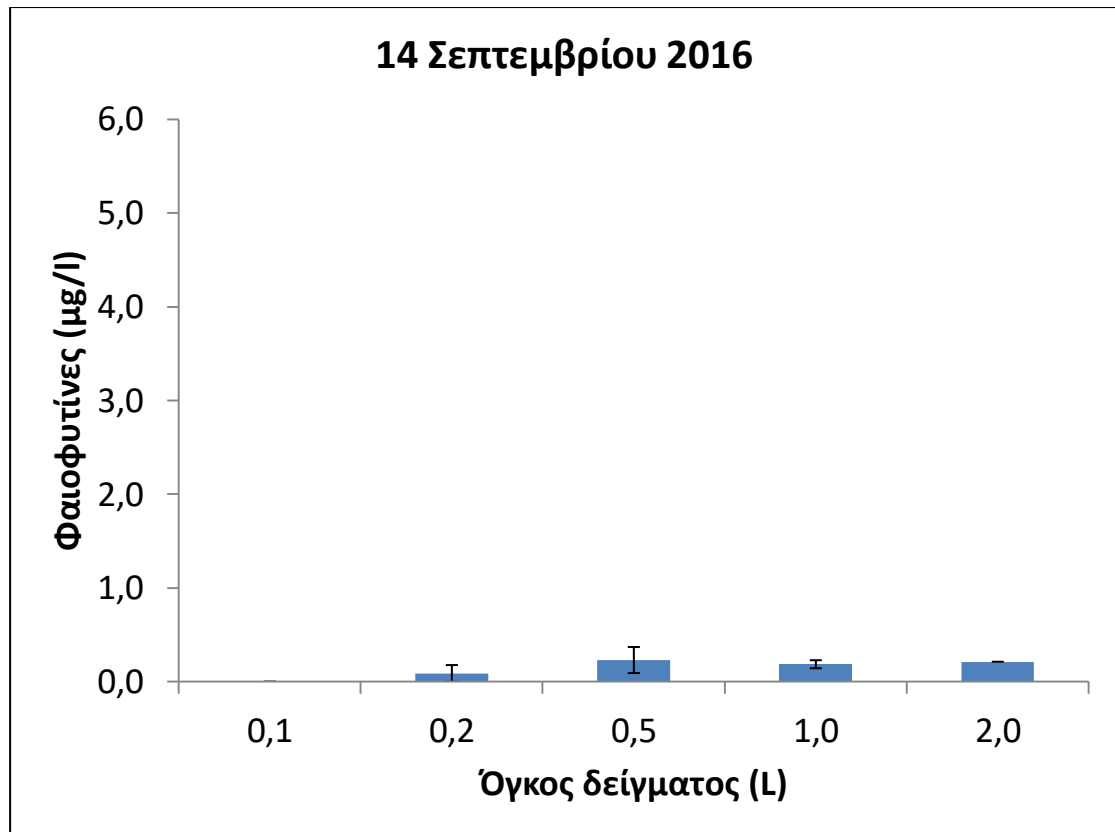
Η μέγιστη μέση τιμή της χλωροφύλλης γ κατά την δειγματοληψία του Σεπτεμβρίου παρατηρήθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,5 L και ισούται με $0,2 \pm 0,084$ $\mu\text{g/l}$ (Σχήμα 3). Η μεγαλύτερη μέση τιμή των καροτενοειδών είναι ίση με $0,3 \pm 0,039$ $\mu\text{g/l}$ η οποία βρέθηκε από την διήθηση του όγκου του 1 L (Σχήμα 4). Η μεγαλύτερη μέση τιμή των φαιοφυτίνων παρατηρήθηκε από τη διήθηση του όγκου των 0,5 L και είναι ίση με $0,2 \pm 0,241$ $\mu\text{g/l}$ (Σχήμα 5).



Σχήμα 3: Διακύμανση της χλωροφύλλης γ στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Σεπτεμβρίου.

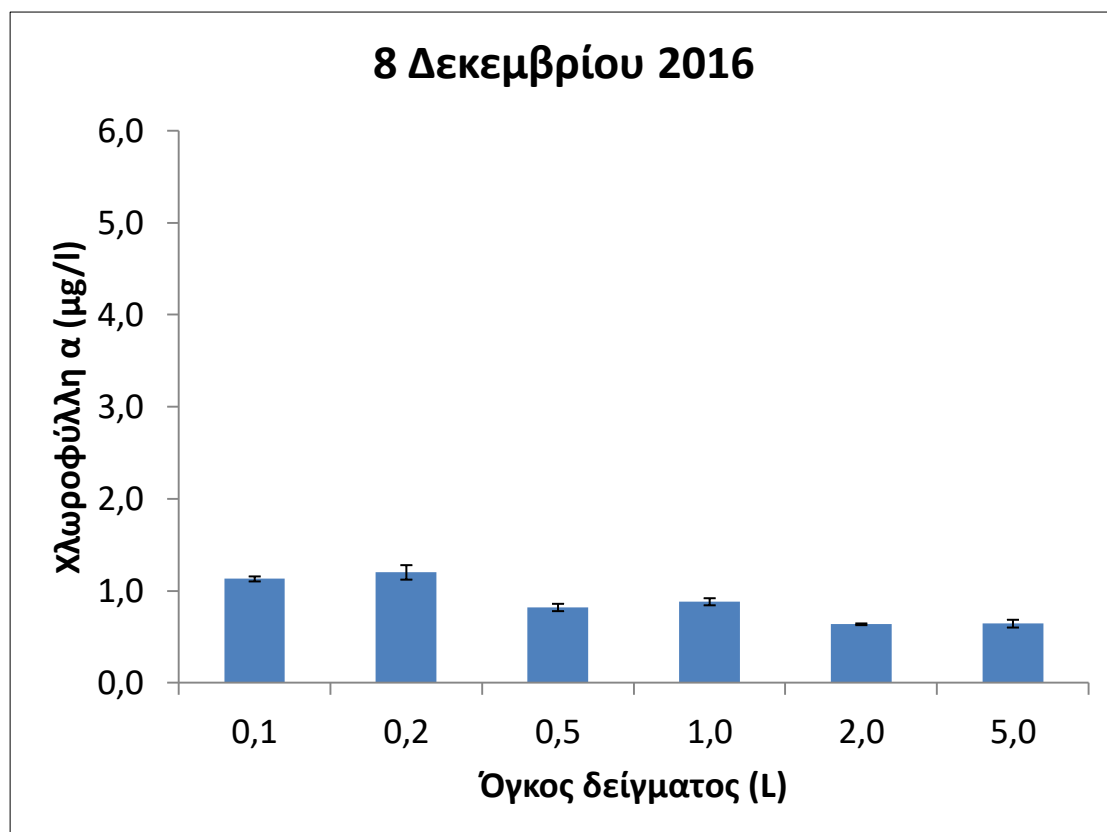


Σχήμα 4: Διακύμανση των καροτενοειδών στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Σεπτεμβρίου.



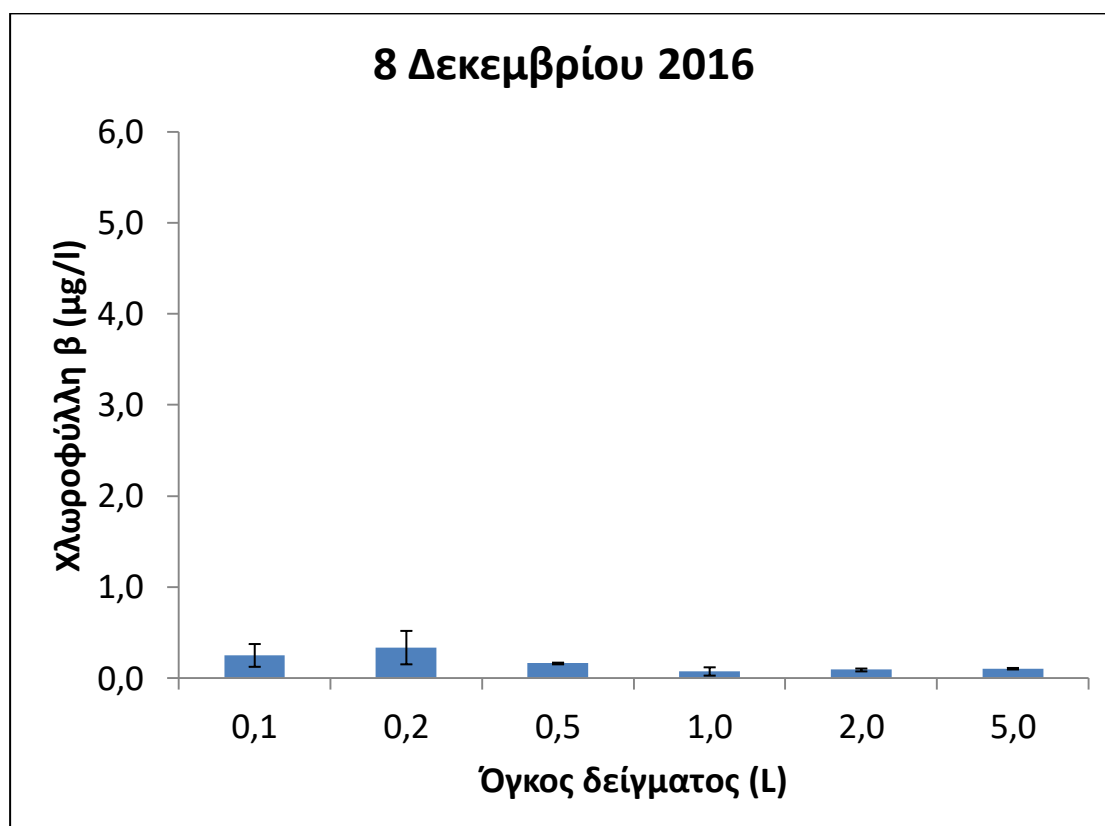
Σχήμα 5: Διακύμανση των φαιοφυτίνων στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Σεπτεμβρίου.

Στο Σχήμα 6 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές της χλωροφύλλης α στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Δεκεμβρίου. Η μεγαλύτερη μέση τιμή της χλωροφύλλης α κατά την δεύτερη δειγματοληψία (8/12/2016) που παρατηρήθηκε είναι $1,2 \pm 0,136$ $\mu\text{g/l}$ η οποία αντιστοιχεί στον διηθημένο όγκο 0,2 L, ενώ η μικρότερη μέση τιμή της βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 2 L και είναι ίση με $0,6 \pm 0,016$ $\mu\text{g/l}$.



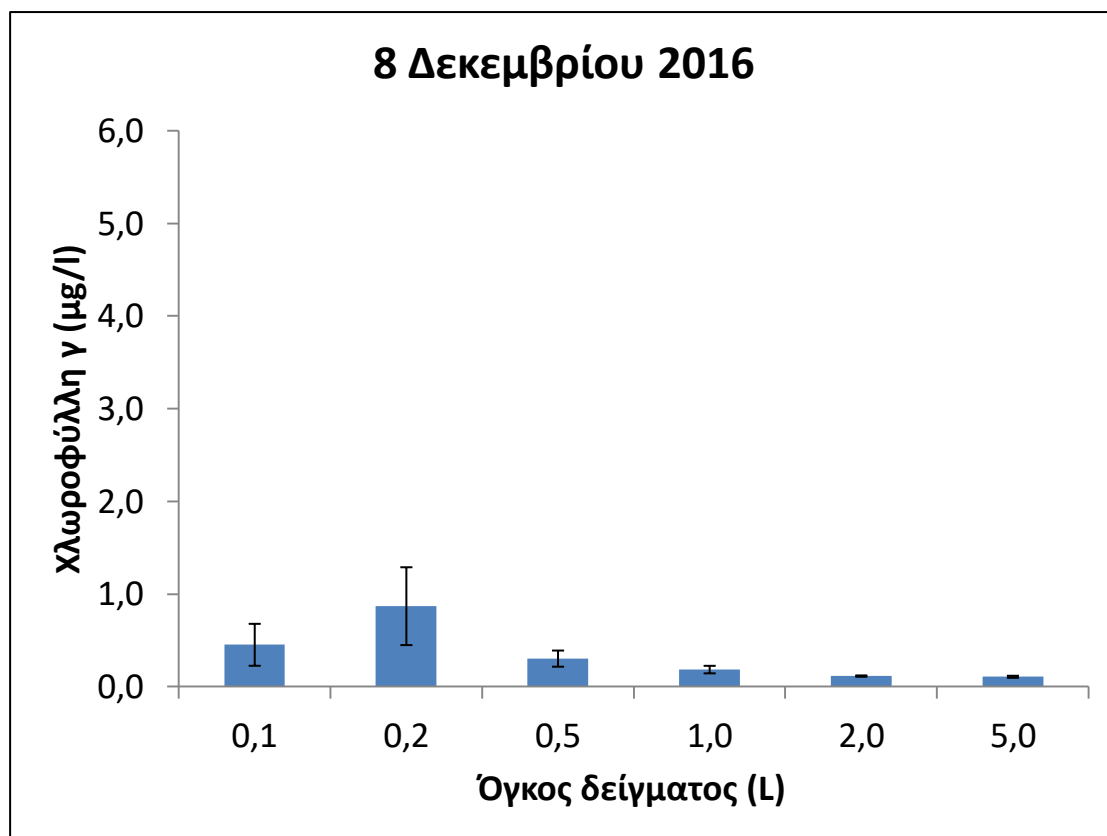
Σχήμα 6: Διακύμανση της χλωροφύλλης α στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Δεκεμβρίου.

Η μεγαλύτερη τιμή της χλωροφύλλης β που παρατηρήθηκε κατά την δειγματοληψία του Δεκεμβρίου είναι ίση με $0,3 \pm 0,318$ $\mu\text{g/l}$ που βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,2 L (Σχήμα 7).

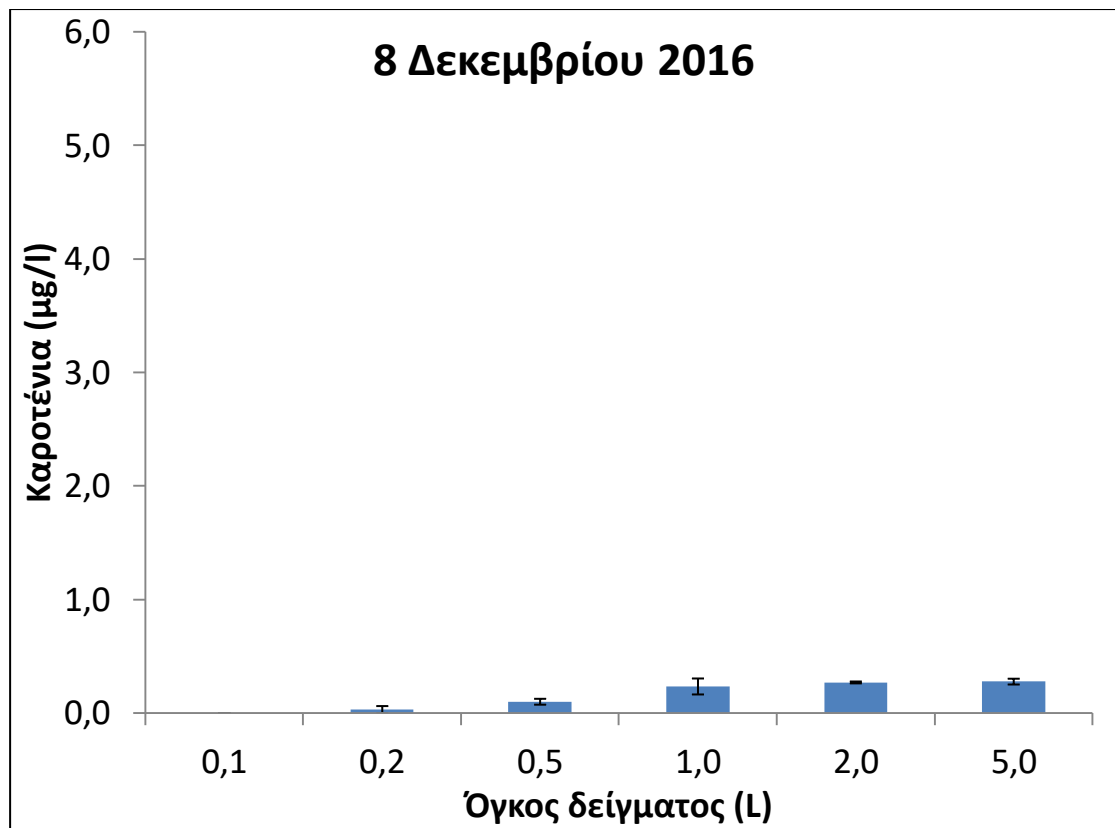


Σχήμα 7: Διακύμανση της χλωροφύλλης β στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Δεκεμβρίου.

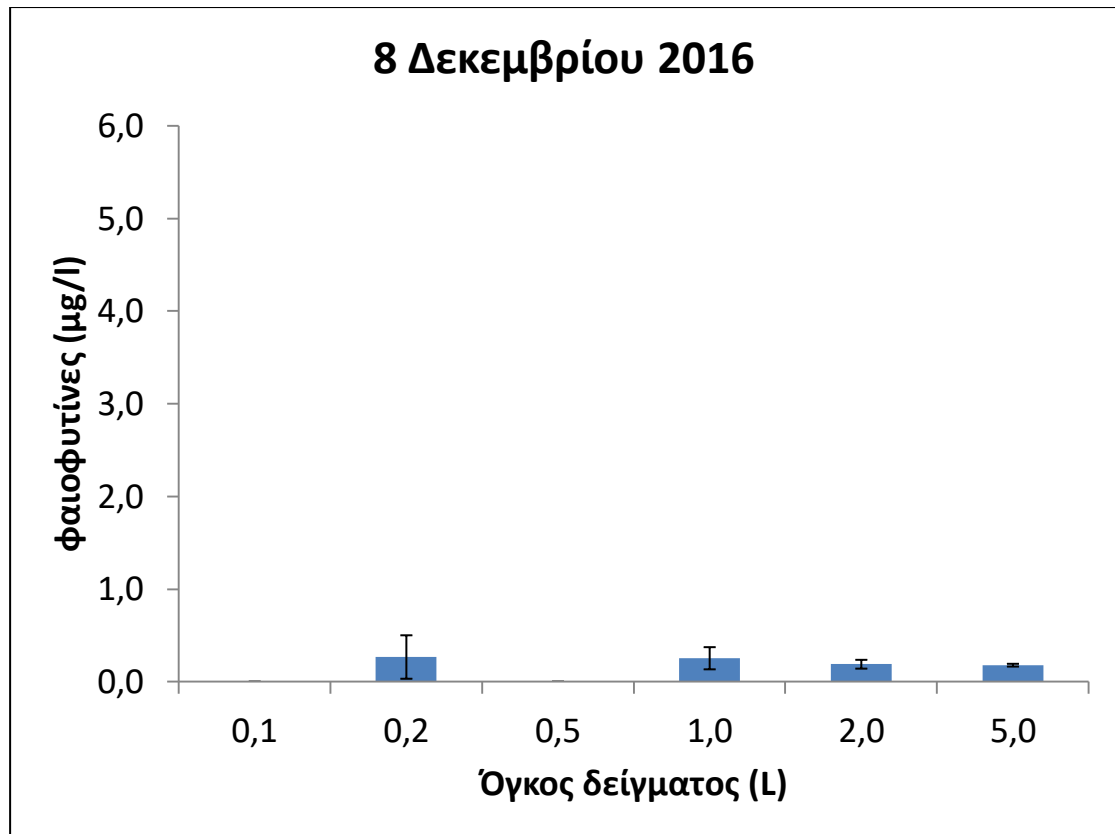
Η μέγιστη μέση τιμή της χλωροφύλλης γ κατά την δειγματοληψία του Δεκεμβρίου παρατηρήθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,2 L και ισούται με $0,9 \pm 0,728$ $\mu\text{g/l}$ (Σχήμα 8). Η μεγαλύτερη μέση τιμή των καροτενοειδών είναι ίση με $0,3 \pm 0,044$ $\mu\text{g/l}$ η οποία βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 5 L (Σχήμα 9). Η μεγαλύτερη μέση τιμή των φαιοφυτίνων παρατηρήθηκε από τη διήθηση του όγκου των 0,2 L και είναι ίση με $0,3 \pm 0,406$ $\mu\text{g/l}$ (Σχήμα 10).



Σχήμα 8: Διακύμανση της χλωροφύλλης γ στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Δεκεμβρίου.

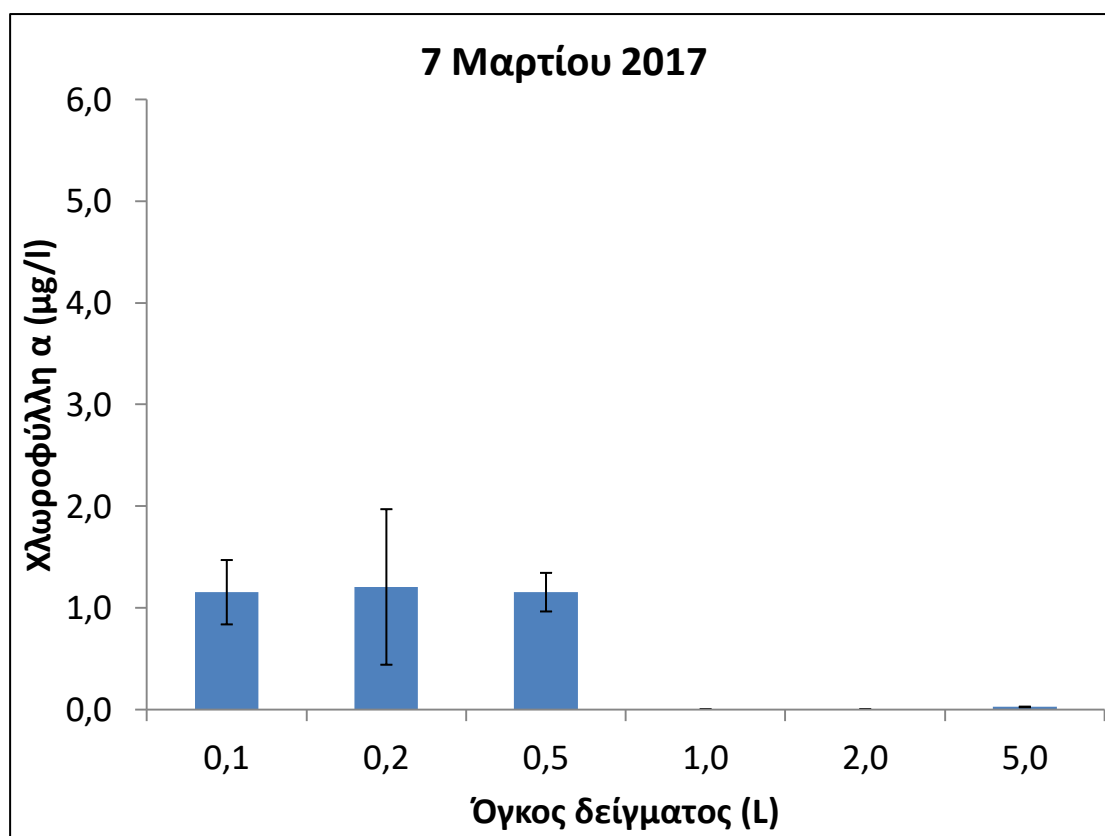


Σχήμα 9: Διακύμανση των καροτενοειδών στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Δεκεμβρίου.



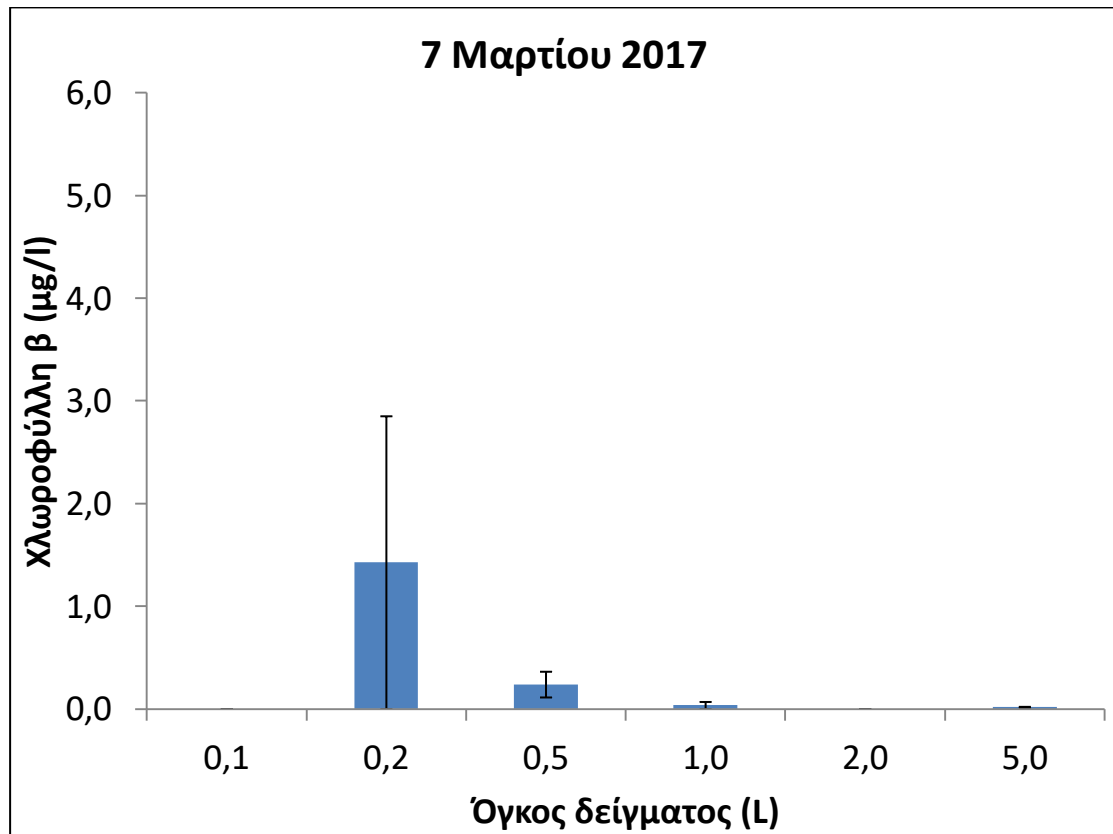
Σχήμα 10: Διακύμανση των φαιοφυτίνων στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Δεκεμβρίου.

Στο Σχήμα 11 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές της χλωροφύλλης α στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου. Η μεγαλύτερη μέση τιμή της χλωροφύλλης α κατά την τρίτη δειγματοληψία (7/3/2017) που παρατηρήθηκε είναι $1,2 \pm 1,325$ $\mu\text{g/l}$ η οποία αντιστοιχεί στον διηθημένο όγκο 0,2 L, ενώ η μικρότερη μέση τιμή της βρέθηκε από την διήθηση των όγκων των 1 L και 2 L και είναι ίση με $0,0 \pm 0,0$ $\mu\text{g/l}$.



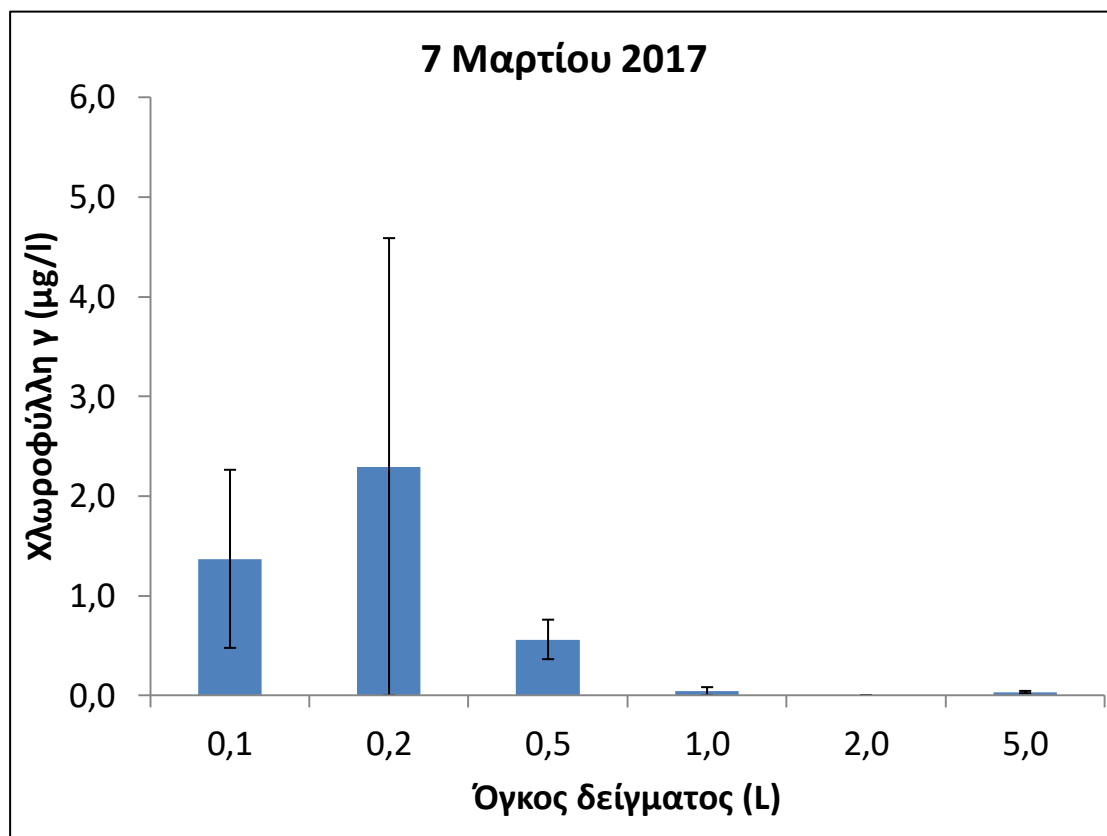
Σχήμα 11: Διακύμανση της χλωροφύλλης α στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου.

Η μεγαλύτερη τιμή της χλωροφύλλης β που παρατηρήθηκε κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου είναι ίση με $1,4 \pm 2,470$ $\mu\text{g/l}$ που βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,2 L (Σχήμα 12).

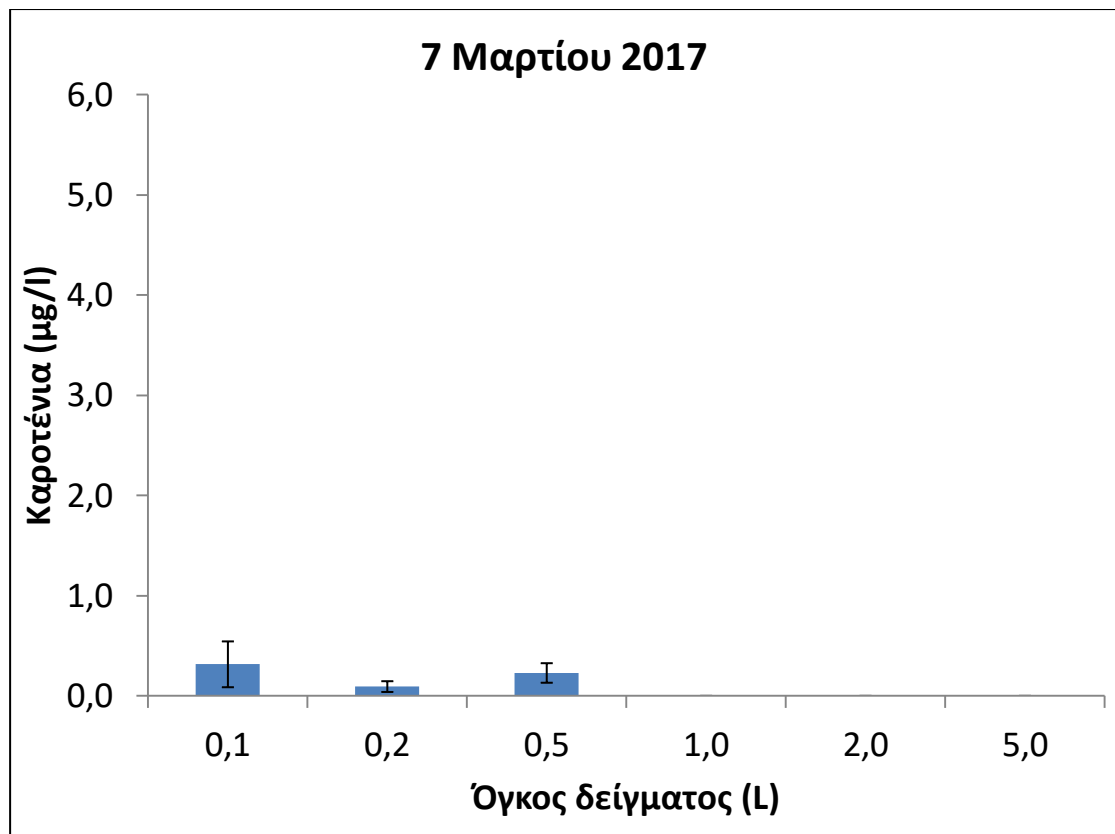


Σχήμα 12: Διακύμανση της χλωροφύλλης β στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου.

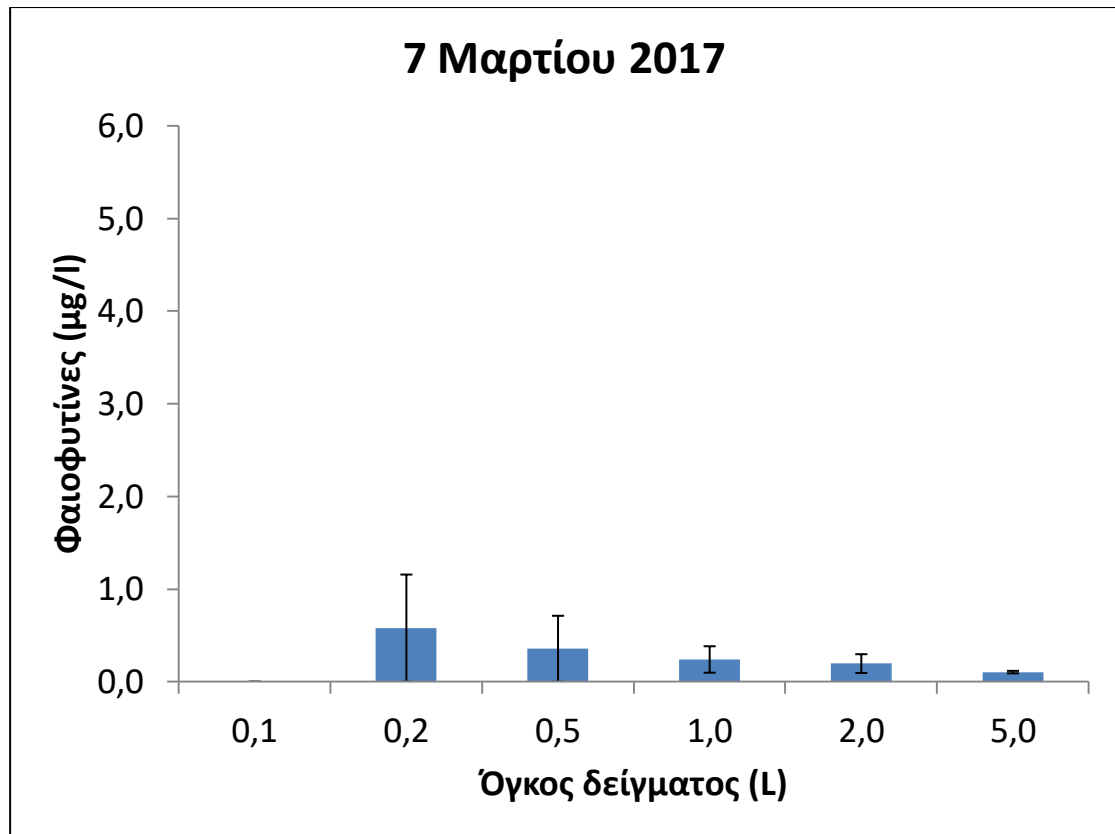
Η μέγιστη μέση τιμή της χλωροφύλλης γ κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου παρατηρήθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,2 L και ισούται με $2,3 \pm 3,971 \mu\text{g/l}$ (Σχήμα 13). Η μεγαλύτερη μέση τιμή των καροτενοειδών κατά την τρίτη δειγματοληψία είναι ίση με $0,3 \pm 0,396 \mu\text{g/l}$ η οποία βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,1 L (Σχήμα 14). Η μεγαλύτερη μέση τιμή των φαιοφυτίνων στη δειγματοληψία του Μαρτίου παρατηρήθηκε από τη διήθηση του όγκου των 0,2 L και είναι ίση με $0,6 \pm 1,002 \mu\text{g/l}$ (Σχήμα 15).



Σχήμα 13: Διακύμανση της χλωροφύλλης γ στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου.

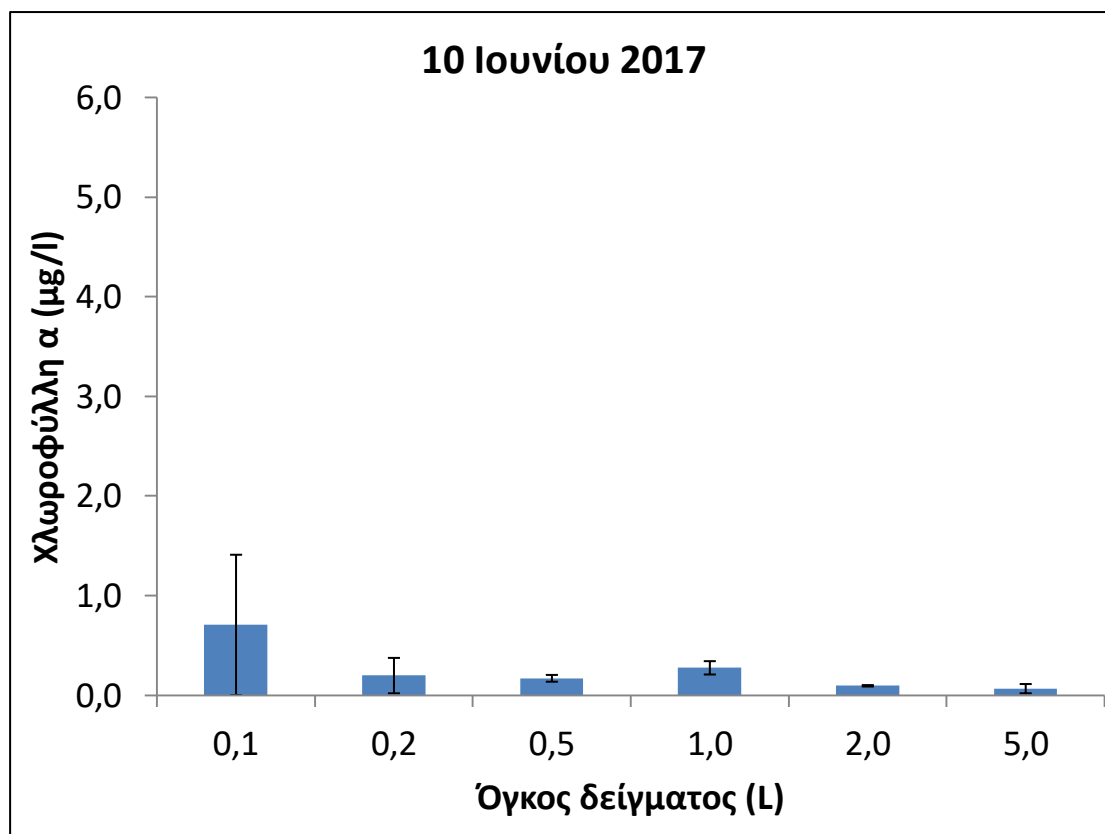


Σχήμα 14: Διακύμανση των καροτενοειδών στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου.



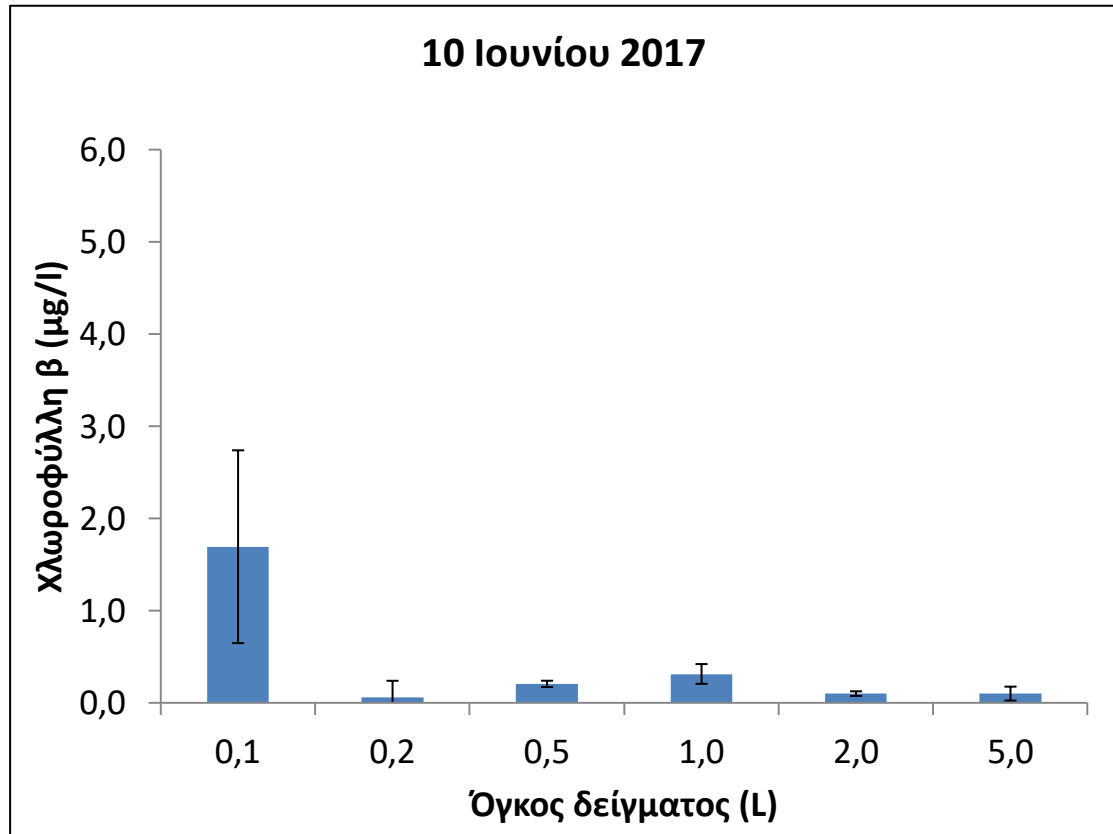
Σχήμα 15: Διακύμανση των φαιοφυτίνων στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου.

Στο Σχήμα 16 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές της χλωροφύλλης α στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Ιουνίου. Η μεγαλύτερη μέση τιμή της χλωροφύλλης α κατά την τέταρτη δειγματοληψία (10/6/2017) που παρατηρήθηκε είναι $0,7 \pm 1,220$ $\mu\text{g/l}$ η οποία αντιστοιχεί στον διηθημένο όγκο 0,1 L, ενώ η μικρότερη μέση τιμή της βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 2 L και είναι ίση με $0,1 \pm 0,012$ $\mu\text{g/l}$.



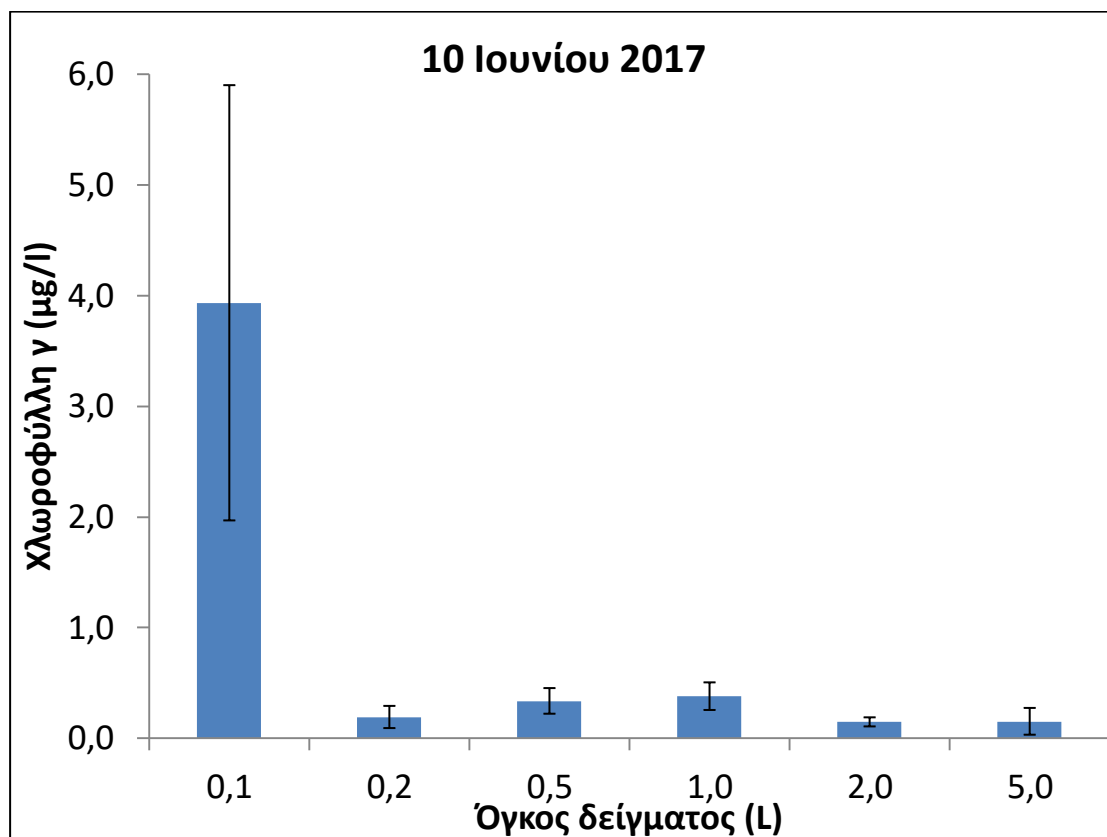
Σχήμα 16: Διακύμανση της χλωροφύλλης α στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Ιουνίου.

Η μεγαλύτερη τιμή της χλωροφύλλης β που παρατηρήθηκε κατά την δειγματοληψία του Ιουνίου είναι ίση με $1,7 \pm 1,811$ $\mu\text{g/l}$ που βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,1 L (Σχήμα 17).

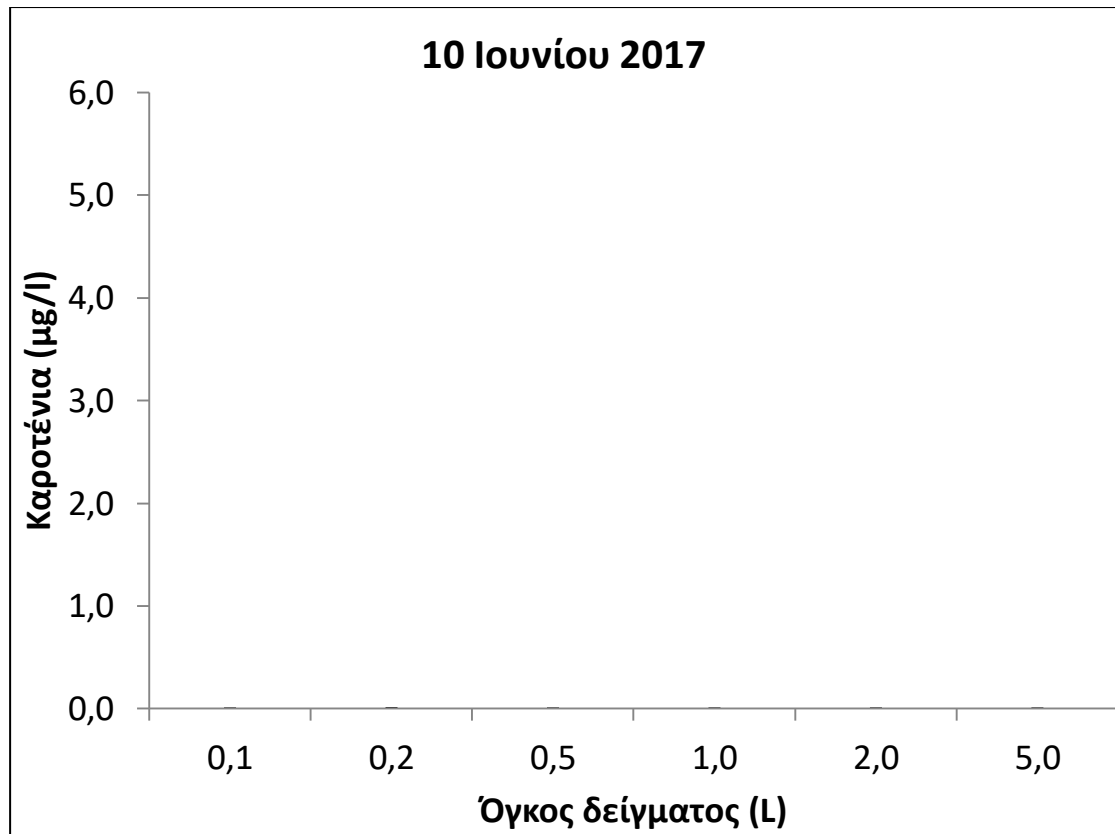


Σχήμα 17: Διακύμανση της χλωροφύλλης β στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Ιουνίου.

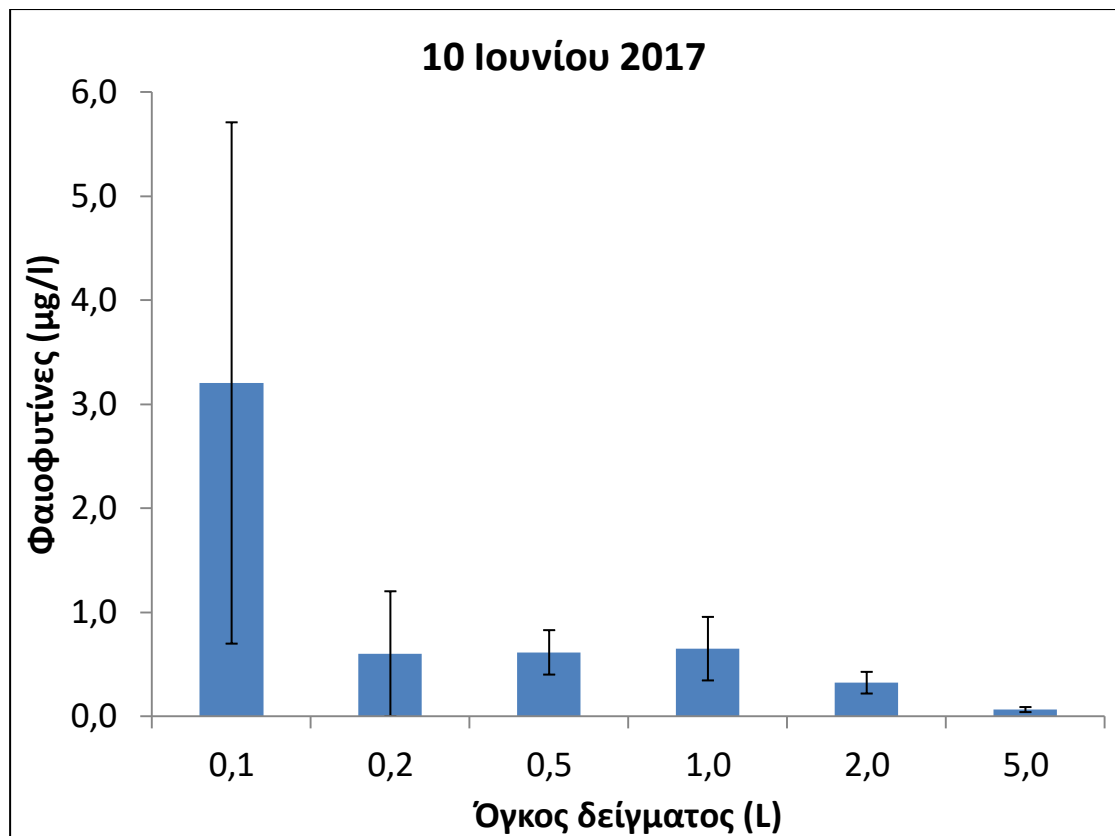
Η μέγιστη μέση τιμή της χλωροφύλλης γ κατά την δειγματοληψία του Ιουνίου παρατηρήθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,1 L και ισούται με $3,9 \pm 3,407$ $\mu\text{g/l}$ (Σχήμα 18). Η μεγαλύτερη μέση τιμή των καροτενοειδών κατά την τέταρτη δειγματοληψία είναι ίση με $0,0 \pm 0,002$ $\mu\text{g/l}$ η οποία βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,2 L (Σχήμα 19). Η μεγαλύτερη μέση τιμή των φαιοφυτίνων στη δειγματοληψία του Ιουνίου παρατηρήθηκε από τη διήθηση του όγκου των 0,1 L και είναι ίση με $3,2 \pm 4,340$ $\mu\text{g/l}$ (Σχήμα 20).



Σχήμα 18: Διακύμανση της χλωροφύλλης γ στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Ιουνίου.

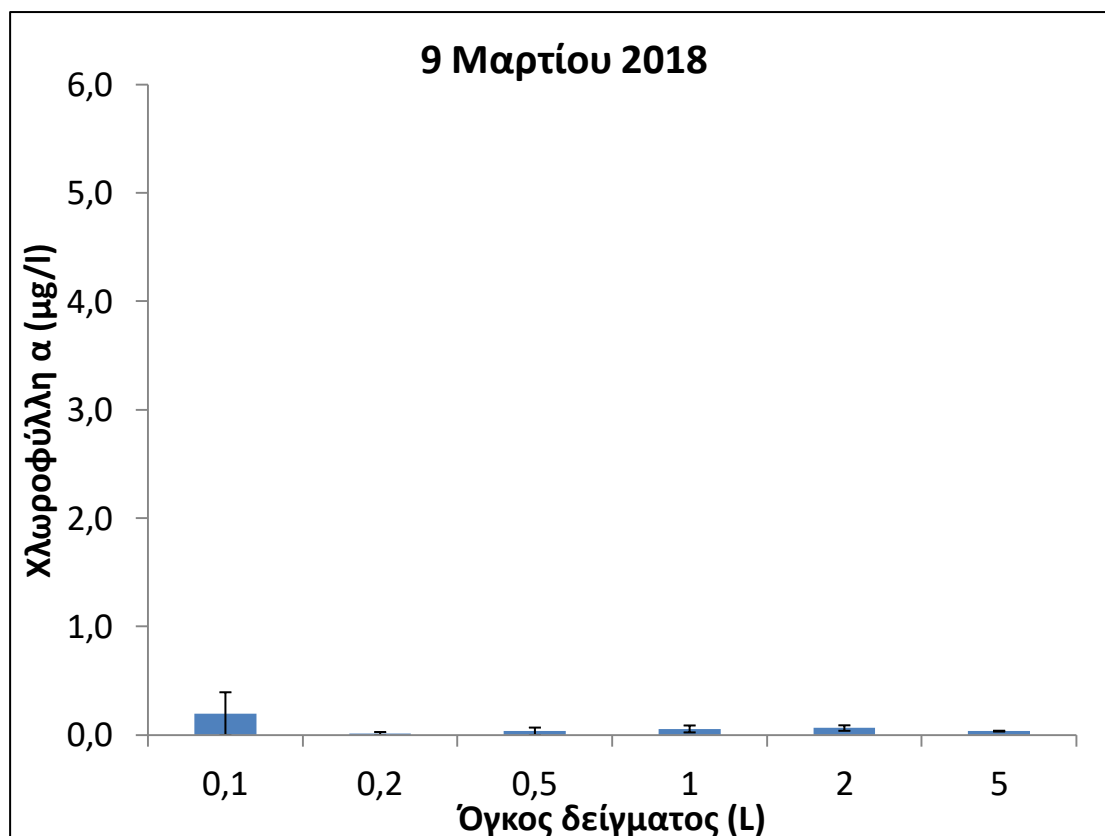


Σχήμα 19: Διακύμανση των καροτενοειδών στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Ιουνίου.



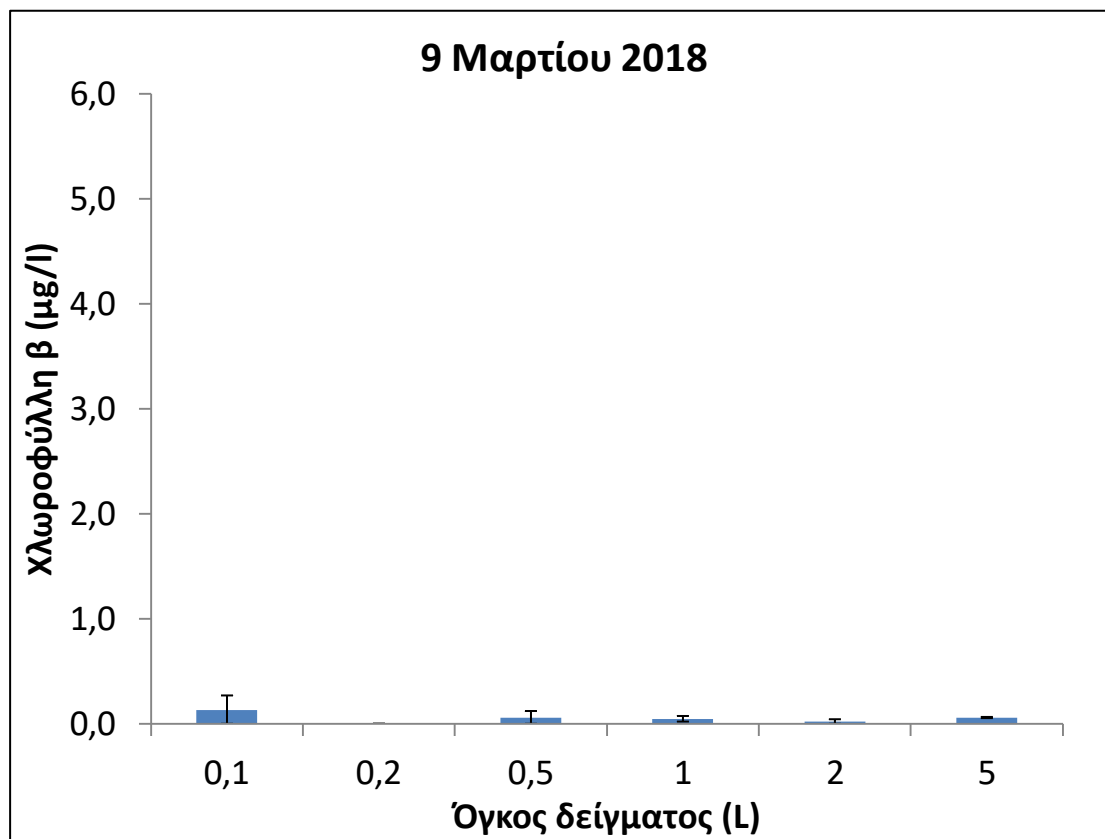
Σχήμα 20: Διακύμανση των φαιοφυτίνων στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Ιουνίου.

Στο Σχήμα 21 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές της χλωροφύλλης α στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου 2018. Η μεγαλύτερη μέση τιμή της χλωροφύλλης α κατά την πέμπτη δειγματοληψία (9/3/2018) που παρατηρήθηκε είναι $0,2 \pm 0,342$ $\mu\text{g/l}$ η οποία αντιστοιχεί στον διηθημένο όγκο 0,1 L, ενώ η μικρότερη μέση τιμή της βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,2 L και είναι ίση με $0,0 \pm 0,025$ $\mu\text{g/l}$.



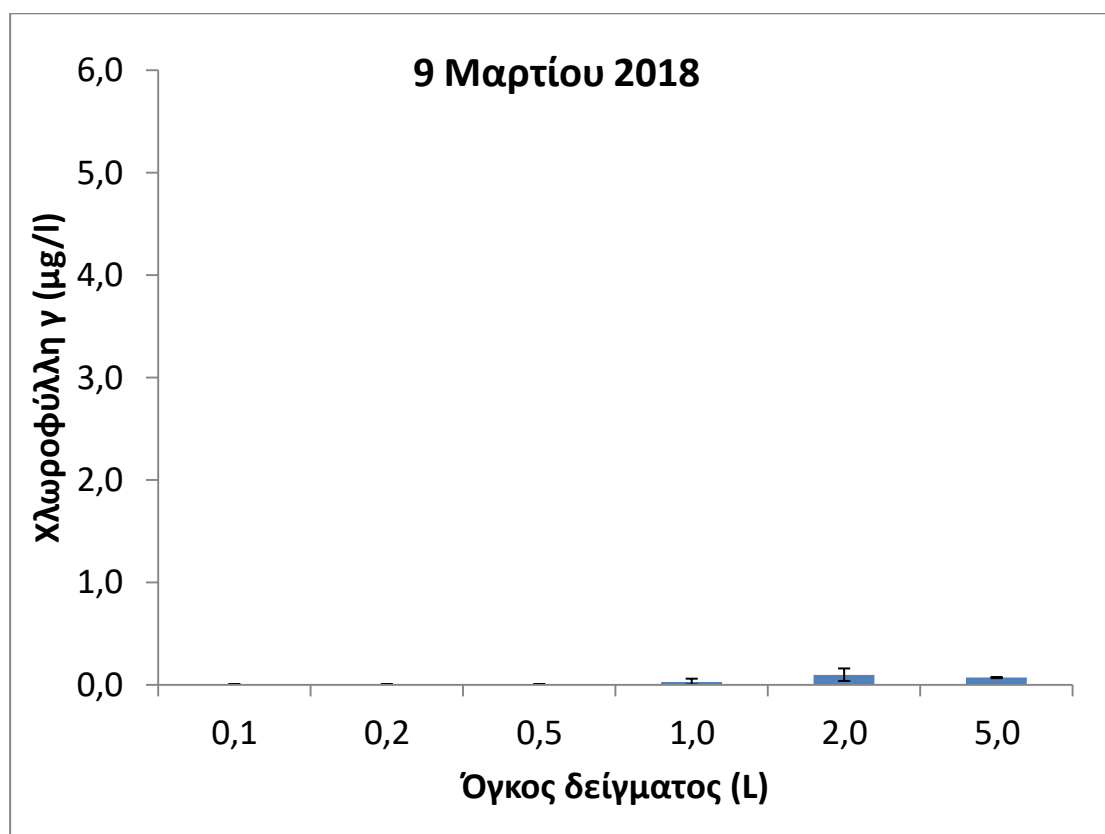
Σχήμα 21: Διακύμανση της χλωροφύλλης α στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου 2018.

Η μεγαλύτερη τιμή της χλωροφύλλης β που παρατηρήθηκε κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου 2018 είναι ίση με $0,1 \pm 0,234$ $\mu\text{g/l}$ που βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,1 L (Σχήμα 22).

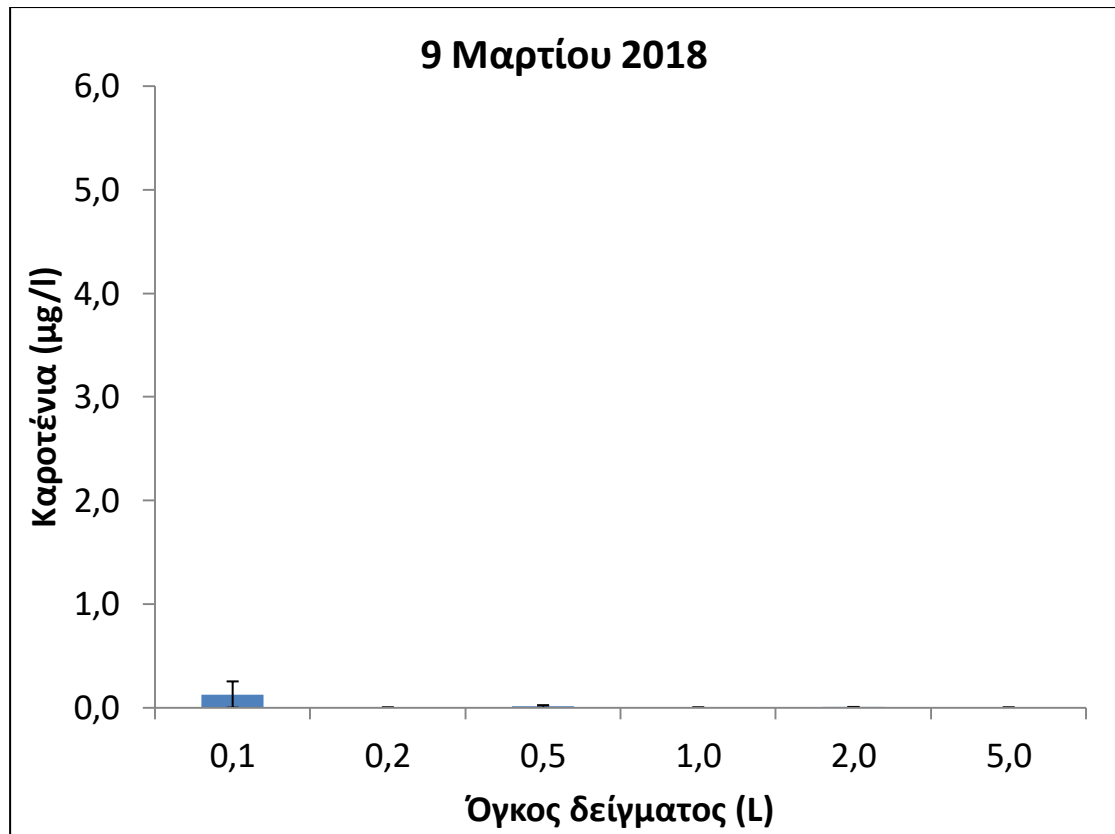


Σχήμα 22: Διακύμανση της χλωροφύλλης β στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου 2018.

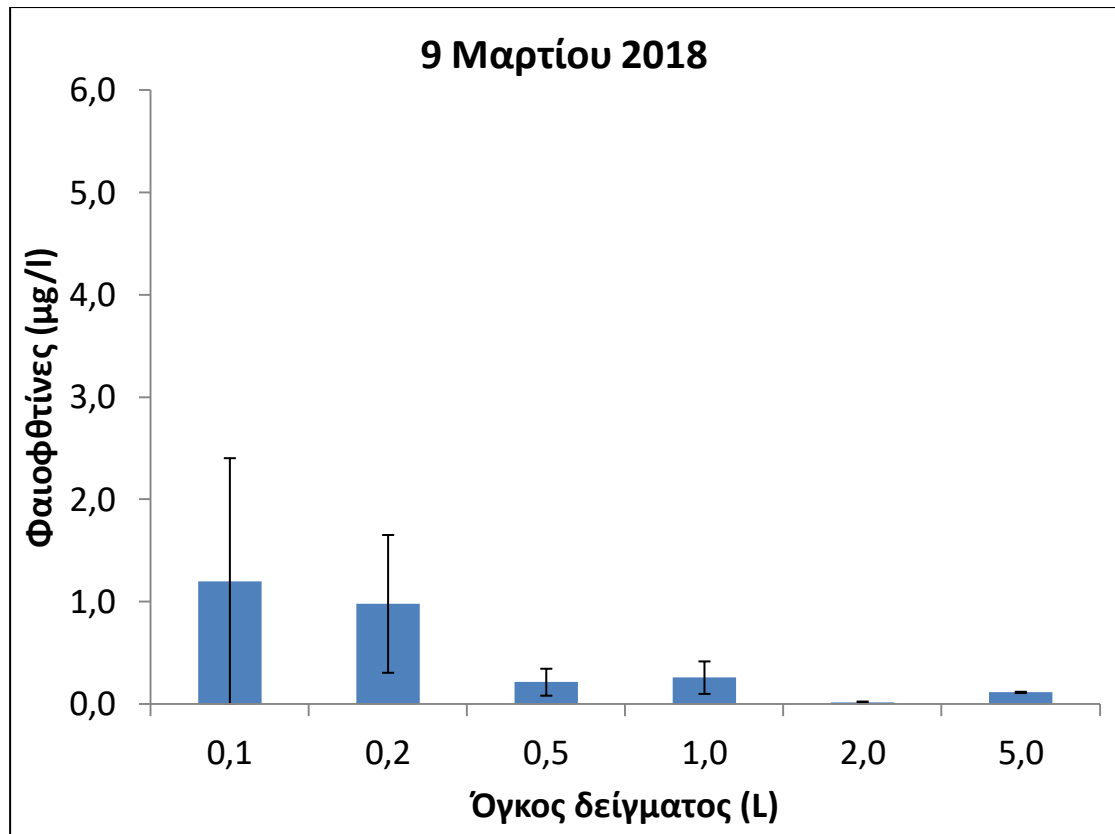
Η μέγιστη μέση τιμή της χλωροφύλλης γ κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου 2018 παρατηρήθηκε από την διήθηση του όγκου των 2 L και ισούται με $0,1 \pm 0,106$ $\mu\text{g/l}$ (Σχήμα 23). Η μεγαλύτερη μέση τιμή των καροτενοειδών κατά την πέμπτη δειγματοληψία είναι ίση με $0,1 \pm 0,219$ $\mu\text{g/l}$ η οποία βρέθηκε από την διήθηση του όγκου των 0,1 L (Σχήμα 24). Η μεγαλύτερη μέση τιμή των φαιοφυτίνων στη δειγματοληψία του Μαρτίου 2018 παρατηρήθηκε από τη διήθηση του όγκου των 0,1 L και είναι ίση με $1,2 \pm 2,081$ $\mu\text{g/l}$ (Σχήμα 25).



Σχήμα 23: Διακύμανση της χλωροφύλλης γ στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου 2018.



Σχήμα 24: Διακύμανση των καροτενοειδών στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου 2018.



Σχήμα 25: Διακύμανση των φαιοφθτίνων στους διηθημένους όγκους κατά την δειγματοληψία του Μαρτίου 2018.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη έγινε μια προσπάθεια εκτίμησης της επίδρασης του διηθημένου όγκου νερού στη συγκέντρωση των φυτοχρωστικών : χλωροφύλλη α, χλωροφύλλη β , χλωροφύλλη γ, καροτινοειδή και φαιοφυτίνες. Για την πιο αξιόπιστη μελέτη του παράγοντα αυτού, έγιναν μετρήσεις των φυτοχρωστικών σε διάφορες χρονικές περιόδους.

Στον Πίνακα I του Παραρτήματος φαίνονται τα αποτελέσματα της μεθόδου ανάλυσης της διακύμανσης (Analysis of Variance - ANOVA). Πιο αναλυτικά, έδειξαν ότι κατά την δειγματοληψία του Σεπτεμβρίου οι τιμές της χλωροφύλλης α διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ($F_{4,10}=25.546, p =0.00$). Επιπλέον, για την πρώτη δειγματοληψία οι τιμές των καροτενοειδών διέφεραν στατιστικώς μεταξύ τους ($F_{4,10}=3,74, p =0.04$).

Τα αποτελέσματα της δειγματοληψίας του Δεκεμβρίου έδειξαν ότι οι τιμές της χλωροφύλλης α ($F_{5,12}=28.84, p =0.00$) και οι τιμές των καροτενοειδών ($F_{5,12}=12.61, p =0.00$) διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Τα αποτελέσματα της δειγματοληψίας του Μαρτίου έδειξαν να διαφέρουν στατιστικά οι τιμές της χλωροφύλλης α ($F_{5,12}=3.38, p =0.04$), ενώ τα αποτελέσματα της δειγματοληψίας του Ιουνίου διέφεραν στατιστικά οι τιμές της χλωροφύλλης γ ($F_{5,12}=3.49, p =0.04$).

Τα αποτελέσματα της δειγματοληψίας του Μαρτίου 2018 έδειξαν ότι οι τιμές των φυτοχρωστικών δεν διέφεραν στατιστικώς μεταξύ τους.

Στους Πίνακες II, III, IV, V, VI, VII του Παραρτήματος φαίνονται τα αποτελέσματα των κριτηρίων των πολλαπλών συγκρίσεων (Tukey HSD τεστ). Για την δειγματοληψία του Σεπτεμβρίου διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στη διήθηση του όγκου των 0.1 L σε σχέση με τους υπόλοιπους όγκους που διηθήθηκαν για τις τιμές της χλωροφύλλης α ενώ για τις τιμές των καροτενοειδών έδειξε να διαφέρει ο όγκος των 0,2 L με τον όγκο του 1 L.

Για την δειγματοληψία του Δεκεμβρίου για τις τιμές της χλωροφύλλης α διαπιστώθηκε να διαφέρουν σημαντικά οι όγκοι των 0,1 L και των 0,2 L με υπόλοιπους όγκους (1 L, 2 L, 5 L) καθώς και ο όγκος του 1 L με τους όγκους των 2 L και των 5 L. Επιπλέον, για τις τιμές των καροτενοειδών αποδείχτηκε να υπάρχει σημαντική διαφορά των όγκων των 0,1 L 0,2 L με τους όγκους των 1 L, 2 L, και 5 L.

Επίσης, διαπιστώθηκε να διαφέρει σημαντικά ο όγκος των 0,5 L με του όγκους των 1 L και 2 L.

Για την δειγματοληψία του Μαρτίου τα κριτήρια πολλαπλών συγκρίσεων δεν φανερώσαν κάποιος όγκος να διαφέρει. Οι τιμές για το σύνολο των φυτοχρωστικών σε αυτή τη δειγματοληψία ήταν σχεδόν μηδενικές στη διήθηση των μεγάλων όγκων (1L, 2L, 5L). Αυτό ίσως οφείλεται στην ύπαρξη αρκετών στερεών σωματιδίων (βρωμιές) στη θάλασσα την ημέρα της δειγματοληψίας, τα όποια αύξησαν τη θολερότητα και χρειάστηκε να φυγοκεντρηθούν τα δείγματα δυο φορές. Εξαιτίας αυτών των αποτελεσμάτων θεωρήθηκε καλύτερο να ξαναγίνει η δειγματοληψία του Μαρτίου το επόμενο έτος (Μάρτιος 2018) για να διευκρινιστούν τα αποτελέσματα σχετικά κυρίως με τους μεγάλους όγκους.

Για την δειγματοληψία του Ιουνίου αποδείχτηκε να διαφέρουν οι τιμές τις χλωροφύλλης γ ανάμεσα στον όγκο διήθησης των 0,1 L με τους όγκους των 2 L και των 5 L.

Συμφωνά με τα παραπάνω αποτελέσματα των δειγματοληψιών φαίνεται ότι ο όγκος διήθησης δεν είναι ίδιος για όλες τις εποχές για τον προσδιορισμό των φυτοχρωστικών. Η μελέτη των Colella et al. (2016) αναφέρει ότι στη Μεσόγειος η εποχικότητα επηρεάζει κατά 80% την διακύμανση της χλωροφύλλης α. Είναι δύσκολο να προταθεί ένας συγκεκριμένος όγκος που χρειάζεται να διηθηθεί σε όλη τη διάρκεια του έτος για την εκτίμηση των χρωστικών. Ωστόσο μπορεί να προταθεί ένας κατάλληλος όγκος ανάλογα την εποχή για την εκτίμηση των φυτοχρωστικών και κυρίως για τον προσδιορισμό της χλωροφύλλης α. Η χλωροφύλλη α είναι η πιο σημαντική φωτοσυνθετική χρωστική για τους οργανισμούς που μπορούν και φωτοσυνθέτουν. Επιπλέον, η χλωροφύλλη α αποτελεί δείκτη ποιότητας του νερού και χρησιμοποιείται ευρέως για την εκτίμηση της κατάστασης των υδροβίων οικοσυστημάτων (Boyer et al. 2009).

Αναλυτικότερα, τα αποτελέσματα για τη δειγματοληψία του Σεπτεμβρίου που αφορά την περίοδο του φθινόπωρου φανέρωσαν πως η διήθηση πάνω των 0,2 L μπορούν να βρουν ικανοποιητικά την συγκέντρωση της χλωροφύλλης α. Πιο αξιόπιστο θεωρείται όμως να χρησιμοποιείται ο όγκος μεγαλύτερος των 0,5 L διότι η τυπική απόκλιση είναι μικρότερη. Τα αποτελέσματα της δειγματοληψίας του Δεκεμβρίου που αφορά την περίοδο του χειμώνα έδειξαν πως η διήθηση των όγκων 0,1 L και 0,2 L δεν επαρκεί για την εκτίμηση των φυτοχρωστικών. Η διήθηση του όγκου των 0,5 L φαίνεται να είναι η πιο αξιόπιστη. Κατά την περίοδο της άνοιξης που

αντιστοιχεί η δειγματοληψία του Μαρτίου, η διήθηση του όγκου των 0,2 L παρουσίαζαν μεγάλη τυπική απόκλιση και δεν προτείνεται. Την επομένη χρόνια κατά την ίδια περίοδο (Μάρτιος 2018) τα αποτελέσματα δεν φανέρωσαν διαφορές στους όγκους που διηθήκαν. Προτείνεται η διήθηση όγκου τουλάχιστον 1 L. Σημειώνεται ότι ο όγκος των 0,1 L παρουσιάζει μεγάλη τυπική απόκλιση για αυτό και δεν προτείνεται. Τα αποτελέσματα της δειγματοληψίας του Ιουνίου που αφορά την περίοδο του καλοκαιρίου φανέρωσαν ότι είναι αξιόπιστο να χρησιμοποιηθεί ο όγκος τουλάχιστον 1 L.

Θα μπόρεσε να ισχύει ο ισχυρισμός ότι όταν το σύστημα εμπλουτίζεται με θρεπτικά και αυξάνεται η πρωτογενής παραγωγή, η διήθηση μικρότερου όγκου νερού είναι πιο αντιπροσωπευτική. Ο εμπλουτισμός λαμβάνει χώρα τη περίοδο του φθινόπωρο και το χειμώνα μέσω των κατακρημνισμάτων και των εισροών των ποταμών στο σύστημα. Η μελέτη των Herut et al. (2000) στην νότιο ανατολική Μεσόγειο έδειξε αυξημένη συγκέντρωση χλωροφύλλης *a* κατά τη περίοδο του φθινοπώρου και του χειμώνα. Κατά την περίοδο του φθινοπώρου και του χειμώνα οι Raitsos et al (2012), παρατήρησαν τις υψηλότερες τιμές της χλωροφύλλης *a* στον Παγασητικό, ενώ την άνοιξη και το καλοκαίρι εμφανίστηκαν χαμηλότερες τιμές. Στην παρούσα εργασία, κατά την θερμή περίοδο (άνοιξη – καλοκαίρι) φαίνονται χαμηλότερες οι τιμές της χλωροφύλλης *a*. Κατά τους Kormas (1998) και Αγγελόπουλος (2016), η συγκέντρωση της χλωροφύλλης *a* φαίνεται να συσχετίζεται αρνητικά με τη θερμοκρασία νερού. Συμφωνά με τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας, στην περίοδο αυτή προτείνεται η διήθηση όγκου πάνω από 1 L.

Συμπερασματικά, προτιμότερο θα ήταν να αποφευχθεί να διηθείται ο όγκος των 0,1 L και των 0,2 L διότι οι τιμές που προέκυπταν στα περισσότερα δείγματα παρουσίαζαν μεγάλη τυπική απόκλιση. Επιπλέον να αναφερθεί πως συνολικά δεν παρατηρηθήκαν διαφορές στα αποτελέσματα των τιμών που προέκυπταν από την διήθηση των 2 L και 5 L. Καλό είναι να προσθέτει το γεγονός ότι στις τιμές που προέκυπταν από τη διήθηση των όγκων 2 L και 5 L οι τιμές της τυπικής απόκλισης είναι οι μικρότερες σε σχέση με τις τιμές των τυπικών αποκλίσεων από τη διήθηση των υπόλοιπων όγκων. Καταλήγοντας, θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε ότι η διήθηση του όγκου πάνω των 0,5 L μπορεί να προσδιορίσει αρκετά καλά τις συγκεντρώσεις των φυτοχρωστικών. Ωστόσο, σίγουρα πρέπει να ληφθεί υπόψη τόσο η γεωγραφική περιοχή που πραγματοποιούνται οι δειγματοληψίες όσο και η εποχικότητα που γίνεται και το πειραματικό κομμάτι.

Διακυμάνσεις των συγκεντρώσεων της χλωροφύλλης α

Στις περισσότερες μελέτες ο όγκος νερού που συλλέγεται και διηθείται με σκοπό την εκτίμηση των συγκεντρώσεων των φυτοχρωστικών γίνεται εμπειρικά και είναι σχεδόν από 1 L έως 2 L, χωρίς να αναφέρεται ο λόγος που χρησιμοποιούνται οι συγκεκριμένοι όγκοι. Στην παρούσα μελέτη βρεθήκαν οι διακυμάνσεις των συγκεντρώσεων των φυτοχρωστικών διηθίζοντας διάφορους όγκους. Τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων της χλωροφύλλης α της παρούσας εργασίας συγκρίνονται με άλλες μελέτες όσον αφορά τις τιμές των συγκεντρώσεων που βρεθήκαν έπειτα από διήθηση από 1 L έως 2 L.

Η χλωροφύλλη α δίνει πολύτιμες πληροφορίες της βιομάζας του φυτοπλαγκτού σε ένα υδάτινο σύστημα, διαδραματίζοντας πρωταρχικό ρόλο στη φωτοσύνθεση. Ανάλογα με τη συγκέντρωση της χλωροφύλλης α, τα υδάτινα συστήματα μπορούν να χαρακτηριστούν ως oligότροφα, mesότροφα και εύτροφα (Βρυώνης 2013). Η κατηγοριοποίηση των συστημάτων ως προς τον ευτροφισμό γίνεται όπως φαίνεται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4: Επίπεδα ευτροφισμού σύμφωνα με τη συγκέντρωση της χλωροφύλλης-α (τροποποιημένο από Karydis 1999 και Pagou et al. 2002) ,τροποποιήθηκαν από τους Simboura et al. 2005, για να συνάδει με την κλίμακα ποιότητας που ορίζει η Οδηγία 2000/60/EK). (τροποποιημένο από Karydis 1999 και Pagou et al. 2002) ,τροποποιήθηκαν από τους Simboura et al. 2005, για να συνάδει με την κλίμακα ποιότητας που ορίζει η Οδηγία 2000/60/EK).

Επίπεδα ευτροφισμού	Συγκέντρωση χλωροφύλλης α (μg/l)
Ολιγοτροφικό	<0,1
Χαμηλό μεσοτροφικό	0,1-0,6
Υψηλό μεσοτροφικό	0,6-2,21
Ευτροφικό	>2,21

Συγκεκριμένα, στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται οι όγκοι που διηθήθηκαν και οι μέσες τιμές της χλωροφύλλης α που βρέθηκαν αντίστοιχα.

Πίνακας 5: Εποχιακή διακύμανση χλωροφύλλης α

Φθινόπωρο		Χειμώνα		Άνοιξη		Καλοκαίρι		Άνοιξη 2018	
Όγκος (L)	Μέση τιμή χλωροφύλλης α (μg/l)	Όγκος (L)	Μέση τιμή χλωροφύλλης α (μg/l)	Όγκος (L)	Μέση τιμή χλωροφύλλης α (μg/l)	Όγκος (L)	Μέση τιμή χλωροφύλλης α (μg/l)	Όγκος (L)	Μέση τιμή χλωροφύλλης α (μg/l)
0,1	0,0±0,046	0,1	1,1±0,047	0,1	1,2±0,548	0,1	0,7±1,220	0,1	0,2±0,342
0,2	0,7±0,160	0,2	1,2±0,136	0,2	1,2±1,325	0,2	0,2±0,308	0,2	0,0±0,025
0,5	0,7±0,110	0,5	0,8±0,069	0,5	1,2±0,329	0,5	0,2±0,059	0,5	0,0±0,060
1	0,8±0,116	1	0,9±0,066	1	0,0±0,000	1	0,3±0,116	1	0,1±0,055
2	0,7±0,004	2	0,6±0,016	2	0,0±0,000	2	0,1±0,012	2	0,1±0,044
		5	0,6±0,073	5	0,0±0,006	5	0,1±0,080	5	0,0±0,006

Στη μελέτη της Παπαδήμου (2017) βρεθήκαν οι εποχιακές διακυμάνσεις των φυτοχρωστικών στα Κάτω Λεχώνια. Συγκεκριμένα, κατά τη περίοδο του φθινόπωρου η μέση τιμή της χλωροφύλλης α κυμάνθηκε $0,4\pm 0,20$ μg/l και χαρακτηρίστηκε ως χαμηλό μεσοτροφικό ενώ στην παρούσα μελέτη βρέθηκε $0,7\pm 0,004$ μg/l και χαρακτηρίζεται ως υψηλό μεσοτροφικό. Το ίδιο συμπέρασμα αναφέρετε και σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο Λιμάνι του Βόλου (Πάσχου 2016; Κουκουβίνου 2019) καθώς και στο χώρο που προσαράζουν αλιευτικά σκάφη (Αγγελόπουλος 2016) κατά την ίδια εποχή. Κατά την περίοδο του χειμώνα στη μελέτη της Παπαδήμου (2017) αναφέρει ότι η μέση τιμή της χλωροφύλλης α βρέθηκε ίση με $0,8\pm 0,38$ μg/l και χαρακτηρίστηκε ως υψηλό μεσοτροφικό. Σε αυτή την εργασία, η μέση τιμή ήταν ίση με $0,6\pm 0,016$ μg/l και χαρακτηρίζεται ως υψηλό μεσοτροφικό. Η μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Θερμαϊκό Κόλπο έδειξε ότι οι μέγιστες συγκεντρώσεις της χλωροφύλλης α εμφανιστήκαν κατά τη περίοδο του χειμώνα (Tsiaras et al. 2014). Γεγονός που οφείλεται στην είσοδο θρεπτικών ουσιών τόσο από την αυξημένη ροή των ποταμών όσο και από την κάθετη ανάμειξη των υδάτων. Η μελέτη στα Κάτω Λεχωνιά (Παπαδήμου 2017) την περίοδο της άνοιξης έδειξε ότι η μέση τιμή της χλωροφύλλης α είναι $0,5\pm 0,21$ μg/l, χαρακτηρίζοντας το υδάτινο σύστημα ως χαμηλό μεσοτροφικό. Στις μελέτες των Τζιώγα (2018) και Κουκουβίνου (2019) αναφέρεται ότι την ίδια εποχή στο Λιμάνι του Βόλου η μέση τιμή της ήταν $0,7\pm 0,40$ μg/l και $1,774\pm 1,34$ μg/l αντίστοιχα, χαρακτηρίζοντας το σύστημα ως υψηλό μεσοτροφικό. Στην παρούσα μελέτη, τα αποτελέσματα από την άνοιξη ήταν μηδενικά από την διήθηση των 1 L και 2 L. Για αυτό το λόγο το υδάτινο σύστημα χαρακτηρίζεται ως ολιγοτροφικό. Την ίδια εποχή του επομένου χρόνου (άνοιξη 2018) η μέση τιμή της χλωροφύλλης α ήταν $0,1\pm 0,044$ μg/l, χαρακτηρίζοντας το ως ολιγοτροφικό. Η μελέτη

των Kormas et al. (2014) έδειξε ότι κατά την άνοιξη οι συνθήκες που επικρατούν στο κεντρικό και εξωτερικό τμήμα της περιοχής του Παγασητικού είναι μέσο-ολιγοτροφικές. Κατά την εποχή του καλοκαιριού η μελέτη της Παπαδήμου (2017) έδειξε ότι η μέση τιμή της χλωροφύλλης *a* ήταν ίση με $0,1 \pm 0,11$ $\mu\text{g/l}$ και χαρακτηρίστηκε ως ολιγοτροφικό. Σε αυτό το συμπέρασμα κατέληξε και η παρούσα εργασία. Η μελέτη που αφορά τον Θερμαϊκό Κόλπο κατά τη περίοδο του καλοκαιριού χαρακτήρισε το σύστημα ως ευτροφικό, κυρίως λόγω των αστικών λυμάτων της πόλης που εισέρχονται στο σύστημα (Karageorgis et al. 2004).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 1: Έλεγχος των τιμών των φυτοχρωστικών ως προς τους όγκους διήθησης σε κάθε εποχή (Αποτελέσματα Ανάλυση της Διακύμανσης)

Μήνας Δειγματοληψίας	Χρωστική	F	p-value
Σεπτέμβριος	Χλωροφύλλη α	25,55	0,00
	Χλωροφύλλη β	0,64	0,64
	Χλωροφύλλη γ	1,50	0,27
	καροτένια	3,74	0,04
	φαιοφυτίνες	1,64	0,24
Δεκέμβριος	Χλωροφύλλη α	28,84	0,00
	Χλωροφύλλη β	1,25	0,35
	Χλωροφύλλη γ	2,14	0,13
	καροτένια	12,61	0,00
	φαιοφυτίνες	1,20	0,37
Μάρτιος	Χλωροφύλλη α	3,38	0,04
	Χλωροφύλλη β	0,94	0,49
	Χλωροφύλλη γ	0,86	0,53
	καροτένια	1,72	0,20
	φαιοφυτίνες	0,50	0,77
Ιούνιος	Χλωροφύλλη α	0,62	0,69
	Χλωροφύλλη β	2,16	0,13
	Χλωροφύλλη γ	3,49	0,04
	καροτένια	1,00	0,46
	φαιοφυτίνες	1,16	0,38
Μάρτιος 2018	Χλωροφύλλη α	0,62	0,68
	Χλωροφύλλη β	0,55	0,73
	Χλωροφύλλη γ	2,18	0,13
	καροτένια	0,95	0,48
	φαιοφυτίνες	0,77	0,59

Πίνακας II: Αποτελέσματα κριτηρίων πολλαπλών συγκρίσεων για τις συγκεντρώσεις της χλωροφύλλης α τον Σεπτέμβριο.

Χρωστική	Όγκος (L)	Συγκρίσιμος όγκος (L)	p-value
Χλωροφύλλη α	0,1	0,2	0,00
		0,5	0,00
		1	0,00
		2	0,00
	0,2	0,1	0,00
		0,5	1,00
		1	0,80
		2	1,00
	0,5	0,1	0,00
		0,2	1,00
		1	0,90
		2	1,00
	1	0,1	0,00
		0,2	0,80
		0,5	0,90
		2	0,87
	2	0,1	0,00
		0,2	1,00
		0,5	1,00
		1	0,87

Πίνακας III: Αποτελέσματα κριτηρίων πολλαπλών συγκρίσεων για τις συγκεντρώσεις των καροτενοειδών τον Σεπτέμβριο.

	Όγκος (L)	Συγκρίσιμος όγκος (L)	p-value
Καροτένια	0,1	0,2	0,44
		0,5	0,66
		1	0,54
		2	0,88
	0,2	0,1	0,44
		0,5	0,06
		1	0,05
		2	0,12
	0,5	0,1	0,66
		0,2	0,06
		1	1,00
		2	0,99
	1	0,1	0,54
		0,2	0,05
		0,5	1,00
		2	0,96
2	0,1	0,88	
	0,2	0,12	
	0,5	0,99	
	1	0,96	

Πίνακας IV: Αποτελέσματα κριτηρίων πολλαπλών συγκρίσεων για τις συγκέντρωσεις της χλωροφύλλης α τον Δεκέμβριο.

	Όγκος (L)	Συγκρίσιμος όγκος (L)	p-value
Χλωροφύλλη α	0,1	0,2	0,86
		0,5	0,00
		1	0,02
		2	0,00
		5	0,00
	0,2	0,1	0,86
		0,5	0,00
		1	0,00
		2	0,00
		5	0,00
	0,5	0,1	0,00
		0,2	0,00
		1	0,91
		2	0,11
		5	0,12
	1	0,1	0,02
		0,2	0,00
		0,5	0,91
		2	0,02
		5	0,02
2	0,1	0,00	
	0,2	0,00	
	0,5	0,11	
	1	0,02	
	5	1,00	
5	0,1	0,00	
	0,2	0,00	
	0,5	0,12	
	1	0,02	
	2	1,00	

Πίνακας V: Αποτελέσματα κριτηρίων πολλαπλών συγκρίσεων για τις συγκεντρώσεις των καροτενοειδών τον Δεκέμβριο

	Όγκος (L)	Συγκρίσιμος όγκος (L)	p-value
Καροτένια	0,1	0,2	0,99
		0,5	0,38
		1	0,00
		2	0,00
		5	0,00
	0,2	0,1	0,99
		0,5	0,73
		1	0,01
		2	0,00
		5	0,00
	0,5	0,1	0,38
		0,2	0,73
		1	0,14
		2	0,04
		5	0,03
	1	0,1	0,00
		0,2	0,01
		0,5	0,14
		2	0,98
		5	0,95
2	0,1	0,00	
	0,2	0,00	
	0,5	0,04	
	1	0,98	
	5	1,00	
5	0,1	0,00	
	0,2	0,00	
	0,5	0,03	
	1	0,95	
	2	1,00	

Πίνακας VI: Αποτελέσματα κριτηρίων πολλαπλών συγκρίσεων για τις συγκεντρώσεις της χλωροφύλλης α τον Μάρτιο

	Όγκος (L)	Συγκρίσιμος όγκος (L)	p-value
Χλωροφύλλη α	0,1	0,2	1,00
		0,5	1,00
		1	0,25
		2	0,25
		5	0,26
	0,2	0,1	1,00
		0,5	1,00
		1	0,21
		2	0,21
		5	0,23
	0,5	0,1	1,00
		0,2	1,00
		1	0,25
		2	0,25
		5	0,26
	1	0,1	0,25
		0,2	0,21
		0,5	0,25
		2	1,00
		5	1,00
2	0,1	0,25	
	0,2	0,21	
	0,5	0,25	
	1	1,00	
	5	1,00	
5	0,1	0,26	
	0,2	0,23	
	0,5	0,26	
	1	1,00	
	2	1,00	

Πίνακας VII: Αποτελέσματα κριτηρίων πολλαπλών συγκρίσεων για τις συγκεντρώσεις της χλωροφύλλης γ τον Ιούνιο

	Όγκος (L)	Συγκρίσιμος όγκος (L)	p-value
Χλωροφύλλη γ	0,1	0,2	0,06
		0,5	0,07
		1	0,08
		2	0,05
		5	0,05
	0,2	0,1	0,06
		0,5	1,00
		1	1,00
		2	1,00
		5	1,00
	0,5	0,1	0,07
		0,2	1,00
		1	1,00
		2	1,00
		5	1,00
	1	0,1	0,08
		0,2	1,00
		0,5	1,00
		2	1,00
		5	1,00
	2	0,1	0,05
		0,2	1,00
		0,5	1,00
		1	1,00
		5	1,00
5	0,1	0,05	
	0,2	1,00	
	0,5	1,00	
	1	1,00	
	2	1,00	

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

- Altman J.C., Paerl H.W. (2012) Composition of inorganic and organic nutrient sources influences phytoplankton community structure in the New River Estuary, North Carolina. *Aquat. Ecol.* 46, 269-282. <http://dx.doi.org/10.1007/s10452-012-9398-8>.
- Bell T., Neill W.E., Schluter D. (2003) The effect of temporal scale on the outcome of trophic cascade experiments. *Oecologia* 134, 578-586.
- Boyer J. N., Kelble C. R., Ortner P. B., Rudnick D. T. (2009) Phytoplankton bloom status: Chlorophyll a biomass as an indicator of water quality condition in the southern estuaries of Florida, USA. *Elsevier*, 9:56-67
- Calbet A., Landry M.R., (2004) Phytoplankton growth, microzooplankton grazing, and carbon cycling in marine systems. *Limnol. Oceanogr.* 49,51-57.
- Carpenter S.R., Kitchell J.F., Hodgson J.R. (1985) Cascading trophic interactions and lake productivity. *Bioscience* 35, 634-639.
- Carrillo P., Cruz-Pizarro L., Sanchez-Castillo P. (1990) Analysis of phytoplankton- zooplankton relationships in an oligotrophic lake under natural and manipulated conditions. *Hydrobiologia* 200-201, 49-58.
- Castro R., Huber E. M., (2010) Marine biology, Επιμέλεια Ελληνικής Έκδοσης Κούκουρας Θ., Βουλτσιάδου Ε.
- Colella Simone, Falcini Federico, Rinaldi Eleonora, Sammartino Michela, Santoleri Rosalia (2016) Mediterranean Ocean Colour Chlorophyll Trends. *PLOS ONE*, 1-16.
- Domingues R.B., Anselmo T.P., Barbosa A.B., Somme, U., Galvao H.M., (2011a) Nutrient limitation of phytoplankton growth in the freshwater tidal zone of a turbid, Mediterranean estuary. *Estuar. Coast. ShelfSci.* 91,282-297.
- Domingues R.B., Anselmo T.P., Barbosa A.B., Sommer U., Galva, H.M. (2011b) Light as a driver of phytoplankton growth and production in the freshwater tidal zone of a turbid estuary. *Estuar. Coast. ShelfSci.* 91, 526-535.
- Domingues R.B., Anselmo T.P., Barbosa A.B., Sommer U., Galvao H.M. (2011c) Ammonium, nitrate and phytoplankton interactions in a freshwater tidal estuarine zone: potential effects of cultural eutrophication. *Aquat. Sci.* 73, 331-343.

- Duarte C.M., Gasol J.M., Vaquer D. (1997) Role of experimental approaches in marine microbial ecology. *Aquat. Microb. Ecol.* 13, 101-111.
- Ellis B.K., Stanford J.A., Goodman D., Stafford C.P., Gustafson D.L., Beauchamp D.A., Chess D.W., Craft J.A., Deleray M.A., Hansen B.S. (2011) Long-term effects of a trophic cascade in a large lake ecosystem. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 1070-1075.
- Fahnenstiel G.L., Scavia D. (1987) Dynamics of Lake Michigan phytoplankton: primary production and growth. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44, 499-508.
- Fogg G.E., Calvario-Martinez O. (1989) Effects of bottle size in determinations of primary productivity by phytoplankton. *Hydrobiologia* 173, 89-94.
- Garcia-Martin E., Serret P., Perez-Lorenzo M. (2011) Testing potential bias in marine plankton respiration rates by dark bottle incubations in the NW Iberian shelf: incubation time and bottle volume. *Cont. Shelf Res.* 31, 496-506.
- Gieskes W.W.C., Kraay G.W., Baars M.A. (1979) Current ¹⁴C methods for measuring primary production: Gross underestimates in oceanic waters. *Neth. J. Sea Res.* 13, 58-78.
- Gobler C.J., Buck N.J., Sieracki M.E., Sanudo-Wilhelmy S.A. (2006) Nitrogen and silicon limitation of phytoplankton communities across an urban estuary: the East River- Long Island Sound system. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 68, 127-138.
- Goodwin T. W. (1974) Carotenoids and biliproteins In W. D. P. Stewart, ed. *Algal Physiology and Biochemistry* University of California Press, Berkeley pp. 176-205.
- Govindjee and B. & Z. Braun (1974) Light absorption, emission and photosynthesis. In W. D. P. Stewart, ed. *Algal Physiology and Biochemistry*. University of California Press, Berkeley. Pp. 346-390.
- Graham J, Graham L. & Wilcox L. (2011), ΦΥΚΗ, Εκδόσεις Κωσταράκη, Αθήνα.
- Hammer A.C. Pitchford J.W. (2005) The role of mixotrophy in plankton bloom dynamics, and the consequences for productivity. *ICES J. Mar. Sci. J. Cons.* 62, 833-840. [http://dx. doi.org/10.1016/j.icesjms.2005.03.001](http://dx.doi.org/10.1016/j.icesjms.2005.03.001).
- Hammes F. Vital M. Egli T. (2010) Critical evaluation of the volumetric “bottle effect” on microbial batch growth. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 1278-1281.

- Hansen, B., Bjornsen, P., (1994) The size ratio between planktonic predators and their prey size. *Limnol. Oceanogr.* 39, 395-403.
- Jorgensen B. & Richardon K. (1996) Eutrophication; definition, history and effects in eutrophication in coastal, marine ecosystems, coastal and estuarine studies, Elsevier.
- Karageorgis A. P., Skourtos M. S., Kapsimalis V., Kontogianni A. D., Skoulikidis N. Th., Pagou K., Nikolaidis N. P., Drakopoulou P., Zanou B., Karamanos H., Levkov Z., Anagnostou Ch. (2005) An integrated approach to watershed management within the DPSIR framework: Axios River catchment and Thermaikos Gulf. *Regional Environmental Change*, 5(2):138–160
- Kormas Ar. Konstantinos, Karayanni Hera, Christaki Urania, Giannakourou Antonia, Assimakopoulou Georgia, Gotsis-Skretas Olympia (2014) Microbial Food Web Structure and Its Impact on Primary Production in a Meso-Oligotrophic Coastal Area (Pagasitikos Gulf, Aegean Sea). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14: 527-537.
- Kormas, K.A., Kapiris, K., Thessalou-Legaki, M. and Nicolaidou, A. (1998) Quantitative relationships between phytoplankton, bacteria and protists in an Aegean semi-enclosed embayment (Maliakos Gulf, Greece). *Aquatic Microbial Ecology*, 15: 255-264.
- Korres G., Triantafyllou G., Petihakis G., Raitzos D.E., Hoteit I., Pollani A., Colella S., Tsiaras K., (2012) A data assimilation tool for the Pagasitikos Gulf ecosystem dynamics: Methods and benefits. *Journal of Marine Systems*, 94:102-117.
- Meeks J. C. (1974) Chlorophyll. In W.D.P. Stewart, ed. *Algal Physiology and Biochemistry*, University of California Press, Berkley, pp. 161-175.
- Naustvoll L.-J. (2000) Prey size spectra and food preferences in thecate heterotrophic dinoflagellates. *Phycologia* 39, 187-198.
- Petihakis G., Triantafyllou G., Pollani A., Koliou A., Theodorou A., (2005) Field data analysis and application of a complex water column biogeochemical model in different areas of a semi-enclosed basin: towards the development of an ecosystem management tool, *Marine Environmental Research* 59 :493-518

- Prins T.C., Smaal A.C., (1994) The role of the blue mussel *Mytilus edulis* in the cycling of nutrients in the Oosterschelde estuary (The Netherlands). *Hydrobiologia* 282-283, 413-429. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00024645>.
- Quiblier C., Leboulanger C., Sane S., Dufour P. (2008) Phytoplankton growth control and risk of cyanobacterial blooms in the lower Senegal River delta region. *Water Res.* 42, 1023-1034.
- Raitzos D. E. Korres G. Triantafyllou G. Petihakis G. Pantazi M. Tsiaras K. Pollani A. (2012) Assessing chlorophyll variability in relation to the environmental regime in Pagasitikos Gulf, Greece, 94:16-22.
- Robinson C., Williams P.J.B. (2005) Respiration and its Measurement in Surface Marine Waters. In: del Giorgio, P., Williams, P.J.B. (Eds.), *Respiration in Aquatic Ecosystems*. Oxford University Press, New York, pp. 147-180.
- Rudek J., Paerl H.W., Mallin M.A., Bates P.W. (1991) Seasonal and hydrological control of phytoplankton nutrient limitation in the lower Neuse River Estuary, North Carolina. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 75, 133-142.
- Sherr E. and Sherr B. (2000) Marine microbes. An overview. In: *Microbial ecology of the oceans*, Kirchman D. L. (ed), Wiley - Liss, Inc. pp. 13-46.
- Tang Z., Butkus M.A., Xie Y.F. (2009) Enhanced performance of crumb rubber filtration for ballast water treatment. *Chemosphere* 74, 1396-1399. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.048>.
- Tett P. and Barton E. D. (1995) Why are there about 5000 species of phytoplankton in the sea? *J. Plankton Research* 17: 1693-170.
- Treguer P.J., De La Rocha C.L. (2013) The world ocean silica cycle. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 5, 477-501.
- Tsiaras K.P., Petihakis G., Kourafalou V.H., Triantafyllou G. (2014) Impact of the river nutrient load variability on the North Aegean ecosystem functioning over the last decades. *Journal of Sea Research*, 86:97–109.
- Venrick E.L., Beers J.R., Heinbokel J.F. (1977) Possible consequences of containing microplankton for physiological rate measurements. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 26, 55-76.
- Wetzel R.G. (2001) *Limnology Lake and Reservoir Ecosystems*. Academic Press, San Diego, California.

- Williams P.J., Purdie D.A. (1991) In vitro and in situ derived rates of gross production, net community production and respiration of oxygen in the oligotrophic subtropical gyre of the North Pacific Ocean. Deep Sea Res. Part A Oceanogr. Res. Pap. 38, 891 -910.
- Xu H., Paerl H.W., Qin B., Zhu G., Gao G. (2010) Nitrogen and phosphorus inputs control phytoplankton growth in eutrophic Lake Taihu, China. Limnol. Oceanogr. 55, 420-432.
- Zobell C. (1943) The effect of solid surfaces upon bacterial activity. J. Bacteriol. 46,39-56.

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Αγγελικόπουλος Ρ. (2016) Ημερήσια διακύμανση φυτοχρωστικών στο λιμάνι αλιευτικών σκαφών του Βόλου. Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- Βρυώνης Παναγιώτης (2013) Μελέτη των πεδίων ανάμειξης γλυκού και αλμυρού νερού με βάση εποχιακές μεταβολές φυσικοχημικών παραμέτρων. Διατριβή Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης, Πανεπιστήμιο Πατρών.
- Δασενάκης, Ε. (2015) Χημική Ωκεανογραφία: Προσδιορισμός χλωροφυλλών (Πηγή: http://opencourses.uoa.gr/modules/document/file.php/NOC83/%CE%94%CE%B9%CE%B4%CE%B1%CE%BA%CF%84%CE%B9%CE%BA%CF%8C%20%CF%80%CE%B1%CE%BA%CE%AD%CF%84%CE%BF/%CE%A0%CE%B1%CF%81%CE%BF%CF%85%CF%83%CE%B9%CE%AC%CF%83%CE%B5%CE%B9%CF%82/PDF/XOK%202015_8_LabChl.pdf.) (Προσπέλαση 3//2018).
- Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο 2000, Οδηγία 2000/60/EK του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 23ης Οκτωβρίου 2000 για τη θέσπιση πλαισίου κοινοτικής δράσης στον τομέα της πολιτικής των υδάτων.
- Κουκουβίνου Δ. (2019) Ημερήσια διακύμανση φυτοχρωστικών στο λιμάνι του Βόλου κατά τη φθινοπωρινή και εαρινή περίοδο. Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- Παπαδήμου Σ. (2017) Εποχική διακύμανσης φυτοχρωστικών στα Κάτω Λεχώνια Μαγνησίας, Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

- Πάσχου Μ. (2016) Ημερήσια διακύμανση φυτοχρωστικών στο λιμάνι του Βόλου. Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- Τζιώγα Ι. (2018) Εβδομαδιαία διακύμανση φυκοκυανίνης στο λιμάνι του Βόλου. Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Effect of the filtered water volume on the concentration of phytoplankton pigments

Abstract

The knowledge of the concentration of photosynthetic pigments in a marine ecosystem is important and their ecological value is great. In particular, he can inform the bioscientific researcher about the estimation of phytoplankton biomass in a marine area. Most importantly, they play a key role in photosynthesis, since they bind solar energy. For this reason, the methodologies used to estimate their concentration are very important in applied biology to maintain ecosystem balance and prevent ecological disturbances. One of the methods used to estimate this parameter is by filtering a specific volume of water. Because the volume of the filtered volume of water can be a factor of variation in the value of this parameter, an attempt is made to evaluate the effect of the filtered water volume on the concentration of phytoplankton pigments. By studying sea water samples from the Pagasitikos Gulf, this thesis showed that the filtration of small volumes of water (0.1L and 0.2L) does not provide reliable results for estimating the concentration of photosynthetic pigments. The infiltration of 2L and 5L water volumes exhibits the smallest standard deviation in most of the resulting phytosanitary values. The present study proposes to filter a volume of water of at least 0.5L. Finally, it has been shown that seasonality plays an important role in the volume of water that needs to be filtered to estimate the concentrations of photosynthetic pigments.