



ΠΡΑΞΗ

«Γαλάζια Ανάπτυξη με Καινοτομία και εφαρμογή στις
Ελληνικές Θάλασσες - ΓΛΑΥΚΗ»
κωδικός ΟΠΣ (MIS) 5002438

Υποέργο 1

*«Κλιματική αλλαγή και ανθρωπογενείς πιέσεις στο θαλάσσιο
οικοσύστημα του Σαρωνικού και ανάπτυξη νέων
μεθοδολογιών και τεχνολογίας»*

Πακέτο εργασίας 2 : Ανάπτυξη μεθοδολογιών για την αντιμετώπιση
των ανθρωπογενών πιέσεων

Υπεύθυνος Πακέτου Εργασίας: Δρ. Ι. Χατζηανέστης

Παραδοτέο:

Περιγραφή και πιλοτική εφαρμογή νέων μεθοδολογιών για την εκτίμηση της ποιότητας του θαλάσσιου περιβάλλοντος.

Υλοποίηση :

**Χατζηανέστης, Ι., Καλαρώνη Σ., Κοντογιάννης, Χ., Λαμπαδαρίου, Ν.,
Μυλωνά, Κ., Πήττα. Π., Σαντή, Ι., Σεβαστού Κ., Τριανταφύλλου, Γ.,
Τσαπάκης, Ε., Τσιώλα, Α., Τσιάρας Κ., Χατζονικολάκης, Γ.**

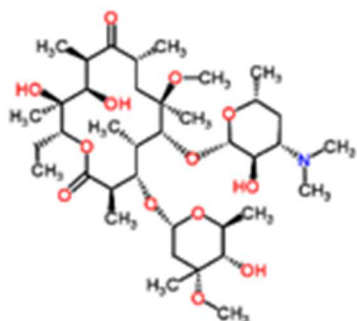
Μάρτιος 2021

Θέμα 1:

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΘΑΛΑΣΣΙΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

1.1 Εισαγωγή

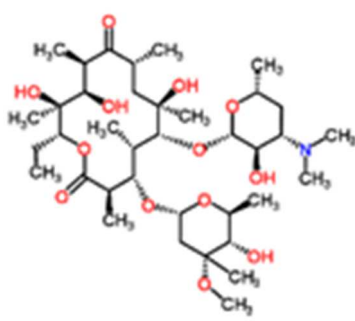
Όπως είναι γνωστό μεγάλες ποσότητες αντιβιοτικών χρησιμοποιούνται τις τελευταίες δεκαετίες για την προστασία της υγείας τόσο των ανθρώπων όσο και των εκτρεφόμενων ζώων συμπεριλαμβανομένων των υδατοκαλλιεργειών. Ένα μεγάλο ποσοστό των αντιβιοτικών αυτών καταλήγουν τελικά στο θαλάσσιο περιβάλλον κυρίως μέσω των αγωγών των μονάδων επεξεργασίας των αστικών λυμάτων (Mcardell et al, 2003),, μέσω των ποταμών αλλά και απευθείας από τις μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας. Τα αντιβιοτικά στο θαλάσσιο περιβάλλον μπορεί να είναι τοξικά για κάποιους θαλάσσιους οργανισμούς αλλά και να υποβοηθήσουν σημαντικά την ανθεκτικότητα των μικροοργανισμών έναντι των αντιβιοτικών γεγονός που μπορεί να μειώσει σημαντικά την δράση τους.



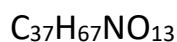
Κλαριθρομυκίνη



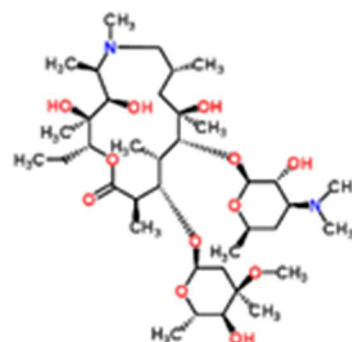
$pK_a=9.0$, $\log K_{ow} = 3.16$



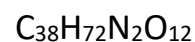
Ερυθρομυκίνη



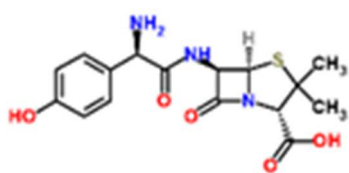
$pK_a = 10.4$, $\log K_{ow} = 3.06$



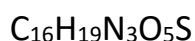
Αζιθρομυκίνη



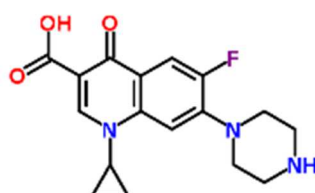
$pK_a = 8.7$, $\log K_{ow} = 4.02$



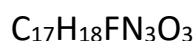
Αμοξικιλίνη



$pK_a = 7.4$ $\log K_{ow} = 0.87$



Σιπλοφλοξασίνη



$pK_a = 8.6$ $\log K_{ow} = 0.28$

Εικόνα 1.1. Χημικοί τύποι και φυσικοχημικές ιδιότητες των αντιβιοτικών που μελετώνται.

Για τους λόγους αυτούς η παρακολούθηση των επιπέδων των αντιβιοτικών στο θαλάσσιο περιβάλλον είναι επιβεβλημένη και η Ευρωπαϊκή Ένωση στα πλαίσια της Ευρωπαϊκής οδηγίας

για τα ύδατα πρότεινε τις εξής 5 αντιβιοτικές ουσίες που χρησιμοποιούνται ευρέως για παρακολούθηση: Κλαρυθρομυκίνη, ερυθρομυκίνη, αζυθρομυκίνη που ανήκουν στην κατηγορία των μακρολιδών, την αμοξικιλίνη που ανήκει στην κατηγορία των βήτα-λακταμών και την σιπροφλοξασίνη που ανήκει στις κινολόνες. Στην εικόνα 1.1 φαίνονται οι συντακτικοί τύποι των 5 ενώσεων καθώς και οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες

Ο στόχος της ενότητας εργασίας ήταν η ανάπτυξη μεθόδου προσδιορισμού των ενώσεων αυτών στο θαλάσσιο περιβάλλον με υγρή χρωματογραφία – φασματομετρία μαζών (Pavlonic et al, 2007) και η εφαρμογή της μεθόδου αυτής σε δείγματα θαλασσινού νερού από το Σαρωνικό κόλπο.

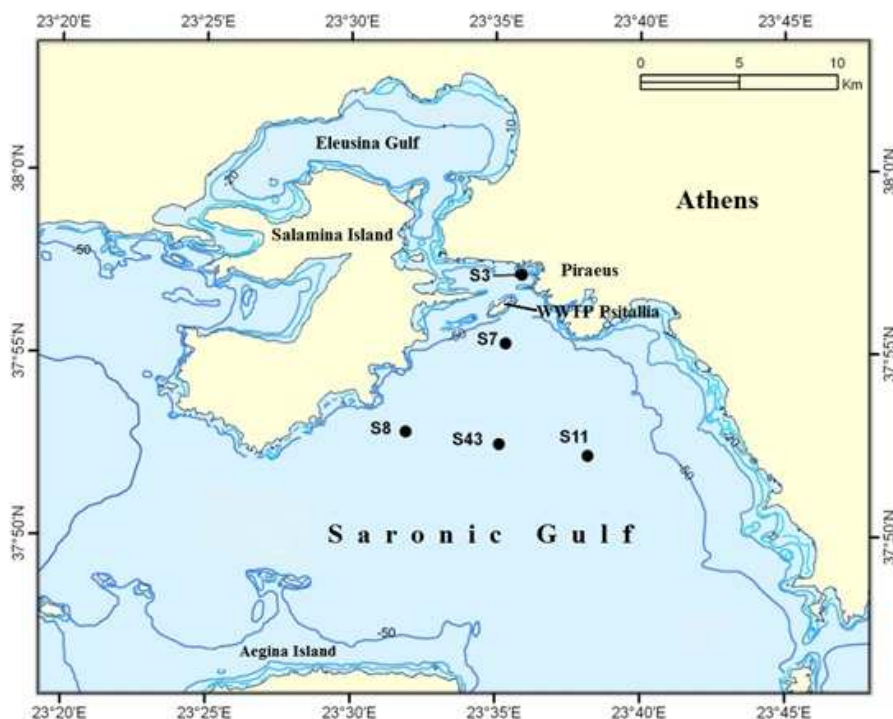
1.2 Μεθοδολογία

1.2.1 Αντιδραστήρια

Η προμήθεια των προτύπων των αντιβιοτικών έγινε από τη Sigma. Το ακετονιτρίλιο και η μεθανόλη (LC–MS grade) αγοράστηκαν από τη Merck όπως επίσης και το μυρμηκικό οξύ, το μυρμηκικό αμμώνιο και το υδροχλωρικό οξύ. Το υπερκάθαρο νερό παράχθηκε από τη μονάδα Milli-Q του εργαστηρίου.

1.2.2 Συλλογή δειγμάτων θαλασσινού νερού

Δείγματα θαλασσινού νερού όγκου 2.5 L για την εφαρμογή της μεθόδου ανάλυσης των αντιβιοτικών συλλέχθηκαν τον Οκτώβριο του 2020 από 5 σταθμούς του Σαρωνικού κόλπου που επηρεάζονται από την αγωγή εκβολής των επεξεργασμένων λυμάτων της Ψυττάλειας (Εικόνα 1.1) κατά τη διάρκεια δειγματοληψίας με το Ω/Κ ΑΙΓΑΙΟ. Τα δείγματα συλλέχθηκαν με το σύστημα της ροζέτας του σκάφους. Τα δείγματα του θαλασσινού νερού οξινίστηκαν επί τόπου με HCl μέχρι pH=3 και παρέμειναν σε ψύξη μέχρι την ανάλυσή τους.



Εικόνα 1.1. Χάρτης σταθμών συλλογής δειγμάτων στην περιοχή του Σαρωνικού

1.2.3 Επεξεργασία δειγμάτων

Η παραλαβή των αντιβιοτικών από τα δείγματα έγινε με εκχύλιση στερεάς κατάστασης SPE με χρήση φυσίγγων Oasis-HLB (200 mg / 6 mL, Waters). Πριν την χρήσης τους έγινε προετοιμασία των φυσιγγων με διαβίβαση 6 mL μεθανόλης, ακολουθούμενη από 6 mL υπερκάθαρου νερού. Σε ένα λίτρο οξινομένου δείγματος προστίθενται 500 mg Na₄EDTA και μετά από περίπου 1 ώρα το δείγμα διαβιβάζεται μέσω της φύσιγγας με την βοήθεια ελαφρού κενού. Στη συνέχεια οι φύσιγγες εκπλύνονται με 6 mL υπερκάθαρου νερού και παραμένουν υπό κενό για μια ώρα. Στη συνέχεια τα αντιβιοτικά εκκλούνται από τη φύσιγγα με 6 mL μεθανόλης. Το έκλουσμα εξατμίζεται μέχρι ξηρού με ρεύμα αζώτου και επαναδιαλύεται σε 250 μL μίγματος ακετονιτρίλιου:μεθανόλης 1:1. Το τελικό αυτό διάλυμα διηθήθηκε από φίλτρα σύριγγας με μέγεθος πόρων 0.2 μm (Phenomenex) πριν την τελική χρωματογραφική ανάλυση.

1.2.4 Χρωματογραφική ανάλυση

Χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας – φασματομετρίας μαζών της εταιρείας Shimadzu (LCMS-8040). Η αναλυτική στήλη ήταν η Waters XTerra MS C18 (100 mm x 2.1 mm, 3.5 μm) που θερμοστατείται στους 40 °C, και ο ενέσιμος όγκος των δειγμάτων 15 μL.

1.3 Αποτελέσματα

Τα καλύτερα αποτελέσματα επιτεύχθηκαν όταν το όργανο λειτουργούσε με θετικό ιονισμό με την τεχνική της ηλεκτροδιάχυσης (Positive ElectroSpray Ionization, ESI+). Η τάση της διάχυσης ήταν 3500 V, η ροή του αζώτου για την νεφελοποίηση ήταν 2L/min και για την ξήρανση 10 L/min. Η θερμοκρασία του desolvation ήταν 250 °C και του MS 400 °C.

Χρησιμοποιήθηκε πρόγραμμα 2 διαλυτών, βαθμιαίας έκλουσης με κυμαινόμενη ροή μεταξύ 0.150 και 0.300 mL/L. Το πρόγραμμα φαίνεται στον πίνακα 1.1

Πίνακας 1.1: Πρόγραμμα βαθμιαίας έκλουσης στο χρωματογραφικό σύστημα που χρησιμοποιήθηκε

Πρόγραμμα βαθμιαίας έκλουσης		
Χρόνος (min)	% διαλύτη B	Ροή (mL/min)
0	5	0.150
4	5	0.250
22.5	88	0.300
23	100	0.300
26	100	0.300
26.5	5	0.150
33	5	0.150

Διαλύτης A: H₂O 0.3% v/v HCOOH, 0.1% HCOONH₄

Διαλύτης B: 1:1 Ακετονιτρίλιο : Μεθανόλη

Η ανίχνευση των αντιβιοτικών έγινε με το όργανο να λειτουργεί σε κατάσταση Multiple Reaction Monitoring (MRM). Οι χρόνοι κατακράτησης καθώς και τα ιόντα που χρησιμοποιήθηκαν για την ποσοτικοποίηση φαίνονται στον πίνακα 1.2

Για την επικύρωση της μεθόδου υπολογίστηκαν τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης καθώς και οι ανακτήσεις σε εμβολιασμένο δείγμα συγκεντρωσης 30 ng/L (εννέα επαναλήψεις) (Πίνακας 1.3)

Πίνακας 1.2: Παράμετροι ανίχνευσης των αντιβιοτικών στο χρωματογραφικό σύστημα

Ένωση	Κύριο ιόν (m/z)	Δευτερεύον ιόν (m/z)	Χρόνος κατακράτησης (t _R , min)
Σιπροφλοξασίνη	332.2	314.2	10.9
Αζιθρομυκίνη	749.9	591.6	14.8
Ερυθρομυκίνη	734.4	158.1	15.9
Κλαρυθρομυκίνη	748.9	158.2	17.5
Αμοξικιλίνη	366.0	348.9	25.6

Πίνακας 1.3: Στοιχεία επικύρωσης της μεθόδου

Ένωση	Όριο ανίχνευσης LOD (ng L ⁻¹)	Όριο ποσοτικοποίησης LOQ (ng L ⁻¹)	Ανάκτηση, 30.0 ng L ⁻¹ (n=9)	
			Μέση ανάκτηση	%RSD
Αμοξικιλίνη	6.0	18.0	127	12
Αζιθρομυκίνη	1.3	5.0	132	14
Σιπροφλοξασίνη	5.9	20.0	108	11
Κλαρυθρομυκίνη	1.5	5.0	102	12
Ερυθρομυκίνη	5.5	19.5	81	23

Η μέθοδος εφαρμόστηκε στα δείγματα θαλασσινού νερού που συλλέχθηκαν από την περιοχή του Σαρωνικού κόλπου. Η μόνη ένωση που ανιχνεύθηκε ήταν η αμοξικιλίνη με τις συγκεντρώσεις της να κυμαίνονται μεταξύ 23 και 136 ng/L (μέση τιμή 51 ng/L). Η μεγαλύτερη τιμή ανιχνεύθηκε στο σταθμό S7 που βρίσκεται στο σημείο της εκβολής του αγωγού της Ψυτάλλειας.

1.4 Βιβλιογραφία

- McArdell C. S., Molnar E., Suter M. J. F., Giger W. (2003). Occurrence and fate of macrolide antibiotics in wastewater treatment plants and in the Glatt Valley watershed, Switzerland. *Environ. Sci. Technol.* 37, 5479–5486. doi:10.1021/es034368i
- Dragana Mutavdzic Pavlovic, Sandra Babic, Alka J.M. Horvat, Marija Kastelan-Macan. (2007). Sample preparation in analysis of pharmaceuticals. *Trends in Analytical Chemistry*, 26 (11): 1062-1075

Θέμα 2:

ΤΕΧΝΙΚΗ ΠΑΘΗΤΙΚΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΡΥΠΩΝ (POPS)

2.1. Εισαγωγή

Οι παθητικοί δειγματολήπτες έχουν προταθεί ως εναλλακτική λύση για να ξεπεραστούν πολλοί από τους περιορισμούς των παραδοσιακών στρατηγικών δειγματοληψίας. Ένα βασικό πλεονέκτημα αυτών είναι ότι συσσωρεύουν συνεχώς τους οργανικούς ρύπους κατά τη διάρκεια του χρόνου ανάπτυξης, παρέχοντας μια συγκέντρωση ρύπων με το χρονοσταθμισμένο μέσο όρο (TWA), ενώ ενσωματώνουν τη χρονική μεταβλητότητα και επιτρέπουν τη μέτρηση πολύ χαμηλών συγκεντρώσεων. Δίνουν επίσης την δυνατότητα να εκτιμηθεί το πραγματικά διαλυτό κλάσμα των οργανικών ρυπαντών το οποίο έχει δυνατότητα συσσώρευσης. Αυτό εξασφαλίζει ακριβέστερη εκτίμηση της έκθεσης και του δυνητικού κινδύνου που δημιουργούν οι εν λόγω ουσίες στο περιβάλλον. Οι παθητικοί δειγματολήπτες χρησιμοποιούνται με επιτυχία για περισσότερο από 20 χρόνια στο υδάτινο οικοσύστημα, και πρόσφατα έχει δημιουργηθεί ένα παγκόσμιο δίκτυο παρακολούθησης για αυτές τις ενώσεις, το οποίο ονομάζεται δίκτυο AQUA-GAPS (<http://www.aqua-gaps.passivesampling.net/>)).

Στόχοι της ενότητας εργασίας ήταν α) η ανάπτυξη και η μεταφορά τεχνογνωσίας της παθητικής δειγματοληψίας νερού και αέρα και η εκπαίδευση επιστημονικού προσωπικού του ΙΩ και β) η πιλοτική πόντιση παθητικών δειγματοληπτών για την ανίχνευση οργανικών ενώσεων ως «ουσίες προτεραιότητας» (Annex I, Directive 2013/39/EC) ή πιθανές «επικίνδυνες ουσίες προτεραιότητας» (Annex III, Directive 2008/105/EC) στα θαλάσσια οικοσυστήματα και η μελέτη της ανταλλαγής μεταξύ της διεπιφανείας αέρα-θάλασσας στο επιφανειακό στρώμα νερού σε δύο παρατηρητήρια της υποδομής ΠΟΣΕΙΔΩΝ.

2.2. Μεθοδολογία

α) Πραγματοποιήθηκε μικρής διάρκειας εκπαίδευσης (29/01/2018 έως και 02/02/2018) στο Κέντρο Έρευνας για Τοξικές Ενώσεις στο Περιβάλλον (RECETOX, Masaryk University, Τσεχία). Κατά την παραμονή στο RECETOX πραγματοποιήθηκε εκπαίδευση στην προετοιμασία παθητικών δειγματοληπτών με μεμβράνες σιλικόνης (SR) και μεμβράνες πολυαιθυλενίου χαμηλής πυκνότητας (LDPE) πριν από την περιβαλλοντική έκθεση. Αυτή η διαδικασία περιλάμβανε την κοπή των μεμβρανών (SSP ή LDPE), την προεπεξεργασία του δειγματολήπτη και την προσθήκη στις μεμβράνες ενώσεων αναφοράς επάρκειας (PRCs) πριν από την ανάπτυξη τους στο περιβάλλον. Επιπλέον, έγινε εισαγωγή στη διαδικασία που ακολουθείται μετά την ανάκτηση των δειγμάτων όπου περιλαμβάνει εκχύλιση και καθαρισμό των μεμβρανών και προετοιμασία τους πριν από την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία και διαδοχική φασματομετρία μαζών (GC-MS/MS). Επιπλέον, ένα σημαντικό μέρος αυτής της εκπαίδευσης ήταν η εισαγωγή στο θεωρητικό υπόβαθρο της παθητικής δειγματοληψίας στο υδάτινο περιβάλλον παρακολουθώντας δύο διαλέξεις: "Αρχές παθητικής δειγματοληψίας - διαχωρισμός παθητικών δειγματοληπτών" και "Βαθμονόμηση υδατικών παθητικών δειγματοληψιών, συντελεστών κατανομής, ποσοστών δειγματοληψίας, PRC".

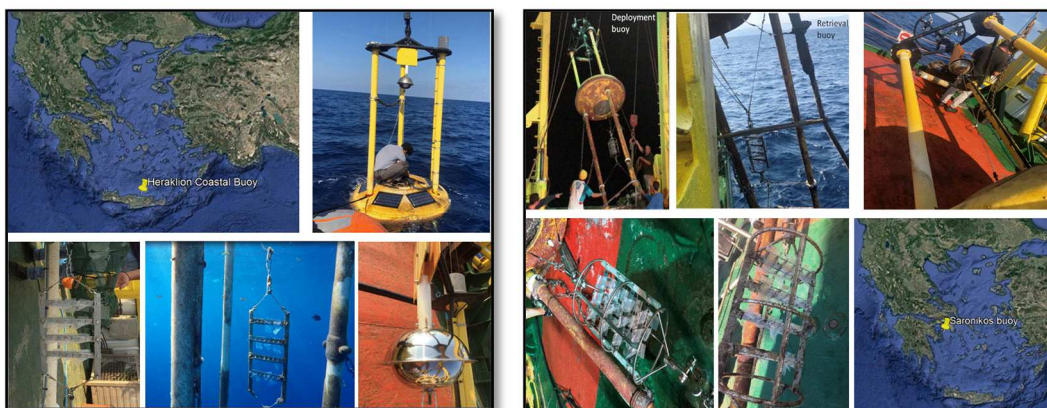
β) Λαμβάνοντας υπόψη τα πλεονεκτήματα των τεχνικών παθητικής δειγματοληψίας, επιλέχθηκαν δύο παρατηρητήρια στη Μεσόγειο θάλασσα για την παρακολούθηση των οργανικών ρυπαντών (POPs), το παρατηρητήριο του Ηρακλείου (HCB) (35.42N, 25.07E) με

μέγιστο βάθος 175μ στο Κρητικό Πέλαγος και το παρατηρητήριο του Σαρωνικού με μέγιστο βάθος 209μ (Σχήμα 2.1). Ο Σαρωνικός Κόλπος είναι μια θαλάσσια περιοχή που δέχεται υψηλές ανθρωπογενείς πιέσεις καθώς βρίσκεται κοντά στον Πειραιά και στο μητροπολιτικό κέντρο της Αθήνας και επηρεάζεται από σημαντικές βιομηχανικές και ναυπηγικές δραστηριότητες, κατά μήκος του ανατολικού τμήματος της ακτής (κόλπος Ελευσίνιας) ενώ το παρατηρητήριο του Ηρακλείου παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς είναι ένα ολιγοτροφικό οικοσύστημα του Κρητικού πελάγους διαμορφωμένο από μικρές εισροές χερσαίας προέλευσης και αγροτικές δραστηριότητες στη βόρεια Κρήτη και μπορεί να θεωρηθεί ως σταθμός υποβάθρου της ανατολικής Μεσογείου.



Σχήμα 2.1: Θέσεις πόντισης και ανάκτησης παθητικών δειγματοληπτών στο Αιγαίο.

Οι υποδοχείς παθητικού δειγματολήπτη (PS) προσαρτήθηκαν στο πλαίσιο δειγματοληψίας. Δώδεκα μεμβράνες σιλικόνης (SR) και δώδεκα μεμβράνες πολυαιθυλενίου χαμηλής πυκνότητας (LDPE) στερεώθηκαν στους τέσσερις υποδοχείς. Οι μεμβράνες SR και LDPE αναπτύχθηκαν παράλληλα και στους δύο σταθμούς (Σχήμα 2.2). Ταυτόχρονα, στα δύο παρατηρητήρια αναπτύχθηκαν παθητικοί δειγματολήπτες αέρα (PAS) χρησιμοποιώντας δίσκους αφρού πολυουρεθάνης (PUF). Η προετοιμασία των μεμβρανών και των αφρών πολυουρεθάνης πραγματοποιήθηκε στο RECETOX



Σχήμα 2.2: Πόντιση και ανάκτηση αέριου και υδατικού παθητικού δειγματολήπτη στο σταθμό HCB (αριστερά) και στο σταθμό του Σαρωνικού (δεξιά).

Οι παθητικοί δειγματολήπτες αναπτύχθηκαν δύο φορές στο σταθμό HCB (25 Ιουνίου 2018 και 22 Οκτωβρίου 2018) και δύο φορές στο Σαρωνικό (16 Ιουνίου 2018 και 16 Οκτωβρίου 2018). Στο τέλος της περιόδου έκθεσης (Πίνακας 2.1), ανακτήθηκαν και οι δύο δειγματολήπτες, PAS και PS, και οι μεμβράνες και οι δίσκοι PUF διατηρήθηκαν στην κατάψυξη μέχρι την αποστολή τους.

στο κεντρικό εργαστήριο RECETOX για ανάλυση. Οι προς ανάλυση ομάδες ενώσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1: Δειγματοληψίες αέριου και υδατικού παθητικού δειγματολήπτη στο σταθμό HCB και Σαρωνικό

Σταθερή πλατφόρμα	Χαρακτηριστικά της περιοχής ενδιαφέροντος	Αριθμός δειγμ.	Έναρξη	Λήξη	Ενώσεις προς ανάλυση	
			Πόντιση	Ανάκτηση	Υδατικός παθητικός δειγματολήπτης (LDPE, SSP)	Αέριος παθητικός δειγματολήπτης (PUF)
Παρατηρητήριο Ηρακλείου (Hraklion Coastal buoy-HCB)	πολύ ολιγοτροφικό περιβάλλον, Κρητικό πέλαγος	1	25/6/2018	8/10/2018	PAHs, PCBs, OCPs, DDTs, PBDEs	PAHs, PCBs, OCPs, DDTs, PBDEs
		2	22/10/2018	4/3/2019	PAHs, PCBs, OCPs, DDTs, PBDEs	PAHs, PCBs, OCPs, DDTs, PBDEs
Παρατηρητήριο Σαρωνικού (Saronikos buoy)	θαλάσσιο οικοσύστημα με επιρροή από τη μονάδα αποβλήτων της Ψυτάλλειας και τις ανθρωπογενείς δραστηριότητες	1	16/6/2018	16/10/2018	PAHs, PCBs, OCPs, DDTs, PBDEs	PAHs, PCBs, OCPs, DDTs, PBDEs
		2	16/10/2018		PAHs, PCBs, OCPs, DDTs, PBDEs	PAHs, PCBs, OCPs, DDTs, PBDEs

Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιούνται στο ίδιο εργαστήριο στο RECETOX χρησιμοποιώντας ίδιες μεθόδους για κάθε δείγμα.

2.3. Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα του συγκεκριμένου έργου είναι :

α) Η μεταφορά τεχνολογίας για την παθητική δειγματοληψία νερού και αέρα

β) Η ανάπτυξη χρονοσειράς παρακολούθησης των ανθεκτικών οργανικών ρυπαντών στην ανατολική Μεσόγειο

γ) Η κατανόηση των διεργασιών που ελέγχουν το γίνεσθαι των POPs στο θαλάσσιο περιβάλλον και την ανταλλαγή μεταξύ της ατμόσφαιρας και της θάλασσας. Τα αποτελέσματα του προγράμματος αναμένεται να έχουν σημαντική προστιθέμενη αξία αποδίδοντας εξαιρετικά συγκρίσιμα δεδομένα που θα επιτρέπουν την καλύτερη εκτίμηση και κατανόηση του ρόλου του νερού στο παγκόσμιο γίνεσθαι και της έκθεσης του ανθρώπου και όλων των βιοτικών οργανισμών στους επίμονους οργανικούς ρύπους (POPs).

δ) Εδραίωση της συμμετοχής του ΕΛΚΕΘΕ/ΙΩ στο παγκόσμιο δίκτυο AQUA-GAPS (Aquatic Global Passive Sampling) για την περιβαλλοντική παρακολούθηση οργανικών ρυπαντών στα υδάτινα οικοσυστήματα με έμφαση στην παγκόσμια γεωγραφική κάλυψη.

ε) Τόσο η συλλογή δεδομένων όσο και η βελτιωμένη κατανόηση των παγκόσμιων ροών και των τάσεων στο υδάτινο περιβάλλον θα είναι επωφελής για την Επιτροπή Εποπτείας και ενδεχομένως και σε άλλες διεθνείς συμβάσεις, όπως η Σύμβαση του Διεθνούς Θαλάσσιου Οργανισμού του Λονδίνου για την πρόληψη της θαλάσσιας ρύπανσης από την απόρριψη αποβλήτων (IMO 2016b) , της σύμβασης για τον έλεγχο των επιβλαβών συστημάτων

υφαλοχρωματισμού σε πλοία (2016a IMO). Τα δεδομένα επίσης θα βοηθήσουν περιφερειακά και εθνικά νομοθετικά πλαίσια, όπως η οδηγία πλαίσιο για τα ύδατα και η θαλάσσια στρατηγική της ΕΕ.

ΘΕΜΑ 3:

ΜΕΛΕΤΗ ΜΕΙΟΠΑΝΙΔΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

3.1. Εισαγωγή

Η μειοπανίδα περιλαμβάνει μικρούς οργανισμούς (<1 mm) που βρίσκονται σε μεγάλη αφθονία στους βυθούς όλων των θαλασσών. Λόγω του μικρού μεγέθους, της μεγάλης αφθονίας και του τρόπου ζωής που εμφανίζουν οι μειοπανιδικοί οργανισμοί, θεωρούνται πλέον ένα χρήσιμο εργαλείο στο χώρο των οικολογικών πειραμάτων και της περιβαλλοντικής παρακολούθησης (Giere 2009, Schratzberger and Ingels 2018). Παρά την σπουδαιότητα των οικολογικών χαρακτηριστικών της μειο-πανίδας και την ανάγκη για μία ολιστική, οικοσυστημική προσέγγιση για την παρακολούθηση των θαλάσσιων οικοσυστημάτων, η μειοπανίδα δεν έχει ακόμα ενσωματωθεί ως παράμετρος στο πεδίο της εκτίμησης της οικολογικής κατάστασης και ποιότητας των θαλάσσιων οικοσυστημάτων. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως αυτή των βαθιών θαλασσών, όπου ενώ η παραδοσιακά χρησιμοποιούμενη μακροπανίδα συνήθως απουσιάζει, η μειοπανίδα καταγράφεται σε μεγάλες αφθονίες.

Έχοντας αυτά υπόψη, στα πλαίσια του συγκεκριμένου έργου έγινε μελέτη της δυναμικής των μειοπανιδικών συναθροίσεων από τους πιο βαθείς σταθμούς του δικτύου παρακολούθησης της ΟΠΥ στην Ελλάδα. Κύριος στόχος της μελέτης ήταν η διερεύνηση βασικών πληθυσμιακών χαρακτηριστικών της μειοπανίδας (αφθονία, βιοποικιλότητα, αναλογία και σύνθεση κύριων τάξεων) και το πώς αυτά επηρεάζονται από περιβαλλοντικές μεταβολές και πιέσεις, με απώτερο στόχο τη δυνατότητα μελλοντικής ενσωμάτωσης μειοπανιδικών παραμέτρων σε ολοκληρωμένα συστήματα παρατήρησης και στη συστηματική περιβαλλοντική παρακολούθηση θαλάσσιων οικοσυστημάτων.

3.2. Μεθοδολογία

Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν αφορούσαν συνολικά 9 σταθμούς (Πίνακας 3.1) και συλλέχθηκαν με πολυπυρηνοδειγματολήπτη (Εικόνα 3.1) το Σεπτέμβριο του 2014 σε ερευνητική αποστολή με το Ω/Κ ΑΙΓΑΙΟ στο Ιόνιο και στο Αιγαίο.

Για την εξαγωγή της μειοπανίδας από το ίζημα, τα δείγματα ξεπλύθηκαν στο εργαστήριο με χρήση κόσκινου με άνοιγμα ματιού στο δίχτυ 32 μm και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των de Jonge & Bouwman (1977).

Πίνακας 1. Σταθμοί μελέτης μειοπανίδας και βασικά χαρακτηριστικά

Σταθμός	Περιοχή (Κόλπος)	Βάθος (m)	Βαθμός επιβάρυνσης
WF-10	Πατραϊκός	101	Μεσαίος
WF-11	Πατραϊκός	93	Πολύ μεγάλος
WF-16	Αργολικός	200	Μικρός
WF-21	Πατραϊκός	43	Μεγάλος
WF-32	Σαρωνικός	93	Μεσαίος
WF-33	Σαρωνικός	76	Μεγάλος

WF-36	Σαρωνικός	93	Μεσαίος
WF-5	Κόρινθος	95	Μεσαίος
WF-55	Θερμαϊκός	26	Πολύ μεγάλος

Με χρήση στερεοσκοπίου και μικροσκοπίου έγινε η διαλογή των μειοβενθικών οργανισμών σε κύριες ταξινομικές ομάδες και καταγράφηκε η αφθονία τους ανά ομάδα και δείγμα. Η μειοπανιδική αφθονία αναφέρεται σε αριθμό ατόμων ανά 10 cm², ενώ η μειοπανιδική βιοποικιλότητα αναφέρεται σε αριθμό κύριων ταξινομικών ομάδων.



Εικόνα 3.1: Δειγματοληψία με χρήση πολυπυρηνοδειγματολήπτη

3.3. Αποτελεσματα Και Συζήτηση

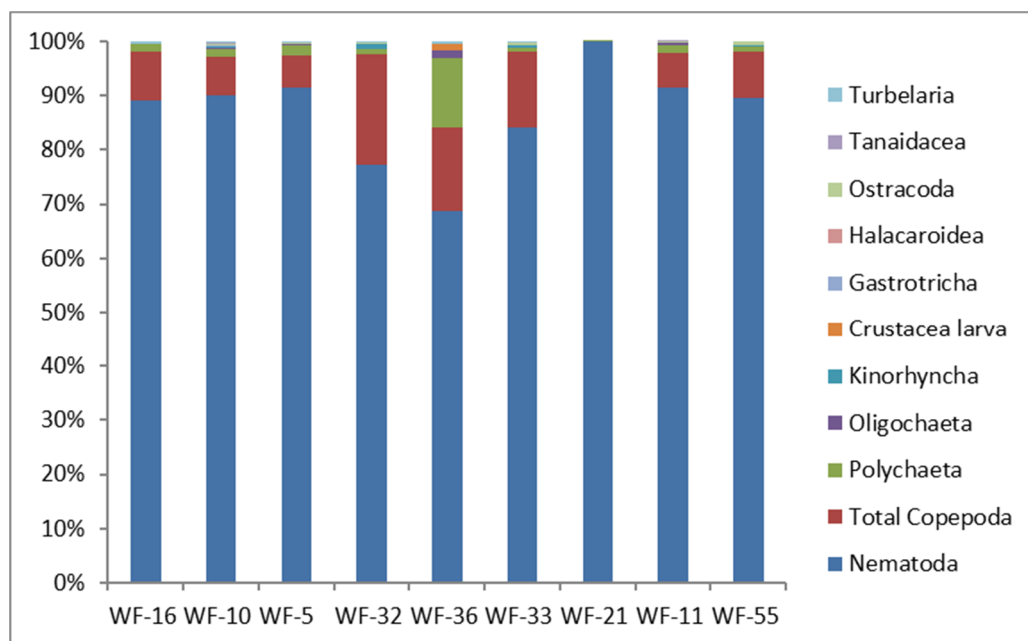
Στο σύνολο των σταθμών καταγράφηκαν 11 διαφορετικά μειοπανιδικά τάξα με τους νηματώδεις να κυριαρχούν σε όλους τους σταθμούς, ενώ ακολουθούν σε αφθονία τα βενθικά κωπήποδα και οι πολύχαιτοι (Εικόνα 3.2).

Χαμηλότερη μειοπανιδική αφθονία σημειώθηκε στο σταθμό 36 του Σαρωνικού (29 άτομα/10 cm²) και μέγιστη στο σταθμό 21 (1402 άτομα/10 cm²) στον Πατραϊκό Κόλπο (Εικόνα 3.3), ο οποίος ωστόσο εμφάνισε το χαμηλότερο αριθμό ταξινομικών ομάδων, καθώς σε αυτόν καταγράφηκαν μόνο τα συ-χνά τάξα των νηματωδών, κωπηπόδων και πολυχαιτών. Στους υπόλοιπους σταθμούς δεν παρατηρή-θηκε κάποια αξιοσημείωτη διαφορά σχετικά με τον αριθμό κύριων μειοβενθικών ομάδων, ο οποίος κυμάνθηκε μεταξύ 5-7 (Εικόνα 3.4).

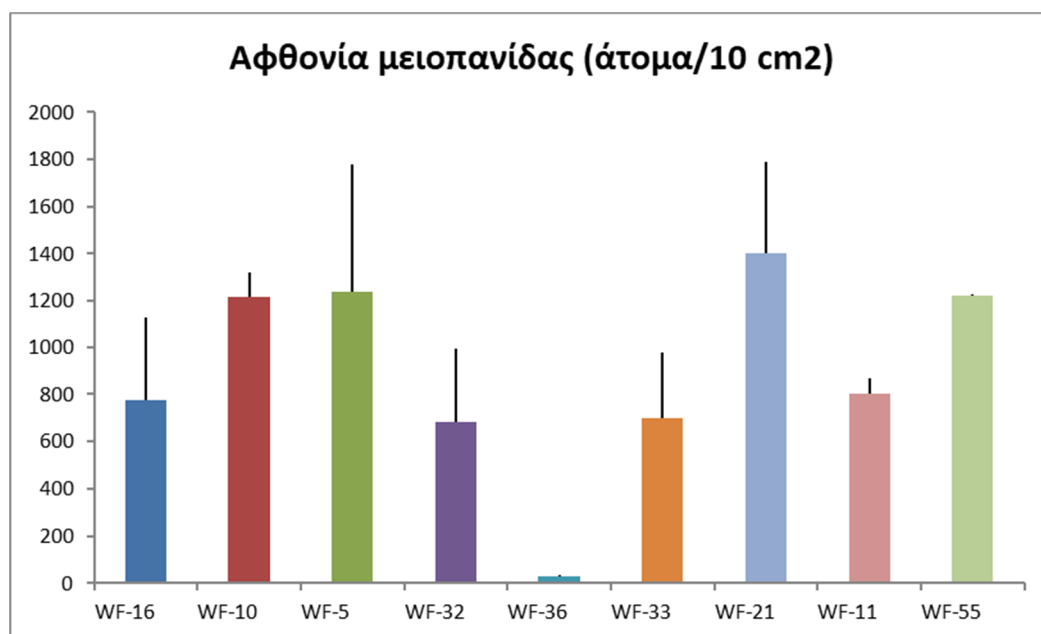
Κατά τη διάρκεια της μελέτης, εξετάστηκε επίσης κατά πόσο υπάρχουν διαφορές μεταξύ των σταθμών αναφορικά με την αφθονία ευαίσθητων ταξινομικών ομάδων όπως είναι τα κινόρυνχα και οι ναύπλιοι κωπηπόδων, καθώς και του λόγου αφθονίας Νηματώδεις/Κωπήποδα. Στις Εικόνες 3.5, 3.6 και 3.7 παρατηρούμε μία διακύμανση της αφθονίας αυτών των ομάδων και του λόγου μεταξύ των σταθμών, αυτή ωστόσο δεν συνδέεται

με κάποιο κύριο περιβαλλοντικό χαρακτηριστικό ή το μέγεθος της επιβάρυνσης που υφίσταται κάθε σταθμός.

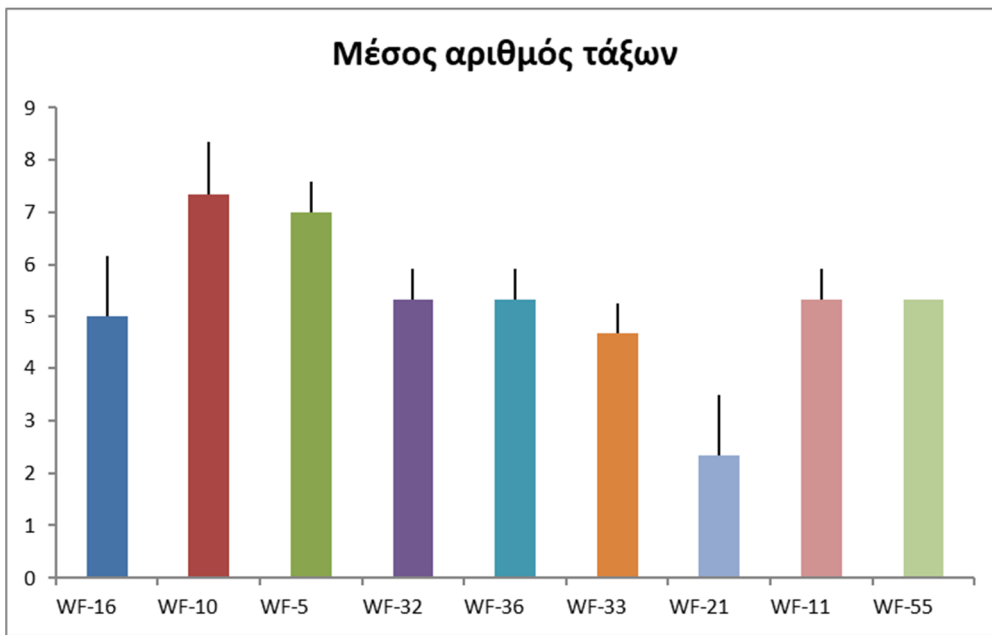
Από τα παραπάνω αποτελέσματα είναι εμφανές ότι χρειάζεται να εξετασθούν περισσότεροι σταθμοί από διαφορετικές περιοχές, οικοσυστήματα και βαθμούς περιβαλλοντικές επιβάρυνσης προκειμέ-νου να εξεταστεί η μειοπανίδα και τα χαρακτηριστικά αυτής ως εργαλείο για την εκτίμηση των θα-λάσσιων οικοσυστημάτων στην Ελλάδα.



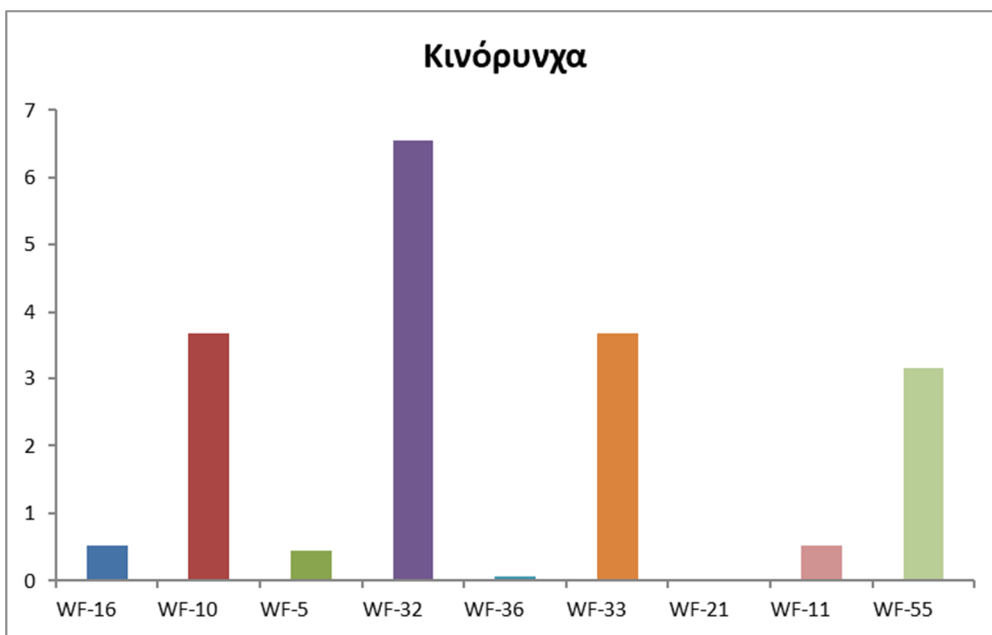
Εικόνα 3.2. Ποσοστά αφθονίας κύριων ταξινομικών ομάδων ανά σταθμό μελέτης. Οι σταθμοί έχουν καταταχθεί με βάση το βαθμό επιβάρυνσης που υπόκεινται (μικρός - πολύ μεγάλος)



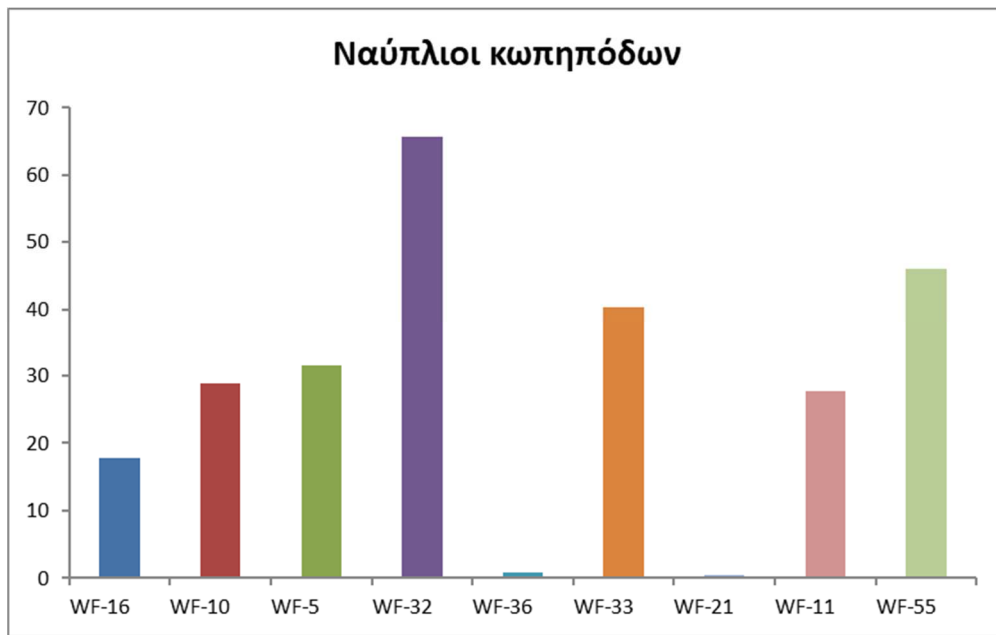
Εικόνα 3.3. Μέση αφθονία και τυπική απόκλιση των μειοβενθικών μεταζώων ανά σταθμό μελέτης. Οι σταθμοί έχουν καταταχθεί με βάση το βαθμό επιβάρυνσης που υπόκεινται (μικρός - πολύ μεγάλος)



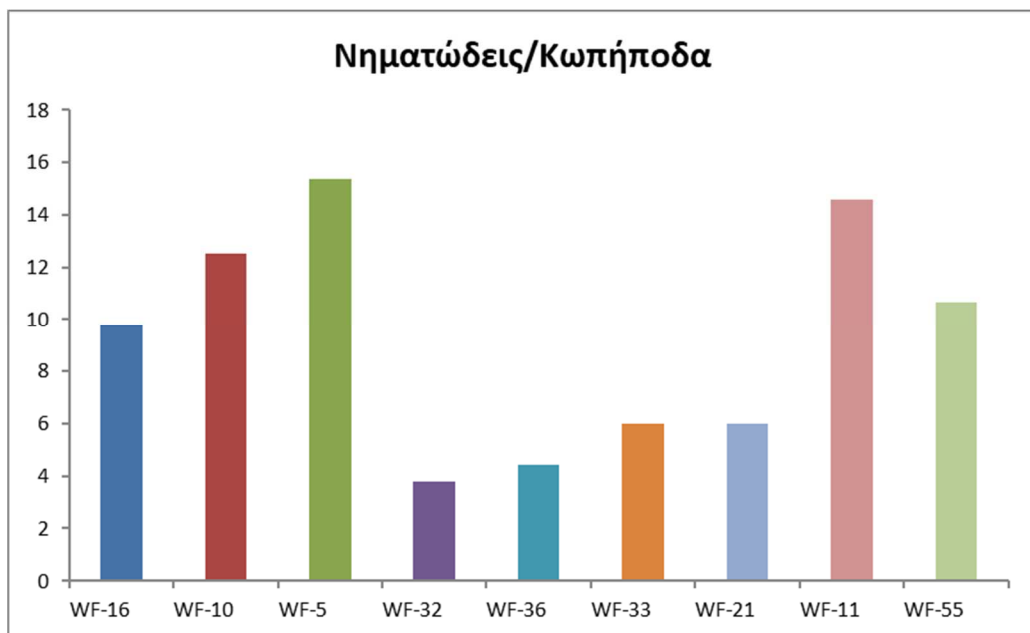
Εικόνα 3.4. Μέσος αριθμός και τυπική απόκλιση κύριων μειοβενθικών τάξων ανά σταθμό μελέτης. Οι σταθμοί έχουν καταταχθεί με βάση το βαθμό επιβάρυνσης που υπόκεινται (μικρός - πολύ μεγάλος)



Εικόνα 3.5. Μέση αφθονία (άτομα/10 cm²) των κινόρυνχων ανά σταθμό μελέτης. Οι σταθμοί έχουν καταταχθεί με βάση το βαθμό επιβάρυνσης που υπόκεινται (μικρός - πολύ μεγάλος)



Εικόνα 3.6. Μέση αφθονία (άτομα/10 cm²) των ναύπλιων κωπηπόδων ανά σταθμό μελέτης. Οι σταθμοί έχουν καταταχθεί με βάση το βαθμό επιβάρυνσης που υπόκεινται (μικρός - πολύ μεγάλος)



Εικόνα 3.7. Λόγος της αφθονίας των Νηματωδών/Κωπηπόδων ανά σταθμό μελέτης. Οι σταθμοί έχουν καταταχθεί με βάση το βαθμό επιβάρυνσης που υπόκεινται (μικρός - πολύ μεγάλος)

3.4. Βιβλιογραφία

- de Jonge VN, Bouwman LA (1977) A simple density separation technique for quantitative isolation of meiobenthos using the Colloidal silica Ludox-TM. *Marine Biology* 42:143-148
- Giere O (2009) *Meiobenthology: the microscopic motile fauna of aquatic sediments*. Springer Verlag
- Schratzberger M and Ingels J (2018) Meiofauna matters: The roles of meiofauna in benthic ecosystems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 502:12–25

Θέμα 4:

ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΠΕΛΑΓΙΚΩΝ ΙΩΝ, ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΚΑΙ ΠΡΩΤΙΣΤΩΝ («ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΑ ΔΙΚΤΥΑ»), ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΑΦΕΝΟΣ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΑΦΕΤΕΡΟΥ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ

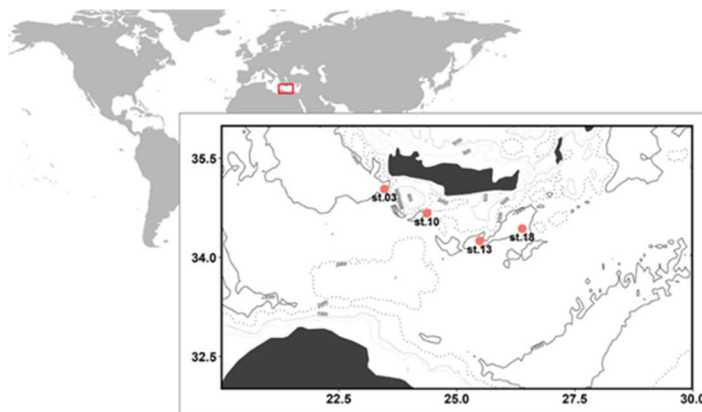
4.1. Εισαγωγή

Υπό το πρίσμα των αλλαγών που υφίσταται ο πλανήτης (π.χ. μείωση των διαθέσιμων πόρων), η μελέτη των μικροβίων στους ωκεανούς γίνεται αναγκαία, μιας και τα μικρόβια εμπλέκονται σε πληθώρα βιοχημικών διεργασιών και συνδέουν τα επίπεδα της τροφικής αλυσίδας. Ενώ τα βακτήρια έχουν μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό τα τελευταία χρόνια, οι ιοί και τα πρωτίστα έχουν λάβει τη λιγότερη προσοχή με αποτέλεσμα η κατανόηση του τροφικού πλέγματος και άρα του θαλάσσιου οικοσυστήματος συνολικά να μην είναι εφικτή.

Στόχος αυτής της μελέτης είναι η ταυτόχρονη μελέτη των διαφορετικών ομάδων που συμμετέχουν στο πλαγκτόν (ιοί, βακτήρια και πρωτίστα). Οι κοινότητες των ιών και πρωτίστων παίζουν σπουδαίο ρόλο στη λειτουργία των θαλάσσιων οικοσυστημάτων και οι σχέσεις τους με τα βακτήρια φανερώνουν θετικές, αρνητικές ή ουδέτερες επιδράσεις μιας κοινότητας σε μια άλλη. Πιο συγκεκριμένα, οι σχέσεις των κοινοτήτων υποδηλώνουν την σημασία της λύσης, θήρευσης και άλλων οικολογικών διεργασιών (π.χ. συμβίωση, παρασιτισμός και ανταγωνισμός). Οι κοινότητες αυτές δεν έχουν προηγουμένως μελετηθεί ταυτόχρονα στην Ανατολική Μεσόγειο με τη χρήση τεχνολογίας αλληλούχησης νέας γενιάς, κάτι που ανοίγει νέους ορίζοντες στην μελέτη των ολιγοτροφικών πλαγκτονικών οικολογικών πλεγμάτων.

4.2 Μεθοδολογία

Η ανάλυση της ποικιλότητας των κοινοτήτων των ιών, βακτηρίων και πρωτίστων πραγματοποιήθηκε σε δείγματα που έχουν συλλεχθεί σε προηγούμενη ερευνητική αποστολή στην Δυτική Λεβαντίνη (Ανατολική Μεσόγειος) τον Απρίλιο του 2016. Συγκεκριμένα συλλέχθηκε νερό από τέσσερεις διαφορετικούς σταθμούς όπως φαίνονται στην εικόνα 4.1. Τα βάθη και οι γεωγραφικές συντεταγμένες φαίνονται στον πίνακα 4.1.



Εικόνα 4.1: Παγκόσμιος χάρτης που υποδεικνύει την περιοχή μελέτης και την βαθυμετρία της περιοχής μελέτης. Οι περιοχές δειγματοληψίας σημειώνονται στο χάρτη.

Πίνακας 4.1: Σταθμοί δειγματοληψίας, γεωγραφικές συντεταγμένες και βάθη από όπου συλλέχθηκε θαλασσινό νερό για τις αναλύσεις πλαγκτονικής ποικιλότητας.

	Γεωγραφικό μήκος	Γεωγραφικό πλάτος	Sampled Depth Layers (meatabarcoding)
St.03	35.0333	23.4667	5, 50,75, 1000, 3500 m
St.10	34.6667	24.3667	5, 50,75, 1000, 3300 m
St.13	34.2500	25.4833	5, 50,75, 1000, 3900 m
St.18	34.4333	26.3833	5, 50,75, 1000, 3500 m

Η συλλογή των δειγμάτων για τις αναλύσεις ποικιλότητας διεξήχθη με διαδοχική διήθηση μέσω μεμβρανών διαφορετικού μεγέθους πόρου προκειμένου να συγκεντρωθεί η κάθε κοινότητα ξεχωριστά. Από τα επιφανειακά νερά (5, 50, 75 m) διηθήθηκε όγκος θαλασσινού νερού 21 λίτρων ενώ για τις βαθύτερες στοιβάδες διηθήθηκαν 30 L. Ένα πλέγμα 200 μm χρησιμοποιήθηκε στην αρχή της αλληλουχίας διήθησης για να αποκλειστούν οργανισμοί μεγαλύτεροι από 200 μm. Η βιομάζα πλαγκτού που συλλέχθηκε σε μεμβράνες με μέγεθος πόρου 20 μm αποτέλεσε την κοινότητα των μικροπλαγκτονικών πρωτίστων (μικροπλαγκτόν: 20-200 μm). Η βιομάζα που συλλέχθηκε σε μεμβράνες με μέγεθος πόρου 0.8 μm αποτέλεσε την κοινότητα των πικονάνο- πρωτίστων (0.8-20 μm), δηλαδή συμπεριλάμβανε τα νανο-πρωτίστα (nano-plankton: 2-20 μm) και μέρος των πίκo-πρωτίστων (pico-plankton: 0.2-2 μm). Η βιομάζα που συλλέχθηκε σε μεμβράνες με μέγεθος πόρου 0.2 μm αποτέλεσε την βακτηριακή κοινότητα. Έγινε επεξεργασία του διηθήματος του πόρου 0.2 μm με διάλυμα χλωριούχου σιδήρου (τελική συγκέντρωση 1 mg mL⁻¹ FeCl₃) ώστε να επιτευχθεί η συσσωμάτωση των ικών σωματιδίων μέσα στις επόμενες 6 ώρες. Έπειτα, τα συσσωματωμένα σωματίδια διηθήθηκαν σε μεμβράνες με μέγεθος πόρου 1 μm. Μετά τις διηθήσεις, οι μεμβράνες 0.2, 0.8 και 20 μm καταψύχθηκαν σε υγρό άζωτο και στο τέλος της αποστολής δειγματοληψίας, αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι τις περαιτέρω εργαστηριακές αναλύσεις. Η μεμβράνη με μέγεθος πόρου 1 μm αποθηκεύτηκε αρχικά στους 4 °C και παρέμεινε εκεί μέχρι την εξαγωγή του ικού γενετικού υλικού στο εργαστήριο.

Ποικιλότητα των κοινοτήτων των πρωτίστων

Για την μελέτη των μικρο-πρωτίστων και των πικονάνο-πρωτίστων πραγματοποιήθηκε εξαγωγή του ολικού γενωμικού γενετικού υλικού (DNA) και ακολούθησε ο πολλαπλασιασμός του γονιδίου 18S rRNA με τη χρήση εκκινητών που προτείνονται από τους Amaral-Zettler et al., (2009). Το γονίδιο αλληλουχήθηκε στην πλατφόρμα Illumina MiSeq με τη χρήση του MiSeq Reagent Kit v2. Μετά από τη χρήση βιοπληροφορικών εργαλείων, όπως προτείνονται από τους Boyer et al., (2016), καταλήξαμε στην τελική λίστα λειτουργικών ταξινομικών ομάδων (OTUs: Operational Taxonomic Units). Τα OTUs χαρακτηρίστηκαν ταξινομικά με την εφαρμογή του αλγορίθμου ecotag (Boyer et al., 2016) και με τη χρήση του National Center for Biotechnology Information (NCBI) ως ταξινομική αναφορά.

Ποικιλότητα βακτηριακής κοινότητας

Για την μελέτη των μικρο-πρωτίστων και των πικονάνο-πρωτίστων πραγματοποιήθηκε εξαγωγή του ολικού γενωμικού γενετικού υλικού (DNA) και ακολούθησε ο πολλαπλασιασμός του γονιδίου 16S rRNA με τη χρήση εκκινητών που προτείνονται από τους Klindworth et al., (2012). Η αλληλούχηση του γονιδίου και η βιοπληροφορική ανάλυση των αποτελεσμάτων της αλληλούχησης έχει προγραμματιστεί να γίνει μέχρι το τέλος του 2019.

Ποικιλότητα των πελαγικών ιών

Το ολικό γενετικό υλικό των ιών εξήχθη ακολουθώντας το πρωτόκολλο των Winperenninck et al. (1993), αφού πρώτα είχε γίνει επαναιώρηση των ιικών σωματιδίων από τις μεμβράνες με διάλυμα ασκορβικού οξέος (John et al., 2011). Το επαναιώρημα επώαστηκε στους 60 °C για 2 ώρες σε 2 στροφές ανά λεπτό με 10 mL ρυθμιστικού διαλύματος CTAB. Το εκχυλισμένο και καθαρό DNA αραιώθηκε σε υπερκάθαρο νερό, προσδιορίστηκε ποσοτικά με φθοριόμετρο, η ποιότητά του αξιολογήθηκε με φασματοφωτόμετρο και αποθηκεύτηκε στους -20 °C μέχρι την αλληλούχηση. Έγινε τμηματοποίηση του ιικού DNA στα 300 ζεύγη βάσεων (bp) και η ιική μεταγονιδιωματική βιβλιοθήκη κατασκευάστηκε για αλληλούχηση σε πλατφόρμα Illumina HiSeq 4000 χρησιμοποιώντας το NEBNext Ultra DNA library Prep Kit for Illumina (6 κύκλοι PCR, σύμφωνα με τον κατασκευαστή). Ιικά μεταγονιδιώματα σε μορφή FASTQ εισήχθησαν στο CLC Genomics Workbench v.7 (CLC Bio) και τμηματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ένα ελάχιστο συντελεστή rهد 20 και ελάχιστο μήκος 50 bp, επιτρέποντας μη αμφιλεγόμενα νουκλεοτίδια και την περικοπή των adaptors Illumina. Οι αναγνώσεις συναρμολογήθηκαν χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο *de novo* του CLC, χρησιμοποιώντας k-mer 63 και ελάχιστο μήκος ικρίωματος 500 bp. Οι συναρμολογημένες αλληλουχίες στη συνέχεια αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας τη σειρά αλγορίθμων iVirus (Bolduc et al., 2017) μέσω της πλατφόρμας Cyverse (Goff et al., 2011). Η βιοπληροφορική ανάλυση των ιικών μεταγονιδιωμάτων βρίσκεται σε εξέλιξη. Συνεπώς, τα αποτελέσματα αναμένονται να είναι διαθέσιμα για στατιστική επεξεργασία και μετέπειτα κατασκευή οικολογικών στους επόμενους μήνες.

Λυτική παραγωγικότητα

Η εκτίμηση της ιικής λυτικής παραγωγικότητας έγινε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Winter et al. (2004). Συνοπτικά, περίπου 2 λίτρα θαλασσινού νερού διηθήθηκαν μέσω μεμβράνης πόρου 0.8 μm ώστε να απομακρυνθούν τα σωματίδια και οι θηρευτές και στη συνέχεια μέσω ειδικής μεμβράνης 0.2 μm (Sartorius, VF20P7, 0.2 MWCO) ώστε να παραχθεί μια ποσότητα νερού υπερ-συσσωρευμένου σε βακτήρια. Στη συνέχεια, το διήθημα διηθήθηκε εκ νέου μέσω ειδικής μεμβράνης πόρου 30 kDA (Sartorius, VF20P2, 30.000 MWCO) ώστε να παραχθεί μια ποσότητα νερού ελεύθερου από ιικά σωματίδια. Οι δύο ποσότητες αναμείχθηκαν και διαμοιράστηκαν σε falcon tubes (50 ml) τα οποία επώαστηκαν σε συνθήκες θερμοκρασίας περιβάλλοντος (*in situ*) για 24 ώρες. Δείγματα από τις επώσεις συλλέχθηκαν κάθε 0, 1, 3, 6, 12 και 24 ώρες και συντηρήθηκαν με γλουταραλδεΐδη (0.5% τελική συγκέντρωση) για την μετέπειτα εκτίμηση ιικής και βακτηριακής αφθονίας. Η λυτική παραγωγικότητα εκτιμήθηκε σύμφωνα με την εξίσωση

$$\text{Lytic VP} = \frac{(\text{VLP}_{\text{max}} - \text{VLP}_{\text{min}})}{(\text{t}_{\text{max}} - \text{t}_{\text{min}})} \times [\text{B}_{\text{original}} / \text{B}_0]$$

όπου VLP_{max}, VLP_{min} οι τιμές μέγιστης και ελάχιστης ιικής αφθονίας κατά τις επώσεις, t_{max}, t_{min} οι χρονικές στιγμές όπου παρατηρήθηκαν οι εν λόγω αφθονίες, B_{original} η αφθονία των βακτηρίων στο δείγμα πριν την διήθηση και B₀ η αφθονία των βακτηρίων στην

αρχή της επώασης. Η λυτική παραγωγικότητα εκφράστηκε σε παραγωγή ιικών σωματιδίων ανά mL ανά h (VLPs mL⁻¹ h⁻¹).

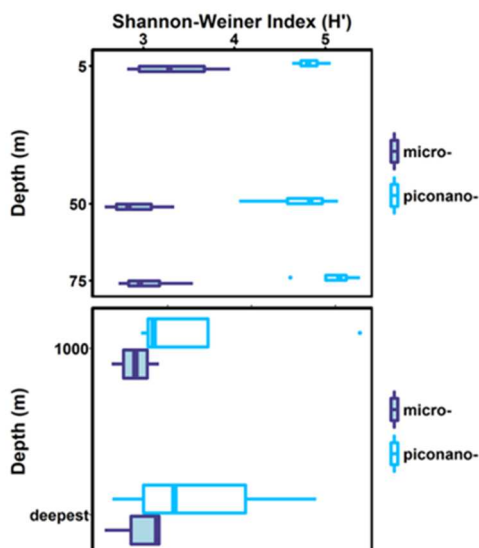
Αφθονίες ιών και βακτηρίων

Οι αφθονίες των ιών και βακτηρίων εκτιμήθηκαν με χρήση των πρωτοκόλλων των Brussaard (2004) και Marie et al. (1997). Δείγματα θαλασσινού νερού συντηρήθηκαν με γλουταραλδεΐδη (0.5% τελική συγκέντρωση) και βυθίστηκαν σε υγρό άζωτο. Η ανάλυση των αφθονιών έγινε σε όργανο κυτταρομετρητή ροής (FACSCalibur™, Becton Dickinson). Σε περίπτωση ανάγκης αραίωσης χρησιμοποιήθηκε το διάλυμα Tris EDTA. Η χρώση των ιικών σωματιδίων και των ετερότροφων βακτηρίων έγινε με την χρωστική SYBR Green nucleic acid stain, ενώ για τα αυτότροφα βακτήρια δεν χρειάστηκε χρώση. Τα αυτότροφα βακτήρια (*Synechococcus*, *Prochlorococcus*) διαχωρίστηκαν με βάση τον φυσικό φθορισμό τους.

4.3 Αποτελέσματα

Κοινότητες των μικρο- και πικονανο- πρωτίστων

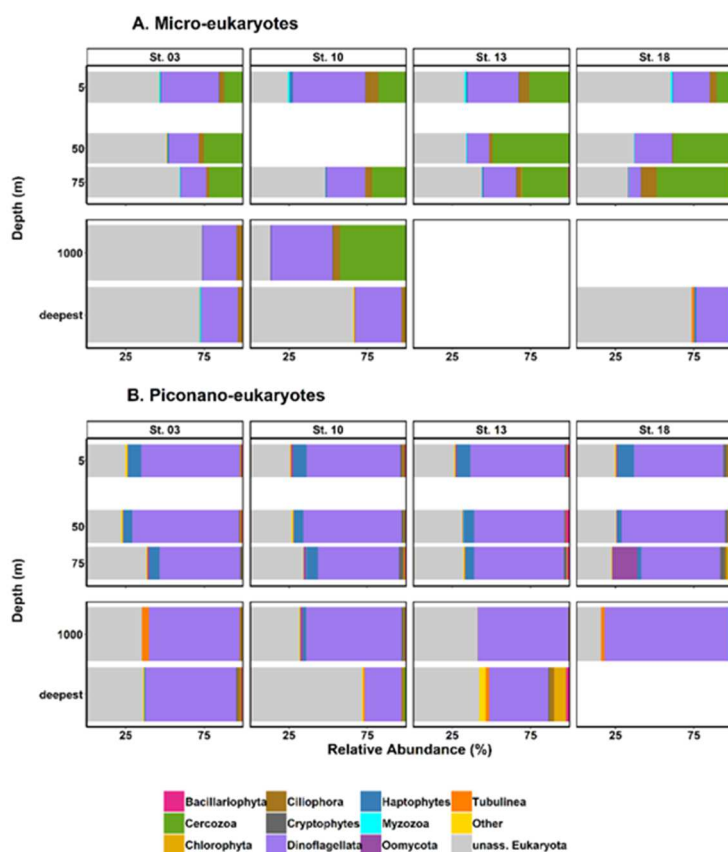
Οι αναλύσεις του γονιδίου 18S rRNA έδειξαν ότι η άλφα ποικιλότητα (υπολογισμένη με βάση το δείκτη Shannon H') των μικρο- πρωτίστων ήταν γενικά χαμηλότερη από αυτή των πικονανο-πρωτίστων (Εικόνα 2). Η διαφορά μεταξύ των δύο κοινοτήτων ήταν μεγαλύτερη στα επιφανειακά στρώματα νερού. Πράγματι, η χαμηλότερη τιμή του δείκτη Shannon για τα πικονάνο- (H' = 4.05) ήταν υψηλότερη από την υψηλότερη τιμή για τα μικρο- πρώτιστα (H' = 3.95). Η ποικιλότητα των πικονάνο- ήταν χαμηλότερη στα βαθύτερα στρώματα νερού σε σύγκριση με αυτή στα επιφανειακά νερά (Εικόνα 4.2). Εξαιρέσεις σε αυτό ήταν ένα δείγμα στα 1000 m (st.10) και ένα σημείο σε βάθος >3000 m (st.03).



Εικόνα 4.2: Άλφα ποικιλότητα (alpha-diversity) των κοινοτήτων των πρωτίστων (μικρο-πρώτιστα και πικονανο-πρώτιστα) με βάση το δείκτη Shannon-Wiener (H') στα διαφορετικά βάθη της στήλης του νερού.

Το φύλο Κερκόζωα (Cerczoza) ήταν σχετικά άφθονο στην μικρο-ευκαρυωτική κοινότητα (Εικόνα 4.3Α). Για τα επιφανειακά στρώματα νερού, η σχετική αφθονία των Κερκοζών στην μικρο-ευκαρυωτική κοινότητα ήταν υψηλότερη στο βάθος των 50 m (37 ± 12%) και 75 m (30 ±

11,5%) σε σύγκριση με το βάθος των 5 m ($16 \pm 6,9\%$). Ωστόσο, όσον αφορά τις μικρο-ευκαρυωτικές κοινότητες των βαθύτερων στρωμάτων, τα Κερκόζωα βρέθηκαν μόνο στο σταθμό 10 στο βάθος των 1000 μέτρων. Συγκριτικά, τα Κερκόζωα σχεδόν απουσίαζαν από την πικονανο-ευκαρυωτική κοινότητα ($<1,5\%$ · Εικόνα 3B). Τα Δινομαστιγωτά (Dinoflagellata) αποτέλεσαν σημαντικό μέλος τόσο των μικρο-, όσο και των πικονάνο- κοινότητων (Εικόνα 3A-B). Στα επιφανειακά ύδατα, η χαμηλότερη σχετική αφθονία των Δινομαστιγωτών ήταν 7% για τα μικρο-, ενώ τα πικονάνο- Δινομαστιγωτά έδειξαν πάνω από 50% σχετική αφθονία σε όλες τις περιπτώσεις. Επιπρόσθετα, τα Δινομαστιγωτά κυριάρχησαν στην κοινότητα των πικονάνο-πρωτίστων στα βαθιά ύδατα (Σχήμα 3B). Η συμβολή των Βλεφαριδοφόρων (Ciliophora) στην μικρο-ευκαρυωτική κοινότητα στα επιφανειακά ύδατα διέφερε μεταξύ των βαθών (Εικ. 4.3A). Στο βάθος των 50 m, τα Βλεφαριδοφόρα παρουσίασαν γενικά χαμηλή σχετική αφθονία ($2,1 \pm 1,2\%$) σε σύγκριση με τα 5 m ($5,5 \pm 2,1\%$) και τα 75 m ($4,8 \pm 3,6\%$). Αντίθετα, τα ποσοστά σχετικής αφθονίας των Βλεφαριδοφόρων ήταν αρκετά σταθερά στις κοινότητες των βαθύτερων υδάτων (μικρο-πρώτιστα: $4.3 \pm 2.8\%$). Όπως και τα Κερκόζωα, έτσι και τα Βλεφαριδοφόρα σχεδόν απουσίαζαν από την κοινότητα των πικονάνο- πρώτιστων ($<1\%$ · Εικόνα 4.3B).



Εικόνα 4.3: Σύθεση της μικρο- (A.) και πικονάνο- (B.) ευκαρυωτικής κοινότητας στους διαφορετικούς σταθμούς δειγματοληψίας και στα στρώματα του νερού. Η κατηγορία «Other» περιλαμβάνει τα φύλα με σχετική αφθονία κάτω του 5% σε όλες τις περιπτώσεις. Αυτά είναι τα: Bigyra, Hyphochytriomycota, Ochrophyta, Rhodophyta, unass. Viridiplantae, unass. Alveolata and unass. Stramenopiles.

Οι αυτότροφες ομάδες Διάτομα (Bacillariophyta) και Χλωρόφυτα (Chlorophyta) έδειξαν πολύ χαμηλά ποσοστά αφθονίας εντός της μικρο-ευκαρυωτικής κοινότητας. Ωστόσο, η παρουσία τους ήταν σχετικά ισχυρή στην πικονάνο-κοινότητα (Εικόνα 3A-B). Το ίδιο ισχύει και για τα Απτόφυτα (Haptophytes), τα οποία είχαν επίσης ισχυρότερη παρουσία στην πικονάνο-

κοινότητα ($6,6 \pm 2,2\%$) από ό,τι στην μικρο- κοινότητα ($0,7 \pm 0,5\%$) ή οποιαδήποτε κοινότητα των βαθιών υδάτων ($3,4\%$ · Εικόνα 3A-B). Για τα Απτόφυτα (Haptophytes) και τα Κρυπτόφυτα (Cryptophytes), παρατηρήθηκε σχέση μεταξύ της σχετικής αφθονίας με το βάθος, με τα πρώτα να είναι πιο άφθονα στα 5 m και τα τελευταία στα 75 m (Εικόνα 4.3A-B).

Το φύλο Tubulinea ήταν παρόν μόνο στις κοινότητες βαθιών υδάτων σημειώνοντας συνολικά χαμηλά ποσοστά σχετικής αφθονίας τα οποία ήταν υψηλότερα στην πικονάνο-κοινότητα (Εικόνα 3A-B). Παρόλο που η σχετική αφθονία του φύλου Myzozoa ήταν χαμηλή (λιγότερο από το 5%), υπήρξε μια σαφής διακύμανση αυτού του φύλου με το βάθος και η παρουσία του ήταν αρκετά υψηλότερη στο βάθος των 5 m (Εικόνα 4.3A-B). Η σχετική αφθονία των ομάδων που δεν ήταν δυνατό να προσδιοριστούν ταξινομικά (unassigned) ήταν $39,3 \pm 10,1\%$ για τα μικρο-πρώτιστα και $16,9 \pm 3,2\%$ για τα πικονάνο- πρώτιστα στα επιφανειακά νερά ενώ τα ποσοστά ήταν ακόμη υψηλότερα για τις κοινότητες των βαθιών υδάτων (μίκρο-: $57,5 \pm 26\%$, πικονάνο-: $33,4 \pm 16,9\%$, Εικόνα 3A-B).

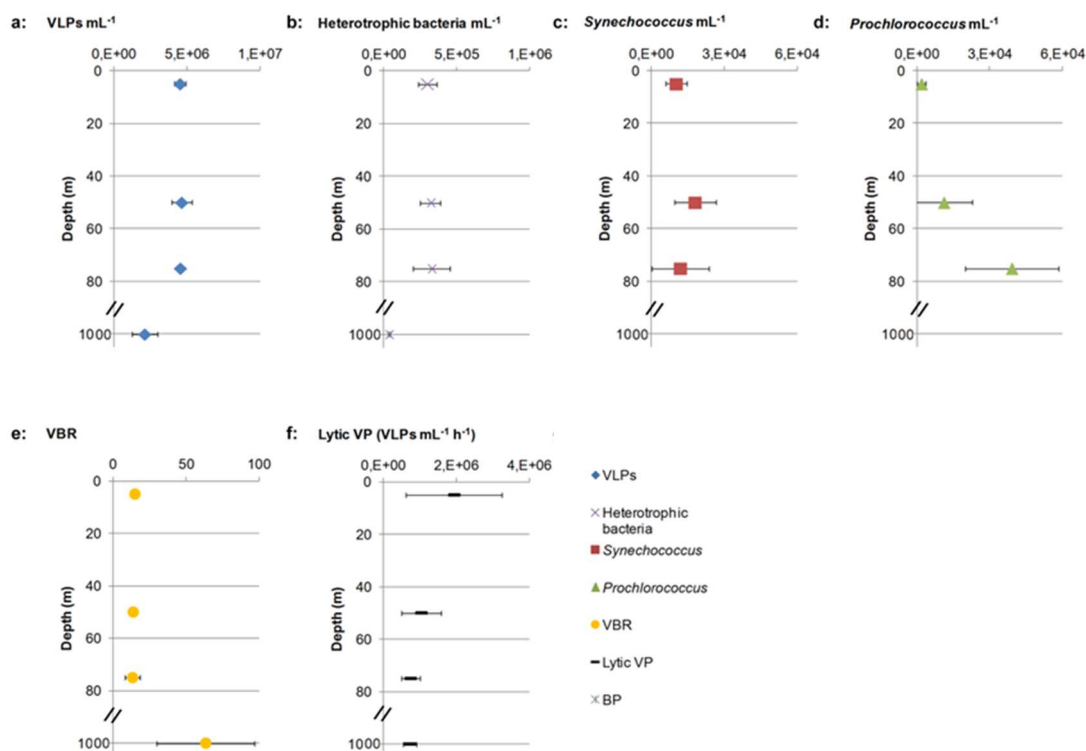
Αφθονίες ιών και βακτηρίων

Οι αφθονίες των ιών και ετερότροφων βακτηρίων δεν διέφεραν μεταξύ των επιφανειακών/υποεπιφανειακών στρωμάτων, δηλαδή μεταξύ των βαθών 5, 50 και 75 m (one-way ANOVA, $p > 0,05$). Η αφθονία των ιικών σωματιδίων (virus-like particles, VLPs) ήταν κατά μέσο όρο $4,6 \times 10^6 \pm 4,3 \times 10^5$ VLPs mL⁻¹ και η αφθονία των ετερότροφων βακτηρίων ήταν κατά μέσο όρο $3,2 \times 10^5 \pm 8,4 \times 10^4$ κύτταρα mL⁻¹ λαμβάνοντας υπόψη τα δείγματα στα 5, 50 και 75 m (Εικόνα 4). Ωστόσο, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων επιφάνειας/υποεπιφάνειας και 1000 m για τους ιούς και τα ετερότροφα βακτήρια (one-way ANOVA, $p < 0,05$). Συγκεκριμένα, οι αφθονίες των ιών και ετερότροφων βακτηρίων ήταν σημαντικά χαμηλότερες στα 1000 m (~2x και ~9x, αντίστοιχα) από ό,τι στα άλλα βάθη (post hoc Tukey test, $p < 0,05$). Οι χαμηλότερες τιμές ετερότροφων βακτηρίων μετρήθηκαν στους LV3 και LV10 (περίπου 3×10^4 κύτταρα mL⁻¹), ενώ η χαμηλότερη τιμή ιικής αφθονίας παρατηρήθηκε στον LV13 ($1,1 \times 10^6$ VLPs mL⁻¹).

Η αφθονία των κυανοβακτηρίων *Synechococcus* (*Syn*) έτεινε να αυξάνεται από τα επιφανειακά προς τα υποεπιφανειακά στρώματα σε όλους τους σταθμούς, αλλά αυτή η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (one-way ANOVA, $p > 0,05$). Κατά μέσο όρο, η αφθονία των *Syn* ήταν $1,0 \times 10^4 \pm 3,5 \times 10^3$, $1,8 \times 10^4 \pm 6,6 \times 10^3$ και $1,2 \times 10^4 \pm 1,0 \times 10^4$ κύτταρα mL⁻¹ στα 5, 50 και 75 m, αντίστοιχα (Εικόνα 4). Σε όλους τους σταθμούς στα 5 m, τα κύτταρα *Syn* ξεπέρασαν την αφθονία των κυανοβακτηρίων *Prochlorococcus* (*Prochl*) κατά περίπου μία τάξη μεγέθους (Εικόνα 4). Σε αντίθεση με τα 5 m, η αφθονία των *Prochl* ήταν υψηλότερη από την αφθονία των *Syn* στα 75 m σε όλες τις περιπτώσεις κατά περίπου μία τάξη μεγέθους, εκτός από τον σταθμό LV13 όπου οι αφθονίες ήταν σχεδόν ίσες. Η αφθονία των *Prochl* ήταν σημαντικά διαφορετική μεταξύ των στρωμάτων δειγματοληψίας (one-way ANOVA, $p < 0,05$). Η αφθονία των *Prochl* ήταν στατιστικά χαμηλότερη στα 5 από ότι στα 75 m (post hoc Tukey, $p < 0,05$) καθώς και στα 50 από ότι στα 75 m (post hoc Tukey test, $p < 0,05$). Συγκεκριμένα, η αφθονία των *Prochl* στα 5 m δεν ξεπέρασε τα $3,6 \times 10^3$ κύτταρα mL⁻¹, ενώ οι μέγιστες αφθονίες μετρήθηκαν στα 75 m στους LV10 και LV18 ($5,7$ και $5,4 \times 10^4$ κύτταρα mL⁻¹, αντίστοιχα, Εικόνα 4.4).

Η προκύπτουσα αναλογία μεταξύ της αφθονίας ιών προς βακτήρια (virus to bacteria ratio, VBR) είχε σημαντική διακύμανση μεταξύ των επιφανειακών/υποεπιφανειακών δειγμάτων και

των 1000 m λαμβάνοντας υπόψη στον υπολογισμό είτε το σύνολο των βακτηρίων (Εικόνα 4) είτε μόνο τα ετερότροφα βακτήρια. Και στις δύο περιπτώσεις, μετρήθηκαν σημαντικά υψηλότερες τιμές VBR στα 1000 m από ότι στην επιφάνεια/υποεπιφάνεια (post hoc Tukey test, $p < 0,05$). Η διακύμανση του VBR ήταν μεταξύ 9 και 21 στην επιφάνεια/υποεπιφάνεια και μεταξύ 56 και 107 στα 1000 m (Εικόνα 4.4).



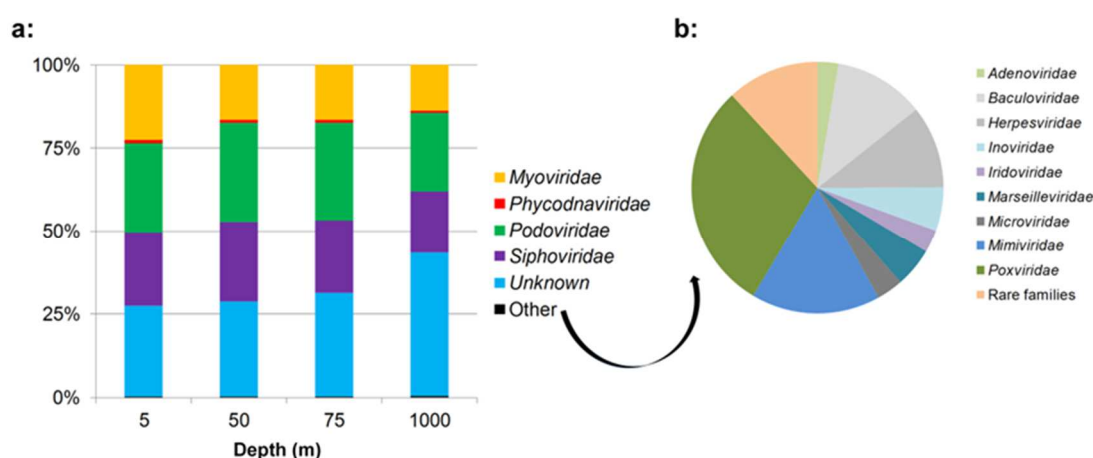
Εικόνα 4.4. Αφθονία ικών σωματιδίων (a: VLPs), ετερότροφων βακτηρίων (b), *Synechococcus* (c), *Prochlorococcus* (d), ο λόγος ανάμεσα στην αφθονία των ικών σωματιδίων και των συνολικών βακτηρίων (e: VBR) και η λυτική παραγωγικότητα (f: Lytic VP) στους σταθμούς δειγματοληψίας. Μέσες τιμές προέκυψαν από τέσσερις σταθμούς (LV3, LV10, LV13 and LV18).

Κοινότητες ιών

Η λυτική παραγωγικότητα (lytic viral production, Lytic VP) δεν διέφερε μεταξύ των σταθμών δειγματοληψίας (one-way ANOVA, $p > 0,05$). Στα 5 m, η Lytic VP ήταν σχεδόν ίση στους LV3 και LV10 (7.1×10^5 και 9.4×10^5 VLPs mL⁻¹ h⁻¹) και στους LV13 και LV18 (2.7×10^6 και 3.4×10^6 VLPs mL⁻¹ h⁻¹) (Εικόνα 4). Στα 50 και 75 m, η Lytic VP κυμάνθηκε ελάχιστα μεταξύ των σταθμών ($4,2 \times 10^5$ έως $9,9 \times 10^5$ VLPs mL⁻¹ h⁻¹) με την εξαίρεση του LV10 στα 75 m όπου η Lytic VP ήταν $1,8 \times 10^6$ VLPs mL⁻¹ h⁻¹. Εξίσου υψηλοί ρυθμοί λυτικής παραγωγικότητας μετρήθηκαν επίσης στα 1000 m, οι οποίοι συγκεκριμένα ήταν κατά μέσο όρο $7,2 \times 10^5 \pm 1,9 \times 10^5$ VLPs mL⁻¹ h⁻¹ (Εικόνα 4).

Η σύνθεση της ικής κοινότητας διέφερε σημαντικά με το βάθος δειγματοληψίας στα ταξινομικά επίπεδα της οικογένειας (PERMANOVA, Pseudo-F_{3,10}=6,23, $p < 0,01$) και του γένους (PERMANOVA, Pseudo-F_{3,10}=3,59, $p < 0,01$). Οι κοινότητες στα 50 και 1000 m έδειξαν τα πιο διακριτά μοτίβα (Εικόνα 5). Ένα ποσοστό $30 \pm 7\%$ και $25 \pm 6\%$ των αλληλουχιών που ανιχνεύθηκαν παρέμεινε μη ταξινομημένο στο επίπεδο της οικογένειας και του γένους, αντίστοιχα (λαμβάνοντας υπόψη όλους τους σταθμούς). Οι κυρίαρχες οικογένειες ήταν οι *Podoviridae* ($29 \pm 3\%$) και *Siphoviridae* ($23 \pm 3\%$) με ελάχιστη διακύμανση μεταξύ 5 και 75 m

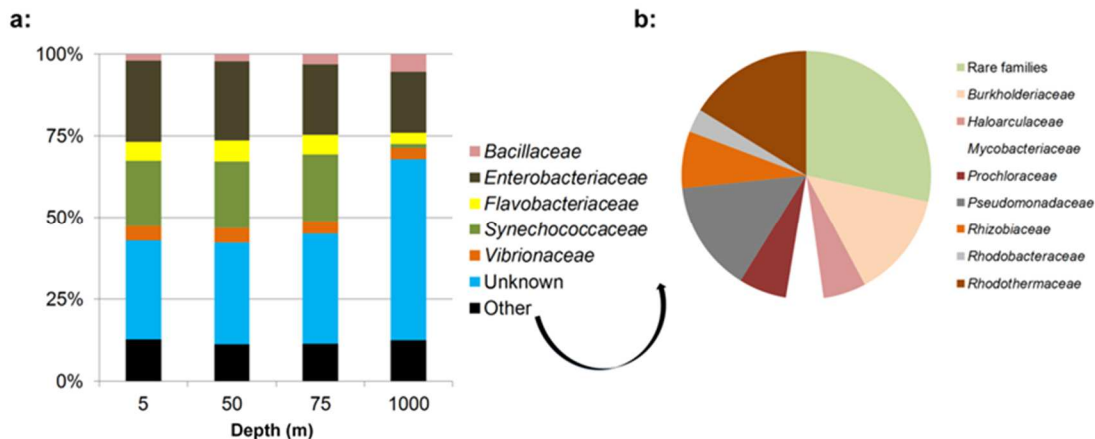
σταθμών (Εικόνα 5). Σημαντικά χαμηλότερη συνεισφορά των *Podoviridae* και *Siphoviridae* παρατηρήθηκε στα 1000 m σε σύγκριση με τα άλλα βάθη (περίπου 3% χαμηλότερη συνεισφορά). Αντιθέτως, περίπου 2% υψηλότερη συνεισφορά αυτών των δύο οικογενειών παρατηρήθηκε στα 50 m σε σύγκριση με 5 και 75 m. Η τρίτη πιο άφθονη οικογένεια ήταν η *Myoviridae* με φθίνουσα συνεισφορά από την επιφάνεια στα βαθιά νερά (Εικόνα 5). Στα 5 m, η *Myoviridae* αποτέλεσε το 23±5% των αλληλουχιών, στα 50 και 75 m το 16±2%, ενώ στα 1000 m αποτέλεσε το 14±0.3%. Η οικογένεια *Phycodnaviridae* παρατηρήθηκε σε όλους τους επιφανειακούς/ υποεπιφανειακούς σταθμούς (0,7-1,4% με το μεγαλύτερο ποσοστό στον LV18). Το υπόλοιπο ποσοστό των αλληλουχιών (<0,5%) καλύφθηκε σε όλους τους σταθμούς από σπάνιες οικογένειες (27 οικογένειες συνολικά). Οι περισσότερες από αυτές βρέθηκαν σε λίγους σταθμούς η καθεμία. Ωστόσο, οι οικογένειες *Adenoviridae*, *Baculoviridae*, *Herpesviridae*, *Inoviridae*, *Iridoviridae*, *Marseilleviridae*, *Microviridae*, *Mimiviridae*, *Poxviridae* εμφανίστηκαν σε όλους τους σταθμούς.



Εικόνα 4.5. a: Ποσοτική συνεισφορά των κυριότερων ιικών οικογενειών στους σταθμούς δειγματοληψίας. Οικογένειες με την ονομασία “Other” συνεισέφεραν <0.5% στις συνολικές αλληλουχίες. Μέσες τιμές προέκυψαν από τέσσερις σταθμούς (LV3, LV10, LV13 and LV18). **b:** Οι πιο άφθονες ικές οικογένειες εντός της κατηγορίας “Other” (μέσος όρος όλων των σταθμών, ανεξαρτήτου βάθους).

Εβδομήντα δύο βακτηριακές οικογένειες ανιχνεύθηκαν ως πιθανοί ξενιστές για τους λυτικούς ιούς. Η ανάλυση PERMANOVA έδειξε ότι η σύνθεση της κοινότητας των πιθανών ξενιστών διέφερε με το βάθος δειγματοληψίας (PERMANOVA, Pseudo- $F_{3,10}=5,17$, $p<0,01$). Όλα τα βάθη ομαδοποιήθηκαν χωριστά το ένα από το άλλο (δοκιμή SIMPROF). Οι πιο κυρίαρχοι δυνητικοί ξενιστές λαμβάνοντας υπόψη όλους τους σταθμούς ήταν η οικογένεια *Synechococcaceae* (19-25% στην επιφάνεια/υποεπιφάνεια) και οι *Enterobacteriaceae* (19-25%), *Flavobacteriaceae* (5-8% σε όλους τους σταθμούς εκτός από τα 1000 m όπου ήταν 3%) και *Vibrionaceae* (3-5%) (Εικόνα 6). Οι ξενιστές που δεν ταξινομήθηκαν στο επίπεδο της οικογένειας αποτέλεσαν το 30, 31, 33 και 45% των αλληλουχιών στα 5, 50, 75 και 1000 m, αντίστοιχα. Ένα βαθυμετρικό μοτίβο παρατηρήθηκε στην οικογένεια *Bacillaceae* που συνέβαλε μεταξύ 2 και 3% σε όλους τους σταθμούς εκτός από τα 1000 m όπου αυτό το εύρος ήταν 4 έως 6% (LV10 και LV18, αντίστοιχα). Η συνεισφορά της οικογένειας *Pseudomonadaceae* αυξήθηκε επίσης με το βάθος (1±0,1% στα 5 m, 2±0,2% στα 50, 2±0,1% στα 75 m, 3±0,4% στα 1000 m). Αντίθετα, η συμβολή της *Rhodothermaceae* μειώθηκε με το βάθος (3±1 στα 5 m, 2±0,1 στα 50, 2±0,4 στα 75 m, 1±0,2 στα 1000 m), παρόμοια με τα *Prochloraceae* (1±0,2% σε όλους τους σταθμούς, εκτός

από τα 1000 m όπου απουσίαζε). Επιπλέον, οι οικογένειες *Mycobacteriaceae* ($1 \pm 0,1\%$), *Rhizobiaceae* ($1 \pm 0,3\%$), *Burkholderiaceae* ($2 \pm 0,2\%$) και *Haloarculaceae* ($0,4-1\%$) ήταν παρούσες σε όλους τους σταθμούς.



Εικόνα 4.6. a: Ποσοτική συνεισφορά των κυριότερων βακτηριακών οικογενειών που βρέθηκαν πιθανοί ξενιστές στους σταθμούς δειγματοληψίας. Η κατηγορία με την ονομασία “Other” περιλαμβάνει οικογένειες που συνεισφέρουν <0.1% επί του συνόλου των αλληλουχιών. Μέσες τιμές προέκυψαν από τέσσερις σταθμούς (LV3, LV10, LV13 and LV18). **b:** Οι πιο άφθονες οικογένειες εντός της κατηγορίας “Other” (μέσος όρος όλων των σταθμών, ανεξαρτήτου βάθους).

4.4 Βιβλιογραφία

- Amaral-Zettler, L.A., McCliment, E.A., Ducklow, H.W., Huse, S.M., 2009. A method for studying protistan diversity using massively parallel sequencing of V9 hypervariable regions of small-subunit ribosomal RNA Genes. *PLoS One* 4, e6372. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006372>
- Bolduc, B., Youens-Clark, K., Roux, S., Hurwitz, B.L., Sullivan, M.B., 2017. iVirus: Facilitating new insights in viral ecology with software and community data sets imbedded in a cyberinfrastructure. *ISME J.* 11, 7–14. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.89>
- Boyer, F., Mercier, C., Bonin, A., Le Bras, Y., Taberlet, P., Coissac, E., 2016. obitools: A unix-inspired software package for DNA metabarcoding. *Mol. Ecol. Resour.* 16, 176–182. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12428>
- Brussaard, C. P. (2004). Optimization of procedures for counting viruses by flow cytometry. *Appl. Environ. Microbiol.* 70,1506–1513. doi:10.1128/AEM.70.3.1506-1513.2004
- Goff, S.A., Vaughn, M., McKay, S., Lyons, E., Stapleton, A.E., Gessler, D., Matasci, N., Wang, L., Hanlon, M., Lenards, A., Muir, A., Merchant, N., Lowry, S., Mock, S., Helmke, M., Kubach, A., Narro, M., Hopkins, N., Micklos, D., Hilgert, U., Gonzales, M., Jordan, C., Skidmore, E., Dooley, R., Cazes, J., McLay, R., Lu, Z., Pasternak, S., Koesterke, L., Piel, W.H., Grene, R., Noutsos, C., Gendler, K., Feng, X., Tang, C., Lent, M., Kim, S.-J., Kvilekval, K., Manjunath, B.S., Tannen, V., Stamatakis, A., Sanderson, M., Welch, S.M., Cranston, K.A., Soltis, P., Soltis, D., O’Meara, B., Ane, C., Brutnell, T., Kleibenstein, D.J., White, J.W., Leebens-Mack, J., Donoghue, M.J., Spalding, E.P., Vision, T.J., Myers, C.R., Lowenthal, D., Enquist, B.J., Boyle, B., Akoglu, A., Andrews, G., Ram, S., Ware, D., Stein, L., Stanzione, D., 2011. The iPlant Collaborative: Cyberinfrastructure for Plant Biology. *Front. Plant Sci.* 2, 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00034>
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., Glöckner, F.O., 2013. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res.* 41, 1–11. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
- Marie, D., Partensky, F., Jacquet, S., and Vaulot, D. (1997). Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid stain SYBR Green I. *Appl. Environ. Microbiol.* 63,186–193.

Winter, C., Herndl, G. J., and Weinbauer, M. G. (2004). Diel cycles in viral infection of bacterioplankton in the North Sea. *Aquat. Microb. Ecol.* 35, 207–216. doi:10.3354/ame035207

Θέμα 5:

ΔΙΑΣΠΟΡΑ ΤΩΝ ΕΠΙΠΛΕΟΝΤΩΝ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ (ΠΛΑΣΤΙΚΩΝ) ΘΑ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ.

5.1. Εισαγωγή

Σύμφωνα με το 'Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Pollution' (GESAMP, 1991), το μεγαλύτερο ποσοστό της παγκόσμιας θαλάσσιας ρύπανσης προέρχεται από τη στεριά, από όπου μεταφέρεται στη θάλασσα μέσω ποταμών, βιολογικών καθαρισμών και παραθαλάσσιων δραστηριοτήτων, ενώ το 60-80% των θαλάσσιων ρύπων αποτελείται από πλαστικά (Moore, 2008). Με βάση το μέγεθος τους, τα πλαστικά στο θαλάσσιο περιβάλλον χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες: τα μικροπλαστικά (< 5 mm) και τα μακροπλαστικά (> 5 mm), των οποίων η διασπορά τους καθορίζεται αποκλειστικά από τα από την κυκλοφορία των υδάτων και τον κυματισμό. Ειδικότερα για τα μακροπλαστικά, αναλόγως με την πλευστότητα τους, η διασπορά τους επηρεάζεται και από τον άνεμο. Τα μικροπλαστικά προέρχονται είτε από την αποσύνθεση μεγαλύτερων πλαστικών είτε από διάφορες άλλες πηγές, όπως προϊόντα περιποίησης κλπ. (Napper et al., 2015), και εισέρχονται στο θαλάσσιο περιβάλλον κυρίως μέσω των βιολογικών καθαρισμών (McCormick et al., 2014), αλλά και από τις απορροές των ποταμών. Τα μακροπλαστικά εισέρχονται στο θαλάσσιο περιβάλλον μέσω ποτάμιων απορροών..

Η ρύπανση στο Σαρωνικό Κόλπο αποτελεί ιδιαίτερο σημείο ενδιαφέροντος, καθώς σε αυτόν καταλήγουν, μεταξύ άλλων πόλεων, και τα λύματα της πολυπληθούς Αθήνας, παράλληλα με τις ανθρωπογενείς δραστηριότητες (υδατοκαλλιέργειες, τουριστικές επιχειρήσεις). Στόχος λοιπόν της παρούσας εργασίας είναι η περιγραφή της διασποράς των μικροπλαστικών και μακροπλαστικών στο Σαρωνικό Κόλπο μέσω της προσομοίωσης ενός μαθηματικού ομοιώματος.

5.2. Μεθοδολογία

5.2.1 Υδροδυναμικό μοντέλο

Το μαθηματικό ομοίωμα που εφαρμόστηκε για την προσομοίωση των υδροδυναμικών χαρακτηριστικών του Σαρωνικού Κόλπου (πχ. θερμοκρασία, αλατότητα, κατακόρυφη ανάμειξη υδάτων, θαλάσσια κυκλοφορία κλπ.) βασίζεται στο υδροδυναμικό μοντέλο POM – (Princeton Ocean Model, Blumberg & Mellor 1987). Είναι ένα τρισδιάστατο αριθμητικό μοντέλο ελεύθερης επιφάνειας βασισμένο στις πρωτογενείς (primitive) εξισώσεις Navier-Stokes ακολουθώντας τη μορφολογία του πυθμένα. Το εν λόγω μοντέλο είναι ικανό να προσομοιώνει τη βαροκλιτική και βαροτροπική κυκλοφορία παρέχοντας αποτελέσματα σχετικά με τις ταχύτητες και τις διευθύνσεις των θαλασσίων ρευμάτων, την ανύψωση θαλάσσιας στάθμης (Sea Surface Height - SSH) και τα θερμοαλατικά χαρακτηριστικά του θαλασσινού νερού. Αποτελεί ένα ευρέως διαδεδομένο μοντέλο με αρκετές εφαρμογές τόσο σε παράκτιες περιοχές και όσο και σε συστήματα ανοικτής θαλάσσης (Zavatarelli & Mellor, 1995; Horton et al., 1997; Lascaratos & Nittis 1998; Drakopoulos & Lascaratos, 1999; Zavatarelli & Pinardi, 2003; Korres & Lascaratos, 2003; Triantafyllou et al., 2003; Kourafalou & Tsiaras, 2007; Petihakis et al., 2009; Topper & Meijer, 2015). Τέλος, θα πρέπει να τονισθεί ότι το υδροδυναμικό μοντέλο του επιχειρησιακού προγνωστικού συστήματος «ΠΟΣΕΙΔΩΝ» (Korres et al., 2008), έχει βασιστεί στο μοντέλο POM, το οποίο μαζί με ένα σχήμα αφομοίωσης δεδομένων [δορυφορικά δεδομένα ανύψωσης της

θαλάσσιας στάθμης (Sea Surface Height - SSH) και επιφανειακής θερμοκρασίας (Sea Surface Temperature – SST), in-situ δεδομένα θερμοκρασίας και αλατότητας από το δίκτυο MEDARGO και από βαθυθερμογράφους (XBT)] και ωριαία ατμοσφαιρικά δεδομένα από το σύστημα πρόγνωσης καιρού του ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., παράγει καθημερινά πενήνήμερες προγνώσεις της υδροδυναμικής κατάστασης της Μεσογείου και του Αιγαίου Πελάγους.

Τα βασικά στοιχεία της δομής του POM είναι τα εξής:

- Οι προγνωστικές μεταβλητές του μοντέλου είναι οι τρεις οριζόντιες συνιστώσες της ταχύτητας [$U_i = (U, V, W)$], η θερμοκρασία, η αλατότητα, το ύψος της ελεύθερης ανύψωσης της θαλάσσιας στάθμης (sea surface elevation) και η τυρβώδης κινητική ενέργεια.
- Οι συντελεστές κατακόρυφης ανάμειξης υπολογίζονται σύμφωνα με το αριθμητικό σχήμα τύρβης (turbulence closure scheme) Mellor-Yamada 2.5 (Mellor & Yamada, 1982), το οποίο επιλύει τις εξισώσεις που αφορούν την τυρβώδη κινητική ενέργεια λαμβάνοντας υπόψη την ανάμειξη των υδάτων από τα ανεμογενή κύματα και την ευστάθεια λόγω της διαστρωμάτωσης της πυκνότητας.
- Το οριζόντιο πλέγμα αποτελείται από καμπυλόγραμμες (curvilinear) ορθογώνιες συντεταγμένες και ο τρόπος διάταξης των μεταβλητών στον χώρο είναι γνωστός ως πλέγμα τύπου 'Arakawa - C' (Arakawa 1972).
- Είναι ένα μοντέλο με σ -συντεταγμένες (sigma-coordinates, Παράρτημα Α) στο κατακόρυφο πλέγμα ώστε να περιγράφει τις απότομες μεταβολές της βαθυμετρίας.
- Το μοντέλο έχει ελεύθερη επιφάνεια εφόσον η ανύψωση της θαλάσσιας στάθμης είναι προγνωστική μεταβλητή.
- Το μοντέλο έχει μεταβλητό βήμα χρόνου για μείωση του υπολογιστικού κόστους.
- Η οριζόντια διάχυση υπολογίζεται κατά μήκος των σ -συντεταγμένων ακολουθώντας την παραμετροποίηση του Smagorinsky (Smagorinsky, 1963).

Το σύστημα των εξισώσεων επιλύεται με αριθμητικές μεθόδους πεπερασμένων διαφορών. Το σχήμα ολοκλήρωσης στον χώρο είναι κεντρικές πεπερασμένες διαφορές, ενώ στον χρόνο είναι τύπου leap-frog [$U_{n+1} - U_n / 2 \Delta t$], έχοντας ακρίβεια δεύτερης τάξης.

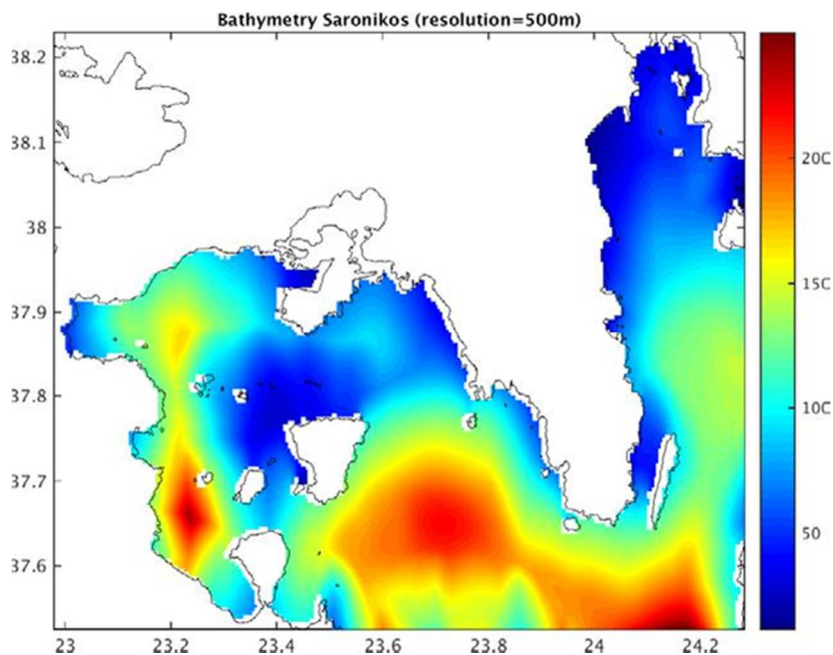
Πίνακας 1. Κατάλογος ατμοσφαιρικών μεταβλητών που χρησιμοποιούνται ως διέγερση για το μοντέλο του Σαρωνικού.

Μεταβλητή	Επίπεδο	Μονάδα	Χρονική Ανάλυση
Θερμοκρασία αέρα	2m	K	Κάθε 3 ώρες
Συνιστώσες διατμητικής τάσης ανέμου (Zonal & meridional wind)	10m	m/s	Κάθε 3 ώρες
Υγρασία αέρος (Relative humidity)	2m	%	Κάθε 3 ώρες
Κατακρημνίσεις (Total precipitation)	0m	mm/h	Κάθε 3 ώρες
Νεφοκάλυψη	0m	-	Κάθε 3 ώρες
Ηλιακή ακτινοβολία στην επιφάνεια θαλάσσης (Net short wave radiation at surface)	0m	W/m ²	Κάθε 3 ώρες
Εξατμιστικές ροές (Downw. / Upw. Long wave radiation at surface)	0m	W/m ²	Κάθε 3 ώρες

5.2.2 Εφαρμογή τρισδιάστατου υδροδυναμικού μοντέλου προσομοίωσης

Το τρισδιάστατο υδροδυναμικό μοντέλο POM εφαρμόστηκε με οριζόντιο πλέγμα χωρικής ανάλυσης 1/240 (500 m), η οποία εκτείνεται από 22.9792° E έως 24.3844° E και από 37.5250° N έως 38.2292° N, και με 24 κατακόρυφα επίπεδα σ-συντεταγμένων ως προς το θαλάσσιο βάθος. Η βαθυμετρία του μοντέλου προέρχεται από τη βάση δεδομένων General Bathymetric Chart of the Oceans (GEBCO; www.gebco.net), παρεμβάλλοντας δι-γραμμικά στο πλέγμα του μοντέλου (Εικόνα 1). Για την ατμοσφαιρική διέγερση του μοντέλου, χρησιμοποιήθηκαν τα αποτελέσματα της επιχειρησιακής ατμοσφαιρικής πρόγνωσης του συστήματος ΠΟΣΕΙΔΩΝ (Πίνακας 1, www.roseidon.hcmr.gr, Papadopoulos et al., 2002). Τα αρχικά πεδία θερμοκρασίας και αλατότητας προέρχονται από τα αποτελέσματα της επιχειρησιακής προσομοίωσης του υδροδυναμικού μοντέλου του ΠΟΣΕΙΔΩΝΑ για το Αιγαίο (Nittis et al., 2006; Korres et al., 2010). Τέλος, στο ανοικτό όριο με το Αιγαίο το μοντέλο είναι συζευγμένο με το υδροδυναμικό μοντέλο του Αιγαίου από το οποίο λαμβάνει οριακές συνθήκες για τα πεδία θερμοκρασίας, αλατότητας και ταχυτήτων για την ίδια χρονική περίοδο της προσομοίωσης.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε μια 3ετής προσομοίωση (model – spin up) ώστε το μοντέλο να αποκτήσει εν μέρει σταθερή κατάσταση (δηλ. οι προγνωστικές μεταβλητές που επιλύονται να ρυθμιστούν σε δυναμική ισορροπία μεταξύ τους). Εν συνεχεία, πραγματοποιήθηκε προσομοίωση της Μεσογείου για τη χρονική περίοδο 2011-2012.



Εικόνα 5.1. Βαθυμετρικός χάρτης του Σαρωνικού Κόλπου.

5.2.3 Υδροδυναμικά δεδομένα πεδίου

Για την αξιολόγηση των προσομοιώσεων του υδροδυναμικού μοντέλου ως προς την επιφανειακή θερμοκρασία και το δυναμικό ύψος της θαλάσσιας στάθμης χρησιμοποιήθηκαν δορυφορικές παρατηρήσεις. Τα δορυφορικά δεδομένα δυναμικού ύψους προέρχονται από παρατηρήσεις Μέσης Δυναμικής Τοπογραφίας – ΜΔΤ της θαλάσσιας επιφάνειας [Mean Dynamic Topography (MDT), χωρική ανάλυση 0.0625° X 0.0625°] για τα έτη 1993 – 2012 από την βάση δεδομένων αλτιμετρίας του ευρωπαϊκού προγράμματος AVISO+

(<http://www.aviso.altimetry.fr>; Rio et al., 2014), και ημερήσια δεδομένα ανωμαλιών θαλάσσιας στάθμης [Sea Level Anomalies (SLA), χωρική ανάλυση $0.125^\circ \times 0.125^\circ$] από τη βάση δεδομένων του Ευρωπαϊκού προγράμματος Copernicus (<http://marine.copernicus.eu/>). Τα δορυφορικά δεδομένα επιφανειακής θερμοκρασίας αφορούν ημερήσιες δορυφορικές μετρήσεις με χωρική ανάλυση $0.04^\circ \times 0.04^\circ$, οι οποίες προέρχονται επίσης από τη βάση δεδομένων του Copernicus (Buongiorno et al., 2013; Pisano et al., 2016). Τα δεδομένα προβλήθηκαν στο πλέγμα του μοντέλου ούτως ώστε να είναι συγκρίσιμα με τα προσομοιωμένα δεδομένα.

Λόγω της μη διαθεσιμότητας δεδομένων πεδίου θερμοκρασίας και κυκλοφορίας των υδάτων σε όλη την υδάτινη στήλη του Σαρωνικού Κόλπου για τα έτη της προσομοίωσης (2011 - 2012), τα προσομοιωμένα αποτελέσματα συγκρίθηκαν ποιοτικά με τα δεδομένα πεδίου (1998 - 1999) που αναφέρονται στην εργασία του Kontoyiannis, (2010).

5.2.4 Μοντέλο διασποράς πλαστικών

Το μοντέλο διασποράς μάκρο- και μικρο- πλαστικών βασίζεται στη Λαγκρανζιανή προσέγγιση της μοντελοποίησης βασισμένη στο άτομο (Individual-Based Models - IBM). Το IBM μοντέλο λειτουργεί συζευγμένο με το τρισδιάστατο υδροδυναμικό μοντέλο από το οποίο παρέχεται η κυκλοφορία των υδάτων μέσω της οποίας μεταφέρονται τα σωματίδια (Λαγκρανζιανή κίνηση), βάσει των μεθόδων που περιγράφονται από τους Pollani et al. (2001). Για να μειωθεί το υπολογιστικό κόστος, εφαρμόστηκε η θεωρία του Υπερατόμου (Super - Individual - SI), με κάθε SI να αντιπροσωπεύει μία ομάδα σωματιδίων με τα ίδια χαρακτηριστικά (θέση, βάρος, προέλευση, τύπο πλαστικού κτλ.).

Η μεταφορά των πλαστικών υπολογίζεται λαμβάνοντας υπ' όψιν τις παρακάτω βασικές διεργασίες:

- 1) Την οριζόντια μεταφορά μέσω της κυκλοφορίας των υδάτων, η οποία προσομοιώνεται από το συζευγμένο υδροδυναμικό μοντέλο.
- 2) Την μεταφορά λόγω φαινομένου Stokes drift από τον κυματισμό, η οποία δίνεται off-line από το κυματικό μοντέλο του συστήματος πρόγνωσης 'ΠΟΣΕΙΔΩΝΑΣ' (www.poseidon.hcmr.gr).
- 3) Την παράσυρση λόγω ανέμου (μέσω της ατμοσφαιρικής διέγερσης). Εφαρμόζεται μόνο στους τύπους μακροπλαστικών (μπουκάλια, φελιζόλ) και εξαρτάται από την επιφάνεια του σωματιδίου που βρίσκεται πάνω από το νερό ακολουθώντας τις μεθόδους των Yoon et al. (2010) και την πλευστότητα, η οποία εξαρτάται από το μέγεθος και την πυκνότητα του πλαστικού (Elliot, 1986).
- 4) Την τυχαία οριζόντια κίνηση, η οποία εξαρτάται από την οριζόντια διάχυση (προσομοιώνεται on-line από το υδροδυναμικό μοντέλο), και τα κύματα (προσομοιώνονται off-line από το κυματικό μοντέλο).

Η θέση του κάθε SI περιγράφεται με καρτεσιανές συντεταγμένες (x,y,z) , οι οποίες ενημερώνονται σε κάθε βήμα χρόνου χρησιμοποιώντας την τρισδιάστατη μετατόπιση που προκαλείται από τα ρεύματα, τα κύματα και τον άνεμο, εφαρμόζοντας δευτεροβάθμια γραμμική παρεμβολή στην θέση αυτή, σύμφωνα με τους παρακάτω τύπους :

$$x(t + dt) = x(t) + [u_c(x, y, z, t) + u_w(x, y, z, t) + u_a(x, y, z, t)] \cdot dt + R_x, \quad (1)$$

$$y(t + dt) = y(t) + [v_c(x, y, z, t) + v_w(x, y, z, t) + v_a(x, y, z, t)] \cdot dt + R_y, \quad (2)$$

$$z(t + dt) = z(t) + [w_c(x, y, z, t) + w_b] \cdot dt + R_z, \quad (3)$$

όπου u_c , v_c και w_c είναι η ταχύτητα των ρευμάτων. Οι όροι u_w και v_w συμβολίζουν την μεταφορά από τα κύματα λόγω φαινομένου Stokes η οποία θεωρείται ότι μειώνεται εκθετικά με το βάθος:

$$(u_w, v_w) = (u_{w0}, v_{w0}) \cdot \exp(-2 \cdot k \cdot Z), \quad (4)$$

όπου οι όροι u_{w0} και v_{w0} συμβολίζουν την μεταφορά λόγω φαινομένου Stokes στην επιφάνεια, k είναι ο κυματαριθμός και Z είναι το βάθος. Η αντίσταση του ανέμου (u_a , v_a) εξαρτάται από την επιφάνεια του σωματιδίου που βρίσκεται πάνω από το νερό:

$$u_a = k_w \cdot \sqrt{AirSurfRatio} \cdot U_{10}, \quad (5)$$

$$v_a = k_w \cdot \sqrt{AirSurfRatio} \cdot V_{10}, \quad (6)$$

όπου οι όροι U_{10} και V_{10} συμβολίζουν την ταχύτητα του ανέμου στα 10 m πάνω από την επιφάνεια της θάλασσας, ο όρος k_w αποτελεί μια ρυθμισμένη παράμετρο σύμφωνα με τους Yoon et al., 2010 ($k_w=0.015$), ενώ ο όρος $AirSurfRatio$ συμβολίζει το λόγο της επιφάνειας του σωματιδίου μέσα και έξω από το νερό. Η ταχύτητα καταβύθισης w_b εξαρτάται από την πυκνότητα και το μέγεθος του σωματιδίου, καθώς και από την πυκνότητα του νερού:

$$w_b = \frac{g \cdot D_p^2 \cdot \left(1 - \frac{R_p}{R_w}\right)}{18 \cdot \nu_k}, \quad D_p < D_c, \quad (7)$$

$$w_b = \frac{8}{3} \cdot g \cdot D_p \cdot \text{sign}\left(1 - \frac{R_p}{R_w}\right) \cdot \sqrt{\left|1 - \frac{R_p}{R_w}\right|}, \quad D_p > D_c, \quad (8)$$

όπου g είναι η επιτάχυνση της βαρύτητας, ν_k είναι το κινηματικό ιξώδες, D_p συμβολίζει την διάμετρο του σωματιδίου, R_p και R_w είναι η πυκνότητα του σωματιδίου και του νερού αντίστοιχα, και D_c είναι η «κρίσιμη» διάμετρος του σωματιδίου:

$$D_c = \frac{9.52 \cdot \nu_k^{\frac{2}{3}}}{g^{\frac{1}{3}} \cdot \left(1 - \frac{R_p}{R_w}\right)^{\frac{1}{3}}}. \quad (9)$$

Οι όροι R_x και R_y συμβολίζουν την στοχαστική οριζόντια μετατόπιση του σωματιδίου η οποία εξαρτάται από την οριζόντια διάχυση:

$$R_x = \sqrt{\left(\frac{k_h \cdot 3}{dt_1}\right)} \cdot (2 \cdot r_x - 1) \cdot dt \quad (10)$$

$$R_y = \sqrt{\left(\frac{k_h \cdot 3}{dt_1}\right)} \cdot (2 \cdot r_y - 1) \cdot dt \quad (11)$$

όπου K_h είναι η οριζόντια διάχυση όπως προσομοιώνεται από το υδροδυναμικό μοντέλο, οι όροι r_x και r_y αφορούν σε τυχαίους αριθμούς μεταξύ [0, 1], ενώ το K_w είναι η κάθετη μετατόπιση λόγω κύματος που μειώνεται εκθετικά με το βάθος και δίνεται από τη σχέση:

$$K_w = \frac{0.028 \cdot W_h^2}{W_t \cdot \exp(-k \cdot Z)} \quad (12)$$

όπου W_h είναι το σημαντικό ύψος κύματος, W_t είναι η περίοδος κύματος και k είναι ο κυματαριθμός.

5.2.5. Εφαρμογή μοντέλου πλαστικών

5.2.5.1. Πηγές πλαστικών

Για την προσομοίωση της διασποράς των πλαστικών στον Σαρωνικό, ως πηγές πλαστικών θεωρήθηκαν τα ποτάμια και τα λύματα παράκτιων πόλεων του Σαρωνικού. Η εισροή πλαστικών από τα ποτάμια λήφθηκε από τη παγκόσμια συλλογή δεδομένων των Lebreton et al., (2017), η οποία δημιουργήθηκε με τη χρήση ενός παγκόσμιου μοντέλου εισροής πλαστικών στον ωκεανό μέσω ποτάμιων απορροών, λαμβάνοντας υπ'όψιν την πυκνότητα του πληθυσμού, την παροχή των ποταμών και την διαχείριση αποβλήτων στη λεκάνη απορροής των ποταμών. Σύμφωνα με τους Lebreton et al., (2017) ο ρυθμός με τον οποίο ένα ποτάμι μεταφέρει πλαστικά (M_{out}) στη θάλασσα (σε kg/d) δίνεται από την παρακάτω σχέση:

$$M_{out} = (k \cdot M_{mpw} \cdot R)^a \quad (13)$$

όπου M_{mpw} είναι η συσσωρευμένη ποσότητα πλαστικών που έχει καταλήξει στο ποτάμι και R η μέση μηνιαία ποτάμια απορροή (Lehner et al., 2008). Οι τιμές των παραμέτρων k και a βασίζονται σε διαθέσιμες μετρήσεις πεδίου συγκέντρωσης μικρο- και μακρο- πλαστικών στις εκροές ποταμών. Οι τιμές των M_{out} για κάθε ποτάμι μετατράπηκαν από kg/d σε particles/day θεωρώντας μία μέση τιμή βάρους μικροπλαστικών (0.003 gr) και μακροπλαστικών (0.185 gr), όπως προτείνεται από τους Lebreton et al. (2017). Επομένως, ο λόγος 'μακροπλαστικά:μικροπλαστικά' θεωρείται ίσος με 2.26 (~0.7/0.3), ενώ ο αριθμός σωματιδίων μακροπλαστικών και μικροπλαστικών που εισέρχεται στο θαλάσσιο περιβάλλον από τα ποτάμια δίνεται από τις παρακάτω σχέσεις:

$$\frac{Num_macroparticles}{day} = 0.7 \cdot \frac{1}{365days} \cdot 10^6 gr \cdot \frac{1}{0.185gr} \cdot load\left(\frac{tonnes}{year}\right) = 10^4 \cdot total_load\left(\frac{tonnes}{year}\right) \quad (14)$$

$$\frac{Num_microparticles}{day} = 0.3 \cdot \frac{1}{365days} \cdot 10^6 gr \cdot \frac{1}{0.003gr} \cdot load\left(\frac{tonnes}{year}\right) = 2.7 \cdot 10^5 \cdot total_load\left(\frac{tonnes}{year}\right) \quad (15)$$

Τέλος, προκειμένου να μελετηθεί η διασπορά των πλαστικών που επηρεάζονται από τον άνεμο και τον κυματισμό, ένα μικρό (αριθμητικά) ποσοστό της ποσότητας των μακροπλαστικών θεωρήθηκε πως περιέχει κομμάτια πλαστικών μεγαλύτερα των 2 cm και μικρότερα των 20 cm (1.7%), καθώς και μπουκάλια και φελιζόλ (> 20 cm, 0.3%).

Η εισροή πλαστικών από τα αστικά λύματα εκτιμήθηκε βάσει της απορροής των βιολογικών καθαρισμών των παράκτιων πόλεων που έχουν πληθυσμό μεγαλύτερο από 2.000 άτομα. Οι πληροφορίες αυτές εξήχθησαν από την έκθεση UNEP/MEDPOL 2011, και η συγκέντρωση πλαστικών υπολογίστηκε βάσει του τύπου επεξεργασίας λυμάτων (πρωτογενή, δευτερογενή, τριτογενή) σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα. Ειδικότερα, η συγκέντρωση των μικροπλαστικών στα εισερχόμενα λύματα (πριν τον βιολογικό καθαρισμό) εκτιμήθηκε με βάση τη βιβλιογραφία περίπου ~560,000 σωματίδια/m³ (Talvitie et al., 2017). Η συγκέντρωση αυτή θεωρήθηκε ότι μειώνεται κατά 25%, 75% και 85% όταν τα λύματα υφίστανται πρωτογενή, δευτερογενή και τριτογενή καθαρισμό αντίστοιχα. Ελαφρώς μικρότερη μείωση (10%) θεωρήθηκε εκείνη που προκύπτει από την προ-επεξεργασία (pre-treatment) των λυμάτων (Kalcikova et al., 2017). Τα μεγαλύτερα μικροπλαστικά (> 300 μm) θεωρήθηκε ότι αφαιρούνται εξ' ολοκλήρου όταν τα λύματα υφίστανται οποιαδήποτε τύπου καθαρισμό. Επομένως, αυτά καταλήγουν στην θάλασσα από τις απορροές λυμάτων που δεν έχουν υποστεί κάποιου είδους καθαρισμό.

5.2.5.2. Προσομοίωση της διασποράς των πλαστικών στον Σαρωνικό Κόλπο

Το τρισδιάστατο μοντέλο πλαστικών, συζευγμένο on-line με το υδροδυναμικό μοντέλο πραγματοποίησε μια διετή προσομοίωση της διασποράς των πλαστικών στον Σαρωνικό Κόλπο χρησιμοποιώντας ως αρχική συνθήκη την ομοιογενή επιφανειακή κατανομή πλαστικών (Πίνακας 2).

Πίνακας 2: Αρχικές συνθήκες ανά τύπο πλαστικού που χρησιμοποιήθηκαν για την εφαρμογή του μοντέλου.

Τύπος πλαστικού	Αρχική συνθήκη
Μικροπλαστικά (< 5 mm)	$0.5 * 10^6$ particles / km ²
Μακροπλαστικά (5 mm -2 cm)	5000 particles / km ² , Eriksen, 2014
Μακροπλαστικά (2 cm – 20 cm)	25 particles / km ² , Suaria et al., 2015
Μακροπλαστικά (> 20 cm)	4 particles / km ² , DeFishGear

5.3. Αποτελεσματα

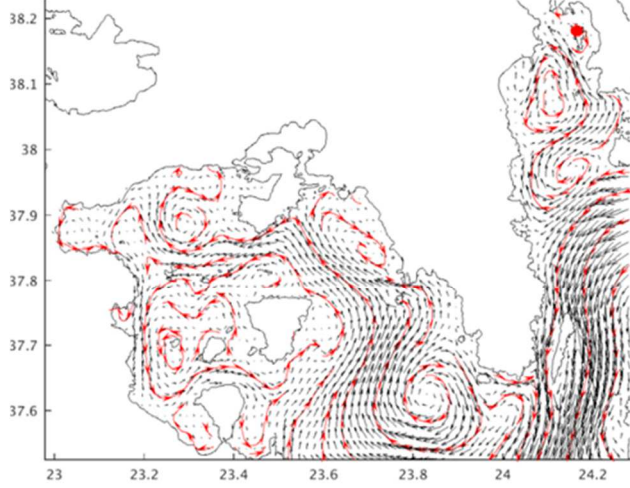
5.3.1. Επαλήθευση υδροδυναμικού μοντέλου

5.3.1.1. Κυκλοφορία υδάτων

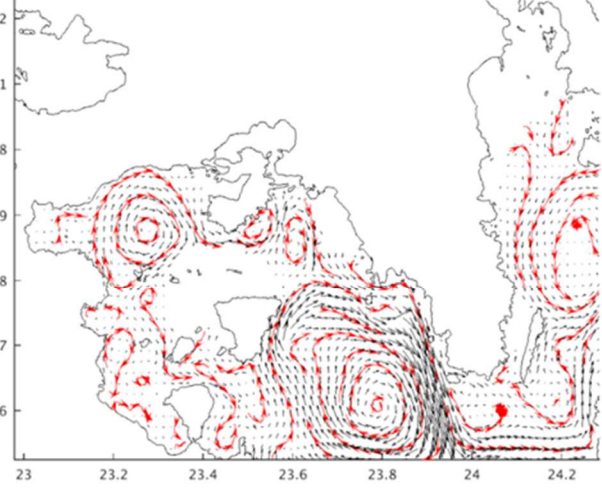
Στην Εικόνα 5 παρουσιάζεται η προσομοιωμένη μέση μηνιαία κυκλοφορία των υδάτων του Σαρωνικού Κόλπου, στα 20m και 60m βάθος, για τους μήνες Φεβρουάριο, Μάιο, Αύγουστο και Δεκέμβριο του 2011, σε σύγκριση με την εκτιμώμενη μέση κυκλοφορία (Εικόνα 6) από δεδομένα πεδίου του Kontoyiannis, (2010). Το μοντέλο προσομοιώνει ικανοποιητικά τη μέση μηνιαία αντικυκλωνική κυκλοφορία των υδάτων από τα δυτικά προς τα ανατολικά σε όλη την υδάτινη στήλη κατά τη χειμερινή περίοδο (Δεκέμβριος, Φεβρουάριος). Στα δυτικά του Κόλπου παρατηρείται μια κλειστή αντικυκλωνική ροή των υδάτων, τα οποία, εισερχόμενα ανάμεσα από Σαλαμίνα και Αίγινα, δημιουργούν ένα κυκλωνικό ρεύμα στο εσωτερικό του Κόλπου, ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται η δημιουργία ενός αντικυκλώνα στα ανατολικά (Δεκέμβριος, Φεβρουάριος). Κατά το τέλος της εαρινής με αρχές της θερινής περιόδου (Μάιος), στο ανώτερο υδάτινο στρώμα η ροή των υδάτων κατευθύνεται από τα ανατολικά προς τα δυτικά (20m), όπου παρατηρείται ένα κυκλωνικό ρεύμα στο εσωτερικό του Κόλπου. Αντιθέτως, στα βαθύτερα στρώματα (60m) τα ύδατα κατευθύνονται προς αντίθετη κατεύθυνση δηλ. προς τα ανατολικά.

Κατά την διάρκεια της θερινής περιόδου (Αύγουστος), το μοντέλο δεν συμφωνεί απόλυτα με τα δεδομένα πεδίου, καθώς προσομοιώνει αντίθετα την κατεύθυνση της ροής των υδάτων σε σχέση με την παρατηρούμενη δυτικο-ανατολική κυκλοφορία στο ανώτερο υδάτινο στρώμα (20m). Σύμφωνα με τα δεδομένα πεδίου η ροή των υδάτων αντιστρέφεται στα βαθύτερα στρώματα (60m). Εδώ θα πρέπει να τονισθεί ότι η κυκλοφορία των υδάτων στο εσωτερικό του Κόλπου επηρεάζεται από τους ανέμους της εκάστοτε εποχής (Kontoyiannis, 2010). Επομένως, η προαναφερθείσα απόκλιση του μοντέλου από τα δεδομένα πεδίου που αφορούν σε διαφορετική χρονική περίοδο είναι πιθανό να οφείλεται στην διαφορετική ατμοσφαιρική διέγερση του μοντέλου. Τέλος, στο νότιο τμήμα του Κόλπου, το μοντέλο προσομοιώνει μια μόνιμη αντικυκλωνική κλειστή ροή των υδάτων, η οποία φαίνεται να τροφοδοτείται από τα εισερχόμενα ύδατα του Αιγαίου στο ανοικτό νοτιο-ανατολικό όριο.

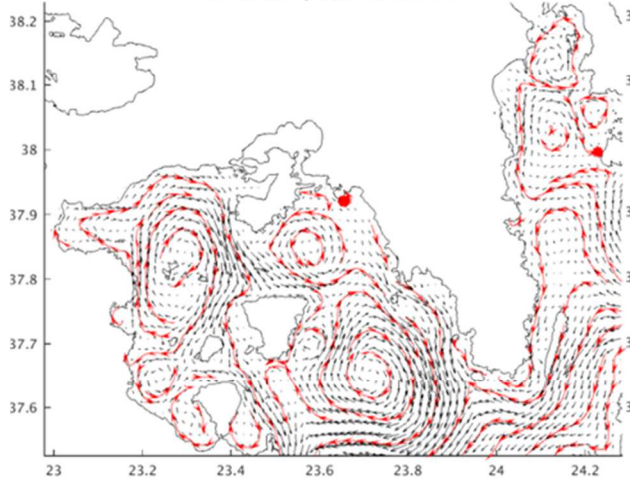
Current Velocity (m/s) - Aug 20m 2011



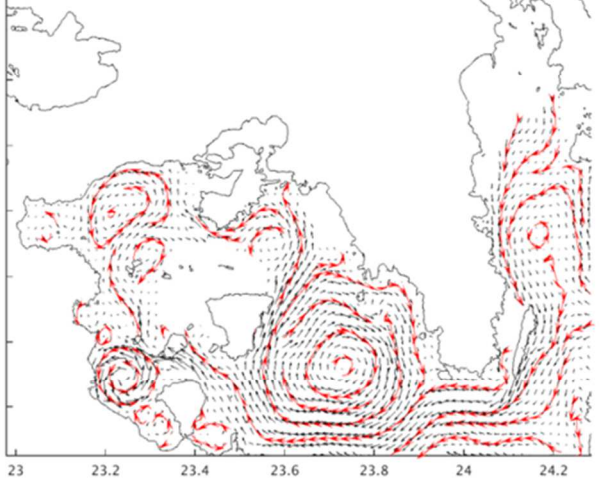
Current Velocity (m/s) - Aug 60m 2011



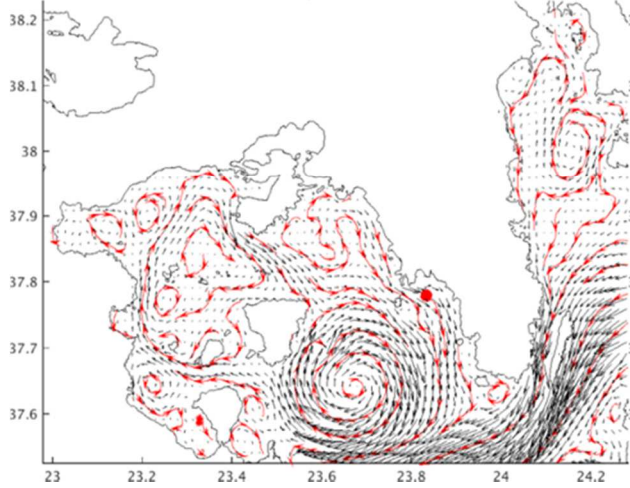
Current Velocity (m/s) - Dec 20m 2011



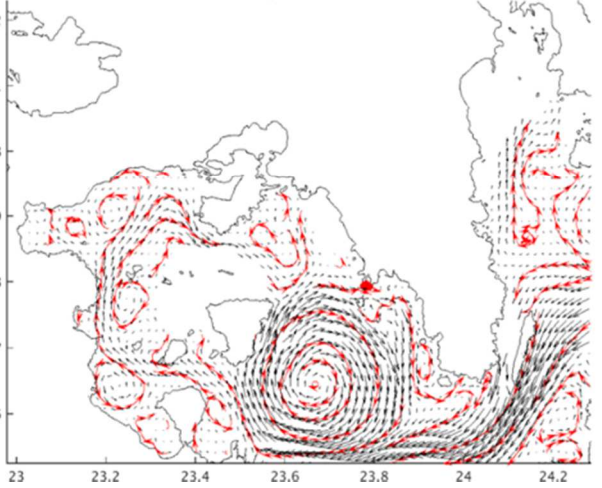
Current Velocity (m/s) - Dec 60m 2011

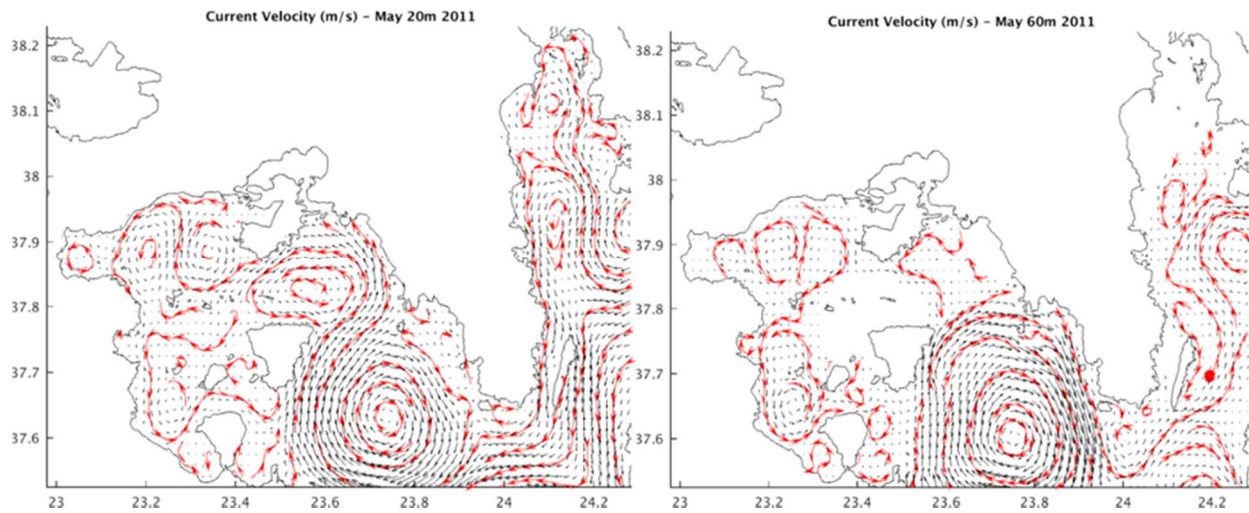


Current Velocity (m/s) - Feb 20m 2011

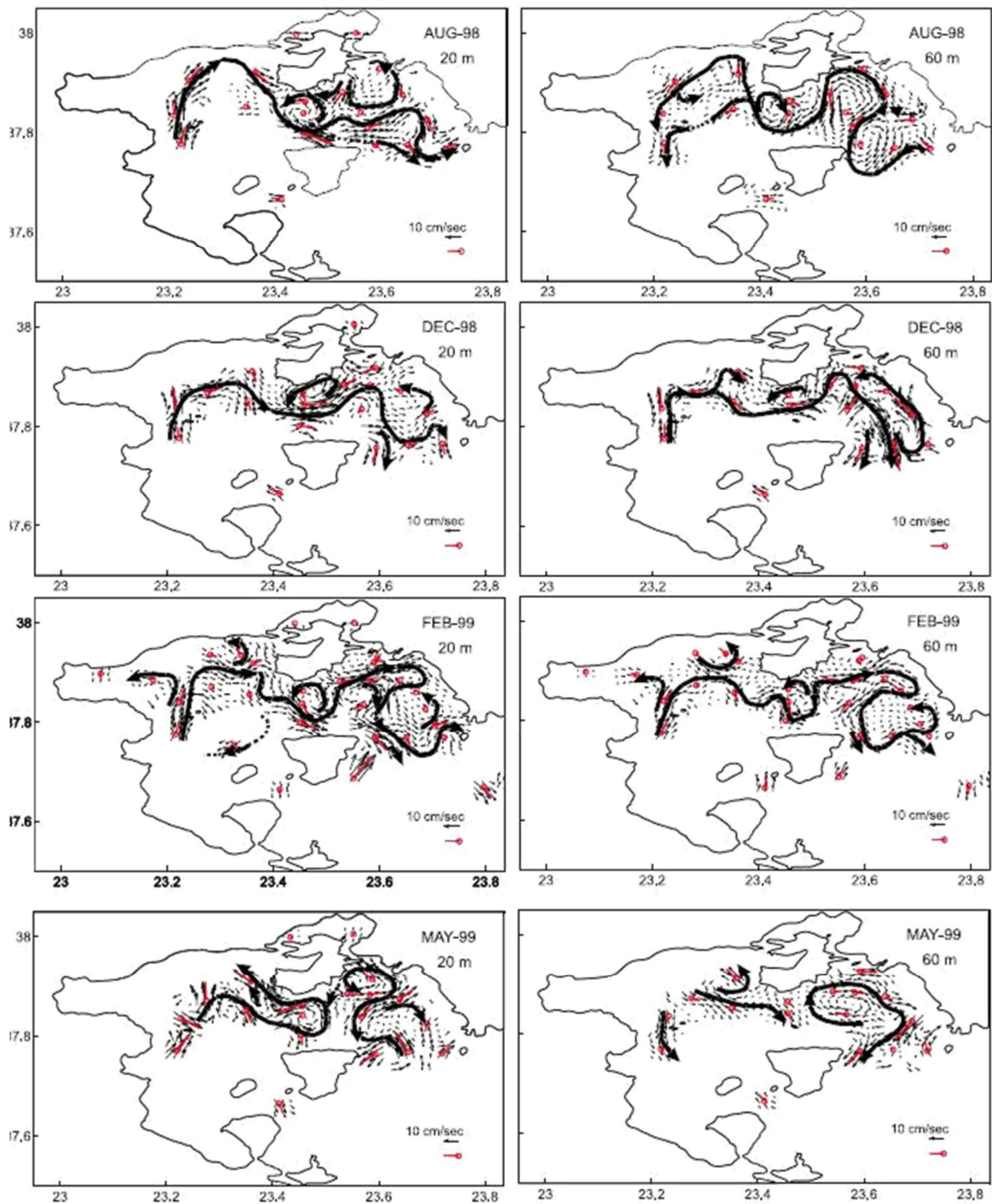


Current Velocity (m/s) - Feb 60m 2011





Εικόνα 5. Μηνιαία προσομοιωμένη θαλάσσια κυκλοφορία (μαύρα βέλη) στο βάθος των 20 m (αριστερά γραφήματα) και 60m (δεξιά γραφήματα) τον (από πάνω προς τα κάτω) Αύγουστο 2011, Δεκέμβριο 2011, Φεβρουάριο 2011 και Μάιο 2011. Οι έντονες ερυθρές γραμμές αφορούν στις ρευματογραμμές των υδάτων.



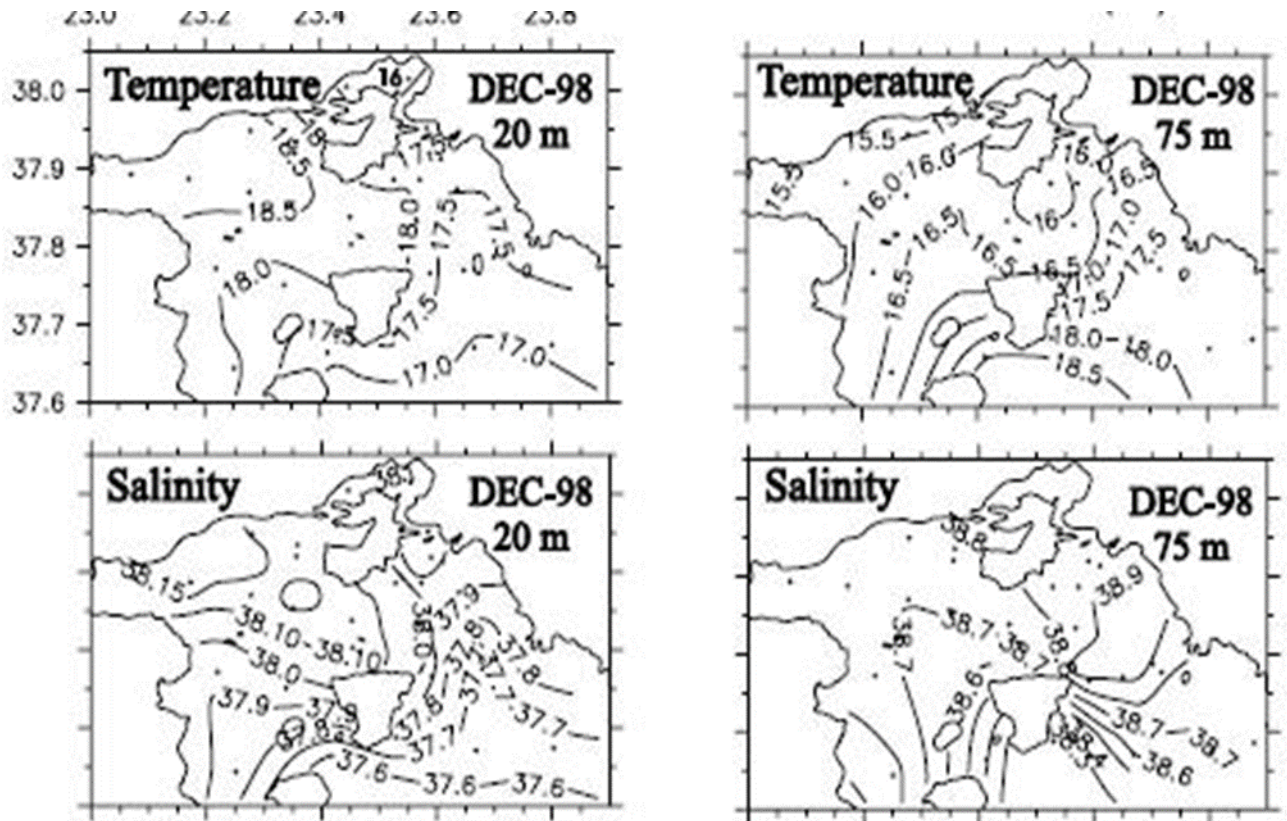
Εικόνα 6. Μηνιαία θαλάσσια κυκλοφορία (μαύρα βέλη) στο βάθος των 20 m (αριστερά γραφήματα) και 60m (δεξιά γραφήματα) τον (από πάνω προς τα κάτω) Αύγουστο 1998, Δεκέμβριο 1998, Φεβρουάριο 1999 και Μάιο 1999. Τα πεδία ταχυτήτων προέρχονται από ADCP (acoustic Doppler current profiler) μετρήσεις στα σημεία των κύκλων, εφαρμόζοντας γραμμική παρεμβολή. Οι έντονες μαύρες γραμμές αφορούν στις ρευματογραμμές των υδάτων (Πηγή: Kontoyiannis, 2010).

5.3.1.2. Θερμοκρασία – Αλατότητα

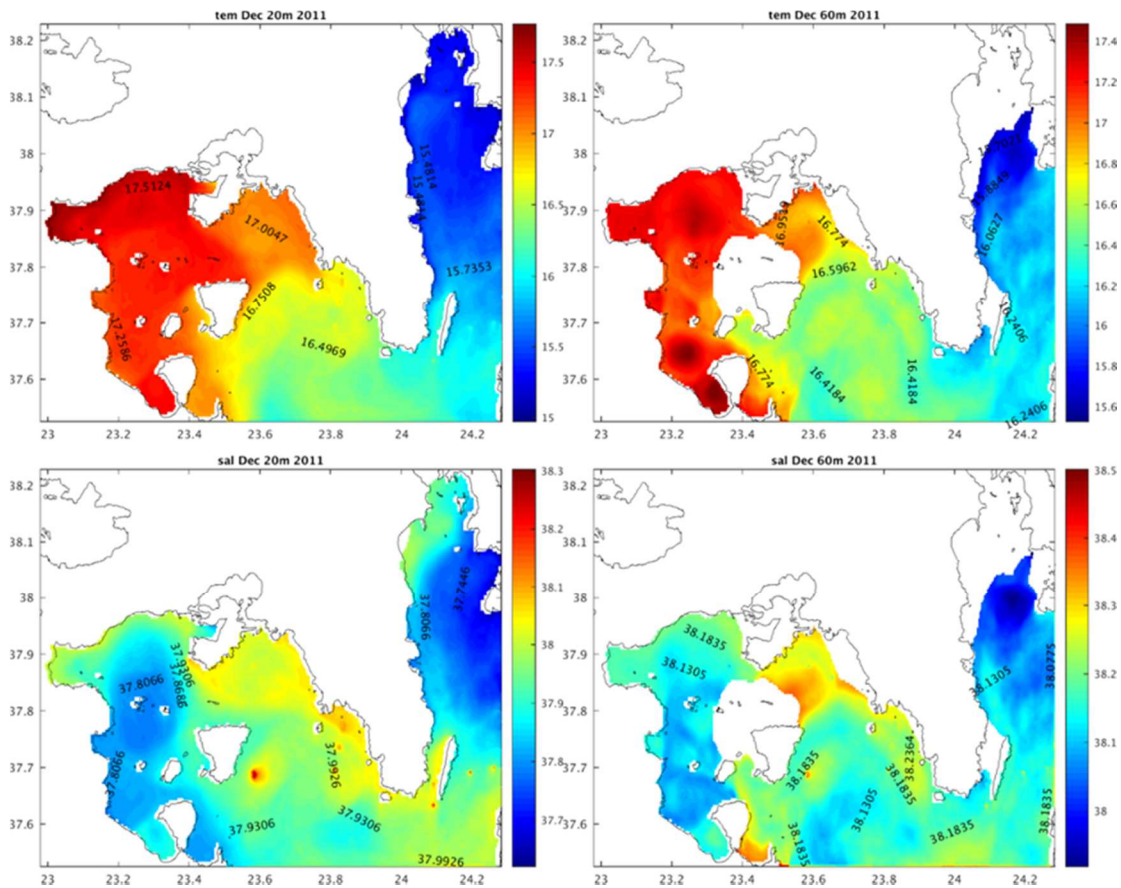
5.3.1.2.1. Σύγκριση με δεδομένα πεδίου

Σύμφωνα με τις Εικόνες 7 και 8, το μοντέλο αναπαράγει την θερμόαλη κατανομή κατά το τέλος της φθινοπωρινής περιόδου (Δεκέμβριος), προσομοιώνοντας τις εισερχόμενες από το νότιο ανοικτό όριο υδάτινες μάζες χαμηλότερης θερμοκρασίας και αλατότητας, επηρεάζοντας κυρίως το εσωτερικό του Κόλπου. Κατά την χειμερινή περίοδο (Φεβρουάριος, Εικόνες 9 & 10), το μοντέλο προσομοιώνει ορθώς την κατανομή ψυχρότερων υδάτινων μαζών στο εσωτερικό του Κόλπου, το οποίο λόγω μικρότερου βάθους σε σχέση με την ευρύτερη περιοχή του Σαρωνικού, ψύχεται πιο γρήγορα από την επίδραση της ατμόσφαιρας. Υψηλότερη αλατότητα παρατηρείται στο ανατολικό τμήμα του Κόλπου λόγω των εισερχόμενων υδάτινων μαζών από το ανοικτό νοτιο-ανατολικό όριο με το Αιγαίο. Ωστόσο, στα βαθύτερα στρώματα (60m) του δυτικού τμήματος του Κόλπου παρατηρούνται χαμηλότερες τιμές σε θερμοκρασία και αλατότητα. Σύμφωνα με τον Κοττογιάννης, (2010), τα τοπικά ελάχιστα αλατότητας των βαθύτερων στρωμάτων πιθανών να σχετίζονται με την καταβύθιση υδάτων κατά το τέλος της χειμερινής περιόδου, τα οποία χαρακτηρίζονται από χαμηλότερη σχετικά αλατότητα λόγω των χειμερινών κατακρημνίσεων.

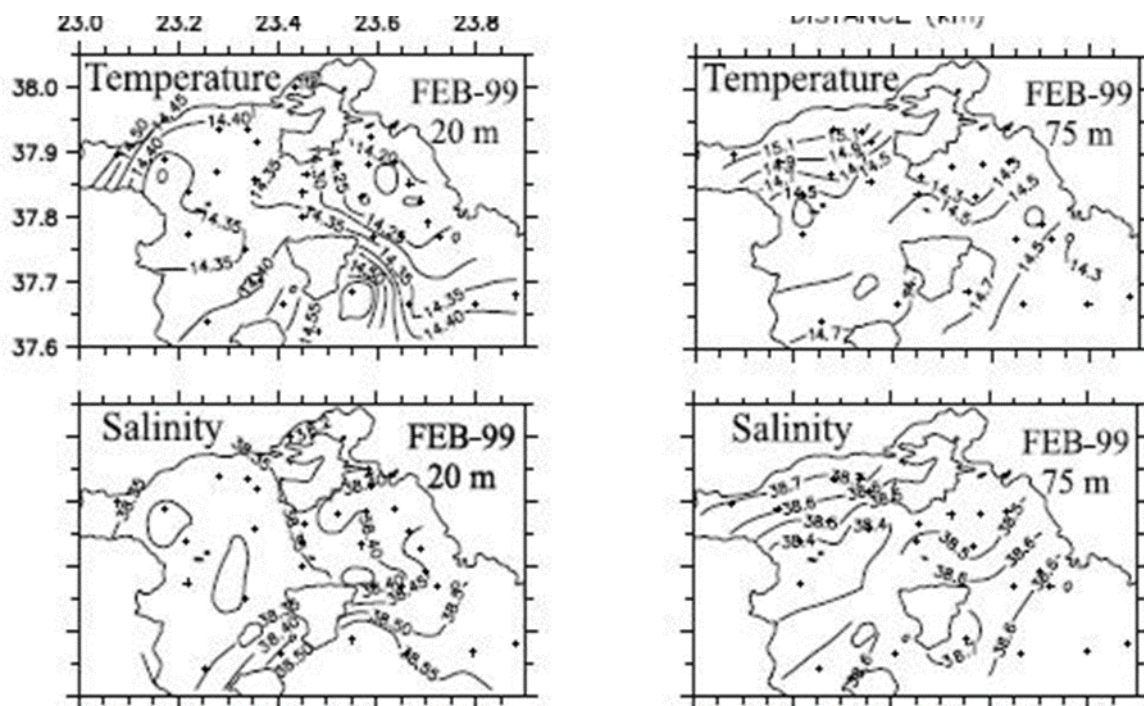
Κατά την εαρινή περίοδο (Μάιος, Εικόνες 11 & 12), όπου αρχίζει να δημιουργείται λόγω της εποχικής θέρμανσης των υδάτων, το μοντέλο προσομοιώνει ορθώς την διασπορά υδάτων υψηλότερης αλατότητας καθώς εισέρχονται από το νότιο ανοικτό όριο με κατεύθυνση προς τα βόρεια και βορειο-δυτικά των ακτών της Αττικής, αλλά και προς το εσωτερικό του Κόλπου έως και το πέρασμα ανάμεσα σε Σαλαμίνα - Αίγινα. Η θερμοκρασία του ανώτερου στρώματος (20m) προσομοιώθηκε σχεδόν ομοιόμορφη με ελαφρώς μικρότερες τιμές στο εσωτερικό του Κόλπου και στην περιοχή γύρω από την νοτιο-ανατολική κλειστή αντικυκλωνική ροή των υδάτων, λόγω των εισερχόμενων ψυχρότερων υδάτων από το ανοικτό όριο. Ωστόσο, στα βαθύτερα στρώματα (60m) παρατηρείται έντονη φθίνουσα ανατολικο-δυτική διαβάθμιση της θερμοκρασίας, το οποίο προσομοιώνεται ορθώς από το μοντέλο. Σύμφωνα με τον Κοττογιάννης, (2010), η έντονη αυτή διαβάθμιση στο βόρειο τμήμα του Κόλπου σχετίζεται με την ταχύτερη θέρμανση των αβαθών υδάτων στο εσωτερικό του Κόλπου, σε σχέση με το βαθύτερο δυτικό τμήμα του. Τέλος, κατά την περίοδο έντονης θερμικής διαστρωμάτωσης (Αύγουστος, Εικόνες 13 & 14) η κατανομή της προσομοιωμένης θερμοκρασίας και αλατότητας βρίσκεται αρκετά κοντά στην κατανομή που προκύπτει από τα δεδομένα πεδίου για το επιφανειακό υδάτινο στρώμα των 20m. Χαρακτηριστικό αποτελεί η διασπορά θερμότερων σχετικά υδάτων (~23.27 - 24.05 C°) προς τα νότια, από τις αβαθείς σχετικά περιοχές του εσωτερικού Κόλπου και κατά μήκος των ακτών της Αττικής, η οποία αποδίδεται επιτυχώς από το μοντέλο. Ωστόσο, το μοντέλο δεν προσομοιώνει τις σχετικά ψυχρές υδάτινες μάζες που παρατηρούνται στο βόρειο-δυτικό τμήμα του Σαρωνικού λόγω παράκτιας ανάβλυσης υδάτων (Κοττογιάννης, 2010). Όσον αφορά στην αλατότητα, τα προσομοιωμένα δεδομένα εμφανίζουν μεγαλύτερη διαβάθμιση των τιμών σε σχέση με τις παρατηρήσεις. Στο βαθύτερο στρώμα των 60m το μοντέλο συμφωνεί ως επί το πλείστον με την παρατηρούμενη θερμόαλη κατανομή. Παρά ταύτα, κάποιες αποκλίσεις παρατηρούνται κυρίως ως προς την προσομοίωση τοπικών ψυχρών και θερμών μαζών λόγω κυκλωνικών και αντικυκλωνικών ροών των υδάτων. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, η προσομοιωμένη κυκλοφορία των υδάτων κατά το μήνα Αύγουστο διαφέρει από την παρατηρούμενη.



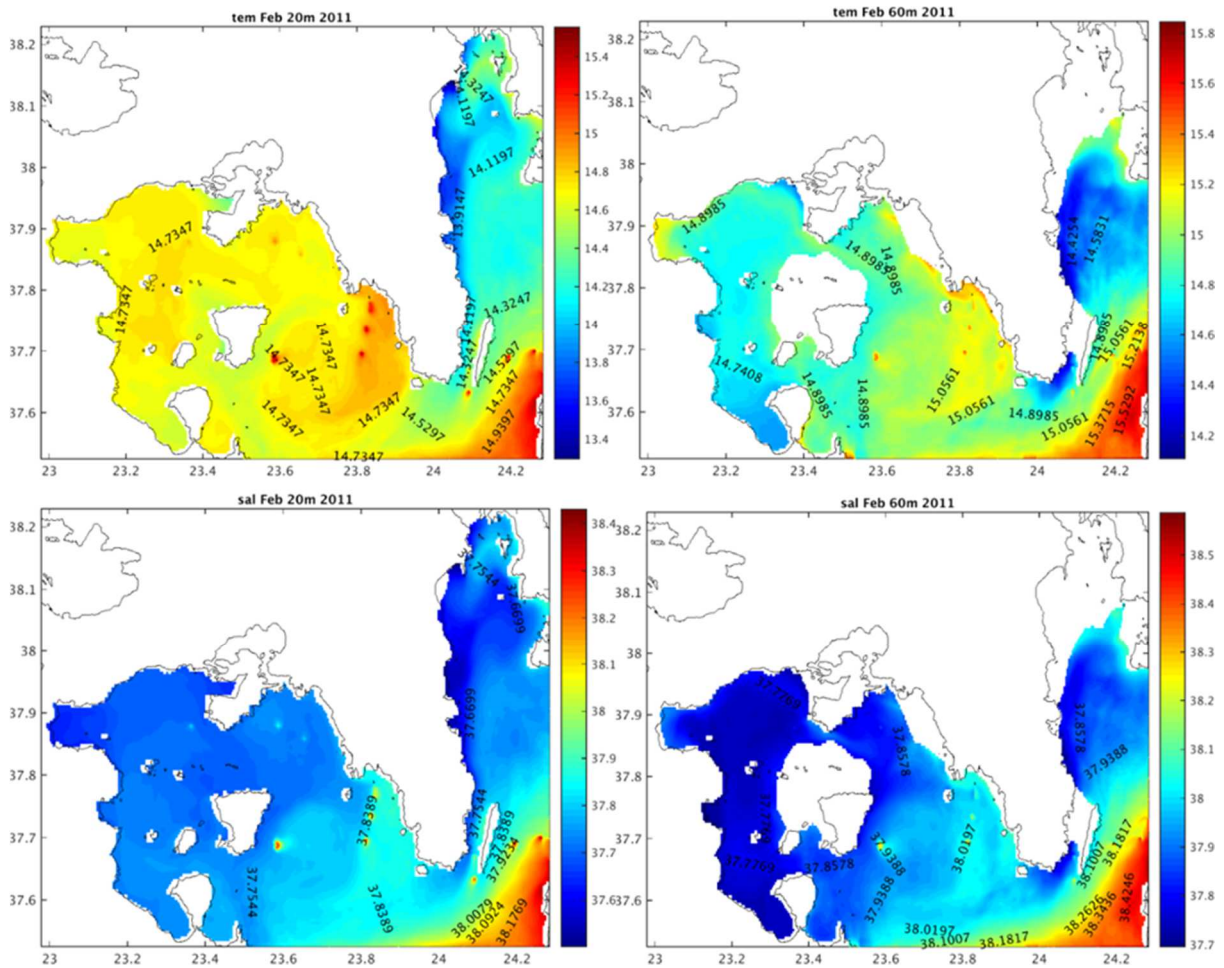
Εικόνα 7. Μηνιαία θερμοκρασία και αλατότητα στο βάθος των 20 m (αριστερά γραφήματα) και 60m (δεξιά γραφήματα) τον Δεκέμβριο 1998 (Πηγή: Kontogiannis, 2010).



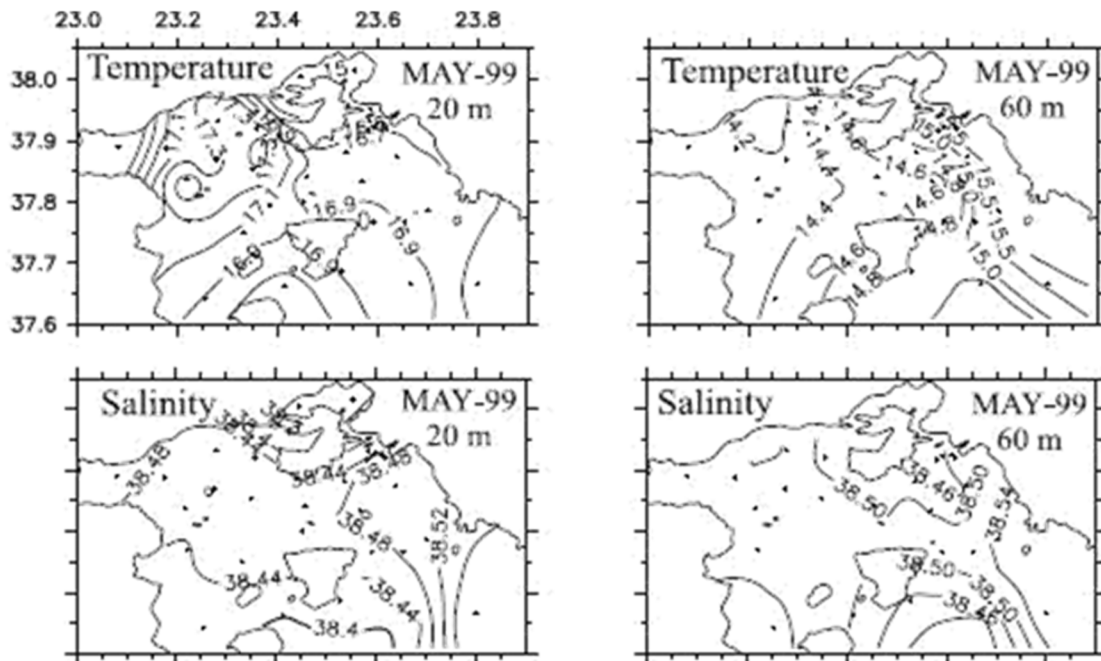
Εικόνα 8. Μηνιαία θερμοκρασία (άνω γραφήματα) και αλατότητα (κάτω γραφήματα) στο βάθος των 20 m (αριστερά γραφήματα) και 60m (δεξιά γραφήματα) τον Δεκέμβριο 2011



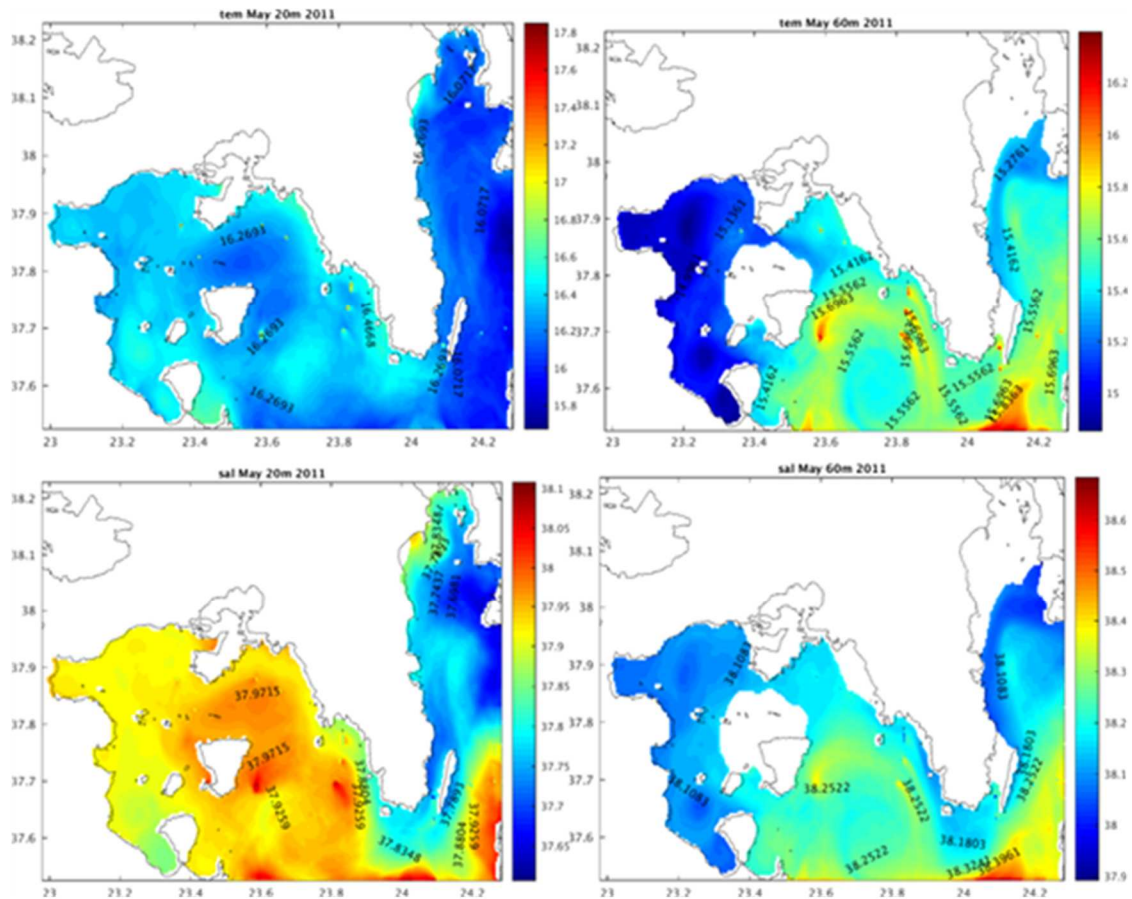
Εικόνα 9. Μηνιαία θερμοκρασία (άνω γραφήματα) και αλατότητα (κάτω γραφήματα) στο βάθος των 20 m (αριστερά γραφήματα) και 60m (δεξιά γραφήματα) τον Φεβρουάριο 1999 (Πηγή: Kontogiannis, 2010).



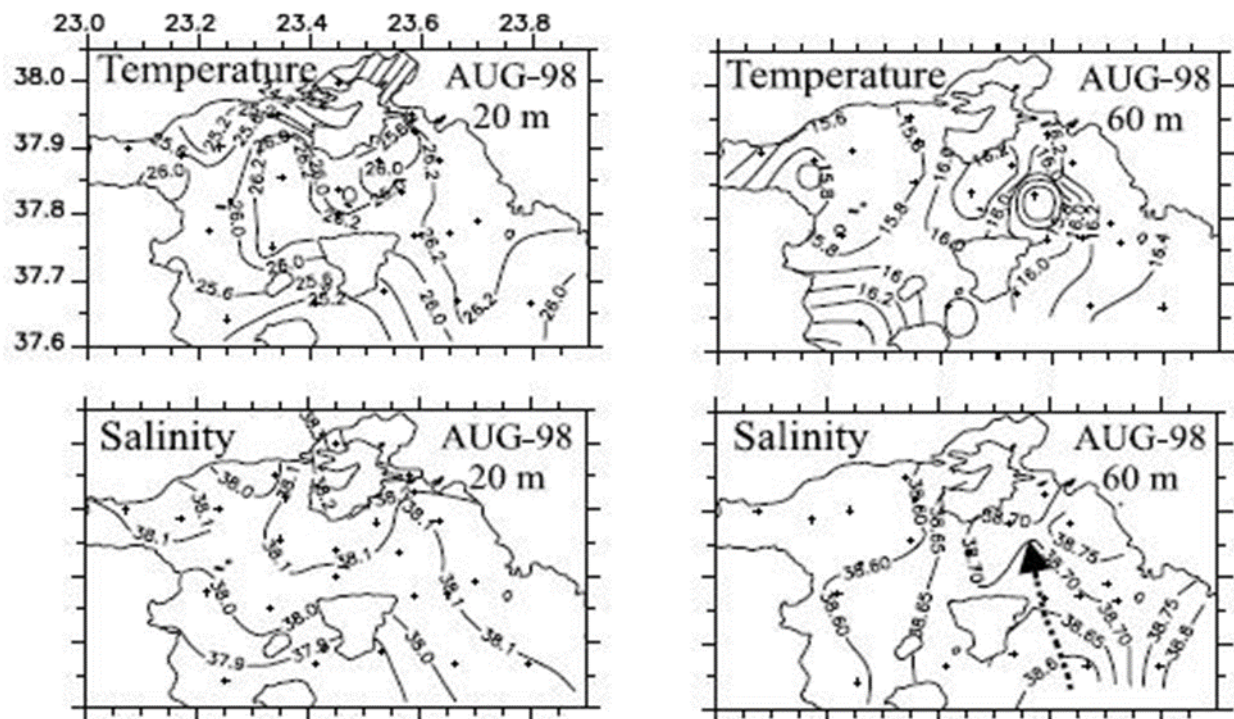
Εικόνα 10. Μηνιαία προσομοιωμένη θερμοκρασία (άνω γραφήματα) και αλατότητα (κάτω γραφήματα) στο βάθος των 20 m (αριστερά γραφήματα) και 60m (δεξιά γραφήματα) τον Φεβρουάριο 2011.



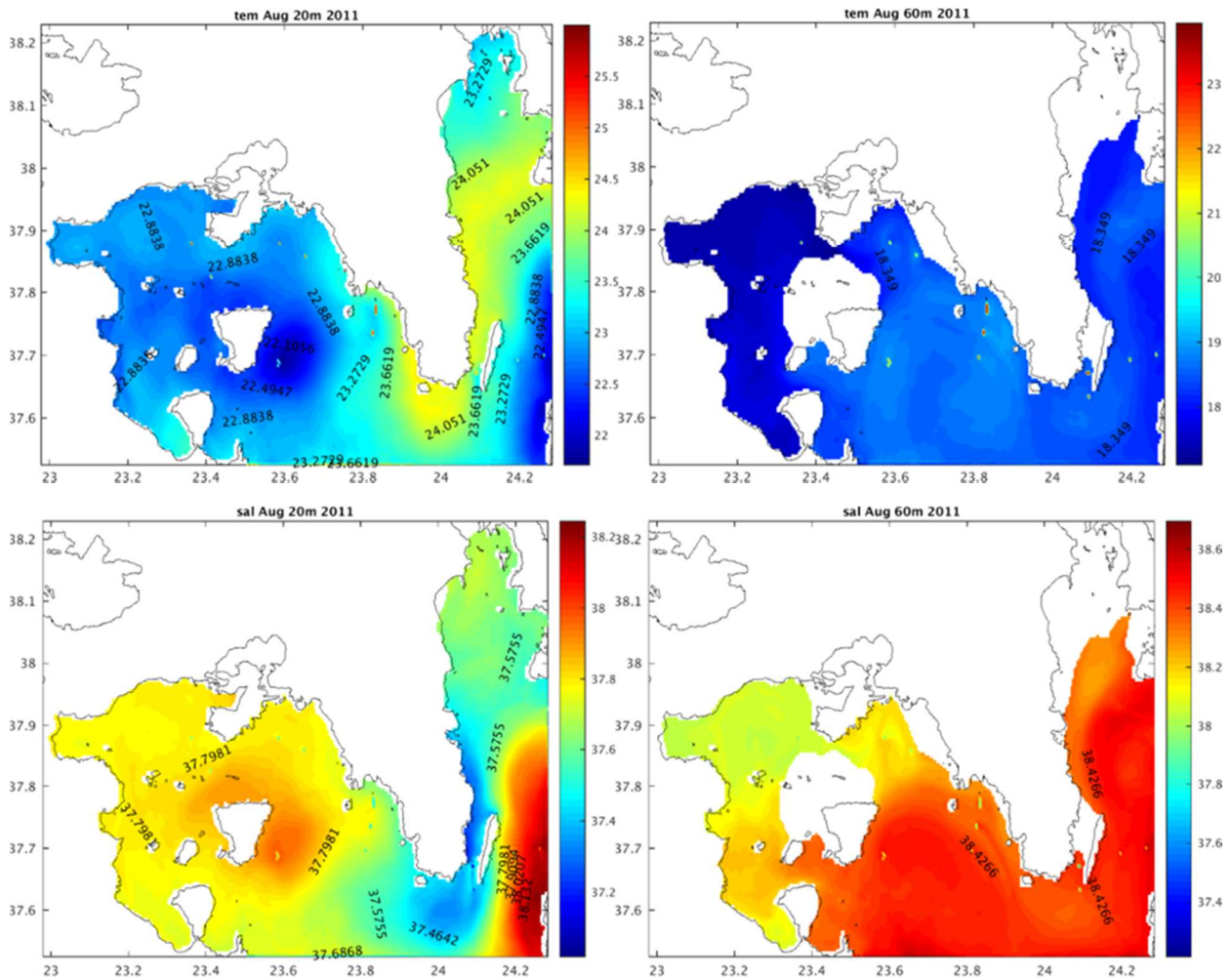
Εικόνα 11. Μηνιαία θερμοκρασία (άνω γραφήματα) και αλατότητα (κάτω γραφήματα) στο βάθος των 20 m (αριστερά γραφήματα) και 60m (δεξιά γραφήματα) τον Μάιο 1999 (Πηγή: Kontoyiannis, 2010).



Εικόνα 12. Μηνιαία προσομοιωμένη θερμοκρασία (άνω γραφήματα) και αλατότητα (κάτω γραφήματα) στο βάθος των 20 m (αριστερά γραφήματα) και 60m (δεξιά γραφήματα) τον Μάιο 2011.



Εικόνα 13. Μηνιαία θερμοκρασία (άνω γραφήματα) και αλατότητα (κάτω γραφήματα) στο βάθος των 20 m (αριστερά γραφήματα) και 60m (δεξιά γραφήματα) τον Αύγουστο 1998 (Πηγή: Kontoyiannis, 2010).



Εικόνα 14. Μηνιαία θερμοκρασία (άνω γραφήματα) και αλατότητα (κάτω γραφήματα) στο βάθος των 20 m (αριστερά γραφήματα) και 60m (δεξιά γραφήματα) τον Αύγουστο 2011.

5.3.1.2.2. Σύγκριση με δορυφορικά δεδομένα θερμοκρασίας

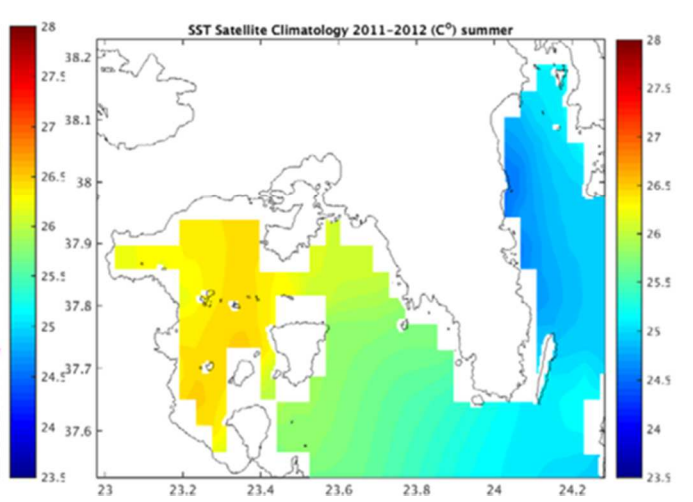
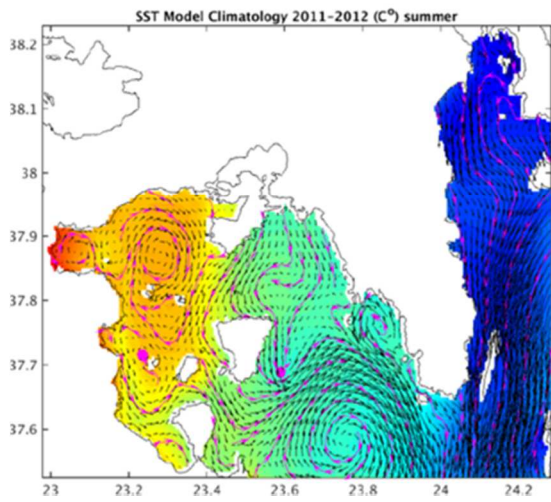
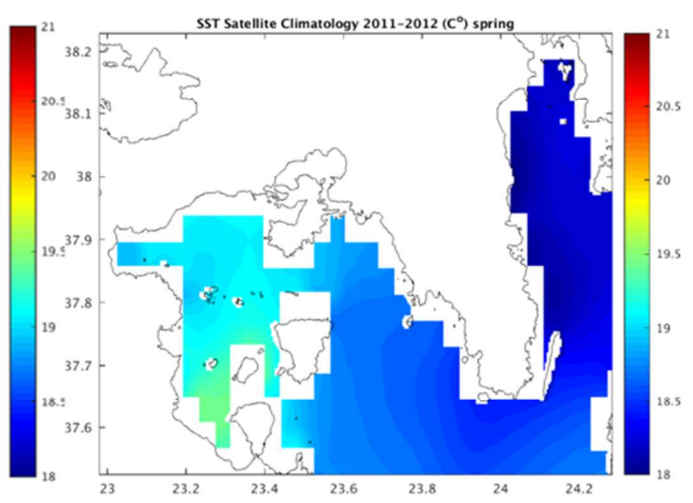
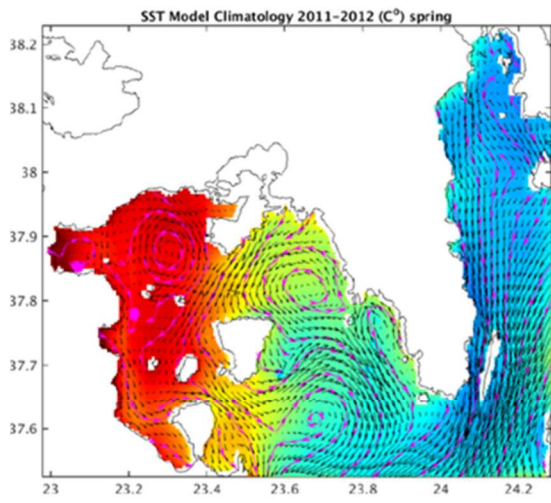
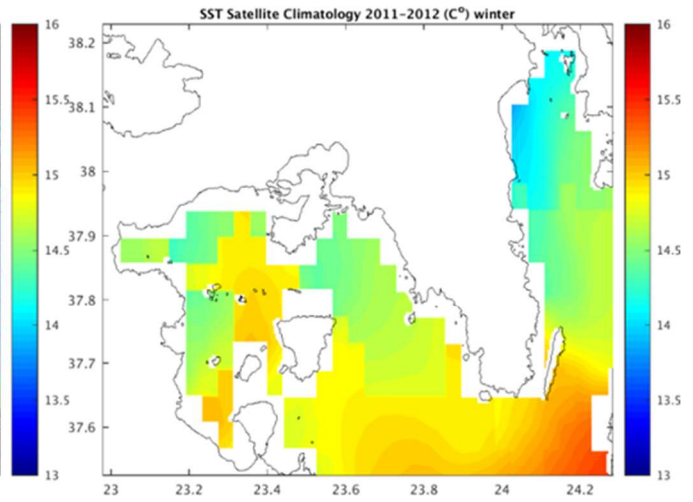
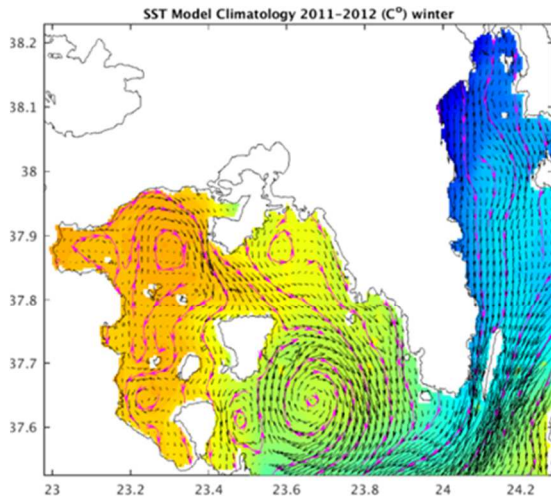
Στην Εικόνα 15 παρουσιάζεται η μέση εποχική προσομοιωμένη επιφανειακή θερμοκρασία σε σύγκριση με τις αντίστοιχες δορυφορικές παρατηρήσεις για τα έτη 2011-2012. Σε γενικές γραμμές, το μοντέλο προσομοιώνει με αρκετά ικανοποιητικό τρόπο την χωρική κατανομή της θερμοκρασίας στο επιφανειακό υδάτινο στρώμα, αποδίδοντας την φθίνουσα προς τα ανατολικά διαβάθμιση των τιμών. Στο δυτικό τμήμα του Σαρωνικού παρατηρείται υψηλότερη θερμοκρασία σε σχέση με το ανατολικό τμήμα, το οποίο φαίνεται να επηρεάζεται από τις εισερχόμενες υδάτινες μάζες διαμέσου του ανοικτού νοτίου ορίου με το Αιγαίο Πέλαγος. Σύμφωνα με τη μέση εποχική επιφανειακή κυκλοφορία υδάτων, το μοντέλο προσομοιώνει ορθώς τις θερμότερες υδάτινες μάζες στο εσωτερικό των αντικυκλωνικών ρευμάτων που παρατηρούνται στο βορειοδυτικό τμήμα του Κόλπου, αλλά και τις ψυχρότερες στο εσωτερικό του Κόλπου, όπου η ροή των υδάτων είναι κυκλωνική σε όλη τη διάρκεια του έτους. Ωστόσο, η θερμοκρασία στον μόνιμο αντικυκλώνα του νοτίου ανοικτού ορίου φαίνεται να επηρεάζεται κυρίως από τα ψυχρότερα εισερχόμενα ύδατα του Αιγαίου.

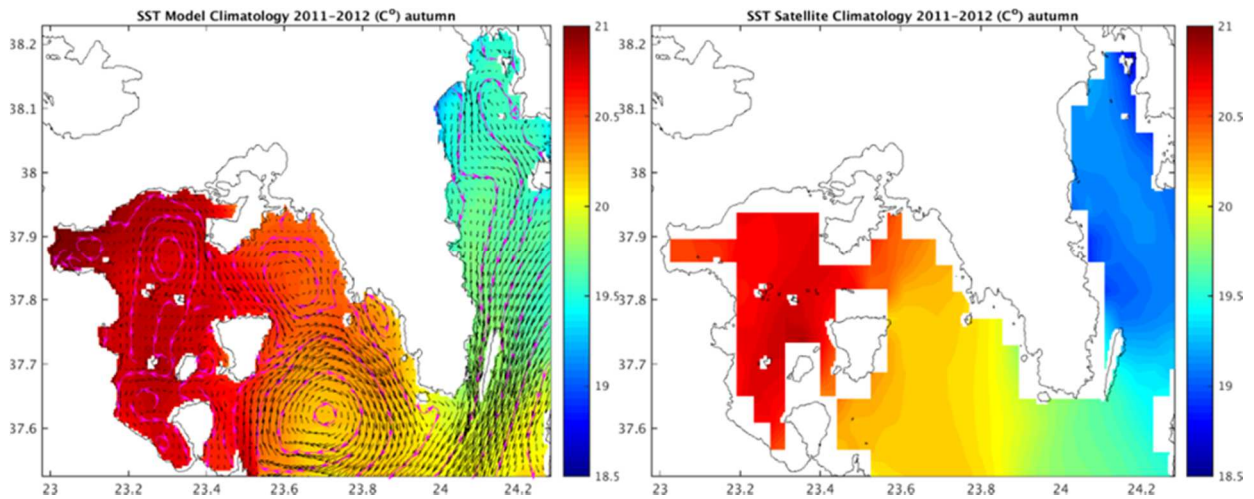
Η σύγκριση με τα δορυφορικά δεδομένα (Εικόνα 16) δείχνει ότι το σχετικό σφάλμα του μοντέλου (Εξ. 16) κυμαίνεται από -6% (δηλ. υποεκτίμηση τιμών) έως 10% (υπερεκτίμηση τιμών). Το μικρότερο σφάλμα παρατηρείται κατά τη φθινοπωρινή περίοδο με την προσομοιωμένη θερμοκρασία να πλησιάζει αρκετά τις δορυφορικές παρατηρήσεις (Σχετικό σφάλμα= [-0.5, 1.5]). Παρά ταύτα, το μοντέλο έχει την τάση να υπερεκτιμά την επιφανειακή

θερμοκρασία στο δυτικό τμήμα του Κόλπου το υπόλοιπο του έτους και κυρίως κατά την εαρινή περίοδο, όπου το σχετικό σφάλμα φτάνει έως και 10% .

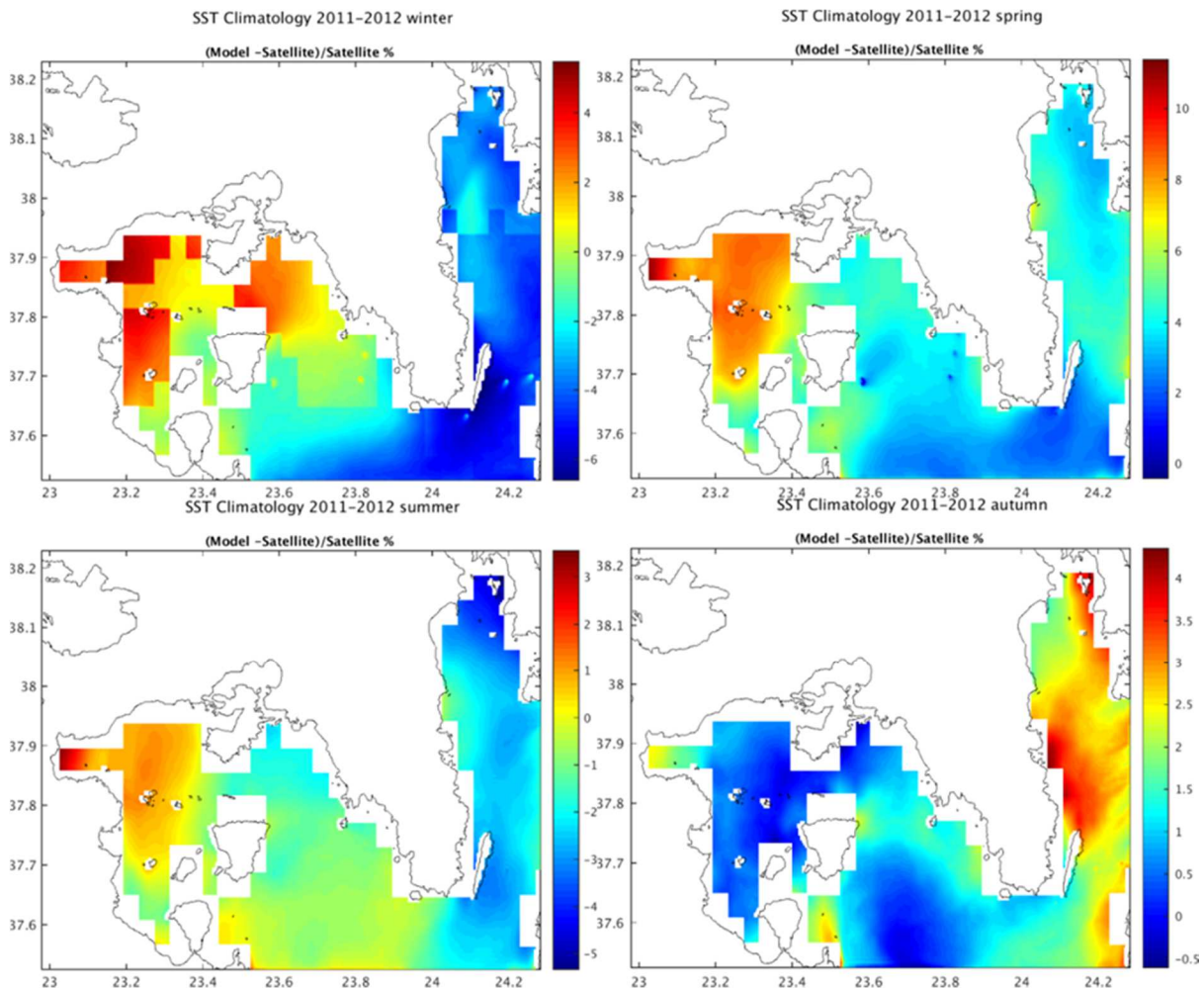
$$\text{Σχετικό Σφάλμα} = \frac{[\text{Μοντέλο-Δεδομένα}]}{\text{Δεδομένα}} * 100 \quad (16)$$

Στο νότιο τμήμα του Κόλπου, το μοντέλο προσομοιώνει με τον βέλτιστο τρόπο την επιφανειακή θερμοκρασία εντός του αντικυκλωνικού ρεύματος, με τιμές αρκετά κοντά στις δορυφορικές κυρίως κατά την περίοδο θερμικής διαστρωμάτωσης (άνοιξη - καλοκαίρι-φθινόπωρο). Αντιθέτως, κατά την χειμερινή ανάμιξη των υδάτων η προσομοιωμένη θερμοκρασία παρουσιάζεται έως και 6% υποεκτιμημένη από το μοντέλο λόγω επιρροής των εισερχόμενων υδάτων του Αιγαίου, τα οποία, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, προσομοιώθηκαν ψυχρότερα σε σχέση με τις δορυφορικές παρατηρήσεις.





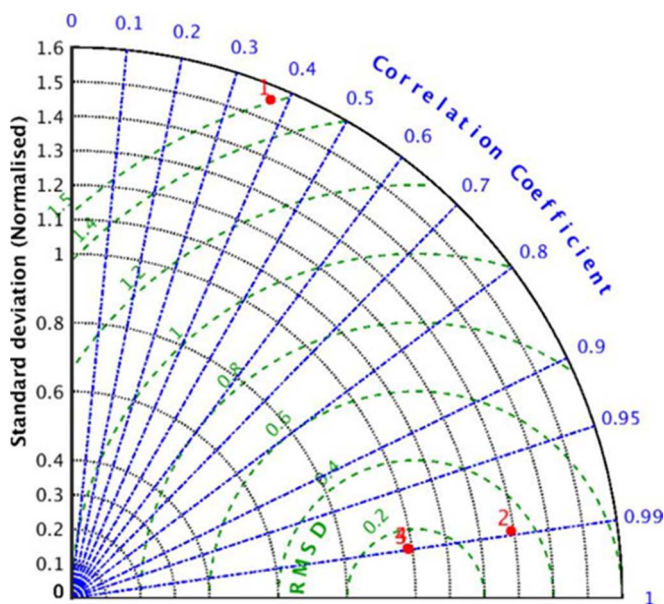
Εικόνα 15. Μέση προσομοιωμένη (δεξιά γραφήματα) και δορυφορική επιφανειακή θερμοκρασία (SST, αριστερά γραφήματα) για (από πάνω προς τα κάτω) τη χειμερινή, εαρινή, θερινή και φθινοπωρινή περίοδο. Οι έντονες πορφυρές γραμμές αφορούν στις ρευματογραμμές των υδάτων, ενώ οι μαύρες αφορούν στις ταχύτητες των ρευμάτων.



Εικόνα 16. Ποσοστό σχετικού σφάλματος του μοντέλου ως προς τις δορυφορικές παρατηρήσεις της επιφανειακής θερμοκρασία κατά την (α) χειμερινή, (β) εαρινή, (γ) θερινή και (δ) φθινοπωρινή περίοδο.

Η ικανότητα του μοντέλου ως προς την προσομοίωση της επιφανειακής θερμοκρασίας, εκτιμήθηκε μέσω μιας σειράς στατιστικών δεικτών [metric skills, Stow et al. (2009)] οι οποίοι συνοψίζονται στο διάγραμμα Taylor (Εικόνα 17). Το διάγραμμα αυτό αποτελεί ένα συνοπτικό

τρόπο αξιολόγησης των αποτελεσμάτων προσομοίωσης του συστήματος υπό μελέτη σε σύγκριση με παρατηρήσεις πεδίου. Η ομοιότητα ανάμεσα στα δύο πρότυπα (προσομοιωμένα δεδομένα και παρατηρήσεις) που συγκρίνονται στο εν λόγω διάγραμμα, εκφράζεται ποσοτικά μέσω τριών στατιστικών δεικτών: τη συσχέτιση μεταξύ τους (R =correlation), την τετραγωνική ρίζα του αθροίσματος του τετραγώνων των διαφορών τους ($RMSD$ = root-mean-square difference) και το εύρος της μεταβλητότητάς τους ως τυπικές αποκλίσεις (σ = standard deviation). Σύμφωνα λοιπόν με την Εικόνα 17, η προσομοιωμένη θερμοκρασία έχει αρκετά καλή συσχέτιση με τις δορυφορικές παρατηρήσεις κατά την περίοδο θερμικής διαστρωμάτωσης των υδάτων ($R \sim 0.99$) σε αντίθεση με την χειμερινή περίοδο ($R \sim 0.4$). Επιπλέον, η μεταβλητότητα των αποτελεσμάτων του μοντέλου κατά την θερινή και φθινοπωρινή περίοδο όπου το θερμοκλίμα είναι αρκετά ισχυρό, είναι σχεδόν ίδια με την παρατηρούμενη ($\sigma = 1$). Αντιθέτως, τα προσομοιωμένα αποτελέσματα έχουν μεγαλύτερη διακύμανση τιμών ως προς τις προσομοιωμένες τιμές θερμοκρασίας κατά την χειμερινή περίοδο και λιγότερο κατά την εαρινή (άνοιξη $\sigma=1.3$, χειμώνας $\sigma=1.55$). Τέλος, το μοντέλο έχει σχετικά μεγάλη $RMSD$ κατά την χειμερινή περίοδο ($RMSD \sim 1.5$) σε σχέση με τις υπόλοιπες εποχές (άνοιξη $RMSD < 0.34$, καλοκαίρι-φθινόπωρο $RMSD < 0.14$).



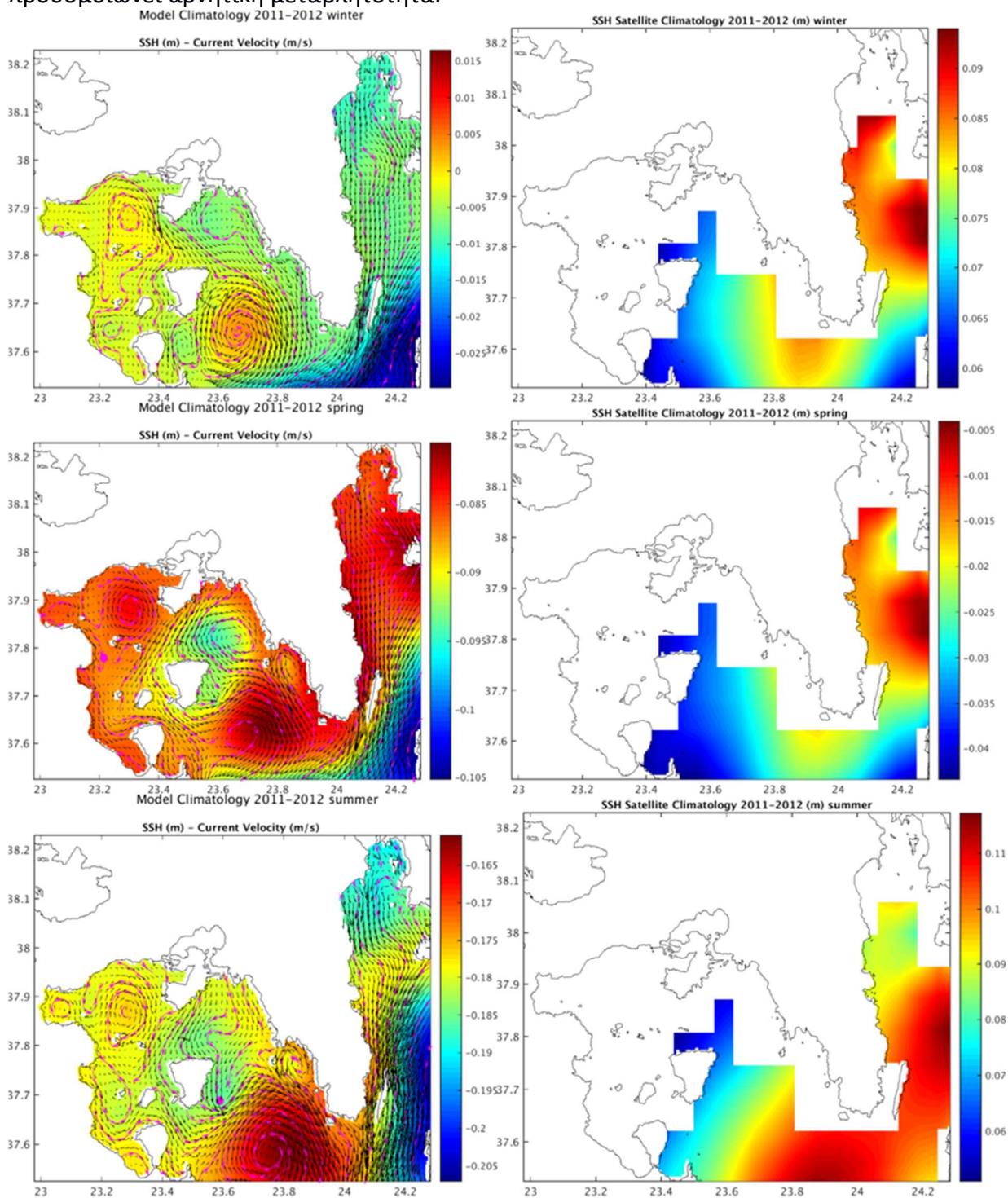
Εικόνα 17. Κανονικοποιημένο διάγραμμα Taylor για τα εποχικά κλιματολογικά δεδομένα μοντέλου και δορυφορικών παρατηρήσεων (πεδίο αναφοράς) της επιφανειακής θερμοκρασίας που αφορούν σε ολόκληρο τον Κόλπο του Σαρωνικού Τα σύμβολα αντιπροσωπεύουν τις διάφορες εποχές: 1 - χειμώνας, 2 - άνοιξη, 3 - καλοκαίρι, 4 - φθινόπωρο. Οι άξονες είναι κανονικοποιημένοι μέσω της τυπικής απόκλισης του πεδίου αναφοράς.

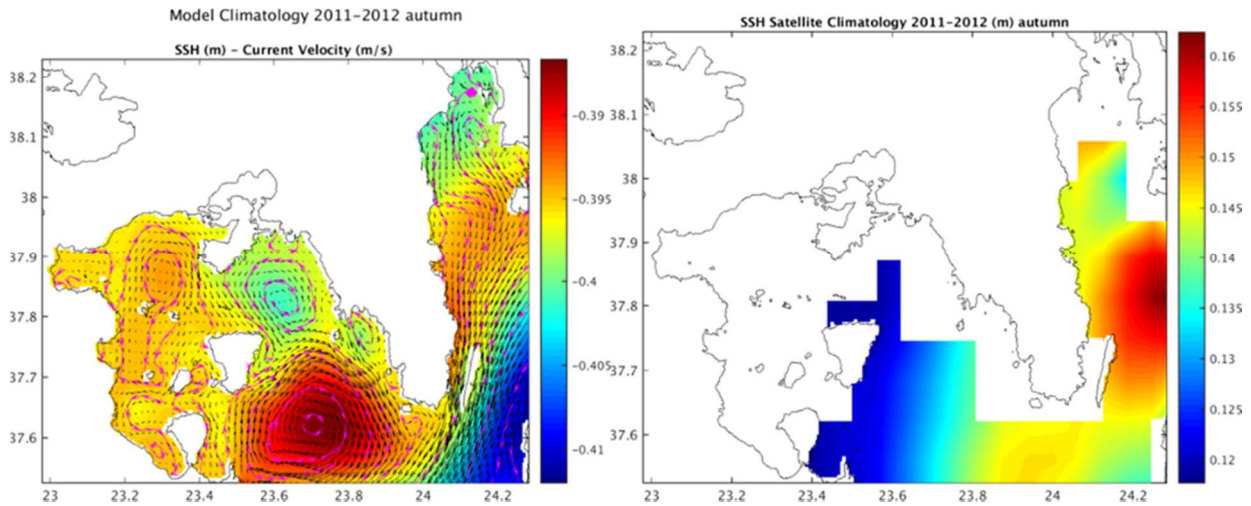
3.1.2.3. Σύγκριση με δορυφορικά δεδομένα ανύψωσης θαλάσσιας στάθμης

Στην Εικόνα 18 παρουσιάζεται η μέση εποχική προσομοιωμένη ανύψωση θαλάσσιας στάθμης σε σύγκριση με τις αντίστοιχες δορυφορικές παρατηρήσεις για τα έτη 2011-2012. Λόγω της μεταβλητότητας της θαλάσσιας στάθμης σε επίπεδο λεκάνης (δηλ της Μεσογείου), τα προσομοιωμένα δεδομένα δεν είναι απόλυτα συγκρίσιμα με τα δορυφορικά. Επομένως η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων έγινε ποιοτικά, δηλ. το μοντέλο επαληθεύεται ως προς την απόδοση της χωρικής κατανομής της θαλάσσιας στάθμης στον Σαρωνικό Κόλπο.

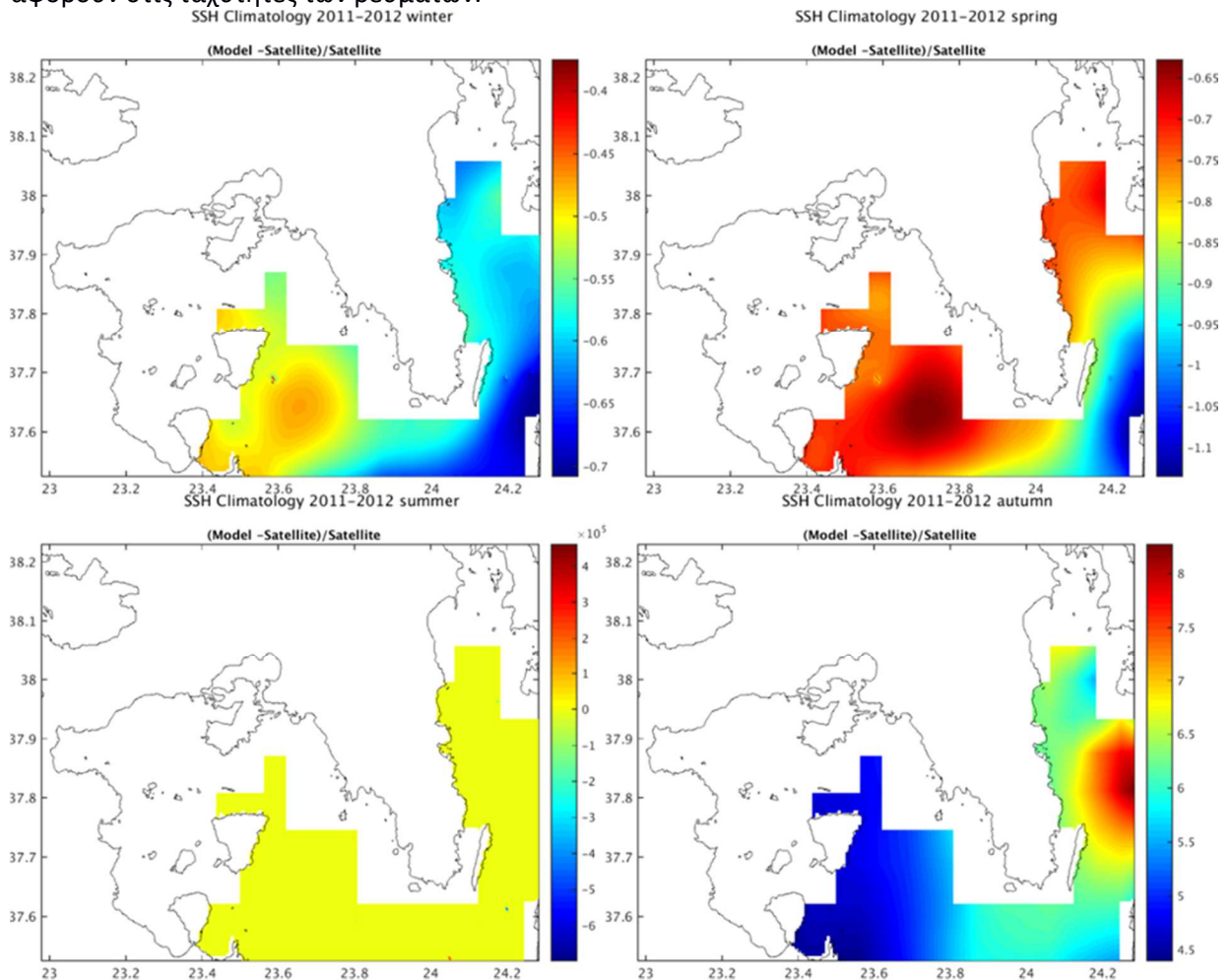
Σε γενικές γραμμές, το μοντέλο αποδίδει τις αυξομειώσεις της θαλάσσιας στάθμης, οι οποίες επηρεάζονται αρκετά από την θαλάσσια κυκλοφορία. Ειδικότερα, στο νότιο τμήμα του Σαρωνικού το μοντέλο αποδίδει την θετική μεταβλητότητα της ανύψωσης της θαλάσσιας

στάθμης λόγω της αντικυκλωνικής ροής των υδάτων, φαινόμενο το οποίο παρατηρείται και στις δορυφορικές παρατηρήσεις, με κάποια μικρή μετατόπιση προς τα δυτικά κατά την θερινή και φθινοπωρινή περίοδο. Στο εσωτερικό του Κόλπου, οι δορυφορικές παρατηρήσεις είναι ελλιπείς για να αποτυπώσουν ολόκληρη την αρνητική ανύψωση της θαλάσσιας στάθμης λόγω της κυκλωνικής κυκλοφορίας των υδάτων. Παρά ταύτα, το μοντέλο συμφωνεί ως προς την αρνητική μεταβλητότητα της θαλάσσιας στάθμης. Στο βορειοδυτικό τμήμα του Κόλπου, το μοντέλο προσομοιώνει τη θετική μεταβλητότητα θαλάσσιας στάθμης λόγω της αντικυκλωνικής ροής των υδάτων, ωστόσο δεν υπάρχουν διαθέσιμες παρατηρήσεις, για την επαλήθευση των προσομοιωμένων αποτελεσμάτων. Τέλος, στο βορειοανατολικό ανοικτό όριο παρατηρείται μερική απόκλιση του μοντέλου ως προς την προσομοίωση των εισερχόμενων υδάτων του Αιγαίου, κυρίως κατά την θερινή περίοδο. Σύμφωνα με τις δορυφορικές παρατηρήσεις η μεταβλητότητα της θαλάσσιας στάθμης είναι θετική, σε αντίθεση με το μοντέλο το οποίο προσομοιώνει αρνητική μεταβλητότητα.





Εικόνα 18. Μέση προσομοιωμένη (δεξιά γραφήματα) και δορυφορική ανύψωση θαλάσσιας στάθμης (SSH, αριστερά γραφήματα) για (από πάνω προς τα κάτω) τη χειμερινή, εαρινή, θερινή και φθινοπωρινή περίοδο. Οι έντονες πορφυρές γραμμές αφορούν στις ρευματογραμμές των υδάτων, ενώ οι μαύρες αφορούν στις ταχύτητες των ρευμάτων.



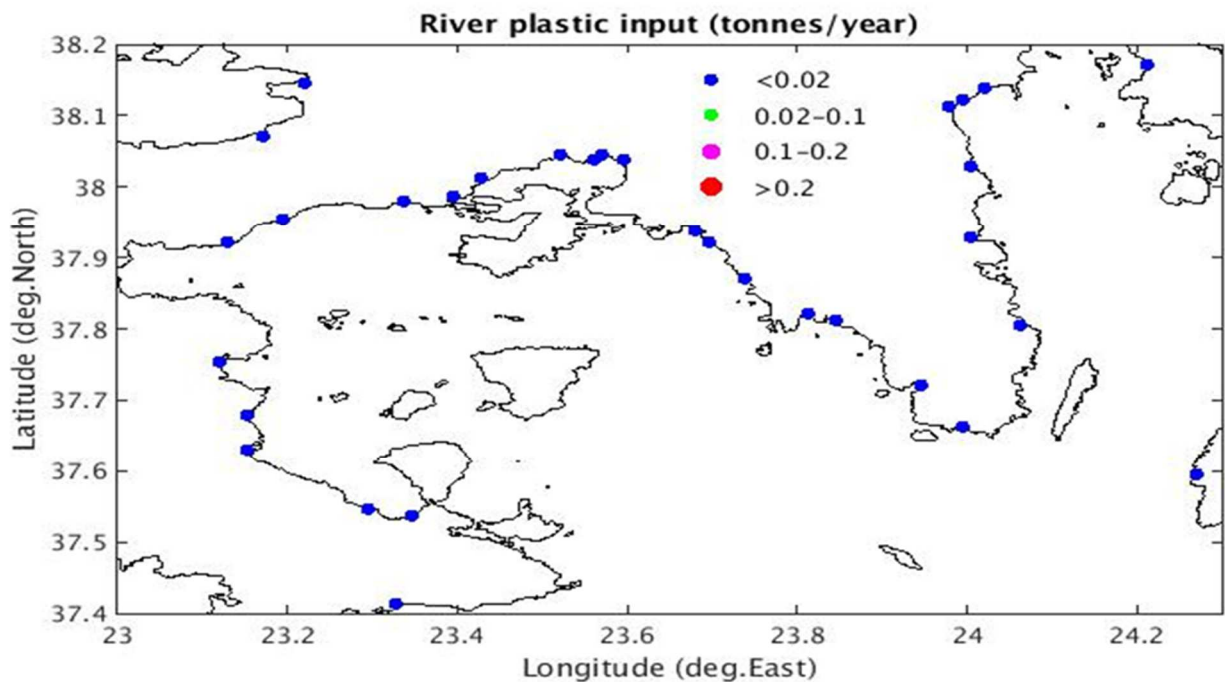
Εικόνα 19. Ποσοστό σχετικού σφάλματος του μοντέλου ως προς τις δορυφορικές παρατηρήσεις της ανύψωσης της θαλάσσιας στάθμης κατά την (α) χειμερινή, (β) εαρινή, (γ) θερινή και (δ) φθινοπωρινή περίοδο.

5.3.2. Επαλήθευση μοντέλου πλαστικών

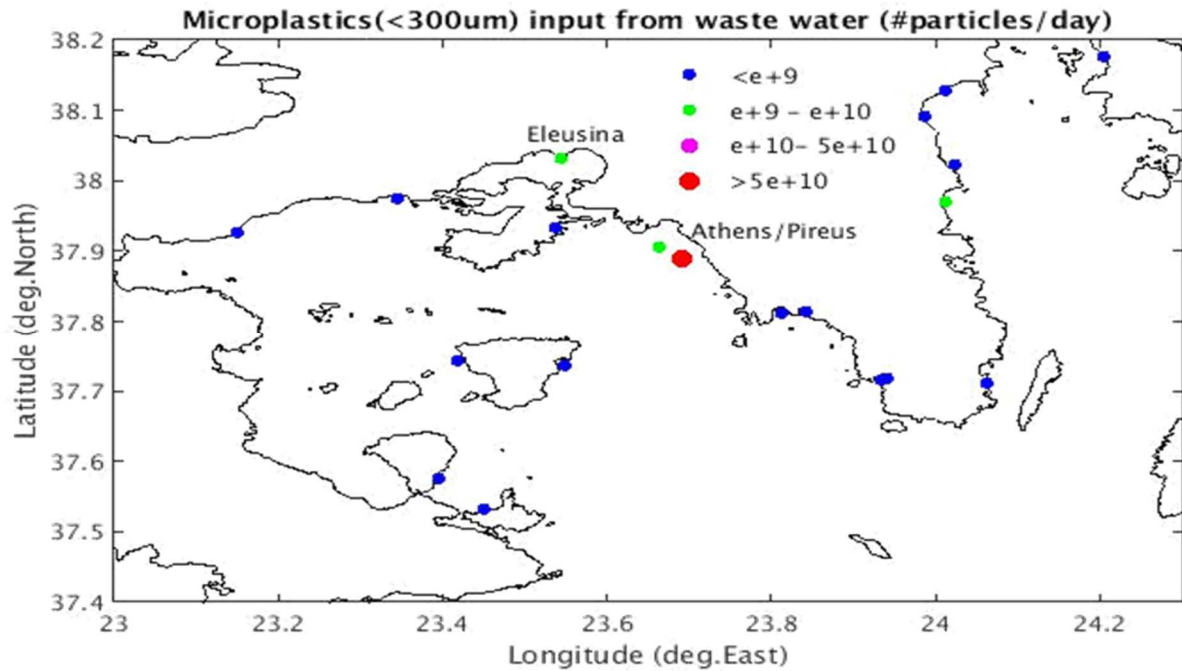
5.3.2.1. Διασπορά πλαστικών

Στην Εικόνα 20 παρουσιάζεται η εισροή πλαστικών από τα ποτάμια ενώ στις Εικόνες 21 και 22 παρουσιάζονται η εισροή μικροπλαστικών (<300 μm) και μικροπλαστικών (>300 μm) από του βιολογικούς καθαρισμούς, αντίστοιχα.. Η διασπορά φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά τόσο από τις πηγές όσο και από την επιφανειακή κυκλοφορία, ενώ για την περίπτωση των μεγαλύτερων πλαστικών (φελιζόλ, μπουκάλια) είναι φανερό και η επίδραση του ανέμου.

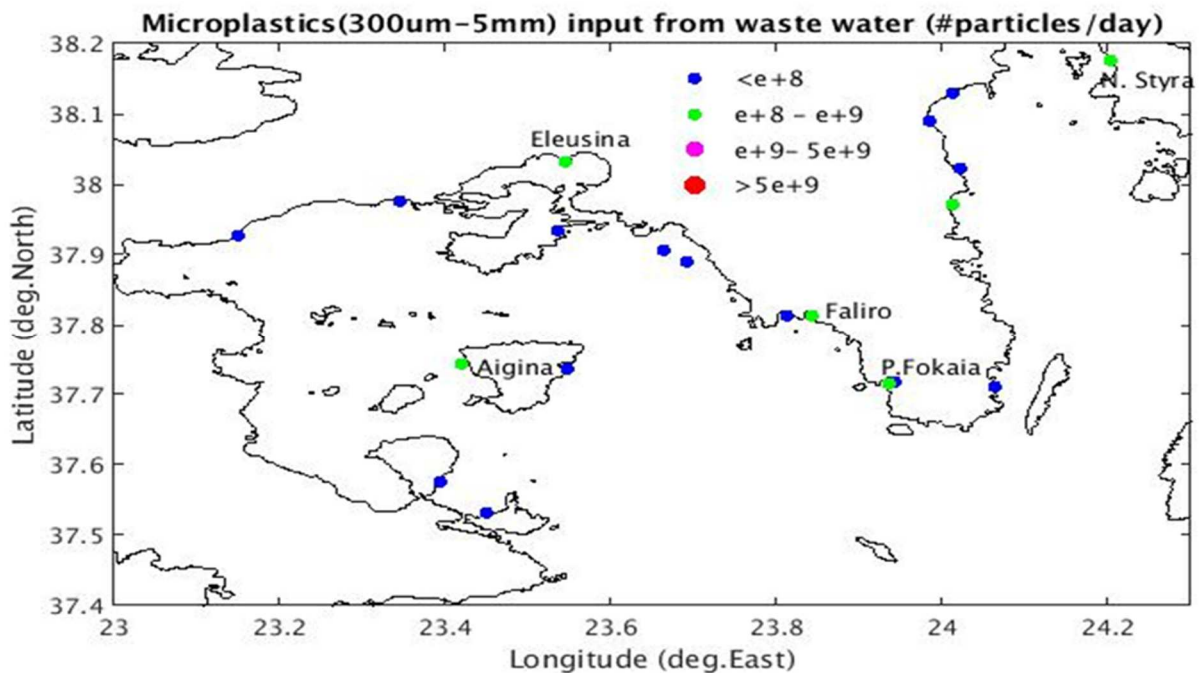
Παρά το γεγονός ότι τα ποτάμια δεν συνεισφέρουν σημαντικά (< 0.02 tonnes/year), αντιθέτως τα αστικά λύματα φαίνεται να έχουν μεγαλύτερη συνεισφορά στη διάθεση πλαστικών στο θαλάσσιο περιβάλλον, είτε αυτά υφίστανται βιολογικό καθαρισμό είτε εκβάλλονται απευθείας στον Κόλπο. Οι κυριότερες πηγές μικροπλαστικών μεγέθους μεταξύ 300 μm και 5 mm (μέσω λυμάτων που δεν υφίστανται καθαρισμό) είναι από την Ελευσίνα, το Φάληρο, την Αίγινα και την Π. Φώκεια, ενώ τα μικροπλαστικά μικρού μεγέθους (< 300μm) εισέρχονται κατά κύριο λόγο από τον βιολογικό καθαρισμό της Ψυττάλειας. Συνεισφορά λυμάτων υπάρχει και από το ανοιχτό όριο του Κόλπου, όπου μέσω της επιφανειακής κυκλοφορίας εισέρχονται πλαστικά από το Αιγαίο, κυρίως κατά τον Φεβρουάριο και Μάρτιο από το νότιο-ανατολικό άκρο του Κόλπου και τον Σεπτέμβριο και Οκτώβριο από το βορειοδυτικό όριο.



Εικόνα 20: Εισροή πλαστικών από ποτάμια



Εικόνα 21: Εισροή μικροπλαστικών (< 300µm) από βιολογικούς καθαρισμούς.

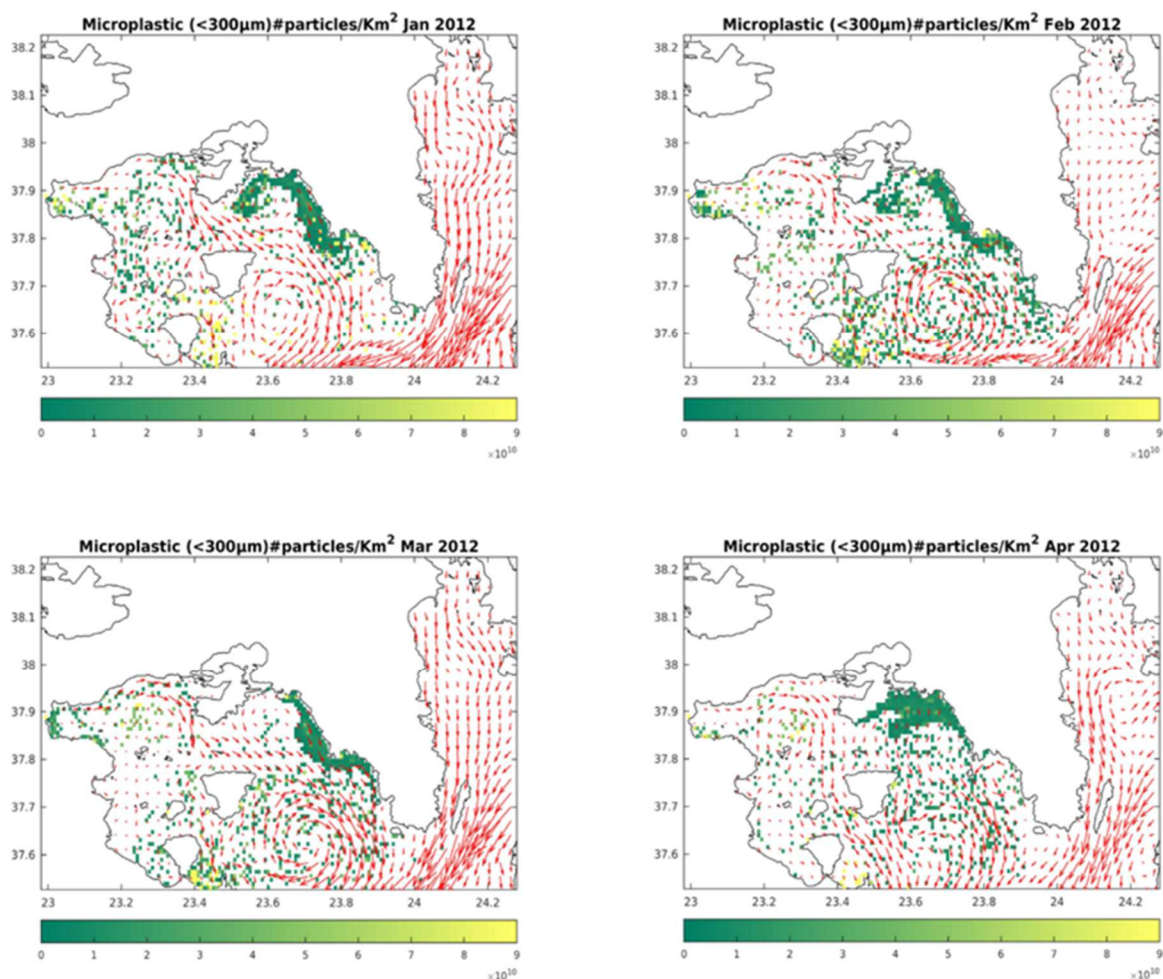


Εικόνα 22: Εισροή μικροπλαστικών (< 300µm) από αστικά λύματα.

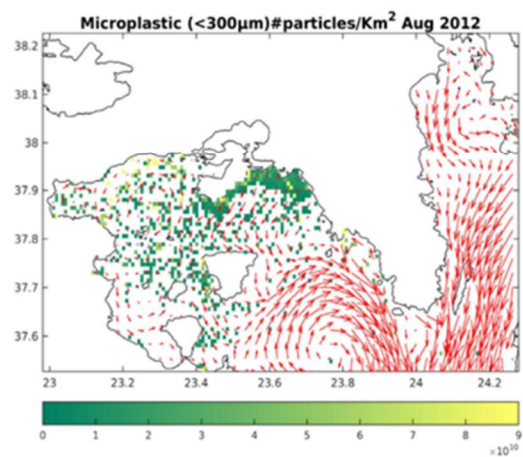
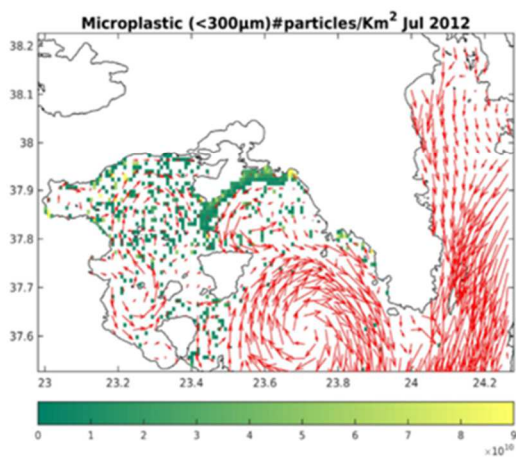
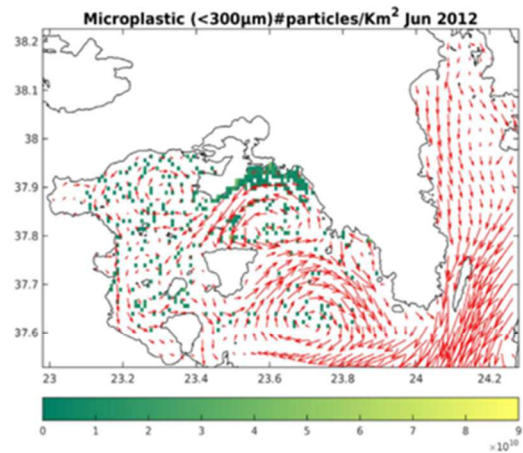
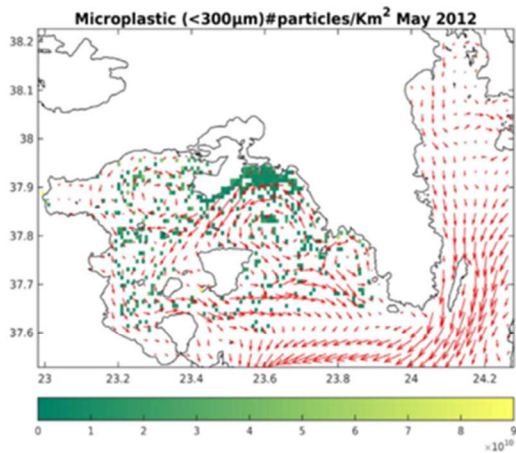
Η μέση μηνιαία διασπορά των πλαστικών στο Σαρωνικό κόλπο για το δεύτερο έτος της προσομοίωσης (δηλ. 2012) απεικονίζεται στις Εικόνες 23-25 για τα μικροπλαστικά μικρού μεγέθους (<300 µm) και στις Εικόνες 25-27 για τα μπουκάλια, αντιπροσωπεύοντας τις κατηγορίες των πλαστικών που επηρεάζονται μόνο από την κυκλοφορία υδάτων και τον κυματισμό και των πλαστικών που επηρεάζονται επιπλέον από τον άνεμο αντίστοιχα. Η διασπορά φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά τόσο από τις πηγές όσο και από την επιφανειακή

κυκλοφορία, ενώ για την περίπτωση των μεγαλύτερων πλαστικών (φελιζόλ, μπουκάλια) είναι φανερή και η επίδραση του ανέμου.

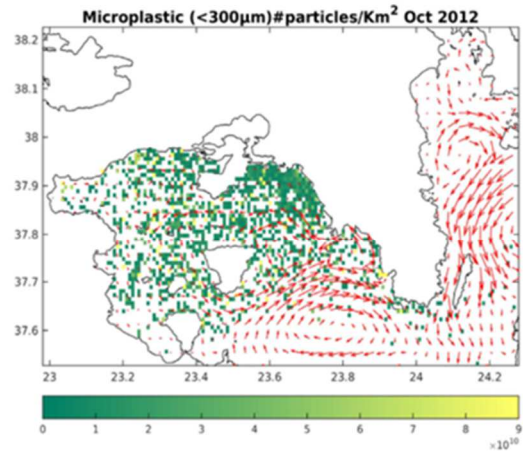
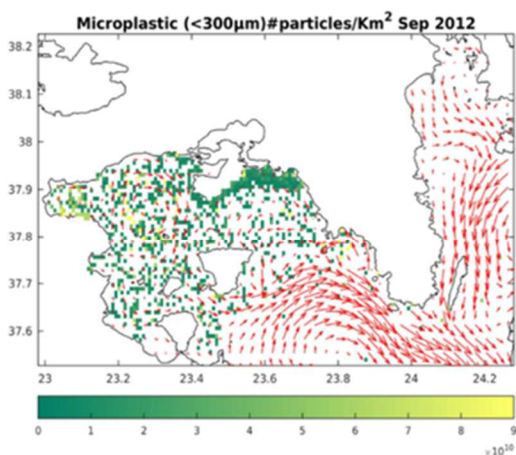
Τα μικροπλαστικά που εισέρχονται από την Ψυττάλεια οδηγούνται είτε προς τα δυτικά είτε προς τα νοτιοανατολικά λόγω των εναλλαγών κατεύθυνσης της κυκλοφορίας των υδάτων. Από τους μήνες Φεβρουάριο έως και Απρίλιο, τα ρεύματα οδηγούν τα μικροπλαστικά στα νότια ή νοτιο-ανατολικά, ενώ από τον Μάιο, ο κυκλώνας και τα ρεύματα που δημιουργούνται στην περιοχή με κατεύθυνση προς τα δυτικά οδηγούν τα μικροπλαστικά στα δυτικά του κόλπου. Ο μόνιμος αντικυκλώνας στα νοτιο-ανατολικά συγκεντρώνει ποσότητες μικροπλαστικών και τις διοχετεύει έξω από την περιοχή εφαρμογής του μοντέλου. Τέλος, οι βόρειοι-βορειοδυτικοί άνεμοι που επικρατούν στην περιοχή σχεδόν καθ' όλη τη διάρκεια του έτους οδηγούν τα μεγαλύτερα πλαστικά (μπουκάλια, φελιζόλ) προς το νότο. Έτσι, στα βορειοδυτικά του Κόλπου οι συγκεντρώσεις πλαστικών είναι μικρότερες, ενώ στο κόλπο της Επιδαύρου παρατηρούνται αρκετά μεγαλύτερες. Το φαινόμενο εξασθενεί με την εξασθένηση των ανέμων κατά τον Μάιο και Ιούνιο.

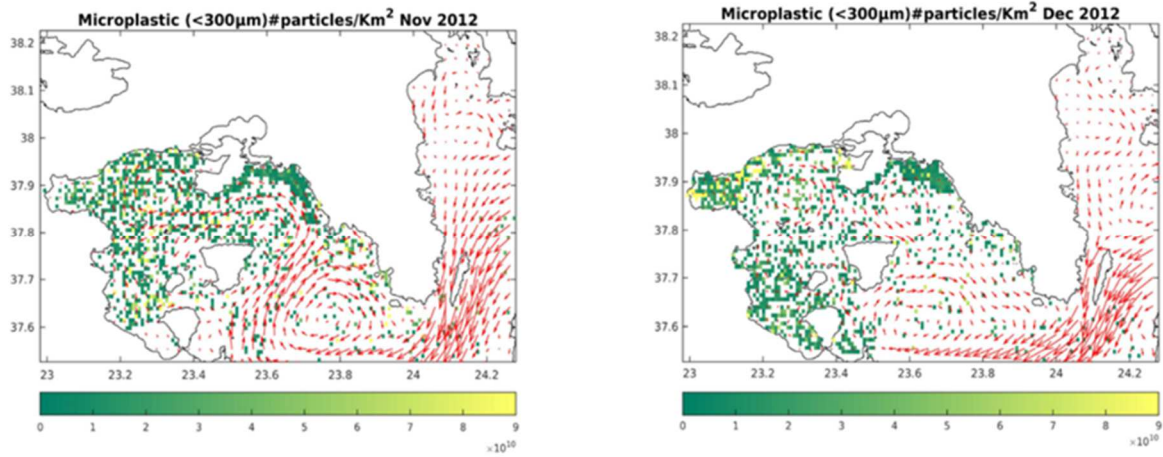


Εικόνα 23: Μέση μηνιαία διασπορά μικροπλαστικών (<300µm), Ιανουάριος-Απρίλιος. Τα κόκκινα βέλη αφορούν στην μέση μηνιαία επιφανειακή κυκλοφορία των υδάτων.

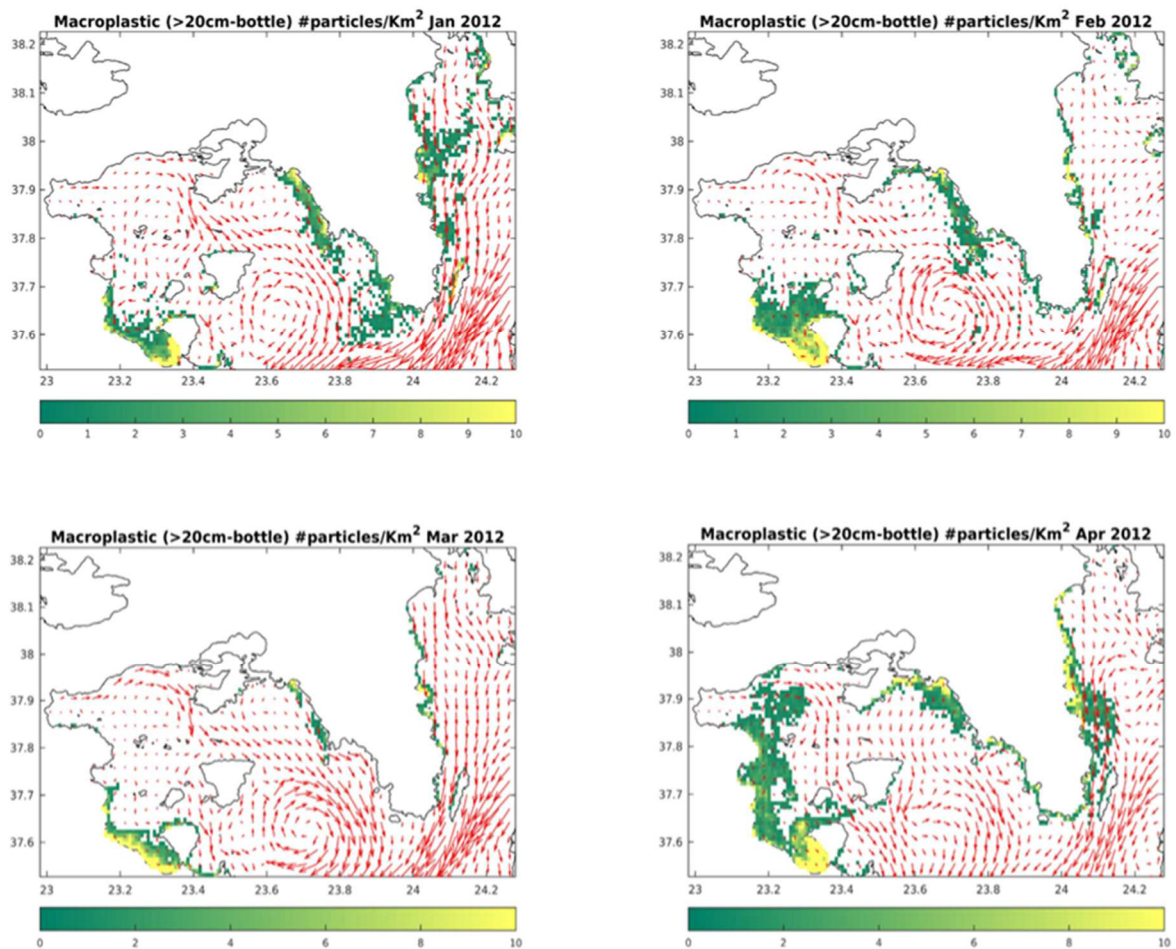


Εικόνα 24: Μέση μηνιαία διασπορά μικροπλαστικών (<math><300\mu\text{m}</math>), Μάιος-Αύγουστος. Τα κόκκινα βέλη αφορούν στην μέση μηνιαία επιφανειακή κυκλοφορία των υδάτων.

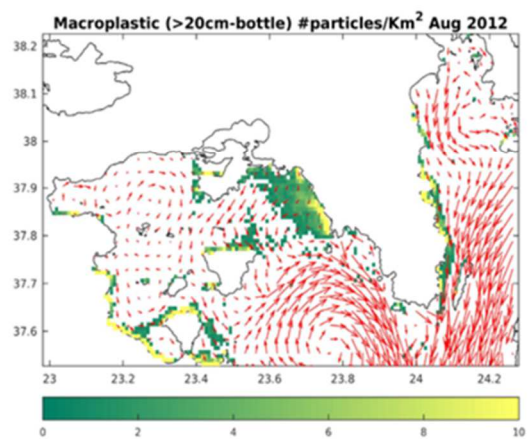
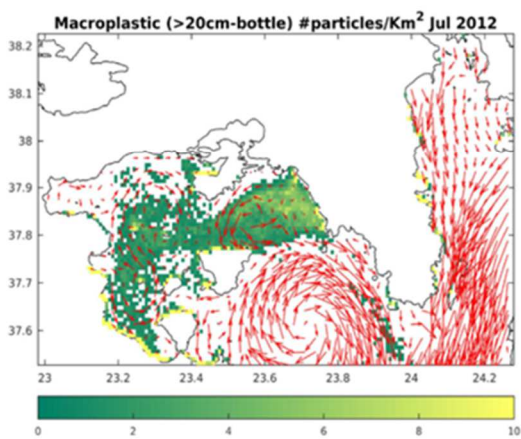
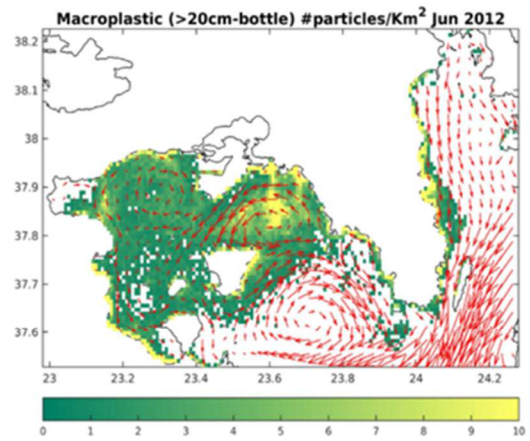
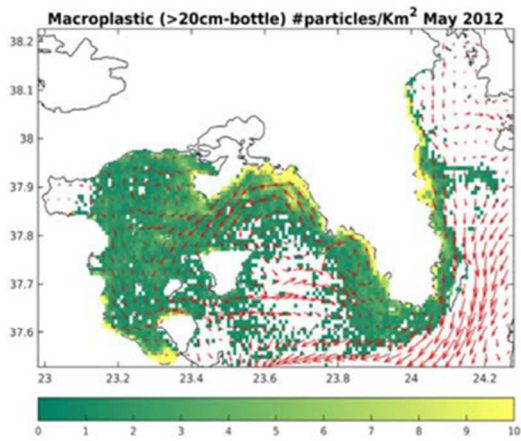




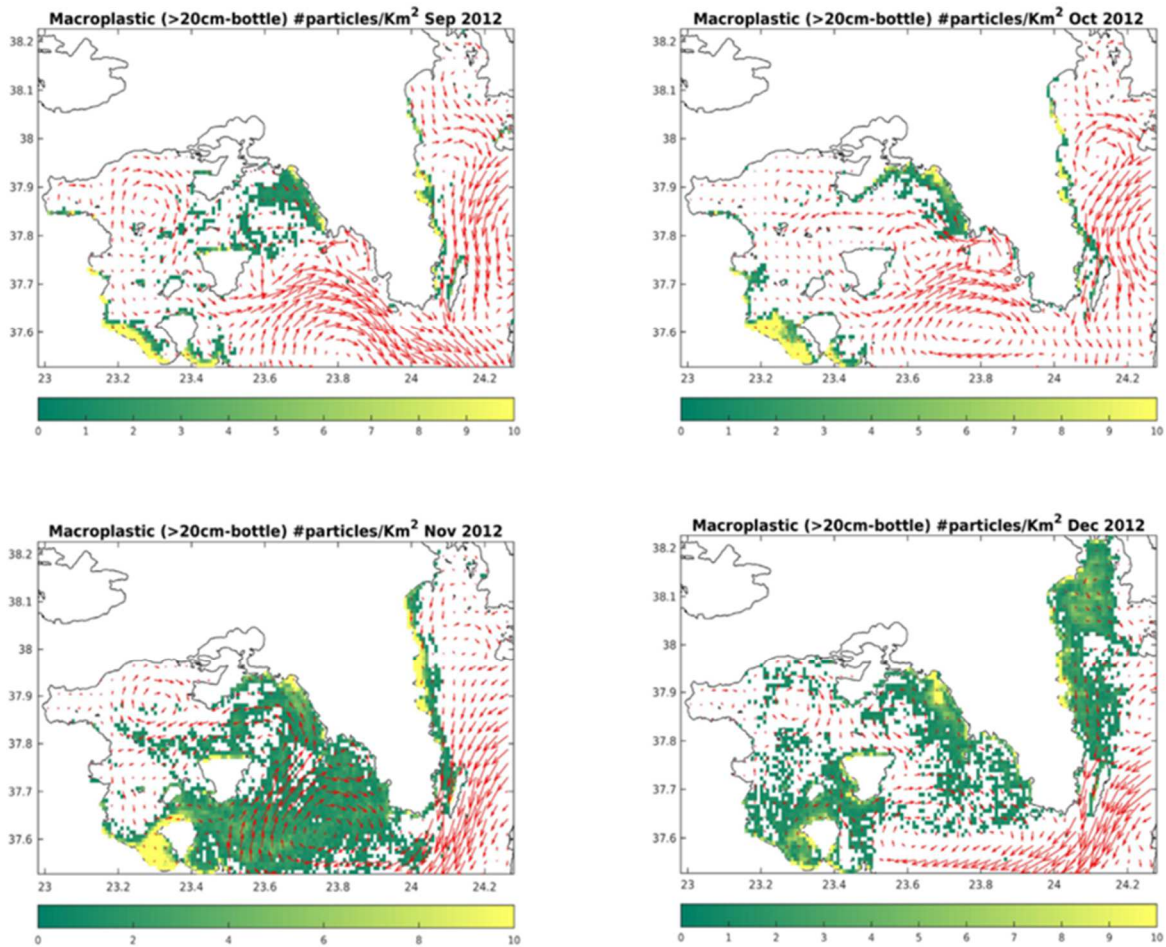
Εικόνα 25: Μέση μηνιαία διασπορά μικροπλαστικών (<math><300\mu\text{m}</math>), Σεπτέμβριος-Δεκέμβριος. Τα κόκκινα βέλη αφορούν στην μέση μηνιαία επιφανειακή κυκλοφορία των υδάτων.



Εικόνα 26: Μέση μηνιαία διασπορά μακροπλαστικών (>20 cm), Ιανουάριος-Απρίλιος. Τα κόκκινα βέλη αφορούν στην μέση μηνιαία επιφανειακή κυκλοφορία των υδάτων.



Εικόνα 27: Μέση μηνιαία διασπορά μακροπλαστικών (>20 cm), Μάιος-Αύγουστος. Τα κόκκινα βέλη αφορούν στην μέση μηνιαία επιφανειακή κυκλοφορία των υδάτων.



Εικόνα 28: Μέση μηνιαία διασπορά μακροπλαστικών (>20 cm), Σεπτέμβριος-Δεκέμβριος Τα κόκκινα βέλη αφορούν στην μέση μηνιαία επιφανειακή κυκλοφορία των υδάτων.

5.4 Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζεται ένα μοντέλο διασποράς μικρο- και μακρο- πλαστικών στον Σαρωνικό Κόλπο, συζευγμένο με ένα υδροδυναμικό ομοίωμα. Σε γενικές γραμμές, το μοντέλο προσομοιώνει ορθώς την διασπορά των πλαστικών στον Σαρωνικό Κόλπο. Η επαλήθευση του μοντέλου εξετάστηκε ποιοτικά λόγω μη διαθέσιμων παρατηρήσεων πλαστικών.

Η σύγκριση δεδομένων κυκλοφορίας των υδάτων, θερμοκρασίας, αλατότητας και ανύψωσης της θαλάσσιας στάθμης με τα προσομοιωμένα δεδομένα έδειξε ότι το υδροδυναμικό μοντέλο προσομοιώνει με αρκετά ικανοποιητικό τρόπο τα υδροδυναμικά χαρακτηριστικά του Κόλπου. Επομένως, η προσομοίωση της διασποράς των πλαστικών μπορεί να θεωρηθεί ποιοτικώς ορθή, δεδομένου της επιρροής της κυκλοφορίας των υδάτων σε συνάρτηση με την επιρροή του κυματισμού και των ανέμων, τα οποία δίνονται από τα επιχειρησιακά μοντέλα του προγνωστικού συστήματος 'ΠΟΣΕΙΔΩΝΑΣ'. Ωστόσο, η χρήση διαφόρων παραμέτρων και αρχικών συνθηκών

κατά την εφαρμογή του μοντέλου διασποράς πλαστικών πιθανώς να προσδίδει κάποια αβεβαιότητα στα αποτελέσματα προσομοίωσης. Για παράδειγμα, η εισροή πλαστικών από τις διάφορες πηγές (αστικά λύματα, βιολογικοί καθαρισμοί, ποτάμια) εκτιμήθηκε βάσει της βιβλιογραφίας και ενδέχεται να εμπεριέχει σημαντικά σφάλματα. Προκειμένου να εκτιμηθεί το ποσοστό αβεβαιότητας του μοντέλου ως προς την διασπορά των πλαστικών, είναι απαραίτητη η σύγκριση των προσομοιωμένων δεδομένων με πραγματικές παρατηρήσεις πλαστικών στον Σαρωνικό Κόλπο, ούτως ώστε να επιτευχθεί ορθή βαθμονόμηση του μοντέλου. Επιπλέον, η επιλογή μια μεγαλύτερης περιοχής προσομοίωσης, ούτως ώστε να περιλαμβάνεται η περιοχή δράσης του νοτιοδυτικού αντικυκλωνικού ρεύματος, πιθανώς να βελτιώνει τα αποτελέσματα της προσομοίωσης των πλαστικών. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα μόνιμα κλειστά αντικυκλωνικά ρεύματα αναμένεται να λειτουργούν ως περιοχές συσσώρευσης απορριμάτων, κάτι το οποίο δεν προσομοιώνεται ορθώς στην παρούσα εφαρμογή του μοντέλου, καθώς τα πλαστικά φαίνεται να διασπείρονται εκτός της περιοχής μελέτης, εφόσον η αντικυκλωνική κυκλοφορία που προσομοιώνεται από το μοντέλο διακόπτεται από το ανοικτό όριο, όπως αναφέρθηκε παραπάνω

5.5 Βιβλιογραφία

- Blumberg, A. F. and Mellor, G. L., 1987.: A description of a three- dimensional coastal ocean circulation model, in: Three- Dimensional Coastal Ocean Circulation Models, (Ed) Heaps, N., Coastal Estuarine Science, pp. 1–16, American Geophysical Union, Washington, D.C., 4 edn.,
- Buongiorno Nardelli, B., Tronconi, C., Pisano, A., and Santoleri, R.: High and Ultra-High resolution processing of satellite Sea Surface Temperature data over Southern European Seas in the framework of MyOcean project, Remote Sens. Environ., 129, 1– 16, <https://doi.org/10.1016/j.rse.2012.10.012>, 2013.
- Drakopoulos, P., Lascaratos, A., 1997. Modelling the Mediterranean Sea: climatological forcing. J. Mar. Syst. 20, 157–173
- Elliott, A. (1986) Shear diffusion and the spread of oil in the surface layers of the North Sea. Dt. Hydrogr. Z. 39, 113-137.
- Eriksen, M., Lebreton, L. C. M., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borerro, J. C., .Reisser, J. (2014). Plastic Pollution in the World’s Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. PLoS ONE, 9(12), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>
- GESAMP (Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution), “The State of the Marine Environment”, London, Blakewell Scientific Publications, 1991
- Horton, C., Clifford, M., Schmitz, J., Kantha, L.H., 1997. A real-time oceano-graphic nowcast/forecast system for the Mediterranean Sea. J. Geophys. Res. 102 (C11), 25123–25156
- Kalcikova G. Alic, B., Skalar, T, Bundschuh, M., Zgajnar Gotvaj, A., 2017. Wastewater treatment plant effluents as source of cosmetic polyethylene microbeads to freshwater, Chemosphere, 188, 25-31.
- Kontoyiannis, H., 2010. Observations on the circulation of the Saronikos Gulf: a Mediterranean embayment sea border of Athens, Greece. J. Geophys. Res. 115, C06029. <http://dx.doi.org/10.1029/2008JC005026>.
- Korres, G., Lascaratos, A., 2003. An eddy resolving model of the Aegean and Levantine basins for the Mediterranean Forecasting System Pilot Project (MFSPP): implementation and climatological runs. Anales Geophysicae, MFSPP – Part I 21 (Special Issue), 205–220.
- Korres, G., K. Tsiaras, K. Nittis, G. Triantafyllou and I. Hoteit., 2008. The POSEIDON-II system: Forecasting at the Mediterranean scale. 5th EuroGoos Conference. Exeter, UK, May 20-22

- Korres, G., Nitti, K., Perivoliotis, L., Tsiaras, K., Papadopoulos, A., Triantafyllou, G., Hoteit, I., 2010. Forecasting the Aegean Sea hydrodynamics within the POSEIDON-II operational system. *J. Oper. Oceanogr.* 3, 37–49.
- Kourafalou, V. H. & K. Tsiaras, 2007. A nested circulation model for the North Aegean Sea. *Ocean Science* 3: 1–16
- Lebreton, L., van der Zwet, J., Damsteeg, J., Slat, B., Andrady, A. and Reisser, J. (2017). River plastic emissions to the world's oceans. *Nature Communications*, 8, p.15611.
- Lehner, B., Verdin, K. & Jarvis, A. New global hydrography derived from spaceborne elevation data. *EOS* 89, 93–94 (2008).
- Lascaratos, A. and Nittis, K., 1998. A high-resolution three-dimensional study of intermediate water formation in the Levantine Sea, *J. Geophys. Res.*, 103(C9), 18 497–18 511
- McCormick, A., Hoellein, T., Mason, S., Schlupe, J. and Kelly, J. (2014). Microplastic is an Abundant and Distinct Microbial Habitat in an Urban River. *Environmental Science & Technology*, 48(20), pp.11863-11871
- Mellor, G. L. & T. Yamada, 1982. Development of a turbulence closure model for geophysical fluid problems. *Review Geophysics and Space Physics* 20: 851–875.
- Moore, C. (2008). Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing, long-term threat. *Environmental Research*, 108(2), pp.131-139.
- Napper, I., Bakir, A., Rowland, S. and Thompson, R. (2015). Characterisation, quantity and sorptive properties of microplastics extracted from cosmetics. *Marine Pollution Bulletin*, 99(1-2), pp.178-185.
- Nittis, K., L. Perivoliotis, G. Korres, C. Tziavos & I. Thanos, 2006. Operational monitoring and forecasting for marine environmental applications in the Aegean Sea. *Environmental Modelling and Software* 21: 243–257
- Papadopoulos, A., Kallos, G., Katsafados, P., Nickovic, S., 2002. The Poseidon weather forecasting system: an overview. *The Global Atmosphere and Ocean Systems* 8, 219–237 (retitled *Journal of Atmospheric and Ocean Science*)
- Petihakis, G., Triantafyllou, G., Tsiaras, K., 2009. Eastern Mediterranean biogeochemical flux model—simulations of the pelagic ecosystem. *Ocean Sci.*
- Pollani, A., Triantafyllou, G., Petihakis, G., Konstantinos, N., Dounias, K., and Koutitas, C. (2001). The Poseidon operational tool for the prediction of floating pollutant transport. *Mar. Pollut. Bull.* 43, 270–278, doi: 10.1016/S0025-326X(01)00080-7.
- Pisano A, Buongiorno Nardella B, Tronconia C, Santoleria R. 2016. The new Mediterranean optimally interpolated pathfinder AVHRR SST Dataset (1982–2012). *Remote Sensing of Environment*. 176. 107–116. doi=10.1016/j.rse.2016.01.019
- Rio, M.-H., Pascual, A., Poulain, P.-M., Menna, M., Barceló, B., and Tintoré, J.: Computation of a new mean dynamic topography for the Mediterranean Sea from model outputs, altimeter measurements and oceanographic in situ data, *Ocean Sci.*, 10, 731-744, <https://doi.org/10.5194/os-10-731-2014>, 2014.
- Smagorinsky, J., 1963. General circulation experiments with the primitive equations, i, the basic experiment. *Mon. Weather Rev.* 91, 99–164
- Suaria, G., Avio, C. G., Mineo, A., Lattin, G. L., Magaldi, M. G., Belmonte, G., ... Aliani, S. (2016). The Mediterranean Plastic Soup: Synthetic polymers in Mediterranean surface waters. *Scientific Reports*, 6, 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep37551>
- Stow, C. a., Jolliff, J., McGillicuddy, D.J., Doney, S.C., Allen, J.I., Friedrichs, M. a. M., Rose, K. a., Wallhead, P., 2009. Skill assessment for coupled biological/physical models of marine systems. *J. Mar. Syst.* 76, 4–15. doi:10.1016/j.jmarsys.2008.03.011
- Talvitie A., A. Mikola, O. Setälä, M. Heinonen, 2017. How well is microlitter purified from wastewater? A detailed study on the stepwise removal of microlitter in a tertiary level wastewater treatment plant, *Water Research*, 109, 164-172.

- Topper, R. P. M., and P. Th. Meijer, 2015. Changes in Mediterranean circulation and water characteristics due to restriction of the Atlantic connection: A high-resolution ocean model, *Clim. Past*, 11(2), 233–251, doi:10.5194/cp-11-233-2015
- Triantafyllou, G., Petihakis, G., Allen, I., 2003. Assessing the performance of the Cretan Sea ecosystem model with the use of high frequency M3A buoy data set. *Ann. Geophys.* 365–375.
- Yoon J-H, S. Kawano, S. Igawa, 2010. Modeling of marine litter drift and beaching in the Japan Sea, *Marine Pollution Bulletin*, 60, 448–463.
- Zavatarelli, M., Mellor, G.L., Zavatarelli, M., Mellor, G.L., 1995. A numerical study of the Mediterranean Sea circulation. *J. Phys. Oceanogr.* 25, 1384–1414.
- Zavatarelli, M. and Pinardi, N.: The Adriatic Sea modelling system: a nested approach, *Ann. Geophys.*, 21, 345–364, doi:10.5194/angeo-21-345-2003, 200