

19^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιχθυολόγων
19th Hellenic Conference of Ichthyologists



ΠΡΑΚΤΙΚΑ
PROCEEDINGS

Υδάτινα Οικοσυστήματα: Σύγχρονες Προσεγγίσεις Διαχείρισης

Συνεδριακό Κέντρο Κάρολος Παπούλιας, Ιωάννινα
30 Οκτωβρίου – 2 Νοεμβρίου 2025

Karolos Papoulias Conference Center, Ioannina
30 October – 2 November 2025

Μελέτη της φωτοσυνθετικής ικανότητας και αύξησης γηγενούς στελέχους του χλωροφύκου *Ulva lacinulata* σε διαφορετικές θερμοκρασίες

Λαμπρινή Μαλέα^{1,2}, Κωσταντινιά Νάκου¹, Θεόδωρος Γκαδρίης¹, Κυριάκος Κοτζαμπάσης², Σωτήριος Ορφανίδης¹

¹ Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, Νέα Πέραμος Καβάλας - lamprini.malea@elgo.gr

² Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο

ABSTRACT

Lamprini Malea, Konstantinia Nakou, Theodoros Gkadrīs, Kiriakos Kotzabasis, Sotirios Orfanidis: Study of the photosynthetic efficiency and growth of an indigenous strain of the green alga *Ulva lacinulata* at various temperatures

The cultivation of *Ulva* can offer multiple environmental and economic benefits, contributing to EU's environmental objectives within the Green Deal and the Blue Economy. This study investigated the photosynthetic efficiency (JIP-test, RLC curves, photosynthetic pigments) and growth (Relative Growth Rate-RGR) of an indigenous *Ulva lacinulata* strain (BOT:17, INALE Germplasm Bank) from Thessaloniki Bay, Greece, under low (5, 10, 15 και 20°C) to high (25, 28, 30 και 32°C) temperatures. Principal Component Analysis (PCA) of photosynthetic efficiency parameters and RGR, along with permutational ANOVA of RGR, indicated the optimal range (15 to 30°C) and upper (32°C) and lower (5°C) photosynthetic and growth limits. They explain its presence in the Gulf of Thessaloniki and in subtropical areas. However, in the context of the climate crisis, extremely high (>35°C) and low (<5°C) temperatures may threaten the survival of the species, but also limit the period of future mass cultivation on the coasts of the North Aegean.

Keywords: *Ulva lacinulata*, temperature, chlorophyll-*a* fluorescence, growth

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι ανθήσεις των ειδών του γένους *Ulva* (green tide blooms) έχουν εξελιχθεί σε μία από τις κυριότερες περιβαλλοντικές προκλήσεις των κλειστών παράκτιων, λιμνοθαλάσσιων ή πέριξ των εντατικών συστημάτων ιχθυοκαλλιέργειας οικοσυστημάτων, εξαιτίας της περίσσειας των θρεπτικών αλάτων, κυρίως του αζώτου και του φωσφόρου (Wang *et al.* 2020). Αυτά τα φαινόμενα αναμένεται να ενταθούν τα επόμενα χρόνια κατά τόπους εξαιτίας της κλιματικής κρίσης, προκαλώντας ευτροφισμό και τελικά μείωση του οξυγόνου, οδηγώντας σε θανάτους ζωοβένθους και ιχθύων (Smetacek & Zingone 2013). Η προληπτική καλλιέργεια των ειδών *Ulva* spp., μπορεί να προσφέρει πολλαπλά περιβαλλοντικά οφέλη, όπως στο μετριασμό της τροφικότητας (λειτουργώντας ως βιοφίλτρο) και στον έλεγχο της οξίνισης των υδάτων (μέσω της φωτοσυνθετικής δέσμευση CO₂, αλλά και τη συνεχή απορρόφηση πρωτονίων (H⁺) από το περιβάλλον (Zerveas *et al.* 2021), συμβάλλοντας στην επίτευξη των περιβαλλοντικών στόχων της ΕΕ, στο πλαίσιο της «Πράσινης Συμφωνίας» και της «Γαλάζιας Οικονομίας» (Joniver *et al.* 2021). Επιπλέον, η βιομάζα τους, πλούσια σε πολυσακχαρίτες (Ulvan), πρωτεΐνες, βιταμίνες, αντιοξειδωτικές ουσίες, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη για καλλυντικά και φαρμακευτικά σκευάσματα, καθώς και νέων ή βελτιωμένων ζωοτροφών-τροφίμων με βιολογική δράση (Hoffman *et al.* 2024).

Στην παρούσα μελέτη, στέλεχος του είδους *Ulva lacinulata* (Kützting) Wittrock, που απομονώθηκε από τον Κόλπο της Θεσσαλονίκης σε μορφή μονοκαλλιέργειας, μελετήθηκε ως προς τις φωτοσυνθετικές και αυξητικές του αποκρίσεις στη θερμοκρασία. Στόχος ήταν ο προσδιορισμός των βέλτιστων συνθηκών διαβίωσης για την ανάπτυξη βασικού πρωτοκόλλου καλλιέργειας στη θάλασσα, στην εποχή της κλιματικής κρίσης.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το στέλεχος (BOT:17, Τράπεζα Γενετικού Υλικού INALE) καλλιεργήθηκε σταδιακά σε αυξανόμενου όγκου κωνικές φιάλες με θαλασσινό νερό, εμπλουτισμένο με θρεπτικό διάλυμα Von Stosch (VSES), στους 20°C και σε ακτινοβολία 50 μmol photons m⁻² s⁻¹, 16 ώρες το 24ωρο. Από το υλικό αυτό, όταν βρισκόταν στην εκθετική φάση αύξησης (εμπειρική εκτίμηση), επιλέχτηκαν τυχαία θαλλοί *Ulva*, από τρεις διαφορετικές φιάλες, από τους οποίους κόπηκαν με τρυπητήρι διάτρησης 1 cm κυκλικά τμήματα, από τα οποία επιλέχτηκαν έξι (n=6 replicates) για κάθε πειραματική συνθήκη.

Πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα καλλιέργειας, συνολικής διάρκειας έξι (6) ημερών το καθένα, στο εργαστήριο: το πρώτο πείραμα σε χαμηλές (5, 10, 15 και 20°C) και το δεύτερο σε υψηλές θερμοκρασιακές συνθήκες (25, 28, 30 και 32°C), σε βέλτιστη ακτινοβολία αύξησης (150 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Για τη διατήρηση σταθερών θερμοκρασιακών συνθηκών στα πειράματα έγινε χρήση κρυοθερμοστατών Haake ($\pm 0.2^\circ\text{C}$), στους οποίους τοποθετήθηκαν ευρύλαιμα γυάλινα μπουκάλια των 300 ml που περιείχαν 6 ml του θρεπτικού μέσου VSES με τα κομμάτια του είδους *U. lacinulata*. Το θρεπτικό μέσο ανακινούνταν μέσω αερισμού και ανανεωνόταν κάθε 2^η ημέρα, για τη διατήρηση σταθερής αλατότητας (34-36) και θρεπτικών αλάτων. Ο φωτισμός πραγματοποιούνταν με λάμπες LEDs (Phyto-Panels PSI, Czech Republic).

Για την εκτίμηση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας του είδους χρησιμοποιήθηκε η μεθοδολογία φθορισμού της Chl *a*, χρησιμοποιώντας τα πρωτόκολλα JIP-test (Tsimilli-Michael 2020) και των καμπύλων ταχείας απόκρισης στο φως (RLC; Figueroa *et al.* 2021), οι μετρήσεις των οποίων πραγματοποιήθηκαν τις ημέρες 0, 2, 4 και 6. Από το JIP-test μελετήθηκαν οι παράμετροι ABS/RC, TR₀/RC, DI₀/RC, RC/ABS, Φ_{RO}, Ψ_{EO}, Φ_{EO}, Φ_{RO}, δ_{RO}, ενώ από τις RLC οι παράμετροι, ETR_{max}, alpha, E_k, NPQ_{max}, ETR_{max}/NPQ_{max}.

Μετρήσεις νωπής βιομάζας πραγματοποιούνταν ανά 2 ημέρες (ημέρα 0, 2, 4 και 6). Ο υπολογισμός του Σχετικού Ρυθμού Αύξησης (Relative Growth Rate – RGR) υπολογίστηκε με βάση τον τύπο: $\text{RGR (day}^{-1}\text{)} = (\ln \text{WBt}_2 - \ln \text{WBt}_1) / (t_2 - t_1)$, όπου WBt ήταν η νωπή βιομάζα κατά τη μετρούμενη ημέρα του πειράματος *t*.

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φωτοσυνθετικών χρωστικών πραγματοποιήθηκε στο τέλος των πειραμάτων με τη μέθοδο της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC). Προσδιορίστηκαν οι χρωστικές: χλωροφύλλη *a* (Chl *a*), χλωροφύλλη *b* (Chl *b*), β-καροτένιο (β-car), βιολαξανθίνη (Vx), ανθεραξανθίνη (Anx), φουκοξανθίνη (Fx), λουτεΐνη + ζεαξανθίνη (Lt+Zx). Από τις συγκεντρώσεις υπολογίστηκαν οι λόγοι χλωροφύλλη *a/b* (Chl *a/b*) και χλωροφύλλη ως προς καροτενοειδή (Chl/Car).

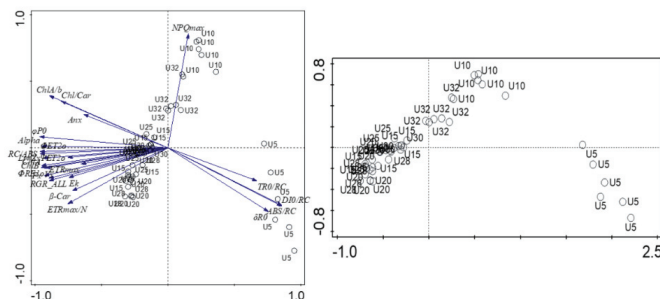
Για τη διερεύνηση των σχέσεων μεταξύ των φυσιολογικών παραμέτρων της *U. lacinulata* και των θερμοκρασιών πραγματοποιήθηκε Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) με τις τιμές της τελευταίας (6^{ης}) ημέρας του πειράματος. Η PCA πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού CANOCO 5. Τα δεδομένα του RGR δεν παρουσίασαν κανονική κατανομή και ως εκ τούτου αναλύθηκαν με PERMANOVA, με τη χρήση μετρικών διαφοροποίησης τύπου Ευκλείδειας (Euclidean distance) και με εφαρμογή του Τύπου III (partial), ενώ το επίπεδο σημαντικότητας ήταν $p(\text{perm}) = 0.05$. Η ανάλυση PERMANOVA πραγματοποιήθηκε μέσω του λογισμικού PRIMER 6.1.16. Διενεργήθηκαν δοκιμές PERMANOVA (pair-wise tests) για τη διερεύνηση της σημαντικότητας μεταξύ των διαφορετικών θερμοκρασιακών συνθηκών. Τα δεδομένα του RGR των δύο περαμάτων παρουσιάστηκαν ως box plot, μέσω του λογισμικού OriginPro 9.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της PCA (Εικόνα 1) έδειξαν ότι το στέλεχος *U. lacinulata* BOT:17 παρουσίασε διαφορές ως προς τη φωτοσυνθετική λειτουργία και αύξηση στις διαφορετικές θερμοκρασίες. Ο άξονας PCA1 εξήγησε το 69,51% της συνολικής διακύμανσης διαχωρίζοντας τα δεδομένα σε τέσσερα νέφη (σύνολα) τιμών. Το νέφος (α) περιλαμβάνει τις υψηλότερες τιμές φόρτισης (loadings) του PCA1 που μετρήθηκαν στους 5°C, με τις παραμέτρους ABS/RC, TR₀/RC, DI₀/RC και δ_{RO} να δείχνουν υψηλή θετική συσχέτιση. Στη θερμοκρασία αυτή, ενώ αυξήθηκε η απορρόφηση φωτός (ABS/RC), η παγίδευση ενέργειας (TR₀/RC) δεν μετετράπη σε φωτοχημικό έργο, καθώς υπήρξε υψηλή ενέργεια απόσβεσης υπό τη μορφή θερμότητας (DI₀/RC), ενώ επηρεάστηκε και η ικανότητα αναγωγής των τελικών αποδεικτών στο PSI (δ_{RO}) (Tsimilli-Michael 2020). Το αποτέλεσμα αυτό εξηγεί γιατί στους 5°C μετρήθηκαν αρνητικές τιμές RGR. (Εικόνα 2).

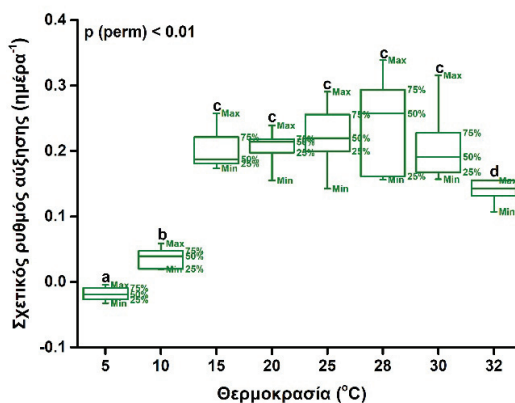
Αντίθετα, οι ελάχιστες φορτίσεις ως προς PCA1 μετρήθηκαν στις θερμοκρασίες από 15 έως 30°C, με τις παραμέτρους RC/ABS, Φ_{RO}, Ψ_{EO}, Φ_{EO}, Φ_{RO}, ETR_{max}, alpha, E_k, ETR_{max}/NPQ_{max}, Chl *a*, Chl *b*, Chl *a/b*, Chl/Car, Vx, Anx και Lt+Zx να δείχνουν ισχυρή αρνητική συσχέτιση. Σε αυτό το βέλτιστο διάστημα φωτοσύνθεσης η αύξηση των ενεργών κέντρων αντίδρασης στο PSII (RC/ABS) είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη παραγωγή φωτοχημικού έργου (Φ_{RO}) (Stirbet *et al.* 2018), ενώ η αύξηση των παραμέτρων Ψ_{EO}, Φ_{EO}, Φ_{RO} έδειξε την ενισχυμένη ροή ηλεκτρονίων από το PSII προς τους τελικούς αποδέκτες ηλεκτρονίων στην αναγωγική πλευρά του PSI (Tsimilli-Michael 2020). Επίσης η συνολική ικανότητα και απόδοση του PSII (ETR_{max}, alpha, E_k) οδήγησε στην αύξηση της παραγωγικότητας (ETR_{max}/NPQ_{max}) (Figueroa *et al.* 2021). Η αύξηση των χλωροφυλλών (Chl *a*, Chl *b*) και την αύξηση της αναλογίας Chl *a/b*

έδειξαν το βαθμό εγκλιματισμού της φωτοσυνθετικής μηχανής με σκοπό την καλύτερη διαχείριση του φωτός (Esteban *et al.* 2015).



Εικόνα 1. Ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) των φωτοσυνθετικών και αυξητικών παραμέτρων του στελέχους *Ulva lacinulata* BOT:17 υπό διαφορετικές θερμοκρασιακές συνθήκες: U5 = 5°C, U10 = 10°C, U15 = 15°C, U20 = 20°C, U25 = 25°C, U28 = 28°C, U30 = 30°C και U32 = 32°C. Οι δύο πρώτες κύριες συνιστώσες PCA1 και PCA2 εξηγούν το 69.51% και 9.70% της συνολικής διακύμανσης, αντίστοιχα.

Figure 1. Principal component analysis (PCA) of the photosynthetic and growth-related parameters of the *Ulva lacinulata* BOT:17 strain under different temperature conditions: U5 = 5°C, U10 = 10°C, U15 = 15°C, U20 = 20°C, U25 = 25°C, U28 = 28°C, U30 = 30°C και U32 = 32°C. The first two principal components, PCA1 and PCA2, explain 69.51% and 9.70% of the total variance, respectively.



Εικόνα 2. Διαγράμματα Box plots του σχετικού ρυθμού αύξησης (RGR) του στελέχους *Ulva lacinulata* BOT:17 (n = 6) υπό διαφορετικές θερμοκρασιακές συνθήκες (5 °C έως 32 °C). Τα λατινικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιακών συνθηκών, βάσει των επιμέρους συγκρίσεων ($p < 0.05$ permutational ANOVA).

Figure 2. Box plots of relative growth rate (RGR) of the strain *Ulva lacinulata* (n = 6) under different temperature conditions (5°C to 32°C). Latin letters indicate statistically significant differences among temperature treatments based on pair-wise tests ($p < 0.05$, permutational ANOVA).

Ενδιάμεσες φορτίσεις μετρήθηκαν στις θερμοκρασίες 10°C και 32°C, ομάδες (γ) και (δ) ως προς PCA1 οριοθέτησαν το ανώτερο και κατώτερο όριο φωτοσυνθετικής ικανότητας. Πράγματι, οι 32°C επηρέασαν αρνητικά τη φυσιολογική λειτουργία της φωτοσύνθεσης και αύξησης του εν λόγω στελέχους. Παρατηρήθηκε μείωση της ικανότητας συγκομιδής των φωτονίων σε χαμηλά επίπεδα ακτινοβολίας (alpha) όσο και του μέγιστου ρυθμού μεταφοράς ηλεκτρονίων από το PSII (ETR_{max}) (Ralph & Gademann 2005). Ακόμη μεγαλύτερη ήταν η μείωση των παραμέτρων αυτών στους 10°C, όπως και η μείωση της παραμέτρου ETR_{max}/NPQ_{max} , που έδειξε ότι το μακροφύκος παρουσίασε λιγότερη ενέργεια για αύξηση

(Figuerola *et al.* 2021). Επίσης, η μείωση των παραμέτρων που σχετίζονται με τις κβαντικές αποδόσεις (Φ_{PO} , Φ_{EO} , Φ_{RO}) αλλά και την ικανότητα/πιθανότητα (Ψ_{EO}) έδειξαν τη φωτοαναστολή που συνέβη στο εν λόγω στέλεχος, ως μια προσαρμογή για τη μείωση της πίεσης από την υπερ-διέγερση της φωτοσυνθετικής διεργασίας. Επίσης υπήρξαν ενδείξεις εγκλιματισμού της φωτοσυνθετικής μηχανής και στους 10°C στις 15 ημέρες διάρκειας του πειράματος, καθώς μετά την φάση συναγερμού (alarm phase; Lichtenthaler 1996), οι προαναφερθείσες παράμετροι σταθεροποιήθηκαν σε ένα νέο λειτουργικό σημείο. Ως εκ τούτου, σημειώθηκε και σταθεροποίηση του σχετικού ρυθμού αύξησης (RGR) στις 15 ημέρες του πειράματος. Η παρουσία εγκλιματισμού στους 10°C παρατηρήθηκε και από τη μεγαλύτερη αύξηση της παραμέτρου NPQ_{max} σε αυτή τη θερμοκρασιακή συνθήκη (10°C), στον άξονα PC2. Η αύξηση αυτή έδειξε ότι το μακροφύκος διέθεσε περισσότερη ενέργεια για τη μη-φωτοχημική σβέση (Figuerola *et al.* 2021), το οποίο κόστισε στην αύξηση του είδους, η οποία μειώθηκε σημαντικά (RGR).

Με βάση τα αποτελέσματα, το βέλτιστο διάστημα (15-30°C) σε συνδυασμό με το ανώτερο (32°C) και κατώτερο (10°C) θερμοκρασιακό όριο της φωτοσυνθετικής ικανότητας και αύξησης του στελέχους *U. lacunculata* εξηγούν την παρουσία του στον Κόλπο της Θεσσαλονίκης, αλλά και σε υποτροπικές περιοχές (Orfanidis 1993). Ωστόσο, στο πλαίσιο της κλιματικής κρίσης, οι ακραία υψηλές (>35°C) αλλά και χαμηλές (<5°C) θερμοκρασίες αποτελούν παράγοντες που μπορεί να απειλήσουν την επιβίωση του είδους, αλλά και να περιορίσουν το χρονικό διάστημα εντός του έτους της μελλοντικής του καλλιέργειας στις ακτές του Βορείου Αιγαίου.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εργασία πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο του Ευρωπαϊκού έργου NOVAFOODIES (Project 101084180, χρηματοδοτείται από το European Research Executive Agency) και αποτελεί μέρος της Διδακτορικής Διατριβής της ΛΜ στο Πανεπιστήμιο Κρήτης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Esteban R, Barrutia O, Artetxe U, Fernández-Marín B, Hernández A, García-Plazaola JI (2015) Internal and external factors affecting photosynthetic pigment composition in plants: a meta-analytical approach. *New Phytologist* 206(1): 268-280.
- Figuerola FL, Bonomi-Barufi J, Celis-Plá PSM, Nitschke U, Arenas F, Connan S, et al. (2021) Short-term effects of increased CO₂, nitrate and temperature on photosynthetic activity in *Ulva rigida* (Chlorophyta) estimated by different pulse amplitude modulated fluorometers and oxygen evolution. *Journal of Experimental Botany* 72: 491-509.
- Hofmann LC, Strauss S, Shpigel M, Guttman L, Stengel D. B, Rebours C, et al. (2024) The green seaweed *Ulva*: tomorrow's "wheat of the sea" in foods, feeds, nutrition, and biomaterials. *Critical reviews in food science and nutrition*: 1-36.
- Joniver CF, Photiades A, Moore PJ, Winters AL, Woolmer A, Adams JM (2021) The global problem of nuisance macroalgal blooms and pathways to its use in the circular economy. *Algal Research* 58: 102407.
- Lichtenthaler HK (1996) Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *Journal of plant physiology* 148(1-2): 4-14.
- Orfanidis S (1993) Temperature responses and distribution of several Mediterranean macroalgae belonging to different distribution groups. *Botanica Marina* 36: 359-370.
- Ralph PJ, Gademann R (2005) Rapid light curves: a powerful tool to assess photosynthetic activity. *Aquatic botany* 82(3): 222-237.
- Smetacek V, Zingone A. (2013) Green and golden seaweed tides on the rise. *Nature* 504(7478): 84-88.
- Stirbet A, Lazár D, Kromdijk J, Govindjee (2018) Chlorophyll a fluorescence induction: Can just a one-second measurement be used to quantify abiotic stress responses? – *Photosynthetica* 56: 86-104.
- Tsimilli-Michael M. (2020) Revisiting JIP-test: An educative review on concepts, assumptions, approximations, definitions and terminology. *Photosynthetica* 58: 275-292.
- Wang H, Wang G, Gu W (2020) Macroalgal blooms caused by marine nutrient changes resulting from human activities. *Journal of Applied Ecology* 57(4): 766-776.
- Zerveas S, Mente MS, Tsakiri D, Kotzabasis K (2021) Microalgal photosynthesis induces alkalization of aquatic environment as a result of H⁺ uptake independently from CO₂ concentration - New perspectives for environmental applications. *Journal of Environmental Management* 289:112546.