



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ»

Διδακτορική Διατριβή

**ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΓΙΑ
ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ Pb ΚΑΙ Cd ΑΠΟ ΡΥΠΑΣΜΕΝΑ ΕΔΑΦΗ**

ΜΑΝΟΥΣΑΚΗ ΕΛΕΝΗ

Επταμελής εξεταστική επιτροπή:

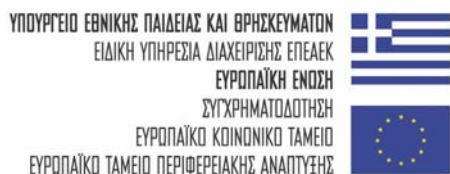
Καθηγητής Ν. Καλογεράκης (Επιβλέπων)
Επ. Καθηγήτρια Ε. Ψυλλάκη
Καθηγητής Ν. Καλλιθρακας-Κόντος
Αν. Καθηγητής Γ. Καραμπουρνιώτης
Καθηγητής Γ. Καρατζάς
Καθηγητής Κ. Κομνίτσας
Καθηγητής Ν. Νικολαΐδης

ΧΑΝΙΑ 2008

Στους γονείς μου και στον Μανόλη

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στα πλαίσια του
Διατμηματικού Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών
του τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος
του Πολυτεχνείου Κρήτης
στο εργαστήριο Βιοχημικών Διεργασιών και Περιβαλλοντικής Βιοτεχνολογίας
του Καθηγητή Ν. Καλογεράκη
κατά την διάρκεια των ετών 2003-08.

Η παρούσα διατριβή υλοποιήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος
ΕΠΕΑΕΚ II – ΗΡΑΚΛΕΙΤΟΣ, ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ ΕΡΕΥΝΑΣ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ
Τίτλος υποέργου: Χαρακτηρισμός Της Ικανότητας Μεσογειακών Φυτών Για Απομάκρυνση
Pb Και Cd Από Ρυπασμένα Εδάφη



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Καταρχάς, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Νικόλαο Καλογεράκη για τη συνεχή και εποικοδομητική καθοδήγηση και την άψογη συνεργασία μας καθ' όλη την διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής καθώς και για την πολύτιμη γνώση που μου προσέφερε απλόχερα. Επιπρόσθετα, τον ευχαριστώ για την οικονομική υποστήριξη που μου παρείχε όλα αυτά τα χρόνια.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής του Πολυτεχνείου Κρήτης, Επ. Καθηγήτρια Ε. Ψυλλάκη, Καθηγητή Ν. Καλλίθρακα-Κόντο, Καθηγητή κ. Γ. Καρατζά, Καθηγητή Κ. Κομνίτσα και Καθηγητή Ν. Νικολαΐδη για τη διάθεση των πολύτιμων γνώσεων τους στη διόρθωση και αξιολόγηση της παρούσης εργασίας. Επίσης ένα θερμό ευχαριστώ στον Αν. Καθηγητή κ. Γ. Καραμπουρνιώτη του Τμήματος Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών για την ευγενική διάθεση του να μελετήσει και να αξιολογήσει την παρούσα διατριβή καθώς και για τη διάθεση του πολύτιμου χρόνου του στη συμμετοχή στην εξέταση.

Ακόμα, ευχαριστώ το Μεσογειακό Αγρονομικό Ινστιτούτο Χανίων (ΜΑΙCh) για την φιλοξενία και την παραχώρηση του εργαστηριακού εξοπλισμού του για την πραγματοποίηση μέρους των πειραματικών αναλύσεων που έλαβαν χώρα στα πλαίσια στην παρούσας εργασίας. Ένα ιδιαίτερο ευχαριστώ στον κ. Γ. Ναξάκη για την πραγματοποίηση των αναλύσεων ICP-AES και τον κ. Ν. Παπαδαντωνάκη για την διάθεση του συστήματος ελέγχου της υγρασίας, αλλά και για τις υποδείξεις και τη γνώση που αποκόμισα εργαζόμενη μαζί τους.

Τέλος, ευχαριστώ όλο το προσωπικό του εργαστηρίου «Βιοχημικών Διεργασιών και Περιβαλλοντικής Βιοτεχνολογίας» για την απεριόριστα καλή συνεργασία μας όλα αυτά τα χρόνια.

Χανιά, 2008
Μανουσάκη Ελένη

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Φυτοεξυγίανση ή Φυτοαποκατάσταση είναι μια τεχνολογία αιχμής που περιλαμβάνει τη χρήση φυτών σε ρυπασμένο περιβάλλον (έδαφος, ιλύς, ιζήματα, υπόγεια και επιφανειακά νερά και απόβλητα) με στόχο την αποκατάσταση του. Θεωρητική και εφαρμοσμένη έρευνα έχει δείξει ότι επιλεγμένα είδη φυτών διαθέτουν το γενετικό δυναμικό για να απομακρύνουν, να αποδομήσουν, να μεταβολίσουν ή να ακινητοποιήσουν ένα μεγάλο αριθμό ρύπων.

Στην περίπτωση των βαρέων μετάλλων, των οποίων οι συγκεντρώσεις στα εδάφη και τα νερά έχουν αυξηθεί δραματικά λόγω της βιομηχανικής ανάπτυξης, η παραπάνω τεχνολογία βασίστηκε στην παρατήρηση ότι αρκετά είδη φυτών έχουν την ικανότητα να προσλαμβάνουν και να συσσωρεύουν στους ιστούς εξαιρετικά υψηλές συγκεντρώσεις ορισμένων βαρέων μετάλλων. Η ικανότητα αυτή των φυτών, έχει τραβήξει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας τις τελευταίες δεκαετίες και θεωρείται μια ελπιδοφόρα εναλλακτική μέθοδος αποκατάστασης εδαφών από βαρέα μέταλλα δεδομένου ότι αποτελεί μια χαμηλού κόστους «πράσινη» τεχνολογία η οποία προσφέρει τα οφέλη μιας τεχνικής in-situ και είναι εύκολα αποδεκτή από το ευρύ κοινό. Η επιτυχία της όμως, εξαρτάται πρωταρχικά από την αναγνώριση κατάλληλων φυτικών ειδών τα οποία μπορούν να αναπτύσσονται στα ρυπασμένα εδάφη και είτε να συσσωρεύουν ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στους υπέργειους ιστούς τους με στόχο την απομάκρυνση τους από την περιοχή (Φυτοσυσσώρευση), είτε να τα ακινητοποιούν στο περιβάλλον της ρίζας με στόχο την μείωση της κινητικότητας και βιοδιαθεσιμότητας τους στο έδαφος και επομένως του κινδύνου διασποράς τους (Φυτοσταθεροποίηση).

Στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, εξετάζεται η δυνατότητα αυτής της σημαντικά φιλικής προς το περιβάλλον τεχνολογίας αποκατάστασης εδαφών ρυπασμένων με μόλυβδο και κάδμιο, με στόχο όχι μόνο την συμβολή στην ανάπτυξη και βελτιστοποίηση αυτής της νέας μεθόδου αποκατάστασης, αλλά και την εξειδίκευση της έρευνας σε μεσογειακά φυτά με απώτερο σκοπό την προσαρμογή της τεχνικής για την επίλυση του προβλήματος της ρύπανσης από τοξικά μέταλλα στον ελληνικό χώρο αλλά και γενικότερα στην περιοχή της Μεσογείου με την χρήση ενδημικών φυτών. Επιλέχθηκαν και μελετήθηκαν τα μεσογειακά φυτά *Atriplex halimus* L. (αλιμιά), *Nerium oleander* L. (πικροδάφνη) και *Tamarix smyrnensis* Bunge (αρμυρίκι), στα οποία πραγματοποιήθηκαν πειράματα υδροπονικής καλλιέργειας και καλλιέργειας μεγάλης διάρκειας σε ρυπασμένο με τα μέταλλα έδαφος, για τον χαρακτηρισμό της ανθεκτικότητας τους στα μέταλλα και της δυνητικότητας τους για πρόσληψη, μεταφορά και συσσώρευση των υπό εξέταση μετάλλων, προκειμένου να διαπιστωθεί η τελική αποτελεσματικότητα τους ως μέσα εξυγίανσης. Συνοπτικά, τα πειραματικά αποτελέσματα έδειξαν ότι πρόκειται για τρία ανθεκτικά στα μέταλλα φυτά τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για σκοπούς φυτοσυσσώρευσης και/ή φυτοσταθεροποίησης εδαφών ρυπασμένων με μόλυβδο και κάδμιο. Επιπλέον, αυτή η διδακτορική διατριβή συμβάλει στην διερεύνηση των γνώσεων αυτού του νέου πεδίου βιολογικής απορρύπανσης και προτείνει μια νέα προσέγγιση φυτοεξυγίανσης την οποία ονομάσαμε «Φυτοέκκριση» για να υπογραμμίσουμε το γεγονός ότι πρόκειται για μια εναλλακτική τεχνική φυτοεξυγίανσης που αξίζει περαιτέρω διερεύνηση.

ABSTRACT

Phytoremediation is an emerging technology that employs the use of higher plants for the cleanup of contaminated environments (soil, sludge, sediment, ground water, surface water and wastewater). Fundamental and applied research has unequivocally demonstrated that selected plant species possess the genetic potential to remove, degrade, metabolize, or immobilize a wide range of contaminants.

In the case of heavy metals whose concentrations in the soil and water have accelerated dramatically during the last century as a result of global industrialization, the above technology was based on the observation that some plant species are able to uptake and accumulate in their tissues exceptionally high amounts of certain heavy metals. This technique has been highlighted as an alternative method to traditional methodologies for the removal of heavy metals from soils and is considered to be a promising green technology as it is a low cost method with the benefit of operating in situ. However the success of any phytoremediation technique depends upon the identification of suitable plant species that either hyperaccumulate heavy metals in their aerial tissues aiming at metal removal from the region (Phytoextraction), or immobilize the metal contaminants in the rhizosphere thus preventing dispersal of the metals and leachate generation (Phytostabilization).

This thesis is exploring the possibility of this environmentally friendly technique for the remediation of contaminated soils with lead and/or cadmium, aiming not only at the contribution in the development and optimization of this new bioremediation method, but also at the specialization of research in Mediterranean plants with final goal the fine tuning of the technique for the cleanup of metal contaminated soils in Greece and generally in the Mediterranean region, with the use of endemic plants. The Mediterranean plants which were studied are *Atriplex halimus* L. (Mediterranean saltbush), *Nerium oleander* L. (oleander) and *Tamarix smyrnensis* Bunge (saltcedar). Hydroponic and pot experiments were performed for the characterization of their metal tolerance and ability to receive, translocate and accumulate the metals, in order to explore their final effectiveness as cleanup tools. Concisely, the experimental results showed that all three plants are tolerant to lead and cadmium and can be used for phytoextraction and/or phytostabilization purposes. Furthermore, this doctoral thesis proposes a new approach of phytoremediation which we have called "Phytoexcretion" to emphasize the fact that it is an alternative phytoremediation process that should be further explored.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1ο. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....	1
1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	2
1.2. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....	3
2ο. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ	5
2.1. ΜΟΛΥΒΔΟΣ ΚΑΙ ΚΑΔΜΙΟ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ.....	6
2.1.1. Πηγές και μορφές στο έδαφος του μολύβδου και του καδμίου.....	7
2.1.2. Μόλυβδος και κάδμιο στον ελληνικό χώρο.....	8
2.1.3. Τεχνολογίες αποκατάστασης εδαφών ρυπασμένων με βαρέα μέταλλα.....	9
2.2. ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ.....	11
2.2.1. Ιστορική αναδρομή.....	11
2.2.2. Ορισμός και τύποι φυτοεξυγίανσης.....	12
2.2.3. Φυτοσυσσώρευση.....	15
2.2.3.1. Συνεχής ή Φυσική φυτοσυσσώρευση.....	20
2.2.3.2. Παρακινούμενη ή Χημικά υποβοηθούμενη φυτοσυσσώρευση.....	22
2.2.3.3. Παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη και συσσώρευση των μετάλλων στο φυτό	25
2.2.3.3.1. Είδος και οι συγκεντρώσεις του μετάλλου στο έδαφος.....	27
2.2.3.3.2. Εδαφικοί Παράγοντες.....	27
2.2.3.3.3. Παράγοντες που συσχετίζονται με το φυτό.....	31
2.2.3.4. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της φυτοσυσσώρευσης.....	33
2.2.3.5. Αποτίμηση της τεχνολογίας και σχεδιασμός συστημάτων φυτοσυσσώρευσης.....	34
2.2.4. Φυτοσταθεροποίηση.....	36
2.3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ	38
2.3.1. Καταπόνηση βαρέων μετάλλων.....	40
2.3.1.1. Τοξικότητα μολύβδου και καδμίου στα φυτά.....	40
2.3.1.2. Προσαρμογή των φυτών στην καταπόνηση από τα βαρέα μέταλλα	43
2.3.2. Καταπόνηση αλατότητας.....	49
2.3.2.1. Τοξικότητα αλατότητας στα φυτά	49
2.3.2.2. Προσαρμογή των φυτών στην καταπόνηση από την αλατότητα	50
2.3.2.3. Έκκριση μετάλλων από τα φύλλα των φυτών	54
2.3.3. Οξειδωτική καταπόνηση.....	56
2.3.3.1. Αντιοξειδωτικός μηχανισμός	57
3ο. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΥΠΟ ΕΞΕΤΑΣΗ ΦΥΤΩΝ	59
3.1. ΦΥΤΟ: ATRIPLEX HALIMUS L. (ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ: CHENOPODIACEAE)	60
3.2. ΦΥΤΟ: NERIUM OLEANDER L. (ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ: APOCYNACEAE).....	61
3.3. ΦΥΤΟ: TAMARIX SMYRNENSIS BUNGE (ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ: TAMARICACEAE).....	63
4ο. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	66
4.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	67
4.1.1. Προετοιμασία φυτών.....	67
4.1.1.1. Συλλογή εμφυτευμάτων	67
4.1.1.2. Πολλαπλασιασμός των φυτών	67
4.1.1.3. Καλλιέργεια και προσαρμογή	68
4.1.2. Κύρια πειραματική διαδικασία - Έκθεση των φυτών στα μέταλλα.....	69
4.1.3. Πειραματικές μετρήσεις - μέθοδοι.....	69
4.1.3.1. Μετρήσεις στα φυτά	69
4.1.3.1.1. Παρατήρηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών και προσδιορισμός των παραμέτρων αύξησης.....	69
4.1.3.1.2. Προσδιορισμός χλωροφύλλης.....	70
4.1.3.1.3. Προσδιορισμός πρωτεϊνών.....	70
4.1.3.1.4. Προσδιορισμός της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης.....	71

4.1.3.1.5. Προσδιορισμός συγκέντρωσης Pb και Cd στο φυτικό ιστό.....	71
4.1.3.1.6. Προσδιορισμός της ποσότητας Pb και Cd που εκκρίνεται στην επιφάνεια φύλλων.....	71
4.1.3.1.7. Προσδιορισμός της ποσότητας Pb και Cd στα δείγματα χαρτιού κατά τον προσδιορισμό του ρυθμού έκκρισης των μετάλλων από τα φύλλα.....	72
4.1.3.1.8. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης του Pb και του Cd στα υδροπονικά διαλύματα.....	72
4.1.3.2. Μετρήσεις στο έδαφος.....	72
4.1.3.2.1. Δειγματοληψία και χειρισμός των δειγμάτων εδάφους.....	72
4.1.3.2.2. Προσδιορισμός του pH.....	74
4.1.3.2.3. Προσδιορισμός ηλεκτρικής αγωγιμότητας.....	74
4.1.3.2.4. Προσδιορισμός ολικού ανθρακικού ασβεστίου.....	74
4.1.3.2.5. Προσδιορισμός οργανικής ουσίας.....	74
4.1.3.2.6. Προσδιορισμός φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων Pb και Cd στο έδαφος.....	75
4.1.3.2.7. Προσδιορισμός ολικών συγκεντρώσεων Pb και Cd στο έδαφος.....	75
4.2. ΕΠΙΛΟΓΗ ΦΥΤΩΝ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ.....	76
4.2.1. Επιλογή φυτών για σκοπούς αποκατάστασης εδαφών ρυπασμένων με μέταλλα.....	76
4.2.1.1. Επιλογή φυτών με ταχεία ανάπτυξη και υψηλή παραγωγικότητα.....	76
4.2.1.2. Επιλογή ανθεκτικών στην αλατότητα φυτών.....	77
4.2.1.3. Επιλογή των συγκεκριμένων Μεσογειακών φυτών για διερεύνηση της ικανότητας τους για απομάκρυνση Pb και Cd από εδάφη.....	78
4.2.1.3.1. <i>Atriplex halimus</i> L.....	78
4.2.1.3.2. <i>Nerium oleander</i> L.....	79
4.2.1.3.3. <i>Tamarix smyrnensis</i> Bunge.....	79
4.2.2. Επιλογή συγκεκριμένων πειραματικών συνθηκών.....	80
4.2.2.1. Επιλογή διεξαγωγής περαμάτων υδροπονικής καλλιέργειας και καλλιέργειας σε ρυπασμένο έδαφος.....	80
4.2.2.2. Επιλογή ηλικίας φυτών για την διεξαγωγή των πειραμάτων.....	80
4.2.2.3. Επιλογή τρόπου ρύπανσης των εδαφών με τα μέταλλα.....	81
4.2.2.4. Επιλογή συνθηκών εδαφικής αλατότητας.....	81
4.2.2.5. Επιλογή διεξαγωγής πειραμάτων με ρύπανση του μέσου καλλιέργειας με μείγμα των μετάλλων.....	82
5ο. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	83
5.1. ΥΠΟ ΕΞΕΤΑΣΗ ΦΥΤΟ: <i>ATRIPLEX HALIMUS</i> L.....	84
5.1.1. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Cd.....	84
5.1.1.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	84
5.1.1.2. Χαρακτηρισμός εδάφους.....	85
5.1.1.3. Συσσώρευση καδμίου στο φυτικό ιστό.....	89
5.1.1.4. Επίδραση του καδμίου στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	94
5.1.1.5. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού.....	97
5.1.2. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	101
5.1.2.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	101
5.1.2.2. Χαρακτηρισμός εδάφους.....	102
5.1.2.3. Συσσώρευση καδμίου στο φυτικό ιστό.....	104
5.1.2.4. Επίδραση του καδμίου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	106
5.1.2.5. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού.....	110
5.1.3. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb.....	114
5.1.3.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	114
5.1.3.2. Χαρακτηρισμός εδάφους.....	115
5.1.3.3. Συσσώρευση μολύβδου στο φυτικό ιστό.....	117
5.1.3.4. Επίδραση του μολύβδου στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	120
5.1.3.5. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού.....	123
5.1.4. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	126
5.1.4.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	126
5.1.4.2. Χαρακτηρισμός εδάφους.....	127

5.1.4.3. Συσσωρευση μολύβδου στο φυτικό ιστό.....	129
5.1.4.4. Επίδραση του μολύβδου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	131
5.1.4.5. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού.....	135
5.1.5. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Cd και Pb.....	138
5.1.5.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	138
5.1.5.2. Χαρακτηρισμός εδάφους.....	139
5.1.5.3. Συσσωρευση μετάλλων στο φυτικό ιστό.....	141
5.1.5.3.1. Κάδμιο.....	141
5.1.5.3.2. Μόλυβδος.....	143
5.1.5.3.3. Αλληλεπίδραση του Pb και του Cd στην αμοιβαία συσσωρευση τους.....	144
5.1.5.4. Επίδραση των μετάλλων στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	146
5.1.5.5. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού.....	149
5.1.6. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd και 800 ppm Pd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	152
5.1.6.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	152
5.1.6.2. Χαρακτηρισμός εδάφους.....	153
5.1.6.3. Συσσωρευση μετάλλων στο φυτικό ιστό.....	155
5.1.6.3.1. Κάδμιο.....	155
5.1.6.3.2. Μόλυβδος.....	157
5.1.6.3.3. Αλληλεπίδραση του Pb και του Cd στην αμοιβαία συσσωρευση τους.....	159
5.1.6.4. Επίδραση των μετάλλων και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	160
5.1.6.5. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού.....	164
5.1.7. Συνοπτικά αποτελέσματα για το φυτό <i>Atriplex halimus</i>	167
5.2. ΥΠΟ ΕΞΕΤΑΣΗ ΦΥΤΟ: <i>NERIUM OLEANDER</i> L.....	170
5.2.1. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb.....	170
5.2.1.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	170
5.2.1.2. Συσσωρευση μολύβδου στο φυτικό ιστό.....	171
5.2.1.3. Επίδραση του μολύβδου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	175
5.2.1.4. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού.....	178
5.2.2. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	181
5.2.2.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	181
5.2.2.2. Συσσωρευση μολύβδου στο φυτικό ιστό.....	182
5.2.2.3. Επίδραση του μολύβδου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	184
5.2.2.4. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού.....	186
5.2.3. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	189
5.2.3.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	189
5.2.3.2. Συσσωρευση καδμίου στο φυτικό ιστό.....	190
5.2.3.3. Επίδραση του καδμίου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	192
5.2.3.4. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού.....	193
5.2.4. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	196
5.2.4.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	196
5.2.4.2. Συσσωρευση μετάλλων στο φυτικό ιστό.....	197
5.2.4.2.1. Μόλυβδος.....	197
5.2.4.2.2. Κάδμιο.....	198
5.2.4.2.3. Αλληλεπίδραση του Pb και του Cd στην αμοιβαία συσσωρευση τους.....	199
5.2.4.3. Επίδραση των μετάλλων και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	201
5.2.4.4. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού.....	203

5.2.5. Συνοπτικά αποτελέσματα για το φυτό <i>Nerium oleander</i>	206
5.3. ΥΠΟ ΕΞΕΤΑΣΗ ΦΥΤΟ: <i>TAMARIX SMYRNENSIS</i> BUNGE.....	208
5.3.1. Υδροπονική καλλιέργεια φυτού με έκθεση σε 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες.....	208
5.3.1.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	208
5.3.1.2. Συσσώρευση μολύβδου στο φυτικό ιστό.....	209
5.3.1.3. Επίδραση του μολύβδου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	213
5.3.2. Υδροπονική καλλιέργεια φυτού με έκθεση σε 5 ppm Cd σε διαφορετικές αλατότητες.....	217
5.3.2.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	217
5.3.2.2. Συσσώρευση καδμίου στο φυτικό ιστό.....	218
5.3.2.3. Επίδραση του καδμίου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	222
5.3.3. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	224
5.3.3.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	224
5.3.3.2. Συσσώρευση καδμίου στο φυτικό ιστό.....	225
5.3.3.3. Έκκριση καδμίου από τα φύλλα του <i>T. smyrnensis</i>	227
5.3.3.4. Επίδραση του καδμίου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	229
5.3.4. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	232
5.3.4.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	232
5.3.4.2. Συσσώρευση μετάλλων στο φυτικό ιστό.....	233
5.3.4.2.1. Μόλυβδος.....	233
5.3.4.2.2. Κάδμιο.....	235
5.3.4.2.3. Αλληλεπίδραση του Pb και του Cd στην αμοιβαία συσσώρευση τους.....	237
5.3.4.3. Έκκριση μολύβδου και καδμίου από τα φύλλα του <i>T. smyrnensis</i>	239
5.3.4.4. Επίδραση των μετάλλων και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού.....	241
5.3.5. Υδροπονική καλλιέργεια φυτού με έκθεση σε 100 ppm Pb και 5 ppm Cd.....	244
5.3.5.1. Πειραματικός σχεδιασμός.....	244
5.3.5.2. Αποτελέσματα και συζήτηση.....	245
5.3.6. Συνοπτικά αποτελέσματα για το <i>Tamarix smyrnensis</i>	248
6ο. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΕΔΑΦΩΝ	250
6.1. ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ ΓΙΑ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΡΥΠΑΣΜΕΝΩΝ ΜΕ ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ ΕΔΑΦΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΦΥΤΩΝ	251
6.2. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΕΔΑΦΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ <i>ATRIPLEX HALIMUS</i> L.	252
6.3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΕΔΑΦΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ <i>NERIUM OLEANDER</i> L.	253
6.4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΕΔΑΦΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ <i>TAMARIX SMYRNENSIS</i> BUNGE	255
6.5. ΦΥΤΟΕΚΚΡΙΣΗ - ΜΙΑ ΝΕΑ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ.....	256
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	259
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι: ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΕΣ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ	278
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ: ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΚΑΙ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ.....	284

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Κεφάλαιο 2ο

Πίνακας 2.1. Παγκόσμια παραγωγή μετάλλων και οι ποσότητες που μετρήθηκαν στο έδαφος.	6
Πίνακας 2.2. Εύρος συγκεντρώσεων και οριακές τιμές στο έδαφος ορισμένων μετάλλων	8
Πίνακας 2.3. Τεχνολογίες αποκατάστασης εδαφών από βαρέα μέταλλα.	10
Πίνακας 2.4. Τύποι και διεργασίες που περιλαμβάνονται στην Φυτοεξυγίανση.	14
Πίνακας 2.5. Αριθμός υπερσυσσωρευτών ορισμένων μετάλλων.	18
Πίνακας 2.6. Παραδείγματα υπερσυσσωρευτών.	18
Πίνακας 2.7. Κύρια χαρακτηριστικά των δύο στρατηγικών της φυτοσυσσώρευσης.	21
Πίνακας 2.8. Παράγοντες που επηρεάζουν την συμπεριφορά και την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος.	26
Πίνακας 2.9. Παράγοντες καταπόνησης των φυτών.	39
Πίνακας 2.10. Συγκεντρώσεις μετάλλων στο έδαφος και στα φυτά.	42
Πίνακας 2.11. Πιθανή βλάβη μιας καλλιέργειας από τις αυξανόμενες συγκεντρώσεις αλάτων.	49

Κεφάλαιο 4ο

Πίνακας 4.1. Περίοδος προσαρμογής των φυτών μέχρι την έναρξη των πειραμάτων.	68
--	----

Κεφάλαιο 5ο

Πίνακας 5.1. Πειραματικός σχεδιασμός.	84
Πίνακας 5.2. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	85
Πίνακας 5.3. Χαρακτηρισμός του εδάφους.	86
Πίνακας 5.4. Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i> στο <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους.	95
Πίνακας 5.5. Πειραματικός σχεδιασμός.	101
Πίνακας 5.6. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	102
Πίνακας 5.7. Χαρακτηρισμός του εδάφους.	103
Πίνακας 5.8. Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i> στο <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	108
Πίνακας 5.9. Πειραματικός σχεδιασμός.	114
Πίνακας 5.10. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	115
Πίνακας 5.11. Χαρακτηρισμός του εδάφους.	116
Πίνακας 5.12. Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i> στο <i>A. halimus</i> σε καλλιέργεια εδάφους ρυπασμένου με 800, 1600 και 3200 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους.	121
Πίνακας 5.13. Πειραματικός σχεδιασμός.	126
Πίνακας 5.14. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	127
Πίνακας 5.15. Χαρακτηρισμός του εδάφους.	128
Πίνακας 5.16. Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i> στο <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	133
Πίνακας 5.17. Πειραματικός σχεδιασμός.	138
Πίνακας 5.18. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	139
Πίνακας 5.19. Χαρακτηρισμός του εδάφους.	140
Πίνακας 5.20. Συγκέντρωση Cd στις ρίζες και τα υπέργεια τμήματα του <i>A. halimus</i> . Σύγκριση πειραμάτων με ρύπανση μόνο με Cd και με μείγμα Pb και Cd.	145
Πίνακας 5.21. Συγκέντρωση Pb στις ρίζες και τα υπέργεια τμήματα του <i>A. halimus</i> . Σύγκριση πειραμάτων με ρύπανση μόνο με Pb και με μείγμα Pb και Cd.	146
Πίνακας 5.22. Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i> στο <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd.	147
Πίνακας 5.23. Πειραματικός σχεδιασμός.	152
Πίνακας 5.24. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	153
Πίνακας 5.25. Χαρακτηρισμός του εδάφους.	154

Πίνακας 5.26. Συγκέντρωση Cd και Pb στις ρίζες και τα υπέργεια τμήματα του <i>A. halimus</i> . Σύγκριση πειραμάτων με ρύπανση μόνο με Cd, μόνο με Pb και με μείγμα Pb και Cd.	160
Πίνακας 5.27. Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i> στο <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	162
Πίνακας 5.28. Πειραματικός σχεδιασμός.	170
Πίνακας 5.29. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	171
Πίνακας 5.30. Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i> στο <i>N. oleander</i> σε καλλιέργεια εδάφους ρυπασμένου με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους.	176
Πίνακας 5.31. Πειραματικός σχεδιασμός.	181
Πίνακας 5.32. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	182
Πίνακας 5.33. Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i> στο <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	185
Πίνακας 5.34. Πειραματικός σχεδιασμός.	189
Πίνακας 5.35. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	190
Πίνακας 5.36. Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i> στο <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	192
Πίνακας 5.37. Πειραματικός σχεδιασμός.	196
Πίνακας 5.38. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	197
Πίνακας 5.39. Συγκέντρωση Cd και Pd στις ρίζες και τα υπέργεια τμήματα του <i>Nerium oleander</i> . Σύγκριση πειραμάτων με ρύπανση μόνο με Cd, μόνο με Pb και με μείγμα Pb και Cd.	200
Πίνακας 5.40. Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i> στο <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	202
Πίνακας 5.41. Πειραματικός σχεδιασμός.	208
Πίνακας 5.42. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	209
Πίνακας 5.43. Πειραματικός σχεδιασμός.	217
Πίνακας 5.44. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	218
Πίνακας 5.45. Πειραματικός σχεδιασμός.	224
Πίνακας 5.46. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	225
Πίνακας 5.47. Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i> στο <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	230
Πίνακας 5.48. Πειραματικός σχεδιασμός.	232
Πίνακας 5.49. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.	233
Πίνακας 5.50. Συγκέντρωση Cd στις ρίζες και τα υπέργεια τμήματα του <i>T. smyrnensis</i> Σύγκριση πειραμάτων με ρύπανση μόνο με Cd και με μείγμα Pb και Cd.	238
Πίνακας 5.51. Συγκέντρωση Pb στις ρίζες και τα υπέργεια τμήματα του <i>T. smyrnensis</i> . Σύγκριση πειραμάτων με ρύπανση μόνο με Pb και με μείγμα Pb και Cd.	239
Πίνακας 5.52. Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i> στο <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	243
Πίνακας 5.53. Συσσώρευση των μετάλλων στα υπέργεια τμήματα των φυτών στο υδροπονικό πείραμα και στο πείραμα πεδίου.	245

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Κεφάλαιο 2ο

Σχήμα 2.1. Τύποι Φυτοεξυγίανσης.	13
Σχήμα 2.2. Εφαρμογές Φυτοεξυγίανσης.	15
Σχήμα 2.3. Σχηματική απεικόνιση της Φυτοσυσσώρευσης.	16
Σχήμα 2.4. Η σχέση μεταξύ των συγκεντρώσεων του μετάλλου στο έδαφος και στο υπέργειο τμήμα των μη-συσσωρευτών και των υπερσυσσωρευτών.	17
Σχήμα 2.5. Σχηματική απεικόνιση της Χημικά υποβοηθούμενης φυτοσυσσώρευσης.	23
Σχήμα 2.6. Αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυτού, βαρέων μετάλλων και εδάφους.	26
Σχήμα 2.7. Σχηματικό διάγραμμα που παρουσιάζει τον μηχανισμό απελευθέρωσης των μετάλλων παρουσία συμπλεκτικών εκκρίσεων της ρίζας.	32
Σχήμα 2.8. Πρωταρχικά στάδια για την επιλογή της φυτοσυσσώρευσης.	35
Σχήμα 2.9. Διεργασίες που εμπλέκονται στην φυτοσταθεροποίηση ρυπασμένων εδαφών.	36
Σχήμα 2.10. Τα βέλτιστα όρια ανάπτυξης ενός φυτικού οργανισμού και η εμφάνιση συμπτωμάτων καταπόνησης όταν αυξάνεται ή ελαττώνεται η ένταση του παράγοντα καταπόνησης.	39
Σχήμα 2.11. Τρόποι δράσης των τοξικών ιόντων στα φυτά.	41
Σχήμα 2.12. Στρατηγικές των φυτών για την αντιμετώπιση των υψηλών συγκεντρώσεων μετάλλων στο έδαφος.	44
Σχήμα 2.13. Οι πιθανοί μηχανισμοί που συνεισφέρουν στην ανθεκτικότητα και αποτοξίνωση των μετάλλων στα φυτά.	45
Σχήμα 2.14. Α. Θεμελιώδης δομή των φυτοχηλατινών. Β. Σύμπλοκο Cd-φυτοχηλατινών.	46
Σχήμα 2.15. Λειτουργία των φυτοχηλατινών.	47
Σχήμα 2.16. Οι διεργασίες που συμμετέχουν στην υπερσυσσώρευση των μετάλλων στα φυτά.	48
Σχήμα 2.17. Η αύξηση σε σχέση με την εδαφική αλατότητα για τρεις κατηγορίες φυτών.	51
Σχήμα 2.18. (Α) Αλατώδης αδέννας στα φύλλα των δέντρων <i>Tamarix</i> . (Β) Εγκάρσια τομή φύλλου του φυτού <i>A. spongiosa</i> με τις αλατώδεις κύστες.	52

Κεφάλαιο 3ο

Σχήμα 3.1. Χημική δομή της ολεανδρίνης που υπάρχει στους ιστούς της πικροδάφνης.	63
--	----

Κεφάλαιο 5ο

Σχήμα 5.1. Συγκέντρωση Cd στα τμήματα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd.	90
Σχήμα 5.2. Συνολικό ποσό Cd στα φυτικά μέρη του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd.	91
Σχήμα 5.3. Περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd.	95
Σχήμα 5.4. Βιομάζα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd.	96
Σχήμα 5.5. Περιεχόμενο σε νερό του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd.	97
Σχήμα 5.6. Περιεχόμενη πρωτεΐνη στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd.	98
Σχήμα 5.7. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd.	100
Σχήμα 5.8. Συγκέντρωση Cd στα τμήματα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	105
Σχήμα 5.9. Συνολικό ποσό Cd στα φυτικά μέρη του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	105
Σχήμα 5.10. Ποσοστό φυτών <i>A. halimus</i> που επιβίωσαν σε καλλιέργεια εδάφους ρυπασμένου με 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	107

Σχήμα 5.11. Περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	108
Σχήμα 5.12. Βιομάζα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	109
Σχήμα 5.13. Περιεχόμενο σε νερό του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	110
Σχήμα 5.14. Περιεχόμενη πρωτεΐνη στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	111
Σχήμα 5.15. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd σε διαφορετικές αλατότητες.	112
Σχήμα 5.16. Συγκέντρωση Pb στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα των φυτών <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb.	117
Σχήμα 5.17. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb.	118
Σχήμα 5.18. Περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb.	121
Σχήμα 5.19. Βιομάζα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb.	122
Σχήμα 5.20. Περιεχόμενο σε νερό του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb.	123
Σχήμα 5.21. Περιεχόμενη πρωτεΐνη στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb.	124
Σχήμα 5.22. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb.....	125
Σχήμα 5.23. Συγκέντρωση Pb στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα των φυτών <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	129
Σχήμα 5.24. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες.	130
Σχήμα 5.25. Ποσοστό φυτών <i>A. halimus</i> που επιβίωσαν σε καλλιέργεια εδάφους ρυπασμένου με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες για 10 εβδομάδες.	132
Σχήμα 5.26. Περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	132
Σχήμα 5.27. Βιομάζα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	133
Σχήμα 5.28. Περιεχόμενο σε νερό του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	134
Σχήμα 5.29. Περιεχόμενη πρωτεΐνη στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	135
Σχήμα 5.30. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες.....	136
Σχήμα 5.31. Συγκέντρωση Cd στα τμήματα του φυτού <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd.....	141
Σχήμα 5.32. Συνολικό ποσό Cd στα φυτικά μέρη του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd.....	142
Σχήμα 5.33. Συγκέντρωση Pb στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα των φυτών <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd.	143
Σχήμα 5.34. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd.....	144
Σχήμα 5.35. Περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd.....	147
Σχήμα 5.36. Περιεχόμενο σε νερό του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd.	148

Σχήμα 5.37. Βιομάζα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd.....	148
Σχήμα 5.38. Περιεχόμενη πρωτεΐνη στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd.....	149
Σχήμα 5.39. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουσϊακόλλης στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd.	150
Σχήμα 5.40. Συγκέντρωση Cd στα τμήματα του φυτού <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	156
Σχήμα 5.41. Συνολικό ποσό Cd στα φυτικά μέρη του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	157
Σχήμα 5.42. Συγκέντρωση Pb στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	158
Σχήμα 5.43. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	158
Σχήμα 5.44. Ποσοστό φυτών <i>A. halimus</i> που επιβίωσαν σε καλλιέργεια εδάφους ρυπασμένου με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες για 10 εβδομάδες.....	161
Σχήμα 5.45. Περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	162
Σχήμα 5.46. Περιεχόμενο σε νερό του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	163
Σχήμα 5.47. Βιομάζα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	164
Σχήμα 5.48. Περιεχόμενη πρωτεΐνη στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	165
Σχήμα 5.49. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουσϊακόλλης στα φύλλα του <i>A. halimus</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	166
Σχήμα 5.50. Συγκέντρωση Pb στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα των φυτών <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb.	172
Σχήμα 5.51. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb.	173
Σχήμα 5.52. Συγκέντρωση Pb στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα των φυτών <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb με εδαφική αλατότητα 0,5%.....	174
Σχήμα 5.53. Συγκέντρωση Pb στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα των φυτών <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb. Σύγκριση μεταξύ επεμβάσεων με διαφορετική εδαφική αλατότητα.....	174
Σχήμα 5.54. Περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb.	175
Σχήμα 5.55. Μέση αύξηση του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb.	176
Σχήμα 5.56. Βιομάζα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb.....	177
Σχήμα 5.57. Συνολική βιομάζα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	177
Σχήμα 5.58. Περιεχόμενη πρωτεΐνη στα φύλλα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb.	178
Σχήμα 5.59. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουσϊακόλλης στα φύλλα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb.....	179
Σχήμα 5.60. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουσϊακόλλης στα φύλλα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	180

Σχήμα 5.61. Συγκέντρωση Pb στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. ..	183
Σχήμα 5.62. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	183
Σχήμα 5.63. Περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	184
Σχήμα 5.64. Βιομάζα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	185
Σχήμα 5.65. Περιεχόμενη πρωτεΐνη στα φύλλα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	186
Σχήμα 5.66. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες.	187
Σχήμα 5.67. Συγκέντρωση Cd στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	191
Σχήμα 5.68. Βιομάζα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	193
Σχήμα 5.69. Περιεχόμενη πρωτεΐνη στα φύλλα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	194
Σχήμα 5.70. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 40 ppm Cd σε διαφορετικές αλατότητες.	195
Σχήμα 5.71. Συγκέντρωση Pb στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	198
Σχήμα 5.72. Συγκέντρωση Cd στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	199
Σχήμα 5.73. Περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	201
Σχήμα 5.74. Βιομάζα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	202
Σχήμα 5.75. Περιεχόμενη πρωτεΐνη στα φύλλα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.....	203
Σχήμα 5.76. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του <i>N. oleander</i> που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	204
Σχήμα 5.77. (Α) Ποσοστό φυτών <i>T. smyrnensis</i> που επιβίωσαν για 10 ημέρες σε υδροπονία με 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες. (Β) Συγκέντρωση Pb στο υπέργειο τμήμα.	210
Σχήμα 5.78. Το συνολικό ποσό του Pb στο υπέργειο τμήμα του <i>T. smyrnensis</i> σε υδροπονική καλλιέργεια με 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες.....	211
Σχήμα 5.79. Συγκέντρωση του Pb στις ρίζες του <i>T. smyrnensis</i> σε υδροπονική καλλιέργεια με 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες.....	212
Σχήμα 5.80. Μείωση της συγκέντρωσης του Pb στο θρεπτικό διάλυμα.	213
Σχήμα 5.81. Περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του <i>T. smyrnensis</i> σε υδροπονική καλλιέργεια με 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες.	215
Σχήμα 5.82. Βιομάζα του <i>T. smyrnensis</i> σε υδροπονική καλλιέργεια με 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες.	215
Σχήμα 5.83. Περιεχόμενο σε νερό του <i>T. smyrnensis</i> σε υδροπονική καλλιέργεια με 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες.	216
Σχήμα 5.84. (Α) Ποσοστό φυτών <i>T. smyrnensis</i> που επιβίωσαν για 10 ημέρες σε υδροπονία με 5 ppm Cd σε διαφορετικές αλατότητες. (Β) Συγκέντρωση Cd στο υπέργειο τμήμα.	219
Σχήμα 5.85. Το συνολικό ποσό του Cd στο υπέργειο τμήμα του <i>T. smyrnensis</i> σε υδροπονική καλλιέργεια με 5 ppm Cd σε διαφορετικές αλατότητες.	220

Σχήμα 5.86. Συγκέντρωση του Cd στις ρίζες του <i>T. smyrnensis</i> σε υδροπονική καλλιέργεια με 5 ppm Cd σε διαφορετικές αλατότητες.	221
Σχήμα 5.87. Μείωση της συγκέντρωσης του Cd στο θρεπτικό διάλυμα.	222
Σχήμα 5.88. Βιομάζα του <i>T. smyrnensis</i> σε υδροπονική καλλιέργεια με 5 ppm Cd σε διαφορετικές αλατότητες.	223
Σχήμα 5.89. Συγκέντρωση Cd στα φυτικά μέρη του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	226
Σχήμα 5.90. Συνολικό ποσό Cd στα φυτικά μέρη του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε με 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	226
Σχήμα 5.91. Έκκριση Cd από τον ιστό των φύλλων του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	229
Σχήμα 5.92. Περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	230
Σχήμα 5.93. Μέση αύξηση του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	231
Σχήμα 5.94. Βιομάζα του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	231
Σχήμα 5.95. Συγκέντρωση Pb στα φυτικά μέρη του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	234
Σχήμα 5.96. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd σε διαφορετικές αλατότητες.	235
Σχήμα 5.97. Συγκέντρωση Cd στα φυτικά μέρη του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	236
Σχήμα 5.98. Συνολικό ποσό Cd στα φυτικά μέρη του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	237
Σχήμα 5.99. Έκκριση Pb και Cd από τον ιστό των φύλλων του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	240
Σχήμα 5.100. Μέση αύξηση του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	242
Σχήμα 5.101. Βιομάζα του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	242
Σχήμα 5.102. Περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.	243
Σχήμα 5.103. Έκκριση Pb από τον ιστό των φύλλων του <i>T. smyrnensis</i> που καλλιεργήθηκε σε υδροπονική καλλιέργεια με 100 ppm Pb και 5 ppm Cd.	246
Σχήμα 5.104. Μείωση της συγκέντρωσης του Pb στο θρεπτικό διάλυμα.	246

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Κεφάλαιο 3ο

Εικόνα 3.1. <i>Atriplex halimus</i> L.	60
Εικόνα 3.2. <i>Nerium oleander</i> L.	62
Εικόνα 3.3. <i>Tamarix smyrnensis</i> Bunge.....	64

Κεφάλαιο 5ο

Εικόνα 5.1. Φωτογραφία του υπέργειου τμήματος του φυτού <i>A. halimus</i> κατά την διάρκεια του πειράματος.	93
Εικόνα 5.2. Εμφάνιση των φυτών <i>N. oleander</i> μετά από 8 εβδομάδες σε έκθεση σε εδαφική αλατότητα 3%.....	184
Εικόνα 5.3. Εγκάρσια τομή φύλλου του <i>T. smyrnensis</i> με τον εξειδικευμένο αλατώδη αδένα..	228
Εικόνα 5.4. Σταγονίδια και κρύσταλλοι άλατος στα κλαδιά του <i>T. smyrnensis</i>	240

1ο. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ρύπανση του περιβάλλοντος με βαρέα μέταλλα είναι ένα σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα που απαιτεί την άμεση προσοχή μας. Ως αποτέλεσμα της παγκόσμιας βιομηχανικής ανάπτυξης, η ρύπανση του εδάφους με τοξικά μέταλλα όπως το κάδμιο και ο μόλυβδος, έχει επιταχυνθεί εντυπωσιακά. Ο καθαρισμός, λοιπόν, των ρυπασμένων περιοχών είναι απαραίτητος προκειμένου να αποκατασταθούν αυτά τα εδάφη και να ελαχιστοποιηθεί η ενδεχόμενη είσοδος των τοξικών στοιχείων στην τροφική αλυσίδα.

Η αποκατάσταση των ρυπασμένων με μέταλλα εδαφών όμως, αντιμετωπίζει μια ιδιαίτερη πρόκληση. Αντίθετα από τους οργανικούς ρύπους, τα μέταλλα δεν μπορούν να αποδομηθούν, κατά συνέπεια η αποκατάσταση ρυπασμένων με μέταλλα εδαφών απαιτεί την αφαίρεση τους από το έδαφος. Οι συμβατικές τεχνολογίες αποκατάστασης εδαφών από βαρέα μέταλλα όπως η απομόνωση και συγκράτηση, ο μηχανικός διαχωρισμός, η χημική επεξεργασία ή η έκπλυση του εδάφους ενώ έχουν αποδειχτεί να είναι αποδοτικές για μικρές περιοχές, απαιτούν ειδικό εξοπλισμό και εντατική εργασία. Επιπλέον, αυτές οι τεχνικές είναι όχι μόνο δαπανηρές, αλλά προκαλούν και εδαφολογικές διαταραχές αφού καταστρέφουν την δομή του εδάφους και το αφήνουν βιολογικά ανενεργό, και επιπρόσθετα δεν γίνονται εύκολα αποδεκτές από το ευρύ κοινό.

Η παρατήρηση ότι αρκετά είδη φυτών από διάφορες φυτικές οικογένειες όχι μόνο ανέχονται εξαιρετικά υψηλές συγκεντρώσεις ορισμένων βαρέων μετάλλων στο έδαφος, αλλά και τα προσλαμβάνουν και τα συσσωρεύουν στους ιστούς, οδήγησε τις τελευταίες δεκαετίες στην ανάπτυξη μιας εναλλακτική τεχνολογίας καθαρισμού των εδαφών από τα βαρέα μέταλλα η οποία στηρίζεται στην χρήση φυτών για να απομάκρυνση των τοξικών μετάλλων από τα εδάφη. Η τεχνική αυτή, έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας και θεωρείται μια ελπιδοφόρα μέθοδος, δεδομένου ότι αποτελεί μια χαμηλού κόστους «πράσινη» τεχνολογία που προσφέρει τα οφέλη μιας τεχνικής in-situ, είναι περιβαλλοντικά βιώσιμη δεδομένου ότι το έδαφος που προκύπτει δεν χαρακτηρίζεται από μείωση της εδαφολογικής του γονιμότητας όπως στις παραδοσιακές τεχνικές και επιπλέον είναι μια περιβαλλοντικά φιλική και κατά συνέπεια εύκολα αποδεκτή από το ευρύ κοινό μέθοδος.

Παρά τις τεράστιες δυνατότητες και προοπτικές, η φυτοεξυγίανση δεν αποτελεί ακόμα εμπορική τεχνολογία. Η πρόοδος στον τομέα περιορίζεται από την ελλιπή γνώση των βασικών μηχανισμών εξυγίανσης των φυτών. Επιπλέον, η επίδραση των αγρονομικών πρακτικών στους μηχανισμούς αυτούς δεν έχει γίνει πλήρως κατανοητή. Ένας δεύτερος και ιδιαίτερα σημαντικός περιορισμός πηγάζει από την ίδια την βιολογική φύση της νέας προσέγγισης. Για παράδειγμα, η δυνατότητα για φυτοεξυγίανση εξαρτάται από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του εδάφους, των ρύπων, των μικροοργανισμών και των φυτών. Η σύνθετη αυτή αλληλεπίδραση εξαρτάται επίσης από διάφορους εξωγενείς παράγοντες όπως οι κλιματικές συνθήκες, οι εδαφικές ιδιότητες και η υδρογεωλογία της περιοχής, γεγονός που δεν επιτρέπει τη δημιουργία γενικών μοντέλων και γενικευμένων προτάσεων φυτοεξυγίανσης, αλλά ευνοεί τις εφαρμογές σε συγκεκριμένες περιοχές. Κατά συνέπεια, η κατανόηση των βασικών μηχανισμών των φυτών και η επίδραση των αγρονομικών πρακτικών στην σχέση φυτό/έδαφος/ρύπος, θα επέτρεπαν την βελτιστοποίηση της τεχνολογίας και την προσαρμογή της στις εκάστοτε συνθήκες των προς αποκατάσταση ρυπασμένων περιοχών.

Η επιτυχία λοιπόν της τεχνικής της φυτοεξυγίανσης εξαρτάται πρωταρχικά από την αναγνώριση κατάλληλων φυτικών ειδών τα οποία μπορούν να αναπτύσσονται στα

ρυπασμένα εδάφη και είτε συσσωρεύουν ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στους ιστούς τους με στόχο την απομάκρυνση τους από την περιοχή (Φυτοσυσσώρευση) είτε τα ακινητοποιούν στο περιβάλλον της ρίζας με στόχο την μείωση της κινητικότητας και βιοδιαθεσιμότητας τους στο έδαφος (Φυτοσταθεροποίηση). Με βάση τη διεθνή βιβλιογραφία, ολοένα και περισσότεροι ερευνητές διερευνούν τους μηχανισμούς ακινητοποίησης, πρόσληψης και συσσώρευσης των μετάλλων στους φυτικούς οργανισμούς. Όμως, οι ιδιαιτερότητες που παρουσιάζονται ανά μέταλλο, ανά φυτό και ανά γεωγραφική περιοχή δεν επιτρέπουν γενικεύσεις. Οι βιβλιογραφικές αναφορές που πραγματεύονται την πρόσληψη του μολύβδου και του καδμίου από μεσογειακά φυτά είναι ελάχιστες, με αποτέλεσμα το πεδίο έρευνας για φυτοεξυγίανση εδαφών ρυπασμένων με μόλυβδο και κάδμιο από μεσογειακά φυτά να παραμένει ανοικτό προς διερεύνηση.

1.2. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Το αντικείμενο της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι ο χαρακτηρισμός της ικανότητας ενδημικών Μεσογειακών φυτών για απομάκρυνση μολύβδου και καδμίου από ρυπασμένα εδάφη με απώτερο στόχο την αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών στην λεκάνη της Μεσογείου.

Η σημασία και σπουδαιότητα της διατριβής έγκειται στο ότι εξετάζεται η δυνατότητα της χρήσης μιας σημαντικά φιλικής προς το περιβάλλον τεχνολογίας στην αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών ενώ η καινοτομία της βασίζεται όχι μόνο στην συμβολή στην ανάπτυξη και βελτιστοποίηση αυτής της νέας ελπιδοφόρας βιολογικής μεθόδου αποκατάστασης, αλλά και στην εξειδίκευση της έρευνας σε φυτά μεσογειακά με στόχο την προσαρμογή της τεχνικής για την επίλυση του προβλήματος της ρύπανσης από τοξικά μέταλλα στον ελληνικό χώρο με την χρήση ενδημικών φυτών.

Ο πρωταρχικός στόχος της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της δυνατότητας συγκεκριμένων μεσογειακών φυτών να χρησιμοποιηθούν για αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών είτε απομακρύνοντας τον μόλυβδο και το κάδμιο από τα εδάφη μέσω πρόσληψης και μεταφοράς στα υπέργεια τμήματα (Φυτοσυσσώρευση), είτε ακινητοποιώντας τα στην ρίζα (Φυτοσταθεροποίηση). Ωστόσο η εφαρμογή φυτών για την αποκατάσταση εδαφών δεν μπορεί να είναι αποτελεσματική, αν δεν προηγηθεί μελέτη και κατανόηση των βασικών μηχανισμών ανθεκτικότητας, συσσώρευσης και αποθήκευσης των μετάλλων αυτών μέσα στο φυτικό σώμα. Η συσσώρευση και η κατανομή των μετάλλων, ο ποσοτικός προσδιορισμός, η ανθεκτικότητα στα μέταλλα, οι χρονικές απαιτήσεις αλλά και οι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν όλες τις παραπάνω διεργασίες, αποτελούν τα βασικά ερωτήματα που πρέπει να εξεταστούν πριν από την εφαρμογή στο πεδίο. Τα σημεία αυτά είναι και οι στόχοι της παρούσας διατριβής οδηγώντας στην ανάπτυξη μεθοδολογίας για την αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών με τη χρήση ενδημικών Μεσογειακών φυτών.

Συγκεκριμένα, οι κύριοι στόχοι της διδακτορικής διατριβής είναι:

- Χαρακτηρισμός της ικανότητας των επιλεγμένων Μεσογειακών φυτών να συσσωρεύουν τον μόλυβδο και το κάδμιο - Ικανότητα του φυτού να προσλαμβάνει, να συσσωρεύει και να κατανέμει τα μέταλλα στο σώμα του.
- Μελέτη των βασικών μηχανισμών ανθεκτικότητας και συσσώρευσης των μετάλλων μέσα στο φυτικό σώμα.

- Μελέτη επίδρασης συγκεκριμένων εδαφικών χαρακτηριστικών όπως εδαφική αλατότητα και ταυτόχρονη παρουσία των δύο μετάλλων στην πρόσληψη και συσσώρευση των βαρέων μετάλλων στους φυτικούς ιστούς.
- Επιστημονική γνώση σε πειράματα μεγαλύτερης διάρκειας.

Ο τελικός στόχος της διδακτορικής διατριβής είναι η συμβολή στην συγκρότηση διαχειριστικής πρότασης για την αποκατάσταση ρυπασμένων με μόλυβδο και κάδμιο εδαφών με τη χρήση Μεσογειακών φυτών, με απώτερο σκοπό την μακροπρόθεσμη επίλυση του προβλήματος της ρύπανσης από τοξικά μέταλλα στον ελληνικό χώρο αλλά και γενικότερα στην περιοχή της Μεσογείου.

2ο. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

2.1. ΜΟΛΥΒΔΟΣ ΚΑΙ ΚΑΔΜΙΟ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Ο όρος «βαρέα μέταλλα» που χρησιμοποιείται ευρέως είναι αυθαίρετος και ανακριβής. Σύμφωνα με ορισμένους επιστήμονες, ως βαρέα μέταλλα χαρακτηρίζονται τα στοιχεία με ατομικό βάρος μεταξύ 63,54 και 200,59 και με ειδικό βάρος μεγαλύτερο του 4 (Ghosh and Singh, 2005) ενώ σύμφωνα με άλλους πρόκειται για μια ομάδα στοιχείων με ατομική πυκνότητα μεγαλύτερη του 6 g/cm³ (Gardea-Torresdey et al., 2005). Σύμφωνα με μια τρίτη άποψη, μπορεί να χαρακτηριστεί οποιοδήποτε χημικό στοιχείο διαθέτει μεταλλικές ιδιότητες (ολκιμότητα, αγωγιμότητα, σταθερότητα ως κατιόν, ειδικότητα υποκατάστατη, κ.τ.λ.) με ατομικό αριθμό μεγαλύτερο του 20 (Raskin et al., 1994, Lasat, 2000), ενώ σύμφωνα με την τέταρτη άποψη, τα βαρέα μέταλλα αναφέρονται σ' ένα τύπο χημικών στοιχείων τα οποία είναι τοξικά, ιδιαίτερα τοξικά ή δηλητηριώδη σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Κουϊμτζής και λοιποί, 1998). Παρόλο λοιπόν που ο όρος βαρέα μέταλλα δεν είναι ακριβής και πιθανά θα έπρεπε να αντικατασταθεί από τον όρο «τοξικά μέταλλα», χρησιμοποιείται ευρέως στην διεθνή βιβλιογραφία και για τον λόγο αυτό θα χρησιμοποιηθεί και στα πλαίσια της παρούσας διατριβής.

Τα πλέον συνήθη τοξικά μέταλλα και μεταλλοειδή που απαντώνται ως ρύποι είναι το κάδμιο, ο μόλυβδος, το χρώμιο, ο χαλκός, το νικέλιο, ο ψευδάργυρος, το αρσενικό και ο υδράργυρος. Τα μέταλλα αυτά, συμπεριλαμβανομένων του μολύβδου και του καδμίου, αποτελούν φυσικά συστατικά του εδάφους, εντούτοις, σε παγκόσμια κλίμακα παρατηρείται δραματική αύξηση των συγκεντρώσεων τους στο έδαφος λόγω των ανθρωπογενών δραστηριοτήτων (Πίνακας 2.1). Τεράστιος αριθμός περιοχών (1 400 000 περιοχές στην δυτική Ευρώπη) έχουν βρεθεί να είναι ρυπασμένες, με τις περισσότερες από αυτές με μέταλλα όπως κάδμιο, ψευδάργυρο, μόλυβδο και χαλκό (McGrath et al., 2001). Επιπλέον, στις Ηνωμένες Πολιτείες, από τις 1200 περιοχές που αναφέρονται στην Λίστα Εθνικής Προτεραιότητας για αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών, το 63% περίπου αποτελούν περιοχές ρυπασμένες με τοξικά μέταλλα. Ειδικότερα, στο 15% των περιοχών αυτών εντοπίζεται μόλυβδος, στο 11% χρώμιο, στο 8% κάδμιο και στο 7% χαλκός (Mulligan et al., 2001, Gardea-Torresdey et al., 2005, Kirkham, 2006).

Πίνακας 2.1. Παγκόσμια παραγωγή μετάλλων και η εκτιμώμενη διασπορά τους στο έδαφος (10³ τόνοι/έτος) (Mulligan et al., 2001).

Μέταλλο	1975	1980	1985	1990	Διάθεση στο έδαφος στην δεκαετία του '80
Cd	15,2	18,2	19,1	20,2	22
Pb	3432,2	3448,2	3431,2	3367,2	796
Cu	6739,0	7204,0	7870,0	8814,0	954
Zn	3975,4	4030,3	4723,1	5570,9	1372

Τα βαρέα μέταλλα, σε αντίθεση με τις οργανικές ενώσεις, δεν αποδομούνται και γι' αυτό συσσωρεύονται στο περιβάλλον. Επιπλέον, η παραμονή τους στο έδαφος είναι κατά πολύ υψηλότερη έναντι αυτής άλλων στοιχείων της βιόσφαιρας, επομένως η ρύπανση του εδάφους από αυτά μπορεί να θεωρηθεί μόνιμη (Κουϊμτζής και λοιποί, 1998, McGrath et al., 2001, Sas-Nowosielska et al., 2004).

2.1.1. Πηγές και μορφές στο έδαφος του μολύβδου και του καδμίου

Ο μολύβδος (Pb) αποτελεί τον ρύπο που απαντάται σε υψηλότερη συχνότητα και αφθονία στο περιβάλλον και στο ανθρώπινο σώμα (Κουϊμτζής και λοιποί, 1998, Madyiwa et al., 2004). Απαντάται φυσικά στα εδάφη ιδιαίτερα ως PbS και σε μικρότερες ποσότητες ως $PbCO_3$, $PbSO_4$ και $PbCrO_4$ (Mulligan et al., 2001). Συνήθως, απελευθερώνεται στο έδαφος, τα υπόγεια και επιφανειακά νερά σε μορφή ιόντων (Pb^{+2}), οξειδίων και υδροξειδίων (Henry, 2000). Η συνηθέστερα απαντώμενη δισθενής μορφή του (Pb^{+2}) μπορεί να αντικαθιστά το ασβέστιο, το στρόντιο, το βάριο και το κάλιο στα εδάφη (Mulligan et al., 2001). Οι κύριες αδιάλυτες ενώσεις του μολύβδου είναι τα φωσφορικά και τα ανθρακικά άλατα ($pH > 6$) και τα (υδρο)οξείδια (Henry, 2000, Pichtel et al., 2000). Γενικά, τα φυσιολογικά επίπεδα (background level) του μολύβδου στο έδαφος είναι χαμηλότερα των 10 mg/kg, η κινητικότητα του είναι ιδιαίτερος χαμηλή ενώ προσροφάται έντονα στην οργανική ουσία (Mulligan et al., 2001). Οι πηγές του μολύβδου ταξινομούνται τις παρακάτω κατηγορίες (Raskin et al., 1994, Κουϊμτζής και λοιποί, 1998, Henry, 2000, Pichtel et al., 2000, Orcutt and Nilsen, 2000, Mulligan et al., 2001, Novák et al., 2003, Qadir et al., 2004a, Reddy et al., 2005):

- *Φυσικές* όπως πετρώματα, αέρια ηφαιστείων, σκόνη ερήμων και θαλάσσια αεροζόλ.
- *Γεωργικές* όπως εντομοκτόνα, εναπόθεση ιλύος και συνεχής άρδευση.
- *Βιομηχανικές* όπως εξόρυξη και επεξεργασία μεταλλευμάτων, ανακύκλωση μετάλλων, διυλιστήρια, βιομηχανίες πλαστικών, χαρτιού, μικροηλεκτρονικών και κλωστοϋφαντουργία (χρωστική ουσία).
- *Αστικές* όπως μεταφορικά μέσα (πρόσθετα βενζίνης), υγειονομική ταφή και αποτέφρωση απορριμμάτων, καύση γαιανθράκων και πετρελαίου για θέρμανση ή παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας, βαφές κτιρίων, διάβρωση κιγκλιδωμάτων, πυλώνων, σωληνώσεων, μπαταριών.

Το καδμίο (Cd) σπανίως απαντάται σε καθαρή μορφή και συνήθως συνυπάρχει σε μικρές ποσότητες σε ορισμένα μεταλλεύματα του ψευδαργύρου ως CdS και $CdCO_3$, από τα οποία εξαγεται ως παραπροϊόν (Mulligan et al., 2001, Καραγιαννίδης, 2002). Παρόλο που παρουσιάζει ανάλογη συμπεριφορά με τον ψευδάργυρο, είναι περισσότερο ευκίνητο ιδιαίτερα σε τιμές pH μεταξύ 4,5 και 5,5, ενώ σε τιμές pH πάνω από 7,5 η κινητικότητα του μειώνεται. Η δισθενής του μορφή είναι διαλυτή αλλά επίσης συμπλοκοποιείται με οργανικά και οξείδια (Mulligan et al., 2001). Οι πηγές του καδμίου είναι (Κουϊμτζής και λοιποί, 1998, Chen et al., 2000, Orcutt and Nilsen, 2000, Mulligan et al., 2001, Naidu et al., 2003, Qadir et al., 2004a, Zarcinas et al., 2004, Yanai et al., 2006, Kirkham, 2006):

- *Φυσικές* όπως πετρώματα, πυρκαγιές δασών, θαλάσσια αεροζόλ.
- *Γεωργικές* όπως φωσφορικά λιπάσματα, εναπόθεση ιλύος, νερό άρδευσης.
- *Βιομηχανικές* όπως εξόρυξη και επεξεργασία μεταλλευμάτων (ιδιαίτερα ως παραπροϊόν της χύτευσης του ψευδαργύρου), επεξεργασίες πλαστικών (χρήση ως σταθεροποιητής στο PVC), κραμάτων, χαρτιού, μικροηλεκτρονικών, ελαστικών, κλωστοϋφαντουργία (χρωστική ουσία).
- *Αστικές* όπως αποτέφρωση απορριμμάτων, στραγγίσματα από ΧΥΤΑ, καύση γαιανθράκων και πετρελαίου για θέρμανση ή παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας, εκπομπή αεροζόλ μέσων μεταφοράς, μπαταρίες.

Ο εμπλουτισμός του εδάφους εξαρτάται, εκτός από τις τοπικές πηγές εκπομπής, και από την μεταφορά των μετάλλων μέσω της ατμόσφαιρας συνήθως με τη μορφή συστατικών προσροφημένων πάνω σε αιωρούμενη σωματιδιακή ύλη, με αποτέλεσμα να

είναι δυσχερής η εκτίμηση των φυσιολογικών συγκεντρώσεων των μετάλλων στο έδαφος (Κουϊμτζής και λοιποί, 1998, Qadir et al., 2004a). Επιπρόσθετα, σε ορισμένες περιοχές μεταλλοφόρων εδαφών, οι φυσιολογικές συγκεντρώσεις τους στα εδάφη και το νερό υπερβαίνουν τις οριακές επιτρεπτές τιμές (Runnells et al., 1992, Raskin et al., 1994, Gardea-Torresdey et al., 2005). Στον Πίνακα 2.2 δίνονται οι οριακές τιμές των βαρέων μετάλλων στο έδαφος που ισχύουν στην Ευρωπαϊκή Ένωση και στην Ελλάδα.

Πίνακας 2.2. Εύρος συγκεντρώσεων και οριακές τιμές στο έδαφος ορισμένων τοξικών μετάλλων.

Μέταλλο	Εύρος συγκεντρώσεων στο έδαφος *	Συγκέντρωση σε μεταλλοφόρα εδάφη **	Οριακές τιμές συγκέντρωσης ***
	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]
Pb	1,00-6900	3870-49910	50-300
Cd	1,1-345	11-317	1-3
Cr	0,05-3950	47-8450	-
Hg	<0,01-1800	100-400	1-1,5
Zn	150-5000	109-70480	150-300

* Πηγή: Lasat, 2000

** Πηγή: Gardea-Torresdey et al., 2005

*** Οριακές επιτρεπτές συγκεντρώσεις στο έδαφος στην Ελλάδα και την Ε.Ε. (pH 6-7) (Πηγή: ΦΕΚ641/7.8.1991 και Council of the European Communities, Directive 86/278/EEC)

2.1.2. Μόλυβδος και κάδμιο στον ελληνικό χώρο

Δυστυχώς, ακόμα δεν υπάρχουν στην Ελλάδα επίσημες μελέτες ή στοιχεία σχετικά με την αναγνώριση και καταγραφή των ρυπασμένων περιοχών. Έρευνες Πανεπιστημίων και Ερευνητικών Ινστιτούτων έχουν καταδείξει έναν αριθμό ρυπασμένων περιοχών με βαρέα μέταλλα, των οποίων η ρύπανση προέρχεται είτε από βιομηχανικές ή μεταλλουργικές δραστηριότητες είτε από χώρους διάθεσης αστικών απορριμμάτων εγκαταλελειμμένους ή μη, οι οποίοι λειτουργούσαν με ελάχιστο ή καθόλου έλεγχο περιβαλλοντικής προστασίας. Επιβαρυμένες περιοχές αποτελούν οι Βιομηχανικές περιοχές της Αθήνας (Θριάσιο Πεδίο και Οινόφυτα), της Θεσσαλονίκης, του Βόλου και της Καβάλας οι οποίες χαρακτηρίζονται από βιομηχανική δραστηριότητα αλλά και αστική ανάπτυξη. Επιπλέον, ιδιαίτερη ρύπανση παρουσιάζουν περιοχές που βρίσκονται κοντά σε πολυμεταλλικά ορυχεία όπως τα εγκαταλελειμμένα ορυχεία του Λαυρίου, της Θάσου και της Ερμιόνης και τα ορυχεία της Κασσάνδρας στην Βόρεια Ελλάδα τα οποία βρίσκονται ακόμα σε λειτουργία (Voutsas et al., 1996, NATO/CCMS, 1998, Tristan et al., 2000, Samara and Voutsas, 2005).

Οι πλέον επιβαρυμένες περιοχές της Ελλάδας περιλαμβάνουν:

- Την Λαυρεωτική περιοχή, 60 km νοτιοανατολικά της Αθήνας η οποία θεωρείται η πιο ρυπασμένη περιοχή της Ελλάδας με βαρέα μέταλλα λόγω των μακροχρόνιων μεταλλουργικών δραστηριοτήτων οι οποίες άρχισαν πριν το 3000 π.Χ. και

συνέχισαν περιοδικά έως το 1977. Οι ιδιαίτερα έντονες δραστηριότητες οι οποίες έλαβαν χώρα τα τελευταία 100 χρόνια προκάλεσαν την παραγωγή τεράστιων όγκων αποβλήτων και υπολειμμάτων, τα οποία χαρακτηρίζονται ως επικίνδυνα και τοξικά και τα οποία στην συνέχεια κάτω από την επίδραση του αέρα, της βροχής, του ατμοσφαιρικού οξυγόνου και των βακτηρίων κινητοποιήθηκαν και μεταφέρθηκαν στην γύρω περιοχή, συμβάλλοντας στην σοβαρή και εκτεταμένη ρύπανση του εδάφους και των υπογείων υδάτων με Pb, As, Cd, Sb, Cr, Ni, Cu, Hg, και Zn. Γεωχημικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε περίπου 170 km² της ευρύτερης περιοχής έδειξαν ότι το 75% περίπου (130 km²) της περιοχής είναι ρυπασμένο με τα τοξικά μέταλλα (Pb, As, Cd, Cr, Cu, Ni, Zn). Για παράδειγμα οι συγκεντρώσεις του μολύβδου στο έδαφος στις περιοχές γύρω από τα εγκαταλελειμμένα μεταλλεία μετά από αναλύσεις 213 εδαφικών δειγμάτων, ανέρχονται κατά μέσο όρο σε 7410 ppm. Επιπλέον, η αστική επέκταση οδήγησε σε αλλαγές της χρήσης της γης από βιομηχανική σε οικιστική και σε μικρό βαθμό αγροτική με αποτέλεσμα οι κάτοικοι της περιοχής και ιδιαίτερα τα παιδιά να προσλαμβάνουν υψηλές συγκεντρώσεις μολύβδου μέσω της τροφικής αλυσίδας με καταγεγραμμένες πολλές ιατρικές περιπτώσεις δηλητηρίασης μολύβδου. Στην περιοχή έχουν υλοποιηθεί διάφορα προγράμματα για τον προσδιορισμό της ρύπανσης και την ανάπτυξη δράσης αποκατάστασης της περιοχής (Kontopoulos et al., 1995, NATO/CCMS, 1998, Tristan et al., 2000, NATO/CCMS, 2006).

- Το Θριάσιο Πεδίο, 20 km δυτικά της Αθήνας, που αποτελεί την κύρια βιομηχανική περιοχή της Αθήνας με μικρές αλλά και μεγάλες βιομηχανικές μονάδες όπως τσιμεντοβιομηχανίες, διυλιστήρια και ναυπηγεία, στο οποίο έχουν καταγραφεί αρκετές περιπτώσεις ρύπανσης εδάφους, υπόγειων υδάτων και ενδεχομένως και των υποθαλάσσιων ιζημάτων του Κόλπου της Ελευσίνας με βαρέα μέταλλα (Nakos, 1982, NATO/CCMS, 1998).
- Τη χωματερή των Άνω Λιοσίων, η οποία αποτελεί τον κύριο χώρο διάθεσης των αστικών απορριμμάτων του μεγαλύτερου μέρους της ευρύτερης περιοχής της Αθήνας και βρίσκεται κοντά στο Θριάσιο Πεδίο. Τα αποστραγγίσματα προκαλούν σοβαρή ρύπανση των υπογείων υδάτων τα οποία τελικά καταλήγουν στον Κόλπο της Ελευσίνας. Πρέπει να αναφερθεί ότι έχουν πραγματοποιηθεί κάποιες μελέτες που καταδεικνύουν την σύσταση του βιοαερίου και την ρύπανση των υπογείων υδάτων από τα αποστραγγίσματα (NATO/CCMS, 1998).

Ενώ οι περιοχές γύρω από χώρους διάθεσης απορριμμάτων, ιδιαιτέρως της Αττικής, έχουν τραβήξει το ενδιαφέρον της πολιτείας και του κοινού με αποτέλεσμα να έχουν πραγματοποιηθεί κάποιες μελέτες σχετικά με το επίπεδο της προκαλούμενης ρύπανσης και τους τρόπους αποκατάστασης των χώρων αυτών, περιορισμένος αριθμός πληροφοριών υπάρχει για τις βιομηχανικές περιοχές όπως της Θεσσαλονίκης, του Βόλου και της Καβάλας (Voutsas et al., 1996, NATO/CCMS, 1998, Zabetoglou et al., 2002, Voutsas et al., 2002, Samara and Voutsas, 2005).

2.1.3. Τεχνολογίες αποκατάστασης εδαφών ρυπασμένων με βαρέα μέταλλα

Οι σύγχρονες τεχνολογίες αποκατάστασης εδαφών από τα βαρέα μέταλλα περιλαμβάνουν ex-situ φυσικές και χημικές μεθόδους, όπως πυρομεταλλουργικό διαχωρισμό, στερεοποίηση, ηλεκτροκινητικές μεθόδους, πλύση του εδάφους ή εκσκαφή

και ενταφιασμό του ρυπασμένου εδάφους σε χώρους απόθεσης επικινδύνων και τοξικών αποβλήτων (Πίνακας 2.3) (Mulligan et al., 2001, Dzantor and Beauchamp, 2002, Sas-Nowosielska et al., 2004, Lombi and Hamon, 2004, Gardea-Torresdey et al., 2004, Ghosh and Singh, 2005). Η τεχνολογία που αυτή την στιγμή αποτελεί την πλέον χρησιμοποιούμενη μεθοδολογία για την αναβάθμιση ρυπασμένων εδαφών με τοξικά μέταλλα είναι η εκσκαφή και ο ενταφιασμός του εδάφους σε κατάλληλους χώρους

Πίνακας 2.3. Τεχνολογίες αποκατάστασης εδαφών από βαρέα μέταλλα (Mulligan et al., 2001).

Τεχνολογία	Εφαρμοσιμότητα	Κόστος (\$US/τόνο)
Επεξεργασίες συγκράτησης		
Φυσικές	Καλύμματα ΧΥΤΑ και φράγματα	10-90
Ενθυλάκωση	Έκχυση στερεοποιητικών χημικών ουσιών	60-290
Υαλοποίηση	Ρηχά εδάφη, χαμηλής πτητικότητας μέταλλα	400-870
Ex-situ επεξεργασίες		
Φυσικός διαχωρισμός	Για υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων	60-245
Πλύση εδάφους	Για υδατοδιαλυτούς ρύπους	25-300
Πυρομεταλλουργικός διαχωρισμός	Για ιδιαίτερα ρυπασμένα εδάφη (5-20%)	200-1000
In-situ επεξεργασίες		
Ενεργά φράγματα	Ρόφηση ή αποδόμηση των ρύπων στο φράγμα	60-245
Εδαφική έκλυση	Για διαλυτούς ρύπους	100-200
Ηλεκτροκινητικές	Για κορεσμένα εδάφη με χαμηλή ροή υπόγειων υδάτων	Ανεπαρκείς πληροφορίες
Φυτοεξυγίανση	Ρηχά εδάφη και νερό	12,500-50,000/στρέμμα

απόθεσης επικινδύνων και τοξικών αποβλήτων με μέσο κόστος 250 000 \$ ανά στρέμμα. Στις ΗΠΑ μόνο, το κόστος αποκατάστασης περιοχών ρυπασμένων με τοξικά και ραδιενεργά μέταλλα υπολογίζεται σε 300 δισεκατομμύρια δολάρια (Raskin et al., 1997). Οι μέθοδοι καθαρισμού του εδάφους όπως η απομόνωση και συγκράτηση, ο μηχανικός διαχωρισμός, η χημική επεξεργασία ή η έκλυση του εδάφους έχουν αποδειχτεί αποδοτικές για μικρές περιοχές, αλλά απαιτούν ειδικό εξοπλισμό και εντατική εργασία. Εκτός αυτών, οι τεχνολογίες αυτές είναι όχι μόνο δαπανηρές, αλλά προκαλούν και εδαφολογικές διαταραχές αφού καταστρέφουν την δομή του εδάφους και το αφήνουν βιολογικά ανενεργό ενώ δεν παρουσιάζουν ευρεία αποδοχή από το κοινό (Mulligan et al., 2001, McGrath et al., 2001, Dzantor and Beauchamp, 2002, Pulford and Watson, 2003, Gardea-Torresdey et al., 2004, Gardea-Torresdey et al., 2005, Ghosh and Singh, 2005, Khan, 2005). Αντίθετα, η Φυτοεξυγίανση ή πιο σωστά η Φυτοσυσσώρευση έχει αναδειχτεί ως μια εναλλακτική, στις καθιερωμένες μεθοδολογίες, τεχνική για την αφαίρεση των βαρέων μετάλλων από τα εδάφη. Θεωρείται μια ελπιδοφόρα μέθοδος δεδομένου ότι αποτελεί μια οικονομικά αποδοτική «πράσινη» τεχνολογία που προσφέρει

τα οφέλη μιας τεχνικής in-situ. Επιπλέον, είναι περιβαλλοντικά βιώσιμη δεδομένου ότι το έδαφος που προκύπτει δεν χαρακτηρίζεται από μείωση της εδαφολογικής του γονιμότητας όπως στις παραδοσιακές τεχνικές και είναι μια φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος και συνεπώς εύκολα αποδεκτή από το ευρύ κοινό (Pulford and Watson, 2003, Yanai et al., 2006, Kirkham, 2006). Για τους παραπάνω λόγους λοιπόν, η Φυτοεξυγίανση ως μέθοδος αποκατάστασης εδαφών ρυπασμένων με μέταλλα τα τελευταία χρόνια αποτελεί αντικείμενο έντονου ενδιαφέροντος του κοινού και της επιστημονικής κοινότητας και θέμα ιδιαίτερα πολλών άρθρων ανασκόπησης (Raskin et al., 1994, Cunningham et al., 1995, Ow, 1996, Cunningham and Ow, 1996, Raskin et al., 1997, Chaney et al., 1997, Salt et al., 1998, Meagher, 2000, Lasat, 2000, Krämer and Chardonens, 2001, Mejáre and Bülow, 2001, McGrath et al., 2001, Schwitzguébel, 2001, Garbisu and Alkorta, 2001, Lasat, 2002, Schaffner et al., 2002, Dzantor and Beauchamp, 2002, Beauchamp and Dzantor, 2002, Clemens et al., 2002, Singer et al., 2003, McGrath and Zhao, 2003, Terry et al., 2003, Pulford and Watson, 2003, Weis and Weis, 2004, Suresh and Ravishankar, 2004, Eapen and D'Souza, 2005, Khan, 2005, Krämer, 2005, Yang et al., 2005, Ghosh and Singh, 2005, Gardea-Torresdey et al., 2005, Wong et al., 2006, Nascimento and Xing, 2006, Kirkham, 2006, Van Nevel et al., 2007, Chaney et al., 2007, Wei et al., 2008).

2.2. ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ

2.2.1. Ιστορική αναδρομή

Συνήθως σκεπτόμαστε τα φυτά πρωταρχικά ως πηγή τροφής, καυσίμων και ρουχισμού. Εντούτοις αναφορές φυτών που αναπτύσσονται σε ρυπασμένες περιοχές χωρίς να επιδεικνύουν σημαντικές βλάβες καθιστούν ενδεδειγμένη την πιθανή χρήση τους για την αποτοξίνωση των ρύπων μέσω αγρονομικών και βιοτεχνολογικών προσεγγίσεων.

Η ονομασία *Φυτοεξυγίανση* ή *Φυτοαποκατάσταση* (*Phytoremediation*) δόθηκε σε μία ομάδα τεχνολογιών αιχμής οι οποίες χρησιμοποιούν φυτά για την αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών, ιζημάτων ή επιφανειακών και υπόγειων υδάτων αλλά και της ατμόσφαιρας, με βάση την γνώση ότι ορισμένα φυτικά είδη διαθέτουν το γενετικό δυναμικό για να απομακρύνουν, να αποδομήσουν, να μεταβολίσουν ή να ακινητοποιήσουν ένα μεγάλο αριθμό ρύπων.

Η ιδέα της χρήσης των φυτών για τον καθαρισμό ρυπασμένων περιοχών δεν είναι νέα. Περίπου 300 χρόνια πριν, τα φυτά προτάθηκαν για χρήση στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων, ενώ στα τέλη του 19^{ου} αιώνα, τα *Thlaspi caerulescens* και *Viola calaminaria* υπήρξαν τα πρώτα φυτά που αναφέρθηκαν να συσσωρεύουν υψηλά επίπεδα μετάλλων στα φύλλα τους (Salt et al., 1998, Lasat, 2000, Macnair, 2003, Pletsch, 2004). Εν συνεχεία, το 1935 ο Byers ανέφερε ότι τα φυτά του γένους *Astragalus* ήταν ικανά να συσσωρεύσουν σελήνιο έως και 0,6% στην ξηρή υπέργεια βιομάζα τους (Salt et al., 1998, Lasat, 2000). Μια δεκαετία αργότερα, το 1948, οι Ιταλοί ερευνητές Minguzzi και Vergnano αναγνώρισαν το φυτό *Alussum bertolonii* ως υπερσυσσωρευτική νικελίου. Το γεγονός ξεχάστηκε μέχρι το 1977, όταν ο επιστήμονας Robert Brooks του πανεπιστημίου Massey της Νέας Ζηλανδίας, ανέφερε παρόμοια ευρήματα (Brown, 1995, Salt et al., 1998, Lasat, 2000, Ouyang, 2002) ενώ η ιδέα της χρήσης των φυτών για την

απομάκρυνση μετάλλων από ρυπασμένα εδάφη επανεισήχθη και αναπτύχθηκε από τους Utsunamya το 1980 και Chaney το 1983. Η πρώτη εφαρμογή πεδίου της φυτοσυσσώρευσης καδμίου και ψευδαργύρου πραγματοποιήθηκε το 1991 (Salt et al., 1998, Lasat, 2000) και την ίδια χρονιά επινοήθηκε η ονομασία «Φυτοεξυγίανση» ή «Φυτοαποκατάσταση». Ο όρος προέρχεται από την αγγλική σύνθετη λέξη «Phytoremediation» δηλαδή την λέξη «phyto» από την ελληνική λέξη «φυτό» και την λέξη «remediation» από την λατινική λέξη «remedium» που σημαίνει «διορθώνω το κακό» (correct evil) (US EPA, 2000, Pletsch, 2004, Ghosh and Singh, 2005). Ακολούθως, οι ιδιωτικές επιχειρήσεις πήραν το προβάδισμα με αποτέλεσμα τα τελευταία 20 χρόνια να παρατηρείται η ίδρυση μικρομεσαίων εταιριών (ιδιαίτερα στις Η.Π.Α. και στην Ευρώπη) που ασχολούνται αποκλειστικά με την εμπορευματοποίηση της φυτοεξυγίανσης προσφέροντας τις γνώσεις τους στην μελέτη και εφαρμογή της τεχνολογίας (Brown, 1995, Schwitzguébel, 2001, Καλογεράκης, 2006).

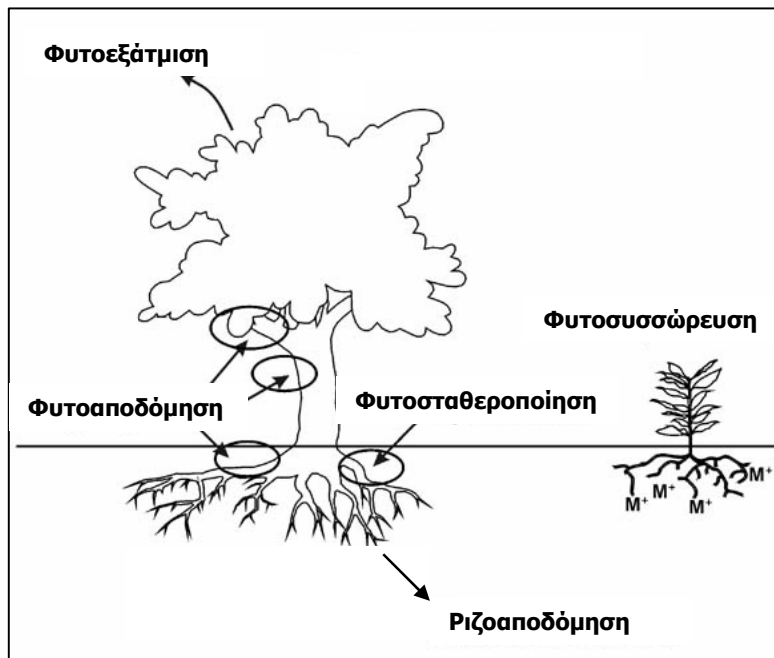
2.2.2. Ορισμός και τύποι φυτοεξυγίανσης

Η υπηρεσία προστασίας του περιβάλλοντος των Η.Π.Α. (E.P.A.), περιλαμβάνει τη Φυτοεξυγίανση στην κατηγορία των λεγόμενων καινοτόμων τεχνολογιών επεξεργασίας (Innovative Treatment Technologies) (US EPA, 2000) και ορίζεται ως η χρήση φυτών και των σχετιζόμενων με αυτά μικροοργανισμών για την αφαίρεση, αποδόμηση ή συγκράτηση των περιβαλλοντικών ρύπων (Salt et al., 1998, Schwitzguébel, 2001, Quyang, 2002, Morikawa and Erkin, 2003, Pulford and Watson, 2003, Ghosh and Singh, 2005, Khan, 2005,). Η τεχνική αυτή περιλαμβάνει ένα αριθμό διαφορετικών μεθόδων οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε αποδόμηση, απομάκρυνση (μέσω συσσώρευσης ή διασκόρπισης) ή ακινητοποίηση του ρύπου (Σχήμα 2.1) (US EPA, 2001, Schwitzguébel, 2001, Pulford and Watson, 2003, Morikawa and Erkin, 2003, Ghosh and Singh, 2005, Khan, 2005, Gardea-Torresdey et al., 2005):

1. Αποδόμηση (για καταστροφή ή μετατροπή οργανικών ρύπων)
 - *Ριζοαποδόμηση ή Ενισχυμένη βιοαποδόμηση στην ριζόσφαιρα (Rhizodegradation or Enhanced rhizosphere biodegradation)*: ενίσχυση βιοαποδόμησης του ρύπου από μικροοργανισμούς στην περιοχή της ριζόσφαιρας
 - *Φυτοαποδόμηση (Phytodegradation)*: πρόσληψη του ρύπου και μεταβολισμός του στους ιστούς της ρίζας, του βλαστού ή των φύλλων
2. Συσσώρευση (για συγκράτηση ή απομάκρυνση κυρίως μεταλλικών αλλά και οργανικών ρύπων)
 - *Φυτοσυσσώρευση (Phytoextraction or Phytoaccumulation)*: πρόσληψη και συσσώρευση του ρύπου για απομάκρυνση
 - *Ριζοδιήθηση (Rhizofiltration)*: προσρόφηση του ρύπου στις ρίζες για συγκράτηση και/ή απομάκρυνση
3. Διασκόρπιση (για απομάκρυνση οργανικών και/ή ανόργανων ρύπων στην ατμόσφαιρα)
 - *Φυτοεξάτμιση (Phytovolatilization)*: πρόσληψη και εξάτμιση του ρύπου

4. Ακίνητοποίηση (για συγκράτηση οργανικών και/ή ανόργανων ρύπων)

- *Φυτοσταθεροποίηση (Phytostabilization)*: ακίνητοποίηση του ρύπου στο έδαφος
- *Υδραυλικός έλεγχος (Hydraulic Control)*: έλεγχος της ροής των υπογείων υδάτων μέσω της πρόσληψης νερού από τα φυτά



Σχήμα 2.1. Τύποι Φυτοεξυγίανσης.

Η τεχνική της φυτοεξυγίανσης μπορεί να εφαρμοστεί σε ένα μεγάλο εύρος οργανικών και ανόργανων ρύπων, συμπεριλαμβανομένων των βαρέων μετάλλων (Kumar et al., 1995, Chaney et al., 1997, Henry, 2000), ραδιονουκλεϊδίων (Sparks, 2002, Dushenkov, 2003), χλωριωμένων διαλυτών (Haby and Crowley, 1996, Green and Hoffnagle, 2004), φυτοφαρμάκων (Anderson et al., 1994, Frazar, 2000, Green and Hoffnagle, 2004), πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων, PAHs (Aprill and Sims, 1990, Reilley et al., 1996), πολυχλωριωμένων διφαινυλίων, PCBs (Brazil et al., 1995, Donnelly and Fletcher, 1995), πυρομαχικών (Schnoor et al., 1995, Brown, 1995, Schnoor, 1997, Vanek et al., 2006), «στραγγισμάτων» από χώρους ταφής απορριμμάτων (Nagendran et al., 2006) αλλά και θρεπτικών συστατικών σε περίσσεια (νιτρικών, αμμωνιακών και φωσφορικών) (Schnoor et al., 1995, Quyang, 2002).

Επιπρόσθετα, αξίζει αναφοράς μια νέα εφαρμογή της φυτοεξυγίανσης η οποία έχει δει το φως της δημοσιότητας για αποκατάσταση και βελτίωση εδαφών επιβαρυμένων με υψηλές συγκεντρώσεις αλατότητας. Ως γνωστόν, η αλατότητα παρουσιάζεται σε εκτεταμένες περιοχές του πλανήτη η έκταση των οποίων φθάνει το 20% του συνόλου των καλλιεργούμενων εδαφών, ενώ μόνο στην περιοχή της Μεσογείου 80 εκατομμύρια εκτάρια εδάφους είναι επιβαρυμένα με υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων (Choukr-Allah,

Πίνακας 2.4. Τύποι και διεργασίες που περιλαμβάνονται στην Φυτοεξυγίανση (US EPA, 2000, Pletsch, 2004, Nagendran et al., 2006).

No	Μέθοδος	Περιγραφή-Στρατηγική δράσης	Μέσο	Ρύποι
1	Φυτοσυσσώρευση	Πρόσληψη και συσσώρευση του ρύπου στις ρίζες ή τα υπέργεια τμήματα	Έδαφος, Ιζήματα, ιλύς	Μέταλλα (Pd, Cd, Zn, As, Cu, Cr, Co, Ni, Mg, Mo, Hg), ραδιονουκλείδια (^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{239}Pu , $^{238,234}\text{U}$)
2	Ριζοδιήθηση	Ρόφηση του ρύπου από το υδατικό διάλυμα επάνω ή μέσα στις ρίζες	Υπόγεια και επιφανειακά νερά	Μέταλλα, ραδιονουκλείδια, υδροφοβικές οργανικές ενώσεις
3	Φυτοσταθεροποίηση	Σταθεροποίηση το ρύπου μέσω δέσμμευσης, συγκράτησης του εδάφους και/ή μείωση της διήθησης	Έδαφος, Ιζήματα, ιλύς	Pd, Cd, Zn, As, Cu, Cr, Co και οργανικές ενώσεις
4	Ριζοαποδόμηση	Μικροβιακή αποδόμηση στην ριζόσφαιρα προκαλούμενη από το φυτό	Έδαφος, Ιζήματα, ιλύς, υπόγεια νερά	Οργανικές ενώσεις (TPH, PAHs, φυτοφάρμακα, χλωριωμένοι διαλύτες, PCBs)
5	Φυτοαποδόμηση	Πρόσληψη και μετατροπή του ρύπου	Έδαφος, Ιζήματα, ιλύς, υπόγεια και επιφανειακά νερά	Οργανικές ενώσεις, χλωριωμένοι διαλύτες, φαινόλες, ζιζανιοκτόνα, πυρομαχικά
6	Φυτοεξάτμιση	Πρόσληψη και εξάτμιση-απελευθέρωση στην ατμόσφαιρα (μετατροπή του Se και του Hg σε πτητικά χημικά είδη)	Υπόγεια νερά, έδαφος, Ιζήματα, ιλύς	Πτητικές οργανικές ενώσεις, Se, Hg
7	Υδραυλικός Έλεγχος	Απομάκρυνση μεγάλων όγκων νερού από δέντρα και αποτροπή μεταφοράς των ρυπασμένων υδάτων	Υπόγεια και επιφανειακά νερά	Ανόργανα, θρεπτικά, χλωριωμένοι διαλύτες

1997, Qadir et al., 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003). Οι περιοχές αυτές εμφανίζουν υψηλή αλατότητα είτε γιατί διαβρέχονται από θαλασσινό νερό, είτε πρόκειται για περιοχές ερημικές στις οποίες συσσωρεύονται άλατα επειδή ο ρυθμός εξάτμισης του νερού είναι κατά πολύ υψηλότερος από το ρυθμό βροχόπτωσης, είτε πρόκειται για γεωργικές εκτάσεις υπερβολικά αρδευόμενες στις οποίες παρατηρείται συσσώρευση ιόντων στο έδαφος λόγω έντονης εξατμισοδιαπνοής (Καραμπουρνιώτης, 2003). Η εφαρμογή της τεχνικής της Φυτοεξυγίανσης στην προκειμένη περίπτωση βασίζεται στην χρήση ανθεκτικών στην αλατότητα φυτών τα οποία μέσω των ριζών τους δύνανται να ενισχύουν την διαλυτοποίηση του CaCO_3 του εδάφους παρέχοντας ασβέστιο (Ca^{+2}) για την αντικατάσταση του Na^+ στις θέσεις ανταλλαγής κατιόντων με αποτέλεσμα την διήθηση του στα βαθύτερα στρώματα του εδάφους (Qadir et al., 1996, Batra et al., 1997, Qadir et al., 2001, Qadir and Oster, 2002, Qadir et al., 2003, Qadir et al., 2004a, Qadir and Oster, 2004).

Πέραν των παραπάνω τύπων φυτοεξυγίανσης, όπως παρουσιάζεται και στο Σχήμα 2.2, η τεχνική βρίσκει εφαρμογή και σε άλλες περιπτώσεις, όπως «Φυτοκάλυψη» (Vegetation caps) δηλαδή χρήση φυτών για επικάλυψη του εδάφους σε χώρους ταφής απορριμμάτων, «Τεχνητοί υδροβιότοποι» (Constructed wetlands) δηλαδή την χρήση φυτών ως μέρος ενός τεχνητού οικοσυστήματος για την απομάκρυνση ρύπων από υδατικές εκροές απόβλητων και «Παρόχθιες ζώνες» (Riparian corridors) όπου εφαρμόζεται σε υπόγεια και επιφανειακά νερά για την καταστροφή υδατοδιαλυτών



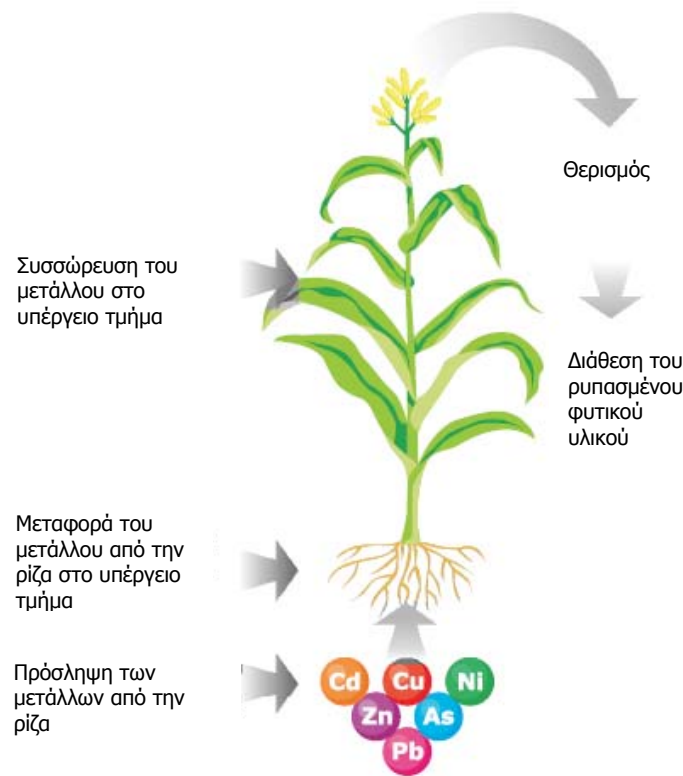
Σχήμα 2.2. Εφαρμογές Φυτοεξυγίανσης.

οργανικών και ανόργανων ουσιών (US EPA, 2000, Pletsch, 2004, Nagendran et al., 2006).

Ενώ λοιπόν οι οργανικοί ρύποι μπορούν να αποδομηθούν είτε μέσα στο φυτικό ιστό είτε με τη βοήθεια των μικροοργανισμών του εδάφους, τα βαρέα μέταλλα απαιτούν είτε φυσική απομάκρυνση είτε ακινητοποίηση. Έχουν αναπτυχθεί λοιπόν, δύο ευδιάκριτες στρατηγικές για την φυτοεξυγίανση των ρυπασμένων με βαρέα μέταλλα εδαφών, η φυτοσυσσώρευση και η φυτοσταθεροποίηση. Η πρώτη μέθοδος στοχεύει στην απομάκρυνση του ρύπου με χρήση φυτών που διαθέτουν το γενετικό δυναμικό να προσλάβουν και να συσσωρεύσουν τον ρύπο στους ιστούς τους, ενώ η δεύτερη στοχεύει στην ακινητοποίηση του ρύπου στο έδαφος με χρήση ανθεκτικών στα μέταλλα φυτών τα οποία διαθέτουν ένα εκτεταμένο ριζικό σύστημα και δύνανται να ακινητοποιήσουν τον ρύπο στην ριζόσφαιρα, παρέχοντας κάλυμμα του εδάφους και εμποδίζοντας την διάβρωση από το νερό και τον αέρα (Krämer, 2005).

2.2.3. Φυτοσυσσώρευση

Η *Φυτοσυσσώρευση* ή *Φυτοεκχύλιση* (*Phytoaccumulation* ή *Phytoextraction*) αποτελεί μια πράσινη τεχνολογία που χρησιμοποιεί τα φυτά και τους σχετιζόμενους με αυτά μικροοργανισμούς με σκοπό να μειώσει τη συγκέντρωση των ανόργανων χημικών στοιχείων στα ρυπασμένα εδάφη επί τόπου (*in situ*), σε τέτοιο επίπεδο, ώστε το επεξεργασμένο έδαφος να μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί για γεωργικούς ή οποιουσδήποτε άλλους σκοπούς. Βασίζεται στην χρήση κατάλληλων φυτικών ειδών τα οποία προσλαμβάνουν τους ρύπους από τις ρίζες και στην συνέχεια τους μεταφέρουν και τους συσσωρεύουν στα υπέργεια τμήματα, με τελικό αποτέλεσμα την συγκομιδή και κατάλληλη διάθεση του ρυπασμένου φυτικού υλικού (Σχήμα 2.3) (US EPA, 2001, Lasat, 2002, Ernst, 2005, Nascimento and Xing, 2006).



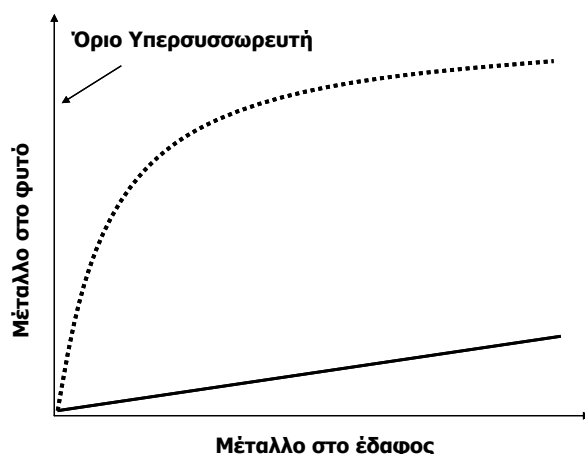
Σχήμα 2.3. Σχηματική απεικόνιση της Φυτοσυσσώρευσης.

Η φυτοσυσσώρευση εφαρμόζεται για την απομάκρυνση μετάλλων όπως Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn, μεταλλοειδών όπως As και Se, ραδιονουκλεϊδίων όπως ^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{239}Pu , ^{234}U , ^{238}U και μη-μεταλλικών στοιχείων όπως B (US EPA, 2000, US EPA, 2001, Pletsch, 2004) ενώ δεν έχει εφαρμογή σε περίπτωση απομάκρυνσης οργανικών ρύπων ή θρεπτικών στοιχείων διότι η συσσώρευση τους παρεμποδίζεται λόγω μεταβολικής διάσπασης ή εξάτμισης. Παρόλα αυτά, ορισμένες μελέτες έδειξαν συσσώρευση αυτούσιων οργανικών ενώσεων σε ορισμένα φυτά (US EPA, 2001).

Τα ανώτερα φυτά αντιδρούν στην καταπόνηση από τα βαρέα μέταλλα βάσει δύο στρατηγικών: 1) την *αποφυγή* (*avoidance*), σύμφωνα με την οποία τα φυτά διαθέτουν μηχανισμούς μέσω των οποίων αποκλείουν τα βαρέα μέταλλα στο εξωτερικό περιβάλλον και 2) την *ανθεκτικότητα* (*tolerance*), με βάση την οποία τα μέταλλα συσσωρεύονται και αποτοξινώνονται μέσα στο φυτικό ιστό (Orcutt and Nilsen, 2000, McGrath et al., 2001, Καραμπουρνιώτης, 2003, Γαλάτης και λοιποί, 2003). Η αποφυγή αποτελεί την πλέον χρησιμοποιούμενη στρατηγική αντιμετώπισης της καταπόνησης. Από την άλλη μεριά, η συσσώρευση των μετάλλων πραγματοποιείται σε ορισμένα είδη φυτών τα οποία αναπτύσσονται κυρίως σε μεταλλοφόρα εδάφη και για το λόγο αυτό χαρακτηρίζονται ως συσσωρευτές μετάλλων ή μεταλλόφυτα (McGrath et al., 2001, Καραμπουρνιώτης, 2003).

Οι Brooks et al. (1977) εισήγαγαν τον όρο υπερσυσσωρευτές (*hyperaccumulators*) για να περιγράψουν φυτά ικανά να συσσωρεύουν πάνω από $1000 \mu\text{g Ni g}^{-1}$ στην ξηρή υπέργεια βιομάζα τους (Anderson et al., 1999, McGrath et al., 2001, Gardea-Torresdey

et al., 2005). Ωστόσο ορισμένα βαρέα μέταλλα (όπως για παράδειγμα το κάδμιο) είναι πιο τοξικά από το νικέλιο, επομένως το παραπάνω κριτήριο δεν μπορεί να ισχύσει για όλα τα μέταλλα (Gardea-Torresdey et al., 2005). Κατά συνέπεια, ως υπερσυσσωρευτές των μετάλλων ορίστηκαν φυτά τα οποία συσσωρεύουν μέταλλα στους ιστούς τους σε συγκεντρώσεις 100 φορές υψηλότερες από αυτές που μετρούνται σε φυτά μη-συσσωρευτές, χωρίς να αναπτύσσουν κανένα σύμπτωμα τοξικότητας (Σχήμα 2.4) (Chaney et al., 1997, Salt et al., 1998, Boyd and Martens, 1998, Lasat, 2000, Henry, 2000, US EPA, 2001, Lasat, 2002, Pulford and Watson, 2003, Terry et al., 2003, Yanqun et al., 2005, Krämer, 2005, Kirkham, 2006). Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα επίπεδα καδμίου



Σχήμα 2.4. Η σχέση μεταξύ των συγκεντρώσεων του μετάλλου στο έδαφος και στο υπέργειο τμήμα των μη-συσσωρευτών (—) και των υπερσυσσωρευτών (---) (Macnair, 2003).

στα υπέργεια τμήματα των μη συσσωρευτών συνήθως είναι <1 mg/kg, για να χαρακτηριστεί ένα φυτό ως υπερσυσσωρευτής καδμίου θα πρέπει να συγκεντρώνει ≥ 100 mg/kg (Chaney et al., 1997, Kirkham, 2006). Ως κριτήριο λοιπόν για τον χαρακτηρισμό ενός φυτού ως υπερσυσσωρευτή ενός μετάλλου έγινε δεκτό το ποσοστό επί της εκατό του μετάλλου που συγκεντρώνεται στον ξηρό υπέργειο ιστό (Gardea-Torresdey et al., 2005). Κατά συνέπεια, για να χαρακτηριστεί ένα φυτό ως υπερσυσσωρευτής θα πρέπει να συγκεντρώνει πάνω από 1000 $\mu\text{g/g}$ (0,1%) Pb, Co, Cu, Cr και Ni, 10 000 $\mu\text{g/g}$ (1%) Zn και 100 $\mu\text{g/g}$ (0,01%) Cd στην ξηρή υπέργεια βιομάζα του (Raskin et al., 1994, Brown et al., 1995, Anderson et al., 1999, Henry, 2000, Lasat, 2000, Lasat, 2002, Lutts et al., 2004, Pletsch, 2004, Eapen and D'Souza, 2005, Ghosh and Singh, 2005, Yanqun et al., 2005, Boularbah et al., 2006, Wei et al., 2008) και επιπλέον θα πρέπει να συσσωρεύει μεγαλύτερες ποσότητες του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του από ότι στις ρίζες του άρα ο λόγος των συγκεντρώσεων στο υπέργειο τμήμα προς στην ρίζα θα πρέπει να υπερβαίνει την μονάδα, αντίθετα από τους μη-συσσωρευτές οι οποίοι όταν εκτεθούν σε υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων στο έδαφος συσσωρεύουν τα μέταλλα στις ρίζες τους, όπως θα συζητηθεί σε επόμενη παράγραφο (McGrath et al., 2001, McGrath and Zhao, 2003, Lutts et al., 2004, Krämer, 2005, Yanqun et al., 2005, Kirkham, 2006, Wei et al., 2008).

Οι πρώτοι υπερσυσσωρευτές που αναγνωρίστηκαν ανήκουν στις οικογένειες *Brassicaceae* και *Fabaceae* (Salt et al., 1998, Garbisu and Alkorta, 2001, Yanqun et al., 2005) ενώ έως σήμερα τουλάχιστον 45 οικογένειες φυτών είναι γνωστές να περιλαμβάνουν συσσωρευτές μετάλλων ανάμεσα στις οποίες είναι οι οικογένειες *Brassicaceae*, *Fabaceae*, *Euphorbiaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae* και *Scrophulariaceae* (Salt et al., 1998, US EPA, 2000, Lasat, 2002, Yanqun et al., 2005, Ghosh and Singh, 2005) και πάνω από 400 είδη φυτών έχουν αναγνωριστεί ως υπερσυσσωρευτές μετάλλων (Πίνακας 2.5 και 2.6) (Salt et al., 1998, McGrath et al., 2001, Lasat, 2002, Yanqun et al., 2005).

Πίνακας 2.5. Αριθμός υπερσυσσωρευτών ορισμένων μετάλλων (Gardea-Torresdey et al., 2005).

Μέταλλο	Κριτήριο (% στον ξηρό υπέργειο ιστό)	Αριθμός οικογενειών	Αριθμός ειδών
Κάδμιο	>0,01	1	1
Νικέλιο	>0,1	36	151
Χαλκός	>0,1	16	35
Ψευδάργυρος	>1,0	5	13

Η πλειοψηφία των έως σήμερα αναγνωρισμένων υπερσυσσωρευτών είναι υπερσυσσωρευτές του νικελίου, ακολουθούμενοι από αυτούς του Co, Cu και του Zn, ενώ έχουν αναφερθεί και υπερσυσσωρευτές Cd, Pb, Cr, Mn και Se (Raskin et al., 1994). Στον κατάλογο των υπερσυσσωρευτών προστίθενται συνεχώς νέα μέλη, ενώ άλλα που έχουν ήδη χαρακτηριστεί ως υπερσυσσωρευτές αφαιρούνται ύστερα από μια πιο κοντινή ματιά (Salt et al., 1998).

Πίνακας 2.6. Παραδείγματα υπερσυσσωρευτών (Pletsch, 2004, Qadir et al., 2004).

Μέταλλο	Φυτό	Οικογένεια
Κάδμιο	<i>Thlaspi caerulescens</i>	<i>Brassicaceae</i>
Κοβάλτιο	<i>Haumaniastrum robertii</i>	<i>Lamiaceae</i>
Μόλυβδος	<i>Thlaspi rotundifolium</i>	<i>Brassicaceae</i>
Μαγγάνιο	<i>Macadamia neurophylla</i>	<i>Proteaceae</i>
	<i>Maytenus bureaviana</i>	<i>Celastraceae</i>
Νικέλιο	<i>Alyssum bertolonii</i>	<i>Brassicaceae</i>
	<i>Phyllomedea coronata</i>	<i>Rubiaceae</i>
Ουράνιο	<i>Atriplex confertifolia</i>	<i>Chenopodiaceae</i>
Σελήνιο	<i>Astragalus recemosus</i>	<i>Fabaceae</i>
	<i>Lecythis ollaria</i>	<i>Lecythidaceae</i>
Χαλκός	<i>Haumaniastrum katangense</i>	<i>Lamiaceae</i>
Ψευδάργυρος	<i>Thlaspi caerulescens</i>	<i>Brassicaceae</i>

Ο καλύτερα αναγνωρισμένος και εκτενώς μελετημένος υπερσυσσωρευτής μετάλλων είναι πιθανόν το φυτό *Thlaspi caerulescens* το οποίο αποτελεί υπερσυσσωρευτή του ψευδαργύρου αλλά ταυτόχρονα αποτελεί και τον μοναδικό αναγνωρισμένο υπερσυσσωρευτή του καδμίου επιδεικνύοντας εξαιρετική ανθεκτικότητα στο μέταλλο και ασυνήθιστη ικανότητα να το συσσωρεύει (έως και 0,1%) στους υπέργειους ιστούς του (Brown et al., 1995, Dzantor and Beauchamp, 2002, Lasat, 2002, Ernst, 2005, Boominathan and Doran, 2003, Ghosh and Singh, 2005, Kirkham, 2006, Yanai et al., 2006, Wang et al., 2006, Chaney et al., 2007).

Στην διεθνή βιβλιογραφία ως υπερσυσσωρευτές μολύβδου έχουν αναφερθεί ορισμένα είδη φυτών μεταξύ των οποίων τα *Armeria martina*, *Thlaspi rolundifolium*, *Thlaspi alpestre*, *Alyssum wulfenianum* και *Polycarpaea synandra* (Raskin et al., 1994, US EPA, 2000, Henry, 2000, Piechalak, et al., 2002), παρόλα αυτά η υπερσυσσωρευτική ικανότητα τους δεν έχει πλήρως επιβεβαιωθεί (McGrath and Zhao, 2003). Εκτός αυτών, το φυτό *Brassica juncea* έχει αναφερθεί να αποτελεί ένα καλό συσσωρευτή του μολύβδου με υψηλή ικανότητα μεταφοράς του μετάλλου από την ρίζα στο υπέργειο τμήμα ενώ έχει υπολογιστεί ότι δύναται να απομακρύνει 385 kg Pb ανά στέμμα (Kumar et al., 1995, Henry, 2000, US EPA, 2000, Piechalak, et al., 2002, Dzantor and Beauchamp, 2002).

Επιτυχής εφαρμογή της φυτοσυσσώρευσης σημαίνει ότι το ρυπασμένο μέσο καθαρίζεται σε επίπεδο που συμμορφώνεται με τους περιβαλλοντικούς κανονισμούς ενώ από οικονομική άποψη, η αποκατάσταση επιτυγχάνεται με χαμηλότερο κόστος έναντι αυτού μιας εναλλακτικής τεχνολογίας ή απραξίας (Van Nevel et al., 2007). Η επιτυχία της τεχνικής εξαρτάται από δύο κυρίως παράγοντες, το ρυπασμένο έδαφος και το είδος του φυτού. Οι καθοριστικής σημασίας εδαφικοί παράγοντες είναι ο βαθμός της ρύπανσης, η διαθεσιμότητα των μετάλλων για πρόσληψη από τις ρίζες (βιοδιαθεσιμότητα), η εδαφική γονιμότητα και η ικανότητα κατακράτησης νερού του εδάφους, ενώ τα χαρακτηριστικά του φυτού που ενδιαφέρουν είναι η ικανότητα να διατρέχει το έδαφος με τις ρίζες και τους μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται στην ριζόσφαιρα, η ικανότητα πρόσληψης των μετάλλων, η ικανότητα μεταφοράς των μετάλλων από τη ρίζα στο υπέργειο τμήμα, η ικανότητα συσσώρευσης των μετάλλων στους υπέργειους ιστούς χωρίς να παρεμποδίζεται ο βασικός μεταβολισμός του, η ταχύτητα αύξησης και η ανθεκτικότητα του στα μέταλλα (Ernst, 2005). Το ιδανικό λοιπόν φυτό για να χρησιμοποιηθεί για φυτοσυσσώρευση πρέπει να διαθέτει τα εξής χαρακτηριστικά (Chaney et al., 1997, Krämer and Chardonnens, 2001, Garbisu and Alkorta, 2001, Clemens et al., 2002, Pulford and Watson, 2003, Ernst, 2005, Yang et al., 2005, Eapen and D'Souza, 2005, Kirkham, 2006):

- να είναι ανθεκτικό σε υψηλά επίπεδα μετάλλων,
- να συσσωρεύει μεγάλα ποσά μετάλλων στους υπέργειους ιστούς,
- να συσσωρεύει πολλά μέταλλα,
- να αναπτύσσει εκτεταμένο ριζικό σύστημα,
- να έχει ταχύ ρυθμό αύξησης,
- να παρουσιάζει μεγάλη παραγωγή βιομάζας,
- να μπορεί εύκολα να θεριστεί με τις συμβατικές γεωργικές μεθόδους
- να έχει μικρές θρεπτικές απαιτήσεις,
- να είναι ανθεκτικό στις ασθένειες και στα παράσιτα,
- να είναι ανθεκτικό σε διάφορες περιβαλλοντικές καταπονήσεις όπως ξηρασία και παγετό και
- να μην αποτελεί τροφή για τα φυτοφάγα ζώα.

Όμως, μέχρι σήμερα, δεν έχει βρεθεί κανένα φυτό που να ικανοποιεί όλα τα παραπάνω κριτήρια (Clemens et al., 2002), ενώ η επιλογή ενός δεδομένου είδους, εξαρτάται κυρίως από τον καλύτερο ποσοτικό συνδυασμό μεταξύ της συσσώρευσης των μετάλλων και της παραγόμενης βιομάζας (Ow, 1996, Pulford and Watson, 2003, Lutts et al., 2004). Οι υπερσυσσωρευτές συνήθως είναι μικρόσωμα φυτά με ρηχό ριζικό σύστημα και με χαμηλή παραγωγή βιομάζας (Raskin et al., 1997, Salt et al., 1998, Lasat, 2000, Garbisu and Alkorta, 2001, US EPA, 2001, Macnair, 2003, Pulford and Watson, 2003, Lutts et al., 2004, Pletsch, 2004, Eapen and D'Souza, 2005, Krämer, 2005, Ghosh and Singh, 2005, Kirkham, 2006). Η ετήσια παραγωγή βιομάζας των υπερσυσσωρευτών υπολείπεται των $4 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$ και είναι γενικά ένα ή δύο μεγέθη μικρότερη από την αντίστοιχη των φυτών μεγάλης καλλιέργειας (Ow, 1996, Garbisu and Alkorta, 2001, Ernst, 2005). Για παράδειγμα, ο υπερσυσσωρευτής Zn/Cd *Thlaspi caerulescens* παρουσιάζει ετήσια παραγωγή βιομάζας μεταξύ 2 και $5 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$ (McGrath and Zhao, 2003, Lutts et al., 2004). Συνεπώς, οι υπερσυσσωρευτές επιδεικνύουν ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων ανά μονάδα φυτικής βιομάζας αλλά τα συνολικά ποσά των μετάλλων που απομακρύνονται σε μια δεδομένη χρονική περίοδο μπορεί να είναι ιδιαίτερος χαμηλά (Dzantor and Beauchamp, 2002). Επιπλέον, οι υπερσυσσωρευτές απαντώνται σε απομονωμένα περιβάλλοντα και κατά συνέπεια για όλους τους παραπάνω λόγους στερούμαστε της τεχνογνωσίας για μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια τους αφού υπάρχουν πολύ λίγες πληροφορίες για τα αγρονομικά τους χαρακτηριστικά όπως για παράδειγμα οι απαιτήσεις τους σε λιπάσματα και η ευπάθεια τους σε ασθένειες (Cunningham et al., 1995, Ow, 1996, Cunningham and Ow, 1996, Pletsch, 2004). Αντίθετα, τα φυτά με ικανοποιητική ταχύτητα αύξησης παρουσιάζουν συνήθως χαμηλή συσσώρευση μετάλλων καθώς επίσης και χαμηλή ανοχή στα βαρέα μέταλλα. Επομένως, ο επιθυμητός συνδυασμός υψηλής συγκέντρωσης μετάλλων και μεγάλης παραγωγής βιομάζας σε ένα φυτικό είδος μπορεί να μην είναι δυνατός και να απαιτείται ένας συμβιβασμός μεταξύ της υπερσυσσώρευσης και της παραγωγικότητας (Pulford and Watson, 2003). Για το λόγο αυτό, ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί στην έρευνα για την αξιολόγηση της συσσώρευσης μετάλλων σε φυτά με υψηλή παραγωγικότητα που μπορούν να καλλιεργηθούν εύκολα με χρήση των καθιερωμένων αγρονομικών πρακτικών (Garbisu and Alkorta, 2001). Με βάση λοιπόν τα παραπάνω έχουν αναπτυχθεί δύο διαφορετικές προσεγγίσεις της φυτοσυσσώρευσης, η συνεχής ή φυσική φυτοσυσσώρευση η οποία αξιοποιεί υπερσυσσωρευτές με εξαιρετικές δυνατότητες συσσώρευσης μετάλλων και η παρακινούμενη ή χημικά υποβοηθούμενη φυτοσυσσώρευση η οποία εκμεταλεύεται φυτά υψηλής παραγωγικότητας τα οποία υποβοηθούνται να προσλάβουν μεγάλες ποσότητες μετάλλων μέσω προαγωγής της κινητικότητας τους στο έδαφος με την προσθήκη χημικών. Τα κύρια χαρακτηριστικά της κάθε μεθόδου παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.7.

2.2.3.1. Συνεχής ή Φυσική φυτοσυσσώρευση

Η *Συνεχής ή Φυσική φυτοσυσσώρευση* (*Continuous phytoextraction* or *Natural phytoextraction*) όπως προαναφέρθηκε, βασίζεται στη γενετική και φυσιολογική ικανότητα των υπερσυσσωρευτών να προσλαμβάνουν, να μεταφέρουν και να συσσωρεύουν μεγάλες ποσότητες μετάλλων καθόλη την διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου (Salt et al., 1998, Garbisu and Alkorta, 2001, Ghosh and Singh, 2005).

Πίνακας 2.7. Κύρια χαρακτηριστικά των δύο στρατηγικών της φυτοσυσσώρευσης (Nascimento and Xing, 2006).

Συνεχής ή Φυσική φυτοσυσσώρευση	Παρακινούμενη ή Χημικά υποβοηθούμενη φυτοσυσσώρευση
Φυτά υπερσυσσωρευτές των μετάλλων	Φυτά «απαγορευτές» των μετάλλων
Φυτά αργής αύξησης και χαμηλής παραγωγής βιομάζας	Φυτά ταχείας αύξησης και υψηλής παραγωγής
Φυσική ικανότητα να προσλαμβάνουν μεγάλα ποσά μετάλλων από το έδαφος	Χρήση συνθετικών υποκαταστατών και οργανικών οξέων για διευκόλυνση της πρόσληψης μετάλλων
Ικανοποιητική μεταφορά μετάλλων από την ρίζα στο υπέργειο τμήμα	Χημικά πρόσθετα διεγείρουν την μεταφορά του μετάλλου από την ρίζα στο υπέργειο τμήμα
Υψηλή ανθεκτικότητα: επιβίωση με υψηλά ποσά μετάλλων στους ιστούς	Χαμηλή ανθεκτικότητα: η αύξηση της πρόσληψης οδηγεί σε θάνατο το φυτό
Κανένας κίνδυνος μεταφοράς των μετάλλων στα υπόγεια ύδατα	Κίνδυνος μεταφοράς των μεταλλικών συμπλόκων στα υπόγεια ύδατα

Σημαντικό μειονεκτήματα της χρήσης των υπερσυσσωρευτών, όπως συζητήθηκε παραπάνω, είναι η σχετικά μικρή παραγωγή βιομάζας τους, οι αργοί ρυθμοί αύξησης τους, το ρηχό ριζικό τους σύστημα το οποίο περιορίζει περαιτέρω την εφαρμογή της τεχνικής για αποκατάσταση εδαφών με βαθύτερη ρύπανση (Lutts et al., 2004) και η έλλειψη αναγνωρισμένων υπερσυσσωρευτών για περιβαλλοντικά σημαντικούς ρύπους όπως ο μόλυβδος, το χρώμιο και το ουράνιο (Salt et al., 1998, US EPA, 2001). Για να ξεπεραστούν οι περιορισμοί αυτοί και για να επιτύχει η τεχνική της συνεχούς φυτοσυσσώρευσης πρέπει να αναπτυχθεί μια μακροπρόθεσμη στρατηγική δύο σημείων (Salt et al., 1998):

1. Να συνεχιστούν οι προσπάθειες βελτίωσης των ήδη αναγνωρισμένων υπερσυσσωρευτών καθώς επίσης και η αναζήτηση νέων υπερσυσσωρευτών υψηλής παραγωγικότητας, όπως π.χ. του *Berkheya coddii* (*Asteraceae*) το οποίο συσσωρεύει νικέλιο έως 3,7% στην ξηρή υπέργεια βιομάζα του. Επίσης πρέπει να συνεχιστεί η έρευνα στις βιοτεχνολογικές προσεγγίσεις για την παραγωγή υπερσυσσωρευτών υψηλής παραγωγικότητας με την μεταφορά γονιδίων υπερσυσσωρευτών σε ταχέως αναπτυσσόμενους και υψηλής παραγωγής μη υπερσυσσωρευτές. (Cunningham and Ow, 1996, Chaney et al., 1997, Krämer and Chardonens, 2001, Lasat, 2002, Terry et al., 2003, Rugh, 2004, Eapen and D'Souza, 2005, Krämer, 2005).
2. Είναι αναγκαία η πλήρης διερεύνηση και κατανόηση των βιολογικών διαδικασιών που λαμβάνουν χώρα στην πρόσληψη, μεταφορά και συσσώρευση των μετάλλων στους υπερσυσσωρευτές και στους μη-συσσωρευτές.

Άξιο αναφοράς αποτελεί και το γεγονός ότι τα τελευταία χρόνια αρκετά ενδιαφέρουσα έχει αποδειχτεί μια εναλλακτική εφαρμογή της συνεχούς φυτοσυσσώρευσης δηλαδή της χρήσης υπερσυσσωρευτών στην οποία δόθηκε το όνομα *Φυτοεξόρυξη* (*Phytomining*) και η οποία παρέχει τη δυνατότητα εκμετάλλευσης κακής ποιότητας μεταλλευμάτων τα οποία σε διαφορετική περίπτωση θα ήταν οικονομικά ασύμφορα για εξόρυξη. Η τεχνική βασίζεται στην καλλιέργεια φυτών για την πρόσληψη

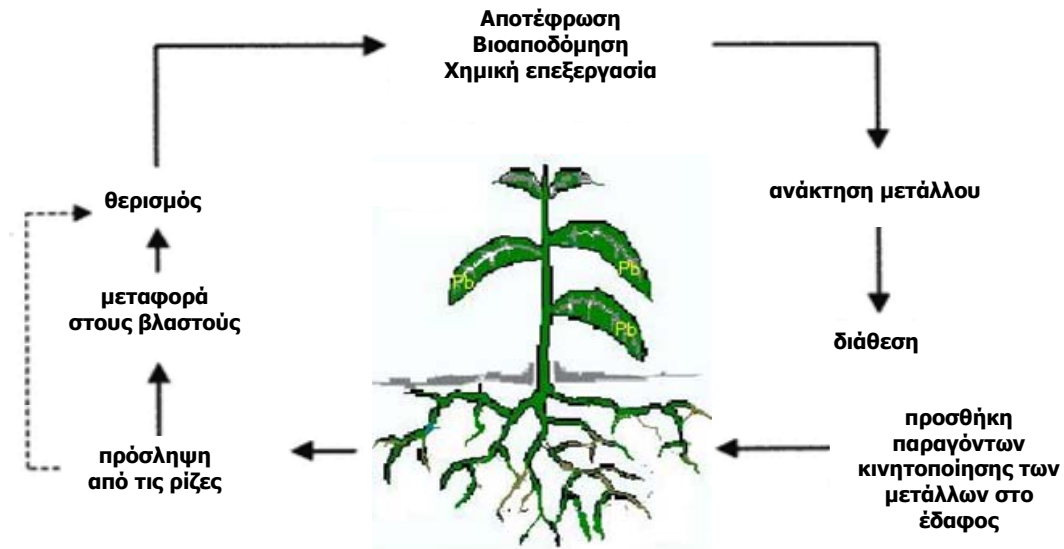
και συσσώρευση μετάλλων με οικονομική αξία όπως για παράδειγμα το νικέλιο, ο χρυσός και ο άργυρος και στην συνέχεια με συγκομιδή και αποτέφρωση της βιομάζας να λαμβάνεται ένα εμπορικό «βιο-μετάλλευμα» (bio-ore) (Robinson et al., 1997, Brooks et al., 1998, Anderson et al., 1999, US EPA, 2001, Garbisu and Alkorta, 2001, McGrath and Zhao, 2003, Pletsch, 2004, Ghosh and Singh, 2005, Gardea-Torresdey et al., 2005, Krämer, 2005, Chaney et al., 2007).

2.2.3.2. Παρακινούμενη ή Χημικά υποβοηθούμενη φυτοσυσσώρευση

Η αποδοτικότητα της φυτοσυσσώρευσης περιορίζεται εκτός των άλλων από την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων για πρόσληψη από τα φυτά λόγω των διεργασιών προσρόφησης των μετάλλων στα σωματίδια του εδάφους και την μικρή διαλυτότητα τους, ιδιαίτερα για μέταλλα όπως ο μόλυβδος και το χρώμιο στο φυσιολογικό εύρος εδαφικού pH (Raskin et al., 1997, Nascimento and Xing, 2006). Επιπλέον, τα ευαίσθητα φυτά δεν επιτρέπουν την μεταφορά των μετάλλων από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα. Μέταλλα όπως ο μόλυβδος τείνουν να συσσωρεύονται στις ρίζες, πιθανώς λόγω φυσιολογικών εμποδίων που παρεμβάλλονται κατά τη μεταφορά τους στα υπέργεια μέρη του φυτού, ενώ άλλα όπως το κάδμιο, μεταφέρονται εύκολα στα υπέργεια τμήματα (Garbisu and Alkorta, 2001). Κατά συνέπεια, στην περίπτωση του μολύβδου υπάρχουν δύο σημαντικοί περιορισμοί κατά την φυτοσυσσώρευση του: η χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα του στο έδαφος και η περιορισμένη δυνατότητα μετακίνησης του από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα (Pulford and Watson, 2003) με αποτέλεσμα φυτά που αναπτύσσονται ακόμα και σε έντονα ρυπασμένες περιοχές συχνά να παρουσιάζουν συγκεντρώσεις κάτω από 50 mg/kg Pb στα υπέργεια τμήματα τους (Garbisu and Alkorta, 2001).

Η *Παρακινούμενη ή Χημικά υποβοηθούμενη φυτοσυσσώρευση* (*Induced phytoextraction* or *Chemical assisted phytoextraction*) βασίζεται στην χρήση χηλικών αντιδραστηρίων τα οποία δύνανται να αυξήσουν την διαθεσιμότητα των μετάλλων για πρόσληψη από τα φυτά και επιπλέον να προάγουν την μεταφορά τους από την ρίζα στο υπέργειο τμήμα φυτών που δεν είναι υπερσυσσωρευτές αλλά «απαγορευτές» (excluders) (βλ. Παράγραφο 2.3.1.2) των μετάλλων και τα οποία χαρακτηρίζονται από ταχείς ρυθμούς αύξησης και μεγάλη παραγωγή βιομάζας (Σχήμα 2.5) (Salt et al., 1998, Garbisu and Alkorta, 2001, McGrath et al., 2001, Ghosh and Singh, 2005, Van Nevel et al., 2007).

Το αιθυλενο-διαμινο-τετραοξικό οξύ (EDTA) αποτελεί το πλέον μελετημένο χηλικό αντιδραστήριο στην έρευνα για την φυτοσυσσώρευση και έχει επιτυχώς χρησιμοποιηθεί για την ενίσχυση της φυτοσυσσώρευσης του μολύβδου αλλά και άλλων μετάλλων από ρυπασμένα εδάφη (Cunningham and Ow, 1996, Blaylock et al., 1997, Salt et al., 1998, Lasat, 2002, Jiang et al., 2003, Wu et al., 2003, Wu et al., 2004, Lai and Chen, 2004, Luo et al., 2005, Nascimento and Xing, 2006, Chaney et al., 2007). Συγκεκριμένα για το μόλυβδο, έχει ελεγχθεί ένας μεγάλος αριθμός χηλικών αντιδραστηρίων όπως το EDTA, το CDTA, το DTPA, το EGTA, το HEDTA, το κιτρικό και το μηλικό οξύ (Huang and Cunningham, 1996, Blaylock et al., 1997, Huang et al., 1997, Wu et al., 1999, Henry, 2000) με το EDTA να αποτελεί την πιο αποδοτική χηλική ένωση προωθώντας την εκρόφιση του Pb από τα σωματίδια του εδάφους και κατά συνέπεια την αύξηση της συγκέντρωσης του στο εδαφικό διάλυμα και άρα την πρόσληψη αλλά και την μεταφορά του στο εναέριο τμήμα φυτών, όπως τα *Brassica juncea*, *Zea mays* και *Pisum sativum* τα



Σχήμα 2.5. Σχηματική απεικόνιση της Χημικά υποβοηθούμενης φυτοσυσσώρευσης.

οποία είναι φυτά «απαγορευτές» γρήγορης ανάπτυξης και μεγάλης βιομάζας (Huang et al., 1997, Henry, 2000, McGrath et al., 2001, Pulford and Watson, 2003).

Άξιο αναφοράς αποτελεί το γεγονός ότι ενώ ο ρόλος των χηλικών ενώσεων στην αύξηση της συγκέντρωσης μετάλλων στο εδαφικό διάλυμα εξηγείται με βάση τις καθιερωμένες αρχές ισορροπίας, οι μηχανισμοί που περιλαμβάνονται στην μεταφορά του μεταλλο-συμπλόκου στα υπέργεια τμήματα των φυτών δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητοί (Salt et al., 1998, McGrath et al., 2001). Για την περίπτωση του μολύβδου μελέτες έχουν δείξει ότι πιθανόν μεταφέρεται μέσα στο φυτό ως Pb-EDTA σύμπλοκο (Vassil et al., 1998, Garbisu and Alkorta, 2001, Kirkham, 2006).

Επιπρόσθετα, αρκετές έρευνες έχουν καταδείξει την ταυτόχρονη συσσώρευση μολύβδου, καδμίου, χαλκού, νικελίου και ψευδάργυρου στο φυτό *Brassica juncea* μετά από την εφαρμογή EDTA στο ρυπασμένο με τα βαρέα μέταλλα έδαφος, ενώ η αποδοτικότητα της συσσώρευσης των μετάλλων σχετίζεται άμεσα με την συγγένεια του χρησιμοποιούμενου χηλικού αντιδραστηρίου με το μέταλλο. Κατά συνέπεια, βέλτιστη φυτοσυσσώρευση επιτυγχάνεται με χρήση χηλικών ενώσεων που έχουν υψηλή συγγένεια με το μέταλλο προς απομάκρυνση, π.χ. EDTA για το Pb, EGTA για το Cd και ενδεχομένως κιτρικό για το ουράνιο (Blaylock et al., 1997, Salt et al., 1998, Garbisu and Alkorta, 2001, Nascimento and Xing, 2006, Chaney et al., 2007).

Ο στόχος της εμπορικής φυτοσυσσώρευσης είναι να απομακρύνει ή να μειώσει τα επίπεδα των τοξικών μετάλλων ώστε να έρθουν μέσα στα θεσμοθετημένα όρια μέσα με 1 με 3 χρόνια. Θεωρητικά λοιπόν, φυτά τα οποία δύνανται να συσσωρεύουν πάνω από 1% του ρύπου στο υπέργειο τμήμα τους και να παράγουν πάνω από 20 μετρικούς τόνους υπέργειας βιομάζας ανά εκτάριο το χρόνο, μπορούν να ικανοποιήσουν αυτό το στόχο (Huang et al., 1997). Με χρήση λοιπόν φυτών μεγάλης παραγωγικότητας και ταχείας ανάπτυξης και μέσω της προσθήκης πρόσθετων και χημικών συμπλεκτικών αντιδραστηρίων μπορεί να πραγματοποιηθεί ο στόχος αυτός. Για παράδειγμα, στην περίπτωση του μολύβδου, βάση ερευνητικών μελετών έχει αποδειχτεί ότι μόνο το 0,1% του ολικού μολύβδου στα ρυπασμένα εδάφη είναι στο εδαφικό διάλυμα και βιοδιαθέσιμο

για αποκατάσταση από το φυτό, ενώ με την προσθήκη χηλικών αντιδραστηρίων το ολικό ποσό του μολύβδου στο διάλυμα μπορεί να αυξηθεί έως και 100 φορές (Henry, 2000) οδηγώντας σε συσσώρευση του στα υπέργεια τμήματα φυτών όπως το *Zea mays* και το *Pisum sativum* έως και 10 000 mg/kg (Huang et al., 1997, McGrath et al., 2001, Ghosh and Singh, 2005).

Με βάση τις ανωτέρω πληροφορίες, ένα υποθετικό πρωτόκολλο για την εφαρμογή της χημικά υποβοηθούμενης φυτοσυσσώρευσης σε μια ρυπασμένη περιοχή μπορεί να περιγραφεί ως εξής (Salt et al., 1998):

1. Αξιολόγηση της περιοχής και καθορισμός του κατάλληλου συνδυασμού χηλικών ενώσεων και φυτού.
2. Προετοιμασία της περιοχής, φύτευση και καλλιέργεια του καταλλήλου φυτικού είδους.
3. Προσθήκη της κατάλληλης χηλικής ένωσης μόλις παραχθεί η βέλτιστη βιομάζα.
4. Συγκομιδή της υπέργειας βιομάζας των φυτών μετά από μια σύντομη φάση μέταλλο-συσσώρευσης (αρκετές ημέρες ή εβδομάδες).

Τέλος, ανάλογα με το φυτό και την εποχή, η περιοχή μπορεί να επαναφυτευτεί για περαιτέρω φυτοσυσσώρευση.

Η χημικά υποβοηθούμενη φυτοσυσσώρευση έχει αποδειχτεί ότι μπορεί να είναι επιτυχής όταν το μέταλλο προς απομάκρυνση έχει ιδιαίτερα μικρή βιοδιαθεσιμότητα και άρα δεν είναι φυτοτοξικό, επιτρέποντας την καλλιέργεια φυτών υψηλής παραγωγικότητας, τα οποία όπως προαναφέρθηκε δεν είναι ιδιαίτερα ανθεκτικά σε υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων, πριν την προσθήκη των χηλικών αντιδραστηρίων. Παραδείγματα αποτελούν ο μολύβδος, το ουράνιο και ο χρυσός. Αντίθετα, έχει προταθεί ότι μέταλλα όπως το κάδμιο, ο ψευδάργυρος και ο χαλκός, τα οποία είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμα στο έδαφος, μπορεί ενδεχομένως να προκαλέσουν σοβαρό πρόβλημα φυτοτοξικότητας αποτρέποντας την καλλιέργεια φυτών μεγάλης παραγωγής βιομάζας άρα περιορίζοντας την εφαρμοσιμότητα της μεθόδου (McGrath et al., 2001, Lasat, 2002, Jiang et al., 2003, Wu et al., 2004).

Σημαντικά μειονεκτήματα της χρήσης χηλικών αντιδραστηρίων είναι ο κίνδυνος της διήθησης των μετάλλων στα υπόγεια και επιφανειακά νερά και επιπλέον οι χηλικές ενώσεις όπως το EDTA είναι ελάχιστα βιοδιασπάσιμες, επομένως παραμένουν στο περιβάλλον προκαλώντας αρνητικές επιπτώσεις στην μικροβιακή κοινότητα του εδάφους (Wu et al., 1999, US EPA, 2001, Nascimento and Xing, 2006, Van Nevel et al., 2007, Wei et al., 2008).

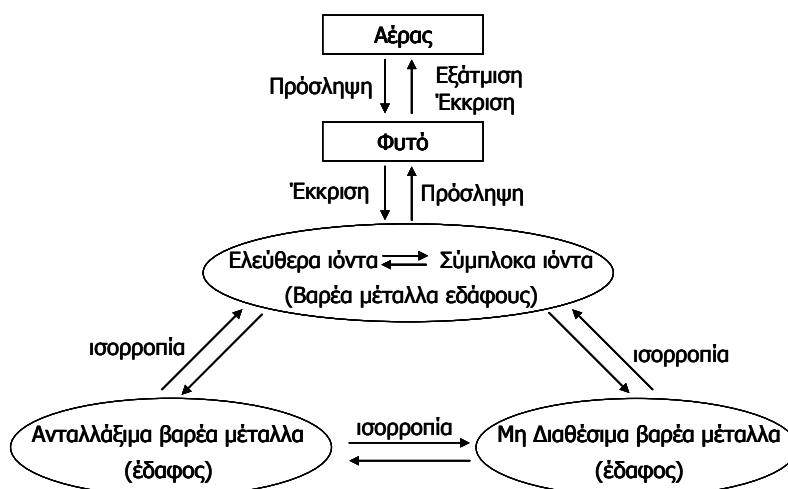
Εκτός από την προσθήκη χηλικών αντιδραστηρίων για την αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων στο έδαφος, έχουν αναφερθεί και άλλες μέθοδοι, όπως μείωση του εδαφικού pH, χρήση καταλλήλων λιπασμάτων και μεταβολή της ιονικής σύστασης του εδάφους (Cunningham and Ow, 1996). Ως γνωστόν, οι ρίζες αυξάνουν την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων μέσω απελευθέρωσης πρωτονίων οξινίζοντας έτσι το έδαφος και κινητοποιώντας τα μέταλλα λόγω της πτώσης του pH. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η μείωση του pH μειώνει την προσρόφηση των βαρέων μετάλλων στα σωματίδια του εδάφους, συνεπώς αυξάνει τη συγκέντρωσή τους στο εδαφικό διάλυμα και άρα τη διαθεσιμότητά τους για πρόσληψη από τα φυτά, όπως θα συζητηθεί και στην επόμενη παράγραφο. Κατά συνέπεια, είναι δυνατόν να αυξηθεί η συσσώρευση των μετάλλων στα φυτά, κρατώντας ένα μέτριο όξινο εδαφικό pH με χρήση αμμωνιακών λιπασμάτων ή εδαφικών οξινιστικών (Garbisu and Alkorta, 2001).

2.2.3.3. Παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη και την συσσώρευση των μετάλλων στο φυτό

Η *in situ* αποκατάσταση ενός ρυπασμένου με βαρέα μέταλλα εδάφους με χρήση φυτών, όπως προαναφέρθηκε, εξαρτάται κυρίως από την ικανότητα του φυτικού είδους να προσλαμβάνει και να συσσωρεύει τα βαρέα μέταλλα και την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος (Ernst, 1996).

Γενικά ισχύει ότι το ολικό ποσό του μετάλλου στο έδαφος δεν είναι διαθέσιμο για τα φυτά, αφού δεν περιλαμβάνει μόνο εκείνα τα ιόντα του μετάλλου που είναι ανταλλάξιμα μεταξύ της στερεής και της διαλυτής φάσης αλλά και εκείνα τα οποία είναι δυνατά δεσμευμένα μέσα στην στερεή φάση του εδάφους και δεν είναι διαθέσιμα για μετακίνηση μέσα στο έδαφος ή για πρόσληψη από τα φυτά. Ο όρος βιοδιαθεσιμότητα όμως, μπορεί να σημαίνει διαφορετικά πράγματα για διαφορετικούς επιστημονικούς κλάδους (Naidu et al., 2003, Adriano et al., 2004). Σύμφωνα με ένα γενικό ορισμό η βιοδιαθεσιμότητα αναφέρεται στο κλάσμα της ολικής μάζας του ρύπου στο έδαφος ή στα ιζήματα το οποίο είναι πραγματικά διαθέσιμο σε οργανισμούς δέκτες συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων ή αναφέρεται στην δυνατότητα των έμβιων οργανισμών να λαμβάνουν αυτά τα χημικά με την τροφή ή από το αβιοτικό περιβάλλον σε βαθμό που αυτά μπορούν να εμπλακούν στον μεταβολισμό των οργανισμών (Adriano et al., 2004). Εν συντομία λοιπόν η βιοδιαθεσιμότητα αναφέρεται στην πρόσληψη από έμβιους γενικά οργανισμούς (Adriano et al., 2004) ενώ στην περίπτωση των φυτών θα ήταν ορθότερη η χρήση του όρου φυτοδιαθεσιμότητα έναντι του όρου βιοδιαθεσιμότητα μιας και αυτές οι ποσότητες δεν είναι απαραίτητα διαθέσιμες στον ίδιο βαθμό σε άλλους οργανισμούς του εδάφους (Naidu et al., 2003).

Η κίνηση των βαρέων μετάλλων με το νερό στα εδάφη απαιτεί την ύπαρξη τους στην διαλυτή φάση ή να σχετίζονται με ευκίνητα σωματίδια. Έχει αποδειχτεί ότι η κίνηση των μετάλλων συνδέεται ουσιαστικά με τις φυσικοχημικές μορφές τους στο έδαφος γιατί αυτές οι μορφές έχουν διαφορετική δυνατότητα κινητοποίησης με τους ανόργανους ή τους οργανικούς υποκατάστατες στο εδαφικό διάλυμα. Τα μέταλλα στα εδάφη μπορούν να χωριστούν σε διαφορετικά κλάσματα τα οποία σχετίζονται με τις φυσικοχημικές τους μορφές, τα οποία είναι α) στο εδαφικό διάλυμα ως ιοντικά ή οργανικά συμπλοκοποιημένα είδη, β) στις θέσεις ανταλλαγής των δραστικών συστατικών του εδάφους, γ) συμπλοκοποιημένα με την οργανική ουσία, δ) εγκλεισμένα στα οξείδια και υδροξείδια του Al, Fe και Mn και ε) παγιδευμένα στα πρωτογενή και δευτερογενή ορυκτά (Soon and Bates, 1982, Maiz et al., 1997, Lasat, 2000, Naidu et al., 2003). Αυτά τα κλάσματα βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία μεταξύ τους και η συγκέντρωση των μετάλλων στο εδαφικό διάλυμα εξαρτάται σημαντικά από αυτή την ισορροπία (Σχήμα 2.6). Οι ρίζες, λοιπόν, του φυτού λαμβάνουν τα μέταλλα απευθείας από το εδαφικό διάλυμα οπότε τα κλάσματα που συνεισφέρουν σε αυτό ελέγχουν την διαθεσιμότητα των μετάλλων στα φυτά. Πιο αναλυτικά, το διαλυτό στο νερό κλάσμα, δηλαδή τα ελεύθερα και τα συμπλοκοποιημένα μεταλλικά ιόντα μπορούν εύκολα να ληφθούν από το φυτό, ενώ τα μη διαθέσιμα βαρέα μέταλλα περιλαμβάνουν τις ποσότητες που σχετίζονται με τα πρωτογενή και δευτερογενή ορυκτά και τα οποία είναι πολύ δύσκολο να ληφθούν από τα φυτά. Ανάμεσα λοιπόν, στο πραγματικά διαθέσιμο και το μη διαθέσιμο υπάρχει το ανταλλάξιμο κλάσμα όπως μέταλλα δεσμευμένα στην οργανική ουσία, στα ανθρακικά και στα οξείδια Fe-Mn, τα οποία δεν μπορούν απευθείας να ληφθούν από το φυτό. Όμως λόγω της ισορροπίας μεταξύ όλων των παραπάνω κλασμάτων, μόλις για παράδειγμα, η συγκέντρωση των μετάλλων στο εδαφικό διάλυμα μειωθεί λόγω της πρόσληψης από τα



Σχήμα 2.6. Αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυτού, βαρέων μετάλλων και εδάφους (Wei et al., 2008).

φυτά, τα μέταλλα παρέχονται στο διάλυμα από τα μη διαθέσιμα κλάσματα, ενώ αν αυξηθεί η βιοδιαθεσιμότητα λόγω παραδείγματος χάριν εισροής μετάλλων από το εξωτερικό περιβάλλον, ποσότητες από τα βιοδιαθέσιμα και ανταλλάξιμα κλάσματα μπορούν να μετατραπούν σε μη διαθέσιμα βαρέα μέταλλα. Γενικά λοιπόν, το διαλυτό στο νερό, το ανταλλάξιμο και το προσροφημένο κλάσμα όπως και μερικές φορές και το οργανικό κλάσμα θεωρούνται συνήθως ως φυτοδιαθέσιμες ποσότητες των μετάλλων, ενώ οι ποσότητες που σχετίζονται με τα πρωτογενή και δευτερογενή ορυκτά θεωρούνται σχετικά μη διαθέσιμες (Li and Shuman, 1996, Mulligan et al., 2001, Naidu et al., 2003, Adriano et al., 2004, Ghosh and Singh, 2005, Wei et al., 2008).

Κατά συνέπεια λοιπόν, οι φυσικοχημικές μορφές του κάθε μετάλλου στο έδαφος δηλαδή οι φυτοδιαθέσιμες ποσότητες του στο έδαφος εξαρτώνται εκτός από τον τύπο του μετάλλου και το βαθμό της ρύπανσης, από τις ιδιότητες του εδάφους (Πίνακας 2.8). Το εδαφικό pH, το οξειδοαναγωγικό δυναμικό, η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων, το περιεχόμενο σε οργανική ουσία, άργιλο, ανθρακικά και οξείδια, αλλά και η παρουσία άλλων ιόντων αποτελούν σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν τις χημικές μορφές και την κινητικότητα των μετάλλων στο έδαφος μιας και η μεταφορά τους μεταξύ των

Πίνακας 2.8. Παράγοντες που επηρεάζουν την συμπεριφορά και την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος (Naidu et al., 2003).

Εδαφικά χαρακτηριστικά	Φυτικά χαρακτηριστικά	Περιβαλλοντικοί και άλλοι παράγοντες
pH	Είδος φυτού	Κλιματικές συνθήκες
Ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων	Ηλικία και τμήμα φυτού	Καλλιεργητικές πρακτικές
Οξειδοαναγωγικό δυναμικό	Εκκρίσεις της ρίζας	Πρακτικές άρδευσης
Σύσταση εδαφικού διαλύματος		Νερό άρδευσης/αλατότητα
Οργανική ουσία		Τοπογραφία
Περιεχόμενο αργίλου		
Μικροοργανισμοί του εδάφους		

λιγότερο διαθέσιμων και των πραγματικά διαθέσιμων φάσεων επηρεάζεται σημαντικά από τον ανταγωνισμό για τις θέσεις ανταλλαγής με άλλα κατιόντα (ιδιαίτερα υδρογονοκατιόντα) και την παρουσία επιφανειών πρόσδεσης όπως η οργανική ουσία (Tyler et al., 1989, Mulligan et al., 2001, Naidu et al., 2003, Rieuwerts et al., 2006). Επιπλέον όμως και τα χαρακτηριστικά του κάθε φυτού όπως και οι περιβαλλοντικοί ή άλλοι εξωγενείς παράγοντες επηρεάζουν την πρόσληψη των μετάλλων από το φυτό (Lasat, 2002, Dzantor and Beauchamp, 2002, Naidu et al., 2003, Adriano et al., 2004).

2.2.3.3.1. Είδος και οι συγκεντρώσεις του μετάλλου στο έδαφος

Όπως συζητήθηκε, για πρόσληψη από τις ρίζες των φυτών δεν είναι διαθέσιμα τα ολικά ποσά των μετάλλων που υπάρχουν στο έδαφος αλλά αυτά που υπάρχουν στην διαλυτή φάση ή δύνανται να περάσουν σε αυτή. Αυτή η κίνηση των μετάλλων μεταξύ των φάσεων συνδέεται ουσιαστικά με τις φυσικοχημικές μορφές τους στο έδαφος οι οποίες εκτός των άλλων εξαρτώνται από το είδος του μετάλλου αλλά και τις συγκεντρώσεις του στο έδαφος (Garcia-Miragaya, 1984, Martínez and Motto, 2000, Fitzgerald et al., 2003, Amini et al., 2005, Ghosh and Singh, 2005). Τα βαρέα μέταλλα είναι γνωστό ότι σχηματίζουν σταθερά σύμπλοκα και χηλικές ενώσεις με ένα μεγάλο εύρος υποκαταστατών, των οποίων η σταθερότητα μειώνεται με την ηλεκτροαρνητικότητα του μετάλλου με σειρά $Pb > Cu > Ni > Co > Zn > Cd > Mn$ (Tyler et al., 1989). Παραδείγματος χάριν, το Cd και ο Zn απαντώνται πρωταρχικά ως διαλυτές ή ανταλλάξιμες και γενικά πραγματικά βιοδιαθέσιμες μορφές οι οποίες φτάνουν ακόμα και το 30% της ολικής ποσότητας του μετάλλου στο έδαφος, ενώ άλλα μέταλλα όπως ο Pb και ο Cu, απαντώνται κυρίως ως αδιάλυτα ιζήματα (φωσφορικά, ανθρακικά και υδροξυ-οξείδια) ή σύμπλοκα με τα φουλβικά οξέα του εδάφους, τα οποία είναι ουσιαστικά μη διαθέσιμα για τα φυτά με συνέπεια οι διαλυτές μορφές παραδείγματος χάριν του μολύβδου να φτάνουν το 9-12% του ολικού ποσού που υπάρχει στο έδαφος (Tyler et al., 1989, Mulligan et al., 2001, Lasat, 2002, Piechalak et al., 2003). Οι βιοδιαθέσιμες μορφές του μολύβδου είναι κυρίως σύμπλοκα ιόντα της μορφής $PbOH^+$ και $Pb(CO_3)_2^{2-}$ σε αλκαλικά εδάφη, ενώ στα όξινα επικρατούν οι μορφές Pb^{2+} και $PbHCO_3^+$ (Piechalak et al., 2003). Παρόλα αυτά πολλοί παράγοντες εδαφικοί και περιβαλλοντικοί μπορούν να επηρεάσουν αυτή την σειρά και γενικά τις μορφές των μετάλλων στο έδαφος.

2.2.3.3.2. Εδαφικοί Παράγοντες

Όπως αναφέρθηκε ιδιαίτερη σημασία, στην βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων έχουν τα χαρακτηριστικά του εδάφους, α) χημικά, όπως pH, ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων, οξειδοαναγωγικό δυναμικό, β) φυσικά, όπως κοκκομετρική (μηχανική) σύσταση, περιεχόμενο αργίλου, οργανική ουσία (%), γ) βιολογικά, (βακτήρια, μύκητες) και οι αλληλεπιδράσεις τους, μιας και δύνανται να επηρεάσουν φυσικοχημικές μορφές των μετάλλων στο έδαφος (Ernst, 1996, Martínez and Motto, 2000, Naidu et al., 2003, Ghosh and Singh, 2005). Πιο αναλυτικά:

pH

Το pH του εδάφους αποτελεί ένα από τους σημαντικότερους παράγοντες, αν όχι τον σημαντικότερο, που ελέγχει την πρόσληψη των μετάλλων από τα φυτά (Kukier et

al., 2004, Amini et al., 2005, Basta et al., 2005, Kirkham, 2006) αφού οι μεταβολές του επηρεάζουν τις χημικές μορφές των μετάλλων στο έδαφος και άρα την φυτοδιαθεσιμότητα τους (Obrador et al., 1997, Naidu et al., 2003). Σε μεγάλο αριθμό μελετών έχει βρεθεί ότι αύξηση του pH οδηγεί σε μεγαλύτερη συγκράτηση και μικρότερη διαλυτότητα των μεταλλικών ιόντων λόγω υψηλότερης προσρόφησης των μετάλλων στα σωματίδια του εδάφους, συμπλοκοποίησης με την οργανική ουσία ή καταβύθισης τους ως υδροξείδια και σε μείωση της πρόσληψης από τα φυτά, ενώ σε όξινα εδάφη ευνοείται η εκρόφηση των μετάλλων από τις θέσεις πρόσδεσης λόγω του ανταγωνισμού τους με τα υδρογονοκατιόντα για τις θέσεις με συνέπεια την αύξηση της πρόσληψης από τα φυτά (Lasat, 2000, Henry, 2000, Martínez and Motto, 2000, Adriano et al., 2004, Ghosh and Singh, 2005, Yang et al., 2006, Rieuwerts et al., 2006, Wei et al., 2008). Για παράδειγμα σε αρκετές μελέτες έχει βρεθεί ότι σε υψηλό pH παρατηρείται μείωση της διαλυτότητας του Cd και του Pb στο εδαφικό διάλυμα λόγω προσρόφησης στα οργανικά ή κατακρήμνισης και μείωση της πρόσληψης από τα φυτά, ενώ όσο το pH μειώνεται τόσο αυξάνεται η πρόσληψη τους από τα φυτά (Tyler and McBride, 1982, Soon and Bates, 1982, Naidu et al., 2003, Weis and Weis, 2004, Kuo et al., 2004, Sappin-Didier et al., 2005, Tsadilas et al., 2005, Kirkham, 2006). Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι το εδαφικό pH δεν επηρεάζει μονό την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων αλλά και την ίδια την διεργασία πρόσληψης από τα φυτά ενώ η διεργασία αυτή φαίνεται να εξαρτάται από το είδος του μετάλλου. Για παράδειγμα στο φυτό *Thlaspi caerulescens* η πρόσληψη του Zn από τις ρίζες παρατηρήθηκε να έχει μια μικρή εξάρτηση από το pH ενώ στην περίπτωση του Cd και του Mn η πρόσληψη εξαρτιόταν περισσότερο από την οξύτητα του εδάφους (Brown et al., 1995, Lasat, 2000).

Ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων

Η Ικανότητα Ανταλλαγής Κατιόντων (Cation Exchange Capacity, CEC) του εδάφους ορίζεται ως το άθροισμα όλων των κατιόντων που μπορούν να συγκρατηθούν από τα κολλοειδή του εδάφους σε συγκεκριμένο pH (Κεραμίδας και Σινάνης, 2005). Κατά συνέπεια, η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων αυξάνεται με την αύξηση της περιεκτικότητας του εδάφους σε σωματίδια αργίλου ενώ η βιοδιαθεσιμότητα των μεταλλικών ιόντων μειώνεται και άρα όσο υψηλότερη είναι η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων του εδάφους τόσο μεγαλύτερη θα είναι η ρόφηση και η ακινητοποίηση των μετάλλων (Zipper et al., 1988, Lasat, 2000). Η βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων είναι συνάρτηση της εκρόφησης ή με άλλα λόγια της δύναμης συγκράτησης με την οποία τα μέταλλα συγκρατούνται στο έδαφος, ενώ η διεργασία της εκρόφησης επηρεάζεται από την φύση του εδάφους, την συγκέντρωση των μετάλλων στο έδαφος και το εδαφικό pH λόγω τον ανταγωνισμού για τις θέσεις ανταλλαγής με τα H^+ (Naidu et al., 2003). Άρα για παράδειγμα, η ικανότητα του εδάφους να προσροφά τον μόλυβδο αυξάνεται με την αύξηση του pH, της ικανότητας ανταλλαγής κατιόντων, του οξειδοαναγωγικού δυναμικού εδάφους/νερού, του περιεχόμενου σε οργανικό άνθρακα και των επιπέδων σε φωσφορικά (Henry, 2000).

Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι και η «γήρανση» (aging) των μετάλλων είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει την βιοδιαθεσιμότητα τους μιας και έχει αποδειχτεί ότι η ικανότητα εκρόφησης των μετάλλων από τα σωματίδια του εδάφους μειώνεται με το χρόνο, χωρίς να υπάρχει μείωση της ολικής τους συγκέντρωσης στο έδαφος, ως αποτέλεσμα των μακροχρονίων χημικών διεργασιών. Όμως, είναι δύσκολη η εκτίμηση του ρυθμού και του βαθμού της «γήρανσης» αφού την διεργασία αυτή επηρεάζουν ταυτόχρονα διάφοροι περιβαλλοντικοί παράμετροι όπως η θερμοκρασία, οι

εναλλασσόμενοι κύκλοι ξήρανσης και διαβροχής, η περιεχόμενη υγρασία του εδάφους, το pH και η ολική συγκέντρωση των μετάλλων (Naidu et al., 2003, Kirkham, 2006).

Ταυτόχρονη παρουσία άλλων κατιόντων

Σε αρκετές μελέτες έχει αποδειχτεί ότι σε εδάφη ρυπασμένα με περισσότερα του ενός βαρέα μέταλλα, η βιοδιαθεσιμότητα του ενός μετάλλου μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία των άλλων, δηλαδή η μεταξύ τους αλληλεπίδραση και ο μεταξύ τους ανταγωνισμός για προσρόφηση στα σωματίδια του εδάφους μπορεί να οδηγήσει είτε σε αύξηση είτε σε μείωση της βιοδιαθεσιμότητας στο έδαφος και άρα της πρόσληψης τους από τα φυτά (Ghosh and Singh, 2005). Για παράδειγμα έχει βρεθεί ότι τα κατιόντα των μετάλλων Pb, Cu και Zn και ιδιαίτερα των αλκαλικών γαιών (Ca και Mg) μειώνουν την προσρόφηση του καδμίου λόγω ανταγωνισμού τους για τις διαθέσιμες θέσεις προσρόφησης και τις θέσεις ανταλλαγής κατιόντων και κατά συνέπεια αυξάνουν και την βιοδιαθεσιμότητα και την πρόσληψη του από τα φυτά (Tyler and McBride, 1982, Carlson and Bazzaz, 1977, Miller et al., 1977, Carlson and Rolfe, 1979, Martin and Kaplan, 1998, Madyiwa et al., 2004, Ghosh and Singh, 2005, Basta et al., 2005, Kirkham, 2006). Ενώ στην περίπτωση του μολύβδου σε άλλες μελέτες έχει αναφερθεί ότι παρουσία καδμίου αυξάνεται η πρόσληψη του Pb από τα φυτά (Carlson and Bazzaz, 1977), σε άλλες ότι μειώνεται (Miller et al., 1977) και σε τρίτες ότι το κάδμιο, ο ψευδάργυρος και το χρώμιο δεν επηρεάζουν τις βιοδιαθέσιμες συγκεντρώσεις του μολύβδου ενώ το νικέλιο μειώνει την βιοδιαθεσιμότητα και την πρόσληψη του από τα φυτά (Madyiwa et al., 2004, Sekhar et al., 2005).

Εδαφική αλατότητα

Η εδαφική αλατότητα έχει βρεθεί να επηρεάζει την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος και κατά συνέπεια την πρόσληψη τους από τα φυτά. Σε αρκετές μελέτες έχει αναφερθεί ότι η αλατότητα προάγει την αύξηση της συγκέντρωσης και τη διαλυτοποίηση των μετάλλων στο εδαφικό διάλυμα λόγω 1) αντικατάστασης των προσροφημένων μεταλλικών ιόντων στις θέσεις πρόσδεσης από τα κατιόντα που σχετίζονται με την αλατότητα (Bingham et al., 1983, Greger et al., 1995, Ghosh and Singh, 2005, Wahla and Kirkham, 2007), 2) διαλυτοποίησης της οργανικής ουσίας στην οποία είναι δεσμευμένα τα μέταλλα (Wahla and Kirkham, 2007) και 3) σχηματισμού διαλυτών συμπλόκων του χλωρίου με τα μέταλλα (ιδιαιτέρως το κάδμιο) και κατά συνέπεια μειώνοντας την προσρόφηση τους στα σωματίδια του εδάφους (Bingham et al., 1983, Li et al., 1994, Greger et al., 1995, Martin and Kaplan, 1998, Smolders et al., 1998, Norvell et al., 2000, Weggler-Beaton et al., 2000, Weggler et al., 2004, Adriano et al., 2004, Amini et al., 2005, Kirkham, 2006, Wahla and Kirkham, 2007). Τα κατιόντα του εδάφους είναι γνωστό ότι ανταγωνίζονται μεταξύ τους για τις θέσεις ανταλλαγής οπότε είναι πιθανόν να συνεισφέρουν στην βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων. Όμως μονοσθενή κατιόντα όπως το νάτριο είναι σχετικά μη αποδοτικά στην αντικατάσταση δισθενών κατιόντων όπως για παράδειγμα του καδμίου, ακόμα και σε σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις, οπότε θεωρείται ότι το νάτριο μάλλον δεν κατέχει σημαντικό ρόλο στην αύξηση της πρόσληψης των βαρέων μετάλλων από τα φυτά (Smolders et al., 1998, Norvell et al., 2000). Κατά συνέπεια, η παρουσία, για παράδειγμα, NaCl στο έδαφος θεωρείται ότι ευνοεί την εκρόφηση των μεταλλικών ιόντων από τα σωματίδια του εδάφους κυρίως λόγω σχηματισμού διαλυτών συμπλόκων του χλωρίου με το μέταλλο. Εν κατακλείδι, η προκύπτουσα αύξηση της συγκέντρωσης των μετάλλων στο εδαφικό διάλυμα οδηγεί σε αύξηση της κινητικότητας και της βιοδιαθεσιμότητας τους άρα και σε

αύξηση της πρόσληψης από τα φυτά. Σε αρκετές μελέτες έχει παρατηρηθεί αύξηση της συσσώρευσης μετάλλων σε φυτά όπως το σιτάρι (*Triticum aestivum* L.) (Norvell et al., 2000, Weggler-Beaton et al., 2000, Weggler et al., 2004), το κριθάρι (*Hordeum vulgare* L.) (Wahla and Kirkham, 2007), τον ηλιάνθο (*Helianthus annuus* L.) (Li et al., 1994), το παντζάρι (*Beta vulgaris* L.) (Bingham et al., 1983, Smolders et al., 1998, Weggler-Beaton et al., 2000) το *Potamogeton pectinatus* (Greger et al., 1995) και το *Aster tripolium* (Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003) και έχει υποστηριχθεί ότι το γεγονός αυτό οφείλεται στην μεγαλύτερη κινητικότητα/βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος ή/και στην μεγαλύτερη πρόσληψη νερού (λόγω της αυξανόμενης διαπνοής), οδηγώντας σε μια μεγαλύτερη ροή των μετάλλων στα φυτά. Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι η αλατότητα αποτελεί ένα βασικό παράγοντα στη μετακίνηση των μετάλλων από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα των φυτών (Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003).

Μηχανική σύσταση, περιεχόμενο αργίλου και οργανικής ουσίας

Η μηχανική (κοκκομετρική) σύσταση των εδαφών βεβαίως επηρεάζει την βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων στο έδαφος (Naidu et al., 2003), με την διαθεσιμότητα να είναι μικρότερη στα αργιλώδη εδάφη, ακολουθούμενα από τα αργιλοπηλώδη, τα πηλώδη και τα αμμώδη, μιας και είναι φυσικό μεγαλύτερα ποσά μετάλλων να συγκρατούνται σε βαριά εδάφη στα οποία επικρατεί η άργιλος που κατά κανόνα αποτελείται από δευτερογενή υλικά τα οποία εκδηλώνουν αρνητικά φορτία και επομένως χαρακτηρίζονται από υψηλή ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (Webber and Singh, 1995, Κεραμίδας και Σινάνης, 2005). Επιπλέον, η οργανική ουσία έχει βρεθεί να επηρεάζει την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος λόγω της υψηλής της ικανότητας ανταλλαγής κατιόντων αλλά και της συμπλοκοποίησης με τα μέταλλα λόγω παρουσίας υποκαταστατών και ομάδων που δύνανται να σχηματίσουν σύμπλοκα με τα μέταλλα (Martin and Kaplan, 1998, Sauvé et al., 2003, Adriano et al., 2004, Ge and Hendershot, 2005, Li et al., 2006b, Kirkham, 2006, Rieuwerts et al., 2006). Γενικά όμως, έχει αναφερθεί ότι η αλληλεπίδραση της οργανικής ουσίας με τα βαρέα μέταλλα εξαρτάται από το pH του εδάφους και κατά συνέπεια η κινητικότητα ή μη των μετάλλων τελικώς εξαρτάται από το εδαφικό pH (Walker et al., 2003, Clemente et al., 2005, Kirkham, 2006). Η πρωτονίωση της αρνητικά φορτισμένης οργανικής ουσίας και των άλλων θέσεων ανταλλαγής, σε χαμηλό pH, κάνουν δύσκολη την αντίδραση με τα μέταλλα που υπάρχουν στο εδαφικό διάλυμα, ενώ με την αύξηση του pH η δημιουργία ιονισμένων ομάδων της οργανικής ουσίας ευνοεί την δέσμευση των μετάλλων (Clemente et al., 2005, Adriano et al., 2004, Basta et al., 2005). Επίσης, η συγγένεια των συμπλοκοποιημένων μεταλλικών ιόντων με την οργανική ουσία ακολουθεί την γενική σειρά $\text{Cu}^{+2} > \text{Cd}^{+2} > \text{Fe}^{+2} > \text{Pb}^{+2} > \text{Ni}^{+2} > \text{Co}^{+2} > \text{Mn}^{+2} > \text{Zn}^{+2}$ (Adriano et al., 2004). Κατά συνέπεια, το περιβάλλον γύρω από την θέση συμπλοκοποίησης και ιδιαίτερα το pH και το είδος του μετάλλου που συμμετέχει στην διεργασία επηρεάζουν την συμπλοκοποίηση του μετάλλου με την οργανική ουσία (Clemente et al., 2005).

Μικροοργανισμοί του εδάφους

Οι ρίζες των φυτών, ως γνωστόν, ενισχύουν την μικροβιακή δραστηριότητα στην ριζόσφαιρα ενώ σε ανταπόδοση οι μικροοργανισμοί της ριζόσφαιρας έχουν βρεθεί να αλληλεπιδρούν συμβιωτικά με τις ρίζες για την ενίσχυση της πρόσληψης των μετάλλων από τα φυτά (Raskin et al., 1997, Lasat, 2000, Naidu et al., 2003). Οι μικροοργανισμοί επηρεάζουν την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων είτε μέσω άμεσων ρυθμιστικών διεργασιών οι οποίες αλλάζουν τις χημικές μορφές των μετάλλων, είτε μέσω μεταβολής

των εδαφικού περιβάλλοντος επηρεάζοντας δηλαδή το βαθμό των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα στο έδαφος, αλλάζοντας το pH στο μικροπεριβάλλον τους ή ακόμα και μέσω πρόσληψης ή προσρόφησης των μετάλλων μειώνοντας προσωρινά τα βιοδιαθέσιμα επίπεδα των μετάλλων για τα φυτά (Naidu et al., 2003). Για παράδειγμα, οι μικροοργανισμοί του εδάφους έχουν βρεθεί να κινητοποιούν τον Zn για υπερσυσσώρευση από το φυτό *Thlaspi caerulescens* μέσω διαλυτοποίησης του από μη ευκίνητες φάσεις (Whiting et al., 2001, Nascimento and Xing, 2006), ενώ ένα στέλεχος του *Pseudomonas maltophilia* έχει βρεθεί να μειώνει το ευκίνητο και τοξικό Cr^{+6} σε μη τοξικό και λιγότερο ευκίνητο Cr^{+3} και επίσης να ελαχιστοποιεί την κινητικότητα άλλων τοξικών μετάλλων όπως Hg^{+2} , Pb^{+2} και Cd^{+2} (Lasat, 2000). Επιπλέον, οι μυκόρριζες είναι γνωστό να αυξάνουν την πρόσληψη απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων (φώσφορο) αλλά και άλλων μετάλλων (Zn, Cu, Pb, Cd) από τα φυτά (Lambert et al., 1979, Ernst, 1996, Jones and Leyval, 1997, Naidu et al., 2003, Κεραμίδας και Σινάνης, 2005). Σε αυτή την περίπτωση, οι μυκόρριζες δεν μεταβάλουν αυτές καθαυτές τις χημικές μορφές των βαρέων μετάλλων, αλλά, μέσω βελτίωσης της ικανότητας του φυτού να προσεγγίσει ένα μεγαλύτερο τμήμα του όγκου του εδάφους, βελτιώνουν το επίπεδο της συσσώρευσης (Naidu et al., 2003). Επιπρόσθετα, το διοξείδιο του άνθρακα που παράγεται ως αποτέλεσμα της μικροβιακής δραστηριότητας μπορεί να επηρεάσει την χημική κατάσταση των βαρέων μετάλλων μέσω αλλαγών στις αντιδράσεις οξείδωσης και αναγωγής στο εδαφικό διάλυμα (Naidu et al., 2003).

2.2.3.3. Παράγοντες που συσχετίζονται με το φυτό

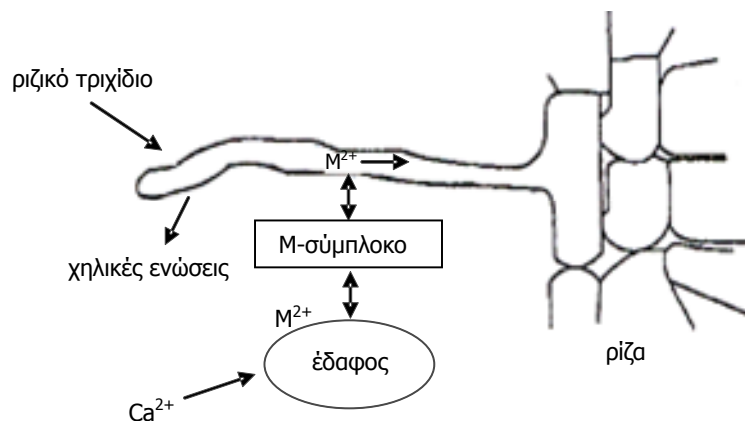
Είδος, τμήμα, ηλικία και στάδιο ανάπτυξης του φυτού

Όπως αναπτύχθηκε και νωρίτερα στον παρόν Κεφάλαιο το είδος του φυτού έχει πρωταρχική σημασία στην πρόσληψη και συσσώρευση των βαρέων μετάλλων. Επιπλέον όμως έχει αναφερθεί ότι και η ηλικία αλλά και το στάδιο ανάπτυξης του φυτού επηρεάζουν σημαντικά την πρόσληψη και συσσώρευση των μετάλλων (Orcutt and Nilsen, 2000, Fitzgerald et al., 2003, Lutts et al., 2004, Qadir et al., 2004a, Weis and Weis, 2004). Έρευνες για την μελέτη των εποχιακών κατανομών των μετάλλων στα φυτά έχουν δείξει ότι η εποχή επηρεάζει την πρόσληψη και συσσώρευση των μετάλλων (Otte et al., 1991, Fitzgerald et al., 2003, Weis and Weis, 2004) όπως για παράδειγμα μια μελέτη της συγκέντρωσης ψευδαργύρου, μολύβδου, χαλκού και καδμίου στις ρίζες των φυτών *Spartina maritima* και *Halimione portulacoides* έδειξε ότι οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις μετρηθήκαν κατά τον Ιανουάριο ενώ παρατηρήθηκε αυξητική τάση κατά την περίοδο αύξησης υποδηλώνοντας ότι οι δραστηριότητες του φυτού έχουν άμεση σχέση με την πρόσληψη των μετάλλων (Caçador et al., 2000). Επίσης, άλλες μελέτες έχουν δείξει τα νεαρά φύλλα έχουν μικρότερες συγκεντρώσεις μετάλλων από τα μεγαλύτερα σε ηλικία φύλλα πιθανόν λόγω της συνεχόμενης παθητικής μεταφοράς των μετάλλων στο φύλλωμα (Schierup and Larsen, 1981, Luque et al., 1999, Weis and Weis, 2004) ενώ επιπλέον έχει προταθεί ότι η κίνηση των μετάλλων στα γηράσκοντα φύλλα αποτελεί ένα τρόπο για τα φυτά να μειώσουν την καταπόνηση από τα μέταλλα (Dahmani-Muller et al., 2000, Weis and Weis, 2004). Ανάλογες παρατηρήσεις όσον αφορά την ηλικία έχουν εξαχθεί για παράδειγμα και για τα πεύκα όπου παρατηρήθηκε ότι οι νεαρές ρίζες (διαμέτρου 1 mm) συσσωρεύουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις όλων των στοιχείων απαραίτητων ή μη σε σύγκριση με τις γηραιότερες ρίζες (διαμέτρου 5 mm) (Orcutt and Nilsen, 2000). Επιπλέον, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα διαφορετικά

τμήματα του φυτού συσσωρεύουν διαφορετικές ποσότητες μετάλλων. Για παράδειγμα έχει βρεθεί ότι τα ξυλώδη τμήματα των φυτών συσσωρεύουν μικρότερες ποσότητες μετάλλων ενώ τα κλαριά συσσωρεύουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ιόντων από το φλοιό και τους κόμπους των δέντρων (Orcutt and Nilsen, 2000, Krämer, 2005).

Εκκρίσεις της ρίζας

Τα φυτά επηρεάζουν την χημεία της μεσεπιφάνειας ρίζας – εδάφους και κατά συνέπεια την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στην ριζόσφαιρα. Η επιρροή των ριζών στο έδαφος που τις περιβάλλει οφείλεται κατά κύριο λόγο στην απελευθέρωση οργανικών και ανόργανων εκκρίσεων και έμμεσα μέσω της διέγερσης της μικροβιακής δραστηριότητας στην ριζόσφαιρα ως αποτέλεσμα των αυξημένων επιπέδων άνθρακα από τις εκκρίσεις της ρίζας. Οι ρίζες εκκρίνουν ένα αριθμό οργανικών ενώσεων συμπεριλαμβανομένων αμινοξέων, σακχάρων και οργανικών οξέων, οι οποίες ενισχύουν την διαλυτοποίηση των βαρέων μετάλλων στο έδαφος (Mench and Martin, 1991, Lasat, 2000, Garbisu and Alkorta, 2001, Naidu et al., 2003, Eapen and D'Souza, 2005, Nascimento and Xing, 2006). Το Σχήμα 2.7 παρουσιάζει ότι οι εκκρίσεις της ρίζας δύνανται να ενισχύσουν την διαλυτότητα των μεταλλικών ιόντων μέσω δύο κυρίων



Σχήμα 2.7. Σχηματικό διάγραμμα που παρουσιάζει τον μηχανισμό απελευθέρωσης των μετάλλων παρουσία συμπλεκτικών εκκρίσεων της ρίζας (Naidu et al., 2003).

διεργασιών: πρώτον, οι εκκρίσεις δρουν ως χηλικά (συμπλεκτικά) αντιδραστήρια και αυξάνουν την διαλυτότητα των μεταλλικών ιόντων μέσω σχηματισμού διαλυτών μέταλλο-οργανικών συμπλόκων και δεύτερον, οποιαδήποτε κατιόντα υπάρχουν στο εδαφικό διάλυμα μπορούν να εκτοπίσουν τα ιόντα των μετάλλων (Naidu et al., 2003).

Επιπλέον, οι ρίζες των φυτών αυξάνουν την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων μέσω έκκρισης H^+ , οξινίζοντας την περιοχή της ριζόσφαιρας μέχρι και μια μονάδα σε σύγκριση με το υπόλοιπο έδαφος και αλλάζοντας τα χαρακτηριστικά του εδάφους. Τα πρωτόνια ανταγωνίζονται τα μεταλλικά ιόντα για τις θέσεις πρόσδεσης, ενισχύοντας την εκρόφηση τους από τα σωματίδια του εδάφους στο εδαφικό διάλυμα, αυξάνοντας με τον τρόπο αυτό την βιοδιαθεσιμότητα τους. (Ernst, 1996, Raskin et al., 1997, Lasat, 2000, Garbisu and Alkorta, 2001, Naidu et al., 2003, Eapen and D'Souza, 2005, Yang et al., 2005, Nascimento and Xing, 2006).

2.2.3.4. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της φυτοσυσσώρευσης

Η φυτοσυσσώρευση παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα έναντι άλλων τεχνικών αποκατάστασης ρυπασμένων με βαρέα μέταλλα εδαφών (Raskin et al, 1994, Schnoor, 1997, Henry, 2000, Lasat, 2000, US EPA, 2001, Schwitzguébel, 2001, Morikawa and Erkin, 2003, Pletsch, 2004, Ghosh and Singh, 2005):

- Πρόκειται για μια περιβαλλοντικά φιλική, αισθητικά ευχάριστη και εύκολα αποδεκτή από το ευρύ κοινό τεχνολογία.
- Είναι τεχνική *in situ* η οποία δεν απαιτεί ακριβό εξοπλισμό και ιδιαίτερα εξειδικευμένο προσωπικό.
- Είναι εξαιρετικά χαμηλού κόστους (60-80% φθηνότερη σε σχέση με τις συμβατικές φυσικοχημικές μεθόδους).
- Είναι οικονομικά αποδοτική για μεγάλες περιοχές με χαμηλό ή μέτριο επίπεδο ρύπανσης όπου άλλες τεχνολογίες είναι οικονομικά μη αποδεκτές.
- Βρίσκει εφαρμογή για ένα μεγάλο εύρος τοξικών μετάλλων και ραδιονουκλεϊδίων μερικά από τα οποία έχουν περιορισμένες εναλλακτικές.
- Προκαλεί μικρή διαταραχή του εδάφους και του γύρω περιβάλλοντος ενώ το έδαφος μετά τη ολοκλήρωση της αποκατάστασης δεν χαρακτηρίζεται από μείωση της γονιμότητας του όπως με άλλες τεχνικές, αντίθετα μπορεί και να έχει βελτιωθεί και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για γεωργική χρήση.
- Χαρακτηρίζεται από μειωμένες ποσότητες παραγόμενων απορριμμάτων/αποβλήτων που απαιτούν κατάλληλη διάθεση (μέχρι και 95%) και επιπλέον υπάρχει η δυνατότητα ανάκτησης των μετάλλων από τη ρυπασμένη φυτική βιομάζα.
- Χαρακτηρίζεται από μηδενική παραγωγή δευτερογενών αέριων ή υγρών αποβλήτων.
- Και γενικά η χρήση βλάστησης μειώνει την διάβρωση του εδάφους και την μεταφορά της ρύπανσης σε άλλες περιοχές μέσω της μεταδιδόμενης με τον άνεμο σκόνης.

Εντούτοις, υπάρχουν και αρκετά μειονεκτήματα και περιορισμοί της μεθόδου (Schnoor et al., 1995, Cunningham and Ow, 1996, Henry, 2000, Lasat, 2000, US EPA, 2000, US EPA, 2001, Schwitzguébel, 2001, Pletsch, 2004, Ghosh and Singh, 2005):

- Απαιτείται μεγάλος χρόνος για αποκατάσταση μιας και η μέθοδος εξαρτάται από τους ρυθμούς αύξησης των φυτών για την ανάπτυξη ενός εκτεταμένου ριζικού συστήματος ή σημαντικής υπέργειας βιομάζας. Κατά συνέπεια, απαιτούνται αρκετές επανακαλλιέργειες μέχρι να επιτευχθεί ο επιθυμητός βαθμός αποκατάστασης. Για παράδειγμα σύμφωνα με μια εκτίμηση αποκατάστασης μιας ρυπασμένης με βαρέα μέταλλα περιοχής με χρήση του υπερσυσσωρευτή *Thlaspi caerulescens*, θα χρειαστούν 13 - 14 χρόνια για να μειωθούν οι συγκεντρώσεις των μετάλλων το έδαφος μέσα στις θεσμοθετημένες οριακές τιμές.
- Είναι μη εφαρμόσιμη σε πολύ υψηλά επίπεδα ρύπανσης τα οποία θα ήταν φυτοτοξικά,
- Είναι μη αποτελεσματική για ρύπανση σε μεγάλο βάθος μιας και η αποκατάσταση περιορίζεται στην ζώνη της ρίζας των φυτών και συνήθως μπορεί να επιτευχθεί αποκατάσταση μέσα στο πρώτο μέτρο από την επιφάνεια του εδάφους.
- Δύνεται να απομακρυνθεί μόνο το βιοδιαθέσιμο κλάσμα του μετάλλου στο έδαφος.
- Επηρεάζεται από τις κλιματικές και υδρολογικές συνθήκες οι οποίες μπορεί να επηρεάσουν την αύξηση και την παραγόμενη βιομάζα των φυτών.

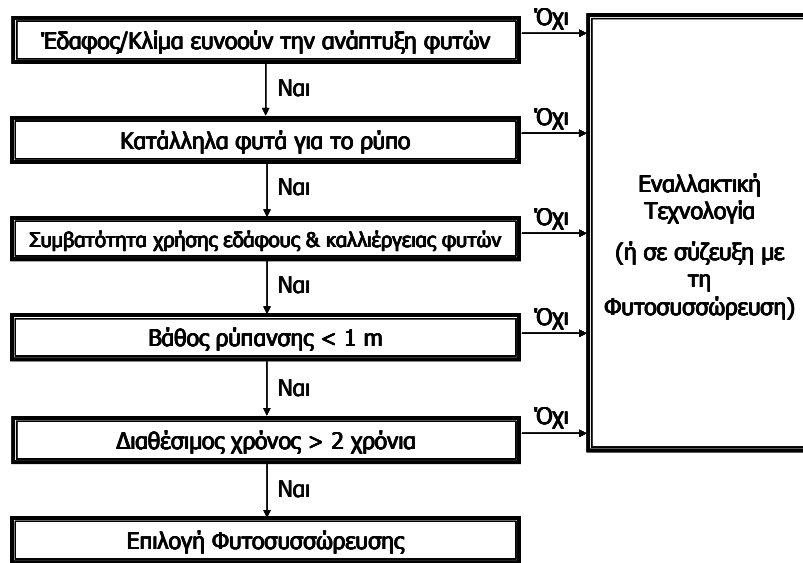
- Η παραγομένη φυτική βιομάζα χαρακτηρίζεται ως επικίνδυνο απόβλητο λόγω των ιδιαίτερα υψηλών συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων και άρα απαιτείται κατάλληλη επεξεργασία και διάθεση.
- Υπάρχει κίνδυνος εισαγωγής των μετάλλων στην τροφική αλυσίδα μέσω των φυτοφάγων ζώων και εντόμων και κίνδυνος μεταφοράς της ρύπανσης σε άλλο μέσο μέσω της πτώσης των φύλλων που περιέχουν τα μέταλλα.
- Η χρήση μη γηγενών φυτικών ειδών μπορεί να έχει επιπτώσεις στην βιοποικιλότητα της περιοχής.
- Υπάρχει η αναγκαιότητα εφαρμογής αποδοτικών γεωργικών πρακτικών και η πιθανότητα να απαιτείται λίπανση και βελτίωση του εδάφους.
- Υπάρχει η πιθανότητα να απαιτούνται εδαφολογικά βελτιωτικά για την ενίσχυση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων άρα και της πρόσληψης από τα φυτά, γεγονός που επιπλέον ενέχει τον κίνδυνο της μεταφοράς της ρύπανσης σε μεγαλύτερο βάθος μέσα στο έδαφος, στα υπόγεια και τα επιφανειακά νερά λόγω της αύξησης της διαλυτότητας των μετάλλων.

Η φυτοσυσσώρευση, λοιπόν, συνιστάται για αποκατάσταση εδαφών με ρηχή και χαμηλών επιπέδων ρύπανση και για πολύ μεγάλες περιοχές όπου άλλες μέθοδοι αποκατάστασης δεν είναι εφαρμόσιμες ή οικονομικώς αποδοτικές. Επιπλέον, ακόμα και στην περίπτωση εδαφών με βαριά ρύπανση η τεχνική μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε σύζευξη με άλλες τεχνολογίες οι οποίες μπορούν να προηγηθούν μειώνοντας το επίπεδο της ρύπανσης ως το βαθμό όπου είναι οικονομικά αποδοτικό και ακολούθως η φυτοσυσσώρευση να χρησιμοποιηθεί ως τελικό στάδιο της αποκατάστασης για την μείωση των συγκεντρώσεων των ρύπων μέσα στα θερμοθετημένα όρια (Schnoor, 1997, Mulligan et. al., 2001).

2.2.3.5. Αποτίμηση της τεχνολογίας και σχεδιασμός συστημάτων φυτοσυσσώρευσης

Αρκετοί παράγοντες πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά την αποτίμηση του αν η φυτοσυσσώρευση μπορεί να επιλεγεί έναντι μιας άλλης τεχνολογίας για την αποκατάσταση μιας περιοχής (Σχήμα 2.8) με βασικότερους τη δυνατότητα εφαρμογής και τη σύγκριση κόστους σε σχέση με τις συμβατικές τεχνικές, ενώ για τον σχεδιασμό ενός συστήματος φυτοεξυγίανσης ανάλογα με τον τύπο του προβλήματος, συμπεριλαμβανομένου του τύπου και του βαθμού ρύπανσης, απαιτούνται διαφορετικές στρατηγικές αποκατάστασης. Για την ανάπτυξη στρατηγικών φυτοσυσσώρευσης πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι προ-συγκομιδής παράμετροι (συμπεριλαμβανομένου του επιπέδου της ρύπανσης, της επιλογής του φυτού, της δυνατότητας επεξεργασίας, τις αγρονομικές τεχνικές, του ύψους του υδροφόρου ορίζοντα, του ρυθμού εξατμισοδιαπνοής, του ρυθμού πρόσληψης και του απαιτούμενου χρόνου αποκατάστασης) αλλά και οι μετα-συγκομιδής παράμετροι (συμπεριλαμβανομένου της συλλογής, των υπολειμμάτων, της διάθεσης των φυτικών υπολειμμάτων μέσα στο έδαφος και της επεξεργασίας του ρυπασμένου φυτικού ιστού) (Schnoor, 1997, U.S. EPA, 2000, Lasat, 2000, Schwitzguébel, 2001).

Η μεγάλης κλίμακας εφαρμογή της φυτοσυσσώρευσης περιορίζεται από διάφορους παράγοντες που αυτοί περιλαμβάνουν το χρόνο που απαιτείται για την αποκατάσταση, τις συγκεντρώσεις των ρύπων στις οποίες τα φυτά είναι ανθεκτικά και το γεγονός ότι



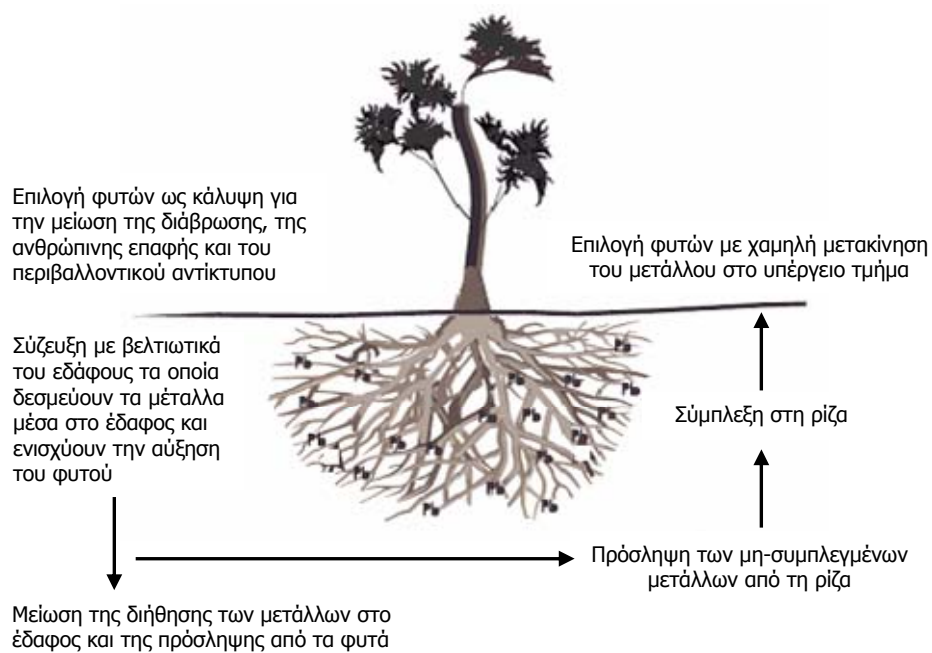
Σχήμα 2.8. Πρωταρχικά στάδια για την επιλογή της φυτοσυσσώρευσης.

μόνο το βιοδιαθέσιμο κλάσμα του μετάλλου στο έδαφος δύνανται να απομακρυνθεί (Schwitzer, 2001). Επιτυχής εφαρμογή της σημαίνει ότι το ρυπασμένο μέσο καθαρίζεται σε επίπεδο που συμμορφώνεται με τους περιβαλλοντικούς κανονισμούς και επιπλέον από οικονομικής άποψης, η αποκατάσταση επιτυγχάνεται με χαμηλότερο κόστος από μια εναλλακτική τεχνολογία ή την απραξία. Εντούτοις, παρά την εντατική έρευνα επάνω στο θέμα την τελευταία δεκαετία, πολύ λίγες επιτυχείς δοκιμές πεδίου ή εμπορικές εφαρμογές έχουν αναφερθεί (Van Nevel et al., 2007).

Επιπλέον, άξιο αναφοράς αποτελεί το γεγονός της διαχείρισης και διάθεσης του ρυπασμένου φυτικού υλικού αφού η επιτυχής εφαρμογή της μεθόδου οδηγεί σε παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων ιδιαίτερα ρυπασμένης φυτικής βιομάζας. Για παράδειγμα, το ξηρό παραγόμενο φυτικό υλικό που προκύπτει από τη συγκομιδή μιας καλλιέργειας του φυτού *Brassica juncea* με την μέθοδο της χημικά υποβοηθούμενης φυτοσυσσώρευσης για απομάκρυνση μολύβδου, ανέρχεται στους 6 t/ha με συγκέντρωση μετάλλου από 10 000 έως 15 000 mg/kg ξηρού βάρους (Sas-Nowosielska et al., 2004). Παρότι, λοιπόν η διάθεση του ρυπασμένου φυτικού ιστού μετά την συγκομιδή αποτελεί ένα σημαντικό στάδιο για την εφαρμογή της μεθόδου, δεν έχει εξεταστεί εκτενώς. Έχει εξεταστεί σε κάποιο βαθμό μόνο σε πολύ λίγες δημοσιεύσεις (Sas-Nowosielska et al., 2004, Ghosh and Singh, 2005, Keller et al., 2005), ενώ στις περισσότερες έχει εξεταστεί μάλλον επιφανειακά (Kumar et al., 1995, Cunningham et al., 1995, Cunningham and Ow, 1996, Raskin et al., 1997, Mulligan et al., 2001, Garbisu and Alkorta, 2001, Krämer, 2005, Kirkham, 2006, Nascimento and Xing, 2006). Μερικές από τις τεχνικές που μπορούν να χρησιμοποιηθούν περιλαμβάνουν την πυρόλυση, την κομποστοποίηση και την συμπίεση ως βήματα προεπεξεργασίας προκειμένου να μειωθεί ο όγκος του φυτικού υλικού, και της αποτέφρωσης, της υγρής εκχύλισης ή ακόμα και της απευθείας διάθεσης, δεδομένου η διάθεση των φυτών είναι ευκολότερη από την διάθεση του εδάφους, ως τελικά στάδια επεξεργασίας (Mulligan et al., 2001, Garbisu and Alkorta, 2001, Sas-Nowosielska et al., 2004, Krämer, 2005, Ghosh and Singh, 2005, Kirkham, 2006, Nascimento and Xing, 2006).

2.2.4. Φυτοσταθεροποίηση

Η *Φυτοσταθεροποίηση* ή *Φυτοακίνητοποίηση* (*Phytostabilization* or *Phytoimmobilization*) είναι η χρήση φυτών για την συγκράτηση των μεταλλικών ρύπων του εδάφους επί-τόπου (in-situ), μέσω μεταβολής των χημικών, βιολογικών και φυσικών συνθηκών στο έδαφος. Η τεχνική στοχεύει στην μείωση της κινητικότητας και βιοδιαθεσιμότητας του μεταλλικού ρύπου στο έδαφος και ο στόχος αυτός επιτυγχάνεται με χρήση ανθεκτικών στα μέταλλα φυτών τα οποία διαθέτουν ένα εκτεταμένο ριζικό σύστημα που δύναται να ακινητοποιήσει τον ρύπο στην ριζόσφαιρα (Σχήμα 2.9) (US EPA, 2001, Krämer, 2005).



Σχήμα 2.9. Διεργασίες που εμπλέκονται στην φυτοσταθεροποίηση ρυπασμένων εδαφών (Cunningham et al., 1995).

Οι βασικοί στόχοι της χρήσης των φυτών σε αυτή την περίπτωση είναι 1) η μείωση του ποσού του νερού που διηθείται μέσα στο έδαφος μέσω του μεγάλου όγκου νερού ο οποίος διαπνέεται από τα φυτά, με στόχο να μειωθεί ο κίνδυνος μεταφοράς των μετάλλων στα υπόγεια και επιφανειακά νερά, 2) να δράσουν ως φράγματα ώστε να εμποδιστεί η άμεση επαφή με το ρυπασμένο έδαφος και 3) η μείωση της διάβρωσης του εδάφους και της μεταφοράς της ρύπανσης σε άλλες περιοχές μέσω της μεταδιδόμενης με τον άνεμο σκόνης η οποία αποτελεί και ένα από τα σημαντικότερα μονοπάτια ανθρώπινης έκθεσης στους τοξικούς ρύπους (Cunningham et al., 1995, Schnoor, 1997, Henry, 2000, US EPA, 2001, Ghosh and Singh, 2005).

Η ακινητοποίηση των μετάλλων στο έδαφος από το φυτό επιτυγχάνεται μέσω 1) πρόσληψης και συσσώρευσης στην ρίζα, 2) προσρόφησης πάνω στη ρίζα, 3) καταβύθισης, συμπλοκοποίησης ή αναγωγής του σθένους του μετάλλου στο έδαφος

μέσα στην ζώνη της ρίζας, ή 4) δέσμευση με τις χουμικές (οργανικές) ενώσεις του εδάφους μέσω της διεργασίας της χουμοποίησης (Cunningham et al., 1995, Henry, 2000, US EPA, 2000, US EPA, 2001, Wong et al., 2003, Pletsch, 2004, Ghosh and Singh, 2005, Καλογεράκης, 2006). Τα μέταλλα μέσα στην ζώνη της ρίζας μπορούν να σταθεροποιηθούν με μεταβολή από μια διαλυτή σε μια αδιάλυτη οξειδωτική κατάσταση μέσω καταβύθισης που προάγεται από τη ρίζα, όπως για παράδειγμα ο μόλυβδος που μπορεί να καταβυθιστεί ως φωσφορικός μόλυβδος ενώ περιλαμβάνονται και μη-βιολογικές διεργασίες ρόφησης λόγω χηλίωσης, ιονανταλλαγής και εξειδικευμένης προσρόφησης όπως για παράδειγμα και πάλι ο μόλυβδος που κατακρημνίζεται ως θειικός μόλυβδος στις ρίζες των φυτών (US EPA, 2001).

Η φυτοσταθεροποίηση, λοιπόν, απαιτεί ένα φυτό (Schnoor, 1997, US EPA, 2001, Wong et al., 2003, Ernst, 2005):

- ανθεκτικό στα μέταλλα και μη-συσσωρευτή των μετάλλων έτσι ώστε να μπορεί να αναπτυχθεί στο ρυπασμένο έδαφος αλλά να μην μεταφέρει τα μέταλλα στο υπέργειο τμήμα του,
- με γρήγορη αύξηση ώστε να επιτυγχάνεται σε σύντομο χρονικό διάστημα υδραυλικός έλεγχος και ακινητοποίηση των ρύπων,
- με εκτεταμένο ριζικό σύστημα το οποίο να φτάνει μέσα στην ζώνη της ρύπανσης και επιπλέον να σταθεροποιεί το έδαφος ενάντια στη διάβρωση,
- που είναι ικανό να μεταβάλει τις βιολογικές, χημικές και φυσικές συνθήκες στο έδαφος ακινητοποιώντας τα μέταλλα στην ριζόσφαιρα,
- που αποτελεί καλό «κάλυμμα» του εδάφους ώστε να μην υπάρχει άμεση επαφή με το ρυπασμένο έδαφος και να μειώνεται η μεταφορά των μετάλλων μέσω της μεταδιδόμενης με τον άνεμο σκόνης,
- ανθεκτικό και σε άλλες περιβαλλοντικές καταπονήσεις όπως ξηρασία και υψηλές θερμοκρασίες και να αναπτύσσεται σε ανεπαρκή σε θρεπτικά εδάφη.

Συνήθως χρησιμοποιούνται φυτά από την φυτική κοινότητα που προϋπάρχει στην προς αποκατάσταση ρυπασμένη περιοχή (Krämer, 2005) ενώ η χρήση δέντρων, λόγω του εκτεταμένου ριζικού τους συστήματος, της μεγάλης διαπνευστικής τους ικανότητας και της πιθανής προσθήκης οργανικής ουσίας στο μέσο η οποία μπορεί να δεσμεύσει τα μέταλλα, έχει προταθεί ως καλή λύση για εφαρμογές φυτοσταθεροποίησης μειώνοντας τον κίνδυνο μεταφοράς των μετάλλων στα υπόγεια νερά και την διάβρωση από τον αέρα και το νερό (Pulford and Watson, 2003, Van Nevel et al., 2007).

Η έρευνα για την εφαρμογή της φυτοσταθεροποίησης έχει εστιαστεί κυρίως στην αποκατάσταση ρυπασμένων με μέταλλα εδαφών αν και η τεχνική μπορεί να εφαρμοστεί και για οργανικούς ρύπους. Ως οι καλύτεροι πιθανοί υποψήφιοι για φυτοσταθεροποίηση είναι ο μόλυβδος, το χρώμιο και ο υδράργυρος ενώ δύναται να εφαρμοστεί και για το κάδμιο, τον χαλκό, τον ψευδάργυρο και το αρσενικό έχοντας υπόψη όμως ότι μέταλλα όπως το κάδμιο μεταφέρονται εύκολα στα υπέργεια τμήματα αρκετών φυτών γεγονός που ενέχει κινδύνους για την τροφική αλυσίδα (Schnoor, 1997, Henry, 2000, US EPA, 2001).

Η μέθοδος βρίσκει εφαρμογή σε ρυπασμένες περιοχές όπου συνήθως η καλύτερη εναλλακτική είναι η συγκράτηση των ρύπων στο σημείο και για αυτό το λόγο αναφέρεται και ως *Αδραναιοποίηση στο σημείο* (*In-place inactivation*) (Henry, 2000, US EPA, 2001). Τα μέταλλα ως γνωστόν δεν μπορούν να αποδομηθούν οπότε η συγκράτηση τους «επί τόπου» (in-situ) μερικές φορές αποτελεί την καλύτερη λύση για εδάφη με χαμηλά επίπεδα ρύπανσης τα οποία θα ήταν ασύμφορο οικονομικά να αποκατασταθούν με απομάκρυνση των ρύπων με κάποια άλλη τεχνική ή σε βαριά ρυπασμένα εδάφη στα

οποία δεν μπορεί να εφαρμοστεί φυτοσυσσώρευση ή γιατί η εφαρμογή της θα έπαιρνε ένα μη ρεαλιστικό χρονικό διάστημα για αποκατάσταση (Schnoor, 1997, Wong et al., 2003, Van Nevel et al., 2007). Είναι κατάλληλη για μέταλλα τα οποία έχουν σχετικά χαμηλή κινητικότητα στο έδαφος και για περιοχές μεταλλείας ή πολύ μεγάλης επιφάνειας και είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική όταν απαιτείται γρήγορη ακινητοποίηση των ρύπων για διαφύλαξη των υπόγειων και επιφανειακών υδάτων. Τα πλεονεκτήματα της είναι ότι δεν χρειάζεται εκσκαφή και απομάκρυνση του εδάφους, δεν απαιτείται διάθεση της ρυπασμένης φυτικής βιομάζας, το κόστος και ο βαθμός διατάραξης της περιοχής πιθανά να είναι μικρότερα σε σχέση με άλλες τεχνολογίες αποκατάστασης εδαφών και η επανόρθωση του οικοσυστήματος ενισχύεται από την βλάστηση (Cunningham et al., 1995, Henry, 2000, US EPA, 2001, Ghosh and Singh, 2005).

Το βασικό μειονέκτημα της είναι ότι τα μέταλλα παραμένουν στο έδαφος ως έχουν και για το λόγο αυτό επιβάλλεται η μακροπρόθεσμη συντήρηση της βλάστησης και ο συστηματικός έλεγχος (monitoring) και επιπλέον γιατί η χρήση φυτών μπορεί να οδηγήσει τελικά σε οξίνιση του εδάφους και παραγωγή διαλυμένης οργανικής ουσίας με αποτέλεσμα την αύξηση της κινητικότητας άρα και της διήθησης των μετάλλων μέσα στο έδαφος (Henry, 2000, US EPA, 2001, Ghosh and Singh, 2005, Van Nevel et al., 2007). Επιπλέον, για την επίτευξη μιας μακροπρόθεσμης εφαρμογής της τεχνικής ίσως είναι απαραίτητο ένα πακέτο συμπληρωματικών τεχνολογιών όπως αύξηση του εδαφικού pH σε τιμές πάνω από 5 με ασβέστωση με CaCO_3 και/ή Ca(OH)_2 , ακινητοποίηση των βαρέων μετάλλων με προσθήκη κομποστ και ιλύος, ανόργανων ιόντων (π.χ. φωσφορικά) και ενυδατωμένων οξειδίων του Fe και του Mn και βελτίωση της ποιότητας του εδάφους με λίπανση ακόμα και πριν την καλλιέργεια των φυτών «σταθεροποιητών» (Cunningham et al., 1995, Schnoor, 1997, Ernst, 2005, Kumpiene et al., 2008). Η αποτελεσματική εφαρμογή της φυτοσταθεροποίησης λοιπόν, προϋποθέτει την πλήρη κατανόηση της χημείας της ζώνης της ρίζας, των εκκρίσεων της ρίζας, των ρύπων και των λιπασμάτων ή των εδαφικών βελτιωτικών έτσι ώστε να αποτραπούν μη επιθυμητές επιδράσεις οι οποίες μπορεί να αυξήσουν την διαλυτότητα του ρύπου και την διήθηση του μέσα στο έδαφος (US EPA, 2001).

2.3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

Κατά τη διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου τα φυτά εκτίθενται πολλές φορές σε αντίξοες συνθήκες οι οποίες επηρεάζουν δυσμενώς τόσο την ανάπτυξη, όσο και την ίδια τους την επιβίωση. Ο όρος «καταπόνηση» αναφέρεται στην επίδραση δυσμενών παραγόντων του περιβάλλοντος, οι οποίοι τείνουν να παρεμποδίσουν την εύρυθμη λειτουργία φυσιολογικών μηχανισμών. Κάθε φυτικός οργανισμός έχει προσαρμοστεί μέσω της εξέλιξης να αναπτύσσεται χωρίς προβλήματα μέσα σε καθορισμένα όρια συνθηκών του περιβάλλοντος, επομένως, εάν παραβιαστούν τα βέλτιστα αυτά όρια, ο φυτικός οργανισμός θα επιβαρυνθεί και θα εμφανίσει τα πρώτα συμπτώματα καταπόνησης (Σχήμα 2.10). Η καταπόνηση συνήθως εκτιμάται από την ανάπτυξη της βιομάζας του φυτού και την επιβίωση του, το παραγόμενο γεωργικό προϊόν όπως και από τον ρυθμό αφομοίωσης CO_2 ή θρεπτικών συστατικών (Καραμπουρνιώτης, 2003).

Η μεγάλη ποικιλοότητα των περιβαλλοντικών συνθηκών εκθέτει αντιστοίχως τα φυτά σε μια πληθώρα, περιβαλλοντικών καταπονήσεων, οι οποίες διακρίνονται σε δύο κύριες κατηγορίες, τις βιοτικές καταπονήσεις που προκαλούνται από άλλους οργανισμούς



Σχήμα 2.10. Τα βέλτιστα όρια ανάπτυξης ενός φυτικού οργανισμού και η εμφάνιση συμπτωμάτων καταπόνησης όταν αυξάνεται ή ελαττώνεται πέραν ορισμένων ορίων η ένταση του παράγοντα καταπόνησης (Καραμπουρνιώτης, 2003).

Πίνακας 2.9. Παράγοντες καταπόνησης των φυτών (Καραμπουρνιώτης, 2003).

Αβιοτικοί			Βιοτικοί
<i>Φυσικοί</i>	<i>Χημικοί</i>	<i>Ανθρωπογενείς</i>	
<u>Ορατή ακτινοβολία</u> Έλλειψη Περίσσεια UV-ακτινοβολία	<u>Θρεπτικά συστατικά</u> Έλλειψη Περίσσεια Μη ισορροπημένη σύσταση	Ρύπανση Φυτοφάρμακα Υποβάθμιση εδαφών Ιονίζουσες ακτινοβολίες Ηλεκτρομαγνητικά πεδία Πυρκαγιές	<u>Φυτά</u> Επικάλυψη Αλληλοπάθεια Παρασιτισμός
<u>Θερμοκρασία</u> Υπερθέρμανση Ψύχος Παγετός	<u>Αλατότητα</u> Βαρέα μέταλλα Όξινο pH Βασικό pH		<u>Παθογόνα</u> Προσβολές ιών, μυκήτων, βακτηρίων
<u>Υδατικό περιβάλλον</u> Ξηρή ατμόσφαιρα Ξηρό έδαφος Κατάκλιση	<u>Αέριο περιβάλλον</u> Έλλειψη οξυγόνου Αλλαγές στη σύσταση της ατμόσφαιρας		<u>Ζώα</u> Κατανάλωση Τραυματισμοί
<u>Μηχανική καταπόνηση</u> Άνεμος Κάλυψη Κάλυψη από χιόνι Σχηματισμός πάγου Τραυματισμοί			

και τις αβιοτικές ή φυσικοχημικές καταπονήσεις που προκαλούνται από ένα πλεόνασμα ή μία έλλειψη στο φυσικό ή χημικό περιβάλλον (Πίνακας 2.9) (Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003).

Στις παραγράφους που ακολουθούν αναπτύσσονται εκτενέστερα οι καταπονήσεις από τα βαρέα μέταλλα και την αλατότητα που ενδιαφέρουν στα πλαίσια της παρούσας διατριβής και επίσης αναπτύσσεται η οξειδωτική καταπόνηση λόγω του ότι η παρουσία των δύο παραπάνω παραγόντων καταπόνησης ευνοεί το σχηματισμό ενεργών μορφών οξυγόνου στα φυτά.

2.3.1. Καταπόνηση βαρέων μετάλλων

Όπως είναι γνωστό τα φυτά χρειάζονται για την ομαλή αύξηση και ανάπτυξη τους ένα αριθμό θρεπτικών συστατικών ανάμεσα στα οποία και ορισμένα βαρέα μέταλλα όπως ο χαλκός, το κοβάλτιο και ο ψευδάργυρος, σε ελάχιστες ποσότητες (ίχνη), ως δομικά συστατικά πρωτεϊνών και ενζύμων και ως συνένζυμα. Παρόλα αυτά, σε περίσσεια τα ιχνοστοιχεία αυτά αλλά και άλλα βαρέα μέταλλα όπως ο μόλυβδος, το κάδμιο, ο υδράργυρος και το αρσενικό, τα οποία δεν είναι απαραίτητα για τα φυτά, είναι εξαιρετικά τοξικά (Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003, Τσέκος, 2004).

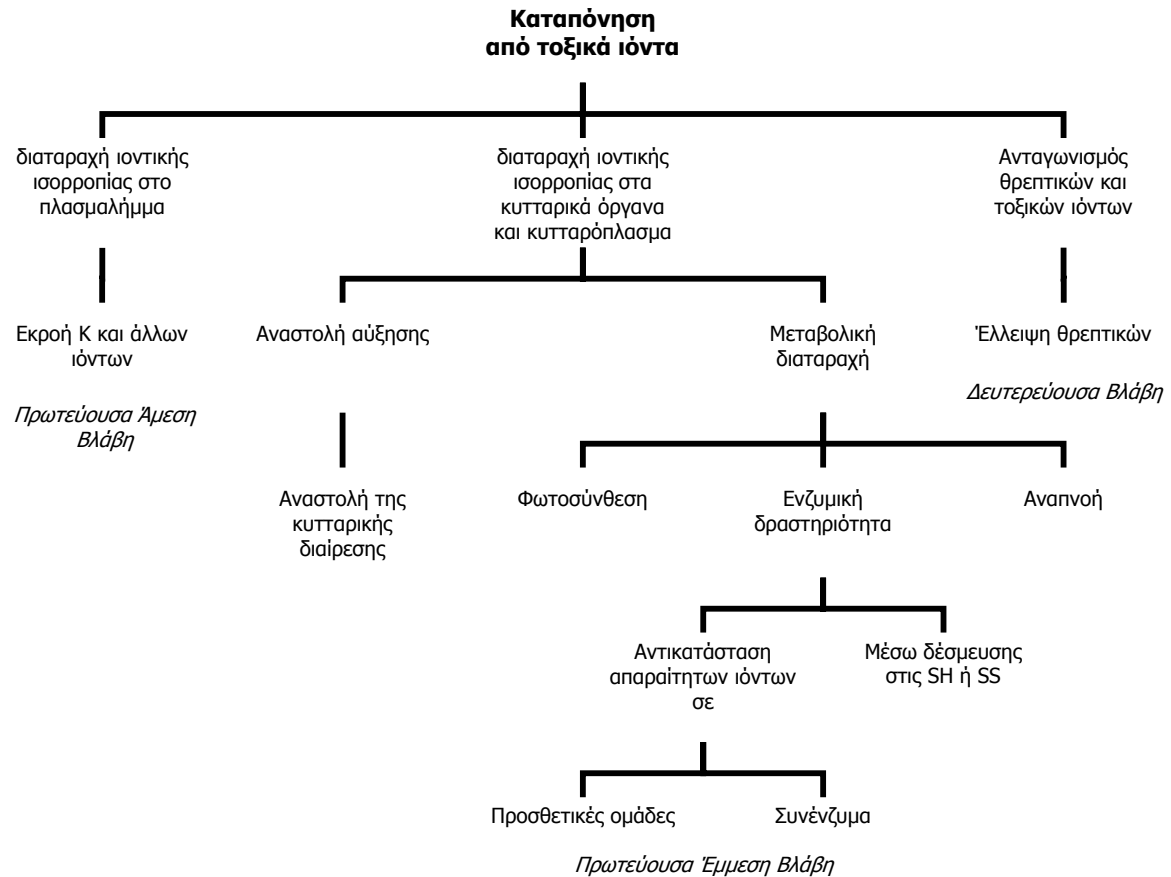
2.3.1.1. Τοξικότητα μολύβδου και καδμίου στα φυτά

Η παρουσία των βαρέων μετάλλων σε τοξικά επίπεδα στο έδαφος, έχει ως άμεσο αποτέλεσμα την επιβράδυνση της ανάπτυξης των ευαίσθητων φυτικών ειδών, η οποία αποτελεί το πλέον ορατό αποτέλεσμα μιας σειράς επιπτώσεων στις μεταβολικές λειτουργίες όπως (Καραμπουρνιώτης, 2003):

- Δυσλειτουργίες στην είσοδο και έξοδο ιόντων όπως Ca^{2+} , Mg^{2+} , NO_3^- και K^+ μέσω των μεμβρανών.
- Παρεμπόδιση της λειτουργίας της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων τόσο στην αναπνοή, όσο και στη φωτοσύνθεση.
- Μη αντιστρεπτή παρεμπόδιση της δραστηριότητας ενζύμων κλειδιών. Η αποδραστηριοποίηση των ενζυμικών μορίων οφείλεται στη δέσμευση των ιόντων των βαρέων μετάλλων κυρίως σε θέσεις οι οποίες διαθέτουν σουλφυδρυλομάδες.
- Σημαντική πτώση της παραγωγής ενέργειας.

Στο Σχήμα 2.11 συνοψίζονται οι διάφορες διεργασίες οι οποίες επηρεάζονται από υψηλά επίπεδα τοξικών ιόντων.

Πιο συγκεκριμένα, το κάδμιο θεωρείται ένας από τους πιο προβληματικούς ρύπους, λόγω της υψηλής τοξικότητάς του και της υψηλής διαλυτότητας του στο νερό (Das et al., 1997, Barazani et al., 2004). Επιπλέον, παρόλο που δεν αποτελεί απαραίτητο στοιχείο για την επιβίωση των φυτών, σχετικά εύκολα λαμβάνεται από τις ρίζες και μεταφέρεται στα φύλλα σε πολλά φυτικά είδη (Zhou and Qiu, 2005). Η μέση συγκέντρωση του στο έδαφος είναι λιγότερο από 1 ppm, ενώ στα φύλλα το φυσιολογικό εύρος συγκέντρωσης του είναι 0,05-0,2 ppm με τοξικά επίπεδα μεταξύ 5 και 30 ppm (Πίνακας 2.10) (Orcutt and Nilsen, 2000, Mulligan et al., 2001). Έχει αποδειχτεί ότι υψηλές συγκεντρώσεις καδμίου προκαλούν στα φυτά μείωση στην αφομοίωση άνθρακα



Σχήμα 2.11. Τρόποι δράσης των τοξικών ιόντων στα φυτά (SH = ομάδα σουλφυδρυλίου, SS = δισουλφιδική ομάδα) (Orcutt and Nilsen, 2000).

(Perfus-Barbeoch et al., 2002, Zhou and Qiu, 2005), οξειδωτική καταπόνηση (Chaoui et al., 1997, Schützendübel et al., 2001, Shah et al., 2001, Romero-Puertas et al., 2002, Perfus-Barbeoch et al., 2002, Pietrini et al., 2003, Boominathan and Doran, 2003, Smeets et al., 2005), μείωση της ενζυμικής δραστηριότητας (Prasad, 1995, Cho and Seo, 2005), κλείσιμο των στομάτων και διαταραχές στο περιεχόμενο του νερού (Poschenrieder et al., 1989, Prasad, 1995, Vassilev et al., 1997, Perfus-Barbeoch et al., 2002, Clemens, 2006), αναστολή της βιοσύνθεσης της χλωροφύλλης (Balsberg Pålsson, 1989, Prasad, 1995, Das et al., 1997, Orcutt and Nilsen, 2000, Pietrini et al., 2003, Zhou and Qiu, 2005, Cho and Seo, 2005, Clemens, 2006), μεταβολή της αναλογίας χλωροφύλλης *a/b* του συμπλόκου συλλογής του φωτός II (light-harvesting complex II-LHCII) (Orcutt and Nilsen, 2000, Pietrini et al., 2003), μείωση της πρόσληψης θρεπτικών συστατικών (Balsberg Pålsson, 1989, Prasad, 1995, Das et al., 1997, Orcutt and Nilsen, 2000, Zhou and Qiu, 2005, Cho and Seo, 2005, Clemens, 2006), μείωση της αναπνοής (Orcutt and Nilsen, 2000, Cho and Seo, 2005), μείωση της διαπνοής (Cho and Seo, 2005), καταστροφή των άκρων των ριζών (Schützendübel et al., 2001, Zhou and Qiu, 2005), παρεμπόδιση της βλάστησης του σπόρου (Balsberg Pålsson, 1989, Peralta et al., 2001) και αναστολή της αύξησης των φυτών (Prasad, 1995, León et al., 2002, Milone et

Πίνακας 2.10. Συγκεντρώσεις μετάλλων στο έδαφος και στα φυτά (mg/kg).

Μέταλλο	Φυσιολογικό εύρος στο έδαφος*	Φυσιολογικό επίπεδο στα φύλλα**	Τοξικό επίπεδο στα φύλλα**
Cd	0,01-2	0,05-0,2	5-30
Cr	5-1500	0,1-0,5	5-30
Cu	2-250	5-30	20-100
Hg	0,01-0,5	-	1-3
Ni	2-750	0,1-5	10-100
Pb	2-300	5-10	30-300
Zn	1-900	27-150	100-400

* Πηγή: Gardea-Torresdey et al., 2005

** Πηγή: Orcutt and Nilsen, 2000

al., 2003, Barazani et al., 2004, Cho and Seo, 2005, Gardea-Torresdey et al., 2004, Gardea-Torresdey et al., 2005, Ghnaya et al., 2005, Clemens, 2006), ενώ τα συμπτώματα της τοξικότητας του είναι εύκολα διακριτά, με τα πιο γενικά την χλώρωση και την μείωση της αύξησης και βιομάζας (Das et al., 1997).

Όπως το κάδμιο και ο μόλυβδος δεν έχει βρεθεί να αποτελεί απαραίτητο στοιχείο για την επιβίωση των φυτών, παρόλα αυτά, απαντάται φυσικά στους ιστούς όλων των φυτών ενώ σε χαμηλές συγκεντρώσεις έχει παρατηρηθεί να προκαλεί μία ενίσχυση στην αύξηση των φυτών πιθανόν λόγω απελευθέρωσης θρεπτικών με την προσθήκη μολύβδου στο μέσο καλλιέργειας (Balsberg Pålsson, 1989, Liu et al., 1994, Xiong, 1997, Liu et al., 2000). Σε σύγκριση με το κάδμιο, η φυτοτοξικότητα του μολύβδου είναι σχετικά χαμηλή λόγω της χαμηλής διαθεσιμότητας και πρόσληψης του από το έδαφος και τα εδαφικά διαλύματα. Εντούτοις, οι ρίζες των φυτών είναι συνήθως ικανές να προσλάβουν και να συσσωρεύσουν μεγάλες ποσότητες Pb^{+2} από το έδαφος αλλά η μεταφορά του στα υπέργεια τμήματα είναι σχετικά περιορισμένη λόγω δέσμευσης του στις επιφάνειες της ρίζας και στα κυτταρικά τοιχώματα (Balsberg Pålsson, 1989). Στα φύλλα των φυτών το φυσιολογικό εύρος συγκέντρωσης του μετάλλου είναι 5-10 ppm ενώ συγκεντρώσεις μεταξύ 30 και 300 ppm θεωρούνται τοξικές για τα φυτά διαταράσσοντας και αναστέλλοντας διάφορες φυσιολογικές διεργασίες (Πίνακας 2.10). Η τοξικότητα από το μόλυβδο συνδέεται με διαταραχή των κυττάρων και της κυτταρικής διαίρεσης (Balsberg Pålsson, 1989, Liu et al., 1994, Xiong, 1997), παρεμπόδιση της φωτοσύνθεσης και της αναπνοής λόγω παρεμπόδισης της λειτουργίας της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (Balsberg Pålsson, 1989, Xiong, 1997, Orcutt and Nilsen, 2000, Päivöke, 2003, Gardea-Torresdey et al., 2005), παρεμπόδιση της ενζυμικής δραστηριότητας (Balsberg Pålsson, 1989, Xiong, 1997, Liu et al., 2000), οξειδωτική καταπόνηση (Davies, 1987, Ewais, 1997, Xiong, 1997, Verma and Dubey, 2003, Zacchini et al., 2003, Ruley et al., 2004), ανταγωνισμό με θρεπτικά συστατικά (Balsberg Pålsson, 1989), παρεμπόδιση της βλάστησης του σπόρου (Balsberg Pålsson, 1989, Päivöke, 2003, Verma and Dubey, 2003) εμφάνιση χλώρωσης (Balsberg Pålsson, 1989, Liu et al., 2000), εμφάνιση αμαύρωσης της ρίζας (Piechalak et al., 2002), μείωση της επιμήκυνσης και διεύδυσης της ρίζας στο έδαφος (Balsberg Pålsson, 1989, Liu et al.,

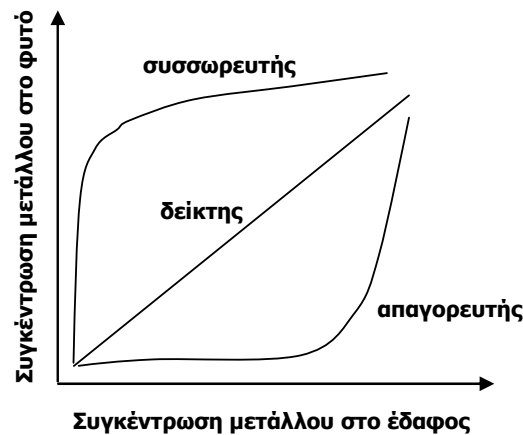
1994, Piechalak et al., 2002), αναστολή της αύξησης και μείωση της βιομάζας (Balsberg Pålsson, 1989, Xiong, 1997, Begonia et al., 1998, Singh et al., 2003, Päivöke, 2003).

2.3.1.2. Προσαρμογή των φυτών στην καταπόνηση από τα βαρέα μέταλλα

Απέναντι στην καταπόνηση από τα βαρέα μέταλλα υπάρχουν δύο βασικές γενετικά καθορισμένες αποκρίσεις των φυτών: η *ευαισθησία* (*sensitivity*) στα μέταλλα και η *αντοχή* (*resistance*) στα μέταλλα. Η ευαισθησία στα μέταλλα οδηγεί στον τραυματισμό ή το θάνατο των φυτών, ενώ η αντοχή υπονοεί ότι αν και τα φυτά επηρεάζονται, αντιδρούν με τρόπο που τους επιτρέπει την επιβίωση τους σε υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων και την παραγωγή της επόμενης γενεάς φυτών (Orcutt and Nilsen, 2000). Η αντοχή στα μέταλλα επιτυγχάνεται από τα φυτά βάσει κυρίως δύο στρατηγικών: την *αποφυγή* (*avoidance*), η οποία περιγράφει τους μηχανισμούς μέσω των οποίων τα φυτά αποκλείουν τα βαρέα μέταλλα στο εξωτερικό περιβάλλον και την *ανθεκτικότητα* (*tolerance*) στην οποία τα φυτά είναι σε θέση να ανταπεξέλθουν της εσωτερικής καταπόνησης που επιβάλλεται από τις υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων (Orcutt and Nilsen, 2000, McGrath et al., 2001, Καραμπουρνιώτης, 2003, Γαλάτης και λοιποί, 2003).

Τα φυτά τα οποία έχουν επιλέξει τη στρατηγική της αποφυγής διαθέτουν κατάλληλους αμυντικούς μηχανισμούς μέσω των οποίων αποκλείουν τα βαρέα μέταλλα στο εξωτερικό περιβάλλον. Τα κύτταρα των φυτών αυτών δεν έχουν την εμπειρία υψηλών συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων στον συμπλάστη και παρουσιάζονται το ίδιο ευάλωτα με εκείνα των ευαίσθητων φυτών. Τα τοξικά μεταλλικά ιόντα είτε δεσμεύονται και εξουδετερώνονται στο περιβάλλον της ριζόσφαιρας από χηλικές ενώσεις (κυρίως οργανικά οξέα, όπως μηλικό) οι οποίες εκκρίνονται από τα κύτταρα της ρίζας, είτε αποκλείονται στο εξωτερικό περιβάλλον λόγω της υψηλής εκλεκτικότητας που παρουσιάζουν οι μεμβράνες των κυττάρων της ρίζας (Καραμπουρνιώτης, 2003).

Αντίθετα, οι φυτικοί οργανισμοί οι οποίοι έχουν επιλέξει τη στρατηγική της ανθεκτικότητας προσλαμβάνουν τα τοξικά μέταλλα από το περιβάλλον και έχουν την ικανότητα να τα συσσωρεύουν στους ιστούς τους σε εξαιρετικά υψηλές συγκεντρώσεις, οι οποίες προκαλούν τον κυτταρικό θάνατο στα ευαίσθητα είδη και ενώ η λειτουργία των μηχανισμών ανθεκτικότητας καθορίζεται γενετικά, ωστόσο μπορεί να διαφοροποιηθεί μέσω εγκλιματισμού (Καραμπουρνιώτης, 2003). Τα φυτά αυτά, όπως προαναφέρθηκε, χαρακτηρίζονται ως *μεταλλόφυτα* (*metallophytes*) μιας και δύνανται να αναπτύσσονται σε μεταλλοφόρα ή βαριά ρυπασμένα με βαρέα μέταλλα εδάφη και τα οποία έχουν τραβήξει το ενδιαφέρον των βοτανολόγων μιας και θεωρούνται ως πιθανά εργαλεία για την φυτοεξυγίανση εδαφών (φυτοσυσσώρευση ή φυτοσταθεροποίηση) (Orcutt and Nilsen, 2000, Καραμπουρνιώτης, 2003, Boulabah et al., 2006). Μερικά από αυτά θεωρούνται ως *υποχρεωτικά μεταλλόφυτα* (*absolute metallophytes*) δηλαδή αναπτύσσονται μόνο σε μεταλλοφόρα εδάφη ενώ άλλα μπορούν να αναπτύσσονται τόσο σε ρυπασμένα όσο και μη ρυπασμένα εδάφη (Orcutt and Nilsen, 2000). Τα ανθεκτικά στα μεταλλοφόρα εδάφη φυτά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις ομάδες με βάση τις συγκεντρώσεις των μετάλλων στα υπέργεια τμήματα τους σε σχέση με τις αυξανόμενες συγκεντρώσεις των μετάλλων στο έδαφος (Σχήμα 2.12). Η πρώτη κατηγορία φυτών είναι οι *απαγορευτές* (*excluders*) οι οποίοι προσλαμβάνουν τα μέταλλα με τις ρίζες αλλά περιορίζουν την μεταφορά υψηλών συγκεντρώσεων στα υπέργεια τμήματα μέχρις ενός κρίσιμου επιπέδου πέραν του οποίου τα μέταλλα αρχίζουν να

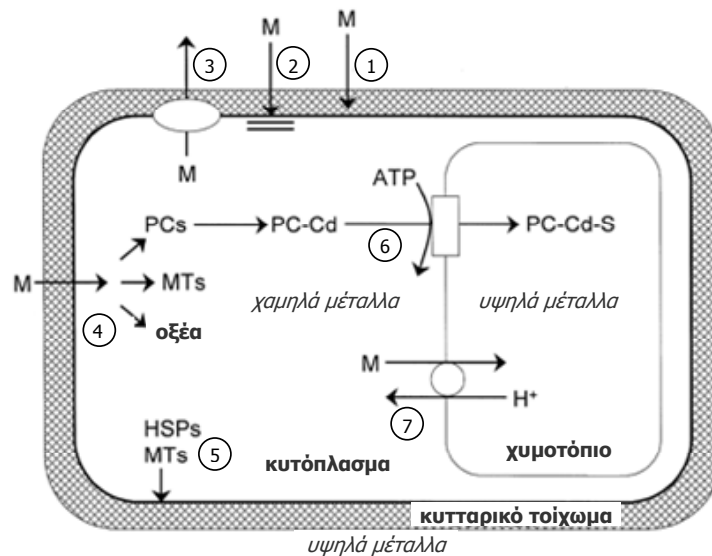


Σχήμα 2.12. Στρατηγικές των φυτών για την αντιμετώπιση των υψηλών συγκεντρώσεων μετάλλων στο έδαφος (Orcutt and Nilsen, 2000, Ghosh and Singh, 2005).

αυξάνονται και στους υπέργειους ιστούς. Η δεύτερη κατηγορία είναι οι *δείκτες* (*indicators*) οι οποίοι προλαμβάνουν τα μέταλλα σε γραμμικό ποσοστό σε σχέση με τη συγκέντρωσή τους στο έδαφος και η τρίτη κατηγορία είναι οι *συσσωρευτές* (*accumulators*) οι οποίοι επιτρέπουν την πρόσληψη πολύ υψηλών συγκεντρώσεων μετάλλων σε επίπεδα μεγαλύτερα από ό,τι αυτά υπάρχουν στο έδαφος (Raskin et al., 1994, Orcutt and Nilsen, 2000, Lasat, 2000, Ghosh and Singh, 2005).

Στα φυτά λοιπόν, τα οποία είναι μη συσσωρευτές, η απαγόρευση (*exclusion*) των μετάλλων από τους υπέργειους ιστούς και η συγκράτησή τους στα κυτταρικά τοιχώματα και τα χυμοτόπια των ριζών αποτελεί μηχανισμό άμυνας μειώνοντας την φυτοτοξικότητα από τα μέταλλα (Kirkham, 2006). Αντίθετα, γνωρίζουμε ακόμα λίγα για τη βιολογική και εξελικτική σημασία της συσσώρευσης μετάλλων στα υπέργεια τμήματα των φυτών συσσωρευτών. Διάφορες υποθέσεις έχουν γίνει, συμπεριλαμβανομένων της αυξανόμενης ανθεκτικότητας, της αντίστασης στην ξηρασία, της ακούσιας πρόσληψης, της αλληλοπάθειας και της υπεράσπισης ενάντια στους φυτοφάγους οργανισμούς και τα παθογόνα (Raskin et al., 1994, Boyd and Martines, 1998, Macnair, 2003) από τις οποίες η πλέον ισχύουσα με βάση τα στοιχεία που υπάρχουν έως σήμερα είναι η λειτουργία των μετάλλων ως αμυντικός μηχανισμός ενάντια στους φυτοφάγους οργανισμούς, τα παθογόνα και τα παράσιτα (Raskin et al., 1994, Chaney et al., 1997, Boyd and Martines, 1998, Garbisu and Alkorta, 2001, Martines and Boyd, 2002, Pulford and Watson, 2003).

Η στρατηγική της ανθεκτικότητας των φυτών στα μέταλλα είναι πιθανόν να βασίζεται σε περισσότερους του ενός μηχανισμούς ενώ η έλλειψη της πλήρους κατανόησης του πολύπλοκου αυτού συστήματος παραμένει το μεγαλύτερο εμπόδιο στην ανάπτυξη των τεχνολογιών της φυτοσυσσώρευσης (Nascimento and Xing, 2006). Η μοριακή βάση της ανθεκτικότητας στα μέταλλα ακόμη και σήμερα δεν έχει γίνει πλήρως κατανοητή. Επιπλέον, οι στρατηγικές και οι μηχανισμοί της ανθεκτικότητας αλλά και οι αλληλεπιδράσεις των ταυτόχρονα εφαρμοζόμενων καταπονήσεων στα φυτά που παρατηρείται σε πολλές περιπτώσεις, ακόμα δεν έχουν γίνει κατανοητές. Η επίδραση ενός παράγοντα καταπόνησης μπορεί να προκαλέσει ανθεκτικότητα σε ένα άλλο(υς) παράγοντα καταπόνησης (*διασταυρούμενη ανθεκτικότητα*), αλλά συχνότερα μπορεί να προκαλέσει μια συνεργιστική επίδραση (Franco et al., 1999).



Σχήμα 2.13. Οι πιθανοί μηχανισμοί που συνεισφέρουν στην ανθεκτικότητα και αποτοξίνωση των μετάλλων στα φυτά:

1. Δέσμευση στο κυτταρικό τοίχωμα. 2. Μείωση της εισροής διαμέσου της πλασματικής μεμβράνης. 3. Ενεργός εκροή στον αποπλάστη. 4. Χηλίωση στο κυτόπλασμα από διάφορους υποκατάστατες. 5. Επανόρθωση και προστασία της πλασματικής μεμβράνης υπό συνθήκες καταπόνησης. 6. Μεταφορά του συμπλόκου PC-Cd στο χυμοτόπιο. 7. Μεταφορά και συσσώρευση των μετάλλων στο χυμοτόπιο (Hall, 2002).

Οι πιθανοί μηχανισμοί που θεωρείται ότι ελέγχουν την ανθεκτικότητα των φυτών στα βαρέα μέταλλα είναι: 1) η καθήλωση των μεταλλικών ιόντων στο κυτταρικό τοίχωμα, 2) η μείωση της μεταφοράς διαμέσου της πλασματικής μεμβράνης, 3) η ενεργός εκροή, 4) η διαμερισματοποίηση και 5) η χηλίωση (Σχήμα 2.13), με σημαντικότερους να θεωρούνται η χηλίωση με οργανικά μόρια και η διαμερισματοποίηση εντός των χυμοτοπίων των φυτών (Briat and Lebrum, 1999, Mejáre and Bülow, 2001, Hall, 2002).

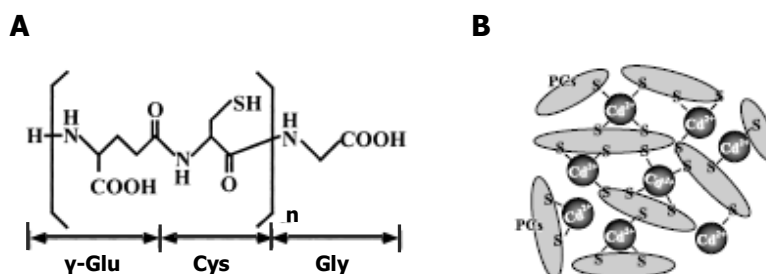
Τα κυτταρικά τοιχώματα λόγω της υψηλής τους ικανότητας ανταλλαγής κατιόντων θεωρείται ότι παρέχουν ένα σημαντικό μηχανισμό στην δέσμευση των μεταλλικών ιόντων κυρίως σε μόρια πηκτινών, βοηθώντας την ρύθμιση της πρόσληψης ιόντων διαμέσου του πλασμαλύμματος, παρόλα αυτά η μοριακή βάση της αποτοξίνωσης των μετάλλων από τα κυτταρικά τοιχώματα δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητή (Orcutt and Nilsen, 2000, Lasat, 2000, Hall, 2002, Καραμπουρνιώτης, 2003, Yang et al., 2005, Sousa et al., 2008).

Επιπλέον, η μείωση της εισροής των μεταλλικών ιόντων διαμέσου της πλασματικής μεμβράνης μέσω αναστολής της δραστηριότητας των μεταφορέων και η ενεργός μεταφορά των ιόντων των μετάλλων από το κυτόπλασμα προς την περιοχή του αποπλάστη θεωρούνται μηχανισμοί που πιθανά συμβάλουν στην ανθεκτικότητα (Briat and Lebrum, 1999, Lasat, 2000, Hall, 2002, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003, Clemens, 2006). Επίσης, πιθανολογείται ότι στην ανθεκτικότητα ίσως εμπλέκεται η προστασία της ακεραιότητας της πλασματικής μεμβράνης έναντι της βλάβης από τα

βαρέα μέταλλα η οποία θα οδηγούσε σε αύξηση της εκχύλισης των διαλυμένων ουσιών από το κύτταρο, αλλά και στην επανόρθωση της μεμβράνης μετά την προκαλούμενη από τα μέταλλα βλάβη, μηχανισμός που φαίνεται να συνδέεται με τις θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες (ή πρωτεΐνες θερμικού σοκ, Heat Shock Proteins, HSP) ή τις μεταλλοθειονίνες (Metallothioneins, MT) που αναπτύσσονται στην συνέχεια (Salt et al., 1998, Hall, 2002).

Η συμπλοκοποίηση των μετάλλων στο κυτόπλασμα από υψηλής συγγένειας υποκατάστατες (ligands) αποτελεί πιθανόν τον σημαντικότερο μηχανισμό αποτοξίνωσης και ανθεκτικότητας των φυτών στα βαρέα μέταλλα. Πιθανοί υποκατάστατες περιλαμβάνουν οργανικά οξέα, αμινοξέα και δύο κατηγορίες πεπτιδίων τις φυτοχηλατίνες και τις μεταλλοθειονίνες (Hall, 2002, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003, Τσέκος, 2004). Οργανικά οξέα όπως το μηλικό, το οξικό και το κιτρικό αλλά και αμινοξέα (κυστεΐνη, μεθειονίνη, ιστιδίνη) εντοπίζονται κυρίως στο χυμοτόπιο όπου σχηματίζουν χηλικά σύμπλοκα με τα μεταλλικά ιόντα συνεισφέροντας στην αποτοξίνωση και την απομόνωση τους. Παραδείγματος χάρι το κιτρικό και το μηλικό οξύ έχει δείχτει ότι συνδέονται με το κάδμιο και τον ψευδάργυρο αντίστοιχα, ενώ η ιστιδίνη έχει βρεθεί να σχηματίζει σύμπλοκο με το νικέλιο στον υπερσυσσωρευτή *Alyssum lesbiacum*, μηχανισμός που έχει προταθεί ως ιδιαίτερης σημασίας για την υπερσυσσώρευση του νικελίου (Briat and Lebrum, 1999, Καραμπουρνιώτης, 2003, Τσέκος, 2004).

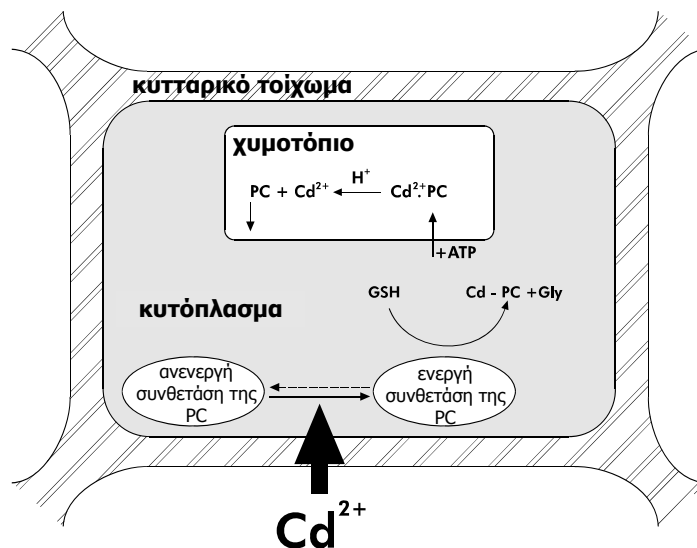
Οι φυτοχηλατίνες ή φυτοχελαιτίνες ή φυτοχηλικές ενώσεις (phytochelatins, PCs) είναι μια οικογένεια πεπτιδίων με γενική δομή $(\gamma\text{-γλουταμινικό οξύ-κυστεΐνη})_n\text{-γλυκίνη}$ ($n=2$ έως 11) (Σχήμα 2.14Α), των οποίων η σύνθεση δεν συντελείται στα ριβοσώματα μέσω της μετάφρασης ενός ορισμένου γονιδίου, αλλά αποτελούν προϊόντα μιας συγκεκριμένης βιοσυνθετικής οδού που πραγματοποιείται λόγω της παρουσίας των μετάλλων με μεταβίβαση των υπολειμματικών μορίων $\gamma\text{-γλουταμινικό οξύ-κυστεΐνη}$ στο



Σχήμα 2.14. Α. Θεμελιώδης χημική δομή των φυτοχηλικών ενώσεων. Β. Σύμπλοκο καδμίου-φυτοχηλατινών (Hirata et al., 2005).

τριπεπτίδιο γλουταθειό (glutathione, GSH) με την μεσολάβηση μιας τρανσπεπτιδάσης της συνθέτασης της φυτοχηλατίνης ή φυτοχηλικής συνθάσης (phytochelatin synthase) (Zenk, 1996, Hall, 2002, Καραμπουρνιώτης, 2003, Τσέκος, 2004, Hirata et al., 2005). Το ένζυμο ενεργοποιείται από τα μεταλλικά ιόντα ενώ η καταλυτική του δραστηριότητα βρίσκεται υπό τον έλεγχο του επιπέδου των βαρέων μετάλλων που υπάρχουν στο κυτόπλασμα, δηλαδή μια αύξηση της συγκέντρωσης των μετάλλων στο κυτόπλασμα οδηγεί σε ενεργοποίηση της φυτοχηλικής συνθάσης και κατά συνέπεια σε αύξηση της συγκέντρωσης των φυτοχηλατινών και άρα της απομάκρυνσης μεταλλικών ιόντων, ενώ με μείωση του επιπέδου σε ελεύθερα μεταλλικά ιόντα στο κυτόπλασμα μειώνεται και η ενεργότητα του ενζύμου (Zenk, 1996, Τσέκος, 2004). Τα ιόντα Cd^{2+} θεωρούνται οι πιο

αποτελεσματικοί ενεργοποιητές του ενζύμου ενώ και τα ιόντα Pb^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Sb^{3+} , Ag^{+} , Hg^{2+} , AsO_4^{3-} όπως και μερικά άλλα έχουν βρεθεί να ενεργοποιούν την φυτοχηλική συνθάση (Clemens, 2006). Παρόλο, λοιπόν που ο μηχανισμός αποτοξίνωσης μέσω των ουσιών αυτών δεν είναι πλήρως γνωστός αν και έχει αποτελέσει αντικείμενο πολλών ερευνητικών μελετών και άρθρων ανασκόπησης (Zenk, 1996, Clemens et al., 1999, Briat and Lebrum, 1999, Meagher, 2000, Sneller et al., 2000, Mejáre and Bülow, 2001, Cobbett and Goldbrough, 2002, Clemens et al., 2002, Hall, 2002, Sauge-Merle et al., 2003, Suresh and Ravishankar, 2004, Yang et al., 2005), φαίνεται ότι πραγματοποιείται με συμπλοκοποίηση των μεταλλικών ιόντων στις ομάδες $-SH$ των υπολειμματικών μορίων της κυστεΐνης των φυτοχηλατινών σε σταθερές θειόλες στο κυτόπλασμα (Σχήμα 2.14B) και στην συνέχεια με μεταφορά στο χυμοτόπιο όπου λόγω του όξινου pH τα μέταλλα απελευθερώνονται, επιτρέποντας στο πεπτίδιο να επιστρέψει εκ νέου στο κυτόπλασμα για να δεσμεύσει και να μεταφέρει πρόσθετα μέταλλα (Σχήμα 2.15) ενώ τα ελεύθερα ιόντα των μετάλλων στο χυμοτόπιο δεσμεύονται από τα υπάρχοντα οργανικά οξέα (Zenk, 1996, Briat and Lebrum, 1999, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003, Τσέκος, 2004).



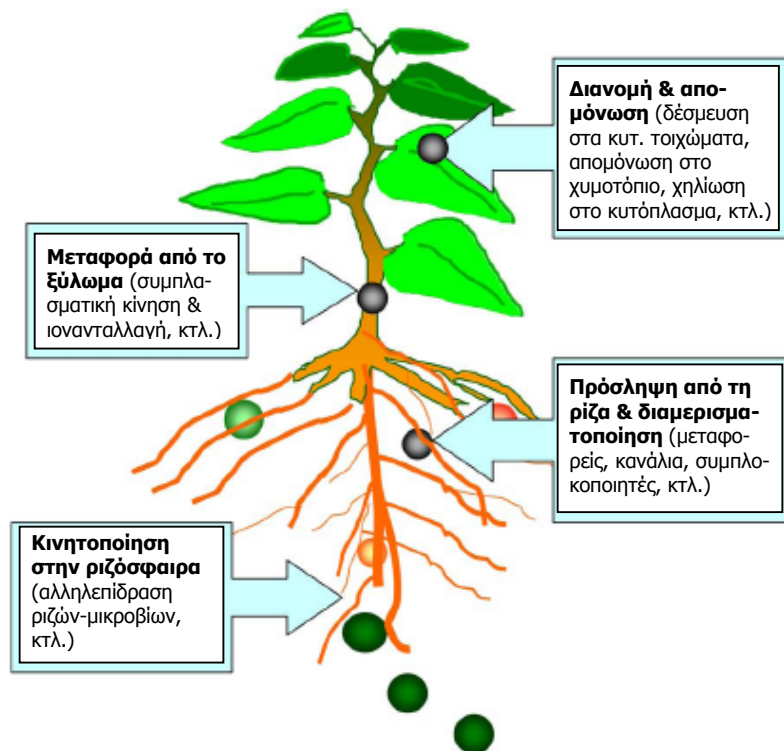
Σχήμα 2.15. Τα ιόντα καδμίου εισέρχονται στο κύτταρο, ενεργοποιούν την φυτοχηλική συνθάση η οποία καταλύει την μετατροπή της γλουταθειόνης σε φυτοχηλατίνη. Στη συνέχεια οι φυτοχηλατίνες σχηματίζουν σύμπλοκα με τα ιόντα του καδμίου δεσμεύοντας τα και οδηγώντας τα στο χυμοτόπιο όπου λόγω του όξινου pH τα απελευθερώνουν, επιτρέποντας στο πεπτίδιο να επιστρέψει εκ νέου στο κυτόπλασμα για να δεσμεύσει και να μεταφέρει πρόσθετα μέταλλα (Zenk, 1996).

Ανάλογη δράση με τις φυτοχηλικές ενώσεις έχουν και οι μεταλλοθειονίνες (metallothioneins, MTs) που βρέθηκαν πρωταρχικά σε ζώα και οι οποίες είναι εξειδικευμένες μικρομοριακές πρωτεΐνες με υψηλή περιεκτικότητα σε κυστεΐνη που δύναται να συμπλοκοποιεί τα μεταλλικά ιόντα και με τον τρόπο αυτό μειώνονται δραστικά τα επίπεδα των τοξικών ελεύθερων μεταλλικών ιόντων στο κυτόπλασμα ενώ επιπλέον έχει αναφερθεί ότι τα σύμπλοκα μεταφέρονται στα χυμοτόπια για

μακροπρόθεσμη απομόνωση (Meagher, 2000, Cobbett and Goldbrough, 2002, Τσέκος, 2004, Earpen and D'Souza, 2005). Οι μεταλλοθειονίνες των φυτών έχουν τραβήξει μικρό ενδιαφέρον την τελευταία δεκαετία πιθανόν λόγω του ότι η συμπλοκοποίηση των μετάλλων ενδοκυτταρικά θεωρούνταν ότι πραγματοποιούνταν κυρίως από τις φυτοχηλατίνες με αποτέλεσμα να υπάρχει έλλειψη πληροφοριών που αφορούν την συμπλοκοποίηση των μετάλλων με τις MTs στα φυτά και ο ακριβής τους ρόλος για την αποτοξίνωση των βαρέων μετάλλων να μην έχει ακόμα πλήρως διευκρινιστεί (Briat and Lebrum, 1999, Mejáre and Bülow, 2001, Hall, 2002, Cobbett and Goldbrough, 2002, Clemens, 2006). Πέραν όμως της χηλίωσης και της μεταφοράς στα χυμοτόπια, στις μεταλλοθειονίνες επιπλέον αποδίδεται προστατευτικός ρόλος ως αντιοξειδωτικά έναντι της οξειδωτικής βλάβης που προκαλείται από διάφορα μέταλλα ενώ και ο ρόλος τους στην επανόρθωση της μεμβράνης μετά την προκαλούμενη από τα μέταλλα βλάβη, αποτελεί μια ακόμα εκδοχή (Salt et al., 1998, Hall, 2002, Γαλάτης και λοιποί, 2003).

Επιπρόσθετα, τα χυμοτόπια των κυττάρων παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποθήκευση και συσσώρευση των βαρέων μετάλλων. Τα μεταλλικά ιόντα δύνανται να μεταφερθούν διαμέσου του τονοπλάστη ως ελεύθερα ιόντα ή ως σύμπλοκα με οργανικά μόρια όπως συζητήθηκε παραπάνω, ενώ μέσα στο χυμοτόπιο τα ιόντα των μετάλλων συμπλοκοποιούνται είτε με οργανικά οξέα όπως το μηλικό και το κιτρικό είτε και με αμινοξέα συμβάλλοντας σημαντικά στην διαμερισματοποίηση και αποθήκευση τους (Raskin et al., 1994, Salt et al., 1998, Hall, 2002, Γαλάτης και λοιποί, 2003, McGrath and Zhao, 2003, Yang et al., 2005, Nascimento and Xing, 2006).

Στο Σχήμα 2.16 παρουσιάζονται οι κύριες διεργασίες που έχουν προταθεί ότι συμμετέχουν στην υπερσυσσώρευση των βαρέων μετάλλων από τα φυτά.



Σχήμα 2.16. Οι κύριες διεργασίες που συμμετέχουν στην υπερσυσσώρευση των μετάλλων από τα φυτά (Yang et al., 2005).

2.3.2. Καταπόνηση αλατότητας

Ο όρος αλατότητα αναφέρεται στην ύπαρξη υψηλών συγκεντρώσεων ιόντων κατά κανόνα νατρίου και χλωρίου στα εδάφη όμως υψηλή συγκέντρωση Na^+ συνοδεύεται συχνά από υψηλή συγκέντρωση Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} και CO_3^{2-} . Το πρόβλημα της υψηλής συγκέντρωσης αλάτων όπως προαναφέρθηκε, δεν περιορίζεται μόνο στις παραθαλάσσιες περιοχές αλλά επεκτείνεται και σε καλλιεργούμενες εκτάσεις οι οποίες φθάνουν το 20% του συνόλου των καλλιεργούμενων εδαφών, ενώ μόνο στην περιοχή της Μεσογείου 80 εκατομμύρια εκτάρια εδάφους είναι επιβαρυμένα με υψηλή αλατότητα (Choukr-Allah, 1997, Qadir et al., 2003, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003). Ως αλατούχα ορίζονται τα εδάφη στα οποία η ηλεκτρική αγωγιμότητα είναι υψηλότερη των 4 dS/m (με βάση την ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα του εκχυλίσματος κορεσμού) και σχηματίζονται σε ξηρές περιοχές όπου εξαιτίας της εξάτμισης του νερού δημιουργούνται αποθέσεις αλάτων κοντά στην επιφάνεια ή στην επιφάνεια του εδάφους. Επίσης πρόκειται για γεωργικές εκτάσεις υπερβολικά αρδευόμενες στις οποίες παρατηρείται συσσώρευση ιόντων στο έδαφος λόγω έντονης εξατμισοδιαπνοής, αλλά και εδάφη που σχηματίζονται στο δέλτα ποταμών ή σε κοιλάδες πλημμυρών τους ή σε γειτνίαση με τη θάλασσα (Καραμπουρνιώτης, 2003, Qadir et al., 2004a, Κεραμίδας και Σινάνης, 2005). Η αλατότητα αποτελεί ένα από τους σημαντικότερους αβιοτικούς παράγοντες καταπόνησης των φυτών και επιδρά δυσμενώς στην αύξηση και στην παραγωγικότητα τους. Στον Πίνακα 2.11 παρουσιάζεται η πιθανότητα βλάβης μιας καλλιέργειας από τις αυξανόμενες συγκεντρώσεις αλάτων.

Πίνακας 2.11. Πιθανή βλάβη μιας καλλιέργειας από τις αυξανόμενες συγκεντρώσεις αλάτων.

Νερό άρδευσης*	Άλατα* [ppm]	Ηλ. αγωγιμότητα** [dS/m]	Προβλήματα καλλιέργειας*
Φρέσκο	<125	<0,21	Κανένα
Ήπια αλατούχο	125-250	0,21-0,42	Σπάνια
Μέτρια αλατούχο	250-500	0,42-0,83	Σποραδικά
Αλατούχο	500-2500	0,83-4,2	Συνήθεις
Υψηλά αλατούχο	2500-5000	4,2-8,3	Σφοδρά

* Πηγή: Griffin, 1990

** Υπολογισμός με βάση: 1 dS/m \approx 0,01 mol/L \approx 0,06% NaCl (Orcutt and Nilsen, 2000)

2.3.2.1. Τοξικότητα αλατότητας στα φυτά

Η καταπόνηση λόγω αλατότητας επιδρά δυσμενώς στα φυτά σε τρία διαφορετικά επίπεδα (Καραμπουρνιώτης, 2003):

- Αλλοιώνονται τα χαρακτηριστικά του εδάφους. Επηρεάζεται δυσμενώς το πορώδες και κατά συνέπεια ο αερισμός και η ηλεκτρική αγωγιμότητα.
- Οι υψηλές συγκεντρώσεις ιόντων δημιουργούν χαμηλά δυναμικά νερού στο έδαφος και ως εκ τούτου εμφανίζεται μια μορφή υδατικής καταπόνησης (οσμωτική

καταπόνηση) με την έννοια ότι τόσο η υδατική όσο και η καταπόνηση αλατότητας επηρεάζουν δυσμενώς ένα κοινό παράγοντα, το οσμωτικό δυναμικό.

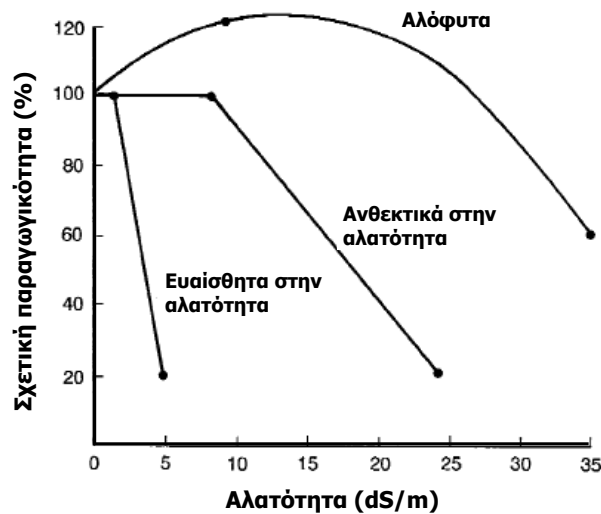
- Τα ιόντα Na^+ και Cl^- αυτά καθαυτά, παρουσιάζουν τοξικότητα.

Οι άμεσες, λοιπόν, αρνητικές επιδράσεις της αλατότητας παρατηρούνται σε επίπεδο ενζυμικής δραστηριότητας, έλλειψης σε θρεπτικά, λειτουργίας των μεμβρανών και σε αρκετές σημαντικές μεταβολικές διεργασίες όπως την αναπνοή και την φωτοσύνθεση. Οι έμμεσες αρνητικές επιδράσεις περιλαμβάνουν την μείωση της πρόσληψης και μεταφοράς του νερού λόγω μείωσης της διαθεσιμότητας του στο έδαφος, παράπλευρους περιορισμούς σε θρεπτικά ακόμα και όταν υπάρχουν στο έδαφος λόγω της χαμηλής διαλυτότητας τους στα αλατούχα εδάφη ή της παρεμπόδισης από το νάτριο και οξειδωτική καταπόνηση λόγω της δημιουργίας ενεργών μορφών οξυγόνου (Orcutt and Nilsen, 2000). Πιο αναλυτικά, παρουσία υψηλής συγκέντρωσης Na^+ παρουσιάζονται ανωμαλίες στην περατότητα των μεμβρανών, αδρανοποίηση ενζύμων και παρεμπόδιση της πρωτεϊνικής σύνθεσης, δυσλειτουργίες στην αφομοίωση του άνθρακα, παρεμπόδιση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας, επιτάχυνση της αναπνευστικής δραστηριότητας ώστε να αντισταθμιστεί το ενεργειακό κόστος αποκλεισμού των ιόντων ή σύνθεσης νέων μεταβολιτών, οξειδωτική καταπόνηση, μείωση της πρόσληψης και μεταφοράς απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων, μείωση της βλάστησης του σπόρου, μείωση της διείσδυσης της ρίζας στο έδαφος και μείωση της αύξησης και της βιομάζας (Aslam et al., 1993, Bajji et al., 1998, Glenn et al., 1998, Qadir and Schubert, 2002, Rios-Gonzalez et al., 2002, Singh et al., 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003, Qadir et al., 2004a, Zhu et al., 2004, Murillo-Amador et al., 2006, de Azevedo Neto et al., 2006). Επιπλέον, το χλώριο αν και σε πολύ μικρές ποσότητες είναι απαραίτητο για την θρέψη των φυτών, σε υπερβολικές ποσότητες προκαλεί πρώιμο κιτρίνισμα στα φύλλα, κάψιμο των κορυφών και των περιθωρίων των φύλλων και εμφάνιση μπρούτζινης όψης καθώς και πέσιμο των φύλλων (Τσικαλάς, 2003).

2.3.2.2. Προσαρμογή των φυτών στην καταπόνηση από την αλατότητα

Σε αλατούχο έδαφος τα φυτά καταπονούνται από την περίσσεια ανόργανων αλάτων και ενώ μερικά φυτά επηρεάζονται δυσμενώς από την παρουσία τους με αποτέλεσμα να μην επιβιώνουν σε αλατούχα εδάφη, άλλα μπορούν να επιζήσουν ή ακόμα και να ευδοκιμήσουν. Οι βασικές διαβαθμίσεις αντοχής μεταξύ των φυτών είναι (Σχήμα 2.17) (Griffin, 1990, Orcutt and Nilsen, 2000, Barrett-Lennard, 2002):

- Τα *ευαίσθητα στην αλατότητα φυτά – γλυκόφυτα* (*salt sensitive non-halophytes – glycophytes*), τα οποία επιδεικνύουν μικρή ανθεκτικότητα σε αυξημένη αλατότητα στο περιβάλλον της ρίζας, δεν συσσωρεύουν υψηλές συγκεντρώσεις ιόντων στους ιστούς τους και των οποίων η αύξηση (growth) μειώνεται ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις αλάτων. Τυπικό παράδειγμα αποτελεί το φασόλι (*Phaseolus vulgaris*) το οποίο παρουσιάζει 50% μείωση του ξηρού βάρους του υπέργειου τμήματος του σε συγκεντρώσεις άλατος 3,6 dS/m.
- Τα *ανθεκτικά στην αλατότητα φυτά* (*salt tolerant non-halophytes*) τα οποία διατηρούν την αύξηση τους σε χαμηλές συγκεντρώσεις αλάτων αλλά σε υψηλές παρουσιάζουν μείωση της παραγωγικότητάς τους. Τυπικό παράδειγμα το κριθάρι (*Hordeum vulgare*) το οποίο παρουσιάζει 50% μείωση του ξηρού υπέργειου βάρους του σε 12 dS/m.



Σχήμα 2.17. Η αύξηση σε σχέση με την εδαφική αλατότητα για τρεις κατηγορίες φυτών (Griffin, 1990).

- Τα *αλόφυτα* (*halophytes*) τα οποία επιδεικνύουν μεγάλη ανθεκτικότητα σε αυξημένη αλατότητα, συσσωρεύουν υψηλές συγκεντρώσεις Na^+ και Cl^- στους ιστούς τους και των οποίων η αύξηση παρουσιάζεται αυξημένη σε χαμηλές συγκεντρώσεις αλάτων και μόνο σε ιδιαίτερα υψηλές παρουσιάζουν μείωση. Τυπικό παράδειγμα αποτελεί το φυτό *Atriplex amnicola* το οποίο παρουσιάζει 10% αύξηση στο ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος του σε συγκεντρώσεις άλατος 5 dS/m, 50% μείωση σε 40 dS/m και καταφέρνει να επιζεί ακόμα και σε συγκεντρώσεις άλατος 75 dS/m.

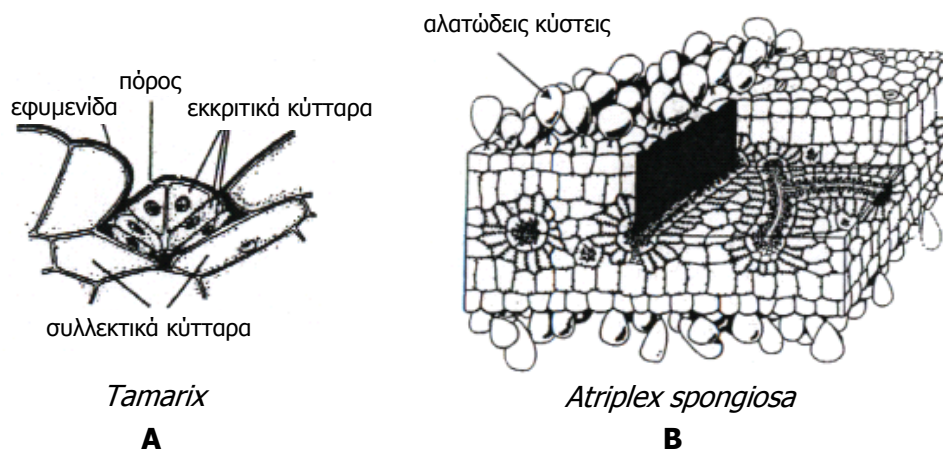
Εκπροσώπους της αλοφυτικής βλάστησης αποτελούν τα φυτά *Suaeda maritima*, *Atriplex* sp., *Tamarix*, *M. crystallium* και τα μαγκρόβια (περί τα 70 είδη ξυλωδών φυτών που αναπτύσσονται μέσα στο θαλασσινό νερό τροπικών ακτών) ενώ επιπλέον υπάρχουν και *υποχρεωτικά αλόφυτα* (*euhalophytes*, *obligate halophytes*) τα οποία έχουν αρίστη ανάπτυξη μόνο σε πολύ αλατούχα εδάφη ενώ σε χαμηλές συγκεντρώσεις αλάτων παρουσιάζουν μειωμένη αύξηση (Orcutt and Nilsen, 2000, Γαλάτης και λοιποί, 2003).

Λόγω της πολυπλοκότητας των περιβαλλοντικών καταπονήσεων στα αλατούχα εδάφη, οι μηχανισμοί προσαρμογής είναι επίσης σύνθετοι και διαφορετικοί και ακόμα και τα γλυκόφυτα διαθέτουν τέτοιους μηχανισμούς που όμως είναι τόσο βραδείς ώστε αποβαίνουν αναποτελεσματικοί, εκτός εάν η καταπόνηση επέλθει σταδιακά (Orcutt and Nilsen, 2000, Γαλάτης και λοιποί, 2003). Γενικά όμως η καταπόνηση αλατότητας αντιμετωπίζεται κυρίως μέσω δύο στρατηγικών, την *αποφυγή* και την *ανθεκτικότητα* (Mozafar and Goodin, 1970, Ramadan, 1998, Καραμπουρνιώτης, 2003).

Τα φυτά τα οποία έχουν επιλέξει την στρατηγική της αποφυγής (*ρυθμιστές αλατότητας*), δεν επιτρέπουν την είσοδο των ιόντων στο εσωτερικό των ευαίσθητων κυττάρων. Η στρατηγική αυτή ακολουθείται από τα φυτά μέσω δύο διαφορετικών μηχανισμών: ορισμένα φυτικά είδη δεν απορροφούν το αλάτι αλλά το αποκλείουν ενεργητικά στο εξωτερικό περιβάλλον της ρίζας, ενώ άλλα επιτρέπουν την είσοδο του αλατιού, το οποίο οδηγείται προς τα φύλλα όπου εκκρίνεται από εξειδικευμένους αλατώδεις αδένες και κύστες (Mozafar and Goodin, 1970, Ramadan, 1998,

Καραμπουρνιώτης, 2003). Οι εξειδικευμένοι αυτοί αλατώδεις αδένες και κύστεις που αποτελούν εξελικτικώς νεότερα κύτταρα των βλαστών, λειτουργούν δηλαδή σαν μηχανισμός αποτοξίνωσης εκκρίνοντας τα ιόντα και ανόργανα συστατικά που προκαλούν καταπόνηση στο φυτό στην επιφάνεια των φύλλων όπου και κρυσταλλώνονται μην αποτελώντας πια πρόβλημα για το φυτό (Orcutt and Nilsen, 2000).

Υπάρχουν τρεις κατηγορίες εκκριτικών δομών, οι αλατώδεις αδένες, οι αλατώδεις κύστεις και εξειδικευμένοι αλατώδεις αδένες που υπάρχουν σε ορισμένα εντομοφάγα φυτά και οι οποίοι εξυπηρετούν όχι μόνο για έκκριση αλάτων αλλά και για έκκριση ενζύμων πέψης (Orcutt and Nilsen, 2000). Οι αλατώδεις αδένες και οι αλατώδεις κύστεις έχουν παρόμοια λειτουργία, αλλά ανατομικά είναι διαφορετικοί (Σχήμα 2.18). Οι αλατώδεις αδένες (salt gland) είναι ενσωματωμένοι στην επιφάνεια των φύλλων και



Σχήμα 2.18. (Α) Αλατώδης αδένας στα φύλλα των δέντρων *Tamarix*. (Β) Εγκάρσια τομή φύλλου του φυτού *Atriplex spongiosa* με τις αλατώδεις κύστεις (Orcutt and Nilsen, 2000).

αποτελούνται από 4-10 κύτταρα που καλύπτονται από εφυμενίδα, όπως στην περίπτωση των φυτών *Tamarix*, *Limonium* και *Frankenia* ή μόνο από 2 κύτταρα όπως στα φυτά *Spartina*. Το αλάτι και το νερό εκκρίνονται στην επιφάνεια των φύλλων μέσω των μικρών οπών στην εφυμενίδα που καλύπτει τον αδένα (Σχήμα 2.18Α) (Orcutt and Nilsen, 2000). Οι αλατώδεις κύστεις (salt bladders) αποτελούνται από δύο κύτταρα, το μισχοειδές κύτταρο και το κυστικό κύτταρο. Το Na^+ και το Cl^- από το εσωτερικό του φύλλου διοχετεύονται μέσω του μισχοειδούς κυττάρου στο μπαλονοειδές κυστικό κύτταρο όπου και συσσωρεύονται. Όταν η συγκέντρωση των ιόντων αυξηθεί υπερβολικά, το κύτταρο θραύεται ή σπάζει ο μίσχος και το χλωριούχο νάτριο κρυσταλλώνεται στην επιφάνεια των φύλλων ή επιστρέφει στο έδαφος (Σχήμα 2.18Α). Ο αριθμός αλατωδών κύστεων, το μέγεθός τους και το ποσοστό των κύστεων που θραύονται εξαρτάται από τα επίπεδα της αλατότητας κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των φυτών (Simon et al, 1994, Orcutt and Nilsen 2000).

Σε μερικές περιπτώσεις (π.χ. στα είδη *Atriplex*) ο μηχανισμός της έκκρισης και οι εκκριτικές δομές έχει μελετηθεί με κάποιες λεπτομέρειες, εντούτοις, για πολλά είδη ακόμα δεν έχουν πραγματοποιηθεί λεπτομερείς μελέτες (Mozafar and Goodin, 1970,

Blamey et al., 1986). Αλατώδεις αδένες συνήθως απαντώνται στις οικογένειες: *Poaceae*, *Tamaricaceae*, *Chenopodiaceae* και *Frankeniaceae* και πολλά είδη από αυτές τις οικογένειες είναι γνωστό ότι διαθέτουν αλατώδεις αδένες ή κύστες, εντούτοις, στις περισσότερες περιπτώσεις απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για τον καθορισμό των προϊόντων έκκρισης τους (Toderich et al., 2002).

Ο μεταβολισμός των φυτών που έχουν επιλέξει την στρατηγική της ανθεκτικότητας (*συσσωρευτές άλατος*) είναι κατάλληλα προσαρμοσμένος ώστε να μην παρουσιάζονται δυσλειτουργίες παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων ιόντων. Η επιβίωση των φυτών αυτών στηρίζεται στην πρόσληψη υψηλών συγκεντρώσεων αλατιού εντός των κυττάρων τους, έτσι ώστε να αντισταθμιστεί το χαμηλό δυναμικό νερού του εδάφους και να επιτυγχάνονται ικανοποιητικές πιέσεις σπαργής (π.χ. σε ορισμένα είδη φυτών του γένους *Atriplex*) (Καραμπουρνιώτης, 2003). Τα ιόντα Na^+ οδηγούνται και συσσωρεύονται στο χυμοτόπιο (διαμερισματοποίηση) μέσω ενός αντιμεταφορέα Na^+/H^+ ο οποίος εδράζεται στον τονοπλάστη, ενώ οι συγκεντρώσεις Na^+ και Cl^- κρατούνται σε χαμηλά επίπεδα στο κυτόπλασμα (Bohnert et al., 1995, Zhu, 2001, Καραμπουρνιώτης, 2003). Η λειτουργία του αντιμεταφορέα αυτού σχετίζεται σε πολλές περιπτώσεις φυτών με την εκδήλωση ανθεκτικότητας στην αλατότητα όπως για παράδειγμα στα φυτά *Arabidopsis* όπου η υπερέκφρασή του τους επιτρέπει να αναπτύσσονται σε 200 mM NaCl (περίπου στο μισό της συγκέντρωσης του θαλασσινού νερού) (Orcutt and Nilsen 2000, Zhu, 2000, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003). Η ικανότητα, λοιπόν, της απορρόφησης και του περιορισμού των ιόντων νατρίου στα χυμοτόπια, σε αλατούχα περιβάλλοντα, μειώνει ικανοποιητικά το οσμωτικό δυναμικό των φύλλων, διευκολύνοντας έτσι την πρόσληψη νερού από το έδαφος και ελαττώνοντας το μεταβολικό κόστος σύνθεσης δαπανηρών οσμωλυτών που αναπτύσσονται στην συνέχεια (Γαλάτης και λοιποί, 2003).

Η σύγκριση μεταξύ αλόφυτων και γλυκόφυτων αποκαλύπτει δύο κοινές διεργασίες, που εκφράζονται σε διαφορετικό βαθμό στις δύο ομάδες και που αφορούν αποκλειστικά τη μείωση του οσμωτικού δυναμικού με συσσώρευση ανόργανων ιόντων και οργανικών μορίων χωρίς όμως ταυτόχρονη απώλεια σπαργής. Η πρώτη αφορά τη συσσώρευση ανόργανων ιόντων στα χυμοτόπια που περιγράφηκε παραπάνω και είναι εντονότερη στα αλόφυτα και η δεύτερη γνωστή ως οσμωρύθμιση ή οσμωτική εξισορρόπηση ή οσμωτική προσαρμογή (osmotic adjustment) είναι εντονότερη στα γλυκόφυτα και στα μαγκρόφυτα και επιτυγχάνεται με τη σύνθεση και συσσώρευση στο κυτόπλασμα οργανικών μορίων γνωστών ως συμβατοί οσμωλύτες (compatible osmolytes, compatible solutes) όπως η προλίνη, η σορβιτόλη και η βεταΐνη της γλυκίνης. Τα μόρια αυτά λόγω του χαμηλού μοριακού βάρους, συμβάλλουν στην ρύθμιση του οσμωτικού δυναμικού ενώ ταυτόχρονα είναι συμβατά με τις μεταβολικές δραστηριότητες. Η οσμωτική προσαρμογή παίζει σημαντικό ρόλο στον εγκλιματισμό του φυτού σε συνθήκες ξηρασίας ή αλατότητας καθώς μειώνει το οσμωτικό δυναμικό του φυτού και οδηγεί το υδατικό δυναμικό της ρίζας σε τιμές αρνητικότερες από εκείνο του εδάφους, επιτρέποντας έτσι στο νερό να εισρεύσει από το έδαφος στο φυτό (Orcutt and Nilsen 2000, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003).

Εκτός από την συμμετοχή τους στην οσμωτική προσαρμογή, πιθανολογείται ότι η συσσώρευση οσμωλυτών λειτουργεί επίσης προστατευτικά στην έλλειψη νερού. Επειδή είναι υδρόφιλα μόρια μπορούν να υποκαταστήσουν το ελλείπον νερό στο πρωτεϊνικό κέλυφος ή στις μεμβράνες, επομένως δρουν ως οσμωπροστάτες (osmoprotectors). Επιπλέον, σε μεγάλες συγκεντρώσεις μειώνουν την αρνητική επίδραση του χλωριούχου νατρίου στην ενεργότητα των ενζύμων, δρώντας ως μη ενζυμικοί μικρού μοριακού βάρους συνοδοί (chaperones), ενώ ορισμένοι οσμωλύτες όπως η προλίνη, η σορβιτόλη

και η μαννιτόλη έχουν βρεθεί να απομακρύνουν ενεργές μορφές οξυγόνου (Bohnert et al., 1995, Zhu, 2001, Γαλάτης και λοιποί, 2003).

Τέλος, η έλλειψη νερού λόγω αλατότητας όπως και στην περίπτωση της ξηρασίας, επάγει ενεργοποίηση των γονιδίων και σύνθεση νέων πρωτεϊνών δηλαδή σύνθεση πρωτεϊνών οσμωτικής καταπόνησης, υδατοπορίνης, θερμοεπαγόμενων πρωτεϊνών και ένζυμων του αντιοξειδωτικού μηχανισμού. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η οσμωτίνη, πρωτεΐνη μοριακού βάρους 26 kDa, η οποία συντίθεται σε συνθήκες χαμηλού δυναμικού νερού ή οσμωτικού σοκ. Η πρωτεΐνη αυτή εντοπίζεται στο χυμοτόπιο και σε ορισμένες περιπτώσεις η συγκέντρωσή της μπορεί να φτάσει το 12% του συνόλου των πρωτεϊνών των ιστών (Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003).

2.3.2.3. Έκκριση μετάλλων από τα φύλλα των φυτών

Όπως συζητήθηκε στην προηγούμενη παράγραφο ορισμένα φυτικά είδη τα οποία έχουν επιλέξει την στρατηγική της αποφυγής έναντι της καταπόνησης αλατότητας χρησιμοποιούν ένας μηχανισμό έκκρισης των αλάτων στην επιφάνεια των φύλλων τους μέσω εξειδικευμένων αλατωδών αδένων και κύστεων προκειμένου να διατηρηθεί το επίπεδο των ιόντων στους φυτικούς ιστούς μέσα σε ανεκτά για το φυτό επίπεδα. Παρόλα αυτά, αρκετές μελέτες έχουν καταδείξει ότι αυτός ο μηχανισμός ανθεκτικότητας δεν είναι αυστηρά εξειδικευμένος για το νάτριο αλλά και άλλα τοξικά ιόντα όπως ο χαλκός, ο μόλυβδος, το νικέλιο, ο ψευδάργυρος ή το κάδμιο μπορούν να συσσωρευτούν στους αλατώδεις αδένες και κύστες ή στις αδενώδεις τρίχες των φύλλων. Η παράγραφος αυτή, λοιπόν, αποσκοπεί στην ανασκόπηση μελετών που πραγματεύονται την έκκριση μετάλλων στην επιφάνεια των φύλλων ορισμένων φυτών ως ένα πιθανό μηχανισμό αποτοξίνωσης απέναντι στην καταπόνηση από τα μέταλλα.

Είναι γνωστό ότι οι σημαντικές ποσότητες ανόργανων ουσιών, συμπεριλαμβανομένων και ορισμένων βαρέων μετάλλων, απελευθερώνονται από το φύλλωμα των δέντρων στο νερό της βροχής και επανατίθενται στο έδαφος, μηχανισμός που όμως δεν έχει ακόμα πλήρως διευκρινιστεί. Επίσης, μερικά βρυόφυτα τα οποία είναι ικανά να αναπτύσσονται σε μεταλλοφόρα υποστρώματα δεν μπορούν να αποφύγουν την πρόσληψη ποσοτήτων διαλυτών αλάτων βαρέων μετάλλων (π.χ. Cu), όμως έχει βρεθεί ότι το μεγαλύτερο τμήμα αυτών των ποσοτήτων εκκρίνονται από τα φυτά και μπορούν να σχηματίσουν ίζημα στην επιφάνεια των φύλλων κατά τη διάρκεια των περιόδων ξηρασίας (Tyler et al., 1989).

Μελέτες σε καπνά (*Nicotiana tabacum* L.) εκτεθειμένα σε τοξικά επίπεδα καδμίου απεκάλυψαν ότι τα φυτά παράγουν κρυστάλλους που περιέχουν Cd/Ca, οι οποίοι εξωθούνται ενεργά μέσω των τριχωμάτων που αυξάνονται σε αριθμό υπό συνθήκες καταπόνησης καδμίου. Εξήχθη λοιπόν, το συμπέρασμα ότι η παραγωγή των πλούσιων σε Cd κρυστάλλων είναι ένας από τους σημαντικότερους μηχανισμούς αποτοξίνωσης των φυτών και υπολογίστηκε ότι περίπου 16 μg καδμίου δύνανται να εκκριθούν ανά γραμμαρίου φρέσκου φυτικού ιστού (Choi et al., 2001). Επιπλέον, σε μια πιο πρόσφατη μελέτη αποδείχθηκε ότι από το τρίχωμα του καπνού εκκρίνεται και ψευδάργυρος στα πλαίσια και πάλι μηχανισμού αποτοξίνωσης του φυτού από το μέταλλο (Sarret et al., 2006). Επίσης, στο φυτό *Helianthus annuus* L. που βρέθηκε να συσσωρεύει υψηλές συγκεντρώσεις Mn, η συσσώρευση εντοπίστηκε μέσα και γύρω από τις αδενώδεις τρίχες των φύλλων, γεγονός που προτείνει ότι το μαγγάνιο συσσωρεύεται και εκκρίνεται από

τις αδενώδεις τρίχες ενδεχομένως ως αδιάλυτα οξείδια (Blamey et al., 1986). Επιπλέον, στο *Vicia faba* L. διαπιστώθηκε ότι η έκφραση των μεταλλοθειονίνων περιορίζεται κυρίως στο τρίχωμα των φύλλων και τέθηκε η πρόταση ότι αυτές οι περιοχές ενεργούν ως αποθήκες για την απομάκρυνση των βαρέων μετάλλων από τα φυτά (Foley and Singh, 1994).

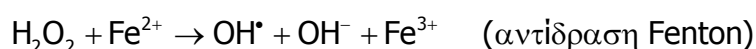
Μελέτες με το αλόφυτο *Tamarix aphylla* έχουν δείξει ότι οι αλατώδεις αδένες εκκρίνουν μια ποικίλα ιόντων εκτός από το νάτριο και το χλώριο και τα δισθενή κατιόντα είναι τα σημαντικότερα συστατικά του προϊόντος έκκρισης (Thomson et al., 1969, Storey and Thomson, 1994). Συμπληρωματικά, διαπιστώθηκε ότι οι αλατώδεις αδένες των ειδών *Tamarix* δεν είναι εκλεκτικοί και η σύσταση των εκκριμένων αλάτων συσχετίζεται άμεσα με τη σύσταση του περιβάλλοντος της ρίζας (Thomson et al., 1969, Hagemeyer and Waisel, 1988, Storey and Thomson, 1994). Επίσης, το *Tamarix aphylla* βρέθηκε να εκκρίνει ιόντα καδμίου και λιθίου μέσω των εξειδικευμένων αλατωδών αδένων του με ρυθμό έκκρισης που αυξάνεται με το χρόνο (Hagemeyer and Waisel, 1988).

Επιπρόσθετα, το πολυετές φυτό *Armeria maritima* ανεπτυγμένο σε έδαφος πλούσιο σε χαλκό βρέθηκε να εκκρίνει μεγάλα ποσά χαλκού και σε μικρότερη έκταση ψευδάργυρο, νικέλιο, μαγγάνιο και σίδηρο μέσω των πολυκυτταρικών αλατωδών αδένων του (Neumann et al., 1995), ενώ και το *Minuartia verna* αναφέρθηκε να εκκρίνει μέταλλα όπως Fe, Cu, Zn και Al (Neumann et al., 1997). Επίσης, το *Avicennia marina*, ένα προαιρετικό αλόφυτο, βρέθηκε να εκκρίνει μέσω των αλατωδών αδένων του σημαντικές ποσότητες ψευδάργυρου και χαλκού μετά από έκθεση του σε υψηλές συγκεντρώσεις των συγκεκριμένων μετάλλων, στα πλαίσια της αποτοξίνωσης του από την περίσσεια των μετάλλων πέραν των θρεπτικών του απαιτήσεων (MacFarlane and Burchett, 1999, MacFarlane and Burchett, 2000). Επιπλέον, το φυτό *Avicennia germinans* L. υπό συνθήκες αλατότητας βρέθηκε για να εκκρίνει εκτός από Na και Cl και άλλα στοιχεία όπως Zn, S, K, Ca και Br, σε αρκετά μεγάλες ποσότητες (Sobrado and Greaves, 2000).

Επίσης, μελέτες σε φυτά που αναπτύσσονται σε αλατούχα έλη αποκάλυψαν ότι τα φυτά *Spartina alterniflora* και *Phragmites australis* εκκρίνουν τα βαρέα μέταλλα που λαμβάνουν από τις ρίζες τους, επάνω στην επιφάνεια των φύλλων τους. Το *S. alterniflora* βρέθηκε να εκκρίνει ψευδάργυρο, κάδμιο, μόλυβδο, χαλκό, χρώμιο, νικέλιο και υδράργυρο μέσω των εξειδικευμένων αλατωδών αδένων του (Kraus et al., 1986, Kraus, 1988, Windham et al., 2001, Weis et al., 2002) και υπολογίστηκε ότι η θεωρητική του δυνατότητα να εκκρίνει τα μέταλλα είναι 145 g καδμίου, 260 g μολύβδου, 104 g χρωμίου, 260 g χαλκού και 988 g νικελίου ανά εκτάριο ανά έτος (Kraus, 1988). Επιπλέον, τα φύλλα του *S. alterniflora* βρέθηκαν να απελευθερώνουν 2 έως 4 φορές περισσότερο μόλυβδο, χαλκό, χρώμιο και ψευδάργυρο από το *P. australis*, μια συνέπεια, τουλάχιστον εν μέρει, της ύπαρξης αλατωδών αδένων στα φύλλα των φυτών *Spartina*. Εντούτοις, και το *Phragmites* βρέθηκε να απελευθερώνει μέταλλα από τους ιστούς των φύλλων του, αν και η ακριβής φύση αυτής της απελευθέρωσης δεν έχει είναι ακόμα διευκρινιστεί (Burke et al., 2000, Weis et al., 2002, Weis and Weis, 2004). Τέλος αξία αναφοράς είναι η πρόταση ότι θα υπάρχει μεγαλύτερη έκκριση μετάλλων υπό συνθήκες υψηλότερης αλατότητας όπου υπάρχει μεγαλύτερη έκκριση αλάτων (Ramadan, 2001, Weis and Weis, 2004).

2.3.3. Οξειδωτική καταπόνηση

Οι αερόβιοι οργανισμοί χρησιμοποιούν το οξυγόνο ως δέκτη ηλεκτρονίων, προκειμένου να επιτύχουν υψηλότερη ενεργειακή απόδοση από τον καταβολισμό σακχάρων ή άλλων μορίων. Ωστόσο ο ρόλος του είναι συνυφασμένος με την παραγωγή τοξικών ανηγμένων ενδιάμεσων μορφών οξυγόνου (*ενεργές μορφές οξυγόνου, reactive ή active oxygen species, ROS ή AOS*). Στην διεργασία της αναπνοής, το μοριακό οξυγόνο δέχεται διαδοχικά τέσσερα ηλεκτρόνια και τέσσερα πρωτόνια για να παραχθούν δύο μόρια νερού. Στην πορεία όμως αυτής της αναγωγής αν το οξυγόνο δεχτεί ένα, δύο ή τρία μόνο ηλεκτρόνια η αναγωγή είναι ατελής με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ROS (Van Breusegem et al., 2001, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003). Οι ενεργές μορφές οξυγόνου είναι ελεύθερες ρίζες, ιόντα και μόρια, τα οποία είναι βραχύβια και εξαιρετικά δραστικά χημικά είδη με ανεξάρτητη υπόσταση και περιλαμβάνουν τις ρίζες υπεροξειδίου (superoxide radicals, $O_2^{\bullet-}$), τις ρίζες υδροξυλίου (hydroxyl radicals, OH^{\bullet}), τις ρίζες υπερυδροξυλίου (perhydroxyl radicals, $^{\bullet}O_2H$), το οξυγόνο απλής κατάστασης (singlet oxygen, 1O_2) και το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) (Van Breusegem et al., 2001, Shah et al., 2001, Mittler, 2002, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003, Zhu et al., 2004). Παράγονται αναπόφευκτα μέσω διαφόρων φυσικών μεταβολικών διεργασιών των κυττάρων όπως η φωτοσύνθεση, η φωτοαναπνοή, η οξειδωση των λιπαρών οξέων και οι διαδικασίες της φυσιολογικής γήρανσης των κυττάρων (Van Breusegem et al., 2001, Zhu et al., 2004) και έχουν τη δυνατότητα να αντιδρούν μη-συγκεκριμένα με πολλά κυτταρικά συστατικά και να προσβάλουν πρωτεΐνες, λιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών, νουκλεϊκά οξέα και πολλά μικρά μόρια όπως φαινόλες και σάκχαρα (Davies, 1987, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003, Verma and Dubey, 2003, Zhu et al., 2004, Rai et al., 2004, Sinha et al., 2005, Singh et al., 2006). Τους πλέον ευαίσθητους στόχους αποτελούν τα ακόρεστα λιπαρά οξέα και οι σουλφυδρυλικές ομάδες των πρωτεϊνών. Ο σχηματισμός οξειδωμένων μορφών λιπιδίων παρουσία των ROS προκαλεί μια σειρά αλυσιδωτών αντιδράσεων που έχει ως αποτέλεσμα την καταστροφή των κυτταρικών μεμβρανών, ενώ η οξειδωση των σουλφυδρυλομαδών των ενζύμων έχει ως αποτέλεσμα την αδρανοποίηση τους ή την παρεμπόδιση της δραστηριότητάς τους. Ο σίδηρος ή άλλα μέταλλα τα οποία περιέχουν πρωτεϊνικά μόρια μπορεί να αντιδράσουν με ορισμένες ROS και να παραχθούν δραστικότερες ελεύθερες ρίζες κυρίως OH^{\bullet} (αντίδραση Fenton). Στην αντίδραση Fenton



μπορούν να πάρουν μέρος και ορισμένα βαρέα μέταλλα όπως θα συζητηθεί στην συνέχεια (Καραμπουρνιώτης, 2003). Οι βλάβες που προξενούν οι ενεργές μορφές οξυγόνου εκδηλώνονται με μεταβολή των ιδιοτήτων και της λειτουργικότητας των μεμβρανών, εκροή ενδοκυτταρικών συστατικών, μεταλλάξεις DNA, διάσπαση χρωστικών, μείωση φωτοσυνθετικής και αναπνευστικής ικανότητας, γήρανση και νέκρωση (Γαλάτης και λοιποί, 2003). Ωστόσο θα πρέπει να τονιστεί ότι ο σχηματισμός των ROS δεν συνιστά μόνο ένα παράγοντα καταπόνησης των φυτικών κυττάρων αλλά ορισμένες ROS θεωρούνται απαραίτητες για την ολοκλήρωση της λιγνινοποίησης, παίζουν το ρόλο ενδιάμεσου σήματος για την ενεργοποίηση των μηχανισμών επαγόμενης άμυνας έναντι των παθογόνων ενώ επιπλέον έχει αναφερθεί και η ενδιαφέρουσα άποψη ότι η μεταλλαξιγόνο δράση τους κάτω από ορισμένες συνθήκες μπορεί να δρα και ως ένας

βασικός κινητήριος εξελικτικός μηχανισμός μέσω του οποίου προωθείται η επιλογή των ειδών (Bohnert and Sheveleva, 1998, Καραμπουρνιώτης, 2003).

Τα κύτταρα, λοιπόν, όλων των αερόβιων οργανισμών και στην προκειμένη περίπτωση των φυτών, έχουν προσαρμοστεί ή διαθέτουν την ικανότητα εγκλιματισμού απέναντι στις συνήθεις οξειδωτικές παρενέργειες. Ο όρος *οξειδωτική καταπόνηση* (*oxidative stress*) αναφέρεται στην περίπτωση όπου ο ρυθμός παραγωγής ROS υπερβαίνει το ρυθμό απόσβεσης τους από τον αντιοξειδωτικό μηχανισμό που το φυτό ενεργοποιεί (Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003). Ποικίλοι παράγοντες καταπόνησης όπως η ξηρασία (Yordanov et al., 2000, Καραμπουρνιώτης, 2003), η ακτινοβολία UV (Shah et al., 2001, Καραμπουρνιώτης, 2003), οι ακραίες θερμοκρασίες (Mishra and Singhal, 1992, Καραμπουρνιώτης, 2003), η εδαφική αλατότητα (Hernández et al., 1999, Zhu, 2000, Rios-Gonzalez et al., 2002, Καραμπουρνιώτης, 2003), οι ατμοσφαιρικοί ρύποι (Kong et al., 1999, Καραμπουρνιώτης, 2003) και τα βαρέα μέταλλα, συμπεριλαμβανομένου του καδμίου και του μολύβδου (Verma and Dubey, 2003, Ruley et al., 2004, Smeets et al., 2005, Balestrasse et al., 2006), είναι γνωστό ότι προκαλούν οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά είτε άμεσα είτε έμμεσα προκαλώντας το σχηματισμό αυξημένων επίπεδων ενεργών μορφών οξυγόνου. Οξειδοαναγωγικά μέταλλα όπως ο χαλκός και ο σίδηρος παράγουν ROS μέσω των αντιδράσεων τύπου Fenton ενώ μη οξειδοαναγωγικά μέταλλα όπως ο μολύβδος, το κάδμιο και ο ψευδάργυρος δεν φαίνεται να συμμετέχουν σε ανάλογες αντιδράσεις αλλά προκαλούν οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά μέσω έμμεσης παραγωγής ενεργών μορφών οξυγόνου (León et al., 2002, Milone et al., 2003, Pietrini et al., 2003, Zacchini et al., 2003, Smeets et al., 2005).

2.3.3.1. Αντιοξειδωτικός μηχανισμός

Για την αντιμετώπιση της οξειδωτικής βλάβης στα κυτταρικά συστατικά οι οργανισμοί έχουν αναπτύξει έναν εντυπωσιακό αντιοξειδωτικό μηχανισμό που περιλαμβάνει δυο γενικές κατηγορίες, τα αντιοξειδωτικά ένζυμα και τα μη ενζυμικά μικρά μόρια, με κύριο ρόλο την απόσβεση (scavenging) και την εξουδετέρωση των ROS ή της βλάβης που προκαλείται από τις ROS (Bohnert and Sheveleva, 1998, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Cao et al., 2004, Zhu et al., 2004, de Azevedo Neto et al., 2006). Στα φυτά τα κυριότερα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά μόρια είναι η γλουταθειόνη (glutathione, GSH) σε ανηγμένη μορφή, ένα τριπεπτίδιο αποτελούμενο από γλουταμικό, κυστεΐνη και γλυκίνη το οποίο, όπως συζητήθηκε σε προηγούμενη παράγραφο, αποτελεί υπόστρωμα για την βιοσύνθεση των φυτοχηλατινών στην αποτοξίνωση από τα βαρέα μέταλλα, το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), η λιπόφιλη α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E), οι πολυαμίνες, τα φλαβονοειδή, τα καροτενοειδή, τα αλκαλοειδή και άλλα προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού (Hernández et al., 1999, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Cao et al., 2004, Sinha et al., 2005). Στα αντιοξειδωτικά ένζυμα περιλαμβάνονται η σουπεροξειδική δισμουτάση (superoxide dismutase, SOD), η καταλάση (catalase, CAT), οι υπεροξειδάσες (peroxidases, POD), η μονοαφυδροασκορβική (monodehydroascorbate reductase, MDHAR) και η αφυδροασκορβική (dehydroascorbate reductase, DHAR) αναγωγάση και η αναγωγάση της γλουταθειόνης (glutathione reductase, GR), ενώ και μία άλλη ενζυμική ομάδα επαγόμενη από το υπεροξειδίο του υδρογόνου είναι της γλουταθειόνης-S-τρανσφεράσης (glutathione-S-transferase, GST), που συμμετέχει σε επιδιόρθωση των βλαβών. Οι SOD, CAT και POD δρουν ως προστατευτικά ένζυμα καθώς εξουδετερώνουν

άμεσα τις ROS, ενώ οι αναγωγάσες υποβοηθούν στη διατήρηση της αντιοξειδωτικής δεξαμενής στην ανηγμένη της μορφή. Οι SOD αποσβένουν τις $O_2^{\bullet-}$ μετατρέποντας τις σε O_2 και H_2O_2 όπου είναι λιγότερη καταστρεπτική μορφή οξυγόνου και άρα μειώνοντας τον κίνδυνο σχηματικού ριζών υδροξυλίου, ενώ στην συνέχεια το H_2O_2 απομακρύνεται από τις CAT και POD με μετατροπή του σε H_2O και O_2 . Για την απόσβεση των ριζών υδροξυλίου, OH^{\bullet} και του 1O_2 δεν αναφέρονται ειδικά ένζυμα αλλά είναι πιθανή η έμμεση εμπλοκή των SOD στην απομάκρυνση τους μέσω χημικών αντιδράσεων (Baccouch et al., 1998, Schützendübel et al., 2001, Van Breusegem et al., 2001, Mittler, 2002, Rios-Gonzalez et al., 2002, Iannelli et al., 2002, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Verma and Dubey, 2003, Cao et al., 2004, Ruley et al., 2004, Zhu et al., 2004, Cho and Seo, 2005, de Azevedo Neto et al., 2006).

Οι υπεροξειδάσες, όπως η ασκορβική υπεροξειδάση (ascorbate peroxidase, APX) και η υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης (guaiacol peroxidase, GPX), είναι οξειδοαναγωγάσες που βρίσκονται στο κυτόπλασμα, στο χυμοτόπιο, στο κυτταρικό τοίχωμα αλλά και στον εξωκυτταρικό χώρο και χρησιμοποιώντας διάφορα υποστρώματα ως δότες ηλεκτρονίων, εκμεταλλεύονται το H_2O_2 για την οξείδωση διαφόρων ανόργανων και οργανικών υποστρωμάτων ανάγοντας το σε H_2O (Rodríguez-López et al., 2000, Shah et al., 2001, Santos de Araujo et al., 2004, Sinha et al., 2005, de Azevedo Neto et al., 2006, Mishra et al., 2006). Η ασκορβική υπεροξειδάση ανάγει το H_2O_2 σε νερό χρησιμοποιώντας ασκορβικό ως δότη ηλεκτρονίων στο πρώτο βήμα του κύκλου της γλουταθειόνης-ασκορβικού (ή κύκλος Halliwell-Asada), ενώ οι υπεροξειδάσες που χρησιμοποιούν γουαϊακόλλη ως δότη ηλεκτρονίων ονομάζονται υπεροξειδάσες της γουαϊακόλλης και πρόκειται για γλυκοπρωτεΐνες που συμμετέχουν στην λιγνινοποίηση, στην βιοσύνθεση αιθυλενίου, στην άμυνα, στη επιδιόρθωση των βλαβών, κ.λ.π. (Baccouch et al., 1998, Iannelli et al., 2002, Verma and Dubey, 2003, Ruley et al., 2004, de Azevedo Neto et al., 2006).

Τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, λοιπόν, αποτελούν στοιχεία κλειδιά του αμυντικού αντιοξειδωτικού μηχανισμού και σε αρκετές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί παρουσιάζονται σημαντικές αλλαγές της δραστηριότητας τους στα φυτά υπό συνθήκες καταπόνησης. Οι υπεροξειδάσες, στην διεθνή βιβλιογραφία, έχουν γίνει ευρέως δεκτές ως «ένζυμα καταπόνησης» ("stress enzymes") και η μέτρηση της δραστηριότητας τους έχει προταθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την αξιολόγηση της έντασης της καταπόνησης που προέρχεται από τα βαρέα μέταλλα (Radotic et al., 2000, Shah et al., 2001, Verma and Dubey, 2003, Ruttens et al., 2006) ή από την αλατότητα (Mittal and Dubey, 1991, Verma and Dubey, 2003).

3ο. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΥΠΟ ΕΞΕΤΑΣΗ ΦΥΤΩΝ

3.1. ΦΥΤΟ: *Atriplex halimus* L. (οικογένεια: *Chenopodiaceae*)

Τα φυτά του γένους *Atriplex* (saltbushes) κυριαρχούν στις ξηρές και μέτρια ξηρές περιοχές ανά τον κόσμο και ιδιαίτερα σε ενδιαιτήματα που συνδυάζουν σχετικά υψηλή εδαφική αλατότητα και ξηρασία. Τα περισσότερα είδη ευδοκιμούν σε περιοχές με ετήσιες βροχοπτώσεις που κυμαίνονται από 200 έως 400 mm όμως μπορούν να αναπτύσσονται ακόμα και σε βροχοπτώσεις ύψους 100 mm ενώ δύνανται να επιζούν για ορισμένο χρόνο ακόμα και όταν δεν υπάρχει καθόλου βροχόπτωση. Επιπλέον, μπορούν να αναπτύσσονται σε πολύ αλατούχα εδάφη ή ακόμα και υπό συνθήκες άρδευσης με θαλασσινό νερό και βρίσκουν χρήση ως ζωτροφές αλλά και για την αποκατάσταση υποβαθμισμένων εδαφών όπως αλατούχα/αλκαλικά εδάφη, αμμοθίνες, απόβλητα ορυχείων και ρηχά εδάφη (Pasiecznik et al., 1996, Haddioui and Baaziz, 2001, Lutts et al., 2004, Abu-Zanat et al., 2004, Ortíz-Dorda et al., 2005). Πάνω από 400 είδη *Atriplex* έχουν αναγνωριστεί σε όλες τις ηπείρους, με 40-50 από αυτά να απαντώνται στις νότιες και ανατολικές περιοχές της λεκάνης της Μεσογείου όπου καλλιεργούνται εκτενώς ως ζωτροφές ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια δυσμενών περιόδων ξηρασίας ή χαμηλών θερμοκρασιών (Le Houérou, 1992, Ortíz-Dorda et al., 2005).

Το *Atriplex halimus* L. είναι ένας C4 πολυετής αειθαλής ενδημικός ξηρο-αλοφυτικός θάμνος της λεκάνης της Μεσογείου με μια άριστη αντοχή στην ξηρασία και την αλατότητα του οποίου η κοινή ονομασία στην ελληνική γλώσσα είναι «αλιμιά» και στην αγγλική «Mediterranean saltbush» ή «salt orach» (Εικόνα 3.1) (HDRA, 2000, Lutts et al., 2004, Ortíz-Dorda et al., 2005). Απαντάται σε όλη την περιοχή της Μεσογείου, στη Μέση Ανατολή, τη βόρεια Αφρική και τη νότια Ευρώπη ενώ έχει εισαχθεί και στην Αυστραλία.



Εικόνα 3.1. *Atriplex halimus* L.

Αποτελεί το πλέον καλλιεργούμενο φυτικό είδος στην περιοχή της Μεσογείου καταλαμβάνοντας πάνω από 80 000 εκτάρια στην Συρία, στην Ιορδανία, στην Αίγυπτο, στην Σαουδική Αραβία, στην Λιβύη και στην Τυνησία. Στην Κρήτη εμφανίζεται σποραδικά (Turland et al., 1993, Haddioui and Baaziz, 2001, Martínez et al., 2003, Lutts et al., 2004, Ortíz-Dorda et al., 2005). Πρόκειται για μονόοικο (ερμαφρόδιτο) φυτό το

οποίο διαθέτει από κοινού αρσενικά και θηλυκά άνθη και ανθίζει στην περίοδο μεταξύ Μαΐου και Δεκεμβρίου. Το ύψος του κυμαίνεται 1-3 μέτρα ενώ η διάμετρος του μπορεί να φθάσει τα 3 m. Τα συνήθη επίπεδα παραγωγής βιομάζας του υπό κανονικές συνθήκες κυμαίνονται περίπου στα 5 Mg ξηρού βάρους ανά εκτάριο ανά έτος που αντιστοιχεί σε μια μέση παραγωγικότητα πάνω από 30 Mg νωπού βάρους ανά εκτάριο ανά έτος (Talamali et al., 2003, Lutts et al., 2004, Ortíz-Dorda et al., 2005).

Είναι ένα φυτό που προσαρμόζεται πολύ καλά σε ξηρές και αλατούχες περιοχές. Επιβιώνει ακόμα και σε συνθήκες βροχόπτωσης ετήσιου ύψους 50 mm με αποτέλεσμα να αποτελεί εξαιρετικό είδος για εισαγωγή σε ξηρές περιοχές. Επιπλέον, μπορεί να καλλιεργηθεί με άρδευση με αλατούχο νερό όπου σε μέτριες δόσεις NaCl μπορεί να παρατηρηθεί έως και ενίσχυση της ανάπτυξης του. Δύναται να επιζεί με άρδευση με αλατούχο νερό σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από εκείνες του θαλασσινού νερού αλλά αναπτύσσεται και σε μη αλατούχα εδάφη (Griffin et al., 1990, Bajji et al., 1998, Martínez et al., 2003). Η ανθεκτικότητα του *A. halimus* στην αλατότητα θεωρείται ότι σχετίζεται με την παρουσία επιφανειακών αλατωδών τριχιδίων (κύστεων) που καλύπτουν την επιφάνεια των φύλλων του και τα οποία συγκεντρώνουν μεγάλες ποσότητες αλάτων (Mozafar and Goodin, 1970, Wong and Jäger, 1978, Simon et al., 1994, Bajji et al., 1998), ενώ η έκκριση των αλάτων μέσω της θραύσης των τριχιδίων στην επιφάνεια των φύλλων δίνει τη δυνατότητα χρήσης του φυτού για αποκατάσταση και βελτίωση εδαφών επιβαρυσμένων με υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων (HDRA, 2000, Haddioui and Baaziz, 2001). Τέλος όπως προαναφέρθηκε αποτελεί ένα φυτό που έχει μελετηθεί εκτενώς από άποψη παραγωγικότητας υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης και αλατότητας αφού λόγω της αντοχής του σε αντίξοα περιβάλλοντα αποτελεί σημαντική πηγή τροφής με υψηλή θρεπτική αξία (το περιεχόμενο σε εύπεπτες πρωτεΐνες κυμαίνεται περίπου στο 12% ξηρής ουσίας) για την κτηνοτροφία ξηρών, μέτρια ξηρών και αλατούχων περιοχών όπου πολύ λίγα φυτικά είδη μπορούν να αναπτυχθούν (Griffin et al., 1990, Choukr-Allah, 1997, Osman et al., 2006)

3.2. ΦΥΤΟ: *Nerium oleander* L. (οικογένεια: *Apocynaceae*)

Το *Nerium oleander* L. είναι ένας πολυετής αειθαλής θάμνος ή μικρό δέντρο ταχείας ανάπτυξης της οικογένειας *Apocynaceae* που φτάνει σε ύψος τα 3-4 μέτρα (Εικόνα 3.2). Τα κλαδιά του είναι ευθυτενή και τα φύλλα του είναι λογχοειδή και δερματώδη, μήκους 5-21 cm, τα οποία διατάσσονται ανά 3 σε σπονδύλους. Τα άνθη του, μονά ή διπλά, διαμέτρου 2,5-5 cm, είναι ερμαφρόδιτα (διαθέτουν θηλυκά και αρσενικά όργανα) και χοανοειδή, με χρώματα που ποικίλουν από κόκκινο ή ροζ μέχρι βιολετί ή λευκό και αναπτύσσονται σε εντυπωσιακές ταξιανθίες στην άκρη των κλαδιών. Ο καρπός είναι επιμήκης, δερματώδης και περιέχει πολυάριθμα σπέρματα με τριχίδια. Κατά την διάρκεια ολόκληρου του καλοκαιριού παράγει εντυπωσιακά άνθη, και σε ήπια κλίματα μπορεί να συνεχίσει μέχρι τα μέσα του φθινοπώρου (Langford and Boor, 1996, Goetz et al., 1998, Inchem, 2005).

Στην Ελλάδα οι κοινές ονομασίες του *N. oleander* ποικίλουν από περιοχή σε περιοχή, με επικρατέστερες την πικροδάφνη ή ροδοδάφνη, συναντάται όμως και με τα ονόματα Αριοδάφνη στη Σαντορίνη, Αροδάφνη στην Κύπρο και Σφάκα στην Κρήτη. Στην αρχαιότητα ήταν γνωστή ως Νήριον ή Νήρις καθώς και ως Ροδοδάφνη ή Ροδόδεντρο, ενώ οι Ρωμαίοι την αποκαλούσαν Ολέανδρουμ (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., 2007). Είναι ενδημικό φυτό

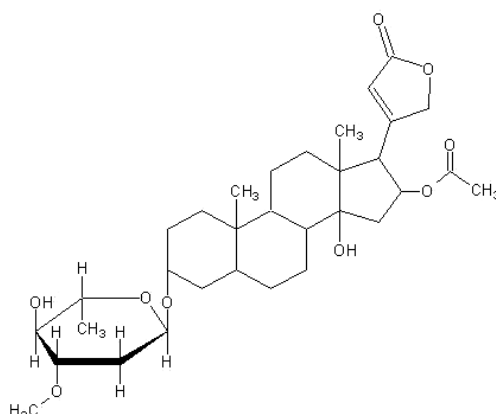


Εικόνα 3.2. *Nerium oleander* L.

της Μεσογείου, της Βόρειας Αφρικής και της κεντρικής, νότιας και ανατολικής Ασίας, αλλά απαντάται ως καλλωπιστικό φυτό σε πολλά μέρη του κόσμου (Knight, 1999, Incham, 2005). Αποτελεί εκπρόσωπο των αείφυλλων σκληρόφυλλων φυτών («Μακκία» βλάστηση - maquis) όπου μαζί με τα φρύγανα, θεωρείται ο αντιπροσωπευτικότερος τύπος βλάστησης της χώρας μας και καλύπτει μεγάλες εκτάσεις στα παράλια της κεντρικής και κυρίως της Νότιας Ελλάδας (Καραμπουρνιώτης, 2003).

Το *N. oleander* δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις όσον αφορά το έδαφος. Μπορεί να αναπτυχθεί σε άγονα, ξηρά ή αλατούχα εδάφη και σε παραθαλάσσιες περιοχές. Είναι ανθεκτικό στις υψηλές θερμοκρασίες, στην ξηρασία και στους ισχυρούς ανέμους, όμως δεν αντέχει στις χαμηλές θερμοκρασίες παρά μόνο για μικρές περιόδους (σε θερμοκρασίες κάτω των 10°C). Εγκλιματίζεται σε ημισκιερές θέσεις αλλά προτιμά τις ηλιόλουστες όπου αναπτύσσεται και το μέγιστο της ανθοφορίας του (Knight, 1999, Incham, 2005, Syros et al., 2005).

Η πικροδάφνη είναι δηλητηριώδες φυτό του οποίου όλα τα μέρη περιέχουν τοξικές ενώσεις πολλές από τις οποίες δύνανται να είναι θανάσιμες για τα ζώα αλλά και τους ανθρώπους και ιδιαίτερα τα μικρά παιδιά. Έχουν γίνει αναφορές δηλητηριάσεων ή θανάτων από κατάποση φύλλων πικροδάφνης, τσάι από φύλλα πικροδάφνης ή ακόμα και από μέλι που παράχθηκε από μέλισσες που επισκέφθηκαν τα άνθη του φυτού. Ακόμα και μία μικρή ποσότητα πικροδάφνης μπορεί να είναι θανατηφόρα προκαλώντας αναπνευστική παράλυση και καρδιακό επεισόδιο. Τα συστατικά του φυτού που έχουν επικίνδυνες συνέπειες για την καρδιά είναι οι καρδιακές γλυκοσίδες (cardiac glycosides), με χαρακτηριστικό αντιπρόσωπο την ολεανδρίνη (oleandrin) που παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.1, οι οποίες αποτελούν στεροειδείς ενώσεις ικανές να προκαλέσουν φαρμακολογικές επιδράσεις στον μυ της καρδιάς (Langford and Boor, 1996, Goetz et al., 1998, Knight, 1999, Incham, 2005). Το φυτό διατηρεί την τοξικότητα του ακόμα και μετά από ξήρανση ενώ ακόμα και οι αναθυμιάσεις από την καύση της πικροδάφνης είναι επικίνδυνες. Θεωρείται ότι η κατανάλωση 10-20 φύλλων μπορεί να προκαλέσει σε έναν ενήλικα δυσμενείς αντιδράσεις, ενώ ένα και μόνο φύλλο είναι θανατηφόρο για ένα νήπιο ή ένα παιδί. Η θανατηφόρα δόση φύλλων πικροδάφνης για τα βοοειδή και τα άλογα έχει βρεθεί να είναι 0,005% του βάρους του ζώου δηλαδή περίπου 30-40 φύλλα είναι αρκετά



Σχήμα 3.1. Χημική δομή της ολεανδρίνης που υπάρχει στους ιστούς της πικροδάφνης (Langford and Boor, 1996).

για να οδηγήσουν στον θάνατο ένα ενήλικο άλογο (Goetz et al., 1998, Knight, 1999, Inchem, 2005).

Παρότι, λοιπόν, πρόκειται για δηλητηριώδες φυτό, παράγωγα πικροδάφνης έχουν χρησιμοποιηθεί για αιώνες σαν βότανα. Ιστορικές αναφορές δείχνουν ότι οι Άραβες επιστήμονες-γιατροί χρησιμοποίησαν πρώτοι την πικροδάφνη ως φάρμακο ενάντια στον καρκίνο τον 8ο αιώνα μ.Χ., ενώ και οι Μεσοποτάμιοι, οι Βαβυλώνιοι και οι αρχαίοι Έλληνες πίστευαν στις επουλωτικές-θεραπευτικές ιδιότητες της πικροδάφνης. Σήμερα, δεν υπάρχουν επιστημονικά στοιχεία ότι η πικροδάφνη είναι αποτελεσματική στη αντιμετώπιση του καρκίνου ή οποιασδήποτε άλλης ασθένειας. Ωστόσο προάγεται για χρήση, προπαρασκευασμένη με μεγάλη αραίωση, για την αντιμετώπιση ενός μεγάλου αριθμού καταστάσεων όπως κράμπες μυών, άσθμα, κάλους, εμμηνορροϊκούς πόνους, επιληψία, παράλυση, δερματικές παθήσεις, καρδιακά προβλήματα και καρκίνο (American Cancer Society). Πέραν των ιατρικών χρήσεων της πικροδάφνης, το φυτό χρησιμοποιείται ευρέως ως καλλωπιστικό σε κήπους, πάρκα, σε νησίδες και κατά μήκος των δρόμων, για συγκράτηση πρανών και σταθεροποίηση εδαφών αλλά και ως εντομοκτόνο και δηλητήριο για ποντίκια.

3.3. ΦΥΤΟ: *Tamarix smyrnensis* Bunge (οικογένεια: *Tamaricaceae*)

Το γένος *Tamarix* περιλαμβάνει περίπου 50-60 φυτικά είδη της οικογένειας *Tamaricaceae* τα οποία αποτελούν ενδημικά φυτά των ξηρότερων περιοχών της Ευρώπης, της Ασίας και της Βόρειας Αφρικής, αλλά κατά την διάρκεια του τελευταίου αιώνα έχουν εγκλιματιστεί και στην Αμερική και στην Αυστραλία. Η κοινή ονομασία τους στην αγγλική γλώσσα είναι «saltcedar» ή «tamarisk» ενώ στην Ελλάδα απαντώνται κοινώς ως «αρμυρίκια». Πρόκειται για φυλλοβόλους ή αειθαλείς θάμνους ή μικρά δέντρα που φτάνουν σε ύψος τα 1-6 μέτρα με εξαίρεση το μεγαλύτερο σε μέγεθος είδος *T. arphylla* το οποίο μπορεί να αναπτυχθεί μέχρι και τα 15 m. Είναι ανθεκτικά στην εδαφική αλατότητα και στις αλκαλικές συνθήκες και δύνανται να επιβιώσουν μέχρι και σε 15.000 ppm διαλυτών αλάτων (Everitt, 1980, Brotherson and Field, 1987, Sultanova et al., 2001, Washington State Department of Ecology).

Τα αρμυρίκια χαρακτηρίζονται από λεπτά κλαδιά με γκριζοπράσινο φύλλωμα. Τα φύλλα τους είναι κλιμακωτά, επικαλυπτόμενα, μήκους μερικών χιλιοστών. Τα λευκορόδινα άνθη τους εμφανίζονται σε πυκνές ανθοταξίες με μορφή μακριών ακίδων στις άκρες των κλαδιών από το Μάρτιο μέχρι τον Σεπτέμβριο. Κάθε άνθος μπορεί να παράγει χιλιάδες μικροσκοπικά σπέρματα (διαμέτρου 1 mm) που εμπεριέχονται σε μια μικρή κάψουλα που κοσμεύεται συνήθως με μια τούφα τριχιδίων ενισχύοντας την διασπορά τους με τον άνεμο (Everitt, 1980, Washington State NWCB).

Το *Tamarix smyrnensis* Bunge (Εικόνα 3.3), αποτελεί ένα ενδημικό φυτό της λεκάνης της Μεσογείου που απαντάται σε παραθαλάσσιες περιοχές και ποτάμια σχηματίζοντας εκτεταμένους πυκνούς θαμνώνες ύψους 3-4 μέτρων ή είναι διασκορπισμένα ως μεμονωμένα μικρόσωμα δέντρα. Συνήθως αποτελεί δείκτη αλατούχων εδαφών αλλά εμφανίζεται και σε μη αλατούχα εδάφη (επιλεκτικά αλόφυτο) (Φιλότης, 1994).



Εικόνα 3.3. *Tamarix smyrnensis* Bunge.

Τα αρμυρίκια είναι είδη ανθεκτικά στις πλημμύρες και στην αλατότητα του εδάφους, για αυτό και αναπτύσσονται τόσο σε εδάφη κατακλυζόμενα από αλμυρά ή υφάλμυρα νερά, όσο και σε μη κατακλυζόμενα εδάφη ή εδάφη που κατακλύζονται από γλυκά νερά. (Brotherson and Field, 1987). Η ανθεκτικότητά τους στην αλατότητα σχετίζεται με την παρουσία αλατωδών εξειδικευμένων αδένων στα φύλλα τους μέσω των οποίων εκκρίνουν τα άλατα στην επιφάνεια των φύλλων (Thomson et al., 1969, Hagemeyer and Waisel, 1988, Storey and Thomson, 1994). Με τον τρόπο αυτό πέραν της προσαρμοστικότητας που παρουσιάζουν με μία ποικιλία αλατούχων εδαφών, είναι σε θέση να περιορίσουν τον ανταγωνισμό με άλλα φυτικά είδη λόγω του ότι με την πρόσληψη των αλάτων από τα βαθύτερα υπόγεια ύδατα και την απελευθέρωσή τους από τα φύλλα διαμορφώνουν μια κρούστα αλάτων στην επιφάνεια του εδάφους η οποία είναι καταστρεπτική, τουλάχιστον προσωρινά, για άλλα φυτικά είδη. Επιπλέον, τα αρμυρίκια αποτελούν φυτά που καταναλώνουν τεράστιες ποσότητες νερού. Ένα και μόνο μεγάλο φυτό μπορεί να απορροφήσει 900 λίτρα νερού ημερησίως (αν και τα ποσοστά εξατμισοδιαπνοής εξαρτώνται από την διαθεσιμότητα του νερού, την πυκνότητα του θαμνώδους και τις καιρικές συνθήκες), με αποτέλεσμα να περιορίζει περαιτέρω τον

ανταγωνισμό από άλλα φυτά χαμηλώνοντας τον υδροφορέα και μονοπωλώντας τις περιορισμένες πηγές υγρασίας (Glenn et al., 1998, Cleverly et al., 1997, Cleverly et al., 2002, Washington State Department of Ecology). Εν κατακλείδι, πρόκειται για φυτικά είδη τα οποία είναι σε θέση να αναπτύσσονται σε μια ευρεία ποικιλία βιότοπων, να εκμεταλλεύονται τους φυσικούς υδάτινους πόρους, να εξαπλώνονται απεριόριστα και μάλιστα σε βάρος άλλων φυσικών σχηματισμών αντικαθιστώντας άλλη ενδημική παρόχθια βλάστηση, και υπό συγκεκριμένες συνθήκες αντιμετωπίζονται ως περιβαλλοντικές απειλές μιας και συμβάλλουν στην αποξήρανση κολπίσκων και ρευμάτων σε περιοχές απειλούμενες από ξηρασία (Brotherson and Field, 1987, Cleverly et al., 1997).

4ο. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κάθε ένα από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας διατριβής αποτελούνταν από τρία κύρια στάδια. Το πρώτο στάδιο περιλάμβανε την συλλογή εμφυτευμάτων των υπό εξέταση φυτών, τον πολλαπλασιασμό τους και την καλλιέργεια-προσαρμογή τους ώστε να αναπτύξουν ένα ώριμο ριζικό σύστημα πριν την έναρξη των πειραμάτων. Το δεύτερο στάδιο ήταν η κύρια πειραματική διαδικασία κατά την οποία πραγματοποιούνταν έκθεση των φυτών στα βαρέα μέταλλα και το τρίτο στάδιο περιλάμβανε τον προσδιορισμό των επιμέρους χαρακτηριστικών των δειγμάτων των φυτών και του εδάφους που είχαν προκύψει από την προηγούμενη φάση.

4.1.1. Προετοιμασία φυτών

4.1.1.1. Συλλογή εμφυτευμάτων

Τα εμφυτεύματα του φυτού *Atriplex halimus* συλλέχθηκαν από ώριμα φυτά που έχουν αναπτυχθεί πάνω στα τείχη της παλιάς πόλης του Ηρακλείου στο κέντρο της σύγχρονης πόλης ενώ στην συνέχεια μεταφέρθηκαν στην πόλη των Χανίων με ιδιαίτερη προσοχή μέσα σε περιβάλλον υγρασίας ώστε να αποτραπεί η ξήρανση τους. Αντίστοιχα, εμφυτεύματα του *Tamarix smyrnensis* συλλέχθηκαν από δέντρα που απαντώνται στην παραθαλάσσια περιοχή των Αγίων Αποστόλων 4 χλμ δυτικά από την πόλη των Χανίων, ενώ μόνο τα φυτά *T. smyrnensis* που χρησιμοποιήθηκαν για το υδροπονικό πείραμα με έκθεση σε μείγμα μολύβδου και καδμίου (Παράγραφος 5.3.5) ήταν ευγενική χορηγία της Ελληνικής Δασικής Υπηρεσίας. Τέλος τα φυτά *Nerium oleander* που χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα αγοράστηκαν από το γεωπονικό κατάστημα Garden Centre, Νίκος Ξερογιαννάκης στα Χανιά. Φωτογραφίες της τοποθεσίας από όπου έγινε η συλλογή των εμφυτευμάτων των φυτών παρουσιάζονται στο Παράρτημα Ι.

4.1.1.2. Πολλαπλασιασμός των φυτών

Εμφυτεύματα 10-15 εκατοστών των φυτών *Atriplex* και *Tamarix* από τα οποία απομακρύνθηκε το μεγαλύτερο μέρος του φυλλώματος έτσι ώστε να μειωθεί η διαπνοή, τοποθετήθηκαν σε άμμο ποταμού μέσα σε σύστημα ελέγχου της υγρασίας με δημιουργία νέφους, ενώ επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν ορμόνες ριζοβολίας (Rigemal P) προκειμένου να ενισχυθεί η ανάπτυξη ριζών. Τα εμφυτεύματα του φυτού *Atriplex* σε κάθε περίπτωση παρέμειναν στον θάλαμο για 19-21 ημέρες με ελεγχόμενη υγρασία 70% για τις πρώτες 10 ημέρες και 60% για τις υπόλοιπες και αντίστοιχα τα φυτά *Tamarix* παρέμειναν για 18-21 ημέρες με 75-80% υγρασία. Ακόλουθα, τα εμφυτεύματα που ανέπτυξαν ρίζα μεταφέρθηκαν σε πλαστικά δοχεία με φυτόχωμα οργανικής προέλευσης κατάλληλο για πολλαπλασιασμό φυτών (Kronos substrate) και επανατοποθετήθηκαν στο θάλαμο με έλεγχο της υγρασία στο 60% όπου παρέμειναν για ακόμα 5 ημέρες ώστε να προσαρμοστούν στο έδαφος και να δοθεί χρόνος να μεγαλώσει και να ωριμάσει το ριζικό τους σύστημα. Φωτογραφίες των παραπάνω διαδικασιών παρατίθενται στο Παράρτημα Ι.

4.1.1.3. Καλλιέργεια και προσαρμογή

Μετά την ολοκλήρωση της φάσης πολλαπλασιασμού των φυτών, τα φυτάρια των *A. halimus* και *T. smyrnensis* μεταφέρθηκαν σε πλαστικές γλάστρες ύψους 21,5 cm και διαμέτρου 24 cm (ένα φυτό ανά γλάστρα) γεμάτες με προζυγισμένο οργανικό υπόστρωμα. Το οργανικό υπόστρωμα το οποίο χρησιμοποιήθηκε για όλα τα πειράματα είναι εμπορικά διαθέσιμο με εμπορική ονομασία Blumenerde, Capriflor, Γερμανία, με κύρια σύσταση μείγμα άσπρης και μαύρης τύρφης, compost και ινών ξύλου και χαρακτηριστικά: pH (H₂O) 5,5 – 6,0, προστιθέμενο λίπασμα N:P:K 12:12:17 1,5 kg/m³, οργανικό C βιολογικής προέλευσης 47%, οργανικό N 1%, ολικό ποσό αζώτου 200 – 300 mg/L, P₂O₅ 200 – 500 mg/L, K₂O 300 – 800 mg/L και MgO 100 – 300 mg/L. Το βάρος του υποστρώματος που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε πείραμα μετρήθηκε μετά από ξήρανση του στους 80°C για 48 ώρες και για τα πειράματα του *Tamarix* χρησιμοποιήθηκαν 620 - 650 g ξηρού βάρους υποστρώματος σε κάθε γλάστρα δηλαδή ως έδαφος καλλιέργειας κάθε φυτού ενώ για τα πειράματα του *Atriplex* χρησιμοποιήθηκαν 670 - 700 g.

Στην συνέχεια ακολούθησε η περίοδος προσαρμογής των φυτών για αρκετά μεγάλα χρονικά διαστήματα προκειμένου να αυξηθούν και να αναπτύξουν ώριμα ριζικά συστήματα. Οι περίοδοι προσαρμογής και καλλιέργειας των φυτών *A. halimus* και *T. smyrnensis* παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.1, στις οποίες τα φυτά παρέμειναν σε

Πίνακας 4.1. Περίοδος προσαρμογής των φυτών μέχρι την έναρξη των πειραμάτων.

Φυτό	Πείραμα	Περίοδος	Διάρκεια
<i>Atriplex halimus</i> L.	Καλλιέργεια σε έδαφος με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Cd	Νοέμβριος-Σεπτέμβριος	11 μήνες
	Καλλιέργεια σε έδαφος με Cd και διαφορετικές αλατότητες	Νοέμβριος-Σεπτέμβριος	11 μήνες
	Καλλιέργεια σε έδαφος με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb	Νοέμβριος-Σεπτέμβριος	11 μήνες
	Καλλιέργεια σε έδαφος με Pb και διαφορετικές αλατότητες	Νοέμβριος-Σεπτέμβριος	11 μήνες
	Καλλιέργεια σε έδαφος με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Cd & Pb	Νοέμβριος-Σεπτέμβριος	11 μήνες
	Καλλιέργεια σε έδαφος με Cd & Pb και διαφορετικές αλατότητες	Νοέμβριος-Σεπτέμβριος	11 μήνες
<i>Tamarix smyrnensis</i>	Υδροπονική καλλιέργεια σε Pb και διαφορετικές αλατότητες	Απρίλιος-Ιούνιος	2 μήνες
	Υδροπονική καλλιέργεια σε Cd και διαφορετικές αλατότητες	Απρίλιος-Ιούνιος	2 μήνες
	Καλλιέργεια σε έδαφος με Cd και διαφορετικές αλατότητες	Μάιος-Ιούλιος	2,5 μήνες
	Καλλιέργεια σε έδαφος με Cd & Pb και διαφορετικές αλατότητες	Σεπτέμβριος-Μάιος	8 μήνες

εξωτερικό χώρο χωρίς προστασία έναντι της βροχής και του αέρα προκειμένου να προσαρμοστούν σε συνθήκες πεδίου ενώ η άρδευση τους πραγματοποιούνταν κάθε 2-5 ημέρες ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τις απαιτήσεις του κάθε φυτού.

Στην περίπτωση των φυτών *Nerium oleander* L. τα οποία αγοράστηκαν σε ηλικία 10 μηνών και με ύψος υπέργειων τμημάτων 37 – 56 cm πραγματοποιήθηκε μεταφύτευση τους σε πλαστικές γλάστρες (21,5 cm ύψος και 24 cm διάμετρο) σε οργανικό υπόστρωμα και κοκκινόχρωμα σε αναλογία 4:3 με συνολικό ξηρό βάρος 1490 g. Η περίοδος προσαρμογής των φυτών μέχρι την έναρξη των κύριων πειραματικών διαδικασιών ήταν 2 μήνες (Μάιο έως Ιούλιο) και σε αυτή την περίπτωση χωρίς προστασία εναντίον στην βροχή και στον αέρα ενώ η άρδευση τους λάμβανε χώρα κάθε 2-3 ημέρες ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τις απαιτήσεις τους σε νερό.

4.1.2. Κύρια πειραματική διαδικασία - Έκθεση των φυτών στα μέταλλα

Οι κύριες πειραματικές διαδικασίες οι οποίες πραγματοποιήθηκαν για κάθε ένα πείραμα έκθεσης των υπό εξέταση φυτών στα βαρέα μέταλλα παρατίθενται στο Κεφάλαιο 5 όπου αναπτύσσονται και συζητούνται τα αποτελέσματα κάθε ενός πειράματος έτσι ώστε να είναι ευκολότερο για τον αναγνώστη να συνδέσει τα αποτελέσματα με την πειραματική διαδικασία και επιπλέον να έχει την ευκαιρία να ανατρέχει σε αυτή όταν κρίνεται αναγκαίο.

4.1.3. Πειραματικές μετρήσεις - μέθοδοι

4.1.3.1. Μετρήσεις στα φυτά

4.1.3.1.1. Παρατήρηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών και προσδιορισμός των παραμέτρων αύξησης

Κατά την διάρκεια της κυρίας πειραματικής διαδικασίας μια φορά την εβδομάδα σε συγκεκριμένη μέρα και ώρα πραγματοποιούνταν μετρήσεις των υπέργειων τμημάτων των φυτών όπως επίσης και οπτική παρατήρηση και καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών των φυτών έτσι ώστε να εντοπιστούν πιθανές αλλαγές και συμπτώματα τοξικότητας λόγω της παρουσίας των μετάλλων. Με την λήξη του πειράματος πραγματοποιήθηκε θερισμός των υπέργειων τμημάτων, πλύση τους με νερό βρύσης και εις διπλούν με αποιονισμένο νερό προκειμένου να απομακρυνθούν οποιαδήποτε σωματίδια σκόνης. Οι ρίζες απομακρύνθηκαν με ιδιαίτερη προσοχή από το έδαφος και πλύθηκαν με άπλετο νερό βρύσης και αποιονισμένο νερό έτσι ώστε να απομακρυνθούν όλα τα σωματίδια εδάφους. Στην συνέχεια έλαβε χώρα προσδιορισμός του νωπού βάρους αλλά και του ξηρού βάρους των διαφόρων φυτικών τμημάτων (φύλλα, στελέχη και ρίζες) μετά από ξήρανση τους σε φούρνο στους 65-70°C για 48 ώρες, για τον προσδιορισμό του περιεχομένου σε νερό και της βιομάζας. Ο προσδιορισμός του περιεχομένου σε νερό (water content) υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$\text{Περιεχόμενο σε νερό (\%)} = [(\text{νωπό βάρος} - \text{ξηρό βάρος}) / \text{νωπό βάρος}] \cdot 100$$

Στην συνέχεια, όλα τα δείγματα είτε αλέστηκαν σε μύλο είτε κονιορτοποιήθηκαν σε ιγδίο (γουδί) από πορσελάνη με υγρό άζωτο, ξηράθηκαν στον αέρα και αποθηκεύτηκαν σε ξηρό περιβάλλον μέχρι την μέτρηση του περιεχομένου τους σε μέταλλα με χρήση φασματοσκοπίας ICP-AES.

4.1.3.1.2. Προσδιορισμός χλωροφύλλης

Την τελευταία μέρα του κάθε πειράματος δείγμα νωπών φύλλων βάρους 0,2 g για τα φυτά *Tamarix* και 0,4 g για τα φυτά *Atriplex* και *Oleander* λήφθηκαν τυχαία από το κάθε φυτό, πλύθηκαν με νερό βρύσης και απιονισμένο νερό, ζυγίστηκαν και αποθηκεύτηκαν στους -22°C (όχι πάνω από μια μέρα) μέχρι την μέτρηση η οποία πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την μέθοδο του Harborne (1984). Το δείγμα του φυτικού ιστού τοποθετήθηκε σε ιγδίο από πορσελάνη και ομογενοποιήθηκε με 10 mL υδατικού διαλύματος ακετόνης 80% μέχρι πλήρης ομογενοποίησης και σύνθλιψης των κυττάρων. Στην συνέχεια στο εκχύλισμα πραγματοποιήθηκε φυγοκέντριση δυο φορές από ένα λεπτό την κάθε φορά στις 16 000 g ενώ το καθαρό εκχύλισμα συμπληρώθηκε με διάλυμα ακετόνης 80% έως τελικό όγκο 8 mL. Τέλος, μετρήθηκε η απορρόφηση στα 663 και 646 nm σε φασματοφωτόμετρο UV (UV mini 1240 SHIMADZU) στις κατάλληλες αραιώσεις ώστε να βρίσκεται μέσα στο εύρος γραμμικότητας του οργάνου, ενώ διάλυμα ακετόνης 80% χρησιμοποιήθηκε ως τυφλό διάλυμα για τον μηδενισμό του οργάνου. Η συγκέντρωση της *a*, *b* και ολικής χλωροφύλλης υπολογίζεται από τις ακόλουθες εξισώσεις:

$$\text{Ολική Χλωροφύλλη [mg/L]} = 17,3 A_{646} + 7,18 A_{663}$$

$$\text{Χλωροφύλλη } a \text{ [mg/L]} = 12,21 A_{663} - 2,81 A_{646}$$

$$\text{Χλωροφύλλη } b \text{ [mg/L]} = 20,13 A_{646} - 5,03 A_{663}$$

όπου A_{663} και A_{646} η απορρόφηση στα 663 και 646 nm, αντίστοιχα, ενώ οι συγκεντρώσεις υπολογίστηκαν για 1 g νωπού φύλλου.

4.1.3.1.3. Προσδιορισμός πρωτεϊνών

Εκχύλιση: 1 g δείγματος νωπών φύλλων το οποίο λήφθηκε από κάθε φυτό κατά την λήξη του πειράματος, ομογενοποιήθηκε σε ιγδίο από πορσελάνη με 8 mL κρύου ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού 0,05 M (pH 5,8). Στο ομογενοποιημένο δείγμα πραγματοποιήθηκε διήθηση με τετραπλή γάζα και φυγοκέντριση για 20 και ξανά 5 λεπτά στις 16 000 g και το καθαρό εκχύλισμα αποθηκεύτηκε στο ψυγείο μέχρι την μέτρηση των πρωτεϊνών και της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης (Erdelský and Frič, 1979).

Προσδιορισμός πρωτεϊνών: Ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών πραγματοποιήθηκε με χρήση του Modified Lowry Protein Assay Kit from Pierce, Rockford IL (product No. 23240) το οποίο βασίζεται στην μέθοδο Lowry (1951). Το κάθε δείγμα προσδιορίστηκε εις διπλούν ενώ η απορρόφηση των δειγμάτων μετρήθηκε στα 750 nm σε φασματοφωτόμετρο UV (UV mini 1240 SHIMADZU) με μηδενισμό του οργάνου με απιονισμένο νερό. Η συγκέντρωση των πρωτεϊνών υπολογίστηκε με τη χρήση καμπύλης αναφοράς που κατασκευάστηκε με πρότυπα διαλύματα αλβουμίνης βοδινού ορού (bovine serum albumin, BSA).

4.1.3.1.4. Προσδιορισμός της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης

Εκχύλιση: Η ίδια μέθοδος εκχύλισης με την μέθοδο προσδιορισμού των πρωτεϊνών.

Προσδιορισμός δραστηριότητας POD: Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης (peroxidase, POD) της γουαϊακόλλης πραγματοποιήθηκε για κάθε δείγμα φυτού εις τριπλούν στο ίδιο εκχύλισμα που πραγματοποιήθηκε και ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών, σύμφωνα με την μέθοδο των Erdelský και Frič, (1979) η οποία βασίζεται στον έλεγχο του ρυθμού οξειδωσης της γουαϊακόλλης (guaiacol, 1-υδρόξυ-2-μεθοξυβενζόλιο) σε θερμοκρασία δωματίου. Το μείγμα αντίδρασης περιείχε 2,7 mL ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού 0,05 M (pH 5,8), 0,1 mL δείγματος (εκχύλισμα φυτού) και 0,1 mL γουαϊακόλλη (15 mg/mL). Για την έναρξη της αντίδρασης προστέθηκε 0,1 mL H₂O₂ 1% (τελικός όγκος μείγματος αντίδρασης 3 mL). Η οξειδωση της γουαϊακόλλης σε τετραγουαϊακόλλη παρακολουθήθηκε με την μέτρηση της απορρόφησης στα 470 nm σε φασματοφωτόμετρο UV (UV mini 1240 SHIMADZU) κατά την διάρκεια των τριών πρώτων λεπτών της αντίδρασης. Η μεταβολή της απορρόφησης ανά λεπτό χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της ποσότητας του ένζυμου στο μείγμα χρησιμοποιώντας τον συντελεστή απόσβεσης της τετραγουαϊακόλλης $\epsilon = 26,6 \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$. Η μονάδα (Unit) της ενζυμικής δραστηριότητας εκφράστηκε ως η μεταβολή της απορρόφησης ανά λεπτό ($\Delta A_{470}/\text{min}$) ενώ η δραστηριότητα (specific activity) του ενζύμου εκφράστηκε ως μονάδες ανά χιλιοστογραμμάριο πρωτεϊνών (U/mg πρωτεϊνών).

4.1.3.1.5. Προσδιορισμός συγκέντρωσης Pb και Cd στο φυτικό ιστό

Ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των μετάλλων στο φυτικό ιστό πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με μια τροποποίηση της μεθόδου του Soon (1998). 0,5 g δείγματος ξηρού και κονιορτοποιημένου φυτικού ιστού τοποθετήθηκαν σε πορσελάνινη κάψα και αποτεφρώθηκαν σε κλίβανο στους 480°C για 16 ώρες ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις όπου πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός μόνο του καδμίου η αποτέφρωση έγινε στους 600°C για 4,5 ώρες. Στην συνέχεια τα δείγματα απομακρύνθηκαν από τον κλίβανο και αφού αφέθηκαν να κρυώσουν, προστέθηκαν 10 mL διαλύματος HCl 2N με ταυτόχρονη θέρμανση σε θερμαινόμενη πλάκα περίπου στους 100°C ώστε να διαλυθεί η τέφρα. Στο παραγόμενο διάλυμα έλαβε χώρα διήθηση και αραίωση με υπερκάθαρο νερό έως τα 50 mL. Το τελικό διάλυμα αποθηκεύτηκε σε ψυγείο κάτω από τους 10°C για όχι περισσότερο από μια εβδομάδα ενώ στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός του Pb και Cd με χρήση φασματοσκοπίας ατομικής εκπομπής με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα, ICP-AES (Leeman Labs PS1000AT). Τα πρότυπα διαλύματα (Pb και Cd σε 5% HNO₃) για την καμπύλη αναφοράς του οργάνου παρασκευάστηκαν με αραίωση από εμπορικά διαθέσιμα πρότυπα συγκέντρωσης 1 mg/L.

4.1.3.1.6. Προσδιορισμός της ποσότητας Pb και Cd που εκκρίνεται στην επιφάνεια των φύλλων

Ο προσδιορισμός της ποσότητας του Pb και Cd που απελευθερώνονται στην επιφάνεια των φύλλων των φυτών *Tamarix smyrnesis* πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την μέθοδο των Hagemeyer and Waisel (1988). Με την λήξη της περιόδου έκθεσης στα

μέταλλα, τα υπέργεια τμήματα των φυτών εμβαπτίστηκαν σε 100 mL διαλύματος HNO_3 0,1% για 2 λεπτά έτσι ώστε να διαλυθούν όλες οι ενώσεις που βρίσκονται στην επιφάνεια και μέσα στις κρύπτες των φύλλων. Στο διάλυμα που προέκυψε πραγματοποιήθηκε διήθηση και αποθηκεύτηκε εν ψυχρώ έως τον προσδιορισμό του Pb και του Cd με χρήση φασματοσκοπίας ICP-AES (Leeman Labs PS1000AT). Τα πρότυπα διαλύματα (Pb και Cd σε 5% HNO_3) που χρησιμοποιήθηκαν για την καμπύλη αναφοράς του αναλυτικού οργάνου παρασκευάστηκαν με αραιώση από εμπορικώς διαθέσιμα πρότυπα συγκέντρωσης 1 mg/L.

4.1.3.1.7. Προσδιορισμός της ποσότητας Pb και Cd στα δείγματα χαρτιού κατά τον προσδιορισμό του ρυθμού έκκρισης των μετάλλων από τα φύλλα

Κατά τον προσδιορισμό του ρυθμού έκκρισης του Pb και του Cd από τα φύλλα του *Tamarix smyrnesis* χρησιμοποιήθηκε χαρτί στο οποίο συλλέχθηκαν τα μέταλλα (Παράγραφος 5.3.5.1). Στα δείγματα χαρτιού, βάρους 3 g, έλαβε χώρα προσδιορισμός του Pb και του Cd με χρήση φασματοσκοπίας ICP-AES (Leeman Labs PS1000AT) ενώ η προετοιμασία των δειγμάτων έγινε σύμφωνα με την τροποποίηση της μεθόδου του Soop (1998) η οποία χρησιμοποιήθηκε και για τα δείγματα του φυτικού ιστού (Παράγραφος 4.1.3.5), ενώ καθαρά δείγματα χαρτιού χρησιμοποιήθηκαν ως τυφλά. Για τον υπολογισμό του ρυθμού έκκρισης των μετάλλων χρησιμοποιήθηκε το ξηρό βάρος του φυλλώματος και του δείγματος του χαρτιού.

4.1.3.1.8. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης του Pb και του Cd στα υδροπονικά θρεπτικά διαλύματα

Τα δείγματα των θρεπτικών διαλυμάτων που συλλέχθηκαν από κάθε υδροπονική καλλιέργεια των φυτών *Tamarix smyrnesis* σε κάθε περίπτωση αποθηκεύτηκαν σε ψυγείο κάτω από τους 10°C για όχι περισσότερο από μια εβδομάδα μέχρι τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης Pb και Cd. Για τον προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκε φασματοσκοπία ICP-AES (Leeman Labs PS1000AT) αφού έλαβε χώρα οξύνιση των δειγμάτων με αραιό διάλυμα νιτρικού οξέος. Τα πρότυπα διαλύματα (Pb και Cd σε 5% HNO_3) για την καμπύλη αναφοράς του οργάνου παρασκευάστηκαν από εμπορικώς διαθέσιμα πρότυπα συγκέντρωσης 1 mg/L.

4.1.3.2. Μετρήσεις στο έδαφος

4.1.3.2.1. Δειγματοληψία και χειρισμός των δειγμάτων εδάφους

Όπως προαναφέρθηκε το έδαφος καλλιέργειας το οποίο χρησιμοποιήθηκε σε όλα τα πειράματα όλων των υπό εξέταση φυτών ήταν οργανικό υπόστρωμα εμπορικά διαθέσιμο με εμπορική ονομασία Blumenerde, Capriflor (Γερμανία) με κύρια σύσταση μείγμα άσπρης και μαύρης τύρφης, compost και ινών ξύλου και χαρακτηριστικά: pH (H_2O) 5,5 – 6,0, προστιθέμενο λίπασμα N:P:K 12:12:17 1,5 kg/m³, οργανικό C

βιολογικής προέλευσης 47%, οργανικό N 1%, ολικό N 200 – 300 mg/L, P₂O₅ 200 – 500 mg/L, K₂O 300 – 800 mg/L και MgO 100 – 300 mg/L.

Στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο φυτό *Atriplex halimus* L. έλαβαν χώρα μετρήσεις των ολικών και φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων των μετάλλων στο έδαφος καλλιέργειας οι οποίες υποστηρίχθηκαν και από μετρήσεις χαρακτηριστικών του εδάφους τα οποία επηρεάζουν τις φυτοδιαθέσιμες συγκεντρώσεις των μετάλλων όπως είναι το pH, η αγωγιμότητα (η οποία δεν επηρεάζει άμεσα τις συγκεντρώσεις των μετάλλων αλλά εκφράζει την επίδραση της εδαφικής αλατότητας), το ανθρακικό ασβέστιο και η περιεχόμενη οργανική ουσία. Η δειγματοληψία των δειγμάτων εδάφους πραγματοποιήθηκε με τυχαία δειγματοληψία μεταξύ των φυτών κάθε ομάδας-επέμβασης (group - treatment) έτσι ώστε κάθε σύστημα φυτό-έδαφος να έχει την ίδια πιθανότητα να επιλεγεί ως δείγμα. Επιπλέον, ο χρόνος δειγματοληψίας επιλέχθηκε να είναι με την λήξη της πρώτης πειραματικής εβδομάδας έτσι ώστε να εξασφαλιστεί ότι θα έχουν συμπεριληφθεί όλοι εκείνοι οι παράγοντες οι οποίοι δύνανται να επηρεάσουν τις ιδιότητες του εδάφους και τις βιοδιαθέσιμες συγκεντρώσεις των μετάλλων όπως είναι οι συνθήκες του περιβάλλοντος, η εδαφική αλατότητα και η παρουσία του δεύτερου μετάλλου στις περιπτώσεις όπου πραγματοποιήθηκε καλλιέργεια σε έδαφος με προσθήκη χλωριούχου νατρίου ή ρυπασμένο και με τα δύο μέταλλα (σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό), αλλά και η επίδραση που προκαλεί το ίδιο το φυτό μέσω της απελευθέρωσης οργανικών ενώσεων από τις ρίζες.

Ο αριθμός των δειγμάτων που επιλέχθηκε ήταν δύο δείγματα ανά επέμβαση (κάθε επέμβαση περιλάμβανε 6 δείγματα φυτών-εδάφους) που αντιστοιχούσαν δηλαδή σε δύο ολόκληρα δοχεία καλλιέργειας (γλάστρες) των φυτών προκειμένου να εξασφαλιστεί η λήψη αντιπροσωπευτικού δείγματος, η επάρκεια των δειγμάτων με την έννοια της ποσότητας των υποδειγμάτων που απαιτούνταν για όλους τους παρακάτω προσδιορισμούς αλλά και ο αριθμός των δειγμάτων να είναι επαρκής και αντιπροσωπευτικός.

Για όλους τους παραπάνω λόγους, με το πέρας μίας εβδομάδας από την προσθήκη των μετάλλων στο έδαφος δηλαδή με την λήξη της πρώτης πειραματικής εβδομάδας έκθεσης των φυτών στο μέταλλο, σε δύο τυχαία επιλεγμένα φυτά από κάθε επέμβαση κόπηκαν τα υπέργεια τμήματα και απομακρύνθηκαν από το έδαφος οι ρίζες. Στην συνέχεια το έδαφος απλώθηκε πάνω σε χαρτί μέσα σε δοχεία από αλουμίνιο τα οποία στην συνέχεια αφέθηκαν για ξήρανση στον αέρα (air drying). Η περίοδος ξήρανσης των δειγμάτων μέχρι σταθερού βάρους διήρκεσε 2 μήνες σε δωμάτιο με επαρκή αερισμό και σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος, ενώ κάθε 2 ημέρες πραγματοποιούνταν αλλαγή του χαρτιού κάθε δείγματος. Ακολούθως έλαβε χώρα λειοτρίβηση των δειγμάτων σε κατάλληλο ιγδίο (Hoechst CeramTec, C181/180) έτσι ώστε να επιτευχθεί σπάσιμο των συσσωματωμάτων του εδάφους και ελάττωση του μεγέθους των κόκκων προκειμένου να επιτρέπεται η λήψη μικρότερης ποσότητας υποδειγμάτων χωρίς να ελαττώνεται η αντιπροσωπευτικότητα τους και επιπλέον να διευκολύνεται η οποιαδήποτε κατεργασία αποσύνθεσης τους. Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε έτσι ώστε να μην λειοτριβηθεί το δείγμα περισσότερο από ό,τι πρέπει ώστε να είναι δυνατή η λήψη αντιπροσωπευτικών δειγμάτων. Τέλος πραγματοποιήθηκε κοσκίνιση των δειγμάτων εδάφους με χρήση κατάλληλου κόσκινου με άνοιγμα βρογχίδων 2 mm (Retsch Test sieve).

Ο χρόνος διατήρησης/αποθήκευσης των δειγμάτων εδάφους μετά την προετοιμασία τους και μέχρι τις επιμέρους μετρήσεις ήταν 2 μήνες ενώ έχει προταθεί ότι ο μέγιστος χρόνος διατήρησης των δειγμάτων τα οποία έχουν χειριστεί κατάλληλα είναι έως και μερικά χρόνια. Επιπλέον, ο χώρος και οι συνθήκες όπου έλαβε χώρα η διατήρηση

των δειγμάτων εξασφάλισε τα δείγματα από τυχόν αλλοιώσεις του μητρικού υλικού ή των ουσιών και ιδιοτήτων προς προσδιορισμό.

Οι επιμέρους δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν κατά τους παρακάτω προσδιορισμούς των χαρακτηριστικών του εδάφους έλαβαν χώρα με τυχαία δειγματοληψία προκειμένου το κάθε μέρος του υλικού να έχει την ίδια πιθανότητα να επιλεγεί ως δείγμα ενώ πρέπει να σημειωθεί ότι σε όλες τις περιπτώσεις πραγματοποιήθηκε έλεγχος της επαναληψιμότητας της κάθε μιας από τις παρακάτω μεθόδους αλλά και της δειγματοληψίας σε τουλάχιστον τρία δείγματα κάθε φορά.

4.1.3.2.2. Προσδιορισμός του pH (1:5 H₂O)

Ο προσδιορισμός του pH πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο του Αλεξιάδη (1980), σύμφωνα με την οποία 15 g ξηρού δείγματος ζυγίζονται και τοποθετούνται σε γυάλινο ποτήρι ζέσεως και συμπληρώνονται με 75 mL απιονισμένου νερού. Ακολουθεί ανάδευση ενώ στην συνέχεια το αιώρημα αφήνεται σε ηρεμία για 15 λεπτά. Με την πάροδο του χρόνου πραγματοποιείται διήθηση ή φυγοκέντρωση και στο καθαρό διάλυμα μετρείται το pH με πεχάμετρο το οποίο διαθέτει είτε ηλεκτρόδιο υάλου και ηλεκτρόδιο αναφοράς είτε συνδυασμένο ηλεκτρόδιο αφού προηγουμένως έχει βαθμονομηθεί με πρότυπα ρυθμιστικά διαλύματα pH 4,0 και pH 7,0.

4.1.3.2.3. Προσδιορισμός ηλεκτρικής αγωγιμότητας

Ο προσδιορισμός της ηλεκτρικής αγωγιμότητας (electrical conductivity, EC) πραγματοποιήθηκε με βάση την μέθοδο του Αλεξιάδη (1980), σύμφωνα με την οποία 100 g ξηρού δείγματος ζυγίζονται σε ποτήρι ζέσεως ενώ ακολουθεί προσθήκη μικρών ποσοτήτων απιονισμένου H₂O με ταυτόχρονη ανάδευση με μεταλλική σπάτουλα έως ότου επιτευχθεί δημιουργία πάστας κορεσμού. Στην συνέχεια η πάστα αφήνεται σε ηρεμία για 2 ώρες έτσι ώστε να επιτευχθεί χημική ισορροπία, ενώ ακολούθως λαμβάνει χώρα φυγοκέντρωση στις 4 000 g για 5 λεπτά και στο υπερκείμενο διάλυμα πραγματοποιείται η μέτρηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας με αγωγιμόμετρο.

4.1.3.2.4. Προσδιορισμός ολικού ανθρακικού ασβεστίου, CaCO₃

Ο προσδιορισμός του ολικού ανθρακικού ασβεστίου πραγματοποιήθηκε με ασβεστομέτρηση με υδροχλωρικό οξύ με χρήση του ασβεστομέτρου Scheibler (Calcimeter, Scheibler 7.810 100, Normschliff Gerätebau, Wertheim). 0,2 g δείγματος εδάφους τοποθετούνται στο ασβεστόμετρο και στην συνέχεια προστίθενται 10 mL HCl 4 N ενώ ο προσδιορισμός του CaCO₃ πραγματοποιείται μέσω της μέτρησης του παραγόμενου CO₂.

4.1.3.2.5. Προσδιορισμός οργανικής ουσίας

Ο προσδιορισμός της οργανικής ουσίας στα δείγματα εδάφους πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την μέθοδο Walkey-Black (Nelson and Sommers, 1996) με βάση την οποία

σε κωνική φιάλη των 500 mL μεταφέρονται 0,07 g δείγματος εδάφους, προστίθενται 10 mL $K_2Cr_2O_7$ συγκέντρωσης 1 N και ανακινείται ελαφρά η φιάλη ώστε να διασκορπιστεί το έδαφος στο διάλυμα. Ακολούθως προστίθενται γρήγορα 10 mL πυκνού H_2SO_4 και η φιάλη ανακινείται προκειμένου το έδαφος και τα αντιδραστήρια να αναμιχθούν. Εν συνεχεία αφού το δείγμα αφεθεί σε ηρεμία για περίπου 30 λεπτά, προστίθενται 200 mL H_2O και 10 mL πυκνού H_3PO_4 . Τέλος αφού προστεθούν περίπου 2 mL δείκτη διφαινιλαμίνης πραγματοποιείται ογκομέτρηση με 0,5 N $FeSO_4$ μέχρι αλλαγής του χρώματος σε σκούρο πράσινο. Ο προσδιορισμός της οργανικής ουσίας (organic matter) υπολογίζεται από τις εξισώσεις:

$$\text{Οργανική ουσία (\%)} = \frac{[10 - (T \cdot V_{\text{δείγματος}})] \cdot 0,003 \cdot 100}{\text{βάρος δείγματος, g}} \cdot 1,30 \cdot 2$$

όπου $V_{\text{δείγματος}}$: η κατανάλωση του 0,5 N $FeSO_4$ κατά την ογκομέτρηση του δείγματος
και T : ο τίτλος του 0,5 N $FeSO_4$ που υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$T = \frac{10 \text{ (ml } K_2Cr_2O_7, 1 \text{ N)}}{V_{\text{τυφλού}} \text{ (ml)}}$$

4.1.3.2.6. Προσδιορισμός φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων Pb και Cd στο έδαφος

Ο προσδιορισμός των φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων του μόλυβδου και του καδμίου στο έδαφος πραγματοποιήθηκε με την ευρύτατα χρησιμοποιούμενη μέθοδο των Lindsay και Norvell (1978) με την χρήση του χηλικού αντιδραστηρίου διαιθυλενοτριαμινοπενταξικό οξύ (DTPA), η οποία συστήνεται ως κατάλληλη για τον προσδιορισμό των κλασμάτων των μετάλλων που είναι διαθέσιμα για τα φυτά και από τον Amacher (1996). Σε κωνική φιάλη των 125 mL προστέθηκαν 10 g ξηρού δείγματος εδάφους και 50 mL εκχυλιστικού διαλύματος σύστασης 0,005 M DTPA, 0,1 M TEA (τριαιθανολαμίνη) και 0,01 M $CaCl_2$ σε pH 7,3. Το δείγμα τοποθετήθηκε για ανακίνηση για 2 ώρες σε παλινδρομικό τάρακτρο στις 130 στροφές/λεπτό, ενώ στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε διήθηση με διηθητικούς ηθμούς Whatman no. 42. Στο διήθημα έλαβε χώρα ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων του Pb και του Cd με την βοήθεια της φασματοσκοπία ICP-AES (Leeman Labs PS1000AT). Τα πρότυπα διαλύματα (Pb και Cd σε 5% HNO_3) για την καμπύλη αναφοράς του οργάνου παρασκευάστηκαν από εμπορικά διαθέσιμα πρότυπα συγκεντρώσεως 1 mg/L.

4.1.3.2.7. Προσδιορισμός ολικών συγκεντρώσεων Pb και Cd στο έδαφος

Ο προσδιορισμός των ολικών συγκεντρώσεων των μετάλλων στο έδαφος πραγματοποιήθηκε με την χώνευση των δειγμάτων σε συσκευή μικροκυμάτων (Microwave sample preparation system, Anton Paar, Multiwave) σύμφωνα με μια τροποποίηση της μεθόδου 3051 US EPA SW-846. 0,1 g ξηρού δείγματος εδάφους ζυγίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε δοχεία μικροκυμάτων από πολυτετραφθοροαιθυλένιο (Teflon) με 5 mL HNO_3 65%, τα δοχεία κλείστηκαν και τοποθετήθηκαν στην συσκευή

μικροκυμάτων για χώνευση για 20 λεπτά. Με την λήξη της πέψης τα δείγματα απομακρύνθηκαν από την συσκευή και αφέθηκαν να κρυώσουν. Στα δείγματα που παρουσιάστηκε ίζημα πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρωση στις 3 000 rpm και στην συνέχεια αραιώθηκαν στα 11 mL με υπερκάθαρο νερό. Η αποθήκευση/διατήρηση των δειγμάτων έγινε σε ψυγείο (όχι πάνω από 2 ημέρες) μέχρι τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων Pb και Cd ο οποίος πραγματοποιήθηκε με χρήση φασματοσκοπία ICP-AES (Leeman Labs PS1000AT) ενώ τα πρότυπα διαλύματα (Pb και Cd σε 5% HNO₃) για την καμπύλη αναφοράς του αναλυτικού οργάνου παρασκευάστηκαν από εμπορικά διαθέσιμα πρότυπα συγκέντρωσης 1 mg/L.

4.2. ΕΠΙΛΟΓΗ ΦΥΤΩΝ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ

Στις παραγράφους που ακολουθούν συζητούνται οι λόγοι για τους οποίους έγινε η επιλογή των συγκεκριμένων φυτικών ειδών για διερεύνηση της ικανότητας τους να συσσωρεύουν τον μόλυβδο και το κάδμιο για αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών στα πλαίσια της τεχνικής της φυτοεξυγίανσης, όπως επίσης και η επιλογή των σημαντικότερων επιμέρους πειραματικών συνθηκών.

4.2.1. Επιλογή φυτών για σκοπούς (φυτο)αποκατάστασης εδαφών ρυπασμένων με μέταλλα

4.2.1.1. Επιλογή φυτών με ταχεία ανάπτυξη και υψηλή παραγωγικότητα

Όπως συζητήθηκε στο Κεφάλαιο 2 για να επιλεγθεί ένα φυτό ως κατάλληλο για εφαρμογή φυτοσυσσώρευσης για αποκατάσταση εδαφών από μόλυβδο και κάδμιο, πρέπει να συσσωρεύει περισσότερο από 1000 mg Pb και 100 mg Cd ανά kg ξηρής υπέργειας βιομάζας. Εντούτοις, η υποθετική συμφέρουσα επιλογή ενός δεδομένου είδους εξαρτάται από τον καλύτερο ποσοτικό συμβιβασμό μεταξύ της συσσώρευσης των μετάλλων και της παραγόμενης βιομάζας. Όπως είναι γνωστό, οι έως σήμερα αναγνωρισμένοι υπερσυσσωρευτές είναι μικρόσωμα φυτά με ρηχό ριζικό σύστημα, με βραδείς ρυθμούς αύξησης και με μικρή παραγωγή βιομάζας που κυμαίνεται σε ένα ή δύο μεγέθη μικρότερη από την αντίστοιχη των φυτών μεγάλης καλλιέργειας (Ow, 1996, Raskin et al., 1997, Salt et al., 1998, Lasat, 2000, Garbisu and Alkorta, 2001, Ernst, 2005). Επιπλέον, απαντώνται σε απομονωμένα περιβάλλοντα, με συνέπεια να στερούμαστε της τεχνογνωσίας για μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια τους αφού υπάρχουν πολύ λίγες πληροφορίες για τα αγρονομικά τους χαρακτηριστικά όπως για παράδειγμα οι απαιτήσεις τους σε λιπάσματα και η ευπάθεια τους σε ασθένειες (Cunningham et al., 1995, Cunningham and Ow, 1996, Pletsch, 2004). Αντίθετα, τα φυτά με ικανοποιητική ταχύτητα αύξησης και παραγωγής βιομάζας παρουσιάζουν συνήθως χαμηλή συσσώρευση μετάλλων καθώς επίσης και χαμηλή ανοχή στα βαρέα μέταλλα. Επομένως, ο βέλτιστος συνδυασμός υψηλής συγκέντρωσης μετάλλων και μεγάλης παραγωγής βιομάζας σε ένα φυτικό είδος μπορεί να μην είναι δυνατός και να απαιτείται συμβιβασμός μεταξύ της υπερσυσσώρευσης και της υψηλής παραγωγικότητας (Pulford and Watson,

2003). Για το λόγο αυτό, στα πλαίσια της παρούσας διατριβής κρίθηκε σκόπιμο να μελετηθούν ενδημικά φυτά με μεγάλη παραγωγή βιομάζας που μπορούν να καλλιεργηθούν εύκολα με χρήση των καθιερωμένων αγρονομικών πρακτικών και που ακόμα και αν δεν επιτυγχάνουν επίπεδα συγκεντρώσεων ανάλογα με εκείνα των υπερσυσσωρευτών, η μεγάλη βιομάζα τους να μπορεί να οδηγήσει σε μεγαλύτερη συνολική απομάκρυνση των μετάλλων από το έδαφος αφού η συγκέντρωση του μετάλλου στο φυτικό ιστό πολλαπλασιάζεται από την βιομάζα.

Επιπρόσθετα, στην περίπτωση εφαρμογής της μεθόδου της φυτοσταθεροποίησης απαιτούνται φυτά τα οποία εκτός από το να είναι ανθεκτικά στα μέταλλα, πρέπει να χαρακτηρίζονται από γρήγορη αύξηση ώστε να επιτυγχάνεται σε σύντομο χρονικό διάστημα υδραυλικός έλεγχος και ακινητοποίηση των ρύπων, πρέπει να έχουν εκτεταμένο ριζικό σύστημα το οποίο να φτάνει μέσα στην ζώνη της ρύπανσης και να σταθεροποιεί το έδαφος ενάντια στη διάβρωση και επιπλέον να έχουν μεγάλη υπέργεια βιομάζα ώστε να αποτελούν «κάλυμμα» του εδάφους για την αποφυγή της άμεσης επαφής με το ρυπασμένο έδαφος και την μείωση της μεταφοράς των μετάλλων μέσω της μεταδιδόμενης με τον άνεμο σκόνης (Schnoor, 1997, US EPA, 2001, Wong et al., 2003, Ernst, 2005).

4.2.1.2. Επιλογή ανθεκτικών στην αλατότητα φυτών

Η επιλογή να ερευνηθεί η ικανότητα ανθεκτικών στην αλατότητα φυτών για σκοπούς φυτοεξυγίανσης εδαφών από βαρέα μέταλλα παρότι δεν μελετώνται συχνά για αυτόν το λόγο, βασίστηκε πρωταρχικά στο γεγονός ότι εκτεταμένες περιοχές του πλανήτη που είναι επιβαρυνμένες με υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων και στις οποίες αναπτύσσεται αλοφυτική βλάστηση, πολύ συχνά αποτελούν και περιοχές συσσώρευσης βιομηχανικών εκροών ρυπασμένων με βαρέα μέταλλα (Ghnaya et al., 2005).

Επιπρόσθετα, ένας δεύτερος λόγος είναι ότι η ανθεκτικότητα στην αλατότητα είναι πιθανόν να έχει ευρύτερες επιρροές στην ανθεκτικότητα των φυτών έναντι διαφόρων παραγόντων καταπόνησης. Δεδομένου ότι έχει αποδειχτεί ότι τα ανθεκτικά στην αλατότητα φυτά συνήθως παρουσιάζουν ανθεκτικότητα και σε άλλους παράγοντες καταπόνησης όπως το ψύχος, ο παγετός, η υπερθέρμανση και η ξηρασία, θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι ίσως η φυσικά εμφανιζόμενη ανθεκτικότητα των φυτών στην αλατότητα ίσως σε ορισμένες περιπτώσεις να συνδέεται με γενικότερη ανθεκτικότητα σε καταπονήσεις συμπεριλαμβανομένων και των μετάλλων. Όπως έχει συζητηθεί στο Κεφάλαιο 2, η αλατότητα προκαλεί στα φυτά μια μορφή υδατικής καταπόνησης (οσμωτική καταπόνηση) κατά συνέπεια τα ανθεκτικά στην αλατότητα φυτά δύνανται να είναι ανθεκτικά και στην ξηρασία. Περαιτέρω όμως, οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας στην αλατότητα και στην ξηρασία μπορούν έμμεσα να συμβάλλουν στην ανθεκτικότητα των φυτών στα βαρέα μέταλλα δεδομένου ότι τα υψηλά επίπεδα βαρέων μετάλλων είναι υπεύθυνα για μια δευτερεύουσα υδατική καταπόνηση στα φυτά (Poschenrieder et al., 1989, Lutts et al., 2004) ενώ επιπλέον έχει προταθεί ότι η βιολογική και εξελικτική σημασία της συσσώρευσης μετάλλων στα φυτά πιθανόν να συνδέεται με ανθεκτικότητα στην ξηρασία (Raskin et al., 1994, Boyd and Martines, 1998, Macnair, 2003). Επίσης αρκετές μελέτες έδειξαν ότι ορισμένοι μηχανισμοί ανθεκτικότητας που λειτουργούν σε επίπεδο ολοκλήρου του φυτού δεν είναι αυστηρά εξειδικευμένοι έναντι του νατρίου αλλά και έναντι άλλων τοξικών στοιχείων όπως ο χαλκός, ο ψευδάργυρος ή το κάδμιο. Τα

στοιχεία αυτά δύνανται να συσσωρεύονται στους αλατώδεις αδένες ή στις αλατώδεις κύστες φυτών όπως το *Tamarix aphylla*, το *Armeria maritima* και το *Avicennia marina* (Hagemeyer and Waisel, 1988, Neumann et al., 1995, MacFarlane and Burchett, 1999, Lutts et al., 2004). Επιπρόσθετα, τα αποτελέσματα έχουν δείξει ότι η ανθεκτικότητα στην καταπόνηση αλατότητας σχετίζεται συνήθως με ένα αποδοτικό αντιοξειδωτικό μηχανισμό των φυτών έναντι των ενεργών μορφών οξυγόνου που παράγονται από τα υψηλά επίπεδα των ιόντων στα φυτικά κύτταρα (Zhu et al., 2004). Κατά συνέπεια θα μπορούσε να υποτεθεί ότι ο αποδοτικότερος αντιοξειδωτικός μηχανισμός των αλόφυτων μπορεί να συμβάλει στην εξουδετέρωση των ενεργών μορφών οξυγόνου που δημιουργούνται από τα μέταλλα και άρα στην ανθεκτικότητα σε αυτά.

Ένας τρίτος λόγος, που θα συζητηθεί και σε επόμενη παράγραφο, είναι ότι η αλατότητα αποτελεί σημαντικό παράγοντα που επηρεάζει τις βιοδιαθέσιμες συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στο έδαφος αλλά και την μεταφορά των μετάλλων από την ρίζα στο υπέργειο τμήμα των φυτών (Bingham et al., 1983, Smolders et al., 1998, Norvell et al., 2000, Fitzgerald et al., 2003, Wahla and Kirkham, 2007). Όλα τα παραπάνω λοιπόν δίνουν ευκαιρία για έρευνα για σκοπούς φυτοαποκατάστασης εδαφών ρυπασμένων με βαρέα μέταλλα με χρήση φυτών ανθεκτικών στην αλατότητα.

4.2.1.3. Επιλογή των συγκεκριμένων Μεσογειακών φυτών για διερεύνηση της ικανότητας τους για απομάκρυνση Pb και Cd από εδάφη

4.2.1.3.1. Atriplex halimus L.

Το πρώτο φυτό που επιλέχθηκε για έρευνα της ικανότητας του να απομακρύνει βαρέα μέταλλα από ρυπασμένα εδάφη είναι το *Atriplex halimus* L., ένα διαδεδομένο C4 αλόφυτο στην περιοχή της Μεσογείου που απαντάται συχνά σε περιοχές μεταλλείων ρυπασμένες με βαρέα μέταλλα, γεγονός που προδίδει πιθανή ανθεκτικότητα στα μέταλλα (Lutts et al., 2004, Ortíz-Dorda et al., 2005). Όπως αναπτύχθηκε στο Κεφάλαιο 3, διαθέτει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά μιας και είναι φυτό υψηλής παραγωγικότητας, ταχείας ανάπτυξης και με εκτεταμένο ριζικό σύστημα, ικανό να προσαρμόζεται σε ρυπασμένα υποστρώματα με φτωχά και ξερικά χαρακτηριστικά. Η εντυπωσιακή ανθεκτικότητα του στην ξηρασία και την εδαφική αλατότητα το καθιστά εξαιρετικό είδος όχι μόνο για εισαγωγή σε ξηρές ή αλατούχες περιοχές αλλά και για σκοπούς φυτοεξυγίανσης από βαρέα μέταλλα μιας και οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας στην ξηρασία και την αλατότητα δύνανται έμμεσα να συμβάλουν και στην ανθεκτικότητα στα μέταλλα (Παράγραφος 4.2.1.2). Επιπλέον, τα είδη που ανήκουν στο γένος *Atriplex* έχει αναφερθεί ότι παράγουν φυσικά υψηλές ποσότητες οξαλικού οξέος, το οποίο ίσως υπονοεί πιθανή συμμετοχή στους μηχανισμούς ανθεκτικότητας έναντι στην καταπόνηση βαρέων μετάλλων (Lutts et al., 2004). Άλλα είδη του γένους *Atriplex* έχουν προταθεί για διάφορες εφαρμογές επαναβλάστησης ή φυτοεξυγίανσης, όπως το *A. canescens*, για επαναβλάστηση περιοχών μεταλλείων και άλλων αντίξωων περιβαλλόντων (Baumgartner et al., 2000, Glenn et al., 2001), το *A. confertifolia* για εφαρμογές φυτοεξόρυξης (phytomining) για πρόσληψη ουρανίου (Brooks et al., 1998, Anderson et al., 1999) και το *A. hortensis* για εφαρμογές φυτοεξυγίανσης από Se (Vickerman et al., 2002, Ellis and Salt, 2003). Επίσης, πρόκειται για ένα φυτό που έχει μελετηθεί αρκετά λόγω του ενδιαφέροντος που παρουσιάζει ως πηγή τροφής οικόσιτων ζώων και άρα υπάρχει αρκετή πληροφόρηση

όσον αφορά τα αγρονομικά του χαρακτηριστικά και τεχνογνωσία για μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια του για εφαρμογές φυτοαποκατάστασης.

4.2.1.3.2. *Nerium oleander* L.

Το δεύτερο Μεσογειακό φυτό το οποίο επιλέχθηκε είναι το *Nerium oleander* L. δηλαδή η κοινώς ονομαζόμενη πικροδάφνη η οποία αποτελεί ένα από τα αντιπροσωπευτικότερα είδη βλάστησης της χώρα μας. Η πικροδάφνη, λοιπόν, έως τώρα δεν είχε μελετηθεί για σκοπούς φυτοεξυγίανσης όμως στην Ελλάδα αναπτύσσεται ευρέως στα άκρα των δρόμων υψηλής κυκλοφορίας όπου οι συγκεντρώσεις τουλάχιστον του μολύβδου είναι πολύ υψηλές. Κατά συνέπεια, και μόνο το γεγονός αυτό δίνει την υποψία ότι τουλάχιστον πρόκειται για ένα ανθεκτικό στο μέταλλο φυτό. Επιπλέον, όπως συζητήθηκε στο Κεφάλαιο 3, πρόκειται για ένα φυτό υψηλής παραγωγικότητας και ταχείας ανάπτυξης το οποίο δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις όσον αφορά το έδαφος, μπορεί να αναπτυχθεί σε άγονα, ξηρά ή αλατούχα εδάφη και σε παραθαλάσσιες περιοχές και είναι ανθεκτικό στις υψηλές θερμοκρασίες, στην ξηρασία, στους ισχυρούς ανέμους και στην εδαφική αλατότητα. Εν κατακλείδι, όλα τα ανωτέρω συνηγορούν στο ότι πρόκειται για ένα φυτό που είναι σε θέση να προσαρμοστεί σε ευρύ φάσμα παραγόντων καταπόνησης και προφανώς αποτελεί κατάλληλο είδος για την έρευνα φυτοεξυγίανσης. Επιπλέον, λόγω της ευρείας χρήσης της ως καλλωπιστικό φυτό είναι γνωστά τα αγρονομικά χαρακτηριστικά της και άρα υπάρχει η τεχνογνωσία για μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια της για εφαρμογές φυτοεξυγίανσης.

4.2.1.3.3. *Tamarix smyrnensis* Bunge

Η επιλογή του *Tamarix smyrnensis* Bunge, το οποίο αποτελεί ένα μικρό δέντρο που ευρέως απαντάται στην περιοχή της Μεσογείου, βασίστηκε καταρχήν στην γνώμη αρκετών ερευνητών, σύμφωνα με την οποία τα δέντρα πιθανόν αποτελούν τον φθηνότερο τύπο φυτού προς χρήση για εφαρμογές φυτοεξυγίανσης. Παρόλο που συνήθως προσλαμβάνουν και συσσωρεύουν σχετικά μικρές ποσότητες βαρέων μετάλλων παρέχουν οικονομική αποκατάσταση του ρυπασμένου εδάφους μέσω της παραγωγής μεγάλης βιομάζας. Επιπλέον, λόγω του εκτεταμένου ριζικού τους συστήματος αλλά και της δυνατότητας τους να αναπτύσσονται σε εδάφη χαμηλής ποιότητας θεωρούνται ως εναλλακτικά φυτικά είδη για φυτοσυσσώρευση ή φυτοσταθεροποίηση αφού επιτρέπεται η εισαγωγή τους σε ρυπασμένες περιοχές με χαμηλή γονιμότητα και ποιότητα κρατώντας το κόστος εισαγωγής και λειτουργίας χαμηλό (Garbisu and Alkorta, 2001, Pulford and Watson, 2003, Krämer, 2005). Επιπρόσθετα, το αρμυρίκι αποτελεί μια ευνοϊκή επιλογή λόγω του ότι δύναται να καταναλώσει τεράστιες ποσότητες νερού όπως συζητήθηκε στο Κεφάλαιο 3. Λόγω του εκτεταμένου του ριζικού συστήματος μπορεί να αποκτήσει πρόσβαση στα υπόγεια ύδατα με αποτέλεσμα να υπάρχει η δυνατότητα χρήσης του για αποκατάσταση ρυπασμένων υπογείων υδάτων με βαρέα μέταλλα. Τέλος, το *T. smyrnensis* ως αλόφυτο αντέχει ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων, μια ανθεκτικότητα που σχετίζεται με την παρουσία αλατωδών εξειδικευμένων αδένων στα φύλλα του μέσω των οποίων εκκρίνει τα άλατα στο εξωτερικό περιβάλλον. Ο μηχανισμός όμως αυτός, όπως συζητήθηκε στην Παράγραφο 4.2.1.2, δεν είναι αυστηρά εξειδικευμένος έναντι του νατρίου αλλά και άλλα τοξικά στοιχεία δύνανται να

απομακρύνονται από τους αλατώδεις αδένες, όπως έχει αποδειχτεί για ένα άλλο είδος του γένους *Tamarix* (*Tamarix aphylla*) το οποίο έχει βρεθεί να χρησιμοποιεί αυτό το μηχανισμό ανθεκτικότητας στην αλατότητα για να αποβάλει το κάδμιο και το λίθιο (Hagemeyer and Waisel, 1988). Κατά συνέπεια, είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα η διερεύνηση κατά πόσον αυτός ο μηχανισμός λαμβάνει χώρα και στο συγκεκριμένο είδος για την αποτοξίνωση του από τον μόλυβδο και το κάδμιο και περαιτέρω με ποιο τρόπο θα μπορούσε να γίνει εκμετάλλευση αυτού του μηχανισμού για σκοπούς φυτοαποκατάστασης εδαφών ρυπασμένων με βαρέα μέταλλα.

4.2.2. Επιλογή συγκεκριμένων πειραματικών συνθηκών

4.2.2.1. Επιλογή διεξαγωγής περαμάτων υδροπονικής καλλιέργειας και καλλιέργειας σε ρυπασμένο έδαφος

Η καλλιέργεια φυτών με την μέθοδο της υδροπονίας, όσον αφορά την έρευνα για σκοπούς φυτοσυσσώρευσης, είναι ικανή να δώσει μόνο κάποια αρχικά συμπεράσματα όσον αφορά την ικανότητα του φυτού να προσλαμβάνει τα υπό εξέταση μέταλλα και την ανθεκτικότητά του σε αυτά. Αυτό γιατί α) δεν λαμβάνει υπόψη όλους τους παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη των μετάλλων από τα φυτά, όπως τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος, β) πραγματοποιείται υπό ελεγχόμενες και σταθερές συνθήκες ενώ τα πειράματα στο πεδίο λαμβάνουν υπόψη τους και όλους τους άλλους παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση και ανάπτυξη των φυτών και γ) η καλλιέργεια σε υδατικό μέσο δεν επιτρέπει την διάκριση μεταξύ φυτών υπερσυσσωρευτών και μη-υπερσυσσωρευτών με βάση την συγκέντρωση του μετάλλου στους φυτικούς ιστούς λόγω της επίδρασης των διεργασιών βιορόφησης (Nedelkoska and Doran, 2000, US EPA, 2001, Boominathan and Doran, 2003). Κατά συνέπεια, η διεξαγωγή υδροπονικών πειραμάτων έγινε ως προκαταρτικό στάδιο για να δώσει μόνο κάποιες αρχικές εκτιμήσεις για την ικανότητα του φυτού να συσσωρεύει τα μέταλλα, αλλά κυρίως για τον έλεγχο της ανθεκτικότητας του σε αυτά. Αντίθετα, τα πειράματα καλλιέργειας των εξεταζόμενων φυτικών ειδών σε έδαφος ρυπασμένο με τα μέταλλα αποτελέσαν τα κύρια πειραματικά στάδια στα οποία λαμβάνονταν υπόψη όλοι οι παράγοντες που δύνανται να επηρεάσουν την πρόσληψη των μετάλλων από τα φυτά, για τον έλεγχο και την επιβεβαίωση της ικανότητας τους να απομακρύνουν τους μεταλλικούς ρύπους από το έδαφος αλλά και της επίδρασης των ρύπων στην φυσιολογία του φυτού.

4.2.2.2. Επιλογή ηλικίας φυτών για την διεξαγωγή των πειραμάτων

Η επιλογή σχετικά μεγάλης ηλικίας φυτών τα οποία να έχουν αυξηθεί σε ύψος τουλάχιστον 50 cm και να έχουν αποκτήσει ώριμο ριζικό σύστημα βασίστηκε στο γεγονός ότι, όπως έχει ήδη συζητηθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, έχει αποδειχτεί ότι η ηλικία επηρεάζει την πρόσληψη και συσσωρευση των μετάλλων. Παρόλα αυτά το συντριπτικό ποσοστό ανάλογων μελετών που πραγματοποιούνται στην διεθνή βιβλιογραφία για τον χαρακτηρισμό της συσσωρευτικής ικανότητας φυτών γίνεται σε σπορόφυτα ή φυτάρια μερικών εβδομάδων, προφανώς για πρακτικούς λόγους, και μόνο

σε πολύ λίγες μελέτες έχει πραγματοποιηθεί έρευνα σε μεγάλα φυτά του κάθε είδους. Επιπρόσθετα, κατά την πιθανή εφαρμογή της μεθόδου είναι πιο εύκολη η χρήση σχετικά μεγάλων φυτών (μεταφύτευση), από φυτάρια μερικών μόνο εβδομάδων ή σπορόφυτων ή σπόρων τα οποία δεν είναι σίγουρο ότι θα επιβιώσουν και θα αναπτυχθούν αφού εκτός των αστάθμητων παραγόντων μπορούν να επηρεάσουν ούτως ή άλλως την επιβίωση των φυτών, έχει αποδειχτεί ότι τα βαρέα μέταλλα και ειδικά ο μόλυβδος και το κάδμιο αλλά και η αλατότητα είναι περισσότερο τοξικά στα νεαρά φυτά και επιπλέον παρεμποδίζουν την εκβλάστηση του σπόρου.

4.2.2.3. Επιλογή τρόπου ρύπανσης των εδαφών με τα μέταλλα

Η ρύπανση των εδαφών με τα μέταλλα κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων πεδίου πραγματοποιήθηκε με προσθήκη υδατικών διαλυμάτων των μετάλλων σε μια δόση κατά την έναρξη της κύριας πειραματικής διαδικασίας, τρόπος που υπαγορεύτηκε από την επιλογή διεξαγωγής των πειραμάτων με μεγάλης ηλικίας φυτά.

4.2.2.4. Επιλογή συνθηκών εδαφικής αλατότητας

Η επιλογή να μελετηθεί η επίδραση συνθηκών αυξημένης εδαφικής αλατότητας στην συσσώρευση των μετάλλων στους φυτικούς ιστούς στηρίχθηκε στο ότι, όπως συζητήθηκε εκτενώς στο Κεφάλαιο 2, η εδαφική αλατότητα αποδεδειγμένα αποτελεί παράγοντα που επηρεάζει την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος και κατά συνέπεια την πρόσληψη τους από τα φυτά. Η παρουσία NaCl στο έδαφος προάγει την αύξηση της συγκέντρωσης και τη διαλυτοποίηση των μετάλλων στο εδαφικό διάλυμα λόγω αντικατάστασης των προσροφημένων μεταλλικών ιόντων στις θέσεις πρόσδεσης από τα κατιόντα νατρίου, διαλυτοποίησης της οργανικής ουσίας στην οποία είναι δεσμευμένα τα μέταλλα και σχηματισμού διαλυτών συμπλόκων του χλωρίου με τα μέταλλα, με συνέπεια την μείωση της προσρόφησης τους στα σωματίδια του εδάφους και άρα την αύξηση της φυτοδιαθεσιμότητας τους (Bingham et al., 1983, Li et al., 1994, Greger et al., 1995, Martin and Kaplan, 1998, Smolders et al., 1998, Norvell et al., 2000, Weggler-Beaton et al., 2000, Wahla and Kirkham, 2007). Επιπλέον, η αλατότητα έχει βρεθεί να αποτελεί βασικό παράγοντα που επηρεάζει την μετακίνηση των μετάλλων από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα των φυτών (Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003), γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό για σκοπούς φυτοσυσσώρευσης με την έννοια ότι ένα από τα σημαντικότερα επιθυμητά στοιχεία για την εφαρμογή της τεχνικής είναι η συσσώρευση των μετάλλων στα υπέργεια τμήματα των φυτών έτσι ώστε να διευκολύνεται η απομάκρυνση τους με θερισμό και κατάλληλη διάθεση των υπέργειων τμημάτων των φυτών.

Περαιτέρω, η επιλογή να μελετηθεί η επίδραση της αλατότητας σε συγκέντρωση χλωριούχου νατρίου 0,5% στηρίχθηκε στο ότι αντιπροσωπεύει την συγκέντρωση άλατος που έχει αρκετές φορές το νερό που χρησιμοποιείται για την άρδευση καλλιεργειών. Συγκεντρώσεις αλάτων σε αυτό το επίπεδο μπορούν να προκαλέσουν αρνητικές επιπτώσεις στα ευαίσθητα φυτά, όμως συνήθως η αλοφυτική βλάστηση σε αυτό το εύρος συγκεντρώσεων δεν παρουσιάζει προβλήματα (Griffin et al., 1990). Επιπλέον, η

άρδευση των φυτών με συγκέντρωση NaCl 3% επιλέχθηκε ως αντιπρόσωπος της συγκέντρωσης αλάτων του θαλάσσιου νερού, στην οποία όμως μπορούν να επιζήσουν μόνο μερικά αλοφυτικά είδη.

4.2.2.5. Επιλογή διεξαγωγής πειραμάτων με ρύπανση του μέσου καλλιέργειας με μείγμα των μετάλλων

Το ενδιαφέρον να διεξαχθούν πειράματα στα οποία να μελετηθεί η πρόσληψη και συσσώρευση των δύο υπό εξέταση μετάλλων υπό συνθήκες όπου υπάρχουν και τα δύο στο έδαφος ή στο υδροπονικό μέσο καλλιέργειας, στηρίχθηκε στο γεγονός ότι στις ρυπασμένες περιοχές με βαρέα μέταλλα συνήθως δεν υπάρχει μόνο ένα μέταλλο αλλά περισσότερα. Λόγω του ότι λοιπόν, έχει αποδειχτεί ότι σε εδάφη ρυπασμένα με περισσότερα του ενός βαρέα μέταλλα, η βιοδιαθεσιμότητα του ενός μετάλλου μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία των άλλων, δηλαδή η μεταξύ τους αλληλεπίδραση και ο μεταξύ τους ανταγωνισμός για προσρόφηση στα σωματίδια του εδάφους μπορεί να οδηγήσει είτε σε αύξηση είτε σε μείωση της βιοδιαθεσιμότητας στο έδαφος και άρα της πρόσληψης τους από τα φυτά (Carlson and Bazzaz, 1977, Miller et al., 1977, Carlson and Rolfe, 1979, Martin and Kaplan, 1998, Madyiwa et al., 2004, Ghosh and Singh, 2005 Sekhar et al., 2005), κρίθηκε σημαντική η διερεύνηση της επίδραση της ταυτόχρονης παρουσίας των δύο μετάλλων στην πρόσληψη και συσσώρευση τους στο κάθε εξεταζόμενο φυτικό είδος.

5ο. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1. ΥΠΟ ΕΞΕΤΑΣΗ ΦΥΤΟ: *Atriplex halimus* L.

5.1.1. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις καδμίου

5.1.1.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Το πείραμα αυτό πραγματοποιήθηκε με κύριο στόχο να ελεγχθεί η ικανότητα του *Atriplex halimus* να συσσωρεύει το κάδμιο στο σώμα του. Για τον λόγο αυτό, έντεκα μηνών φυτά *A. halimus* L. που είχαν αναπτυχθεί σε προμετρημένο οργανικό υπόστρωμα 670 - 700 g ξηρού βάρους (βλ. Παράγραφο 4.1.1) κατά την έναρξη του πειράματος χωρίστηκαν σε 4 πειραματικές ομάδες με 6 φυτά ανά ομάδα – επέμβαση (treatment) έτσι ώστε κάθε ομάδα - επέμβαση να έχει συγκριτικά ανάλογη μέση βιομάζα. Τεχνητά πραγματοποιήθηκε ρύπανση του εδάφους με κάδμιο με προσθήκη στην ριζόσφαιρα υδατικού διαλύματος $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ σε μια δόση σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.1). Οι συγκεντρώσεις του Cd στο έδαφος που επιλέχθηκαν για την διεξαγωγή αυτού του πειράματος ήταν 20, 40 και 80 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους δηλαδή σε συγκεντρώσεις ανώτερες κατά 2,5, 5 και 10 φορές αντίστοιχα, από τις ανώτερες οριακές τιμές του μετάλλου στο έδαφος που θεωρούνται τοξικές για τα φυτά και οι οποίες είναι 3 – 8 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους (Orcutt and Nilsen, 2000).

Πίνακας 5.1. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Συγκέντρωση Cd που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους εδάφους]
1	0
2	20
3	40
4	80

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε μέσα σε γυάλινο θερμοκήπιο για 10 εβδομάδες (Σεπτέμβρη - Νοέμβρη). Η φωτοπερίοδος κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν 12 – 14 ώρες (μεγαλύτερη στις πρώτες πειραματικές εβδομάδες) ενώ μετρήσεις της θερμοκρασίας και της υγρασίας λαμβάνονταν τρεις φορές κατά τη διάρκεια της ημέρας στις 9:30 π.μ., 14:30 μ.μ. και στις 18:30 μ.μ. ενώ κατά τη διάρκεια της νύχτας λαμβάνονταν μετρήσεις των ελάχιστων και μέγιστων τιμών της θερμοκρασίας (Πίνακας 5.2). Φωτογραφίες του πειράματος παρέχονται στο Παράρτημα Ι.

Τα φυτά ποτίζονταν κάθε 2 ή 3 ημέρες ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τις ανάγκες των φυτών, με περίπου 200 mL νερού βρύσης προκειμένου να αποφευχθεί πιθανή εκροή του νερού με το μέταλλο και τα θρεπτικά από τις γλάστρες ενώ επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν και πλαστικά πιάτα κάτω από κάθε γλάστρα.

Πίνακας 5.2. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	14,5-40,5	29,8	37-78	60,8
Μεσημέρι	14,5-47	29,5	27-78	48,7
Απόγευμα	13-29,5	19,3	49-77,5	64,8
Νύχτα	7,5-21	15,3	-	-

Καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος λάμβανε χώρα οπτική παρατήρηση και καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών των φυτών έτσι ώστε να εντοπιστούν οποιαδήποτε συμπτώματα τοξικότητας από το μέταλλο, ενώ επίσης μια φορά την εβδομάδα σε συγκεκριμένη μέρα και ώρα, πραγματοποιούνταν μετρήσεις του ύψους των υπέργειων τμημάτων προκειμένου να παρακολουθείται αλλά και να αξιολογείται και ποσοτικά η κατάσταση της υγείας των φυτών. Με την λήξη των 10 εβδομάδων έκθεσης στο μέταλλο πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός της συγκέντρωσης του μετάλλου στα φυτικά μέρη ενώ επιπλέον έλαβαν χώρα μετρήσεις των ολικών και φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων του μετάλλου στο έδαφος, οι οποίες υποστηρίχθηκαν και από μετρήσεις των χαρακτηριστικών του εδάφους καλλιέργειας, με δειγματοληψία που πραγματοποιήθηκε με την πάροδο της πρώτης πειραματικής εβδομάδας έτσι ώστε να ληφθούν υπόψη όλοι οι παράγοντες που επηρεάζουν τις διαθέσιμες ποσότητες του καδμίου στα φυτά. Τέλος έλαβαν χώρα μετρήσεις της βιομάζας, της περιεχόμενης χλωροφύλλης και του περιεχομένου σε νερό για τον έλεγχο της επίδρασης του μετάλλου στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού και επιπλέον έλαβαν χώρα μετρήσεις των πρωτεϊνών και της δραστηριότητας του αντιοξειδωτικού ενζύμου υπεροξειδάση της γουσαϊκόλλης στα φύλλα του φυτού για τον έλεγχο της οξειδωτικής καταπόνησης που επιφέρει το μέταλλο στο *A. halimus*. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για όλες τις παραπάνω μετρήσεις δίδονται στην Παράγραφο 4.1.3.

5.1.1.2. Χαρακτηρισμός εδάφους

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο, οι συγκεντρώσεις του μετάλλου που προστέθηκαν για την ρύπανση του εδάφους κατά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας ήταν 20, 40 και 80 mg Cd /kg ξηρού βάρους εδάφους. Από την μέτρηση των ολικών συγκεντρώσεων του καδμίου στο έδαφος καλλιέργειας μια εβδομάδα μετά την τεχνητή προσθήκη του στο έδαφος (Πίνακας 5.3) προκύπτει ότι τα αποτελέσματα συμφωνούν με τις προστιθέμενες συγκεντρώσεις αφού στην επέμβαση όπου προστέθηκαν 20 ppm Cd η μέση τιμή των μετρούμενων συγκεντρώσεων βρέθηκε 17,05 ppm, στην επέμβαση που προστέθηκαν 40 ppm Cd η μέση μετρούμενη τιμή βρέθηκε 43,5 ppm, ενώ στην επέμβαση με τα 80 ppm Cd η μέση μετρούμενη τιμή καδμίου ήταν 91,1 ppm. Οι μικρές διαφοροποιήσεις μεταξύ των προστιθέμενων συγκεντρώσεων και των μετρούμενων συγκεντρώσεων όπως φαίνεται και από το εύρος

των τιμών στον πίνακα, δικαιολογούνται από τον τρόπο προσθήκης του μετάλλου στο έδαφος (με μια δόση στο περιβάλλον της ρίζας) γεγονός που δεν εξασφαλίζει την ομοιόμορφη ρύπανση όλου του εδάφους καλλιέργειας. Όμως οι διαφοροποιήσεις ήταν μικρές και αναμενόμενες όποτε επιβεβαιώνεται ο σωστός πειραματικός σχεδιασμός.

Πίνακας 5.3. Χαρακτηρισμός του εδάφους.

Δειγματοληψία μια εβδομάδα μετά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας (ν=2).

		Επέμβαση			
		0 ppm Cd	20 ppm Cd	40 ppm Cd	80 ppm Cd
pH (H ₂ O)		5,84	5,68	5,77	5,68
EC [mS/cm]		1,93	1,28	2,05	2,17
OM [%]			58-60		
CaCO₃ [%]			0		
Προστιθέμενο ολικό Cd [ppm]		0	20	40	80
Μετρούμενο ολικό Cd [ppm]	μέσος όρος	0	17,05	43,6	91,1
	εύρος	n.d.*	16,7-17,4	41,5-45,7	59,2-123
Φυτοδιαθέσιμο Cd (DTPA) [ppm]	μέσος όρος	0,47	23,7	55,6	121,3
	εύρος	n.d.-0,95	22,3-25,2	53,4-57,9	89,6-153
Επιτρεπτές τιμές Cd [ppm]**		1 - 3			

* n.d.: δεν ανιχνεύτηκε (not detected)

** Οριακές επιτρεπτές συγκεντρώσεις στο έδαφος στην Ελλάδα (pH 6-7) (Πηγή: ΦΕΚ 641/7.8.1991)

Είναι γνωστό όμως ότι το ολικό ποσό του μετάλλου στο έδαφος δεν είναι διαθέσιμο για τα φυτά, με την έννοια ότι το ολικό ποσό δεν περιλαμβάνει μόνο εκείνα τα ιόντα του μετάλλου που είναι ανταλλάξιμα μεταξύ της στερεής και της διαλυτής φάσης αλλά και εκείνα τα οποία είναι ισχυρά δεσμευμένα μέσα στην στερεή φάση του εδάφους και δεν είναι διαθέσιμα για μεταφορά από το έδαφος ή πρόσληψη από τα φυτά. Για το λόγο αυτό κρίνεται απαραίτητη η μέτρηση των βιοδιαθέσιμων ποσοτήτων του μετάλλου ή ορθότερα των φυτοδιαθέσιμων ποσοτήτων του μετάλλου μιας και αυτές οι ποσότητες δεν είναι απαραίτητα διαθέσιμες στον ίδιο βαθμό σε άλλους οργανισμούς του εδάφους (Naidu et al., 2003). Η εκχύλιση, λοιπόν, του μετάλλου με ένα εκχυλιστικό αντιδραστήριο έχει προταθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένας δείκτης της βιοδιαθεσιμότητας και της τοξικότητας των μετάλλων. Αυτές οι μέθοδοι εκχύλισης, οι οποίες χρησιμοποιούν ένα και μόνο εκχυλιστικό αντιδραστήριο, όπως για παράδειγμα το DTPA, δίδουν μια σχετικά εμπειρική μέθοδο για τον προσδιορισμό της διαθεσιμότητας των ρυπαντών του εδάφους για πρόσληψη από τα φυτά. Οπότε το ποσό του μετάλλου που λαμβάνεται με αυτές τις μεθόδους παρέχει ενδείξεις για το μέγεθος της ποσότητας του που δύναται να προσληφθεί από το φυτό κατά την περίοδο καλλιέργειας (Ernst, 1996, Lasat, 2002, Gupta and Sinha, 2006). Η μέθοδος η οποία χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη είναι η μέθοδος που χρησιμοποιεί διαιθυλενοτριαμινο-πενταοξικό οξύ

(DTPA) ως συμπλοκοποιητικό αντιδραστήριο και η οποία χρησιμοποιείται ευρέως για την εκτίμηση των φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων του μολύβδου και του καδμίου (Amacher, 1996, Kirkham, 2006).

Τα αποτελέσματα λοιπόν από την παρούσα μελέτη όπως παρουσιάζονται και στον Πίνακα 5.3, υποστηρίζουν ότι οι φυτοδιαθέσιμες ποσότητες του καδμίου κατά την καλλιέργεια του *Atriplex halimus* ήταν ιδιαίτερα υψηλές σε όλες τις επεμβάσεις και μάλιστα ουσιαστικά φαίνεται ότι ολόκληρη η ποσότητα του μετάλλου που προστέθηκε στο έδαφος καλλιέργειας ήταν διαθέσιμη για πρόσληψη από τα φυτά, ενώ και σε αυτές τις μετρήσεις παρατηρείται η ίδια επίδραση του πειραματικού σχεδιασμού και άρα της δειγματοληψίας με συνέπεια σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρούνται υψηλότερες συγκεντρώσεις φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων Cd από ότι ολικών.

Όπως έχει αναφερθεί, η κίνηση των βαρέων μετάλλων με το νερό στα εδάφη απαιτεί την ύπαρξη τους στην διαλυτή φάση ή να σχετίζονται με ευκίνητα σωματίδια. Έχει αποδειχτεί ότι η κίνηση των μετάλλων συνδέεται ουσιαστικά με τις φυσικοχημικές μορφές των μετάλλων στο έδαφος γιατί αυτές οι μορφές έχουν διαφορετική δυνατότητα κινητοποίησης με τους ανόργανους ή τους οργανικούς υποκατάστατες στο εδαφικό διάλυμα. Τα μέταλλα στα εδάφη μπορούν να χωριστούν σε διαφορετικά κλάσματα τα οποία σχετίζονται με τις φυσικοχημικές τους μορφές, τα οποία είναι α) στο εδαφικό διάλυμα ως ιονικά ή οργανικά συμπλοκοποιημένα είδη, β) στις θέσεις ανταλλαγής των δραστικών συστατικών του εδάφους, γ) συμπλοκοποιημένα με την οργανική ουσία, δ) εγκλεισμένα στα οξείδια και υδροξείδια του Al, Fe και Mn και ε) παγιδευμένα στα πρωτογενή και δευτερογενή ορυκτά (Soon and Bates, 1982, Maiz et al., 1997, Naidu et al., 2003). Αυτά τα κλάσματα βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία μεταξύ τους και η συγκέντρωση των μετάλλων στο εδαφικό διάλυμα εξαρτάται σημαντικά από αυτή την ισορροπία. Οι ρίζες, λοιπόν, του φυτού απορροφούν τα μέταλλα απευθείας από το εδαφικό διάλυμα οπότε τα εδαφικά κλάσματα που συμβάλουν σε αυτό ελέγχουν την διαθεσιμότητα των μετάλλων στα φυτά. Γενικά το διαλυτό στο νερό, το ανταλλάξιμο και το προσροφημένο κλάσμα όπως και μερικές φορές και το οργανικό κλάσμα θεωρούνται συνήθως ως φυτοδιαθέσιμες ποσότητες των μετάλλων, ενώ οι ποσότητες που σχετίζονται με τα πρωτογενή και δευτερογενή ορυκτά θεωρούνται σχετικά μη διαθέσιμες (Naidu et al., 2003, Li and Shuman, 1996).

Επιπλέον, ιδιαίτερη σημασία έχουν οι ιδιότητες του εδάφους μιας και είναι ικανές να επηρεάσουν την παραπάνω ισορροπία. Όπως έχει συζητηθεί, το pH του εδάφους, η οργανική ουσία και η συγκέντρωση ασβεστίου αποτελούν σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος μιας και η μεταφορά των μετάλλων μεταξύ των πραγματικά διαθέσιμων και των λιγότερο διαθέσιμων φάσεων επηρεάζεται σημαντικά από τον ανταγωνισμό για τις θέσεις ανταλλαγής με άλλα κατιόντα (ιδιαίτερα τα H^+) και την παρουσία επιφανειών πρόσδεσης όπως η οργανική ουσία, η άργιλος και τα ενυδατωμένα οξείδια (Rieuwerts et al., 2006).

Αναλυτικότερα, το pH του εδάφους αποτελεί ίσως τον βασικότερο παράγοντα που επηρεάζει την φυτοδιαθεσιμότητα των μετάλλων αφού οι μεταβολές του επηρεάζουν τις χημικές τους μορφές μιας και η βιοδιαθεσιμότητα είναι συνάρτηση της εκρόφησης (Obrador et al., 1997, Naidu et al., 2003). Σε μεγάλο αριθμό μελετών έχει βρεθεί ότι αύξηση του pH οδηγεί σε υψηλότερη προσρόφηση των μετάλλων στα σωματίδια του εδάφους και σε μείωση της πρόσληψης από τα φυτά, ενώ σε όξινα εδάφη ευνοείται η εκρόφηση των μετάλλων από τις θέσεις πρόσδεσης λόγω του ανταγωνισμού τους με τα υδρογονοκατιόντα για τις θέσεις με συνέπεια την αύξηση της πρόσληψης από τα φυτά. Για παράδειγμα σε αρκετές μελέτες έχει βρεθεί ότι σε υψηλό pH παρατηρείται μείωση της

διαλυτότητας του Cd στο εδαφικό διάλυμα λόγω προσρόφησης στα οργανικά ή κατακρήμνισης και μείωση της απορρόφησης από τα φυτά (Tyler and McBride, 1982, Soon and Bates, 1982, Lasat, 2000, Naidu et al., 2003, Kuo et al., 2004, Sappin-Didier et al., 2005, Tsadilas et al., 2005, Kirkham, 2006). Επιπλέον, το εδαφικό pH δεν επηρεάζει μόνο την βιοδιαθεσιμότητα αλλά και την ίδια την διεργασία πρόσληψης από τα φυτά ενώ η διεργασία αυτή φαίνεται να εξαρτάται από το είδος του μετάλλου. Για παράδειγμα στο φυτό *T. caerulea* η πρόσληψη Zn από τις ρίζες παρατηρήθηκε να έχει μια μικρή εξάρτηση από το pH ενώ στην περίπτωση του Cd και του Mn η πρόσληψη εξαρτιόταν περισσότερο από την οξύτητα του εδάφους (Brown et al., 1995).

Επιπλέον, η οργανική ουσία έχει βρεθεί να επηρεάζει την ρόφηση του Cd στο έδαφος και τα ιζήματα λόγω της υψηλής ικανότητας ανταλλαγής κατιόντων των οργανικών υλικών και της συμπλοκοποίησης του μετάλλου με τους οργανικούς υποκατάστατες (Martin and Kaplan, 1998, Sauvé et al., 2003, Ge and Hendershot, 2005, Li et al., 2006b, Kirkham, 2006). Γενικά όμως έχει αναφερθεί ότι η αλληλεπίδραση της οργανικής ουσίας με τα βαρέα μέταλλα εξαρτάται από το pH του εδάφους και κατά συνέπεια η κινητικότητα ή μη των μετάλλων τελικώς εξαρτάται από το εδαφικό pH. Το περιβάλλον γύρω από την θέση συμπλοκοποίησης και ιδιαίτερα το pH και το είδος του μετάλλου που συμμετέχει στην διεργασία επηρεάζουν την συμπλοκοποίηση του μετάλλου με την οργανική ουσία. Η πρωτονίωση της αρνητικά φορτισμένης οργανικής ουσίας και των άλλων θέσεων ανταλλαγής σε χαμηλό pH κάνουν δύσκολη την αντίδραση με τα μέταλλα που υπάρχουν στο εδαφικό διάλυμα (Adriano et al., 2004, Basta et al., 2005, Clemente et al., 2005). Επιπλέον, όπως προαναφέρθηκε, και η παρουσία ασβεστίου μειώνει την προσρόφηση του Cd λόγω ανταγωνισμού για τις διαθέσιμες θέσεις προσρόφησης και ανταλλαγής αν και στα περισσότερα ορυκτά το Cd προτιμάται για προσρόφηση έναντι του Ca (Tyler and McBride, 1982, Martin and Kaplan, 1998).

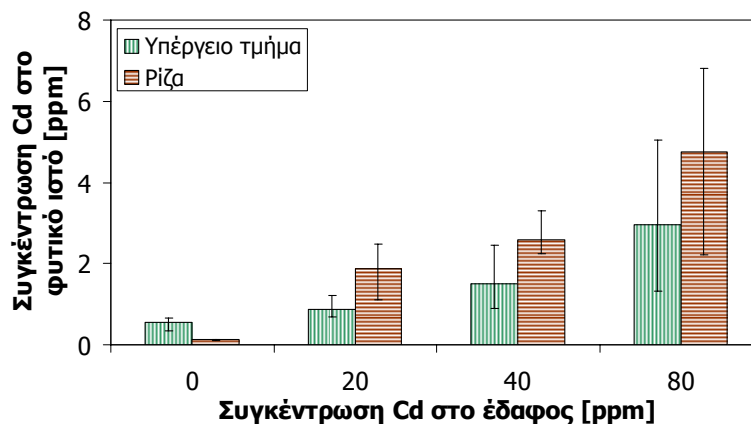
Στην παρούσα μελέτη λοιπόν το έδαφος το οποίο χρησιμοποιήθηκε ήταν οργανικό υπόστρωμα (μείγμα άσπρης και μαύρης τύρφης, compost και ινών ξύλου) (Blumenerde, Capriflor, Γερμανία), ενώ από τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών του που παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.3, παρατηρείται ότι το pH κυμαινόταν μεταξύ 5,5 και 6, η αγωγιμότητα (Electrical Conductivity, EC) από 1,3 έως 2,2 mS/cm, το ολικό CaCO₃ μετρήθηκε μηδενικό, ενώ όπως αναμενόταν η οργανική ουσία (Organic Matter, OM) σε όλα τα δείγματα βρέθηκε 58-60%. Όμως παρότι θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι οι παραπάνω συνθήκες πιθανά ευνοούν την βιοδιαθεσιμότητα του καδμίου οπότε θα αναμένονταν αξιόλογες φυτοδιαθέσιμες συγκεντρώσεις του μετάλλου, το γεγονός δεν θεωρείται αρκετό να εξηγήσει τις τόσο υψηλές τιμές που μετρήθηκαν με την μέθοδο εκχύλισης με DTPA. Η μέθοδος αυτή έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως, με επιτυχία σε αρκετούς τύπους εδαφών όπως όμως και όλες οι άλλες μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί για τον προσδιορισμό των φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων των μετάλλων στο έδαφος, υπόκειται σε περιορισμούς. Η μέθοδος αρχικά αναπτύχθηκε για την εκχύλιση Mn, Fe, Cu και Zn από ελαφρώς όξινα έως αλκαλικά εδάφη αλλά σε αρκετές μελέτες έχει αποδειχτεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για άλλα μέταλλα όπως το Ni, το Cd και τον Pd και από όξινα εδάφη αρκεί να συνοδεύεται από μετρήσεις του εδαφικού pH και πιθανόν και άλλων ιδιοτήτων του εδάφους για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων (Amacher, 1996, Naidu et al., 2003). Παρόλα αυτά, η εφαρμοσιμότητα της σε χαμηλά pH είναι αμφισβητήσιμη πιθανόν γιατί έχει βρεθεί ότι τα χηλικά αντιδραστήρια προάγουν την εκρόφηση των μεταλλικών ιόντων από το έδαφος και την δέσμευση τους με τους υποκατάστατες, οπότε πιθανόν να εκχυλίζονται ποσότητες μεταλλικών ιόντων οι οποίες δεν είναι βραχυπρόθεσμα διαθέσιμες (Naidu et al., 2003).

Γενικά ο ορισμός της βιοδιαθεσιμότητας και η έννοια στην οποία βασίζεται είναι ασαφείς, οι μέθοδοι που έχουν υιοθετηθεί διαφέρουν ανά τον κόσμο και για το λόγο αυτό δεν υπάρχει μια πρότυπη τεχνική για την αποτίμηση είτε της φυτοδιαθεσιμότητας των μετάλλων είτε του οικοτοξικολογικού τους αντίκτυπου στην χλωρίδα και την πανίδα του εδάφους (Naidu et al., 2003, Bovet et al., 2006). Αρκετές έρευνες σχετίζουν την βιοδιαθεσιμότητα με το κλάσμα των εκχυλιζόμενων μετάλλων το οποίο συσχετίζεται με την ολική πρόσληψη των μετάλλων από τα φυτά. Για την εκτίμηση της φυτοδιαθεσιμότητας των μετάλλων έχει χρησιμοποιηθεί από πολλούς ερευνητές η χρήση του παράγοντα βιοσυσσώρευσης (bioaccumulation factor, BCF), που εκφράζεται ως το πηλίκο μεταξύ της συγκέντρωσης του μετάλλου στο φυτό και στο έδαφος (Li et al., 2006a). Παρόλο, όμως, που σε αρκετές περιπτώσεις συγκεκριμένων φυτών και τύπων εδαφών αυτό ήταν επιτυχές, η εφαρμοσιμότητα του έχει βρεθεί να είναι αρκετά περιορισμένη α) γιατί η βιοδιαθεσιμότητα συχνά προσδιορίζεται από χημικές εκχυλίσσεις οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε απελευθέρωση ποσοτήτων μετάλλων οι οποίες δεν είναι πραγματικά διαθέσιμες για πρόσληψη από τις ρίζες των φυτών και β) και σημαντικότερο οι μέθοδοι χημικής εκχύλισης δεν λαμβάνουν υπόψη τους φυσιολογικούς και βιοχημικούς παράγοντες οι οποίοι σχετίζονται με τα φυτά (Naidu et al., 2003). Συμπερασματικά λοιπόν υπάρχει επείγουσα ανάγκη να δοθεί ένας καλύτερος ορισμός της βιοδιαθεσιμότητας έχοντας ιδιαίτερα υπόψη τις ερωτήσεις βιοδιαθεσιμότητα σε τι, για τι και πότε, και επιπλέον να αναπτυχθούν πιο σωστές και αποτελεσματικές μέθοδοι προσδιορισμού της βιοδιαθεσιμότητας (Naidu et al., 2003).

5.1.1.3. Συσσώρευση καδμίου στο φυτικό ιστό

Όπως είναι φανερό από το Σχήμα 5.1 η συσσώρευση του καδμίου στο φυτικό ιστό του *Atriplex halimus* αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος. Παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης στις ρίζες από 1,9 σε 2,6 και τελικά σε 4,75 mg/kg για τις επεμβάσεις με 20, 40 και 80 mg/kg Cd στο έδαφος, αντίστοιχα, δηλαδή με τετραπλασιασμό της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος παρατηρείται μια αύξηση 2,5 φορές της συσσώρευσης του μετάλλου στις ρίζες. Επιπλέον, η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού ήταν ελαφρώς μικρότερη από ότι στις ρίζες, όμως παρουσιάζεται η ίδια τάση αύξησης με την αντίστοιχη αύξηση του μετάλλου στο έδαφος. Στις επεμβάσεις με 20, 40 και 80 mg/kg Cd στο έδαφος η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα παρουσιάστηκε με τιμές 0,9 σε 1,5 και 3 mg/kg, αντίστοιχα, δηλαδή με τετραπλασιασμό της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος παρατηρείται τουλάχιστον τριπλασιασμός της συσσώρευσης του στο υπέργειο τμήμα. Παρόλα αυτά, αυτές οι συγκεντρώσεις, δεν ξεπερνούν τα επίπεδα συγκεντρώσεων στα υπέργεια τμήματα που θεωρούνται τοξικά για τα φυτά και τα οποία είναι 5 - 30 ppm ξηρού βάρους, εν τούτοις, ξεπεράστηκαν οι συγκεντρώσεις που θεωρούνται φυσιολογικές, δηλαδή οι συγκεντρώσεις μετάλλου οι οποίες δεν προκαλούν καμία αλλαγή ή βλάβη (0,05 – 0,2 mg/kg ξηρού βάρους) (Orcutt and Nilsen, 2000).

Ανάλογες παρατηρήσεις όσον αφορά την αύξηση της συγκέντρωσης του καδμίου στον φυτικό ιστό με αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στο μέσο, έχουν αναφερθεί στο παρελθόν σε μελέτες άλλων φυτών. Για παράδειγμα, στην περίπτωση των αλόφυτων *Sesuvium portulacastrum* και *Mesembryanthemum crystallinum* παρατηρήθηκε αύξηση του καδμίου και στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα με αύξηση



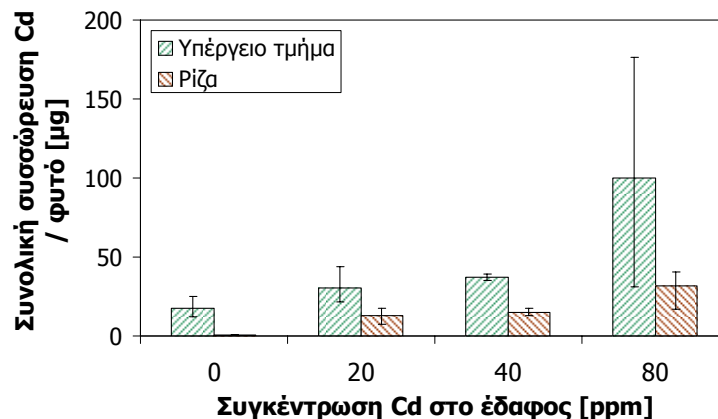
Σχήμα 5.1. Συγκέντρωση καδμίου [mg/kg ξηρού βάρους] στα τμήματα του φυτού *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

του μετάλλου στο θρεπτικό μέσο από 50 έως 300 μM (Ghnaya et al., 2005). Επιπλέον, σε μελέτη του φυτού *Sedum alfredii*, κατά την υδροπονική του καλλιέργεια σε συγκεντρώσεις καδμίου από 200 έως και 1000 μM , παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στα φύλλα με αντίστοιχη αύξηση του στο θρεπτικό μέσο μέχρι τα 600 μM , ενώ στην συνέχεια παρατηρήθηκε μείωση λόγω της τοξικής επίδρασης του μετάλλου στην αύξηση (growth) της ρίζας. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης του Cd στις ρίζες του φυτού μέχρι τα 600 μM ενώ στην συνέχεια παρατηρήθηκε κορεσμός των ριζών με συγκεντρώσεις όπου παρέμειναν σταθερές με περαιτέρω αύξηση του μετάλλου στο θρεπτικό διάλυμα (Zhou and Qiu, 2005).

Σε αντιστοιχία με τις παραπάνω παρατηρήσεις βρίσκονται και τα αποτελέσματα από την εξέταση της συνολικής απομάκρυνσης του καδμίου (φυτοσυσσώρευση) από το φυτό (Σχήμα 5.2), όπου αποτελεί μια παράμετρο η οποία μπορεί να δώσει σημαντικές πληροφορίες για το αν μπορεί το φυτό να χρησιμοποιηθεί για φυτοσυσσώρευση αφού λαμβάνει υπόψη την επίδραση του μετάλλου ως παράγοντα καταπόνησης στην παραγόμενη βιομάζα του φυτού. Η συνολική συσσώρευση του μετάλλου υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Συνολική συσσώρευση μετάλλου } (\mu\text{g}) = \text{Βιομάζα } (\text{g}) \times \text{Συγκέντρωση μετάλλου } (\mu\text{g/g})$$

Όπως παρατηρείται, η ολική συσσώρευση του μετάλλου στο φυτό αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος. Στην επέμβαση με 20 ppm Cd η απομάκρυνση καδμίου από ολόκληρο το φυτό είναι 43,5 μg , στην επέμβαση με 40 ppm Cd η απομάκρυνση είναι 51,7 μg ενώ για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος με 80 ppm Cd η απομάκρυνση είναι 132 μg . Ως εκ τούτου, είναι προφανές ότι όταν η συγκέντρωση του καδμίου στο έδαφος τετραπλασιάζεται το συνολικό Cd που συσσωρεύεται σε ολόκληρο το φυτό τριπλασιάζεται. Επίσης είναι άξιο παρατήρησης το γεγονός ότι η συνολική συσσώρευση του καδμίου είναι μεγαλύτερη στο υπέργειο τμήμα από ότι στη ρίζα του φυτού, γεγονός που οφείλεται στην μεγάλη παραγωγή βιομάζας και είναι ιδιαίτερα σημαντικό για εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης με την έννοια του θερισμού. Ενώ δηλαδή οι συγκεντρώσεις του καδμίου στο υπέργειο τμήμα παρουσιάζονται



Σχήμα 5.2. Συνολικό ποσό Cd στα φυτικά μέρη του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

μικρότερες από εκείνες στη ρίζα (και αυτό είναι φανερό και από τους λόγους συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας που κυμαίνονται από 0,5 έως 0,6 για όλες τις επεμβάσεις) λόγω της μεγαλύτερης βιομάζας του υπέργειου τμήματος επιτυγχάνεται μεγαλύτερη απομάκρυνση του μετάλλου από το έδαφος στο υπέργειο τμήμα από ότι στη ρίζα.

Στην διεθνή βιβλιογραφία έχουν παρουσιαστεί μεγάλες διαφορές μεταξύ των φυτών όσον αφορά την περιοχή συσσώρευσης του καδμίου. Για παράδειγμα, τα φυτά *Brassica napus* και *Sedum alfredii* αποθήκευσαν περισσότερο Cd στα υπέργεια μέρη τους από ότι στις ρίζες τους (Rossi et al., 2002, Zhou and Qiu, 2005), ενώ στο φυτό *Convolvulus arvensis* η κύρια περιοχή συσσώρευσης του καδμίου ήταν οι ρίζες (Gardea-Torresdey et al., 2004). Επίσης σε σύγκριση με τα αποτελέσματα των ανάλογων πειραμάτων με τα άλλα υπό εξέταση φυτά της παρούσας διατριβής *Nerium oleander* και *Tamarix smyrnensis* σε καλλιέργειες σε εδάφη ρυπασμένα με Cd (Παράγραφος 5.2.3 και 5.3.3), παρατηρείται ότι στο *Nerium oleander* η κύρια περιοχή συσσώρευσης ήταν οι ρίζες του φυτού με ποσοστά συνολικής συσσώρευσης 80 ως 97% σε όλες τις εδαφικές αλατότητες ενώ και στο *Tamarix smyrnensis* οι ρίζες συσσωρεύαν περισσότερο κάδμιο αλλά τα ποσοστά της συνολικής συσσώρευσης στις ρίζες ήταν πολύ χαμηλότερα της τάξης των 15,9 – 36,4%. Ομοίως και στην περίπτωση του *Atriplex halimus* οι ρίζες συγκεντρώνουν περισσότερο Cd από τα εναέρια τμήματα αλλά η συσσώρευση του μετάλλου στις ρίζες είναι το 30% του συνολικού καδμίου που προσελήφθηκε από τα φυτά στην επέμβαση με 20 ppm Cd στο έδαφος, το 28% στην επέμβαση με 40 ppm Cd και το 24% στην επέμβαση με 80 ppm Cd (Σχήμα 5.2).

Το σημαντικότερο όμως σημείο αυτής της ερευνάς ήταν ο έλεγχος της ικανότητας του συγκεκριμένου φυτού να συσσωρεύει το υπό εξέταση μέταλλο στο σώμα του. Ως γνωστό για να χαρακτηριστεί ένα φυτό ως υπερσυσσωρευτής του καδμίου θα πρέπει να συγκεντρώνει στους ιστούς του πάνω από 100 ppm του μετάλλου και να παρουσιάζει λόγους συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας πάνω από 1 (Lasat, 2002, Lutts et al., 2004, Yanqun et al., 2005). Όπως είναι φανερό από το Σχήμα 5.1 στην παρούσα μελέτη το *A. halimus* δεν επέδειξε ανάλογα επίπεδα συγκεντρώσεων στους φυτικούς του ιστούς ύστερα από έκθεση στο μέταλλο για 10 εβδομάδες.

Αντίθετα σε μια σχετικά πρόσφατη μελέτη το *Atriplex halimus* παρουσιάζεται ως πιθανός υπερσυσσωρευτής του καδμίου (Lutts et al., 2004). Σύμφωνα με τους ερευνητές, σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε υδροπονική καλλιέργεια σπορόφυτων *Atriplex halimus* για τρεις εβδομάδες με συγκεντρώσεις καδμίου 0,1 mM στο θρεπτικό μέσο, βρέθηκε ότι παρότι η συσσώρευση του μετάλλου ήταν υψηλότερη στις ρίζες, όπως και στην παρούσα περίπτωση, μία σημαντική ποσότητα του συσσωρεύθηκε και στα υπέργεια τμήματα. Συγκεκριμένα μετά από έκθεση σε 0,1 mM Cd, το φυτό συσσώρευσε 3174, 1151 και 618 mg Cd /kg ξηρού βάρους στις ρίζες, στα στελέχη και στα φύλλα αντίστοιχα, και επιπλέον ο ρυθμός μετακίνησης του μετάλλου από τις ρίζες προς τα υπέργεια τμήματα αυξάνονταν με την πάροδο του χρόνου χωρίς να παρατηρείται καμία τάση κορεσμού των φυτικών ιστών. Επομένως μαζί με το γεγονός ότι το φυτό δεν παρουσίασε καμιά σημαντική μείωση στην παραγόμενη βιομάζα του, εξήχθει το συμπέρασμα ότι το φυτό πιθανόν να αποτελεί υπερσυσσωρευτή του μετάλλου και επιπλέον, λόγω της μεγάλης παραγωγής βιομάζας του φυτού υπολογίστηκε ότι μπορεί να επιτευχθεί μια απομάκρυνση καδμίου $4,15 \text{ kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$ από μια βασική παραγωγή βιομάζας των 5 Mg ξηρό βάρος $\text{ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$ και μια συγκέντρωση Cd στα υπέργεια τμήματα (στελέχη και φύλλα) 830 mg/kg κατά την περίοδο θερισμού. Παρόλα αυτά οι ίδιοι ερευνητές υποστήριξαν την απαίτηση σε περαιτέρω έρευνα για τον έλεγχο ότι δεν παρατηρείται καμιά παρεμπόδιση στην αύξηση του φυτού με μακροπρόθεσμη έκθεση του στο μέταλλο και ότι οι ρυθμοί της πρόσληψης και μετακίνησης του μετάλλου δεν επηρεάζονται από τα ακόλουθα στάδια ανάπτυξης του φυτού. Επιπλέον, υποστήριξαν ότι πρέπει να ληφθούν υπόψη και οι παράμετροι που επηρεάζουν την βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων στο έδαφος και ουσιαστικά πρέπει να πραγματοποιηθούν πειράματα με καλλιέργεια του φυτού στο έδαφος για να επιβεβαιωθεί η ικανότητα απομάκρυνσης του μετάλλου από το φυτό.

Σε αυτές ακριβώς τις προτάσεις θεωρείται ότι στηρίζεται η διαφοροποίηση των εν λόγω αποτελεσμάτων από την προηγούμενη μελέτη. Πρωταρχικά αναφέρονται οι μεγάλες διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ των περαμάτων πεδίου και των υδροπονικών πειραμάτων. Η καλλιέργεια φυτών με την μέθοδο της υδροπονίας, όσον αφορά την έρευνα για σκοπούς φυτοσυσσώρευσης, είναι ικανή να δώσει μόνο κάποια αρχικά συμπεράσματα όσον αφορά την ικανότητα του φυτού να προσλαμβάνει τα υπό εξέταση μέταλλα και την ανθεκτικότητα του σε αυτά. Ο πρώτος λόγος είναι ότι όπως έχει αναφερθεί και από άλλους ερευνητές η καλλιέργεια σε υδατικό μέσο δεν επιτρέπει την διάκριση μεταξύ φυτών υπερσυσσωρευτών και μη-υπερσυσσωρευτών με βάση την συγκέντρωση του μετάλλου στη βιομάζα, πολύ πιθανόν λόγω της επίδρασης των διεργασιών βιορόφησης. Δηλαδή αυτό που παρατηρήθηκε ήταν ότι κατά την υδροπονική καλλιέργεια του αναγνωρισμένου Cd υπερσυσσωρευτή *T. caerulescens* και των μη-υπερσυσσωρευτών *N. tabacum* και *A. belladonna* οι συγκεντρώσεις του μετάλλου στις ρίζες των φυτών δεν είχαν μεγάλες διαφορές τουλάχιστον τόσο όσο αναμένονταν λόγω της εκπληκτικής ικανότητας συσσώρευσης του μετάλλου που διαθέτει το *T. caerulescens*. Εντούτοις, αυτό που επέτρεπε την διάκριση μεταξύ υπερσυσσωρευτή και μη-υπερσυσσωρευτή ήταν η ικανότητα του πρώτου να αυξάνεται χωρίς κανένα σύμπτωμα τοξικότητας σε αντίθεση με τον δεύτερο του οποίου η ανάπτυξη σταμάτησε και παρουσίασε έντονα συμπτώματα τοξικότητας από το μέταλλο (Nedelkoska and Doran, 2000, US EPA, 2001, Boominathan and Doran, 2003). Επιπλέον, ένας δεύτερος λόγος είναι ότι η υδροπονική καλλιέργεια πραγματοποιείται υπό ελεγχόμενες και σταθερές συνθήκες ενώ τα πειράματα στο πεδίο λαμβάνουν υπόψη τους και όλους τους άλλους παράγοντες καταπόνησης ή μη που επηρεάζουν την ανάπτυξη των φυτών όπως

η μηχανική καταπόνηση στην οποία τα φυτά εκτίθενται συνεχώς στο φυσικό περιβάλλον, η ακτινοβολία και οι ακραίες θερμοκρασίες οι οποίες ειδικά κατά την καλοκαιρινή περίοδο στην περιοχή της Μεσογείου προκαλούν επιπρόσθετες συνθήκες καταπόνησης, εκτός από τα βαρέα μέταλλα, στα φυτά. Και είναι γνωστό ότι η ταυτόχρονη παρουσία πολλών παραγόντων καταπόνησης μπορεί να έχει είτε συνεργιστική είτε ανταγωνιστική επίδραση στο φυτό (Καραμπουρνιώτης, 2003). Τέλος ένας τρίτος λόγος είναι ότι κατά την υδροπονική καλλιέργεια δεν λαμβάνονται υπόψη οι παράμετροι που επηρεάζουν την κινητικότητα των βαρέων μετάλλων στο έδαφος και κατά συνέπεια την διαθεσιμότητα τους στα φυτά. Η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος επηρεάζεται, όπως έχει προαναφερθεί, από διάφορους εδαφικούς και σχετικούς με το φυτό παράγοντες. Τα χαρακτηριστικά του εδάφους, α) χημικά, όπως pH, οξειδοαναγωγικό δυναμικό, ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων, β) φυσικά, όπως κοκκομετρική (μηχανική) σύσταση, περιεχόμενο αργίλου, οργανική ουσία (%), και γ) βιολογικά, (βακτήρια, μύκητες) και οι αλληλεπιδράσεις τους επηρεάζουν την διαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος. Επιπλέον όμως και τα χαρακτηριστικά του κάθε φυτού επηρεάζουν τα διαθέσιμα για αυτό επίπεδα μετάλλων. Εκτός των άλλων, οι διεργασίες απελευθέρωσης οργανικών ενώσεων μικρού μοριακού βάρους από τις ρίζες, όπως σάκχαρα, οργανικά οξέα και αμινοξέα τα οποία σχηματίζουν σύμπλοκα με τα μέταλλα, κυρίως μέσα στην περιοχή της ριζόσφαιρας επηρεάζουν την βιοδιαθεσιμότητα (Ernst, 1996, Garbisu and Alkorta, 2001, Lasat, 2002, Naidu et al., 2003, Nascimento and Xing, 2006). Κατά συνέπεια, από όλα τα παραπάνω είναι φανερό ότι η υδροπονική καλλιέργεια μπορεί να δώσει μόνο κάποιες αρχικές εκτιμήσεις για την ικανότητα του φυτού να συσσωρεύει τα μέταλλα.

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε με στόχο να ελεγχθεί η ικανότητα του *Atriplex halimus* να συσσωρεύει το υπό εξέταση μέταλλο στο σώμα του λαμβάνοντας υπόψη όλους εκείνους τους παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη του μετάλλου από τα φυτά και επιπλέον τον έλεγχο της απόκρισης του φυτού με μακροπρόθεσμη έκθεση του στο μέταλλο. Όμως ένα επιπλέον σημείο διαφοροποίησης από την προηγούμενη μελέτη του υπό εξέταση φυτού *Atriplex* (Lutts et al., 2004) είναι η ηλικία των φυτών που χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή της έρευνας και κατά συνέπεια και τα στάδια ανάπτυξης τους. Όπως έχει ήδη συζητηθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο (Παράγραφος 2.2.3.3), η πρόσληψη των μετάλλων από τα φυτά εξαρτάται από διάφορους παράγοντες μέσα στους οποίους περιλαμβάνονται οι διαφορές στην ηλικία και τα στάδια ανάπτυξης του φυτού (Orcutt and Nilsen, 2000, Fitzgerald et al., 2003, Qadir



Εικόνα 5.1. Φωτογραφία του υπέργειου τμήματος του φυτού *Atriplex halimus* κατά την διάρκεια του πειράματος.

et al., 2004a, Weis and Weis, 2004). Στην προαναφερθείσα μελέτη τα φυτά που εκτέθηκαν στο κάδμιο ήταν σπορόφυτα ηλικίας μερικών εβδομάδων (3-4), δηλαδή βρίσκονταν στην αρχή του βλαστικού σταδίου, ενώ η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε σε φυτά ηλικίας 11-12 μηνών τα οποία είχαν αναπτύξει ξυλώδη ιστό ο οποίος, όπως έχει αναφερθεί σε αρκετές μελέτες (Orcutt and Nilsen, 2000, Krämer, 2005), παρουσιάζει μικρή συσσώρευση μετάλλων και επιπλέον είχαν φτάσει στο στάδιο της ανάπτυξης καρπού και σπέρματος, ολοκληρώνοντας ουσιαστικά τον ετήσιο βιολογικό τους κύκλο με την έννοια ότι τα πολυετή φυτά έχουν πολλαπλές ετήσιες φάσεις αύξησης, ανάπτυξης και αναπαραγωγής (Εικόνα 5.1). Επομένως αυτό το στοιχείο θεωρείται ως ένα επιπλέον σημαντικό σημείο που πιθανόν συνέβαλε στα διαφορετικά αποτελέσματα της παρούσας μελέτης από τις μελέτες των άλλων ερευνητών.

5.1.1.4. Επίδραση του καδμίου στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

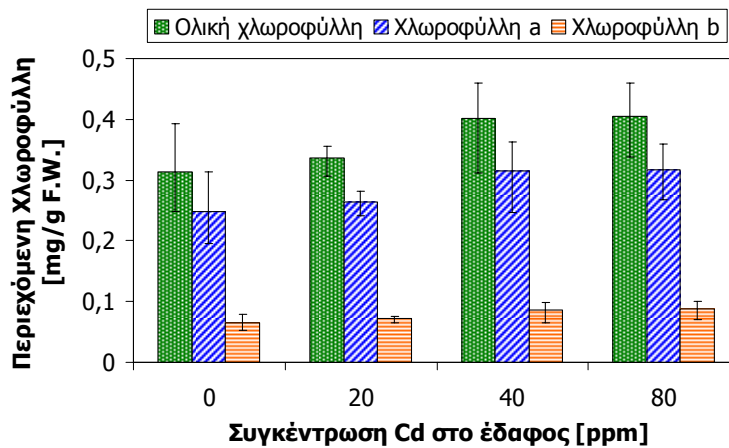
Όπως έχει προαναφερθεί, το κάδμιο δεν αποτελεί απαραίτητο στοιχείο για την επιβίωση των φυτών, παρόλα αυτά σε πολλά φυτικά είδη προσλαμβάνεται από τις ρίζες και μεταφέρεται στα εναέρια τμήματα των φυτών, όμως η συσσώρευση υψηλών συγκεντρώσεων καδμίου προκαλεί τοξικότητα στα φυτά. Έχει φανεί ότι το κάδμιο προκαλεί μείωση στην αφομοίωση άνθρακα, οξειδωτική καταπόνηση, μείωση της ενζυμικής δραστηριότητας, κλείσιμο των στομάτων, διαταραχές στο περιεχόμενο του νερού, αναστολή της βιοσύνθεσης της χλωροφύλλης, καταστροφή των άκρων των ριζών, μείωση της πρόσληψης θρεπτικών συστατικών, μείωση της αναπνοής, μείωση της διαπνοής και αναστολή της αύξησης των φυτών (Das et al., 1997, Orcutt and Nilsen, 2000, Perfus-Barbeoch et al., 2002, Pietrini et al., 2003, Zhou and Qiu, 2005, Cho and Seo, 2005).

Παρόλα αυτά στην παρούσα μελέτη το *Atriplex halimus* δεν επέδειξε κανένα σύμπτωμα τοξικότητας από το μέταλλο κατά την οπτική εξέταση των μορφολογικών του χαρακτηριστικών στην διάρκεια των 10 πειραματικών εβδομάδων όπως για παράδειγμα αλλαγή του χρώματος των άκρων των ριζών ή μείωση της επιμήκυνσης της ρίζας μέσα στο έδαφος. Επιπλέον, η καταπόνηση από το κάδμιο δεν είχε καμία επίπτωση στην επιβίωση του φυτού και όλα τα φυτά παρέμειναν ζωντανά μέχρι την λήξη της πειραματικής διαδικασίας.

Όπως προαναφέρθηκε, το κάδμιο παρεμποδίζει την σύνθεση της χλωροφύλλης, όμως επιπλέον έχει βρεθεί να μεταβάλλει και την αναλογία μεταξύ της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* του συμπλόκου συλλογής του φωτός II (light-harvesting complex II-LHCII) (Orcutt and Nilsen, 2000). Για παράδειγμα μελέτες στο φυτό *Phragmites australis* έδειξαν ότι σε υδροπονική καλλιέργεια του φυτού σε 50 και 100 μM Cd παρατηρήθηκε μείωση της περιεχόμενης ολικής χλωροφύλλης κατά 30 και 60%, αντίστοιχα, και επιπλέον η μείωση ήταν μικρότερη στην χλωροφύλλη *a* από ότι στη χλωροφύλλη *b*, με αποτέλεσμα η αναλογία χλωροφύλλης *a/b* έτεινε να αυξάνεται με την αύξηση των συγκεντρώσεων Cd (Pietrini et al., 2003).

Όμως στην παρούσα μελέτη, τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών του φυτού δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται αρνητικά από την παρουσία του καδμίου επιβεβαιώνοντας τις οπτικές παρατηρήσεις κατά την διάρκεια του πειράματος. Αντ' αυτού οι συγκεντρώσεις της ολικής χλωροφύλλης, της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b*

παρουσιάζονται να αυξάνονται με την αύξηση του καδμίου στο έδαφος όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.3.



Σχήμα 5.3. Περιεχόμενη χλωροφύλλη [mg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

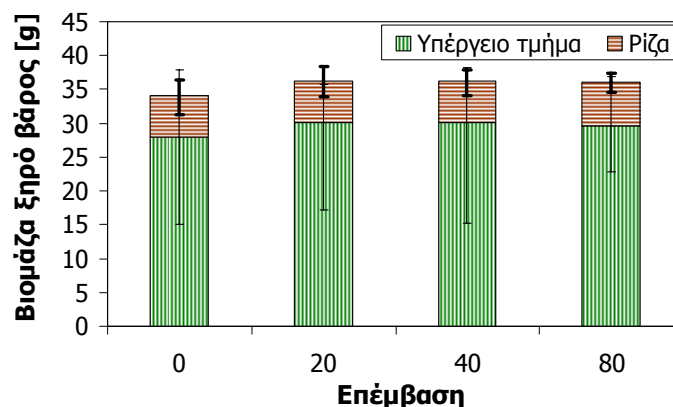
Επιπλέον, παρατηρήθηκαν μικρές μεταβολές της αναλογίας μεταξύ των χλωροφυλλών *a* και *b* (Πίνακας 5.4). Όπως φαίνεται, η παρουσία του καδμίου, στην παρούσα περίπτωση, μείωσε ελαφρά την αναλογία χλωροφύλλης *a/b* περίπου κατά 4,5 – 6%, εκφράζοντας ουσιαστικά το γεγονός ότι η αύξηση της χλωροφύλλης *b* ήταν μεγαλύτερη από την αύξηση της χλωροφύλλης *a*.

Πίνακας 5.4. Αναλογία χλωροφύλλης *a/b* στο *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%).

Συγκέντρωση Cd στο έδαφος [ppm]	Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i>
0	3,87
20	3,70
40	3,63
60	3,63

Επιπρόσθετα, και η αύξηση (growth) εκφρασμένη ως βιομάζα (ξηρό βάρος) των φυτών που καλλιεργήθηκαν στο ρυπασμένο με κάδμιο έδαφος παρουσιάζεται ελαφρά αυξημένη σε σύγκριση με τα φυτά μάρτυρες (Σχήμα 5.4). Τα αποτελέσματα αυτά αντιτάσσονται στο ότι η παρουσία καδμίου στο έδαφος έχει αποδειχτεί να προκαλεί ελάττωση της παραγόμενης βιομάζας σε πολλά φυτικά είδη όπως για παράδειγμα στην πιπεριά (León et al., 2002), στην φασολιά (Chaoui et al., 1997) και στο σιτάρι (Milone et

al., 2003), στο φυτό *Mesembryanthemum crystallinum* (Ghnaya et al., 2005) και μάλιστα έχει αποδειχθεί ότι παρατηρείται μια σχετική του επιπέδου της ρύπανσης μείωση της βιομάζας όπως λόγω χάριν στο ραπάνι (*Raphanus sativus* L.) (Zaman and Zereen, 1998) και στο φυτό *Arabidopsis thaliana* L. (Perfus-Barbeoch et al., 2002). Όμως ανάλογη παρατήρηση με τα παρόντα αποτελέσματα έχει αναφερθεί για το φυτό *Pteris vittata* και έχει δικαιολογηθεί από την υπόθεση ότι η αύξηση αυτή ίσως οφείλεται στην προσθήκη αζώτου μιας και το Cd προστέθηκε ως νιτρικό άλας (Fayiga et al., 2004), όπως συνέβη και στην παρούσα μελέτη, οπότε ίσως αυτός να είναι και ο λόγος της αύξησης των παραγωγικών χαρακτηριστικών των φυτών με την αύξηση του καδμίου στο έδαφος.

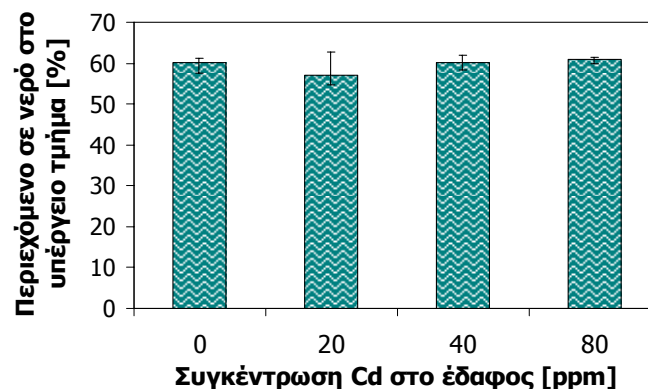


Σχήμα 5.4. Βιομάζα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επιπλέον, κατά την μελέτη του ίδιου φυτού σε υδροπονική καλλιέργεια με έκθεση του σε κάδμιο από άλλους ερευνητές, βρέθηκε ότι παρόλο που τις πρώτες εβδομάδες παρατηρήθηκε μια μείωση στην αύξηση του φυτού, στην συνέχεια το φυτό ανέκαμψε, οπότε εξήχθει το συμπέρασμα ότι προφανώς η αύξηση παρουσίασε ουσιαστικά μια καθυστέρηση λόγω του αρχικού σοκ και όχι ουσιαστική μείωση ακόμα και μάλιστα όταν η συσσώρευση στους φυτικούς ιστούς κυμαινόταν σε πολύ υψηλά επίπεδα (Lutts et al., 2004).

Η ισορροπία του νερού στα φυτά καθορίζεται από τρεις αλληλοσυνδεόμενες διεργασίες: την πρόσληψη, την μεταφορά και την διαπνοή. Οπότε, με την πρόσληψη του νερού να επηρεάζεται από τις ρίζες και λόγω της σχετικά γρήγορης μεταφοράς του στα υπέργεια όργανα, το κάδμιο μπορεί να επηρεάσει καθεμία από αυτές τις διεργασίες (Vassilev et al., 1997). Για παράδειγμα στο κριθάρι (*Hordeum vulgare* L.) που καλλιεργήθηκε με την μέθοδο της υδροπονίας σε 0,54 μM Cd παρατηρήθηκε μείωση του απόλυτου (water content - WC) και του σχετικού (relative water content - RWC) περιεχόμενου σε νερό κατά 2-3% και μείωση του ρυθμού διαπνοής κατά 18% (Vassilev et al., 1997). Επίσης, στη φασολιά (*Phaseolus vulgaris* L.) παρατηρήθηκε μείωση του σχετικού περιεχομένου σε νερό κατά την υδροπονική της καλλιέργεια σε 3 μM Cd (Poschenrieder et al., 1989). Και στο φυτό *Sedum alfredii* ύστερα από υδροπονική του καλλιέργεια σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις Cd από 200 έως 1000 μM παρατηρήθηκε σταδιακή μείωση του περιεχόμενου νερού (water content - WC) στα φύλλα με την

σταδιακή αύξηση του μετάλλου στο θρεπτικό μέσο οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι το κάδμιο διαταράσσει την ισορροπία μεταξύ νερού και φυτού (Zhou and Qiu, 2005). Στην παρούσα μελέτη το περιεχόμενο σε νερό (water content - WC) στα υπέργεια τμήματα των φυτών *Atriplex* δεν βρέθηκε να επηρεάζεται από την παρουσία του καδμίου (Σχήμα 5.5) υπονοώντας ότι η τοξικότητα από το μέταλλο δεν προκαλεί μια δευτερεύουσα υδατική καταπόνηση, ενώ ανάλογη συμπεριφορά έχει επιδείξει το υπό εξέταση φυτό και σε μελέτες άλλων ερευνητών όπου κατά την υδροπονική του καλλιέργεια σε 0,1 mM Cd δεν επέδειξε μεταβολή του περιεχομένου του σε νερό ούτε στις ρίζες αλλά και ούτε στα υπέργεια τμήματα (Lutts et al., 2004).



Σχήμα 5.5. Περιεχόμενο σε νερό [%] του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Συμπερασματικά λοιπόν, παρατηρείται ότι η παρουσία του καδμίου δεν επηρέασε αρνητικά τα μορφολογικά και παραγωγικά χαρακτηριστικά του *Atriplex halimus*, όμως πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι η συσσώρευση του μετάλλου στους φυτικούς ιστούς σε καμία περίπτωση δεν ξεπέρασε τις συγκεντρώσεις που θεωρούνται τοξικές για τα φυτά και οι οποίες είναι 5 - 30 ppm ξηρού βάρους, εν τούτοις, ξεπεράστηκαν οι συγκεντρώσεις που θεωρούνται φυσιολογικές για τα φυτά, δηλαδή οι συγκεντρώσεις μετάλλου οι οποίες δεν προκαλούν καμία αλλαγή ή βλάβη (0,05 – 0,2 mg/kg ξηρού βάρους) (Orcutt and Nilsen, 2000). Όλες οι ανωτέρω παρατηρήσεις, λοιπόν, εξεταζόμενες από κοινού δείχνουν ότι το *A. halimus* είναι ένα φυτό ιδιαίτερα ανθεκτικό στο κάδμιο δεδομένου ότι τα επίπεδα του καδμίου στο έδαφος ξεπερνούσαν κατά πολύ τις οριακές τιμές συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος που έχουν θεσπιστεί από το ελληνικό κράτος οι οποίες είναι 1 έως 3 mg/kg ξηράς ουσίας (ΦΕΚ 641/7.8.1991).

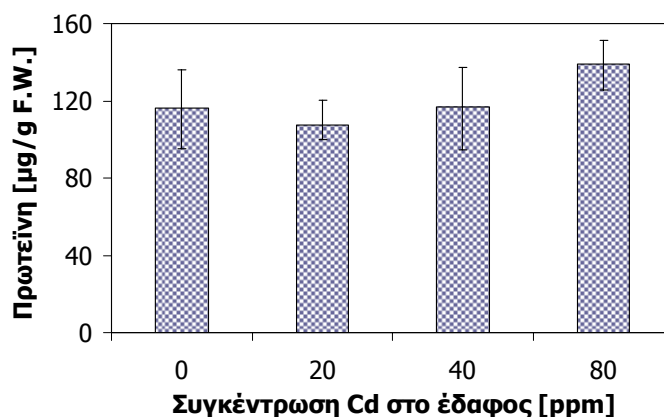
5.1.1.5. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού

Ποικίλοι παράγοντες καταπόνησης όπως η ξηρασία, η ακτινοβολία UV, οι ακραίες θερμοκρασίες, η εδαφική αλατότητα και τα βαρέα μέταλλα, συμπεριλαμβανομένου και του καδμίου, είναι γνωστό ότι προκαλούν οξειδωτική καταπόνηση (oxidative stress) στα φυτά είτε άμεσα είτε έμμεσα προκαλώντας αυξημένα επίπεδα δημιουργίας ενεργών

μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS ή active oxygen species, AOS) (Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003). Αυτές οι ROS περιλαμβάνουν ρίζες υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet-}$), ρίζες υδροξυλίου (OH^{\bullet}) και υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), οι οποίες στην συνέχεια αποδομούν σημαντικά από βιολογική άποψη μόρια όπως τα λιπίδια της μεμβράνης, τις πρωτεΐνες, τις χρωστικές του χλωροπλάστη, τα ένζυμα, τα νουκλεϊκά οξέα κ.τ.λ. (Verma and Dubey, 2003, Zhu et al., 2004, Rai et al., 2004, Sinha, et al., 2005, Singh et al., 2006).

Σε αρκετές μελέτες έχει αποδειχτεί ότι το κάδμιο προκαλεί οξείδωση των πρωτεϊνών στα φυτά λόγω της παραγωγής των ROS με αποτέλεσμα την αποδόμηση ενός μέρους των πρωτεϊνών και με συνέπεια την μείωση του αριθμού τους, ενώ η αποδόμηση των πρωτεϊνών έχει προταθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης της έκτασης της καταπόνησης που υφίσταται το φυτό (Romero-Puertas et al., 2002, Mishra et al., 2006).

Στην παρούσα μελέτη όμως δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των πρωτεϊνών στα φύλλα του *Atriplex halimus*. Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.6, στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την μικρότερη συγκέντρωση καδμίου στο έδαφος 20 ppm παρατηρείται μια μικρή μείωση της τάξης του 7% που όμως δεν είναι σημαντική, στα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε 40 ppm Cd οι περιεχόμενες πρωτεΐνες παρουσιάζονται ανεπηρέαστες από την παρουσία του καδμίου ενώ αντίθετα στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την μεγαλύτερη συγκέντρωση καδμίου 80 ppm τα οποία και περιείχαν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα τους (Σχήμα 5.1), τα επίπεδα των πρωτεϊνών παρουσιάζονται αυξημένα κατά 19% σε σχέση με τα φυτά ελέγχου.



Σχήμα 5.6. Περιεχόμενη πρωτεΐνη [μg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Ανάλογες παρατηρήσεις όμως έχουν αναφερθεί και σε άλλα φυτικά είδη όπου με έκθεση σε κάδμιο παρατηρήθηκε αύξηση των πρωτεϊνών στα υπέργεια τμήματα των φυτών. Για παράδειγμα στο φυτό *Phragmites australis* έχει παρατηρηθεί αύξηση των πρωτεϊνών ύστερα από υδροπονική καλλιέργεια του για 21 ημέρες με 50 και 100 μM Cd (Pietrini et al., 2003), ενώ και στο φυτό *Bacora monnieri* L. ύστερα από καλλιέργεια σε

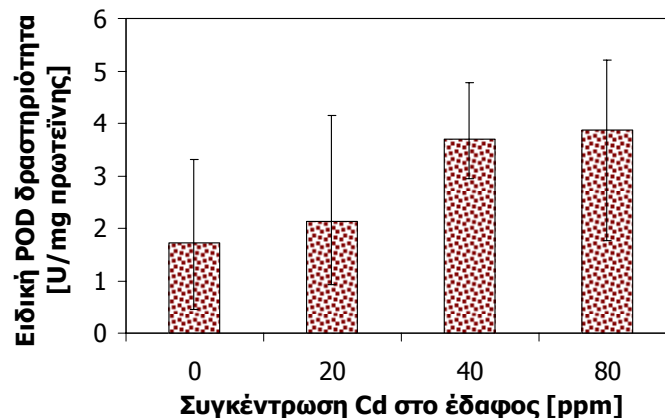
θρεπτικό μέσο ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Cd μέχρι και τα 100 μM παρατηρήθηκε αύξηση του επιπέδου των πρωτεϊνών στις χαμηλές συγκεντρώσεις του μετάλλου στο διάλυμα και για μικρές περιόδους έκθεσης ενώ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις Cd και σε μεγαλύτερες περιόδους έκθεσης παρατηρήθηκε μείωση των πρωτεϊνών, οπότε οι συγγραφείς δικαιολόγησαν το γεγονός ότι η αύξηση των πρωτεϊνών προφανώς μπορεί να οφείλεται στην αύξηση των πρωτεϊνών καταπόνησης για παράδειγμα δηλαδή στην αύξηση των αντιοξειδωτικών ενζύμων, ενώ η μείωση αποδόθηκε στην προερχόμενη από το μέταλλο οξείδωση τους (Mishra et al., 2006). Τέλος και για τα φυτά *Cyperus difformis*, *Chenopodium ambrosioides* και *Digitaria sanguinalis* έχουν αναφερθεί ανάλογα αποτελέσματα ύστερα από καλλιέργεια τους σε έδαφος ρυπασμένο με 5, 10 και 20 ppm Cd, όπου παρατηρήθηκε αύξηση των ολικών πρωτεϊνών στα υπέργεια τμήματα τους σε όλες τις επεμβάσεις και εξήχθει το συμπέρασμα ότι αυτή η προερχόμενη από το μέταλλο αύξηση υποδηλώνει ότι τα φυτά λειτουργούν ένα μεταβολικό μηχανισμό για την διοχέτευση των μετάλλων μέσα στα κύτταρα τους (Ewais, 1997).

Τα φυτά για την καταπολέμηση των οξειδωτικών βλαβών που προκαλούνται από τις ενεργές μορφές οξυγόνου διαθέτουν ένα αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα εξουδετέρωσης των ROS που περιλαμβάνει ένζυμα και ορισμένους μεταβολίτες τα οποία εξουδετερώνουν τις τοξικές ελεύθερες ρίζες επιτρέποντας την προσαρμογή και επιβίωση του φυτού (Verma and Dubey, 2003, Zacchini et al., 2003, Ruley et al., 2004, Rai et al., 2004, Cao et al., 2004, Cho and Seo, 2005). Η μέτρηση λοιπόν της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών αυτών ενζύμων (enzyme activity) θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της καταπόνησης. Στην διεθνή βιβλιογραφία οι υπεροξειδάσες (peroxidases, POD) έχουν γίνει δεκτά ως «ένζυμα καταπόνησης» ("stress enzymes") και η μέτρηση της δραστηριότητας τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την αξιολόγηση της έντασης της καταπόνησης από τα βαρέα μέταλλα (Radotic et al., 2000, Shah et al., 2001, Verma and Dubey, 2003, Ruttens et al., 2006).

Τα παρόντα αποτελέσματα που δίδονται στο Σχήμα 5.7, υποστηρίζουν ότι η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης (guaiacol peroxidase) στα φύλλα του *Atriplex halimus* αυξήθηκε λόγω της παρουσίας του καδμίου υποδηλώνοντας ότι το κάδμιο προκαλεί οξειδωτική καταπόνηση στο φυτό και το τελευταίο ως απάντηση αυξάνει την παραγωγή των αντιοξειδωτικών του ενζύμων στα πλαίσια του αμυντικού του μηχανισμού. Η POD δραστηριότητα παρατηρείται αυξημένη κατά 23, 114 και 125% στα φυτά που καλλιεργήθηκαν στο ρυπασμένο έδαφος με 20, 40 και 80 ppm Cd αντίστοιχα, σε σχέση με τα φυτά ελέγχου, ενώ επιπλέον παρατηρείται αύξηση της δραστηριότητας με την αύξηση του μετάλλου στο έδαφος που ουσιαστικά φανερώνει μια συσχέτιση μεταξύ της αύξησης της ενζυμικής δραστηριότητας και της αύξησης της συγκέντρωσης του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού (Σχήμα 5.1).

Στην διεθνή βιβλιογραφία αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι το Cd προκαλεί οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά (Radotic et al., 2000, Iannelli et al., 2002, Boominathan and Doran, 2003, Pietrini et al., 2003, Qadir et al., 2004b, Cho and Seo, 2005), ενώ ανάλογες παρατηρήσεις για την αύξηση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης λόγω του καδμίου, έχουν αναφερθεί, για παράδειγμα, στη φασολιά (*Phaseolus vulgaris* L.) (Chaoui et al., 1997, Smeets et al., 2005), στην πιπεριά (*Capsicum annuum* L.) (León et al., 2002), στο ρύζι (Shah et al., 2001), στο σιτάρι (Milone et al., 2003) και στο φυτό *Bacopa monnieri* L. (Mishra et al., 2006).

Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι για την εκτίμηση της έντασης της φυτοτοξικότητας η ενζυμική δραστηριότητα πρέπει να συνδέεται με την αξιολόγηση της αύξησης των



Σχήμα 5.7. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20, 40 και 80 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

φυτών μιας και η ελλιπής αύξηση και τα υψηλά «ένζυμα καταπόνησης» αποτελούν συμπτώματα ισχυρής φυτοτοξικότητας (Ruttens et al., 2006), ενώ επιπρόσθετα υπό ακραίες συνθήκες καταπόνησης, τα φυτά μπορεί να αδυνατούν να παράγουν αρκετά αντιοξειδωτικά ένζυμα για την προστασία τους άρα η μικρή ενζυμική δραστηριότητα δεν φανερώνει απαραίτητα και μικρή ένταση καταπόνησης (Fayiga et al., 2004). Λαμβάνοντας υπόψη λοιπόν το γεγονός ότι παρατηρήθηκε αύξηση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων του *Atriplex halimus* και επιπρόσθετα παρατηρήθηκε και αύξηση των πρωτεϊνών δηλαδή ίσως λαμβάνει χώρα σύνθεση νέων πρωτεϊνών υπό την καταπόνηση από το μέταλλο υποδηλώνοντας την ύπαρξη μηχανισμού ανθεκτικότητας με την παραγωγή πρωτεϊνών καταπόνησης ώστε το φυτό να ανταπεξέλθει της τοξικότητας από το μέταλλο, ενώ επιπλέον δεν παρατηρήθηκε μείωση της αύξησης ή των άλλων μορφολογικών και παραγωγικών χαρακτηριστικών του φυτού, εξάγεται το συμπέρασμα ότι πρόκειται για ένα ιδιαίτερα ανθεκτικό φυτό στο κάδμιο.

5.1.2. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm καδμίου σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες

5.1.2.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Κατά την έναρξη του πειράματος έντεκα μηνών φυτά *A. halimus* L. που είχαν αναπτυχθεί σε προμετρημένο οργανικό υπόστρωμα 670 - 700 g ξηρού βάρους (βλ. Παράγραφο 4.1.1) χωρίστηκαν σε 6 πειραματικές ομάδες με 6 φυτά ανά ομάδα - επέμβαση με τρόπο ώστε κάθε επέμβαση να έχει συγκριτικά περίπου ίση μέση βιομάζα. Τρεις ομάδες φυτών αποτέλεσαν τις επεμβάσεις ελέγχου με διαφορετικές εδαφικές αλατότητες και τρεις αποτέλεσαν τις επεμβάσεις στις οποίες πραγματοποιήθηκε προσθήκη καδμίου στο έδαφος σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό ο οποίος παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.5. Το έδαφος ρυπάνθηκε τεχνητά με κάδμιο ως υδατικό διάλυμα $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ με μια δόση προσθήκης στο έδαφος καλλιέργειας ενώ η επιλεγείσα συγκέντρωση του Cd για την ρύπανση του εδάφους ήταν 20 ppm (ξηρού βάρους εδάφους) δηλαδή 2,5 φορές υψηλότερη από την ανώτερη συγκέντρωση του μετάλλου στο έδαφος που θεωρείται τοξική για τα φυτά (Orcutt and Nilsen, 2000).

Πίνακας 5.5. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Επέμβαση ("κωδικό όνομα")	Συγκέντρωση Cd που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση NaCl [%]
1	"0/0"	0	0
2	"0/0,5"	0	0,5
3	"0/3"	0	3
4	"Cd/0"	20	0
5	"Cd/0,5"	20	0,5
6	"Cd/3"	20	3

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε μέσα σε γυάλινο θερμοκήπιο για 10 εβδομάδες (Σεπτέμβρη - Νοέμβρη), με φωτοπερίοδο 12 – 14 ωρών ενώ οι θερμοκρασίες και η υγρασία κατά την διάρκεια του παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.6. Τα φυτά ποτίζονταν κάθε 2 ή 3 ημέρες ανάλογα με τις απαιτήσεις με νερό βρύσης ή υδατικό διάλυμα NaCl κατάλληλης συγκέντρωσης σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό. Τα υδατικά διαλύματα NaCl προετοιμάστηκαν με βρώσιμο θαλασσινό αλάτι και νερό βρύσης ενώ η ποσότητα του νερού ή του διαλύματος NaCl που χρησιμοποιούνταν σε κάθε πότισμα ήταν περίπου 200 mL προκειμένου να αποφευχθεί εκροή του νερού με το μέταλλο από τις γλάστρες ενώ επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν και πλαστικά πιάτα σε κάθε γλάστρα.

Μία φορά την εβδομάδα σε συγκεκριμένη μέρα και ώρα, πραγματοποιούνταν μετρήσεις του ύψους των υπέργειων τμημάτων προκειμένου να αξιολογηθεί ποσοτικά η φυσική κατάσταση των φυτών ενώ καταγράφονταν και οποιαδήποτε συμπτώματα τοξικότητας από το μέταλλο και την αλατότητα παρατηρούνταν οπτικά. Με την λήξη των

10 πειραματικών εβδομάδων πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της συγκέντρωσης του Cd στα διάφορα φυτικά τμήματα. Επιπλέον, έλαβαν χώρα μετρήσεις των ολικών και φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων του μετάλλου στο έδαφος, οι οποίες υποστηρίχθηκαν και από μετρήσεις των χαρακτηριστικών του εδάφους. Τέλος έλαβαν χώρα μετρήσεις της περιεχόμενης χλωροφύλλης, της βιομάζας και του περιεχομένου σε νερό για τον έλεγχο της επίδρασης του καδμίου και της αλατότητας στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού και επιπρόσθετα έλαβαν χώρα μετρήσεις των πρωτεϊνών και της δραστηριότητας του αντιοξειδωτικού ενζύμου υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης στα φύλλα του φυτού για τον έλεγχο της οξειδωτικής καταπόνησης που υφίσταται το φυτό. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τις παραπάνω μετρήσεις παρέχονται στην Παράγραφο 4.1.3.

Πίνακας 5.6. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	14,5-40,5	29,8	37-78	60,8
Μεσημέρι	14,5-47	29,5	27-78	48,7
Απόγευμα	13-29,5	19,3	49-77,5	64,8
Νύχτα	7,5-21	15,3	-	-

5.1.2.2. Χαρακτηρισμός εδάφους

Η συγκέντρωση του μετάλλου που επιλέχθηκε για την ρύπανση του εδάφους καλλιέργειας στο παρόν πείραμα ήταν 20 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους. Οι μετρούμενες ολικές συγκεντρώσεις του καδμίου στο έδαφος καλλιέργειας μια εβδομάδα μετά την τεχνητή ρύπανση του (Πίνακας 5.7) επιβεβαιώνουν το σωστό σχεδιασμό του πειράματος αφού βρέθηκαν 17,1 ppm για την επέμβαση Cd/0, 14,5 ppm για την επέμβαση Cd/0,5 και 21,9 ppm για την επέμβαση Cd/3. Παρατηρούνται μικρές διαφοροποιήσεις μεταξύ των προστιθέμενων συγκεντρώσεων και των μετρούμενων συγκεντρώσεων που όμως δικαιολογούνται από την πειραματική διαδικασία μιας και η προσθήκη του μετάλλου στο έδαφος έγινε ως υδατικό διάλυμα με μια δόση στο περιβάλλον της ρίζας γεγονός που δεν εξασφαλίζει την ομοιόμορφη ρύπανση όλου του οργανικού υποστρώματος μέσα στην κάθε γλάστρα, και ως εκ τούτου υπήρξε επίπτωση στην δειγματοληψία του υποδείγματος για τον προσδιορισμό της ολικής συγκέντρωσης του μετάλλου.

Όμως όπως έχει ήδη συζητηθεί, δεν είναι διαθέσιμη για τα φυτά ολόκληρη η ποσότητα του μετάλλου που υπάρχει στο έδαφος μιας και το ολικό ποσό δεν περιλαμβάνει μόνο εκείνα τα ιόντα του μετάλλου που είναι ανταλλάξιμα μεταξύ της στερεής και της διαλυτής φάσης αλλά και αυτά τα οποία είναι δυνατά δεσμευμένα μέσα στο έδαφος και δεν είναι διαθέσιμα για μεταφορά ή πρόσληψη από τα φυτά. Ωστόσο οι φυτοδιαθέσιμες ποσότητες του μετάλλου στο έδαφος επηρεάζονται από τις ιδιότητες του εδάφους. Το pH του εδάφους, η αλατότητα, οι συγκεντρώσεις ασβεστίου και η οργανική ουσία αποτελούν σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την φυτοδιαθεσιμότητα του

καδμίου στο έδαφος μιας και η μεταφορά του μετάλλου μεταξύ των πραγματικά διαθέσιμων και των λιγότερο διαθέσιμων φάσεων επηρεάζεται σημαντικά από τον ανταγωνισμό για τις θέσεις ανταλλαγής με άλλα κατιόντα (ιδιαίτερα τα H^+) και την παρουσία επιφανειών πρόσδεσης όπως η οργανική ουσία (Fitzgerald et al., 2003, Naidu et al., 2003, Rieuwerts et al., 2006).

Πίνακας 5.7. Χαρακτηρισμός του εδάφους.
Δειγματοληψία μια εβδομάδα μετά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας ($n=2$).

		Επέμβαση					
		0/0	0/0,5	0/3	Cd/0	Cd/0,5	Cd/3
pH (H_2O)		5,84	5,72	5,38	5,68	5,54	5,29
EC [mS/cm]		1,93	3,60	11,93	1,28	3,22	9,32
OM [%]				58-60			
CaCO₃ [%]				0			
Προστιθέμενο ολικό Cd [ppm]		0	0	0	20	20	20
Μετρούμενο ολικό Cd [ppm]	μέσος όρος	0	0	0	17,1	14,5	21,9
	εύρος	n.d.*	n.d.	n.d.	16,7-17,4	11,7-17,3	16,5-27,4
Φυτοδιαθέσιμο Cd (DTPA) [ppm]	μέσος όρος	0,47	0,47	0,45	23,7	27,9	29,7
	εύρος	n.d.-0,95	n.d.-0,94	n.d.-0,91	22,3-25,2	26,6-29,2	27,9-31,6
Επιτρεπτές τιμές Cd [ppm]**				1 - 3			

* n.d.: δεν ανιχνεύτηκε (not detected)

** Οριακές επιτρεπτές συγκεντρώσεις στο έδαφος στην Ελλάδα (pH 6-7) (Πηγή: ΦΕΚ 641/7.8.1991)

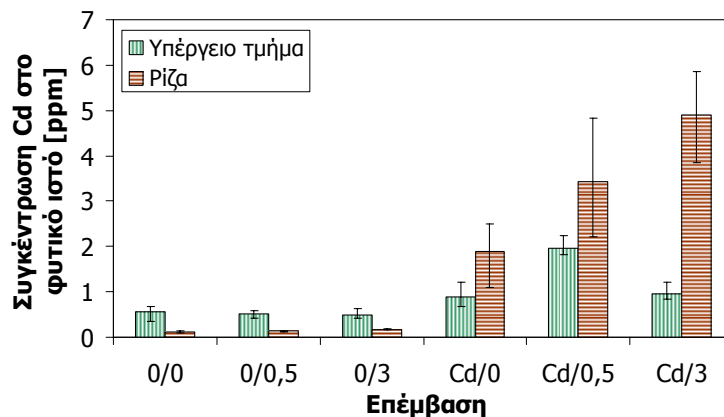
Η αύξηση της αλατότητας έχει βρεθεί να αυξάνει την φυτοδιαθεσιμότητα των μετάλλων και κατά συνέπεια να επιδρά θετικά στην συσσώρευση των μετάλλων στους φυτικούς ιστούς. Πιο συγκεκριμένα η αύξηση της συγκέντρωσης NaCl στο έδαφος επηρεάζει τις βιοδιαθέσιμες ποσότητες του καδμίου πρώτον γιατί τα ιόντα νατρίου Na^+ ανταγωνίζονται τα Cd^{+2} για τις θέσεις ανταλλαγής κατιόντων στα σωματίδια του εδάφους (Bingham et al., 1983, Greger et al., 1995, Ghosh and Singh, 2005, Wahla and Kirkham, 2007), αν και ο μηχανισμός αυτός δεν θεωρείται να κατέχει σημαντικό ρόλο στην αύξηση του βιοδιαθέσιμου Cd αφού το νάτριο ως μονοσθενές κατιόν είναι σχετικά μη αποδοτικό στην αντικατάσταση δισθενών κατιόντων όπως το κάδμιο (Smolders et al., 1998, Norvell et al., 2000) και δεύτερον και σημαντικότερο γιατί τα ιόντα χλωρίου Cl^- μειώνουν την προσρόφηση του Cd στα σωματίδια του εδάφους λόγω σχηματισμού διαλυτών συμπλόκων του καδμίου με το χλώριο, με συνέπεια την αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στο εδαφικό διάλυμα (Bingham et al., 1983, Li et al., 1994, Greger et al., 1995, Martin and Kaplan, 1998, Smolders et al., 1998, Norvell et al., 2000, Weggler-Beaton et al., 2000, Weggler et al., 2004, Adriano et al., 2004, Amini et al., 2005, Kirkham, 2006, Wahla and Kirkham, 2007). Επιπλέον, το εδαφικό pH αποτελεί ίσως τον σημαντικότερο παράγοντα που επηρεάζει την φυτοδιαθεσιμότητα του καδμίου

αφού οι μεταβολές του επηρεάζουν τις χημικές μορφές του μετάλλου και σε αρκετές μελέτες έχει βρεθεί ότι αύξηση του pH οδηγεί σε υψηλότερη προσρόφηση του μετάλλου στα σωματίδια του εδάφους, ενώ σε όξινα εδάφη ευνοείται η εκρόφηση του από τις θέσεις πρόσδεσης λόγω ανταγωνισμού του με τα υδρογονοκατιόντα (Tyler and McBride, 1982, Naidu et al., 2003, Kuo et al., 2004, Tsadilas et al., 2005, Kirkham, 2006). Επίσης, η οργανική ουσία έχει βρεθεί να επηρεάζει την ρόφηση του Cd στο έδαφος όμως γενικά η αλληλεπίδραση της με τα μέταλλα εξαρτάται από το pH του εδάφους και κατά συνέπεια η κινητικότητα των μετάλλων εν κατακλείδι εξαρτάται από το pH (Walker et al., 2003, Adriano et al., 2004, Basta et al., 2005, Clemente et al., 2005).

Στην παρούσα μελέτη λοιπόν, το έδαφος το οποίο χρησιμοποιήθηκε ήταν οργανικό υπόστρωμα (μείγμα άσπρης και μαύρης τύρφης, compost και ινών ξύλου) (Blumenerde, Capriflor, Γερμανία), και για αυτό το λόγο η μέτρηση της οργανικής ουσίας σε όλα τα δείγματα βρέθηκε 58-60% (Πίνακας 5.7), ενώ το ολικό CaCO_3 βρέθηκε μηδενικό. Επιπλέον, έλαβε χώρα μέτρηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας μιας και μία κατά προσέγγιση ποσοτική εκτίμηση του συνόλου των υδατοδιαλυτών αλάτων του εδάφους δύναται να επιτευχθεί με τον προσδιορισμό της ηλεκτρικής αγωγιμότητας του υδατικού εκχυλίσματος του εδάφους (Αλεξιάδης, 1980). Στην παρούσα μελέτη λοιπόν, η αύξηση της εδαφικής αλατότητας με την προσθήκη υδατικών διαλυμάτων NaCl ως νερό άρδευσης φαίνεται από την αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας των δειγμάτων εδάφους από 1,3-2 για τις επεμβάσεις που ποτίζονταν με νερό βρύσης (0/0 και Cd/0), σε 3,2-3,6 για τις επεμβάσεις με διάλυμα NaCl 0,5% (0/0,5 και Cd/0,5) και 9,3-12 mS/cm για τις επεμβάσεις με 3% NaCl (0/3 και Cd/3). Επιπλέον, το pH του εδάφους όπως δίδεται και στον Πίνακα 5.7, φαίνεται να μειώνεται ελαφρώς με την αύξηση της συγκέντρωσης του χλωριούχου νατρίου γεγονός αναμενόμενο λόγω του ότι ως γνωστό η περιεκτικότητα του εδάφους σε άλατα όπως το NaCl, το NaSO_4 ή το $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ επηρεάζει το pH και μάλιστα όσο αυξάνει η συγκέντρωση των αλάτων τόσο μειώνεται προοδευτικά το pH (Thomas, 1996). Με βάση λοιπόν αυτά τα χαρακτηριστικά θα αναμένονταν αύξηση της φυτοδιαθεσιμότητας του καδμίου ανάμεσα στις επεμβάσεις με αυξανόμενη αλατότητα. Από τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων του καδμίου με την μέθοδο DTPA (Πίνακας 5.7) ίσως διαφαίνεται μια τέτοια τάση αφού για την επέμβαση με μηδενική αλατότητα το φυτοδιαθέσιμο Cd μετρήθηκε 23,7 ppm, στην επέμβαση με 0,5% αλατότητα μετρήθηκε 27,9 ppm και στην επέμβαση με 3% αλατότητα μετρήθηκε 29,7 ppm, όμως οι τιμές αυτές δείχνουν ότι, και σε αυτή την περίπτωση, ολόκληρη η ποσότητα του μετάλλου που προστέθηκε στο έδαφος καλλιέργειας ήταν διαθέσιμη για πρόσληψη από τα φυτά, γεγονός αμφισβητήσιμο, οπότε και σε αυτό το πέραμα επιβεβαιώνεται πιθανώς η ακαταλληλότητα της μεθόδου DTPA για τον προσδιορισμό της φυτοδιαθέσιμης συγκέντρωσης του καδμίου παρόλο που οι μέθοδοι εκχύλισης με ένα εκχυλιστικό αντιδραστήριο όπως το DTPA συνήθως επιλέγονται για τον προσδιορισμό ενός συγκεκριμένου μηχανισμού απελευθέρωσης των μετάλλων από τα εδάφη όπως είναι η εκρόφηση με αύξηση της αλατότητας (Rauret, 1998).

5.1.2.3. Συσσώρευση καδμίου στο φυτικό ιστό

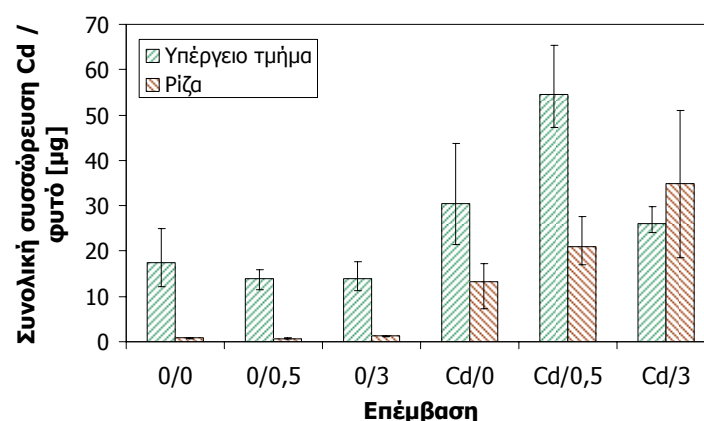
Τα αποτελέσματα από αυτό το πείραμα προτείνουν ότι η αυξανόμενη αλατότητα αυξάνει τη συσσώρευση καδμίου στις ρίζες του *Atriplex halimus* όπως παρουσιάζεται στο



Σχήμα 5.8. Συγκέντρωση καδμίου [mg/kg ξηρού βάρους] στα τμήματα του φυτού *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Σχήμα 5.8, φθάνοντας το ποσό των 4,9 ppm στην επέμβαση με την εδαφική αλατότητα 3% (Cd/3). Αντίστοιχα, και η συσσώρευση στα υπέργεια τμήματα αυξάνεται με αύξηση της αλατότητας από 0 σε 0,5% από 0,9 στα 2 ppm, όμως παρατηρείται ότι περαιτέρω αύξηση της αλατότητας δεν έχει τα ανάλογα αποτελέσματα. Παρόλα αυτά οι συγκεντρώσεις του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα που θεωρούνται τοξικές για το φυτό και οι οποίες είναι 5 - 30 ppm ξηρού βάρους, ούτε σε αυτή την περίπτωση ξεπεράστηκαν (Orcutt and Nilsen, 2000).

Το ίδιο συμπέρασμα εξάγεται με την εξέταση της συνολικής απομάκρυνσης του καδμίου (φυτοσυσσώρευση) από το φυτό όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.9. Στην επέμβαση με μηδενική εδαφική αλατότητα η συνολική συσσώρευση του καδμίου στις ρίζες του φυτού είναι 13,1 μg (Cd/0), στην επέμβαση με εδαφική αλατότητα 0,5% (Cd/0,5) η



Σχήμα 5.9. Συνολικό ποσό Cd στα φυτικά μέρη του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

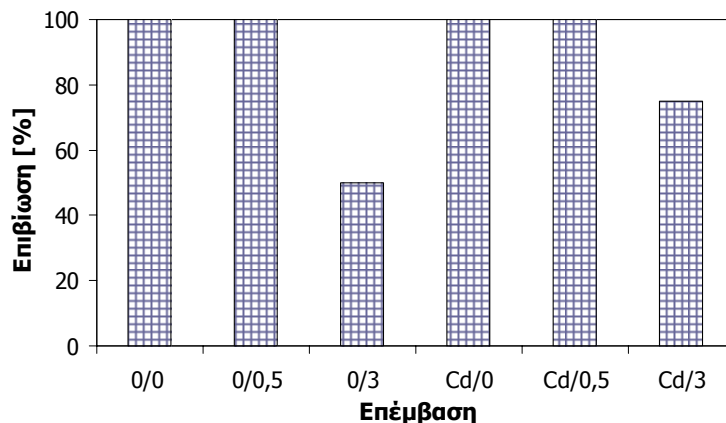
συσσώρευση είναι 21 μg ενώ για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την αλατότητα 3% (Cd/3) η συσσώρευση είναι 34,9 μg . Ως εκ τούτου, είναι προφανές ότι το συνολικό Cd που συσσωρεύεται στις ρίζες του φυτού αυξάνεται κατά τουλάχιστον 2,5 φορές με αύξηση της εδαφικής αλατότητας από 0 σε 3%. Στην περίπτωση των υπέργειων τμημάτων, η συνολική συσσώρευση αυξάνεται με προσθήκη χαμηλών συγκεντρώσεων χλωριούχου νατρίου (Cd/0,5), όμως με προσθήκη υψηλών συγκεντρώσεων NaCl (Cd/3) η συνολική συσσώρευση παρουσιάζεται συγκρίσιμη με τα αποτελέσματα της επέμβασης με μηδενική εδαφική αλατότητα (Cd/0).

Η αλατότητα έχει βρεθεί να επιδρά θετικά στην συσσώρευση των μετάλλων στους φυτικούς ιστούς. Μελέτες σε άλλα φυτά έχουν δείξει ότι υπό συνθήκες αλατότητας παρατηρούνται αυξημένες συγκεντρώσεις καδμίου σε φυτά όπως το σιτάρι (*Triticum aestivum* L.) (Norvell et al., 2000, Weggler-Beaton et al., 2000, Weggler et al., 2004), το κριθάρι (*Hordeum vulgare* L.) (Wahla and Kirkham, 2007), τον ηλιάνθο (*Helianthus annuus* L.) (Li et al., 1994), το παντζάρι (*Beta vulgaris* L.) (Bingham et al., 1983, Smolders et al., 1998, Weggler-Beaton et al., 2000) και το *Potamogeton pectinatus* (Greger et al., 1995) και έχει υποστηριχθεί ότι το γεγονός αυτό οφείλεται στην μεγαλύτερη κινητικότητα/βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος ή/και στην μεγαλύτερη πρόσληψη νερού (λόγω της αυξανόμενης διαπνοής), οδηγώντας σε μια μεγαλύτερη ροή των μετάλλων στα φυτά (Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003). Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι η αλατότητα αποτελεί ένα βασικό παράγοντα στη μετακίνηση των μετάλλων από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα των φυτών (Fitzgerald et al., 2003), όμως στην παρούσα μελέτη δεν μπορεί να υποστηριχθεί με βεβαιότητα μια ανάλογη πρόταση αφού ο λόγος συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας που για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε μη αλατούχο περιβάλλον (Cd/0) είναι 0,5, για την επέμβαση με την αλατότητα 0,5% (Cd/0,5) αυξάνεται στο 0,62 αλλά για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την αλατότητα 3% (Cd/3) μειώνεται στο 0,42.

5.1.2.4. Επίδραση του καδμίου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

Όπως προαναφέρθηκε, το κάδμιο προκαλεί ένα εύρος διαταραχών και βλαβών στα φυτά όμως και η αλατότητα ως παράγων καταπόνησης προκαλεί διάφορες διαταραχές στα φυτικά κύτταρα αλλά και σε ολόκληρο το φυτό. Η καταπόνηση από την αλατότητα προέρχεται από ένα αριθμό επιβλαβών διεργασιών περιλαμβανομένων της τοξικής δράσης των ιόντων νατρίου και χλωρίου, της ελλιπής πρόσληψης θρεπτικών, της μεταβολής του περιεχομένου σε νερό στους φυτικούς ιστούς και δευτερεύουσες καταπονήσεις όπως οξειδωτική καταπόνηση που συνδέεται με παραγωγή τοξικών ενεργών μορφών οξυγόνου όπως θα αναπτυχθεί και στην επόμενη παράγραφο (Bajji et al., 1998, Καραμπουρνιώτης, 2003). Όμως όπως έχει ήδη συζητηθεί στο Κεφάλαιο 3, το *Atriplex halimus* L. είναι ένα φυτό που προσαρμόζεται πολύ καλά σε άνυδρες και επιβαρυνμένες με αλατότητα περιοχές και η ανθεκτικότητά του στην αλατότητα αποδίδεται στην παρουσία αλατωδών συσσωρευτικών τριχιδίων στην επιφάνεια των φύλλων του οι οποίοι αποτελούνται από κυστικά κύτταρα που συσσωρεύουν το αλάτι ενώ στην συνέχεια θραύονται απελευθερώνοντας το αλάτι το οποίο κρυσταλλώνεται στην επιφάνεια των φύλλων (Mozafar and Goodin, 1970, Simon et al., 1994, Bajji et al., 1998).

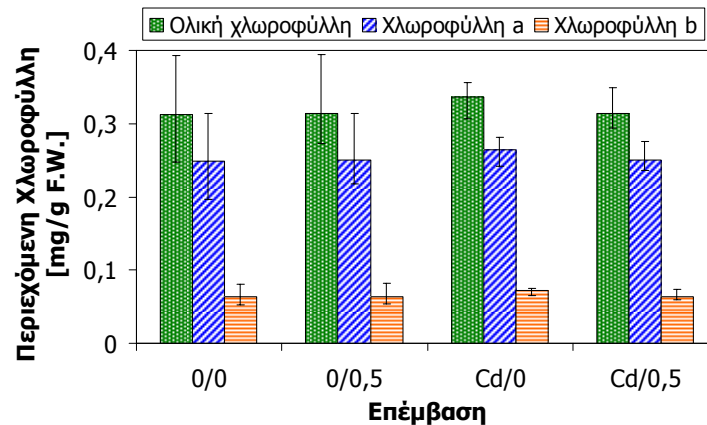
Κατά την διάρκεια της παρούσας μελέτης από τον οπτικό έλεγχο των μορφολογικών χαρακτηριστικών του *Atriplex halimus* δεν παρατηρήθηκε καμία ορατή ένδειξη τοξικότητας από το κάδμιο όπως για παράδειγμα μείωση του μήκους των ριζών ή αλλαγή του χρώματος των άκρων των ριζών. Παρατηρήθηκαν όμως συμπτώματα τοξικότητας από την αλατότητα. Τα φυτά που καλλιεργήθηκαν στο έδαφος με την χαμηλή εδαφική αλατότητα 0,5% δεν παρουσίασαν καμία οπτική διαφορά από τα φυτά των επεμβάσεων με μηδενική εδαφική αλατότητα, όμως τα φυτά των επεμβάσεων με την υψηλή αλατότητα 3% μετά την έβδομη πειραματική εβδομάδα ήταν εμφανώς πιο αδύναμα, ενώ η διάμετρος του βλαστού τους ήταν μικρότερη και το φύλλωμα τους ήταν σαφώς πιο καταπονημένο συγκρινόμενα με τα φυτά χωρίς προσθήκη άλατος. Ενώ επιπλέον, όπως παρουσιάζεται και στο Σχήμα 5.10 που δίδεται η επί τοις εκατό επιβίωση των φυτών ύστερα από 10 πειραματικές εβδομάδες, παρατηρείται ότι η επιβίωση των φυτών που καλλιεργήθηκαν με εδαφική αλατότητα 3% (0/3 και Cd/3) παρουσιάζεται μειωμένη. Σ' αυτό το σημείο όμως αξίζει να τονιστεί ότι παρότι η επιβίωση των φυτών



Σχήμα 5.10. Ποσοστό [%] φυτών *Atriplex halimus* που επιβίωσαν σε καλλιέργεια εδάφους ρυπασμένου με 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες για 10 εβδομάδες ($n=4$).

Atriplex που καλλιεργήθηκαν με αλατότητα 3% παρουσιάστηκε μειωμένη, σε σύγκριση με την επιβίωση των άλλων υπό εξέταση φυτών στην παρούσα μελέτη *Nerium oleander* και *Tamarix smyrnenis* που καλλιεργήθηκαν για ίδιο χρονικό διάστημα σε εδαφικές αλατότητα 3% και των οποίων η επιβίωση παρουσιάστηκε μηδενική δηλαδή κανένα φυτό δεν επέζησε μετά από 10 εβδομάδες σε εδαφική αλατότητα 3%, φανερώνεται η μεγαλύτερη ανθεκτικότητα του *A. halimus* στην καταπόνηση από την αλατότητα.

Τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών του *A. halimus* δεν βρέθηκαν να μεταβάλλονται λόγω του καδμίου ή της χαμηλής αλατότητας, ενώ πρέπει να σημειωθεί ότι λόγω της μεγάλης καταπόνησης που υπέστησαν τα φυτά των επεμβάσεων με 3% αλατότητα, σε αυτά δεν πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των χλωροφυλλών. Οι συγκεντρώσεις, λοιπόν, της ολικής χλωροφύλλης, της χλωροφύλλης *a* και *b* δεν επηρεάστηκαν σημαντικά ούτε από την χαμηλή εδαφική αλατότητα ούτε από την παρουσία του Cd όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.11. Μόνο οι συγκεντρώσεις στα φυτά της επέμβασης Cd/0 φαίνονται ελαφρά αυξημένες όμως οι διαφορές δεν είναι σημαντικές.



Σχήμα 5.11. Περιεχόμενη χλωροφύλλη [mg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

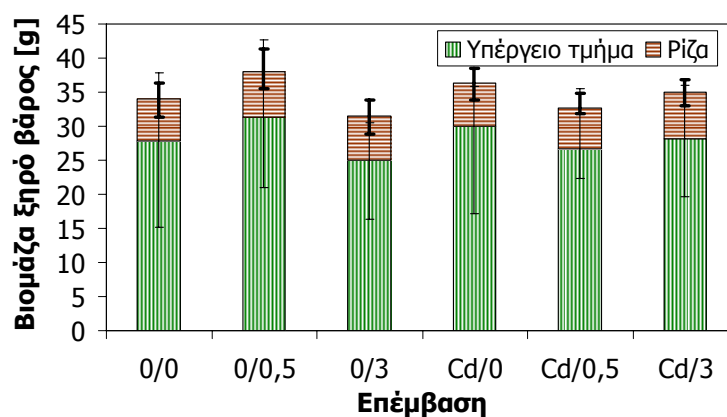
Επιπρόσθετα, από τον έλεγχο της αναλογίας των χλωροφυλλών *a* και *b* (Πίνακας 5.8) παρατηρείται ότι η αλατότητα παρότι δεν μεταβάλλει τα ποσά της ολικής χλωροφύλλης ίσως αυξάνει ελαφρώς την αναλογία *a/b* (επεμβάσεις 0/0,5 και Cd/0,5), ενώ επιπλέον παρατηρείται ότι η επίδραση μόνο του καδμίου (Cd/0) είναι αρνητική στην αναλογία εκφράζοντας ίσως το ότι η αναλογία της χλωροφύλλης *a/b* είναι ευαίσθητη στο μέταλλο από ότι στην συνέργεια του με την αλατότητα.

Πίνακας 5.8. Αναλογία χλωροφύλλης *a/b* στο *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.

Επεμβάση	Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i>
0/0	3,87
0/0,5	3,92
Cd/0	3,70
Cd/0,5	3,91

Επιπλέον, η αύξηση των φυτών που εκφράζεται ως βιομάζα και παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.12, δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την παρουσία του καδμίου στο έδαφος. Αντ' αυτού, από την σύγκριση μεταξύ των φυτών των επεμβάσεων με 0% αλατότητα (0/0 και Cd/0) και εκείνων με 3% (0/3 και Cd/3) η βιομάζα παρουσιάζεται ελαφρώς αυξημένη που, όπως προαναφέρθηκε, ίσως οφείλεται στην προσθήκη αζώτου μιας και το κάδμιο προστέθηκε ως νιτρικό άλας. Μόνο από την σύγκριση των επεμβάσεων με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Cd/0,5) η βιομάζα παρουσιάζεται μειωμένη με την προσθήκη του καδμίου όμως και σε αυτή την περίπτωση δεν είναι σε χαμηλότερα επίπεδα από την

βιομάζα των φυτών που καλλιεργήθηκαν χωρίς την προσθήκη παραγόντων καταπόνησης (0/0). Επιπλέον, είναι εμφανής η δυσμενής επιρροή της υψηλής αλατότητας στα φυτά της επέμβασης ελέγχου με 3% αλατότητα (0/3), ενώ αντίθετα παρατηρείται μια αύξηση της βιομάζας των φυτών που καλλιεργήθηκαν σε εδαφική αλατότητα 0,5% (0/0,5) επιβεβαιώνοντας της αλοφυτική φύση του φυτού. Ανάλογες παρατηρήσεις για το υπό εξέταση φυτό σε υδροπονική καλλιέργεια του σε αυξανόμενες αλατότητες από 150 έως 600 mM, έχουν αναφερθεί στην διεθνή βιβλιογραφία, όπου ο σχετικός ρυθμός αύξησης (relative growth rate) αυξήθηκε ως απάντηση στην αλατότητα συγκέντρωσης 150 mM δηλαδή με λίγο μεγαλύτερη από την 0,5% αλατότητα που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, ενώ σε υψηλότερες αλατότητες παρουσίασε σταδιακή μείωση (Bajji et al., 1998).

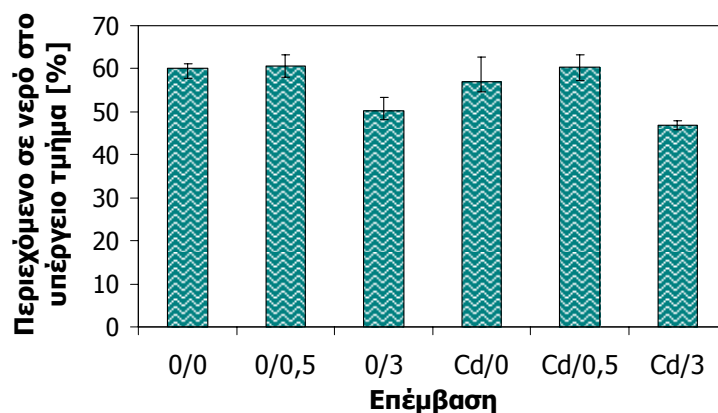


Σχήμα 5.12. Βιομάζα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Όπως προαναφέρθηκε, το κάδμιο μπορεί να επηρεάσει το περιεχόμενο σε νερό των φυτικών ιστών (Vassilev et al., 1997, Zhou and Qiu, 2005). Στην παρούσα μελέτη όμως, το περιεχόμενο σε νερό στα υπέργεια τμήματα των φυτών *Atriplex* δεν βρέθηκε να επηρεάζεται από την παρουσία του καδμίου από την σύγκριση μεταξύ των φυτών των επεμβάσεων με 0% αλατότητα (0/0 και Cd/0), με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Cd/0,5) αλλά ακόμα και εκείνων με 3% (0/3 και Cd/3) όπου οι διαφορές είναι μικρές (Σχήμα 5.13), υπονοώντας ότι η τοξικότητα από το μέταλλο δεν προκαλεί μια δευτερεύουσα υδατική καταπόνηση, ενώ ανάλογη συμπεριφορά του υπό εξέταση φυτού κατά την έκθεση του σε Cd έχει αναφερθεί και σε μελέτες άλλων ερευνητών (Lutts et al., 2004). Επιπλέον, και η αλατότητα έχει αποδειχτεί ότι προκαλεί στα φυτά μια μορφή υδατικής καταπόνησης (οσμωτική καταπόνηση) με την έννοια ότι τόσο η υδατική όσο και η καταπόνηση αλατότητας επηρεάζουν δυσμενώς ένα κοινό παράγοντα, το οσμωτικό δυναμικό (Καραμπουρνιώτης, 2003). Όπως παρουσιάζεται στο σχήμα, το περιεχόμενο σε νερό των υπέργειων τμημάτων των φυτών που καλλιεργήθηκαν σε εδαφική αλατότητα 0,5% (0/0,5 και Cd/0,5) δεν παρατηρείται να επηρεάζεται από την χαμηλή αλατότητα επιβεβαιώνοντας την ανθεκτικότητα του φυτού στην καταπόνηση αλατότητας, ενώ στην μεγαλύτερη εδαφική αλατότητα 3% (0/3 και Cd/3) παρατηρείται μείωση του περιεχομένου σε νερό όπως ήταν αναμενόμενο λόγω της τόσο υψηλής αλατότητας που

προσεγγίζει την αλατότητα του θαλασσινού νερού και επιπλέον μπορεί να συνδεθεί και με την παρατηρούμενη μείωση της βιομάζας των φυτών αυτών. Ανάλογα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και από άλλους ερευνητές, όπως για παράδειγμα στην μελέτη που προαναφέρθηκε, με υδροπονική καλλιέργεια του υπό εξέταση φυτού σε αλατότητες από 150 έως 600 mM, όπου το περιεχόμενο σε νερό στα φύλλα παρέμεινε ανεπηρέαστο σε δόσεις NaCl μέχρι και 300 mM ενώ στις μεγαλύτερες παρουσίασε μείωση (Bajji et al., 1998). Ενώ σε μια δεύτερη μελέτη με υδροπονική καλλιέργεια του φυτού σε αλατότητα 500 mM για 48h το περιεχόμενο σε νερό των υπέργειων τμημάτων βρέθηκε ελαφρώς αυξημένο επιβεβαιώνοντας την ανθεκτικότητα του φυτού (Migahid, 2003).

Όλες οι παραπάνω παρατηρήσεις, λοιπόν, εξεταζόμενες από κοινού δείχνουν ότι το *A. halimus* είναι ένα φυτό ιδιαίτερα ανθεκτικό στο κάδμιο και την αλατότητα.

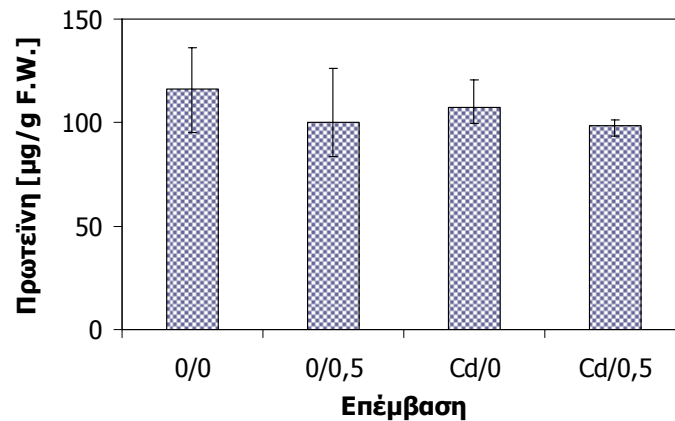


Σχήμα 5.13. Περιεχόμενο σε νερό [%] του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδαφούς σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσο όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

5.1.2.5. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού

Όπως έχει ήδη συζητηθεί, ακόμα και στις καλύτερες συνθήκες στις οποίες θα μπορούσε να ζήσει ένα φυτό, πολλές μεταβολικές διεργασίες παράγουν ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS), όμως η παραγωγή αυτή αυξάνεται ως αποτέλεσμα όλων των τύπων βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων (Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003). Το κάδμιο λοιπόν και η αλατότητα αποτελούν παράγοντες καταπόνησης των φυτών προκαλώντας τους οξειδωτική καταπόνηση λόγω αύξησης της παραγωγής ROS, με άμεση συνέπεια την αποδόμηση σημαντικών βιομορίων όπως οι πρωτεΐνες (Davies, 1987, Verma and Dubey, 2003, Zhu et al., 2004).

Από τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των πρωτεϊνών στα φύλλα του *Atriplex halimus* που δίδονται στο Σχήμα 5.14, προκύπτει ότι οι πρωτεΐνες επηρεάζονται ελαφρώς από το μέταλλο και την αλατότητα, ενώ πρέπει να σημειωθεί ότι λόγω της μεγάλης καταπόνησης που υπέστησαν τα φυτά των επεμβάσεων με 3% αλατότητα, σε αυτά δεν πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των πρωτεϊνών αλλά και ούτε της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης όπως θα παρουσιαστεί στην συνέχεια. Η επίδραση



Σχήμα 5.14. Περιεχόμενη πρωτεΐνη [μg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

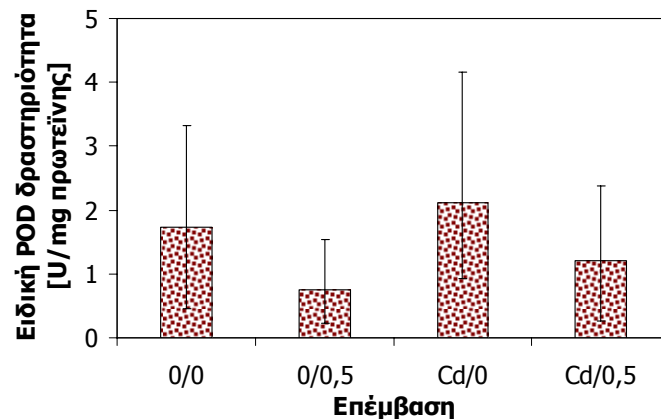
του καδμίου παρατηρείται από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με μηδενική εδαφική αλατότητα (0/0 και Cd/0) όπου παρουσιάζεται μια μικρή μείωση στις πρωτεΐνες κατά 7,6% και από την σύγκριση των επεμβάσεων με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Cd/0,5) όπου παρατηρείται μείωση κατά 1,6%, όμως δεν υπάρχει ουσιαστική διαφορά μεταξύ των τιμών. Αντίθετα η επίδραση της αλατότητας παρουσιάζεται να έχει μια μεγαλύτερη αρνητική επίδραση στις πρωτεΐνες αφού από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων ελέγχου (0/0 και 0/0,5) και μεταξύ των επεμβάσεων με κάδμιο (Cd/0 και Cd/0,5) παρατηρείται μείωση κατά 13,8 και 7,8%, αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με μελέτες άλλων ερευνητών, όπου σε υδροπονική καλλιέργεια του ίδιου φυτού με αυξανόμενες συγκεντρώσεις χλωριούχου νατρίου μέχρι και τα 600 mM, παρατήρησαν μείωση των πρωτεϊνών στις ρίζες του φυτού σε όλες τις επεμβάσεις, όμως στα φύλλα παρατηρήθηκε μια ελάχιστη τιμή στην συγκέντρωση NaCl 300 mM, ενώ η συγκέντρωση των πρωτεϊνών στην επέμβαση με 600 mM NaCl βρέθηκε μόνο ελαφρώς μικρότερη από την αντίστοιχη των φυτών ελέγχου (Bajji et al., 1998).

Επιπλέον, είναι γνωστό ότι το φυτό για να ανταπεξέλθει των οξειδωτικών συνεπειών που επιφέρει η αυξημένη παραγωγή των ROS ενισχύει την δραστηριότητα του αντιοξειδωτικού ενζυμικού αμυντικού του μηχανισμού, συμπεριλαμβανομένης και της υπεροξειδάσης, ώστε να εξουδετερώσει την παραγωγή αυτή (Chaoui et al., 1997, Shah et al., 2001, Verma and Dubey, 2003).

Τα αποτελέσματα από το παρόν πείραμα υποστηρίζουν ότι η POD δραστηριότητα στα φύλλα του φυτού αυξήθηκε λόγω της παρουσίας του καδμίου (Σχήμα 5.15) αφού από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με μηδενική εδαφική αλατότητα (0/0 και Cd/0) και με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Cd/0,5) παρατηρείται αυξημένη κατά 23 και 60%, αντίστοιχα, επιβεβαιώνοντας και σε αυτή την περίπτωση ότι το κάδμιο προκαλεί αύξηση της δραστηριότητας του αντιοξειδωτικού ενζύμου προφανώς για να συμβάλει στην εξουδετέρωση των παραγόμενων ενεργών μορφών οξυγόνου.

Ανάλογες αναφορές για την αύξηση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης λόγω του καδμίου έχουν γίνει στο *Phaseolus vulgaris* L. (φασολιά) (Chaoui et al., 1997, Smeets et al., 2005) στο *Bacopa monnieri* L. (Mishra et al., 2006) στο

Capsicum annuum L. (πιπεριά) (León et al., 2002), στο σιτάρι (Milone et al., 2003) και στο ρύζι (Shah et al., 2001).



Σχήμα 5.15. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Όμως και η αλατότητα ως αβιοτικός παράγοντας καταπόνησης προκαλεί στα φυτά οξειδωτική καταπόνηση σε μεταβολικό στάδιο λόγω της δημιουργίας ROS (Hernández et al., 1999, Zhu, 2000, Rios-Gonzalez et al., 2002, Καραμπουρνιώτης, 2003). Όμως η επίδραση της αλατότητας είναι μια πολύπλοκη διεργασία η οποία εξαρτάται από το είδος και την συγκέντρωση του άλατος, το γενότυπο του φυτού, το στάδιο ανάπτυξης και τις περιβαλλοντικές συνθήκες, ενώ ο μηχανισμός με τον οποίο η αλατότητα επηρεάζει τις αντιοξειδωτικές αποκρίσεις του φυτού δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητός. Μπορεί να οφείλεται είτε στην επίδραση της τοξικότητας των ιόντων χλωρίου στο φωτοσύνστημα II, είτε στην αλλαγή της ακεραιότητας της μεμβράνης που προκαλείται από την υψηλή αναλογία ιόντων νατρίου προς ιόντων ασβεστίου (Rios-Gonzalez et al., 2002). Όμως έχει υποστηριχθεί ότι η μέτρηση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την αξιολόγηση της έντασης της καταπόνησης από την αλατότητα (Mittal and Dubey, 1991, Verma and Dubey, 2003). Για παράδειγμα, αύξηση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας έχει αναφερθεί στον αραβόσιτο και τον ηλιάνθο (Rios-Gonzalez et al., 2002), στην αγγουριά (Zhu et al., 2004), στην πεπονιά (Rodríguez-López et al., 2000), στο ρύζι (Fadzilla et al., 1997), στο μπιζέλι (Hernández et al., 1999) αλλά και σε αρκετά άλλα φυτικά είδη.

Στην παρούσα εργασία όμως, όπως παρατηρείται στο σχήμα, η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης στα φύλλα του *Atriplex halimus* παρουσιάζεται μειωμένη με την επίδραση της αλατότητας. Από την σύγκριση μεταξύ των ομάδων ελέγχου με διαφορετική εδαφική αλατότητα (0/0 και 0/0,5) παρατηρείται μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου κατά 56%, ενώ και από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με κάδμιο (Cd/0 και Cd/0,5) παρατηρείται ανάλογη μείωση κατά 43%. Επιπρόσθετα, παρατηρείται ότι στα φυτά της επέμβασης με κάδμιο και εδαφική αλατότητα 0,5% (Cd/0,5) η τάση για αυξημένη

ενζυμική δραστηριότητα λόγω του μετάλλου αντισταθμίζεται από την τάση για μείωση της δραστηριότητας από την αλατότητα παρόλο που η συγκέντρωση του καδμίου στα υπέργεια τμήματα των φυτών της συγκεκριμένης επέμβασης ήταν υψηλότερη από ότι τα φυτά που εκτέθηκαν μόνο σε κάδμιο (Cd/0) (Σχήμα 5.8).

Όμως τα αποτελέσματα αυτά για το *A. halimus* είναι σε συμφωνία με μελέτες του ίδιου φυτού από άλλους ερευνητές, όπου και εδώ παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του φυτού με έκθεση του σε θρεπτικό διάλυμα με 150 mM NaCl (δηλαδή σε συγκεντρώσεις αλατότητας λίγο μεγαλύτερες από την συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη), ενώ με περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του NaCl μέχρι και τα 600 mM παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση της δραστηριότητας καταλήγοντας όμως σε τιμές δραστηριότητας ανάλογες με αυτές των φυτών ελέγχου, οδηγώντας τους συγγραφείς στο συμπέρασμα ότι στο συγκεκριμένο φυτό οι υπεροξειδάσες της γουαϊακόλλης δεν εμπλέκονται άμεσα στην ανθεκτικότητα του φυτού στην αλατότητα τουλάχιστον σε επίπεδο φύλλων (Bajji et al., 1998).

5.1.3. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις μολύβδου

5.1.3.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Το πείραμα αυτό πραγματοποιήθηκε με κύριο στόχο να ελεγχθεί η ικανότητα του *Atriplex halimus* να συσσωρεύει τον μόλυβδο στο σώμα του. Για τον λόγο αυτό, κατά την έναρξη του πειράματος, έντεκα μηνών φυτά *A. halimus* L. που είχαν αναπτυχθεί σε προμετρημένο οργανικό υπόστρωμα 670 - 700 g ξηρού βάρους (βλ. Παράγραφο 4.1.1) χωρίστηκαν σε 4 πειραματικές ομάδες με 6 φυτά ανά ομάδα – επέμβαση έτσι ώστε κάθε ομάδα - επέμβαση να έχει περίπου ίση μέση βιομάζα. Η ρύπανση του εδάφους με μόλυβδο πραγματοποιήθηκε τεχνητά με προσθήκη στην ριζόσφαιρα υδατικού διαλύματος $Pb(NO_3)_2$ σε μια δόση στην αρχή του πειράματος σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.9). Οι συγκεντρώσεις του Pb στο έδαφος που επιλέχθηκαν για την διεξαγωγή αυτού του πειράματος ήταν 800, 1600 και 3200 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους, δηλαδή σε συγκεντρώσεις διπλάσιες, τετραπλάσιες και οκταπλάσιες των ανώτερων οριακών τιμών του μετάλλου στο έδαφος που θεωρούνται τοξικές για τα φυτά και οι οποίες είναι 100 - 400 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους (Orcutt and Nilsen, 2000).

Πίνακας 5.9. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Συγκέντρωση Pb που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]
1	0
2	800
3	1600
4	3200

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε μέσα σε γυάλινο θερμοκήπιο για 10 εβδομάδες (Σεπτέμβρη - Νοέμβρη). Η φωτοπερίοδος κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν 12 – 14 ώρες (μεγαλύτερη στις πρώτες πειραματικές εβδομάδες) ενώ μετρήσεις της θερμοκρασίας και της υγρασίας λαμβάνονταν τρεις φορές κατά τη διάρκεια της ημέρας στις 9:30 π.μ., στις 14:30 μ.μ. και στις 18:30 μ.μ. ενώ κατά τη διάρκεια της νύχτας λαμβάνονταν μετρήσεις των ελάχιστων και μέγιστων τιμών της θερμοκρασίας (Πίνακας 5.10). Φωτογραφίες του πειράματος παρέχονται στο Παράρτημα Ι.

Τα φυτά ποτίζονταν κάθε 2 ή 3 ημέρες ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τις ανάγκες των φυτών, με περίπου 200 mL νερού βρύσης προκειμένου να αποφευχθεί πιθανή εκροή του μετάλλου με το νερό από τις γλάστρες ενώ επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν και πλαστικά πιάτα κάτω από κάθε γλάστρα.

Καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος λάμβανε χώρα οπτική παρατήρηση και καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών των φυτών έτσι ώστε να εντοπιστούν

οποιαδήποτε συμπτώματα τοξικότητας του μετάλλου, ενώ επίσης μια φορά την εβδομάδα πραγματοποιούνταν μετρήσεις του ύψους των υπέργειων τμημάτων προκειμένου να αξιολογηθεί και ποσοτικά η κατάσταση της υγείας των φυτών. Με την λήξη των 10 εβδομάδων έκθεσης στον μόλυβδο πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός της συγκεντρώσεως του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα και στις ρίζες του φυτού. Επιπλέον, έλαβαν χώρα μετρήσεις των ολικών και φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων του μολύβδου στο έδαφος οι οποίες υποστηρίχθηκαν και από μετρήσεις των χαρακτηριστικών του εδάφους καλλιέργειας, με δειγματοληψία που πραγματοποιήθηκε με την λήξη της πρώτης πειραματικής εβδομάδας. Τέλος έλαβαν χώρα μετρήσεις της βιομάζας, της περιεχόμενης χλωροφύλλης και του περιεχομένου σε νερό για τον έλεγχο της επίδρασης του Pb στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού και επιπρόσθετα έλαβαν χώρα μετρήσεις των πρωτεϊνών και της δραστηριότητας του ενζύμου υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης στα φύλλα του φυτού για τον έλεγχο της οξειδωτικής καταπόνησης που του επιφέρει το μέταλλο. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για όλες τις παραπάνω μετρήσεις δίδονται στην Παράγραφο 4.1.3.

Πίνακας 5.10. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	14,5-40,5	29,8	37-78	60,8
Μεσημέρι	14,5-47	29,5	27-78	48,7
Απόγευμα	13-29,5	19,3	49-77,5	64,8
Νύχτα	7,5-21	15,3	-	-

5.1.3.2. Χαρακτηρισμός εδάφους

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο, οι συγκεντρώσεις μολύβδου που προστέθηκαν για την ρύπανση του εδάφους ήταν 800, 1600 και 3200 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους. Από την μέτρηση των ολικών συγκεντρώσεων του Pb στο έδαφος καλλιέργειας κάθε φυτού μια εβδομάδα μετά την προσθήκη του στο έδαφος (Πίνακας 5.11) παρατηρούνται διαφοροποιήσεις μεταξύ των προστιθέμενων και των μετρούμενων συγκεντρώσεων όπως επίσης και των μετρούμενων συγκεντρώσεων μεταξύ τους, γεγονός φανερό από το εύρος των τιμών στον πίνακα. Στην επέμβαση όπου προστέθηκαν 800 ppm Pb η μέση τιμή των μετρούμενων συγκεντρώσεων βρέθηκε 553 ppm, στην επέμβαση που προστέθηκαν 1600 ppm Pb η μέση μετρούμενη τιμή βρέθηκε 936 ppm και στην επέμβαση με τα 3200 ppm Pb η μέση μετρούμενη τιμή Pb ήταν 2375 ppm. Υπεύθυνο θεωρείται το ότι η προσθήκη του μετάλλου στο έδαφος έγινε ως υδατικό διάλυμα με μια δόση στο περιβάλλον της ρίζας, γεγονός που δεν εξασφαλίζει την ομοιόμορφη ρύπανση όλου του εδάφους, οπότε παρόλο τον σωστό μετέπειτα χειρισμό των δειγμάτων ήταν αναπόφευκτο να υπάρχουν αυτές οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των μετρήσεων λόγω της δειγματοληψίας του κάθε υποδείγματος εδάφους.

Πίνακας 5.11. Χαρακτηρισμός του εδάφους.
Δειγματοληψία μια εβδομάδα μετά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας ($v=2$).

		Επέμβαση			
		0 ppm Pb	800 ppm Pb	1600 ppm Pb	3200 ppm Pb
pH (H ₂ O)		5,84	5,71	6,00	5,71
EC [mS/cm]		1,93	2,00	2,38	2,19
OM [%]				58-60	
CaCO ₃ [%]				0	
Προστιθέμενος ολικός Pb [ppm]		0	800	1600	3200
Μετρούμενος ολικός Pb [ppm]	μέσος όρος	27,9	553	936	2375
	εύρος	25,9-29,9	544-562	762-1110	1660-3090
Φυτοδιαθέσιμος Pb (DTPA) [ppm]	μέσος όρος	20,1	775	1525	2800
	εύρος	17,5-22,7	684-866	1170-1880	2130-3470
Επιτρεπτές τιμές Pb [ppm] *				50 - 300	

* Οριακές επιτρεπτές συγκεντρώσεις στο έδαφος στην Ελλάδα (pH 6-7) (Πηγή: ΦΕΚ 641/7.8.1991)

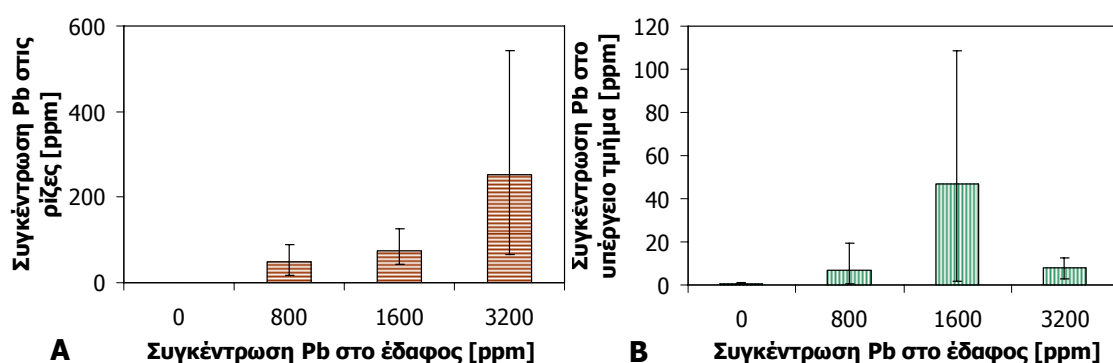
Ως γνωστόν, για πρόσληψη από τις ρίζες των φυτών δεν είναι διαθέσιμα τα ολικά ποσά των μετάλλων που υπάρχουν στο έδαφος αλλά αυτά που υπάρχουν στην διαλυτή φάση ή δύνανται να περάσουν σε αυτή. Αυτή η κίνηση των μετάλλων μεταξύ των φάσεων συνδέεται ουσιαστικά με τις φυσικοχημικές μορφές τους στο έδαφος οι οποίες εκτός των άλλων εξαρτώνται από το είδος του μετάλλου. Παραδείγματος χάριν, το Cd και ο Zn απαντώνται πρωταρχικά ως διαλυτές ή ανταλλάξιμες και γενικά πραγματικά βιοδιαθέσιμες μορφές ενώ άλλα μέταλλα όπως ο Pb, απαντώνται ως αδιάλυτα ιζήματα (φωσφορικά, ανθρακικά και υδροξυ-οξειδία) τα οποία είναι ουσιαστικά μη διαθέσιμα για τα φυτά (Lasat, 2002). Ωστόσο οι φυτοδιαθέσιμες ποσότητες του κάθε μετάλλου στο έδαφος επηρεάζονται και από τις ιδιότητες του εδάφους. Το pH του εδάφους, οι συγκεντρώσεις ασβεστίου και η οργανική ουσία αποτελούν σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την φυτοδιαθεσιμότητα του μολύβδου στο έδαφος μιας και η μεταφορά του μεταξύ των λιγότερο διαθέσιμων και των πραγματικά διαθέσιμων φάσεων επηρεάζεται σημαντικά από τον ανταγωνισμό για τις θέσεις ανταλλαγής με άλλα κατιόντα (ιδιαίτερα υδρογονοκατιόντα) και την παρουσία επιφανειών πρόσδεσης όπως η οργανική ουσία (Naidu et al., 2003, Yang et al., 2006, Kirkham, 2006, Rieuwerts et al., 2006).

Στην παρούσα μελέτη λοιπόν το έδαφος το οποίο χρησιμοποιήθηκε ήταν οργανικό υπόστρωμα (μείγμα άσπρης και μαύρης τύρφης, compost και ινών ξύλου) ενώ από τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών του (Πίνακας 5.11) παρατηρείται ότι το pH κυμαινόταν μεταξύ 5,7 και 6, η αγωγιμότητα από 1,9 έως 2,4 mS/cm, το ολικό CaCO₃ βρέθηκε μηδενικό, ενώ όπως αναμενόταν λόγω της σύστασης του, η οργανική ουσία σε όλα τα δείγματα βρέθηκε 58-60%. Όμως παρότι θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι οι παραπάνω συνθήκες πιθανά ευνοούν την σχετικά αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα του μολύβδου το γεγονός δεν θεωρείται αρκετό να εξηγήσει τις τόσο υψηλές τιμές που

μετρήθηκαν με την μέθοδο εκχύλισης με DTPA που ουσιαστικά υποδηλώνουν ότι ολόκληρες οι ποσότητες του μετάλλου που προστέθηκαν στο έδαφος ήταν διαθέσιμες για πρόσληψη από το *Atriplex halimus*. Κατά συνέπεια, και σε αυτό το πέραμα επιβεβαιώνεται πιθανώς η ακαταλληλότητα της μεθόδου DTPA για τον προσδιορισμό της φυτοδιαθέσιμης συγκέντρωσης του μολύβδου σε οργανικό υπόστρωμα παρότι η μέθοδος όπως προαναφέρθηκε χρησιμοποιείται ευρέως σε διάφορους τύπους εδαφών συμπεριλαμβανομένων και εδαφών με υψηλή περιεκτικότητα σε οργανική ουσία όπως στην παρούσα περίπτωση.

5.1.3.3. Συσσώρευση μολύβδου στο φυτικό ιστό

Όπως είναι φανερό από το Σχήμα 5.16Α η συσσώρευση του μολύβδου στις ρίζες του *Atriplex halimus* αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος από 48 σε 75 και τελικά σε 254 mg/kg για τις επεμβάσεις με 800, 1600 και 3200 mg/kg Pb στο έδαφος αντίστοιχα, δηλαδή με τετραπλασιασμό της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος παρατηρείται περισσότερος από πενταπλασιασμός της συσσώρευσης του μετάλλου στις ρίζες. Επιπλέον, στις επεμβάσεις με 800 και 3200 mg/kg Pb στο έδαφος παρατηρείται ότι η κύρια περιοχή συσσώρευσης του μολύβδου είναι οι ρίζες του φυτού όπου η συσσώρευση του μετάλλου στις ρίζες κυμάνθηκε από 87% έως 97% του συνολικού μολύβδου που προσελήφθηκε από τα φυτά και το ίδιο συμπέρασμα εξάγεται και από την εξέταση του λόγου συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας όπου παρουσιάζεται αρκετά μικρός: 0,39 και 0,04 για τις επεμβάσεις των 800 και 3200 ppm Pb στο έδαφος, αντίστοιχα. Αντίθετα η συσσώρευση του Pb στις ρίζες των φυτών που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 1600 ppm Pb κυμάνθηκε στο 61% του συνολικού μολύβδου που προσελήφθηκε από τα φυτά αυτής της επέμβασης καθώς και ο λόγος συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας παρουσιάζεται αρκετά υψηλός με τιμές που φθάνουν το 0,93.



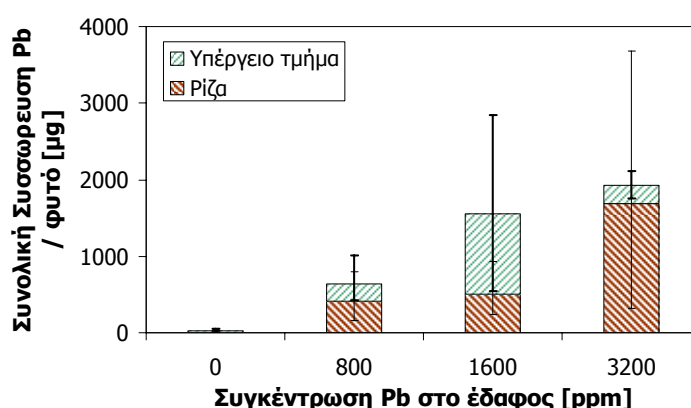
Σχήμα 5.16. Συγκέντρωση μολύβδου [mg/kg ξηρού βάρους] (Α) στις ρίζες και (Β) στα υπέργεια τμήματα των φυτών *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού ήταν μικρότερη από ότι στις ρίζες του φυτού, με τιμές 7 σε 47 και 8 mg/kg για τις επεμβάσεις με 800, 1600 και 3200 mg/kg Pb στο έδαφος αντίστοιχα, ενώ δεν παρατηρείται συσχέτιση μεταξύ της αύξησης της συσσώρευσης του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα σε σχέση με την αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος (Σχήμα 5.16B). Τα επίπεδα συγκεντρώσεων αυτά, μόνο στην περίπτωση της επέμβασης με 1600 ppm Pb είναι μέσα στο εύρος των συγκεντρώσεων που θεωρούνται τοξικά για τα φυτά και τα οποία είναι 30 - 300 ppm ξηρού βάρους (Orcutt and Nilsen, 2000).

Στα πλαίσια μίας ανάλογης ερευνητικής μελέτης στην οποία ελέγχθηκε η ικανότητα του φυτού *Sonchus oleraceus* L. να συσσωρεύει το μόλυβδο, πραγματοποιήθηκε ένα αντίστοιχο πείραμα με καλλιέργεια του φυτού σε γλάστρες με έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 έως και 3200 ppm μολύβδου και παρατηρήθηκε ότι με αύξηση του μετάλλου στο έδαφος προέκυπτε αύξηση και της συσσώρευσης στο φυτικό ιστό, ενώ και σε αυτή την περίπτωση, η κυρία περιοχή συσσώρευσης ήταν οι ρίζες του φυτού με το 83-89% του συνολικού μολύβδου που προσελήφθηκε από τα φυτά να συσσωρεύεται στις ρίζες (Xiong, 1997).

Το γεγονός ότι οι ρίζες συσσωρεύουν πολύ μεγαλύτερες ποσότητες μολύβδου από τα εναέρια τμήματα των φυτών έχει αναφερθεί σε αρκετές μελέτες άλλων ερευνητών (Wozny, 1995, Xiong, 1997, Liu et al., 2000, Piechalak et al., 2002) και επιπλέον έχει βρεθεί ότι ακόμα και στα φυτικά είδη με τις καλύτερες δυνατότητες μετακίνησης του μολύβδου, η μετακίνηση του από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα είναι λιγότερη από το 30% (Begonia et al., 1998). Κατά συνέπεια, έχει υποστηριχθεί ότι οι μεγάλες διαφορές στη συσσώρευση μολύβδου μεταξύ των ριζών και των υπέργειων τμημάτων φανερώνουν ένα ισχυρό περιορισμό στην εσωτερικής μεταφοράς του συγκεκριμένου μετάλλου από τις ρίζες προς τα κλαδιά και τα πράσινα φύλλα (Kumar et al., 1995, Begonia et al., 1998, Kadukova and Kalogerakis, 2007).

Σε αντιστοιχία με τις παραπάνω παρατηρήσεις βρίσκονται και τα αποτελέσματα από την εξέταση της συνολικής απομάκρυνσης του μολύβδου από το φυτό (Σχήμα 5.17), όπου, όπως έχει ήδη αναφερθεί, αποτελεί μια παράμετρο η οποία δίνει σημαντικές πληροφορίες για πιθανή χρήση του φυτού για φυτοσυσσώρευση αφού λαμβάνει υπόψη



Σχήμα 5.17. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του *A. halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

την επίδραση του μετάλλου στην παραγόμενη βιομάζα του φυτού. Όπως παρατηρείται, η ολική συσσώρευση του μετάλλου στο φυτό αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος, συσχέτιση που όμως οφείλεται κατά κύριο λόγο στην συσσώρευση στις ρίζες του φυτού. Στην επέμβαση με 800 ppm Pb η συσσώρευση μολύβδου από ολόκληρο το φυτό είναι 634 µg, στην επέμβαση με 1600 ppm Pb η συσσώρευση είναι 1552 µg ενώ για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος με 3200 ppm Pb η συσσώρευση είναι 1930 µg. Ως εκ τούτου, είναι προφανές ότι όταν η συγκέντρωση του Pb στο έδαφος τετραπλασιάζεται ο συνολικός μολύβδος που συσσωρεύεται σε ολόκληρο το φυτό σχεδόν τριπλασιάζεται.

Ο βασικός στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να ελεγχθεί η ικανότητα του *A. halimus* να συσσωρεύει το υπό εξέταση μέταλλο στο σώμα του λαμβάνοντας υπόψη όλους τους παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη του μετάλλου από τα φυτά. Το *A. halimus* παρουσιάζεται σε πρόσφατη μελέτη ως πιθανός υπερσυσσωρευτής του μολύβδου (Kadukova et al., 2004). Σύμφωνα με τους ερευνητές, σε πειράματα 2 εβδομάδων που πραγματοποιήθηκαν σε υδροπονική καλλιέργεια φυταρίων ηλικίας 6 εβδομάδων, με αυξανόμενες συγκεντρώσεις μολύβδου στο θρεπτικό μέσο από 10 έως 200 ppm, βρέθηκε ότι το φυτό συσσωρεύσε στους υπέργειους ιστούς του πάνω από 2000 ppm Pb, ενώ οι συγκεντρώσεις στις ρίζες έφτασαν και μέχρι τα 60 000 ppm, με αποτέλεσμα η ποσότητα του συσσωρευμένου Pb να είναι μεγαλύτερη από το 0,1% και επομένως εξήχθει το συμπέρασμα ότι το φυτό μπορεί να θεωρηθεί υπερσυσσωρευτής του μετάλλου. Στην παρούσα μελέτη όμως, όπως είναι φανερό από το Σχήμα 5.16 όπου παρουσιάζεται η συσσώρευση του μολύβδου στο φυτικό ιστό ύστερα από καλλιέργεια του φυτού σε ρυπασμένο έδαφος με μολύβδο σε συγκεντρώσεις μέχρι και οκταπλάσιες από τα ανώτερες οριακές τιμές που θεωρούνται τοξικές (100 - 400 ppm) (Orcutt and Nilsen, 2000), δεν μπορεί να υποστηριχθεί μία ανάλογη πρόταση αφού για να θεωρηθεί ένα φυτό υπερσυσσωρευτής του μολύβδου θα πρέπει να συγκεντρώνει στους ιστούς του πάνω από 1000 ppm του μετάλλου (Lasat, 2002, Yanqun et al., 2005). Οι διαφορές, λοιπόν, που υπάρχουν μεταξύ των δύο μελετών και που θεωρούνται υπεύθυνες για τα αντίθετα αποτελέσματα είναι, όπως ακριβώς και στην περίπτωση του καδμίου, πρώτον οι διαφορετικές συνθήκες της υδροπονικής καλλιέργειας με την καλλιέργεια στο έδαφος και δεύτερον η διαφορά στην ηλικία και στο στάδιο ανάπτυξης των φυτών. Όπως προαναφέρθηκε, η καλλιέργεια φυτών με την μέθοδο της υδροπονίας, όσον αφορά την έρευνα για σκοπούς φυτοσυσσώρευσης, είναι ικανή να δώσει μόνο κάποια αρχικά συμπεράσματα όσον αφορά την ικανότητα του φυτού να προσλαμβάνει τα υπό εξέταση μέταλλα και την ανθεκτικότητά του σε αυτά. Αυτό γιατί α) δεν λαμβάνει υπόψη όλους τους παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη των μετάλλων από τα φυτά, π.χ. τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος, β) πραγματοποιείται υπό ελεγχόμενες και σταθερές συνθήκες ενώ τα πειράματα στο πεδίο λαμβάνουν υπόψη τους και όλους τους άλλους παράγοντες που επηρεάζουν την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών και γ) η καλλιέργεια σε υδατικό μέσο δεν επιτρέπει την διάκριση μεταξύ φυτών υπερσυσσωρευτών και μη-υπερσυσσωρευτών με βάση την συγκέντρωση του μετάλλου στη βιομάζα λόγω της επίδρασης των διεργασιών βιορόφησης (Nedelkoska and Doran, 2000, US EPA, 2001, Boominathan and Doran, 2003). Ενώ το δεύτερο βασικό σημείο διαφοροποίησης μεταξύ των δυο μελετών είναι η ηλικία των φυτών που χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή της έρευνας και κατά συνέπεια και τα στάδια ανάπτυξης τους, αφού όπως έχει ήδη συζητηθεί η πρόσληψη των μετάλλων από τα φυτά εξαρτάται από διάφορους παράγοντες μέσα στους οποίους περιλαμβάνονται οι διαφορές στην ηλικία και τα στάδια ανάπτυξης του φυτού (Orcutt and Nilsen, 2000,

Fitzgerald et al., 2003, Qadir et al., 2004a, Weis and Weis, 2004, Lutts et al., 2004). Στην προαναφερθείσα μελέτη, η καλλιέργεια σε μέσο με μόλυβδο πραγματοποιήθηκε σε φυτάρια ηλικίας μερικών εβδομάδων (6). Αντίθετα η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε σε φυτά ηλικίας 11-12 μηνών τα οποία είχαν αναπτύξει ξυλώδη ιστό ο οποίος όπως έχει αναφερθεί παρουσιάζει μικρή συσσώρευση μετάλλων (Orcutt and Nilsen, 2000, Krämer, 2005) και επιπλέον είχαν φτάσει στο στάδιο της ανάπτυξης καρπού και σπέρματος, ολοκληρώνοντας ουσιαστικά τον ετήσιο βιολογικό τους κύκλο. Εν κατακλείδι, θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν την πρόταση ότι η ηλικία των φυτών και το στάδιο ανάπτυξης που βρίσκονται επηρεάζουν την πρόσληψη και συσσώρευση των μετάλλων στο φυτικό ιστό.

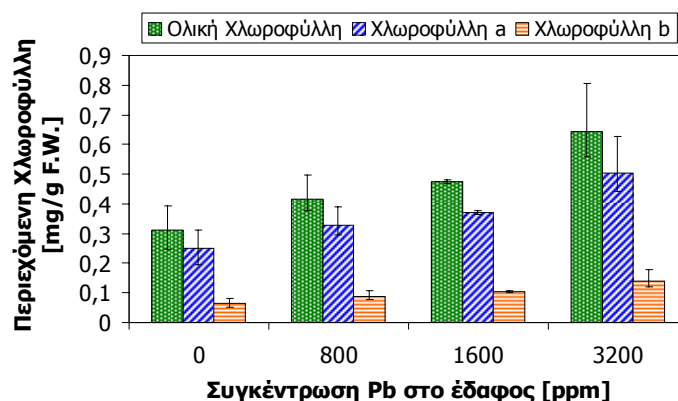
5.1.3.4. Επίδραση του μολύβδου στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

Όπως έχει προαναφερθεί, ο μόλυβδος δεν έχει βρεθεί να αποτελεί απαραίτητο στοιχείο για την επιβίωση των φυτών παρότι απαντάται φυσικά στους ιστούς όλων των φυτών (Xiong, 1997). Εντούτοις υψηλές συγκεντρώσεις μολύβδου στα φυτά διαταράσσουν και αναστέλλουν διάφορες φυσιολογικές διεργασίες. Η τοξικότητα από το μόλυβδο συνδέεται με διαταραχή της μίτωσης, διαταραχή των κυττάρων, παρεμπόδιση της φωτοσύνθεσης και της αναπνοής λόγω παρεμπόδισης της λειτουργίας της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, παρεμπόδιση της ενζυμικής δραστηριότητας, ανταγωνισμό με θρεπτικά συστατικά, εμφάνιση χλώρωσης, μείωση της επιμήκυνσης και διείσδυσης της ρίζας στο έδαφος, μείωση της βιομάζας και αναστολή της αύξησης (Xiong, 1997, Begonia et al., 1998, Orcutt and Nilsen, 2000, Liu et al., 2000, Piechalak et al., 2002, Verma and Dubey, 2003).

Παρόλα αυτά στην παρούσα μελέτη το *Atriplex halimus* δεν επέδειξε κανένα ορατό σύμπτωμα τοξικότητας από το μόλυβδο κατά την οπτική εξέταση των μορφολογικών του χαρακτηριστικών. Κατά την διάρκεια των δέκα πειραματικών εβδομάδων δεν παρατηρήθηκαν οπτικές διαφορές στην εμφάνιση των υπέργειων τμημάτων σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου. Επιπλέον, με την λήξη της πειραματικής διαδικασίας, ούτε στις ρίζες δεν βρέθηκε κανένα σύμπτωμα τοξικότητας όπως αλλαγή του χρώματος, μείωση της επιμήκυνσης ή μείωση του αριθμού των ριζιδίων η οποία θα οδηγούσε σε μικρότερη πρόσληψη νερού (Piechalak et al., 2002). Επιπρόσθετα, η καταπόνηση από το μόλυβδο δεν είχε καμία επίπτωση στην επιβίωση του φυτού και όλα τα φυτά παρέμειναν υγιή μέχρι την λήξη της πειραματικής διαδικασίας.

Επίσης, τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών του *A. halimus* δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται αρνητικά από την παρουσία του μολύβδου επιβεβαιώνοντας τις οπτικές παρατηρήσεις κατά την διάρκεια του πειράματος. Αντίθετα, οι συγκεντρώσεις της ολικής χλωροφύλλης, της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* παρουσιάζονται να αυξάνονται με την αύξηση του μετάλλου στο έδαφος, όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.18 όπου παρατηρείται σταδιακή αύξηση των περιεχόμενων χλωροφυλλών μέχρι και πάνω 100% για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν στην υψηλότερη συγκέντρωση Pb (3200 ppm).

Επιπλέον, η αναλογία μεταξύ των χλωροφυλλών *a* και *b* έχει υποστηριχθεί ότι είναι πιο ευαίσθητη σε αλλαγές από την ολική χλωροφύλλη. Για παράδειγμα οι λειχήνες *Cladonia convolute* και *Cladonia rangiformis* δεν επέδειξαν καμιά μεταβολή στην περιεχόμενη ολική χλωροφύλλη (*a+b*) ύστερα από έκθεση τους σε Pb όμως



Σχήμα 5.18. Περιεχόμενη χλωροφύλλη [mg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

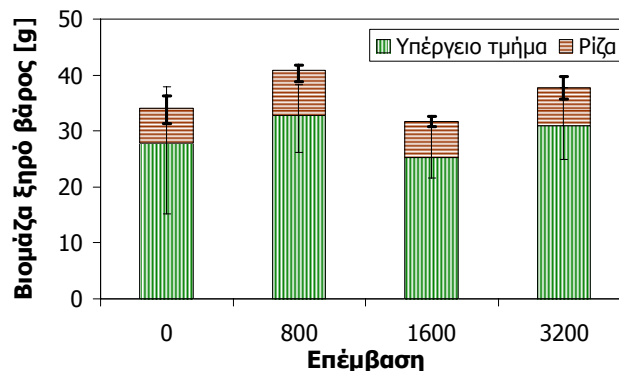
παρατηρήθηκε μείωση κατά 10-15% της αναλογίας χλωροφύλλης *a/b* στην λειχήνα *Cladonia convolute* και μικρή αύξηση της αναλογίας στην λειχήνα *C. rangiformis* (Chettri et al., 1998). Από την εξέταση της αναλογίας χλωροφύλλης *a/b*, λοιπόν, παρατηρείται μια τάση για σταδιακή μείωση της αναλογίας με την σταδιακή αύξηση του μετάλλου στο έδαφος εκφράζοντας ουσιαστικά το γεγονός ότι η αύξηση της χλωροφύλλης *b* ήταν μεγαλύτερη από την αύξηση της χλωροφύλλης *a* (Πίνακας 5.12).

Πίνακας 5.12. Αναλογία χλωροφύλλης *a/b* στο *A. halimus* σε καλλιέργεια εδάφους ρυπασμένου με 800, 1600 και 3200 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%).

Συγκέντρωση Pb στο έδαφος [ppm]	Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i>
0	3,87
800	3,67
1600	3,56
3200	3,6

Επιπρόσθετα, και η βιομάζα των φυτών που καλλιεργήθηκαν στο ρυπασμένο με μόλυβδο έδαφος παρουσιάζεται αυξημένη σε σύγκριση με τα φυτά μάρτυρες (Σχήμα 5.19). Όπως προκύπτει τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε 800 και 3200 ppm Pb παρουσίασαν αύξηση της βιομάζας τους κατά 20 και 11% αντίστοιχα, ενώ τα φυτά που καλλιεργήθηκαν στην ενδιάμεση συγκέντρωση Pb 1600 ppm παρουσίασαν ελαφρώς μειωμένη βιομάζα αλλά όχι με σημαντική διαφορά από τα φυτά μάρτυρες. Τα αποτελέσματα αυτά αντιτάσσονται στο ότι η παρουσία μολύβδου στο έδαφος έχει αποδειχτεί ότι προκαλεί μείωση της αύξησης σε πολλά φυτικά είδη όπως για παράδειγμα το φυτό *Sonchus oleraceus* L. όπου παρουσίασε προοδευτική ελάττωση της παραγόμενης βιομάζας του με αύξηση του μολύβδου στο έδαφος φθάνοντας μέχρι και 44% μείωση όταν το φυτό καλλιεργήθηκε σε έδαφος με 3200 ppm Pb (Xiong, 1997).

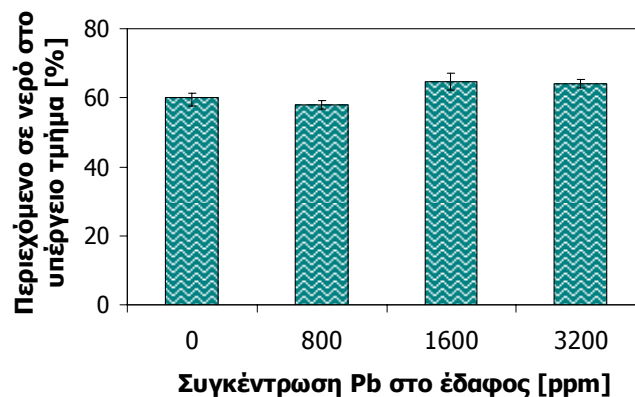
Ενώ για το ίδιο φυτό έχει αναφερθεί ότι σε καλλιέργεια του με την μέθοδο της υδροπονίας σε συγκεντρώσεις Pb από 10 έως 200 ppm, ο μόλυβδος δεν βρέθηκε να επηρεάζει την αύξηση είτε ως βιομάζα είτε ως ύψος υπέργειων τμημάτων (Kadukova et al., 2004). Όμως ανάλογες παρατηρήσεις έχουν αναφερθεί και για το φυτό *Brassica juncea* όπου σε καλλιέργεια με συγκεντρώσεις Pb 100 και 250 mg/L σε θρεπτικό μέσο, παρήγαγε 20% περισσότερη βιομάζα (Begonia et al., 1998), ενώ γενικά έχει αναφερθεί ότι σε χαμηλές συγκεντρώσεις ο μόλυβδος μπορεί να προκαλέσει μια μικρή ενίσχυση της αύξησης ορισμένων φυτών πιθανόν λόγω απελευθέρωσης θρεπτικών με την προσθήκη μολύβδου στο μέσο καλλιέργειας (Balsberg Pålsson, 1989, Liu et al., 1994, Liu et al., 2000). Επιπλέον, η αύξηση αυτή της βιομάζας ίσως οφείλεται στην προσθήκη αζώτου μιας και το μέταλλο προστέθηκε ως νιτρικό άλας όπως υποστηρίχθηκε και από άλλους ερευνητές στην προσπάθεια τους να εξηγήσουν την αύξηση της βιομάζας που παρουσίασε το φυτό *Pteris vittata* κατά την έκθεση του σε μόλυβδο (Fayiga et al., 2004), οπότε ίσως και σε αυτό το γεγονός να οφείλεται η αύξηση των παραγωγικών χαρακτηριστικών του *Atriplex halimus*.



Σχήμα 5.19. Βιομάζα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Εκτός των άλλων, όπως έχει προαναφερθεί, ο μόλυβδος έχει βρεθεί να προκαλεί μείωση της επιμήκυνσης της ρίζας και του αριθμού των ριζιδίων (Piechalak et al., 2002). Κατά συνέπεια, αυτές οι επιδράσεις μπορούν στην συνέχεια να έχουν αρνητική επίπτωση στην πρόσληψη του νερού από το φυτό. Και όπως συζητήθηκε προηγουμένα, η ισορροπία του νερού στα φυτά καθορίζεται από τρεις αλληλοσυνδεόμενες διεργασίες, την πρόσληψη, την μεταφορά και την διαπνοή (Vassilev et al., 1997). Οπότε, αφού ο Pb επηρεάζει την πρόσληψη του νερού, μπορεί να επηρεάσει και τις άλλες δύο διεργασίες. Παρόλα αυτά, το περιεχόμενο σε νερό στα υπέργεια τμήματα των φυτών *Atriplex* δεν βρέθηκε να επηρεάζεται αρνητικά από την παρουσία του μολύβδου (Σχήμα 5.20) ενώ αντίθετα παρουσιάζεται ελαφρά αυξημένο στα φυτά που εκτέθηκαν στις δυο υψηλότερες συγκεντρώσεις μετάλλου στο έδαφος κατά περίπου 7%, υπονοώντας ότι η τοξικότητα Pb δεν προκαλεί μεταβολή της ισορροπίας του νερού στο φυτό άρα και μια δευτερεύουσα υδατική καταπόνηση.

Συμπερασματικά λοιπόν, από όλες τις παραπάνω παρατηρήσεις εξάγεται το συμπέρασμα ότι το *Atriplex halimus* είναι ένα φυτό ιδιαίτερα ανθεκτικό στο μόλυβδο



Σχήμα 5.20. Περιεχόμενο σε νερό [%] του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

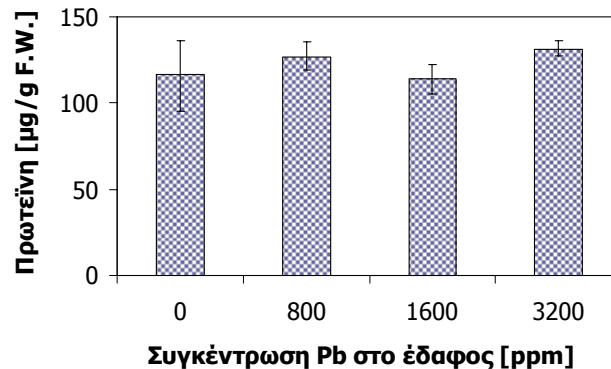
δεδομένου ότι τα επίπεδα του μετάλλου στο έδαφος ξεπερνούσαν κατά πολύ τις οριακές τιμές συγκέντρωσης του στο έδαφος που έχουν θεσπιστεί από το ελληνικό κράτος οι οποίες είναι 50 έως 300 mg/kg ξηράς ουσίας (ΦΕΚ 641/7.8.1991). Όμως το ότι το φυτό δεν παρουσίασε αρνητικές επιδράσεις από το μέταλλο δεν μπορεί να μην συνδεθεί και με το γεγονός ότι η συσσώρευση του μετάλλου στους φυτικούς ιστούς κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα. Η υψηλότερη συγκέντρωση που παρουσίασε στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα ήταν 254 ppm και 47 ppm αντίστοιχα, ενώ το τυπικό εύρος συγκεντρώσεων μολύβδου στα φυτά που θεωρείται φυσιολογικό είναι 0,1-5 ppm κατά ορισμένους επιστήμονες (Gardea-Torresdey et al., 2005) και 0,5-10 ppm κατά άλλους (Boularbah et al., 2006) και 5 - 10 mg/kg ξηρού βάρους κατά τρίτους (Orcutt and Nilsen, 2000). Συνεπώς, η συσσώρευση δεν ξεπέρασε κατά πολύ τις φυσιολογικές συγκεντρώσεις μολύβδου στους φυτικούς ιστούς.

5.1.3.5. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού

Ο μόλυβδος όπως άλλωστε και το κάδμιο προκαλεί οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά λόγω της αύξησης του ρυθμού παραγωγής ενεργών μορφών οξυγόνου οι οποίες στην συνέχεια προκαλούν βλάβες σε διάφορα βιομόρια συμπεριλαμβανομένων και των πρωτεϊνών (Davies, 1987). Για παράδειγμα μείωση των ολικών πρωτεϊνών έχει παρατηρηθεί στα υπέργεια τμήματα των φυτών *Cyperus difformis*, *Chenopodium ambrosioides* και *Digitaria sanguinalis* ύστερα από καλλιέργεια τους σε έδαφος ρυπασμένο με 50, 100 και 200 ppm Pb (Ewais, 1997).

Τα αποτελέσματα από την παρούσα μελέτη προτείνουν ότι η επίδραση του μολύβδου δεν επέφερε μείωση των πρωτεϊνών στα φύλλα του φυτού αλλά αντίθετα επέφερε αύξηση τουλάχιστον στα φυτά στα οποία υπήρξαν μικρές συγκεντρώσεις του μετάλλου στους φυτικούς ιστούς. Όπως είναι φανερό στο Σχήμα 5.21, στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την μικρότερη συγκέντρωση μετάλλου στο έδαφος 800 ppm παρατηρείται μια μικρή αύξηση των πρωτεϊνών κατά 9%, στα φυτά που καλλιεργήθηκαν

σε 1600 ppm Pb οι περιεχόμενες πρωτεΐνες παρουσιάζονται πολύ ελαφρώς μειωμένες κατά 2% όμως ουσιαστικά είναι ανάλογες με εκείνες των φυτών ελέγχου, ενώ στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την μεγαλύτερη συγκέντρωση μολύβδου 3200 ppm τα επίπεδα των πρωτεϊνών παρουσιάζονται αυξημένα κατά 13% σε σχέση με τα φυτά ελέγχου.



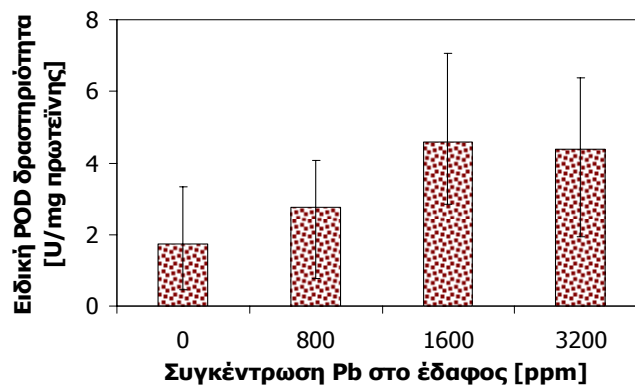
Σχήμα 5.21. Περιεχόμενη πρωτεΐνη [μg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Από την συσχέτιση λοιπόν των παρόντων αποτελεσμάτων με τις συγκεντρώσεις του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού (Σχήμα 5.16), μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι προφανώς στις επεμβάσεις με 800 και 3200 ppm Pb στο έδαφος όπου τα φυτά παρουσίασαν μικρή συσσώρευση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα της τάξης των 7 - 8 ppm, παρατηρήθηκε αύξηση των πρωτεϊνών γεγονός που μπορεί να αποδοθεί σε σύνθεση πρωτεϊνών καταπόνησης στους φυτικούς ιστούς στα πλαίσια ενός μηχανισμού ανθεκτικότητας στο μέταλλο έτσι ώστε το φυτό να ανταπεξέλθει των παραγόμενων από τις ενεργές μορφές οξειδωτικού οξειδωτικών βλαβών. Ενώ στα φυτά της επέμβασης με 1600 ppm Pb στο έδαφος τα οποία παρουσίασαν την μεγαλύτερη συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα (47 ppm), παρατηρείται ότι οι διαλυτές πρωτεΐνες δεν αυξήθηκαν και ακόμα περισσότερο ίσως και να μειώθηκαν ελαφρώς προφανώς λόγω οξειδωτικής αποδόμησης τους από τις ROS που παράχθηκαν λόγω του μετάλλου. Ανάλογη παρατήρηση έχει αναφερθεί στην διεθνή βιβλιογραφία για το φυτό *Salix actinophylla* το οποίο σε καλλιέργεια του σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις μολύβδου μέχρι και τα 10 000 ppm, παρουσίασε αύξηση των περιεχόμενων πρωτεϊνών του μέχρι τα 2000 ppm Pb στο έδαφος δηλαδή στα φυτά που παρουσίαζαν συγκεντρώσεις Pb στα φύλλα μέχρι τα 76 ppm, ενώ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του μετάλλου στο έδαφος και στους φυτικούς ιστούς παρατηρήθηκε μείωση των πρωτεϊνών (Ali et al., 2003).

Όπως ξανασημειήθηκε, τα φυτά για να ανταπεξέλθουν της οξειδωτικής βλάβης που προκαλούν οι ROS, διαθέτουν αντιοξειδωτικό αμυντικό μηχανισμό ο οποίος περιλαμβάνει ένζυμα όπως η καταλάση, οι υπεροξειδάσες και η σουπεροξειδική δισμουτάση και μη-ενzymικά συστατικά όπως η α-τοκοφερόλη και η γλουταθειόνη, τα οποία απομακρύνουν και εξουδετερώνουν τις ROS (Verma and Dubey, 2003). Οι υπεροξειδάσες έχουν γίνει δεκτά ως «ένζυμα καταπόνησης» των οποίων η μέτρηση της

δραστηριότητας μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την αξιολόγηση της έντασης της καταπόνησης από τα βαρέα μέταλλα (Radotic et al., 2000, Shah et al., 2001, Verma and Dubey, 2003, Ruttens et al., 2006).

Τα αποτελέσματα λοιπόν, από την παρούσα μελέτη, προτείνουν ότι η παρουσία του μολύβδου προκαλεί οξειδωτική καταπόνηση στο *Atriplex halimus* (Σχήμα 5.22). Η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του φυτού βρέθηκε για να είναι σημαντικά υψηλότερη σε όλα τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με μόλυβδο σε σύγκριση με τα φυτά της ομάδας ελέγχου και επιπλέον παρατηρείται ότι υπάρχει η τάση όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του μολύβδου στο έδαφος να αυξάνεται και η POD δραστηριότητα. Όπως φαίνεται στο σχήμα, η δραστηριότητα του ενζύμου παρουσιάζεται αυξημένη είναι κατά 60, 167 και 154% για την επέμβαση με 800, 1600 και 2400 ppm Pb στο έδαφος αντίστοιχα, σε σύγκριση με εκείνη των φυτών μαρτύρων. Η μεγαλύτερη δραστηριότητα όπως αναμενόταν παρατηρείται στα φύλλα των φυτών που καλλιεργήθηκαν με 1600 ppm Pb αφού η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα αυτών των φυτών ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις (Σχήμα 5.16). Επιπλέον, το γεγονός ότι τα φυτά αυτής της επέμβασης υπέστησαν την μεγαλύτερη οξειδωτική καταπόνηση από το μέταλλο επιβεβαιώνεται και από την μέτρηση των πρωτεϊνών (Σχήμα 5.21) και την μέτρηση της βιομάζας (Σχήμα 5.19).



Σχήμα 5.22. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 3200 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Ανάλογη συμπεριφορά δηλαδή αύξηση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων και πιο συγκεκριμένα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης κατά την έκθεση τους σε Pb, έχει αναφερθεί στα φυτά *Sesbania drummondii* (Ruley et al., 2004), *Salix actinophylla* (Ali et al., 2003) και *Oryza sativa* L. (ρύζι) (Verma and Dubey, 2003). Επιπλέον, σε πειράματα ανάλογου σχεδιασμού με το φυτό *Sonchus oleraceus* L. σε καλλιέργεια σε ρυπασμένο έδαφος με συγκεντρώσεις μολύβδου 800, 1600 και 3200 ppm παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση της POD δραστηριότητας στα φύλλα με την σταδιακή αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος και στα υπέργεια τμήματα των φυτών κατά 8, 17 και 32% για τις επεμβάσεις με 800, 1600 και 3200 ppm Pb, αντίστοιχα (Xiong, 1997).

5.1.4. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm μολύβδου σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες

5.1.4.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Έντεκα μηνών φυτά *A. halimus* L. που είχαν αναπτυχθεί σε προμετρημένο οργανικό υπόστρωμα (670 - 700 g ξηρού βάρους) (βλ. Παράγραφο 4.1.1) κατά την έναρξη του πειράματος χωρίστηκαν σε 6 πειραματικές ομάδες με 6 φυτά ανά ομάδα - επέμβαση με τρόπο ώστε κάθε επέμβαση να έχει συγκριτικά ανάλογη μέση βιομάζα. Τρεις ομάδες φυτών αποτέλεσαν τις επεμβάσεις ελέγχου με διαφορετικές εδαφικές αλατότητες και τρεις αποτέλεσαν τις επεμβάσεις στις οποίες πραγματοποιήθηκε προσθήκη μολύβδου στο έδαφος σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό ο οποίος παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.13. Το έδαφος ρυπάνθηκε με μόλυβδο σε συγκέντρωση 800 ppm ξηρού βάρους εδάφους ως υδατικό διάλυμα $Pb(NO_3)_2$ με μια δόση προσθήκης στο έδαφος καλλιέργειας. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε μέσα σε γυάλινο θερμοκήπιο για 10 εβδομάδες (Σεπτέμβρη - Νοέμβρη), με φωτοπερίοδο 12 – 14 ωρών ενώ οι θερμοκρασίες και η υγρασία κατά την διάρκεια του παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.14. Τα φυτά ποτίζονταν κάθε 2 ή 3 ημέρες ανάλογα με τις απαιτήσεις και τις περιβαλλοντικές συνθήκες με νερό βρύσης ή υδατικό διάλυμα NaCl σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό. Τα αλατούχα διαλύματα προετοιμάστηκαν με βρώσιμο θαλασσινό αλάτι και νερό βρύσης ενώ η ποσότητα του νερού ή του διαλύματος NaCl που χρησιμοποιούνταν σε κάθε πότισμα ήταν περίπου 200 mL προκειμένου να αποφευχθεί πιθανή εκροή του μετάλλου με το νερό από τις γλάστρες ενώ επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν και πλαστικά πιάτα κάτω από κάθε γλάστρα.

Πίνακας 5.13. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Επέμβαση ("κωδικό όνομα")	Συγκέντρωση Pb που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση NaCl [%]
1	"0/0"	0	0
2	"0/0,5"	0	0,5
3	"0/3"	0	3
4	"Pb/0"	800	0
5	"Pb/0,5"	800	0,5
6	"Pb/3"	800	3

Μία φορά την εβδομάδα σε συγκεκριμένη μέρα και ώρα, πραγματοποιούνταν μετρήσεις του ύψους των υπέργειων τμημάτων προκειμένου να αξιολογηθεί η φυσική κατάσταση των φυτών ενώ παρατηρούνταν οπτικά και καταγράφονταν οποιαδήποτε συμπτώματα τοξικότητας από το μέταλλο και την αλατότητα. Με την λήξη των 10 πειραματικών εβδομάδων πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της συγκέντρωσης του Pb στα

διάφορα φυτικά τμήματα. Επιπλέον, έλαβαν χώρα μετρήσεις των ολικών και φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων του μετάλλου στο έδαφος, οι οποίες υποστηρίχθηκαν και από μετρήσεις των χαρακτηριστικών του εδάφους. Τέλος έλαβαν χώρα μετρήσεις της περιεχόμενης χλωροφύλλης, της βιομάζας και του περιεχομένου σε νερό για τον έλεγχο της επίδρασης του Pb και της αλατότητας στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού και επιπρόσθετα έλαβαν χώρα μετρήσεις των πρωτεϊνών και της δραστηριότητας του αντιοξειδωτικού ενζύμου υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης στα φύλλα του φυτού για τον έλεγχο της οξειδωτικής καταπόνησης που υφίσταται το φυτό. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τις παραπάνω μετρήσεις παρέχονται στην Παράγραφο 4.1.3.

Πίνακας 5.14. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	14,5-40,5	29,8	37-78	60,8
Μεσημέρι	14,5-47	29,5	27-78	48,7
Απόγευμα	13-29,5	19,3	49-77,5	64,8
Νύχτα	7,5-21	15,3	-	-

5.1.4.2. Χαρακτηρισμός εδάφους

Στο παρόν πείραμα ο κύριος λόγος για τον οποίο πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των χαρακτηριστικών του εδάφους καλλιέργειας ήταν ο έλεγχος της επίδρασης της εδαφικής αλατότητας στην βιοδιαθεσιμότητα του μολύβδου. Ως γνωστόν, η αύξηση της αλατότητας έχει βρεθεί να αυξάνει την φυτοδιαθεσιμότητα των μετάλλων και κατά συνέπεια να επιδρά θετικά στην συσσώρευση των μετάλλων στους φυτικούς ιστούς. Οι λόγοι είναι ότι τα ιόντα νατρίου Na^+ δύνανται να αντικαταστήσουν τα μέταλλα στις θέσεις ανταλλαγής κατιόντων στα σωματίδια του εδάφους, αν και ο μηχανισμός αυτός όπως έχει ήδη αναφερθεί δεν θεωρείται ότι συμβάλει σημαντικά στην αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων, και επιπλέον γιατί τα ιόντα χλωρίου Cl^- σχηματίζουν διαλυτά σύμπλοκα με τα μέταλλα μειώνοντας την προσρόφηση τους στα σωματίδια του εδάφους και κατά συνέπεια αυξάνουν την συγκέντρωσή τους στο εδαφικό διάλυμα και άρα την διαθεσιμότητα τους για πρόσληψη από τα φυτά (Bingham et al., 1983, Li et al., 1994, Greger et al., 1995, Martin and Kaplan, 1998, Smolders et al., 1998, Norvell et al., 2000, Weggler-Beaton et al., 2000, Weggler et al., 2004, Adriano et al., 2004, Kirkham, 2006, Wahla and Kirkham, 2007).

Στο παρόν πείραμα λοιπόν η μέτρηση της οργανικής ουσίας σε όλα τα δείγματα βρέθηκε 58-60% όπως ήταν αναμενόμενο λόγω του ότι επρόκειτο για οργανικό υπόστρωμα δηλαδή μείγμα άσπρης και μαύρης τύρφης, compost και ινών ξύλου, ενώ το ολικό CaCO_3 βρέθηκε μηδενικό (Πίνακας 5.15). Επίσης η αύξηση της εδαφικής αλατότητας με την προσθήκη υδατικών διαλυμάτων NaCl ως νερό άρδευσης εκφράζεται από την αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας των δειγμάτων εδάφους από 1,9-2 για τις

επεμβάσεις που ποτίζονταν με νερό βρύσης (0/0 και Pb/0), σε 3 -3,6 για τις επεμβάσεις με διάλυμα NaCl 0,5% (0/0,5 και Pb/0,5) και 9,3-12 mS/cm για τις επεμβάσεις με 3% NaCl (0/3 και Pb/3). Επιπλέον, το εδαφικό pH βρέθηκε να μειώνεται σταδιακά με την αύξηση της συγκέντρωσης του χλωριούχου νατρίου γεγονός αναμενόμενο και σύμφωνα με τις βιβλιογραφικές αναφορές (Thomas, 1996).

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων των ολικών συγκεντρώσεων Pb στο έδαφος καλλιέργειας μια εβδομάδα μετά την ρύπανση του επιβεβαιώνουν το σωστό σχεδιασμό του πειράματος αφού βρέθηκαν 553 ppm για την επέμβαση Pb/0, 516,5 ppm για την επέμβαση Pb/0,5 και 509 ppm για την επέμβαση Pb/3. Οι παρατηρούμενες διαφοροποιήσεις μεταξύ των προστιθέμενων συγκεντρώσεων και των μετρούμενων συγκεντρώσεων, όπως και στα προηγούμενα πειράματα, οφείλονται στον σχεδιασμό της πειραματικής διαδικασίας μιας και η προσθήκη του μετάλλου στο έδαφος έγινε ως υδατικό διάλυμα με μια δόση στο περιβάλλον της ρίζας γεγονός που δεν εξασφαλίζει την ομοιόμορφη ρύπανση όλου του οργανικού υποστρώματος μέσα στην κάθε γλάστρα, και ως εκ τούτου υπήρξε επίπτωση στην δειγματοληψία του υποδείγματος για τον προσδιορισμό της ολικής συγκέντρωσης του μετάλλου.

Πίνακας 5.15. Χαρακτηρισμός του εδάφους.

Δειγματοληψία μια εβδομάδα μετά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας (n=2).

		Επέμβαση					
		0/0	0/0,5	0/3	Pb/0	Pb/0,5	Pb/3
pH (H ₂ O)		5,84	5,72	5,38	5,71	5,55	5,45
EC [mS/cm]		1,93	3,60	11,93	2,00	2,95	9,32
OM [%]				58-60			
CaCO₃ [%]				0			
Προστιθέμενος ολικός Pb [ppm]		0	0	0	800	800	800
Μετρούμενος ολικός Pb [ppm]	μέσος όρος	27,9	24,9	23,7	553	516,5	509
	εύρος	25,9-29,9	22,7-27,1	21,2-26,2	544-562	515-518	336-682
Φυτοδιαθέσιμος Pb (DTPA) [ppm]	μέσος όρος	20,1	22,2	32,6	775	702,5	847
	εύρος	17,5-22,7	19,6-24,8	31,3-33,9	684-866	701-704	808-886
Επιτρεπτές τιμές Pb [ppm] *				50 - 300			

* Οριακές επιτρεπτές συγκεντρώσεις στο έδαφος στην Ελλάδα (pH 6-7) (Πηγή: ΦΕΚ 641/7.8.1991)

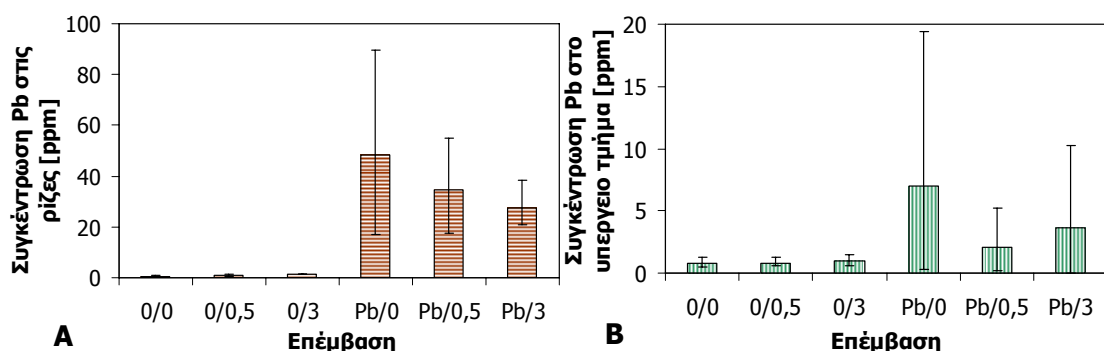
Με βάση λοιπόν αυτά τα χαρακτηριστικά, δηλαδή την αύξηση της εδαφικής αλατότητας αλλά και την ταυτόχρονη μείωση του pH του εδάφους θα αναμένονταν αύξηση της φυτοδιαθεσιμότητας του μολύβδου όμως από τον προσδιορισμό των φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων Pb με την μέθοδο DTPA (Πίνακα 5.15) δεν μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα αφού και σε αυτή την περίπτωση, ολόκληρη η ποσότητα του μετάλλου που προστέθηκε στο έδαφος καλλιέργειας μετρήθηκε ως διαθέσιμη για πρόσληψη από τα φυτά, γεγονός αμφισβητήσιμο ιδιαίτερα για την περίπτωση του

μολύβδου του οποίου η κινητικότητα στα εδάφη είναι γνωστό ότι είναι ιδιαίτερα περιορισμένη, οπότε και σε αυτό το πέρασμα επιβεβαιώνεται η αποτυχία της μεθόδου DTPA για τον προσδιορισμό της φυτοδιαθέσιμης συγκέντρωσης του μολύβδου σε οργανικό υπόστρωμα, υπονοώντας ότι προφανώς το συμπλοκοποιητικό αντιδραστήριο προήγαγε την εκρόφιση των μεταλλικών ιόντων από το έδαφος και την δέσμευσή τους με τους υποκατάστατες, οπότε εκχυλίστηκαν ποσότητες μεταλλικών ιόντων οι οποίες δεν ήταν βραχυπρόθεσμα διαθέσιμες.

5.1.4.3. Συσσώρευση μολύβδου στο φυτικό ιστό

Όπως έχει προαναφερθεί η αλατότητα έχει αποδειχθεί ότι σε ορισμένες περιπτώσεις επιδρά θετικά στην πρόσληψη και συσσώρευση των μετάλλων στους φυτικούς ιστούς. Μελέτες έχουν δείξει ότι υπό συνθήκες αλατότητας παρατηρούνται αυξημένες συγκεντρώσεις μετάλλων στα περισσότερα φυτικά μέρη που οφείλονται στην μεγαλύτερη κινητικότητα άρα και βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος, ή/και στην μεγαλύτερη πρόσληψη νερού λόγω της αυξημένης διαπνοής, οδηγώντας σε μια μεγαλύτερη ροή των μετάλλων στα φυτά (Bingham et al., 1983, Li et al., 1994, Greger et al., 1995, Smolders et al., 1998, Weggler-Beaton et al., 2000, Norvell et al., 2000, Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003, Weggler et al., 2004, Wahla and Kirkham, 2007). Επιπλέον, έχει αναφερθεί και ότι η αλατότητα επηρεάζει θετικά την μεταφορά των μετάλλων από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα των φυτών (Fitzgerald et al., 2003). Ενώ ανάλογα συμπεράσματα έχουν εξαχθεί και από την εξέταση της επίδρασης της αλατότητας στη συσσώρευση του Pb και του Cd στα φυτά *T. smyrnensis* και *N. oleander* και επιπρόσθετα στην περίπτωση της συσσώρευσης Cd στο υπό εξέταση φυτό.

Η παρούσα μελέτη λοιπόν, πραγματοποιήθηκε για να εξεταστεί ακριβώς αυτή η επίδραση της εδαφικής αλατότητας στην συσσώρευση του μολύβδου στα φυτικά μέρη του *A. halimus*, όμως όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.23, τα αποτελέσματα προτείνουν ότι η αυξανόμενη εδαφική αλατότητα επιδρά κατά τον αντίθετο τρόπο από τον αναμενόμενο, δηλαδή με αύξηση της αλατότητας παρατηρείται μείωση της

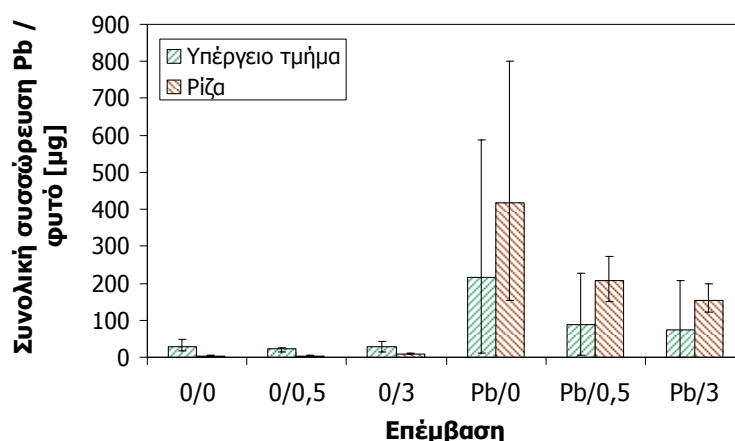


Σχήμα 5.23. Συγκέντρωση μολύβδου [mg/kg ξηρού βάρους] (Α) στις ρίζες και (Β) στα υπέργεια τμήματα των φυτών *A. halimus* που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

συσσώρευσης του μολύβδου στο *Atriplex halimus*. Η συσσώρευση του Pb στις ρίζες του φυτού παρουσιάζεται να μειώνεται σταδιακά με σταδιακή αύξηση της αλατότητας αφού στην επέμβαση με μηδενική εδαφική αλατότητα η συγκέντρωση τις ρίζες του φυτού είναι 48,3 ppm (Pb/0), στην επέμβαση με εδαφική αλατότητα 0,5% (Pb/0,5) η συγκέντρωση είναι 34,4 ppm, ενώ στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την αλατότητα 3% (Pb/3) η συσσώρευση είναι 27,6 ppm. Αντίστοιχα, και η συσσώρευση στα υπέργεια τμήματα μειώνεται με αύξηση της αλατότητας, ενώ η μικρότερη συσσώρευση παρατηρείται στην επέμβαση με εδαφική αλατότητα 0,5% (Pb/0,5), όμως οι διαφορές μεταξύ των τιμών των συγκεντρώσεων δεν είναι σημαντικές. Επιπλέον, πρέπει να σημειωθεί ότι οι συγκεντρώσεις του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα είναι κάτω από τα επίπεδα συγκεντρώσεων που θεωρούνται τοξικά για το φυτό και τα οποία είναι 30 – 300 ppm ξηρού βάρους (Orcutt and Nilsen, 2000).

Επιπρόσθετα, όπως προαναφέρθηκε έχει βρεθεί ότι η αλατότητα μπορεί να επηρεάσει θετικά την μεταφορά των μετάλλων από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα των φυτών όμως το *A. halimus* επέδειξε την ακριβώς αντίθετη συμπεριφορά. Ο λόγος συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας παρουσιάζεται να μειώνεται σταδιακά με σταδιακή αύξηση της εδαφικής αλατότητας, με τιμή 0,4 για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε μη αλατούχο περιβάλλον (Pb/0), 0,11 για την επέμβαση με την αλατότητα 0,5% (Pb/0,5) και 0,10 για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την αλατότητα 3% (Pb/3).

Ανάλογο συμπέρασμα ότι δηλαδή η αύξηση της εδαφικής αλατότητας έχει αρνητική επίδραση στην συσσώρευση του μολύβδου στους φυτικούς ιστούς εξάγεται και από την εξέταση της συνολικής απομάκρυνσης του μολύβδου από το φυτό όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.24, όπου λαμβάνεται υπόψη και η παραγόμενη βιομάζα του φυτού. Στην επέμβαση με μηδενική εδαφική αλατότητα η συνολική συσσώρευση του καδμίου στις ρίζες του φυτού είναι 417 µg και στα υπέργεια τμήματα είναι 217 µg (Pb/0), στην επέμβαση με εδαφική αλατότητα 0,5% (Pb/0,5) η συσσώρευση στις ρίζες είναι 208 µg και στα υπέργεια είναι 87 µg και για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την αλατότητα 3% (Pb/3) η συσσώρευση στις ρίζες είναι 153 µg και στα υπέργεια είναι 74 µg. Ως εκ τούτου, προκύπτει ότι ο συνολικός Pb που συσσωρεύεται στους ιστούς του φυτού σχεδόν υποτριπλασιάζεται με αύξηση της εδαφικής αλατότητας από 0 σε 3%.



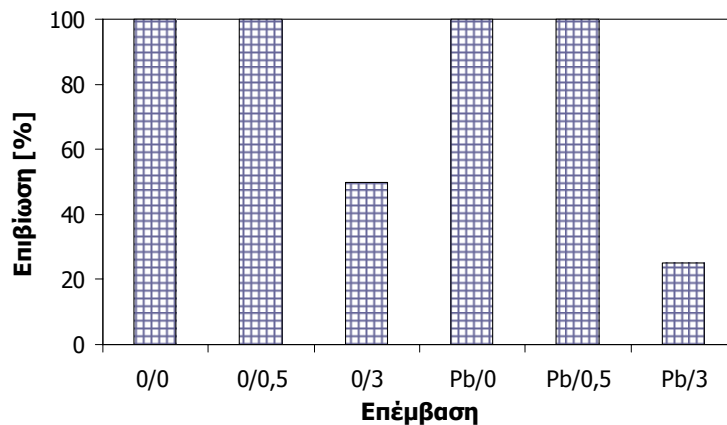
Σχήμα 5.24. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του *A. halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Ανάλογη επίδραση της αλατότητας στην συσσώρευση του μολύβδου στο *A. halimus* αναφέρθηκε σε μελέτη του φυτού σε υδροπονική καλλιέργεια με αυξανόμενες συγκεντρώσεις μολύβδου στο θρεπτικό μέσο από 10 έως 200 ppm και σε συγκεντρώσεις χλωριούχου νατρίου 0, 0,5 και 3%. Ομοίως με τα παρόντα αποτελέσματα, βρέθηκε ότι το φυτό σε υψηλές συγκεντρώσεις NaCl στο θρεπτικό μέσο, συγκέντρωσε μικρότερες ποσότητες του μετάλλου στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα. Βεβαία, όπως έχει προαναφερθεί, η συγκέντρωση των μετάλλων στις ρίζες των φυτών κατά την υδροπονική καλλιέργεια μπορεί να επηρεαστεί από μηχανισμούς βιορόφησης (Nedelkoska and Doran, 2000, Boominathan and Doran, 2003) τους οποίους με τη σειρά της μπορεί να επηρεάσει η συγκέντρωση άλατος στο μέσο. Όμως βρέθηκε ότι και η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού μειώθηκε σημαντικά με την αύξηση της αλατότητας και επιπλέον παρατηρήθηκε σταδιακή μείωση της συγκέντρωσης Pb με την αύξηση της αλατότητας (Kadukova et al., 2004).

5.1.4.4. Επίδραση του μολύβδου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

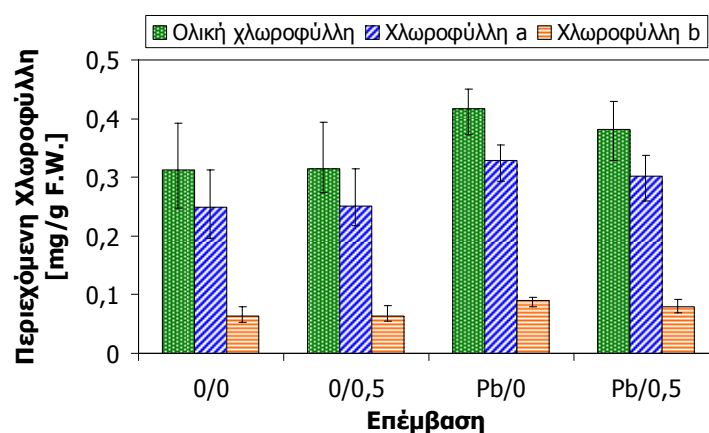
Όπως προαναφέρθηκε, ο μολύβδος αν και δεν αποτελεί απαραίτητο στοιχείο θρέψης απαντάται φυσικά μέσα στους φυτικούς ιστούς. Οι υψηλές συγκεντρώσεις του όμως, προκαλούν ένα εύρος διαταραχών και βλαβών στα φυτά μέσα στις οποίες συμπεριλαμβάνονται η παρεμπόδιση της φωτοσύνθεσης λόγω παρεμπόδισης της λειτουργίας της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (Orcutt and Nilsen, 2000) και η μείωση της βιομάζας και η αναστολή της αύξησης λόγω είτε συγκεκριμένης τοξικότητας του μετάλλου στο φυτό είτε στον ανταγωνισμό με τις θρεπτικές ουσίες είτε σε παρεμπόδιση της διείσδυσης της ρίζας στο έδαφος είτε ακόμα και στην προαναφερθείσα παρεμπόδιση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας (Begonia et al., 1998). Επιπλέον, και η αλατότητα ως παράγοντας καταπόνησης προκαλεί διάφορες διαταραχές συμπεριλαμβανομένης της παρεμπόδισης της φωτοσυνθετικής λειτουργίας, της μείωσης της πρόσληψης θρεπτικών ουσιών και της έλλειψης σε νερό με αποτέλεσμα την υδατική καταπόνηση, οδηγώντας προφανώς και σε μείωση της αύξησης του φυτού (Bajji et al., 1998, Καραμπουρνιώτης, 2003, Murillo-Amador et al., 2006).

Κατά την διάρκεια της παρούσας μελέτης από τον οπτικό έλεγχο των μορφολογικών χαρακτηριστικών του *A. halimus* δεν παρατηρήθηκε καμία ορατή ένδειξη τοξικότητας από το μέταλλο όπως για παράδειγμα χλώρωση, αλλαγή του χρώματος των ριζών ή μείωση του αριθμού των ριζιδίων. Παρατηρήθηκαν όμως συμπτώματα τοξικότητας από την αλατότητα στα φυτά που καλλιεργήθηκαν στο έδαφος με την υψηλή αλατότητα 3%. Τα φυτά αυτών των επεμβάσεων (0/3 και Pb/3) μετά την εβδομή εβδομάδα έκθεσης σε συγκεντρώσεις χλωριούχου νατρίου τόσο υψηλές που προσομοιώνουν το θαλασσινό νερό, ήταν εμφανώς πιο αδύναμα και το φύλλωμα τους ήταν σαφώς πιο καταπονημένο συγκρινόμενα με τα φυτά των άλλων επεμβάσεων. Επιπλέον, πρέπει να αναφερθεί ότι τα συμπτώματα αυτά γίνονταν εντονότερα με την πάροδο του χρόνου έκθεσης με αποτέλεσμα ορισμένα φυτά να μην αντέξουν την καταπόνηση από την αλατότητα μέχρι την λήξη των δέκα πειραματικών εβδομάδων και οδηγήθηκαν σε ξηρασία, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 5.25 που δίδεται η επί τοις εκατό επιβίωση των φυτών ύστερα από 10 πειραματικές εβδομάδες.



Σχήμα 5.25. Ποσοστό [%] φυτών *Atriplex halimus* που επιβίωσαν σε καλλιέργεια εδάφους ρυπασμένου με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες για 10 εβδομάδες ($n=4$).

Τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών του *A. halimus* δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται αρνητικά λόγω του μετάλλου, αντίθετα οι συγκεντρώσεις της ολικής χλωροφύλλης, της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* βρέθηκαν να αυξάνονται παρουσία του μολύβδου. Η ολική χλωροφύλλη παρουσίασε αύξηση κατά 33 και 22% στις επεμβάσεις Pb/0 και Pb/0,5, αντίστοιχα (Σχήμα 5.26). Επιπρόσθετα, η παρουσία της χαμηλής εδαφικής αλατότητας δεν βρέθηκε να επηρεάζει τις συγκεντρώσεις των χλωροφυλλών όπως φαίνεται για τα φυτά της ομάδας ελέγχου με 0,5% αλατότητα (0/0,5) συγκρινόμενα με τα φυτά της ομάδας ελέγχου με μηδενική αλατότητα (0/0) επιβεβαιώνοντας ίσως την ανθεκτικότητα του φυτού στην αλατότητα, ενώ στα φυτά των επεμβάσεων με 3% αλατότητα δεν πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των χλωροφυλλών λόγω της μεγάλης καταπόνησης που υπέστησαν.



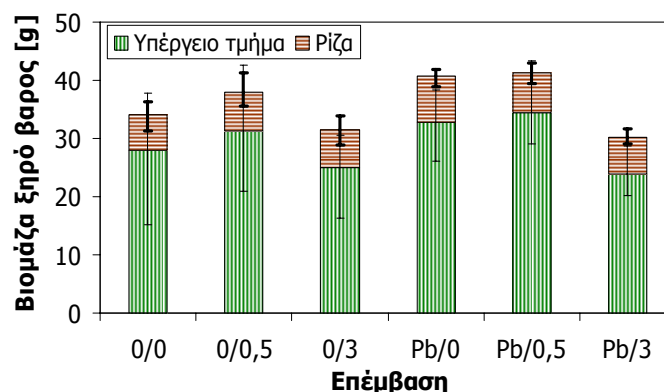
Σχήμα 5.26. Περιεχόμενη χλωροφύλλη [mg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Από τον έλεγχο της αναλογίας των χλωροφυλλών *a* και *b* (Πίνακας 5.16) παρατηρείται ότι η παρότι η αλατότητα δεν βρέθηκε να μεταβάλλει την συγκέντρωση της ολικής χλωροφύλλης, φαίνεται να αυξάνει ελαφρώς την αναλογία *a/b* όπως φαίνεται από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων ελέγχου (0/0 και 0/0,5) και με μόλυβδο (Pb/0 και Pb/0,5). Ενώ ο μόλυβδος παρότι βρέθηκε να αυξάνει την συγκέντρωση της ολικής χλωροφύλλης, προκαλεί μείωση της αναλογίας όπως φαίνεται από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με μηδενική αλατότητα (0/0 και Pb/0) και με 0,5% εδαφική αλατότητα (0/0,5 και Pb/0,5), εκφράζοντας προφανώς το ότι η αύξηση της χλωροφύλλης *b* ήταν μεγαλύτερη από την αύξηση της χλωροφύλλης *a*.

Πίνακας 5.16. Αναλογία χλωροφύλλης *a/b* στο *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.

Επέμβαση	Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i>
0/0	3,87
0/0,5	3,92
Pb/0	3,67
Pb/0,5	3,80

Επιπλέον, η αύξηση των φυτών που εκφράζεται ως βιομάζα και παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.27, δεν βρέθηκε να επηρεάστηκε αρνητικά από την παρουσία του μολύβδου. Αντ' αυτού, από την σύγκριση μεταξύ των φυτών των ομάδων με 0% αλατότητα (0/0 και Pb/0) και εκείνων με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Pb/0,5) η βιομάζα παρουσιάζεται να αυξάνεται με την παρουσία του μολύβδου κατά 10-20%. Αυτό το γεγονός μπορεί να δικαιολογηθεί από το ότι ο μόλυβδος έχει βρεθεί να μπορεί να προκαλέσει μια μικρή ενίσχυση της αύξησης ορισμένων φυτών (Balsberg Pålsson, 1989, Liu et al., 1994, Begonia et al., 1998, Liu et al., 2000), ή/και μπορεί να οφείλεται στην προσθήκη αζώτου

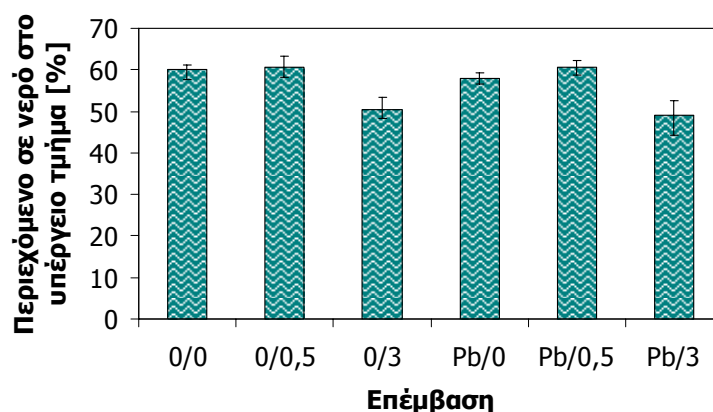


Σχήμα 5.27. Βιομάζα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

μιας και το μέταλλο κατά την ρύπανση του εδάφους προστέθηκε ως νιτρικό άλας. Όμως, όπως προαναφέρθηκε, και σε μελέτη του ίδιου φυτού από άλλους ερευνητές, η παραγόμενη βιομάζα δεν βρέθηκε να επηρεάζεται από το μέταλλο (Kadukova et al., 2004).

Επιπλέον, η επίδραση της χαμηλής εδαφικής αλατότητας 0,5% παρουσιάζεται θετική επιβεβαιώνοντας της αλοφυτική φύση του φυτού, ενώ είναι εμφανής η δυσμενής επιρροή της υψηλής αλατότητας στα φυτά των επεμβάσεων με 3% αλατότητα (0/3 και Pb/3). Επίσης ίσως μπορεί να υποστηριχθεί με βάση την σύγκριση μεταξύ των φυτών ελέγχου με αλατότητα 3% (0/3) και των φυτών της καλλιέργειας στο ρυπασμένο με μόλυβδο έδαφος στην ίδια αλατότητα (Pb/3), ότι προφανώς η καταπόνηση από την τόσο υψηλή αλατότητα ήταν αρκετά σφοδρή που δεν επέτρεψε να φανερωθεί η θετική επίδραση του μολύβδου στην παραγόμενη βιομάζα του φυτού. Ανάλογες παρατηρήσεις για την επίδραση της αλατότητας στο υπό εξέταση φυτό έχουν αναφερθεί και από άλλους ερευνητές σε υδροπονικές καλλιέργειές του σε αυξανόμενες αλατότητες (Bajji et al., 1998, Kadukova et al., 2004).

Όπως έχει ήδη συζητηθεί, ο μόλυβδος μπορεί να επηρεάσει το περιεχόμενο σε νερό στα φυτά αφού μπορεί να προκαλέσει μείωση της πρόσληψης του από τις ρίζες. Στην παρούσα μελέτη όμως, το περιεχόμενο σε νερό στα υπέργεια τμήματα των φυτών *Atriplex halimus* δεν βρέθηκε να επηρεάζεται από την παρουσία του μολύβδου από την σύγκριση μεταξύ των φυτών των επεμβάσεων με 0% αλατότητα (0/0 και Pb/0), με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Pb/0,5) και με 3% εδαφική αλατότητα (0/3 και Pb/3) (Σχήμα 5.28). Οπότε τα αποτελέσματα και από αυτό το πείραμα συνηγορούν στο ότι η καταπόνηση από το μόλυβδο δεν προκαλεί μια δευτερεύουσα υδατική καταπόνηση στο φυτό.



Σχήμα 5.28. Περιεχόμενο σε νερό [%] του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

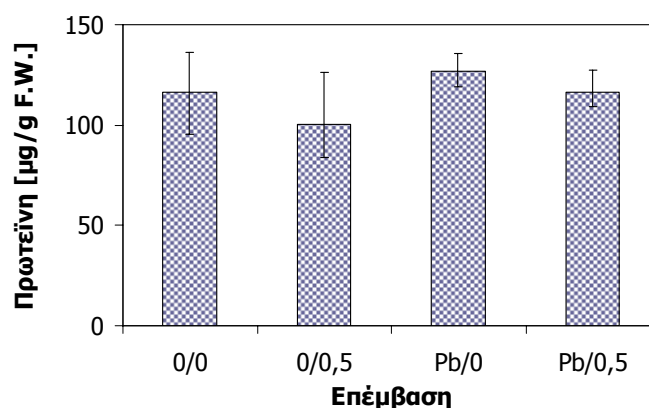
Επιπλέον, και η αλατότητα έχει αποδειχτεί ότι προκαλεί στα φυτά μια μορφή υδατικής καταπόνησης αφού τα εξαιρετικώς χαμηλά οσμωτικά δυναμικά που επικρατούν στο έδαφος παρακρατούν το διαθέσιμο νερό (Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003). Όπως παρουσιάζεται στο σχήμα 5.28, το περιεχόμενο σε νερό

των υπέργειων τμημάτων των φυτών που καλλιεργήθηκαν σε εδαφική αλατότητα 0,5% (0/0,5 και Pb/0,5) δεν παρουσιάζεται να επηρεάζεται από την χαμηλή αλατότητα επιβεβαιώνοντας την ανθεκτικότητα του φυτού στην αλατότητα, όμως, όπως ήταν αναμενόμενο, στην μεγαλύτερη εδαφική αλατότητα 3% που προσομοιώνει την άρδευση με θαλασσίνο νερό (0/3 και Pb/3) παρατηρείται μείωση του περιεχομένου σε νερό. Επιπλέον, αυτή η μείωση του περιεχομένου σε νερό μπορεί να συνδεθεί και με την παρατηρούμενη μείωση της βιομάζας των φυτών που καλλιεργήθηκαν με 3% αλατότητα (Σχήμα 5.27). Ανάλογα αποτελέσματα για την επίδραση της αλατότητας στο περιεχόμενο σε νερό του ίδιου φυτού έχουν αναφερθεί και από άλλους ερευνητές (Bajji et al., 1998, Migahid, 2003).

5.1.4.5. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού

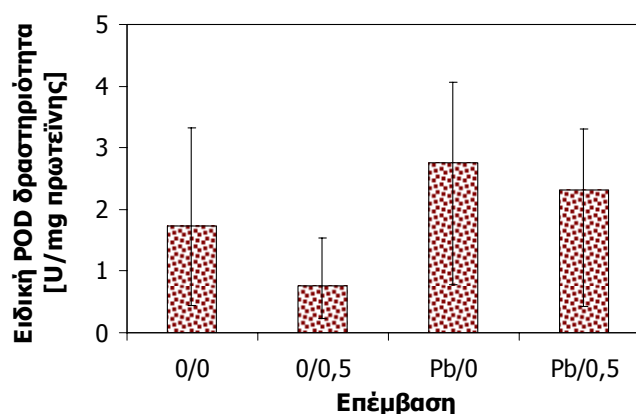
Ως γνωστόν, και ο μόλυβδος προκαλεί οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά λόγω της αύξησης του ρυθμού παραγωγής ενεργών μορφών οξυγόνου με άμεση συνέπεια την μείωση της συγκέντρωσης σημαντικών μορίων από βιολογική άποψη όπως οι πρωτεΐνες, ενώ η απόκριση του φυτού στην καταπόνηση σχετίζεται με την αύξηση της δραστηριότητας του αντιοξειδωτικού ενζυμικού του μηχανισμού ώστε να εξουδετερώσει την παραγωγή αυτή (Verma and Dubey, 2003). Όμως στην παρούσα μελέτη από τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των πρωτεϊνών στα φύλλα του *Atriplex halimus* που δίδονται στο Σχήμα 5.29, προκύπτει ότι οι πρωτεΐνες δεν επηρεάζονται αρνητικά από τον μόλυβδο. Αντίθετα από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με μηδενική εδαφική αλατότητα (0/0 και Pb/0) και των επεμβάσεων με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Pb/0,5) παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών κατά 9 και 16% αντίστοιχα, γεγονός που πιθανόν δηλώνει την σύνθεση νέων πρωτεϊνών καταπόνησης ώστε να ανταπεξέλθει το φυτό από την καταπόνηση λόγω των ROS.

Επιπλέον, από τον έλεγχο της επίδρασης του μολύβδου στην δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του φυτού παρατηρείται αύξηση της



Σχήμα 5.29. Περιεχόμενη πρωτεΐνη [μg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

δραστηριότητας του ενζύμου με την παρουσία του μετάλλου (Σχήμα 5.30). Η POD δραστηριότητα βρέθηκε αυξημένη κατά 60% στα φυτά που εκτέθηκαν στο μόλυβδο και με συνθήκες μηδενικής αλατότητας (Pb/0) συγκρινόμενη με αυτή των αντίστοιχων φυτών ελέγχου (0/0) και αναλόγως από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Pb/0,5) παρατηρείται αυξημένη κατά 200%, επιβεβαιώνοντας ότι η υπεροξειδάση συμμετέχει στην αποτοξίνωση από το μόλυβδο λόγω της συμμετοχής της στην εξουδετέρωση των ROS. Ενώ όπως έχει ξανασυζητηθεί, ανάλογη αύξηση της POD δραστηριότητας λόγω της παρουσίας του μολύβδου έχει παρατηρηθεί στα φυτά *Sesbania drummondii* (Ruley et al., 2004), *Salix acmophylla* (Ali et al., 2003) *Oryza sativa* L. (Verma and Dubey, 2003) και *Sonchus oleraceus* L. (Xiong, 1997).



Σχήμα 5.30. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Όπως προαναφέρθηκε, στην διεθνή βιβλιογραφία συχνά προτείνεται ότι η αύξηση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης συμβάλει στην αντοχή του φυτού στην αλατότητα μιας και εμπλέκεται στην αποτοξίνωση από το σε περίσσεια παραγόμενο υπεροξειδίο του υδρογόνου κατά τις συνθήκες καταπόνησης (Bajji et al., 1998). Για παράδειγμα υπό συνθήκες αλατότητας έχει παρατηρηθεί αύξηση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στο *Helianthus annuum* L. (ηλιανθος) και στο *Zea mays* L. (αραβόσιτος) (Rios-Gonzalez et al., 2002), όπως επίσης και στο *Cucumis sativus* L. (αγγούρι) (Zhu et al., 2004). Όμως, στο παρόν πείραμα όπως και στην περίπτωση του πειράματος με το κάδμιο (Παράγραφος 5.1.2), η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης στα φύλλα του *Atriplex halimus* παρουσιάζεται μειωμένη υπό συνθήκες εδαφικής αλατότητας 0,5%. Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.30, από την σύγκριση μεταξύ των ομάδων ελέγχου (0/0 και 0/0,5) παρατηρείται μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου κατά 56%, ενώ και από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με μόλυβδο (Pb/0 και Pb/0,5) παρατηρείται μείωση κατά 16%. Επιπρόσθετα, παρατηρείται ότι στα φυτά της επέμβασης με το μέταλλο και εδαφική αλατότητα 0,5% (Pb/0,5) η ενζυμική δραστηριότητα παρουσιάζεται να είναι μικρότερη από την αντίστοιχη των φυτών που εκτέθηκαν μόνο σε μόλυβδο (Pb/0), γεγονός που μπορεί να αποδοθεί είτε στο ότι η τάση για μειωμένη δραστηριότητα από την αλατότητα εξισορροπείται από την τάση για

αυξημένη ενζυμική δραστηριότητα λόγω του Pb, είτε στην μικρότερη συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα των φυτών της συγκεκριμένης επέμβασης (Σχήμα 5.23). Ανάλογες αναφορές για την επίδραση της αλατότητας στην δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *A. halimus* έχουν παρουσιαστεί και από άλλους ερευνητές (Bajji et al., 1998). Επίσης από τα αποτελέσματα των πρωτεϊνών στα φύλλα του φυτού (Σχήμα 5.29) παρατηρείται ότι η 0,5% εδαφική αλατότητα και σε αυτή την περίπτωση όπως και στο πείραμα με το κάδμιο (Παράγραφος 5.1.2) προκάλεσε μείωση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών, όπως φαίνεται από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων ελέγχου (0/0 και 0/0,5) και των επεμβάσεων με μόλυβδο (Pb/0 και Pb/0,5) όπου παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης κατά 14 και 8% αντίστοιχα, ενώ ανάλογες παρατηρήσεις στο υπό εξέταση φυτό έχουν ληφθεί και από άλλους ερευνητές (Bajji et al., 1998).

5.1.5. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις καδμίου και μολύβδου

5.1.5.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Το πείραμα αυτό πραγματοποιήθηκε με κύριο στόχο να ελεγχθεί η ικανότητα του *Atriplex halimus* να συσσωρεύει τον μόλυβδο και το κάδμιο στο σώμα του και επιπλέον να διαπιστωθεί η αλληλεπίδραση του ενός μετάλλου στην συσσώρευση του άλλου στους φυτικούς ιστούς. Κατά την έναρξη του πειράματος, έντεκα μηνών φυτά *A. halimus* L. που είχαν αναπτυχθεί σε προμετρημένο οργανικό υπόστρωμα 670 - 700 g ξηρού βάρους (βλ. Παράγραφο 4.1.1) χωρίστηκαν σε 4 πειραματικές ομάδες με 6 φυτά ανά ομάδα – επέμβαση έτσι ώστε κάθε επέμβαση να έχει συγκρίσιμη μέση βιομάζα. Η ρύπανση του εδάφους με τα μέταλλα πραγματοποιήθηκε τεχνητά με προσθήκη στην ριζόσφαιρα ξεχωριστών υδατικών διαλυμάτων $Pb(NO_3)_2$ και $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ σε μια δόση σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.17). Οι συγκεντρώσεις του Pb στο έδαφος που επιλέχθηκαν για την διεξαγωγή αυτού του πειράματος ήταν 800, 1600 και 3200 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους, δηλαδή σε συγκεντρώσεις διπλάσιες, τετραπλάσιες και οκταπλάσιες των ανώτερων οριακών τιμών του μετάλλου στο έδαφος που θεωρούνται τοξικές για τα φυτά και για το κάδμιο επιλέχθηκαν οι συγκεντρώσεις 20, 40 και 80 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους δηλαδή ανώτερες κατά 2,5, 5 και 10 φορές αντίστοιχα, από τις ανώτερες οριακές τιμές οι οποίες είναι 3 – 8 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους (Orcutt and Nilsen, 2000).

Πίνακας 5.17. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Επέμβαση ("κωδικό όνομα")	Συγκέντρωση Pb που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση Cd που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]
1	"0"	0	0
2	"800Pb+20Cd"	800	20
3	"1600Pb+40Cd"	1600	40
4	"3200Pb+80Cd"	3200	80

Η έναρξη του πειράματος έγινε στα τέλη Σεπτεμβρίου και ολόκληρη η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε για 10 εβδομάδες μέσα σε γυάλινο θερμοκήπιο. Η φωτοπερίοδος κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν 12 – 14 ώρες (μικρότερη στις τελευταίες πειραματικές εβδομάδες) ενώ τρεις φορές κατά τη διάρκεια της ημέρας λαμβάνονταν μετρήσεις της θερμοκρασίας και της υγρασίας, στις 9:30 π.μ., 14:30 μ.μ. και 18:30 μ.μ., ενώ κατά τη διάρκεια της νύχτας λαμβάνονταν μετρήσεις των ελάχιστων και μέγιστων τιμών της θερμοκρασίας (Πίνακας 5.18). Φωτογραφίες του πειράματος παρέχονται στο Παράρτημα Ι.

Τα φυτά ποτίζονταν κάθε 2 ή 3 ημέρες ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τις ανάγκες των φυτών, με περίπου 200 mL νερού βρύσης προκειμένου να αποφευχθεί πιθανή εκροή του Pb και του Cd με το νερό από τις γλάστρες ενώ επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν και πλαστικά πιάτα κάτω από κάθε γλάστρα.

Πίνακας 5.18. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	14,5-40,5	29,8	37-78	60,8
Μεσημέρι	14,5-47	29,5	27-78	48,7
Απόγευμα	13-29,5	19,3	49-77,5	64,8
Νύχτα	7,5-21	15,3	-	-

Μία φορά την εβδομάδα σε συγκεκριμένη μέρα και ώρα, πραγματοποιούνταν μετρήσεις του ύψους των υπέργειων τμημάτων προκειμένου να αξιολογηθεί ποσοτικά η φυσική κατάσταση των φυτών ενώ καταγράφονταν και οποιαδήποτε συμπτώματα τοξικότητας από τα μέταλλα παρατηρούνταν οπτικά. Με την λήξη των 10 εβδομάδων πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της συγκέντρωσης του Pb και του Cd στα διάφορα φυτικά τμήματα. Επιπλέον, έλαβαν χώρα μετρήσεις των ολικών και φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων των μετάλλων στο έδαφος, οι οποίες υποστηρίχθηκαν και από μετρήσεις των χαρακτηριστικών του εδάφους καλλιέργειας, με δειγματοληψία που πραγματοποιήθηκε με την λήξη της πρώτης πειραματικής εβδομάδας έτσι ώστε να ληφθούν υπόψη όλοι οι παράγοντες που επηρεάζουν τις διαθέσιμες ποσότητες των μετάλλων για τα φυτά. Τέλος έλαβαν χώρα μετρήσεις της βιομάζας, της περιεχόμενης χλωροφύλλης και του περιεχομένου σε νερό για τον έλεγχο της επίδρασης του μείγματος των μετάλλων στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού και επιπρόσθετα έλαβαν χώρα μετρήσεις των πρωτεϊνών και της δραστηριότητας του αντιοξειδωτικού ενζύμου υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης στα φύλλα του φυτού για τον έλεγχο της οξειδωτικής καταπόνησης που υφίσταται το φυτό από τα μέταλλα. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν παρέχονται στην Παράγραφο 4.1.3.

5.1.5.2. Χαρακτηρισμός εδάφους

Όπως προαναφέρθηκε το παρόν πείραμα πραγματοποιήθηκε με κύριο στόχο να ελεγχθεί η ικανότητα του *Atriplex halimus* να συσσωρεύει τον μόλυβδο και το κάδμιο στο σώμα του αλλά και επιπλέον να διαπιστωθεί η αλληλεπίδραση του ενός μετάλλου στην συσσώρευση του άλλου στους φυτικούς ιστούς μιας και σε αρκετές μελέτες έχει διαπιστωθεί ότι η παρουσία ενός μετάλλου μπορεί να επηρεάσει την βιοδιαθεσιμότητα στο έδαφος και κατά συνέπεια την πρόσληψη από τα φυτά ενός δευτέρου μετάλλου. Για παράδειγμα έχει βρεθεί ότι τα κατιόντα των μετάλλων Pb, Cu και Zn μειώνουν την προσρόφηση του καδμίου λόγω ανταγωνισμού τους για τις διαθέσιμες θέσεις

προσρόφησης και τις θέσεις ανταλλαγής κατιόντων (Martin and Kaplan, 1998, Madyiwa et al., 2004, Ghosh and Singh, 2005). Ενώ στην περίπτωση του μολύβδου έχει αναφερθεί ότι η παρουσία καδμίου άλλοτε επηρεάζει (Carlson and Bazzaz, 1977, Miller et al., 1977) και άλλοτε δεν επηρεάζει τις βιοδιαθέσιμες συγκεντρώσεις του (Madyiwa et al., 2004, Sekhar et al., 2005).

Στην παρούσα μελέτη όμως λόγω αναποτελεσματικότητας της μεθόδου DTPA για τον προσδιορισμό των φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων των δύο μετάλλων σε οργανικό υπόστρωμα παρότι συστήνεται ως καταλληλότερη για τον προσδιορισμό ενός συγκεκριμένου μηχανισμού απελευθέρωσης των μετάλλων από τα εδάφη όπως είναι η εκρόφιση με αύξηση της αλατότητας ή με παρουσία άλλου μετάλλου (Rauret, 1998), δεν μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα. Όπως παρατηρείται και στον Πίνακα 5.19 όπου παρέχονται όλα τα αποτελέσματα των μετρήσεων που έλαβαν χώρα στο έδαφος καλλιέργειας μία εβδομάδα μετά την τεχνητή ρύπανση με τα μέταλλα, ολόκληρες οι ποσότητες του καδμίου αλλά και του μολύβδου που προστέθηκαν στο έδαφος μετρήθηκαν ως φυτοδιαθέσιμες.

Πίνακας 5.19. Χαρακτηρισμός του εδάφους.
Δειγματοληψία μια εβδομάδα μετά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας (n=2).

		Επέμβαση			
		0	20Cd+800Pb	40Cd+1600Pb	80Cd+3200Pb
pH (H ₂ O)		5,84	5,87	5,71	5,69
EC [mS/cm]		1,93	1,96	2,06	2,31
OM [%]				58-60	
CaCO ₃ [%]				0	
Προσπιθέμενος ολικός Pb [ppm]		0	800	1600	3200
Προσπιθέμενο ολικό Cd [ppm]		0	20	40	80
Μετρούμενος ολικός Pb [ppm]	μέσος όρος	27,9	629,5	1021,5	2030
	εύρος	25,9-29,9	550-709	1010-1033	2020-2040
Μετρούμενο ολικό Cd [ppm]	μέσος όρος	0	14,85	28,55	75,15
	εύρος	n.d.*	13,7-16	23,5-33,6	50,9-99,4
Φυτοδιαθέσιμος Pb (DTPA) [ppm]	μέσος όρος	20,1	943,5	1560	2660
	εύρος	17,5-22,7	837-1050	1350-1770	2340-2980
Φυτοδιαθέσιμο Cd (DTPA) [ppm]	μέσος όρος	0,47	34,6	51,45	103,4
	εύρος	n.d.-0,95	29,7-39,5	43,1-59,8	95,8-111
Επιτρεπτές τιμές Pb [ppm]**				50-300	
Επιτρεπτές τιμές Cd [ppm]**				1 - 3	

* n.d.: δεν ανιχνεύτηκε (not detected)

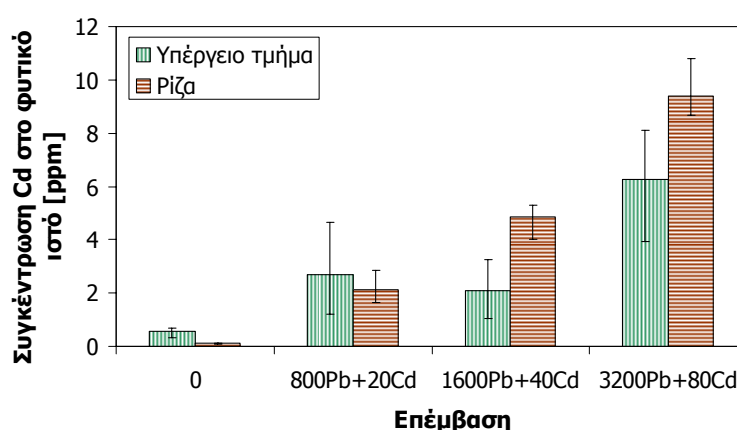
** Οριακές επιτρεπτές συγκεντρώσεις στο έδαφος στην Ελλάδα (pH 6-7) (Πηγή: ΦΕΚ 641/7.8.1991)

Οι παρατηρούμενες διαφοροποιήσεις μεταξύ των προστιθέμενων και των μετρούμενων ολικών συγκεντρώσεων όπως επίσης και μεταξύ των ολικών μετρούμενων συγκεντρώσεων και των φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων, όπως και στα προηγούμενα πειράματα, οφείλονται στον σχεδιασμό της πειραματικής διαδικασίας αφού η προσθήκη των μετάλλων στο έδαφος έλαβε χώρα με μια δόση στη ριζόσφαιρα ως διαφορετικά υδατικά διαλύματα, μεθοδολογία που προφανώς δεν εξασφαλίζει την ομοιόμορφη ρύπανση όλου του οργανικού υποστρώματος μέσα στην γλάστρα, με αντίκτυπο στην δειγματοληψία των υποδειγμάτων για τον κάθε διαφορετικό προσδιορισμό. Επιπρόσθετα, από τις μετρήσεις των ιδιοτήτων του εδάφους, η οργανική ουσία σε όλα τα δείγματα βρέθηκε 58-60%, όπως ήταν αναμενόμενο λόγω του ότι επρόκειτο για οργανικό υπόστρωμα, το ολικό CaCO_3 βρέθηκε μηδενικό, ενώ το pH κυμαινόταν μεταξύ 5,7 και 5,9 και η αγωγιμότητα από 1,9 έως 2,3 mS/cm.

5.1.5.3. Συσσώρευση μετάλλων στο φυτικό ιστό

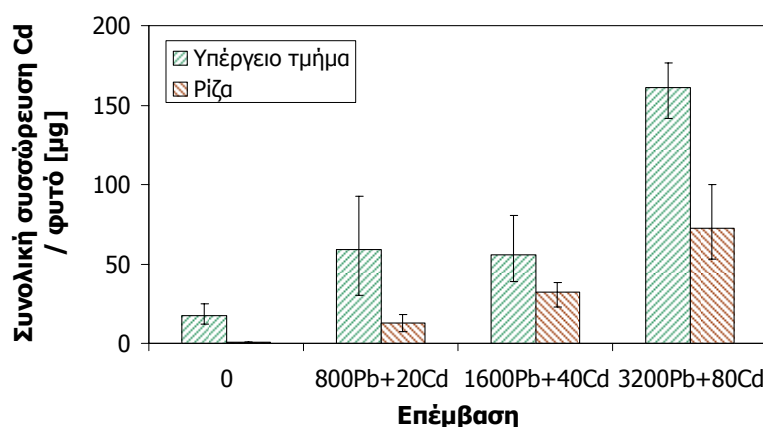
5.1.5.3.1. Κάδμιο

Όπως είναι φανερό από το Σχήμα 5.31, η συσσώρευση του καδμίου στο φυτικό ιστό του *Atriplex halimus*, κατά την καλλιέργεια του σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις μείγματος καδμίου και μολύβδου, αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος, όπως παρατηρήθηκε και στην περίπτωση της καλλιέργειας του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο μόνο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Cd (Παράγραφος 5.1.1). Παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης στις ρίζες από 2,1 ppm για την επέμβαση με 20 ppm Cd και 800 ppm Pb (800Pb+20Cd), σε 4,9 ppm για την επέμβαση με 40 ppm Cd και 1600 ppm Pb (1600Pb+40Cd) και τελικά σε 9,4 ppm για την επέμβαση με 80 ppm Cd και 3200 ppm Pb (3200Pb+80Cd) στο έδαφος αντίστοιχα, δηλαδή με τετραπλασιασμό της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος προκύπτει τουλάχιστον ένας ανάλογος τετραπλασιασμός της συσσώρευσης του στις ρίζες.



Σχήμα 5.31. Συγκέντρωση καδμίου [mg/kg ξηρού βάρους] στα τμήματα του φυτού *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επιπλέον, η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού ήταν λίγο μικρότερη από ότι στις ρίζες, όμως παρουσιάζεται η ίδια τάση αύξησης με την αντίστοιχη αύξηση του μετάλλου στο έδαφος, τουλάχιστον για την επέμβαση με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις των μετάλλων στο έδαφος (3200Pb+80Cd). Στην επέμβαση με 20 ppm Cd και 800 ppm Pb (800Pb+20Cd) στο έδαφος η συγκέντρωση του Cd στα υπέργεια τμήματα ήταν 2,7 ppm, στην επέμβαση με 40 ppm Cd και 1600 ppm Pb (1600Pb+40Cd) η συγκέντρωση ήταν 2,1 ppm και στην επέμβαση με 80 ppm Cd και 3200 ppm Pb (3200Pb+80Cd) η συγκέντρωση ήταν 6,3 ppm, δηλαδή με τετραπλασιασμό της συγκέντρωσης των μετάλλων στο έδαφος παρατηρείται τουλάχιστον διπλασιασμός της συσσώρευσης του καδμίου στο υπέργειο τμήμα. Παρόλα αυτά, τα επίπεδα συγκεντρώσεων στα υπέργεια τμήματα που θεωρούνται τοξικά για τα φυτά και τα οποία είναι 5 - 30 ppm ξηρού βάρους υπερέβησαν μόνο στην επέμβαση με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις μετάλλων στο έδαφος (3200Pb+80Cd) (Orcutt and Nilsen, 2000).

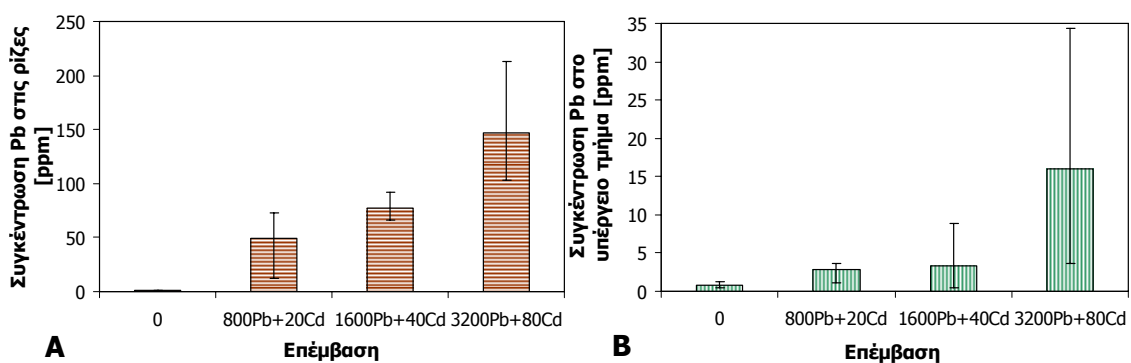


Σχήμα 5.32. Συνολικό ποσό Cd στα φυτικά μέρη του *A. halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Σε αναλογία με τις παραπάνω παρατηρήσεις βρίσκονται και τα αποτελέσματα από την εξέταση της συνολικής απομάκρυνσης του καδμίου από το φυτό (Σχήμα 5.32), που όπως παρατηρείται, η ολική συσσώρευση του μετάλλου στο φυτό αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης των μετάλλων στο έδαφος. Στην επέμβαση με 20 ppm Cd και 800 ppm Pb στο έδαφος (800Pb+20Cd) η απομάκρυνση καδμίου από ολόκληρο το φυτό είναι 72 μg, στην επέμβαση με 40 ppm Cd και 1600 ppm Pb (1600Pb+40Cd) η απομάκρυνση είναι 88 μg, και στην επέμβαση με 80 ppm Cd και 3200 ppm Pb (3200Pb+80Cd) η απομάκρυνση Cd φθάνει τα 234 μg. Ως εκ τούτου, είναι προφανές ότι, παρουσία μολύβδου, όταν η συγκέντρωση του καδμίου στο έδαφος τετραπλασιάζεται, το συνολικό Cd που συσσωρεύεται σε ολόκληρο το φυτό τριπλασιάζεται. Επίσης είναι άξιο παρατήρησης ότι η συνολική συσσώρευση του καδμίου είναι μεγαλύτερη στο υπέργειο τμήμα από ότι στη ρίζα του φυτού, λόγω της μεγάλης παραγωγής βιομάζας, γεγονός σημαντικό για εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης με την έννοια ότι ευνοείται ο θειρισμός του υπέργειου τμήματος έναντι του ξεριζώματος ολόκληρου του φυτού.

5.1.5.3.2. Μόλυβδος

Όπως είναι φανερό από το Σχήμα 5.33, η συσσώρευση του μολύβδου στους ιστούς του *A. halimus* αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης των μετάλλων στο έδαφος. Στις ρίζες των φυτών της επέμβασης με 20 ppm Cd και 800 ppm Pb στο έδαφος (800Pb+20Cd), η συγκέντρωση Pb ήταν 49 ppm, στην επέμβαση με 40 ppm Cd και 1600 ppm Pb (1600Pb+40Cd) ήταν 78 ppm και στην επέμβαση με 80 ppm Cd και 3200 ppm Pb (3200Pb+80Cd) η συγκέντρωση Cd έφθασε τα 147 ppm, δηλαδή με τετραπλασιασμό της συγκέντρωσης των μετάλλων στο έδαφος παρατηρήθηκε τριπλασιασμός της συσσώρευσης του μετάλλου στις ρίζες. Ανάλογη συμπεριφορά παρατηρήθηκε και στην περίπτωση της καλλιέργειας του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο μόνο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις μολύβδου (Παράγραφος 5.1.3). Η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού ήταν αρκετά μικρότερη από ότι στις ρίζες του φυτού, με τιμές 2,8, 3,3 και 16 ppm για τις επεμβάσεις (800Pb+20Cd), (1600Pb+40Cd) και (3200Pb+80Cd) αντίστοιχα (Σχήμα 5.33B). Εντούτοις, αυτά τα επίπεδα συγκεντρώσεων, σε καμιά από τις επεμβάσεις δεν υπερβαίνουν το εύρος των συγκεντρώσεων που θεωρούνται τοξικά για τα φυτά και τα οποία είναι 30 - 300 ppm ξηρού βάρους (Orcutt and Nilsen, 2000).

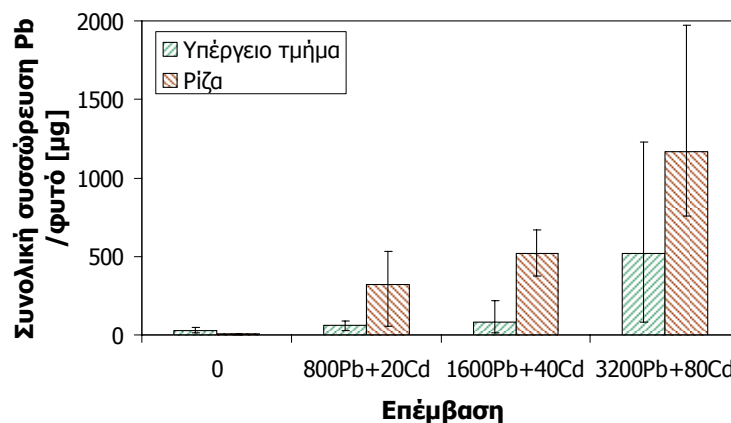


Σχήμα 5.33. Συγκέντρωση μολύβδου [mg/kg ξηρού βάρους] (A) στις ρίζες και (B) στα υπέργεια τμήματα των φυτών *A. halimus* που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επιπλέον, παρατηρείται ότι και σε αυτή την περίπτωση, η κύρια περιοχή συσσώρευσης του μολύβδου είναι οι ρίζες του φυτού όπου η συσσώρευση κυμαίνεται από 90% έως 96% του συνολικού μολύβδου που προσελήφθηκε από τα φυτά και το ίδιο συμπέρασμα εξάγεται και από την εξέταση του λόγου συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας όπου παρουσιάζεται αρκετά μικρός με εύρος τιμών 0,04 έως 0,12.

Τέλος, σε αντιστοιχία με τα παραπάνω συμπεράσματα βρίσκονται και τα αποτελέσματα από την εξέταση της συνολικής απομάκρυνσης του μολύβδου από το φυτό (Σχήμα 5.34), όπου, όπως έχει αναφερθεί, αποτελεί ένα δείκτη ο οποίος μπορεί να δώσει σημαντικές πληροφορίες για πιθανή εφαρμογή του φυτού για σκοπούς φυτοσυσσώρευσης, αφού λαμβάνει υπόψη και την επίδραση των μετάλλων στην παραγωγή της βιομάζας του φυτού. Όπως παρατηρείται, η ολική συσσώρευση του μολύβδου στο φυτό αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης των μετάλλων στο

έδαφος. Στην επέμβαση με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd στο έδαφος (800Pb+20Cd) η συσσώρευση μολύβδου από ολόκληρο το φυτό είναι 387 μg, στην επέμβαση με 1600 ppm Pb και 40 ppm Cd (1600Pb+40Cd) η συσσώρευση είναι 603 μg, ενώ για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος με 3200 ppm Pb και 80 ppm Cd (3200Pb+80Cd) η συσσώρευση είναι 1686 μg.



Σχήμα 5.34. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του *A. halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

5.1.5.3.3. Αλληλεπίδραση του Pb και του Cd στην αμοιβαία συσσώρευση τους

Όπως έχει προαναφερθεί, η ταυτόχρονη παρουσία πολλών παραγόντων καταπόνησης μπορεί να έχει είτε συνεργιστική είτε ανταγωνιστική επίδραση στο φυτό (Καραμπουρνιώτης, 2003). Έχει αναφερθεί ότι σε φυτά που καλλιεργούνται σε εδάφη ρυπασμένα με μόλυβδο και κάδμιο, η πρόσληψη του ενός μετάλλου μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία του άλλου, δηλαδή η μεταξύ τους αλληλεπίδραση όταν υπάρχουν και τα δύο στο έδαφος μπορεί να οδηγήσει είτε σε αύξηση είτε σε μείωση της πρόσληψης του ενός ή του άλλου μετάλλου από το φυτό. Παραδείγματος χάρη, στο φυτό *Zea mays* L. (καλαμπόκι) παρατηρήθηκε ότι η συσσώρευση του Cd αυξήθηκε με προσθήκη Pb, ενώ η παρουσία Cd στο έδαφος μείωσε την πρόσληψη του Pb (Miller et al., 1977). Ομοίως, ο μόλυβδος παρατηρήθηκε να αυξάνει την πρόσληψη του καδμίου στη σίκαλη (Carlson and Rolfe, 1979). Αντίθετα, στο φυτό *Plantanus occidentalis* L. η παρουσία και των δυο μετάλλων στο έδαφος αύξησε την πρόσληψη και των δυο σε σύγκριση με αυτή που παρατηρούνταν όταν υπήρχε παρουσία μόνο του ενός μετάλλου στο έδαφος (Carlson and Bazzaz, 1977). Σε μελέτη του φυτού *Cynodon nlemfuensis* κατά την καλλιέργεια του σε έδαφος ρυπασμένο και με τα δύο μέταλλα παρατηρήθηκε αύξηση της συσσώρευσης του Cd στους φυτικούς ιστούς όμως δεν παρατηρήθηκε και αύξηση της συσσώρευσης του μολύβδου. Με περαιτέρω, λοιπόν, μετρήσεις της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων, βρέθηκε ότι η παρουσία του Cd δεν επέφερε καμιά μεταβολή στις βιοδιαθέσιμες συγκεντρώσεις του Pb αφού δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων μόνο με μόλυβδο και με μείγμα του με κάδμιο, ενώ αντίθετα, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στο βιοδιαθέσιμο Cd στο έδαφος με την παρουσία του Pb, υποδηλώνοντας ότι η ταυτόχρονη παρουσία Pb και Cd στο έδαφος οδήγησε σε

αύξηση των βιοδιαθέσιμων συγκεντρώσεις του Cd στο έδαφος (Madyiwa et al., 2004). Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι τα κατιόντα των μετάλλων (Pb, Cu και Zn) και ιδιαίτερα των αλκαλικών γαιών (Ca και Mg) μειώνουν την προσρόφηση του καδμίου λόγω ανταγωνισμού τους για τις διαθέσιμες θέσεις προσρόφησης και τις θέσεις ανταλλαγής κατιόντων (Martin and Kaplan, 1998, Ghosh and Singh, 2005). Επιπρόσθετα, σε ερευνητικές μελέτες στις οποίες ελέγχθηκε η επίδραση άλλων ιόντων μετάλλων (Cr, Ni, Zn, Cd) στην πρόσληψη και συσσώρευση του Pb από το φυτό *Hemidesmus indicus*, αποδείχτηκε ότι παρουσία νικελίου η πρόσληψη μολύβδου μειώθηκε κατά 50%, αλλά παρουσία ψευδάργυρου, χρωμίου και καδμίου, η πρόσληψη μολύβδου επηρεάστηκε μόνο οριακά (Sekhar et al., 2005).

Σε σύγκριση λοιπόν των αποτελεσμάτων της καλλιέργειας του *A. halimus* σε έδαφος ρυπασμένο με μείγμα των μετάλλων με τα αποτελέσματα από την αντίστοιχη καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο μόνο με κάδμιο (Παράγραφος 5.1.1), διαπιστώθηκε ότι η παρουσία του μολύβδου είχε θετική επίδραση στην συσσώρευση του καδμίου στους ιστούς του φυτού. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.20, η συσσώρευση του Cd στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα σε όλες τις επεμβάσεις αυξήθηκε με την παρουσία του Pb στο έδαφος. Η παρατήρηση αυτή έρχεται σε συμφωνία με όλες τις παραπάνω βιβλιογραφικές αναφορές στις οποίες παρατηρήθηκε αύξηση της πρόσληψης του καδμίου από τα φυτά λόγω της ταυτόχρονης παρουσίας μολύβδου στο έδαφος (Miller et al., 1977, Carlson and Bazzaz, 1977, Carlson and Rolfe, 1979, Madyiwa et al., 2004).

Πίνακας 5.20. Συγκέντρωση καδμίου στις ρίζες και τα υπέργεια τμήματα του *Atriplex halimus*. Σύγκριση πειραμάτων με ρύπανση μόνο με κάδμιο και με μείγμα μολύβδου και καδμίου.

Συγκέντρωση Cd στο έδαφος [ppm]	Ρίζα		Υπέργειο τμήμα	
	Καλλιέργεια μόνο με Cd [ppm]	Καλλιέργεια με Cd και Pb [ppm]	Καλλιέργεια μόνο με Cd [ppm]	Καλλιέργεια με Cd και Pb [ppm]
20	1,90	2,10	0,90	2,70
40	2,60	4,90	1,50	2,10
80	4,75	9,40	3,00	6,30

Για την περίπτωση του μολύβδου, η σύγκριση των αποτελεσμάτων της καλλιέργειας του *Atriplex halimus* σε έδαφος ρυπασμένο με μείγμα των μετάλλων με τα αποτελέσματα από την αντίστοιχη καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο μόνο με μολύβδο (Παράγραφος 5.1.3), αποκάλυψε ότι το κάδμιο δεν είχε σημαντική επίδραση στη συσσώρευση του μολύβδου στις ρίζες για τις επεμβάσεις με συγκεντρώσεις Pb στο έδαφος 800 και 1600 ppm, όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.21. Όμως στην περίπτωση καλλιέργειας στο έδαφος με την μεγαλύτερη συγκέντρωση μολύβδου 3200 ppm, παρατηρείται μια σημαντική αρνητική επίδραση του καδμίου η οποία οδήγησε σε μείωση της συσσώρευσης του Pb στις ρίζες κατά 73%. Και επιπλέον, η συσσώρευση και η μετακίνηση του μολύβδου στα υπέργεια τμήματα του φυτού φαίνεται να επηρεάστηκαν αρνητικά από την παρουσία του δεύτερου μετάλλου ενώ στην περίπτωση καλλιέργειας

στο έδαφος με την μεγαλύτερη συγκέντρωση μολύβδου 3200 ppm, παρατηρείται μια σημαντική θετική επίδραση του καδμίου η οποία οδήγησε σε αύξηση της συσσώρευσης του Pb κατά 100%.

Πίνακας 5.21. Συγκέντρωση μολύβδου στις ρίζες και τα υπέργεια τμήματα του *Atriplex halimus*. Σύγκριση πειραμάτων με ρύπανση μόνο με μολύβδου και με μείγμα μολύβδου και καδμίου.

Συγκέντρωση Pb στο έδαφος [ppm]	Ρίζα		Υπέργειο τμήμα	
	Καλλιέργεια μόνο με Pb [ppm]	Καλλιέργεια με Pb και Cd [ppm]	Καλλιέργεια μόνο με Pb [ppm]	Καλλιέργεια με Pb και Cd [ppm]
800	48,0	49,0	7,00	2,80
1600	75,0	78,0	47,0	3,30
3200	254	147	8,00	16,0

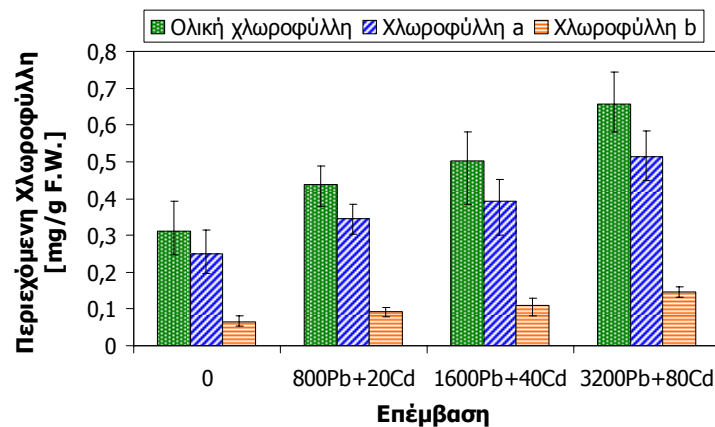
5.1.5.4. Επίδραση των μετάλλων στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

Όπως έχει προαναφερθεί, το κάδμιο και ο μόλυβδος προκαλούν ένα μεγάλο εύρος διαταραχών στα φυτά στις οποίες συμπεριλαμβάνονται η αναστολή της βιοσύνθεσης της χλωροφύλλης, η μείωση της πρόσληψης θρεπτικών συστατικών, οι διαταραχές του περιεχόμενου σε νερό και η μείωση της αύξησης των φυτών (Xiong, 1997, Vassilev et al., 1997, Orcutt and Nilsen, 2000, Piechalak et al., 2002, Zhou and Qiu, 2005).

Παρόλα αυτά στην παρούσα μελέτη το *Atriplex halimus* δεν επέδειξε κανένα ορατό σύμπτωμα τοξικότητας από τα μέταλλα. Η εμφάνιση των υπέργειων τμημάτων δεν παρουσίασε οπτικές διαφορές σε σύγκριση με τα φυτά ελέγχου καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος και επιπλέον ούτε και στις ρίζες βρέθηκε κανένα σύμπτωμα τοξικότητας από τα μέταλλα όπως αλλαγή του χρώματος, μείωση της επιμήκυνσης της ρίζας ή μείωση του αριθμού των ριζιδίων. Επιπρόσθετα, η καταπόνηση από τα βαρέα μέταλλα δεν είχε καμία επίπτωση στην επιβίωση του φυτού και όλα τα φυτά παρέμειναν ζωντανά μέχρι την λήξη της πειραματικής διαδικασίας.

Επίσης και σε αυτό το πείραμα, τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών του φυτού δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται αρνητικά από την παρουσία των μετάλλων. Αντίθετα οι συγκεντρώσεις της ολικής χλωροφύλλης, της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* βρέθηκαν να αυξάνονται προοδευτικά με την αύξηση του καδμίου και του μολύβδου στο έδαφος, όπως ακριβώς παρατηρήθηκε και στις καλλιέργειες του φυτού με αυξανόμενες συγκεντρώσεις μόνο καδμίου και μόνο μολύβδου (Παράγραφοι 5.1.1 και 5.1.3). Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.35 η συγκέντρωση της ολικής χλωροφύλλης από 0,31 mg/g νωπού βάρους φύλλων που μετρήθηκε για τα φυτά ελέγχου, αυξήθηκε σε 0,44 mg/g για τα φυτά της επέμβασης με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd (800Pb+20Cd), στην συνέχεια αυξήθηκε περαιτέρω σε 0,50 mg/g για τα φυτά της επέμβασης με 1600 ppm Pb και 40 ppm Cd (1600Pb+40Cd) και τέλος για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν στο ρυπασμένο έδαφος με τις υψηλότερες τιμές μετάλλων 3200 ppm Pb

και 80 ppm Cd (3200Pb+80Cd) έφθασε την τιμή των 0,66 mg/g, δηλαδή παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση των περιεχόμενων χλωροφυλλών μέχρι και πάνω 110%.



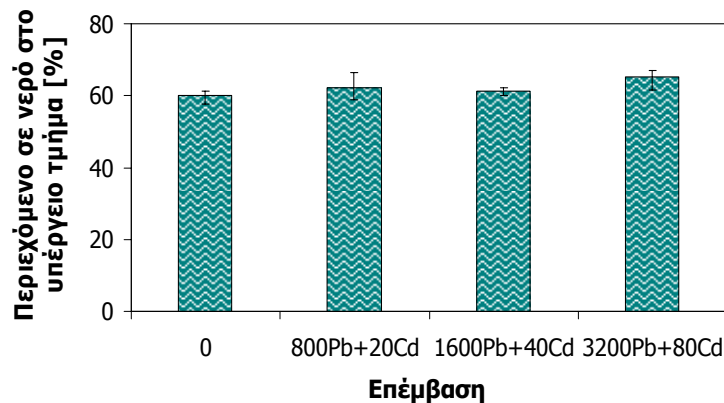
Σχήμα 5.35. Περιεχόμενη χλωροφύλλη [mg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επιπλέον, από την εξέταση της αναλογίας μεταξύ των χλωροφυλλών *a* και *b* (Πίνακας 5.22), όπου έχει υποστηριχθεί ότι είναι πιο ευαίσθητη σε αλλαγές από την ολική χλωροφύλλη, παρατηρείται μια τάση για σταδιακή μείωση της αναλογίας χλωροφύλλης *a/b* με την σταδιακή αύξηση των συγκεντρώσεων των μετάλλων στο έδαφος εκφράζοντας ουσιαστικά το γεγονός ότι η αύξηση της χλωροφύλλης *b* ήταν μεγαλύτερη από την αύξηση της χλωροφύλλης *a*.

Πίνακας 5.22. Αναλογία χλωροφύλλης *a/b* στο *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd (αλατότητα 0%).

Επέμβαση	Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i>
0	3,87
800Pb+20Cd	3,73
1600Pb+40Cd	3,63
3200Pb+80Cd	3,55

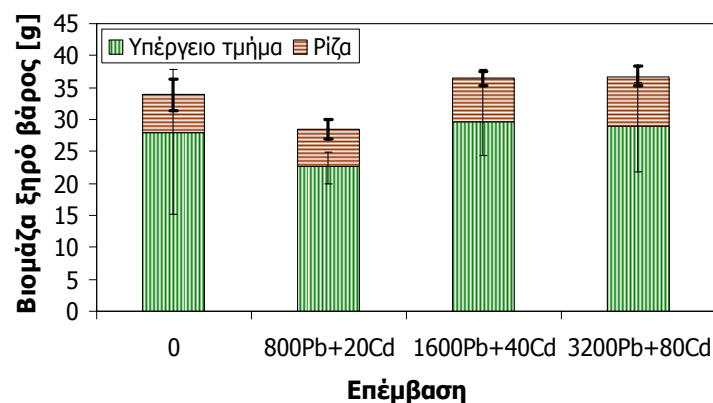
Επιπρόσθετα, το περιεχόμενο σε νερό στα υπέργεια τμήματα των φυτών *Atriplex* δεν βρέθηκε να επηρεάζεται αρνητικά από τα μέταλλα και επιπλέον παρουσιάζεται λίγο αυξημένο στα φυτά που καλλιεργήθηκαν στο ρυπασμένο με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις μετάλλων έδαφος (3200Pb+80Cd) κατά περίπου 8%, υπονοώντας ότι η καταπόνηση από τα μέταλλα δεν προκαλεί μεταβολή της ισορροπίας του νερού μεταξύ έδαφος-ρίζα-φυτό και άρα ίσως μια μορφή υδατικής καταπόνησης (Σχήμα 5.36).



Σχήμα 5.36. Περιεχόμενο σε νερό [%] του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επιπρόσθετα, και η βιομάζα των φυτών που καλλιεργήθηκαν στο ρυπασμένο με τα μέταλλα έδαφος παρουσιάζεται αυξημένη σε σύγκριση με τα φυτά μάρτυρες, τουλάχιστον για τις επεμβάσεις με τις δύο υψηλότερες συγκεντρώσεις μετάλλων (1600Pb+40Cd και 3200Pb+80Cd) όπου παρατηρείται μια αύξηση της τάξης του 7,5-8% (Σχήμα 5.37). Αντίθετα στα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd (800Pb+20Cd) παρατηρείται μείωση της παραγόμενης βιομάζας σε σύγκριση με τα φυτά ελέγχου κατά 16,5%. Όμως αυτή η μείωση της βιομάζας δεν συνδέεται με τα αποτελέσματα του περιεχομένου σε χλωροφύλλη και νερό των συγκεκριμένων φυτών (Σχήμα 5.35 και 5.36), όμως ίσως υπάρχει μια συσχέτιση με τα αποτελέσματα των πρωτεϊνών που αναπτύσσονται στην παράγραφο που ακολουθεί.

Εν κατακλείδι όμως, όλα τα παραπάνω αποτελέσματα συνηγορούν ότι το *Atriplex halimus* παρουσίασε καλύτερες αποδόσεις στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του με την παρουσία του καδμίου και του μολύβδου. Αυτό βέβαια αντιτίθεται στις αναφορές ότι τα



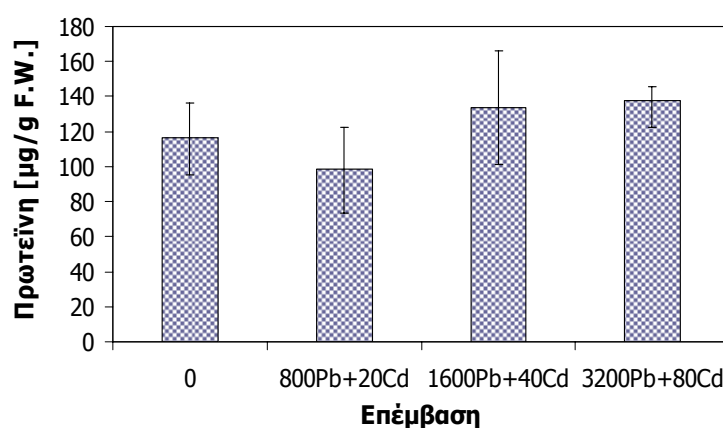
Σχήμα 5.37. Βιομάζα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

μέταλλα αυτά προκαλούν μείωση των παραγωγικών χαρακτηριστικών των φυτών, όμως λαμβάνοντας υπόψη την χαμηλή συσσώρευση των μετάλλων στους ιστούς του φυτού ίσως εξηγείται η απουσία αρνητικών επιδράσεων. Ενώ επιπλέον η παρουσία θετικών επιδράσεων των μετάλλων στα παραγωγικά χαρακτηριστικά των φυτών οι οποίες μάλιστα παρουσίασαν και προοδευτική αύξηση με την αύξηση της συγκέντρωσης των μετάλλων στο έδαφος ίσως οφείλεται στην θρέψη των φυτών με άζωτο μιας και τα μέταλλα κατά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας προστέθηκαν στο έδαφος ως νιτρικά άλατα. Πάντως είναι αδιαμφισβήτητο το γεγονός ότι πρόκειται για ένα φυτό ιδιαίτερα ανθεκτικό στις εξαιρετικά υψηλές συγκεντρώσεις μολύβδου και καδμίου στο έδαφος.

5.1.5.5. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού

Το κάδμιο και ο μόλυβδος προκαλούν ένα μεγάλο εύρος διαταραχών στα φυτά στις οποίες συμπεριλαμβάνεται η οξειδωτική καταπόνηση με αποτέλεσμα την οξείδωση σημαντικών βιομορίων όπως οι πρωτεΐνες των οποίων η αποδόμηση έχει προταθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της έκτασης της καταπόνησης που υφίσταται το φυτό (Romero-Puertas et al., 2002, Mishra et al., 2006) ενώ επιπρόσθετα και η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης η οποία ως αντιοξειδωτικό ένζυμο έχει αποδειχτεί να συμβάλει στην εξουδετέρωση των ενεργών μορφών οξυγόνου που προέρχονται από τα δύο μέταλλα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης της οξειδωτικής καταπόνησης του φυτού από τα μέταλλα (Radotic et al., 2000, Shah et al., 2001, Verma and Dubey, 2003, Ruttens et al., 2006).

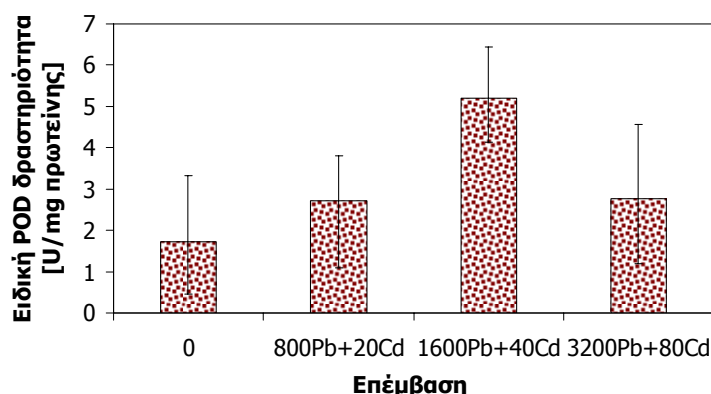
Από τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των πρωτεϊνών στα φύλλα του *Atriplex halimus* εξάγεται το συμπέρασμα ότι η οξειδωτική καταπόνηση από τα μέταλλα δεν επέφερε σημαντική μείωση των πρωτεϊνών. Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.38, στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με τις μικρότερες συγκεντρώσεις μετάλλων στο έδαφος



Σχήμα 5.38. Περιεχόμενη πρωτεΐνη [μg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *A. halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

(800Pb+20Cd) στα οποία μετρήθηκαν και οι μικρότερες ποσότητες των μετάλλων στους ιστούς τους, παρατηρείται μείωση των πρωτεϊνών σε σχέση με τα φυτά μάρτυρες κατά 15,6%. Αντίθετα στα φυτά που καλλιεργήθηκαν στην επέμβαση με τις ενδιάμεσες συγκεντρώσεις μετάλλων (1600Pb+40Cd) οι περιεχόμενες πρωτεΐνες παρουσιάζονται αυξημένες κατά 14,7% και περαιτέρω στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μετάλλων (3200Pb+80Cd) τα οποία και περιείχαν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις των μετάλλων στα υπέργεια τμήματα τους (Σχήματα 5.31 και 5.33), τα επίπεδα των πρωτεϊνών παρουσιάζονται αυξημένα κατά 18,4% σε σχέση με τα φυτά ελέγχου. Με βάση λοιπόν αυτά τα αποτελέσματα μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι στα φυτά της επέμβασης με τις χαμηλές συγκεντρώσεις καδμίου και μολύβδου (800Pb+20Cd) φαίνεται να έλαβε χώρα οξειδωση ενός μέρους των πρωτεϊνών ενώ στις άλλες δυο επεμβάσεις η αύξηση των πρωτεϊνών ίσως υπονοεί δημιουργία νέων πρωτεϊνών καταπόνησης στα πλαίσια ενός μηχανισμού ανθεκτικότητας του φυτού στα μέταλλα. Επιπλέον, είναι ενδιαφέρουσα η συσχέτιση που παρατηρείται μεταξύ των αποτελεσμάτων των πρωτεϊνών με τα αποτελέσματα από την παραχθείσα βιομάζα των φυτών (Σχήμα 5.37).

Από τον έλεγχο των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *A. halimus* που παρατίθενται στο Σχήμα 3.39, επιβεβαιώνεται ότι το ένζυμο αυτό συμβάλει στην αποτοξίνωση του *A. halimus* από τα βαρέα μέταλλα. Η δραστηριότητα παρουσιάζεται αυξημένη σε σχέση με την αντίστοιχη των φυτών ελέγχου κατά 57, 202 και 60% στα φύλλα των φυτών που καλλιεργήθηκαν στα ρυπασμένα εδάφη με 20 ppm Cd και 800 ppm Pb (20Cd+800Pb), 40 ppm Cd και 1600 ppm Pb (40Cd+1600Pb) και 80 ppm Cd και 3200 ppm Pb (80Cd+3200Pb) αντίστοιχα. Επιπλέον, παρατηρείται σταδιακή αύξηση της δραστηριότητας με την αύξηση των συγκεντρώσεων των μετάλλων στο έδαφος και ουσιαστικά και με αύξηση των μετάλλων στους φυτικούς ιστούς (Σχήματα 5.31 και 5.33) τουλάχιστον μέχρι την επέμβαση με 40 ppm Cd και 1600 ppm Pb (40Cd+1600Pb) ενώ στην επέμβαση με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις των μετάλλων στο έδαφος αλλά και στους φυτικούς ιστούς (80Cd+3200Pb) παρατηρείται μια ανάλογη POD δραστηριότητα με τα φυτά της επέμβασης με τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις των μετάλλων (20Cd+800Pb).



Σχήμα 5.39. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις Pb και Cd (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Όπως έχει ξαναειπωθεί, η ενζυμική δραστηριότητα πρέπει να συνδέεται με την αξιολόγηση της αύξησης των φυτών για την εκτίμηση της έντασης της φυτοτοξικότητας. Στην παρούσα μελέτη όμως, το φυτό δεν επέδειξε καμιά τάση για μείωση της αύξησης του εκφρασμένη ως βιομάζα, καμιά τάση για μείωση της περιεχόμενης χλωροφύλλης και του περιεχομένου σε νερό και γενικά δεν επέδειξε κανένα σύμπτωμα φυτοτοξικότητας. Όποτε τα συμπεράσματα που μπορούν εξαχθούν από την παρούσα μελέτη είναι ότι κατά ένα πιθανό μηχανισμό ανθεκτικότητας στα μέταλλα λαμβάνει χώρα σύνθεση πρωτεϊνών καταπόνησης ενώ η υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης λαμβάνει μέρος στην αποτοξίνωση του υπό εξέταση φυτού στα πλαίσια του αντιοξειδωτικού του μηχανισμού. Έχοντας λάβει υπόψη, λοιπόν, όλα τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι πρόκειται για ένα φυτό ιδιαίτερα ανθεκτικό στο μόλυβδο και το κάδμιο.

5.1.6. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm καδμίου και 800 ppm μολύβδου σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες

5.1.6.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Κατά την έναρξη του πειράματος έντεκα μηνών φυτά *A. halimus* L. που είχαν αναπτυχθεί σε προμετρημένο οργανικό υπόστρωμα 670 - 700 g ξηρού βάρους (βλ. Παράγραφο 4.1.1) χωρίστηκαν σε 6 πειραματικές ομάδες με 6 φυτά ανά ομάδα - επέμβαση με τρόπο ώστε κάθε επέμβαση να έχει συγκριτικά περίπου ίση μέση βιομάζα. Τρεις ομάδες φυτών αποτέλεσαν τις επεμβάσεις ελέγχου με διαφορετικές εδαφικές αλατότητες και τρεις αποτέλεσαν τις επεμβάσεις στις οποίες πραγματοποιήθηκε προσθήκη καδμίου και μολύβδου στο έδαφος σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό ο οποίος παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.23. Το έδαφος ρυπάνθηκε τεχνητά με κάδμιο και μολύβδο σε συγκεντρώσεις 20 και 800 ppm ξηρού βάρους εδάφους ως υδατικά διαλύματα $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ αντίστοιχα, με μια δόση το κάθε διάλυμα κατά την έναρξη του πειράματος.

Πίνακας 5.23. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Επέμβαση ("κωδικό όνομα")	Συγκέντρωση Pb που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση Cd που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση NaCl [%]
1	"0/0"	0	0	0
2	"0/0,5"	0	0	0,5
3	"0/3"	0	0	3
4	"Pb+Cd/0"	800	20	0
5	"Pb+Cd/0,5"	800	20	0,5
6	"Pb+Cd/3"	800	20	3

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε μέσα σε γυάλινο θερμοκήπιο για 10 εβδομάδες (Σεπτέμβρη - Νοέμβρη), με φωτοπερίοδο 12 – 14 ωρών ενώ οι θερμοκρασίες και η υγρασία κατά την διάρκεια του παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.24. Τα φυτά ποτίζονταν κάθε 2 ή 3 ημέρες ανάλογα με τις απαιτήσεις και τις περιβαλλοντικές συνθήκες με νερό βρύσης ή υδατικό διάλυμα NaCl κατάλληλης συγκέντρωσης σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό. Τα υδατικά διαλύματα NaCl προετοιμάστηκαν με βρώσιμο θαλασσινό αλάτι και νερό βρύσης ενώ η ποσότητα του νερού ή του διαλύματος NaCl που χρησιμοποιούνταν σε κάθε πότισμα ήταν περίπου 200 mL προκειμένου να αποφευχθεί εκροή του νερού με το μέταλλο από τις γλάστρες ενώ επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν και πλαστικά πιτά σε κάθε γλάστρα.

Καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος λάμβανε χώρα οπτική παρατήρηση και καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών των φυτών έτσι ώστε να εντοπιστούν

οποιαδήποτε συμπτώματα τοξικότητας των μετάλλων και της αλατότητας, ενώ επίσης μια φορά την εβδομάδα πραγματοποιούνταν μετρήσεις του ύψους των υπέργειων τμημάτων προκειμένου να αξιολογηθεί και ποσοτικά η κατάσταση της υγείας των φυτών. Με την λήξη των 10 εβδομάδων έκθεσης στα μέταλλα πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της συγκέντρωσης τους στα υπέργεια τμήματα και στις ρίζες του φυτού ενώ επιπλέον έλαβαν χώρα μετρήσεις των ολικών και φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων των μετάλλων στο έδαφος, οι οποίες υποστηρίχθηκαν και από μετρήσεις των χαρακτηριστικών του εδάφους καλλιέργειας. Επίσης πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της βιομάζας, της περιεχόμενης χλωροφύλλης και του περιεχομένου σε νερό για τον έλεγχο της επίδρασης του Pb, του Cd και της αλατότητας στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού και επιπρόσθετα έλαβαν χώρα μετρήσεις των πρωτεϊνών και της δραστηριότητας του ενζύμου υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης στα φύλλα για την αξιολόγηση της οξειδωτικής καταπόνησης που υφίσταται το φυτό. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για όλες τις παραπάνω μετρήσεις δίδονται στην Παράγραφο 4.1.3.

Πίνακας 5.24. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	14,5-40,5	29,8	37-78	60,8
Μεσημέρι	14,5-47	29,5	27-78	48,7
Απόγευμα	13-29,5	19,3	49-77,5	64,8
Νύχτα	7,5-21	15,3	-	-

5.1.6.2. Χαρακτηρισμός εδάφους

Η συγκέντρωση των μετάλλων που επιλέχθηκαν για την ρύπανση του εδάφους καλλιέργειας στο παρόν πείραμα ήταν 20 mg Cd και 800 mg Pb ανά kg ξηρού βάρους εδάφους και οι μετρούμενες ολικές συγκεντρώσεις τους στο έδαφος καλλιέργειας μια εβδομάδα μετά την τεχνητή ρύπανση του με τα μέταλλα (Πίνακας 5.25) επιβεβαιώνουν το σωστό σχεδιασμό του πειράματος αφού μετρήθηκαν 14,85 ppm Cd και 629,5 ppm Pb για την επέμβαση χωρίς προσθήκη χλωριούχου νατρίου (Pb+Cd/0), 18,45 ppm Cd και 623,5 ppm Pb για την επέμβαση με 0,5% αλατότητα (Pb+Cd/0,5) και 15,6 ppm Cd και 521 ppm Pb για την επέμβαση με 3% αλατότητα (Pb+Cd/3). Παρατηρούνται μικρές διαφοροποιήσεις μεταξύ των προστιθέμενων και των μετρούμενων συγκεντρώσεων που όμως δικαιολογούνται από την πειραματική διαδικασία αφού η προσθήκη των μετάλλων στο έδαφος έγινε ως υδατικά διαλύματα με μια δόση στο περιβάλλον της ρίζας γεγονός που δεν εξασφαλίζει την ομοιόμορφη ρύπανση όλου του οργανικού υποστρώματος μέσα στην κάθε γλάστρα, με αναπόφευκτη επίπτωση στην δειγματοληψία του υποδείγματος για τον προσδιορισμό του ολικού περιεχομένου των μετάλλων στο έδαφος παρόλο τον σωστό μετέπειτα χειρισμό των δειγμάτων.

Πίνακας 5.25. Χαρακτηρισμός του εδάφους.
Δειγματοληψία μια εβδομάδα μετά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας (ν=2).

		Επέμβαση					
		0/0	0/0,5	0/3	Pb+Cd/0	Pb+Cd/0,5	Pb+Cd/3
pH (H ₂ O)		5,84	5,72	5,38	5,87	5,73	5,57
EC [mS/cm]		1,93	3,60	11,93	1,96	3,77	11,46
OM [%]		58-60					
CaCO₃ [%]		0					
Προστιθέμενος Ολικός Pb [ppm]		0	0	0	800	800	800
Προστιθέμενο Ολικό Cd [ppm]		0	0	0	20	20	20
Μετρούμενος Ολικός Pb [ppm]	μέσος όρος	27,9	24,9	23,7	629,5	623,5	521
	εύρος	25,9-29,9	22,7-27,1	21,2-26,2	550-709	431-816	309-733
Μετρούμενο Ολικό Cd [ppm]	μέσος όρος	0	0	0	14,85	18,45	15,6
	εύρος	n.d.*	n.d.*	n.d.*	13,7-16	17,7-19,2	13,5-17,7
Φυτοδιαθέσιμος Pb (DTPA) [ppm]	μέσος όρος	20,1	22,2	32,6	943,5	842	627
	εύρος	17,5-22,7	19,6-24,8	31,3-33,9	1050-837	797-887	513-741
Φυτοδιαθέσιμο Cd (DTPA) [ppm]	μέσος όρος	0,47	0,47	0,45	34,6	29,7	23
	εύρος	n.d.-0,95	n.d.-0,94	n.d.-0,91	29,7-39,5	24,4-35	20,4-25,6
Επιτρεπτές τιμές Pb [ppm] **		50-300					
Επιτρεπτές τιμές Cd [ppm] **		1 - 3					

* n.d.: δεν ανιχνεύτηκε (not detected)

** Οριακές επιτρεπτές συγκεντρώσεις στο έδαφος στην Ελλάδα (pH 6-7) (Πηγή: ΦΕΚ 641/7.8.1991)

Οι πειραματικές μετρήσεις των χαρακτηριστικών του εδάφους στο παρόν πείραμα είχαν ως κύριο στόχο τον έλεγχο της επίδρασης α) της εδαφικής αλατότητας και β) της ταυτόχρονης παρουσίας των δυο μετάλλων στην φυτοδιαθεσιμότητα τους. Όπως είχε ήδη συζητηθεί, εκτός των άλλων παραγόντων που επηρεάζουν την φυτοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος, η αύξηση της συγκέντρωσης του NaCl στο έδαφος επηρεάζει τις βιοδιαθέσιμες ποσότητες των μετάλλων κυρίως γιατί τα ιόντα χλωρίου Cl⁻ λόγω σχηματισμού διαλυτών συμπλόκων τους με το μέταλλο, δύνανται να μειώνουν την προσρόφησή τους στα σωματίδια του εδάφους (Bingham et al., 1983, Li et al., 1994, Greger et al., 1995, Martin and Kaplan, 1998, Smolders et al., 1998, Norvell et al., 2000, Weggler-Beaton et al., 2000, Weggler et al., 2004, Adriano et al., 2004, Kirkham, 2006, Wahla and Kirkham, 2007) και ίσως γιατί τα ιόντα νατρίου δύνανται αντικαταστήσουν τα μεταλλικά ιόντα στις θέσεις ανταλλαγής κατιόντων στα σωματίδια του εδάφους και άρα να αυξήσουν την συγκέντρωση των μετάλλων στο εδαφικό διάλυμα (Bingham et al., 1983, Greger et al., 1995, Ghosh and Singh, 2005, Wahla and Kirkham, 2007), αν και έχει αναφερθεί ότι τα Na⁺ ως μονοσθενή κατιόντα είναι σχετικά μη αποδοτικά στην

αντικατάσταση δισθενών κατιόντων όπως το κάδμιο και ο μόλυβδος (Smolders et al., 1998, Norvell et al., 2000). Επίσης, η ταυτόχρονη παρουσία ενός δευτέρου μετάλλου μπορεί να επηρεάσει την βιοδιαθεσιμότητα στο έδαφος ενός πρώτου μετάλλου και για τα συγκεκριμένα μέταλλα έχει αναφερθεί ότι ο μόλυβδος μειώνει την προσρόφηση του καδμίου λόγω ανταγωνισμού τους για τις διαθέσιμες θέσεις προσρόφησης και τις θέσεις ανταλλαγής κατιόντων (Martin and Kaplan, 1998, Madyiwa et al., 2004, Ghosh and Singh, 2005), ενώ η παρουσία του καδμίου σε ορισμένες μελέτες έχει αναφερθεί να επηρεάζει την πρόσληψη μολύβδου από τα φυτά (Carlson and Bazzaz, 1977, Miller et al., 1977), ενώ σε άλλες δεν έχει βρεθεί να μεταβάλλει τις βιοδιαθέσιμες συγκεντρώσεις και την πρόσληψη του από τα φυτά (Madyiwa et al., 2004, Sekhar et al., 2005).

Στην παρούσα μελέτη όμως λόγω αναποτελεσματικότητας της μεθόδου DTPA για τον προσδιορισμό των φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων των δύο μετάλλων σε οργανικό υπόστρωμα παρότι συστήνεται ως καταλληλότερη για τον προσδιορισμό ενός συγκεκριμένου μηχανισμού απελευθέρωσης των μετάλλων από τα εδάφη όπως είναι η εκρόφιση με αύξηση της αλατότητας ή με παρουσία άλλου μετάλλου (Rauret, 1998), δεν μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα. Όπως παρατηρείται στον Πίνακα 5.25, ολόκληρες οι ποσότητες του καδμίου αλλά και του μολύβδου που προστέθηκαν στο έδαφος μετρήθηκαν ως φυτοδιαθέσιμες οπότε και σε αυτό το πέρασμα επιβεβαιώνεται η αποτυχία της μεθόδου DTPA για τον προσδιορισμό της φυτοδιαθέσιμης συγκέντρωσης των δύο μετάλλων σε οργανικό υπόστρωμα, υπονοώντας ότι προφανώς το συμπλοκοποιητικό αντιδραστήριο προήγαγε την εκρόφιση των μεταλλικών ιόντων από το έδαφος και την δέσμευση τους με τους υποκατάστατες, οπότε εκχυλίστηκαν ποσότητες μεταλλικών ιόντων οι οποίες πιθανόν δεν ήταν βραχυπρόθεσμα διαθέσιμες.

Επιπρόσθετα, από τις μετρήσεις των ιδιοτήτων του εδάφους (Πίνακας 5.25), η οργανική ουσία σε όλα τα δείγματα βρέθηκε 58-60% όπως ήταν αναμενόμενο λόγω του ότι επρόκειτο για οργανικό υπόστρωμα, το ολικό CaCO_3 βρέθηκε μηδενικό, ενώ το pH του εδάφους βρέθηκε να μειώνεται ελαφρώς με την αύξηση της συγκέντρωσης του χλωριούχου νατρίου γεγονός αναμενόμενο λόγω του ότι ως γνωστόν η περιεκτικότητα του εδάφους σε άλατα όπως το NaCl επηρεάζει το pH και μάλιστα όσο αυξάνει η συγκέντρωση των αλάτων τόσο μειώνεται προοδευτικά το pH (Thomas, 1996). Τέλος, η αύξηση της εδαφικής αλατότητας με την προσθήκη υδατικών διαλυμάτων NaCl ως νερό άρδευσης φαίνεται από την αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας των δειγμάτων εδάφους από περίπου 1,9-2 για τις επεμβάσεις που ποτίζονταν με νερό βρύσης (0/0 και $\text{Pb}+\text{Cd}/0$), σε 3,6-3,8 για τις επεμβάσεις με διάλυμα NaCl 0,5% (0/0,5 και $\text{Pb}+\text{Cd}/0,5$) και 11,5-12 mS/cm για τις επεμβάσεις με 3% NaCl (0/3 και $\text{Pb}+\text{Cd}/3$).

5.1.6.3. Συσσώρευση μετάλλων στο φυτικό ιστό

5.1.6.3.1. Κάδμιο

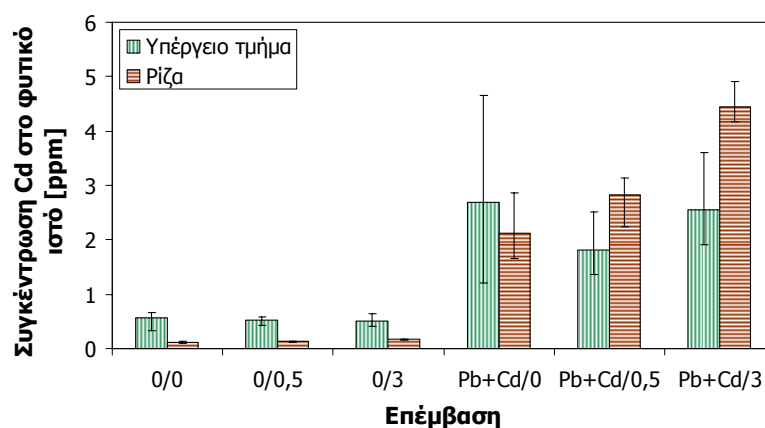
Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.40, τα αποτελέσματα από αυτό το πείραμα προτείνουν ότι η αύξηση της εδαφικής αλατότητας έχει θετική επίδραση στην συσσώρευση του καδμίου στις ρίζες του *Atriplex halimus*. Στα φυτά της επέμβασης με μηδενική εδαφική αλατότητα ($\text{Pb}+\text{Cd}/0$) η συγκέντρωση του Cd στις ρίζες μετρήθηκε στα 2,1 ppm, με αύξηση της αλατότητας στο 0,5% ($\text{Pb}+\text{Cd}/0,5$) η συγκέντρωση Cd αυξήθηκε στα 2,8 ppm και με περαιτέρω αύξηση της αλατότητας στο 3% ($\text{Pb}+\text{Cd}/3$) η συγκέντρωση έφθασε τα 4,5 ppm. Ενώ ανάλογη συμπεριφορά παρατηρήθηκε και στην

περίπτωση της καλλιέργειας του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο μόνο με κάδμιο και στις ίδιες εδαφικές αλατότητες (Παράγραφος 5.1.2). Αυτά τα αποτελέσματα επιβεβαιώνονται από προηγούμενες μελέτες που υποστηρίζουν ότι η αλατότητα επιδρά θετικά στην συσσώρευση των μετάλλων στους φυτικούς ιστούς. Μελέτες σε άλλα φυτά έχουν δείξει ότι υπό συνθήκες αλατότητας παρατηρούνται αυξημένες συγκεντρώσεις των μετάλλων στα περισσότερα φυτικά τμήματα, γεγονός που οφείλεται στην μεγαλύτερη κινητικότητα των μετάλλων στο έδαφος και γενικά στην μεγαλύτερη διαθεσιμότητα τους ή/και στην μεγαλύτερη πρόσληψη νερού εξαιτίας της αυξημένης διαπνοής, οδηγώντας σε μια μεγαλύτερη ροή των μετάλλων μέσα στα φυτά (Bingham et al., 1983, Li et al., 1994, Smolders et al., 1998, Weggler-Beaton et al., 2000, Norvell et al., 2000, Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003, Weggler et al., 2004, Wahla and Kirkham, 2007).

Παρόλα αυτά δεν παρατηρείται η ίδια επίδραση της αλατότητας και στην συσσώρευση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού (Σχήμα 5.40). Η συσσώρευση του Cd στα εναέρια μέρη παρουσιάζεται παρόμοια για τις επεμβάσεις με μηδενική αλατότητα (Pb+Cd/0) και με την υψηλότερη εδαφική αλατότητα 3% (Pb+Cd/3), ενώ στην επέμβαση με 0,5% αλατότητα (Pb+Cd/0,5) η συσσώρευση παρουσιάζεται λίγο μικρότερη. Γενικά όμως οι διαφορές μεταξύ των συγκεντρώσεων είναι μικρές και σε καμία περίπτωση δεν φθάνουν το εύρος συγκεντρώσεων του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα που θεωρούνται τοξικές για το φυτό και οι οποίες είναι 5 - 30 ppm ξηρού βάρους (Orcutt and Nilsen, 2000).

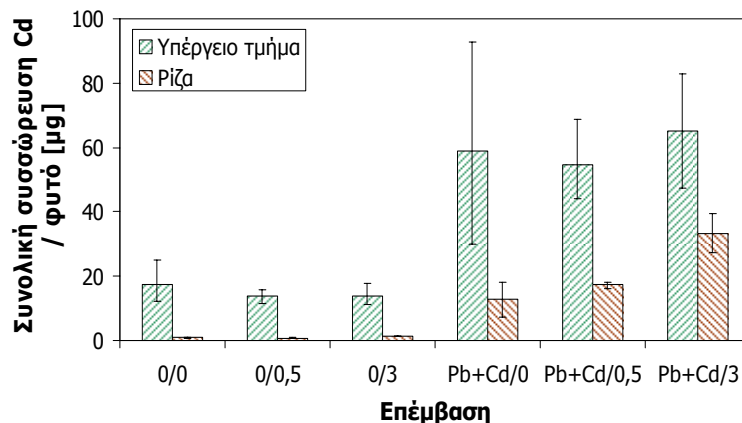
Επίσης έχει προταθεί ότι η αλατότητα συμβάλει στην μετακίνηση των μετάλλων από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα των φυτών (Fitzgerald et al., 2003), όμως στην παρούσα μελέτη το φυτό δεν επέδειξε ανάλογη συμπεριφορά όπως φαίνεται και από τους λόγους συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας που για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε μη αλατούχο περιβάλλον (Pb+Cd/0) ήταν 1,4, για την επέμβαση με την αλατότητα 0,5% (Pb+Cd/0,5) μειώθηκε στο 0,64 και επιπλέον για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την αλατότητα 3% (Pb+Cd/3) μειώθηκε περαιτέρω στο 0,58.

Ανάλογες είναι και οι παρατηρήσεις από την εξέταση της συνολικής απομάκρυνσης του καδμίου από το φυτό (φυτοσυσσώρευση) που όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.41, στις



Σχήμα 5.40. Συγκέντρωση καδμίου [mg/kg ξηρού βάρους] στα τμήματα του φυτού *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

επεμβάσεις με μηδενική και 0,5% αλατότητα η συνολική συσσώρευση του καδμίου σε ολόκληρο το φυτό είναι παρόμοια με τιμές 71,83 και 71,93 μg αντίστοιχα και μόνο στην επέμβαση με την υψηλότερη εδαφική αλατότητα 3% παρουσιάζεται υψηλότερη με τιμή 98,2 μg προφανώς λόγω της αύξησης της συσσώρευσης στις ρίζες του φυτού.



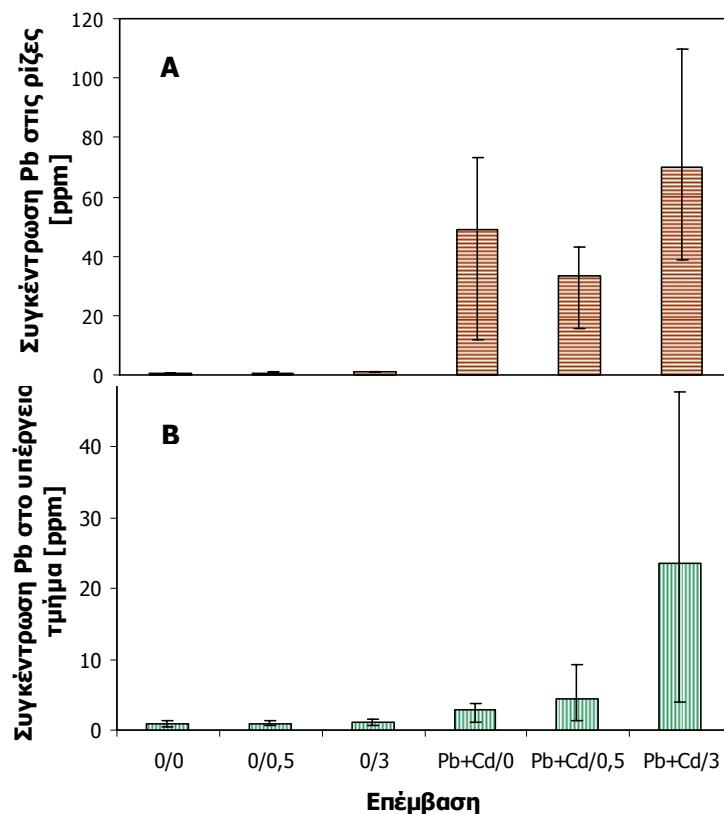
Σχήμα 5.41. Συνολικό ποσό Cd στα φυτικά μέρη του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

5.1.6.3.2. Μόλυβδος

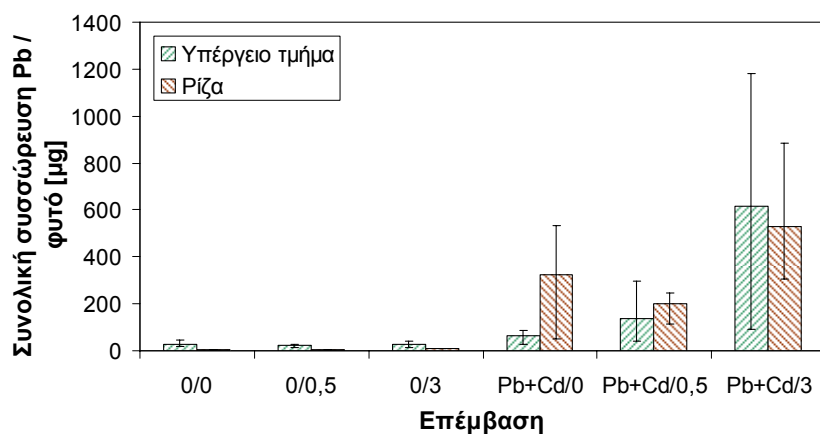
Όσον αφορά την συσσώρευση του μολύβδου στους ιστούς του *A. halimus* το οποίο καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με μείγμα μολύβδου και καδμίου και σε αυξανόμενες εδαφικές αλατότητες, παρατηρείται ότι η συγκέντρωση στις ρίζες του φυτού δεν ακολουθεί ξεκάθαρα την τάση να αυξάνεται με αύξηση της εδαφικής αλατότητας (Σχήμα 5.42A). Στα φυτά της επέμβασης με μηδενική αλατότητα (Pb+Cd/0) η συγκέντρωση μετρήθηκε στα 49 ppm, στην επέμβαση με αλατότητα 0,5% (Pb+Cd/0,5) μειώθηκε στα 33,4 ppm, ενώ στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την αλατότητα 3% (Pb+Cd/3) η συσσώρευση αυξήθηκε σημαντικά στα 70 ppm. Όμως παρατηρείται σταδιακή αύξηση της συσσώρευσης Pb στα εναέρια μέρη με σταδιακή αύξηση της εδαφικής αλατότητας (Σχήμα 5.42B). Στην επέμβαση με μηδενική εδαφική αλατότητα (Pb+Cd/0) η συγκέντρωση του μολύβδου στα υπέργεια τμήματα βρέθηκε στα 2,8 ppm, με αύξηση της συγκέντρωσης του χλωριούχου νατρίου σε 0,5% (Pb+Cd/0,5) αυξήθηκε στα 4,4 ppm, ενώ με παραπάνω αύξηση της συγκέντρωσης NaCl σε 3% (Pb+Cd/3) η συσσώρευση αυξήθηκε σημαντικά στα 23,6 ppm.

Επιπλέον, στην περίπτωση του μολύβδου παρατηρείται ότι η αλατότητα επέδρασε θετικά στην μετακίνηση του από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα των φυτών. Ο λόγος συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας παρουσιάζεται να αυξάνεται σταδιακά με την αύξηση της εδαφικής αλατότητας, με τιμή 0,13 για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε μη αλατούχο περιβάλλον (Pb+Cd/0), 0,23 για την επέμβαση με την αλατότητα 0,5% (Pb+Cd/0,5) και 0,5 για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την αλατότητα 3% (Pb+Cd/3).

Ανάλογα συμπεράσματα εξάγονται και από την εξέταση της συνολικής απομάκρυνσης μολύβδου από το φυτό όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.43, όπου η συνολική



Σχήμα 5.43. Συγκέντρωση μολύβδου [mg/kg ξηρού βάρους] (A) στις ρίζες και (B) στα υπέργεια τμήματα του *A. halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι (n = 3) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.



Σχήμα 5.43. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι (n = 3) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

συσσώρευση του Pb σε ολόκληρο το φυτό παρουσιάζεται να αυξάνεται σημαντικά μόνο στην επέμβαση με την υψηλή εδαφική αλατότητα 3% (Pb+Cd/3). Στην επέμβαση με μηδενική αλατότητα η συνολική συσσώρευση Pb ανά φυτό είναι 387 μg (Pb+Cd/0), στην επέμβαση με εδαφική αλατότητα 0,5% (Pb+Cd/0,5) η συνολική συσσώρευση είναι 337 μg , ενώ για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την αλατότητα 3% (Pb+Cd/3) η συνολική συσσώρευση ανά φυτό παρουσιάζεται ιδιαίτερα αυξημένη με τιμή 1145 μg .

5.1.6.3.3. Αλληλεπίδραση του Pb και του Cd στην αμοιβαία συσσώρευση τους

Είναι γνωστό ότι, όταν ένα φυτό εκτίθεται σε πολλούς παράγοντες καταπόνησης ταυτόχρονα, η επίδραση στο φυτό αυτών των παραγόντων μπορεί να είναι είτε συνεργιστική είτε ανταγωνιστική (Καραμπουρνιώτης, 2003). Δηλαδή έχει αναφερθεί ότι σε φυτά που καλλιεργούνται σε εδάφη ρυπασμένα με μόλυβδο και κάδμιο, η πρόσληψη του ενός μετάλλου μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία του αλλού και επιπλέον η παρουσία της αλατότητας μπορεί να επηρεάσει την πρόσληψη και των δύο από το φυτό αφού επηρεάζει τη βιοδιαθεσιμότητα τους στο έδαφος. Για παράδειγμα, η παρουσία μολύβδου έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνει την πρόσληψη του καδμίου στο καλαμπόκι, στην σίκαλη, στο φυτό *Plantanus occidentalis* L. και στο φυτό *Cynodon nlemfuensis* (Miller et al., 1977, Carlson and Rolfe, 1979, Carlson and Bazzaz, 1977, Madyiwa et al., 2004). Ενώ η παρουσία του καδμίου έχει βρεθεί σε άλλα φυτά να αυξάνει την πρόσληψη του μολύβδου όπως στο φυτό *Plantanus occidentalis* L. (Carlson and Bazzaz, 1977), σε άλλα να την μειώνει όπως στην περίπτωση του φυτού *Zea mays* L. (καλαμπόκι) (Miller et al., 1977) και σε άλλα να την αφήνει ανεπηρέαστη όπως στα φυτά *Hemidesmus indicus* και *Cynodon nlemfuensis* (Madyiwa et al., 2004, Sekhar et al., 2005). Επιπλέον, η αλατότητα, όπως έχει ήδη αναφερθεί, μπορεί να επηρεάσει την διαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος και κατά συνέπεια την πρόσληψη τους από τα φυτά όπως για παράδειγμα στα φυτά *Triticum aestivum* L. (Norvell et al., 2000, Weggler-Beaton et al., 2000, Weggler et al., 2004), *Hordeum vulgare* L. (Wahla and Kirkham, 2007), *Helianthus annuus* L. (Li et al., 1994), *Beta vulgaris* L. (Bingham et al., 1983, Smolders et al., 1998, Weggler-Beaton et al., 2000) και *Potamogeton pectinatus* (Greger et al., 1995), όπου παρατηρήθηκε ότι η αυξανόμενη αλατότητα οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης του καδμίου στα υπέργεια τμήματα των φυτών, και στο φυτό *Aster tripolium* (Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003) όπου παρατηρήθηκε αύξηση της συσσώρευσης του μολύβδου στους υπέργειους ιστούς με την επίδραση της αλατότητας.

Σε σύγκριση λοιπόν των αποτελεσμάτων της καλλιέργειας του *A. halimus* σε έδαφος ρυπασμένο με μείγμα των μετάλλων με τα αποτελέσματα από την αντίστοιχη καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο μόνο με κάδμιο και στις ίδιες εδαφικές αλατότητες (Παράγραφος 5.1.2), διαπιστώθηκε ότι η παρουσία του μολύβδου δεν είχε ιδιαίτερη επίδραση στην συσσώρευση του καδμίου στις ρίζες του φυτού (Πίνακας 5.26). Ενώ παρατηρείται στην επέμβαση με την μηδενική εδαφική αλατότητα να αυξάνει ελαφρώς την συσσώρευση του καδμίου, στις επεμβάσεις με 0,5 και 3% παρουσιάζεται να την μειώνει ελαφρώς, όμως οι διαφορές είναι αρκετά μικρές οπότε εξάγεται το συμπέρασμα ότι η παρουσία του μολύβδου δεν επηρεάζει την συσσώρευση του καδμίου στις ρίζες. Όμως, η συσσώρευση του καδμίου στα υπέργεια τμήματα παρουσιάζεται αυξημένη με την παρουσία του μολύβδου στο έδαφος. Με εξαίρεση την επέμβαση με 0,5% εδαφική αλατότητα, η συγκέντρωση Cd στα υπέργεια τμήματα παρουσιάζεται αυξημένη κατά 2,5 περίπου φορές με την παρουσία του μολύβδου.

Πίνακας 5.26. Συγκέντρωση καδμίου και μολύβδου στις ρίζες και τα υπέργεια τμήματα του *Atriplex halimus*. Σύγκριση πειραμάτων με ρύπανση μόνο με κάδμιο, μόνο με μολύβδο και με μείγμα μολύβδου και καδμίου.

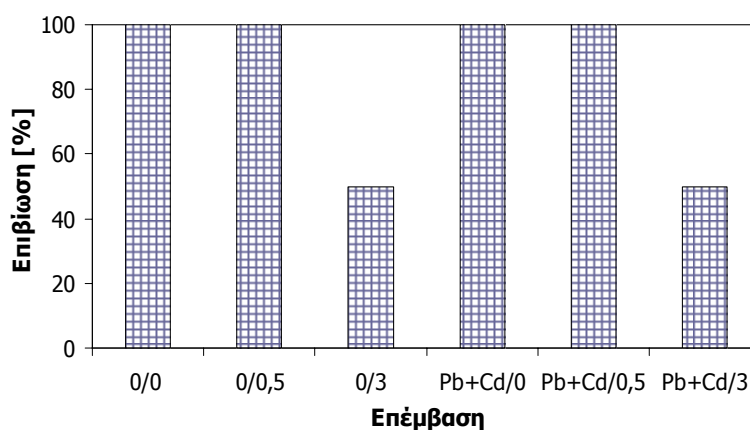
Μέταλλο	Εδαφική αλατότητα [%]	Ρίζα		Υπέργειο τμήμα	
		Ρύπανση με ένα μέταλλο [ppm]	Ρύπανση με Cd και Pb [ppm]	Ρύπανση με ένα μέταλλο [ppm]	Ρύπανση με Cd και Pb [ppm]
Cd	0	1,90	2,10	0,90	2,70
	0,5	3,40	2,80	2,00	1,80
	3	4,90	4,50	1,00	2,60
Pb	0	48,3	49,0	7,00	2,80
	0,5	34,4	33,4	2,10	4,40
	3	27,6	70,0	3,70	23,6

Για την περίπτωση του μολύβδου, η σύγκριση των αποτελεσμάτων της καλλιέργειας του *Atriplex halimus* σε έδαφος ρυπασμένο με μείγμα των μετάλλων με τα αποτελέσματα από την αντίστοιχη καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο μόνο με μολύβδο και στις ίδιες εδαφικές αλατότητες (Παράγραφος 5.1.4), αποκάλυψε ότι το κάδμιο δεν είχε σημαντική επίδραση στη συσσώρευση του μολύβδου στις ρίζες για τις επεμβάσεις με μηδενική και 0,5% εδαφική αλατότητα, όμως μεταξύ των φυτών που καλλιεργήθηκαν με την υψηλότερη αλατότητα 3% παρατηρείται μια σημαντική αύξηση στην συσσώρευση του Pb παρουσία Cd κατά 2,5 φορές. Επιπλέον, η συσσώρευση και η μετακίνηση του μολύβδου στα υπέργεια τμήματα του φυτού φαίνεται να επηρεάστηκαν αρνητικά από την παρουσία του δεύτερου μετάλλου όταν δεν υπάρχει προσθήκη άλατος, όμως με προσθήκη 0,5% NaCl παρατηρείται μια θετική επίδραση στην συσσώρευση του Pb από την παρουσία του καδμίου. Ενώ περαιτέρω αύξηση της αλατότητας σε συγκεντρώσεις 3% παρατηρείται ότι οδήγησε με μια θεαματική αύξηση της συσσώρευση του Pb στα υπέργεια τμήματα κατά τουλάχιστον 6 φορές. Αυτά τα αποτελέσματα οδηγούν στην υπόθεση ότι η συνέργεια του καδμίου και της υψηλής εδαφικής αλατότητας έχει σαν αποτέλεσμα την θετική επίδραση στην πρόσληψη, στη συσσώρευση και στη μεταφορά από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα του μολύβδου στο υπό εξέταση φυτό.

5.1.6.4. Επίδραση των μετάλλων και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

Όπως έχει συζητηθεί, το κάδμιο, ο μολύβδος και η αλατότητα αποτελούν παράγοντες καταπόνησης των φυτών ικανοί να τους προκαλέσουν ένα εύρος διαταραχών και βλαβών μέσα στις οποίες περιλαμβάνονται η παρεμπόδιση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας, η μεταβολή του περιεχομένου σε νερό και η μείωση της αύξησης (Xiong, 1997, Orcutt and Nilsen, 2000, Καραμπουρνιώτης, 2003, Zhou and Qiu, 2005).

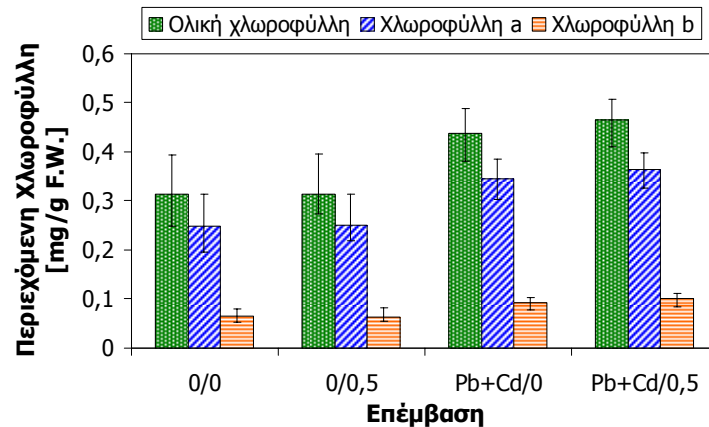
Κατά την διάρκεια της παρούσας μελέτης από τον οπτικό έλεγχο των μορφολογικών χαρακτηριστικών του *Atriplex* δεν βρέθηκε καμία ορατή ένδειξη τοξικότητας από τα μέταλλα. Αντίθετα, όπως ήταν αναμενόμενο παρατηρήθηκαν συμπτώματα τοξικότητας από την αλατότητα στα φυτά που καλλιεργήθηκαν στο έδαφος με την υψηλή αλατότητα 3%. Κατά την διάρκεια της εβδομής πειραματικής εβδομάδας τα συμπτώματα της αλατότητας (φτωχό φύλλωμα, μείωση της διαμέτρου του βλαστού, αδύναμο και ιδιαίτερα καταπονημένο ριζικό σύστημα) έκαναν την εμφάνιση τους που με την πάροδο του χρόνου πολλαπλασιάζονταν με αποτέλεσμα την ξηρασία ορισμένων φυτών μέχρι το τέλος του πειράματος (όπως φαίνεται και στο Σχήμα 5.44 που παρουσιάζεται η επί τοις εκατό επιβίωση των φυτών ύστερα από 10 πειραματικές εβδομάδες) προφανώς από την μείωση του διαθεσίμου νερού λόγω των χαμηλών οσμωτικών δυναμικών που επικρατούσαν στο έδαφος.



Σχήμα 5.44. Ποσοστό [%] φυτών *Atriplex halimus* που επιβίωσαν σε καλλιέργεια εδάφους ρυπασμένου με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες για 10 εβδομάδες ($n=4$).

Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.45, τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών του *A. halimus* βρέθηκαν να αυξάνονται λόγω της παρουσίας των μετάλλων. Οι συγκεντρώσεις της ολικής χλωροφύλλης, της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* φαίνεται να αυξάνονται κατά 40-48% με την παρουσία των μετάλλων από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με μηδενική εδαφική αλατότητα (0/0 και Pb+Cd/0) και με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Pb+Cd/0,5). Αντίθετα, η επίδραση της χαμηλής εδαφικής αλατότητας δεν φαίνεται να επηρεάζει τις συγκεντρώσεις των χλωροφυλλών επιβεβαιώνοντας πιθανότατα την ανθεκτικότητα του φυτού στην αλατότητα, παρόλο που οι συγκεντρώσεις των χλωροφυλλών των φυτών της επέμβασης με τα μέταλλα και την αλατότητα 0,5% (Pb+Cd/0,5) παρουσιάζονται αυξημένες σε σχέση με εκείνες των αντιστοίχων φυτών με μηδενική αλατότητα (Pb+Cd/0) αλλά οι διαφορές δεν είναι σημαντικές. Και σε αυτή την περίπτωση, δεν πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των χλωροφυλλών στα φυτά των επεμβάσεων με 3% αλατότητα λόγω της μεγάλης καταπόνησης που υπέστησαν.

Επιπρόσθετα, από τον έλεγχο της αναλογίας των χλωροφυλλών *a* και *b* (Πίνακας 5.27) παρατηρείται ότι η παρουσία των μετάλλων μειώνει την αναλογία *a/b* όπως



Σχήμα 5.45. Περιεχόμενη χλωροφύλλη [mg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

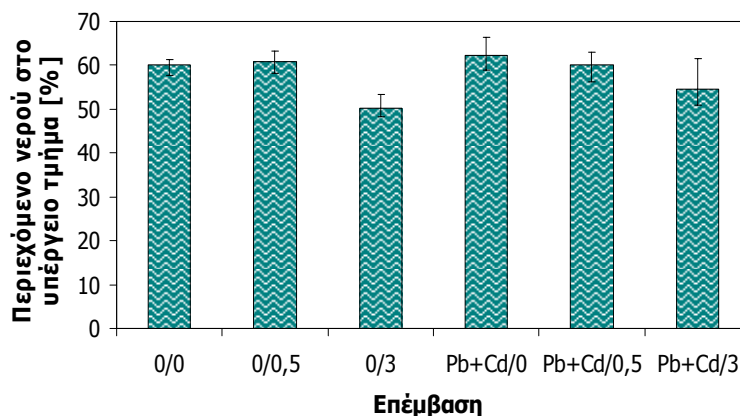
παρατηρήθηκε και σε όλα τα προηγούμενα πειράματα του συγκεκριμένου φυτού με τα μέταλλα, ενώ σε αυτή την περίπτωση, η επίδραση της αλατότητας δεν είναι ξεκάθαρη αφού από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων ελέγχου η αναλογία a/b φαίνεται να αυξάνεται ενώ από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με τα μέταλλα φαίνεται να μειώνεται. Ίσως μόνο να μπορεί να υποστηριχθεί ότι η αναλογία της χλωροφύλλης a/b είναι πιο ευαίσθητη στη συνέργεια μεταξύ μολύβδου, καδμίου και αλατότητας από ότι στη συνέργεια μεταξύ μόνο των δύο μετάλλων.

Πίνακας 5.27. Αναλογία χλωροφύλλης a/b στο *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.

Επέμβαση	Αναλογία χλωροφύλλης a/b
0	3,87
0/0,5	3,92
Pb+Cd/0	3,73
Pb+Cd/0,5	3,63

Όπως προαναφέρθηκε, το κάδμιο, ο μόλυβδος και η αλατότητα ως παράγοντες καταπόνησης μπορούν να μεταβάλουν το περιεχόμενο σε νερό των φυτικών ιστών (Poschenrieder et al., 1989, Piechalak et al., 2002, Murillo-Amador et al., 2006). Στην παρούσα μελέτη όμως, το περιεχόμενο σε νερό στα υπέργεια τμήματα των φυτών *Atriplex* δεν βρέθηκε να επηρεάζεται από την παρουσία του μετάλλων από την σύγκριση μεταξύ των φυτών των επεμβάσεων με 3% αλατότητα (0/3 και Pb+Cd/3), με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Pb+Cd/0,5) αλλά ακόμα και εκείνων με 0% (0/0 και Pb+Cd/0)

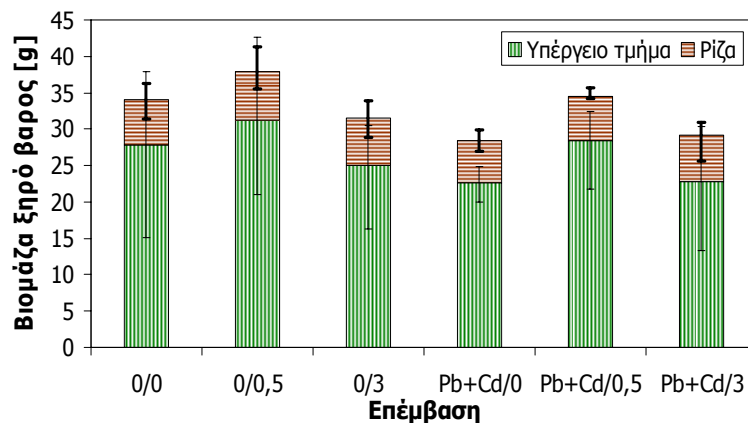
όπου παρόλο που παρατηρείται μια μικρή αύξηση κατά 3%, οι διαφορές είναι πολύ μικρές (Σχήμα 5.46), υπονοώντας ότι η τοξικότητα από το μέταλλο δεν προκαλεί μια μορφή υδατικής καταπόνησης, ενώ όπως έχει ήδη συζητηθεί, ανάλογη συμπεριφορά του υπό εξέταση φυτού έχει ξανά αναφερθεί στην διεθνή βιογραφία τουλάχιστον κατά την έκθεση του σε Cd (Lutts et al., 2004). Επιπλέον, οι χαμηλές συγκεντρώσεις άλατος δεν παρατηρείται να προκαλούν στα φυτά μια μορφή υδατικής καταπόνησης (οσμωτική καταπόνηση) αφού το περιεχόμενο σε νερό των υπέργειων τμημάτων των φυτών που καλλιεργήθηκαν σε εδαφική αλατότητα 0,5% (0/0,5 και Pb+Cd/0,5) δεν παρουσιάζεται να μεταβάλλεται, επιβεβαιώνοντας προφανώς την αλοφυτική φύση του φυτού. Βέβαια, στην εδαφική αλατότητα 3% (0/3 και Pb+Cd/3) η οποία προσομοιάζει την άρδευση με θαλασσινό νερό, όπως ήταν αναμενόμενο, παρατηρείται μείωση του περιεχομένου σε νερό. Ανάλογες παρατηρήσεις για την επίδραση της αλατότητας στο περιεχόμενο σε νερό του συγκεκριμένου φυτού έχουν ξανασυζητηθεί στην διεθνή βιβλιογραφία (Bajji et al., 1998).



Σχήμα 5.46. Περιεχόμενο σε νερό [%] του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Η αύξηση των φυτών που εκφράζεται ως βιομάζα σε αυτή την περίπτωση, παρουσιάζεται να επηρεάζεται από την παρουσία των μετάλλων (Σχήμα 5.47). Από την σύγκριση μεταξύ των φυτών των επεμβάσεων με 0% αλατότητα (0/0 και Pb+Cd/0), με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Pb+Cd/0,5) και εκείνων με 3% (0/3 και Pb+Cd/3) η βιομάζα παρουσιάζεται μειωμένη κατά 8 - 16,5%. Με βάση τα αποτελέσματα από τα ανάλογα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν με ρύπανση του εδάφους μόνο με το ένα μέταλλο κάθε φορά (Παράγραφοι 5.1.2 και 5.1.4) όπου δεν παρατηρήθηκε μείωση της βιομάζας του φυτού προκαλούμενη από τα μέταλλα, εξάγεται το συμπέρασμα ότι η παρατηρούμενη μείωση στην παρούσα περίπτωση μπορεί να οφείλεται στην συνέργεια των μετάλλων. Επιπρόσθετα, είναι εμφανής η επίδραση της αλατότητας στα φυτά από την σύγκριση των επεμβάσεων ελέγχου μεταξύ τους και των επεμβάσεων με τα μέταλλα μεταξύ τους. Η χαμηλή εδαφική αλατότητα (0/0,5 και Pb+Cd/0,5) είχε θετική επιρροή στην παραγόμενη βιομάζα του φυτού επιβεβαιώνοντας των αλοφυτικό χαρακτήρα του *A. halimus*, ενώ η υψηλή εδαφική αλατότητα (0/3 και Pb+Cd/3), όπως ήταν αναμενόμενο

είχε αρνητική επίδραση. Ανάλογες παρατηρήσεις για την επίδραση της αλατότητας στην αύξηση του συγκεκριμένου φυτού έχουν αναφερθεί κατά το παρελθόν στην διεθνή βιβλιογραφία, όπου σε υδροπονική καλλιέργεια του σε αλατότητα 150 mM ο σχετικός ρυθμός αύξησης παρατηρήθηκε αυξημένος ενώ σε υψηλότερες αλατότητες παρουσίασε σταδιακή μείωση (Bajji et al., 1998).

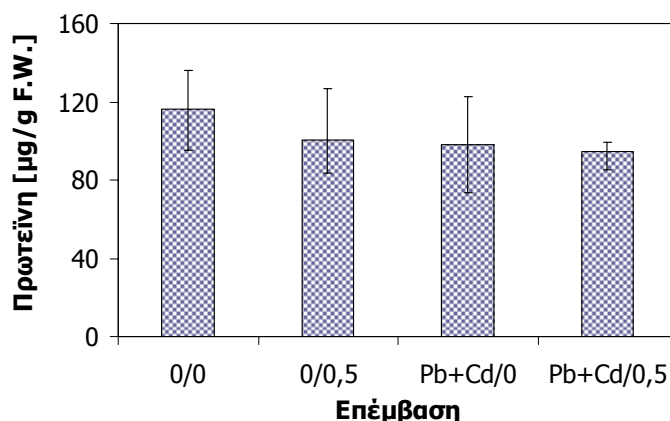


Σχήμα 5.47. Βιομάζα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

5.1.6.5. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού

Ο μόλυβδος, το κάδμιο αλλά και η αλατότητα, όπως έχει ήδη συζητηθεί, είναι παράγοντες καταπόνησης των φυτών οι οποίοι προκαλούν οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά λόγω της δημιουργίας ενεργών μορφών οξυγόνου με άμεση συνέπεια την αποδόμηση σημαντικών βιομορίων (Chaoui et al., 1997, Xiong, 1997, Shah et al., 2001, Verma and Dubey, 2003, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί σε αρκετές μελέτες έχει αποδειχτεί ότι και τα δύο μέταλλα προκαλούν οξείδωση των πρωτεϊνών λόγω της αυξημένης παραγωγής ROS ενώ η αποδόμηση των πρωτεϊνών έχει προταθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης της έκτασης της καταπόνησης που υφίσταται το φυτό (Romero-Puertas et al., 2002, Mishra et al., 2006). Τα αποτελέσματα λοιπόν από την παρούσα μελέτη επιβεβαιώνουν αυτό το γεγονός, μιας και οι περιεχόμενες πρωτεΐνες στα φύλλα του *Atriplex* παρουσιάζονται μειωμένες στις επεμβάσεις με τα μέταλλα. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.48, στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με το μείγμα το μετάλλων και σε μηδενική εδαφική αλατότητα (Pb+Cd/0) παρατηρείται μείωση των πρωτεϊνών κατά 15,6% σε σχέση με την αντίστοιχη ομάδα ελέγχου (0/0), και επίσης από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Pb+Cd/0,5) προκύπτει μια ελάχιστη μείωση των πρωτεϊνών κατά 6% λόγω της παρουσίας του μετάλλου. Κατά συνέπεια, θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι η παρουσία των μετάλλων προκάλεσε οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά με αποτέλεσμα την οξείδωση μέρους των πρωτεϊνών τους.



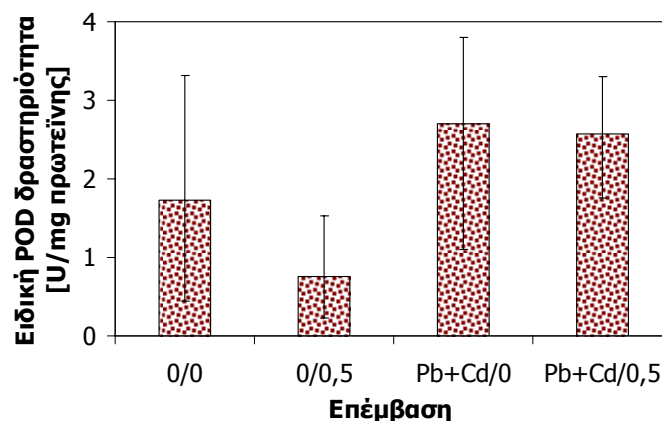
Σχήμα 5.48. Περιεχόμενη πρωτεΐνη [μg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επιπλέον, και η αλατότητα προκαλεί αύξηση της δημιουργίας ROS μέσα στους φυτικούς ιστούς με αποτέλεσμα να μειώνει τα επίπεδα των πρωτεϊνών όπως για παράδειγμα στο φυτό *Cucumis sativus* L. όπου με έκθεση του σε 50 mM NaCl παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των διαλυτών πρωτεϊνών στα φύλλα του (Zhu et al., 2004). Ανάλογες λοιπόν, είναι και οι παρατηρήσεις για το παρόν πείραμα όπου παρατηρείται μείωση των πρωτεϊνών με την έκθεση του φυτού σε 0,5% εδαφική αλατότητα, όπως παρατηρήθηκε και στα αντίστοιχα πειράματα με έκθεση του φυτού μόνο σε κάδμιο και μόνο σε μόλυβδο με τις αντίστοιχες εδαφικές αλατότητες (Παράγραφοι 5.1.2 και 5.1.4). Όπως παρατηρείται (Σχήμα 5.48), από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων ελέγχου (0/0 και 0/0,5) και των επεμβάσεων με το μείγμα των μετάλλων (Pb+Cd/0 και Pb+Cd/0,5) παρουσιάζεται μείωση των πρωτεϊνών κατά 14 και 4% αντίστοιχα με την παρουσία της αλατότητας, ενώ η μεγαλύτερη μείωση (19% σε σχέση με τα φυτά ελέγχου 0/0), όπως ήταν αναμενόμενο, παρατηρείται στην επέμβαση όπου υπάρχουν και οι τρεις παράγοντες καταπόνησης (Pb+Cd/0,5). Όμως όπως έχει προαναφερθεί, σε ερευνητικές μελέτες άλλων επιστημόνων στο ίδιο φυτό, έχει βρεθεί ότι σε αλατότητες μέχρι 300 mM NaCl παρατηρείται μείωση των πρωτεϊνών στα φύλλα του *Atriplex halimus*, όπως συμβαίνει και στην παρούσα μελέτη, όμως σε μεγαλύτερες αλατότητες μέχρι και τα 600 mM η συγκέντρωση των πρωτεϊνών είναι μόνο ελαφρώς μικρότερη από εκείνη των φυτών-μαρτύρων (Bajji et al., 1998). Στην παρούσα περίπτωση όμως δεν μπορούν να επιβεβαιωθούν οι παραπάνω αναφορές λόγω του ότι δεν πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των πρωτεϊνών στα φυτά με 3% εδαφική αλατότητα λόγω της μεγάλης καταπόνησης που υπέστησαν από την αλατότητα.

Στα πλαίσια του αντιοξειδωτικού μηχανισμού των φυτών η υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης έχει αποδειχτεί να συμβάλει στην αντιμετώπιση των οξειδωτικών βλαβών, ενώ η μέτρηση της δραστηριότητας της μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την αξιολόγηση της έντασης της καταπόνησης από τα βαρέα μέταλλα (Radotic et al., 2000, Shah et al., 2001, Verma and Dubey, 2003, Ruttens et al., 2006) και από την αλατότητα (Mittal and Dubey, 1991, Verma and Dubey, 2003).

Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.49, και σε αυτή την περίπτωση, η παρουσία των μετάλλων προκάλεσε αύξηση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης.

Από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με μηδενική εδαφική αλατότητα (0/0 και Pb+Cd/0) και με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Pb+Cd/0,5) η POD δραστηριότητα παρατηρείται αυξημένη κατά 57 και 241%, αντίστοιχα, επιβεβαιώνοντας και σε αυτή την περίπτωση ότι τα δύο υπό εξέταση μέταλλα προκαλούν αύξηση της δραστηριότητας του αντιοξειδωτικού ενζύμου υποδεικνύοντας προφανώς και αύξηση της δραστηριότητας του αντιοξειδωτικού τους συστήματος. Όπως έχει ήδη αναφερθεί τα αποτελέσματα από τις περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι η ανθεκτικότητα στην καταπόνηση αλατότητας συνδέεται με ένα πιο αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό σύστημα στα φυτά (Zhu et al., 2004), όμως και σε αυτό το πείραμα, η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης στα φύλλα του *Atriplex halimus* παρουσιάζεται μειωμένη με την επίδραση της αλατότητας. Από την σύγκριση μεταξύ των ομάδων ελέγχου με διαφορετική εδαφική αλατότητα (0/0 και 0/0,5) παρατηρείται μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου κατά 56%, ενώ και από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με τα μέταλλα (Pb+Cd/0 και Pb+Cd/0,5) παρατηρείται μείωση κατά 5%. Όμως το γεγονός ότι η μείωση αυτή παρατηρείται μικρότερη για τα φυτά των επεμβάσεων με τα μέταλλα ίσως υπονοεί ότι η επίδραση και των δύο μετάλλων στη POD δραστηριότητα ήταν μεγαλύτερη από την επίδραση της αλατότητας. Ενώ όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα εν λόγω αποτελέσματα για την επίδραση της αλατότητας στην POD δραστηριότητα στο *A. halimus* είναι σε συμφωνία με τις



Σχήμα 5.49. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *Atriplex halimus* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

μελέτες άλλων ερευνητών, όπου και σε αυτές παρατηρήθηκε μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου στα φύλλα του φυτού με έκθεση του σε θρεπτικό διάλυμα με 150 mM NaCl, ενώ με περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του άλατος μέχρι τα 600 mM παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση της δραστηριότητας καταλήγοντας όμως σε τιμές δραστηριότητας ανάλογες με αυτές των φυτών μαρτύρων, οδηγώντας τους συγγραφείς στο συμπέρασμα ότι οι υπεροξειδάσες της γουαϊακόλλης στο συγκεκριμένο φυτό ίσως δεν εμπλέκονται άμεσα στην ανοχή του φυτού στην αλατότητα τουλάχιστον σε επίπεδο φύλλων (Bajji et al., 1998).

5.1.7. Συνοπτικά αποτελέσματα για το φυτό *Atriplex halimus*

Στην παρούσα μελέτη το *A. halimus* δεν βρέθηκε να αποτελεί υπερσυσσωρευτή του καδμίου και του μολύβδου αντίθετα με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητών από υδροπονικές καλλιέργειες του φυτού. Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε με στόχο να ελεγχθεί η ικανότητα του *Atriplex halimus* να συσσωρεύει τα υπό εξέταση μέταλλα στο σώμα του λαμβάνοντας υπόψη όλους εκείνους τους παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη των μετάλλων από τα φυτά όπως οι περιβαλλοντικοί παράγοντες και η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος και επιπλέον τον έλεγχο της απόκρισης του φυτού με μακροπρόθεσμη έκθεση του στα μέταλλα. Ειδοποιός διαφορά και πιθανή αιτία των αντικρουόμενων αποτελεσμάτων θεωρείται η ηλικία και το στάδιο ανάπτυξης των φυτών γεγονός που επιβεβαιώνει βιβλιογραφικές αναφορές που υποστηρίζουν ότι εκτός των άλλων, η ηλικία και τα στάδια ανάπτυξης των φυτών αποτελούν βασικούς παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη και συσσώρευση των μετάλλων.

Οι ρίζες του φυτού βρέθηκαν να συγκεντρώνουν περισσότερο Cd από τα εναέρια τμήματα παρόλα αυτά η συσσώρευση του μετάλλου στις ρίζες κυμάνθηκε στο 24-30% του συνολικού καδμίου που προσελήφθηκε από τα φυτά λόγω της μεγάλης παραγόμενης βιομάζας του υπέργειου τμήματος γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό για εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης με την έννοια ότι ευνοείται ο θερισμός του υπέργειου τμήματος έναντι του ξεριζώματος ολόκληρου του φυτού. Επιπλέον, η συσσώρευση του μετάλλου στο φυτικό ιστό (ρίζα και υπέργειο τμήμα) αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος. Επιπρόσθετα, διαπιστώθηκε ότι η πρόσληψη Cd αυξάνεται με την αύξηση της εδαφικής αλατότητας ενώ δεν μπορεί να υποστηριχθεί με βεβαιότητα η πρόταση και ότι η αλατότητα επιδρά θετικά στην μετακίνηση του μετάλλου από τις ρίζες στα εναέρια μέρη του *Atriplex halimus*.

Στην περίπτωση του μολύβδου, οι ρίζες του *A. halimus* αποτελούν την κύρια περιοχή συσσώρευσης του, παρατήρηση που έρχεται σε συμφωνία με τις βιβλιογραφικές αναφορές που πραγματεύονται την συσσώρευση του μετάλλου στα φυτά. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι η συσσώρευση Pb στο φυτικό ιστό αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του στο έδαφος. Η επίδραση της εδαφικής αλατότητας στην πρόσληψη, μετακίνηση και συσσώρευση του μολύβδου στους φυτικούς ιστούς δεν είναι ξεκάθαρη μιας και τα αποτελέσματα από όλα τα πειράματα που έλαβαν χώρα είναι αντικρουόμενα ενώ υπεύθυνο θεωρείται το γεγονός ότι ο μολύβδος χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα μικρή κινητικότητα στο έδαφος αλλά και στους φυτικούς ιστούς με αποτέλεσμα μην είναι εμφανής η επίδραση της αλατότητας στην μετακίνηση και συσσώρευση του.

Είναι γνωστό ότι όταν ένα φυτό εκτίθεται σε πολλούς παράγοντες καταπόνησης ταυτόχρονα, η επίδραση στο φυτό αυτών των παραγόντων μπορεί να είναι είτε συνεργιστική είτε ανταγωνιστική. Στην παρούσα μελέτη λοιπόν διαπιστώθηκε ότι η παρουσία του μολύβδου είχε θετική επίδραση στην συσσώρευση του καδμίου στους ιστούς του *A. halimus*, ενώ η παρουσία του καδμίου βρέθηκε να μην έχει σημαντική επίδραση ή να έχει οριακά αρνητική επίδραση στην πρόσληψη και συσσώρευση του μολύβδου με εξαίρεση τις περιπτώσεις υψηλής εδαφικής ρύπανσης και αλατότητας.

Η παρουσία των μετάλλων συνήθως έχει δυσμενείς επιπτώσεις στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά των φυτών. Εντούτοις, το *A. halimus* δεν παρουσίασε καμία ορατή ένδειξη τοξικότητας από τα μέταλλα ακόμα και όταν οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στο έδαφος υπερέβαιναν κατά πολύ τις οριακές τιμές συγκεντρώσεων που θεωρούνται τοξικές για τα φυτά και η καταπόνηση από τα μέταλλα δεν είχε καμία επίπτωση στην επιβίωση του φυτού. Επιπλέον, τα ποσά των φωτοσυνθετικών

χρωστικών ουσιών του φυτού δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται αρνητικά από την παρουσία των μετάλλων επιβεβαιώνοντας τις οπτικές παρατηρήσεις κατά την διάρκεια του πειράματος. Αντ' αυτού οι συγκεντρώσεις της ολικής χλωροφύλλης, της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* παρουσιάστηκαν να αυξάνονται με την αύξηση της συκέντρωσης των μετάλλων στο έδαφος. Επιπρόσθετα, και η αύξηση εκφρασμένη ως βιομάζα (ξηρό βάρος) των φυτών παρουσιάστηκε αυξημένη σε σύγκριση με τα φυτά μάρτυρες. Επίσης το περιεχόμενο σε νερό στα υπέργεια τμήματα των φυτών *Atriplex* δεν βρέθηκε να επηρεάζεται από την παρουσία των μετάλλων υπονοώντας ότι η τοξικότητα από τα μέταλλα δεν προκαλεί μια δευτερεύουσα υδατική καταπόνηση στο φυτό.

Η επίδραση της χαμηλής εδαφικής αλατότητας 0,5% στα φυτά δεν είχε καμιά αρνητική επίδραση στην επιβίωση των φυτών και δεν παρατηρήθηκαν οπτικά συμπτώματα τοξικότητας που να συνδέονται με την αλατότητα. Επιπλέον, τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών όπως και το περιεχόμενο σε νερό των υπέργειων τμημάτων των φυτών δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται αρνητικά από την χαμηλή εδαφική αλατότητα, ενώ η βιομάζα του φυτού παρουσίασε αύξηση επιβεβαιώνοντας την αλοφυτική φύση του *A. halimus*. Αντίθετα η αρνητική επίδραση της υψηλής αλατότητας 3% ήταν φανερή από την οπτική παρατήρηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών του φυτού και επιπλέον η επιβίωση των συγκεκριμένων φυτών παρουσιάστηκε μειωμένη μιας και η καταπόνηση που επέφερε η τόσο υψηλή αλατότητα που αντιστοιχεί σε προσομοίωση άρδευσης με θαλασσινό νερό, τα οδήγησε σε ξηρασία, προφανώς λόγω μιας μορφής υδατικής καταπόνησης (οσμωτική καταπόνηση) λόγω των εξαιρετικά χαμηλών οσμωτικών δυναμικών που επικρατούσαν στο έδαφος και τα οποία παρακρατούσαν το διαθέσιμο νερό. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται και από τον προσδιορισμό του περιεχομένου σε νερό το οποίο βρέθηκε μειωμένο σε όλα τα φυτά που μεταχειρίστηκαν με 3% αλατότητα. Τέλος, όπως ήταν αναμενόμενο και η παραγόμενη βιομάζα των φυτών παρουσίασε μείωση.

Επιπλέον, οι πρωτεΐνες στα φύλλα του φυτού δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται αρνητικά σε μεγάλο βαθμό από την παρουσία των μετάλλων ενώ στις επεμβάσεις με τα υψηλότερα επίπεδα ρύπανσης παρατηρήθηκε ακόμα και αύξηση των περιεχόμενων πρωτεϊνών γεγονός που πιθανόν δηλώνει σύνθεση νέων πρωτεϊνών καταπόνησης ώστε να ανταπεξέλθει το φυτό στην καταπόνηση από τις παραγόμενες ενεργές μορφές οξυγόνου λόγω της παρουσίας των μετάλλων. Αντίθετα η χαμηλή εδαφική αλατότητα 0,5% βρέθηκε να προκαλεί μείωση των πρωτεϊνών στα φύλλα του *Atriplex halimus* σε όλες τις περιπτώσεις.

Η παρουσία των μετάλλων από την σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν σε καλλιέργειες του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις μολύβδου, καδμίου και του μείγματος τους, είναι προφανές ότι προκαλεί αύξηση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του φυτού, υποδηλώνοντας ότι η υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης συμβάλει στην αντιμετώπιση των οξειδωτικών βλαβών που προέρχονται από τα μέταλλα στο *Atriplex halimus*, ενώ η μέτρηση της δραστηριότητας της μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την αξιολόγηση της έντασης της καταπόνησης. Ενώ συγκριτικά από τα αποτελέσματα όλων των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν σε καλλιέργειες του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με μόλυβδο, με κάδμιο και με το μείγμα τους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες είναι προφανές ότι η αλατότητα 0,5% προκαλεί μείωση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *Atriplex halimus* φανερώνοντας ίσως ότι οι υπεροξειδάσες της γουαϊακόλλης στο συγκεκριμένο φυτό δεν εμπλέκονται άμεσα στην ανθεκτικότητα του φυτού στην

αλατότητα τουλάχιστον σε επίπεδο φύλλων, ενώ η παρουσία των μετάλλων προκαλεί αύξηση της ενζυμικής δραστηριότητας επιβεβαιώνοντας ότι το συγκεκριμένο ένζυμο λαμβάνει μέρος στην αποτοξίνωση του φυτού από τα βαρέα μέταλλα στα πλαίσια του αντιοξειδωτικού του μηχανισμού.

Τέλος για την εκτίμηση της έντασης της φυτοτοξικότητας η ενζυμική δραστηριότητα πρέπει να συνδέεται με την αξιολόγηση της αύξησης των φυτών μιας και η ελλιπής αύξηση και τα υψηλά «ένζυμα καταπόνησης» αποτελούν συμπτώματα ισχυρής φυτοτοξικότητας και επιπρόσθετα υπό ακραίες συνθήκες καταπόνησης, τα φυτά μπορεί να αδυνατούν να παράγουν αρκετά αντιοξειδωτικά ένζυμα για την προστασία τους άρα η μικρή ενζυμική δραστηριότητα δεν φανερώνει απαραίτητα και μικρή ένταση καταπόνησης. Λαμβάνοντας υπόψη λοιπόν το γεγονός ότι παρατηρήθηκε αύξηση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων του *Atriplex halimus* όμως δεν παρατηρήθηκε μείωση της αύξησης και των άλλων παραγωγικών και μορφολογικών χαρακτηριστικών του φυτού αλλά παρατηρήθηκε έως και αύξηση τους σε ορισμένες περιπτώσεις εξάγεται το συμπέρασμα ότι πρόκειται για ένα ιδιαίτερα ανθεκτικό φυτό στο κάδμιο και το μόλυβδο δεδομένου ότι τα επίπεδα τους ξεπερνούσαν κατά πολύ τις οριακές τιμές συγκέντρωσης στο έδαφος που έχουν θεσπιστεί από το ελληνικό κράτος (ΦΕΚ 641/7.8.1991).

5.2. ΥΠΟ ΕΞΕΤΑΣΗ ΦΥΤΟ: *Nerium oleander* L.

5.2.1. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις μολύβδου

5.2.1.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Κατά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας, 10 μηνών φυτά *Nerium oleander* που είχαν αναπτυχθεί στην ίδια ποσότητα μείγματος οργανικού υποστρώματος και κοκκινόχωματος σε αναλογία 4:3 (1490 g ξηρό βάρος) (βλ. Παράγραφο 4.1.1) διαιρέθηκαν σε 8 πειραματικές ομάδες με 6 φυτά για κάθε ομάδα – επέμβαση (treatment), έτσι ώστε κάθε ομάδα - επέμβαση να έχει συγκριτικά ανάλογη μέση βιομάζα. Η ρύπανση του εδάφους καλλιέργειας με το μόλυβδο πραγματοποιήθηκε με προσθήκη υδατικού διαλύματος $Pb(NO_3)_2$ σε μια δόση στην αρχή του πειράματος. Οι συγκεντρώσεις του Pb στο έδαφος που επιλέχθηκαν για την διεξαγωγή αυτού του πειράματος ήταν 800, 1600 και 2400 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους, όπως παρουσιάζεται και στον Πίνακα 5.28 όπου δίδεται ο πειραματικός σχεδιασμός, δηλαδή σε συγκεντρώσεις διπλάσιες, τετραπλάσιες και εξαπλάσιες των ανώτερων οριακών τιμών του μετάλλου στο έδαφος που θεωρούνται τοξικές για τα φυτά και οι οποίες είναι 100 - 400 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους (Orcutt and Nilsen, 2000).

Πίνακας 5.28. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Επέμβαση ("κωδικό όνομα")	Συγκέντρωση Pb που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση NaCl [%]
1	"0/0"	0	0
2	"0/0,5"	0	0,5
3	"800Pb/0"	800	0
4	"800Pb/0,5"	800	0,5
5	"1600Pb/0"	1600	0
6	"1600Pb/0,5"	1600	0,5
7	"2400Pb/0"	2400	0
8	"2400Pb/0,5"	2400	0,5

Η έναρξη του πειράματος πραγματοποιήθηκε στα μέσα Ιουλίου και διάρκεσε για 10 εβδομάδες σε τοποθεσία ανοιχτή στον αέρα και τον ήλιο προκειμένου η καλλιέργεια να πραγματοποιηθεί σε ανάλογες συνθήκες με τις συνθήκες πεδίου (φωτογραφίες στην αρχή και στο τέλος του πειράματος παρατίθενται στο Παράρτημα Ι). Ιδιαίτερη φροντίδα

δόθηκε στο να μην επιτραπεί να ξεπλυθούν τα φυτά από τη βροχή που θα είχε ως αποτέλεσμα την αποστράγγιση του μετάλλου από το έδαφος, με χρήση πλαστικού καλύμματος που χρησιμοποιείται για τη κατασκευή πλαστικών θερμοκηπίων. Η φωτοπερίοδος κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν 12,5 – 14,5 ώρες (μεγαλύτερη στις πρώτες πειραματικές εβδομάδες) ενώ μετρήσεις της θερμοκρασίας και της υγρασίας λαμβάνονταν δύο φορές ημερησίως στις 9:30 π.μ. και 2:30 μ.μ. και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.29. Τα φυτά ποτίζονταν κάθε 2 ή 3 ημέρες ανάλογα με τις απαιτήσεις και τις περιβαλλοντικές συνθήκες με νερό βρύσης ή υδατικό διάλυμα NaCl 0,5% σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.28). Τα υδατικά διαλύματα NaCl για την άρδευση των φυτών προετοιμάστηκαν με βρώσιμο αλάτι θαλάσσης και νερό βρύσης ενώ η ποσότητα του νερού ή του αλατούχου διαλύματος που χρησιμοποιούνταν σε κάθε πότισμα ήταν περίπου 400 mL το οποίο διαιρούσαν σε δύο ίσα μέρη. Το πρώτο μέρος προσθέτονταν στο έδαφος καλλιέργειας προκειμένου να αποφευχθεί πιθανή εκροή του νερού με το μέταλλο και τα θρεπτικά από τις γλάστρες ενώ το δεύτερο μέρος προσθέτονταν στα πλαστικά πιάτα κάτω από κάθε γλάστρα για να διατηρεί επαρκή ποσότητα νερού κατά τη διάρκεια των ζεστών ημερών.

Πίνακας 5.29. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	20 - 35	26,6	46 - 80	63,2
Μεσημέρι	29 - 53	40,9	30 - 55	39,8

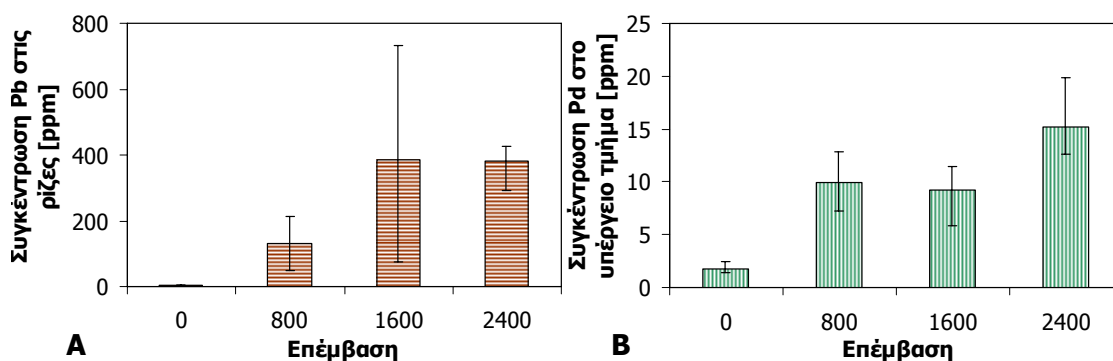
Καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος λάμβανε χώρα οπτική παρατήρηση και καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών των φυτών έτσι ώστε να εντοπιστούν οποιεσδήποτε αλλαγές ή συμπτώματα τοξικότητας από το μέταλλο. Επίσης μια φορά την εβδομάδα σε συγκεκριμένη μέρα και ώρα, πραγματοποιούνταν μετρήσεις του ύψους των υπέργειων τμημάτων προκειμένου να παρατηρηθεί και να αξιολογηθεί ποσοτικά η κατάσταση της υγείας των φυτών. Με την λήξη των 10 εβδομάδων έκθεσης στο μέταλλο πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της συγκέντρωσης του μετάλλου στα φυτικά τμήματα. Τέλος έλαβαν χώρα μετρήσεις της βιομάζας και της περιεχόμενης χλωροφύλλης για τον έλεγχο της επίδρασης του μετάλλου στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού και επιπλέον έλαβαν χώρα μετρήσεις των πρωτεϊνών και της δραστηριότητας του αντιοξειδωτικού ενζύμου υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης στα φύλλα του φυτού για τον έλεγχο της οξειδωτικής καταπόνησης που επιφέρει το μέταλλο στο *Nerium oleander*. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν σε όλες τις παραπάνω μετρήσεις δίδονται στην Παράγραφο 4.1.3.

5.2.1.2. Συσσώρευση μολύβδου στο φυτικό ιστό

Όπως είναι φανερό από το Σχήμα 5.50A η κύρια περιοχή συσσώρευσης του μολύβδου είναι οι ρίζες του *Nerium oleander*. Η συσσώρευση του μετάλλου στις ρίζες

κυμάνθηκε από 90% ως 98% του συνολικού μολύβδου που προσελήφθηκε από τα φυτά, ενώ η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού ήταν σημαντικά χαμηλότερη και σε καμιά από τις επεμβάσεις οι συγκεντρώσεις του δεν ξεπέρασαν τα επίπεδα που θεωρούνται τοξικά για τα φυτά και τα οποία είναι 30 - 300 ppm ξηρού βάρους (Σχήμα 5.50B). Εν τούτοις, ξεπεράστηκαν οι συγκεντρώσεις στα υπέργεια μέρη που θεωρούνται φυσιολογικές για τα φυτά, δηλ., η συγκέντρωση μετάλλου η οποία δεν προκαλεί αλλαγή ή βλάβη (5 - 10 mg/kg ξηρού βάρους) (Orcutt and Nilsen, 2000). Ότι η κύρια περιοχή συσσώρευσης του μετάλλου είναι οι ρίζες του *Nerium oleander* φαίνεται και από το λόγο συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας όπου για όλες τις επεμβάσεις παρουσιάζεται ιδιαίτερα μικρός: 0,07, 0,02 και 0,04 για τις επεμβάσεις των 800, 1600 και 2400 ppm Pb στο έδαφος, αντίστοιχα.

Αυτά τα αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με μελέτες άλλων ερευνητών στις οποίες έχει αποδειχτεί ότι συνήθως οι ρίζες συσσωρεύουν πολύ μεγαλύτερες ποσότητες μολύβδου από τα εναέρια τμήματα των φυτών (Wozny, 1995, Liu et al., 2000, Xiong, 1997, Piechalak et al., 2002), ενώ ακόμα και στα φυτικά είδη με τις καλύτερες δυνατότητες μετακίνησης του μετάλλου, η μετακίνηση του Pb από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα είναι λιγότερη από το 30% (Begonia et al., 1998). Οπότε μπορεί να υποστηριχθεί ότι αυτές οι μεγάλες διαφορές στη συσσώρευση Pb μεταξύ των ριζών και των υπέργειων τμημάτων φανερώνουν ένα ισχυρό περιορισμό στην εσωτερικής μεταφοράς του μετάλλου από τις ρίζες προς τα υπέργεια μέρη ενώ ανάλογος ισχυρισμός για την μετακίνηση του Pb έχει διατυπωθεί και στο παρελθόν (Kumar et al., 1995, Begonia et al., 1998, Kadukova and Kalogerakis, 2007).

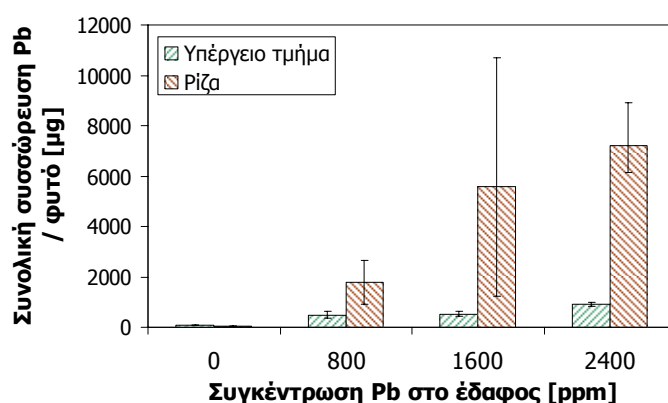


Σχήμα 5.50. Συγκέντρωση μολύβδου [mg/kg ξηρού βάρους] (A) στις ρίζες και (B) στα υπέργεια τμήματα των φυτών *N. oleander* που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.50, η συσσώρευση στις ρίζες αυξήθηκε σημαντικά με την αύξηση του μόλυβδου στο έδαφος από 800 σε 1600 ppm, όμως περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος δεν επέφερε αύξηση και της συσσώρευσης στις ρίζες του φυτού. Επιπλέον, η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα ήταν ανάλογη για τις επεμβάσεις με 800 και 1600 ppm Pb, ενώ παρατηρείται αύξηση στην επέμβαση με 2400 ppm Pb. Κατά συνέπεια, μπορεί να υποστηριχθεί ότι η συγκέντρωση του μολύβδου στα υπέργεια τμήματα αυξάνεται μόνο

εφόσον η συνολική ικανότητα κατακράτησης (binding capacity) των ριζών του φυτού έχει εξαντληθεί. Ανάλογα αποτελέσματα έχουν παρουσιαστεί στο παρελθόν για το φυτό *Brassica juncea* που έδειξαν ότι αύξηση της μετακίνησης του μολύβδου από τις ρίζες στα εναέρια τμήματα του φυτού παρατηρήθηκε μόνο σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις Pb στο θρεπτικό μέσο, και μόνο αφού η συνολική ικανότητα κατακράτησης των ριζών είχε κορεστεί (Kumar et al., 1995).

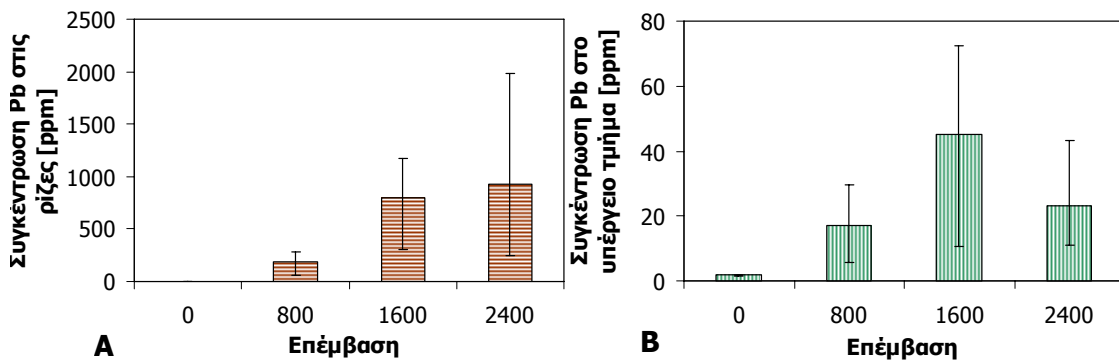
Εξετάζοντας την ολική απομάκρυνση του μολύβδου (φυτοσυσσώρευση) από το φυτό (Σχήμα 5.51) διαπιστώνεται ότι η ολική συσσώρευση του μετάλλου αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του μετάλλου στο έδαφος. Στην επέμβαση με 800 ppm Pb η συσσώρευση μολύβδου από ολόκληρο το φυτό είναι 2263 μg , στην επέμβαση με 1600 ppm Pb η συσσώρευση είναι 6090 μg ενώ για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος με 2400 ppm Pb η συσσώρευση είναι 8127 μg . Ως εκ τούτου, είναι προφανές ότι όταν η συγκέντρωση του Pb στο έδαφος τριπλασιάζεται ο συνολικός μόλυβδος που συσσωρεύεται σε ολόκληρο το φυτό σχεδόν τετραπλασιάζεται.



Σχήμα 5.51. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

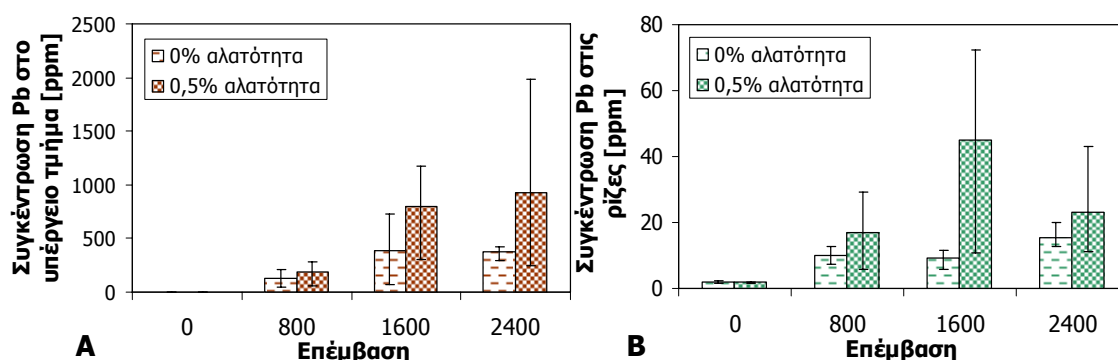
Όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.52A και στην περίπτωση όπου η εδαφική αλατότητα αυξήθηκε στο 0,5%, η κύρια περιοχή συσσώρευσης του μολύβδου είναι οι ρίζες του *N. oleander*. Η συσσώρευση του μετάλλου στις ρίζες κυμάνθηκε από 93% ως 98% του συνολικού μολύβδου που προσελήφθηκε από τα φυτά, ενώ επιπλέον παρατηρείται ότι η συσσώρευση στις ρίζες αυξάνεται όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του μετάλλου στο έδαφος. Αντίθετα παρατηρώντας το Σχήμα 5.52B είναι φανερό ότι η συγκέντρωση Pb στα υπέργεια τμήματα του φυτού δεν επέδειξαν την ίδια τάση και η υψηλότερη συγκέντρωση παρουσιάζεται στην επέμβαση με 1600 ppm Pb στο έδαφος.

Με σύγκριση των συγκεκριμένων αποτελεσμάτων με αυτά των προηγούμενων επεμβάσεων στις ίδιες συγκεντρώσεις μολύβδου αλλά χωρίς προσθήκη NaCl (Σχήμα 5.53) παρατηρείται ότι η αλατότητα επιδρά σημαντικά στη πρόσληψη του Pb από το φυτό. Η συγκέντρωση στις ρίζες αυξήθηκε κατά 1,4 φορές για την επέμβαση με 800 ppm Pb στο έδαφος, 2,1 φορές για την επέμβαση με 1600 ppm Pb και 2,5 φορές για την επέμβαση με 2400 ppm Pb. Επίσης, η συγκέντρωση στα υπέργεια τμήματα αυξήθηκε κατά 1,7 φορές για την επέμβαση με 800 ppm Pb, 1,5 φορές για την επέμβαση με 2400



Σχήμα 5.52. Συγκέντρωση μολύβδου [mg/kg ξηρού βάρους] (Α) στις ρίζες και (Β) στα υπέργεια τμήματα των φυτών *N. oleander* που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους με εδαφική αλατότητα 0,5%. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

ppm Pb και σχεδόν πενταπλασιάστε στα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 1600 ppm Pb. Ανάλογη συμπεριφορά έχει αναφερθεί σε αρκετά φυτά κατά το παρελθόν όπου έχει βρεθεί ότι η συγκέντρωση των μετάλλων στα υπέργεια τμήματα καθώς επίσης και σε ολόκληρα τα φυτά αυξήθηκε με την αύξηση της αλατότητας και εξήχθει το συμπέρασμα ότι το γεγονός αυτό είναι πιθανόν να οφείλεται στην μεγαλύτερη κινητικότητα των μετάλλων στο έδαφος ή/και στην μεγαλύτερη πρόσληψη νερού, λόγω της αυξανόμενης διαπνοής, οδηγώντας σε μια μεγαλύτερη ροή των μετάλλων στα φυτά (Bingham et al., 1983, Li et al., 1994, Greger et al., 1995, Smolders et al., 1998, Weggler-Beaton et al., 2000, Norvell et al., 2000, Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003, Weggler et al., 2004, Wahla and Kirkham, 2007).

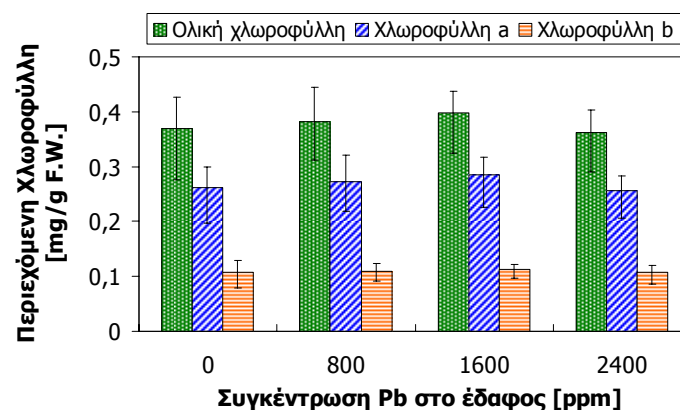


Σχήμα 5.53. Συγκέντρωση μολύβδου [mg/kg ξηρού βάρους] (Α) στις ρίζες και (Β) στα υπέργεια τμήματα των φυτών *N. oleander* που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους. Σύγκριση μεταξύ επεμβάσεων με τις ίδιες συγκεντρώσεις Pb στο έδαφος αλλά με διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

5.2.1.3. Επίδραση του μολύβδου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

Η αύξηση της συγκέντρωσης του μολύβδου στο έδαφος συνήθως προκαλεί επιδείνωση των παραμέτρων της φυσιολογίας των αναπτυσσόμενων σε αυτό φυτών (Verma and Dubey, 2003). Η μείωση της αύξησης του φυτού, που εκφράζεται ως μειωμένος ρυθμός αύξησης ή μειωμένη βιομάζα, μπορεί να οφείλεται σε συγκεκριμένη τοξικότητα του μετάλλου στο φυτό, στον ανταγωνισμό με τις θρεπτικές ουσίες, σε παρεμπόδιση της διείσδυσης της ρίζας στο έδαφος ή σε παρεμπόδιση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας (Begonia et al., 1998).

Παρόλα αυτά, στην παρούσα μελέτη η καταπόνηση από το μέταλλο δεν είχε καμία επίπτωση στην επιβίωση των φυτών και όλα τα φυτά παρέμειναν υγιή μέχρι την λήξη του πειράματος. Επιπλέον, τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών του *N. oleander* δεν βρέθηκαν να μεταβάλλονται λόγω της παρουσίας του μολύβδου. Οι συγκεντρώσεις της ολικής χλωροφύλλης, της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* δεν παρουσίασαν σημαντικές στατιστικά διαφορές από την αύξηση της συγκέντρωσης του μολύβδου στο έδαφος (Σχήμα 5.54). Ανάλογες παρατηρήσεις έχουν αναφερθεί για το φυτό *Sonchus oleraceus* το οποίο δεν επέδειξε καμία σημαντική μείωση της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη σε καλλιέργειες με 800 και 1600 mg Pb /kg εδάφους. Μόνο σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις του μετάλλου στο έδαφος (3200 mg/kg) παρατηρήθηκε μια μείωση 18% της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη και αιτιολογήθηκε ως παρεμπόδιση της βιοσύνθεσης της χλωροφύλλης λόγω της παρουσίας του Pb (Xiong, 1997).



Σχήμα 5.54. Περιεχόμενη χλωροφύλλη [mg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Nerium oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

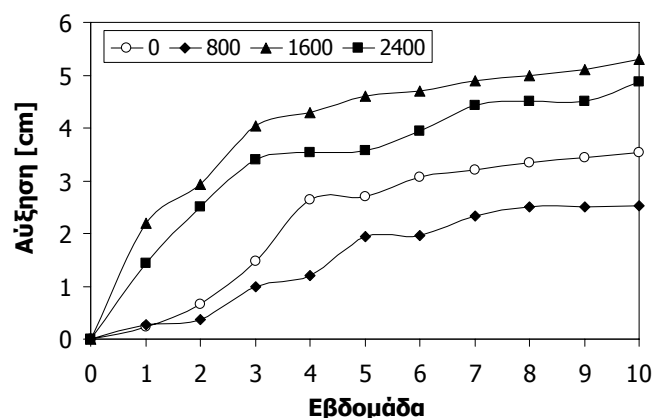
Επιπλέον, λόγω του ότι έχει φανεί ότι σε ορισμένες περιπτώσεις η αναλογία χλωροφυλλών *a* και *b* είναι πιο ευαίσθητη σε αλλαγές από ότι η ολική περιεχόμενη χλωροφύλλη, όπως για παράδειγμα στις λειχήνες *Cladonia convolute* και *Cladonia rangiformis* που ύστερα από έκθεση τους σε Pb δεν επέδειξαν καμία μεταβολή στην ολική χλωροφύλλη όμως παρατηρήθηκε μείωση κατά 10-15% της αναλογίας

χλωροφύλλης *a/b* στην λειχήνα *Cladonia convolute* και μικρή αύξηση της αναλογίας στην λειχήνα *C. rangiformis* (Chettri et al., 1998), κρίθηκε σκόπιμο να εξεταστεί η αναλογία χλωροφύλλης *a/b*. Παρόλα αυτά, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.30, στο συγκεκριμένο φυτό δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές της αναλογίας μεταξύ των επεμβάσεων. Ίσως θα μπορούσε να αναφερθεί μια τάση για αύξηση της αναλογίας με την αύξηση του μολύβδου του έδαφους τουλάχιστον για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε 800 και 1600 ppm Pb, όμως ακόμα και στην περίπτωση των φυτών που εκτέθηκαν στα 1600 ppm όπου παρουσιάζεται η μεγαλύτερη διαφορά σε σχέση με τα φυτά ελέγχου, η αύξηση είναι της τάξης του 3,7%, ενώ επιπλέον δεν παρατηρείται και κανένας συσχετισμός μεταξύ της αναλογίας και της συγκέντρωσης του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού (Σχήμα 5.50B).

Πίνακας 5.30. Αναλογία χλωροφύλλης *a/b* στο *N. oleander* σε καλλιέργεια εδάφους ρυπασμένου με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%).

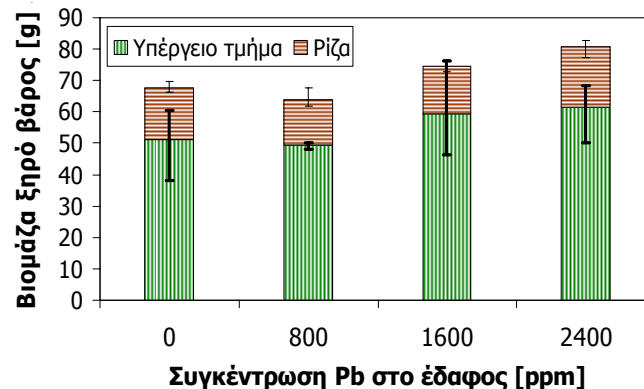
Συγκέντρωση Pb στο έδαφος [ppm]	Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i>
0	2,44
800	2,51
1600	2,53
2400	2,4

Επιπρόσθετα, η αύξηση των φυτών που εκφράζεται ως μήκος υπέργειων τμημάτων όπου παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.55 και βιομάζα (ξηρό βάρος) όπου παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.56, δεν επηρεάστηκε αρνητικά από την αύξηση της συγκέντρωσης του μολύβδου στο έδαφος. Αντ' αυτού τα φυτά των επεμβάσεων με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις Pb στο έδαφος παρουσίασαν μεγαλύτερη αύξηση. Επιπλέον, δεν παρατηρείται να υπήρχε σημαντική μείωση της παραγόμενης βιομάζας λόγω της συνέργειας της αλατότητας και του μολύβδου (Σχήμα 5.57). Ανάλογα αποτελέσματα



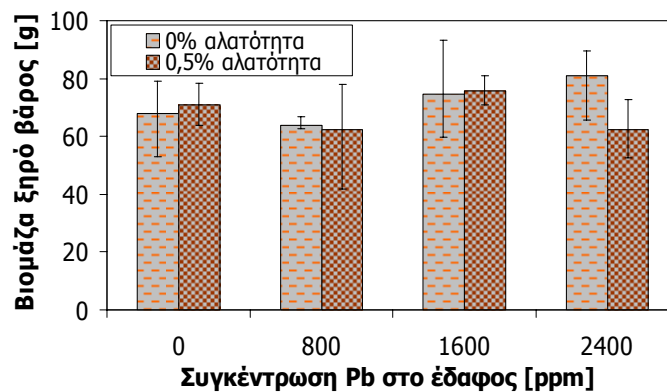
Σχήμα 5.55. Μέση αύξηση ($n = 3$) του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%).

έχουν αναφερθεί και για το φυτό *B. juncea* το οποίο σε καλλιέργεια σε μέσο με συγκεντρώσεις μολύβδου 100 και 250 mg/L παρήγαγε 20% περισσότερη βιομάζα ενώ ακόμα και στην συγκέντρωση Pb 500 mg/L η παραγωγή της βιομάζας παρουσίασε μείωση μόνο κατά 7% (Begonia et al., 1998), ενώ γενικά έχει αναφερθεί ότι η παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων μολύβδου προκαλεί μία ενίσχυση στην αύξηση των φυτών πιθανόν λόγω απελευθέρωσης θρεπτικών με την προσθήκη μολύβδου στο μέσο καλλιέργειας (Balsberg Pålsson, 1989, Liu et al., 1994, Liu et al., 2000).



Σχήμα 5.56. Βιομάζα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επίσης, κατά την διάρκεια των δέκα πειραματικών εβδομάδων δεν παρατηρήθηκαν οπτικές διαφορές στην εμφάνιση των υπέργειων τμημάτων του *N. oleander* σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου και επιπλέον κανένα ορατό σύμπτωμα τοξικότητας από το μέταλλο όπως αλλαγή του χρώματος, μείωση της επιμήκυνσης ή του αριθμού των ριζιδίων η οποία θα οδηγούσε σε μικρότερη πρόσληψη νερού, δεν βρέθηκε στις ρίζες.

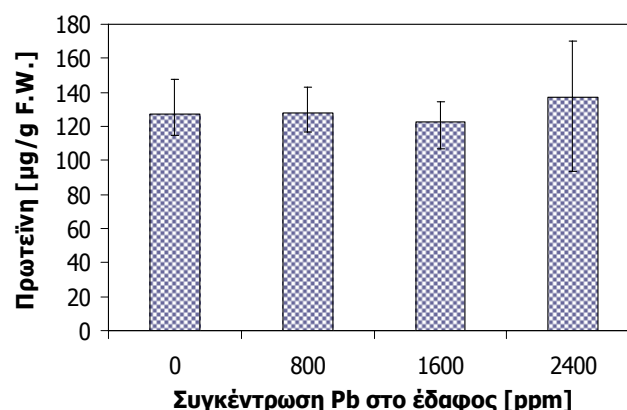


Σχήμα 5.57. Συνολική βιομάζα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

5.2.1.4. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού

Όλοι οι παράγοντες καταπόνησης βιοτικοί και αβιοτικοί είναι γνωστοί ότι προκαλούν οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά λόγω της αύξησης του ρυθμού παραγωγής ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS). Τα βαρέα μέταλλα λοιπόν συμπεριλαμβανομένου και του μόλυβδου ως αβιοτικοί παράγοντες καταπόνησης προκαλούν οξειδωτική καταπόνηση στα φυτά λόγω της δημιουργίας ROS οι οποίες στην συνέχεια αποδομούν σημαντικά από βιολογική άποψη μόρια όπως τα λιπίδια της μεμβράνης, τις πρωτεΐνες, τις χρωστικές του χλωροπλάστη, τα ένζυμα, τα νουκλεϊκά οξέα κ.τ.λ. (Davies, 1987, Verma and Dubey, 2003, Zhu et al., 2004, Rai et al., 2004, Sinha, et al., 2005, Singh et al., 2006). Οι πρωτεΐνες είναι βιομόρια τα οποία έχει αποδειχτεί ότι βλάπτονται και αποδομούνται από τα βαρέα μέταλλα και συγκεκριμένα τον μόλυβδο όπως για παράδειγμα στα φυτά *Cyperus difformis*, *Chenopodium ambrosioides* και *Digitaria sanguinalis* στα οποία παρατηρήθηκε μείωση των ολικών διαλυτών πρωτεϊνών στα υπέργεια τμήματα τους ύστερα από καλλιέργεια τους σε έδαφος ρυπασμένο με 50, 100 και 200 ppm Pb (Ewais, 1997), ενώ η αποδόμηση αυτή έχει προταθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης της έκτασης της καταπόνησης που υφίσταται το φυτό (Romero-Puertas et al., 2002, Mishra et al., 2006).

Τα αποτελέσματα από την παρούσα μελέτη προτείνουν ότι η παρουσία του μολύβδου δεν επηρέασε την συγκέντρωση των πρωτεϊνών στα φύλλα του φυτού. Όπως είναι φανερό στο Σχήμα 5.58, στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με τις συγκεντρώσεις 800 και 1600 ppm του μετάλλου στο έδαφος δεν παρατηρείται σημαντική μεταβολή σε σχέση με τα φυτά ελέγχου, ενώ στα φυτά που καλλιεργήθηκαν στην μεγαλύτερη συγκέντρωση Pb στο έδαφος (2400 ppm) και τα οποία παρουσίασαν και τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα τους (Σχήμα 5.50) παρατηρείται μια μικρή αύξηση κατά 7,8%, που δεν είναι βεβαία σημαντική, όμως ίσως φανερώνει σύνθεση πρωτεϊνών καταπόνησης στους φυτικούς ιστούς στα πλαίσια ενός μηχανισμού ανθεκτικότητας στο μέταλλο έτσι ώστε το φυτό να ανταπεξέλθει των οξειδωτικών βλαβών που προκαλούν οι ROS. Ανάλογη παρατήρηση έχει αναφερθεί στην διεθνή βιβλιογραφία για το φυτό *Salix acmophylla* το οποίο σε καλλιέργεια του σε έδαφος

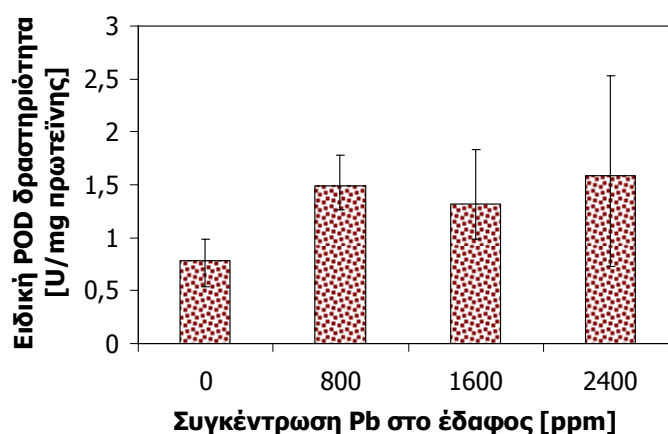


Σχήμα 5.58. Περιεχόμενη πρωτεΐνη [μg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

ρυπασμένο με αυξανόμενες συγκεντρώσεις μολύβδου, παρουσίασε αύξηση των περιεχόμενων πρωτεϊνών του μέχρι τα 2000 ppm Pb στο έδαφος δηλαδή στα φυτά που παρουσίαζαν συγκεντρώσεις Pb στα φύλλα μέχρι τα 76 ppm ενώ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του μετάλλου στο έδαφος αλλά και στους φυτικούς ιστούς παρατηρήθηκε μείωση των πρωτεϊνών προφανώς λόγω της οξειδωσης τους από τις ROS (Ali et al., 2003).

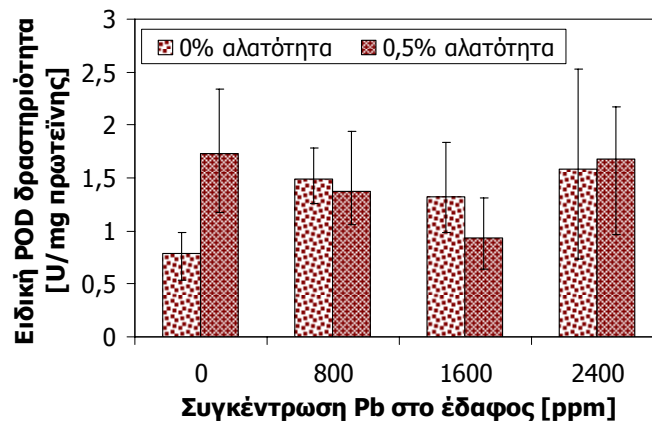
Για την εξουδετέρωση των τοξικών ελευθέρων ριζών τα φυτά διαθέτουν αμυντικούς μηχανισμούς που περιλαμβάνουν αντιοξειδωτικά ένζυμα και ορισμένους μεταβολίτες με αποτέλεσμα την προστασία τους από τις καταστρεπτικές οξειδωτικές αντιδράσεις, την προσαρμογή και επιβίωση τους (Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003, Verma and Dubey, 2003, Zhu et al., 2004). Ως ένα μέρος αυτού του αμυντικού συστήματος, τα αντιοξειδωτικά ένζυμα είναι στοιχεία κλειδιά του αμυντικού αντιοξειδωτικού μηχανισμού και αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί οι οποίες παρουσιάζουν πολλές αλλαγές της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών αυτών ενζύμων στα φυτά υπό συνθήκες καταπόνησης. Οι υπεροξειδάσες έχουν γίνει δεκτά ως «ένζυμα καταπόνησης» και η μέτρηση της δραστηριότητας τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την αξιολόγηση της έντασης της καταπόνησης που προέρχεται από τα βαρέα μέταλλα ή την αλατότητα (Radotic et al., 2000, Mittal and Dubey, 1991, Shah et al., 2001, Verma and Dubey, 2003, Ruttens et al., 2006).

Τα αποτελέσματα λοιπόν, από την παρούσα μελέτη, προτείνουν ότι η παρουσία του μολύβδου προκαλεί οξειδωτική καταπόνηση στο *N. oleander* (Σχήμα 5.59). Η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του φυτού βρέθηκε για να είναι σημαντικά υψηλότερη σε όλα τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με μόλυβδο σε σύγκριση με τα φυτά της ομάδας ελέγχου. Όπως παρουσιάζεται στο σχήμα, η POD δραστηριότητα είναι 1,9, 1,7 και 2 φορές μεγαλύτερη για την επέμβαση με 800, 1600 και 2400 ppm Pb στο έδαφος, αντίστοιχα, σε σύγκριση με τα φυτά ελέγχου. Επιπλέον, παρατηρείται να υπάρχει συσχετισμός μεταξύ της POD δραστηριότητας και της συγκέντρωσης του Pb στα υπέργεια μέρη των φυτών (Σχήμα 5.50).



Σχήμα 5.59. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους (αλατότητα 0%). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επιπλέον, όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.60 όπου παρατίθενται τα αποτελέσματα της POD δραστηριότητα στα φύλλα των φυτών που καλλιεργήθηκαν σε ρυπασμένο έδαφος με αυξανόμενες συγκεντρώσεις μολύβδου και σε δύο εδαφικές αλατότητες, η αύξηση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης υποδηλώνει ότι αυτό το ένζυμο χρησιμεύει ως ένα αμυντικό εργαλείο για την αντιστάθμιση της οξειδωτικής καταπόνησης που προκαλείται από το μόλυβδο και την αλατότητα στο *N. oleander*.



Σχήμα 5.60. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800, 1600 και 2400 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Ανάλογη συμπεριφορά έχει αναφερθεί στα φυτά *Sesbania drummondii* (Ruley et al., 2004) και *Salix acmophylla* (Ali et al., 2003) τα οποία παρουσίασαν αυξημένη δραστηριότητα της υπεροξειδάσης κατά την έκθεση του σε Pb. Ομοίως στο ρύζι μετά από έκθεση στο μέταλλο παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης όχι μόνο στους βλαστούς αλλά και στις ρίζες στις οποίες βρέθηκε 1,2 - 5,6 φορές υψηλότερη POD δραστηριότητα (Verma and Dubey, 2003).

5.2.2. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm μολύβδου σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες

5.2.2.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Κατά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας, 36 φυτά *Nerium oleander* ηλικίας 10 μηνών που είχαν αναπτυχθεί στην ίδια ποσότητα μείγματος οργανικού υποστρώματος και κοκκινόχωματος σε αναλογία 4:3 (1490 g ξηρό βάρος) (βλ. Παράγραφο 4.1.1) διαιρέθηκαν σε 6 πειραματικές ομάδες με 6 φυτά για κάθε ομάδα – επέμβαση, έτσι ώστε κάθε ομάδα - επέμβαση να έχει συγκριτικά περίπου ίση μέση βιομάζα. Τρεις ομάδες φυτών αποτέλεσαν τις επεμβάσεις ελέγχου με διαφορετικές εδαφικές αλατότητες και τρεις αποτέλεσαν τις επεμβάσεις στις οποίες πραγματοποιήθηκε προσθήκη μολύβδου στο έδαφος σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό ο οποίος παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.31. Η ρύπανση του εδάφους καλλιέργειας με το μόλυβδο πραγματοποιήθηκε με προσθήκη υδατικού διαλύματος $Pb(NO_3)_2$ σε μια δόση στην αρχή του πειράματος στο περιβάλλον της ρίζας.

Πίνακας 5.31. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Επέμβαση ("κωδικό όνομα")	Συγκέντρωση Pb που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση NaCl [%]
1	"0/0"	0	0
2	"0/0,5"	0	0,5
3	"0/3"	0	3
4	"Pb/0"	800	0
5	"Pb/0,5"	800	0,5
6	"Pb/3"	800	3

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για 10 εβδομάδες (Ιούλιο - Σεπτέμβριο) σε τοποθεσία ανοιχτή στον αέρα και τον ήλιο προκειμένου η καλλιέργεια να πραγματοποιηθεί σε ανάλογες συνθήκες με τις συνθήκες πεδίου ενώ προσοχή δόθηκε στο να μην επιτραπεί να ξεπλυθούν τα φυτά από τη βροχή που θα είχε ως αποτέλεσμα την αποστράγγιση του μετάλλου από το έδαφος, με τοποθέτηση πλαστικού καλύμματος που χρησιμοποιείται στα πλαστικά θερμοκήπια και πλαστικά πιάτα κάτω από κάθε γλάστρα (φωτογραφίες στην αρχή και στο τέλος του πειράματος παρατίθενται στο Παράρτημα Ι). Η φωτοπερίοδος κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν 12,5 – 14,5 ώρες (μικρότερη στις τελευταίες πειραματικές εβδομάδες) ενώ δύο φορές ημερησίως, στις 9:30 π.μ. και 2:30 μ.μ., λαμβάνονταν μετρήσεις της θερμοκρασίας και της υγρασίας οι οποίες παρέχονται στον Πίνακα 5.32. Τα φυτά ποτίζονταν κάθε 2 ή 3 ημέρες ανάλογα με τις απαιτήσεις και τις περιβαλλοντικές συνθήκες με νερό βρύσης ή υδατικό διάλυμα NaCl

κατάλληλης συγκέντρωσης σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.31). Τα υδατικά διαλύματα NaCl για την άρδευση των φυτών προετοιμάστηκαν με βρώσιμο αλάτι θαλάσσης και νερό βρύσης ενώ η ποσότητα του νερού ή του αλατούχου διαλύματος που χρησιμοποιούνταν σε κάθε πότισμα ήταν περίπου 400 mL το οποίο διαιρούταν σε δύο ίσα μέρη, με το πρώτο μέρος να προστίθεται στο έδαφος καλλιέργειας προκειμένου να αποφευχθεί πιθανή εκροή του νερού με το μέταλλο και τα θρεπτικά από τις γλάστρες και το δεύτερο στα πλαστικά πιάτα κάτω από κάθε γλάστρα για να διατηρεί επαρκή ποσότητα νερού κατά τη διάρκεια των ζεστών ημερών.

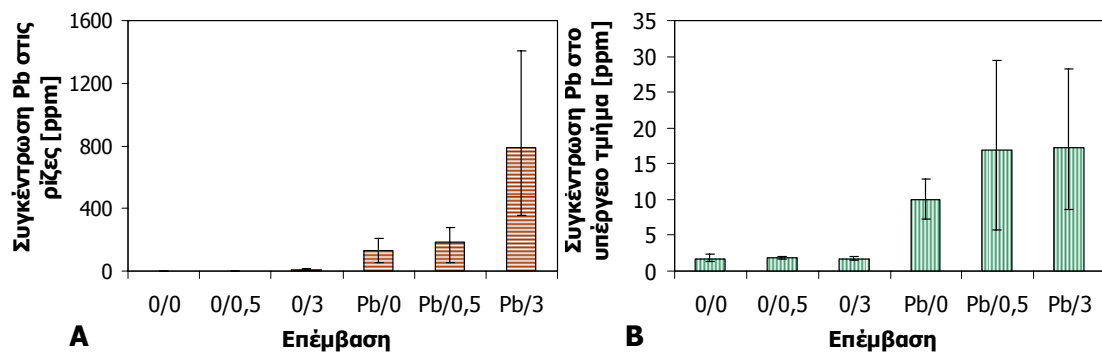
Πίνακας 5.32. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	20 - 35	26,6	46 - 80	63,2
Μεσημέρι	29 - 53	40,9	30 - 55	39,8

Καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος πραγματοποιούνταν οπτική παρατήρηση των φυτών και καταγραφή των οποιονδήποτε αλλαγών ή συμπτωμάτων τοξικότητας από το μέταλλο και την αλατότητα. Επίσης μια φορά την εβδομάδα σε συγκεκριμένη μέρα και ώρα, λάμβαναν χώρα μετρήσεις του ύψους των υπέργειων τμημάτων προκειμένου να παρακολουθείται αλλά και να αξιολογείται και ποσοτικά η κατάσταση της υγείας των φυτών. Με την λήξη των 10 εβδομάδων έκθεσης στο μέταλλο πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της συγκέντρωσης του μετάλλου στα φυτικά τμήματα. Τέλος έλαβαν χώρα μετρήσεις της βιομάζας και της περιεχόμενης χλωροφύλλης για τον έλεγχο της επίδρασης του μετάλλου στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού και επιπλέον πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των πρωτεϊνών και της δραστηριότητας του αντιοξειδωτικού ενζύμου υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης στα φύλλα του φυτού για τον έλεγχο της οξειδωτικής καταπόνησης που επιφέρει ο μόλυβδος και η αλατότητα στο *N. oleander*. Οι μέθοδοι για όλες τις παραπάνω μετρήσεις δίδονται στην Παράγραφο 4.1.3.

5.2.2.2. Συσσώρευση μολύβδου στο φυτικό ιστό

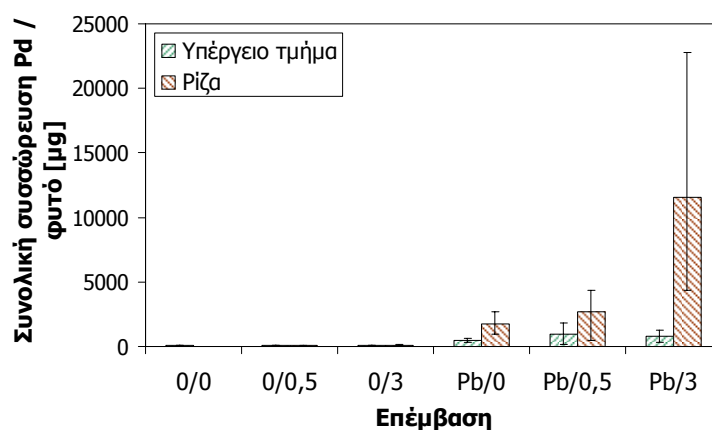
Το συγκεκριμένο πείραμα πραγματοποιήθηκε με καλλιέργεια των φυτών *N. oleander* σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm μολύβδου και σε τρεις εδαφικές αλατότητες 0%, 0,5% και 3% με στόχο να ελεγχθεί η επίδραση της εδαφικής αλατότητας στη συσσώρευση μολύβδου από το φυτό. Τα αποτελέσματα απέδειξαν ότι η αλατότητα είχε θετική επίδραση στη συσσώρευση μολύβδου στο φυτικό ιστό (Σχήμα 5.61Α). Η συγκέντρωση του μετάλλου στις ρίζες στην επέμβαση με την εδαφική αλατότητα 0,5% (Pb/0,5) ήταν 1,4 φορές μεγαλύτερη από αυτή των φυτών που καλλιεργήθηκαν στο έδαφος με 0% αλατότητα (Pb/0) και ακόμα περισσότερο, η συγκέντρωση Pb τις ρίζες των φυτών της επέμβασης με 3% αλατότητα (Pb/3) ήταν 6 φορές μεγαλύτερη από την συγκέντρωση στις ρίζες των φυτών με 0% αλατότητα (Pb/0). Επίσης η παρουσία του NaCl στο έδαφος προκάλεσε αύξηση της συσσώρευσης του μολύβδου στα εναέρια μέρη



Σχήμα 5.61. Συγκέντρωση μολύβδου [mg/kg ξηρού βάρους] (Α) στις ρίζες και (Β) στα υπέργεια τμήματα των φυτών *N. oleander* που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

(Σχήμα 5.61B) που και στις δύο επεμβάσεις υψηλής αλατότητας, 1,7 φορές περισσότερος μόλυβδος αποθηκεύτηκε στο υπέργειο τμήμα των φυτών σε σύγκριση με την επέμβαση χωρίς προσθήκη NaCl στο έδαφος. Παρόλα αυτά παρατηρείται ότι στις δύο επεμβάσεις με υψηλή αλατότητα η συγκέντρωση Pb είναι παρόμοια παρόλο που η ποσότητα του άλατος στο έδαφος αυξήθηκε.

Το ίδιο συμπέρασμα εξάγεται και από την εξέταση της ολικής απομάκρυνσης του μολύβδου από το φυτό (Σχήμα 5.62) συνηγορώντας στην υποστήριξη της πρότασης ότι η αύξηση της αλατότητας προκαλεί αύξηση της συσσώρευσης του μολύβδου στο *N. oleander* ενώ όπως προαναφέρθηκε, ανάλογη συμπεριφορά έχει αναφερθεί στο φυτό *Aster tripolium* όπου υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας βρέθηκαν αυξημένες συγκεντρώσεις μολύβδου στα ρίζες και στα υπέργεια τμήματα του (Fitzgerald et al., 2003).



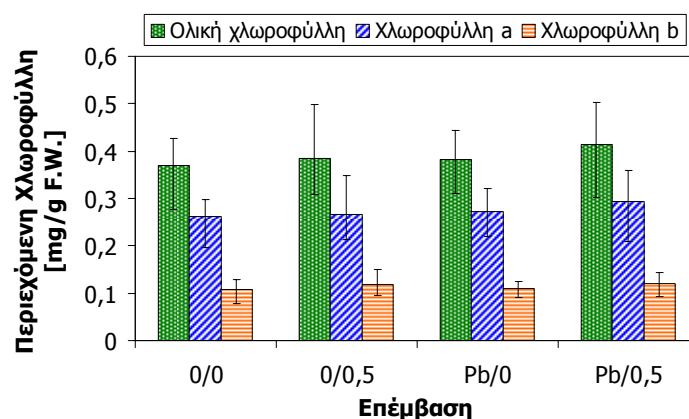
Σχήμα 5.62. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

5.2.2.3. Επίδραση του μολύβδου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

Σε αυτή την μελέτη βρέθηκε ότι το *Nerium oleander* δεν ανέπτυξε καμία ορατή ένδειξη φυτοτοξικότητας από το μόλυβδο ενώ η καταπόνηση από το μέταλλο δεν είχε καμιά επίπτωση στην επιβίωση των φυτών και όλα τα φυτά παρέμειναν ζωντανά μέχρι την λήξη του πειράματος. Αντίθετα παρατηρήθηκαν έντονα συμπτώματα τοξικότητας από την αλατότητα. Όλα τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε εδαφική αλατότητα 3% (0/3 και Pb/3) παρουσίασαν εμφανείς αλλαγές μετά από την πρώτη πειραματική εβδομάδα. Ξεκινώντας από τα φύλλα των κατώτερων κλαδιών και ακολουθούμενα από αυτά του υπόλοιπου φυτού, άρχισαν να ξηραίνονται και να πέφτουν. Επιπλέον, μετά από τρεις εβδομάδες, οι βλαστοί στις κορυφές των φυτών επίσης οδηγήθηκαν σε ξηρασία, ενώ μέχρι την εβδόμη πειραματική εβδομάδα όλα τα φυτά των εν λόγω επεμβάσεων ήταν απολύτως ξηρά (Εικόνα 5.2).



Εικόνα 5.2. Εμφάνιση των φυτών *N. oleander* μετά από οκτώ εβδομάδες σε έκθεση σε εδαφική αλατότητα 3% (Η επέμβαση παρουσιάζεται με το βέλος).



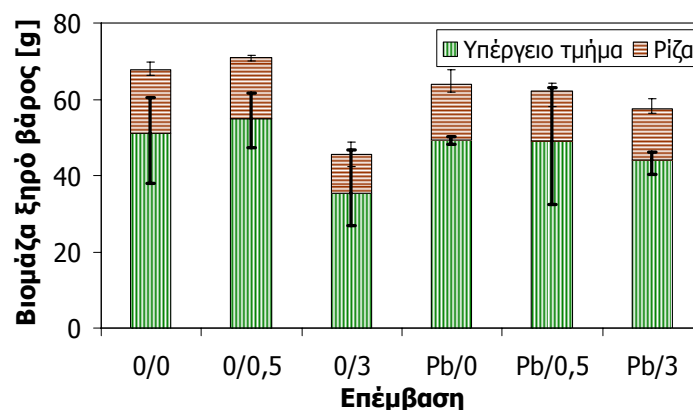
Σχήμα 5.63. Περιεχόμενη χλωροφύλλη [mg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Nerium oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο μόλυβδος και η αλατότητα εκτός των άλλων παρεμποδίζουν την φωτοσυνθετική λειτουργία (Orcutt and Nilsen, 2000, Καραμπουρνιώτης, 2003). Παρόλα αυτά, στην παρούσα μελέτη τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών του *N. oleander* δεν βρέθηκαν να μεταβάλλονται. Οι συγκεντρώσεις της ολικής χλωροφύλλης, της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* δεν επηρεάστηκαν από την παρουσία του μολύβδου ή της χαμηλής εδαφικής αλατότητας (Σχήμα 5.63). Ενώ από την εξέταση της αναλογίας χλωροφύλλης *a/b* θα μπορούσε να αναφερθεί μια τάση για αύξηση της αναλογίας με την παρουσία του μολύβδου από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με μηδενική εδαφική αλατότητα (0/0 και Pb/0) και των επεμβάσεων με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Pb/0,5) και επιπλέον μια τάση για μείωση της αναλογίας με την αύξηση της αλατότητας από την σύγκριση των επεμβάσεων ελέγχου μεταξύ τους (0/0 και 0/0,5) και των επεμβάσεων με μόλυβδο μεταξύ τους (Pb/0 και Pb/0,5), όμως οι διαφορές είναι μικρές (Πίνακας 5.33).

Πίνακας 5.33. Αναλογία χλωροφύλλης *a/b* στο *Nerium oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.

Επέμβαση	Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i>
0/0	2,44
0/0,5	2,26
Pb/0	2,51
Pb/0,5	2,44

Επιπλέον, η αύξηση των φυτών που εκφράζεται ως παραγόμενη βιομάζα μειώθηκε σημαντικά μόνο στην ομάδα ελέγχου που μεταχειρίστηκε με 3% αλατότητα (0/3) (Σχήμα 5.64) ενώ είναι εμφανής η δυσμενής επιρροή της υψηλής αλατότητας στα φυτά των

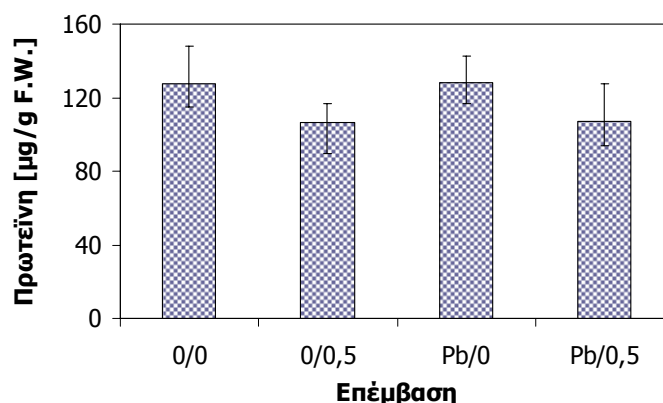


Σχήμα 5.64. Βιομάζα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

αντίστοιχων επεμβάσεων (0/3 και Pb/3) αφού όπως προαναφέρθηκε οδηγήθηκαν σε ξηρασία πριν την προκαθορισμένη λήξη του πειράματος. Αντίθετα τα φυτά της ομάδας ελέγχου με εδαφική αλατότητα 0,5% (0/0,5) παρουσίασαν την μεγαλύτερη παραγωγή βιομάζας επιβεβαιώνοντας τον αλοφυτικό τους χαρακτήρα. Η παρουσία του μολύβδου προκάλεσε μόνο μια μικρή μείωση της βιομάζας όπως είναι φανερό από τη σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με αλατότητα 0% (0/0 και Pb/0) και 0,5% (0/0,5 και Pb/0,5), όμως οι διαφορές δεν είναι ιδιαίτερα σημαντικές, ενώ ανάλογα συμπεράσματα εξάγονται και από την εξέταση του μήκους των υπέργειων τμημάτων των φυτών.

5.2.2.4. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού

Όπως έχει προαναφερθεί και η αλατότητα ως αβιοτικός παράγοντας καταπόνησης προκαλεί αύξηση των ενεργών μορφών οξυγόνου μέσα στους φυτικούς ιστούς οι οποίες στην συνέχεια προκαλούν βλάβες σε διάφορα βιομόρια συμπεριλαμβανομένων και των πρωτεϊνών (Davies, 1987, Hernández et al., 1999, Zhu, 2000, Rios-Gonzalez et al., 2002, Καραμπουρνιώτης, 2003), όπως για παράδειγμα στο φυτό *Cucumis sativus* L. όπου με έκθεση του σε 50 mM NaCl παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των διαλυτών πρωτεϊνών στα φύλλα του (Zhu et al., 2004) και επιπλέον όπως προαναφέρθηκε η αποδόμηση των πρωτεϊνών έχει προταθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της έντασης της καταπόνησης που υφίσταται το φυτό (Romero-Puertas et al., 2002, Mishra et al., 2006). Ανάλογα λοιπόν με αυτές τις αναφορές είναι και τα αποτελέσματα από το παρόν πείραμα όπου η χαμηλή εδαφική αλατότητα 0,5% παρουσιάζεται να προκαλεί μείωση των πρωτεϊνών στα φύλλα του *Nerium oleander* (Σχήμα 5.65), ενώ πρέπει να σημειωθεί ότι δεν πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των πρωτεϊνών στα φυτά των επεμβάσεων με 3% αλατότητα αφού είχαν ξεραθεί μέχρι την λήξη της πειραματικής διαδικασίας λόγω της έντονης καταπόνησης από την αλατότητα. Όπως δίδεται στο σχήμα, από την σύγκριση των επεμβάσεων ελέγχου (0/0 και 0/0,5) και των επεμβάσεων με μόλυβδο (Pb/0 και Pb/0,5) παρατηρείται μείωση των πρωτεϊνών κατά 16,5% και στις δύο περιπτώσεις υπό

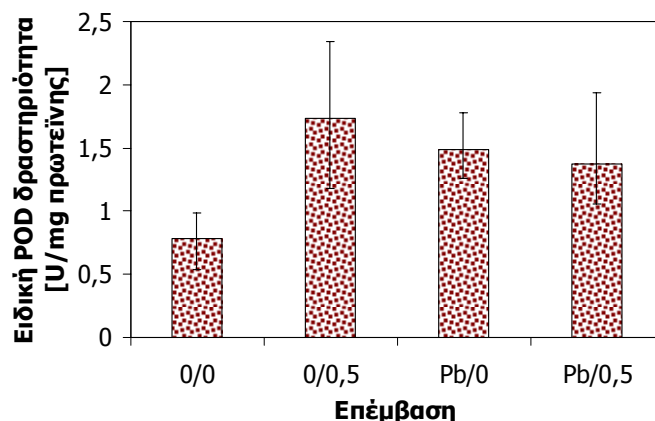


Σχήμα 5.65. Περιεχόμενη πρωτεΐνη [μg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

την επίδραση της εδαφικής αλατότητας 0,5%, υπονοώντας προφανώς μείωση ενός αριθμού πρωτεϊνών λόγω οξειδωσης και αποδόμησης τους από τις ROS που δημιουργούνται λόγω της αλατότητας. Επιπλέον, και σε αυτή την περίπτωση παρατηρείται ότι η παρουσία του μολύβδου δεν επέφερε μεταβολή των συγκεντρώσεων των πρωτεϊνών ούτε από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με μηδενική εδαφική αλατότητα (0/0 και Pb/0) αλλά και ούτε από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Pb/0,5).

Επιπλέον, στην διεθνή βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί πολλές αλλαγές στην δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων υπό την καταπόνηση αλατότητας (Zhu et al., 2004) ενώ έχει αναφερθεί ότι οι αλλαγές αυτές είναι διαφορετικές μεταξύ των ανθεκτικών και των ευαίσθητων στην αλατότητα φυτών (Shalata and Tal, 1998, Rios-Gonzalez et al., 2002, de Azevedo Neto et al., 2006).

Όπως είναι φανερό στο Σχήμα 5.66, η μεγαλύτερη δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης μετρήθηκε στην ομάδα ελέγχου με εδαφική αλατότητα 0,5% (0/0,5), προφανώς λόγω της τοξικής επίδρασης της αλατότητας. Η POD δραστηριότητα στα φυτά αυτής της επέμβασης ήταν 2,2 φορές υψηλότερη απ' ό,τι στην ομάδα ελέγχου χωρίς προσθήκη χλωριούχου νατρίου (0/0). Ανάλογη επίδραση της αλατότητας έχει αναφερθεί σε μελέτες στο φυτό *Cucumis sativus* L. (αγγουριά) όπου σε υδροπονική καλλιέργεια με 50 mM NaCl μετά από δέκα μέρες, η POD δραστηριότητα παρουσιάστηκε αυξημένη (Zhu et al., 2004).



Σχήμα 5.66. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Η επίδραση του μολύβδου (Pb/0) προκάλεσε αύξηση της δραστηριότητας του ενζύμου 1,9 φορές μεγαλύτερη συγκρινόμενη με αυτή των φυτών ελέγχου (0/0), αλλά σε μικρότερο βαθμό από ό,τι παρουσιάζεται για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε εδαφική αλατότητα 0,5% (0/0,5). Όπως έχει ξανασυζητηθεί, ανάλογη αύξηση της POD δραστηριότητας λόγω της παρουσίας του μολύβδου έχει παρατηρηθεί στα φυτά *Sesbania drummondii* (Ruley et al., 2004), *Salix acmophylla* (Ali et al., 2003) και *Oryza sativa* L. (Verma and Dubey, 2003).

Ο συνδυασμός των δύο παραγόντων καταπόνησης (επέμβαση Pb/0,5) όπως παρουσιάζεται στο σχήμα, προκάλεσε αύξηση της δραστηριότητας αλλά σε μικρότερο βαθμό από το αναμενόμενο, αφού η αρνητική επίδραση της αλατότητας σε συνδυασμό με της παρουσία του μολύβδου θα έπρεπε να έχει την μεγαλύτερη επίδραση σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις και ακόμα περισσότερο λόγω του ότι η συγκέντρωση μολύβδου στα υπέργεια τμήματα των φυτών της συγκεκριμένης επέμβασης ήταν υψηλότερη από ότι της επέμβασης μόνο με το μόλυβδο (Pb/0) (Σχήμα 5.61). Εντούτοις, είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι υπό ακραίες συνθήκες καταπόνησης, τα φυτά, ως συνέπεια της εξασθένησης, μπορεί να αδυνατούν να παράγουν αρκετά αντιοξειδωτικά ένζυμα για να προστατευθούν, κατά συνέπεια σε μια τέτοια περίπτωση, η μικρή δραστηριότητα του αντιοξειδωτικού ενζύμου δεν δείχνει απαραίτητα και μικρή ένταση καταπόνησης (Fayiga et al., 2004). Για αυτό ακριβώς το λόγο, λοιπόν, η ενζυμική δραστηριότητα πρέπει να συνδέεται με την αξιολόγηση της αύξησης των φυτών για την εκτίμηση της έντασης της φυτοτοξικότητας οπότε λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι παρατηρήθηκε μόνο μια μικρή μείωση της αύξησης, εκφρασμένη και ως βιομάζα αλλά και ως ύψος υπέργειων τμημάτων, ενώ δεν παρατηρήθηκε καμιά μείωση της χλωροφύλλης και δεν παρουσιάστηκε κανένα οπτικό σύμπτωμα τοξικότητας συμπεραίνεται ότι το φυτό είναι ανθεκτικό στο μόλυβδο και την χαμηλή εδαφική αλατότητα.

5.2.3. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 40 ppm καδμίου σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες

5.2.3.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Κατά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας, 10 μηνών *Nerium oleander* που είχαν αναπτυχθεί στην ίδια ποσότητα μείγματος οργανικού υποστρώματος και κοκκινόχωματος σε αναλογία 4:3 (1490 g ξηρό βάρος) (βλ. Παράγραφο 4.1.1) διαιρέθηκαν σε 6 πειραματικές ομάδες με 6 φυτά για κάθε ομάδα – επέμβαση με τρόπο ώστε κάθε ομάδα - επέμβαση να έχει συγκριτικά περίπου ίση μέση βιομάζα. Τρεις ομάδες φυτών αποτέλεσαν τις επεμβάσεις ελέγχου με διαφορετικές εδαφικές αλατότητες και τρεις αποτέλεσαν τις επεμβάσεις στις οποίες πραγματοποιήθηκε προσθήκη καδμίου στο έδαφος σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό ο οποίος παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.34. Το έδαφος ρυπάνθηκε τεχνητά με κάδμιο ως υδατικό διάλυμα $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ με μια δόση προσθήκης στο έδαφος καλλιέργειας ενώ η επιλεχθείσα συγκέντρωση του Cd για την ρύπανση του εδάφους ήταν 40 ppm (ξηρού βάρους εδάφους) δηλαδή πέντε φορές υψηλότερη από την ανώτερη συγκέντρωση του μετάλλου στο έδαφος που θεωρείται τοξική για τα φυτά και η οποία κυμαίνεται από 3 έως 8 ppm ξηρού βάρους εδάφους (Orcutt and Nilsen, 2000).

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για 10 εβδομάδες (Ιούλιο - Σεπτέμβριο) σε τοποθεσία ανοιχτή στον αέρα και τον ήλιο προκειμένου η καλλιέργεια να πραγματοποιηθεί σε συνθήκες ανάλογες με τις συνθήκες πεδίου ενώ προσοχή δόθηκε στο να μην επιτραπεί να ξεπλυθούν τα φυτά από τη βροχή που θα είχε ως αποτέλεσμα την αποστράγγιση του μετάλλου από το έδαφος, με τοποθέτηση πλαστικού καλύμματος που χρησιμοποιείται στα πλαστικά θερμοκήπια (φωτογραφίες στην αρχή και στο τέλος του πειράματος παρατίθενται στο Παράρτημα Ι). Η φωτοπερίοδος κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν 12,5 – 14,5 ώρες (μεγαλύτερη στις πρώτες πειραματικές εβδομάδες) ενώ δύο φορές ημερησίως, στις 9:30 π.μ. και 2:30 μ.μ., λαμβάνονταν μετρήσεις της θερμοκρασίας και της υγρασίας οι οποίες παρέχονται στον Πίνακα 5.35.

Πίνακας 5.34. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Επέμβαση ("κωδικό όνομα")	Συγκέντρωση Cd που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση NaCl [%]
1	"0/0"	0	0
2	"0/0,5"	0	0,5
3	"0/3"	0	3
4	"Cd/0"	40	0
5	"Cd/0,5"	40	0,5
6	"Cd/3"	40	3

Τα φυτά ποτίζονταν κάθε 2 ή 3 ημέρες ανάλογα με τις απαιτήσεις και τις περιβαλλοντικές συνθήκες με νερό βρύσης ή υδατικό διάλυμα NaCl κατάλληλης συγκέντρωσης σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.34). Τα υδατικά διαλύματα NaCl για την άρδευση των φυτών προετοιμάστηκαν με βρώσιμο θαλασσινό αλάτι και νερό βρύσης ενώ η ποσότητα του νερού ή του διαλύματος NaCl που χρησιμοποιούνταν σε κάθε πότισμα ήταν περίπου 400 mL το οποίο διαιρούταν σε δύο ίσα μέρη, με το πρώτο να προστίθεται στο έδαφος καλλιέργειας και το δεύτερο στα πλαστικά πιάτα κάθε γλάστρας προκειμένου να αποφευχθεί η εκροή του νερού με το μέταλλο από τις γλάστρες και επιπλέον να διατηρείται επαρκής ποσότητα νερού κατά τη διάρκεια των θερμοών ημερών.

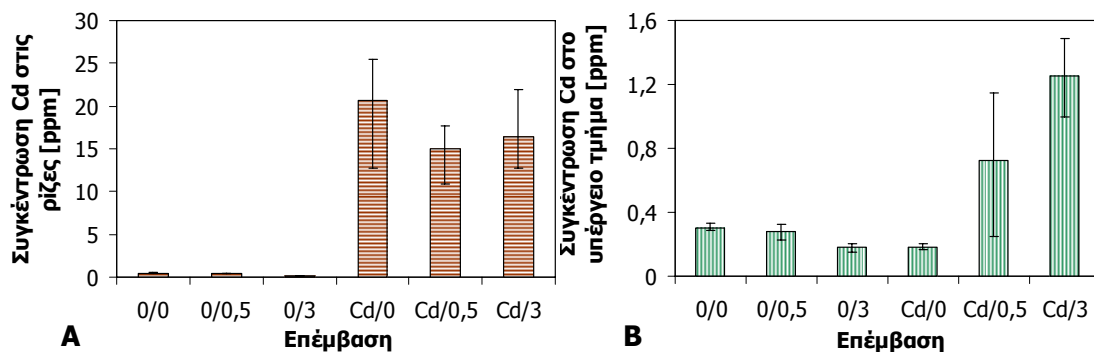
Πίνακας 5.35. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	20 - 35	26,6	46 - 80	63,2
Μεσημέρι	29 - 53	40,9	30 - 55	39,8

Μία φορά την εβδομάδα σε συγκεκριμένη μέρα και ώρα, πραγματοποιούνταν μετρήσεις του ύψους των υπέργειων τμημάτων προκειμένου να αξιολογηθεί ποσοτικά η φυσική κατάσταση των φυτών ενώ καταγράφονταν και οποιαδήποτε συμπτώματα τοξικότητας από το μέταλλο ή την αλατότητα παρατηρούνταν οπτικά. Με την λήξη των 10 εβδομάδων έκθεσης στο μέταλλο πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της συγκέντρωσης του μετάλλου στα φυτικά τμήματα. Επιπρόσθετα, έλαβαν χώρα μετρήσεις της περιεχόμενης χλωροφύλλης και της βιομάζας για τον έλεγχο της επίδρασης του καδμίου στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού και μετρήσεις των πρωτεϊνών και της δραστηριότητας του ενζύμου υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης στα φύλλα του φυτού για τον έλεγχο της οξειδωτικής καταπόνησης που του επιφέρει το μέταλλο και η αλατότητα. Οι μέθοδοι για τις παραπάνω μετρήσεις παρέχονται στην Παράγραφο 4.1.3.

5.2.3.2. Συσσώρευση καδμίου στο φυτικό ιστό

Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.67 η κύρια περιοχή συσσώρευσης του καδμίου είναι οι ρίζες του *Nerium oleander*. Η συσσώρευση του μετάλλου στις ρίζες κυμάνθηκε από 93 ως 99% του συνολικού καδμίου που προσελήφθηκε από τα φυτά και το υψηλότερο ποσό καδμίου συσσωρεύθηκε από τα φυτά της επέμβασης που δεν υπήρχε προσθήκη NaCl στο έδαφος (Cd/0). Η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού ήταν σημαντικά μικρότερη και επιπλέον στην επέμβαση χωρίς προσθήκη χλωριούχου νατρίου (Cd/0) η συγκέντρωση μετρήθηκε συγκρίσιμη με τις συγκεντρώσεις του μετάλλου στις ομάδες ελέγχου. Επιπρόσθετα, σε καμία από τις επεμβάσεις οι συγκεντρώσεις του στα υπέργεια τμήματα δεν ξεπέρασαν τα επίπεδα που θεωρούνται τοξικά για τα φυτά και τα οποία είναι 5 - 30 ppm ξηρού βάρους. Εν τούτοις οι συγκεντρώσεις που θεωρούνται φυσιολογικές για τα φυτά, δηλ., οι συγκεντρώσεις



Σχήμα 5.67. Συγκέντρωση καδμίου [mg/kg ξηρού βάρους] (Α) στις ρίζες και (Β) στα υπέργεια τμήματα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 40 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι (n = 3) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

οι οποίες δεν προκαλούν καμία αλλαγή ή βλάβη (0,05 – 0,2 mg/kg ξηρού βάρους) (Orcutt and Nilsen, 2000), ξεπεράστηκαν, τουλάχιστον στις επεμβάσεις με υψηλή εδαφική αλατότητα. Το συμπέρασμα ότι η κύρια περιοχή συσσώρευσης του καδμίου είναι οι ρίζες του *N. oleander* ενισχύεται και από την εξέταση του λόγου συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας όπου σε όλες της επεμβάσεις μετρήθηκε ιδιαίτερα μικρός (<0,1).

Στην διεθνή βιβλιογραφία έχουν παρουσιαστεί μεγάλες διαφορές μεταξύ των φυτών στην πρόσληψη και μεταφορά του καδμίου. Για παράδειγμα, τα φυτά *Brassica napus* και *Sedum alfredii* μετέφεραν περισσότερο Cd στα εναέρια μέρη τους από ότι αποθήκευσαν στις ρίζες τους (Rossi et al., 2002, Zhou and Qiu, 2005) ενώ στο φυτό *Convolvulus arvensis* το μεγαλύτερο ποσό του καδμίου συσσωρεύθηκε στις ρίζες (Gardea-Torresdey et al., 2004). Επίσης σε σύγκριση με τα αποτελέσματα των ανάλογων πειραμάτων με τα φυτά *Atriplex halimus* και *Tamarix smyrnensis* σε καλλιέργειες σε εδάφη ρυπασμένα με Cd (Παράγραφοι 5.1.2 και 5.3.3), παρατηρείται ότι ο λόγος συγκέντρωσης Cd υπέργειου/ρίζας κυμάνθηκε, ανάλογα με την εδαφική αλατότητα, στο *Atriplex* από 0,42 έως 0,62 και στο *Tamarix* από 0,35 έως 1,4, σε αντίθεση με τους λόγους συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας του *Oleander* που, όπως προαναφέρθηκε, κυμαίνονται σε τιμές που δεν φθάνουν ούτε το 0,1.

Επιπλέον από το Σχήμα 5.67B είναι φανερό ότι η αύξηση της εδαφικής αλατότητας αύξησε την συγκέντρωση του καδμίου στα υπέργεια τμήματα του φυτού. Με έλεγχο όμως την ολική απομάκρυνση του μετάλλου (φυτοσυσσώρευση) από το φυτό η οποία παρουσιάζεται συγκρίσιμη για όλες τις επεμβάσεις με κάδμιο, εξάγεται το συμπέρασμα ότι η αλατότητα δεν αυξάνει την πρόσληψη του μετάλλου από το έδαφος αλλά είχε θετική επιρροή στη μετακίνηση του από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα τα οποία και ενδιαφέρουν περισσότερο για εφαρμογή της φυτοσυσσώρευσης. Αυτός προφανώς είναι και ο λόγος που η συγκέντρωση του μετάλλου στις ρίζες παρουσιάζεται να μειώνεται με την αύξηση της εδαφικής αλατότητας (Σχήμα 5.67A). Αυτή η παρατήρηση επίσης επιβεβαιώνεται από τον λόγο συγκέντρωσης Cd υπέργειου/ρίζας που αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του άλατος στο έδαφος από 0,009 για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν χωρίς προσθήκη NaCl (Cd/0), σε 0,05 για την επέμβαση με την αλατότητα 0,5% (Cd/0,5) και τελικά φθάνοντας το 0,08 για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε αλατότητα 3% (Cd/3). Ενώ έχουν γίνει ανάλογες αναφορές για την

επίδραση της αλατότητας στην μετακίνηση των μετάλλων από τις ρίζες στα εναέρια μέρη ορισμένων φυτών στην διεθνή βιβλιογραφία (Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003).

Συμπερασματικά λοιπόν, διαπιστώθηκε ότι η κύρια περιοχή συσσώρευσης του καδμίου ήταν οι ρίζες του *Nerium oleander* ενώ η αύξηση της εδαφικής αλατότητας δεν αύξησε την πρόσληψη του μετάλλου από τα φυτά αλλά επέδρασε θετικά στην μετακίνηση του στα υπέργεια τμήματα.

5.2.3.3. Επίδραση του καδμίου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

Καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος δεν παρατηρήθηκε καμία ορατή ένδειξη φυτοτοξικότητας από το μέταλλο όπως αλλαγή του χρώματος των ριζών, μείωση των ριζιδίων άρα και ίσως μείωση της πρόσληψης του νερού και επιπλέον η καταπόνηση από το κάδμιο δεν είχε καμία επίπτωση στην επιβίωση των φυτών και όλα τα φυτά παρέμειναν ζωντανά μέχρι την λήξη των δέκα πειραματικών εβδομάδων. Αντίθετα υπήρξαν έντονα σύμπτωμα τοξικότητας από την αλατότητα ιδιαίτερα στα φυτά των επεμβάσεων με αλατότητα 3% (0/3 και Cd/3) τα οποία οδηγήθηκαν σε ξηρασία πριν την λήξη της πειραματικής περιόδου (έβδομη πειραματική εβδομάδα), όπως ακριβώς και στην περίπτωση της καλλιέργειας του εν λόγω φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με Pb στις αντίστοιχες εδαφικές αλατότητες (Παράγραφος 5.2.2).

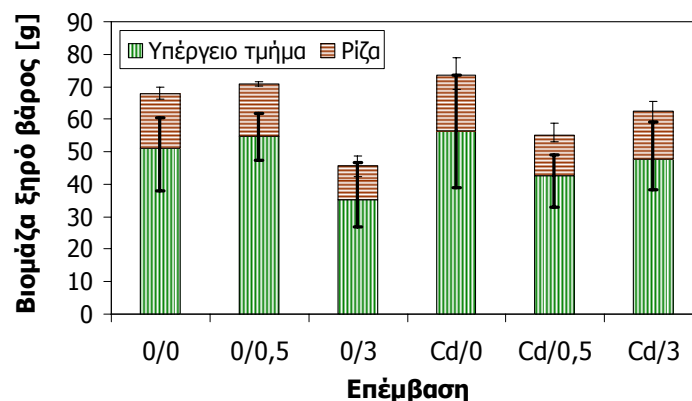
Είναι γνωστό ότι το κάδμιο παρεμποδίζει την σύνθεση της χλωροφύλλης και επιπλέον την αναλογία μεταξύ της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* του συμπλόκου συλλογής του φωτός II (light-harvesting complex II-LHCII) (Orcutt and Nilsen, 2000). Για παράδειγμα μελέτες στο φυτό *Phragmites australis* έδειξαν ότι σε υδροπονική καλλιέργεια του φυτού σε 50 και 100 μM Cd παρατηρήθηκε μείωση της περιεχόμενης ολικής χλωροφύλλης κατά 30 και 60% αντίστοιχα και επιπλέον η μείωση ήταν μικρότερη στην χλωροφύλλη *a* από ότι στη χλωροφύλλη *b*, ενώ η αναλογία χλωροφύλλης *a/b* έτεινε να αυξάνεται με την αύξηση των συγκεντρώσεων Cd (Pietrini et al., 2003). Στην παρούσα μελέτη όμως, δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ της συγκέντρωσης της ολικής χλωροφύλλης ανάμεσα στα φυτά που καλλιεργήθηκαν με απουσία ή παρουσία καδμίου στο έδαφος και ούτε σημαντικές διαφορές της αναλογίας μεταξύ των χλωροφυλλών *a* και *b* (Πίνακας 5.36).

Η αύξηση των φυτών εκφρασμένη ως βιομάζα αλλά και ως μήκος υπέργειων τμημάτων βρέθηκε να επηρεάζεται σημαντικά από την εδαφική αλατότητα μόνο στην ομάδα ελέγχου που μεταχειρίστηκε με 3% αλατότητα (0/3). Αντίθετα η παρουσία του

Πίνακας 5.36. Αναλογία χλωροφύλλης *a/b* στο *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.

Επέμβαση	Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i>
0/0	2,44
0/0,5	2,26
Cd/0	2,40
Cd/0,5	2,42

μετάλλου παρουσιάζεται να έχει θετική επίδραση στη βιομάζα του φυτού από την σύγκριση μεταξύ των φυτών των επεμβάσεων με 0% αλατότητα (0/0 και Cd/0) και εκείνων με 3% (0/3 και Cd/3) παρόλο που τα τελευταία, όπως προαναφέρθηκε, οδηγήθηκαν σε ξηρασία πριν την προκαθορισμένη λήξη του πειράματος (Σχήμα 5.68). Σε αντίθεση με αυτά τα αποτελέσματα, η παρουσία καδμίου στο έδαφος έχει αποδειχτεί να προκαλεί μείωση της βιομάζας σε πολλά φυτικά είδη. Για παράδειγμα έχει αναφερθεί μείωση της παραγόμενης βιομάζας λόγω του καδμίου στην πιπεριά (León et al., 2002), στην φασολιά (Chaoui et al., 1997) και στο σιτάρι (Milone et al., 2003). Όμως ανάλογη παρατήρηση με τα παρόντα αποτελέσματα έχει αναφερθεί για το φυτό *Pteris vittata* και έχει δικαιολογηθεί από την υπόθεση ότι η αύξηση αυτή ίσως οφείλεται στην προσθήκη αζώτου μιας και το Cd προστέθηκε ως νιτρικό άλας (Fayiga et al., 2004), όπως συνέβη και στην παρούσα μελέτη, οπότε ίσως αυτός να είναι και ο λόγος της αύξησης της παραγόμενης βιομάζας των φυτών.



Σχήμα 5.68. Βιομάζα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 40 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

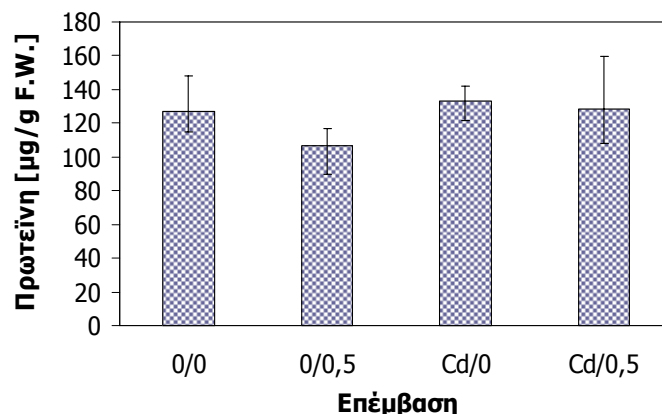
Επιπλέον, όπως είναι φανερό από το προηγούμενο σχήμα, τα φυτά της ομάδας ελέγχου με εδαφική αλατότητα 0,5% (0/0,5) παρουσίασαν αύξηση της παραγωγής της βιομάζας επιβεβαιώνοντας την αλοφυτική τους φύση. Επιπρόσθετα, όπως προαναφέρθηκε η παρουσία του καδμίου βρέθηκε να προκαλεί αύξηση της βιομάζας. Κατά συνέπεια, θα ήταν αναμενόμενο η ταυτόχρονη παρουσία καδμίου και εδαφικής αλατότητας 0,5% να επιφέρει ακόμα σημαντικότερη αύξηση της βιομάζας. Παρόλα αυτά όμως παρατηρήθηκε το αντίθετο αποτέλεσμα υποδηλώνοντας ότι πιθανόν να οφείλεται στην συνέργεια της επίδρασης των δύο παραγόντων καταπόνησης.

5.2.3.4. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού

Το κάδμιο λοιπόν και η αλατότητα αποτελούν παράγοντες καταπόνησης των φυτών προκαλώντας τους οξειδωτική καταπόνηση λόγω αύξησης της παραγωγής ROS, με άμεση συνέπεια την αποδόμηση σημαντικών από βιολογική άποψη μορίων όπως οι

πρωτεΐνες (Davies, 1987, Chaoui et al., 1997, Shah et al., 2001, Verma and Dubey, 2003, Zhu et al., 2004).

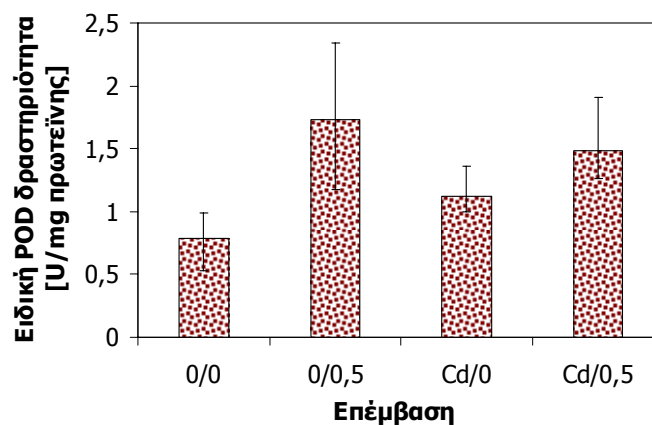
Στην παρούσα μελέτη όμως δεν παρατηρήθηκε μείωση των πρωτεϊνών στα φύλλα του *N. oleander* με την παρουσία του καδμίου όπως παρατηρείται από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με μηδενική αλατότητα (0/0 και Cd/0) αλλά και των επεμβάσεων με 0,5% εδαφική αλατότητα (0/0,5 και Cd/0,5) (Σχήμα 5.69). Επίσης η επίδραση της αλατότητας παρουσιάζεται να έχει μια αξιοσημείωτη αρνητική επίδραση στις πρωτεΐνες μόνο στην περίπτωση όπου δεν υπήρχε προσθήκη του μετάλλου στο έδαφος (0/0,5) ενώ δεν παρατηρείται και η ίδια τάση στα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με κάδμιο και με 0,5% αλατότητα στα οποία μετρήθηκαν και οι μεγαλύτερες ποσότητες του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα (Σχήμα 5.67). Οι πρωτεΐνες των συγκεκριμένων φυτών (Cd/0,5) παρουσιάζονται ανάλογες με εκείνων των φυτών ελέγχου (0/0) οπότε ίσως θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι ο συνεργισμός του καδμίου και της αλατότητας έχει μικρότερη αρνητική επίδραση στις πρωτεΐνες του φυτού από ότι έχει μόνο η αλατότητα.



Σχήμα 5.69. Περιεχόμενη πρωτεΐνη [μg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 20 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επίσης όπως έχει ήδη συζητηθεί, τα φυτά για να ανταπεξέλθουν της οξειδωτικής καταπόνησης από το κάδμιο, αυξάνουν την δραστηριότητα του αντιοξειδωτικού ενζυμικού αμυντικού μηχανισμού τους συμπεριλαμβανομένης και της υπεροξειδάσης (Chaoui et al., 1997, Shah et al., 2001, Verma, Dubey, 2003). Τα παρόντα αποτελέσματα υποστηρίζουν ότι η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *N. oleander* αυξήθηκε λόγω της παρουσίας του καδμίου (Σχήμα 5.70) επιβεβαιώνοντας ότι το κάδμιο προκαλεί οξειδωτική καταπόνηση στο φυτό και το τελευταίο ως απάντηση αυξάνει την παραγωγή των αντιοξειδωτικών του ενζύμων. Η POD δραστηριότητα στα φύλλα παρουσιάζεται 1,4 φορές υψηλότερη σε σχέση με την δραστηριότητα του ενζύμου στα φύλλα των φυτών ελέγχου (0/0). Ο συνδυασμός των δύο παραγόντων καταπόνησης παρουσιάζεται να είναι τοξικότερος για τα φυτά με συνέπεια να παρατηρείται υψηλότερη POD δραστηριότητα στα φυτά της επέμβασης με κάδμιο και εδαφική αλατότητα 0,5% (Cd/0,5) αλλά και σε αυτή την περίπτωση η

επίδραση δεν είναι τόσο ισχυρή όσο αυτή που παρατηρείται να έχει μόνο η αλατότητα (0/0,5). Επίσης, είναι ενδιαφέρον ο συσχετισμός που παρατηρείται μεταξύ της αύξησης της δραστηριότητας του ενζύμου στα φύλλα των φυτών που καλλιεργήθηκαν με κάδμιο και άλας (Cd/0,5) και της υψηλότερης συσσώρευσης καδμίου στα υπέργεια τμήματα των συγκεκριμένων φυτών (Σχήμα 5.67). Ανάλογες παρατηρήσεις για την αύξηση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης λόγω του καδμίου έχουν αναφερθεί στο *Phaseolus vulgaris* L. (φασολιά) (Chaoui et al., 1997, Smeets et al., 2005) στο *Bacopa monnieri* L. (Mishra et al., 2006) και στο ρύζι (Shah et al., 2001).



Σχήμα 5.70. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 40 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επιπλέον, όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.70, οι υψηλότερες POD δραστηριότητες παρουσιάζονται στις επεμβάσεις με την υψηλή εδαφική αλατότητα προτείνοντας ότι η προκληθείσα καταπόνηση αλατότητας είναι μεγαλύτερη από την καταπόνηση που προκαλείται λόγω του μετάλλου ενώ είναι ενδιαφέρουσα και η συσχέτιση μεταξύ της μείωσης των πρωτεϊνών και της μέγιστης POD δραστηριότητας που παρατηρείται στην επέμβαση ελέγχου με 0,5% αλατότητα (0/0,5) επιβεβαιώνοντας ότι τα φυτά αυτά υπέστησαν την μεγαλύτερη οξειδωτική καταπόνηση παρόλο που η βιομάζα τους παρουσιάστηκε ελαφρώς αυξημένη σε σχέση με τα φυτά-μάρτυρες (Σχήμα 5.68). Ανάλογη επίδραση της αλατότητας στην δραστηριότητα της υπεροξειδάσης έχει αναφερθεί σε μελέτες στον αραβόσιτο και τον ηλιανθο (Rios-Gonzalez et al., 2002), στην αγγουριά (Zhu et al., 2004), στην πεπονιά (Rodríguez-López et al., 2000) και σε αρκετά άλλα φυτά. Γενικά όμως η επίδραση της αλατότητας, ως μια πολύπλοκη διεργασία, εξαρτάται από τον τύπο και την συγκέντρωση του άλατος, τον γενότυπο του φυτού, το στάδιο ανάπτυξης, και τις περιβαλλοντικές συνθήκες, ενώ ο μηχανισμός με βάση τον οποίο η αλατότητα επηρεάζει τις αντιοξειδωτικές αντιδράσεις των φυτών, δεν είναι ακόμα σαφής. Είναι πιθανόν να οφείλεται είτε στην τοξική επίδραση του Cl^- στο φωτοσύνστημα II, είτε στις ανωμαλίες στην περατότητα των μεμβρανών που προκαλούνται από την υψηλή αναλογία Na^+ προς Ca^{2+} (Rios-Gonzalez et al., 2002).

5.2.4. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm μολύβδου και 40 ppm καδμίου σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες

5.2.4.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Κατά την έναρξη του πειράματος, 10 μηνών φυτά *Nerium oleander* που είχαν αναπτυχθεί στην ίδια ποσότητα μείγματος οργανικού υποστρώματος και κοκκινόχωματος σε αναλογία 4:3 (1490 g ξηρό βάρος) (βλ. Παράγραφο 4.1.1) διαιρέθηκαν σε 6 πειραματικές ομάδες με 6 φυτά για κάθε ομάδα – επέμβαση, έτσι ώστε κάθε ομάδα - επέμβαση να έχει συγκριτικά ανάλογη μέση βιομάζα. Τρεις ομάδες φυτών αποτέλεσαν τις επεμβάσεις ελέγχου η κάθε μια σε διαφορετική εδαφική αλατότητα και τρεις αποτέλεσαν τις επεμβάσεις στις οποίες πραγματοποιήθηκε προσθήκη μολύβδου και καδμίου στο έδαφος σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.37). Η ρύπανση του εδάφους καλλιέργειας με τα μέταλλα πραγματοποιήθηκε με προσθήκη ξεχωριστών υδατικών διαλυμάτων $Pb(NO_3)_2$ και $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, σε μια δόση το κάθε διάλυμα κατά την έναρξη της κύριας πειραματικής διαδικασίας. Οι συγκεντρώσεις του Pb και του Cd στο έδαφος που επιλέχθηκαν για την διεξαγωγή αυτού του πειράματος ήταν 800 και 40 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους, αντίστοιχα, όπως παρουσιάζεται και στον Πίνακα 5.37 όπου δίδεται ο πειραματικός σχεδιασμός, δηλαδή σε συγκεντρώσεις διπλάσιες για το μόλυβδο και πενταπλάσιες για το κάδμιο των ανώτερων οριακών τιμών των μετάλλων στο έδαφος που θεωρούνται τοξικές για τα φυτά και οι οποίες είναι για το μόλυβδο 100 - 400 και για το κάδμιο 3 - 8 ppm ξηρού βάρους εδάφους (Orcutt and Nilsen, 2000). Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για 10 εβδομάδες (Ιούλιο - Σεπτέμβριο) σε τοποθεσία ανοιχτή στον αέρα και τον ήλιο προκειμένου η καλλιέργεια να πραγματοποιηθεί σε ανάλογες συνθήκες με τις συνθήκες πεδίου ενώ προσοχή δόθηκε στο να μην επιτραπεί να ξεπλυθούν τα φυτά από τη βροχή που θα είχε ως αποτέλεσμα την αποστράγγιση του μετάλλου από το έδαφος, με τοποθέτηση πλαστικού καλύμματος που χρησιμοποιείται για την κατασκευή πλαστικών θερμοκηπίων (φωτογραφίες παρέχονται στο Παράρτημα Ι).

Πίνακας 5.37. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Επέμβαση ("κωδικό όνομα")	Συγκέντρωση Pb που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση Cd που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση NaCl [%]
1	"0/0"	0	0	0
2	"0/0,5"	0	0	0,5
3	"0/3"	0	0	3
4	"Pb+Cd/0"	800	40	0
5	"Pb+Cd/0,5"	800	40	0,5
6	"Pb+Cd/3"	800	40	3

Η φωτοπερίοδος κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν 12,5 – 14,5 ώρες ενώ μετρήσεις της θερμοκρασίας και της υγρασίας λαμβάνονταν δύο φορές ημερησίως στις 9:30 π.μ. και 2:30 μ.μ. και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.38. Τα φυτά ποτίζονταν κάθε 2 ή 3 ημέρες ανάλογα με τις απαιτήσεις και τις περιβαλλοντικές συνθήκες με νερό βρύσης ή υδατικό διάλυμα NaCl σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.37). Τα υδατικά διαλύματα NaCl για την άρδευση των φυτών προετοιμάστηκαν με βρώσιμο αλάτι θαλάσσης και νερό βρύσης ενώ η ποσότητα του νερού ή του αλατούχου διαλύματος που χρησιμοποιούνταν σε κάθε πότισμα ήταν περίπου 400 mL το οποίο διαιρούταν σε δύο ίσα μέρη. Το πρώτο μέρος προσθέτονταν στο έδαφος καλλιέργειας προκειμένου να αποφευχθεί πιθανή εκροή του νερού με το μέταλλο από τις γλάστρες ενώ το δεύτερο μέρος προσθέτονταν στα πλαστικά πιάτα κάθε γλάστρας για να διατηρεί επαρκή ποσότητα νερού κατά τη διάρκεια των ζεστών ημερών.

Πίνακας 5.38. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	20 - 35	26,6	46 - 80	63,2
Μεσημέρι	29 - 53	40,9	30 - 55	39,8

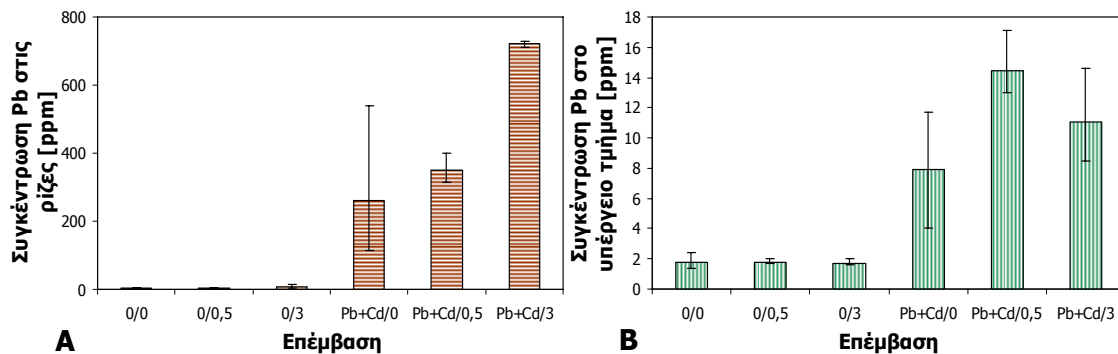
Καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος λάμβανε χώρα οπτική παρατήρηση και καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών των φυτών έτσι ώστε να εντοπιστούν οποιεσδήποτε αλλαγές ή συμπτώματα τοξικότητας από τα μέταλλα και την αλατότητα. Επίσης μια φορά την εβδομάδα σε συγκεκριμένη μέρα και ώρα, πραγματοποιούνταν μετρήσεις του ύψους των υπέργειων τμημάτων ενώ με την λήξη των 10 εβδομάδων έκθεσης στα μέταλλα, έλαβαν χώρα μετρήσεις της βιομάζας και της περιεχόμενης χλωροφύλλης για τον έλεγχο της επίδρασης του μετάλλου στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού και επιπλέον έλαβαν χώρα μετρήσεις των πρωτεϊνών και της δραστηριότητας του αντιοξειδωτικού ενζύμου υπεροξειδάση της γουαϊακόλλης στα φύλλα για τον έλεγχο της οξειδωτικής καταπόνησης που υφίσταται το φυτό. Τέλος πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της συγκέντρωσης του μετάλλου στα διάφορα φυτικά τμήματα. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για όλες τις παραπάνω μετρήσεις δίδονται στην Παράγραφο 4.1.3.

5.2.4.2. Συσσώρευση μετάλλων στο φυτικό ιστό

5.2.4.2.1. Μόλυβδος

Η πρόσληψη μολύβδου από τις ρίζες του φυτού κυμάνθηκε από 96% ως 98,5% του συνολικού μετάλλου που προσελήφθηκε από τα φυτά επιβεβαιώνοντας για μια ακόμα φορά ότι ο μόλυβδος συσσωρεύεται κυρίως στις ρίζες του συγκεκριμένου φυτού (Σχήμα 5.71A). Επιπλέον, παρατηρείται ότι η αλατότητα είχε θετική επίδραση στη συσσώρευση μολύβδου στο ριζικό σύστημα. Η συγκέντρωση του μετάλλου στις ρίζες στην επέμβαση με την εδαφική αλατότητα 0,5% (Pb+Cd/0,5) ήταν 1,3 φορές

μεγαλύτερη από αυτή των φυτών που καλλιεργήθηκαν στο έδαφος με 0% αλατότητα (Pb+Cd/0) και ακόμα περισσότερο η συγκέντρωση Pb τις ρίζες των φυτών της επέμβασης με 3% αλατότητα (Pb+Cd/3) ήταν 2,75 φορές μεγαλύτερη από την συγκέντρωση στις ρίζες των φυτών με 0% αλατότητα (Pb+Cd/0).



Σχήμα 5.71. Συγκέντρωση μολύβδου [mg/kg ξηρού βάρους] (Α) στις ρίζες και (Β) στα υπέργεια τμήματα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

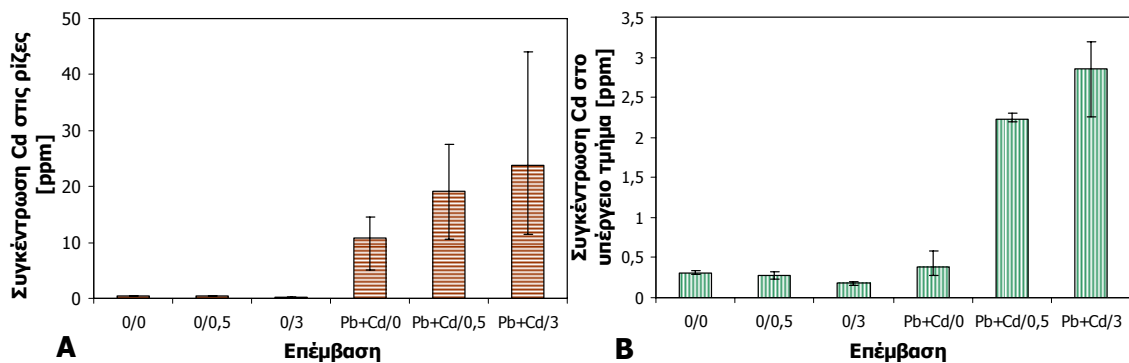
Η συγκέντρωση του μολύβδου στα υπέργεια τμήματα του *Oleander* παρουσιάστηκε σημαντικά μικρότερη από ότι στις ρίζες και μόνο περίπου το 1,5 - 4% του συνολικού μολύβδου που συσσωρεύθηκε από τα φυτά, βρέθηκε στα εναέρια μέρη (Σχήμα 5.71B). Επίσης η παρουσία του NaCl στο έδαφος βρέθηκε να προκαλεί αύξηση της συσσώρευσης του μετάλλου στο υπέργειο τμήμα, όμως δεν παρατηρείται συσχετισμός μεταξύ της αύξησης της ποσότητας του συσσωρευμένου μετάλλου με την σταδιακή αύξηση της ποσότητας NaCl που υπάρχει στο έδαφος.

5.2.4.2.2. Κάδμιο

Για την περίπτωση του καδμίου παρατηρείται ότι η συσσώρευση στις ρίζες του φυτού κυμάνθηκε από 89 έως 96,5% του συνολικού μετάλλου που συσσωρεύτηκε σε ολόκληρο το φυτικό ιστό επιβεβαιώνοντας ότι η κύρια περιοχή συσσώρευσης του καδμίου είναι οι ρίζες του συγκεκριμένου φυτού (Σχήμα 5.72A). Επιπλέον, είναι φανερό η θετική επίδραση της αλατότητας στη συσσώρευση στις ρίζες. Οι συγκεντρώσεις του καδμίου στις επεμβάσεις με εδαφική αλατότητα 0,5% (Pb+Cd/0,5) και με αλατότητα 3% (Pb+Cd/3) ήταν 1,8 και 2,2 φορές, αντίστοιχα, υψηλότερες από την συγκέντρωση στις ρίζες των φυτών με 0% αλατότητα (Pb+Cd/0).

Η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού ήταν σημαντικά μικρότερη και επιπλέον στην επέμβαση χωρίς προσθήκη χλωριούχου νατρίου (Pb+Cd/0) η συγκέντρωση ήταν συγκρίσιμη με τις συγκεντρώσεις του μετάλλου στις ομάδες ελέγχου (Σχήμα 5.72B). Επιπλέον, σε καμία από τις επεμβάσεις οι συγκεντρώσεις του δεν ξεπέρασαν τα επίπεδα που θεωρούνται τοξικά για τα φυτά και τα οποία είναι 5 - 30 ppm ξηρού βάρους (Orcutt and Nilsen, 2000). Επίσης από το σχήμα είναι φανερό ότι η αύξηση της εδαφικής αλατότητας αύξησε την συγκέντρωση του καδμίου στα υπέργεια

τμήματα του φυτού. Η συγκέντρωση του Cd ήταν 5,7 φορές μεγαλύτερη στα φυτά που μεταχειρίστηκαν με την αλατότητα 0,5% (Pb+Cd/0,5) και 7,3 φορές μεγαλύτερη στα φυτά της επέμβασης με αλατότητα 3% (Pb+Cd/3) από ότι στην επέμβαση με μηδενική εδαφική αλατότητα (Pb+Cd/0).



Σχήμα 5.72. Συγκέντρωση καδμίου [mg/kg ξηρού βάρους] (Α) στις ρίζες και (Β) στα υπέργεια τμήματα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Όπως έχει προαναφερθεί, έχει αποδειχτεί ότι η αύξηση της αλατότητας αυξάνει την βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων στο έδαφος οδηγώντας κατά συνέπεια σε αύξηση της πρόσληψης και της συσσώρευσης των μετάλλων στα υπέργεια τμήματα καθώς επίσης και σε ολόκληρα τα φυτά (Bingham et al., 1983, Li et al., 1994, Greger et al., 1995, Smolders et al., 1998, Weggler-Beaton et al., 2000, Norvell et al., 2000, Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003, Weggler et al., 2004, Wahla and Kirkham, 2007).

5.2.4.2.3. Αλληλεπίδραση του Pb και του Cd στην αμοιβαία συσσώρευση τους

Όπως έχει ήδη συζητηθεί, έχουν γίνει αναφορές στο παρελθόν ότι σε εδάφη που υπάρχουν και τα δυο μέταλλα η πρόσληψη του ενός μετάλλου από τα φυτά μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία του αλλού, δηλαδή η αλληλεπίδραση μεταξύ των μετάλλων όταν υπάρχουν και τα δύο στο έδαφος μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση ή στην μείωση της πρόσληψης του ενός ή του άλλου από το φυτό. Για παράδειγμα στο φυτό *Zea mays* L. (καλαμπόκι) έχει παρατηρηθεί ότι η συσσώρευση του Cd αυξήθηκε με προσθήκη Pb, ενώ η παρουσία Cd στο έδαφος μείωσε την πρόσληψη του Pb (Miller et al., 1977). Αναλόγως, ο μόλυβδος παρατηρήθηκε να αυξάνει την πρόσληψη του καδμίου στη σίκαλη (Carlson and Rolfe, 1979). Ενώ στο φυτό *Plantanus occidentalis* L. η προσθήκη και των δυο μετάλλων στο έδαφος αύξησε την πρόσληψη και των δυο μετάλλων σε σύγκριση με αυτή που παρατηρούνταν όταν υπήρχε προσθήκη μόνο του ενός μετάλλου (Carlson and Bazzaz, 1977). Επιπλέον, σε άλλη μελέτη βρέθηκε ότι η παρουσία του Cd δεν επέφερε καμιά μεταβολή στα βιοδιαθέσιμα επίπεδα του Pb αφού δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων μόνο με μόλυβδο και με μείγμα του με κάδμιο. Αντίθετα, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στο βιοδιαθέσιμο Cd στο έδαφος παρουσία μολύβδου, υποδηλώνοντας ότι η ταυτόχρονη παρουσία Pb και Cd στο

έδαφος οδήγησε σε αύξηση των βιοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων του καδμίου και κατά συνέπεια αυτός ήταν και ο λόγος για τον οποίο παρατηρήθηκε αύξηση της συσσώρευσης του Cd στο αναπτυσσόμενο σε αυτό το έδαφος φυτό *Cynodon nlemfuensis* (Madgwi et al., 2004). Ενώ επίσης έχει αναφερθεί ότι τα κατιόντα των μετάλλων (Pb, Cu και Zn) και ιδιαιτέρως των αλκαλικών γαιών (Ca και Mg) μειώνουν την προσρόφηση του καδμίου λόγω ανταγωνισμού τους για τις διαθέσιμες θέσεις προσρόφησης και τις θέσεις ανταλλαγής κατιόντων (Martin and Kaplan, 1998, Ghosh and Singh, 2005). Επιπρόσθετα, σε μελέτες στις οποίες ελέγχθηκε η επίδραση ιόντων Cr, Ni, Zn και Cd στην συσσώρευση του Pb από το φυτό *Hemidesmus indicus*, αποδείχτηκε ότι παρουσία νικελίου η πρόσληψη μολύβδου μειώθηκε κατά 50% αλλά η παρουσία Zn, Cr και Cd είχε πολύ μικρή αρνητική επιρροή στην πρόσληψη μολύβδου (Sekhar et al., 2005).

Σε σύγκριση λοιπόν των αποτελεσμάτων της καλλιέργειας του *N. oleander* σε έδαφος ρυπασμένο με το μείγμα των μετάλλων με τα αποτελέσματα από την αντίστοιχη καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο μόνο με μόλυβδο, διαπιστώθηκε ότι το κάδμιο είχε θετική επίδραση στη συσσώρευση του μολύβδου στις ρίζες στις εδαφικές αλατότητες 0 και 0,5%, όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.39. Η αλατότητα μπορεί να επηρεάσει τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος και κατά συνέπεια να αυξήσει την πρόσληψη και τη συσσώρευση από τα φυτά ενώ επιπλέον μπορεί να επιδράσει θετικά στην μετακίνηση των μετάλλων από την ρίζα στο υπέργειο τμήμα. Αντίθετα όμως, στην παρούσα μελέτη στην εδαφική αλατότητα 3% παρατηρείται ότι η συνέργεια του καδμίου και της υψηλής συγκέντρωσης άλατος είχε ελαφρώς αρνητική επίδραση στην συσσώρευση του μολύβδου στις ρίζες του φυτού. Και επιπλέον, η συσσώρευση του μολύβδου και η μετακίνηση του στα υπέργεια τμήματα επηρεάστηκαν αρνητικά από την παρουσία δεύτερου μετάλλου ανεξαρτήτως εδαφικής αλατότητας.

Πίνακας 5.39. Συγκέντρωση καδμίου και μολύβδου στις ρίζες και τα υπέργεια τμήματα του *Nerium oleander*. Σύγκριση πειραμάτων με ρύπανση μόνο με κάδμιο, μόνο με μόλυβδο και με μείγμα μολύβδου και καδμίου.

Μέταλλο	Εδαφική αλατότητα [%]	Ρίζα		Υπέργειο τμήμα	
		Ρύπανση με ένα μέταλλο [ppm]	Ρύπανση με Cd και Pb [ppm]	Ρύπανση με ένα μέταλλο [ppm]	Ρύπανση με Cd και Pb [ppm]
Pb	0	131	262	9,94	7,93
	0,5	184	349	16,9	14,5
	3	792	720	17,3	11,1
Cd	0	20,6	10,9	0,18	0,39
	0,5	15,0	19,2	0,72	2,23
	3	16,4	23,8	1,25	2,85

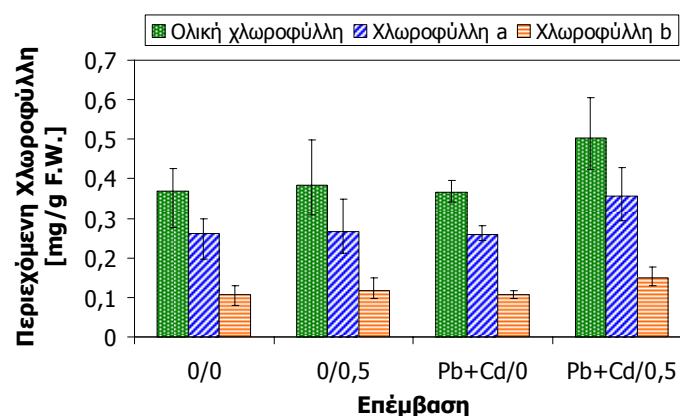
Για την περίπτωση του καδμίου, η σύγκριση των αποτελεσμάτων από την καλλιέργεια της πικροδάφνης σε έδαφος ρυπασμένο με το μείγμα των μετάλλων με τα αποτελέσματα από την αντίστοιχη καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο μόνο με κάδμιο, αποκάλυψε ότι σε γενικές γραμμές ο μόλυβδος είχε θετική επίδραση στην

συσσώρευση του καδμίου στις ρίζες των φυτών. Εξαιρέση αποτέλεσε μόνο η περίπτωση όπου δεν υπήρχε προσθήκη NaCl στο έδαφος όπου παρατηρήθηκε μια μείωση στη συσσώρευση περίπου 50%. Επιπλέον, η παρουσία του Pb παρουσιάζεται να είχε θετική επιρροή και στην συσσώρευση του Cd στα υπέργεια τμήματα σε όλες τις εδαφικές αλατότητες. Οι παρατηρήσεις αυτές είναι σε συμφωνία με τις παραπάνω βιβλιογραφικές αναφορές στις οποίες παρατηρήθηκε αύξηση της πρόσληψης του καδμίου από τα φυτά λόγω της ταυτόχρονης παρουσίας μολύβδου στο έδαφος (Miller et al., 1977, Carlson and Bazzaz, 1977, Carlson and Rolfe, 1979, Madyiwa et al., 2004).

5.2.4.3. Επίδραση των μετάλλων και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

Όπως έχει συζητηθεί, το κάδμιο, ο μόλυβδος και η αλατότητα αποτελούν παράγοντες καταπόνησης των φυτών ικανοί να τους προκαλέσουν ένα εύρος διαταραχών μέσα στις οποίες περιλαμβάνονται η παρεμπόδιση της φωτοσυνθετικής λειτουργίας και η μείωση της αύξησης (Xiong, 1997, Orcutt and Nilsen, 2000, Καραμπουρνιώτης, 2003, Zhou and Qiu, 2005). Στην παρούσα μελέτη όμως, από την εξέταση των μορφολογικών χαρακτηριστικών των φυτών κατά την διάρκεια του πειράματος, όπως και στα προηγούμενα πειράματα με το εν λόγω φυτό, δεν παρατηρήθηκε καμία ορατή αλλαγή ή ένδειξη φυτοτοξικότητας από το μόλυβδο ή το κάδμιο, όπως χλώρωση, αλλαγή του χρώματος και μείωση της επιμήκυνσης των ριζών ή μείωση του αριθμού των ριζιδίων. Αντίθετα υπήρξαν έντονα σύμπτωμα τοξικότητας από την αλατότητα ιδιαίτερα στα φυτά των επεμβάσεων με αλατότητα 3% (0/3 και Cd/3) τα οποία οδηγήθηκαν όλα σε ξηρασία πριν την λήξη της πειραματικής περιόδου (έβδομη πειραματική εβδομάδα) λόγω της υδατικής καταπόνησης (οσμωτικής καταπόνησης) αφού τα εξαιρετικώς χαμηλά οσμωτικά δυναμικά που επικρατούσαν στο έδαφος παρακρατούσαν προφανώς το διαθέσιμο νερό.

Όπως ήδη αναφέρθηκε τα μέταλλα παρεμποδίζουν την φωτοσυνθετική λειτουργία και επιπλέον έχει βρεθεί ότι επηρεάζουν και την αναλογία μεταξύ της χλωροφύλλης *a* και



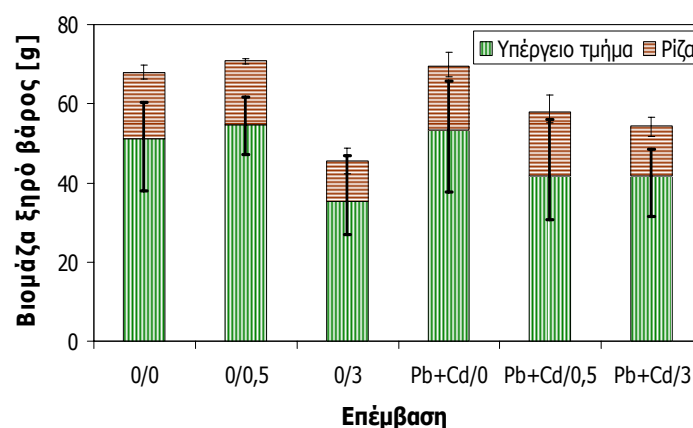
Σχήμα 5.73. Περιεχόμενη χλωροφύλλη [mg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Nerium oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

χλωροφύλλης *b* (Chettri et al., 1998, Orcutt and Nilsen, 2000, Pietrini et al., 2003). Παρόλα αυτά, στην παρούσα μελέτη τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών του *N. oleander* δεν βρέθηκαν να μεταβάλλονται λόγω της παρουσίας των μετάλλων τουλάχιστον στην περίπτωση όπου δεν υπήρχε προσθήκη χλωριούχου νατρίου στο έδαφος (Pb+Cd/0) (Σχήμα 5.73) και επιπλέον ούτε η αναλογία χλωροφύλλης *a/b* (Πίνακας 5.40) βρίσκεται να επηρεάζεται από την παρουσία τους. Παρατηρείται ίσως μόνο μια τάση η αλατότητα να μειώνει την αναλογία των χλωροφυλλών *a* και *b* όμως οι διαφορές δεν είναι σημαντικές για να μπορεί να υποστηριχθεί η παραπάνω πρόταση.

Πίνακας 5.40. Αναλογία χλωροφύλλης *a/b* στο *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.

Επέμβαση	Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i>
0/0	2,44
0/0,5	2,26
Pb+Cd/0	2,42
Pb+Cd/0,5	2,39

Η βιομάζα των φυτών όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.74 επηρεάστηκε αρνητικά από την εδαφική αλατότητα όπως παρατηρείται για τα φυτά που μεταχειρίστηκαν με το μείγμα των μετάλλων ενώ η μεγαλύτερη μείωση παρατηρείται στα φυτά των επεμβάσεων με αλατότητα 3% (0/3 και Pb/3) αφού όπως προαναφέρθηκε, οδηγήθηκαν σε ξηρασία πριν την προκαθορισμένη λήξη του πειράματος. Αντίθετα τα φυτά της ομάδας ελέγχου με εδαφική αλατότητα 0,5% (0/0,5) παρουσίασαν την μεγαλύτερη παραγωγή βιομάζας επιβεβαιώνοντας τον αλοφυτικό τους χαρακτήρα. Η παρουσία του μολύβδου και του καδμίου δεν παρατηρείται να επηρεάσε την παραγωγή της βιομάζας

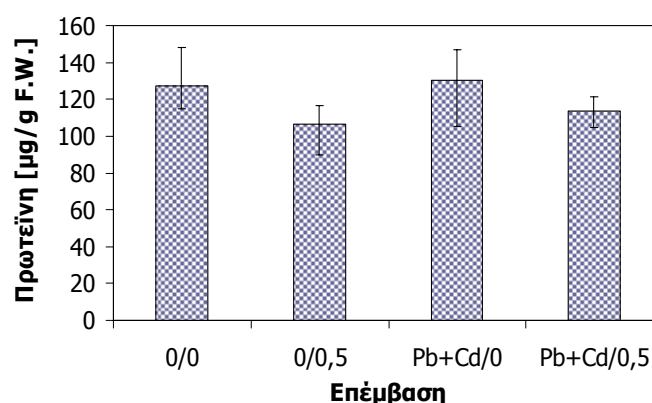


Σχήμα 5.74. Βιομάζα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

όπως είναι φανερό από τη σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με αλατότητα 0% (0/0 και Pb/0) και 3% (0/3 και Pb/3), παρά μόνο στην επέμβαση με αλατότητα 0,5% όμως οι διαφορές δεν είναι ιδιαίτερα σημαντικές, ενώ τα ίδια συμπεράσματα εξαγονται και από την εξέταση του μήκους των υπέργειων τμημάτων των φυτών. Το γεγονός ότι η αυξανόμενη αλατότητα προκάλεσε μείωση της αύξησης των φυτών αλλά όχι μείωση της χλωροφύλλης έχει παρατηρηθεί επίσης στο φυτό *Tamarix ramosissima* το οποίο παρουσίασε σημαντική μείωση στην αύξηση λόγω της αλατότητας αλλά καμία μεταβολή στην φωτοσύνθεση σε ένα εύρος αλατότητας από 0 έως 200 mM NaCl. Συνήχθη το συμπέρασμα ότι η αλατότητα είχε δυσμενείς επιπτώσεις στην αύξηση του φυτού λόγω της μεταβολής της ενέργειας από την επιτάχυνση της αναπνευστικής δραστηριότητας και την άντληση αλατος (Glenn et al., 1998).

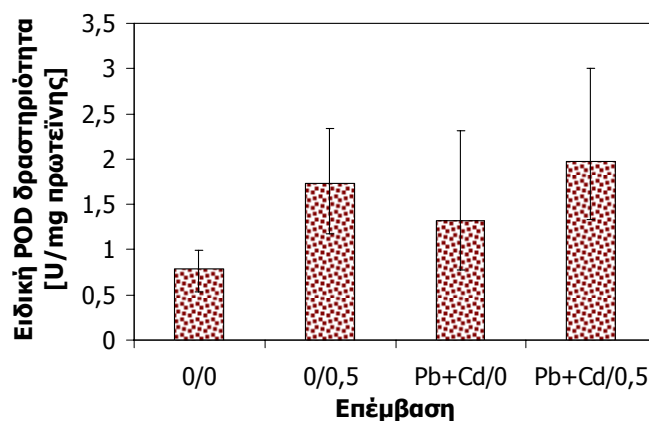
5.2.4.4. Οξειδωτική καταπόνηση και αντιοξειδωτικός μηχανισμός του φυτού

Ο μόλυβδος, το κάδμιο αλλά και η αλατότητα, όπως έχει ήδη συζητηθεί, είναι παράγοντες καταπόνησης οι οποίοι προκαλούν αύξηση της δημιουργίας ενεργών μορφών οξυγόνου με άμεση συνεπεία την αποδόμηση σημαντικών βιομορίων και την οξειδωτική καταπόνηση των φυτών (Chaoui et al., 1997, Xiong, 1997, Shah et al., 2001, Verma and Dubey, 2003, Γαλάτης και λοιποί, 2003, Καραμπουρνιώτης, 2003). Όμως τα αποτελέσματα και από αυτή την μελέτη φανερώνουν ότι η παρουσία του μολύβδου και του καδμίου δεν επέφερε μεταβολή των συγκεντρώσεων των πρωτεϊνών στα φύλλα του φυτού ούτε από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με μηδενική εδαφική αλατότητα (0/0 και Pb+Cd/0) αλλά και ούτε από την σύγκριση μεταξύ των επεμβάσεων με 0,5% αλατότητα (0/0,5 και Pb+Cd/0,5) (Σχήμα 5.75). Αντίθετα και στην παρούσα περίπτωση παρατηρείται μείωση των πρωτεϊνών με την παρουσία της αλατότητας 0,5% αφού από την σύγκριση των επεμβάσεων ελέγχου (0/0 και 0/0,5) και των επεμβάσεων με μόλυβδο (Pb/0 και Pb/0,5) παρατηρείται μείωση των πρωτεϊνών κατά 16,5% και 13,1% αντίστοιχα, φανερώνοντας προφανώς οξειδωτική καταπόνηση των φυτών προερχόμενη από τις ROS που δημιουργούνται λόγω της αλατότητας.



Σχήμα 5.75. Περιεχόμενη πρωτεΐνη [μg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επιπλέον, ως γνωστόν, τα φυτά ως απάντηση στην οξειδωτική καταπόνηση από τις ROS αυξάνουν την δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών τους ενζύμων. Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 5.76 η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στην επέμβαση μόνο με το μείγμα των μετάλλων παρουσιάζεται υψηλότερη από την δραστηριότητα του ένζυμου στα φυτά ελέγχου (0/0), αλλά χαμηλότερη από την δραστηριότητα στην επέμβαση μόνο με εδαφική αλατότητα 0,5% (0/0,5). Κατά συνέπεια, μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η παρουσία και των δύο μετάλλων προκαλεί οξειδωτική καταπόνηση στο φυτό αλλά και σε αυτή την περίπτωση η εδαφική αλατότητα αποδεικνύεται ισχυρότερος παράγοντας καταπόνησης. Επιπλέον, είναι φανερό ότι ο συνδυασμός των τριών παραγόντων καταπόνησης προκαλούν στο *N. oleander* την μεγαλύτερη παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS), όπως αναμενόταν και άρα την μεγαλύτερη οξειδωτική καταπόνηση, αφού η υψηλότερη POD δραστηριότητα παρατηρήθηκε στα φύλλα των φυτών της επέμβασης με το μείγμα μετάλλων και την εδαφική αλατότητα 0,5% (Pb+Cd/0,5) η οποία είναι 2,5 φορές μεγαλύτερη από την αντίστοιχη δραστηριότητα των φυτών της ομάδας ελέγχου (0/0). Ενδιαφέρον είναι και ο πιθανός συσχετισμός που παρατηρείται μεταξύ των αποτελεσμάτων της POD δραστηριότητας και των πρωτεϊνών (Σχήμα 5.75 και 5.76).



Σχήμα 5.76. Δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα του *N. oleander* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και 40 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Συγκριτικά από τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν από όλα τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε καλλιέργειες του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο μόνο με μόλυβδο, μόνο με κάδμιο και με το μείγμα τους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες είναι προφανές ότι οι πρωτεΐνες στα φύλλα του φυτού δεν επηρεάστηκαν από την παρουσία των μετάλλων ενώ η υψηλότερη δραστηριότητα της υπεροξειδάσης μετρήθηκε στα φύλλα των φυτών που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος ρυπασμένο με μείγμα των δύο μετάλλων και σε υψηλή εδαφική αλατότητα ενώ η επίδραση των παραγόντων καταπόνησης στην POD δραστηριότητα παρουσίασε την ακόλουθη σειρά:

$$\text{Pb} + \text{Cd} + \text{αλατότητα} > \text{αλατότητα} > \text{Pb} \approx \text{Cd} + \text{αλατότητα} > \text{Pb} + \text{αλατότητα} \geq \text{Pb} + \text{Cd} > \text{Cd}$$

Η παραπάνω σειρά επίδρασης φανερώνει ότι ο συνδυασμός των μετάλλων και της αλατότητας παρουσιάζει τον ισχυρότερο παράγοντα καταπόνησης για τα φυτά ακολουθούμενος από την αλατότητα η οποία αποδεικνύεται ισχυρότερος παράγοντας καταπόνησης από το μόλυβδο, το κάδμιο αλλά ακόμα και το μείγμα τους. Σε αυτό το σημείο όμως πρέπει να αναφερθεί ότι η δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων αποτελεί μια παράμετρο που εκφράζει την καταπόνηση που υφίσταται το φυτό, όμως υπό ακραίες συνθήκες καταπόνησης τα φυτά μπορεί να αδυνατούν να παράγουν αρκετά αντιοξειδωτικά ένζυμα για να προστατευθούν, κατά συνέπεια σε μια τέτοια περίπτωση, η μικρή δραστηριότητα του αντιοξειδωτικού ενζύμου δεν δείχνει απαραίτητα και μικρή ένταση καταπόνησης (Fayiga et al., 2004). Για το λόγο αυτό, για να εκτιμηθεί η ένταση της φυτοτοξικότητας πρέπει πάντα η ενζυμική δραστηριότητα να συνδέεται με την αξιολόγηση της παραγόμενης βιομάζας των φυτών (Ruttens et al., 2006).

5.2.5. Συνοπτικά αποτελέσματα για το φυτό *Nerium oleander*

Σε όλα τα πειράματα η κύρια περιοχή συσσώρευσης του μολύβδου ήταν οι ρίζες του *Nerium oleander*, παρατήρηση που έρχεται σε συμφωνία με τις βιβλιογραφικές αναφορές που πραγματεύονται την συσσώρευση του μετάλλου στα φυτά. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι η αυξανόμενη συγκέντρωση μολύβδου στο έδαφος επηρεάζει θετικά τη μετακίνηση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα. Κατά συνέπεια, μπορεί να υποστηριχθεί ότι η συγκέντρωση του μολύβδου στα υπέργεια τμήματα αυξάνεται μόνο εφόσον η συνολική ικανότητα κατακράτησης των ριζών του φυτού έχει εξαντληθεί. Επιπρόσθετα, τα αποτελέσματα αναδεικνύουν ότι η αύξηση της εδαφικής αλατότητας επιφέρει αύξηση της συσσώρευσης στο φυτικό ιστό.

Και στην περίπτωση του καδμίου η κύρια περιοχή συσσώρευσης ήταν οι ρίζες του φυτού ενώ η αλατότητα δεν βρέθηκε να επηρεάζει την ολική συσσώρευση του μετάλλου από το φυτό αλλά βρέθηκε να έχει θετική επίδραση στη μετακίνηση του στα υπέργεια μέρη. Και προφανώς σε αυτό το γεγονός να οφείλεται το ότι μόνο εφόσον υπήρξε αύξηση της εδαφικής αλατότητας παρατηρήθηκε αύξηση της συσσώρευσης του καδμίου στα υπέργεια τμήματα των φυτών και αντίστοιχη μείωση της συσσώρευσης στις ρίζες.

Και όταν το *N. oleander* καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο και με τα δύο μέταλλα η κύρια περιοχή συσσώρευσης των μετάλλων ήταν οι ρίζες του φυτού, ενώ για μια ακόμα φορά επιβεβαιώθηκε η θετική επιρροή της εδαφικής αλατότητας στην αύξηση της συσσώρευσης και των δύο μετάλλων στο φυτικό ιστό. Επιπλέον, είναι ενδιαφέρον να τονιστεί ότι η αλατότητα προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης του μολύβδου στα υπέργεια τμήματα όμως δεν παρατηρείται να υπάρχει κάποιος συσχετισμός μεταξύ της αύξησης της ποσότητας του συσσωρευμένου μετάλλου με την αύξηση της ποσότητας NaCl που υπήρχε στο έδαφος, ενώ στην περίπτωση του καδμίου ο παραπάνω συσχετισμός παρατηρήθηκε έντονα αφού η σταδιακή αύξηση της αλατότητας επέφερε ανάλογη αύξηση της μετακίνησης του στα υπέργεια τμήματα.

Επιπλέον, είναι γνωστό ότι η πρόσληψη ενός μετάλλου μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία ενός δευτέρου μετάλλου, δηλαδή η αλληλεπίδραση μεταξύ των μετάλλων όταν υπάρχουν και τα δύο στο έδαφος μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση ή στην μείωση της πρόσληψης του ενός ή του άλλου από το φυτό. Στην παρούσα περίπτωση η παρουσία του μολύβδου βρέθηκε να επιδρά θετικά στη συσσώρευση του καδμίου στο φυτικό ιστό, ενώ η επίδραση του Cd στην πρόσληψη του Pb από το φυτό φαίνεται να είχε ελαφρώς αρνητική επίδραση με εξαίρεση την περίπτωση των χαμηλότερων εδαφικών αλατοτήτων, όπου παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της συσσώρευσης του Pb στις ρίζες παρουσία Cd.

Συνήθως η παρουσία βαρέων μετάλλων στο έδαφος προκαλεί επιδείνωση των παραγωγικών και μορφολογικών χαρακτηριστικών των φυτών. Όμως στην περίπτωση του *Nerium oleander* τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών δεν επηρεάστηκαν αρνητικά από τα μέταλλα και την εδαφική αλατότητα. Επιπρόσθετα, η επίδραση των μετάλλων στην αύξηση των φυτών εκφρασμένη ως βιομάζα και μήκος υπέργειων τμημάτων ήταν πολύ μικρή. Με αύξηση των συγκεντρώσεων του μολύβδου στο έδαφος η παραγωγή βιομάζας του φυτού όχι μόνο δεν μειώθηκε αλλά παρουσιάστηκε ελαφρώς μεγαλύτερη συγκρινόμενη με τα φυτά ελέγχου. Επίσης, και η παρουσία του καδμίου και η ταυτόχρονη παρουσία και των δύο μετάλλων στο έδαφος αύξησε την παραγωγή βιομάζας κατά 10% και 4% αντίστοιχα, σε σύγκριση με τα φυτά των ομάδων ελέγχου.

Η επίδραση της αλατότητας ήταν φανερή στην αύξηση των φυτών όμως η εδαφική αλατότητα 0,5% δεν προκάλεσε μείωση της παραγωγής βιομάζας περισσότερο από 10% σε σύγκριση με τα φυτά ελέγχου, ενώ είναι ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι κατά τη διάρκεια όλων των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν, δηλαδή στις καλλιέργειες του φυτού μόνο με Pb, μόνο με Cd και με το μείγμα τους, ο συνδυασμός μετάλλου με την αλατότητα είχε μικρότερη καταστρεπτική επίδραση στην παραγωγή βιομάζας από ότι μόνο η αλατότητα. Η καταπόνηση που επέφερε η υψηλή εδαφική αλατότητα 3% είχε θανατηφόρα επίδραση στα φυτά οδηγώντας τα σε ξηρασία μετά από 7 εβδομάδες, προφανώς λόγω μιας μορφής υδατικής καταπόνησης (οσμωτική καταπόνηση) λόγω των εξαιρετικά χαμηλών οσμωτικών δυναμικών που επικρατούσαν στο έδαφος και τα οποία παρακρατούσαν το διαθέσιμο νερό.

Επιπλέον, οι πρωτεΐνες στα φύλλα του φυτού δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται από την παρουσία των μετάλλων. Τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης η οποία έχει γίνει δεκτή ως «ένζυμο καταπόνησης», συνηγορούν ότι η παρουσία των μετάλλων και την εδαφικής αλατότητας προκαλούν οξειδωτική καταπόνηση στο *N. oleander* αφού η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλλης στα φύλλα των φυτών όλων των επεμβάσεων με μέταλλα και/ή αλατότητα βρέθηκε για να είναι σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με τα φυτά ελέγχου. Όμως η εδαφική αλατότητα αποδείχτηκε ισχυρότερος παράγοντας καταπόνησης από τα μέταλλα, γεγονός που επιβεβαιώθηκε και από τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των πρωτεϊνών στα φύλλα του φυτού. Εντούτοις, για την εκτίμηση της έντασης της φυτοτοξικότητας η ενζυμική δραστηριότητα πρέπει να συνδέεται με την αξιολόγηση της παραγόμενης βιομάζας των φυτών. Λαμβάνοντας υπόψη λοιπόν όλες τις παραπάνω παρατηρήσεις μαζί με το γεγονός ότι το φυτό δεν επέδειξε κανένα ορατό σύμπτωμα τοξικότητας από τα μέταλλα και το γεγονός ότι προσαρμόζεται πολύ καλά στις χαμηλές εδαφικές αλατότητες, εξάγεται το συμπέρασμα ότι το *N. oleander* είναι ένα ιδιαίτερα ανθεκτικό φυτό στο μόλυβδο και το κάδμιο.

5.3. ΥΠΟ ΕΞΕΤΑΣΗ ΦΥΤΟ: *Tamarix smyrnensis* Bunge

5.3.1. Υδροπονική καλλιέργεια φυτού με έκθεση σε 100 ppm μολύβδου σε διαφορετικές αλατότητες

5.3.1.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Στην έναρξη της πειραματικής φάσης, 18 φυτά *Tamarix smyrnensis* που είχαν καλλιεργηθεί για 2 μήνες στην ίδια ποσότητα οργανικού υποστρώματος και στις ίδιες ακριβώς συνθήκες προκειμένου να αναπτυχθούν και να αποκτήσουν ένα ώριμο ριζικό σύστημα (βλ. Παράγραφο 4.1.1), χωριστήκαν σε 6 πειραματικές ομάδες με 3 φυτά για κάθε ομάδα – επέμβαση, έτσι ώστε η μέση βιομάζα κάθε ομάδας - επέμβασης να είναι συγκριτικά η ίδια. Εν συνεχεία, κάθε φυτό απομακρύνθηκε από το έδαφος με ιδιαίτερη προσοχή ώστε να αποτραπεί ο τραυματισμός του ριζικού συστήματος, πλύθηκε για να απομακρυνθούν τα σωματίδια εδάφους από τις ρίζες και μεταφέρθηκε σε μια πλαστική δεξαμενή 3 λίτρων γεμάτη με κατάλληλο θρεπτικό διάλυμα για υδροπονική καλλιέργεια κάτω από αερισμό. Το θρεπτικό διάλυμα παρασκευάστηκε με βάση μια τροποποίηση του διαλύματος καλλιέργειας Arnon και Keen έτσι ώστε να αποτραπεί η κατακρήμνιση του μολύβδου, με σύσταση σε mg/L: 143,0 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 35,75 KNO_3 , 17,75 KCl , 35,75 KH_2PO_4 , 35,75 MgSO_4 , 2,86 H_3BO_3 , 1,86 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,22 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,079 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ και 0,6 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Ο μολύβδος προστέθηκε στο μέσο ως $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ σε συγκέντρωση 100 ppm και το NaCl σε συγκεντρώσεις 100 και 200 mM σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.41). Το πείραμα πραγματοποιήθηκε το μήνα Ιούνιο για 10 ημέρες μέσα σε γυάλινο θερμοκήπιο με φωτοπερίοδο 13 ωρών. Μετρήσεις της θερμοκρασίας και της υγρασίας λαμβάνονταν τρεις φορές κατά τη διάρκεια της ημέρας στις 9:30 π.μ., στις 2:30 μ.μ και στις 6:30 μ.μ. ενώ κατά τη διάρκεια της νύχτας λαμβάνονταν μετρήσεις των ελάχιστων και μέγιστων τιμών της θερμοκρασίας. Το εύρος και οι μέσες τιμές παρέχονται στον Πίνακα 5.42. Επιπλέον, καθημερινά η ποσότητα των θρεπτικών διαλυμάτων σε κάθε δεξαμενή αναπροσαρμοζόταν στα 3 L με απιονισμένο νερό.

Πίνακας 5.41. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Επέμβαση ("κωδικό όνομα")	Συγκέντρωση Pb [ppm]	Συγκέντρωση NaCl [mM]
1	"0/0"	0	0
2	"0/100"	0	100
3	"0/200"	0	200
4	"Pb/0"	100	0
5	"Pb/100"	100	100
6	"Pb/200"	100	200

Πίνακας 5.42. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

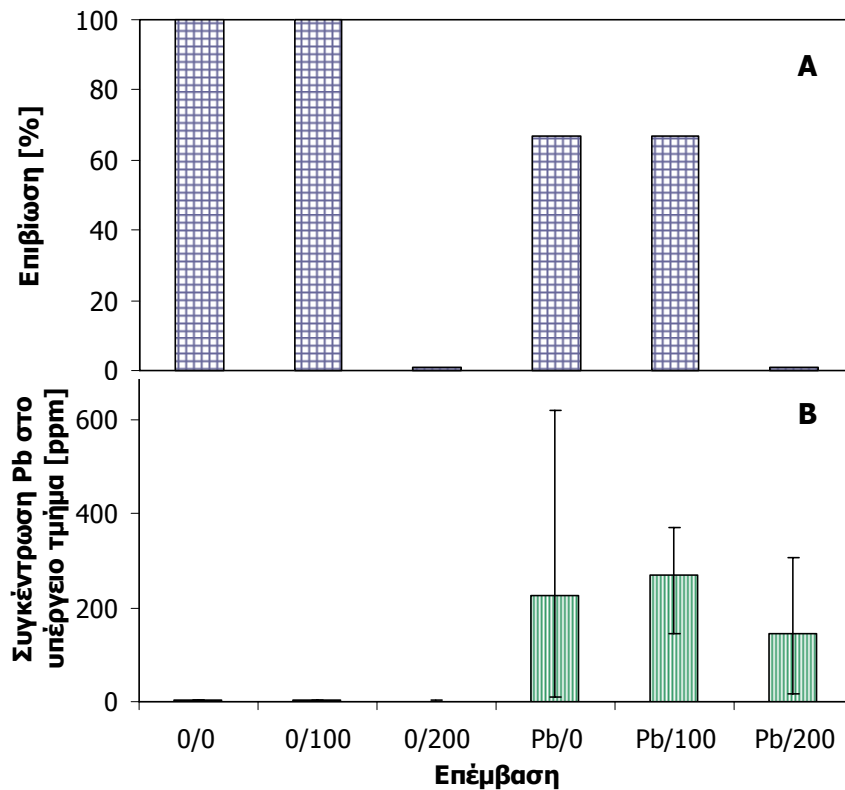
	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	24-40,5	35	39-54	45,9
Μεσημέρι	37-45	41,5	19-47	36,4
Απόγευμα	28,5-40	34	33-58	47
Νύχτα	19-21,5	-	-	-

Καθ' όλη της διάρκεια του πειράματος πραγματοποιούνταν οπτική παρατήρηση των φυτών και καταγραφή των αλλαγών ή των συμπτωμάτων τοξικότητας λόγω της παρουσίας του μετάλλου και της αλατότητας. Επιπλέον, στην έναρξη του πειράματος και μετά από 5 και 10 ημέρες, 10 mL δείγματος θρεπτικού διαλύματος λήφθηκε από κάθε δεξαμενή για τον προσδιορισμό του περιεχομένου της σε Pb. Τέλος με την λήξη του πειράματος έλαβαν χώρα μετρήσεις της συγκέντρωσης του μετάλλου στα φυτικά τμήματα για τον έλεγχο της ικανότητας του φυτού να συσσωρεύει το Pb στο σώμα του και επιπλέον πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της βιομάζας και της περιεχόμενης χλωροφύλλης και του περιεχομένου σε νερό για τον έλεγχο της επίδρασης του μετάλλου και της αλατότητας στην φυσιολογία του φυτού. Οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιήθηκαν για όλες τις παραπάνω πειραματικές μετρήσεις δίδονται στην Παράγραφο 4.1.3.

5.3.1.2. Συσσώρευση μολύβδου στο φυτικό ιστό

Τα αποτελέσματα από αυτό το πείραμα προτείνουν ότι το *Tamarix smyrnensis* δεν συσσωρεύει στους υπέργειους ιστούς του τα επιθυμητά επίπεδα μολύβδου ώστε να χαρακτηριστεί ως συσσωρευτής του μετάλλου (Σχήμα 5.77). Η υψηλότερη συσσώρευση καταγράφηκε στα φυτά της επέμβασης με συγκέντρωση NaCl 100 mM (Pb/100) που είναι 270 ppm. Εντούτοις, οι συγκεντρώσεις στα υπέργεια τμήματα που θεωρούνται φυσιολογικές για τα φυτά, δηλ., η συγκέντρωση μετάλλου η οποία δεν προκαλεί οποιαδήποτε αλλαγή ή βλάβη (5 - 10 mg/kg ξηρού βάρους) (Orcutt and Nilsen, 2000), ξεπεράστηκαν κατά πολύ, ενώ η συσσώρευση σε όλες τις επεμβάσεις είναι μέσα στο εύρος των συγκεντρώσεων που θεωρούνται τοξικές για τα φυτά (30 - 300 ppm ξηρού βάρους) (Orcutt and Nilsen, 2000) και προφανώς αυτός να είναι και ο λόγος για το οποίο η επί τοις εκατό επιβίωση των φυτών μετά από έκθεση τους σε μόλυβδο για 10 ημέρες, παρουσιάζεται μειωμένη στις επεμβάσεις με μόλυβδο (Pb/0 και Pb/100) σε σύγκριση με τα αντίστοιχα φυτά ελέγχου (επεμβάσεις 0/0 και 0/0,5) (Σχήμα 5.77).

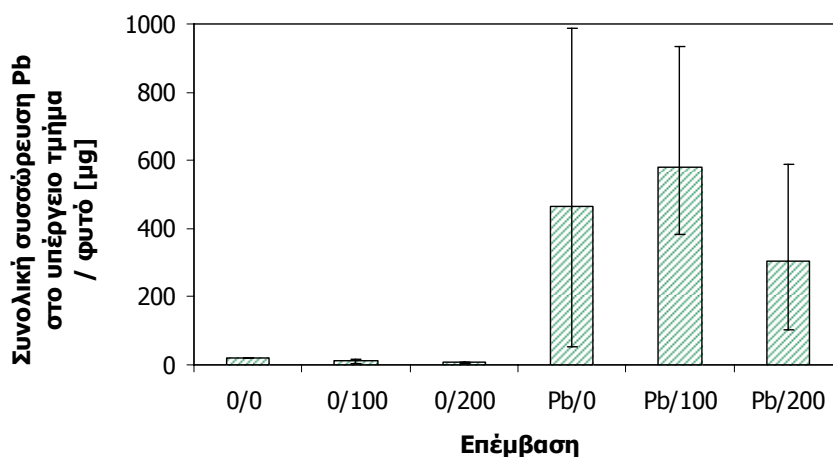
Σε προηγούμενες μελέτες άλλων φυτικών ειδών έχει διαπιστωθεί ότι η αλατότητα μπορεί να επηρεάσει τη συσσώρευση των μετάλλων στα φυτά. Κατά το παρελθόν, ερευνητές βρήκαν αυξημένες συγκεντρώσεις μετάλλων στα περισσότερα φυτικά τμήματα κάτω από συνθήκες υψηλής αλατότητας και κατέληξαν στην υπόθεση ότι ίσως να οφείλεται στην μεγαλύτερη πρόσληψη νερού λόγω αυξημένης διαπνοής, οδηγώντας σε μεγαλύτερη ροή των μετάλλων στα φυτά (Otte, 1991, Greger, et al., 1995, Fitzgerald et al., 2003).



Σχήμα 5.77. (Α) Ποσοστό [%] φυτών *T. smyrnensis* που επιβίωσαν σε υδροπονική καλλιέργεια για 10 ημέρες με 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες (0, 100 & 200 mM). (Β) Συγκέντρωση Pb [mg/kg ξηρού βάρους] στο υπέργειο τμήμα (οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές).

Στην παρούσα μελέτη από το Σχήμα 5.77 παρατηρούμε ότι τα φυτά της επέμβασης με αλατότητα 100 mM (Pb/100) πραγματικά παρουσίασαν αυξημένες συγκεντρώσεις μολύβδου σε σχέση με την επέμβαση χωρίς προσθήκη άλατος, όμως δεν παρουσιάζεται η ίδια τάση και στην επέμβαση με την υψηλότερη αλατότητα των 200 mM (Pb/200). Επιπλέον, σε σύγκριση με τα αποτελέσματα που έχουν παρουσιαστεί στο παρελθόν από άλλους ερευνητές για το ίδιο φυτό σε καλλιέργεια σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb και με συνθήκες εδαφικής αλατότητας 0, 0,5 και 3%, βρέθηκε ότι η συσσώρευση του μολύβδου στα υπέργεια τμήματα δεν ξεπέρασε τα 15 ppm ενώ η μεγαλύτερη συσσώρευση παρουσιάστηκε στα φυτά που καλλιεργηθήκαν σε έδαφος με ιδιαίτερα υψηλή αλατότητα 3% (Kadukova and Kalogerakis, 2007). Η αιτία λοιπόν που πιθανολογείται ως υπεύθυνη για την μικρότερη συγκέντρωση του Pb στην υψηλότερη συγκέντρωση άλατος στην παρούσα μελέτη είναι η μεγαλύτερη καταπόνηση λόγω της υψηλής αλατότητας που υπέστησαν τα φυτά αυτής της επέμβασης (βλ. Παράγραφο 5.3.1.3 όπου αναλύονται τα μορφολογικά και χαρακτηριστικά των φυτών) με αποτέλεσμα να οδηγηθούν όλα σε ξηρασία πριν την προκαθορισμένη λήξη της πειραματικής διαδικασίας όπως δίνεται και στην επί τοις εκατό επιβίωση των φυτών στο Σχήμα 5.77. Πιθανολογείται, λοιπόν, ότι τα φυτά σταμάτησαν νωρίς να προσλαμβάνουν μολύβδο, γεγονός που είχε σαν συνέπεια την εμφάνιση χαμηλότερης συγκέντρωσης του μετάλλου στο υπέργειο τμήμα τους.

Σε αντιστοιχία με τα παραπάνω βρίσκονται και τα αποτελέσματα από την εξέταση της συνολικής απομάκρυνσης του μολύβδου (φυτοσυσσώρευση) από το υπέργειο τμήμα του φυτού (Σχήμα 5.78), όπου αποτελεί μια παράμετρο η οποία μπορεί να δώσει σημαντικές πληροφορίες για το αν μπορεί το φυτό να χρησιμοποιηθεί για φυτοσυσσώρευση αφού λαμβάνει υπόψη και την επίδραση του μετάλλου και της αλατότητας ως παράγοντες καταπόνησης στην παραγωγή της βιομάζας του φυτού.



Σχήμα 5.78. Το συνολικό ποσό του Pb στο υπέργειο τμήμα του *Tamarix smyrnensis* σε υδροπονική καλλιέργεια με 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

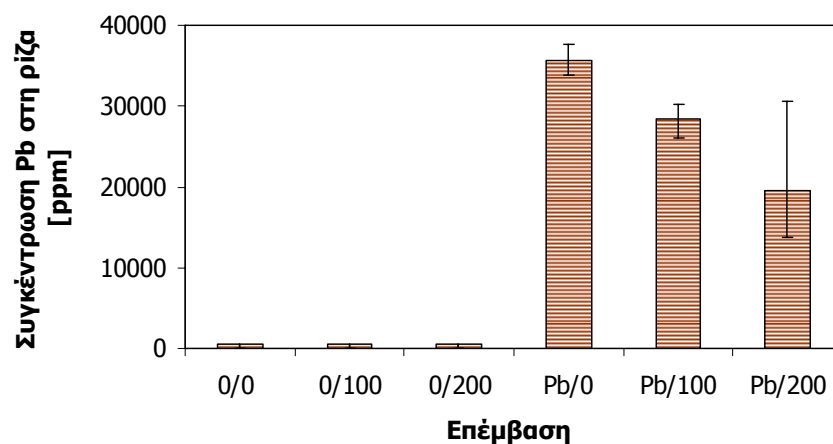
Όπως διαπιστώνεται λοιπόν από το Σχήμα 5.78, τα φυτά της επέμβασης με μηδενική αλατότητα συσσωρεύαν 465 μg στο υπέργειο τμήμα τους μέσα στο χρονικό διάστημα των 10 ημερών, ενώ τα φυτά των επεμβάσεων με αλατότητες 100 mM (Pb/100) και 200 mM (Pb/200) συσσωρεύαν 579 μg και 304 μg αντίστοιχα.

Το συμπέρασμα λοιπόν που προκύπτει από όλα τα παραπάνω είναι ότι η επίδραση της αλατότητας στην συσσώρευση του μολύβδου στο υπέργειο τμήμα του φυτού, λαμβάνοντας υπόψη και την μείωση που προκάλεσε η συνέργεια των δύο αυτών παραγόντων καταπόνησης στην επιβίωση και στην παραγόμενη βιομάζα, ήταν θετική στην περίπτωση που η αλατότητα είχε χαμηλή συγκέντρωση (100 mM).

Από προηγούμενες μελέτες έχει αποδειχτεί ότι ο μολύβδος στα περισσότερα φυτικά είδη συσσωρεύεται σε μεγαλύτερες ποσότητες στις ρίζες από ότι στα εναέρια μέρη (Wozny, 1995, Kumar et al., 1995, Begonia et al., 1998, Liu et al., 2000, Piechalak et al., 2002). Και επιπλέον σε μελέτη που προαναφέρθηκε, του *Tamarix smyrnensis* σε καλλιέργεια σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm Pb, βρέθηκε ότι οι ρίζες ήταν η κύρια περιοχή συσσώρευσης του μολύβδου (Kadukova and Kalogerakis, 2007). Κατά συνέπεια, έχει υποστηριχθεί ότι αυτές οι μεγάλες διαφορές στη συσσώρευση μολύβδου μεταξύ των ριζών και των υπέργειων τμημάτων φανερώνουν ένα ισχυρό περιορισμό στην εσωτερικής μεταφοράς του μολύβδου από τις ρίζες προς τα κλαδιά και τα πράσινα φύλλα (Kumar et al., 1995, Begonia et al., 1998, Kadukova and Kalogerakis, 2007).

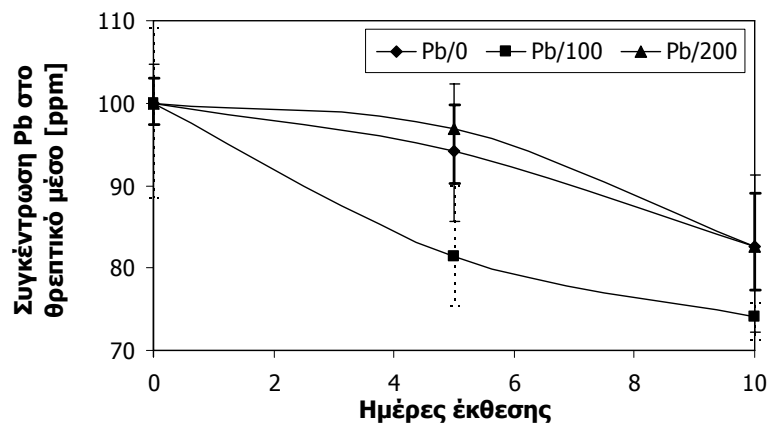
Στην παρούσα μελέτη οι συγκεντρώσεις του μετάλλου στις ρίζες των φυτών παρουσίασαν ιδιαίτερα υψηλές τιμές της τάξεως των δεκάδων χιλιάδων mg Pb ανά kg ξηρού βάρους φυτικού ιστού (Σχήμα 5.79). Παρόλο λοιπόν που αναμένονταν

μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στις ρίζες σε σχέση με τα υπέργεια τμήματα δεν είναι δυνατόν να δικαιολογηθεί η τόσο μεγάλη απόκλιση μεταξύ της συσσώρευσης στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα. Συμπεραίνεται κατά συνέπεια ότι εκτός από πρόσληψη του μετάλλου από τις ρίζες έλαβε χώρα και προσρόφηση του μετάλλου πάνω στις ρίζες, οπότε δεν μπορούν να εξαχθούν βάσιμες παρατηρήσεις για την πραγματική συσσώρευση του μολύβδου στις ρίζες του φυτού. Επιπλέον, όπως παρουσιάζεται στο σχήμα, η συγκέντρωση του μολύβδου στις ρίζες μειώνεται όσο αυξάνεται η συγκέντρωση άλατος στο θρεπτικό διάλυμα και αυτό το σημείο ίσως φανερώνει μια εξάρτηση της έκτασης που λαμβάνει χώρα η προσρόφηση από την συγκέντρωση του NaCl στο διάλυμα, πιθανόν λόγω αντικατάστασης των ιόντων μολύβδου στις θέσεις προσρόφησης από τα ιόντα νατρίου. Ανάλογη παρατήρηση έχει αναφερθεί σε μια μελέτη υδροπονικής καλλιέργειας του φυτού *Atriplex halimus* σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις μολύβδου από 10 έως 200 ppm αλλά και αλατότητας από 0 έως 3%, όπου η συγκέντρωση του μετάλλου στις ρίζες του φυτού παρουσίασε σημαντική μείωση με την αύξηση της συγκεντρώσεως χλωριούχου νατρίου στο θρεπτικό διάλυμα και εξήχθει το συμπέρασμα ότι προφανώς το αλάτι δρα ανταγωνιστικά με το μέταλλο (Kadukova et al., 2004).



Σχήμα 5.79. Συγκέντρωση του Pb [mg/kg ξηρού βάρους] στις ρίζες του *Tamarix smyrnensis* σε υδροπονική καλλιέργεια με 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.80 η ολική συγκέντρωση του μολύβδου στο θρεπτικό διάλυμα μειωνόταν κατά την διάρκεια των 10 ημερών του πειράματος φθάνοντας τα 82,6 ppm για την επέμβαση χωρίς την προσθήκη άλατος (Pb/0), τα 74 ppm για την επέμβαση με συγκέντρωση άλατος 100 mM (Pb/100) και τα 82,5 ppm για την επέμβαση με συγκέντρωση άλατος 200 mM (Pb/200). Επομένως από την ολική ποσότητα του μολύβδου που προστέθηκε στο θρεπτικό μέσο τα φυτά πήραν το 17,4%, το 26% και το 17,5% αντίστοιχα. Όπως είναι φανερό, με βάση τα αποτελέσματα αυτά η καλύτερη απόδοση παρατηρήθηκε στην επέμβαση όπου πραγματοποιήθηκε καλλιέργεια του φυτού σε συγκέντρωση NaCl 100 mM (Pb/100), γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τα προηγούμενα αποτελέσματα της συγκέντρωσης (Σχήμα 5.77) και της συνολικής συσσώρευσης (Σχήμα 5.78) του μετάλλου στο υπέργαιο τμήμα.



Σχήμα 5.80. Μείωση της συγκέντρωσης του Pb στο θρεπτικό διάλυμα. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Σε αυτό το σημείο πρέπει να αναφερθεί ότι η καλλιέργεια φυτών με την μέθοδο της υδροπονίας για σκοπούς φυτοσυσσωρεύσεως είναι ικανή να δώσει μόνο κάποια αρχικά συμπεράσματα όσον αφορά την ικανότητα του υπό εξέταση φυτού να προσλαμβάνει τα μέταλλα και πάντα σε συνδυασμό με την ανθεκτικότητα του σε αυτά. Ο λόγος είναι ότι η καλλιέργεια σε υδατικό μέσο δεν λαμβάνει υπόψη σημαντικούς παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την πρόσληψη των μετάλλων από το φυτό όπως για παράδειγμα τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο έδαφος και επιπλέον δεν επιτρέπει την διάκριση μεταξύ φυτών υπερσυσσωρευτών και μη-υπερσυσσωρευτών με βάση την συγκέντρωση του μετάλλου στη βιομάζα, πολύ πιθανόν λόγω της επίδρασης των διεργασιών βιορόφησης, όπως συνέβη και στην παρούσα περίπτωση. Για παράδειγμα, κατά την υδροπονική καλλιέργεια του αναγνωρισμένου υπερσυσσωρευτή καδμίου *T. caerulescens* και των μη-υπερσυσσωρευτών *N. tabacum* και *A. belladonna*, η συγκέντρωση του μετάλλου στις ρίζες των φυτών δεν είχε μεγάλες διαφορές τουλάχιστον τόσο όσο αναμένονταν λόγω της υπερσυσσωρευτικής ικανότητας του *T. caerulescens*. Εντούτοις, αυτό που επέτρεπε την διάκριση μεταξύ υπερσυσσωρευτή και μη-υπερσυσσωρευτή ήταν η ικανότητα του πρώτου να αυξάνεται χωρίς κανένα σύμπτωμα τοξικότητας σε αντίθεση με τον δεύτερο του οποίου η ανάπτυξη σταμάτησε και παρουσίασε έντονα συμπτώματα τοξικότητας από το μέταλλο (Nedelkoska and Doran, 2000, US EPA, 2001, Boominathan and Doran, 2003). Ουσιαστικά λοιπόν η υδροπονική καλλιέργεια φυτών για έρευνα για φυτοσυσσωρεύση μπορεί να δώσει κάποιες αρχικές ενδείξεις για την ικανότητα του φυτού να συσσωρεύει τα μέταλλα όμως τα αποτελέσματα πρέπει να συνδέονται με την επίδραση που προκαλούν τα μέταλλα ως παράγοντες καταπόνησης στην φυσιολογία των φυτών.

5.3.1.3. Επίδραση του μολύβδου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

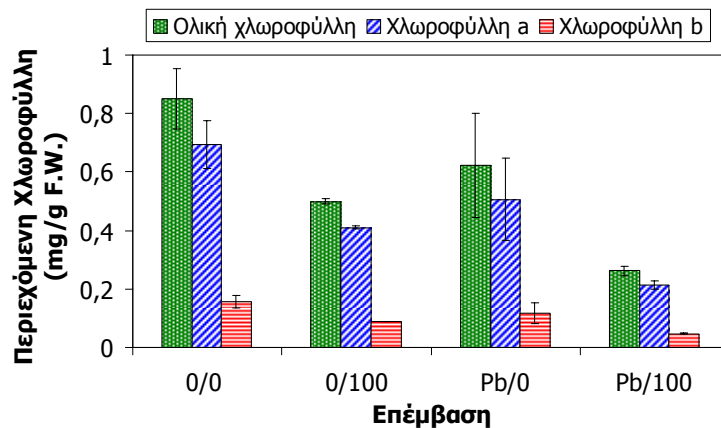
Ο μολύβδος δεν έχει βρεθεί να αποτελεί απαραίτητο στοιχείο για την επιβίωση των φυτών παρόλα αυτά συναντάται φυσικά μέσα στους φυτικούς ιστούς όλων των φυτών. Υψηλές συγκεντρώσεις του όμως στα φυτά, διαταράσσουν και αναστέλλουν διάφορες

φυσιολογικές διεργασίες όπως διαταραχή της μίτωσης, διαταραχή των κυττάρων, παρεμπόδιση της φωτοσύνθεσης και της αναπνοής λόγω παρεμπόδισης της λειτουργίας της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, εμφάνιση χλώρωσης, μείωση της επιμήκυνσης και διεύθυνσης της ρίζας στο έδαφος, μείωση της βιομάζας, αναστολή της αύξησης, παρεμπόδιση της ενζυμικής δραστηριότητας και ανταγωνισμό με θρεπτικά συστατικά (Balsberg Pålsson, 1989, Xiong, 1997, Begonia et al., 1998, Orcutt and Nilsen, 2000, Liu et al., 2000, Piechalak et al., 2002, Verma and Dubey, 2003). Επιπλέον, και η αλατότητα ως παράγοντας καταπόνησης προκαλεί διάφορες διαταραχές συμπεριλαμβανομένης της παρεμπόδισης της φωτοσυνθετικής λειτουργίας, της μείωσης της πρόσληψης θρεπτικών ουσιών και της έλλειψης σε νερό με αποτέλεσμα την υδατική καταπόνηση, οδηγώντας κατά συνέπεια και σε μείωση της αύξησης του φυτού (Bajji et al., 1998, Καραμπουρνιώτης, 2003, Murillo-Amador et al., 2006).

Όσον αφορά τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του *Tamarix smyrnensis* παρατηρήθηκαν ορατές ενδείξεις τοξικότητας από τον μόλυβδο. Οπτική παρατήρηση στο ριζικό σύστημα των φυτών έδειξε ότι τα φυτά που εκτέθηκαν στο μέταλλο παρουσίασαν μείωση του μήκους των ριζών τους και γενικά καταπονημένο και εύθραυστο ριζικό σύστημα και επιπλέον το χρώμα των ριζών τους ήταν σκούρο καφέ. Τα στοιχεία αυτά γενικά θεωρείται ότι συνδέονται με την τοξικότητα μολύβδου, ενώ επιπλέον, όπως παρατηρείται και στο σχήμα 5.77, η επιβίωση των φυτών στις επεμβάσεις με μόλυβδο (Pb/0 και Pb/100) μειώθηκε κατά 33% σε σύγκριση με τις αντίστοιχες επεμβάσεις ελέγχου. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκαν έντονα συμπτώματα τοξικότητας από την αλατότητα. Τα φυτά που καλλιεργήθηκαν στις επεμβάσεις με προσθήκη άλατος παρουσίασαν ξηρά κάτω κλαδιά και ήταν εμφανώς πιο αδύναμα, ενώ η διάμετρος του βλαστού τους ήταν μικρότερη και το φύλλωμά τους ήταν φτωχότερο συγκρινόμενα με τα φυτά χωρίς προσθήκη άλατος. Επιπλέον, όλα τα φυτά που καλλιεργήθηκαν στις επεμβάσεις με την υψηλότερη συγκέντρωση NaCl 200 mM ξεράθηκαν πριν από το τέλος της πειραματικής περιόδου. Ειδικότερα, όλα τα φυτά της ομάδας ελέγχου με την συγκέντρωση NaCl 200 mM (0/200) και αυτά της αντίστοιχης ομάδας με το μόλυβδο (Pb/200) ξεράθηκαν μέχρι την έκτη ημέρα έκθεσης στην αλατότητα.

Όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.81, τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών του *T. smyrnensis* βρέθηκαν να μεταβάλλονται λόγω του μολύβδου και της αλατότητας επιβεβαιώνοντας τις οπτικές παρατηρήσεις κατά την διάρκεια του πειράματος. Οι συγκεντρώσεις της ολικής χλωροφύλλης, της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* μειώθηκαν σημαντικά λόγω της παρουσίας του μολύβδου όπως παρατηρείται από την σύγκριση μεταξύ της ομάδας ελέγχου (0/0) και της αντίστοιχης επέμβασης με την προσθήκη μετάλλου (Pb/0). Ανάλογο συμπέρασμα εξάγεται και από την σύγκριση μεταξύ των ομάδων με προσθήκη άλατος 100 mM (0/100 και Pb/100). Επιπλέον, παρατηρείται ότι και η παρουσία του NaCl είχε αρνητική επίδραση στην περιεχομένη χλωροφύλλη, ενώ η μεγαλύτερη μείωση στα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών παρουσιάζεται στην επέμβαση όπου υπήρχε προσθήκη Pb και NaCl (Pb/100), όπως άλλωστε αναμενόταν, λόγω συνδυασμού των αρνητικών επιδράσεων και των δύο παραγόντων καταπόνησης.

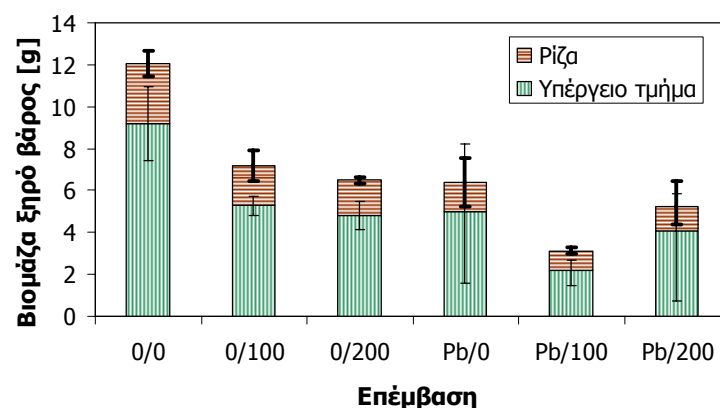
Συγκρίνοντας τα παρόντα αποτελέσματα με το πείραμα που πραγματοποιήθηκε με το *T. smyrnensis* σε καλλιέργεια σε έδαφος ρυπασμένο με μείγμα μολύβδου και καδμίου (Παράγραφος 5.3.4) και επιπλέον με μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο παρελθόν με το φυτό σε καλλιέργεια σε ρυπασμένο έδαφος μόνο με μόλυβδο (Kadukova and Kalogerakis, 2007) όπου και στις δύο περιπτώσεις δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών ή στην επιβίωση του φυτού λόγω του



Σχήμα 5.81. Περιεχόμενη χλωροφύλλη [mg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Tamarix smyrnensis* σε υδροπονική καλλιέργεια με 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 2$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

μετάλλου, διαπιστώνεται ότι η αρνητική επίδραση του μολύβδου στην παρούσα περίπτωση οφείλεται προφανώς στα κατά πολύ υψηλότερα επίπεδα συσσώρευσης του μετάλλου στον φυτικό ιστό. Και στις δύο προηγούμενες περιπτώσεις η συγκέντρωση του Pb στα υπέργεια τμήματα δεν ξεπερνούσε τα 30 ppm σε καμιά επέμβαση, ενώ στο παρόν πείραμα η συγκέντρωση σε όλες τις επεμβάσεις ήταν τουλάχιστον μια τάξη μεγέθους μεγαλύτερη.

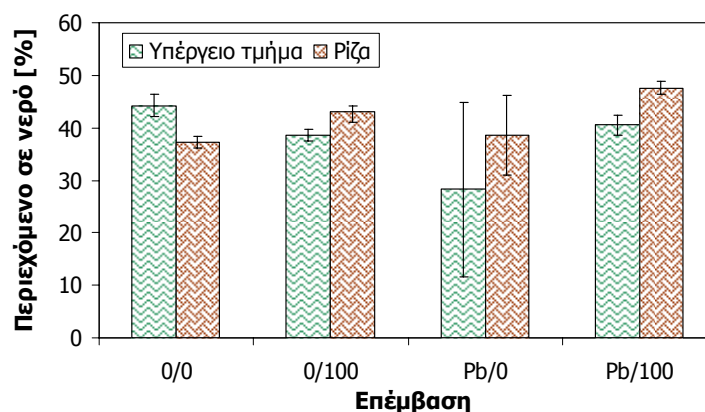
Επιπλέον, η αύξηση των φυτών που εκφράζεται ως βιομάζα (ξηρό βάρος) και παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.82, βρέθηκε ότι επηρεάστηκε με ανάλογο τρόπο με την περιεχόμενη χλωροφύλλη στην παρουσία μολύβδου και χλωριούχου νατρίου. Παρουσίασε σημαντική μείωση λόγω της παρουσίας του μολύβδου όπως παρατηρείται από την σύγκριση μεταξύ της ομάδας ελέγχου που δεν υπήρξε προσθήκη αλατιού (0/0)



Σχήμα 5.82. Βιομάζα του *Tamarix smyrnensis* σε υδροπονική καλλιέργεια με 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

και της αντίστοιχης επέμβασης με την προσθήκη Pb (Pb/0) και ανάλογο συμπέρασμα εξάγεται και από την σύγκριση μεταξύ των ομάδων με προσθήκη άλατος. Επιπλέον, παρατηρείται ότι και η παρουσία του NaCl είχε αρνητική επίδραση στην βιομάζα των φυτών από την σύγκριση μεταξύ και των ομάδων ελέγχου μεταξύ τους αλλά και των επεμβάσεων με μόλυβδο, ενώ η μεγαλύτερη μείωση σε σχέση με όλες τις άλλες ομάδες, παρουσιάζεται στην επέμβαση με Pb όπου η συγκέντρωση άλατος ήταν 100 mM (Pb/100).

Το περιεχόμενο σε νερό στα φυτά *Tamarix* δεν βρέθηκε να επηρεάζεται σημαντικά από την παρουσία του μολύβδου (Σχήμα 5.83). Στις ρίζες του φυτού το περιεχόμενο σε νερό δεν βρέθηκε να μεταβάλλεται σημαντικά, ενώ στα υπέργεια τμήματα παρατηρείται μόνο μια μείωση στην επέμβαση με την προσθήκη μόνο Pb (Pb/0), υπονοώντας ότι η τοξικότητα από το μέταλλο δεν προκαλεί μια δευτερεύουσα υδατική καταπόνηση, τουλάχιστον για την διάρκεια έκθεσης που πραγματοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη. Ανάλογη συμπεριφορά έχει παρατηρηθεί στο φυτό *Atriplex halimus* το οποίο ύστερα από έκθεση σε Cd και Zn σε υδροπονική καλλιέργεια διάρκειας 3 εβδομάδων δεν επέδειξε μεταβολή του περιεχομένου του σε νερό ούτε στις ρίζες αλλά και ούτε στα υπέργεια τμήματα (Lutts et al., 2004). Επίσης, το περιεχόμενο σε νερό στα υπέργεια τμήματα δεν βρέθηκε να επηρεάζεται από την αλατότητα ενώ επιπρόσθετα παρουσιάζει αύξηση στις ρίζες επιβεβαιώνοντας την αλοφυτική φύση του φυτού.



Σχήμα 5.83. Περιεχόμενο σε νερό [%] του *Tamarix smyrnensis* σε υδροπονική καλλιέργεια με 100 ppm Pb σε διαφορετικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 2$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

5.3.2. Υδροπονική καλλιέργεια φυτού με έκθεση σε 5 ppm καδμίου σε διαφορετικές αλατότητες

5.3.2.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Με την έναρξη του πειράματος, φυτά *Tamarix smyrnensis* που είχαν καλλιεργηθεί για 2 μήνες στις ίδιες ακριβώς συνθήκες και στην ίδια ποσότητα οργανικού υποστρώματος προκειμένου να αναπτυχθούν και να αποκτήσουν ώριμο ριζικό σύστημα (βλ. Παράγραφο 4.1.1), χωριστήκαν σε 6 πειραματικές ομάδες με 3 φυτά για κάθε ομάδα – επέμβαση, έτσι ώστε η μέση βιομάζα κάθε ομάδας - επέμβασης να είναι συγκριτικά ανάλογη. Στην συνέχεια κάθε φυτό απομακρύνθηκε από το έδαφος με ιδιαίτερη προσοχή ώστε να αποτραπεί ο τραυματισμός του ριζικού συστήματος, πλύθηκε με νερό βρύσης και με απιονισμένο νερό για να απομακρυνθούν τα σωματίδια εδάφους από τις ρίζες και μεταφέρθηκε σε μια πλαστική δεξαμενή χωρητικότητας 3 λίτρων γεμάτη με κατάλληλο θρεπτικό διάλυμα για υδροπονική καλλιέργεια κάτω από αερισμό. Το θρεπτικό διάλυμα παρασκευάστηκε με βάση μια τροποποίηση του διαλύματος καλλιέργειας Arnon και Keen έτσι ώστε να αποτραπεί η καταβύθιση του καδμίου, με σύσταση σε mg/L: 143,0 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 35,75 KNO_3 , 17,75 KCl , 35,75 KH_2PO_4 , 35,75 MgSO_4 , 2,86 H_3BO_3 , 1,86 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,22 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,079 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ και 0,6 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Το μέταλλο προστέθηκε στο θρεπτικό μέσο ως $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ σε συγκέντρωση 5 ppm και το NaCl σε συγκεντρώσεις 100 και 200 mM σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.43).

Πίνακας 5.43. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Επέμβαση ("κωδικό όνομα")	Συγκέντρωση Cd [ppm]	Συγκέντρωση NaCl [mM]
1	"0/0"	0	0
2	"0/100"	0	100
3	"0/200"	0	200
4	"Cd/0"	5	0
5	"Cd/100"	5	100
6	"Cd/200"	5	200

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε το μήνα Ιούνιο για 10 ημέρες μέσα σε γυάλινο θερμοκήπιο με φωτοπερίοδο 13 ωρών, ενώ τρεις φορές ημερησίως λαμβάνονταν μετρήσεις της θερμοκρασίας και της υγρασίας στις 9:30 π.μ., 2:30 μ.μ και 6:30 μ.μ. ενώ κατά τη διάρκεια της νύχτας λαμβάνονταν μετρήσεις των ελάχιστων και μέγιστων τιμών της θερμοκρασίας. Το εύρος και οι μέσες τιμές παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.44. Επίσης καθημερινά η ποσότητα των θρεπτικών διαλυμάτων σε κάθε δεξαμενή αναπροσαρμόζονταν στα 3 λίτρα με απιονισμένο νερό.

Πίνακας 5.44. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

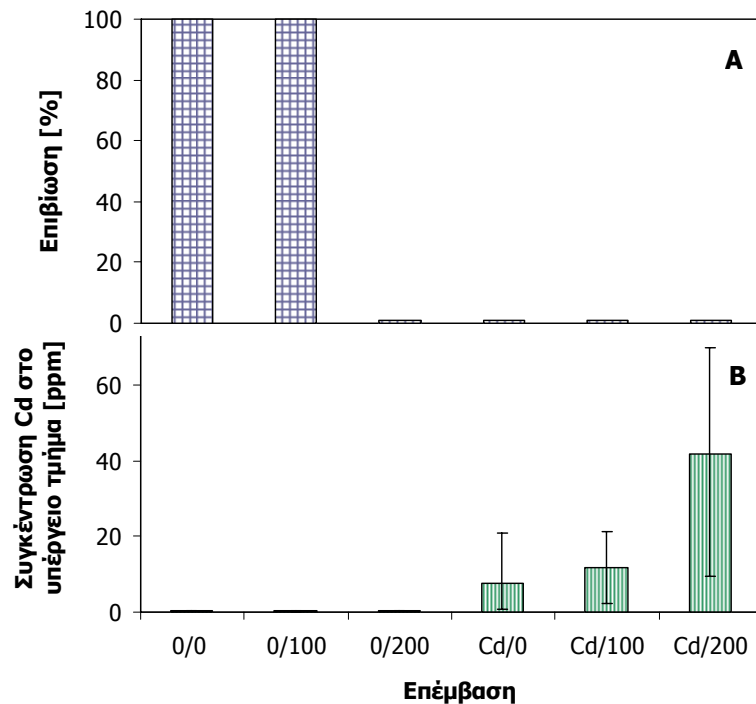
	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	24-40,5	35	39-54	45,9
Μεσημέρι	37-45	41,5	19-47	36,4
Απόγευμα	28,5-40	34	33-58	47
Νύχτα	19-21,5	-	-	-

Σε καθημερινή βάση κατά την διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος πραγματοποιούνταν οπτική παρατήρηση των χαρακτηριστικών των φυτών και καταγραφή των αλλαγών ή των συμπτωμάτων τοξικότητας λόγω της παρουσίας του μετάλλου και της αλατότητας. Επίσης την πρώτη ημέρα του πειράματος και μετά από 5 και 10 ημέρες λήφθηκαν από κάθε δεξαμενή 10 mL δείγματος θρεπτικού διαλύματος για τον προσδιορισμό του περιεχομένου σε κάδμιο. Τέλος με την λήξη της κύριας πειραματικής περιόδου έλαβαν χώρα μετρήσεις της συγκέντρωσης του καδμίου στους διάφορους φυτικούς ιστούς για τον έλεγχο της ικανότητας του φυτού να συσσωρεύει το υπό εξέταση μέταλλο στο σώμα του και επιπρόσθετα πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της βιομάζας για τον ποσοτικό έλεγχο της επίδρασης του μετάλλου και της αλατότητας στην φυσική κατάσταση του φυτού. Λόγω της σφοδρής καταπόνησης που υπέστησαν τα φυτά δεν επιτράπηκε προσδιορισμός της χλωροφύλλης και του περιεχομένου σε νερό. Οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιήθηκαν για όλες τις παραπάνω πειραματικές μετρήσεις παρέχονται στην Παράγραφο 4.1.3.

5.3.2.2. Συσσώρευση καδμίου στο φυτικό ιστό

Τα αποτελέσματα από αυτό το πείραμα προτείνουν ότι η αυξανόμενη αλατότητα αυξάνει τη πρόσληψη καδμίου από το *T. smyrnensis*. Η συσσώρευση του Cd στα υπέργεια τμήματα αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του άλατος στο θρεπτικό διάλυμα φθάνοντας το ποσό των 42 ppm στην επέμβαση με την μεγαλύτερη συγκέντρωση άλατος (Cd/200) (Σχήμα 5.84). Τόσο υψηλές συγκεντρώσεις καδμίου στους ιστούς των φυτών έχουν ξεπεράσει κατά πολύ το εύρος των συγκεντρώσεων που θεωρούνται τοξικές για το φυτό (5 - 30 ppm ξηρού βάρους) (Orcutt and Nilsen, 2000) και προφανώς αυτός να είναι και ο λόγος για το οποίο η επί τοις εκατό επιβίωση των φυτών μετά από έκθεση τους σε κάδμιο για 10 ημέρες, παρουσιάζεται μηδενική (Σχήμα 5.84) δηλαδή δεν επεβίωσε κανένα φυτό που καλλιεργήθηκε σε θρεπτικό μέσο με 5 ppm καδμίου.

Όπως έχει αναφερθεί η αλατότητα μπορεί να επηρεάσει τη συσσώρευση των μετάλλων στα φυτά. Κατά το παρελθόν ερευνητές βρήκαν αυξημένες συγκεντρώσεις μετάλλων στα περισσότερα φυτικά τμήματα κάτω από συνθήκες υψηλής αλατότητας καταλήγοντας στην υπόθεση ότι ίσως να οφείλεται στην μεγαλύτερη πρόσληψη νερού λόγω αυξημένης διαπνοής, και άρα σε μεγαλύτερη ροή των μετάλλων στα φυτά (Otte, 1991, Greger, et al., 1995, Fitzgerald et al., 2003). Τα παραπάνω λοιπόν αποτελέσματα

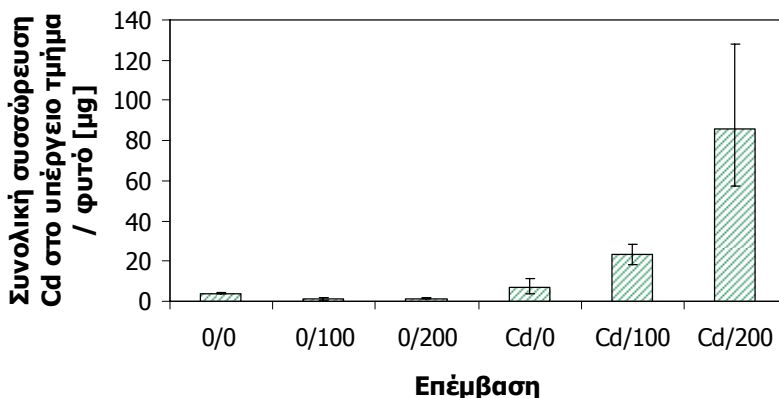


Σχήμα 5.84. (Α) Ποσοστό [%] φυτών *T. smyrnensis* που επιβίωσαν σε υδροπονική καλλιέργεια για 10 ημέρες με 5 ppm Cd σε διαφορετικές αλατότητες (0, 100 & 200 mM). (Β) Συγκέντρωση του Cd [mg/kg ξηρού βάρους] στο υπέργειο τμήμα (οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές).

έρχονται σε συμφωνία με αυτές τις μελέτες ενώ το ίδιο συμπέρασμα εξάγεται από την εξέταση της συνολικής απομάκρυνσης του καδμίου από το υπέργειο τμήμα του φυτού και το οποίο ενδιαφέρει περισσότερο για εφαρμογή της μεθόδου φυτοσυσσώρευσης (Σχήμα 5.85). Στην επέμβαση χωρίς προσθήκη άλατος η συνολική συσσώρευση καδμίου είναι 6,8 μg (Cd/0), στην επέμβαση με αλατότητα 100 mM (Cd/100) η συσσώρευση είναι 23,6 μg ενώ για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την αλατότητα 200 mM (Cd/200) η συσσώρευση είναι 85,8 μg . Ως εκ τούτου, είναι προφανές ότι το συνολικό Cd που συσσωρεύεται στο υπέργειο τμήμα δωδεκαπλασιάζεται όταν αυξάνεται η συγκέντρωση άλατος από 0 σε 200 mM. Επιπρόσθετα, αυτά τα αποτελέσματα είναι σε γενική συμφωνία με τα αποτελέσματα των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν με το ίδιο φυτό σε καλλιέργεια σε ρυπασμένο με κάδμιο και μείγμα καδμίου και μολύβδου έδαφος (Παράγραφοι 5.3.3 και 5.3.4) όπου και στις δύο περιπτώσεις η συγκέντρωση του Cd στο υπέργειο τμήμα του φυτού παρουσίασε υψηλότερες τιμές με την αύξηση της εδαφικής αλατότητας.

Επιπλέον, είναι αξιόλογες αναφορές οι παρατηρήσεις άλλων ερευνητών σε φυτά τα οποία αναπτύχθηκαν σε εδάφη ρυπασμένα με υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων και τα οποία παρουσίαζαν στα ξηρά φύλλα τους μεγαλύτερες συγκεντρώσεις των μετάλλων από ότι στα χλωρά, εντοπίζοντας πιθανόν έναν επιπλέον μηχανισμό αποτοξίνωσης των φυτών από τα μέταλλα (Weis and Weis, 2004). Επιπρόσθετα, έχει προταθεί ότι η πτώση των φύλλων αποτελεί ακόμη ένα μηχανισμό αποτοξίνωσης ορισμένων φυτών (Dahmani-Muller, 2000). Με βάση λοιπόν αυτές τις διαπιστώσεις,

μπορεί να ισχυριστεί ότι στα φυτά των επεμβάσεων με αυξημένη αλατότητα ίσως να έλαβε χώρα ένας ανάλογος μηχανισμός αποτοξίνωσης, αφού από τις πρώτες κιόλας ημέρες έκθεσης εμφάνισαν ξηρά φύλλα λόγω της επίδρασης της αλατότητας, όπως θα συζητηθεί και ακόλουθα, ενώ στη συνέχεια ακολούθησε η πτώση τους.

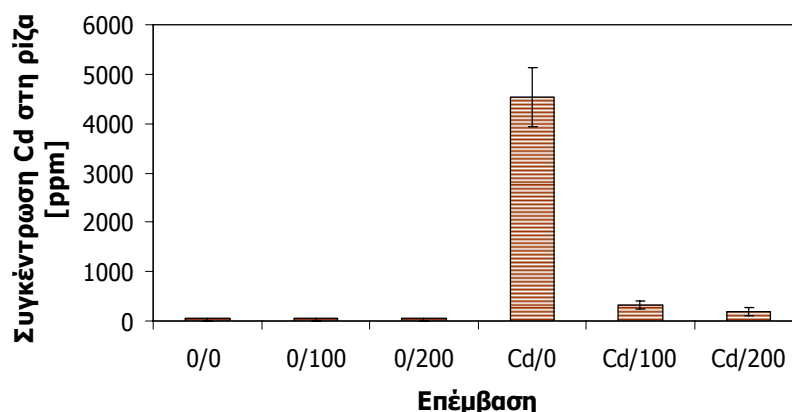


Σχήμα 5.85. Το συνολικό ποσό του Cd στο υπέργειο τμήμα του *Tamarix smyrnensis* σε υδροπονική καλλιέργεια με 5 ppm Cd σε διαφορετικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Στο σημείο όμως αυτό πρέπει να αναφερθεί ότι αυτές οι τόσο υψηλές συγκεντρώσεις του μετάλλου στο φυτικό ιστό αποδείχτηκαν τοξικές για τα φυτά οδηγώντας τα πολύ γρήγορα σε θάνατο πριν την λήξη του πειράματος, όπως παρουσιάζεται και στο Σχήμα 5.84A που παρατηρείται ότι η επί τοις εκατό επιβίωση όλων των φυτών που μεταχειρίστηκαν με κάδμιο είναι μηδενική. Για την ακρίβεια, όπως θα αναφερθεί και στην επόμενη παράγραφο που αναλύονται τα μορφολογικά και παραγωγικά χαρακτηριστικά των φυτών, τα φυτά της επέμβασης με την συγκέντρωση άλατος 200 mM (Cd/200) ξεράθηκαν μέχρι την τέταρτη ημέρα έκθεσης, τα φυτά της επέμβασης με 100 mM άλατος (Cd/100) μέχρι την πέμπτη ημέρα και τα φυτά της επέμβασης χωρίς προσθήκη NaCl (Cd/0) μέχρι την έκτη ημέρα έκθεσης. Από αυτό το γεγονός εξάγονται τα εξής συμπεράσματα: 1) οι ρίζες του *Tamarix smyrnensis* δεν είναι εκλεκτικές στην πρόσληψη ιόντων από την ριζόσφαιρα όπως λειτουργούν άλλα φυτά σύμφωνα με τον ένα από τους μηχανισμούς ανοχής στα μέταλλα, ο οποίος τους επιτρέπει την αποφυγή (avoidance) των μετάλλων δηλαδή οι ρίζες δεν επιτρέπουν στα μέταλλα να εισέλθουν στο φυτικό ιστό, ενώ επιπλέον στο *T. smyrnensis* δεν λαμβάνει χώρα ούτε ένας δεύτερος μηχανισμός ανοχής (tolerance) στα μέταλλα σύμφωνα με τον οποίο πραγματοποιείται συσσώρευση των μετάλλων στις ρίζες του φυτού αλλά δεν επιτρέπεται η μεταφορά του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του φυτού (Orcutt and Nilsen, 2000, Kamal et al., 2004), 2) τόσο υψηλές συγκεντρώσεις στους ιστούς του είναι τοξικές για το φυτό κατά συνεπεία επιβεβαιώνεται ο ισχυρισμός ότι δεν πρόκειται για φυτό υπερσυσσωρευτή του καδμίου και 3) η αυξανόμενη αλατότητα προκαλεί αύξηση της πρόσληψης του καδμίου από το φυτό όμως αυτή η αύξηση τελικά οδηγεί σε ξηρασία τα φυτά λόγω τοξικότητας από το μέταλλο.

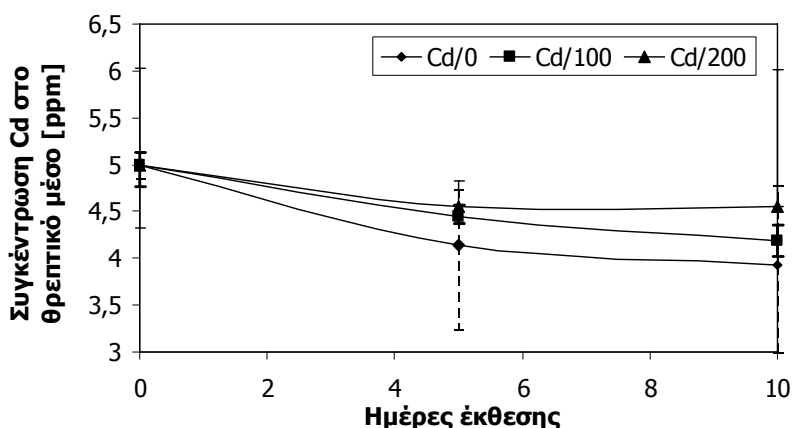
Οι συγκεντρώσεις του μετάλλου στις ρίζες των φυτών παρουσίασαν ιδιαίτερα υψηλές τιμές (Σχήμα 5.86) και παρόλο που αναμένονταν μεγάλες συγκεντρώσεις στις ρίζες και μάλιστα αυξανόμενες λόγω της αυξανόμενης αλατότητας, δεν θεωρείται πιθανό

να συσσωρεύονται στους φυτικούς ιστούς τόσο υψηλά επίπεδα καδμίου. Συμπεραίνεται συνεπώς ότι εκτός από πρόσληψη του μετάλλου από τις ρίζες, έλαβε χώρα και προσρόφηση του πάνω στις ρίζες, οπότε δεν μπορούν να εξαχθούν βάσιμα συμπεράσματα για την συσσώρευση του στις ρίζες του φυτού. Εξάλλου όπως προαναφέρθηκε και στο προηγούμενο πείραμα με το εν λόγω φυτό σε έκθεση σε μόλυβδο (Παράγραφος 5.3.1), η καλλιέργεια φυτών με την μέθοδο της υδροπονίας για σκοπούς φυτοσυσσώρευσης, είναι ικανή να δώσει μόνο κάποια αρχικά συμπεράσματα όσον αφορά την ικανότητα του φυτού να προσλαμβάνει τα μέταλλα γιατί δεν επιτρέπει την διάκριση μεταξύ φυτών υπερσυσσωρευτών και μη-υπερσυσσωρευτών με βάση την συγκέντρωση του μετάλλου στη βιομάζα λόγω της επίδρασης των διεργασιών βιορόφησης (Nedelkoska and Doran, 2000, Boominathan and Doran, 2003). Επιπρόσθετα, όπως είναι εμφανές στο Σχήμα 5.86, η συγκέντρωση του μετάλλου στις ρίζες μειώνεται σημαντικά όσο αυξάνεται η συγκέντρωση άλατος στο θρεπτικό διάλυμα όπως ακριβώς παρατηρήθηκε και στο ανάλογο υδροπονικό πείραμα με έκθεση σε μόλυβδο και αυτό το γεγονός ίσως φανερώνει μια εξάρτηση της έκτασης που λαμβάνει χώρα η προσρόφηση του μετάλλου από την συγκέντρωση του χλωριούχου νατρίου στο θρεπτικό διάλυμα, πιθανόν λόγω αντικατάστασης των ιόντων καδμίου στις θέσεις προσρόφησης από τα ιόντα νατρίου είτε λόγω του ότι όπως έχει αναφερθεί σε άλλες μελέτες, τα ιόντα χλωρίου ως υποκατάστατες, σχηματίζουν σύμπλοκα με το κάδμιο τα οποία έχουν χαμηλές ικανότητες προσρόφησης (Martin and Kaplan, 1998).



Σχήμα 5.86. Συγκέντρωση του Cd [mg/kg ξηρού βάρους] στις ρίζες του *Tamarix smyrnensis* σε υδροπονική καλλιέργεια με 5 ppm Cd σε διαφορετικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.87, η συγκέντρωση του καδμίου στο θρεπτικό διάλυμα καλλιέργειας των φυτών μειωνόταν κατά την διάρκεια των 10 ημερών τουλάχιστον για τις επεμβάσεις με τις χαμηλές συγκεντρώσεις άλατος (Cd/0 και Cd/0,5) φθάνοντας περίπου τα 4 ppm. Επομένως από την ολική ποσότητα του καδμίου που προστέθηκε στο θρεπτικό μέσο τα φυτά πήραν περίπου το 20%. Στην επέμβαση με την υψηλή αλατότητα παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης του καδμίου μέχρι την πέμπτη ημέρα όμως δεν παρατηρείται περαιτέρω μείωση με την πάροδο του χρόνου γεγονός που εξηγείται προφανώς από το ότι τα φυτά αυτής της επέμβασης ξεράθηκαν μέχρι την 4^η ημέρα.

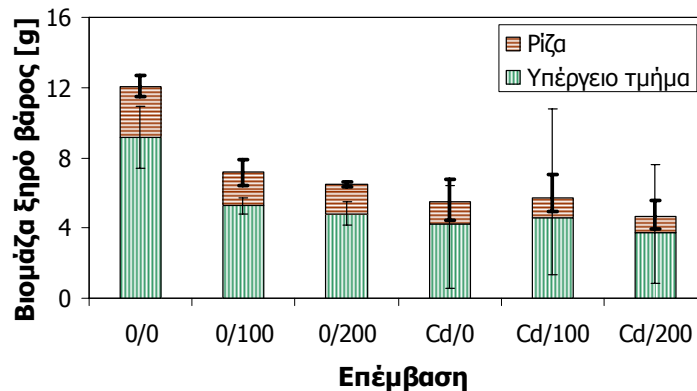


Σχήμα 5.87. Μείωση της συγκέντρωσης του Cd στο θρεπτικό διάλυμα. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

5.3.2.3. Επίδραση του καδμίου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο οι πολύ υψηλές συγκεντρώσεις καδμίου στο φυτικό ιστό αποβήκαν τοξικές για τα φυτά *Tamarix* οδηγώντας τα πολύ σύντομα σε θάνατο πριν την προγραμματισμένη λήξη του πειράματος. Πιο συγκεκριμένα, τα φυτά της επέμβασης με την συγκέντρωση άλατος 200 mM (Cd/200) ξεράθηκαν μέχρι την τέταρτη ημέρα έκθεσης, τα φυτά της επέμβασης με 100 mM άλατος (Cd/100) μέχρι την πέμπτη ημέρα έκθεσης και τα φυτά της επέμβασης χωρίς προσθήκη NaCl (Cd/0) μέχρι την έκτη ημέρα έκθεσης. Αυτό το γεγονός εξηγείται από την γνώση ότι υψηλές συγκεντρώσεις καδμίου προκαλούν την παρεμπόδιση της αύξησης και της ανάπτυξης και ακόμη και το θάνατο των φυτών λόγω της μείωσης της ενζυμικής δραστηριότητας, της φωτοσύνθεσης, της αναπνοής, της διαπνοής, και της πρόσληψης θρεπτικών συστατικών (Orcutt and Nilsen, 2000, Cho and Seo, 2005). Επιπλέον, πρέπει να προστεθεί ότι τα φυτά της ομάδας ελέγχου με συγκέντρωση άλατος 200 mM (0/200) ξεράθηκαν πριν από το τέλος της πειραματικής περιόδου (6^η ημέρα) λόγω της τοξικότητας από την υψηλή συγκέντρωση NaCl όπως παρουσιάζεται και στο Σχήμα 5.84A όπου δίνεται η επί τοις εκατό επιβίωση των φυτών μετά από την έκθεσή τους στους δυο παράγοντες καταπόνησης για 10 ημέρες. Συμπερασματικά λοιπόν, μπορεί να υποστηριχτεί ότι μεγαλύτερη αρνητική επίδραση στα φυτά επέφερε η παρουσία του καδμίου, ακολουθούμενη από τις υψηλές συγκεντρώσεις NaCl στο θρεπτικό μέσο, ενώ η συνέργεια των δύο παραγόντων καταπόνησης είχε την μέγιστη αρνητική επίδραση στα φυτά.

Κατά συνέπεια, όπως ήταν αναμενόμενο από τις παραπάνω παρατηρήσεις, και η αύξηση των φυτών εκφρασμένη ως βιομάζα βρέθηκε να επηρεάζεται από την παρουσία του καδμίου και του NaCl (Σχήμα 5.88). Παρουσίασε σημαντική μείωση λόγω της παρουσίας του μετάλλου όπως παρατηρείται από την σύγκριση μεταξύ της επέμβασης με την προσθήκη Cd αλλά χωρίς προσθήκη άλατος (Cd/0) και της αντίστοιχης ομάδας ελέγχου (0/0). Το ίδιο συμπέρασμα εξάγεται και από την σύγκριση μεταξύ των ομάδων με ίδια συγκέντρωση NaCl. Επιπλέον, παρατηρείται ότι και η παρουσία του χλωριούχου νατρίου είχε αρνητική επίδραση στην βιομάζα των φυτών από την σύγκριση μεταξύ και



Σχήμα 5.88. Βιομάζα του *Tamarix smyrnensis* σε υδροπονική καλλιέργεια με 5 ppm Cd σε διαφορετικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

των ομάδων ελέγχου μεταξύ τους αλλά και των επεμβάσεων με κάδμιο μεταξύ τους. Όμως στην τελευταία περίπτωση των επεμβάσεων με κάδμιο η αρνητική επίδραση του NaCl παρουσιάζεται να είναι μικρότερης έκτασης σε σχέση με τις ομάδες ελέγχου, αλλά το γεγονός αυτό ίσως οφείλεται στο ότι τα φυτά των επεμβάσεων με κάδμιο ξεράθηκαν πολύ γρήγορα με αποτέλεσμα να μην προλάβουν να επιδείξουν την ανάλογη έκταση της επίδρασης του χλωριούχου νατρίου. Τέλος, συγκρίνοντας τα παρόντα αποτελέσματα με τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν με το *T. smyrnensis* σε καλλιέργεια σε έδαφος ρυπασμένο με κάδμιο και μείγμα μολύβδου και καδμίου (Παράγραφοι 5.3.3 και 5.3.4) όπου και στις δύο περιπτώσεις δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στην παραγόμενη βιομάζα λόγω των μετάλλων, συμπεραίνεται ότι η αρνητική επίδραση του καδμίου στην παρούσα περίπτωση οφείλεται στην κατά πολύ μεγαλύτερη συσσώρευση του μετάλλου στον φυτικό ιστό με αποτέλεσμα την τοξικότητα τους από αυτό. Και στις δύο προηγούμενες περιπτώσεις η συγκέντρωση του Cd στα υπέργεια τμήματα δεν ξεπέρασε τα 4 ppm σε καμία επέμβαση άλατος, ενώ στο παρόν πείραμα η συγκέντρωση σε όλες τις επεμβάσεις μετρήθηκε τουλάχιστον μια τάξη μεγέθους μεγαλύτερη. Αντίθετα τα παρόντα αποτελέσματα όσον αφορά την επίδραση της αλατότητας είναι σε απόλυτη συμφωνία με τα πειράματα που προαναφέρθηκαν.

5.3.3. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 16 ppm καδμίου σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες

5.3.3.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Στην έναρξη της κύριας πειραματικής φάσης, φυτά *Tamarix smyrnensis* που είχαν καλλιεργηθεί για 2,5 μήνες στην ίδια ποσότητα οργανικού υποστρώματος (620 g ξηρό βάρος) (βλ. Παράγραφο 4.1.1) διαιρέθηκαν σε 6 πειραματικές ομάδες με 6 φυτά για κάθε ομάδα – επέμβαση, έτσι ώστε η μέση βιομάζα κάθε ομάδας - επέμβασης να είναι συγκριτικά η ίδια. Το έδαφος ρυπάνθηκε τεχνητά με κάδμιο ως υδατικό διάλυμα $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ με μια δόση προσθήκης στο έδαφος καλλιέργειας ενώ η επιλεχθείσα συγκέντρωση του Cd για την ρύπανση του εδάφους ήταν 16 ppm (ξηρού βάρους εδάφους) (Πίνακας 5.45) δηλαδή δύο φορές υψηλότερη από την ανώτερη συγκέντρωση του μετάλλου στο έδαφος που θεωρείται τοξική για τα φυτά και η οποία κυμαίνεται από 3 έως 8 ppm ξηρού βάρους εδάφους (Orcutt and Nilsen, 2000).

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για 10 εβδομάδες (Ιούλιο - Σεπτέμβριο) (φωτογραφίες του πειράματος παρατίθενται στο Παράρτημα Ι) σε τοποθεσία ανοιχτή στον αέρα και τον ήλιο προκειμένου η καλλιέργεια να πραγματοποιηθεί σε όσο το δυνατόν ανάλογες συνθήκες με τις συνθήκες πεδίου. Ιδιαίτερη φροντίδα δόθηκε στο να μην επιτραπεί να ξεπλυθούν τα φυτά από πιθανή βροχή που θα είχε ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση του μετάλλου που πιθανόν να εκκρίνονταν στην επιφάνεια των φύλλων των φυτών, με χρήση πλαστικής κάλυψης που χρησιμοποιείται για την κατασκευή πλαστικών θερμοκηπίων.

Πίνακας 5.45. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Επέμβαση ("κωδικό όνομα")	Συγκέντρωση Cd που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση NaCl [%]
1	"0/0"	0	0
2	"0/0,5"	0	0,5
3	"0/3"	0	3
4	"Cd/0"	16	0
5	"Cd/0,5"	16	0,5
6	"Cd/3"	16	3

Η θερμοκρασία και η υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.46, ενώ η φωτοπερίοδος ήταν 13-14 ώρες. Τα φυτά ποτίζονταν κάθε 2 ή 3 ημέρες ανάλογα με την απαίτηση σε νερό και τις περιβαλλοντικές συνθήκες με περίπου 400 mL νερού βρύσης ή υδατικού διαλύματος NaCl σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.45) το οποίο διαιρούταν σε δύο ίσα μέρη. Το πρώτο μέρος

προσθέτονταν στο έδαφος καλλιέργειας προκειμένου να αποφευχθεί πιθανή υπερχείλιση του νερού με το μέταλλο και τα θρεπτικά από τις γλάστρες ενώ το δεύτερο μέρος προσθέτονταν στα πλαστικά πιάτα κάτω από κάθε γλάστρα για να διατηρεί επαρκή ποσότητα νερού κατά τη διάρκεια των ζεστών ημερών. Τα υδατικά διαλύματα χλωριούχου νατρίου για την άρδευση των φυτών προετοιμάστηκαν με βρώσιμο αλάτι θαλάσσης και νερό βρύσης.

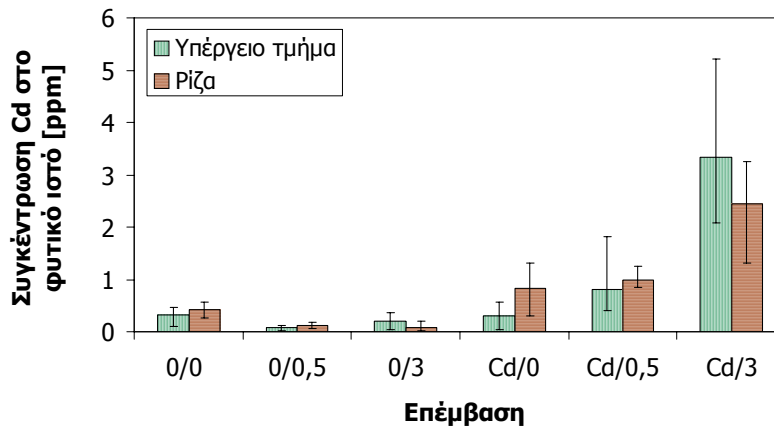
Πίνακας 5.46. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	19 - 30	24	60 - 75	68,4
Μεσημέρι	25 - 50	39,7	28 - 87	43,9

Μία φορά την εβδομάδα σε συγκεκριμένη μέρα και ώρα, πραγματοποιούνταν μετρήσεις του ύψους των υπέργειων τμημάτων προκειμένου να αξιολογηθεί ποσοτικά η φυσική κατάσταση των φυτών ενώ καταγράφονταν και οποιαδήποτε συμπτώματα τοξικότητας από το μέταλλο ή την αλατότητα παρατηρούνταν οπτικά. Με την λήξη των 10 εβδομάδων έκθεσης στο μέταλλο πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της συγκέντρωσης του μετάλλου στα φυτικά μέρη ενώ επιπλέον έλαβε χώρα και μέτρηση της ποσότητας του μετάλλου που εκκρίθηκε στην επιφάνεια των φύλλων του φυτού. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της βιομάζας και της περιεχόμενης χλωροφύλλης για τον έλεγχο της επίδρασης του μετάλλου και της αλατότητας στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού. Οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιήθηκαν για όλες τις παραπάνω πειραματικές μετρήσεις δίδονται στην Παράγραφο 4.1.3.

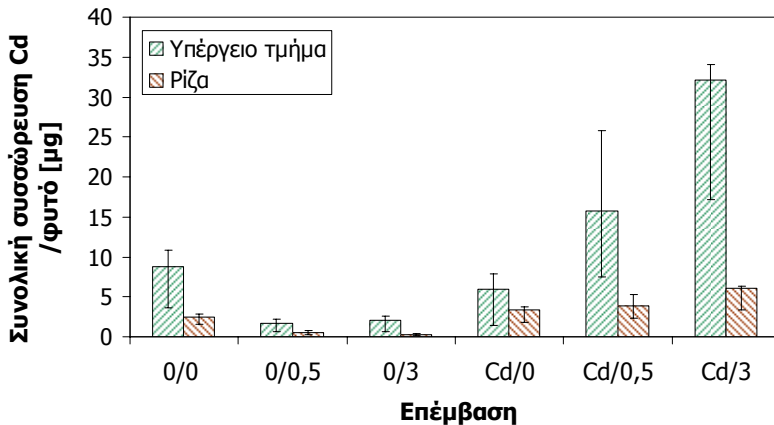
5.3.3.2. Συσσώρευση καδμίου στο φυτικό ιστό

Τα αποτελέσματα από αυτό το πείραμα προτείνουν ότι η αυξανόμενη αλατότητα αυξάνει τη πρόσληψη καδμίου από το *T. smyrnensis* όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.89. Η συσσώρευση του Cd στις ρίζες αυξάνεται με την αύξηση της αλατότητας φθάνοντας το ποσό των 2,45 ppm στην επέμβαση με την εδαφική αλατότητα 3% (Cd/3). Αντίστοιχα, και η συσσώρευση στα υπέργεια τμήματα αυξάνεται με την αύξηση της αλατότητας αγγίζοντας στο ποσό των 3,3 ppm στην επέμβαση με την αλατότητα 3% (Cd/3). Παρόλα αυτά, οι συγκεντρώσεις του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα που θεωρούνται τοξικές για το φυτό και οι οποίες είναι 5 - 30 ppm ξηρού βάρους, δεν ξεπεράστηκαν (Orcutt and Nilsen, 2000). Το ίδιο συμπέρασμα εξάγεται με την εξέταση της συνολικής απομάκρυνσης του καδμίου (φυτοσυσσώρευση) από το φυτό όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.90. Στην επέμβαση χωρίς προσθήκη άλατος η συνολική συσσώρευση καδμίου από ολόκληρο το φυτό είναι 9,4 μg (Cd/0), στην επέμβαση με εδαφική αλατότητα 0,5% (Cd/0,5) η συσσώρευση είναι 19,7 μg ενώ για τα φυτά που



Σχήμα 5.89. Συγκέντρωση καδμίου [mg/kg ξηρού βάρους] στα φυτικά μέρη του *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

καλλιεργήθηκαν με την αλατότητα 3% (Cd/3) η συσσώρευση είναι 38,3 μg . Ως εκ τούτου, είναι προφανές ότι το συνολικό Cd που συσσωρεύεται σε ολόκληρο το φυτό τετραπλασιάζεται όταν η εδαφική αλατότητα αυξάνεται από 0 σε 3%.



Σχήμα 5.90. Συνολικό ποσό Cd στα φυτικά μέρη του *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε με 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 4$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Αυτά τα αποτελέσματα είναι σε γενική συμφωνία με άλλους ερευνητές που βρήκαν αυξημένες συγκεντρώσεις καδμίου σε φυτά όπως το σιτάρι (*Triticum aestivum* L.) (Norvell et al., 2000, Weggler-Beaton et al., 2000, Weggler et al., 2004), το κριθάρι (*Hordeum vulgare* L.) (Wahla and Kirkham, 2007), τον ηλιάνθο (*Helianthus annuus* L.) (Li et al., 1994), το παντζάρι (*Beta vulgaris* L.) (Bingham et al., 1983, Smolders et al.,

1998, Weggler-Beaton et al., 2000) και το *Potamogeton pectinatus* (Greger et al., 1995) υπό συνθήκες αλατότητας και κατέληξαν στην υπόθεση ότι οφείλεται στην αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας του μετάλλου στο έδαφος κυρίως λόγω σχηματισμού διαλυτών συμπλόκων του με το χλώριο και άρα στην μείωση της προσρόφησης των μεταλλικών ιόντων στα σωματίδια του εδάφους (Bingham et al., 1983, Li et al., 1994, Greger et al., 1995, Martin and Kaplan, 1998, Smolders et al., 1998, Norvell et al., 2000, Weggler-Beaton et al., 2000, Weggler et al., 2004, Adriano et al., 2004, Kirkham, 2006, Wahla and Kirkham, 2007) αλλά και ίσως στην αντικατάσταση των προσροφημένων ιόντων Cd στις θέσεις πρόσδεσης από τα Na^+ (Bingham et al., 1983, Greger et al., 1995, Ghosh and Singh, 2005, Wahla and Kirkham, 2007) αν και τα μονοσθενή κατιόντα όπως το νάτριο είναι σχετικά μη αποδοτικά στην αντικατάσταση δισθενών κατιόντων όπως για παράδειγμα το κάδμιο, ακόμα και σε σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις (Smolders et al., 1998, Norvell et al., 2000).

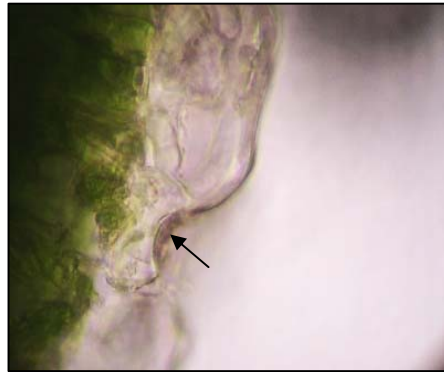
Στο Σχήμα 5.89 επιπλέον παρατηρείται ότι η αλατότητα επιδρά σημαντικά στη μετακίνηση του Cd από τις ρίζες στα εναέρια μέρη των φυτών. Αυτή η παρατήρηση είναι επίσης εμφανής από τον λόγο συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας που αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του άλατος στο έδαφος από 0,35 για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε μη αλατούχο περιβάλλον (Cd/0), σε 0,82 για την επέμβαση με την αλατότητα 0,5% (Cd/0,5) και τελικά φθάνοντας την τιμή του 1,4 για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν με την αλατότητα 3% (Cd/3). Τα παρόντα αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με ανάλογες μελέτες στο φυτό *Aster tripolium* όπου αποδείχτηκε ότι η αλατότητα αποτελεί ένα βασικό παράγοντα στη μετακίνηση των μετάλλων από τη ρίζα στο υπέργειο τμήμα (Fitzgerald et al., 2003) και ομοίως αυτά τα αποτελέσματα υποστηρίζουν ότι με αύξηση της εδαφικής αλατότητας, η συγκέντρωση του καδμίου στο *Tamarix smyrnensis* αυξάνει, και επιπλέον ενισχύεται και η μετακίνηση του μετάλλου από τις ρίζες στα εναέρια μέρη των φυτών.

5.3.3.3. Έκκριση καδμίου από τα φύλλα του *T. smyrnensis*

Όπως προαναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 2, η έκκριση αλάτων μέσω εξειδικευμένων αλατωδών αδένων θεωρείται ένας σημαντικός μηχανισμός που συμβάλλει στην αυξημένη ανθεκτικότητα των αλόφυτων στην αλατότητα. Τα ανθεκτικά στην αλατότητα φυτά προσαρμόζονται στα αλατούχα εδάφη με βάση δύο διαφορετικές στρατηγικές: την *ανθεκτικότητα* στα άλατα, η οποία ουσιαστικά είναι η ικανότητα να ανταπεξέρχεται το φυτό στην παρουσία υψηλών ενδοκυτταρικών συγκεντρώσεων αλάτων και την *αποφυγή* των αλάτων, όπου είτε τα άλατα αποκλείονται στο εξωτερικό περιβάλλον των ριζών, είτε πραγματοποιείται έκκριση των τοξικών ιόντων που εισέρχονται μέσα στο φυτό μέσω εξειδικευμένων αλατωδών αδένων. Η κύρια λειτουργία αυτών των εξειδικευμένων αδένων είναι η έκκριση των ιόντων που προκαλούν υπερβολική καταπόνηση στα φυτά (Ramadan, 1998, Καραμπουρνιώτης, 2003). Στην Εικόνα 5.3 παρουσιάζεται η εγκάρσια τομή της επιφάνειας του φύλλου του *Tamarix smyrnensis* με τον εξειδικευμένο αδέν.

Η εκλεκτικότητα είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό γνώρισμα επειδή η τυχαία ή η μη εκλεκτική έκκριση ανατρέπει την ισορροπία των θρεπτικών στα φυτά (Ramadan, 1998). Εντούτοις, μελέτες με το φυτό *Tamarix aphylla* έχουν δείξει ότι οι εξειδικευμένοι αλατώδεις αδένες εκκρίνουν μια ποικιλία ιόντων εκτός από το νάτριο και το χλώριο και τα δισθενή κατιόντα ήταν τα σημαντικότερα συστατικά του προϊόντος έκκρισης των

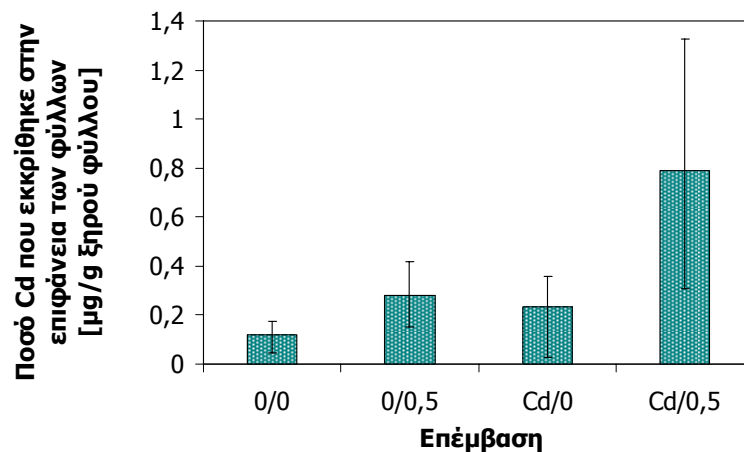
φυτών *Tamarix* (Storey and Thomson, 1994). Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι οι αδένες των ειδών *Tamarix* δεν είναι εκλεκτικοί και η σύσταση των αλάτων που εκκρίνονται συσχετίζεται με τη σύσταση του περιβάλλοντος της ρίζας (Hagemeyer and Waisel, 1988, Storey and Thomson, 1994).



Εικόνα 5.3. Εγκάρσια τομή φύλλου του *T. smyrnensis* με τον εξειδικευμένο αλατώδη αδένά (με το βέλος) (Μεγένθυση 400x, οπτικό μικροσκόπιο LEICA DMLS).

Η μελέτη αυτή υποστηρίζει ότι το *Tamarix smyrnensis* εκκρίνει κάδμιο το οποίο συνδέεται με κρυστάλλους άλατος που εκκρίνονται από τους εξειδικευμένους αλατώδεις αδένες επιβεβαιώνοντας το γεγονός ότι οι αδένες του συγκεκριμένου φυτού δεν είναι εκλεκτικοί και η σύσταση των αλάτων που εκκρίνονται συσχετίζεται με τη σύσταση του περιβάλλοντος της ρίζας. Επιπλέον, θα μπορούσε να προταθεί ότι οι χαμηλές συγκεντρώσεις του καδμίου στα υπέργεια τμήματα των φυτών θα μπορούσαν να συνδεθούν με αυτό τον μηχανισμό έκκρισης επιτρέποντας στα φυτά να αντιμετωπίζουν την τοξικότητα του μετάλλου. Επιπρόσθετα, όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.91, η έκκριση του καδμίου αυξάνεται με την αύξηση της εδαφικής αλατότητας. Η συγκέντρωση του Cd που εκκρίνεται από τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε εδαφική αλατότητα 0,5% (Cd/0,5) είναι 3,4 φορές μεγαλύτερη από εκείνη των φυτών που καλλιεργήθηκαν σε έδαφος στο οποίο δεν είχε προστεθεί NaCl, ενώ πρέπει να αναφερθεί ότι τα αποτελέσματα της επέμβασης με την αλατότητα 3% (Cd/3) δεν συμπεριλαμβάνονται στα συμπεράσματα λόγω του ότι τα φυτά αυτά ξεράθηκαν πριν από το τέλος της πειραματικής περιόδου λόγω της τοξικότητας που επέφερε η αλατότητα.

Όπως συζητήθηκε νωρίτερα, η έκκριση των μετάλλων μαζί με τα άλατα από τον ιστό των φύλλων επάνω στην επιφάνεια τους είναι μια στρατηγική που υιοθετείται από διάφορα φυτά για να αντιμετωπίσουν την τοξικότητα των μετάλλων (Hagemeyer and Waisel, 1988, Kraus, 1988, Neumann et al., 1995, MacFarlane and Burchett, 2000, Weis and Weis, 2004). Είναι λοιπόν φανερό ότι τα παρόντα αποτελέσματα είναι σύμφωνα με αυτές τις μελέτες και επιπλέον επιβεβαιώνουν την πρόταση ότι υπάρχει μεγαλύτερη έκκριση μετάλλων στις υψηλότερες αλατότητες όπου πραγματοποιείται περισσότερη έκκριση αλάτων. Από τις ανωτέρω παρατηρήσεις, λοιπόν, προκύπτει το συμπέρασμα ότι το *Tamarix smyrnensis* ίσως έχει ένα μοναδικό πλεονέκτημα για εφαρμογές φυτοεξυγίανσης αφού η συνολική απομάκρυνση του καδμίου από το έδαφος ενισχύεται λόγω της συνδυασμένης επίδρασης της έκκρισης και της συσσώρευσης.



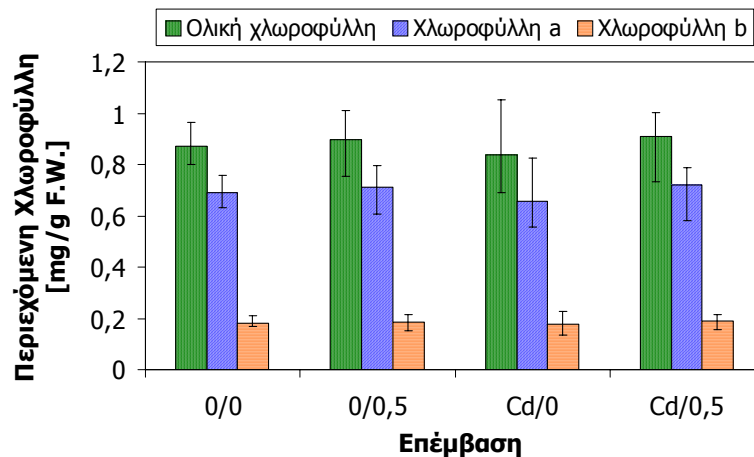
Σχήμα 5.91. Έκκριση καδμίου από τον ιστό των φύλλων του *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 6$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

5.3.3.4. Επίδραση του καδμίου και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

Η παρουσία των βαρέων μετάλλων συνήθως έχει επιπτώσεις στην υγεία των φυτών. Έχει προταθεί ότι το κάδμιο παρεμβαίνει στην βιοσύνθεση την χλωροφύλλης και η μείωση της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη μπορεί στη συνέχεια να οδηγήσει τουλάχιστον εν μέρει σε μείωση του μήκους του βλαστού και της βιομάζα (Orcutt and Nilsen, 2000). Επιπρόσθετες μελέτες έχουν αποκαλύψει ότι το κάδμιο ανταγωνίζεται τη πρόσληψη και τη μεταφορά απαραίτητων στοιχείων για το φυτό όπως τον χαλκό και τον ψευδάργυρο και τα αντικαθιστά στις ενζυμικές αντιδράσεις που απαιτούνται στο RNA, το DNA και τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών (Orcutt and Nilsen, 2000, Cho and Seo, 2005). Κατά συνέπεια, αυτές οι ελλείψεις σε απαραίτητα στοιχεία θα μπορούσαν να είναι μια από τις εξηγήσεις για τη μείωση της αύξησης του φυτού κατά την έκθεση του σε Cd.

Σε αυτή την μελέτη βρέθηκε ότι το *Tamarix smyrnensis* δεν ανέπτυξε καμία ορατή ένδειξη τοξικότητας από το μέταλλο. Αντίθετα, παρατηρήθηκαν συμπτώματα τοξικότητας από την αλατότητα. Τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε αλατούχο περιβάλλον παρουσίασαν ξηρά κάτω κλαδιά γεγονός που συνδέεται με την τοξικότητα από την αλατότητα. Επιπλέον, όλα τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε αλατότητα 3% (0/3 και Cd/3) ξεράθηκαν πριν από το τέλος της πειραματικής περιόδου. Επιπρόσθετα, τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών του φυτού δεν βρέθηκαν να μεταβάλλονται λόγω του καδμίου ή της αλατότητας. Οι συγκεντρώσεις της ολικής χλωροφύλλης, της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από την παρουσία του Cd και την χαμηλή εδαφική αλατότητα όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.92. Επιπλέον, αναφορές υποστηρίζουν ότι το κάδμιο εκτός από την παρεμπόδιση που προκαλεί στην σύνθεση της χλωροφύλλης, έχει βρεθεί να μεταβάλλει και την αναλογία μεταξύ της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* του συμπλόκου συλλογής του φωτός II (light-harvesting complex II-LHCII) (Orcutt and Nilsen, 2000). Όμως όπως παρουσιάζεται στον

Πίνακας 5.47, ούτε και η αναλογία χλωροφύλλης a/b παρουσίασε σημαντική μεταβολή λόγω της παρουσίας του καδμίου ή της εδαφικής αλατότητας.

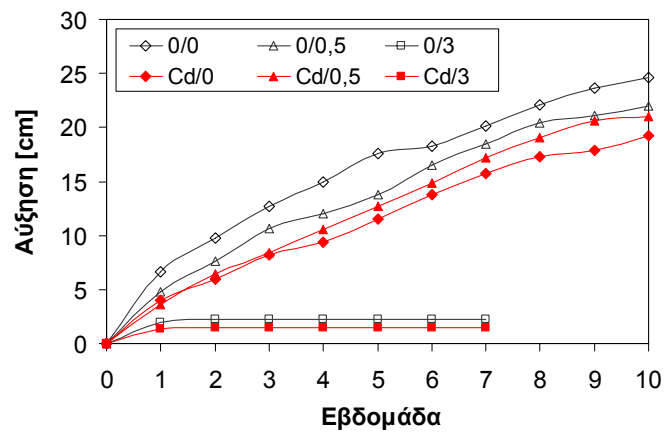


Σχήμα 5.92. Περιεχόμενη χλωροφύλλη [mg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 6$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

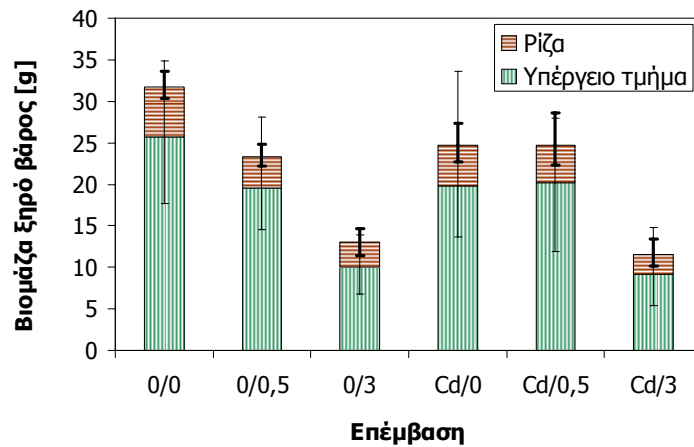
Πίνακας 5.47. Αναλογία χλωροφύλλης a/b στο *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.

Επέμβαση	Αναλογία χλωροφύλλης a/b
0/0	3,79
0/0,5	3,82
Cd/0	3,69
Cd/0,5	3,78

Επιπλέον, η αύξηση των φυτών που εκφράζεται ως μήκος υπέργειων τμημάτων όπου παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.93 και βιομάζα όπου παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.94, δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την προσθήκη καδμίου στο έδαφος. Αντ' αυτού, υπάρχει ένας προφανής συσχετισμός μεταξύ της αύξησης της αλατότητας και της μείωσης της βιομάζας και αύξησης του *Tamarix* εκτός από την περίπτωση όπου δεν προστέθηκε άλας (Cd/0). Το γεγονός ότι η αυξανόμενη αλατότητα προκάλεσε μείωση της αύξησης των φυτών αλλά όχι μείωση της περιεχόμενης χλωροφύλλης έχει παρατηρηθεί επίσης στο φυτό *Tamarix ramosissima* το οποίο παρουσίασε μια χαρακτηριστική μείωση στην αύξηση λόγω της αλατότητας αλλά καμία μείωση στην φωτοσύνθεση σε ένα εύρος αλατότητας από 0 έως 200 mM NaCl. Εξήχθη το συμπέρασμα ότι η αλατότητα είχε δυσμενείς επιπτώσεις στην αύξηση του φυτού λόγω της μεταβολής της ενέργειας από την επιτάχυνση της αναπνευστικής δραστηριότητας και την άντληση άλατος (Glenn et al., 1998).



Σχήμα 5.93. Μέση αύξηση ($n = 6$) του *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.



Σχήμα 5.94. Βιομάζα του *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 6$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

5.3.4. Καλλιέργεια του φυτού σε έδαφος ρυπασμένο με 800 ppm μολύβδου και 16 ppm καδμίου σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες

5.3.4.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Κατά την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας, 8 μηνών φυτά *Tamarix smyrnensis* που είχαν αναπτυχθεί στην ίδια ποσότητα οργανικού υποστρώματος (650 g ξηρό βάρος) (βλ. Παράγραφο 4.1.1) διαιρέθηκαν σε 6 πειραματικές ομάδες με 5 φυτά για κάθε ομάδα – επέμβαση, έτσι ώστε κάθε ομάδα - επέμβαση να έχει συγκριτικά ανάλογη μέση βιομάζα. Η ρύπανση του εδάφους καλλιέργειας με τα μέταλλα πραγματοποιήθηκε με προσθήκη ξεχωριστών υδατικών διαλυμάτων $Pb(NO_3)_2$ και $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$. Οι συγκεντρώσεις του Pb και του Cd στο έδαφος που επιλέχθηκαν για την διεξαγωγή αυτού του πειράματος ήταν 800 και 16 mg/kg ξηρού βάρους εδάφους, αντίστοιχα, όπως παρουσιάζεται και στον Πίνακα 5.48 όπου δίδεται ο πειραματικός σχεδιασμός, δηλαδή σε συγκεντρώσεις διπλάσιες των ανώτερων οριακών τιμών των μετάλλων στο έδαφος που θεωρούνται τοξικές για τα φυτά και οι οποίες είναι για το μόλυβδο 100 - 400 και για το κάδμιο 3 - 8 ppm ξηρού βάρους εδάφους (Orcutt and Nilsen, 2000).

Πίνακας 5.48. Πειραματικός σχεδιασμός.

Αριθμός Επέμβασης	Επέμβαση ("κωδικό όνομα")	Συγκέντρωση Pb που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση Cd που προστέθηκε στο έδαφος [mg/kg ξηρού βάρους]	Συγκέντρωση NaCl [%]
1	"0/0"	0	0	0
2	"0/0,5"	0	0	0,5
3	"0/3"	0	0	3
4	"Pb+Cd/0"	800	16	0
5	"Pb+Cd/0,5"	800	16	0,5
6	"Pb+Cd/3"	800	16	3

Η έναρξη του πειράματος πραγματοποιήθηκε στα τέλη Μαΐου και διάρκεσε για 10 εβδομάδες σε περιοχή ανοιχτή στον αέρα και τον ήλιο προκειμένου η καλλιέργεια να πραγματοποιηθεί σε ανάλογες συνθήκες με τις συνθήκες πεδίου (φωτογραφίες του πειράματος παρατίθενται στο Παράρτημα Ι). Ιδιαίτερη φροντίδα δόθηκε στο να μην επιτραπεί να ξεπλυθούν τα φυτά από τη βροχή που θα είχε ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση των μετάλλων που πιθανόν να εκκρίνονταν στην επιφάνεια των φύλλων, με χρήση πλαστικού καλύμματος που χρησιμοποιείται στα πλαστικά θερμοκήπια.

Η φωτοπερίοδος κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν 14 - 15 ώρες (μεγαλύτερη στις πρώτες πειραματικές εβδομάδες) ενώ μετρήσεις της θερμοκρασίας και της υγρασίας

λαμβάνονταν δύο φορές ημερησίως, στις 9:30 π.μ. και 2:30 μ.μ., και οι μέσες τιμές τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.49. Τα φυτά ποτίζονταν κάθε 2 ή 3 ημέρες ανάλογα με τις απαιτήσεις και τις περιβαλλοντικές συνθήκες με νερό βρύσης ή υδατικό διάλυμα NaCl σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.48). Τα υδατικά διαλύματα NaCl για την άρδευση των φυτών προετοιμάστηκαν με βρώσιμο αλάτι θαλάσσης και νερό βρύσης ενώ η ποσότητα του νερού ή του αλατούχου διαλύματος που χρησιμοποιούνταν σε κάθε πότισμα ήταν περίπου 400 mL το οποίο διαιρούταν σε δύο ίσα μέρη. Το πρώτο μέρος προσθέτονταν στο έδαφος καλλιέργειας προκειμένου να αποφευχθεί πιθανή υπερχείλιση του νερού με το μέταλλο και τα θρεπτικά από τις γλάστρες ενώ το δεύτερο μέρος προσθέτονταν στα πλαστικά πιάτα κάτω από κάθε γλάστρα για να διατηρεί επαρκή ποσότητα νερού κατά τη διάρκεια των ζεστών ημερών.

Πίνακας 5.49. Θερμοκρασία και υγρασία κατά την διάρκεια του πειράματος.

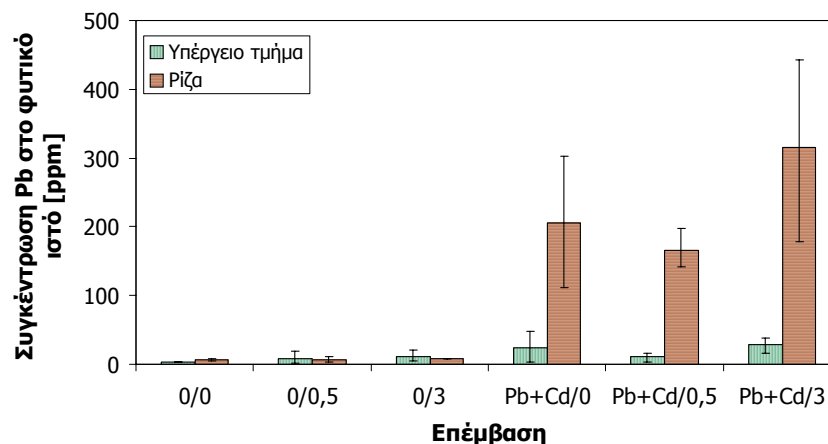
	Θερμοκρασία [°C]		Υγρασία [%]	
	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή
Πρωί	19 - 37	29,2	37 - 70	54,2
Μεσημέρι	27 - 47	38,5	18 - 54	34,7

Σε όλη την διάρκεια του πειράματος πραγματοποιούνταν οπτική παρατήρηση και καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών των φυτών έτσι ώστε να εντοπιστούν οποιαδήποτε συμπτώματα τοξικότητας από τα μέταλλα και την αλατότητα. Επίσης μια φορά την εβδομάδα σε συγκεκριμένη μέρα και ώρα, ελάμβαναν χώρα μετρήσεις του ύψους των υπέργειων τμημάτων προκειμένου να παρατηρηθεί και να αξιολογηθεί και ποσοτικά η φυσική κατάσταση των φυτών. Με την λήξη των 10 εβδομάδων έκθεσης στα μέταλλα πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της συγκέντρωσης του μολύβδου και του καδμίου στα φυτικά μέρη ενώ επιπλέον έλαβε χώρα και μέτρηση της ποσότητας των μετάλλων που εκκρίθηκαν στην επιφάνεια των φύλλων του φυτού. Επιπρόσθετα, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της περιεχόμενης χλωροφύλλης και της βιομάζας για τον έλεγχο της επίδρασης των μετάλλων και της αλατότητας στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού. Οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιήθηκαν για όλες τις παραπάνω μετρήσεις παρέχονται στην Παράγραφο 4.1.3.

5.3.4.2. Συσσώρευση μετάλλων στο φυτικό ιστό

5.3.4.2.1. Μόλυβδος

Όπως είναι φανερό από το Σχήμα 5.95, η κύρια περιοχή συσσώρευσης του μολύβδου είναι οι ρίζες του *T. smyrnensis*. Η συσσώρευση του μετάλλου στις ρίζες κυμάνθηκε από 90% ως 94% του συνολικού μολύβδου που συσσωρεύθηκε από ολόκληρο το φυτό. Η συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα ήταν σημαντικά χαμηλότερη από ότι στις ρίζες ενώ σε καμιά από τις επεμβάσεις οι



Σχήμα 5.95. Συγκέντρωση μολύβδου [mg/kg ξηρού βάρους] στα φυτικά μέρη του *T. smyrnensis* που καλλιεργήθηκε με 800 ppm Pb και 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

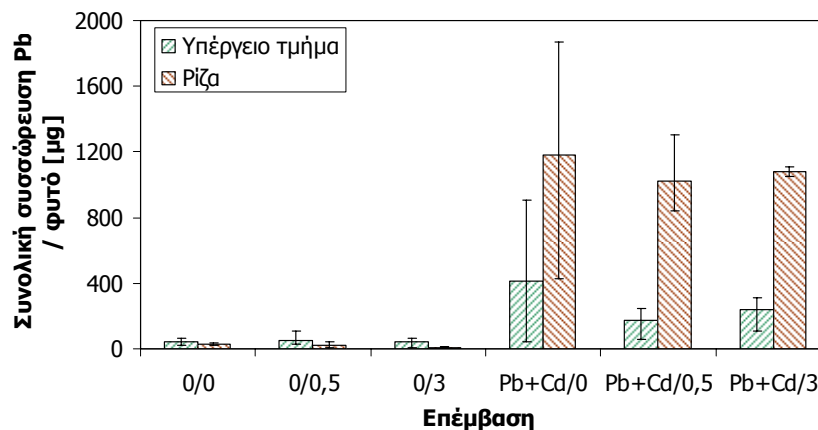
συγκεντρώσεις του δεν ξεπέρασαν τα επίπεδα που θεωρούνται τοξικά για τα φυτά και τα οποία είναι 30 - 300 ppm ξηρού βάρους. Εντούτοις, ξεπεράστηκαν οι συγκεντρώσεις που θεωρούνται φυσιολογικές για τα φυτά, δηλ. οι συγκεντρώσεις μετάλλου στα φύλλα οι οποίες δεν προκαλούν οποιαδήποτε αλλαγή ή βλάβη (5 - 10 mg/kg ξηρού βάρους) (Orcutt and Nilsen, 2000).

Αυτά τα αποτελέσματα είναι σε απόλυτη συμφωνία με προηγούμενες μελέτες άλλων ερευνητών του εν λόγω φυτού σε καλλιέργεια σε έδαφος ρυπασμένο μόνο με Pb (Kadukova and Kalogerakis, 2007). Γενικότερα έχει αποδειχτεί ότι συνήθως οι ρίζες συσσωρεύουν πολύ μεγαλύτερες ποσότητες μολύβδου από τα εναέρια τμήματα των φυτών (Wozny, 1995). Για παράδειγμα έρευνες με το φυτό *Brassica juncea* L. κατέδειξαν ότι περίπου το 90% της συσσώρευσης του Pb πραγματοποιείται στις ρίζες (Kumar et al., 1995). Επίσης έχει βρεθεί ότι στα φυτά που αναπτύσσονται σε ρυπασμένα με μόλυβδο εδάφη η μετακίνηση του Pb από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα είναι λιγότερη από το 30% ακόμη και για τα είδη με τις μεγαλύτερες δυνατότητες μετακίνησης (*Begonia* et al., 1998). Κατά συνέπεια, οι μεγάλες διαφορές στη συσσώρευση μολύβδου μεταξύ των ριζών και των εναέριων τμημάτων φανερώνουν ένα ισχυρό περιορισμό στην εσωτερικής μεταφοράς του μολύβδου από τις ρίζες προς τα κλαδιά και τα πράσινα φύλλα (Kumar et al., 1995, *Begonia* et al., 1998, Kadukova and Kalogerakis, 2007).

Επιπλέον, η υψηλότερη συγκέντρωση μολύβδου στις ρίζες αλλά και στα υπέργεια τμήματα παρουσιάστηκε στα φυτά που μεταχειρίστηκαν με υφάλμυρο νερό 3% (Pb+Cd/3) αν και τα φυτά αυτής της ομάδας οδηγήθηκαν σε θάνατο πριν από το τέλος του πειράματος λόγω της τοξικότητας που επέφερε η υψηλή εδαφική αλατότητα. Η αλατότητα έχει αποδειχτεί ότι μπορεί να επηρεάσει τη συσσώρευση των μετάλλων στα φυτά. Κατά το παρελθόν ερευνητές βρήκαν αυξημένες συγκεντρώσεις μετάλλων στα περισσότερα φυτικά τμήματα κάτω από συνθήκες υψηλής αλατότητας (Bingham et al., 1983, Li et al., 1994, Greger et al., 1995, Smolders et al., 1998, Weggler-Beaton et al., 2000, Norvell et al., 2000, Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003, Weggler et al., 2004, Wahla and Kirkham, 2007). Για παράδειγμα, μελέτες με το φυτό *A. tripolium* έχουν δείξει ότι η αύξηση της αλατότητας επιφέρει αύξηση της συσσώρευσης του μολύβδου από το

φυτό (Fitzgerald et al., 2003). Επιπρόσθετα, ένας δεύτερος λόγος που συνηγορεί στις αυξημένες συγκεντρώσεις του μετάλλου στα φυτά *Tamarix* που μεταχειρίστηκαν με εδαφική αλατότητα 3% (Pb+Cd/3) θα μπορούσε να είναι ένας πιθανός εσωτερικός μηχανισμός αποτοξίνωσης κατά τον οποίο τα φυτά μεταφέρουν τις τοξικές ουσίες στα ξηρά μέρη του φυτού. Ανάλογα συμπεράσματα εξήχθησαν για το φυτό *Armeria maritima* το οποίο βρέθηκε να συσσωρεύει μεγαλύτερα ποσά Pb, Cd, Cu και Zn στα καφέ φύλλα του από ότι στα πράσινα (Dahmani-Muller et al., 2000), ενώ επιπλέον έχει προταθεί ότι η μεταφορά των μετάλλων στα γηράσκοντα φύλλα και η πτώση τους ίσως λειτουργεί ως μηχανισμός αποτοξίνωσης (Ernst et al., 1992, Weis and Weis, 2004).

Ουσιαστικά όμως λαμβάνοντας υπόψη την αρνητική επίπτωση της αλατότητας ως παράγοντα καταπόνησης στα φυτά διαπιστώνεται ότι στην παρούσα περίπτωση η αλατότητα έχει συνολικά αρνητική επίδραση στην συσσώρευση του μολύβδου από το φυτό. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.96 όπου παρουσιάζεται η συνολική απομάκρυνση του μολύβδου (φυτοσυσσώρευση) από το φυτό η συνολική συσσώρευση του μετάλλου από το έδαφος μειώνεται με την αύξηση της εδαφικής αλατότητας.



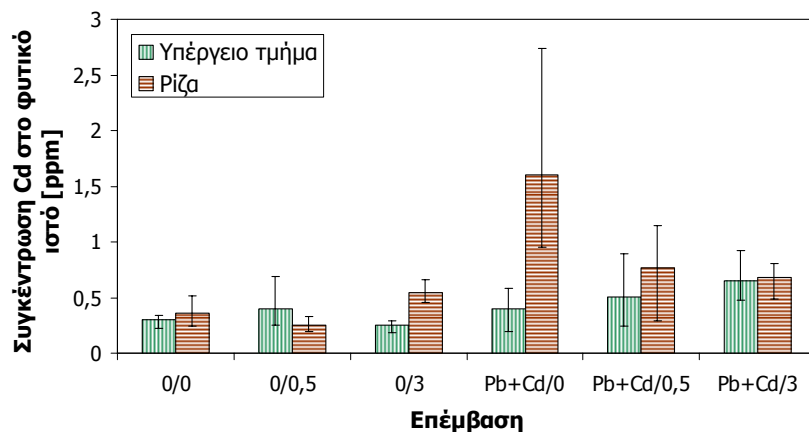
Σχήμα 5.96. Συνολικό ποσό Pb στα φυτικά μέρη του *T. smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι η αλατότητα σε ορισμένες περιπτώσεις έχει θετική επίδραση στην μετακίνηση των μετάλλων από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα των φυτών (Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003), όμως στην παρούσα περίπτωση δεν παρατηρείται ανάλογη συμπεριφορά αφού οι λόγοι συγκέντρωσης Pb υπέργειου/ρίζας δεν παρουσιάζονται να αυξάνονται με την αύξηση της εδαφικής αλατότητας. Αναλυτικότερα στην επέμβαση με μηδενική εδαφική αλατότητα (Pb+Cd/0) ο λόγος εμφάνισε τιμή 0,095, στην επέμβαση με 0,5% αλατότητα (Pb+Cd/0,5) είχε τιμή 0,07 και στην επέμβαση με αλατότητα 3% (Pb+Cd/3) παρουσίασε τιμή 0,11.

5.3.4.2.2. Κάδμιο

Τα αποτελέσματα από αυτό το πείραμα προτείνουν ότι η αυξανόμενη αλατότητα αυξάνει τη συσσώρευση του καδμίου στα υπέργεια τμήματα του *T. smyrnensis* όπως

παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.97, και αυτό μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι η αλατότητα, όπως προαναφέρθηκε, έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να επιδράσει θετικά στην μετακίνηση του μετάλλου από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα (Otte, 1991, Fitzgerald et al., 2003). Αντίθετα η συσσώρευση του Cd στις ρίζες μειώνεται με την αύξηση της αλατότητας. Η συγκέντρωση του ήταν περισσότερο από 2 φορές υψηλότερη (Pb+Cd/0) συγκρινόμενη με τις επεμβάσεις όπου υπήρξε προσθήκη NaCl (Pb+Cd/0,5 και Pb+Cd/3). Επιπλέον, η συγκέντρωση του μετάλλου στις ρίζες των φυτών που μεταχειρίστηκαν με υφάλμυρο νερό 3% (Pb+Cd/3) δεν ήταν σημαντικά διαφορετική από τα φυτά την αντίστοιχης ομάδας μάρτυρα (0/3).

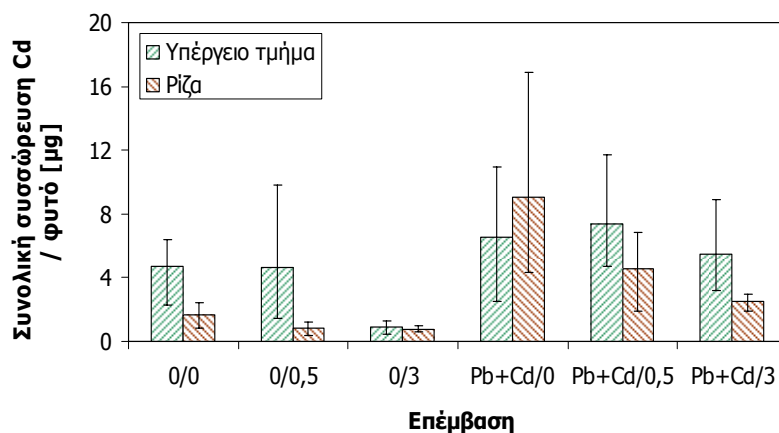


Σχήμα 5.97. Συγκέντρωση καδμίου [mg/kg ξηρού βάρους] στα φυτικά μέρη του *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Όμως από την εξέταση της συνολικής απομάκρυνσης του καδμίου από το φυτό (Σχήμα 5.98), όπου, όπως έχει προαναφερθεί, αποτελεί μια παράμετρο η οποία μπορεί να δώσει σημαντικές πληροφορίες αφού λαμβάνει υπόψη την επίδραση του μετάλλου και της αλατότητας ως παράγοντες καταπόνησης στην παραγόμενη βιομάζα του φυτού, φαίνεται ότι η συνολική συσσώρευση του μετάλλου από ολόκληρο το φυτό μειώνεται με την αύξηση της αλατότητας. Στην επέμβαση με μηδενική εδαφική αλατότητα (Pb+Cd/0) η ολική συσσώρευση στο φυτό ήταν 15,6 μg , στην επέμβαση με 0,5% αλατότητα (Pb+Cd/0,5) ήταν 12 μg και στην επέμβαση με αλατότητα 3% (Pb+Cd/3) ήταν 8 μg . Όμως από την εξέταση του λόγου συγκέντρωσης Cd υπέργειου/ρίζας φαίνεται ότι η αλατότητα επιδρά θετικά στην μετακίνηση του μετάλλου από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα αφού για τα φυτά της επέμβασης με την εδαφική αλατότητα 0% (Pb+Cd/0) ο λόγος έχει τιμή 0,27, για τα φυτά με την εδαφική αλατότητα 0,5% (Pb+Cd/0,5) έχει τιμή 0,68 και για τα φυτά που καλλιεργήθηκαν με εδαφική αλατότητα 3% (Pb+Cd/3) ο λόγος φθάνει την τιμή 1,08. Στο σημείο αυτό είναι αξιολογικό αναφοράς το γεγονός ότι για να χαρακτηριστεί ένα φυτό υπερσυσσωρευτής ενός μετάλλου εκτός από τα υψηλά επίπεδα του μετάλλου που θα πρέπει να συγκεντρώνει στους ιστούς του πρέπει και να παρουσιάζει λόγους συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας πάνω από 1 (Lutts et al., 2004), όποτε είναι φανερό ότι αυτή η επίδραση της αλατότητας η οποία οδηγεί σε λόγους

συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας μεγαλύτερους της μονάδας είναι πολύ σημαντική παρατήρηση για εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης.

Γενικά, στην διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν μεγάλες διακυμάνσεις όσον αφορά την πρόσληψη του καδμίου από τις ρίζες και την μεταφορά στα εναέρια μέρη των φυτών μεταξύ των διαφορετικών φυτικών ειδών. Παραδείγματος χάριν, το *Brassica napus* μεταφέρει περισσότερο Cd στο βλαστό του από ότι αποθηκεύει στις ρίζες του (Rossi et al., 2002). Το *Allium schoenoprasum* που καλλιεργήθηκε σε υδάτινο μέσο συσσωρεύσε περίπου το ίδιο ποσό του Cd στις ρίζες και στα υπέργεια τμήματα του στην αρχή του πειράματος ενώ αργότερα υψηλότερες ποσότητες καδμίου αποθηκεύτηκαν στις ρίζες (Barazani et al., 2004). Ενώ, το *Convolvulus arvensis* βρέθηκε για να συσσωρεύεται το μεγαλύτερο μέρος του καδμίου στις ρίζες του (Gardea-Torresdey et al., 2004).



Σχήμα 5.98. Συνολικό ποσό Cd στα φυτικά μέρη του *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

5.3.4.2.3. Αλληλεπίδραση του Pb και του Cd στην αμοιβαία συσσώρευση τους

Κατά το παρελθόν έχει αναφερθεί ότι σε φυτά που καλλιεργούνται σε εδάφη ρυπασμένα με μόλυβδο και κάδμιο, η πρόσληψη του ενός μετάλλου μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία του αλλού, δηλαδή η αλληλεπίδραση μεταξύ των μετάλλων όταν υπάρχουν και τα δύο στο έδαφος μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση ή στην μείωση της πρόσληψης του ενός ή του άλλου μετάλλου από το φυτό. Για παράδειγμα στο φυτό *Zea mays* L. (καλαμπόκι) παρατηρήθηκε ότι η συσσώρευση του Cd αυξήθηκε με προσθήκη Pb, ενώ η παρουσία Cd στο έδαφος μείωσε την πρόσληψη του Pb (Miller et al., 1977). Αναλόγως, ο μόλυβδος παρατηρήθηκε να αυξάνει την πρόσληψη του καδμίου στη σίκαλη (Carlson and Rolfe, 1979). Ενώ στο φυτό *Plantanus occidentalis* L. η προσθήκη και των δυο μετάλλων στο έδαφος αύξησε την πρόσληψη και των δυο μετάλλων σε σύγκριση με αυτή που παρατηρούνταν όταν υπήρχε προσθήκη μόνο του ενός μετάλλου (Carlson and Bazzaz, 1977). Επιπλέον, σε μελέτη αναφέρθηκε ότι η παρουσία του Cd δεν επέφερε καμιά μεταβολή στα βιοδιαθέσιμα επίπεδα του Pb αφού δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων μόνο με μόλυβδο και με μείγμα του με κάδμιο, ενώ αντίθετα, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στο βιοδιαθέσιμο

Cd στο έδαφος με την παρουσία του Pb, υποδηλώνοντας ότι η ταυτόχρονη παρουσία Pb και Cd στο έδαφος οδήγησε σε αύξηση των βιοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων του Cd στο έδαφος. Και κατά συνέπεια αυτός ήταν και ο λόγος για τον οποίο παρατηρήθηκε αύξηση της συσσώρευσης του Cd στο φυτό *Cynodon nlemfuensis* κατά την καλλιέργεια του σε έδαφος ρυπασμένο και με τα δύο μέταλλα (Madyiwa et al., 2004). Επίσης, έχει αναφερθεί ότι τα κατιόντα των μετάλλων (Pb, Cu και Zn) και ιδιαίτερα των αλκαλικών γαιών (Ca και Mg) μειώνουν την προσρόφηση του καδμίου λόγω ανταγωνισμού τους για τις διαθέσιμες θέσεις προσρόφησης και τις θέσεις ανταλλαγής κατιόντων (Martin and Kaplan, 1998, Ghosh and Singh, 2005). Επιπρόσθετα, σε μελέτες στις οποίες ελέγχθηκε η επίδραση άλλων ιόντων μετάλλων (Cr, Ni, Zn, Cd) στην συσσώρευση του Pb από το φυτό *Hemidesmus indicus*, αποδείχτηκε ότι παρουσία νικελίου η πρόσληψη μολύβδου μειώθηκε κατά 50% αλλά παρουσία ψευδάργυρου, χρωμίου και καδμίου, η πρόσληψη μολύβδου επηρεάστηκε μόνο οριακά (Sekhar et al., 2005).

Σε σύγκριση λοιπόν των εν λόγω αποτελεσμάτων με προηγούμενο πείραμα που πραγματοποιήθηκε με το *T. smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε έδαφος ρυπασμένο μόνο με κάδμιο (Παράγραφος 5.3.3) διαπιστώθηκε ότι ο μολύβδος είχε θετική επίδραση στη συσσώρευση του καδμίου όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.50 όταν δεν προστέθηκε αλάτι στο έδαφος. Συγκεκριμένα, στην παραπάνω επέμβαση το ποσό του Cd που συσσωρεύθηκε από τις ρίζες παρουσία του Pb ήταν διπλάσιο. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με τις παραπάνω βιβλιογραφικές αναφορές στις οποίες παρατηρήθηκε αύξηση της πρόσληψης του καδμίου από τα φυτά λόγω της ταυτόχρονης παρουσίας μολύβδου στο έδαφος (Miller et al., 1977, Carlson and Bazzaz, 1977, Carlson and Rolfe, 1979, Madyiwa et al., 2004).

Πίνακας 5.50. Συγκέντρωση Cd στις ρίζες και τα υπέργεια τμήματα του *T. smyrnensis* Σύγκριση πειραμάτων με ρύπανση μόνο με κάδμιο και με μείγμα μολύβδου και καδμίου.

	Εδαφική αλατότητα [%]	Συγκέντρωση Cd [ppm]		Λόγος συσσώρευσης Cd (Πειρ. Cd & Pb / Πειρ. Cd)
		Πείραμα με Cd	Πείραμα με Cd & Pb	
Υπέργειο τμήμα	0	0,29	0,40	1,38
	0,5	0,82	0,50	0,61
	3	3,34	0,66	0,20
Ρίζα	0	0,83	1,60	1,93
	0,5	1,00	0,77	0,77
	3	2,45	0,68	0,28

Επιπλέον, η αλατότητα μπορεί να επηρεάσει τη βιοδιαθεσιμότητα του καδμίου στο έδαφος. Σε μελέτες αρκετών φυτών έχει παρατηρηθεί αύξηση της συσσώρευσης του καδμίου στους φυτικούς ιστούς με αύξηση της αλατότητας λόγω του ότι η αλατότητα οδήγησε σε αύξηση της διαλυτότητας του μετάλλου μέσω σχηματισμού διαλυτών συμπλόκων του Cd με το χλώριο και ίσως λόγω αντικατάστασης του προσροφημένου Cd από τα Na⁺, με συνέπεια την μείωση της προσρόφησης του στα σωματίδια του εδάφους και άρα την αύξηση της συγκέντρωσης του στο εδαφικό διάλυμα και της διαθεσιμότητας του για πρόσληψη από τα φυτά (Bingham et al., 1983, Li et al., 1994, Greger et al.,

1995, Martin and Kaplan, 1998, Smolders et al., 1998, Norvell et al., 2000, Weggler-Beaton et al., 2000, Weggler et al., 2004, Adriano et al., 2004, Amini et al., 2005, Kirkham, 2006, Wahla and Kirkham, 2007). Στην παρούσα μελέτη όμως, στις επεμβάσεις με αυξημένη εδαφική αλατότητα και παρουσία μολύβδου, η συσσώρευση του καδμίου όχι μόνο δεν αυξήθηκε αλλά μειώθηκε και επιπρόσθετα όσο υψηλότερη ήταν η εδαφική αλατότητα τόσο μεγαλύτερη ήταν και η αρνητική επίδραση στην συσσώρευση του Cd σε σχέση με το πείραμα μόνο με κάδμιο. Αυτά τα αποτελέσματα οδηγούν στην υπόθεση ότι η συνέργεια του μολύβδου και της εδαφικής αλατότητας έχει σαν αποτέλεσμα την αρνητική επίδραση στην πρόσληψη και συσσώρευση του καδμίου.

Για την περίπτωση του μολύβδου, η σύγκριση των παρόντων αποτελεσμάτων με πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο παρελθόν με το *T. smyrnensis* σε καλλιέργεια σε ρυπασμένο έδαφος μόνο με μόλυβδο (Kadukova και Kalogerakis, 2007) φανερώνει ότι η παρουσία του καδμίου είχε θετική επίδραση στη συσσώρευση του μολύβδου ανεξάρτητα από την εδαφική αλατότητα όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.51, υπονοώντας πιθανόν ότι το κάδμιο επηρέασε στη βιοδιαθεσιμότητα του μολύβδου.

Πίνακας 5.51. Συγκέντρωση Pb στις ρίζες και τα υπέργεια τμήματα του *T. smyrnensis*. Σύγκριση πειραμάτων με ρύπανση μόνο με μολύβδου και με μείγμα μολύβδου και καδμίου.

	Εδαφική αλατότητα [%]	Συγκέντρωση Pb [ppm]		Λόγος συσσώρευσης Pb (Πειρ. Cd και Pb / Πειρ. Cd)
		Πείραμα με Pb *	Πείραμα με Cd & Pb	
Υπέργειο τμήμα	0	13,7	23,6	1,72
	0,5	6,51	10,9	1,68
	3	14,7	29,0	1,97
Ρίζα	0	93,6	205	2,19
	0,5	99,6	166	1,67
	3	73,4	316	4,30

* Πηγή: Kadukova and Kalogerakis (2007).

Συμπερασματικά λοιπόν, μπορεί να υποστηριχθεί ότι στην περίπτωση όπου δεν υπάρχει προσθήκη NaCl στο έδαφος, η παρουσία του μολύβδου επιδρά θετικά στην πρόσληψη καδμίου από το *T. smyrnensis* και ομοίως η παρουσία καδμίου επηρεάζει θετικά την πρόσληψη μολύβδου, ενώ ανάλογα συμπεράσματα έχουν αναφερθεί και για το φυτό *Plantanus occidentalis* L. όπου η προσθήκη και των δυο μετάλλων στο έδαφος αύξησε την πρόσληψη και των δυο μετάλλων σε σύγκριση με αυτή που παρατηρούνταν όταν υπήρχε προσθήκη μόνο του ενός μετάλλου (Carlson and Bazzaz, 1977).

5.3.4.3. Έκκριση μολύβδου και καδμίου από τα φύλλα του *T. smyrnensis*

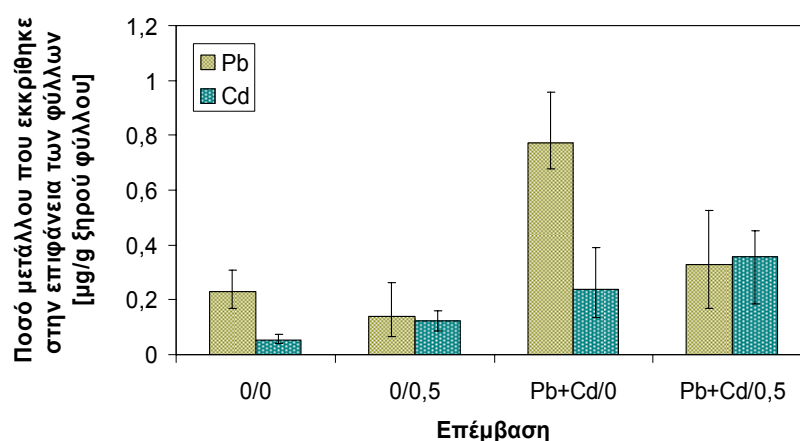
Το χαμηλό επίπεδο των μετάλλων στα υπέργεια τμήματα, κάτω από τις συγκεντρώσεις που θεωρούνται τοξικές για το φυτό και για τα δύο μέταλλα, πιθανώς

συνδέεται με τον ενεργό μηχανισμό έκκρισης μέσω των εξειδικευμένων αλατωδών αδένων επιτρέποντας στα φυτά να αποβάλουν την περίσσεια των μετάλλων. Όπως προαναφέρθηκε, σε προηγούμενες μελέτες διαπιστώθηκε ότι οι εξειδικευμένοι αλατώδεις αδένες των ειδών *Tamarix* δεν είναι εκλεκτικοί και η σύσταση των αλάτων που εκκρίνονται είναι σε αντιστοιχία με τη σύσταση στη ριζόσφαιρα (Hagemeyer and Waisel, 1988, Storey and Thomson, 1994) βοηθώντας με τον τρόπο αυτό την προσαρμογή των συγκεκριμένων φυτών σε εδάφη με διαφορετική αλατότητα (Hagemeyer and Waisel, 1988).



Εικόνα 5.4. Σταγονίδια και κρύσταλλοι άλατος στα κλαδιά του *Tamarix smyrnensis*. (Α) Φύλλα με τους κρυστάλλους και τα σταγονίδια και (Β) λεπτομέρεια φύλλων των φυτών που καλλιεργήθηκαν σε μείγμα Pb και Cd και 0,5% εδαφική αλατότητα.

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής υποστηρίζουν ότι το *T. smyrnensis* εκκρίνει το κάδμιο και τον μόλυβδο που έχει προσλάβει από το έδαφος. Τα μέταλλα περιέχονται στα σταγονίδια και στους κρυστάλλους άλατος (Εικόνα 5.4) που εκκρίνονται από τους



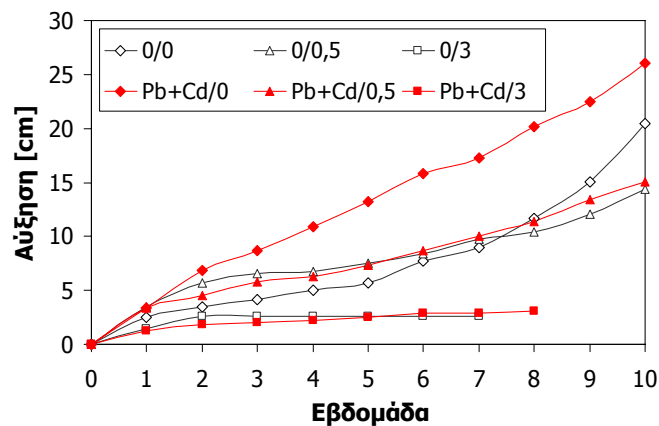
Σχήμα 5.99. Έκκριση μολύβδου και καδμίου από τον ιστό των φύλλων του *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

εξειδικευμένους αλατώδεις αδένες επιβεβαιώνοντας το γεγονός ότι οι εξειδικευμένοι αδένες του συγκεκριμένου φυτού δεν είναι εκλεκτικοί και η σύσταση των αλάτων που εκκρίνονται συσχετίζεται με τη σύσταση της ριζόσφαιρας (Σχήμα 5.99). Η συγκέντρωση του Pb που εκκρίθηκε από τα φυτά που καλλιεργήθηκαν στο ρυπασμένο έδαφος με τα μέταλλα ήταν 3,4 φορές υψηλότερη όταν η εδαφική αλατότητα ήταν 0% (Pb+Cd/0) και 2,6 φορές υψηλότερη όταν η εδαφική αλατότητα ήταν 0,5% (Pb+Cd/0,5) συγκρινόμενα με τα φυτά μάρτυρες (0/0 και 0/0,5). Επιπλέον, η έκκριση του Cd ήταν τετραπλάσια στα φυτά με εδαφική αλατότητα 0% (Pb+Cd/0) και 2,8 φορές υψηλότερη με εδαφική αλατότητα 0,5% (Pb+Cd/0,5) συγκρινόμενα με τα αντίστοιχα φυτά μάρτυρες (0/0 και 0/0,5). Τέλος παρατηρείται ότι η έκκριση του καδμίου αυξάνεται με την αύξηση της αλατότητας, επιβεβαιώνοντας, τουλάχιστον για την περίπτωση του καδμίου, την υπόθεση άλλων ερευνητών ότι ίσως λαμβάνει χώρα μεγαλύτερη έκκριση μετάλλων στις υψηλότερες αλατότητες (Weis and Weis, 2004). Επιπλέον, πρέπει να αναφερθεί ότι τα αποτελέσματα των επεμβάσεων με την αλατότητα 3% (0/3 και Pb+Cd/3) δεν συμπεριλαμβάνονται στα συμπεράσματα λόγω του ότι τα φυτά αυτά ξεράθηκαν πριν από την λήξη του πειράματος λόγω της καταπόνησης από την αλατότητα.

5.3.4.4. Επίδραση των μετάλλων και της αλατότητας στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

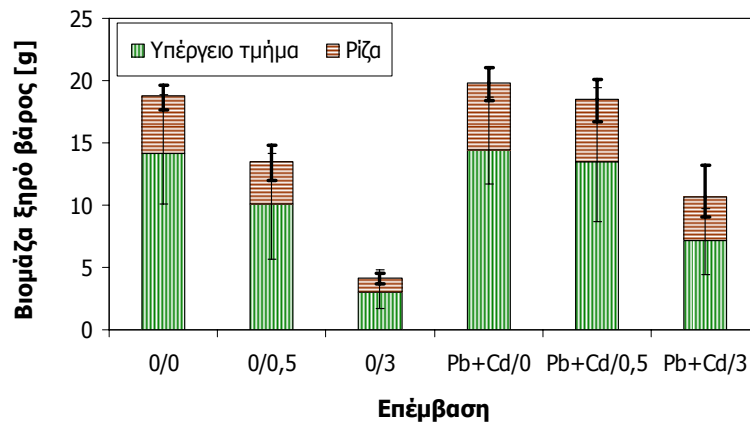
Όπως προαναφέρθηκε η παρουσία του μολύβδου και του καδμίου συνήθως έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία των φυτών. Η έκθεση σε μόλυβδο προκαλεί μείωση της βιομάζας και της επιμήκυνσης της ρίζας, σταματά την ανάπτυξη, προκαλεί χλώρωση και αμαύρωση της ρίζας, παρεμβαίνει στην βιοσύνθεση την χλωροφύλλης, παρεμποδίζει διάφορα ένζυμα και προκαλεί διαταραχή των κυττάρων (Balsberg Pålsson, 1989, Xiong, 1997). Επιπλέον, υψηλές συγκεντρώσεις Cd προκαλούν γενικά την παρεμπόδιση της αύξησης και της ανάπτυξης και ακόμη και το θάνατο των φυτών λόγω της μείωσης της ενζυμικής δραστηριότητας, της φωτοσύνθεσης, της αναπνοής, της διαπνοής, και της πρόσληψης θρεπτικών συστατικών (Orcutt and Nilsen, 2000, Cho and Seo, 2005). Εντούτοις, το *T. smyrnensis* δεν ανέπτυξε κανένα ορατό σύμπτωμα τοξικότητας από τα μέταλλα. Σε όλα τα υπό εξέταση φυτά δεν παρατηρήθηκε καμία αλλαγή στην εμφάνιση των υπέργειων τμημάτων και των ριζών που να συνδέεται με την τοξικότητα των μετάλλων, όπως χλώρωση, αλλαγή του χρώματος των ριζών ή μείωση της επιμήκυνσης της ρίζας. Αντίθετα παρατηρήθηκαν συμπτώματα τοξικότητας που οφείλονται στην αλατότητα. Τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε περιβάλλον με υψηλή αλατότητα παρουσίασαν μετά την τρίτη πειραματική εβδομάδα ξηρά κάτω κλαδιά γεγονός που συνδέεται με την τοξικότητα από την αλατότητα. Επιπλέον, όλα τα φυτά που καλλιεργήθηκαν σε αλατότητα 3% ξεράθηκαν πριν από το τέλος της πειραματικής περιόδου και πιο συγκεκριμένα, τα φυτά της ομάδας ελέγχου (0/3) ξεράθηκαν μετά από 7 εβδομάδες, ενώ τα φυτά της επέμβασης με το μείγμα των μετάλλων (Pb+Cd/3) ξεράθηκαν μέχρι την 9 εβδομάδα.

Το ύψος των υπέργειων τμημάτων των φυτών (Σχήμα 5.100) δεν παρουσίασε ιδιαίτερες διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων με την ίδια εδαφική αλατότητα παρά μόνο στην περίπτωση όπου δεν υπήρχε προσθήκη άλατος (0/0 και Pb+Cd/0). Παρόλα αυτά η διαφορά αυτή μειώθηκε μέχρι το τέλος του πειράματος, ενώ η επίδραση της αλατότητας από τη σύγκριση μεταξύ των ομάδων με διαφορετικές αλατότητες είναι εμφανής.



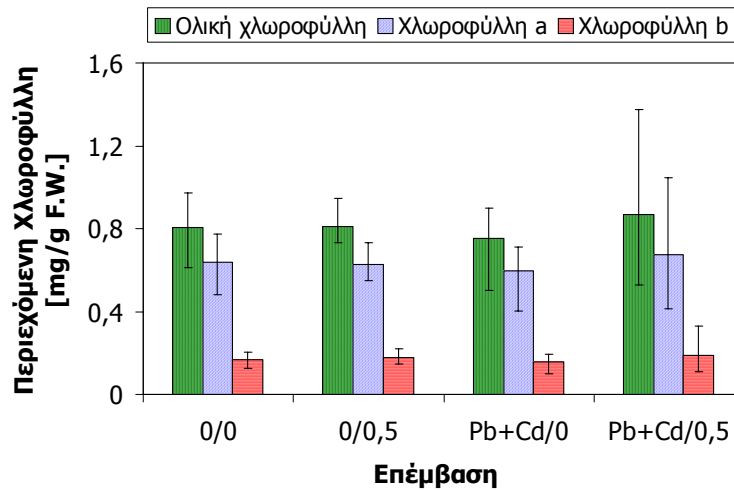
Σχήμα 5.100. Μέση αύξηση ($n = 5$) του *T. smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.

Επίσης, υπάρχει συσχετισμός μεταξύ της αύξησης της εδαφικής αλατότητας και της μείωσης της βιομάζας (Σχήμα 5.101), ενώ η παρουσία του μείγματος των μετάλλων δεν έχει αρνητική επίδραση στη βιομάζα του φυτού. Αντίθετα η παραχθείσα βιομάζα παρουσιάστηκε ελαφρώς μεγαλύτερη στα φυτά που μεταχειρίστηκαν με τα μέταλλα σε σχέση με τα φυτά των αντίστοιχων ομάδων ελέγχου. Ανάλογη παρατήρηση έχει αναφερθεί για το φυτό *P. vittata* και έχει δικαιολογηθεί από την υπόθεση ότι η αύξηση αυτή ίσως οφείλεται στην προσθήκη αζώτου μιας και το Cd και ο Pb προστέθηκαν ως νιτρικά άλατα, όπως συνέβη και στην παρούσα περίπτωση (Fayiga et al., 2004).



Σχήμα 5.101. Βιομάζα του *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 5$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

Επιπρόσθετα, τα ποσά των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών του *T. smyrnensis* δεν βρέθηκαν να μεταβάλλονται λόγω των μετάλλων ή της αλατότητας. Οι συγκεντρώσεις της ολικής χλωροφύλλης, της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* δεν επηρεάστηκαν σημαντικά ούτε από την παρουσία των μετάλλων ούτε από την εδαφική



Σχήμα 5.102. Περιεχόμενη χλωροφύλλη [mg/g νωπού βάρους] στα φύλλα του *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 5$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

αλατότητα όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.102 και τα αποτελέσματα αυτά είναι αντίστοιχα με τα αποτελέσματα του πειράματος που προηγήθηκε με το *T. smyrnensis* σε ρυπασμένο έδαφος με κάδμιο (Παράγραφος 5.3.3). Επιπλέον, και από τον έλεγχο της αναλογίας μεταξύ της χλωροφύλλης *a* και χλωροφύλλης *b* η οποία έχει αναφερθεί ότι επηρεάζεται από τα μέταλλα (Orcutt and Nilsen, 2000), δεν παρατηρούνται μεταβολές λόγω των μετάλλων (Πίνακας 5.52), ενώ παρουσιάζεται μια μεταβολή λόγω της αλατότητας από την σύγκριση μεταξύ των ομάδων ελέγχου (0/0 και 0/0,5) και των επεμβάσεων με τα μέταλλα (Pb+Cd/0 και Pb+Cd/0,5) όπου προκύπτει μια αύξηση της αναλογίας κατά 7% περίπου και στις δύο περιπτώσεις.

Πίνακας 5.52. Αναλογία χλωροφύλλης *a/b* στο *Tamarix smyrnensis* που καλλιεργήθηκε σε 800 ppm Pb και 16 ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους σε διαφορετικές εδαφικές αλατότητες.

Επέμβαση	Αναλογία χλωροφύλλης <i>a/b</i>
0/0	3,76
0/0,5	3,48
Pb+Cd/0	3,82
Pb+Cd/0,5	3,55

5.3.5. Υδροπονική καλλιέργεια φυτού με έκθεση σε 100 ppm μολύβδου και 5 ppm καδμίου

5.3.5.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Ο σκοπός του συγκεκριμένου πειράματος δεν ήταν ο έλεγχος της ικανότητας του φυτού να συσσωρεύει τα υπό εξέταση μέταλλα στο σώμα του μιας και η απάντηση σε αυτό το ερώτημα εξήχθη από προηγούμενα πειράματα. Ο κύριος σκοπός ήταν να επιβεβαιωθεί για μια ακόμα φορά ότι πραγματοποιείται έκκριση των μετάλλων που λαμβάνει το φυτό από τις ρίζες του στη επιφάνεια των φύλλων του και επιπλέον να γίνει προσπάθεια να προσδιοριστεί ο ρυθμός έκκρισης των μετάλλων. Για το λόγο αυτό, τρία φυτά *Tamarix smyrnensis* που ήταν ευγενική χορηγία της Ελληνικής Δασικής Υπηρεσίας και τα οποία είχαν καλλιεργηθεί σε κοκκινόχωμα για 10 μήνες, απομακρύνθηκαν από το έδαφος με ιδιαίτερη προσοχή ώστε να αποτραπεί ο τραυματισμός του ριζικού τους συστήματος, πλύθηκαν με νερό βρύσης και με απιονισμένο νερό για να απομακρυνθούν τα σωματίδια εδάφους από τις ρίζες ενώ επιπρόσθετα τα εναέρια τμήματα των φυτών ξεπλύθηκαν με απιονισμένο νερό από τη σκόνη και τα εκκριμένα άλατα. Εν συνεχεία, τα φυτά μεταφέρθηκαν σε πλαστικές δεξαμενές χωρητικότητας 4 λίτρων γεμάτες με κατάλληλο θρεπτικό διάλυμα για υδροπονική καλλιέργεια κάτω από αερισμό. Το θρεπτικό διάλυμα παρασκευάστηκε με βάση μια τροποποίηση του διαλύματος καλλιέργειας Arnon και Knor έτσι ώστε να αποτραπεί η κατακρήμνιση των μετάλλων, με σύσταση σε mg/L: 143,0 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 35,75 KNO_3 , 17,75 KCl , 35,75 KH_2PO_4 , 35,75 MgSO_4 , 2,86 H_3BO_3 , 1,86 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,22 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,079 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ και 0,6 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Ο μολύβδος και το κάδμιο προστέθηκαν στο θρεπτικό μέσο σε συγκεντρώσεις 100 και 5 ppm ως $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ και $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ αντίστοιχα.

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε το μήνα Δεκέμβριο για δύο εβδομάδες υπό ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες μέσα στο σχετικά κλειστό περιβάλλον ενός χημικού εργαστηρίου προκειμένου να μειωθεί η πιθανότητα ρύπανσης με μέταλλα από την ατμόσφαιρα, με φυσικό φως φωτοπεριόδου 12 ωρών και θερμοκρασίες μεταξύ 19 – 24°C και υγρασία 57 – 66%, ενώ καθημερινά η ποσότητα των θρεπτικών διαλυμάτων σε κάθε δεξαμενή αναπροσαρμοζόταν στα 4 L με απιονισμένο νερό.

Η περιοχή κάτω από κάθε φυτό καλύφθηκε με προζυγισμένο χαρτοβάμβακα προκειμένου να συλλεχθούν τα εκκριμένα άλατα από τα φύλλα. Την 3^η, 6^η, 9^η, 12^η και 14^η ημέρα το φύλλωμα των φυτών πλύθηκε με 0,1% v/v HNO_3 έτσι ώστε να διαλυθούν όλες οι ενώσεις που υπήρχαν στην επιφάνεια και μέσα στις κρύπτες των φύλλων μιας και ένα τόσο αραιό διάλυμα δεν προκαλεί εμφανή βλάβη στα φυτά και το παραγόμενο διάλυμα απορροφήθηκε από το χαρτοβάμβακα που υπήρχε από κάτω. Ακόλουθα, το φύλλωμα ψεκάστηκε με απιονισμένο νερό έτσι ώστε να ξεπλυθεί το οξύ από το φυτό και ο χαρτοβάμβακας απομακρύνθηκε, αφέθηκε για ξήρανση στον αέρα, ζυγίστηκε και αποθηκεύτηκε σε ξηρό περιβάλλον μέχρι την μέτρηση την περιεκτικότητας του σε Pb και Cd ενώ ένα καθαρό κομμάτι χαρτοβάμβακα τοποθετήθηκε κάτω από κάθε φυτό. Επίσης στην έναρξη του πειράματος και στις ίδιες ημέρες δειγματοληψίας με τις παραπάνω, δηλαδή την 3^η, 6^η, 9^η, 12^η και 14^η πραγματοποιήθηκε λήψη 10 mL θρεπτικού διαλύματος από κάθε δοχείο καλλιέργειας για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των μετάλλων στο μέσο καλλιέργειας. Τέλος με την λήξη των 2 πειραματικών εβδομάδων έλαβαν χώρα μετρήσεις της συγκέντρωσης του καδμίου και του μολύβδου στους φυτικούς ιστούς. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν παρέχονται στην Παράγραφο 4.1.3.

5.3.5.2. Αποτελέσματα και συζήτηση

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η έκκριση των μετάλλων μαζί με τα άλατα από τον ιστό των φύλλων επάνω στην επιφάνεια τους μέσω εξειδικευμένων αλατωδών αδένων είναι μια στρατηγική που υιοθετείται από ορισμένα φυτά για να αντιμετωπίσουν την τοξικότητα των μετάλλων (Hagemeyer and Waisel, 1988, Kraus, 1988, Neumann et al., 1995, MacFarlane and Burchett, 2000, Weis and Weis, 2004). Ο κύριος λοιπόν σκοπός αυτού του πειράματος ήταν ο προσδιορισμός του ρυθμού έκκρισης του μολύβδου και του καδμίου στο *Tamarix smyrnensis*.

Η συσσώρευση των μετάλλων στα υπέργεια τμήματα του φυτού παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.53 όπου και συγκρίνεται με την συσσώρευση των μετάλλων στα υπέργεια τμήματα του ίδιου φυτού σε καλλιέργεια όμως σε ρυπασμένο έδαφος με μείγμα των δύο μετάλλων (Παράγραφος 5.3.4). Όπως είναι φανερό η συσσώρευση και στις δύο περιπτώσεις είναι της ίδιας τάξης μεγέθους υποδηλώνοντας την συνέχεια μεταξύ υδροπονικών πειραμάτων και πειραμάτων πεδίου.

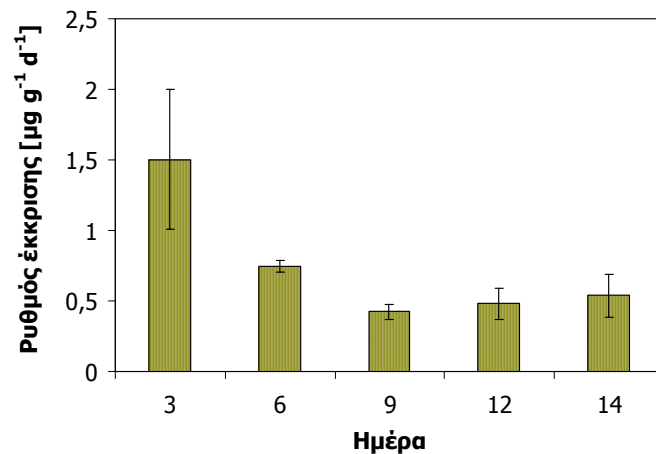
Πίνακας 5.53. Συσσώρευση των μετάλλων στα υπέργεια τμήματα των φυτών στο υδροπονικό πείραμα και στο πείραμα πεδίου [mg/kg ξηρού βάρους].

Μέταλλο	Υδροπονικό πείραμα	Πείραμα πεδίου
Pb	17,5	23,6
Cd	0,42	0,40

Επιπλέον, με βάση αυτά τα αποτελέσματα μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα για άλλη μια φορά ότι το *Tamarix smyrnensis* δεν συσσωρεύει στους υπέργειους ιστούς του επίπεδα μετάλλων σε τέτοιο βαθμό ώστε να χαρακτηριστεί ως συσσωρευτής των υπό εξέταση μετάλλων. Όμως αυτό το γεγονός προφανώς συνδέεται με το μηχανισμό έκκρισης τον οποίο χρησιμοποιεί το φυτό για να αποβάλει μαζί με την περίσσεια των αλάτων και την περίσσεια των μετάλλων. Πρέπει να αναφερθεί ότι τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των μετάλλων στις ρίζες των φυτών δεν συμπεριλαμβάνονται στα συμπεράσματα λόγω του ότι παρουσιάστηκαν ιδιαίτερα υψηλές τιμές τάξεως μεγέθους 70 000 ppm για το Pb και των 300 ppm για το Cd, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι εκτός από πρόσληψη των μετάλλων από τις ρίζες έλαβε χώρα και προσρόφηση των μετάλλων πάνω στις ρίζες, όπως έγινε και στις αντίστοιχες υδροπονικές καλλιέργειες του εν λόγω φυτού με μολύβδο ή κάδμιο (Παράγραφος 5.3.1 και Παράγραφος 5.3.2)

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.103 ο ρυθμός έκκρισης του μολύβδου παρουσιάζεται να είναι υψηλότερος για τις πρώτες ημέρες έκθεσης, ακολουθούμενος από μικρότερους ρυθμούς για την υπόλοιπη πειραματική περίοδο. Αφ' ετέρου πρέπει να τονιστεί ότι δεν υπήρξε προσδιορισμός καδμίου σε κανένα από τα δείγματα οδηγώντας μας στην υπόθεση ότι εάν έλαβε χώρα έκκριση ιόντων Cd^{+2} οι συγκεντρώσεις ήταν κάτω από τα όρια ανίχνευσης της φασματοσκοπίας ICP-AES.

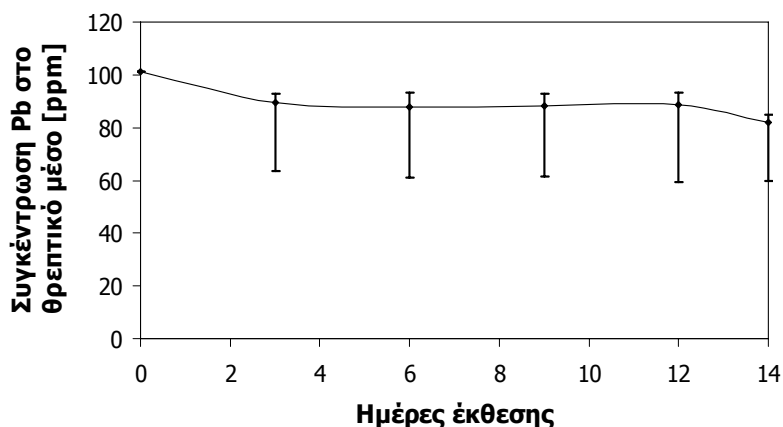
Σε προηγούμενες μελέτες με το φυτό *Tamarix aphylla* όπου προσδιορίστηκε ο ρυθμός έκκρισης του καδμίου από τα φύλλα του φυτού ύστερα από υδροπονική του καλλιέργεια σε θρεπτικό μέσο ρυπασμένο με 1 και 5 ppm Cd, βρέθηκε ότι κατά την διάρκεια των πρώτων ημερών η ποσοτική προσφορά της έκκρισης στην αποτοξίνωση



Σχήμα 5.103. Έκκριση Pb από τον ιστό των φύλλων του *Tamarix smyrnensis* σε υδροπονική καλλιέργεια με 100 ppm Pb και 5 ppm Cd. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

των φυτικών ιστών ήταν μηδαμινή. Μέσα στις 10 πρώτες ημέρες, λιγότερο από το 5% του συνολικού συσσωρευμένου καδμίου στα υπέργεια τμήματα εκκρίθηκε. Παρόλα αυτά βρέθηκε ότι ο ρυθμός έκκρισης αυξάνει με την πάροδο του χρόνου επομένως εξήχθει το συμπέρασμα ότι πιθανόν η έκκριση του καδμίου να λαμβάνει χώρα σε μεγαλύτερη έκταση υστέρτα από μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα αφού πρώτα κάποια τμήματα των υπέργειων ιστών κορεστούν με Cd. Επιπλέον, στην ίδια μελέτη βρέθηκε ότι ο ρυθμός έκκρισης του καδμίου αυξάνει με την αύξηση του μετάλλου στο θρεπτικό διάλυμα (Hagemeyer and Waisel, 1988).

Η συνολική συγκέντρωση μολύβδου στο θρεπτικό διάλυμα μετά από τις 2 πειραματικές εβδομάδες βρέθηκε για να είναι περίπου 82 ppm (Σχήμα 5.104), επομένως από την ολική ποσότητα του μολύβδου που προστέθηκε στο θρεπτικό μέσο τα φυτά πήραν το 12%. Όμως η συνολική συγκέντρωση καδμίου στο διάλυμα βρέθηκε για να



Σχήμα 5.104. Μείωση της συγκέντρωσης του Pb στο θρεπτικό διάλυμα. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($n = 3$) με ελάχιστες και μέγιστες τιμές.

είναι σχεδόν 5 ppm δηλαδή όσο προστέθηκε στην έναρξη της πειραματικής διαδικασίας, οπότε εξάγεται το συμπέρασμα ότι τα φυτά συσώρευσαν στους ιστούς τους και προσρόφησαν στις ρίζες τους μια πολύ μικρή ποσότητα του μετάλλου και πιθανόν αυτός να είναι και ο λόγος που δεν υπήρξε ανίχνευση καδμίου στην επιφάνεια των φύλλων των φυτών.

5.3.6. Συνοπτικά αποτελέσματα για το *Tamarix smyrnensis*

Από τα πειράματα όπου έλαβαν χώρα εξάγεται πρωταρχικά το συμπέρασμα ότι το οι ρίζες του *Tamarix smyrnensis* δεν παρουσιάζουν εκλεκτικότητα στην πρόσληψη ιόντων από την ριζόσφαιρα. Το φυτό βρέθηκε να προσλαμβάνει το κάδμιο από τις ρίζες του ενώ δεν επέδειξε κάποιο περιορισμό στην μεταφορά του μετάλλου από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα όπως λειτουργούν άλλα φυτικά είδη σύμφωνα με μηχανισμούς ανθεκτικότητας στα μέταλλα. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι η πρόσληψη Cd αυξάνεται με την αύξηση της εδαφικής αλατότητας και επιπρόσθετα ότι η αλατότητα επιδρά σημαντικά στην μετακίνηση του μετάλλου από τις ρίζες στα εναέρια μέρη του φυτού, παρατήρηση ιδιαίτερα σημαντική για εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης. Στην περίπτωση του μολύβδου βρέθηκε ότι η κύρια περιοχή συσσώρευσης του ήταν οι ρίζες του *T. smyrnensis* ενώ οι μεγάλες διαφορές μεταξύ των συγκεντρώσεων Pb στην ρίζα και στο υπέργειο τμήμα υποδεικνύουν έναν σημαντικό περιορισμό της μετακίνησης του μετάλλου από τις ρίζες προς τα κλαριά και τα φύλλα. Επιπρόσθετα, η αλατότητα βρέθηκε πιθανόν να επηρεάζει την συσσώρευση του Pb στους φυτικούς ιστούς όμως η επίδραση δεν είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του άλατος στην ριζόσφαιρα.

Είναι γνωστό ότι όταν ένα φυτό εκτίθεται σε πολλούς παράγοντες καταπόνησης ταυτόχρονα όπως τα βαρέα μέταλλα, η επίδραση στο φυτό αυτών των παραγόντων μπορεί να είναι είτε συνεργιστική είτε ανταγωνιστική. Στην παρούσα περίπτωση η παρουσία του Cd βρέθηκε να επιδρά θετικά στη συσσώρευση του μολύβδου στο φυτικό ιστό, ενώ η επίδραση του Pb στην πρόσληψη του Cd από το φυτό είχε θετική επίδραση στην περίπτωση όπου δεν υπήρχε προσθήκη άλατος ενώ στις υψηλότερες εδαφικές αλατότητες ο Pb είχε δυσμενή επίπτωση στη συσσώρευση του Cd.

Με βάση λοιπόν τα αποτελέσματα από όλα τα πειράματα όπου έλαβαν χώρα εξάγεται το συμπέρασμα ότι το *Tamarix smyrnensis* δεν συσσωρεύει στους υπέργειους ιστούς συγκεντρώσεις μετάλλων σε τέτοιο επίπεδο ώστε να χαρακτηριστεί ως υπερσυσσωρευτής των υπό εξέταση μετάλλων. Όμως αυτό το γεγονός πιθανόν να συνδέεται με το μηχανισμό έκκρισης αλάτων τον οποίο χρησιμοποιεί το φυτό για να αποβάλει μαζί με την περίσσεια των αλάτων και την περίσσεια των μετάλλων ως ένα πιθανό μηχανισμό αποτοξίνωσης όχι μόνο ενάντια στην αλατότητα αλλά και στα μέταλλα. Πέραν τούτου, η έκκριση των μετάλλων αυξάνεται με την αύξηση της αλατότητας επιβεβαιώνοντας το γεγονός ότι οι εξειδικευμένοι αλατώδεις αδένες του φυτού δεν είναι εκλεκτικοί και η σύσταση των αλάτων που εκκρίνονται σχετίζεται με τη σύσταση στην ριζόσφαιρα. Αυτό το ιδιαίτερα ενδιαφέρον χαρακτηριστικό προσδίδει στο *Tamarix* ένα μοναδικό πλεονέκτημα για εφαρμογές φυτοεξυγίανσης αφού η συνολική απομάκρυνση των μετάλλων από το έδαφος ενισχύεται λόγω της συνδυασμένης επίδρασης της έκκρισης και της συσσώρευσης.

Η παρουσία των μετάλλων συνήθως έχει δυσμενείς επιπτώσεις στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά των φυτών. Εντούτοις, στα πειράματα καλλιέργειας σε ρυπασμένο με τα μέταλλα έδαφος, το *T. smyrnensis* δεν παρουσίασε καμία ορατή ένδειξη τοξικότητας από τα μέταλλα. Παρατηρήθηκαν μόνο συμπτώματα της τοξικότητας από την αλατότητα. Επιπλέον, τα παραγωγικά χαρακτηριστικά του φυτού εκφρασμένα ως βιομάζα, ύψος υπέργειου τμήματος και περιεχόμενη χλωροφύλλη δεν βρέθηκαν να επηρεάζονται από την παρουσία των βαρέων μετάλλων, προτείνοντας ότι το εν λόγω φυτό είναι ανθεκτικό στο μολύβδο και το κάδμιο. Αντίθετα στα υδροπονικά πειράματα που πραγματοποιήθηκαν παρατηρήθηκαν αρνητικές επιδράσεις της παρουσίας των μετάλλων οδηγώντας σε μείωση της βιομάζας και της χλωροφύλλης των φυτών και

τελικά καταλήγοντας σε μειωμένη επιβίωση (%) των φυτών γεγονός όμως που οφείλεται σε τοξικότητα λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων των μετάλλων στους φυτικούς ιστούς.

Το γενικό συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι το *Tamarix smyrnensis* δεν διαθέτει μηχανισμούς αποφυγής των μετάλλων προκειμένου να αντιμετωπίσει την καταπόνηση από αυτά μιας και οι ρίζες του δεν είναι επιλεκτικές στην πρόσληψη ιόντων από την ριζόσφαιρα. Όμως πιθανόν η ανθεκτικότητα του στα μέταλλα να συνδέεται με τον μηχανισμό έκκρισης αλάτων τον οποίο χρησιμοποιεί για να αποβάλει όχι μόνο την περίσσεια των αλάτων αλλά και των μετάλλων ως ένα πιθανό μηχανισμό αποτοξίνωσης από τα μέταλλα. Εν κατακλείδι προκύπτει το συμπέρασμα ότι το *Tamarix smyrnensis* δεν αποτελεί υπερσυσσωρευτή του μολύβδου και του καδμίου λαμβάνοντας υπόψη την συσσώρευση των μετάλλων στους φυτικούς ιστούς αλλά και την επίδραση τους στην φυσιολογία του φυτού. Παρόλα αυτά είναι ένα φυτό ανθεκτικό στο κάδμιο και στον μολύβδο με τη δυνατότητα να αναπτύσσεται σε φτωχά εδάφη και την ικανότητα να εκκρίνει τα μέταλλα που λαμβάνονται από το έδαφος στην επιφάνεια των φύλλων του. Αυτά τα χαρακτηριστικά λοιπόν αν ληφθούν υπόψη μαζί με την υψηλή παραγωγή βιομάζας που παρουσιάζει και άρα την σχετικά υψηλή συνολική συσσώρευση μετάλλων αλλά και το γεγονός ότι η συνολική απομάκρυνση των μετάλλων από το έδαφος ενισχύεται λόγω της συνδυασμένης επίδρασης της έκκρισης και της συσσώρευσης, επισημαίνει ένα μοναδικό πλεονέκτημα που κατέχει το συγκεκριμένο φυτό για εφαρμογές φυτοεξυγίανσης.

6ο. ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΕΔΑΦΩΝ ΑΠΟ Pb ΚΑΙ Cd

6.1. ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ ΓΙΑ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΡΥΠΑΣΜΕΝΩΝ ΜΕ ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ ΕΔΑΦΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΦΥΤΩΝ

Η αποκατάσταση ρυπασμένων με βαρέα μέταλλα εδαφών με χρήση φυτών, αποτελεί μια καινοτόμο συνεχώς αναπτυσσόμενη τεχνολογία, η οποία αντιπαραβάλλεται στις καθιερωμένες μεθόδους αποκατάστασης ιδιαιτέρως στα σημεία που αυτές αποτυγχάνουν κυρίως λόγω υψηλού κόστους. Η επιτυχία της τεχνικής της φυτοεξυγίανσης όμως, εξαρτάται πρωταρχικά από την αναγνώριση κατάλληλων φυτικών ειδών τα οποία μπορούν να αναπτύσσονται στα ρυπασμένα εδάφη και είτε να συσσωρεύουν ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στους ιστούς τους με στόχο την απομάκρυνση τους από την περιοχή στα πλαίσια της τεχνικής της Φυτοσυσσώρευσης, είτε να τα ακινητοποιούν στο περιβάλλον της ρίζας με στόχο την μείωση της κινητικότητας και βιοδιαθεσιμότητας τους στο έδαφος στα πλαίσια της τεχνικής της Φυτοσταθεροποίησης. Κατά συνέπεια, καταρχάς η έρευνα εστιάζεται στην αναγνώριση φυτών ανθεκτικών στα μέταλλα τα οποία είναι είτε υπερσυσσωρευτές των μετάλλων, είτε «απαγορευτές» (excluders) των μετάλλων.

Συνοπτικά επαναλαμβάνεται ότι, οι υπερσυσσωρευτές είναι φυτικά είδη ικανά να συγκεντρώνουν στους υπέργειους ιστούς τους 100 φορές υψηλότερα επίπεδα μετάλλων από τα κοινά φυτά. Ένας υπερσυσσωρευτής, λοιπόν, καδμίου ή μολύβδου πρέπει να συγκεντρώνει περισσότερα από 100 ppm Cd ή 1000 ppm Pb στα υπέργεια τμήματα του και να παρουσιάζει λόγους συγκέντρωσης μετάλλου υπέργειου/ρίζας μεγαλύτερους της μονάδας. Αντίθετα απαγορευτής των μετάλλων είναι το φυτό που με βάση τη στρατηγική ανθεκτικότητας του, δύναται να προσλάβει μεν τα τοξικά μέταλλα με τις ρίζες αλλά περιορίζει την μεταφορά τους στο υπέργειο τμήμα μέχρι ενός κρίσιμου επιπέδου πέραν του οποίου τα μέταλλα συσσωρεύονται και τους υπέργειους ιστούς.

Ιδιαίτερως για την περίπτωση της Φυτοσυσσώρευσης, όπως συζητήθηκε σε προηγούμενα Κεφάλαια, δεν έχει βρεθεί κανένα φυτό που να ικανοποιεί όλα τα απαιτούμενα κριτήρια για εφαρμογή της τεχνικής, ενώ η επιλογή ενός δεδομένου είδους, εξαρτάται κυρίως από τον καλύτερο ποσοτικό συνδυασμό μεταξύ της συσώρευσης των μετάλλων και της παραγόμενης βιομάζας. Οι υπερσυσσωρευτές είναι συνήθως μικρόσωμα φυτά με ρηχό ριζικό σύστημα και με χαμηλή παραγωγικότητα και απαντώνται σε απομονωμένα περιβάλλοντα με συνέπεια να στερούμαστε της τεχνογνωσίας για μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια τους. Επιπρόσθετα, παρότι επιδεικνύουν ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων ανά μονάδα φυτικής βιομάζας, τα συνολικά ποσά των μετάλλων που απομακρύνονται σε μια δεδομένη χρονική περίοδο μπορεί να είναι ιδιαίτερος χαμηλά. Αντίθετα, τα φυτά με καλή αύξηση παρουσιάζουν συνήθως χαμηλή συσώρευση μετάλλων καθώς επίσης και χαμηλή ανοχή στα βαρέα μέταλλα. Επομένως, ο επιθυμητός συνδυασμός υψηλής συγκέντρωσης μετάλλων και υψηλής παραγωγής βιομάζας σε ένα φυτικό είδος μπορεί να μην είναι δυνατός και να είναι αναγκαίος ο συμβιβασμός μεταξύ της υπερσυσσώρευσης και της υψηλής παραγωγικότητας. Για το λόγο αυτό, ιδιαίτερη έμφαση στην έρευνα έχει δοθεί για την αξιολόγηση της συσώρευσης των μετάλλων σε φυτά με υψηλή παραγωγή βιομάζας που μπορούν να καλλιεργηθούν εύκολα με χρήση των καθιερωμένων αγρονομικών πρακτικών. Με βάση αυτή την τάση στην έρευνα λοιπόν, στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, επιλέχθηκαν και μελετήθηκαν τα ενδημικά φυτά *Atriplex halimus* L., *Nerium oleander* L. και *Tamarix smyrnensis* Bunge για τον χαρακτηρισμό της δυναμικότητας τους για πρόσληψη, μεταφορά και συσώρευση των υπό εξέταση μετάλλων, προκειμένου να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητά τους ως μέσα εξυγίανσης.

6.2. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΕΔΑΦΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *ATRIPLEX HALIMUS* L.

Στα πλαίσια του χαρακτηρισμού του μεσογειακού φυτού *Atriplex halimus* L. ως φυτό-εξυγιαντής για την αποκατάσταση εδαφών από μόλυβδο και κάδμιο, καταρχήν διαπιστώθηκε ότι είναι ένα φυτό ιδιαίτερα ανθεκτικό και στον μόλυβδο και το κάδμιο δεδομένου ότι δεν παρουσίασε συμπτώματα τοξικότητας που να συνδέονται με την παρουσία των μετάλλων ακόμα και όταν οι συγκεντρώσεις τους στο έδαφος ξεπερνούσαν κατά πολύ τις οριακές επιτρεπτές τιμές που έχουν θεσπιστεί από το ελληνικό κράτος. Αντ' αυτού, σε ορισμένες περιπτώσεις παρουσίασε ακόμα και αύξηση των παραγωγικών του χαρακτηριστικών με έκθεση στα μέταλλα.

Όμως το *A. halimus* δεν βρέθηκε να αποτελεί υπερσυσσωρευτή του καδμίου ή του μολύβδου. Η συσσώρευση και των δύο μετάλλων στους φυτικούς ιστούς κυμάνθηκε σε όλες τις περιπτώσεις σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Σε αντίθεση με τα παρόντα αποτελέσματα βρίσκονται μελέτες άλλων ερευνητών όπου σε υδροπονικές καλλιέργειες φυταρίων *A. halimus* με έκθεση στα συγκεκριμένα μέταλλα βρέθηκε ότι αποτελεί υπερσυσσωρευτή και των δυο μετάλλων. Ειδοποιός διαφορά και πιθανή αιτία των διαφορετικών αποτελεσμάτων θεωρείται η ηλικία και το στάδιο ανάπτυξης των φυτών γεγονός που επιβεβαιώνει βιβλιογραφικές αναφορές που υποστηρίζουν ότι, εκτός των άλλων, η ηλικία και τα στάδια ανάπτυξης των φυτών αποτελούν βασικούς παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη και συσσώρευση των μετάλλων. Δηλαδή θεωρείται πιθανό, το συγκεκριμένο φυτό σε νεαρή ηλικία να προσλαμβάνει τα μέταλλα σε μεγάλες ποσότητες ενώ όσο αυξάνεται και περνά σε επόμενα στάδια ανάπτυξης να περιορίζει την πρόσληψη και συσσώρευση του μολύβδου και του καδμίου. Με βάση την παρατήρηση αυτή, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η διερεύνηση της χρησιμότητας του φυτού για εφαρμογές φυτοαποκατάστασης στα πλαίσια μιας νέας τεχνικής που έχει δει το φως της δημοσιότητας με την ονομασία Βλαστοδιήθηση (Blastofiltration) της οποίας όμως η δυνατότητα δεν έχει ακόμα αξιολογηθεί. Η μέθοδος αυτή στοχεύει στην απομάκρυνση βαρέων μετάλλων από νερά και είναι ανάλογη της Ριζοδιήθησης με την διαφοροποίηση ότι κάνει χρήση φυταρίων έναντι πλήρως ανεπτυγμένων φυτών (Pletsch, 2004).

Επιπλέον όμως, ιδιαίτερα στην περίπτωση του καδμίου, βρέθηκε ότι παρόλο που οι ρίζες του φυτού συσσωρεύουν λίγο υψηλότερες συγκεντρώσεις από ότι οι υπέργειοι ιστοί, η συνολική συσσώρευση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα κυμαίνεται στο 70-76% του συνολικού καδμίου που προσλαμβάνεται από τα φυτά λόγω της μεγάλης παραγόμενης βιομάζας του υπέργειου τμήματος. Το γεγονός αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης με την έννοια ότι ευνοείται ο θερτισμός του υπέργειου τμήματος έναντι του ξεριζώματος ολόκληρου του φυτού. Επιπλέον, όπως έχει ήδη συζητηθεί, πρόκειται για ένα φυτό μεγάλης παραγωγής βιομάζας, με συνήθη επίπεδα σε φυσικά περιβάλλοντα γύρω στα 5 Mg ξηρής ουσίας $\text{ha}^{-1} \text{yr}^{-1}$, που αντιστοιχεί σε μια μέση παραγωγή περισσότερο από 30 Mg νωπής ουσίας $\text{ha}^{-1} \text{yr}^{-1}$. Επιπλέον με κατάλληλους χειρισμούς της καλλιέργειας μέσω εφαρμογής λιπασμάτων και χημικών και αύξηση της πυκνότητας φύτευσης, η παραγωγή βιομάζας μπορεί έως και να τριπλασιαστεί (Lutts et al., 2004). Κατά συνέπεια, παρ' όλη την χαμηλή συγκέντρωση καδμίου στο υπέργειο τμήμα του φυτού, η σημαντική παραγωγή βιομάζας του μπορεί να οδηγήσει σε μια αξιόλογη συνολική απομάκρυνση του μετάλλου από το έδαφος αφού η συγκέντρωση του μετάλλου στο φυτικό ιστό πολλαπλασιάζεται από την βιομάζα.

Λαμβάνοντας υπόψη λοιπόν, τα παραπάνω χαρακτηριστικά μαζί με τις πειραματικές παρατηρήσεις που έδειξαν ότι το φυτό δύναται να συσσωρεύσει υψηλότερες

συγκεντρώσεις καδμίου όταν αυτό είναι περισσότερο διαθέσιμο στο έδαφος (είτε λόγω αύξησης της συγκέντρωσης του στο έδαφος είτε με υποβοήθηση με αύξησης της εδαφικής αλατότητας), μπορεί να υποστηριχθεί μια πρόταση για χρήση του φυτού για εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης.

Όσον αφορά την αποτελεσματικότητα του *A. halimus* για αποκατάσταση εδαφών από μόλυβδο, εκτός από πιθανή χρήση του για εφαρμογές χημικά υποβοηθούμενης φυτοσυσσώρευσης με προσθήκη χηλικών αντιδραστηρίων, θα μπορούσε να αποτελεί μια καλή επιλογή για εφαρμογές φυτοσταθεροποίησης. Τα πειραματικά αποτελέσματα κατέδειξαν την χαμηλή συσσώρευση του μετάλλου στους φυτικούς ιστούς και επιπλέον την ιδιαίτερα περιορισμένη μετακίνηση και συσσώρευση του στα υπέργεια τμήματα. Όπως συζητήθηκε στο Κεφάλαιο 2, για εφαρμογές φυτοσταθεροποίησης απαιτείται ένα φυτό: 1) ανθεκτικό στα μέταλλα αλλά μη-συσσωρευτή των μετάλλων έτσι ώστε να μπορεί να αναπτυχθεί στο ρυπασμένο έδαφος αλλά να μην μεταφέρει τα μέταλλα στο υπέργειο τμήμα του, 2) με γρήγορη αύξηση ώστε να επιτυγχάνεται σε σύντομο χρονικό διάστημα υδραυλικός έλεγχος και ακινητοποίηση των ρύπων, 3) με εκτεταμένο ριζικό σύστημα το οποίο να φτάνει μέσα στην ζώνη της ρύπανσης και επιπλέον να σταθεροποιεί το έδαφος ενάντια στη διάβρωση, 4) που αποτελεί καλό «κάλυμμα» του εδάφους ώστε να μην υπάρχει άμεση επαφή με το ρυπασμένο έδαφος και να μειώνεται η μεταφορά των μετάλλων μέσω της μεταδιδόμενης με τον άνεμο σκόνης, 5) που είναι ικανό να μεταβάλει τις βιολογικές, χημικές και φυσικές συνθήκες στο έδαφος ακινητοποιώντας τα μέταλλα στην ριζόσφαιρα και 6) ανθεκτικό και σε άλλες περιβαλλοντικές καταπονήσεις όπως ξηρασία και υψηλές θερμοκρασίες και να αναπτύσσεται σε ανεπαρκή σε θρεπτικά εδάφη.

Το *Atriplex halimus* L. λοιπόν, είναι ένα ανθεκτικό στο μόλυβδο φυτό που δεν αποτελεί συσσώρευτή και είναι φυτό μεγάλης βιομάζας, γρήγορης ανάπτυξης και με εκτεταμένο ριζικό σύστημα, ικανό να προσαρμόζεται σε διάφορα ρυπασμένα υποστρώματα με φτωχά και ξερικά χαρακτηριστικά. Επιπλέον, η εντυπωσιακή ανθεκτικότητα του στην ξηρασία και την εδαφική αλατότητα το καθιστά εξαιρετικό είδος όχι μόνο για εισαγωγή σε ρυπασμένες με βαρέα μέταλλα αλλά και σε περιοχές που συνδυάζουν υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων και αλάτων. Επίσης, πρόκειται για ένα φυτό που έχει μελετηθεί αρκετά λόγω του ενδιαφέροντος που παρουσιάζει ως πηγή τροφής οικόσιτων ζώων και άρα υπάρχει αρκετή πληροφόρηση όσον αφορά τα αγρονομικά του χαρακτηριστικά και τεχνογνωσία για μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια του για εφαρμογές φυτοαποκατάστασης.

6.3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΕΔΑΦΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *NERIUM OLEANDER* L.

Όσον αφορά το *Nerium oleander* L. δεν βρέθηκε να είναι υπερσυσσωρευτής του μολύβδου ή του καδμίου δεδομένου ότι η συσσώρευση των μετάλλων σε καμία περίπτωση δεν έφτασε στα επίπεδα τα οποία θα επέτρεπαν ένα τέτοιο ισχυρισμό και επιπλέον η κύρια περιοχή συσσώρευσης και των δύο μετάλλων βρέθηκε να είναι οι ρίζες του φυτού. Παρόλα αυτά, διαπιστώθηκε ότι είναι ένα φυτό ιδιαίτερα ανθεκτικό και στα δύο μέταλλα δεδομένου ότι δεν επέδειξε συμπτώματα τοξικότητας που να συνδέονται με την παρουσία τους.

Εντούτοις, από τα αποτελέσματα που προέκυψαν τουλάχιστον από τα πειράματα έκθεσης του φυτού στον μόλυβδο αποδείχτηκε ότι πιθανόν πρόκειται για φυτό «απαγορευτή» των μετάλλων δεδομένου ότι με αύξηση της συγκέντρωσης του Pb στο έδαφος παρατηρήθηκε μετακίνηση του στα υπέργεια τμήματα μόνο εφόσον η συνολική ικανότητα κατακράτησης των ριζών είχε εξαντληθεί. Όπως όμως συζητήθηκε εκτενώς στο Κεφάλαιο 2, φυτά απαγορευτές τα οποία χαρακτηρίζονται από μεγάλη παραγωγή βιομάζας και γρήγορη ανάπτυξη αποτελούν τα κατάλληλα φυτικά είδη για εφαρμογές χημικά υποβοηθούμενης φυτοσυσσώρευσης ιδιαίτερα για απομάκρυνση μετάλλων μικρής βιοδιαθεσιμότητας όπως ο μόλυβδος, επιτρέποντας την καλλιέργεια των φυτών πριν την προσθήκη των χηλικών αντιδραστηρίων ή γενικά παραγόντων κινητοποίησης του μετάλλου στο έδαφος. Κατά συνέπεια, αυτά τα δεδομένα αναδεικνύουν την δυνατότητα χρήσης του *N. oleander* για αποκατάσταση εδαφών από μόλυβδο στα πλαίσια της τεχνικής της χημικά υποβοηθούμενης φυτοσυσσώρευσης, μιας και αποτελεί φυτό απαγορευτή του μολύβδου, χαρακτηρίζεται από μεγάλη παραγωγή βιομάζας, γρήγορη ανάπτυξη και εκτεταμένο ριζικό σύστημα και επιπλέον δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις όσον αφορά το έδαφος και μπορεί να αναπτυχθεί σε άγονα, ξηρά ή αλατούχα εδάφη.

Επιπρόσθετα όμως, το *Nerium oleander* L. διαθέτει όλα τα επιθυμητά χαρακτηριστικά για εφαρμογές φυτοσταθεροποίησης. Όπως συζητήθηκε, οι βασικοί στόχοι της χρήσης των φυτών στην περίπτωση της φυτοσταθεροποίησης είναι η μείωση του ποσού του νερού που διηθείται μέσα στο έδαφος με στόχο να μειωθεί ο κίνδυνος μεταφοράς των μετάλλων στα υπόγεια και επιφανειακά νερά, η δράση τους ως φράγματα ώστε να εμποδιστεί η άμεση επαφή με το ρυπασμένο έδαφος και η μείωση της διάβρωσης του εδάφους και της μεταφοράς της ρύπανσης σε άλλες περιοχές μέσω της μεταδιδόμενης με τον άνεμο σκόνης. Συνεπώς, το *Nerium oleander* L. διαθέτει καθ' ένα από τα επιθυμητά χαρακτηριστικά που επιτρέπουν τη χρήση του ως εργαλείο για επαναβλάστηση για τον έλεγχο της διάβρωσης σε περιοχές ρυπασμένες με τα βαρέα μέταλλα (Φυτοσταθεροποίηση):

1. Είναι ανθεκτικό στα δύο μέταλλα αλλά δεν αποτελεί συσσωρευτή των μετάλλων και επιπλέον η κύρια περιοχή συσσώρευσης των μετάλλων είναι οι ρίζες του φυτού ενώ οι συγκεντρώσεις τους στα υπέργεια τμήματα είναι ιδιαίτερος χαμηλές.
2. Χαρακτηρίζεται από γρήγορη ανάπτυξη άρα δύναται να επιτύχει σε σύντομο χρονικό διάστημα ακινητοποίηση των ρύπων και πιθανά υδραυλικό έλεγχο.
3. Αναπτύσσει εκτεταμένο ριζικό σύστημα και άρα μπορεί να σταθεροποιεί το έδαφος ενάντια στη διάβρωση αλλά και να φτάνει μέσα στην ζώνη της ρύπανσης.
4. Αναπτύσσει μεγάλη βιομάζα και άρα δύναται να αποτελεί καλό «κάλυμμα» του εδάφους μειώνοντας την επαφή με το ρυπασμένο έδαφος και τη μεταφορά των μετάλλων μέσω του ανέμου.
5. Αναπτύσσεται σε εδάφη ποικίλης ποιότητας και είναι ανθεκτικό στην ξηρασία, στην εδαφική αλατότητα, στις υψηλές θερμοκρασίες και στους ισχυρούς ανέμους.

Τέλος, ένα ακόμα σημαντικό χαρακτηριστικό του συγκεκριμένου φυτού που του δίνει ένα επιπλέον πλεονέκτημα για εφαρμογές φυτοσταθεροποίησης αλλά και γενικά φυτοεξυγίανσης, είναι ότι μειώνεται ο κίνδυνος εισαγωγής των μετάλλων στην τροφική αλυσίδα μέσω της κατανάλωσης του φυτού από τα ζώα αφού λόγω των περιεχόμενων καρδιακών γλυκοσίδων του, οι οποίες είναι ουσίες ικανές για δηλητηριώδεις επιδράσεις στα ζώα και τον άνθρωπο, δεν αποτελεί βρώσιμο φυτικό είδος. Τέλος, λόγω της ευρείας χρήσης του ως καλλωπιστικού φυτού είναι γνωστά τα αγρονομικά χαρακτηριστικά του και άρα υπάρχει η τεχνογνωσία για μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια του για εφαρμογές φυτοεξυγίανσης.

6.4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΕΔΑΦΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *TAMARIX SMYRNENSIS* BUNGE

Η επιλογή του *Tamarix smyrnensis* Bunge για διερεύνηση της δυνατότητας του ως φυτό-εξυγιαντής για αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών από κάδμιο και μόλυβδο βασίστηκε καταρχάς στην πρόταση ότι τα δέντρα πιθανόν αποτελούν τον φθηνότερο τύπο φυτού προς χρήση για εφαρμογές φυτοεξυγίανσης διότι παρόλο που συνήθως προσλαμβάνουν και συσσωρεύουν σχετικά μικρές ποσότητες βαρέων μετάλλων παρέχουν οικονομική αποκατάσταση του ρυπασμένου εδάφους μέσω της παραγωγής μεγάλης βιομάζας. Επιπλέον, λόγω του εκτεταμένου ριζικού τους συστήματος αλλά και της δυνατότητας τους να αναπτύσσονται σε εδάφη φτωχής γονιμότητας θεωρούνται ως εναλλακτικά φυτικά είδη για φυτοσυσσώρευση ή φυτοσταθεροποίηση κρατώντας το κόστος της εφαρμογής χαμηλό.

Με βάση λοιπόν τα αποτελέσματα από όλα τα πειράματα όπου έλαβαν χώρα, εξήχθη το συμπέρασμα ότι το *Tamarix smyrnensis* δεν αποτελεί υπερσυσσωρευτή του μολύβδου και του καδμίου λαμβάνοντας υπόψη την συσσώρευση των μετάλλων στους φυτικούς ιστούς αλλά και την επίδραση τους στην φυσιολογία του φυτού, γεγονός που επιβεβαιώνει την άποψη ότι τα δέντρα συνήθως συσσωρεύουν σχετικά μικρές ποσότητες βαρέων μετάλλων. Παρόλα αυτά, η συνολική απομάκρυνση των μετάλλων από το έδαφος ενισχύεται λόγω της μεγάλης παραγωγής βιομάζας. Επιπλέον, ιδιαίτερου ενδιαφέροντος αποτελεί η διαπίστωση ότι η αλατότητα έχει θετική επίδραση στην όχι μόνο στην πρόσληψη και συσσώρευση των μετάλλων στους φυτικούς ιστούς αλλά και στην μετακίνηση τους από τις ρίζες στα εναέρια μέρη των φυτών. Ιδιαίτερα στην περίπτωση του καδμίου παρατηρήθηκε ότι η αύξηση της εδαφικής αλατότητας οδήγησε σε λόγους συγκέντρωσης υπέργειου/ρίζας μεγαλύτερους της μονάδας, στοιχείο πολύ σημαντικό για εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης.

Εντούτοις, η χαμηλή συσσώρευση των μετάλλων στα υπέργεια τμήματα των φυτών *Tamarix* πιθανόν να συνδέεται με το μηχανισμό έκκρισης αλάτων τον οποίο χρησιμοποιεί το φυτό για να αποβάλει μαζί με την περίσσεια των αλάτων και την περίσσεια των μετάλλων. Δηλαδή το φυτό χρησιμοποιεί το μηχανισμό ανθεκτικότητας του στην αλατότητα και για αποτοξίνωση από τα βαρέα μέταλλα. Πέραν τούτου, διαπιστώθηκε ότι η έκκριση των μετάλλων αυξάνεται με την αύξηση της αλατότητας επιβεβαιώνοντας το γεγονός ότι οι εξειδικευμένοι αλατώδεις αδένες του φυτού δεν είναι εκλεκτικοί και η σύσταση των αλάτων που εκκρίνονται σχετίζεται με τη σύσταση της ριζόσφαιρας. Αυτό το ιδιαίτερα ενδιαφέρον χαρακτηριστικό προσδίδει στο *T. smyrnensis* ένα μοναδικό πλεονέκτημα για εφαρμογές φυτοεξυγίανσης μιας και η συνολική απομάκρυνση των μετάλλων από το έδαφος ενισχύεται λόγω της συνδυασμένης επίδρασης της έκκρισης και της συσσώρευσης.

Από την άλλη πλευρά όμως, το γεγονός ότι το μέταλλο που υπάρχει στο έδαφος λαμβάνεται από τις ρίζες, μεταφέρεται στα εναέρια μέρη των φυτών και από εκεί στα φύλλα όπου και εκκρίνεται επάνω στην επιφάνεια φύλλων, υπονοεί ότι υπό συνήθεις συνθήκες, αυτό που λαμβάνει χώρα είναι η ανακύκλωση του μετάλλου από το έδαφος στο φυτό και πάλι πίσω στην επιφάνεια του εδάφους. Επιπρόσθετα, αυτή η απελευθέρωση μετάλλων από τα φυτά και η συνεπακόλουθη συσσώρευση τους στην επιφάνεια του εδάφους μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας τους στο εδαφικό περιβάλλον όπου ακόμη και μικρές συγκεντρώσεις μπορούν να έχουν τοξικά αποτελέσματα στην τροφική αλυσίδα. Είναι λοιπόν προφανές, ότι σε αυτό το σημείο ίσως υπάρχει μια ευκαιρία για ανάπτυξη νέων τεχνολογιών φυτοεξυγίανσης για επέμβαση

και σύλληψη των σταγονιδίων σε κατάλληλα μέσα προτού ανακυκλωθούν επάνω στην επιφάνεια του εδάφους. Σε αυτήν την περίπτωση, τα φυτά δουλεύουν ως «βιολογικές αντλίες» για τα βαρέα μέταλλα. Έχουμε εισαγάγει τον όρο «**Φυτοέκκριση**» ("**Phytoexcretion**") για να υπογραμμίσουμε το γεγονός ότι ίσως πρόκειται για μια εναλλακτική τεχνική φυτοεξυγίανσης που αναζητά περαιτέρω διερεύνηση.

Εν συντομία, όσον αφορά την δυνατότητα του συγκεκριμένου φυτού για αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών με Pb και Cd, η μελέτη αυτή υποστηρίζει ότι το *Tamarix smyrnensis* Bunge είναι ένα ανθεκτικό φυτό στο κάδμιο και στον μόλυβδο, με τη δυνατότητα να εκκρίνει τα μέταλλα που λαμβάνονται από το έδαφος στην επιφάνεια των φύλλων του. Αυτά τα χαρακτηριστικά αν ληφθούν υπόψη μαζί με την υψηλή παραγωγή βιομάζας που παρουσιάζει, την μεγάλη κατανάλωση νερού και τη δυνατότητα του να αναπτύσσεται σε φτωχά ή/και αλατούχα εδάφη, επισημαίνουν ένα μοναδικό πλεονέκτημα που κατέχει το συγκεκριμένο φυτό για εφαρμογές φυτοεξυγίανσης.

6.5. ΦΥΤΟΕΚΚΡΙΣΗ (PHYTOEXCRETION) - ΜΙΑ ΝΕΑ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ

Ως γνωστόν, ως Φυτοαποκατάσταση ή Φυτοεξυγίανση ορίζεται η χρήση φυτών και των σχετιζόμενων με αυτά μικροοργανισμών για την αφαίρεση, αποδόμηση ή συγκράτηση των περιβαλλοντικών ρύπων από ρυπασμένα εδάφη, ιζήματα ή νερά και περιλαμβάνει επτά κύριες μεθόδους:

1. *Ριζοαποδόμηση ή Ενισχυμένη βιοαποδόμηση στην ριζόσφαιρα (Rhizodegradation or Plant-assisted bioremediation)*
2. *Φυτοαποδόμηση (Phytodegradation)*
3. *Φυτοσυσσώρευση (Phytoextraction or Phytoaccumulation)*
4. *Ριζοδιήθηση (Rhizofiltration)*
5. *Φυτοεξάτμιση (Phytovolatilization)*
6. *Φυτοσταθεροποίηση (Phytostabilization)*
7. *Υδραυλικός έλεγχος (Hydraulic Control)*

Στα πλαίσια της αποκατάστασης επιβαρυμένων με βαρέα μέταλλα εδαφών λοιπόν, από τις παραπάνω τεχνικές μπορούν να εφαρμοστούν οι μέθοδοι της Φυτοσυσσώρευσης και της Φυτοσταθεροποίησης. Στην περίπτωση της φυτοσταθεροποίησης βέβαια, αναφερόμαστε σε μια εναλλακτική λύση, μιας και δεν επιτυγχάνεται απομάκρυνση της ρύπανσης από την περιοχή αλλά περιορισμός της στο σημείο, που βρίσκει εφαρμογή στις περιπτώσεις όπου οι άλλες μέθοδοι αποκατάστασης δεν μπορούν να εφαρμοστούν. Από την άλλη πλευρά η φυτοσυσσώρευση αποτελεί μια ελπιδοφόρα και οικονομικά αποδοτική μέθοδο. Εντούτοις, πέραν του προβλήματος της αναγνώρισης καταλλήλων φυτών-εξυγιαντών, η φυτοσυσσώρευση έχει δύο ακόμα σημαντικά μειονεκτήματα που πρέπει να αντιμετωπιστούν προκειμένου να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος αποτελεσματικά: η διαχείριση και διάθεση του ρυπασμένου φυτικού υλικού που προκύπτει από την εφαρμογή της μεθόδου και ο μεγάλος χρόνος που απαιτείται συχνά για την αποκατάσταση. Τα φυτά που έχουν χρησιμοποιηθεί για συσσώρευση των μετάλλων πρέπει να θεριστούν και να απομακρυνθούν από την περιοχή για αποτροπή της ανακύκλωσης των μετάλλων με την αποσύνθεση της φυτικής μάζας και παρότι το πρόβλημα της διάθεσης του ρυπασμένου φυτικού ιστού μετά την συγκομιδή αποτελεί ένα σημαντικό στάδιο για την εφαρμογή της μεθόδου, δεν έχει εξεταστεί εκτενώς. Το

δεύτερο πρόβλημα της φυτοσυσσώρευσης είναι ο απαιτούμενος χρόνος αποκατάστασης, δεδομένου ότι η αποκατάσταση με φυτά είναι μια χρονοβόρα διαδικασία που μπορεί να πάρει αρκετά χρόνια ή και περισσότερο προκειμένου να αποκατασταθεί πλήρως μια περιοχή. Περαιτέρω, επιτυχής εφαρμογή της σημαίνει ότι το ρυπασμένο μέσο καθαρίζεται σε επίπεδο που συμμορφώνεται με τους περιβαλλοντικούς κανονισμούς και επιπλέον από οικονομικής άποψης, η αποκατάσταση επιτυγχάνεται με χαμηλότερο κόστος από μια εναλλακτική τεχνολογία ή την απραξία. Εντούτοις, παρά την εντατική έρευνα επάνω στο θέμα την τελευταία δεκαετία, πολύ λίγες επιτυχείς δοκιμές πεδίου ή εμπορικές εφαρμογές έχουν αναφερθεί.

Όπως συζητήθηκε στο Κεφάλαιο 2, τα φυτά διαθέτουν διάφορους μηχανισμούς για να ανταπεξέλθουν της δυσμενής επιρροής των βαρέων μετάλλων και ένας από αυτούς, είναι ο μηχανισμός έκκρισης των μετάλλων μέσω των εξειδικευμένων αλατωδών αδένων τους στην επιφάνεια των φύλλων τους. Το γεγονός ότι το μέταλλο(α) στο έδαφος λαμβάνεται από τις ρίζες των φυτών, μεταφέρεται στα εναέρια μέρη και από εκεί στα φύλλα που εκκρίνεται επάνω στην επιφάνεια των φύλλων, σημαίνει ότι τουλάχιστον ένα μέρος των συσσωρευμένων μετάλλων ανακυκλώνεται στην επιφάνεια του εδάφους όπου και συσσωρεύεται. Ως εκ τούτου, αυτή η απελευθέρωση του μετάλλου από τα φυτά μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας του μέσα στο εδαφικό περιβάλλον όπου ακόμη και οι μικρές αυξήσεις δύνανται να έχουν σημαντικές επιπτώσεις στην τροφική αλυσίδα. Επιπρόσθετα όμως, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι εάν η διεργασία της «φυτοέκκρισης» δεν εξεταστεί κατάλληλα μπορεί να μειώσει την αποτελεσματικότητα των άλλων τεχνικών φυτοεξυγίανσης και επομένως στις περιπτώσεις όπου πρόκειται να χρησιμοποιηθούν φυτά που διαθέτουν αυτό το μηχανισμό για εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης ή φυτοσταθεροποίησης πρέπει να έχουμε υπόψη μας τη διεργασία της φυτοέκκρισης.

Από την άλλη πλευρά όμως, δίνεται η ευκαιρία για ανάπτυξη νέων τεχνολογιών φυτοεξυγίανσης με επέμβαση και σύλληψη των σταγονιδίων έκκρισης σε κατάλληλα μέσα προτού ανακυκλωθούν επάνω στην επιφάνεια του εδάφους. Με τον τρόπο αυτό, τα φυτά δουλεύουν ως «βιολογικές αντλίες» για τα βαρέα μέταλλα. Ονομάσαμε την διεργασία αυτή «Φυτοέκκριση» ("Phytoexcretion") για να τονίσουμε το γεγονός ότι ίσως πρόκειται για μια εναλλακτική μέθοδο φυτοαποκατάστασης η δυνατότητα της οποίας μπορεί να ερευνηθεί περαιτέρω.

Μια τεχνολογικά ασφαλής στρατηγική θα μπορούσε να βασιστεί παραδείγματος χάριν στη χρήση δεσμευτικών/απορροφητικών για τα μέταλλα "καλυμμάτων", όπου τα μέταλλα που εκκρίνονται από τα φυτά συγκρατούνται για μετέπειτα συλλογή. Με τον τρόπο αυτό, μειώνεται η συχνότητα θερισμού ή ξεριζώματος ολόκληρου του φυτού, οδηγώντας σε χαμηλότερο κόστος και ταχύτερους χρόνους αποκατάστασης και επιπλέον υπάρχει πάντα η δυνατότητα ανάκτησης των μετάλλων.

Εν κατακλείδι, αυτή η μέθοδος θα μπορούσε να προστεθεί στις προαναφερθείσες μεθόδους φυτοαποκατάστασης για την απομάκρυνση βαρέων μετάλλων από ρυπασμένα εδάφη. Μπορεί να έχει όλα τα πλεονεκτήματα της φυτοσυσσώρευσης, αλλά φυσικά όπως και στην περίπτωση της τελευταίας, οι κλιματολογικές συνθήκες και η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων πρέπει να ληφθούν υπόψη. Επιπλέον, μπορεί να υποστηριχθεί ότι αυτή η μέθοδος θα μπορούσε να συνδυαστεί με την φυτοσυσσώρευση δεδομένου ότι τα φυτά που έχουν τη δυνατότητα να συσσωρεύσουν και να εκκρίνουν τα μέταλλα διαθέτουν ένα μοναδικό πλεονέκτημα για εφαρμογές φυτοαποκατάστασης δεδομένου ότι η συνολική απομάκρυνση των βαρέων μετάλλων από το έδαφος ενισχύεται λόγω της συνδυασμένης επίδρασης της έκκρισης και της συσσώρευσης. Η

ιδέα της χρήσης των φυτών ως βιολογικές αντλίες εμφανίζεται ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα και ελπιδοφόρα για την απομάκρυνση των τοξικών μετάλλων από το εδαφικό περιβάλλον και προφανώς αυτή η περιοχή αξίζει περαιτέρω διερεύνηση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Διεθνής Βιβλιογραφία

- Abu-Zanat, M.W., Ruyle, G.B., Abdel-Hamid, N.F., 2004. Increasing range production from fodder shrubs in low rainfall areas. *J. Arid Environ.* 59, 205-216.
- Adriano, D.C., Wenzel, W.W., Vanronsveld, J., Bolan, N.S., 2004. Role of assisted natural remediation in environmental cleanup. *Geoderma* 122, 121-142.
- Ali, M.B., Vajpayee, P., Tripathi, R.D., Rai, U.N., Singh, S.N., Singh, S.P., 2003. Phytoremediation of lead, nickel and copper by *Salix acmophylla* Boiss.: role of antioxidant enzymes and antioxidant substances. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 70, 462-469.
- Amacher, M.C., 1996. Nickel, cadmium and lead, In: Sparks, D.L. (eds) *Methods of soil analysis, Part 3, Chemical methods-SSSA Book Series no. 5*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Inc., Madison, WI, USA, 739-768.
- American Cancer Society. Oleander. http://www.cancer.org/docroot/ETO/content/ETO_5_3X_Oleander_Leaf.asp?sitearea=ETO.
- Amini, M., Khademi, H., Afyuni, M., Abbaspour, K.C., 2005. Variability of available cadmium in relation to soil properties and land use in an arid region in central Iran. *Water Air Soil Pollut.* 162, 205-218.
- Anderson, C.W.N., Brooks, R.R., Chiarucci, A., LaCoste, C., Leblanc, M., Robinson, B.H., Simcock, R., Stewart, R.B., 1999. Phytomining of nickel, thallium and gold. *J. Geochem. Explor.* 67, 407-415.
- Anderson, T.A., Kruger, E.L., Coats, J.R., 1994. Enhanced degradation of a mixture of tree herbicides in the rhizosphere of a herbicide-tolerant plant. *Chemosphere* 28, 2630-2636.
- Aprill, W., Sims, R.C., 1990. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbons treatment in soil. *Chemosphere* 20, 253-265.
- Aslam, M., Qureshi, R.H., Ahmed, N., 1993. A rapid screening technique for salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Soil* 150, 99-107.
- Baccouch, S., Chaoui, A., Ferjani, E.E., 1998. Nickel-induced oxidative damage and antioxidant responses in *Zea mays* shoots. *Plant Physiol. Biochem.* 36, 689-694.
- Bajji, M., Kinet, J.-M., Lutts, S., 1998. Salt effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures. *Plant Sci.* 137, 131-142.
- Balestrasse, K.B., Noriega, G.O., Batlle, A., Tomaro, M.L., 2006. Heme oxygenase activity and oxidative stress signaling in soybean leaves. *Plant Sci.* 170, 339-346.
- Balsberg Pålsson, A.-M., 1989. Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. *Water Air Soil Pollut.* 47, 287-319.
- Barazani, O., Dudai, N., Khadka, U.R., Golan-Goldhirsch, A., 2004. Cadmium accumulation in *Allium schoenoprasum* L. grown in an aqueous medium. *Chemosphere* 57, 1213-1218.
- Barrett-Lennard, E.G., 2002. Restoration of saline land through revegetation. *Agr. Water Manage.* 53, 213-226.
- Basta, N.T., Ryan, J.A., Chaney, R.L., 2005. Trace element chemistry in residual-treated soil: key concepts and metal bioavailability. *J. Environ. Qual.* 34, 49-63.

- Batra, L., Kumar, A., Manna, M.C., Chhabra, R., 1997. Microbial and chemical amelioration of alkane soil by growing karnal grass and gypsum application. *Expl. Agric.* 33, 389-397.
- Baumgartner, D.J., Glenn, E.P., Moss, G., Thompon, T.L., Artiola, J.F., 2000. Effect of irrigation water contaminated with uranium mill tailings on Sudan grass, *Sorghum vulgare* var. *sudanense*, and fourwing saltbush, *Atriplex canescens*. *Arid Soil Res. Rehabil.* 14, 43-57.
- Beauchamp, R.G., Dzantor, E.K., 2002. Phytoremediation, part II: management considerations. *Environ. Pract.* 4, 88-94.
- Begonia, G.B., Davis, C.D., Begonia, M.F.T., Gray, C.N., 1998. Growth responses of Indian mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern.] and its phytoextraction of lead from a contaminated soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 61, 38-43.
- Bingham, F.T., Strong, J.E., Sposito, G., 1983. Influence of chloride salinity on cadmium uptake by Swiss chard. *Soil Sci.* 135, 160-165.
- Blaylock, M.J., Salt, D.E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B.D., Raskin, I., 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.* 31, 860-865.
- Blamey, F., Joyce, D., Edwards, D., Asher, C., 1986. Role of trichomes in sunflower tolerance to manganese toxicity. *Plant Soil* 91, 171-180.
- Bohnert, H.J., Nelson, D.E., Jensen, R.G., 1995. Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell* 7, 1099-1111.
- Bohnert, H.J., Sheveleva, E., 1998. Plant stress adaptations-making metabolism move. *Curr. Opin. Plant Biol.* 1, 267-274.
- Boominathan, R., Doran, P.M., 2003. Cadmium tolerance and antioxidative defenses in hairy roots of the cadmium hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Biotechnol. Bioeng.* 83, 158-167.
- Boularbah, A., Schwartz, C., Bitton, G., Aboudrar, W., Ouhammou, A., Morel, J.L., 2006. Heavy metal contamination from mining sites in south Morocco: 2. Assessment of metal accumulation and toxicity in plants. *Chemosphere* 63, 811-817.
- Bovet, L., Kammer, P.M., Meylan-Bettex, M., Guadagnuolo, R., Matera, V., 2006. Cadmium accumulation capacities of *Arabis alpina* under environmental condition. *Environ. Exp. Bot.* 57, 80-88.
- Boyd, R.S., Martens, S.N., 1998. The significance of metal hyperaccumulation for biotic interactions. *Chemoecology* 8, 1-7.
- Brazil, G.M., Kenefick, L., Callanan, M., Haro, A., de Lorenzo, V., Dowling, D.N., O' Gara, F., 1995. Construction of a rhizosphere pseudomonad with potential to degrade polychlorinated biphenyls and detection of *bph* gene expression in the rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1946-1952.
- Briat, J.-F., Lebrum, M., 1999. Plant responses to metal toxicity. *Plant Biol. Pathol.* 322, 43-54.
- Brooks, R.R., Chambers, M.F., Nicks, L.J., Robinson, B.H., 1998. Phytomining. *Perspectives* 3, 359-362.
- Brotherson, J.D., Field, D., 1987. *Tamarix*: Impacts of a successful weed. *Rangelands* 9, 110-112.
- Brown, K.S., 1995. The green clean. *BioScience* 45, 579-582.
- Brown, S.L., Chaney, R.L., Angle, J.S., Baker, A.J.M., 1995. Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and metal tolerance *Silene vulgaris* grown on sludge-amended soils. *Environ. Sci. Technol.* 29, 1581-1585.

- Burke, D.J., Weis, J.S., Weis, P., 2000. Release of metals by the leaves of the salt marsh grasses *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis*. Estuar. Coast. Shelf Sci. 51, 153-159.
- Caçador, I., Vale, C., Catarino, F., 2000. Seasonal variation of Zn, Pb, Cu and Cd concentrations in the root-sediment system of *Spartina maritima* and *Halimione portulacoides* from Tagus estuary salt marshes. Mar. Environ. Res. 49, 279-290.
- Cao, X., Ma, L.Q., Tu, C., 2004. Antioxidative responses to arsenic in the arsenic-hyperaccumulator Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.). Environ. Pollut. 128, 317-325.
- Carlson, R.W., Bazzaz, F.A., 1977. Growth of reduction IN American sycamore (*Plantanus occidentalis* L.) caused by Pb-Cd interaction. Environ. Pollut. 12, 243-253.
- Carlson, R.W., Rolfe, G.L., 1979. Growth of rye grass and fescue as affected by lead-cadmium-fertilizer interaction. J. Environ. Qual. 8, 348-352.
- Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J.S., Baker, A.J.M., 1997. Phytoremediation of soil metals. Curr. Opin. Biotechnol. 8, 279-284.
- Chaney, R.L., Angle, J.S., Broadhurst, C.L., Peters, C.A., Tappero, R.V., Sparks, D.L., 2007. Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. J. Environ. Qual. 36, 1429-1443.
- Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M.H., Ferjani, E.E., 1997. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects of antioxidant enzyme activities on beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Plant Sci. 127, 139-147.
- Chettri, M.K., Cook, C.M., Vardaka, E., Sawidis, T., Lanaras, T., 1998. The effect of Cu, Zn and Pb on the chlorophyll content of the lichens *Cladonia convolute* and *Cladonia rangiformis*. Environ. Exp. Bot. 39, 1-10.
- Cho, U-H., Seo, N-H., 2005. Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. Plant Sci. 168, 113-120.
- Choi, Y.-E., Harada, E., Wada, M., Tsuboi, H., Morita, Y., Kusano, T., Sano, H., 2001. Detoxification of cadmium in tobacco plants: formation and active excretion of crystals containing cadmium and calcium through trichomes. Planta 213, 45-50.
- Choukr-Allah, R., 1997. The potential of salt-tolerant plants for utilization of saline water. CIHEAM Options Mediterraneennes http://ressources.ciheam.org/om/pdf/a31/CI971_547.pdf.
- Clemens, S., Kim, E.J., Neumann, D., Schroeder, J.I., 1999. Tolerance to toxic metals by a gene family of phytochelatase synthases from plants and yeast. EMBO J. 18, 3325-3333.
- Clemens, S., Palmgren, M.G., Krämer, U., 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. Trends Plant Sci. 7, 309-315.
- Clemens, S., 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. Biochimie 88, 1707-1719.
- Clemente, R., Walker, D.J., Bernal, M.P., 2005. Uptake of heavy metals and As by *Brassica juncea* grown in a contaminated soil in Aznalcóllar (Spain): the effect of soil amendments. Environ. Pollut. 138, 46-58.
- Cleverly, J.R., Smith, S.D., Sala, A., Devitt, D.A., 1997. Invasive capacity of *Tamarix ramosissima* in a Mojave Desert floodplain: the role of drought. Oecologia 111, 12-18.
- Cleverly, J.R., Dahm, C.N., Thibault, J.R., Gilroy, D.J., Coonrod, J.E.A., 2002. Seasonal estimates of actual evapo-transpiration from *Tamarix ramosissima* stands using three-dimensional eddy covariance. J. Arid Environ. 52, 181-197.

- Cobbett, C., Goldsbrough, P., 2002. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53, 159-182.
- Council of the European Communities, 1986. Directive 86/278/EEC on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31986L0278:EN:HTML>.
- Cunningham, S.D., Berti, W.R., Huang, J.W., 1995. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends Biotechnol.* 13, 393-397.
- Cunningham, S.D., Ow, D.W., 1996. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiol.* 110, 715-719.
- Dahmani-Muller, H., van Oort, F., Gealie, B., Balabane, M., 2000. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environ. Pollut.* 109, 231-238.
- Das, P., Samantaray, S., Rout, G.R., 1997. Studies of cadmium toxicity in plants: a review. *Environ. Pollut.* 98, 29-36.
- Davies, K.J.A., 1987. Protein damage and degradation by oxygen radicals I. General aspects. *J. Boil. Chem.* 262, 9895-9901.
- de Azevedo Neto, A.D., Prisco, J.T., Enéas-Filho, J., de Abreu, C.E.B., Gomes-Filho, E., 2006. Effect of salt stress on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environ. Exp. Bot.* 56, 87-94.
- Donnelly, P.K., Fletcher, J.A., 1995. PCB metabolism by ectomycorrhizal fungi. *Bull. Environ. Toxicol.* 54, 507-513.
- Dushenkov, S., 2003. Trends in phytoremediation of radionuclides. *Plant Soil* 249. 167-175.
- Dzantor, E.K., Beauchamp, R.G., 2002. Phytoremediation, part I: fundamental basis for the use of plants in remediation of organic and metal contamination. *Environ. Pract.* 4, 77-87.
- Eapen, S., D'Souza, S.F., 2005. Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals. *Biotechnol. Adv.* 23, 97-114.
- Ellis, D., Salt, D.E., 2003. Plants, selenium and human health. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 273-279.
- Erdelský, K., Frič, F., 1979. Praktikum a analytické metody vo fyziológii rastlín (Practicum and analytical methods in plant physiology). SPN, Bratislava.
- Ernst, W.H.O., 1996. Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. *Appl. Geochem.* 11, 163-167.
- Ernst, W.H.O., 2005. Phytoextraction of mine wastes - options and impossibilities. *Chem. Erde - Geochem.* 65 S1, 29-42.
- Ernst, W.H.O., Verkleij, J.A.C., Schat, H., 1992. Metal tolerance in plants. *Acta Bot. Neerl.* 41, 229-248.
- Everitt, B.J., 1980. Ecology of saltcedar- a plea for research. *Environ. Geol.* 3, 77-84.
- Ewais, E.A., 1997. Effects of cadmium, nickel and lead on growth, chlorophyll content and proteins of weeds. *Biol. Plantarum* 39, 403-410.
- Fadzilla, N.M., Finch, R.P., Burdon, R.H., 1997. Salinity, oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice. *J. Exp. Bot.* 48, 325-331.
- Fayiga, A.O., Ma, L.Q., Cao, X., Rathinasabapathi, B., 2004. Effects of heavy metals on growth and arsenic accumulation in the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Environ. Pollut.* 132, 289-296.

- Fitzgerald, E., Caffrey, J., Nesaratnam, S., McLoughlin, P., 2003. Copper and lead concentrations in salt marsh plants on the Suir Estuary, Ireland. *Environ. Pollut.* 123, 67-74.
- Foley, R.C., Singh, K.B., 1994. Isolation of a *Vicia faba* metallothionein-like gene: expression in foliar trichomes. *Plant Mol. Biol.* 26, 435-444.
- Franco, E., Alessandrelli, S., Masojídek, J., Margonelli, A., Giardi, M.-T., 1999. Modulation of D1 protein turnover under cadmium and heat stresses monitored by [³⁵S]methionine incorporation. *Plant Sci.* 144, 53-61.
- Frazar, C., 2000. The bioremediation and Phytoremediation of pesticide-contaminates sites. Prepared for US Environmental Protection Agency, <http://www.clu-in.org/download/studentpapers/frazar.pdf>.
- Garbisu, C., Alkorta, I., 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresour. Technol.* 77, 229-236.
- Garcia-Miragaya, J., 1984. Levels, chemical fractionation and solubility of lead in roadside soils of Caracas, Venezuela. *Soil Sci.* 138, 147-152.
- Gardea-Torresdey, J., Peralta-Videa, J., Montes, M., de la Rosa, G., Corral-Diaz, B., 2004. Bioaccumulation of cadmium, chromium and copper by *Convolvulus arvensis* L.: impact on plant growth and uptake of nutritional elements. *Bioresour. Technol.* 92, 229-235.
- Gardea-Torresdey, J.L. Peralta-Videa, J.R., de la Rosa, G., Parsons, J.G., 2005. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray adsorption spectroscopy. *Coord. Chem. Rev.* 249, 1797-1810.
- Ge, Y., Hendershot, W., 2005. Modeling sorption of Cd, Hg and Pb in soils by NICA-donnan model. *Soil Sediment Contam.* 14, 53-69.
- Ghnaya, T., Nouairi, I., Slama, I., Messedi, D., Grignon, C., Adbelly C., Ghorbel, M.H., 2005. Cadmium effects on growth and mineral nutrition of two halophytes: *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum*. *J. Plant Physiol.* 162, 1133-1140.
- Ghosh, M., Singh, S.P., 2005. A review on phytoremediation of five heavy metals and utilization of its byproducts. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 3, 1-18.
- Glenn, E., Tanner, R., Mendez, S., Kehret, T., Moore, D., Garcia, J., Valdes C., 1998. Growth rates, salt tolerance and water use characteristics of native and invasive riparian plants from the delta of the Colorado River, Mexico. *J. Arid Environ.* 40, 281-294.
- Glenn, E.P., Waugh, W.J., Moore, D., McKeon, C., Nelson, S.C., 2001. Revegetation of an abandoned uranium millsite on the Colorado Plateau, Arizona. *J. Environ. Qual.* 30, 1154-1162.
- Goetz, R.J., Jordan, T.N., McCain, J.W., Su, N.Y., 1998. Indiana Plants Poisonous to Livestock and Pets, Cooperative Extension Service, Purdue University, <http://www.vet.purdue.edu/depts/addl/toxic/plant52.htm>.
- Green, C., Hoffnagle, A., 2004. Phytoremediation field studies database for chlorinated solvents, pesticides, explosives and metals. Prepared for US Environmental Protection Agency, http://www.clu-in.org/download/studentpapers/hoffnagle_phytoremediation.pdf.
- Greger, M., Kautsky, L., Sandberg, T., 1995. A tentative model of Cd uptake in *Potamogeton pectinatus* in relation to salinity. *Environ. Exp. Bot.* 35, 215-225.

- Griffin, S., 1990. Saline Agriculture: salt- tolerant plants for developing countries. The National Academy of Sciences, National Academy Press, Washington, <http://www.nap.edu/openbook/0309041899/html>.
- Gupta, A.K., Sinha, S., 2006. Role of *Brassica juncea* (L.) Czern. (var, Vaibhav) in the phytoextraction of Ni from soil amended with fly ash: Selection of extractant for metal bioavailability. J. Hazard. Mater. 136, 371-378.
- Haby, P.A. Crowley, D.E., 1996. Biodegradation of 3-chlorobenzoate as affected by rhizodeposition and selected carbon substrates. J. Environ. Qual. 25, 304-310.
- Haddioui, A., Baaziz, M., 2001. Genetic diversity of natural populations of *Atriplex halimus* L. in Morocco: an isoenzyme-based overview. Euphytica 121, 99-106.
- HDRA, The organic organisation, 2000. Tree Species No TTS4: *Atriplex halimus*, Family Chenopodiaceae. http://www.gardenorganic.org.uk/pdfs/international_programme/TTS4-Atriplex_halimus.pdf.
- Hagemeyer, J., Waisel, Y., 1988. Excretion of ions (Cd^{2+} , Li^+ , Na^+ and Cl^-) by *Tamarix aphylla*. Physiol. Plantarum 73, 541-546.
- Hall, J.L., 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. J. Exp. Bot. 53, 1-11.
- Henry, J.R., 2000. An overview of the phytoremediation of lead and mercury. Prepared for US Environmental Protection Agency, <http://www.clu-in.org/download/studentpapers/henry.pdf>.
- Harborne, J.B., 1984. Chlorophylls In: Phytochemical Methods. 2nd ed. Chapman and Hall, London, 214-221.
- Hernández, J.A., Campillo, A., Jiménez A., Alarcón J.J., Sevilla F., 1999. Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. New Phytol. 141, 241-251.
- Hirata, K., Tsuji, N., Miyamoto, K., 2005. Biosynthetic regulation of phytochelatin, heavy metal-binding peptides. J. Biosci. Bioeng. 100, 593-599.
- Huang, J.W., Chen, J., Berti, W.R., Cunningham, S.D., 1997. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. Environ. Sci. Technol. 31, 800-805.
- Huang, J.W., Cunningham, S.D., 1996. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. New Phytol. 134, 75-84.
- Iannelli, M.A., Pietrini, F., Fiore, L., Petrilli, L., Massacci, A., 2002. Antioxidant response to cadmium in *Phragmites australis* plants. Plant Physiol. Biochem. 40, 977-982.
- Inchem, 2005. *Nerium oleander* L. IPCS Inchem, <http://www.inchem.org/documents/pims/plant/pim366.htm>.
- Jiang, X.J., Luo, Y.M., Zhao, O.G., Baker, A.J.M., Christie, P., Wong, M.H., 2003. Soil Cd availability to Indian mustard and environmental risk following EDTA addition to Cd-contaminated soil. Chemosphere 50, 813-818.
- Jones, E.J., Leyval, C., 1997. Uptake of ^{109}Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae* / *Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. New Phytol. 135, 353-360.
- Kadukova, J., Papadontonakis, N., Naxakis, G., Kalogerakis, N., 2004. Lead accumulation by the salt-tolerant plant *Atriplex halimus*. International Conference "Protection and Restoration of the Environment VII", Mykonos, Greece.
- Kadukova, J., Kalogerakis, N., 2007. Lead accumulation from non-saline and saline environment by *Tamarix smyrnensis* Bunge. Eur. J. Soil Biol. 43, 216-223.

- Kamal, M., Ghaly, A.E., Mahmoud, N., Côté, R., 2004. Phytoaccumulation of heavy metals by aquatic plants. *Environ. Int.* 29, 1029-1039.
- Keller, C., Ludwig, C., Davoli, F., Wochele, J., 2005. Thermal treatment of metal-enriched biomass produced from heavy metal phytoextraction. *Envir. Sci. Technol.* 39, 3359-3367.
- Khan, A.G., 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 18, 355-364.
- Kirkham, M.B., 2006. Cadmium in plants on polluted soils: effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments. *Geoderma* 137, 19-32.
- Knight, A.R., 1999. Guide to poisonous plants. http://www.vth.colostate.edu/poisonous_plants/report/report_detail_1.cfm?ID=334.
- Kong, F.X., Hu, W., Chao, S.Y., Sang, W.L., Wang, L.S., 1999. Physiological responses of the lichen *Xanthoparmelia mexicana* to oxidative stress of SO₂. *Environ. Exp. Bot.* 42, 201-209.
- Kontopoulos, A., Komnitsas, K., Xenidis, A., Papassiopi, N., 1995. Environmental characterization of the sulphidic tailings in Lavrion. *Miner. Eng.* 8, 1209-1219.
- Krämer, U., 2005. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. *Curr. Opin. Biotechnol.* 16, 133-141.
- Krämer, U., Chardonnens, A.N., 2001. The use of transgenic plants in the phytoremediation of soils contaminated with trace elements. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55, 661-672.
- Kraus, M.L., Weis, P., Crow, J.H., 1986. The excretion of heavy metals by the salt marsh cord grass, *Spartina alterniflora* and *Spartina's* role in mercury cycling. *Mar. Environ. Res.* 20, 307-316.
- Kraus, M.L., 1988. Accumulation and excretion of five heavy metals by the saltmarsh cordgrass *Spartina alterniflora*. *Bull. New Jersey Acad. Sci.* 33, 39-43.
- Kukier, U., Peters, C.A., Chaney, R.L., Angle, J.S., Roseberg, R.J., 2004. The effect of pH on metal accumulation in two *Alyssum* species. *J. Environ. Qual.* 33, 2090-2102.
- Kumar, N.P.B.A., Dushenkov, V., Motto, H., Raskin, I., 1995. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Technol.* 29, 1232-1238.
- Kumpiene, J., Lagerkvist, A., Maurice, C., 2008. Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments - a review. *Waste Manage.* 28, 215-225.
- Kuo, S., Huang, B., Bembenek, R., 2004. The availability to lettuce of zinc and cadmium in a zinc fertilizer. *Soil Sci.* 169, 363-373.
- Lai, H-Y., Chen, Z-S., 2004. Effects of EDTA on solubility of cadmium, zinc and lead and their uptake by rainbow pink and vetiver grass. *Chemosphere* 55, 421-430.
- Lambert, D.H., Baker, D.E., Cole, H., 1979. The role of mycorrhizae in the interactions of phosphorus with zinc, copper and other elements. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43, 976-980.
- Langford, S. D., Boor, P.J., 1996. Oleander toxicity: an examination of human and animal toxic exposure. *Toxicology* 109, 1-13.
- Lasat, M.M., 2000. The use of plants for the removal of toxic metals from contaminated soil. Prepared for US Environmental Protection Agency, <http://www.clu-in.org/download/remed/lasat.pdf>.
- Lasat, M.M., 2002. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *J. Environ. Qual.* 31, 109-120.
- Le Houérou, H.N., 1992. The role of saltbushes (*Atriplex* spp.) in arid land rehabilitation in the Mediterranean Basin: a review. *Agroforest. Syst.* 18, 107-148.

- León, A.M., Palma, J.M., Corpas, F.J., Gómez, M., Romero-Puertas, M.C., Chatterjee, D., Mateos, R.M., del Río, L.A., Sandalio, L.M., 2002. Antioxidative enzymes in cultivars of pepper plants with different sensitivity to cadmium. *Plant Physiol. Biochem.* 40, 813-820.
- Li, Y.-M., Chaney, R.L., Schneiter, A.A., 1994. Effect of soil chloride level on cadmium concentration in sunflower kernels. *Plant Soil* 167, 275-280.
- Li, S., Liu, R., Wang, M., Wang, X., Shan, H., Wang, H., 2006a. Phytoavailability of Cd to cherry-red radish in soil applied composted chicken or pig manure. *Geoderma* 136, 260-271.
- Li, J.T., Qiu, J.W., Wang, X.W., Zhong, Y., Lan, C.Y., Shu, W.S., 2006b. Cadmium contamination in orchard soils and fruit trees and its potential health risk in Guangzhou, China. *Environ. Pollut.* 143, 159-165.
- Li, Z., Shuman, L.M., 1996. Heavy metal movement in metal-contaminated soil profiles. *Soil Sci.* 161, 656-666.
- Lindsay, W.L., Norvell, W.A., 1978. Development of a DTPA test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42, 421-428.
- Liu, D., Jiang, W., Wang, W., Zhao, F., Lu, C., 1994. Effects of lead on root growth, cell division, and nucleolus of *Allium cepa*. *Environ. Pollut.* 86, 1-4.
- Liu, D., Jiand, W., Liu C., Xin, C., Hou, W., 2000. Uptake and accumulation of lead by roots, hypocotyls and shoots of Indian mustard [*Brassica juncea* (L.)]. *Bioresour. Technol.* 71, 273-277.
- Lombi, E., Hamon, R.E., 2004. Remediation of polluted soils. *Encyclopedia of Soils in the Environment*, Elsevier, 379-385.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A., L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
- Luo, C., Shen, Z., Li, X., 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere* 59, 1-11.
- Luque, C.J., Castellanos, E.M., Castillo, J.M., Conzalez, M., Gonzalez-Vilches, M.C., Figueroa, M.E., 1999. Metals in halophytes of a contaminated estuary (Odiel saltmarshes, SW Spain). *Mar. Pollut. Bull.* 38, 49-51.
- Lutts, S., Lefèvre, I., Delpèrèe, C., Kivits, S., Dechamps, C., Robledo, A., Correia, E., 2004. Heavy metal accumulation by halophyte species Mediterranean saltbush. *J. Environ. Qual.* 33, 1271-1279.
- MacFarlane, G.R., Burchett, M.D., 1999. Zinc distribution and excretion in the leaves of the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Environ. Exp. Bot.* 41, 167-175.
- MacFarlane, G.R., Burchett, M.D., 2000. Cellular distribution of copper, lead and zinc in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Aquat. Bot.* 68, 45-59.
- Macnair, M.R., 2003. The hyperaccumulation of metals by plants. *Adv. Bot. Res.* 40, 63-105.
- Madyiwa, S., Chimbari, M.J., Schutte, F., 2004. Lead and cadmium interactions in *Cynodon nlemfuensis* and sandy soil subjected to treated wastewater application under greenhouse conditions. *Phys. Chem. Earth* 29, 1043-1048.
- Maiz, I., Esnaola, M.V., Millán, E., 1997. Evaluation of heavy metal availability in contaminated soils by a sort sequential extraction procedure. *Sci. Total Environ.* 206, 107-115.
- Marchiol, L., Assolari, S., Sacco, P., Zerbi, G., 2004. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. *Environ. Pollut.* 132, 21-27.

- Martens, S.N., Boyd, R.S., 2002. The defensive role of Ni hyperaccumulation by plants: a field experiment. *Am. J. Bot.* 89, 998-1003.
- Martin, H.W., Kaplan, D.I., 1998. Temporal changes in cadmium, thallium and vanadium mobility in soil and phytoavailability under field conditions. *Water Air Soil Pollut.* 101, 399-410.
- Martínez, C.E., Motto, H.L., 2000. Solubility of lead, zinc and copper added to mineral soils. *Environ. Pollut.* 107, 153-158.
- Martínez, J.P., Ledent, J.F., Bajji, M., Kinet, J.M., Lutts, S., 2003. Effect of water stress on growth, Na⁺ and K⁺ accumulation and water use efficiency in relation to osmotic adjustment in two populations of *Atriplex halimus* L. *Plant Growth Regul.* 41, 63-73.
- McGrath, S.P., Zhao, F.J., Lombi, E., 2001. Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. *Plant Soil* 232, 207-214.
- McGrath, S.P., Zhao, F.J., 2003. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Curr. Opin. Biotechnol.* 14, 277-282.
- Meagher, R.B., 2000. Phytoremediation of toxic elements and organic pollutants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 153-162.
- Mejára, M., Bülow, L., 2001. Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals. *Trends Biotechnol.* 19, 67-73.
- Mench, M., Martin, E., 1991. Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L., *Nicotiana tabacum* L., and *Nicotiana rustica* L. *Plant Soil* 132, 187-196.
- Migahid, M.M., 2003. Effect of salinity sock on some desert species native to the northern part of Egypt. *J. Arid Environ.* 53, 155-167.
- Miller, J.E., Hassett, J.J., Koppe, D.E., 1977. Interaction of lead and cadmium on metal uptake and growth of corn plants. *J. Environ. Qual.* 6, 18-20.
- Milone, M.T., Sgherri, C., Clijsters, H., Navari-Izzo, F., 2003. Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentration of cadmium. *Environ. Exp. Bot.* 50, 265-276.
- Mishra, R.K., Singhal, G.S., 1992. Function of photosynthetic apparatus of intact wheat leaves under high light and heat stress and its relationship with peroxidation of thylakoid lipids. *Plant Physiol.* 98, 1-6.
- Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Govindarajan, R., Kuriakose, S.V., Prasad M.N.V., 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiol. Biochem.* 44, 25-37.
- Mittal, R., Dubey, R.S., 1991. Behavior of peroxidase in rice: changes in enzyme activity and isoforms in relation to salt tolerance. *Plant Physiol. Biochem.* 29, 31-40.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405-410.
- Morikawa, H., Erkin, Ö.C., 2003. Basic processes in phytoremediation and some applications to air pollution control. *Chemosphere* 52, 1553-1558.
- Mozafar, A., Goodin, J.R., 1970. Vesiculated hairs: a mechanism for salt tolerance in *Atriplex halimus* L. *Plant Physiol.* 45, 62-65.
- Mulligan, C.N., Yong, R.N., Gibbs, B.F., 2001. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Eng. Geol.* 60, 193-207.
- Murillo-Amador, B., Jones, H.G., Kaya, C., López Aguilar, R., García-Hernández, J.L., Troyo-Diéguéz, E., Ávila-Serrano, N.Y., Rueda-Puente, E., 2006. Effects of foliar application of calcium nitrate on growth and physiological attributes of cowpea

- (*Vigna unguiculata* L. Walp.) grown under salt stress. Environ. Exp. Bot. 58, 188-196.
- Naidu, R., Gupta, V.V.S.R., Rogers, S., Kookana, R.S., Bolan, N.S., Adriano, D.C., 2003. Chapter 2, Bioavailability of metals in the soil plant environment and its potential role in risk assessment, In: Naidu, R., Gupta, V.V.S.R., Kookana, R.S., Rogers, S., Adriano, D., (eds) Bioavailability, toxicity and risk relationships in ecosystems. Science Publishers Inc., Enfield, NH, 21-57.
- Nakos, G., 1982. Pollution of soil and vegetation in the Thriasian Plain, Greece. Plant Soil 66, 271-277.
- Nascimento, C.W.A., Xing, B., 2006. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. Sci. Agric. 63, 299-311.
- NATO/CCMS Pilot study, 1998. Annual report. Evaluation of demonstrated and emerging Technologies for the treatment of contaminated land and groundwater (Phase III). <http://www.clu-in.org/download/partner/98annual.pdf>.
- NATO/CCMS Pilot study meeting, 2006. Prevention and remediation in selected industrial sectors: small sites in urban areas. <http://www.epa.gov/tio/download/partner/epa-542-r-06-003.pdf>.
- Nedelkoska, T.V., Doran, P.M., 2000. Hyperaccumulation of cadmium by hairy roots of *Thlaspi caerulescens*. Biotechnol. Bioeng. 67, 607-615.
- Negendran, R., Selvam, A., Joseph, K., Chiemchaisri, C., 2006. Phytoremediation and rehabilitation of municipal solid waste landfills and dumpsites: a brief review. Waste Manage. 26, 1357-1369.
- Nelson, D.W., Sommers, L.E., 1996. Total carbon, organic carbon and organic matter, In: Sparks, D.L. (eds) Methods of soil analysis, Part 3, Chemical methods-SSSA Book Series no. 5. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Inc., Madison, WI, USA, 995-1007.
- Neumann, D., zur Nieden, U., Lichtenberger, O., Leopold, I., 1995. How does *Armeria maritima* tolerate high heavy metal concentrations? J. Plant Physiol. 146, 704-717.
- Neumann, D., zur Nieden, U., Schwieger, W., Leopold, I., Lichtenberger, O., 1997. Heavy metal tolerance of *Minuartia verna*. J. Plant Physiol. 151, 101-108.
- Norvell, W.A., Wu, J., Hopkins, D.G., Welch, R.M., 2000. Association of cadmium in durum wheat grain with soil chloride and chelate-extractable soil cadmium. Soil Sci. Soc. Am. J. 64, 2162-2168.
- Novák, M., Emmanuel, S., Vile, M.A., Erel, Y., Véron, A., Pačes, T., Wieder, R.K., Vaněček, M., Štěpánová, M., Břízová, E., Hovorka, J., 2003. Origin of lead in eight central European peat bogs determined from isotope ratios, strengths and operation times of regional pollution sources. Environ. Sci. Technol. 37, 437-445.
- Obrador, A., Rico, M.I., Mingot, J.I., Alvarez, J.M., 1997. Metal mobility and potential bioavailability in organic matter rich soil-sludge mixtures: effect of soil type and contact time. Sci. Total Environ. 206, 117-126.
- Orcutt, D.M., Nilsen, E.T., 2000. The physiology of plants under stress - Soil and biotic factors. John Wiley & Sons, New York.
- Ortíz-Dorda, J., Martínez-Mora, C., Correal, E., Simón, B., Cenis, J.L., 2005. Genetic structure of *Atriplex halimus* populations in the Mediterranean Basin. Ann. Bot. 95, 827-834.
- Osman, A.E., Bahhady, F., Hassan, N., Ghassali, F., AL Ibrahim, T., 2006. Livestock production and economic implications from augmenting degraded rangeland with

- Atriplex halimus* and *Salsola vermiculata* in northwest Syria. J. Arid Environ. 65, 474-490.
- Otte, M.L., 1991. Contamination of coastal wetlands with heavy metals: factors affecting uptake of heavy metals by salt marsh plants. In: Rozema, J., Verkleij, J.A.C. (eds) Ecological Responses to Environmental Stresses. Kluwer Academic, Netherlands, 126-133.
- Otte, M.L., Bestebroer, S.J., van der Linden, J.M., Rozema, J., Broekman, R.A., 1991. A survey of zinc, copper and cadmium concentrations in salt marsh plants along the Dutch coast. Environ. Pollut. 72, 175-189.
- Ouyang, Y., 2002. Phytoremediation: modeling plant uptake and contaminant transport in the soil-plant-atmosphere continuum. J. Hydrol. 266, 66-82.
- Ow, D.W., 1996. Heavy metal tolerance genes: prospective tools for bioremediation. Resour. Conserv. Recycling 18, 135-149.
- Päivöke, A.E.A., 2003. Soil pollution alters ATP and chlorophyll contents in *Pisum sativum* seedlings. Biol. Plantarum 46, 145-148.
- Pasiecznik, N.M., Vera-Cruz, M.T., Harris, P.J.C., 1996. The current status of *Atriplex* on the Cape Verde islands. J. Arid Environ. 34, 507-519.
- Peralta, J.R., Gardea-Torresdey, J.L., Tiemann, K.J., Gomez, E., Arteaga, S., Rascon, e., Parsons, J.G., 2001. Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 66, 727-734.
- Perfus-Barbeoch, L., Leonhardt, N., Vavasseur, A., Forestier, C., 2002. Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. Plant J. 32, 539-548.
- Pichtel, J., Kuroiwa, K., Sawyerr, H.T., 2000. Distribution of Pb, Cd and Ba in soils and plants of two contaminated sites. Environ. Pollut. 110, 171-178.
- Piechalak, A., Tomaszewska, B., Baralkiewicz, D., Malecka, A., 2002. Accumulation and detoxification of lead ions in legumes. Phytochemistry 60, 153-162.
- Piechalak, A., Tomaszewska, B., Baralkiewicz, D., 2003. Enhancing phytoremediative ability of *Pisum sativum* by EDTA application. Phytochemistry 64, 1239-1251.
- Pietrini, F., Iannelli, M.A., Pasqualini, S., Massacci, A., 2003. Interaction of cadmium with glutathione and photosynthesis in developing leaves and chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex. Steudel. Plant Physiol. 133, 829-837.
- Pletsch, M., 2004. Plants and the environment/Phytoremediation. Encyclopedia of Applied Plant Sciences, Elsevier, 781-786.
- Poschenrieder, C., Gunse, B., Barcelo, J., 1989. Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance and abscisic acid content in expanding bean leaves. Plant Physiol. 90, 1365-1371.
- Prasad, M.N.V., 1995. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. Environ. Exp. Bot. 35, 525-545.
- Pulford, I.D., Watson, C., 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees – a review. Environ. Int. 29, 529-540.
- Qadir, M., Boers, Th.M., Schubert, S., Ghafoor, A., Murtaza, G., 2003. Agricultural water management in water-starved countries: challenges and opportunities. Agr. Water Manage. 62, 165-185.
- Qadir, M., Oster, J.D., 2002. Vegetative bioremediation of calcareous sodic soils: history, mechanisms and evaluation. Irrig. Sci. 21, 91-101.

- Qadir, M., Oster, J.D., 2004. Crop and irrigation management strategies for saline-sodic soils and waters aimed at environmentally sustainable agriculture. *Sci. Total Environ.* 323, 1-19.
- Qadir, M., Qureshi, R.H., Ahmad, N., 1996. Reclamation of a saline-sodic soil by gypsum and *Leptochloa fusca*. *Geoderma* 74, 207-217.
- Qadir, M., Schubert, S., 2002. Degradation processes and nutrient constraints in sodic soils. *Land Degrad. Develop.* 13, 275-294.
- Qadir, M., Schubert, S., Ghafoor, A., Murtaza, G., 2001. Amelioration strategies for sodic soils: a review. *Land Degrad. Develop.* 12, 357-386.
- Qadir, M., Schubert, S., Steffens, D., 2004a. Phytotoxic substances in soils. *Encyclopedia of Soils in the Environment*, Elsevier, 216-222.
- Qadir, S., Qureshi, M.I., Javed, S., Abdin, M.Z., 2004b. Genotypic variation in phytoremediation potential of *Brassica juncea* cultivars exposed to Cd stress. *Plant Sci.* 167, 1171-1181.
- Radotic, K., Ducic, T., Mutavdzic, D., 2000. Changes in peroxidase activity and isoenzymes in spruce needles after exposure to different concentration of cadmium. *Environ. Exp. Bot.* 44, 105-113.
- Rai, V., Vajpayee, P., Singh, S.N., Mehrotra, S., 2004. Effect of chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense systems, nitrate reduction, proline level and eugenol content of *Ocimum tenuiflorum* L. *Plant Sci.* 167, 1159-1169.
- Ramadan, T., 1998. Ecology of salt excretion in the xero-halophyte *Reaumuria hirtella*. *New. Phytol.* 139, 273-281.
- Ramadan, T., 2001. Dynamics of salt secretion by *Sporobolus spicatus* (Vahl) Kunth from sites of differing salinity. *Ann. Bot.* 87, 259-266.
- Raskin, I., Kumar, N.P.B.A., Dushenkov, S., Salt, D.E., 1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 5, 285-290.
- Raskin, I., Smith, R.D., Salt, D.E., 1997. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8, 221-226.
- Rauret, G., 1998. Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment. *Talanta* 46, 449-455.
- Reddy, M.S., Basha, S., Joshi, H.V., Jha, B., 2005. Evaluation of the emission characteristics of trace metals from coal and fuel fired power plants and their fate during combustion. *J. Hazard. Mater.* 123, 242-249.
- Reilley, K.A., Banks, M.K., 1996. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *J Environ. Qual.* 25, 212-219.
- Rieuwerts, J.S., Ashmore, M.R., Farago, M.E., Thornton, I., 2006. The influence of soil characteristics on the extract ability of Cd, Pb and Zn in upland and moorland soils. *Sci. Total Environ.* 366, 864-875.
- Rios-Gonzalez, K., Erdei, L., Lips, S.H., 2002. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. *Plant Sci.* 162, 923-930.
- Robinson, B.H., Brooks, R.R., Howes, A.W., Kirkham, J.H., Gregg, P.E.H., 1997. The potential of the high-biomass nickel hyperaccumulator *Berkheya codii* for phytoremediation and phytomining. *J. Geochem. Explor.* 60, 115-126.
- Rodríguez-López, J.N., Espín, J.C., del Amor, F., Tudela, J., Martínez, V., Cerdá, A., García-Cánovas, F., 2000. Purification and kinetic characterization of an anionic

- peroxidase from melon (*Cucumis melo* L.) cultivated under different salinity conditions. J. Agric. Food Chem. 48, 1537–1541.
- Romero-Puentas, M.C., Palma, J.M., Gómez, M., Del Río, L.A., Sandalio, L.M., 2002. Cadmium causes the oxidative modification of proteins in pea plants. Plant Cell Environ. 25, 677-686.
- Rossi, G., Figliolia, A., Socciarelli, S., Pennelli, B., 2002. Capability of *Brassica napus* to Accumulate Cadmium, Zinc and Copper from Soil. Acta Biotechnol. 22, 133-140.
- Rugh, C.L., 2004. Genetically engineered phytoremediation: one man's trash is another man's transgene. Trends Biotechnol. 22, 496-498.
- Ruley, T.A., Sharma, N.C., Sahi, S.V., 2004. Antioxidant defense in a lead accumulating plant, *Sesbania drummondii*. Plant Physiol. Biochem. 42, 899-906.
- Runnells, D.D., Shepherd, T.A., Angino, E.E., 1992. Metals in water. Determinating natural background concentrations in mineralized areas. Environ. Sci. Technol. 26, 2316-2323.
- Ruttens, A., Mench, M., Colpaert, J.V., Boisson, J., Carleer, R., Vangronsveld, J., 2006. Phytostabilization of a metal contaminated sandy soil. I: Influence of compost and/or inorganic metal immobilizing soil amendments on phytotoxicity and plant availability of metals. Environ. Pollut. 144, 524-532.
- Salt, D.E., Smith, R.D., Raskin, I., 1998. Phytoremediation. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49, 643-668.
- Samara, C., Voutsas, D., 2005. Size distribution of airborne particulate matter and associated heavy metals in the roadside environment. Chemosphere 59, 1197-1206.
- Santos de Araujo, B., Omena de Oliveira, J., Salgueiro Machado, S., Pletsch, M., 2004. Comparative studies of the peroxidases from hairy roots of *Daucus carota*, *Ipomoea batatas* and *Solanum aviculare*. Plant Sci. 167, 1151-1157.
- Sappin-Didier, V., Vansuyts, G., Mench, M., Briat, J.-F., 2005. Cadmium availability at different soil pH to transgenic tobacco overexpressing ferritin. Plant Soil 270, 189-197.
- Sarret, G., Harada, E., Choi, Y.-E., Isaure, M.-P., Geoffroy, N., Fakra, S., Marcus, M.A., Birschwilks, M., Clemens, S., Manceau, A., 2006. Trichomes of tobacco excrete zinc as zinc-substituted calcium carbonate and other zinc-containing compounds. Plant Physiol. 141, 1021-1034.
- Sas-Nowosielska, A., Kucharski, R., Malkowski, E., Pogrzeba, M., Kuperberg, J.M., Kryński, K., 2004. Phytoextraction crop disposal - an unsolved problem. Environ. Pollut. 128, 373-379.
- Sauge-Merle, S., Cuiné, S., Carrier, P., Lecomte-Pradines, C., Luu, D.-T., Peltier, G., 2003. Enhanced toxic metal accumulation in engineered bacterial cells expressing *Arabidopsis thaliana* phytochelatin synthase. Appl. Environ. Microb. 69, 490-494.
- Sauvé, S., Manna, S., Turmel, M.-C., Roy, A.G., Courchesne, F., 2003. Solid-solution partitioning of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn in organic horizons of a forest soil. Environ. Sci. Technol. 37, 5191-5196.
- Schäffner, A., Messner, B., Langrebertels, C., Sandermann, H., 2002. Genes and enzymes for in-plant phytoremediation of air, water and soil. Acta Biotechnol. 22, 141-152.
- Schierup, H.-H., Larsen, V.J., 1981. Macrophyte cycling of zinc, copper, lead and cadmium in the littoral zone of a polluted and a non-polluted lake. I. Availability, uptake and translocation of heavy metals in *Phragmites australis* (Cav.) Trin. Aquat. Bot. 11, 197-210.

- Schnoor, J.L., 1997. Phytoremediation. Technical evaluation report prepared for Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center. http://www.clu-in.org/download/toolkit/phyto_e.pdf.
- Schnoor, J.L., Licht, L.A., McCutcheon, S.C., Wolfe, N.L., Carreire, L.H., 1995. Phytoremediation of organic and nutrient. Environ. Sci. Technol. 29, 318-323.
- Schützendübel, A., Schwanz, P., Teichmann, T., Gross, K., Langenfeld-Hayser, R., Godbold, D.L., Polle, A., 2001. Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in scots pine roots. Plant Physiol. 127, 887-898.
- Schwitzguébel, J-P., 2001. Hype or Hope: The Potential of Phytoremediation as an Emerging Green Technology. Remed. J. 11, 63-78.
- Sekhar, K.Ch., Kamala, C.T., Chary, N.S., Balaram, V., Garcia, G., 2005. Potential of *Hemidesmus indicus* for phytoextraction of lead from industrially contaminated soils. Chemosphere 58, 507-514.
- Shah, K., Kumar, R.G., Verma, S., Dubey, R.S., 2001. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Sci. 161, 1135-1144.
- Shalata, A., Tal, M., 1998. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. Physiol. Plantarum 104, 169-174.
- Simon, R.D., Abeliovich, A., Belkin, S., 1994. A novel terrestrial halophilic environment: the phylloplane of *Atriplex halimus*, a salt-excreting plant. FEMS Microbiol. Ecol. 14, 99-110.
- Singer, A.C., Crowley, D.E., Thompson, I.P., 2003. Secondary plant metabolites in phytoremediation and biotransformation. Trends Biotechnol. 21, 123-129.
- Singh, R.P., Tripathi, R.D., Dabas, S., Rizvi, S.M.H., Ali, M.B., Sinha, S.K., Gupta, D.K., Mishra, S., Rai, U.N., 2003. Effect of lead on growth and nitrate assimilation of *Vigna radiata* (L.) Wilczek seedlings in a salt affected environment. Chemosphere 52, 1245-1250.
- Singh, N., Ma, L.Q., Srivastava, M., Rathinasabapathi, B., 2006. Metabolic adaptations to arsenic-induced oxidative stress in *Pteris vittata* L. and *Pteris ensiformis* L. Plant Sci. 170, 274-282.
- Sinha, S., Saxena, R., Singh, S., 2005. Chromium induced lipid peroxidation in the plants of *Pistia stratiotes* L.: role of antioxidants and antioxidant enzymes. Chemosphere 58, 595-604.
- Smeets, K., Cuypers, A., Lambrechts, A., Semane, B., Hoet, P., Van Laere, A., Vangronsveld, J., 2005. Induction of oxidative stress and antioxidative mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application. Plant Physiol. Biochem. 43, 437-444.
- Smolders, E., Lambregts, R.M., McLaughlin, M.J., Tiller, K.G., 1998. Effect of soil solution chloride on cadmium availability to Swiss chard. J. Environ. Qual. 27, 426-431.
- Sneller, F.E.C., van Heerwaarden, L.M., Loevoets, P.L.M., Vooijs, R., Schat, H., Verkleij, J.A.C., 2000. Derivatization of phytochelatins from *Silene vulgaris*, Induced upon exposure to arsenate and cadmium: comparison of derivatization with Ellman's reagent and monobromobimane. J. Agric. Food Chem. 48, 4014-4019.
- Sobrado, M.A., Greaves, E.D., 2000. Leaf secretion composition of the mangrove species *Avicennia germinans* (L.) in relation to salinity: a case study by using total-reflection X-ray fluorescence analysis. Plant Sci. 159, 1-5.

- Soon, Y.K., 1998. Determination of cadmium, chromium, cobalt, lead and nickel in plant tissue, In: Kaltra, P. (eds) Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press, London, 193-198.
- Soon, Y.K., Bates, T.E., 1982. Chemical pools of cadmium, nickel and zinc in polluted soils and some preliminary indications of their availability to plants. J. Soil Sci. 33, 477-488.
- Sousa, A.I., Caçador, I., Lillebø, A.I., Pardal, M.A., 2008. Heavy metal accumulation in *Halimione portulacoides*: intra- and extra-cellular metal binding sites. Chemosphere 70, 850-857.
- Sparks, D.L., 2002. Advances in agronomy, Volume 75. Academic Press.
- Storey, R., Thomson, W.W., 1994. An X-ray microanalysis study of the salt glands and intracellular calcium crystals of *Tamarix*. Ann. Bot. 73, 307-313.
- Sultanova, N., Makhmoo, T., Abilov, Z.A., Parween, Z., Omurkamzinova, V.B., Atta-ur-Rahman, Choudhary, M.I., 2001. Antioxidant and antimicrobial activities of *Tamarix ramosissima*. J. Ethnopharmacol. 78, 201-205.
- Suresh, B., Ravishankar, G.A., 2004. Phytoremediation - a novel and promising approach for environmental clean-up. Crit. Rev. Biotechnol. 24, 97-124.
- Syros, T., Yupsanis, T., Petkou, D., Economou, A.S., 2005. Protein, leucine, aminopeptidase, esterase, acid phosphatase and photosynthetic responses of oleander (*Nerium oleander* L.) during cold acclimation and freezing treatments. J. Plant Physiol. 162, 886-894.
- Talamali, A., Bajji, M., Le Thomas, A., Kinet, J.-M., Dutuit, P., 2003. Flower architecture and sex determination: how does *Atriplex halimus* play with floral morphogenesis and sex genes? New Phytol. 157, 105-113.
- Terry, N., Sambukumar, S.V., LeDuc, D.L., 2003. Biotechnological approaches for enhancing phytoremediation of heavy metals and metalloids. Acta Biotechnol. 23, 281-288.
- Thomas, G.W., 1996. Soil pH and soil acidity, In: Sparks, D.L. (eds) Methods of soil analysis, Part 3, Chemical methods-SSSA Book Series no. 5. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Inc., Madison, WI, USA, 475-489.
- Thomson, W.W., Berry, W.L., Liu, L.L., 1969. Localization and secretion of salt by the salt glands of *Tamarix aphylla*. P. Natl. Acad. Sci. USA 63, 310-317.
- Toderich, K.N., Tsukatani, T., Black, C.C., Takabe, K., Katayama, Y., 2002. Adaptation of plants to metal/salt contained environments: glandular structure and salt excretion. Discussion Paper No. 552, Kyoto Institute of Economic Research, <http://www.kier.kyoto-u.ac.jp/DP/DP552.pdf>.
- Tristán, E., Demetriades, A., Ramsey, M.H., Rosenbaum, M.S., Stavrakis, P., Thornton, I., Vassiliades, E., Vergou, K., 2000. Spatially resolved hazard and exposure assessments: an example of lead in soil at Lavrion, Greece. Environ. Res. 82, 33-45.
- Tsadilas, C.D., Karaivazoglou, N.A., Tsotsolis, N.C., Stamatiadis, S., Samaras, V., 2005. Cadmium uptake by tobacco as affected by liming, N form, and year of cultivation. Environ. Pollut. 134, 239-246.
- Turland, N.J., Chilton, L., Press, J.R.B., 1993. Flora of the Cretan Area: annotated Checklist and Atlas. The Natural History Museum, London, HMSO.
- Tyler, G., Balsberg Pålsson, A.-M., Bengtsson, G., Bååth, E., Tranvik, L., 1989. Heavy-metal ecology of terrestrial plants, microorganisms and invertebrates. Water Air Soil Pollut. 47, 189-215.

- Tyler, L.D., McBride, M.B., 1982. Influence of Ca, pH, and humic acid on Cd uptake. *Plant Soil* 64, 259-262.
- US Environmental Protection Agency: Test Methods. <http://www.epa.gov/sw-846/main.htm>.
- U.S. Environmental Protection Agency, EPA/600/R-99/107, 2000. Introduction to phytoremediation. <http://www.clu-in.org/download/remed/introphyto.pdf>.
- U.S. Environmental Protection Agency, EPA/540/S-01/500, 2001. Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites. http://www.epa.gov/ada/download/issue/epa_540_s01_500.pdf.
- Valek, T., Nepovim, A., Podlipna, R., Hebner, A., Vavrikova, Z., Gerth, A., Thomas, H., Smrcek, S., 2006, Phytoremediation of explosives in toxic wastes. *Soil Water Pollut. Monit. Protec. Remed.* 3, 455-465.
- Van Breusegem, F., Vranová, E., Dat, J.F., Inzé, D., 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Sci.* 161, 405-414.
- Van Nevel, L., Mertens, L., Oorts, K., Verheyen, K., 2007, Phytoextraction of metals from soils: How far from practice? *Environ. Pollut.* 150, 34-40.
- Vassil, A.D., Kapulnik, Y., Raskin, I., Salt, D.E., 1998. The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian mustard. *Plant Physiol.* 117, 447-453.
- Vassilev, A., Yordanov, I., Tsonev, T., 1997. Effects of Cd⁺² on the physiological state and photosynthetic activity of young barley plants. *Photosynthetica* 34, 293-302.
- Verma, S., Dubey, R.S., 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Sci.* 164, 645-655.
- Vickerman, D.B., Shannon, M.C., Bañuelos, G.S., Grieve, C.M., Trumble, J.T., 2002. Evaluation of *Atriplex* lines for selenium accumulation, salt tolerance and suitability for a key agricultural insect pest. *Environ. Pollut.* 120, 463-473.
- Voutsas, D., Grimanis, A., Samara, C., 1996. Trace elements in vegetables grown in an industrial area in relation to soil and air particulate matter. *Environ. Pollut.* 94, 325-335.
- Voutsas, D., Samara, C., Kouimtzis, T., Ochsenkühn, K., 2002. Element composition of airborne particulate matter in the multi-impacted urban area of Thessaloniki, Greece. *Atmos. Environ.* 36, 4453-4462.
- Wahla, I.H., Kirkham, M.B., 2007. Heavy metal displacement in salt-water-irrigated soil during phytoremediation. *Environ. Pollut.* doi:10.1016/j.envpol.2007. 11.020.
- Walker, D.J., Clemente, R., Roig, A., Bernal, M.P., 2003. The effects of soil amendments on heavy metal bioavailability in two contaminated Mediterranean soils. *Environ. Pollut.* 122, 303-312.
- Wang, A.S., Angle, J.S., Chaney, R.L., Delorme, T.A., Reeves, R.D., 2006. Soil pH effects on uptake of Cd and Zn by *Thlaspi caerulescens*. *Plant Soil* 281, 325-337.
- Washington State Department of Ecology. Not-native freshwater plants: saltcedar. <http://www.ecy.wa.gov/programs/wq/plants/weeds/aqua013.html>.
- Washington State NWCB. US Washington State Noxious Weed List: Saltcedar. http://www.nwcb.wa.gov/weed_info/Tamarix_amosissima.html.
- Webber, M.D., Singh, S.S., 1995. Chapter 9, Contamination of agricultural soils, In: Acton, D.F., Gregorich, L.G., (eds) *The health of our soil*. Center for land and biological resources research, Agriculture and Agri-Food Canada, http://www.agr.gc.ca/nlwis-snite/index_e.cfm?s1=pub&s2=hs_ss&page=intro.

- Weggler-Beaton, K., McLaughlin, M.J., Graham, R.D., 2000. Salinity increases cadmium uptake by wheat and Swiss chard from soil amended with biosolids. *Aust. J. Soil Res.* 38, 37-46.
- Weggler, K., McLaughlin, M.J., Graham, R.D., 2004. Effects of chloride in soil solution on the plant availability of biosolid-borne cadmium. *J. Environ. Qual.* 33, 496-504.
- Wei, S., Silva, J.A.T., Zhou, Q., 2008. Agro-improving method of phytoextraction heavy metal contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* 150, 662-668.
- Weis, J.S., Weis, P., 2004. Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. *Environ. Int.* 30, 685-700.
- Weis, P., Windham, L., Burke, D.J., Weis, J.S., 2002. Release into the environment of metals by two vascular salt marsh plants. *Mar. Environ. Res.* 54, 325-329.
- Whiting, S.N., de Souza, M.P., Terry, N., 2001. Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens*. *Environ. Sci. Technol.* 35, 3144-3150.
- Windham, L., Weis, J.S., Weis, P., 2001. Patterns and processes of mercury release from leaves of two dominant salt marsh macrophytes, *Phragmites australis* and *Spartina alterniflora*. *Estuaries* 24, 787-795.
- Wong, M.H., 2003. Ecological restoration of mine degraded soil, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* 50, 775-780.
- Wong, C.H., Jäger, H.-J., 1978. Salt-induced vesiculation in mesophyll cells of *Atriplex* species. *Plant Sci. Lett.* 12, 63-68.
- Wong, C.S.C., Li, X., Thornton, I., 2006. Urban environmental geochemistry of trace metals. *Environ. Pollut.* 142, 1-16.
- Wozny, A., 1995. Lead in Plant Cells. *Sorus*, Poland.
- Wu, J., Hsu, F.C., Cunningham, S.D., 1999. Chelate-assisted Pb phytoextraction: Pb availability, uptake and transport constraints. *Environ. Sci. Technol.* 33, 1898-1904.
- Wu, L.H., Luo, Y.M., Christie, P., Wong, M.H., 2003. Effects of EDTA and low molecular weight organic acids on soil solution properties of a heavy metal polluted soil. *Chemosphere* 50, 819-822.
- Wu, L.H., Luo, Y.M., Wong, M.H., Christie, P., 2004. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. *Agr. Ecosyst. Environ.* 102, 307-318.
- Xiong, Z.-T., 1997. Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleraceus* L. *Environ. Pollut.* 97, 3, 275-279.
- Yanai, J., Zhao, F., McGrath, S., Kosaki, T., 2006. Effects of soil characteristics on Cd uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* Hance. *Environ. Pollut.* 139, 167-175.
- Yang, X., Feng, Y., He, Z., Stoffella, P.J., 2005. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 18, 339-353.
- Yang, J.Y., Yang, X.E., He, Z.L., Li, T.Q., Shentu, J.L., Stoffella, P.J., 2006. Effects of pH, organic acids, and inorganic ions on lead desorption from soils. *Environ. Pollut.* 143, 9-15.
- Yanqun, Z., Yuan, L., Jianjun, C., Haiyan, L., Schwartz, C., 2005. Hyperaccumulation of Pb, Zn and Cd in herbaceous grown on lead-zinc mining area in Yannan, China. *Environ. Int.* 31, 755-762.
- Yordanov, I., Velikova, V., Tsonev, T., 2000. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. *Photosynthetica* 38, 171-186.

- Zabetoglou, K., Voutsas, D., Samara, C., 2002. Toxicity and heavy metal contamination of surficial sediments from the Bay of Thessaloniki (northwestern Aegean sea) Greece. *Chemosphere* 49, 17-26.
- Zacchini, M., Rea, E., Tullio, M., de Agazio, M., 2003. Increased antioxidative capacity in maize during and after oxidative stress induced by a long lead treatment. *Plant Physiol. Biochem.* 41, 49-54.
- Zaman, M.S., Zereen, F., 1998. Growth responses of radish plants to soil cadmium and lead contamination. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 61, 44-50.
- Zarcinas, B.A., Ishak, C.F., McLaughlin, M.J., Cozens, G., 2004. Heavy metals in soils and crops in Southeast Asia. 1. Peninsular Malaysia. *Environ. Geochem. Health* 26, 343-357.
- Zenk, M.H., 1996. Heavy metal detoxification in higher plants-a review. *Gene* 179, 21-30.
- Zhou, W., Qiu, B., 2005. Effects of cadmium hyperaccumulation on physiological characteristics of *Sedum alfredii* Hance (*Crassulaceae*). *Plant Sci.* 169, 737-745.
- Zhu, J.-K., 2000. Genetic analysis of plant salt tolerance using *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 167, 527-533.
- Zhu, J.-K., 2001. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci.* 6, 66-71.
- Zhu, Z., Wei, G., Li, J., Qian, Q., Yu, J., 2004. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Sci.* 167, 527-533.
- Ziper, C., Komarneni, S., Baker, D.E., 1988. Specific cadmium sorption in relation to the crystal chemistry of clay minerals. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52, 49-53.

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Αλεξιάδης, Κ.Α., 1980. Φυσική και χημική ανάλυση του εδάφους. Θεσσαλονίκη.
- Γαλάτης, Β., Γανωτάκης, Δ., Γκανή-Σπυροπούλου, Κ., Καραμπουρνιώτης, Γ., Κοτζαμπάσης, Κ., Κωνσταντινίδου, Ε.-Ι., Μανέτας, Ι., Ρουμπελάκη-Αγγελάκη, Κ.Α., 2003. Φυσιολογία φυτών, Από το μόριο στο περιβάλλον. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο.
- ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., 2007. Αποκατάσταση του αρχαιολογικού και ευρύτερου τοπίου στην Ολυμπία. Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας, <http://courses.arch.ntua.gr>.
- Καλογεράκης, Ν., 2006. Βιολογικές μέθοδοι εξυγίανσης περιβάλλοντος. Πανεπιστημιακές σημειώσεις μαθήματος, Πολυτεχνείο Κρήτης.
- Καραγιαννίδης, Π.Π., 2002. Ειδική ανόργανη χημεία, τα στοιχεία και οι ενώσεις τους. 2^η έκδοση, Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη.
- Καραμπουρνιώτης, Γ.Α., 2003. Φυσιολογία καταπονήσεων των φυτών. 1^η έκδοση, Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.
- Κεραμίδας, Β., Σινάνης, Κ., 2005. Εδαφολογία. Πανεπιστημιακές σημειώσεις μαθήματος, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.
- Κουϊμτζής, Θ., Φυτιάνος, Κ., Σαμαρά-Κωνσταντινίδου, Κ., 1998. Χημεία Περιβάλλοντος. 1^η έκδοση, University Studio Press, Θεσσαλονίκη.
- Τσέκος, Ι.Β., 2004. Φυσιολογία φυτών. 2^η έκδοση, Εκδόσεις Αδελφών Κυριακίδη, Θεσσαλονίκη.

- Τσικαλάς, Π., 2003. Θρέψη φυτών- γονιμότητα εδαφών. Σημειώσεις μαθήματος, Τ.Ε.Ι. Κρήτης, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Ηράκλειο. ΦΕΚ641/7.8.1991. <http://www.elinyae.gr/el/lib file upload/641b91.114983781640 0.pdf>.
- Φιλότης, 1994. Στοιχεία είδους: *Tamarix smyrnensis*. Τράπεζα Στοιχείων για την Ελληνική Φύση, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, <http://www.itia.ntua.gr/filotis/SpeciesData/9470.pdf>.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

Φωτογραφίες των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν

Υπό εξέταση φυτό: *Atriplex halimus* L.

A. Πολλαπλασιασμός του φυτού:

1^ο Στάδιο: Συλλογή εμφυτευμάτων *Atriplex halimus* (Ηράκλειο, Ελλάδα)



2^ο Στάδιο: Τοποθέτηση εμφυτευμάτων *A. halimus* σε σύστημα ελέγχου της υγρασίας για ριζοβολία



3^ο Στάδιο: Μεταφορά και φύτευση των φυταρίων στο έδαφος



Β. Περίοδος προσαρμογής και ανάπτυξης των φυτών μέχρι την έναρξη των πειραμάτων



Γ. Φωτογραφίες κατά την διάρκεια των πειραμάτων



Υπό εξέταση φυτό: *Nerium oleander* L.

Φωτογραφίες κατά την έναρξη των πειραμάτων



Φωτογραφίες κατά την λήξη των πειραμάτων



Υπό εξέταση φυτό: *Tamarix smyrnensis* Bunge

A. Πολλαπλασιασμός του φυτού:

1^ο Στάδιο: Συλλογή εμφυτευμάτων *T. smyrnensis* (Άγιοι Απόστολοι, Χανιά, Ελλάδα)



2^ο Στάδιο: Τοποθέτηση των εμφυτευμάτων σε σύστημα ελέγχου της υγρασίας για ριζοβολία



3^ο Στάδιο: Μεταφορά και φύτευση των φυταρίων στο έδαφος

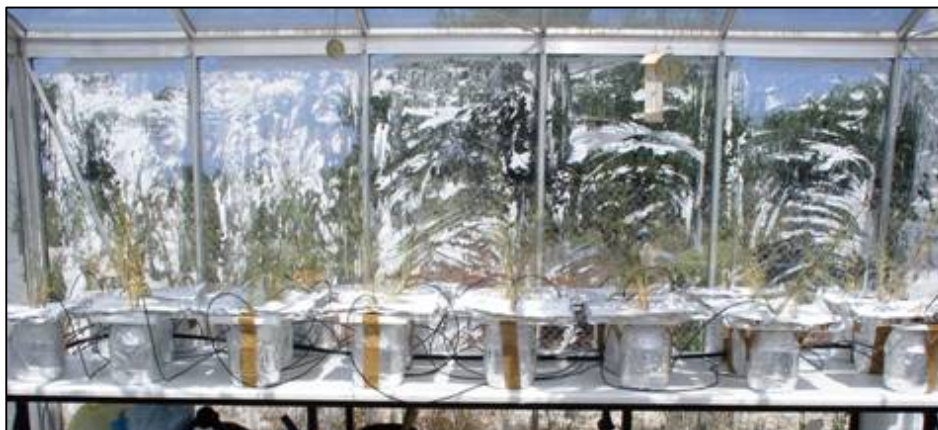


Β. Περίοδος προσαρμογής και ανάπτυξης των φυτών μέχρι την έναρξη των πειραμάτων



Γ. Φωτογραφίες κατά την διάρκεια των πειραμάτων:

Υδροπονική καλλιέργεια του *T. smyrnensis* με μόλυβδο και κάδμιο



Καλλιέργεια του *T. smyrnensis* σε έδαφος ρυπασμένο με κάδμιο



Καλλιέργεια του *T. smyrnensis* σε έδαφος ρυπασμένο με κάδμιο και μόλυβδο



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

Δημοσιεύσεις και Ανακοινώσεις

Ανακοινώσεις σε συνέδρια:

1. Manousaki, E., Kadukova, J., Kalogerakis, N., 2005. Accumulation and effects of lead in *Nerium oleander* growing on heavy metal contaminated soil. 3rd European Bioremediation Conference, Chania, Greece.
2. Kadukova, J., Manousaki, E., Skoula, M., Naxakis, G., Kalogerakis, N., 2005. Pb and Cd uptake from non-saline and saline environment by *Tamarix smyrnensis*. 3rd European Bioremediation Conference, Chania, Greece.
3. Manousaki, E., Kadukova, J., Naxakis, G., Kalogerakis, N., 2005. Release of Pb and Cd by the leaves of the Mediterranean plant *Tamarix smyrnensis*. 9th International Conference on Environmental Science and Technology, Rhodes Island, Greece.
4. Manousaki, E., Kadukova, J., Papadantonakis, N., Kalogerakis, N., 2006. Phytoextraction and release of Cd by the leaves of *Tamarix smyrnensis* growing on contaminated non saline and saline environment. 8th International Conference on Protection and Restoration of the Environment, Chania, Greece.
5. Kadukova, J., Manousaki, E., Kalogerakis, N., 2006. Lead and cadmium accumulation from contaminated soils by *Nerium oleander*. 3rd International Conference on Waste - Secondary Raw Materials, Strbske Pleso, Slovakia.
6. Manousaki, E., Kadukova, J., Kalogerakis, N., 2007. Excretion of metals by the leaves of plants: a new approach to the phytoremediation of sites contaminated with heavy metals. 10th International Conference on Environmental Science and Technology, Cos Island, Greece.
7. Kalogerakis, N., Manousaki, E., Kadukova, J., 2007. Phyto-excretion: a novel approach for the phytoremediation of contaminated soils with heavy metals. 4th Symposium on Biosorption and Bioremediation, Prague, Czech Republic.
8. Manousaki, E., Kalogerakis, N., 2008. Phytoexcretion and phytoextraction: a novel combined remediation process. To be presented in 9th International Conference on Protection and Restoration of the Environment, Kefalonia, Greece.
9. Manousaki, E., Kalogerakis, N., 2008. Pb and Cd accumulation and interactions in *Atriplex halimus* L. grown on polluted soil under greenhouse conditions. To be presented in 4th European Conference on Bioremediation, Chania, Greece.
10. Manousaki, E., Kokkali, F., Kalogerakis, N., 2008. Influence of salinity on lead and cadmium accumulation by the salt cedar (*Tamarix smyrnensis* Bunge). To be presented in 4th European Conference on Bioremediation, Chania, Greece.

Δημοσιεύσεις σε περιοδικά:

1. Kadukova, J., Manousaki, E., Kalogerakis, N., 2006. Lead and cadmium accumulation from contaminated soils by *Nerium oleander*. Acta Metallurgica Slovaca 12, 181-187.
2. Manousaki, E., Kadukova, J., Papadantonakis, N., Kalogerakis, N., 2008. Phytoextraction and phytoexcretion of Cd by the leaves of *Tamarix smyrnensis*

- growing on contaminated non saline and saline soils. Environmental Research 106, 326-332.
3. Kadukova, J., Manousaki, E., Kalogerakis, N., 2008. Pb and Cd accumulation and phyto-excretion by salt cedar (*Tamarix smyrnensis* Bunge). International Journal of Phytoremediation 10, 31-46.
 4. Kadukova, J., Manousaki, E., Kalogerakis, N., 2008. Study of combined effects of Pb, Cd and salinity on the metal accumulation and physiological parameters of *Nerium oleander* L. Submitted to Plant and Soil.
 5. Kadukova, J., Manousaki, E., Kalogerakis, N., 2008. Study of biological interactions between oleander (*Nerium oleander*) and aphids (*Aphis nerii*) growing on Pb and Cd contaminated soil. Submitted to Plant Science.
 6. Manousaki, E., Kalogerakis, N., 2008. Phytoextraction of Pb and Cd by the Mediterranean saltbush *Atriplex halimus* L. In preparation for Environmental Pollution.