



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Π.Μ.Σ.: Περιβαλλοντική και Υγειονομική Μηχανική

Μεταπτυχιακή Διατριβή

**“ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ ΕΛΑΦΟΥΣ ΑΠΟ ΚΑΔΜΙΟ
ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΑΛΟΦΥΤΟΥ
CRITHMUM MARITIMUM (L.)”**

Ατσαλάκης Κωνσταντίνος

Εξεταστική επιτροπή:

Καθ. Ν. Καλογεράκης (επιβλέπων)

Καθ. Ν. Νικολαΐδης

Επικ.καθ. Ν. Παρανυχιανάκης

XANIA 2014

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήταν παράλειψη να μην ευχαριστήσω όσους συνέβαλλαν με τον τρόπο τους έτσι ώστε να ολοκληρωθεί αυτή η εργασία.

Καταρχήν, θέλω να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον επιβλέποντα καθηγητή κ.Καλογεράκη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε να μου αναθέσει την εκπόνηση της συγκεκριμένης εργασίας, για την καθοδήγηση έως την ολοκλήρωσή της και για τη συνολική συνεργασία. Επίσης οφείλω να ευχαριστήσω τη Δρ. Ελένη Μανουσάκη για την επιστημονική της καθοδήγηση στη διεξαγωγή του πειραματικού μέρους αλλά και στην επεξεργασία των δεδομένων της εργασίας. Ακόμη δεν θέλω να παραλείψω να ευχαριστήσω τον κ. Νικολαΐδη και τον κ. Παρανυχιανάκη που δέχθηκαν να αξιολογήσουν την εργασία, τη Sagu Maria-Liliana για τις πειραματικές μετρήσεις που διεξήγαγε και την εταιρία Βιοτόπιο για τη χορηγία του μύκητα που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα. Τέλος, ευχαριστώ και όσους δεν προανέφερα, αλλά από τη δική τους θέση, συνετέλεσαν στην επιτυχή ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η φυτοσυσσώρευση, ως μία από τις τεχνικές φυτοεξυγίανσης εδαφών, αποτελεί περιβαλλοντικά και οικονομικά βιώσιμη λύση για την απορρύπανση χερσαίων εκτάσεων, ιδιαίτερα από βαρέα μέταλλα, επειδή οι συγκεκριμένοι ρύποι δεν αποδομούνται, οπότε με τη φυτοσυσσώρευση απομακρύνονται από τη ρυπασμένη έκταση μέσω της συγκομιδής των φυτών.

Ξεχωριστό ενδιαφέρον παρουσιάζει η διερεύνηση της δυνατότητας χρήσης αλόφυτων για τη διεξαγωγή της φυτοσυσσώρευσης μετάλλων επειδή η ρύπανση των εδαφών με βαρέα μέταλλα, λόγω ανθρωπογενών δραστηριοτήτων, συχνά συνυπάρχει με υψηλά επίπεδα εδαφικής αλατότητας εξαιτίας, κυρίως, της γεωργικής υπερεκμετάλλευσης των χερσαίων εκτάσεων.

Χρησιμότητα παρουσιάζει και η γνώση της μεταβολής των χαρακτηριστικών των φυτών και της δυνατότητας τους για απορρόφηση βαρέων μετάλλων κατά την παρουσία στο έδαφος μυκήτων που αποτελούν μέρος του εδαφικού οικοσυστήματος ή άλλων που προστίθενται για καλλιεργητικούς σκοπούς.

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας εξετάζεται η ικανότητα του ενδημικού, στην περιοχή διεξαγωγής των πειραμάτων, αλόφυτου *Crithmum maritimum* L. (ελληνικά: κρίταμος) να απορροφά Cd από αμμοπηλώδες έδαφος, έτσι ώστε, και με δεδομένες τις εδαφικές συνθήκες της Κρήτης, να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητά του για χρήση του σε εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης στην περιοχή.

Το πειραματικό μέρος περιλάμβανε την άρδευση και την παρατήρηση των φυτών για 8 εβδομάδες κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού του 2013. Ορισμένα φυτά ποτίζονταν με αλατούχο διάλυμα αντί για απλό νερό του δικτύου και σε ορισμένων το έδαφος ανάπτυξης προστέθηκε ο φυτοπροστατευτικός μύκητας *Trichoderma harzianum*, έτσι ώστε να διαπιστωθεί η επιρροή της εδαφικής αλατότητας και της παρουσίας του συγκεκριμένου στελέχους μύκητα αφενός στην ικανότητα συσσώρευσης Cd που χαρακτηρίζει το φυτό του πειράματος και αφετέρου στα μορφολογικά και παραγωγικά χαρακτηριστικά του κρίταμου. Τα πειραματικά αποτελέσματα φανέρωσαν ότι πρόκειται για ένα φυτό ανθεκτικό στο Cd, ικανό να συσσωρεύει σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις του μετάλλου στους ιστούς του ιδιαίτερα

σε συνθήκες εδαφικής αλατότητας συνεπώς θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στα πλαίσια της τεχνικής της φυτοσυσσωρευσης. Αντιθέτως, η παρουσία του μύκητα επηρέασε αρνητικά την μετακίνηση του συσσωρευμένου καδμίου από την ρίζα στο υπέργειο τμήμα του φυτού γεγονός που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις καλλιέργειας του φυτού ως βρώσιμο.

ABSTRACT

Phytoaccumulation, as one of the phytoremediation strategies, is an environmentally and economically viable solution for the decontamination of soil from heavy metals, because through this technique, the non-degradeable metals can be removed permanently from the remediated site through the harvesting of the plants used.

There is also upcoming interest in examining the potential use of halophytes in phytoaccumulation processes since the pollution of land areas with heavy metals due to anthropogenic activities, often coexists with high levels of soil salinity mainly because of the overexploitation of the agricultural lands.

It is also of high practical importance the extraction of information on the type and extent of changes occurring in the characteristics of plants and in their capability of absorbing heavy metals, when there are present in the soil fungi that are either part of the natural ecosystem or are added as enhancers for the cultivars.

The main purpose of this phytoremediation study is the investigation of the ability of the, endemic in Crete, halophyte *Crithmum maritimum* L. to absorb cadmium (Cd) from sandy loam soil, in order to evaluate its efficiency in phytoaccumulation on land areas with characteristics typical of Crete.

The experimental part of the study included the irrigation and observation of the plants used during an eight week period in summer of 2013. There were plants watered with salty solution instead of water and others that a plant protectant fungus, *Trichoderma harzianum*, was added in their soil of growth. The aims were to estimate the influence of the soil salinity and the presence of a specific strain of fungus on the capacity of the examining plant to accumulate Cd and on the morphological and productive characteristics of this plant. Concisely, the experimental results provided the conclusion that *C. maritimum* is a plant tolerant to Cd, able to accumulate it in significant amounts especially under high soil salinity conditions suggesting the use of the plant in phytoaccumulation applications. On the other hand, the presence of the fungus limited the translocation of the accumulated metal to the shoots of the plant suggesting its use for sea fennel agriculture as an edible plant.

Περιεχόμενα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ	3
2.1.Παρουσία μετάλλων στο περιβάλλον	3
2.1.1. Βαρέα μέταλλα στο έδαφος	3
2.1.2. Παρουσία του καδμίου στο περιβάλλον	4
2.1.3. Επιπτώσεις του Cd στον άνθρωπο	6
2.1.4. Παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη του Cd από τα φυτά	8
2.1.4.1. Εδαφικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες (αβιοτικοί)	9
2.1.4.2. Παράγοντες που σχετίζονται με το φυτό και τους μικροοργανισμούς της ριζόσφαιρας (βιοτικοί)	13
2.2.Αβιοτικές καταπονήσεις των φυτών	17
2.2.1.Καταπόνηση από βαρέα μέταλλα	17
2.2.1.1.Επιπτώσεις καταπόνησης από βαρέα μέταλλα στα φυτά	18
2.2.1.2.Μηχανισμοί αντιμετώπισης καταπόνησης από βαρέα μέταλλα	20
2.2.2.Καταπόνηση από αλατότητα	27
2.2.2.1.Επιπτώσεις καταπόνησης από αλατότητα στα φυτά	27
2.2.2.2.Μηχανισμοί προσαρμογής στην καταπόνηση από αλατότητα	28
2.3.Φυτοεξυγίανση	32
2.3.1.Τεχνικές φυτοεξυγίανσης	32
2.3.2.Τεχνικές φυτοεξυγίανσης εδαφών από βαρέα μέταλλα	35
2.3.3.Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα τη φυτοσυσσώρευσης	41
2.4. Μύκητας <i>Trichoderma harzianum</i> strain T-22	46
2.5.Χαρακτηριστικά των αλόφυτων και του υπό εξέταση φυτού <i>Crithmum maritimum</i>	48

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	52
3.1.Επιλογή πειραματικών συνθηκών	52
3.2.Προετοιμασία των φυτών <i>Crithmum maritimum</i>	53
3.3. Κύριο πειραματικό μέρος	54
3.3.1.Πειραματικός σχεδιασμός	54
3.3.2.Μετρήσεις στα φυτά	57
3.3.2.1.Προσδιορισμός των παραμέτρων αύξησης	57
3.3.2.2.Προσδιορισμός της χλωροφύλλης	58
3.3.2.3.Προσδιορισμός επιπέδου πρωτεϊνών και ενζυμικής δραστηριότητας υπεροξειδάσης	58
3.3.2.4.Προσδιορισμός της συγκέντρωσης Cd στο φυτικό ιστό	59
3.3.3. Μετρήσεις στο έδαφος	60
3.3.3.1.Μέτρηση pH και ηλεκτρικής αγωγιμότητας εδάφους	60
3.3.3.2.Μέτρηση φυτοδιαθέσιμου και ολικού Cd στο έδαφος	61
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	62
4.1.Συσσώρευση του Cd στο φυτικό ιστό	62
4.2.Συσσώρευση Cd στο φυτικό ιστό σε σχέση με τη συγκέντρωση του μετάλλου στο έδαφος	67
4.3.Επίδραση του Cd, της εδαφικής αλατότητας και του μύκητα <i>Trichoderma harzianum</i> στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού	71
4.3.1.Επίδραση των επεμβάσεων στη βιωσιμότητα και τη βιομάζα	72
4.3.2.Επίδραση των επεμβάσεων στην περιεκτικότητα σε νερό	74
4.3.3.Επίδραση των επεμβάσεων στη χλωροφύλλη	75
4.3.4.Επίδραση των επεμβάσεων στην περιεκτικότητα των ιστών σε πρωτεΐνες και στην ενζυμική δραστηριότητα της υπεροξειδάσης	77
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	79
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	81

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Συγκριτική απεικόνιση των οδών εισροής βαρέων μετάλλων σε έδαφος αγροτικής περιοχής	4
Εικόνα 2: Διεργασίες βαρέων μετάλλων στο έδαφος	10
Εικόνα 3: Συγκριτική απεικόνιση BCF μετάλλων στο <i>D.magna</i> σε περιοχή επηρεαζόμενη από ανθρωπογενείς παρεμβάσεις	14
Εικόνα 1: Συγκριτική απεικόνιση της συσσώρευσης Cd στα διαφορετικά τμήματα του αραβόσιτου	15
Εικόνα 5: Σύμπλοκο φυτοχελατίνης-καδμίου	16
Εικόνα 6: Παράδειγμα μυκορριζικού μύκητα	16
Εικόνα 7: Πιθανές διεργασίες στη ριζόσφαιρα που σχετίζονται με την αλληλεπίδραση φυτικών ριζών-μ/ο και που εμπλέκονται στην κινητοποίηση των βαρέων μετάλλων	17
Εικόνα 8: Καμπύλη πρόσληψης από τα φυτά μεταλλικών στοιχείων	18
Εικόνα 9: Οδοί μετακίνησης του Cd προς τους υπέργειους φυτικούς ιστούς	19
Εικόνα 10: Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στα υπέργεια φυτικά τμήματα σε σχέση με τις αντίστοιχες του εδάφους όταν ένα φυτό εφαρμόζει στρατηγική αποκλεισμού και συσσώρευσης	21
Εικόνα 11: Ιστιδίνη	22
Εικόνα 12: Πιθανοί μηχανισμοί μεταφοράς κατά την πρόσληψη και συσσώρευση Cd σε φυτικό κύτταρο	23
Εικόνα 13: Παράδειγμα φυτικής μεταλλοθειονίνης	25
Εικόνα 14: Πρόσληψη Cd και επαγόμενες διεργασίες σε φυτικό κύτταρο	26
Εικόνα 15: Επιρροή διαφορετικών επιπέδων αλατότητας στη βιομάζα ριζικών και υπέργειων τμημάτων του αλόφυτου <i>C. maritimum</i>	29
Εικόνα 16: Τεχνικές φυτοεξυγίανσης εδαφών	35
Εικόνα 17: Τα φυτικά είδη <i>Thlaspi caerulescens</i> , <i>Populus</i> sp. και <i>Salix</i> sp	40
Εικόνα 18: <i>Trichoderma harzianum</i>	47
Εικόνα 19: <i>Crithmum maritimum</i>	63

Εικόνα 20: Τα φυτά του πειράματος μετά την ομαδοποίησή τους	56
Εικόνα 21: Φυτά των ομάδων επέμβασης 25/0, 25/1 & 25/0+Tr	56
Εικόνες 22,23 & 24: Ρίζες φυτών των ομάδων επέμβασης 25/0, 25/1 & 25/0+Tr	57

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Πηγές βαρέων μετάλλων σε ρυπασμένο έδαφος (Ν.Ζηλανδία)	4
Πίνακας 2:Μεταφορείς βαρέων μετάλλων και γονίδια που τους κωδικοποιούν σε είδη φυτών υπερσυσσωρευτών	9
Πίνακας 3:Συγκριτική απεικόνιση κόστους τεχνικών εξυγίανσης εδαφών από μέταλλα	42
Πίνακας 4: Η κατηγοριοποίηση (ταξινόμια) του <i>Crithmum maritimum</i>	49
Πίνακας 5: Χαρακτηριστικά του εδάφους στο οποίο παρέμειναν τα φυτά κατά τη διάρκεια των πειραματικών μετρήσεων	54
Πίνακας 6: Διακύμανση και μέσες τιμές θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος	54
Πίνακας 7: Πειραματικός σχεδιασμός: Οι ομάδες των φυτών του πειράματος και οι επεμβάσεις που δέχθηκαν	56
Πίνακας 10: Συντελεστής μεταφοράς του <i>C.maritimum</i> για το Cd	65
Πίνακας 9: Τιμές pH και EC του εδάφους των γλαστρών στις οποίες αναπτύχθηκαν τα φυτά του πειράματος	68
Πίνακας 10: Συγκεντρώσεις του ολικού και του βιοδιαθέσιμου Cd (σε mg μετάλλου / kg ξηρού βάρους εδάφους) στο χώμα ανάπτυξης των φυτών του πειράματος	68
Πίνακας 11: BCF του <i>C. maritimum</i> για το Cd	70
Πίνακας 12: Λόγος συγκεντρώσεων χλωροφύλλης-α προς χλωροφύλλης-β των φυτών του πειράματος	77

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Συγκέντρωση Cd (mg μετάλλου/ kg ξηρού βάρους φυτού) στα υπέργεια τμήματα και τις ρίζες του <i>C. maritimum</i>	63
Σχήμα 2: Συνολική ποσότητα Cd που συσσωρεύτηκε στα υπέργεια τμήματα και τις ρίζες του <i>C. maritimum</i>	66
Σχήμα 3: Ποσοστό (%) των φυτών που είχαν επιβιώσει στο τέλος του πειράματος	72
Σχήμα 4: Βιομάζα των φυτών του πειράματος	74
Σχήμα 5: Περιεχόμενο σε νερό (%) των υπέργειων φυτικών τμημάτων του <i>C. maritimum</i>	75
Σχήμα 6: Συγκέντρωση χλωροφύλλης (mg χλωροφύλλης / g νωπού βάρους φύλλων) στα φυτά <i>C. maritimum</i>	76
Σχήμα 7: Περιεκτικότητα των φύλλων του <i>C. maritimum</i> σε πρωτεΐνες	77
Σχήμα 8: Ενζυματική δραστικότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλης (μονάδες ενεργότητας / mg πρωτεϊνών) στο <i>C. maritimum</i>	78

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αν και σε μικρότερες συγκεντρώσεις σε σχέση με άλλα βαρέα μέταλλα, το Cd είναι από τα συνηθέστερα που απαντάται ως ρύπος στο περιβάλλον (Μανουσάκη, 2008) και από τα πλέον βιοδιαθέσιμα (Rashti et al., 2014). Η παρουσία του στο έδαφος οφείλεται κυρίως σε ανθρωπογενείς δραστηριότητες όπως η ανακύκλωση μπαταριών, η χρήση παρασιτοκτόνων και λιπασμάτων, η μεταλλουργία (Gaw et al., 2006), η άρδευση των καλλιεργειών και η ατμοσφαιρική ρύπανση (Xia et al., 2014). Θεωρείται επιβλαβές για τον ανθρώπινο οργανισμό όταν αυτός εκτεθεί σε συγκέντρωση του μετάλλου 0,001 mg/kg/d μέσω της τροφής, 0,0005 mg/kg/d (U.S. Environmental Protection Agency, 2013) μέσω του πόσιμου νερού ή 9 mg/m³ (National Institute for Occupational Safety and Health, 2007) μέσω της εισπνοής.

Η αποκατάσταση του εδάφους με τη χρήση συμβατικών τεχνικών όπως η εκσκαφή, η υαλοποίηση, η χημική ή η ηλεκτροκινητική κατεργασία (Glass, 1999) αποτελεί δαπανηρή λύση, ενώ στις περιπτώσεις εκσκαφής απειλείται η ισορροπία των θρεπτικών συστατικών και των μικροοργανισμών του εδάφους (Lotfy & Mostafa, 2013). Αντίθετα, η φυτοσυσσώρευση αποτελεί μία αρκετά οικονομική λύση και κατά την εφαρμογή της αποτρέπεται η απώλεια του επιφανειακού εδάφους εντός του οποίου περιέχεται η πλειονότητα των απαραίτητων για την ανάπτυξη των φυτών οργανικών ουσιών (Μανουσάκη, 2008).

Το κάδμιο μπορεί να βρίσκεται στο έδαφος σε κατάσταση όπου θα είναι ή όχι διαθέσιμο για πρόσληψή του από τα φυτά. Ο βαθμός αυτής της διαθεσιμότητας καθορίζεται από παράγοντες όπως η περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανικό υλικό, το pH του, η θερμοκρασία του (Rashti et al., 2014), η ικανότητα κατιοανταλλαγής του, το δυναμικό οξειδοαναγωγής του, η αλατότητά του, το περιεχόμενό του σε νερό (Alloway, 1995) και η περιεκτικότητά του σε αργιλικά ορυκτά (Rashti et al., 2014). Η απόδοση της φυτοσυσσώρευσης του Cd διαμορφώνεται, εκτός από τους παραπάνω

παράγοντες, και από την ικανότητα του φυτού να προσλαμβάνει (Yang et al., 2005) και να συσσωρεύει το μέταλλο (Pilon-Smits & Pilon, 2002) αλλά και να είναι ανθεκτικό στις υψηλές συγκεντρώσεις του μετάλλου στους ιστούς του (Bhargava et al., 2012), την ικανότητα ενδοκυτταρικής μεταφοράς του, παραγωγής βιομάζας (Peuke & Rennenberg, 2005) και από τις εκκρίσεις των φυτικών ριζών (Naidu et al., 2003).

Η εργασία αυτή κύριο στόχο έχει τη διερεύνηση του βαθμού ικανότητας του κρίταμου να απορροφά Cd από το έδαφος και κατά πόσον κοινοί παράγοντες επίδρασης όπως η αλατότητα και η παρουσία ενός μύκητα επηρεάζουν αυτήν την ικανότητα. Ακόμη, επιδιώκεται να διαπιστωθεί η ανθεκτικότητα του φυτού απέναντι στις επεμβάσεις αυτές μεμονωμένα ή σε συνέργεια με το κάδμιο. Τα πειραματικά δεδομένα προέκυψαν από μετρήσεις σε φυτά τα οποία αναπτύχθηκαν μέσα σε γλάστρες σε υπαίθριο χώρο. Επίσης, διεξήχθησαν και μετρήσεις στο έδαφος το οποίο χρησιμοποιείται έτσι ώστε να συσχετισθούν οι συγκεντρώσεις του μετάλλου στο φυτό με αυτές του εδάφους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

2.1. Παρουσία των μετάλλων στο περιβάλλον

Τα βαρέα μέταλλα είναι ένα ασαφές υποσύνολο στοιχείων που χαρακτηρίζονται από τις μεταλλικές τους ιδιότητες, έχουν υψηλή πυκνότητα και είναι τοξικά ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις τους. Κυρίως περιλαμβάνουν τα μέταλλα μετάπτωσης, κάποια μεταλλοειδή, τις λανθανίδες και τις ακτινίδες (Babula et al., 2008). Διαφορετικά, ως βαρέα μέταλλα μπορούν να χαρακτηρισθούν εκείνα τα χημικά στοιχεία που διαθέτουν μεταλλικές ιδιότητες, όπως η ολκιμότητα, η αγωγιμότητα, η σταθερότητα ως κατιόντα, η ειδικότητα υποκαταστάτη και άλλες, και έχουν ατομικό αριθμό μεγαλύτερο του 20 (Raskin et al., 2008).

2.1.1. Παρουσία βαρέων μετάλλων στο έδαφος

Συνηθέστερα, από τα βαρέα μέταλλα και μεταλλοειδή, απαντώνται ως περιβαλλοντικοί ρύποι το κάδμιο (Cd), ο χαλκός (Cu), ο μόλυβδος (Pb), ο ψευδάργυρος (Zn), το αρσενικό (As), ο υδράργυρος (Hg), το νικέλιο (Ni) και το χρώμιο (Cr) (Μανουσάκη, 2008).

Οι συγκεντρώσεις, γενικά των βαρέων μετάλλων, στο έδαφος δεν είναι σταθερές εξαιτίας του πλήθους των φυσικών και ανθρωπογενών πηγών που διαμορφώνουν τη ροή εισόδου τους στο χώμα αλλά και του πλήθους των διεργασιών που συνιστούν τη ροή εξόδου τους από αυτό (Xia et al., 2014). Στο βιογεωχημικό κύκλο των βαρέων μετάλλων, το χώμα είναι το μέσο στο οποίο έχουν τη μεγαλύτερη διάρκεια παραμονής και οι συγκεντρώσεις τους σε αυτό βρίσκονται σε μία κατάσταση δυναμικής ισορροπίας, καθώς αυξάνονται όταν η εισροή υπερβαίνει την εκροή τους και μειώνονται όταν συμβαίνει το αντίστροφο (Xia et al., 2014).

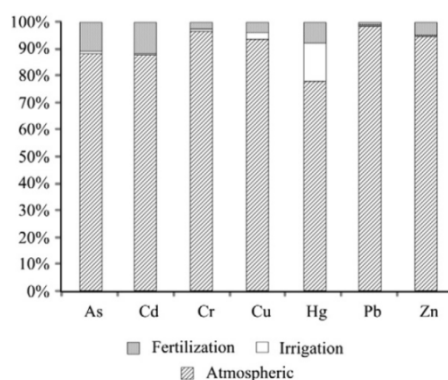
Επιβαρυντική ως προς τη ρύπανση των εδαφών με βαρέα μέταλλα θεωρείται η αυξανόμενη βιομηχανική και μεταλλευτική (mining) δραστηριότητα, η άρδευση

εκτάσεων με επεξεργασμένα λύματα και η εφαρμογή λυματολάσπης στα εδάφη (Kadukova & Kalogerakis, 2007).

Activity	As	Cd	Cu	Cr	Pb	Hg	Sn	Zn
Battery recycling		x			x	x		x
Electrical transformers			x		x	x	x	
Pesticides	x	x	x		x	x		x
Fertilisers		x	x					x
Mining	x					x		
Timber treatment	x		x	x			x	
Metal works		x	x	x	x		x	
Gas works	x		x	x	x			
Firing ranges			x		x		x	x

Πίνακας 1: Πηγές βαρέων μετάλλων σε ρυπασμένο έδαφος (Ν.Ζηλανδία) (Gaw et al., 2006).

Σύμφωνα με τους Xia et al. (2014), στο χώμα αγροτικών περιοχών, κύρια οδός εισροής των Cd, Hg, As, Pb, Zn και Cu είναι συνήθως η ατμοσφαιρική εναπόθεση και δευτερεύουσες πηγές η άρδευση και η λίπανση του εδάφους, και αντίστοιχα το νερό των υπόγειων υδροφορέων θεωρείται σημαντικότερος φορέας εκροής των παραπάνω μετάλλων σε σχέση με την εκροή τους μέσω των επιφανειακών υδάτων και τη συγκομιδή των καλλιεργειών. Σε δασικές εκτάσεις έχει διαπιστωθεί ότι η κύρια οδός εισροής των Cd, Cu, Ni, Pb και Zn στο χώμα είναι η ατμοσφαιρική εναπόθεση και κύρια οδός εκροής των Zn και Ni είναι η έκπλυση (leaching) του εδάφους (Xia et al., 2014).



Εικόνα 1: Συγκριτική απεικόνιση των οδών εισροής βαρέων μετάλλων σε έδαφος αγροτικής περιοχής (Xia et al., 2014).

2.1.2. Παρουσία του Cd στο περιβάλλον

Το Cd είναι μέταλλο ελαφρού ασημο-άσπρου χρώματος, έχει ατομικό βάρος 112,41 g/mol, εντοπίζεται συνήθως συνδυασμένο με άλλα στοιχεία, κυρίως με το οξυγόνο και το θείο (United States Environmental Protection Agency, 2013), και

εκλύεται στο περιβάλλον μέσω των βιομηχανικών δραστηριοτήτων και της χρήσης χημικών προϊόντων (Rashti et al., 2014). Οι κύριες πηγές Cd στην ατμόσφαιρα είναι η καύση των ορυκτών καυσίμων, κυρίως άνθρακα και πετρελαίου, και η καύση αστικών απορριμμάτων (United States Environmental Protection Agency, 2013). Η λίπανση των εδαφών, και ιδιαίτερα η χρήση φωσφορούχων λιπασμάτων, αποτελεί μία από τις κύριες ανθρωπογενείς πηγές συσσώρευσης Cd στις αγροτικές χερσαίες εκτάσεις (Sousa et al., 2014).

Στις Η.Π.Α. το μεγαλύτερο ποσοστό του Cd που χρησιμοποιείται παραλαμβάνεται ως παραπροϊόν της τήξης του Zn, του Pb ή του Cu για αξιοποίηση στη βιομηχανία χρωμάτων και πλαστικών και στις επιμεταλλώσεις (United States Environmental Protection Agency, 2013).

Σε μορφή ατμού (fume), ο οποίος είναι άοσμος, καφεκίτρινου χρώματος, το Cd απαντάται ως μονοξείδιο του Cd (CdO) ή ως στοιχειακό Cd (National Institute for Occupational Safety and Health, 2007). Η σκόνη καδμίου (dust) περιγράφεται ως ασημο-άσπρη, ενίοτε χρωματισμένη μπλε, στιλπνή και άοσμη ουσία και θεωρείται αδιάλυτη με σημείο βρασμού τους 767°C (National Institute for Occupational Safety and Health, 2007).

Στα χημικά σκευάσματα που χρησιμοποιούνται στον αγροτικό, στο βιομηχανικό και στον κατασκευαστικό τομέα, το Cd απαντάται κατά κύριο λόγο ως (National Institute for Occupational Safety and Health, 2007):

- Οξικό Cd ($\text{C}_4\text{H}_6\text{CdO}_4$ / $\text{Cd}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$), συνήθως υπό τη μορφή άχρωμων κρυστάλλων, άκαυστων, με πολύ καλή διαλυτότητα στο νερό, με χαρακτηριστική οσμή, σημείο τήξης τους 255°C και πυκνότητα $2,43\text{g/cm}^3$. Η έκθεση τους σε φωτιά προκαλεί την έκλυση ερεθιστικών ή τοξικών καπνών.
- Ως διχλωριούχο κάδμιο (CdCl_2), σε μορφή άχρωμων και άοσμων υγροσκοπικών κρυστάλλων, με σημείο βρασμού τους 960°C , σημείο τήξης τους 568°C , οι οποίοι επίσης είναι άκαυστοι, έχουν καλή διαλυτότητα στο νερό και η έκθεση τους στη φωτιά εκλύει ερεθιστικούς ή τοξικούς καπνούς.
- Ως μονοξείδιο του Cd (CdO), το οποίο στη φυσική του κατάσταση είναι άοσμοι, αδιάλυτοι στο νερό, κρύσταλλοι καφέ χρώματος ή άμορφη σκόνη με

θερμοκρασία εξάχνωσης τους 1559°C και σημείο βρασμού μεταξύ 900-1.000°C.

- Ως σουλφίδιο του καδμίου (CdS), το οποίο είναι κρύσταλλος ανοιχτού κίτρινου ή πορτοκαλιού χρώματος ή σκόνη κίτρινου έως καφέ χρώματος, τα οποία κατά την καύση τους αποσυντίθεται παράγοντας τοξικό καπνό, ενώ αντιδρούν και με οξέα παράγοντας τοξικό αέριο.
- Ως θειϊκό κάδμιο (CdSO₄), το οποίο απαντάται ως λευκοί κρύσταλλοι με σημείο τήξης τους 1.000°C, πυκνότητα 4,7g/cm³ και διαλυτότητα στο νερό 75,5 g/100 ml.

2.1.3. Επιπτώσεις του Cd στον άνθρωπο

Η παρουσία των βαρέων μετάλλων στο έδαφος και η επακόλουθη διασπορά τους σε αυτό αποτελεί σημαντική απειλή για το οικοσύστημα, τις καλλιέργειες και την ανθρώπινη υγεία (Lotfy & Mostafa, 2013). Από τα βαρέα μέταλλα που είναι συχνοί ρυπαντές του χώματος και των υπόγειων υδροφορέων, το Cd είναι από τα περισσότερο βιοδιαθέσιμα και πλέον τοξικά (Rashti et al., 2014).

Παγκοσμίως, περίπου 20 εκατομμύρια εκτάρια γεωργικών εκτάσεων έχουν επιβαρυνθεί με μέταλλα και μεταλλοειδή, στα οποία περιλαμβάνονται τουλάχιστον 13.330 εκτάρια ρυπασμένα με Cd, ρύπανση που αντιστοιχεί σε μείωση παραγωγής τροφίμων 10Mt/έτος και παραγωγής 12 Mt/έτος ρυπασμένων τροφίμων (Zhang & Huang, 2000).

Στην Ελλάδα υπάρχει ένας αριθμός ρυπασμένων περιοχών από βαρέα μέταλλα εξαιτίας παρακείμενων βιομηχανικών και μεταλλουργικών μονάδων και χώρων διάθεσης απορριμμάτων στους οποίους δεν τηρούνται επαρκή μέτρα περιβαλλοντικής προστασίας. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν οι βιομηχανικές περιοχές του Θριασίου Πεδίου, των Οиноφύτων, της Θεσσαλονίκης, της Καβάλας και του Βολου και πολυμεταλλικά ορυχεία, είτε εγκαταλειμμένα, όπως του Λαυρίου, της Θάσου και της Ερμιόνης ή σε λειτουργία, όπως της Κασσάνδρας (Μανουσάκη, 2008).

Μία από τις κυριότερες οδούς έκθεσης του ανθρώπου στο Cd είναι η κατανάλωση αγροτικών προϊόντων που προέρχονται από καλλιέργειες οι οποίες αναπτύχθηκαν σε έδαφος επιβαρυνμένο με Cd (Ondrasek et al., 2009). Συγκεκριμένα,

το Cd εισέρχεται στην ανθρώπινη τροφική αλυσίδα καθώς προσκολλάται, ασθενώς σε σχέση με άλλα βαρέα μέταλλα, στα σωματίδια του εδάφους και ακολούθως προσλαμβάνεται από τα φυτά προς συγκομιδή (Rashti et al., 2014).

Η υπηρεσία περιβάλλοντος των Η.Π.Α. (United States Environmental Protection Agency, 2013) έχει ορίσει ως δόση αναφοράς (RfD ή Reference Dose) για το Cd τα 0,001 mg/kg/d για έκθεση ενός ατόμου σε αυτό μέσω της τροφής και τα 0,0005 mg/kg/d μέσω του πόσιμου νερού, βασισμένη στην εμφάνιση σημαντικού βαθμού πρωτεϊνουρίας και το έχει κατατάξει στην κατηγορία B1 (probable human carcinogen, 1986 criteria) των πιθανών καρκινογόνων ουσιών για τον άνθρωπο. Η εκτιμώμενη, από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), μέγιστη ανεκτή ποσότητα πρόσληψης Cd από ένα άτομο μέσω της τροφής, θεωρείται τα 400-500μg ανά εβδομάδα ή ισοδύναμα τα 70μg ανά ημέρα (Irfan et al., 2012).

Η έκθεση ενός ατόμου στη σκόνη Cd, μέσω της εισπνοής ή της κατάποσης, μπορεί να προσβάλλει το αναπνευστικό σύστημα, τα νεφρά, τον προστάτη και το αίμα του προκαλώντας αναιμία, εμφύσημα και πνευμονικό οίδημα και συμπτώματα όπως δύσπνοια, θωρακικό ή υποστέρνιο θωρακικό πόνο, πονοκέφαλο, ναυτία, εμετό, μούδιασμα, μυϊκό πόνο, απώλεια της όσφρησης και πρωτεϊνουρία (United States Environmental Protection Agency, 2013). Το όριο πάνω από το οποίο η παρουσία της σκόνης αυτής θεωρείται επικίνδυνη για την ανθρώπινη υγεία (IDLH) είναι τα 9mg/m³ (National Institute for Occupational Safety and Health, 2007). Τα ιόντα Cd, αλλά και Cr, τα οποία συχνά περιέχονται στα υγρά απόβλητα, μπορούν να προκαλέσουν νεφρική δυσλειτουργία και χρόνιες αλλοιώσεις στο νευρικό σύστημα και στη γαστρεντερική οδό του ανθρώπου (Lotfy & Mostafa, 2013).

Όσον αφορά τις επιμέρους μορφές του Cd που απαντώνται σε καταναλωτικά προϊόντα έχει δαπιστωθεί ότι (National Institute for Occupational Safety and Health, 2007):

- Το οξικό Cd είναι δυνητικά καρκινογόνο για τον άνθρωπο με δυνατότητα πρόκλησης νεφρικής ανεπάρκειας και οστεοπόρωσης μετά από μακροχρόνια έκθεση και ότι η εισπνοή του προκαλεί βήχα και η κατάποσή του κοιλιακό πόνο, ναυτία και εμετό. Ως μέση χρονικά σταθμισμένη οριακή τιμή του (TLV-TWA) για εισπνοή έχει προταθεί αυτή των 0,002 mg/m³.

- Η εισπνοή του διχλωριούχου καδμίου (CdCl_2) προκαλεί βήχα και επιβαρύνει την αναπνοή, η επαφή του με το δέρμα και τους οφθαλμούς προκαλεί τον ερεθισμό τους και η κατάποσή του κοιλιακό πόνο, αίσθημα καύσου, διάρροια, ναυτία και εμετό. Μακροχρόνια έκθεση στο CdCl_2 μπορεί να έχει αρνητική επίδραση στα νεφρά και είναι δυνατόν να οδηγήσει έως και σε νεφρική ανεπάρκεια. Ως TLV-TWA για την εισπνοή του CdCl_2 έχουν ορισθεί τα $0,002 \text{ mg/m}^3$.
- Το οξείδιο του Cd (CdO) προκαλεί στην αναπνευστική οδό και στους οφθαλμούς παρόμοια προβλήματα με το CdCl_2 και η κατάποσή του μπορεί να οδηγήσει σε κοιλιακές κράμπες, διάρροια και εμετό. Μακροχρόνια έκθεση στην ένωση προκαλεί ανάλογα προβλήματα υγείας, όπως και η έκθεση στο CdCl_2 .
- Η έκθεση στο CdS προκαλεί βήχα, διάρροια και ναυτία και στα μάτια, ερεθισμό και πόνο. Χρόνια έκθεση στην ένωση μπορεί να προκαλέσει δυσλειτουργία στα νεφρά, οστεοπόρωση και χρόνια φλεγμονή του αναπνευστικού συστήματος.

2.1.4. Παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσληψη Cd από τα φυτά

Οι φυσικοχημικές μορφές του μετάλλου που θα σχηματισθούν εντός του εδάφους και η μεταξύ τους ισορροπία, δηλαδή το ποσοστό του μετάλλου που τελικά καθίσταται φυτοδιαθέσιμο (βιοδιαθέσιμο για τα φυτά), καθορίζει, μαζί με τα χαρακτηριστικά του φυτού και άλλους εξωγενείς παράγοντες, το βαθμό απορρόφησης του μετάλλου από το φυτό και κατά συνέπεια την επιτυχία της φυτοσυσσώρευσης ειδικότερα, και της φυτοεξυγίανσης γενικότερα. Επιτυχή θεωρείται μία διεργασία φυτοσυσσώρευσης όταν το ρυπασμένο μέσο εξυγιαίνεται σε βαθμό που καθίσταται σύμφωνο με τους περιβαλλοντικούς κανονισμούς και όταν η συγκεκριμένη εξυγίανση τελείται με χαμηλότερο κόστος έναντι μίας εναλλακτικής τεχνολογίας ή της απραξίας (Μανουσάκη, 2008).

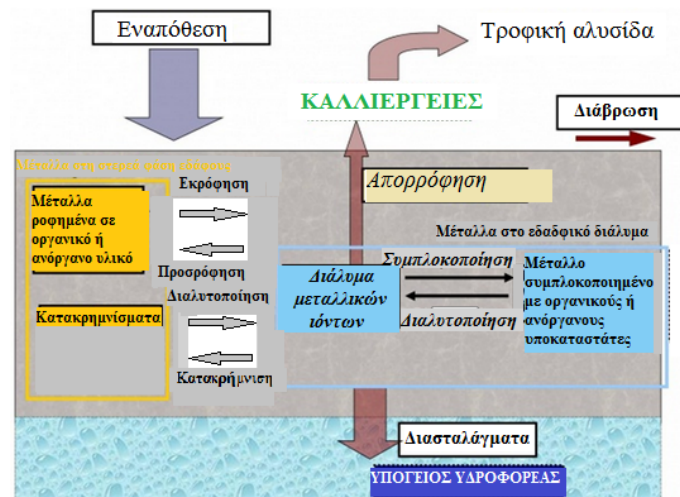
Ένας αριθμός αβιοτικών και βιοτικών παραγόντων όπως το pH του εδάφους, η περιεκτικότητα του σε οργανική ουσία, η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (κατιονταλλαγής) που το χαρακτηρίζει (Cation Exchange Capacity ή CEC) και οι μικροοργανισμοί (μ/ο) που διαβιούν σε αυτό, καθώς και το είδος των φυτών που

αναπτύσσονται στο έδαφος, μπορούν να επηρεάσουν άμεσα ή έμμεσα την κινητικότητα και κατά συνέπεια τη βιοδιαθεσιμότητα του Cd.

2.1.4.1.Εδαφικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες (αβιοτικοί)

Τα μέταλλα στο έδαφος είναι δυνατόν να: α) βρίσκονται διαλυμένα στο εδαφικό διάλυμα ως ιόντα ή ως σύμπλοκα με οργανικές ενώσεις, β) βρίσκονται στις θέσεις ανταλλαγής των δραστικών συστατικών του εδάφους, γ) να βρίσκονται έγκλειστα στα οξείδια/υδροξείδια των Al/Fe/Mn ή δ) να είναι παγιδευμένα σε πρωτογενή και δευτερογενή ορυκτά. Το κλάσμα των μετάλλων που βρίσκεται διαλυμένο στο εδαφικό διάλυμα ως μεταλλικά ιόντα είναι άμεσα λαμβανόμενο από τα φυτά, το κλάσμα που βρίσκεται κατακρατημένο σε ορυκτά είναι πολύ δύσκολα διαθέσιμο για πρόσληψη από τις ρίζες των φυτών και τα υπόλοιπα κλάσματα, δηλαδή τα εγκλεισμένα στα οξείδια των Al/Fe/Mn και τα δεσμευμένα με την οργανική ουσία, είναι εν δυνάμει διαθέσιμα για απορρόφηση από τα φυτά επειδή, ανάλογα με τις συνθήκες, είτε μεταβαίνουν στο εδαφικό διάλυμα ή μετατρέπονται σε μη διαθέσιμη μορφή βαρέων μετάλλων. Τα τελευταία κλάσματα, τα οποία αντιπροσωπεύονται από τον όρο της βιοδιαθεσιμότητας, βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία μεταξύ τους, η οποία καθορίζει τη φυτοδιαθεσιμότητα των μετάλλων (Μανουσάκη, 2008).

Οι διεργασίες που διαμορφώνουν τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο χώμα είναι η 1) απομάκρυνση των μετάλλων από το εδαφικό διάλυμα λόγω της ρόφησής τους στα εδαφικά σωματίδια (soil particles), 2) η απελευθέρωση των μετάλλων από τα εδαφικά σωματίδια προς το εδαφικό διάλυμα (εκρόφηση) ως αναπλήρωση αυτών που απορροφούν τα φυτά από το διάλυμα 3) η κατακρήμνιση - διάλυση των μετάλλων ως ανεξάρτητη φάση στο εδαφικό στρώμα (Sparks, 2003).



Εικόνα 2: Διεργασίες βαρέων μετάλλων στο έδαφος [www.earthemphaxis.com]

Ο βαθμός της πραγματοποιούμενης εκρόφισης του Cd από τα εδαφικά σωματίδια μπορεί να καθορισθεί από: την περιεκτικότητα του χώματος σε οξείδια του Fe και οργανικό υλικό, την περιεκτικότητά του σε αργίλικα ορυκτά (clay minerals) και τους τύπους των ορυκτών αυτών, το pH του, την ηλικία του, τη θερμοκρασία του αλλά και την ίδια τη συγκέντρωση του Cd σε αυτό (Rashti et al., 2014). Ακόμα και υψηλά επίπεδα Ca^{2+} σε ύδατα άρδευσης έχει φανεί ότι μπορούν να επηρεάσουν την πρόσληψη Cd από φυτά, επειδή μπορούν να ανταγωνιστούν και να οδηγήσουν σε εκρόφιση του μετάλλου από τα εδαφικά σωματίδια (N.Lugon-Moulin et al, 2004). Τα επίπεδα φυτοδιαθεσιμότητας ενός μετάλλου μπορούν ακόμη να επηρεαστούν από την περιεκτικότητά του εδάφους σε άλλα μέταλλα, το δυναμικό οξειδοαναγωγής του (Eh), την CEC του, την αλατότητά του και το περιεχόμενο του σε νερό (Alloway, 1995).

Οι οργανικές ενώσεις του εδάφους διαδραματίζουν καίριο ρόλο στη χημειορόφιση και συμπλοκοποίηση του Cd εξαιτίας των μεγάλων ειδικών επιφανειών τους, της υψηλής ικανότητάς τους για ανταλλαγή κατιόντων και της παρουσίας σε αυτές υποκαταστατών οι οποίοι έχουν δυνατότητα συμπλοκοποίησης με μέταλλα (Weng et al., 2002). Λόγω των παραπάνω ιδιοτήτων τους ανταγωνίζονται ισχυρά ανόργανους υποκαταστάτες των μετάλλων στις διεργασίες προσρόφισης και συμπλοκοποίησης, με αποτέλεσμα να μειώνουν τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων, περιλαμβανόμενου και του Cd, επειδή τα σχηματιζόμενα διαλυτά σύμπλοκα Cd-DOC (DOC: διαλυμένος οργανικός άνθρακας ή Dissolved Organic Carbon) έχουν σχετικά χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα. Ο DOC, ο οποίος συνίσταται κύρια από χουμικά και

φουλβικά οξέα, κατέχει, συνήθως πρωτεύουσα θέση στο οργανικό υλικό του εδάφους (Ondrasek et al., 2009).

Αύξηση της αλατότητας του εδάφους οδηγεί σε άνοδο της συγκέντρωσης των μετάλλων στο εδαφικό διάλυμα επειδή α) τα κατιόντα που σχετίζονται με την αλατότητα αντικαθιστούν τα προσροφημένα στα εδαφικά σωματίδια μεταλλικά ιόντα β) διαλυτοποιείται η οργανική ουσία στην οποία δεσμεύονται τα μέταλλα και γ) σχηματίζονται διαλυτά σύμπλοκα του Cl^- με μέταλλα και κυρίως με το Cd (Μανουσάκη, 2008). Άλλωστε τα δημιουργούμενα ανόργανα σύμπλοκα του Cd με το χλώριο (CdCl_n^{2-n}), όπως και τα διαλυτά ελεύθερα ιόντα Cd^{2+} , θεωρούνται ότι είναι οι πιο βιοδιαθέσιμες, και κατά συνέπεια πιο τοξικές ενώσεις του μετάλλου (Ondrasek et al., 2009). Η αλατότητα του εδάφους δρα συχνά, αλλά όχι πάντα, προωθητικά ως προς τη μεταφορά των μετάλλων από τις ρίζες στα φύλλα κάποιων δικοτυλήδων ειδών φυτών (Kadukova & Kalogerakis, 2007). Ας σημειωθεί ότι παρατηρείται διακύμανση μεταξύ των τμημάτων ενός φυτού όσον αφορά την επιρροή της αλατότητας στην πρόσληψη του Cd. Οι Ondrasek et al. (2009), διαπίστωσαν σε ποικιλία πεπονιού (muskmelon), ότι με την προσθήκη αλατότητας στο έδαφος η πρόσληψη Cd στα φύλλα του αυξανόταν, σε αντίθεση με το φλοιό και τη σάρκα των καρπών του όπου η συσσώρευση Cd εμφανίστηκε πολλαπλά χαμηλότερη μετά τις επεμβάσεις με κλιμακούμενα ποσά αλατότητας έως και 60mM NaCl.

Η CEC του εδάφους περιγράφει το σύνολο των κατιόντων που μπορούν να συγκρατηθούν από τα εδαφικά κolloειδή του σε συγκεκριμένη τιμή pH και είναι ανάλογη του βαθμού ρόφησης των μετάλλων που μπορεί να επιτευχθεί στο έδαφος. Το αρνητικό φορτίο, στη διεργασία κατιονταλλαγής, παρέχεται από το πηλώδες και το οργανικό υλικό του εδάφους, με αποτέλεσμα το φορτίο να αυξάνεται όταν το έδαφος είναι πλουσιότερο σε σωματίδια αργίλου, οπότε και παρατηρούνται μειωμένες τιμές φυτοδιαθεσιμότητας των μεταλλικών ιόντων λόγω εκτενέστερης ρόφησης τους στα εδαφικά σωματίδια. (Bhargava et al., 2012).

Το pH επιδρά στη βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων επειδή οι αυξομειώσεις του μεταβάλλουν τις χημικές μορφές τους στο έδαφος, οι οποίες μεταβολές συνδέονται άμεσα και με αλλαγές στην οξειδωτική κατάσταση του εκάστοτε μετάλλου (Μανουσάκη, 2008). Η οξειδωτική κατάσταση ενός μετάλλου, με τη σειρά της, επηρεάζει τη διαλυτότητα του, με τις οξειδωμένες μορφές των

γνωστότερων μετάλλων που εμφανίζονται ως ρυπαντές, με εξαίρεση το Cr, να είναι λιγότερο διαλυτές (Bhargava et al., 2012). Εντούτοις, στις περισσότερες περιπτώσεις, μείωση του pH συνδέεται με αύξηση της απορρόφησης των μετάλλων από τα φυτά λόγω του ανταγωνισμού των μεταλλικών ιόντων με τα υδρογονοκατιόντα για τις θέσεις πρόσδεσης στα σωματίδια του εδάφους που οδηγεί στην εκρόφιση των μετάλλων από τις θέσεις αυτές (Blaylock & Huang, 2000). Η παραπάνω αύξηση της φυτοδιαθεσιμότητας μπορεί να οδηγήσει τις συγκεντρώσεις των μετάλλων σε επίπεδα αρκετά υψηλά ώστε να καθίστανται τοξικά για τα φυτά (Bhargava et al., 2012), όπως έχει παρατηρηθεί για το ίδιο το *C. maritimum* κατά την πρόσληψη από το φυτό ποσοτήτων Co, Ni, Cu, Zn και Cd από περιοχή μεταλλευτικών δραστηριοτήτων όταν το pH κυμαινόταν κάτω από 5 (Bosch, 2010).

Οι διακυμάνσεις στο περιεχόμενο του εδάφους σε νερό είναι από τους κύριους αβιοτικούς παράγοντες που περιορίζουν την ανάπτυξη των φυτών σε χερσαίες εκτάσεις και οδηγούν σε μείωση της φυτοδιαθεσιμότητας των περισσότερων μετάλλων στα ρυπασμένα εδάφη (Kramer & Boyer, 1997).

Το είδος του μετάλλου συσχετίζεται με το βαθμό φυτοδιαθεσιμότητάς του επειδή η σταθερότητα των ενώσεων που σχηματίζουν τα βαρέα μέταλλα με υποκαταστάτες μειώνεται σε αναλογία με την ηλεκτραρνητικότητα του μετάλλου και άρα με τη σειρά $Pb > Cu > Ni > Co > Zn > Cd > Mn$. Το χαρακτηριστικό αυτό εξηγεί το γεγονός ότι το Cd και ο Zn απαντώνται πρωτίστως ως διαλυτές ή ανταλλάξιμες μορφές ενώ μέταλλα όπως ο Pb και ο Cu κυρίως ως αδιάλυτα ιζήματα (Tyler et al., 1989).

Ο βαθμός πρόσληψης των μετάλλων από τα φυτά αυξάνεται γραμμικά με την αύξηση της θερμοκρασίας επειδή η θερμοκρασία επηρεάζει την εξατμισοδιαπνοή, την ανάπτυξη και το μεταβολισμό των φυτών και τη χημεία του νερού, επομένως και την πρόσληψη και απομάκρυνση των μετάλλων από τα φυτά (Yu et al., 2005).

Σε ένα φυτικό οργανισμό ο οποίος απορροφά μέταλλα μέσω των ριζών του, αερολύματα από την ατμόσφαιρα εισχωρούν σε αυτόν μέσω της επιφάνειας των φύλλων του (Bhargava et al., 2012), καθιστώντας την ατμοσφαιρική ρύπανση παράγοντα επηρεασμού της πρόσληψης των μετάλλων από τα φυτά. Ειδικότερα, μικροσκοπικά σωματίδια μετάλλων επικάθονται στα φύλλα και ορισμένα απορροφώνται, όπως αυτά των Cu, Cd και Zn, ενώ άλλα όπως αυτά του Pb

παραμένουν στην επιφάνεια των φύλλων ως κατακρημνίσματα (Kabata-Pendias & Pendias, 1992).

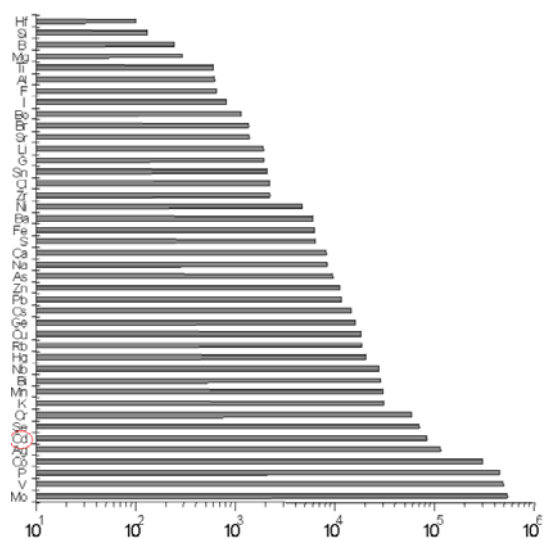
2.1.4.2. Παράγοντες που σχετίζονται με το φυτό και τους μ/ο της ριζόσφαιρας (Βιοτικοί παράγοντες)

Παράμετροι που σχετίζονται με το ίδιο το φυτό διαμορφώνουν και αυτές το βαθμό απορρόφησης του περιεχόμενου στο έδαφος Cd:

- Η ικανότητα πρόσληψης μετάλλων και ενδοκυτταρικής μεταφοράς τους που χαρακτηρίζουν ένα φυτό (Yang et al., 2005). Για παράδειγμα, η P-1B-ATPάση AtHMA4, της *Arabidopsis thaliana*, η οποία έχει ικανότητα μεταφοράς Zn και Cd, εντοπίζεται στην πλασματική μεμβράνη και εκφράζεται στους ιστούς που περιβάλλουν τα ριζικά τριχίδια και της οποίας η υπερέκφραση σε φυτά έχει συνδεθεί τόσο με αυξημένη ανάπτυξη του ριζικού συστήματος τους παρουσία Zn, Cd και Co, όσο και με αυξημένη συσσώρευση Zn και Cd στα υπέργεια τμήματά τους (Verret et al., 2004).
- Η ανοχή των φυτών απέναντι στα υψηλά επίπεδα βαρέων μετάλλων, αφού άλλα φυτά ανταποκρίνονται θετικά ως προς την ανάπτυξή τους, παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων στο έδαφος, άλλα ανταποκρίνονται αρνητικά και άλλα δεν επηρεάζονται (Bhargava et al., 2012). Παλαιότερες έρευνες της δεκαετίας του 1970 υποστήριζαν ότι η ανάπτυξη της συγκεκριμένης ανοχής είναι αποτέλεσμα της δράσης μεγάλου αριθμού γονιδίων, σε αντίθεση με νεότερες μελέτες, σύμφωνα με τις οποίες η συγκεκριμένη ανοχή ρυθμίζεται από λίγα κύρια ή κάποιες φορές και από ένα γονίδιο (Bhargava et al., 2012).
- Η ικανότητα συσσώρευσης μετάλλων στους ιστούς του, που χαρακτηρίζει ένα φυτό. Διϊστάμενες είναι οι απόψεις για το εάν η ανοχή και η υπερσυσσώρευση μετάλλων σε ένα φυτό είναι συνδεόμενες ιδιότητες. Υπάρχει γενετική διακύμανση στα είδη των φυτών, ενδοπληθυσμιακή και διαπληθυσμιακή, όσον αφορά την ποσοτική ικανότητα των υπερσυσσωρευτών να αφομοιώνουν μέταλλα (Pilon-Smits & Pilon, 2002). Αναλύσεις φυτών *A. halleri*, αποτέλεσμα διασταυρώσεων *A. halleri* και *A. lyrata*, φανέρωσαν ότι η υπερσυσσώρευση και η ανοχή στο Zn είναι διαφορετικές γενετικές ιδιότητες που τελούν υπό ανεξάρτητο γενετικό έλεγχο, ότι η ανοχή στον Zn ελέγχεται

από ένα γονίδιο και ότι η υπερσυσσώρευση Cd και Zn ελέγχεται από περισσότερα γονίδια (Macnair et al., 1999).

- Η παραγωγή του φυτού σε βιομάζα και ο συντελεστής βιοσυσσώρευσης που το χαρακτηρίζουν (Bioconcentration factor ή BCF), ο οποίος αντιπροσωπεύει το λόγο της συγκέντρωσης του μετάλλου στους υπέργειους ιστούς του φυτού προς τη συγκέντρωση του στο χώμα. Οι παράμετροι αυτοί διαμορφώνουν το ρυθμό με τον οποίο θα απορροφήσει ένα φυτό την υπάρχουσα ποσότητα βαρέων μετάλλων στο έδαφος. Όσα φυτά δεν είναι υπερσυσσωρευτές, δηλαδή η πλειονότητα, έχουν συντελεστή βιοσυσσώρευσης χαμηλότερο της μονάδας, το οποίο πρακτικά σημαίνει ότι για να απομακρύνουν τη μισή ποσότητα ενός μετάλλου το οποίο βρίσκεται ως ρυπαντής στο χώμα χρειάζονται διάστημα μεγαλύτερο από τη διάρκεια ζωής ενός ανθρώπου (Peuke & Rennenberg, 2005).
- Οι εκκρίσεις των ριζών των φυτών, οι οποίες συνήθως αυξάνουν τη διαλυτότητα των μεταλλικών ιόντων μέσω της δράσης τους ως χηλικά αντιδραστήρια και του ακόλουθου σχηματισμού διαλυτών μεταλλο-οργανικών συμπλόκων και μέσω της εκτόπισης των ιόντων των μετάλλων από τα εδαφικά σωματίδια που επιτυγχάνουν τα ευρισκόμενα στο εδαφικό διάλυμα κατιόντα (Naidu et al., 2003).

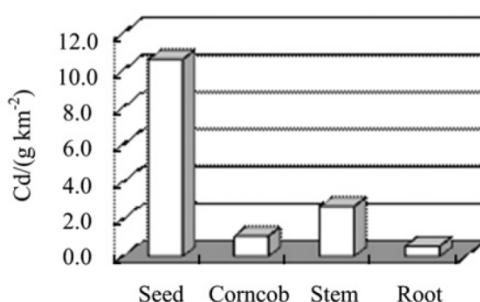


Εικόνα 3: Συγκριτική απεικόνιση BCF μετάλλων στο *D.magna* σε περιοχή επηρεαζόμενη από ανθρωπογενείς παρεμβάσεις (McGeer et al., 2004).

Τα παραπάνω χαρακτηριστικά των φυτών καθορίζονται κατά κύριο λόγο από το γονότυπό τους.

Επίσης, η ηλικία και το στάδιο ανάπτυξης ενός φυτού έχουν σημασία για την εκτίμηση του βαθμού πρόσληψης και συσσώρευσης των μετάλλων από αυτό (Μανουσάκη, 2008).

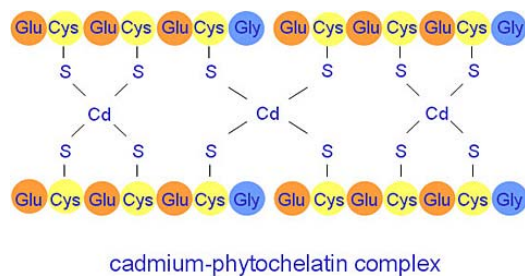
Ακόμη, τα διαφορετικά τμήματα των φυτών παρουσιάζουν διαφοροποιημένες συγκεντρώσεις μετάλλων μεταξύ τους, με τη συσσώρευση Cd να ακολουθεί, σε γενικές γραμμές, κατά μειούμενη κλίμακα τη σειρά: ρίζα > κορμός > φύλλα > καρπός > σπόρος (Wagner, 1993). Οι Ondrasek et al. (2009) υποστηρίζουν ότι η τάση που έχει ποικιλία πεπονιού (muskmelon) να συσσωρεύει Cd κατά προτίμηση στα φύλλα του, δικαιολογείται από την εκεί δυνατότητα δέσμευσης του μετάλλου στα χυμοτόπια με σκοπό τη μείωση της παρουσίας του μετάλλου στο κυτταρόπλασμα και της προστασίας των αναπαραγωγικών ιστών του από την τοξικότητα του στοιχείου.



Εικόνα 2: Συγκριτική απεικόνιση της συσσώρευσης Cd στα διαφορετικά τμήματα του αραβόσιτου (Xia et al., 2014).

Οι μ/ο του εδάφους αποτελούν ένα ακόμη βιοτικό παράγοντα επηρεασμού της πρόσληψης του Cd από τα φυτά. Κυρίως, η αλληλεπίδραση των φυτικών ριζών και των μ/ο του χώματος μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων στη ριζόσφαιρα μέσω της έκκρισης πρωτονίων, και σειράς ανόργανων και οργανικών ενώσεων στις οποίες οργανικές περιλαμβάνονται φυτοχελατίνες (PCs), αμινοξέα, οργανικά οξέα, σάκχαρα και ένζυμα (Yang et al., 2005). Οι μ/ο του εδάφους είτε συμμετέχουν άμεσα σε διεργασίες αλλαγής των χημικών μορφών των μετάλλων ή τροποποιούν το εδαφικό περιβάλλον μέσω της παρέμβασής τους σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις και μέσω της πρόσληψης ή προσρόφησης μετάλλων (Naidu et al., 2003). Για παράδειγμα, η έκκριση χαμηλού μοριακού βάρους οργανικών οξέων (LMWOA) από τους μ/ο, τις ρίζες των φυτών και τη μεταξύ τους αλληλεπίδραση, μπορεί να επηρεάσει την απελευθέρωση του ροφημένου στο έδαφος

Cd και να αυξήσει τη διαλυτότητά του μέσω του σχηματισμού συμπλόκων με το μέταλλο (Yang et al., 2005). LMWOA, όπως το ηλεκτρικό οξύ ($C_4H_6O_4$) και το οξικό οξύ, έχουν βρεθεί στο ριζικό σύστημα της ποικιλίας σιταριού *Kyle* που είναι συσσωρευτής Cd, αλλά όχι σε αυτό της ποικιλίας *Arcola* που δεν είναι συσσωρευτής Cd. (Cieslinski et al., 1998).



Εικόνα 5: Σύμπλοκο φυτοχελάτινης-καδμίου (Eawag, Aquatic research).

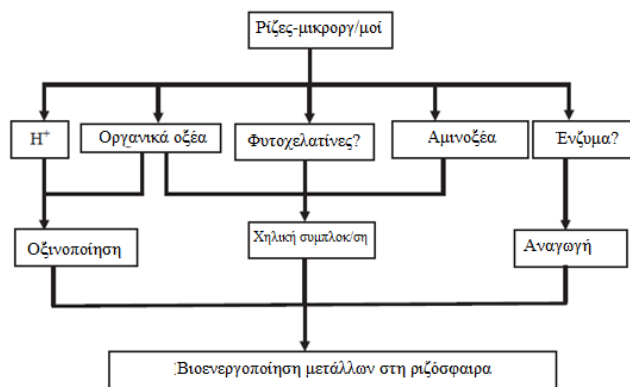
Χαρακτηριστικό παράδειγμα μικροοργανισμών της ριζόσφαιρας που επηρεάζουν το βαθμό πρόσληψης των μετάλλων από τα φυτά είναι οι μύκητες που αποικίζουν τις ρίζες των φυτών-ξενιστών (μυκορριζικοί) και δημιουργούν συμβιωτικές δομές (μυκόρριζα), εκτενώς γνωστοί για τη συμβολή τους στη συσσώρευση μετάλλων. Εάν ο εποικισμός γίνεται ενδοκυτταρικά, ο μύκητας καλείται θυσανοειδής μυκορριζικός μύκητας ή AM μύκητας (Arbuscular mycorrhizal fungi), ενώ εάν γίνεται εξωκυτταρικά καλείται εκτομυκορριζικός μύκητας ή ECM μύκητας (ectomycorrhizal fungi).



Εικόνα 6: Παράδειγμα μυκορριζικού μύκητα (*Russula amoenolens*) που συμβιώνει με φυτό (The Bruns Lab, University of California at Berkeley].

Η παρουσία των AM μυκήτων συνήθως οδηγεί σε μείωση της κινητικότητας και της τοξικότητας του Cd λόγω της προκαλούμενης αύξησης του εδαφικού pH, της δέσμευσης του Cd σε εξωτροφα μυκήλια και της πρόσδεσης του στη γλομαλίνη, μία αδιάλυτη γλυκοπρωτεΐνη που συνθέτεται και απελευθερώνεται από τους

συγκεκριμένους μύκητες (Gonzalez-Chavez et al., 2004). Υπερσυσσωρευτές που διαθέτουν μυκόρριζα, τροποποιούν το οξειδοαναγωγικό δυναμικό και απελευθερώνουν χηλικούς συμπλοκοποιητές στη ριζόσφαιρα, με αποτέλεσμα να απορροφούν αποτελεσματικά τα μέταλλα στις ρίζες τους και να τα μεταφέρουν στους υπέργειους ιστούς τους (Leung et al., 2010). Τα μυκόρριζα μπορούν ακόμη να αμβλύνουν τα συμπτώματα τοξικότητας από την παρουσία των μετάλλων σε ένα συσσωρευτή, με το να μεταβάλλουν την κατανομή των μετάλλων στα κύτταρα του φυτού (Leung et al., 2010, Sousa et al., 2014). Συνολικά, ο τρόπος που οι AM μύκητες επιδρούν στο βαθμό πρόσληψης των μετάλλων από τα φυτά διαφοροποιείται κατά περίπτωση.



Εικόνα 7: Πιθανές διεργασίες στη ριζόσφαιρα που σχετίζονται με την αλληλεπίδραση φυτικών ριζών-μ/ο και που εμπλέκονται στην κινητοποίηση των βαρέων μετάλλων (Yang et al., 2005).

2.2. Αβιοτικές καταπονήσεις των φυτών

2.2.1. Καταπόνηση από βαρέα μέταλλα

Παρόλο που τα μέταλλα είναι συστατικά του φλοιού της γης και αρκετά, όπως τα Cu, Fe, Mn, Ni και Zn, είναι ζωτικής σημασίας για τη λειτουργία των φυτικών κυττάρων, η παρουσία τους σε μεγάλες συγκεντρώσεις αποτελεί πρόβλημα λόγω της προκαλούμενης τοξικότητας. Ένα μέταλλο ή μεταλλοειδές θεωρείται επίσης τοξικό όταν είναι παρόν σε σημεία που δεν πρέπει ή σε μορφές οι οποίες είναι επιβλαβείς για τον άνθρωπο ή το περιβάλλον (Yang et al., 2005).



Εικόνα 8: Καμπύλη πρόσληψης από τα φυτά μεταλλικών στοιχείων (Baker & Walker, 1990).

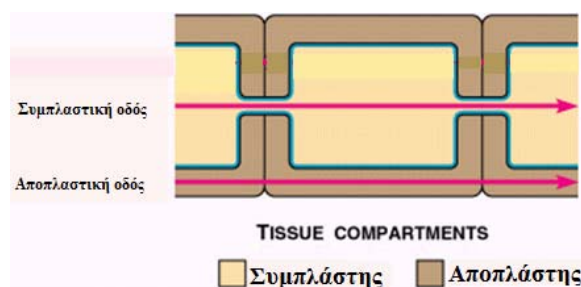
Φυσιολογικές συγκεντρώσεις Cd στο έδαφος θεωρούνται αυτές μεταξύ 0-1 mg/kg, χαμηλού βαθμού ρύπανση θεωρείται ότι υπάρχει όταν αυτές κυμαίνονται στο εύρος των 1-3 mg/kg (Rodriguez-Flores & Rodriguez-Castellon, 1982) και συγκεντρώσεις ολικού Cd στο χώμα πάνω από 10mg/kg μπορούν να προκαλέσουν φυτοτοξικότητα επηρεάζοντας δυσμενώς τη βλάστηση των φυτών, τη διαπνοή τους και την ανάπτυξη των ριζικών και υπέργειων τμημάτων τους (Kadukova & Kalogerakis, 2007).

2.2.1.1. Επιπτώσεις της καταπόνησης από βαρέα μέταλλα στα φυτά

Στις ρίζες των φυτών το Cd ανταγωνίζεται την απορρόφηση ιχνοστοιχείων, κυρίως αυτών με τα οποία έχει κοινές χημικές ιδιότητες όπως τα Ca^{2+} και Mg^{2+} , προκαλώντας έτσι έλλειμμα ιχνοστοιχείων στα φυτά (Irfan et al., 2012). Έχουν αναφερθεί μειωμένες συγκεντρώσεις K, Ca και Mg στους ιστούς φυτών τομάτας και αγγουριού εξαιτίας υψηλών συγκεντρώσεων Cd στο έδαφος (Burzynski, 1988). Η παρουσία του Cd στο χώμα επιβραδύνει την αφομοίωση των NO_3^- στο *Silene vulgaris*, στο μπιζέλι, στην τομάτα, στο φασόλι (bean) και στο *Cicer arietinum*, λόγω της επίδρασής του στην αναγωγή των νιτρικών, το κύριο ένζυμο στη διαδικασία αφομοίωσης των νιτρικών (Irfan et al., 2012).

Το Cd μπορεί να φθάσει στους ιστούς των υπέργειων τμημάτων των φυτών μέσω της αποπλαστικής ή της συμπλαστικής οδού. Η είσοδος του Cd σε ένα φυτό προκαλεί οξείδωση των πρωτεϊνών και των θειολών, μεταβολή της ρευστότητας των

κυτταρικών μεμβρανών και παρεμπόδιση της λειτουργίας των αντλιών και των καναλιών ιόντων των φυτικών κυττάρων (Irfan et al., 2012). Τα συμπτώματα που παρατηρούνται καθώς το Cd μετακινείται εντός ενός φυτού, είναι η επιβράδυνση ανάπτυξης των ριζικών και υπέργειων τμημάτων του, ο ερυθρός χρωματισμός των νευρώσεων των φύλλων του (vein reddening) και η χλώρωση ή και τελικά η νέκρωσή του (Mohamed et al., 2012).



Εικόνα 9: Οδοί μετακίνησης του Cd προς τους υπέργειους φυτικούς ιστούς [Mt. San Antonio College]

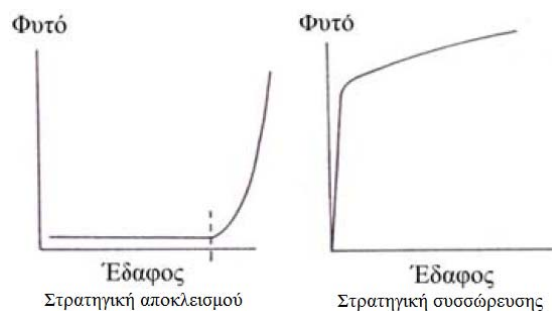
Οι παραπάνω συνέπειες εμφανίζονται επειδή η παρουσία των βαρέων μετάλλων δεν γίνεται ανεκτή μέσα σε ένα φυτό και έτσι γεννώνται αντιδράσεις κατά τις οποίες παράγονται τοξικές ελεύθερες ρίζες (Lindh, 2007), οι οποίες τροποποιούν το δυναμικό της κυτταρικής μεμβράνης και τις δραστηριότητες των ενζύμων (Schützendübel & Polle, 2002). Οι ενεργές μορφές οξυγόνου (Activated Oxygen Species ή AOS), στις οποίες περιλαμβάνονται και ελεύθερες ρίζες, οι οποίες παράγονται εντός ενός φυτού λόγω των τοξικών επιπέδων Cd, επιδρούν στα ένζυμα του κύκλου του Krebs και της φωτοσύνθεσης με αποτέλεσμα να περιορίζουν το βασικό μεταβολισμό των φυτών (Irfan et al., 2012). Ειδικότερα, το Cd επηρεάζει αρνητικά τη φωτοσύνθεση επειδή πλήττει τα πολύπλοκα πρωτεϊνικά σύμπλοκα σχήματος χοάνης που λέγονται φωτοσυλλεκτικές κεραίες (Light harvesting complexes) και τα φωτοσυστήματα I και II (PSI και PSII) του φωτοσυνθετικού μηχανισμού (photosynthetic apparatus) (Siedlecka et al., 1997). Σε είδη φυτών έχει καταγραφεί μεταβολή της σύνθεσης και μείωση του επιπέδου των χρωστικών τους υπό την επίδραση του Cd (Ekmekci et al., 2008). Η φυτοτοξικότητα του Cd σε είδη καλλιεργούμενων φυτών εκφράζεται ακόμη, με την πτώση των επιπέδων των πρωτεϊνών τους (Krantev et al., 2008).

Όταν μεγάλες ποσότητες βαρέων μετάλλων συσσωρεύονται μέσα σε ένα φυτό προκαλούν κυτταρικό θάνατο επειδή καταστούν καταλυτικά ανενεργά τα κυτταρικά ένζυμα (Fediuc et al., 2005).

Σε επίπεδο συμπτωμάτων, έχει παρατηρηθεί ότι το Cd επιβραδύνει την ανάπτυξη ή προκαλεί μείωση της βιομάζας των ριζικών και υπέργειων τμημάτων σειράς καλλιεργούμενων φυτών (Irfan et al. 2012). Ευρήματα που έρχονται σε αντίθεση με την αρνητική δράση των βαρέων μετάλλων στα φυτά, όπως περιπτώσεις αύξησης της βιομάζας φυτών κατά την προσθήκη βαρέων μετάλλων στο χώμα, αυτά αποδίδονται στην αναστολή της αρνητικής δράσης των μετάλλων λόγω της παρουσίας του αζώτου, επειδή συνήθως στη διεξαγωγή των πειραμάτων τα μέταλλα προστίθενται ως νιτρικά άλατα (Fayiga et al., 2004).

2.2.1.2. Μηχανισμοί αντιμετώπισης της καταπόνησης από βαρέα μέταλλα

Οι κυτταρικοί μηχανισμοί ανάπτυξης ανεκτικότητας των φυτών απέναντι στα μέταλλα διαχωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες. Στην πρώτη, που είναι η πιο διαδεδομένη, επιχειρείται από το φυτό να κρατηθεί χαμηλά η συγκέντρωση του τοξικού μεταλλικού ιόντος στο κυτταρόπλασμα (μηχανισμός αποφυγής, avoidance) με το να αποτρέπεται να περάσει το μέταλλο μέσα από την κυτταρική μεμβράνη, είτε μέσω της ισχυρότερης πρόσδεσης των μεταλλικών ιόντων στο κυτταρικό τοίχωμα ή μέσω τροποποιημένων καναλιών ιόντων ή ακόμα και με εξώθηση του μετάλλου έξω από το κύτταρο με τη χρήση αντλιών ενεργητικής εκροής (Tong et al., 2004). Στη δεύτερη κατηγορία μηχανισμών, τα ιόντα των τοξικών μετάλλων αποτοξικοποιούνται αφού εισέλθουν στο κυτταρόπλασμα (μηχανισμός ανθεκτικότητας), είτε μέσω εξάλειψης της δραστητικότητάς τους μετά από χηλική συμπλοκοποίηση ή μέσω της μετατροπής τους σε ιόντα που επιδέχονται ευκολότερο χειρισμό ή και μέσω της κατάτμησής τους (Yang et al., 2005).



Εικόνα 10: Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στα υπέργεια φυτικά τμήματα σε σχέση με τις αντίστοιχες του εδάφους όταν ένα φυτό εφαρμόζει στρατηγική αποκλεισμού και συσσώρευσης αντίστοιχα (Δανηλίδου, 2010).

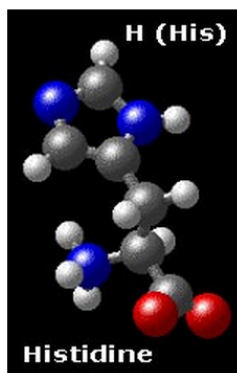
Η παρουσία των βαρέων μετάλλων στο χώμα γίνεται αντιληπτή από το φυτό μέσω των κυττάρων της επιδερμίδας της ρίζας του (Irfan et al. 2012). Τα επαγόμενα σήματα εντός του κυττάρου βασίζονται στη φωσφορυλίωση σειράς κινασών και φωσφατασών όπως των ενεργοποιούμενων από μιτογόνα ερεθίσματα πρωτεϊνικών κινασών (Mitogen Activated Protein Kinases ή MAPK) (Jonak et al., 2004).

Το Cd απορροφάται είτε ως ανόργανο σύμπλοκο όπως τα CdCl^+ , CdCl_2 , CdSO_4 κ.α. ή ως οργανικό σύμπλοκο όπως τα σύμπλοκα φυτομεταλλοφόρων (παράγοντες συμπλοκοποίησης μετάλλων) (McLaughlin et al., 1996). Η απορρόφηση του Cd κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης καθορίζεται από τη διαφορά ηλεκτροχημικού δυναμικού μεταξύ της δραστηριότητας του Cd^{2+} εντός του κυτταροπλάσματος και αυτής στον αποπλάστη, αν και η έντονα αρνητική τιμή του δυναμικού της μεμβράνης υπερκαλύπτει την ενεργειακή απαίτηση για πρόσληψη του Cd^{2+} ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις του μετάλλου στο εδαφικό διάλυμα (Costa & Morel, 1993).

Μετά την κινητοποίησή τους (mobilisation), τα μέταλλα προσδένονται στα κυτταρικά τοιχώματα των ριζικών κυττάρων τα οποία δρουν ως ιοντοανταλλάκτες σχετικά χαμηλής εκλεκτικότητας για να ακολουθήσει η μεταφορά τους μέσω της κυτταρικής μεμβράνης από συστήματα μεταφοράς και ενδοκυτταρικές θέσεις πρόσδεσης υψηλής συνάφειας με τη χρήση δευτερευόντων μεταφορέων όπως τις πρωτεΐνες καναλιών και τις πρωτεΐνες μεταφοράς, (Chaney et al., 2007). Η πρόσληψη από ένα φυτό των απαραίτητων δισθενών κατιόντων αποτελεί φυσική διαδικασία, απαραίτητη για τη διεξαγωγή των φυσιολογικών μεταβολικών διεργασιών του, και η οποία πρόσληψη ευνοείται από τη μείωση του pH στη ριζόσφαιρα την οποία

προκαλεί η H^+ -ATP άση της κυτταρικής μεμβράνης (Irfan et al., 2012). Στα κατιόντα που ένα φυτό προσλαμβάνει υπό συνθήκες έλλειψης Fe, περιλαμβάνεται και το Cd^{2+} (Wuana & Okieimen, 2011).

Διαφορετικά αμινοξέα όπως η ιστιδίνη και καρβοξυλικά οξέα όπως το κιτρικό, τα οποία εκκρίνονται από τις ρίζες με σκοπό να δεσμεύσουν και να αποτοξικοποιήσουν τα βαρέα μέταλλα στο χώμα, συμβάλλουν στην ανάπτυξη ανοχής των φυτών απέναντι στα βαρέα μέταλλα (Irfan et al., 2012). Για παράδειγμα, η πρωτεΐνη PDR8, της οικογένειας PDR (Pleiotropic Drug Resistance), διαμορφώνει την ανοχή φυτών απέναντι στο Cd^{2+} και το Pb^{2+} (Kim et al., 2007).



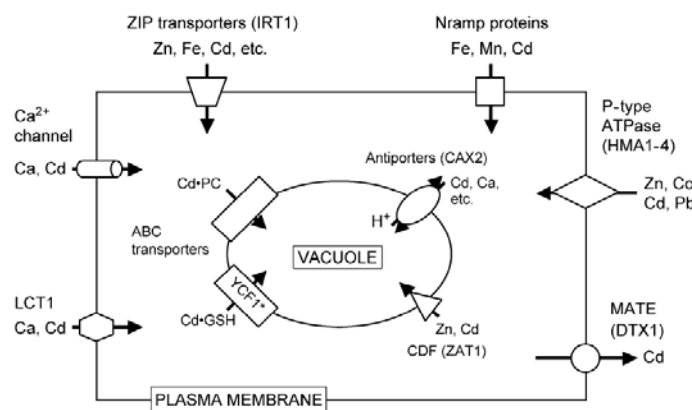
Εικόνα 11:Ιστιδίνη [University of Arizona].

Οι περισσότεροι από τους μεταφορείς κατιόντων που έχουν αναγνωριστεί ως μεταφορείς του Cd ανήκουν στις οικογένειες των μεταφορέων ZIP (zinc-iron-permease), των NRAMPs (πρωτεΐνες των μακροφάγων που σχετίζονται με τη φυσική αντίσταση αυτών ή Natural Resistance Associated Macrophages), των μεταφορέων ysl (yellow-stripe-like transporter), των διαμεσολαβητών κατιοντικής διάχυσης (Cation diffusion facilitators), των ATPασών μεταφοράς βαρέων μετάλλων (*CPx-ATPασών*), και των καναλιών Ca^{2+} (Connolly et al., 2002). Για παράδειγμα, γονίδια που κωδικοποιούν τις NRAMPs έχουν ανιχνευθεί στο ρύζι (Belouchi et al., 1997). Έχει ακόμη διαπιστωθεί η εμπλοκή των *CPx-ATPασών* στη μεταφορά, διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών, μετάλλων, κυρίως Cu και Cd, και η χρησιμοποίηση από αυτές τις πρωτεΐνες του ATP για άντληση φορτισμένων υποστρωμάτων μέσω της κυτταρικής μεμβράνης (Yang et al., 2005). Η *Arabidopse P-type ATPάση* (PAA1)

ήταν η πρώτη αυτής της κατηγορίας που καταγράφηκε σε ανώτερο φυτό (Yang et al., 2005).

Το αμυντικό σύστημα ενός φυτού ανταποκρίνεται στην καταπόνηση από την παρουσία βαρέων μετάλλων τροποποιώντας τη ρύθμιση των ορμονών του μέσω ενεργοποίησης μηχανισμών αποτοξικοποίησης και διαμερισματοποίησης, ρύθμισης του οξειδοαναγωγικού δυναμικού και αναπλήρωσης βασικών θρεπτικών ουσιών (Irfan et al., 2012).

Έχει παρατηρηθεί ότι προσθήκη Cd, Cu, Fe και Zn σε φυτά αυξάνει την ποσότητα αιθυλενίου τους και ότι αντίστοιχη παρέμβαση με Cd και Cu προκαλεί αύξηση της δραστηριότητας της συνθετάσης του ACC (αμινο-κυκλοπροπανο-1-καρβοξυλικού οξέος) (Maksymiec et al., 2007). Επιπρόσθετα έχει διαπιστωθεί ότι η παρουσία του Cd προκαλεί αύξηση του σαλικυλικού οξέος στις ρίζες φυτών, όπως του κίτρου και αύξηση του αμπσικισικού οξέος (Abscisic acid ή ABA) και του σαλικυλικού οξέος στα φύλλα του ίδιου φυτού (Lopez-Climent et al., 2011). Το σαλικυλικό οξύ μεσολαβεί στη συσσώρευση του H_2O_2 στα φύλλα ορισμένων φυτών και τα προστατεύει ενάντια στην τοξικότητα του μετάλλου (Irfan et al., 2012).



Εικόνα 12: Πιθανοί μηχανισμοί μεταφοράς κατά την πρόσληψη και συσσώρευση Cd σε φυτικό κύτταρο (Lugon-Moulin et al., 2004).

Η πορεία των μετάλλων από τα ριζικά στα υπέργεια τμήματα ενός φυτού, η οποία πραγματοποιείται μέσω του ξυλώματος του, καθορίζεται από τη ριζική πίεση και από το ρυθμό διαπνοής (Robinson et al., 2003).

Στους υπερσυσσωρευτές Zn/Cd *T. caerulescens* και *A. halleri* έχει βρεθεί ότι οι ΑΤΡάσες τύπου P_{1b} , HMA_4 και HMA_2 , έχουν τον κύριο ρόλο για τη μεταφορά του

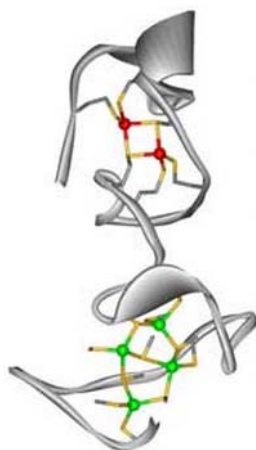
Cd από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα του φυτού, αντλώντας τα ιόντα των μετάλλων από το περικύκλιο στα αγγεία του ξύλου. Στην *A. halleri* παρατηρείται υπερέκφραση της HMA₄, η οποία εμπλέκεται και στο μηχανισμό ανοχής των ριζών της στο Zn και το Cd. Στην *A. thaliana*, αντίθετα, έχει παρατηρηθεί ευαισθητοποίηση των υπέργειων τμημάτων του φυτού στο Zn και το Cd, εξαιτίας της υπερέκφρασης της AthHMA₄, η οποία προκαλεί αυξημένη μεταφορά των μετάλλων από τις ρίζες στα υπέργεια μέρη του φυτού (Wong & Cobbett, 2009). Στον υπερσυσσωρευτή As, *P. vittata*, η μεταφορά του μετάλλου από τα ριζικά στα υπέργεια τμήματα του είναι εξαιρετικά αποτελεσματική κυρίως στη μορφή οξυανιόντων τρισθενούς As (arsenite), λόγω του μικρού ποσοστού οξυανιόντων τρισθενούς As το οποίο συμπλέκεται με PCs στις ρίζες αλλά και στο αποτελεσματικό ξυλώδες αγγειακό σύστημα το οποίο μεταφέρει τα συγκεκριμένα οξυανιόντα, σε αντίθεση με φυτά τα οποία δεν είναι υπερσυσσωρευτές, όπου τα οξυανιόντα του τρισθενούς As συμπλέκονται με PCs και αφομοιώνονται στα χυμοτόπια των κυττάρων των ριζών (root vacuoles) (Ellis et al., 2006).

Οικογένεια μεταφορέων	Γονίδιο κωδικοποίησης	Φυτό	Μεταφερόμενο μέταλλο
Zn-regulated transporter (ZRT)	<i>zip1-12</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Zn
	<i>zip4</i>	<i>Oryza sativa</i>	Zn
	<i>zip</i>	<i>Medicago truncatula</i>	Zn
	<i>znt1-2</i>	<i>T. caerulescens</i>	Zn
Fe-regulated transporter (IRT)	<i>irt1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Fe
	<i>irt1-2</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Fe
	<i>irt1-2</i>	<i>T. caerulescens</i>	Fe
Natural resistance-associated macrophage proteins (NRAMP)	<i>nramp1-3</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Fe
	<i>nramp4</i>	<i>Thlaspi japonicum</i>	Fe
	<i>nramp1</i>	<i>Malus baccata</i>	Fe
Cation diffusion facilitator (CDF)	<i>mtp1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Zn
	<i>mtp1</i>	<i>Arabidopsis halleri</i>	Zn
	<i>mtp1</i>	<i>Thlaspi goesingense</i>	Zn, Ni
	<i>mtp1</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	Zn, Co
Al activated malate transporter (ALMT)	<i>almt1</i>	<i>Triticum sp.</i>	Al
	<i>almt1</i>	<i>Secale cereale</i>	Al
P-Type, ATPase (Heavy Metal Associated)	<i>hma8</i>	<i>Glycine max</i>	Cu
	<i>hma9</i>	<i>Oryza sativa</i>	Cu, Zn, Cd
	<i>hma4</i>	<i>Arabidopsis halleri</i>	Cd
	<i>hma3</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Co, Zn, Cd, Pb
Nicotianamine synthase (NAS)	<i>nas2, nas3</i>	<i>Arabidopsis halleri</i>	Zn
Copper transporter	<i>cop1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cu
Yellow Stripe Like (YSL)	<i>ysl2</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Fe, Cu
	<i>ysl3</i>	<i>T. caerulescens</i>	Fe, Ni

Πίνακας 2: Μεταφορείς βαρέων μετάλλων και γονίδια που τους κωδικοποιούν σε είδη φυτών υπερσυσσωρευτών (Bhargava et al., 2012).

Όταν τα μέταλλα βρίσκονται στα υπέργεια τμήματα του φυτού μετακινούνται και αποθηκεύονται σε περιοχές όπως το κυτταρόπλασμα και το χυμοτόπιο έτσι ώστε το μέταλλο να μην έχει επίδραση στις ζωτικές λειτουργίες του κυττάρου. Τα προσληφθέντα μεταλλικά ιόντα μετα την κατανομή τους στα τριχώματα του φυτού και τα κυτταρικά τοιχώματα των φυτικών κυττάρων αποτοξικοποιούνται μέσω της

πρόσδεσής τους και χηλικής συμπλοκοποίησής τους με χαμηλού μοριακού βάρους οργανικά συστατικά (Low Molecular Weight Organic Compounds ή LMWOC) όπως οι μεταλλοθειονίνες (MTs), οι PCs, η γλουταθειόνη, η ιστιδίνη και κάποια οργανικά οξέα και αμινοξέα και της ακόλουθης αφομοίωσής τους στα χυμοτόπια ως μεταλλο-οργανικά σύμπλοκα (Yang et al., 2005). Οι MTs, οι οποίες πρωτοανιχνεύθηκαν σε ιστούς θηλαστικών, είναι πλούσιες σε κυστεΐνη. Οι PCs, οικογένεια πεπτιδίων πλούσιων σε μερκαπτάνες, που πρωτοεντοπίστηκαν στη μαγιά, συνίστανται από τρία αμινοξέα, τη γλουταμίνη, τη γλυκίνη και την κυστίνη, δομικά είναι συγγενείς με το τριπεπτίδιο γλουταθειόνη (GSH) από την οποία συνθέτονται ενζυματικά και η παραγωγή τους επάγεται ταχέως όταν κύτταρα και ιστοί φυτών εκτεθούν σε ιόντα βαρέων μετάλλων όπως του Cd, Ni, Cu, Zn, Ag, Hg και Pb (Cobbett, 2000).



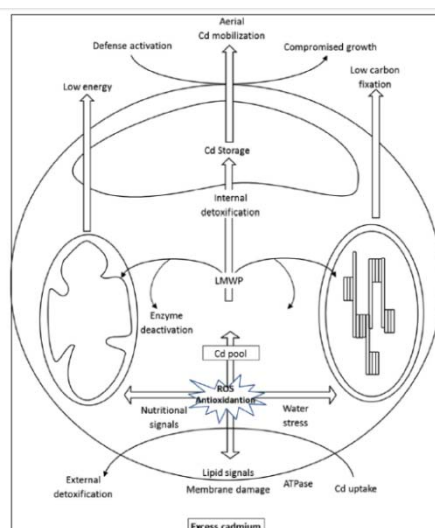
Εικόνα 13: Παράδειγμα φυτικής μεταλλοθειονίνης [Graduate School of Chemical and Molecular Sciences Zurich].

Φυτά που εκτίθενται σε βαρέα μέταλλα, μεταξύ των οποίων και το Cd, συσσωρεύουν ελεύθερη προλίνη (proline), η οποία πιστεύεται ότι εμπλέκεται στη χηλική συμπλοκοποίηση μετάλλων στο κυτταρόπλασμα (Saradhi & Saradhi, 1981).

Μέσα στο φυτικό κύτταρο, τα συμπλέγματα PCs-μετάλλου μεταφέρονται στο χυμοτόπιο με τη βοήθεια πρωτεϊνών - μεταφορέων τύπου ABC, οι οποίες βρίσκονται στη μεμβράνη των χυμοτοπίων και αποτελούν μία από τις κυριότερες ομάδες των μεμβρανικών πρωτεϊνών MTPs (Membrane Transporter Proteins) (Lu et al., 1997). Πιστεύεται ότι υπάρχει δυνατότητα πρόσδεσης μετάλλων και στις ανθοκυανίνες, οι οποίες είναι υδατοδιαλυτές χρωστικές των χυμοτοπίων (Marrs, 1996). Οι πρωτεΐνες-φορείς της διευκολυνόμενης διάχυσης κατιόντων (πρωτεΐνες της CDF οικογένειας),

βοηθούν τη ροή των κατιόντων που βρίσκονται κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης προς το εξωτερικό του κυττάρου αλλά και την αντίστοιχη ροή αυτών που βρίσκονται κατά μήκος ενδομεμβρανών προς το εσωτερικό ενδοκυτταρικών δομών όπως τα χυμοτόπια (Yang et al., 2005).

Εξαιτίας της υψηλής τοξικότητας των μετάλλων όταν αυτά βρίσκονται σε υψηλές ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις, τα φυτά καταλύουν οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις με σκοπό να μετατρέψουν τα μεταλλικά ιόντα σε μη τοξικές μορφές τους μετά από αλλαγή της χημικής τους δομής και έτσι να καταστεί εφικτή η συσσώρευσή τους, όπως συμβαίνει με την αναγωγή του As^{5+} σε As^{3+} στο *B. juncea*, (Pickering et al., 2000) αν και πολλά από τα βαρέα μέταλλα όπως τα Pb, Zn και Cd δεν υφίστανται σε διαφορετικές οξειδωτικές καταστάσεις.



Εικόνα 14: Πρόσληψη Cd και επαγόμενες διεργασίες σε φυτικό κύτταρο (Irfan et al., 2013)

Τα χυμοτόπια πιστεύεται ότι είναι το κυριότερο σημείο αποθήκευσης για τα μέταλλα μέσα στα φυτικά κύτταρα (Yang et al., 2005) και ότι η διαμερισματοποίηση των μετάλλων εντός των χυμοτοπίων αποτελεί ένα ακόμη μέρος του μηχανισμού ανοχής που αναπτύσσουν οι υπερσυσσωρευτές μετάλλων (Tong et al., 2004).

NRAMPs και CAXs (Cation Exchangers ή ανταλλάκτες κατιόντων) εξάγουν το Cd που βρίσκεται στα χυμοτόπια, στο κυτταρόπλασμα από όπου το παραλαμβάνουν ATPάσες μεταφορείς βαρέων μετάλλων (Heavy metal transporting ATPases ή HMAs) και άλλοι άγνωστοι μεταφορείς για να το οδηγήσουν στο ξυλώδες αγγειακό σύστημα του φυτού (Irfan et al., 2012). Στο ρύζι, υπολογίσιμη ποσότητα πλεονάζοντος φορτίου Cd αποβάλλεται με ενεργητική εκροή μέσω των ABC

μεταφορέων οι οποίοι βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη των επιδερμικών κυττάρων των ριζών (Chen et al., 2007). Έχει καταγραφεί, επίσης, μεταφορά με το ενδοπλασματικό δίκτυο και το σύμπλεγμα Golgi μετάλλων με τη συμβολή «πρωτεϊνών μεταφορέων» (Metal Transporter Proteins ή MTPs) και διερευνάται ακόμα η πιθανότητα τα οργανίδια αυτά να απομακρύνουν μέσω εξωκυττάρωσης (exocytosis) τις πλεονάζουσες ποσότητες μετάλλων από τα κύτταρα (Peiter et al., 2007).

Ο μεταβολισμός του N σε ένα φυτό κατέχει κεντρικό ρόλο στην απόκριση του φυτού στην παρουσία βαρέων μετάλλων, αφού η ευαισθησία ενός φυτού απέναντι στο Cd εξαρτάται τόσο από τις μορφές στις οποίες παρέχεται το άζωτο όσο και από τη διαθεσιμότητα του (Xie et al., 2009). Επίσης, τα θειϊκά άλατα (sulphate salts) παρέχουν προστασία στα φυτά έναντι στην τοξικότητα του Cd, επειδή προάγουν την παραγωγή γλουταθειόνης, πρόδρομης ουσίας των PCs (Van de Mortel., 2008).

2.2.2. Καταπόνηση υψηλής αλατότητας στα φυτά

Υπολογίζεται ότι μεταξύ του 2020 και του 2030 οι καλλιεργούμενες εκτάσεις παγκοσμίως δεν θα καλύπτουν τη ζήτηση σε τρόφιμα λόγω της μετατροπής τους σε μη χρησιμοποιήσιμες ως απόρροια της εμφανιζόμενης αλατότητας σε αυτές (Vance, 2001).

Η υψηλή αλατότητα θεωρείται ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζει αρνητικά την απόδοση καλλιεργούμενων φυτών τα οποία δεν έχουν ή έχουν ελάχιστα χαρακτηριστικά αλόφυτων (Ben Amor et al., 2005).

2.2.2.1. Επιπτώσεις υψηλής αλατότητας στα φυτά

Η υψηλή αλατότητα μπορεί να διαταράξει την πρόσληψη καλίου και θρεπτικών από τα φυτά εξαιτίας των παρεμφερών φυσικοχημικών ιδιοτήτων των ιόντων K^+ και Na^+ και του συνακόλουθου ανταγωνισμού τους για τις θέσεις προσρόφησης στα σωματίδια του χώματος, για τους μεμβρανικούς υποδοχείς, μεταφορείς, διαύλους και εξαιτίας της ευαισθησίας στο Na^+ ενζύμων του κυτταροπλάσματος (Zhu, 2003, Ondrasek et al., 2009). Ένδειξη καταπόνησης ενός

φυτού λόγω αλατότητας είναι οι αυξημένες συγκεντρώσεις Na^+ και Cl^- στους φυτικούς ιστούς του, συνοδευόμενες από αντίστοιχες μειωμένες για το K^+ (Ondrasek et al., 2009).

Οι υψηλές συγκεντρώσεις Na^+ ή Cl^- στο χώμα μπορούν να διαταράξουν την πρόσληψη νερού από το φυτό άρα και την οσμωτική του ισορροπία. Η παραπάνω οσμωτική καταπόνηση οδηγεί σε κλείσιμο των στομάτων των φύλλων του φυτού, μείωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας του και κάμψη του ρυθμού ανάπτυξης του λόγω της μείωσης της αφομοίωσης άνθρακα και της αύξησης της ενέργειας μεταβολισμού του αλλά και εξαιτίας της άμεσης παρεμπόδισης της κυτταρικής διαίρεσης και ανάπτυξης (Megdiche et al., 2008).

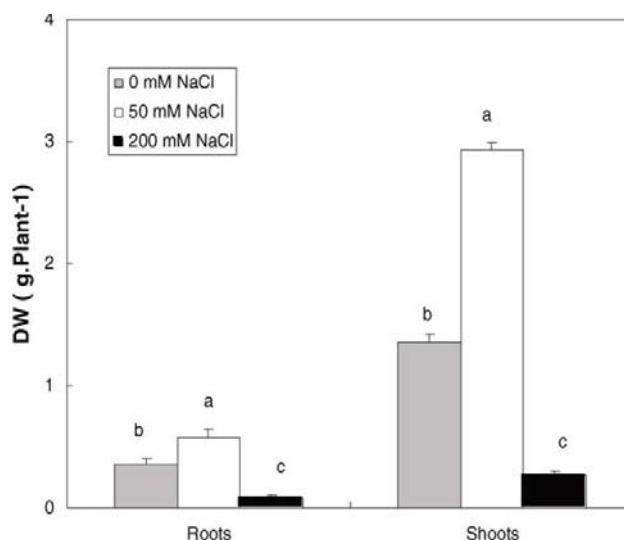
Η ποσότητα αλάτων που απορροφά ένα φυτό, πάνω από ένα σημείο, καθίσταται τοξική για αυτό, με αποτέλεσμα την πρόκληση ιοντικής καταπόνησης στο φυτό, η οποία σε συνδυασμό με την προαναφερθείσα οσμωτική, μπορούν να προκαλέσουν, μεταξύ άλλων, και απώλεια της λειτουργικότητας των κυτταρικών μεμβρανών, η οποία μεταφράζεται σε αδυναμία διαμερισματοποίησης των κυττάρων και άρα απώλεια της ομοιόστασης οποιουδήποτε φυτού δεν είναι αλόφυτο (Zhu, 2002). Δευτερογενώς, σε υψηλή αλατότητα, προκαλείται οξειδωτική καταπόνηση σε ένα φυτό. Πιστεύεται ότι η οξειδωτική καταπόνηση περιορίζει την ανταλλαγή αερίων και ως εκ τούτου την παροχή CO_2 στα φύλλα (Fendina et al., 1994), με αποτέλεσμα την υπερ-αναγωγή της φωτοσυνθετικής αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (Osmond & Grace, 1995), και την επακόλουθη παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου (AOS), όπως το οξυγόνο απλής κατάστασης (singlet oxygen ή O_2^*), το H_2O_2 , τις ρίζες υδροξυλίου ($\bullet\text{HO}$) και τα ανιόντα υπεροξειδίου ($\text{O}_2^{\bullet-}$) (Ben Amor et al., 2005). Οι παραπάνω ενώσεις προκαλούν φθορά των λιπιδίων, νουκλεϊκών οξέων και πρωτεϊνών των φυτικών κυττάρων με αποτέλεσμα να παρατηρείται βλάβη της κυτταρικής μεμβράνης τους και διαταραχή της ενζυμικής δραστηριότητας στο φυτό (Ben Amor et al., 2005).

2.2.2.2. Μηχανισμοί προσαρμογής των φυτών στην καταπόνηση από αλατότητα

Η βιωσιμότητα των φυτών σε φυσικά περιβάλλοντα υψηλής αλατότητας εξαρτάται από την ικανότητά τους να αντιμετωπίσουν μία σειρά δυσκολιών που

συνδέονται με την αλατότητα, όπως το έλλειμμα νερού, ο περιορισμός στην πρόσληψη CO₂, η τοξικότητα των ιόντων και η διαταραχή της ισορροπίας των θρεπτικών (Ksouri et al., 2010).

Τα φυτά κατηγοριοποιούνται σε γλυκόφυτα (glycophytes) και αλόφυτα (halophytes) ανάλογα με την ικανότητά τους να αναπτύσσονται σε υψηλή αλατότητα. Κρίσιμες συγκεντρώσεις του Cl⁻ στους φυτικούς ιστούς για την αποφυγή τοξικότητας μπορούν να θεωρηθούν τα 4-7 g/kg και τα 15-50 g/kg για φυτά μη ανεκτικά και ανεκτικά στην αλατότητα αντίστοιχα (Ondrasek et al., 2009).



Εικόνα 15: Επιρροή διαφορετικών επιπέδων αλατότητας στη βιομάζα ριζικών και υπέργειων τμημάτων του αλόφυτου *C. maritimum* (Ben Amor et al., 2005)

Ο διαχωρισμός των καλλιεργειών ως προς την ανεκτικότητά τους στην αλατότητα του εδάφους γίνεται με βάση το συντελεστή αξιοποίησης του νερού (Water use efficiency, WUE), με αποτέλεσμα το διαχωρισμό ανεκτικότερων καλλιεργειών όπως η πατάτα, το ηλιοτρόπιο, ο αραβόσιτος, το σιτάρι και τα ζαχαρότευτλα, από πιο ευαίσθητα είδη όπως η φακή, η τομάτα, το ρεβύθι και η σόγια. (Katerji et al., 2003).

Τα αλόφυτα μπορούν να αναπτυχθούν σε ένα μεγάλο εύρος φυσικών περιβάλλοντων με αλατότητα, όπως οι παράκτιες περιοχές, οι αλυκές, οι στέπες, οι έρημοι και οι λασπότοποι (El Shaer, 2003). Οι μηχανισμοί τους οποίους έχουν αναπτύξει τα αλόφυτα με σκοπό να αντιμετωπίσουν τις επιπτώσεις της καταπόνησης που προκαλεί η αλατότητα, αφενός αποτρέπουν την είσοδο άλατος στο φυτό και αφετέρου ελαχιστοποιούν τη συγκέντρωση άλατος στο κυτταρόπλασμα μέσω της

διαμερισματοποίησης στα χυμοτόπια τους όσης ποσότητας μετάλλων της αλατότητας δεν είναι δυνατόν να αποκλειστεί (Ben Amor et al., 2005, Ksouri et al., 2010). Κατά την προσαρμογή των αλόφυτων στις παραπάνω συνθήκες παράγονται ρυθμιστικά μόρια όπως οι φυτικές ορμόνες αμψισικό οξύ και γιασμινικό οξύ (jasmonic acid) (Ben Amor et al., 2005, Koyro et al., 2009).

Οι μηχανισμοί των αλόφυτων, για αντιμετώπιση της καταπόνησης από την αλατότητα, περιλαμβάνουν και τη σύνθεση και συσσώρευση μη τοξικών, συμβατών οσμωλυτών στο κυτταρόπλασμά τους, στους οποίους περιλαμβάνονται ουσίες όπως η γλυκίνη-βεταΐνη, αμινοξέα όπως η προλίνη, και συγκεκριμένες πρωτεΐνες, σάκχαρα και πολυόλες (αλκοόλες) (Koyro et al., 2009). Η παραγωγή των παραπάνω οσμωλυτών επάγεται από τον εγκλεισμό των Na^+ και Cl^- στα χυμοτόπια (Ksouri et al., 2010).

Μέρος των συγκεκριμένων μηχανισμών προσαρμογής στα υψηλά επίπεδα αλατότητας αποτελούν και οι μηχανισμοί εξουδετέρωσης ελεύθερων ριζών (radical scavenging mechanisms) που διαθέτουν τα αλόφυτα (Ksouri et al., 2010, Manousaki & Kalogerakis, 2011). Η λειτουργία των μηχανισμών εξουδετέρωσης ελεύθερων ριζών περιλαμβάνει τη δράση αντιοξειδωτικών ενζύμων, κυρίως της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (Superoxide Dismutase ή SOD), της καταλάσης (Catalase ή CAT) και της υπεροξειδάσης (POD ή Peroxidase). Τα μιτοχόνδρια και το κυτταρόπλασμα είναι οι κυτταρικοί χώροι που διαδραματίζουν σημαντικότερο ρόλο στην προστασία των ριζών από τα δημιουργούμενα $\text{O}_2^{\bullet-}$, όταν τα επίπεδα αλατότητας είναι μέτρια (≈ 50 mM NaCl), ενώ σημαντικότερο ρόλο στην εξουδετέρωση των παραπάνω ριζών υπό όμοιες συνθήκες, στα υπέργεια φυτικά τμήματα έχουν οι χλωροπλάστες (Ben Amor et al., 2005).

Έχει διαπιστωθεί στα αλόφυτα, ότι η αυξημένη πρόσληψη, πρωτίστως ιόντων Na^+ και δευτερευόντως ιόντων Cl^- , από τα υπέργεια τμήματά τους, δεν επηρεάζει την υδατική τους κατάσταση και ότι έχουν την τάση να ρυθμίζουν τις ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις Na^+ , Cl^- και K^+ προσαρμοζόμενα στις παραμέτρους του νερού που τους παρέχεται (Ben Amor et al., 2005). Άλλωστε, δικοτυλήδονα αλόφυτα, όπως ο κρίταμος, βασίζουν την ανοχή τους στην αλατότητα, στην ικανότητά τους να αφομοιώνουν μεγάλες ποσότητες ιόντων στους ιστούς τους, τα οποία χρησιμοποιούν

με σκοπό τη διατήρηση της σπαργής των κυττάρων τους και της ωσμωτικής τους πίεσης (Flowers et al., 1977).

Τα αλόφυτα, εκτός από τους μηχανισμούς ανοχής που τους επιτρέπουν να αντιμετωπίζουν τις υψηλές συγκεντρώσεις ιόντων, μέσω του εγκλεισμού του NaCl στα χυμοτόπια και της έκκρισης συμβατών οσμωλυτών, διαθέτουν και δευτερεύοντες μηχανισμούς διαχείρισης των υψηλών επιπέδων αλατότητας, οι οποίοι περιλαμβάνουν δομές όπως οι αλαταδένες (salt glands), οι αλατώδεις κύστει (salt bladders) και τα τριχώματα (Manousaki & Kalogerakis, 2011a). Οι παραπάνω δομές επιτυγχάνουν την απομάκρυνση της περίσσειας των τοξικών ιόντων από τους φωτοσυνθετικά ενεργούς ιστούς (φυτοέκκριση) και κατά συνέπεια τη ρύθμιση των συγκεντρώσεων των ιόντων στους φυτικούς ιστούς. Αν και δεν υπάρχουν σε όλα τα αλόφυτα, στις περιπτώσεις που διατίθενται από το φυτό, τουλάχιστον το 50% του αλατιού που προσλαμβάνεται, εκκρίνεται μέσω των δομών αυτών (Manousaki & Kalogerakis, 2011a).

Οι Manousaki & Kalogerakis (2011), διαπίστωσαν ότι η έκκριση Cd από τις δομές έκκρισης αλατιού των αλόφυτων αυξανόταν καθώς τα επίπεδα αλατότητας του εδάφους ανέρχονταν. Έχει βρεθεί ότι, σε ορισμένες περιπτώσεις, οι παραπάνω αλατώδεις αδένες δεν έχουν ειδική δράση απέναντι στα Na^+ και Cl^- , αλλά συσσωρεύουν και εκκρίνουν και τοξικά στοιχεία όπως τα Cd, Zn, Pb και Cu (Manousaki & Kalogerakis, 2011 a) και ότι η σύσταση του εκκρινόμενου προϊόντος είναι ανάλογη της σύστασης του περιβάλλοντος στη ριζόσφαιρα (Manousaki & Kalogerakis, 2011b). Για παράδειγμα έχει παρατηρηθεί ότι φυτά του γένους *Atriplex* συσσωρεύουν και εκκρίνουν από τις κύστει των φύλλων τους Cd, Zn, Se, B, Mo, Cu και Pb (Manousaki & Kalogerakis, 2011b), και ότι αλοφυτά του γένους *Spartina* εκκρίνουν από τους αλαταδένες τους Na, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb και Cd (Μανουσάκη, 2008). Ακόμη, οι Kadukova & Kalogerakis (2007), έχουν διαπιστώσει ότι οι αλαταδένες σε φυτά *Tamarix sp.* εκκρίνουν μία σειρά από διαφορετικά ιόντα, ότι η σύνθεση του εκκρινόμενου άλατος παρουσιάζει συσχέτιση με τη σύνθεση του ριζικού περιβάλλοντος που βρίσκεται το εξεταζόμενο φυτό (root environment) και θεωρούν ότι οι συγκεντρώσεις Pb, κάτω από το όριο τοξικότητας, στα φύλλα του *Tamarix smyrnensis*, που έχουν μετρηθεί, πιθανόν να οφείλονται στην έκκριση του μετάλλου από τα φύλλα του φυτού. Επίσης, έχει καταγραφεί, συγκεκριμένα, έκκριση Cd και Pb από τους αλατώδεις αδένες του *T. smyrnensis* (Kadukova et al., 2008,

Manousaki et al., 2008) και έκκριση Cd και Li από τους αντίστοιχους αδένες του *Tamarix aphylla* (Manousaki & Kalogerakis, 2011b).

2.3. Φυτοεξυγίανση

2.3.1. Τεχνικές φυτοεξυγίανσης

Η φυτοεξυγίανση αποτελεί μία τεχνολογία εξυγίανσης, η οποία μπορεί να εφαρμοσθεί παράλληλα ή και σε αντικατάσταση των συμβατικών μηχανικών μεθόδων απορρύπανσης εδαφών ή υδάτινων όγκων (Μανουσάκη, 2008). Πρόκειται για *in situ* τεχνολογία που αξιοποιεί τις έμφυτες ιδιότητες των φυτών και χρησιμοποιείται για να μειώσει τη συγκέντρωση, την κινητικότητα ή την τοξικότητα του εκάστοτε ρύπου, ο οποίος μπορεί να βρίσκεται στο έδαφος, σε υπόγειο υδροφορέα ή άλλο ρυπασμένο μέσο (United States Environmental Protection Agency, 2000). Τα χρησιμοποιούμενα φυτά και οι σχετιζόμενοι με αυτά μ/ο δρουν με σκοπό την αφαίρεση και αποδόμηση ή τη συγκράτηση των ρύπων (Μανουσάκη, 2008).

Η πρώτη πρόταση χρήσης φυτών για επεξεργασία υγρών αποβλήτων συναντάται πριν 300 περίπου χρόνια. Ακολούθησε ένας αριθμός από ευρήματα και διαπιστώσεις ότι υπάρχουν φυτά κατάλληλα για χρήση με σκοπό την εξυγίανση, έως το 1977, οπότε παρουσιάστηκαν ευρήματα από τον Robert Brooks του πανεπιστημίου Massey της Νέας Ζηλανδίας. Το 1991 πραγματοποιήθηκε η πρώτη εφαρμογή φυτοεξυγίανσης στο πεδίο με σκοπό την εξαγωγή ποσοτήτων Cd και Zn από το έδαφος, οπότε έκτοτε η φυτοεξυγίανση ξεκίνησε να εφαρμόζεται σε υπολογίσιμη κλίμακα (Etim, 2012).

Στους ρύπους που μπορούν να αντιμετωπισθούν στα πλαίσια της φυτοεξυγίανσης, περιλαμβάνονται μέταλλα, παρασιτοκτόνα, εκρηκτικά, χλωριωμένοι διαλύτες, στραγγίσματα από χώρους απόθεσης απορριμμάτων, πετρέλαιο και περίσσεια θρεπτικών συστατικών όπως φωσφορικά, αμμωνιακά και νιτρικά (Μανουσάκη, 2008). Από τις πιο πρόσφατες εφαρμογές της φυτοεξυγίανσης είναι η μείωση της αλατότητας των εδαφών μέσω της δράσης των ριζών των αλόφυτων (Μανουσάκη, 2008).

Από τις μεθόδους φυτοεξυγίανσης, αποτελεσματική για μεγάλες περιοχές που χαρακτηρίζονται από χαμηλό βαθμό ρύπανσης, είναι η φυτοεξαγωγή ή

φυτοσυσσώρευση (phytoextraction ή phytoaccumulation) (Lotfy & Mostafa, 2013) κατά την οποία πραγματοποιείται χρήση φυτών που είναι συσσωρευτές ρυπαντών με σκοπό την απομάκρυνση ή συγκράτηση οργανικών ουσιών ή μετάλλων από το χώμα μέσω της συγκέντρωσής τους στα συγκομιζόμενα τμήματα των φυτών (Kadukova & Kalogerakis, 2007). Από τα μέταλλα, μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στην απομάκρυνσή τους εμφανίζουν το Ni, ο Zn και ο Cu, επειδή η πλειονότητα των συσσωρευτών και υπερσυσσωρευτών, περίπου 400 είδη, απορροφούν αποτελεσματικά αυτά τα στοιχεία (Etim, 2012).

Κατά τη φυτοσταθεροποίηση (phytostabilisation), μία ακόμη τεχνική φυτοεξυγίανσης, οι αλλαγές που επιφέρουν στη χημική σύσταση του χώματος η φύτευση συγκεκριμένων ειδών φυτών, διευκολύνουν τη διεξαγωγή διεργασιών όπως η προσρόφηση, συσσώρευση, συμπλοκοποίηση, αναγωγή και κατακρήμνιση των ρύπων στις ρίζες των φυτών με αποτέλεσμα τη μείωση της κινητικότητας τους και ως εκ τούτου την αποτροπή κατεΐσδυσής τους στον υπόγειο υδροφόρο ορίζοντα αλλά και τη μείωση της πιθανότητας εισόδου τους στην τροφική αλυσίδα. Χρησιμοποιείται για την αποκατάσταση της δυνατότητας καλλιέργειας φυτών σε ρυπασμένες από μέταλλα εκτάσεις. Επιτυγχάνει κυρίως τη σταθεροποίηση μετάλλων, όπως τα Pb, Cd, Cu, Cr, Zn και As, και άλλων ανόργανων ρύπων σε έδαφος και ιζήματα. (Μανουσάκη, 2008, Etim, 2012).

Μία ακόμη μέθοδος φυτοεξυγίανσης, η φυτοεξάτμιση (phytonovolatilisation), εφαρμόζεται για την απομάκρυνση μετάλλων, κυρίως Hg, από χώμα, ιζήματα και νερό, την απομάκρυνση πτητικών οργανικών ενώσεων, αλλά και άλλων ανόργανων ουσιών, όπως το Se και το As, όταν αυτές μπορούν να μετατραπούν σε πτητική μορφή τους (United States Environmental Protection Agency, 1998). Κατά την εφαρμογή της μεθόδου, ο ρύπος συλλέγεται από το φυτό, όπου μετά τις διεργασίες μέσα σε αυτό, αποβάλλεται από τα φύλλα του μέσω διαπνοής ή εναλλακτικά από τον κορμό ή το μίσχο του σε άλλη του μορφή που είναι πτητική ή ως κάποιο πτητικό προϊόν της αποδόμησής του. Μειονέκτημα της μεθόδου θεωρείται η πιθανότητα ανακύκλωσης του εξαγόμενου ρύπου, μέσω κατακρήμνισης του στα υδάτινα σώματα και μετατροπής του εκ νέου σε τοξική του μορφή, όπως π.χ. ο επανασχηματισμός του μεθυλ-Hg κατά την απομάκρυνση ενώσεων του Hg (United States Environmental Protection Agency, 1998).

Καινοτόμος τεχνική φυτοεξυγίανσης θεωρείται η φυτοέκκριση, δηλαδή η αξιοποίηση της ικανότητας των αλόφυτων να εκκρίνουν ποσοστό των απορροφούμενων βαρέων μετάλλων που απορροφούν από το έδαφος, από τους αλαταδένες και τις αλατώδεις κύστεις των φύλλων τους, όπως προαναφέρθηκε.

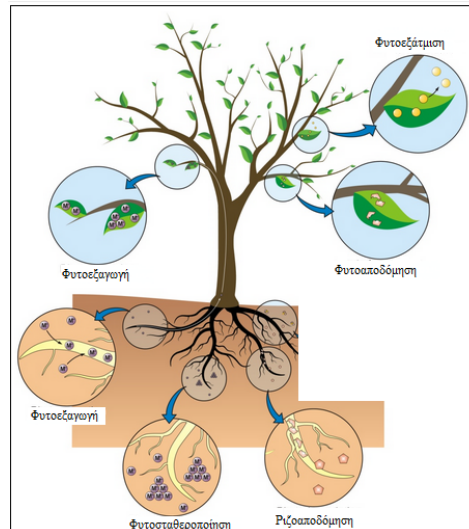
Η εφαρμογή της τεχνικής του υδραυλικού ελέγχου (hydraulic control) περιλαμβάνει τη φύτευση δέντρων με μεγάλο ριζικό σύστημα τα οποία αντλούν νερό από τους υπόγειους υδροφορείς και αποβάλλουν μέσω διαπνοής μεγάλες ποσότητες του, επηρεάζοντας το υδατικό ισοζύγιο στην τοποθεσία φύτευσής τους (Μανουσάκη, 2008). Η αυξημένη αυτή διαπνοή συμβάλλει στον περιορισμό της διήθησης των κατακρημνιζόμενων ρύπων με αποτέλεσμα να περιορίζεται και η μετακίνησή τους στα υπόγεια υδροφόρα στρώματα (Etim, 2012) και ως εκ τούτου εφαρμόζεται κυρίως για τον έλεγχο της ρύπανσης του υπόγειου υδροφόρου ορίζοντα (United States Environmental Protection Agency, 1998).

Η ριζοδιήθηση (rhizofiltration), ως τεχνική φυτοεξυγίανσης χρησιμοποιείται για την απορρύπανση υδάτων από γεωτρήσεις, επιφανειακών υδάτων ή υγρών αποβλήτων με χαμηλές συγκεντρώσεις ρυπαντών. Κατά την εφαρμογή της συντελείται απομάκρυνση ή συγκράτηση, κυρίως βαρέων μετάλλων και λοιπών ανόργανων ρυπαντών, μέσω της απορρόφησής τους από ή της καταβύθισής τους στο ριζικό σύστημα φυτών (Μανουσάκη, 2008).

Στις μεθόδους φυτοεξυγίανσης περιλαμβάνεται και η φυτοαποδόμηση (Phytodegradation), κατά την οποία επιτυγχάνεται καταστροφή ή μετατροπή σε λιγότερο τοξικές μορφές τους, ρύπων, κυρίως πολύπλοκων οργανικών μορίων (Trap et al., 2005), όπως χλωριωμένων διαλυτών και ζιζανιοκτόνων σε έδαφος, ιζήματα ή υπόγεια ύδατα (United States Environmental Protection Agency, 2000).

Κατά τη ριζοδιάσπαση ή ριζοαποδόμηση (Rhizodegradation) επιτυγχάνεται καταστροφή ή μετατροπή οργανικών ρύπων ως αποτέλεσμα της διάσπασής τους στη ριζόσφαιρα μέσω της δράσης βακτηρίων ή άλλων μ/ο, οι οποίοι αφθονούν στα σημεία αυτά (United States Environmental Protection Agency, 2000). Είναι αποτελεσματική για εξυγίανση εδαφών από οργανικές ουσίες όπως πετρελαϊκούς και αρωματικούς πολυκυκλικούς υδρογονάνθρακες, χλωριωμένους διαλύτες, ζιζανιοκτόνα και πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs) (United States Environmental Protection Agency, 1998).

Επιλεγμένα είδη φυτών διαθέτουν το γενετικό υπόβαθρο που θα τους επιτρέψει να απομακρύνουν, αποδομήσουν, μεταβολίσουν ή ακινητοποιήσουν έναν σημαντικό αριθμό ρύπων, άρα και κατά συνέπεια να χρησιμοποιηθούν σε διεργασίες φυτοεξυγίανσης (Μανουσάκη, 2008).



Εικόνα 16: Τεχνικές φυτοεξυγίανσης εδαφών [Favas et al.]

2.3.2. Τεχνικές φυτοεξυγίανσης εδαφών από βαρέα μέταλλα

Ο μηχανισμός φυτοεξυγίανσης που θα επιλεγεί για απομάκρυνση ενός ρύπου από το έδαφος και η αποτελεσματικότητά της μεθόδου εξαρτώνται από (Cunningham & Ow, 1996):

- το είδος του ρυπαντή
- τη βιοδιαθεσιμότητά του
- τη σύσταση του εδάφους.

Εστιάζοντας στο στόχο της απομάκρυνσης βαρέων μετάλλων από χερσαίες εκτάσεις, το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στις τεχνικές της φυτοσυσσώρευσης, της φυτοσταθεροποίησης και της πιο πρόσφατα μελετηθείσας φυτοέκκρισης. Όταν υπάρχουν ενδείξεις ή πειραματικά αποτελέσματα σύμφωνα με τα οποία ένα φυτό

εμφανίζει υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στους ιστούς του, ως αποτέλεσμα της απορρόφησης τους από το έδαφος, η φυτοσυσσώρευση προκρίνεται ως τεχνική έναντι της φυτοσταθεροποίησης. Επίσης, όταν είναι γνωστό ότι ένα αλόφυτο, του οποίου η χρήση προτείνεται για διεργασία φυτοεξυγίανσης, διαθέτει δομές έκκρισης αλατιού, κρίνεται σκόπιμο να μετρηθεί η έκκριση βαρέων μετάλλων από τις ίδιες δομές, δηλαδή ο βαθμός της πραγματοποιούμενης φυτοέκκρισης. Επίσης, η φυτοσταθεροποίηση κρίνεται καταλληλότερη για βαρέως ρυπασμένα χώματα έτσι ώστε να ακινητοποιηθεί ο ρύπος στο σημείο παρουσίας του και να μειωθεί ο κίνδυνος διασποράς του λόγω διάβρωσης του εδάφους και ο κίνδυνος εισόδου του ρύπου μέσω διασταλαγμάτων στα υπόγεια υδάτινα σώματα, σε αντίθεση με τη φυτοσυσσώρευση η οποία είναι αποτελεσματική σε εδάφη με χαμηλή ή μέτρια ρύπανση (Zhao & McGrath, 2009). Η φυτοσταθεροποίηση δεν προσφέρεται για εξυγίανση χώματος με υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων επειδή σε αυτή την περίπτωση δεν ευνοείται η επαρκής ανάπτυξη των τοποθετούμενων φυτών (Lotfy & Mostafa, 2013).

Η φυτοσυσσώρευση, συνήθως εφαρμόζεται για απομάκρυνση βαρέων μετάλλων από χώμα ή ιζήματα και συνήθως δεν ακολουθείται για την απομάκρυνση οργανικών ρύπων και θρεπτικών στοιχείων επειδή η συσσώρευσή τους δυσχεραίνεται από τη μεταβολική διάσπαση τους ή εξάτμιση τους που λαμβάνει χώρα (Μανουσάκη, 2008). Η εφαρμογή της φυτοσυσσώρευσης σε χερσαίες εκτάσεις αποτελεί εναλλακτική επιλογή έναντι των συμβατικών μηχανικών μεθόδων απορρύπανσης, οι οποίες περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων παρεμβάσεων, και εκσκαφή του χώματος, και κατά συνέπεια απειλούν την ισορροπία θρεπτικών στοιχείων και μ/ο του εδάφους ενώ είναι και δαπανηρές στην εφαρμογή τους (Lotfy & Mostafa, 2013).

Σε πρακτικό επίπεδο έχουν αναπτυχθεί δύο διαφορετικές προσεγγίσεις της φυτοσυσσώρευσης, η συνεχής ή φυσική φυτοσυσσώρευση κατά την οποία χρησιμοποιούνται φυτά τα οποία είναι υπερσυσσωρευτές και αξιοποιείται η υψηλή δυνατότητα τους για αφομοίωση μετάλλων και η παρακινούμενη ή χημικά υποβοηθούμενη φυτοσυσσώρευση κατά την οποία γίνεται αξιοποίηση της δυνατότητας κάποιων φυτών για υψηλή παραγωγή βιομάζας με ταυτόχρονη προαγωγή της κινητικότητας των μετάλλων στο έδαφος μέσω προσθήκης χημικών έτσι ώστε να υποβοηθηθεί η πρόσληψη των μετάλλων από τα φυτά (Μανουσάκη, 2008).

Η φυτοσυσσώρευση βαρέων μετάλλων με τη χρήση ανώτερων ειδών φυτών περιλαμβάνει τα στάδια (Lombi et al., 2002):

- της μετακίνησης των μετάλλων μέσω της πλασματικής μεμβράνης των κυττάρων του ριζικού συστήματος,
- της συγκέντρωσης του ρύπου στο ξυλώδες αγγειακό σύστημα του φυτού (ξύλωμα) και μεταφοράς του με σκοπό
- τελικά τη δέσμευση του μετάλλου σε όλο το φυτό σε μοριακό επίπεδο

Κατά την εφαρμογή της φυτοσυσσώρευσης, τα ενδεδειγμένα φυτά σπέρνονται ή μεταφυτεύονται στις επιφάνειες όπου το χώμα είναι ρυπασμένο με μέταλλα και ακολούθως φροντίζονται σύμφωνα με τις καθιερωμένες καλλιεργητικές πρακτικές. Οι ρίζες των φυτών αυτών απορροφούν ποσότητες μετάλλων από το χώμα, τις οποίες σταδιακά μεταφέρουν στα υπέργεια τμήματά τους, όπου και τις συσσωρεύουν. Επειδή η ποσότητα των μετάλλων που συσσωρεύεται στα φύλλα των φυτών είναι αναλογικά μεγάλη, είναι απαραίτητη η συγκομιδή της βιομάζας πριν την πτώση των φύλλων ή διαφορετικά συλλογή των φύλλων μετά την πτώση τους (Zhao & McGrath, 2009). Όταν έχει επιτευχθεί επαρκής ανάπτυξη των φυτών και συσσώρευση του μετάλλου σε αυτά, τα υπέργεια τμήματα τους συλλέγονται και απομακρύνονται από την τοποθεσία (Kadukova & Kalogerakis, 2007, Manousaki et al., 2008). Η ποσότητα του μετάλλου που απομακρύνεται κατά τη φυτοσυσσώρευση μπορεί να εκτιμηθεί με βάση τη συγκέντρωση του μετάλλου στο ξηρό βάρος των φυτικών ιστών και τη συνολική βιομάζα του φυτού (Kadukova & Kalogerakis 2007, Manousaki et al., 2008). Αυτή η παραγόμενη βιομάζα των φυτών-συσσωρευτών είναι εφικτό να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ενέργειας μέσω πυρόλυσης (Zhao & McGrath 2009), αν και συνήθως αποτεφρώνεται ή κομποστοποιείται (Bhargava et al., 2012). Ο τρόπος και η θερμοκρασία διεξαγωγής της πυρόλυσης είναι απαραίτητο να βελτιστοποιούνται έτσι ώστε να ελαχιστοποιούνται οι απώλειες μετάλλων λόγω της πτητικότητάς τους, μεταξύ των οποίων και το Cd, το οποίο έχει φανεί ότι είναι από τα πλέον πτητικά (Zhao & McGrath, 2009). Η εφαρμογή της φυτοσυσσώρευσης είναι χρήσιμη σε εκτάσεις που δεν είναι πλέον, λόγω της ρύπανσης, κατάλληλες για την ανάπτυξη καλλιεργειών παραγωγής τροφίμων, οπότε επιτυγχάνεται σταδιακή φυτοεξαγωγή των μετάλλων με σκοπό την επανάχρηση της έκτασης (Zhao & McGrath, 2009).

Για την εφαρμογή της μεθόδου είναι απαραίτητη η χρήση φυτών τα οποία να έχουν τη δυνατότητα να μεταφέρουν (translocate) τα απορροφούμενα από το ριζικό τους σύστημα μέταλλα στα υπέργεια τμήματά τους, και κυρίως στα φύλλα τους, επειδή αυτά μπορούν να συλλεχθούν (Kadukova & Kalogerakis, 2007). Οι υπερσυσσωρευτές, ως κατηγορία φυτών, έχουν εξαιρετική ικανότητα να απορροφούν μέταλλα από το χώμα και να τα συγκεντρώνουν στα υπέργεια τμήματά τους, είτε τα μέταλλα βρίσκονται σε υψηλές ή σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο έδαφος (Yang et al., 2005). Ένα φυτό θεωρείται ότι ανήκει σε αυτή την κατηγορία όταν μπορεί να συγκεντρώνει, ως ποσοστό του ξηρού βάρους των φύλλων του, έως 0,1% Ni, Co, Cu, Cr, Al και Pb ή έως 0,01% Cd και Se χωρίς να εμφανίσει συμπτώματα τοξικότητας (Bhargava et al., 2012), ή διαφορετικά όταν μπορεί να αφομοιώσει στους ιστούς του μέταλλα σε συγκεντρώσεις 100 φορές μεγαλύτερες από τα υπόλοιπα είδη φυτών, χωρίς να παρουσιάσει συμπτώματα τοξικότητας (Μανουσάκη, 2008).

Η υπερσυσσώρευση μεταλλικών ιόντων παρατηρείται σε λιγότερο από το 0,2% των αγγειόσπερμων φυτών και φυτά τα οποία διαθέτουν αυτό το χαρακτηριστικό έχουν βρεθεί να ανήκουν, κατά κύριο λόγο, στις οικογένειες *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Caryophyllaceae*, *Cyperaceae*, *Lamiaceae*, *Poaceae*, *Euphorbiaceae*, *Fabaceae*, *Violaceae*, *Flacourtiaceae* και *Cunoniaceae* (Bhargava et al., 2012). Για παράδειγμα, έχουν καταγραφεί περιπτώσεις όπου ο υπερσυσσωρευτής *Pteris vittata* (Pteridaceae), αφομοίωσε στα φύλλα του έως και το 95% του περιεχόμενου As στο υπό εξυγίανση έδαφος, ενώ ο υπερσυσσωρευτής *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae) έχει παρουσιάσει την ικανότητα συσσώρευσης Zn και Cd στους ιστούς του σε ποσότητες μέχρι 39.600mg/kg και 1.800 mg/kg αντίστοιχα, χωρίς να εμφανίζει εμφανείς βλάβες (Ma et al., 2001).

Πρόσθετα επιθυμητά χαρακτηριστικά των χρησιμοποιούμενων στη φυτοσυσσώρευση φυτών είναι το βαθύ ριζικό σύστημα έτσι ώστε να διατρέχουν το έδαφος με τις ρίζες τους, η γρήγορη ανάπτυξη τους που μεταφράζεται σε μεγάλη παραγωγή βιομάζας και η ικανότητα να αφομοιώνουν επιλεκτικά το μέταλλο του οποίου η απομάκρυνση επιδιώκεται. Γι' αυτό στα συγκεκριμένα φυτά είναι επιθυμητό οι μεταλλοδεσμευτικές πρωτεΐνες (metal-binding proteins) και πεπτίδια τους να έχουν ειδική δεσμευτική δράση απέναντι σε μέταλλα που είναι τοξικά όπως το Cd, ο Hg και ο Pb και όχι απέναντι σε άλλα που θεωρούνται περισσότερο απαραίτητα όπως τα Zn και Cu. Επιθυμητά χαρακτηριστικά τους είναι επίσης η ανεκτικότητα απέναντι

στα μέταλλα τα οποία απορροφούν, η δυνατότητα εύκολης συγκομιδής τους με συμβατικές γεωργικές μεθόδους, η ανθεκτικότητά τους απέναντι σε ασθένειες και περιβαλλοντικές αντιξοότητες και η μικρή πιθανότητα προτίμησής τους ως τροφής από τα φυτοφάγα ζώα (Lotfy & Mostafa 2013, Brennan & Shelley, 1999).

Καλλιέργειες που πληρούν τα βασικά κριτήρια για χρήση τους σε διεργασίες φυτοσυσσώρευσης μετάλλων και για αυτό το λόγο μελετώνται είναι ο καπνός (*Nicotiana tabacum*), ο αραβόσιτος (*Zea mays*), η καφέ ινδική μουστάρδα (*Brassica juncea*), η βρόμη (*Avena sativa*), το κριθάρι (*Hordeum vulgare*), το μπιζέλι (*Pisum sativa*), η λεύκα (*populous spp.*) και ο ηλίανθος (*Helianthus annuus*) (Lotfy & Mostafa, 2013). Αποτελεσματικοί εξυγιαντές σε περιπτώσεις ρύπανσης εδαφών από μέταλλα αποτελούν και φυτά τα οποία δεν είναι υπερσυσσωρευτές, όπως η λεύκα και η ιτιά, εξαιτίας της μεγαλύτερης βιομάζας τους και του βαθιού ριζικού τους συστήματος (Peuke & Rennenberg, 2005).

Αν και πάνω από 400 είδη φυτών έχουν βρεθεί ότι είναι υπερσυσσωρευτές μετάλλων, εντούτοις μόνο λίγα από αυτά τα φυτά έχουν την ικανότητα να απορροφούν Cd. Το *Thlaspi caerulescens* αποτελεί τον πλέον γνωστο και μελετημένο υπερσυσσωρευτή μετάλλων, το οποίο έχει την ικανότητα υπερσυσσώρευσης Pb και Cd, με ικανότητα συγκέντρωσης Cd στους υπέργειους ιστούς του έως και σε συγκέντρωση 0,1% της μάζας του (Μανουσάκη, 2008). Αποτελεσματική φυτοσυσσώρευση Cd από το έδαφος έχει καταγραφεί τόσο κατά τη χρήση του *Thlaspi caerulescens*, σε περιόδους του έτους κατά τις οποίες εμφανίζει πλούσια παραγωγή βιομάζας (Zhao & McGrath, 2009), όσο και κατά τη χρήση φυτών μεγάλης βιομάζας όπως η ιτιά (*Salix sp.*) και η λεύκα (*Populus sp.*) (Dickinson & Pullford, 2005).



Εικόνα 17: Τα φυτικά είδη *Thlaspi caerulescens*, *Populus sp.* και *Salix sp.*, αντίστοιχα [Universitat Wien, Government of Alberta, Gilman & Watson, 1994].

Η φυτοέκκριση μπορεί να συνδυαστεί με τη φυτοσυσσώρευση επειδή φυτά τα οποία έχουν τη δυνατότητα συσσώρευσης και έκκρισης μετάλλων, λόγω της συνέργειας των δύο διεργασιών, επιδεικνύουν μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στην εξυγίανση η οποία συνοδεύεται με μικρότερη συχνότητα συγκομιδής αλλά και μικρότερους χρόνους εξυγίανσης (Manousaki & Kalogerakis, 2011a). Ως πλεονεκτήματα της φυτοέκκρισης προβάλλονται η δυνατότητα συλλογής των εκκρινόμενων μετάλλων πριν την επανείσοδό τους στο χώμα και η σαφώς μειωμένη ποσότητα ρυπασμένης βιομάζας η οποία απαιτεί διαχείριση μετά την ολοκλήρωση της διεργασίας (Manousaki & Kalogerakis, 2011b).

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας, η επιδιωκόμενη για την πειραματική διαδικασία, συγκέντρωση του Cd στο έδαφος είναι τα 25 mg Cd/kg ξηρού βάρους εδάφους (ppm ξηρού βάρους). Η προσθήκη του Cd στη ριζόσφαιρα πραγματοποιήθηκε σε μία δόση, στην αρχή του πειράματος, με τη μορφή διαλύματος $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Κατά τη διάρκεια του πειράματος τα φυτά ποτίζονταν, κατά μέσο όρο, με 250 ml νερό μία φορά ανά δύο ημέρες, ανάλογα και με τη διαπιστωνόμενη ανάγκη τους για νερό. Τα 200 ml νερού διοχετεύονταν στην επιφάνεια της γλάστρας και τα 50 ml στο υποκείμενό της πιατάκι

2.3.3. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της φυτοσυσσώρευσης

Οι συμβατικές μέθοδοι εξυγίανσης των εδαφών από βαρέα μέταλλα συνήθως περιλαμβάνουν διεργασίες όπως την απομόνωση και συγκράτηση του ρύπου, την έκπλυση του εδάφους (Μανουσάκη, 2008), την πνευματική ρηγμάτωση (pneumatic fracturing), την υαλοποίηση (vitrification), την εκσκαφή και ακόλουθη αφαίρεση του ρυπασμένου στρώματος χώματος και τη χημική επεξεργασία με ισχυρά οξέα ή ισχυρούς χηλικούς συμπλοκοποιητές μετάλλων (Khan et al., 2004).

Η φυτοεξυγίανση θεωρείται περιβαλλοντικά φιλική επειδή αποτρέπει την απώλεια του επιφανειακού εδάφους (topsoil), δηλαδή των ανώτερων στοιβάδων (οριζόντων) του και κυρίως αυτού που αποκαλείται ορίζοντας A, ο οποίος ξεκινά από την επιφάνεια, έχει πάχος 30-50 cm και περιέχει την πλειονότητα των οργανικών ουσιών, σημαντικών για την ανάπτυξη των φυτών, απώλεια που δεν αποφεύγεται κατά τις συμβατικές μεθόδους αποκατάστασης του εδάφους (Μανουσάκη, 2008).

Η φυτοσυσσώρευση είναι επίσης κατά 60-80% οικονομικότερη από τις συμβατικές μεθόδους επειδή για την εφαρμογή της απαιτούνται σχετικά χαμηλού κόστους, ανανεώσιμα μέσα (Μανουσάκη, 2008).

Η φυτοσυσσώρευση υπερτερεί των συμβατικών μεθόδων και επειδή:

- Θεωρείται εύκολα εφαρμόσιμη λόγω του γεγονότος ότι είναι in situ τεχνική και δεν απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό (Μανουσάκη, 2008).
- Καταγράφεται μειωμένη ποσότητα, έως και 95%, των παραγόμενων αποβλήτων της διεργασίας (Μανουσάκη 2008).
- Η χρήση της βλάστησης, κατά την εφαρμογή της μεθόδου, μειώνει τη διάβρωση του εδάφους με αποτέλεσμα να περιορίζεται η μεταφορά της ρύπανσης κατά την παράσυρση του εδάφους από τον άνεμο (Μανουσάκη, 2008).
- Θεωρείται ότι επιτυγχάνει ταυτόχρονα αποτοξικοποίηση του επικίνδυνου ρύπου και αποκατάσταση της ρυπασμένης τοποθεσίας (Bhargava et al., 2012).

Διεργασία	Κόστος (\$ Η.Π.Α.)/tn
Εκσκαφή εδάφους	100-500
Υαλοποίηση	75-425
Χημική επεξεργασία	100-500
Ηλεκτροκινητική επεξεργασία	20-200
Φυτοσυσσώρευση	5 έως 40

Πίνακας 3: Συγκριτική απεικόνιση κόστους τεχνικών εξυγίανσης εδαφών από μέταλλα (Glass, 1999).

Ένας περιορισμός που ανέκυψε από τις πρώτες εφαρμογές της φυτοσυσσώρευσης είναι το μικρό μέγεθος και η αργή ανάπτυξη που χαρακτηρίζει τα φυτά τα οποία είναι υπερσυσσωρευτές μετάλλων, με αποτέλεσμα την αδυναμία συχνής συγκομιδής των χρησιμοποιούμενων φυτών και ως εκ τούτου το μεγάλο απαιτούμενο χρόνο για την απορρύπανση των εδαφών (Tong et al., 2004). Αντίθετα, φυτά που έχουν ικανοποιητικό ρυθμό ανάπτυξης, συσσωρεύουν μικρές ποσότητες μετάλλων και έχουν χαμηλή ανοχή στα βαρέα μέταλλα, με αποτέλεσμα στις εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης να απαιτείται ένας συμβιβασμός μεταξύ της υπερσυσσώρευσης και της παραγωγικότητας των χρησιμοποιούμενων φυτών (Μανουσάκη, 2008).

Ως άλλα μειονεκτήματα της φυτοσυσσώρευσης θεωρούνται:

- Η αδυναμία εφαρμογής της μεθόδου όταν τα επίπεδα ρύπανσης είναι πολύ υψηλά επειδή καθίστανται φυτοτοξικά για τα φυτά (Μανουσάκη, 2008).
- Η δυνατότητα αποκατάστασης του εδάφους μόνο επιφανειακά αφού η εξυγίανση επιτυγχάνεται μόνο στη ζώνη της ρίζας, σε βάθος που κατά κύριο λόγο κυμαίνεται έως το 1m (Μανουσάκη, 2008).
- Ο επηρεασμός της αποτελεσματικότητάς της από τις κλιματικές και υδρολογικές συνθήκες επειδή αυτές επιδρούν στην ανάπτυξη και κατά συνέπεια στην παραγωγή βιομάζας των φυτών (Μανουσάκη, 2008).
- Η αυξημένη πιθανότητα τα βαρέα μέταλλα να εισχωρήσουν στην τροφική αλυσίδα μέσω της κατανάλωσης από φυτοφάγα ζώα και έντομα των φυτών και ο κίνδυνος μεταφοράς της ρύπανσης σε άλλο μέσο εξαιτίας της πτώσης των φύλλων που περιέχουν μέταλλα (Μανουσάκη, 2008).
- Η αποτελεσματική χρήση των περισσότερων από τους γνωστούς συσσωρευτές, μόνο στο φυσικό τους περιβάλλον (Kamnev & van der Lelie, 2000).

Οι συμβατικές διαδικασίες αναπαραγωγής των φυτών αξιοποιούν τη γενετική ποικιλομορφία που υπάρχει μέσα σε ένα είδος με σκοπό τον κατάλληλο συνδυασμό χαρακτηριστικών που θα προσδώσει στο φυτό την καλύτερη απόδοση στη φυτοσυσσώρευση (Li et al., 2003). Η συμβατική αναπαραγωγή φυτών περιλαμβάνει τη μεταφορά φαινοτυπικών χαρακτηριστικών, όπως την ανοχή στα μέταλλα και την υψηλή ικανότητα πρόσληψης μετάλλων, από φυτά τα οποία είναι μικρά, αργά αναπτυσσόμενα και υπερσυσσωρευτές σε φυτά ταχέως αναπτυσσόμενα, τα οποία όμως δεν είναι υπερσυσσωρευτές μετάλλων. Η μεταφορά αυτή επιτυγχάνεται μέσω του παραδοσιακού υβριδισμού, κατόπιν τεχνητής επιλογής των φυτών που θα διασταυρωθούν (Chaney et al., 2000). Παράδειγμα αποτελούν οι διασταυρώσεις του ψευδοδημητριακού *Chenopodium*, το οποίο χαρακτηρίζεται από υψηλή παραγωγή βιομάζας και μεγάλη γενετική διακύμανση μεταξύ των ειδών και των υποειδών του στη δυνατότητα συσσώρευσης βαρέων μετάλλων (Στο *Chenopodium quinoa* παρατηρείται μεγάλη συσσώρευση Zn, Cr και Cd και στα *C.album* και *C.bushianum*, του Ni, Bhargava et al., 2012).

Η σωμακλωνική παραλλακτικότητα (somaclonal variation), η οποία δημιουργείται πρωτίστως εξαιτίας των χρωμοσωμικών αναδιατάξεων που παρατηρούνται σε φυτά τα οποία προκύπτουν από ιστοκαλλιέργεια, επιτρέπει την αλλαγή ενός ή λίγων χαρακτηριστικών και διατήρηση του υπόλοιπου τμήματος του γονότυπου, ποικιλιών που γενικά έχουν επιθυμητά χαρακτηριστικά (Bhargava et al., 2012). Για παράδειγμα, έχουν δημιουργηθεί σωματικά υβρίδια του *Brassica napus* που διαθέτουν το χαρακτηριστικό της ανοχής στο Zn της *T. caerulescens* (Gleba et al., 1999).

Οι συμβατικές διαδικασίες αναπαραγωγής συνδυασμένες με τις κατάλληλες αγρονομικές πρακτικές όπως είναι η λίπανση του εδάφους, η σωστή πυκνότητα των φυτών, η εναλλαγή φυτών για σπορά (αμειψισπορά), ο έλεγχος των ζιζανίων (weed control) και οι σωστές πρακτικές άρδευσης (Bhargava et al., 2012) μπορούν να οδηγήσουν σε ικανοποιητική αύξηση της απόδοσης διεργασιών φυτοσυσσώρευσης (Lasat, 2000).

Οι παραπάνω συμβατικές διαδικασίες όμως, δεν παρέχουν ολοκληρωμένη λύση στο πρόβλημα του συμβιβασμού μεταξύ υπερσυσσώρευσης και παραγωγικότητας λόγω των ανατομικών διαφορών που υπάρχουν στα διασταυρούμενα φυτά και της

επακόλουθης ασυμβατότητάς μεταξύ τους (Yang et al., 2005). Η γενετική μηχανική παρέχει τη δυνατότητα γονίδια μ/ο ή φυτών, τα οποία είναι υπεύθυνα για τη μεταφορά και μετασχηματισμό μετάλλων και μεταλλοειδών και την ανοχή σε αυτά, να υπερεκφραστούν σε φυτά μεγάλης βιομάζας με σκοπό τη βελτίωση των δυνατοτήτων τους για φυτοσυσσώρευση. Αποτελεσματικότερη φυτοεξυγίανση μπορεί να επιτευχθεί τόσο με υπερέκφραση των επιθυμητών γονιδίων σε ένα φυτό όσο και με αποσιώπηση ενδογενών γονιδίων (endogenous gene) σε αυτό (Bhargava et al., 2012).

Διαγονιδιακά φυτά ανθεκτικά σε τοξικά επίπεδα μετάλλων έχουν τροποποιημένα ή υπερεκφρασμένα τα γονίδια που κωδικοποιούν τη συνθετάση της PC, τη διαμινάση του ACC, τη γλουταθειόνη, την αναγωγή των Hg^{2+} , AsO_4^{3-} και αλδεϋδών και ένζυμα βιοσύνθεσης MTs και της ιστιδίνης (Bhargava et al., 2012).

Στρατηγική βελτίωσης της απόδοσης της φυτοσυσσώρευσης αποτελεί και η δημιουργία διαγονιδιακών συσσωρευτών που να χαρακτηρίζονται από υψηλότερα επίπεδα διαπνοής, με αποτέλεσμα την υψηλότερη ικανότητα μεταφοράς των μετάλλων στα υπέργεια τμήματά τους (Bhargava et al., 2012). Η δημιουργία διαγονιδιακών φυτών τα οποία θα εκκρίνουν επιλεκτικούς υποκαταστάτες μετάλλων στη ριζόσφαιρα, με σκοπό την επιλεκτική χηλική συμπλοκοποίηση συγκεκριμένων στοιχείων, αποτελεί επίσης πρόταση γενετικής παρέμβασης για βελτίωση της απόδοσης φυτοσυσσώρευσης (Bhargava et al., 2012). Πρόσφατα έχει μελετηθεί και ο ρόλος των ενδοφυτικών βακτηρίων στη φυτοσυσσώρευση, στην προσπάθεια για βελτίωση της απόδοσης της διεργασίας (Doty, 2008). Οι συγκεκριμένοι μ/ο διαβιούν στο εσωτερικό των φυτικών ιστών χωρίς να προκαλούν βλάβες στο φυτό και ενισχύουν την ανάπτυξη του και την αντίστασή του απέναντι στα παθογόνα, την έλλειψη νερού και τα φυτοφάγα ζώα.

Η χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα των ιχνοστοιχείων αποτελεί έναν ακόμη περιοριστικό παράγοντα κατά την εφαρμογή της φυτοσυσσώρευσης. Ως λύση έχει προταθεί η αξιοποίηση των ριζικών εκκρίσεων κάποιων φυτών, όπως για παράδειγμα τα φυτοσιδηροφόρα (PS), τα οποία εκκρίνονται από τα αγρωστώδη φυτά ως απόκριση στην έλλειψη Fe (Curie et al., 2001). Τα PS είναι οργανικές ουσίες οι οποίες δημιουργούν χηλικά σύμπλοκα με μέταλλα όπως τα Cu, Pb, Zn, Cd και Ni, αυξάνοντας έτσι τη διαλυτότητά τους. Ως πρόταση παρέμβασης για αύξηση της

απόδοσης φυτοσυσσώρευσης, έχει παρατεθεί ο συνδυασμός καλλιέργειας αγρωστωδών ειδών με ικανότητα παραγωγής PS και συσσωρευτών μετάλλων (Bhargava et al., 2012).

Το πρόβλημα της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων συχνά αντιμετωπίζεται και με την προσθήκη τεχνητών χηλικών συμπλοκοποιητών, με χαρακτηριστικότερο το EDTA (αιθυλενο-διαμινο-τετραοξικό οξύ) (Zhao & McGrath, 2009). Άλλοι τεχνητοί χηλικοί συμπλοκοποιητές που έχουν μελετηθεί είναι το trans 1,2 κυκλοεξυλενο-δινιτριλο-τετραοξικό οξύ (CDTA), το διαιθυλενο-τριαμινο-πενταοξικό οξύ (DTPA), το νιτριλο-τριοξικό οξύ (NTA) και η διοξική μεθυλ-γλυκίνη (MGDA) (Bhargava et al., 2012). Το EDTA είναι το πιο ευρέως χρησιμοποιημένο σε μελέτες φυτοσυσσώρευσης και γενικά φυτοεξυγίανσης εδαφών από βαρέα μέταλλα, αν και το κόστος χρήσης του είναι υψηλό αφού οι Chaney et al. (2002) υπολόγισαν ότι με τη χρήση EDTA, για την πρόσληψη 10g Pb/kg ξηρού υπέργειου βάρους φυτού απαιτούνται 30.000\$/ha. Η παρέμβαση με τεχνητούς χηλικούς συμπλοκοποιητές δεν θεωρείται περιβαλλοντικά φιλική επειδή απαιτούνται μεγάλες ποσότητες συμπλοκοποιητών για την αύξηση της κινητικότητας των μετάλλων στο χώμα, υπάρχει πιθανότητα πρόκλησης βλαβών στις πλασματικές μεμβράνες των ριζικών κυττάρων από την ώθηση για αυξημένη πρόσληψη μετάλλων και σχηματίζονται ανθεκτικά στο χώμα σύμπλοκα μετάλλου-EDTA που μπορούν να διαφύγουν ως διασταλάγματα προς κατώτερα στρώματα χώματος και υπόγειους υδροφορείς (Zhao & McGrath, 2009).

Σε μικρό βαθμό έχει, επίσης, μελετηθεί, με σκοπό τη βελτίωση της απόδοσης της φυτοσυσσώρευσης, η προσθήκη στο έδαφος οξινοποιητών (acidifiers), όπως τα περιέχοντα NH_4 λιπάσματα, οργανικά και ανόργανα οξέα και το στοιχειακό S, επειδή τα μέταλλα εμφανίζουν αυξημένη διαθεσιμότητα σε συνθήκες χαμηλού pH (Bhargava et al., 2012).

Ακόμη, η προσθήκη τύρφης και κοπριάς, δηλαδή οργανικού υλικού, έχει καταγραφεί ότι αυξάνει τη συσσώρευση Cu, Zn και Ni στο σιτάρι αν και οι δύο έχουν ταυτόχρονα σταθεροποιητικές και δαλυτοποιητικές ιδιότητες, αφού η όξινη τύρφη αφενός μειώνει το pH του εδάφους, αλλά αφετέρου αυξάνει την CEC του (Bhargava et al., 2012).

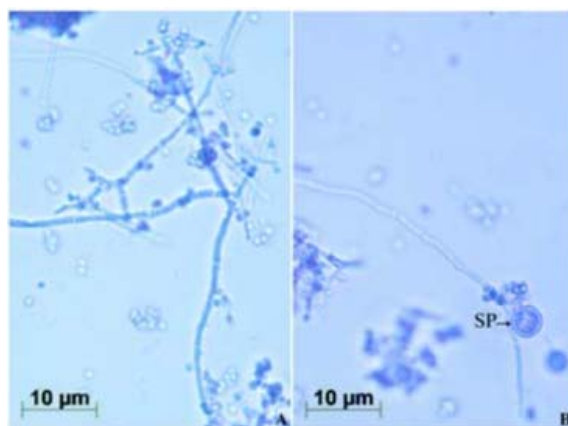
Η απόδοση της φυτοσυσσώρευσης εξαρτάται κατά τρόπο ανάλογο και από τη θερμοκρασία, οπότε έχουν αναπτυχθεί τεχνολογίες θέρμανσης των ρυπασμένων εδαφικών στρωμάτων με σκοπό τη δυνατότητα εφαρμογής της φυτοεξυγίανσης και στις ψυχρές περιόδους του έτους (Bhargava et al., 2012), αν και τις περισσότερες φορές θεωρούνται ενεργοβόρες, καθιστώντας τη φυτοεξυγίανση οικονομικά ασύμφορη (Dzantor & Beauchamp, 2002).

Ως καινοτόμος τεχνική βελτίωσης της απόδοσης της φυτοσυσσώρευσης έχει προταθεί και ο συνδυασμός της ηλεκτροκινητικής κατεργασίας του εδάφους με τη φυτοαποκατάσταση, ο οποίος βασίζεται στην ενισχυμένη διακίνηση ιόντων επιτυγχανόμενη με τη χρήση ηλεκτροδίων εδάφους (Καλογεράκης, 2010).

Τα σημερινά δεδομένα δείχνουν ότι η αποτελεσματικότητα της φυτοσυσσώρευσης είναι συζητήσιμη αλλά όχι ακόμα απόλυτα επιβεβαιωμένη. Τα μέχρι τώρα πειραματικά αποτελέσματα την αναδεικνύουν ως πρακτικά συμφέρουσα για το As και το Ni, αλλά όχι ακόμα για τα άλλα μέταλλα (Bhargava et al., 2012). Απαιτείται επίσης, η επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας των συστημάτων φυτοεξυγίανσης σε μεγάλης κλίμακας ρυπασμένες τοποθεσίες, επειδή τα περισσότερα δεδομένα για την απόδοσή τους βασίζονται σε παρατηρήσεις υπό εργαστηριακές συνθήκες και επίσης είναι σημαντική η κατανόηση της πολυπλοκότητας της διεργασίας σε επίπεδο ιστών και σε υποκυτταρικό επίπεδο (Bhargava et al., 2012).

2.4. Μύκητας *Trichoderma harzianum* strain T-22

Τα είδη του γένους *Trichoderma* είναι νηματοειδείς μύκητες οι οποίοι μπορούν να απομονωθούν από πολλούς τύπους χώματος και αποτελούν μέρος ενός υγιούς εδαφικού οικοσυστήματος (Hayes, 1998).



Εικόνα 18: *Trichoderma harzianum* [Rubeena et al., 2013].

Αν και η κύρια χρήση του συγκεκριμένου μύκητα είναι φυτοπροστατευτική, δρών ενάντια σε φυτοπαθογόνους μ/ο, η χρήση του στο πείραμα επιλέχθηκε επειδή υπάρχουν πειραματικά ευρήματα ότι, χωρίς την παρουσία φυτοπαθογόνων μ/ο, συμβάλλει στην αύξηση της ανάπτυξης των φυτών (Harman, 2000) χωρίς όμως να υπάρχει γνώση των μηχανισμών, και ότι αυξάνει τη διαλυτότητα μικροθρεπτικών συστατικών του εδάφους όπως τα Zn, Cu, Fe και Mn (Kaya et al., 2009). Τα ευρήματα αυτά αποτελούν ενδείξεις της πιθανότητας, η παρουσία του συγκεκριμένου μύκητα να προάγει την απορρόφηση του Cd από το φυτό του πειράματος.

Οι συγκεκριμένοι μύκητες είναι ισχυροί ανταγωνιστές στη ζώνη της ριζόσφαιρας, ικανοί να εποικίσουν και να αναπτυχθούν στις ρίζες κατά τρόπο που αυτοί διαμορφώνουν. Οι μηχανισμοί που αναπτύσσουν, τους επιτρέπουν να δρουν ενάντια σε φυτοπαθογόνους μ/ο, κυρίως άλλους μύκητες, και με αυτό τον τρόπο να συμβάλλουν στην ανάπτυξη των ριζών και γενικά του φυτού. Οι μηχανισμοί αυτοί περιλαμβάνουν τον ανταγωνισμό για χώρο και θρεπτικά, την έκκριση λυτικών ενζύμων και το μυκοπαρσιτισμό (Leelavathi et al., 2014). Βρίσκονται σε άμεση αλληλεπίδραση με το ριζικό σύστημα των φυτών και το χώμα και εμμέσως με τα υπέργεια τμήματα των φυτών (Gveroska et al., 2011). Οι μύκητες του γένους *Trichoderma* εκκρίνουν οργανικά οξέα, όπως το γλουκονικό οξύ, το φουμαρικό οξύ και το κιτρικό οξύ, που οδηγούν σε μείωση του pH του εδάφους και μπορούν να απομακρύνουν από το ρυπασμένο έδαφος και να συσσωρεύουν μεταλλικά ιόντα όπως των Cd, Pb, Cu, Zn και Ni, κύρια μέσω της ρόφησης ως μηχανισμού πρόσληψης (Srivastava et al., 2011, Kacprzak et al., 2014).

Τα είδη *T.harzianum*, *T.viride* και *T.hamatum* παράγονται εμπορικά επειδή αποτελούν αποτελεσματικά μέσα βιολογικής αντιμετώπισης αρκετών φυτοπαθογόνων μυκήτων του εδάφους (Leelavathi et al., 2014).

Τα συμβατικά στελέχη του *T.harzianum* χρησιμεύουν για τον έλεγχο συνήθως ενός φυτοπαθογόνου, όπως για παράδειγμα στελέχη που μπορούν να ελέγξουν μόνο το *Pythium* ή το *Rhizoctonia* (Hayes, 1998). Το υβριδικό στέλεχος *Trichoderma harzianum strain T-22* προσφέρει το πλεονέκτημα ελέγχου σειράς φυτοπαθογόνων μ/ο όπως τα *Fusarium*, *Pythium* και *Rhizoctonia* σε σειρά καλλιεργειών όπως το καλαμπόκι, οι τομάτες, τα φασόλια, τα αγγούρια, το βαμβάκι, η σόγια και το λάχανο και μπορεί να αναπτύσσεται σε εύρος εδαφικών τύπων, σε θερμοκρασίες άνω των 33°C (Hayes, 1998). Το συγκεκριμένο στέλεχος δρα ανταγωνιστικά ως προς την ανάπτυξη των φυτοπαθογόνων επειδή βασίζει την επιβίωση και την ανάπτυξή του στη χρήση των προϊόντων μεταβολισμού των ριζών του φυτού, τα οποία χρησιμοποιούν και τα φυτοπαθογόνα (Hayes, 1998). Επίσης, τα λυτικά ένζυμα που μπορεί να εκκρίνει το στέλεχος αυτό (χιτινάση, γλουκανάση, σελουλάση) πλήττουν το κυτταρικό τοίχωμα και άλλες δομές φυτοπαθογόνων μυκήτων όπως του *Sclerotinia sclerotiorum* και των γλαυδοσπορίων (Gveroska & Ziberoski, 2011). Η δράση του συγκεκριμένου στελέχους μύκητα επιτρέπει τη μεγαλύτερη ανάπτυξη της βιομάζας των φυτικών ριζών, όμως επειδή οι συγκεντρώσεις του πέφτουν καθώς τα φυτά αναπτύσσονται, οι εναπομείνουσες ποσότητές του κατά την εγκατάσταση νέας καλλιέργειας δεν θεωρούνται επαρκείς για τον έλεγχο των φυτοπαθογόνων σε αυτές (Hayes, 1998).

2.5 . Χαρακτηριστικά των αλόφυτων και του υπό εξέταση φυτού *Crithmum maritimum* L.

Το φυτό που επιλέχθηκε για να εξετασθεί η ανάπτυξη του σε ρυπασμένο από βαρέα μέταλλα έδαφος και η ικανότητά του για συσσώρευση του μετάλλου στους ιστούς του, είναι αλόφυτο επειδή ο συσχετισμός των αντιοξειδωτικών μηχανισμών, που ενεργοποιούνται σε περίπτωση απορρόφησης μετάλλων, και της ανοχής στην αλατότητα έχει αποδειχθεί πειραματικά σε μεγάλο αριθμό αλοφυτικών ειδών (Canalejo et al., 2014). Ακόμη, έχει διαπιστωθεί σε αλόφυτο (*Sesuvium portulacastrum*) ότι η παρουσία του NaCl μειώνει την τοξικότητα του Cd στο φυτό λόγω της δημιουργίας συμπλόκων του μετάλλου με το Cl⁻ και της τάσης του Cd, σε υψηλή αλατότητα να προσδένεται στο κυτταρικό τοίχωμα αποφεύγοντας την

προσβολή ευαίσθητων περιοχών του φυτικού κυττάρου (Mariem et al., 2014). Επίσης η επιλογή αλόφυτου πραγματοποιήθηκε εξαιτίας της αυξητικής τάσης σε παγκόσμια κλίμακα των χερσαίων εκτάσεων που χαρακτηρίζονται από υψηλή αλατότητα, με αποτέλεσμα να πληθαίνουν οι περιπτώσεις εδαφών όπου συνυπάρχει επιβάρυνση από υψηλή αλατότητα και ρύπανση από βαρέα μέταλλα. Η άνοδος της εδαφικής αλατότητας μπορεί να αποδοθεί τόσο σε φυσικές διεργασίες όπως η αύξηση της συχνότητας και της έντασης των περιόδων ξηρασίας λόγω της κλιματικής αλλαγής όσο και σε ανθρωπογενείς δραστηριότητες όπως η άρδευση των γεωργικών εκτάσεων με υφαλμυρισμένα ύδατα γεωτρήσεων ή ακατάλληλης ποιότητας επεξεργασμένα λύματα και η καταστροφή δασών αποτελούμενων από βαθύρριζα δέντρα με σκοπό τη δημιουργία βοσκοτόπων ή καλλιεργήσιμων εκτάσεων (Panta et al., 2014)

Το *Crithmum maritimum* L., γνωστό στην Ελλάδα ως κρίταμος (στην αγγλική γλώσσα sea fennel ή rock samphire), είναι ένα βρώσιμο αλόφυτο, αρωματικό και σαρκώδες που ευδοκιμεί σε παράκτια βασάλτικα πετρώματα (Pino et al., 2001, Ben Amor et al., 2005, Meot-Duros et al., 2010). Συναντάται, εκτός από παράκτια βράχια, και σε παράκτιες αποβάθρες, κυματοθραύστες, αμμώδεις παραλίες και αμμόλοφους τόσο στη Μεσόγειο και τη Μαύρη θάλασσα όσο και σε ακτές του Ατλαντικού και του Ειρηνικού ωκεανού, με συνήθη παρουσία στις ακτές της Πορτογαλίας, στη Νότια και Νοτιοδυτική Αγγλία, στην Ουαλία και τη Νότια Ιρλανδία (Meot-Duros et al., 2010, Atia et al., 2011).

Συνομοταξία:	<i>Magnoliophyta</i>
Ομοταξία:	<i>Magnoliopsida</i>
Υφομοταξία:	<i>Rosidae</i>
Τάξη:	<i>Apiales</i>
Οικογένεια:	<i>Apiaceae</i>
Γένος:	<i>Crithmum</i>
Είδος:	<i>Crithmum maritimum</i> L.

Πίνακας 4: Η κατηγοριοποίηση (ταξινόμια) του *Crithmum maritimum* (Atia et al., 2011).

Το *C.maritimum* είναι πολυετές φυτό με ψηλά κλαδιά, ύψους 30-60 cm, με ευμεγέθες ριζικό σύστημα και φύλλα σαρκώδη και χυμώδη (Cornara et al., 2009), τα οποία φύονται ακτινικά δημιουργώντας φύλλωμα σχήματος ροζέτας (Atia et al., 2011). Ο κοντός μίσχος καταλήγει συνήθως σε τρία λογχοειδή φύλλα μήκους 2-5 cm,

και πλάτους 0,6 cm (Atia et al., 2011). Κατά την περίοδο από τα τέλη Ιουλίου μέχρι τα μέσα Αυγούστου, αναπτύσσεται από τα ακραία μπουμπούκια, μίσχος που φθάνει σε μήκος έως τα 30cm, φέρει δύο ή τρία μικρά φύλλα και καταλήγει σε ταξιανθία «σύνθετου σκιαδίου» (compound umbel) (Atia et al., 2011).

Τα άνθη του είναι κιτρινωπού ή πρασινο-άσπρου χρώματος και παράγουν, συνήθως σε μεγάλο αριθμό, ωοειδείς ή επιμήκεις-ωοειδείς καρπούς, μήκους 5-6mm και πλάτους 1,5-2,5mm, πορώδους δομής και χρώματος λαδιού έως μωβ, οι οποίοι είναι σχιζοκάρπια αποτελούμενα από πέντε κάρνα (Atia et al., 2011). Η αναπαραγωγή του φυτού μπορεί να πραγματοποιηθεί με σπόρους, μοσχεύματα ή ιστοκαλλιέργεια. Οι σπόροι του είναι εν δυνάμει βρώσιμοι λόγω της σύστασης των λιπαρών τους οξέων, η οποία προσεγγίζει αυτή του ελαιολάδου (Ben Amor et al., 2005).

Ο κρίταμος χαρακτηρίζεται ως δυνητικώς αλόφυτο (facultative halophyte), επειδή εμφανίζει τις μεταβολικές διεργασίες των αλόφυτων αφού εκτεθεί σε μέτριες συγκεντρώσεις αλάτων.



Εικόνα 19: *Crithmum maritimum* [Gardening in mediterranean climates worldwide].

Το αντιοξειδωτικό σύστημα του φυτού, το οποίο βασίζεται στην ενεργοποίηση αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), η καταλάση (CAT) και διάφορες περοξειδάσες (POD) είναι ικανό να το προστατέψει από τα τοξικά για αυτό ιόντα του αλατιού (Ben Hamed et al., 2007), και να αποτρέψει την υπεροξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών των κυττάρων του ακόμα και σε εφαρμογή αλατότητας 200mM (Atia et al., 2011). Τα CAT και POD εξουδετερώνουν το H_2O_2 , που παράγεται λόγω αλατότητας, στις ρίζες, και το σύστημα ενζύμων SOD – POD – CAT το H_2O_2 που παράγεται στα υπέργεια τμήματά του (Ben Amor et al., 2005).

Η ικανότητά του ως αλόφυτο, να διατηρεί τις προσλαμβανόμενες ποσότητες καλίου αλλά και νερού στους ιστούς του, οφείλεται και στα μορφολογικά χαρακτηριστικά του, όπως η σαρκώδης δομή των φύλλων του, το αρκετά μεγάλο μέγεθος του δρυφακτοειδούς και του αποταμιευτικού παρεγχύματος του, το παχύ στρώμα επιδερμίδας και ο μικρός αριθμός στομάτων που αποτρέπει την απώλεια νερού (Atia et al., 2011). Το συγκεκριμένο φυτό έχει την ικανότητα να διατηρεί ζωντανό το φυτικό του έμβρυο ακόμα και σε υψηλές συγκεντρώσεις αλατότητας επειδή το απορροφούμενο NaCl συγκεντρώνεται στα εξωτερικά περιβλήματα του, δηλαδή στο σπογγώδες στρώμα, στο εκκριτικό περίβλημα και στο στρώμα του ενδοκαρπίου (Atia et al., 2011). Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι τα επίπεδα Ca^{2+} στο *C.maritimum*, σε συνθήκες υψηλής αλατότητας, παραμένουν σχετικά υψηλά παρά τη μείωσή τους λόγω της συγκεκριμένης καταπόνησης, και θεωρείται πιθανό αυτά τα επίπεδα των ιόντων να συμβάλλουν στην προστασία του φυτού από τις οξειδωτικές βλάβες υπό τις συγκεκριμένες συνθήκες (Ben Amor et al., 2005).

Συνήθης πρακτική για τον περιορισμό της παρεμπόδισης της αναπαραγωγής των αλόφυτων, εξαιτίας των υψηλών επιπέδων αλατότητας, είναι η προσθήκη συγκεκριμένων ουσιών, όπως συγκεκριμένα για τον κρίταμο, η προσθήκη νιτρικών (NO_3^-), αμμωνίου (NH_4^+) και GA_3 ($C_{19}H_{22}O_6$ ή γιββερελλικό οξύ 3) (Atia et al., 2011).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. Επιλογή πειραματικών συνθηκών

Το έδαφος που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη των μελετώμενων φυτών συλλέχθηκε από εγκαταλελειμμένη αγροτική έκταση του Ν.Χανίων, έτσι ώστε να μην είναι παρόντες σε αυτό ρύποι και μέταλλα λόγω των καλλιεργειών. Γνωρίζοντας ότι η αυξημένη περιεκτικότητα του χώματος σε οργανική ουσία μπορεί να επηρεάσει τη βιοδιαθεσιμότητα των περιεχόμενων στο χώμα μετάλλων (Ondrasek et al., 2009), αποφεύχθηκε η χρήση φυτοχώματος εμπορίου.

Η επίδραση της αυξημένης αλατότητας του εδάφους στην ικανότητα απορρόφησης του Cd από τα φυτά, μελετήθηκε επειδή ο κρίταμος, ως αλόφυτο, δύναται να παρουσιάσει βελτίωση της ανάπτυξής του σε συνθήκες μέτριας αλατότητας. Επίσης, εξετάσθηκε η συγκεκριμένη επίδραση και επειδή το υψηλότερο επίπεδο αλατότητας μπορεί να αυξήσει τη φυτοδιαθεσιμότητα των μετάλλων του εδάφους μέσω της αύξησης της διαλυτότητας τους στο εδαφικό διάλυμα (Μανουσάκη, 2008). Ακόμη, η αλατότητα μπορεί να επηρεάσει θετικά τη μεταφορά μετάλλων από τις ρίζες στους υπέργειους φυτικούς ιστούς και να διαφοροποιήσει την ικανότητα συσσώρευσης μετάλλων μεταξύ των τμημάτων ενός φυτού (Ondrasek et al., 2009). Η επιλογή η επέμβαση αλατότητας να γίνει με διάλυμα 1% κ.β. NaCl οφείλεται στο ότι σε συγκεντρώσεις 0,5-1% κ.β. NaCl, τα αλόφυτα επιδεικνύουν τη μεγαλύτερή τους ανάπτυξη.

Η εξέταση της επίδρασης της προσθήκης του μύκητα *T. harzianum* στο βαθμό συσσώρευσης Cd που επιτυγχάνει ο κρίταμος, πραγματοποιήθηκε επειδή υπάρχουν ενδείξεις ότι το γένος αυτό μύκητα μπορεί να επηρεάσει το βαθμό πρόσληψης του Cd από τα φυτά (Kacprzak et al., 2014). Η παραπάνω επιρροή μπορεί να αποδοθεί στο ότι το συγκεκριμένο είδος μύκητα δρα προστατευτικά υπέρ του φυτού, ενισχύει την

ανάπτυξη του ριζικού του συστήματος και ιδιαίτερα των ριζικών τριχιδίων, τα οποία πλήττονται από την παρουσία του Cd και μπορεί να συμβάλλει στην αύξηση του αριθμού των ριζικών τριχιδίων και κατά συνέπεια στην αύξηση της πρόσληψης θρεπτικών συστατικών από το έδαφος.

3.2.Προετοιμασία των φυτών

Τα φυτά προήλθαν από σπόρους της τράπεζας σπερμάτων του Μεσογειακού Αγρονομικού Ινστιτούτου Χανίων. Ο αριθμός των σπόρων που ελήφθησαν ήταν 90 και τοποθετήθηκαν ανά 30 σε 3 τριβλία με άγαρ. Τα τριβλία τοποθετήθηκαν σε τρεις διαφορετικούς θαλάμους φύτρωσης, στους οποίους η διαμορφωμένη θερμοκρασία ήταν 10°C, 15°C και 20°C αντίστοιχα και οι οποίοι θάλαμοι ήταν τεχνητού φωτισμού με φωτοπερίοδο 12:12 (φως/σκοτάδι). Εντός των θαλάμων επικρατούσαν καθορισμένες συνθήκες υγρασίας, κατάλληλες για την ανάπτυξη των σπόρων. Αφού διαπιστώθηκε ότι όλοι οι σπόροι φύτρωσαν, τα προκύψαντα φυτά τοποθετήθηκαν σε φυτόχωμα, μέσα σε θάλαμο υδρονέφωσης, για 1 μήνα περίπου, έτσι ώστε να αναπτυχθούν έως ένα βαθμό. Ακολούθως, μεταφυτεύθηκαν σε μικρές γλάστρες με φυτόχωμα και αφέθηκαν να αναπτυχθούν εκεί για περίπου 3 μήνες, οπότε και μεταφέρθηκαν στις γλάστρες, που τελικά χρησιμοποιήθηκαν για τις πειραματικές μετρήσεις. Σε κάθε γλάστρα φυτεύθηκε ένα φυτό και αυτές τοποθετήθηκαν σε υπαίθριο χώρο παραπλεύρως του θερμοκηπίου του Πολυτεχνείου Κρήτης, όπου τα φυτά αφέθηκαν να αναπτυχθούν για 8 μήνες.

Σε κάθε γλάστρα του πειράματος τοποθετήθηκε χώμα που λάβαμε από το αγροτεμάχιο, μέσου βάρους 3.598,4 g αφότου αφαιρέθηκαν χειρωνακτικά οι περιεχόμενες σε αυτό πέτρες και αναμείχθηκε με σκοπό τη μεγαλύτερη ομοιομορφία των μοιρασμένων ποσοτήτων του. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά του:

Χαρακτηριστικό εδάφους	
Χαρακτηρισμός εδάφους	Αμμοπηλώδες
Αργίλος (%)	13,6
Αμμος (%)	54,4
Ιλύς (%)	32
Ολικό CaCO ₃	0
Οργανική ουσία (%)	3,2
pH	6,58
CEC (NaAc) (me/100g)	8,6

Πίνακας 5: Χαρακτηριστικά του εδάφους στο οποίο παρέμειναν τα φυτά κατά τη διάρκεια των πειραματικών μετρήσεων.

3.3. Κύριο πειραματικό μέρος

3.3.1. Πειραματικός σχεδιασμός

Στο χώρο διεξαγωγής του πειράματος τα φυτά παρέμειναν για 8 εβδομάδες (Ιούλιος-Αύγουστος), κατά τη διάρκεια των οποίων λαμβάναμε συνεχείς μετρήσεις της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας του χώρου μέσω συσκευής data logger (Log32) που τοποθετήσαμε σε σκιασμένο σημείο κοντά στα φυτά. Το εύρος και ο μέσος όρος των τιμών θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας που καταγράφηκαν σε αυτές τις μετρήσεις παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Θερμοκρασία κατά την ημέρα [°C]		Θερμοκρασία κατά τη νύχτα [°C]	
Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος
31,16	20-43,2	24,19	20,6-31,1
Σχετική υγρασία κατά την ημέρα (%)		Σχετική υγρασία κατά την νύχτα (%)	
Μέση τιμή	Εύρος	Μέση τιμή	Εύρος
42,57	19,4-76,3	57,59	24-78,1

Πίνακας 6: Διακύμανση και μέσες τιμές θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος.

Η φωτοπερίοδος κατά τη διάρκεια του πειράματος κυμαινόταν από 13h έως 14,5h περίπου (U.S. Naval Observatory, 2012). Επίσης, παρατηρούνταν και καταγράφονταν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των φυτών με σκοπό τη διαπίστωση συμπτωμάτων τοξικότητας από το Cd ή την αλατότητα σε αυτά.

Τα 27 φυτά αριθμήθηκαν και χωρίστηκαν σε 3 ομάδες των 4 φυτών (Groups A,B,C) και άλλες 3 ομάδες των 5 φυτών (D,E,F), αφότου μετρηθηκε το ύψος τους έτσι ώστε η συνολική βιομάζα της κάθε ομάδας να κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα με τη βιομάζα των υπολοίπων. Ο μέσος όρος ύψους των φυτών κάθε ομάδας διαμορφώθηκε πολύ κοντά στα 11,4 cm. Την ημέρα έναρξης της κύριας πειραματικής διαδικασίας, στις τρεις ομάδες των 5 ατόμων χορηγήθηκε Cd, τόσο ώστε η εδαφική συγκέντρωσή του να ανέλθει στα 25 ppm ξηρού βάρους, ενώ οι άλλες τρεις ομάδες των 4 ατόμων αποτέλεσαν τις επεμβάσεις ελέγχου (μάρτυρες). Η πρώτη ομάδα επέμβασης με Cd και η πρώτη ομάδα επέμβασης ελέγχου (Groups D & A) αρδεύθηκαν με νερό του δικτύου, η δεύτερη ομάδα επέμβασης με Cd και η αντίστοιχή της ομάδα επέμβασης ελέγχου (Groups E & B) ποτίζονταν με νερό περιεκτικότητας 1% κ.β. NaCl, το οποίο παρασκευάστηκε επι τόπου με ζυγισμένο στο εργαστήριο μαγειρικό αλάτι, και οι άλλες δύο ομάδες (Groups C & F) αρδεύθηκαν με νερό δικτύου στο οποίο προστέθηκε, τρεις φορές πριν και κατά τη διεξαγωγή του πειράματος, το στέλεχος μύκητα *Trichoderma harzianum strain T-22*.

Τα φυτά των ομάδων B και E, για μία εβδομάδα πριν την έναρξη των μετρήσεων ποτίζονταν με νερό περιεκτικότητας 0,5% κ.β. NaCl, με σκοπό την προσαρμογή τους σε υψηλότερα επίπεδα αλατότητας.

Προσθήκη του μύκητα στα φυτά των ομάδων C και F πραγματοποιήθηκε τρεις φορές, αρχικά μία εβδομάδα πριν την έναρξη των μετρήσεων με σκοπό τον εγκλιματισμό των φυτών, ξανά στην αρχή της τρίτης εβδομάδας και τέλος στην αρχή της έκτης εβδομάδας του πειράματος. Η χορήγηση του μύκητα στις δύο αυτές ομάδες φυτών συντελέστηκε μέσω της προσθήκης 110 ml διαλύματος από ένα συνολικό όγκο 1 λίτρου νερού στον οποίο είχε διαλυθεί 1,5g *Trianum* (εμπορική ονομασία του *T.harzianum strain T-22*). Παρατίθενται συγκεντρωτικά στον παρακάτω πίνακα ο διαχωρισμός των φυτών και οι παρεμβάσεις που έγιναν σε αυτά:

Φυτά <i>Crithmum maritimum</i>			
Ονομασία ομάδας επέμβασης	Συγκέντρωση Cd στο έδαφος (ppm)	Αλατότητα νερού άρδευσης (% κ.β. NaCl)	Προσθήκη <i>T.harzianum</i> στο έδαφος
A:0/0/0	0	0	x
B:0/1/0	0	1	x
C:0/0/T.h.	0	0	√
D:25/0/0	25	0	x
E:25/1/0	25	1	x
F:25/0/T.h.	25	0	√

Πίνακας 7: Πειραματικός σχεδιασμός: Οι ομάδες των φυτών του πειράματος και οι επεμβάσεις που δέχθηκαν.



Εικόνα 20: Τα φυτά του πειράματος μετά την ομαδοποίησή τους.



Εικόνα 21: Φυτά των ομάδων επέμβασης 25/0, 25/1 & 25/0+Tr αντίστοιχα

3.3.2.Μετρήσεις στα φυτά

3.3.2.1.Προσδιορισμός των παραμέτρων αύξησης

Μετά την παρέλευση των 8 εβδομάδων, που ήταν η διάρκεια του πειράματος, τα υπέργεια τμήματα των μελετώμενων φυτών αποκόπηκαν και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο όπου μετά τον καθαρισμό τους, μετρήθηκε το νωπό βάρος τους. Για τον υπολογισμό του ξηρού βάρους των υπέργειων τμημάτων απαιτήθηκε η ξήρανση τους σε φούρνο για 48 h. Για τον υπολογισμό του ξηρού βάρους των ριζών των φυτών ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία ξήρανσης όπως και για τα υπέργεια τμήματα. Με βάση τις ενδείξεις του ζυγού (ακρίβεια 5 δεκαδικών), η περιεκτικότητα των υπέργειων φυτικών ιστών σε νερό υπολογίστηκε από τον τύπο:

$$(Περιεκτικότητα\ σε\ H_2O)\ (%) = [(νωπό\ βάρος)-(ξηρό\ βάρος)/(ξηρό\ βάρος)] \cdot 100\%.$$

Κατόπιν, τα ξηρά δείγματα αλέστηκαν, τοποθετήθηκαν σε κλειστά δοχεία και παρέμειναν σε ξηρό περιβάλλον έως ότου μετρήθηκε η περιεκτικότητά τους σε μέταλλα με τη χρήση φασματοσκοπίας.



Εικόνες 22,23 & 24:Ρίζες φυτών των ομάδων επέμβασης 25/0, 25/1 & 25/0+Tr αντίστοιχα.

3.3.2.2. Προσδιορισμός της χλωροφύλλης

Για τον προσδιορισμό των επιπέδων χλωροφύλλης, ελήφθησαν από κάθε φυτό τυχαία δείγματα φύλλων, μέσης μάζας 0,2 g με σκοπό να μετρηθεί σε αυτά η συγκεκριμένη χρωστική σύμφωνα με τη μέθοδο Harborne (1984). Τα παραπάνω δείγματα ομογενοποιήθηκαν με διάλυμα ακετόνης 80% κ.ο. και φυγοκεντρήθηκαν. Το εκχύλισμα που προέκυψε, αραιώθηκε τόσο ώστε οι τιμές της αντιστοιχούσας σε αυτό απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο να κυμαίνονται μεταξύ 0,2-0,9, δηλαδή στο εύρος γραμμικότητας του οργάνου. Το αραιωμένο εκχύλισμα τοποθετήθηκε σε φασματοφωτόμετρο UV-VIS (UV mini 1240 SHIMADZU) εντός κυψελίδων χαλαζία, με σκοπό τη μέτρηση της απορρόφησης στα 663 nm και 646 nm. Τελικά, οι συγκεντρώσεις της α -, β και ολικής χλωροφύλλης στο εξεταζόμενο εκχύλισμα υπολογίστηκαν από τις σχέσεις:

$$\text{Χλωροφύλλη-}\alpha \text{ [mg/l]} = (12,21 \cdot A_{663}) - (2,81 \cdot A_{646})$$

$$\text{Χλωροφύλλη-}\beta \text{ [mg/l]} = (20,13 \cdot A_{646}) - (5,03 \cdot A_{663})$$

$$\text{Ολική χλωροφύλλη [mg/l]} = (17,3 \cdot A_{646}) + (7,18 \cdot A_{663}) ,$$

όπου A_{646} και A_{663} η απορρόφηση που μετρήθηκε στα 663 nm και 646 nm αντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις χλωροφύλλης που τελικά χρησιμοποιήθηκαν στα διαγράμματα, υπολογίστηκαν για 1 g νωπού βάρους φύλλων του *C.maritimum*.

3.3.2.3. Προσδιορισμός πρωτεϊνών και ενζυμικής δραστηρότητας υπεροξειδάσης

Για τη μέτρηση των πρωτεϊνών στα φυτά ακολουθήθηκε η μέθοδος Lowry. Πριν την έναρξη των μετρήσεων βαθμονομήθηκε το φασματοφωτόμετρο με χρήση αραιωμένου πρότυπου διαλύματος “Serum Albumin-BSA Standard” έτσι ώστε να βρεθεί το εύρος απορροφήσεων που αντιστοιχεί σε συγκεντρώσεις πρωτεϊνών 100-150 $\mu\text{g/ml}$ (καμπύλη αναφοράς), επειδή σε συγκεντρώσεις έως 150 $\mu\text{g/ml}$ μπορεί, με αποδεκτή προσέγγιση, η σχέση απορρόφησης – συγκέντρωσης πρωτεϊνών να θεωρηθεί γραμμική. Τα δείγματα φύλλων του κάθε φυτού που μετρήθηκαν είχαν μάζα 1g και τα οποία αφού καθαρίστηκαν, ομογενοποιήθηκαν με φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα 0,05 M. Μετά από διήθηση και αραιώση το παραπάνω δείγμα φυγοκεντρήθηκε, και το ληφθέν εκχύλισμα δέχθηκε αραιώση 20 \times , την ενδεδειγμένη

σύμφωνα με την καμπύλη αναφοράς που κατασκευάστηκε. Ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών πραγματοποιήθηκε με χρήση φασματοφωτόμετρου, κατόπιν μέτρησης της απορρόφησης στα 750 nm, ποσότητας 0,2 ml από κάθε αραιωμένο εκχύλισμα.

Ο προσδιορισμός της ενζυμικής δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλης (POD) βασίστηκε στην καταγραφή του ρυθμού οξείδωσης της γουαϊακόλης (guaiacol), που χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα, και μετατροπής της σε tetraguaiacol. Για κάθε δείγμα φυτού, χρησιμοποιήθηκαν 0,1 ml του προηγούμενα παρασκευασμένου, για τις ανάγκες μέτρησης της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες εκχυλίσματος φύλλων, φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα και διάλυμα γουαϊακόλης. Στην αντίδραση οξείδωσης δόθηκε έναυσμα με την προσθήκη διαλύματος H_2O_2 1% κ.ο. και μετά από 30 δευτερόλεπτα μετρήθηκε σε φασματοφωτόμετρο UV-VIS η απορρόφηση του διαλύματος στα 470 nm. Μετρήσεις της απορρόφησης συνέχισαν να λαμβάνονται κάθε 30'' και οι οποίες μετρήσεις για κάθε φυτό επαναλήφθηκαν σε άλλα δύο σετ μετρήσεων. Ο υπολογισμός της ενζυμικής δραστηριότητας της POD στο μίγμα βασίστηκε στο ρυθμό μεταβολής της απορρόφησης του διαλύματος, ο οποίος είναι ανάλογος του βαθμού οξείδωσης του υποστρώματος από την POD κατά τη διάρκεια των τριών λεπτών της αντίδρασης και κατά συνέπεια της ποσότητας του ενζύμου στο μείγμα. Συγκεκριμένα, ελήφθη υπόψη η μεταβολή της απορρόφησης ανά λεπτό ($\Delta A_{470}/\text{min}$), η οποία εκλαμβάνεται ως μονάδα ενζυμικής ενεργότητας και η ενεργότητα του ενζύμου εκφράστηκε ως η τιμή των παραπάνω μονάδων ανά mg πρωτεϊνών (U/mg πρωτεϊνών).

3.3.2.4. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης Cd στο φυτικό ιστό

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του Cd στα υπέργεια και ριζικά τμήματα του υπό εξέταση φυτού περιελάμβανε τη χώνευση δειγμάτων φυτικού ιστού σε συσκευή μικροκυμάτων ("Microwave sample preparation system", Anton Paar, Multiwave) σύμφωνα με μία τροποποίηση της μεθόδου "EPA method 3052" (United States Environmental Protection Agency, 1996). Συγκεκριμένα, αλεσμένος φυτικός ιστός, μάζας περίπου 0,2 g, αραιωμένος με διάλυμα HNO_3 69% κ.ο., τοποθετήθηκε εντός δοχείων Teflon (πολυτετραφθοροαιθυλένιο) στη συσκευή μικροκυμάτων για την εκτέλεση της χώνευσης, διάρκειας 20 λεπτών. Μετά την ολοκλήρωση της πέψης, τα διαλύματα με το φυτικό ιστό αραιώθηκαν με υπερκάθαρο νερό με σκοπό τη

μέτρηση, στο τελικό διάλυμα, της συγκέντρωσης του μετάλλου με χρήση φασματοσκοπίας ICP-MS, όπως και έγινε.

3.3.3 Μετρήσεις στο έδαφος

3.3.3.1. Προσδιορισμός του pH και της ηλεκτρικής αγωγιμότητας του εδάφους

Το έδαφος ανάπτυξης των φυτών, αφού απομακρύνθηκαν από αυτό οι ρίζες και τα ριζικά τριχίδια, αφέθηκε να ξηρανθεί πάνω σε χαρτί για διάστημα 3 μηνών (Σεπτέμβριος- Δεκέμβριος), με σκοπό τη διεξαγωγή μετρήσεων σε αυτό. Πριν την έναρξη των μετρήσεων πραγματοποιήθηκε λειοτρίβηση και κοσκίνηση των δειγμάτων έτσι ώστε να διευκολυνθούν οι διεξαγόμενες διεργασίες αποσύνθεσής και να αποφευχθεί η ελάττωση της αντιπροσωπευτικότητάς τους κατά τη λήψη μικρής ποσότητας υποδειγμάτων.

Η μέτρηση του pH του εδάφους εκτελέστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο: “Thonas G.W. 1996, Soil pH and Soil acidity”. Η διαδικασία περιλάμβανε την 1:1 εκχύλιση του εδάφους με απιονισμένο νερό, την ανακίνηση του μείγματος, την ακόλουθη παραμονή του σε ηρεμία και τη μέτρηση του pH με βύθιση ηλεκτροδίου πεχαμέτρου στο υπερκείμενο του εδάφους διάλυμα. Η μέτρηση της EC πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας τη μέθοδο: “Rhoades J.D., 1996, Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids”, ενώ και πάλι πραγματοποιήθηκε διαδοχικά εκχύλιση των εδαφικών δειγμάτων με απιονισμένο νερό σε αναλογία 1:1, ανακίνηση των δειγμάτων και μέτρηση της EC με χρήση αγωγιμόμετρου.

Σύμφωνα με τις παραπάνω τιμές, το pH στα δείγματα εδάφους των ομάδων επέμβασης με Cd κυμάνθηκε κατά μέσο όρο από 6,01 – 6,41. Η EC στο έδαφος των ομάδων επέμβασης με διάλυμα 1% κ.β. NaCl κυμάνθηκε κατά μέσο όρο από 17,08 έως 20,77 ms/cm, τιμές που δικαιολογούνται από την παρουσία του NaCl, το οποίο ως ηλεκτρολύτης οδηγεί στην παραγωγή θετικών και αρνητικών ιόντων Na^+ και Cl^- αντίστοιχα, επηρεάζοντας έτσι καθοριστικά την τιμή της EC.

3.3.3.2. Προσδιορισμός φυτοδιαθέσιμων και ολικών συγκεντρώσεων Cd στο έδαφος

Η μέτρηση των φυτοδιαθέσιμων ποσοτήτων Cd στο έδαφος ανάπτυξης των φυτών εκτελέστηκε με τρεις διαφορετικές μεθόδους έτσι ώστε να διασταυρωθεί η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων.

Εδαφικά δείγματα εκχυλίσθηκαν με υπερκάθαρο νερό σε αναλογία χώματος:νερού 1:10 και οι τελικές τιμές που χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων Cd ελήφθησαν μετά από τη μέτρηση των δειγμάτων σε φασματοσκόπιο ICP-MS αφού αυτά οξινίστηκαν με διάλυμα HNO_3 . Ακόμη, άλλα δείγματα χώματος δέχθηκαν εκχύλιση με διάλυμα HCl 0,1M και με χρήση φασματοσκοπίου μετρήθηκαν στο εκχύλισμα οι συγκεντρώσεις Cd που αντιστοιχούν στο φυτοδιαθέσιμο κλάσμα του μετάλλου στο έδαφος. Επίσης, χρησιμοποιήθηκε και DTPA για εκχύλιση ποσοτήτων του μελετώμενου εδάφους όπου μετά από ανακίνηση και διήθηση το εκχύλισμα φασματοφωτομετρήθηκε με σκοπό την έυρεση των φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων του Cd.

Ο προσδιορισμός των ολικών συγκεντρώσεων Cd στα δείγματα εδάφους πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την ίδια μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για τη μέτρηση των συγκεντρώσεων του μετάλλου στους φυτικούς ιστούς των φυτών του πειράματος. Δηλαδή πραγματοποιήθηκε διαδοχικά, χώνευση των εδαφικών δειγμάτων, φυγοκέντρησή τους, αραίωσή τους με υπερκάθαρο νερό και προσδιορισμός των συγκεντρώσεων με χρήση φασματοσκοπίας ICP-MS. Το ολικό κάδμιο μετρήθηκε στα εδαφικά δείγματα τα οποία εκχυλίστηκαν με DTPA, δύο φορές, πριν και μετά τη λήψη του βιοδιαθέσιμου κλάσματος με εκχύλιση, έτσι ώστε να διασταυρωθεί η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων.

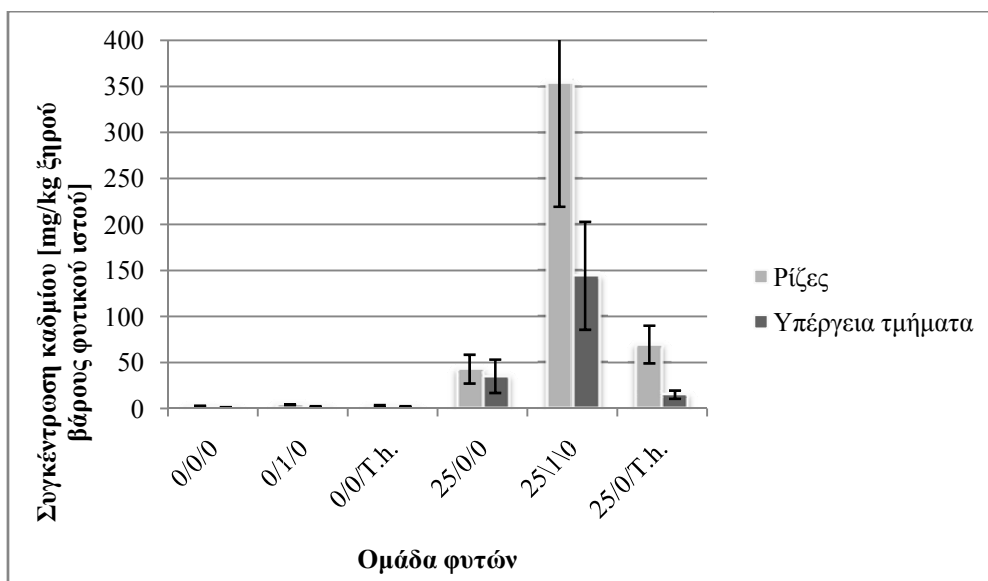
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1.Συσσώρευση του Cd στο φυτικό ιστό

Το συγκεκριμένο φυτό, στο φυσιολογικό επίπεδο αλατότητας του εδάφους, μπορεί, με βάση τα αποτελέσματα, να χαρακτηριστεί συσσωρευτής Cd, επειδή η ελάχιστη μετρούμενη συγκέντρωση στα υπέργεια τμήματα, για την απόδοση αυτού του χαρακτηρισμού, είναι τα 20 mg/kg (Coleman et al., 2005). Σε επίπεδα συσσωρευτή Cd (M.T:45,3mg/kg) έχει βρεθεί ότι συσσωρεύει το συγκεκριμένο μέταλλο από το έδαφος το *Daucus carota* (καρότο) (Marchiol et al., 2013). Επίσης, λαμβάνοντας υπόψη ότι το ελάχιστο όριο συγκέντρωσης Cd για να θεωρηθεί ένα φυτό υπερσυσσωρευτής του συγκεκριμένου μετάλλου είναι τα 100 mg / kg ξηρού βάρους των υπέργειων τμημάτων του (Coleman et al., 2005), και τη μέση συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα των φυτών της ομάδας 25\1\0, η οποία ανέρχεται στα 144,2 mg/kg ξ.β., διαπιστώνεται ότι ο κρίταμος συσσωρεύει συγκεντρώσεις ανάλογες ενός υπερσυσσωρευτή καδμίου στις συνθήκες υψηλής εδαφικής αλατότητας [Σχήμα 1].

Οι συγκεντρώσεις του μετάλλου στους υπέργειους ιστούς των φυτών (C_{shoots}) των ομάδων 25/0/0 και 25/0/T.h. στα 35 και 15 ppm περίπου αντίστοιχα, κινούνται μέσα στο εύρος των φυτοτοξικών συγκεντρώσεων Cd των 5-30 ppm και 5-10 ppm όπως έχουν ορισθεί από τους Orcutt & Nilsen (2000) και Sauerbeck (1982) αντίστοιχα, ενώ η μέση C_{shoot} των φυτών που δέχθηκαν τη συνδυασμένη καταπόνηση υψηλής αλατότητας και μετάλλου είναι πολλαπλάσια του προαναφερθέντος εύρους συγκεντρώσεων. Κατά συνέπεια, λαμβάνοντας υπόψη τις παραπάνω τιμές και το γεγονός ότι στα φυτά του πειράματος δεν παρατηρήθηκαν ισχυρά σημάδια τοξικότητας, γίνεται αντιληπτό ότι το *C. maritimum* επιδεικνύει αυξημένη αντοχή απέναντι στο Cd.



Σχήμα 1: Συγκέντρωση Cd (mg μετάλλου/ kg ξηρού βάρους φυτού) στα υπέργεια τμήματα και τις ρίζες του *C. maritimum*, που αναπτύχθηκε σε έδαφος καθαρό και ρυπασμένο με 25ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους, με ή χωρίς την προσθήκη δ/τος 1% NaCl, και με ή χωρίς την προσθήκη του *T.harzianum* στο έδαφος. Απεικονίζονται οι μέσες τιμές ($n=4$ για τις ομάδες 0/0/0, 0/1/0 & 0/0/T.h. και $n=5$ για τις ομάδες 25/0/0, 25/1/0 & 25/0/T.h.) και το τυπικό σφάλμα.

Όπως διακρίνεται στο Σχήμα 1, στα φυτά που αναπτύχθηκαν στις γλάστρες όπου είχε γίνει προσθήκη Cd, η υψηλή εδαφική αλατότητα αύξησε θεαματικά τη συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια φυτικά τμήματα κατά 311,24% και στις ρίζες κατά 727,3%. Άνοδο της συγκέντρωσης Cd είχαν καταγράψει και οι Manousaki et al. (2008) στα υπέργεια τμήματα και τις ρίζες του *Tamarix smyrnensis* κατά την αύξηση της εδαφικής αλατότητας σε 3% κ.β. NaCl.

Αντίθετα, Η προσθήκη του *T.harzianum* παρατηρείται ότι μείωσε κατά 57,05% τη συγκέντρωση του Cd στα υπέργεια τμήματα των φυτών που ανήκαν στις ομάδες επέμβασης με Cd. Με δεδομένο το γεγονός ότι τα φύλλα του κρίταμου είναι βρώσιμα, η παραπάνω επίδραση του μύκητα μπορεί να αξιοποιηθεί στις περιπτώσεις κατανάλωσης των υπέργειων τμημάτων του φυτού από ανθρώπους ή ζώα με σκοπό τη μικρότερη δυνατή συγκέντρωση του μετάλλου στα βρώσιμα τμήματα του φυτού.

Όσον αφορά τα φυτά των ομάδων επεμβάσεων ελέγχου, η προσθήκη του αλατούχου διαλύματος οδήγησε στην αύξηση συγκέντρωσης του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα κατά 59,16% και η προσθήκη του μύκητα σε αντίστοιχη αύξηση κατά 51,65%. Τα συμπεράσματα από αυτές τις μεταβολές δεν μπορούν να είναι ασφαλή επειδή οι συγκεκριμένες συγκεντρώσεις του μετάλλου είναι μικρές και

άλλωστε είναι δεδομένο πως συγκεντρώσεις μετάλλων αυτής της κλίμακας υπάρχουν σε όλους τους φυτικούς οργανισμούς.

Εάν ληφθούν υπόψη τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων Cd των υπέργειων τμημάτων των φυτών, σε όλες τις ομάδες, και το όριο της Ευρωπαϊκής Ένωσης για το Cd στην τροφή βοοειδών, προβάτων και αιγών που είναι το 1 ppm (European Committee, 2001), συμπεραίνεται ότι το φυτό του πειράματος δεν προσφέρεται για εφαρμογές φυτοσταθεροποίησης, παρόλες τις υψηλές συγκεντρώσεις του μετάλλου στις ρίζες του, λόγω του κινδύνου που εγκυμονεί η κατανάλωση του από τα ζώα παραγωγής και η επακόλουθη είσοδός του στην τροφική αλυσίδα.

Όσον αφορά τα φυτά των ομάδων επέμβασης ελέγχου, στα οποία οι C_{shoots} κυμαίνονται από 1,28 – 1,95 mg/kg ξ.β., οι συγκεκριμένες συγκεντρώσεις Cd σε αυτά είναι υψηλές σύμφωνα με το ανώτερο όριο συγκέντρωσης για τα φυλλώδη λαχανικά προς βρώση που προτείνει ο Π.Ο.Υ. το οποίο είναι τα 0,2 mg/kg, βασισμένο στη μέγιστη ημερήσια επιτρεπόμενη δόση πρόσληψης Cd για τον ανθρώπινο οργανισμό (1 µg/kg σωματικού βάρους) (World Health Organisation, 2001). Οι συγκεκριμένες συγκεντρώσεις κινούνται επίσης πάνω από το εύρος των 0,03-0,5 mg/kg ξ.β, που είναι οι μέσες συγκεντρώσεις του μετάλλου στους φυτικούς ιστούς φυτών αναπτυγμένων σε μη ρυπασμένα εδάφη (Maestri et al., 2010).

Ο λόγος της συγκέντρωσης του Cd στα υπέργεια τμήματα προς την αντίστοιχη των ριζών (C_{shoots}/C_{roots} , Πίνακας 10) στα φυτά που δέχθηκαν μόνο την καταπόνηση του μετάλλου κυμάνθηκε κατά μέσο όρο στο 0,82, μέσα στο εύρος 0,72-0,85 που βρήκαν για τη συσσώρευση Cd στο *Daucus carota* L. (Apiaceae) οι Piret & Kookan (1985) αλλά πολύ μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο (0,1) που βρήκαν οι Jarvis et al. (1976) για την απορρόφηση του ίδιου μετάλλου σε υδροπονική καλλιέργεια από το *Pastinaca sativa* (Apiaceae) και του 0,31 που υπολόγισαν το λόγο αυτό οι Fotiadis et al. (2009) για τη συσσώρευση του καδμίου στο *Apium graveolens* (σέλινο).

Ο συγκεκριμένος λόγος αποκαλείται συντελεστής μεταφοράς (translocation factor – TF) και χρησιμοποιείται μαζί με τον BCF για την εκτίμηση της ικανότητας ενός φυτού να συσσωρεύει και να ανέχεται βαρέα μέταλλα. Η γενική τάση του πληθυσμού των φυτών είναι να συγκεντρώνουν περισσότερο Cd στο ριζικό τους σύστημα σε σχέση με τους βλαστούς και τα φύλλα (Wagner 1993). Φυτά τα οποία

ανήκουν στους υπερσυσσωρευτές μετάλλων χαρακτηρίζονται από $TF > 1$ (Zhang et al., 2010), οπότε με βάση τα δεδομένα των φυτών του πειράματος, κατά τα οποία η μέση τιμή του TF δεν ξεπερνά το 0,82, το *C. maritimum* δεν πληροί και το δεύτερο αυτό κριτήριο υπερσυσσώρευσης ώστε να μπορεί να χαρακτηριστεί και τυπικά υπερσυσσωρευτής.

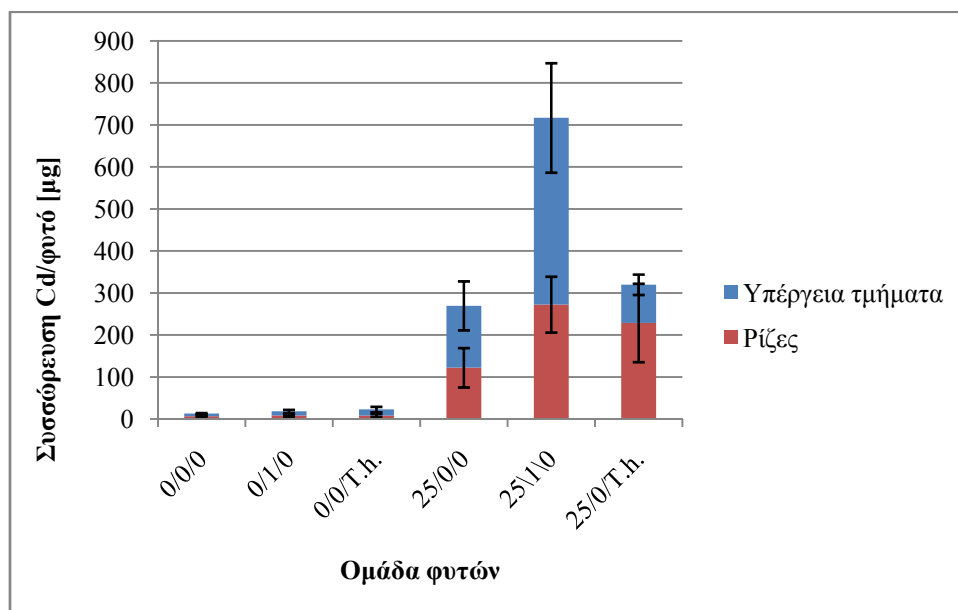
Στα φυτά των ομάδων επέμβασης με Cd ο λόγος C_{shoots}/C_{roots} μειώνεται σε σημαντικό βαθμό εξαιτίας της αύξησης της εδαφικής αλατότητας (-0,41) και ακόμη περισσότερο εξαιτίας της προσθήκης του μύκητα *T. harzianum* (-0,6). Η πρώτη μείωση αποτελεί αντίθετο εύρημα από αυτό των Manousaki et al. (2008) οι οποίοι διαπίστωσαν αύξηση του συγκεκριμένου λόγου για το Cd κατά την άρδευση του *Tamarix smyrnensis* με διαλύματα 0,5% και 3% κ.β. NaCl, οφειλόμενη στη μετακίνηση του μετάλλου από τις ρίζες στα υπέργεια τμήματα. Η δεύτερη μείωση έρχεται σε αντίθεση με την αύξηση του λόγου C_{shoots}/C_{roots} που έχει καταγραφεί για την απορρόφηση Cd, κατά την προσθήκη μυκήτων του γένους *Trichoderma* στα φυτά *Miscanthus giganteus* L. και *Phalaris arundinacea* (Kacprzak et al., 2014). Με δεδομένη τη βοηθητική προς την ανάπτυξη των φυτών δράση του *Trichoderma harzianum*, αναμενόταν μεγαλύτερη ροή του απορροφούμενου από το φυτό μετάλλου προς τα υπέργεια τμήματά του, ως αποτέλεσμα της μεγαλύτερης ροής θρεπτικών στοιχείων προς αυτά τα τμήματα.

Ομάδα φυτών	C_{shoots}/C_{roots}
0/0/0	0,52
0/1/0	0,44
0/0/T.h.	0,79
25/0/0	0,82
25\1\0	0,41
25/0/T.h.	0,22

Πίνακας 8: Συντελεστής μεταφοράς του *C.maritimum* για το Cd.

Η συνολική συσσώρευση του μετάλλου ανά φυτό, [Σχήμα 2], διαμορφώνεται από τις τιμές της συγκέντρωσης του Cd στους φυτικούς ιστούς και της βιομάζας του φυτού, και η αξιολόγησή της έχει πρακτική χρησιμότητα για τα φυτά των ομάδων επέμβασης με Cd επειδή δίνει σημαντική εικόνα για την αποτελεσματικότητα της φυτοσυσσώρευσης κατά τη χρήση του συγκεκριμένου φυτικού είδους. Πρωτεύουσας

σημασίας για την τεχνική φυτοεξυγίανσης που μελετάται είναι η συσσώρευση του μετάλλου στους υπέργειους ιστούς, των οποίων η συγκομιδή είναι εύκολη και ασφαλής, επειδή η εκρίζωση των φυτών, στην περίπτωση της φυτοσυσσώρευσης, ενέχει τον κίνδυνο εισπνοής του μετάλλου από τα άτομα που τη διενεργούν αλλά και τη συνολική εναέρια διασπορά του μετάλλου στην περιοχή.



Σχήμα 2: Συνολική ποσότητα Cd που συσσωρεύτηκε στα υπέργεια τμήματα και τις ρίζες του *C. maritimum*, που αναπτύχθηκε σε έδαφος καθαρό και ρυπασμένο με 25ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους, με ή χωρίς την προσθήκη δ/τος 1% κ.β. NaCl, και με ή χωρίς την προσθήκη του *T.harzianum* στο έδαφος. Απεικονίζονται οι μέσες τιμές ($n=4$ για τις ομάδες 0/0/0, 0/1/0 & 0/0/T.h. και $n=5$ για τις ομάδες 25/0/0, 25/1/0 & 25/0/T.h.) και το τυπικό σφάλμα.

Όσον αφορά τα υπέργεια τμήματα των φυτών των ομάδων επέμβασης με Cd, παρατηρείται εξαιρετικά μεγαλύτερη συσσώρευση, κατά 201,62%, στα φυτά που αρδεύθηκαν με αλατούχο διάλυμα, αναμενόμενο εάν ληφθεί υπόψη η μεγάλη αύξηση των C_{shoots} εξαιτίας της μεγαλύτερης εδαφικής αλατότητας. Αντίστροφα, τη μικρότερη συσσώρευση Cd στα υπέργεια τμήματα παρουσιάζουν τα φυτά των οποίων το έδαφος ανάπτυξης έγινε έγχυση του *T.harzianum*, προκύπτουσα, βασικά, από την αποτροπή μετακίνησης του μετάλλου προς τα υπέργεια τμήματα που προξένησε η παρουσία του μύκητα.

Στις ρίζες των φυτών που ανήκαν στις ομάδες επέμβασης με Cd, η συσσώρευση του μετάλλου ήταν κατά 123% μεγαλύτερη στα φυτά που

αναπτύχθηκαν στην υψηλή αλατότητα και κατά 87,26% μεγαλύτερη σε αυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία του μύκητα. Η παραπάνω αυξημένη συσσώρευση του μετάλλου στις ρίζες είναι περισσότερο επιθυμητή στις περιπτώσεις που αποφασίζεται να ακολουθηθεί ως μέθοδος φυτοεξυγίανσης η φυτοσταθεροποίηση.

Στην εδαφική συγκέντρωση Cd των 25 ppm του πειράματος, η επέμβαση με αλατότητα 1% κ.β. στο νερό άρδευσης, αύξησε τη συνολική συσσώρευση Cd στο φυτό κατά 166%. Αύξηση στη συνολική συσσώρευση Cd από το *T.smyrnensis* κατέγραψαν και οι Manousaki et al. (2008) κατά την άρδευση του φυτού με διαλύματα 0,5% και 3% κ.β. NaCl. Η αύξηση αυτή αποδίδεται στη μεγαλύτερη ροή του μετάλλου εντός του φυτού, ως πιθανό αποτέλεσμα της υψηλότερης κινητικότητας των μετάλλων στο έδαφος και της μεγαλύτερης πρόσληψης νερού, λόγω της αυξημένης διαπνοής που προκαλεί η αλατότητα.

Η παρατηρούμενη αξιοσημείωτη αύξηση στη συσσωρευμένη ποσότητα μετάλλου στα φυτά που ποτίζονταν με αλατούχο διάλυμα, μπορεί να ληφθεί υπόψη για τις διεργασίες φυτοσυσσώρευσης έτσι ώστε άρδευση με νερό υψηλότερης αλατότητας να οδηγήσει σε συσσώρευση μεγαλύτερης ποσότητας του εξαγόμενου καδμίου στα συγκομιζόμενα υπέργεια φυτικά τμήματα και ως εκ τούτου σε υψηλότερη απόδοση της εξυγίανσης. Ακόμη, καθιστά προφανές ότι η αποτελεσματικότητα της φυτοσυσσώρευσης θα είναι μεγαλύτερη σε εδάφη υψηλής αλατότητας. Από την άλλη πλευρά, η συγκεκριμένη επίδραση της αλατότητας καθιστά ακόμα πιο επικίνδυνη για τη δημόσια υγεία την κατανάλωση του κρίταμου, απευθείας από τον άνθρωπο ή μέσω της εισόδου του στην τροφική αλυσίδα λόγω της κατανάλωσης του από ζώα, όταν το συγκεκριμένο φυτό αναπτύσσεται σε επιβαρυσμένη από μέταλλα χερσαία έκταση που ταυτόχρονα χαρακτηρίζεται από αυξημένες συγκεντρώσεις αλάτων.

4.2.Συσσώρευση Cd στο φυτικό ιστό σε σχέση με τη συγκέντρωση του μετάλλου στο έδαφος

Οι τιμές pH και EC του εδάφους στο οποίο αναπτύχθηκαν τα μελετώμενα φυτά είναι οι εξής:

Ομάδα	pH εδάφους (αραίωση 1:1 με H ₂ O)		Ηλεκτρική αγωγιμότητα εδάφους (αραίωση 1:1 με H ₂ O)	
	Εύρος	M.T. ± τυπικό σφάλμα	Εύρος	M.T. ± τυπικό σφάλμα
0/0	6,05-6,47	6,28±0,10	0,248-0,785	0,42±0,12
0/1	5,97-6,15	6,04±0,04	15,85-18,38	17,08±0,52
0/0+Tr	6,0-6,43	6,24±0,09	0,277-0,995	0,62±0,18
25/0	5,96-6,6	6,41±0,12	302-1093	0,48±0,15
25\1	5,95-6,07	6,01±0,02	19,67-21,79	20,77±0,35
25/0+Tr	6,22-6,61	6,41±0,07	0,23-0,651	0,40±0,08

Πίνακας 9: Τιμές pH και EC του εδάφους των γλαστρών στις οποίες αναπτύχθηκαν τα φυτά του πειράματος.

Αντίστοιχα, οι συνολικές συγκεντρώσεις του Cd και οι συγκεντρώσεις του φυτοδιαθέσιμου κλάσματός του στο έδαφος στο οποίο διαβίωσαν τα φυτά του πειράματος παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

	0/0/0	0/1/0	0/0/T.h.	25/0/0	25\1\0	25/0/T.h.
Συγκέντρωση φυτοδιαθέσιμου Cd-H ₂ O extraction[mg/kg]						
Μέση τιμή ± τυλικό σφάλμα	0,156±0,04	0,087±0,03	0,052±0,02	0,231±0,01	0,556±0,04	0,254±0,01
Συγκέντρωση φυτοδιαθέσιμου Cd-HCl extraction[mg/kg]						
Μέση τιμή ± τυλικό σφάλμα	0,132±0,02	0,069±0,004	0,209±0,13	55,242±4,10	32,722±1,66	59,129±2,24
Συγκέντρωση φυτοδιαθέσιμου Cd-DTPA extr.[mg/kg]						
Μέση τιμή ± τυλικό σφάλμα	0,056±0,02	0,042±0,002	0,130±0,09	41,024±3,58	23,695±0,85	43,580±1,51
Ολική συγκ. Cd υπολογ. μετά την εκχύλιση με DTPA[mg/kg]						
Μέση τιμή ± τυλικό σφάλμα	0,104±0,09	0,006±0,006	0,084±0,05	8,179±0,71	4,617±0,37	8,536±1,13
Ολική συγκέντρωση Cd στο έδαφος						
Μέση τιμή ± τυλικό σφάλμα	0,161±0,09	0,478±0,005	0,214±0,11	49,203±3,93	28,312±1,09	52,116±1,27

Πίνακας 10: Συγκεντρώσεις του ολικού και του βιοδιαθέσιμου Cd (σε mg μετάλλου / kg ξηρού βάρους εδάφους) στο χώμα ανάπτυξης των φυτών του πειράματος. Οι τιμές δίνονται ως μέση τιμή (n=4 για τις ομάδες 0/0/0, 0/1/0 & 0/0/T.h. και n=5 για τις ομάδες 25/0/0, 25\1\0 & 25/0/T.h.) ± τυπικό σφάλμα.

Οι χαμηλές τιμές της φυτοδιαθέσιμης συγκέντρωσης Cd, όπως αυτές υπολογίστηκαν με τη μέθοδο εξαγωγής 1:10 H₂O, δείχνουν ότι το άμεσα διαθέσιμο Cd κυμαίνεται σε χαμηλά ποσά.

Αντίθετα, οι τιμές του φυτοδιαθέσιμου Cd μετρημένες με τη μέθοδο του HCl κυμαίνονται σε υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με αυτές της μεθόδου DTPA, γεγονός που πιθανά οφείλεται στο ότι το εξαγωγίμο με HNO₃ ποσοστό των βαρέων μετάλλων στο έδαφος, είναι το γεωχημικά ενεργό, δηλαδή συχνά όχι μόνο το άμεσα φυτοδιαθέσιμο αλλά και το ανταλλάξιμο με τα εδαφικά σωματίδια ποσοστό τους (Tipping et al., 2003). Συνήθως το εξαγωγίμο ποσοστό του μετάλλου με DTPA

προσεγγίζει ικανοποιητικά το βιοδιαθέσιμο κλάσμα του όταν η διακύμανση του pH είναι μικρή (Sukkariyah et al., 2005)

Το φυτοδιαθέσιμο Cd, όπως αυτό μετρήθηκε με τη μέθοδο εξαγωγής με DTPA, ως ποσοστό της συνολικής ποσότητας του μετάλλου στο έδαφος, κυμάνθηκε μεταξύ 83%-84%, τιμές που είναι υψηλές. Τα αυξημένα αυτά ποσοστά δηλώνουν ότι το μεγαλύτερο μέρος του Cd ήταν διαθέσιμο για πρόσληψη από τα φυτά.

Οι τιμές του ολικού Cd στο έδαφος προέκυψαν από την πρόσθεση των συγκεντρώσεων του μετάλλου όπως αυτές μετρήθηκαν μετά την εκχύλιση με το DTPA και των φυτοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων όπως αυτές προέκυψαν από την εκχύλιση με το DTPA.

Οι τιμές του ολικού Cd στο έδαφος που προέκυψαν από τις πειραματικές μετρήσεις κυμαίνονται σε υψηλότερα επίπεδα από τα 25 ppm που θεωρείται η τυπική εδαφική συγκέντρωση λόγω της προσθήκης του Cd στην αρχή της πειραματικής διαδικασίας. Η υπέρβαση οφείλεται στο χειρισμό των δειγμάτων εδάφους κατά την προετοιμασία τους για τις μετρήσεις. Με τη λειοτρίβηση και κοσκίνηση τα μεγαλύτερα συσσωματώματα μετατράπηκαν σε μικρότερα με αποτέλεσμα η μετρούμενη συγκέντρωση να είναι μεγαλύτερη. Μπορεί προσεγγιστικά να θεωρηθεί ότι η συγκέντρωση του Cd που προστέθηκε στο έδαφος μειώνεται σημαντικά στο τμήμα της μάζας των αρχικών εδαφικών συσσωματωμάτων το οποίο αντιστοιχεί στα εσωτερικότερα 8 mm της διαμέτρου τους. Εάν επίσης θεωρηθεί ότι ένα μέσο εδαφικό συσσωμάτωμα πριν τη θραύση του στο εργαστήριο είχε διάμετρο 10 mm, τότε μπορεί να υποθεθεί ότι μετά τη λειοτρίβηση, για τις μετρήσεις ελήφθησαν μικρότερα εδαφικά κομμάτια που αντιστοιχούσαν στα εξωτερικά 2 mm της διαμέτρου των μέσων αρχικών εδαφικών συσσωματωμάτων. Οπότε προσεγγιστικά μπορεί να ισχύσει: $C_{\text{τυπική}} = (C_1 \times V_1 + C_2 \times V_2) / (V_1 + V_2)$ όπου C_1 και $V_1 = [(4/3) \cdot \pi \cdot (r_1^3 - r_2^3)]$, $r_1 = 10 \text{ mm}$, $r_2 = 8 \text{ mm}$ η συγκέντρωση μετάλλου και ο όγκος του τμήματος των αρχικών εδαφικών συσσωματωμάτων που απορρόφησε σημαντική ποσότητα Cd, και αντίστροφα C_2 και $V_2 = [(4/3) \cdot \pi \cdot r_2^3]$ τα αντίστοιχα μεγέθη για το τμήμα των συσσωματωμάτων που δεν εισχώρησε το Cd. Η C_1 ταυτίζεται με την ολική εδαφική συγκέντρωση Cd που αναμένεται να μετρηθεί στο εργαστήριο και η $C_{\text{τυπική}}$ με τα 25 ppm που αρχικά προστέθηκαν. Το αποτέλεσμα των παραπάνω πράξεων ήταν $C_1 = 51,23 \text{ ppm}$, πολύ κοντά στα 49,2 ppm που όντως μετρήθηκε στα φυτά της ομάδας 25/0/0.

Οι συγκεντρώσεις ολικού εδαφικού Cd που βρέθηκαν για τις ομάδες ελέγχου (M.T: 0,16-0,48 mg/kg ξ.β. εδάφους) κυμαίνονται κάτω από το εύρος των 1-2 mg/kg ξ.β. που είναι η διακύμανση των μέσων συγκεντρώσεων του μετάλλου σε μη ρυπασμένα εδάφη (Maestri et al., 2010) αλλά και κάτω από το περιβαλλοντικό όριο συγκέντρωσης Cd για ακαλλιέργητη έκταση που ισχύει στην Κίνα (Environmental Quality Standard for Soils GB 15618-1995 από Huang et al., 2009).

Χρησιμοποιώντας την ολική συγκέντρωση του Cd στο έδαφος ($C_{\text{soil-total}}$) και τη συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα των φυτών, που είναι και τα συγκομιζόμενα, μπορεί να υπολογιστεί ο BCF ($\text{BCF} = C_{\text{shoots}}/C_{\text{soil-total}}$) του *C. maritimum* για το Cd, όπως φαίνεται στον Πίνακα 13 που ακολουθεί:

Ομάδα φυτών	Συντελεστής βιοσυσώρευσης <i>C.maritimum</i>
0/0/0	7,98
0/1/0	3,92
0/0/T.h.	9,1
25/0/0	0,71
25\1\0	5,09
25/0/T.h.	0,29

Πίνακας 11: BCF του *C. maritimum* για το Cd.

Ο BCF για τα φυτά που δέχθηκαν μόνο την καταπόνηση από το Cd (0,71) ήταν πολύ κοντά στο εύρος 0,72-1,01 που υπολόγισαν για το *Apium graveolens* (συσσώρευση Cd) οι Yang et al. (2011), εμφανώς υψηλότερος από τον αντίστοιχο που βρήκαν οι Cheraghi et al. (2013) για την απορρόφηση του Cd από το *Echinophora platyloba* (Apiaceae), ο οποίος ήταν 0,31 και ελαφρώς μεγαλύτερος από το 0,56 που βρέθηκε για τα *Eryngium ilicifolium* (Apiaceae) και *E.triquetrum* (Apiaceae) κατά τη συσσώρευση του συγκεκριμένου μετάλλου από έδαφος (Nouri et al., 2013). Ένα φυτό θεωρείται υπερσυσσωρευτής μετάλλων όταν χαρακτηρίζεται από BCF μεγαλύτερο της μονάδας ($\text{BCF} > 1$), ενώ υπάρχουν φυτικά είδη της συγκεκριμένης κατηγορίας στα οποία η συγκεκριμένη τιμή κυμαίνεται ακόμα και μεταξύ 50-100 (Bhargava et al., 2012). Φυτά που χαρακτηρίζονται από $0,1 < \text{BCF} < 1$ συγκαταλέγονται στους «μέτριους» (moderate) συσσωρευτές και αυτά με $0,01 < \text{BCF}$

<0,1 ανήκουν στους «ασθενείς» (low) συσσωρευτές (Netty et al., 2012). Με βάση την παραπάνω κατηγοριοποίηση και τα πειραματικά αποτελέσματα προκύπτει ότι ο κρίταμος δρα ως υπερσυσσωρευτής Cd όταν αρδεύεται με νερό υψηλής αλατότητας και ως «μέτριος» συσσωρευτής του μετάλλου όταν αρδεύεται με νερό φυσιολογικής αλατότητας.

Αν και έχει παρατηρηθεί ότι προσθήκη μυκήτων του γένους *Trichoderma* αυξάνουν το συντελεστή βιοσυσσώρευσης του *Salix spp* για το Cd (Kacprzak et al., 2014), τα πειραματικά αποτελέσματα στα φυτά των ομάδων επέμβασης με Cd έδειξαν ότι η προσθήκη του μύκητα μείωσε τον BCF.

Σύμφωνα με τους Peuke & Rennenberg, (2005), επιτυχημένη και οικονομικά βιώσιμη φυτοσυσσώρευση απαιτεί να χρησιμοποιούνται φυτά τα οποία να έχουν συντελεστή βιοσυσσώρευσης τουλάχιστον 10 και τα οποία να παρέχουν τη δυνατότητα παραγωγής βιομάζας τουλάχιστον 20 tn/ha ή διαφορετικά φυτά με BCF τουλάχιστον 20 και παραγωγή βιομάζας τουλάχιστον 10 tn/ha. Ο BCF για τον κρίταμο, ακόμα και σε υψηλή εδαφική αλατότητα απέχει εμφανώς από τις παραπάνω τιμές.

4.3. Επίδραση του Cd, της εδαφικής αλατότητας και του μύκητα *Trichoderma harzianum* στα παραγωγικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού

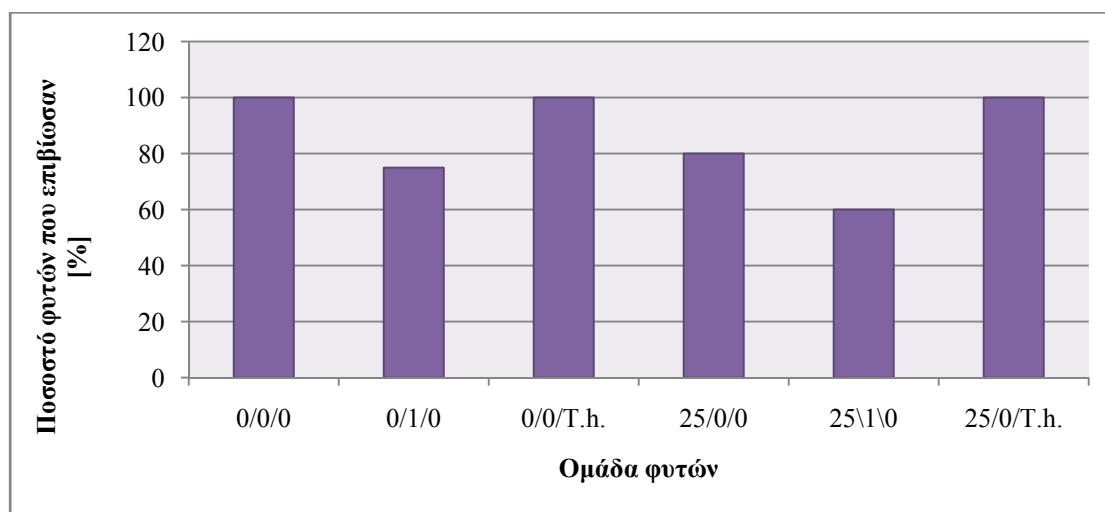
Το Cd μπορεί να επιδράσει στις λειτουργικές ομάδες βιομορίων των φυτών, προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο, στα φυτά, οξειδωτική καταπόνηση (Fernandez et al., 2013). Συγκεκριμένα έχει την ικανότητα να αναστείλλει τη δράση σειράς ενζύμων και κυρίως αυτών του κύκλου του Calvin και της βιοσύνθεσης της χλωροφύλλης (Vitoria et al., 2001). Επίσης το Cd, στα φυτά, μπορεί να διαταράξει την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, να προκαλέσει καταστροφή της χλωροφύλλης (Vitoria et al., 2001) και υπεροξείδωση των λιπιδίων (Fernandez et al., 2013) εξαιτίας της ενεργοποίησης της δραστηριότητας των NADPH και της επακόλουθης συσσώρευσης εξωκυτταρικού H_2O_2 (Nazar et al., 2012). Επιπρόσθετα μεταβάλλει την πρόσληψη των ιχνοστοιχείων και παρεμποδίζει το μεταβολισμό των υδατανθράκων σε ένα φυτό, καθώς επίσης και το άνοιγμα των στομάτων εξαιτίας της επιρροής του στο φυτικό υδατικό ισοζύγιο (Nazar et al., 2012). Σε επίπεδο συμπτωμάτων, το Cd περιορίζει την ανάπτυξη των φυτών και μπορεί να προκαλέσει ερυθρό χρωματισμό των νευρώσεων

των φύλλων τους, χλώρωση, ακόμα και νέκρωσή τους (Mohamed et al., 2012, Irfan et al., 2013).

4.3.1.Επίδραση των επεμβάσεων στη βιωσιμότητα και τη βιομάζα των φυτών

Η καταγραφή της κατάστασης των φυτών κατά τη διάρκεια και κατά τη λήξη του πειράματος κατέδειξε ότι συμπτώματα τοξικότητας, που οδήγησαν στη νέκρωση, εμφάνισαν πρωτίστως τα φυτά που δέχθηκαν τη συνεργιστική επίδραση του καδμίου και της υψηλής εδαφικής αλατότητας και δευτερευόντως εκείνα τα οποία εκτέθηκαν σε υψηλή αλατότητα.

Σε σύνολο 27 φυτών, στο τέλος του πειράματος, διαπιστώθηκε η ύπαρξη 4 νεκρών, ένα στην ομάδα B(0/1/0), ένα στην ομάδα D(25/0/0) και δύο στην ομάδα E(25\1\0) [Σχήμα 3]. Το γεγονός ότι 3 από τα 4 νεκρά φυτά ανήκαν σε ομάδα επέμβασης με Cd, αποτελεί ένδειξη τοξικότητας του Cd απέναντι στο *C. maritimum*.



Σχήμα 3: Ποσοστό (%) των φυτών που είχαν επιβιώσει στο τέλος του πειράματος. Οι ομάδες των φυτών αναπτύχθηκαν σε έδαφος καθαρό και ρυπασμένο με 25ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους, με ή χωρίς την προσθήκη δ/τος 1% κ.β. NaCl στο νερό άρδευσης, και με ή χωρίς την προσθήκη του *T.harzianum* στο έδαφος. Απεικονίζονται οι μέσες τιμές ($n=4$ για τις ομάδες 0/0/0, 0/1/0 & 0/0/T.h και $n=5$ για τις ομάδες 25/0/0, 25\1\0 & 25/0/T.h.) \pm τυπικό σφάλμα.

Παρατηρείται στο Σχήμα 3, κατά τη σύγκριση των αντίστοιχων ομάδων που δέχθηκαν ή όχι την επίδραση του Cd, ότι η παρουσία του μετάλλου μείωσε το βαθμό επιβίωσης των φυτών, εκτός από την περίπτωση που ήταν παρών ο μύκητας *T. harzianum*. Επίσης, στο ίδιο σχήμα διακρίνεται μείωση της επιβίωσης των φυτών οφειλόμενη μόνο στην προσθήκη του αλατούχου διαλύματος στο έδαφος και

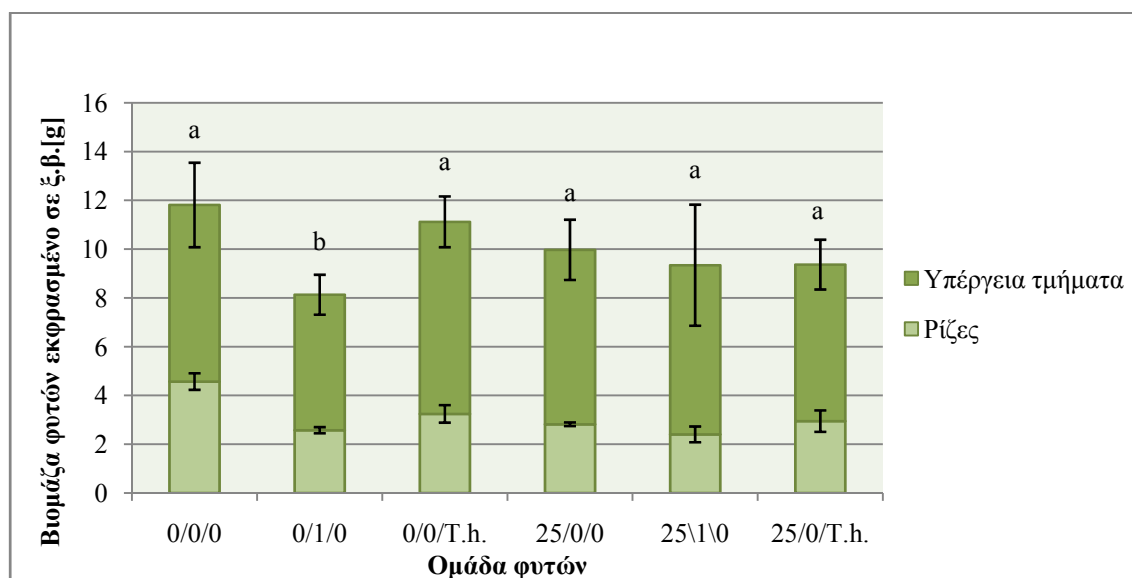
αυξημένη αρνητική συνεργιστική επίδραση NaCl-Cd στη βιωσιμότητα του φυτού, προφανώς λόγω και των ιδιαίτερα υψηλών συσσωρευμένων ποσοτήτων Cd στους ιστούς του κρίταμου, αφού η C_{shoots} στα φυτά της ομάδας 25\1\0 (144,2 ppm) είναι πολλαπλάσια των ελάχιστων συγκεντρώσεων που θεωρούνται φυτοτοξικές, δηλαδή των 5-30ppm (Orcutt & Nilsen, 2000).

Αν και στο Σχήμα 4 που απεικονίζει τη διακύμανση της βιομάζας των φυτών που μελετήθηκαν, διακρίνεται μία μικρή μείωση της λόγω της επίδρασης της προσθήκης Cd, στα φυτά που ποτίζονταν με νερό του δικτύου και σε αυτά που δέχθηκαν την επίδραση του μύκητα, αυτές οι μεταβολές δεν είναι στατιστικά σημαντικές (t-test, $P > 0,1$), σε αντίθεση με την υπολογίσιμη μείωση που παρατήρησαν στα υπέργεια τμήματα και τις ρίζες των *Brassica juncea*, *Vigna ambacensis* και *Triticum spp* (σίτος), λόγω του Cd, οι Irfan et al. (2012).

Στατιστικά σημαντική (t-test, $P < 0,1$) είναι μόνο η μείωση της συνολικής βιομάζας που προξένησε η εδαφική αλατότητα 1% κ.β. NaCl (≈ 170 mM) στο νερό άρδευσης, οπότε και η μέση τιμή της βιομάζας μειώθηκε κατά 31,16%. Σημαντική μείωση της βιομάζας του *C. maritimum* κατέγραψαν και οι Ben Amor et al. (2005), κατά την εφαρμογή αλατότητας 200mM. Η μείωση της βιομάζας στην ομάδα επέμβασης με αλατότητα αποδίδεται στη μειωμένη οσμωρύθμιση εξαιτίας της υψηλής ενεργειακής απαίτησης των μηχανισμών πρόσληψης των ιόντων του αλατιού και της πραγματοποιούμενης αυξημένης διαπνοής (Khan et al., 2000, Μανουσάκη, 2008). Έτσι, ουσιαστικά, σε υψηλά επίπεδα αλατότητας, ενώσεις όπως οι $MgCl_2$, $MgSO_4$, Na_2SO_4 και NaCl ασκούν στο συγκεκριμένο φυτό αρνητική οσμωτική και ιοντική επίδραση (Atia et al., 2011).

Η ανάπτυξη των δικοτυλήδονων κυρίως αλόφυτων (δικοτυλήδονο είναι και το *C. maritimum*) προάγεται σε αλατότητα μεγαλύτερη των 200 mM και των μονοκοτυλήδονων κυρίως σε αλατότητα μεγαλύτερη των 170 mM (Läuchi & Epstein, 1984). Λαμβάνοντας υπόψη την παραπάνω διαπίστωση και τον ορισμό των Flowers et al. (1986), ότι αλόφυτα είναι τα φυτά εκείνα τα οποία μπορούν να ολοκληρώσουν τον κύκλο ζωής τους σε επίπεδα αλατότητας τουλάχιστον 200 mM και σε συνθήκες φυσικού περιβάλλοντος, τότε τα πειραματικά ευρήματα της παρούσας εργασίας αποκλίνουν από την αλοφυτική φύση του κρίταμου. Πιθανόν, η μείωση αυτή της βιομάζας να οφείλεται στο γεγονός ότι ο κρίταμος είναι δυνητικώς

αλόφυτο, το οποίο σημαίνει ότι μπορεί να επιβιώσει σε υψηλή εδαφική αλατότητα αλλά δεν θα προαχθεί η ανάπτυξή του λόγω αυτής. Μπορεί να υποτεθεί ότι η παραπάνω μείωση της βιομάζας θα είναι μικρότερη ή ότι θα παρατηρηθεί αύξησή της εάν το φυτό αρδευθεί με νερό χαμηλότερης αλατότητας, όπως διαπίστωσαν και οι Ben Amor et al. (2005) κατά την άρδευση του *C. maritimum* με νερό αλατότητας 0,5% κ.β. NaCl (=85mM) οπότε και τα υπέργεια και ριζικά τμήματα του φυτού αναπτύχθηκαν σημαντικά. Η αύξηση αυτή αποδίδεται στην αξιοποίηση της αυξημένης πρόσληψης ιόντων από το φυτό με σκοπό την κυτταρική ανάπτυξη και τη διατήρηση της σπαργής των κυττάρων του.

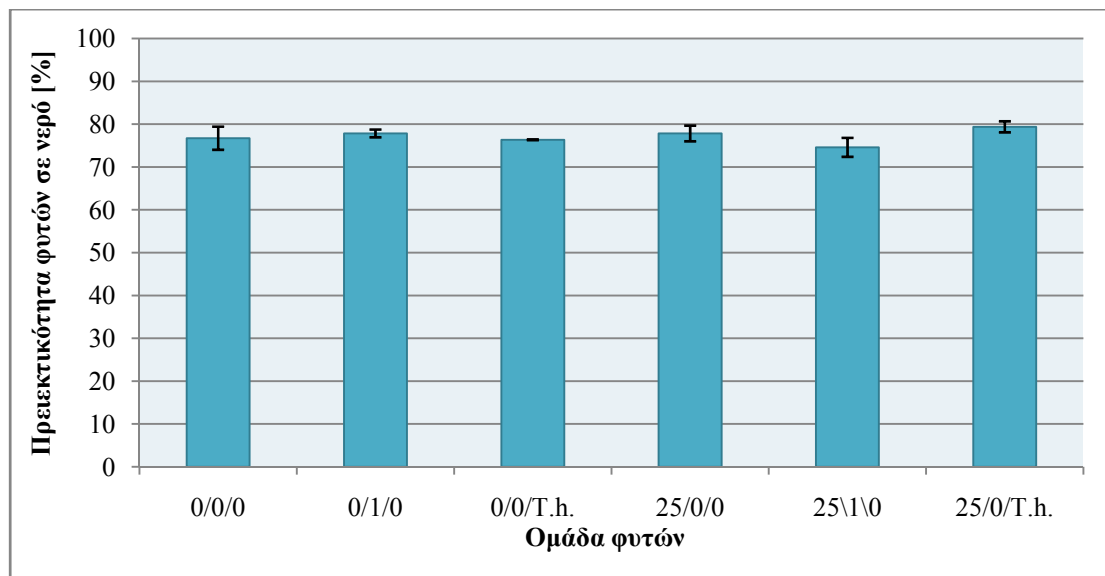


Σχήμα 4: Βιομάζα των φυτών του πειράματος, εκφρασμένη ως γραμμάρια ξηρού βάρους φυτικών ιστών, για φυτά που αναπτύχθηκαν σε έδαφος καθαρό και ρυπασμένο με 25ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους, με ή χωρίς την προσθήκη δ/τος 1% κ.β. NaCl στο νερό άρδευσης, και με ή χωρίς την προσθήκη του *T.harzianum* στο έδαφος. Απεικονίζονται οι μέσοι όροι ($n=3$ εκτός από ομάδες 25/0/0: $n=4$ & 25/0/T.h.: $n=5$) \pm τυπικό σφάλμα. Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των στηλών αντιπροσωπεύουν σημαντική στατιστική διαφορά της ομάδας επέμβασης σε σχέση με την αρχική ομάδα ελέγχου (0/0/0) (two sample- t-test, $P<0,1$).

4.3.2. Επίδραση των επεμβάσεων στην περιεκτικότητα σε νερό των φυτικών ιστών

Αν και στα αποτελέσματα των μετρήσεων της περιεκτικότητας σε νερό των υπέργειων τμημάτων των φυτών του πειράματος που εκτέθηκαν στο Cd [Σχήμα 5], παρατηρείται αφενός μία μικρή μείωση λόγω άρδευσής τους με νερό υψηλής αλατότητας και αφετέρου μία μικρή αύξηση στα φυτά στα οποία έγινε η επέμβαση με

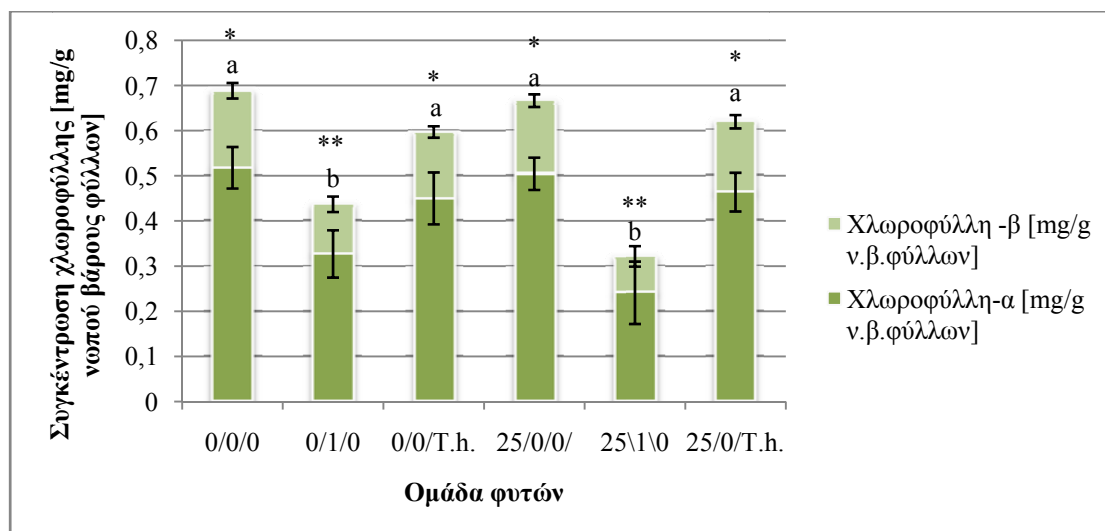
το μύκητα, εντούτοις οι μεταβολές αυτές δεν είναι στατιστικά σημαντικές σύμφωνα με το t-test ($P > 0,1$).



Σχήμα 5: Περιεχόμενο σε νερό (%) των υπέργειων φυτικών τμημάτων του *C. maritimum*, το οποίο αναπτύχθηκε σε έδαφος καθαρό και ρυπασμένο με 25ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους, με ή χωρίς την προσθήκη δ/τος 1% κ.β. NaCl στο νερό άρδευσης, και με ή χωρίς την προσθήκη του *T.harzianum* στο έδαφος. Απεικονίζονται οι μέσοι όροι ($n=3$ εκτός από ομάδες 25/0/0: $n=4$ & 25/0/T.h.: $n=5$) \pm τυπικό σφάλμα.

4.3.3.Επίδραση των επεμβάσεων στα επίπεδα χλωροφύλλης των φυτών

Από τα πειραματικά αποτελέσματα, [Σχήμα 6], διακρίνεται ότι το επίπεδο ολικής χλωροφύλλης του μελετώμενου φυτού μειώθηκε σημαντικά εξαιτίας της αυξημένης αλατότητας στο νερό άρδευσης και ακόμη περισσότερο εξαιτίας της ταυτόχρονης καταπόνησης υψηλής αλατότητας και μετάλλου. Η προσθήκη αλατότητας μείωσε κατά μέσο όρο την ολική χλωροφύλλη έως και κατά 51,74% και η συνδυασμένη καταπόνηση της προσθήκης NaCl και Cd την μείωσε κατά 53,28% σε σχέση με τα επίπεδά της στα φυτά της ομάδας 0/0/0.



Σχήμα 6: Συγκέντρωση χλωροφύλλης (mg χλωροφύλλης / g νωπού βάρους φύλλων) στα φυτά *C. maritimum*, τα οποία αναπτύχθηκαν σε έδαφος καθαρό και ρυπασμένο με 25ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους, με ή χωρίς την προσθήκη δ/τος 1% κ.β. NaCl στο νερό άρδευσης, και με ή χωρίς την προσθήκη του *T.harzianum* στο έδαφος. Διακρίνονται οι μέσοι όροι ($v=3$ εκτός από ομάδες 25/0/0: $v=4$ & 25/0/T.h.: $v=5$) \pm το τυπικό σφάλμα. Διαφορετικό γράμμα δηλώνει σημαντική στατιστική διαφορά της συγκέντρωσης ολικής χλωροφύλλης μίας ομάδας σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες επέμβασης Cd ή σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες επέμβασης ελέγχου (two sample t-test, $P<0,1$). Ο διαφορετικός αριθμός αστερίσκων δηλώνει σημαντική στατιστική διαφορά μίας ομάδας σε σχέση με την αρχική ομάδα ελέγχου 0/0/0 (two-sample t-test, $P<0,1$).

Η παραπάνω επίδραση της αλατότητας στις ομάδες 0/1/0 και 25\1\0 αποκλίνει από την αλοφυτική φύση του εξεταζόμενου φυτού. Στην πρώτη περίπτωση μπορεί να αποδοθεί στην υψηλή περιεκτικότητα NaCl του νερού άρδευσης (1% κ.β.) και στη δεύτερη στην πολύ υψηλή συγκέντρωση του μετάλλου στους υπέργειους ιστούς (M.T: 144,2 ppm).

Τα πειραματικά αποτελέσματα δεν έδειξαν στατιστικά σημαντική μείωση της χρωστικής στα φυτά των ομάδων 25/0/0 και 25/0/T.h. σε σχέση με την αρχική ομάδα ελέγχου, δηλαδή φάνηκε ότι η παρουσία του Cd αυτοτελώς δεν επηρεάζει τη χλωροφύλλη σε αντίθεση με τη μείωση της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη που καταγράφηκε στο *Targetes erecta* L. λόγω της παρουσίας του μετάλλου, επηρεάζοντας τη σύνθεση των μετεχόντων στη φωτοσύνθεση ενζύμων (Wu & Xia, 2006).

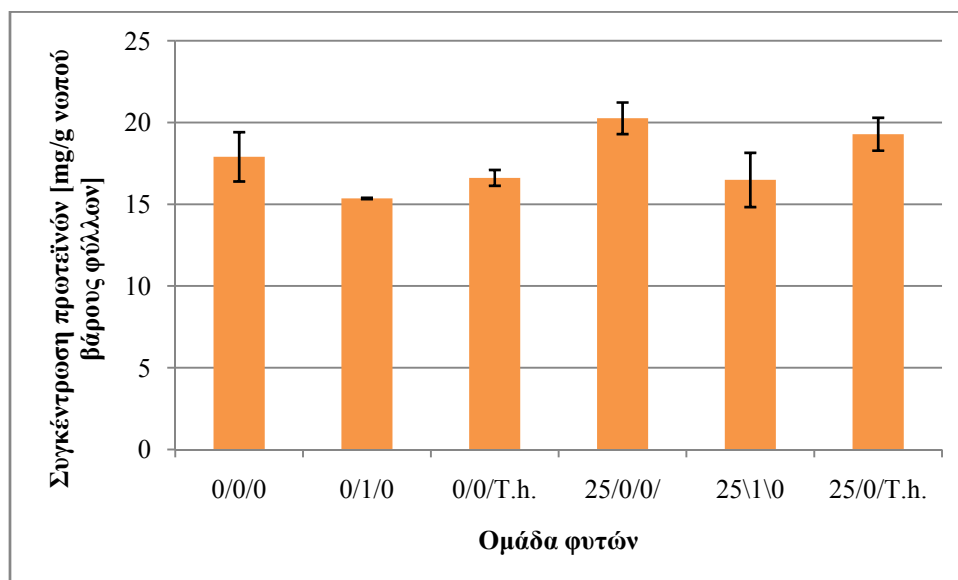
Από τα εξαχθέντα δεδομένα για τη χλωροφύλλη-α και τη χλωροφύλλη-β διαπιστώνεται ότι ο λόγος των συγκεντρώσεών τους, [Πίνακας 11], δεν μεταβάλλεται σημαντικά (<4,7%) μεταξύ των ομάδων, οπότε συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει συγκριτική αυξημένη ευαισθησία της μίας ή της άλλης χρωστικής απέναντι στους παράγοντες καταπόνησης που εξετάστηκαν.

Ομάδα φυτών	(χλωροφύλλη-α)/(χλωροφύλλη-β)
0/0/0	3,04
0/1/0	2,98
0/0/T.h.	3,06
25/0/0/	3,12
25\1\0	2,99
25/0/T.h.	2,98

Πίνακας 12: Λόγος συγκεντρώσεων χλωροφύλλης-α προς χλωροφύλλης-β των φυτών του πειράματος.

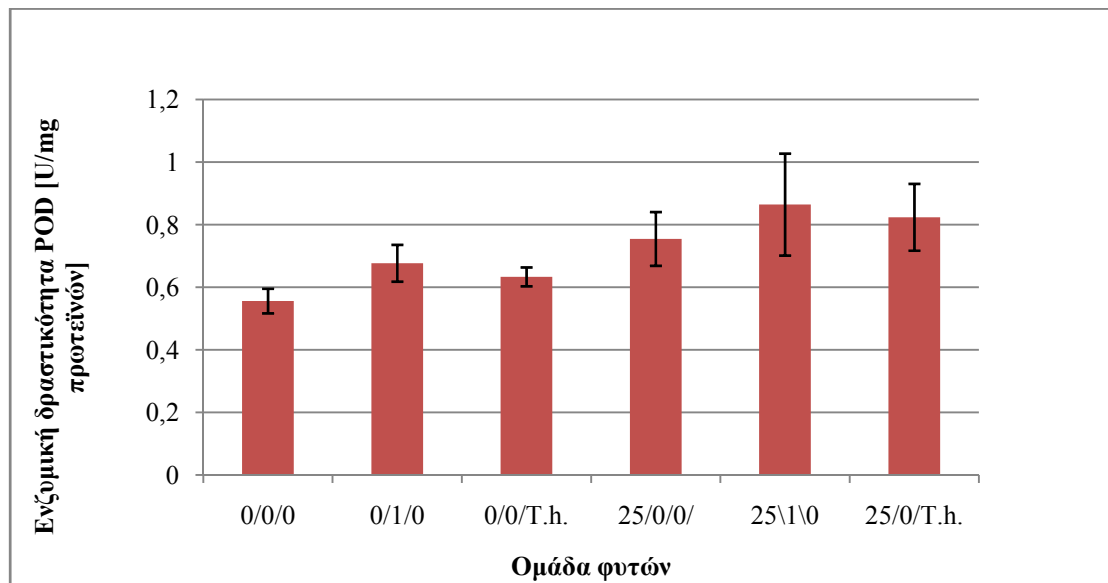
4.3.4. Επίδραση των επεμβάσεων στην περιεκτικότητα των φύλλων σε πρωτεΐνες και στην ενζυμική δραστηριότητα της υπεροξειδάσης των φυτών

Οι μεταβολές της περιεκτικότητας των φύλλων του κρίταμου σε πρωτεΐνες λόγω των επεμβάσεων του πειράματος δεν είναι στατιστικά σημαντικές (two-sample t-test, $P > 0,10$). Η μικρή παρατηρούμενη αύξηση στην πρωτεϊνική συγκέντρωση των φυτών που δέχθηκαν την επίδραση μόνο του μετάλλου, [Σχήμα 7], μπορεί να αποδοθεί στην προσθήκη του Cd ως $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ επειδή το άζωτο δρα θετικά στις παραμέτρους ανάπτυξης ενός φυτού.



Σχήμα 7: Περιεκτικότητα των φύλλων του *C. maritimum* σε πρωτεΐνες (mg/g νωπού βάρους φύλλων), σε φυτά τα οποία αναπτύχθηκαν σε έδαφος καθαρό και ρυπασμένο με 25ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους, με ή χωρίς την προσθήκη δ/τος 1% κ.β. NaCl, και με ή χωρίς την προσθήκη του *T. harzianum* στο έδαφος. Φαίνονται οι μέσοι όροι ($n=3$ εκτός από ομάδες 25/0/0: $n=4$ & 25/0/T.h.: $n=5$) \pm το τυπικό σφάλμα.

Αν και στο Σχήμα 8 διακρίνεται υψηλότερη δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλης (POD) σε όλες τις ομάδες επέμβασης με κάδμιο σε σχέση με τις ομάδες επέμβασης ελέγχου, εντούτοις οι μεταβολές δεν είναι στατιστικά σημαντικές (two-sample t-test, $P > 0,1$).



Σχήμα 8: Ενζυματική δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γουαϊακόλης (μονάδες ενεργότητας / mg πρωτεϊνών) στο *C. maritimum*, το οποίο αναπτύχθηκε σε έδαφος καθαρό και ρυπασμένο με 25ppm Cd ξηρού βάρους εδάφους, με ή χωρίς την προσθήκη δ/τος 1% κ.β. NaCl, και με ή χωρίς την προσθήκη του *T.harzianum* στο έδαφος. Φαίνονται οι μέσοι όροι ($n=3$ εκτός από ομάδες 25/0/0: $n=4$ & 25/0/T.h.: $n=5$) \pm το τυπικό σφάλμα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μέση συγκέντρωση του μετάλλου στα υπέργεια τμήματα του εξεταζόμενου φυτού μπορεί να δικαιολογήσει το χαρακτηρισμό του ως συσσωρευτή Cd αφού υπερβαίνει τα 20 ppm (Coleman et al., 2005) και επομένως μπορεί να δοθεί βαρύτητα στην αξιοποίηση του κρίταμου σε διεργασίες φυτοσυσσώρευσης. Τα υψηλά επίπεδα βιοδιαθεσιμότητας του Cd στο έδαφος είναι βέβαιο ότι συνετέλεσαν, έως ένα βαθμό, στις υψηλές συγκεντρώσεις του μετάλλου στους φυτικούς ιστούς. Στα υπέργεια τμήματα των φυτών του πειράματος που αρδεύθηκαν με αλατούχο διάλυμα μετρήθηκαν θεαματικά υψηλότερες συγκεντρώσεις του μετάλλου σε σχέση με αυτές των υπόλοιπων ομάδων, αντίστοιχες με αυτές υπερσυσσωρευτών Cd (>100 ppm, Coleman et al., 2005). Επομένως, όταν η αλατότητα είναι υψηλή στο νερό άρδευσης ή στο ίδιο το έδαφος ανάπτυξης, το *C. maritimum* μπορεί να επιτύχει υψηλότερη απόδοση φυτοσυσσώρευσης. Εντούτοις, δεν μπορεί με βάση τα αποτελέσματα να χαρακτηριστεί και τυπικά υπερσυσσωρευτής επειδή σε όλες τις περιπτώσεις η συγκέντρωση Cd στα υπέργεια τμήματα του ήταν μικρότερη από αυτή των ριζών του. Αντίθετα, αναφερόμενοι ξανά στα φυτά που δέχθηκαν τη διπλή καταπόνηση καδμίου-υψηλής αλατότητας, πληρούν ένα ακόμη κριτήριο υπερσυσσώρευσης μετάλλων αφού υπολογίστηκε ότι ο συντελεστής βιοσυσσώρευσής τους είναι μεγαλύτερος της μονάδας.

Ακόμη διαπιστώνεται η ανθεκτικότητα του φυτικού αυτού είδους απέναντι στο εξεταζόμενο μέταλλο αφού, αν και οι συγκεντρώσεις Cd στα φυτά ήταν πάνω και από την ανώτερη τιμή του εύρους φυτοτοξικότητας του μετάλλου (5-30 ppm, Orcutt & Nilsen, 2000), τα χαρακτηριστικά τους που εξετάστηκαν παρέμειναν σχεδόν αμετάβλητα. Η παραπάνω διαπίστωση αποτελεί ένδειξη ότι η ανοχή του κρίταμου στη συσσώρευση Cd είναι υψηλή. Η στατιστικά υπολογίσιμη μείωση της ολικής βιομάζας και της ολικής χλωροφύλλης που καταγράφηκε οφείλεται αποκλειστικά ή κατά κύριο λόγο στην προσθήκη NaCl στο νερό άρδευσης, η οποία επιδρά αρνητικά στο φυτό, με αποτέλεσμα να υποθέτεται ότι ο κρίταμος ανταπεξέρχεται καλύτερα σε

χαμηλότερες συγκεντρώσεις άλατος. Ο χαμηλότερος βαθμός επιβίωσης των φυτών που δέχθηκαν τη συνεργιστική καταπόνηση Cd και υψηλής αλατότητας μπορεί να αποδοθεί στην τοξικότητα της ιδιαίτερα υψηλής συγκέντρωσης του μετάλλου που μετρήθηκε στους ιστούς των φυτών της συγκεκριμένης ομάδας.

Αν και το *C. maritimum* χαρακτηρίζεται από μικρή παραγωγή βιομάζας, εντούτοις η ανθεκτικότητα που παρουσιάζει απέναντι στο Cd μαζί με την μεγάλη απορρόφηση του μετάλλου που το χαρακτηρίζει, ιδιαίτερα σε συνθήκες υψηλής εδαφικής αλατότητας, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι αποτελεί ενδημικό είδος συγκεκριμένων περιοχών, περιλαμβανόμενης της Κρήτης φαίνεται ότι καθιστούν ελκυστική τη χρήση του σε εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης. Η χρήση του σε εφαρμογές φυτοσυσσώρευσης καδμίου όταν η αλατότητα του εδάφους είναι υψηλή αποκτά πρόσθετη σπουδαιότητα για την Κρήτη και για περιοχές κλιματολογικά συγγενείς με αυτή επειδή σημαντικός αριθμός εδαφών χαρακτηρίζεται από υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων λόγω του συνδυασμού καιρικών φαινομένων και ανθρωπογενών δραστηριοτήτων όπως η εντατικοποίηση των καλλιεργειών και η άρδευση αυτών με υφαλμυρισμένα υπόγεια ύδατα.

Αντίθετα, συμπεραίνεται ότι πρέπει να δίνεται προσοχή στη χρήση του κρίταμου ως βρώσιμο φυτικό είδος, αφού ακόμα και στα φυτά των ομάδων επεμβάσεων ελέγχου, οι συγκεντρώσεις του μετάλλου στα υπέργεια συγκομιζόμενα τμήματα υπερβαίνουν κατά πολύ το όριο ασφάλειας. Η προσθήκη του μύκητα *T. harzianum* απέτρεψε σε μεγάλο βαθμό τη μετακίνηση του Cd στα υπέργεια τμήματα του μελετώμενου φυτού, επιρροή που μπορεί να αξιοποιηθεί σε καλλιεργείες του κρίταμου με σκοπό τη διάθεσή του ως τροφή για τον άνθρωπο ή τα ζώα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Διεθνής βιβλιογραφία

- Aghaz M., Bandehagh A., Aghazade E., Toorchi M., Ghassemi-Gholezani K., 2013. "Effects of cadmium stress on some growth and physiological characteristics in dill (*Anethum graveolens*). International Journal of Agriculture: Research and Review, 3, 2, 409-413.
- Alara E., Romera F.J., Cannete M., De La Guardia M.D., 1994. "Effects of heavy metals on both induction and function of root Fe(III) reductase in Fe-deficient cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants" Journal of Experimental Botany, 45, 1893–1898.
- Alloway B.J., 1995. "Heavy metals in soil" Blackie, London.
- Anayat M., Agnihotri R.K., Vamil R., Sharma R., 2014. "Growth performance of *Foeniculum vulgare* L. under cadmium and mercury induced heavy metal stress" International Journal of Agriculture and Crop Sciences διαθέσιμο στο www.ijagcs.com, IJACS/2014/7-1/42-46.
- Angela P., Vitoria A.P., Lea P.J., Azevedo R.A., 2001. "Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues" Phytochemistry, 57, 701–710.
- Atia A., Barhoumi Z., Mokded R., Abdelly C., Smaoui A., 2011. "Environmental eco-physiology and economical potential of the halophyte *Crithmum maritimum* L. (Apiaceae): Review" Journal of Medicinal Plants Research, 5, 16, 3564-3571, 2175-2179.
- Baker A.J.M., Walker P.L., 1990. "Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants" In: "Heavy Metal Tolerance in Plants" Evolution Aspects, A.J. Shaw Ed, CRC Press, Boca Raton, pp. 155-177.
- Belouchi A., Kwan T., Gros P., 1997. "Cloning and characterization of the OsNramp family from *Oryza sativa*, a new family of membrane proteins possibly implicated in the transport of metal ions" Plant Molecular Biology, 33, 1085–92.
- Ben Amor N., Ben Hamed K., Debez A., Grignon C., Abdelly C., 2005. "Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity" Plant Science, 168, 889–899.
- Ben Hamed K., Castagna A., Salem E., Ranieri A., Abdelly C., 2007. "Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses" Plant Growth Regulation, 53, 185–194.
- Bhargava A., Carmona F., Bhargava M., Srivastava S., 2012. "Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals: review" Journal of Environmental Management, 105, 103-120.

Blaylock M.J., Huang J.W., 2000. "Phytoextraction of metals in: Raskin I., Ensley B.D., Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment" John Wiley, New York, pp 53-70.

Babula P., Adam V., Opatrilova R., Zehnalek J., Havel L., Kizek R., 2008. "Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity" Environmental Chem.Lett.,6, 189-213.

Bosch M.C., 2010. "Analytical strategies based on inductively coupled plasma spectroscopy (ICP) and diffusive gradients in thin films (DGT) techniques for the assessment of environmental pollution indicators" Doctoral Thesis, Chemistry Department, University of Girona.

Bowler C., Montagu M., Inze D., 1992. "Superoxide dismutase and stress tolerance" Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,43, 83–116.

Boyd R.S., Martens S.N., 1992. "The raison d'être for metal hyperaccumulation by plants In: Baker A.J.M., Proctor J., Reeves R.D: The vegetation of ultramafic soils" Intercept, Andover, UK, pp 279-289.

Brennan, M.A., Shelley, M.L. (1999). "A model of the uptake, translocation, and accumulation of lead (Pb) by maize for the purpose of phytoextraction" Ecological Engineering, 12, 271-297.

Burzynski M., 1988. "The uptake and accumulation of phosphorus and nitrates and the activity of nitrate reductase in cucumber seedlings treated with Pb and Cd" Acta Soc. Bot., 57, 349–359.

Canalejo A., Martínez-Domínguez D., Cordoba F., Torronteras R., 2014. "Salt tolerance is related to a specific antioxidant response in the halophyte cordgrass, *Spartina densiflora*" Estuarine, Coastal and Shelf Science, 146, 68-75.

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" Journal of Environmental Quality, 36, 1429-1443.

Cheraghi M., Mosavinia S.M., Lorestani B., 2013. "Heavy metal contamination in soil and some medicinal plant species in Ahangaran lead-zinc mine" J. Adv. Environ. Health Res., 1, 1, 29-34.

Cieslinski G.K.C., Van Rees J., Szmigielska A.M., Krishnamurti G.S.R., Huang P.M., 1998. "Low-molecular-weight organic acids in rhizosphere soils of durum wheat and their effect on cadmium bioaccumulation" Plant Soil, 203, 109–17.

Citterio S., Prato N., Fumagalli P., Aina R., Massa N., Santagostino A., Sgorbati S., Berta G., 2005. "The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* induces growth and metal accumulation changes in *Cannabis sativa* L." Chemosphere, 59, 21–29.

Cobbett C.S., 2000. "Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification" Current Opinion in Plant Biology, 3, 211–6.

Coleman C., Boyd R., Eubanks D., 2005. “Extending the elemental defense hypothesis: dietary metal concentrations below hyperaccumulator levels could harm herbivores” *Journal of Chemical Ecology*, 31, 8.

Connolly E.L., Fett J.P., Guerinot M.L., 2002. “Expression of the IRT1 metal transporter is controlled by metals at the levels of transcript and protein accumulation” *Plant Cell*, 14, 1347–1357.

Cornara L., D’Arrigo C., Pioli F., Borghesi B., Bottino C., Patrone E., Mariotti M.G., 2009. “Micromorphological investigation on the leaves of the rock samphire (*Crithmum maritimum* L.): Occurrence of hesperidin and diosmin crystals” *Plant Biosystems*, 143, 283–292.

Costa G., Morel I.L., 1993. “Cadmium uptake by *Lypins albus* (L.); cadmium excretion, a possible mechanism of cadmium tolerance” *Journal of Plant Nutrition*, 16, 1921–1929.

Cunningham, S.D., Berti, W.R., Huang, J.W., 1995. “Phytoremediation of contaminated soils” *Tibtech*, 13, 393–397.

Curie C., Panaviene Z., Loulergue C., Dellaporta S.L., Briat J.F., Walker E.L., 2001. “Maize yellow stripe1 encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake” *Nature*, 409, 346–349.

Dickinson N.M., Pulford I.D., 2005. “Cadmium phytoextraction using short-rotation coppice *Salix*: the evidence trail” *Environ. Int.*, 31, 609–613.

Dzantor E.K., Beauchamp R.G., 2002. “Phytoremediation, Part 1: fundamental basis for the use of plants in remediation of organic and metal contamination” *Environmental Practice*, 4, 77–87.

Doty, S.L., 2008. “Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes” *New Phytology*, 179, 318–333.

Ekmekci Y., Tanyolac D., Ayhan B., 2008. “Effect of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars” *Journal of Plant Physiology*, 165, 600–611.

El Shaer H.M., 2003. “Potential of halophytes as animal fodder in Egypt, In: Lieth H., Mochtchenko M., (Ed.). Part II: Chemical contents. Cash crop halophytes: Recent studies” *Kluwer academic publishers, Dordrecht, Boston, London*: 111–120.

Ellis D.R., Gumaelius L., Indriolo E., Pickering I.J., Banks J.A., Salt D.E., 2006 “A novel arsenate reductase from the arsenic hyperaccumulating fern *Pteris vittata*” *Plant Physiology*, 141, 1544–1554.

Etim E., 2012. “Phytoremediation and Its Mechanisms: A Review” *International Journal of Environment and Bioenergy*, 2, 3, 120–136.

- Favas P.J.C., Pratas J., Varum M., Souza R., Paul M. “Phytoremediation of Soils Contaminated with Metals and Metalloids at Mining Areas: Potential of Native Flora” διαθέσιμο στο: www.interchopen.com/books.
- 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” *Environmetal Pollution*, 132, 289-296.
- Fendina I.S., Tsonev T.D., Guleva E.I., 1994. “ABA as a modulator of the response of *Pisum sativum* to salt stress” *Journal of Plant Physiology*, 143, 245–249.
- Fediuc E., Lips S.H., Erdei L., 2005. “O-Acetylserine (thiol) lyase activity in Phragmites and Typha plants under cadmium and NaCl stress conditions and the involvement of ABA in the stress response” *Journal of Plant Physiology*, 162, 865–872.
- Fernández A., Greuter R., Bertranda A., Reis R., Mouratoc M.P., Martins L.L., González A., 2013. “Growth and physiological responses to cadmium stress of two populations of *Dittrichia viscosa* (L.)” *Journal of Hazardous Materials*, 244–245, 555–562.
- Flowers T.J., Troke P.F., Yeo A.R., 1977. “The mechanism of salt tolerance in halophytes” *Annual Review of Plant Physiology*, 28, 89–121.
- Flowers T.J., Hajibagheri M.A., Clipson N.J.W., 1986. “Halophytes” *The Quarterly Review of Biology*, 61, 313–337.
- Fotiadis E., Pritsa T.S., Vardavakis E., Lolas P.C., 2009. Growth of weed and crop plants under cadmium stress and their phytoremediation potential” *Fresenius Environmental Bulletin*, 18, 2, 175-181.
- Gaw S.K., Wilkins A. L., Kim N. D., Palmer G. T., Robinson P., 2006. “Trace element and ΣDDT concentrations in horticultural soils from the Tasman, Waikato and Auckland regions of New Zealand”, *Science of the Total Environment*, 355, 31–47.
- Ghosh M., Singh S.P., 2005. “A review on phytoremediation of five heavy metals and utilization of its by-products” *Appl. Ecol. Environ. Res.*, 3, 1-18.
- Gilman E, Watson D., 1994. “*Salix spp.* Weeping willow” Fact Sheet ST-576 διαθέσιμο στο www.hort.ifas.ufl.edu/database/documents.
- Glass D.J., 1999. “Economic potential of phytoremediation, In: Raskin, I., Ensley, B.D. (Eds.), *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment*” John Wiley & Sons Inc, New York, pp. 15-31.
- Gleba, D., Borisjuk, N.V., Borisjuk, L.G., Kneer, R., Poulev, A., Skarzhinskaya, M., Dushenkov, S., Logendra, S., Gleba, Y.Y., Raskin, I., 1999. “Use of plant roots for phytoremediation and molecular farming” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 96, 5973-5977.

- González-Chávez M.C., Carrillo-González R., Wright S.F., Nichols K.A., 2004. “The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements” *Environmetal Pollution*, 130, 317–323.
- Gveroska B., Ziberoski J., 2011. “The influence of *Trichoderma harzianum* on reducing root rot disease in tobacco seedlings caused by *Rhizoctonia solani*” *Int. J. Pure Appl. Sci. Technol.*, 2, 2, 1-11.
- Harman G.E., 2000. “Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22” *Plant Diseases*, 84, 377–393.
- Huang S., Jin J., He P., 2009. “Effects of different patterns of land use on status of heavy metals in agricultural soils” *Better crops*, 93 διαθέσιμο στο: <http://www.ipni.net/ppiweb/bcrops.nsf>.
- Irfan M., Shamsul H., Ahmad A., Mohammed N.A., 2013. “Soil cadmium enrichment: Allocation and plant physiological manifestations: Review” *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20, 1-10.
- Jarvis, S. C., Jones, L. H. P., Hopper, M. J., 1976. “Cadmium uptake from solution by plants and its transport from roots to shoots” *Plant Soil*, 44, 179-191.
- Jonak C., Nakagami H., Hirt H., 2004. “Heavy metal stress. Activation of distinct mitogen-activated protein kinase pathways by copper and cadmium” *Plant Physiology*, 136, 3276–3283.
- Kabata- Pendias A., Pendias H., 1992. “Trace elements in soil and plants” CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Kacprzak M. J., Rosikon K., Fijalkowski K., Grobelak A., 2014. “Research Article: The Effect of *Trichoderma* on Heavy Metal Mobility and Uptake by *Miscanthus giganteus*, *Salix sp.*, *Phalaris arundinacea*, and *Panicum virgatum*” *Applied and Environmental Soil Science*, Article ID 506142 διαθέσιμο στο: www.hindawi.com
- Kadukova J., Kalogerakis N., 2007. “Lead accumulation from non-saline and saline environment by *Tamarix smyrnensis* Bunge” *European Journal of Soil Biology*, 43, 216-223.
- 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.
- Kamnev, A.A., van der Lelie, D., 2000. “Chemical and biological parameters as tools to evaluate and improve heavy metal phytoremediation” *Biosci. Rep.*, 20, 239-258.
- Katerji N., van Hoorn J.W., Hamdy A., Mastrorilli M., 2003. “Salinity effect on crop development and yield, analysis of salt tolerance according to several classification methods” *Agricultural Water Management* 62, 37–66.

- Kaya C., Ashraf M., Sonmez O., Aydemir S., Tuna A.L., Cullu M.A., 2009. "The influence of arbuscular mycorrhizal colonization on key growth parameters and fruit yield of pepper plants grown at high salinity" *Sci. Hortic. (Amsterdam)*, 121, 1–6.
- Khan, F.I., Husain, T., Hejazi, R., 2004. "An overview and analysis of site remediation technologies" *Journal of Environmental Management*, 71, 95-122.
- Kim D.Y., Bovet L., Maeshima M., Martinoia E., Lee Y., 2007. "The ABC transporter *AtPDR8* is a cadmium extrusion pump conferring heavy metal resistance" *Plant J.*, 50, 207–218.
- Koyro H.-W., Geißler N., Hussin S., Huchzermeyer B., 2009. "Survival at extreme locations: life strategies of halophytes; salinity and water stress. In: Ashraf M., Ozturk M., Athar H.R. (Ed.). *Improving Crop Efficiency*" Springer Science, Germany 44, 167–177.
- Kramer P.J., Boyer J.S., 1997. "Water relations of plants and soils" Academic Press, San Diego, USA.
- Krantev A., Yordanova R., Janda T., Szalas G., Papova L., 2008. "Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants" *Journal of Plant Physiology*, 165, 920–931.
- Ksouri R., Megdiche W., Koyro H.-W., Abdelly C., 2010. "Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity" *Advances in Botanical Research*, Vol. 53.
- Kumar N.P.B.A., Dushenkov V., Motto H., Raskin I., 1995. "Phytoextraction: The use of plants to extract heavy metals from soils" *Envir. Sci. Techn.* 29: 1232-1238.
- Lasat, M.M., 2000. "Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues" *J. Hazard. Subs. Res.*, 2, 1-25.
- Läuchi A., Epstein E., 1984. "Mechanisms of salt tolerance in plants" *California Agriculture*, October 1984, διαθέσιμο στο: www.ucanr.edu/repositoryfiles.
- Leelavathi M.S., Vani L., Pascal R., 2014. "Antimicrobial activity of *Trichodema harzianum* against bacteria and fungi" *Int. J. Curr. Microbiol.App.Sci.*, 3, 1, 96-103 διαθέσιμο στο <http://www.ijcmas.com/vol-3-1/M.S.Leelavathi,%20et%20al.pdf>
- Leunga H.M., Wua F.Y., Cheunga K.C., Yeb Z.H., Wonga M.H., 2010. "Synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate rock on heavy metal uptake and accumulation by an arsenic hyperaccumulator" *Journal of Hazardous Materials*, 81, 497–507.
- Lindh U., 2007. "Metal biology: aspects of beneficial effects" *AMBIO*, 36, 107–110.

- Liu L.-Z., Gong Z.-Q., Zhang Y.-L., Li P.-J., 2011. "Growth, Cadmium Accumulation and Physiology of Marigold (*Tagetes erecta* L.) as affected by Arbuscular Mycorrhizal Fungi" *Pedosphere*, 21, 319–327.
- Lofty S.M., Mostafa A.Z., 2013. "Phytoremediation of contaminated soil with cobalt and chromium" *Journal of Geochemical Exploration*.
- Lopez-Climent M.F., Arbona V., Perez-Clemente R.M., Gomez-Cadenas, A., 2011. "Effects of cadmium on gas exchange and phytohormone contents in citrus" *Biol. Plant.*, 55, 187–190.
- Lugon-Moulin N., Zhang M., Gadani F., Rossi L., Koller D., Krauss M., and Wagner G. J., 2004. "Critical review of the science and options for reducing cadmium in tobacco (*Nicotiana tabacum*) and other plants" *Advances in Agronomy*, Vol. 8, διαθέσιμο στο: DOI 10.1016/S0065-2113(04)83003-7.
- Ma, L.Q., Komar, K.M., Tu, C., Zhang, W., Cai, Y., Kenelley, E.D., 2001. "A fern that hyperaccumulates arsenic" *Nature*, 409, 579.
- MacLaughlin M.J., Tiller K.G., Naidu R., Stevens D.P., 1996. "Review: The behaviour and environmental impact of contaminants in fertilizers" *Aust. J. Soil. Res.*, 34, 1-54.
- Macnair M.R., Bert V., Huitson S.B., Samuilton-Laprade P., Petit D., 1999. "Zn tolerance and accumulation are genetically independent characters" *Proc. Royal Soc. - Biol. Sci.*, 266, 2175-2179.
- Maestri E., Marmiroli M., Visioli G., Marmiroli N., 2010. "Metal tolerance and hyperaccumulation: Costs and trade-offs between traits and environment" *Environmental and Experimental Botany*, 68, 1–13.
- Maksymiec W., Malgorzata W., Krupa Z., 2007. "Variation in oxidative stress and photochemical activity in *Arabidopsis thaliana* leaves subjected to cadmium and excess copper in the presence or absence of jasmonate and ascorbate" *Chemosphere*, 66, 421–427.
- Manousaki E., Kalogerakis N., 2011a. "Halophytes Present New Opportunities in Phytoremediation of Heavy Metals and Saline Soils" *Ind. Eng. Chem. Res.*, 50, 656–660.
- Manousaki E., Kalogerakis N., 2011b. "Halophytes—An Emerging Trend in Phytoremediation" *International Journal of Phytoremediation*, 13, 10, 959-969.
- Manousaki E., Kokkali F., Kalogerakis N., 2008. "Influence of salinity on lead and cadmium accumulation by the salt cedar (*Tamarix smyrnensis* Bunge)" Presented in 4th European Conference on Bioremediation, Chania, Greece.
- Mariem W., Kilani B. R., Benet G., Abdelbasset L., Stanley L., Charlotte P., Chedly A., Tahar G., 2014. "How does NaCl improve tolerance to cadmium in the halophyte *Sesuvium portulacastrum*?" *Chemosphere*, 117, 243–250.

- Marrs K.A., 1996. "The functions and regulation of glutathione-S-transferases in plants" Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 47, 127–58.
- McGeer J., Henningsen G., Lanno R., Fisher, N., Sappington, K., Drexler, J., 2004. "Issue Paper on the Bioavailability and Bioaccumulation of Metals" το οποίο έχει υποβληθεί στο: U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum, 1200 Pennsylvania Avenue, NW Washington.
- Megdiche W., Hessini K., Gharbi F., Jaleel A.C., Ksouri R., Abdelly C., 2008. "Photosynthesis, photosystem II efficiency of two salt-adapted halophytic seashore *Cakile maritima* provenances" Photosynthetica, 46, 3, 410–419.
- Meot-Duros L., Cirantola S., Talarmin H., Le Meur C., Le Floch G., Magn C., 2010. "New antibacterial and cytotoxic activities of faltarindiol isolated in *Crithmum maritimum* L. leaf extract" Food and Chemical toxicology, 48, 553–557.
- Mohamed A.A., Castagna A., Ranieri A., Sanita di Toppi L., 2012. "Cadmium tolerance in *Brassica juncea* roots and shoots is affected by antioxidant status and phytochelatin biosynthesis" Plant Physiological Biochemistry, 57, 15–22.
- 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.
- Nazar R., Iqbal N., Masood A., Iqbal M., Khan R., Syeed S., Khan N., 2012. "Cadmium Toxicity in Plants and Role of Mineral Nutrients in Its Alleviation" American Journal of Plant Sciences, 3, 1476-1489 διαθέσιμο στο : www.dx.doi.org/10.4236/ajps.2012.310178.
- Netty S., Wardiyati T., Handayanto E., Maghfoer M.D., 2012. "Nickel accumulating plants in the post-mining land of Sorowako, South Sulawesi, Indonesia" Journal of Tropical Agriculture, 50, 1-2, 45-48, διαθέσιμο στο: <http://www.jtropag.in>.
- Nouri M., Gonçalves F., Sousa J.P., Römbke J., Ksibi M., Pereira R., Haddioui A., 2013. "Metal and Phosphorus Uptake by Spontaneous Vegetation in an abandoned iron mine from a Semi-arid Area in Center Morocco: Implications for Phytoextraction" Environmental Research, Engineering and Management, 2, 64, 59-71.
- Ong G.H., Yap C.K., Maziah M., Tan S.G., 2011. "Heavy Metal Accumulation in a Medicinal Plant *Centella asiatica* from Peninsular Malaysia" Journal of Biolog.Sci., 11, 2, 146-155 .
- Orcutt, D.M., Nilsen, E.T., 2000. "The physiology of plants under stress - Soil and biotic factors" John Wiley & Sons, New York.
- Ondrasek G., Romic D., Rengel Z., Romic M., Zovko M., 2009. "Cadmium accumulation by muskmelon under salt stress in contaminated organic soil" Science of the Total Environment, 407, 2175-2182.

- Osmond C.B., Grace S.C., 1995. "Perspectives on photoinhibition and photorespiration in the field: quintessential inefficiencies of the light and dark reactions of photosynthesis" *Journal of Experimental Botany*, 46, 1351–1362.
- Panta S., Flowers T., Lanea P., Doylea R., Haros G., Shabala S., 2014. "Halophyte agriculture: Success stories" *Environmental and Experimental Botany*, 107, 71–83.
- Peiter E., Montanini B., Gobert A., Pendas P., Husted S., Maathuis F.J.M., Blaudez D., Chalot M., Sanders D., 2007. "A secretory pathway-localized cation diffusion facilitator confers plant manganese tolerance" *PNAS* 104, 8532–8537.
- Peuke A.D., Rennenberg H., 2005. "Phytoremediation: molecular biology, requirements for application, environmental protection, public attention and feasibility" *EMBO*, 6, 497-501.
- Pickering I.J., Prince R.C., George M.J., Smith R.D., George G.N., Salt D.E., 2000. "Reduction and coordination of arsenic in Indian mustard" *Plant Physiology*, 122, 1171-1177.
- Pilon-Smits E., Pilon M., 2002. "Phytoremediation of metals using transgenic plants" *Crit. Rev. Plsnt. Sci.*, 21, 439-456.
- Piret K., Kooken G., 1980. "Transfert racinaire du cadmium et du zinc chez la carotte (*Daucus carota*) en soil pollue" *Bulletin de la Societe Royale de Botanique de Belgique*, 113, 2, 145-152.
- Rashti M., Esfandbond M., Adhami E., Srivastava P., 2014. "Cadmium desorption behavior in selected sub-tropical soils: Effects of soil properties" *Journal of Gheochemical Exploration*.
- Raskin I., Kumar N.P.B.A., Dushenkov S., Salt D.E., 1994. "Bioconcentration of heavy metals by plants" *Current Opinion in Biotechnology*, 5, 285-290.
- Robinson, B., Fernandez J.E., Madejon P., Maranon T., Murillo J.M., Green S., Clotheir B., 2003. "Phytoextraction: an assessment of biogeochemical and economic viability" *Plant Soil* 249: 117-125.
- Rodriguez-Flores M., Rodriguez-Castellon E., 1982. "Lead and cadmium levels in soil and plants near highways and their correlation with traffic density" *Environmental Pollution Series B.*, 4, 281–290
- Rubeena M., Neethu K., Sajith S., Sreedevi S., Priji P., Unni K. N., Sarath M. K., Jisha V. N., Pradeep S., Benjamin S., 2013. "Lignocellulolytic activities of a novel strain of *Trichoderma harzianum*" διαθέσιμο στο: <http://dx.doi.org/10.4236/abb.2013.42030>
- Saradhi A., Saradhi P.P., 1981. "Proline accumulation under heavy metal stress" *Journal of Plant Physiology*, 138, 554–558.

Sauerbeck D., 1982. "Which heavy metal concentrations in plants should be not exceeded in order to avoid detrimental effects on their growth" *Landwirtschaftliche Forschung (Sonderheft)*, 39, 108-129.

Schützendübel A., Polle A., 2002. "Plant responses to abiotic stresses: heavy metal induced oxidative stress and protection by mycorrhization" *Journal of Experimental Botany*, 53, 1351-1365.

Shalaby M., Omran M., Raslan M., 1996. "Heavy metals and seed germination in some medicinal and aromatic plants" *Egyptian Journal of Soil Science*, 36, 133-43.

Siedlecka A., Krupa Z., Samuelsson G., Oquist G., Gardestro M., P., 1997. "Primary carbon metabolism in *Phaseolus vulgaris* under Cd/Fe interaction" *Plant Physiology and Biochemistry*, 35, 951-957.

Sousa N., Ramos M., Marques A.P.G.C., Castro P.M.L., 2014. "A genotype-dependent response to cadmium contamination in soil is displayed by *Pinus pinaster* - in symbiosis with different mycorrhizal fungi" *Applied Soil Ecology*, 76, 7-13.

Sparks D.L., 2003. "Environmental Soil Chemistry" 2nd Edition, Academic Press, New York.

Sukkariyah B.F., Evanylo G., Zelazny L., Chaney R.L., 2005. "Cadmium, copper, nickel, and zinc availability in a biosolids-amended piedmont soil years after application" *Journal of Environmental Quality*, 34, 2255-2262.

Tipping E., Rieuwerts J., Pan G., Ashmore M.R., Lofts S., Hill M.T.R., Farago M.E., Thornton I., 2003. "The solid-solution partitioning of heavy metals (Cu, Zn, Cd, Pb) in upland soils of England and Wales" *Environmental Pollution*, 125, 213-225.

Tong Y.P., Kneer R., Zhu Y.G., 2004. "Vacuolar compartmentalization: a second-generation approach to engineering plants for phytoremediation" *Trends Plant Sci.*, 9, 7-9.

Trap S., Kohler A., Larsen L. C., Zambrano K. C., Karlson U., 2005. "Phytotoxicity of fresh and weathered diesel and gasoline to willow and poplar trees" *Journal of Soil Sediments*, 1, 71-76.

Tyler G., Balsberg G., Pålsson A.-M., Bengtsson G., Bååth E., Tranvik L., 1989. "Heavy metal ecology of terrestrial plants, microorganisms and invertebrates" *Water, Air and Soil Pollution*, 47, 189-215.

Vance P.C., 2001. "Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition; Plant nutrition in a world of declining renewable resources" *Plant Physiology*, 27, 390-397.

Verret F., Gravet A., Auroy P., Leonhardt N., David P., Nussaume L., Vavasseur A., Richard P., 2004. "Overexpression of *AtHMA4* enhances root-to-shoot translocation of zinc and cadmium and plant metal tolerance" *FEBS Lett.*, 576, 306-312.

Wagner G.J., 1993. "Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health" *Adv. Agron.*, 51, 173-212.

- Weng L.P., Temminghoff E.J.M., Lofts S., Tipping E., Van Riemsdijk W.H., 2002. "Complexation with dissolved organic matter and solubility control of heavy metals in a sandy soil" *Envir. Sci. Techn.*, 36, 4804-4810.
- White P.J., Broadley M.R., 2001. "Chloride in soils and its uptake and movement within the plant: a review" *Ann. Bot.*, 88, 967-88.
- Wong C.K.E., Cobbett C.S., 2009. "HMA P-type *ATPases* are the major mechanism for root-to-shoot Cd translocation in *Arabidopsis thaliana*" *New Phytology*, 181, 71-78.
- Wu Q. S., Xia R. X., 2006. "Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions" *Journal of Plant Physiology* 163, 417-425.
- Wuana R.A., Okieimen F.E., 2011. "Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risk and best available strategies for remediation" *ISRN ecology διαθέσιμο στο: DOI:10.5402/2011/402647*.
- Xia X., Zhongfang Y., Yujun C., Yansheng L., Qingye H., Tao Y., 2014. "Soil heavy metal concentrations and their typical input and output fluxes on the southern Songnen Plain, Heilongjiang Province, China" *Journal of Geochemical Exploration*, 139, 85-96.
- Xie H.L., Jiang R.F., Zhang F.S., McGrath S.P., Zhao F.J., 2009. "Effect of nitrogen form on the rhizosphere dynamics and uptake of cadmium and zinc by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*" *Plant Soil*, 318, 205-215.
- Yang X., Feng Y., He Z., Stoffella P., 2005. "Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation" *Journal of Trace Elements in Chemistry & Biology*, 18, 339-353.
- Yang Y., Nan Z., Zhao Z., Wang Z., Wang S., Wang X., Jin W., Zhao C., 2011. "Bioaccumulation and translocation of cadmium in cole (*Brassica campestris* L.) and celery (*Apium graveolens*) grown in the polluted oasis soil Northwest of China" *Journal of Environmental Sciences*, 23, 1368-1374.
- Yap, C.K., Edward F.B. Tan G., 2007. "Determination of heavy metal distributions in the green-lipped mussel *Perna viridis* as bioindicators of heavy metal contamination in the johore straits and Senggarang, Peninsular Malaysia" *Trends Applied Sci. Res.*, 2, 284-294.
- Yu X.Z., Trapp S., Zhou P.H., Hu H., 2005. "The effect of temperature on the rates of cyanide metabolism of two woody plants" *Chemosphere*, 59, 1099-1104.
- Zhang J.B., Huang W.N., 2000. "Advances on physiological and ecological effects of cadmium on plants" *Acta. Ecol. Sin.*, 20, 514-523.
- Zhang S., Chen M., Li T., Xu X., Deng L., 2010. "A newly found cadmium accumulator—*Malva sinensis* Cavan" *Journal of Hazardous Materials*, 173, 705-709.

Zhao F.-J., McGrath S., 2009. “Biofortification & phytoremediation” Current Opinion in Plant Biology, 12, 373-380.

Zhu J.-K., 2002. “Salt and drought stress signal transduction in plants” Annual Review of Plant Biology, 53, 247–273.

Ελληνική βιβλιογραφία:

Δανιηλίδου Ε., 2010. «Πειραματική καλλιέργεια φυτών με στόχο εφαρμογές για την προστασία του περιβάλλοντος», Διατριβή ειδίκευσης, Πανεπιστήμιο Πάτρας, Τμήμα Βιολογίας.

Μανουσάκη Ε., 2008. “Χαρακτηρισμός της ικανότητας μεσογειακών φυτών για την απομάκρυνση Pb & Cd από ρυπασμένα εδάφη” Διδακτορική διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά.

Διαδίκτυο:

Dpt of Biochemistry and Molecular Biophysics, University of Arizona διαθέσιμο στο: http://www.biology.arizona.edu/biochemistry/problem_sets/aa/histidine.html

Eawag, Aquatic research διαθέσιμο στο: www.eawag.ch/forschung.

European Committee, 2001: “The current EU maximum levels for cadmium in feed materials” διαθέσιμο στο <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/72.pdf>.

Gardening in Mediterranean climates worldwide, διαθέσιμο στο www.gimcw.org.

Government of Alberta, Agricultural and Rural Development διαθέσιμο στο [http://www.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/opp4078/\\$FILE/prairiesky.jpg](http://www.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/opp4078/$FILE/prairiesky.jpg).

Graduate School of Chemical and Molecular Sciences, Zurich διαθέσιμο στο: <http://www.cmszh.uzh.ch/index.php?id=59>.

Hayes C., 1998. “Midwest Biological Control News Online”, Vol.V, Num.4, διαθέσιμο στο: www.entomology.wisc.edu.

Mt.San Antonio College διαθέσιμο στο: www.Finstruction2.mtsac.edu.

National Institute for Occupational Safety and Health, 2007. “International Chemical Safety Cards” διαθέσιμο στο www.cdc.gov/niosh/ipcsneng/neng1075.

The Bruns Lab, University of California at Berkeley διαθέσιμο στο: www.nature.berkeley.edu/brunslab.

United States Environmental Protection Agency, December 1996. “Method 3052- Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices”.

United States Environmental Protection Agency, 2013 “Cadmium fact Sheet”, διαθέσιμο στο: www.epa.gov/ttnatw01/hlthef/cadmium.

United States Environmental Protection Agency, 1998. “A Citizen’s Guide to Phytoremediation, EPA 542-F-98-011” διαθέσιμο στο: <http://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/10002T6S.TXT>.

United States Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, 2000. “Introduction to Phytoremediation”.

U.S. Naval Observatory, 2012. “Duration of daylight/darkness table for one year” διαθέσιμο στο : http://aa.usno.navy.mil/data/docs/Dur_OneYear.php.

Universitat Wien, “Biorem Database” διαθέσιμο στο: http://www.univie.ac.at/biorem/?attachment_id=2747.

World Health Organisation 1993. “Codex Alimentarius” διαθέσιμο στο: <http://researchdirect.uws.edu.au/islandora/object/uws%3A6398/datastream/PDF/view>.

World Health Organisation 2001. “Codex Alimentarius Commission” διαθέσιμο στο: http://etheses.dur.ac.uk/3970/1/3970_1486.pdf?UkUDh:CyT.

<http://www.brc.ac.uk/plantatlas/index.php?q=plant/crithmum-maritimum>.

http://practicalplants.org/wiki/Crithmum_maritimum.